(DOKTORA TEZİ)

GÖZ HASTALIKLARININ TEDAVİSİNE YÖNELİK İYONTOFORETİK GEÇİŞ İLE ETKİLİ SİSTEMLER HAZIRLANMASI

ECZ. KÜBRA ÇAKMAK

DANIŞMAN
PROF. DR. GÜLGÜN YENER

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ
DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL-2025

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.

Kübra Çakmak

İTHAF

TEŞEKKÜR

Öğrencisi olduğum süre boyunca tezimin yönetilmesinin yanında, nezaketi ve iyi niyetiyle manevi desteğini her zaman hissettiğim, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fatma Gülgün YENER'e desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Tez izleme komite üyeleri Prof. Dr. Ümit Gönüllü, Prof. Dr. Oya Kerimoğlu'na teşekkür ederim.

Etkin maddeyi sağlayan Novartis'e teşekkür ederim.

Öğrenci YÖK 100/2000 doktora burs programı ile desteklenmiştir.

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Farmsötik Teknoloji Programında Doktora öğrencisi Kübra Çakmak tarafından Prof. Dr. Gülgün Yener'nın danışmanlığında hazırlanan Göz Hastalıklarının Tedavisine Yönelik İyontoforetik Geçiş ile Etkili Sistemler Hazırlanması başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 03/02/2025 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Ünvanı Adı Soyadı
Üniversite, Fakülte
Anabilim Dalı

Jüri
Ünvanı Adı Soyadı
Üniversite, Fakülte
Anabilim Dalı

Jüri
Ünvanı Adı Soyadı
Üniversite, Fakülte
Anabilim Dalı

Jüri
Ünvanı Adı Soyadı
Üniversite, Fakülte
Anabilim Dalı

Jüri
Ünvanı Adı Soyadı
Üniversite, Fakülte
Anabilim Dalı

Jüri-(Danışman)
Ünvanı Adı Soyadı
Üniversite, Fakülte
Anabilim Dalı

1. İÇİNDEKİLER

BEYAN……İİ

İTHAF……İİİ

TEŞEKKÜR……İV

İÇİNDEKLER……Vİ

TABLOLAR LİSTESİ…..……Vİİİ

ŞEKİLLER LİSTESİ……X

SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ…….Xİİİ

ÖZET……XVİ

ABSTRACT……XVİİ

2. GİRİŞ VE AMAÇ…….1

3. GENEL BİLGİLER……...2

3.1. Göz ve Gözün Yapısı……...……...2

3.1.1. tunica Fibrosa Bulbi……...……..2

3.1.2. Tunica Vasculosa Bulbi……...……3

3.1.3. Tunica İnterna Bulbi…….3

3.2. Göze İlaç Uygulanmasında Karşılaşılan Bariyerler……...4

3.2.1. Gözün Dinamik Bariyerleri……..4

3.2.2. Gözün Statik Bariyerleri……...5

3.2.3. Konjonktiva……..7

3.2.4. Sklera……....8

3.3. Göz Hastalıklarının Tedavisi için İlaç Uygulama Yolları……...9

3.3.1. Sistemik Uygulama……...….10

3.3.2. Ekstraoküler Uygulama……...……...10

3.3.3. Göze Topikal Uygulama……...……10

3.3.4. Perioküler Uygulama…….....10

3.3.5. Göz İçi Uygulama……...…….....…….. 11

3.4. Topikal Uygulamada Oküler İlaç Absorpsiyon Yolları……...…..13

3.4.1. Korneal Absorpsiyon Yolu……...….……13

3.4.2. Konjonktival Absorpsiyon Yolu……...……14

3.5. Oküler İlaç Uygulama Sistemleri……..…...……..15

3.6. Oküler Formülasyonlarda Kullanılan Polimerler…….…..17

3.6.1. Biyolojik Olarak Parçalanabilen Polimerler……...…...…17

3.7. Polimerik Nanopartiküller…….……...…...20

3.7.1. Polimerik Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri…….…….....22

3.8. Oküler Biyoyararlanımı Arttırma Yöntemleri…….…….....23

3.8.1. Penetrasyon Arttırıcılar…….....23

3.8.2. İyontoforez…….28

4. GEREÇ VE YÖNTEM……..…38

4.1. Gereçler…….....38

4.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler…….....…....38

4.1.2. Kullanılan Aletler……...….....39

4.2. Yöntemler……...……..40

4.2.1. Deksametazon Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) Miktar……

Tayini Yöntemi…….....40

4.2.2. Formülasyonların Hazırlanması…….…...41

4.2.3. Partikül Boyutu, Partikül Boyutu Dağılımı, Zeta Potansiyel Ölçümü……..43

4.2.4. Yükleme Etkinliği…….....43

4.2.5. pH Ölçümü……....44

4.2.6. Stabilite…….....44

4.2.7. İn Vitro Salım…….....44

4.2.8. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleme……44

4.2.9. Ex vivo Geçiş Deneyleri…….……45

4.2.10. Geçiş Kinetiğinin Hesaplanması……..……48

4.2.11. İstatistik…….....49

5. BULGULAR…….....50

5.1. Deksametazon HPLC Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular…….....50
5.2. Partikül Boyutu, Partikül Boyutu Dağılımı, Zeta Potansiyel Ölçümüne Ait……..
Bulgular…….....53
5.3. Yükleme Etkinliği Bulguları…….....57
5.4. pH Ölçümüne Ait Bulgular……...…...58
5.5. Stabilite Çalışmasına Ait Bulgular……...59
5.6. İn vitro Salım Çalışmasına Ait Bulgular…….....62
5.7. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Ölçümlerine Ait Bulgular……..70
5.8. Ex vivo Geçiş Deneylerine Ait Bulgular……..78
5.9. İn vitro Salım Kinetiği……..90
6. TARTIŞMA……....93
KAYNAKLAR…….....98
HAM VERİLER…….....106
FORMLAR…….....107
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI…….....108

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Oküler ilaç uygulama yolları, avantaj ve dezavantajları…….....13

Tablo 3-2: Oftalmik formülasyonlarda bulunması gereken özellikler…….....16

Tablo 4-1: Boş formülasyonlar……...……...42

Tablo 4-2: Deks yüklü formülasyonlar……...…….…..43

Tablo 4-3: sklera ile yapılan ex vivo deneyler……...……....49

Tablo 4-4: s+k ile yapılan deneyler……...…….51

Tablo 5-1: Doğruluk çalışması bulguları……..…….....55

Tablo 5-2: Gün içi kesinlik bulguları…….....…56

Tablo 5-3: Günler arası kesinlik bulguları…….……56

Tablo 5-4: Boş nanopartiküllere ait partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı bulguları…….57

Tablo 5-5: Deks yüklü nanopartiküllere ait partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı bulguları…….58

Tablo 5-6: Boş nanopartiküllere ait zeta potansiyel bulguları…….…..59

Tablo 5-7: Deks yüklü nanopartiküllere ait zeta potansiyel bulguları…….…..60

Tablo 5-8: Deks yüklü nanopartiküllere ait yüzde yükleme etkinliği bulguları……....61

Tablo 5-9: Deks yüklü nanopartiküllere ait pH değerleri…….…….62

Tablo 5-10: boş nanopartiküllere ait stabilite çalışması bulguları…….....63

Tablo 5-11: Deks yüklü nanopartiküllere ait stabilite çalışması bulguları…….....64

Tablo 5-12: Deks yüklü nanopartiküllere ait yüzde yükleme etkinliği bulguları…….…….64

Tablo 5-13: Deks yüklü nanopartiküllere ait pH bulguları…….……...65

Tablo 5-14: F1, F2, F3 formüllerine ait in vitro salım sonuçları……...66

Tablo 5-15: F4, F5, F6 formüllerine ait in vitro salım sonuçları……...67

Tablo 5-16: F7, F8, F9 formüllerine ait in vitro salım sonuçları……...68

Tablo 5-17: 2 mA akım uygulaması ile elde edilen geçiş sonuçları…….…….82

Tablo 5-18: 4 mA akım uygulaması ile elde edilen geçiş sonuçları…….…….83

Tablo 5-19: 5 mA akım uygulaması ile elde edilen geçiş sonuçları…….…….84

Tablo 5-20: 1mg Deks yüklü ve 2 mg Deks yüklü nanopartiküllerin iyontoforetik geçiş sonuçları…….85

Tablo 5-21: F5'in s ve s+k'dan iyontoforetik geçiş sonuçları…….....87

Tablo 5-22: F5+%0,01 EDTA ve F5+ %0,02 EDTA zamana karşı geçiş sonuçları…….….88

Tablo 5-23: F5+ %1 Tween 80 ve F5+%2 Tween 80 zamana karşı geçiş sonuçları.……89

Tablo 5-24: F5+%0,1 limonen ve F5+%0,2 limonen zamana karşı geçiş sonuçları…….….90

Tablo 5-25: F5+%0,2 EDTA+%2 Tween 80 ve F5+%0,2 EDTA+%0,2 limonen zamana karşı geçiş sonuçları……...91

Tablo 5-26: Pasif geçiş sonuçları…….....92

Tablo 5-27: s+k'dan karşılaştırmalı geçiş sonuçları……..93

Tablo 5-28: İn vitro salım kinetiği sonuçları…….…….94

Tablo 5-29: İn vitro salım kinetiği sonuçları…….…….95

Tablo 5-30: İn vitro salım kinetiği sonuçları…….…….96

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Gözün anatomik yapısı ……...……....2

Şekil 3-2: Oküler anterior bariyerler……...…....6

Şekil 3-3: Oküler posterior bariyerler……...6

Şekil 3-4: KAB ve KRB……...7

Şekil 3-5: Göze ilaç uygulanmasında karşılaşılan bariyerler…….....9

Şekil 3-6: Göze ilaç uygulama yolları……...10

Şekil 3-7: Korneal ve non-korneal absorbsiyon yolları……..15

Şekil 3-8: Yenilikçi oftalmik ilaç uygulama sistemleri …….....16

Şekil 3-9: Polimer bozunma mekanizmaları…….....18

Şekil 3-10: Doğal ve sentetik polimerler……....19

Şekil 3-11: PLGA nanopartikül yapısı ……...…...22

Şekil 3-13: Kimyasal penetrasyon arttırıcılar…….25

Şekil 3-14: İyontoforez sistemi…….....29

Şekil 3-15: İyontoforetik geçişe konsantrasyonun etkisi ……...32

Şekil 3-16: İyontoforetik geçişe akım şiddetinin etkisi …….....32

Şekil 3-17: İyontoforetik geçişe akım uygulama süresinin etkisi……...…...33

Şekil 3-18: İyontoforetik geçişe tampon çözeltinin etkisi…….....34

Şekil 3-19: Transskleral iyontoforez…….....35

Şekil 4-1: Dana gözü……..46

Şekil 4-2: Dana gözü……..46

Şekil 4-3: Konjonktivanın sıyrılması……..47

Şekil 4-4: Konjonktivadan sıyrılmış dana gözü…….47

Şekil 4-5: Ex vivo deneylerde kullanılan dokuların çıkarılması……48

Şekil 4-6: Ex vivo deneylerde kullanılan dokuların çıkarılması……48

Şekil 4-7: Konjonktiva ile bitişik sklera dokusu……48

Şekil 5-1: Deks kromatogramı……54

Şekil 5-2, Şekil 5-3, Şekil 5-4: Seçicilik kromatogramları……...….54

Şekil 5-5: Kalibrasyon eğrisi……...……...55

Şekil 5-6: Tüm formüllere ait in vitro salım sonuçları……...…69

Şekil 5-7: F1, F2, F3 formüllerine ait in vitro salım sonuçları…….....70

Şekil 5-8: F4,F5, F6 formüllerine ait in vitro salım çalışması……70

Şekil 5-9: F7, F8, F9 formüllerine ait in vitro salım çalışması……...71

Şekil 5-10: F1, F4, F7 formüllerine ait in vitro salım çalışması…….…72

Şekil 5-11: F2, F5, F8 formüllerine ait in vitro salım çalışması…….……72

Şekil 5-12: F3, F6, F9 formüllerine ait in vitro salım çalışması…….……73

Şekil 5-13: 4 formüllerine görüntüsü ait SEM ……...…...……74

Şekil 5-14: 4 formüllerine ait SEM görüntüsü……...……...…….74

Şekil 5-15: 5 formüllerine ait SEM görüntüsü……..…….75

Şekil 5-16: 5 formüllerine ait SEM görüntüsü……..…….75

Şekil 5-17: 6 formüllerine ait SEM görüntüsü……...…....76

Şekil 5-18: 6 formüllerine ait SEM görüntüsü ……...…...76

Şekil 5-19: F4 formüllerine ait SEM görüntüsü……..…...77

Şekil 5-20: F4 formüllerine ait SEM görüntüsü…….....77

Şekil 5-21: F3 formüllerine ait SEM görüntüsü…….....78

Şekil 5-22: F5 formüllerine ait SEM görüntüsü…….....78

Şekil 5-23: F5 formüllerine ait SEM görüntüsü…….....79

Şekil 5-24: F8 formüllerine ait SEM görüntüsü…….....79

Şekil 5-26: F8 formüllerine ait SEM görüntüsü……..…...80

Şekil 5-27: F6 formüllerine ait SEM görüntüsü……...…..…81

Şekil 5-28: F6 formüllerine ait SEM görüntüsü……...……..…81

Şekil 5-29: F5, F6, F7, Deks ex vivo geçiş……..…..…82

Şekil 5-30: F5, F6, F7, Deks ex vivo geçiş……..…..83

Şekil 5-31: F5, F6, F7, Deks ex vivo geçiş……..……..84

Şekil 5-32: F5 1 mg ve 2 mg ex vivo geçiş……..…..85

Şekil 5-33: F5 2 mA, 4 mA, 5 mA akım uygulaması…….....86

Şekil 5-34: F5 2 mA, 4 mA, 5 mA akım uygulama……87

Şekil 5-35: F5, F5+%0,1 EDTA, F5+%0,2 EDTA ex vivo geçiş……88

Şekil 5-36: F5, F5+%1 Tween 80, F5+%2 Tween 80 ex vivo geçiş……89

Şekil 5-37: F5, F5+%0,1 limonen, F5+%0,2 limonen ex vivo geçiş……...90

Şekil 5-38: F5, F5+%0,2 EDTA+%2 Tween 80 ve F5+%0,2 EDTA+%2 limonen….

ex vivo geçiş……..91

Şekil 5-39: ex vivo pasif geçiş sonuçları…….92

Şekil 5-40: Karşılaştırmalı ex vivo geçiş sonuçları……...93

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

a/h: Ağırlık/Hacim

Ag/AgCl: Gümüş/Gümüş Klorür

Au/Pd: Altın/Palladyum

BAK: Benzalkonyum Klorür

BAPTA: 1,2-bis(o-aminofenoksi) Etan-N, N, N', N'-tetraasetik Asit

BSA: Sığır Serum Albumin

Brij L9: Polioksietilen-9-lauril Eter

C: Konsantrasyon

COOH: Karboksil

CPP: Hücreye Nüfuz Eden Peptitler

d: Dakika

Da: Dalton

Deks: Deksametazon

EDDS: Etilendiamin-N,N'-disüksinik Asit

EDTA: Etilendiamin Tetra Asetik Asit

EE: Yükleme Etkinliği

EGTA: Etilen-bis(β-aminoetil)-N,N,N',N-tetraasetik Asit

EM: Elektro İtme

EO: Elektroozmoz

Eudragit®: Poli(metakrilat)

h/h: Hacim/Hacim

HEPES: N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N′-(2-ethanesulfonic acid)

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Ofisi

GMP: İyi Üretim Uygulamaları

İ: Akım

J_{TOP}: Toplam Akış

KAB: Kan-Aköz Hümör Aariyeri

KRB: Kan-Retina Bariyeri

L/G: Laktid/Glikolid

LOD: Teşhis Limiti

LOQ: Miktar Tayini Limiti

MA: Molekül Ağırlığı

NaCl: Sodyum Klorür

nm: Nanometre

mA: Miliamper

mg: Miligram

ml: Mililitre

mm: Milimetre

µg: Mikrogram

µm: Mikrometre

ICH: Uluslararası Harmonizasyon Konseyi

PBS: Fosfat Tamponu

PCL: Poli(kaprolakton)

PDI: Partikül Boyutu Dağılımı

PEC: Penetrasyon Arttırıcı Kompleksi

PEG: Poli(etilenglikol)

PGA: Poli(glikolikasit)

PLA: Poli(laktikasit)

PLGA: Poli(laktik-ko-glikolik asit)

POE: Poli(ortoester)

PSS: Polistiren Sülfonik Asit

PTFE: Politetrafloroetilen

PVA: Poli(vinilalkol)

R: Direnç

r^2: Korelasyon Katsayısı

RC: Rejenere Selüloz

R502H: Resomer® RG 502H

R503H: Resomer® RG 503H

R504H: Resomer® RG 504H

RPE: Retina Pigment Epiteli

Rpm: Dakikadaki Devir Sayısı

RSD: Bağıl Standart Sapma

SD: Standart Sapma

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

S+k: Konjonktiva ile Bitişik Sklera

ssDNA: Tek Zincirli DNA

Span 60: Sorbitan Monostearat

Tween 80: Polietilen Glikol Sorbitan Monooleat

ÖZET

Çakmak, K. (2025). Göz Hastalıklarının Tedavisine Yönelik İyontoforetik Geçiş ile Etkili Sistemler Hazırlanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Göze ilaç uygulanmasında gözün fizyolojik ve anatomik bariyerleri ciddi bir engel teşkil etmektedir. Posterior segment hastalıklarının tedavisi için uygulanan ilaçların hedeflenen bölgeye ulaştırılması gerekmektedir. Günümüzde posterior segment hastalıklarının tedavisinde standart kinik uygulama vitrea içerisine enjeksiyondur. Intravitreal enjeksiyon uygulaması çok sayıda bariyeri doğrudan aşarak ilacı hedef bölgeye ulaştırabilir ancak invazif bir uygulama olmakla birlikte komplikasyon riski taşımaktadır. Posterior segment hastalıkları tedavisi için non-invazif tedavi stratejileri geliştirmek ulaşılması arzu edilen bir hedeftir. Topikal uygulanan ilaçların biyorarlanımını arttırmak için kolloidal formülasyonlarının hazırlanması, fiziksel ve kimyasal penetrasyon arttırıcıların kullanımı gibi yöntemler izlenebilir. Kolloidal sistemler küçük boyutlarından dolayı korneal ve skleral permeabiliteyi arttır, yüklenmiş olduğu etkin maddenin biyofarmasötik profilini modifiye edebilir. Oftalmik formülasyonlarda kullanımı güvenli olan çok sayıda kimyasal penetrasyon arttrıcı vardır. Fiziksel penetrasyon arttırıcı yöntemlerin ise non-invazif veya minimal invazif olması ve daha spesifik hedefleme sağlaması avantajlarıdır. İyontoforez düşük yoğunluklu elektrik akımı uygulanarak etkin maddelerin membranlardan geçişinin sağlanmasıdır. Bu yol biyorarlanımı arttırsa da etkin maddenin yarılanma süresini uzatamamaktadır. Bu sebeple çalışmamızda, deksametazon'un transskleral difüzyonunu artırmak amacıyla kolloidal sistemlerin iyontoforetik geçişi araştırılmıştır. PLGA nanopartiküllerinin iyontoforetik uygulanması formülasyonda kullanılan Resomer tipinden ve uygulanan akım şiddetinden bağımsız olarak transskleral geçişi arttırmıştır. Sklera porozitesinin geçiş için en önemli faktör olduğu sonucuna varılmıştır. Konjonktivanın geçiş üzerinde önemli bir anatomik bariyer olduğu belirlenmiştir. Konjonktiva bariyeri hem pasif hem de iyontoforetik geçişin arttırılması için konsantrasyon oranı optimize edilmiş kimyasal penetrasyon arttırıcıların sisteme dahil edilmesi ile zayıflatılabileği, kombine kullanımının iyontoforetik geçişi önemli ölçüde arttırabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Göz hastalıkları, ilaç uygulama sistemleri, nanotaşıyıcılar, penetrasyon arttırıcılar, iyontoforez,

ABSTRACT

Çakmak, K. (2025). Preparation Systems Effective with Iontophoretic Diffusion for the Treatment of Ocular Diseases. İstanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Technology. Doktora Tezi. İstanbul.

The physiological and anatomical barriers of the eye constitute a serious obstacle in ophthalmic drug delivery. Drugs applied for the treatment of posterior segment diseases must be delivered to the targeted area. İntravitreal injection is standard clinical application in the treatment of posterior segment diseases. Intravitreal injection can directly overcome many barriers and deliver the drug to the target area, but it is an invasive application and poses multiple complication risks. Developing non-invasive treatment strategies for the treatment of posterior segment diseases is a desired goal. Methods such as preparation of colloidal formulations and use of physical and chemical penetration enhancers can be employed to increase the bioavailability of topically applied drugs. Colloidal systems can increase corneal and scleral permeability due to their small size and modify the biopharmaceutical profile of the encapsulated active substances. There are many chemical penetration enhancers that are safe to use in ophthalmic formulations. Physical penetration enhancer methods are non-invasive or minimally invasive and provide more specific targeting. Iontophoresis is application of low-intensity electric current to increase drug permeability across membranes. Although this method increases bioavailability, it cannot extend the half-life of the active substances. Therefore, colloidal systems were applied with iontophoresis to increase the transscleral diffusion of dexamethasone in our study. Iontophoretic application of PLGA nanoparticles increased transscleral permeation regardless of the Resomer type or the current intensity. It was concluded that the porosity of the sclera was the most important factor and conjunctiva was an important anatomical barrier on permeation. It was determined that the conjunctival barrier could be weakened by incorporating chemical penetration enhancers with optimized concentration ratios into the system to increase both passive and iontophoretic permeation, and that their combined use could significantly increase iontophoretic permeation.

Key Words: Ophthalmology, drug delivery systems, nanocarriers, penetration enhancers, iontophoresis

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Göz hastalıklarının tedavisi için topikal göz damlalarının kullanımı en ucuz ve en yaygın kullanılan yöntemdir. Ancak gözde bulunan anatomik ve fizyolojik bariyer sebebiyle uygulanan ilaç dozunun biyoyararlanımı yalnızca %5 'tir. Gözün kronik hastalıklarında günümüzde kullanılan geleneksek dozaj formlarının biyoyararlanımı dolayısıyla uygulanan tedavinin etkinliğinin düşük olması enjeksiyon veya cerrahi operasyon ile ilaç uygulama gibi hasta uyuncu düşük invazif yaklaşımların uygulanmasını gerektirmektedir (Zhai et al., 2021).

Polimerik nanopartiküler 10-1000 nm boyutunda kolloidal sistemlerdir. Küçük boyutları ve değiştirilebilir özellikleri avantajlarıdır. Bu ilaç taşıyıcı sistemlere hidrofilik ve lipofilik etkin maddeler, küçük molekül ağırlıklı etkin maddeler, makromoleküller yüklenebilir. Yükledikleri etkin maddelerin çözünürlük, stabilite, permeabilite, uygulama bölgesindeki kalış süresi gibi biyofarmasötik özellikleri düzenlenebilir (Molavi et al., 2020).

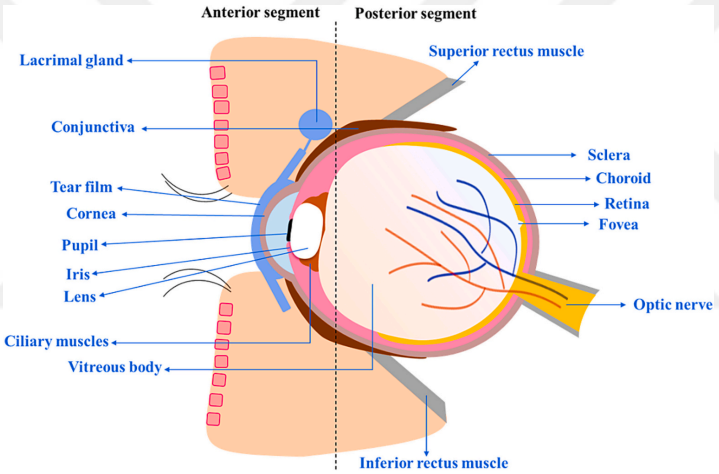
Göz hastalıklarının etkin ve güvenli tedavisi dünya çapında ulaşılması arzulanan bir hedeftir. İyontoforez düşük yoğunluklu elektrik akımı uygulanarak ilaçların biyolojik bariyerleri geçmesini sağlaya invazif olmayan aktif bir hedefleme yöntemidir (Huang et al., 2018).

Çalışamanın amacı uzatılmış salımlı etki sağlamak için PLGA nanopartiküllerinin iyontoforez ile transskleral geçişini araştırmaktır. Formülasyonun ve tasarlanan uygulama yönteminin gözün posterior kısmının hastalıklarının tedavisinde invazif olmayan yöntemler ile ilaç uygulanması çalışmalarına ve yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesine ışık tutucu nitelikte olacağı düşünülmektedir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Göz ve Gözün Yapısı

İnsan gözü, yaklaşık 24 mm'lik bir çapa ve toplam vücut ağırlığının %0.05'inden daha azını oluşturan yaklaşık 7.5 g kütleye sahiptir. Görme, beslenme ve koruma işlevlerini gören üç tunik veya eş merkezli katmandan oluşur (Campos et al., 2020). Göz, göz küresi ve yardımcı yapılarla birlikte orbita içerisinde bulunur. Anatomik olarak göz küresi anterior ve posterior segmentlere ayrılabilir. Gözün anterior segmenti lens, siliyer cisim, ön ve arka oda, iris ve korneadan oluşurken, posterior segment; vitröz hümör, retina ve koroidi içerir (Campos et al., 2020; Iyer et al., 2019). Şekil 3-1'de gözün anatomik yapısı verilmiştir (Qi et al., 2023).



Şekil 3-1: Gözün anatomik yapısı

3.1.1. Tunica Fibrosa Bulbi

Gözün dış tabakası, kornea ve sklera olmak üzere iki bağ dokusundan oluşur ve esas olarak koruyucu işleve sahiptir (Campos et al., 2020; Iyer et al., 2019).

Sklera, gözün arka kısmını kaplayan göz küresinin lifli opak kısmıdır. Skleranın ön bölümü; göz beyazı, şeffaf bulbar konjonktivanın altından görülebilir. Limbustan köken alan sklera, çoğunlukla hücre dışı matrikste yerleşmiştir ve proteoglikanlar ve kollajen liflerinden oluşur, korneaya kadar uzanır (Iyer et al., 2019).

Kornea her biri ilaç emilimi için farklı polariteye sahip olan epitel, stroma ve endotelden oluşur, göz için fiziksel bir bariyer görevi görür ve herhangi bir ekzojen maddenin girişine karşı korur. Korneanın %90'ını oluşturan kornea epiteli, doğası gereği

lipofiliktir. En dıştaki epitel hücreleri, zonula okludens adı verilen sıkı kurdele benzeri bağlantılarla sınırlanan desmozomlarla birbirine bağlanır. Kolajen liflerinden oluşan stroma, orta katmanı oluşturur. En içteki katman, altıgen şekilli hücrelerden oluşan tek katmanlı endotel, stroma ile aköz hümör arasındaki koruyucu bariyerdir (Iyer et al., 2019).

3.1.2. Tunica Vasculosa Bulbi

Gözün orta tabakası; koroid, siliyer cisim ve iristen oluşur. Koroid, sklera ve retina arasında bulunan vasküler koyu kahverengi bir zardır. Retinanın pigment tabakasına sıkıca tutunmuş durumdadır. Koroid, ilacın nöral retinaya nüfuzuna karşı bir bariyer görevi görür. Gözün orta tabakasının ikinci en önemli kısmı koroidi iris ile birleştiren siliyer cisimdir. Siliyer cisimdeki ön kıvrımlara siliyer çıkıntılar denir ve gözün ön ve arka boşluklarını, siliyer çıkıntılar tarafından salgılanan ve korneaya ve lense besin sağlayan bir sıvı olan aköz hümör ile doldurur. İris, gözün orta tabakasının üçüncü en önemli kısmıdır. İnce bir kontraktil diyafram olan iris, merceğin ön yüzeyinde, gözbebeği adı verilen merkezi bir açıklığa sahiptir. Gözbebeğinin ana rolü ışığı iletmektir. Sfinkter pupilla ve dilatör pupilla, kapanıp açılarak gözbebeğinin boyutunu kontrol etmeye yardımcı olur. Siliyer cismin yardımıyla lens, retinanın görüntüye odaklanmasını sağlayacak şekilde şeklini değiştirebilir. Lensin arkasında, vitröz hümör adı verilen jel benzeri bir maddeyle doldurulmuş vitrea bulunur (Campos et al., 2020; Iyer et al., 2019).

3.1.3. Tunica İnterna Bulbi

Gözün iç tabakasına retina denir, ışığı alıp absorbe ederek görsel özellikleri yönetir. Retinanın optik kısmı sinir tabakası ve pigmentli tabaka olarak ikiye ayrılır. Sinir tabakası ışığı almaya yardımcı olur ve tek hücre tabakasından oluşan pigmentli tabaka koroidin ışığı absorbe etmesine yardımcı olur ve ışığın gözde saçılmasını azaltır. Siliyer ve iridyal, retinanın pigmentli tabakalarıdır ve gözün orta tabakasındaki siliyer cisim üzerindeki hücrelere ve irise destek sağlar. Optik disk, optik papilla olarak da adlandırılır, gözün arka kısmı olan fundusta bulunan dairesel bir disktir; optik sinirlerin göz küresine girmesine yardımcı olur. Optik disk, sinir lifleri içerdiği ancak fotoreseptör içermediği için gözün kör noktası olarak da adlandırılır. Optik diskin lateralinde, akut görüşten sorumlu makula lutea adı verilen küçük oval bir alan bulunur, özel fotoreseptörlerden oluşur, sarı nokta olarak da adlandırılır. Retina, çubuk ve koni

hücreleri dışındaki tüm bölümlere giden retinanın merkezi arterinden kan alır. Optik kısmın sinir tabakası, besinleri koryokapillaristen alan çubuk ve koni hücrelerden oluşur (Iyer et al., 2019).

3.2. Göze İlaç Uygulanmasında Karşılaşılan Bariyerler

İlaçlar, tedavisi hedeflenen bölgeye bağlı olarak gözün anterior veya posterior segmentine uygulanır. Göze ilaç uygulanmasında karşılaşılan gözün anatomik ve fizyolojik bariyerlerinin etkisi büyük ölçüde uygulama yoluna bağlıdır. Oküler dokuların her biri kendine has özelliklere sahiptir ve belirli bir yol üzerinden ilaç uygulanmasının ardından farklı bariyer özellikler gösterirler. En yaygın kullanılan yöntemler topikal uygulama ve vitrea içine enjeksiyon uygulamasıdır (Campos et al., 2020; Huang et al., 2018). Oküler bariyerler dinamik ve statik bariyerler olarak sınıflandırılır (Abla & Mehanna, 2023).

3.2.1. Gözün Dinamik Bariyerleri

Dinamik bariyerler; gözyaşı dönüşümü, refleks göz kırpma, nazolakrimal drenaj, hidrostatik ve ozmotik basınç, üveoskleral dışarı akış ve konjonktival, episkleral ve koroidal kan akışından oluşur (Abla & Mehanna, 2023).

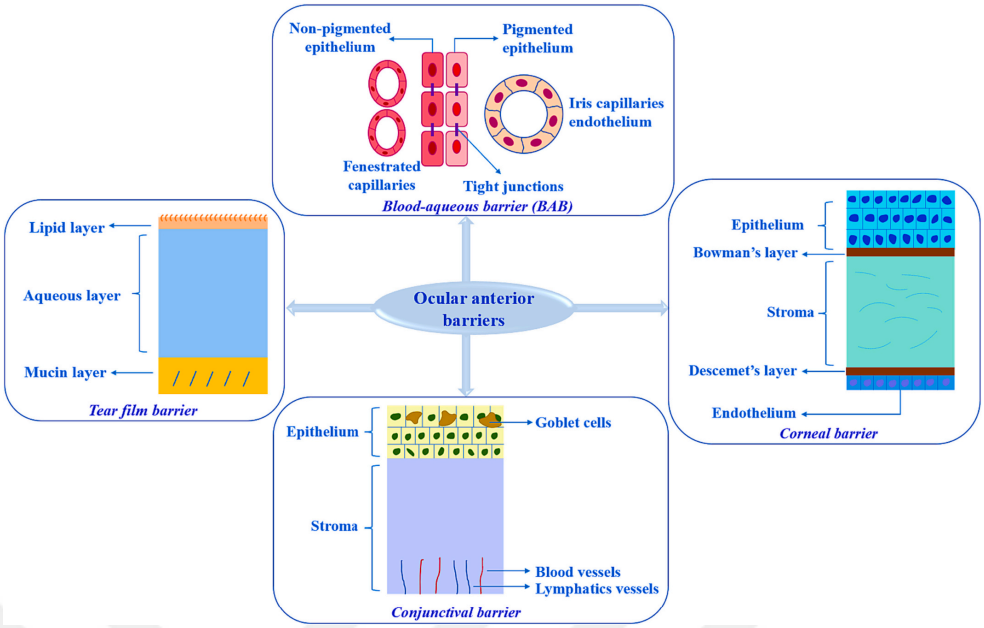
Gözyaşı filmi, oküler ilaç uygulanmasında karşılaşılan en önemli dinamik bariyerdir. Gözyaşı filmi, lakrimal bezlerden salgılanır. Göz yüzeyinde iç sulu musin katmanı ve dış lipit katmanı olmak üzere iki tabakalı bir film tabakası oluşturur. Lipid katman meibomian bezinden salgılanır, yaklaşık 0,015-0,160 mikrometre (μm) kalınlığındadır. Gözyaşı filminin filminin yüzey gerilimini düşürür, gözyaşının göz yüzeyinden taşmasını ve buharlaşmasını önler. Musin katmanı konjonktival epiteldeki goblet hücreleri tarafından salgılanır, yaklaşık 2,5 -5 μm kalınlığındadır; gözyaşı filminin bütünlüğünün korunmasını sağlayarak patojenlerin korneaya nüfuzunu önler. Sulu katman yaklaşık 4 μm kalınlığındadır, farklı elektrolit, protein, küçük moleküllü metabolitleri vb. içerir. Müsin katman ve sulu katman, bir gradyan konsantrasyon oranı ile karışır ancak net bir sınırlama yoktur. Uygulanan ilacın gözyaşı filmi bariyerini aşması gözyaşı filminin lipid-sulu-müsin yapısı önemli rol oynar (Wang & Pang, 2023).

Normal gözyaşı hacmi yaklaşık 5-10 mililitre (ml) olup, salgılama hızı 1-2 mikrolitre/dakikadır. Piyasada satılan çoğu göz damlasının uygulama hacmi 50 mikrolitre (μl)'dir. Göz maksimum 30 μl sıvıyı tutabilir. cul-de- sac sadece 7–10 μl sıvı

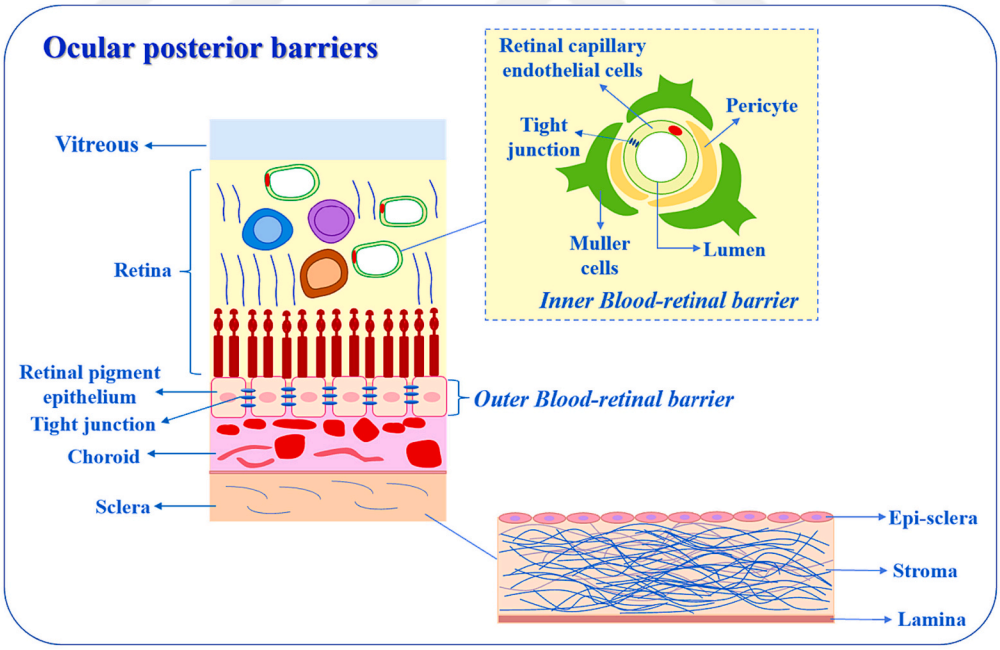
tutabilir. Fazla sıvı taşma ve/veya nazolakrimal kanal drenajı ile uzaklaştırılır. Göz damlası uygulanması gözü uyararak refleks göz kırpma hareketi sonucu gözyaşı üretimini indükler. Bunun sonucunda uygulanan ilaç daha yüksek oranda dilüe olur, nazolakrimal kanala iletilen miktarının artması yüksek miktarda ilaç kaybına neden olur. Bunların sonucu olarak topikal uygulama ile elde edilebilen biyoyararlanım genellikle %5'tir (Qi et al., 2023; Wang & Pang, 2023).

3.2.2. Gözün Statik Bariyerleri

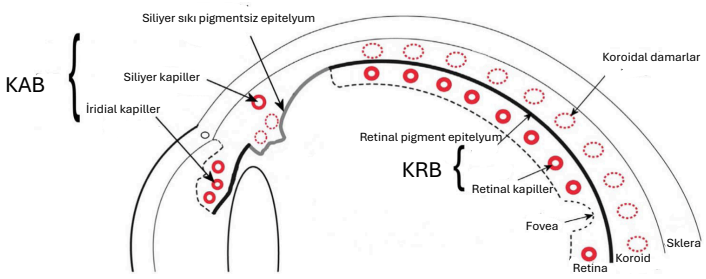
Statik bariyerler; kornea, konjonktiva, kan-aköz hümör bariyeri (KAB), iç ve dış kan-retina bariyerleri (KRB), vitröz hümör olarak sayılabilir (Abla & Mehanna, 2023). Şekil 3-2'de oküler anterior bariyerler gösterilmektedir (Qi et al., 2023). Şekil 3-3'de oküler posterior bariyerler gösterilmektedir (Qi et al., 2023). Şekil 3-4'de KAB ve KRB gösterilmiştir (Maulvi et al., 2021).



Şekil 3-2: Oküler anterior bariyerler



Şekil 3-3: Oküler posterior bariyerler



Şekil 3-4: KAB ve KRB

3.2.3. Konjonktiva

Konjonktiva, göz kapaklarının içini ve skleranın ön yüzeyini kaplayan ince, şeffaf bir zardır. Bulbar konjonktiva, konjonktival forniks ve palpebral konjonktiva olmak üzere üç bölüme ayrılır. Ana penetrasyon bariyeri görevi gören dış epitel ve onun altındaki stroma olmak üzere iki katmandan oluşur (Huang et al., 2018; Maulvi et al., 2021). İnsanlarda konjonktiva, korneadan 17 kat daha geniş yüzey alanına sahip olması, konjonktival epiteldeki hücreler arası açıklığın kornea epitelindekinden daha geniş olması (bulbar konjonktivada 3,0 nanometre (nm) ve palpebral konjonktivada 4,9 nm) sebebiyle konjonktiva boyunca ilaçların geçirgenliği genellikle korneadan daha yüksektir. Örneğin, hidrofilik mannitolün konjonktival geçirgenliğinin, kornea geçirgenliğinden yaklaşık 55 kat daha yüksek olduğu, konjonktivanın daha yüksek molekül ağırlığına sahip moleküllere karşı geçirgen olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, konjonktivada bulunan kılcal kan ve lenf damarları uygulanan ilaçların sistemik dolaşıma karışmasıyla ilaç kaybına neden olabilir ve oküler biyoyararlanımı azaltabilir (Huang et al., 2018). Konjonktiva epitel hücreleri yüksek molekül ağırlıklı hidrofilik moleküllerin paraselüler geçişini kısıtlayan hücreler arası sıkı bağlantı proteinleri içerir. Hidrofobik moleküller transselüler yolu aşabildiği için, konjonktivadaki biyoyararlanımı hidrofilik moleküllere göre daha yüksektir. Ayrıca düşük molekül ağırlıklı (MA) moleküller (1500 Dalton (Da)'dan küçük) ve hidrofobik moleküller (MA 5000 Da dan küçük) konjonktivadan paraselüler yol ile geçebilirler. Goblet hücreleri ve glandular hücreler konjonktivada müsin ve gözyaşı salgılar ve terapötik moleküllerin yakalanması ve temizlenmesinde önemli rol oynarlar, bunun sonucu olarak

biyoyararlanımın düşük olmasına sebep olur. Konjonktival epitel hücreleri topikal uygulanan ilaçların biyoyararlanımını düşüren efluks pompalarına da sahiptir (Srinivasarao et al., 2019). Bunlara ek olarak, konjonktival kan kılcal damarları ve lenf damarlarının varlığı nedeniyle sistemik dolaşıma önemli miktarda ilaç kaybına neden olabilir böylece oküler biyoyararlanımı düşürür (Huang et al., 2018).

Topikal olarak uygulanan ilaçların büyük bir bölümü konjunktival damar sistemi yoluyla sistemik dolaşıma girer ve böylece gözün daha derin katmanlarına gönderilmesi hedeflenen ilaçlar bu yolla kaybedilir. Kalan ilacın retina, uveal sistem, koroid ve vitröz hümör gibi gözün arka kısımlarına ulaşmak için skleradan geçmesi gerekir. Sklera kollajen ve mukopolisakkaritler içerir, konjonktiva ile karşılaştırıldığında daha az vaskülarizedir. Konjonktivadan emilen topikal ilaçlar, sklera yoluyla daha derin oküler dokulara girebilir (Maulvi et al., 2021).

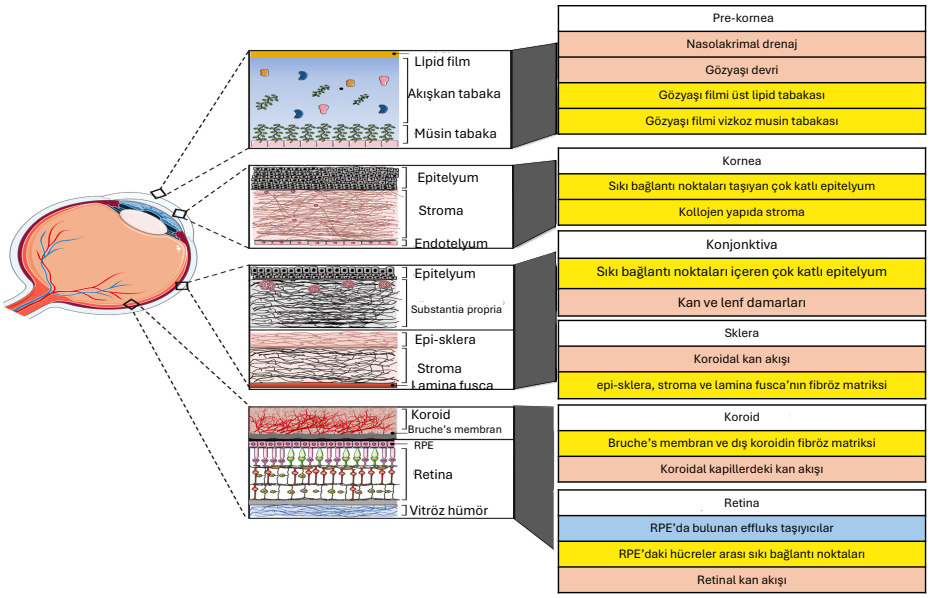
3.2.4. Sklera

Sklera veya gözün beyazı, oküler kürenin dış opak tabakasıdır. Sklera çoğunlukla kollagenden oluşan bir yapıdır, göz küresinin altı'da beşini oluşturur. Sklera bağ dokusunun tipik bileşenlerinden, yani kolajen, proteoglikanlar ve glikoproteinlerden, kollajen ve elastin ağları ve ağlar arası proteoglikanlarla birlikte aralıklı dağılmış skleral fibrositlerden oluşmuştur. İnsan sklerası yaklaşık 16.3 cm^2'lik geniş bir yüzey alanına sahiptir. Mikroskopik olarak, episklera, stromal doku ve lamina fusca dahil olmak üzere skleranın dışından iç tarafına doğru birçok bölge ayırt edilebilir. İnsan sklera kalınlığı limbusta ortalama 0,5 milimetre (mm) optik sinirde yaklaşık 1 mm'ye kadardır. Sklera, gözün genel desteği, hareketi sırasında gözün şeklini koruma ve gözü dış yaralanmalara ve artan iç oküler basınca karşı koruma gibi çeşitli mekanik işlevlere sahiptir (Huang et al., 2018; Peynshaert et al., 2018; Srinivasarao et al., 2019).

Skleradan geçiş öncelikle sulu bir proteoglikan ortamı veya kollajen ağı içindeki gözenekli boşluklar (25 ila 300 nm çapında) yoluyla gerçekleştiğinden, hidrofilik moleküllere kornea ve konjunktivadan daha geçirgendir. Fibröz yapı düşük molekül ağırlıklı moleküllerin difüzyonuna izin verir (4000 Da dan küçük) ancak molekül ağırlığının, molekül çapının, veya hidrofobik özelliğin artması skleradan geçişi azaltır. Transskleral geçirgenlik molekülün yükünden de güçlü bir şekilde etkilenir. Skleranın proteoglikan matrisi negatif yüklü olduğundan, pozitif yüklü moleküller, sklera boyunca

negatif yüklü olanlara göre daha düşük geçirgenliğe sahiptir. (Huang et al., 2018; Peynshaert et al., 2018; Srinivasarao et al., 2019).

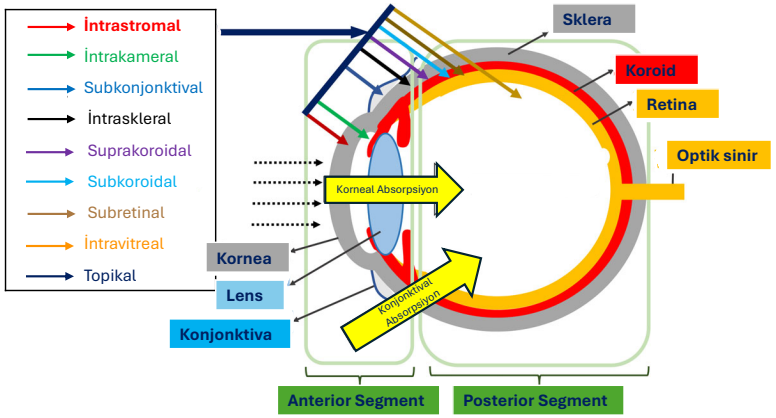
Göze ilaç uygulanmasında karşılaşılan bariyerler Şekil 3-5'de gösterilmiştir (Alshaikh et al., 2022).



Şekil 3-5: Göze ilaç uygulanmasında karşılaşılan bariyerler

3.3. Göz Hastalıklarının Tedavisi için İlaç Uygulama Yolları

Tedavisi hedeflenen bölgede ciddi yan etkilere neden olmayacak şekilde terapötik ilaç konsantrasyonu elde etmek için elverişli bir uygulama yolu seçilmelidir. Yaygın olarak kullanılan oftalmik ilaç uygulama yolları invazif ve invazif olmayan olarak sınıflandırılabilir. İnvaziv uygulama, intravitreal, perioküler ve parenteral enjeksiyonları içerir; invaziv olmayan uygulama, topikal ve oral uygulamayı içerir. Posterior segment hastalıklarının tedavisinde klinik standart uygulama, intravitreal enjeksiyondur. Topikal ve istemik yolun etkisinin sınırlı olduğu değerlendirilmiştir. Posterior göz hastalıklarını etkili bir şekilde tedavi edebilen invaziv olmayan oküler ilaç uygulama sistemleri yoğun şekilde araştırılmaktadır (Qi et al., 2023). Şekil 3-6'de göze ilaç uygulama yolları gösterilmiştir (Srinivasarao et al., 2019).



Şekil 3-6: Göze ilaç uygulama yolları

3.3.1. Sistemik Uygulama

Oral uygulama ve parenteral enjeksiyon, sistemik uygulama sağlamak için kullanılan yöntemlerdir. Gözün küçük boyutu ve oküler bariyerlerin varlığı, sınırlı miktarda ilacın göze ulaşmasına izin verir. Ayrıca, uygulanan ilacın sistemik dolaşımda kan hacmi ile seyreltilmesi, ilk geçiş metabolizmasına uğraması, renal klirensi, sistemik yan etkiler ve ilaç toksisitesine sebep olabilen daha yüksek ilaç dozları uygulanmasını gerektirir (Mandal et al., 2018).

3.3.2. Ekstraoküler Uygulama

Topikal ve perioküler uygulamaları içerir (Mandal et al., 2018).

3.3.3. Göze Topikal Uygulama

Bu yol, kornea, konjonktiva, sklera, iris, siliyer cisim ve aköz hümörü etkileyen hastalıkların tedavisinde klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak kornea öncesi bariyerler; göz yaşının sınırlı hacimde ilaç tutabilmesi ve sürekli gözyaşı drenajı, birkaç saniye içinde uygulanan göz damlasının çoğunun göz yüzeyinden yıkanmasına neden olur. Kornea'nın bariyer özellikleri, orta derecede lipofilik küçük moleküllerin geçişine izin verirken, hidrofilik büyük moleküler ağırlıklı biyofarmasötikler, sınırlı geçirgenliğe maruz kalır, tedavi edici konsantrasyona ulaşamazlar (Mandal et al., 2018).

3.3.4. Perioküler Uygulama

3.3.4.1. Subkonjonktival Uygulama

Bulbar konjonktivanın altındaki boşluğa enjeksiyon yapılarak gerçekleştirilir. Subkonjunktival uygulama yolu 500 µl hacme kadar ilaç tutabilen bir depo oluşturulabildiğinden, uzun süreli etkin madde salımı amacıyla kullanılabilir. Bununla birlikte, subkonjonktival boşluğa enjekte edilen ilaçlar genellikle konjonktival kan damarları ve lenfatik akış yoluyla hızla temizlenir. Ek olarak, skleral lif matrisinin gözenek çapı ve hücre içi boşlukları, ilaç geçirgenliğini büyük ölçüde düzenler (Mandal et al., 2018).

3.3.4.2. Subtenon Uygulama

Subtenon yolu, oküler cerrahi sırasında anesteziklerin uygulanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Sklera ile birlikte subtenon boşluğunu bağlayan tenon kapsülü adı verilen fibröz bir zar içine ilaç enjeksiyonu yapılmasıdır. Bu yolla 4 ml'ye kadar ilaç formülasyonu enjekte edilebilmesine rağmen, ağrı, kemozis, subkonjonktival kanama, retrobulber veya orbital kanama, optik sinir hasarı, retinal iskemi, orbital şişme ve rektus kası disfonksiyonu gibi uygulama komplikasyonları kullanımını sınırlar (Mandal et al., 2018).

3.3.5. Göz İçi Uygulama

Göz içi uygulama teknikleri, terapötik etkin maddelerin hedef bölgeye doğrudan verilmesini içerir, böylece daha yüksek lokal ilaç konsantrasyonları oluşturmak için ilacın kat ettiği mesafe azaltılır, hedef dışı etkiler azalır ve çeşitli oküler engeller atlanarak uygulanan ilacın biyoyararlanımı iyileştirilir (Mandal et al., 2018). Tablo 3-1'de oküler ilaç uygulama yolları, avantaj ve dezavantajları verilmiştir (Janagam et al., 2017; Kaur & Kakkar, 2014; Silva et al., 2021).

3.3.5.1. İntrastromal Uygulama

İntrastromal uygulama, gözyaşı sıvısı drenajı ile birlikte kornea epitel bariyerini aşmak için kornea stromasına ilacın doğrudan uygulanmasıdır. Yoğun kollajen fibrilleri ve proteoglikanlar, korneanın stroma yapısı içerisinden protein ve peptitlerin difüzyonunu engeller, büyük hidrofilik etkin maddeler için ilaç deposu görevi görür (Mandal et al., 2018).

3.3.5.2. İntrakameral Uygulama

İntrakameral uygulama, ilaç çözeltisinin gözün ön segmentine enjeksiyonudur. Katarakt cerrahisinde antibiyotik profilaksisi için ve fungal keratit gibi derin kornea enfeksiyonları için antifungal ajanların uygulanmasında gözün anterior bölümüne ilaç uygulamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Mandal et al., 2018).

3.3.5.3. İntravitreal Uygulama

İlaç çözeltisinin ve/veya süspansiyonun göz küresinin tüm katmanları mekanik olarak aşılarak vitrea boşluğuna enjeksiyonu ile gerçekleşen girişimsel bir işlemdir. Vitrea boşluğuna görsel özellikleri değiştirmeden 20-100 µl hacimde ilaç uygulanabilir. Ancak intravitreal enjeksiyonlardan sonra gerçekleşebilen endoftalmi, göz içi iltihabı, retina dekolmanı, göz içi basıncı yükselmesi, oküler kanama, katarakt gibi çeşitli yaygın komplikasyonlar tedavi edilmezse kalıcı görme kaybına neden olabilir (Mandal et al., 2018).

3.3.5.4. Suprakoroidal Uygulama

Sklera ile koroid arasındaki alana, suprakoridal boşluğa enjeksiyon yapılmasıdır. Hedef dokularda daha yüksek ilaç seviyeleri elde etme potansiyeline sahiptir. Suprakorodial uygulama, terapötik etkin maddelerin, etki bölgesi koroid veya retina olan göz hastalıklarının tedavisi için ilgili doku bölgesine uygulanabilmesine yardımcı olur. Yaklaşık 1 ml hacimli ilaç formülasyonu suprakoroidal bölgeye uygulanabilir (Mandal et al., 2018).

3.3.5.5. Subretinal Uygulama

Retina zarı ve retina pigment epiteli (RPE) bariyerlerini aşmak için kullanılır. Bu enjeksiyonlar ya transkleral yoldan ya da transkorneal yoldan yapılır. Bu yol makromoleküllerin enjeksiyonu için kullanılabilir, ancak uzun süreli güvenliği tam olarak çalışılmamıştır (Iyer et al., 2019).

Tablo 3-1: Oküler ilaç uygulama yolları, avantaj ve dezavantajları

Uygulama yolu		Eliminasyon	Avantaj	Dezavantaj
Sistemik uygulama	Oral Parenteral	Hepatik sistem, konjoktival ve koroidal kapiller	Hasta uyuncu yüksek Korneal ve kornea öncesi bariyerler söz konusu değil	Düşük biyoyararlanım Yüksek dozda ve tekrarlı ilaç uygulanması gerektirmesi Sistemik yan etkiler Posterior bölüme kısıtlı ulaşım
Ekstraoküler uygulama	Topikal	Gözyaşı ile yıkanma Nazolakrimal kanala drenaj Koroidal ve konjoktival kan akışı	Basit, ulaşılabilir uygulama İlk geçiş etkisi yok BAB'den etkilenmez Hasta uyuncu yüksek Yan etki riski düşük Hasta kendisi uygulayabilir	Gözde retansiyon süresi kısa Bulanık görüş Ön kornea bariyerleri sebebiyle ilaç kaybı Nazolakrimal kanala drenaj İrritasyon riski Düşük biyoyararlanım Düşük penetrasyon
	Periokuler Subkonjonktival Subtenon	Konjonktival ve kroidal kan akışı ve lenfatik akış Periokuler bölgeden ilaç kaybı BRB Koroidal sirkülasyon İlaçların doku proteinlerine bağlanması Efluks taşıyıcılar	Daha az ağrı hissi Sistemik uygulamaya kıyasla posterior bölüme daha yüksek oranda geçiş Yüksek terapötik konsantrasyona ulaşılabilir Uzatılmış salım İlk geçiş etkisi yok	Uygulama bölgesinden hızlı temizlenme İlacın uygulama bölgesinden retinaya difüzyonu Konjonktival kan ve lenf drenajı Sistemik yan etkiler Hemoraji
Göz içi uygulama	İntrastromal İntrakameral İntravitreal Suprakoroidal Subretinal	Aköz bölüme ve retinaya ilaç sızması	Lokal ve doğrudan uygulama Diğer uygulama yollarına göre daha yüksek terapötik konsantrasyona ulaşılabilir İlk geçiş etkisi yok Yüksek biyoyaralanım Sistemik yan etki potansiyel düşük	Hızlı temizlenme Tekrarlı enjeksiyon gerektirmesi Doğru dozlama kritik Tekrarlı enjeksiyondan kaynaklı ciddi yan etkiler; retina ayrılması, katarakt, vitröz hemoraji Hasta uyuncu düşük

3.4. Topikal Uygulamada Oküler İlaç Absorpsiyon Yolları

Topikal uygulama hastanın kendi kendisine uygulama yapabilmesine olanak tanıması, invazif olmaması nedeniyle oftalmik tedavide ilk tercih edilen yöntemdir. Posterior segment hastalıklarında ilacın retinaya ulaştırılması gereklidir. Yüksek hasta uyuncuna rağmen, gözün fizyolojik bariyerleri nedeniyle göz damlaları gibi geleneksel topikal preparatlar ile retinada yeterli terapötik ilaç konsantrasyonu sağlanamaz. Topikal uygulama sonrasında terapötik etkin maddeler iki absorpsiyon yolunu izleyebilir. Birincisi, gözyaşı filmi, kornea, anterior oda, lens, posterior oda, vitrea ve retinayı içeren korneal yoldur. İkincisi, gözyaşı filmi, konjonktiva, sklera, koroid geçilerek retinaya ulaşılan non-korneal veya konjonktival yoldur. İki yolda da gözyaşı filmi ve retina ortak bariyerlerdir. Hem gözyaşı filmi hem de retina her yolun ortak yapılarıdır (Faria et al., 2024; Qi et al., 2023). Şekil 3-7'de Korneal ve konjonktival absorpsiyon yolları gösterilmiştir (Faria et al., 2024).

3.4.1. Korneal Absorpsiyon Yolu

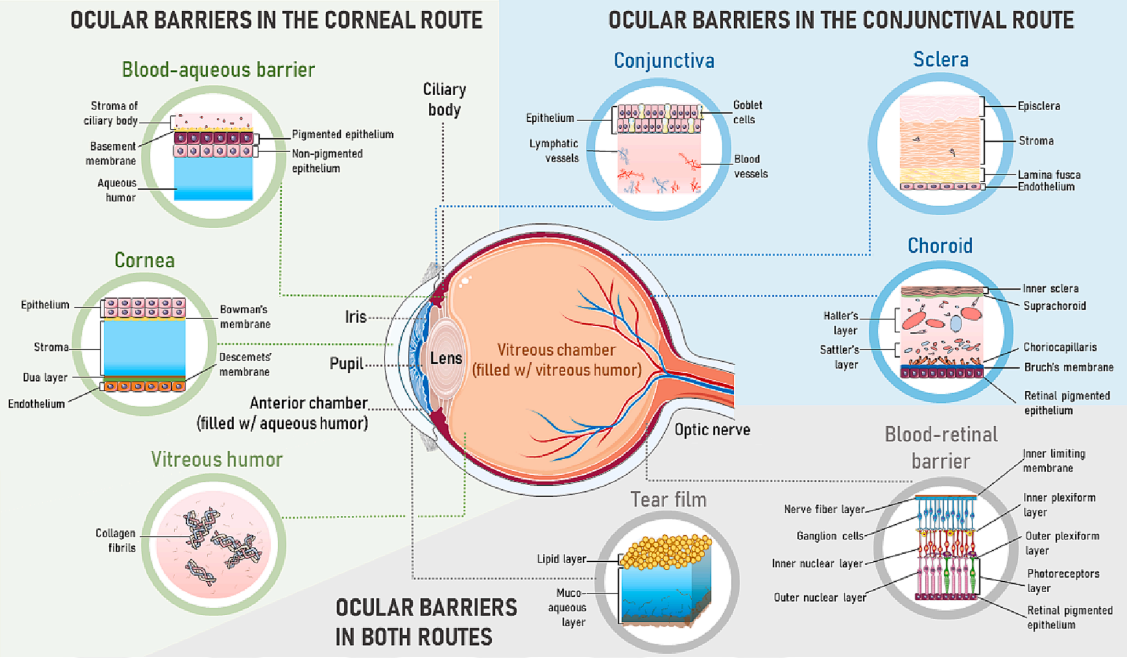
Korneal absorpsiyon yolu, uygulanan etkin maddelerin paraselüler ve transselüler geçişi ile gerçekleşir. Klinikte uygulanan ilaçların çoğunun korneal absorpsiyonu yüksektir. Ancak, küçük hidrofilik ilaçların ve protein yapılı etkin maddelerin korneal yoldan absorpsiyonu zordur. Genellikle, uygulanan dozun yalnızca %5'i veya daha azı korneal bariyeri geçebilir ve yalnızca çok küçük bir miktarı çeşitli

anatomik bariyerler ve klirens mekanizmaları sebebiyle gözün posterior segmentine ulaşabilir. Topikal uygulama sonrası ilaç, fizyolojik göz kırpma ve gözyaşı dönüşümü ile yüzeyden hızla temizlenir ve nazolakrimal kanala drene edilir. Ek olarak, gözyaşlarındaki proteinler ilaçlara bağlanabilir ve bu da gözyaşı sıvısında daha düşük konsantrasyonda serbest ilaç bulunmasına neden olabilir. Korneal yoldan absorbe olan ilaç aköz hümörden, iris, siliyer cisim ve lense dağıtılır, ardından aköz hümör akışı ve ön üveal venöz kan akışı yoluyla elimine edilir. Anterior segment süreçleri, ilacın posterior segmente ulaştırılmasının önünde büyük bir engel teşkil eder. Buna karşılık, moleküler permeabilitenin, membran yapısını bozan veya sıkı bağlantı noktalarında Ca^{+2} iyonlarını şelatlayan penetrasyon arttırıcıların kullanılması ile arttırılabilir. Ayrıca, fizyolojik pH'ta kornea epitelinin negatif yüklü olması nedeniyle, pozitif yüklü moleküller kornea yüzeyine adeze olabilir. Korneal permeabiliteyi arttırmak için pozitif yüklü biyouyumlu polimer kitozan ile mukoadezif nanosistemler tasarlanabilir (Qi et al., 2023).

3.4.2. Konjonktival Absorpsiyon Yolu

Konjonktival/skleral absorpsiyon yolu için, ilaçlar öncelikle konjonktival eliminasyonu aşarak konjonktivayı geçer ve ardından sırasıyla sklera, koroid, RPE ve retinaya geçer. Transskleral penetrasyon için, ilacın moleküler yarıçapı ilacın lipofilisitesine göre daha önemli bir faktördür. Ayrıca sklera korneaya kıyasla daha düşük proteaz aktivitesine sahiptir. Skleranın altında bulunan koroid, hızlı kan akışına sahip bir damar ağıdır, önemli miktarda ilaç kaybına neden olma olasılığı daha yüksektir. RPE, ilaç makromoleküllerinin geçişini engelleyen sıkı bağlantı noktalarına sahip tek katmanlı bir yapıdan oluşur. Moleküler boyut ilacın RPE'ye iletilmesinde de önemli bir unsurdur. Korneal yol küçük lipofilik moleküller için, konjonktival yolun ise proteinler ve peptitler gibi hidrofilik makromoleküllerin permeasyonu için nispeten daha elverişli olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, konjonktival epitelde bulunan sıkı bağlantılar hidrofilik ilaçların pasif geçişini engelleyebilir. Dahası, konjonktival kan ve lenf damarları, hidrofobik ilaçların absorpsiyonuna karşı önemli bir dinamik engel görevi görür. Korneaya kıyasla 16 kat daha geniş yüzey alanı ve 2-30 kat daha fazla geçirgenliğe sahip olan konjonktiva, potansiyel bir absorpsiyon bölgesi olabilir. Korneal yola kıyasla posterior segmente ulaşım yolu daha kısadır. Konjonktivada bazı iyon kapılı influks transporterleri bulunmaktadır. İlaçların taşıyıcı aracılı endositoz yoluyla

konjonktivayı geçerek göz içi dokulara ulaştırılması mümkün olabilir. Posterior ilaç biyorarlanımını arttırmak için bu taşıyıcılara hedeflendirilmiş sistemler geliştirilmesi potansiyel bir yöntem olabilir (Qi et al., 2023).



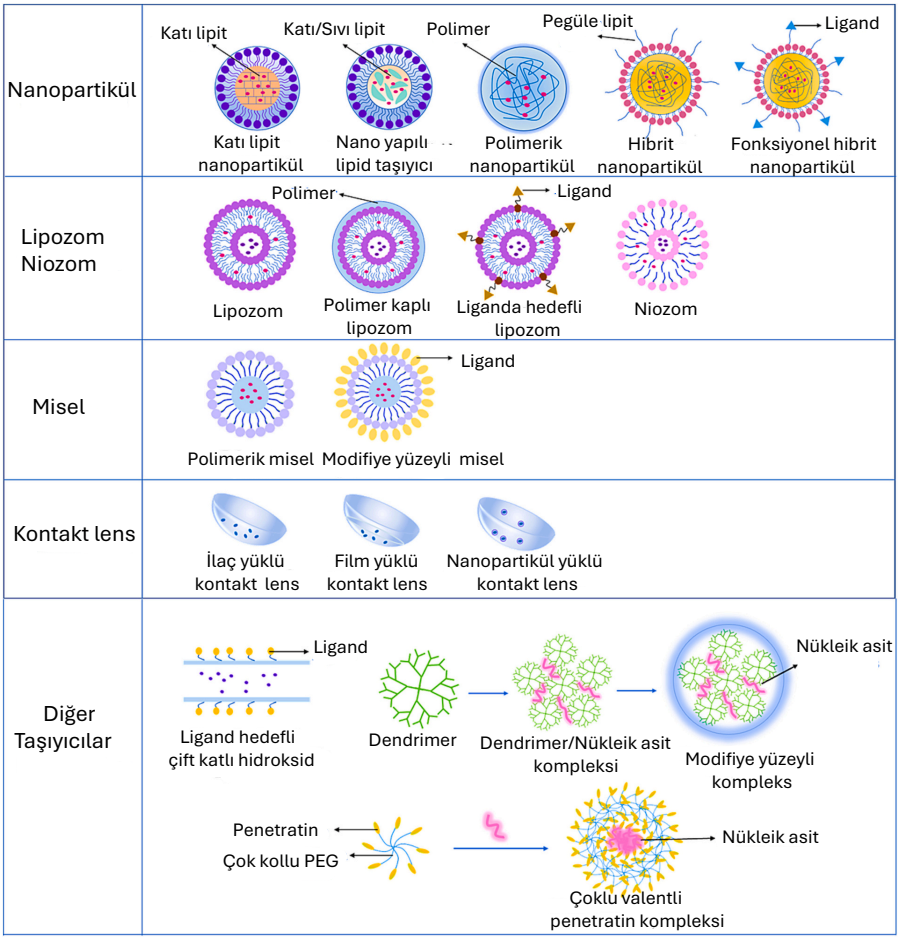
Şekil 3-7: Korneal ve non-korneal absorbsiyon yolları

3.5. Oküler İlaç Uygulama Sistemleri

Oküler ilaç uygulama sistemleri, taşıdığı etkin maddeleri tedavisi hedeflenen dokuya istenen konsantrasyon, süre ve kinetikte iletmek için kullanılan sistemlerdir. Geleneksel formülasyonlar ve gelişmiş ilaç uygulama sistemleri olarak sınıflandırılabilir (Srinivasarao et al., 2019). Şekil 3-8'de yenilikçi oftalmik ilaç uygulama sistemleri gösterilmiştir (Qi et al., 2023).

Oftalmik formülasyonlar, steril olmalı ve gözde tahrişe sebep olmamalıdır. Gözyaşlarının tamponlama kapasitesi, 3,5-8,5 aralığındaki pH değerlerlerine tolerans sağlamakla birlikte bir oküler formülasyonun optimum pH'ı 7,2 ± 0,2'dir. Ayrıca refraktif indeks, yüzey gerilim ve vizkozite parametreleri de dikkate alınmalıdır. Bu özellikler fizyolojik koşullara mümkün olduğunca yakın olmalıdır. Topikal uygulanan partiküle ilaç uygulama sistemlerinin partikül boyutu 10 µm'yi geçmemeli ve maksimum 30 µl hacimde uygulanmalıdır. İntravitreal uygulanan formülasyonlarda görüşü engellememek, ışık saçılmasını azaltmak için partikül boyutu ve refraktif indeks ayarlanmalıdır. Vitrea içine yapılan uygulamalarda enjeksiyon hacmi en fazla 100 µl,

subkonjonktival uygulamada ise 500-1000 µl'dir. Ayrıca formülasyon bileşenleri güvenlilik standartlarını karşılamalıdır (Imperiale et al., 2018). Tablo 3-2'de oküler formülasyonlarda bulunması gereken genel özellikler (Imperiale et al., 2018).



Şekil 3-8: Yenilikçi oftalmik ilaç uygulama sistemleri

Tablo 3-2: Oftalmik formülasyonlarda bulunması gereken özellikler

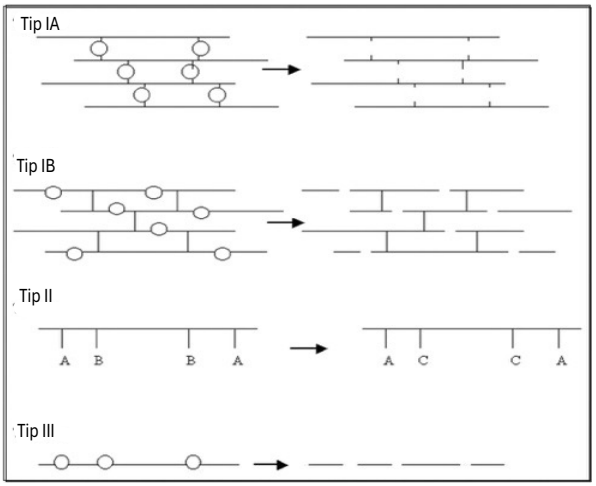
Parametre	**Değer**
pH	6.5-7.6
Refraktif indeks	1.35±0.01
Yüzey gerilimi (mNm^{-1})	40-50
Vizkozite (mPa.s)	∽20
Osmolalite (mosmol/kg)	220-450

3.6. Oküler Formülasyonlarda Kullanılan Polimerler

Oftalmik formülasyonlarda kullanılabilecek özellikleri taşıyan çok sayıda polimer bulunmaktadır. Bu polimerler doğal, yarı sentetik ve sentetik polimerler olarak 3 sınıfa ayrılabilir. Çoğunlukla biyolojik olarak parçalanabilen yani enzimatik veya hidrolitik olarak parçalanabilir kimyasal bağlara sahip polimerler kullanılmakta olup, bir poli(metakrilat) ailesi olan Eudragit® gibi biyolojik olarak parçalanamayan polimerler de kullanılmaktadır. Kullanılacak polimerler, elde edilmek istenen terapötik etkiye, uygulama bölgesine, ilacın uygulama bölgesinde kalması istenilen süreye göre seçilir ancak tolere edilebilirlik, tahriş edicilik, toksiste riski göz önünde bulundurulmalıdır. Toksisite taşıyıcı sistemin formülasyonunda kullanılan polimer ve katkı maddelerinin fizikokimyasal özellikleri, saflık derecesi, kaynağı, üretilen taşıyıcı sistemin partikül boyutu, morfolojisi ve konsantrasyonu, üretim süreci ve uygulama yolundan kaynaklanabilir (Imperiale et al., 2018).

3.6.1. Biyolojik Olarak Parçalanabilen Polimerler

Biyobozunma, polimerik yapının suda çözünen veya suda çözünmeyen maddelere enzimatik veya enzimatik olmayan hidrolizi olarak tanımlanabilir. Biyobozunma, bozunma ve aşınma olmak üzere iki yöntem ile gerçekleşir. Bozunma adımında, polimerik yapının düşük molekül ağırlıklı parçalara ayrılmasıyla gerçekleşirken, aşınma mekanizması düşük molekül ağırlıklı kısımların polimer matrisinden çözünmesi ve difüzyonu gibi fiziksel olaylarla gerçekleşir. Bozunma ürünleri metabolik atılma yollarıyla vücuttan temizlenir. Heller, polimer bozunmasının 3 temel mekanizmasını açıklamış ve polimerleri bozunma mekanizmalarına göre kategorize etmiştir (Imperiale et al., 2018). Şekil 3-9'da Polimer bozunma mekanizmaları şematik olarak gösterilmiştir (Sharma et al., 2016).



Şekil 3-9: Polimer bozunma mekanizmaları

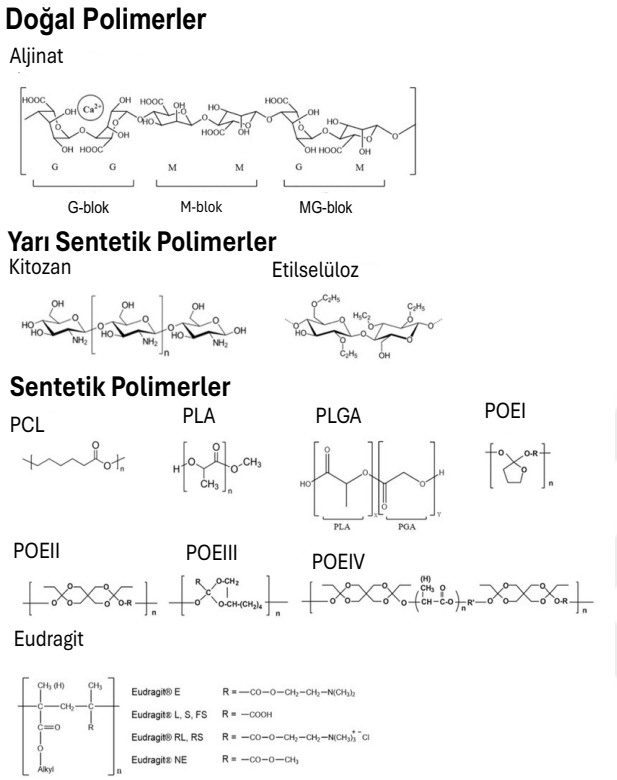
Mekanizma I, suda çözünen makromoleküllerin bozunmasını ayrıntılı olarak açıklamaktadır. Bu tür sistemlerdeki bozunma, çapraz bağlarda (tip IA) veya ana zincirde (tip IB) meydana gelebilir. Genellikle, tip IA polimerlerinin bozunması yüksek molekül ağırlıklı, suda çözünür bozunma ürünleri üretirken, tip IB polimerlerinin bozunması düşük molekül ağırlıklı, suda çözünür oligomerler ve monomerler üretir (Imperiale et al., 2018).

Mekanizma II, grupların iyonizasyonu, protonlanması veya hidrolizi nedeniyle suda çözünür polimerlere dönüşen yan gruplara sahip suda çözünmeyen makromoleküllerin bozunmasını açıklar. Bu mekanizma ile polimer ayrışmaz molekül ağırlığı değişmeden kalır. Selüloz asetat türevleri ve maleik anhidrit kopolimerleri Tip II bozunma davranışı gösterir (Imperiale et al., 2018).

Mekanizma III, kararsız bağlara sahip çözünmeyen polimerlerin bozunmasıdır. Kararsız bağların hidrolizi, polimer yapısının parçalanmasına yol açar ve böylece düşük molekül ağırlıklı, suda çözünür ürünler üretilir. Poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA) ve bunların kopolimerleri, poli(ortoesterler) (POE), poliamidler, poli(alkil-2-siyanoakrilatlar) ve polianhidrit polimerleri Tip III bozunma gösterir. Polimerlerde bozunma 3 mekanizmanın birlikte işlemesiyle gerçekleşebilir (Imperiale et al., 2018).

Jelatin, albümin, kitosan, hiyaluronik asit gibi doğal kökenli biyoparçalanır polimerler, polivinil prolidon, polikaprolakton (PCL), polianhidritler ve PLA ve PGA gibi termoplastik alifatik poliesterler gibi sentetik biyoparçalanır polimerler oftalmik

ilaç uygulama sistemlerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır (Imperiale et al., 2018). Şekil 3-10'de doğal ve sentetik polimer yapılarına örnekler verilmiştir (Imperiale et al., 2018).



Şekil 3-10: Doğal ve sentetik polimerler

3.6.1.1. Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)

PLGA, PLA ve PGA'nın sentetik kopolimeridir. PLA yarı kristal veya amorf olabilir, PGA, yan zincirdeki metil grubunun olmaması nedeniyle yüksek oranda kristalizedir ve bu nedenle farklı çözücülerde düşük çözünürlüğe sahiptir. Bu nedenle saf halde kullanılmaz ve PLA ile birleştirilir. PLGA biyobozunur ve biyouyumlu olduğu için ve yüklendiği etkin maddenin sürekli salım yapan formülasyonlarını hazırlamak için kapsamlı şekilde araştırılmıştır. PLGA'nın in vivo bozunması esas olarak hidroliz ile meydana gelir. Hidroliz sonucunda laktik asit ve glikolik asit oluşur, bunlar da enerji, karbondioksit ve su olarak metabolize edilmek üzere trikarboksilik asit döngüsüne girer (Imperiale et al., 2018). Polimer bozunma mekanizması ilaç salım kinetiğini etkileyen önemli bir faktördür. Genel olarak, PLGA hidrolitik bozunmasının süresi laktid/glikolid (L/G) oranına, ester veya karboksil son uç grubuna ve polimerin molekül ağırlığına bağlıdır. Glikolid laktid'den daha az hidrofobik olduğundan, PLGA

kopolimerlerindeki laktid oranındaki azalma polimerin hidrolitik bozunma oranını artırarak daha hızlı ilaç salımına neden olur. Piyasada 50/50, 65/35, 75/25 ve 85/15 gibi çeşitli L/G molar oranlara sahip PLGA polimerleri mevcuttur. Genel olarak, 50/50 L/G PLGA kopolimerleri 65/35, 75/25 ve 85/15 L/G kopolimerleri en yüksek bozunma hızına sahiptir; 65/35, 75/25 ve 85/15 L/G kopolimerleri daha uzun sürede bozunurlar (Molavi et al., 2020). PLGA uç sonlanma grubu polimerin hidrofobisitesini etkiler. Karboksil (COOH) sonlanmalı PLGA türlerinde ester sonlanmalı türlere göre daha hidrofiliktir, daha yüksek oranda su absorbe edebilir, dolayısıyla bozunma hızı yüksektir. Bozunma hızı yüksek olan polimer ile hazırlanan salım sistemlerinden etkin madde salımı daha hızlı olur. Molekül ağırlığı ve PLA/PGA ağırlık oranı farklı PLGA çeşitlerinin biyobozunma ve ilaç salım oranını etkiler. Yüksek moleküler ağırlığa sahip polimerlerin, daha uzun polimer zincirlerinin bozunması için daha fazla zaman gerekeceğinden, genellikle bozunma profili daha yavaştır. Polimerin viskozitesi, molekül ağırlığı ile doğrudan ilişkilidir. Molekül ağırlığı, kopolimer bileşimi, uç grup işlevselliği polimerlerin biyolojik olarak parçalanabilirliğini etkileyen temel faktörlerdir ve formülasyon geliştirmede dikkate alınmalıdır (Imperiale et al., 2018; Molavi et al., 2020).

PLGA, farklı ilaç uygulama sistemlerinde kullanılmak üzere Amerikan Gıda ve İlaç Ofisi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Biyolojik olarak parçalanabilir ve bozunma ürünleri toksik değildir. Bununla birlikte, bozunma sırasında asidik yan ürünler laktik ve glikolik asit oluşumu doku tahrişine sebep olabilir. Bu nedenle, PLGA ile hazırlanan ilaç uygulama sistemlerinin güvenliğini göstermek için oküler irritasyon testlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Imperiale et al., 2018).

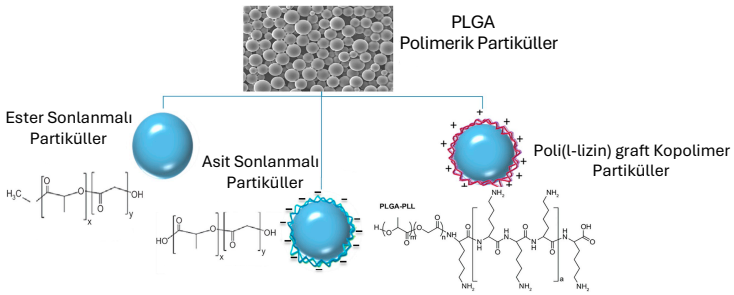
3.7. Polimerik Nanopartiküller

Nanopartiküller, proteinler, peptitler ve amfifilik küçük molekülleri yüklemek için doğal veya sentetik polimerler veya inorganik malzemeler kullanılarak formüle edilebilen 10-1000 nm çapında küresel şekilli koloidal yapılardır. Nanopartiküllerin, boyut, şekil, yüzey yükü fizikokimyasal özellikleri, biyolojik performanslarını büyük ölçüde etkiler (Zhai et al., 2021). Nanopartiküllere etkin madde yüklenmesi, etkin maddelerin nanopartiküller içerisine enkapsülasyonu, partikül yüzeyine adsorpsiyonu, kimyasal bağlanma yolu ile partikül yüzeyinde immobilizasyonu yöntemleri ile yapılabilir. Polimerik nanopartiküllerin oküler yüzeye adezyonu ve retansiyonu,

yüklendiği etkin maddenin uzatılmış salımını sağlaması, nanopartiküllerin yüzey modifikasyonu yapılabilmesi ile spesifik hedefleme sağlanabilmesi polimerik nanopartiküllerin oküler ilaç uygulamasında avantajıdır (Wang & Pang, 2023).

PLGA, PCL, kitozan, jelatin ve hyalüronik asid gibi çeşitli biyouyumlu ve biyoparçalanır polimerler ile hazırlanabilirler. Nanopartikülleri hazırlamak için yaygın olarak kullanılan diğer malzemeler altın, gümüş, silika ve seryum oksittir (Zhai et al., 2021).

PLGA, biyouyumlu ve biyobozunur bir polimerdir. PLGA nanopartikülleri yüklü olduğu etkin maddeleri dış ortam koşullarından korurur, bozunmasını önleyerek stabilitesini arttırır. Ayrıca, PLGA nanopartikülleri hem hidrofilik hem de hidrofobik etkin maddeleri yüksek kapasitede yükleyebilir. PLGA partiküllerinin özellikleri, yüzey modifikasyonu veya poli(etilen glikol) (PEG), kitozan gibi farklı moleküllerle formüle edilerek fizikokimyasal özellikleri iyileştirilebilir (Zhai et al., 2021). PLGA nanopartikülleri formüle edilirken kullanılan PLGA türünün seçimi önemli bir parametredir. Seçilen PLGA türü hazırlanan nanopartiküllerin şekil, boyut, boyut dağılımı, etkin madde yükleme kapasitesini, etkin madde salımını, yüzey özelliklerini etkiler. PLGA nanopartiküllerinden etkin madde salımı etkin maddenin difüzyonu ve polimer bozunmasının sonucu gerçekleşir. Bu nedenle polimer bozunmasını etkileyen faktörler nanopartiküllerden etkin madde salımını etkiler. Yüksek molekül ağırlıklı PLGA türü ile hazırlanan nanopartiküllerde etkin madde salımı daha yavaş olmaktadır. Benzer şekilde ester sonlanmalı PLGA türleri ile hazırlanan nanopartiküllerde etkin madde salımı daha yavaş gerçekleşir. Bu nedenle, formülasyon geliştirilirken yüklenmek istenen etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri ile birlikte polimerin molekül ağırlığı, kopolimer bileşimi, uç grup sonlanması faktörleri dikkate alınmalıdır (Mohammadi-Samani & Taghipour, 2015; Molavi et al., 2020). Şekil 3-11'de PLGA naopartikül örnek yapısı verilmiştir (Molavi et al., 2020).



Şekil 3-11: PLGA nanopartikül yapısı

3.7.1. Polimerik Nanopartikül Hazırlama Yöntemleri

İlaç uygulama sistemlerini hazırlamak için kullanılan çeşitli teknikler bulunmaktadır. Bunlar arasında kimyasal proseslerden oluşan; polimerizasyon yöntemi, fizikokimyasal proses olan; çözücü buharlaştırma yöntemi, faz ayırma yöntemi ve kendi kendini onaran kapsülleme tekniği ve mekanik proses olan; membran emülsifikasyonu, püskürterek kurutma, süperkritik akışkan ve mikroakışkan yöntemleri bulunur. Hazırlama yönteminin seçimi etkin maddelerin çözünürlüğüne ve stabilitesine bağlıdır. Tüm hazırlama adımları kontrollü koşullar altında gerçekleştirilmeli, işlem parametreleri yakından izlenmeli ve endüstriyel amaçlar söz konusu olduğunda iyi üretim uygulamaları (GMP) kurallarına göre yapılmalıdır (Molavi et al., 2020).

3.7.1.1. Çözücü Buharlaştırma Yöntemi

Çözücü buharlaştırma, polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında en yaygın kullanılan yöntemdir. Basit, tekrarlanabilir olması, formülasyonun kısa sürede hazırlanabilmesi, az sayıda kritik işlem parametresi içermesi avantajlarıdır. Çözücü seçimi, karıştırma hızı, iç faz/dış faz oranı, çözücü uçurma süresi yükleme etkinliği ve partikül boyutunu etkiler (Molavi et al., 2020).

Yağ/Su emülsiyon yönteminde, hidrofobik etkin madde ve polimer organik çözücüde çözündürülerek hazırlanan ilaç-polimer çözeltisi, emülgatör sulu çözeltisine damla damla eklenerek sürekli karıştırma ile emülsifiye edilir. Su/Yağ/su çift emülsiyon yönteminde ise, birincil emülsiyon hazırlamak için etkin madde sulu çözeltisi polimer çözeltisine sürekli karıştırma ile eklenir. Bu şekilde hazırlanan birincil emülsiyon, poli(vinilalkol) (PVA) sulu çözeltisine sürekli karıştırılarak eklenir, ikincil emülsiyon

hazırlanır. Partikülleri katılaştırmak için organik çözücü sistemden buharlaştırılarak uzaklaştırılır (Molavi et al., 2020).

Büyük ölçekli üretimin maliyetinin yüksek olması, büyük miktarlarda organik çözücünün kullanımı bu yöntemin kritik sorunlarıdır. Ayrıca, kullanılan organik çözücü özellikle protein, peptid yapıda etkin maddeler formüle edilirken denatürasyona ve bunun sonucunda immünogenite ve/veya toksisite gibi olumsuz etkilere neden olabilir (Molavi et al., 2020).

3.8. Oküler Biyorarlanımı Arttırma Yöntemleri

Dozaj formunun ve bileşenlerinin seçimi, uygulama yoluna, hastalık bölgesine ve tedavi için kullanılan ilaçların fizikokimyasal özelliklerine ve istenilen etkinin elde edilmesi için gerekli olan ilaç dozuna bağlıdır (Campos et al., 2020). Etkin maddelerin hedeflenen oküler dokulara ulaştırılması ve bu hedeflerde terapötik ilaç konsantrasyonunun elde edilmesi anatomik ve fizyolojik bariyerler tarafından sınırlandırılır. Bu doğal bariyerlerin varlığı, gözü yalnızca yabancı maddelerin girişinden korumakla kalmaz, aynı zamanda fizyolojik işlevleri sürdürmek için gerekli olan ortamın devamlılığını sağlar (Huang et al., 2018). Uygulama yolundan bağımsız olarak, oküler tedavide en yaygın kullanılan geleneksel dozaj biçimleri, suda çözünen ilaçların sulu çözeltileri veya suda çözünmeyen ilaçların süspansiyonlarıdır. Ancak bu formülasyonlar topikal uygulamadan sonra hızla elimine edilirler veya intravitreal enjeksiyondan sonra heterojen bir dağılım gösterirler. Bu şekilde, gözün fizyolojik engellerinin üstesinden gelmek ve ilaçların oküler biyoyararlanımını geliştirmek için çeşitli yöntemler araştırılmaktadır. En çok çalışılan stratejiler şunlardır: i) formülasyonun etkin madde konsantrasyonunu ve pH'sını değiştirmek; ii) vizkozite arttırıcıların ve pH, iyon veya sıcaklığa duyarlı malzemelerin kullanımı; iii) kimyasal veya fiziksel penetrasyon arttırıcıların kullanımı, iv) insert ve v) nanopartiküllerin kullanımıdır (Campos et al., 2020).

3.8.1. Penetrasyon Arttırıcılar

Terapötik ajanların spesifik intraoküler hedeflere iletilmesi ve optimal bir ilaç konsantrasyonunun elde edilmesi, kornea ve ön segment bariyerleri, sklera ve Bruch's-koroid kompleksinin yanı sıra KRB gibi bir dizi yapısal anatomik ve fizyolojik oküler bariyer ile sınırlıdır. Bu doğal bariyerlerin varlığı, sadece gözü yabancı maddelerin

istilasından korumakla kalmaz, aynı zamanda oküler fizyolojik fonksiyonları sürdürmek için gerekli olan intraoküler dokuların ortamını da düzenler (Huang et al., 2018).

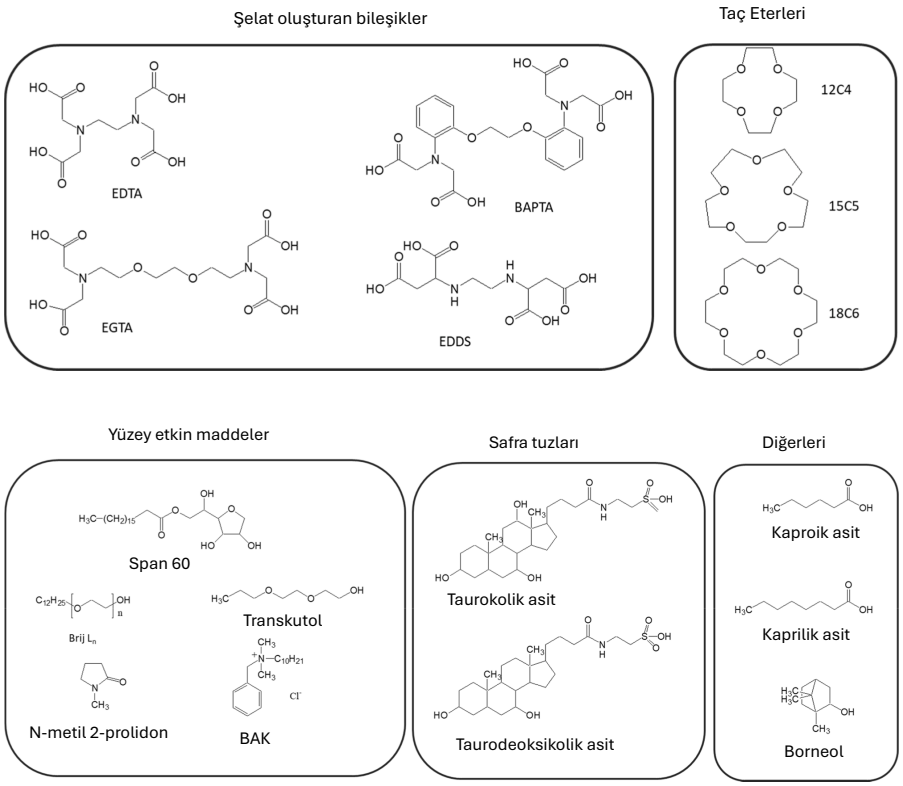
Bununla birlikte, bu sıkı bariyerler, oftalmik ajanların difüzyonunu ve penetrasyonunu sınırladıkları için etkin maddelerin hedef bölgelere ulaşmasının önünde de büyük engeller oluşturmaktadır. Bu engellerin üstesinden gelmek ve oküler ilaç biyoyararlanımını geliştirmek bu nedenle zorlu bir iştir. Bu fizyolojik engelleri zayıflatmayı ve böylece oküler ilaçların geçirgenliğini arttırmayı amaçlayan çeşitli farmasötik stratejiler, son yıllarda araştırılmıştır. Bu stratejiler genel olarak formülasyona dayalı ve fiziksel kuvvete dayalı teknikler olarak sınıflandırılabilir. Formülasyona dayalı yaklaşımlar, oküler bariyerlerden ilaç penetrasyonunu artırmak için kimyasal penetrasyon arttırıcılar, ön ilaçlar, nüfuz eden peptitler ve lipozomlar ve nano veya mikro partiküller gibi taşıyıcıların kullanılmasıdır. Elektrik alanı, sonoforez ve mikroiğneler gibi fiziksel kuvvetlere dayalı çeşitli cihazlar, bariyer yapılarını geçici olarak bozarak oküler ilaç absorpsiyonunu arttırmak için geliştirilmiştir (Huang et al., 2018).

3.8.1.1. Kimyasal Penetrasyon Arttırıcılar

Etkin maddelerin gözün derin yapılarına penetrasyonunu arttırmak için epitel hücre membranına geri dönüşümlü şekilde değiştirme kabiliyeti gösteren ve böylece etkin maddelerin penetrasyonunu kolaylaştıran penetrasyon arttırıcılar kullanılır. Bu bileşikler hem transselüler hem de interselüler absorpsiyonu etkileyebilir. Etkin maddenin transselüler penetrasyonunun artışı, penetrasyon arttırıcının hücre membranına dahil olarak membranın fosfolipid yapısını bozmasıyla gerçekleşir. Hücre dışı yol söz konusu olduğunda, sıkı bağlantı noktaları önemli bir engeldir. Sıkı bağlantı noktalarının bütünlüğü pH, ozmolarite, kalsiyum iyonları, G proteini, tirozin kinaz gibi taşıyıcı proteinlerin fonksiyonuna bağlıdır (Wróblewska et al., 2021).

Kimyasal penetrasyon arttırıcılar, ilaçların lokal permabilitesini doku lipidleri ve proteinleri ile etkileşip doku organizasyonunu değiştirerek veya sıkı bağlantı noktalarında kalsiyumu şelatlayarak arttırır. Kimyasal penetrasyon arttırıcı olarak kullanılan maddeler arasında polioksietilen eterler, safra asitleri ve tuzları gibi yüzey aktif maddeler ve lizofosfatidik lipidler, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) gibi şelatlama maddeleri, benzalkonyum klorür (BAK) gibi koruyucular, glikozitler saponinler ve yağ asitleri sayılabilir (Campos et al., 2020)

Şekil 3-13'te Kimyasal penetrasyon arttırıcılar gösterilmiştir (Wróblewska et al., 2021).



Şekil 3-13: Kimyasal penetrasyon arttırıcılar

Şelasyon Yapan Maddeler: Epitel hücrelerindeki sıkı bağlantı noktalarının işlevi kalsiyum iyonlarının mevcudiyetine bağlıdır. İlaç geçişini arttırmak için kalsiyum kanallarının modifiye edilmesinde, genellikle stabilizatör olarak da kullanılan şelatlayıcı bileşikler kullanılır. Bu maddeler, EDTA (etilendiamin-N,N,N',N'- tetraasetik asit), EGTA (etilen-bis(β-aminoetil)-N,N,N',N-tetraasetik asit), BAPTA (1,2-bis(o-aminofenoksi) etan-N, N, N', N'-tetraasetik asit), EDDS (etilendiamin-N,N'-disüksinik asit) dahil olmak üzere poli-aminokarboksilik asitler grubuna aittir (Wróblewska et al., 2021).

Bu bileşiklerin etki mekanizması, kalsiyum iyonlarının konsantrasyonunu düşürerek aktin filamentlerinin stabilizasyonunu bozmak bitişik epitel hücreleri arasındaki adezyonun azalmasına neden olmaktır. Ayrıca protein kinazı da aktive ederek bağlantı noktalarının bütünlüğünü azaltabilirler (Wróblewska et al., 2021).

Oftalmik formülasyonlarda şelatlayıcı bileşikler çok düşük konsantrasyonlarda kullanılır, ancak yine de göz tahrişi gibi yan etkilere neden olabilir. EDTA, iris, siliyer cisimde birikebilir ve uvea zarının kılcal damarlarına zarar verebilir (Wróblewska et al., 2021).

Taç Eterleri: Taç eterleri, bağlı eter gruplarından oluşan sentetik siklik etilen oksit oligomerleridir, adını tacı andıran şeklinden alır. En yaygın olanları 12C4 tetramerler (n = 4), 15C5 pentamerler (n = 5) ve 18C6 heksamerlerdir (Wróblewska et al., 2021).

Taç eterleri, metal iyonları ve iyonik organik moleküller ile kompleks oluşturabilir. Bu kompleksler biyolojik membranlara nüfuz etme kabiliyetine sahiptir. Taç eter molekülleri çok esnektir ve içeriğinde bulunan oksijen atomları ve etilen köprülerinin sayesinde hidrofilik ve lipofilik özelliklere sahiptir. Etkin maddelerin hem lipofilik hem de hidrofilik katmanları aşmak zorunda olduğu göz için ideal ilaç taşıyıcılardır (Wróblewska et al., 2021).

Toksisite çalışmaları, taç eterlerinin, genellikle oftalmik ilaçlarda koruyucu olarak kullanılan BAK ile karşılaştırılabilir bir toksisiteye sahip olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, in vitro çalışmalardan elde edilen sonuçlar in vivo çalışmalar ile doğrulanmamıştır (Wróblewska et al., 2021).

Yüzey Etkin Maddeler: Yüzey aktif maddeler, yapılarında hidrofilik ve lipofilik grupların varlığı nedeniyle yüzey gerilimini azaltma yeteneğine sahiptir. Farmasötik teknolojide, éetkin maddenin çözünmesini kolaylaştıran ve fiziksel özellikleri değiştirerek etkin maddelerin penetrasyonunu arttıran yardımcı maddeler olarak kullanılırlar (Wróblewska et al., 2021).

Polioksietilen-9-lauril eter (Brij L9), polietilen glikol sorbitan monooleat (Tween 80) veya sorbitan monostearat (Span 60), fosfolipid zincirlerini bozma yeteneğine sahiptir bu şekilde etkin maddelerin transselüler geçişini arttırırlar. Oftalmik formülasyonlarda, genellikle iyonik olmayan yüzey aktif maddeler yardımcı madde olarak kullanılır. Yüzey etkin maddeler, etkin maddenin çözünürlüğünü, formülasyon stabilitesini ve biyouyumluluklarını arttırırlar ve aynı zamanda anyonik veya katyonik yüzey etkin maddelere kıyasla düşük toksisiteye sahiptirler (Wróblewska et al., 2021).

BAK oftalmik ilaç formülasyonlarında koruyucu olarak genellikle düşük konsantrasyonlarda kullanılan katyonik yüzey etkin maddedir. Çok düşük konsantrasyonlarda, gözyaşı filminin mukus tabakasını destabilize ederek etkin maddelerin korneadan penetrasyonunu arttırır (Wróblewska et al., 2021).

Safra asitleri ve Tuzları: Safra asitleri, karaciğerde kolesterol metabolizmasının bir sonucu olarak oluşan kolik asit türevleridir. Örnek olarak taurokolik asit, taurodeoksikolik asit ve bunların sodyum veya potasyum tuzları verilebilir. Bunlar, hücre membranının yapısında kısa süreli geçici değişiklik yapma kabiliyeti gösteren amfifilik bileşiklerdir, bilozom adı verilen veziküler ilaç taşıyıcı sistemler oluşturma yetenekleri sayesinde transselüler geçişi arttırırlar (Wróblewska et al., 2021).

Hücre Membranına Nüfuz Eden Peptidler: Hücreye nüfuz eden peptitler (CPP), amid bağları ile bağlanan 5 ila 40 amino asit boyutunda kısa amino asit zincirleridir. poli-L-serin, poli-L-arginin veya düşük moleküler ağırlıklı protamin, TAT-trans transkripsiyon aktivatörü örnek olarak verilebilir. CPP'ler, çeşitli mekanizmalar ve endositoz kullanarak membranlara nüfuz edebilir. Genellikle toksik olmadıkları kabul edilir, bu nedenle ilaç taşıyıcısı olarak kullanılabilirler. CPP'ler, membranlardan sınırlı geçirgenlikleri olan, terapötik konsantrasyona ulaşamayan etkin maddeler için umut verici olabilir (Wróblewska et al., 2021).

Diğer Amfifilik Bileşikler: Kaproik asit ve kaprilik asit gibi yağ asitleri, hem proteinlerle hem de lipidlerle etkileşir, hücre membranının özelliklerini değiştirerek, ilaçların göze penetrasyonunu kolaylaştırır. Ayrıca katyonik ilaçlarlaiyon çiftleri oluşturma yeteneğine de sahiptirler. Kaprilik asidin esas olarak hidrofilik β-blokerlerin penetrasyonunu arttırdığı ve lipofilik β-blokerlerin penetrasyonunu çok düşük oranda etkilediği gösterilmiştir (Wróblewska et al., 2021).

3.8.1.2. Fiziksel Penetrasyon Arttırıcılar

Fiziksel kuvvete dayalı yöntemler, bir cihaz aracılığıyla güç uygulanması ile bariyerlerin fiziksel olarak aşılarak etkin madde permeabilitesinin geçici olarak arttırılmasıdır. Elektrik akımı, sonoforez ve mikroiğneler gibi fiziksel kuvvetlere dayalı teknikler, bariyer yapılarını geçici olarak bozarak oküler ilaç permeabilitesini arttırmak için geliştirilmiştir. Formülasyona dayalı yaklaşımlarla karşılaştırıldığında, fiziksel kuvvete dayalı stratejiler ilaç dozunu daha iyi kontrol edebilir ve aynı zamanda işlem

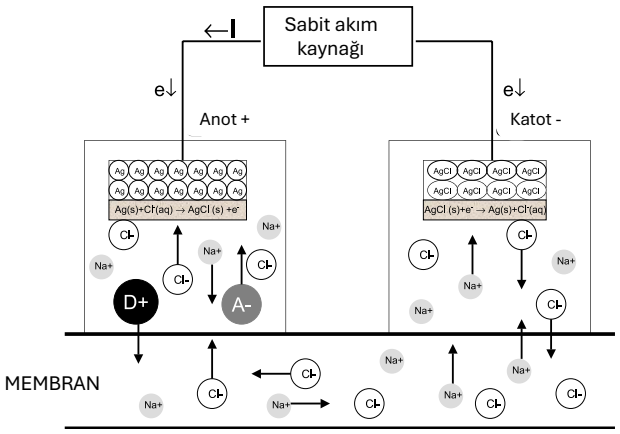
parametreleri belirlenebilir. Fiziksel yöntemlerin transdermal uygulama için kullanımı yoğun bir şekilde araştırılmıştır, oküler ilaç uygulanmasında az sayıda çalışma bulunmaktadır. Fiziksel kuvvetler kullanılarak küçük moleküllü etkin maddelerin, makromoleküllerin, genlerin, nanopartikül ve dendrimerler gibi ilaç taşıyıcı sistemlerin oküler dokulara hasara sebep olmaksızın uygulanabildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, uygulama için özel bir sistem gerekliliği yüksek maliyete sebep olabilir ayrıca uygulanan sistemin potansiyel hasarı da dikkate alınmalıdır (Huang et al., 2018).

3.8.2. İyontoforez

İyontoforez, düşük yoğunluklu elektrik akımı uygulanarak biyolojik membranlardan ilaç geçişini artıran invaziv olmayan bir tekniktir. İlaç, ilaçla aynı yükü taşıyan bir elektrotla göz yüzeyine uygulanırken zıt yüke sahip elektrot devreyi tamamlamak için vücudun başka bir yerine yerleştirilir. İlaç, akımın dokudan geçmesi için iletken görevi görür. Uygulama kolaylığı, invaziv olmaması veya ve ilaç penetrasyonunu doğrudan hedef dokuda arttırması gibi avantajları nedeniyle, iyontoforez deri, tırnak ve göz gibi çeşitli bariyerlerden ilaç geçişi için araştırılmıştır. Oküler iyontoforez, topikal uygulama ile elde edilen düşük biyoyararlanıma ve intraoküler enjeksiyonlardan kaynaklı ortaya çıkabilecek ciddi komplikasyonlara çözüm olarak düşünülmüştür. İlk olarak Wirtz tarafından kornea ülseri, keratit ve episklerit tedavisinde çinko tuzlarının topikal uygulanması için araştırılmıştır. Boyalar, antibakteriyel, antiviral, antifungal etkin maddeler, steroidler, genler oftalmik ilaçların iyontoforetik uygulanması için araştırılmıştır. Son yıllarda, makromolekülleri ve kolloidal sistemleri uygulamak için araştırılmaktadır (Eljarrat-Binstock & Domb, 2006; Huang et al., 2018).

Bir iyontoforetik cihaz, bir güç kaynağı ve iki elektrot bölümlerinden oluşur. İyonize etkin maddeyi (D^+) içeren ilaç formülasyonu (D^+A^-), aynı yükü taşıyan elektrot bölmesine yerleştirilir; örneğin, lidokain gibi pozitif yüklü bir ilaç, anodal bölmeye konulur. Karşıt yüklü elektrot ise akım geçişini tamamlamak için distal bir bölgeye yerleştirilir. Birçok farklı elektrot türü olmasına rağmen, iyontoforez için en uygun olanı gümüş/gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot çiftidir. Platin-metal elektrotlarda görülen keskin pH düşüsü Ag/AgCl elektrotlarda görülmez. Ag/AgCl elektrotları suyun elektrolizinin gerçekleştiği voltaj farkından daha düşük voltajda çalışabilirler. Bu şekilde, anotta oluşturulan protonlar etkin madde ile rekabet etmez. pH düşüşü

engellenerek asit kaynaklı tahrişin önüne geçilmiş olur. Ayrıca etkin madde stabilitesi de korunur. Ag anotunda meydana gelen elektrokimya, anodal bölmede Cl^- iyonlarının varlığını gerektirir: bu gereklilik genellikle ilaç geçişinde azalmaya yol açar çünkü sisteme Cl^- sağlamak için kullanılan sodyum klorür (NaCl)'den gelen Na^+ iyonu yüksek hareketlidir; dokudan geçişte etkin madde ile rekabet eder. Cl^- iyonları elektrot ilaç formülasyonu arayüzüne ulaştıklarında metalik Ag ile reaksiyona girerek AgCl oluştururlar; AgCl, düşük çözünürlüğünden dolayı elektrot yüzeyinde çökelir ve aynı anda bir elektron serbest bırakır. Anodal bölmede elektronötraliteyi korumak için, ya bir katyon bölmeden çıkıp doku içerisine hareket etmelidir ya da bir anyon dokuyu terk edip anodal bölmeye hareket etmelidir. Katodal bölmede, AgCl güç kaynağından gelen elektronların gelişiyle indirgenir, çözeltiye geçen bir Cl^- iyonuyla birlikte metalik gümüş verir. Elektronötralite için bu durumun doku içinden katodal bölüme bir katyonun gelmesiyle veya bir anyon kaybıyla telafi edilmesi gerekir. Elektrik devri dokuda bulunan endojen inorganik iyonlar, özellikle Na^+ ve Cl^- tarafından tamamlandığından ilaç geçişinin verimliliğini etkileyebilirler (Kalia et al., 2004). Şekil 3-14'te iyontoforez sistemi gösterilmiştir (Kalia et al., 2004).



Şekil 3-14: İyontoforez Sistemi

Zıt yüklü iyonların birbirini çekmesi, aynı yüklü iyonların birbirini itmesi elektriksel prensibi, iyontoforezin temel ilkesidir. İyontoforez sırasında ilaç geçişi pasif difüzyon, doğrudan alan etkisi ve elektroozmoz mekanizmalarıyla gerçekleşir. Doğrudan alan etkisi elektro itme veya elektroforez olarak adlandırılır, bir elektrik alan varlığında iyonik etkin maddelerin hareketidir. Pozitif yüklü etkin maddeler anottan itilir, katoda çekilir negatif yüklü etkin maddeler katottan anoda çekilir. Bu etki, iyonize etkin maddelerin geçişinde önemli bir rol oynar. Elektroosmoz, iyontoforez sırasında uygulanan voltaj farkı ile meydana gelen elektrik alanı altında çözücü akışı ile etkin maddelerin membranlardan taşınmasıdır. Elektroozmoz ile hem nötr yüklü hem de iyonize moleküllerin geçişi arttırılabilir (Eljarrat-Binstock & Domb, 2006; Huang et al., 2018; Li & Hao, 2018).

İyontoforez sırasında moleküler taşıma üç mekanizmaya ile açıklanabilir: pasif difüzyon, elektroozmoz (EO) ve elektromigrasyon (EM). Toplam ilaç akışı (J_{Toplam}), sırasıyla EO ve EM'den kaynaklanan J_{EO} ve J_{EM} ile ve pasif difüzyondan kaynaklanan pasif akış (J_P) akışlarının toplamı olarak ifade edilir (Gratieri et al., 2017; Kalia et al., 2004).

$$J_{Toplam} = J_p + J_{EO} + J_{EM}$$

$$J_{Toplam} = \left[kpx + Vw + \frac{\text{İ}d}{ZxF} \quad \frac{Ux}{\sum_1^i uici} \right] c_x$$

$$(k_{px} + v_w) \times c_x + \frac{\text{İ}dtx}{zxF}$$

İd= akım yoğunluğu (birim alana uygulanan akım yoğunluğu),

ui ve ci, membranlardan yük taşıyan iyonların hareketliliğini ve konsantrasyonunu ifade eder, ux zx, cx ve tx, hareketlilik, değerlik, konsantrasyondur.

x= ilacın taşınma numarası

kpx= geçirgenlik katsayısı

F=Faraday sabiti

V_w= çözücü akışının doğrusal hızıdır (Gratieri et al., 2017).

Belirli bir potansiyel farkın (φ) uygulanmasına yanıt olarak bir biyolojik membrandan akan akım (i), direncine (R) bağlıdır ve Ohm yasası ile verilir (Gratieri et al., 2017).

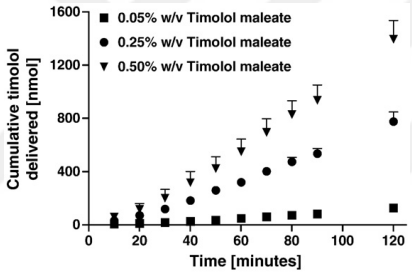
EM ve EO'nun göreceli katkısı hem etkin maddelerin molekül ağırlığı, yükü, molekül ağırlığının yüküne oranı gibi fizikokimyasal özelliklerine hem de biyolojik membranın elektriksel özelliklerine bağlıdır. Genel olarak, düşük molekül ağırlıklı yüklü moleküllerin iyontoforetik geçişi, temel olarak elektroitme ve küçük bir elektroozmoz katkısı ile gerçekleşirken, makromoleküller için mekanizma, yük/molekül ağırlığı oranına büyük ölçüde bağlıdır. Örneğin, bovin serum albümini (BSA) (69 kDa) ve bevasizumab (Bev) (149 kDa) gibi düşük yük/kütle oranına sahip anyonik makromoleküller için, katodal iyontoforez ile karşılaştırıldığında anodal iyontoforez ile daha yüksek geçiş gözlemlenmiştir, bu da makromoleküllerin iyontoforetik taşınmasında en önemli katkı mekanizmasının EO olduğunu düşündürür. Bunun aksine, yüksek yük/kütle oranına sahip polistiren sülfonik asit (PSS) (69 kDa) gibi negatif yüklü polielektrolitler kullanıldığında, katodal iyontoforez uygulaması anodal iyontoforez ile karşılaştırıldığında EM'nin baskın etkisinin sonucu olarak geçirgenliğin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. İyontoforetik mekanizmadaki fark ve dolayısıyla makromoleküllerin taşınmasındaki artış bu nedenle esas olarak molekülün yük/kütle oranı tarafından yönetilir (Chopra et al., 2010; Huang et al., 2018).

İyontoforezin etkinliğini etkileyen faktörler arasında etkin maddenin moleküler boyut, yük, polarite ve konsantrasyon gibi fizikokimyasal özellikleri; tampon, pH, diğer iyonların varlığı ve iyonik güç gibi formülasyon faktörleri; akım yoğunluğu, sabit veya periyodik akım uygulanması, elektrot türü ve uygulama süresi gibi faktörler; uygulama yeri, doku geçirgenliği faktörleri sayılabilir (Güngör et al., 2010; Wei et al., 2023).

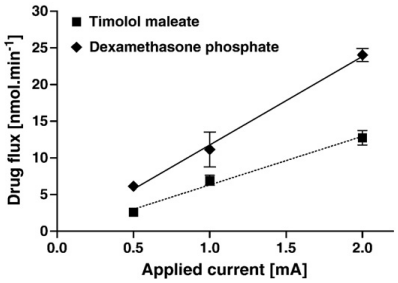
Etkin maddenin yükü iyontoforezde moleküler geçişin hangi yolla gerçekleşeceğini belirleyen faktördür. Katyonik etkin maddeler oküler dokulardan daha yüksek geçiş gösterir ancak iyontoforez işlemi süresince negatif yüklü membrana bağlanıp membranın karakteristiğini değiştirerek geçişi azaltabilirler. Ayrıca membran yüzeyinde pozitif yük fazlalığı oluşturarak pH'yı değiştirebilirler (Güngör et al., 2010). Akım yoğunluğu ve uygulama süresinin arttırılması geçen toplam ilaç miktarıyla yakından ilişkilidir. İlaç iyonları üzerindeki elektrik alan kuvveti, akım yoğunluğunun artmasıyla artacak, böylece sabit bir zaman dilimi içinde daha fazla iyon iletilecektir.

Benzer şekilde akım uygulama süresi arttırıldığında, etkin madde geçişi artacaktır (Wei et al., 2023).

Akım şiddeti ve konsantrasyonun düşük molekül ağırlığına sahip etkin maddelerin transskleral iyontoforetik geşine etkisi çalışılmıştır. Katyonik bir etkin madde olan timolol ve anyonik bir etkin madde olan deksametazon sodyum fosfatın sırasıyla anadol ve katodal iyontoforez ile skleradan geçişi araştırılmıştır. Timolol maleatın 1 miliamper (mA) elektrik akımı altında 0.05%, 0,25%, 0,50% ağırlık/hacim (a/h) değişen konsantrasyonlarında iyontoforez uygulanması durumunda kümalatif geçişi konsantrasyonla orantılı olarak artmıştır. Timolol maleat ve deksametazon fosfatın sabit konsantrasyonda 0,5, 1.0, 2,0 mA akım uygulanarak iyontoforezinde ise membrandan ilaç akışının uygulanan akım ile orantılı olarak arttığı bulunmuştur (Güngör et al., 2010). Şekil 3-15 ve Şekil 3-16'da gösterilmektedir (Güngör et al., 2010).



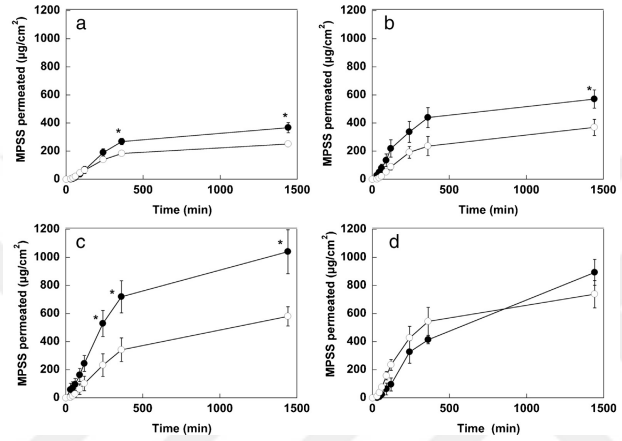
Şekil 3-15: İyontoforetik geçişe konsantrasyonun etkisi



Şekil 3-16: İyontoforetik geçişe akım şiddetinin etkisi

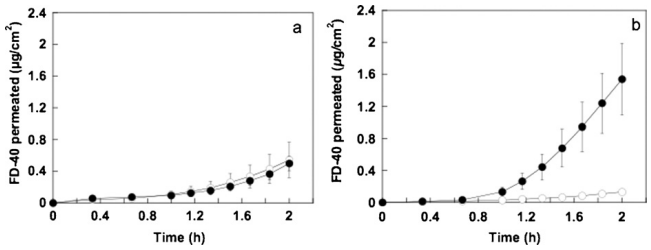
Metilprednizolon hemisüksinatın in vitro transskleral iyontoforezi, in vivo çalışma koşullarını taklit etmek için yüksek konsantrasyonda ilaç, kısa akım uygulama süresi kullanılarak araştırılmıştır. 45 mg/ml konsantrasyonundaki ilaç, izole domuz

sklerasından pasif ve 2,4 mA katodal iyontoforez ile 2-15 dakika uygulanmıştır. Uygulama sonlandırıldıktan sonra, ilaç geçişi 24 saat kadar takip edilmiştir. 2, 5, 20 dakika uygulama ile ilaç geçişinin pasif uygulamaya göre anlamlı derecede arttığı, uygulama süresi 15 dakika'ya çıkarıldığında geçişin daha fazla artmadığı bulunmuştur. Bu davranış, sklerada etkin maddenin artan adsorbsiyonuna ve bunun sonucunda membran özelliğini değiştirerek elektroozmozu engellemesine bağlanabilir (S. Pescina et al., 2013). Şekil 3-17'de gösterilmektedir (S. Pescina et al., 2013).



Şekil 3-17: İyontoforetik geçişe akım uygulama süresinin etkisi

Formülasyonda kullanılan tamponlama ajanı tipi ve iyonik güç parametreleri ve akım yoğunluğunun 40 kDa deskstran (FD-40) transskleral anadol iyontoforetik geçişine etkisi araştırılmıştır. Göze uygulanacak formülasyonların pH'sının nötre yakın olması gerektiğinden pH 7,4 'te sabit tutulmuştur. Tamponlama ajanı olarak 4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid, N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N′-(2-ethanesulfonic acid) (HEPES) ve fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) kullanılmıştır. PBS'le yapılan uygulamanın FD-40 geçişini arttırmadığı görülmüştür. Tampon türünün membran bileşenleri ile etkileşime girerek elektroosmozu etkileyebileceği veya PBS iyonik kuvveti 0,194 HEPES iyonik kuvveti 0,154 olduğundan geçişte görülen farkın iyonik kuvvetten kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür. FD-40 geçişi, NACl içermeyen PBS kullanılarak (iyonik güç: 0,043 M) incelenmiştir. Pasif geçişe kıyasla önemli ölçüde yüksek iyontoforetik geçiş elde edilmiştir. HEPES ile elde edilen geçişten anlamlı olarak farklı olmadığı bulunmuştur (Silvia Pescina et al., 2011). Şekil 3-18'de gösterilmektedir (Silvia Pescina et al., 2011).



Şekil 3-18: İyontoforetik geçişe tampon çözeltinin etkisi

Monti ve ark. timolol maleat ve betaksolol hidroklorürün tavşan kornealarıboyunca in vitro iyontoforetik geçişini incelemiştir. 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mA akım yoğunluklarında sürekli veya periyodik doğrudan akım, 0.5, 10, 40 dakika sürelerde uygulanmış, akım yoğunluğu, akım türü, süre ve etkin maddenin hidrofilik özelliğinin transkorneal iyontoforetik geçişe etkisi araştırılmıştır. İyontoforezin nispeten daha hidrofilik timolol maleat'ın korneadan geçişi üzerindeki etkisi, daha lipofilik betaksolol hidroklorürün üzerindeki etkisinden çok daha fazla olduğu gösterilmiştir. 5,0 mA sabit veya periyodik akım uygulandığında timolol maleat ve betaksolol hidroklorürün transkorneal geçişi önemli ölçüde artmıştır. Her iki etkin maddenin de transkorneal penetrasyonun, tedavi türünden (tek veya tekrarlanan) ve akımdan (sabit veya periyodik) bağımsız olarak akım yoğunluğu ve uygulama süresi tarafından yönetildiği bulunmuştur (Monti et al., 2003).

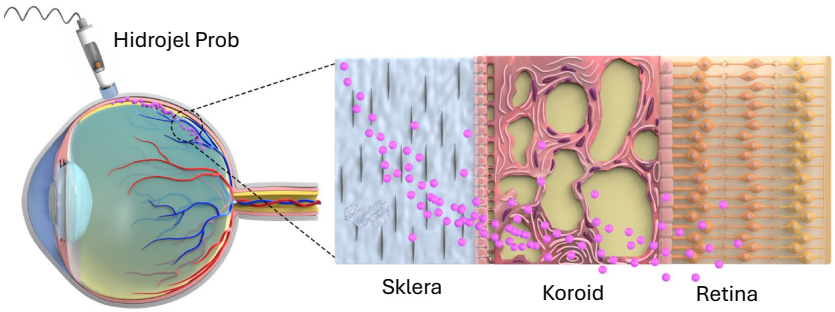
Manganez iyonu ve manganez etilendiamintetraasetik asit kompleksinin transskleral iyontoforetik geçişinin, uygulama pozisyonu ve süresiyle ilişkisi araştırılmıştır. Toplam akım ve uygulama süresi sırasıyla 2 mA ve 4 mA ve 20-60 dakika olarak çalışılmıştır. Hem anodal hem de katodal iyontoforez, in vitro ve in vivo deneylerde pasif geçişe kıyasla oküler geçişi arttırmıştır. Uygulama pars plana'dan yapıldığında ilaç konsantrasyonunun gözün anterior bölümünde arttığı, iyontoforez süresi uzatıldığında ise vitreaya ilaç geçişinin forniks bölgesinden uygulamaya kıyasla daha fazla arttığı bulunmuştur. Sonuçlar, elektrot yerleşiminin transskleral iyontoforezde önemli bir faktör olduğunu ve siliyer cismin (pars plana) iyontoforetik taşıma için en az dirençli yol olduğunu göstermektedir (Molokhia et al., 2007).

Transskleral iyontoforezde makromoleküllerin geçirgenlik katsayısı kısmen insan, domuz, sığır ve tavşan skleraları arasındaki kalınlık farklılıklarına atfedilebilir.

İnsan ve diğer hayvan türleri arasındaki sklera geçirgenlik katsayıları şu sırayla listelenmiştir: tavşan>insan>domuz>sığır. Ancak sklera kalınlığındaki değişim dikkate alındıktan sonra bile hayvan türleri içinde ve arasında önemli veri değişkenliği gözlemlenmektedir (Wei et al., 2023).

İyontoforez, uygulaması kolay, non invazif bir tekniktir. Biyoyararlanımı artırma avantajı olmasına rağmen, uygulanan akım yoğunluğunun artması ve uygulama süresinin uzamasının neden olacağı toksik hasara dikkat edilmelidir (Wei et al., 2023).

Transskleral İyontoforez: Oftalmik uygulamada, iyontoforez uygulama bölgesine göre transkorneal ve transskleral iyontoforez olarak sınıflanırılabilir. Sklera korneaya kıyasla daha yüksek derecede hidrate, daha az sayıda hücreye ve korneadan daha büyük yüzey alanına sahiptir. Bu nedenle, büyük molekül ağırlıklı bileşiklerin permeabilitesi korneaya kıyasla daha yüksektir (Eljarrat-Binstock & Domb, 2006; Wei et al., 2023). Transskleral iyontoforez lens-iris bariyerini aşarak ilaçları sklera ve koroid yoluyla doğrudan retinaya iletir. Transskleral iyontoforez, posterior segment hastalıklarının non-invazif tedavisinde intravitreal enjeksiyona potansiyel bir alternatif olarak düşünülebilir (Huang et al., 2018). Şekil 3-19'da transskleral iyontoforez gösterilmektedir (Wei et al., 2023).



Şekil 3-19: Transskleral iyontoforez

Küçük molekül ağırlıklı etkin maddelerin, steroidler, antibiyotikler, yüksek molekül ağırlıklı Bev'in transkleral iyontoforetik geçişi çalışılmıştır (Eljarrat-Binstock et al., 2004; Güngör et al., 2010; S. Pescina et al., 2013; Silvia Pescina et al., 2010). Transskleral iyontoforez ayrıca monoklonal antikorlar gibi makromolekülleri yapısal

bütünlüklerini bozmadan veya fizyolojik fonksiyonlarını kaybetmeden posterior segmente taşımak için kullanılmıştır (Huang et al., 2018).

Pescina et al. üç tek zincirli DNA'nin (ssDNA; 4.2, 7.9 ve 11.5 kDa) transskleral geçirgenlik katsayılarının, üç ssDNA arasında önemli farklılıklar olmaksızın, katodal iyontoforez kullanılarak pasif geçişe kıyasla dört kat arttığını bildirmiştir. Bunun nedeni, proteinler ve nükleik asitler gibi yüklü makromoleküllerin, moleküllerin yük yoğunluğunu, şeklini ve hidrodinamik yarıçaplarını etkileyebilen karmaşık ikincil ve üçüncül yapılar kazanması olabilir. Bu nedenle, ssDNA'ların transskleral difüzyonunda molekül ağırlığı belirleyici faktör olarak kabul edilmemektedir (Huang et al., 2018; Silvia Pescina et al., 2013).

BSA, PSS ve Bev'in anodal ve katodal iyontoforetik (2 mA, 2 ila 96 saat) insan sklerasından transskleral geçişi incelenmiştir. BSA ve Bev, etkin madde ile elektrot zıt yüklü olduğu halde anadol iyontoforez ile pasif ve katodal iyontoforeze kıyasla daha yüksek geçiş göstermiştir. Bu durum EO mekanizmasının kullanıldığını göstermektedir. pH 7.4'te insan sklerası negatif yüklü olduğundan negatif yüklü makromoleküllerin katodal iyontoforez ile geçişinin artması beklenirken, BSA ve PSS'nin benzer molekül ağırlığı göz önüne alındığında, BSA ve PSS'nin iyontoforetik geçiş sonuçlarındaki fark, makromoleküllerin yük/kütle oranından kaynaklanmaktadır. BSA, yüksek negatif yüklere sahip bir polielektrolit olan PSS'den daha düşük bir yük/kütle oranına sahip olması geçişin elektroosmoz ile gerçekleşmesini sağlamıştır (Chopra et al., 2010).

Eljarrat-Binstock ve ark. 20-45 nm boyutlu floresan nanopartikülleri 1.5 mA 5 dakika anodal ve katodal iyontoforez ile uygulamış, tavşan gözlerinde transkorneal ve transskleral geçiş araştırılmıştır. Oküler dokularda partiküllerin dağılımı ve negatif yüklü nanopartiküllerin pozitif yüklü nanopartiküllere kıyasla penetrasyon verimliliği değerlendirilmiştir. Anterior ve posterior oküler dokularda güçlü floresan saptanmıştır. Negatif yüklü partiküller transskleral iyontoforez uygulamasından sonra 30 dakika iç dokulara göç ettiğini göstermiştir. Pozitif yüklü partiküller, negatif yüklü partiküllere kıyasla iç oküler dokulara daha iyi penetre oldukları gösterilmiştir. Bu çalışma, ilaç yüklü nanopartiküllerin iyontoforez ile uygulanarak uzatılmış salım etkisi sağlanabileceğini düşündürmektedir (Eljarrat-Binstock et al., 2008).

Deksametazon (Deks) yüklü sırasıyla 4.7 ve 4.4 nm boyutlu basit ve karışık misellerinin 2 mA 20 dakika iyontoforetik anadol ve katodal geçişi çalışılmıştır. Geçiş

deneylerinden sonra ilaç salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kontrol olarak misel taşıyıcılar içermeyen doymuş Deks çözeltisi kullanılmıştır. Pasif ve iyontoforetik duygulamadan sonra ilaç salımı misel taşıyıcı kontrolle karşılaştırıldığında önemli ölçüde uzamıştır. Misel taşıyıcı sistemlerinin katodal iyontoforetik uygulanmasından 2 saat sonra skleradan Deks'in %20'sinden azı salınırken, aynı koşullar altında aynı zaman diliminde kontrol deneyinde Deks'in %50'sinden fazlası salınmıştır. Miseller ve iyontoforez kombinasyonu uzun bir süre boyunca lokal ilaç konsantrasyonunu korumuştur ve yüklü olduğu ilacın uzatılmış salımını sağlamıştır, böylece terapötik etkinliği iyileştireceği ve uygulama sıklığını azaltacağı düşünülmüştür (Chopra et al., 2012).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Gereçler

4.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deksametazon	Novartis
Resomer® RG 502H (PLGA, COOH sonlanmalı, L/G (50:50), MA: 7,000-17,000)	Sigma Aldrich
Resomer® RG 503H (PLGA, COOH sonlanmalı, L/G (50:50), MA: 24,000-38,000)	Sigma Aldrich
Resomer® RG 504H (PLGA, COOH sonlanmalı, L/G (50:50), MA: 38,000-54,000)	Sigma Aldrich
PVA	Sigma Aldrich
Sodyum klorür	Sigma Aldrich,
Potasyum klorür	Sigma Aldrich
Potasyum fosfat monobazik	Riedel-de-Haen
Sodyum fosfat dibazik	Merck
Tween 80	Merck
d,l limonen	Merck
EDTA	Merck
Etil asetat	Sigma Aldrich
Metanol	Sigma Aldrich
Propilen glikol	Sigma Aldrich

4.1.2. Kullanılan Aletler

Diyaliz tüp selüloz membran (Moleküler aralık 12,000–14,000)	Sigma Aldrich
Kolon (Zorbax ODS 25 cm×4,6 mm, 5µm)	Sigma Aldrich
Şırınga ucu politetrafloroetilen (PTFE) filtre 0,20 µm	Sartorius
Şırınga ucu rejenere selüloz (RC) filtre 0,45 µm	Sartorius
Şırınga ucu filtre Naylon 0,45 µm	Sartorius
Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM)	Zeiss Gemini 500
Vorteks	Kermanlar
Ultra saf su cihazı	Purelab Ultra, ELGA
Isıtıcılı çoklu manyetik karıştırıcı	Wisestir, Wisd Laboratory instruments, MS-MP8
Franz Difüzyon Hücresi	Çalışkan Cam
pH metre	WTW inolab, pH 720
Hassas terazi	AND, GR-200
Ultrasonik banyo	Wiseclean, Wisd Laboratory instruments, D06H)
Sirkülasyonlu su banyosu	Wisecircu, Wisd Laboratory instruments, WCB 22)
20, 50, 100, 500, 1000 ml hacimlerde cam beher	Isolab
10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 ml hacimlerde cam balon joje	Isolab
Ag/AgCl elektrot	Özel yapım
İyontoforez Cihazı	Yihua
Zetasizer NanoZS	Malvern
200, 1000, 5000 µl mikropipet	Eppendorf
Mikropipet ucu	Eppendorf
1,5, 2, 50 ml Ependof tüp	Isolab

4.2. Yöntemler

4.2.1. Deksametazon Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) Miktar Tayini Yöntemi

Deksametazon miktar tayini için geliştirilen HPLC yönteminde, 5 µm partikül büyüklüğü, 4,6 x 250 mm uzunluğuna sahip C18 kolon kullanıldı. Mobil faz asetonitril:fosfat tampon çözeltisi (pH 4.0; 0,05M) (30:70, hacim/hacim (h/h)) kullanıldı. Akış hızı 1 ml/dakika olacak şekilde ayarlandı. Enjeksiyon hacmi 10 µl, saptama dalga boyu 230 nm çalışıldı. Kolon sıcaklığı 40 °C'de tutuldu (AlAani & Alnukkary, 2016).

HPLC yöntemin doğrulanması ICH Q2 (R1) kılavuzundaki talimatlar doğrultusunda seçicilik, doğrusallık, doğruluk, kesinlik ve teşhis (LOD)/miktar tayini limiti (LOQ) parametreleri çalışılarak belirlendi (ICH Q2).

Seçicilik

Geliştirilen yöntemin deks için ayırt edici olduğunu göstermek için mobil faz, boş PLGA nanopartikülleri, metanol analiz edilerek deks ile aynı bölgede pik vermedikleri gösterildi. 6 tekrarlı çalışıldı.

Doğrusallık

Doğrusallık, analizi yapılan numunedeki konsantrasyonun elde edilen test sonucu ile doğru orantılı olmasıdır (ICH Q2). 0,1-50 µg/mL konsantrasyon aralığında bir dizi Deks çözeltisi hazırlandı. Her örnek 6 kez enjekte edildi. Absorbansa karşı konsantrasyon grafiği çizildi. Eğri denklemi ve korelasyon katsayısı (r^2) hesaplandı.

Doğruluk

Analiz sonucu elde edilen konsantrasyonun numunedeki gerçek miktara yakınlığıdır (ICH Q2). 1, 10, 20 µg/mL konsantrasyonlarda örnekler hazırlandı. Her konsantrasyon için 6 örnek hazırlandı, her örnek 6 kez enjekte edildi. Kalibrasyon eğrisi denkleminden konsantrasyonlar ve % geri kazanım değerleri hesaplandı.

Kesinlik

Kesinlik, analitik yöntemin tekrar edilebilirliğidir. Belirli konsantrasyonda örneğin tekrarlı analizi ile elde edilen sonuçların birbirine yakınlığını gösterir (ICH Q2). 1, 10, 20 µg/ml konsantrasyonda 3 örnek hazırlandı, 6 kez enjekte edildi. Standart sapma (SD) ve varyasyon katsayısı (%RSD) hesaplandı.

1, 10, 20 µg/ml konsantrasyonlarda örnekler hazırlandı. 1. Gün, 2. Gün, 3. Gün saat ara ile üç kez enjekte edildi. Analiz sonucu elde edilen konsantrasyonların ortalaması, standart sapması ve varyasyon katsayısı hesaplandı.

Teşhis Limiti (LOD) ve Miktar Tayini Limiti (LOQ)

LOD, numuneden tespit edilebilen en düşük konsantrasyonu gösterir. LOQ, analiz edilen etkin maddeye ait kesinlik, doğruluk, doğrusallık parametrelerinin tespit edilebildiği en düşük konsantrasyonu belirtir (ICH Q2). Kalibrasyon doğrusunun eğimine ait denklem kullanılarak hesaplanır. (Eşitlik 3-1 ve Eşitlik 3-2)

Teşhis limiti: 3,3δ/S. (Eşitlik 3-1)

Miktar tayini limiti: 10δ/S (Eşitlik 3-2)

S: eğim

δ: standart sapma

4.2.2. Formülasyonların Hazırlanması

Çözücü buharlaştırma yöntemi ile boş ve deksametazon yüklü nanopartiküller hazırlandı. Belirli miktar polimer; Resomer 502H (R502H), Resomer 503H (R503H), Resomer 504H (R504H)) etil asetat içerisinde çözündürülerek organik faz hazırlandı. Sulu faz olarak %2 (a/h) PVA çözeltisi hazırlandı. Organik faz sulu faz içerisine 1000 dakikadaki devir sayısı (rpm) hızda sürekli karıştırma ile damla damla eklendi, probe sonikatör ile 700 watt güç 1 dakika sonike edildi. 40 °C'de 4 saat karıştırılarak organik çözücü uzaklaştırıldı. Ultra saf su ile 1200 rpm de 4 °C'de 30 dakika santrifüj edilerek 3 kez yıkandı. 0,2 µm PTFE filtreden süzüldü (Yang et al., 2013; Linhua Zhang et al., 2009).

Deksametazon yüklü nanopartikülleri hazırlamak için derişik deksametazon etanol çözeltisi hazırlandı. Belirlenen konsantrasyonda etkin madde içeren organik

fazları hazırlamak için yeterli miktarda bu çözeltiden alındı, etil asetat polimer çözeltisi ile karıştırılarak belirlenen organik faz/sulu faz oranında organik faz hazırlandı. Boş nanopartikülleri hazırlamak için kullanılan protokol ile deksametazon yüklü nanopartiküller hazırlandı. Hazırlanan formüller amber renkli, hava geçirmez cam şişelere konulup buzdolabında stabilitelerinin incelenmesi için saklandı. Tablo 3-1 ve Tablo 3-2'de verilmiştir.

Tablo 3-1: Boş formülasyonlar

Formülasyon kodu	Organik faz	Sulu faz	Organik faz/sulu faz	Polimer
1	5 mg/ml	%2 PVA	1:2	
2	10 mg/ml	%2 PVA	1:2	R502H
3	20 mg/ml	%2 PVA	1:1	
4	5 mg/ml	%2 PVA	1:2	
5	10 mg/ml	%2 PVA	1:2	R503H
6	20 mg/ml	%2 PVA	1:1	
7	5 mg/ml	%2 PVA	1:2	
8	10 mg/ml	%2 PVA	1:2	R504H
9	20 mg/ml	%2 PVA	1:1	

Tablo 3-2: Deksametazon yüklü formülasyonlar

Formülasyon kodu	Organik Faz		Sulu faz	Organik faz/sulu faz	Polimer
	Polimer	Deksametazon			
F1	5 mg/ml	2 mg	%2 PVA	1:2	
F2	10 mg/ml	4 mg	%2 PVA	1:2	R502H
F3	20 mg/ml	8 mg	%2 PVA	1:1	
F4	5 mg/ml	2 mg	%2 PVA	1:2	
F5	10 mg/ml	4 mg	%2 PVA	1:2	R503H
F6	20 mg/ml	8 mg	%2 PVA	1:1	
F7	5 mg/ml	2 mg	%2 PVA	1:2	
F8	10 mg/ml	4 mg	%2 PVA	1:2	R504H
F9	20 mg/ml	8 mg	%2 PVA	1:1	

4.2.3. Partikül Boyutu, Partikül Boyutu Dağılımı, Zeta Potansiyel Ölçümü

Boş ve deksametazon yüklü nanopartiküllerin partikül boyutu ve boyut dağılımı (PDI) Malvern NanoZS cihazında DLS yöntemi ile 25±0,1 °C'de 173°'de ölçüldü. Nanopartiküllerin yüzey yükü Malvern NanoZS ile elektroforetik ışık saçılımı metodu kullanılarak 25±0,1 °C'de yapıldı (Rençber et al., 2020; Linhua Zhang et al., 2009). Analizler 3 tekrar olarak gerçekleştirildi.

4.2.4. Yükleme etkinliği

Nanopartiküller 50 ml falcon tüpe alındı, üzerlerine 4 ml asetonitril eklendi. 1 saat ultrasonik banyoda çözündürüldü. Tüplere 1 ml metanol eklendi. 10,000-14,000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi (Gómez-Gaete et al., 2007; Linhua Zhang et al., 2009). Süzüntü Naylon filtreden süzüldü. 3.2.1'de anlatılan HPLC yöntemi ile miktar tayini yapıldı. Yükleme etkinliği hesaplandı % (EE) hesaplandı. (Eşitlik 3-3).

$$\%EE = A \times 100/B \qquad \text{(Eşitlik 3-3)}$$

A: Yüklenen Deks miktarı (µg)

B: Başlangıç Deks miktarı (µg)

4.2.5. pH Ölçümü

Boş, deksametazon yüklü, 10 ml'lik cam beherlere alındı, pH metre ile ölçümler yapıldı. Deneyler 3 tekrarlı yapıldı (Rençber et al., 2020).

4.2.6. Stabilite

Formüller hazırlandıktan sonra 3.2.4.1, 3.2.4.2 ve 3.2.4.3'te anlatılan yöntem ile 1. Gün, 1. Hafta, 1. Ay, 3. Ay partikül boyutu, partikül boyutu dağılımı, pH ölçülerek; 1. Gün ve 3.ay bölüm 3.2.5.'te anlatıldığı şekilde %EE hesaplanarak değerlendirildi.

4.2.7. İn Vitro Salım

Salım ortamı olarak %0,1 Tween 80 (a/h) çözeltisi kullanıldı. Selüloz membranlar deney başlangıcından önce salım ortamı içerisinde 24 saat bekletildi. 1 mg deks içeren nanopartiküller diyaliz tüp selüloz membran (ortalama genişlik 25 mm, molekül ağırlığı aralığı: 12.000–14.000) içerisine konuldu. 50 ml falkon tüplere yerleştirildi. Salım ortamı hacmi 15 ml çalışıldı. 25 °C'de 200 rpm karıştırma hızında çalışıldı. Belirlenen zaman aralıklarında salım ortamından örnek alındı, alınan hacim kadar taze salım ortamı tüplere ilave edildi (Jaraswekin et al., 2007; Yang et al., 2013; Li Zhang et al., 2015). Alınan örneklerden 3.2.1'de anlatılan yöntem kullanılarak HPLC ile deksametazon miktar tayini yapıldı. Zamana karşı kümülatif salım grafiği çizildi. Her formül için 3 tekrarlı deney yapıldı.

4.2.8. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleme

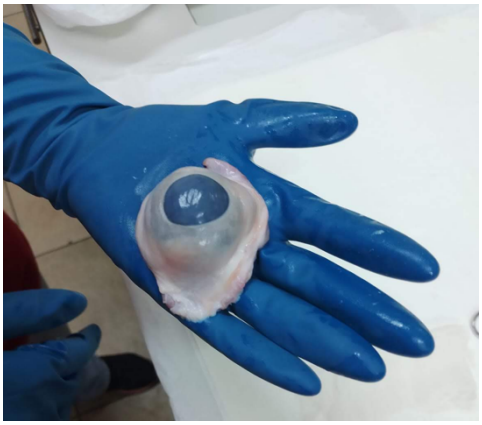
Nanopartiküllerin morfolojik özellikleri Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu ile incelendi. Sıvı nanopartikül süspansiyonu silikon yüzeye damlatılıp,

kurutuldu. Altın/Palladyum (Au/Pd) kaplama yapıldı. 30.000- 100.000 büyütme ölçeğinde görüntüleme yapıldı.

4.2.9. Ex vivo Geçiş Deneyleri

Lokal bir kesim evinden temin edilen dana gözleri ile ex vivo geçiş deneyleri yapıldı. Gözler yağ ve çevresel dokulardan temizlendi. Bisturi ucu ile sklera, konjonktiva ile bitişik sklera dokuları çıkarıldı, uygun büyüklükte kesildi. Şekil 4-1, Şekil 4-2'de dana gözü; Şekil 4-3'te konjonktivanın sıyrılması, Şekil 4-4'te konjonktivadan sıyrılmış dana gözü, Şekil 4-5 ve Şekil 4-6'da ex vivo deneylerde kullanılan dokuların çıkarılması, Şekil 4-7'de konjonktiva ile bitişik sklera dokusu gösterilmiştir. Deney başlangıcından önce 2 saat 37 °C serum fizyolojik içerisinde bekletildi. Pasif ve iyontoforetik geçiş çalışmaları için 0, 64 cm^2 difüzyon alanı 4 ml hacimli franz difüzyon hücresi sisteminde çalışıldı. Reseptör faz olarak % 0,1 Tweeen 80 kullanıldı. Kontrol çözeltisi hazırlamak için Deksametazon etil alkol çözeltisi hazırlandı, bu çözeltiden 100 µl alınarak 10 ml balon jojede ultra saf su ile hacmine tamamlandı. Sklera veya konjonktiva ile bitişik sklera (s+k) dokusu donör ve reseptör bölüm arasına yerleştirilip, sıkıştırıldı. Donör kompartımana nanopartikül formülasyonu veya kontrol çözeltisi konuldu. İyontoforez deneyleri için sabit akım sağlayıcı cihaz Ag/AgCl elektrotlar ile donör ve reseptör bölümlere yerleştirilerek deney düzeneğine bağlandı. Belirlenen akım şiddeti ve sürede uygulama yapıldı. Belirlenen zaman aralıklarında reseptör bölümden 500 µl örnek alındı ardından reseptör bölüme alınan hacim kadar taze salım ortamı eklendi. Her deney 4'lü tekrar şeklinde yapıldı (Chen & Kalia, 2018; Kim et al., 2022; Souza et al., 2014) .

Örnekler üzerine 500 µl metanol eklendi. 20 dakika ultrasonik banyoda sonike edildi. Nylon filtreden süzülüp, süzüntüden miktar tayini yapıldı (Souza et al., 2015).



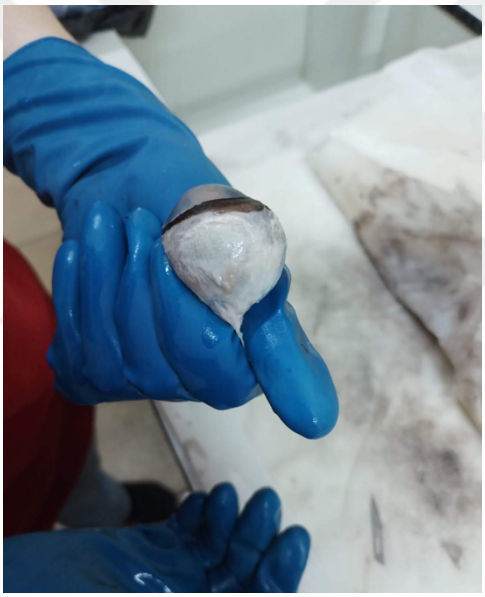
Şekil 4-1: Dana gözü



Şekil 4-2: Dana gözü



Şekil 4-3: Konjonktivanın sıyrılması



Şekil 4-4: Konjonktivadan sıyrılmış dana gözü



Şekil 4-5: Sklera ve konjonktiva ile bitişik sklera dokusunun çıkarılması



Şekil 4-6: Sklera ve konjonktiva ile bitişik sklera dokusunun çıkarılması



Şekil 4-7: Konjonktiva ile bitişik sklera

4.2.9.1. Polimer Tipi, Akım Şiddetinin Geçişe Etkisi

1 miligram (mg) deksametazon içeren kontrol çözeltisi, F4, F5, F6 formülleri skleradan pasif geçiş, 10 dakika, 2 mA, 4 mA, 5 mA akım uygulanarak iyontoforetik geçiş çalışması yapıldı. Kontrol çözeltisi için katodal iyontoforez, formülasyonlar için anodal iyontoforez uygulandı. Deney süresi 60 dakika olarak belirlendi. 10, 20, 30, 40, 50, 60. dakika'da reseptör bölümden örnekleme yapıldı. Deneyler 3.2.5'te tarif edildiği şekilde yapıldı. Örneklerden 3.2.1'de anlatıldığı şekilde HPLC ile deksametazon miktar tayini yapıldı. Tablo 4-3'de verilmiştir.

Tablo 4-3: Sklera ile yapılan ex vivo deneyler

Deney No	2 mA	4 mA	5 mA
1	F4		
2	F5		
3	F6		
4	Deks		
5		F4	
6		F5	
7		F6	
8		Deks	
9			F4
10			F5
11			F6
12			Deks

1 mg ve 2 mg deksametazon içeren F5 formülü skleradan ile 4 mA 10 dakika akım uygulanarak 60 dakika iyontoforetik geçiş çalışması yapıldı. 10, 20, 30, 40, 50, 60. dakika'da reseptör bölümden örnekleme yapıldı. Deneyler 3.2.5'te tarif edildiği şekilde yapıldı. Örneklerden 3.2.1'de anlatıldığı şekilde HPLC ile deks miktar tayini yapıldı.

4.2.9.2. Kimyasal Penetrasyon Arttırıcıların Geçişe Etkisi

Konjonktiva ile bitişik sklera dokusundan deksametazon yüklü nanopartiküllerin iyontoforetik geçişi çalışıldı. 100 mg limonen, %4 (a/h) propilen glikol 100 ml serum fizyolojik çözeltisi, %0,1 (a/h) EDTA, %0,2 (a/h) EDTA, %1 (a/h) Tween 80, %2 (a/h) Tween 80 serum fizyolojik çözeltisi hazırlandı. Donör kompartımana belirlenen konsantrasyonlarda penetrasyon arttırıcılar eklenerek geçişe etkisi araştırıldı. 1 mg deksametazon içeren F5 formülü ve belirlenen konsantrasyonlarda penetrasyon arttırıcılar donör bölüme konuldu. 4 mA 10 dakika akım uygulanarak anodal iyontoforez yapıldı. Deney süresi 60 dakika olarak belirlendi (Chen & Kalia, 2018; Eljarrat-Binstock et al., 2008; Kim et al., 2022; Souza et al., 2015). 10, 20, 30, 40, 50, 60. dakika'da reseptör bölümden örnekleme yapıldı. Deneyler 3.2.5'te tarif edildiği şekilde yapıldı. Örneklerden 3.2.1'de anlatıldığı şekilde HPLC ile deksametazon miktar tayini yapıldı.

Tablo 4-4: s+k ile yapılan deneyler

Deneyler	EDTA		Tween 80		Limonen	
	%0,1	%0,2	%1	%2	%0,1	%0,2
1. deney	+					
2. deney		+				
3. deney			+			
4. deney				+		
5. deney					+	
6. deney						+
7. deney		+		+		
8. deney		+				+

4.2.10. Geçiş Kinetiğinin Hesaplanması

In vitro deneyler sonucunda nanopartiküllerden deksametazon salım profilinin belirlenmesi için elde edilen veriler salım kinetiklerine ait eşitliklere uygulanarak korelasyon katsayı değerleri bulundu.

Sıfırıncı Derece Salım Kinetiği: Sıfırıncı derece kinetikte zamana karşı etkin madde salımı konsantrasyondan bağımsızdır (Pourtalebi Jahromi et al., 2020).

$C = C_0 \times k_0 t$

C_0=Başlangıç ilaç konsantrasyonu

C=t zamanındaki ilaç konsantrasyonu

t=zaman

k_0=sıfırıncı derece hız sabiti

Birinci dereceden salım kinetiği: zamana bağlı Ilaç salımının sadece dozaj formunda kalan etkin madde konsantrasyonuna bağlı olduğu salım profilidir (Heredia et al., 2022).

$\text{Log } C = \text{Log } C_0 - k_1 t / 2{,}303$

C=t zamanında ilaç konsantrasyonu

C_0=Başlangıç ilaç konsantrasyonu

t=zaman

k_1=birinci derece hız sabiti

Higuchi Salım Kinetiği: Salınan etkin madde mikatrının zamanın karekökü ile orantılı olduğu kinetik modeldir (Koizumi et al., 1975).

$Q = kt^{1/2}$

Q= Birim yüzeyden salınan ilaç miktarı

k=Higuchi hız sabiti

t=zaman

Hixson - Crowell Salım Kinetiği: İlaç salımının etkin madde çözünme hızı ile orantılı olduğu salım kinetiğidir. Dozaj formunun geometrik şekli korunurken yüzey alanı azalmaktadır (Hixson & Crowell, 1931).

$\sqrt[3]{W_0} = \sqrt[3]{W_t} + k_{hc}t$

W_0=Başlangıç ilaç konsantrasyonu

W_t=t zamanındaki ilaç konsantrasyonu

t=zaman

k_{hc}=hixson-Crowel salım sabiti

Korsmeyer-Peppas Salım Kinetiği: Model, salım mekanizması bilinmediğinde veya birden fazla ilaç salınımı olayı söz konusu olduğunda kullanışlıdır (Heredia et al., 2022; Korsmeyer et al., 1983).

n değeri farklı salım mekanizmalarını karakterize etmek için kullanılmaktadır. $n \leq 0{,}45$ ise Fick yasasına göre (case I) difüzyon ile ilaç salımı yaptığı, $0{,}45 \leq n \leq 0{,}85$ ise Fick olmayan ilaç salımı yaptığı anlaşılır (Korsmeyer ve ark. 1983). Genellikle, $0{,}85 \leq n$

≤ 1,00 (case II) ile salım yapıldığı anlaşılırken, n>1,00 ise supercase II ile ilaç salımı gerçekleşmektedir. Case II çözücünün etkin olduğu, polimer/çözücü sistemlerinde görülürken; supercase II yüksek oranda hidrofilik polimer içeren matriks yapılı silindir tabletlerde daha sık görülmektedir (Costa ve Lobo 2001; Meka ve ark. 2008).

$M_t/M = k_{kp} t^n$

M_t=t zamanında salınan ilaç miktarı

M=başlangıçtaki ilaç miktarı

t=zaman

k_{kp}= Korsmeyer-Peppas sabiti

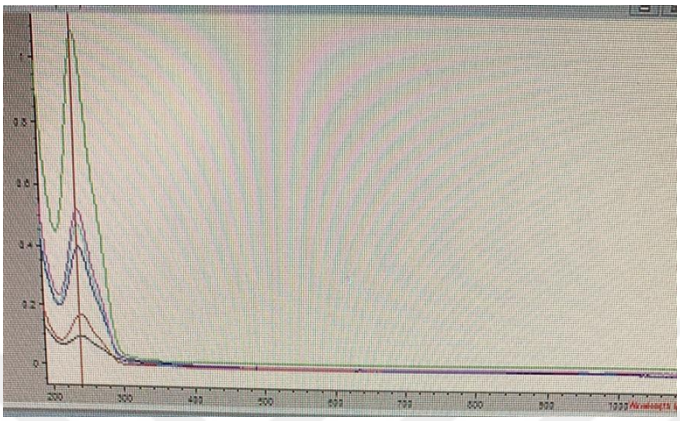
4.2.11. İstatistik

İstatistik değerlendirme GraphPad Prism programı kullanılarak one-way anova testi veya t testi ile yapıldı. Güven aralığı %95 olarak belirlendi.

5. BULGULAR

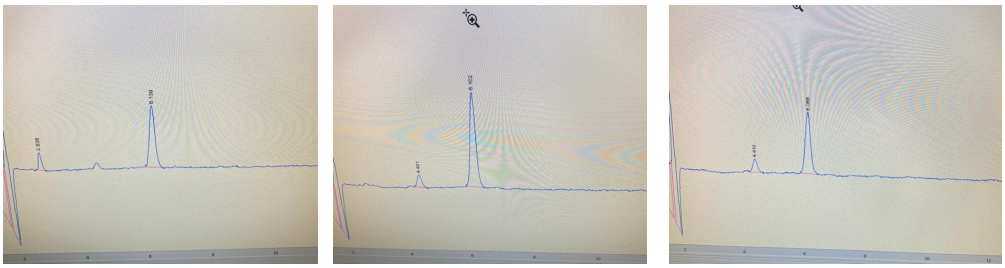
5.1. Deksametazon HPLC Miktar Tayini Yöntemine Ait Bulgular

3.2.1'de anlatıldığı şekilde yapıldı. Şekil 5-1'de Deks HPLC kromatogramı



Şekil 5-1: Deks kromatogramı

Seçicilik; Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı gibi yapılan çalışmalar sonucunda mobil fazın, boş formüllerin 230 nm dalga boyunda absorbans göstermediği tespit edildi (Şekil 5-2, Şekil 5-3, Şekil 5-4).



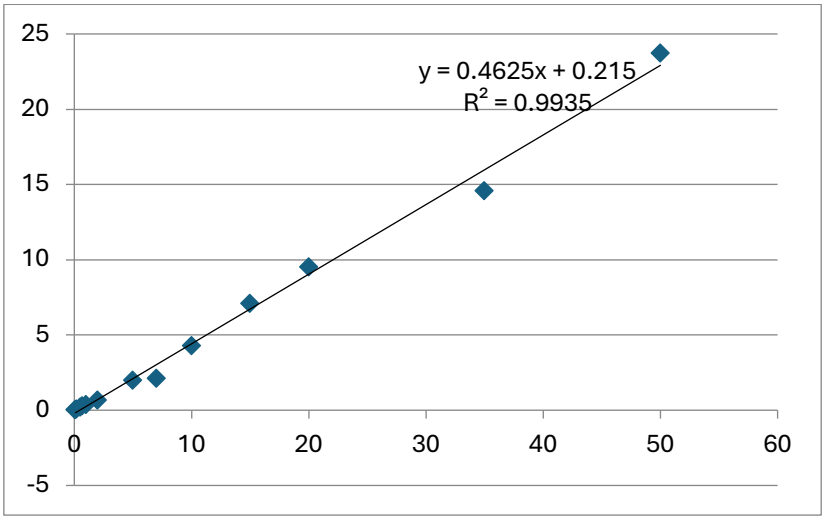
Şekil 5-2, Şekil 5-3, Şekil 5-4: Seçicilik kromatogramları

Doğrusallık; Deks'in Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan çözeltiler yardımıyla kalibrasyon eğrisi çizildi. Kalibrasyon doğrusu çizilirken elde edilen ortalama absorbans, standart sapma (SD) ve rölatif standart sapma (%RSD) değerleri Şekil 5-5'te verilmektedir.

$y=0,4625x+0,215$

$R^2=0,9935$

Eğim= 0,4625 olarak hesaplandı.



Şekil 5-5: Kalibrasyon eğrisi

Doğruluk, Deksametazon miktar tayini yönteminin doğruluğu Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı gibi yapıldı. Belirlenen konsantrasyonlar için bağıl standart sapma ve standart sapma değerleri hesaplanıp, % geri kazanım şeklinde ifade edildi (Tablo 5-1).

Tablo 5-1: Doğruluk çalışması bulguları

Konsantarsyon (µg/ml)	% Geri kazanma	SD	RSD (%)
1µg/ml	1,293	0,005	1,382
10 µg/ml	9,733	0,032	0,75
20 µg/ml	21,056	0,021	0,219

Kesinlik; Deksametazon'un miktar tayini yöntemine ait kesinlik bulguları Bölüm 3.2.1'de anlatılan yöntem kullanılarak yapıldı. Çalışma sonrası gün içi bulgular Tablo 5-2'te, günler arası çalışmaya ait bulgular Tablo 5-3'te gösterilmektedir.

Tablo 5-2: Gün içi kesinlik bulguları

Konsantarsyon (µg/ml)	Absorbans	SD	RSD (%)
1µg/ml	0,382	0,03	0,69
10 µg/ml	4,287	0,015	0,36
20 µg/ml	9,548	0,016	0,17

Tablo 5-3: Günler arası kesinlik bulguları

Konsantarsyon (µg/ml)	1. gün	2. gün	3. gün	Ortalama	SD	RSD (%)
1µg/ml	0,381	0,382	0,388	0,384	0,04	0,987
10 µg/ml	4,27	4,36	4,2	4,277	0,08	1,875
20 µg/ml	9,54	9,57	9,41	9,507	0,085	0,895

Teşhis Limiti (LOD) ve Miktar Tayini Limiti (LOQ); Deks'in LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanması için Bölüm 3.2.1'de anlatılan yöntem kullanılarak, LOD=78,8 ng/ml , LOQ= 260, 6 ng/ml olarak hesaplandı.

5.2. Partikül Boyutu, Partikül Boyutu Dağılımı, Zeta Potansiyel Ölçümüne Ait Bulgular

3.2.4'de anlatılan yöntem ile sonuçlar bulundu. Tablo 5-4'te boş formüllere ait, Tablo 5-5'te deksametazon yüklü nanopartiküllere ait partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı bulguları verilmiştir. Tablo 5-6'da boş nanopartiküllere ait, Tablo 5-7'de deksametazon yüklü nanopartiküllere ait zeta potansiyel değerleri verilmiştir.

Tablo 5-4: Boş nanopartiküllere ait partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı bulguları

Boş Formüller	Boyut (d.nm+SD)	PDI
1	80,11 ±1,56	0,25±0,05
2	93,94 ±2,68	0,17±0,05
3	103,4 ±0,36	0,14±0,02
4	94,49 ±0,59	0,11±0,01
5	98,8 ±0,95	0,09±0,01
6	108,6 ±1,11	0,05±0,02
7	115,33 ±0,55	0,08±0,01
8	121,43 ±2,02	0,07±0,01
9	118,63 ±0,80	0,05±0,01

Tablo 5-5: Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait partikül boyutu ve partikül boyutu dağılımı bulguları

Dolu Formüller	Boyut(d.nm+SD)	PDI
F1	75,17±0,53	0,22±0,01
F2	75,53±0,54	0,21±0,00
F3	79,35±0,17	0,19±0,01
F4	82,33±0,34	0,2±0,00
F5	98,8±0,14	0,12±0,01
F6	91,88±0,51	0,15±0,01
F7	154,85±0,36	0,11±0,01
F8	151,17±0,78	0,11±0,02
F9	157,5±1,65	0,11±0,01

Tablo 5-6: Boş nanopartiküllere ait zeta potansiyel bulguları

Boş Formüller	**Zeta Potansiyel**	**STD**
1	-15,27	2,65
2	-14,17	0,99
3	-15,33	2,10
4	-15,50	5,17
5	-13,83	3,09
6	-17,50	3,99
7	-11,52	3,70
8	-14,50	2,81
9	-10,76	1,21

Tablo 5-7: Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait zeta potansiyel bulguları

Dolu	**Zeta Potansiyel**	**STD**
F1	-12,60	1,97
F2	-16,30	1,95
F3	-16,47	2,32
F4	-14,10	6,47
F5	-15,77	4,55
F6	-15,33	2,91
F7	-17,10	2,86
F8	-14,27	2,96
F9	-13,63	2,49

5.3. Yükleme Etkinliği Bulguları

3.2.5'de tarif edildiği şekilde yapıldı. Tablo 5-8'de Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait yükleme etkinliği değerleri verilmiştir.

Tablo 5-8: Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait yüzde yükleme etkinliği bulguları

Formüller	%EE	STD
F1	83,50	0,40
F2	80,50	0,10
F3	85,75	0,32
F4	86,24	0,02
F5	84,58	0,41
F6	84,72	0,13
F7	77,29	0,50
F8	75,41	0,01
F9	75,29	0,01

5.4. pH Ölçümüne Ait Bulgular

3.2.6'te anlatıldığı şekilde yapıldı. Tablo 5-9'da Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait pH değerleri verilmiştir.

Tablo 5-9: Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait pH değerleri

pH	Başlangıç
F1	6,24±0,01
F2	5,72±0,02
F3	5,39±0,01
F4	6,43±0,05
F5	6,73±0,01
F6	6,43±0,01
F7	6,89±0,03
F8	6,72±0,02
F9	6,38±0,03

5.5. Stabilite Çalışmasına Ait Bulgular

3.2.7'te anlatılan yöntem ile yapıldı. Tablo 5-10'da boş nanopartiküllere ait, Tablo 5-11'da Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait stabilite çalışması bulguları verilmiştir. Tablo 5-12'de Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait yüzde yükleme etkinliği bulguları verilmiştir. Tablo 5-13'de Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait pH değerleri verilmiştir.

Tablo 5-10: boş nanopartiküllere ait stabilite çalışması bulguları

	1. gün		1. hafta		1.ay		3.ay	
Boş Formüller	Boyut (d.nm+SD)	PDI	Boyut (d.nm+SD)	PDI	Boyut (d.nm+SD)	PDI	Boyut (d.nm+SD)	PDI
1	80,11 ±1,56	0,25±0,05	84,75±10,46	0,20±0,01	107,32±43,28	0,30±0,06	154,40±62,23	0,27±0,01
2	93,94 ±2,68	0,17±0,05	95,14±0,32	0,15±0,03	93,13±0,58	0,15±0,03	93,13±4,31	0,24±0,01
3	103,4 ±0,36	0,14±0,02	105,27±0,97	0,15±0,01	101,53±0,67	0,12±0,03	131±9,95	0,12±0,01
4	94,49 ±0,59	0,11±0,01	95,66±0,22	0,11±0,01	95,28±1,19	0,11±0,02	106,33±2,48	0,25±0,01
5	98,80 ±0,95	0,09±0,01	98,60±1,44	0,06±0,00	98,90±0,80	0,05±0,01	99,20±1,69	0,12±0,03
6	108,6 ±1,11	0,05±0,02	112,50±0,36	0,08±0,02	110±0,46	0,05±0,01	164,27±2,51	0,21±0,01
7	115,33±0,55	0,08±0,01	118,63±0,26	0,09±0,03	116,47±0,55	0,09±0,01	122,53±3,55	0,1±0,02
8	121,43±2,02	0,07±0,01	122,77±0,99	0,07±0,01	122,03±0,59	0,06±0,01	127,17±1,57	0,08±0,02
9	118,63 ±0,8	0,05±0,01	178,50±1,01	0,22±0,01	119,57±0,95	0,05±0,01	123,67±3,41	0,05±0,00

Tablo 5-11: Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait stabilite çalışması bulguları

Dolu Formüller	1. gün		1. hafta		1.ay		3.ay	
	Boyut (d.nm+SD)	PDI	Boyut (d.nm+SD)	PDI	Boyut (d.nm+SD)	PDI	Boyut (d.nm+SD)	PDI
F1	75,17±0,53	0,22±0,01	77,04±0,30	0,21±1,13	76,08±0,30	0,21±1,13	87,42±4,73	0,30±0,03
F2	75,53±0,54	0,21±0,00	81,31±0,92	0,22±2,38	73,40±0,92	0,22±2,38	78,60±1,16	0,29±0,01
F3	79,35±0,17	0,19±0,01	81,29±4,08	0,21±2,55	81,17±4,08	0,21±2,55	93,08±1,49	0,22±0,02
F4	82,33±0,34	0,20±0,00	84,75±0,18	0,18±0,66	70,94±0,18	0,18±0,66	85,45±2,55	0,24±0,04
F5	98,80±0,14	0,12±0,01	99,10±1,13	0,13±1,38	98,90±1,13	0,13±1,38	100±1,34	1,74±0,01
F6	91,88±0,51	0,15±0,01	90,63±2,38	0,18±1,27	90,02±2,38	0,18±1,27	91,28±0,84	0,15±0,01
F7	79,85±0,36	0,11±0,01	82,03±1,30	0,15±4,08	79,52±1,31	0,15±4,08	84,28±1,27	0,14±0,02
F8	91,17±0,78	0,11±0,02	90,63±0,66	0,11±4,73	89,73±0,66	0,11±4,73	92,19±0,98	0,15±0,03
F9	89,50±1,65	0,11±0,01	85,99±1,38	0,13±1,16	85,28±1,38	0,13±1,16	94,36±2,97	0,19±0,02

Tablo 5-12: Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait yüzde yükleme etkinliği bulguları

Formüller	1. gün		3.ay	
	%EE	STD	%EE	STD
F1	83,50	0,40	79,11	0,09
F2	80,50	0,10	75,28	0,01
F3	85,75	0,32	77,83	0,22
F4	86,24	0,02	84,56	0,30
F5	84,58	0,41	83,37	0,06
F6	84,72	0,13	84,91	0,47
F7	77,29	0,50	73,24	0,10
F8	75,41	0,01	71,76	0,25
F9	75,29	0,01	71,88	0,18

Tablo 5-13: Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait pH bulguları

pH	1. gün	1. hafta	1. ay	3. ay
F1	6,24±0,01	6,09±0,03	5,70±0,19	6,63±0,03
F2	5,72±0,02	5,70±0,01	5,69±0,02	6,38±0,01
F3	5,39±0,01	5,41±0,01	5,46±0,04	4,61±0,06
F4	6,43±0,05	6,32±0,02	6,09±0,04	6,20±0,04
F5	6,73±0,01	6,72±0,02	6,39±0,09	6,70±0,01
F6	6,43±0,01	6,40±0,02	6,39±0,04	6,53±0,01
F7	6,89±0,03	6,81±0,01	6,71±0,01	6,42±0,01
F8	6,72±0,02	6,64±0,01	6,47±0,06	6,48±0,01
F9	6,38±0,03	6,41±0,01	6,35±0,01	6,15±0,02

5.6. İn vitro Salım Çalışmasına Ait Bulgular

3.2.8'da tarif edilen yöntem ile görüntüleme yapıldı. Tablo 5-14, Tablo 5-15, Tablo 5-16'te sonuçlar verildi.

Tablo 5-14: F1, F2, F3 formüllerine ait in vitro salım sonuçları

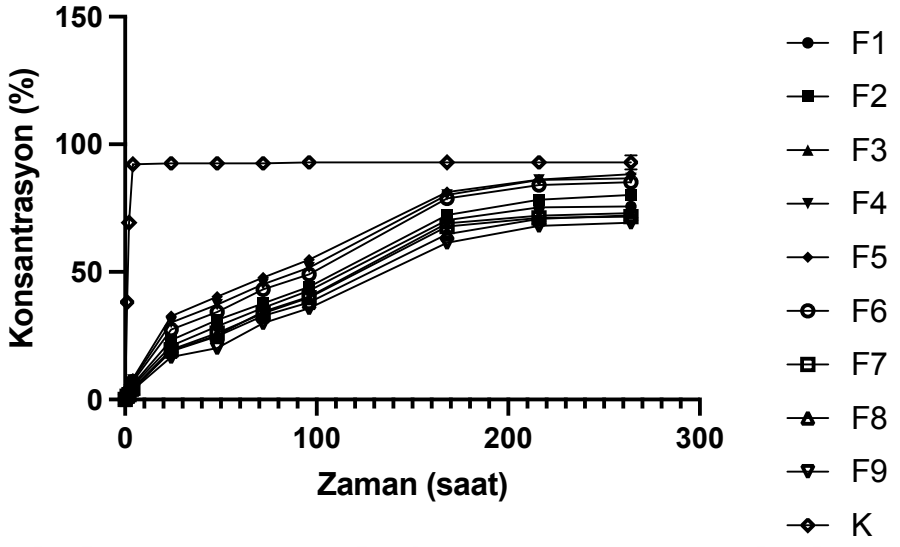
Zaman (saat)	Konsantrasyon (%)			
	F1	F2	F3	K
1	1,276±0,29	1,518±0,53	1,119±0,10	38,23±1,18
2	1,922±0,02	2,019±0,21	1,846±0,05	69,33±1,14
4	5,489±0,12	5,983±0,86	4,37±1,49	92,168±1,71
24	21,06±0,11	23,355±1,02	19,228±1,60	92,58±1,82
48	28,65±1,17	31,171±1,23	25,185±0,60	92,59±1,93
72	35,96±0,76	37,681±0,91	34,472±1,02	92,59±2,04
96	42,68±0,10	44,176±1,21	40,279±0,71	92,89±2,01
168	70,27±0,90	72,282±0,41	69,063±1,21	92,90±1,80
216	75,34±0,85	78,291±1,019	72,083±0,679	92,95±1,45
264	75,69±0,85	80,139±1,401	73,024±1,144	92,97±2,81

Tablo 5-15: F4, F5, F6 formüllerine ait in vitro salım sonuçları

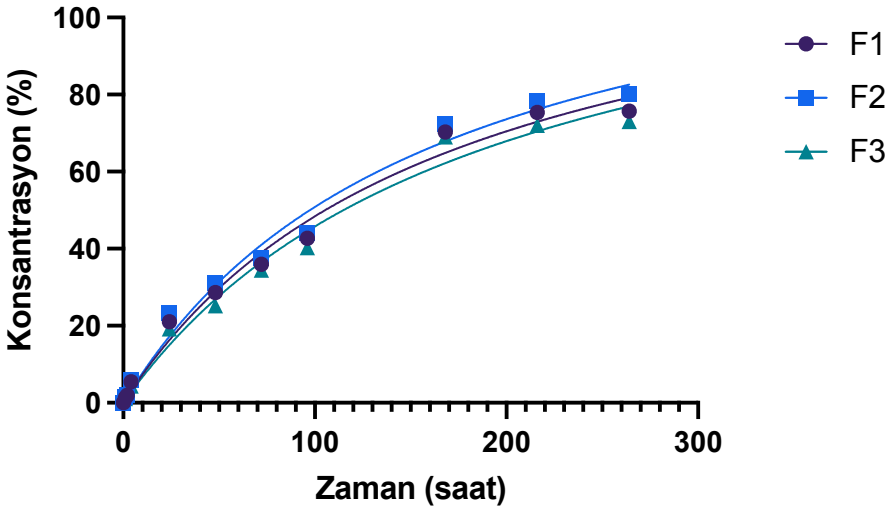
Zaman (saat)	Konsantrasyon (%)			
	F4	F5	F6	K
1	2,146±0,70	2,671±0,60	1,982±1,51	38,23±1,18
2	3,742±0,50	3,932±0,78	3,215±1,71	69,33±1,14
4	7,688±0,59	8,147±0,48	7,114±1,91	92,168±1,71
24	30,17±1,01	32,65±0,70	27,46±1,91	92,58±1,82
48	37,15±1,10	40,26±0,50	34,291±2,10	92,59±1,93
72	45,13±0,81	47,87±0,49	43,155±1,02	92,59±2,04
96	51,68±1,70	54,78±1,19	49,071±0,51	92,89±2,01
168	80,15±0,74	81,35±1,51	78,812±1,40	92,9±1,80
216	86,08±0,49	86,15±1,02	84,042±1,12	92,95±1,45
264	86,63±1,059	88,35±1,9	85,179±1,045	92,97±2,81

Tablo 5-16: F7, F8, F9 formüllerine ait in vitro salım sonuçları

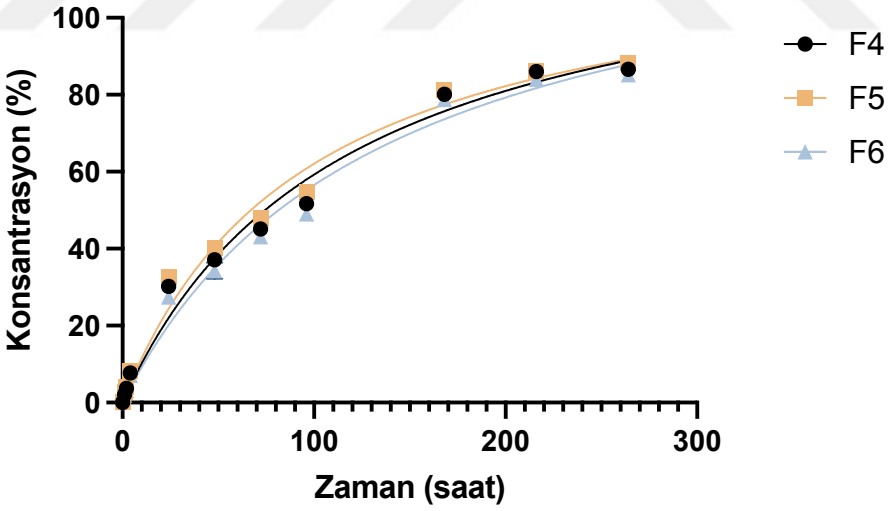
Zaman (saat)	Konsantrasyon (%)			
	F7	F8	F9	K
1	1,27±0,80	1,04±0,68	0,98±0,92	38,23±1,18
2	1,92±0,21	1,7±0,77	1,47±0,15	69,33±1,14
4	4,42±0,60	4,01±0,91	3,82±0,37	92,168±1,71
24	19,58±1,02	18,97±0,50	16,74±0,11	92,58±1,82
48	26,02±1,43	24,78±0,70	20,18±1,18	92,59±1,93
72	33,82±1,85	32,84±0,91	29,9±0,48	92,59±2,04
96	39,91±2,27	38,05±1,11	35,82±0,70	92,89±2,01
168	67,79±1,31	64,76±1,31	61,42±1,61	92,9±1,80
216	71,17±1,71	70,82±1,51	68,02±1,07	92,95±1,45
264	71,75±1,08	72,18±1,14	69,27±1,54	92,97±2,81



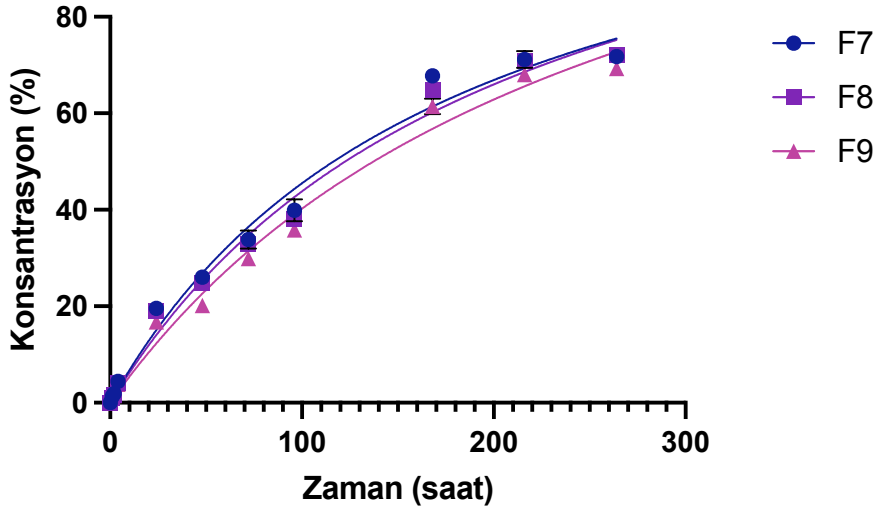
Şekil 5-6: Tüm formüllere ait in vitro salım sonuçları



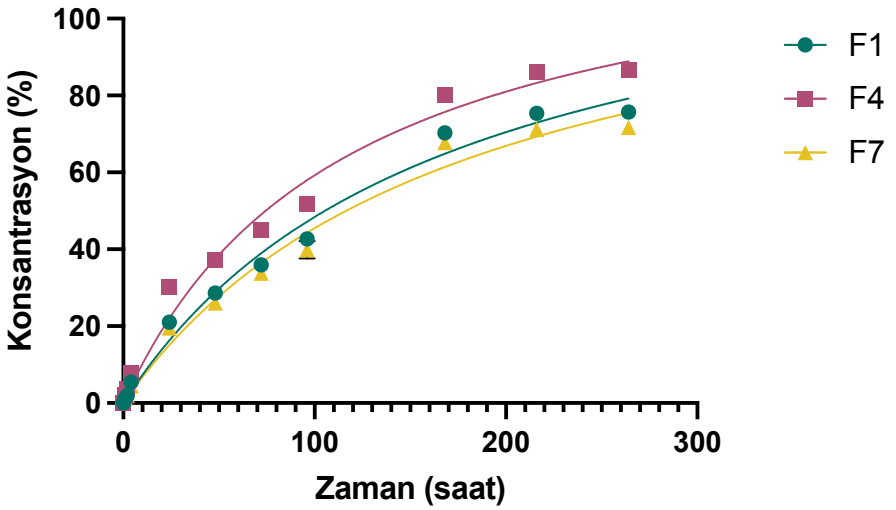
Şekil 5-7: F1, F2, F3 formüllerine ait in vitro salım sonuçları



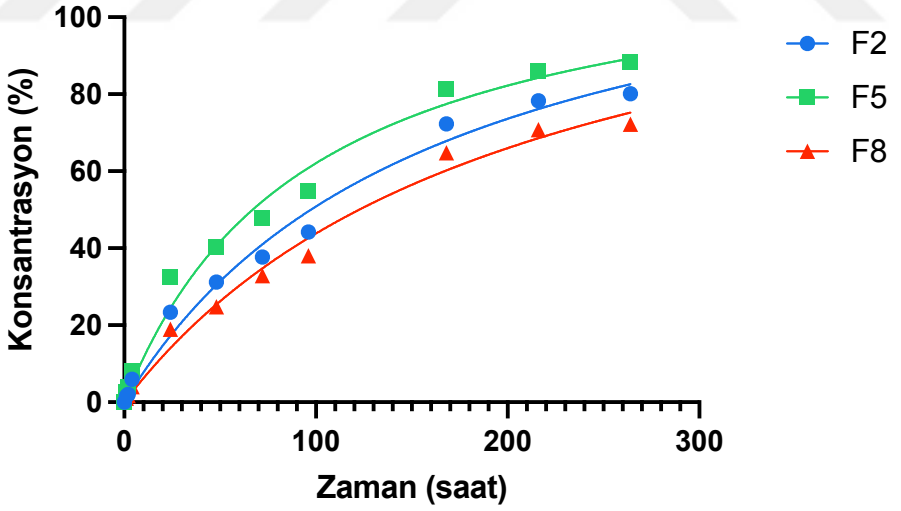
Şekil 5-8: F4,F5, F6 formüllerine ait in vitro salım çalışması



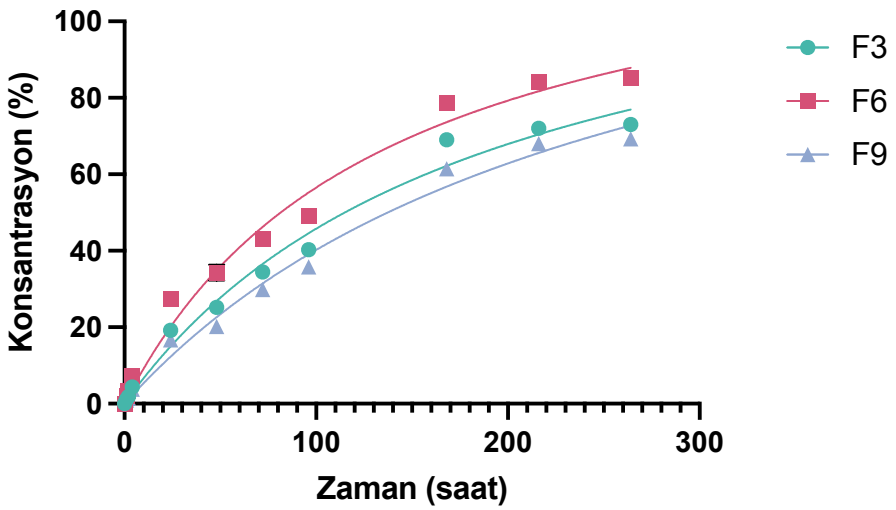
Şekil 5-9: F7, F8, F9 formüllerine ait in vitro salım çalışması



Şekil 5-10: F1, F4, F7 formüllerine ait in vitro salım çalışması



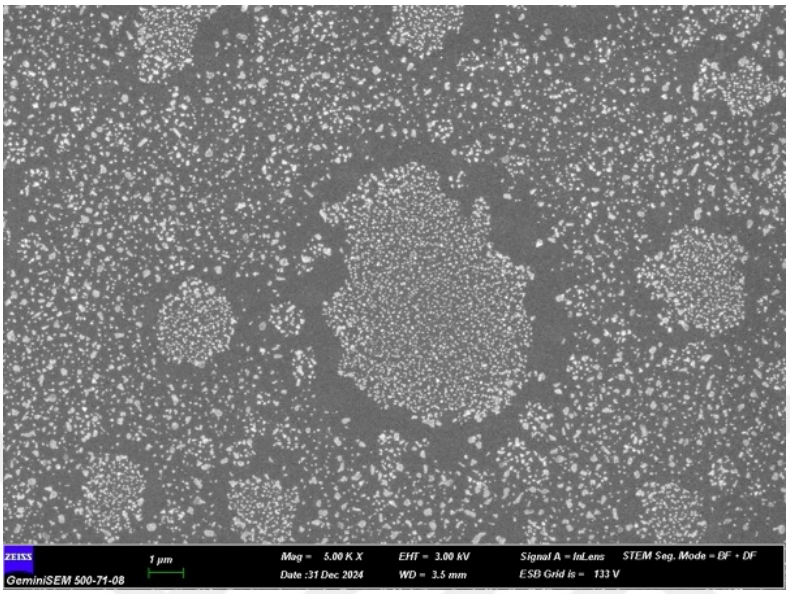
Şekil 5-11: F2, F5, F8 formüllerine ait in vitro salım çalışması



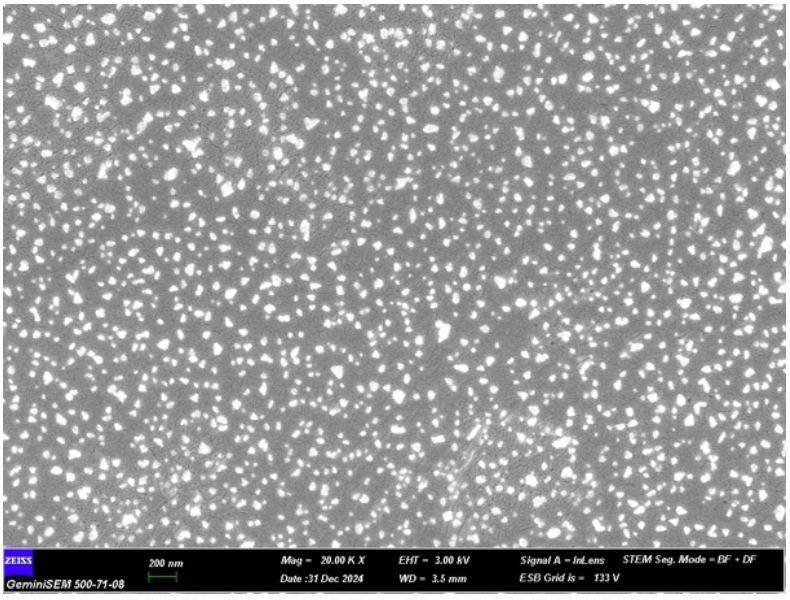
Şekil 5-12: F3, F6, F9 formüllerine ait in vitro salım çalışması

5.7. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Ölçümlerine Ait Bulgular

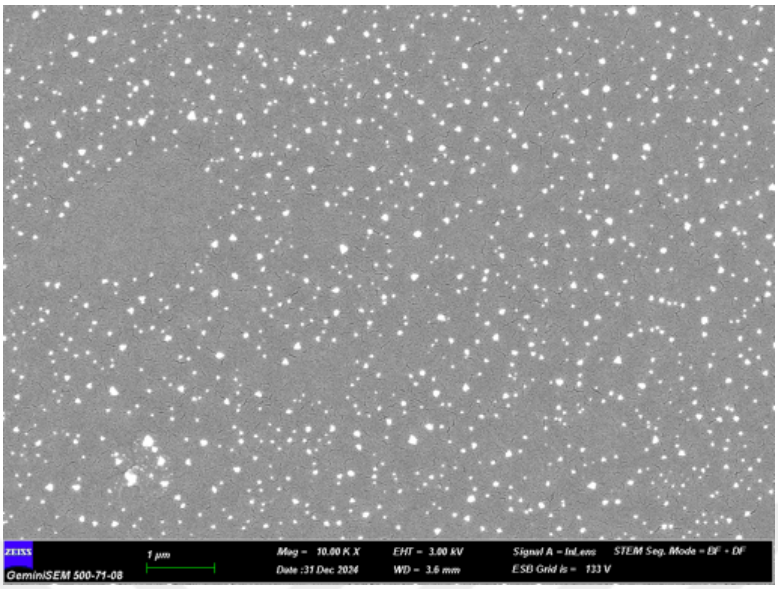
3.2.9'da tarif edilen yöntem ile görüntüleme yapıldı. Şekil 5-13-Şekil 5-28'de 5.00 ve 20.000 büyütme ölçeğinde görüntüler verilmiştir.



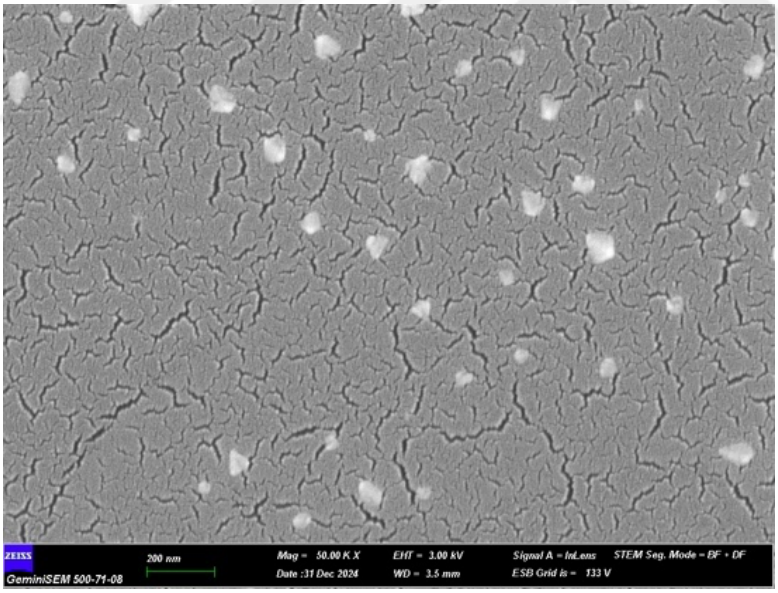
Şekil 5-13: 4 formüllerine ait SEM görüntüsü



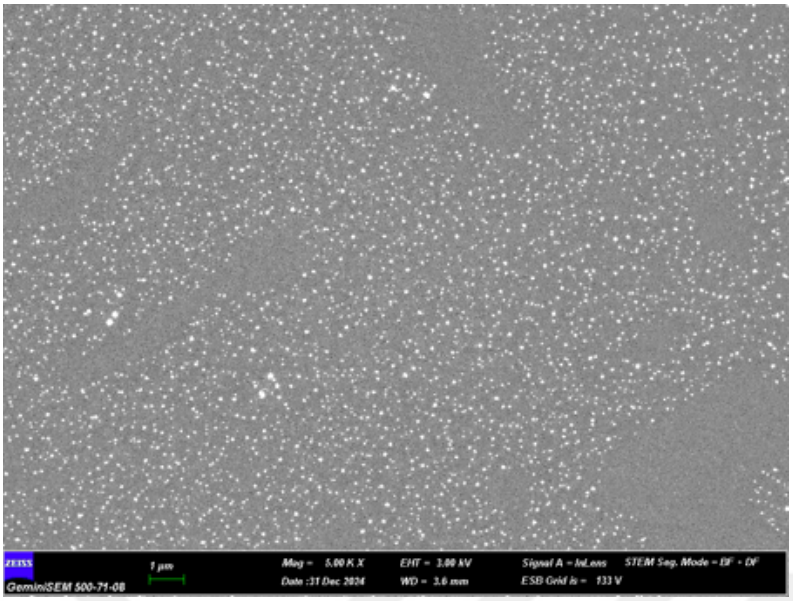
Şekil 5-14: 4 formüllerine ait SEM görüntüsü



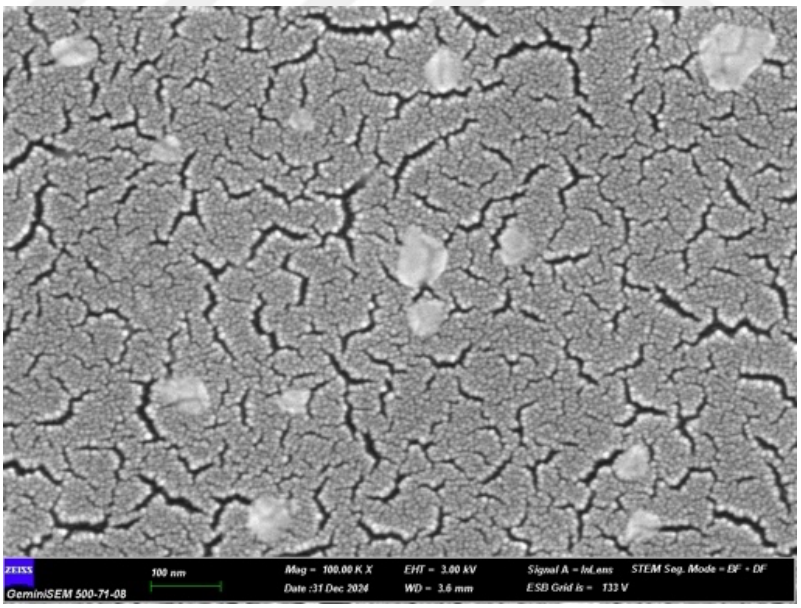
Şekil 5-15: 5 formüllerine ait SEM görüntüsü



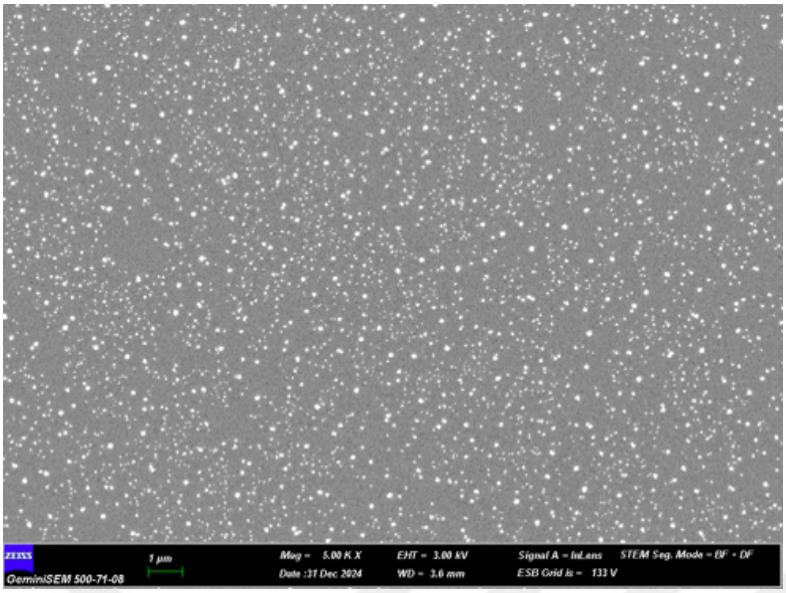
Şekil 5-16: 5 formüllerine ait SEM görüntüsü



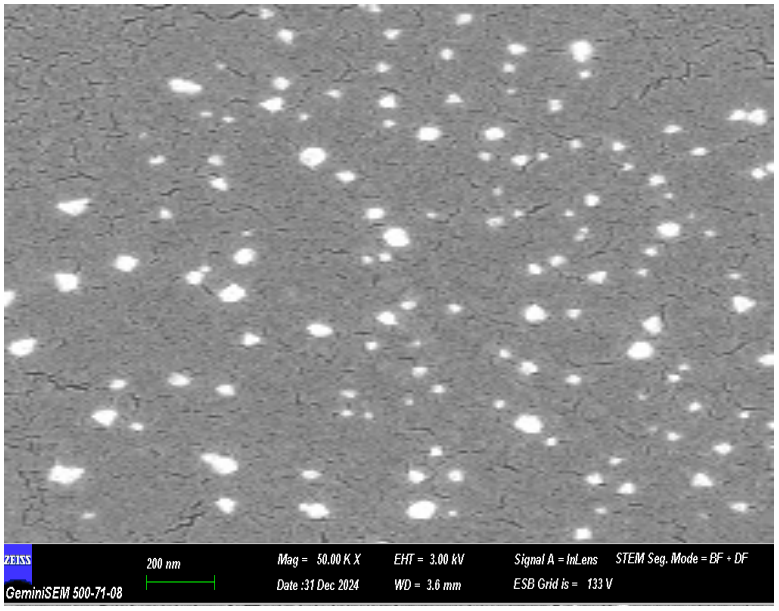
Şekil 5-17: 6 formüllerine ait SEM görüntüsü



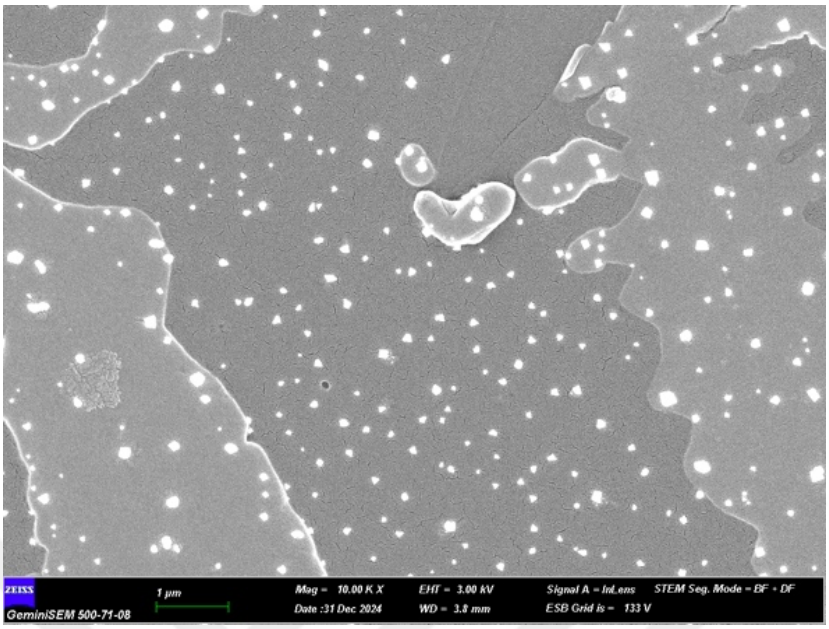
Şekil 5-18: 6 formüllerine ait SEM görüntüsü



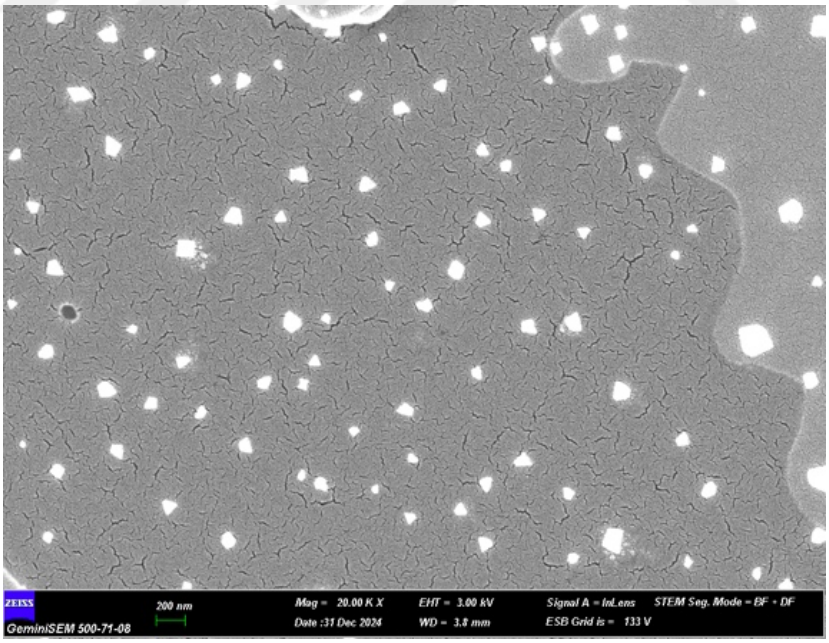
Şekil 5-19: F4 formüllerine ait SEM görüntüsü



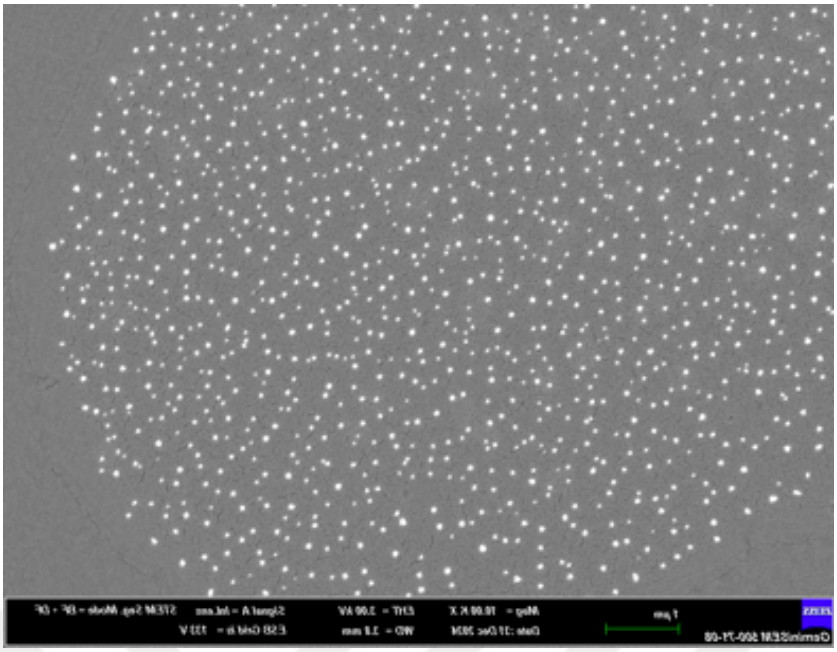
Şekil 5-20: F4 formüllerine ait SEM görüntüsü



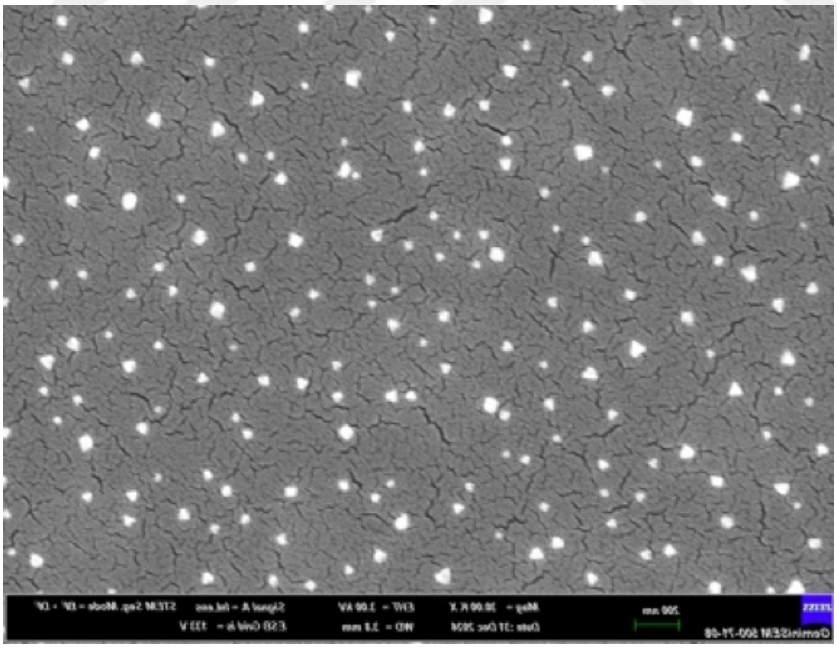
Şekil 5-21: F3 formüllerine ait SEM görüntüsü



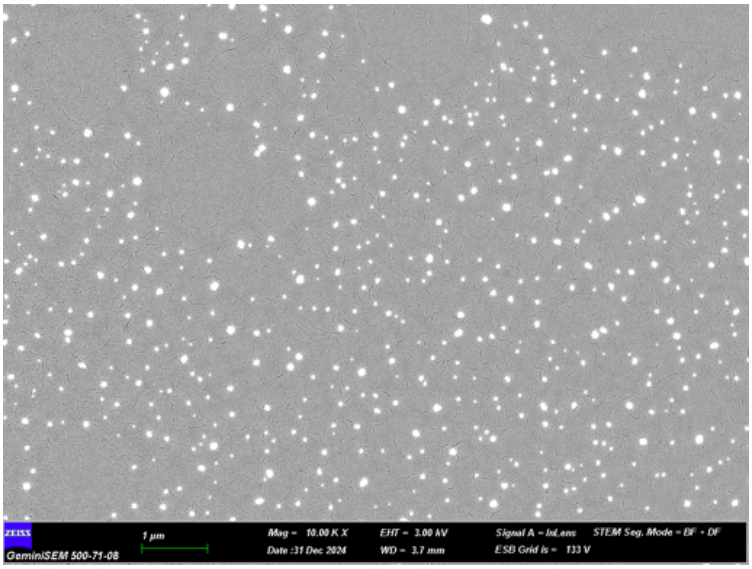
Şekil 5-22: F3 formüllerine ait SEM görüntüsü



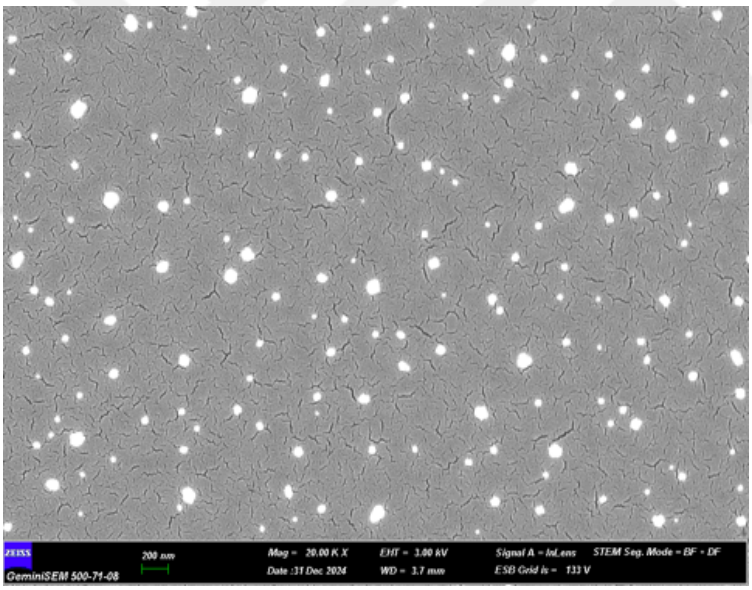
Şekil 5-23: F5 formüllerine ait SEM görüntüsü



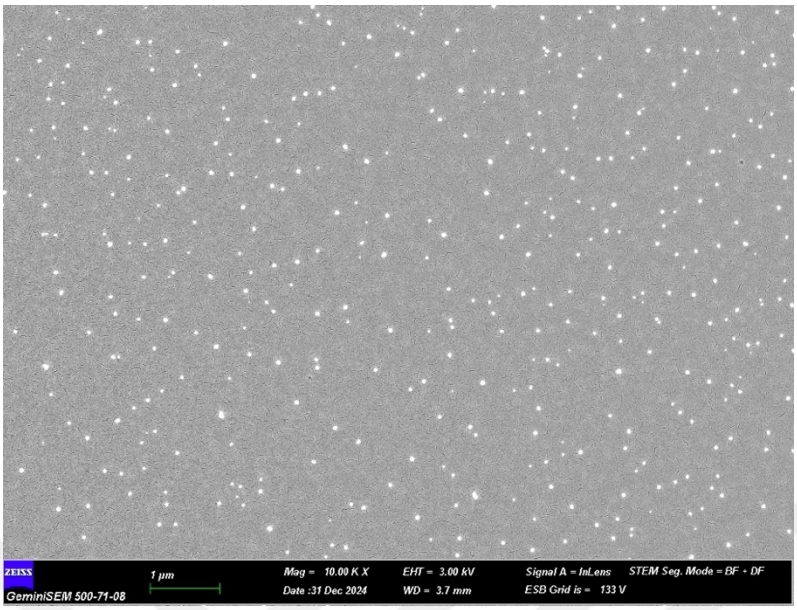
Şekil 5-24: F5 formüllerine ait SEM görüntüsü



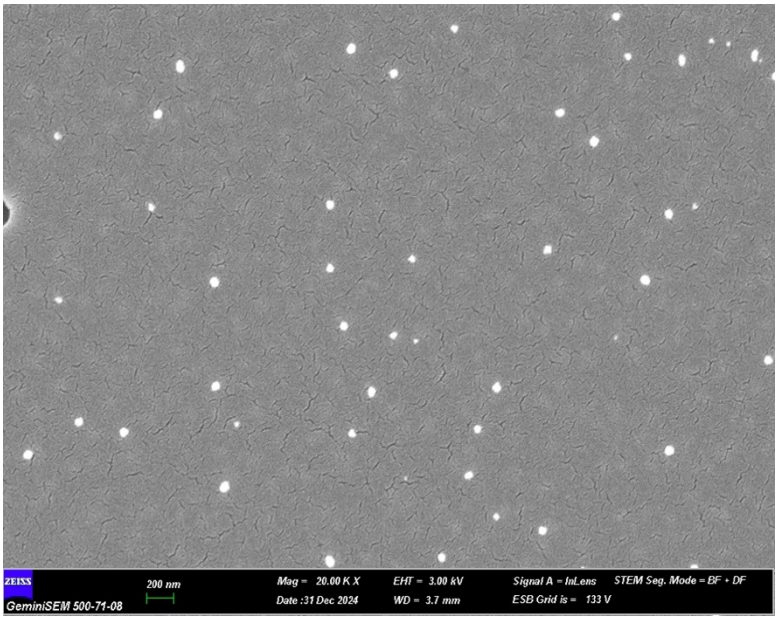
Şekil 5-25: F8 formüllerine ait SEM görüntüsü



Şekil 5-26: F8 formüllerine ait SEM görüntüsü



Şekil 5-27: F6 formüllerine ait SEM görüntüsü



Şekil 5-28: F6 formüllerine ait SEM görüntüsü

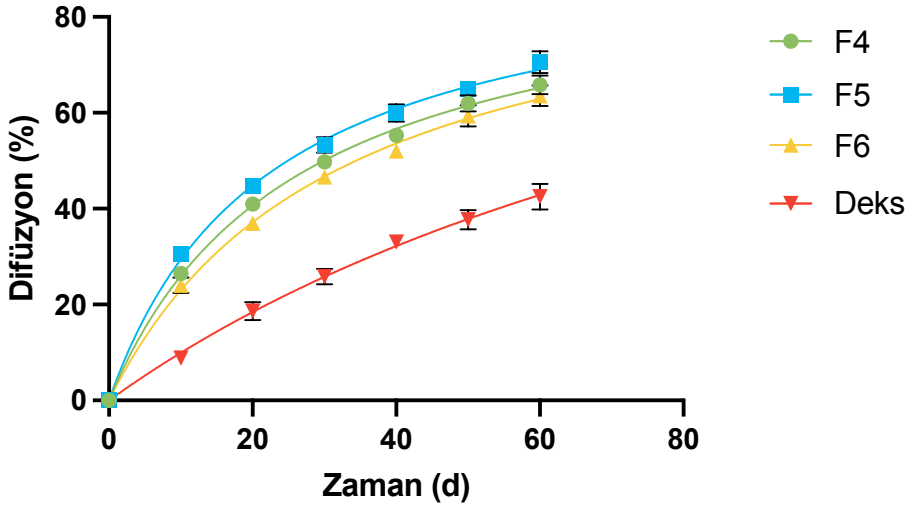
5.8. Eks Vivo Geçiş Deneylerine Ait Bulgular

3.2.11.1'de anlatıldığı şekilde deneyler yapıldı.

F4, F5, F6 formülleri, kontrol deksametazon çözeltisinin skleradan 2 mA, 4 mA, 5 mA akım uygulanarak iyontoforetik geçiş çalışması zamana karşı yüzde geçiş sonuçları Tablo 5-17, Tablo 5-18, Tablo 5-19'te verilmiştir.

Tablo 5-17: 2 mA akım uygulaması ile elde edilen geçiş sonuçları

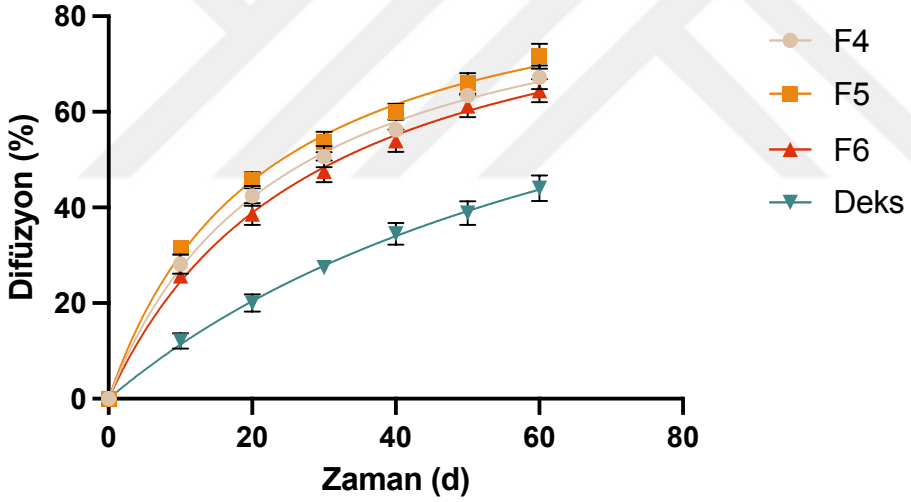
Zaman (d)	F4		F5		F6		Deks	
	C (%)	SD	C (%)	SD	C (%)	SD	C (%)	SD
10	26,48	0,91	30,54	1,23	24,00	1,61	8,83	1,19
20	40,94	1,11	44,85	1,43	36,98	1,52	18,61	1,89
30	49,77	1,31	53,32	1,64	46,65	1,42	25,82	1,59
40	55,28	1,51	59,99	1,85	52,03	1,33	33,05	1,29
50	61,94	1,71	64,95	1,06	59,36	2,23	37,72	1,99
60	65,83	1,92	70,54	2,27	63,55	2,14	42,50	2,69



Şekil 5-29: F4, F5, F6, Deks ex vivo geçiş

Tablo 5-18: 4 mA akım uygulaması ile elde edilen geçiş sonuçları

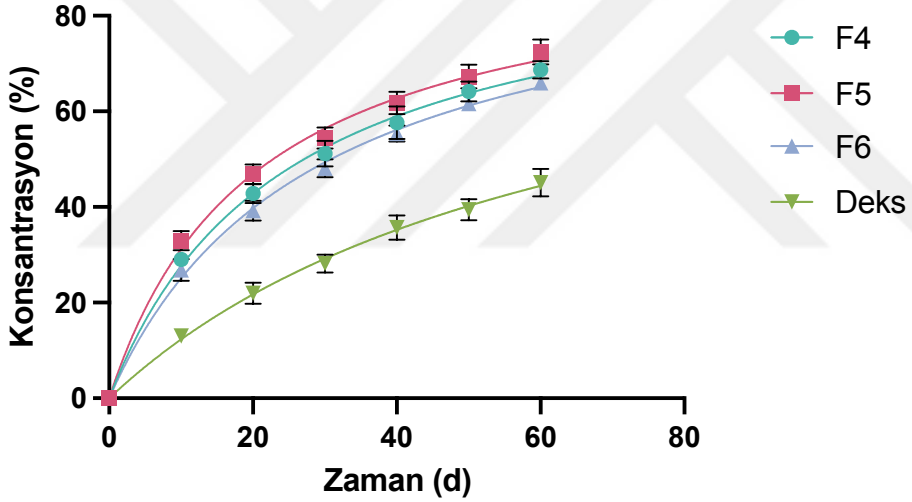
Zaman (d)	F4		F5		F6		Deks	
	C (%)	SD	C (%)	SD	C (%)	SD	C (%)	SD
10	28,18	2,01	31,63	1,17	25,69	1,23	12,08	1,64
20	42,40	2,11	45,68	1,66	38,65	2,27	20,00	1,85
30	50,60	2,21	53,69	2,16	47,59	2,31	27,46	1,06
40	56,25	1,31	60,02	1,66	53,94	2,35	34,48	2,27
50	63,40	1,41	65,95	2,16	61,20	2,39	38,81	2,48
60	67,21	2,52	71,61	2,66	64,41	2,43	44,00	2,69



Şekil 5-30: F4, F5, F6, Deks ex vivo geçiş

Tablo 5-19: 5 mA akım uygulaması ile elde edilen geçiş sonuçları

Zaman (d)	F4		F5		F6		Deks	
	C (%)	SD	C (%)	SD	C (%)	SD	C (%)	SD
10	29,05	1,31	32,96	1,99	26,86	2,32	13,06	1,52
20	42,81	2,00	46,80	2,12	39,20	2,11	21,96	2,19
30	51,18	2,70	54,41	2,24	48,09	1,91	28,18	1,87
40	57,61	3,40	61,78	2,36	55,36	1,70	35,69	2,54
50	64,17	2,10	67,28	2,49	61,63	1,50	39,46	2,22
60	68,70	1,80	72,41	2,61	65,94	1,29	45,07	2,89

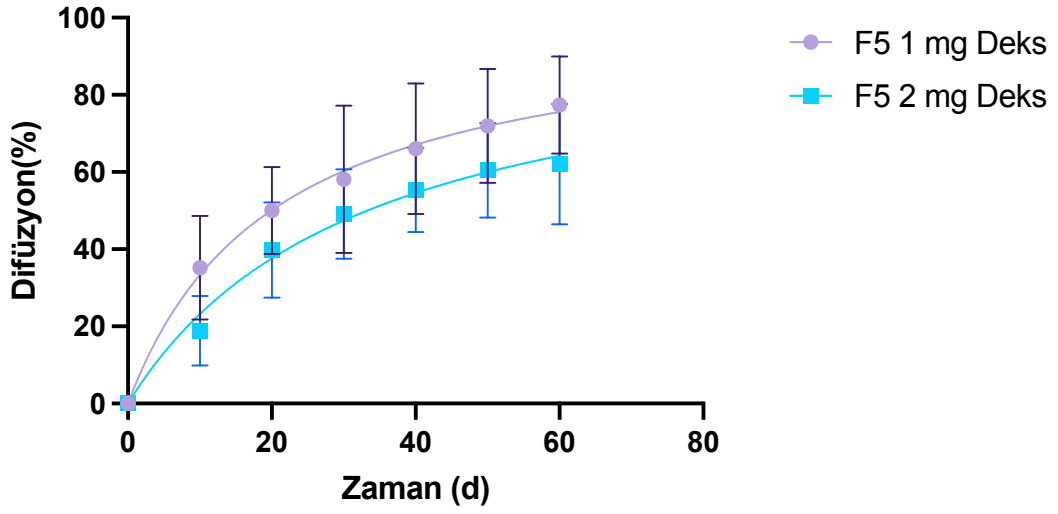


Şekil 5-31: F4, F5, F6, Deks ex vivo geçiş

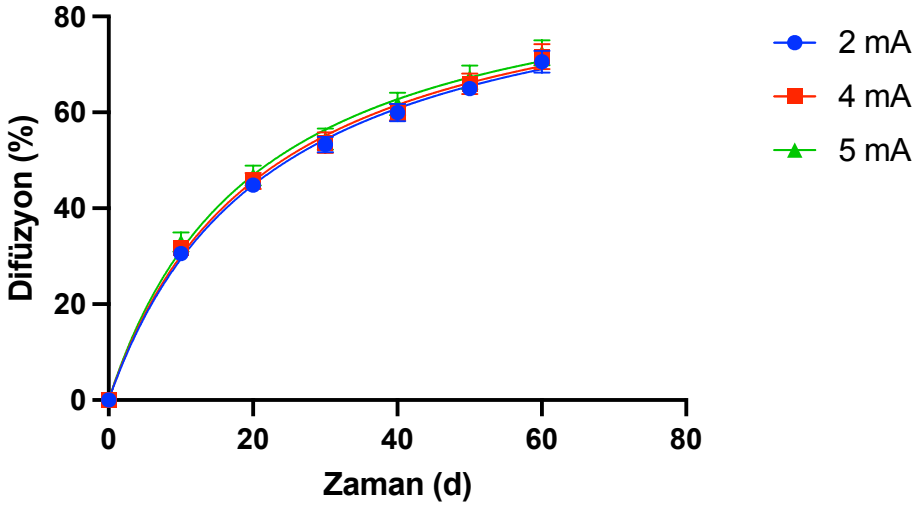
1 mg deksametazon içeren F5 formülü ve 2 mg deksametazon içeren F5 formülünün skleradan 4 mA 10 dakika akım uygulanarak iyontoforetik geçiş zamana karşı yüzde geçiş sonuçları Tablo 5-20'da verilmiştir.

Tablo 5-20: 1mg Deksametazon yüklü ve 2 mg Deksametazon yüklü nanopartiküllerin iyontoforetik geçiş sonuçları

Zaman (d)	F5 1 mg		F5 2 mg	
	C (%)	SD	C (%)	SD
10	35,23	13,42	18,87	9,00
20	50,02	11,25	39,78	12,32
30	58,16	19,09	49,14	11,63
40	66,03	16,92	55,39	10,94
50	71,92	14,76	60,48	12,25
60	77,40	12,59	62,05	15,56



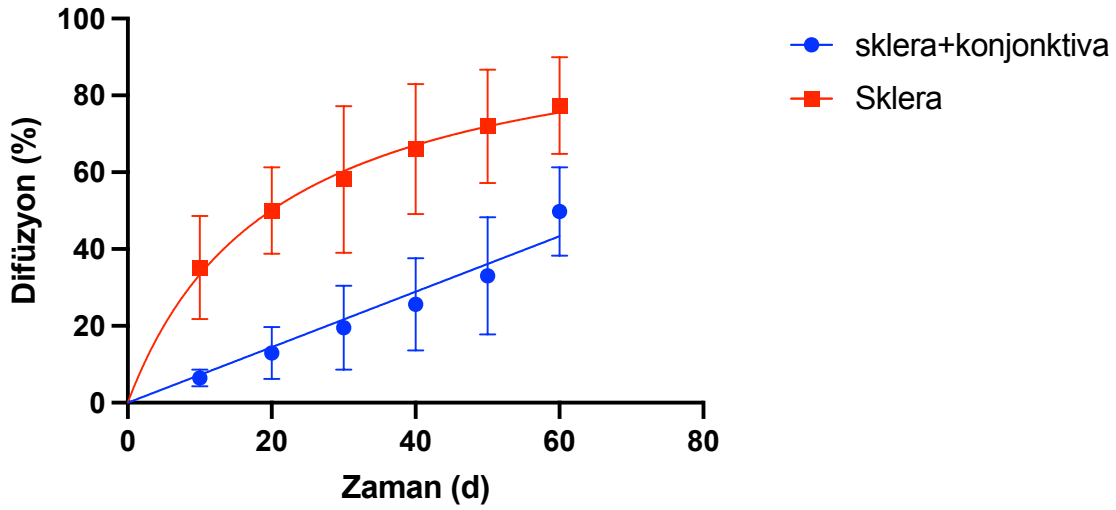
Şekil 5-32: F5 1 mg ve 2 mg ex vivo geçiş



Şekil 5-33: F5 2 mA, 4 mA, 5 mA akım uygulaması

Tablo 5-21: F5'in s ve s+k'dan iyontoforetik geçiş sonuçları

	sklera+konjonktiva		Sklera	
Zaman (d)	Difüzyon(%)	SD	Difüzyon (%)	SD
10	6,47	2,22	35,23	13,42
20	12,92	6,76	50,02	11,25
30	19,51	10,98	58,16	19,09
40	25,65	12,01	66,03	16,92
50	33,03	15,23	71,92	14,76
60	49,80	11,54	77,40	12,59

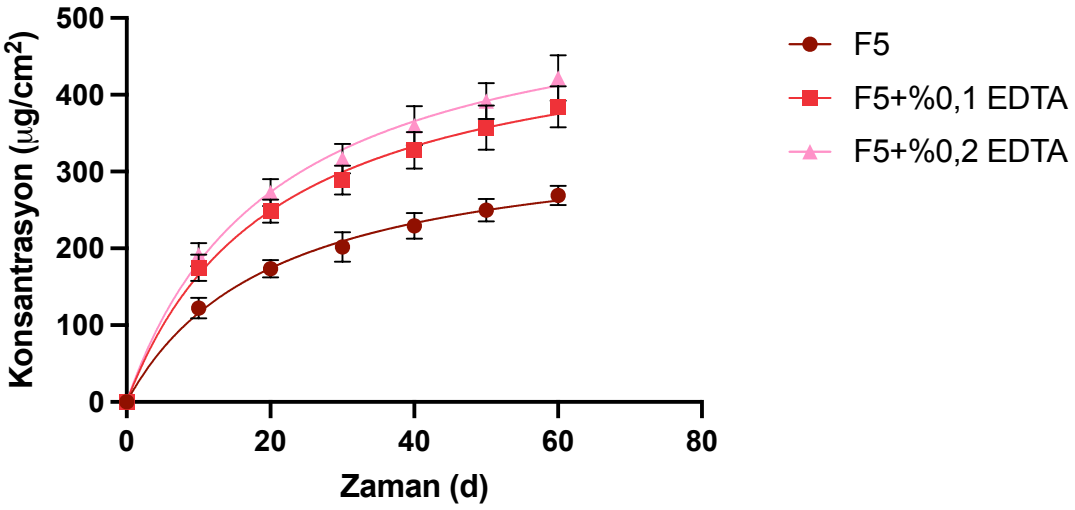


Şekil 5-34: F5 2 mA, 4 mA, 5 mA akım uygulaması

1 mg deksametazon içeren F5 formülünün belirtilen konsantrasyonlarda penetrasyon arttırıcılar ile beraber k+s'dan 4 mA 10d akım uygulaması sonucu zamana karşı iyontoforetik geçiş sonuçları verilmiştir. Tablo 5-22'de F5+%0,01 EDTA ve F5+ %0,02 EDTA zamana karşı geçiş sonuçları verilmiştir.

Tablo 5-22'de F5+%0,01 EDTA ve F5+ %0,02 EDTA zamana karşı geçiş sonuçları

	F5		F5+%0,1 EDTA		F5+%0,2 EDTA	
Zaman (d)	C (µg/cm^2)	SD	C (µg/cm^2)	SD	C (µg/cm^2)	SD
10	122,34	13,42	174,94	17,33	192,07	15,36
20	173,67	11,25	248,35	15,20	272,67	17,41
30	201,95	19,09	288,79	19,08	317,06	19,46
40	229,27	16,92	327,86	23,95	359,97	25,51
50	249,71	14,76	357,09	28,83	392,05	23,55
60	268,75	12,59	384,32	26,70	421,95	29,60

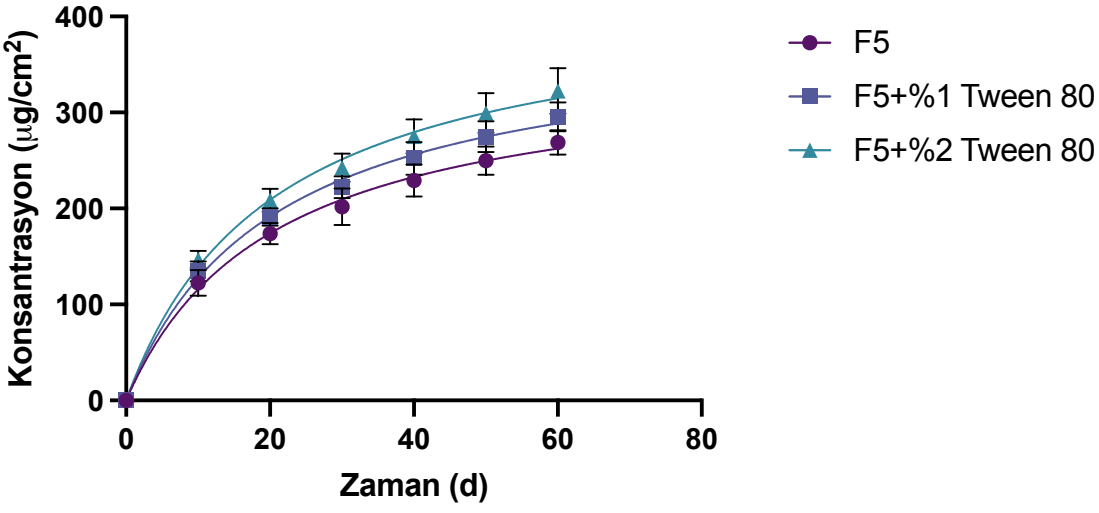


Şekil 5-35: F5, F5+%0,1 EDTA, F5+%0,2 EDTA ex vivo geçiş

Tablo 4-18'de F5+ %1 Tween 80 ve F5+%2 Tween 80 zamana karşı geçiş sonuçları verilmiştir.

Tablo 5-23'de F5+ %1 Tween 80 ve F5+%2 Tween 80 zamana karşı geçiş sonuçları

	F5		F5+%1 Tween 80		F5+%2 Tween 80	
Zaman (d)	C (µg/cm^2)	SD	C (µg/cm^2)	SD	C (µg/cm^2)	SD
10	122,34	13,42	134,57	10,30	146,81	9,12
20	173,68	11,25	191,04	9,25	208,41	12,01
30	201,95	19,09	222,15	11,20	242,34	14,90
40	229,28	16,92	252,21	17,15	275,13	17,79
50	249,71	14,76	274,68	16,10	299,66	20,68
60	268,76	12,59	295,64	15,05	322,51	23,56

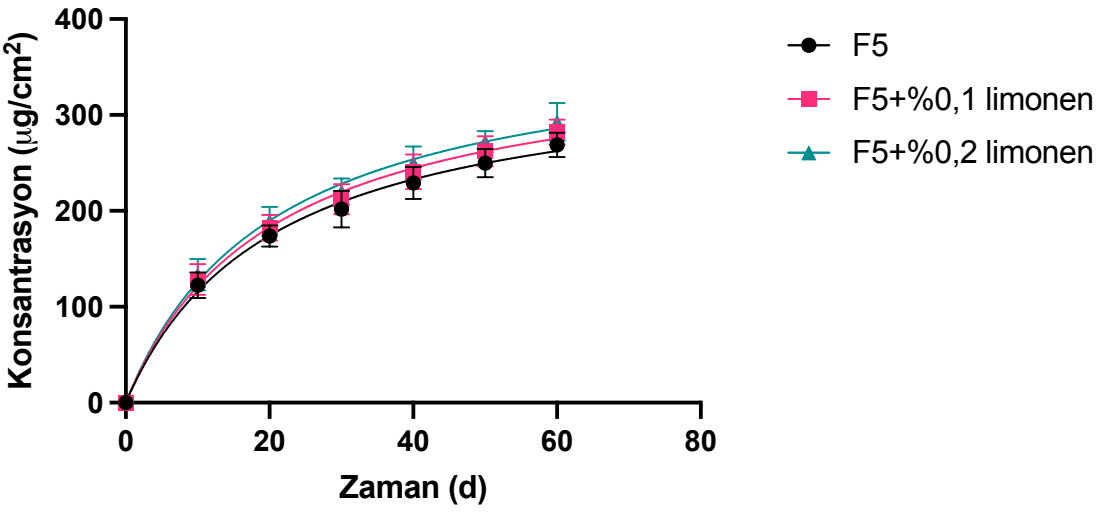


Şekil 5-36: F5, F5+%1 Tween 80, F5+%2 Tween 80 ex vivo geçiş

Tablo 5-24'de F5+%0,1 limonen ve F5+%0,2 limonen zamana karşı yüzde geçiş sonuçları verilmiştir.

Tablo 5-24: F5+%1 limonen ve F5+%2 limonen zamana karşı geçiş sonuçları

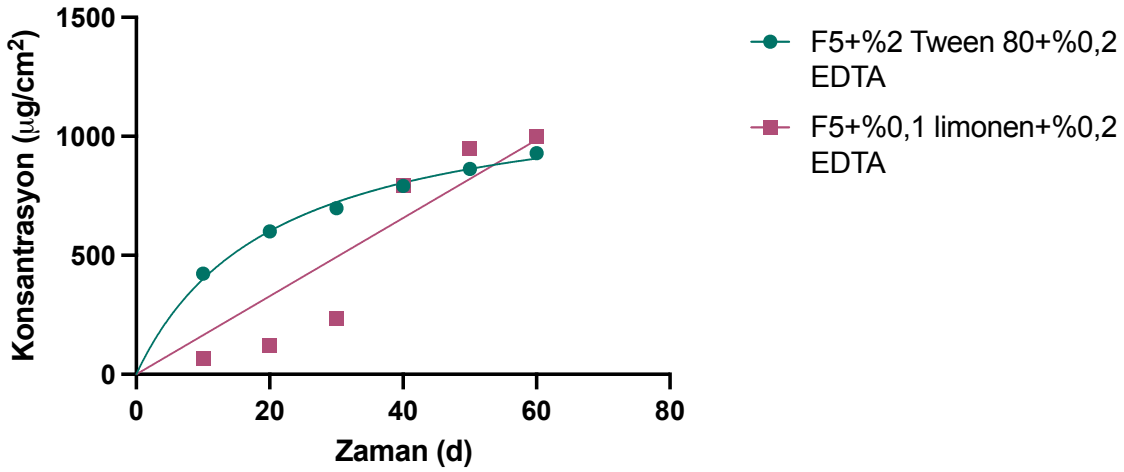
Zaman (d)	F5		F5+%0,1 limonen		F5+%0,2 limonen	
	C (µg/cm^2)	SD	C (µg/cm^2)	SD	C (µg/cm^2)	SD
10	122,34	13,42	128,46	16,04	133,35	16,33
20	173,68	11,25	182,36	13,42	189,31	15,02
30	201,95	19,09	212,05	15,80	220,13	13,71
40	229,28	16,92	240,74	18,17	249,91	17,39
50	249,71	14,76	262,20	15,55	272,19	11,08
60	268,76	12,59	282,20	12,93	292,95	19,77



Şekil 5-37: F5, F5+%0,1 limonen, F5+%0,2 limonen ex vivo geçiş

Tablo 5-25'de F5+%0,2 EDTA+%2 Tween 80 ve F5+%0,2 EDTA+%0,2 limonen zamana karşı geçiş sonuçları

Zaman (d)	F5+%2 Tween 80+%0,2 EDTA		F5+%0,1 limonen+%0,2 EDTA	
	C (mg/cm^2)	SD	C (mg/cm^2)	SD
10	422,80	13,67	65,26	14,21
20	600,20	11,28	123,20	10,93
30	697,90	10,71	233,87	15,17
40	792,40	12,24	792,87	12,98
50	863	14,66	951,23	11,61
60	928,80	10,35	999,98	10,42

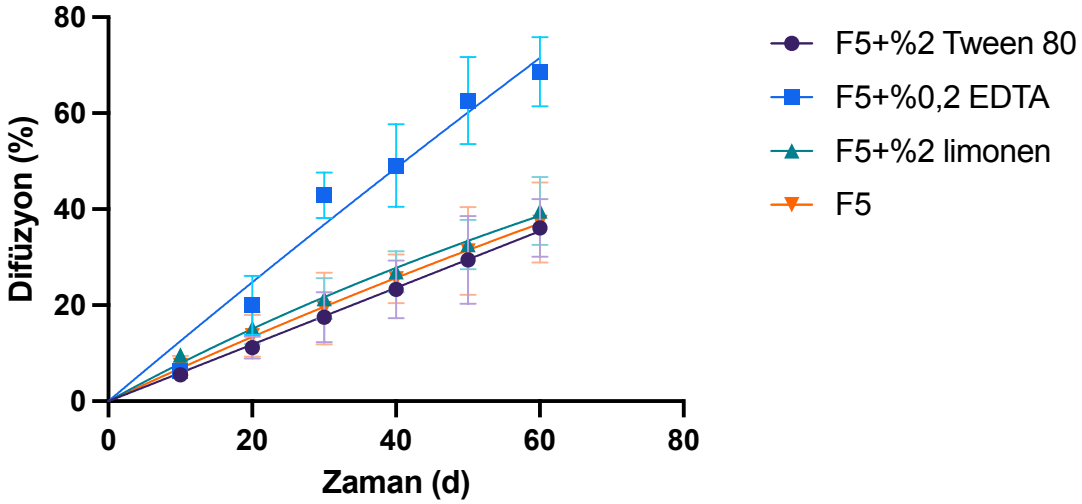


Şekil 5-38: F5, F5+%0,2 EDTA+%2 Tween 80 ve F5+%0,2 EDTA+%2 limonen ex vivo geçiş

Tablo 5-26'da pasif geçiş sonuçları verilmiştir

Tablo 5-26: pasif geçiş sonuçları

Pasif geçiş	F5+%2 Tween 80		F5+%0,2 EDTA		F5+%2 limonen		F5	
Zaman (d)	Difüzyon (%)	SD	Difüzyon (%)	SD	Difüzyon (%)	SD	Difüzyon (%)	SD
10	5,5	0,99	6,38	1,02	9,6	1,09	7,41	2,05
20	11,15	2,27	19,94	6,19	15,25	3,38	13,64	4,33
30	17,53	5,23	42,87	4,77	21,34	4,29	19,29	7,47
40	23,32	6,03	49,11	8,59	26,98	4,30	25,52	5,10
50	29,41	9,17	62,66	9,06	32,63	5,12	31,31	9,12
60	36,08	6,05	68,61	7,20	39,6	7,09	37,25	8,36

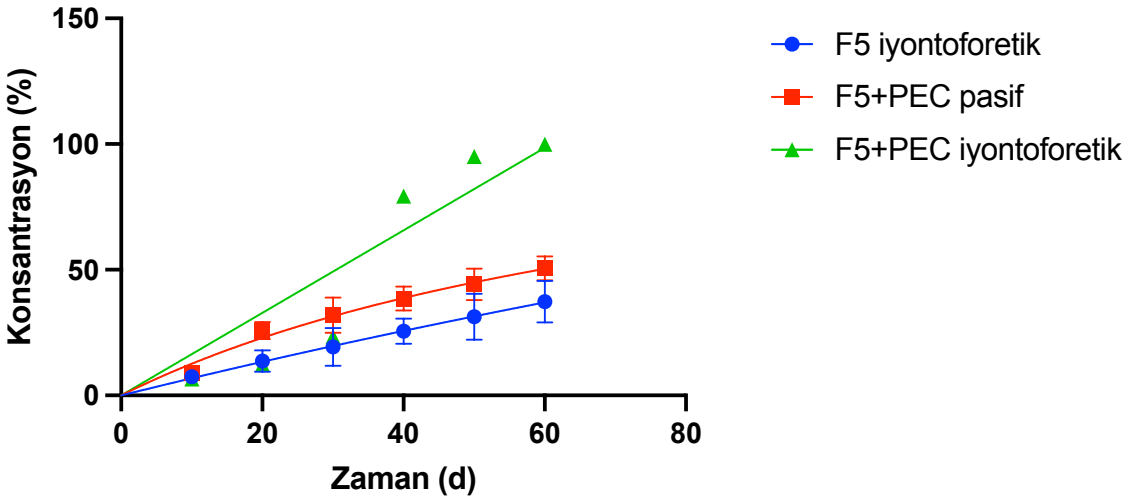


Şekil 5-39: Ex vivo pasif geçiş sonuçları

Tablo 5-27'de s+k'dan karşılaştırmalı geçiş sonuçları verilmiştir.

Tablo 5-27: s+k'dan karşılaştırmalı geçiş sonuçları

Zaman (d)	F5 iyontoforetik		F5+PEC pasif		F5+PEC iyontoforetik	
	Difüzyon (%)	SD	Difüzyon (%)	SD	Difüzyon (%)	SD
10	7,41	2,05	8,87	2,39	6,53	1,42
20	13,64	4,33	25,80	3,42	12,32	1,09
30	19,29	7,47	31,89	7,06	23,39	1,52
40	25,52	5,1	38,56	4,81	79,29	1,30
50	31,31	9,12	44,20	6,24	95,12	1,16
60	37,25	8,36	50,58	4,71	99,99	1,04



Şekil 5-40: Karşılaştırmalı ex vivo geçiş sonuçları

5.9. İn vitro Salım Kinetiği

Tablo 5-28: in vitro salım kinetiği sonuçları

		F1	F2	F3
0. derece	r2	0,9347	0,9366	0,9375
	k0	0,3088	0,3212	0,3006
1. derece	r2	0,9715	0,9816	0,9658
	k1	-0,0025	-0,0028	-0,0024
Higuchi	r2	0,8502	0,8454	0,8629
	D	0,1169	0,1157	0,1188
Hixon Crowell	r2	0,7638	0,7607	0,775
	kh	0,011	0,011	0,011
Korsmeyer peppas	r2	0,9851	0,9831	0,9902
	n	0,7454	0,7305	0,7638

Tablo 5-29: İn vitro salım kinetiği Sonuçları

		F4	F5	F6
0. derece	r2	0,9127	0,8992	0,9232
	k0	0,3442	0,3454	0,3406
1. derece	r2	0,977	0,9839	0,9774
	k1	-0,0035	-0,0037	-0,0034
Higuchi	r2	0,8219	0,8115	0,8344
	D	0,1095	0,1074	0,1112
Hixon Crowell	r2	0,7402	0,7257	0,7538
	kh	0,0106	0,0104	0,0108
Korsmeyer peppas	r2	0,9853	0,9847	0,9872
	n	0,6638	0,6425	0,6804

Tablo 5-30: İn vitro salım kinetiği sonuçları

		F7	F8	F9
0. derece	r2	0,9352	0,9479	0,9475
	k0	0,2946	0,2935	0,2825
1. derece	r2	0,9651	0,979	0,98
	k1	-0,0023	-0,0023	-0,0021
Higuchi	r2	0,8628	0,8638	0,8763
	D	0,1168	0,1195	0,1201
Hixon Crowell	r2	0,7725	0,7788	0,8005
	kh	0,0109	0,0111	0,0111
Korsmeyer peppas	r2	0,9906	0,9901	0,9907
	n	0,7456	0,7736	0,7794

6. TARTIŞMA

Deksametazon, gözün anterior ve posterior segment hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan, güçlü bir glukokortikoiddir (Shen et al., 2021). Literatürde Deksametazonun oftalmik kullanım için geliştirilmiş çok sayıda formülasyon çalışması bulunmaktadır (Bengani et al., 2020; Bode et al., 2018; Cholkar et al., 2014; Ghezzi et al., 2023; Mo et al., 2018; Romero et al., 2016; Soiberman et al., 2017; Szalai et al., 2024; Xeroudaki et al., 2023; Xiang et al., 2024; Li Zhang et al., 2015). Bu nedenle çalışmamızda kullanılmak üzere deksametazon seçilmiştir.

Deksametazon miktar tayini HPLC metodu ile Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. AlAani ve Alnukkary'nin kullanıdğı yöntem referans alınarak yönte geliştirilmiştir (AlAani & Alnukkary, 2016). 0,1-50 µg/ml konsantrasyon aralığında bir seri deksametazon çözeltisi ile yöntemin doğrusal olduğu bulunmuştur. Kullanılan 3 farklı polimerden hazırlanan boş 4, 5, 6 formüllerinin ve mobil fazın HPLC'de 230 nm'de pik vermediği gözlenmiş, yöntemin seçiciliğinin olduğu sonucuna varılmıştır. Doğruluk çalışmasında 1, 10, 20 µg/ml konsantrasyonlarda örneklerden elde edilen % geri kazanım değerleri ve %RSD değerleri sonucunda kullanılmasının uygun olduğu bulunmuştur. Kesinlik çalışmasında 1, 10, 20 µg/ml konsantrasyonda örneklerden elde % RSD değerleri 2'den küçük hesaplanmış, ölçümün gün içi ve günler arası kesinliği sağladığı bulunmuştur.

Formüller Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı şekilde emülsiyon oluşturma/çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanmıştır. Biyouyumlu ve biyobozunur olduğu için polimer olarak PLGA seçilmiştir. Emülsiyon oluşturma/çözücü buharlaştırma yöntemi PLGA naopartiküllerinin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Yang et al., 2013; Linhua Zhang et al., 2009).

Organik fazların hazırlanmasında göz üzerinde daha az toksik olduğu için etil asetat seçilmiştir. Boş ve Deksametazon yüklü formüllerin hazırlanmasında Resomer 502H, Resomer 503H ve Resomer 504H ile 5, 10, 20 mg/ml polimer oranları kullanılmış, organik faz/sulu faz oranı 1/1, 1/2 olarak denenmiştir. Deksametazon yüklü nanopartiküller hazırlanırken sabit etkin madde/polimer oranı seçilmiştir.

Boş ve Deksametazon yüklü nanopartiküllerin özellikleri Bölüm 3.2.3'te anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Tablo 4-4'te verilen sonuçlara göre boş nanopartiküllerin boyut ve PDI değerleri incelendiğinde her bir polimerle hazırlanan formüllerin kendi grubu içerisinde polimer oranı arttıkça boyutlarının hafifçe büyüdüğü buna karşılık PDI değerlerinin düştüğü görülmüştür ($p>0,05$). Gruplar arası anlamlı fark olmamak koşulu ile polimer oranı arttıkça daha tek düze partiküller elde edilmiştir. Deksametazon yüklü nanopartiküllerde de; boş nanopartiküllerde gözlenen polimer oranı arttıkça boyutun artması, PDI'ın düşmesi davranışı gözlenmiştir ($p>0,05$). Karşılık gelen boş nanopartiküllere göre boyutun hafifçe düştüğü görülmüştür ($p>0,05$). Sonuçlar literatürle uyumludur (Rençber et al., 2020). PLGA'nın negatif yükü ve Deksametazonun pozitif yüklü olması partikül boyutun küçülmesinin sebebi olabilir.

Tablo 4-5'teki sonuçlara göre boş nanopartiküllerin zeta potansiyel ölçümleri -10-17 aralığında bulundu. PLGA nanopartiküllerinin zeta potansiyel değerleri ile uyumludur. Deksametazon yüklü nanopartiküllerin zeta potansiyel değerleri negatif -12-17 aralığında boş nanopartiküller ile karşılaştırılabilir bulunmuştur ($p>0,05$). Literatürle benzer sonuçlar elde edilmiştir (Rençber et al., 2020). Deksametazonun yüzeye adsorbe olmadığı nanopartiküllerin içerisine yüklendiği çıkartımı yapılabilir.

Deksametazon yüklü nanopartiküllerde %EE'ler %75-85 aralığında hesaplanmıştır. Gruplar arası anlamlı fark olmamak üzere en yüksek polimer oranı kullanıldığında en düşük %EE elde edilmiştir ($p>0,05$). Tablo 4-6'da sonuçlar verilmiştir.

Deksametazon yüklü nanopartiküllere ait pH değerleri birbirlerine benzer şekilde 5,39-6,89 aralığında bulunmuştur. Sonuçlar literatürle uyumludur (Rençber et al., 2020).

Nanopartiküller Resomer 502H ve Resomer 503H'nin termal stabilitesinin oda sıcaklığında saklanmaya uygun olmaması sebebiyle buzdolabında bekletilerek stabilite çalışması yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 4-10, 4-11, 4-12'de verilmiştir. Sonuçlara göre; boş ve dolu formüllerde PDI değeri yüksek olan düşük polimer oranı ile hazırlanan 1, 2, 3, F1, F2, F3 formüllerinde partikül boyutunun çalışma sonuna doğru arttığı ($p>0,05$), 4, 5, 6, 7, 8, F4, F5, F6, F7, F8 formüllerde artış görülmediği bulunmuştur ($p>0,05$). Deksametazon yüklü nanopartiküllerin stabilitesinin daha yüksek olduğu sonucuna

varılmıştır. Çalışma başlangıcındaki ve sonundaki %EE değerleri incelenmiş düşük oranlı ve en yüksek oranlı polimer ile hazırlanan formüllerde süre sonunda hafif düşme görülmüştür ($p>0,05$). Düşük oranlı polimer ile hazırlanan formüllerde bekleme süresi boyunca formüllerden etkin madde sızması gerçekleşmiş olabilir.

Deksametazon yüklü 9 formülün in vitro salım çalışması yapılmıştır. Tablo 4-13, 4-14, 4-15'teki verilere göre tüm formüllerde çift fazlı salım gözlenmiştir. Sonuçlar literatür ile uyumludur (Ali et al., 2013; Lorscheider et al., 2019). Yüzde kümülatif salımın F1, F2, F3 formüllerinde 96 saatte yaklaşık %45 olduğu, 264. saatte ise %75 olduğu bulunmuştur. F4, F5, F6 formüllerinde 96. saatte %55, 264. saatte %86 iken F7, F8, F9 formüllerinde 96. saatte %40, 264. saatte %72 bulunmuştur. Gruplar kıyaslandığında ise tüm formüllerde kontrole göre anlamlı derecede uzatılmış salım profili elde edilmiştir ($p<0,05$). F1, F2, F3 formülleri, F4, F5, F6 formülleri, F7, F8, F9 formülleri kendi aralarında kıyaslandığında kümülatif salım değerleri anlamlı derecede değişmemiştir ($p>0,05$) (Gasmi et al., 2016; Jaraswekin et al., 2007). Farklı tip polimerlerden aynı polimer oranlı hazırlanan F1, F4, F7 formülleri, F2, F5, F8 formülleri, F3, F6, F9 formülleri kıyaslandığında yüzde kümülatif salım hızının polimer molekül ağırlığı arttıkça düştüğü bulunmuştur ($p<0,05$). Partiküllerin in vitro salım kinetiklerini belirlemek için hesaplamalar yapılmıştır. Tablo 4-27, 4-28, 4-29'da sonuçlar verilmiştir. Sonuçlara göre in vitro salım profilinin Higuchi kinetiğine uyduğu görülmüştür.

4, 5, 6, F3, F4, F5, F6 formüllerinin SEM görüntüleri incelendi. Elde edilen görüntülerde partikül boyutu ölçümlerinden elde edilen verilere benzer şekilde yaklaşık 100 nm boyutunda partiküller gözlendi. Yüksek oranlı polimer ile hazırlanan formüllerde partikül şekilleri küresele daha yakın iken düşük oranlı polimer ile hazırlanan partiküllerde partikül şekli düzensizdir.

Partikül boyutu, zeta potansiyeli, salım profili verileri göz bulundurularak F4, F5, F6 formülleri seçilerek ex vivo iyontoforetik geçiş çalışmaları yapıldı. Tablo 4-16, 4-17, 4-18'de veriler sunulmuştur. 60 dakika deney süresince yüzde difüzyon değerleri kontrole göre anlamlı derece yüksek bulundu ($p<0,05$). Fakat yüzde difüzyonun taşıyıcı tipinden bağımsız olduğu ($p>0,05$) ve uygulanan akım şiddeti ile artmadığı tespit edildi ($p<0,05$). Literatürle uyumlu sonuçlar elde edildi (Chopra et al., 2012). Deneyler sonucu anlamlı olmasa da daha fazla geçiş gösteren F5 formülü ile çalışmaya devam

edildi. Akım değeri olarak yine anlamlı olmasa da daha fazla artış sağlayan 4 mA tercih edildi. Daha yüksek akımdan olası toksisite riskinden dolayı kaçınıldı.

1 mg ve 2 mg Deksametazon içeren F5 formülü ile yapılan çalışma sonucunda konsantrasyon artışının geçişi azalttığı bulundu ($p<0,05$). Düşüşün sebebi sklera gözeneklerinin partiküllere doymuş olması olabilir.

İn vivo uygulama koşullarında formülün göz yüzeyine uygulanacağı dolayısıyla ilk karşılaşacağı bariyerin konjonktiva olduğu düşünülürek F5 formülünün sklera ve sklera+konjonktiva dokusundan iyontoforetik geçişi karşılaştırıldı. Geçiş sklera'dan % 77 iken, s+k'da % 49'a gerilediği bulundu. s+k dokusundan geçişin sklera dokusuna uygulama sonucu elde edilen geçişten anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). Konjonktivanın iyontoforetik geçiş için önemli bir bariyer olduğu, geçişi daha fazla arttırmak için konjonktival bariyeri aşmak gerektiği sonucuna varıldı. Bu amaçla farklı oranda kimyasal penetrasyon arttırıcılar sisteme dahil edilerek devam çalışmaları yapıldı.

Ucuz ve güvenli oldukları için EDTA, Tween 80 ve limonen penetrasyon arttırıcıları seçildi. Tablo 4-21, 4-22, 4-23'te sonuçlar verilmiştir. Uygulanan tüm penetrasyon arttırıcılar, tüm konsantrasyonlarda geçişi, F5'in iyontoforetik geçişine göre anlamlı derecede arttırdı ($p<0,05$). Limonen uygulaması haricinde doza bağımlı artış davranışı gözlendi.

Penetrasyon arttırıcıların ikili kombinasyonlarının geçişe etkisi araştırıldı. EDTA ile beraber kullanıldığında Tween 80 ve limonenin karşılaştırılabilir sonuçlar verdiği bulundu ($p>0,05$).

Tablo 4-25 verilerine göre F5 ve kimyasal penetrasyon arttırıcıların pasif geçişi F5'in iyontoforetik geçişi ile kıyaslandığında limonen ve Tween 80 uygulamasının pasif geçiş sonuçları ile F5'in iyontoforetik geçiş sonuçlarının karşılaştırılabilir olduğu bulundu ($p>0,05$). EDTA uygulanması ile elde edilen pasif geçişin tüm gruplardan anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$).

En son olarak F5'in iyontoforetik, F5 ve PEC'in pasif, F5 ve PEC'in iyontoforetik sonuçları incelendiğinde ise, sisteme PEC ilavesinin geçişi iki kata yakın arttırdığı görülmüştür ($p<0,05$).

PLGA nanopartiküllerinin deksametazonun uzatılmış salımını sağladığı bulunmuştur. İstenilen partikül boyutu, zeta potansiyel ve salım profilinde taşıyıcı elde etmek için başlangıç parametrelerinin seçimi önemlidir.

PLGA naopartiküllerinin iyontoforez ile uygulanması transskleral geçişi arttırmaktadır. Artış uygulanan akım şiddetinden ve taşıyıcı tipinden bağımsızdır. İyontoforetik geçişte konjonktiva önemli bir bariyerdir.

Kimyasal penetrasyon arttırıcıların konjonktiva bariyerini zayıflatmak için kullanılabileceği, iyontoforetik geçişi olumlu yönde etkileyebileceği, kombine kullanımının iyontoforetik geçişi önemli ölçüde arttırabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abla, K. K., & Mehanna, M. M. (2023). Lipid-based nanocarriers challenging the ocular biological barriers: Current paradigm and future perspectives. *Journal of Controlled Release*, *362*(March), 70–96. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.08.018

AlAani, H., & Alnukkary, Y. (2016). Stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of chloramphenicol, dexamethasone sodium phosphate and tetrahydrozoline hydrochloride in ophthalmic solution. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, *6*(1), 137–141. https://doi.org/10.15171/apb.2016.020

Ali, H., Kalashnikova, I., White, M. A., Sherman, M., & Rytting, E. (2013). Preparation, characterization,and transport of dexamethasone-loaded polymeric nanoparticles across a human placental in vitro model. *International Journal of Pharmaceutics*, *454*(1), 149–157. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.07.010

Alshaikh, R. A., Waeber, C., & Ryan, K. B. (2022). Polymer based sustained drug delivery to the ocular posterior segment: barriers and future opportunities for the treatment of neovascular pathologies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *187*, 114342. https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114342

Bengani, L. C., Kobashi, H., Ross, A. E., Zhai, H., Salvador-Culla, B., Tulsan, R., Kolovou, P. E., Mittal, S. K., Chauhan, S. K., Kohane, D. S., & Ciolino, J. B. (2020). Steroid-eluting contact lenses for corneal and intraocular inflammation. *Acta Biomaterialia*, *116*, 149–161. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.08.013

Bode, C., Kranz, H., Siepmann, F., & Siepmann, J. (2018). In-situ forming PLGA implants for intraocular dexamethasone delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, *548*(1), 337–348. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.013

Campos, P. M., Petrilli, R., & Lopez, R. F. V. (2020). The prominence of the dosage form design to treat ocular diseases. *International Journal of Pharmaceutics*, *586*(June), 119577. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119577

Chen, Y., & Kalia, Y. N. (2018). Short-duration ocular iontophoresis of ionizable aciclovir prodrugs: A new approach to treat herpes simplex infections in the anterior and posterior segments of the eye. *International Journal of Pharmaceutics*, *536*(1), 292–300. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.11.069

Cholkar, K., Hariharan, S., Gunda, S., & Mitra, A. K. (2014). Optimization of

Dexamethasone Mixed Nanomicellar Formulation. *Ageing International*, *15*(6), 1454–1467. https://doi.org/10.1208/s12249-014-0159-y

Chopra, P., Hao, J., & Li, S. K. (2010). Iontophoretic transport of charged macromolecules across human sclera. *International Journal of Pharmaceutics*, *388*(1–2), 107–113. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.12.046

Chopra, P., Hao, J., & Li, S. K. (2012). Sustained release micellar carrier systems for iontophoretic transport of dexamethasone across human sclera. *Journal of Controlled Release*, *160*(1), 96–104. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.01.032

Eljarrat-Binstock, E., & Domb, A. J. (2006). Iontophoresis: A non-invasive ocular drug delivery. *Journal of Controlled Release*, *110*(3), 479–489. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.09.049

Eljarrat-Binstock, E., Orucov, F., Aldouby, Y., Frucht-Pery, J., & Domb, A. J. (2008). Charged nanoparticles delivery to the eye using hydrogel iontophoresis. *Journal of Controlled Release*, *126*(2), 156–161. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.11.016

Eljarrat-Binstock, E., Raiskup, F., Frucht-Pery, J., & Domb, A. J. (2004). Hydrogel probe for iontophoresis drug delivery to the eye. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, *15*(4), 397–413. https://doi.org/10.1163/156856204323005271

Faria, M. J., González-Méijome, J. M., Real Oliveira, M. E. C. D., Carracedo, G., & Lúcio, M. (2024). Recent advances and strategies for nanocarrier-mediated topical therapy and theranostic for posterior eye disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *210*(April). https://doi.org/10.1016/j.addr.2024.115321

Gasmi, H., Siepmann, F., Hamoudi, M. C., Danede, F., Verin, J., Willart, J. F., & Siepmann, J. (2016). Towards a better understanding of the different release phases from PLGA microparticles: Dexamethasone-loaded systems. *International Journal of Pharmaceutics*, *514*(1), 189–199. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.08.032

Ghezzi, M., Ferraboschi, I., Fantini, A., Pescina, S., Padula, C., Santi, P., Sissa, C., & Nicoli, S. (2023). Hyaluronic acid – PVA films for the simultaneous delivery of dexamethasone and levofloxacin to ocular tissues. *International Journal of Pharmaceutics*, *638*(March), 122911. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122911

Gómez-Gaete, C., Tsapis, N., Besnard, M., Bochot, A., & Fattal, E. (2007). Encapsulation of dexamethasone into biodegradable polymeric nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, *331*(2), 153–159.

https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.11.028

Gratieri, T., Santer, V., & Kalia, Y. N. (2017). Basic principles and current status of transcorneal and transscleral iontophoresis. *Expert Opinion on Drug Delivery*, *14*(9), 1091–1102. https://doi.org/10.1080/17425247.2017.1266334

Güngör, S., Delgado-Charro, M. B., Ruiz-Perez, B., Schubert, W., Isom, P., Moslemy, P., Patane, M. A., & Guy, R. H. (2010). Trans-scleral iontophoretic delivery of low molecular weight therapeutics. *Journal of Controlled Release*, *147*(2), 225–231. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.07.107

Heredia, N. S., Vizuete, K., Flores-Calero, M., Katherine Pazmiño, V., Pilaquinga, F., Kumar, B., & Debut, A. (2022). Comparative statistical analysis of the release kinetics models for nanoprecipitated drug delivery systems based on poly(lactic-co-glycolic acid). *PLoS ONE*, *17*(3 March), 1–28. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264825

Hixson, A. W., & Crowell, J. H. (1931). Dependence of Reaction Velocity upon Surface and Agitation: III—Experimental Procedure in Study of Agitation. *Industrial and Engineering Chemistry*, *23*(10), 1160–1168. https://doi.org/10.1021/ie50262a025

Huang, D., Chen, Y. S., & Rupenthal, I. D. (2018). Overcoming ocular drug delivery barriers through the use of physical forces. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *126*, 96–112. https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.008

Imperiale, J. C., Acosta, G. B., & Sosnik, A. (2018). Polymer-based carriers for ophthalmic drug delivery. *Journal of Controlled Release*, *285*(June), 106–141. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.06.031

Iyer, S., Radwan, A. E., Hafezi-Moghadam, A., Malyala, P., & Amiji, M. (2019). Long-acting intraocular Delivery strategies for biological therapy of age-related macular degeneration. *Journal of Controlled Release*, *296*(October 2018), 140–149. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.01.007

Janagam, D. R., Wu, L., & Lowe, T. L. (2017). Nanoparticles for drug delivery to the anterior segment of the eye. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *122*, 31–64. https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.04.001

Jaraswekin, S., Prakongpan, S., & Bodmeier, R. (2007). Effect of poly(lactide-co-glycolide) molecular weight on the release of dexamethasone sodium phosphate from microparticles. *Journal of Microencapsulation*, *24*(2), 117–128. https://doi.org/10.1080/02652040701233655

Kalia, Y. N., Naik, A., Garrison, J., & Guy, R. H. (2004). Iontophoretic drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *56*(5), 619–658. https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.026

Kaur, I. P., & Kakkar, S. (2014). Nanotherapy for posterior eye diseases. *Journal of Controlled Release*, *193*, 100–112. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.05.031

Kim, S. N., Min, C. H., Kim, Y. K., Ha, A., Park, C. G., Lee, S. H., Park, K. H., & Choy, Y. Bin. (2022). Iontophoretic ocular delivery of latanoprost-loaded nanoparticles via skin-attached electrodes. *Acta Biomaterialia*, *144*, 32–41. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.03.015

Koizumi, T., Ueda, M., Kakemi, M., & Kameda, H. (1975). Rate of Release of Medicaments from Ointment Bases Containing Drugs in Suspension. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *23*(12), 3288–3292. https://doi.org/10.1248/cpb.23.3288

Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., & Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, *15*(1), 25–35. https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90064-9

Li, S. K., & Hao, J. (2018). Transscleral passive and iontophoretic transport: theory and analysis. *Expert Opinion on Drug Delivery*, *15*(3), 283–299. https://doi.org/10.1080/17425247.2018.1406918

Lorscheider, M., Tsapis, N., ur-Rehman, M., Gaudin, F., Stolfa, I., Abreu, S., Mura, S., Chaminade, P., Espeli, M., & Fattal, E. (2019). Dexamethasone palmitate nanoparticles: An efficient treatment for rheumatoid arthritis. *Journal of Controlled Release*, *296*(August 2018), 179–189. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.01.015

Mandal, A., Pal, D., Agrahari, V., Trinh, H. M., Joseph, M., & Mitra, A. K. (2018). Ocular delivery of proteins and peptides: Challenges and novel formulation approaches. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *126*, 67–95. https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.01.008

Maulvi, F. A., Shetty, K. H., Desai, D. T., Shah, D. O., & Willcox, M. D. P. (2021). Recent advances in ophthalmic preparations: Ocular barriers, dosage forms and routes of administration. *International Journal of Pharmaceutics*, *608*(August), 121105. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121105

Mo, Z., Ban, J., Zhang, Y., Du, Y., Wen, Y., Huang, X., Xie, Q., Shen, L., Zhang, S., Deng, H., Hou, D., Chen, Y., & Lu, Z. (2018). Nanostructured lipid carriers-based thermosensitive eye drops for enhanced, sustained delivery of dexamethasone. *Nanomedicine*, *13*(11), 1239–1253. https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0318

Mohammadi-Samani, S., & Taghipour, B. (2015). PLGA micro and nanoparticles in delivery of peptides and proteins; Problems and approaches. *Pharmaceutical Development and Technology*, *20*(4), 385–393. https://doi.org/10.3109/10837450.2014.882940

Molavi, F., Barzegar-Jalali, M., & Hamishehkar, H. (2020). Polyester based polymeric nano and microparticles for pharmaceutical purposes: A review on formulation approaches. *Journal of Controlled Release*, *320*(January), 265–282. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.028

Molokhia, S. A., Jeong, E. K., Higuchi, W. I., & Li, S. K. (2007). Examination of penetration routes and distribution of ionic permeants during and after transscleral iontophoresis with magnetic resonance imaging. *International Journal of Pharmaceutics*, *335*(1–2), 46–53. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.11.001

Monti, D., Saccomani, L., Chetoni, P., Burgalassi, S., & Saettone, M. F. (2003). Effect of iontophoresis on transcorneal permeation “in vitro” of two β-blocking agents, and on corneal hydration. *International Journal of Pharmaceutics*, *250*(2), 423–429. https://doi.org/10.1016/S0378-5173(02)00557-4

Pescina, S., Martini, D., Santi, P., Padula, C., Murtomäki, L., & Nicoli, S. (2013). In vitro trans-scleral iontophoresis of methylprednisolone hemisuccinate with short application time and high drug concentration. *International Journal of Pharmaceutics*, *451*(1–2), 12–17. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.066

Pescina, Silvia, Antopolsky, M., Santi, P., Nicoli, S., & Murtomäki, L. (2013). Effect of iontophoresis on the in vitro trans-scleral transport of three single stranded oligonucleotides. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *49*(2), 142–147. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.02.010

Pescina, Silvia, Ferrari, G., Govoni, P., MacAluso, C., Padula, C., Santi, P., & Nicoli, S. (2010). In-vitro permeation of bevacizumab through human sclera: Effect of iontophoresis application. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *62*(9), 1189–1194. https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01153.x

Pescina, Silvia, Padula, C., Santi, P., & Nicoli, S. (2011). Effect of formulation factors

on the trans-scleral iontophoretic and post-iontophoretic transports of a 40 kDa dextran in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *42*(5), 503–508. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2011.02.008

Peynshaert, K., Devoldere, J., De Smedt, S. C., & Remaut, K. (2018). In vitro and ex vivo models to study drug delivery barriers in the posterior segment of the eye. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *126*, 44–57. https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.007

Pourtalebi Jahromi, L., Ghazali, M., Ashrafi, H., & Azadi, A. (2020). A comparison of models for the analysis of the kinetics of drug release from PLGA-based nanoparticles. *Heliyon*, *6*(2). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03451

Qi, Q., Wei, Y., Zhang, X., Guan, J., & Mao, S. (2023). Challenges and strategies for ocular posterior diseases therapy via non-invasive advanced drug delivery. *Journal of Controlled Release*, *361*(April), 191–211. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.07.055

Rençber, S., Aydın Köse, F., & Karavana, S. Y. (2020). Dexamethasone loaded PLGA nanoparticles for potential local treatment of oral precancerous lesions. In *Pharmaceutical Development and Technology* (Vol. 25, Issue 2, pp. 149–158). https://doi.org/10.1080/10837450.2019.1673407

Romero, G. B., Keck, C. M., Müller, R. H., & Bou-Chacra, N. A. (2016). Development of cationic nanocrystals for ocular delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *107*, 215–222. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.07.005

Sharma, A. K., Arya, A., Sahoo, P. K., & Majumdar, D. K. (2016). Overview of biopolymers as carriers of antiphlogistic agents for treatment of diverse ocular inflammations. *Materials Science and Engineering C*, *67*, 779–791. https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.060

Shen, L., Fang, G., Tang, B., & Zhu, Q. (2021). Enhanced topical corticosteroids delivery to the eye: A trade-off in strategy choice. *Journal of Controlled Release*, *339*(June), 91–113. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.09.022

Silva, M., Peng, T., Zhao, X., Li, S., Farhan, M., & Zheng, W. (2021). Recent trends in drug-delivery systems for the treatment of diabetic retinopathy and associated fibrosis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *173*, 439–460. https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.04.007

Soiberman, U., Kambhampati, S. P., Wu, T., Mishra, M. K., Oh, Y., Sharma, R., Wang,

J., Al Towerki, A. E., Yiu, S., Stark, W. J., & Kannan, R. M. (2017). Subconjunctival injectable dendrimer-dexamethasone gel for the treatment of corneal inflammation. *Biomaterials*, *125*, 38–53. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.02.016

Souza, J. G., Dias, K., Pereira, T. A., Bernardi, D. S., & Lopez, R. F. V. (2014). Topical delivery of ocular therapeutics: Carrier systems and physical methods. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *66*(4), 507–530. https://doi.org/10.1111/jphp.12132

Souza, J. G., Dias, K., Silva, S. A. M., De Rezende, L. C. D., Rocha, E. M., Emery, F. S., & Lopez, R. F. V. (2015). Transcorneal iontophoresis of dendrimers: PAMAM corneal penetration and dexamethasone delivery. *Journal of Controlled Release*, *200*, 115–124. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.037

Srinivasarao, D. A., Lohiya, G., & Katti, D. S. (2019). Fundamentals, challenges, and nanomedicine-based solutions for ocular diseases. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, *11*(4), 1–26. https://doi.org/10.1002/wnan.1548

Szalai, B., Budai-Szűcs, M., Kovács, A., Berkó, S., Gróf, I., Deli, M. A., Katona, G., Balogh, G. T., & Jójárt-Laczkovich, O. (2024). The effect of mucoadhesive polymers on ocular permeation of thermoresponsive in situ gel containing dexamethasone–cyclodextrin complex. *International Journal of Pharmaceutics*, *667*(June). https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124848

Wang, C., & Pang, Y. (2023). Nano-based eye drop: Topical and noninvasive therapy for ocular diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *194*, 114721. https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114721

Wei, D., Pu, N., Li, S. Y., Wang, Y. G., & Tao, Y. (2023). Application of iontophoresis in ophthalmic practice: an innovative strategy to deliver drugs into the eye. *Drug Delivery*, *30*(1). https://doi.org/10.1080/10717544.2023.2165736

Wróblewska, K. B., Jadach, B., & Muszalska-Kolos, I. (2021). Progress in drug formulation design and delivery of medicinal substances used in ophthalmology. *International Journal of Pharmaceutics*, *607*. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121012

Xeroudaki, M., Rafat, M., Moustardas, P., Mukwaya, A., Tabe, S., Bellisario, M., Peebo, B., & Lagali, N. (2023). A double-crosslinked nanocellulose-reinforced dexamethasone-loaded collagen hydrogel for corneal application and sustained

anti-inflammatory activity. *Acta Biomaterialia*, *172*, 234–248. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.10.020

Xiang, Y., Qiu, Z., Ding, Y., Du, M., Gao, N., Cao, H., Zuo, H., Cheng, H., Gao, X., Zheng, S., Wan, W., Huang, X., & Hu, K. (2024). Dexamethasone-loaded ROS stimuli-responsive nanogels for topical ocular therapy of corneal neovascularization. *Journal of Controlled Release*, *372*(January), 874–884. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.07.012

Yang, C., Jiang, L., Bu, S., Zhang, L., Xie, X., Zeng, Q., Zhu, D., & Zheng, Y. (2013). Intravitreal administration of dexamethasone-loaded PLGA-TPGS nanoparticles for the treatment of posterior segment diseases. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, *9*(9), 1617–1623. https://doi.org/10.1166/jbn.2013.1646

Zhai, Z., Cheng, Y., & Hong, J. (2021). Nanomedicines for the treatment of glaucoma: Current status and future perspectives. *Acta Biomaterialia*, *125*, 41–56. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.02.017

Zhang, Li, Shen, W., Luan, J., Yang, D., Wei, G., Yu, L., Lu, W., & Ding, J. (2015). Sustained intravitreal delivery of dexamethasone using an injectable and biodegradable thermogel. *Acta Biomaterialia*, *23*, 271–281. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.05.005

Zhang, Linhua, Li, Y., Zhang, C., Wang, Y., & Song, C. (2009). Pharmacokinetics and tolerance study of intravitreal injection of dexamethasone-loaded nanoparticles in rabbits. *International Journal of Nanomedicine*, *4*, 175–183. https://doi.org/10.2147/ijn.s6428

HAM VERİLER

FORMLAR

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI