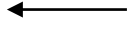


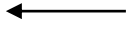
Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

OKÜLER KOMBİNE İLAÇ TEDAVİSİNE YÖNELİK
NANOTAŞIYICI SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ

EGEMEN UZEL

DANIŞMAN
PROF. DR. YILDIZ ÖZSOY ERGİNER

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2024

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji Programında Doktora öğrencisi Egemen UZEL tarafından Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY ERGİNER'in danışmanlığında hazırlanan "Oküler Kombine İlaç Tedavisine Yönelik Nanotaşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 27/08/2024 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sevgi GÜNGÖR
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Doç. Dr. Ali Asram SAĞIROĞLU
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,
Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Dr. Öğretim Üyesi İmren ESENTÜRK
Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Hamidiye Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Dr. Öğretim Üyesi Melike SESSEVMEZ
İstanbul Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Dr. Öğretim Üyesi Meltem Ezgi DURGUN KILIÇ
İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri-(Danışman oy hakkı olmaksızın)

Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY ERGİNER
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

BEYAN

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

Egemen UZEL

İTHAF

Cumhuriyetimizin kurucusu Ulu Önder Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK ve aziz
şehitlerimize ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim hayatım boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim, tüm hatalarıma sabırla ve anlayışla yardım eden çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY ERGİNER'e;

Her türlü destek, ilgi, güleryüz ve yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Sevgi GÜNGÖR, Sayın Doç. Dr. Meryem Sedef ERDAL ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi İmren ESENTÜRK GÜZEL'e;

Tez çalışmalarımın her anında bilgi ve deneyimleriyle yanımda olan, benim sorunlarımı kendi sorunlarıymış gibi çözmeye çalışan, hakkını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim çok değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Meltem Ezgi DURGUN'a;

Bilgi ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Nazan BERGİŞADİ, Dr. Öğr. Üyesi B. Ufuk HALLI, Dr. Öğr. Üyesi Simge KARA ERTEKİN, Dr. Öğr. Üyesi Hande ERENŞOY ve Dr. Öğr. Üyesi Gamze ÖZGÜL ARTUÇ'a;

Doktora eğitimim boyunca hem bilimsel yardımları hem de dostluklarından dolayı Ecz. Elif KARAMÜRSEL, Arş. Gör. Yavuz Selim ÇELİK, Ecz. Neriman AYBİLEK, Ecz. Mazen AL MOHAYA, Arş. Gör. Hümeysra ŞAHİN BEKTAY, Arş. Gör. Emine SALDAMLİ, Ecz. Elmira KALAMİ, Ecz. Bilge SÜRÜCÜ, Ecz. Çağla KAZAZ ve tek sayfaya sığdırabilmek için adını yazamadığım diğer tüm arkadaşlarıma;

Dostlukları ve yardımları için Tunahan Çağlar ÜLKER, Berker GÜNDÖĞDU, Buğra KÖKSAL, Umur ŞEN, Enes AKÇA ve Süleyman Can KARA'ya;

Hayatıma girdiği günden bu yana beni daha iyi bir insan yapan, en zor günlerde yanımda olan, içten sevgisiyle beni destekleyen, benimle olduğu için dünyanın en şanslı insanı olarak hissettiğim biricik eşim Ecem UZEL'e ve köpeğimiz Cheddar'a;

Tüm hayatım boyunca karşılıksız sevgiyle, maddi ve manevi en büyük desteği veren, beni ben yapan sevgili annem Ayşegül UZEL'e, babam Abdullah UZEL'e kardeşim ilk ecemim Ecem UZEL'e ;

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2021-38014

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	İV
İTHAF.....	V
TEŞEKKÜR.....	VI
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	XV
ŞEKİLLER LİSTESİ	XIX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XXİİ
ÖZET	XXV
ABSTRACT.....	XXVI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Göz Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Gözün Anatomisi ve Fizyolojisi	3
2.1.1.1. Anterior (Ön) Segment.....	4
• Kornea.....	4
• Konjonktiva	5
• İris-Silier Cisim.....	6
• Lens.....	7
• Limbus	7
• Pupil	7
2.1.1.2. Posterior (Arka) Segment.....	7
• Sklera	7
• Koroid	8
• Retina	8
2.1.2. Gözde Bulunan Bariyerler	8
2.2. Oküler İlaç Uygulama Yolları	11
2.2.1. Topikal Uygulama.....	11
2.2.2. Sistemik Uygulama	12
2.2.3. Perioküler Enjeksiyon	12
2.2.4. İntravitreal Enjeksiyon	12

2.3. Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemleri	13
2.3.1. Konvansiyonel Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler	13
2.3.2. Modern Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler	13
2.3.2.1. Nanosüspansiyonlar	13
2.3.2.2. Mikro ve Nanoemülsiyonlar	14
2.3.2.3. Nanopartiküller	14
2.3.2.4. Lipozomlar	15
2.3.2.5. Dendrimerler	15
2.3.2.6. Niozomlar.....	16
2.3.2.7. Kubozomlar.....	16
2.3.2.8. Katı Lipit Nanopartiküller (SLN).....	17
2.3.2.9. Nanotaşıyıcı Yüklü Jeller.....	18
2.3.2.10. Oküler Miseller	18
2.3.2.11. Oküler İnsertler	18
• Çözünmeyen İnsertler	20
• Çözünebilen İnsertler.....	21
• Biyobozunan İnsertler.....	22
2.4. Miseller	23
2.4.1. Yapısal Olarak Misel Çeşitleri.....	24
2.4.1.1. Sürfaktan Miseller.....	24
2.4.1.2. Polimerik Miseller.....	25
2.4.1.3. Poli-İyon Kompleks Miseller.....	26
2.4.2. Misel Üretim Metodları	26
2.4.2.1. Doğrudan Çözündürme	26
2.4.2.2. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)	26
2.4.2.3. Diyaliz	27
2.4.2.4. İnce Film Oluşturma	27
2.4.2.5. Su İçinde Yağ (Y/S) Emülsiyonu Oluşturma.....	27
2.4.3. Misellerden İlaç Salımı	27
2.5. Nanolifler	28
2.5.1. Nanolif Üretim Metodları	29
2.5.1.1. Elektroegirme	29

• Elektroeğirme İşlemindeki Parametreler	30
• Elektroeğirme İçin Kullanılan Polimerler.....	32
• Elektroeğirme Prosesinde İlaç Yükleme Metodları.....	34
2.6. Oküler Enfeksiyonlar Hakkında Genel Bilgiler.....	37
2.6.1. Keratit.....	37
2.6.1.1. Enfeksiyöz Keratit.....	38
2.6.1.2. İnterstisyel Keratit.....	42
2.6.1.3. Non-Enfeksiyöz Keratit	42
2.6.2. Üveit.....	43
2.6.2.1. Enfeksiyöz Üveit.....	44
2.6.2.2. Non-enfeksiyöz Üveit	44
2.6.3. Endoftalmi.....	45
2.6.3.1. Ekzojen Endoftalmi.....	45
2.6.3.2. Endojen Endoftalmi	46
2.6.4. Sklerit	46
2.6.4.1. Anterior Sklerit.....	48
2.6.4.2. Posterior Sklerit.....	49
2.6.4.3. Episklerit	49
2.6.5. Konjonktivit	49
2.7. Posakonazol Hakkında Genel Bilgiler	50
2.7.1. Fizikokimyasal Özellikleri.....	50
2.7.2. Posakonazolün Etki Mekanizması	51
2.7.3. Farmakokinetik Özellikleri	51
2.7.4. <i>In vitro</i> Antifungal Aktivitesi.....	53
2.7.5. Yan Etkileri	53
2.7.6. Posakonazolün Oküler Kullanımı	53
2.8. Deksketoprofen Trometamol Hakkında Genel Bilgiler	54
2.8.1. Fizikokimyasal Özellikleri.....	54
2.8.2. Deksketoprofen Trometamol’ün Etki Mekanizması.....	55
2.8.3. Farmakokinetik Özellikleri	56
2.8.4. Yan Etkileri	57
2.9. Fungal Enfeksiyonlarda Kombinasyon Tedavisi	57

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	59
3.1. Araç ve Gereçler	59
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar	59
3.1.2. Kullanılan Aletler.....	59
3.1.3. Kullanılan Malzemeler.....	60
3.2. Yöntem.....	61
3.2.1. Etken Maddeler Üzerinde Yapılan Çalışmalar	61
3.2.1.1. Posakonazolün İnfrared (IR) Spektrumu	61
3.2.1.2. Deksketoprofen Trometamolün İnfrared (IR) Spektrumu	61
3.2.1.3. Posakonazolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi.....	61
3.2.1.4. Deksketoprofen Trometamolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	62
3.2.1.5. Etken Maddelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Analiz Yöntemi.....	62
3.2.2. Misel Formülasyonunun Hazırlanması	66
3.2.3. Nanolif Formülasyonlarının Optimizasyon Çalışması.....	68
• Polivinil Alkol (PVA) Nanoliflerinin Hazırlanması.....	68
• Polivinil Prolidon (PVP) Nanoliflerinin Hazırlanması.....	69
• Polivinil Alkol (PVA) ve Polivinil Prolidon (PVP) Polimer Karışımı İçeren Nanoliflerinin Hazırlanması.....	71
3.2.4. Misel Yüklü Nanolif Formülasyonlarının Hazırlanması ve Optimizasyonu	73
3.2.5. Misel Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları.....	75
3.2.5.1. Ortalama Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı	75
3.2.5.2. Zeta Potansiyel Tayini.....	76
3.2.5.3. Misel Formülasyonunda Etken Madde Yükleme Etkinlikleri ve Yükleme Kapasitelerinin Tayini	76
3.2.6. Elektroegirme İçin Hazırlanan Çözeltilerin Karakterizasyon Çalışmaları	76
• Reoloji Analizi.....	77
• Elektriksel İletkenlik Tayini	77
3.2.7. Seçilen Nanolif Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları	77
3.2.7.1. Nanolif Formülasyonlarının Etken Madde Miktar Tayini	77
3.2.7.2. Çap-Kalınlık ve Ağırlık Tayini	78

3.2.7.3. Nanolif Formülasyonlarının Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) ile Görüntülenmesi	78
3.2.7.4. Nanolif Formülasyonlarında Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	78
3.2.7.5. Nanolif Formülasyonlarında X-ışını Difraksiyon (XRD) Çekimi	79
3.2.7.6. Fourier Dönüştürümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR Spektroskopisi).....	79
3.2.8. <i>In vitro</i> İlaç Salım Çalışmaları	79
3.2.8.1. Reseptör Ortamın Belirlenmesi için Etken Maddelerin Çözünürlük Çalışmaları	79
3.2.8.2. Misel Formülasyonunda <i>In vitro</i> İlaç Salım Çalışması.....	80
3.2.8.3. Nanoliflerde <i>In vitro</i> İlaç Salım Çalışması.....	80
3.2.8.4. Kinetik Verilerin Hesaplanması ve Değerlendirilmesi	81
3.2.9. <i>Ex vivo</i> Çalışmalar	81
• Dokuların Hazırlanması	81
3.2.9.1. <i>Ex vivo</i> İlaç Geçiş Çalışmaları	82
3.2.9.2. <i>Ex vivo</i> Penetrasyon Çalışmaları.....	83
3.2.10. Antifungal Aktivite Çalışmaları.....	84
3.2.11. HET-CAM Toksisite Testi.....	84
3.2.12. Stabilité Çalışmaları.....	85
3.2.13. İstatistiksel Analiz.....	85
4. BULGULAR.....	86
4.1. Etken Maddeler Üzerine Yapılan Çalışmalar	86
4.1.1. Posakonazolün İnfrared (IR) Spektrumu	86
4.1.2. Deksketoprofen Trometamolün İnfrared (IR) Spektrumu	86
4.1.3. Posakonazolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi.....	87
4.1.4. Deksketoprofen Trometamolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	88
4.1.5. Etken Maddelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini	88
4.1.5.1. Analitik Yöntem Validasyonu.....	89
4.2. Misel Formülasyonlarının Hazırlanması.....	94
4.3. Nanolif Formülasyonlarının Hazırlanması	96
4.3.1. Etken Madde İçermeyen Nanoliflerin Optimizasyonu	96

4.3.2. Misel İçeren Nanoliflerin Hazırlanması.....	100
4.4. Misel Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları.....	104
4.4.1. Ortalama Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı	104
4.4.2. Zeta Potansiyel Tayini	104
4.4.3. Misel Formülasyonda Etken Madde Yükleme Etkinliği ve Yükleme Kapasitelerinin Tayini.....	105
4.5. Elektroeğirme İçin Hazırlanan Polimerik Çözeltilerin Karakterizasyon Çalışmaları	105
• Reoloji Analizi	105
• Elektriksel İletkenlik Tayini	107
4.6. Nanolif Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları	108
4.6.1. Nanoliflerde Etken Maddelerin Miktar Tayini	108
4.6.2. Nanoliflerde Çap, Kalınlık ve Ağırlık Tayini	108
4.6.3. Nanolif Formülasyonlarının FESEM ile Görüntülenmesi	109
4.6.4. Nanolif Formülasyonlarında Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	111
4.6.5. Nanolif Formülasyonlarında X-ışını Difraksiyon (XRD) Analizi	114
4.6.6. Nanolif Formülasyonlarının Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi.....	119
4.7. <i>In vitro</i> İlaç Salım Çalışmaları	126
4.7.1. Etken Maddelerin Çözünürlük Çalışmaları.....	126
4.7.2. <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları	127
4.7.3. <i>In vitro</i> İlaç Salım Kinetiklerinin Değerlendirilmesi	133
4.8. <i>Ex vivo</i> Çalışmalar	134
4.8.1. <i>Ex vivo</i> İlaç Geçiş Çalışmaları	134
4.8.2. <i>Ex vivo</i> Penetrasyon Çalışmaları.....	140
4.9. Antifungal Aktivite Çalışmaları.....	142
4.10. HET-CAM Toksisite Testi.....	143
4.11. Stabilité Çalışmaları.....	144
5. TARTIŞMA	147
5.1. Etken Maddeler Üzerine Yapılan Çalışmalar	150
5.1.1. PSC'nin FTIR Spektrumu	150
5.1.2. DKP'nin FTIR Spektrumu	150

5.1.3. PSC'nin DSC Analizi.....	151
5.1.4. DKP'nin DSC Analizi.....	151
5.1.5. Etken Maddelerin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini	151
5.2. Misel Formülasyonunun Hazırlanması	152
5.3. Nanolif Formülasyonlarının Hazırlanması	153
5.4. Misel Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları.....	156
5.4.1. Ortalama Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı	156
5.4.2. Zeta Potansiyel Tayini	156
5.4.3. Misel Formülasyonunda Etken Madde Miktar Tayini.....	156
5.5. Elektroeğirme İçin Hazırlanan Polimerik Çözeltilerin Karakterizasyon Çalışmaları	157
• Reoloji Analizi	157
• Elektriksel İletkenlik Tayini	158
5.6. Nanolif Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları	158
5.6.1. Nanoliflerde Etken Maddelerin Miktar Tayini	158
5.6.2. Nanoliflerde Çap, Kalınlık ve Ağırlık Tayini	159
5.6.3. Nanolif Formülasyonlarının FESEM ile görüntülenmesi	160
5.6.4. Nanolif Formülasyonlarında DSC Analizi.....	160
5.6.5. Nanolif Formülasyonlarında XRD Analizi	161
5.6.6. Nanolif Formülasyonlarının FTIR Spektroskopisi	161
5.7. <i>In vitro</i> İlaç Salım Çalışmaları.....	162
5.7.1. Etken Maddelerin Çözünürlük Tayini.....	162
5.7.2. <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları	162
5.7.3. <i>In vitro</i> İlaç Salım Kinetiklerinin Değerlendirilmesi	165
5.8. <i>Ex vivo</i> Çalışmalar	166
5.8.1. <i>Ex vivo</i> İlaç Geçiş Çalışmaları	166
5.8.2. <i>Ex vivo</i> Penetrasyon Çalışmaları.....	168
5.9. Antifungal Aktivite Çalışmaları.....	171
5.10. HET-CAM Toksisite Testi.....	171
5.11. Stabilite Çalışmaları.....	172
5.12. Sonuç.....	174
KAYNAKLAR	176

HAM VERİLER	203
FORMLAR	204
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	205



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Elektroeğirme İşlemini Etkileyen Parametreler	31
Tablo 2-2: İlaç taşıyıcı nanolif çalışmalarında kullanılan sentetik ve doğal polimer örnekleri ve çözücüler.....	32
Tablo 3-1: HPLC ile miktar tayininde kullanılan metod koşulları	62
Tablo 3-2: DKP-PSC için stok ve standart çözeltiler.....	63
Tablo 3-3: Misel üretimi için yapılan önformülasyon çalışmaları	67
Tablo 3-4: PVA içeren boş nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler	69
Tablo 3-5: PVP içeren boş nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler.....	70
Tablo 3-6: PVA-PVP içeren boş nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler	72
Tablo 3-7: Misel yüklü nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler	74
Tablo 3-8: HET-CAM toksisite zamana göre puanlama şeması	85
Tablo 4-1: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğrusallık için elde edilen bulgular (n=3)	89
Tablo 4-2: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğrusallık için elde edilen bulgular (n=3)	90
Tablo 4-3: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğruluk için elde edilen bulgular (n=3)	91
Tablo 4-4: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğruluk için elde edilen bulgular (n=3)	92
Tablo 4-5: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda gün içi kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)	92
Tablo 4-6: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda gün içi kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)	92
Tablo 4-7: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda günler arası kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)	93
Tablo 4-8: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda günler arası kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)	93
Tablo 4-9: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda stabilite için elde edilen bulgular	94

Tablo 4-10: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda stabilite için elde edilen bulgular	94
Tablo 4-11: Miseller için yapılan önformülasyonlar ve sonuçları.....	95
Tablo 4-12: Etken madde içermeyen nanoliflerde yapılan önformülasyon çalışmalarının sonuçları ve parametreleri.....	98
Tablo 4-13: Misel içeren nanoliflerin önformülasyon çalışmaları ve sonuçları	100
Tablo 4-14: Optimize edilmiş nanolif formülasyonlarının kodları ve elektroegirme parametreleri	102
Tablo 4-15: Elektroegirme işlemi için proses parametrelerinin seçiminde elde edilen bulgular	102
Tablo 4-16: Misel formülasyonun partikül büyüklüğü ve dağılımı (n=3).....	104
Tablo 4-17: Misel formülasyonun zeta potansiyel değeri (n=3).....	104
Tablo 4-18: Misel formülasyonundaki etken maddelerin yükleme etkinlikleri ve yükleme kapasiteleri (n=3)	105
Tablo 4-19: Nanolif formülasyonlarının elektroegirme çözeltilerine ait reoloji bulguları (n=3).....	105
Tablo 4-20: Elektroegirme işlemi için hazırlanan formülasyon çözeltilerinin elektriksel iletkenliklerine ait bulgular (n=3)	107
Tablo 4-21: Nanolif formülasyonlarındaki etken maddelerin % miktarları (n=3)	108
Tablo 4-22: Nanolif insertlerin çap, kalınlık ve ağırlık ölçümlerine ilişkin bulgular (n=3)	109
Tablo 4-23: Nanolif Formülasyonlarının ortalama lif çapları (n=50).....	111
Tablo 4-24: DKP'nin karakteristik absorbands bantları	123
Tablo 4-25: PSC'nin karakteristik absorbands bantları	124
Tablo 4-26: PVA polimerinin karakteristik absorbands bantları.....	124
Tablo 4-27: PVP polimerinin karakteristik absorbands bantları	125
Tablo 4-28: PLU co-polimerinin karakteristik absorbands bantları	125
Tablo 4-29: Etken maddelerin çözünürlük çalışmasına ait bulgular (n=3)	126
Tablo 4-30: Misel formülasyonunun ve kontrol çözeltisinin (Noxafil®+DKP karışımı) Franz Difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3)	127
Tablo 4-31: Nanolif-A formülasyonunun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3).....	128

Tablo 4-32: Nanolif-P formülasyonun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3).....	128
Tablo 4-33: Nanolif-AP formülasyonun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3).....	129
Tablo 4-34: Nanolif-P(-M) formülasyonun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3).....	129
Tablo 4-35: Nanolif-AP(-M) formülasyonun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3).....	130
Tablo 4-36: <i>In vitro</i> ilaç salım testi sonuçlarına göre yapılan istatistiksel analizlerde elde edilen ‘p’ değerleri.....	132
Tablo 4-37: Üretilen formülasyonların Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre R ² ve n değerleri	133
Tablo 4-38: Korsmeyer-Peppas ilaç salım mekanizmaları	133
Tablo 4-39: Misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisinin sıgır korneasından <i>ex vivo</i> geçiş çalışması sonuçları (n=3).....	134
Tablo 4-40: Misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisinin sıgır sklerasından <i>ex vivo</i> geçiş çalışması sonuçları (n=3).....	137
Tablo 4-41: Formülasyonların kornea ve skleradaki permeasyon parametreleri	139
Tablo 4-42: <i>Ex vivo</i> ilaç geçiş çalışması sonuçlarına göre yapılan istatistiksel analizlerde elde edilen ‘p’ değerleri	140
Tablo 4-43: Misel formülasyonun, Nanolif-AP’nin ve kontrol çözeltisinin kornea ve skleradaki <i>ex vivo</i> penetrasyon sonuçları (n=3).....	140
Tablo 4-44: <i>Ex vivo</i> penetrasyon çalışması sonucunda etken maddeler için formülasyonlar arası yapılan istatistiksel analizlerde elde edilen ‘p’ değerleri.....	142
Tablo 4-45: Her bir formülasyonun kendi içerisinde kornea-sklera karşılaştırmalı istatistik değerlendirmeleri sonucu elde edilen ‘p’ değerleri.....	142
Tablo 4-46: Misel formülasyonu ve nanolif-AP formülasyonunun <i>Candida albicans</i> ’a karşı zon inhibisyon çapı sonuçları (n=4).....	143
Tablo 4-47: Üretilen formülasyonların ve kontrol çözeltilerinin HET-CAM testine göre kümülatif puanları ve sonuçları (n=3)	144
Tablo 4-48: HET-CAM testindeki kümülatif puanlar için sınıflandırma şeması	144
Tablo 4-49: Formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem koşullarında 6. ay sonunda içerdikleri yüzde (%) etken madde miktarları (n=3)	145

Tablo 4-50: Formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem koşullarında 6. ay sonunda içerdikleri yüzde (%) etken madde miktarları (n=3)	146
Tablo 4-51: Misel ve Nanolif-AP formülasyonlarının 4 °C ve ortam koşullarında 6. ay sonunda içerdikleri yüzde (%) etken madde miktarları (n=3)	146



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Gözün anatomisi (13).....	3
Şekil 2-2: Posakonazol'ün Kimyasal Yapısı	51
Şekil 2-3: Deksketoprofen Trometamol'ün Kimyasal Yapısı	55
Şekil 3-1: Film oluşturma yöntemi ile misel hazırlanmasının şematik gösterimi	67
Şekil 3-2: Elektroegirme (electrospinning) cihazı	73
Şekil 3-3: <i>Valia-Chien</i> hücreleri	83
Şekil 4-1: Posakonazolün ATR-FTIR spektrumu.....	86
Şekil 4-2: Deksketoprofen Trometamolün ATR-FTIR spektrumu.....	87
Şekil 4-3: Posakonazolün DSC Analizi	87
Şekil 4-4: Deksketoprofen Trometamolün DSC Analizi	88
Şekil 4-5: Etken Maddelerin HPLC kromatogramları.....	89
Şekil 4-6: DKP'nin doğrusallık çalışmasında elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi.....	90
Şekil 4-7: PSC'nin doğrusallık çalışmasında elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi.....	91
Şekil 4-8: Misel formülasyonun partikül büyüklüğü dağılım grafiği	104
Şekil 4-9: Nanolif formülasyonlarının elektroegirme çözeltilerine ait reoloji grafikleri	107
Şekil 4-10: Nanolif-A formülasyonunun FESEM görüntüleri (a:25000x, b:50000x) ve nanolif çap dağılımının histogram grafiği (n=50).....	109
Şekil 4-11: Nanolif-P formülasyonunun FESEM görüntüleri (a:25000x, b:50000x) ve nanolif çap dağılımının histogram grafiği (n=50).....	110
Şekil 4-12: Nanolif-Ap formülasyonunun FESEM görüntüleri (a:25000x, b:50000x) ve nanolif çap dağılımının histogram grafiği (n=50).....	110
Şekil 4-13: DKP'nin DSC analiz sonucu.....	111
Şekil 4-14: PSC'nin DSC analiz sonucu.....	112
Şekil 4-15: PVA polimerinin DSC analiz sonucu	112
Şekil 4-16: PVP polimerinin DSC analiz sonucu	112
Şekil 4-17: PLU co-polimerinin DSC analiz sonucu.....	113
Şekil 4-18: DKP, PSC, PVA, PVP ve PLU maddelerinin toz halde fiziksel karışımının DSC analiz sonucu.....	113

Şekil 4-19: Nanolif-A formülasyonunun DSC analiz sonucu	113
Şekil 4-20: Nanolif-P formülasyonunun DSC analiz sonucu	114
Şekil 4-21: Nanolif-AP formülasyonunun DSC analiz sonucu	114
Şekil 4-22: DKP'nin XRD analiz sonucu	115
Şekil 4-23: PSC'nin XRD analiz sonucu	115
Şekil 4-24: PVA polimerinin XRD analiz sonucu	116
Şekil 4-25: PVP polimerinin XRD analiz sonucu	116
Şekil 4-26: PLU co-polimerinin XRD analiz sonucu	117
Şekil 4-27: DKP, PSC, PVA, PVP ve PLU maddelerinin toz halde fiziksel karışımının XRD analiz sonucu	117
Şekil 4-28: Nanolif-A formülasyonunun XRD analiz sonucu	118
Şekil 4-29: Nanolif-P formülasyonunun XRD analiz sonucu	118
Şekil 4-30: Nanolif-AP formülasyonunun XRD analiz sonucu	119
Şekil 4-31: DKP'nin ATR-FTIR spektrumu	119
Şekil 4-32: PSC'nin ATR-FTIR spektrumu	120
Şekil 4-33: PVA polimerinin ATR-FTIR spektrumu	120
Şekil 4-34: PVP polimerinin ATR-FTIR spektrumu	121
Şekil 4-35: PLU co-polimerinin ATR-FTIR spektrumu	121
Şekil 4-36: DKP, PSC, PVA, PVP ve PLU maddelerinin toz halde fiziksel karışımının ATR-FTIR spektrumu	122
Şekil 4-37: Nanolif-A formülasyonunun ATR-FTIR spektrumu	122
Şekil 4-38: Nanolif-P formülasyonunun ATR-FTIR spektrumu	123
Şekil 4-39: Nanolif-AP formülasyonunun ATR-FTIR spektrumu	123
Şekil 4-40: Misel formülasyonunun, nanolif formülasyonlarının ve kontrol çözeltisinin DKP için zamana karşı salım grafiği	130
Şekil 4-41: Misel formülasyonunun, nanolif formülasyonlarının ve kontrol çözeltisinin PSC için zamana karşı salım grafiği	131
Şekil 4-42: Nanolif formülasyonlarının DKP için zamana karşı salım grafiği	131
Şekil 4-43: Nanolif formülasyonlarının PSC için zamana karşı salım grafiği	132
Şekil 4-44: Misel formülasyonunun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin DKP için sıgır korneasından <i>ex vivo</i> zamana karşı geçiş grafiği	135
Şekil 4-45: Nanolif-AP'nin DKP için sıgır korneasından <i>ex vivo</i> zamana karşı geçiş grafiği	135

Şekil 4-46: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için sıgır korneasından <i>ex vivo</i> zamana karşı geçiş grafiği	136
Şekil 4-47: Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için sıgır korneasından <i>ex vivo</i> zamana karşı geçiş grafiği.....	136
Şekil 4-48: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin DKP için sıgır sklerasından <i>ex vivo</i> zamana karşı geçiş grafiği	137
Şekil 4-49: Nanolif-AP'nin DKP için sıgır sklerasından <i>ex vivo</i> zamana karşı geçiş grafiği.....	138
Şekil 4-50: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için sıgır sklerasından <i>ex vivo</i> zamana karşı geçiş grafiği	138
Şekil 4-51: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin DKP için kornea ve skleradaki penetrasyon grafiği	141
Şekil 4-52: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için kornea ve skleradaki penetrasyon grafiği	141
Şekil 4-53: Hazırlanan formülasyonların ve kontrollerin HET-CAM testi sonuç görüntüleri.....	143
Şekil 4-54: Nanolif-P formülasyonunun 40 ± 2 °C sıcaklık ve 75 ± 5 bağıl nem koşullarındaki fiziksel değişimi	145

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

μL: Mikrolitre

μm: Mikrometre

a/a: ağırlık/ağırlık

a/h: ağırlık/hacim

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

AK: Acanthamoeba Keratiti

BCS: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi

°C: Santigrat derece

CAM: koryoallantoik membran

Cm: santimetre

cm²: santimetre kare

CMC: Kritik misel konsantrasyonu

COX: Siklooksijenaz

DA: Dalton

DKP: Deksketoprofen Trometamol

DSC: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre

FESEM: Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu

FK: Fungal Keratit

FTIR: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi

G: Gauge

g: gram

HET-CAM: Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane

HPLC: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

HSV: Herpes simpleks virüs

ICH: International Council for Harmonisation

IR: İnfrared

iv: intravenöz

KAB: Kan aköz bariyeri

KRB: Kan retina bariyeri

kV: Kilovolt

L: Litre

mg: Milligram

mm: Milimetre

ng: nanogram

ng: nanogram

nm: nanometre

NSAİİ: non-steroidal anti-inflamatuar ilaç

PLU: Pluronic F127

PSC: Posakonazol

PVA: Polivinil alkol

PVP: Polivinil pirolidon

RH: Rölatif nem

rpm: dakikadaki dönüş sayısı

RSD: Rölatif standart sapma

SD: Standard sapma

SLN: Katı lipit nanopartikül

SLS: Sodyum lauril sülfat

TNF- α : Tümör nekroz faktörü

TPGS: D- α -Tokoferol polietilen glikol 1000 suksinat

VZV: Varicella-zoster virüs

XRD: X-ışını Difraksiyonu

YG: Yapay gözyaşı



ÖZET

Uzel, E. Oküler Kombine İlaç Tedavisine Yönelik Nanotaşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2024.

Fungal oküler hastalıkların görülme sıklığı özellikle kontakt lens kullanımının yaygınlaşmasıyla giderek artmaktadır. Fungal kaynaklı oküler hastalıklar ağrı ve enflamasyona neden olan ve hızlı bir şekilde tedavi edilmezse körlüğe kadar gidebilen ciddi morbiditelere sebep olmaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı yüksek antifungal etkinlik gösteren posakonazol ile hızlı antienflamatuar etkiye sahip deksketoprofen trometamol etken maddelerinin kombine şekilde yüklendiği nanotaşıyıcı sistemler tasarlayarak göz dokularına ilaç geçişini artırmaktır.

Çalışmalarda, ilk olarak iki etken maddenin yüklendiği misel yapısı oluşturulmuştur. Ardından misel formülasyonu PVA/PVP polimerleri kullanılarak elektroegirme yöntemi ile nanoliflere yüklenmiş ve misellar nanolif insertler hazırlanmıştır.

Hem misel hem de nanolif formülasyonları için karakterizasyon, *in vitro* ilaç salım, *ex vivo* permeasyon ve penetrasyon, antifungal etki, toksisite ve stabilite çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca polimerlerin nanolif morfolojisine, ilaç salımına, üretim parametrelerine ve stabilitelerine etkileri incelenmiştir. Karakterizasyon çalışmalarında 15 nm'den küçük partikül boyutuna sahip misel formülasyonu ve 185-410 nm aralığında lif çapına sahip nanolif formülasyonları elde edildiği tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgularda her iki ilaç molekülünün de çözünürlükleri artırılmıştır. Optimize edilen misel ve nanolif formülasyonlarında düşük dozlarda dahi oküler dokulara geçiş ve artırılmış penetrasyon elde edilmiştir. Tüm formülasyonlarda antifungal etki görülmüş ayrıca formülasyonların göz için toksik olmadıkları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Misel, Nanolif, Posakonazol, Dexketoprofen Trometamol, Oküler İlaç Taşıyıcı Sistem

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2021-38014

ABSTRACT

Uzel E. Development Of Nanocarrier Systems For Ocular Combined Drug Therapy. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology. Ph. D. Thesis, İstanbul. 2024.

The incidence of fungal ocular diseases is gradually increasing, especially with the widespread use of contact lenses. Fungal ocular diseases cause pain, inflammation and serious morbidities which may lead to blindness if not treated promptly.

The aim of this thesis is to design nanocarrier systems in which posaconazole, which has high antifungal activity, and dexketoprofen trometamol, which has a rapid anti-inflammatory effect, are loaded in combination to increase drug delivery to the eye tissues.

In the studies, firstly, the micelle structure in which two active substances were loaded was formed. Then the micelle formulation was loaded into nanofiber by electrospinning method using PVA/PVP polymers and micellar nanofiber inserts were prepared.

Characterization, *in vitro* drug release, *ex vivo* permeation and penetration, antifungal effect, toxicity and stability studies were carried out for both micelle and nanofiber formulations. In addition, the effects of polymers and electrospinning parameters on nanofiber morphology, drug release, production parameters and stability were investigated. In the characterization studies, it was determined that micelle formulations with particle sizes less than 15 nm and nanofiber formulations with fiber diameters in the range of 185-410 nm were obtained.

In the findings obtained, the solubility of the drugs was increased. In the optimized micelle and nanofiber formulations, permeation and increased penetration into ocular tissues were obtained even at low doses. In addition, the antifungal effect was observed in all formulations and it was determined that the formulations were non-toxic to the eye.

Key Words: Micelle, Nanofiber, Posaconazole, Dexketoprofen Trometamol, Ocular Drug Delivery System

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. TDK-2021-38014

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gözde meydana gelen fungal hastalıklar, bakteriyal veya viral enfeksiyonlar kadar sık görülmesine de hızlı teşhis ve tedavi edilmezse görme kaybı ve körlük gibi ciddi morbiditeye yol açabilen ağrı ve inflamasyona sebep olan tehlikeli enfeksiyon türleridir. Özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde görülme sıklığı yüksektir. Dünya genelinde yılda bir milyondan fazla fungal keratit vakasının meydana geldiği ve vakaların %8-11'inde enükleasyon da dahil olmak üzere ciddi sonuçlarla sonuçlandığı tahmin edilmektedir. Bu enfeksiyonların yaygınlığı, kontakt lens kullanımının artması ve çevresel maruziyetten kaynaklanan oküler travmanın artması gibi faktörlere bağlı olarak ılıman bölgelerde de artmaktadır (1-3).

Tedavisinde genellikle flukonazol, amfoterisin b ve natamisin topikal uygulanır. Ciddi vakalarda ise topikal tedaviye ek olarak sistemik veya kombinasyon tedavisine geçilir. Ayrıca fungal göz hastalıklarının tedavisinde sistemik olarak triazol grubu antifungal ilaçlar ve kombinasyon tedavisinde inflamasyon ve ağrıyı azaltmak için steroid veya non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak oküler dokularının hem lipofilik hem de hidrofilik yapıdaki bariyerleri sebebiyle sistemik ve konvansiyonel topikal ilaçlar göz dokusunda düşük biyoyararlanım göstermektedir (4, 5).

Posakonazol, geniş spektrumlu ve biyoyararlanımı yüksek 2. nesil triazol antifungal bir ilaçtır. Özellikle bağışıklık sistemi ciddi şekilde baskılanmış hastalarda invazif mantar enfeksiyonlarını önlemek ve tedavi etmek için kullanılır. Oral ve intravenöz formları bulunmaktadır (6, 7).

Deksketoprofen trometamol, hızlı etkili, yüksek çözünürlük ve biyoyararlanıma sahip non-steroidal antiinflamatuvar bir ilaçtır. Düşük yan etki profiline sahiptir. Oral ve intravenöz formları bulunmaktadır (8).

Tez çalışmamız kapsamında, fungal oküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaya yönelik kombine şekilde posakonazol ve deksketoprofen trometamol yüklü nanotaşıyıcı sistemler üzerinde çalışılacaktır. Posakonazol ve deksketoprofen trometamol yüklü misel formülasyonu tasarlanacaktır. Çalışmanın devamında misel formülasyonundan elektroegirme yöntemi kullanılarak misellar nanolif yapıda oküler

insertler hazırlanması amaçlanmaktadır. Her iki formülasyon için de karakterizasyon, ilaç salım, dokulara permeasyon ve penetrasyon, antifungal etki, toksisite ve stabilite çalışmaları yapılacaktır. Çalışma sonunda terapötik etkisi ve oküler biyoyararlanımı artırılmış kombine formda nanotaşıyıcı sistemlerin literatüre kazandırılması hedeflenmektedir.



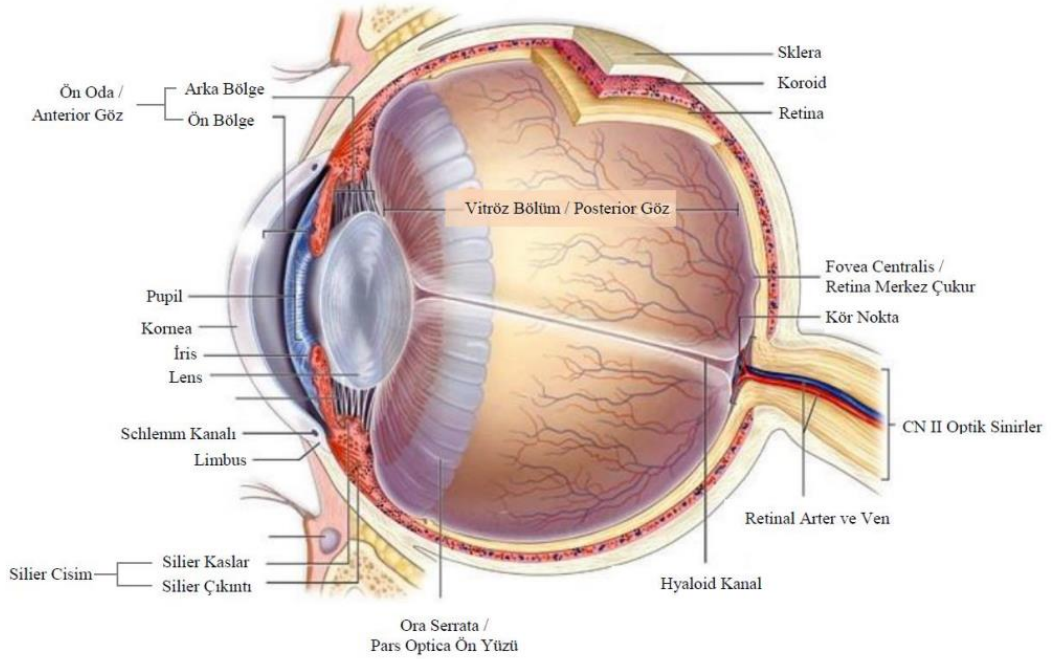
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Göz Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Gözün Anatomisi ve Fizyolojisi

İnsan gözü kafatasında orbita (göz çukuru) içerisinde yer alan ve içerdiği fotoreseptörler ile görme duyusunu sağlayan yaklaşık 2,5 cm çapında, 6,5 mL hacminde küre şeklinde bir organdır. Gözün çevresi ise yetişkin insanlarda ortalama 69-85 mm arasındadır (9, 10).

Anatomik olarak göz anterior ve posterior olmak üzere iki bölümden oluşur. Göze gelen ışığın kırılmasından sorumlu şeffaf bir yapı olan lens, bu iki bölümü birbirinden ayıran sınırdır. Anterior segment kornea, iris-silier cisim, konjonktiva ve skleranın ön yüzeyini içerir. Koroid, retina, optik sinirler ve skleranın arka yüzeyi ise posterior segmentte yer alır. Hem anterior hem de posterior segmentte, interstisyel boşluklar sırasıyla aköz hümör ve vitröz hümör ile doludur (11, 12). Şekil 2-1’de gözün anatomisi verilmiştir.



Şekil 2-1: Gözün anatomisi (13)

Gözün anatomik yapısı, segmentlerinden bağımsız olarak sınıflandırılabilir. Bu katmanlar dıştan içe doğrudur: Tunica fibrosa bulbi (fibröz tabaka), tunica vasculosa

bulbi (vasküler tabaka) ve tunica interna bulbi (nöral tabaka). Gözün fibröz tabakası olan tunica fibrosa bulbi, kornea, konjonktiva ve skleradan oluşur. Tunica fibrosa oculi'nin hemen altında yer alan tunica vasculosa bulbi, uvea olarak da bilinir. Bu tabaka koroid, siliyer cisim ve iristen oluşur. İçerdiği damarlar sayesinde göz dokularındaki kan dolaşımı ve aköz hümör üretimi bu tabakadaki dokular tarafından gerçekleştirilir. Tunica interna bulbi, ışığın sinirsel uyarıya dönüştürüldüğü ve beyne iletildiği iç tabakadır (14, 15).

2.1.1.1. Anterior (Ön) Segment

- **Kornea**

Kornea ince, şeffaf, pürüzsüz, damarsız, yüksek oranda sinir içeren ve vücuttaki en hassas dokudur. Konveks şekilli ve doğrudan dış ortama maruz kalan bir konumdadır. Kornea, sklera adı verilen gözün beyaz kısmı ve konjonktiva adı verilen yarı saydam doku ile devamlılık gösterir. Korneanın sklera ile devam ettiği sınır limbus olarak adlandırılır. Limbus oldukça vaskülarizedir ve yüksek oranda pluripotansiyel kök hücre rezervuarı içerir. Dış ortama maruz kalan kornea yüzeyi gözyaşı filmi ile doludur ve iç yüzeyi aköz hümör adı verilen sıvı ile doğrudan temas halindedir. Kornea kalınlığı merkezden çevreye doğru giderek artar. Bu, merkezde en büyük ve limbusta en küçük olan kornea eğriliği ile gözlenir (16-18). Ek olarak kornea, ağrıya karşı son derece hassas olan küçük sinir uçlarıyla yoğun bir şekilde donatılmıştır. Kornea önden arkaya doğru korneal epitelyum, bowman membranı, stroma, descemet membran ve endotel tabakası olmak üzere beş tabakadan oluşur (19).

Korneal epitelyum: Kornea epiteli 5 ila 6 katmanlı tabakalı ve skuamöz nonkeratinize epitel hücrelerinden oluşur. Korneanın farklı epitel katmanları, iki ila üç kat yüzeysel ve kanat hücreleri ve tek bir bazal hücre katmanı içerir. Epitel hücreleri, yaklaşık 20 µm boyunda kolumnar epitelden yapılmış 0,05 µm kalınlığında bir bazal laminaya tutturulmuştur. Hücreler arası sıkı hücre bağlantılarının varlığı dışarıdan gelebilecek toz, mikroorganizma gibi yabancı maddelere karşı oldukça geçirimsiz hale getirir. Bazal hücreler mitoz geçirebilen tek kornea epitel hücreleridir. Ayrıca kornea epiteli lipofilik bir yapıya sahiptir. Bu özelliği, küçük moleküller için seçici bir geçirgenlik etkisi gösterir. Lipofilik ilaçlar kornea epitelini hücre içine (transselüler yolla) geçerken, hidrofilik ilaçlar ise hücreler arasından (paraselüler yolla) geçiş yapar (20-22).

Bowman membranı: Bowman membranı, bazal kornea epitel hücrelerinin hemen altında bulunan 8 ila 15 μm kalınlığında bir doku tabakasıdır. Kolajen fibriller, laminin, nidojen, perlekan ve diğer bileşenlerden oluşur. Bu tabaka rejeneratif değildir, korneal stroma ve epitel hücreleri arasında bir sınır oluşturur ve kornea şeklini korur (23, 24).

Korneal Stroma: Stroma, düzenli olarak düzenlenmiş kolajen lifleri ve seyrek olarak dağılmış birbirine bağlı keratositlerden (%3-5) oluşan korneanın kalın, şeffaf bir orta tabakasıdır. Korneanın yapısının çoğunu sağlar ve sertliğinden sorumludur. Stroma, esas olarak tip I kolajen fibrillerinden yaklaşık 200 katmandan oluşur ve kornea kalınlığının %90'ını oluşturur (25). Stroma ayrıca yapısında fibroblastik hücreler, nöral doku ve *Schwann* hücreleri bulundurur (18).

Descemet membranı: Descemet membranı 10 μm kalınlığında, amorf yapıda ve endotelial hücrelerin sağlığı için çok önemli olan bir iç bazal membran tabakasıdır. Bu tabaka kornea direncinin korunmasında önemli bir rol oynar. İnsanın gelişme evresinde bu tabaka süresiz, homojen ve aselülerdir. Büyüdükçe Descemet membranına dönüşür. Zamanla kalınlaşan bir tabakadır ve bu sebeple dış etkilere karşı dirençlidir (26). Ayrıca Descemet membranının hemen önünde, 15 mikron kalınlığında ve 1,5 ila 2 bar basınca dayanabilen çok ince ve güçlü bir tabaka olan Dua tabakası yer almaktadır (27).

Korneal Endotelyum: Kornea endoteli, düşük mitotik özellikte olan ve aköz hümör ile doğrudan temas halindeki tabakadır. Bu tek tabaka, ozmotik gradyan oluşturmada gerekli olan iyon akışına (Na^+ , K^+ -ATPaz pompaları) ve geçirgenliğe sahiptir. Aköz hümör ile kornea arasındaki sıvı, elektrolit ve protein alışverişini kontrol eder. Endotelin bütünlüğü, kornea deturgesansının korunması için esastır. Genel olarak endotel hücre sayıları yaşla birlikte azalır. Hastalıklı durumlarda, dejenere hücrelerden oluşan boşlukları kompanse etmek için hücreler boyutlarında artış ve şekil çeşitliliği (polimorfizm) gösterirler (28, 29).

- **Konjonktiva**

Konjonktiva, üst ve alt göz kapaklarının iç yüzeyini oluşturan ince, yüksek oranda damarlanmış, yarı saydam ve mukoza salgılayan bir dokudur. Sklera üzerinde ince şeffaf bir doku olarak göze yansır ve korneal limbusa kadar uzanır. Bu doku

efferent, afferent ve duyuşal sinirlerle yüksek oranda bağlantılıdır ve ayrıca lenfoid doku ile beslenir. Konjonktivanın toplam yüzey alanı korneaya göre yaklaşık 16 kat daha büyüktür (30). Elastik yapısı nedeniyle konjonktiva, göz küresinin ve göz kapaklarının hareketini kolaylaştırır. Gözyaşının mukoza tabakası, aköz hümörün küçük bir kısmı ile birlikte iç oküler dokuları dış ortamdan korur. Bulunduğu yere, kalınlığına ve damarlanmasına bağlı olarak bu doku palpebral, forniks ve bulbar (oküler) konjonktiva olarak üçe ayrılabilir. Üst ve alt göz kapakları içten palpebral konjonktiva ile kaplıdır. Konjonktivanın bulbar konjonktiva olarak adlandırılan nispeten küçük bir kısmı skleraya yakın olarak bulunur. Bulbar konjonktiva çok incedir, kornea ile devamlılık gösterir ve açık göz aralıklarında bir hava arayüzü ile dış ortama maruz kalır. Palpebral ve bulbar kısımlar forniksyal konjonktiva adı verilen küçük bir doku parçası ile birbirine bağlanır. Forniksyal ve palpebral konjonktiva zengin kan damarları ile beslenir ve heterojen dokudan oluşur (31). Histolojik olarak, konjonktiva esas olarak yüzeysel çok katmanlı epitel ve altta yatan bir stromadan oluşur. Konjonktival stroma, anterior epitel ve posterior sklera arasında sıkışmıştır. Bu tabaka kan ve lenf damarları ile beslenir ve sinir uçları ile çevrilidir. Bu tabaka, B hücrelerine kıyasla ağırlıklı olarak T hücreleri olmak üzere olgun lenfositlerle iç içedir (32, 33).

- **İris-Silier Cisim**

İris-silier cisim, gözde görme ve göz sağlığıyla ilgili çeşitli işlevlerden sorumlu olan çok önemli bir yapıdır. İrisin arkasında yer alan silier cisim, gözün farklı mesafelerdeki nesnelere odaklanabilmesinde önemli bir rol oynar. Gözün odağını ayarlamasını sağlayan kasları içerir ve net görüş sağlar (34). Ek olarak silier cisim, göz içi basıncının korunmasına yardımcı olan ve çevredeki yapıları besleyen aköz hümörün üretiminde rol oynar (35).

İris ise göze giren ışık miktarını düzenleyen ve gözün genel sağlığına katkıda bulunan pigmentli bir yapıdır. Göz bebeğinin (pupil) boyutunun ve dolayısıyla retinaya ulaşan ışık miktarının kontrol edilmesinde rol oynar (36). İris-silier vücut kompleksi ayrıca kan-aköz hümör bariyeri boyunca ilaç taşınmasında rol oynayan çeşitli ilaç taşıyıcılarını da ifade eder (37).

Ayrıca silier cisim ve iris, gözün oluşumu sırasında koordinasyon içinde gelişen, birbirine bağlı yapılardır. Ön göz segmentinin pigmentli epitelindeki çentik sinyali, iris

oluşumu pahasına silier cismin gelişimini etkiler. Bu, uygun göz fonksiyonunun sürdürülmesinde bu iki yapı arasındaki karmaşık ilişkiyi vurgulamaktadır (38).

- **Lens**

Lens, ışığın retinaya odaklanarak net görüş sağlanmasından sorumlu hayati bir yapıdır. Şeffaf, damarsız, sinirsiz ve bikonveks bir yapıya sahiptir. Siliyer cismin zonüler liflerinin desteğiyle gözbebeği ve irisin arkasında konumlanır. Ön lens aköz hümörle, arka lens ise vitröz hümör ile kaplıdır. Lens zarı (kapsül olarak da bilinir), boyutlarına ve yüklerine göre düzenlenen basit difüzyon yoluyla metabolik substratların ve atıkların pasif değişimini düzenler. Lens dört ayrı bölümden oluşur: kapsül, epitel, korteks (lif hücre kütesi) ve çekirdek. Ayrıca ışığın göze girişini ve kırılmasını da kontrol eder. Lens çekirdeği konumu nedeniyle yüksek oranda korunur. %63,4 oranında su içerir ve çevreden merkeze doğru yer değiştiren eski lif hücrelerinin birikmesiyle oluşur. Bu bölge eski hücrelerin birikmesi nedeniyle çok kalın ve yoğun hale gelir (39, 40).

- **Limbus**

Kornea ve sklera arasındaki sınır olan limbus aköz hümör çıkış yollarını içerir ve cerrahi insizyonlar için bir alandır. Limbus ayrıca kornea epitelinin korunması ve yenilenmesi için gerekli olan limbal epitelyal kök hücreler de dahil olmak üzere özel hücrelere de ev sahipliği yapar (41).

- **Pupil**

Pupil (Gözbebeği), gözün renkli kısmı olan irisin içindeki, ışığın merceğe ulaşmadan ve retinaya odaklanmadan önce içinden geçtiği merkezi açıklıktır. Mevcut ışık miktarına göre boyutunu ayarlayan iris kasları tarafından kontrol edilir (42).

2.1.1.2. Posterior (Arka) Segment

- **Sklera**

Sklera, esas olarak kollajen ve elastik liflerden oluşan yoğun, fibröz bağ dokusundan oluşur. Gözün ön kısmındaki korneadan arka taraftaki optik sinire kadar uzanır. Sklera, gözün arka kısmında en kalın olup 1-1,3 mm civarındadır ve öne doğru incelip ekvatorunda 0,5 mm civarındadır. Sklera, şeffaf kornea ile beyaz sklera arasındaki bağlantı olan limbusta kornea ile devam eder. Skleranın altında, gözü besleyen kan

damarları açısından zengin bir tabaka olan koroid bulunur. Gözü saran yoğun bir bağ dokusu olan sklera, gözün şeklinin ve yapısal bütünlüğünün korunmasında çok önemli bir rol oynar (43). Gözün dış kabuğunu oluşturarak retina gibi hassas iç yapılara destek sağlar (44). Sklera üç katmandan oluşur: yüzeysel episklera, orta skleral stroma ve derin lamina fusca (45). Bu çok katmanlı yapı, skleranın mekanik özelliklerine katkıda bulunarak onu gözün yük taşıyan dokusu haline getirir (46).

Sklera, ayrıca oküler homeostazın korunmasına da katkıda bulunan makrofajlar ve dendritik hücreler gibi bağışıklık hücreleri için de bir bölge görevi görür. Ek olarak sklera, episklera içinde bir kan damarları ağı içerir ve oküler vaskülarizasyonda rolünü oynar (45).

- **Koroid**

Koroid periferik sklera ile iç retinal pigmentli epitel arasında bulunur. Mukus benzeri hücre dışı sıvı ile birlikte melanositler içeren oldukça vaskülarize ve innerve edilmiş bir dokudur. Koroid, gözdeki kan dolaşımının sürdürülmesinden sorumludur ve oküler kan akışının yaklaşık %85'ini oluşturur. Retinaya, makulaya ve optik sinire oksijen ve besin sağlar. Ek olarak koroid, retina sıcaklığının ve göz içi basıncının düzenlenmesine yardımcı olur (47, 48).

- **Retina**

Gözün arkasında yer alan karmaşık bir sinir dokusu olan retina, görmede çok önemli bir rol oynar. Görsel bilgiyi beyne iletmeden önce ışık uyarılarını yakalamak ve işlemek için birlikte çalışan çok sayıda hücre katmanından oluşur. Retinanın birincil işlevi, ışığı beyin tarafından yorumlanabilecek elektrik sinyallerine dönüştürmektir. Işık göze girdiğinde kornea, pupil ve lensten geçer ve sonunda gözün arkasındaki retinaya ulaşır. Retinadaki fotoreseptörler, ışığı elektriksel uyarılara dönüştürür. Bu uyarılar daha sonra optik sinirler aracılığıyla beyne iletilir (49).

2.1.2. Gözde Bulunan Bariyerler

Göz, dış ortamla temas halinde olan hayati bir organ olduğu için bütünlüğünü korumak zorundadır. Bu nedenle doğal anatomik ve fizyolojik bariyerler içerir. Tüm oküler dokular, damarlar ve sıvılar gözün doğal bariyerleridir. Bu bariyerler gözyaşı filmi, kornea, konjonktiva, sklera, kan-aköz hümör (iris-siliyer cisim), lens ve kan-retina bariyeridir. Temel görevi gözü yabancı sıvı ve cisimlerden korumak olan bu bariyerler

aynı zamanda ilaç hızını sınırlayıcı basamaklar olarak da işlev görür. İlaçların oküler dokulara penetrasyonunu ve biyoyararlanımını azaltırlar. Bu bariyerlerin her biri diğerlerinden farklı yapılara sahip olduğundan, farklı özelliklere sahip ilaçlar üzerinde hız kısıtlayıcı işlevler de görürler (50-52).

Gözyaşı filmi: Gözyaşı filmi, kornea ve konjonktiva yüzeyini kaplar. Kimyasal, mekanik, bakteriyel veya viral kaynaklı oküler sorunlara karşı birincil koruyucu yapıdır. Aynı şekilde göze topikal olarak uygulanan ilaçlar arasında da en geniş bariyeri oluşturur (33, 53). Topikal olarak uygulanan ilaçlar genellikle 7-10 μ L hacminde cul-de-sac adı verilen bir alana uygulanır (54). Ancak herhangi solüsyon bir ilacın uygulama hacmi ortalama 30 μ L'dir (55). Alanın hacmindeki bu ani artış nedeniyle topikal olarak uygulanan damla ve emülsiyon gibi ilaçlar nazolakrimal drenaj ile gözden uzaklaştırılır ve sistemik dolaşıma eklenir. Topikal olarak uygulanan konvansiyonel bir ilacın yaklaşık %80'i gözyaşı filmi ve nazolakrimal drenaj nedeniyle elimine edilir (51).

Kornea: Kornea, gözün ön segmentinde konvansiyonel topikal ilaçlar için önemli bir bariyer görevi görür (56). Korneanın parçaları olan epitelyum, stroma ve endotelyum, farklı polaritelere sahip dokulardır. Epitel tabakasındaki hücrelerin dizilişine bağlı olarak yüksek bir şant direnci vardır ve sıkı bir doku olarak kabul edilir. Bu sıkı bağlantılar (tight junctions) epitele lipofilik bir karakter kazandırır. Kornea epiteli, epitelin hidrofobikliği ve kornea epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı proteinlerinin varlığı nedeniyle hidrofilik ilacın korneaya nüfuzunu sınırlayan çok katmanlı skuamöz keratinize olmayan hücrelerden oluşur. Stroma ise yapısındaki kolajen lifler nedeniyle oldukça hidrofilik bir karaktere sahiptir. Bu nedenle epitel hidrofilik ilaçların geçişini engellerken, stroma lipofilik ilaçların geçişi için bir bariyer görevi görür. Korneanın en iç tabakası olan endotelde 70 kDa'ya kadar olan moleküller pasif taşıma yoluyla geçebilir (51, 52, 56).

Konjonktiva: Konjonktiva yapısında bulunan çok sayıda kılcıl damar ve lenfatik yapı sayesinde bir bariyer görevi görür. Uygulanan ilaçları kan veya lenfatik dolaşım ile seyreltir. Korneada olduğu gibi konjonktivada da epitel hücreler bulunmaktadır. Bu epitel hücreleri kornea epitelindeki kadar olmasa da bir şant direncine sahiptir. Bu direncin olduğu noktalar sıkı yapılar olarak kabul edilir ve ilaçlara karşı bariyer görevi görür. Konjonktiva, kornea yolu ile uygulanmayan ilaçlar için ana bariyer görevi görür. Kornea ile karşılaştırıldığında konjonktiva hidrofilik bir dokudur

ve büyük moleküllerin geçişi için daha uygundur. Bu nedenle, proteinler ve peptidler gibi daha büyük biyo-organik moleküllerin emilimini artırmak için kornea uygulaması azaltılarak oküler ilaçların doğrudan konjonktival uygulaması üzerinde çalışılmaktadır. Ancak klinikte kullanılan ilaçların çoğunun lipofilik ve küçük molekülü olduğu düşünüldüğünde korneal uygulamanın önemini yitirmeyeceği görülmektedir (33, 50, 55).

Sklera: Sklera yapısında bulunan kolajen lifler nedeniyle hidrofilik bir karaktere sahiptir. Bu nedenle lipofilik ilaçlar için bir bariyer görevi görür. Ancak küçük boyutlu lipofilik ilaçlar da hidrofilik ilaçlara benzer şekilde skleral geçirgenlik gösterirler. Ayrıca moleküllerin büyüklüğü ve pozitif yükü de skleradan geçişi azaltan diğer parametrelerdir (51, 57).

İris-siliyer cisimcik: Tunica vasculosa bulbi dokuları kan-aköz bariyerini (KAB veya BAB) oluşturur. Bu bariyer aynı zamanda ön kan-göz bariyeri olarak da bilinir. Siliyer cisim, göz içi basıncını dengeleyen aköz hümör üretir. Öte yandan, bu tabakadaki yoğun kılcıl damarlar sıkı bağlantılar içerir. Bu sıkı bağlantılar, irisin epitel hücreleri ve aköz hümörün oluşturduğu bariyer, hidrofilik ilaçlar için oldukça kısıtlayıcıdır. Küçük moleküller ve lipofilik ilaçlar BAB'ı kolayca geçebilir ve üvea yoluyla sistemik dolaşıma girebilir. Bu bariyerde oluşabilecek bir inflamasyon bariyerin bütünlüğünü bozar. Bu da gözün ön bölgesine geçen ilaç miktarının kontrol edilememesine neden olur (55, 58, 59).

Lens: Lens, gözün %65'i sudan ve geri kalanı genellikle proteinlerden oluşan dokusudur. Protein içeriği ile diğer göz dokularından belirgin bir şekilde ayrılır. Lens, Na^+ 'a bağlı olarak aktif ve pasif transportun etkili olduğu bir dokudur. Bu nedenle esas olarak ilaç moleküllerinin geçişini etkiler (50, 57).

Kan-retina bariyeri (KRB veya BRB): KRB, çeşitli faktörlerin bir araya gelmesiyle oluşur. Öncelikle retina pigment epitel hücreleri, gözdeki Na^+ ve K^+ iyonlarının dengesini sağlayan Na^+ , K^+ -ATPaz pompalarına sahiptir. Diğer yandan yapılarındaki kılcıl damarlar sıkı bağlantı noktalarına sahiptir. İlaç moleküllerinin bu sıkı bağlantı noktalarından geçişi ikinci hız sınırlayıcı adımdır. Aynı zamanda bu kılcıl damarlardan geçebilen moleküller hızla sistemik dolaşıma girer, bu da hedef bölgedeki ilaç miktarını azaltır, dolayısıyla biyoyararlanımı düşürür. Son olarak, retinadaki ganglion hücreleri sinir hücreleridir ve beyin omurilik bariyerine benzer bir bariyer

oluştururlar. BRB, lipofilik moleküllerin geçişine izin verirken proteinli ve küçük hidrofilik moleküllerin geçişi için bir bariyer görevi görür. Ancak bu lipofilik moleküller de yoğun sistemik dolaşım nedeniyle hızla dağılır ve elimine edilir (33, 60, 61).

Göze uygulanacak bir ilacın oküler biyoyararlanımının artırılması ancak tüm bu bariyerlerin aşılması ve ilacın hedef dokuya ulaştırılması ile sağlanabilir. Bu amaçla iki yol izlenir. Bunlardan biri ilacın göze farklı yollardan uygulanmasıdır. Bu uygulama yolları topikal, perioküler (subkonjonktival, transskleral ve intravitreal) ve sistemik olarak sınıflandırılır. Günümüzde aktif olarak kullanılan bu farklı yollar, düşük oküler biyoyararlanım sorununu çözmüş gibi görünse de körlük gibi ciddi komplikasyonlara neden olabildikleri için riskler içermektedir. Bu nedenle oküler biyoyararlanımı artırmanın ikinci yolu ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesidir (62).

2.2. Oküler İlaç Uygulama Yolları

2.2.1. Topikal Uygulama

Göze topikal ilaç uygulaması, göreceli uygulama kolaylığı, düşük hekim müdahalesi ve düşük maliyeti nedeniyle en yaygın ilaç dozaj yöntemidir. Ancak hızlı gözyaşı döngüsü ve nazolakrimal drenaj gibi preorneal klirens mekanizmaları son derece düşük biyoyararlanımla sonuçlanır. Lakrimal sıvının hızlı drenajı, nazal mukozaya boşalan lakrimal kanal yoluyla sistemik dolaşıma girerek %5'ten daha az oküler biyoyararlanıma neden olur (63-66). Sistemik dolaşıma girdikten sonra, diğer dokulardaki ilaç hedeflerine istenmeyen maruziyet yan etkilere ve toksisiteye neden olabilir (67). Örneğin, Bowman ve arkadaşları %0,2'lik brimonidin göz damlasının çocuklarda lokal irritasyon, yorgunluk ve bayılmaya neden olduğunu bulmuşlardır (68). Benzer şekilde, timolol göz damlasının kalp hızı ve arteriyel kan basıncında değişikliklere neden olan önemli sistemik maruziyeti olduğu gösterilmiştir (69, 70). İlaçlar aköz hümore başarılı bir şekilde girse bile, Schlemm kanalından aşağıya doğru yaklaşık $3 \mu\text{L dk}^{-1}$ 'de gerçekleşen dolaşıma geçişle karşı karşıya kalmaktadır. Hidrofobik ilaçlar, üveal kan damarlarının hidrofobik endotelial duvarları boyunca penetrasyon yoluyla atılmaya özellikle duyarlıdır ve bu $20-30 \mu\text{L dk}^{-1}$ aralığında olabilmektedir. Bununla birlikte, ilacın ön odacıktaki yarılanma ömrü yaklaşık bir saattir ve bu da konvansiyonel topikal ilaç uygulamasını son derece etkisiz hale getirir.

Topikal ilaç dağıtımını iyileştirmenin bir yöntemi, penetrasyonu artırmak ve sistemik ilaç maruziyetini azaltmak için oküler yüzeydeki biyoyararlanımı artırmaktır (52).

2.2.2. Sistemik Uygulama

Sistemik veya oral uygulama, göze ilaç verilmesi için seyrek kullanılan yöntemlerdir. Daha önce bahsedildiği gibi, kan-aköz bariyerleri sistemik dolaşımdan etkili ilaç dağıtımının oküler dokulara girmesini önleyebilir. Oral uygulama, dolaşıma ulaşmadan önce karaciğerdeki sindirim ve ilaç metabolizması tarafından daha da engellenir. Bu etkili bariyerler nedeniyle, göze ilaç verilmesi genellikle sistemik komplikasyonlara ve toksisiteye yol açabilecek yüksek dozlar gerektirir. Bu nedenle, oftalmik ilaçların sistemik ve oral uygulanması genellikle etkisiz olarak kabul edilir (65, 71).

2.2.3. Perioküler Enjeksiyon

Perioküler ilaç uygulaması, ilacın posterior dokulara nüfuz etmesi için skleranın dış kısmına enjeksiyonunu içerir. Perioküler boşluk konjonktivanın arkasında ve skleranın dışında yer alır. Perioküler ilaç dağıtımı, terapötiklerin konjonktivayı atlamasına ve skleral dağıtım yoluna doğrudan erişmek için prekorneal bariyerlerden kaçınmasına olanak tanır. Ancak, ilacın yine de birden fazla engel oluşturan sklera, koroid ve nöral retinadan geçmesi gerekmektedir. Sklera ilacın verilmesinde önemli bir engel teşkil etmese de, koroidal vasküler ilacı sistemik dolaşıma etkili bir şekilde absorbe edebilir ve kan-retina bariyeri ilacın vitröz hümör ve retinaya geçmesini önleyebilir. Yine de, topikal uygulama ile karşılaştırıldığında, perioküler uygulama retinal dokulardaki ilaç biyoyararlanımını önemli ölçüde artırır. Ayrıca, ilaçları doğrudan vitröz hümöre iletmek için globun penetrasyonunu gerektiren intravitreal enjeksiyonlara kıyasla çok daha az invazivdir. Ama, ilacın büyük bir kısmı sklera, koroid ve nöral retina boyunca yayılamadan önce perioküler alanda konjonktival lenfatikler ve kan akışı nedeniyle kaybolmaktadır (72, 73).

2.2.4. İntravitreal Enjeksiyon

İntravitreal enjeksiyonlar, posterior segment hastalıkları için çözeltilerin, partiküllerin veya implantların hedeflenmiş ilaç uygulama yöntemidir. Oküler bariyerlerin çoğunu fiziksel olarak geçerek ilaç formülasyonunu doğrudan hedef dokulara etki edebileceği vitröz cisme bırakılır. Ancak, ilaçlar vitrözde depolandıktan

sonra, konsantrasyonları aköz hümör drenajı ve BRB yoluyla dolaşıma difüzyon ile azalabilmektedir. Molekül ağırlıkları 500 Da'dan daha az olan küçük moleküller, vitrözden daha hızlı temizlenmeleri nedeniyle daha sık uygulamaya ihtiyaç duymaktadır. Bu durum, daha büyük ilaçların veya ilaç-polimer kombinasyonlarının vitreal retansiyonu artırabileceğini düşündürmektedir. Bu yöntemin en büyük avantajı vitröz dokuda yüksek terapötik ilaç konsantrasyonları elde etme kabiliyetidir, ama bu yöntemin invaziv olması nedeniyle çok sayıda komplikasyon riski vardır. Bunlar arasında retina dekolmanı, hemoraji, endoftalmi, göz içi basıncı artışı ve katarakt sayılabilir (74-76).

2.3. Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemleri

2.3.1. Konvansiyonel Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler

Gözün ön segmentine topikal uygulama için piyasada bulunan oftalmik ilaçların yaklaşık %90'ı solüsyonlar (%62,4), süspansiyonlar (%8,7) ve merhemler (%17,4) gibi konvansiyonel dozaj formlarından oluşmaktadır (66). Önceki bölümlerde de anlatıldığı gibi bu tarz ilaçlar düşük biyoyararlanıma dolayısıyla da artan dozlama gereksinimine sahiplerdir. Bu durum da hasta uyuncunu düşürmektedir. Konvansiyonel oftalmik ilaç taşıyıcı sistemlerin bir başka dezavantajı da sistemik yan etkilere sahip olabilmeleridir (68-70). Bu bahsedilen sınırlamaların üstesinden gelebilmek için araştırmacılar birçok farklı oküler ilaç modeli üzerinde çalışmalar gerçekleştirmişlerdir.

2.3.2. Modern Oküler İlaç Taşıyıcı Sistemler

2.3.2.1. Nanosüspansiyonlar

Nanosüspansiyonlar, uygun bir yüzey aktif madde veya polimer ile stabilize edilmiş bir dispersiyon ortamında suda çözünmeyen ilaç parçacıklarının kolloidal dispersiyonları olarak tanımlanabilir. Partikül boyutları 1 μm 'den küçüktür. Hidrofobik ilaçların sulu dispersiyonlarının formülasyonunda ve göz içi dokulara iletilmesinde nanosüspansiyonlar kullanılmaktadır. Çözünürlüğü ve alıkonma süresini arttırırlar ayrıca sürekli (sustained) ilaç salımı sağlayabilirler. Bu sayede suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların oküler biyoyararlanımını arttırırlar (77). Oftalmik nanosüspansiyonların formülasyonunda stabilizatör olarak doğal, sentetik veya hibrit polimerler yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüzey aktif maddelerin kullanımından kaynaklanan fiziksel sorunlar

(sedimentasyon gibi) ve toksisite, oküler ilaç tedavisinde nanosüspansiyonların sınırlamalarıdır (78).

Poli(laktik-ko-glikolik asit) ile hazırlanan ve moksifloksasin içeren nanosüspansiyonun, 24 saatte %86 kümülatif ilaç salımı yaptığı ve pazardaki göz damlasına kıyasla daha iyi bir permeasyon oranına sahip olduğu görülmüştür. Bu da bakteriyel konjonktivitinin daha az doz tekrarıyla etkin bir şekilde kontrol edilmesini göstermiştir (79).

2.3.2.2. Mikro ve Nanoemülsiyonlar

Mikroemülsiyonlar, bir yüzey aktif madde tarafından stabilize edilen, su içinde yağ veya yağ içinde su formunda termodinamik olarak kararlı kolloidal dispersiyonlardır. Mikroemülsiyon, formülasyon bileşenleri açısından nanoemülsiyona benzer ancak stabilite açısından farklılık gösterirler. Mikroemülsiyon termodinamik olarak kararlı iken, nanoemülsiyon termodinamik olarak kararsızdır (80, 81). Küçük damlacık boyutu ve yüksek yüzey alanı ile ilgili çeşitli avantajlar nedeniyle oküler ilaç uygulamaları için mikroemülsiyonların ve nanoemülsiyonların kullanımına olan ilgi artmaktadır. Bu avantajlar arasında ilacın yüksek çözünürlüğü, tahriş edici olmayan yapısı, gelişmiş kornea geçirgenliği, artan biyoyararlanım, uzun raf ömrü, formülasyon kolaylığı ve hidrofilik ve hidrofobik ilaçları iletme yeteneği yer almaktadır. Ancak, nanoemülsiyonlarda ve mikroemülsiyonlarda büyük miktarda yüzey aktif madde kullanımının neden olduğu fiziksel kararsızlık ve sitotoksisite, oküler ilaç dağıtımında kullanımlarını kısıtlamaktadır (78, 82).

Mikroemülsiyonlar oküler ilaç uygulama sistemi olarak çok yönlüdür. Yapılan bir çalışmada riboflavin fosfat ve trigliserit dokosaheksaenoik asit gibi hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlar için etkili bir oküler taşıyıcı sistem tasarlanmıştır (83).

2.3.2.3. Nanopartiküller

Boyutları 50-400 nm arasında değişen nanopartiküller, fizyolojik bariyerleri aşabildikleri ve ilaçları belirli oküler dokulara hedefleyebildikleri için terapötiklerin özellikle anterior segmente iletilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle biyouyumlu lipidler ve polimerler veya her ikisinin kombinasyonu kullanılarak hazırlanırlar (84-86). Nanotaşıyıcının kornea ve konjonktivada kalma süresini uzatmak için nanoparçacıkların kitosan, hyaluronik asit veya polietilen glikol gibi mukoadesif

polimerlerle kaplanması da giderek yaygınlaşmaktadır. Nanopartiküller yüksek üretilebilirlik potansiyali, gelişmiş transkorneal penetrasyon, sürekli ilaç salımı, azaltılmış iritasyon, hedeflenmiş ilaç dağıtımı ve erken ilaç metabolizmasının önlenmesi gibi çeşitli avantajlara sahiptirler (87).

Solanki ve arkadaşları, yaşa bağlı makula dejenerasyonu tedavisi için humanin türevi nanopartiküller üzerinde çalışmalar yürütmüş ve elde ettikleri sonuçlarda, nanopartiküllerin inflamatuvar interlökin-6 sitokin reseptörlerinin baskılanması ve retinal apoptozun azaltılması üzerindeki potansiyel etkilerini göstermişlerdir (88).

2.3.2.4. Lipozomlar

Lipozomlar, hidrofilik bir çekirdeğe sahip fosfolipid çift katmanlı veziküler sistemlerdir. Boyut ve katman sayısına bağlı olarak farklı lipozom sınıfları vardır. Bu sınıflar küçük unilamellar, büyük unilamellar ve multilamellar lipozomlardır. Yapıları hücre membranlarına benzediği için biyolojik sistemlerle oldukça uyumludurlar (89). Biyolojik olarak parçalanabilirlikleri ve biyouyumlulukları nedeniyle lipozomal formülasyonlar ilgi görmektedirler. Ayrıca, yüksek moleküler ağırlığa ve düşük çözünürlüğe sahip etken maddeler, efektif ilaç dağıtımı için lipozomlara enkapsüle edilebilirler. Ek olarak, pozitif yüklü lipozomal yüzey oküler mukoza ile etkileşimi kolaylaştırarak temas süresini ve korneal permeasyonu uzatmaktadır (90).

Lipozomal formülasyonlar glokom, kuru göz ve fungal keratit gibi rahatsızlıkların tedavisi için çalışılmış ve sonuçlar bu formülasyonların oküler hastalıkların tedavisinde klinik kullanıma aktarılması için büyük bir potansiyel olduğunu göstermiştir (91, 92). Oküler kullanım için lipozomların sınırlamaları arasında düşük ilaç yükleme kapasitesi ve kapsüllenmiş ilacın sızması, büyük ölçüde üretim zorluğu, düşük stabilite ve yüksek üretim maliyeti yer almaktadır (78, 87).

2.3.2.5. Dendrimerler

Dendrimer, dallanmış yıldız şeklinde bir yapıya sahip polimerik nanoteknoloji tabanlı bir ilaç taşıyıcı sistemdir. Bu nanosistemler yüksek ilaç kapsülleme ve konjugasyon kabiliyetine ve yüzey gruplarını işlevselleştirme yeteneğine sahiptir. İlaç molekülleri çekirdekte kapsüllenebilir ya da dendrimerin yüzeyine konjuge edilebilirler (93, 94). Fonksiyonel grupların tekrarına bağlı olarak farklı dendrimer jenerasyonları (G1, G2, G3, G4 ve G5) tanımlanmaktadır. Poli-amidoamin (PAMAM), ilaç

moleküllerinin yüklenmesi için en çok kullanılan dendrimerik yapıdır. Küçük boyutları, işlevselleştirilebilmeleri, ilaç hedeflemesi ve hazırlanma kolaylığı dendrimerlerin avantajlarından bazılarıdır. Ayrıca, dendrimerler gelişmiş sulu çözünürlük, yüksek kapsülleme oranı ve monodispersite ile oküler ilaç dağıtımı için uygun formülasyonlardır. Ancak, dendrimerlerin çok adımlı üretim aşamaları ve ilaç molekülünün kimyasal yapısının değişmesi sonucu oluşabilecek sitotoksiste riski gibi dezavantajları da bulunmaktadır (78, 95).

Yapılan bir çalışmada, glokom tedavisi için timolol analogu içeren bir polimerik dendrimer üretilmiştir. İlk olarak, timolol analogu ve polietilen glikol kompleksi oluşturulmuş ve daha sonra ilaç yüklü polimerik dendrimeri elde etmek için 3. Jenerasyon (G3) poli-amidoamin dendrimer ile birleştirilmiştir. İlacın %8'e kadarı 4 saat içinde kornea dokusuna nüfuz etmiş ve tedavi edilmemiş göze kıyasla göz içi basıncını %30 oranında düşmüştür. Timolol dendrimerinin bir hafta boyunca günlük olarak uygulanmasından sonra oküler irritasyon veya lokal toksisite bulunmamıştır (96).

2.3.2.6. Niozomlar

Niozomlar, amfifilik kolesterol ve noniyonik yüzey aktif maddelerin çift katmanlarından oluşan kararlı veziküler yapıda ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Biyoyumludurlar ve noniyonik yüzey aktif maddelerin kullanımı nedeniyle düşük toksisiteye sahiplerdir. Bu nedenle, oküler ilaç uygulaması için uygun taşıyıcı sistemler olarak büyük potansiyele sahiptirler. Ayrıca, niozomlar hedeflendirilmiş ilaç dağıtımı, sürekli ilaç salımı ve artırılmış biyoyararlanımın özellikleri gösterirler. Düşük ilaç yüklemesi, kapsüllenmiş ilacın sızması, fiziksel kararsızlık ve yüksek üretim maliyeti, niozomların ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımını sınırlayan faktörlerden bazılarıdır (66, 78).

Bir çalışmada, azitromisin yüklü kitosan kaplı niozomlar, antibakteriyel ilacın alıkonma süresini, korneal geçirgenliğini ve oküler biyoyararlanımını artırmak için potansiyel ilaç taşıyıcı sistemi olarak araştırılmıştır. Niozomlar, ticari azitromisin göz damlalarına kıyasla ilacın korneal geçirgenliğini 2,6 kata kadar artırmıştır (97).

2.3.2.7. Kubozomlar

Kubozomlar, amfifilik lipidlerin suda kendi kendine bir araya gelmesiyle oluşan sıvı kristal kübik faz nanopartikülleridir. Tanecik boyutları 100 ila 300 nm arasındadır.

Kubozomlar ya amfifilik lipidlerin aşırı sulu çözeltide kendi kendine birleşmesiyle ya da lipidlerin ve suyun uygun bir stabilizör ile yüksek enerjili emülsifikasyonu ile hazırlanırlar (98, 99). Kubozomların hazırlanmasında genellikle kullanılan amfifilik lipidler gliseril monooleat (monoolein) ve fitantriol iken stabilizatör olarak Pluronic türevleri kullanılmaktadır (100). Kubozomlar hidrofobik ilaçlar için etkili ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Ancak, hidrofilik ilaçların enkapsülasyonlarında düşük etkinlik gösterirler (87).

Bir çalışmada, natamisin kubozomal nanopartikülleri fungal keratit tedavisi için araştırılmıştır. Korneal permeasyonda bir artış olduğunu ve natamisin kubozomlardan sürekli ilaç salımı olduğu görülmüştür. Kubozom formülasyonu natamisin süspansiyonuna kıyasla *Candida albicans* ve *Aspergillus fumigatus*'a karşı daha yüksek antifungal aktivite göstermiştir (101).

2.3.2.8. Katı Lipit Nanopartiküller (SLN)

SLN, bir veya daha fazla yüzey aktif madde tarafından stabilize edilmiş ilaç içeren ve 10-500 nm boyut aralığında olan katı bir lipid matrisi olarak tanımlanabilir. Fizyolojik lipidlerin kullanılması nedeniyle kontrollü ilaç salımı, ilaç hedefleme, uzun vadeli stabilite ve biyoyumluluk gibi avantajlar sunarlar. Ancak SLN'ler sınırlı bir ilaç yükleme kapasitesine sahiptir (lipid matrisinin yaklaşık %25'i) ve hidrofilik ilaçların ani salımına yol açabilirler (102). SLN ile ilişkili dezavantajlar SLN'nin nanoyapılı lipid taşıyıcı (NLC) olarak modifiye edilmesine yol açmıştır. NLC'ler daha fazla miktarda ilaç enkapsüle edebilir ve dolayısıyla ilaç salım profilini iyileştirebilir. Gliseritlerin yağ asidi zincirleri arasındaki ekstra boşluğa sahip olması daha fazla ilacın yüklenmesine olanak sağlar ve lipid kristallerinin oluşumu depolama sırasında ilacın dışarı atılmasını önler (103). SLN'ler, nano boyut aralığı, gelişmiş kornea emilimi, gelişmiş biyoyararlanım ve konjonktival kesede uzun süreli oküler retansiyon nedeniyle oküler ilaç dağıtımı için uygun bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, SLN'ler sulu ortamda kolayca dağılabilir ve göz damlaları halinde formüle edilebilir. SLN'lere yüklenen ilaçlar kornea epitelini geçebilir ve kornea epitelinin anyonik yapısı katyonik SLN'lerin emilimini artırmaktadır (66). Cavalli ve arkadaşları SLN'lerin eşit dozdaki tobramisin sulu çözeltisine kıyasla kornea yüzeyi ve konjonktivada kalma süresini uzatarak tobramisin oküler biyoyararlanımını artırdığını göstermiştir (104).

2.3.2.9. Nanotaşıyıcı Yüklü Jeller

Nanotaşıyıcı yüklü *in situ* jeller, çevresel uyaranlara duyarlı özellikleriyle hedeflenen ilaç taşıyıcı sistem olması sebebiyle dikkat çekmektedir. Oküler *in situ* jeller, ortamdaki sıcaklık, pH ve iyonik güç gibi belirli koşullardaki küçük değişikliklere yanıt olarak yapısal olarak değişen ve çevresel olarak duyarlı polimerlerden oluşmaktadır. Ayrıca nanopartiküllerin jellere yüklenmesi nanopartiküllerde görünen ani ilaç salımının da önüne geçebilmektedir. Çalışmalar, Pluronic (PF-127 & PF-68), poloxamer 407 ve poloxamer 188, Carbopol 934P ve sodyum aljinat gibi sıcaklığa duyarlı polimerlerin uzun süreli ilaç salımı, artırılmış oküler biyoyararlanım ve yaklaşık 8 saat boyunca sürekli ilaç salımı sağladığını ortaya koymuştur (78, 105, 106).

2.3.2.10. Oküler Miseller

Miseller, bu tezin ana çalışma konularından bir tanesi olduğu için ‘2.4. Miseller’ başlığı altında incelenmiştir.

2.3.2.11. Oküler İnsertler

Oküler insertler, oftalmik uygulama için tasarlanmış steril, ince, çok katmanlı, ilaç yüklenmiş, katı veya yarı katı formda ilaç taşıyıcı sistemler olarak tanımlanmaktadır. Bu insertler cul-de-sac veya konjonktival kese içine yerleştirilir ve oküler kalma süresinin artması, sürekli ilaç salımı, doğru dozlama ve koruyucu içermeme gibi avantajlar sunmaktadır (107).

Oküler insertlerin temel amaçlarından biri, topikal veya sistemik tedaviye uygun sürekli bir salım sağlamak için preparat ile konjonktival doku arasındaki temas süresini artırmaktır.

Oküler insertlerin konvansiyonel oküler dozaj şekillerine göre avantajları şu şekilde özetlenebilir:

- Artan oküler penetrayon, dolayısıyla daha uzun süreli ilaç aktivitesi ve daha yüksek biyoyararlanım.
- İlaçların yavaş ve sabit bir hızda salınması.
- Doğru dozajlama.
- Sistemik emilimin azaltılması.

- Uygulama sıklığının azalması sebebiyle görsel ve sistemik yan etkilerin daha az görülmesi.
- Daha iyi hasta uyumu.
- Kornea dışı (konjonktival, skleral) yollarla iç oküler dokuları hedefleme imkanı.
- Solüsyon tipi preparatlara göre daha uzun raf ömrü.
- Koruyucu kullanılmama imkanı sağlaması ve böylece hassasiyet reaksiyonları riskinin azaltılması.
- Pro-ilaçlar, mukoadhezifler, permeasyon arttırıcılar, mikro-nano partiküller, tampon görevi gören tuzlar gibi çeşitli yeni kimyasal / teknolojik yaklaşımların dahil edilebilmesi (108-110).

Oküler insertlerin bahsedilen avantajlarının yanı sıra özellikle katı bir dozaj formu olması sebebiyle bazı dezavantajlara da sahiptirler. Bu dezavantajlar şu şekilde özetlenebilir:

- Genellikle yerleştirme ve çıkarma sırasında hastalarda rahatsızlık ve yabancı cisim hissi oluşabilmektedir. Hastalar insert'i gözde yabancı bir cisim olarak hissedebilmektedir. Çözünebilir insertler zamanla çözündükleri için kullanımı daha kolaydır.
- Uyku veya göz ovuşturma sırasında ara sıra istem dışı insert kaybı.
- Bazı durumlarda görmede zorlanma.
- Çözünmeyen insertlerin tüm kullanım süresi boyunca tutulması ve periyodik kontroller gerektirmesi.
- Kontaminasyon potansiyeli ve kontamine olmuş insertlerin değiştirilme ihtiyacı.
- Geleneksel göz damlalarına kıyasla üretimde daha yüksek maliyetler.
- Hastaların bilmedikleri oftalmik dozaj formlarını kullanma konusundaki isteksizliği.
- İnsertin üst fornikse göç ederek çıkarılmasını zorlaştırma potansiyeli.

- Hidrofobik ve çözünmeyen insertlerde zayıf yapışma ve şişme nedeniyle lokal konjonktival hiperemi ve kızarıklık oluşumu dezavantajlardan sayılabilir (107, 108, 111).

Oküler İnsertlerin Sınıflandırılması:

Oküler insertler çözünürlüklerine göre, Çözünmeyen, Çözünebilen ve Biyobozunan insertler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu çözünürlük farklılığı insertlerin yapısındaki polimerlerin fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır.

• Çözünmeyen İnsertler

Çözünmeyen insertler difüzyon kontrollü sistemler, osmotik sistemler ve kontakt lensler olarak üç grupta sınıflandırılmaktadır. Difüzyon kontrollü sistemler ve osmotik sistemler yapılarında ilaç yüklü bir rezervuar içermektedir. Kontakt lensler ise çözünmeyen polimerler ile üretilen bir oküler cihaz türüdür.

Difüzyon Kontrollü İnsertler

Difüzyon kontrollü insertler, ilacın rezervuardan difüze olmasını sağlayan özel olarak tasarlanmış yarı geçirgen veya mikro gözenekli membran içine yerleştirilmiş bir ilaç rezervuarından oluşur. Bu insert sisteminden ilaç salımı, membrandan geçen lakrimal sıvı tarafından kontrol edilir. İlacı rezervuardan dışarı çıkarmak için yeterli bir iç basınç elde edilir. İlaç salım hızı, membrandan difüzyon yoluyla kontrol edilir (112).

Difüzyon kontrollü insertlere örnek olarak ALZA Firmasının ürünü olan *Ocusert®* verilebilir. *Ocusert®* piyasaya çıkan ilk oküler insertlerden birisidir ve glokom tedavisinde kullanılmaktadır. Formülasyonunda, çözünmeyen hassas bir sandviç teknolojisi kullanılmaktadır. *Ocusert®*, etilen-vinil asetat kopolimerinden üretilmiş ve mikro gözenekli membranların arasında sıkıştırılmış pilokarpin-aljinat kompleksinden oluşan ince bir diskidir. Mikro gözenekli membranlar, gözyaşı sıvısının ilaç rezervuarı bölmesine nüfuz etmesine ve ilaç kompleksinden difüze olmasına izin verir. Bu sistemde pilokarpin, 4 ila 7 gün boyunca sabit bir hızla (20 veya 40 µg/saat) ilaç salımı gerçekleştirir (112, 113).

Osmotik İnsertler

Osmotik insertler genel olarak iki tipe ayrılmaktadır. İlkinde, insertin merkezi kısmı çevresel bir kısım ile çevrelenmiştir. Merkez kısım, polimer matris içinde

dağılmış osmotik bir çözücü ile birlikte veya osmotik çözücü olmadan ilaçtan oluşan tek bir rezervuardan oluşabilir; böylece ilaç, küçük ayrı depolar halinde polimer tarafından çevrelenmiş olur. İkinci tip yapıda ise, ilaç ve osmotik çözücüler iki ayrı bölmeye yerleştirilir; ilaç rezervuarı elastik geçirimsiz bir membran ile, osmotik çözücü rezervuarı ise yarı geçirgen bir membran ile çevrelenmiştir. Bu osmotik insertlerin çevresel kısmı, çözünmeyen yarı geçirgen bir polimerden yapılmış bir film kaplama ile kaplanmıştır. Gözyaşı sıvısı, yarı geçirgen polimerik membran aracılığıyla çevresel depolara difüze olur, onları ıslatır ve çözünmelerini sağlar. Çözünmüş depolar, polimer matrise karşı bir hidrostatik basınç yaratır ve matriste açıklıklar oluşmasına neden olur. İlaç, cihazın yüzeyine yakın depolarda bu açıklıklar aracılığıyla salınır. Osmotik insert aracılığıyla ilacın salımı, genellikle sıfırıncı derece ilaç salım profilini takip etmektedir (107, 112).

Kontakt Lensler

Kontakt lensler, suyu, sulu çözeltiyi veya katı bileşenleri enkapsüle edebilen üç boyutlu bir ağ veya matris oluşturan kovalent olarak çapraz bağlanmış hidrofilik veya hidrofobik polimerlerden oluşan şekilli yapılardır. Hidrofilik bir kontakt lens bir ilaç solüsyonuna batırıldığında ilacı emer, ancak diğer çözünmeyen oftalmik sistemler tarafından sağlanan kadar hassas bir dağıtım sağlamaz. Böyle bir sistemden ilaç salımı genellikle başlangıçta çok hızlıdır ve daha sonra zamanla katlanarak azalır. Salım hızı, ilacın üretim sırasında homojen bir şekilde dahil edilmesiyle veya hidrofobik bir bileşen eklenmesiyle azaltılabilir (114).

• **Çözünebilen İnsertler**

Çözünebilen insertler, uygulama bölgesinden çıkarılmalarına gerek olmadığı için yalnızca yerleştirilme işlemi gerektiren tamamen çözünür olma avantajına sahip en eski oküler insert sınıfına karşılık gelir (108).

İlaç salımı, gözyaşları insertin içine nüfuz ettiğinde gerçekleşir. Bu, difüzyon yoluyla ilaç salımını tetikler ve insertin çekirdeği etrafında bir jel tabakası oluşturur. Bu jelleşme, ilacın daha fazla salınmasına neden olur, ancak salım hala difüzyon tarafından kontrol edilir (107).

Çözünebilen insetler doğal veya sentetik polimerlerden hazırlanmaktadırlar. Doğal polimerlere örnek olarak, kollojen ve kitozan türevleri verilebilir. Sentetik

polimerlere örnek olarak da, polivinil alkol, etilen-vinil asetat kopolimeri, selüloz türevleri ve hipoksi alkil akrilat türevleri verilebilir (112).

Çözünebilen bir oküler insert olan *Lacisert®*, kuru göz sendromlarının tedavisinde kullanılan, hidroksil propil selülozdan yapılmış, steril çubuk şeklinde, koruyucu içermeyen bir cihazdır. Ağırlığı 5 mg, çapı 12,7 mm ve uzunluğu 3,5 mm'dir. Korneayı nemlendiren ve kayganlaştıran hidrofilik bir film oluşturur ve inferior fornikse yerleştirilir. 24 saat içinde çözülür (113).

- **Biyobozunan İnsertler**

Biyobozunan (bioerodible) insertler, kimyasal bağların hidrolizi ve dolayısıyla çözünmesi yoluyla parçalanarak biyobozunan polimerlerden (örneğin, çapraz bağlı jelatin türevleri, poliester türevleri) oluşur. Bu biyobozunan polimerlerin en önemli avantajı, sentez sırasında nihai yapılarının modifiye edilebilmesi ile anyonik veya katyonik yüzey aktif maddelerin eklenmesi sonucu erozyon hızlarının ayarlanabilmesidir (115). Attia ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, tavşan gözünde deksametazonun biyoyararlanımını artırmak için çapraz bağlı jelatin insert kullanmışlardır. Deksametazon seviyelerinin, deksametazon süspansiyonuna kıyasla aköz hüümörde dört kat daha fazla olduğu bulunmuştur (116). Ancak, erozyona uğrayan sistemler, bireysel hasta fizyolojisi ve gözyaşı paternlerine bağlı olarak önemli ölçüde değişken erozyon hızlarına sahip olabilirken, polimer hazırlığı sırasında kullanılan bozunma ürünleri ve kalıntı çözücüler inflamatuvar reaksiyonlara neden olabilmektedir. Katı insertler, gözyaşı sıvısını emer ve yavaş yavaş erozyona uğrar veya parçalanır. Daha sonra ilaç, hidrofilik matristen yavaşça salınır. İlaç uygulaması tamamlandıktan sonra, biyobozunan oküler insertlerin çıkarılması gerekmemektedir (117).

İnsertlerin Üretim Yöntemleri:

İnsertler birçok farklı yöntem ile üretilebilmektedir. Yaygın olarak kullanılan yöntemler aşağıdaki gibidir:

Solvent Döküm Yöntemi: Polimer ve ilaç uygun bir çözücü içinde çözülerek bir polimer çözeltisi hazırlanır. Bu çözelti daha sonra düz bir yüzeye veya kalıba dökülür ve ince bir film oluşturarak buharlaşmaya bırakılır. Film daha sonra istenen şekil ve boyutta kesilir (118).

Sıcak Eriyik Ekstrüzyon Yöntemi: Polimer ve ilaç karışımı eritilir ve sürekli bir şerit oluşturmak için bir kalıptan ekstrüde edilir. Şerit daha sonra istenen uzunlukta ve şekilde kesilir. Bu yöntem, hassas ilaçlar için faydalı olabilecek çözücüler gerektirmez (119).

Üç Boyutlu Baskı Yöntemi: Dijital bir modelden katman katman oküler insertler oluşturmak için bir 3D yazıcı kullanır. Yazıcı, ilaç salım profillerini kontrol etmek için ilaç yüklü polimeri hassas desenlerde biriktirebilir (120).

Süperkritik Emdirme Yöntemi: İlacı çözmek ve bir polimer matrisine dahil etmek için süperkritik sıvılar (örn. CO₂) kullanır. Bu yöntem, kontrollü gözeneklilik ve ilaç salım oranlarına sahip insertler üretebilir (121).

Laminasyon Yöntemi: İlaç yüklü ve ilaçsız polimer filmlerin çoklu katmanları ısı veya yapıştırıcılar kullanılarak birbirine lamine edilir. İlaç salım oranı, katmanların sayısı ve türü değiştirilerek kontrol edilebilir (122).

Liyofilizasyon (Dondurarak Kurutma) Yöntemi: İlaç-polimer çözeltisi önce dondurulur ve ardından süblimasyon yoluyla çözücüyü uzaklaştırmak için vakuma tabi tutulur. Bunun sonucunda gözenekli ve stabil bir katı form elde edilir. Liyofilizasyon özellikle ısıya duyarlı ilaçlar için ve ilacın çözünmesini ve salınmasını artırabilecek yüksek gözenekliliğe sahip insertler üretmek için kullanışlıdır (123).

Nanolif (Nanofiber) Yöntemi: Nanolifler, bu tezin ana çalışma konularından bir tanesi olduğu için '2.5. Nanolifler' başlığı altında incelenmiştir.

Bu yöntemlerin her birinin, ilacın ve polimerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin yanı sıra oküler insertin istenen özelliklerine bağlı olarak avantajları ve sınırlamaları vardır.

2.4. Miseller

Miseller, polimer/sürfaktan konsantrasyonu kritik misel konsantrasyonunun (CMC) üzerinde olduğunda bir çözeltide kendiliğinden oluşan kolloidal ilaç taşıyıcı sistemleridir (124). Amfifilik yüzey aktif maddeler veya diblok polimerler, belirli bir konsantrasyona veya sıcaklığa ulaşıldığında misel yapısı oluşturmak üzere çözeltilerde kendiliğinden bir araya gelir (125). Boyutları 5-200 nm arasında değişir ve küresel, silindirik veya yıldız şekilleri gibi farklı şekiller alabilirler. Normal miseller sulu bir çözeltide hidrofobik ilaçlar için etkili taşıyıcılar olarak bulunurken, tersine çevrilmiş

miseller hidrofilik ilaçların verilmesinde kullanılabilir (126). Miseller topikal olarak uygulanan ilaçların korneal geçirgenliğini artırır ve oküler dokuları hedefleyen ilaçlar için iyi adaydırlar (127).

Kritik Misel Konsantrasyonu (CMC): Misellerin yapısını oluşturan amfifilik kopolimerler veya sürfaktanlar sulu ortamda düşük konsantrasyonda rastgele dağılmış halde bulunurlar. Amfifilik kopolimerlerin veya sürfaktanların konsantrasyonu arttıkça, başlangıçta sıvının yüzeyine adsorbe olarak yüzey gerilimini azaltırlar. Bu süreç yüzey tamamen kaplanana kadar devam eder ve bir noktada yüzey gerilimi minimum değere ulaşır. Bu noktanın ötesinde, herhangi bir amfifilik kopolimerler veya sürfaktan molekülünün konsantrasyonun artması, moleküllerin yüzeyde adsorbe olması yerine sıvının içerisinde misel yapısı oluşturacaktır. Bu konsantrasyonun sınır noktasına kritik misel konsantrasyonu (CMC) denir (128).

CMC'nin ilaç dağıtımındaki önemi, ilaç taşıyıcı sistemin stabilitesi ve çözünürlüğündeki rolünde yatmaktadır. CMC'nin üzerindeki konsantrasyonlarda yüzey aktif madde molekülleri, hidrofobik ilaç moleküllerini çekirdekleri içinde enkapsüle edebilen miseller oluşturmak üzere toplanır. Bu kapsülleme, suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların çözünürlüğünü önemli ölçüde artırarak insan vücudu gibi sulu ortamlarda iletilmesini kolaylaştırır (129).

2.4.1. Yapısal Olarak Misel Çeşitleri

Yapısal olarak miseller üç gruba ayrılır. Bu gruplar, Sürfaktan Miseller, Polimerik Miseller ve Poli-İyon Kompleks Miseller olarak adlandırılmaktadır (66).

2.4.1.1. Sürfaktan Miseller

Sürfaktanlar, hidrofilik bir baş ve hidrofobik bir kuyruk içeren amfifilik moleküllerdir. Sürfaktan moleküllerinin baş kısmı yüklü (anyonik veya katyonik), dipolar (zwitteriyonik) veya yüksüz (noniyonik) olabilir. Sodyum dodesil sülfat (SDS) bir anyonik yüzey aktif madde örneği iken, dodesiltrimetil amonyum bromür (DTAB) bir katyonik yüzey aktif madde örneğidir ve dioktanoil fosfatidilkolin (C8- lesitin) bir zwitteriyonik yüzey aktif madde örneğidir. Dodesil tetra (etilen oksit) (C12E4), E vitamini TPGS ve oktoksinol-40 gibi iyonik olmayan yüzey aktif maddelerin en az toksik olduğu düşünülmektedir (130, 131). Daha düşük konsantrasyonlarda kullanılan yüzey aktif maddelerin yüzeyde veya ara yüzeyde adsorbe edilmesi ve böylece yüzey

veya ara yüzey serbest enerjisini düşürmesi muhtemeldir. Yüzey aktif maddeler kritik misel konsantrasyonunda (CMC) veya üzerinde kümelenmiş agregatlar (miseller) oluşturma eğilimindedir. Miselleşme, hidrofobik, sterik, elektrostatik, hidrojen bağı ve Vander Waals kuvvetleri gibi moleküller arası kuvvetler arasında bir denge olduğunda meydana gelir. Miselleşmeyi belirleyen diğer parametreler arasında yüzey aktif madde monomerlerinin şekli ve boyutu, iyonik güç, pH, sıcaklık, toplam yüzey aktif madde konsantrasyonu ve kullanılan yüzey aktif madde sayısı yer almaktadır (132-134). Vadlapudi ve arkadaşları biotin-12hidroksistearik asit-asikloviri (B-12HS-ACV) E vitamini TPGS ve oktoksinol-40 misellerinde çözündürmüş ve insan kornea epitel hücrelerinde (HCECs) biyouyumluluklarını değerlendirmişlerdir. B-12HS-ACV, ilaç çözeltisi ile 6 saat içinde %100 salımına kıyasla, misel formülasyonundan dört günlük bir süre boyunca sürekli bir şekilde salınmıştır (135).

2.4.1.2. Polimerik Miseller

Polimerik miseller, hidrofilik ve hidrofobik monomer birimlerini kapsayan amfifilik blok-kopolimerlerden oluşan farklı bir misel sınıfını temsil etmektedir. Bu küreler, bir iç çekirdeğin (hidrofobik) bir kabuk (hidrofilik) tarafından çevrelendiği farklı bir çekirdek-kabuk yapısı ile ifade edilir (133, 136). Bu yapılar polimer zincirlerinden oluşur ve polimer segmentleri arasındaki hidrofobik veya iyon çifti etkileşimleri nedeniyle kendiliğinden bir araya gelir. Sürfaktanların aksine, bu polimerler sentezlenebilir veya belirli gereksinimleri karşılamak için özel olarak üretilir. Hidrofobik segmentler genellikle ya bir polyester (polikaprolakton, poli(d,l-laktid)), bir polieter (polipropilen oksit) ya da bir poli aminoasittir (poli(β -benzil-l-aspartat)). Poli (etilen glikol) genellikle hidrofilik blok olarak kullanılır (134, 137). Hidrofilik segmentin uzunluğu arttıkça, kopolimerler sulu çözücülerde unimer olarak bulunma eğilimindedirler. Kopolimerler, hidrofobik segmentin uzunluğunun artmasıyla çubuklar ve lameller olarak bilinen misel olmayan yapılar oluştururlar. Çekirdek oluşturan blok yapıları uygun şekilde düzenlenirse, miseller iyi bir termodinamik ve kinetik stabiliteye sahip olabilir ve çeşitli ilaçların formüle edilmesini sağlayabilirler. Polimerik misellerin geleneksel sürfaktanlarla hazırlanan misellerden daha kararlı olduğu ve düşük CMC değerleri nedeniyle ilaç moleküllerini uzun süre enkapsüle edebildikleri belirtilmektedir (138, 139). Polimerik miseller aktif ilaç hedeflemeye de kullanılmaktadır. Polimerik miseller, daha uzun dolaşım süresi, sürekli salım, uygun

biyo-dağılım ve daha düşük toksisite ile azaltılmış yan etkiler gibi avantajlar sunmaktadır. Bu nedenle, polimerik miseller oküler ilaç dağıtımı için cazip bir seçenektir (66).

Elmowafy ve arkadaşları metokspoli (etilen glikol)-b-poli (ϵ -kaprolakton) (mPEG-PCL) diblok kopolimeri kullanarak metazolamid yüklü bir polimerik misel formülasyonu tasarlamışlardır. Glokomlu tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda misel formülasyonu yüksek kapsülleme etkinliği, biyouyumluluk ve önemli bir antiglokom etkisi göstermiştir (140).

2.4.1.3. Poli-İyon Kompleks Miseller

Poli-iyon kompleks miseller (PIC), başlıca gen ve antisens oligonükleotid iletimi için kullanılan özel bir nanotaşıyıcı kategorisidir (66). Bu miseller, zıt yüklü polimerler arasındaki elektrostatik etkileşimler yoluyla kompleksler oluşturmak üzere tasarlanmıştır ve genetik materyallerin ve terapötik ajanların iletimi için çok yönlü bir platform sunar (141). PIC misellerinin, gelişmiş terapötik sonuçlar için yük dönüştürme özelliklerinden yararlanılarak hücre içi protein dağıtım stratejilerinde umut vaat ettiği gösterilmiştir (142).

2.4.2. Misel Üretim Metodları

Misel üretim metodları doğrudan çözündürme, dondurarak kurutma (liyofilizasyon), diyaliz, ince film oluşturma, su içinde yağ (Y/S) emülsiyonu oluşturma olarak farklı gruplara ayrılmaktadır (134, 143).

2.4.2.1. Doğrudan Çözündürme

Bu metod ilacın ve blok kopolimer/süpfaktanın CMC değerinin üstünde bir konsantrasyonda doğrudan sulu bir ortamda çözündürülmesini içerir. Karışım daha sonra ilacı misellere yüklemek için karıştırılır, ısıtılır ve/veya sonikasyona tabi tutulur (134, 143).

2.4.2.2. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)

Bu metod, kopolimer/süpfaktan ve ilacın sulu ve organik çözücülerin bir karışımında çözündürülmesini ve ardından liyofilizasyonunu içerir. Dondurularak kurutulmuş karışım, ilaç yüklü miseller elde etmek için hidrate edilebilir (134, 143).

2.4.2.3. Diyaliz

Bu metod, ilaç ve kopolimerin organik bir çözücünde çözülmesini ve ardından çözeltinin bir diyaliz torbasına aktarılmasını içerir. Torba su içeren bir behere yerleştirilir ve çözelti birkaç saat boyunca suya karşı diyalize tabi tutulur. Dış ortamdaki su ile diyaliz torbasının içerisindeki organik çözelti zamanla yer değiştirir ve torbanın içerisinde miseller oluşur (134, 143).

2.4.2.4. İnce Film Oluşturma

Bu metod hem kopolimer/süpfaktanın hem de ilacın uçucu organik çözücülerin içinde çözülmesini içerir. Organik çözücü daha sonra buharlaştırma yoluyla uzaklaştırılır ve balon çeperlerinde elde edilen ince film, ilaç yüklü polimerik miseller elde etmek için su ile hidrate edilir (134, 143).

2.4.2.5. Su İçinde Yağ (Y/S) Emülsiyonu Oluşturma

Bu metod, blok kopolimer/süpfaktanın ve ilacın organik bir çözücü içinde çözülmesini ve ardından sulu bir faz içinde emülsifiye edilmesini içerir. Karışım birkaç saat karıştırılır ve ardından organik çözücü buharlaştırılarak sulu fazda misellerin oluşması sağlanır (134, 143).

2.4.3. Misellerden İlaç Salımı

Misellerden ilaç salımı temel olarak:

- Misellerin hazırlanmaları için kullanılan tasarım ve yöntem,
- Misel oluşturan blok kopolimer/süpfaktan ve ilacın yapısına,
- Misellerin fizikokimyasal özelliklerine ve
- İlacın misellerdeki lokalizasyonuna bağlıdır.

Kopolimer/Süpfaktan-ilacın konjugatlarından ilaç salımı genellikle iki mekanizma izler: ilki misellerin ayrışması ve ardından polimerik unimerlerden ilacın ayrılması, ikincisi ise misel yapısı içinde ilacın ayrışması ve ardından taşıyıcıdan dışarı difüzyon olmasıdır. İlaç yüklü misel taşıyıcılardan ilaç salımı genellikle difüzyonla gerçekleşirken, poliyon kompleks misellerden ilaç salımı fizyolojik ortamda iyon değişimi yoluyla tetiklenir. Bu temel ilaç salım mekanizmalarının yanı sıra, misel oluşturan blok kopolimerlerin kimyasal yapısı değiştirilerek anlık, sürekli, kademeli veya gecikmeli ilaç salımı sağlanabilir, bu da çekirdek/kabuk oluşturan blokların

fizikokimyasal özelliklerini değiştirecektir. Örneğin, taşıyıcıdan sürekli veya gecikmeli ilaç salımı, misel oluşturan ilaç konjugatlarında ve poliyon kompleks misellerde suyun ve serbest iyonların misel çekirdeğine hareketini sınırlayan misel çekirdeğinin hidrofobikliğini ve sertliğini artırarak elde edilebilir. Ayrıca çekirdek yapıya hidrofilik veya uyaranlara duyarlı grupların dahil edilmesi, anlık veya kademeli bir ilaç salım yöntemi sağlamak için başka bir yol olabilir (144, 145).

2.5. Nanolifler

Nanolifler genel olarak çapı 1 μm 'den küçük filamentli yapılar olarak tanımlanır (146). Lif çapının nanometre boyutuna inmesiyle birlikte fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri oldukça gelişmiş ve yüksek yüzey alanına sahip nanolifler ortaya çıkmıştır (147).

Nanoliflerin en çok kullanıldığı alanların başında ilaç taşıyıcı sistemler, yara örtüsü, doku iskelesi çalışmaları gibi biyomedikal uygulamalar gelmektedir. Nanoliflerin benzersiz işlevselliği ve doğal morfolojik özellikleri nedeniyle ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaktadırlar. Nanoliflerin işlenebilirliğindeki çeşitlilik ilaç yüklemesi açısından avantaj yaratmaktadır (148). Nanoliflerin yapısını oluşturan polimerler ile ilaç moleküllerinin arasındaki afinitenin düzenlenmesi, ilaç salım profillerinin ayarlanmasına da olanak sağlamaktadır. İlaç salım profili nanolifi oluşturan polimer özelliklerine, üretim yöntemine, kullanılan farklı polimer kombinasyonlarına, yüzey modifikasyonlarına ve ilaç moleküllerinin davranışlarına göre değişmektedir (149).

Nanolifler, ilaç taşıyıcı sistem olarak birçok avantaja sahiptir. Hem hidrofilik hem de lipofilik aktif bileşenlerin ve biyolojik moleküllerin (antibiyotikler, proteinler vb.) kontrollü salımı için kullanılabilirler. Ayrıca, nanolif morfolojisi, gözenekliliği ve bileşimi ilaç salım oranını değiştirebilir. Nanoliflerin diğer avantajları, yüksek yüzey alanı/hacim oranına ve gözenekliliğe sahip olmaları, dokunun ekstraselüler matris yapısına benzer bir yapıya sahip olmaları ve üretim yöntemlerinin birçok nanoyapılı ilaç dağıtım sisteminden daha az maliyetli ve daha basit olmasıdır (150-152). Ayrıca, nanolifler termoresponsif, pH'a duyarlı ve elektoreponsif özelliklere sahip hedeflenmiş bir ilaç dağıtım sistemi olarak tasarlanabilir. Bu özelliklerinden dolayı, özellikle elektroğirilmiş nanolifler bir ilaç dağıtım sistemi olarak giderek daha fazla ilgi görmektedir (153-156).

2.5.1. Nanolif Üretim Metodları

Nanolifler birçok farklı metod ile üretilmektedir. Bu metodlar şu şekilde sıralanmıştır:

- Arayüzey Polimerizasyonu
- Çekme Yöntemi
- Şablon Sentezi Yöntemi
- Faz Ayrıştırma Yöntemi
- Kendiliğinden Birleşme Yöntemi
- Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon)
- Döner veya Santrifüjlü Jet Eğirme (RJS/CJS)
- Elektroeğirme (157)

2.5.1.1. Elektroeğirme

Elektroeğirme, yüksek voltajlı ve düşük akımlı bir elektrik potansiyeli kullanarak ultra ince lifler oluşturur. Teknolojinin patentini 1902 yılında "Lifleri elektriksel olarak dağıtma aparatı" olarak alan J. F. Cooley, böyle bir amaç için elektroeğirme sürecini gözlemleyen ilk kişi olmuştur. Elektroeğirmenin popülaritesi, 20. yüzyılın sonunda, ilaç dağıtımı, yara iyileşmesi, doku mühendisliği, tekstil, sensör üretimi, kozmetik ve gıda ambalajı gibi uygulamalarda elektroeğirilmiş liflerin kullanılması ile artmıştır (158).

Elektroeğirme, 10-1000 nanometre aralığında çaplara sahip nanolifler üretmek için basit ve başarılı bir yöntemdir (159). Elektroeğirmenin temel avantajlarından biri, lif morfolojisi üzerinde sağladığı yüksek kontrol derecesidir. Bu, araştırmacıların nanoliflerin özelliklerini doku mühendisliği, ilaç dağıtımı ve filtreleme gibi belirli uygulamalar için uyarlamalarına olanak tanımaktadır. Ayrıca elektroeğirme, doğal ve sentetik polimerlerin yanı sıra kompozitler de dahil olmak üzere çok çeşitli polimerlerle kullanılabilen çok yönlü bir tekniktir. Bu çok yönlülük, farklı özelliklere sahip çok çeşitli nanoliflerin üretilmesine olanak tanır. Ayrıca, elektroeğirilmiş nanolifler yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahiptir ve bu da onları farklı uygulamalar için kullanışlı hale getirir (160-163). Ek olarak, elektroeğirme seri üretim için kolayca ölçeklendirilebilir,

bu da onu ticari uygulamalar için uygun hale getirir (164). Ancak, elektroeğirmenin bazı sınırlamaları da vardır. Örneğin, geleneksel elektroeğirme cihazlarında üretim hızı nispeten düşüktür ve bu da büyük miktarlarda nanolifin hızlı bir şekilde üretilmesini zorlaştırır. Ayrıca, elektroeğirme tehlikeli olabilen yüksek voltajların, çevreye ve insan sağlığına zararlı olabilen organik çözücülerin kullanılmasını gerektirir. Son olarak, elektroeğirme özel ekipman ihtiyacı ve bazı durumlarda yüksek kaliteli polimerlerin kullanımı nedeniyle maliyetli olabilir. Genel olarak, elektroeğirme birçok avantajı olan etkili bir tekniktir, ancak belirli bir uygulama için bir üretim yöntemi seçerken bu sınırlamalar göz önünde bulundurulmalıdır (157).

Nanolif üretmek için polimer eriyiği veya çözeltisi kullanılabilir. Çözelti bazlı elektroeğirme, çalışmaların büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Standart elektroeğirme sistemi dört ana bölümden oluşur: 1-Yüksek elektrik alanı, 2-Nozul ve iletken bir kılcal boru, 3-Şırınga pompası ve 4-Kollektör. Damlacık yüzeyinde bir yük oluşturmak için elektroeğirme sırasında polimer çözeltisine yüksek bir voltaj (genellikle 10 ila 30 kV) uygulanır. Uygulanan voltaj, polimer çözeltisinde, yüzey gerilimi nedeniyle genellikle küresel olan damlanın şeklini esnetebilen bir yük hareketine neden olur. Yüklü polimer çözeltisinin elektrostatik yükü yüzey geriliminin üstesinden geldiğinde, Taylor konisi olarak bilinen konik bir şekil oluşur ve jet oluşumu koni ucunda başlar (165).

Elektroeğirme sırasında, akış hızı ve uygulanan voltaj, dolaylı olarak Taylor konisinin oluşmasına neden olan iki kuvveti kontrol eder. Sonuç olarak, kararlı bir jetin gelişimine iki özellik arasındaki iyi bir denge olması önemlidir. Polimer sıvı yeterli kohezif kuvvete sahipse, Taylor konisinden kararlı bir jet çıkar ve polimer zincirlerinin gerilmesine ve düzgün bir filament oluşturmaya olanak sağlar. Bu işlem sırasında çözücü buharlaşır ve kurumuş polimer lifleri kollektör üzerinde rastgele dağılır (166). Nozul, çok sayıda konfigürasyona izin verdiği için elektroeğirme işleminde çok önemlidir. Elektroeğirme işlemi, nozula bağlı olarak iğnesiz, tekli, eş eksenli, yan yana veya üç eksenli elektroeğirme olarak sınıflandırılabilir (158, 167).

- **Elektroeğirme İşlemindeki Parametreler**

Elektroeğirme süreci boyunca çok sayıda faktör nanolif morfolojisini etkiler. Bu değişkenler aşağıdaki gibi sınıflandırılır:

1. Çözelti parametreleri,
2. Proses parametreleri ve
3. Çevresel parametreler.

Çözelti parametreleri çözücü tipi, polimerin moleküler ağırlığı, çözelti konsantrasyonu, çözeltinin viskozitesi, çözeltinin iletkenliği, yüzey gerilimi, dipol momenti ve dielektrik sabitidir. Uygulanan elektrik alanı, nozul/iğne ucu ile kollektör arasındaki mesafe, akış hızı gibi parametreler proses parametreleridir. Elektroeğirme sürecini etkileyen ortam parametreleri arasında ise bağıl nem ve sıcaklık bulunmaktadır (168). Tüm bu faktörler elektroeğirme sırasında nanoliflerin morfolojisini etkiler ve hiçbiri bağımsız olarak hareket etmez. Sonuç olarak, uygun yapı ve özelliklere sahip bir nanolif tasarlamak için çeşitli parametrelerin optimize edilmesi gerekir (168, 169). Farklı çalışma parametrelerinin lif morfolojisi üzerindeki etkileri Tablo2-1'de özetlenmiştir.

Tablo 2-1: Elektroeğirme İşlemini Etkileyen Parametreler

	Parametre	Etki
Proses Parametreleri	Gerilim	● Gerilim arttıkça, lifin çapı genellikle azalır.
	Akış Hızı	● Daha yüksek akış hızı liflerinin çapını artırır ve boncuk oluşumuna neden olabilir. Akış hızı genellikle maksimum 1 mL/saattir.
	Nozul/iğne ucu ile kollektör arasındaki mesafe	● Daha uzun mesafe daha ince liflerle sonuçlanır. Mesafe çok kısaysa, düzgün olmayan boncuklu bir film oluşur. Nanolifin çapı mesafedeki deki azalma ile artar.
Çözelti Parametreleri	Çözelti konsantrasyonu	● Yüksek konsantrasyon nanolif çapını artırır ve boncuk oluşumu olasılığını azaltır. Ancak, aşırı yüksek konsantrasyonlar nozulu tıkayabilir. ● Düşük konsantrasyon spreylemeye neden olabilir.
	Viskozite	● Viskozite arttıkça daha iri ve sürekli nanolifler oluşurken, düşük viskoziteli çözeltiler daha ince ve kısa nanoliflerin oluşmasına neden olur.
Çözücü Parametreleri	Çözücünün uçuculuğu	● Çözücünün uçuculuğu arttıkça daha gözenekli ve geniş bir yüzey alanı oluşur.
	Dielektrik sabiti	● Çözeltinin dielektrik sabiti düşükse, boncuklu lifler oluşabilir. ● Dielektrik sabiti arttıkça nanolif çapı azalır.

Ortam Parametreleri	Sıcaklık	Sıcaklık viskoziteyi ve solvent buharlaşma oranını değiştirir. Genel olarak daha yüksek sıcaklıklar daha düşük viskozite ve daha etkili solvent buharlaşmasına neden olur.
	Nem	Nem oranının çok yüksek olması durumunda nanolif üzerinde boncuk ve gözenekli yapı oluşabilir.

• Elektroğirme İçin Kullanılan Polimerler

Doğal polimerler (örneğin, hyaluronik asit (HA), kitosan (CS), dekstran (Dex), jelatin ve kolajen), sentetik polimerler (örneğin, poli(laktik asit) (PLA), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), poli(-kaprolakton) (PCL)) ve bunların karışımları elektroğirilmiş nanolifler oluşturmak için kullanılabilir (170). İlaç taşıyıcı sistemleri için nanolif oluşumunda kullanılan sentetik ve doğal polimerlere ve bunların çözücülerine örnekler Tablo 2-2'de verilmiştir.

Tablo 2-2: İlaç taşıyıcı nanolif çalışmalarında kullanılan sentetik ve doğal polimer örnekleri ve çözücüler

Polimer	Çözücü	Polimerin Fizikokimyasal Özellikleri	Polimer Özellikleri	Polimer Tipi	Referanslar
CA	DMF:ACN	Hidrofobik	Toksik değildir, tahriş edici değildir ve biyolojik olarak parçalanabilir	Doğal	(171)
Kitosan	TFA:DCM/AA	Hidrofilik	Toksik değildir, mukoadheziftir ve biyolojik olarak parçalanabilir	Doğal	(172, 173)
Kolajen	HFIP	Hidrofilik	Biyolojik olarak parçalanabilir ve toksik değildir	Doğal	(174)
Jelatin	AA	Hidrofilik	Biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir	Doğal	(175)
PAN	DMF	Hidrofobik	Mekanik ve termal olarak kararlı, düşük yoğunluklu	Sentetik	(176)
PCL	DCM:DMF	Hidrofobik	Biyouyumludur ve geniş bir moleküler ağırlık aralığına sahiptir	Sentetik	(177)

PEG	Deiyonize su: etanol	Hidrofilik	Toksik olmayan, inert ve biyoyumlu	Sentetik	(178)
PEO	Etanol/ Deiyonize su	Hidrofilik	Biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir ve iyi iletkenlik	Sentetik	(179)
PLA	DCM	Hidrofobik	Biyolojik olarak parçalanabilir, yavaş bozunma hızı	Sentetik	(180)
PLGA	DCM:DMF veya ACE:EtAc	Hidrofobik	Biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir ve ayarlanabilir mekanik özelliklere sahiptir	Sentetik	(181)
PMMA	DMF	Hidrofobik	Biyoyumlu ve iyi iletkenlik	Sentetik	(182)
PU	HFIP	Hidrofilik	İyi iletkenlik	Sentetik	(183)
PVA	Deiyonize su	Hidrofilik	Toksik olmayan, amorf, sıcaklık ve polimerizasyon derecesine bağlı çözünürlük	Sentetik	(184)
PVP	%10 etanol Deiyonize su	Hidrofilik	Toksik olmayan, sıcaklığa dayanıklı, pH kararlı, biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir	Sentetik	(185)
SF	Formik asit	Hidrofilik	Biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir	Doğal	(186)

AA: Asetik asit; **ACE:** Aseton; **CA:** Selüloz asetat; **DCM:** Diklorometan; **DMF:** Dimetilformamid; **EtAc:** Etil asetat; **HFIP:** Heksafloro-2-propanol; **PAN:** Poliakrilonitril; **PCL:** Polikaprolakton; **PEG:** Poli(etilen glikol); **PEO:** Polietilen oksit; **PLA:** Polilaktik asit; **PLGA:** Poli Laktik-ko-Glikolik Asit; **PMMA:** Polimetil metakrilat; **PU:** Poliüretan; **PVA:** Polivinil alkol; **PVP:** Polivinilpirolidon; **SF:** İpek fibroin; **TFA:** Trifloroasetik asit.

Nanoliflerin, ilaç taşıyıcı sistemi olabilmesi için mekanik özellikler, hidrofiliklik, şekil ve biyoyumluluk ile ilgili özel gereksinimleri karşılamalıdır. Bu özellikler liflerin kimyasal bileşimi, yani polimer yapısı tarafından kontrol edilir. Polimer yapısı, yüklenen ilacın salım hızı ve tedavi süresi üzerinde üç ana faktörün rol oynadığı bir etkiye sahiptir: (i) polimerin suda şişmesi, (ii) polimerin ilaca afinitesi ve (iii) polimer bozunma hızı. Buna ek olarak, polimerin molekül ağırlığı, liflerin kalınlığı ve fiziksel stabilitesi gibi bazı fiziksel özelliklerini de etkiler. Polimer molekül ağırlığı ile sabit bir konsantrasyondaki çözelti viskozitesi arasındaki doğrudan ilişki nedeniyle moleküler ağırlık, elektroegirme işleminin gerçekleştirilebileceği polimer konsantrasyonunu kontrol etmek için de kullanılır (187).

- **Elektroegirme Prosesinde İlaç Yükleme Metodları**

Elektroegirme işleminde ilaç yüklemek için birçok farklı teknik vardır. Bazıları elektroegirme sırasında gerçekleşirken, bazıları elektroegirme sonrası yüzey modifikasyonu ile gerçekleşir (157).

- **Elektroegirme Çeşitleri**

En popüler metod karışım elektroegirme olmasına rağmen, birçok farklı elektroegirme metodu vardır. Her elektroegirme türünün kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır.

Karışım Elektroegirme: İlaç/biyomoleküllerin polimer çözeltisi içinde dağıtıldığı veya çözündüğü karışım elektroegirme prosedürü, lifler boyunca dağılmış ilaç/biyomoleküller içeren nanolifler oluşturur (188). Diğer elektroegirme tekniklerine kıyasla basit bir teknik olmasına rağmen, biyoaktif bileşikler dağıtmak için kullanılan çözücüler protein denatürasyonuna veya biyolojik aktivite kaybına neden olabilir. Ayrıca, biyomoleküllerin doğal yükü sıklıkla jet yüzeyinde migrasyona neden olabilir, bu da biyomateryallerin lifler içinde kapsüllenmesi yerine nanoliflerin yüzeyinde dağılmasıyla sonuçlanır. (188, 189).

Eş Eksenli (Ko-aksiyel) Elektroegirme: Eş eksenli elektroegirme, yüksek voltaj kaynağına bir yerine iki nozülün iç içe bağlanmasıyla geleneksel karışım elektroegirmenin geliştirilmiş halidir. Her bir nozüle iki farklı çözelti konulur ve çekirdek-kabuk morfolojisine sahip nanolifler üretmek için dışarı pompalanır. Sentetik veya doğal polimerler kullanılarak daha üstün fizikokimyasal ve biyolojik özelliklere sahip çekirdek-kabuk nanolifler oluşturulabilir (190).

Eş eksenli (veya üç eksenli) şekilde elektroegirme işleminin, elektroegirilmiş çekirdek-kabuk nanoliflerinden sürekli ilaç salımı elde etmek için uygun bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir. Bu elektroegirme işlemi çekirdek ve kabuk çözeltisinin farklı kapilerlerden eşzamanlı akışı ile oluşur. Elektroegirilmiş lifin bir çekirdek, ara katman ve kabuğa sahip olduğu üç eksenli elektroegirme ile çekirdek-kabuk liflerinin üretimi yakın zamanda popülerleşmiştir. Çekirdek-kabuk liflerine birden fazla ilaç yüklenebilir ve bunların salım kinetiği eş eksenli elektroegirme kullanılarak kontrol edilebilir. Ko-aksiyel egirme, karışım egirmeden daha yüksek bir ilaç yükleme verimliliğine sahiptir. Daha da önemlisi, ilk patlama salımının ko-aksiyel olarak eğrilmiş çekirdek-kabuk

nanoliflerde, karışım eğrilmiş liflere göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. İlaç salımı esnasında çekirdeğin hidrofilik bileşeni çözündükten sonra çekirdek genişler veya çözünerek kabukta gözenekler oluşturur. İlaçlar çekirdek faza yüklenirken, kabuk fazı dış koruyucu bir tabaka olarak işlev görebilir. Buna ek olarak, uyumsuzluklar da çözülebilmektedir. Örneğin, çekirdek fazdaki hidrofilik ilaçlar kabuk fazındaki hidrofobik polimerlerle entegre edilebilir. Ayrıca kabuk fazı, sürekli salım kinetiği sağlamak için fiziksel bir bariyer görevi görebilir ve çekirdek-kabuk fazlarına ilaç yüklenerek tek bir ilaç dağıtım sisteminden iki ayrı salım modeli oluşturulabilir (166).

Emülsiyon Elektroeğirme: Emülsiyon elektroeğirme için konfigürasyon, karışım elektroeğirme kurulumuna benzerdir. Emülsiyon elektro-eğirme, çekirdek-kabuk nanolifler üretmek için iki karışmayan sıvının eşzamanlı olarak eğrilmesidir. Aktif bileşiklerin ve yüzey aktif maddelerin polimer matris çözeltisi ile karıştırılmadan önce S/Y emülsiyonları oluşturulur (191). Emülsiyon damlacıkları eğirme sırasında eliptik bir şekilde gerilir (190).

Ayrıca, sürekli faz çözücü hızla buharlaşarak eksenel alanda viskozite gradyanına neden olur. Polimer matrisi ile eliptik damlacık arasındaki viskozite farkı nedeniyle, çekirdek malzeme polimerin dış yüzeyi yerine fiber matrisinin içine yerleşir. Bu teknoloji ko-aksiyel elektroeğirmeden daha basittir ve yüklenen aktif bileşenlerin sürekli salımını sağlar (190, 192). Uygulanan voltajın nanoliflerin çapları üzerinde önemli bir etkisi vardır. Daha yüksek uygulanan voltaj, daha küçük çaplı nanoliflerin oluşumuyla sonuçlanır. Akış hızı ve eğirme mesafesi gibi diğer parametrelerin de lif morfolojisi üzerinde etkisi bulunmaktadır. Ancak, emülsiyonun organik ve sulu fazları arasındaki ara yüzey gerilimi, emülsiyon elektroeğirilmiş liflerin içine yerleştirilen biyoaktif moleküllere zarar verebilir (190).

Eriyik Elektroeğirme: Eriyik elektroeğirme, toksisite ve çözücü birikiminin sorun olduğu elektroeğirme alanında popüleritesini artırmıştır. Bir çözelti kullanmak yerine, bu yöntemde çözücü buharlaşması olmadan istenen ürünü elde etmek için soğutulduktan sonra sıvıdan katıya dönüşen polimer eriyiği kullanılır. Tek tip morfolojiye sahip yüksek kaliteli lifler üretmek için polimer eriyik akış hızı ve homojen polimer eriyik koşulları kontrol edilmelidir. Liflerin ortalama çapını azaltmak için polimer karışımları ve yardımcı maddeler kullanılmıştır. Eriyik sıcaklığının liflere yüklenen ilaçların, proteinlerin ve biyoaktif maddelerin yapısı ve işlevi üzerindeki etkisi

önemli olabilir. Eriyik elektroğirmenin akış hızı ve eriyik viskozitesi, üretilen elyafların özellikleri üzerinde bir etkiye sahip olabilir. Eriyik elektroğirilmiş liflerin yüzey ıslanabilirliği, sırasıyla oksijen ve amonyak plazması kullanılarak hidroksil, peroksil ve azot içeren fonksiyonel gruplar oluşturularak geliştirilmiştir (190).

Gaz Jet Elektroğirme: Gaz jet elektroğirme, eriyik elektroğirme işlemini daha da geliştirmektedir. Bu yöntemde, polimer çözeltileri bir elektrik alanı kullanılmadan bir gaz jeti cihazına yerleştirilir. Eş eksenli jet, nozülün yakınında yeterli ısı sağlayabilen ısıtılmış gazı besleyen bir tüp ile çevrilidir. Birlikte akan gaz jeti sayesinde polimer çözeltileri ek germe ve kesme kuvvetlerine maruz kalır. Böylece, bu yöntemde üretilen nanolifler daha ince ve daha homojen hale gelir, gaz akış hızı artırıldığında nanoliflerinin daha ince çaplara sahip olduğu bulunmuştur (193, 194).

Yan Yana (Side-by-side) Elektroğirme: Yan yana elektroğirme, iki farklı sıvının ayrı kılcal damarlardan uygulandığı bir süreçtir. Bazı kaynaklarda eş eksenli elektroğirme türü olarak belirtilmektedir. Ancak, eş eksenli işlemde olduğu gibi iç içe geçmiş iki polimer çözeltisi yerine birbirlerine bitişik olarak yerleştirilmektedirler (195). Örneğin Yang ve arkadaşları, her ikisi de antibakteriyel etkiye sahip olan siprofloksasin ve gümüş nano parçacıklarının sinerjik salımına sahip PVP ve etilselüloz nanolifleri oluşturmak için yan yana elektroğirme yöntemi kullanmışlardır. Bu çiftli yapı yaklaşımıyla, lifler 30 dakika içinde siprofloksasini ani bir şekilde serbest bırakabilmiştir. Antibakteriyel etki daha sonra gümüş nanopartiküllerin sürekli salımı ile 72 saat boyunca korunmuş ve bakteriyel üremeyi önemli ölçüde engellemiştir (196).

- Elektroğirme Sonrası Yüzey Modifikasyon Teknikleri

İlaçları elektroğirilmiş polimerik nanoliflerin yüzeylerine immobilize etmek için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bunlar; (i) basit fiziksel yüzey adsorpsiyonu ile fiziksel immobilizasyon, (ii) katman-katman birleştirme ve (iii) kimyasal immobilizasyon yöntemleri şeklinde sıralanabilir. Bu yöntemler nanolifin yüzeyinde daha güçlü ve daha kararlı ilaç immobilizasyonu sağlayabilmektedir (197).

Fiziksel Yüzey Adsorpsiyonu: Fiziksel yüzey adsorpsiyonu, aktif maddeleri membranlara adsorbe etmenin en kolay yoludur ve kimyasal işleme dayanmaz. Fiziksel adsorpsiyon, elektroğirilmiş liflerin sıvı bir çözeltiye daldırılması anlamına gelir; burada aktif maddeler elektrostatik etkileşim yoluyla liflerin yüzeyine yapışma

eğilimindedir. Spesifik olmayan zayıf moleküller arası etkileşimler (elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve Van der Waals kuvvetleri gibi) genellikle yüzey ve aktif bileşen yapısı arasında kurulur (197, 198). Ancak, ilaçların kontrolsüz salımı nedeniyle, bu yaklaşım proteinlerin veya nükleik asitlerin yüklenmesi için nadiren kullanılmaktadır (199).

Katman-Katman Birleştirme: Genel olarak, katman-katman birleştirme, her seferde bir malzeme katmanının biriktirilmesiyle, zıt etkileşimler kullanılarak malzemelerin bir yüzeye adsorpsiyonunun dönüşümlü olarak yapıldığı karmaşık bir yöntemdir. Katman- katman birleştirme, polielektrolit çok katmanlı bir yapı veya serbest duran bir film oluşturmak için yüzeylerinde zıt yüklere sahip polimerlerin dönüşümlü olarak birleştirilmesini içeren döngüsel bir süreçtir (200). Birleştirme işlemi, gerekli kalınlıkta çok katmanlı bir film üretilinceye kadar süresiz olarak devam ettirilebilir. Elektrostatik çekim, birleştirme sürecinde birincil faktördür, ancak hidrojen bağı, hidrofobik, kovalent ve biyolojik etkileşimler de önemli olabilmektedir. Filmin bileşimi, morfolojisi ve yapısı bu birikimle doğru bir şekilde kontrol edilebilir (201). Xine ve arkadaşları ipek fibroin (SF) (negatif yüklü) ve lizozim (pozitif yüklü) ile kaplanmış selüloz nanolif matlar oluşturmuştur. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar, matların yara iyileşmesinin yanı sıra yara enfeksiyonunun önlenmesini de artırabileceğini ortaya koymuştur (202).

Kimyasal İmmobilizasyon: Kimyasal immobilizasyon, aktif maddeleri liflerin yüzeyine bağlayan kovalent bağı ifade eder. Dış enzimler aktif maddelerin salımını kontrol edebilir. Lifli membranların yüzey özellikleri bu teknik kullanılarak değiştirilebilmektedir. Örneğin, yara iyileşmesi için biyoaktif molekülleri nanoliflerin yüzeyine immobilize etmek amacıyla, primer amin ve karboksilat gruplarının kimyasal immobilizasyonu yaygın olarak kullanılmaktadır (203, 204).

2.6. Oküler Enfeksiyonlar Hakkında Genel Bilgiler

2.6.1. Keratit

Keratit, korneanın iltihaplanmasıyla karakterize bir durumdur. Bu iltihap ağrıya, görme bozukluğuna ve tedavi edilmezse körlük de dahil olmak üzere ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Keratit enfeksiyöz, interstisyel ve non-enfeksiyöz faktörlerden kaynaklanabilir (205, 206).

2.6.1.1. Enfeksiyöz Keratit

Enfeksiyöz keratit, enfeksiyöz kornea ülseri veya kornea opasitesi olarak da bilinen bir kornea enfeksiyonudur. Enfeksiyöz keratit bakteriyel, fungal, akantamoeba ve viral keratit (herpes virüsleri) olarak sınıflandırılabilir. Enfeksiyöz keratite bağlı kornea körlüğü vakalarının sayısı 1990'da yaklaşık 1,6 milyon iken 2015'te 1,3 milyona, görme bozukluğu vakaları ise aynı dönemde 3,3 milyondan 2,9 milyona düşmüştür, ancak bu veriler eksik bildirilmektedir. Enfeksiyöz keratit, nontrakomatöz korneal opasifikasyonun en yaygın nedeni ve 2015 yılına kadar tüm kör bireylerin %3,5'ini (36 milyon) etkileyen beşinci önde gelen körlük nedenidir. Çoğu veri travmatik enfeksiyöz, enflamatuvar ve kalıtsal durumları içeren 'korneal körlük' altında rapor edildiğinden, enfeksiyöz keratit için epidemiyolojik veri toplamak zordur (207-211).

Bakteriyel, fungal ve akantamoeba keratit insidansı dünya çapında farklılık göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde, insidans 1999 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 100.000'de 27,6, 2006 yılında İngiltere'de 100.000'de 40,3 ve 2015 yılında Avustralya'da 100.000'de 6,6 olarak bildirilmiştir. Enfeksiyöz keratitin bir halk sağlığı tehdidi olduğu Asya'daki gelişmekte olan ülkelere ise daha ağır bir durum söz konusudur. Bu ülkeler sağlık hizmetlerine erişimde zorluklar ve kötü sağlık koşulları sebebiyle Hindistan'ın Madurai şehrinde 100.000'de 113; Bhutan'da 100.000'de 339; Burma'da 710 ve Nepal'de 799 gibi yüksek oranlarda görülmektedir (208, 209, 211, 212).

Bakteriyel Keratit: Bakteriyel keratit (BK), enfeksiyöz keratitin en yaygın nedenidir. Hızla ilerleyebildiği için acil müdahale gerektiren oftalmik bir acil durumdur. BK, yetişkinlerde görme bozukluğunun en yaygın nedenlerinden biridir (207).

BK için risk faktörleri arasında kontakt lens kullanımı, geçmişte topikal steroid kullanımı, oküler yüzey hastalıkları, oküler travma, geçmiş keratit, geçmiş cerrahi operasyon ve kornea hastalıkları yer almaktadır. Kornea nakli öyküsü, enfeksiyondan önceki son 3 ay içinde geçirilmiş oküler cerrahi ve diabetes mellitus ile ilişkili keratit riski yaşla birlikte önemli ölçüde artmaktadır (213-216).

Bakteriyel keratite neden olan en yaygın türler arasında *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacteriaceae* familyasının türleri bulunur (217).

Gelişmiş ülkelerde BK için ana risk faktörü kontakt lens kullanımı iken gelişmekte olan ülkelerde travma ana risk faktörüdür. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 45 milyon kontakt lens kullanıcısı bulunmaktadır. 2010 yılında, Amerika Birleşik Devletleri'nde 100.000 kişi-yıl başına tahmini enfeksiyöz keratit vakası insidansı, kontakt lens kullananlarda 130 iken kullanmayanlarda 14'tür (216, 218).

BK çeşitli klinik senaryolarda ortaya çıkabilir ve değişken klinik bulgularla kendini gösterebilir, ancak çoğu vakada korneal infiltrat, epitel defekti ve konjonktival hiperemi ile karakterizedir (216).

BK'nın şiddeti hafif, orta ve şiddetli olarak ayrılabilir. Hafif kornea ülserleri, ülser derinliği $<20\%$ veya $100\ \mu\text{m}$ kornea kalınlığı ile $<2\ \text{mm}$ boyutunda olanlardır. Ülserin yakınında yüzeysel infiltratlar da görülebilir. Orta dereceli kornea ülserlerinin boyutu 2 ila 5 mm arasında değişir, korneanın $20\%-50\%$ 'si ($100-275\ \mu\text{m}$) derinliğindedir ve orta stromaya kadar uzanan yoğun infiltratlar vardır. Şiddetli ülserler $\geq 5\ \text{mm}$ 'dir, derinliği 50% 'den fazladır ($>275\ \mu\text{m}$) ve yoğun infiltratlar korneal stromanın derin katmanlarına ulaşır (219).

Bakteriyel keratit tedavisi için birinci basamak olarak topikal antibiyotik kullanılmaktadır. Tek başına bir florokinolon türevleri ya da vankomisin-tobramisin veya gentamisin-sefazolin kombine tedavileri uygulanabilir. Dirençli durumlarda sistemik antibiyotikler de tedaviye eklenebilir (216).

Viral Keratit: Viral keratit genellikle trigeminal gangliyondaki latent *Herpes simplex* virüsünün (HSV) yeniden aktivasyonu ile ortaya çıkmaktadır. HSV keratiti dünya genelinde yılda yaklaşık 1,7 milyon kişiyi etkilemektedir. Kornea epitelyumunda dallanma (dendritik) infiltrat klasik bir bulgudur. Enfeksiyon sıklıkla epiteliyal keratit, stromal keratit veya anterior üveit olarak nükseder; nüksler korneal hipoestezi ve opasiteye yol açabilir. Asiklovir profilaksisi, nüks oranını azaltır. Epiteliyal keratiti tedavi etmek için topikal gansiklovir veya oral antiviral ajan (örn. asiklovir, valasiklovir veya famsiklovir) kullanılmaktadır. HSV keratitinin diğer formları ise topikal kortikosteroidler ve oral antiviral ajanlarla tedavi edilir (207, 220).

Viral keratitin bir başka nedeni de *varicella-zoster* virüsüdür (VZV). VZV keratitinin önemli bir nedeni herpes zoster oftalmikus'tur. Akut keratit, herpes zoster oftalmikus vakalarında genellikle başlangıçtan sonraki 1 ay içinde gelişir. Herpes zoster

oftalmikus, herpes zoster vakalarının yaklaşık %8'ini komplike eder ve Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 1 milyon herpes zoster vakası vardır. Herpes zoster oftalmikus ile ilişkili keratit genellikle başlangıçta dendritik epiteliyal keratit olup, ardından hastaların yaklaşık yarısında stromal infiltratlar gelişir ve bazılarında korneal skarlar oluşmaktadır. Korneal duyunun kaybı meydana gelebilir ve bu da daha fazla ülserasyona yol açabilir. Herpes zoster oftalmikus, oral asiklovir, valasiklovir veya famsiklovir ile tedavi edilir (207, 220, 221).

Fungal Keratit: Fungal Keratit (FK), Asya'da körlüğün başlıca nedenlerinden biri olan ağır bir hastalıktır. Ülkeye bağlı olarak FK, enfeksiyöz keratit vakalarının %6 ile %53'ünü oluşturur (216). Predispozan faktörler, etken organizmalar ve klinik sonuçlar, coğrafi konum, meslek, mevcut ilaçlar ve gayri safi milli gelir gibi değişkenlere bağlıdır (222, 223).

Kornea yaralanması, kontakt lens kullanımı ile mikrotravma, sistemik hastalık öyküsü, topikal kortikosteroid kullanımı ve kuru göz, blefarit, Stevens-Johnson sendromu, büllöz keratopati ve ekspozisyon keratiti gibi oküler yüzey hastalıkları FK için başlıca sebep olabilecek faktörlerdir (216). Bitki maddesi veya toprakla kirlenmiş nesnelerle kornea yaralanmasında, mantar doğrudan epitel defektine girer veya travma sırasında enfekte olur. Bu tür travmalar genellikle çiftliklerde, tarımda veya açık hava ortamlarında çalışan bireylerde meydana gelir (3). Filamentöz saprofitik mantarlar, kornea yaralanmaları ile daha sık ilişkilidir ve tropikal ve subtropikal iklimlerde daha yaygındır. Hindistan'da yapılan bir çalışma, FK vakalarının %90'ının yaralanma kaynaklı olduğunu, Amerika Birleşik Devletleri'nde ise FK vakalarının %11-%44'ünün yaralanmaya bağlı olduğunu bildirmiştir (216, 224, 225).

Candida türleri, ılıman iklimlerde, çeşitli çevresel ortamlarda daha yaygındır ve normal insan mikrobiyomunun bir parçasıdır. İnsan bağırsaklarında, solunum yollarında ve mukozalarda kommensal organizmalar olarak yaygın olarak bulunur. *Candida* ile ilişkili FK, geçirilmiş oküler yüzey hastalığı bulunan, son dönemde oküler cerrahi operasyonu geçiren ve topikal immünosupresan kullanan hastalarda daha yaygındır. En yaygın filamentöz mantarlar arasında *Fusarium* türleri, *Aspergillus* türleri ve *Curvularia* türleri; en yaygın mayalar arasında ise *Candida albicans* ve *Candida parapsilosis* bulunmaktadır (3, 224-227).

FK tedavisinde topikal natamisin *Fusarium* keratiti vakalarında daha iyi sonuçlarla ilişkilendirilmiştir, ancak penetrasyonu düşüktür. Topikal vorikonazol ve amfoterisin B de alternatif olarak kullanılmaktadır. Topikal vorikonazolun sınırlamaları arasında maliyeti ve topikal natamisine göre daha az etkili olması yer alır. Topikal amfoterisin B, maya türleri için birinci tercih olarak ve filamentöz mantarlara alternatif olarak reçete edilmektedir; sınırlamaları arasında hazırlanması ve stabilitesi yer almaktadır (216).

Tedaviye vorikonazol, ketokonazol, itraconazol veya oral flukonazol gibi oral ilaçlar eklenebilmektedir. Ancak oral vorikonazolun şiddetli filamentöz keratit tedavisinde ve kornea perforasyonu insidansında bir fark yaratmadığını sonucuna varılmıştır. Posakonazol, etki mekanizması mantar hücre duvarı ergosterol sentezini engellemek olan daha yeni bir ilaçtır. *Candida* türlerine, *Aspergillus* türlerine ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı geniş spektrumlu bir aktiviteye sahiptir. Ayrıca diğer antifungallere dirençli *Fusarium* türü vakalarında toksisite olmadan etkilidir (216, 223).

Acanthamoeba Keratiti (AK): *Acanthamoeba* türleri her yerde bulunan serbest yaşayan amiplerdir. Dünya çapında en az 24 amipli protozoa türü vardır ve hem toprakta hem de neredeyse tüm su kaynaklarında bulunmaktadırlar. *Acanthamoeba* ile insan oküler tutulumu keratit şeklinde ortaya çıkar. AK nadir görülen, görmeyi tehdit eden bir enfeksiyondur. AK insidansı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında ve coğrafi bölgeler arasında farklılık göstermektedir (228).

AK insidansı gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha düşüktür. Gelişmekte olan ülkelere vakaların çoğu kontakt lens kullanımı ile bağlantılıdır. Birleşik Krallık ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık %3-%15 ve Avustralya'da yılda 3,6 vaka gibi düşük insidansı nedeniyle tanı genellikle geç konulmaktadır. Hindistan gibi gelişmekte olan ülkelere AK vakalarının çoğu travma ile ilişkilidir. Ayrıca, yılın daha sıcak dönemleri daha yüksek insidansla ilişkilidir. Bunun nedeni, sıcak aylarda yüzey suyunda amip sayısının artması ve uzun süreli su aktivitelerinin gerçekleşmesidir (228-233).

AK komplike bir enfeksiyondur, ancak erken tanı tedaviler bu hastalığın yönetimini iyileştirmiştir. Tek bir ilaç hem kistik hem de trofozoit formlarını ortadan kaldıramayacağı için genellikle çeşitli topikal akantamoeba ajanlarının bir kombinasyonu kullanılır. Kist formu tedaviye oldukça dirençli olma eğilimindedir, bu

nedenle genellikle kombinasyon tedavi kullanılmaktadır. Poliheksametilen biguanid ve klorheksidin akanthamoeba trofozoitlerine karşı etkili topikal ajanlardır. Klorheksidin genellikle propamidin veya heksamidin ile birlikte kullanılır ve enfeksiyonun seyri sırasında tedaviye erken başlanırsa iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Ancak propamidin ve heksamidin tüm ülkelerde mevcut değildir (234, 235).

2.6.1.2. İnterstisyel Keratit

İnterstisyel keratit, kornea stromasının inflamasyonu ile karakterize, genellikle tek taraflı olarak bölgesel, periferik stromal infiltrat ve vaskülarizasyon ile ortaya çıkan bir durumdur (236). Herpes simpleks virüsü (HSV), sifiliz ve tüberküloz gibi enfeksiyöz ajanların yanı sıra immün aracılı durumlar da dahil olmak üzere altta yatan çeşitli nedenlerle ilişkili olabilmektedir (206, 237, 238). Özellikle, HSV'nin interstisyel keratitin önde gelen nedeni olduğu, bunu idiyopatik vakalar, sifiliz ve varisella-zoster virüsünün (VZV) izlediği bildirilmektedir (239).

İnterstisyel keratit de dahil olmak üzere sifilitik oküler belirtiler hastalığın herhangi bir aşamasında ortaya çıkabilir ve üveit, koryoretinit ve optik nöropatilerle birlikte görülebilir (237). Benzer şekilde, tüberküloz da oküler tutulumu yol açabilir ve interstisyel keratit bilinen bir belirtidir. Ayrıca, vaskülitik sendromlar nadiren interstisyel keratitle sonuçlanabilir ve bu durumla ilişkili çeşitli etiyolojileri vurgular (239).

İnterstisyel keratitin tedavisinde, altta yatan nedene bağlı olarak çeşitli tedavi yaklaşımları uygulanmaktadır. HSV ile ilişkili vakalarda antiviral ajanlar kullanılırken, penisilin türevi antibiyotikler sifilitik interstisyel keratit için kullanılmaktadır (206). Ek olarak, immün aracılı durumlarda inflamasyonu kontrol etmek ve daha fazla hasarı önlemek için immünosupresif ve anti-inflamatuar ajanlar kullanılabilir (240).

2.6.1.3. Non-Enfeksiyöz Keratit

Exposure (Maruz kalma) Keratit: Dış ortama uzun süre maruz kalma nedeniyle korneanın hasar görmesiyle karakterize bir durumdur. Bu durum, tedavi edilmediği takdirde kornea ülserasyonu, enfeksiyöz keratit ve kalıcı görme kaybı gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Kornea, gözyaşı filmi ile yeterince korunamadığında exposure keratit oluşumu görülebilmektedir (241).

Exposure keratit oluşum nedenleri arasında, korneayı koruma yeteneğine müdahale eden çeşitli mekanik ve nöro-paralitik koşullar sayılabilir. Birincil neden lagofthalmi, yani göz kapaklarının tamamen kapanamamasıdır. Diğer nedenler arasında göz kapaklarının kapanmasını kontrol eden yüz sinirinin felci ve tiroid göz hastalığı veya orbital tümörlerden kaynaklanan proptozis gibi gözü ne iten durumlar yer almaktadır (241, 242).

Birincil tedavi olarak, gözleri nemli tutmak için suni gözyaşı damlaları ve merhemlerin kullanımını içerir. İnflamasyonu önlemek için steroidler kullanılmaktadır. Korneayı korumak için bandaj silikon hidrojel veya skleral kontakt lensler uygulanmaktadır. Korneal ülserasyon tespit edilirse, antibiyotiklerle tıbbi olarak tedavi edilebilir. Kornea perforasyonu vakalarında doku yapıştırıcıları, konjonktival flep ile kaplama, bandaj, yumuşak kontakt lens veya terapötik keratoplasti gibi acil tedavi önlemleri gerekli olabilmektedir (242).

Nörotrofik Keratit: Nörotrofik keratit, trigeminal sinir hasarından kaynaklanan, kornea hassasiyetinin azalmasına, epitel parçalanmasına ve iyileşmenin bozulmasına neden olan, korneanın nadir görülen dejeneratif bir hastalığıdır. Bu durum korneal ülserasyon, erime ve perforasyon gibi ciddi belirtilere yol açarak potansiyel olarak geri dönüşü olmayan görme kaybına neden olabilmektedir. Nörotrofik keratit vakalarının çoğu herpes simpleks veya zoster keratiti, diabetes mellitus veya cerrahi, travma, anevrizma veya nörolojik hastalıklar gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanan trigeminal sinir hasarı ile ilişkilidir. Patofizyoloji, korneal hipoestezi, gözyaşı üretiminde azalma ve epitelyopatiye yol açan korneal sinir hasarını içermektedir (243, 244).

Nörotrofik keratit için tedavisinde ilk yaklaşım sinir hasarına neden olan hastalığı tedavi etmektir. Ek olarak hastalarda kornea iyileşmesini teşvik ettiği gösterilen NGF gibi sinir büyüme faktörlerinin kullanılmasını içerir. Ayrıca, amniyotik membran transplantasyonu hem kuru göz hem de nörotrofik keratit tedavisinde kullanılmış ve potansiyel bir tedavi seçeneği sunmuştur (245-247).

2.6.2. Üveit

Üveit, iris, siliyer cisim ve koroidi içeren gözün vasküler tabakası olan uveanın iltihaplanmasıdır. Uygun şekilde tedavi edilmediği takdirde görme kaybına neden olabilecek ciddi bir durumdur. Mikroorganizma bulaşı ile oluşabileceği gibi sistemik hastalıklar, gözde yaralanma, genetik faktörler ve otoimmün hastalıklara bağlı olarak da

üveit oluşumu görülebilir. Yıllık insidansı 100.000'de 17-52 ve prevalansı 100.000'de 38-284 olan üveit, gelişmiş ülkelerde görme engellerinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (248, 249).

Üveit anatomik olarak anterior, intermediate, posterior veya panüveit olarak sınıflandırılabilir. Ayrıca enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz üveit olarak da sınıflandırılır.

2.6.2.1. Enfeksiyöz Üveit

Enfeksiyöz patojenlerin neden olduğu uvea iltihabı ile karakterize olan enfeksiyöz üveit, dünya çapında önemli bir klinik sorun teşkil etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm üveit vakalarının %15 ila 20'sini oluşturmaktadır. Az gelişmiş ya da tropik iklime sahip ülkelerde bu oran %50 civarındadır. Enfeksiyöz üveite bakteriyel, fungal, viral patojenler ve parazitler dahil olmak üzere birçok enfeksiyöz ajan neden olabilir (250).

Enfeksiyöz üveite sebep olan patojenler arasında, *varicella zoster*, *herpes simpleks*, *toksoplazma gondii*, *Mycobacterium leprae*, tüberküloza sebep olan *Mycobacterium tuberculosis* ve *onkoserkiyaz* sayılabilir (251, 252).

Enfeksiyöz üveitin klinik görünümü, enfeksiyöz olmayan üveiti taklit edebilmektedir ve bu da uygun tedavi için doğru teşhisi daha zor bir hale getirir (253). Enfeksiyöz üveit, anterior üveit, posterior üveit veya panüveit gibi farklı şekillerde ortaya çıkabilir; posterior üveit genellikle daha şiddetlidir ve daha yüksek komplikasyon riski ile ilişkilidir (254).

Enfeksiyöz üveit tedavisinde antiviral olarak gansiklovir ve foskarnet tercih edilmektedir. Antibakteriyel tedavi seçenekleri arasında vankomisin, gentamisin, seftazidim, moksifloksazin ve amikasin bulunmaktadır. Antiprotozoal tedavi olarak klindamisin ve trimetoprim/sulfametoksazol kullanılmaktadır. Antifungal tedavi için ise amfoterisin B ve vorikonazol önerilmektedir (255).

2.6.2.2. Non-enfeksiyöz Üveit

Non-enfeksiyöz üveit, önemli görme kaybına yol açabilen bir grup immün aracılı oküler inflamatuvar bozukluktur (256). Amerika Birleşik Devletleri'nde non-enfeksiyöz üveitin tahmini yaygınlığı 100.000 yetişkin başına 121 ve 100.000 çocuk başına 29'dur (257). Bu durum kadınlarda ve çalışma çağındaki bireylerde (20-50 yaş)

daha yaygındır. Non-enfeksiyöz üveit için risk faktörleri arasında sigara kullanımı, D vitamini eksikliği, otoimmün hastalıklar ve bazı ilaçlar yer almaktadır (258).

Otoimmün hastalıkların varlığı, psikolojik stres ve bazı ilaçlar da dahil olmak üzere çeşitli risk faktörleri non-enfeksiyöz üveit ile ilişkilendirilmiştir (258). Ayrıca, otoimmün aracılı oftalmolojik hastalıklar veya Behçet hastalığı, Sarkoidoz ve Vogt-Koyanagi-Harada hastalığı gibi sistemik inflamatuvar durumlar yaygın olarak non-enfeksiyöz üveit ile bağlantılıdır (259). Non-enfeksiyöz üveitin patogenezinde B hücreleri, T hücreleri ve sitokinlerin yer alması, bu durumun altında yatan karmaşık bağışıklık mekanizmalarının altını çizmektedir (260, 261).

Enfeksiyöz olmayan üveit için tedavi stratejileri genellikle kortikosteroidler, immünosüpresif ajanlar ve biyolojik ilaçların kullanımı da dahil olmak üzere multidisipliner bir yaklaşım içerir (262).

2.6.3. Endoftalmi

Endoftalmi, vitröz hümör, aköz hümör veya her ikisinin potansiyel olarak kör edici göz içi enfeksiyonudur. Neredeyse tüm vakalara bakteri veya mantarlar neden olmaktadır. Endoftalmide, etkilenen gözlerin en az %20'sinde ciddi görme kaybıyla sonuçlanır. Endoftalmi, göz ameliyatı, intravitreal enjeksiyonlar veya penetran travma benzeri ekzojen kaynaklı olabileceği gibi bakteriyel veya fungal patojenlerden dolayı endojen kaynaklı da olabilir. Ekzojen endoftalmi yalnızca risk altındaki gözü (örn. operasyon geçirilen göz) etkilerken, endojen endoftalmi hastaların %8 ila 20'sinde her iki gözü de etkilemektedir (220, 263-265).

2.6.3.1. Ekzojen Endoftalmi

Ekzojen endoftalmi, her yıl gerçekleştirilen milyonlarca katarakt ameliyatı ve intravitreal enjeksiyonun %0,04 ila %0,1'inde komplikasyonlar sonucu oluşabilen enfeksiyondur. Katarakt ameliyatı, dünya çapında en sık gerçekleştirilen cerrahi prosedürlerden biridir ve yıllık ortalama global oran, 1 milyon kişi başına 1750'dir (gelişmiş ülkelerde 1 milyon kişi başına 8300). Gram-pozitif koklar, başlıca koagülaz-negatif stafilokoklar (vakaların yaklaşık %70'inde), *Staphylococcus aureus* ve streptokoklar, Amerika Birleşik Devletleri'nde postoperatif ve postenjeksiyon endoftalminin %90'ından fazlasına neden olmaktadır. Streptokokal endoftalmi, intravitreal enjeksiyondan sonra katarakt ameliyatından daha yaygın olup, genellikle

kötü bir sonuca sahiptir. Gram-negatif basil ve mantarlar, Amerika Birleşik Devletleri'nde nadirdir ancak Hindistan gibi bazı tropikal ülkelerde vakaların %10 ila %20'sine neden olmaktadır (220, 263, 266).

Ekzojen endoftalmi, penetran göz travmalarının %0,9 ila %10'unda komplikasyona yol açmaktadır. Risk faktörleri arasında metal bir obje ile yaralanma, kontakt lens parçalanması, intraoküler yabancı cisimlerin tutulması yer almaktadır. Koagülaz-negatif stafilokoklar ve *Bacillus cereus* genellikle hızla görme kaybına neden olan fulminant bir endoftalmiye yol açmaktadır. Penetran göz travmalarından sonra 48 saat boyunca uygulanan profilaktik antibiyotikler (örneğin, intravenöz vankomisin-seftazidim), endoftalmi insidansını %0,9'a düşürmektedir (267, 268).

2.6.3.2. Endojen Endoftalmi

Endojen endoftalmi, endoftalmi vakalarının %2 ila %15'ini oluşturur. Enfeksiyon kaynakları arasında endokardit, idrar yolu enfeksiyonları, abdominal (örneğin, karaciğer) apseler, pnömoni, gastrointestinal prosedürler (örneğin, endoskopi), santral venöz kateterler ve enjeksiyon ilaç kullanımı bulunmaktadır (220, 269).

Endojen endoftalmide en yaygın bakteriyel patojenler enfeksiyon kaynağına bağlıdır (örneğin, endokarditte *S. aureus* ve streptokoklar, karaciğer absesinde *Klebsiella pneumoniae*, idrar yolu enfeksiyonunda *Escherichia coli*). En yaygın fungal patojen ise *Candida albicans*'tır. Mantar kaynaklı endojen endoftalmi nadirdir ve genellikle immün yetmezliği olan hastalarda görülür (220, 270).

Tedavisinde patojen kaynağına göre sistemik, topikal ve intravitreal antibiyotik ve antifungal ilaç tedavisi uygulanmaktadır (270).

2.6.4. Sklerit

Sklerit, gözün beyaz dış tabakası olan sklerayı etkileyen, yeterli şekilde tedavi edilmezse görme bozukluğuna ve hatta körlüğe yol açabilen ciddi ve ağrılı inflamasyon durumudur. Nadir görülen bir hastalıktır. Çoğunlukla otoimmün sistemik hastalıklarla ilişkilidir, bu durum tanı ve tedavisini karmaşık hale getirir (271). Patojen kaynaklı enfeksiyöz sklerit oranı düşük bir oranda olsa da önemli bir sebeptir.

Batı ülkelerinde tüm sklerit vakalarının insidansı yıl başına 100.000 kişide 3,4 olarak bildirilmiş olup, yıllık prevalans oranı 100.000 kişi başına 5,2'dir. Çalışmalarda patojen kaynaklı enfeksiyöz sklerit insidansı %5-10 olarak bildirilirken, Hindistan

çalışmasında bu oran yaklaşık %17 olarak bulunmuştur. Enfeksiyöz sklerit etiyolojinin prevalansının, coğrafi konum ve halkın geçim kaynaklarıyla ilişkili görünmektedir (272-275).

Hastaların %40 ila %50'sinde sklerit, altta yatan bir sistemik hastalığın ifadesidir. En yaygın otoimmün nedenler arasında romatoid artrit, Wegener hastalığı, tekrarlayan polikondrit, sistemik lupus eritematozus, inflamatuvar bağırsak hastalığı, poliarterit nodoza ve seronegatif spondiloartropatiler yer almaktadır (276, 277).

Enfeksiyöz sklerit viral, bakteriyel, fungal ve paraziter olabilir. Enfeksiyonlar, iyatrojenik şekilde, kaza sonucu, hastalık veya travma nedeniyle zarar gören dokularda meydana gelebilmektedir (278).

Pseudomonas aeruginosa, enfeksiyöz skleritin en yaygın nedeni olarak bildirilmektedir ve vakaların %51-81'inde görülmektedir. Genellikle birincil kornea enfeksiyonu ve ardından skleral yayılım veya bağışıklığı zayıf olan kişilerde, pterjium cerrahisi gibi geçmiş göz ameliyatları ile ilişkilidir (279, 280).

Streptococcus pneumoniae skleriti de kornea enfeksiyonunun yayılımı veya pterjium cerrahisinden sonra β -ışınlama veya mitomisin-C uygulanması sonrasında tanımlanmıştır (281).

Varisella-zoster ve *herpes simplex tip-1*, genellikle viral kaynaklı sklerit ile ilişkilidir (278).

Fungal sklerit, enfeksiyonun kontrol altına alınmasının zorluğu ve görme kaybına ilerleme potansiyeli nedeniyle enfeksiyöz skleritin en yıkıcı türlerinden biridir. Tropikal ve gelişmekte olan ülkelerden bildirilen vakalarda, fungal sklerit oranları %5 ile %38 arasında değişmektedir (274, 282). Fungal sklerit, travma, göz operasyonlarında kontaminasyon ve intravenöz ilaç kullanımı yoluyla endojen olarak bulaşabilir. İmmün sistemi zayıflatıcı oküler veya sistemik hastalıklar, kontakt lens kullanımı, ve kronik topikal kortikosteroid kullanımı fungal enfeksiyon riskini artırır. Sklerite neden olan en yaygın mantarlar filamentöz mantarlardır. *Aspergillus flavus* en çok rapor edilen mantar olmasına rağmen, birçok farklı tür mantar da sklerite neden olabilmektedir (283, 284).

Sklerit için halen 1976 yılında Watson ve Hayreh tarafından önerilen anatomik yerleşim ve görünüm temelindeki sınıflandırılma kullanılmaktadır (285).

2.6.4.1. Anterior Sklerit

Difüze anterior sklerit, skleritin en yaygın görülen türüdür ve vakaların yaklaşık %60'ını oluşturur (286). Bu sklerit formu, skleranın tüm çevresini etkileyen iltihaplanma ile karakterizedir ve orta-şiddetli ağrı, göz hareketiyle ağrı, ışık hassasiyeti, epifora ve kalıcı hiperemi gibi semptomlara yol açar (287). Difüze anterior skleritin enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz nedenleri arasında ayırım yapmak son derece önemlidir, çünkü tedavi yaklaşımı altta yatan etiyolojiye bağlı olarak önemli ölçüde değiştirmektedir (288).

Nodüler anterior sklerit, gözde genellikle limbus yakınında bulunan sert, hareketsiz ve hassas nodüllerin varlığıyla karakterize edilen belirgin bir sklerit türüdür (286). Bu sklerit tipi, granülomatozis ile poliangiit (Wegener hastalığı) gibi çeşitli altta yatan durumlarla ilişkili olabilmektedir ve bu durum, diğer etiyolojilere kıyasla daha şiddetli bir sklerit formu oluşturmaktadır (289).

Nekrotize anterior sklerit, skleranın nekrozu ve iltihabı ile karakterize edilen, ciddi ve potansiyel olarak görme tehdit eden bir sklerit türüdür. Bu sklerit tipi, skleral incelme, üveit, glokom ve etkili bir şekilde yönetilmezse görme kaybı da dahil olmak üzere yüksek komplikasyon riskine sahiptir. Nekrotize anterior sklerit idiyopatik sistemik hastalıklarla ilişkili, enfeksiyöz olabilir veya travmatik olaylar ya da cerrahi prosedürler sonucu ortaya çıkabilir. Nekrotize anterior sklerit, altta yatan nedenleri ele almak ve durumu etkili bir şekilde yönetmek için oftalmologlar, romatologlar ve enfeksiyon hastalıkları uzmanlarını içeren multidisipliner bir yaklaşım gerektirmektedir (290, 291).

Genelde, tedavinin ilk adımı olarak nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ'ler) kullanılır. Tedavi yanıtı alınamazsa, bir sonraki adım kısa süreli yüksek doz oral kortikosteroidlerin uygulanmasıdır. Uzun süreli tedavi gerektiğinde veya kortikosteroidler için kontrendikasyon olduğunda, metotreksat, mikofenolat mofetil, azatioprin, siklosporin ve bazen siklofosfamid gibi immünosupresif ilaçlar düşük doz kortikosteroidlerle birlikte kullanılmaktadır. Dirençli veya tedaviye dirençli oküler inflamatuvar göz hastalığında, infliksimab ve adalimumab gibi tümör nekroz faktörü (TNF- α) antagonistleri giderek daha fazla kullanılmaktadır (292-295).

2.6.4.2. Posterior Sklerit

Posterior sklerit, ora serrata (retina ile siliyer cisim arasındaki bağlantı) arkasındaki sklerayı etkileyen nadir fakat ciddi bir durumdur. Anterior skleritten daha az yaygındır ve tüm sklerit vakalarının yaklaşık %6-10'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir (296, 297).

Posterior skleritin klinik özellikleri oldukça değişkendir. Hastalar genellikle uyku bozan derin bir ağrı olarak tanımlanan orta veya şiddetli oküler ağrı ile başvururlar. Bazı durumlarda, ağrı göz hareketi ile kötüleşebilir ve hastalar proptoz (gözün öne doğru çıkması) veya oküler hareket kısıtlılıkları gibi ilişkili semptomlar yaşayabilmektedirler. Anterior skleritin aksine, kızarıklık ve hassasiyet her zaman mevcut olmayabilir, bu da fizik muayene sırasında tanıyı zorlaştırmaktadır (298, 299).

Tedavi yöntemleri anterior sklerite benzerlik göstermektedir.

2.6.4.3. Episklerit

Episklerit, gözün konjonktiva ile sklera arasındaki ince bir doku tabakası olan episklerayı etkileyen enflamatuar bir durumdur. Lokalize kızarıklık, hassasiyet ve hafif rahatsızlık ile karakterizedir ve genellikle komplikasyonsuz şekilde kendiliğinden iyileşen bir durumdur. Basit veya nodüler tiplerde görülebilir ve ani başlangıçlı kızarıklık, gözyaşı artışı ve fotofobi ile karakterizedir. Genellikle genç yetişkinleri etkiler ayrıca kadınlarda ve 40-50 yaş aralığındaki kişilerde daha yaygındır. Vakaların çoğu idiyopatikdir ve kendiliğinden 1-3 ay içinde iyileşir. Tedavi seçenekleri arasında soğuk kompres, yapay gözyaşları, oral ya da topikal NSAİİ'ler veya steroidler bulunur. Sistemik ilişkiler nadirdir ve vakaların yalnızca %5'i sistemik hastalıklarla bağlantılıdır (300-302) .

2.6.5. Konjonktivit

Konjonktivit, konjonktivanın, göz kapağının içini kaplayan ve gözün beyaz kısmını örten ince, şeffaf dokunun iltihaplanmasıdır. Bakteriyel, viral enfeksiyonlar, alerjiler veya tahriş edici maddeler gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabilir. Genellikle hafif ve kendiliğinden iyileşen bir hastalıktır (303, 304).

Farklı konjonktivit türleri vardır, bunlar arasında viral, bakteriyel, alerjik ve linyöz konjonktivit bulunur. Viral konjonktivit, gözde kaşıntı, mukoid akıntı, kimyosis

ve göz kapağı ödemi gibi semptomlarla ilişkilidir. Genelde adenovirüsler viral konjonktivitte rol oynar (305).

Staphylococcus aureus, *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* bakteriyel konjonktivitin en yaygın nedenleridir. Enfeksiyon topikal antibiyotiklerle (örn. trimetoprim-polimiksin) tedavi edilir. Bakteriyel konjonktivit nadir nedenleri arasında neisseria ve chlamydia bulunur. *Neisseria meningitidis* veya *Neisseria gonorrhoeae* tipik olarak bol, pürülan konjonktival akıntı ile karakterize hiperakut konjonktivite neden olur (220).

Alerjik konjonktivit ise kaşıntı, yanma hissi ve gözlerde sulanma gibi semptomlarla karakterizedir ve antihistaminikler, mast hücre stabilizatörleri, kortikosteroidler ve immünoterapi gibi çeşitli tedavi seçenekleri ile yönetilebilir (306, 307).

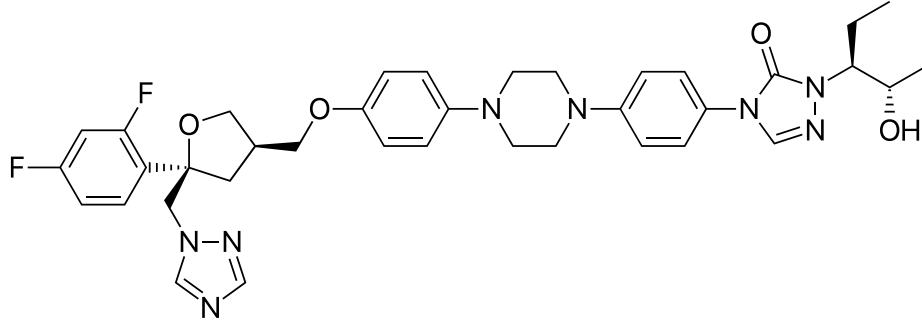
2.7. Posakonazol Hakkında Genel Bilgiler

Fungal enfeksiyonlar özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireyleri etkileyen önemli bir küresel sağlık sorununu oluşturmaktadır (308). Fungal enfeksiyonların tedavisi büyük ölçüde antifungal ilaçlar ile yapılmaktadır. Tedavide patojene uygun etken maddenin, dozun ve dozaj formunun seçilmesi büyük önem taşımaktadır. Fungal enfeksiyonlarda etken madde olarak amfoterisin B, imidazol grubu ve triazol grubu antifungaller önemli rol oynamaktadır. Triazol grubu antifungaller arasında vorikonazol, itraconazol, flukonazol, ketokonazol ve posakonazol yer almaktadır (309).

2.7.1. Fizikokimyasal Özellikleri

Posakonazol (PSC), $C_{37}H_{42}F_2N_8O_4$ kapalı formülüne sahip, molekül ağırlığı 700,78 g/mol olan beyaz renkte kristalize tozudur. Log P değeri 5,5 ve erime derecesi 170-172 °C'dir. Suda pratik olarak çözünmeyen PSC, Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'ne (BCS) göre sınıf II'de yer alan bir ilaçtır. DMSO ve metanol'de çözünür (310-312). Yapısal olarak itraconazole benzeyen antifungal bir ajandır. İtraconazolün fenil halkasında klor atomlarının flor ile dioksolan halkasının, furan halkası ile değiştirilmesi sonucu itraconazolden türetilmiş bir ilaçtır. Posakonazol üzerindeki genişletilmiş hidrofobik yan zincir, flukonazol veya vorikonazole göre daha geniş bir antifungal aktivite spektrumu ve hedef enzime daha yüksek bağlanma afinitesi sağlamaktadır. Bu daha sıkı bağlanma afinitesinin, hedef enzimi direnç oluşturabilecek

mutasyonlara karşı daha az duyarlı hale getirdiği düşünülmektedir (313, 314). Şekil 2-2’de Posakonazol’ün kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2-2: Posakonazol’ün Kimyasal Yapısı

Posakonazolün IUPAC isimlendirmesi: 4-[4-[4-[4-[(3R,5R)-5-(2,4-difluorofenil)tetrahydro-5-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmetil)-3-furanil]metoksi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-2-[(1S,2S)-1-etil-2-hidroksiopropil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-on

2.7.2. Posakonazolün Etki Mekanizması

PSC geniş spektrumlu, ikinci nesil tirazol grubu antifungal bir ilaçtır. Diğer triazol türevlerine benzer şekilde PSC, mantar hücre zarının önemli bir bileşeni olan ergosterol biyosentezinin son aşamalarında işlev gören ve bir *sitokrom P450* enzimi olan *lanosterol 14-alfa-demetilazın* (veya CYP51A1) inhibisyonu yoluyla ergosterol sentezini inhibe eder. Bu durum metillenmiş sterol öncüllerinin birikmesine ve mantar hücre zarında ergosterolün tükenmesine neden olur, bunun sonucunda mantar hücre zarının yapısı, işlevi ve kitin sentezi bozulmuş olur (315).

2.7.3. Farmakokinetik Özellikleri

Farmakokinetik, ilaç etken maddelerinin emilim, dağılım, metabolizma ve eliminasyon (ADME) açısından vücutla nasıl etkileşime girdiğini matematiksel modeller oluşturarak inceleyen bilim dalıdır. Biyoyararlanım, yarılanma ömrü ve klirens oranları gibi faktörleri göz önünde bulundurarak ilaçların vücutta nasıl hareket ettiğini incelemeyi içerir (316, 317). Farmakokinetik çalışmalar, yan etkileri en aza indirirken terapötik etkinliğe ulaşmak için ilaçların en uygun dozaj formunu belirlemek için oldukça önemlidir(318).

İlaç pazarında PSC etken maddesi içeren Noxafil® oral süspansiyon (40 mg/mL), Noxafil® geciktirilmiş salım tablet (100 mg) ve Noxafil® iv infüzyon (300 mg/16,7 mL) bulunmaktadır.

Yapılan çalışmalarda oral süspansiyon ve geciktirilmiş-salım tablet farmakokinetik açıdan incelendiğinde aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

Absorbsiyon: Oral süspansiyon için k_a değerinin farklı hasta gruplarında farklı olduğu ve çoğunlukla 0.40 ila 0.77 h⁻¹ arasında değiştiği bildirilmiştir, bu da 0.90 ila 1.7 saat arasında bir emilim yarı ömrüne ($t_{1/2}$) karşılık gelmektedir. Posakonazol süspansiyonunda k_a için yüksek bireyler arası değişkenlik (%53,4) bildirilmiştir. Geciktirilmiş salımlı tablet için de benzer k_a değerleri bildirilmiştir (0.59 h⁻¹ ve 0.85 h⁻¹), k_a 'daki bireyler arası değişkenlik (%57.5) oral süspansiyondaki kadar yüksektir. İki formülasyonda sağlıklı gönüllülerde yaklaşık %50 'lik bir biyoyararlanım (F) göstermektedir (319).

Dağılım: Oral süspansiyon için, dağılım hacminin hastalarda yaklaşık 2447 L olduğu, sağlıklı gönüllülerde tok durumda 427 L ve açlık durumunda ise 1450 L olduğu bildirilmiştir. Bu önemli değişkenlik, gıda alımı gibi fizyolojik faktörlerin ilaç dağılımı üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Geciktirilmiş salımlı tablet formülasyonu daha düşük bir dağılım hacmine sahiptir, yaklaşık 583.3 L'dir ve aç-tok alımdan minimal düzeyde etkilendiği görülmüştür. İki formülasyon için de posakonazol, ağırlıklı olarak albümine olmak üzere proteinlere yüksek oranda (>%98) bağlanmaktadır (319).

Metabolizma: Posakonazol plazmada ana bileşik olarak dolaşır. Çok sınırlı şekilde metabolize olur. Dolaşımdaki metabolitlerin çoğunluğu UDP glukuronidasyon (faz 2 enzimleri) yoluyla oluşan glukuronid konjugatlarıdır. Posakonazolün dolaşımdaki majör oksidatif (CYP450 aracılı) metaboliti yoktur. İdrar ve feçesle atılan metabolitler, dozun ~%17'sini oluşturur (319).

Eliminasyon: Posakonazolün eliminasyonu temel olarak hepatik metabolizma yoluyla gerçekleşir. Oral süspansiyon için terminal yarılanma ömrü ortalama 35 saat (20-66 saat aralığında) iken geciktirilmiş salımlı tablet formülasyonunda bu değer ortalama 29 saat (26-31 saat aralığında) olduğu bulunmuştur. Klirens (CL/F) 32-44 L/saat arasında değişmektedir. Posakonazol esas olarak feçes yoluyla atılır (%77), idrarla atılımı (%14) düşüktür (319).

2.7.4. *In vitro* Antifungal Aktivitesi

Posakonazol, *Candida* ve *Aspergillus* türleri gibi yaygın patojenik mantar türlerinin yanı sıra *Mucorales* ve bazı *Fusarium* türleri gibi daha az yaygın olan patojenlere karşı da geniş aktivite göstermektedir. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi'ne (EUCAST) göre, *A. fumigatus* için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK veya MIC) duyarlı suşlar için $\leq 0,12$ $\mu\text{g/mL}$ ve dirençli suşlar için $>0,25$ $\mu\text{g/mL}$, *A. terreus* için $0,25$ $\mu\text{g/mL}$ ve *A. favus*, *A. nidulans* ve *A. niger* için $0,5$ $\mu\text{g/mL}$ 'dir. Posakonazolün *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis* ve *C. tropicalis*'e karşı MIC değerleri duyarlılar için $\leq 0,06$ $\mu\text{g/mL}$ ve dirençliler için $>0,06$ $\mu\text{g/mL}$ olarak tanımlanmıştır. *C. guilliermondii*, *C. krusei* ve *C. glabrata* için sırasıyla $0,25$, $0,5$ ve $1,0$ $\mu\text{g/mL}$ gibi daha yüksek MIC değerleri belirlenmiştir (320).

2.7.5. Yan Etkileri

Posakonazol tedavisi ile bildirilen yaygın yan etkilerinin arasında bulantı, kusma, karın ağrısı gibi gastrointestinal rahatsızlıklar ve baş ağrısı, baş dönmesi gibi nörolojik semptomlar yer almaktadır (321).

Bazı durumlarda, posakonazol daha ciddi yan etkilerle ilişkilendirilmiştir. Örneğin, posakonazolün vinkristin ile birlikte uygulanmasının potansiyel olarak ciddi bir komplikasyon olan periferik nöropati riskini artırdığı bildirilmiştir (322). Bu potansiyel yan etkilere rağmen, posakonazol genellikle iyi tolere edilir ve uzun süreli kullanımda bile ciddi advers olaylar çok nadir görülmektedir (323).

2.7.6. Posakonazolün Oküler Kullanımı

Posakonazolün oküler bir formu piyasada bulunmamaktadır. Oküler fungal enfeksiyon tedavisinde PSC'nin ilk kullanımı 2001 yılında Sponsel ve arkadaşları tarafından *Fusaium solani* kaynaklı ilerlemiş keratit ve endoftalmi tedavisinde denenmiştir. Amfoterisin B ve natamisin gibi antifungal tedavisine cevap alınamayınca, tedavide oral yoldan günde 4 defa 200 mg PSC'ye ek olarak topikal yoldan da saat başı 10 mg/ $0,1$ mL konsantrasyonda hazırlanan PSC süspansiyonu denemişlerdir. tırma ve yenilik şart olacaktır. Tedavinin ilk haftasında korneanın durumunda kayda değer bir iyileşme görülmüş, fibrin pıhtısı çözülmeye başlamış ve kornea periferinde belirgin bir temizlenme olmuştur (324).

Başka bir çalışmada ise vorikonazol, flukonazol, amfoterisin B ve natamisin dahil olmak üzere standart tedavilere dirençli mantar keratiti olan 14 ve 62 yaşlarındaki iki hastada tedavi günde 4 defa 200 mg PSC'ye ek olarak topikal yoldan da saat başı 4 mg/0,1 mL konsantrasyonda hazırlanan PSC süspansiyonu denenmiştir. Her iki hasta da birkaç gün içinde belirgin klinik iyileşme görülmüştür (325).

Yapılan son çalışmalar, oküler antifungal tedavi için posakonazolün potansiyelini araştırmaktadır. Durgun ve arkadaşları posakonazolün suda çözünürlüğünü ve oküler dokulara permeabilitesini artıran misel formülasyonları optimize etmiştir (326). Daha ileri araştırmalarda, posakonazolün oküler biyoyararlanımını artırmak için misel bazlı in situ jelleşme sistemlerine odaklanmış ve oküler toksisite olmaksızın yüksek antifungal aktivite göstermiştir (327).

Başka bir çalışmada Kitosan bazlı oküler insertler, oküler yüzeyde daha uzun kalma süresi sunan posakonazol için etkili bir ilaç taşıyıcı sistemi olarak geliştirilmiştir (328).

Sonuç olarak, bu bulgular, posakonazolün dirençli oküler mantar enfeksiyonlarının tedavisinde etkili bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir. Oküler uygulamasına yönelik kesin kılavuzlar oluşturmak için daha fazla araştırma ve klinik çalışma yapılması gerekmektedir.

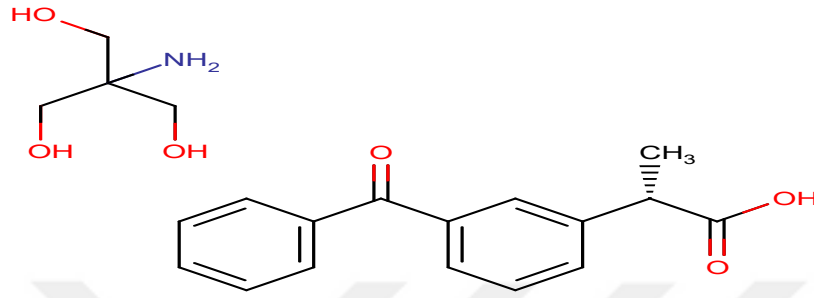
2.8. Deksketoprofen Trometamol Hakkında Genel Bilgiler

Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ'ler), anti-inflamatuar, analjezik ve antipiretik özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir ilaç sınıfıdır. NSAİİ'ler genellikle etkilerini siklooksijenaz (COX) enzimlerinin, özellikle COX-1 ve COX-2'nin inhibisyonu yoluyla gösterirler (329). Bu enzimleri inhibe ederek, inflamasyon ve ağrının temel araçları olan prostaglandinlerin üretimini engeller (330). Deksketoprofen Trometamol (DKP) propiyonik asit yapılı NSAİİ türü bir ilaçtır.

2.8.1. Fizikokimyasal Özellikleri

Deksketoprofen trometamol (DKP), $C_{20}H_{25}NO_6$ kapalı formülüne sahip, molekül ağırlığı 375.4 g/mol olan beyaz renkte kristalize yapılı tozudur. Log P değeri 3,61 ve erime derecesi 104.8-105.1°C'dir. Deksketoprofen trometamol, ketoprofenin dekstrorotatory enantiyomeri olan deksketoprofenin trometamin tuzudur. Kimyasal yapısı, onu rasemik muadilinden ayıran kiral bir merkezin varlığı ile karakterize edilir.

Deksketoprofen suda çözünmezken trometamol tuzu suda çözünür ve BCS sınıf I'de yer alan bir ilaçtır (331, 332). Şekil 2-3de deksketoprofen trometamol'ün kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2-3: Deksketoprofen Trometamol'ün Kimyasal Yapısı

Deksketoprofen Trometamol'ün IUPAC isimlendirmesi: 2-Amino-2-(hidroksimetil)propan-1,3-diol;2-(3-benzoilfenil)propanoik asit

Deksketoprofen trometamol, hem (S) hem de (R) enantiyomerlerini içeren rasemik bir karışım olan ketoprofenin aktif (S)-enantiyomeridir. Deksketoprofen trometamolün moleküler yapısı, (S)-enantiyomeri analjezik ve anti-inflamatuar etkilerden birincil olarak sorumlu olduğu için rasemik formdan daha üstün olmasını sağlar. Trometamol tuz formülasyonu, oral ve enjekte edilebilir preparatlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda bulunan ketopropene kıyasla çözünürlüğünü ve emilimini artırır. Ek olarak, deksketoprofen trometamolün hayvan inflamasyon ve analjezi modellerinde ketopropenden en az iki kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yan etki ve tolere edilebilirlik, deksketoprofen trometamolün ketopropene göre avantaj gösterdiği bir diğer alandır (333-335).

2.8.2. Deksketoprofen Trometamol'ün Etki Mekanizması

Deksketoprofen trometamol hem COX-1 hem de COX-2 enzimlerini inhibe eder. Bu enzimleri bloke ederek, araşidonik asidin prostaglandinlere dönüşümünü azaltır. Bu etki, dokulardaki prostaglandin seviyelerinin azalmasına yol açarak çeşitli durumlarla ilişkili ağrı ve inflamasyonu azaltmaktadır. Prostaglandin sentezindeki

azalma hem analjezik hem de anti-inflamatuar etkilere neden olur. Bu, deksketoprofen trometamolü hafif ila orta şiddetteki ağrıların tedavisinde etkili kılar (336).

2.8.3. Farmakokinetik Özellikleri

Absorpsiyon: Deksketoprofen trometamol, oral uygulandığında hızlı ve etkili emilimi ile bilinir. Uygulamadan sonra, ilaç hızla çözülür ve yüksek biyoyararlanıma yol açar. C_{max} değerine genel olarak 30 dakika ila 1 saat içinde ulaşılır, bu da hızlı etki başlangıcının göstergesidir. Yiyeceklerin varlığı emilimi biraz geciktirebilir ancak emilim derecesini önemli ölçüde değiştirmez. Bu hızlı emilim, akut ağrı durumlarında hızlı rahatlama sağlamak için son derece önemlidir (331, 337).

Dağıtım: Emilimden sonra deksketoprofen trometamol vücutta yaygın olarak dağılır. İlaç plazma proteinlerine, özellikle de albümine yüksek oranda (~%99) bağlanır. Bu yüksek protein bağlanma derecesi NSAİİ'ler arasında yaygındır ve ilacın dokular içindeki dağılımını etkiler. Deksketoprofen ayrıca nispeten düşük bir dağılım hacmi sergiler ($Vd/F < 0.25$ L/kg) (331, 337).

Metabolizma: Deksketoprofen, öncelikle glukuronik asit ile konjugasyon yoluyla, glukuronidasyon olarak bilinen bir süreçle hepatik metabolizmaya uğrar. Karaciğer, deksketoprofenin suda daha fazla çözünen ve dolayısıyla atılması daha kolay olan inaktif glukuronid metabolitlerine dönüştürülmesinde merkezi bir rol oynar. Hepatik sitokrom P450 enzimleri (CYP2C8 ve CYP2C9) tarafından metabolize edilir. Deksketoprofenin metabolizması stereoselektiftir, yani S(+) enantiyomer (deksketoprofen) rasemik ketoprofende bulunan R(-) enantiyomere kıyasla daha verimli bir şekilde metabolize edilir. Hidroksilasyon ile metabolizasyon düşük oranda gerçekleşmektedir (331, 337).

Eliminasyon: Deksketoprofenin eliminasyonu primer olarak renaldir, ilacın çoğunluğu (%70-80) idrarla inaktif glukuronid metabolitleri olarak atılır. Deksketoprofenin eliminasyon yarılanma ömrü 1.65 saattir ve nispeten kısadır, bu da sürekli terapötik etki için daha sık dozlama gerektirir. Bununla birlikte, kısa yarılanma ömrü ilaç birikimi ve buna bağlı toksisite riskini de azaltır. Hızlı eliminasyon, deksketoprofen trometamolü kısa süreli rahatlamanın gerekli olduğu akut ağrı ataklarının yönetimi için uygun hale getirmektedir (331, 337).

2.8.4. Yan Etkileri

Deksketoprofen trometamol genellikle iyi tolere edilse de, gastrointestinal sorunlar, mide bulantısı ve kusma gibi yan etkilere neden olabilir. Nadir vakalarda, intravenöz DKP infüzyonunu takiben anafilaktik şok bildirilmiştir (338). Az sayıda vakada ($< \% 0.01$) ise nötropeni, trombositopeni ve karaciğer hasarı gibi nadir fakat ciddi advers etkiler görülmüştür (339). Pazarlama sonrası yapılan bir çalışmada, çoğu olumsuz olayın hafif ila orta şiddette olduğunu ve en yaygın şikayet olarak gastrointestinal yan etkilerin raporlandığını göstermiştir (340).

2.9. Fungal Enfeksiyonlarda Kombinasyon Tedavisi

Antifungal ajanların NSAİİ'ler ile kombine halde uygulanması mantar enfeksiyonlarının tedavisinde umut vaat etmektedir. Çalışmalar, aspirin, ibuprofen ve diklofenak gibi NSAİİ'lerin antifungal ilaçlarla birlikte kullanıldığında antifungal aktiviteyi artırabildiğini göstermiştir. Örneğin, NSAİİ'lerin flukonazol ile kombinasyonunun *Candida* adezyonunu, biyofilm gelişimini önemli ölçüde azalttığı ve flukonazol duyarlılığını artırdığı bulunmuştur (341).

NSAİİ'lerin antifungal etkilerinin siklooksijenaz (COX) enziminin inhibisyonu yoluyla prostaglandin seviyesinin düşmesi sonucunda olduğu düşünülmektedir. Bu durum biyofilm oluşumu, hifal büyüme ve hücre dışı polisakkarit üretimi gibi mantar virülans faktörlerini etkileyebilmektedir. Mantar enfeksiyonu sırasında prostaglandin E2 (PGE2) seviyelerinin modüle edilmesi, NSAİİ'lerin antifungal aktivitelerini gösterdikleri potansiyel bir mekanizma olarak gösterilmektedir (342).

Araştırmalar, aspirin ve diklofenak gibi NSAİİ'lerin *Candida* türlerinde biyofilm oluşumunu önemli ölçüde engelleyebileceğini göstermektedir. Örneğin, aspirinin farmakolojik konsantrasyonlarda biyofilm üretimini %95'e kadar inhibe ettiği ve hem hücrelerin adezyonunu hem de biyofilmlerin olgunlaşmasını etkilediği gösterilmiştir (343).

NSAİİ'lerin antifungal ajanlarla kombinasyon tedavisi hakkında yapılan çalışmalarda *Candida* türleri biyofilmlerine karşı anidulafungin ile aspirin, diklofenak veya ibuprofen kombine edildiğinde sinerjik etkiler gözlenmiştir (344). Benzer şekilde, amfoterisin B ve kaspofungin, hem planktonik hem de biyofilm formlarında *Trichosporon asahii*'ye karşı ibuprofen ile sinerjik etkileşimler göstermiştir (345). Bir vaka raporunda *Madurella mycetomatis*'in neden olduğu fungal miçetoma'nın tedavi

rejimine diklofenak eklendikten sonra belirgin bir şekilde iyileştiği tanımlanmış ve anti-inflamatuar ilaçların fungal enfeksiyonların yönetiminde potansiyel bir rolü olduğu öne sürülmüştür (346). Başka bir çalışmada ise posakonazol, *Candida albicans* ve *Candida glabrata* suşlarına karşı ibuprofen ile sinerjistik etki göstermiştir (347).

Ayrıca, NSAİİ'lerin antifungal ilaçlarla kombine edilmesi, hem fungal enfeksiyonunu hem de ilişkili enflamatuar yanıtı hedef alarak tedavinin etkinliğini artırabilir. Araştırmalar, kombinasyonun özellikle monoterapinin başarısız olduğu invaziv mantar enfeksiyonlarının tedavisinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir (348).

Sonuç olarak, NSAİİ'ler ve antifungal ilaçların kombinasyonu, özellikle dirençli suşların neden olduğu fungal enfeksiyonların tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak umut vaat etmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

- Asetonitril – Merck, Almanya
- Hidroklorik Asit (HCl) – Tekim, Türkiye
- Kalsiyum Klorür Dihidrat – Merck, Almanya
- Metanol – Merck, Almanya
- Metanol (HPLC Saflığında) – Merck, Almanya
- Pluronik F127 (Polietilen glikol-b-polipropilen-b-polietilen glikol) - BASF, Almanya
- Polivinil alkol (Kollicoat® Protect) - BASF Pharma, Almanya
- Posakonazol – MSN Laboratories, Hindistan
- PVP K30 (Kollidon 30) - BASF Pharma, Almanya
- PVP K90 (Kollidon 90) - BASF Pharma, Almanya
- Sodyum Bikarbonat – Merck, Almanya
- Sodyum Klorür – Merck, Almanya
- Sodyum Lauril Sülfat – Merck, Almanya
- TPGS-PEG 1000 (D- α -Tokoferol polietilen glikol 1000 suksinat) – BASF, Almanya

3.1.2. Kullanılan Aletler

- Elektroegirme cihazı - NE-200 Model, Inovenso - Innovative Engineering Solutions, ABD
- Floresan Mikroskop Işık Mikroskobu - KERN & SHON, Almanya
- Hassas Terazî – Sartorius, Almanya
- Santrifüj – Hettich Mikroliter D-7200 Tuttlingen, Türkiye

- HPLC – Shimadzu, Japonya
- Ultra Saf Su Cihazı – Merck Millipore, Almanya
- Distile Su Cihazı - Merck Millipore, Milli-Q Integral, Almanya
- Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı – IKA, Almanya
- Ultrasonik banyo – Bersonik
- Vorteks - IKA® Vortex-Genius 3, Almanya
- Orbital Karıştırıcı - Thermo Electron Corporation Model 420, IKA HS501, Almanya
- ATR-FTIR - Shimadzu, Japonya
- DSC-60 - Shimadzu, Japonya
- FESEM - Thermo Scientific, ABD
- Franz Difüzyon Hücreleri 12 mL - PermeGear, ABD
- pH Metre - Hanna Instruments, ABD
- Kuluçka Makinesi – Beren Kuluçka, Türkiye
- Rotari Evaporatör – IKA, Almanya
- Valia-chien Hücreleri - PermeGear, ABD
- Zetasizer NanoZS - Malvern, İngiltere

3.1.3. Kullanılan Malzemeler

- Beher 10,20,50,10 mL
- Balon joje 100,250 mL
- Eppendorf tüpü - 1,5 ml, Lp İtalya
- HPLC kolonu (Ters faz C18, 4,6 X 150 mm, 5 µm; EMD Millipore)
- Manyetik balık (PTFE Teflon, Oval, 20 x 10 mm, 10 x 6 mm, 20 x 6 mm)
- Mikropipet (0,5-10 µL) – Eppendorf, Almanya
- Mikropipet (100-1000 µL) – Eppendorf, Almanya

- Mikropipet (10-100 μL) – Eppendorf, Almanya
- Mikropipet (1-5 mL) – Eppendorf, Almanya
- Mikropipet (20-200 μL) – Eppendorf, Almanya
- Parafilm (38 x 100 mm) – Brand
- Pastör pipeti (3 mL)
- PTFE 0,45 μm filtre – Sartorius, Almanya
- RC 0,45 μm filtre - Sartorius, Almanya
- Selüloz Asetat Membran – Sartorius, Almanya
- Steril enjektör (5 mL)

3.2. Yöntem

3.2.1. Etken Maddeler Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1. Posakonazolün İnfrared (IR) Spektrumu

Toz haldeki Posakonazol (PSC) etken maddesinin IR spektrumu ATR-FTIR spektrofotometresi (Shimadzu, Japonya) kullanılarak çekilmiştir. PSC, ATR kristali (ZnSe kristal) üzerine yerleştirilmiş ve temasın tam olarak sağlanması için 60 N kuvvet uygulanmıştır. Daha sonra, 4000-650 cm^{-1} dalga boyu aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükte spektrum çekilmiştir.

3.2.1.2. Deksketoprofen Trometamolün İnfrared (IR) Spektrumu

Toz haldeki Deksketoprofen Trometamol (DKP) etken maddesinin IR spektrumu ATR-FTIR spektrofotometresi (Shimadzu, Japonya) kullanılarak çekilmiştir. PSC, ATR kristali (ZnSe kristal) üzerine yerleştirilmiş ve temasın tam olarak sağlanması için 60 N kuvvet uygulanmıştır. Daha sonra, 4000-650 cm^{-1} dalga boyu aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükte spektrum çekilmiştir.

3.2.1.3. Posakonazolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

PSC'nin termal özellikleri Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) analizi kullanılarak DSC-60 (Shimadzu, Japonya) cihazıyla belirlenmiştir. PSC toz halde alüminyum hermetik bir tava içine yerleştirilirken, bir numune tepsisi referans olarak

kullanılmıştır. Analizler, azot gazı atmosferinde 10°C'den 300°C'ye kadar 10°C / dakika ısıtma hızıyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.4. Deksketoprofen Trometamolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

DKP'nin termal özellikleri Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) analizi kullanılarak DSC-60 (Shimadzu, Japonya) cihazıyla belirlenmiştir. PSC toz halde alüminyum hermetik bir tava içine yerleştirilirken, bir numune tepsisi referans olarak kullanılmıştır. Analizler, azot gazı atmosferinde 10°C'den 300°C'ye kadar 10°C / dakika ısıtma hızıyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.5. Etken Maddelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Analiz Yöntemi

Tez çalışmasında DKP ve PSC etken maddelerinin miktar tayinlerinin yapılabilmesi için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılmıştır. HPLC yüksek hassasiyette, kolay, hızlı ve güvenilir bir metoddur.

İki ayrı etken maddenin miktar tayinini güvenilir bir şekilde tek okutmada yapabilmek için bir çok farklı metod denenmiştir. Sonuç olarak uygulanan HPLC metodu Safique ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri çalışmadan modifiye edilmiştir (349). Tablo 3-1'de HPLC ile miktar tayininde kullanılan metodun koşulları gösterilmiştir.

Tablo 3-1: HPLC ile miktar tayininde kullanılan metod koşulları

Kolon	C18 (Inertsil ODS-3 5 mikrometre 4,6 x 260 mm)
Dedektör	UV
Mobil faz	Metanol:Su (80:20) (HCl ile ph 3,5'e ayarlanmıştır)
Kolon sıcaklığı	35 °C
Kolon akış hızı	0,8 mL / dk
Enjeksiyon hacmi	20 µl
Dalga boyu	262 nm

Analitik yöntem validasyonu, ICH (International Council for Harmonisation) tarafından yayınlanan "ICH Analitik Prosedürlerin Değerlendirilmesi Metin ve Metodoloji Q2 (R1)" rehberine uygun olarak yapılmıştır (350).

İncelenen yöntem parametreleri aşağıdaki gibidir:

- “Doğrusallık (linearity)
- Doğruluk (accuracy)
- Kesinlik (precision)
- Seçicilik (specifity)
- Duyarlılık (sensitivity)
- Stabilitate (stability) (etken maddenin teşhis ve tayin aşamasında)”

Doğrusallık (linearity): 62,5 mg DKP ve PSC ayrı ayrı tartılarak farklı balon jojelerde 50 mL metanolde çözündürülmüş ve ultrasonik banyoda 5 dk bırakılmıştır. Sonrasında balon jojelerde 250 mL’ye matanol ile tamamlanarak etken madde konsantrasyonu 250 µg / mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu çözeltilerden 20’şer mL alınıp metanol ile 50 mL’ye tamamlanarak 100 µg / mL olacak şekilde 1. Ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. 1. Ara stok çözeltisinden 10 mL alınıp metanol ile 50 mL’ye seyreltilerek 5 µg / mL olacak şekilde 2. Ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan stok ve ara stok çözeltileri belirli oranlarda 10 mL’ye seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda etken maddeleri içeren çözeltiler hazırlanmıştır. DKP ve PSC için çözeltiler ayrı ayrı hazırlandıktan sonra bu çözeltiler 1:1 karıştırılarak iki aynı konsantrasyonda etken maddeyi de içeren çözeltiler elde edilmiştir. Hazırlanan ve farklı konsantrasyonlara sahip DKP-PSC çözeltilerinin bilgileri Tablo 3-2’de gösterilmiştir.

Tablo 3-2: DKP-PSC için stok ve standart çözeltiler

Etken Maddelerin Stok Çözeltilerinin Konsantrasyonları	Alınan Hacim	Tamamlanan Hacim	DKP İçin Elde Edilen Çözeltinin Konsantrasyonu	PSC İçin Elde Edilen Çözeltinin Konsantrasyonu	1:1 Karışım Sonucu DKP- PSC İçin Elde Edilen Çözeltinin Konsantrasyonları
Ana stok çözelti (250 µg / mL)	10 mL	10 mL	250 µg / mL	250 µg / mL	125 µg / mL
	8 mL	10 mL	200 µg / mL	200 µg / mL	100 µg / mL
	6 mL	10 mL	150 µg / mL	150 µg / mL	75 µg / mL
	20 mL	50 mL	100 µg / mL (1. ara stok)	100 µg / mL (1. ara stok)	50 µg / mL
1. ara stok çözelti	5 mL	10 mL	50 µg / mL	50 µg / mL	25 µg / mL

(100 µg / mL)	2 mL	10 mL	20 µg / mL	20 µg / mL	10 µg / mL
	1 mL	10 mL	10 µg / mL	10 µg / mL	5 µg / mL
	2,5 mL	50 mL	5 µg / mL (2. ara stok)	5 µg / mL (2. ara stok)	2,5 µg / mL
2. ara stok çözelti (5 µg / mL)	2 mL	10 mL	1 µg / mL	1 µg / mL	0,5 µg / mL
	1 mL	10 mL	0,5 µg / mL	0,5 µg / mL	0,25 µg / mL
	0,5 mL	10 mL	0,25 µg / mL	0,25 µg / mL	0,125 µg / mL
	0,2 mL	10 mL	0,1 µg / mL	0,1 µg / mL	0,05 µg / mL
	0,1 mL	10 mL	0,05 µg / mL	0,05 µg / mL	0,025 µg / mL

0,025, 0,05, 0,0125, 0,25, 0,5, 2,5, 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg / mL konsantrasyonlarının pik alanlarından elde edilen değerler kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır. Ek olarak doğrunun denklemi belirlenmiş ve determinasyon katsayısı (R^2), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) değerleri hesaplanmıştır.

Doğruluk: 62,5 mg DKP ve PSC ayrı ayrı tartılarak farklı balon jojelerde 50 mL metanolde çözündürülmüş ve ultrasonik banyoda 5 dk bırakılmıştır. Sonrasında balon jojelerde 250 mL'ye metanol ile tamamlanarak etken madde konsantrasyonu 250 µg / mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu çözeltilerden 20'şer mL alınıp metanol ile 50 mL'ye tamamlanarak 100 µg / mL olacak şekilde 1. Ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. 1. Ara stok çözeltisinden 10 mL alınıp metanol ile 50 mL'ye seyreltilerek 5 µg / mL olacak şekilde 2. Ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan stok ve ara stok çözeltileri belirli oranlarda 10 mL'ye seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda etken maddeleri içeren çözeltiler hazırlanmıştır. DKP ve PSC için çözeltiler ayrı ayrı hazırlandıktan sonra bu çözeltiler 1:1 karıştırılarak iki aynı konsantrasyonda etken maddeyi de içeren çözeltiler elde edilmiştir. Elde edilen DKP-PSC çözeltilerinden 5, 50 ve 100 µg / mL konsantrasyonlu olanlar seçilerek çalışma yapılmıştır. HPLC tarafından analiz edilen çözeltilerin pik alanlarından, doğrusallık çalışması sırasında elde edilen doğru denklemi kullanarak çözeltilerdeki DKP ve PSC konsantrasyonları tespit edilmiştir. Yöntemin doğruluğu, % geri kazanma değerlerinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir.

Keskinlik:

- **Gün İçi Keskinlik:**

Doğruluk çalışmasında olduğu gibi üç farklı konsantrasyonda (5, 50 ve 100 µg / mL) örnek hazırlanarak her örnek 3'er kez analiz edilmiştir. Doğru denklemi yardımıyla DKP ve PSC miktarları hesaplanarak sonuçların ortalamaları, SD ve %RSD değerleri hesaplanmıştır. RSD değerinin %2'den küçük olup olmadığı tespit edilmiştir.

- **Günler arası keskinlik:**

Birinci gün yapılan ve yukarıda anlatılan gün içi keskinlik çalışması aynı şekilde 2. ve 3. Günlerde de tekrar edilmiştir. Üç günün sonuçlarının ortalamaları, SD ve % RSD değerleri hesaplanmıştır. RSD değerinin %2'den küçük olup olmadığı tespit edilmiştir.

Seçicilik: Metodun seçiciliğini belirleyebilmek amacıyla etken maddeleri içeren ve içermeyen formülasyonlar ve 5 µg / mL konsantrasyonlarda DKP ve PSC içeren çözelti hazırlanmıştır. Tüm çözeltiler analiz edilerek etken maddelerin pik verdiği retansiyon zamanında, kullanılan polimerler, çözücüler ve sürfaktanların pik verip vermediği tespit edilmiştir.

Duyarlılık:

- **Teşhis Limiti:**

Analiz edilen maddenin kalitatif olarak saptanabildiği en düşük konsantrasyondur. Aynı zamanda maddenin pik verdiği ancak sinyal-gürültü oranına göre kantitatif analizin yapılamadığı konsantrasyona da denir.

Teşhis limiti olarak sinyal-gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilmektedir. DKP ve PSC'nin teşhis limitlerini bulabilmek için 0,0025, 0,005, 0,01, 0,025, 0,05 ve 0,1 µg / mL konsantrasyonlarda DKP-PSC standart çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltiler HPLC'de analiz edilerek sinyal:gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon tespit edilmiştir.

- **Miktar Tayini Limiti:**

Analiz edilen maddenin kabul edilebilir keskinlik ve doğruluk ile tayin edilebileceği en düşük konsantrasyona denir.

Miktar tayini limiti olarak sinyal-gürültü oranının 10:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilmektedir. DKP ve PSC'nin miktar tayini limitlerini bulabilmek için 0,0025, 0,005, 0,01, 0,025, 0,05 ve 0,1 µg / mL konsantrasyonlarda DKP-PSC standart çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltiler HPLC'de analiz edilerek sinyal:gürültü oranının 10:1 olduğu konsantrasyon tespit edilmiştir.

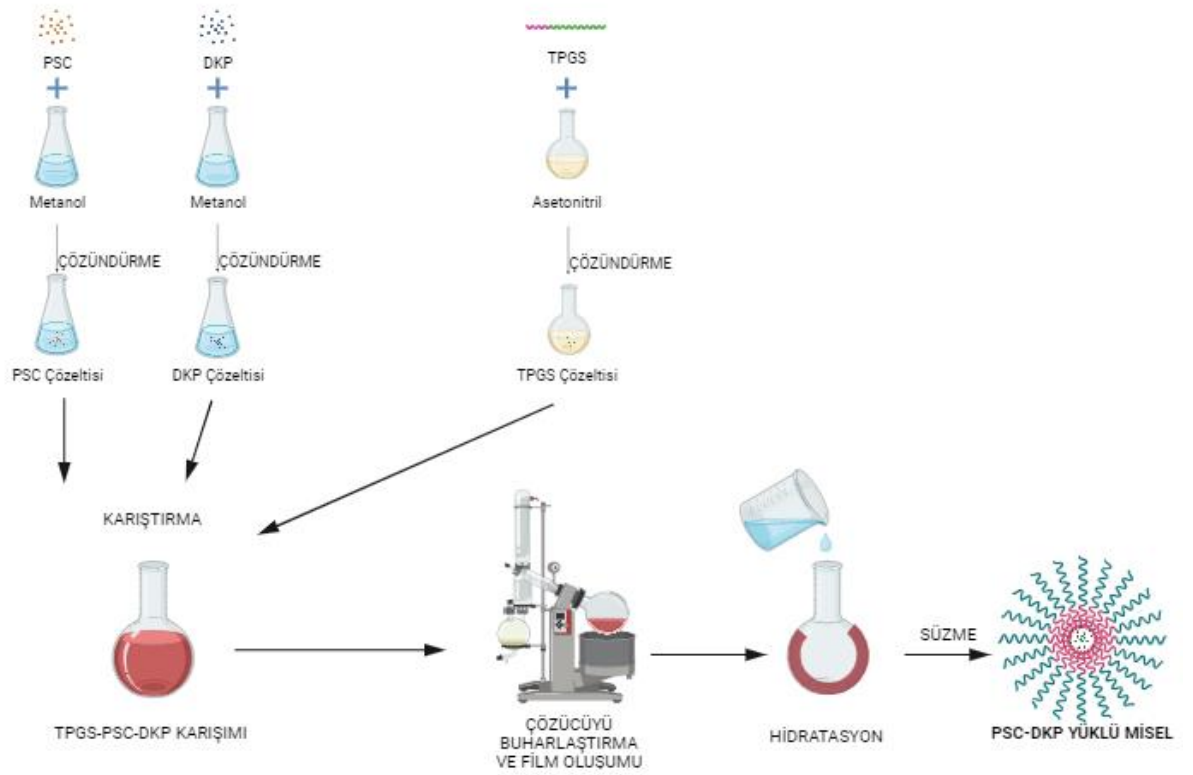
Stabilite: Doğruluk çalışmasında olduğu gibi 5 µg / mL konsantrasyonlarda DKP ve PSC içeren çözelti hazırlanmıştır. Bu çözelti çözelti 0., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde HPLC'de analiz edilerek ve pik alanlarının oranları kullanılarak etken maddelerin konsantrasyonlarında herhangi değişiklik olup olmadığı ve farklı bir pik oluşup oluşmadığı tespit edilmiştir.

3.2.2. Misel Formülasyonunun Hazırlanması

Misel formülasyonunu hazırlayabilmek için Durgun ve ark. (326) tarafından geliştirilen metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Film oluşturma metoduyla misel formülasyonunun hazırlanması üzerinde çalışılmıştır.

Film oluşturma metodunda, TPGS asetonitril içerisinde çözündürülmüştür. PSC ve DKP ayrı ayrı metanolde çözündürüldükten sonra manyetik karıştırıcı üzerinde her iki çözeltilerden de damla damla TPGS çözeltisi üzerine eklenmiş ve karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti cam balona aktararak rotavaporda 60 °C'de 120 rpm hızla 20 dk karıştırılmıştır. Ardından balon içerisindeki basınç 150 mbar'a kadar düşürülerek asetonitril ve metanol uçurulmuş böylece balon içerisinde film oluşturulmuştur. Uçurma işleminin ardından balon çeker ocağa alınarak 20 dk bekletilmiştir. Daha sonra balon içerisine serum fizyolojik eklenerek hidrasyon işlemi için rotavaporda (ortam basıncı değiştirilmeden) 60 °C'de 120 rpm hızla 1 saat karıştırılmıştır. Hidrasyon işleminin ardından hazırlanan misel çözeltisi 1 saat bekletilerek PTFE 0,45 µm filtreden (Macherey-Nagel GmbH & Co KG, Duren, Almanya) süzölmüştür.

Şekil 3-1'de film oluşturma metoduyla misel hazırlanması şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3-1: Film oluşturma yöntemi ile misel hazırlanmasının şematik gösterimi

Yukarıdaki şekilde şematize edilen misel formülasyonu üretim çalışmalarında farklı miktarlarda ve konsantrasyonlarda PSC, DKP ve TPGS ile denemeler yapılmış ve optimum formülasyonun bulunması hedeflenmiştir. Bunun için hazırlanan miseller 1 ay boyunca gözlemlenmiş partikül büyüklüğü, dağılımı ve fiziksel stabilite durumlarına göre karar verilmiştir.

Miseller için yapılan önformülasyon çalışmaları Tablo 3-3'te özetlenmiştir.

Tablo 3-3: Misel üretimi için yapılan önformülasyon çalışmaları

Formülasyon İsmi	PSC Konsantrasyonu	DKP Konsantrasyonu	TPGS Konsantrasyonu
M1	250 µg/mL	10mg/mL	20 mg/mL
M2	500 µg/mL	10mg/mL	20 mg/mL

M3	750 µg/mL	10 mg/mL	20 mg/mL
M4	1 mg/mL	10 mg/mL	20 mg/mL
M5	750 µg/mL	10 mg/mL	25 mg/mL
M6	1 mg/mL	10 mg/mL	25 mg/mL
M7	1,5 mg/mL	10 mg/mL	25 mg/mL
M8	750 µg/mL	15 mg/mL	25 mg/mL
M9	1 mg/mL	15 mg/mL	25 mg/mL
M10	1,5 mg/mL	15 mg/mL	25 mg/mL

3.2.3. Nanolif Formülasyonlarının Optimizasyon Çalışması

Miselleri nanolif formülasyonu içerisine enkapsüle edebilmek için literatürlerde sıkça tercih edilen elektroegirme yöntemi kullanılmıştır (158, 351, 352). Farklı oranlardaki uygun polimerler misel formülasyonlarında çözündürülerek hazırlanan polimerik misel çözeltilerin, elektroegirme cihazı kullanılarak nanolif formuna getirilmesi planlanmıştır.

- **Polivinil Alkol (PVA) Nanoliflerinin Hazırlanması**

Misel içeren nanoliflerin hazırlanması amacıyla doğru polimer oranını bulabilmek için etken madde ve misel içermeyen (boş) nanoliflerin hazırlanması üzerinde çalışılmıştır. İlk başta PVA'nın lif atabilecek konsantrasyonunun belirlenmesi için çalışmalar yapıldı. PVA'nın %15-%30 (a/a) konsantrasyon ağırlığında sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Distile su ve PVA karışımı, manyetik karıştırıcı üzerinde ağzı sıkıca kapatılmış kaplarda, 55 °C'de ve 350 rpm'de 5 saat boyunca karıştırılarak homojen çözelti elde edilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan homojen çözeltiler 5 mL'lik enjektörlere alınarak elektroegirme cihazının içerisindeki şırınga pompasına yerleştirilmiştir. Şırınganın ucu polietilen kolon yardımıyla cihazın enjektör ucuna bağlanmış ardından

elektroegirme cihazı çalıştırılarak elektrik akımı ile polimer çözeltisinden polimerik jet oluşturularak nanolif üretimi üzerine çalışılmıştır.

Nanolifler, elektroegirme cihazında bulunan alüminyum folyo ile kaplanmış plakada toplanmıştır. Üretim esnasında farklı proses parametreleri (polimer konsantrasyonu, enjektör ile plaka arasındaki mesafe, elektrik potansiyel gücü, polimer çözeltisinin akış hızı ve enjektör tipi) denenerek optimum nanolif elde edilme üzerine çalışılmıştır. Ayrıca nanoliflerin toplandığı alüminyum plağa yerleştirilen lamin üzerindeki nanolifler ışık mikroskobu ile yapısal olarak incelenmiştir. Bu sayede nanosprey veya boncuk oluşumu olup olmadığı kontrol edilmiştir. PVA içeren boş nanoliflerinin optimizasyonu için kullanılan elektroegirme parametreleri Tablo 3-4’de verilmiştir.

Tablo 3-4: PVA içeren boş nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler

Formülasyon ismi	Polimer ve oranı (%a/a)	Parametreler				Çözücü
		Enjektör Tipi	Akış Hızı (mL/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)	
F1	PVA (%15)	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	20-25	Distile Su
F2	PVA (%18)	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	20-25	Distile Su
F3	PVA (%20)	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	20-25	Distile Su
F4	PVA (%22)	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	20-25	Distile Su
F5	PVA (%25)	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	20-25	Distile Su
F6	PVA (%30)	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	20-25	Distile Su

- Polivinil Pirolidon (PVP) Nanoliflerinin Hazırlanması**

Misel içeren nanolifler hazırlanmadan önce uygun PVP konsantrasyonunu bulabilmek için sadece suda çözünmüş PVP çözeltileri ile etken madde içermeyen (boş) nanoliflerin hazırlanması üzerine çalışılmıştır. Ayrıca PVP polimeri olarak iki farklı

molekül ağırlığındaki PVP Kollidon 30 ve PVP Kollidon 90 (PVP K30 ve PVP K90) denenmiştir.

Farklı konsantasyonlarda (a/a) PVP sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Bunun için distile su ve PVP karışımı, manyetik karıştırıcı üzerinde ağzı sıkıca kapatılmış kaplarda, oda sıcaklığında 400 rpm'de 5 saat boyunca karıştırılarak homojen çözelti elde edilmiştir.

Hazırlanan çözeltiler 5 mL'lik enjektörlere alınarak elektroğirme cihazının içerisindeki şırınga pompasına yerleştirilmiştir. Şırınganın ucu teflon bir aparat ve polietilen kolon yardımıyla cihazın enjektör ucuna bağlanmış ardından elektroğirme cihazı çalıştırılmıştır. Elektrik akımı ile enjektör ucundaki polimer çözeltisinden alüminyum plakaya doğru polimerik jet oluşumu sağlanarak plakada toplanan nanoliflerin üretimi üzerine çalışılmıştır.

Üretim esnasında farklı proses parametreleri (polimer konsantrasyonu, enjektör ile plaka arasındaki mesafe, elektrik potansiyel gücü, polimer çözeltisinin akış hızı ve enjektör tipi) ile optimum nanolif elde edilme üzerine çalışılmış ve üretim sürekliliği incelenmiştir. Ayrıca lam üzerine atılan nanolifler ışık mikroskobu ile yapısal olarak incelenmiştir. PVP içeren boş nanoliflerinin optimizasyonu için kullanılan elektroğirme parametreleri Tablo 3-5'de verilmiştir.

Tablo 3-5: PVP içeren boş nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler

Formülasyon ismi	Polimer ve oranı (%a/a)		Parametreler				Çözücü
	PVP K30	PVP K90	Enjektör Tipi	Akış Hızı (mL/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)	
F7	30	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F8	35	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F9	40	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F10	45	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F11	-	8	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F12	-	10	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su

F13	-	12	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F14	-	15	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F15	-	18	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F16	-	20	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F17	-	22	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su
F18	-	25	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,1-0,25	15-20	15-30	Distile Su

- **Polivinil Alkol (PVA) ve Polivinil Pirolidon (PVP) Polimer Karışımı İçeren Nanoliflerinin Hazırlanması**

Nanolif oluşumunu değerlendirmek adına PVA'nın ayrı ayrı olarak PVP K30 ve PVP K90 ile farklı oranlardaki karışımları üzerinde de çalışılmıştır. Misel içeren nanolif formülasyonları hazırlanmadan önce etken madde içermeyen (boş) nanoliflerin üretimine çalışılmıştır.

Önceden hazırlanan PVA ve PVP polimerik çözeltileri farklı oranlarda polimer konsantrasyonları içerecek şekilde 300 rpm'de 3 saat karıştırılmıştır.

Hazırlanan çözeltiler 5 mL'lik enjektörlere alınarak elektroegirme cihazının içerisindeki şırınga pompasına yerleştirilmiştir. Şırınganın ucu teflon bir aparat ve polietilen kolon yardımıyla cihazın enjektör ucuna bağlanmış ardından elektroegirme cihazı çalıştırılmıştır. Elektrik akımı ile enjektör ucundaki polimer çözeltisinden alüminyum plakaya doğru polimerik jet oluşumu sağlanarak plakada toplanan nanoliflerin üretimi üzerine çalışılmıştır.

Üretim esnasında farklı proses parametreleri (polimer konsantrasyonu, enjektör ile plaka arasındaki mesafe, elektrik potansiyel gücü, polimer çözeltisinin akış hızı ve enjektör tipi) ile optimum nanolif elde edilme üzerine çalışılmıştır. Ayrıca lam üzerine atılan nanolifler ışık mikroskobu ile yapısal olarak incelenmiştir. PVA-PVP karışımı içeren boş nanoliflerinin optimizasyonu için kullanılan elektroegirme parametreleri Tablo 3-6'da verilmiştir.

Tablo 3-6: PVA-PVP içeren boş nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler

Formülasyon ismi	Polimer ve oranı (%a/a)			Parametreler				Çözücü
	PVA	PVP K30	PVP K90	Enjektör Tipi	Akış Hızı (mL/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)	
F19	20	10	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F20	18	12	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F21	15	15	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F22	12	18	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F23	10	20	-	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F24	20	-	4	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F25	18	-	6	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F26	16	-	8	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F27	12	-	12	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F28	8	-	16	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F29	6	-	18	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su
F30	4	-	20	Nozul (0,8mm), 19G, 21G	0,3-0,5	15-20	15-30	Distile Su

Nanolif üretiminde kullanılan elektroegirme cihazı Şekil 3-2’de verilmiştir.



Şekil 3-2: Elektroeğirme (electrospinning) cihazı

3.2.4. Misel Yüklü Nanolif Formülasyonlarının Hazırlanması ve Optimizasyonu

Etken madde içermeyen nanoliflerin hazırlanması için yapılan çalışmalardan sonra optimize şekilde lif oluşumu gözlenen polimer oranlarında ve elektroeğirme koşullarında bu defa çözücü olarak distile su yerine DKP ve PSC yüklenmiş misel formülasyonu kullanılarak tekrar elektroeğirme çalışmaları yapılmıştır.

Bölüm 3.2.3.'de belirtilen polimerik çözelti hazırlama koşulları kullanılarak polimerler misel çözeltisinde çözündürülmüş ve hazırlanan polimer-misel karışımları elektroğirme cihazına enjektör yardımı ile takılarak elektrik akım altında uygun nanoliflerin oluşup oluşmadığı incelenmiştir.

Sadece PVA ve sadece PVP içeren polimer-misel çözeltilerinin elektroğirme esnasında çok hızlı şekilde donması, jet oluşumunda ve standart şekilde elektroğirme işleminin gerçekleşmesinde sorunlar olduğu görülmüştür. Yapılan araştırmalar ile bu formülasyonlara farklı oranlarda Pluronic F127 (PLU) co-polimerinin ilave edilerek önformülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir (353, 354).

PLU içeren elektroğirme çözeltileri hazırlanırken PVA ya da PVP içeren polimer-misel karışımlarına farklı oranlarda (%1-%5) PLU eklenerek manyetik karıştırıcıda, oda sıcaklığında 350 rpm hızda 4 saat karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımın homojen olup olmadığı kontrol edilmiştir. Ardından 5 mL'lik enjektöre alınarak elektroğirme cihazında elektrik akımında liflerin oluşumları ve üretim standardizasyonu gözlemlenmiştir. Misel yüklü nanolif formülasyonlarının optimizasyonu için kullanılan elektroğirme parametreleri Tablo 3-7'de özetlenmiştir.

Tablo 3-7: Misel yüklü nanoliflerin optimizasyonu için kullanılan parametreler

Formülasyon ismi	Polimer ve oranı (%a/a)			Parametreler				Çözücü
	PVA	PVP K90	PLU	Enjektör Tipi	Akış Hızı (mL/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)	
NF1	20	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF2	22	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF3	25	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF4	30	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF5	-	15	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF6	-	18	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF7	-	20	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF8	-	22	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF9	-	25	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi
NF10	20	4	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi

NF11	18	6	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF12	16	8	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF13	12	12	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF14	8	16	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF15	6	18	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF16	4	20	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF17	24	-	1	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF18	23	-	2	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF19	22	-	3	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF20	21	-	4	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF21	20	-	5	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF22	-	17	1	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF23	-	16	2	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF24	-	15	3	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF25	-	14	4	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi
NF26	-	13	5	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi

Ön formülasyon çalışmalarında optik mikroskopta boncuk içermeyen ve uygun lif formu oluşturan ayrıca da standart şekilde elektroçizme işlemiyle üretilebilen misel yüklü nanolif formülasyonları seçilmiştir. Seçilen formülasyonlar alüminyum plakadan delgeç yardımıyla dairesel şekilde (çapı 5,8 mm olacak şekilde) kesilerek nanolif yapıda insert formülasyonları hazırlanmıştır (355). Bu kesilen nanolif insertler ileride yapılacak analiz çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.5. Misel Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.5.1. Ortalama Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Üretilen misel çözeltisi, ortalama partikül boyutunu belirlemek için Zetasizer Nano ZS küvetine yerleştirilmiş ve tüm ölçümler 25°C'de $\pm 0,1^\circ\text{C}$ hassasiyetinde

gerçekleştirilmiştir. Her biri 10 tekrardan oluşan toplamda 3 ölçüm yapılmıştır. Elde edilen boyut verileri, her biri 3 ölçümün ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

3.2.5.2. Zeta Potansiyel Tayini

Misel çözeltisinin zeta potansiyelinin tayini için elektroforetik ışık saçılımı yöntemi kullanılmıştır. Zeta potansiyeli, cihaz tarafından Smoluchowski eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmıştır (356). Toplamda 3 ölçüm yapılmıştır, her biri 10 tekrardan oluşmuştur. Misel Çözeltisi Zetasizer Nano ZS cihazı ile $\pm 0,1^\circ\text{C}$ hassaslığında 25°C 'de çalışılmıştır. Ölçümler kıvrımlı kapiler küvet kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Misellerin Zeta Potansiyel tayini hem $0,45\ \mu\text{m}$ PTFE membran filtresinden (Macherey-Nagel GmbH & Co KG, Duren, Almanya) süzölmüş miseller hem de süzölmemiş misellerde çalışılmıştır.

3.2.5.3. Misel Formülasyonunda Etken Madde Yükleme Etkinlikleri ve Yükleme Kapasitelerinin Tayini

Misellerin ilaç yükleme kapasitesi tayini için, miseller 1/10 oranında metanol kullanılarak dağıtılmıştır ($0,1\ \text{mL}$ misel çözeltisi alınarak $1\ \text{mL}$ 'ye metanol ile tamamlanmıştır). Ardından validasyonu yapılmış HPLC yöntemi kullanılarak $262\ \text{nm}$ 'de verdiği absorbans tespit edilmiştir.

HPLC analizi ile misellerin ilaç yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon etkinliği hesabı aşağıda verilen formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

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

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

A: Misellere yüklenen Etken maddelerin miktarı (μg)

B: Misel hazırlama aşamasında kullanılan etken madde miktarı (μg)

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

3.2.6. Elektroeğirme İçin Hazırlanan Çözeltilerin Karakterizasyon Çalışmaları

Elektroeğirme işlemi için hazırlanan polimer-misel karışımlı çözeltilerin karakterizasyon çalışmaları kapsamında reolojik özellikleri ve iletkenlik değerleri incelenmiştir.

- **Reoloji Analizi**

Misel-polimer karışimli elektroegirme çözeltilerinin reolojik özellikleri reometre (Haake RheoStress 1, Almanya) kullanılarak değerlendirilmiştir. Ölçümler 25 °C'de, 60 saniye boyunca, 0,5 ila 1000 s⁻¹ arasında değişen kayma hızlarında toplamda 100 data alacak şekilde gerçekleştirilmiş ve koni-plaka sensörü (C 35 TİL, 53 µm boşluk genişliği, 1° koni açısı) kullanılarak üç kez tekrarlanmıştır. Analiz, RheoWin3 Veri Yöneticisi yazılımı (Haake, Almanya) kullanılarak ve üstel yasa denklemi uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

- **Elektriksel İletkenlik Tayini**

Misel-polimer karışimli elektroegirme çözeltileri beher içerisinde 20 g ağırlığında hazırlanmıştır. İletkenlik ölçüm cihazı Eutech Instruments, PC2700 (Landsmeer, Hollanda) kullanılarak oda sıcaklığında ölçüm alınmıştır.

3.2.7. Seçilen Nanolif Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

Ön formülasyon ve optimizasyon çalışmalarının sonucunda seçilen nanolif formülasyonlarının karakterizasyon çalışmaları kapsamında; FESEM ile görüntüleme, ilaç yükleme etkinliği, çap-kalınlık ve ağırlık kontrolü, DSC analizi, XRD Paterini çekimi yapılmıştır. Ayrıca ATR-FTIR spektroskopisi kullanılarak polimer-polimer ve polimer-ilac etkileşimleri incelenmiştir.

3.2.7.1. Nanolif Formülasyonlarının Etken Madde Miktar Tayini

Misel yüklü nanolifler için etken maddelerin yükleme etkinliğini belirlemek adına belirli ağırlıkta (10 mg) kesilen nanolifler 2 mL Distile Su:Metanol (2/8, h/h) çözücü karışımı içeren santrifüj tüplerine eklenerek çözündürülmüştür. Ardından 24 saat boyunca orbital karıştırıcıda 300 rpm'de karıştırılmıştır. Bekleme süresinden sonra numuneler 15000 rpm'de santrifüjlenerek üstte kalan kısım 0.45 µm PTFE membran filtreden süzölmüş ve HPLC ile analiz edilmiştir (n=3).

Analiz edilen etken madde miktarları elektroegirme işleminden önce hazırlanan misel çözeltisindeki etken madde miktarları ile karşılaştırılmıştır. İlaç yükleme etkinliği (%) aşağıdaki denklem (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{İlaç yükleme etkinliği (\%)} = \left(\frac{\text{Çözücü ortamına geçen en fazla ilaç miktarı}}{\text{Misel Çözeltisindeki ilaç miktarı}} \right) \times 100 \quad (3-3)$$

3.2.7.2. Çap-Kalınlık ve Ağırlık Tayini

Misel yüklü nanolif insert formülasyonları delgeç yardımı ile kesildikten sonra çap-kalınlık ölçümleri elektronik kumpas, ağırlık ölçümleri de hassas terazi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kesilen 3 adet nanolif insertin kumpas ile ayrı ayrı çap-kalınlık ölçümleri alınmış ardından da hassas terazide ağırlıkları ölçülmüştür. Gerekli istatistiksel analiz gerçekleştirilerek sonuçlar elde edilmiştir.

3.2.7.3. Nanolif Formülasyonlarının Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM) ile Görüntülenmesi

Üretilen nanolif formülasyonları yüzey morfolojilerini değerlendirmek ve nanolif yapıdaki insertlerin görüntülenmesi için FESEM (Thermo Scientific Apreo 2S) analizi Yıldız Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda 3 farklı nanolif formülasyonunda gerçekleştirilmiştir.

Nanolif insert numunelerinin yüzeyinde oluşabilecek elektrostatik yüklerin önlenmesi ve daha net görüntüler elde edilmesi amacıyla analiz öncesinde ince altın film tabakası ile kaplanmışlardır. Elde edilen görüntüler, nanolif insertlerin yüzey morfolojilerinin değerlendirilmesine imkân sağlamıştır.

Nanoliflerin ortalama çap kalınlıklarını belirleyebilmek için FESEM görüntülerinden *Image J* programı kullanılarak (her bir formülasyon için 50 farklı noktadan) lif çapları ölçülmüştür. Ardından ortalama çap dağılımını gösteren histogram grafikleri çizilmiştir.

3.2.7.4. Nanolif Formülasyonlarında Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

Misel yüklü nanoliflerin ısıtma, soğutma veya sabit bir sıcaklıkta tutma süreçlerinde emilen veya yayılan enerji miktarlarını belirlemek için Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) analizleri yapılmıştır. Bu analizler üç farklı nanolif formülasyonunda çalışılmıştır.

DSC analizlerinde numunelerin ayrı ayrı, azot gazı altında 10°C/dak ısıtma hızında, 25-300°C arasında termogramları alınmıştır. Her bir numune alüminyum örnek kaplarına alınarak çalışılmıştır. Nanoliflerin, etken ve yardımcı maddelerin termogramları alınarak geçimsizlik olup olmadığı kontrol edilmiştir.

3.2.7.5. Nanolif Formülasyonlarında X-ışını Difraksiyon (XRD) Çekimi

Misel yüklü nanolifler, etken ve yardımcı maddeler, $\lambda = 0,154$ nm dalga boyuna sahip $\text{CuK}\alpha$ radyasyon kaynağı ile çalışan, 40kV ve 30 mA değerlerinde enerji sağlayan geniş açılı bir X-ışını difraktometresi ile analiz edilmiştir. Analizlerde yoğunluk, 0,02°'lik bir adım boyutuyla 2° ila 40° aralığında kaydedilmiştir.

Bu analiz nanolif formülasyonlarının kristallografik özellikleri ve içerdikleri farkları belirlemek amacıyla yapılmıştır.

3.2.7.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR Spektroskopisi)

Etken maddelerin, polimerlerin, bunların fiziksel karışımlarının ve üretilen nanoliflerin ATR kristali taşıyan Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (ATR-FTIR) cihazı ile IR spektrumları çekilmiştir.

Analiz esnasında nanolifler ATR kristali üzerine yerleştirildikten sonra tarama 4000-650 cm^{-1} dalga boyu aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlük aralığında yapılmıştır.

Bu analiz formülasyondaki etken ve yardımcı maddeler arasındaki etkileşimleri belirlemek amacıyla yapılmıştır.

3.2.8. *In vitro* İlaç Salım Çalışmaları

3.2.8.1. Reseptör Ortamın Belirlenmesi için Etken Maddelerin Çözünürlük Çalışmaları

Yapılacak olan *in vitro* ilaç salım ve *ex vivo* geçiş çalışmaları için önce reseptör ortamın sink koşulunu sağlaması gerekmektedir. Sonsuz seyreltme koşulu olarak bilinen sink koşulu, bir etken maddenin herhangi bir t anındaki konsantrasyonunun (C_t), doygunluk konsantrasyonunun (C_s) üçte birinden daha az olması durumunu ifade etmektedir (357, 358).

Oküler formülasyonlar için reseptör faz yapay gözyaşı ortamıdır. Bu sebeple aşırı miktarda DKP ve PSC 2 mL'lik Eppendorf tüplere konulmuştur. Üzerlerine 2'şer mL yapay gözyaşı ortamı ve farklı oranlarda yüzey aktif madde içeren yapay gözyaşı ortamı eklenmiştir. Yapay gözyaşı hazırlanırken 100 mL ultra saf suda 0,67 g NaCl, 0,2 g NaHCO_3 , 0,008 g $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve 0,14 g KCl çözündürülüp HCl ile pH 7,4'e ayarlanmıştır. Yüzey aktif madde olarak da sodyum lauril sülfat (SLS) kullanılmıştır. Ardından, numuneler orbital karıştırıcıda 35,5 °C'de 300 rpm hızda 24 saat boyunca karıştırılmıştır. 24 saatlik sürenin sonunda, örnekler 15000 rpm'de 15 dk santrifüj

edilmiş ve 0.45 µm PTFE membran filtreden süzölmüştür. En son olarak gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC’de analiz edilmiştir. Deney üç defa tekrar edilmiştir.

Çözünürlük çalışması için yapay gözyaşı ortamı, % 0,05, % 0,1, %0,2, % 0,25, % 0,5, % 1, % 2,5, % 5 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamı ve pH 7,4 fosfat tamponu ortamları üzerinde çalışılmıştır.

3.2.8.2. Misel Formölasyonunda *In vitro* İlaç Salım Çalışması

Misel formölasyonunda *In vitro* salım çalışmaları yapılırken Durgun ve arkadaşlarının (326), Yang ve arkadaşlarının (359) ve Yu ve arkadaşlarının (360) çalıştıkları yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır. Misel formölasyonu, seyreltilmiş Noxafil® ve DKP çözeltisi karışımı karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır (n=3). DKP çözeltisi hazırlanırken miseldeki konsantrasyonuna benzer olması adına 10mg/mL şeklinde hazırlanmıştır. Noxafil® süspansiyonu da yine aynı şekilde misel formölasyonuna benzerlik göstermesi adına 250 µg / mL olacak şekilde seyreltilmiştir.

Salım çalışmaları *Franz Difüzyon Hücre Sistemi* kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Membran olarak Selüloz Asetat membran kullanılmıştır. Salım ortamı olarak da %0,1 SLS içeren yapay gözyaşı ortamı tercih edilmiştir. Deney öncesinde salım ortamının 35,5 °C’ye ulaşması için 30 dakika beklenmiştir. Hacmi 12 mL olan *Franz hücreleri* kullanılmıştır. Formölasyonlardan ve referans çözelti-lerden 2 mL donör olarak *Franz hücrelerine* eklenmiştir. Hücrelerin içinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir. Çalışma sürecinde buharlaşma ile salım ortamı kaybı olmaması için sistem Parafilm® ile kapatılmıştır

Çalışma sırasında reseptör fazdan 30., 60., 120., 180., 240., 360. ve 480. dakikalarda 1 mL örnek alınmış ve anında alınan ortama yerine 1 mL salım ortamı ilave edilmiştir. Alınan örnekler gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC’de analiz edilmiştir. Numunelerden 8 saat boyunca cm²’den salınan kümülatif ilaç miktarı (µg) hesaplanmıştır. Zamana karşı cm²’den salınan kümülatif ilaç miktarı ve zamana karşı % ilaç salım grafikleri çizilmiştir.

3.2.8.3. Nanoliflerde *In vitro* İlaç Salım Çalışması

Misel içeren nanoliflerin *In vitro* salım çalışmaları yapılırken Bhattarai ve arkadaşlarının (361) kullandıkları yöntem modifiye edilerek çalışılmıştır. Salım çalışmaları *Franz Difüzyon Hücre Sistemi* kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Membran

olarak Selüloz Asetat membran kullanılmıştır. Salım ortamı olarak da %0,1 SLS içeren yapay gözyaşı ortamı tercih edilmiştir. Deney öncesinde salım ortamının 35,5 °C'ye ulaşması için 30 dakika beklenmiştir. 12 mL hacimli *Franz hücreleri* kullanılmıştır.

Misel içeren nanolif formülasyonları içerisinde seçilen üç farklı formülasyon (A, P, AP) ile miselin ilaç salımına etkisine karşılaştırmak için misel içermeyecek şekilde direkt olarak ilaç-polimer karışımından hazırlanan iki farklı nanolif örneği [P(-M), AP(-M)] içerdikleri etken madde miktarları yaklaşık aynı olacak ağırlıklarda kesilerek donör *Franz hücrelerine* eklenmiştir (n=3). Donör faza eklenen nanolif insertlerin üzerlerine göz ortamındaki ıslanmayı simüle etmesi için 1 mL salım ortamı ilave edilmiştir. Hücrelerin içinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiş ayrıca çalışma sürecinde buharlaşma ile formülasyon ve salım ortamı kaybı olmaması için sistem Parafilm® ile kapatılmıştır.

Çalışma sırasında reseptör fazdan 30., 60., 120., 180., 240., 360. ve 480. dakikalarda 1 mL örnek alınmış ve anında alınan ortama yerine 1 mL salım ortamı ilave edilmiştir. Alınan örnekler gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC'de analiz edilmiştir. Numunelerden 8 saat boyunca cm²'den salınan kümülatif ilaç miktarı (µg) hesaplanmıştır. Zamana karşı cm²'den salınan kümülatif ilaç miktarı ve zamana karşı % ilaç salım grafikleri çizilmiştir.

3.2.8.4. Kinetik Verilerin Hesaplanması ve Değerlendirilmesi

Etken maddelerin misel ve nanolif formülasyonlarından *in vitro* salım davranışlarını tespit etmek için elde edilen veriler, KinetDS 3.0 uygulaması kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.2.9. *Ex vivo* Çalışmalar

- **Dokuların Hazırlanması**

Bu çalışmada izole edilmiş sığır gözleri kullanılmıştır. Çalışmalar yapılana kadar, gözler Avrupa Göz Bankası Birliği tarafından yayımlanan kılavuz kurallarına uygun olarak, %0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisi içinde penisilin G (50 ünite/mL) ve streptomisin (50 ünite/mL) içeren bir çözeltiyle +4°C'de saklanmıştır (362). Çalışma öncesinde, izole edilmiş gözler antibiyotiklerin uzaklaştırılması için %0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisi ile yıkanmış ve daha sonra 24 saat boyunca

+4°C'de aynı çözeltide saklanmıştır. Çalışma için, gözlerden kornea ve sklera dokuları ayrılarak her iki doku için *ex vivo* geçiş çalışması gerçekleştirilmiştir.

3.2.9.1. *Ex vivo* İlaç Geçiş Çalışmaları

Ex vivo geçiş çalışmalarında *Valia-Chien* hücreleri kullanılmıştır. Kullanılan bu hücrelerin reseptör ve donör faz hacimi kornealar için 2 mL, skleralar için ise 3,4 mL'dir. Kornea hücreleri için difüzyon yüzeyi 20,7 mm² ve sklera hücreleri için ise 7,2 mm² olacak şekildedir.

Deney çalışması öncesinde temizlenerek gözlerden ayrılan kornea ve sklera dokuları *Valia-Chien* hücrelerine yerleştirilmiştir. Reseptör ortamı olarak %0,1 (a/h) SLS içeren yapay gözyaşı ortamı seçilmiştir. Deney öncesinde salım ortamının 35,5°C'ye ulaşması için 30 dakika beklenmiştir. Sonrasında reseptör ortamı ve formülasyonlardan kornealar için 2'şer, skleralar için 3,4'er mL hava kabarcığı kalmayacak şekilde eklenmiştir. Çalışmalarda donör ve reseptör fazların arasındaki orta kısma da dokular yerleştirilmiştir.

Misel formülasyonu, misel ile aynı konsantrasyonlarda etken maddeleri içerecek şekilde seyreltilmiş Noxafil® ve DKP çözeltisi karışımı (250 µg / mL PSC ve 10mg/mL DKP) ve seçilen nanolif insert formülasyonu (Nanolif-AP) ile karşılaştırmalı olarak *ex vivo* ilaç geçiş çalışmaları yapılmıştır (n=3). Nanolif formülasyonu için yapılacak çalışmada nanolif insert donör ortama yerleştirildikten sonra salım ortamı ile tamamlanmıştır. 400 rpm / dk hızda yapılan çalışmada 0,5., 1., 2., 3., 4. 6. ve 8. saatlerde reseptör ortamdan 0,5 mL örnek alınmış ve alınan örnek yerine aynı miktarda salım ortamı ilave edilmiştir. Alınan örnekler gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC'de analiz edilmiştir. Numunelerden 8 saat boyunca geçen etken madde miktarları ve salım miktarları hesaplanmıştır.

Permeasyon parametrelerini belirlemek amacıyla, tüm formülasyonlarda hem DKP hem de PSC için kornea ve skleradaki geçirgenlik katsayısı (P_{app}) (cm/s), difüzyon katsayıları (D_{eff}) (s⁻¹) ve sabit durum akısı (J_{ss}) (mol/dak) sırasıyla aşağıdaki denklemlere göre hesaplanmıştır (363).

$$P_{app} = Q / A * C_0 \quad (3-4)$$

$$D_{eff} = P_{app} * l \quad (3-5)$$

$$J_{ss} = \Delta Q / \Delta t \quad (3-6)$$

Q: t zamanında dokuya nüfuz eden toplam etken madde miktarı (mol/s)

C_0 : Donör fazındaki etken madde'nin başlangıç konsantrasyonu (mol/L)

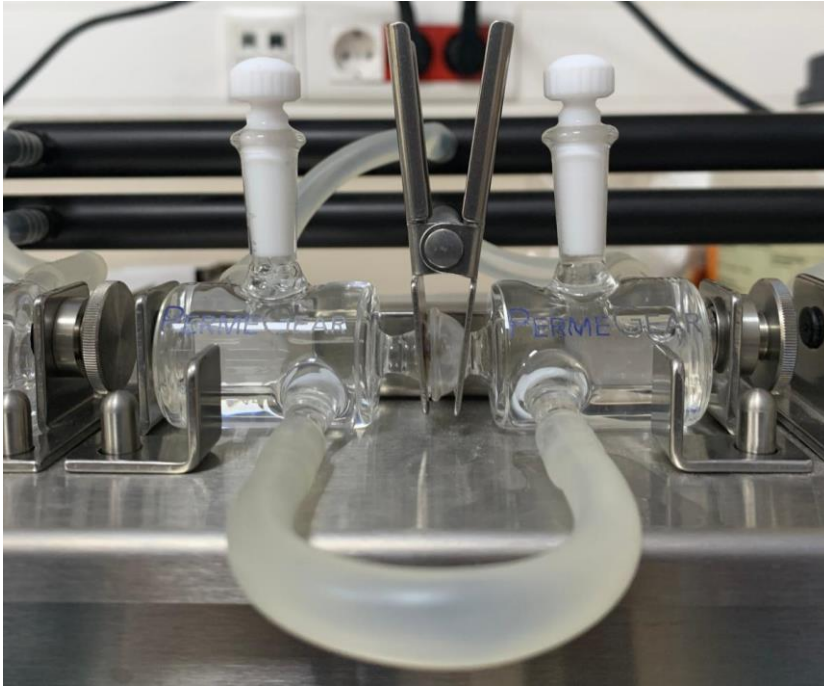
A: Dokunun yüzey alanı (cm^2)

l: Doku kalınlığı (cm)

3.2.9.2. *Ex vivo* Penetrasyon Çalışmaları

Ex vivo ilaç geçiş çalışmasında çalışılan formülasyonlardaki etken maddelerin oküler dokulara penetrasyonunu ölçmek için, *ex vivo* ilaç geçiş çalışmasının tamamlanmasının ardından kornea ve sklera dokuları toplanarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Kornea ve sklera dokularının bütünlüğü 8 saatlik geçiş çalışmasının sonunda görsel inceleme ile teyit edilmiştir. Her bir doku 4 mL metanol içine daldırıldıktan sonra 24 saat boyunca orbital karıştırıcıda karıştırılmıştır. 24 saatin sonunda, çözelti ve dokular kapaklı bir santrifüj tüpüne alınmış ve 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Ardından, süpernatant PTFE 0,45 μm filtreden süzölmüş ve süzöntüden alınan örneklerden gerekli seyreltmeler yapılarak dokulara nüfuz eden etken madde miktarları HPLC ile ölçölmüşür.

Ex vivo çalışmalarda kullanılan *Valia-Chien* hücrelerine ait görsel şekil 3-3'te verilmiştir.



Şekil 3-3: *Valia-Chien* hücreleri

3.2.10. Antifungal Aktivite Çalışmaları

Üretilen formülasyonların antifungal aktivitesini değerlendirmek adına disk difüzyon testi gerçekleştirilmiştir. Testte mantar hücresi olarak *Candida albicans* (ATCC 90028) suşları kullanılmıştır. Disk difüzyon testi, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M44-A2 klavuzunda belirtilen şekilde yapılmıştır (364). Suş süspansiyonları (10^6 CFU/mL), Mueller Hinton agarına (%2 dekstrozu ve 0,5 mg/L metilen mavisi ile desteklenmiş 25 mL medyum içeren 10 cm'lik plakalar) sürülmüştür. 20 dk kuruduktan sonra, agar üzerine kağıt diskler (6 mm çapında) yerleştirilmiştir. Bu kağıt disklerle sırasıyla Plasebo, misel formülasyonu, suda çözündürülmüş nanolif formülasyonu (Nanolif-AP), misel ile aynı konsantrasyonda etken madde içeren Noxafil®-DKP karışımı ve nanolif ile aynı konsantrasyonda etken madde içeren Noxafil®-DKP karışımı 10 µL hacimde emdirilmiştir. Plakalar 37 ± 0.5 °C'de 48 saat inkübe edildikten sonra inhibisyon zon çapları milimetre cinsinden ölçülmüştür.

3.2.11. HET-CAM Toksikite Testi

HET-CAM (Hen's Egg Test-Chorioallantoic Membrane) testi, maddelerin gözdeki tahriş potansiyelini belirlemek için kullanılan bir toksisite testidir ve Draize Tavşan Gözü Testine alternatif bir testtir (365). Tüm deneyler ICCVAM yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir (366). Toksikite testlerinde 50-60 g ağırlığında taze ve verimli Beyaz Leghorn tavuk yumurtaları (7 günden eski olmayan) kullanılmıştır. Aşırı şekilsiz yumurtalar veya çatlak ya da ince kabuklu yumurtalar kullanılmamıştır. Yumurtalar $37,8 \pm 0,3$ °C'de ve 58 ± 2 bağıl nemde 9 gün boyunca otomatik döner cihazlı bir inkübatörde inkübe edilmiştir. Dokuzuncu günün sonunda yumurtalar ışık altında kontrol edilmiş, canlı olmayan veya kusurlu yumurtalar çalışmadan çıkarılmış ve hava hücresinin bulunduğu bölümler işaretlenmiştir. Daha sonra, işaretlenen bölüm dönen bir dişçi testeresi bıçağı ile hava hücresi olarak kesilmiş ve ardından pare edilmiştir. İç zarın zarar görmediğinden emin olmak için yumurta kabukları dikkatlice çıkarılmıştır.

Toksikite testlerinde ultra saf su, seyreltilmiş Noxafil oral süspansiyonu-DKP çözeltisi karışımı, izotonik %0,9 NaCl çözeltisi ile hidrate edilmiş PSC yüklü misel ve Nanolif formülasyonları ve bunların plasebo formları kullanılmıştır. Toplam 0,3 mL formülasyon yumurtaların damarlanmış koryoallantoik membranlarına (CAM) uygulanmıştır. Nanolif formülasyonları için insertler membrana yerleştirildikten sonra

üzerlerine 0,3 mL izotonik su eklenmiştir. Sodyum hidroksit çözeltisi (0.1 N) ve izotonik %0.9 NaCl çözeltisi sırasıyla pozitif ve negatif kontrol olarak kullanılmıştır. CAM'ın reaksiyonları 300 saniyelik bir süre boyunca gözlemlenmiş ve belirtilen son noktaların (lizis, kanama veya pıhtılaşma) her birinin ortaya çıkma süresi kaydedilmiştir (365). Formülasyonların toksisitesi son noktaların zamanına göre puanlanmıştır (Tablo 3-8). Bir test grubundaki her numune için ayrı ayrı puan verilmiştir. Son olarak, o grup için ortalama puan hesaplanmış ve ardından, her bir formülasyonun toksisitesi skora göre değerlendirilmiştir.

Tablo 3-8: HET-CAM toksisite zamana göre puanlama şeması

Etki	Skor		
	30 saniye	120 saniye	300 saniye
Lizis	5	3	1
Kanama	7	5	3
Pıhtılaşma	9	7	5

3.2.12. Stabilite Çalışmaları

Stabilite çalışmalarında misel formülasyonu ve 3 farklı nanolif formülasyonu (A, P, AP), 6 ay “ $25 \pm 2^\circ\text{C}$, % 60 ± 5 bağıl nem” ve “ $40 \pm 2^\circ\text{C}$, % 75 ± 5 bağıl nem” koşullarında stabilite kabinlerine kaldırılmıştır. Misel formülasyonu ve Nanolif-AP formülasyonu ayrıca 4°C /ortam nemi koşulunda 6 ay bırakılmıştır. Misel formülasyonu cam flakon içerisinde, nanolif formülasyonları da alüminyum paketlere kapatıldıktan sonra cam flakonlara konularak stabilite testine kaldırılmıştır.

Numuneler fiziksel özellikleri (renk ve şekil) ve içerdikleri etken maddelerin miktarı açısından incelenmiştir. Etken maddelerin miktarı Yöntem 3.2.7.1. de anlatıldığı şekilde HPLC’de analiz edilmiştir.

3.2.13. İstatistiksel Analiz

Çalışmaların sonuçları, istatistiksel analiz için GraphPad Prism 8.1.1. programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ikiden fazla karşılaştırma ögesi olduğunda “one-way ANOVA testi” ve iki karşılaştırma ögesi olduğunda “t testi” ile analiz edilmiştir.

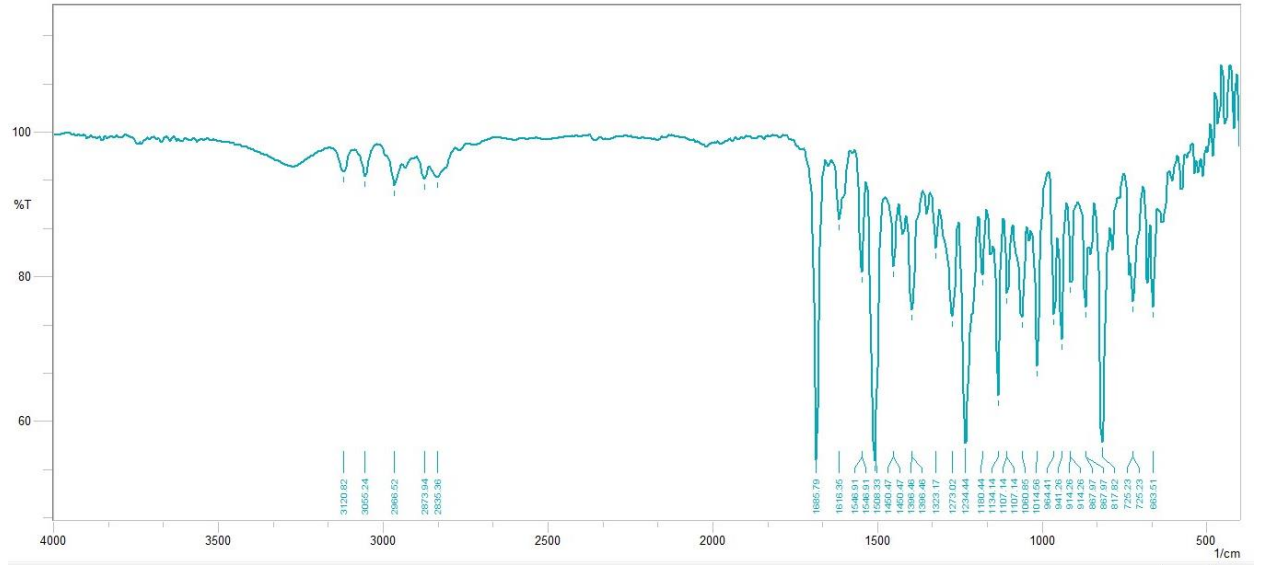
4. BULGULAR

4.1. Etken Maddeler Üzerine Yapılan Çalışmalar

4.1.1. Posakonazolün İnfrared (IR) Spektrumu

Bölüm 3.2.1.1.'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışma sonucu elde edilen ATR-FTIR spektrumu Şekil 4-1'de verilmiştir. Analizde görülen gerlim bantları şu şekildedir:

- 3120,82 cm^{-1} 'de OH,
- 2966,52 cm^{-1} 'de CH_2 ,
- 1685,79 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{O}$,
- 1616,35 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{N}$,
- 1508,33 cm^{-1} 'de aromatik iskelet yapısı
- 1450,47 cm^{-1} 'de $\text{C}-\text{N}$



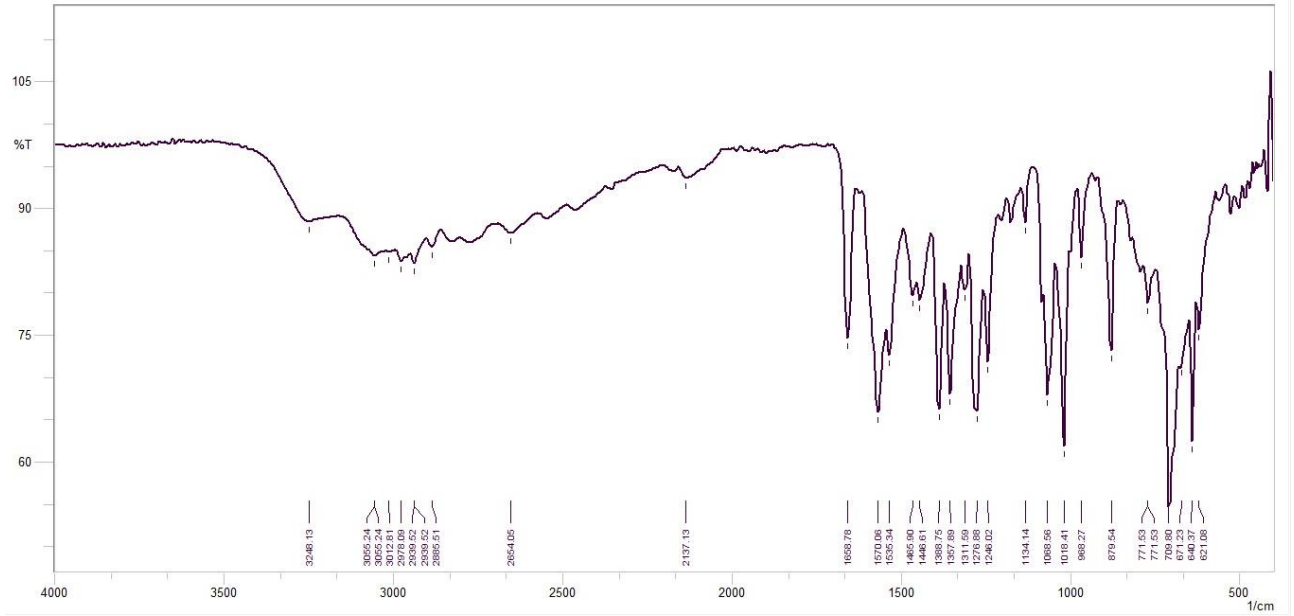
Şekil 4-1: Posakonazolün ATR-FTIR spekturumu

4.1.2. Deksketoprofen Trometamolün İnfrared (IR) Spektrumu

Bölüm 3.2.1.2.'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışma sonucu elde edilen ATR-FTIR spektrumu Şekil 4-2'de verilmiştir. Analizde görülen gerlim bantları şu şekildedir:

- 2900-3000 cm^{-1} arasında CH_2
- 1658,78 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{O}$,

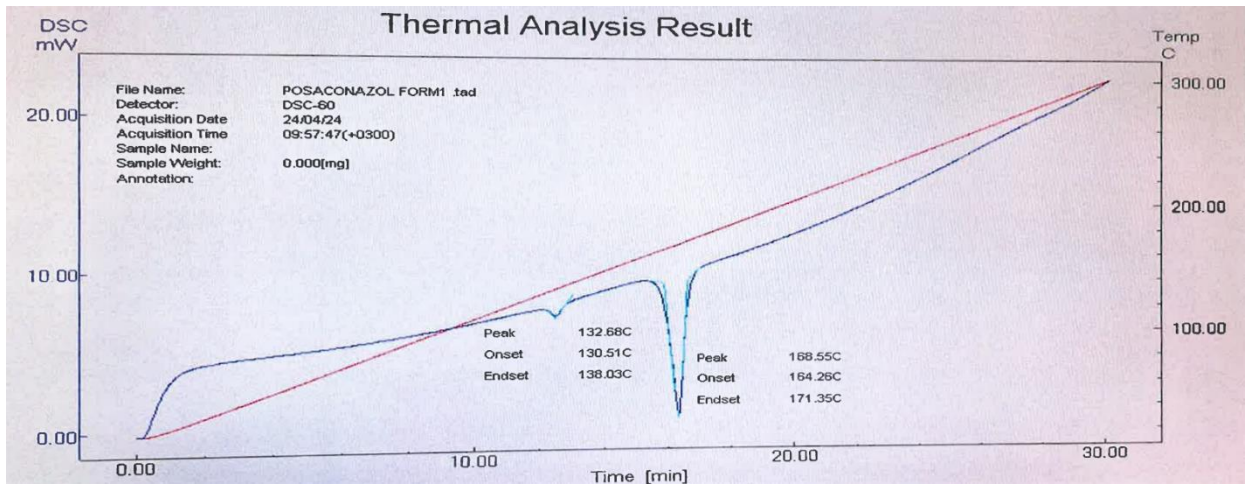
- 1570,06 cm^{-1} 'de N-H
- 1300-1400 cm^{-1} arasında C-O



Şekil 4-2: Dekскетופן Trometamolün ATR-FTIR spektrumu

4.1.3. Posakonazolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

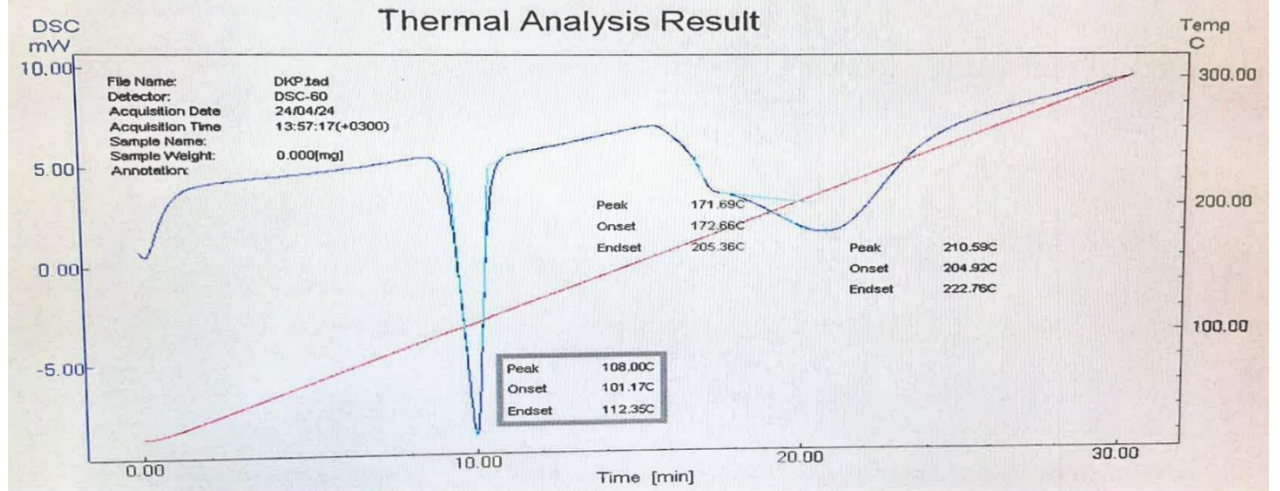
PSC'nin DSC ölçümü Bölüm 3.2.1.3.'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen grafik Şekil 4.3.'te verilmiştir. PSC 164,26-171,35 °C arasında endotermik bir pik vermiştir.



Şekil 4-3: Posakonazolün DSC Analizi

4.1.4. Deksketoprofen Trometamolün Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

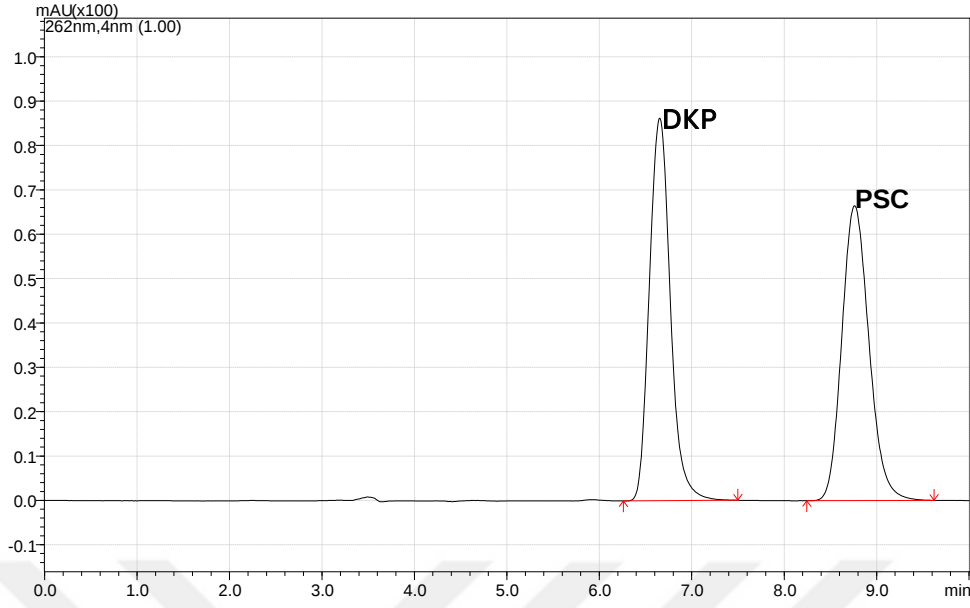
DKP'nin DSC ölçümü Bölüm 3.2.1.4.'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen grafik Şekil 4.4.'te verilmiştir. DKP 101,17-112,35 °C arasında endotermik bir pik vermiştir.



Şekil 4-4: Deksketoprofen Trometamolün DSC Analizi

4.1.5. Etken Maddelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini

DKP ve PSC'nin miktar tayini Bölüm 3.2.1.5'te anlatıldığı koşullarda ve şekilde HPLC kullanılarak yapılmıştır. Etken maddelere ait HPLC kromatogramı Şekil 4-5'te verilmiştir. Retansiyon zamanlarının DKP için 6,6. ve PSC için 8,7. dakikalarda olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4-5: Etken Maddelerin HPLC kromotogramları

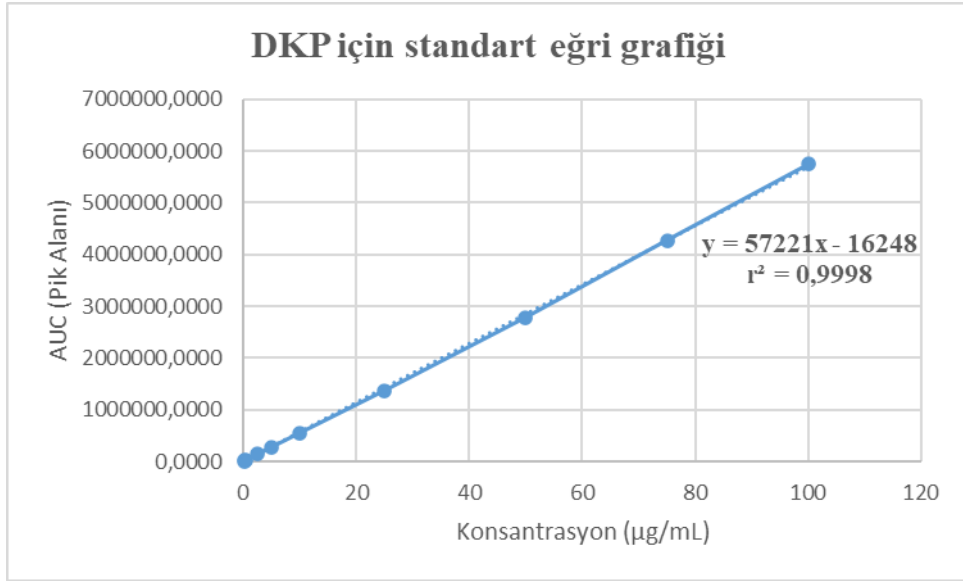
4.1.5.1. Analitik Yöntem Validasyonu

- **Doğrusallık**

Bölüm 3.2.1.5’te anlatıldığı gibi etken maddelerin farklı konsantrasyonlarına (0,125-100 µg/mL) karşılık gelen pik alanlarının (AUC) ortalamaları, standart sapmaları (SD) ve relatif standart sapmaları (%RSD) DKP için Tablo 4-1’de, PSC için Tablo 4-2’de verilmiştir. Hesaplanan doğru denklemleri ve determinasyon katsayıları (r^2) DKP için Şekil 4-6’da, PSC için Şekil 4-7’de verilmiştir.

Tablo 4-1: DKP’nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğrusallık için elde edilen bulgular (n=3)

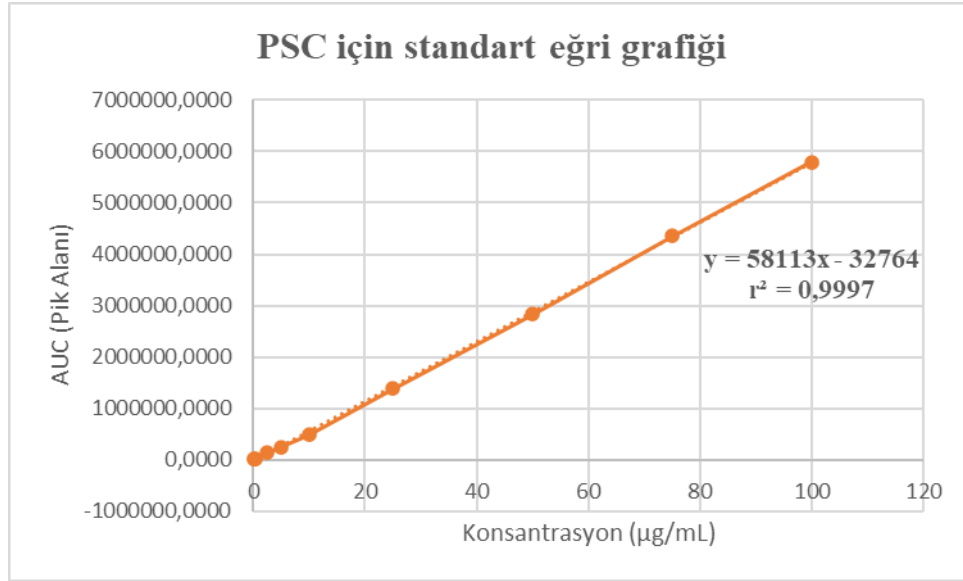
Konsantrasyon (µg / mL)	Alan değeri	SD (±)	RSD (%)
0,125	6937	118,04	1,70
0,25	13913,33	265,82	1,91
0,5	27275,67	379,83	1,39
2,5	140253	2318,77	1,65
5	285530,3	3036,86	1,06
10	547930	7770,62	1,42
25	1364883	10327,08	0,76
50	2785812	12563,97	0,45
75	4271885	40809,18	0,96
100	5749915	40629,71	0,71



Şekil 4-6: DKP'nin doğrusallık çalışmasında elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi

Tablo 4-2: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğrusallık için elde edilen bulgular (n=3)

Konsantrasyon (µg / mL)	Alan değeri	SD (±)	RSD (%)
0,125	5753,67	97,78	1,70
0,25	11851,67	204,31	1,72
0,5	23978,33	443,71	1,85
2,5	135028,33	2625,74	1,94
5	244470,33	2490,03	1,02
10	482535,72	3855,51	0,80
25	1388081	25563,78	1,84
50	2828683	19328,31	0,68
75	4354783	24710,39	0,57
100	5793243	5264,22	0,09



Şekil 4-7: PSC'nin doğrusallık çalışmasında elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi

- Doğruluk**

5, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda DKP-PSC çözeltilerinin miktar tayini için, Bölüm 3.2.1.5'te açıklanan şekilde yöntemin doğruluğu tespit edilmiştir. Her bir konsantrasyon için 3'er örnek hazırlanmış ve bu örneklerin kendi içerisindeki 3'lü ölçümlerinin ortalaması alınmıştır. Her konsantrasyon için geri kazanma değeri (%), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (% RSD) değerleri DKP için Tablo 4-3'te PSC için Tablo 4-4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-3: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğruluk için elde edilen bulgular (n=3)

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
5 µg / mL	5,27 µg / mL	105,48	0,05	1,01
50 µg / mL	48,97 µg / mL	97,94	0,22	0,45
1000 µg / mL	100,77 µg / mL	100,77	0,71	0,70

Tablo 4-4: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda doğruluk için elde edilen bulgular (n=3)

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
5 µg / mL	4,77 µg / mL	95,41	0,04	0,89
50 µg / mL	49,24 µg / mL	98,48	0,33	0,67
1000 µg / mL	100,25 µg / mL	100,25	0,09	0,09

- Kesinlik**

Gün içi kesinlik: Üç farklı konsantrasyonda (5, 50 ve 100 µg / mL) örnekler hazırlanmıştır. Her konsantrasyondaki örnekler Bölüm 3.2.1.5.'te anlatıldığı gibi 3'er kez analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar DKP için Tablo 4-5'te, PSC için Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

Tablo 4-5: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda gün içi kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)

Konsantrasyon (µg / mL)	Alan değeri	SD (±)	RSD (%)
5	285684,67	3344,38	1,17
50	2788812,67	15925,25	0,57
100	5762190,67	54688,36	0,95

Tablo 4-6: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda gün içi kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)

Konsantrasyon (µg / mL)	Alan değeri	SD (±)	RSD (%)
5	243956,67	1645,60	0,67
50	2831715,67	16684,87	0,59
100	5815278,67	35799,26	0,62

Günler arası kesinlik: Birinci gün yapılan gün içi kesinlik çalışmaları aynı şekilde 2. ve 3. günlerde için de tekrarlanmıştır. 1., 2. ve 3. gün sonuçlarının ortalamaları, SD ve %RSD değerleri DKP için Tablo 4-7’te, PSC için Tablo 4-8’da gösterilmiştir.

Tablo 4-7: DKP’nin HPLC miktar tayini validasyonunda günler arası kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)

Konsantrasyon ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	Alan değeri	SD ($\pm$)	RSD (%)
5	285478,33	3103,07	1,09
50	2792245	14493,39	0,52
100	5777608,67	55001,85	0,95

Tablo 4-8: PSC’nin HPLC miktar tayini validasyonunda günler arası kesinlik için elde edilen bulgular (n=3)

Konsantrasyon ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	Alan değeri	SD ($\pm$)	RSD (%)
5	243386,33	1667,78	0,69
50	2834092,33	16501,49	0,58
100	5835024	27575,62	0,47

- Seçicilik**

Bölüm 3.2.1.5’te anlatıldığı şekilde yapılan seçicilik çalışmasında, kullanılan tüm yardımcı maddelerin (polimer, çözücü, sürfaktan vb.), etken maddelerin pik verdiği retansiyon sürelerinde pik vermediği tespit edilmiştir.

- Duyarlılık**

Bölüm 3.2.1.5’te anlatıldığı şekilde yapılan duyarlılık çalışmaları yapılmıştır. DKP için Teşhis Limiti 0,0078 $\mu\text{g}/\text{mL}$, miktar tayin limiti 0,023 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak,

PSC için ise Teşhis Limiti 0,0087 µg/mL, miktar tayin limiti 0,026 µg / mL olarak bulunmuştur.

- **Stabilite**

Bölüm 3.2.1.5'te anlatıldığı gibi hazırlanan 5 µg/mL konsantrasyondaki DKP-PSC çözeltisinin stabilitesine ait bulgular DKP için Tablo 4-9'da, PSC için Tablo 4-10'da verilmiştir.

Tablo 4-9: DKP'nin HPLC miktar tayini validasyonunda stabilite için elde edilen bulgular

Ölçüm Zamanı (saat)	Teorik Konsantrasyon (µg / mL)	Hesaplanan Konsantrasyon (µg / mL)
0	5	5,09
6	5	5,23
12	5	5,26
24	5	5,23
48	5	5,33

Tablo 4-10: PSC'nin HPLC miktar tayini validasyonunda stabilite için elde edilen bulgular

Ölçüm Zamanı (saat)	Teorik Konsantrasyon (µg / mL)	Hesaplanan Konsantrasyon (µg / mL)
0	5	4,75
6	5	4,82
12	5	4,79
24	5	4,78
48	5	4,75

4.2. Misel Formülasyonlarının Hazırlanması

Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı şekilde film oluşturma yöntemi ile farklı etken madde (DKP ve PSC) ve sürfaktan (TPGS) miktarları kullanılarak misel formülasyonları hazırlanmıştır.

M4, M7 ve M10 formülasyon kodlu miseller hazırlanırken rotavaporda organik çözücüler uçurulduktan sonra berrak ince bir film oluşsa da 60 dakikalık hidrasyon aşamasında etken maddelerde kristallenmeler görülmüştür.

M6, M8 ve M9 kodlu misel formülasyonları film oluşturma yöntemi ile uygun şekilde hazırlanmış ve berrak bir çözelti elde edilmiştir. Zetasizer ile ölçümleri yapıldığında partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımlarının sonuçları tutarlı şekilde alınmıştır. Ancak oda sıcaklığında bekleyen misellerde, üretildikten 3 gün sonra etken maddelerin çöktüğü görülmüştür.

M3 ve M5 kodlu misel formülasyonları da film yöntemi ile başarılı şekilde berrak bir çözelti olarak üretilmiş, partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımları da tutarlı şekilde bulunmuştur. Ancak üretildikten 5 gün sonra oda sıcaklığında bekleyen misellerin etken maddelerinin çöktüğü görülmüştür.

M2 kodlu misel formülasyonu da film oluşturma yöntemi ile berrak bir çözelti halinde başarılı şekilde üretilmiştir. Partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı tutarlı biçimde bulunmuştur. Oda sıcaklığında bekleyen M2 formülasyonunda da 34. Günde etken maddelerde çökme görülmüştür.

M1 kodlu misel formülasyonu da film oluşturma yöntemi ile berrak bir çözelti şeklinde üretilmiş, partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı tutarlı biçimde bulunmuştur. Gözlemlenen süre boyunca M1 formülasyonunda oda koşullarında hiç çökme görülmemiştir.

Miseller için yapılan ön formülasyon çalışmalarına ait bulgular Tablo 4-11'de verilmiştir.

Tablo 4-11: Miseller için yapılan önformülasyonlar ve sonuçları

Formülasyon Kodu	PSC Konsantrasyonu	DKP Konsantrasyonu	TPGS Konsantrasyonu	Sonuç
M1	250 µg/mL	10mg/mL	20 mg/mL	Stabil ve berrak formülasyon Tutarlı partikül boyutu ve dağılımı (+)
M2	500 µg/mL	10mg/mL	20 mg/mL	34. günde etken maddelerde çökme (-)

M3	750 µg/mL	10 mg/mL	20 mg/mL	5. günde etken maddelerde çökme (-)
M4	1 mg/mL	10 mg/mL	20 mg/mL	Hidratasyon aşamasında etken maddelerde çökme (-)
M5	750 µg/mL	10 mg/mL	25 mg/mL	5. günde etken maddelerde çökme (-)
M6	1 mg/mL	10 mg/mL	25 mg/mL	3. günde etken maddelerde çökme (-)
M7	1,5 mg/mL	10 mg/mL	25 mg/mL	Hidrasyon aşamasında kristallendi. (-)
M8	750 µg/mL	15 mg/mL	25 mg/mL	3. günde etken maddelerde çökme (-)
M9	1 mg/mL	15 mg/mL	25 mg/mL	3. günde etken maddelerde çökme (-)
M10	1,5 mg/mL	15 mg/mL	25 mg/mL	Hidratasyon aşamasında etken maddelerde çökme (-)

Miseller için yapılacak önformülasyon deneylerinin sonucunda, ileride yapılacak olan çalışmalarda kullanılmak üzere sadece ‘M1’ kodlu misel formülasyonu seçilmiştir. Sonraki çalışmalar için formülasyon kodu ‘M’ olacak şekilde değiştirilmiştir.

4.3. Nanolif Formülasyonlarının Hazırlanması

4.3.1. Etken Madde İçermeyen Nanoliflerin Optimizasyonu

Bölüm 3.2.3’te anlatıldığı şekilde nanolif üretiminde elektroğirme yöntemi kullanılmıştır. Misel yüklü nanolifleri üretebilmek için öncelikle uygun oranda polimer içeren çözeltinin optimize edilmesi gerekmektedir. Nanoliflere misel yükleneceğinden dolayı çözücü olarak organik çözücüler kullanılamayacaktır bu sebeple önformülasyon çalışmaları distile su ile yapılmıştır. Elektroğirmeye uygun polimer çözeltisini hazırlamak için de farklı oranlarda PVA, PVP Kollidon 30 ve PVP Kollidon 90 kullanılarak optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Polimerik çözeltiler Bölüm 3.2.3'te tarif edildiği şekilde hazırlanmıştır. Sadece PVA kullanılarak hazırlanan polimer çözeltileri ile yapılan elektroegirme işlemlerinde %15-30 (a/a) arasında farklı oranlarda PVA distile suda çözündürülerek polimerik çözelti hazırlanmış, 5 mL'lik enjektörlere alınarak elektroegirme işlemine tabi tutulmuştur. %20 PVA oranına kadar hazırlanan çözeltilerde (%15-18) düşük viskoziteden dolayı hiçbir lif oluşumu gözlenmemiştir. %20 ve %22 oranında PVA içeren çözeltilerle yapılan çalışmalarda ise nanolifler oluşmuş ancak ışık mikroskopunda yapılan kontrollerde boncuk oluşumları da gözlemlenmiştir. %25 PVA içeren çözeltide en tutarlı nanolif formülasyonu elde edilmiştir. Daha yüksek oranda PVA içeren çözeltilerde ise viskozite çok artmış olup, elektroegirme işlemi sırasında polimer çözeltisinde donmalar yaşanmıştır.

Sadece PVP içeren çözeltilerde farklı oranlarda PVP K30 ve PVP K90 polimerleri ile ayrı ayrı elektroegirme denemeleri yapılmıştır. Tek başına PVP K30 ile hazırlanan hiçbir çözeltide nanolif oluşumu görülmemiştir. Tek başına PVP K90 ile hazırlanan çözeltilerde ise %8-10 oranında hazırlanan çözeltilerde lif oluşumu görülmemiştir. %12 ve %15 oranında hazırlanan çözeltilerde is lif oluşumu görülmüştür ancak ışık mikroskopunda yapılan kontrollerde boncuk oluşumu da gözlemlenmiştir. %18 PVP K90 oranında en tutarlı lif oluşumu gözlemlenmiş olup daha yüksek orandaki çözeltilerde elektroegirme sırasında polimerik çözeltide donmalar yaşanmıştır.

PVA ve PVP'lerin (K30 ve K90) farklı oranlarda karışımı halinde hazırlanan çözeltilerde de PVP K30 içeren hiçbir polimerik çözeltide elektroegirme sonrası Nanolif oluşumu görülmemiştir. PVA ve PVP K90 polimerlerinin karışımı ile hazırlanan çözeltilerle yapılan elektroegirme çalışmalarının sonunda, PVP K90 oranı %12'nin altındaki karışım liflerde boncuk oluşumları gözlenmiştir. %12'nin üzerindeki çözeltilerde ise elektroegirme sırasında donmalar olup süreklilik sağlanamamıştır.

Tüm elektroegirme çalışmaları, enjektör olarak 19G, 21G ve 0,8 mm Nozul kullanılarak ayrı ayrı denenmiştir. Sulu çözelti olduğu için 0,8 mm Nozul ile elektroegirme işlemi daha başarılı şekilde gerçekleştirilmiştir.

Etken madde içermeyen nanoliflerle yapılan önformülasyon çalışmaları ve sonuçları Tablo 4-12'de verilmiştir.

Tablo 4-12: Etken madde içermeyen nanoliflerde yapılan önformülasyon çalışmalarının sonuçları ve parametreleri

Formülasyon ismi	Polimer (%a/a)			Parametreler				Çözücü	Sonuç
	PVA	PVP K30	PVP K90	Enjektör Tipi	Akış Hızı (mL/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)		
F1	15	-	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F2	18	-	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F3	20	-	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F4	22	-	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F5	25	-	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Başarılı nanolif oluşumu (+)
F6	30	-	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Üretim sürekliliği sağlanamadı
F7	-	30	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F8	-	35	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F9	-	40	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F10	-	45	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F11	-	-	8	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F12	-	-	10	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F13	-	-	12	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,25	15-20	20-25	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F14	-	-	15	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,2	15-20	20-25	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü

F15	-	-	18	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,2	15-20	20-25	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F16	-	-	20	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,2	15-20	20-25	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F17	-	-	22	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,2	15-20	20-25	Distile Su	Üretim sürekliliği sağlanamadı
F18	-	-	25	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,2	15-20	20-25	Distile Su	Üretim sürekliliği sağlanamadı
F19	20	10	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,3	15-20	20-30	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F20	18	12	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,3	15-20	20-30	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F21	15	15	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,3	15-20	20-30	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F22	12	18	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,3	15-20	20-30	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F23	10	20	-	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,3	15-20	20-30	Distile Su	Nanolif oluşumu görülmedi (-)
F24	20	-	4	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,5	15-20	20-30	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F25	18	-	6	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,5	15-20	20-30	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F26	16	-	8	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,5	15-20	20-30	Distile Su	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
F27	12	-	12	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,5	15-20	20-30	Distile Su	Başarılı nanolif oluşumu (+)
F28	8	-	16	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,5	15-20	20-30	Distile Su	Üretim sürekliliği sağlanamadı
F29	6	-	18	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,5	15-20	20-30	Distile Su	Üretim sürekliliği sağlanamadı
F30	4	-	20	Nozul (0,8mm) 19G, 21G	0,5	15-20	20-30	Distile Su	Üretim sürekliliği sağlanamadı

4.3.2. Misel İçeren Nanoliflerin Hazırlanması

Etken madde içermeyen (boş) nanolifler için yapılan optimizasyon çalışmalarının sonunda elde edilen bilgilerin devamında misel yüklü nanolif formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Tüm çalışmalarda misel formülasyonu olarak Bulgular 4.2’de belirtildiği gibi ‘M’ kodu verilen misel kullanılmıştır.

Bölüm 3.2.4’te belirtildiği gibi önformülasyon çalışmalarında elde edilen verilerdeki oranlarda polimerler bu kez misel çözeltisinde karıştırılıp çözündürülerek berrak şekilde polimerik-misel çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilere elektroğirme işlemi uygulanmıştır. Ancak ortam koşullarının ayarlanamamasından dolayı boş nanolif optimizasyon çalışmalarından farklı olarak, misel içeren polimerik çözeltiler elektroğirme esnasında daha hızlı şekilde donma göstermiştir.

Yalnızca PVA ve yalnızca PVP içeren polimer-misel çözeltilerinin elektroğirmeleri esnasında çok hızlı şekilde donması, jet oluşumunda ve standart şekilde elektroğirme işleminin gerçekleşmesinde sorunlar yaratmıştır. Bu sebeple farklı oranlarda Pluronic F127 (PLU) co-polimeri ilave edilerek yeni önformülasyon ve optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Elektroğirme işleminden sonra üretilen nanolifler yapısal olarak incelenmek için ışık mikroskobunda kontrol edilmiştir.

Misel içeren nanoliflerle yapılan önformülasyon çalışmaları ve sonuçları Tablo 4-13’te verilmiştir.

Tablo 4-13: Misel içeren nanoliflerin önformülasyon çalışmaları ve sonuçları

Formülasyon ismi	Polimer ve oranı (%a/a)			Parametreler				Çözücü	Sonuç
	PVA	PVP K90	PLU	Enjektör Tipi	Akış Hızı (mL/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)		
NF1	20	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Liflerde boncuk oluşumu
NF2	22	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Liflerde boncuk oluşumu
NF3	25	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF4	30	-	-	Nozul (0,8mm)	0,25	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF5	-	15	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Liflerde boncuk oluşumu görüldü
NF6	-	18	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar

NF7	-	20	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF8	-	22	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF9	-	25	-	Nozul (0,8mm)	0,2	15-20	20-25	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF10	20	4	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Liflerde boncuk oluşumu
NF11	18	6	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Liflerde boncuk oluşumu
NF12	16	8	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Liflerde boncuk oluşumu
NF13	12	12	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Başarılı Nanolif Oluşumu (+)
NF14	8	16	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF15	6	18	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF16	4	20	-	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF17	24	-	1	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Başarılı Nanolif Oluşumu (+)
NF18	23	-	2	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Üretim sürekliliğinde sorunlar
NF19	22	-	3	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Çözeltide homojenite sorunu
NF20	21	-	4	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Çözeltide homojenite sorunu
NF21	20	-	5	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Çözeltide homojenite sorunu
NF22	-	17	1	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Başarılı Nanolif Oluşumu (+)
NF23	-	16	2	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Çözeltide homojenite sorunu
NF24	-	15	3	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Çözeltide homojenite sorunu
NF25	-	14	4	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Çözeltide homojenite sorunu
NF26	-	13	5	Nozul (0,8mm)	0,5	15-20	20-30	Misel Çözeltisi	Çözeltide homojenite sorunu

Yapılan önformülasyon çalışmalarının sonunda misel içeren nanolif formülasyonu olarak, bir adet sadece PVA içeren, bir adet sadece PVP içeren ve bir adet de PVA-PVP karışımını içeren 3 farklı nanolif formülasyonu ile sonraki çalışmalara devam edilmesine karar verilmiştir. Seçilmiş olan optimize edilmiş nanolif

formülasyonları, üretim parametreleri ve formülasyon kodları Tablo 4-14'te, proses parametreleri optimize edilirken elde edilen bulgular Tablo 4-15'te verilmiştir.

Tablo 4-14: Optimize edilmiş nanolif formülasyonlarının kodları ve elektroëirme parametreleri

Formülasyon ismi	Polimer ve oranı (%a/a)			Parametreler				Çözücü
	PVA	PVP K90	PLU	Enjektör Tipi	Akış Hızı (mL/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)	
AP	12	12	-	Nozul (0,8mm)	0,3	18	20	Misel Çözeltilisi
A	24	-	1	Nozul (0,8mm)	0,3	18	25	Misel Çözeltilisi
P	-	17	1	Nozul (0,8mm)	0,3	18	20	Misel Çözeltilisi

Tablo 4-15: Elektroëirme işlemi için proses parametrelerinin seçiminde elde edilen bulgular

Proses Parametresi	Sonuç
Enjektör Tipi	Polimer damlacığının uygun hızda yeterince yüklenebilmesi 0,8 mm nozul tercih edilmiştir. 19G ve 21G enjektör uçlarında polimer çözeltilerinin çok hızlı şekilde donduğu gözlenmiştir.
Akış Hızı (mL/saat)	- Tüm formülasyonlarda 0,3 mL/saat hızın altında yapılan çalışmalarda nozul üzerindeki damlacığın elektroëirme esnasında bittiği ve yeterince beslenmediği gözlenmiştir. - Tüm formülasyonlarda 0,3 mL/saat hızın üzerinde yapılan çalışmalarda nozul üzerinde çok fazla biriktiği ve zamanla nozuldan dışarı aktığı gözlenmiştir.
Mesafe (cm)	- Tüm formülasyonlarda nozul ve kollektör arasındaki mesafe 15 cm'nin altındayken kollektörde boncuk birikimi ve polimer çözeltilisi damlacıklarının atıldığı gözlenmiştir. - Tüm formülasyonlarda nozul ve kollektör arasındaki mesafe 20 cm'nin üzerindeyken elektroëirme esnasında oluşan jetin kollektöre ulaşmadığı gözlenmiştir.

- Standart şekilde karşılaştırma yapılabilmesi adına tüm formülasyonlar üretilirken mesafe 18 cm'de sabit tutulmuştur.

- Nanolif-P ve Nanolif-AP formülasyonları için 17 kV değerinin altında polimer çözeltisinde jet oluşumu gözlenmedi, Nanolif-A formülasyonunda ise 23 kV değerinin altında jet oluşumu gözlenmemiştir.

- Nanolif-P ve Nanolif-AP formülasyonları için 17-19 kV değerleri arasında oluşan jet kollektörde yeterince hızlı birikemediği gözlenmiştir.

- Nanolif-P ve Nanolif-AP formülasyonları için 25 kV değerinin üstünde polimer gözeltisinde çoklu jet oluşumu ve polimer damlacığı atımı gözlenmiştir.

- Nanolif-A formülasyonunda 27 kV değerinin üstünde polimer gözeltisinde çoklu jet oluşumu ve polimer damlacığı atımı gözlenmiştir.

Voltaj (kV)

Enjektör Tipi

- Polimer damlacığının uygun hızda yeterince yüklenebilmesi 0,8 mm nozul tercih edilmiştir. 19G ve 21G enjektör uçlarında polimer çözeltilerinin çok hızlı şekilde donduğu gözlenmiştir.

Ayrıca ilerleyen bazı çalışmalarda, nanolif içerisindeki miselin etkisini karşılaştırabilmek adına P ve AP nanolif formülasyonlarının, misel içermeyen direkt etken maddelerin yüklendiği formları da hazırlanmıştır. Bu nanolifler miselli formülasyonlarıyla aynı miktarlardaki etken maddelerin polimerik çözeltiyle karıştırılması ardından da bu çözeltinin elektroegirilmesi ile üretilmiş iki ayrı formülasyondur. Bu formülasyonların da kodları sırasıyla **P(-M)** ve **AP(-M)** olarak isimlendirilmiştir.

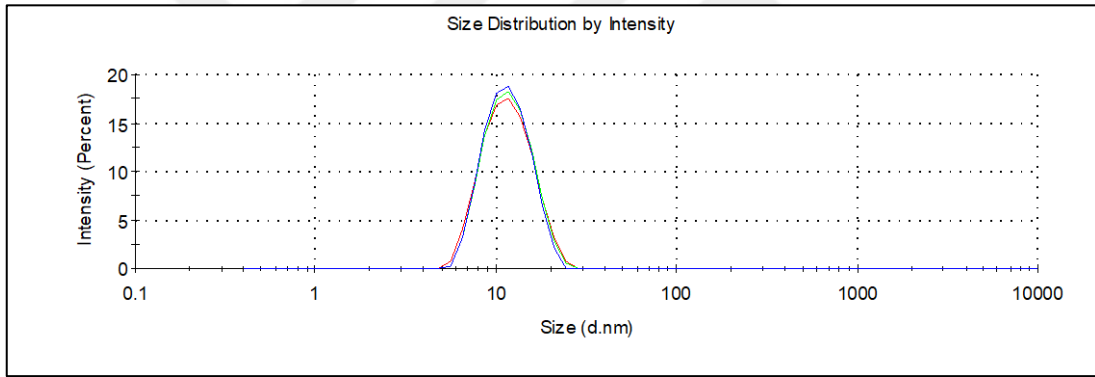
4.4. Misel Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları

4.4.1. Ortalama Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Partikül büyüklüğü ve dağılımı çalışması Bölüm 3.2.5.1’de tariflendiği şekilde gerçekleştirilmiştir. M formülasyonunun ortalama partikül büyüklüğü ve PDI değeri Tablo 4-16’da gösterilmiştir. Ek olarak Şekil 4-8’de M formülasyonunun partikül büyüklüğü dağılımının grafiği verilmiştir.

Tablo 4-16: Misel formülasyonunun partikül büyüklüğü ve dağılımı (n=3)

Formülasyon	Z.Avg (d.nm) $\pm$ SD	PDI
M	11,01 $\pm$ 0,06	0,078



Şekil 4-8: Misel formülasyonunun partikül büyüklüğü dağılım grafiği

4.4.2. Zeta Potansiyel Tayini

Misel formülasyonunun Zeta potansiyel tayini Bölüm 3.2.5.2’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Misel formülasyonunun Zeta potansiyeli Tablo 4-17’de verilmiştir.

Tablo 4-17: Misel formülasyonunun zeta potansiyel değeri (n=3)

Formülasyon	Zeta Potansiyeli (mV) $\pm$ SD
M	-1,68 $\pm$ 0,23

4.4.3. Misel Formülasyonda Etken Madde Yükleme Etkinliği ve Yükleme Kapasitelerinin Tayini

Misel çözeltisinde etken maddelerin miktar tayininde 3.2.1.5'te bahsedilen "Etken Maddelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Miktar Tayini Analiz Yöntemi" kullanılmıştır. Miktar tayini Bölüm 3.2.5.3'te anlatıldığı şekilde ve aynı bölümde verilen formüller kullanılarak misele yüklenen etken maddelerin oranı ve etken maddelerin misel içerisindeki % içerikleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 4-18'de verilmiştir.

Tablo 4-18: Misel formülasyonundaki etken maddelerin yükleme etkinlikleri ve yükleme kapasiteleri (n=3)

Misel Formülasyonuna Yüklenecek DKP (%) (a/a) (ortalama $\pm$ SD)	Misel Formülasyonuna Yüklenecek PSC (%) (a/a) (ortalama $\pm$ SD)	Misel Formülasyonundaki DKP yükleme kapasitesi (%) (a/a) (ortalama $\pm$ SD)	Misel Formülasyonundaki PSC yükleme kapasitesi (%) (a/a) (ortalama $\pm$ SD)
97,55 $\pm$ 4,10	98,67 $\pm$ 4,71	32,24 $\pm$ 1,35	0,81 $\pm$ 0,04
DKP: Dekскетופן Trometamol, PSC: Posakonazol			

4.5. Elektroegirme İçin Hazırlanan Polimerik Çözeltilerin Karakterizasyon Çalışmaları

- Reoloji Analizi**

Misel-polimer karışımı olan elektroegirme çözeltilerinin reoloji analizleri Bölüm 3.2.6'da anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Misel-polimer çözeltilerinin reoloji analizlerine ait bulgular Tablo 4-19'da ve reoloji analizlerine ait grafikler Şekil 4-9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-19: Nanolif formülasyonlarının elektroegirme çözeltilerine ait reoloji bulguları (n=3)

Formülasyon Çözeltisi	Herschel-Bulkley Akış Modeli			
	τ_0	K	n	r
A	- 43,21 $\pm$ 8,76	10,96 $\pm$ 1,09	0,68 $\pm$ 0,02	0,9997
P	-17,67 $\pm$ 2,78	6,76 $\pm$ 0,52	0,65 $\pm$ 0,01	0,9999
AP	-123,17 $\pm$ 57,33	35,89 $\pm$ 16,15	0,57 $\pm$ 0,07	0,9995

P(-M)	-50,80±28,48	10,81±6,27	0,64±0,08	0,9996
--------------	--------------	------------	-----------	--------

Ostwald de Waele Akış Modeli

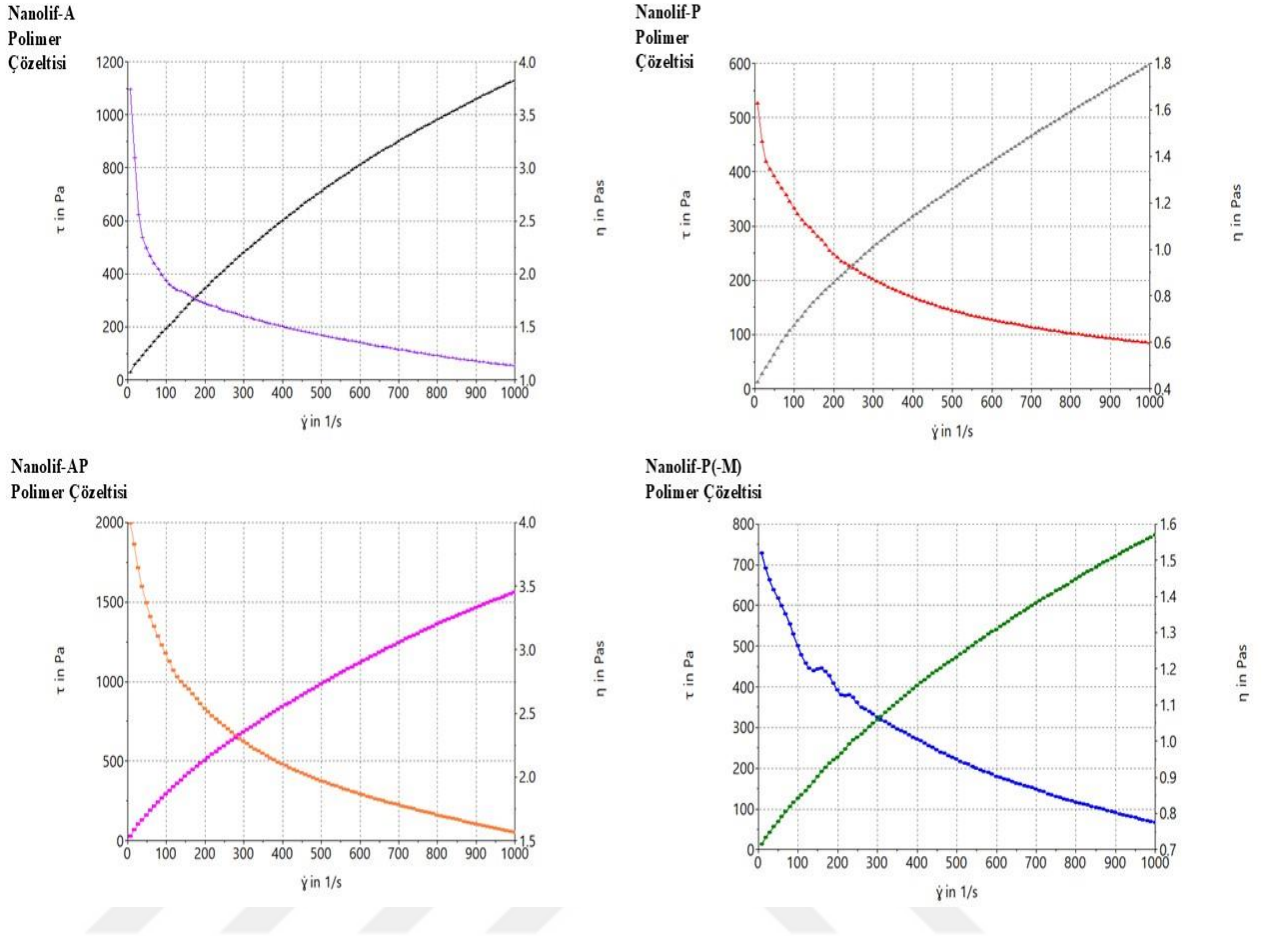
	K	n	r
A	7,52±0,35	0,73±0,09	0,9995
P	5,03±0,16	0,69±0,09	0,9997
AP	18,14±5,09	0,65±0,05	0,9986
P(-M)	5,52±1,57	0,72±0,04	0,9987

Bingham Akış Modeli

	τ_0	η_e	r
A	131,07±4,050	1,10±0,02	0,9926
P	79,76±0,62	0,59±0,02	0,9916
AP	247,60±40,91	1,42±0,04	0,9847
P(-M)	90,85±14,51	0,74±0,04	0,9900

Casson Akış Modeli

	τ_0	n	η_e	r
A	40,34±2,16	0,5	0,81±0,02	0,9973
P	27,98±0,87	0,5	0,36±0,02	0,9975
AP	96,98±25,69	0,5	0,93±0,09	0,9938
P(-M)	29,17±8,84	0,5	0,54±0,06	0,9957



Şekil 4-9: Nanolif formülasyonlarının elektroegirme çözeltilerine ait reoloji grafikleri

- **Elektriksel İletkenlik Tayini**

Misel-polimer karışımlı elektroegirme çözeltilerinin elektriksel iletkenlik tayinleri Bölüm 3.2.6’da anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elektriksel iletkenlik ölçümleri A, P, AP formülasyonlarının polimerik çözeltilerine, ayrıca karşılaştırma yapılabilmesi için P ve AP formülasyonlarının misel içermeyen direkt olarak etken maddeler yüklenmiş [P(-M) ve AP(-M)] polimerik çözeltilerine yapılmıştır. Formülasyonların polimerik çözeltilerinin elektriksel iletkenlik ölçümlerine ait bulgular Tablo 4-20’de verilmiştir.

Tablo 4-20: Elektroegirme işlemi için hazırlanan formülasyon çözeltilerinin elektriksel iletkenliklerine ait bulgular (n=3)

Formülasyon Adı	Σ ($\mu\text{S/cm}$) $\pm$ SD
A	5732 $\pm$ 6,24
P	7490,67 $\pm$ 22,28

AP	5920,33±9,29
P (-M)	2139±6,24
AP (-M)	1937±50

4.6. Nanolif Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

4.6.1. Nanoliflerde Etken Maddelerin Miktar Tayini

Seçilen nanolif formülasyonlarında etken maddelerin yükleme tayinleri Bölüm 3.2.7.1’de tarif edildiği şekilde yapılmıştır. Etken maddelerin yükleme tayinlerine ait bulgular Tablo 4-21’de verilmiştir.

Tablo 4-21: Nanolif formülasyonlarındaki etken maddelerin % miktarları (n=3)

Formülasyon	Nanolif Formülasyonundaki Yüklenen DKP	Nanolif Formülasyonundaki Yüklenen PSC
	(%) (a/a)	(%) (a/a)
	(ortalama ± SD)	(ortalama ± SD)
A	86,65±2,75	75,48±5,30
AP	94,78±1,18	91,51±5,37
P	93,47±1,59	90,33±3,42
P-M	92,46±1,75	84,92±8,75
AP-M	91,32±1,04	86,88±5,38

4.6.2. Nanoliflerde Çap, Kalınlık ve Ağırlık Tayini

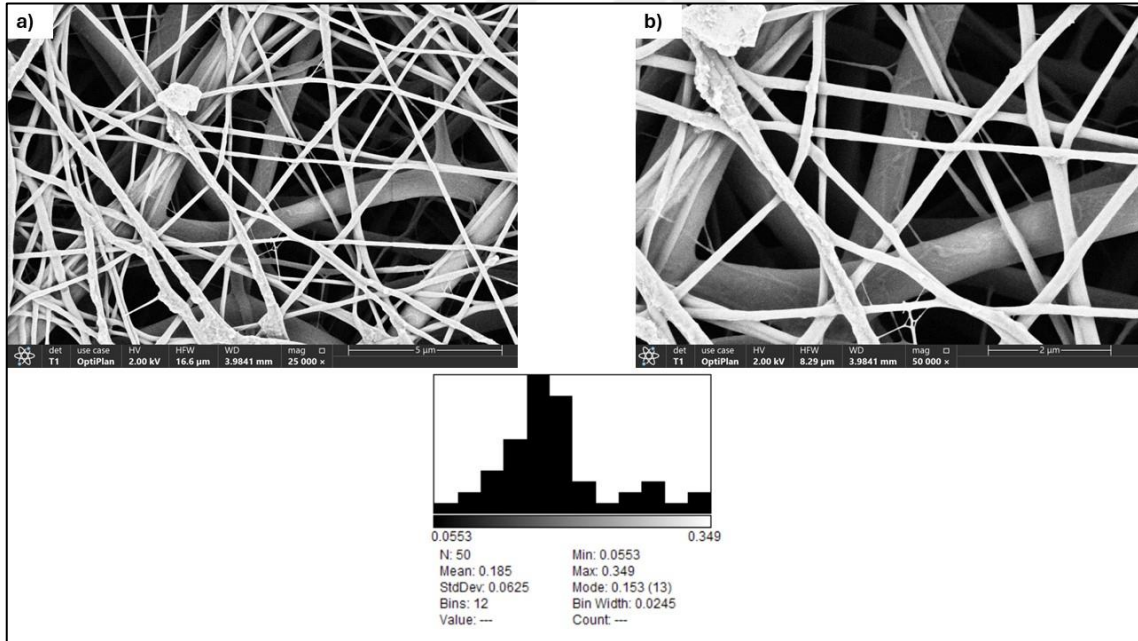
Bölüm 3.2.7.2’de anlatıldığı şekilde delgeç ile kesilen nanolif insertlerde çap, kalınlık ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 4-22’de gösterilmiştir.

Tablo 4-22: Nanolif insertlerin çap, kalınlık ve ağırlık ölçümlerine ilişkin bulgular (n=3)

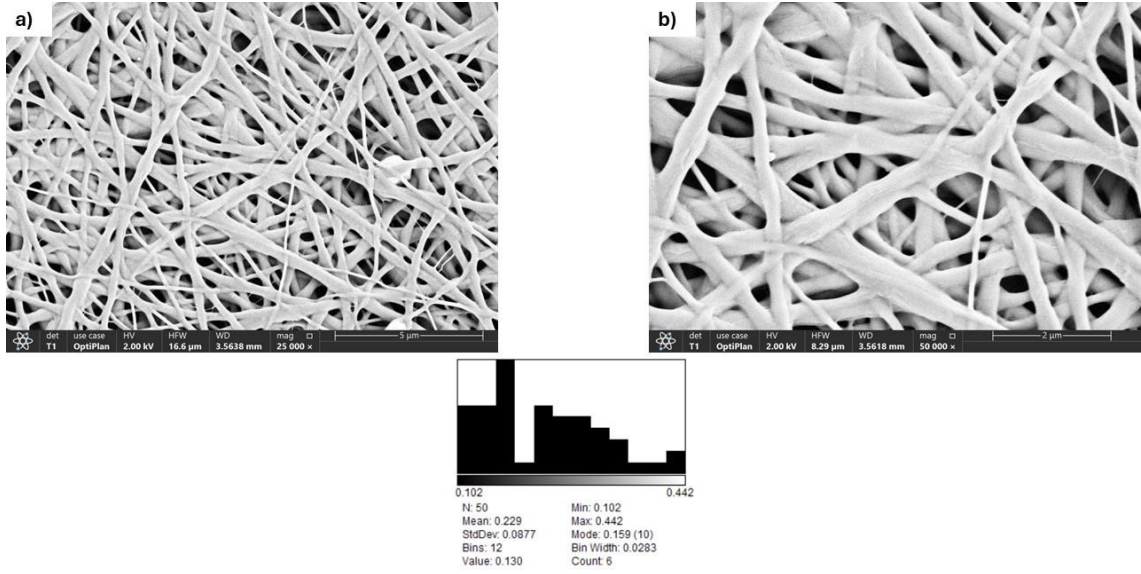
Formülasyon	ÇAP (mm) (ortalama $\pm$ SD)	KALINLIK (mm) (ortalama $\pm$ SD)	AĞIRLIK (mg) (ortalama $\pm$ SD)
A	5,8 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	3,62 $\pm$ 0,08
P	5,8 $\pm$ 0,03	0,44 $\pm$ 0,03	5,42 $\pm$ 0,06
AP	5,8 $\pm$ 0,01	0,51 $\pm$ 0,03	8,32 $\pm$ 0,16

4.6.3. Nanolif Formülasyonlarının FESEM ile Görüntülenmesi

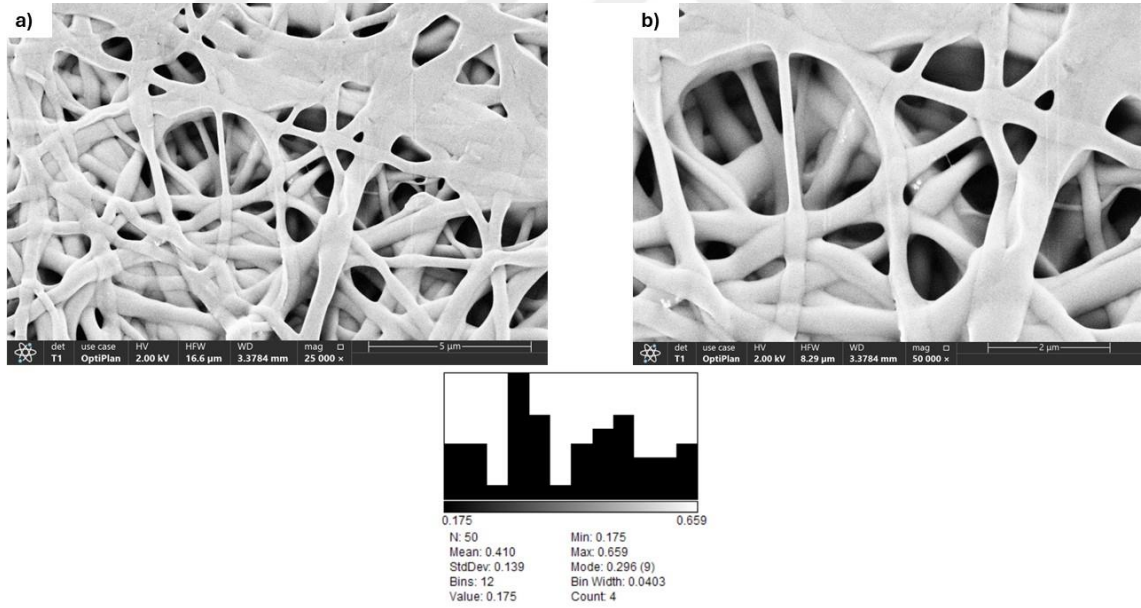
Bölüm 3.2.7.3'te anlatıldığı şekilde misel yüklü nanoliflerin FESEM ile yüzey morfolojilerinin görüntülenmesi yapılmıştır. Nanolif formülasyonlarının FESEM görüntüleri ve nanolif çap dağılımlarını gösteren histogram grafikleri Şekil:4-10, 4-11 ve 4-12'de, ortalama lif çapları da Tablo 4-23'te verilmiştir.



Şekil 4-10: Nanolif-A formülasyonunun FESEM görüntüleri (a:25000x, b:50000x) ve nanolif çap dağılımının histogram grafiği (n=50)



Şekil 4-11: Nanolif-P formülasyonunun FESEM görüntüleri (a:25000x, b:50000x) ve nanolif çap dağılımının histogram grafiği (n=50)



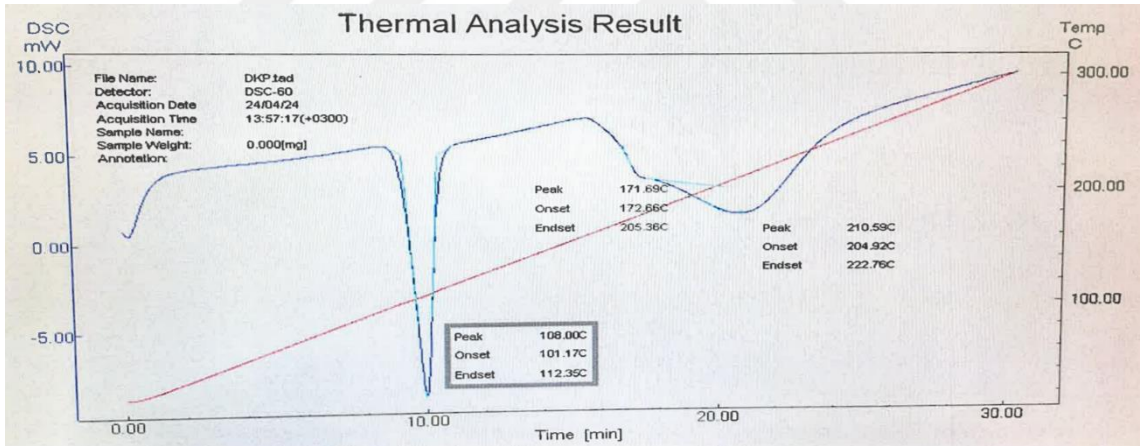
Şekil 4-12: Nanolif-Ap formülasyonunun FESEM görüntüleri (a:25000x, b:50000x) ve nanolif çap dağılımının histogram grafiği (n=50)

Tablo 4-23: Nanolif Formülasyonlarının ortalama lif çapları (n=50)

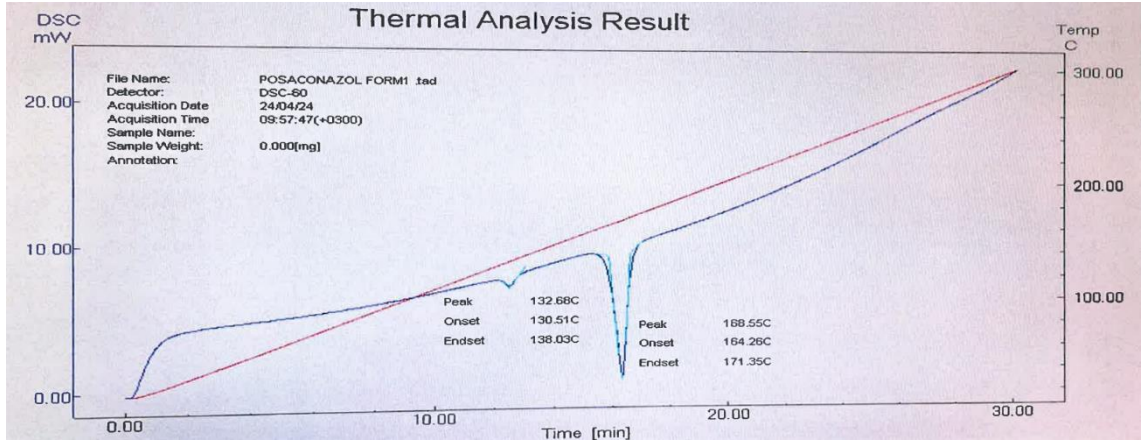
Formülasyon Kodu	Ortalama Lif Çapı (nm)	(±) SD
Nanolif-A	185,4	62,5
Nanolif-P	229,2	87,7
Nanolif-AP	410	139

4.6.4. Nanolif Formülasyonlarında Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

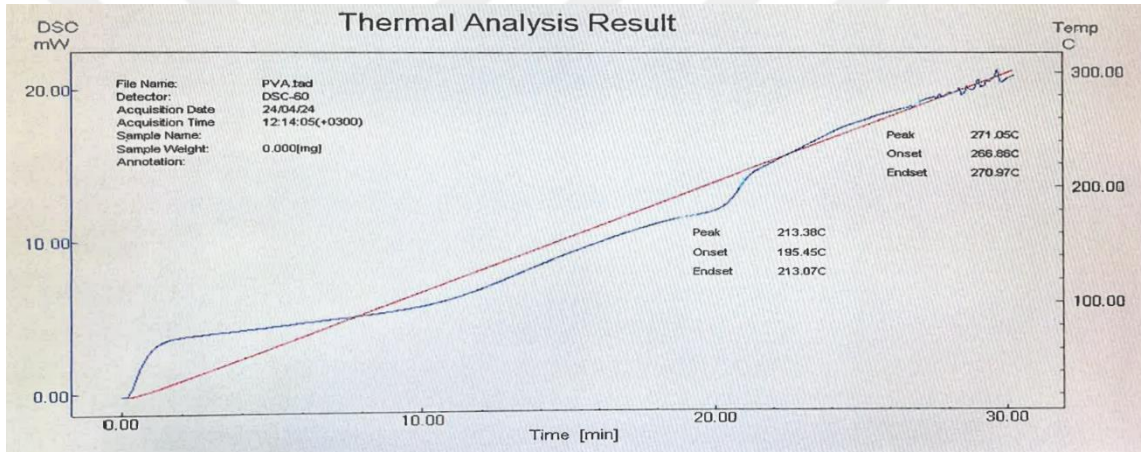
DSC analizi; nanolif formülasyonlarına, etken ve yardımcı maddelere Bölüm 3.2.7.4’te tarif edildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4-13, 4-14, 4-15, 4-16, 4-17, 4-18, 4-19, 4-20 ve 4-21’de verilmiştir.



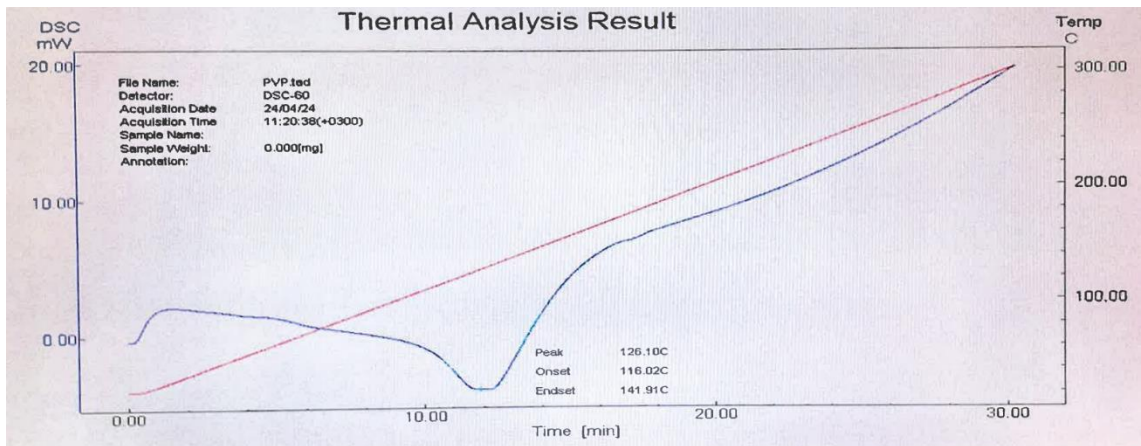
Şekil 4-13: DKP’nin DSC analiz sonucu



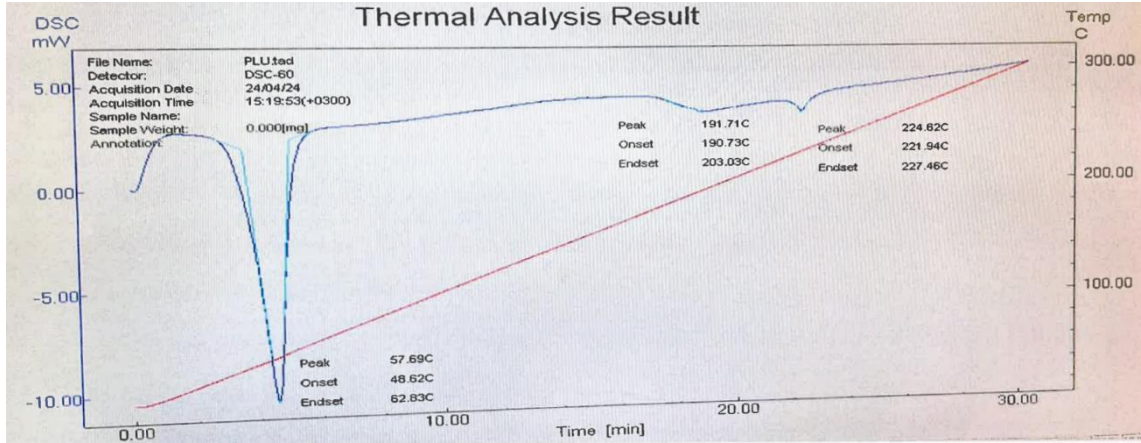
Şekil 4-14: PSC'nin DSC analiz sonucu



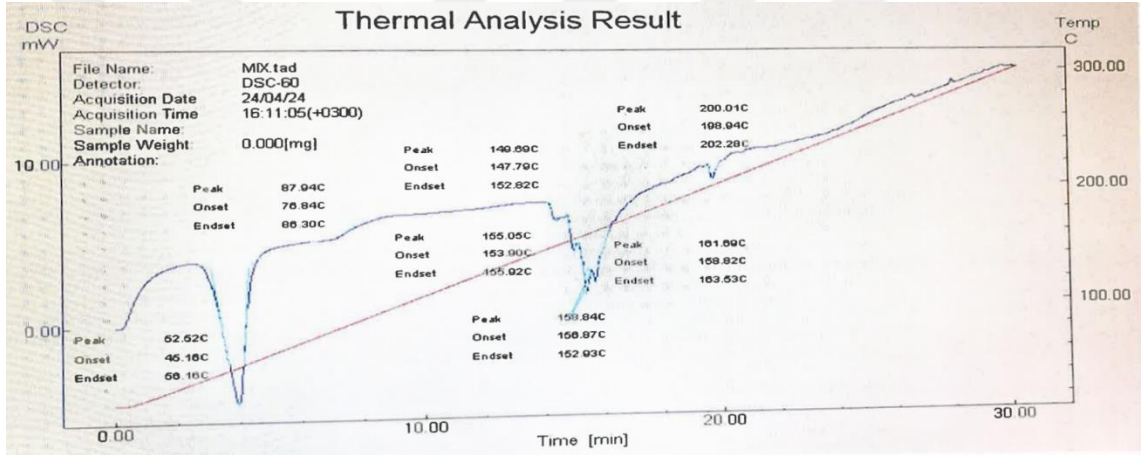
Şekil 4-15: PVA polimerinin DSC analiz sonucu



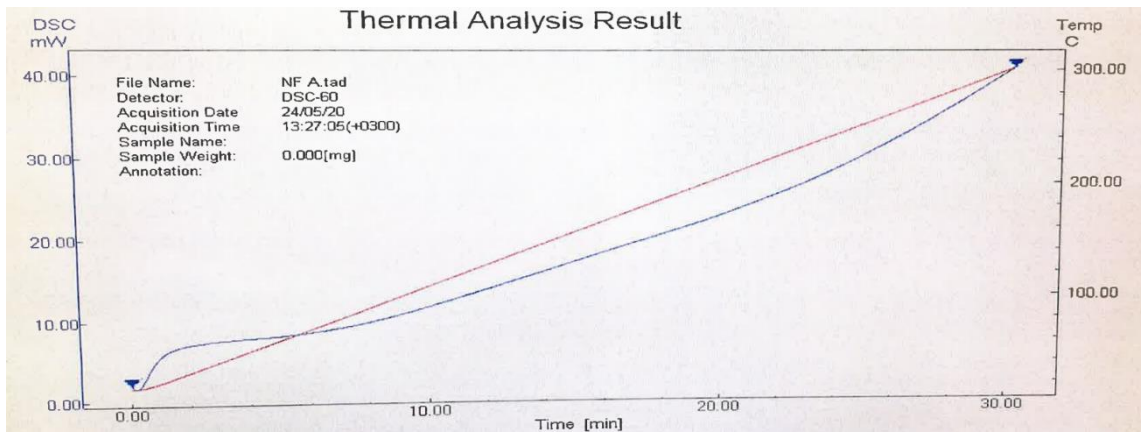
Şekil 4-16: PVP polimerinin DSC analiz sonucu



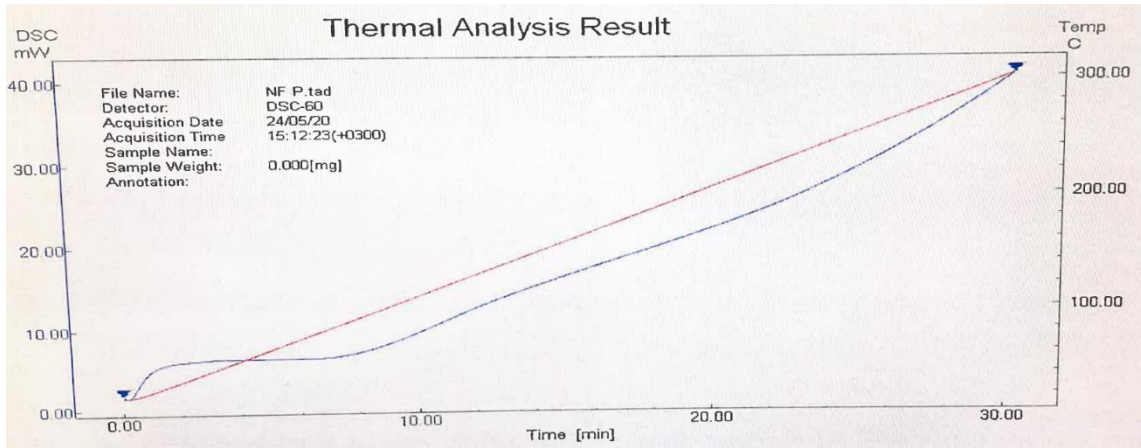
Şekil 4-17: PLU co-polimerinin DSC analiz sonucu



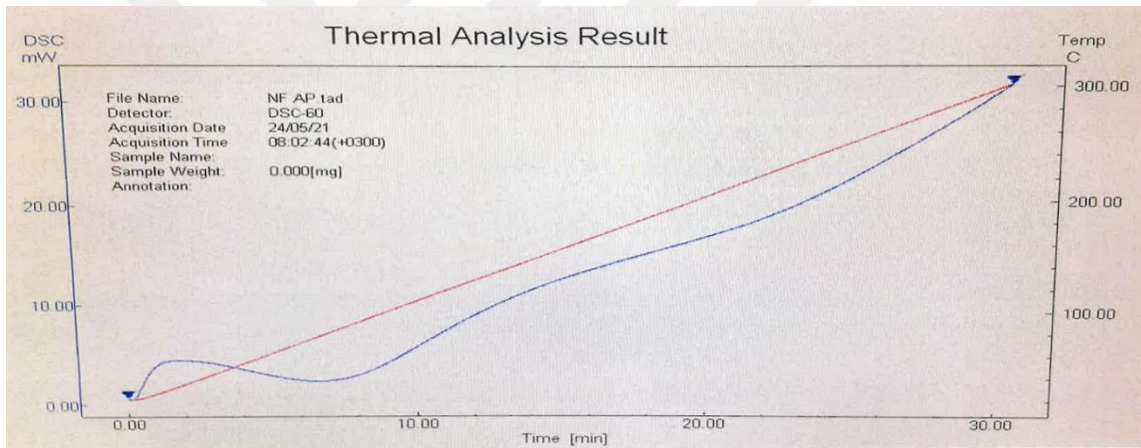
Şekil 4-18: DKP, PSC, PVA, PVP ve PLU maddelerinin toz halde fiziksel karışımının DSC analiz sonucu



Şekil 4-19: Nanolif-A formülasyonunun DSC analiz sonucu



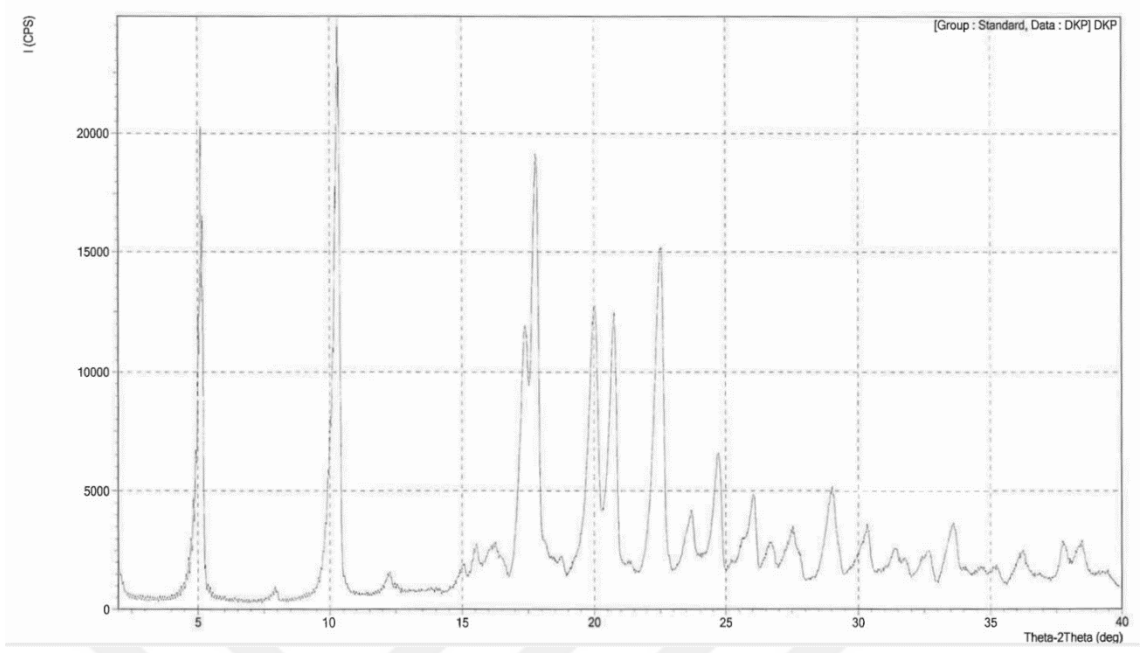
Şekil 4-20: Nanolif-P formülasyonunun DSC analiz sonucu



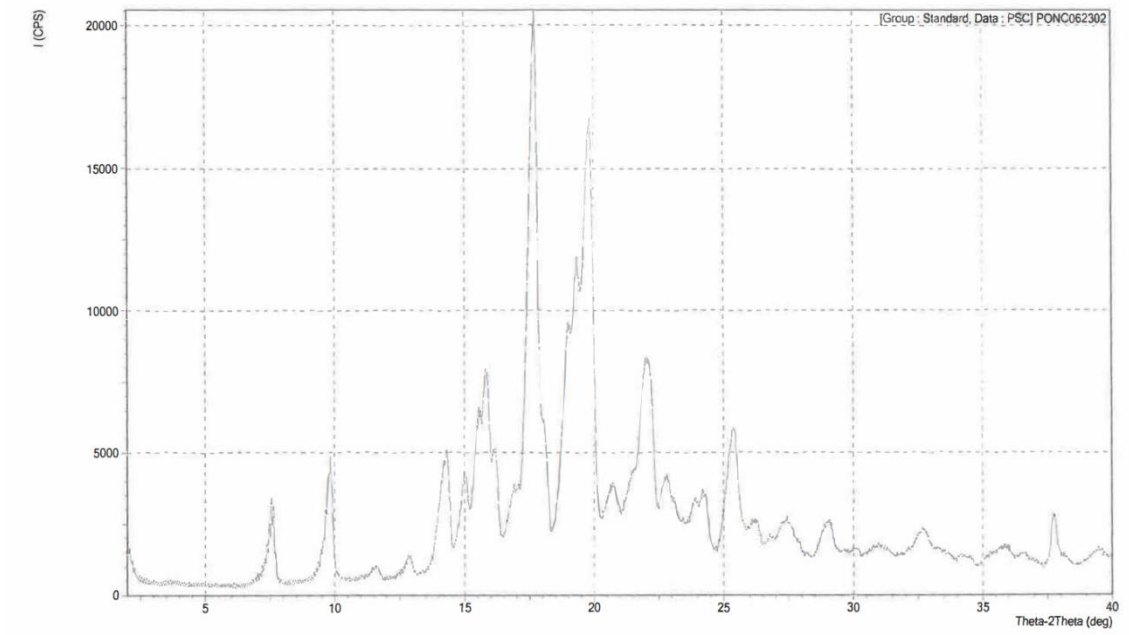
Şekil 4-21: Nanolif-AP formülasyonunun DSC analiz sonucu

4.6.5. Nanolif Formülasyonlarında X-ışını Difraksiyon (XRD) Analizi

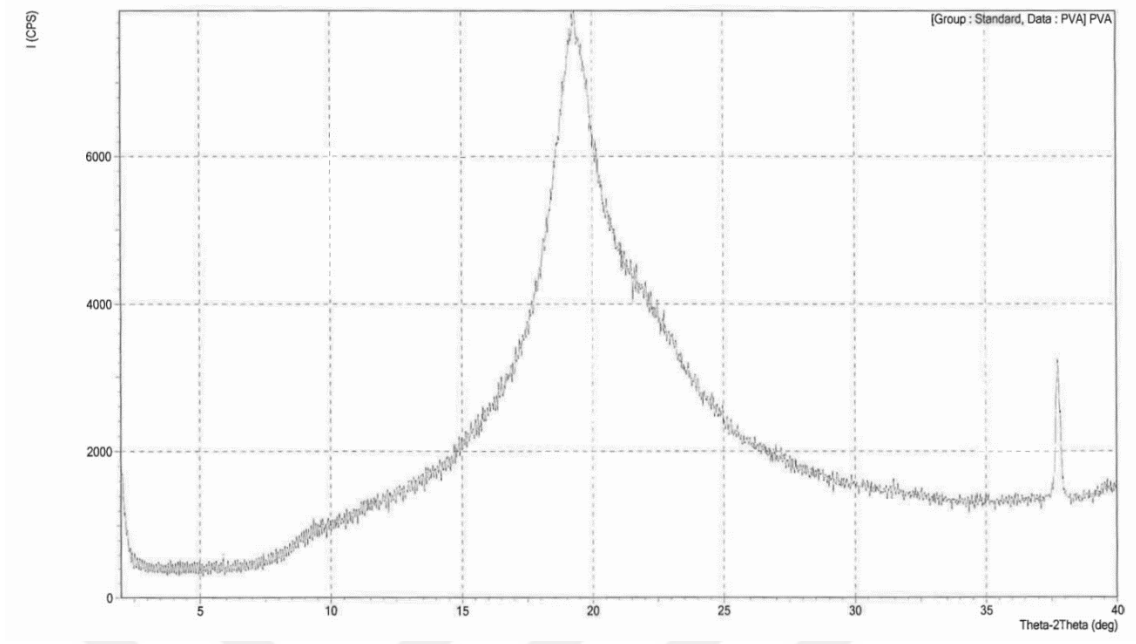
Nanolif formülasyonlarının, etken ve yardımcı maddelerin XRD analizleri Bölüm 3.2.7.5'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4-22, 4-23, 4-24, 4-25, 4-26, 4-27, 4-28, 4-29 ve 4-30'da verilmiştir.



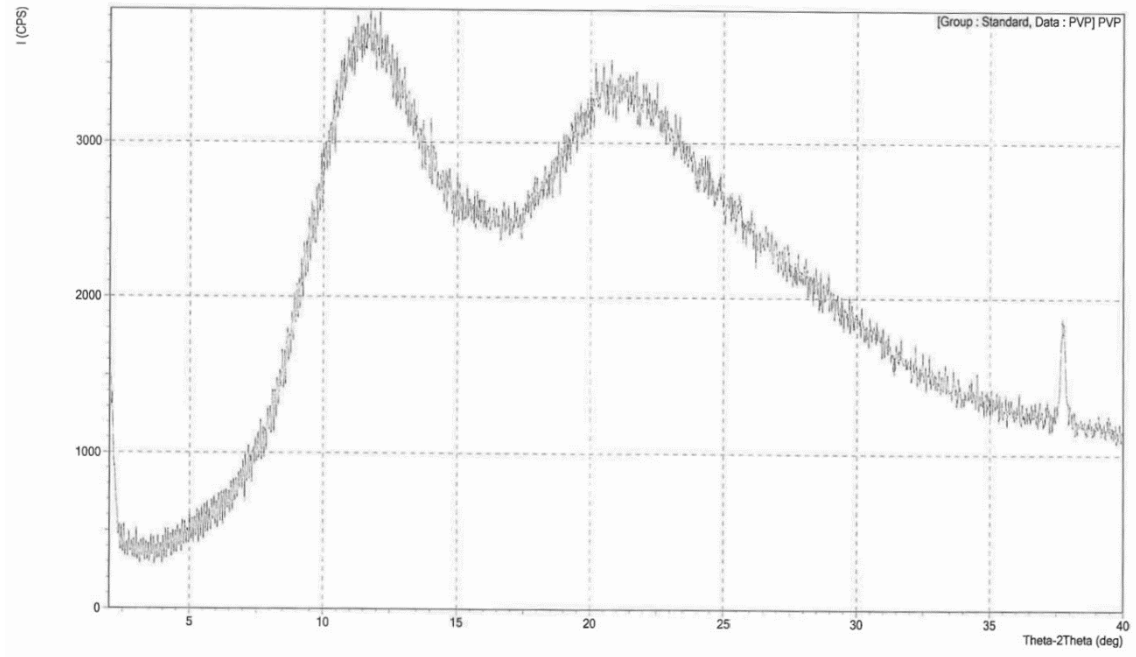
Şekil 4-22: DKP'nin XRD analiz sonucu



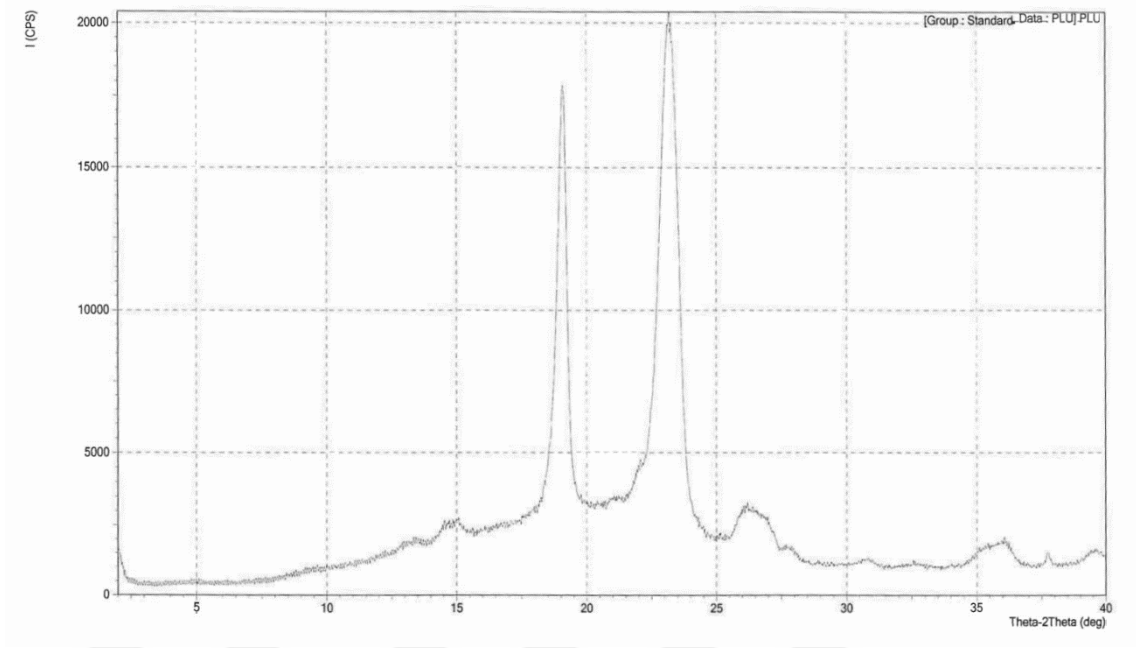
Şekil 4-23: PSC'nin XRD analiz sonucu



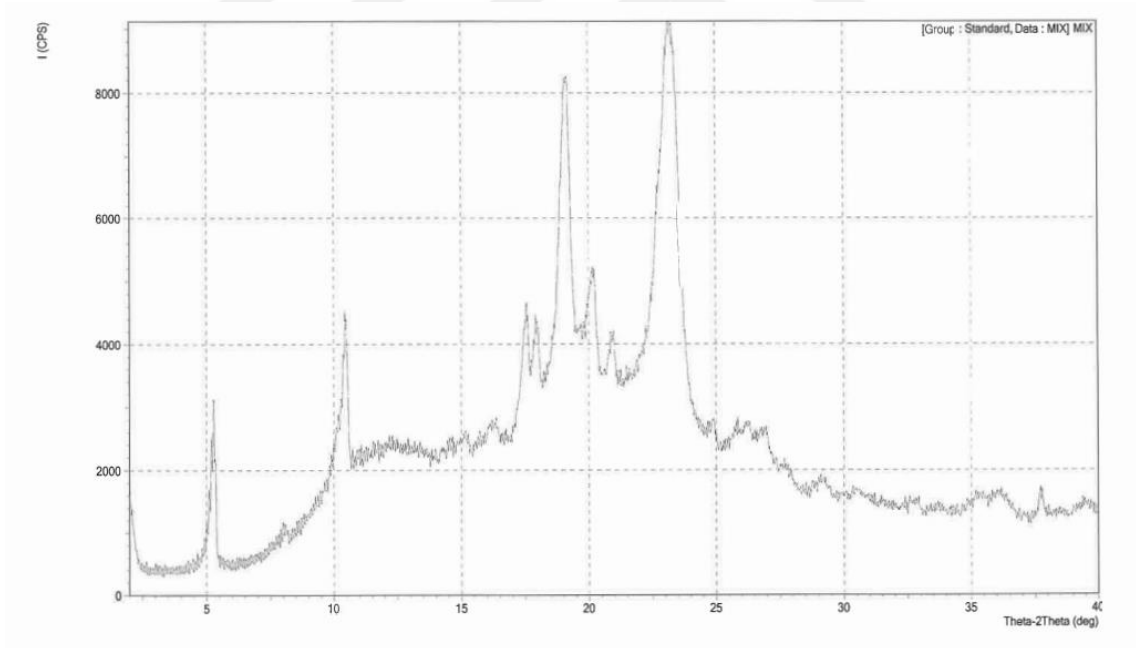
Şekil 4-24: PVA polimerinin XRD analiz sonucu



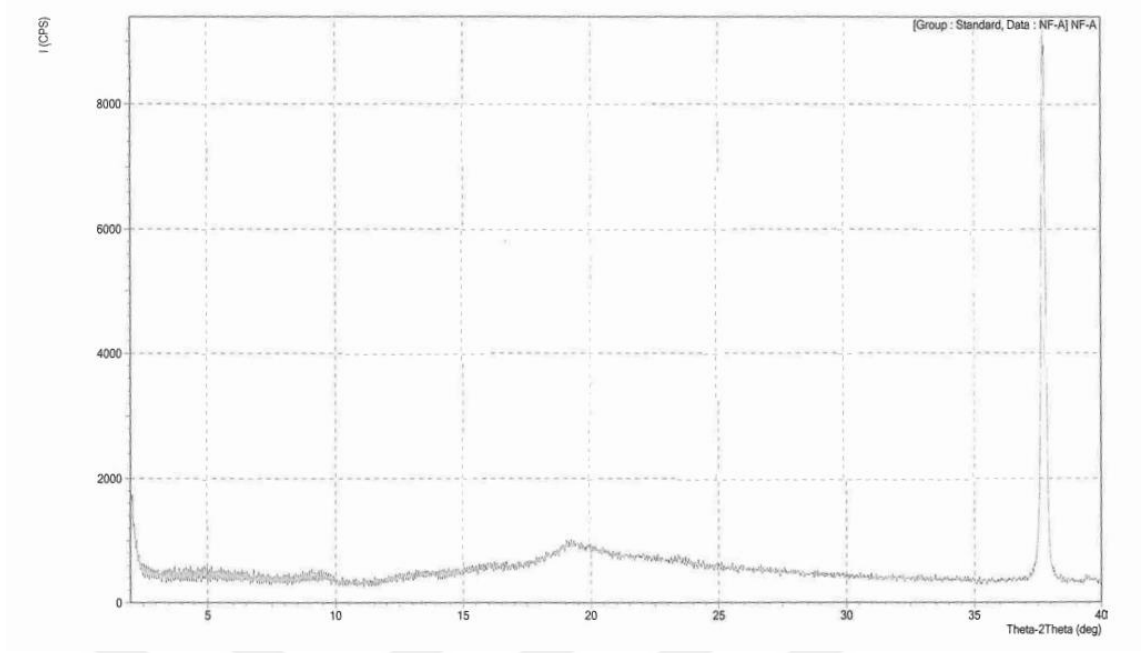
Şekil 4-25: PVP polimerinin XRD analiz sonucu



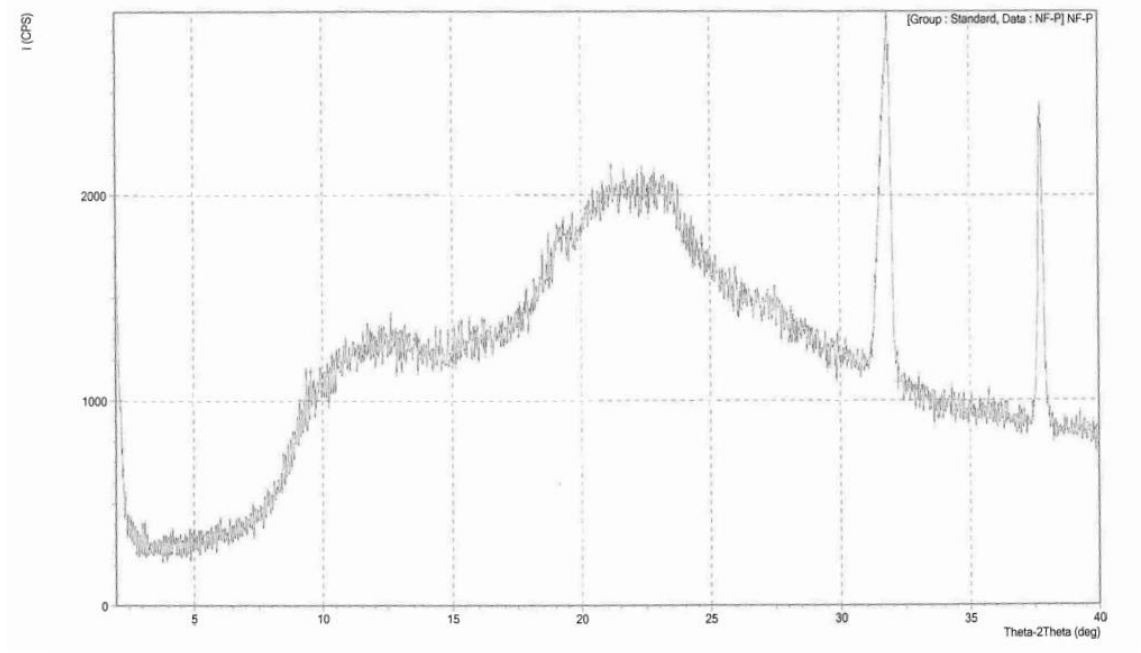
Şekil 4-26: PLU co-polimerinin XRD analiz sonucu



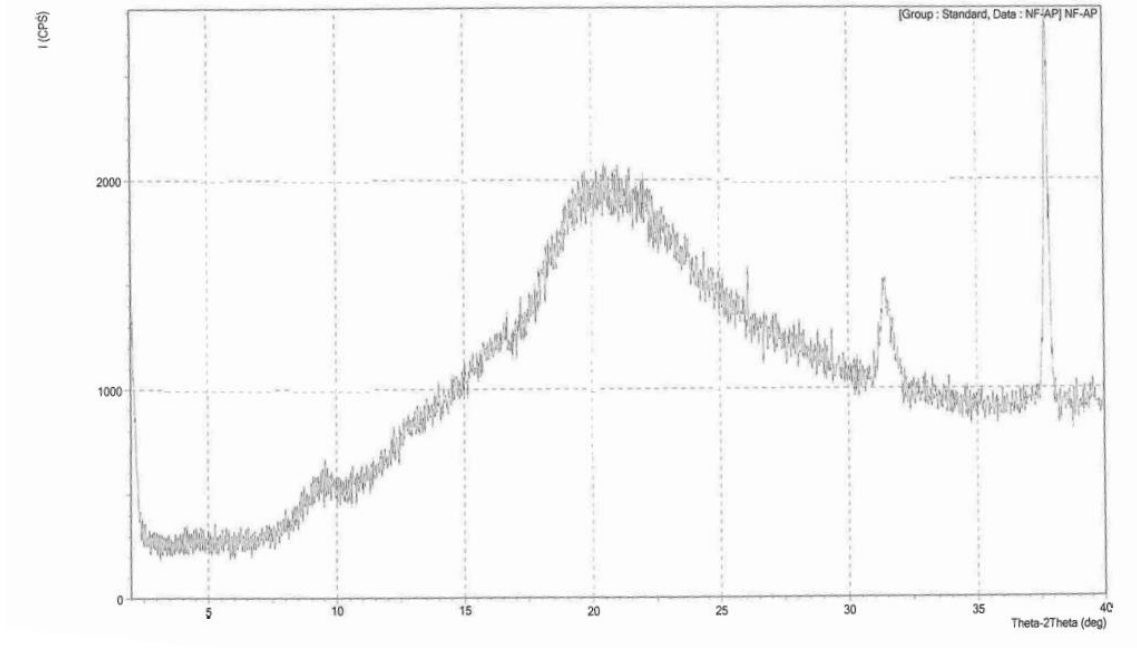
Şekil 4-27: DKP, PSC, PVA, PVP ve PLU maddelerinin toz halde fiziksel karışımının XRD analiz sonucu



Şekil 4-28: Nanolif-A formülasyonunun XRD analiz sonucu



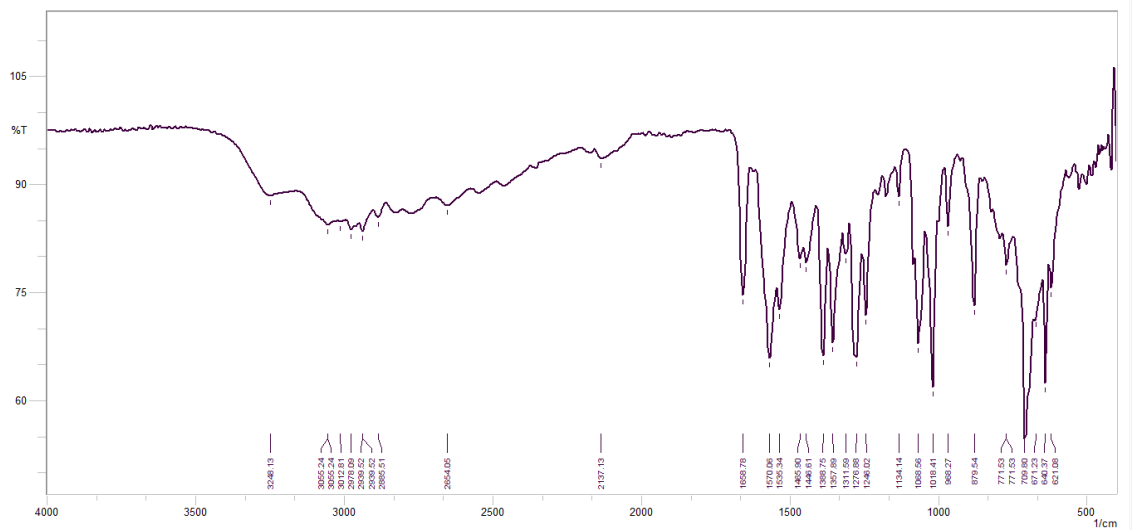
Şekil 4-29: Nanolif-P formülasyonunun XRD analiz sonucu



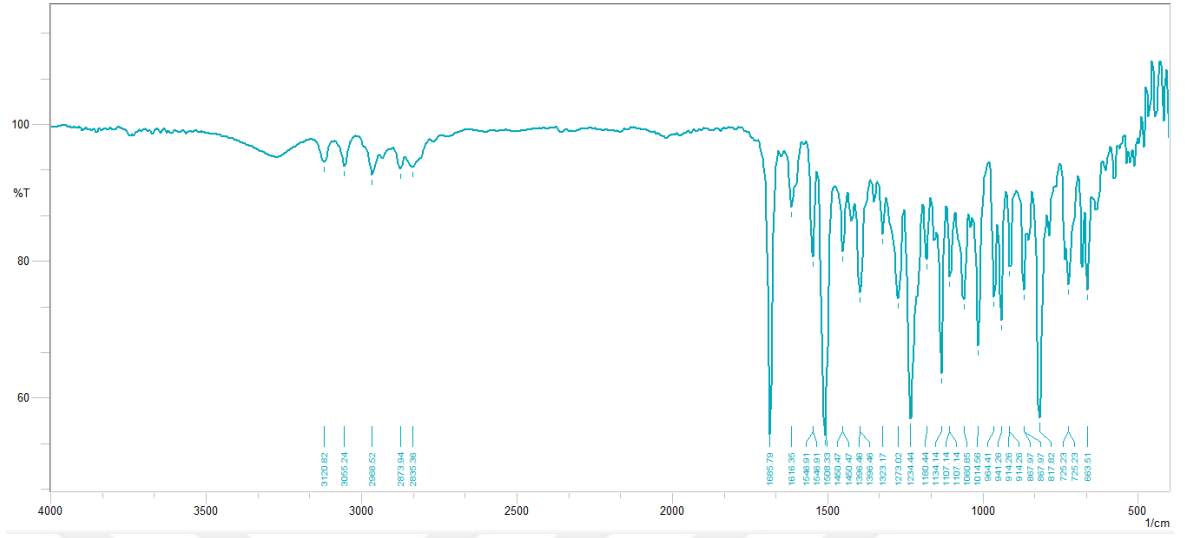
Şekil 4-30: Nanolif-AP formülasyonun XRD analiz sonucu

4.6.6. Nanolif Formülasyonlarının Fourier Dönüştümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

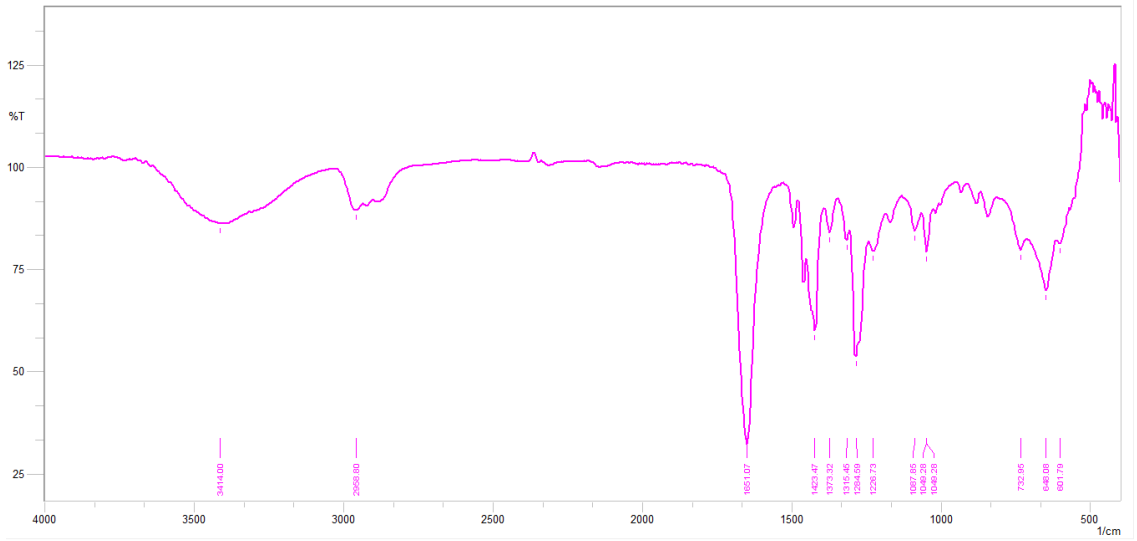
Nanolif formülasyonlarının, etken ve yardımcı maddelerin ATR-FTIR spektrumları Bölüm 3.2.7.6’da anlatıldığı şekilde çekilmiştir. ATR-FTIR spektrum sonuçları Şekil 4-31, 4-32, 4-33, 4-34, 4-35, 4-36, 4-37, 4-38 ve 4-39’da verilmiştir. Ayrıca etken ve yardımcı maddelerin karakterist absorbans değerleri Tablo 4-24, 4-25, 4-26, 4-27 ve 4-28’de verilmiştir.



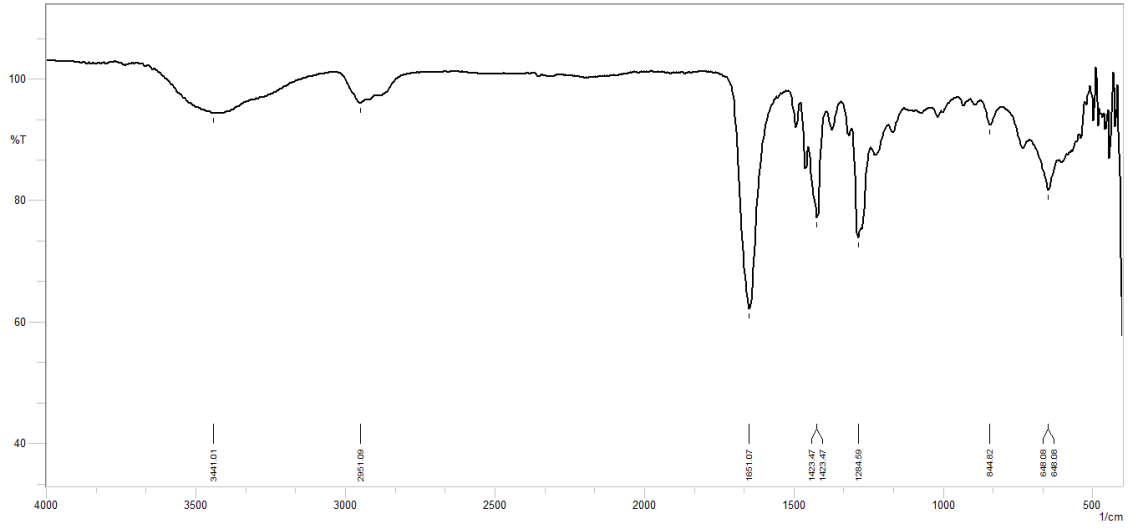
Şekil 4-31: DKP’nin ATR-FTIR spektrumu



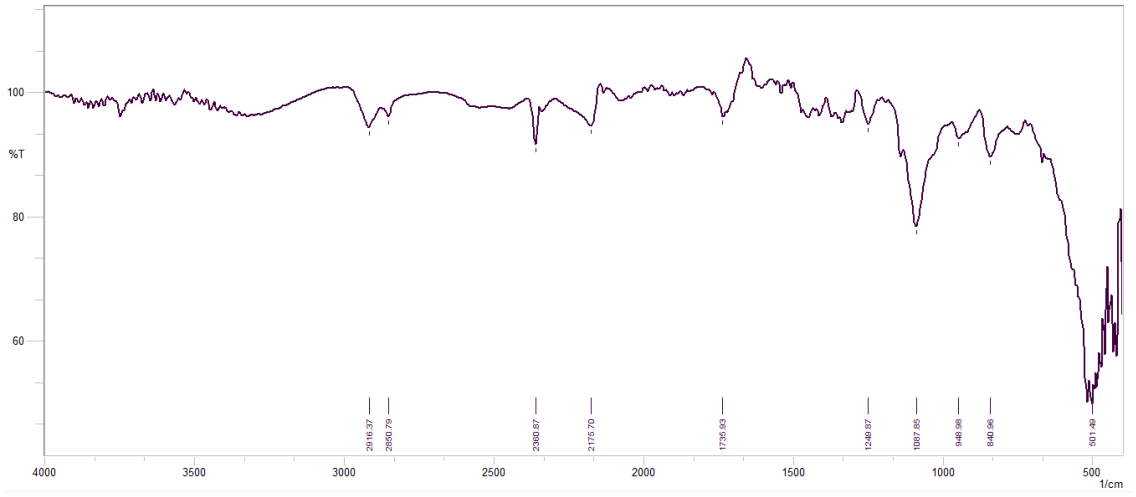
Şekil 4-32: PSC'nin ATR-FTIR spektrumu



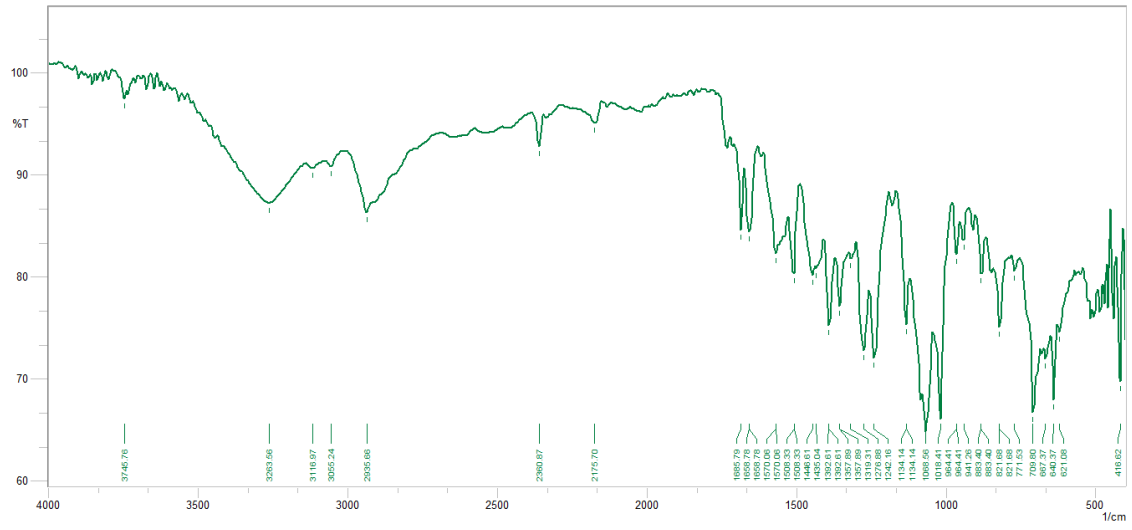
Şekil 4-33: PVA polimerinin ATR-FTIR spektrumu



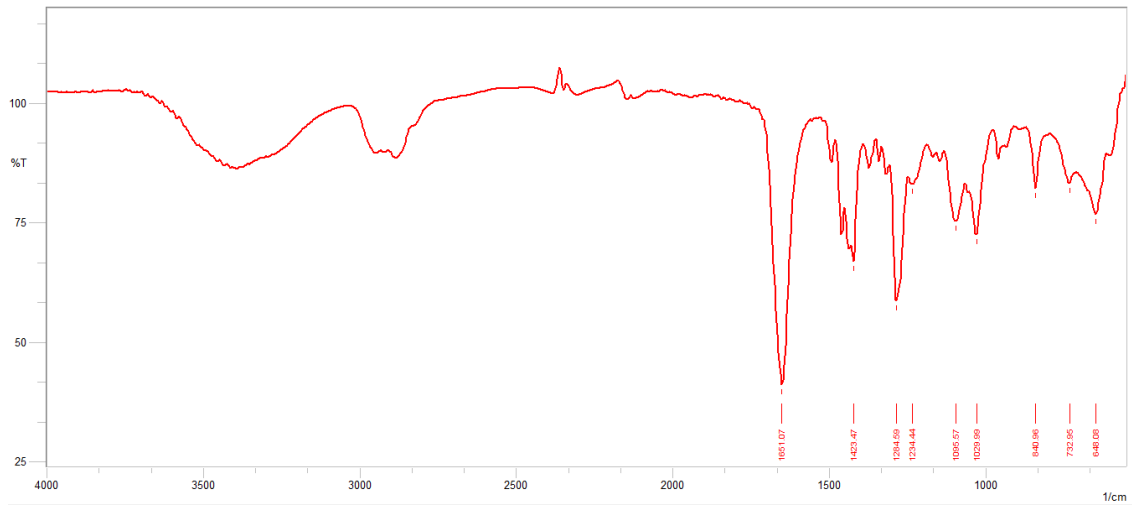
Şekil 4-34: PVP polimerinin ATR-FTIR spektrumu



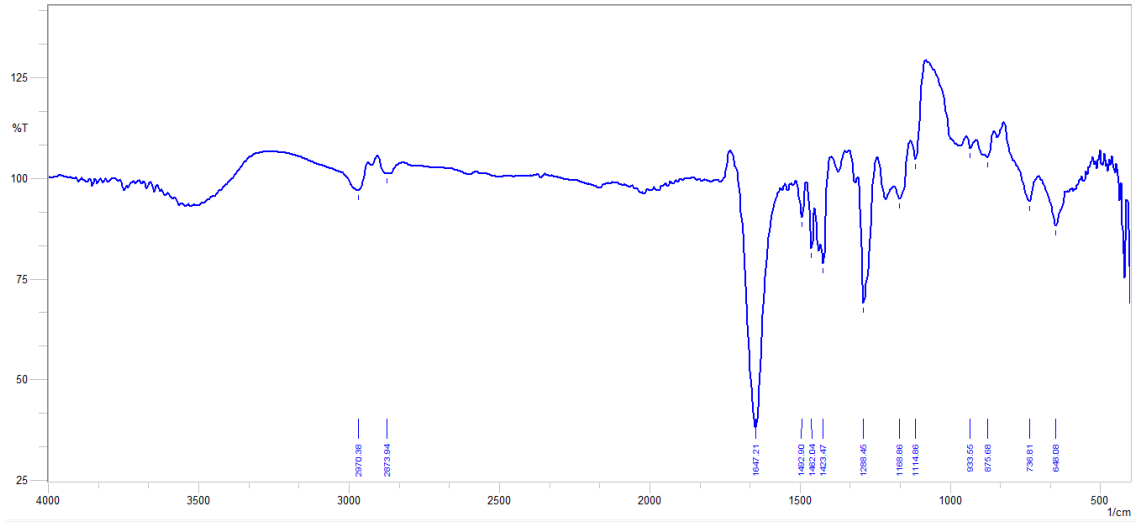
Şekil 4-35: PLU co-polimerinin ATR-FTIR spektrumu



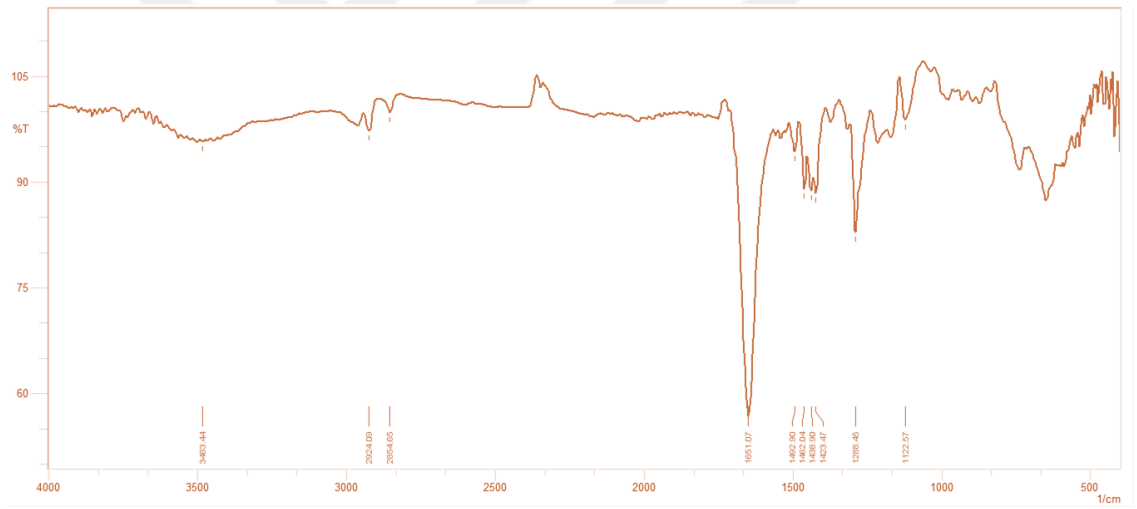
Şekil 4-36: DKP, PSC, PVA, PVP ve PLU maddelerinin toz halde fiziksel karışımının ATR-FTIR spektrumu



Şekil 4-37: Nanolif-A formülasyonunun ATR-FTIR spektrumu



Şekil 4-38: Nanolif-P formülasyonunun ATR-FTIR spektrumu



Şekil 4-39: Nanolif-AP formülasyonunun ATR-FTIR spektrumu

Tablo 4-24: DKP'nin karakteristik absorbans bantları

Dalga numarası (cm ⁻¹)	Absorbans bantları
2900–3000 arası	CH ₂
1658,78	C=O karbonil
1570,06	N-H

1250–1300 arası	C-O gerilme
1535,34	C=C (aromatik)

Tablo 4-25: PSC'nin karakteristik absorbands bantları

Dalga numarası (cm ⁻¹)	Absorbans bantları
3120,82	O-H gerilmesi
2966,52	C-H gerilmesi (CH ₂)
1685,79	C=O karbonil
1616,35	C=N gerilmesi
1508,33	C=C (aromatik)
1450,47	C-N gerilmesi (Furan Halkası)
1234,44	C-O-C gerilmesi asimetrik aril alkil eter
1107,14	C-F aril halojenür

Tablo 4-26: PVA polimerinin karakteristik absorbands bantları

Dalga numarası (cm ⁻¹)	Absorbans bantları
3414	O-H gerilmesi
2958,8	C-H gerilmesi (CH ₂)
1651,07	C=O Gerilmesi Karbonil
1423,47	Karboksilik asit simetrik C=O gerilme

1049-1226 arası

C-O gerilmesi

840-920 arası

C-C Gerilme ve C-OH Bükülme

Tablo 4-27: PVP polimerinin karakteristik absorbans bantları

Dalga numarası (cm ⁻¹)	Absorbans bantları
3441,01	O-H gerilmesi
2951,09	C-H gerilmesi (CH ₂)
1651,07	C=O karbonil
1423,42	C-H Bükülme
1284,59	C-N Gerilmesi
1050-1100 arası	C-O Gerilmesi

Tablo 4-28: PLU co-polimerinin karakteristik absorbans bantları

Dalga numarası (cm ⁻¹)	Absorbans bantları
2916-2850	C-H gerilmesi
1450-1460	C-H bükülmesi
1249,87	Düzlem İçi O-H bükülmesi
1087,85	C-O-C Gerilmesi (eter bağı)
950-960	C-H Bükülmesi (alkil grupları ile ilişkili)
840,96	C-H Düzlem Dışı Bükülme (CH ₂)

4.7. *In vitro* İlaç Salım Çalışmaları

4.7.1. Etken Maddelerin Çözünürlük Çalışmaları

Bölüm 3.2.8.1.de anlatıldığı şekilde, formülasyonların *in vitro* salım çalışmalarında kullanılmak üzere sink koşulunu sağlayan reseptör ortamı bulmak adına çözünürlük çalışmaları yapılmıştır. DKP, BCS sınıf I bir etken madde olduğu için sink koşuluna PSC konsantrasyonu üzerinden bakılmıştır. Etken maddelerin çözünürlük çalışmalarına ait bulgular Tablo 4-29’da verilmiştir.

Tablo 4-29: Etken maddelerin çözünürlük çalışmasına ait bulgular (n=3)

Çözücü Ortamı	DKP Çözünürlük ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SD	PSC Çözünürlük ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ SD
Fosfat Tamponu pH 7,4	6668,72 $\pm$ 819,32	0,92 $\pm$ 0,06
Yapay Gözyaşı (YG)	4664,53 $\pm$ 984,30	0,71 $\pm$ 0,06
YG + %0,05 SLS	5546,55 $\pm$ 347,09	32,44 $\pm$ 1,36
YG + %0,1 SLS	6136,44 $\pm$ 487,52	104,40 $\pm$ 2,56
YG + %0,2 SLS	8094,25 $\pm$ 880,90	236,38 $\pm$ 7,93
YG + %0,25 SLS	8601,02 $\pm$ 790,75	279,80 $\pm$ 6,13
YG + %0,5 SLS	14091,28 $\pm$ 1187,94	539,55 $\pm$ 15,35
YG + %1 SLS	19064,83 $\pm$ 2417,98	1091,79 $\pm$ 19,23
YG + %2,5 SLS	27938,86 $\pm$ 3099,61	2983,23 $\pm$ 25,29
YG + %5 SLS	42052,12 $\pm$ 6992,77	5312,53 $\pm$ 32,03

Çözünürlük çalışmasının sonucunda *in vitro* salım ve *ex vivo* permeabilite çalışmalarında kullanılmak üzere sink koşulunun sağlandığı reseptör ortam olarak Yapay Gözyaşı + %0,1 SLS çözeltisi seçilmiştir.

4.7.2. *In vitro* Salım Çalışmaları

In vitro salım çalışmaları misel formülasyonu için Bölüm 3.2.8.2’de tarif edildiği şekilde, nanolif formülasyonları için de Bölüm 3.2.8.3’te tarif edildiği şekilde yapılmıştır. *In vitro* salım çalışmalarında, misel formülasyonu, misel formülasyonu ile aynı konsantrasyonda DKP ve PSC içerecek şekilde seyreltilmiş Noxafil®+DKP kontrol çözeltisi, Nanolif-A, P, AP, P(-M) ve AP(-M) formülasyonları için 8 saat için cm^2 ’den salınan kümülatif etken madde miktarları hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular Tablo 4-30, 4-31, 4-32, 4-33, 4-34 ve 4-35’te verilmiştir. Formülasyonların zamana karşı DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) grafikleri Şekil 4-40 ve 4-42’de, zamana karşı PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) grafikleri de Şekil 4-41 ve 4-43’te verilmiştir.

Tablo 4-30: Misel formülasyonunun ve kontrol çözeltisinin (Noxafil®+DKP karışımı) Franz Difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3)

Zaman (saat)	Misel		Kontrol (Noxafil®+DKP çözeltisi)	
	DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD
0,5	2924,10 $\pm$ 150,63	25,70 $\pm$ 2,20	2346,64 $\pm$ 45,20	2,43 $\pm$ 0,29
1	6823,68 $\pm$ 451,06	112,76 $\pm$ 6,09	5531,50 $\pm$ 384,25	3,51 $\pm$ 0,26
2	8918,22 $\pm$ 573,93	169,56 $\pm$ 17,67	7596,95 $\pm$ 786,72	5,30 $\pm$ 0,12
3	8999,44 $\pm$ 653,51	209,17 $\pm$ 13,05	8448,52 $\pm$ 706,81	9,63 $\pm$ 1,39
4	8710,98 $\pm$ 917,43	148,43 $\pm$ 9,09	8900,23 $\pm$ 639,94	15,10 $\pm$ 1,25
6	8611,16 $\pm$ 315,37	144,56 $\pm$ 9,22	9062,86 $\pm$ 219,31	27,25 $\pm$ 2,37
8	8357,60 $\pm$ 270,19	139,76 $\pm$ 3,56	9552,06 $\pm$ 176,00	44,63 $\pm$ 7,76

Tablo 4-31: Nanolif-A formülasyonun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3)

Zaman (saat)	Nanolif-A	
	DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm\text{SD}$	PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm\text{SD}$
0,5	203,36 $\pm$ 25,81	3,51 $\pm$ 0,02
1	374,73 $\pm$ 12,43	4,30 $\pm$ 0,16
2	384,89 $\pm$ 10,24	4,51 $\pm$ 0,14
3	374,64 $\pm$ 13,68	4,69 $\pm$ 0,14
4	378,78 $\pm$ 13,95	4,85 $\pm$ 0,25
6	376,97 $\pm$ 14,65	5,14 $\pm$ 0,21
8	372,67 $\pm$ 13,44	5,10 $\pm$ 0,16

Tablo 4-32: Nanolif-P formülasyonun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3)

Zaman (saat)	Nanolif-P	
	DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm\text{SD}$	PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm\text{SD}$
0,5	100,57 $\pm$ 15,95	1,28 $\pm$ 0,08
1	286,01 $\pm$ 21,27	2,09 $\pm$ 0,26
2	351,34 $\pm$ 22,30	2,64 $\pm$ 0,20
3	369,58 $\pm$ 3,28	3,02 $\pm$ 0,35
4	373,25 $\pm$ 8,34	3,13 $\pm$ 0,30
6	372,53 $\pm$ 8,80	3,42 $\pm$ 0,33
8	371,42 $\pm$ 13,80	3,50 $\pm$ 0,37

Tablo 4-33: Nanolif-AP formülasyonunun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3)

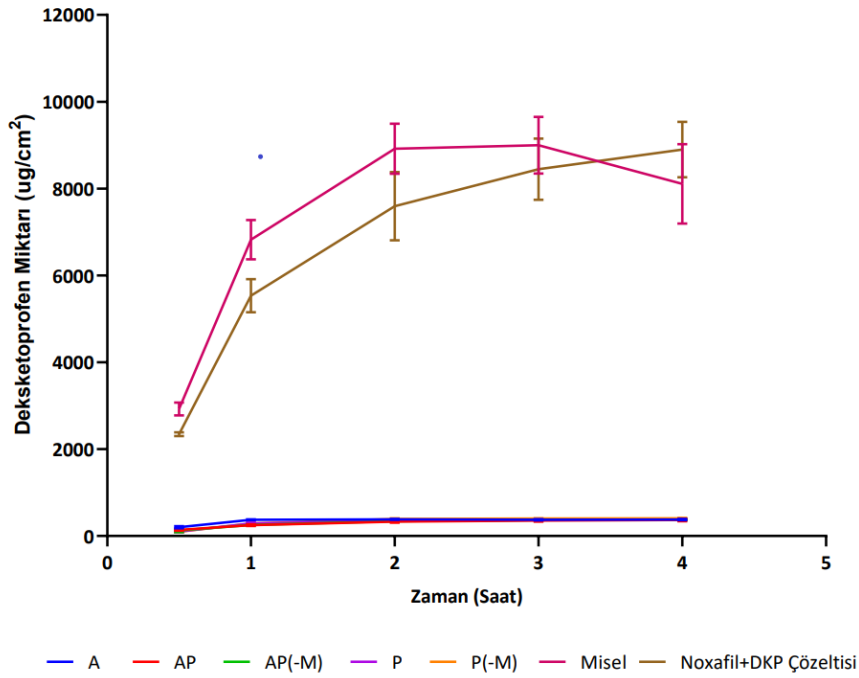
Zaman (saat)	Nanolif-AP	
	DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD
0,5	138,43 $\pm$ 19,20	2,05 $\pm$ 0,09
1	251,21 $\pm$ 20,64	2,10 $\pm$ 0,15
2	328,67 $\pm$ 24,71	2,65 $\pm$ 0,18
3	353,51 $\pm$ 24,02	3,42 $\pm$ 0,28
4	367,94 $\pm$ 27,58	3,91 $\pm$ 0,24
6	365,21 $\pm$ 28,14	4,44 $\pm$ 0,34
8	360,68 $\pm$ 30,13	4,60 $\pm$ 0,25

Tablo 4-34: Nanolif-P(-M) formülasyonunun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3)

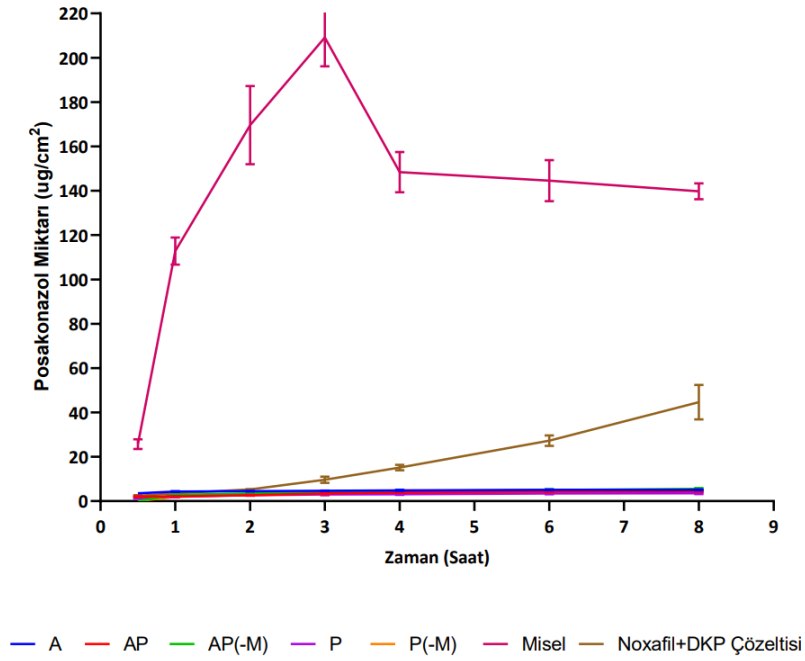
Zaman (saat)	Nanolif-P(-M)	
	DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD
0,5	97,99 $\pm$ 12,60	0
1	289,55 $\pm$ 15,72	1,86 $\pm$ 0,20
2	391,74 $\pm$ 13,58	2,95 $\pm$ 0,29
3	400,59 $\pm$ 7,27	3,59 $\pm$ 0,21
4	405,32 $\pm$ 10,31	3,81 $\pm$ 0,15
6	404,18 $\pm$ 14,74	4,11 $\pm$ 0,30
8	396,24 $\pm$ 19,89	4,43 $\pm$ 0,29

Tablo 4-35: Nanolif-AP(-M) formülasyonunun Franz difüzyon hücrelerindeki ilaç salım sonuçları (n=3)

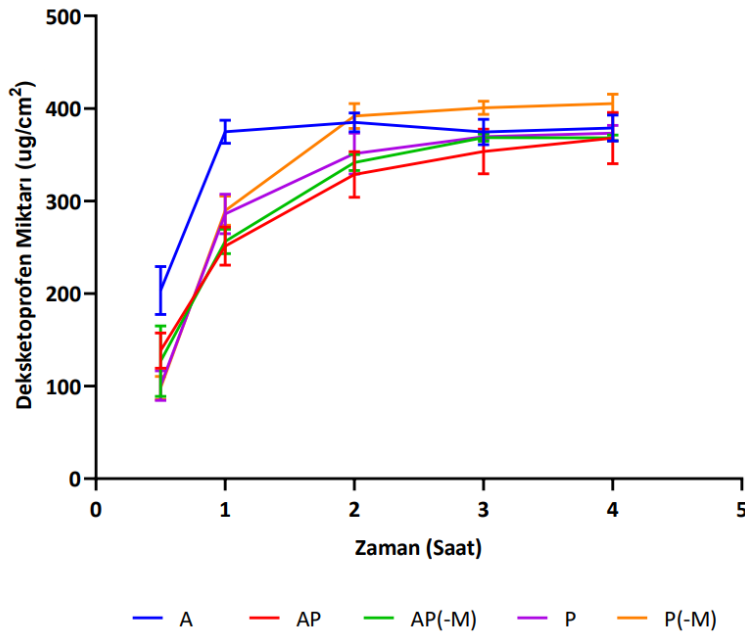
Zaman (saat)	Nanolif-AP(-M)	
	DKP salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm\text{SD}$	PSC salım ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm\text{SD}$
0,5	126,94 $\pm$ 38,00	0
1	256,35 $\pm$ 13,12	2,82 $\pm$ 0,20
2	341,47 $\pm$ 8,61	3,41 $\pm$ 0,27
3	368,56 $\pm$ 24,02	4,05 $\pm$ 0,35
4	368,28 $\pm$ 3,12	4,52 $\pm$ 0,38
6	368,30 $\pm$ 8,64	5,03 $\pm$ 0,32
8	358,87 $\pm$ 5,19	5,57 $\pm$ 0,39



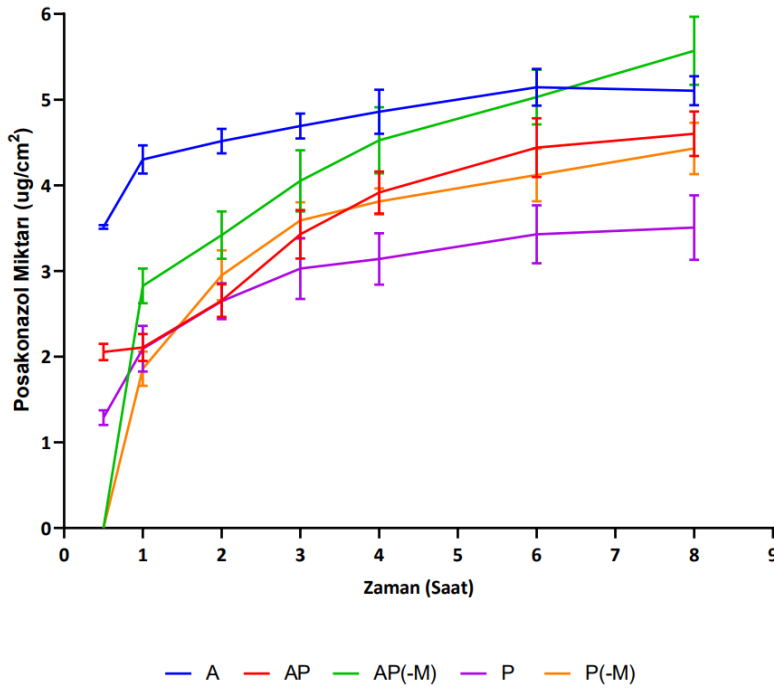
Şekil 4-40: Misel formülasyonunun, nanolif formülasyonlarının ve kontrol çözeltisinin DKP için zamana karşı salım grafiği



Şekil 4-41: Misel formülasyonunun, nanolif formülasyonlarının ve kontrol çözeltisinin PSC için zamana karşı salım grafiği



Şekil 4-42: Nanolif formülasyonlarının DKP için zamana karşı salım grafiği



Şekil 4-43: Nanolif formülasyonlarının PSC için zamana karşı salım grafiği

In vitro ilaç salım testlerinin sonunda istatistiksel analiz için GraphPad Prism 8.1.1. programı kullanılmış ve anlamlı farklılıklar olup olmadığı değerlendirilmiştir. Salım sonuçları, her etken madde için ayrı ayrı olacak şekilde, ikiden fazla karşılaştırma ögesi olduğunda “one-way ANOVA testi” ve iki karşılaştırma ögesi olduğunda “t testi” ile analiz edilmiştir.

Analizlerde ilk olarak, hazırlanan tüm formülasyonlar (misel ve nanolif formülasyonları) arasında değerlendirme yapılmıştır. Ardından nanolif formülasyonları kendi aralarında değerlendirilmiştir. Sonrasında misel ile kontrol çözeltisi (Noxafil®+DKP karışımı) ve nanolif formülasyonları ile kontrol çözeltisi karşılaştırılmıştır. Analizler sonucu elde edilen ‘*p*’ değerleri Tablo 4-36’da verilmiştir.

Tablo 4-36: *In vitro* ilaç salım testi sonuçlarına göre yapılan istatistiksel analizlerde elde edilen ‘*p*’ değerleri

Etken Madde	Tüm formülasyonların karşılaştırması	Nanoliflerin kendi arasında karşılaştırması	Misel ile Kontrol çözeltisi karşılaştırması	Nanolifler ile Kontrol çözeltisi karşılaştırması
DKP	<0,0001	0,9155	0,7295	
PSC	<0,0001	0,0808	0,0002	0,0047

4.7.3. *In vitro* İlaç Salım Kinetiklerinin Değerlendirilmesi

Bölüm 3.2.8.4’te belirtildiği şekilde hazırlanan formülasyonların *in vitro* ilaç salım kinetiklerini hesaplamak için KinetDS 3.0 uygulaması kullanılmıştır. Çıkan sonuçlara göre misel formülasyonu, Nanolif-A, Nanolif-P ve Nanolif-AP formülasyonları her iki etken madde için de Korsmeyer-Peppas kinetik modelinin Super Case II transport mekanizmasına uygun bulunmuştur. Formülasyonların Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre R^2 ve n değerleri Tablo 4-37’de verilmiştir.

Tablo 4-37: Üretilen formülasyonların Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre R^2 ve n değerleri

Formülasyon	DKP		PSC	
	R^2	n	R^2	n
A	0,9974	0,99	0,9937	0,95
P	0,9988	0,98	0,9965	0,94
AP	0,9986	0,98	0,9964	0,94
P(-M)	0,9990	0,98	0,9255	
AP(-M)	0,9988	0,98	0,9773	
Misel	0,9984	0,98	0,996	0,95
Noxafil®-DKP Çözeltisi	0,9991	0,97	0,9989	0,88

Üretilen formülasyonlar için Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre ‘ n ’ değerlerinin 0,89’dan büyük olması, ilaç salım kinetiklerinin non-Fickian Super Case II transport mekanizmasına benzer olduğunu göstermektedir. Korsmeyer-Peppas kinetik modelinde ‘ n ’ değerlerine göre ilaç salım kinetikleri Tablo 4-38’de verilmiştir.

Tablo 4-38: Korsmeyer-Peppas ilaç salım mekanizmaları

n	İlaç Salım Mekanizması
$n \leq 0.45$	Fickian difüzyon (Case I difüzyon)
$0.45 < n < 0.89$	Anomal difüzyon (non-Fickian difüzyon)

n = 0.89

Sıfırıncı dereceden salım (Case II transport)

n > 0.89

Super Case II transport

P(-M) ve AP(-M) formülasyonları DKP için diğer formülasyonlar gibi Korsmeyer-Peppas Super Case II transport modeline uygun çıkarken, PSC salımları ise Baker-Lonsdale mekanizmasına uygun çıkmıştır.

4.8. Ex vivo Çalışmalar

4.8.1. Ex vivo İlaç Geçiş Çalışmaları

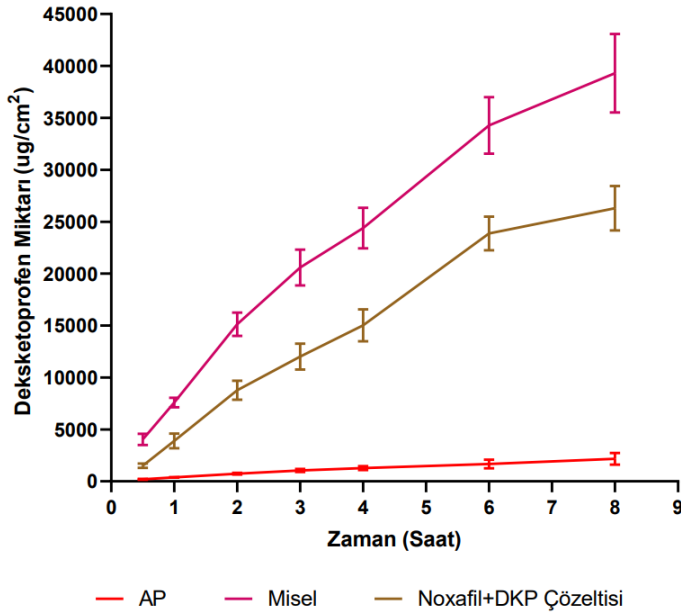
Bölüm 3.2.9.1’de anlatıldığı şekilde, misel formülasyonu, Nanolif-AP formülasyonu ve kontrol çözeltisi (250 µg/mL PSC’ye seyreltilmiş Noxafil® ve 10mg/mL DKP çözeltisi karışımı) için sığır kornea ve sklera dokularında ex vivo ilaç geçiş çalışmaları yapılmış ve 8 saat boyunca dokulardan geçen kümülatif etken maddelerin miktarları (µg/cm²) hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular Tablo 4-39 ve 4-40’ta, formülasyonların zamana karşı salım grafikleri de Şekil 4-44 ve Şekil 4-50 arasında verilmiştir.

Ek olarak ex vivo ilaç geçiş çalışmaları sonuçlarından hareketle, Bölüm 3.2.9.1’de verilen formüller kullanılarak, formülasyonlardaki etken maddelerin kornea ve sklera için hesaplanmış permeasyon parametreleri Tablo 4-41’de verilmiştir.

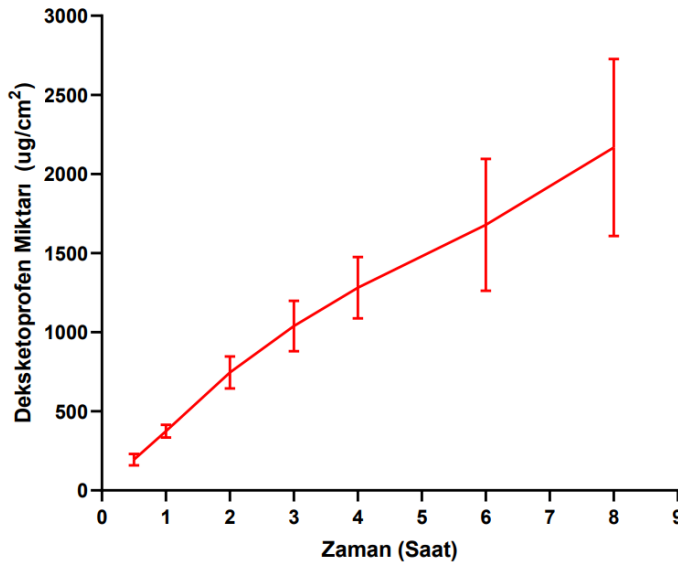
Tablo 4-39: Misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisinin sığır korneasından ex vivo geçiş çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (saat)	Misel		Kontrol (Noxafil®+DKP çözeltisi)		Nanolif-AP	
	DKP geçiş (µg/cm ²) ± SD	PSC geçiş (µg/cm ²) ± SD	DKP geçiş (µg/cm ²) ± SD	PSC geçiş (µg/cm ²) ± SD	DKP geçiş (µg/cm ²) ± SD	PSC geçiş (µg/cm ²) ± SD
0,5	4044,49±555,33	0	1513,70±212,72	0	194,47±35,86	0
1	7587,96±453,52	28,42±0,53	3887,05±707,17	0	374,54±39,73	8,07±0,11
2	15122,27±1134,71	83,15±1,80	8772,06±920,58	0	745,81±101,03	12,83±0,13
3	20582,62±1739,82	176,23±1,47	12023,47±1262,93	0	1039,09±158,96	19,29±0,24
4	24389,48±1956,15	221,43±2,45	15030,93±1549,59	0	1281,90±195,03	23,202±0,22

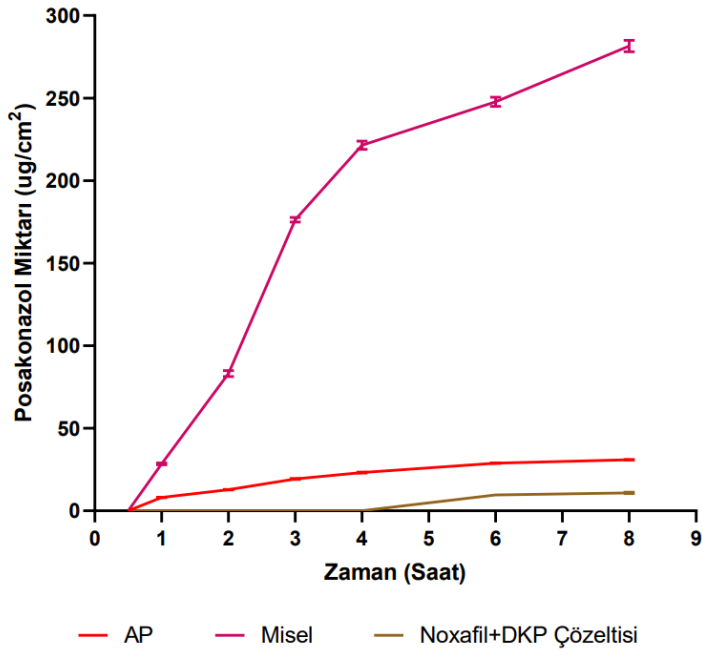
6	34276,20±2717,40	247,78±2,81	23873,23±1615,01	9,57±0,07	1678,99±417,40	28,92±0,18
8	39309,4±3783,19	281,56±3,44	26299,62±2141,29	10,90±0,39	2167,24±559,55	30,87±0,17



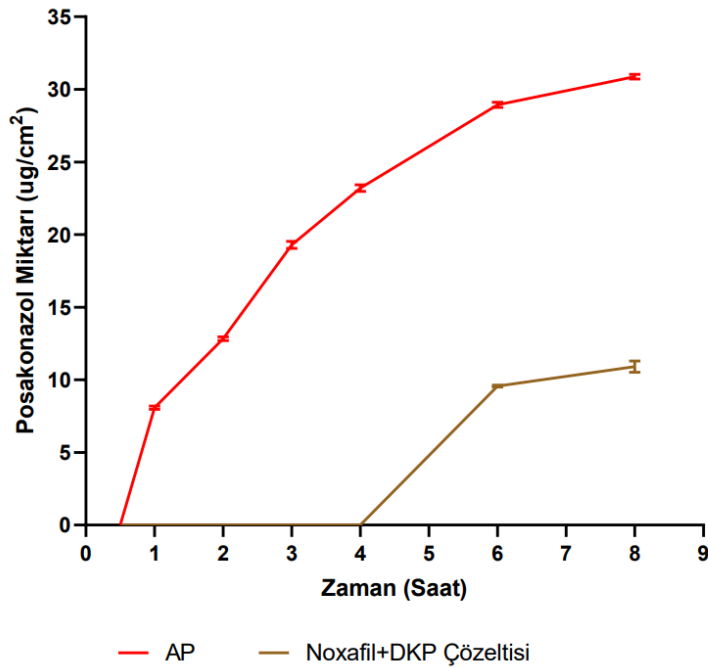
Şekil 4-44: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin DKP için sığır korneasından ex vivo zamana karşı geçiş grafiği



Şekil 4-45: Nanolif-AP'nin DKP için sığır korneasından ex vivo zamana karşı geçiş grafiği



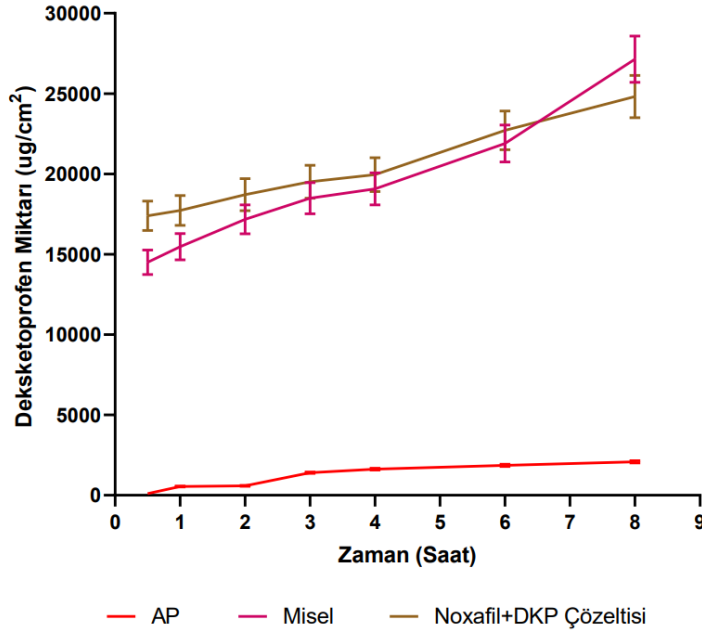
Şekil 4-46: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için sığır korneasından ex vivo zamana karşı geçiş grafiği



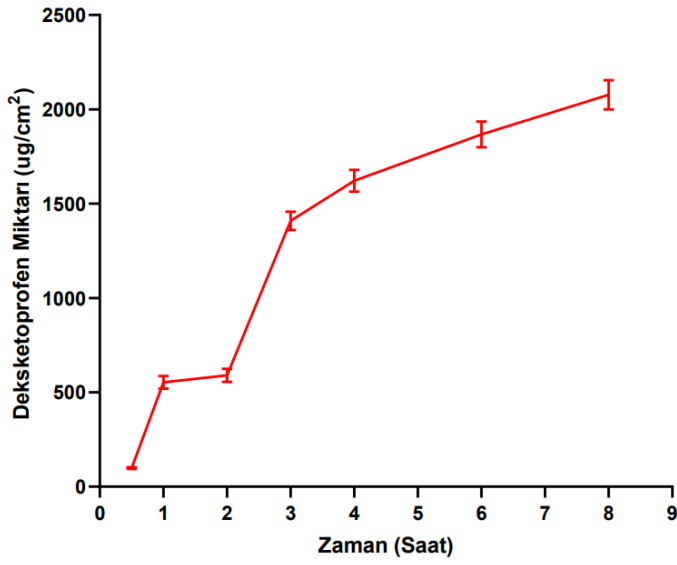
Şekil 4-47: Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için sığır korneasından ex vivo zamana karşı geçiş grafiği

Tablo 4-40: Misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisinin sıgır sklerasından ex vivo geçiş çalışması sonuçları (n=3)

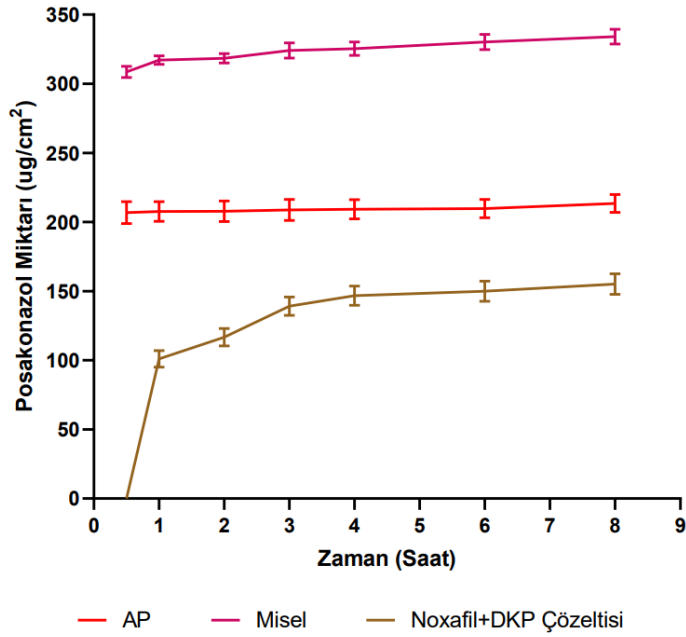
Zaman (saat)	Misel		Kontrol (Noxafil®+DKP çözeltisi)		Nanolif-AP	
	DKP geçiş ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	PSC geçiş ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	DKP geçiş ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	PSC geçiş ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	DKP geçiş ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD	PSC geçiş ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD
0,5	14501,13 $\pm$ 757,80	308,62 $\pm$ 4,09	17399,79 $\pm$ 915,27	0	98,27 $\pm$ 4,45	206,81 $\pm$ 7,90
1	15471,46 $\pm$ 812,66	317,11 $\pm$ 3,06	17726,26 $\pm$ 934,80	101,10 $\pm$ 6,04	553,45 $\pm$ 33,29	207,61 $\pm$ 7,16
2	17171,84 $\pm$ 902,76	318,45 $\pm$ 3,38	18710,13 $\pm$ 990,42	116,70 $\pm$ 6,34	590,37 $\pm$ 34,51	207,72 $\pm$ 7,45
3	18485,89 $\pm$ 973,26	324,04 $\pm$ 5,54	19518,62 $\pm$ 1029,95	139,18 $\pm$ 6,67	1409,49 $\pm$ 49,22	208,69 $\pm$ 7,67
4	19063,36 $\pm$ 1003,34	325,44 $\pm$ 4,94	19962,81 $\pm$ 1052,71	146,77 $\pm$ 6,94	1621,96 $\pm$ 57,58	209,22 $\pm$ 6,92
6	21888,50 $\pm$ 1156,79	330,20 $\pm$ 5,57	22710,01 $\pm$ 1201,89	149,95 $\pm$ 7,20	1867,40 $\pm$ 67,93	209,66 $\pm$ 6,68
8	27137,62 $\pm$ 1443,32	334,11 $\pm$ 5,36	24815,53 $\pm$ 1315,85	155,06 $\pm$ 7,47	2077,47 $\pm$ 77,03	213,39 $\pm$ 6,45



Şekil 4-48: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin DKP için sıgır sklerasından ex vivo zamana karşı geçiş grafiği



Şekil 4-49: Nanolif-AP'nin DKP için sığır sklerasından *ex vivo* zamana karşı geçiş grafiği



Şekil 4-50: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için sığır sklerasından *ex vivo* zamana karşı geçiş grafiği

Tablo 4-41: Formülasyonların kornea ve skleradaki permeasyon parametreleri

			P_{app} (cm s ⁻¹)		$Deff$ (s ⁻¹)		J_{ss} (mol dk ⁻¹)	
			Ortalama	±SD	Ortalama	±SD	Ortalama	±SD
Kornea	DKP	Misel	5,69E-05	6,59E-05	2,22E-05	8,38E-06	2,31E-09	3,41E-10
		Nanolif-AP	2,84E-05	2,99E-05	1,25E-05	6,10E-06	1,28E-10	3,30E-11
		Kontrol Çözeltisi	4,15E-05	5,25E-05	1,45E-05	3,96E-06	1,55E-09	1,85E-10
Sklera	DKP	Misel	1,37E-05	1,63E-05	4,84E-06	2,42E-06	5,56E-10	2,96E-11
		Nanolif-AP	5,63E-06	1,79E-05	4,39E-06	2,35E-06	4,26E-11	1,58E-12
		Kontrol Çözeltisi	6,93E-06	2,15E-05	5,22E-06	2,74E-06	5,08E-10	2,70E-11
Kornea	PSC	Misel	4,58E-08	6,99E-08	9,38E-09	2,88E-09	6,02E-15	7,36E-16
		Nanolif-AP	4,28E-08	6,29E-08	1,01E-08	1,28E-09	6,60E-16	3,73E-17
		Kontrol Çözeltisi	1,65E-09	2,48E-09	3,60E-10	7,95E-11	2,33E-16	8,38E-18
Sklera	PSC	Misel	1,93E-08	2,99E-08	3,17E-09	3,87E-10	2,45E-15	4,14E-16
		Nanolif-AP	6,07E-08	8,63E-08	1,51E-08	7,77E-09	1,15E-15	5,56E-16
		Kontrol Çözeltisi	8,40E-09	1,20E-08	2,01E-09	8,37E-10	1,54E-15	5,88E-16

Ex vivo ilaç geçiş çalışmaları sonunda istatistiksel analiz için GraphPad Prism 8.1.1. programı kullanılmış ve anlamlı farklılıklar olup olmadığı değerlendirilmiştir. Permeasyon sonuçları, her etken madde için ayrı ayrı olacak şekilde, hem korneada hem de sklerada, ikiden fazla karşılaştırma ögesi olduğunda “one-way ANOVA testi”, iki karşılaştırma ögesi olduğunda “t testi” ile analiz edilmiştir.

Analizlerde ilk olarak, hazırlanan misel, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi (Noxafil®+DKP karışımı) arasında değerlendirme yapılmıştır. Ardından misel ile kontrol çözeltisi değerlendirilmiş, sonrasında da Nanolif-AP ile kontrol çözeltisi karşılaştırılmıştır. Analizler sonucu elde edilen ‘*p*’ değerleri Tablo 4-42’de verilmiştir.

Tablo 4-42: Ex vivo ilaç geçiş çalışması sonuçlarına göre yapılan istatistiksel analizlerde elde edilen ‘p’ değerleri

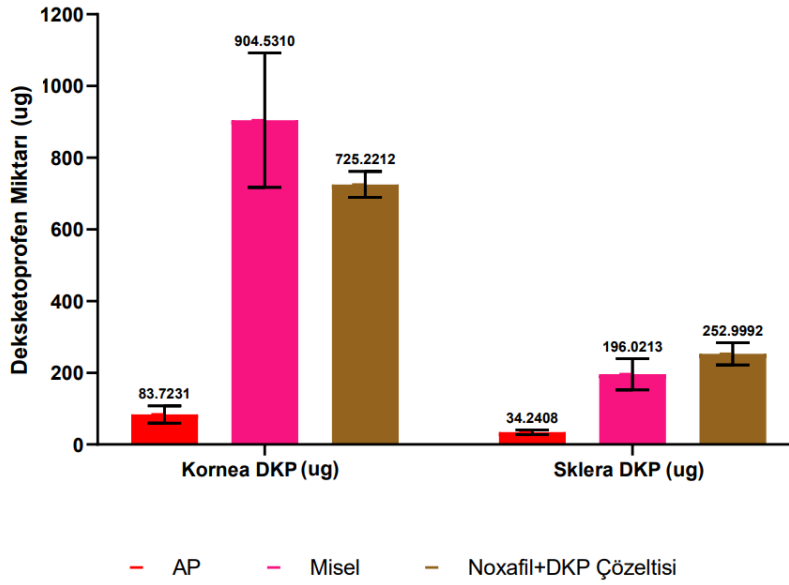
	Etken Madde	Tüm örnekler arasında karşılaştırma	Misel ile Kontrol özeltisi karşılaştırma	Nanolif-AP ile Kontrol özeltisi karşılaştırma
Kornea	DKP	0,0034	0,23	
	PSC	0,0009		0,0084
Sklera	DKP	<0,0001	0,606	
	PSC	<0,0001	<0,0001	0,0007

4.8.2. Ex vivo Penetrasyon alışmaları

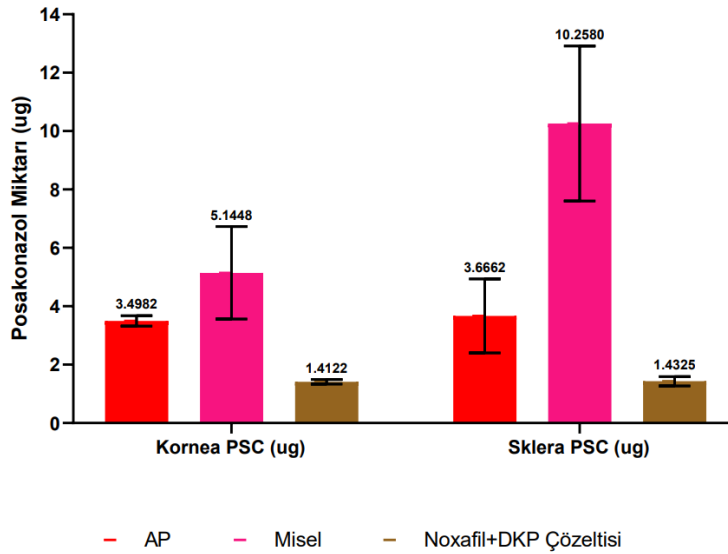
Ex vivo penetrasyon çalışması sığır kornea ve sklera dokularında Bölüm 3.2.9.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Penetrasyon çalışmasına ait bulgular Tablo 4-43’te, sonuçlara ait grafikler de Şekil 4-51 ve 4-52’de verilmiştir.

Tablo 4-43: Misel formülasyonun, Nanolif-AP’nin ve kontrol çözeltisinin kornea ve skleradaki ex vivo penetrasyon sonuçları (n=3)

	Nanolif-AP		Misel		Noxafil®-DKP özeltisi	
Doku-Etken Madde	Ortalama (µg)	±SD	Ortalama (µg)	±SD	Ortalama (µg)	±SD
Kornea DKP	83,72	24,20	904,53	187,60	725,22	36,45
Sklera DKP	34,24	6,58	196,02	43,64	252,99	30,97
Kornea PSC	3,49	0,18	5,14	1,58	1,412	0,08
Sklera PSC	3,67	1,27	10,26	2,65	1,432	0,16



Şekil 4-51: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin DKP için kornea ve skleradaki penetrasyon grafiği



Şekil 4-52: Misel formülasyonun, Nanolif-AP'nin ve kontrol çözeltisinin PSC için kornea ve skleradaki penetrasyon grafiği

Ex vivo penetrasyon çalışmaları sonucunda elde edilen veriler ile istatistiksel analizler yapılmıştır. Her etken madde için kornea ve sklera dokularında yapılan analizler sonucu elde edilen '*p*' değerleri Tablo 4-44'de verilmiştir. Ayrıca her bir

formülasyonun kendi içerisinde kornea-sklera karşılaştırmalı istatistik değerlendirmeleri sonucu elde edilen '*p*' değerleri Tablo 4-45'te verilmiştir

Tablo 4-44: Ex vivo penetrasyon çalışması sonucunda etken maddeler için formülasyonlar arası yapılan istatistiksel analizlerde elde edilen '*p*' değerleri

Etken Madde	Doku	Tüm örnekler arasında karşılaştırma	Misel ile Kontrol çözeltisi karşılaştırma	Misel-Nanolif Karşılaştırma	Nanolif-AP ile Kontrol çözeltisi karşılaştırma
DKP	Kornea	0,0002	0,1794		
	Sklera	0,0003	0,1389		
PSC	Kornea	0,0074	0,0151	0,1476	<0,0001
	Sklera	0,0018	0,0045	0,0178	0,0387

Tablo 4-45: Her bir formülasyonun kendi içerisinde kornea-sklera karşılaştırmalı istatistik değerlendirmeleri sonucu elde edilen '*p*' değerleri

Etken Madde	Misel Karşılaştırma	Nanolif Karşılaştırma	Kontrol Karşılaştırma
DKP	0,0031	0,0269	<0,0001
PSC	0,0456	0,8312	0,8527

4.9. Antifungal Aktivite Çalışmaları

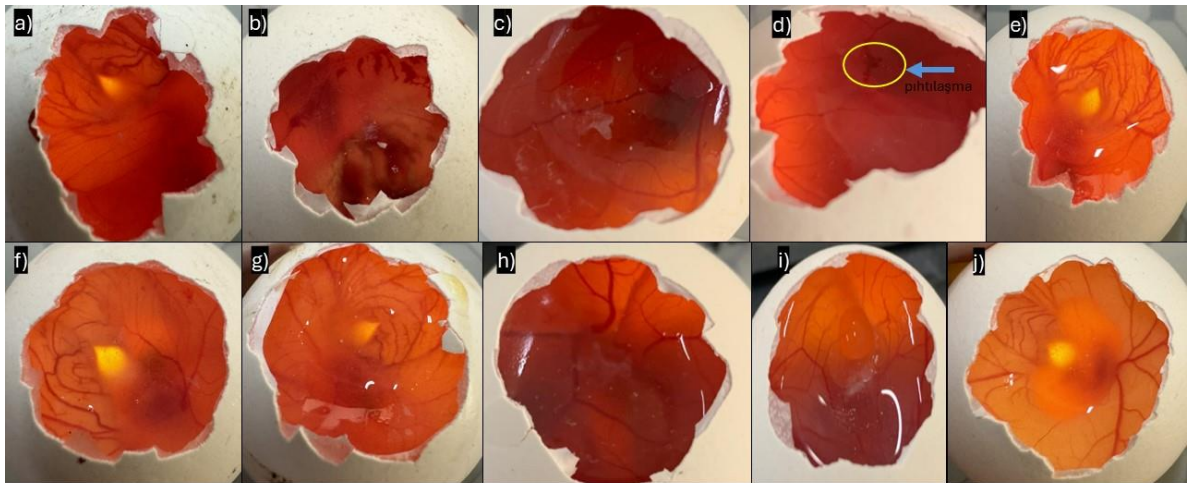
Antifungal aktivite çalışmaları Bölüm 3.2.10'da anlatıldığı şekilde disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Plasebo, misel formülasyonu, nanolif formülasyonu (Nanolif-AP), misel ile aynı konsantrasyonda etken madde içeren Noxafil®-DKP karışımı ve nanolif ile aynı konsantrasyonda etken madde içeren Noxafil®-DKP karışımı grubu örnekleriyle yapılan çalışma sonucu bulunan zon inhibisyon çapları (mm) Tablo 4-46'de verilmiştir.

Tablo 4-46: Misel formülasyonu ve nanolif-AP formülasyonunun *Candida albicans*'a karşı zon inhibisyon çapı sonuçları (n=4)

Formülasyon	İnhibisyon zonu (mm)
Plasebo Misel	0
Plasebo Nanolif	0
Misel	26.25 ±0,5
Nanolif-AP	24.25±0,5
Noxafil®+DKP karışımı (Misel ile aynı konsantasyonda)	24.5±0,58
Noxafil®+DKP karışımı (Nanolif ile aynı konsantasyonda)	22±0,41

4.10. HET-CAM Toksisite Testi

HET-CAM toksisite değerlendirme çalışması Bölüm 3.2.11'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Test sonucu elde edilen görüntüler Şekil 4-53'te, formülasyonların ve kontrollerin aldıkları skorlar Tablo 4-47'de verilmiştir. Ayrıca HET-CAM puanlarının karşılık geldiği sınıflar Tablo 4-48'de verilmiştir.



a)Negatif kontrol b)Pozitif kontrol c)Plasebo d)Noxafil® e)DKP f)Noxafil® + DKP g)Misel h) Nanolif-A i) Nanolif-P j)Nanolif-AP

Şekil 4-53: Hazırlanan formülasyonların ve kontrollerin HET-CAM testi sonuç görüntüleri

Tablo 4-47: Üretilen formülasyonların ve kontrol çözeltilerinin HET-CAM testine göre kümülatif puanları ve sonuçları (n=3)

Formülasyon	Kümülatif Puan	İrritasyon Değerlendirmesi
Placebo Misel	0	Pratikte yok
Placebo Nanolif	0	Pratikte yok
Misel	0	Pratikte yok
Nanolif-A	0	Pratikte yok
Nanolif-P	0	Pratikte yok
Nanolif-AP	0	Pratikte yok
DKP çözeltisi	0	Pratikte yok
Seyreltilmiş Noxafil®	3	Hafif
Noxafil®-DKP karışımı	0	Pratikte yok

Tablo 4-48: HET-CAM testindeki kümülatif puanlar için sınıflandırma şeması

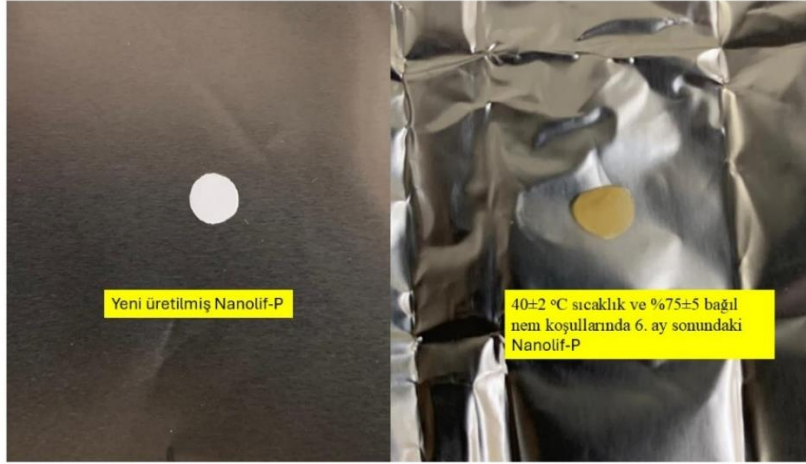
Kümülatif Puan	İrritasyon Değerlendirmesi
0,9'a kadar	Pratikte yok
1-4,9	Hafif
5-8,9	Orta
9 ve üzeri	Yüksek

4.11. Stabilite Çalışmaları

Bölüm 3.2.12’de anlatıldığı şekilde formülasyonlar stabilite kabinlerine kaldırılmış ve 180. gün sonunda kabinden çıkarılarak fiziksel olarak kontrol edilmiş ve içerdikleri etken madde miktarları açısından incelemek adına HPLC’de etken madde miktar tayini yapılmıştır.

Fiziksel incelemelerde Nanolif-P formülasyonunun 40 ± 2 °C sıcaklık ve 75 ± 5 bağıl nem ortamında renk ve görünüş olarak değiştiği tespit edilmiştir. Diğer

formülasyonlarda ise fiziksel olarak bir farklılık görülmemiştir. Nanolif-P formülasyonunda oluşan değişim Şekil 4-54'te gösterilmektedir.



Şekil 4-54: Nanolif-P formülasyonunun 40±2 °C sıcaklık ve %75±5 bağıl nem koşullarındaki fiziksel değişimi

Stabilite kabinlerinden ve 4 °C dolaptan alınan formülasyonların etken madde miktar tayinleri sonucunda elde edilen bulgular % olarak Tablo 4-49, 4-50 ve 4-51'de verilmiştir.

Tablo 4-49: Formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem koşullarında 6. ay sonunda içerdikleri yüzde (%) etken madde miktarları (n=3)

Formülasyon	6. Ay	
	DKP (%)	PSC (%)
	(ortalama ± SD)	(ortalama ± SD)
Misel	71,72±3,39	66,84±8,35
Nanolif-A	66,25±6,58	53,26±3,56
Nanolif-P	67,46±1,7	69,52±5,94
Nanolif-AP	88,92±2,44	82,11±1,15

Stabilite çalışmasında formülasyonlar içerisinde kalan etken madde miktarlarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-50: Formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem koşullarında 6. ay sonunda içerdikleri yüzde (%) etken madde miktarları (n=3)

Formülasyon	6. Ay	
	DKP (%)	PSC (%)
	(ortalama $\pm$ SD)	(ortalama $\pm$ SD)
Misel	65,46 $\pm$ 4,05	62,11 $\pm$ 1,89
Nanolif-A	64,67 $\pm$ 7,42	40,43 $\pm$ 0,45
Nanolif-P	61,72 $\pm$ 3,39	31,81 $\pm$ 0,51
Nanolif-AP	82,30 $\pm$ 3,59	77,70 $\pm$ 1,61
Stabilite çalışmasında formülasyonlar içerisinde kalan etken madde miktarlarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.		

Tablo 4-51: Misel ve Nanolif-AP formülasyonlarının 4 °C ve ortam koşullarında 6. ay sonunda içerdikleri yüzde (%) etken madde miktarları (n=3)

Formülasyon	6. Ay	
	DKP (%)	PSC (%)
	(ortalama $\pm$ SD)	(ortalama $\pm$ SD)
Misel	91,2 $\pm$ 0,70	87,44 $\pm$ 1,11
Nanolif-AP	96,63 $\pm$ 1,68	96,43 $\pm$ 1,21
Stabilite çalışmasında formülasyonlar içerisinde kalan etken madde miktarlarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.		

5. TARTIŞMA

Göz, dış ortamla doğrudan temas halinde olan hayati bir organdır ve gözü etkileyen herhangi bir rahatsızlık yaşam kalitesi üzerinde önemli şekilde etkiler. Bu sebeple göz, ilaçlar da dahil olmak üzere yabancı maddelere karşı yüksek bir dirençle karakterizedir. Göz anatomik olarak ön ve arka segmentlere ayrılır. Ön segment kornea, konjonktiva, aköz hümör, iris, siliyer cisim ve lensi içerir. Arka segment ise koroid, retina ve vitröz hümörden oluşur (367-369).

Göz enfeksiyonlarına çeşitli mikroorganizmalar (mantarlar, bakteriler, virüsler vb.) neden olabilir. Konjonktivit bu enfeksiyonların en yaygın olanlarından biridir, ancak korneada üveit ve keratite yol açan enfeksiyonlar da meydana gelebilir. Bu durumlara genellikle iltihaplanma ve ağrı eşlik eder. Konjonktivit ile başlayan enfeksiyonlar, potansiyel olarak körlükle sonuçlanabilecek ciddi sorunlara yol açabilir. Bu nedenle, hastanın yaşam kalitesini korumak ve bulaşıcı durumların yayılmasını önlemek için derhal etkili bir tedavi başlatılmalıdır (370, 371).

Korneanın iltihaplanması olan keratite mantar türleri neden oluyorsa, sonuçlar genellikle bakteriyel keratite kıyasla daha ağırdır. Mantar keratiti tropikal iklimlerde ılıman bölgelere göre daha yaygındır. Tropikal iklimlerde mantar keratiti keratit vakalarının %50'sini oluştururken, ılıman iklimlerde bu oran daha düşüktür. *Fusarium solani* ve *Candida albicans* mantar keratitinde en sık karşılaşılan patojenlerdir (218, 372-374).

Endoftalmi, tipik olarak cerrahi operasyonlar veya göz travmasını takiben eksojen veya endojen kaynaklardan gelişen enflamatuvar bir rahatsızlıktır. Endoftalmi enfeksiyöz kaynaklı olduğunda, etken patojenler genellikle bakteri veya mantarlardır. Viral veya parazitik enfeksiyonlar yaygın olarak görülmez. *Candida* türleri bu bağlamda en sık karşılaşılan fungal patojenlerdir (375).

Üveit, üvea tabakasının iltihaplanmasıdır. Dünya çapında 2 milyondan fazla kişide üveit olduğu ve üveitin küresel körlüğün yaklaşık %10'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir. Fungus türleri de enfeksiyöz üveitin nedenleri arasındadır (376, 377).

Sklera dokusunun iltihabı olan sklerit, bakteriyel, protozoal veya fungal enfeksiyonlara bağlı olarak gelişebilir. Fungal sklerit, bakteriyel veya viral sklerite göre, genellikle daha ciddi sonuçlara yol açar (378).

Fungus kökenli oküler hastalıkları tüm oküler hastalıklar içerisinde oran olarak düşük görülse de komplikasyonlar ve bulaş yönünden oldukça tehlikeli bir gruptur ve hızlı bir şekilde tedavi edilmelidir. Oküler fungus enfeksiyonlarının tedavisinde temel olarak topikal antifungal ilaçlar tercih edilmektedir. İlerleyen enfeksiyonlarda inflamasyonun artmasından dolayı sistemik veya topikal NSAİİ'ler, steroidler ve kortikosteroidler tedaviye eklenebilmektedir (379, 380).

Topikal oküler ilaç uygulaması, göz rahatsızlıklarının tedavisinde uygulama kolaylığı sebebiyle en çok tercih edilen ilaç uygulama yöntemidir. Ancak, özellikle gözyaşı, nazolakrimal drenaj ve kornea dokusu topikal uygulamada ana bariyerlerdir ve topikal ilaçların oküler biyoyararlanımlarının düşük olmasına sebep olur (<5%) (381). Kornea epiteli, kan-aköz bariyer ve kan-retinal bariyer gibi bariyerler de etkili ilaç dağıtımını engellemektedir. Örnek olarak korneanın yapısında yer alan epitelyum, sıkı bağlantı noktaları (tight junction) içermektedir. Bu sıkı bağlantı hücreleri küçük hidrofilik ilaç moleküllerinin geçişi için önemli bir bariyerdir. Aynı şekilde korneanın katmanlarından bir diğeri olan stroma yapısı da lipofilik moleküllerin geçişi için önemli bir bariyerdir. Bundan dolayı topikal uygulama ile hedef noktada yeterli ilaç konsantrasyonunun sağlanması oldukça güçtür (55, 382).

Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için kontrollü salım sistemleri ve nanotaşıyıcı sistemler üzerine çalışmalar gittikçe artmaktadır. Bu çalışmalar prekorneal kalma süresini artırmayı, doku penetrasyonunu geliştirmeyi ve biyoyararlanımı iyileştirmeyi, sonuçta yan etkileri en aza indirirken terapötik etkinliği artırmayı amaçlamaktadır (61, 125). Ayrıca yapılan çalışmalarda kombine dozaj formlarının da çeşitli göz hastalıklarında terapötik etkinliği arttırdığı görülmüştür (383, 384).

Oküler uygulamaya yönelik nanotaşıyıcı sistemlerden biri olan miseller, esas olarak amfifilik kopolimerlerden veya yüzey aktif maddelerden hazırlanan hidrofobik bir çekirdek ve hidrofilik bir kabuktan oluşan nanotaşıyıcılardır. Miselleri diğer ilaç taşıyıcı sistemlerden ayıran en önemli özellik sadece lipofilik ilaçları değil aynı zamanda hidrofilik ilaçları da enkapsüle edebilirler. Bu da onları kombinasyon ilaç tedavilerinde kullanım için uygun hale getirir. Ayrıca miseller dolaşım sisteminde uzun

süre stabil kalabilir ve nano ölçekli boyutları nedeniyle pasif hedefleme için kullanılabilir (385, 386).

Bir diğer oküler uygulamalarda üzerine araştırmaların gittikçe artarak yapıldığı ilaç taşıyıcı sistemi ise nanolif insertlerdir. Nanolifler, 1-1000 nm arasında çap kalınlığına sahip özel yapısıyla doğal veya sentetik polimerlerden hazırlanabilen nano ölçekli katı formda liflerdir. Bu özel yapısı sebebiyle nanolifler umut vadeden ilaç dağıtım sistemleri arasındadır ve farklı ilaç salım kinetikleri için tasarlanabilirler. Nanolifler bir ilaç dağıtım sistemi olarak birçok avantaja sahiptir. Hem hidrofilik hem de lipofilik aktif bileşenlerin ve biyolojik moleküllerin (antibiyotikler, proteinler vb.) kontrollü salımı için kullanılabilirler. Nanoliflerin diğer avantajları, yüksek yüzey alanı/hacim oranına, gözenekliliğe ve dokunun ekstraselüler matris yapısına benzer bir yapıya sahip olmaları ayrıca üretim yöntemlerinin birçok nanoyapılı ilaç dağıtım sisteminden daha az maliyetli ve daha basit olmasıdır. En çok uygulanan nanolif üretim metodu ise elektroçirge yöntemidir. Ek olarak diğer ilaç taşıyıcı sistemlerle (nanopartikül, dendrimer, misel vb.) birlikte kullanılabilmesi de önemli bir avantaj sağlamaktadır (157, 387, 388).

Bu tez çalışmasında, oküler fungus enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak üzere iki etken madde yüklü kombine ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Etken madde olarak posakonazol (PSC) ve deksketoprofen trometamol (DKP) üzerinde çalışılmıştır. İlaç taşıyıcı sistem olarak da 2 farklı nanotaşıyıcı sistem formüle edilmesi hedeflenmiştir. PSC ve DKP yüklü misel formülasyonu ve bu misel formülasyonunu enkapsüle eden nanolif insert formülasyonu hazırlanması ve karşılaştırılması bu tezin hedeflerinden bir diğeridir.

Çalışmalarda kullanılan etken maddelerden biri olan PSC, geniş spektrumlu, tirazol grubu bir antifungaldir ve MIC değerleri oldukça düşüktür. Fungus hücre membranı üzerinde değişiklik yaparak etkisini göstermektedir. 14-alfa demetilaz ile etkileşerek ergosterol sentezini inhibe etmektedir. Itrakonazole göre 10 kat daha etkili olduğu ispatlanmıştır. BCS Sınıf II bir kimyasaldır. Çözünürlüğü düşük, permeabilitesi ise yüksektir. Log P değeri 5,5'tur ve lipofilik yapıdadır. PSC'nin piyasada oküler bir preparatı yoktur. Yapılan vaka çalışmalarında diğer antifungal tedavilere cevap vermeyen dirençli fungus kökenli oküler enfeksiyonlarda PSC'nin oral süspansiyonunun seyreltilerek göze topikal olarak uygulanmasında bile terapötik etki

görülmüştür (389). Misel ve nanolif formülasyonları ile PSC'nin çözünürlüğünü artırarak oküler uygulamaya uygun hale getirmek de bu tezin hedeflerinden biridir.

Çalışmalarda kullanılan diğer etken madde DKP ise NSAİ ilaç sınıfına ait COX-I ve COX-II inhibitörü bir ilaçtır. DKP, Ketoprofenin rasemik enantiyomeridir ve yapıdaki bu değişim ile anti-inflamatuar etki ve biyoyararlanım artaken, yan etki profili azaltılmıştır. DKP, BCS Sınıf I bir kimyasaldır. Çözünürlüğü ve permeabilitesi yüksektir. Log P değeri 3,61'dir. Literatürde DKP'nin şimdiye kadar oküler uygulamaya yönelik yapılmış herhangi bir çalışması mevcut değildir. İlk defa bu tez çalışmasında DKP için oküler uygulamaya yönelik bir taşıyıcı sistem çalışması yapılmıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışması kapsamında, DKP ve PSC yüklü kombine ilaç taşıyıcı sistemi olarak misel çözeltisi hazırlanması ilk hedeftir. Ardından hazırlanan misel çözeltisi ile biyoyumlu ve mukoadhezif polimerler kullanılarak ve elektroegirme işlemi ile misel yüklü nanolif yapıda insert formülasyonu geliştirilmesi bir diğer hedeftir. Çalışmaların diğer amaçları ise, geliştirilen misel ve nanolif formülasyonlarının karakterizasyon, toksisite, antifungal etki ve stabilite gibi özelliklerinin yanı sıra, bu formülasyonların *in vitro* ve *ex vivo* yöntemlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir.

5.1. Etken Maddeler Üzerine Yapılan Çalışmalar

5.1.1. PSC'nin FTIR Spektrumu

PSC'nin ATR-FTIR spektrumu Şekil 4-1'de verilmiştir. 3120,82 cm^{-1} 'de O-H gerilmesi, 2966,52 cm^{-1} 'de CH_2 , 1685,79 cm^{-1} 'de C=O karbonil, 1616,55 cm^{-1} 'de C=N, 1508 cm^{-1} 'de aromatik C=C, 1450,47'de C-N gerilmesi (Furan halkası) bantları görülmüştür. Elde edilen veriler Ketha ve Kolli'nin yaptığı çalışmalar ile uyumludur (390).

5.1.2. DKP'nin FTIR Spektrumu

DKP'nin ATR-FTIR spektrumu Şekil 4-2'de verilmiştir. 2900-3000 cm^{-1} arası CH_2 , 1658,78 cm^{-1} 'de C=O karbonil, 1570,06 cm^{-1} 'de N-H, 1250-1300 cm^{-1} arasında C-O, 1535,34 cm^{-1} 'de C=C (aromatik) bantları görülmüştür. Elde edilen veriler Öztürk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar ile uyumludur (391).

5.1.3. PSC'nin DSC Analizi

PSC'nin DSC analiz sonucu Şekil 4-3'te verilmiştir. PSC 164,26-171,35 °C arasında endotermik bir pik vermiştir. Bu sonuç hem literatür ile hem de erime derecesi ile uyumludur (392).

5.1.4. DKP'nin DSC Analizi

DKP'nin DSC analiz sonucu Şekil 4-4'te verilmiştir. DKP 101,17-112,35 °C arasında endotermik bir pik vermiştir. Bu sonuç hem literatür ile hem de erime derecesi ile uyumludur (393).

5.1.5. Etken Maddelerin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini

İki ayrı etken maddenin miktar tayinini güvenilir bir şekilde tek okutmada yapabilmek için bir çok farklı HPLC metodu denenmiştir. Sonuç olarak uygulanan HPLC metodu Safique ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri çalışmadan modifiye edilmiştir (349). Modifikasyonlar sonrasında etken maddeler tek bir kromatogramda temiz iki ayrı pik vererek görüntü alınabilmektedir (Şekil 4-5). HPLC validasyon çalışması Bölüm 3.2.1.5'te belirtilen koşullarda yapılmıştır.

Doğrusallık: 10 farklı konsantrasyonda (0,125-100 µg/mL arası) yapılan doğrusallık çalışması sonucunda DKP için doğru denklemi $y=57221x-16248$ ve r^2 değeri 0,9998 olarak, PSC için de doğru denklemi $y=58113-32764$ ve r^2 değeri de 0,9997 olarak bulunmuştur.

Doğruluk: 5, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan DKP-PSC çözeltilerinden % geri kazanım değerleri incelenmiş, elde edilen sonuçlar ve % RSD değerleri değerlendirildiğinde geliştirdiğimiz yöntemin doğruluğunun bulunduğu ve kullanılabilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Kesinlik: Çalışmalar gün içi kesinlik (Tablo 4-5 ve 4-6) ve günler arası kesinlik (Tablo 4-7 ve 4-8) değerlendirmesi şeklinde yapılmıştır. Kesinlik çalışmalarından elde edilen % RSD değerleri <%2 olarak bulunmuştur.

Seçicilik: Formülasyon çalışmalarında kullanılan tüm yardımcı maddeler 262 nm'de HPLC'de analiz edilmiş ve kromatogramları incelenmiştir. Yardımcı maddelerin hiçbirisi etken maddelerin rentansiyon zamanlarında pik vermemiştir.

Duyarlılık: Duyarlılık çalışmalarında DKP için Teşhis Limiti 0,0078 µg/mL, miktar tayin limiti 0,023 µg / mL olarak, PSC için ise Teşhis Limiti 0,0087 µg/mL, miktar tayin limiti 0,026 µg / mL olarak bulunmuştur.

Stabilite: 5 µg/mL konsantrasyondaki DKP-PSC çözeltileri 0. 6. 12. 24. ve 48. saatlerde analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar çözeltinin stabil olduğunu göstermektedir (Tablo 4-9 ve Tablo 4-10).

Sonuç olarak Safique ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri çalışmadan modifiye edilen (349) HPLC analiz metodumuzun tüm validasyon parametreleri "ICH Analitik Prosedürlerin Değerlendirilmesi Metin ve Metodoloji Q2 (R1)" Rehberine uygundur (350). HPLC analiz metodumuzun validasyonu başarı ile tamamlanmıştır.

5.2. Misel Formülasyonunun Hazırlanması

Oküler ilaç dağıtımı için kullanılan polimerik misellerin etkili olabilmesi için belirli özelliklere sahip olması gerekir. İyi kornea penetrasyonuna, küçük partikül boyutuna, çözünürlüğü zayıf ilaçların artırılmış çözünürlüğüne, artan ilaç retansiyonuna ve mukoadesif yapıya sahip olmalıdırlar. Ayrıca, toksik olmamalı, biyouyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir olmalıdırlar.

Misel formülasyonu hazırlanırken Durgun ve ark. (326) tarafından geliştirilen metod modifiye edilerek çalışılmıştır. Film oluşturma metoduyla misel formülasyonları hazırlanmıştır. Misel formülasyonları 10 farklı konsantrasyonda hazırlanmış (Tablo 3-3) ve partikül boyutu-dağılımı ile 1 aylık fiziksel stabiliteleri incelenmiştir.

Sürfaktan olarak TPGS kullanılmıştır ve iki etken madde kullanıldığı için TPGS oranı için optimizasyon yapılmıştır. TPGS, oküler ilaç taşıyıcı sistemlerin üretiminde uzun yıllardır kullanılmaktadır ve oküler güvenliğini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Terreni ve arkadaşları Siklosporin A yüklü çift katmanlı polimerik miseller geliştirmiştir. Miseller, hyaluronik asit ile birlikte TPGS ve oktilfenoksi poli(etilenoksi) etanol kullanılarak formüle edilmiştir. Çalışmaları, kornea epiteli boyunca Siklosporin A geçirgenliğinin arttığını ve formülasyonlarının oküler dokularla iyi biyouyumluluğa sahip olduğunu göstermiştir (394). Ayrıca, Li ve meslektaşları nimodipin yüklü TPGS misellerini incelemiştir. Araştırmacılar, TPGS misellerinin geçirgenliğini, oküler tolerabilitesini ve farmakodinamiğini değerlendirmek için *in vivo*

çalışmalar yürütmüştür. Nimodipin yüklü TPGS misellerinin kornea dokusunda serbest nimodipine kıyasla yaklaşık 6,76 kat daha fazla geçirgenlik sergilediğini bulmuşlardır. Ayrıca, geliştirilen miseller tavşan gözlerinde iyi tolere edilmiştir (395).

Üretilen miselerde M4,M7 ve M10 formülasyonları en yüksek konsantrasyonda etken madde yüklenmiş formülasyonlardı ve üretim esnasında hidrasyon aşamasında etken maddelerde çökmeler yaşandı. M3,M5,M6,M8 ve M9 formülasyonlarında ise berrak misel çözeltisi elde edilmiştir ve ZetaSizer’da yapılan ölçümlerde partikül boyutu olarak gayet tutarlı sonuçlar alınmıştır. Ancak fiziksel stabilite izlenmesinde 1 hafta içerisinde, M2 formülasyonunda da 34. Günde çözelti içerisinde çökeltiler görüldü. Bu çökme sorunlarının nedenleri arasında, yüksek konsantrasyonda bulunan DKP'nin kabukta yer alması, TPGS'nin kendi arasında ve PSC arasında bağ oluşumunu zorlaştırması sonucu kabukta çatlaklara yol açma potansiyeli bulunmaktadır. Ayrıca, PSC'nin üç boyutlu sarmal yapısının sınırlı kimyasal bağlanma yeteneği de bu duruma katkıda bulunan bir diğer faktör olarak düşünülmektedir.

Sonuç olarak misel formülasyonu çalışmalarında en stabil formülasyon olarak M1 formülasyonu seçilmiş ve ilerleyen çalışmalara M1 misel formülasyonu ile devam edilmiştir.

5.3. Nanolif Formülasyonlarının Hazırlanması

Nanolif formülasyonları hazırlanırken literatürde yaygın olarak kabul gören elektroegirme yöntemi kullanılmıştır (396-398). Elektroegirilmiş nanolif insertler oküler uygulamada ilaç taşıyıcı sistem olarak da çokça çalışılmıştır (399-401). Literatürde oküler antifungal ilaç taşıyıcı sistem çalışmaları da mevcuttur. Örneğin Mehrandish ve ark. İtrakonazol etken maddesini PVA, sodyum aljinat, PCL ve PEG polimerlerini kullanarak elektroegirme ile oküler insert formülasyonu hazırlamışlardır. Hazırladıkları insert formülasyonu 55 güne kadar uzatılmış ilaç salımı göstermiştir (402).

Nanolif formülasyonlarının hazırlanması bu tez çalışmasının en zorlayıcı aşaması olmuştur. Bunun en temel sebebi misel çözeltisinin dispersiyon ortamının su olması ve bu durumun elektroegirme prosesini olumsuz yönde etkilemesidir. Çünkü elektroegirme işlemi temel olarak, polimer çözeltisinin elektrik alanda çözücüsünün buharlaşarak bir jet oluşturmaları ve ardından kollektörde lif halinde toplanması prosesini içerir. Çözücünün su olması ise suyun yüksek buharlaşma noktası ve yüzey gerilimi sebebiyle nanolif oluşumunu olumsuz yönde etkiler. Elektroegirme yönteminde

çok büyük oranda kolay buharlaşan ve düşük yüzey gerilimine sahip organik çözücüler kullanılmaktadır. Ayrıca dispersiyon ortamının su olması sebebiyle kullanabileceğimiz polimerler sadece hidrofilik suda çözünen polimerler olarak sınırlanmıştır.

Önformülasyon çalışmalarında ilk olarak literatürde de sıkça kullanılan PVA polimeri (403, 404) ile misel içermeyen (boş) nanolif hazırlanmasına çalışılmıştır. Farklı oranlarda (a/a) PVA su çözündürülerek elektroegirme işlemine tabi tutulmuş ve elektroegirme parametreleri için optimizasyon çalışması yapılmıştır (Tablo 3-4). Ayrıca kollektörde toplanan lifler ışık mikroskopuyla yapısal olarak kontrol edilmiştir. %20 PVA içeren çözeltilerde hiçbir lif oluşumu görülmemiştir. Literatürde elektrosprey adı verilen olay gerçekleşmiştir (405). %20 ve %22 oranında PVA içeren çözeltilerle yapılan çalışmalarda ise nanolifler oluşmuş ancak ışık mikroskopunda yapılan kontrollerde boncuk oluşumları da görülmüştür. %25 PVA ve üzerindeki konsantrasyonlarda nanolif yapısı oluşmuştur. Bunun en temel sebebi elektroegirme işlemi için çözeltinin belirli bir viskozite değerine ve polimer oranına sahip olması gerekmektedir. Düşük viskozitede lif yapısı oluşmaz ve elektroepreyleme adı verilen durum yaşanır (406). Ayrıca polimerin molekül ağırlığı da nanolif oluşumunu etkilemektedir. Bizim çalışmalarımızda kullandığımız PVA'nın molekül ağırlığı yaklaşık 45.000 g/mol'dür ve sulu çözeltide ~%25 PVA konsantrasyonu ile nanolif oluşumu literatür ile uyumludur (407, 408).

İkinci polimer olarak yine literatürde elektroegirme işlemi için çokça kullanılan PVP polimeri (409, 410) ile boş nanolif hazırlanması üzerine çalışılmıştır. Bu sefer iki farklı molekül ağırlıklı PVP ile önformülasyon denemeleri yapılmıştır (PVP K30 ve PVP K90). Bu iki PVP ile farklı konsantrasyonlarda sulu çözeltiler hazırlanmış ve hazırlanan çözeltiler optimizasyon çalışması için elektroegirme işlemine tabi tutulmuştur (Tablo 3-5). Çalışmalar sonucunda PVP K30 ile hiç nanolif oluşumu gözlenmemiştir. Bunun en temel sebebi K30'un molekül ağırlığının düşük olması ve nanolif oluşumu için çok yüksek konsantrasyonlara çıkılması gerektiğidir. PVP K90 ile yapılan çalışmalarda ise %8-10 oranında hazırlanan çözeltilerde lif oluşumu görülmemiştir. %12 ve %15 oranında hazırlanan çözeltilerde ise lif oluşumu görülmüş fakat ışık mikroskopunda yapılan kontrollerde boncuk oluşumu da gözlemlenmiştir. %18 PVP K90 oranında en tutarlı lif oluşumu gözlemlenmiş olup daha yüksek orandaki

çözeltilerde elektroegirme sırasında polimerik çözeltide donmalar yaşanmıştır. Düşük konsantrasyonlarda nanolif oluşmamasının sebebi PVA için bahsedilen durumla aynıdır.

PVA-PVP karışımı nanolif üretimi de literatürde yer almaktadır (411). Nanolif formülasyonlarını ve elektroegirme koşullarını daha iyi karşılaştırabilmek adına PVA ve PVP karışımı boş nanolifler üzerinde de farklı oranlarda polimerler kullanılarak çalışılmıştır (Tablo 3-6). En tutarlı lif oluşumu %12 PVA ve %12 PVP K-90 oranında görülmüştür. Yapılan tüm elektroegirme çalışmalarında suyun buharlaşmasını sağlayabilmek adına nozul ile kollektör arasındaki mesafe olabildiğince uzun tutulmuştur.

Boş nanolif üretimi sonra elde edilen bilgilerle misel yüklü nanolif formülasyonu hazırlanması çalışmalarına geçilmiştir. Seçilen polimerler misel çözeltilerinde çözülerek elektroegirme işlemine geçilmiştir. Ancak misel ile yapılan çalışmalarda su ile yapılanlardan farklı olarak tek PVA ve tek PVP polimerleri ile gerçekleştirilen elektroegirme çalışmalarında polimer çözeltilerinin nozul üzerindeki akış özelliklerinde bozulma, hızlı bir şekilde donma ve jet oluşumunda sorunlar görülmüştür. Bu durumun nedeni, misel ve polimerik çözeltilerle hazırlanan jellerin genellikle daha yüksek elastikiyet ve Yield Stress sergilemesidir. Misel yapısının ek çapraz bağlanma noktaları sağlaması, jelin akmadan önce daha fazla gerilime dayanabilen bir yapı kazanmasına yol açmaktadır. Ayrıca, misel çözeltilerinden elde edilen jellerin akış davranışları, kayma incelenmesi (shear-thinning) veya kayma kalınlaşması (shear-thickening) gibi özellikler açısından farklılık gösterebilmektedir. Misellerin, konsantrasyonu ve türe bağlı olarak viskozitenin artan kayma hızıyla azalması veya artması şeklinde karmaşık akış davranışlarına neden olabilmektedir (412, 413).

Bu sebeple literatürde hem elektroegirmede hem de akış modifiyesinde kullanılan Pluronic F127 (PLU) co-polimeri (414, 415) ile önformülasyon ve optimizasyon çalışmaları misel yüklü nanolifler için tekrar yapılmıştır (Tablo 3-7). Yapılan çalışmalar sonucunda 3 farklı nanolif formülasyonu optimize edilmiştir (Tablo 4-14 ve Tablo 4-15). Bunlar sırasıyla %24 PVA+%1PLU (a/a) içeren misel çözeltilerinin elektroegirilerek hazırlanan Nanolif-A formülasyonu, %17 PVP K90+%1 PLU içeren Nanolif-P ve %12 PVA+%12 PVP içeren Nanolif-AP olarak isimlendirilmiştir. Ek olarak nanolif içerisindeki miselin etkisini karşılaştırabilmek adına P ve AP nanolif formülasyonlarının, misel içermeyen direkt etken maddelerin yüklendiği formları da

hazırlanmıştır. Bu nanolifler miselli formülasyonlarıyla aynı miktarlardaki etken maddelerin polimerik çözeltiyle karıştırılması ardından da bu çözeltinin elektroğirilmesi ile üretilmiş iki ayrı formülasyondur. Bu formülasyonların da kodları sırasıyla P(-M) ve AP(-M) olarak isimlendirilmiştir.

Oküler uygulamaya yönelik misel yüklü nanolif insertler hazırlanırken sterilizasyonu sağlamak adına misel formülasyonuna aseptik filtrasyon uygulanmıştır. Ayrıca aseptik koşullarda elektroğirme işleminin gerçekleştirilmesi ile steril insertlerin elde edileceği düşünülmektedir.

5.4. Misel Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları

5.4.1. Ortalama Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Bölüm 3.2.5.1’de anlatıldığı gibi yapılan partikül büyüklüğü ve dağılımı çalışması sonucunda misel formülasyonunun partikül büyüklüğü $11,01 \pm 0,0624$ nm PDI değeri ise 0,078 olarak ölçülmüştür. M2, M3, M5, M6, M8 ve M9 önformülasyonları da ilk üretildiklerinde Zetasizer ile partikül boyutu ölçülmüş ve bu formülasyonların da boyutları 11-15 nm arasında benzer şekilde çıkmıştır. Alınan sonuçlar Durgun ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumluluk göstermektedir (326). Ayrıca literatür verileri incelendiğinde Suksiriworapong ve arkadaşlarının itakonazol ve TPGS ile yaptıkları misel çalışmasında da benzer partikül büyüklüğü değerlerini elde ettikleri görülmüştür. Bizim tez çalışmamızda elde ettiğimiz veriler bu literatürle de uyumludur (416).

5.4.2. Zeta Potansiyel Tayini

Misel formülasyonunun zeta potansiyel değeri $-1,68 \pm 0,225$ mV olarak ölçülmüştür. Elde ettiğimiz sonuçlar Durgun ve arkadaşlarının (326) ve Suksiriworapong ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur (416).

5.4.3. Misel Formülasyonunda Etken Madde Miktar Tayini

Misel formülasyonunda etken maddelerin HPLC ile miktar tayini sonucunda her iki etken madde de ortalama %97’nin üzerinde enkapsüle edilmiştir. Ayrıca film oluşturma yöntemi ile misel çözeltileri hazırlanırken üretim miktarlarında değişiklik yapılsa da (4 mL -100 mL) etken madde enkapsülasyon oranlarında anlamlı bir fark görülmemiştir. Elde edilen %PSC sonucu Durgun ve arkadaşlarının çalışmaları ile benzerlik göstermektedir (326).

5.5. Elektroğirme İçin Hazırlanan Polimerik Çözeltilerin Karakterizasyon Çalışmaları

Elektroğirme işlemi literatürde basit bir yöntem olarak değerlendirilse bile bir çok parametreden etkilenmektedir. Bu parametreler arasında proses parametreleri (voltaj, uzaklık vb.), ortam parametreleri (sıcaklık, nem vb.), çözücü (uçuculuk) ve çözelti parametreleri (reoloji ve dielektrik sabiti) yer almaktadır (417, 418).

Misel yüklü nanolif formülasyonlarının karşılaştırma ve değerlendirmesi için yapılan çözelti karakterizasyonunda Nanolif-A, Nanolif-P, Nanolif-AP ve Nanolif-P(-M) formülasyonları sırasıyla akış ve elektriksel iletkenlik açısından değerlendirilmiştir

- **Reoloji Analizi**

Elektroğirme işlemi için hazırlanan misel-polimer çözeltilerinin Bölüm 3.2.6’da anlatıldığı gibi reometre ile akış özellikleri incelenmiştir. Reolojik analiz sonuçları Tablo 4-19’da verilmiştir. Bu sonuçlara göre çözeltilerin reolojik davranışı matematiksel modellerin “r” değerleri kıyaslanmış ve en uygun olduğu akış modelinin Herschel-Bulkley olduğu bulunmuştur. Herschel-Bulkley modeline göre “K” kıvam indeksini (Pa.s), “n” akış davranış indeksini ve “ τ_0 ” yield stress’i göstermektedir. Bütün ölçümlerde n değeri 1’in altında bulunmuştur. Bu da elektroğirme çözeltilerinin psödoplastik akış ya da shear-thinning akış özelliği gösterdiklerini belirtmektedir.

Polimerik çözeltinin viskozitesi nanolif morfolojisi için oldukça önemlidir. Düşük viskozite sürekli lifler yerine boncuk oluşumuna yol açarken, aşırı yüksek viskozite tıkanmaya neden olarak elektroğirme sürecini engelleyebilir (419).

Rošic ve arkadaşları yaptıkları çalışmada polimerik çözeltilerin akış özelliklerinin elektroğirme yöntemine ve nanolif yapısına etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda shear-thinning akış özelliği gösteren polimerik çözeltilerin, elektroğirme sırasında daha stabil jet oluşturduğunu ve lif çaplarının daha tekdüze olduğu sonucuna varmışlardır (420). Bizim sonuçlarımızda da en stabil jetlere sahip polimerik çözeltilerimizin shear-thinning akış özelliği göstermesi bu bulguyu desteklemektedir.

Ayrıca Nanolif-P ve Nanolif-P(-M) çözeltilerinin reoloji sonuçları kıyaslandığında miselin polimerik çözelti akışı üzerindeki etkisi görülmektedir. Misel yüklü polimerik çözeltinin yield stress’i daha yüksekken, viskozitesi daha düşüktür.

- **Elektriksel İletkenlik Tayini**

Elektroegirme için hazırlanan polimer-misel çözeltilerinin Bölüm 3.2.6'da anlatıldığı şekilde elektriksel iletkenlik ölçümleri yapılmıştır. Ölçülen değerler Tablo 4-20'de verilmiştir. Genel olarak tüm formülasyonların iletkenlik değerleri yüksektir. Bunun nedenleri arasında sulu dispersiyon ortamını elektroegirebilmek için yüksek oranda polimer kullanılması ve en temel sebep olarak miselin dispersiyon ortamının %0,9 NaCl serum fizyolojik olması sayılabilir. Angammana ve Jayaram yaptıkları bir çalışmada elektroegirme çözeltisine NaCl eklenmesinin elektriksel iletkenliği artırdığını göstermişlerdir. %5(a/a) PEO sulu çözeltisine 2,5 gram NaCl eklenmesinin, elektriksel iletkenlik değerini 300 kat artırdığını bildirmişlerdir (421). En yüksek elektrik iletkenlik değerinin Nanolif-P ($7490,67 \pm 22,278 \mu\text{S/cm}$) formülasyonunda olmasının sebebi de hem en yüksek miktarda DKP içermesi hem de polimer oranı diğer formülasyonlara göre az olduğu için serum fizyolojik miktarı en fazla olan elektroegirme çözeltisi olmasıdır.

5.6. Nanolif Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

5.6.1. Nanoliflerde Etken Maddelerin Miktar Tayini

Nanoliflerde etken madde miktar tayini 3.2.7.1'de anlatıldığı şekilde örnekler hazırlanarak HPLC'de miktar tayinleri yapılmıştır. Farklı noktalardan nanolif örnekleri alınarak bulunan % enkapsülasyon sonuçları Tablo 4-21'de verilmiştir. Her iki etken maddeyi de % olarak en yüksek oranda enkapsüle eden formülasyon Nanolif-AP (DKP = $94,78 \pm 1,18$, PSC = $91,51 \pm 5,37$) formülasyonu olurken, en düşük enkapsülasyon yüzdesi Nanolif-A (DKP = $86,65 \pm 2,75$, PSC = $75,48 \pm 5,30$) olmuştur. Nanolif-A'nın enkapsülasyon etkinliğinin en düşük olmasının olası sebepleri arasında, elektroegirme işleminde jet oluşumu için diğer formülasyonlara kıyasla daha yüksek bir elektrik kuvveti (25+ kV) gereksinimi duymakta ve bu sebeple misel yapısında meydana gelebilecek bozulmalar olabileceği düşünülmektedir (422). Ayrıca, lif çaplarının diğer formülasyonlara göre daha küçük olması, ilaç yüklemesini olumsuz etkileyebileceği gibi, literatürde insert kalınlığının enkapsülasyon ile doğru orantılı olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır (423). Nanolif-A formülasyonu diğer formülasyonlara göre daha ince yapıdadır (Tablo 4-22).

Nanolif üretiminde PVA ve PVP'nin kombine halde kullanılmasının ilaçların enkapsülasyon etkinliğini artırdığı belirtilmektedir. Bu durum PVA'nın hidroksil

grupları ile PVP'nin karbonil grupları arasındaki etkileşimin, lif yapısını stabil hale getirerek ilaçların yükleme kapasitesini artırmasından kaynaklanmaktadır (184, 424). Tez çalışmamızda Nanolif-AP kodlu PVA ve PVP kombinasyonu ile ürettiğimiz nanoliflerin daha yüksek yükleme kapasitesine sahip olmasının bu sebepten kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Nanolif formülasyonlarında enkapsülasyon yüzdeleri yüksek olsa da, elektroegirme işlemi için yüksek oranda polimer kullanılması nedeniyle üretilen insertlerin formülasyondaki yükleme kapasiteleri misellere göre düşüktür. Buna rağmen MIK değerinin çok üstünde PSC ve terapötik konsantrasyonda DKP etken maddeleri insert yapısında bulunmaktadır (425, 426).

Ayrıca etken maddelerin kollektör üzerindeki nanolifin tamamında homojen dağıldığını kontrol etmek amacıyla nanolifin merkezinden ve merkezden uzak farklı noktalarından örnekler alınarak enkapsülasyon ölçümleri yapılmış ve sonuçlar birbiri ile uyumlu bulunmuştur.

5.6.2. Nanoliflerde Çap, Kalınlık ve Ağırlık Tayini

Misel yüklü nanoliflerin çap, kalınlık ve ağırlık değerleri Tablo 4-22'de verilmiştir. Hazırlanan nanolif insertlerin kalınlıkları maksimum $0,506 \pm 0,030$ mm (Nanolif-AP) olarak ölçülmüştür.

Piyasaya sürülmüş olan Ocusert® ve Lacrisert®'in kalınlıkları sırasıyla 0,3 mm ve 1,27 mm'dir (427). Üretilen nanolif insertler kalınlık bakımından bu iki ürünle uyumludur.

İnsertler kesilirken tekdüze boyutta olması için nanolif tabakası yuvarlak şekilli delgeç yardımıyla (delik çapı=5,8 mm) delinerek insertler hazırlanmıştır. Hazırlanan nanolif insertleri, Ocusert® ve Lacrisert® ile uzunluk ve genişlik olarak kıyasladığımızda bu iki piyasa ürünüyle de uyumlu olduğu görülmüştür. Ocusert® 5,5 mm genişliğinde 13 mm uzunluğundayken, Lacrisert® 1,27 mm genişliğinde 3,5 mm uzunluğundadır (427).

Ayrıca üretilen nanolif insertlerin sabit boyuttaki ağırlıkları ölçüldüğünde standart sapmanın düşük olması homojen bir yapıyı göstermektedir.

5.6.3. Nanolif Formülasyonlarının FESEM ile görüntülenmesi

Hazırlanan misel yüklü nanolif formülasyonlarının FESEM görüntüleri ve nanolif çap dağılımlarını gösteren histogram grafikleri Şekil 4-10, 4-11 ve 4-12’de verilmiştir. Nanolif-A’nın lif çapı $185,4 \pm 62,5$ nm, Nanolif-P’nin lif çapı $229,2 \pm 87,7$ nm ve Nanolif-AP’nin lif çapı da 410 ± 139 nm olarak ölçülmüştür.

Nanolif-A’nın en düşük lif çapına sahip olmasının sebeplerini şu şekilde belirtebiliriz: Literatürde elektroğirme işleminde polimer çözeltisine uygulanan voltajın arttıkça lif çapının azaldığına dair çalışmalar mevcuttur (428). Nanolif-A’nın elektroğirme işleminde diğer formülasyonlara göre daha yüksek voltaj uygulanması da lif çapının daha düşük olmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Diğer bir sebep olarak dae kullandığımız PVA polimerinin molekül ağırlığı görece düşüktür ve bu durumun lif çaplarını küçülttüğü varsayılmaktadır (429).

Nanolif-AP ise en yüksek lif çapına sahiptir. Hem PVA hem de PVP polimerini yapısında bulunduran Nanolif-AP’nin her iki polimerin tek başına olan formülasyonlarına kıyasla daha yüksek lif çapına sahip olması Rahmani ve ark. yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir. Rahmani ve ark. PVA/PVP karışımından ürettikleri liflerin çapının, tek başına PVA ve PVP polimerleri ile üretilen liflerden daha yüksek olduğunu bildirmiştir (430).

Bir çok çalışmada PVA ve PVP polimerlerinin birlikte karıştırılması ile elde edilen yapılarda PVA’nın hidroksil grupları ile PVP’nin karbonil grupları arasında hidrojen bağı oluşumu gözlenmiştir (431-433). Ayrıca elektroğirme işleminden sonra nanolifler kurutulmaya bırakıldığında liflerin arasındaki su buharlaşırken PVA’nın hidroksil grupları ile PVP’nin karbonil grupları arasında kısmi hidrojen bağı oluştuğunu gösteren çalışmalar vardır. Bu sebeple Nanolif-AP yapısında bulunan hidrojen bağları ile liflerin birbirlerine yaklaşıp kalınlaştığı düşünülmektedir (434).

5.6.4. Nanolif Formülasyonlarında DSC Analizi

Hazırlanan nanoliflerde etken ve yardımcı maddeler arasında herhangi bir geçimsizlik/etkileşim olup olmadığını görmek adına DSC analizleri yapılmıştır. DSC analiz sonuçları Şekil 4-13 ve 4-21 arasında verilmiştir. Etken maddelerin verdiği endotermik pikler (DKP= $101,17-112,35$ °C ve PSC = $164,26-171,35$ °C) literatür ile uyumludur (392, 393).

Nanolif formülasyonlarında yapılan DSC analizlerinde hiçbir pik görülmemesi etken maddelerin nanolif formülasyonunda kristal yapıdan amorf yapıya geçtiği şeklinde yorumlanmıştır. Benzer bir çalışmada Reda ve ark. Eudragit ile ketoprofen yüklü nanolif formülasyonu tasarlamış ve DSC analizinde herhangi bir pik görülmemiştir (435).

5.6.5. Nanolif Formülasyonlarında XRD Analizi

Etken ve yardımcı maddelerin faz dönüşümlerini görmek ve kristal yapısında bir değişim olup olmadığını kontrol etmek için XRD Patern analizi yapılmıştır. XRD analiz sonuçları Şekil 4-22 ve 4-30 arasında verilmiştir. PSC ve DKP etken maddeleri için yapılan XRD analizleri literatürdeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir (436, 437).

Nanolif formülasyonlarında yapılan XRD analizlerinde, etken maddelerdeki keskin piklerin genişlemesi ve/veya yok olması etken maddelerin kristal yapısının amorflaşması olarak yorumlanmıştır. Bu sonuç DSC analiz sonucunu da desteklemektedir. Bukhary ve ark. PVP ile amlodipin yüklü nanolif formülasyonu hazırlamış ve XRD analizlerinde bizim sonuçlarımıza benzer şekilde etken maddenin keskin piklerinde genişleme görmüştür (438).

5.6.6. Nanolif Formülasyonlarının FTIR Spektroskopisi

Nanoliflerin yapısında bulunan etken ve yardımcı maddelerin formülasyon içinde geçimliliği ve etkileşimlerinin incelenebilmesi için ATR-FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Etken maddelerin, polimerlerin, bunların fiziksel karışımlarının ve üretilen nanoliflerin ATR-FTIR spektroskopileri Şekil 4-31 ve 4-39 arasında ayrıca etken ve yardımcı maddelerin karakteristik pikleri Tablo 4-24 ve 4-28 arasında verilmiştir.

Spektrumlar incelendiğinde tüm etken ve yardımcı maddeler literatür ile uyumlu sonuçlar vermiştir (390, 391, 439-441)

Nanolif formülasyonlarına ait pikler incelendiğinde, hem DKP'ye hem de PSC'ye ait karakteristik pikler fiziksel karışımın spektroskopisinde bulunurken Nanolif formülasyonlarına ait spektrumlarda görülmemektedir. Bu durum genel olarak etken maddelerin nanoliflerin içlerine enkapsüle oldukları anlamına gelmektedir. Ancak biz çalışmalarımızda iki farklı taşıyıcı sistemi kombine halde kullandığımız ve etken maddeler ile yapılan ilk üretimin misel olduğunu gözönünde bulundurursak sonuçları şu

şekilde yorumlamamız daha doğru olur diye düşünmekteyiz: Etken maddeler birinci taşıyıcı sistem olan miseller içerisinde başarılı bir şekilde enkapsüle edilmiştir ve elektroegirme işlemi sırasında da bu misel yapısında herhangi bir bozulma olmadan başarılı bir şekilde nanolif üretimi gerçekleştirilebilmiştir. Şüphesiz ki misel yapısında bir bozulma olmuş olsa bile serbest hale geçen etken maddeler nanolif içerisinde tekrar enkapsüle hale gelmiş olabilirler. Bu durumun daha net irdelenebilmesi için misel formunun da FTIR analizinin yapılarak karşılaştırılması daha uygun olacaktır. Misel sisteminin katı hale geçirilebilmesi için liyofilizasyon (442) ya da püskürterek kurutma (443) metodları kullanılabilir. Ancak bu işlemlerin kendileri de misel yapısında değişikliğe sebep olabileceği için ayrıca incelenmeleri ve tüm üretim süreçlerinin optimizasyonu gerekmektedir. Bu çalışmalar oldukça kapsamlı olup elde edilecek veriler ayrı bir tez konusu oluşturabilmektedir. Bu sebeple bu tezde çalışılmamıştır.

Ayrıca toz PVA ve PVP spektrumlar ayrı ayrı incelenip, her iki polimerin yapısında bulunduğu Nanolif-AP'nin spektrumu ile karşılaştırıldığında $3000-3600\text{ cm}^{-1}$ arasındaki -OH gerilme bantlarının, Nanolif-AP'nin spektrumunda genişlemesi ve bozulması yapılar arasında hidrojen bandı olmasına atfedilir (444).

5.7. *In vitro* İlaç Salım Çalışmaları

5.7.1. Etken Maddelerin Çözünürlük Tayini

Çözünürlük çalışması sonucunda sink koşulunun sağlandığı reseptör ortam için yapay gözyaşı + %0,1 SLS (a/h) seçilmiştir. Yapay gözyaşı, 100 mL ultra saf suda 0,67 g NaCl, 0,2 g NaHCO_3 , 0,008 g $\text{CaCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ ve 0,14 g KCl çözündürülüp HCl ile pH 7,4'e ayarlanarak hazırlanmış ardından 0,1 g SLS bu çözeltiye eklenmiştir. DKP BCS Sınıf I kimyasal madde olması sebebiyle çözünürlüğü her ortamda çok yüksek çıkacaktır. Bu sebeple çözünürlük çalışmasında lipofilik yapılı PSC üzerinden hesaplama yapılmıştır. Seçilen reseptör ortamda etken maddelerin çözünürlük sonuçları şu şekildedir. DKP= $6136,443\pm 487,52\text{ }\mu\text{g/mL}$, PSC= $104,40\pm 2,56\text{ }\mu\text{g/mL}$.

5.7.2. *In vitro* Salım Çalışmaları

In vitro salım çalışmaları ilk olarak diyaliz bag yöntemi ile 14000 cut-off selüloz diyaliz membranda denenmiş ancak tutarlı sonuçlar alınamadığı için ve Franz difüzyon hücrelerinde salım çalışması yapılmasına karar verilmiştir.

In vitro salım çalışmaları misel formülasyonu için Bölüm 3.2.8.2’de, nanolif formülasyonları için de Bölüm 3.2.8.3’te tarif edildiği şekilde yapılmıştır. *In vitro* salım çalışmalarında, misel formülasyonu, misel formülasyonu ile aynı konsantrasyonda DKP ve PSC içerecek şekilde seyreltilmiş Noxafil®+DKP kontrol çözeltisi, Nanolif-A, P, AP, P(-M) ve AP(-M) formülasyonları üzerinde çalışılmıştır. Membran olarak 0,45 µm por açıklı selüloz asetat membran kullanılmış ve Franz difüzyon hücrelerinde çalışılmıştır. 8 saat boyunca cm²’den salınan kümülatif etken madde miktarları hesaplanmıştır.

Sonuçlar Tablo 4-30 ve 4-35 arasında verilmiştir.

Miseldeki etken madde miktarı ile misellerden üretilmiş nanoliflerin etken madde miktarları arasında çok fazla fark olması (elektroeğirme işlemi için yüksek oranda polimer kullanılması sebebiyle yaklaşık 20/1 oranda) sonuçları incelerken göz önünde bulundurulması gereken bir durumdur.

Sonuçlar incelendiğinde, AP(-M) hariç tüm nanolif formülasyonlarında DKP için 4. saat itibariyle en yüksek salım miktarına ulaştığı görülmüştür. Misel formülasyonunda ise DKP 3. saatte en yüksek salım miktarına ulaşmıştır.

DKP salımı için tüm formülasyonlarda 4. saatten sonra plato değerine ulaştığı tespit edilmiştir. Sonuçlar tüm analiz süresi boyunca (8 saat) takip edilmiştir ancak 4. Saatte oluşan plato değerlerinde değişiklik olmadığı için grafiklerde ve kinetik veri hesaplamalarında maksimum salım miktarına ulaştığı noktaya göre değerler ele alınmıştır.

Nanolifler arasında DKP salımını en çok yapan formülasyon 405,32±10,31 µg/cm² değeri ile Nanolif-P(-M) formülasyonudur. Onu sırasıyla Nanolif-A (378,78±13,95), P (373,25±8,34), AP(-M) (368,30±8,64) ve AP (367,94±27,58) izlemektedir. Misel formülasyonu en yüksek DKP salımını 8999,44±653,51 µg/cm² değeri ile yapmıştır. Kontrol çözeltisi ise 9552,06±176,00 µg/cm² DKP salımı yapmıştır.

Nanolif formülasyonlarında PSC salımları kıyaslandığında Nanolif-A hariç tüm nanolifler en yüksek salım miktarına 8. saatte ulaşmıştır. Nanolif-A ise 6. saatte en yüksek salım miktarına ulaşmıştır. Misel formülasyonu en yüksek PSC salım miktarına 3. saatte ulaşmıştır. Kontrol çözeltisi ise en yüksek PSC salım miktarına 8. saatte ulaşmıştır.

Nanolifler arasında PSC için en yüksek salımı yapan formülasyon $5,57 \pm 0,39$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ değeri ile Nanolif-AP(-M)'dir. Onu sırasıyla Nanolif-A ($5,14 \pm 0,21$), AP ($4,60 \pm 0,25$), P(-M) ($4,43 \pm 0,29$) ve P ($3,50 \pm 0,37$) izlemektedir. Misel formülasyonu en yüksek PSC salımını $209,17 \pm 13,05$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ değerinde, kontrol çözeltisi ise en yüksek PSC salımını $44,63 \pm 7,76$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ olara yapmıştır. Nanolif AP(-M) ve P(-M) ilk yarım saatte PSC salımı yapmamış 30. dakika itibarıyla PSC salımı yapmaya başlamışlardır.

Tüm formülasyonlarda ve kontrol çözeltisinde DKP'nin çok hızlı salınması (burst release), fizikokimyasal olarak BCS Sınıf I yüksek çözünürlüğeve hidrofilik yapıya sahip olmasına bağlıdır. Misel yapısında da kabuk kısmında konumlanan DKP, misel yapısından çok çabuk şekilde serbestleşir (445).

Nanoliflerde PSC salımı incelendiğinde tüm nanolifler 8. Saatte maksimum salıma ulaşırken Nanolif-A'nın 6. saatte ulaşmasının sebebi olarak, lif çapının diğer nanoliflerden daha küçük olması düşünülebilir. Yapılan çalışmalar lif çapı küçüldükçe ilaç salım hızının arttığını göstermiştir (446).

In vitro ilaç salım çalışmasından elde edilen veriler ile "one-way ANOVA" testi uygulandığında elde edilen varyasyon katsayıları (p) Tablo 4-36'da verilmiştir.

Bu değerler sonucu yapılan değerlendirmede tüm nanolif formülasyonlarının hem DKP hem de PSC salımında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$).

Salım çalışmasında test edilen tüm formülasyonlar (misel ve nanolifler) ve kontrol çözeltisi için DKP ve PSC salım profilleri incelendiğinde ise her iki etken madde salımı için de anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

Misel formülasyonu ile kontrol çözeltisi etken maddelerin salımları açısından kıyaslandığında PSC salım profili açısından anlamlı farklılık varken ($p < 0,05$), DKP salım profilleri arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Bu durumun en temel sebebi yine DKP'nin yüksek çözünürlüğü ile çok hızlı şekilde salınmasıdır.

Nanolif formülasyonları ile kontrol çözeltisi PSC salım profili olarak anlamlı şekilde farklı bulunmuştur ($p < 0,05$).

In vitro salım çalışmamızda misel formülasyonunun salım profili, Durgun ve ark. çalıştıkları PSC yüklü misellerin salım profiline göre farklılık göstermiştir (326). Yaptığımız çalışmada PSC salımı, Durgun ve ark.'nın yaptıkları çalışmadakine kıyasla daha hızlı olmuştur. Bu duruma bizim formülasyonumuzda ikinci etken madde olarak

misel yapısının kabuk kısmında DKP bulunması neden olabilir. DKP'nin hızlı şekilde kabuktan uzaklaşarak misel yapısında boşluklar oluşturması PSC salım hızını artırmış olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde Gaikwad ve ark. yaptıkları çalışmada kombine (albendazol ve paklitaksel) ilaç yüklü ve TPGS ile hazırlanmış misellerin, tek ilaç yüklü misellere kıyasla hem albendazol hem de paklitaksel için ilk patlama salımı ve ardından uzun bir süre boyunca sürekli bir salım ile bifazik bir salım modeli göstermiştir (447).

5.7.3. *In vitro* İlaç Salım Kinetiklerinin Değerlendirilmesi

Bölüm 4.7.3'te bahsedildiği şekilde formülasyonların *in vitro* salım kinetiklerini hesaplamak için KinetDS 3.0 programı kullanılmıştır. Çıkan sonuçlara göre misel formülasyonu, Nanolif-A, Nanolif-P ve Nanolif-AP formülasyonları her iki etken madde için de Korsmeyer-Peppas kinetik modelinin Super Case II transport mekanizmasına göre ilaç salımı yaptığı bulunmuştur. R^2 ve n değerleri Tablo 4-37'de verilmiştir. Korsmeyer-Peppas kinetik modelinde ' n 'değerlerine göre ilaç salım kinetikleri de Tablo 4-38'de verilmiştir.

Super Case II kinetik modeli, ilaç salımının difüzyondan ziyade çoğunlukla polimerin şişme süreci tarafından kontrol edildiği bir senaryoyu tanımlar. Bu durum, polimer matrisi önemli ölçüde şişerek ilacın sadece difüzyondan daha hızlı bir oranda salınmasına izin verdiğinde oluşmaktadır.

Bu durumda, ilaç salımı polimerin şişme ve erozyon gibi fiziksel değişimlerinden etkilenir ve bu da salım hızında hızlı bir artışa yol açabilir. Bu durumla genellikle ilacın yüksek oranda şişebilen bir polimer matrisine gömülü olduğu sistemlerde karşılaşılır.

Super Case II'de ilaç salımı doğrusal bir model izlemez, genellikle başlangıçta bir patlama salımına (burst release) ve ardından sürekli bir salım fazına yol açar. Bu model özellikle, istenen salım profiline ulaşmanın terapötik etkinlik için kritik önem taşıdığı kontrollü salım ilaç dağıtım sistemlerinin formülasyonu ile ilgilidir (448).

Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Rao ve arkadaşlarının, etil selüloz ve PVP K30 polimerleri ile hazırladıkları norfloksasin yüklü oküler insertler Super Case II modelinde ilaç salımı göstermiştir (449).

P(-M) ve AP(-M) formülasyonları DKP için diğer formülasyonlar gibi Korsmeyer-Peppas Super Case II transport modeline uygun çıkarken, PSC salımları ise Baker-Lonsdale mekanizmasına uygun çıkmıştır. Baker-Lonsdale modeli, mikrokapsüller veya mikroküreler gibi küresel matrislerden difüzyonla ilaç salımını karakterize etmek için tasarlanmıştır (450).

5.8. *Ex vivo* Çalışmalar

5.8.1. *Ex vivo* İlaç Geçiş Çalışmaları

Bölüm 3.2.9.1’de anlatıldığı şekilde, misel formülasyonu, Nanolif-AP formülasyonu ve kontrol çözeltisi (250 µg/mL PSC’ye seyreltilmiş Noxafil® ve 10mg/mL DKP çözeltisi karışımı) için sıgır kornea ve sklera dokularında *ex vivo* ilaç geçiş çalışmaları için *Valia-Chien* hücreleri kullanılmıştır. Kullanılan bu hücrelerin reseptör ve donör faz hacimi kornealar için 2 mL, skleralar için ise 3,4 mL’dir. Kornea hücreleri için difüzyon yüzeyi 20,7 mm² ve sklera hücreleri için ise 7,2 mm²’dir.

Deney çalışması öncesinde temizlenerek gözlerden ayrılan kornea ve sklera dokuları *Valia-Chien* hücrelerine yerleştirilmiş ve hücrelere reseptör ortamı olarak %0,1 (a/h) SLS içeren yapay gözyaşı ortamı eklenmiştir. Her bir formülasyon için 8 saat boyunca hem skleradan hem de korneadan geçen kümülatif etken maddelerin miktarları (µg/cm²) hesaplanmıştır. Elde edilen bulgular Tablo 4-39 ve 4-40’ta verilmiştir.

Aynı *in vitro* salım çalışmasında olduğu gibi, miseldeki etken madde miktarı ile misel çözeltisinden üretilmiş Nanolif-AP’nin etken madde miktarı arasında çok fazla fark olması (*ex vivo* çalışmalar için yaklaşık 10/1 oranda) sonuçları incelerken dikkat edilmesi gereken bir durumdur.

Kornea dokusunda; misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi için sonuçlar incelendiğinde her iki etken madde de en yüksek ilaç geçişi 8. saatte olmuştur.

8. saat sonunda DKP için korneadan ilaç geçişi misel formülasyonunda 39309,4±3783,19 µg/cm², kontrol çözeltisinde 26299,62±2141,29 µg/cm² ve Nanolif-AP’de 2167,24±559,55 µg/cm²’dir. Bu beklenen bir durumdur. Önceden de belirtildiği gibi DKP, BCS Sınıf I olduğu için hem yüksek çözünürlük hem de yüksek permeabilite gösterir ve kornea dokusundan geçişi doza bağlıdır. Yani ilaç konsantrasyonu arttıkça ilaç geçişi artmaktadır.

8. saat sonunda PSC için korneadan ilaç geçişi misel formülasyonunda $281,56 \pm 3,44 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, kontrol çözeltisinde $10,90 \pm 0,39 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ve Nanolif-AP'de $30,87 \pm 0,17 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 'dir. Misel ve Nanolif-AP formülasyonlarında ilk PSC geçişi 1. saatte gerçekleşmiştir. Kontrol çözeltisinde ise ilk 6 saat PSC geçişi görülmemiştir. Bu durum PSC'nin lipofilik yapıda olmasından kaynaklanmaktadır.

Kornea hem lipofilik ilaçlara hem de hidrofilik ilaçlara bariyer olabilecek özelliklere sahiptir. Kornea epiteli lipofilik özellik gösterirken korneanın stroma tabakası oldukça hidrofilik yapıdadır ve lipofilik ilaçlara ana bariyeri oluşturur (451, 452). Kontrol çözeltisi içerisinde serbest halde bulunan PSC, sudaki çözünürlüğü çok düşük ve partikül büyüklüğü (1400 nm) kornea por açıklığından daha büyük olduğu için ancak 6. saatin sonunda çok düşük miktarda geçiş göstermiştir (453).

Kornea dokusundan PSC geçişi kıyaslandığında en yüksek geçiş misel formülasyonu olarak görülmektedir. İkinci olarak ise yaklaşık 10'da 1 düşük konsantrasyonda etken madde içeriyor olmasına rağmen, kontrol çözeltisinden fazla PSC geçişi gösteren Nanolif-AP gelmektedir. Misel çözeltisi kontrol çözeltisinden yaklaşık 28 kat daha fazla PSC geçişi sağlamıştır.

Ex vivo ilaç geçiş çalışmasından elde edilen veriler ile "one-way ANOVA" testi uygulandığında elde edilen varyasyon katsayıları (*p*) Tablo 4-42'de verilmiştir.

Korneadan ilaç geçişinde misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisinin hem DKP hem de PSC ilaç geçişinde anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

Misel formülasyonu ile kontrol çözeltisi ile kıyaslandığında PSC'nin korneadan geçişinde anlamlı fark bulunurken ($p < 0,05$), DKP'nin korneadan geçişinde anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$). Bunun nedeninden daha önce bahsedilmiştir.

Nanolif-AP ile kontrol çözeltisinin korneadan PSC geçişindeki fark ise anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Misel yüklü nanolif formülasyonun, 10 kat yüksek dozdaki kontrole kıyasla PSC'nin kornea permeabilitesini artırdığı isptalanmıştır.

Sklera ilaç geçiş çalışmalarında, misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi için sonuçlar incelendiğinde her iki etken madde de en yüksek ilaç geçişi 8. saatte olmuştur.

8. saat sonunda DKP için skleradan ilaç geçişi misel formülasyonunda $27137,62 \pm 1443,32 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, kontrol çözeltisi için $24815,53 \pm 1315,85 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ve Nanolif-AP formülasyonu için $2077,47 \pm 77,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dir. Kornea dokusunda olduğu gibi DKP doza bağımlı olarak skleradan geçiş göstermiştir.

8. saat sonunda PSC için skleradan ilaç geçişi misel formülasyonunda $334,11 \pm 5,36 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, kontrol çözeltisinde $155,06 \pm 7,47 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ve Nanolif-AP formülasyonunda $213,39 \pm 6,45 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ değerlerinde bulunmuştur. Kontrol çözeltisinde ilk ilaç geçişi 1. saatte gerçekleşmiştir.

Sklera dokusu da hidrofilik karaktere sahip bir yapıdır ve lipofilik ilaçlara bariyer görevi görür (454).

Sklera ilaç geçiş çalışmasından elde edilen veriler ile “one-way ANOVA” testi uygulandığında misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi arasında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

Misel formülasyonu ile kontrol çözeltisi ile kıyaslandığında PSC’nin skleradan geçişinde anlamlı fark bulunurken ($p < 0,05$), DKP’nin skleradan geçişinde anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

Nanolif-AP ile kontrol çözeltisinin skleradan PSC ilaç geçişi ise kornea çalışmasında olduğu gibi anlamlı fark göstermiştir ($p < 0,05$).

Ex vivo ilaç geçiş çalışmaları sonrası elde edilen bilgiler ile test edilmiş formülasyonların permeasyon parametreleri hesaplanmıştır. Hesaplanmış olan permeasyon parametreleri Tablo 4-41’de yer almaktadır.

5.8.2. *Ex vivo* Penetrasyon Çalışmaları

Misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisindeki etken maddelerin oküler dokulara penetrasyonunu ölçmek için, *ex vivo* ilaç geçiş çalışmasının tamamlanmasının ardından kornea ve sklera dokuları toplanarak penetrasyonları *ex vivo* penetrasyon incelemeleri Bölüm 3.2.9.2’de anlatıldığı şekilde yapılmış ve sonuçlar Tablo 4-43’te verilmiştir.

Önceki çalışmalarda olduğu gibi, miseldeki etken madde miktarı ile misel çözeltisinden üretilmiş Nanolif-AP’nin etken madde miktarı arasında çok fazla fark

olması (*ex vivo* çalışmalar için yaklaşık 10/1 oranda) sonuçları incelerken dikkat edilmesi gereken bir durumdur.

Korneda dokusundaki penetrasyon sonuçları incelendiğinde:

DKP için en yüksek penetrasyon gösteren formülasyonu $904,531 \pm 187,6$ µg değeri ile misel formülasyonu olmuştur. Ardından kontrol çözeltisi için DKP penetrasyonu $725,221 \pm 36,45$ µg iken Nanolif-AP için DKP penetrasyon sonucu $83,723 \pm 24,2$ µg çıkmıştır. DKP için önceki çalışmaların bulguları incelendiğinde önceden bahsedilen nedenlerden dolayı bu beklenen bir sonuçtur.

Ex vivo penetrasyon çalışmasından elde edilen veriler ile “one-way ANOVA” ile testi ve iki karşılaştırma ögesi olduğunda “t testi” uygulandığında elde edilen varyasyon katsayıları (*p*) Tablo 4-44’te verilmiştir.

DKP için kornea penetrasyonunda misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi toplu olarak incelendiğinde aralarında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Ancak DKP’nin hidrofilik yapısı nedeniyle misel ve kontrol çözeltisi karşılaştırıldığında önceki sonuçlara benzer şekilde anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

PSC için korneadaki en yüksek penetrasyonu gösteren formülasyonu $5,144 \pm 1,581$ µg değeri ile misel formülasyonu olmuştur. Ardından Nanolif-AP için PSC penetrasyonu $3,498 \pm 0,177$ µg ve kontrol çözeltisi için PSC penetrasyonu $1,412 \pm 0,076$ µg çıkmıştır.

PSC için kornea penetrasyonunda misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi toplu olarak incelendiğinde aralarında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

Misel formülasyonu ve kontrol çözeltisi karşılaştırıldığında aralarındaki fark korneadaki PSC penetrasyonu adına anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi korneadaki PSC penetrasyonu için kıyaslandığında aralarındaki fark ilaç geçiş çalışmalarına benze şekilde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Misel yüklü nanolif yapısı, daha yüksek dozdaki kontrole göre kornea dokusunda PSC için hem ilaç geçişinde hem de penetrasyonda üstünlük göstermiştir.

Kornea PSC penetrasyonunda misel formülasyonu ve Nanolif-AP incelendiğinde önceki çalışmaların sonuçlarından farklı olarak aralarında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Bu sonucun neden olarak, nanolif yapısındaki polimerlerin penetrasyon artırıcı özelliklerinin olması (424, 455), kornea'nın en geniş bölümü olan stromanın hidrofilik özelliğinden dolayı lipofilik ilaçlar için belirli bir penetrasyon limitinin bulunması ve formülasyonlarımızda iki etken madde bulunduğu için korneaya yüksek oranda penetre olmuş hidrofilik DKP ile birlikte korneal dokudaki hücreler arası porların dolmuş olabilmesi düşünülmektedir (456, 457).

Sklera dokusundaki penetrasyon sonuçları incelendiğinde:

DKP için en yüksek penetrasyon gösteren örnek $252,999\pm30,97$ μg değeri ile kontrol çözeltisi olmuştur. Kontrol çözeltisi için DKP penetrasyonu $196,021\pm43,64$ μg iken Nanolif-AP için DKP penetrasyon sonucu $34,24\pm6,578$ μg çıkmıştır.

DKP için sklera penetrasyonunda misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi toplu olarak incelendiğinde aralarında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak önceki sonuçlara benzer şekilde DKP penetrasyonu için misel ile kontrol arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$).

PSC için skleradaki en yüksek penetrasyonu gösteren formülasyon $10,257\pm2,654$ μg değeri ile misel formülasyonu olmuştur. Ardından Nanolif-AP için PSC penetrasyonu $3,666\pm1,266$ μg ve kontrol çözeltisi için PSC penetrasyonu $1,432\pm0,16$ μg çıkmıştır.

PSC için sklera penetrasyonunda misel formülasyonu, Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi toplu olarak incelendiğinde aralarında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Misel formülasyonu ve kontrol çözeltisi karşılaştırıldığında aralarındaki fark skleradaki PSC penetrasyonu adına anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Nanolif-AP ve kontrol çözeltisi skleradaki PSC penetrasyonu için kıyaslandığında aralarındaki fark kornea penetrasyonuna benzer şekilde anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Skleradaki PSC penetrasyonunda da yüksek dozdaki kontrole üstünlük sağlamıştır.

Sklera dokusunda, korneadaki aksine PSC penetrasyonu misel formülasyonu ile Nanolif-AP karşılaştırıldığında aralarındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Alınan sonuçlarda PSC'nin sklerada kroneaya göre daha fazla penetre olduğu görülmüştür. Literatürde de sklera dokusunun korneaya göre ilaç penetrasyona daha açık olduğu belirtilmektedir (458, 459).

Penetrasyon çalışmalarında en son olarak her bir formülasyon kendi içerisinde Kornea ve Skleradaki penetrasyonu açısından kıyaslanmıştır. (Tablo 4-45).

Misel formülasyonunda hem DKP hem de PSC açısından anlamlı fark görülmüştür ($p<0,05$). Nanolif-AP'de ise DKP penetrasyonunda anlamlı fark varken ($p<0,05$) PSC penetrasyonunda anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$). Kontrol çözeltisinde de Nanolif-AP'ye benzer sonuç alınmıştır.

5.9. Antifungal Aktivite Çalışmaları

Antifungal aktivite çalışmaları Bölüm 3.2.10'da anlatıldığı şekilde disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Plasebo, misel formülasyonu, nanolif formülasyonu (Nanolif-AP), misel ile aynı konsantrasyonda etken madde içeren Noxafil®-DKP karışımı ve nanolif ile aynı konsantrasyonda etken madde içeren Noxafil®-DKP karışımı grubu örnekleriyle yapılan çalışma sonucu bulunan zon inhibisyon çapları (mm) Tablo 4-46'da verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde misel çözeltisinin, aynı konsantrasyondaki kontrol çözeltisinden (Noxafil®+DKP karışımı) daha yüksek inhibisyon zonuna sahip olduğunu göstermektedir.

Aynı şekilde Nanolif-AP de aynı konsantrasyondaki kontrol çözeltisinden daha yüksek inhibisyon zonuna sahiptir.

Ek olarak Nanolif-AP, misele kıyasla daha düşük dozda etken madde içermesine rağmen *Candida albicans*'a karşı misel formülasyonuna yakın inhibisyon zonuna sahiptir. Bu durum Nanolif-AP'nin daha düşük miktarda etken madde içerse bile yine de MIK değerinin üzerinde PSC içermesinden kaynaklanmaktadır (460).

Elde edilen sonuçlar Durgun ve ark. yaptıkları çalışma ile uyumludur (363).

5.10. HET-CAM Toksisite Testi

HET-CAM toksisite değerlendirme çalışması, beyaz Leghorn cinsi tavuk yumurtalarında Bölüm 3.2.11'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Test sonucu elde edilen görüntüler Şekil 4-53'te, formülasyonların ve kontrollerin aldıkları skorlar Tablo 4-

47’de verilmiştir. Ayrıca HET-CAM puanlarının karşılık geldiği sınıflar Tablo 4-48’de verilmiştir.

Yapılan çalışmada her bir örnek üç ayrı yumurtaya uygulanmıştır. Tüm örnekler 300 saniye boyunca gözlemlenmiştir. Yapılan incelemelerde sadece Noxafil® seyreltilmiş süspansiyonunun 1 adet yumurtasında ilk 30 saniyede pıhtılaşma görülmüştür (Şekil 4-53). Bu durum da HET-CAM zaman göre puanlama şemasında 9 puana denk gelmektedir (Tablo 3-8). $n=3$ çalışıldığı için bu puan üçe bölünerek HET-CAM sınıflandırma şemasında karşılık geldiği irritasyon değeri kontrol edilmiş ve ‘hafif’ olarak sınıflandırılmıştır. Diğer etken madde veya formülasyonlarda yapılan çalışmaların hiçbirinde damarlanmış koryoallantoik membranlarda farklılaşma görülmemiştir. Elde edilen sonuçlar Durgun ve ark. yaptıkları çalışma ile uyumludur (363).

Sonuç olarak üretilen misel ve nanolif formülasyonları ve ilk defa gözde çalışılan DKP, HET-CAM testine göre toksik olmadığı ve biyoyumlu olduğu görülmüştür.

5.11. Stabilité Çalışmaları

Bölüm 3.2.12’de anlatıldığı şekilde formülasyonlar stabilité kabinlerine kaldırılmış ve 180. gün sonunda kabinden çıkarılarak fiziksel olarak kontrol edilmiş ve içerdikleri etken madde miktarları açısından incelemek adına HPLC’de etken madde miktar tayini yapılmıştır.

Fiziksel incelemelerde Nanolif-P formülasyonunun 40 ± 2 °C sıcaklık ve $\%75\pm 5$ bağıl nem ortamında renk ve görünüş olarak değiştiği tespit edilmiştir. Diğer formülasyonlarda ise fiziksel olarak bir farklılık görülmemiştir. Nanolif-P formülasyonunda oluşan değişim Şekil 4-54’te gösterilmektedir. Bu durumun temel sebebi olarak Nanolif-P üretiminde kullanılan PVP K90 polimerinin yüksek higroskopik özelliğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (461). Ayrıca yapılan bir çalışmada PVP K90’ın nem çektikçe camsı geçiş sıcaklığının düştüğü gösterilmiştir (462). Nanolif-P’de de böyle bir durum yaşanarak yapısal olarak bozulduğu düşünülmektedir.

25±2 °C, % 60±5 bağıl nem, 40±2 °C, % 75±5 bağıl nem stabilite kabinlerine ve 4 °C ortam koşullarına kaldırılan formülasyonlar 6. ayın sonunda etken madde miktarı açısından incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 4-49, 4-50 ve 4-51’de verilmiştir.

25±2 °C, % 60±5 bağıl nem, 40±2 °C, % 75±5 bağıl nem stabilite kabinlerinde bekletilen tüm formülasyonların hem DKP hem de PSC miktarlarında azalmalar görülmüştür. Bunun sebepleri arasında PVA polimerinin de aynı PVP gibi higroskopik özellik göstermesi olabilir. Misel formülasyonu ise su ile disperse bir sistem olduğu için stabilite problemlerine açıktır.

Yapılan incelemelerde 6. ay sonunda hem 25±2 °C, % 60±5 bağıl nem hem de 40±2 °C, % 75±5 bağıl nem koşullarında yapısında en fazla etken bulunduran nanolif formülasyonu AP formülasyonudur. Bunun sebebinin nanolifin yapısındaki PVA ve PVP polimerleri arasındaki hidrojen bağının stabiliteyi artırdığı şeklinde yorumlanmıştır. Literatür de bu düşüncüyü desteklemektedir, yapılan çalışmalarda PVA/PVP karışımının saf PVA ve saf PVP’ye göre termal ve mekanik stabiliteyi arttığı vurgulanmaktadır (463-465).

4 °C ortam koşullarında bekletilen misel ve Nanolif-AP formülasyonları diğer koşullardaki formları ile kıyaslandığında ise etken madde miktarlarının oldukça yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4-51). Nanolif-AP yapısındaki polimerlerin düşük sıcaklık ve nemde daha stabil oldukları için etken madde enkapsülasyonu daha yüksek olmuştur. Misel formülasyonu için ise bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, literatürde TPGS misellerin 4 °C saklama koşullarında partikül boyutu ve zeta potansiyel açısından daha stabil kaldığı hakkında çalışmalar bulunmaktadır (447, 466). Ayrıca hem PSC hem de DKP’nin yüksek sıcaklık ve nemde degradasyona uğradığına dair çalışmalar yapılmıştır (467, 468). Bu sebeple üretilen formülasyonların en stabil oldukları saklama koşullarında 4 °C ortam koşulları olarak seçilmiştir. İleride yapılacak çalışmalarda nanoliflerin primer ambalajlar nemden koruyucu şekilde düzenlenebilir.

Nanolif-AP tüm saklama koşullarında % ilaç miktarı olarak misel formülasyonuna üstünlük göstermiştir. Bunun en temel sebebi katı formda olması sebebiyle hidroliz, oksidasyon, agregasyon ve kontaminasyon gibi durumlardan daha az etkilenmesidir.

5.12. Sonuç

Bu tez çalışmasında oküler tedaviye yönelik kombine bir dozaj formu olarak PSC ve DKP yüklü misel formülasyonunun ve bu misel formülasyonundan elektroegirme yöntemi ile üretilen nanolif formülasyonunun hazırlanarak hem sıvı hem katı dozaj formunda ilaç taşıyıcı sistemler geliştirmesi hedeflenmiştir. Önformülasyon denemeleri sonucu karakterizasyon analizlerinde misel yapısının başarılı bir şekilde olduğu gözlemlenmiştir. Ardından hazırlanan misel formülasyonu ile PVA, PVP polimerleri ve bu polimerlerin karışımı kullanılarak elektroegirme çalışması gerçekleştirilmiş ve nanolif insert formülasyonları hazırlanmıştır. Güncel literatür taramasında PSC ve DKP'nin kombine kullanıldığı bir dozaj formu yoktur. Ayrıca DKP ile yapılan oküler bir çalışma bulunmamaktadır. Ek olarak oküler kullanıma yönelik misellar nanolif formülasyonu da güncel literatürde bulunmamaktadır. Tez çalışmamız bu yönleri ile yenilikçi bir yaklaşım sergilemektedir.

Ayrıca tez çalışmaları kapsamında her iki etken maddenin tek bir kromotogramda analizlerinin yapılabildiği valide edilmiş analitik bir metod geliştirilmiştir.

İnsertler ile yapılan karakterizasyon çalışmalarında etken maddelerin yüksek oranda yüklendiği ve kristal yapılarının amorf hale geçerek enkapsüle olduğu nanolif yapısı görülmüştür.

Hem misel hem de nanolif formülasyonlarında, lipofilik yapıdaki PSC'nin suda çözünürlüğünü artırmıştır.

Seçilen formülasyonlarla yapılan *in vitro* salım ve *ex vivo* permeasyon-penetrasyon çalışmalarında literatürdeki çalışmalara uygun sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda geliştirilen misel ve nanolif formülasyonlarında düşük dozlarda dahi oküler dokulara geçiş ve penetrasyon olduğu görülmüştür.

Üretilen tüm formülasyonlarda antifungal etki görülmüş ayrıca formülasyonların göz için toksik olmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan tüm çalışmalarda misel ve nanolif formu karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Tez çalışmasında elde ettiğimiz bulgular incelendiğinde, hazırladığımız formülasyonlar oküler tedaviye uygun görülmüştür. Ancak ilerleyen çalışmalarda daha

uzun süreli terapötik etki sağlayabilmek ve insertlerdeki ilaç miktarlarını artırabilmek adına farklı polimerler ve yüzey etken maddeler ile veya ko-aksiyal yöntemle çalışarak yeni nanolif formülasyonları tasarlanabilir. Ayrıca ilerleyen hedeflerimiz arasında formülasyonlarımızın *in vivo* çalışmalar ile desteklenmesi bulunmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Walther G, Zimmermann A, Theuersbacher J, Kaerger K, von Lilienfeld-Toal M, Roth M, et al. Eye Infections Caused by Filamentous Fungi: Spectrum and Antifungal Susceptibility of the Prevailing Agents in Germany. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(7).
2. Clark HL, Pearlman E. Fungal eye infections. In: Kibbler CC, Barton R, Gow NAR, Howell S, MacCallum DM, Manuel RJ, et al., editors. *Oxford Textbook of Medical Mycology*: Oxford University Press; 2018. p. 0.
3. Klotz SA, Penn CC, Negvesky GJ, Butrus SI. Fungal and Parasitic Infections of the Eye. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000;13(4):662-85.
4. Castano G, Elnahry AG, Mada PK. *Fungal Keratitis*: StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2023 2023.
5. Leclercq B, Mejlachowicz D, Behar-Cohen F. Ocular Barriers and Their Influence on Gene Therapy Products Delivery. *Pharmaceutics*. 2022;14(5).
6. Leung S, Poulakos MN, Machin J. Posaconazole: An Update of Its Clinical Use. *Pharmacy*. 2015;3(4):210-68.
7. Nagappan V, Deresinski S. Posaconazole: A Broad-Spectrum Triazole Antifungal Agent. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;45(12):1610-7.
8. Hanna M, Moon J. A review of dexketoprofen trometamol in acute pain. *Current Medical Research and Opinion*. 2018;35:1-32.
9. Forrester JV, Dick AD, McMenamin PG, Roberts F, Pearlman E. Chapter 1 - Anatomy of the eye and orbit. In: Forrester JV, Dick AD, McMenamin PG, Roberts F, Pearlman E, editors. *The Eye (Fourth Edition)*: W.B. Saunders; 2016. p. 1-102.e2.
10. Kels BD, Grzybowski A, Grant-Kels JM. Human ocular anatomy. *Clinics in Dermatology*. 2015;33(2):140-6.
11. Cholkar K, Dasari SR, Pal D, Mitra AK. Eye: Anatomy, physiology and barriers to drug delivery. *Ocular transporters and receptors*: Elsevier; 2013. p. 1-36.
12. Wang Y, Wang C. Novel eye drop delivery systems: advance on formulation design strategies targeting anterior and posterior segments of the eye. *Pharmaceutics*. 2022;14(6):1150.
13. Durgun ME. *Oküler Uygulamaya Yönelik Nanotaşıyıcıların Hazırlanması*: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2019.
14. Kansara V, Pal D, Jain R, Mitra AK. Identification and functional characterization of riboflavin transporter in human-derived retinoblastoma cell line (Y-79): mechanisms of cellular uptake and translocation. *Journal of Ocular Pharmacology & Therapeutics*. 2005;21(4):275-87.
15. Malkoç İ. Göz Küresinin Tabakaları: Anatomik ve Histolojik Bir Derleme. *Eurasian J Med*. 2006;38:124-9.
16. Secker GA, Daniels JT. Limbal epithelial stem cells of the cornea. *International Journal of Biomedical and Health Sciences*. 2021;10(3).
17. Schermer A, Galvin S, Sun T-T. Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *The Journal of cell biology*. 1986;103(1):49-62.
18. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2011;37(3):588-98.

19. Ibrahim N, Hifny A, Elhanbaly R, El-Desoky SM, Gaber W. Morphogenetic events influencing corneal maturation, development, and transparency: light and electron microscopic study. *Microscopy Research and Technique*. 2023;86(5):539-55.
20. Wiley L, SundarRaj N, Sun T, Thoft R. Regional heterogeneity in human corneal and limbal epithelia: an immunohistochemical evaluation. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1991;32(3):594-602.
21. Farjo AA, McDermott ML, Soong HK. Corneal anatomy, physiology, and wound healing. *Ophthalmology*. 2009;44(2):203-8.
22. Sanchez-Diaz PC. *Anatomy of the eye and orbit—the clinical essentials*. LWW; 2018.
23. Merindano MD, Costa J, Canals M, Potau J, Ruano D. A comparative study of Bowman's layer in some mammals: Relationships with other constituent corneal structures. *European Journal of anatomy*. 2003;6(3):133-40.
24. Lai T, Tang S. Cornea characterization using a combined multiphoton microscopy and optical coherence tomography system. *Biomed Opt Express*. 2014;5(5):1494-511.
25. Rates ERD, Almeida CD, Costa EdPF, Farias RJdM, Santos-Oliveira R, Alencar LMR. Layer-by-layer investigation of ultrastructures and biomechanics of human cornea. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(14):7833.
26. Gipson IK, Stepp MA. Anatomy and cell biology of the cornea, superficial limbus, and conjunctiva. *Albert and Jakobiec's Principles and Practice of Ophthalmology*. 2022:3-30.
27. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human Corneal Anatomy Redefined: A Novel Pre-Descemet's Layer (Dua's Layer). *Ophthalmology*. 2013;120(9):1778-85.
28. Geroski DH, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF. Pump function of the human corneal endothelium: effects of age and cornea guttata. *Ophthalmology*. 1985;92(6):759-63.
29. Rates ERD, Almeida CD, Costa EdF, Farias RJdM, Santos-Oliveira R, Alencar LMR. Layer-by-Layer Investigation of Ultrastructures and Biomechanics of Human Cornea. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022.
30. Hämäläinen K-M, Kananen K, Auriola S, Kontturi K, Urtti A. Characterization of paracellular and aqueous penetration routes in cornea, conjunctiva, and sclera. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1997;38(3):627-34.
31. Shumway CL, Motlagh M, Wade M. *Anatomy, Head and Neck, Eye Conjunctiva*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.
32. Steven P, Gebert A. Conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue – Current Knowledge, Animal Models and Experimental Prospects. *Ophthalmic Research*. 2009.
33. Nettem H, Darko Y, Bamiro OA, Addo RT. Ocular barriers. *Ocular drug delivery: advances, challenges and applications*. 2016:27-36.
34. Rahmoun DE, Lieshchova MA, Gherissi DE, Hadjeris T. Anatomical and Histological Characteristics of the Dromedary Eye (*Camelus Dromedarius*). *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2020.
35. Zhang P, Kirby DJ, Dufresne C, Chen Y, Turner R, Ferri S, et al. Defining the Proteome of Human Iris, Ciliary Body, Retinal Pigment Epithelium, and Choroid. *Proteomics*. 2016.
36. Sarode B, Nowell CS, Ihm J, Kostic C, Arsenijević Y, Moulin A, et al. Notch Signaling in the Pigmented Epithelium of the Anterior Eye Segment Promotes Ciliary

Body Development at the Expense of Iris Formation. *Pigment Cell & Melanoma Research*. 2014.

37. Lee J-H, Pelis RM. Drug Transport by the Blood-Aqueous Humor Barrier of the Eye. *Drug Metabolism and Disposition*. 2016.

38. Conway RM, Chua W, Qureshi C, Billson FA. Primary Iris Melanoma: Diagnostic Features and Outcome of Conservative Surgical Treatment. *British Journal of Ophthalmology*. 2001.

39. Timsina R, Mainali L. Association of Alpha-Crystallin With Fiber Cell Plasma Membrane of the Eye Lens Accompanied by Light Scattering and Cataract Formation. *Membranes*. 2021.

40. Danysh BP, Duncan MK. The lens capsule. *Experimental Eye Research*. 2009;88(2):151-64.

41. Seyed-Safi AG, Daniels JT. The limbus: Structure and function. *Experimental Eye Research*. 2020;197:108074.

42. Mathôt S. Pupillometry: Psychology, Physiology, and Function. *Journal of Cognition*. 2018;1(1).

43. Troilo D, Smith EL, Nickla DL, Ashby R, Tkatchenko AV, Ostrin LA, et al. IMI – Report on Experimental Models of Emmetropization and Myopia. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2019.

44. Regal S, Troughton J, Djenizian T, Ramuz M. Biomimetic Models of the Human Eye, and Their Applications. *Nanotechnology*. 2021.

45. Schlereth SL, Neuser B, Caramoy A, Grajewski RS, Koch KR, Schrödl F, et al. Enrichment of Lymphatic Vessel Endothelial Hyaluronan Receptor 1 (LYVE1)-Positive Macrophages Around Blood Vessels in the Normal Human Sclera. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014.

46. Pijanka JK, Spang MT, Sørensen T, Liu J, Nguyen TD, Quigley HA, et al. Depth-Dependent Changes in Collagen Organization in the Human Peripapillary Sclera. *Plos One*. 2015.

47. Oprea S, Pantu C, Filipoiu FM, Tulin R, Oprea G, editors. *THE ANATOMY OF THE CHOROID – A REVIEW* 2017.

48. Qi Y, Li L, Zhang F. Choroidal Thickness in Chinese Children Aged 8 to 11 Years With Mild and Moderate Myopia. *Journal of Ophthalmology*. 2018;2018:1-7.

49. Ptitto M, Bleau M, Bouskila J. The retina: a window into the brain. *MDPI*; 2021. p. 3269.

50. Rupenthal ID, Alany RG. Ocular drug delivery. John Wiley & Sons, New Jersey; 2008. p. 729-67.

51. Durairaj C. Ocular pharmacokinetics. *Pharmacologic Therapy of Ocular Disease*. 2017:31-55.

52. Urtti A. Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. 2006;58(11):1131-5.

53. Winter KN, Anderson DM, Braun RJ. A model for wetting and evaporation of a post-blink precorneal tear film. *Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA*. 2010;27(3):211-25.

54. Ansari MW, Nadeem A, Ansari MW, Nadeem A. The lacrimal apparatus. *Atlas of Ocular Anatomy*. 2016:71-6.

55. Jumelle C, Gholizadeh S, Annabi N, Dana R. Advances and limitations of drug delivery systems formulated as eye drops. *Journal of Controlled Release*. 2020;321:1-22.

56. Sunkara G, Kompella UB. Membrane transport processes in the eye. *Ophthalmic drug delivery systems*: CRC Press; 2003. p. 34-79.
57. Olsen TW, Aaberg SY, Geroski DH, Edelhauser HF. Human sclera: thickness and surface area. *American journal of ophthalmology*. 1998;125(2):237-41.
58. Lee J, Pelis RM. Drug transport by the blood–aqueous humor barrier of the eye. *Drug Metabolism and Disposition*. 2016;44(10):1675-81.
59. Coca-Prados M. The blood–aqueous barrier in health and disease. *Journal of Glaucoma*. 2014;23:S36-S8.
60. O’Leary F, Campbell M. The blood–retina barrier in health and disease. *The FEBS journal*. 2023;290(4):878-91.
61. Subrizi A, Del Amo EM, Korzhikov-Vlakh V, Tennikova T, Ruponen M, Urtti A. Design principles of ocular drug delivery systems: importance of drug payload, release rate, and material properties. *Drug discovery today*. 2019;24(8):1446-57.
62. Durgun ME, Güngör S, Özsoy Y. *Anti-Infective Agents in Ocular Treatment and New Approaches*. *Frontiers in Anti-Infective Agents*; Bentham Science Publishers Pte Ltd: Singapore. 2021:1-41.
63. Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. Ocular Drug Delivery. *The AAPS Journal*. 2010;12(3):348-60.
64. Shell JW. Pharmacokinetics of topically applied ophthalmic drugs. *Survey of ophthalmology*. 1982;26(4):207-18.
65. Hughes PM, Olejnik O, Chang-Lin J-E, Wilson CG. Topical and systemic drug delivery to the posterior segments. *Advanced drug delivery reviews*. 2005;57(14):2010-32.
66. Bachu RD, Chowdhury P, Al-Saedi ZH, Karla PK, Boddu SH. Ocular drug delivery barriers—role of nanocarriers in the treatment of anterior segment ocular diseases. *Pharmaceutics*. 2018;10(1):28.
67. Ruponen M, Urtti A. Undefined role of mucus as a barrier in ocular drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2015;96:442-6.
68. Bowman R, Cope J, Nischal K. Ocular and systemic side effects of brimonidine 0.2% eye drops (Alphagan®) in children. *Eye*. 2004;18(1):24-6.
69. Korte J-M, Kaila T, Saari MK. Systemic bioavailability and cardiopulmonary effects of 0.5% timolol eyedrops. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*. 2002;240:430-5.
70. Uusitalo H, Nino J, Tahvanainen K, Turjanmaa V, Ropo A, Tuominen J, et al. Efficacy and systemic side-effects of topical 0.5% timolol aqueous solution and 0.1% timolol hydrogel. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. 2005;83(6):723-8.
71. Geroski DH, Edelhauser HF. Drug delivery for posterior segment eye disease. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2000;41(5):961-4.
72. Thrimawithana TR, Young S, Bunt CR, Green C, Alany RG. Drug delivery to the posterior segment of the eye. *Drug discovery today*. 2011;16(5-6):270-7.
73. Ranta V-P, Mannermaa E, Lummeppuro K, Subrizi A, Laukkanen A, Antopolsky M, et al. Barrier analysis of periocular drug delivery to the posterior segment. *Journal of Controlled Release*. 2010;148(1):42-8.
74. de Vries VA, Bassil FL, Ramdas WD. The effects of intravitreal injections on intraocular pressure and retinal nerve fiber layer: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*. 2020;10(1):13248.
75. Peyman GA, Lad EM, Moshfeghi DM. Intravitreal injection of therapeutic agents. *Retina*. 2009;29(7):875-912.

76. Patel D, Patel SN, Chaudhary V, Garg SJ. Complications of intravitreal injections: 2022. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2022;33(3):137-46.
77. Jacob S, Nair AB, Shah J. Emerging role of nanosuspensions in drug delivery systems. *Biomaterials research*. 2020;24(1):3.
78. Gorantla S, Rapalli VK, Waghule T, Singh PP, Dubey SK, Saha RN, et al. Nanocarriers for ocular drug delivery: current status and translational opportunity. *RSC Advances*. 2020;10(46):27835-55.
79. Gadad A, Dandagi P, Mastiholimath V. Moxifloxacin loaded polymeric nanoparticles for sustained ocular drug delivery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology (IJPSN)*. 2012;5(2):1727-34.
80. Ghosh KP, Murthy SRR. Microemulsions: A Potential Drug Delivery System. *Current Drug Delivery*. 2006;3(2):167-80.
81. Seng KK, Loong WV. Introductory chapter: From microemulsions to nanoemulsions. *Nanoemulsions-Properties, Fabrications and Applications*. 2019.
82. Gawin-Mikołajewicz A, Nartowski KP, Dyba AJ, Gołkowska AM, Malec K, Karolewicz Be. Ophthalmic nanoemulsions: From composition to technological processes and quality control. *Molecular pharmaceutics*. 2021;18(10):3719-40.
83. Lidich N, Garti-Levy S, Aserin A, Garti N. Potentiality of microemulsion systems in treatment of ophthalmic disorders: Keratoconus and dry eye syndrome – In vivo study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019;173:226-32.
84. Almeida H, Amaral MH, Lobão P, Silva AC, Lobo JMS. Applications of polymeric and lipid nanoparticles in ophthalmic pharmaceutical formulations: present and future considerations. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2014;17(3):278-93.
85. Liu D, Lian Y, Fang Q, Liu L, Zhang J, Li J. Hyaluronic-acid-modified lipid-polymer hybrid nanoparticles as an efficient ocular delivery platform for moxifloxacin hydrochloride. *International journal of biological macromolecules*. 2018;116:1026-36.
86. Dave V, Tak K, Sohgaure A, Gupta A, Sadhu V, Reddy KR. Lipid-polymer hybrid nanoparticles: Synthesis strategies and biomedical applications. *Journal of microbiological methods*. 2019;160:130-42.
87. Onugwu AL, Nwagwu CS, Onugwu OS, Echezona AC, Agbo CP, Ihim SA, et al. Nanotechnology based drug delivery systems for the treatment of anterior segment eye diseases. *Journal of Controlled Release*. 2023;354:465-88.
88. Solanki A, Smalling R, Parola AH, Nathan I, Kasher R, Pathak Y, et al. Humanin nanoparticles for reducing pathological factors characteristic of age-related macular degeneration. *Current Drug Delivery*. 2019;16(3):226-32.
89. Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifepour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale research letters*. 2013;8:1-9.
90. Kaur IP, Garg A, Singla AK, Aggarwal D. Vesicular systems in ocular drug delivery: an overview. *International journal of pharmaceutics*. 2004;269(1):1-14.
91. Hathout RM, Gad HA, Abdel-Hafez SM, Nasser N, Khalil N, Ateyya T, et al. Gelatinized core liposomes: A new Trojan horse for the development of a novel timolol maleate glaucoma medication. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;556:192-9.
92. Ren T, Lin X, Zhang Q, You D, Liu X, Tao X, et al. Encapsulation of azithromycin ion pair in liposome for enhancing ocular delivery and therapeutic efficacy on dry eye. *Molecular pharmaceutics*. 2018;15(11):4862-71.

93. Spataro G, Malecaze F, Turrin C-O, Soler V, Duhayon C, Elena P-P, et al. Designing dendrimers for ocular drug delivery. *European journal of medicinal chemistry*. 2010;45(1):326-34.
94. Rastogi V, Yadav P, Porwal M, Sur S, Verma A. Dendrimer as nanocarrier for drug delivery and drug targeting therapeutics: a fundamental to advanced systematic review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2024;73(4):310-32.
95. Maiti PK, Çağın T, Wang G, Goddard WA. Structure of PAMAM dendrimers: Generations 1 through 11. *Macromolecules*. 2004;37(16):6236-54.
96. Lancina III MG, Wang J, Williamson GS, Yang H. DenTimol as a dendrimeric timolol analogue for glaucoma therapy: synthesis and preliminary efficacy and safety assessment. *Molecular pharmaceutics*. 2018;15(7):2883-9.
97. Eid HM, Naguib IA, Alsantali RI, Alsalahat I, Hegazy AM. Novel chitosan-coated niosomal formulation for improved management of bacterial conjunctivitis: a highly permeable and efficient ocular nanocarrier for azithromycin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;110(8):3027-36.
98. Han S, Shen J-q, Gan Y, Geng H-m, Zhang X-x, Zhu C-l, et al. Novel vehicle based on cubosomes for ophthalmic delivery of flurbiprofen with low irritancy and high bioavailability. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2010;31(8):990-8.
99. El-Gendy MA, Mansour M, El-Assal MI, Ishak RA, Mortada ND. Delineating penetration enhancer-enriched liquid crystalline nanostructures as novel platforms for improved ophthalmic delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020;582:119313.
100. Gaballa SA, El Garhy OH, Abdelkader H. Cubosomes: composition, preparation, and drug delivery applications. *Journal of advanced biomedical and pharmaceutical sciences*. 2020;3(1):1-9.
101. Marzuka K, Dhakne R, Dehghan MH. Ocular delivery of natamycin based on monoolein/span 80/poloxamer 407 nanocarriers for the effectual treatment of fungal keratitis. 2020.
102. Sawant KK, Dodiya SS. Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles. *Recent patents on drug delivery & formulation*. 2008;2(2):120-35.
103. Müller R, Radtke M, Wissing S. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *International journal of pharmaceutics*. 2002;242(1-2):121-8.
104. Cavalli R, Gasco MR, Chetoni P, Burgalassi S, Saettone MF. Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin. *International journal of pharmaceutics*. 2002;238(1-2):241-5.
105. Destruel P-L, Zeng N, Maury M, Mignet N, Boudy V. In vitro and in vivo evaluation of in situ gelling systems for sustained topical ophthalmic delivery: state of the art and beyond. *Drug Discovery Today*. 2017;22(4):638-51.
106. Gorantla S, Waghule T, Rapalli KV, Singh PP, Dubey KS, Saha NR, et al. Advanced Hydrogels Based Drug Delivery Systems for Ophthalmic Delivery. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*. 2019;13(4):291-300.
107. Kumari A, Sharma PK, Garg VK, Garg G. Ocular inserts — Advancement in therapy of eye diseases. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2010;1(3).
108. Saettone MF, Salminen L. Ocular inserts for topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1995;16(1):95-106.

109. POLAT H, PEHLİVAN S, ÇALIŞ S. Bakteriyel Keratit Tedavisinde Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Uygulanması. *Türkiye Klinikleri Journal of Ophthalmology*. 2018;27(4).
110. Deivasigamani K, Bhowmick M, Pandey V, Nandhakumar J, Sengottuvelu S, Sonkar S, et al. The concept of ocular inserts as drug delivery systems: An overview. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2008;2.
111. Aburahma MH, Mahmoud AA. Biodegradable ocular inserts for sustained delivery of brimonidine tartarate: preparation and in vitro/in vivo evaluation. *Aaps Pharmscitech*. 2011;12:1335-47.
112. Gurtler F, Gurny R. Patent literature review of ophthalmic inserts. *Drug development and industrial pharmacy*. 1995;21(1):1-18.
113. Rajput G, Sharma S, Chaudhury S. Review on ophthalmic inserts. *International Journal of Pharma Professional's Research (IJPPR)*. 2013;4(3):912-20.
114. Guzman-Aranguez A, Colligris B, Pintor J. Contact lenses: promising devices for ocular drug delivery. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*. 2013;29(2):189-99.
115. Grass GM, Cobby J, Makoid MC. Ocular delivery of pilocarpine from erodible matrices. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1984;73(5):618-21.
116. Attia M, Kassem M, Safwat S. In vivo performance of [3H] dexamethasone ophthalmic film delivery systems in the rabbit eye. *International journal of pharmaceutics*. 1988;47(1-3):21-30.
117. Devhadrao NV, Siddhaia M. Review on Ocular Insert Drug Delivery System. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2018;8(5-s):115-21.
118. Sabale V, Kumawat ON, Sabale P. Sustained Release Bioadhesive Ocular Inserts of Olopatadine Hydrochloride: Formulation and Characterization. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2019;53(2s):s66-s73.
119. Khan SA, Ma X, Jermain SV, Ali H, Khalil IA, El Fouly M, et al. Sustained release biocompatible ocular insert using hot melt extrusion technology: fabrication and in-vivo evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2022;71:103333.
120. Alzahrani A, Youssef AAA, Nyavanandi D, Tripathi S, Bandari S, Majumdar S, et al. Design and optimization of ciprofloxacin hydrochloride biodegradable 3D printed ocular inserts: Full factorial design and in-vitro and ex-vivo evaluations: Part II. *International journal of pharmaceutics*. 2023;631:122533.
121. Bouledjoudja A, Masmoudi Y, Li Y, He W, Badens E. Supercritical impregnation and optical characterization of loaded foldable intraocular lenses using supercritical fluids. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2017;43(10):1343-9.
122. Ravindran VK, Repala S, Subadhra S, Appapurapu AK. Chick chorioallantoic membrane model for in ovo evaluation of timolol maleate–brimonidine tartrate ocular inserts. *Drug Delivery*. 2014;21(4):307-14.
123. Teba HE, Khalil IA, Gebreel RM, Fahmy LI, Sorogy HME. Development of antifungal fibrous ocular insert using freeze-drying technique. *Drug Delivery and Translational Research*. 2024:1-19.
124. Gote V, Sikder S, Sicotte J, Pal D. Ocular drug delivery: present innovations and future challenges. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2019;370(3):602-24.
125. Cholkar K, Patel SP, Vadlapudi AD, Mitra AK. Novel strategies for anterior segment ocular drug delivery. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*. 2013;29(2):106-23.

126. Algin Yapar E, Durgun ME, Esentürk I, Güngör S, Özsoy Y. Chapter 2 - Herbal bioactives for ocular drug delivery systems. In: Bakshi IS, Bala R, Madaan R, Sindhu RK, editors. *Herbal Bioactive-Based Drug Delivery Systems*: Academic Press; 2022. p. 25-61.
127. Durgun ME, Güngör S, Özsoy Y. Micelles: Promising ocular drug carriers for anterior and posterior segment diseases. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2020;36(6):323-41.
128. Savic S, Pantelic I, Lukic M, Markovic B, Milic J. 2 - Behind the Alkyl Polyglucoside-based structures: Lamellar liquid crystalline and lamellar gel phases in different emulsion systems. In: Pantelic I, editor. *Alkyl Polyglucosides*. Oxford: Woodhead Publishing; 2014. p. 21-52.
129. Lu Y, Zhang E, Yang J, Cao Z. Strategies to improve micelle stability for drug delivery. *Nano research*. 2018;11:4985-98.
130. Sammalkorpi M, Karttunen M, Haataja M. Ionic surfactant aggregates in saline solutions: sodium dodecyl sulfate (SDS) in the presence of excess sodium chloride (NaCl) or calcium chloride (CaCl₂). *The Journal of Physical Chemistry B*. 2009;113(17):5863-70.
131. Rosen MJ, Kunjappu JT. *Surfactants and interfacial phenomena*: John Wiley & Sons; 2012.
132. Trivedi R, Kompella UB. Nanomicellar formulations for sustained drug delivery: strategies and underlying principles. *Nanomedicine*. 2010;5(3):485-505.
133. Torchilin VP. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *Journal of controlled release*. 2001;73(2-3):137-72.
134. Cholkar K, Patel A, Dutt Vadlapudi A, K Mitra A. Novel nanomicellar formulation approaches for anterior and posterior segment ocular drug delivery. *Recent patents on nanomedicine*. 2012;2(2):82-95.
135. Vadlapudi AD, Cholkar K, Vadlapatla RK, Mitra AK. Aqueous nanomicellar formulation for topical delivery of biotinylated lipid prodrug of acyclovir: formulation development and ocular biocompatibility. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*. 2014;30(1):49-58.
136. Torchilin VP. Micellar nanocarriers: pharmaceutical perspectives. *Pharmaceutical research*. 2007;24:1-16.
137. Otsuka H, Nagasaki Y, Kataoka K. Self-assembly of poly (ethylene glycol)-based block copolymers for biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2001;6(1):3-10.
138. Kabanov AV, Batrakova EV, Alakhov VY. Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *Journal of controlled release*. 2002;82(2-3):189-212.
139. Batrakova EV, Kabanov AV. Pluronic block copolymers: evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *Journal of controlled release*. 2008;130(2):98-106.
140. Elmowafy E, Gad H, Biondo F, Casettari L, Soliman ME. Exploring optimized methoxy poly (ethylene glycol)-block-poly (ϵ -caprolactone) crystalline cored micelles in anti-glaucoma pharmacotherapy. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;566:573-84.
141. Mignani S, Shi X, Zabłocka M, Majoral JP. Dendritic Macromolecular Architectures: Dendrimer-Based Polyion Complex Micelles. *Biomacromolecules*. 2021;22(2):262-74.

142. Lü Y, Sun W, Gu Z. Stimuli-Responsive Nanomaterials for Therapeutic Protein Delivery. *Journal of Controlled Release*. 2014;194:1-19.
143. Perumal S, Atchudan R, Lee W. A review of polymeric micelles and their applications. *Polymers*. 2022;14(12):2510.
144. Li Y, Kwon GS. Methotrexate esters of poly (ethylene oxide)-block-poly (2-hydroxyethyl-L-aspartamide). Part I: Effects of the level of methotrexate conjugation on the stability of micelles and on drug release. *Pharmaceutical research*. 2000;17:607-11.
145. Mandal A, Bisht R, Rupenthal ID, Mitra AK. Polymeric micelles for ocular drug delivery: From structural frameworks to recent preclinical studies. *Journal of Controlled Release*. 2017;248:96-116.
146. Rabiei N, Haghighat Kish M. Extraction of nanofibers from polymer blends: A brief review. *Polymers for Advanced Technologies*. 2019;30(4):813-22.
147. Wei Q, Tao D, Xu Y. Nanofibers: principles and manufacture. *Functional Nanofibers and their Applications*: Elsevier; 2012. p. 3-21.
148. Friuli V, Pisani S, Conti B, Bruni G, Maggi L. Tablet formulations of polymeric electrospun fibers for the controlled release of drugs with pH-dependent solubility. *Polymers*. 2022;14(10):2127.
149. Yoo HS, Kim TG, Park TG. Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. 2009;61(12):1033-42.
150. Esentürk İ, Erdal MS, Güngör S. Electrospinning method to produce drug-loaded nanofibers for topical/transdermal drug delivery applications. *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University*. 2016;46(1):49-69.
151. Farokhi M, Mottaghitab F, Reis RL, Ramakrishna S, Kundu SC. Functionalized silk fibroin nanofibers as drug carriers: Advantages and challenges. *Journal of Controlled Release*. 2020;321:324-47.
152. Agrahari V, Agrahari V, Meng J, Mitra AK. Electrospun nanofibers in drug delivery: fabrication, advances, and biomedical applications. *Emerging nanotechnologies for diagnostics, drug delivery and medical devices*: Elsevier; 2017. p. 189-215.
153. Kajdič S, Planinšek O, Gašperlin M, Kocbek P. Electrospun nanofibers for customized drug-delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019;51:672-81.
154. Wang Z, Sun N, Liu M, Cao Y, Wang K, Wang J, et al. Multifunctional nanofibers for specific purification and release of CTCs. *ACS sensors*. 2017;2(4):547-52.
155. Li H, Liu K, Williams GR, Wu J, Wu J, Wang H, et al. Dual temperature and pH responsive nanofiber formulations prepared by electrospinning. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2018;171:142-9.
156. Shi X, Zheng Y, Wang G, Lin Q, Fan J. pH-and electro-response characteristics of bacterial cellulose nanofiber/sodium alginate hybrid hydrogels for dual controlled drug delivery. *RSC advances*. 2014;4(87):47056-65.
157. Uzel E, Durgun ME, Esentürk-Güzel İ, Güngör S, Özsoy Y. Nanofibers in ocular drug targeting and tissue engineering: their importance, advantages, advances, and future perspectives. *Pharmaceutics*. 2023;15(4):1062.
158. Luraghi A, Peri F, Moroni L. Electrospinning for drug delivery applications: A review. *Journal of Controlled release*. 2021;334:463-84.

159. Megelski S, Stephens JS, Chase DB, Rabolt JF. Micro-and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules*. 2002;35(22):8456-66.
160. Bhardwaj N, Kundu SC. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology advances*. 2010;28(3):325-47.
161. Shi X, Zhou W, Ma D, Ma Q, Bridges D, Ma Y, et al. Electrospinning of nanofibers and their applications for energy devices. *Journal of Nanomaterials*. 2015;2015(1):140716.
162. Wang C, Wang J, Zeng L, Qiao Z, Liu X, Liu H, et al. Fabrication of electrospun polymer nanofibers with diverse morphologies. *Molecules*. 2019;24(5):834.
163. Ding J, Zhang J, Li J, Li D, Xiao C, Xiao H, et al. Electrospun polymer biomaterials. *Progress in Polymer Science*. 2019;90:1-34.
164. Omer S, Forgách L, Zelkó R, Sebe I. Scale-up of electrospinning: Market overview of products and devices for pharmaceutical and biomedical purposes. *Pharmaceutics*. 2021;13(2):286.
165. Xue J, Xie J, Liu W, Xia Y. Electrospun nanofibers: new concepts, materials, and applications. *Accounts of chemical research*. 2017;50(8):1976-87.
166. Pant B, Park M, Park S-J. Drug delivery applications of core-sheath nanofibers prepared by coaxial electrospinning: a review. *Pharmaceutics*. 2019;11(7):305.
167. Ding Y, Li W, Zhang F, Liu Z, Zanjani E, Ezazi N, Liu D, et al. Electrospun fibrous architectures for drug delivery, tissue engineering and cancer therapy. *Advanced Functional Materials*. 2019;29(2):1802852.
168. Li Z, Wang C. Effects of Working Parameters on Electrospinning. In: Li Z, Wang C, editors. *One-Dimensional nanostructures: Electrospinning Technique and Unique Nanofibers*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 15-28.
169. Haider A, Haider S, Kang I-K. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*. 2018;11(8):1165-88.
170. Kulkarni A, Bambole V, Mahanwar P. Electrospinning of polymers, their modeling and applications. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*. 2010;49(5):427-41.
171. Lee H, Nishino M, Sohn D, Lee JS, Kim IS. Control of the morphology of cellulose acetate nanofibers via electrospinning. *Cellulose*. 2018;25:2829-37.
172. Chen L, Jiang H, Li Y, Zimba BL, Yu X, Chen C, et al. Influences on mechanical properties of chitosan nanofibrous membranes induced by incorporating graphene oxide nanosheets. *Materials Research Express*. 2019;6(7):075404.
173. Cheah WY, Show P-L, Ng I-S, Lin G-Y, Chiu C-Y, Chang Y-K. Antibacterial activity of quaternized chitosan modified nanofiber membrane. *International journal of biological macromolecules*. 2019;126:569-77.
174. Wakuda Y, Nishimoto S, Suye S-i, Fujita S. Native collagen hydrogel nanofibres with anisotropic structure using core-shell electrospinning. *Scientific Reports*. 2018;8(1):6248.
175. Lin L, Zhu Y, Cui H. Electrospun thyme essential oil/gelatin nanofibers for active packaging against *Campylobacter jejuni* in chicken. *Lwt*. 2018;97:711-8.
176. Vilchez A, Acevedo F, Cea M, Seeger M, Navia R. Applications of electrospun nanofibers with antioxidant properties: A review. *Nanomaterials*. 2020;10(1):175.
177. Yao Q, Cosme JG, Xu T, Miszuk JM, Picciani PH, Fong H, et al. Three dimensional electrospun PCL/PLA blend nanofibrous scaffolds with significantly

- improved stem cells osteogenic differentiation and cranial bone formation. *Biomaterials*. 2017;115:115-27.
178. Shababdoust A, Zandi M, Ehsani M, Shokrollahi P, Foudazi R. Controlled curcumin release from nanofibers based on amphiphilic-block segmented polyurethanes. *International journal of pharmaceutics*. 2020;575:118947.
 179. Song Z, Chiang SW, Chu X, Du H, Li J, Gan L, et al. Effects of solvent on structures and properties of electrospun poly (ethylene oxide) nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*. 2018;135(5):45787.
 180. Berthet M, Gauthier Y, Lacroix C, Verrier B, Monge C. Nanoparticle-based dressing: the future of wound treatment? *Trends in biotechnology*. 2017;35(8):770-84.
 181. McLaughlin AW, McDowell A, Clarkson AN, Walker GF. Characterization of poly (lactic-co-glycolic acid) nanofibers electrospun using a sustainable green chemistry with a low toxicity solvent system. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2022;71(13):983-92.
 182. Dias YJ, Sinha-Ray S, Pourdeyhimi B, Yarin AL. Chicago Sky Blue diazo-dye release from poly (methyl methacrylate)(PMMA) electrospun nanofibers. *Journal of Molecular Liquids*. 2022;345:117771.
 183. Jiang L, Jiang Y, Stiadle J, Wang X, Wang L, Li Q, et al. Electrospun nanofibrous thermoplastic polyurethane/poly (glycerol sebacate) hybrid scaffolds for vocal fold tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering: C*. 2019;94:740-9.
 184. Li B, Xia X, Chen J, Xia D, Xu R, Zou X, et al. Paclitaxel-loaded lignin particle encapsulated into electrospun PVA/PVP composite nanofiber for effective cervical cancer cell inhibition. *Nanotechnology*. 2020;32(1):015101.
 185. Pusporini P, Edikresnha D, Sriyanti I, Suciati T, Munir MM, Khairurrijal K. Electrospun polyvinylpyrrolidone (PVP)/green tea extract composite nanofiber mats and their antioxidant activities. *Materials Research Express*. 2018;5(5):054001.
 186. Kishimoto Y, Kobashi T, Yamanaka S, Morikawa H, Tamada Y. Comparisons between silk fibroin nonwoven electrospun fabrics using aqueous and formic acid solutions. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2018;67(7):462-7.
 187. Calori IR, Braga G, de Jesus PdCC, Bi H, Tedesco AC. Polymer scaffolds as drug delivery systems. *European Polymer Journal*. 2020;129:109621.
 188. Steyaert I, Van der Schueren L, Rahier H, De Clerck K, editors. An alternative solvent system for blend electrospinning of polycaprolactone/chitosan nanofibres. *Macromolecular Symposia*; 2012: Wiley Online Library.
 189. Buzgo M, Mickova A, Rampichova M, Doupanik M. Blend electrospinning, coaxial electrospinning, and emulsion electrospinning techniques. *Core-shell nanostructures for drug delivery and theranostics*: Elsevier; 2018. p. 325-47.
 190. Shahriar SS, Mondal J, Hasan MN, Revuri V, Lee DY, Lee Y-K. Electrospinning nanofibers for therapeutics delivery. *Nanomaterials*. 2019;9(4):532.
 191. Nikmaram N, Roohinejad S, Hashemi S, Koubaa M, Barba FJ, Abbaspourrad A, et al. Emulsion-based systems for fabrication of electrospun nanofibers: Food, pharmaceutical and biomedical applications. *RSC advances*. 2017;7(46):28951-64.
 192. McClellan P, Landis WJ. Recent applications of coaxial and emulsion electrospinning methods in the field of tissue engineering. *BioResearch open access*. 2016;5(1):212-27.

193. Lauricella M, Succi S, Zussman E, Pisignano D, Yarin AL. Models of polymer solutions in electrified jets and solution blowing. *Reviews of Modern Physics*. 2020;92(3):035004.
194. Zhmayev E, Cho D, Joo YL. Nanofibers from gas-assisted polymer melt electrospinning. *Polymer*. 2010;51(18):4140-4.
195. Williams GR, Raimi-Abraham BT, Luo C. *Nanofibres in drug delivery*: UCL Press; 2018.
196. Yang J, Wang K, Yu D-G, Yang Y, Bligh SWA, Williams GR. Electrospun Janus nanofibers loaded with a drug and inorganic nanoparticles as an effective antibacterial wound dressing. *Materials Science and Engineering: C*. 2020;111:110805.
197. Miguel SP, Figueira DR, Simões D, Ribeiro MP, Coutinho P, Ferreira P, et al. Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: A review. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 2018;169:60-71.
198. He C, Nie W, Feng W. Engineering of biomimetic nanofibrous matrices for drug delivery and tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*. 2014;2(45):7828-48.
199. Nie H, Ho M-L, Wang C-K, Wang C-H, Fu Y-C. BMP-2 plasmid loaded PLGA/HAp composite scaffolds for treatment of bone defects in nude mice. *Biomaterials*. 2009;30(5):892-901.
200. Jackson TA, Neo YP, Sisinthy SP, Gorain B. Delivery of therapeutics from layer-by-layer electrospun nanofiber matrix for wound healing: An update. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;110(2):635-53.
201. Shi Q, Qian Z, Liu D, Liu H. Surface modification of dental titanium implant by layer-by-layer electrostatic self-assembly. *Frontiers in Physiology*. 2017;8:574.
202. Xin S, Li X, Wang Q, Huang R, Xu X, Lei Z, et al. Novel layer-by-layer structured nanofibrous mats coated by protein films for dermal regeneration. *Journal of biomedical nanotechnology*. 2014;10(5):803-10.
203. Liu M, Duan X-P, Li Y-M, Yang D-P, Long Y-Z. Electrospun nanofibers for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*. 2017;76:1413-23.
204. Feng X, Li J, Zhang X, Liu T, Ding J, Chen X. Electrospun polymer micro/nanofibers as pharmaceutical repositories for healthcare. *Journal of Controlled Release*. 2019;302:19-41.
205. Hu S, Sun Y, Li J, Xu P, Xu M, Zhou Y, et al. Automatic Diagnosis of Infectious Keratitis Based on Slit Lamp Images Analysis. *Journal of Personalized Medicine* [Internet]. 2023; 13(3).
206. Gauthier A-S, Noureddine S, Delbosc B. Interstitial keratitis diagnosis and treatment. *Journal Français d'Ophtalmologie*. 2019;42(6):e229-e37.
207. Durand ML, Barshak MB, Chodosh J. Infectious keratitis in 2021. *Jama*. 2021;326(13):1319-20.
208. Ung L, Bispo PJ, Shanbhag SS, Gilmore MS, Chodosh J. The persistent dilemma of microbial keratitis: Global burden, diagnosis, and antimicrobial resistance. *Survey of ophthalmology*. 2019;64(3):255-71.
209. Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *Bulletin of the world health organization*. 2001;79(3):214-21.
210. Ung L, Acharya NR, Agarwal T, Alfonso EC, Bagga B, Bispo PJ, et al. Infectious corneal ulceration: a proposal for neglected tropical disease status. *Bulletin of the World Health Organization*. 2019;97(12):854.
211. Ting DSJ, Ho CS, Cairns J, Elsañ A, Al-Aqaba M, Boswell T, et al. 12-year analysis of incidence, microbiological profiles and in vitro antimicrobial susceptibility

- of infectious keratitis: the Nottingham Infectious Keratitis Study. *British Journal of Ophthalmology*. 2021;105(3):328-33.
212. Green M, Carnt N, Apel A, Stapleton F. Queensland microbial keratitis database: 2005–2015. *British Journal of Ophthalmology*. 2019;103(10):1481-6.
 213. Khoo P, Cabrera-Aguas MP, Nguyen V, Lahra MM, Watson SL. Microbial keratitis in Sydney, Australia: risk factors, patient outcomes, and seasonal variation. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2020;258:1745-55.
 214. Miller D, Cavuoto KM, Alfonso EC. Bacterial keratitis. *Infections of the Cornea and Conjunctiva*. 2021:85-104.
 215. Lin A, Rhee MK, Akpek EK, Amescua G, Farid M, Garcia-Ferrer FJ, et al. Bacterial keratitis preferred practice pattern®. *Ophthalmology*. 2019;126(1):P1-P55.
 216. Cabrera-Aguas M, Khoo P, Watson SL. Infectious keratitis: A review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2022;50(5):543-62.
 217. Dargin JM, Lowenstein RA. The Painful Eye. *Emergency Medicine Clinics of North America*. 2008;26(1):199-216.
 218. Austin A, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Update on the management of infectious keratitis. *Ophthalmology*. 2017;124(11):1678-89.
 219. Tabbara KF, Chacra CTB. Infectious Keratitis. In: Tabbara KF, El-Asrar AMA, Khairallah M, editors. *Ocular Infections*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. 73-93.
 220. Durand ML, Barshak MB, Sobrin L. Eye infections. *New England Journal of Medicine*. 2023;389(25):2363-75.
 221. Li JY. Herpes zoster ophthalmicus: acute keratitis. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2018;29(4):328-33.
 222. Kumar RL, Cruzat A, Hamrah P, editors. Current state of in vivo confocal microscopy in management of microbial keratitis. *Seminars in ophthalmology*; 2010: Taylor & Francis.
 223. Maharana PK, Sharma N, Nagpal R, Jhanji V, Das S, Vajpayee RB. Recent advances in diagnosis and management of Mycotic Keratitis. *Indian journal of ophthalmology*. 2016;64(5):346-57.
 224. Qiao GL, Ling J, Wong T, Yeung SN, Iovieno A. Candida keratitis: epidemiology, management, and clinical outcomes. *Cornea*. 2020;39(7):801-5.
 225. Donovan C, Arenas E, Ayyala RS, Margo CE, Espana EM. Fungal keratitis: Mechanisms of infection and management strategies. *Survey of ophthalmology*. 2022;67(3):758-69.
 226. Thomas PA, Geraldine P. Infectious keratitis. *Current opinion in infectious diseases*. 2007;20(2):129-41.
 227. Roy A, Srinivasan M, Das S. Fungal keratitis. *Infections of the Cornea and Conjunctiva*. 2021:149-75.
 228. de Lacerda AG, Lira M. Acanthamoeba keratitis: a review of biology, pathophysiology and epidemiology. *Ophthalmic and Physiological Optics*. 2021;41(1):116-35.
 229. Jain R, Garg P, Motukupally SR, Geary MB, editors. Clinico-microbiological review of non-contact-lens-associated Acanthamoeba keratitis. *Seminars in Ophthalmology*; 2015: Taylor & Francis.
 230. Hassan F, Bhatti A, Desai R, Barua A. Analysis from a year of increased cases of Acanthamoeba Keratitis in a large teaching hospital in the UK. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2019;42(5):506-11.

231. Höllhumer R, Keay L, Watson S. Acanthamoeba keratitis in Australia: demographics, associated factors, presentation and outcomes: a 15-year case review. *Eye*. 2020;34(4):725-32.
232. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Meenakshi R, Padmavathy S, Shivakumar C, Srinivasan M. Microbial keratitis in South India: influence of risk factors, climate, and geographical variation. *Ophthalmic epidemiology*. 2007;14(2):61-9.
233. Yoder JS, Verani J, Heidman N, Hoppe-Bauer J, Alfonso EC, Miller D, et al. Acanthamoeba keratitis: the persistence of cases following a multistate outbreak. *Ophthalmic epidemiology*. 2012;19(4):221-5.
234. Lorenzo-Morales J, Khan NA, Walochnik J. An update on Acanthamoeba keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite*. 2015;22.
235. Roberts CW, Henriquez FL. Drug target identification, validation, characterisation and exploitation for treatment of Acanthamoeba (species) infections. *Experimental parasitology*. 2010;126(1):91-6.
236. Gu S-F, Gao S, Wang H-K, He L-H, Peng R-M, Xiao G-G, et al. Three-Dimensional in Vivo Evaluation of the Cornea in Patients With Unilateral Posterior Interstitial Keratitis. *Frontiers in Medicine*. 2023;10.
237. Kiss S, Damico FM, Young LH. Ocular Manifestations and Treatment of Syphilis. *Seminars in Ophthalmology*. 2005;20(3):161-7.
238. Farooq AV, Paley G, Lubniewski AJ, Gonzales JA, Margolis TP. Unilateral Posterior Interstitial Keratitis as a Clinical Presentation of Herpes Simplex Virus Disease. *Cornea*. 2017;37(3):375-8.
239. Joko T, Shiraishi A, Ogata M, Ohashi Y. Therapeutic Effect of 0.1% Topical Tacrolimus for Childhood Interstitial Keratitis Refractory to Cyclosporine. *Journal of Nippon Medical School*. 2016;83(1):31-4.
240. Hsing YE, Walker J. Bilateral Interstitial Keratitis With Anterior Stromal Infiltrates Associated With Reactive Arthritis. *BMJ Case Reports*. 2017:bcr-2016-218419.
241. Singh VK, Mukhija R, Tandon R. Exposure Keratopathy. 2021:168-72.
242. Mathenge W. Emergency management: exposure keratopathy. *Community Eye Health*. 2018;31(103):69.
243. Wajnsztajn D, Faraj LA, Sanchez-Tabernero S, Solomon A. Neurotrophic Keratitis: Inflammatory Pathogenesis and Novel Therapies. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2023;23(6):520-8.
244. Mastropasqua L, Massaro-Giordano G, Nubile M, Sacchetti M. Understanding the Pathogenesis of Neurotrophic Keratitis: The Role of Corneal Nerves. *Journal of Cellular Physiology*. 2016;232(4):717-24.
245. Bombardieri S, Rama P, Olzi D, Lambiase A. Neurotrophic Keratitis. *Eye*. 2003;17(8):989-95.
246. Abdelkader H, Patel DV, McGhee CNJ, Alany RG. New Therapeutic Approaches in the Treatment of Diabetic Keratopathy: A Review. *Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2011;39(3):259-70.
247. Mead OG, Tighe S, Tseng SCG. Amniotic Membrane Transplantation for Managing Dry Eye and Neurotrophic Keratitis. *Taiwan Journal of Ophthalmology*. 2020;10(1):13.
248. Barisani-Asenbauer T, Maca S, Mejdoubi L, Emminger W, Machold K, Auer H. Uveitis- A Rare Disease Often Associated With Systemic Diseases and Infections- A Systematic Review of 2619 Patients. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2012;7(1):57.

249. Sève P, Kodjikian L, Adélaïde L, Jamilloux Y. Uveitis in adults: What do rheumatologists need to know? *Joint Bone Spine*. 2015;82(5):308-14.
250. Lin P. Infectious uveitis. *Current ophthalmology reports*. 2015;3:170-83.
251. Zhang Y, Amin S, Lung K, Seabury SA, Rao NA, Toy BC. Incidence, Prevalence, and Risk Factors of Infectious Uveitis and Scleritis in the United States: A Claims-Based Analysis. *Plos One*. 2020;15(8):e0237995.
252. Kalogeropoulos D, Asproudis I, Stefaniotou M, Moschos MM, Kozobolis V, Katsanos A, et al. The Large Hellenic Study of Uveitis: Epidemiology, Etiologic Factors and Classification. *International Ophthalmology*. 2023;43(10):3633-50.
253. Maruyama K. Current Standardized Therapeutic Approach for Uveitis in Japan. *Immunological Medicine*. 2019;42(3):124-34.
254. Kongyai N, Pathanapitoon K, Sirirungsi W, Kunavisarut P, Groot-Mijnes JDFd, Rothová A. Infectious Causes of Posterior Uveitis and Panuveitis in Thailand. *Japanese Journal of Ophthalmology*. 2012;56(4):390-5.
255. Guly CM, Forrester JV. Investigation and management of uveitis. *Bmj*. 2010;341.
256. Balasubramaniam B, Chong YJ, Azzopardi M, Logeswaran A, Denniston AK. Topical anti-inflammatory agents for non-infectious uveitis: current treatment and perspectives. *Journal of Inflammation Research*. 2022:6439-51.
257. Thorne JE, Suhler E, Skup M, Tari S, Macaulay D, Chao J, et al. Prevalence of noninfectious uveitis in the United States: a claims-based analysis. *JAMA ophthalmology*. 2016;134(11):1237-45.
258. Joltikov KA, Lobo-Chan A-M. Epidemiology and risk factors in non-infectious uveitis: a systematic review. *Frontiers in Medicine*. 2021;8:695904.
259. Hasegawa E, Takeda A, Yawata N, Sonoda KH. The Effectiveness of Adalimumab Treatment for Non-Infectious Uveitis. *Immunological Medicine*. 2019;42(2):79-83.
260. Prete M, Dammacco R, Fatone MC, Racanelli V. Autoimmune Uveitis: Clinical, Pathogenetic, and Therapeutic Features. *Clinical and Experimental Medicine*. 2015;16(2):125-36.
261. Kulshrestha P, Goel P, Murthy S, Tyagi M, Basu S, Gogri P, et al. Exploring the Involvement of the Alternative Complement Pathway in Non-Infectious Uveitis Pathogenesis. *Frontiers in Immunology*. 2023;14.
262. Chu D, Johnson SJ, Mallya UG, Davis M, Sorg R, Duh MS. Healthcare Costs and Utilization for Privately Insured Patients Treated for Non-Infectious Uveitis in the USA. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection*. 2013;3(1):64.
263. Pershing S, Lum F, Hsu S, Kelly S, Chiang MF, Rich III WL, et al. Endophthalmitis after cataract surgery in the United States: a report from the intelligent research in sight registry, 2013–2017. *Ophthalmology*. 2020;127(2):151-8.
264. Jackson TL, Paraskevopoulos T, Georgalas I. Systematic review of 342 cases of endogenous bacterial endophthalmitis. *Survey of ophthalmology*. 2014;59(6):627-35.
265. Modjtahedi BS, Finn AP, Barb SM, MacLachlan MJ, van Zyl T, Papakostas TD, et al. Characteristics and outcomes of endogenous endophthalmitis: eight-year experience at a tertiary care center. *Ophthalmology Retina*. 2019;3(1):61-72.
266. Kiss S, Dugel PU, Khanani AM, Broder MS, Chang E, Sun GH, et al. Endophthalmitis rates among patients receiving intravitreal anti-VEGF injections: a USA claims analysis. *Clinical ophthalmology*. 2018:1625-35.

267. Andreoli CM, Andreoli MT, Kloek CE, Ahuero AE, Vavvas D, Durand ML. Low rate of endophthalmitis in a large series of open globe injuries. *American journal of ophthalmology*. 2009;147(4):601-8. e2.
268. Huang JM, Pansick AD, Blomquist PH. Use of intravenous vancomycin and cefepime in preventing endophthalmitis after open globe injury. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2016;32(7):437-41.
269. Jenkins TL, Talcott KE, Matsunaga DR, Ryan ME, Obeid A, Chung CA, et al. Endogenous bacterial endophthalmitis: a five-year retrospective review at a tertiary care academic center. *Ocular Immunology and Inflammation*. 2020;28(6):975-83.
270. Clare G, Kempen JH, Pavésio C. Infectious eye disease in the 21st century—an overview. *Eye*. 2024;1-14.
271. Majumder PD, Agrawal R, McCluskey P, Biswas J. Current Approach for the Diagnosis and Management of Noninfective Scleritis. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*. 2021;10(2):212-23.
272. Honik G, Wong IG, Gritz DC. Incidence and prevalence of episcleritis and scleritis in Northern California. *Cornea*. 2013;32(12):1562-6.
273. Homayounfar G, Nardone N, Borkar DS, Tham VM, Porco TC, Enanoria WT, et al. Incidence of scleritis and episcleritis: results from the Pacific Ocular Inflammation Study. *American journal of ophthalmology*. 2013;156(4):752-8. e3.
274. Ho Y-F, Yeh L-K, Tan H-Y, Chen H-C, Chen Y-F, Lin H-C, et al. Infectious scleritis in Taiwan—a 10-year review in a tertiary-care hospital. *Cornea*. 2014;33(8):838-43.
275. Reddy JC, Murthy SI, Reddy AK, Garg P. Risk factors and clinical outcomes of bacterial and fungal scleritis at a tertiary eye care hospital. *Middle East African journal of ophthalmology*. 2015;22(2):203-11.
276. Okhravi N, Odufuwa B, McCluskey P, Lightman S. Scleritis. *Survey of ophthalmology*. 2005;50(4):351-63.
277. Smith JR, Mackensen F, Rosenbaum JT. Therapy insight: scleritis and its relationship to systemic autoimmune disease. *Nature Clinical Practice Rheumatology*. 2007;3(4):219-26.
278. Murthy SI, Sabhapandit S, Balamurugan S, Subramaniam P, Sainz-De-La-Maza M, Agarwal M, et al. Scleritis: Differentiating infectious from non-infectious entities. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2020;68(9):1818-28.
279. Huang F-C, Huang S-P, Tseng S-H. Management of infectious scleritis after pterygium excision. *Cornea*. 2000;19(1):34-9.
280. Ahmad S, Lopez M, Attala M, Galor A, Stanciu NA, Miller D, et al. Interventions and outcomes in patients with infectious *Pseudomonas* scleritis: a 10-year perspective. *Ocular immunology and inflammation*. 2019;27(3):499-506.
281. Altman AJ, Cohen EJ, Berger ST, Mondino BJ. Scleritis and *Streptococcus pneumoniae*. *Cornea*. 1991;10(4):341-5.
282. Murthy SI, Reddy JC, Sharma S, Sangwan VS. Infectious scleritis. *Current Ophthalmology Reports*. 2015;3:147-57.
283. Fincher T, Fulcher SF. Diagnostic and therapeutic challenge of *Aspergillus flavus* scleritis. *Cornea*. 2007;26(5):618-20.
284. Howell A, Midturi J, Sierra-Hoffman M, Carpenter J, Hurley D, Winn R. *Aspergillus flavus* scleritis: successful treatment with voriconazole and caspofungin. *Sabouraudia*. 2005;43(7):651-5.
285. Watson P, Hayreh SS. Scleritis and episcleritis. *British Journal of Ophthalmology*. 1976;60(3):163-91.

286. Galor A, Thorne JE. Scleritis and Peripheral Ulcerative Keratitis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 2007;33(4):835-54.
287. Li Z. Anterior Diffuse Scleritis: A Case Report and Review. *Cro (Clinical & Refractive Optometry) Journal*. 2024.
288. Boonsoon S. Non-Infectious Scleritis and Systemic Collagen Vascular Disease Association. *Siriraj Medical Journal*. 2020;72(4):361-7.
289. Kubaisi B, Samra KA, Foster CS. Granulomatosis With Polyangiitis (Wegener's Disease): An Updated Review of Ocular Disease Manifestations. *Intractable & Rare Diseases Research*. 2016;5(2):61-9.
290. Maza MSdl. Necrotizing Anterior Scleritis. 2016:1-5.
291. Shalaby UA, Heikal MA. Unilateral Surgically Induced Necrotizing Scleritis After Trabeculectomy With Ologen in a Patient With Pigmentary Glaucoma. *American Journal of Ophthalmology Case Reports*. 2016;3:47-9.
292. Chauhan S, Kamal A, Thompson RN, Estrach C, Moots RJ. Rituximab for treatment of scleritis associated with rheumatoid arthritis. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(7):984-5.
293. Doctor P, Sultan A, Syed S, Christen W, Bhat P, Foster CS. Infliximab for the treatment of refractory scleritis. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(5):579-83.
294. Stem MS, Todorich B, Faia LJ. Ocular pharmacology for scleritis: review of treatment and a practical perspective. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. 2017;33(4):240-6.
295. Sen HN, Sangave A, Hammel K, Levy-Clarke G, Nussenblatt RB. Infliximab for the treatment of active scleritis. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2009;44(3):e9-e12.
296. Kumar A, Ghose A, Biswas J, Majumder PD. Clinical profile of patients with posterior scleritis: A report from Eastern India. *Indian journal of ophthalmology*. 2018;66(8):1109-12.
297. McCluskey PJ, Watson PG, Lightman S, Haybittle J, Restori M, Branley M. Posterior scleritis: clinical features, systemic associations, and outcome in a large series of patients. *Ophthalmology*. 1999;106(12):2380-6.
298. Lee DH, Cho H, Choi EY, Kim M. Clinical features and long-term treatment outcome of posterior scleritis. *Annals of Translational Medicine*. 2022;10(21).
299. Robertson R, Ansari FA, Gafoor S, Idolor ON, Amakye D. Posterior Scleritis: A Case Report and Literature Review of the Management of the Condition. *Cureus*. 2024;16(6).
300. Salama A, Elsheikh A, Alweis R. Is this a worrisome red eye? Episcleritis in the primary care setting. *Journal of community hospital internal medicine perspectives*. 2018;8(1):46-8.
301. Promelle V, Goeb V, Gueudry J. Rheumatoid arthritis associated episcleritis and scleritis: an update on treatment perspectives. *Journal of clinical medicine*. 2021;10(10):2118.
302. Jarwal PN. A Clinical Study of Episcleritis and Scleritis. *TNOA Journal of Ophthalmic Science and Research*. 2021;59(1):32-7.
303. Varu DM, Rhee MK, Akpek EK, Amescua G, Farid M, Garcia-Ferrer F, et al. Conjunctivitis Preferred Practice Pattern®. *Ophthalmology*. 2019;126(1):P94-P169.
304. Shapiro DJ, Geanacopoulos AT, Subramanian SV, Wu AC, Bardach NS, Oke I. Antibiotic Treatment and Health Care Use in Children and Adolescents With Conjunctivitis. *Jama Ophthalmology*. 2024.

305. Kumar H, Kumar R, Sood P, Belwal R, Upadhyay J, Naaz F, et al. A Review on Most Ophthalmic Viral Disease Conjunctivitis (Eye Flu). *Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*. 2023;2(4):96-100.
306. Bielory L, Meltzer EO, Nichols KK, Melton RB, Thomas RK, Bartlett JD. An Algorithm for the Management of Allergic Conjunctivitis. *Allergy and Asthma Proceedings*. 2013;34(5):408-20.
307. Davis S. Topical Treatment Options for Allergic Conjunctivitis. *South African Family Practice*. 2015;57(4):5.
308. Reddy GKK, Padmavathi AR, Nancharaiyah YV. Fungal infections: Pathogenesis, antifungals and alternate treatment approaches. *Current Research in Microbial Sciences*. 2022;3:100137.
309. Prasad R, Shah AH, Rawal MK. Antifungals: mechanism of action and drug resistance. *Yeast Membrane Transport*. 2016:327-49.
310. Long B, Verma V, Ryan KM, Padrela L. Generation and physicochemical characterization of posaconazole cocrystals using Gas Antisolvent (GAS) and Supercritical Solvent (CSS) methods. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2021;170:105134.
311. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 468595, Posaconazole. 2024 [updated 22.07.2024. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Posaconazole#section=Information-Sources>.
312. DrugBank. Posaconazole: DrugBank; 2024 [updated 22.07.2024. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01263>.
313. Xiao L, Madison V, Chau AS, Loebenberg D, Palermo RE, McNicholas PM. Three-dimensional models of wild-type and mutated forms of cytochrome P450 14 α -sterol demethylases from *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* provide insights into posaconazole binding. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(2):568-74.
314. Keating GM. Posaconazole. *Drugs*. 2005;65:1553-67.
315. Bhattacharya M, Rajeshwari K, Dhingra B. Posaconazole. *J Postgrad Med*. 2010;56(2):163-7.
316. Moss DM, Siccardi M. Optimizing Nanomedicine Pharmacokinetics Using Physiologically Based Pharmacokinetics Modelling. *British Journal of Pharmacology*. 2014;171(17):3963-79.
317. Dolton M, Brüggemann RJM, Burger DM, McLachlan AJ. Understanding Variability in Posaconazole Exposure Using an Integrated Population Pharmacokinetic Analysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014;58(11):6879-85.
318. Laje G. Pharmacogenetics of Mood Disorders: What Clinicians Need to Know. *CNS Spectrums*. 2013;18(5):272-84.
319. Chen L, Krekels EHJ, Verweij PE, Buil JB, Knibbe CAJ, Brüggemann RJM. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Posaconazole. *Drugs*. 2020;80(7):671-95.
320. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Posaconazole: Rationale for the EUCAST clinical breakpoints, version 3.0. 2020 [updated 22.07.2024. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Rationale_documents/Posaconazole_RD_v3.0_final_final_18_02.pdf.
321. Katragkou A, Tsikopoulou F, Roilides E, Zaoutis TE. Posaconazole: When and How? The Clinician's View. *Mycoses*. 2011;55(2):110-22.

322. Khalil HA, Elkhatib MAW, Belal TS, El-Yazbi AF, Hamdy DA. Hyperlipidemia Alters the Pharmacokinetics of Posaconazole and Vincristine Upon Co-Administration in Rats. *Drugs in R&D*. 2017;17(2):287-96.
323. Clark NM, Grim SA, Lynch JP. Posaconazole: Use in the Prophylaxis and Treatment of Fungal Infections. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 2015;36(05):767-85.
324. Sponsel W, Graybill J, Nevarez H, Dang D. Ocular and systemic posaconazole (SCH-56592) treatment of invasive *Fusarium solani* keratitis and endophthalmitis. *British Journal of Ophthalmology*. 2002;86(7):829-30.
325. Altun A, Kurna SA, Şengör T, Altun G, Olcaysu OO, Aki S, et al. Effectiveness of Posaconazole in Recalcitrant Fungal Keratitis Resistant to Conventional Antifungal Drugs. *Case Reports in Ophthalmological Medicine*. 2014;2014:1-4.
326. Durgun ME, Kahraman E, Güngör S, Özsoy Y. Optimization and Characterization of Aqueous Micellar Formulations for Ocular Delivery of an Antifungal Drug, Posaconazole. *Current Pharmaceutical Design*. 2020;26(14):1543-55.
327. Durgun ME, Mesut B, Hacıoğlu M, Güngör S, Özsoy Y. Optimization of the Micellar-Based In Situ Gelling Systems Posaconazole with Quality by Design (QbD) Approach and Characterization by In Vitro Studies. *Pharmaceutics*. 2022;14.
328. Aykaç K, Yenilmez E, Demirel M, Başaran E. Posaconazole Loaded Ocular Inserts for Antifungal Activity. *Journal of Pharmaceutical Technology*. 2020;1(1):1-6.
329. Brune K, Patrignani P. New Insights Into the Use of Currently Available Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Journal of Pain Research*. 2015:105.
330. Díaz-González F, Sánchez-Madrid F. NSAIDs: learning new tricks from old drugs. *European journal of immunology*. 2015;45(3):679-86.
331. DrugBank. Dexketoprofen trometamol: DrugBank; 2024 [updated 25.07.2024. Available from: <https://go.drugbank.com/salts/DBSALT002989>.
332. National Center for Biotechnology Information. Dexketoprofen trometamol 2024 [updated 25.07.2024. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dexketoprofen-trometamol>.
333. Barbanoj M-J, Antonijoan R-M, Gich I. Clinical pharmacokinetics of dexketoprofen. *Clinical pharmacokinetics*. 2001;40:245-62.
334. Hanna M, Elliott K, Stuart-Taylor ME, Roberts DR, Buggy DJ, Arthurs G. Comparative Study of Analgesic Efficacy and Morphine-sparing Effect of Intramuscular Dexketoprofen Trometamol With Ketoprofen or Placebo After Major Orthopaedic Surgery. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2003;55(2):126-33.
335. Moore RA, Barden J. Systematic Review of Dexketoprofen in Acute and Chronic Pain. *BMC Clinical Pharmacology*. 2008;8(1).
336. Walczak J-S. Analgesic properties of dexketoprofen trometamol. *Pain management*. 2011;1(5):409-16.
337. Barbanoj MJ, Antonijoan RM, Gich I. Clinical pharmacokinetics of dexketoprofen. *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(4):245-62.
338. Güler S, Ertok I, Sahin NY, Ramadan H, Katirci Y. Anaphylaxis After Intravenous Infusion of Dexketoprofen Trometamol. *Turkish Journal of Emergency Medicine*. 2016;16(3):132-3.
339. Zabala S, Calpe MJ, Pérez G, Lerín FJ, Mouronval L. Neutropenia, Thrombocytopenia and Hepatic Injury Associated With Dexketoprofen Trometamol Therapy in a Previously Healthy 35-Year-Old Woman. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2008;33(1):79-81.

340. Carné X, Ríos J, Torres F. Postmarketing cohort study to assess the safety profile of oral dextropropofol trometamol for mild to moderate acute pain treatment in primary care. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*. 2009;31 8:533-40.
341. Liu X, Wang D, Yu C, Li T, Liu J, Sun S. Potential Antifungal Targets Against a Candida Biofilm Based on an Enzyme in the Arachidonic Acid Cascade—A Review. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7.
342. Babaei F, Mirzababaei M, Tavakkoli A, Nassiri-Asl M, Hosseinzadeh H. Can nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) be repurposed for fungal infection? *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2024;397(1):59-75.
343. Alem MA, Douglas LJ. Effects of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on biofilms and planktonic cells of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(1):41-7.
344. Rosato A, Catalano A, Carocci A, Carrieri A, Carone A, Caggiano G, et al. In vitro interactions between anidulafungin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on biofilms of *Candida* spp. *Bioorg Med Chem*. 2016;24(5):1002-5.
345. Dupont B, Datry A, Poirée S, Canestri A, Boucheneb S, Fourniols E. Role of a NSAID in the apparent cure of a fungal mycetoma. *J Mycol Med*. 2016;26(2):86-93.
346. Dupont B, Datry A, Poirée S, Canestri A, Boucheneb S, Fourniols É. Role of a NSAID in the apparent cure of a fungal mycetoma. *Journal de mycologie medicale*. 2016;26 2:86-93.
347. Król J, Nawrot U, Bartoszewicz M. Anti-candidal activity of selected analgesic drugs used alone and in combination with fluconazole, itraconazole, voriconazole, posaconazole and isavuconazole. *Journal de Mycologie Médicale*. 2018;28(2):327-31.
348. Yang S, Liao Y, Cong L, Lu X, Yang R. In vitro interactions between non-steroidal anti-inflammatory drugs and antifungal agents against planktonic and biofilm forms of *Trichosporon asahii*. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157047.
349. Shafique A, Alothman ZA, Akram S, Akram S, Sohail CS, Mushtaq M. An expedient and rapid High-Performance Liquid Chromatographic method for the kinetic study of Ketoprofen. *Journal of King Saud University-Science*. 2020;32(3):2212-8.
350. Guideline IHT. Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1). 2005;1(20):05.
351. Wang B, Wang Y, Yin T, Yu Q. Applications of electrospinning technique in drug delivery. *Chemical Engineering Communications*. 2010;197(10):1315-38.
352. Sill TJ, Von Recum HA. Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. 2008;29(13):1989-2006.
353. Almasian A, Najafi F, Eftekhari M, Shams Ardekani MR, Sharifzadeh M, Khanavi M. Preparation of polyurethane/pluronic F127 nanofibers containing peppermint extract loaded gelatin nanoparticles for diabetic wounds healing: Characterization, in vitro, and in vivo studies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021.
354. El-Aassar M, Ibrahim OM, Al-Oanzi ZH. Biotechnological applications of polymeric nanofiber platforms loaded with diverse bioactive materials. *Polymers*. 2021;13(21):3734.
355. Polat HK, Pehlivan SB, Özkul C, Çalamak S, Öztürk N, Aytekin E, et al. Development of besifloxacin HCl loaded nanofibrous ocular inserts for the treatment of bacterial keratitis: In vitro, ex vivo and in vivo evaluation. *International journal of pharmaceutics*. 2020;585:119552.

356. Kosmulski M, Mączka E. Zeta potential in dispersions of titania nanoparticles in moderately polar solvents stabilized with anionic surfactants. *Journal of Molecular Liquids*. 2022;355:118972.
357. Liu P, De Wulf O, Laru J, Heikkilä T, van Veen B, Kiesvaara J, et al. Dissolution studies of poorly soluble drug nanosuspensions in non-sink conditions. *Aaps Pharmscitech*. 2013;14:748-56.
358. Phillips DJ, Pygall SR, Cooper VB, Mann JC. Overcoming sink limitations in dissolution testing: a review of traditional methods and the potential utility of biphasic systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2012;64(11):1549-59.
359. Yang M, Dong Z, Zhang Y, Zhang F, Wang Y, Zhao Z. Preparation and evaluation of posaconazole-loaded enteric microparticles in rats. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2017;43(4):618-27.
360. Yu Y, Chen D, Li Y, Yang W, Tu J, Shen Y. Improving the topical ocular pharmacokinetics of lyophilized cyclosporine A-loaded micelles: formulation, in vitro and in vivo studies. *Drug Delivery*. 2018;25(1):888-99.
361. Bhattarai RS, Das A, Alzhrani RM, Kang D, Bhaduri SB, Boddu SH. Comparison of electrospun and solvent cast polylactic acid (PLA)/poly (vinyl alcohol)(PVA) inserts as potential ocular drug delivery vehicles. *Materials Science and Engineering: C*. 2017;77:895-903.
362. Association EEB. Technical guidelines for ocular tissue. Venice: EEBA. 2012.
363. Durgun ME, Kahraman E, Hacıoğlu M, Güngör S, Özsoy Y. Posaconazole micelles for ocular delivery: in vitro permeation, ocular irritation and antifungal activity studies. *Drug Delivery and Translational Research*. 2022;12(3):662-75.
364. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: approved guideline M44-A2. 2009.
365. Luepke N, Kemper F. The HET-CAM test: an alternative to the Draize eye test. *Food and Chemical Toxicology*. 1986;24(6-7):495-6.
366. Protocol I. ICCVAM-Recommended test method protocol: Hen's Egg Test—Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) test method. NIH Publication. 2010;13:B30-8.
367. Suri R, Beg S, Kohli K. Target strategies for drug delivery bypassing ocular barriers. *Journal of drug delivery science and technology*. 2020;55:101389.
368. Meng T, Kulkarni V, Simmers R, Brar V, Xu Q. Therapeutic implications of nanomedicine for ocular drug delivery. *Drug discovery today*. 2019;24(8):1524-38.
369. Nagarwal RC, Kant S, Singh P, Maiti P, Pandit J. Polymeric nanoparticulate system: a potential approach for ocular drug delivery. *Journal of controlled release*. 2009;136(1):2-13.
370. Tabbara KF. Infectious Conjunctivitis. In: Tabbara KF, El-Asrar AMA, Khairallah M, editors. *Ocular Infections*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. 63-72.
371. Statham MO, Sharma A, Pane AR. Misdiagnosis of acute eye diseases by primary health care providers: incidence and implications. *Med J Aust*. 2008;189(7):402-4.
372. Kowalski RP, Nayyar SV, Romanowski EG, Shanks RMQ, Mammen A, Dhaliwal DK, et al. The Prevalence of Bacteria, Fungi, Viruses, and Acanthamoeba From 3,004 Cases of Keratitis, Endophthalmitis, and Conjunctivitis. *Eye & Contact Lens*. 2020;46(5).
373. Mahmoudi S, Masoomi A, Ahmadikia K, Tabatabaei SA, Soleimani M, Rezaie S, et al. Fungal keratitis: An overview of clinical and laboratory aspects. *Mycoses*. 2018;61(12):916-30.

374. Garg P. Fungal, Mycobacterial, and Nocardia infections and the eye: an update. *Eye*. 2012;26(2):245-51.
375. Turgut-Çoban D, Erol MK, Çoban AY. Türkiye'deki Endoftalmi Etkenlerine Genel Bakış/Causative Agents of Endophthalmitis in Turkey: An Overview. *Klinik Dergisi*. 2013;26(2):44.
376. Lin P. Infectious Uveitis. *Current Ophthalmology Reports*. 2015;3(3):170-83.
377. Jayasudha R, Chakravarthy SK, Prashanthi GS, Sharma S, Tyagi M, Shivaji S. Implicating dysbiosis of the gut fungal microbiome in uveitis, an inflammatory disease of the eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2019;60(5):1384-93.
378. Jain V, Garg P, Sharma S. Microbial scleritis—experience from a developing country. *Eye*. 2009;23(2):255-61.
379. Knutsson KA, Iovieno A, Matuska S, Fontana L, Rama P. Topical corticosteroids and fungal keratitis: a review of the literature and case series. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(6):1178.
380. Kim SJ, Flach AJ, Jampol LM. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Ophthalmology. *Survey of Ophthalmology*. 2010;55(2):108-33.
381. Abdelkader H, Alany RG. Controlled and continuous release ocular drug delivery systems: pros and cons. *Current drug delivery*. 2012;9 4:421-30.
382. Dey S, Anand BS, Patel J, Mitra AK. Transporters/receptors in the anterior chamber: pathways to explore ocular drug delivery strategies. *Expert opinion on biological therapy*. 2003;3(1):23-44.
383. Nagai N, Kaji H, Onami H, Ishikawa Y, Nishizawa M, Osumi N, et al. A polymeric device for controlled transscleral multi-drug delivery to the posterior segment of the eye. *Acta Biomaterialia*. 2014;10(2):680-7.
384. Peyman GA, Hosseini K. Combination therapies in ophthalmology: implications for intravitreal delivery. *J Ophthalmic Vis Res*. 2011;6(1):36-46.
385. Pepić I, Hafner A, Lovrić J, Pirkić B, Filipović-Grečić J. A nonionic surfactant/chitosan micelle system in an innovative eye drop formulation. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2010;99(10):4317-25.
386. Jaiswal M, Kumar M, Pathak K. Zero order delivery of itraconazole via polymeric micelles incorporated in situ ocular gel for the management of fungal keratitis. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015;130:23-30.
387. Deepak A, Goyal AK, Rath G. Nanofiber in transmucosal drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2018;43:379-87.
388. Meraz-Dávila S, Pérez-García C, Feregrino-Perez AA. Challenges and advantages of electrospun nanofibers in agriculture: a review. *Materials Research Express*. 2021;8(4):042001.
389. Tu EY, McCartney DL, Beatty RF, Springer KL, Levy J, Edward D. Successful treatment of resistant ocular fusariosis with posaconazole (SCH-56592). *American journal of ophthalmology*. 2007;143(2):222-7. e1.
390. Prasad Ketha NVD, Kolli D. USING PREPARATIVE CHROMATOGRAPHY AND NMR/LCMS/FT-IR, ISOLATION, IDENTIFICATION, AND CHARACTERIZATION OF POSACONAZOLE OXIDATIVE DEGRADATION IMPURITIES. *Rasayan Journal of Chemistry*. 2022.
391. Öztürk AA, Banderas LM, Otero MD, Yenilmez E, Şenel B, Yazan Y. Dexketoprofen trometamol-loaded poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) nanoparticles: Preparation, in vitro characterization and cytotoxicity. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2019.

392. Nijhawan M, Godugu M, Saxena T, Farheen T, Dwivedi K. Pharmaceutical co-crystals of posaconazole for improvement of physicochemical properties. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2022;58:e191024.
393. Öztürk A, Yenilmez E, Arslan R, Şenel B, Yazan Y. Dexketoprofen trometamol loaded solid lipid nanoparticles (SLNs): Formulation, in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Research in Pharmacy*. 2020;24(1).
394. Terreni E, Chetoni P, Tampucci S, Burgalassi S, Al-Kinani AA, Alany RG, et al. Assembling surfactants-mucoadhesive polymer nanomicelles (ASMP-nano) for ocular delivery of cyclosporine-A. *Pharmaceutics*. 2020;12(3):253.
395. Li X, Fang J, Xin M, Li Q, Wang J, Yang H, et al. Rebaudioside A/TPGS mixed nanomicelles as promising nanocarriers for nimodipine ocular delivery. *Drug Delivery and Translational Research*. 2021;11:1119-32.
396. Mishra D, Gade S, Pathak V, Vora LK, McLoughlin K, Medina R, et al. Ocular application of electrospun materials for drug delivery and cellular therapies. *Drug Discovery Today*. 2023;28(9):103676.
397. Thakkar S, Misra M. Electrospun polymeric nanofibers: New horizons in drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017;107:148-67.
398. Omer S, Zelkó R. A systematic review of drug-loaded electrospun nanofiber-based ophthalmic inserts. *Pharmaceutics*. 2021;13(10):1637.
399. Hilal Algan A, Pekel-Bayramgil N, Turhan F, Altanlar N. Ofloxacin loaded electrospun fibers for ocular drug delivery: effect of formulation variables on fiber morphology and drug release. *Current Drug Delivery*. 2016;13(3):433-43.
400. Yellanki SK, Anna B, Kishan MR. Preparation and in vivo evaluation of sodium alginate-poly (vinyl alcohol) electrospun nanofibers of forskolin for glaucoma treatment. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;32(2).
401. Mirzaeei S, Taghe S, Asare-Addo K, Nokhodchi A. Polyvinyl alcohol/chitosan single-layered and polyvinyl alcohol/chitosan/eudragit rl100 multi-layered electrospun nanofibers as an ocular matrix for the controlled release of ofloxacin: An in vitro and in vivo evaluation. *AAPS PharmSciTech*. 2021;22(5):170.
402. Mehrandish S, Mohammadi G, Mirzaeei S. Preparation and functional evaluation of electrospun polymeric nanofibers as a new system for sustained topical ocular delivery of itraconazole. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2022;27(1):25-39.
403. Mares-Bou S, Serrano M-A, Gómez-Tejedor JA. Core-shell polyvinyl alcohol (PVA) base electrospinning microfibers for drug delivery. *Polymers*. 2023;15(6):1554.
404. Zahra FT, Quick Q, Mu R. Electrospun PVA fibers for drug delivery: A review. *Polymers*. 2023;15(18):3837.
405. Soares RM, Siqueira NM, Prabhakaram MP, Ramakrishna S. Electrospinning and electrospray of bio-based and natural polymers for biomaterials development. *Materials Science and Engineering: C*. 2018;92:969-82.
406. Pillay V, Dott C, Choonara YE, Tyagi C, Tomar L, Kumar P, et al. A review of the effect of processing variables on the fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications. *Journal of Nanomaterials*. 2013;2013(1):789289.
407. Tao J, Shivkumar S. Molecular weight dependent structural regimes during the electrospinning of PVA. *Materials Letters*. 2007;61(11):2325-8.
408. Tao J. Effects of Molecular weight and Solution Concentration on Electrospinning of PVA. Worcester Polytechnic Institute. 2003.

409. Bai J, Li Y, Li M, Wang S, Zhang C, Yang Q. Electrospinning method for the preparation of silver chloride nanoparticles in PVP nanofiber. *Applied Surface Science*. 2008;254(15):4520-3.
410. Lu X, Zhao Y, Wang C, Wei Y. Fabrication of CdS Nanorods in PVP Fiber Matrices by Electrospinning. *Macromolecular Rapid Communications*. 2005;26(16):1325-9.
411. Subramanian UM, Kumar SV, Nagiah N, Sivagnanam UT. Fabrication of Polyvinyl Alcohol-Polyvinylpyrrolidone Blend Scaffolds via Electrospinning for Tissue Engineering Applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2014;63(9):476-85.
412. Tanaka F. Gelation Time of Network-Forming Polymer Solutions with Reversible Cross-Link Junctions of Variable Multiplicity. *Gels*. 2023;9(5).
413. Guo L. Gelation and micelle structure changes of aqueous polymer solutions. 2003.
414. Xie D, Ma P, Ding X, Yang X, Duan L, Xiao B, et al. Pluronic F127-Modified Electrospun Fibrous Meshes for Synergistic Combination Chemotherapy of Colon Cancer. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:618516.
415. Andreadis II, Karavasili C, Thomas A, Komnenou A, Tzimtzimis M, Tzetzis D, et al. In Situ Gelling Electrospun Ocular Films Sustain the Intraocular Pressure-Lowering Effect of Timolol Maleate: In Vitro, Ex Vivo, and Pharmacodynamic Assessment. *Molecular Pharmaceutics*. 2022;19(1):274-86.
416. Suksiriworapong J, Mingkwan T, Chantasart D. Enhanced transmucosal delivery of itraconazole by thiolated d- α -tocopheryl poly(ethylene glycol) 1000 succinate micelles for the treatment of *Candida albicans*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;120:107-15.
417. Ebadi SV, FakhrAli A, Semnani D. Systematic investigation of parameters of an electrospinning process of poly(acrylic acid) nanofibres using response surface methodology. *Bulletin of Materials Science*. 2019;42(3):115.
418. Abdulhussain R, Adebisi A, Conway BR, Asare-Addo K. Electrospun nanofibers: Exploring process parameters, polymer selection, and recent applications in pharmaceuticals and drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2023;90:105156.
419. Liu Z, Ramakrishna S, Ahmed I, Rudd C, Liu X. Rheological, Surface Tension and Conductivity Insights on the Electrospinnability of Poly(lactic-co-glycolic acid)-hyaluronic Acid Solutions and Their Correlations with the Nanofiber Morphological Characteristics. *Polymers (Basel)*. 2022;14(20).
420. Rošić R, Pelipenko J, Kocbek P, Baumgartner S, Bester-Rogac M, Kristl J. The role of rheology of polymer solutions in formation by electrospinning. *European Polymer Journal*. 2012;48:1374–84.
421. Angammana CJ, Jayaram SH. Analysis of the Effects of Solution Conductivity on Electrospinning Process and Fiber Morphology. *IEEE Transactions on Industry Applications*. 2011;47(3):1109-17.
422. Toh HS, Compton RG. Electrochemical detection of single micelles through 'nano-impacts'. *Chem Sci*. 2015;6(8):5053-8.
423. Nawaz A, Irshad S, Walayat N, Khan MR, Iqbal MW, Luo X. Fabrication and Characterization of Apple-Pectin-PVA-Based Nanofibers for Improved Viability of Probiotics. *Foods*. 2023;12(17):3194.

424. Teodorescu M, Bercea M, Morariu S. Biomaterials of PVA and PVP in medical and pharmaceutical applications: Perspectives and challenges. *Biotechnology Advances*. 2019;37(1):109-31.
425. Pfaller MA, Messer SA, Mills K, Bolmström A, Jones RN. Evaluation of Etest method for determining posaconazole MICs for 314 clinical isolates of *Candida* species. *J Clin Microbiol*. 2001;39(11):3952-4.
426. Buil JB, Hagen F, Chowdhary A, Verweij PE, Meis JF. Itraconazole, Voriconazole, and Posaconazole CLSI MIC Distributions for Wild-Type and Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Isolates. *Journal of Fungi*. 2018;4(3):103.
427. Lisa Land D, Benjamin WJ. Sizes and shapes of conjunctival inserts. *International Contact Lens Clinic*. 1994;21(11):212-7.
428. Kalluri L, Satpathy M, Duan Y. Effect of Electrospinning Parameters on the Fiber Diameter and Morphology of PLGA Nanofibers. *Dent Oral Biol Craniofacial Res*. 2021;4(2).
429. Ko J, Jun SW, Lee JK, Lee P, Jun MBG. Effects of Molecular Weight and Temperature on Fiber Diameter of Poly(ϵ -Caprolactone) Melt Electrospun Fiber. *Journal of the Korean Society of Manufacturing Technology Engineers*. 2015;24(2):160-5.
430. Rahmani F, Ziyadi H, Baghali M, Luo H, Ramakrishna S. Electrospun PVP/PVA Nanofiber Mat as a Novel Potential Transdermal Drug-Delivery System for Buprenorphine: A Solution Needed for Pain Management. *Applied Sciences*. 2021;11(6):2779.
431. Maheshwari U, Govindan K, Raja M, Raja A, Pravin MBS, Kumar S. Preliminary studies of PVA/PVP blends incorporated with HAp and β -TCP bone ceramic as template for hard tissue engineering. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2017;28:401-15.
432. Abou-Taleb M. Thermal and Spectroscopic Studies of Poly(*N*-vinyl Pyrrolidone)/Poly(vinyl Alcohol) Blend Films. *Journal of Applied Polymer Science*. 2009;114(2):1202-7.
433. Uslu İ, Keskin S, Gül A, Karabulut TC, Aksu ML. Preparation and Properties of Electrospun Poly vinyl alcohol Blended Hybrid Polymer with Aloe vera and HPMC as Wound Dressing. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*. 2010;38(1):19-25.
434. Wang F, Zhang Z, Yan Y, Shen Z, Wang Q, Gerhard R. Surface Reconstruction on Electro-Spun PVA/PVP Nanofibers by Water Evaporation. *Nanomaterials*. 2022;12(5):797.
435. Reda RI, Wen MM, El-Kamel AH. Ketoprofen-loaded Eudragit electrospun nanofibers for the treatment of oral mucositis. *International Journal of Nanomedicine*. 2017;12(1):2335-51.
436. Lykouras M, Fertaki S, Orkoula M, Kontoyannis CG. Sample Preparation of Posaconazole Oral Suspensions for Identification of the Crystal Form of the Active Pharmaceutical Ingredient. *Molecules*. 2020;25(24):6032.
437. Rossi P, Paoli P, Chelazzi L, Milazzo S, Biagi D, Valleri M, et al. Relationships between Anhydrous and Solvated Species of Dexketoprofen Trometamol: A Solid-State Point of View. *Crystal Growth & Design*. 2020;20(1):226-36.
438. Bukhary H, Williams G, Orlu M. Electrospun fixed dose formulations of amlodipine besylate and valsartan. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018;549.
439. Karolewicz B, Górniak A, Owczarek A, Żurawska-Płaksej E, Piwowar A, Pluta J. Thermal, spectroscopic, and dissolution studies of ketoconazole–Pluronic F127 system. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2014;115(3):2487-93.

440. Baganizi D, Nyairo E, Duncan S, Singh S, Dennis V. Interleukin-10 Conjugation to Carboxylated PVP-Coated Silver Nanoparticles for Improved Stability and Therapeutic Efficacy. *Nanomaterials*. 2017;7.
441. Mansur HS, Oréfice RL, Mansur AAP. Characterization of poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol) hydrogels and PVA-derived hybrids by small-angle X-ray scattering and FTIR spectroscopy. *Polymer*. 2004;45(21):7193-202.
442. Suksiriworapong J, Rungvimolsin T, A-gomol A, Junyaprasert VB, Chantasart D. Development and Characterization of Lyophilized Diazepam-Loaded Polymeric Micelles. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15(1):52-64.
443. Yang Y-T, Chen C-T, Yang J-C, Tsai T. Spray-Dried Microparticles Containing Polymeric Micelles Encapsulating Hematoporphyrin. *The AAPS Journal*. 2010;12(2):138-46.
444. Mehrali F, Ziyadi H, Hekmati M, Faridi-Majidi R, Qomi M. Kefiran/poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone) composite nanofibers: fabrication, characterization and consideration of effective parameters in electrospinning. *SN Applied Sciences*. 2020;2(5):895.
445. Tao L, Chan JW, Uhrich KE. Drug loading and release kinetics in polymeric micelles: Comparing dynamic versus unimolecular sugar-based micelles for controlled release. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 2016;31(3):227-41.
446. Chen S, Huang X, Cai X, Lu J, Yuan J, Shen J. The Influence of Fiber Diameter of Electrospun Poly(lactic acid) on Drug Delivery. *Fibers and Polymers*. 2012;13.
447. Gaikwad NM, Chaudhari PD, Shaikh KS, Chaudhari SY, Pathare SS, Shaikh AA, et al. Dual Drug-loaded Polymeric Mixed Micelles for Ovarian Cancer: Approach to Enhanced Therapeutic Efficacy of Albendazole and Paclitaxel. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2024;28(11).
448. Talevi A, Ruiz ME. Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, and Brazel-Peppas: Models of Drug Release. 2021:1-9.
449. RAO MV, Shyale S. Preparation and evaluation of ocular inserts containing norfloxacin. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2004;34(4):239-46.
450. Ding A, Zhou Y, Chen P, Nie W. Ibuprofen-loaded micelles based on star-shaped erythritol-core PLLA-PEG copolymer: effect of molecular weights of PEG. *Colloid and Polymer Science*. 2017;295.
451. Santana CP, Matter BA, Patil MA, Silva-Cunha A, Kompella UB. Corneal Permeability and Uptake of Twenty-Five Drugs: Species Comparison and Quantitative Structure-Permeability Relationships. *Pharmaceutics*. 2023;15(6).
452. Abdul Nasir NA, Agarwal P, Agarwal R, Iezhitsa I, Alyautdin R, Nukolova NN, et al. Intraocular distribution of topically applied hydrophilic and lipophilic substances in rat eyes. *Drug Deliv*. 2016;23(8):2765-71.
453. Sharpe S, Sequeira J, Harris D, Mahashabde S. Antifungal composition with enhanced bioavailability. *Google Patents*; 2012.
454. Grytz R, Fazio MA, Girard MJ, Libertiaux V, Bruno L, Gardiner S, et al. Material properties of the posterior human sclera. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014;29:602-17.
455. Arribada RG, Behar-Cohen F, de Barros ALB, Silva-Cunha A. The Use of Polymer Blends in the Treatment of Ocular Diseases. *Pharmaceutics*. 2022;14(7).
456. Peyrot D, Aptel F, Crotti C, Deloison F, Lemaire S, Marciano T, et al. Effect of Incident Light Wavelength and Corneal Edema on Light Scattering and Penetration: Laboratory Study of Human Corneas. *Journal of refractive surgery (Thorofare, NJ : 1995)*. 2010;26:786-95.

457. Löscher M, Seiz C, Hurst J, Schnichels S. Topical Drug Delivery to the Posterior Segment of the Eye. *Pharmaceutics*. 2022;14(1):134.
458. Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. Ocular drug delivery. *Aaps j*. 2010;12(3):348-60.
459. Mofidfar M, Abdi B, Ahadian S, Mostafavi E, Desai TA, Abbasi F, et al. Drug delivery to the anterior segment of the eye: A review of current and future treatment strategies. *Int J Pharm*. 2021;607:120924.
460. Arendrup M, Cuenca-Estrella M, Donnelly J, Hope W, Lass-Flörl C, Rodríguez-Tudela JL, et al. EUCAST technical note on posaconazole. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011;17(11):E16-E7.
461. Patel NG, Serajuddin ATM. Moisture sorption by polymeric excipients commonly used in amorphous solid dispersion and its effect on glass transition temperature: I. Polyvinylpyrrolidone and related copolymers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2022;616:121532.
462. Good D, Miranda C, Rodríguez-Hornedo N. Dependence of Cocrystal Formation and Thermodynamic Stability on Moisture Sorption by Amorphous Polymer. *Crystengcomm*. 2011;13(4):1181-9.
463. Mohammed R, Jawad H, Al-Zubiedy A. Blended PVA/PVP Electro spun nanofibers for Coating Application. *Journal of Physics: Conference Series*. 2021;2114(1):012031.
464. Betti NA. Thermogravimetric Analysis on PVA / PVP Blend Under Air Atmosphere. *Engineering and Technology Journal*. 2016;34(13):2433-42.
465. Lilleby Helberg RM, Dai Z, Ansaloni L, Deng L. PVA/PVP blend polymer matrix for hosting carriers in facilitated transport membranes: Synergistic enhancement of CO₂ separation performance. *Green Energy & Environment*. 2020;5(1):59-68.
466. Pawar A, Patel R, Arulmozhi S, Bothiraja C. <sc>d</Sc>-A-Tocopheryl Polyethylene Glycol 1000 Succinate Conjugated Folic Acid Nanomicelles: Towards Enhanced Bioavailability, Stability, Safety, Prolonged Drug Release and Synergized Anticancer Effect of Plumbagin. *RSC Advances*. 2016;6(81):78106-21.
467. Araújo J, França L, Soares M, Nadvorny D, Bedor D, Rolim L, et al. Stability study and oxidative degradation kinetics of posaconazole. *Microchemical Journal*. 2019;151:104181.
468. Demirbolat GM, Demirel A. The role of ointment base on stability of dexketoprofen trometamol in ointments. 2021.

HAM VERİLER

FORMLAR

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

OKÜLER KOMBİNE İLAÇ TEDAVİSİNE YÖNELİK NANOTAŞIYICI SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% **13**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **12**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **5**

YAYINLAR

% **3**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

% **8**

2

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

% **1**

3

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

<% **1**

4

Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University

Öğrenci Ödevi

<% **1**

5

Submitted to Bülent Ecevit Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

<% **1**

6

acikerisim.uludag.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% **1**

7

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

<% **1**

8

dspace.gazi.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% **1**

openaccess.hacettepe.edu.tr:8080