

**OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK VORİKONAZOL İÇEREN  
PARTİKÜLER SİSTEMLERİN HAZIRLANMASI VE *İN VİTRO*  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Selvi YAŞAR**

**Eskişehir 2024**

**OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK VORİKONAZOL İÇEREN  
PARTİKÜLER SİSTEMLERİN HAZIRLANMASI VE *İN VİTRO*  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Selvi YAŞAR**

**BASIM SAYISI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Ebru BAŞARAN**

**Eskişehir Anadolu Üniversitesi**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Haziran 2024**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Selvi YAŞAR'ın “Oküler Uygulamaya Yönelik Vorikonazol İçeren Partiküler Sistemlerin Hazırlanması Ve *İn Vitro* Değerlendirilmesi” başlıklı tezi ...../...../2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda 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               |             |

Prof. Dr. Saime ÖNCE  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK VORİKONAZOL İÇEREN PARTİKÜLER SİSTEMLERİN HAZIRLANMASI VE *İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ

Selvi YAŞAR

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2024

Danışman: Prof. Dr. Ebru BAŞARAN

Oküler ilaç uygulamaları ile etkin bir tedavinin sağlanması çeşitli anatomik, fizyolojik ve biyolojik engellerden dolayı oldukça güçtür. Oküler uygulamalardaki temel yaklaşım özellikle topikal uygulamalar için korneal geçirgenliğin artırılması, çözünürlük problemi olan etkin maddelerin çözünürlüğünün artırılması veya hazırlanan formülasyonların oküler yüzeyde kalış sürelerini uzatabilecek yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin formülasyonu şeklinde gerçekleştirilmektedir. Yeni geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemler uygulama sıklığını azaltarak yan etkileri daha az sistemlerin oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca çözünürlük problemi olan etkin maddeler için çözünürlük artışı sağlayarak biyoyararlanımda iyileşmeye neden olmaktadır. Oküler enfeksiyonlar görme kayıplarına neden olabilecek çok ciddi rahatsızlıklar olmaları nedeniyle etkin bir tedavi için genellikle tekrarlanan uygulamalar gerektirmektedir. Vorikonazol (VOR) geniş spektrumlu bir antifungal maddedir. Yüksek etkinliğine rağmen sudaki düşük çözünürlüğü biyoyararlanımını kısıtlamaktadır. Bu tez çalışması kapsamında oküler uygulamaya yönelik VOR içeren etkin ve güvenilir PNP hazırlanmıştır. Tez çalışmamızda Soluplus® (SOL), Polikaprolakton (PCL) ve Eudragit® FS100 (EFS100) ile VOR içeren polimerik nanopartikül formülasyonlar geliştirilmiştir. Püskürterek kurutma yöntemiyle partiküller oluşturulmuştur. Hazırlanan partiküllerin fizikokimyasal karakteristik özellikleri, *in vitro* salım profilleri ve antifungal etkinlikleri incelenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Vorikonazol, partiküler sistemler, oküler ilaç taşıyıcı sistemler, fungal keratit

## ABSTRACT

### PREPARATION AND *IN VITRO* EVALUATION OF VORICONAZOLE- CONTAINING PARTICULATE SYSTEMS FOR OCULAR APPLICATION

Selvi YAŞAR

Department of Pharmaceutical Technology

Anadolu University, Graduate School of Education, June 2024

Supervisor: Prof. Dr. Ebru BAŞARAN

Providing effective treatment with ocular drug applications is very difficult due to various anatomical, physiological and biological obstacles. The basic approach in ocular applications is to increase corneal permeability, especially for topical applications, to increase the solubility of active substances with solubility problems, or to formulate new drug carrier systems that can prolong the residence time of the prepared formulations on the ocular surface. Newly developed drug carrier systems reduce the frequency of application and enable the creation of systems with fewer side effects. In addition, they increase the solubility of active substances with solubility problems, resulting in improvement in bioavailability. Since ocular infections are very serious disorders that can cause vision loss, they usually require repeated applications for effective treatment. Voriconazole (VOR) is a broad-spectrum antifungal agent. Despite its high effectiveness, its low solubility in water limits its bioavailability. Within the scope of this thesis study, effective and reliable polymeric nanoparticles containing VOR for ocular application were prepared. In our thesis study, polymeric nanoparticle formulations containing Soluplus® (SOL), Polycaprolactone (PCL) and Eudragit® FS100 (EFS100) and VOR were developed. Particles were formed by spray drying method. The physicochemical characteristics, in vitro release profiles and antifungal activities of the prepared particles were examined.

**Keywords:** Voriconazole, particulate systems, ocular drug delivery systems, fungal keratitis

## TEŞEKKÜR

Farmasötik teknolojiyi sevmemi sağlayan, bu alanda çalışmalar yapmam için bana fırsatlar sunan ve bilgi birikimiyle bana rehberlik eden danışmanım Prof. Dr. Ebru BAŞARAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez kapsamında oluşturulan partiküllerin mikrobiyolojik analizlerinin yürütülmesinde sağladığı önemli katkılardan dolayı Prof. Dr. Zerrin CANTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında bana vakit ayıran, bilgi ve deneyimini benimle paylaşan, tez yazım sürecinde destek olan Arş. Gör. Kadir AYKAÇ'a teşekkür ederim. Ayrıca yüksek lisans eğitimim boyunca göstermiş oldukları ilgi ve alakalarından dolayı Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'na çok teşekkür ederim.

Hayatımdaki her anında yolumu aydınlatan, desteğini ve güvenini her zaman hissettiren Sn. Emre Can ÇÖMEZ'e varlığı için teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan sevgili aileme en derin teşekkürlerimi sunuyorum. Onların bana olan inançları ve destekleri olmasaydı, bugün bu noktaya ulaşmam mümkün olmazdı.

Selvi YAŞAR

## 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 programıyla 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.

Selvi YAŞAR

## İÇİNDEKİLER

|                                                      | <u>Sayfa</u> |
|------------------------------------------------------|--------------|
| BAŞLIK SAYFASI .....                                 | i            |
| JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI .....                          | ii           |
| ÖZET .....                                           | iii          |
| ABSTRACT .....                                       | iv           |
| TEŞEKKÜLER .....                                     | v            |
| ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....    | vi           |
| İÇİNDEKİLER .....                                    | vii          |
| TABLolar DİZİNİ .....                                | xiii         |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                | xiv          |
| GÖRSELLER DİZİNİ .....                               | xvii         |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                        | xviii        |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                               | 1            |
| 2. KAYNAK BİLGİSİ .....                              | 2            |
| 2.1. Gözün Anatomik Yapısı ve Fizyolojisi .....      | 2            |
| 2.1.1. Gözün anatomisi .....                         | 2            |
| 2.1.2. Gözün fizyolojisi .....                       | 3            |
| 2.1.2.1. Gözün ön bölgesi .....                      | 3            |
| 2.1.2.2. Gözün arka bölgesi .....                    | 6            |
| 2.2. Oküler İlaç Absorpsiyonu .....                  | 7            |
| 2.2.1. Oküler absorpsiyona etki eden faktörler ..... | 8            |
| 2.2.1.1. Gözyaşı devri .....                         | 8            |
| 2.2.1.2. Kornea .....                                | 9            |
| 2.2.1.3. Konjonktiva .....                           | 9            |
| 2.2.1.4. Enzimatik parçalama .....                   | 10           |
| 2.2.1.5. Kan-göz bariyeri .....                      | 11           |
| 2.3. Kornea Enfeksiyonları .....                     | 12           |
| 2.3.1. Fungal keratit .....                          | 12           |
| 2.3.1.1. Etyoloji .....                              | 13           |
| 2.3.1.2. Predispozan faktörler .....                 | 13           |
| 2.3.1.3. Tanı .....                                  | 15           |
| 2.4. Antifungal Maddeler .....                       | 15           |

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4.1. Polien türleri .....                                        | 16 |
| 2.4.2. Azoller .....                                               | 17 |
| 2.4.2.1. Vorikonazol .....                                         | 18 |
| 2.4.3. Flusitozin .....                                            | 20 |
| 2.4.4. Ekinokandinler .....                                        | 20 |
| 2.4.5. Alilaminler .....                                           | 20 |
| 2.4.6. Diğer antifungaller .....                                   | 21 |
| 2.5. Konvansiyonel Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler .....            | 21 |
| 2.5.1. Çözeltiler .....                                            | 21 |
| 2.5.2. Süspansiyonlar .....                                        | 22 |
| 2.5.3. Emülsiyonlar/Merhemler .....                                | 22 |
| 2.5.4. Jeller .....                                                | 23 |
| 2.5.4.1. Kullanıma hazır biyoadezif hidrojeliler .....             | 23 |
| 2.5.4.2. <i>In situ</i> aktivasyonla jel oluşturan sistemler ..... | 24 |
| 2.5.5. İnsertler .....                                             | 26 |
| 2.5.6. İmplantlar .....                                            | 27 |
| 2.6. Modern Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler .....                   | 28 |
| 2.6.1. Dispers sistemler .....                                     | 28 |
| 2.6.1.1. Nanoemülsiyonlar .....                                    | 29 |
| 2.6.1.2. Nanosüspansiyonlar .....                                  | 29 |
| 2.6.2. Veziküler sistemler .....                                   | 30 |
| 2.6.2.1. Lipozomlar .....                                          | 30 |
| 2.6.2.2. Niozomlar .....                                           | 31 |
| 2.6.2.3. Dendrimerler .....                                        | 31 |
| 2.6.3. Partiküler sistemler .....                                  | 32 |
| 2.6.3.1. Polimerik nanopartiküller .....                           | 33 |
| 2.6.3.2. Katı lipit nanopartiküller .....                          | 34 |
| 2.6.3.3. Nanokristaller .....                                      | 35 |
| 2.7. Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Polimerler .....  | 35 |
| 2.7.1. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler .....            | 36 |
| 2.7.1.1. Kitosan .....                                             | 36 |
| 2.7.1.2. Hyaluronik asit .....                                     | 37 |
| 2.7.1.3. Aljinat .....                                             | 37 |

|          |                                                                |    |
|----------|----------------------------------------------------------------|----|
| 2.7.1.4. | Siklodekstrin .....                                            | 37 |
| 2.7.1.5. | Polilaktik-ko-glikolik (PLGA) .....                            | 38 |
| 2.7.2.   | Biyolojik olarak parçalanamayan polimerler .....               | 38 |
| 2.7.2.1. | Selüloz türevleri .....                                        | 38 |
| 2.7.2.2. | Polietilen glikol (PEG) .....                                  | 38 |
| 2.7.3.   | Çalışmamızda kullanılan polimerler ile ilgili genel bilgiler.. | 39 |
| 2.7.3.1. | Soluplus® .....                                                | 39 |
| 2.7.3.2. | Poli (ε-kaprolakton) .....                                     | 39 |
| 2.7.3.3. | Eudragit® FS100 .....                                          | 40 |
| 2.8.     | Polimerik Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri .....            | 41 |
| 2.8.1.   | Nanoçöktürme yöntemi .....                                     | 41 |
| 2.8.2.   | Emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi .....                   | 42 |
| 2.8.3.   | Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi .....                        | 43 |
| 2.8.4.   | Tuzla çöktürme yöntemi .....                                   | 44 |
| 2.8.5.   | Diyaliz yöntemi .....                                          | 44 |
| 2.8.6.   | Süperkritik sıvı teknolojisi .....                             | 45 |
| 2.8.7.   | İyonik jelasyon yöntemi .....                                  | 46 |
| 2.8.8.   | Püskürterek kurutma yöntemi .....                              | 48 |
| 2.9.     | Polimerik Nanopartiküllerin Karakterizasyonu .....             | 49 |
| 2.9.1.   | Başlangıç maddeleri karakterizasyonu .....                     | 49 |
| 2.9.2.   | Partikül boyutu .....                                          | 49 |
| 2.9.3.   | Yüzey özellikleri .....                                        | 51 |
| 2.9.4.   | Etkin madde yükleme kapasitesi ve salımı .....                 | 52 |
| 2.9.5.   | Stabilite .....                                                | 52 |
| 3.       | GEREÇLER .....                                                 | 54 |
| 3.1.     | Kullanılan Maddeler .....                                      | 54 |
| 3.2.     | Kullanılan Cihazlar .....                                      | 55 |
| 4.       | YÖNTEM .....                                                   | 56 |
| 4.1.     | Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları .....     | 56 |
| 4.1.1.   | Doğrusallık .....                                              | 56 |
| 4.1.2.   | Kesinlik .....                                                 | 56 |
| 4.1.3.   | Doğruluk .....                                                 | 57 |
| 4.1.4.   | Duyarlılık .....                                               | 57 |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.5. Seçicilik .....                                                              | 58 |
| 4.2. Ön Formülasyon Çalışmaları .....                                               | 59 |
| 4.2.1. Vorikonazol üzerinde yapılan çalışmalar .....                                | 59 |
| 4.2.1.1. Erime derecesi tayini .....                                                | 59 |
| 4.2.1.2. Termal analiz .....                                                        | 59 |
| 4.2.1.3. FT-IR analizi .....                                                        | 59 |
| 4.2.1.4. NMR analizi .....                                                          | 59 |
| 4.2.1.5. HPLC ile miktar tayini .....                                               | 59 |
| 4.2.2. Polimerler üzerinde yapılan çalışmalar .....                                 | 60 |
| 4.2.2.1. Termal analiz .....                                                        | 60 |
| 4.2.2.2. FT- IR analizi .....                                                       | 60 |
| 4.2.2.3. NMR analizi .....                                                          | 60 |
| 4.2.3. Formülasyon hazırlıkları .....                                               | 60 |
| 4.3. Formülasyonların Hazırlanışı .....                                             | 63 |
| 4.4. Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları .....                             | 64 |
| 4.4.1. Partikül büyüklüğü, dağılımı ve zeta potansiyeli .....                       | 64 |
| 4.4.2. Termal analiz .....                                                          | 64 |
| 4.4.3. FT- IR analizi .....                                                         | 64 |
| 4.4.4. NMR analizi .....                                                            | 64 |
| 4.4.5. Partiküllerin morfolojik tayini .....                                        | 64 |
| 4.4.6. Partiküllerdeki vorikonazol yükleme kapasitesinin<br>değerlendirilmesi ..... | 64 |
| 4.4.7. <i>İn vitro</i> salım çalışmaları .....                                      | 65 |
| 4.4.8. Antifungal etkinlik çalışmaları .....                                        | 67 |
| 4.4.8.1. Mikrobrot dilüsyon yöntemi ile antikandida<br>aktivite testi .....         | 67 |
| 4.4.8.2. Anneksin V-PI yöntemi ile kandida apoptozisin<br>belirlenmesi .....        | 67 |
| 5. BULGULAR .....                                                                   | 69 |
| 5.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları .....                     | 69 |
| 5.1.1. Doğrusallık .....                                                            | 69 |
| 5.1.2. Kesinlik .....                                                               | 69 |
| 5.1.3. Doğruluk .....                                                               | 70 |

|                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.1.4. Duyarlılık .....                                                             | 71  |
| 5.1.5. Seçicilik .....                                                              | 71  |
| 5.2. Ön formülasyon Çalışmaları .....                                               | 73  |
| 5.2.1. Vorikonazol üzerinde yapılan çalışmalar .....                                | 73  |
| 5.2.1.1. Erime derecesi tayini .....                                                | 73  |
| 5.2.1.2. Termal analiz .....                                                        | 73  |
| 5.2.1.3. FT-IR analizi .....                                                        | 73  |
| 5.2.1.4. NMR analizi .....                                                          | 74  |
| 5.2.1.5. HPLC ile miktar tayini .....                                               | 75  |
| 5.2.2. Polimerler üzerinde yapılan çalışmalar .....                                 | 75  |
| 5.2.2.1. Termal analiz .....                                                        | 75  |
| 5.2.2.2. FT-IR analizi .....                                                        | 77  |
| 5.2.2.3. NMR analizi .....                                                          | 78  |
| 5.2.3. Formülasyon Çalışmaları .....                                                | 80  |
| 5.3. Polimerik Nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışmaları .....                  | 80  |
| 5.3.1. Partikül büyüklüğü, dağılımı ve zeta potansiyeli .....                       | 80  |
| 5.3.2. Termal analiz .....                                                          | 81  |
| 5.3.3. FT-IR analizi .....                                                          | 83  |
| 5.3.4. NMR analizi .....                                                            | 88  |
| 5.3.5. Partiküllerin morfolojik tayini .....                                        | 93  |
| 5.3.6. Partiküllerdeki vorikonazol yükleme kapasitesinin<br>değerlendirilmesi ..... | 94  |
| 5.3.7. <i>İn vitro</i> salım çalışmaları .....                                      | 95  |
| 5.3.8. Antifungal etkinlik çalışmaları .....                                        | 96  |
| 5.3.8.1. Mikrobrot Dilüsyon Yöntemi ile Antikandidal<br>Aktivite Testi .....        | 96  |
| 5.3.8.2. Anneksin V-PI yöntemi ile kandidal apoptozisin<br>belirlenmesi .....       | 96  |
| 6. TARTIŞMA .....                                                                   | 99  |
| 6.1. Ön formülasyon Çalışmaları .....                                               |     |
| 6.1.1. Vorikonazol ve Yardımcı Maddeler ile Yapılan Çalışmalar                      | 99  |
| 6.1.2. Literatür Araştırması                                                        | 100 |
| 6.2. Partiküler Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları .....                  | 105 |

|                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.2.1. Partikül boyutu, dağılımı ve zeta potansiyeli .....                          | 111 |
| 6.2.2. Termal Analiz .....                                                          | 111 |
| 6.2.3. FT-IR Analizi .....                                                          | 111 |
| 6.2.4. NMR Analizi .....                                                            | 111 |
| 6.2.5. Partiküllerin morfolojik tayini .....                                        | 111 |
| 6.2.6. Partiküllerdeki vorikonazol yükleme kapasitesinin<br>değerlendirilmesi ..... | 112 |
| 6.2.7. <i>İn vitro</i> salım çalışmaları .....                                      | 112 |
| 6.2.8. Antifungal etkinlik çalışmaları .....                                        | 113 |
| 7. SONUÇ .....                                                                      | 114 |
| KAYNAKÇA .....                                                                      | 115 |
| EKLER                                                                               |     |
| ÖZGEÇMİŞ                                                                            |     |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                               | <b><u>Sayfa</u></b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>Tablo 4.1.</b> Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi çalışma koşulları .....                                 | 60                  |
| <b>Tablo 4.2.</b> Hazırlanan polimerik partiküllerin formülasyon bileşenleri .....                            | 61                  |
| <b>Tablo 4.3.</b> Formülasyonların püskürterek kurutma şartları .....                                         | 62                  |
| <b>Tablo 5.1.</b> Kesinlik çalışması sonuçları .....                                                          | 70                  |
| <b>Tablo 5.2.</b> Duyarlılık çalışmasına ait bulgular .....                                                   | 71                  |
| <b>Tablo 5.3.</b> Hazırlanan partiküllerin ortalama partikül büyüklüğü, dağılımı<br>ve zeta potansiyeli ..... | 80                  |
| <b>Tablo 5.4.</b> Formülasyonlardaki etkin madde miktar tayini analiz sonuçları                               | 94                  |
| <b>Tablo 5.5.</b> Antikandidal aktivite testi bulguları .....                                                 | 96                  |
| <b>Tablo 5.6.</b> Antikandidal analiz sonuçları .....                                                         | 98                  |
| <b>Tablo 6.1.</b> Vorikonazol ile oluşturulan bazı formülasyonlara ait<br>fizikokimyasal bulgular .....       | 106-109             |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|             |                                                                                | <b>Sayfa</b> |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 2.1.  | Gözün anatomisi .....                                                          | 2            |
| Şekil 2.2.  | Gözün fizyolojisi .....                                                        | 3            |
| Şekil 2.3.  | Nazolakrimal drenaj sistemi .....                                              | 9            |
| Şekil 2.4.  | Kan-göz bariyeri .....                                                         | 11           |
| Şekil 2.5.  | Vorikonazolün kimyasal yapısı .....                                            | 19           |
| Şekil 2.6.  | Oftalmik uygulanabilir nanosistemler .....                                     | 32           |
| Şekil 2.7.  | Soluplus®'ın kimyasal yapısı .....                                             | 39           |
| Şekil 2.8.  | Polikaprolaktonun kimyasal yapısı .....                                        | 40           |
| Şekil 2.9.  | Eudragit® FS'nin kimyasal yapısı .....                                         | 40           |
| Şekil 2.10. | Nanoçöktürme yöntemi .....                                                     | 42           |
| Şekil 2.11. | Emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi .....                                   | 43           |
| Şekil 2.12. | Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi .....                                        | 43           |
| Şekil 2.13. | Tuzla çöktürme yöntemi .....                                                   | 44           |
| Şekil 2.14. | Diyaliz yöntemi .....                                                          | 45           |
| Şekil 2.15. | Süperkritik akışkan çözeltisinin hızlı ekspansiyonu .....                      | 46           |
| Şekil 2.16. | Süperkritik akışkan çözeltisinin sıvı çözücü içine hızlı<br>ekspansiyonu ..... | 46           |
| Şekil 2.17. | İyonik jelasyon yöntemi .....                                                  | 47           |
| Şekil 2.18. | Püskürterek kurutma yöntemi .....                                              | 48           |
| Şekil 5.1.  | Vorikonazole ait Standart Eğri ve Doğrusallık Eşitliği .....                   | 69           |
| Şekil 5.2.  | Vorikonazole ait HPLC Kromatogramı .....                                       | 72           |
| Şekil 5.3.  | SSV-P formülasyonuna ait HPLC Kromatogramı .....                               | 72           |
| Şekil 5.4.  | SPEV-P Formülasyonuna ait HPCL Kromatogramı .....                              | 72           |
| Şekil 5.5.  | Vorikonazole ait DSC termogramı .....                                          | 73           |
| Şekil 5.6.  | Vorikonazole ait FT-IR Spektrumu .....                                         | 74           |
| Şekil 5.7.  | Vorikonazole ait NMR Spektrumu .....                                           | 74           |
| Şekil 5.8.  | Vorikonazole ait HPLC Spektrumu .....                                          | 75           |
| Şekil 5.9.  | Soluplus®'a ait DSC termogramı .....                                           | 76           |
| Şekil 5.10  | Polikaprolakton'a ait DSC termogramı .....                                     | 76           |
| Şekil 5.11. | Eudragit® FS100'e ait DSC termogramı .....                                     | 76           |
| Şekil 5.12. | Soluplus®'a ait FT-IR Spektrumu .....                                          | 77           |

|                    |                                                                                      |    |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 5.13.</b> | Polikaprolakton’a ait FT-IR Spektrumu .....                                          | 77 |
| <b>Şekil 5.14.</b> | Eudragit® FS100’e ait FT-IR Spektrumu .....                                          | 78 |
| <b>Şekil 5.15.</b> | Soluplus®’a ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                            | 78 |
| <b>Şekil 5.16.</b> | Polikaprolakton’a ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                      | 79 |
| <b>Şekil 5.17.</b> | Eudragit® FS 100’e ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                     | 79 |
| <b>Şekil 5.18.</b> | SSV Formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılımı .....                             | 81 |
| <b>Şekil 5.19.</b> | SPEV Formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılımı .....                            | 81 |
| <b>Şekil 5.20.</b> | SSV Formülasyonuna ait DSC termogramları .....                                       | 82 |
| <b>Şekil 5.21.</b> | SPEV Formülasyonuna ait DSC termogramları .....                                      | 82 |
| <b>Şekil 5.22.</b> | SSV Formülasyonunun Fiziksel Karışımının FT-IR Spektrumu.                            | 83 |
| <b>Şekil 5.23.</b> | SSV-P Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                          | 83 |
| <b>Şekil 5.24.</b> | SSV-1 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                          | 84 |
| <b>Şekil 5.25.</b> | SSV-2 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                          | 84 |
| <b>Şekil 5.26.</b> | SSV-3 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                          | 85 |
| <b>Şekil 5.27.</b> | SPEV Formülasyonunun Fiziksel Karışımının FT-IR Spektrumu .....                      | 85 |
| <b>Şekil 5.28.</b> | SPEV-P Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                         | 86 |
| <b>Şekil 5.29.</b> | SPEV-1 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                         | 86 |
| <b>Şekil 5.30.</b> | SPEV-2 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                         | 87 |
| <b>Şekil 5.31.</b> | SPEV-3 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu .....                                         | 87 |
| <b>Şekil 5.32.</b> | SSV formülasyonun fiziksel karışımına ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....  | 88 |
| <b>Şekil 5.33.</b> | SSV-P formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                   | 88 |
| <b>Şekil 5.34.</b> | SSV-1 formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                   | 89 |
| <b>Şekil 5.35.</b> | SSV-2 formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                   | 89 |
| <b>Şekil 5.36.</b> | SSV-3 formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                   | 90 |
| <b>Şekil 5.37.</b> | SPEV formülasyonun fiziksel karışımına ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu ..... | 90 |
| <b>Şekil 5.38.</b> | SPEV-P formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                  | 91 |
| <b>Şekil 5.39.</b> | SPEV-1 formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                  | 91 |
| <b>Şekil 5.40.</b> | SPEV-2 formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                  | 92 |
| <b>Şekil 5.41.</b> | SPEV-3 formülasyonuna ait <sup>1</sup> H-NMR analiz spektrumu .....                  | 92 |
| <b>Şekil 5.42.</b> | Vorikonazole ait SEM Görüntüsü .....                                                 | 93 |

|                    |                                                                                  |    |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 5.43.</b> | SSV Partiküllerine ait SEM görüntüsü .....                                       | 93 |
| <b>Şekil 5.44.</b> | SPEV Partiküllerine ait SEM görüntüsü .....                                      | 94 |
| <b>Şekil 5.45.</b> | SSV Formülasyonlarına ait Vorikonazol'e ait <i>in vitro</i> salım profili        | 95 |
| <b>Şekil 5.46.</b> | SPEV Formülasyonlarına ait Vorikonazol'e ait <i>in vitro</i> salım profili ..... | 95 |
| <b>Şekil 5.47.</b> | Antikandidal analiz sonuçları .....                                              | 97 |



## GÖRSELLER DİZİNİ

|                                                                                  | <b><u>Sayfa</u></b> |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>Görsel 4.1.</b> Ön formülasyon çalışmalarında püskürterek kurutma işlemi..... | 62                  |
| <b>Görsel 4.1.</b> Püskürterek kurutma işlemi .....                              | 63                  |
| <b>Görsel 4.2.</b> Püskürterek kurutma sonucu elde edilen partiküller .....      | 63                  |
| <b>Görsel 4.3.</b> İn vitro salım çalışmaları .....                              | 66                  |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                          |                                                             |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <b>% EE</b>              | :Enkapsülasyon Etkinliği/Yükleme Etkinliği                  |
| <b>°C</b>                | :Santigrat derece                                           |
| <b>µg</b>                | :Mikrogram                                                  |
| <b>µL</b>                | :Mikrolitre                                                 |
| <b>µm</b>                | :Mikrometre                                                 |
| <b><sup>1</sup>H-NMR</b> | :Proton Nükleer Manyetik Rezonans                           |
| <b>AFM</b>               | :Atomik kuvvet mikroskobu                                   |
| <b>C<sub>maks</sub></b>  | :Maksimum Plazma Konsantrasyonu                             |
| <b>CAD</b>               | :Yüklü aerosol dedektör                                     |
| <b>CAP</b>               | :Selüloz asetat ftalat                                      |
| <b>CYP</b>               | :Sitokrom-P450 enzimleri                                    |
| <b>Da</b>                | :Dalton                                                     |
| <b>dk</b>                | :Dakika                                                     |
| <b>DLS</b>               | :Dinamik ışık saçılımı                                      |
| <b>DSC</b>               | :Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi                          |
| <b>EFS100</b>            | :Eudragit® FS 100                                           |
| <b>ELSD</b>              | :Evaporatif ışık saçılım dedektörü                          |
| <b>EVA</b>               | :Etilen vinil asetat                                        |
| <b>FEG</b>               | :Alan Salım Tabancası                                       |
| <b>FT-IR</b>             | :Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi                 |
| <b>g</b>                 | :Gram                                                       |
| <b>GPC</b>               | :Jel geçirgenlik kromatografisi                             |
| <b>HIC</b>               | :Hidrofobik Etkileşim Kromatografisi                        |
| <b>HP-β-CD</b>           | :Hidroksi-propil-β-siklodekstrin                            |
| <b>HPLC</b>              | :Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi                    |
| <b>HPMC</b>              | :Hidroksi propil metil selüloz                              |
| <b>ICP-MS</b>            | :Safsızlıklar Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi |
| <b>kob/mL</b>            | :Koloni oluşturan birim/mililitre                           |

|                |                                                     |
|----------------|-----------------------------------------------------|
| <b>LCST</b>    | :En alt kritik çözelti sıcaklığı                    |
| <b>LDE</b>     | :Lazer doppler elektroforezi                        |
| <b>LOD</b>     | :Saptama sınırı                                     |
| <b>LOQ</b>     | :Miktar tayini sınırı                               |
| <b>MALLS</b>   | :Çok açılı lazer ışık saçılması                     |
| <b>MC</b>      | :Metil selüloz                                      |
| <b>MİK</b>     | :Minimim inhibitör konsantrasyonu                   |
| <b>mL</b>      | :Mililitre                                          |
| <b>mm</b>      | :milimetre                                          |
| <b>MS</b>      | :Kütle spektrometrisi                               |
| <b>nm</b>      | :Nanometre                                          |
| <b>NLC</b>     | :Nanoyapılı lipit taşıyıcı                          |
| <b>NMR</b>     | :Nükleer manyetik rezonans                          |
| <b>PCF</b>     | :Polişülfon kapiler elyaf                           |
| <b>PCL</b>     | :Polikaprolakton                                    |
| <b>PCR</b>     | :Polimeraz zincir reaksiyonu                        |
| <b>PCS</b>     | :Foton korelasyon spektroskopisi                    |
| <b>PdI</b>     | : Polidispersite İndeksi                            |
| <b>PEG</b>     | :Polietilen glikol                                  |
| <b>PNP</b>     | :Polimerik nanopartiküller                          |
| <b>PVA</b>     | :Polivinil alkol                                    |
| <b>RP-HPLC</b> | :Ters Fazlı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi |
| <b>rpm</b>     | :Dakikadaki devir sayısı                            |
| <b>SD</b>      | :Standart sapma                                     |
| <b>SDB</b>     | :Sabouraud Dekstroz Besiyeri                        |
| <b>SPM</b>     | :Taramalı kuvvet mikroskobu                         |
| <b>TEM</b>     | :Geçirimli elektron mikroskobu                      |
| <b>TGA</b>     | :Termogravimetrik Analiz                            |
| <b>UV-Vis</b>  | :Ultraviyole-görünür                                |
| <b>VOR</b>     | :Vorikonazol                                        |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fungal keratit, mantarların neden olduğu ve ciddi görme kaybına veya göz kaybına yol açabilen yıkıcı bir kornea enfeksiyonudur. Bu durum, genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygındır ve göz travması veya kontamine kontakt lensler gibi faktörlerle tetiklenir (Brown vd., 2021). Antifungal maddeler grubunda yer alan vorikonazol (VOR), flukonazolden türetilmiş geniş spektrumlu bir azol yapılı antifungal ajandır. Sudaki çözünürlüğü düşük olan lipofilik bir maddedir. Maya türleri üzerinde fungistatik bir etki gösterirken, bazı filamentöz organizmalarda fungisidal etki göstermektedir. Son yıllarda mevcut antifungal ajanlara karşı direnç ve intolerans vakalarının artmasıyla geniş spektrumlu antifungal ajanlarının önemini artırmıştır (Başaran vd., 2022; Johnson & Kauffman, 2003).

Hindistan'da ruhsatlandırılmış Vozole ticari isimli %1 VOR içeren intravitreal enjeksiyonluk preparatın göz damlası olarak kullanıldığı belirtilmektedir ancak Dünyada ruhsatlandırılmış VOR içeren herhangi bir göz damlası bulunmamaktadır. Türkiye'de ise herhangi bir ruhsatlandırılmış oküler preparatı bulunmamaktadır (Heralgi vd., 2016).

Bu tez çalışmasının amacı VOR içeren polimerik partiküler sistemlerin hazırlanması ile oküler biyoyararlanımını arttırarak fungal keratit tedavisinde kullanımını sağlayacak yeni ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmesi amaçlanmıştır.

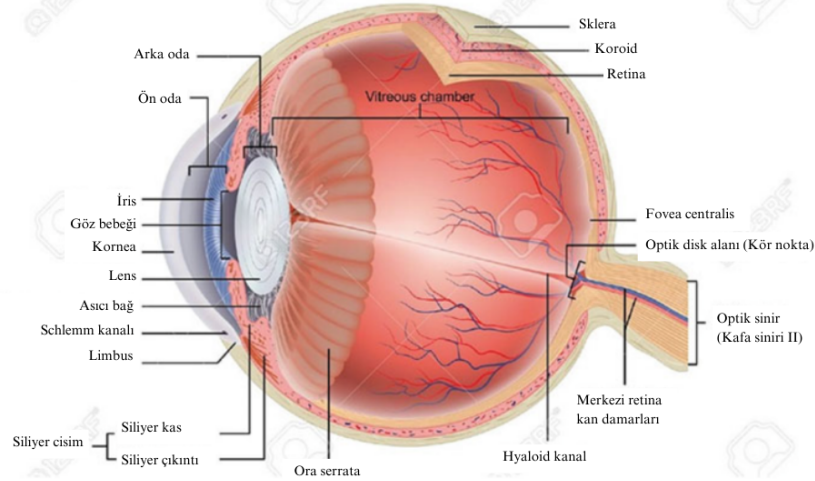
## 2. KAYNAK BİLGİSİ

### 2.1. Gözün Anatomik Yapısı ve Fizyolojisi

#### 2.1.1. Gözün anatomisi

Göz, temel olarak ışık sinyallerini nöral retinanın fotoreseptör hücrelerine iletmek ve oradan beyne iletimini sağlayan küçük bir organdır. Bu amaca ulaşmak için birçok karmaşık yapı ve biyolojik yol geliştirmiş ve evrimleşmiştir (Chader & Thassu, 2012). İnsan gözü, tüm vücuttaki reseptörlerin %70'ini içeren özel bir görme tabakasına sahiptir (retina) (Yıldırım, 2002). Ortalama çapı 24 mm ve ortalama ağırlığı 7,5 g'dır. (Antimisiaris & Natsaridis, 2022).

İnsan gözü, gözün görmesinden, beslenmesinden ve korunmasından sorumlu olan iç içe ve yapışık üç katmanla çevrilidir. İçten dışa doğru ilk katman retinadır ve görmeden sorumludur. İkinci katman uvea, iris, siliyer cisim ve koroidden oluşur. Retinanın beslenmesi, retinaya düşecek ışığın ayarlanması ve retina ile optik sinirlere gelecek olası bir basıncı absorbe eder. Üçüncü ve dış katman göz küresini çevreleyen bağ doku olan kornea ve skleradan oluşur ve göze koruma sağlar (Antimisiaris & Natsaridis, 2022).

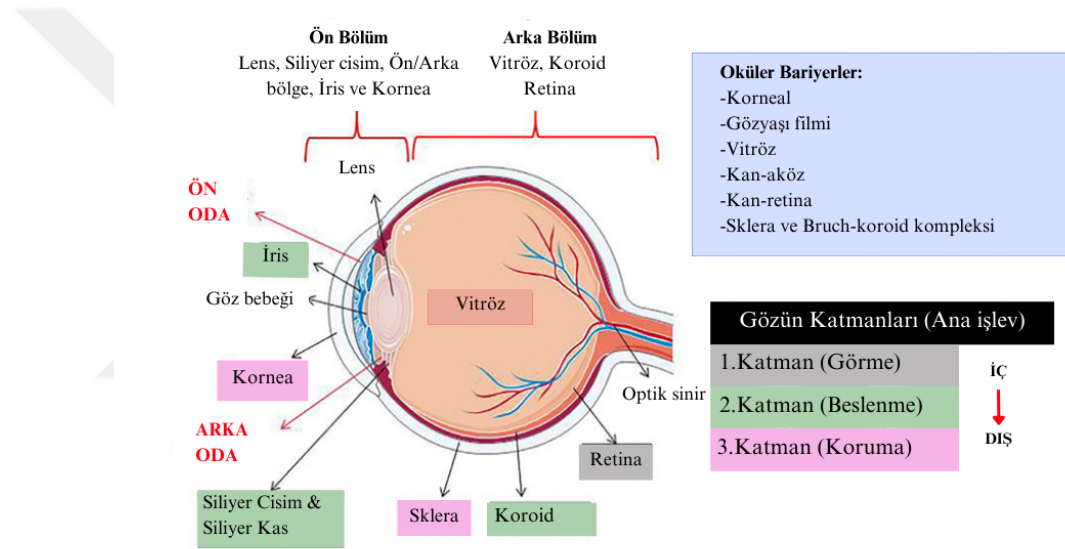


**Şekil 2.1.** Gözün anatomisi (E. Addo vd., 2016)

### 2.1.2. Gözün fizyolojisi

Göz temel olarak iki bölümden oluşur: Kornea, iris, gözbebeği, konjunktiva, siliyer cisim, ön kamera, aköz hümör, trabeküler ağ ve lensten oluşan ön bölge ve vitröz hümör, sklera, koroid, retina, makula ve optik sinirden oluşan arka bölge (R. T. Addo, 2016).

Çoğunlukla tüm göz hastalıkları ön bölge ve arka bölge hastalıkları olarak gruplandırılır. Kornea enfeksiyonları, kuru göz sendromu ve pterjium ön bölge hastalıklarına örnek olarak verilebilir ve göz hastalıklarının büyük çoğunluğu ön bölgede meydana gelir. Glokom, diyabetik retinopati, yaşa bağlı makula dejenerasyonu vb. hastalıklar arka bölge hastalıkları olarak geçmektedir (Rai & Alves dos Santos, 2017).



Şekil 2.2. Gözün fizyolojisi (Antimisiaris & Natsaridis, 2022)

#### 2.1.2.1. Gözün ön bölgesi

##### 2.1.2.1.1. Kornea

Dış oküler yüzeyin %15'ini oluşturan kornea gözün en dıştaki bölümüdür. Ortalama kalınlığı sadece 0,56 mm'dir ancak gözün kırma gücünün %80'e kadarını sağlar. Beş katmanlı hücre ve proteinden oluşan kornea, sinir ağı bakımından zengin olmasına rağmen damarsız saydam bir yapıdır. Beslenmesini gözyaşı ve aköz hümörden sağlar (Chader & Thassu, 2012).

Kornea ikisi laminer hücre tabakası olan beş ayrı tabakadan oluşan çizgili bir yapıya sahiptir. Bu da kornea tabakasının lipit-su-lipit tabaka haline katmanlı bir durumda olmasını sağlar (Chader & Thassu, 2012). Kornea tabakaları önden arkaya doğru beş

tabakadan oluşur: korneal epitelyum, bowman membranı, stroma (*Substantia propria*), descemet membran ve korneal endotelyum (*Epithelium posterius*) (Chader & Thassu, 2012; Malkoç, 2006).

Kornea epitelyumu korneanın en dış katmanıdır ve konjonktivanın devamı şeklinde saydam haldedir. 8-10 tabakalı periferik kenarı hariç 3-6 hücre tabakalı çok katlı yassı keratinsiz epitel yapıdadır. Aşınma ve yırtılmalara karşı sürekli rejenere olur. Epitel doku sıvı kaybına ve toz, bakteri gibi yabancı maddelerin penetrasyonuna karşı bariyer görevi görür. Küçük sinir uçlarının bulunması nedeniyle dokunma ve ağrıya karşı hassastır (R. T. Addo, 2016; Malkoç, 2006).

Bowman membranı gerçek bir membran olmayıp alttaki bağ dokusunun dış tabakasıdır. Tip I kolajen liflerden oluşmuş ve elastik liflerden yoksundur. Kolajen liflerin kompakt dizilişi sayesinde travmaya karşı dirençlidir ancak kornea epiteli gibi rejenere olamaz. Korneanın şeklinin korunmasına yardımcı olur (R. T. Addo, 2016; Malkoç, 2006).

Stroma kornea kalınlığının %90'ını oluşturan bir yapıdır. Stromanın %78'ini su oluşturur, geri kalanı ise kolajen ve mukopolisakkaritten meydana gelmektedir. Tip I ve Tip V kolajen fibriller düz demetler halinde birbirine dik açıyla düzenlenirler. Bu sayede travma ve deformasyona karşı dirençli bir yapı oluştururlar. Korneanın hidrasyonu, şeffaflığı ve yapısal özelliklerinin düzenlenmesine yardımcı olur (R. T. Addo, 2016; Chader & Thassu, 2012; Malkoç, 2006).

Descemet membranı ince ama güçlü bir doku tabakasıdır. Enfeksiyon ve yaralanmalara karşı koruyucu bir bariyer görevi görürken su ve besin geçişini sağlar. Altında bulunan endotel hücrelerinin oluşturduğu Tip VIII kolajen liflerinden oluşur ve yaralanmalardan sonra yenilenebilir. Sürekli üretildiği için yaşam boyunca kalınlaşır ve enzimatik bozunma ve toksinlere karşı dirençli hale gelir.

Endotelyum korneanın en iç katmanıdır ve mitokondri açısından zengin tek tabaka yassı epitel dokudan oluşur. Stromanın sağlığını ve şeffaflığını korumak için iki temel işlevi vardır. Stromaya sızan fazla sıvıyı dışa pompalar ve aköz hümörden besin ve moleküllerin çıkışını sağlar (R. T. Addo, 2016; Chader & Thassu, 2012; Malkoç, 2006).

#### **2.1.2.1.2. Konjonktiva**

Konjonktiva göz kapağının içinde yer alan ve sklerayı kaplayan bir zarıdır. Keratinize olmayan çok katmanlı epitel hücreler ve goblet hücrelerinden meydana gelir. Gözün yağlanması yardımcı olan ve mikroorganizmaların girişini önleyen mukus

üretmek gözün korunmasına destek olur. Korneanın kenarlarına yapışık olması ve *cul-de-sac* 'a doğru gevşeyen kıvrımları sayesinde gözün kolayca hareket etmesini sağlar (R. T. Addo, 2016; Chader & Thassu, 2012).

Konjonktiva üç bölümden oluşur: Palpebral, bulbar ve forniks. Palpebral göz kapağının arka yüzeyini kaplayan bir tabakadır. Bulbar konjonktivanın en ince kısmıdır, altındaki sklera ve damar yapısı net bir şekilde görülebilir. Forniks göz kapağının arka yüzeyini kaplayan konjonktiva ile göz küresinin ön yüzeyini kaplayan konjonktiva arasında oluşan *cul-de-sac*'ı kaplayan kıvrımdır (R. T. Addo, 2016; Chader & Thassu, 2012; Malkoç, 2006).

Konjonktivada bulunan goblet hücreleri müsin salgılayan tek hücreli bezlerdir. Müsin sayesinde korneanın kayganlığı, korunması ve beslenmesi sağlanır. Ayrıca gözyaşının yüzey gerilimini azaltarak kararlılığını sağlar. Konjonktivanın damarlı yapısı yüzünden herhangi bir yaralanma ya da hastalık sırasında göz kırmızı gözükür (R. T. Addo, 2016).

#### **2.1.2.1.3. Siliyer cisim**

Siliyer cisim, kristal lensin önünde yer alan geniş kılcal damar yapısına sahip siliyer epitel doku ve siliyer kaslardan oluşan kalınlaşmış bir doku halkasıdır. Siliyer epitel doku aköz hümörün üretimini sağlar. Siliyer kaslar yardımıyla lens yuvarlaklaşabilir ya da düzleşebilir, bu sayede yakındaki veya uzaktaki cisimler için odaklanabilir (R. T. Addo, 2016, 2016; Malkoç, 2006).

#### **2.1.2.1.4. Aköz hümör**

Aköz hümör gözün ön ve arka odacıklarını dolduran ve bu yapılara yardımcı olan berrak bir sıvıdır. Aköz hümörün ana bileşenleri, organik ve inorganik iyonlar, karbonhidratlar, glutatyon, üre, amino asitler, proteinler, oksijen, karbondioksit ve sudur. Gözün damarsız yapıları için kan benzeri bir görevi vardır. Boşaltım ürünlerini metabolizmadan uzaklaştırır, nörotransmitterleri taşır, oküler yapıyı stabilize eder ve bu oküler dokuların homeostazının düzenlenmesine katkıda bulunur. Patolojik durumlarda inflamatuvar hücrelerin ve mediatörlerin gözde dolaşmasına ve ilaçların farklı oküler yapılara dağılmasına da izin verir (R. T. Addo, 2016).

#### **2.1.2.1.5. Lakrimal bez**

Her iki göze bitişik olarak bulunan lakrimal bezler; hormonal, sempatik veya parasempatik sistemler tarafından uyarılarak gözyaşının sulu kısmını ve çoğu bileşeninin üretimini sağlar. Epitel hücre sağlığı için gerekli olan büyüme faktörü ve A vitaminini

sağlar. Yabancı cisimlerin, hücrelerin, toksik maddelerin ve patojenlerin gözden uzaklaştırılması, besin maddelerinin korneaya taşınması, hücresel materyalin oküler yüzey üzerinde hareketinin sağlanması ve gözyaşı filmi stabilizasyonu gibi çeşitli görevleri vardır (R. T. Addo, 2016; Chader & Thassu, 2012).

#### **2.1.2.2. Gözün arka bölgesi**

##### **2.1.2.2.1. Vitröz hümör**

Lens ile retina arasındaki boşluğu dolduran şeffaf ve renksiz jelatinimsi bir yapıdır. Göz hacminin %80'ini oluşturur. Gözün şişkinliğinin, boyutunun ve şeklinin korunmasını sağlar. Vitröz hümörün %98'ini su oluştururken hyaluronik asit, kollajen fibriller, polisakkarit parçaları ve birkaç hücre de içerir. Işığın net geçişini sağlamak için kan damarları yoktur. Ayrıca fagositik hücreler yoluyla, retinaya ışık iletimini engelleyebilecek kan ve diğer partikülleri de ortadan kaldırır (R. T. Addo, 2016; Chader & Thassu, 2012).

##### **2.1.2.2.2. Koroid**

Retina ile sklera arasında yer alan ve skleranın arka kısmının çoğunu kaplayan, geniş lenfatik kanallara sahip, bağ dokuları, fibroblastlar, melanositler ve yerleşik immünokompetan hücreleri içeren ince ve vaskülarize bir tabakadır. Koroidin üzerinde bulunan pigment epiteli de dahil olmak üzere nöral retinanın dış (fotoreseptör) hücreleri için ana oksijen ve besin kaynağıdır (Chader & Thassu, 2012).

Koroid ışık emilimine yardımcı olur, böylece retinaya giren ışık miktarını azaltır, ısı dağılımı yoluyla termoregülasyon ve kan akışının vazomotor kontrolü yoluyla göz içi basıncının modülasyonunu sağlar. Koroid ayrıca aköz hümörün ön kamaradan uveoskleral yolak yoluyla boşaltılmasında da önemli bir rol oynar (R. T. Addo, 2016).

##### **2.1.2.2.3. Sklera**

Sklera gözün yüzey alanının %80'ini oluşturur. Gözün ön tarafında kornea ile devam ederken arka tarafında optik sinirin fibröz kılıfı sayesinde beyin zarına bağlanır. Kollajen ve elastik fibrillerden oluşan sert ve pürüzsüz bir bağ dokusudur. Fibrillerin düzensiz yerleşiminden dolayı opak bir yapıdır. Avasküler bir yapı olan skleranın ana görevi gözün yuvarlak şeklini korumak, dış kuvvetlere ve yaralanmalara karşı direnmek ve yabancı maddelerin göze girişini engellemektir (Chader & Thassu, 2012).

## 2.2. Oküler İlaç Absorpsiyonu

Göz, sistemik dolaşımı oküler dokulardan ayrı tutması amaçlanan birçok fizyolojik engeli bulunan ve kan dolaşımı yavaş olan bir organdır. Ayrıca göz, beyin ve omurilik dahil olmak üzere merkezi sinir sisteminin dolaşıma kapalı olduğuna inanılır; bu nedenle de göz immün ayrıcalıklı olarak kabul edilir (Chader & Thassu, 2012, 2012; Tsai vd., 2018).

Göz izole ve korunan bir organ olduğu için gözün içindeki dokulara dışarıdan kolayca ulaşılamaz. Göze erişim, gözü dış etkilere koruyan çok sayıdaki koruma mekanizması tarafından ciddi şekilde kısıtlanmıştır (Dey & Mitra, 2005). Ayrıca ilacın fizikokimyasal özellikleri de ilacın oküler bariyerler boyunca geçirgenliğini sınırlar (Mitra, 2009).

Oküler formülasyonların topikal kullanımı, oküler tedavide ilk tercih edilen uygulama yöntemidir (Başaran, 2017).

Hem hasta uyuncunun yüksek hem de ekonomik olarak avantajlı olmasından dolayı topikal kullanılan göz ilaçlarının ana uygulama şekli göz damlalarıdır. İlaçların gözde çözünmesi genellikle kornea ve konjonktiva yolu olmak üzere iki emilim yolu ile olur. Kornea yolu kornea, aköz hümör ve göz içi dokuyu içerir. Konjonktiva yolu ise konjonktiva, sklera, koroid, retina ve vitröz hümörü içerir (Zipagan & Faller, 2022).

Yeni geliştirilen topikal oküler ilaç taşıyıcı sistemlerin temel hedefi kornea geçirgenliğini ve oküler yüzeydeki temas süresini arttırmaktır. Bu amaçla çeşitli merhem, süspansiyon, makro ve mikro taşıyıcılar ve lipozom formülasyonların üzerinde son yirmi yıldır çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Rupenthal & Alany, 2008).

Gözün arka bölgesine ilaç iletimi için intraoküler enjeksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Steroid ve antibiyotikler uzun süredir klinik olarak kullanılmaktadır. Ancak vitröz hümöre enjekte edilen ilacı da gözden uzaklaştırılmasını sağlayan süreçler nedeniyle ilaç konsantrasyonunu terapötik aralıkta tutmak için büyük dozların sık aralıklarla tekrarlanması gerekmektedir. Çoklu enjeksiyonlara bağlı olarak endoftalmit, glokom, vitreus kanaması, retina yırtılması ve katarakt oluşumu gibi ciddi komplikasyonlar meydana gelebilir (Bossy vd., 2008; Hariharan vd., 2009).

Sistemik olarak uygulanan ilaçlar kan-retina bariyeri yüzünden göze yetersiz miktarda ulaşır ve yüksek dozda uygulanması gerekmektedir ancak bu da potansiyel sistemik yan etkilere neden olabilmektedir. Topikal ve oral uygulama yöntemiyle etkili

bir tedavi için uzun süreli ve dikkatli hasta uyuncu olması gerekmektedir (Bossy vd., 2008; Furrer vd., 2008).

Göz hastalıkları görme sorunlarına neden olabileceği gibi hastanın kişisel ve ekonomik sıkıntılarına neden olmaktadır. Göz hastalıkları sadece görmeyi etkilemekle kalmaz, kişinin yaşam kalitesini de önemli ölçüde etkiler (Zipagan & Faller, 2022).

### **2.2.1. Oküler absorpsiyona etki eden faktörler**

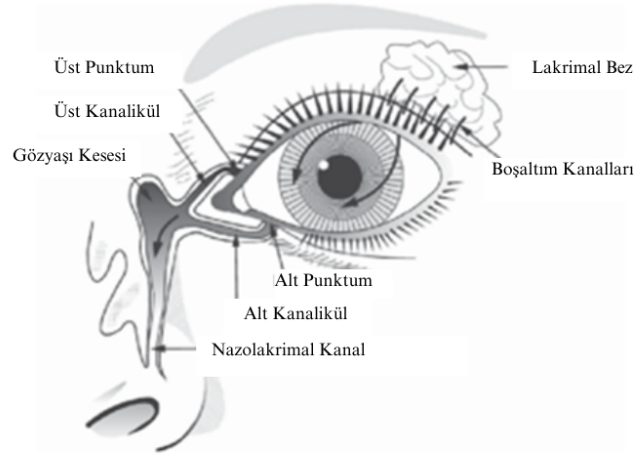
#### **2.2.1.1. Gözyaşı devri**

Gözyaşı lakrimal bezde üretilen bir sıvıdır. %98'ini su oluştururken çözünmüş tuz ve makromoleküller de bulunur. Gözün ön yüzeyini kaplayarak gözün ıslak kalmasını ve yıkanmasını sağlar. Göz yüzeyini kayganlaştırarak göz kırpmayı kolaylaştırır. Göz yüzeyine sağladığı pürüzsüzlük sayesinde ışığın göze girerken iyi ve düzenli kırılmasını sağlar. Oküler yüzey hücrelerine oksijen ve besin ulaşmasını sağlar. Göz yüzeyinin homeostazını ve yenilenmesini sağlar (Chader & Thassu, 2012).

Bir ilaç topikal olarak göze uygulandığında gözün ilk ve en dıştaki bariyeri oküler yüzeydeki gözyaşıdır. Uygulanan ilacın yaklaşık %5'i korneaya nüfuz ederek intraoküler dokulara ulaşmasının ve düşük biyoyararlanımı olmasının en büyük nedeni gözyaşı drenaj mekanizmasıdır (Rupenthal & Alany, 2008; Tsai vd., 2018). Dikkat edilmesi gereken en önemli konu ilacın preorneal kaybının korneadan geçen miktarına oranıdır (Plazonnet, 2003).

Gözyaşı devir hızı yaklaşık 1 µL/dk'dır ve *cul-de-sac* 7-9 µL gözyaşı tutabilir. Gözyaşının drenaj hızı oküler absorpsiyon hızından daha hızlı olduğu için topikal uygulanan ilacın çoğu ilk dakika içerisinde preorneal bölgeden uzaklaştırılarak nazolakrimal kanala akar. Nazolakrimal kanaldan akan gözyaşı alt burun yoluna ulaşır. İlacın sistemik dolaşıma girmesi ve buna bağlı sistemik yan etkilerinin görülebilmesi bu bölgenin fazla vasküler bir yapıda olmasından kaynaklanmaktadır (Rupenthal & Alany, 2008).

Gözyaşında bulunan protein ve peptit yapılar ilaç moleküllerine bağlanabilir, ilacın salınmasını veya yayılmasını engelleyebilir (Tekko & Singh, 2018).



**Şekil 2.3.** Nazolakrimal drenaj sistemi (Rupenthal & Alany, 2008)

#### **2.2.1.2. Kornea**

Kornea epiteli hidrofilik yapıların geçirgenliğini sınırlayan lipofilik bir dokudur. Lipofilik ilaçlar transselüler yol ile hidrofilik ilaçlar ise paraselüler yolla devam ederler. Paraselüler yolla ancak molekül ağırlığı 5000 Da'dan küçük moleküller iletebilir. Negatif yüklü moleküller pozitif yüklü veya nötr moleküllere kıyasla daha yavaş nüfuz eder. Ayrıca pozitif yüklü bir ilacın proteinlerin negatif yüklü karboksilik asit kalıntıları ile olası bir etkileşimi yüzünden ilacın emilimi azalabilmektedir.

Stroma gözenekli bir yapıdadır ve sadece mikroorganizmalara karşı değil ilaç emilimi için de bir bariyer görevi görür. Molekül ağırlığı 500 Da'dan küçük hidrofilik moleküllerin geçişine izin verirken lipofilik moleküllere karşı difüzyon bariyeri olarak çalışır (Rupenthal & Alany, 2008; Tsai vd., 2018).

Kornea hem lipofilik hem de hidrofilik özellik gösterdiğinden dolayı hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçlar için önemli bir engeldir (Rupenthal & Alany, 2008). Topikal ilaçların konjonktiva ve skleradan absorpsiyonunun kornea penetrasyonundan daha fazla olduğu kabul edilmektedir (Antimisiaris & Natsaridis, 2022; Chader & Thassu, 2012).

#### **2.2.1.3. Konjonktiva**

Bulbar konjonktiva topikal uygulanan ilacın korneadan sonra karşılaştığı ilk bariyerdir. Konjonktiva epiteli kornea epiteli kadar sıkı bir dokuya sahip değildir, molekül ağırlığı 20.000 Da'dan büyük moleküllerin geçişini engeller. Konjonktivanın

yüzey alanı korneadan daha geniş olması ve vasküler bir yapı olmasından dolayı özellikle büyük moleküllerin girişini sağladığı için ilaç absorpsiyonu için önemli bir katmandır (Nettey vd., 2016; Rupenthal & Alany, 2008).

Konjonktivada salgılanan mukus sadece partikülleri değil ilacın da göze girişini engeller ve lakrimal kanal yoluyla uzaklaştırır. Lakrimal kanalla uzaklaştırılan ilaç istenmeyen sistemsel etkilere de yol açabilir (Tekko & Singh, 2018; Tsai vd., 2018).

#### **2.2.1.4. Enzimatik parçalama**

Ksenobiyotiklerin girişine karşı koruma sağlayabilmek için oküler dokulara zarar verebilecek yabancı maddeleri parçalayabilen metabolize edici enzim sistemleri geliştirilmiştir. Hem oküler yüzeyde hem de gözün arkasında benzer enzim sistemleri ve enzim izozimleri olmasına rağmen çoğunlukla dokunun işlevine bağlı karakterize enzim sistemleri ve izozimleri yer almaktadır. Siliyer cisim ve retina pigment epiteli sistemik dolaşımla taşınan ilacın detoksifikasyonundan sorumlu oldukları için diğer dokulara kıyasla enzim sistemlerine daha fazla ihtiyaç duyarlar (Almazan vd., 2012; Attar & Shen, 2008).

Metabolik enzimlerle ilgili genellikle metabolik yolların tanımlanması hakkında çalışmalar yapılmıştır. Enzimlerin oküler ilaç dağılımı üzerindeki etkisini hakkında çok az inceleme vardır (Almazan vd., 2012).

Sitokrom-P450 enzimleri (CYP) geniş substrat özgüllüğüne sahiptir. Sadece ksenobiyotik metabolizmasında değil steroid, yağ asitler, vitaminler gibi endojen substratların da sentez ve yıkımında görev alır. Fare ve sığırlarla yapılan bir çalışmada retina pigment epitelinde yüksek seviyede CYP enzimleri bulunmuştur (Almazan vd., 2012). Tavşanlarda yapılan bir çalışmada lakrimal kanal ve konjonktivada çeşitli CYP izozimleri tespit edilmiştir. Bunlardan en önemlisi ticari ilaçların %50'sinden fazlasını metabolize edebilen CYP3A izozimidir (Attar & Shen, 2008).

Primer konjenital glokom ile bağlantılı ve retinoik asit biyosentezinde rol alan CYP1B1 enziminin gen ekspresyonları insan gözünde siliyer cisim ile iriste ve daha az miktarda da kornea, retina ve retina pigment epitelinde bulunmuştur (Attar & Shen, 2008).

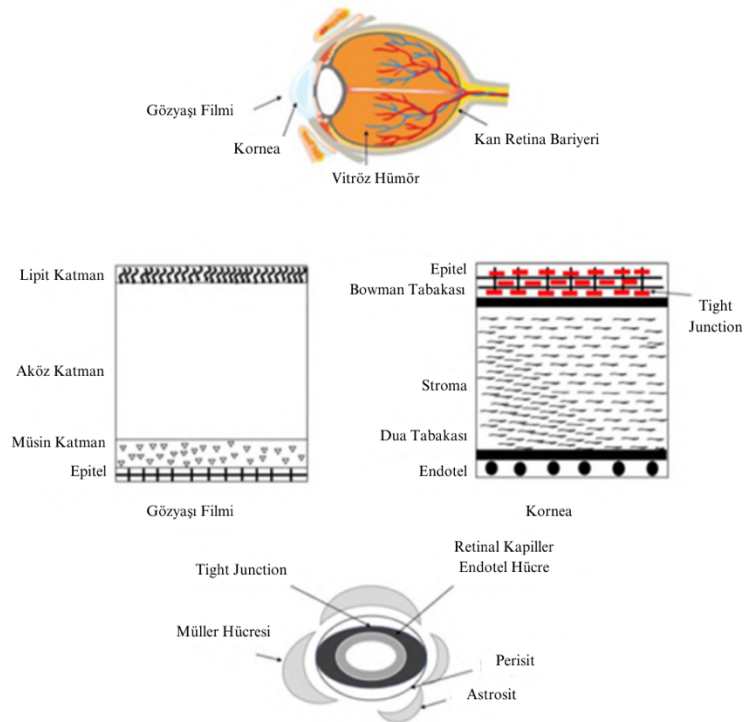
Sığırlarla yapılan başka bir çalışmada retina pigment epitelinde çeşitli lizozomal enzimler bulunmuştur. Makromoleküler ilaçlar pasif difüzyonla lizozomal membranları geçebilirler ancak retina pigment epitelinden lizozomal enzimler tarafından parçalanabilirler (Almazan vd., 2012).

### 2.2.1.5. Kan-göz bariyeri

Kan-göz bariyeri, kan-aköz bariyeri ve kan-retina bariyeri olarak ikiye bölünebilir. Kan-aköz bariyer gözün ön bölgesinde yer alır ve iristeki kan damarlarının endotelial hücreleri ile siliyer epitelin pigmentsiz hücre tabakası tarafından oluşturulur. Göz içi sıvı ile kan arasındaki madde geçişini kontrol ederek oküler dokuların saydamlığını etkileyebilecek maddelerin geçişini engeller. Lipofilik ve küçük ilaç moleküllerinin ulveal kan dolaşımına girmesine izin verir (Rupenthal & Alany, 2008). Göz içi basınç da basınca bağlı difüzyona neden olabileceği için geçirgenlik için önemlidir (Chader & Thassu, 2012).

Yaralanma, enfeksiyon veya üveit gibi oküler hastalıklara bağlı enflamasyon kan-aköz bariyerin bütünlüğünü bozabilir ve ilaç aköz hümöre girerek gözün ön bölge dokularına ulaşabilir (Furrer vd., 2008).

Kan-retina bariyeri gözün arka bölgesinde bulunur. Toksik moleküllerin, plazma bileşenlerinin ve suyun retinaya girişini önler. Ayrıca, sistemik olarak uygulanan ilaçların vitröze geçişinde bir bariyer oluşturur ve ilacın plazma konsantrasyonunun yalnızca %1-2'sinin göz içi dokularda oluşmasına neden olur (Rupenthal & Alany, 2008).



Şekil 2.4. Kan-göz bariyeri (Zipagan & Faller, 2022)

### 2.3. Kornea Enfeksiyonları

Kornea iltihaplanmasına genel olarak keratit denir. Korneada hafif yüzeysel noktasal erozyonlara neden olabileceği gibi daha ciddi ülserasyon, neovaskülarizasyon, incelme veya yara izine neden olabilir (Ong & Corbett, 2015). Keratit görme kaybına genellikle sebep olmazken göz sağlığı hizmetine başvuru nedenlerinin başında yer almaktadır (World Health Organization, 2019).

Mikrobiyal keratit bakteri, mantar, virüs ve nadiren parazit kaynaklıdır. Mikrobiyal keratit vakalarının çoğunu bakteriyel keratit oluşturur. Oküler travma, cerrahi müdahale, immunsupresif tedavi ve lens kullanımı başlıca nedenleridir. Gram negatif bakterilerden *Pseudomonas* ve gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus* ve *Streptococcus* türleri görülmektedir (Hazlett vd., 2016; Ong & Corbett, 2015).

*Acanthamoeba keratiti* *Acanthamoeba* cinsi amipin sebep olduğu bir hastalıktır. Genellikle lens kullanan kişilerde görülürken *Acanthamoeba* ile kontamine olmuş suyla da bulaşabilir (Ong & Corbett, 2015; Rapuano, 2018).

Viral keratitlere genellikle *Herpes Simplex* ve *Herpes Zoster* virüsü neden olmaktadır ve hayli bulaşıcıdır (Rai & Alves dos Santos, 2017). Viral keratitlerin büyük bir çoğunluğu birincil oküler enfeksiyon olarak ortaya çıkmazlar. Vücutta inaktif halde bulunan virüs aktive olduktan sonra trigeminal gangliyonun duyu nöronları aracılığıyla kornea epiteline ulaşır. Virüs kaynaklı epitel lezyonlar kendi kendini sınırlayabilirken topikal ya da oral ilaç tedavisi ile daha hızlı iyileşme sağlanır (Hazlett vd., 2016; Rapuano, 2018; Stollery vd., 2005).

#### 2.3.1. Fungal keratit

Fungal keratit mantarların korneada tutunmaları sonucu meydana gelir. Hastalık göz ağrısı, bulanık görme, gözde kızarıklık, fazla yaşarma ve fotofobi gibi spesifik olmayan semptomlara neden olmaktadır. İlerleyen seyrinde ülserasyon, opasifikasyona ve nadiren de endoftalmiye neden olabilir. Hastalığın sonuçları görme kaybından körlüğe ve hatta göz küresinin kaybına kadar değişmektedir (Brown vd., 2021).

Genellikle az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde görülürken günümüzde gelişmiş ülkelerde görülme sıklığı da artmaktadır. Keratite neden olan başlıca etmenler travma, kornea yüzey hastalıkları, topikal steroid kullanımı, kontakt lens kullanımı ve çevresel etmenlerdir. Tropikal ve subtropikal iklim ülkelerinde daha sık görülmektedir. Benzer yağış ve sıcaklık aralığında olan ülkelerde benzer oranda görülmemektedir, kentleşmenin de önemi büyüktür. Tarımsal toplumlarda travmaya bağlı olarak artarken

sanayi toplumlarında kontakt lens kullanımına bağlı artış gözlenebilir (Thomas & Kaliamurthy, 2013).

Fungal keratit vakaları hakkında yapılan geniş çaplı bir çalışmada, düşük ve orta gelirli ülkelerde zamanla arttığı tespit edilmiştir. Artış nedeni net bir şekilde belirlenemese de araştırmacılar, kornea hasarında önleyici tedavi olarak birinci sağlık basamağında ampirik tedavi olarak ve reçetesiz şekilde topikal antibiyotik kullanımına bağlı olabileceğini belirtmiştir. Ayrıca kontakt lens kullanımının artması, topikal steroid kullanımı ve iklim değışikliği de artışın nedenleri olarak görölmektedir (Hoffman vd., 2021).

Kornea bütünlüğünün bozulduğu kornea yüzey hastalıkları, cerrahi işlemler ve hatta geleneksel tedavi yöntemleri de literatürde geçen risk faktörleridir (Hoffman vd., 2021).

#### **2.3.1.1. Etiyoloji**

Fungal keratitle ilişkilendirilen 100'den fazla mantar çeşidi vardır (Brown vd., 2021; Holdeman, 2011; Richardson & Warnock, 2003). En sık görülen mantar cinsleri maya mantarı *Candida* ve çok hücreli filamentöz *Fusarium* ve *Aspergillus*'dur (Thomas, 2003). Keratite neden olan mantar cinsi bulunduğu coğrafi konum, mevsim, sıcaklık ve maruziyet şekline göre değışiklik göstermektedir (Hoffman vd., 2021).

#### **2.3.1.2. Predispozan faktörler**

##### **2.3.1.2.1. Travma**

Fungal keratit hakkında yapılmış çalışmaların çoğunda korneanın mantar sporlarıyla kontamine olmuş bitkisel ve organik bir madde ile yara alması sonucu meydana geldiği bildirilmiştir. Travmaya bağlı hastaların çoğunun dışarıda çalışan, erkek, genç ve çocuklar olduğu görölmüştür (Ong & Corbett, 2015; Rapuano, 2018; Srinivasan, 2004; Thomas, 2003).

Hindistan ve Çin'de hasat mevsiminde hava kirliliği ve bitkisel kontaminasyonun artmasına bağlı olarak fungal keratit vakaları da artmaktadır (Hazlett vd., 2016).

##### **2.3.1.2.2. Kontakt lens kullanımı**

Kontakt lens kullanımına bağlı keratit riski 1980'den beri artmaktadır. 2005-2006 yıllarında *Fusarium* kaynaklı keratit salgını çok amaçlı kontakt lens solüsyonu ile ilişkilendirilmiştir. Hastalardan kendi lens kutularında alınan kullanılmamış lens solüsyonunun analizlerinde kontaminasyon olmadığı ve yeni lens solüsyonlarının

*Fusarium*'a karşı inhibitör özellik gösterdiği bağımsız testlerde ortaya çıkmıştır. Firmanın 15 Mayıs 2006'da ürünü piyasadan çekmesinden sonra *Fusarium* keratit insidansı düşmüştür (Ahearn vd., 2008).

Firmalar kontakt lens solüsyonlarının FDA ve diğer otoriteler tarafından onay ve geçerlilik alması için çeşitli analizler ve *in vitro* deneyler yaptırmalıdır. Bazı bağımsız araştırma grupları bazı onay almış solüsyonlarda yaptıkları çalışmalarda mantar etkinlikleri tespit etmiştir (Ahearn vd., 2008; Santodomingo-Rubido vd., 2006).

Kontakt lens solüsyonları *in vitro* testleri geçebilse bile tüketicinin lens saklama ve yıkama alışkanlıklarına bağlı olarak kontaminasyon meydana gelebilmektedir. Hastaların lens kutusu ve lens temizliğini titizlikle yapması ve tavsiye edilen sürelerde değiştirmesi gerekmektedir (Ahearn vd., 2008; Cheung vd., 2020).

Kontakt lens kullanımına bağlı gelişen keratit vakalarının bir kısmı iritasyon olarak rapor edildiğinden dolayı güncel istatistik verisi elde edilememektedir (Ahearn vd., 2008).

#### **2.3.1.2.3. Topikal steroid kullanımı**

Göz hastalıkları uzmanlarının çoğu topikal steroid kullanımını fungal keratit gelişimini arttıran bir neden olarak bildirmektedir. Ancak fungal keratit vakalarında genellikle ilk akla gelen tanı fungal keratit olmayıp alternatif tanılarda topikal kortikosteroid kullanılmaktadır. Fungal keratit tanısı netleştikten sonra eğer hasta kornea naklinden sonra doku reddini önleme amacıyla kullanmıyorsa steroid damla hemen kesilmelidir (Li & Denning, 2023; Ong & Corbett, 2015).

Steroid kullanımı ile mantar enfeksiyonun gelişimi arasındaki ilişki birçok bilimsel çalışma tarafından destekleniyor olsa da tropikal iklimli ülkelerde yapılmış birkaç büyük çalışma bu bilgiyi desteklememektedir (Srinivasan, 2004).

#### **2.3.1.2.4. İmmünolojik yetersizlikler ve diyabet**

İnsanların çoğunun mantarlara maruz kaldığı ancak çok daha az bireyde hastalığa sebep olduğu tespit edilmiştir. Bunda da kişinin hücresel bağışıklık gücü önem arz etmektedir.

Diyabetin tek başına fungal keratit için risk faktörü olduğu pek çok çalışmada söylenmiştir. Yüksek kan şekerinin enzimler de dahil olmak üzere oküler yüzey özelliklerini değiştirebileceğinden mantar tutulumunu kolaylaştırabileceği belirtilmiştir. Ayrıca diyabetle ilişkili bağışıklık yanıtının mantar enfeksiyonuna duyarlılığı arttırabileceği düşünülmektedir (Hoffman vd., 2021).

Dünya üzerinde HIV/AIDS epidemisini engellemeye yönelik tüm çalışmalara rağmen yaklaşık 50 ülke yeni HIV enfeksiyonlarında artış olduğunu bildirmiştir. Fungal keratit ile HIV arasında ilişki kuran ve HIV pozitif kişilerin fungal keratite yakalanma ihtimalinin HIV negatif kişilere göre daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar vardır. HIV pozitif hastaların travma öyküsü diğer hastalara oranla oldukça düşüktür (Mselle, 1999; Radhakrishnan vd., 2021).

#### **2.3.1.3. Tanı**

Filamentli mantarların çoğu yavaş büyüdüğü için gözle görülene kadar günlerce veya haftalarca hastalık tespit edilemez ve buna bağlı olarak tedavi süreci uzar. Fungal keratitten şüphelenildiğinde mikrobiyal inceleme yapılması tavsiye edilmektedir (Atta vd., 2022).

Direkt mikroskopla incelenilebileceği gibi kültür analizi de yapılmaktadır. Mikroskop incelemesinde gözlenen mantar unsurları kültür ortamının seçimine fikir vermektedir. Mikroskopta negatif sonuç veren vakalarda yine de fungal enfeksiyon riskinin elenmemesi gerektiği belirtilmiştir. Mikroskobik çalışmalar kültür deneylerinden daha az seçicidir (Kalkanci & Ozdek, 2011).

Kornea biyopsi kültürü özellikle stroma epitelinde üreme varsa daha iyi sonuç vermektedir. Biyopsi yapılamayan durumlarda selüloz asetat kâğıdı ile korneadan örnek alınarak incelenebilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) DNA amplifikasyonunda yeni kullanılan bir tekniktir. Kültür analizleri ile kıyaslandığında PCR 24 saat içerisinde sonuç verirken kültür çalışmalarında en az iki hafta kuluçka süresi ve negatif sonuç için dört haftalık süre gereklidir. Buna rağmen kültür analizleri %100 kesinlik sağlarken PCR çalışmaları %88 kesinlik sağlamaktadır (Kalkanci & Ozdek, 2011; Thomas, 2003).

Fungal keratite neden olan mantar cins ve hatta tür özelinde net bir şekilde tanımlanması ve duyarlılık testlerinin yapılması en hızlı ve uygun teravinin yapılabilmesi için gereklidir (Kalkanci & Ozdek, 2011).

#### **2.4. Antifungal Maddeler**

Mantarlar ökaryotik canlılar olduğu için antibakteriyel ilaçlar onlara karşı etkisizdir. Bu nedenle mantarlar için geliştirilmiş özel antifungal ilaçlara ihtiyacımız vardır. Antifungal ilaçların birçoğu oldukça toksiktir, bu nedenle yüzeysel lezyonlar için topikal tedavi önerilmektedir. Ancak yaşamı tehdit eden, inatçı derin mikozlar için sistemik tedavi uygulanmaktadır (Davey vd., 2015).

Fungal keratit tedavisinin iki önemli sorunu vardır. Öncelikle tanı ve antifungal duyarlılık testleri için gerekli laboratuvar koşulları dünya üzerinde özellikle yaygın görülen az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaygın şekilde bulunmamaktadır. Ayrıca antifungal ilaçların zayıf oküler penetrasyonu düşük biyoyararlanıma neden olmaktadır. Bu nedenle yeni antifungal moleküller ve yeni ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde çalışılmaktadır (Sahay vd., 2019).

Antifungal ilaçların geliştirilmesi antibakteriyel ilaçların geliştirilmesiyle kıyaslandığında daha çok zordur. Bunun temel nedeni mantarların ökaryot olması ve tedavi için hedeflenen pek çok yapının insanlarda da bulunmasıdır (Campoy & Adrio, 2017).

Antifungal ilaçlar etki mekanizmalarına göre beş farklı sınıfa ayrılmaktadır. Her sınıf hücrenin farklı bölümünü hedef almaktadır.

#### **2.4.1. Polien türleri**

Polienler karmaşık makrosiklik yapı içeren ve amfifilik özellikteki antifungal bir ilaç grubudur. Mantar hücre zarında bulunan sterollere özellikle ergosterole bağlanarak etki eder. Böylece hücre zar bütünlüğü bozulur, sitoplazmik içeriğin dışarı sızması ve oksidatif hasar hücrenin ölümüne neden olur (Campoy & Adrio, 2017; Davey vd., 2015).

Polienler ilk kullanılan antifungal ilaçlardır. Diğer antifungal ilaçlarla kıyaslandığında daha geniş bir spektruma sahiptir ve fungisidaldir. Nistatin, natamisin ve amfoterisin B klinik olarak kullanılan polienlerdir.

İnsan hücreleri ergosterol yerine kolesterol içermektedir. Antifungal ilaçlar ergosterole kolesterole kıyasla 10 kat daha yüksek avidite ile bağlandığı için seçici antifungal aktivite gösterirler. Ancak yine de terapötik dozda toksik etkiye sebep olabilirler (Campoy & Adrio, 2017; Kathiravan vd., 2012; Sahay vd., 2019).

Polienler *Cryptococcus*, *Candida*, *Aspergillus* ve *Fusarium*'a karşı aktiftir. Amfoterisin B sistemik fungal enfeksiyonların tedavisinde en sık kullanılan polienidir. Hidrofobik ve gastrointestinal sistemdeki düşük absorpsiyonu nedeniyle karaciğer ve böbreklerdeki toksisite riski de göz önünde bulundurularak intravenöz olarak kullanılmaktadır. Oral, özofageal ve intestinal kandidiaz tedavisinde de oral olarak kullanılmıştır ancak günümüzde azol türevi antifungal ilaçlar tercih edilmektedir (Campoy & Adrio, 2017; Davey vd., 2015).

Nistatin oral yolla emilemez. Topikal olarak mukoza zarındaki *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır ancak yerini azol grubu antifungal ilaçlara bırakmaktadır (Campoy & Adrio, 2017; Kathiravan vd., 2012).

Natamisin fungal keratoz ve kornea enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Diğer polienlerden farklı olarak plazma zarı boyunca aminoasit ve glikoz taşınmasını engelleyerek mantarın büyümesini engeller. Molekül ağırlığı fazla olduğu için oküler tutulumu iyi değildir ancak buna rağmen en sık kullanılan topikal antifungal ilaçtır (Davey vd., 2015; Kathiravan vd., 2012; Sahay vd., 2019).

#### **2.4.2. Azoller**

Azoller klinikte en yaygın kullanılan antifungal ilaç grubudur. Geniş spektrumu sayesinde fungal enfeksiyonların tedavisi ve önlenmesinde kullanılmaktadır. Hücre zarının yapı taşı olan ergosterol sentezinde lanosterolü ergosterole dönüştüren CYP51 enzimini inhibe ederek etki eder (Campoy & Adrio, 2017).

Azoller imidazol ve triazoller olarak iki grup halinde incelenebilir. İmidazoller ilk geliştirilen azollerdir. Klotrimazol, mikonazol ve ketokonazol imidazol grubu ilaçlardır ve yüksek toksisite, ciddi yan etkileri ve çok sayıdaki ilaç etkileşiminden dolayı yerini triazol grubu ilaçlara bırakmıştır (Campoy & Adrio, 2017; Chen & Sorrell, 2007).

Azol molekülleri son otuz yılda geliştirilmiştir. İmidazole triazol çekirdeği eklenerek triazol grubu ilaçlar elde edilmiştir. Böylece mantarda bulunan P450'ye bağlanmanın özgülüğü sağlanarak güvenlik profili imidazole kıyasla iyileştirilmiştir (Odds vd., 2003).

Birinci nesil triazollerden flukonazol, itrakonazol ve ketokonazol en sık kullanılan moleküllerdir. İmidazol ile karşılaştırıldığında daha geniş spektrumu ve güvenliği vardır. Her bir azol molekülü ile her bir P450 arasında farklı bir etkileşim olmaktadır. Ancak hedeflenen yapının mutasyonu ve azolleri hücre dışına atan akış pompalarının mantar tarafından çoğaltılması sonucu direnç gelişmektedir. Bunda azollerin fungisidal değil fungistatik etki göstermesinin de rolü vardır. Azollere karşı direnç gelişiminden ve etki spektrumunun arttırılması amacıyla ikinci nesil triazoller geliştirilmiştir (Campoy & Adrio, 2017; Odds vd., 2003).

İkinci nesil triazollerden VOR ve ravukonazol, yapısal olarak flukonazol ile ilişkili ilen posakonazol itrakonazol ile benzerlik göstermektedir. Yapısal olarak küçük gözükabilecek farklılıklar olmasına rağmen molekülün antifungal etkisi, yan etki ve ilaç

etkileşimleri, kimyasal kararlılığı ve üretim kolaylığı gibi özelliklerini büyük ölçüde etkilemektedir (Odds vd., 2003).

Posakonazol itrakonazolün sentetik yapısal analogudur. En geniş spektrumlu azol olan posakonazol zigomisetlere karşı klinikte kullanılabilen tek azol grubu antifungal ilaçtır (Chen & Sorrell, 2007). Fungal keratite karşı hem tek başına hem de diğer antifungal ilaçlarla kombine kullanımında başarı sağlanmıştır. Ayrıca flukonazol, ketokonazol ve VOR'a dirençli fungal keratite karşı etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Sahay vd., 2019).

#### **2.4.2.1. Vorikonazol**

VOR ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilk ikinci nesil triazol grubu ilaçtır. Flukonazolün bir triazol grubu yerine bir floropirimidin grubu ve propanol yapısına da bir metil grubu eklenerek VOR üretilmiştir (Jeu vd., 2003). Lipofilik özellik gösteren, suda çözünebilen ve düşük molekül ağırlığı (349,3 g/mol) olan VOR, beyin-omurilik sıvısı dahil olmak üzere vücut sıvısında yaygın dağılmaktadır (Herbrecht, 2004; Sahay vd., 2019).

Azol grubundaki diğer ilaçlar gibi lanosterolü ergosterole dönüştüren CYP51 enzimini inhibe ederek etki ederek hem hücre zarının bütünlüğünün bozulmasına ve işlevine zarar verir hem de toksik sterol öncüllerinin birikmesine neden olur (Jeu vd., 2003; Sahay vd., 2019).

VOR diğer azol grubu ilaçlar gibi mayalar için fungistatik etki gösterirken bazı filamentöz mantarlar için fungisidal etki göstermektedir. Bunun nedeni olarak filamentöz mantarlarda bulunan CYP51 enzimine olan aktivitesinin mayalara göre daha güçlü olması ve ergosterol sentezini ölümcül şekilde engellediği düşünülmektedir (Johnson & Kauffman, 2003).

VOR diğer azol grubu ilaçlarla karşılaştırıldığında daha geniş bir spektruma sahiptir. *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani* gibi geniş bir mantar yelpazesine ve *Paecilomyces*, *Histoplasma*, *Scedosporium*, *Curvularia* ve *Acremonium* türlerinden daha az yaygın olan diğer patojenlere karşı etkilidir (Heralgi vd., 2016; Sahay vd., 2019).

VOR patolojik mayalara karşı fungistatik etki göstermektedir. *Candida* türlerine karşı flukonazolden 10-100 kat güçlü etki gösterdiği söylenmiştir (Herbrecht, 2004).

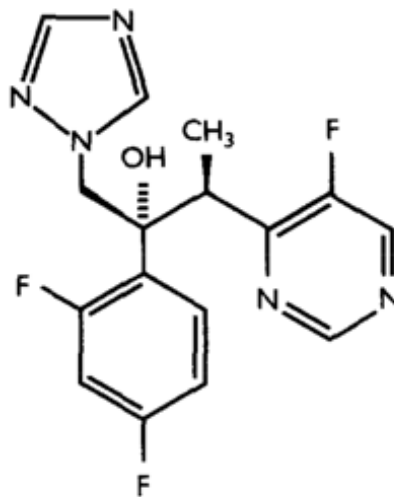
*Candida* türünün tamamına karşı etkilidir. Flukonazole dirençli *C. albicans* suşlarında ergosterol sentezini inhibe edebilmektedir. VOR flukonazole doğal dirençli *C.*

*glabrata*'ya etki etmektedir. Flukonazole duyarlılığı azalmış *Candida* türlerine, özellikle *C. krusei*'ye karşı nispeten düşük konsantrasyona etki göstermiştir (Herbrecht, 2004; Johnson & Kauffman, 2003; Kathiravan vd., 2012).

VOR'un flukonazole dirençli *Candida* türlerindeki minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri, flukonazole duyarlı izolatlardaki MİK değerinden daha yüksektir. Bu nedenle VOR ile diğer azol bileşikleri arasında çapraz direnç olabileceği düşünülmektedir (Herbrecht, 2004).

VOR *Aspergillus* türlerine karşı fungisidal etki göstermektedir ve itrakonazol veya amfoterisin B ile benzer veya daha güçlü etki etmektedir. *A. fumigatus*'un itrakonazol ve amfoterisin B'ye dirençli izolatlarına karşı ve *A. terreus*'un amfoterisin B'ye dirençli izolatlarına karşı güçlü aktiviteye sahiptir (Herbrecht, 2004; Johnson & Kauffman, 2003; Sahay vd., 2019). İnvasiv aspergilloz (*Özofagus kandidiyazı*)'un birinci basamak tedavisi için onaylanmıştır (Kathiravan vd., 2012).

Tedavisi zor olan *Fusarium* ve *Scedosporium* enfeksiyonlarına karşı da etki göstermektedir. Çoğu amfoterisin B'ye dirençli çeşitli dermatözler ve hiyalin küflerin *in vitro* koşullarda VOR'a duyarlı olduğu tespit edilmiştir. *Cryptococcus* türleri ve dimorfik fungal patojenlere karşı aktiftir ancak *Mucorales*'e karşı etkisi çok azdır (Herbrecht, 2004; Kathiravan vd., 2012; Sahay vd., 2019).



**Şekil 2.5.** Vorikonazolün kimyasal yapısı (Jeu vd., 2003)

### 2.4.3. Flusitozin

Flusitozin ilk olarak kanser ilacı olarak geliştirilse de antifungal ilaç olarak kullanılmaktadır. Hedef hücrede 5-fluorourasile dönüşerek antifungal ajan olarak çalışmaktadır. Fluorourasil RNA'ya bağlanarak zincirin erken sonlanmasına neden olur ve timidilat sentaz üzerindeki güçlü inhibitör etkisiyle DNA inhibe eder (Kathiravan vd., 2012). Filamentli mantarların çoğunda bu enzim olmadığı için etkisi patojenik mayalarla sınırlıdır. Hızlı direnç gelişimi nedeniyle klinikte tek başına kullanılması önerilmemektedir (Campoy & Adrio, 2017). Ancak güncel referans metodolojisiyle yapılmış *Candida* türleri üzerinde büyük ölçekli bir duyarlılık çalışmasında şaşırtıcı derecede az sayıda birincil dirençli izolat bulunmuştur (Odds vd., 2003). Amfoterisin B ile sinerjik etkisinden faydalanılarak kriptokokal menenjit tedavisinde kullanılmaktadır (Chen & Sorrell, 2007). Dar spektrumu ve düşük oküler penetrasyonu sebebiyle fungal keratitte nadiren kullanılmaktadır (Sahay vd., 2019).

### 2.4.4. Ekinokandinler

Ekinokandinler, bazı mantarların fermantasyonu sırasında oluşan siklopentamin ürünleri olan amfifilik lipopeptidlerdir (Kathiravan vd., 2012). Glukan sentezini inhibe ederek hücre çeperinin yapısını bozarak osmotik dengesizlik sonucunda hücrenin ölümüne neden olur. Glukan hücre çeperinin yarısından fazlasını oluşturur ve diğer hücre çeperi bileşenlerinin bağlandığı temel yapı polisakkaritidir (Campoy & Adrio, 2017).

İnsan hücrelerinde glukan bulunmadığı için toksisitesi minimum seviyededir. Sitokrom P450 enzimleri ile de metabolize edilmezler, minimal ilaç-ilaç etkileşimleri vardır (Chen & Sorrell, 2007). Buna rağmen yüksek molekül ağırlıkları nedeniyle gastrointestinal sistemden emilimi oldukça azdır ve kısa yarı ömürlüdür. Buna bağlı olarak günde bir kere hastane ortamında intravenöz olarak kullanılması önerilmektedir (Campoy & Adrio, 2017).

### 2.4.5. Alilaminler

Alilaminler ergosterol sentezinde görev alan skualen epoksidaz enziminin geri dönüşümlü, rekabetçi olmayan inhibitörleridir. Bu enzimatik aktivitenin inhibisyonu, hücresel organizasyonun bozulmasına yol açan geçirgenliği artırabilen skualen birikimine yol açar. Duyarlı mantar türlerinde öldürücü etki gösterir, pek çok duyarlı filamentöz mantar çeşidi bulunurken duyarlı az maya çeşidi bulunmaktadır (Campoy & Adrio, 2017; Odds vd., 2003).

Terbinafin en sık kullanılan çeşididir. Deri ve tırnak enfeksiyonlarında oral veya topikal olarak kullanılmaktadır (Chen & Sorrell, 2007).

#### **2.4.6. Diğer antifungaller**

Fungal enfeksiyonlar insan sağlığı ve yaşamı için sürekli ve ciddi bir tehdit olmaya devam etmektedir. Araştırmacılar mantar büyümesi için kritik olan ve insan proteinleriyle aralarında minimum benzerlik olan mantara özgü yeni hedefler belirlemeye çalışmaktadır (Campoy & Adrio, 2017). Genom merkezli yaklaşımlara yapılan büyük yatırımlar sayesinde doğrulanmış hedefler için geliştirilen moleküller mevcuttur. Ancak klinikte etkili ve güvenli şekilde kullanılabilmesi için yapılacak çalışmalar uzun yıllar sürecektir (Odds vd., 2003).

Ekinokandinler ve yeni triazollerin geliştirilmesi antifungal ilaçlar için büyük bir ilerlemeyi temsil etmektedir. Zigomikozlar için ilk defa oral tedavide kullanılabilen posakonazol, yeni triazol grubu bir antifungaldir. Ayrıca aspergilloz için tolere edilebilen etkili bir tedavi için oral VOR kullanılabilir. Yeni bulunan ilaçların farmakokinetik etkinlikleri ve pediatrik popülasyondaki etkinlin çalışmaları da yapılmalıdır. Ayrıca sitokin eklenmesinin sonuçlara etkisi ve antifungal kombinasyonların en iyi nasıl çalışacağı ve klinik kullanıma dönüştürüleceği de araştırılmalıdır (Chen & Sorrell, 2007) .

Fungal keratit tedavisi için ayrıca yeni ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmektedir. Nanopartiküler sistemler yoğun ilgi uyandırsa da kolayca hazırlanıp dağıtılabilecek antifungal sistemlerin geliştirilmesi bir zorluk olarak görülmektedir (Sahay vd., 2019).

### **2.5. Konvansiyonel Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler**

#### **2.5.1. Çözeltiler**

Topikal oküler ilaçların en yaygın formu tüm bileşenlerin çözücünde tamamen çözüldüğü sulu çözelti halindeki göz damlalarıdır. Çözelti formundaki göz damlası uygulandıktan hemen sonra bir yükseliş olsa da birinci derece salım kinetiği ile uyumlu bir şekilde hızlıca ilaç konsantrasyonu düşer (Y. Yang & Lockwood, 2022).

Gözün ön bölgesine kolayca uygulanabilir olması ve yüksek kararlılığından dolayı tercih edilmektedir. Ancak gözde kalış süresinin kısa olması, düşük biyoyararlanımı ve sık kullanımına bağlı yüksek konsantrasyonda fazla yan etkiye neden olmaları en yaygın dezavantajlarıdır (Ahmed vd., 2023).

### 2.5.2. Süspansiyonlar

Oküler süspansiyonlar sulu bir çözücü içinde hidrofobik maddelerin dispersiyonu ile meydana gelir. Kullanılmadan önce kesinlikle çalkalanması gerekmektedir. (Y. Yang & Lockwood, 2022).

Konjonktival *cul-de-sac*'da tutulması sayesinde temas süresi uzatılmıştır. Partikül boyutu, çözünürlüğü ve gözyaşındaki çözünme hızı süspansiyonun hazırlanma sürecinde son derece önemlidir. Partikül boyutu 10 µm'den küçük partiküllerin çözünürlüğü ve çözünme hızı daha yüksekken oküler yüzeyde tutunmaları zayıftır. Partikül boyutu 10 µm'den büyük partiküller ise iritasyon ve gözyaşına sebep olmaktadır (Ahmed vd., 2023).

Süspansiyonlar kinetik olarak kararlı ancak termodinamik olarak kararsız sistemlerdir. Karıştırılmadan bekletildiklerinde partiküller topaklanmaya, çökmeye ve hatta kekleşmeye başlar (Ali & Lehmussaari, 2006).

Partikül boyutunu küçültmenin en etkili ve yaygın yöntemi kuru öğütmedir. Ancak partikülün özelliklerine bağlı olarak ıslak öğütme, mikro toz haline getirme ve kontrollü çökeltme yöntemleri de kullanılabilir (Ali & Lehmussaari, 2006).

Oküler süspansiyonların en büyük dezavantajı stabilitesinin zayıf olmasıdır. Parçacıklar topaklanma eğiliminde olduğundan ve kolayca dağılmadığından dolayı soğutucuda saklanamazlar. Ayrıca hazırlanmış süspansiyonların depolanması sırasında kristal boyutundaki olası bir değişiklik hem çözünürlüğünü hem de biyoyararlanımını etkilemektedir (Ahmed vd., 2023).

Süspansiyonlar hazırlandıktan sonra steril edilmesi gerekmektedir. Ancak bu işlem sırasında formülasyonun fiziksel kararlılığında değişme meydana gelebilir (Rupenthal & Alany, 2008). Sterilizasyon kuru ısı, gama ışınları veya etilen oksit ile yapılmaktadır. Bazı çalışmalarda konsantre hazırlanan yarı katı preparat buhar sterilizasyonu ile steril edildikten sonra bilyeli öğütme ile partikül boyutu küçültülmektedir (Ali & Lehmussaari, 2006).

### 2.5.3. Emülsiyonlar/Merhemler

Emülsiyon, hidrofilik ve lipofilik iki faza sürfaktan veya stabilizör eklenerek hazırlanan iki fazlı ilaç taşıyıcı sistemdir. Su içinde yağ emülsiyon ve yağ içinde su emülsiyon olmak üzere iki tür emülsiyon vardır. Oküler ilaç taşınmasında daha iyi tolerans ve daha az iritasyon gösterdiği için yağ/su emülsiyonu tercih edilmektedir. Hidrofobik bir maddeyi yağ/su emülsiyonu haline getirerek gözde kalış süresi ve biyoyararlılığı artırılabilir (Ahmed vd., 2023; Polat & Karakuyu, 2023).

Göz merhemleri mineral yağ veya beyaz vazelin içeren yarı katı sistemlerdir. Görmeyi engellediği için çoğunlukla geceleri konjonktival keseye uygulanır. Gözyaşı drenajından etkilenmeyip uzun süre gözde kalabildiği için biyoyararlanımı solüsyonlara göre daha yüksektir (Ahmed vd., 2023; Morrison & Khutoryanskiy, 2014). Susuz yapıda olduğu için lipofilik ve neme duyarlı ilaçlar için tercih edilmektedir (Ahmed vd., 2023).

Merhemlerin koruyucu madde içermesi, üretim zorlukları, bulanık görmeye neden olması ve yanlış dozda uygulanabilmesi temel sorunlarıdır (Ali & Lehmussaari, 2006; Renukuntla vd., 2013).

#### **2.5.4. Jeller**

Jeller yüksek miktarda su içeren yarı katı ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Yüksek viskoziteleri sayesinde gözde tutulum süresi fazladır, buna bağlı olarak biyoyararlanımı da geliştirilmiştir. Ancak bulanık görmeye neden olmaktadır. En sık kullanılan polimerler poliakrilik asit, akrilik asitler, hidroksipropil metilselüloz ve karboksimetil selülozdur (Ahmed vd., 2023).

##### **2.5.4.1. Kullanıma hazır biyoadezif hidrojjeller**

Biyoadezyon, bir ilaç molekülü veya dağıtım sisteminin yüzeyler arası kuvveti kullanarak biyolojik bir dokuya bağlanmasıdır. Dokunun yüzeyi gözün yüzeyinde olduğu gibi müsin film ile kaplıysa mukoadezyon olarak isimlendirilir (Rupenthal & Alany, 2008).

Etkili bir mukoadezif özellik göstermesi için polimerin kimyasal özellikleri çok önemlidir. Güçlü hidrojen bağlama grubu, güçlü anyonik yük, yüksek molekül ağırlığı, yeterli zincir esnekliği, mukus üzerinde yayılması destekleyen yüzey enerjisi ve müsin üzerinde maksimum teması sağlayabilmek için sıfıra yakın temas açısı oluşturabilmesi; polimerin seçilme kriterlerini belirler (Rupenthal & Alany, 2008).

Mukoadezif polimerlerin fizyolojik pH'ta yüksek molekül ağırlığına sahip negatif yüklü glikoprotein olan müsin ile etkileşime girmektedir. Müsin ile katyonik mukoadezifler arasındaki elektrostatik bir etkileşim vardır. Anyonik mukoadezifler ise yoğun hidrojen bağlarıyla adezyonu sağlar (Renukuntla vd., 2013). Mukoadezif polimer ile yüzey arasında Van der Waals kuvveti ile hidrofobik etki ile de etkileşime neden olabilmektedir. Çoğu mukoadezifler suyu emebilen selüloz türevi doğal polimer veya sentetik polimerlerdir. Başlıca örnekleri arasında hyaluronik asit, karboksimetilselüloz, polikarbofil ve polivinil pirolidon yer alır (Y. Yang & Lockwood, 2022).

Hyaluronik asit, gözyaşında bulunan ve vitrözün çoğunu oluşturan doğal bir polisakkarittir. Kendine özgü sarmal yapısı sayesinde molekül ağırlığının 1000 katına kadar su tutulmasını sağlar. Biyolojik olarak parçalanabilir ve immün reaksiyona neden olmamaktadır. Göz kırpma esnasında viskozite artar, hyaluronik asit göz yüzeyinde dağılır ve göz tekrar açıldığında viskozite artmış hatta yüzeyde koruyucu bir katman oluşmuş olur. Kuru göz tedavisinde ve %1'den yüksek konsantrasyonda intraoküler ameliyatlarda ön kameranın şeklini ve kornea epitel hücreleri korumada sıklıkla kullanılmaktadır (Güngör & Karataş, 2019; Y. Yang & Lockwood, 2022).

#### **2.5.4.2. *In situ* aktivasyonla jel oluşturan sistemler**

*In situ* jel sistemleri çevresel değişikliklere duyarlı polimerlerden oluşan ilaç dağıtım sistemleridir. Göze damlatma sırasında sıvı halde bulunur, çevresel uyaranlara bağlı olarak viskoelastik jel haline gelir. Jelleşme genellikler sıcaklık, pH ve iyonlardaki değişikliklerle ortaya çıkar. Ayrıca UV ışınması veya çözücü değişikliği ile sağlanabilmektedir (Patel vd., 2013; Rathore, 2010).

Kornea öncesinde formülasyonun viskozitesi arttırılarak korneadan drenaj hızını yavaşlatarak biyoyararlanımı arttırılır. Ayrıca viskozitenin arttırılması ve mukoadezif özellikler sayesinde oküler yüzeyde kalış süresi de uzatılmaktadır (Rathore, 2010). Böylece sistemik dolaşıma girecek ilaç miktarı minimuma indirilir ve dozlama sıklığı azaltılarak hasta uyuncu yükseltilmiş olur. *In situ* jellerin üretim süreci, doğru dozun uygulanması ve uygulama kolaylığı *in situ* jel sistemlerin avantajları arasındadır (Y. Wu vd., 2019).

İdeal bir *in situ* jel sisteminin viskozitesi düşük ve serbest akışlı bir sıvı halinde olmalıdır, oluşacak jel *cul-de-sac*'daki kayma kuvvetine dayanacak kadar güçlü olmalı ve gözde uzun süre kalabilmelidir (Rathore, 2010).

##### **2.5.4.2.1. Sıcaklık değişimiyle jelleşen sistemler**

Sıcaklığa duyarlı *in situ* jel sistemleri, uyarana duyarlı *in situ* jel sistemleri arasında en eski ve en yaygın çeşididir. Sıcaklıktaki değişime bağlı olarak jelleşme meydana gelir. Çözeltilerden jelleşmeye geçişin başladığı sıcaklığa en alt kritik çözelti sıcaklığı (LCST) denmektedir (Agrawal vd., 2012; Y. Wu vd., 2019).

Sıcaklıkla değişen çözünürlüğün jelleşmeye neden olduğu düşünülmektedir. LCST'nin altındaki sıcaklıklarda polimerdeki hidrofilik gruplarla su molekülü arasındaki hidrojen bağları polimer zincirinin sudaki çözünürlüğünü arttırır ve sistem çözelti halinde

kalır. Sıcaklığın artmasıyla hidrojen bağları koparak hidrofobik etkileşim artar ve sistem jelleşmeye başlar (Agrawal vd., 2012).

Çözelti halinde bulunan ilaç gözde tahriş ve bulanık görmeye neden olmadan kolayca uygulanabilmektedir. Uygulamadan sonra prekorneal sıcaklıkta (35°C-37°C) jelleşerek prekorneal eliminasyona uğramaz. İdeal bir sistem oda sıcaklığında (20°C-25°C) çözelti halinde olması beklenmektedir, soğğun tahrişe neden olabileceği düşünülmektedir (Rajoria & Gupta, 2012; Y. Wu vd., 2019). Ancak kullanılan polimerin yapısına bağlı olarak buzdolabında saklanması gerekebilir.

Sıcaklığa duyarlı *in situ* sistemlerde en sık kullanılan polimerler poloksamerler, ksiloglukan, kitosan ve selüloz türevleridir. Poloksamerler arasında en sık kullanılanlardan biri olan Pluronik F-127 (F-127) 4°C'nin altında düşük viskoziteliyken vücut sıcaklığında yarı katı jel haline geçer (Y. Wu vd., 2019).

Sıcaklığa duyarlı polimerlerin çeşitli konsantrasyonda kombinasyonları, mukoadezif polimer ilavesi, çeşitli tuzların eklenmesi ve hatta basınca bağlı olarak hazırlanacak *in situ* jel sisteminin jelleşme sıcaklığı, gözde kalış süresi ve biyoyararlılığı değiştirilebilmektedir (Agrawal vd., 2012; Rathore, 2010; Rupenthal & Alany, 2008; Y. Wu vd., 2019; Y. Yang & Lockwood, 2022).

#### **2.5.4.2.2. pH değişimine bağlı olarak jelleşen sistemler**

Polimerlerin pH duyarlılığı, belirli bir pH'ta polimerde bulunan iyonlaşabilen grupların varlığıyla oluşmaktadır. Polimerlerin iyonlaşabilme derecesi ve sudaki çözünürlüğü pH'a bağlı değişiklik göstermektedir (Agrawal vd., 2012).

Çok sayıda iyonlaşabilen gruba sahip polimerler polielektrolit olarak da bilinmektedir. Çevresel pH'ın değişmesiyle proton alan veya salan bir asidik (karboksilik veya sülfonik) veya bir bazik grup (amonyum tuzları) içerirler. Düşük pH'ta (4.4) kararlı çözelti halinde bulunurken gözyaşında (pH 7.4) jelleşme meydana gelir (Y. Wu vd., 2019).

Selüloz asetat ftalat (CAP), karbopoller, metakrilatlar ve polikarbofiller gibi çapraz bağlı poliakrilik asit türevleri pH'a duyarlı polimerlerdir. CAP lateksi doğal formülasyonunda (pH 4.4) çözelti halinde iken gözyaşında çok hızlı bir şekilde jelleşir. Polimer zincirinde bulunan asidik grupların nötralizasyonu parçacıkların şişmesine neden olmaktadır (Rupenthal & Alany, 2008).

Karbopol diğer polimerlere göre daha mukoadezif özellik göstermekteyken asidik yapısı yüzünden gözde tahriş ve hasara neden olmaktadır. Bu nedenle kitosan veya

hidroksi propil metil selüloz (HPMC) gibi polimerlerle kombinasyonları kullanılmaktadır (Y. Wu vd., 2019).

#### **2.5.4.2.3. İyon etkisi ile jelleşen sistemler**

İyon etkisiyle jelleşen sistemler, gözyaşında bulunan katyonlarla ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Mg}^{2+}$ ) çapraz bağ oluşturarak göz yüzeyinde jelleşirler. Jelin kuvveti tek veya iki değerlikli katyonların miktarıyla orantılı artmaktadır. Damla damlatıldıktan sonra artan gözyaşı salgısıyla birlikte ortamda bulunan katyon miktarı da artacağı için jelin viskozitesini de arttırmaktadır (Rathore, 2010; Rupenthal & Alany, 2008).

İyon etkisiyle jelleşen sistemlerde genellikle anyonik polimerler kullanılmaktadır. Sodyum aljinat, pektin, gallen zıncı ve Gelrite® en sık kullanılan polimerler arasındadır. Formülasyona metil selüloz (MC) veya HPMC gibi polimerlerin eklenmesiyle birlikte mukoadeziv özelliğinin artmasıyla etkisi artırılabilir (Rajoria & Gupta, 2012; Rathore, 2010; Y. Wu vd., 2019).

#### **2.5.5. İnsertler**

Oküler insertler, konjonktival keseye yerleştirilmek üzere tasarlanmış uygun boyut ve şekildeki katı veya yarı katı preparatlardır. Genellikle aktif madde matris içerisine gömülmüş veya hız kontrol edici bir membran ile çevrelenmiş şekilde bulunur. Korneadan emilimi zayıf olan hidrofobik ilaçların korneal olmayan yolla emilimi artırabilir (Furrer vd., 2008). İlacın uzun bir süre boyunca sabit bir oranda salınmasını sağlar ve sıfır derece salım kinetiği gösterir (Ahmed vd., 2023; Furrer vd., 2008).

İnsertler koruyucu madde içermemesi, raf ömrünün uzatılması, kontrollü salıma olanak sağlaması, çeşitli formülasyonların geliştirilebilmesi ve biyofarmasötik özelliklerinin düzenlenebilmesine rağmen ilaç taşıyıcı sistem olarak yaygın şekilde kullanılmamaktadır. Bunun en büyük nedeni hasta uyuncunun düşük olmasıdır. Özellikle yaşlı hastaların göze yerleştirirken büyük zorluk yaşaması ve gözde yabancı cisim hissinden dolayı kullanımı tercih edilmemektedir. Bazı göz hastalıkları uzmanları kontakt lens kullanımının artmasıyla insanların gözlerine yabancı cisim yerleştirmeye alıştığını, insert kullanımı hakkında da eğitilerek kullanımın yaygınlaşabileceğini söylemektedir (Furrer vd., 2008; Plazonnet, 2003).

İnsertler hakkındaki bir diğer önemli sakınca da hastalığın seyri kötüleşirse veya ciddi yan etkiler oluşursa ilaç salım hızı değiştirilemez ve durdurulamaz olmasıdır (Rupenthal & O'Rourke, 2016).

Bugüne kadar piyasaya çıkmış iki önemli insert preparatı bulunmaktadır. Alza-Ocusert® bir haftalık dozda pilokarpin içeren ancak günümüzde kullanılmayan bir ilaçtır ancak satışı durdurulmuştur (Furrer vd., 2008; Plazonnet, 2003). Merck-Lacrisert® kuru göz tedavisinde kullanılan hidrokispropil selüloz içeren mini bir çubuktur. 24 saat içerisinde tamamen çözülerek yok olur (Güngör & Karataş, 2019; Plazonnet, 2003). Théa-Mydriaserit® tropikamid ve fenilefrin içeren ve çözülmeyen bir oküler inserttir. Katarakt ameliyatından bir saat önce göz kapağının altına yerleştirilerek sürekli ve kontrollü salımla midriyazise neden olur (Morgado vd., 2010; Y. Yang & Lockwood, 2022).

Hasta şikayetleri ve ilaç-ilaç etkileşimine neden olmalarından dolayı insan kullanımında büyük gelişmeler yaşanmasa da veteriner ilaçlarında gelişmeler devam etmektedir. Çözünür biyoadezif oküler insertler yakın zamanda tanımlanmış ve Avrupa’da veteriner ilaçlarda kullanılan yapılardır (Furrer vd., 2008).

#### **2.5.6. İmplantlar**

Oküler implantlar cerrahi işlemle göze yerleştirmek üzere tasarlanmış polimerik sürekli salım sistemleridir. İmplantlar steril olmalı ve biyolojik olarak uyumlu ve inflamasyona neden olmayacak malzemeden yapılmalıdır (Furrer vd., 2008).

İmplantlar sayesinde ilaç hedefe en yakın yere yerleştirir, kan-retina bariyerinden geçmez ve minimum dozla etki sağlanır. Buna bağlı olarak sistemik yan etkiler minimuma indirilir. Ayrıca çoklu göz içi enjeksiyonları ve buna bağlı oluşabilecek komplikasyonlar önlenir (B. Kompella & Thakur, 2013; Patel vd., 2013).

İmplantlar kullanılan polimere göre biyolojik olarak parçalanabilir veya parçalanamaz olarak iki grupta incelenmektedir. Biyolojik olarak parçalanmayan implantlarda polivinil alkol (PVA), etilen vinil asetat (EVA) ve polisülfon kapiler elyaf (PCF) gibi polimerler tek başına veya kombinasyon halinde kullanılır. Sıfır derece salım kinetiğine uygun şekilde sürekli kontrollü salım yaparlar (Güngör & Karataş, 2019; Patel vd., 2013).

Vitrasert® gansiklovir içeren biyoparçalanamaz bir implanttır. Sitomegalovirüs retinit tedavisinde kullanılır ve beş-sekiz ay boyunca pasif difüzyonla kontrollü salım yapmaktadır. İlaç salımı bittikten sonra çıkarılmalı veya yenisiyle değiştirilmek zorundadır (Güngör & Karataş, 2019; Plazonnet, 2003; Singh vd., 2018).

Retisert® flusinolon asetonid içeren ve yaklaşık 30 ay boyunca kontrollü ve sürekli salımı sağlayan biyoparçalamaz bir implanttır. Kronik üveit tedavisinde kullanılır (B. Kompella & Thakur, 2013; Patel vd., 2013).

İmplantların klinikte kullanımına risk-fayda oranına göre dikkatlice karar verilmelidir. Vitrasert® görece büyük boyutuna bağlı olarak endoftalmi ve retina ayrılması gibi çeşitli ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir. Retisert®'nın diyabetik makula ödemi hastalarının %50'sinde glokoma neden olduğu bilinmektedir (B. Kompella & Thakur, 2013).

Biyoparçalanır implantlar kullanımdan sonra herhangi bir cerrahi işlem gerektirmemektedir. Polilaktik asit, poliglikolik asit (PLA), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) ve polikaprolakton (PCL) en sık kullanılan polimerlerdir (Güngör & Karataş, 2019; Patel vd., 2013).

İlaç salımı birinci derece kinetik profiline uymaktadır, genellikle üç fazda meydana gelir; ilk patlama fazı, yayılma fazı ve son patlama fazı olarak dağılmaktadır. İlacın ilk hızlı salınımını veya yükleme dozundan sonra yavaş salımı veya idame dozun istenildiği durumlarda kullanılır (B. Kompella & Thakur, 2013).

Ozurdex® deksametazon içeren ve altı ay boyunca kontrollü sürekli salım yapan biyoparçalanır implanttır. Göz içi enfeksiyon ve maküler ödem tedavisinde kullanılmaktadır (Güngör & Karataş, 2019; Patel vd., 2013).

## **2.6. Modern Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler**

### **2.6.1. Dispers sistemler**

Dispers sistemler mini ölçekli parçacıklar ve bunların askıda kaldığı ortamdan oluşan iki fazlı sistemlerdir. Fiziksel kararlılık, parçacık boyutu veya moleküller arası çekim kuvveti gibi çeşitli parametrelere göre moleküler veya kolloidal dispersler, kaba dispersler ve emülsiyon olarak sınıflandırılmaktadır. Parçacık boyutu 1 nm'den küçük parçacıkların oluşturduğu sistemler moleküler dispersiyon, 1-1000 nm arasında değişenler kolloidal dispersiyon ve 1 µm'den büyük olanlar kaba dispersiyon sistemleri olarak isimlendirilmektedir. Nano boyutlu dispers sistemler fazla miktarda madde taşıyabildiği için suda çözünmeyen ilaçların biyoyararlanımını artırır. Ayrıca geniş yüzey alanı ve itme gücüne sahip olduklarından dolayı kullanım ve depolama sırasında fiziksel ve elektrostatik olarak daha kararlılardır (Cheaburu-Yılmaz vd., 2018).

### **2.6.1.1. Nanoemülsiyonlar**

Emülsiyon birbiri ile karışmayan en az iki sıvının yüzey etkin madde ve/veya yardımcı yüzey etkin madde varlığında oluşturduğu kolloidal sistemlerdir. Sıvılardan biri diğeri içinde damlacıklar halinde dağılmıştır. Damlacık boyutuna göre makroemülsiyon, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon olarak ayrılmaktadır. Nanoemülsiyonlar için kabul edilen damlacık boyutu 20-200 nm arasındadır (Gajendiran & Abraham, 2019).

Nanoemülsiyon ve mikroemülsiyonlar damlacık boyutu açısından benzer olmalarından dolayı bazı yerlerde nanoemülsiyon ve mikroemülsiyon isimlendirmeleri birbirinin yerine kullanılmaktadır. Ancak nanoemülsiyonlar seyreltme, pH ve sıcaklık değişikliğinden etkilenmemektedir. Buna rağmen damlacıklar uzun bir süre birleşmeye karşı dayanabilirken sonunda faz ayrışması meydana gelmektedir. Bu nedenle nanoemülsiyonların termodinamik olarak stabil olmadıkları kabul edilmektedir (Tırnaksız, 2014).

Nanoemülsiyonlar ile hem hidrofilik hem de lipofilik maddelerin taşınması sağlanabilmektedir. Formülasyona eklenecek yüzey etkin maddelerin penetrasyon özelliğine bağlı olarak nanoemülsiyonun korneadan emilimi artırılabilir. Düşük yüzey gerilimi sayesinde de korneada daha kolay dağılması ve kornea epiteli ile ilaç arasındaki temasın iyileştirilmesi de emilimi arttırmaktadır. Ayrıca üretimi ve sterilizasyonu kolayca yapılabilir (Renukuntla vd., 2013).

Oküler ilaçlarda yağ/su tipi emülsiyonlar kullanılmaktadır. Lipofilik ilaçlar için bir depo görevi görür ve gözyaşı ile etkileşime girerek sürekli salım sağlarlar (Ahmed vd., 2023). Yapılan çalışmalarda pozitif yüklü nanoemülsiyonların oküler formülasyonlar için daha uygun olduğu ve oküler emiliminin daha fazla olduğu bulunmuştur (Gajendiran & Abraham, 2019). Ayrıca kullanılacak yüzey etkin madde ve/veya yardımcı yüzey etkin maddenin çeşidi ve miktarına göre iritasyona neden olmaması gerekmektedir (Polat, Ünal, vd., 2022).

### **2.6.1.2. Nanosüspansiyonlar**

Nanosüspansiyonlar bir dispersiyon ortamında dağıtılmış nano boyutlu ilaç kristallerinin yüzey etkin madde ve/veya yardımcı yüzey etkin madde ile stabilitesi sağlanarak oluşturulan kolloidal ilaç dağıtım sistemleridir.

Mikronizasyon ilaçların çözünme hızı ve biyoyararlanımının geliştirilmesi için kullanılan bir yöntem olsa da çözünürlüğü düşük ilaçlar için uygun bir yöntem değildir. Biyolojik Sınıflandırma Sistemi Sınıf II (düşük çözünürlük–yüksek geçirgenlik) ve Sınıf

IV (düşük çözünürlük–düşük geçirgenlik) ilaçların geliştirilmesinde nanosüspansiyon yöntemi kullanılmaktadır (Chogale vd., 2019).

Nanosüspansiyon oluşturulurken ilacın partikül boyutu küçültüldüğünden yüzey alanı ve doyumluk çözünürlüğü artmaktadır. Buna bağlı olarak dokuyla temas eden yüzey alanı, temas süresi ve dokudaki terapötik konsantrasyonu artar ve biyoyararlanımı yükselir. Böylece düşük dozda etki gösterebilmektedir (Tsung vd., 2023).

Nanopartiküllerin oluşturulmasında çeşitli polimerler kullanılarak da biyoyararlanımı iyileştirilebilmektedir. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler sayesinde kontrollü ve sürekli salım yapılmaktadır. Ayrıca katyonik polimerlerle gözde kalış süresi uzatılabilmektedir (Rani, 2019).

Nanosüspansiyonlar ayrıca istenilen süre boyunca ilaç salımı sağlanabilmesi için insert veya hidrojellere eklenebilir (Patel vd., 2013; Polat, Ünal, vd., 2022).

### **2.6.2. Veziküler sistemler**

Veziküler sistemler, belirli amfifilik yapı blokları ile suyun bir araya gelmesiyle oluşan bir veya birden çok eş merkezli çift lipit katmanının oluşturduğu düzenli sistemlerdir. Biyolojik zarlar tüm hücreleri ve organelleri kaplayan ve bölümlere ayıran sınırlayıcı bir yapıdır. Çift katlı lipit dizilimi neredeyse bütün biyolojik zarlarda bulunan yapısal bir şekildir. Lipit veziküller deneysel biyomembran modellerinden biri olup ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılabilir. Veziküler ilaç dağıtım sistemleri ile az çözünürlük, kararsızlık ve bozunma sorunları çözülebilir, kontrollü ilaç salımı sağlanabilmektedir (Biju vd., 2006).

#### **2.6.2.1. Lipozomlar**

Lipozom, sulu bir çekirdeği çevreleyen bir veya birden fazla fosfolipit çift tabakasının oluşturduğu mikroskobik küresel kolloidal yapılardır. Amfifilik yapısı sayesinde çekirdeğinde hidrofilik ilaçları taşıyabilirken lipit tabakasında da lipofilik ilaçların taşınmasını sağlar. Nükleotitler, proteinler ve plazmitler de dahil olmak üzere çok çeşitli terapötik ilaçların hedef dokuya iletilmesinde başarıyla kullanılmaktadır (B. Kompella & Thakur, 2013).

Lipozomlar biyoyumlu ve biyoparçalanır olması, yavaşlatılmış ilaç salımı sağlaması ve toksik olmamasından dolayı tercih edilmektedir (Mofidfar vd., 2021).

Oküler biyoyararlanımda en önemli konulardan biri lipozomun yüzey yüküdür. Negatif yüklü veya nötr olan lipozomlar konvansiyonel taşıyıcı sistemlerle benzer sürede hızlıca göz yüzeyinden uzaklaştırılmaktadır. Pozitif yüklü lipozomlar müsin tabakasıyla

elektrostatik etkileşime girerek daha uzun süre göz yüzeyinde kalmaktadır (Ahmed vd., 2023; Rupenthal & Alany, 2008).

Oküler ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılmasının başlıca zorlukları sınırlı ilaç yükleme kapasitesi, sterilite, stabilite, parçacık boyutu ve opaklığına bağlı bulanık görüştür (Rupenthal & Alany, 2008). Ayrıca kısa raf ömrü, depolama sırasında lipozomdan ilaç sızıntı riski ve yüksek maliyeti diğer dezavantajlarıdır (Polat, Kurt, vd., 2022).

Gözün arka bölgesine iletilmek istenildiğinde lipozomun lipit yüzeyi diğer proteinler, lipitler ve hücresel bileşenler tarafından bozulabilir, bu da ani ilaç salınmasına neden olabilmektedir. Lipozom formülasyonunda pH'a bağlı katyonik lipitlerin kullanılmasıyla daha düşük pH'ta (örneğin lizozomda) katyonik hale gelerek endositozu takiben endozomdan kaçışı kolaylaştırabilir. Son zamanlarda ışık, sıcaklık, pH ve ultrason dalgalarının çift katlı lipit tabaka üzerindeki etkileri araştırılarak ilaç salım özelliklerinin geliştirilmektedir (Tian vd., 2022).

#### **2.6.2.2. Niozomlar**

Niozomlar, lipozoma benzer şekilde çift lipit katmanla çevrili sulu bir çekirdekten oluşan veziküllerdir. Çift lipit katman non-iyonik ve tek kuyruklu amfifilik yüzey etkin maddeden oluşmaktadır. Hem hidrofilik hem de lipofilik maddelerin taşınmasını sağlar. Lipozoma göre kimyasal olarak daha kararlı; ucuz maliyetli ve raf ömrü daha uzundur, sürekli ilaç salımı yapabilirler. Ayrıca Niozomlar biyolojik olarak parçalanır ve immünolojik yanıtı sebep olmazlar (Tian vd., 2022).

Niozomların yüzey etkin maddenin modifikasyonu ile biyoyararlanımı iyileştirilebilmektedir. Klasik Niozomlardan şekil ve büyüklük olarak farklılık gösteren yapılara diskom denmektedir. Vezikül boyutunun Niozoma göre büyük olması sayesinde nazolakrimal drenaja uğramasını önler ve disk benzeri şekli ile *cul-de-sac*'a daha iyi yerleşebilmektedir (Rupenthal & Alany, 2008).

#### **2.6.2.3. Dendrimerler**

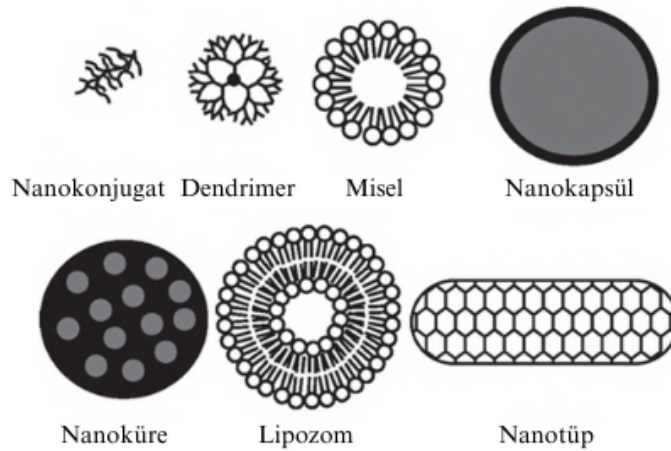
Dendrimer, merkezi bir çekirdek etrafında ağaç gibi dallanmış polimerlerden oluşan üç boyutlu polimerik nanosistemlerdir. Dendrimerlerin çekirdeği yapının merkezidir ve bir atom veya molekül olabilir. Dallar kovalent bağlarla bağlıdır ve çok sayıdaki dalların birleştiği eş merkezli katmanlarda toplanır. Yüzeyinde ise dendrimerlerin işlevselliğini arttıran, ve biyoyumlu olmasını sağlayan çoklu fonksiyonel gruplar bulunmaktadır (Rehman & Pandey, 2022).

Çekirdek molekülünün üstüne bir katman yerleşmesiyle sıfırıncı nesil veya G0, eklenen katmanlarla G1, G2, G3... nesil dendrimerler oluşturulur. Pratikte G6'ya kadar olan dendrimerler kullanılmaktadır. Her katmanın üretimindeki aşamalı kimyasal sentetik işlemler sayesinde hassas boyut kontrolü sağlanmaktadır (Raghava vd., 2008).

Yüzeyinde bulunan fonksiyonel gruplar sayesinde hedefleme yapılabilmektedir. Kontrollü salım yapan dendrimerler, hidrofilik ve hidrofobik maddelerin taşınmasında kullanılmaktadır (Patel vd., 2013).

Dendrimerler birçok avantajı vardır. Azaltılmış doz sıklığı, gözde daha uzun süre kalma ve iyileştirilmiş biyoyararlanım ile gözün hem ön hem de arka bölgesine dağıtım yapabilmektedir (Ahmed vd., 2023; Mofidfar vd., 2021).

Klinik kullanımda sitotoksikite riski önemli bir konudur. Pozitif yüklü dendrimerler, negatif yüklü veya nötr olanlara göre hücre afinitesi daha yüksektir ancak daha sitotoksik ve hemolitiktir. Sitotoksikite dendrimerin oluşumuna da bağlıdır, daha yüksek nesiller daha yüksek toksisite gösterir (Polat, Kurt, vd., 2022).



**Şekil 2.6.** Oftalmik uygulanabilir nanosistemler (Raghava vd., 2008)

### 2.6.3. Partiküler sistemler

Nanoteknoloji, 1959 yılında Amerika Fizik Topluluğu'nda Nobel ödüllü Prof. Dr. Richard P. Feynman'ın "Plenty of room at the bottom" başlıklı konuşmasıyla bilim dünyasının ilgisini çekmiş ve o günden beri araştırılmaya ve geliştirilmeye devam etmektedir (Feynman, 2011). 1970'li yılların başında intravenöz ilaç uygulaması sonrasında emboliye neden olmayan bir sistem olarak tanıtılmasıyla nanoteknolojinin

eczacılık alanında uygulanabilirliği ve önemi dikkat çekmiştir (Mehrandish & Mirzaeei, 2021).

Nanopartiküller ilaç taşıyıcı sistemler ile ilacın biyoyararlılığı arttırılabilir ve olası yan etkiler azaltılabilmektedir. Nanopartiküller hacmine oranla geniş yüzey alanına sahip olduklarından hazırlanan süspansiyonları, lipozom ve miseller gibi kolloidal sistemlere göre daha yüksek miktarda ilaç yükleme kapasitesine sahiptir (B. Kompella & Thakur, 2013; Polat, Kurt, vd., 2022).

Nanopartiküller biyolojik olarak parçalanabilen veya parçalanamayan polimer, lipid, fosfolipit veya metallerden oluşan ve büyüklüğü 10-1000 nm arasında değişen partiküllerdir (Gaudana vd., 2009). İlacın partiküldeki konumuna göre nanoküre ve nanokapsül olarak isimlendirilebilirler. Nanoküre, ilacın partikül yüzeyinde absorbe edildiği veya matris içinde dağıldığı veya çözündüğü matris benzeri yapıdır. Nanokapsül ise ilacın çözündüğü veya dağıldığı bir çekirdek ve çekirdeği kaplayan bir kabuktan oluşan yapıdır (Rupenthal & Alany, 2008).

Nanopartiküller geniş yüzey alanları sayesinde gözyaşının mukus tabakasında daha uzun süre tutunur. Nanokapsüllerde ilaç bir tabaka ile kaplandığı için gözyaşındaki enzimatik bozumcadan da korunmuş olur. Böylece düşük konsantrasyonda terapötik etki sağlanabilir (Y. Yang & Lockwood, 2022).

Sürekli ve uzun süreli bir ilaç salımı için nanopartiküllerin *cul-de-sac*'da tutulması ve kontrollü ilaç salımı gerçekleştirmesi gerekmektedir. Eğer salım hızlı ise sürekli salım sağlanamaz, yavaşsa da gözyaşından oküler dokulara geçişin sağlanabileceği konsantrasyona ulaşamaz. Bu nedenle nanopartiküller geliştirilirken en kısıtlayıcı şeyler partikül boyutu, ilaç salım hızı ve formülasyonun stabilitesidir. Ayrıca ilaç yükleme kapasitesi ve parçacık agregasyonu dikkat edilmesi gereken hususlardır (Rupenthal & Alany, 2008).

#### **2.6.3.1. Polimerik nanopartiküller**

Nanopartiküllerin hazırlanmasında polimerlerin kullanılmasıyla partiküllerin özelliklerinin kontrol edilmesi ve istenilen şekilde ayarlanabilmesi mümkün olmuştur. Biyoparçalanır olabilmesi, düşük hücresel toksisite göstermesi ve kimyasal fonksiyonel gruplarının değiştirilebilmesi sayesinde kontrollü salım sistemleri olarak kullanılmaktadır (Silva & Amaral, 2021).

Polimerik nanopartiküller (PNP) doğal, sentetik veya doğal ve sentetik polimerlerin kombinasyonları kullanılarak hazırlanır. Hazırlanma yöntemine göre nanoküre veya

nanokapsül gelirler. Doğal polimerlerden en sık kullanılanlar kitosan, aljinat, jelatin ve albümindir. Sentetik polimerler biyolojik olarak parçalanır veya parçalanamaz olabilirler, en sık kullanılanlar poliglikolik asit (PLA), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) ve polietilen glikol (PEG)'dir (Kaur, 2019).

Polimer sentezi ve nanopartikül hazırlama yöntemi; nanopartiküllerin boyut ve dağılımı, pH'ı, stabilitesi, ilaç çözünürlüğü, nanopartiküllerden ilaç salınımı ve absorpsiyonu gibi parametreleri etkileyerek hazırlanan PNP'lerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirler (Silva & Amaral, 2021).

Partikül yüzeyindeki fonksiyonel grupların modifikasyonu ile kontrollü salım ve hedefleme yapılabilmektedir. Vitroz hümeden retinal katmanlara dağılımın sağlanabilmesindeki en önemli faktörlerden biridir (Patel vd., 2013).

#### **2.6.3.2. Katı lipit nanopartiküller**

Katı lipit nanopartiküller ilaç içeren katı lipit çekirdeğin yüzey etkin madde tabakası ile stabilize edildiği koloidal sistemlerdir. Yüzey etkin maddeler lipit dağılımını stabilize ettiği için organik çözücülere ihtiyaç duymazlar. Katı lipit nanopartiküllerin hazırlanmasında trigliseritler, yağ asitleri, steroidler ve mumlar en sık kullanılan lipitlerdir. Düzenli kristalize yapıya sahip lipit sistemlerden ilaç atılımı fazla olduğu için kısa ve uzun zincirli yağ asitlerinin kombinasyonlarının kullanılması önerilmektedir (Ahmed vd., 2023; Seyfoddin vd., 2010).

Hidrofilik ve lipofilik tüm ilaçlar katı lipit nanopartikül sistemlerine yüklenebilir ancak hidrofilik ilaçlarda patlama etkisiyle dozun büyük bir kısmı kısa sürede salınabilir (Peng vd., 2022; Seyfoddin vd., 2010).

Katı lipit nanopartiküllerin düşük ilaç yükleme kapasitesi ve depolama sırasında matristen ilaç sızıntısı gibi sorunların giderilmesi için nano yapıli lipit taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Katı bir lipide sıvı lipidin eklenmesiyle meydana gelen nano yapıli lipit taşıyıcılarda ilaç, sıvı ve lipit karışımında çözünür veya eritilir ve yüzey etkin maddeden oluşan sulu fazda dağıtılır. Lipit yağ asidi zincirleri arasında daha büyük boşluklar bulunur ve düzensiz kristal yapısı sayesinde daha fazla miktarda ilaç taşınabilmektedir. Lipit çekirdek oküler biyoyararlanımı arttırmak için penetrasyon artırıcı bir yüzey etkin madde ile kaplıdır. Oküler yüzeyde kalış süresini ve gözyaşı lipit tabakasına yapışmasını artırarak biyoyararlanımı iyileştirilir (Peng vd., 2022; Polat, Kurt, vd., 2022).

Lipit bazlı taşıyıcılarda kullanılan maddeler biyolojik olarak parçalanır ve uyumlu olması gerekmektedir. Ancak bazı lipit bazlı taşıyıcıların güçlü inflamatuvar süreci

tetiklediğinden dolayı bozunma ürünlerinin de oküler doku için inflamatuvar veya toksik olmaması önemlidir (Tian vd., 2022).

### **2.6.3.3. Nanokristaller**

Nanokristaller polimer veya lipit matrisi gibi bir matris içermeyen ve yüzey etkin madde veya polimerlerle stabilizasyonu sağlanan nano boyutlu saf ilaç partikülleridir. Stabilizatörler kristallerin yüzeyini kaplayarak yapısal ve elektriksel stabilizasyonu sağlar ve topaklanmayı önler. Çözünürlüğü az olan maddelerin parçacık boyutunu küçültür ve çözünürlüğünü ve yüzey alanını arttırarak biyoyararlanımının iyileştirilmesini sağlar (Peters vd., 2020).

Nanokristaller polimerler, iyonik yüzey etkin maddeler veya non-iyonik yüzey etkin maddeler ile hazırlanabilir. Kullanılan maddenin özelliğine bağlı olarak yüzey özellikleri değiştirilebilmektedir (Sharma vd., 2016).

### **2.7. Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Polimerler**

Polimer çok sayıda tekrarlanan birimlerden oluşan makromoleküllerdir. Monomerler polimerizasyon işlemi ile lineer, dallanmış veya çapraz bağlı polimerler oluştururlar. Polimerin fizikokimyasal özellikleri polimerin yapısına, zincir uzunluğuna, monomerlerin polimer içinde dizilişine bağlıdır (Şenel, 2014).

Farmasötik teknolojide polimerlerin kullanılmasıyla yeni ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmektedir. Geleneksel sistemlere göre iyileştirilmiş biyoyararlanım, stabilite ve performans sağlamaktadır. Nanopartikül, mikroemülsiyon, nanoemülsiyon, lipozom, Niozom, kübozom ve nano yapıli lipit taşıyıcılar polimerler sayesinde geliştirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerdir (Jot vd., 2023).

İlaç taşıyıcı sistemlerde polimerler; ilacın çözünürlüğünü arttırma, stabilitesini iyileştirme ve kontrollü ilaç salımını sağlayabilme amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Gelişen polimer teknolojisiyle ilacın dokudan penetrasyonunu arttırmak ve hedeflenen dokuya ulaşmasını sağlamak için çeşitli sentez ve modifikasyonlar yapılabilmektedir (Şenel, 2014).

Oküler ilaç iletimindeki fiziksel ve kimyasal sorunları giderebilmek ve biyolojik engelleri aşabilmek için doğal, yarı sentetik ve sentetik polimerler kullanılmaktadır. Mukoadhezif polimerlerle ilacın oküler yüzeyde tutulumu ve korneadan absorpsiyonu arttırılabilir. Polimerde bulunan fonksiyonel grupların modifikasyonu ile taşıyıcı sistemin elektriksek yükü değiştirilerek göz yüzeyinde kalış süresi uzatılabileceği gibi kimyasal

yapısı da değiştirilerek ilacın hedef doku ve hücreye iletilmesi sağlanmaktadır (Brannon-Peppas & Peppas, 2014).

Oküler ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılacak polimerin seçimi çok önemlidir. Öncelikle ideal olarak biyolojik olarak parçalanması, parçalanma hızının patlama etkisi yaratmayacak kadar hızlı olmaması ve terapötik dozda istenilen sürede kontrollü salım sağlayabilecek kadar yavaş olması beklenmektedir. Bozunma ürünlerinin de nötr ve suda çözünebilir olması ve fizyolojik ortam özelliklerini değiştirmemesi istenir. Polimerin toksik ve reaktif olmaması gerekmektedir. İlaç yükleme kapasitesi yüksek olmalı ve mukoadezif özellik göstermelidir. Polimerizasyon sırasında agresif maddeler ve çözücüler kullanılmamalı, iritan veya toksik madde kalıntısı olmamalıdır. Ancak bu özelliklerin hepsine sahip bir polimer henüz keşfedilmemiştir. Bu nedenle mevcut polimerlerin modifikasyonu yapılmakta ve çeşitli kombinasyonları kullanılmaktadır (Jot vd., 2023).

Oküler ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan polimerler biyolojik olarak parçalanabilen ve parçalanamayanlar olarak iki grupta incelenebilir.

#### **2.7.1. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler**

Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler biyolojik ortamda çeşitli enzimlerle parçalanabilir veya hidrolize olarak kimyasal olarak bozunabilirler. Enzimatik, kimyasal veya mikrobiyolojik etkenlerden kaynaklı olabileceği gibi çeşitli faktörlerin etkisiyle de bozunma hızı değişmektedir. Polimerin kaynağına göre doğal veya sentetik polimerler biyoparçalanır özellik göstermektedir. Parçalanma sonrasında ortaya çıkacak ürünlerin toksik olmaması gerekmektedir (Şenel, 2014).

##### **2.7.1.1. Kitosan**

Kitosan kabuklu canlıların dış iskeletinde bulunan kitinin deasetilasyonu ve depolimerizasyonu ile elde edilen lineer bir polisakkarittir. Biyoyumlu, mukoadezif ve antibakteriyel özelliktedir. İmmünolojik yanıtı neden olmamakla birlikte toksik ve sitotoksik değildir (Rajoria & Gupta, 2012). Kitosan gözyaşında da bulunan lizozim enzimiyle parçalanabildiği için oftalmik preparatlarda asetillermiş kitosan kullanılmaktadır. Kitosan konsantrasyonu 2.00 mg/mL'nin üzerine çıktığında sitotoksik etki gösterdiği için formülasyonda kullanılacak miktar büyük önem arz etmektedir (Jot vd., 2023).

Kitosan bir amino grubu ile birincil ve ikincil hidroksi grubu olarak üç farklı reaktif fonksiyonel grup içermektedir. Amino grubu ile pozitif elektriksel özellik göstererek

negatif yüklü mukus tabakasıyla etkileşerek mukoadezif özellik gösterir. Ancak suda çözünürlüğü az olduğu için hidrofilik moleküllerle modifiye edilerek kullanılır (Bruschi vd., 2019).

#### **2.7.1.2. Hyaluronik asit**

Hyaluronik asit göz de dahil olmak üzere epitel ve bağ dokular ve eklem içi sıvılar gibi insan bedeninin çeşitli yerlerinde bulunan doğal bir polimerdir. Hücre hareketliliği ve çoğalması ile hücreler arası adezyonu düzenler. Negatif yüklü bir polimer olduğu için genellikle modifiye edilir veya diğer polimerlerle kombine halde kullanılır. Ayrıca kuru göz tedavisinde ve yapay gözyaşı preparatlarında etkin madde olarak kullanılmaktadır. Genellikle hidrojel formülasyonlarında kullanılsa da misel formülasyonlarında da lipofilik maddelerin penetrasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (Lynch vd., 2019).

#### **2.7.1.3. Aljinat**

Aljinat,  $\beta$ -D-mannuronik asit (M) ve  $\alpha$ -L-guluronik asit (G)'ten oluşan lineer hidrofobik ve anyonik bir polisakkarittir. Kalsiyum iyonları ile G yapısının seçimli etkileşimi sayesinde üç boyutlu jelleşme sağlamaktadır. Aljinat polimerinin içeriğindeki G yapısının oranı yüksekse (>%65) hızlı jelleşme ve uzun süreli ilaç salımı sağlanabilmektedir. Jelleşme potansiyelinin yüksek olmasından dolayı formülasyonda genellikle viskozite ayarlayıcı olarak kullanılmaktadır (Agrawal vd., 2012).

Aljinat enzimatik bozunmadan korunması ve elektriksel yüzey yükünün değiştirilmesi için kitosan, Eudrogit E100, PLGA gibi polimerlerle modifiye edilerek kullanılabilir (Lynch vd., 2019).

#### **2.7.1.4. Siklodekstrin**

Siklodekstrin hidrofilik bir dış yüzey ve merkezinde lipofilik bir boşluk bulunan homolog sikliklerden oluşan bir oligosakkarittir. Oluşturulmalarındaki ilk amaç inklüzyon kompleksleri oluşturarak lipofilik ilaçların çözünürlüğü arttırmaktı. Siklodekstrin kompleksleri ayrıca ilacın ıslanabilirliği, çözünmesi ve çözünürlüğünü iyileştirir ve formülasyonun stabilitesini sağlamaktadır. Yapı olarak biyolojik zarlardan geçemeyecek kadar büyük ve hidrofilik olduğu varsayılır. Kornea yüzeyinde ilaç konsantrasyonunu arttırarak penetrasyon arttırıcı bir rol oynar. Oküler toksisite gösterebileceği için kornea duyarlılık çalışmalarının yapılması tavsiye edilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda incelenen siklodekstrin türevleri arasında hidroksi-propil- $\beta$ -siklodekstrin (HP- $\beta$ -CD) toksisite açısından en uygundur (Rupenthal & Alany, 2008).

#### **2.7.1.5. Polilaktik-ko-glikolik (PLGA)**

Polilaktik-ko-glikolik (PLGA) poliglikolik asit ve polilaktik asitten oluşan bir kopolimerdir. Biyouyumlu ve biyoparçalanır olduğu için kemik plaka ve vidalarında, cerrahi suturelarda, yapay doku mühendisliği yapı iskeletlerinde ve birçok ilaç dağıtım sisteminde kullanılmaktadır. İmmünolojik yanıtı veya iritasyona neden olmazlar. PLGA hidrofilik yapısı sayesinde hidrolize uğrar. Ortaya çıkan bozunma ürünleri glikolik asit ve laktik asit de biyolojik olarak parçalanabilir, düşük sistemik toksisite gösterebilirler. PLGA'nın molekül ağırlığı veya poliglikolik asit ve polilaktik asit oranı değiştirilerek istenilen mekanik özellikler elde edilebilir. Yüzey modifikasyonu ile hücre veya doku hedeflemesi yapılabilir. Ayrıca kontrollü ilaç salınımını sağlar. En büyük dezavantajı düşük mukoadesif özellikte olmasıdır, çeşitli polimerlerle kombine halde kullanılarak bu sorun çözülebilmektedir (Jot vd., 2023).

#### **2.7.2. Biyolojik olarak parçalanamayan polimerler**

##### **2.7.2.1. Selüloz türevleri**

Selüloz suda çözünmeyen bir polisakkarittir. Selülozun alkilasyonu sonucu oluşan metil selüloz (MC) ve hidroksi propil metil selüloz (HPMC) oluşur. Düşük konsantrasyonda jelleşme özelliği gösterebilirler de faz geçiş sıcaklığı sırasıyla 45 °C-50 °C ve 75 °C-90 °C olduğundan dolayı oküler sistemler için uygun değildir. Çeşitli tuz çözeltilerinin eklenmesiyle bu sıcaklık vücut sıcaklığının altına indirilebilse de formülasyonun ozmolaritesini değiştireceği için oküler dokulara zarar verirler. Viskozite artırıcı olarak polimer kombinasyonlarına eklenebilirler (Agrawal vd., 2012).

Etil selüloz, anhidroglikozlardaki bazı hidroksi gruplarının etil eter gruplarına dönüştürülerek elde edilen yarı sentetik bir polimerdir. Hidrofilik ve biyouyumludur. Kaplama ve nano/mikro kapsülleme için kullanılmaktadır (Bruschi vd., 2019). Hidrojel, minitabiet, insert ve kontakt lens formülasyonlarında genellikle ilaç salım modelini değiştirmek için kullanılır. Ancak yine de biyoparçalanır olmadığından dolayı iritasyona sebep olabileceğinden oküler ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılması tercih edilmemektedir (Jot vd., 2023).

##### **2.7.2.2. Polietilen glikol (PEG)**

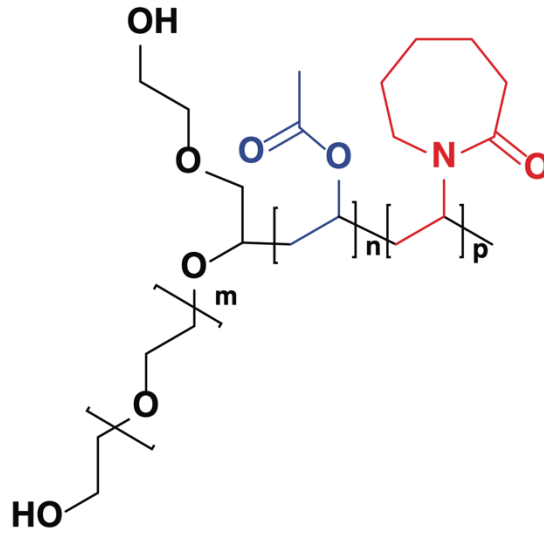
Etilen oksit ile hem lineer hem de dallanmış zincirler halinde sentezlenebilir. Hidrofilik, nötr, mukoadesif ve biyouyumlu olmasından dolayı en sık kullanılan polimerler arasındadır (Kalita vd., 2021).

Piyasada pek çok PEG türevi polimer bulunmaktadır. PEG 400 şeffaf, inert, suda çözünebilir ve ideal molekül ağırlığı sayesinde oküler formülasyonlarda kullanılmaktadır. En yaygın kullanım amacı göz kuruluğunu gidermek, gözdeki mukusu arttırarak gözün nemlenmesini ve yağlanmasını sağlamaktır (Jot vd., 2023).

### 2.7.3. Çalışmamızda kullanılan polimerler ile ilgili genel bilgiler

#### 2.7.3.1. Soluplus®

Soluplus® (SOL) poli(N-vinil kaprolaktam)–poli(vinil asetat)–poli(etilen glikol)’den oluşan bir polimerdir. Sudaki çözünürlüğü az olan ilaçların çözünürlüğünü arttırmak için kullanılmaktadır. Ayrıca katı dispersiyonların üretimi için bir matris oluşturmak için de kullanılmaktadır (Salah vd., 2019).



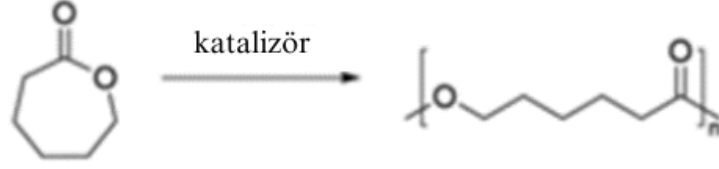
Şekil 2.7. Soluplus®'in kimyasal yapısı (Salah vd., 2019)

#### 2.7.3.2. Poli (ε -kaprolakton)

PCL hidrofobik, biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen ve toksik olmayan bir polimerdir. Yarı kristal yapısı sayesinde diğer poliesterlere (örn. PLGA, PLA) göre daha yavaş bozunur ve ilacın daha uzun sürede salınmasını sağlar (Bossy vd., 2008).

PCL'nin ester bağlarının hidroliziyle parçalanması aylardan yıllara kadar geniş uzun bir zaman aralığında gerçekleşir. Bu nedenle implant, insert, oküler patch, lens gibi uzun süre salım yapan formülasyonlarda kullanılmaktadır. Ancak henüz uzun süreli biyoyumluluk araştırmaları yapılmamıştır. Negatif yüklü bir polimer olduğu için

mukoadezyon özelliğini arttırmak için yüzey fonksiyonel grupları pozitif yüklenebilir veya kitosan gibi bir polimerle kombine halde kullanılabilir (Jot vd., 2023).

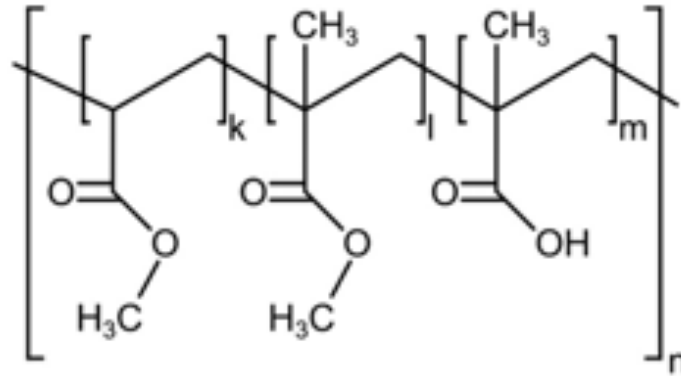


**Şekil 2.8.** Polikaprolaktonun kimyasal yapısı (Al-awwadi, 2017)

### 2.7.3.3. Eudragit® FS100

Eudragit, değişen oranlarda metakrilik asit ve metakrilik veya akrilik esterler veya bunların türevlerine dayalı sentetik anyonik, katyonik ve nötr kopolimerlerin ticari markasıdır. Biyolojik olarak parçalanmamasına rağmen toksik olmayan bir polimerdir (Bruschi vd., 2019).

Eudragit® FS metil akrilat-metil metakrilat-metakrilik asit terpolimeridir. %30 sulu çözeltisi Eudragit® FS 30D ismiyle piyasada bulunur. Katı granül formu EFS100 olarak bulunmaktadır. Çözünürlüğü az olan maddelerin çözünürlüğünü arttırmak için tasarlanmıştır (Balogh vd., 2017).



**Şekil 2.9.** Eudragit® FS'nin kimyasal yapısı (Balogh vd., 2017)

## **2.8. Polimerik Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri**

### **2.8.1. Nanoçöktürme yöntemi**

Nanoçöktürme yöntemi, polimer ve ilacın çözünebildiği bir çözücü ve bu çözücü ile karışabilen ancak polimer ve ilacın çözünemediği bir çözücünün karıştırılması esasına dayanır. İki çözelti temas ettiğinde polimer-ilac çözeltisi diğer çözücü içerisine pasif difüzyonla geçmesiyle eşzamanlı olarak polimer ilacı kapsülleyerek çöker (Bruschi vd., 2019).

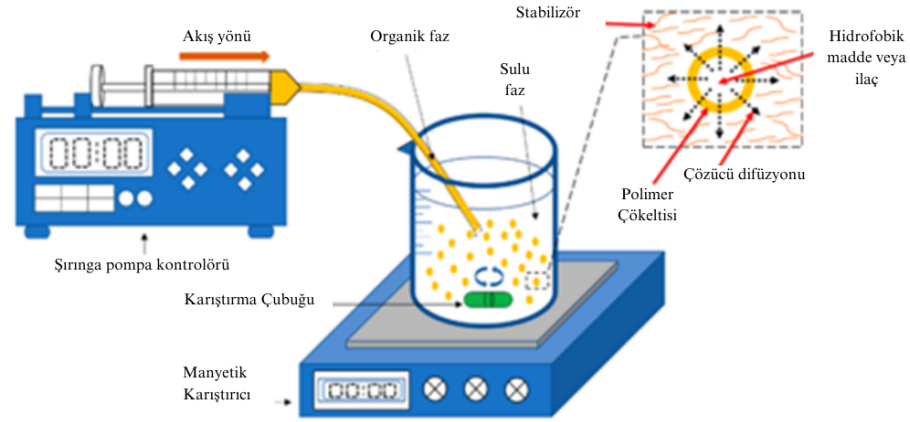
Nanoçöktürme aynı zamanda çözücü yer değiştirme yöntemi olarak da bilinmektedir. Polimer çözücü olarak suyla karışabilen ve buharlaştırılacak uzaklaştırılması kolay olan aseton, etanol, metanol gibi organik bir çözücü seçilir. En sık kullanılan çözücü asetondur. Bazen ikili çözücü karışımları kullanılması gerekebilir; aseton ve az miktarda su veya aseton ve metanol veya aseton ve etanol karışımları kullanılabilir. Polimerin çözünmediği çözücü faza yüzey etkin madde eklenebilir. Yüzey etkin madde eklenmesi nanopartiküllerin uzun süre topaklanmadan depolanmasını sağlar (Rao & Geckeler, 2011).

Sulu çözelti karıştırılırken organik çözelti damla damla ilave edilmesiyle nanopartiküller oluşur. Ultrasantrifüjleme ile nanopartiküller toplanır ve yüzey etkin madde kalıntıları suyla uzaklaştırılır. Organik çözücü buharlaştırılarak filtreleme, döndürme veya dondurarak kurulum ile elde edilen nanopartiküller sertleştirilir (Pulingam vd., 2022).

Organik ve sulu çözücü faz arasındaki yüzey gerilim farkı sistemde ara yüzey türbülansına ve termal dengesizliklere yol açar. Bu da iki sıvı fazın ara yüzeyinde sürekli çözücü girdapları oluşmasına neden olur. Çözücü düşük yüzey gerilimine sahip bölgeden kaçarken polimer hidrofobik ilac yüzeyinde toplanarak nanopartikül oluşturur (Pulingam vd., 2022).

Polimerik nanopartikülün fizikokimyasal özellikleri; organik fazın eklenme hızı, sulu fazın çalkanama hızı, organik ve sulu fazın oranı ve organik fazın eklenme yöntemi gibi organik çözeltinin sulu çözeltiye ekleme koşulları ile doğrudan ilişkilidir (Rao & Geckeler, 2011).

Nanoçöktürme basit, kolay, hızlı, ucuz ve tekrarlanabilir tek adımlı bir metottur. Nanopartiküllerin oluşabileceği uygun polimer, organik çözücü ve sulu çözücünün doğru seçilmesi gerekmektedir. Ayrıca hidrofilik ilaçlar sulu çözücü fazında çözüleceği için hidrofilik ilaçlar için uygun bir yöntem değildir (Nasir vd., 2015).

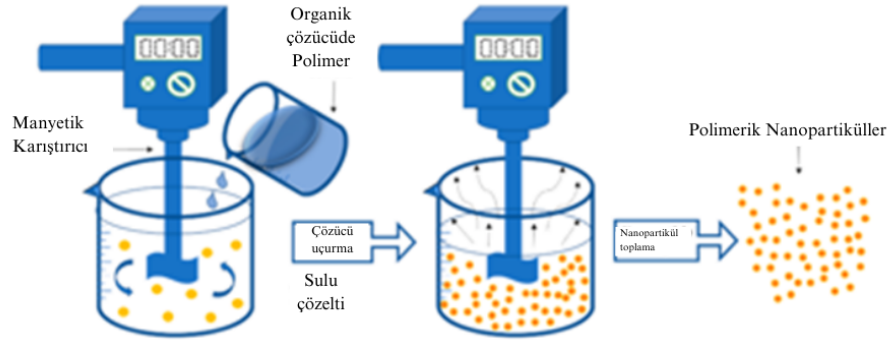


*Şekil 2.10. Nanoçöktürme yöntemi (Pulingam vd., 2022)*

### 2.8.2. Emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi

Polimerik nanopartikül üretimi için geliştirilen ilk ve en yaygın kullanılan iki basamaktan oluşan yöntemdir. İlk olarak polimer çözeltisi ile sulu fazdan oluşan bir emülsiyon hazırlanır ve çözücü buharlaştırılırken polimer çökerek nanopartikülleri oluşturur. Emülsiyon yağ/su tipi veya su/yağ/su tipi çoklu emülsiyon olarak hazırlanır. Çoklu emülsiyonlarda öncelikle polimerin çözüldüğü ama suyla karışmayan organik çözücü içerisinde sulu faz dağıtılır. Daha sonra yüksek parçalayıcı homojenizatör kullanılarak birincil emülsiyon yüzey etkin madde içeren dış sulu faz ile karıştırılarak homojen hale getirilir. Böylece çoklu emülsiyon sistemi hazırlanmış olur. Ultrasantrifügasyon ile nanopartiküller oluşturulurken çözücü buharlaştırılır. Oluşan nanopartiküller suyla yıkandıktan sonra liyofilize edilerek yüzey etkin madde kalıntıları uzaklaştırılır (Pulingam vd., 2022).

Nanopartikül boyutu karıştırılan fazların viskozitesi, yüzey etkin madde konsantrasyonu ve türü, karıştırma hızı ve çözücü buharlaştırma yöntemine bağlı olarak değişmekte ve ayarlanabilmektedir (Rao & Geckeler, 2011).

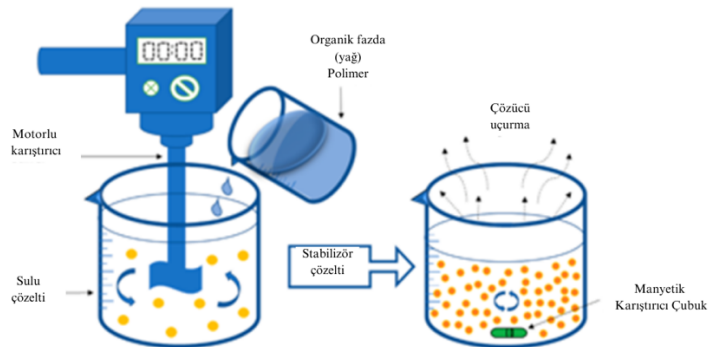


**Şekil 2.11.** Emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi (Pulingam vd., 2022)

### 2.8.3. Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi

Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi emülsifikasyon ve difüzyon işleminden oluşan iki basamaklı bir yöntemdir. Polimer suya doymun bir organik çözücünde çözülerek sulu faza eklenir ve emülsiyon oluşturulur. Daha sonra fazla miktarda sulu faz eklenerek çözücünün sulu faza difüze olması sağlanır. Çözücünün difüzyonu dış fazdaki molekülleri alır ve polimer zincir kümelerinin ya da küreciklerinin oluşturduğu aşırı doymun bölgeler oluşur. Son olarak çözücü damıtma veya çapraz akış filtrasyonu ile elimine edilir (Nasir vd., 2015; Pulingam vd., 2022).

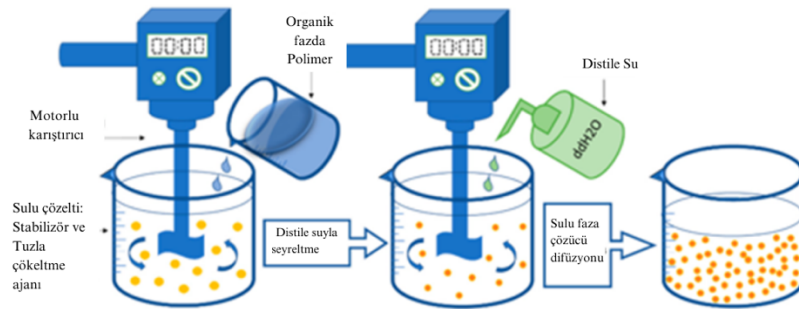
Parçacık boyutu organik çözücünün suya doymunluğuna ve polimer konsantrasyonuna bağlıdır. Homojenizatör kullanılmasına gerek olmaması, tekrarlanabilmesi ve kolaylıkla ölçek büyütülmesinden dolayı sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak nanopartiküllerin elde edilebilmesi için çok miktarda su kullanılması gerekmektedir (Pulingam vd., 2022).



**Şekil 2.12.** Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi (Pulingam vd., 2022)

#### 2.8.4. Tuzla çöktürme yöntemi

Tuzla çöktürme yöntemi emülsiyon çözücü difüzyon tekniğinin değiştirilmiş bir yolu olarak kabul edilir. Ancak yüksek enerji, yüksek basınç ve toksik çözücüler gerekmemektedir. Tuz, stabilizör ve viskozite arttırıcı madde içeren sulu faz polimer çözeltisine eklenerek emülsiyon oluşturulur. Stabilizör olarak genellikle polivinil alkol kullanılır. Tuz olarak sakaroz gibi elektrolit olmayan maddeler ve kalsiyum klorür, magnezyum asetat, magnezyum klorür ve kalsiyum klorür gibi elektrolitler de kullanılmaktadır. Hazırlanan emülsiyon sabit hızda karıştırılırken fazla miktarda su eklenerek ters tuzlama etkisi başlatılır. Böylece suyla karışabilen organik çözücü sulu faza difüze olur ve PNP oluşturulur. Oluşturulan nanopartiküller santrifüjleme ile ayrılır. Partikül boyutu tuz tipi ve konsantrasyonu, polimer tipi ve çözücü bileşenlerine bağlıdır. Sıcaklığa bağlı bir işlem olmadığı için sıcaklığa duyarlı maddeler için uygun bir yöntemdir. Ancak bu yöntemde de oluşan PNP fazla miktarda su ile kapsamlı şekilde yıkanmak zorundadır (Nasir vd., 2015; Zhuang vd., 2017).

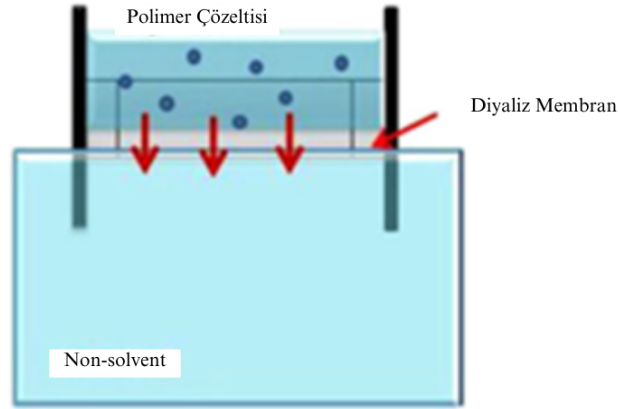


**Şekil 2.13.** Tuzla çöktürme yöntemi (Pulingam vd., 2022)

#### 2.8.5. Diyaliz yöntemi

Diyaliz küçük ve dar dağılımlı boyuttaki PNP'lerin hazırlanması için yüzey etkin madde kullanılması gerekmeyen basit ve etkili bir yöntemdir. Polimer organik bir çözücüde çözülerek molekül ağırlığına uygun membran özelliklerine sahip diyaliz tüpüne yerleştirilir. Polimerin çözünmediği ve organik çözücü ile karışabilen bir çözücü içerisine diyaliz tüpü yerleştirilir. Tüp içindeki organik çözücü diyaliz zarından geçerek tüp içindeki nanopartiküllerin çözünürlüğünün azalması ile homojen nanopartikül

süspansiyonları oluşur. Oluşan nanopartiküllerin morfolojisi ve boyutu polimerin çözündüğü çözücünden etkilenmektedir (Nasir vd., 2015; Rao & Geckeler, 2011).



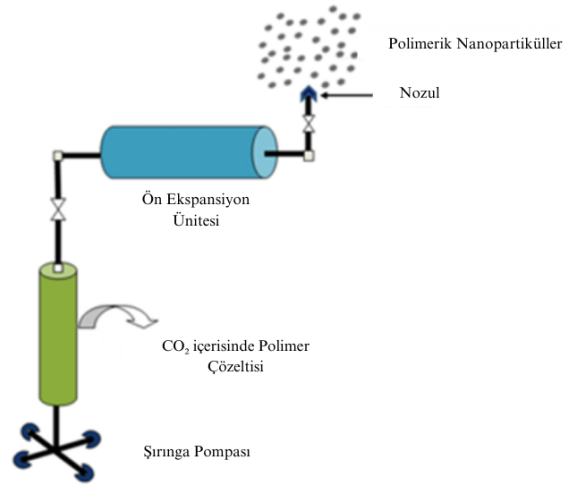
Şekil 2.14. Diyaliz yöntemi (Nasir vd., 2015)

#### 2.8.6. Süperkritik sıvı teknolojisi

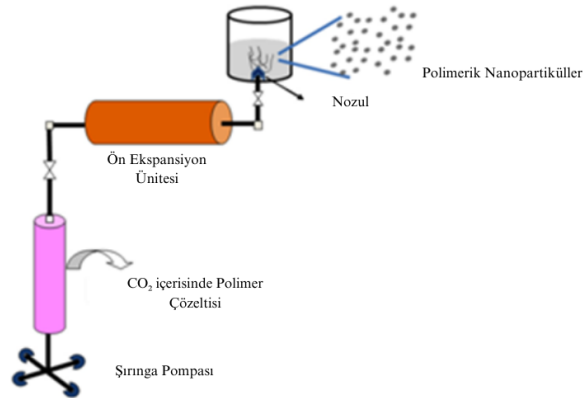
Süperkritik sıvı teknolojisi ile yüzey etkin madde veya herhangi bir yardımcı maddeye ihtiyaç duyulmadan polimerik nanopartikül üretilmektedir. Polimer ortam koşulları altında süperkritik akışkan içinde çözündürülür. Daha sonra çözelti ön genleşme basıncı altında ön genleşme sıcaklığına izobarik olarak ısıtıldığı bir şırınga pompası ile ön genleşme tankına gönderilir (Nasir vd., 2015).

Ön genleşme tankın ortamı gaz veya sulu bir ortam olabilir. Polimer çözeltisi, nozuldan ortam havasına geçerken hızlı bir genleşme meydana gelir, genleşmedeki hızlı basınç düşüşü ile aşırı doymuş çözelti oluşur ve homojen çekirdekli ve iyi dağılmış partiküller oluşmuş olur. Bu yöntem ile hem nano hem de mikro boyutlu partiküller elde edilebilir. Alternatif olarak süperkritik akışkanın geçtiği nozul sıvı çözelti içine açılarak genleşmenin sıvı ortamda olması sağlanır. Sıvı ortam polimerin büyümesini engelleyerek nano boyutlu partiküller oluşturur (Nasir vd., 2015; Rao & Geckeler, 2011).

Su, amonyak, karbon monoksit, n-pentan gibi çeşitli süperkritik sıvılar olmasına rağmen bu çözücülerde polimerlerin az çözünmesi ve hatta çözünmemesi en büyük sorundur (Rao & Geckeler, 2011).



**Şekil 2.15.** Süperkritik akışkan çözeltisinin hızlı ekspansiyonu (Rao & Geckeler, 2011)



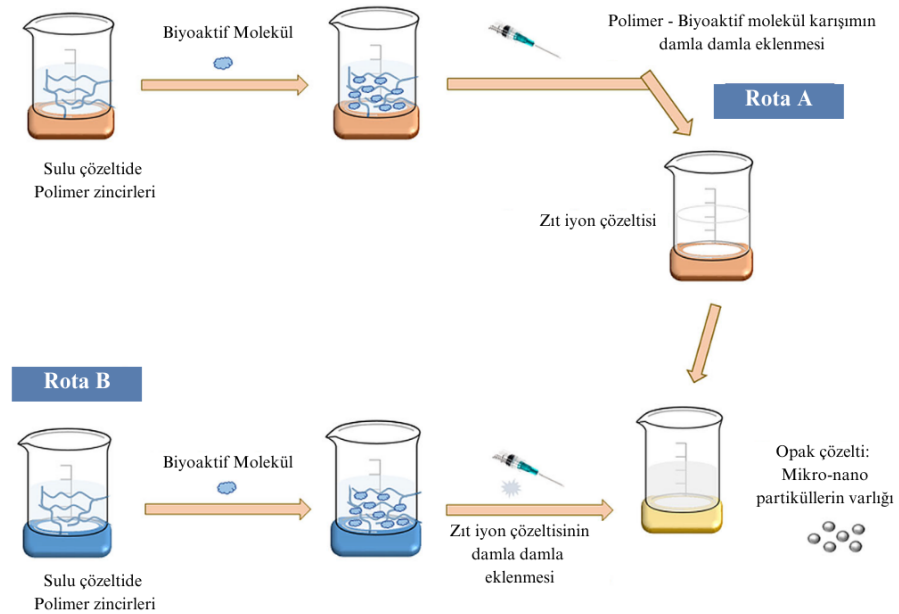
**Şekil 2.16.** Süperkritik akışkan çözeltisinin sıvı çözücü içine hızlı ekspansiyonu (Rao & Geckeler, 2011)

### 2.8.7. İyonik jelasyon yöntemi

İyonik jelleşme yöntemi hidrokolloid bir polimerin iki değerlikli metal iyonlarının varlığında jelleşmesiyle partiküllerin oluşturulmasıdır. Jelleşmenin önemli bir adımı duvar maddesi ile çekirdek maddesinin birlikte karıştırılmasıdır. Örneğin aljinat solüsyonu ile su içinde yağ emülsiyonu karıştırılır ve karışım kalsiyum iyonları içeren bir çözeltiye damla damla eklenir. Aljinat ile kalsiyum iyonları arasındaki etkileşim ile jelleşme meydana gelir. Sertleştirilmiş kapsüller toplanır ve kurutulur (Anal & Tuladhar, 2013).

PNP iyonik jelleşme yöntemi ile iki farklı yolla oluşturulabilir. Polimerik çözelti ilaç etkin maddesi ile karıştırılıp sonrasında şırınga pompası kullanılarak iyon çözeltisine eklenerek partiküller elde edilir. Alternatif olarak polimerik çözelti ilaç etkin maddesi ile karıştırılır, daha sonra karışıma damla damla iyon çözeltisi eklenerek partiküller oluşturulur (Pedroso-Santana & Fleitas-Salazar, 2020).

Jelleşme polimer yüzeyine kalsiyum, sodyum gibi iyonların eklenmesiyle moleküllerin elektrostatik yükü korunarak birbirlerine yakın hareket etmesi sağlanır. Elektrostatik itme kuvveti olmadığı için polimerler kümeleşerek jelleşme sağlanır. Neredeyse %100 verim sağlayan bu yöntem sulu çözeltilerle oda sıcaklığında yapılabildiği için ısıya duyarlı polimerler için uygun bir metottur. Polimerin yüzey yapısı ve elektriksel yükü modifiye edildiğinden kontrollü ilaç salımı ve hedefleme imkânı sağlamaktadır. Pahalı ekipman veya reaktiflere ihtiyaç duyulmayan hızlı ve ucuz bir yol olarak biyouyumlu polimerlerin mukoadeziv özelliklerinin iyileştirilmesinde kullanılmaktadır. Ancak bu yöntem için geniş kapsamlı çalışmalar yapılmamıştır. Polidispersite indeksi 0,1'den 0,5'e kadar ulaşabilmektedir. Partikül boyutundaki heterojenite sadece yüklenen ilaç miktarını değil biyolojik yapılarla etkileşimi de etkileyerek biyoyararlanımı etkilemektedir (Anal & Tuladhar, 2013; Pedroso-Santana & Fleitas-Salazar, 2020).



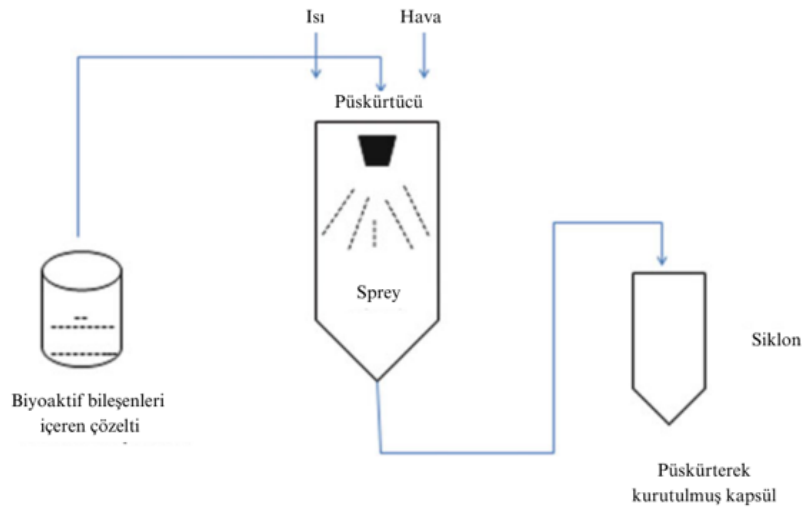
**Şekil 2.17. İyonik jelasyon yöntemi** (Pedroso-Santana & Fleitas-Salazar, 2020)

### 2.8.8. Püskürterek kurutma yöntemi

Püskürterek kurutma tekniği ile sıvılar sürekli işlem altında katı kurutulmuş partiküllere dönüşürler. Prosedürün temel basamakları dispersiyonun hazırlanması ve homojenleştirilmesi, dispersiyonun atomizasyonunu ve atomize parçacıkların dehidrasyonu ile partiküller elde edilmesidir. İlaç etkin maddesi ve yardımcı maddeler organik veya sulu polimer çözeltisi içerisinde çözünmüş veya dağılmış halde olabilirler. Hazırlanan bu çözeltinin homojenliği sağlandıktan sonra sıcak hazneye püskürtülür. Atomize parçacıkların üzerindeki çözücü sıcaklıkla buharlaşır ve kuruyan partiküller bir siklonda toplanır (Anal & Tuladhar, 2013).

Püskürterek kurutma yönteminde hem hidrofilik hem de hidrofobik polimerler kullanılabilir. Ayrıca ısıya duyarlı maddeler kullanılırken çözücünün hızlı buharlaşmasından dolayı damlacık sıcaklığı, sıcak hava sıcaklığından düşük olmalıdır (Bruschi vd., 2019). Elde edilen tüm polimerik partiküllerin son sıcaklığı ve depolama sıcaklığı polimerin camsı geçiş sıcaklığından düşük olmalıdır, aksi halde partiküllerin dispersiyonu sırasında agregatların çözünmesi büyük sorun olabilir (Vauthier & Bouchemal, 2009).

Tek adımlı ve basit bir yöntem olması, kolayca ölçek büyütülebilmesi ve organik çözücüye ihtiyaç duyulmadığı için tercih edilebilir. Ancak üretim tekniğinin değişken verimi, partiküllerin cidarlara yapışması, topaklanması, yüksek nem içeriği ve geniş partikül boyu dağılımı gibi dezavantajları vardır (Bruschi vd., 2019).



**Şekil 2.18.** Püskürterek kurutma yöntemi (Anal & Tuladhar, 2013)

## **2.9. Polimerik Nanopartiküllerin Karakterizasyonu**

### **2.9.1. Başlangıç maddeleri karakterizasyonu**

PNP'lerin karakterizasyonu için öncelikle başlangıç polimerlerinin analizleri yapılmalıdır. Polimer laboratuvarında sentezlenmiş veya satın almış olsa da çalışmaya başlamadan önce molekül ağırlığı, molekül ağırlığı dağılımı, polidispersitesi ve safsızlığı net olarak bilinmelidir (Clogston, vd., 2017).

Partikül ağırlığı ve dağılımı jel geçirgenlik kromatografisi (GPC), çok açılı lazer ışık saçılması (MALLS) ve seyreltik çözelti viskozimetresi gibi analitik tekniklerle ölçülmektedir. Polimer bileşiği ve özellikle uç fonksiyonel grupları nükleer manyetik rezonans (NMR) ve fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ile belirlenebilir. Safsızlıklar endüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) ve GPC ile tespit edilmektedir (Clogston, vd., 2017).

Polimerin erime sıcaklığı, termal kararlılığı ve camsı geçiş sıcaklığı termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) ile ölçülmektedir. Polimerlerin tüm bu özelliklerinin ölçülmesi ve değerlendirmesi pratik olmasa da polimerin değişen reaksiyon ve fabrikasyon şartlarına karşı duyarlılığının öngörülebilmesi açısından önemlidir. En azından molekül ağırlığı, polidispersite ve safsızlık validasyonları yapılmalıdır (Clogston, vd., 2017).

Analiz teknikleri tek başına veya birlikte kullanılabilir. Her yöntemin kendine özel çalışma prensibi ve hassasiyetleri vardır. Polimer türü ve üretim yöntemine uygun analiz yöntemi seçilerek daha keskin sonuçlar elde edilmektedir. Polimerdeki herhangi bir safsızlık, polimerin kullanıldığı formülasyonun son ürününde de görülebilir ve beklenmeyen yan etkilere neden olabilir. Polimer molekül ağırlığındaki sapma nanopartikül boyutunu ve ilaç yükleme kapasitesinin değişmesine yol açmaktadır. Polimerin standardizasyonu sayesinde üretilen partiler arasında herhangi bir fark oluşmamaktadır (Clogston, vd., 2017).

### **2.9.2 Partikül boyutu**

Nanopartikül karakterizasyonunun en önemli ölçülerinden biri partikül boyutudur. Partikül boyutu ilaç yükleme miktarı ve salım hızını etkilemektedir. Küçük partiküllerin geniş yüzey alanından dolayı hızlı ilaç salımı olurken büyük partiküllerden ilaç salımı daha yavaş olmaktadır. Nanopartikül dispersiyonlarının depolanma ve taşınması sırasında küçük partiküllerin agregat oluşturma eğilimi daha fazladır. Bu da partikül boyutu ile stabilite arasında ilişki kurmamızı sağlar (Pal vd., 2011).

Partikül boyutunu ölçmek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Taramalı elektron mikroskopu (SEM) elektron demetinin numune ile etkileşime girerek atomik bileşimi ve yüzey morfolojisini yansıtan sinyaller üreten bir yüzey görüntüleme tekniğidir. Ancak birçok polimerik nanopartikül elektronları yeterince saptıramadığından dolayı görülemezler. Bunun için düşük voltajlı SEM, alan salım tabancası (FEG) ile kullanılarak (FEG-SEM) yüksek enerjili elektronlar kullanılabilir. Partikül boyutu, partikül boyutu dağılımı ve morfolojisi doğrudan yüksek çözünürlüklü SEM ile görüntülenebilir. Safsızlık ve agregasyon da SEM’de görülebilmesine rağmen numunenin heterojenliğine bağlı olarak yanlış sonuçlara neden olabilir (Crucho & Barros, 2017). Maliyetli ve uzun süren bir yöntem olmasının yanında genellikle partikül boyutu dağılımı için ekstra bir analize daha gerek duyulmaktadır. Ayrıca SEM görüntülemesi için hazırlanan numune kullanılmaz hale gelir (Pal vd., 2011).

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM), taramalı kuvvet mikroskobu (SPM) olarak da bilinir. Yüzey morfolojisini nanometre çözünürlüğünde incelenmesini sağlamakla kalmaz hassas kuvvetlerin de ölçülmesinde kullanılır. Böylece birçok biyolojik sürecin moleküler ölçekte incelemesi ve kolloidal etkileşimler üzerindeki kuvvetler ölçülebilmektedir. Özel bir numune hazırlama işlemi gerektirmez. Ancak AFM’nin manivela ve ucu genellikle incelenen partikülden büyük olması, nanopartikülün yatay boyutunun daha büyük ölçülmesine sebep olmaktadır (Crucho & Barros, 2017).

Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) nanometre altı çözünürlüğü sayesinde nanopartiküllerin iç yapısı hakkında bilgi verir ve polimerik duvarının ölçülmesini sağlar (Crucho & Barros, 2017). Yüksek uzamsal çözünürlüğü sayesinde tek partikül seviyesinde boyut, şekil ve kristal yapı incelenebilmektedir. Numune hazırlama, analiz ve ölçümlerin değerlendirilmesi için büyük bir bilgi birikimi ve işgücüne ihtiyaç duyulur (Modena vd., 2019). Nanopartiküller elektron geçirgen ve 100 nm’den küçük boyutta olmalı, analizde kullanılan yüksek vakum ve elektron ışınlarına dayanabilmelidir. Organik, polimer ve hibrit nanopartiküller için sınırlayıcı bir sebeptir (Crucho & Barros, 2017; Modena vd., 2019).

Polimerik nanopartikül boyutunun ölçülmesinde foton korelasyon spektroskopisi (PCS) olarak da bilinen dinamik ışık saçılımı (DLS) yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Parçacık boyutu tahmini, asılı parçacıkların serbest difüzyon katsayısının belirlenmesine dayanır. Monokromatik lazer ışını kolloidal süspansiyondan geçerek foton detektörüne saçılır. Partiküllerin Brown hareketi saçılan ışığın yoğunluğunda zamana

bağlı dalgalanmalara neden olur. Bu dalgalanma otokorelasyon fonksiyonu yardımıyla parçacık boyutuyla ilişkilendirilir. Stokes–Einstein denkleminde dayanarak hidrodinamik çap elde edilebilir (Crucho & Barros, 2017; Modena vd., 2019).

DLS hızlı bir yöntemdir ve kısa sürede numunedeki tüm parçacıklar hakkında bilgi verir. Işık saçılma yoğunluğu partikül boyutuna bağlı olduğu için, boyut tahmini numunede en çok bulunan boyuta eğilimlidir. Bu nedenle polidispersitesi yüksek numuneler için önce boyut ayrıştırılması önerilmektedir. Ayrıca DLS cihazı yalnızca küresel parçacıklar için geçerli bir model kullanarak difüzyon sabitini hesapladığı için küresel nanopartiküller için doğru sonuç verir (Clogston, vd., 2017; Crucho & Barros, 2017; Modena vd., 2019).

### **2.9.3. Yüzey özellikleri**

PNP’lerin yüzey özellikleri ilacın biyoyararlanımı ve toksisitesini etkilediğinden dolayı istenilen etki ve güvenliğin sağlanabilmesi için karakterizasyonu yapılmalıdır. Yüzey özellikleri zeta potansiyeli, hidrofilik karakter ve hedefleyici ligandlarla tanımlanmaktadır (Clogston, vd., 2017).

Zeta potansiyeli partikülleri çevreleyen durağan yük tabakası ile çözelti potansiyeli arasındaki elektriksel potansiyeli farkı olarak tanımlanmaktadır. Zeta potansiyeli yüzey yükünün direkt ölçüldüğü bir yöntem değildir ancak gerçek yüzey yükünün bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. İletkenlik, pH, sıcaklık ve çözücü gibi parametrelere göre ölçüm sonucu değişebildiği için tutarlı bir sonuç için analiz şartlarının sabit kalması büyük önem arz eder (Clogston, vd., 2017; Modena vd., 2019).

Zeta potansiyeli çözeltide asılı kalan partiküllerin elektroforetik hareketliliğini değerlendiren lazer doppler elektroforezi (LDE) ile ölçülmektedir. Parçacıklar arasındaki elektrostatik itme kuvvetinin artmasıyla kolloidal çözeltinin kararlılığı artmaktadır, itme kuvveti azalan parçacıkların topaklanma eğilimi artarak kararlılığı azaltmaktadır (Lu vd., 2011; Modena vd., 2019).

Yüzey hidrofobikliği, hidrofobik etkileşim kromatografisi (HIC), X–ışını foton korelasyon spektroskopisi, temas açısı ölçümleri gibi çeşitli tekniklerle belirlenebilir. Zeta potansiyelinin değeri de hidrofobikliği hakkında fikir verebilir (Pal vd., 2011).

Gözenekli yapı nanopartikülün yüzey alanı/hacim oranının aynı boyuttaki katı nanopartikülünkine kıyasla birkaç kat arttırmaktadır. Poröz yapının iç yüzeyi konuk-konak etkileşimi, dış yüzeyi ise hedefleme ve hedeflenen bölgedeki ilaç salımın kontrolünü sağlamak için modifiye edilmektedir. Gözenek açıklığı boyutu, gözenek

boşluğunun boyutu ve hacmi, gözeneklerin birbiri ile bağlantısı, özgül yüzey alanı ve yüzey/hacim oranı poröz nanopartiküllerin karakteristik özellikleridir. Bu özellikler kristal ve kristal olmayan kuru nanopartiküllerde gaz soğurma yöntemi ile ölçülebilmektedir. Partikülün çözelti içindeki yapısı ve davranışı hakkında bilgi vermemektedir (Modena vd., 2019; Zielinska vd., 2020).

#### **2.9.4. Etkin madde yükleme kapasitesi ve salımı**

PNP'lere ilaç yüklemesi iki farklı yolla yapılmaktadır: İlacın polimer tarafından aralarında bir bağ oluşturmadan kapsüllenmesi ve ilacın bozulabilir bağlarla polimer zincirine bağlanması. Toplam ilaç miktarı ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile ölçülmektedir. Nanopartiküller uygun RP-HPLC şartları altında parçalanır ve ilaç polimer bileşenlerden ayrılır. Spektral özelliklerine bağlı olarak uygun bir dedektörle tespit edilir. Genellikle ultraviyole-görünür (UV-Vis) veya floresan dedektörler kullanılmaktadır. Yalnız floresan son formülasyonun bir parçası değilse kullanılması önerilmemektedir. Hassasiyeti arttırmak için kütle spektrometrisi (MS), evaporatif ışık saçılım dedektörü (ELSD) ve yüklü aerosol dedektör (CAD) kullanılabilir (Clogston, vd., 2017; Zielinska vd., 2020).

PNP'lerden ilaç salımı yüzeye bağlı veya absorbe edilmiş ilacın salınması, nanopartikülden difüzyonu veya nanopartikül erozyonu ile olmaktadır. İlaç salım analizleri optimal fizyolojik koşullarına benzer ortam, pH, sıcaklık ve hacimde yapılmalıdır. Kapsüllenmiş ilaçlar için ekilibrum diyalizi, ultrasantrifüjleme, ultrafiltrasyon ve diyaliz hücreleri en sık kullanılan yöntemlerdir. Polimerik nanoküre şeklinde hazırlanan ilaçların salım çalışmaları için RP-HPLC en tercih edilen yöntemdir. Miktar tayini, UV spektroskopisi veya HPLC ile gerçekleştirilir (Clogston, vd., 2017; Pal vd., 2011; Zielinska vd., 2020).

#### **2.9.5. Stabilite**

Stabilite hazırlanan formülasyonların klinikte kullanılabilmesi için oldukça önemli bir kriterdir. Kısa ve uzun vadeli stabilite çalışmaları formülasyonun raf ömrünü belirler. Polimerik nanopartikül formülasyonları genellikle oda sıcaklığında veya 4 °C'de 6-12 ay boyunca stabilitesini korumaktadır. Stabilite çalışmaları çeşitli çözücü, sıcaklık, pH ve formlar kullanılarak yapılmaktadır. Nanopartikülün çözelti halinde kullanılması, dondurulması veya liyofilizasyonu morfolojisini ve buna bağlı olarak stabilitesini etkilemektedir. Çözücü veya tamponlar nanopartikülün çökmesine veya ilacın erken salınmasına neden olabilir. Partiküllerin serum ve plazma içindeki stabilitesi *in vivo*

alışmalara geçmeden önce titizlikle incelenmelidir, olası bir agregasyon ölümcül embolilere neden olabilir. Stabilitiyi arttırmak için stabilizör kullanılabilir, bu durumda stabilizör formülasyona eklendikten sonra tüm analizlerin yapılması gerekmektedir. Stabilit ve saklama koşullarının etkilerini polimerik nanopartikülün istenilen özelliklerinin analiziyle değerlendirilir.



### 3. GEREÇLER

#### 3.1. Kullanılan Maddeler

| <u>Madde Adı</u>         | <u>Firma Adı</u>       |
|--------------------------|------------------------|
| Aseton                   | Isolab, Almanya        |
| Asetonitril              | Merck, Almanya         |
| Diklorometan             |                        |
| Etanol                   | Merck, Almanya         |
| Etil asetat              |                        |
| Eudragit® FS 100         | Evonik, Almanya        |
| İzopropil alkol          |                        |
| Kalsiyum klorür dihidrat | Merck, Almanya         |
| Kloroform                | Merck, Almanya         |
| Kloroform-D1             | Merck, Almanya         |
| Metanol                  | Carlo Erba, Fransa     |
| Polikaprolakton          | Sigma-Aldrich, Almanya |
| Potasyum klorür          | Merck, Almanya         |
| Sodyum bikarbonat        | Merck, Almanya         |
| Sodyum dodesil sülfat    | Merck, Almanya         |
| Sodyum klorür            | Merck, Almanya         |
| Soluplus®                | BASF, Almanya          |
| Vorikonazol              | Deva İlaç, Türkiye     |

### 3.3. Kullanılan Cihazlar

| <u>Cihaz Adı</u>                                             | <u>Firma Adı</u>                             |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Akış Sitometrisi                                             | Accuri C6-BD, BD Biosciences, ABD)           |
| Buzdolabı                                                    | Arçelik, Türkiye                             |
| Diferansiyel taramalı kalorimetre                            | Shimadzu DSC-60, Japonya                     |
| Distile Su Cihazı                                            | MiliQ Milipore, Fransa                       |
| Diyaliz Membran                                              | MWCO:14000, Sigma, Almanya                   |
| Erime Derecesi Tayini Cihazı                                 | Barnstead, ABD                               |
| Etüv                                                         | FN 500, Nüve, Türkiye                        |
| Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi              | IRPrestige-21, Shimadzu, Japonya             |
| Hassas Terazi                                                | AM100, Mettler Toledo, ABD                   |
| Manyetik Karıştırıcı Çoklu                                   | MS-53M, Jeio Tech, Güney Kore                |
| Manyetik Karıştırıcı Çoklu                                   | RT 15, IKA, Almanya                          |
| Mikropipet seti                                              | Eppendorf, Almanya                           |
| Nükleer Manyetik Rezonans Spektrofotometresi                 | Ultra Shield CPMAS NMR, Almanya              |
| Foton Korelasyon Spektrometresi                              | Zetasizer Nano ZS, Malvern, Birleşik Krallık |
| Püskürtmeli Kurutuma Cihazı                                  | Mini Spray Dryer 190, Büchi, İsviçre         |
| Taramalı elektron mikroskobu                                 | TM3030 Plus, Hitachi Japonya                 |
| Tek hedef Plazma (Altın) Saçtırmalı İnce Film Kaplama Cihazı | SPC-900, Karaltay, Çin                       |
| Termometre                                                   | Ebro, Almanya                                |
| Ultrasonik banyo                                             | Bandelin, Almanya                            |
| Vorteks çalkalayıcı/karıştırıcı                              | MX-S, Scilogex, Almanya                      |
| Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi                          | CBM-20A, Shimadzu, Japonya                   |
| Yüksek basınçlı sıvı kromatografi kolonu                     | Agilent, ABD                                 |

## 4. YÖNTEM

### 4.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

Analitik yöntemin validasyonu, kullanılan yöntemin doğruluk ve güvenilirliğinin kanıtlanması amacıyla yapılmaktadır. Validasyon çalışması Uluslararası Harmonizasyon Konferansı'nın (ICH) Q2 (R1)-Analitik İşlem Validasyonu başlıklı Uluslararası Harmonizasyon Kılavuzu doğrultusunda yapılmıştır. Doğrusallık, kesinlik, doğruluk, duyarlılık ve seçicilik parametreleri incelenmiştir (ICH Q2-R1, 2005).

#### 4.1.1. Doğrusallık

Doğrusallık, analitik çalışmanın yapıldığı konsantrasyon aralığında çeşitli konsantrasyonlarda seyreltilmiş aktif madde numunelerinin madde miktarının konsantrasyona bağlı olarak doğru orantılı artmasıdır. Aktif madde miktarının konsantrasyona bağlı fonksiyonunun regresyonu hesaplanarak gerçek veri noktalarının regresyon çizgisinden sapmasının analizi de lineerliği değerlendirmek için yardımcı olmaktadır (ICH Q2-R1, 2005).

ICH doğrusallık çalışması için en az 5 farklı konsantrasyonda analiz yapılmasını önermektedir. VOR'un  $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$  konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlanarak  $90\text{-}5 \mu\text{g.mL}^{-1}$  arasında derişime sahip on farklı numune hazırlanmıştır. Her numune ve stok çözeltisi için analiz üç kez tekrar edilerek on bir nokta için VOR derişimine karşılık gelen alan değeri belirlenmiştir. Kalibrasyon doğrusu hazırlanarak doğru denklemi belirlenmiş ve determinasyon katsayısı ( $R^2$ ), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (% RSD) hesaplanmıştır.

#### 4.1.2. Kesinlik

Analitik yöntemde kesinlik, belirli koşullar altında aynı numunenin birçok örneğinden elde edilen ölçümler arasındaki dağılma derecesini belirtir. Tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve yeniden elde edilebilirlik gibi parametrelerle değerlendirilir (ICH Q2-R1, 2005).

Kesinlik parametresi olan tekrarlanabilirlik, kısa bir zaman aralığında aynı çalışma koşulları altında değerlendirilir. Bunu tespit etmek için, analiz için belirlenen aralıkta en az 9 numune veya aynı stok çözeltiden hazırlanan en az 6 örneğin alan ölçümleri gerçekleştirilir.

Yöntemin tekrarlanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla kalibrasyon aralığına uygun olarak 3 farklı konsantrasyonda ( $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) VOR

çözeltileri hazırlanarak 3 farklı günde 6 örnekle analizler tekrarlanmıştır. Doğru denklemi kullanılarak VOR miktarı hesaplanmış ve elde edilen sonuçların ortalamaları, SD ve % RSD değerleri belirlenmiştir. % RSD değerinin %2'den küçük olup olmadığı değerlendirilmiştir.

#### 4.1.3. Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğu, kabul edilen referans değer veya gerçek değer ile analiz sonucunun yakınlığı olarak değerlendirilmektedir. Analiz yapılan değerler arasında doğruluk çalışması yapılmalıdır. Doğruluğun belirlenebilmesi için bilinen saflıkta bir referans madde kullanılabilir, numuneye belirli bir miktar madde eklenebilir veya analiz yönteminin başka bir ikinci bir analiz yöntemi ile karşılaştırılabilmektedir. Ayrıca kesinlik, doğrusallık ve seçicilik çalışmaları yapıldıktan sonra da doğruluk belirlenebilmektedir (ICH Q2-R1, 2005).

Genel olarak çalışılan numunelerden 3 farklı derişimdeki numunenin en az 9 farklı ölçümü ile doğruluk çalışması yapılmaktadır. Sonuçlar % geri kazanım ve her seri için relatif standart sapma olarak hesaplanmaktadır (ICH Q2-R1, 2005).

Çalışmamızda doğruluğun gösterilmesi için 3 farklı konsantrasyonda (5 µg.mL<sup>-1</sup>, 50 µg.mL<sup>-1</sup>, 100 µg.mL<sup>-1</sup>) VOR çözeltisi hazırlanmış ve 3 defa analiz yapılmıştır.

#### 4.1.4 Duyarlılık

Duyarlılık analitik yöntemin düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneğidir. Saptama ve miktar tayin sınırı ile ifade edilir.

Saptama sınırı (limit of detection: LOD), standart madde sinyalinin geri plan gürültüsünden ayrılabilmesi için gerekli olan en düşük madde konsantrasyonudur. LOD belirlenmesi için çeşitli yöntemler mevcuttur. Görsel değerlendirme yöntemi aletsiz analiz yöntemleri için kullanılabileceği gibi aletli analiz yöntemleri için de kullanılmaktadır. Sinyal gürültü oranı sadece temel gürültü sergileyen analiz yöntemlerinde kullanılabilmektedir. Teşhis limitini saptayabilmek için sinyal-gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilir.

LOD aralığındaki miktarlarda madde içeren numuneler kullanılarak spesifik bir kalibrasyon eğrisi çizilerek Eşitlik 4.1 ile hesaplanmaktadır.

$$LOD = \frac{3.3 \times \sigma}{m} \quad (4.1)$$

Eşitlik 4.1'de yer alan  $\sigma$  y eksenini kesim noktasının standart sapmasını ve m değeri de korelasyon denklemindeki eğimi temsil eder (ICH, 2005).

Miktar tayin sınırı (limit of quantitation: LOQ), standart maddenin güvenilir şekilde doğru ve kesin ölçümünün yapılabilmesi için gerekli olan en düşük madde miktarıdır. LOQ belirlenmesi için çeşitli yöntemler mevcuttur. Görsel değerlendirme yöntemi aletsiz analiz yöntemleri için kullanılabileceği gibi aletli analiz yöntemleri için de kullanılmaktadır. Sinyal gürültü oranı sadece temel gürültü sergileyen analiz yöntemlerinde kullanılabilmektedir. Miktar tayini limitini saptayabilmek için sinyal-gürültü oranının 10:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilir.

Eşitlik 4.2 ile hesaplanmaktadır.

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma}{m} \quad (4.2)$$

Eşitlik 4.2’de yer alan  $\sigma$  y eksenini kesim noktasının standart sapmasını ve m değeri de korelasyon denklemindeki eğimi temsil eder (ICH, 2005).

Analitik analiz yönteminin aletli olup olmamasına bağlı olarak LOD ve LOQ değerinin belirlenmesinde görsel değerlendirme, sinyal-gürültü oranı ve elde edilen cevabın ve eğimin standart sapması gibi farklı yöntemler kullanılabilmektedir.

#### 4.1.5. Seçicilik

Seçicilik analizleri hem safsızlıkların belirlenmesi hem de miktar tayini sırasında seçiciliğin araştırılması için yapılmaktadır. Analiz sadece spesifik maddeye özgü olmalıdır ve ortamda bulunan diğer maddelerden kaynaklanabilecek olan girişimden etkilenmemelidir. Bileşiminde çok fazla maddenin yer aldığı numunelerin analizi sırasında istenilen maddenin eksiksiz tespit edilmesi gerekir. Analitik yöntemin belirli bir maddeye özgü olduğunu göstermenin mümkün olmadığı durumlarda gerekli ayırım seviyesini elde etmek için iki veya daha fazla analitik prosedürün bir kombinasyonu tavsiye edilmektedir (ICH Q2-R1, 2005).

Analizin seçiciliği hem analiti içeren numuneden pozitif sonuçların alınması hem de analiti içermeyen plasebo numuneden negatif sonuçların alınmasıyla ölçülmektedir. Elde edilen kromatogramlardan formülasyonlardaki diğer bileşenlerin girişiminin VOR’un seçiciliğine etkisi incelenmiştir.

## **4.2. Ön Formülasyon Çalışmaları**

### **4.2.1. Vorikonazol üzerinde yapılan çalışmalar**

#### **4.2.1.1. Erime derecesi tayini**

Etkin maddenin erime derecesi tayini için bir ucu alevle kapatılan kapiller tüp içerisine toz haldeki etkin madde koyularak erime derecesi tayin cihazı (Barnstead, ABD) ile erime sıcaklığına bakılmıştır.

#### **4.2.1.2. Termal analiz**

VOR'un (5 mg) termal analizi, Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) Cihazı (DSC-60, Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MI, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Analizler, 50 mL.dk<sup>-1</sup> azot gazı akış hızı ve 10 °C.dk<sup>-1</sup> sıcaklık artışıyla 30-300 °C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen termogram, etkin maddenin formülasyon aşamalarındaki kararlılığın belirlenebilmesi amacıyla sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

#### **4.2.1.3. FT-IR analizi**

VOR'un Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi (FT-IR) Analizi (IR Prestige-21, Shimadzu, Tokyo, Japonya) 4000-500 cm<sup>-1</sup> dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Saf VOR'un FT-IR spektrumu, etkin maddenin formülasyon süreçlerinden etkilenip etkilenmediğini değerlendirmek amacıyla sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

#### **4.2.1.4. NMR analizi**

VOR'un yapısal özellikleri, 25 °C'de dötorokloroform (CDCl<sub>3</sub>) içinde çözülerek Proton Nükleer Manyetik Rezonans (<sup>1</sup>H-NMR) cihazı (Ultra-Shield™ CPMAS NMR, Bruker, Rheinstetten, Almanya) kullanılarak incelenmiştir. Saf VOR'un <sup>1</sup>H-NMR spektrumu, etkin maddenin formülasyon süreçlerinden etkilenip etkilenmediğini değerlendirmek için sonraki analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

#### **4.2.1.5. HPLC ile miktar tayini**

Etkin madde miktar tayini ve salım çalışmalarında güvenilir, hızlı, kolay ve hassas bir yöntem olduğu için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) seçilmiştir. Analizlerde Shimadzu-20A (Japonya) cihazı kullanılmıştır. VOR'un HPLC ile miktar tayini yapılabilmesi için Kumar ve Sinha (2014) tarafından kullanılan HPLC yöntemi referans alınmış ve modifiye edilerek kullanılmıştır. Analiz koşulları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi çalışma koşulları

|                         |                                                           |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>Cihaz</b>            | Shimadzu-20A                                              |
| <b>Kolon</b>            | Eclipse Plus C18, 4.6 x 250 mm, 5 µm                      |
| <b>Mobil Faz</b>        | Metanol: Asetik asit çözeltisi (%0.1) (h/h) (70:30; pH:4) |
| <b>Dedektör</b>         | Shimadzu Fotodiyot Dizisi                                 |
| <b>Fırın Sıcaklığı</b>  | 40°C                                                      |
| <b>Dalga Boyu</b>       | 255 nm                                                    |
| <b>Akış hızı</b>        | 1 mL.dk-1                                                 |
| <b>Enjeksiyon Hacmi</b> | 20 µ L                                                    |

#### **4.2.2. Polimerler üzerinde yapılan çalışmalar**

##### **4.2.2.1. Termal analiz**

Formülasyonda kullanılan polimerlerin (5 mg) termal analizi, DSC cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz, basınç yardımıyla kapatılmış alüminyum örnek kaplarında, 50 mL.dk<sup>-1</sup> azot gazı akış hızı ve 10 °C.dk<sup>-1</sup> sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında, alüminyum referansa karşı yapılmış ve termogramlar elde edilmiştir.

##### **4.2.2.2. FT- IR analizi**

Formülasyonda kullanılan polimerler, 4000-500 cm<sup>-1</sup> dalga boyu aralığında FT-IR spektroskopisi ile analiz edilmiş ve spektrumları elde edilmiştir.

##### **4.2.2.3. NMR analizi**

Formülasyonda kullanılan polimerlerin yapısal özellikleri, 25 °C’de CDCl<sub>3</sub> içinde çözündürülerek <sup>1</sup>H-NMR spektroskopisi incelenmiş ve spektrumları kaydedilmiştir.

#### **4.2.3. Formülasyon hazırlıkları**

VOR hakkında kapsamlı literatür araştırması yapılarak VOR ile formüle edilmiş partiküller incelenmiş ve çalışmamızda kullanılacak polimerler seçilmiştir. Partiküllerin eldesinde püskürterek kurutma yönteminin kullanılmasına karar verilmiştir (Başaran vd., 2014; Başaran vd., 2017). Hazırlanan formülasyonların içerik bilgileri Tablo 2’de sunulmuştur.

**Tablo 4.2.** Hazırlanan polimerik partiküllerin formülasyon bileşenleri

| Formülasyon | Vorikonazol<br>(mg) | Polikaprolakton<br>(g) | Eudragit®<br>FS100 (g) | Soluplus®<br>(g) | Tween 80<br>(mg) |
|-------------|---------------------|------------------------|------------------------|------------------|------------------|
| SPV-0       | -                   | 1                      | -                      | -                | -                |
| SPV-0T      | -                   | 1                      | -                      | -                | 100              |
| SEV-0       | -                   | -                      | 2                      | -                | -                |
| SSV-P       | -                   | -                      | -                      | 2                | -                |
| SSV-1       | 50                  | -                      | -                      | 2                | -                |
| SSV-2       | 100                 | -                      | -                      | 2                | -                |
| SSV-3       | 150                 | -                      | -                      | 2                | -                |
| SPEV-P      | -                   | 1                      | 1                      | -                | -                |
| SPEV-1      | 50                  | 1                      | 1                      | -                | -                |
| SPEV-2      | 100                 | 1                      | 1                      | -                | -                |
| SPEV-3      | 150                 | 1                      | 1                      | -                | -                |

SPV-0 formülasyonu için 1 g PCL 100 mL kloroformda manyetik karıştırıcı kullanılarak çözündürülmüştür. SPV-0T formülasyonu için 1 g PCL ve 100 mg Tween® 80 100 mL kloroforma eklenerek manyetik karıştırıcı kullanılarak çözündürülmüştür. SEV-0 formülasyonu hazırlanırken 2 g EFS100 100 mL kloroformda manyetik karıştırıcı kullanılarak çözündürülmüştür.

SSV formülasyonları 2 g SOL manyetik karıştırıcı kullanılarak 100 mL etanolde çözündürülmüştür. SSV-1, SSV-2 ve SSV-3 formülasyonları için sırasıyla 50 mg, 100 mg ve 150 mg VOR eklenerek çözündürülmüştür.

SPEV formülasyonları 1 g PCL ve 1 g EFS100 100 mL kloroformda manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak hazırlanmıştır. SPEV-1, SPEV-2 ve SPEV-3 formülasyonları için sırasıyla 50 mg, 100 mg ve 150 mg VOR eklenerek çözündürülmüştür.

Polimerik partiküllerin elde edilmesi için Buchi B190 Mini Spray Dryer cihazı kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi uygulanmıştır (Miletic vd., 2013; Shah vd., 2021). Formülasyonlar için cihazın çalışma koşulları Tablo 3'te verilmiştir.

**Tablo 4.3.** Formülasyonların püskürterek kurutma şartları

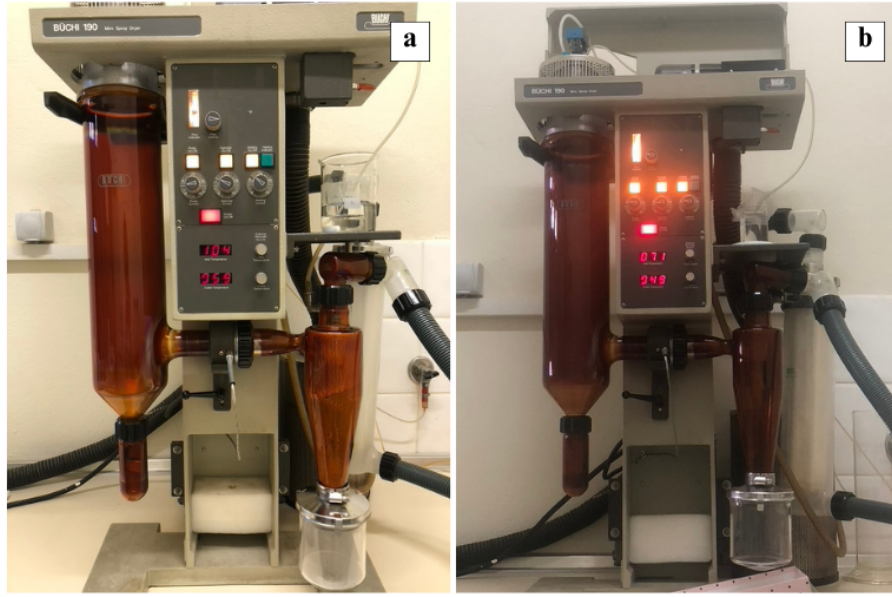
| Formülasyon | Giriş Sıcaklığı | Çıkış Sıcaklığı | Pompa Düzeyi | Püskürtme Düzeyi |
|-------------|-----------------|-----------------|--------------|------------------|
| SPV-0       | 101°C           | 55°C            | 3            | %100             |
| SPV-0T      | 101°C           | 55°C            | 3            | %100             |
| SEV-0       | 120°C           | 75°C            | 3            | %100             |
| SSV-P       | 104°C           | 59°C            | 3            | %100             |
| SSV-1       | 104°C           | 59°C            | 3            | %100             |
| SSV-2       | 104°C           | 59°C            | 3            | %100             |
| SSV-3       | 104°C           | 59°C            | 3            | %100             |
| SPEV-P      | 71°C            | 49°C            | 3            | %100             |
| SPEV-1      | 71°C            | 49°C            | 3            | %100             |
| SPEV-2      | 71°C            | 49°C            | 3            | %100             |
| SPEV-3      | 71°C            | 49°C            | 3            | %100             |



**Görsel 4.1.** Ön formülasyon çalışmalarında püskürterek kurutma işlemi

### 4.3. Formülasyonların Hazırlanışı

Formülasyon denemeleri aşamasında karar verilen SSV ve SPEV formülasyonları Tablo 4.2’de belirtilen formüllere uygun bir şekilde hazırlanarak Tablo 4.3’te belirtilen şartlarda püskürtülerek kurutulmuştur. Kurutma işleminin ardından sistem kapatılarak cam haznede biriken partiküller toplanarak ağzı sıkıca kapalı kaplara alınarak etiketlenmiştir.



*Görsel 4.2. Püskürterek kurutma işlemi (a: SSV partikülleri b: SPEV partikülleri)*



*Görsel 4.3. Püskürterek kurutma sonucu elde edilen partiküller (a: Haznede biriken partiküller b: Toplanıp etiketlenen partiküller)*

#### **4.4. Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları**

##### **4.4.1. Partikül boyutu, dağılımı ve zeta potansiyeli**

Hazırlanan PNP'lerin partikül boyutu ve polidispersite indeksi (Pdl) analizleri için Malvern Zetasizer cihazı (Zetasizer Nano Series, İngiltere) kullanılmıştır. PNP'ler distile su içerisinde dağıtılarak numune hazırlanmış ve 0,45 µm gözenek büyüklüğündeki naylon yapılı şırınga tipi membran filtreden geçirilerek agregatların uzaklaşması sağlanmıştır. Analizler 25 °C oda sıcaklığında ve 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

##### **4.4.2. Termal analiz**

Hazırlanan PNP'lerin (5 mg) termal analizi DSC cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 50 mL.dk<sup>-1</sup> azot gazı akış hızı ve 10 °C.dk<sup>-1</sup> sıcaklık artışı ile 30-300 °C aralığında, alüminyum referansa karşı gerçekleştirilen analizler sonucunda formülasyonlara ait termogramlar elde edilmiştir.

##### **4.4.3. FT-IR analizi**

Hazırlanan PNP'lerin, FT-IR spektrumları 4000-500 cm<sup>-1</sup> dalga boyu aralığında analiz edilmiştir.

##### **4.4.4. NMR analizi**

Hazırlanan PNP'lerin yapısal özellikleri ve etkin maddenin polimerler ile olası kimyasal etkileşimleri örneklerin CDCl<sub>3</sub> içinde çözündürülmesinin ardından 25 °C'de <sup>1</sup>H-NMR analiz sonuçlarına göre değerlendirilmiştir.

##### **4.4.5. Partiküllerin morfolojik tayini**

Partiküllerin parçacık şekli ve yüzey özelliklerinin incelenmesi için PNP'ler karbon bandı üzerine yayılıp altın ile kaplanmış (SPC-900, Karaltay, Çin) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM; TM3030 Plus, Hitachi Japonya) ile görüntülenmiştir.

##### **4.4.6. Partiküllerdeki vorikonazol yükleme kapasitesinin değerlendirilmesi**

Hazırlanan PNP'lere yüklenen VOR miktar tayini için valide edilmiş HPLC yöntemi kullanılmıştır (Kumar ve Sinha, 2014). SSV-1 formülasyonu tam 5 mg, diğer formülasyonlar tam 2 mg tartılarak 10 mL Metanol:Kloroform [83,3:16,6; h/h] çözeltisinde çözündürülerek analiz edilmiş ve analiz her formülasyon için üç defa tekrarlanmıştır.

PNP'lerin içerdiği VOR miktarı hesaplanırken partikülde bulunan toplam VOR miktarı başlangıçtaki toplam PNP miktarına oranıyla hesaplanmıştır (Eşitlik4.3).

Yükleme kapasitesi ise PNP'lerde bulunan toplam VOR miktarının başlangıçtaki VOR miktarına oranıyla hesaplanmıştır. (Eşitlik 4.4) (B. Wu vd., 2022)

$$\text{Etkin madde miktarı} = \frac{\text{Partiküldeki bulunan etkin madde miktarı}}{\text{Başlangıçtaki partikül miktarı}} \times 100 \quad (4.3)$$

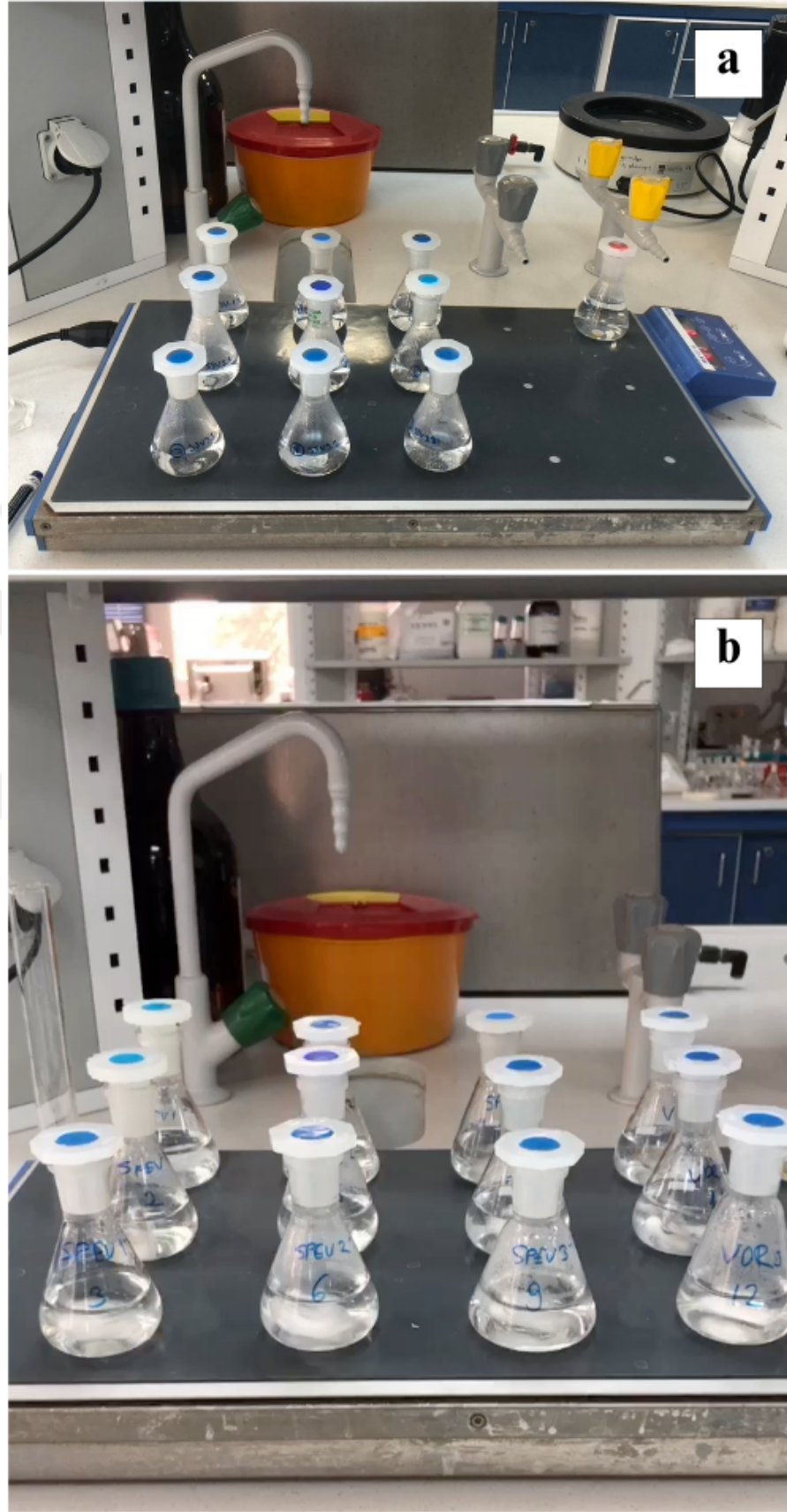
$$\text{Yükleme kapasitesi} = \frac{\text{Partikülde bulunan etkin madde miktarı}}{\text{Başlangıçtaki etkin madde miktarı}} \times 100 \quad (4.4)$$

#### 4.4.7. *In vitro* salım çalışmaları

PNP'lere yüklenen VOR'un *in vitro* salım çalışmasında diyaliz membran yöntemi kullanılmıştır. Membran difüzyon yöntemi olarak da bilinen bu yöntemde hazırlanan PNP'ler serbest etkin maddeyi geçirebilen ancak partikülü geçiremeyen bir membran ile salım ortamından ayrılır. PNP diyaliz membran içerisine konularak salım ortamına bırakılır. Genellikle çalkalamalı su banyosu veya manyetik karıştırıcı kullanılarak sistemin homojenliği sağlanır. Diyaliz membran yönteminde dikkat edilmesi gereken durumlardan biri *sink* koşulunu sağlanmasıdır. Salım ortamının etkin madde doyumuna ulaşmaması sayesinde membrandan salım ortamına etkin madde difüzyonun devamlılığı sağlanır (J. Shen & Burgess, 2013).

Tez çalışmasında diyaliz membran olarak MWCO:14000 (Sigma, Almanya) kullanılmıştır. *In vitro* salım ortamı olarak taze hazırlanmış suni gözyaşı (STF; NaHCO 0,218 g, NaCl 0,678 g, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,0084 g, KCl 0,138 g ve distile su k.m. 100 g; pH 7,4) kullanılmıştır (Başaran, 2017; Üstündağ Okur vd., 2019).

PNP'ler tartılarak bir ucu bağlanmış diyaliz membran içerisine konulmuş ve 1 mL salım ortamı eklenerek sızdırmayacak şekilde diğer ucu da bağlanmıştır. 100 mL salım ortamına bırakılarak manyetik karıştırıcı ile 250 rpm hızla karıştırılmıştır. Önceden belirlenen zamanlarda (30., 60. ve 90. dakikalarda ve sonrasında 2., 3., 5., ve 7. saatlerde) analiz için 1 mL örnek alınmıştır. *Sink* koşul şartlarını koruyabilmek için alınan miktarda ve sıcaklıkta taze suni gözyaşı çözeltisi salım ortamına eklenmiştir. Örnekler HLPC ile analiz edilerek salınmış olan VOR miktarı belirlenmiştir.



**Görsel 4.4.** *İn vitro* salım çalışmaları  
(a: SSV PNP'lere ait *in vitro* salım çalışmaları b: SPEV PNP'lere ait *in vitro* salım çalışmaları)

#### 4.4.8. Antifungal etkinlik çalışmaları

##### 4.4.8.1. Mikrobrot dilüsyon yöntemi ile antikandidal aktivite testi

Geliştirilen PNP'lerin antikandidal aktivitesi, 0-800 µg/mL aralığında (800, 400, 200, 100, 50, 25 µg/mL) farklı konsantrasyonlarla test edilmiştir. Örnekler metanolde çözüldükten sonra antikandidal aktivitesi incelenmiş ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri belirlenmiştir.(Cappuccino & Sherman, 2005). *Candida* türlerine karşı üremeyi durduran en düşük konsantrasyon, nanopartiküllerin MİK değeri olarak kabul edilmiştir (Kavitha vd., 2010). Kullanılan test mikroorganizmaları; *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida glabrata* (ATCC 90030), *Candida krusei* (ATCC 6258) ve *Candida parapsilosis* (ATCC 22019)'dir. Maya kültürleri için mikroorganizma sayısı, Sabouraud Dekstroz Besiyeri (SDB) içinde McFarland 0,5 (10<sup>8</sup> kob/mL) standardına göre ayarlanmıştır. 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plakalarında, nanopartiküllerin seri konsantrasyonlarının bulunduğu her bir kuyucuğa 100 µL mikroorganizma inoküle edilmiştir. Plakalar, 24 saat boyunca 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, her kuyucuğa 20 µL MTT boyası eklenmiş ve plakalar 4 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. Bu deneyde pozitif kontrol grubu olarak VOR, negatif kontrol grubu olarak ise SDB kullanılmıştır. Ayrıca, mikroorganizmaların büyümesini kontrol etmek amacıyla kontrol grupları da 96 kuyucuklu plakaya aktarılmıştır. Deneyler, her koşul için ikişer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

##### 4.4.8.2. Anneksin V-PI yöntemi ile kandidal apoptozisin belirlenmesi

Antikandidal aktivite testi sonucunda MİK değerleri belirlenen PNP'lerden SPEV-P, SPEV-1, SPEV-2, SPEV-3 ve pozitif kontrol olarak VOR, en düşük konsantrasyonlarda *C. albicans* suşuna karşı etkili bulunmuştur. Bu nedenle, kandidal apoptozis testi *C. albicans* üzerinde gerçekleştirilmiştir. PNP'lerin MİK değerlerinin apoptoza yol açıp açmadığını değerlendirmek amacıyla, Annexin V-PI kullanılarak akış sitometrisi ile apoptoz testi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, *C. albicans* ve PNP'ler belirtilen konsantrasyonlarda 96 kuyucuklu plakalarda 24 saat boyunca etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, kuyucuklardaki örnekler eppendorf tüplerine aktarılmış ve 1200 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Sonrasında, besiyeri uzaklaştırılabilmesi için süpernatant örneklerden uzaklaştırılmış ve ardından 2 mL PBS ile tekrar santrifüj yapılarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Temiz eppendorf tüplerine 5 µL Anneksin V ve 5 µL PI eklenmiş, ardından yıkama sonrasında 100 µL PBS ile resüspanse edilmiş örnekler eklenmiştir. 20 dk boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında

inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, örneklerin üzerine 100 µL 1x Anneksin bağlama tamponu eklenmiştir. Daha sonra, akış sitometri (Accuri C6-BD, BD Biosciences, ABD) cihazında  $1 \times 10^5$  hücre sayılarak canlı, nekrotik, erken ve geç apoptotik *C. albicans* yüzdeleri belirlenmiştir (Van Engeland vd., 1998).

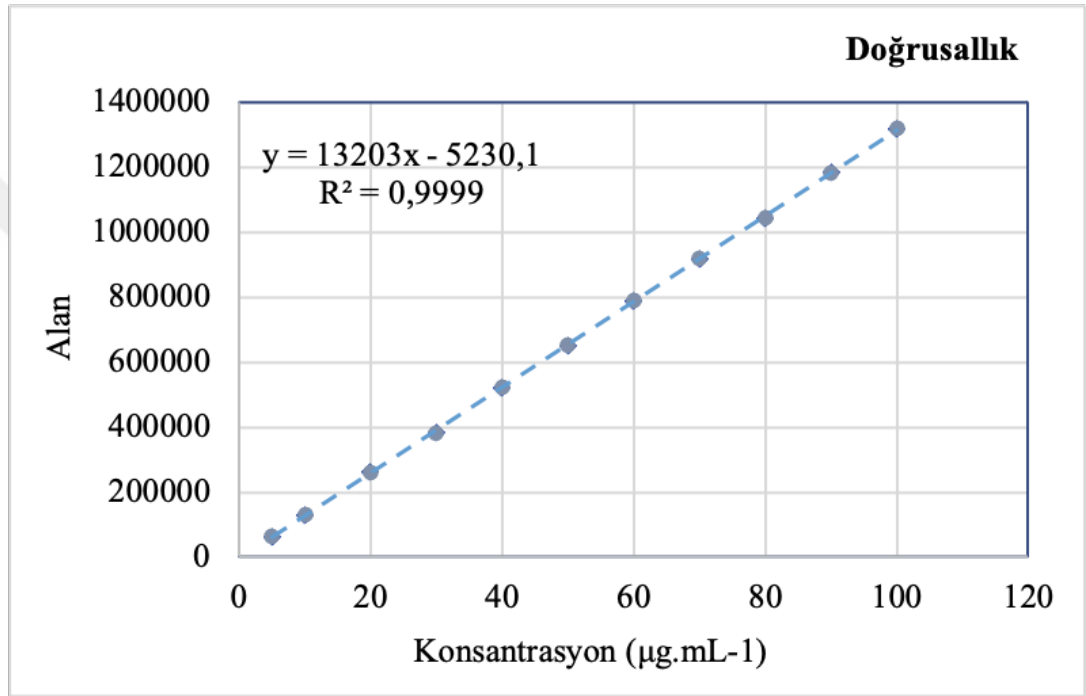


## 5. BULGULAR

### 5.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

#### 5.1.1. Doğrusallık

VOR'un 5-90  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  arasında 10 farklı konsantrasyonda 3 kalibrasyon seti hazırlanarak HPLC ile analiz edilmiştir. Alan değerleri kullanılarak kalibrasyon doğrusu çizilerek doğru denklemi ve  $R^2$  değeri hesaplanmış ve Şekil 5.1'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. Vorikonazol'e ait Standart Eğri ve Doğrusallık Eşitliği ( $\bar{x} \pm SH$ ,  $n=3$ )

Determinasyon katsayısının 0,9999 olarak hesaplanması ve 1'e yakın olması denklemin doğrusallığını ve deneysel verilerin güvenilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

#### 5.1.2. Kesinlik

Analitik yöntemin kesinlik değerlendirmesi için kalibrasyon aralığına karşılık gelen 3 farklı konsantrasyonda (5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) VOR çözeltisi hazırlanmış ve Bölüm 4.1.2'de belirtildiği gibi analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları Tablo 5.1'de gösterilmiştir.

Kesinlik için kabul edilebilir sınırı olan relatif standart sapmanın %2'den küçük olduğu görülmüştür.

**Tablo 5.1. Kesinlik çalışması sonuçları**

| Derişim ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) | 1. Gün | 2. Gün | 3. Gün |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|
| 5                                 | 5,137  | 4,967  | 5,133  |
|                                   | 5,010  | 4,903  | 4,976  |
|                                   | 4,990  | 5,110  | 5,064  |
|                                   | 5,131  | 5,149  | 4,899  |
|                                   | 5,100  | 5,070  | 5,117  |
|                                   | 5,149  | 5,134  | 5,081  |
| <b>Ortalama</b>                   | 5,086  | 5,056  | 5,045  |
| <b>Standart Sapma</b>             | 0,063  | 0,091  | 0,082  |
| <b>Varyasyon Katsayısı</b>        | 1,240  | 1,791  | 1,632  |
| <b>%95 Güven Aralığı</b>          | 0,050  | 0,072  | 0,066  |
| 50                                | 48,523 | 48,530 | 48,728 |
|                                   | 49,734 | 49,799 | 49,847 |
|                                   | 51,818 | 51,736 | 51,802 |
|                                   | 49,858 | 49,874 | 49,945 |
|                                   | 49,642 | 49,566 | 49,585 |
|                                   | 50,068 | 50,039 | 50,111 |
| <b>Ortalama</b>                   | 49,940 | 50,091 | 50,157 |
| <b>Standart Sapma</b>             | 0,974  | 0,890  | 0,857  |
| <b>Varyasyon Katsayısı</b>        | 1,950  | 1,776  | 1,708  |
| <b>%95 Güven Aralığı</b>          | 0,779  | 0,712  | 0,685  |
| 100                               | 98,322 | 98,328 | 98,523 |
|                                   | 98,293 | 98,321 | 98,394 |
|                                   | 98,294 | 98,318 | 98,638 |
|                                   | 98,261 | 98,243 | 98,588 |
|                                   | 98,091 | 98,157 | 98,440 |
|                                   | 98,223 | 98,214 | 98,220 |
| <b>Ortalama</b>                   | 98,247 | 98,257 | 98,411 |
| <b>Standart Sapma</b>             | 0,077  | 0,066  | 0,144  |
| <b>Varyasyon Katsayısı</b>        | 0,078  | 0,067  | 0,146  |
| <b>%95 Güven Aralığı</b>          | 0,061  | 0,053  | 0,115  |

### 5.1.3. Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğun gösterilmesi için 3 farklı derişimde ( $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) VOR çözeltisi hazırlanmış ve Bölüm 4.1.3'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre % geri kazanım hesaplanmış ve kabul edilebilir sınır olan %98-102 ( $\pm \%2$ ) aralığında bulunmuştur.

#### 5.1.4. Duyarlılık

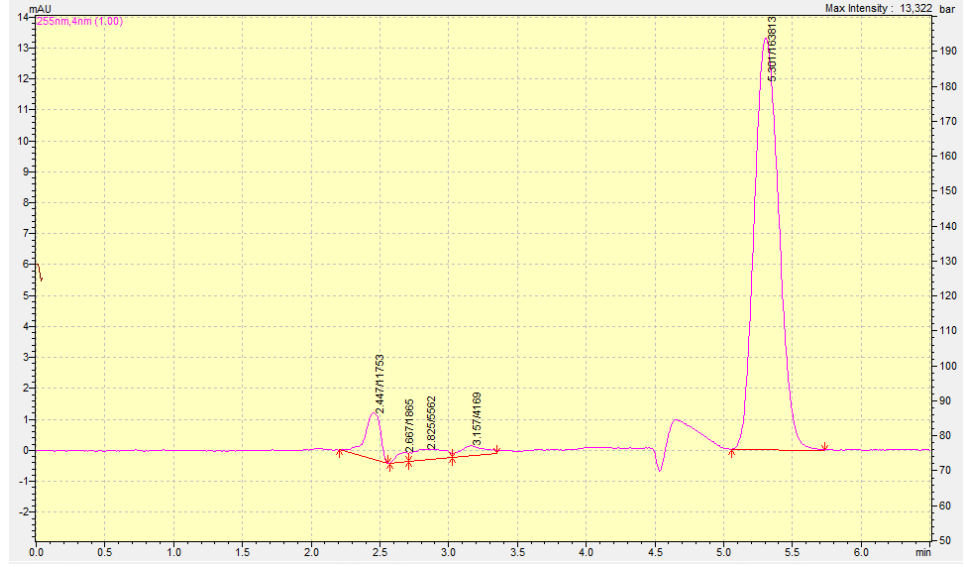
Analitik yöntemin çalışmamız için duyarlılığının belirlenmesi için LOD ve LOQ değerleri Bölüm 4.1.4'te anlatıldığı gibi sırasıyla Eşitlik 4.1 ve Eşitlik 4.2. kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 5.2'de gösterilmiştir. LOD değeri 0,721  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  ve LOQ değeri 2,184  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  olduğu ölçülmüş ve en düşük konsantrasyon olan 5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ 'den düşük olmasıyla çalışmamız için duyarlı olduğu kanıtlanmıştır.

*Tablo 5.2. Duyarlılık çalışmasına ait bulgular*

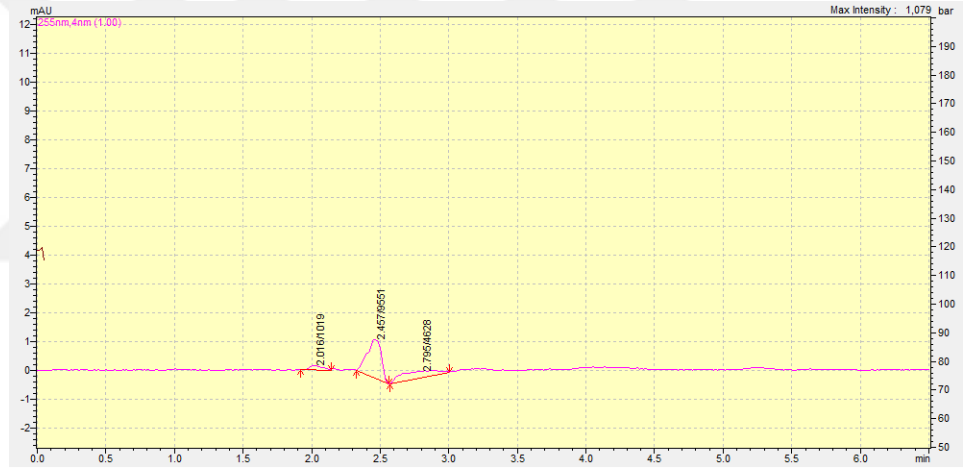
| Denklem               | Kesim noktası               | Eğim (m)  |
|-----------------------|-----------------------------|-----------|
| 1                     | 3001                        | 13172     |
| 2                     | 2753,3                      | 13160     |
| 3                     | 9935,9                      | 13275     |
| <b>Ortalama</b>       | 5230,067                    | 13202,333 |
| <b>Standart Sapma</b> | 2883,053                    | 44,701    |
| <b>Standart Hata</b>  | 1664,531                    | 25,808    |
| <b>LOD</b>            | 0,721 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ |           |
| <b>LOQ</b>            | 2,184 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ |           |

#### 5.1.5. Seçicilik

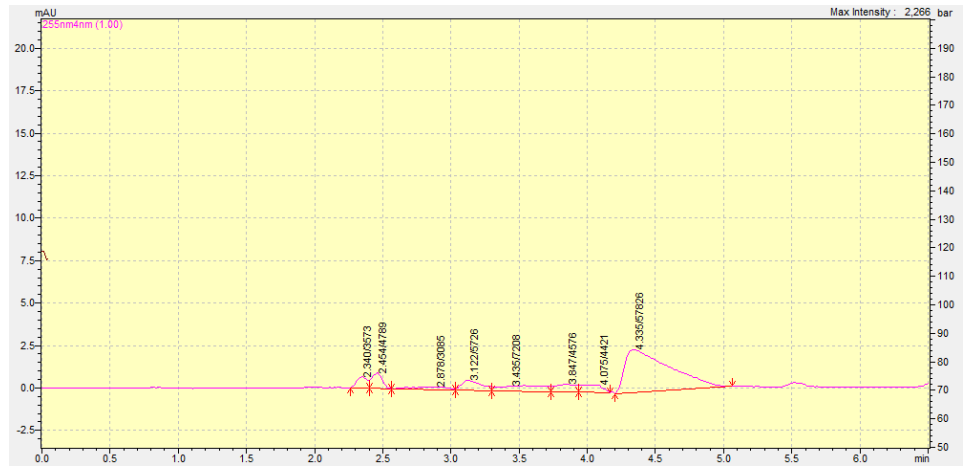
Analitik yöntemin çalışmamız için seçiciliğinin incelenmesi için etkin madde ile etkin madde içermeyen plasebo SSV ve SPEV formülasyonların HPLC ile elde edilen kromatogramları incelenmiş ve kromatogramlar Şekil 5.2, Şekil 5.3 ve Şekil 5.4'te gösterilmiştir. Etkin maddenin maksimum absorbands verdiği dalga boyunda, plasebo formülasyonların herhangi bir absorbands vermedikleri görülmüş ve yöntemin VOR için seçici olduğu bulunmuştur.



Şekil 5.2. Vorikonazol'e ait HPLC Kromatogramı



Şekil 5.3. SSV-P formülasyonuna ait HPLC Kromatogramı



Şekil 5.4. SPEV-P Formülasyonuna ait HPCL Kromatogramı

## 5.2. Ön formülasyon Çalışmaları

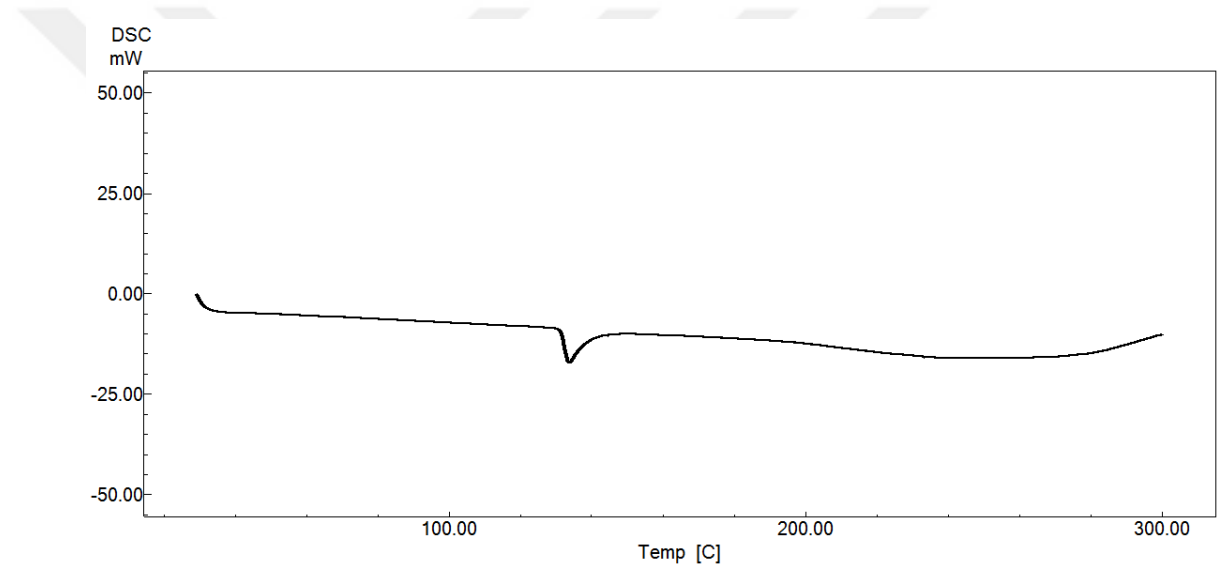
### 5.2.1. Vorikonazol üzerinde yapılan çalışmalar

#### 5.2.1.1. Erime derecesi tayini

Erime derecesi tayin cihazı ile yapılan analiz sonucu VOR'un erime dereesi 128°C olarak tespit edilmiştir.

#### 5.2.1.2. Termal analiz

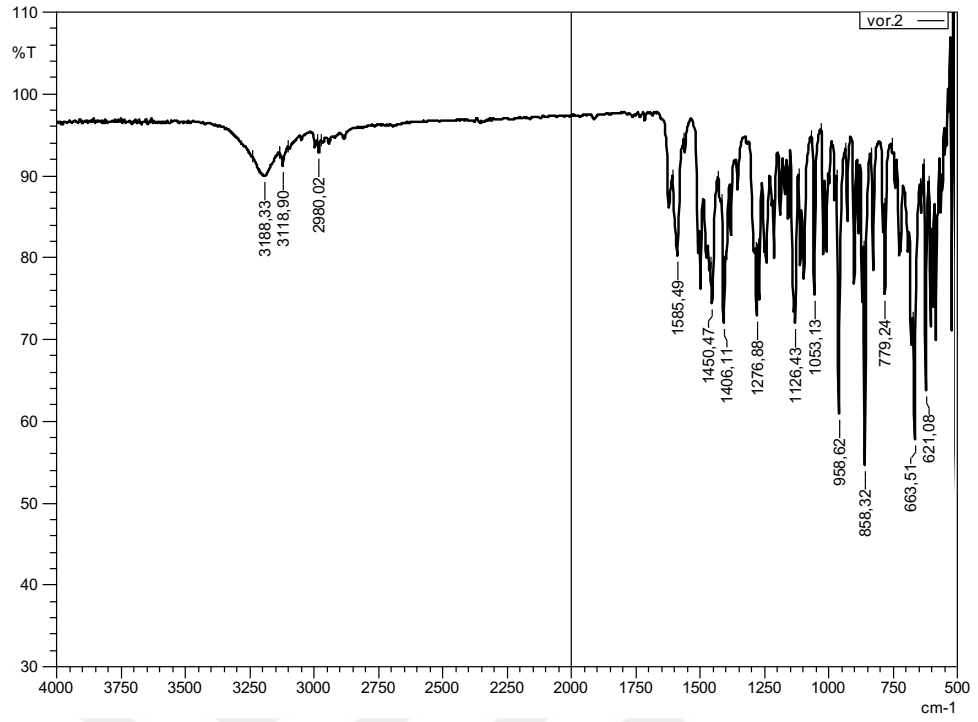
VOR'un DSC analiz cihazı ile 30-300 °C aralığında gerçekleştirilen termal analizine ait DSC termogramı Şekil 5.5'te sunulmuştur. Erime sıcaklığı 132,18°C olarak tespit edilmiştir.



Şekil 5.5. Vorikonazol'e ait DSC termogramı

#### 5.2.1.3. FT-IR analizi

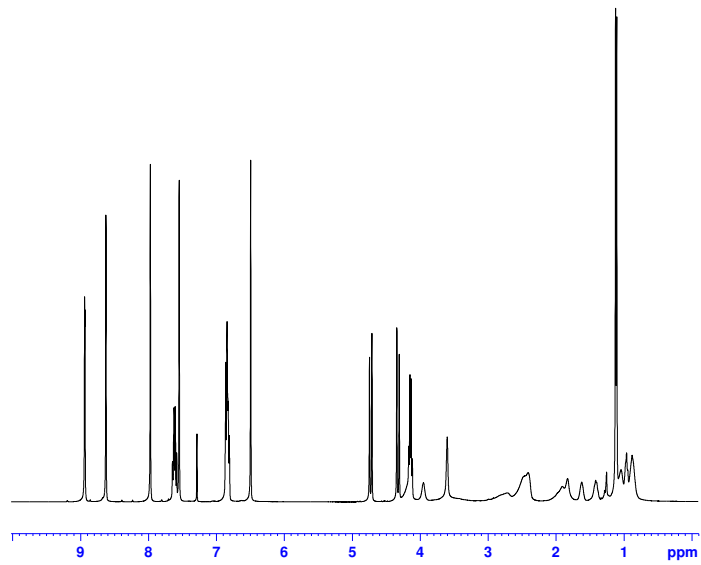
VOR'un 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu arasındaki FT-IR spektrumu Şekil 5.7'de sunulmuştur.



Şekil 5.6. Vorikonazol'e ait FT-IR Spektrumu

#### 5.2.1.4. NMR analizi

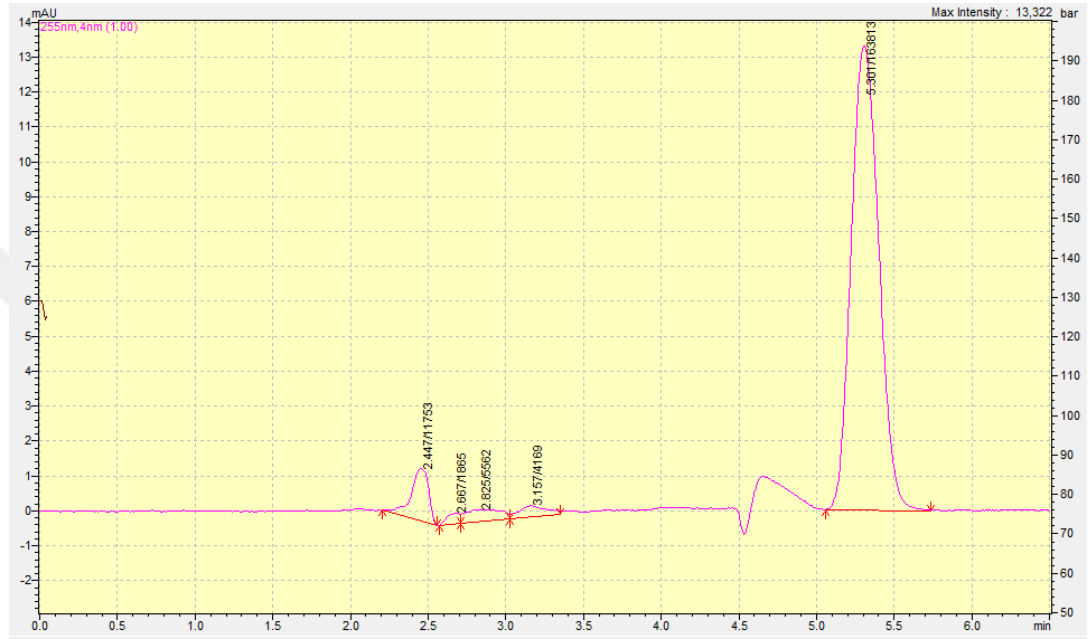
VOR'a ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu Şekil 5.8'de sunulmuştur.



Şekil 5.7. Vorikonazol'e ait NMR Spektrumu

#### 5.2.1.5. HPLC ile miktar tayini

VOR'un miktar tayini HPLC ile Tablo 4.1'de belirtilen koşullarda yapılmış ve elde edilen kromatogram Şekil 5.9'da verilmiştir. VOR'un alıkonma süresi 5,3 dakika olarak tespit edilmiş ve elde edilen süre referans olarak kullanılan çalışma ile uyumlu bulunmuştur (Kumar & Sinha, 2014).

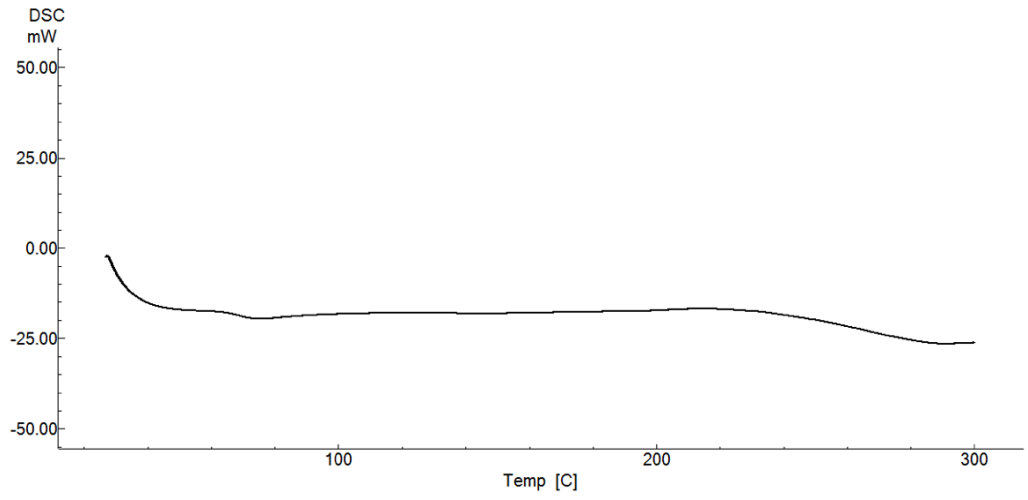


Şekil 5.8. Vorikonazol'e ait HPLC Spektrumu

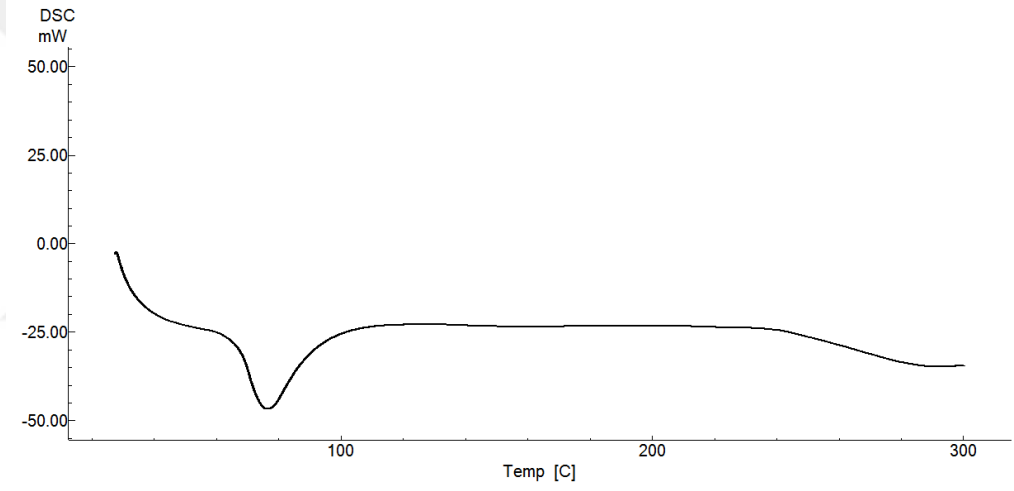
#### 5.2.2. Polimerler üzerinde yapılan çalışmalar

##### 5.2.2.1. Termal analiz

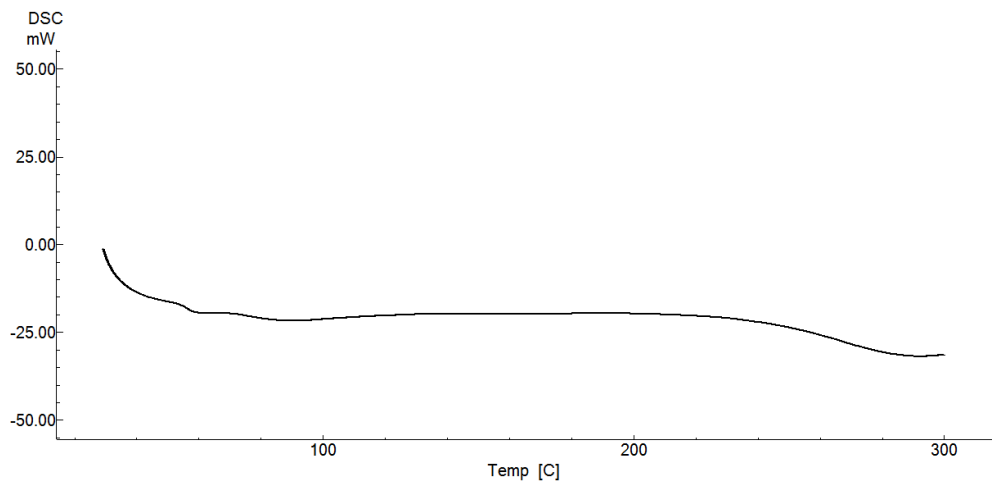
SOL, PCL ve EFS100'ün DSC analiz cihazı ile 30-300 °C aralığında gerçekleştirilen termal analizlerine ait DSC termogramları Şekil 5.9, Şekil 5.10 ve Şekil 5.11'de sunulmuştur.



*Şekil 5.9. Soluplus®'a ait DSC termogramı*



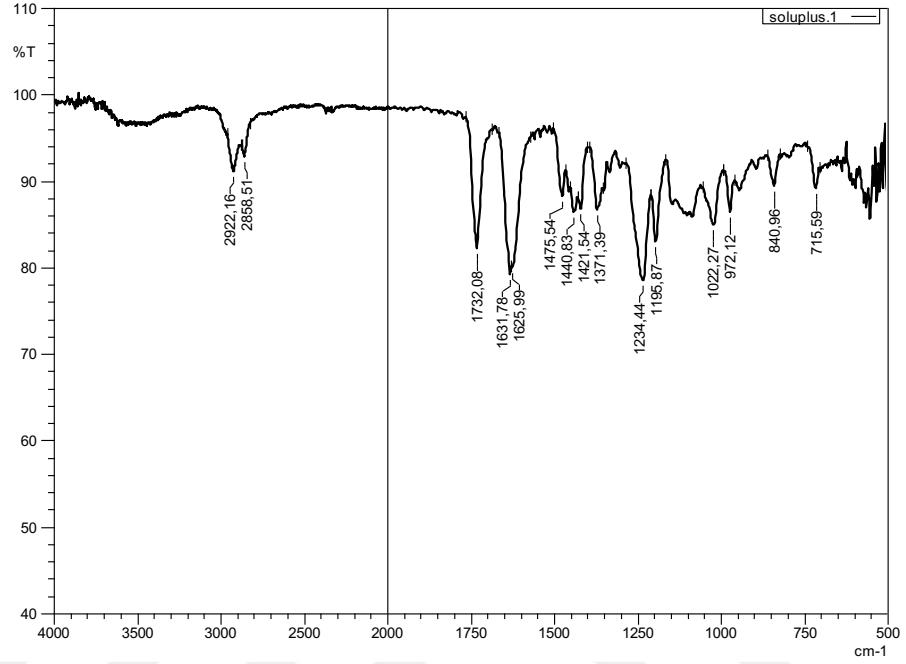
*Şekil 5.10. Polikaprolakton'a ait DSC termogramı*



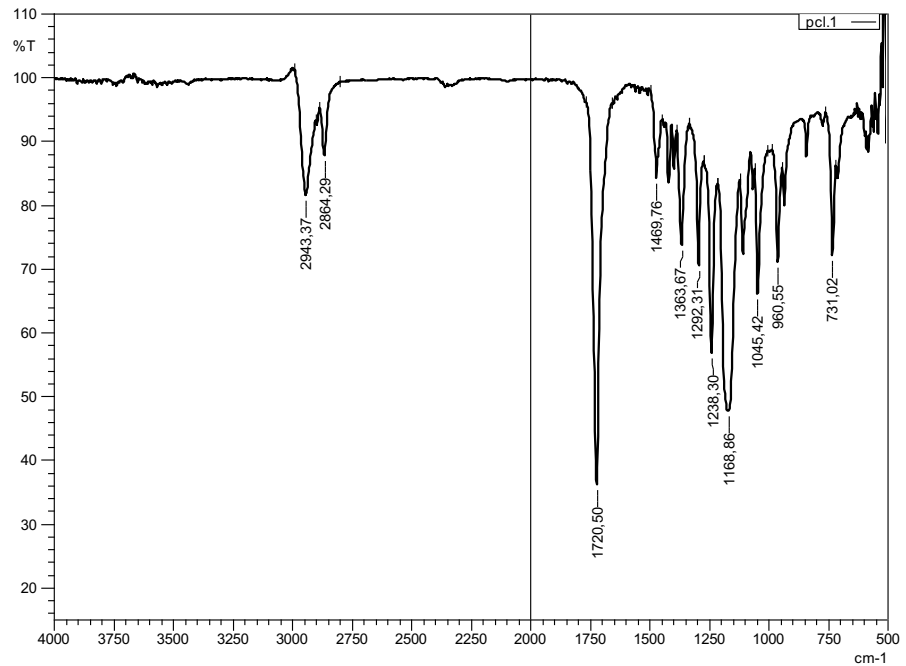
*Şekil 5.11. Eudragit® FS100'e ait DSC termogramı*

#### 5.2.2.2. FT-IR analizi

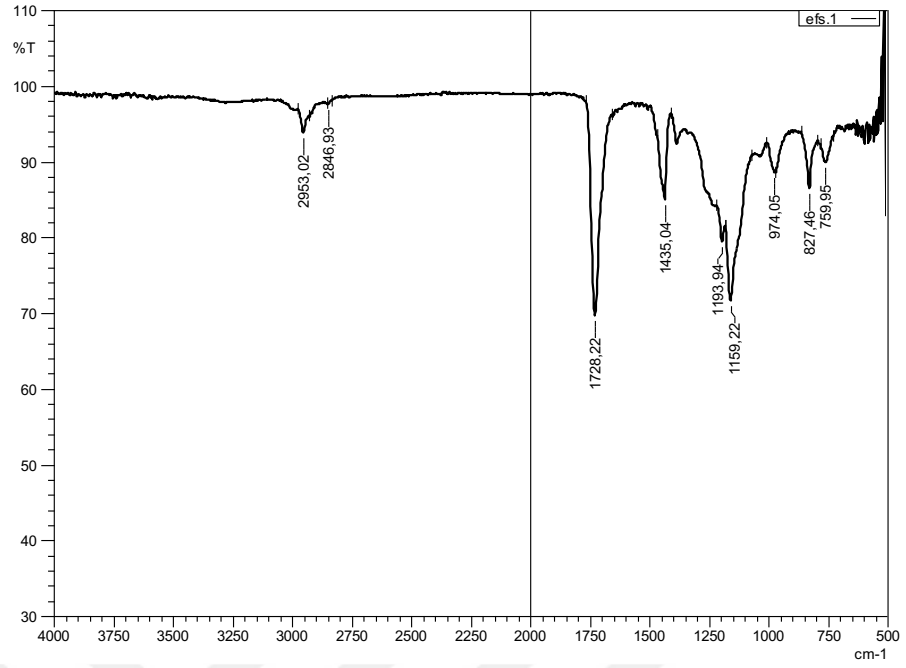
SOL, PCL ve EFS100'ün 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında yapılan FT-IR analiz spektrumları Şekil 5.12., Şekil 5.13. ve Şekil 5.14.'te sunulmuştur.



Şekil 5.12. Soluplus®'a ait FT-IR Spektrumu



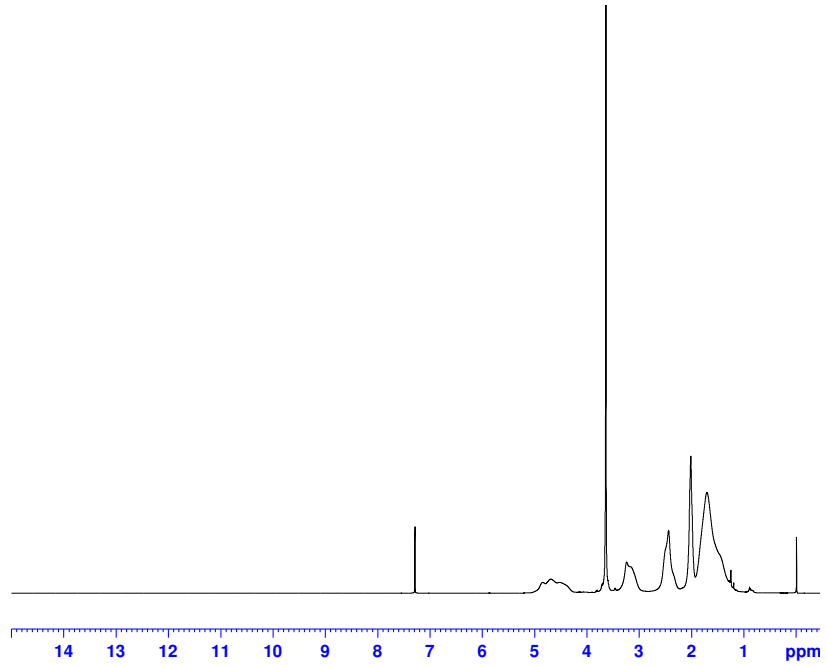
Şekil 5.13. Polikaprolakton'a ait FT-IR Spektrumu



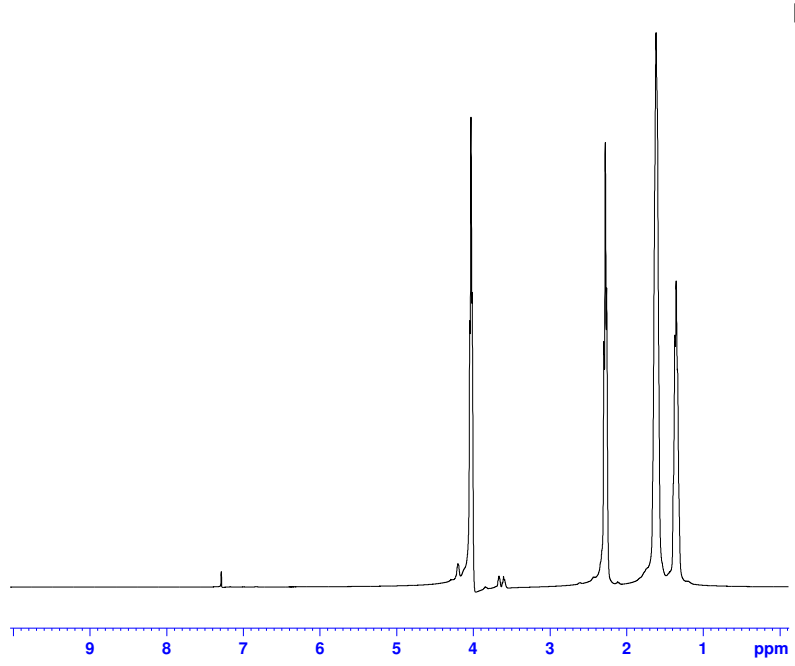
**Şekil 5.14.** Eudragit® FS100'e ait FT-IR Spektrumu

#### 5.2.2.3. NMR analizi

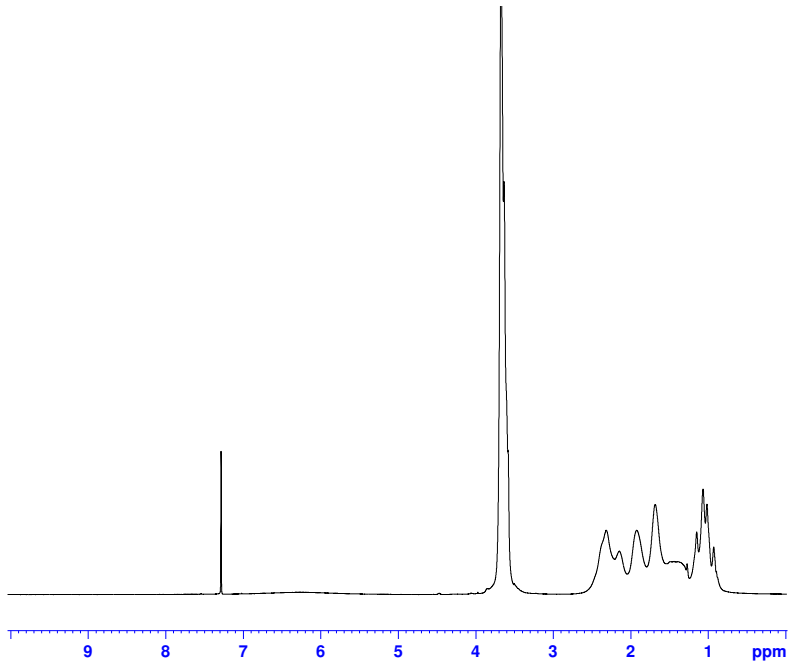
SOL, PCL ve EFS100'e ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumları Şekil 5.15, Şekil 5.16 ve Şekil 5.17'de sunulmuştur.



**Şekil 5.15.** Soluplus®'a ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu



**Şekil 5.16.** Polikaprolakton'a ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu



**Şekil 5.17.** Eudragit® FS 100'e ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu

### 5.2.3. Formülasyon Çalışmaları

VOR içeren PNP Tablo 4.2’de belirtilen formülasyonlarla hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonlar püskürtülerek kurutma yöntemiyle kurutularak partiküller elde edilmiştir. SPV-0 formülasyonu ile istenilen partikül oluşumu sağlanamamıştır. SPV-0T formülasyonunda çok az miktarda partikül oluşmuş ve düşük verim nedeniyle çalışmaya devam edilmemiştir. SEV-0 formülasyonu ile partikül elde edilmemiş ancak film oluşumu gözlenmiştir. SSV ve SPEV formülasyonlarında partikül oluşumu gözlenmiş ve bu formülasyonlarla çalışmalara devam edilmiştir.

### 5.3. Polimerik Nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışmaları

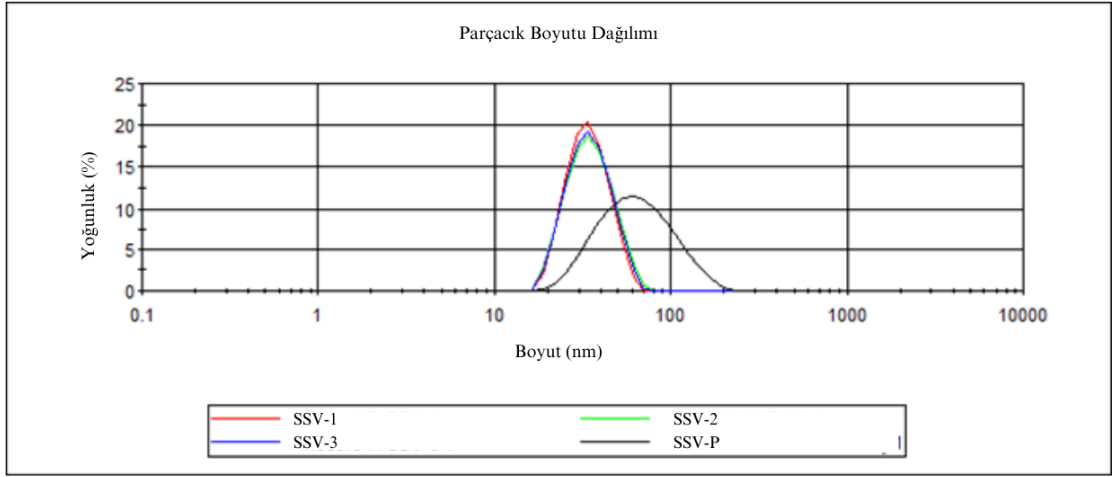
#### 5.3.1. Partikül boyutu, dağılımı ve zeta potansiyeli

SOL ile hazırlanan SSV ile PCL ve EFS100 ile hazırlanan SPEV formülasyonları ile elde edilen partiküllerin ortalama boyutu ve dağılımı (PDI) Tablo 5.3’te gösterilmiştir.

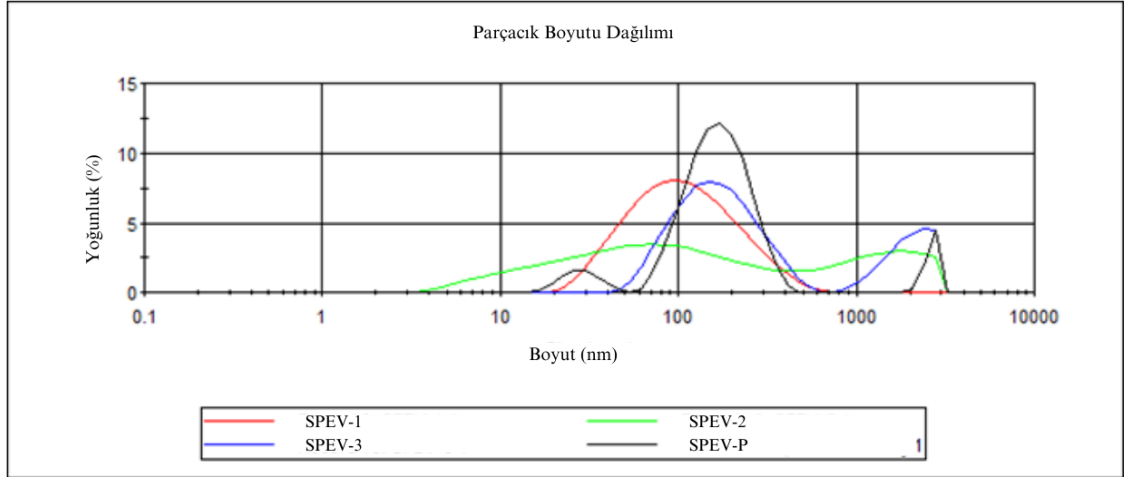
*Tablo 5.3. Hazırlanan partiküllerin ortalama partikül boyutu, dağılımı ve zeta potansiyeli*

| Kod    | Ortalama Parçacık Boyutu (nm) $\pm$ SH | PDI               | Zeta Potansiyeli (mV) $\pm$ SH |
|--------|----------------------------------------|-------------------|--------------------------------|
| SSV-P  | 57,53 $\pm$ 0,41                       | 0,183 $\pm$ 0,008 | -1,69 $\pm$ 0,33               |
| SSV-1  | 32,71 $\pm$ 0,14                       | 0,056 $\pm$ 0,003 | -1,07 $\pm$ 0,00               |
| SSV-2  | 33,06 $\pm$ 0,00                       | 0,063 $\pm$ 0,000 | -1,89 $\pm$ 0,00               |
| SSV-3  | 32,74 $\pm$ 0,00                       | 0,067 $\pm$ 0,001 | -4,51 $\pm$ 0,00               |
| SPEV-P | 191,65 $\pm$ 5,31                      | 0,403 $\pm$ 0,021 | -3,347 $\pm$ 0,00              |
| SPEV-1 | 84,73 $\pm$ 0,00                       | 0,309 $\pm$ 0,026 | -15,4 $\pm$ 0,00               |
| SPEV-2 | 95,61 $\pm$ 0,00                       | 0,481 $\pm$ 0,000 | -20,04 $\pm$ 0,00              |
| SPEV-3 | 180,20 $\pm$ 0,00                      | 0,517 $\pm$ 0,001 | -49,4 $\pm$ 0,00               |

SSV ve SPEV formülasyonlarına ait parçacık boyutu dağılımı grafiği Şekil 5.18 ve Şekil 5.19’ da verilmiştir.



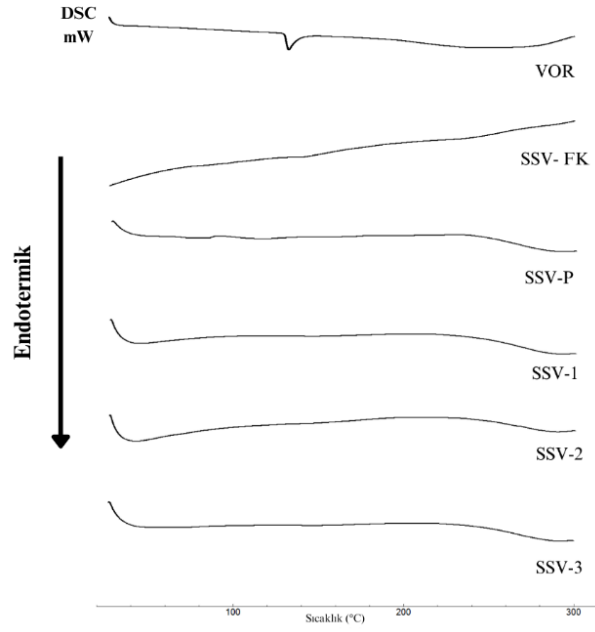
**Şekil 5.18.** SSV Formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılımı



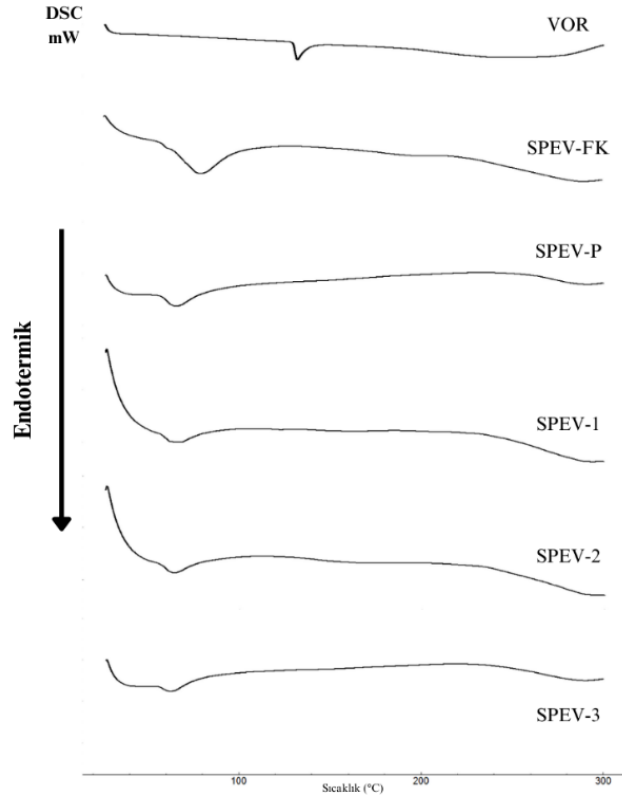
**Şekil 5.19.** SPEV Formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılımı

### 5.3.2. Termal analiz

SSV ve SPEV formülasyonları ile oluşturulan partiküller ve formülasyonları oluşturan maddelerin fiziksel karışımlarına ait DSC termogramları Şekil 5.20 ve Şekil 5.21’de gösterilmiştir.



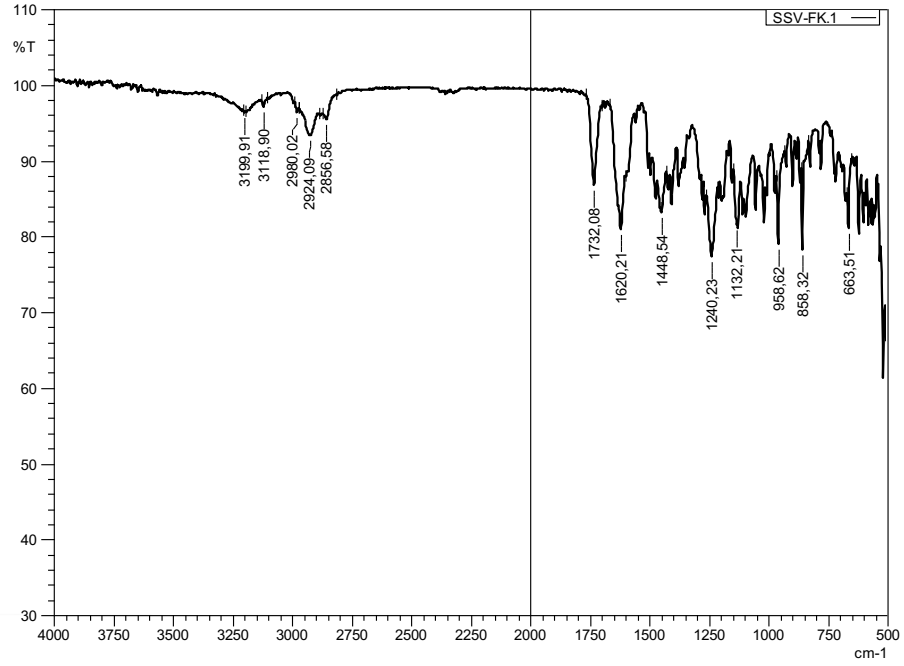
Şekil 5.20. SSV Formülasyonuna ait DSC termogramları



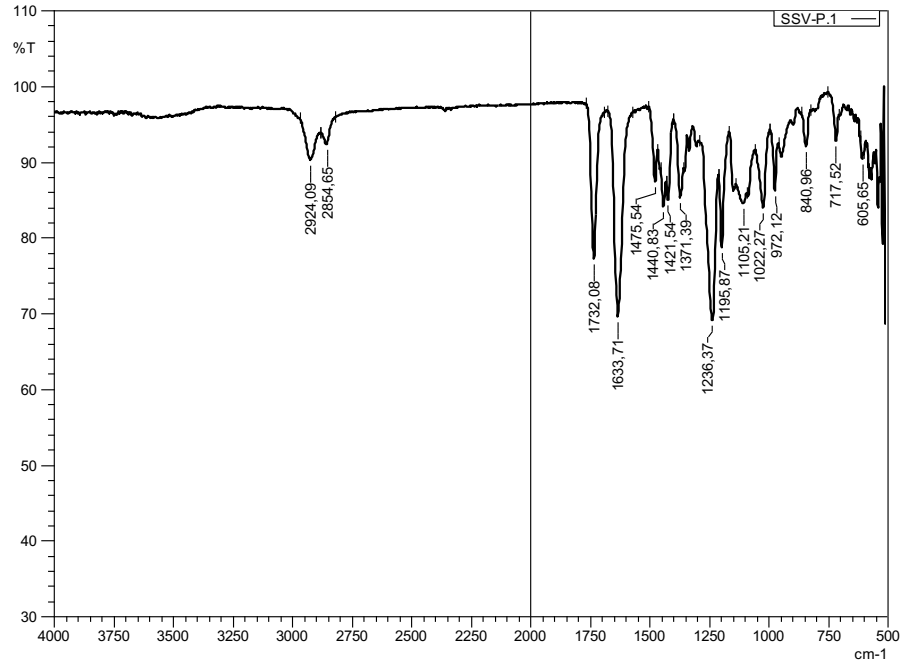
Şekil 5.21. SPEV Formülasyonuna ait DSC termogramları

### 5.3.3. FT-IR analizi

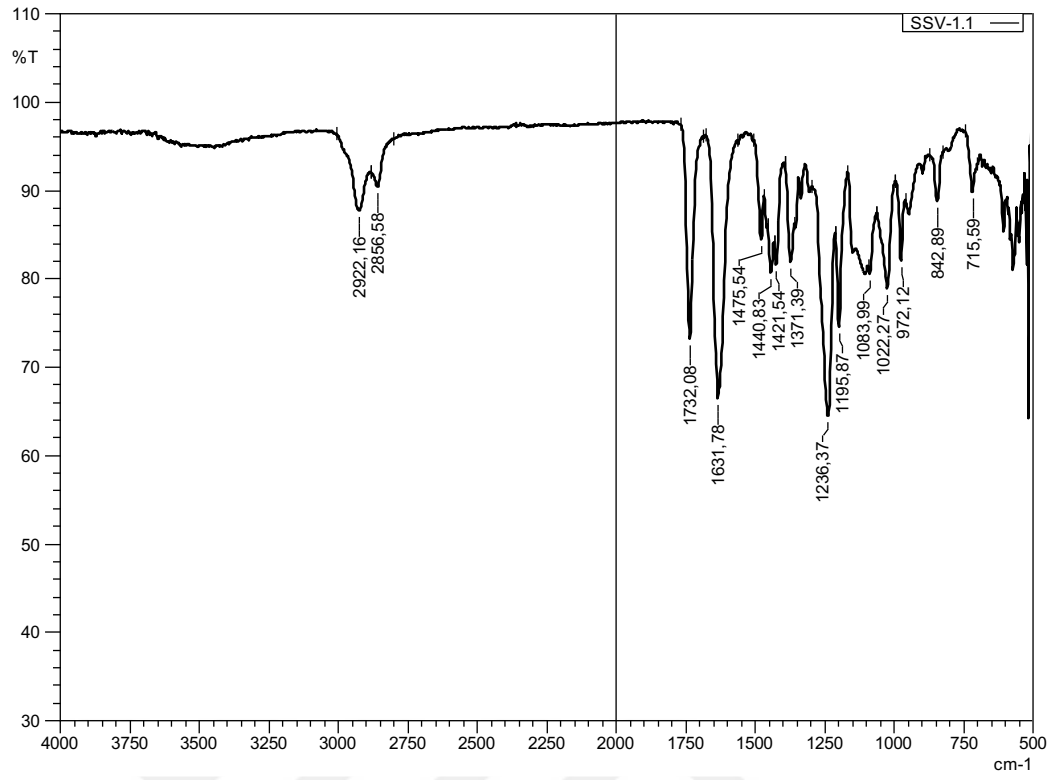
SSV ve SPEV formülasyonları ile formülasyonları oluşturan maddelerin fiziksel karışımlarının 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında yapılan FT-IR analiz spektrumları Şekil 5.22 - Şekil 5.31 arasında sunulmuştur.



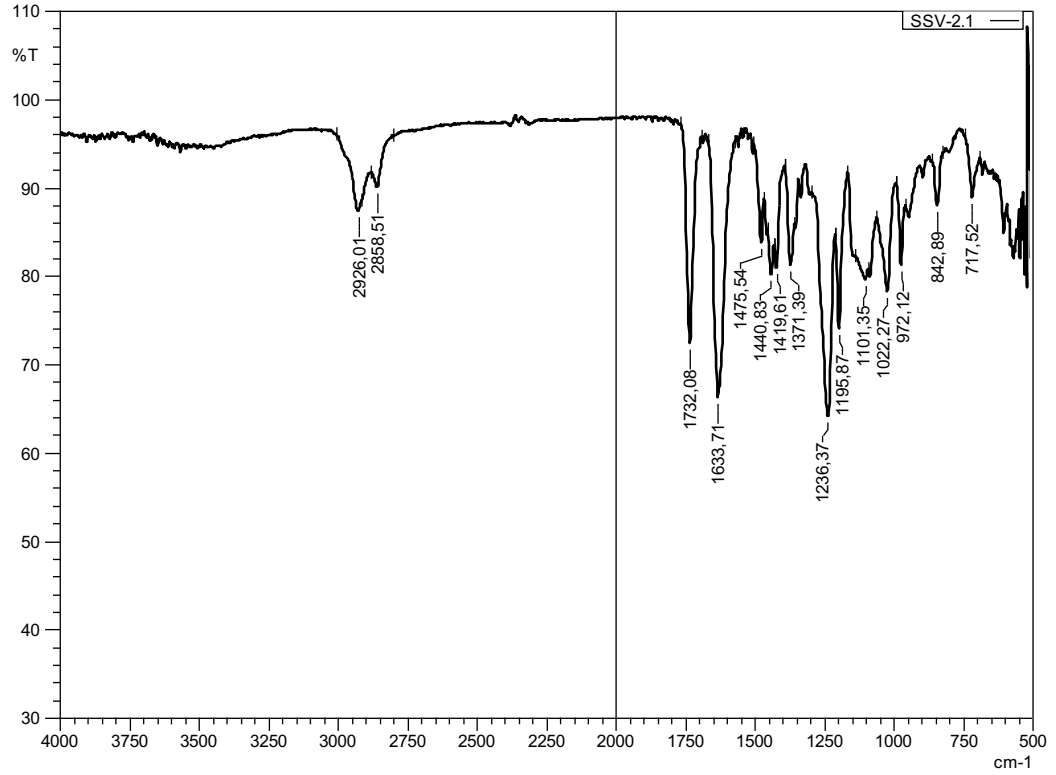
Şekil 5.22. SSV Formülasyonunun Fiziksel Karışımının FT-IR Spektrumu



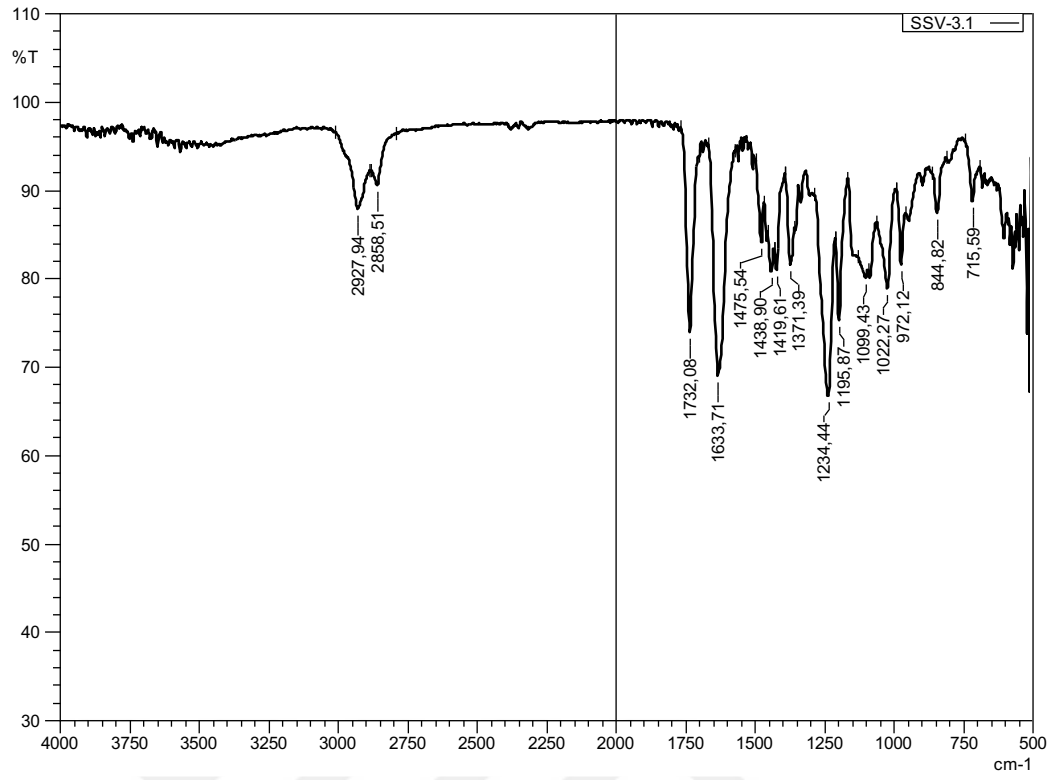
Şekil 5.23. SSV-P Formülasyonunun FT-IR Spektrumu



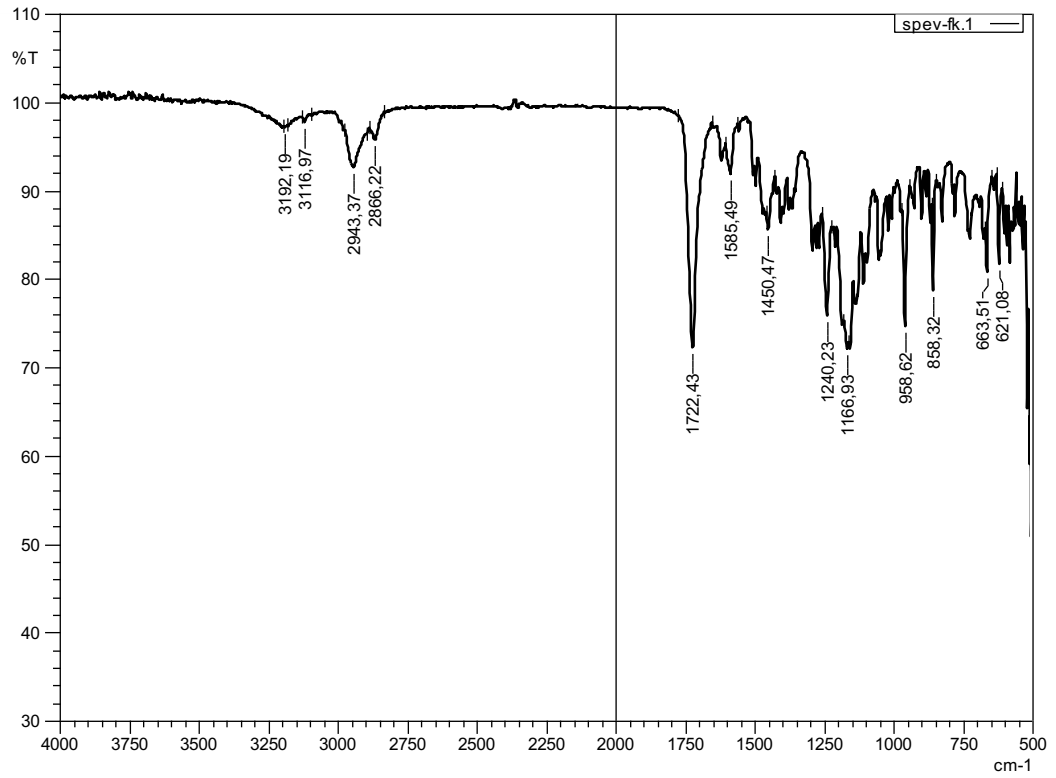
Şekil 5.24. SSV-1 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu



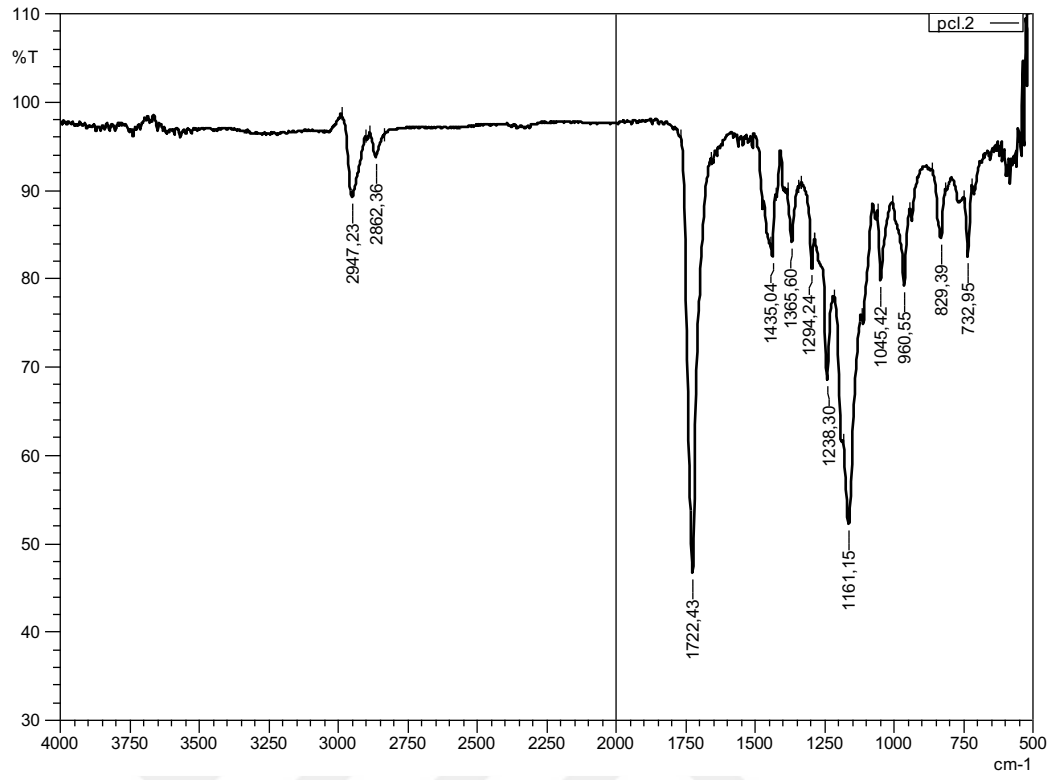
Şekil 5.25. SSV-2 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu



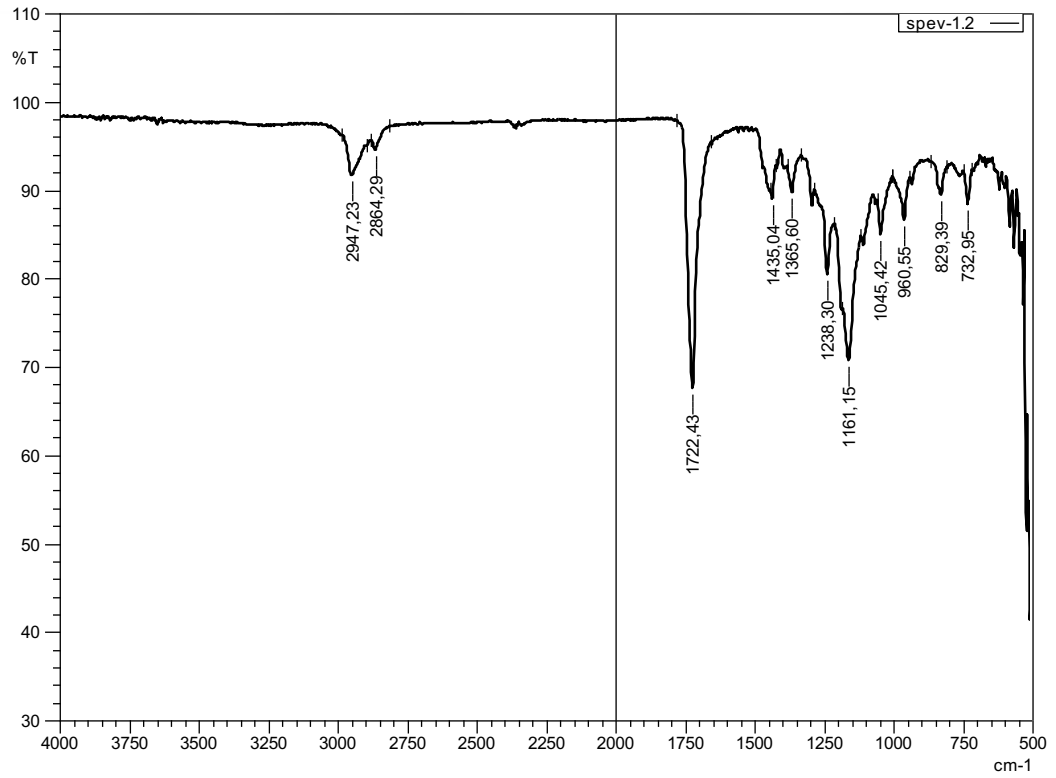
Şekil 5.26. SSV-3 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu



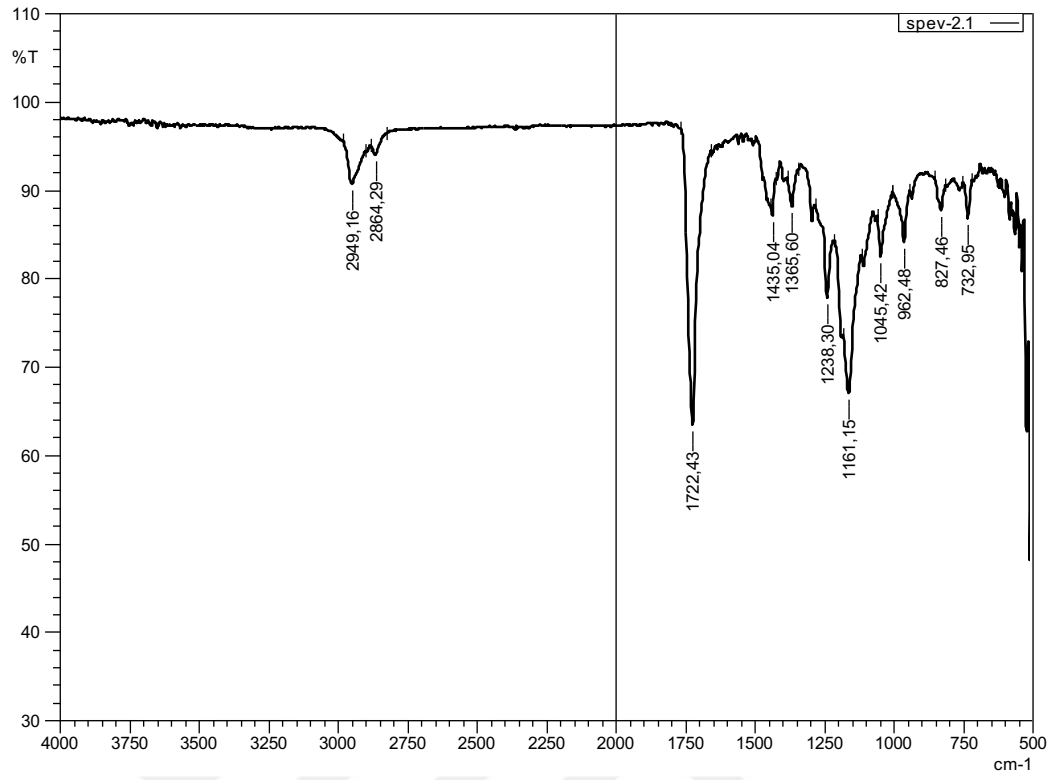
Şekil 5.27. SPEV Formülasyonunun Fiziksel Karışımının FT-IR Spektrumu



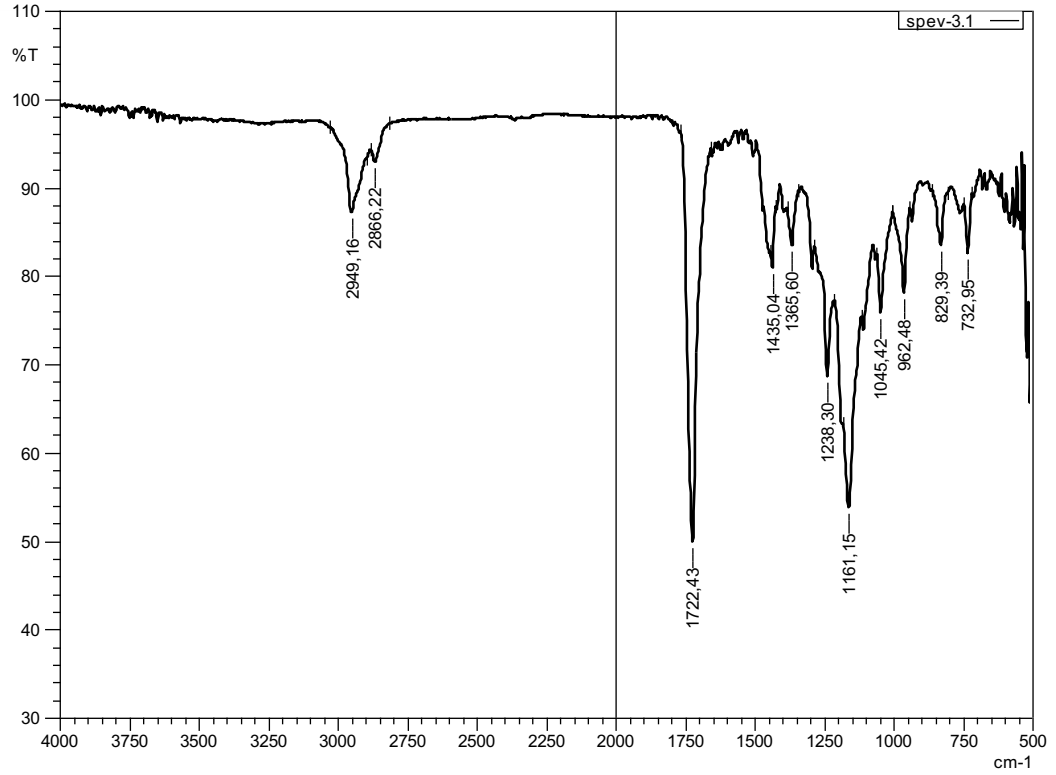
Şekil 5.28. SPEV-P Formülasyonunun FT-IR Spektrumu



Şekil 5.29. SPEV-I Formülasyonunun FT-IR Spektrumu



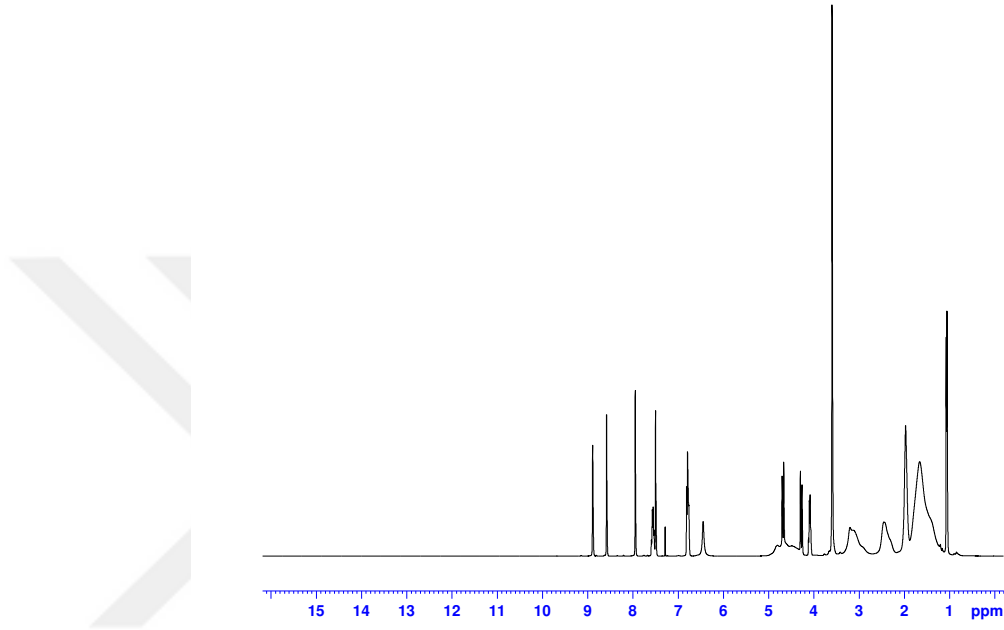
Şekil 5.30. SPEV-2 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu



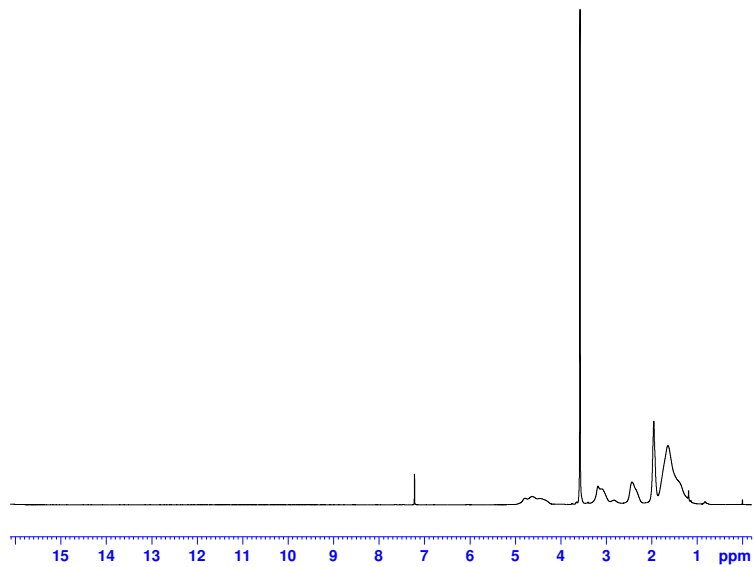
Şekil 5.31. SPEV-3 Formülasyonunun FT-IR Spektrumu

#### 5.3.4. NMR analizi

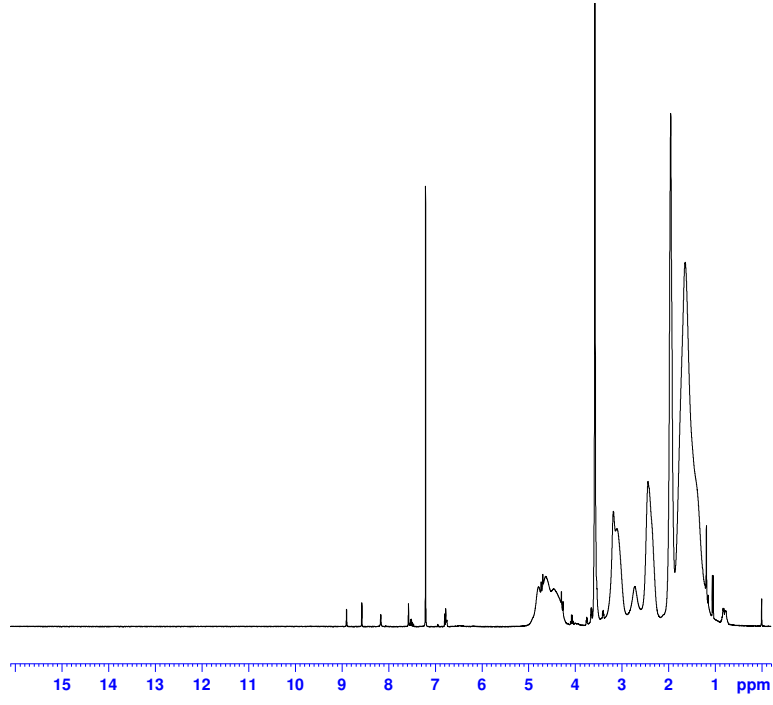
SSV ve SPEV formülasyonları ile formülasyonları oluşturan maddelerin fiziksel karışımlarının  $^1\text{H}$ -NMR analizlerine ait spektrumlar Şekil 5.32 ile Şekil 5.41 arasında sunulmuştur.



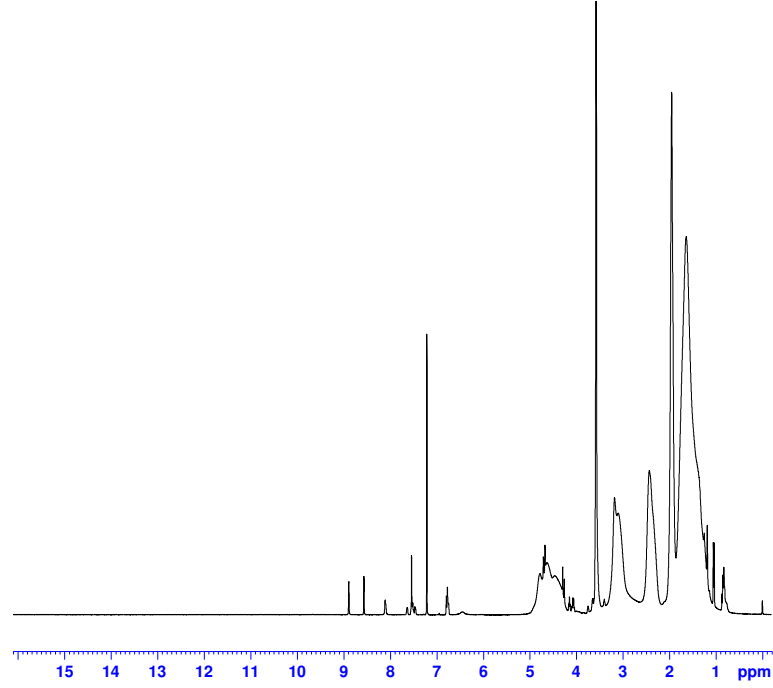
**Şekil 5.32.** SSV formülasyonun fiziksel karışımına ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu



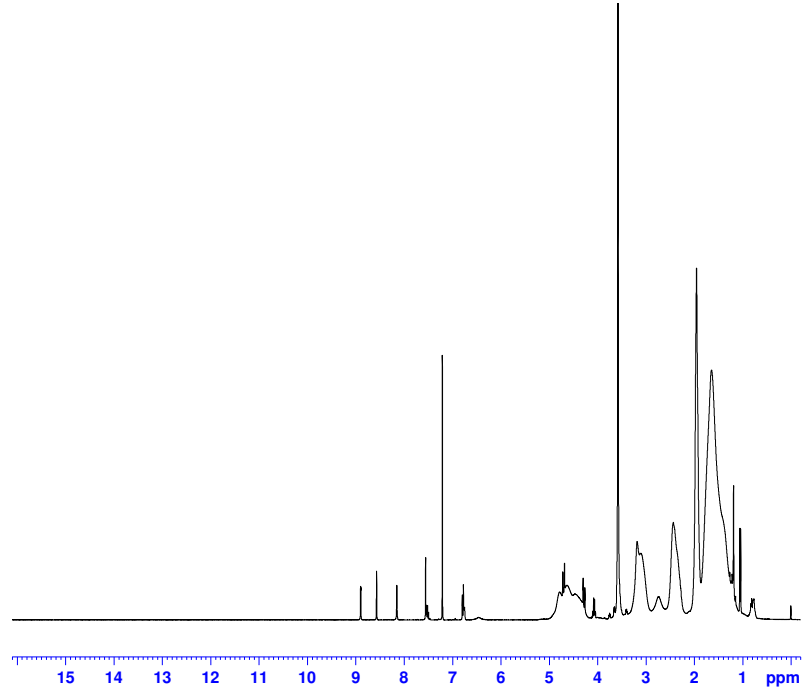
**Şekil 5.33.** SSV-P formülasyonuna ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu



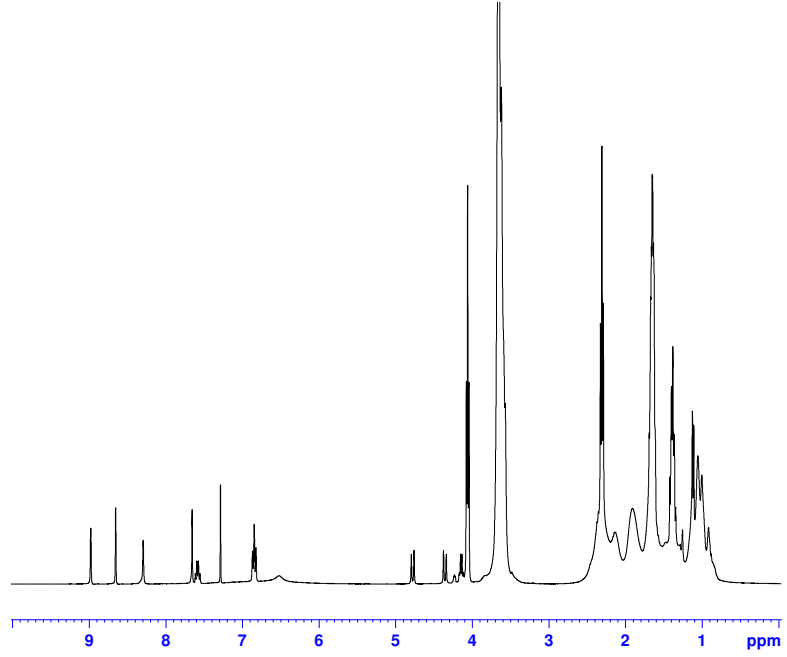
Şekil 5.34. SSV-1 formülasyonuna ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu



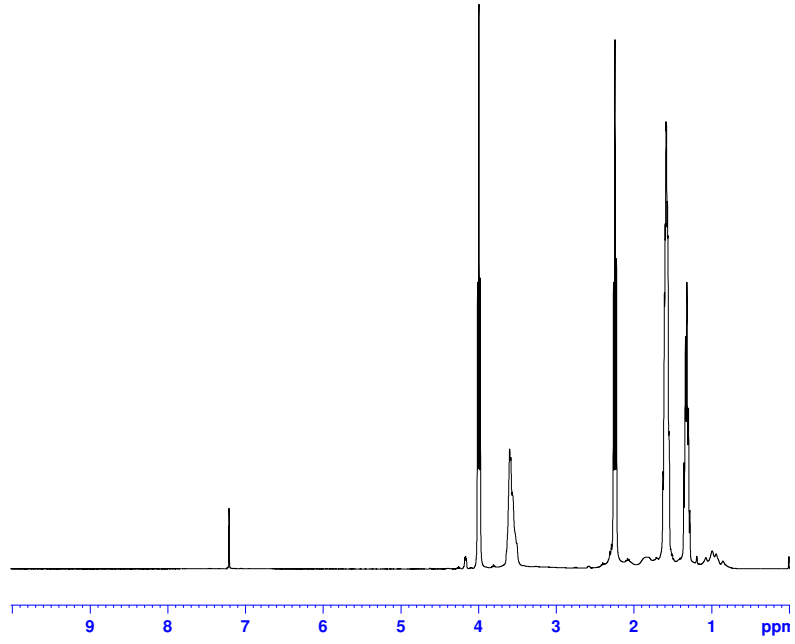
Şekil 5.35. SSV-2 formülasyonuna ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu



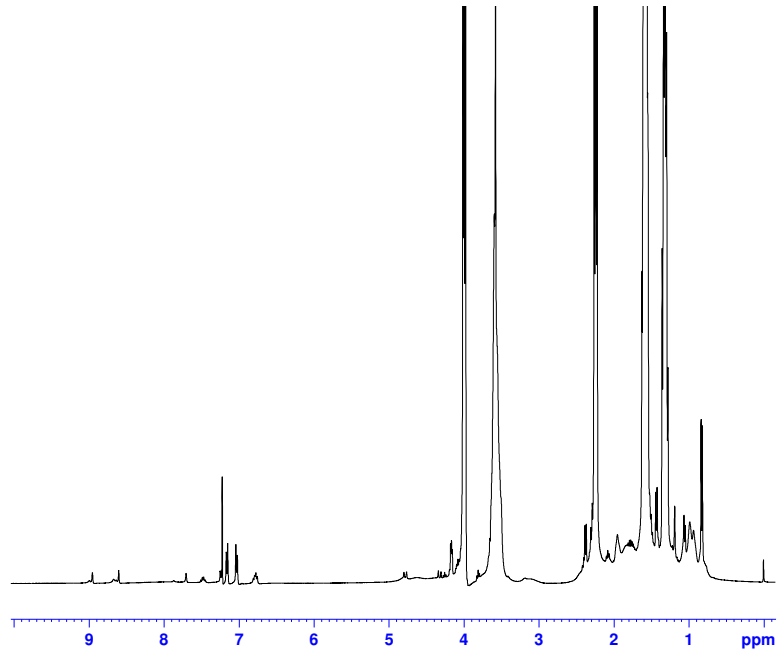
**Şekil 5.36.** SSV-3 formülasyonuna ait <sup>1</sup>H-NMR analiz spektrumu



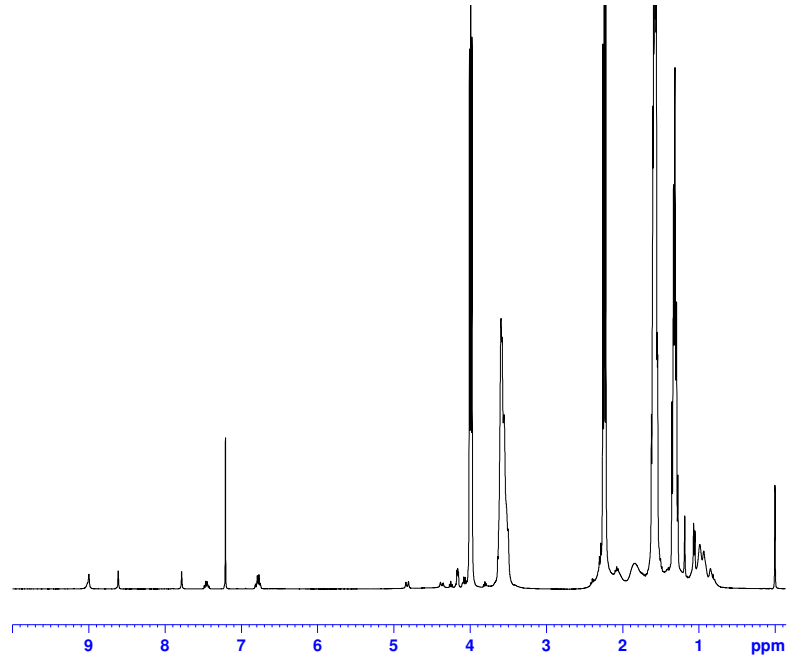
**Şekil 5.37.** SPEV formülasyonun fiziksel karışımına ait <sup>1</sup>H-NMR analiz spektrumu



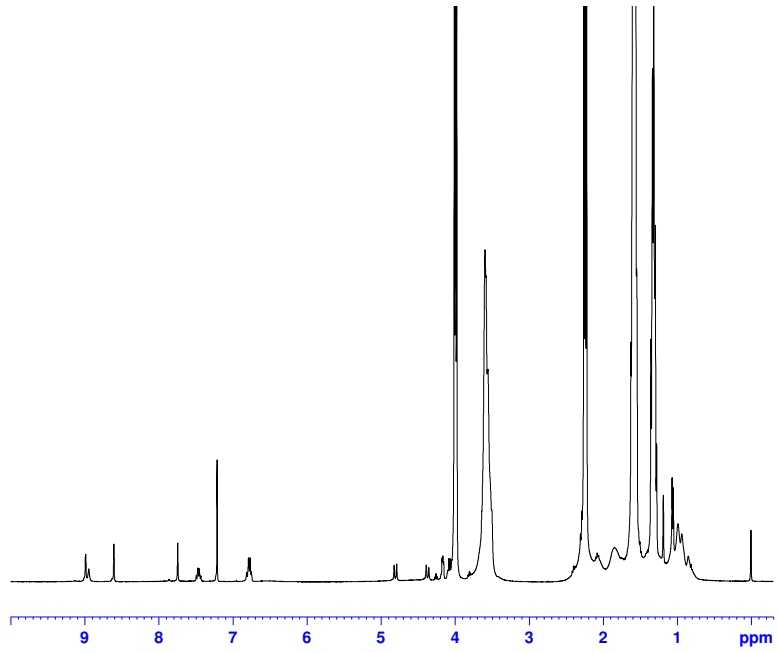
*Şekil 5.38. SPEV-P formülasyonuna ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu*



*Şekil 5.39. SPEV-1 formülasyonuna ait  $^1\text{H}$ -NMR analiz spektrumu*



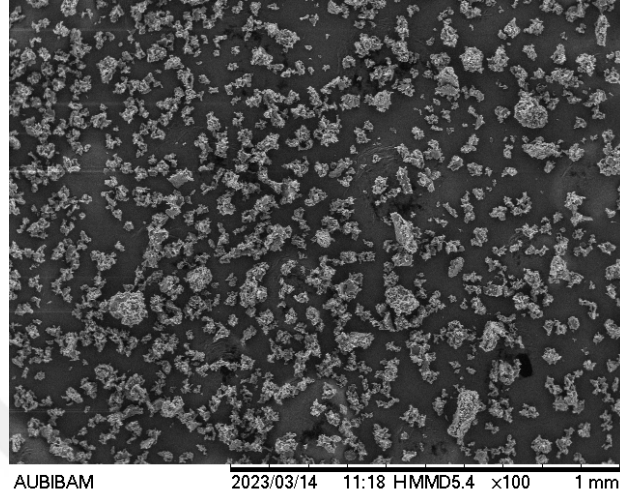
*Şekil 5.40. SPEV-2 formülasyonuna ait <sup>1</sup>H-NMR analiz spektrumu*



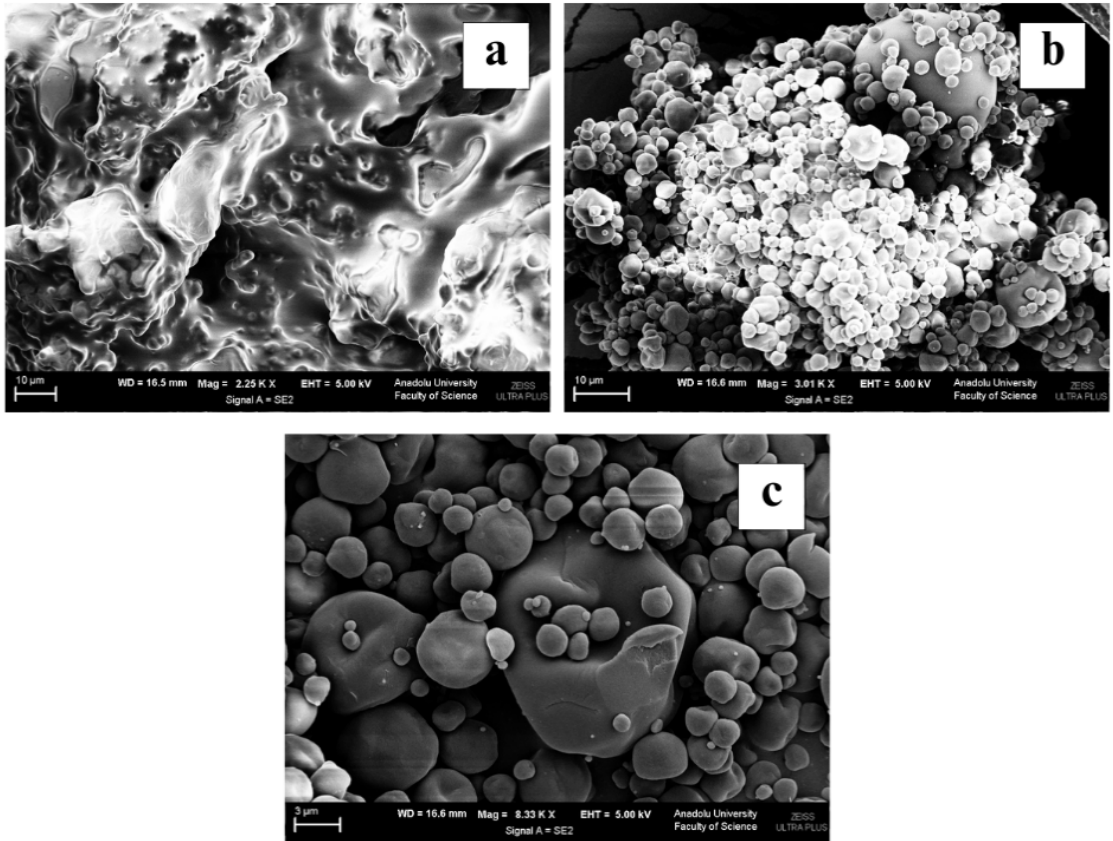
*Şekil 5.41. SPEV-3 formülasyonuna ait <sup>1</sup>H-NMR analiz spektrumu*

### 5.3.5. Partiküllerin morfolojik tayini

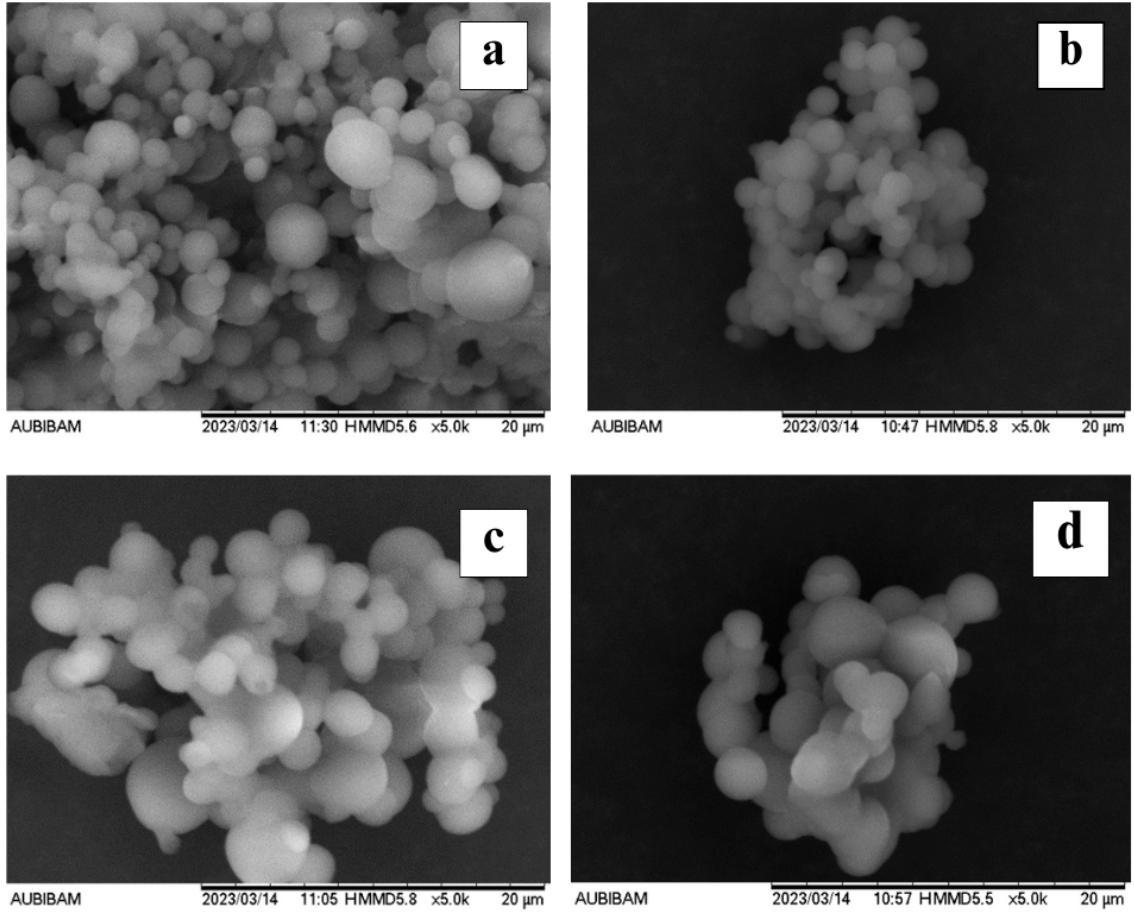
Saf VOR ve oluşturulan PNP'lerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 5.42, Şekil 5.43 ve Şekil 5.44'te sunulmuştur.



Şekil 5.42. Vorikonazol'e ait SEM Görüntüsü



Şekil 5.43. SSV Partiküllerine ait SEM görüntüsü  
(a: SSV-P, b ve c: SSV-2)



**Şekil 5.44.** SPEV Partiküllerine ait SEM görüntüsü  
(a: SPEV-P, b: SPEV-1, c: SPEV-2, d: SPEV-3)

### 5.3.6. Partiküllerdeki vorikonazol yükleme kapasitesinin değerlendirilmesi

PNP formülasyonlarının içerdiği etkin madde miktarı ve yükleme kapasiteleri Tablo 5.4'te sunulmuştur.

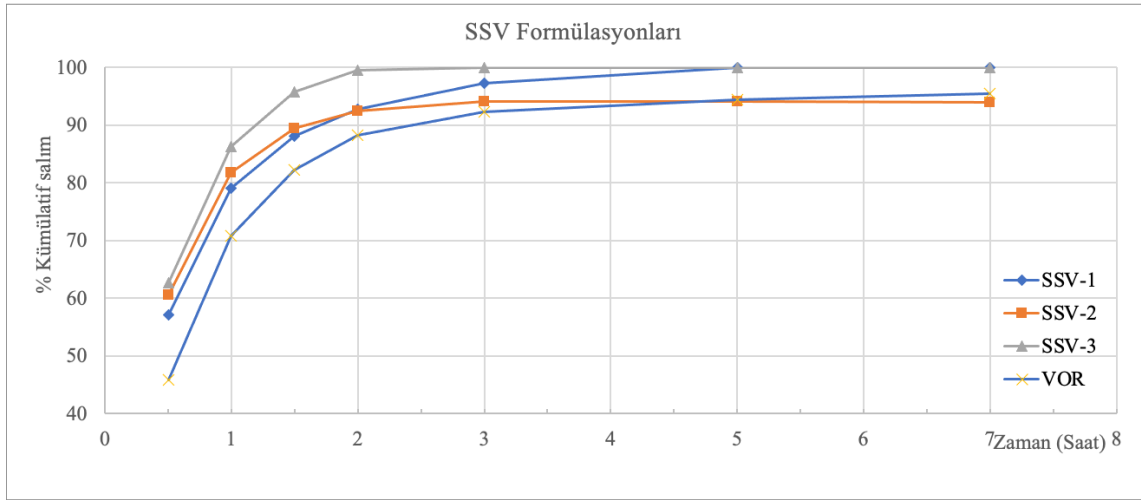
**Tablo 5.4.** Formülasyonlardaki etkin madde miktar tayini analiz sonuçları

| Formülasyon Kodu | Etkin Madde Miktarı<br>(% (a/a) $\pm$ SH, n=3) | Yükleme kapasitesi<br>(% (a/a) $\pm$ SH, n=3) |
|------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| SSV-1            | 2,326 $\pm$ 0,25                               | 84,59 $\pm$ 9,27                              |
| SSV-2            | 4,908 $\pm$ 0,15                               | 98,15 $\pm$ 3,07                              |
| SSV-3            | 6,393 $\pm$ 1,54                               | 68,19 $\pm$ 16,40                             |
| SPEV-1           | 2,194 $\pm$ 0,45                               | 70,21 $\pm$ 14,46                             |
| SPEV-2           | 4,502 $\pm$ 0,39                               | 90,04 $\pm$ 6,21                              |
| SPEV-3           | 6,630 $\pm$ 0,50                               | 80,36 $\pm$ 6,02                              |

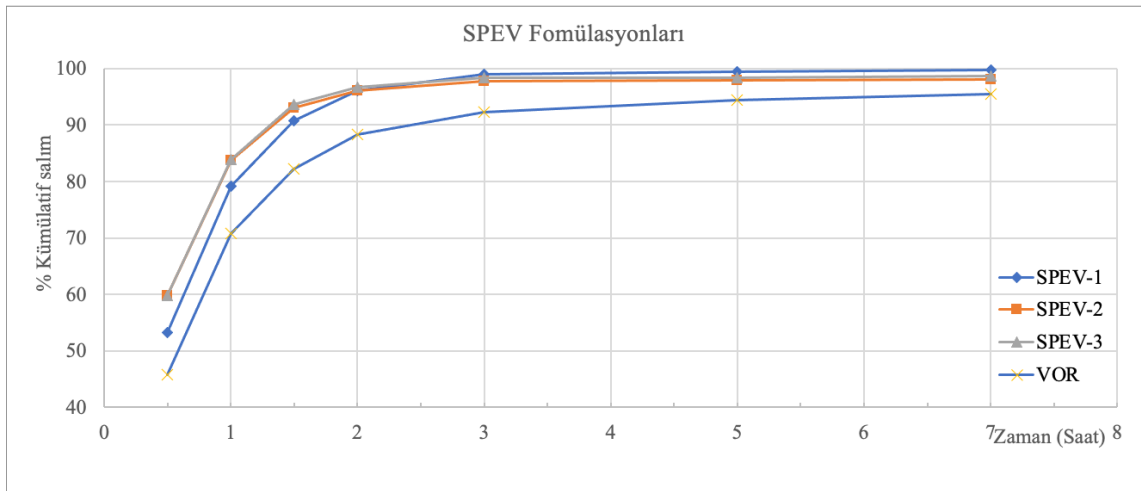
### 5.3.7. *In vitro* salım çalışmaları

PNP formülasyonlarının *in vitro* salım çalışması bölüm 4.4.7’de anlatıldığı şekilde, 30, 60 ve 90 dakika ve 2., 3., 5., ve 7. saatte alınan örneklerdeki VOR miktarları hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda SOL ile hazırlanan formülasyonlar (SSV-1, SSV-2 ve SSV-3) ile PCL ve EFS100 ile hazırlanan formülasyonların (SPEV-1, SPEV-2 ve SPEV-3) *in vitro* salım profilleri Şekil 5.45 VE Şekil 5.46’da sunulmuştur.



Şekil 5.45. SSV Formülasyonlarına ait Vorikonazolün *in vitro* salım profili



Şekil 5.46. SPEV Formülasyonlarına ait Vorikonazolün *in vitro* salım profili

### 5.3.8. Antifungal etkinlik çalışmaları

#### 5.3.8.1. Mikrobrot dilüsyon yöntemi ile antikandidal aktivite testi

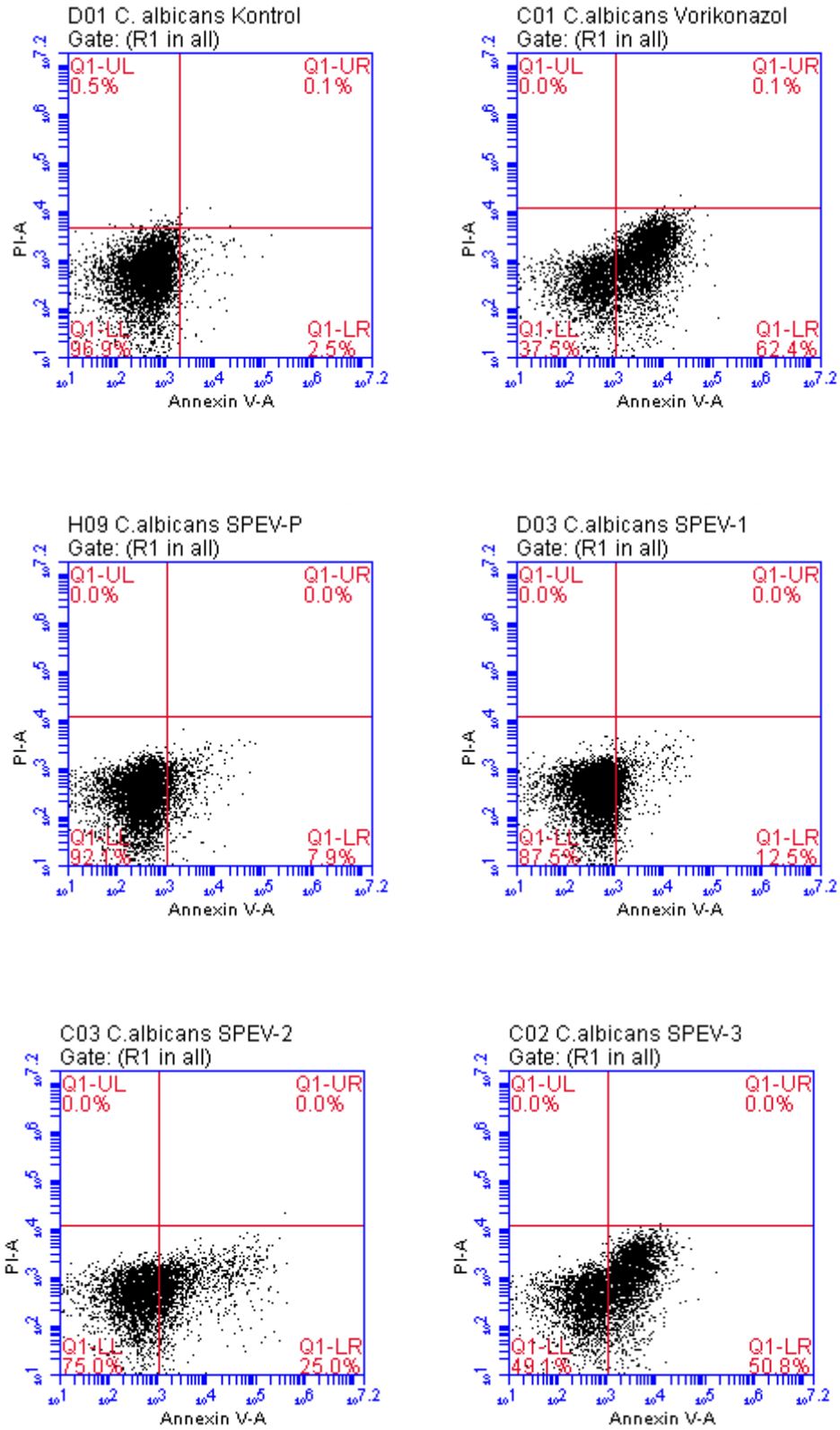
SSV ve SPEV PNP'lerin mikrobrot dilüsyon yöntemiyle elde edilen MİK ve IC50 değerleri Tablo 5.5'te verilmiştir.

Tablo 5.5. Antikandidal aktivite testi bulguları

| Kod         | MİK DEĞERLERİ (µg/mL) |                    |                  |                        | IC50 (µg/mL)   |
|-------------|-----------------------|--------------------|------------------|------------------------|----------------|
|             | <i>C. albicans</i>    | <i>C. glabrata</i> | <i>C. krusei</i> | <i>C. parapsilosis</i> | BJ Hücre hattı |
| SPEV-P      | 800                   | 800                | 800              | 800                    | >500           |
| SPEV-1      | 100                   | 200                | 200              | 200                    | >500           |
| SPEV-2      | 50                    | 100                | 200              | 200                    | >250           |
| SPEV-3      | 25                    | 100                | 100              | 100                    | >250           |
| SSV-1       | 100                   | 200                | 200              | 200                    | >500           |
| SSV-2       | 200                   | 200                | 200              | 200                    | >500           |
| SSV-3       | 100                   | 200                | 200              | 200                    | >250           |
| SSV-P       | 800                   | 800                | 800              | 800                    | >500           |
| SOL         | 400                   | 400                | 400              | 400                    | >500           |
| PCL         | 800                   | 800                | 800              | 800                    | >500           |
| EFS         | 800                   | 800                | 800              | 800                    | >500           |
| Vorikonazol | 25                    | 25                 | 25               | 25                     | >125           |

#### 5.3.8.2. Anneksin V-PI yöntemi ile kandida apoptozisin belirlenmesi

Mikrobrot dilüsyon yöntemi ile belirlenen MİK değerlerine göre en düşük değere sahip SPEV partikülleri ile kandida apoptozisin belirlenmesi için yapılan test sonuçları Şekil 5.47 ve Tablo 5.6'da verilmiştir.



Şekil 5.47. Antikandidal analiz sonuçları

**Tablo 5.6.** Antikandidal analiz sonuçları

| Kod                | Canlı (%) | Nekrotik (%) | Erken Apoptotik (%) | Geç Apoptotik (%) |
|--------------------|-----------|--------------|---------------------|-------------------|
| <b>Kontrol</b>     | 96,9      | 0,5          | 2,5                 | 0,1               |
| <b>SPEV-P</b>      | 92,1      | 0            | 7,9                 | 0,2               |
| <b>SPEV-1</b>      | 87,5      | 0            | 12,5                | 0,1               |
| <b>SPEV-2</b>      | 75        | 0            | 25,0                | 0,1               |
| <b>SPEV-3</b>      | 49,1      | 0            | 50,8                | 0                 |
| <b>Vorikonazol</b> | 3,5       | 0            | 62,4                | 0,1               |

## 6. TARTIŞMA

### 6.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

#### 6.1.1. Vorikonazol ve yardımcı maddeler ile yapılan çalışmalar

Ön formülasyon ve formülasyon çalışmalarına başlamadan önce etkin madde ve yardımcı maddelerin fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. DSC, FT-IR ve NMR analizleri yapılarak literatür bulguları ile karşılaştırılmıştır.

VOR'un erime derecesi tayin cihazı ile yapılan erime derecesi 128 °C olarak saptanmıştır. DSC cihazı ile yapılan termal analiz sonucunda 132,18 °C endotermik bir erime piki oluşturduğu gözlenmiştir. İki sonuç da literatürde geçen 128°C-134°C ile uyumlu bulunmuştur (Miletic vd., 2013).

VOR'un 500-4000 cm<sup>-1</sup> arasındaki FT-IR spektrumları Şekil 5.6'da sunulmuştur. Spektrumda 3188,33 cm<sup>-1</sup> OH gerilmesi, 1585,49 cm<sup>-1</sup> C-N gerilmesi ve 1406,11 cm<sup>-1</sup> C-F gerilmesi bantları gözlemlenmiş ve literatürle uyumlu bulunmuştur (Drabińska vd., 2022; Khare vd., 2016; Pardeshi vd., 2022; Patil vd., 2019). VOR'un <sup>1</sup>H-NMR spektrumu Şekil 5.7'de belirtilmiştir. Analiz sonuçları literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur (Barbosa vd., 2017; Drabińska vd., 2022; Kalamkar vd., 2013).

SOL'un DSC ile yapılan termal analiz termogramı Şekil 5.9'da gösterilmiş ve analiz sonucu literatürle uyumlu bulunmuştur (Homayouni vd., 2014). SOL'un FT-IR analiz spektrumu Şekil 5.12'de gösterilmiştir. Spektrumda 1732,08 cm<sup>-1</sup> C=O gerilim ve 1631,78 cm<sup>-1</sup> üçüncül amid için C=O gerilim bantları gözlemlenmiş ve literatürle uyumlu bulunmuştur (Homayouni vd., 2014). SOL'un <sup>1</sup>H-NMR spektrumu Şekil 5.15'te belirtilmiştir. Analiz sonuçları literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur (Moretton vd., 2017).

PCL'nin DSC ile yapılan termal analizinin termogramı Şekil 5.10'da gösterilmiş ve analiz sonucu literatürle uyumlu bulunmuştur (Murphy vd., 2012; Speranza vd., 2014). PCL'nin FT-IR analiz sonucu Şekil 5.13'te gösterilmiş ve analiz sonucu literatürle uyumlu bulunmuştur (Murphy vd., 2012). PCL'nin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu Şekil 5.16'da belirtilmiştir. Analiz sonuçları literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur (Otman vd., 2008).

EFS100'ün DSC ile yapılan termal analiz termogramı Şekil 5.11'de gösterilmiş ve analiz sonucu literatürle uyumlu bulunmuştur (Zhang, 2016). EFS100'e ait FT-IR analiz sonucu Şekil 5.14'te gösterilmiş ve analiz sonucu literatürle uyumlu bulunmuştur (Moustafine vd., 2012).

EFS100'ün <sup>1</sup>H-NMR spektrumu Şekil 5.17'de belirtilmiştir. Analiz sonuçları literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur (Zhang, 2016).

### 6.1.2. Literatür Araştırması

VOR ile formüle edilmiş oküler modern ilaç taşıyıcı sistemler hakkında kapsamlı bir literatür araştırması yapılmıştır. Formülasyonda kullanılan maddeler ve hazırlama yöntemi ve oluşturulan ilaç taşıyıcı sistemler incelenerek çalışmamızda kullanılacak polimerler seçilmiştir.

Kumar ve Sinha yaptıkları araştırmada oküler uygulamaya yönelik VOR içeren mikroemülsiyon formülasyonları oluşturmuşlardır. Gerçekleştirdikleri *in vitro* ilaç salım çalışmalarına göre mikroemülsiyon formülasyonları ilk yarım saat ani salım (%25) gösterdikten sonra 12 saat boyunca kontrollü salım (>%70) sağlamıştır, süspansiyon formülasyonları ise ilk 6 saatte %95 ilaç salımı gerçekleştirmiştir (Kumar & Sinha, 2014). Araştırmacılar bir diğer çalışmada oküler uygulamaya yönelik VOR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının biyoyoumluluklarını incelemişlerdir. *Ex vivo* ve *in vivo* deneyler sonucunda formülasyonlarının iritasyona neden olmadığı ve biyoyoumlu olduğu gözlenmiştir (Kumar & Sinha, 2017).

Oküler uygulama için Kitosan ile modifiye edilmiş VOR içeren mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilmiştir. *In vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* deneylerde saf VOR ile hazırlanan süspansiyonla karşılaştırılmış ve mikroemülsiyon formülasyonunun gözde kalış süresi ve ilaç iletiminin daha fazla olduğu belirtilmiştir. Ayrıca ilk yarım saat ani salım gösterdikten sonra 12 saat boyunca kontrollü salım sağlanmıştır (Bhosale vd., 2016).

VOR'un transkorneal geçirgenliğinin iyileştirilmesi için kendiliğinden nanoemülsifiye olan formülasyonlar geliştirilmiştir (Rasoanirina vd., 2020). Fungal keratit tedavisi için VOR içeren göz damlası formülasyonları geliştirilmiştir. HP-β-CD ile VOR çözeltisi hazırlayarak çeşitli viskozite ajanlar ve koruyucularla formülasyonlar hazırlanarak karakterizasyon, stabilite ve *in vivo* geçirgenlik hakkında çalışmalar yapılmıştır (Malhotra vd., 2014).

VOR HP-β-CD inklüzyon kompleksleri ile Pluronic F-68 (PF68), Pluronic F-127 (PF127) ve sodyum aljinat kullanılarak oküler uygulamaya yönelik *in situ* jel formülasyonları hazırlanmıştır (Pawar vd., 2013). Puranik ve arkadaşları VOR'un oküler uygulanmasına yönelik *in situ* jel formülasyonları üzerine çalışma yapmışlardır. VOR

HP- $\beta$ -CD inklüzyon kompleksleri oluşturularak sodyum aljinat ve HPMC K15M ile iyona duyarlı *in situ* jel formülasyonları hazırlanmıştır (Puranik & Tagalpallewar, 2015).

VOR yüklü *in situ* jel formülasyonları Poloksamer 188 (P188), Poloksamer 407 (P407) ve sodyum aljinat kullanılarak soğuk metotla hazırlanmış ve formülasyonun geliştirilmesi ve karakterizasyonu yapılmıştır (Üstündağ Okur vd., 2016).

Pandurangan ve arkadaşları film hidrasyon tekniği ile VOR yüklü katı lipit nanopartiküller oluşturmuştur. Hazırlanan nanolipitler, Karbopol 940 ve HPMC K15M ile formüle edilerek *in situ* jeller geliştirilmiştir (Pandurangan vd., 2016).

VOR'un fungal keratite karşı etkinliğinin geliştirilmesi için *in situ* jel formülasyonları üretilmiştir. P188, P407 ve karboksimetilselüloz kullanılarak ısıyla jelleşen *in situ* jel formülasyonları oluşturulmuştur (Üstündağ Okur vd., 2019).

Alhakamy ve arkadaşları VOR'un göz mantarına karşı antifungal etkinliğini geliştirmek için *in situ* jel formülasyonları tasarlamıştır. Fitantriol ve PF127 ile VOR yüklü kübozomlar oluşturulmuştur. Karakterizasyon analizleri sonucunda optimum kübozom formülasyonu seçilerek Hiyalüronik asit ve PF127 ile *in situ* jel formülasyonları hazırlanmıştır (Alhakamy vd., 2022).

Pardeshi ve arkadaşları VOR'un oküler biyoyararlanımı ve penetrasyonu arttırmak için *in situ* jel sistemler geliştirmiştir. Sodyum lauril sülfat (SLS) ve polivinil pirolidon (PVP) K30 (%) ile VOR yüklü nanopartiküller çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırlanmıştır. Nanopartiküller, Karboksimetil kitosan, P407 ve P188 kullanılarak soğuk yöntemle *in situ* jel sistemler oluşturulmuştur (Pardeshi vd., 2022).

Oküler uygulamaya yönelik VOR yüklü nanoyapılı lipit taşıyıcılar (NLC) ile *in situ* jel formülasyonları geliştirilmiştir. Sıcak mikroemülsiyon yöntemiyle hazırlanan NLC'ler ile Karbopol 940 ve HPMC K15M kullanılarak *in situ* jel sistemler hazırlanmıştır (Tiwari vd., 2023).

Sampathi ve arkadaşları fungal keratite karşı oküler uygulamaya yönelik ısıya duyarlı *in situ* jel formülasyonları geliştirmiştir. VOR ve Sülfobütil eter-beta-siklodekstrin (SBE- $\beta$ -CD) ile inklüzyon kompleksleri hazırlanmış ve P407 ile *in situ* jel formülasyonları oluşturulmuştur (Sampathi vd., 2024).

İntraoküler uygulamaya yönelik VOR'un hidrojel formülasyonları geliştirilmiştir. VOR  $\beta$ -siklodekstrin inklüzyon kompleksleri hazırlanmış, polialdehit dekstran (PAD) ve karboksimetil kitosan (CMCTS) kullanılarak hidrojel formülasyonları oluşturulmuştur (C. Yang vd., 2019).

Diaz ve arkadaşları fungal keratit tedavisi VOR yüklü hidrojel formülasyonları hazırlamıştır. VOR HP- $\beta$ -CD inklüzyon kompleksleri ile  $\kappa$ -karragenan ve gellam sakızı kullanılarak iyon duyarlı ve hiyalüronik asit kullanılarak mukoadesif hidrojel formülasyonlar oluşturulmuştur (Díaz-Tomé vd., 2021).

Wang ve arkadaşları VOR'un enjekte edilebilir hidrojel formülasyonu geliştirmek için bir çalışma yapmıştır. Aminlenmiş hiyaluronik asit (NHA) ve aldehit  $\beta$ -siklodekstrin (ACD) ile hazırlanan VOR yüklü hidrojellerin karakterizasyon, ilaç salım, toksisite ve antifungal etkinliği değerlendirilmiştir (Wang vd., 2023).

VOR'un oküler dağılımı geliştirmek için lipozomal formülasyonları oluşturulmuştur. Formülasyonda çeşitli oranlarda Kolesterol, soya fasulyesi fosfatidilkolin (PC) ve 1,2-dioleoil-3-trimetilamonyum-propan (DOTAP) kullanılarak lipozomlar hazırlanmıştır (de Sá vd., 2015).

Gelfuso ve arkadaşları VOR'un korneal penetrasyonunun iyontoforez ile iyileştirilmesi üzerine çalışma yapılmıştır. Lipozom formülasyonları hazırlanırken de Sá ve arkadaşları (2015) referans alınmıştır. Lipozomlar kitosan ile kaplanarak karşılaştırmalı değerlendirmesi yapılmıştır (Gelfuso vd., 2020).

Sun ve arkadaşları oküler uygulama içi mukoadesif VOR misel formülasyonları hazırlamıştır. Fenilboronik asit konjuge kitosan oligosakarit-E vitamini kopolimeri sentezlenerek VOR yüklenmiş ve karakterizasyonu incelenmiştir (Sun vd., 2022).

Wu ve arkadaşları VOR'un etkili oftalmik iletimi için maleimid işlevselleştirilmiş fosfolipid/PF127 karışık miseller formülasyonları oluşturmuştur. (B. Wu vd., 2022).

VOR'un oküler biyoyararlanımı geliştirmek ve kontrollü salımını sağlamak için Monoolein ve Pluronic F127 ile mukoadesif kübozom formülasyonları oluşturmuştur. Kübozomların karakterizasyon çalışmaları yapıldıktan sonra kitosan ile kaplanarak incelemelere devam edilmiştir (Said vd., 2021).

El-Emam ve arkadaşları VOR yüklü proNiozom jellerin oküler insertlerini geliştirmişlerdir. Koaservasyon yöntemi ile elde edilen proNiozomların karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır (El-Emam vd., 2020).

Polimerik mikrokürelerde kristalize ilaçların taşınmasının incelendiği bir araştırmada VOR ile formülasyon hazırlanmıştır. Mikrokürenin boşluk veya çukurlarına ilaç yüklenmesiyle oluşturulan partiküllerin karakterizasyonları belirlenmiş, antifungal etkinliği ve ilaç salım hızı ve mekanizması yorumlanmıştır (M. Shen vd., 2023).

Sun ve arkadaşları oküler uygulama için elektrospin yöntemi ile VOR yüklü nanofiber formülasyonları geliştirmiştir. VOR'un sudaki çözünürlüğünü arttırmak için HP- $\beta$ -CD kullanılmıştır. VOR- HP- $\beta$ -CD çözeltisi ile polivinil alkol çözeltisi karıştırılarak nanofiberler elde edilmiştir (Sun vd., 2016).

VOR'un gözdeki prekorneal kalış süresini arttırmak için mikroemülsiyon ve ultrasonikasyon yöntemleri ile katı lipid nanopartiküler formülasyonlar geliştirilmiştir (Khare vd., 2016).

Andrade ve arkadaşları oküler uygulamaya yönelik VOR yüklü NLC formülasyonları geliştirmiştir. Mikroemülsiyon tekniği ile hazırlanan partiküllerin karakterizasyonu belirlenerek iritasyon ve geçirgenlik analizleri yapılmıştır. (Andrade vd., 2016).

VOR'un oküler geçirgenliğini iyileştirmek için katı lipid nanopartikül formülasyonları oluşturulmuş ve partiküller çözücü buharlaştırma tekniği ile elde edilmiştir. *In vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* çalışmalarla partiküllerin karakterizasyonu, ilaç salım profili, toksisitesi ve korneal geçirgenliği incelenmiştir (Kumar & Sinha, 2016).

Tian ve arkadaşları VOR'un antifungal etkisini iyileştirmek için NLC formülasyonlar geliştirmiştir. Modifiye edilmiş yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi ile elde edilen partiküllerin karakterizasyonu belirlenmiştir. Antifungal etkinliğinin belirlenmesi için biyofilmden büyüme ve disk difüzyon deneyleri yapılmıştır (Tian vd., 2017).

Füredi ve arkadaşları VOR'un sudaki çözünürlüğünü geliştirmek için insan serum albümini ile formülasyonlar hazırlamış ve partiküller nab<sup>TM</sup> teknolojisi kullanılarak oluşturulmuştur (Füredi vd., 2016). VOR ile ilgili yaptıkları başka bir çalışmada Witepsol<sup>®</sup> W35, stearik asit ve Compritol<sup>®</sup> 888 ATO ile yüksek basınçlı homojenizasyon tekniğiyle lipid bazlı nanopartiküller oluşturmuşlar (Füredi vd., 2017).

VOR'un çözünürlüğünü iyileştirmek için kullanılabilecek polimer çeşidi ve oranının belirlenmesi için yapılan bir araştırmada P188, P407 ve SOL kullanılmıştır. Çözücü buharlaştırma yöntemiyle elde edilen katı dispersiyonları ile yapılan karakterizasyon ve çözünme analizlerine göre optimum formülasyon 1:7 oranında VOR:SOL olmuştur (Hakeem vd., 2020).

Qin ve arkadaşları VOR'un oküler geçirgenliğini iyileştirmek için emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemiyle nanosüspansiyon formülasyonları geliştirmiştir.

VOR'un çözünürlüğünü artırmak için Eudragit® RS 100 ve geçirgenliği artırmak için Pharmsolve® kullanılmıştır (Qin vd., 2021).

Başaran ve arkadaşları VOR'un sudaki çözünürlüğünü iyileştirmek için doğal ve sentetik sekiz farklı siklodekstrin ile inklüzyon kompleksi geliştirmiştir. Formülasyonlarda  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD, HP-CD, HP- $\beta$ -CD, HP- $\gamma$ -CD, M- $\beta$ -CD ve SBE- $\beta$ -CD kullanılmıştır. Partiküllerin karakterizasyonu, çözünürlüğü, toksisitesi ve antifungal etkinliği incelenmiştir (Başaran vd., 2022).

Fungal keratit tedavisinde kullanılan antifungal ilaçların etkinliğinin geliştirilmesi için  $\beta$ -CD ve sitrik asitle çapraz bağlı  $\beta$ -CD (polyCTR- $\beta$ -CD) ile inklüzyon kompleksleri hazırlanmıştır. Mikonazol, itrakonazol, Amfoterisin B ve VOR ile hazırlanan inklüzyon komplekslerinin karakterizasyon, ilaç salım profili, korneal geçirgenliği, toksisitesi ve antifungal etkileri karşılaştırılmıştır (Soe, Junthip, vd., 2023).

Soe ve arkadaşları yaptıkları bir başka çalışmada VOR ve çeşitli siklodekstrinler ile inklüzyon kompleksleri oluşturmuştur.  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD, RM- $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD CM- $\beta$ -CD ve SBE- $\beta$ -CD ile hazırlanan partiküllerden çözünürlüğü en iyi olan SBE- $\beta$ -CD seçilmiş ve Polivinil alkol, kitosan ve hiyolorinik asit ile polimer kompleksleri hazırlanmıştır. Partiküllerin karakterizasyon, ilaç salım profili, korneal geçirgenliği, toksisitesi ve antifungal etkileri karşılaştırılmıştır (Soe, Kerdpol, vd., 2023).

Literatür taraması sonrasında polimerik partiküler formülasyonda kullanılabilecek polimerler hakkında araştırma yapılmıştır.

Linn ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada BCS Sınıf II bileşiklerinden olan danazol, fenofibrat ve itrakonazolün çözünürlüğünü iyileştirmek için SOL ile katı dispersiyon formülasyonları hazırlamışlardır. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* analizler sonucunda SOL'un etkin maddelerin çözünürlüğünü arttırdığı ve oral biyoyararlanımını geliştirdiği görülmüştür (Linn vd., 2012).

Diabetes ile ilişkili kornea hastalıkları için nanomisel şeklinde  $\alpha$ -lipoik asit içeren oküler uygulamaya yönelik formülasyonları geliştirilmiştir. Yapılan çalışmada SOL ile hazırlanan formülasyonların geçirgenliğinin ticari preparatlara kıyasla daha yüksek ve hızlı olduğu gözlenmiş ve bunun nedeninin de SOL'un  $\alpha$ -lipoik asit çözünürlüğünü artırması olabileceği belirtilmiştir (Alvarez-Rivera vd., 2016).

Attia ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada püskürterek kurutulan formülasyonlarda seçilecek polimerlerin çözünürlüğü ve fiziksel stabilitesinin öneminden bahsetmiştir. SOL, kendiliğinden emülsiyon oluşturabilmesi ve yüksek ıslatıcılığı

sayesinde hidrofobik maddelerin çözünürlüğünü arttırması ve aşırı doygun durumun stabilizasyonunu sağlayabileceğinden püskürterek kurutma için uygun bir polimer olarak belirtmiştir (Attia vd., 2023).

Girgis yaptığı bir çalışmada, sürekli ilaç salımı sağlamak amacıyla saf Atorvastatin içeren süspansiyon ve pkaprolakton ile oluşturulan nanopartiküller ile oküler insert formülasyonları hazırlamıştır. Yapılan *in vitro* deneylerde süspansiyon ile hazırlanan insertlerin ilaç salımının daha hızlı olduğu görülürken nanopartiküller ile hazırlanan insertlerin daha yavaş ve uzatılmış olduğu görülmüştür. *In vivo* deney sonuçlarına göre nanopartikül formülasyonunun gözde tahrişe ve yan etkiye sebep olmadan uzun süreli salım yaptığı belirtilmiştir (Girgis, 2020).

Da Silva ve arkadaşları PCL ile hazırlanan nanoliflerin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda biyouyumluluğunu incelemiştir. Deney sonuçlarında nanoliflerin inflamatuvar veya toksik etki göstermediği ve tolere edilebildiği gözlenmiş ve kontrollü ve uzun süreli salım için oküler taşıyıcı sistem olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Da Silva vd., 2015).

Thakkar ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada moksilofoksasin içeren insert şeklinde formülasyonlar geliştirmişlerdir. Sürekli salım elde etmek için hazırladıkları formülasyonda kontrollü salım sağlaması için EFS100 kullanılmıştır. Kolona hedeflenen ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan EFS100'ün oküler ilaç taşıyıcı sistemde kontrollü salım sağlaması için kullanılan ilk araştırma olabileceği belirtilmiştir (Thakkar vd., 2021).

## **6.2. Partiküler Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları**

Partiküllerin karakterizasyon çalışmalarında partikül boyutu ve dağılımı analizi, zeta potansiyel ölçümü, SEM analizi, nanopartiküllere yüklenen VOR miktarı tayini ve *in vitro* salım deneyleri tartışılmıştır. Literatür araştırması sonucunda VOR ile hazırlanan bazı formülasyonların bulguları Tablo 6.1'de verilmiştir.

**Tablo 6.1.** Vorikonazol ile daha önce yapılmış çalışmalarda oluşturulan bazı formülasyonlara ait fizikokimyasal bulgular

| Referans                                                                                                                                                                                              | İlaç taşıyıcı sistem          | Kullanılan maddeler                                       | Fizikokimyasal Bulgular                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Network pharmacology, molecular docking-driven, Qbd-Engineered antifungal in-situ gel loaded with voriconazole nanostructured lipid carriers (Tiwari vd., 2023)                                       | Nanopartiküler Lipit Taşıyıcı | Stearik Asit<br>Oleik Asit<br>Tween 80<br>Propilen Glikol | PB: 126,6<br>PDI: 0,526<br>Zeta: 33,5                                  |
| Development and Optimization of Hyaluronic Acid-Poloxamer In-Situ Gel Loaded with Voriconazole Cubosomes for Enhancement of Activity against Ocular Fungal Infection (Alhakamy vd., 2022)             | Kübozom                       | Fitantriol<br>Poloksamer F127                             | PB: 65<br>PDI: 0,33<br>EE: 65                                          |
| Statistical optimization of voriconazole nanoparticles loaded carboxymethyl chitosan-poloxamer based in situ gel for ocular delivery: In vitro, ex vivo, and toxicity assessment (Pardeshi vd., 2022) | Nanopartikül                  | Karboksi metil kitozan                                    | PB: 219,3<br>PDI: 0,1<br>Zeta: -21,4<br>EE: 89.6<br>İn vitro salım: 10 |

PB: Partikül boyutu, nm; PDI: Polidispersite indeksi; Zeta: Zeta potansiyeli, mV; EE: Enkapsülasyon verimliliği, %; DL: Partiküldeki etkin madde oranı, %; İn vitro salım: 30 dakikada salınan etkin madde oranı, %

**Tablo 6.1.** Vorikonazol ile daha önce yapılmış çalışmalarda oluşturulan bazı formülasyonlara ait fizikokimyasal bulgular (Devamı)

| Referans                                                                                                                                                                                                | İlaç taşıyıcı sistem | Kullanılan maddeler                                                     | Fizikokimyasal Bulgular                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Maleimide-functionalized phospholipid/Pluronic F127 mixed micelles for efficient ophthalmic delivery of voriconazole against Candida albicans (B. Wu vd., 2022)                                         | Misel                | Pluronic F127<br>Maleimit<br>Fosfolipit                                 | PB: 84,54<br>PDI: 0,22<br>Zeta: -20,3<br>EE: 95,33<br>DL: 6,75                   |
| Mucoadhesive phenylboronic acid conjugated chitosan oligosaccharide-vitamin E copolymer for topical ocular delivery of voriconazole: Synthesis, in vitro/vivo evaluation, and mechanism (Sun vd., 2022) | Nanomisel            | Fenil Boronik Asit<br>Kitosan Oligosakkarit<br>Vitamin E                | PB: 113<br>PDI: 0,2<br>Zeta: 55<br>EE: 85<br>DL: 7,9<br>İn vitro salım: 75       |
| Nanosuspension as an Efficient Carrier for Improved Ocular Permeation of Voriconazole (Qin vd., 2021)                                                                                                   | Nanosüspansiyon      | Polivinilpirolidon<br>Polivinil Alkol<br>Eudragit® RS10<br>Pharmasolve® | PB: 78,6 - 252,23<br>PDI: 0,186 - 0,395<br>Zeta: 22,5- 30,5<br>EE: 98,6<br>DL: 9 |

PB: Partikül boyutu, nm; PDI: Polidispersite indeksi; Zeta: Zeta potansiyeli, mV; EE: Enkapsülasyon verimliliği, %; DL: Partiküldeki etkin madde oranı, %; İn vitro salım: 30 dakikada salınan etkin madde oranı, %

**Tablo 6.1.** Vorikonazol ile daha önce yapılmış çalışmalarda oluşturulan bazı formülasyonlara ait fizikokimyasal bulgular (Devamı)

| Referans                                                                                                                                              | İlaç taşıyıcı sistem    | Kullanılan maddeler                   | Fizikokimyasal Bulgular                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Central composite optimization of ocular mucoadhesive cubosomes for enhanced bioavailability and controlled delivery of voriconazole (Said vd., 2021) | Kübozom                 | Monoolein<br>Pluronic F127<br>Kitosan | PB: 239<br>PDI: 0,43<br>Zeta: 39,10                          |
| Ocular Inserts of Voriconazole-Loaded Proniosomal Gels: Formulation, Evaluation and Microbiological Studies (El-Emam vd., 2020)                       | Niozom                  | Pluronic F127<br>Kolestrol            | PB: 209,7<br>PDI: 0,193<br>Zeta: -33,5<br>EE: 87,4           |
| Iontophoresis enhances voriconazole antifungal potency and corneal penetration (Gelfuso vd., 2020)                                                    | Lipozom                 | Soya Lesitini                         | PB: 134,6<br>PDI: 0,07<br>Zeta: -8,2<br>EE: 90,3<br>DL: 96,7 |
| Development and Characterization of Voriconazole Loaded lipid based nanoparticles (Füredi vd., 2017)                                                  | Katı Lipit Nanopartikül | Witepsol® W35                         | PB: 182<br>PDI: 0,269<br>EE: 78,79                           |

PB: Partikül boyutu, nm; PDI: Polidispersite indeksi; Zeta: Zeta potansiyeli, mV; EE: Enkapsülasyon verimliliği, %; DL: Partiküldeki etkin madde oranı, %; İn vitro salım: 30 dakikada salınan etkin madde oranı, %

**Tablo 6.1.** Vorikonazol ile daha önce yapılmış çalışmalarda oluşturulan bazı formülasyonlara ait fizikokimyasal bulgular (Devamı)

| Referans                                                                                                            | İlaç taşıyıcı sistem    | Kullanılan maddeler                                               | Fizikokimyasal Bulgular                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Design and Evaluation of Voriconazole Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Ophthalmic Application (Khare vd., 2016) | Katı Lipit Nanopartikül | Tween 80<br>Karbopol 934                                          | PB: 274<br>PDI: 0,291<br>Zeta: -24,73<br>EE: 84,25                       |
| Solid lipid nanoparticle: an efficient carrier for improved ocular permeation of voriconazole (Kumar & Sinha, 2016) | Katı Lipit Nanopartikül | Kompritol<br>Poloksamer 188<br>Soya Lesitini<br>Sodyum Taurokolat | PB: 139,1<br>PDI: 0,39<br>Zeta: -54,46<br>EE: 64,13<br>İn vitro salım: 9 |
| Liposomal voriconazole (VOR) formulation for improved ocular delivery (de Sá vd., 2015)                             | Lipozom                 | Soya Lesitini                                                     | PB: 116,6<br>PDI: 0,17<br>Zeta: -7,35<br>EE: 86,8<br>DL: 105             |

PB: Partikül boyutu, nm; PDI: Polidispersite indeksi; Zeta: Zeta potansiyeli, mV; EE: Enkapsülasyon verimliliği, %; DL: Partiküldeki etkin madde oranı, %; İn vitro salım: 30 dakikada salınan etkin madde oranı, %

### 6.2.1. Partikül boyutu, dağılımı ve zeta potansiyeli

Hazırlanan partiküllerin ortalama partikül büyüklüğü, PDI ve zeta potansiyeli Tablo 5.3'te verilmiştir. SOL ile hazırlanan SSV partiküllerinin PCL ve EFS100 ile hazırlanan SPEV partiküllerinden daha küçük olduğu görülmüştür. Plasebo hazırlanan partiküller ise etkin madde yüklü olan partiküllerden daha büyük oluşmuştur. Etkin madde ilavesiyle partikül boyutunun düşmesi polimerlerin fizikokimyasal özelliğine ve etkin madde ile etkileşimlerine bağlı olabilir. Etkin madde konsantrasyonun arttırılması SSV partikül büyüklüğünde anlamlı değişikliğe sebep olmamıştır. SPEV partiküllerinde ise etkin madde konsantrasyonun artmasıyla partikül boyutunda artış gözlenmiştir. PDI, partikül boyut aralığının tanımlanması için kullanılan bir parametredir. Mikron altı parçacıklar için PDI 0,15 - 0,3 arasında olması homojenliği ifade eder, 0,3'ten büyük olması heterojenliğe neden olabilir (Khare vd., 2016). PNP için 0,2 ve altındaki değerler uygulamada yaygın olarak kabul edilir. 0,7'den büyük PDI değerleri, numunenin çok geniş bir parçacık boyutu dağılımına sahip olduğunu göstergesidir (Danaei vd., 2018). SSV partiküllerinin boyutu daha dar bir aralıkta dağılırken, SPEV partiküllerinin boyut dağılımı daha geniş bir aralıktadır. Hazırlanan tüm partiküllerin PDI değeri kabul edilen üst sınır olan 0,7'den küçüktür.

Zeta potansiyeli kolloidal sistemlerin fiziksel stabilitesinin değerlendirilmesi için önemli bir parametredir. Yüksek zeta potansiyeli ( $\pm 30$  mV) sistemin kararlı olduğunu gösterir. Partiküllerin hücrel membranlarla etkileşimini öngörebilmek için kullanılabilen bir yüzey özelliğidir (Bilensey, 2014; Nagarwal vd., 2009; Qin vd., 2021). Etkin bir oküler ilaç dağıtımı için pozitif zeta potansiyeli bir etkindir. Negatif yüklü kornea yüzeyi ile pozitif yüklü partikül arasındaki elektrostatik etkileşim sayesinde biyoyararlanım arttırılabilir, kornea yüzeyine adezyonun kolaylaşmasıyla ilaç salım süresi uzatılabilmektedir (Doane vd., 2012; Qin vd., 2021). Partiküllerin çeşitli yöntemlerle modifiye edilmesiyle yüzey özellikleri değiştirilebilir ve spesifik fonksiyonel gruplar sayesinde gözde istenilen bölge hedeflenebilmektedir (Omerović & Vranić, 2020). Hazırlanan tüm partiküllerin polimerlerin özelliklerine bağlı olarak negatif zeta potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. SSV formülasyonları için yaklaşık -1 ile -4 aralığında değerler alırken SPEV formülasyonları için oldukça düşük değerler alırken -15 ile -49 aralığında değerler alarak SPEV formülasyonlarının elektrostatik olarak daha kararlı olduklarını göstermiştir (Bilensey, 2014; Nagarwal vd., 2009; Qin vd., 2021).

### 6.2.2. Termal Analiz

SSV ve SPEV partiküllerinin termal analiz sonuçları Şekil 5.20. ve Şekil 5.21.'de verilmiştir. VOR'un erime derecesi tayin cihazı ile yapılan erime derecesi 128 °C olarak saptanmıştır. VOR'a ait sinyallerin şiddetinde görülen azalma VOR'un polimerik yapı içerisinde çözünmüş halde bulunduğunu göstermektedir. VOR artık kristal yapıda olmaması nedeniyle herhangi bir endotermik pik oluşturmamaktadır. Polimerlerin de amorf yapıda olmaları nedeniyle formülasyonlara ait termogramlarda herhangi bir erime piki gözlenmemektedir (Miletic vd., 2013; Başaran vd., 2017).

### 6.2.3. FT-IR Analizi

SSV ve SPEV formülasyonları ile formülasyonları oluşturan maddelerin fiziksel karışımlarının FT-IR analiz spektrumları Şekil 5.22 - Şekil 5.31 arasında sunulmuştur. VOR'a ait karakteristik bant ve gerilimler, fiziksel karışımlara ait spektrumlarda gözlenirken VOR yüklü partiküllerde ise VOR konsantrasyonuna bağlı olarak daha düşük sinyaller oluşturmuş ve bu nedenle çoğunlukla polimer sinyalleri arasında çok net belirlenememiştir. Polimer sinyallerinde herhangi bir değişiklik olmamasından dolayı kimyasal yapılarının korunduğu ve etkin maddeyle etkileşime girmediğini göstermiştir (Başaran vd., 2017).

### 6.2.4. NMR Analizi

SSV ve SPEV formülasyonları ile formülasyonları oluşturan maddelerin fiziksel karışımlarının <sup>1</sup>H-NMR analizlerine ait spektrumlar Şekil 5.32 ile Şekil 5.41 arasında sunulmuştur. VOR'a ait sinyaller partiküllerin spektrumlarında da tespit edilmiştir. Bu sonuç VOR'un kullanılan polimerlerle kimyasal etkileşime girmeden partiküllere yüklendiğini ve polimer ile etkin madde arasında kimyasal bir etkileşimin olmadığını göstermektedir (Drabińska vd., 2022).

### 6.2.5. Partiküllerin morfolojik tayini

VOR'un elektron mikroskobu ile görüntüsü Şekil 5.42'da verilmiştir ve düzensiz şekilli kristal formda olduğu görülmüştür. SSV ve SPEV partiküllerinin görüntüleri Şekil 5.43 ve Şekil 5.44'te verilmiştir. Partiküllerin düzgün yüzeyli ve küresel yapıda olduğu görülmüştür. Partikül boyutu ve dağılımı nispeten homojen görünse de partikül boyutu analiz sonuçları ile oldukça farklı görülmektedir. Bu farkın nedeni nano boyutlu partikülleri ayırabilmek ve olası agregatları uzaklaştırmak amacıyla partikül boyutu

analizlerinden önce numunelerin 0,45 µm'lik naylon membran filtrelerden süzöldükten sonra analiz edilmesidir.

#### **6.2.6. Partiköllerdeki vorikonazol yükleme kapasitesinin değeriendirilmesi**

Yükleme kapasitesinin ve etkin madde yükleme yüzdesi, polimerin moleköler ağırlığına, bileşimine, etkin madde ile etkileşimine ve dış polimer zincirinde bulunan fonksiyonel gruplara bağı olan polimerik matristeki katı hal etkin madde çözünörlüğüne göre büyük ölçüde değışebilmektedir. Ayrıca, kapsölleme verimliliğı temel olarak nanotaşıyıcıların türüne, hazırlama yöntemine ve ilacın spesifik özelliklerinin yanı sıra polimerin doğa özelliklerine de bağıdır. Kapsöllenen etkin madde miktarı, salım kinetiğini etkiler, dolayısıyla kapsölleme verimliliğinin belirlenmesi son derece önemlidir (Jain & Thareja, 2019).

Polimerik partiköl formölasyonlarının içediğı etkin madde miktarı ve kapsölleme verimliliğı Tablo 5.4'te sunulmuştur. Formölasyondaki etkin madde konsantrasyonunun artmasıyla partiköllerdeki etkin madde miktarı da artmıştır. SSV formölasyonlarının yükleme kapasitesi sırasıyla %84,59; %98,15 ve %68,19 olarak hesaplanmıştır. SSV-3 partiköllerinin enkapsölasyon verimi hazırlanan partiköller arasında en düşük olanıdır. SPEV formölasyonlarının yükleme kapasitesi sırasıyla %70,21; %90,04 ve %80,36 olarak hesaplanmıştır.

#### **6.2.7. *In vitro* salım çalışmaları**

Yeni geliştirilen oköler formölasyonlarının *in vitro* karakterizasyon çalışmaları etkin maddenin uygulama alanındaki koşulları dikkate alınarak yapılmalıdır (Simroth-Loch vd., 2020). *In vitro* salım test sonuçları *in vivo* performansı tamamen yansıtamasa da formölasyon parametrelerindeki bir değışikliğın formölasyonun salım özelliklerini nasıl etkileyeceğı hakkında bir fikir sağlayabilir. Nano ilaç taşıyıcı sistemlerin karakterizasyonunda en sık kullanılan *in vitro* salım testi diyaliz membran yöntemidir (Nemutlu vd., 2019).

SSV ve SPEV partiköllerine ait VOR'un *in vitro* salım profilleri Şekil 5.45 ve Şekil 5.46'da sunulmuştur.

*In vitro* salım çalışmasının ilk yarım saatinde SSV partiköllerinin salım oranları sırasıyla %57, %60 ve %62 olduğı görölmüştür. SSV-3 etkin madde salımını 2. saatte, SSV-1 5. Saatte tamamlarken SSV-2 7. Saatin sonunda %94'ünü salmıştır.

SPEV partikülleri ilk yarım saatte sırasıyla %53, %59 ve %59 oranında etkin madde salımı gerçekleştirmiştir. SPEV-1 partiküllerinden etkin madde salınımı 5. Saatte tamamlanırken SPEV-2 ve SPEV-3 partikülleri 7. saatin sonunda %98'ini salmıştır.

SSV ve SPEV partiküllerinin tamamında ani salım gözlenmiştir. Bu durum VOR'un partiküllerin yüzeyine toplanmasına ya da polimerik matris içerisine zayıf kapsüllenmesine bağlı olarak gerçekleşmiş olabilir (Mittal & Kaur, 2019).

#### **6.2.8. Antifungal etkinlik çalışmaları**

Formülasyonda kullanılan maddeler ile hazırlanan partiküllerin *Candida* türlerine karşı MİK ve IC50 değerleri Tablo 5.5'te gösterilmiştir. Bu sonuçlar, test edilen bileşiklerin *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. parapsilosis* türlerine karşı etkinliğini ve BJ hücre hattına karşı sitotoksitesini değerlendirmektedir.

VOR'un tüm *Candida* türlerine karşı en düşük MİK değerlerine (25 µg/mL) sahip olduğu ve BJ hücre hattına karşı IC50 değerinin >125 µg/mL olduğu tespit edilmiştir. VOR'un güçlü bir antifungal ajan olarak etkinliğini doğrulayan bu sonuçlar, diğer bileşiklerin antifungal aktivitesinin değerlendirilmesi için referans noktası oluşturmaktadır.

SSV-1, SSV-2 ve SSV-3 ile SPEV-1, SPEV-2 ve SPEV-3 partiküllerinin BJ hücre hattı üzerindeki IC50 değerleri >500 µg/mL ve >250 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu değerler, bu partiküllerin BJ hücre hattına karşı düşük toksisiteye sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle SPEV-2 ve SPEV-3'ün daha düşük IC50 değerleri (>250 µg/mL), bu partiküllerin sitotoksite açısından daha güvenilir olduğunu ortaya koymaktadır.

SPEV-3 partikülleri, özellikle *C. albicans*'a karşı en yüksek antifungal aktivite göstermektedir. Diğer bileşikler arasında ise SPEV-1 ve SPEV-2 belirgin antifungal aktivite sergilemekte olup düşük hücre toksisiteyi bu bileşiklerin potansiyel antifungal ajanlar olarak değerlendirilmesini sağlamaktadır.

SPEV partikülleri ile VOR'un antikandidal analiz sonuçları Tablo 5.6'da sunulmuştur. Analitlerin *Candida* hücreleri üzerindeki canlılık, nekroz, erken apoptotik ve geç apoptotik yüzdelerini göstermektedir. Bu sonuçlarla partiküllerin antifungal etkilerinin yanı sıra hücre ölüm mekanizmalarını da değerlendirmektedir.

SPEV-3 ve VOR, *Candida* hücrelerinde en yüksek apoptotik etkiyi gösteren bileşiklerdir. SPEV-1 ve SPEV-2 de belirgin apoptotik etkilere sahip olup, özellikle SPEV-3'ün güçlü apoptotik etkisi dikkat çekmektedir. Bu bulgular, SPEV bileşiklerinin

antifungal tedavi potansiyeline sahip olduğunu ve hücre ölüm mekanizmalarını etkili bir şekilde tetiklediğini göstermektedir.



## 7. SONUÇ

VOR yüklü PNP formülasyonları püskürterek kurutma yöntemi ile başarı ile oluşturulmuştur. SSV ile SPEV partiküllerinin karakterizasyon, *in vitro* salım profilleri ve antifungal etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Partikül boyutu ve PDI değerleri teorik olarak kabul edilebilir sınırlardadır. Oluşturulan tüm partiküllerin zeta potansiyel değerleri beklendiği üzere negatif değerler almışlardır. *In vitro* salım çalışmalarında kullanılan polimerik taşıyıcıların VOR çözünürlüğü üzerindeki olumlu etkileri sayesinde nispeten hızlı bir salım görülmekte ve artan çözünürlük özellikleri sayesinde oküler biyoyararlanımda artış olacağı görülmektedir. Antifungal etkinlik analizleri sonuçları SPEV PNP'lerinin SSV PNP'lerinden daha etkili sonuçlar oluşturduğunu göstermektedir. Gerçekleştirilen tüm analiz sonuçları dikkate alındığında oküler uygulamaya yönelik olarak hazırlanan SPEV-3 formülasyonunun en etkili formülasyon olduğu sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKÇA

- Addo, E., Bamiro, O. A., & Siwale, R. (2016). Anatomy of the Eye and Common Diseases Affecting the Eye. İçinde R. T. Addo (Ed.), *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges and Applications* (ss. 11-26). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-47691-9>
- Addo, R. T. (Ed.). (2016). *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges and Applications*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-47691-9>
- Agrawal, A. K., Das, M., & Jain, S. (2012). In situ gel systems as “smart” carriers for sustained ocular drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9(4), 383-402. <https://doi.org/10.1517/17425247.2012.665367>
- Ahearn, D. G., Zhang, S., Doyle Stulting, R., Schwam, B. L., Simmons, R. B., Ward, M. A., Pierce, G. E., & Crow, S. A. (2008). Fusarium keratitis and contact lens wear: facts and speculations. *Medical Mycology* (Oxford), 46(5), 397-410. <https://doi.org/10.1080/13693780801961352>
- Ahmed, S., Amin, M. M., & Sayed, S. (2023). Ocular drug delivery: A comprehensive review. *AAPS PharmSciTech*, 24(2), 66-66. <https://doi.org/10.1208/s12249-023-02516-9>
- Al-Awwadi, N. A. J. (2017). Pharmaceutical significance of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) and Eudragit® microparticles. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, 3, 450-453.
- Alhakamy, N. A., Hosny, K. M., Rizg, W. Y., Eshmawi, B. A., Badr, M. Y., Safhi, A. Y., & Murshid, S. S. A. (2022). Development and optimization of hyaluronic acid-poloxamer in-situ gel loaded with voriconazole cubosomes for enhancement of activity against ocular fungal infection. *Gels*, 8(4), 241. <https://doi.org/10.3390/gels8040241>
- Ali, Y., & Lehmussaari, K. (2006). Industrial perspective in ocular drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(11), 1258-1268. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2006.07.022>
- Almazan, A., Lee, S. S., Ross, A. D., & Robinson, M. R. (2012). Barriers to transscleral drug delivery to the retina. İçinde D. Thassu & G. J. Chader (Ed.), *Ocular Drug*

- Delivery Systems: Barriers and Application of Nanoparticulate Systems* (ss. 133-156). <https://doi.org/10.1201/b12950>
- Alvarez-Rivera, F., Fernández-Villanueva, D., Concheiro, A., & Alvarez-Lorenzo, C. (2016).  $\alpha$ -Lipoic acid in Soluplus polymeric nanomicelles for ocular treatment of diabetes-associated corneal diseases. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(9), 2855-2863. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.03.006>
- Anal, A. K., & Tuladhar, A. (2013). Biopolymeric micro- and nanoparticles: Preparation, characterization and industrial applications. İçinde *Advances in Polymer Science* (Cilt 254, ss. 269-295). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/12\\_2012\\_202](https://doi.org/10.1007/12_2012_202)
- Andrade, L. M., Rocha, K. A. D., De Sá, F. A. P., Marreto, R. N., Lima, E. M., Gratieri, T., & Taveira, S. F. (2016). Voriconazole-loaded nanostructured lipid carriers for ocular drug delivery. *Cornea*, 35(6), 866-871. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000825>
- Antimisiaris, S. G., & Natsaridis, E. (2022). Nanovesicles for ocular drug delivery. İçinde A. K. Nayak, M. S. Hasnain, T. M. Aminabhavi, & V. P. Torchilin (Ed.), *Applications of Nanovesicular Drug Delivery* (ss. 53-77). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91865-7.00025-0>
- Atta, S., Perera, C., Kowalski, R. P., & Jhanji, V. (2022). Fungal keratitis: Clinical features, risk factors, treatment, and outcomes. *Journal of Fungi (Basel)*, 8(9), 962. <https://doi.org/10.3390/jof8090962>
- Attar, M., & Shen, J. (2008). The emerging significance of drug transporters and metabolizing enzymes to ophthalmic drug design. İçinde J. Tombran-Tink & C. J. Barnstable (Ed.), *Ocular transporters in ophthalmic diseases and drug delivery: Ophthalmology research* (ss. 375-397). Humana Press. <https://doi.org/10.1007/978-1-59745-375-2>
- Attia, M. S., Elshahat, A., Hamdy, A., Fathi, A. M., Emad-Eldin, M., Ghazy, F.-E. S., Chopra, H., & Ibrahim, T. M. (2023). Soluplus® as a solubilizing excipient for poorly water-soluble drugs: Recent advances in formulation strategies and pharmaceutical product features. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 84, 104519. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104519>

- Balogh, A., Farkas, B., Domokos, A., Farkas, A., Démuth, B., Borbás, E., Nagy, B., Marosi, G., & Nagy, Z. K. (2017). Controlled-release solid dispersions of Eudragit® FS 100 and poorly soluble spironolactone prepared by electrospinning and melt extrusion. *European Polymer Journal*, 95, 406-417. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.08.032>
- Barbosa, T. M., Morris, G. A., Nilsson, M., Rittner, R., & Tormena, C. F. (2017). <sup>1</sup>H and <sup>19</sup>F NMR in drug stress testing: The case of voriconazole. *RSC Advances*, 7(54), 34000-34004. <https://doi.org/10.1039/c7ra03822d>
- Başaran, E., Yenilmez, M.S. Berkman, G. Büyükköroğlu & Y. Yazan (2014) J. Microencapsul. 31: 49-57.
- Başaran, E., Karaca Gençer H., Yenilmez E., Güven, U.M. (2017). Voriconazole Incorporated Polymeric Nanoparticles for Ocular Application, *Lat. Am. J. Pharm.* 36 (10): 1983-94.
- Başaran, E. (2017). Ocular application of dirithromycin incorporated polymeric nanoparticles: An in vitro evaluation. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 191-200. <https://doi.org/10.4274/tjps.69855>
- Başaran, E., Aykaç, K., Yenilmez, E., Büyükköroğlu, G., Tunali, Y., & Demirel, M. (2022). Formulation and characterization studies of inclusion complexes of voriconazole for possible ocular application. *Pharmaceutical Development and Technology*, 27(2), 228-241. <https://doi.org/10.1080/10837450.2022.2037635>
- Bhosale, R., Bhandwalkar, O., Duduskar, A., Jadhav, R., & Pawar, P. (2016). Water soluble chitosan mediated voriconazole microemulsion as sustained carrier for ophthalmic application: In vitro/ex vivo/in vivo evaluations. *Open Pharmaceutical Sciences Journal*, 3(1), 215-234. <https://doi.org/10.2174/1874844901603010215>
- Biju, S., Talegaonkar, S., Mishra, P., & Khar, R. (2006). Vesicular systems: An overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(2), 141-153. <https://doi.org/10.4103/0250-474x.25707>
- Bilensey, E. (2014). Nanopartiküller. İçinde A. Zırh Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları* (ss. 23-52). Aktif Matbaa.

- Bossy, L., Erickson, S., Gurny, R., & Delie, F. (2008). Intraocular implants for controlled drug delivery. İçinde M. J. Rathbone, J. Hadgraft, M. S. Roberts, & M. E. Lane (Ed.), *Modified-release drug delivery technology: Volume 2* (ss. 85-99). Taylor & Francis Group.
- Brannon-Peppas, L., & Peppas, N. (2014). Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan polimerler. İçinde A. Zırh Gürsoy (Ed. & Çev.), *Kontrollü salım sistemleri* (2. bs, ss. 21-40). Kontrollü Salım Sistemleri Derneği.
- Brown, L., Leck, A. K., Gichangi, M., Burton, M. J., & Denning, D. W. (2021). The global incidence and diagnosis of fungal keratitis. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(3), E49-E57. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30448-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30448-5)
- Bruschi, M. L., De Francisco, L. M. B., & Villa Nova, M. (2019). Polymeric nanoparticles: General features, polymers, and formulation. İçinde R. K. Keservani & A. K. Sharma (Ed.), *Nanoparticulate drug delivery systems* (ss. 3-36). Apple Academic Press.
- Campoy, S., & Adrio, J. L. (2017). Antifungals. *Biochemical Pharmacology*, 133, 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.11.019>
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2005). *Microbiology: A laboratory manual* (7<sup>th</sup> ed.). Pearson/Benjamin Cummings.
- Chader, G., & Thassu, D. (2012). Eye anatomy, physiology, and ocular barriers: Basic considerations for drug delivery. İçinde G. Chader & D. Thassu (Ed.), *Ocular drug delivery systems barriers and application of nanoparticulate systems*(ss. 17-40). CRC Press.
- Cheaburu-Yilmaz, C. N., Karasulu, H. Y., & Yilmaz, O. (2018). Nanoscaled dispersed systems used in drug-delivery applications. İçinde C. Vasile (Ed.), *Polymeric nanomaterials in nanotherapeutics* (Bölüm 1, ss. 437-468). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813932-5.00013-3>
- Chen, S. C. A., & Sorrell, T. C. (2007). Antifungal agents. *Medical Journal of Australia*, 187(7), 404-409. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2007.tb01313.x>

- Cheung, N. N., Cheng, Y. Y. Y., van Duinen, S. G., Houbraken, J., Verweij, P. E., & Gooskens, J. (2020). Contact lens-related fungal keratitis. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(9), 1100-1100. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30126-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30126-2)
- Chogale, M. M., Date, A. A., Ghodake, V. N., Payghan, S. A., Disouza, J. I., & Patravale, V. B. (2019). Nanosuspensions: Formulation, characterization, and applications. İçinde R. K. Keservani & A. K. Sharma (Ed.), *Nanodispersions for drug delivery* (ss. 109-172). Apple Academic Press.
- Clogston, J. D., Crist, R. M., & McNeil, S. E. (2017). Physicochemical characterization of polymer nanoparticles: Challenges and present limitations. İçinde C. Vauthier & G. Ponchel (Ed.), *Polymer nanoparticles for nanomedicines* (Bölüm 1, ss. 187-203). Springer International Publishing AG. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-41421-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-41421-8_7)
- Crucho, C. I. C., & Barros, M. T. (2017). Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. *Materials Science & Engineering C*, 80, 771-784. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.06.004>
- Da Silva, G. R., Lima, T. H., Oréface, R. L., Fernandes-Cunha, G. M., Silva-Cunha, A., Zhao, M., & Behar-Cohen, F. (2015). In vitro and in vivo ocular biocompatibility of electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibers. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.03.003>
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 57. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>
- Davey, P., Wilcox, M., Irving, W., & Thwaites, G. (2015). Antifungal agents. İçinde *Antimicrobial chemotherapy* (Bölüm 1, ss. 75-80). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/med/9780199689774.003.0008>
- de Sá, F. A. P., Taveira, S. F., Gelfuso, G. M., Lima, E. M., & Gratieri, T. (2015). Liposomal voriconazole (VOR) formulation for improved ocular delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 133, 331-338. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.06.036>

- Dey, S., & Mitra, A. K. (2005). Transporters and receptors in ocular drug delivery: Opportunities and challenges. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2(2), 201-204. <https://doi.org/10.1517/17425247.2.2.201>
- Díaz-Tomé, V., García-Otero, X., Varela-Fernández, R., Martín-Pastor, M., Conde-Penedo, A., Aguiar, P., González-Barcia, M., Fernández-Ferreiro, A., & Otero-Espinar, F. J. (2021). In situ forming and mucoadhesive ophthalmic voriconazole/Hpβcd hydrogels for the treatment of fungal keratitis. *International Journal of Pharmaceutics*, 597, 120318. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120318>
- Doane, T. L., Chuang, C.-H., Hill, R. J., & Burda, C. (2012). Nanoparticle ζ-potentials. *Accounts of Chemical Research*, 45(3), 317-326. <https://doi.org/10.1021/ar200113c>
- Drabińska, B., Dettlaff, K., Kossakowski, K., Ratajczak, T., Kujawski, R., Mikołajczyk, A., & Kujawski, J. (2022). Structural and spectroscopic properties of voriconazole and fluconazole – experimental and theoretical studies. *Open Chemistry*, 20(1), 1575-1590. <https://doi.org/10.1515/chem-2022-0253>
- El-Emam, G. A., Girgis, G. N., El-Sokkary, M. M. A., El-Azeem Soliman, O. A., & Abd El Gawad, A. E. G. H. (2020). Ocular inserts of voriconazole-loaded proniosomal gels: Formulation, evaluation and microbiological studies. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 7825-7840. <https://doi.org/10.2147/IJN.S268208>
- Feynman, R. P. (2011). There's plenty of room at the bottom. *Resonance*, 16(9), 890-905. <https://doi.org/10.1007/s12045-011-0109-x>
- Furrer, P., Delie, F., & Plazonnet, B. (2008). Ophthalmic drug delivery. İçinde M. J. Rathbone, J. Hadgraft, M. S. Roberts, & M. E. Lane (Ed.), *Modified-release drug delivery technology: Volume 2* (ss. 59-84). Taylor & Francis Group.
- Füredi, P., Kovács, K., Ludányi, K., Antal, I., & Klebovich, I. (2016). Development and characterization of voriconazole loaded nanoparticles for parenteral delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 510(1), 159-163. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.06.027>

- Füredi, P., Pápay, Z. E., Kovács, K., Kiss, B. D., Ludányi, K., Antal, I., & Klebovich, I. (2017). Development and characterization of the voriconazole loaded lipid-based nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 132, 184-189. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.09.047>
- Gajendiran, A., & Abraham, J. (2019). Nanoemulsions for drug delivery. İçinde R. K. Keservani & A. K. Sharma (Ed.), *Nanodispersions for drug delivery* (ss. 3-45). Apple Academic Press.
- Gaudana, R., Jwala, J., Boddu, S. H. S., & Mitra, A. K. (2009). Recent perspectives in ocular drug delivery. *Pharmaceutical Research*, 26(5), 1197-1216. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9694-0>
- Gelfuso, G. M., Ferreira-Nunes, R., Dalmolin, L. F., dos S. Ré, A. C., dos Santos, G. A., de Sá, F. A. P., Cunha-Filho, M., Alonso, A., Neto, S. A. M., Anjos, J. L. V., Aires, C. P., Lopez, R. F. V., & Gratieri, T. (2020). Iontophoresis enhances voriconazole antifungal potency and corneal penetration. *International Journal of Pharmaceutics*, 576, 118991. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118991>
- Girgis, G. N. S. (2020). Formulation and evaluation of atorvastatin calcium-poly-ε-caprolactone nanoparticles loaded ocular inserts for sustained release and antiinflammatory efficacy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(15), 1688-1698. <https://doi.org/10.2174/1389201021666200519133350>
- Güngör, A., & Karataş, A. (2019). Oküler ilaç taşıyıcı sistemlerde güncel yaklaşımlar. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 8(2), 108-118.
- Hakeem, S. M., Habeeb, A. D., & Jasim, G. A. (2020). Role of polymer type and ratio in improving the solubility of voriconazole solid dispersion: A comparative study. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(1), 2193-2199. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.01.343>
- Hariharan, S., Thakkar, N. R., & Mitra, A. K. (2009). Transporter-targeted drug delivery to the retina. *Retina Today*, June, 57-62.
- Hazlett, L., Suvas, S., McClellan, S., & Ekanayaka, S. (2016). Challenges of corneal infections. *Expert Review of Ophthalmology*, 11(4), 285-297. <https://doi.org/10.1080/17469899.2016.1203254>

- Heralgi, M. M., Badami, A., Vokuda, H., & Venkatachalam, K. (2016). An update on voriconazole in ophthalmology. *Delhi Journal of Ophthalmology*, 27(1), 9-15. <https://doi.org/10.7869/djo.196>
- Herbrecht, R. (2004). Voriconazole: Therapeutic review of a new azole antifungal. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2(4), 485-497. <https://doi.org/10.1586/14787210.2.4.485>
- Hoffman, J. J., Burton, M. J., & Leck, A. (2021). Mycotic keratitis—a global threat from the filamentous fungi. *Journal of Fungi (Basel)*, 7(4), 273. <https://doi.org/10.3390/jof7040273>
- Holdeman, N. R. (2011). Fungal infectious disease. İçinde B. E. Onofrey, L. Skorin Jr., & N. R. Holdeman (Ed.), *Ocular therapeutics handbook: A clinical manual* (ss. 217-220). Wolters Kluwer Health. <https://go.exlibris.link/XkX9ztd4>
- Homayouni, A., Sadeghi, F., Varshosaz, J., Afrasiabi Garekani, H., & Nokhodchi, A. (2014). Promising dissolution enhancement effect of Soluplus on crystallized celecoxib obtained through antisolvent precipitation and high pressure homogenization techniques. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 591-600. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.07.037>
- Jain, A. K., & Thareja, S. (2019). In vitro and in vivo characterization of pharmaceutical nanocarriers used for drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 524-539. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1561457>
- Jeu, L., Piacenti, F. J., Lyakhovetskiy, A. G., & Fung, H. B. (2003). Voriconazole. *Clinical Therapeutics*, 25(5), 1321-1381. [https://doi.org/10.1016/S0149-2918\(03\)80126-1](https://doi.org/10.1016/S0149-2918(03)80126-1)
- Johnson, L. B., & Kauffman, C. A. (2003). Voriconazole: A new triazole antifungal agent. *Clinical Infectious Diseases*, 36(5), 630-637. <https://doi.org/10.1086/367933>
- Jot, P., Wadhwa, S., Sharma, A., Singh, S. K., Vishwas, S., Kumar, R., Singh, S. K., Dua, K., Chellappan, D. K., & Gupta, G. (2023). A comprehensive review on the role of polymers in ocular drug delivery. *Current Drug Delivery*, 20. <https://doi.org/10.2174/1567201820666230110140312>

- Kalamkar, V., Joshi, M., Borkar, V., Srivastava, S., & Kanyalkar, M. (2013). Intermolecular interaction of voriconazole analogues with model membrane by DSC and NMR, and their antifungal activity using NMR based metabolic profiling. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(21), 6753-6762. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.08.004>
- Kalita, S., Dhayani, A., Kumar, V., Sujanthi, E., & Vemula, P. K. (2021). Fate of biomaterials post payload delivery: Current understanding and future perspectives. *İçinde Nanotechnology in the life sciences* (ss. 141-173). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-61021-0\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-61021-0_9)
- Kalkanci, A., & Ozdek, S. (2011). Ocular fungal infections. *Current Eye Research*, 36(3), 179-189. <https://doi.org/10.3109/02713683.2010.533810>
- Kathiravan, M. K., Salake, A. B., Chothe, A. S., Dudhe, P. B., Watode, R. P., Mukta, M. S., & Gadhwhe, S. (2012). The biology and chemistry of antifungal agents: A review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(19), 5678-5698. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.04.045>
- Kaur, K. (2019). Nanoparticles in drug delivery: General characteristics, applications, and challenges. *İçinde R. K. Keservani & A. K. Sharma (Ed.), Nanoparticulate drug delivery systems* (ss. 37-87). Apple Academic Press.
- Kavitha, A., Prabhakar, P., Vijayalakshmi, M., & Venkateswarlu, Y. (2010). Purification and biological evaluation of the metabolites produced by *Streptomyces sp.* TK-VL\_333. *Research in Microbiology*, 161(5), 335-345. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.03.011>
- Khare, A., Singh, I., Pawar, P., & Grover, K. (2016). Design and evaluation of voriconazole loaded solid lipid nanoparticles for ophthalmic application. *Journal of Drug Delivery*, 2016, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2016/6590361>
- Kompella, U. B., & Thakur, A. (2013). Drug delivery systems for diseases of the back of the eye. *İçinde Treatise on ocular drug delivery* (Cilt 1, ss. 114-139). <https://doi.org/10.2174/9781608051755113010009>

- Kumar, R., & Sinha, V. R. (2014). Preparation and optimization of voriconazole microemulsion for ocular delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 117, 82-88. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.007>
- Kumar, R., & Sinha, V. R. (2016). Solid lipid nanoparticle: An efficient carrier for improved ocular permeation of voriconazole. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 42(12), 1956-1967. <https://doi.org/10.1080/03639045.2016.1185437>
- Kumar, R., & Sinha, V. R. (2017). Evaluation of ocular irritation and bioavailability of voriconazole loaded microemulsion. *Current Drug Delivery*, 14(5), 718-724. <https://doi.org/10.2174/1567201813666160816105905>
- Li, Z., & Denning, D. W. (2023). The impact of corticosteroids on the outcome of fungal disease: A systematic review and meta-analysis. *Current Fungal Infection Reports*, 17(1), 54-70. <https://doi.org/10.1007/s12281-023-00456-2>
- Linn, M., Collnot, E.-M., Djuric, D., Hempel, K., Fabian, E., Kolter, K., & Lehr, C.-M. (2012). Soluplus® as an effective absorption enhancer of poorly soluble drugs in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(3), 336-343. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2011.11.025>
- Lu, X.-Y., Wu, D.-C., Li, Z.-J., & Chen, G.-Q. (2011). Polymer nanoparticles. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 104, 299-323. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416020-0.00007-3>
- Lynch, C., Kondiah, P. P. D., Choonara, Y. E., du Toit, L. C., Ally, N., & Pillay, V. (2019). Advances in biodegradable nano-sized polymer-based ocular drug delivery. *Polymers*, 11(8), 1371. <https://doi.org/10.3390/polym11081371>
- Malhotra, S., Khare, A., Grover, K., Singh, I., & Pawar, P. (2014). Design and evaluation of voriconazole eye drops for the treatment of fungal keratitis. *Journal of Pharmaceutics*, 2014, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/490595>
- Malkoç, İ. (2006). Göz küresinin tabakaları: Anatomik ve histolojik bir derleme. *The Eurasian Journal of Medicine*, 38, 124-129.
- Mehrandish, S., & Mirzaeei, S. (2021). A review on ocular novel drug delivery systems of antifungal drugs: Functional evaluation and comparison of conventional and

- novel dosage forms. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 11(1), 28-38. <https://doi.org/10.34172/apb.2021.003>
- Miletic, T., Kyriakos, K., Graovac, A., & Ibric, S. (2013). Spray-dried voriconazole–cyclodextrin complexes: Solubility, dissolution rate and chemical stability. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 122-131. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.084>
- Mitra, A. K. (2009). Role of transporters in ocular drug delivery system. *Pharmaceutical Research*, 26(5), 1192-1196. <https://doi.org/10.1007/s11095-009-9862-x>
- Mittal, N., & Kaur, G. (2019). Investigations on polymeric nanoparticles for ocular delivery. *Advances in Polymer Technology*, 2019, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2019/1316249>
- Modena, M. M., Rühle, B., Burg, T. P., & Wuttke, S. (2019). Nanoparticle characterization: What to measure? *Advanced Materials (Weinheim)*, 31(32), e1901556. <https://doi.org/10.1002/adma.201901556>
- Mofidfar, M., Abdi, B., Ahadian, S., Mostafavi, E., Desai, T. A., Abbasi, F., Sun, Y., Manche, E. E., Ta, C. N., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120924>
- Moretton, M. A., Bernabeu, E., Grotz, E., Gonzalez, L., Zubillaga, M., & Chiappetta, D. A. (2017). A glucose-targeted mixed micellar formulation outperforms Genexol in breast cancer cells. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 114, 305-316. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.02.005>
- Morgado, G., Barros, P., Martins, J., Lima, A., & Martins, N. (2010). Comparative study of mydriasis in cataract surgery: Topical versus Mydriaserit versus intracameral mydriasis in cataract surgery. *European Journal of Ophthalmology*, 20(6), 989-993. <https://doi.org/10.1177/112067211002000618>
- Morrison, P. W. J., & Khutoryanskiy, V. V. (2014). Anatomy of the eye and the role of ocular mucosa in drug delivery. İçinde V. V. Khutoryanskiy (Ed.), *Mucoadhesive materials and drug delivery systems* (C. 9781119941439, ss. 39-60). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118794203.ch02>

- Moustafine, R. I., Bodrov, A. V., Kemenova, V. A., Rombaut, P., & Van den Mooter, G. (2012). Drug release modification by interpolymer interaction between countercharged types of Eudragit® RL 30D and FS 30D in double-layer films. *International Journal of Pharmaceutics*, 439(1-2), 17-21. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.09.044>
- Mselle, J. (1999). Fungal keratitis as an indicator of HIV infection in Africa. *Tropical Doctor*, 29(3), 133-135. <https://doi.org/10.1177/004947559902900303>
- Murphy, S. H., Leeke, G. A., & Jenkins, M. J. (2012). A comparison of the use of FTIR spectroscopy with DSC in the characterisation of melting and crystallisation in polycaprolactone. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 107(2), 669-674. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1771-7>
- Nagarwal, R. C., Kant, S., Singh, P. N., Maiti, P., & Pandit, J. K. (2009). Polymeric nanoparticulate system: A potential approach for ocular drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 136(1), 2-13. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.12.018>
- Nasir, A., Kausar, A., & Younus, A. (2015). A review on preparation, properties and applications of polymeric nanoparticle-based materials. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 54(4), 325-341. <https://doi.org/10.1080/03602559.2014.958780>
- Nemutlu, E., Eroğlu, İ., Eroğlu, H., & Kır, S. (2019). In vitro release test of nano-drug delivery systems based on analytical and technological perspectives. *Current Analytical Chemistry*, 15(4), 373-409. <https://doi.org/10.2174/1573411014666180912125931>
- Nettey, H., Darko, Y., Bamiro, O. A., & Addo, R. T. (2016). Ocular barriers. İçinde R. T. Addo (Ed.), *Ocular drug delivery: Advances, challenges and applications* (ss. 27-36). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-47691-9>
- Odds, F. C., Brown, A. J. P., & Gow, N. A. R. (2003). Antifungal agents: Mechanisms of action. *Trends in Microbiology (Regular Ed.)*, 11(6), 272-279. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(03\)00117-3](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(03)00117-3)
- Omerović, N., & Vranić, E. (2020). Application of nanoparticles in ocular drug delivery systems. *Health and Technology*, 10(1), 61-78. <https://doi.org/10.1007/s12553-019-00381-w>

- Ong, H. S., & Corbett, M. C. (2015). Corneal infections in the 21st century. *Postgraduate Medical Journal*, 91(1080), 565-571. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133323>
- Otman, O., Boullanger, P., Lafont, D., & Hamaide, T. (2008). New amphiphilic glycopolymers based on a polycaprolactone-maleic anhydride copolymer backbone: Characterization by <sup>15</sup>N NMR and application to colloidal stabilization of nanoparticles. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 209(23), 2410-2422. <https://doi.org/10.1002/macp.200800300>
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., & Manavalan, R. (2011). Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(6), 228-234.
- Pandurangan, D., Bodagala, P., Palanirajan, V., & Govindaraj, S. (2016). Formulation and evaluation of voriconazole ophthalmic solid lipid nanoparticles in situ gel. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 6(1), 56. <https://doi.org/10.4103/2230-973X.176488>
- Pardeshi, S. R., More, M. P., Patil, P. B., Mujumdar, A., & Naik, J. B. (2022). Statistical optimization of voriconazole nanoparticles loaded carboxymethyl chitosan-poloxamer based in situ gel for ocular delivery: In vitro, ex vivo, and toxicity assessment. *Drug Delivery and Translational Research*, 12(12), 3063-3082. <https://doi.org/10.1007/s13346-022-01171-0>
- Patel, A., Cholkar, K., Agrahari, V., & Mitra, A. K. (2013). Ocular drug delivery systems: An overview. *World Journal of Pharmacology*, 2(2), 47-64. <https://doi.org/10.5497/wjp.v2.i2.47>
- Patil, M., Waydande, S., & Pawar, P. (2019). Design and evaluation of topical solid dispersion composite of voriconazole for the treatment of ocular keratitis. *Therapeutic Delivery*, 10(8), 481-492. <https://doi.org/10.4155/tde-2019-0021>
- Pawar, P., Kashyap, H., Malhotra, S., & Sindhu, R. (2013). Hp-  $\beta$ -CD-voriconazole in situ gelling system for ocular drug delivery: In vitro stability, and antifungal activities assessment. *BioMed Research International*, 2013, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2013/341218>

- Pedroso-Santana, S., & Fleitas-Salazar, N. (2020). Ionotropic gelation method in the synthesis of nanoparticles/microparticles for biomedical purposes. *Polymer International*, 69(5), 443-447. <https://doi.org/10.1002/pi.5970>
- Peng, C., Kuang, L., Zhao, J., Ross, A. E., Wang, Z., & Ciolino, J. B. (2022). Bibliometric and visualized analysis of ocular drug delivery from 2001 to 2020. *Journal of Controlled Release*, 345, 625-645. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.03.031>
- Peters, M. C. C., Santos Neto, E. dos, Monteiro, L. M., Yukuyama, M. N., Machado, M. G. M., de Oliveira, I. F., Zanin, M. H. A., Löbenberg, R., & Bou-Chacra, N. (2020). Advances in ophthalmic preparation: The role of drug nanocrystals and lipid-based nanosystems. *Journal of Drug Targeting*, 28(3), 259-270. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2019.1663858>
- Plazonnet, B. (2003). Ophthalmic drug delivery. İçinde M. J. Rathbone, J. Hadgraft, & M. S. Roberts (Ed.), *Modified-release drug delivery technology: Volume 1* (ss. 289-313). Marcel Dekker.
- Polat, H. K., & Karakuyu, N. F. (2023). Oküler ilaç taşıyıcı sistemler: Genel bir bakış. İçinde F. Eren (Ed.), *Sağlık Bilimleri Alanında Uluslararası Araştırmalar XIV* (ss. 171-186). Eğitim Yayınevi.
- Polat, H. K., Kurt, N., Aytekin, E., Bozdağ Pehlivan, S., & Çalış, S. (2022). Novel drug delivery systems to improve the treatment of keratitis. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 376-395. <https://doi.org/10.1089/jop.2021.0127>
- Polat, H. K., Ünal, S., Aytekin, E., & Gözcü, S. (2022). Oküler ilaç taşıyıcı sistemler: Geleneksel derleme. *Ocular Drug Delivery Systems: Traditional Review*, 11(3), 189-200.
- Pulingam, T., Foroozandeh, P., Chuah, J.-A., & Sudesh, K. (2022). Exploring various techniques for the chemical and biological synthesis of polymeric nanoparticles. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 12(3), 576. <https://doi.org/10.3390/nano12030576>
- Puranik, K., & Tagalpallewar, A. (2015). Voriconazole in situ gel for ocular drug delivery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 2(2), 00128. <http://dx.doi.org/10.15226/2374-6866/2/2/00128>.

- Qin, T., Dai, Z., Xu, X., Zhang, Z., You, X., Sun, H., Liu, M., & Zhu, H. (2021). Nanosuspension as an efficient carrier for improved ocular permeation of voriconazole. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 22(2), 245-253. <https://doi.org/10.2174/1389201021999200820154918>
- Radhakrishnan, N., Smit, D., Venkatesh Prajna, N., & S.R., R. (2021). Corneal involvement in HIV-infected individuals. *Ocular Immunology and Inflammation*, 29(6), 1177-1182. <https://doi.org/10.1080/09273948.2021.1887283>
- Raghava, S., Goel, G., & Kompella, U. B. (2008). Ophthalmic applications of nanotechnology. İçinde J. Tombran-Tink & C. J. Barnstable (Ed.), *Ocular transporters in ophthalmic diseases and drug delivery: Ophthalmology research* (ss. 415-435). Humana Press. <https://doi.org/10.1007/978-1-59745-375-2>
- Rai, M., & Alves dos Santos, C. (Ed.). (2017). *Nanotechnology applied to pharmaceutical technology*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-70299-5>
- Rajoria, G., & Gupta, A. (2012). In-situ gelling system: A novel approach for ocular drug delivery. *American Journal of PharmTech Research*, 2(4), 24-53.
- Rani, K. (2019). Nanosuspensions for drug delivery. İçinde R. K. Keservani & A. K. Sharma (Ed.), *Nanodispersions for drug delivery* (ss. 173-18). Apple Academic Press.
- Rao, J. P., & Geckeler, K. E. (2011). Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science*, 36(7), 887-913. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.01.001>
- Rapuano, C. (2018). Corneal infections, inflammations, and surface disorders. İçinde *Cornea: Cornea* (3. bs, ss. 261-362). Wolters Kluwer. <https://go.exlibris.link/SSRISCDT>
- Rasoanirina, B. N. V., Lassoued, M. A., Miladi, K., Razafindrakoto, Z., Chaâbane-Banaoues, R., Ramanitrahasimbola, D., Cornet, M., & Sfar, S. (2020). Self-nanoemulsifying drug delivery system to improve transcorneal permeability of voriconazole: In-vivo studies. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(7), 889-896. <https://doi.org/10.1111/jphp.13265>

- Rathore, K. S. (2010). In-situ gelling ophthalmic drug delivery system: An overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(4), 30-34.
- Rehman, N., & Pandey, A. (2022). Nanocarrier used in drug delivery system. İçinde *Engineered nanoparticles as drug delivery systems* (1. bs, ss. 25-44). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003252122>
- Renukuntla, J., Mitra, A. K., Patel, M., Dutt Vadlapudi, A., & Shah, S. J. (2013). Drug delivery to anterior segment of the eye. İçinde *Treatise on ocular drug delivery* (C. 1, ss. 42-67). <https://doi.org/10.2174/9781608051755113010006>
- Richardson, M. D., & Warnock, D. W. (2003). Keratomycosis. İçinde *Fungal infection: Diagnosis and management* (ss. 147-152). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470755259.ch8>
- Rupenthal, I. D., & Alany, R. G. (2008). Ocular drug delivery. İçinde S. C. Gad (Ed.), *Pharmaceutical manufacturing handbook: Production and processes* (1st bs, ss. 729-767). Wiley-Interscience. <https://doi.org/10.1002/9780470259818>
- Rupenthal, I. D., & O'Rourke, M. (2016). Ocular drug delivery—Eye on innovation. *Drug Delivery and Translational Research*, 6(6), 631-633. <https://doi.org/10.1007/s13346-016-0335-6>
- Sahay, P., Singhal, D., Nagpal, R., Maharana, P. K., Farid, M., Gelman, R., Sinha, R., Agarwal, T., Titiyal, J. S., & Sharma, N. (2019). Pharmacologic therapy of mycotic keratitis. *Survey of Ophthalmology*, 64(3), 380-400. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2019.02.007>
- Said, M., Aboelwafa, A. A., Elshafeey, A. H., & Elsayed, I. (2021). Central composite optimization of ocular mucoadhesive cubosomes for enhanced bioavailability and controlled delivery of voriconazole. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61, 102075. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102075>
- Salah, I., Shamat, M. A., & Cook, M. T. (2019). Soluplus solutions as thermothickening materials for topical drug delivery. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(1), 46915. <https://doi.org/10.1002/app.46915>

- Sampathi, S., Maddukuri, S., Ramavath, R., Dodoala, S., & Kuchana, V. (2024). Modified cyclodextrin-based thermosensitive in situ gel for voriconazole ocular delivery against fungal keratitis. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 150-160. <https://doi.org/10.22159/ijap.2024v16i1.48817>
- Santodomingo-Rubido, J., Mori, O., & Kawaminami, S. (2006). Cytotoxicity and antimicrobial activity of six multipurpose soft contact lens disinfecting solutions. *Ophthalmic & Physiological Optics*, 26(5), 476-482. <https://doi.org/10.1111/j.1475-1313.2006.00393.x>
- Seyfoddin, A., Shaw, J., & Al-Kassas, R. (2010). Solid lipid nanoparticles for ocular drug delivery. *Drug Delivery*, 17(7), 467-489. <https://doi.org/10.3109/10717544.2010.483257>
- Shah, M. K. A., Azad, A. K., Nawaz, A., Ullah, S., Latif, M. S., Rahman, H., Alsharif, K. F., Alzahrani, K. J., El-Kott, A. F., Albrakati, A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Formulation development, characterization and antifungal evaluation of chitosan NPs for topical delivery of voriconazole in vitro and ex vivo. *Polymers*, 14(1), 135. <https://doi.org/10.3390/polym14010135>
- Sharma, O. P., Patel, V., & Mehta, T. (2016). Nanocrystal for ocular drug delivery: Hope or hype. *Drug Delivery and Translational Research*, 6(4), 399-413. <https://doi.org/10.1007/s13346-016-0292-0>
- 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(5), 409-415. <https://doi.org/10.1007/s13346-013-0129-z>
- Shen, M., Zheng, L., & Koole, L. H. (2023). Polymeric microspheres designed to carry crystalline drugs at their surface or inside cavities and dimples. *Pharmaceutics*, 15(8), 2146. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15082146>
- Silva, J. T., & Amaral, A. C. (2021). Nanotechnology for antifungal therapy. İçinde M. Rai, M. Razzaghi-Abyaneh, & A. P. Ingle (Ed.), *Nanobiotechnology in diagnosis, drug delivery and treatment* (ss. 259-271). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781119671732.ch13>

- Simroth-Loch, C., Weitschies, W., & Wilson, C. G. (2020). Ophthalmic dosage forms. İçinde N. Fotaki & S. Klein (Ed.), *In vitro drug release testing of special dosage forms* (First edition, ss. 235-251). Wiley.
- Singh, A., Negi, D., Mishra, N., & Baldi, A. (2018). Recent trends in ocular drug delivery. *Pharmaspire*, 10(2), 55-63.
- Soe, H. M. S. H., Junthip, J., Chamni, S., Chansriniyom, C., Limpikirati, P., Thanusuwannasak, T., Asasutjarit, R., Pruksakorn, P., Autthateinchai, R., Wet-osot, S., Loftsson, T., & Jansook, P. (2023). A promising synthetic citric crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin derivative for antifungal drugs: Solubilization, cytotoxicity, and antifungal activity. *International Journal of Pharmaceutics*, 645, 123394. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123394>
- Soe, H. M. S. H., Kerdpol, K., Rungrotmongkol, T., Pruksakorn, P., Autthateinchai, R., Wet-Osot, S., Loftsson, T., & Jansook, P. (2023). Voriconazole eye drops: Enhanced solubility and stability through ternary voriconazole/sulfobutyl ether  $\beta$ -cyclodextrin/polyvinyl alcohol complexes. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2343. <https://doi.org/10.3390/ijms24032343>
- Speranza, V., Sorrentino, A., De Santis, F., & Pantani, R. (2014). Characterization of the polycaprolactone melt crystallization: Complementary optical microscopy, DSC, and AFM studies. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/720157>
- Srinivasan, M. (2004). Fungal keratitis. *Current Opinion in Ophthalmology*, 15(4), 321-327. <https://doi.org/10.1097/00055735-200408000-00008>
- Stollery, R., Shaw, M. E., & Lee, A. (2005). The cornea and sclera. İçinde R. Stollery, M. E. Shaw, & A. Lee (Ed.), *Ophthalmic nursing* (ss. 103-119). John Wiley & Sons, Incorporated. <https://doi.org/10.1002/9780470774809.ch8>
- Sun, X., Sheng, Y., Li, K., Sai, S., Feng, J., Li, Y., Zhang, J., Han, J., & Tian, B. (2022). Mucoadhesive phenylboronic acid conjugated chitosan oligosaccharide-vitamin E copolymer for topical ocular delivery of voriconazole: Synthesis, in vitro/vivo evaluation, and mechanism. *Acta Biomaterialia*, 138, 193-207. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.10.047>

- Sun, X., Yu, Z., Cai, Z., Yu, L., & Lv, Y. (2016). Voriconazole composited polyvinyl alcohol/hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin nanofibers for ophthalmic delivery. *PLOS One*, 11(12), e0167961. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167961>
- Şenel, S. (2014). Nanotaşıyıcılarda kullanılan polimerler. İçinde A. Zırh Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları* (ss. 9-22). Aktif Matbaa.
- Tekko, I. A., & Singh, T. R. R. (2018). Microneedles for ocular drug delivery and targeting: Challenges and opportunities. İçinde F. D. Ryan, T. R. R. Singh, E. Larrañeta, & M. T. C. McCrudden (Ed.), *Microneedles for drug and vaccine delivery and patient monitoring* (ss. 283-306). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119305101.ch10>
- Thakkar, R., Komanduri, N., Dudhipala, N., Tripathi, S., Repka, M. A., & Majumdar, S. (2021). Development and optimization of hot-melt extruded moxifloxacin hydrochloride inserts, for ocular applications, using the design of experiments. *International Journal of Pharmaceutics*, 603, 120676. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120676>
- Thomas, P. A. (2003). Fungal infections of the cornea. *Eye*, 17(8), 852-862. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6700557>
- Thomas, P. A., & Kalliamurthy, J. (2013). Mycotic keratitis: Epidemiology, diagnosis and management. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(3), 210-220. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12126>
- Tırnaksız, F. (2014). Nanoemülsiyonlar. İçinde A. Zırh Gürsoy (Ed.), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları* (ss. 101-110). Aktif Matbaa.
- Tian, B., Bilsbury, E., Doherty, S., Teebagy, S., Wood, E., Su, W., Gao, G., & Lin, H. (2022). Ocular drug delivery: Advancements and innovations. *Pharmaceutics*, 14(9), 1931. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091931>
- Tian, B., Yan, Q., Wang, J., Ding, C., & Sai, S. (2017). Enhanced antifungal activity of voriconazole-loaded nanostructured lipid carriers against *Candida albicans* with a dimorphic switching model. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 7131-7141. <https://doi.org/10.2147/IJN.S145695>

- Tiwari, A., Tiwari, V., Palaria, B., Aslam, R., Kumar, M., & Kumar, N. (2023). Network pharmacology, molecular docking-driven, QbD-engineered antifungal in-situ gel loaded with voriconazole nanostructured lipid carriers. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 1-20. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2280779>
- 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. <https://doi.org/10.3390/ijms19092830>
- Tsung, T. H., Chen, Y. H., & Lu, D. W. (2023). Updates on biodegradable formulations for ocular drug delivery. *Pharmaceutics*, 15(3), 734. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030734>
- Üstündağ Okur, N., Yoltaş, A., & Yozgatlı, V. (2016). Development and characterization of voriconazole loaded in situ gel formulations for ophthalmic application. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(3), 311-317. <https://doi.org/10.4274/tjps.2016.05>
- Üstündağ Okur, N., Yozgatlı, V., Okur, M. E., Yoltaş, A., & Siafaka, P. I. (2019). Improving therapeutic efficacy of voriconazole against fungal keratitis: Thermo-sensitive in situ gels as ophthalmic drug carriers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 49, 323-333. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.12.005>
- Van Engeland, M., Nieland, L. J. W., Ramaekers, F. C. S., Schutte, B., & Reutelingsperger, C. P. M. (1998). Annexin V-affinity assay: A review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure. *Cytometry*, 31(1), 1-9. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19980101\)31:1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19980101)31:1)
- Vauthier, C., & Bouchemal, K. (2009). Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 26(5), 1025-1058. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9800-3>
- Wang, W., Shi, D., Zhang, Y., Li, W., Li, F., Feng, H., Ma, L., Yang, C., Peng, Z., Song, G., Zeng, H., & Xie, L. (2023). An injectable hydrogel based on hyaluronic acid prepared by Schiff base for long-term controlled drug release. *International Journal of Biological Macromolecules*, 245, 125341. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125341>

- World Health Organization. (2019). *World report on vision: Executive summary* (WHO/NMH/NVI/19.12). World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/328721>
- Wu, B., Sai, S., Li, K., Sun, X., Han, J., & Tian, B. (2022). Maleimide-functionalized phospholipid/Pluronic F127 mixed micelles for efficient ophthalmic delivery of voriconazole against *Candida albicans*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 209, 112180. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112180>
- Wu, Y., Liu, Y., Li, X., Kebebe, D., Zhang, B., Ren, J., Lu, J., Li, J., Du, S., & Liu, Z. (2019). Research progress of in-situ gelling ophthalmic drug delivery system. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.04.008>
- Yang, C., Gao, L., Liu, X., Yang, T., Yin, G., Chen, J., Guo, H., Yu, B., & Cong, H. (2019). Injectable Schiff base polysaccharide hydrogels for intraocular drug loading and release. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 107(9), 1909-1916. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36677>
- Yang, Y., & Lockwood, A. (2022). Topical ocular drug delivery systems: Innovations for an unmet need. *Experimental Eye Research*, 218, 109006. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109006>
- Yıldırım, M. (2002). *Resimli insan anatomisi* (Nobel Matbaacılık). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Zhang, F. (2016). Physicochemical properties and mechanisms of drug release from melt-extruded granules consisting of chlorpheniramine maleate and Eudragit FS. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 42(4), 563-571. <https://doi.org/10.3109/03639045.2015.1054832>
- Zhuang, J., Fang, R. H., & Zhang, L. (2017). Preparation of particulate polymeric therapeutics for medical applications. *Small Methods*, 1(9), 1700147. <https://doi.org/10.1002/smt.201700147>
- Zielinska, A., Carreiró, F., Oliveira, A. M., Neves, A., Pires, B., Nagasamy Venkatesh, D., Durazzo, A., Lucarini, M., Eder, P., Silva, A. M., Santini, A., & Souto, E. B. (2020). Polymeric nanoparticles: Production, characterization, toxicology and

ecotoxicology. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(16), 3731.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25163731>

Zipagan, C. F. C., & Faller, E. M. (2022). Role of nanomedicines in ocular targeting drug delivery systems. İçinde S. Saraf, R. K. Sahu, & V. Dave (Ed.), *Advanced pharmaceutical and herbal nanoscience for targeted drug delivery systems part II* (ss. 116-140). Bentham Science Publishers. <https://doi.org/10.2174/97898150365411220101>



## EKLER

### EK-1

ISOPS 2024

[Home](#) [Committees](#) [Plenary Speakers](#) [Scientific Program](#) [General Information](#) [Registration](#) [Abstracts](#) [Sponsorship](#) [Past Symposiums](#) [Contact](#)



The banner for the 14th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 2024) features a collage of logos and images. On the left is a stylized illustration of a city with a prominent tower. Next to it is the 'Turkey' logo. In the center, the 'TUBITAK' logo is displayed above the text 'JUNE 25-28, 2024 ANKARA, TÜRKİYE'. To the right of this is the 'C-TIKA' logo. The main title 'ISOPS 14th International SYMPOSIUM ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' is prominently displayed on the right side of the banner. Logos for 'ANKARA UNIVERSITY FACULTY OF PHARMACY' and 'ANKARA UNIVERSITY' are also visible.

ISOPS 2024

[Home](#) [Committees](#) [Plenary Speakers](#) [Scientific Program](#) [General Information](#) [Registration](#) [Abstracts](#) [Sponsorship](#) [Past Symposiums](#) [Contact](#)

|      |                                                                                                                                |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P084 | ENHANCED OCULAR DELIVERY OF VORICONAZOLE UTILIZING POLYMERIC NANOPARTICLES: A PROMISING STRATEGY FOR TREATING FUNGAL KERATITIS |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|



# Enhanced Ocular Delivery of Voriconazole Utilizing Polymeric Nanoparticles: A Promising Strategy for Treating Fungal Keratitis

<sup>1</sup>Yasar, S., <sup>1,2,3</sup>Aykaç, K., <sup>2</sup>Başaran, E.

<sup>1</sup>Anadolu University, Postgraduate Education Institute, Eskişehir, Türkiye, selviyasar@anadolu.edu.tr,

<sup>2</sup>Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir, Türkiye, kadir\_aykac@anadolu.edu.tr, ebcengiz@anadolu.edu.tr

<sup>3</sup>Erzincan Binali Yıldırım University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Erzincan, Türkiye, kadir\_aykac@anadolu.edu.tr

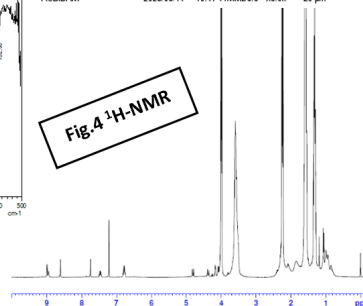
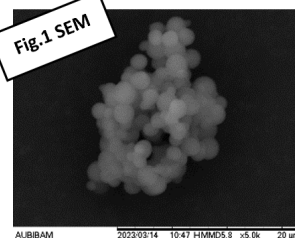
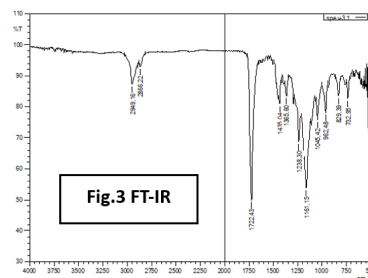
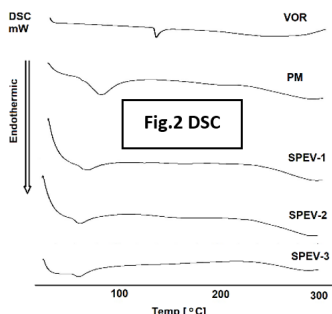
**Introduction:** Fungal keratitis is a severe infectious corneal disease (1). Voriconazole is a second-generation triazole agent with a broader spectrum compared to other azole antifungal drugs (2). Providing an effective dose with conventional ocular drug delivery systems is quite difficult due to the special anatomical, physiological and biochemical structure of the eye. Polymeric particulate ocular drug delivery systems increase bioavailability with advantages such as extending the residence time of the drug in the eye, controlled drug release and targeting (3). Therefore, in this study voriconazole loaded polymeric particles were formulated.

**Materials and Methods:** Voriconazole (VOR) (gifted by Deva İlaç, Türkiye), Polycaprolactone (PCL) (Sigma-Aldrich, Germany), Eudragit FS 100 (FS 100) (Evonik, Germany). All other chemicals were in analytical grade. Spray drying method was used for the preparation of particles. Particle size (PS), polydispersity index (PDI) and zeta potential (ZP) analyses (Malvern Zetasizer, UK), SEM (Zeiss Ultra Plus FE-SEM, Germany), FT-IR (IR Affinity-1S Shimadzu, Japan), DSC (DSC-60, Shimadzu USA) and <sup>1</sup>H-NMR (Fourier 300 NMR Bruker, USA) analyses, Voriconazole amounts and in vitro release studies were performed.

**Results:** Compositions, PS, PDI, ZP, Voriconazole amounts (Table 1), SEM analysis (Fig. 1) DSC (Fig. 2), FT-IR (Fig. 3), <sup>1</sup>H-NMR (Fig. 4), in vitro release analyses results (Fig. 5) and were presented.

**Table 1.** Compositions and PS, PDI, ZP, Voriconazole amount analyses results of the particles (n=3)

| Code   | VOR (mg) | PCL (g) | FS100 (g) | PS (nm) | PDI   | ZP (mV) | VOR (%w/w)  |
|--------|----------|---------|-----------|---------|-------|---------|-------------|
| SPEV-1 | 50       | 1       | 1         | 84,73   | 0,283 | -1,12   | 1,76 ± 0,44 |
| SPEV-2 | 100      | 1       | 1         | 84,39   | 0,481 | 1,55    | 4,50 ± 0,38 |
| SPEV-3 | 150      | 1       | 1         | 201,1   | 0,517 | 0,675   | 6,03 ± 0,55 |



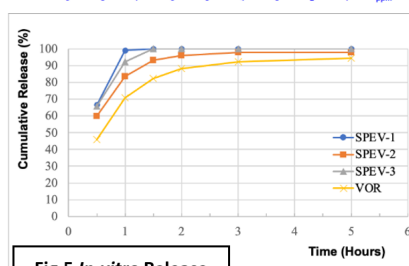
**Conclusions:** According to the analyses results PCL-FS-100 particles are promising candidate for the ocular applications of VOR for the treatment of fungal keratitis.

## Acknowledgements:

DOPNA-LAB for FT-IR, BIBAM for Spray Dryer, <sup>1</sup>H-NMR and SEM Analyses

## References:

- 1- Al-Badriyeh et al., 2010. Clinical Ophthalmology, 391-405.
- 2- Sahay et al., 2019. Survey of ophthalmology, 64(3), 380-400.
- 3- Başaran et al., 2022. Pharmaceutical Development and Technology, 27(2), 228-241.]



## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Selvi YAŞAR

**Yabancı Dil:** İngilizce

**Eğitim:**

İlköğretim: Teğmen Burak Evirgen İlköğretim Okulu

Lise: İstanbul Köy Hizmetleri Anadolu Lisesi

Lisans: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

**Mesleki Özgeçmiş:**

2017-2020: Ezine Devlet Hastanesi

2020-(Halen): Çanakkale İl Sağlık Müdürlüğü

**Yayın:**

**Bildiri**

**1- Yaşar S., Aykaç K., Başaran E.,** Enhanced Ocular Delivery of Voriconazole Utilizing Polymeric Nanoparticles: A Promising Strategy for Treating Fungal Keratitis, 14<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical Sciences 2024, 25-28 June, Ankara, Türkiye

**Mesleki Birlik Üyeliği:**

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mezunları Derneği, 2016

36. Bölge Çanakkale Eczacı Odası, 2022

Tüm Kamu Eczacıları Derneği, 2023