

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .



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

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

**( DOKTORA TEZİ )**

**ANTİFUNGAL İLAÇLARIN DERMAL UYGULAMALARININ  
YENİ KOLOİDAL İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER İLE  
OPTİMİZASYONU**

**MOAMMAL SH QURT**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. AHMET ARAMAN**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**



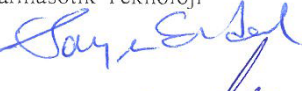
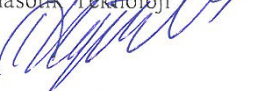

**İSTANBUL-2015**

**TEZ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Farmasötik Teknoloji Doktora Programında Moammal SH Qurt tarafından hazırlanan ANTİFUNGAL İLAÇLARIN DERMAL UYGULAMALARININ YENİ KOLOİDAL İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER İLE OPTİMİZASYONU başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

12 / 06 / 2015

## Tez Sınav Jürisi

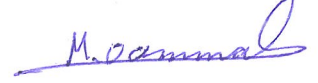
- | Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)  | İmzası  |
|---|---|
| 1.Prof. Dr. Yıldız Erginer (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı)   |    |
| 2.Doç. Dr. Sevgi Güngör (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı)      |  |
| 3.Yard. Doç. Dr. Sedef Erdal (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı) |  |
| 4.Doç. Dr. Timuçin Uğurlu (Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı)     |  |
| 5.Doç. Dr. Oya Kerimoğlu (Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı)      |  |

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla 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.

Moammal SH Qurt

(İmza)



## İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

## TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam boyunca tezimin yönetilmesi ve çalışmalarımın yönlendirilmesinde her zaman gösterdiği yakın ilgi, destek ve yardımları için bilimsel bakış açısıyla vizyonumu genişleten danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Ahmet Araman**'a ve hocam Sayın **Doç. Dr. Sevgi Güngör**'e;

Doktora öğrenimim boyunca gösterdiği samimiyet ve yardımlarından dolayı Sayın **Prof. Dr. Yıldız Özsoy-Erginer**'e; tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yardımlarını benden esirgemeyen Sayın **Yrd. Doç. Dr. M. Sedef Erdal**'a, Sayın **Yrd. Doç. Dr. Ayca Yıldız Peköz**'e, başta **Ecz. İmren Esentürk** olmak üzere Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalındaki araştırma görevlisi ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma;

Her zaman beni maddi ve manevi destekleyen ve tüm sabırlarıyla her an yanımda olan **AİLEME**, eşim **DEEMA**'ya teşekkür ederim.

(Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35777)

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xv
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	xix
ÖZET .....	xx
ABSTRACT.....	xxi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler .....	3
2.1.1. Derinin Yapısı ve Genel Özellikleri.....	3
Şekil 2-1: Derinin yapısı (Bronaugh ve Maibach 2005 p. 178).....	4
2.1.2. Derinin Tabakaları .....	4
2.1.2.1. Epidermis .....	4
Şekil 2-3: Hücreler arası bölgede bulunan lipitler (Moser ve ark. 2001) .....	6
2.1.2.2. Dermis .....	7
2.1.2.3. Hipodermis (Deri altı yağ dokusu).....	7
2.1.3. Deriden Geçiş.....	8
2.1.4. Deriden Geçiş Yolları .....	8
2.1.4.1. Hücreler Arası (intersellüler) Geçiş Yolu .....	8
2.1.4.2. Hücre içi (intraselüler) geçiş yolu .....	8
2.1.4.3. Yan geçit yolu.....	8
2.1.5. Etkin Maddenin Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler.....	9
2.1.5.1. Etkin maddeye ait fizikokimyasal faktörler .....	9

2.1.5.2. <i>Deriye ait Fizyolojik Faktörler</i> .....	10
2.2. Mantar Enfeksiyonları Hakkında Genel Bilgiler .....	12
2.2.1. Mantar Enfeksiyonları.....	12
2.2.2. Dermatolojik Mantar Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungal Etkin Maddeler.....	14
2.2.3. Yüzeysel Mantar Enfeksiyonların Tedavisinde Kullanılan konvensiyonel İlaçları .....	15
2.2.4. Antifungal İlaçların Sınıflandırması .....	18
2.2.4.1. <i>Polienler</i> .....	18
2.2.4.2. <i>Allilamin ve Benzilaminler</i> .....	18
2.2.4.3. <i>Hidroksipiridonlar</i> .....	18
2.2.4.4. <i>Morfolin türevleri</i> .....	18
2.2.5. Azoller.....	19
2.2.5.1. <i>Yeni Kuşak Azol Antifungal İlaçlar</i> .....	22
2.3. Topikal Yeni İlaç Taşıyıcılar .....	26
2.4. Vorikonazol Hakkında Genel Bilgiler .....	29
2.4.1. Vorikonazol'un Özellikleri .....	29
2.4.2. Vorikonazol'un Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri .....	30
2.4.3. Farmakodinamik Özellikleri .....	30
2.4.3.1. Vorikonazolün Etki Mekanizması.....	30
2.4.3.2. Vorikonazol'un Endikasyonları .....	31
2.4.3.3. Vorikonazol'un Kullanım Dozu.....	32
2.4.3.4. Vorikonazol'un Yan Etkileri.....	32
2.4.3.5. Farmakokinetik Özellikleri .....	32
2.5. Sertakonazol Hakkında genel bilgiler .....	33
2.5.1. Sertakonazolün Özellikleri.....	33
2.5.2. Sertakonazolün Yapısı ve Özellikleri .....	33
2.5.3. Sertakonazolün Farmakodinamik Özellikleri .....	34
2.5.3.1. <i>Sertakonazol'un Etki Mekanizması</i> .....	34



2.5.3.2. Sertakonazol'un Endikasyonları .....	34
2.5.3.3. Sertakonazol'un Kullanım Dozu .....	35
2.5.3.4. Sertakonazol'un Farmakokinetik Özellikleri .....	35
2.6. Mikroemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler .....	36
2.6.1. Mikroemülsiyon Tanım ve Özellikleri.....	36
2.6.2. Mikroemülsiyonların Formülasyonu.....	36
2.6.2.1. Yağ Fazı .....	37
2.6.2.2. Sürfaktanlar .....	39
2.6.2.3. Kosürfaktanlar .....	41
2.6.2.4. Sulu Faz.....	43
2.6.2.5. Etkin Madde .....	43
2.6.2.6. Sıcaklık ve pH etkisi .....	43
2.6.3. Mikroemülsiyon Fizikokimyasal Özelliklerin İncelenmesi .....	44
2.6.4. Mikroemülsiyonların Avantajları.....	44
2.6.5. Mikroemülsiyonların Dezavantajları .....	46
2.6.6. Mikroemülsiyonların Topikal/Transdermal olarak Uygulanması.....	46
2.7. ATR-FTIR spektroskopisi .....	46
2.6. Bant ile Soyma ( <i>Tape Stripping</i> ) Yöntemi .....	47
2.7.1. Bant ile Soyma Yönteminin Prensipleri.....	48
2.7.2. Bant ile Soyma Yöntemini Etkileyen Faktörler .....	48
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
3.1. GEREÇLER.....	49
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	49
3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler.....	49
3.1.2.1. Kullanılan Aletler.....	49
3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler.....	50
3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları .....	51
3.2. YÖNTEM .....	51
3.2.1. Vorikonazol Infrared (IR) Spektrumu.....	51

3.2.2. Sertakonazol Infrared (IR) Spektrumu.....	51
3.2.3. Vorikonazol'un HPLC Analizi ve Validasyonu .....	51
3.2.4. Vorikonazol analiz yönteminin validasyonu.....	52
3.2.4.1. Doğrusallık.....	52
3.2.4.2. Kesinlik .....	53
3.2.4.3. Tespit Limiti ve Miktar Tayini Limit.....	53
3.2.5. Sertakonazol için HPLC Analizi Yöntemi Geliştirilmesi ve Validasyonu .....	53
3.2.5.1. Sertakonazol Analiz Yönteminin Validasyonu .....	54
3.2.5.2. Doğrusallık.....	54
3.2.5.3. Kesinlik .....	55
3.2.5.4. Tespit Limiti ve Miktar Tayini Limit.....	55
3.2.6. Vorikonazol (eklenecek) Çözünürlük Çalışmaları.....	55
3.2.7. Ön Formülasyon Çalışmaları .....	56
3.2.8. Mikroemülsiyonların Hazırlanması .....	57
3.2.8.1. Mikroemülsiyonların Oluşumu ile İlgili Görsel Değerlendirme.....	58
3.2.9. Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi.....	59
3.2.10. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçimi .....	59
3.2.11. Seçilen Formülasyonlarının Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	61
3.2.11.1. Refraktif İndeks Değerlendirmesi .....	61
3.2.11.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksinin Değerlendirilmesi .....	61
3.2.11.3. pH ve İletkenlik İncelenmesi .....	61
3.2.11.4. Optik İzotropinin Değerlendirmesi .....	62
3.2.11.5. Stabilitenin Değerlendirmesi.....	62
3.2.12. Mikroemülsiyon Formülasyonlarından Vorikonazol'un <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları .....	63
3.2.13. Mikroemülsiyonlardan Sertakonazolün <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları .....	63
3.2.14. Vorikonazol ve Sertakonazolün <i>In vitro</i> Koşullarda Deriye Penetrasyonlarının Bant Soyma Yöntemi ile İncelenmesi.....	64

3.2.15. ATR-FTIR Spektroskopisi ile Mikroemülsiyon Bileşenlerinin Deri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi .....	66
3.2.16. İstatistiksel Analiz.....	67
4. BULGULAR.....	68
4.1. Vorikonazol Infrared (IR) Spektrumu .....	68
4.2. Sertakonazol Infrared (IR) Spektrumu.....	68
4.3. Vorikonazol Analiz Yönteminin Validasyonuna ait Bulgular.....	69
4.3.1. Doğrusallık.....	69
4.3.2. Kesinlik .....	71
4.3.3. Teşhis Limiti (TL) ve Miktar Tayini Limiti (MTL) .....	71
4.4. Sertkonazolün Analiz Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular.....	72
4.4.1. Doğrusallık.....	72
4.4.2. Kesinlik .....	73
4.5. Vorikonazol'ün Çözünürlük Sonuçları .....	74
4.6. Ön Formülasyon Çalışmaları .....	74
4.7. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diagramlarının Oluşturulması.....	75
4.7.1. Oleik asit, Tween 80, Transcutol ve Su İçeren Mikroemülsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına ait Bulgular.....	75
4.7.2. Oleik asit, Tween 80, Etanol ve Su İçeren Mikroemülsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına Ait Bulgular .....	77
4.7.3. İsopropil Miristat, Tween 80, Transcutol İçeren Mikroemülsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına ait Bulgular.....	79
4.7.4. İzopropil Mirisat, Tween80, Propilen Glikol İçeren Mikroemülsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına ait Bulgular .....	80
4.7.5. Oleik asit, Tween 80, PEG400 ve Su İçeren Mikroemülsiyon Sistemleri .....	85
4.8. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçimi .....	85
4.9. Mikroemülsiyonlara İlaç Yüklenmesi.....	85
4.10. Seçilen Mikroemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar .....	86
4.10.1. pH ve İletkenlik Değerlendirilmesi.....	87

4.11. Refraktif İndeks Bulguları .....	88
4.12. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksinin Değerlendirilmesi .....	89
4.13. Optik İzotropinin Değerlendirilmesi .....	91
4.14. Stabilitenin Değerlendirilmesi .....	91
4.15. Mikroemülsiyon Formülasyonlarından Vorikonazol <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları	94
4.16. Sertakonazol Çözünürlük Bulguları.....	100
4.17. Mikroemülsiyon Formülasyonlarından Sertakonazol <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları .....	101
4.18. EF ve DS Kodlu Formülasyonlardan Deriye Penetrasyonlarının <i>In vitro</i> Koşullarda İncelenmesi.....	108
4.19. ATR-FTIR Spektroskopisi ile Mikroemülsiyon Bileşenlerinin Deri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi .....	111
5. TARTIŞMA .....	115
KAYNAKLAR .....	128
HAM VERİLER .....	137
FORMLAR .....	138
ETİK KURUL KARARI .....	139
PATENT HAKKI İZİNİ .....	140
TELİF HAKKI İZİNİ.....	141
ÖZGEÇMİŞ .....	142

## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Yüzeysel mantar enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ve piyasada bulunan ilaçlar .....	16
Tablo 2-2: Antifungal İlaçların Sınıflandırması, Etki Mekanizmaları ve Aktivite Listesi .....	19
Tablo 2-3: Birinci ve ikinci kuşak triazollerin farmakokinetik özellikleri (Corrado G. 2009) .....	24
Tablo 2-4: Antifungal ilaçların dermal uygulanmasına yönelik yeni ilaç taşıyıcı sistemleri .....	26
Tablo 2-5: Mikroemülsiyon formülasyonlarında sık kullanılan yağlar ve uygulanma yolları .....	38
Tablo 2-6: Mikroemülsiyonlarda sık kullanılan sürfaktanlar listesi ve uygulama yolları .....	39
Tablo 2-7: Mikroemülsiyonlarda kullanılan Yardımcı Yüzey Etkin Madde .....	42
Tablo 3-1: Mikroemülsiyonların ön formülasyon çalışmalarında kullanılan yağ, sürfaktan ve kosürfaktanlar .....	56
Tablo 3-2: Yağ ve sürfaktan/ko-sürfaktan karışımın miktarları ve oranları .....	58
Tablo 3-3: Mikroemülsiyon oluşum formu .....	60
Tablo 3-4: %1 vorikonazol içeren mikroemülsiyon formülasyonlar .....	63
Tablo 3-5: %1 Sertakonazol içeren mikroemülsiyon formülasyonlar .....	64
Tablo 3-6. Konvansiyonel Vorikonazol formülasyonu bileşenleri .....	66
Tablo 4-1: Vorikonazol analiz sonuçları .....	70
Tablo 4-2: Vorikonazol'un miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları (n=3) .....	71
Tablo 4-3: Vorikonazolun miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulguları n=3 .....	71
Tablo 4-4: Sertakonazolün 'un miktar tayini yönteminin doğrusallık bulguları (n=3) .....	73
Tablo 4-5: Sertakonazol'ün günler arası kesinlik bulguları ( n=3) .....	74
Tablo 4-6: Sertakonazol Günler içi kesinlik bulguları ( n=3) .....	74
Tablo 4-7: Mikroemülsiyonların değişik bileşenlerinin içinde vorikonazolün çözünürlük miktarları .....	74
Tablo 4-8: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların kodları ve bileşenlerinin oranları .....	86

Tablo 4-9: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların pH ve iletkenlik değerleri (n=3).....	87
Tablo 4-10: Seçilmiş mikroemülsiyonlara ait refraktif indeks değerleri.....	89
Tablo 4-11: Boş ve etkin madde yüklü partikül boyutu ve dağılımına ait sonuçlar değerleri (n=3) .....	90
Tablo 4-12: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların fiziksel stabilite testlerinin ardından damlacık boyutu ve dağılımına ait sonuçlar (n=3). .....	92
Tablo 4-13: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların (yeni hazırlanmış ve 15 gün sonunda) damlacık boyutu ve dağılımına ait sonuçlar değerleri (n=3) .....	93
Tablo 4-14: CF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	94
Tablo 4-15: DF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	95
Tablo 4-16: EF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	96
Tablo 4-17: GF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	97
Tablo 4-18: HF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	98
Tablo 4-19: Vorikonazol'un salım hızı karşılaştırması (Higuchi ve Fick's) .....	100
Tablo 4-20: Sertakonazol'un salım hızı karşılaştırması (Higuchi ve Fick's) .....	100
Tablo 4-21: Sertakonazol çözünürlük tayinine ait sonuçlar .....	101
Tablo 4-22: BS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	101
Tablo 4-23: CS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	102
Tablo 4-24: DS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	103
Tablo 4-25: ES kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif Sertakonazol miktarları.....	104
Tablo 4-26: GS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif Sertakonazol miktarları.....	105

Tablo 4-27: HS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	106
Tablo 4-28: DS kodlu Sertakonazol içeren mikroemülsiyon fomülasyonu ile gerçekleştirilen <i>in vitro</i> penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3).....	108
Tablo 4-29: Sertakonazol ticari preparatı (Zalain) ile gerçekleştirilen <i>in vitro</i> penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3).....	108
Tablo 4-30: EF kodlu Vorikonazol içeren mikroemülsiyon fomülasyonu ile gerçekleştirilen <i>in vitro</i> penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3).....	109
Tablo 4-31: Kontrol fomülasyonu ile gerçekleştirilen <i>in vitro</i> penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3).....	110
Tablo 4-32: ATR-FTIR Analiz Sonuçları.....	112

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin yapısı .....	4
Şekil 2-2: <i>Stratum korneum</i> hücrelerinin morfolojik değişimi .....	5
Şekil 2-3: Hücreler arası bölgede bulunan lipitler .....	6
Şekil 2-4: Deri yapısı ve fonksiyonlarının özeti .....	7
Şekil 2-5: Penetrasyon artırıcıları ile lipit bozunması. ....	11
Şekil 2-6: Vorikonazolün Yapısı $C_{16}H_{14}F_3N_5O$ .....	30
Şekil 2-7: Sertakonazol Nitrat Yapısı ( $C_{20}H_{15}C_{13}N_2OS$ ) .....	33
Şekil 2-8: Mikroemülsiyonların Yapısı .....	37
Şekil 3-1: Her mikroemülsiyon sistemle ilgili taranan alanı gösteren üçlü faz diyagramı .....	57
Şekil 3-2: Mikroemülsiyon kontrol Şekli a) mikroemülsiyon b) bulanık c) faz ayrımı .	59
Şekil 4-1: Vorikonazol'ün IR Spektrumu .....	68
Şekil 4-2: Sertakonazolün IR spektrumu. ....	69
Şekil 4-3: Vorikonazol ait HPLC Kromatogramı .....	70
Şekil: 4-4: Vorikonazol'un standart eğrisine ait grafik .....	70
Şekil 4-5: Sertakonazol ait HPLC Kromatogramı .....	72
Şekil 4-6: Sertakonazol standart eğrisine ait grafik .....	73
Şekil 4-7: Oleik Asit, Tween 80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:1). ....	75
Şekil 4-8: Oleik Asit, Tween 80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 2:1). ....	76
Şekil 4-9: Oleik Asit, Tween80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:2). ....	76
Şekil 4-10: Oleic Asit, Tween80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:3) .....	77
Şekil 4-11: Oleik asit, Tween80, Etanol, Su içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:1). ....	78
Şekil 4-12: Oleik asit, Tween80, Etanol, Su içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:2). ....	78
Şekil 4-13: Oleik asit, Tween80, Etanol, Su içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 2:1). ....	79



Şekil 4-14: İzopropil miristat, Tween80, Transcutol, Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:2). .....	79
Şekil 4-15: İzopropil miristat, Tween80, Transcutol, Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:1). .....	80
Şekil 4-16: İzopropil miristat, Tween80, Transcutol, Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 2:1). .....	80
Şekil 4-17: İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol Su ve içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 5:1). .....	81
Şekil 4-18: İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:4). .....	81
Şekil 4-19: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:1). .....	82
Şekil 4-20: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:4). .....	82
Şekil 4-21: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:2). .....	83
Şekil 4-22: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 2:1). .....	83
Şekil 4-23: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:3). .....	84
Şekil 4-24: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 3:1). .....	84
Şekil 4-25: Oleik asit, Tween 80, Polietilen Glikol 400 ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramı (sümfaktan:kosümfaktan oranı; 1:1).....	85
Şekil 4-26: Formülasyon G'nin İletkenliği.....	88
Şekil 4-27: Formülasyon GF'nin İletkenliği.....	88
Şekil 4-28: Formülasyon SG'nin İletkenliği.....	88
Şekil 4-29: CF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	95
Şekil 4-30: DF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	96
Şekil 4-31: EF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	97

Şekil 4-32: GF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	98
Şekil 4-33: HF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları.....	99
Şekil 4-34: Vorikonazol'un mikroemülsiyonlarından salım profili .....	99
Şekil 4-35: BS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	102
Şekil 4-36: CS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	103
Şekil 4-37: DS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	104
Şekil 4-38: ES kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	105
Şekil 4-39: GS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	106
Şekil 4-40: HS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları .....	107
Şekil 4-41: Sertakonazol'un mikroemülsiyonlarından salım profilleri .....	107
Şekil 4-42: Sertakonazol'ün mikroemülsiyon ve kontrol formülasyonu ile <i>in vitro</i> domuz derisinden penetrasyonuna ait karşılaştırmalı grafik .....	109
Şekil 4-43: Vorikonazol'ün mikroemülsiyon ve kontrol formülasyonu ile <i>in vitro</i> domuz derisinden penetrasyonuna ait karşılaştırmalı grafik .....	110
Şekil 4-44: Vorikonazol ve Seratakonazol'ün mikroemülsiyon ve kontrol formülasyonu ile <i>in vitro</i> domuz derisinden penetrasyonuna ait karşılaştırmalı grafik.....	111
Şekil 4-45: Vorikonazol yüklü mikroemülsiyon formülasyonunun (EF) uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu.....	112
Şekil 4-46: Sertakonazol yüklü mikroemülsiyon formülasyonunun (DS) uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu.....	113
Şekil 4-47: Vorikonazol Konvansiyonel formülasyonlarının uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu .....	113
Şekil 4-48: Sertakonazol Konvansiyonel (Zalain) formülasyonunun uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu.....	114

Şekil 4-49: Kontrol deriye ait (formülasyon uygulaması yapılmamış olan) ATR-FTIR spektrumu..... 114

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

ATR-FTIR: Hafifletilmiş Toplam Yansıtma-Fourier Dönüşümlü Infrared (Attenued Total Reflectance-Fourier Transformer Infrared)

a/a: Ağırlık/Ağırlık

CoS: Kosürfaktan

DLS: Dinamik Işık Saçılımı (Dynamic Light Scattering)

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (Food and Drug Administration)

HLB: Hidrofilik Lipofilik Denge

HPLC: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

h/h: Hacim/Hacim

IPM: İzopropil Miristat

PDI: Poli Dispersite İndeksi

PG: Propolin glikol

SD: Standart Sapma

S/Y: Yağ içinde Su

UV: Ultraviyole

Y/S: Su içinde Yağ

## ÖZET

**Qurt M. (2015).** Antifungal İlaçların Dermal Uygulamalarının Yeni Koloidal İlaç Taşıyıcı Sistemler ile Optimizasyonu. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmanın amacı; mantar enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan azol grubu antifungal ilaçlardan vorikonazol ve sertakonazol'un tedavide kullanılan dozaj şekillerine alternatif, topikal uygulamaya yönelik mikroemülsiyon tipi koloidal ilaç taşıyıcı sistemlerinin optimize edilmesidir. Dolayısı ile bu çalışma kapsamında seçilen antifungal ilaçların, derinin farklı tabakalarına penetrasyonunun artırılmasına yönelik yenilikçi topikal mikroemülsiyon geliştirilmesi ile konvansiyonel topikal dozaj şekillerine üstünlük sağlanması amaçlanmıştır.

Tez çalışmasında; iki farklı antifungal ilacın (vorikonazol ve sertakonazol) mikroemülsiyon bileşenleri olarak farklı yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanlar ile, bu bileşenlerin farklı oranları denenerek mikroemülsiyon formülasyonu optimizasyonu çalışmaları yürütüldü. Optimize edilen formülasyonlar üzerinde, damlacık büyüklüğü ve dağılımı, kondüktivite, pH, iletkenlik, refraktif indeks, optik izotropisi ölçümleri yapılmıştır. Formülasyonların fiziksel stabilitesi ile etkin maddelerin mikroemülsiyonlardan salım karakteristikleri incelendi. Seçilen formülasyonlar ile uygulanan iki ilacın *in vitro* koşullarda derinin tabakalarındaki dağılımı konvansiyonel preparatlar ile karşılaştırmalı olarak incelendi. Deriyi bant ile soyma yöntemi ile her iki ilacın derinin farklı tabakalarındaki dağılımları kantitatif olarak hesaplandı. Mikroemülsiyonların *stratum corneum* tabakası üzerinde oluşturdukları yapısal değişiklikler ATR-FTIR spektroskopisi analizleri ile değerlendirildi. Bu tez kapsamında elde edilen verilere dayanarak, iki antifungal mikroemülsiyon tipi topikal formülasyonlarının topikal tedaviye yönelik teşkil edebileceği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Vorikonazol, Sertakonazol, antifungal, mikroemülsiyon, deriye penetrasyon, koloidal ilaç taşıyıcı sistem.

**Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35777**

## ABSTRACT

**Qurt M. (2015).** Optimization of dermal applications of antifungal drugs with novel colloidal drug carrier systems. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology. PhD Thesis. Istanbul.

The aim of this study was to optimize microemulsion colloidal drug carrier systems for topical applications, as an alternative for the widely used conventional dosage forms of voriconazole and sertaconazole which are azole derivative antifungal drugs used in treatment of fungal infections. Therefore, it is intended to have advantages in the enhancement of penetration into different layers of the skin with innovative topical microemulsion formulations over conventional topical dosage forms of the antifungal drugs which are chosen in the scope of this study.

In this thesis study, microemulsion optimization studies were carried out using different oils, surfactants, cosurfactants and their various ratios to form microemulsions containing two different antifungal drugs (voriconazole and sertaconazole). Optimized formulations were characterized for droplet size, polydispersity index, pH, conductivity, refractive index and optical isotropy measurements. Physical stabilities of the formulations and in vitro release characteristics of the active ingredients from microemulsions were examined. In vitro dermal distributions of the drugs loaded in the selected microemulsion formulations were compared with their conventional dosage forms. The distributions of each drug in different layers of the skin were calculated quantitatively using tape stripping method. The effects of microemulsions on the integrity of *stratum corneum* structure were evaluated with ATR-FTIR spectroscopy analysis. The data in this study was interpreted, it was shown that microemulsion formulations loaded with two different antifungal drugs can be suggested as an alternative topical carrier for the treatment of fungal infections.

**Key Words:** Voriconazole, Sertaconazole, antifungal, microemulsion, dermal penetration, colloidal drug carrier system.

**The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.  
Project No: 35777**

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yüzeysel mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığı son yıllarda giderek artmaktadır. Dermatolojik enfeksiyonlar, özellikle yaşlılarda direnç mekanizmalarının azalmasına bağlı olarak daha sık görülmektedir (Jeu ve ark., 2003). Azol grubu antifungal ilaçlar, gerek sistemik gerekse yüzeysel mantar enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sistemik olarak verilmesi ile ortaya çıkan ciddi yan etkileri nedeniyle, dermatolojik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde antifungal ilaçların topikal olarak krem, sprey gibi konvansiyonel ilaç şekilleri sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak deri oldukça kompleks yapıya sahip bir organ olup özellikle en dışta yer alan *stratum corneum* tabakası ilaç moleküllerinin deriye partiyonu ve penetrasyonunda önemli bir bariyer teşkil etmektedir (Lee ve ark., 2009; Touitou, 2007 p. 178). Antifungal ilaçların topikal uygulamalarında etkin olabilmesi için *stratum corneum*'u aşarak alttaki canlı epidermis tabakasına ulaşması gerekmektedir. Bu nedenle, antifungal ilaçların canlı *epidermis*'e penetrasyon hızı ve miktarı önem teşkil etmektedir. Bu durum ilacın sahip olduğu fizikokimyasal özelliklere bağlı olmasının yanında, geliştirilen formülasyonların karakteristiği ile de kontrol edilebilmektedir (Touitou, 2007 pp. 182-184 ). Dolayısı ile bu çalışma kapsamında seçilen bazı antifungal ilaçların, derinin farklı tabakalarına penetrasyonunun artırılmasına yönelik yenilikçi topikal formülasyonların geliştirilmesi ile konvansiyonel formülasyonlarına üstünlük sağlanması beklenmektedir.

Koloidal ilaç taşıyıcı sistemler en az iki fazlı sistemler olarak tanımlanır. Koloidal ilaç taşıyıcı sistemler arasında; mikroemülsiyonlar, misel sistemler, sıvı kristaller, lipozomlar sıralanabilmektedir (Goymann C., 2004; Pathak, 2009 pp. 126-149). Mikroemülsiyonlar; yağ, su, sürfaktan ve yardımcı sürfaktandan oluşan, termodinamik bakımdan kararlı, 100 nm daha az damlacık büyüklüğüne sahip koloidal sistemlerdir. Mikroemülsiyonlar, özellikle lipofilik maddelerin çözünürlüğünün arttırmaları ve içeriklerinde yer alan sürfaktan ve ko-surfaktanlar nedeniyle derinin bariyer özelliğinde geri dönüşümlü yapısal değişiklik yapmalarından ötürü ilaçların deriden penetrasyonunun artırılması avantajlarına sahiptirler (Swarbrick, 2007 pp. 1561-1564)

Vorikonazol ve sertakonazol azol grubu iki antifungal ilaçtır. Vorikonazol suda düşük çözünürlüğe sahip ve lipofilik (log P:1.8) bir etkin maddedir (Thiel ve ark 2007; USP 2011). Günümüzde tedavide topikal uygulanan ticari bir preparatı mevcut değildir. Oral yol ile kullanıldığında hepatoksisite, diyare, kusma gibi önemli yan etkiler ortaya çıktığından, topikal bir formülasyonunun optimizasyonu ile ilacın yan etkileri bertaraf edilecek, hasta uyuncu ve tedavi açısından avantaj sağlanabilecektir. Aynı zamanda yeni koloidal bir ilaç taşıyıcı sisteminin geliştirilmesi ile ilacın derinin tabakalarına penetrasyonu da söz konusu olacaktır. Sertakonazol geniş aktiviteye sahip sistemik ve lokal olarak kullanılan bir antifungaldir. Molekül ağırlığı büyük (500.8 Da), çok lipofilik (log P:6.2) ve suda çözünürlüğü düşük olan bu etkin maddenin topikal olarak uygulanan krem ve çözelti şeklinde preparatları mevcuttur (Croxtall J. ve Plosker, G., 2009; Ph. Eur., 2007 p. 2873; Sahoo ve ark 2011; Wishart ve ark 2008). Ancak çok lipofilik olduğundan dolayı topikal uygulamalarında *stratum corneum* önemli bir bariyer teşkil edecektir. Gerek *stratum corneum*'un bariyer özelliğini aşabilmek gerekse ilacın formülasyondaki çözünürlüğünü artırmak için bu iki ilacın koloidal ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesi avantaj sağlayacaktır.

Tez çalışmasında; iki farklı antifungal ilacın (vorikonazol ve sertakonazol) mikromülsiyon tipi koloidal ilaç taşıyıcı sistemlerinin optimizasyonu yapılmıştır. Bu amaçla; hazırlanan formülasyonların fizikokimyasal karakterizasyonuna yönelik olarak, damlacık büyüklüğü ve dağılımı, kondüktivite, pH, iletkenlik, electron mikroskobu, refraktif indeks, optik izotropisi ölçümleri yapılmıştır ve fiziksel stabilitenin değerlendirilmiştir. Çalışmanın devamında etkin maddelerin formülasyonlardan salım karakteristikleri incelenmiştir. Seçilen formülasyonların derinin tabakalarındaki dağılımı dermatom edilmiş domuz derisi (kesim evinden temin edildi, bu nedenle etik kurul başvurusu yapılmamıştır) kullanılarak incelenmiştir. ATR-FTIR spektroskopisi ve deriyi bant ile soyma yöntemleri kombine edilerek, her iki ilacın derinin farklı tabakalarındaki dağılımları kantitatif olarak saptanmıştır (Goymann C. 2004; Walters 2002 p. 218). Bu tez kapsamında elde edilen verilere dayanarak, optimize edilen formülasyon ile antifungal ilaç olan vorikonazol ve sertakonazol için tedaviye alternatif yeni şekli olarak mikroemülsiyon formülasyonları önerilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler

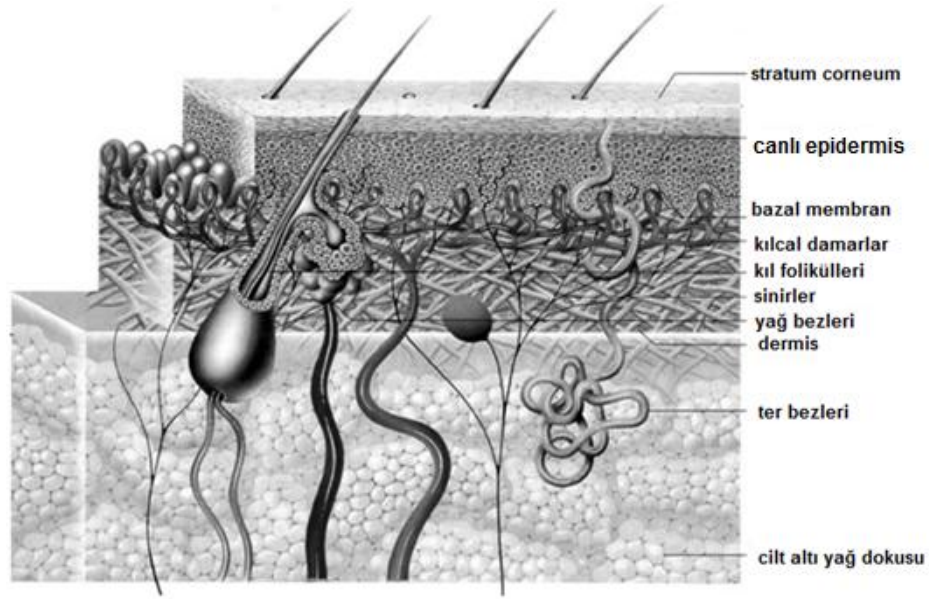
#### 2.1.1. Derinin Yapısı ve Genel Özellikleri

İnsan derisi, vücudun ortalama 2 m<sup>2</sup> alanı toplam vücut ağırlığının %10'undan fazlasını oluşturan en büyük organdır. *Stratum corneum* (cansız epidermis), epidermis (canlı epidermis), dermis ve sübkütan doku olmak üzere dört katmandan oluşur. Derinin kıl folikülleri, ter bezleri, tırnak gibi çok sayıda uzantıları da vardır. (Walters. 2002 pp. 1-10)

İnsan hayatının sürdürülmesinde derinin homeostatik rolü mevcuttur:

- a. Cildi kimyasal, bakteri, allerjenler, mantarlar ve rasyasyona karşı korur (Walters 2002 pp. 4-10).
- b. Vücut ısısının düzenlenmesinden, kan basıncı kontrolünden sorumludur (Bouwstra ve Honeywell-Nguyen 2002).
- c. Vücudu endojen madde kaybından korur (Bouwstra ve Honeywell 2002).
- d. Vücut sıvılarını bu zararlı maddelere karşı muhafaza eder ve harici dış ortama karşı bir bariyer oluşturur (Yamashita ve Hashida 2003).
- e. Topikal ve sistemik tedavi için gerçekçi bir uygulama alanı oluşturabilir (Yamashita ve Hashida, 2003).

Deri yüzeyi asidik yapıdadır ve pH'sı 4,5-6,0 arasındadır. Bu asidik pH, organizmayı biyolojik dış etkenlere karşı koruma sağlar. Deride ayrıca, çevresel faktörlerin neden olduğu oksidatif strese karşı koruma mekanizması da mevcuttur (Touito E. 2007 215-220; Guy 2003 pp. 1-10).



Şekil 2-1: Derinin yapısı (Bronaugh ve Maibach 2005 p. 178)

## 2.1.2. Derinin Tabakaları

### 2.1.2.1. Epidermis

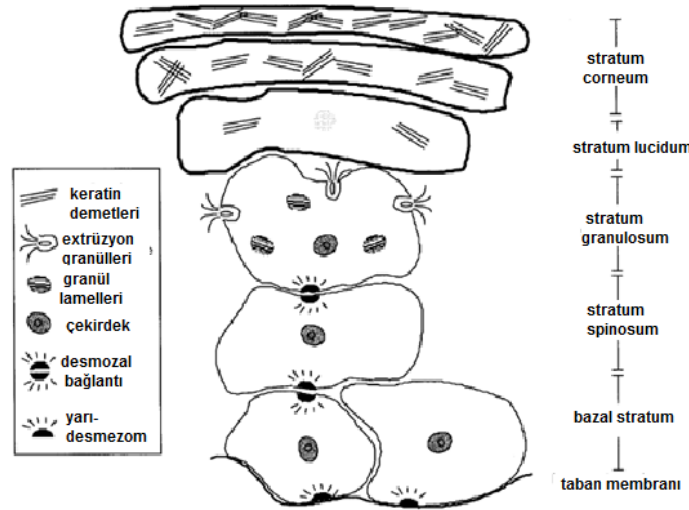
*Stratum corneum epidermis*'in en dış katmanı olup (Azeem ve ark 2009), topikal uygulanan ilaçların geçişinde karşılaşılan ilk bariyerdır (Yamashita ve Hashida 2003). Yaklaşık olarak 10-20 $\mu$ m kalınlığındadır (Walter. 2002 p. 2-10 ). Lipit bölgesiyle çevre sarılmış keratinize ölü hücrelerden (korneositler) meydana gelir. İlaçların hücre içine çapraz bağlı protein yapılardan oldukça zordur. Bu nedenle, deriye uygulanan etkin maddelerin çoğu hücreler arası bölgede lipit katmanından difüze olurlar (Bouwstra ve Honeywell-Nguyen 2002). *Stratum corneum* hücreleri canlı epidermisten meydana gelir ve deskuamasyondan önce birçok morfolojik değişime uğrar (Walter K. 2002 p.8-15).

*Stratum corneum* 25 den fazla katmanlı hücrelerden oluştuğu halde, bazal tabaka, 1-2 katmanlı hücrelerden, *stratum spinosum* 2-7 katmanlı hücrelerden, *stratum granulosum* 2-3 katmanlı hücrelerden oluşur (Forslind, 2004 pp. 9-21). Bazal tabakada hücreler çoğalırken, bazal tabakayı terk ederek farklılaşmaya başlarlar ve cilt yüzeyine doğru hareket ederler. *Stratum granulosum* ve *stratum corneum* arasındaki ara yüzde son

farklılaşma meydana gelir ve canlı hücreler ölü keratinize hücelere (korneositler) dönüşürler (Şekil 2-2). Epidermal farklılaşma, tabaka yapısının yukarıya çıkması, çekirdek kaybı ve stratum korneumdaki keratin miktarının artması şeklindedir (Riviere J. 2006 pp. 1-12).

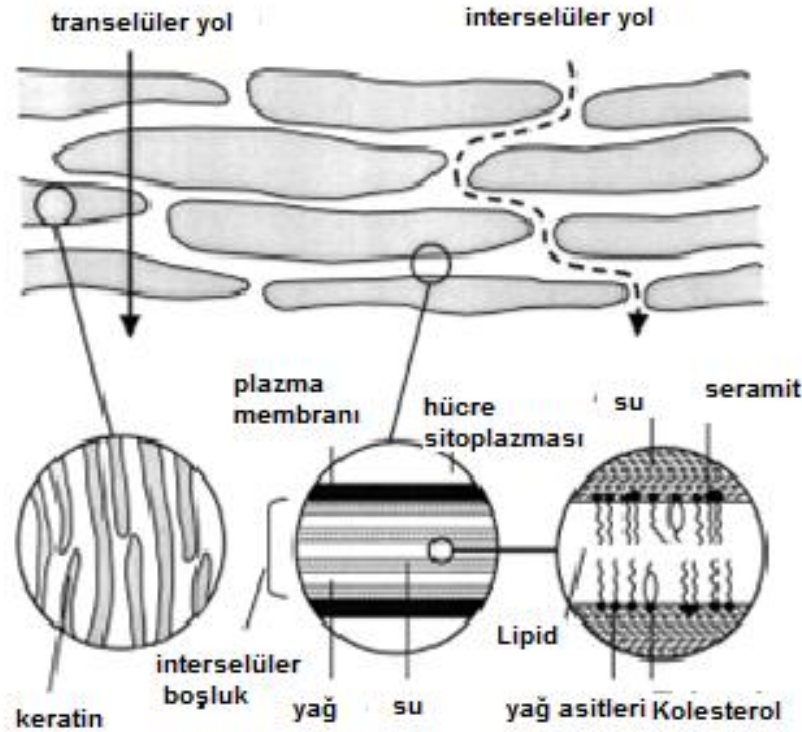
Derinin en üst katmanı olan *stratum corneum*, derinin işlevlerinin yerini getirmesi ve görünümü için önemli yere sahiptir. Fiziksel ve kimyasal bariyer olarak koruyucu işlevinin yanısıra, deri altındaki su için kısmen geçirgendir, böylelikle transepidermal su kaybının (TEWL) kontrolü açısından rol oynar Yaklaşık olarak üç haftada bir yenilenir. (Walter K. 2002 pp.4-7)

*Stratum corneum*'un su tutumu, bariyer özelliklerinde derin değişikliklere yol açar, korneositlerin şişmesine ve interselüler lipit katmanının genişlemesine sebep olur. *Stratum corneum*'un içerdiği su yüzdesi kuru ağırlığının %15-20 den %400 üne kadar artmış olabilir. *Stratum corneum*'un yapısı için ‘tuğla-ve-harç’ benzetmesi mümkündür; temel bileşen hücreler ya da korneositler, tuğlalar olarak tanımlanırken ve hücreler arası bölgede bulunan lipitler korneosit hücrelerini bir arada tutan harç tabakası olarak benzetilir (Walter K. 2002 pp 1-20).



Şekil 2-2: *Stratum korneum* hücrelerinin morfolojik değişimi (Benson ve ark. 2005 p.6)

*Stratum corneum* da hücreler arası bölge, korneositlerin bir arada durması için temel olarak lipid ve dezmozomlardan oluşur (Walter, K. 2002 pp 2-7). *Stratum corneum* lipid bileşimi, kesin biçimde canlı hücre membranlarından farklıdır. En önemli lipidler; seramitler, kolestrol ve serbest yağ asitleridir (Şekil 2-3). Çoğu yağ asit zincirlerinin uzunluğu 22-24 karbonlu iken, seramit türlerinin açıl zincir uzunlukları 16-33 karbon arasındadır (Bouwstra ve Honeywell-Nguyen, 2002). Hücreler arası lipidler *stratum corneum*'un %20 sini oluşturur; %27 kolesterol, %41 seramitler, %9 serbest yağ asitleri, %10 kolesteril esterleri ve %2 kolesteril sülfattan oluşmaktadır (Walter K. 2002 pp. 8-10). *Stratum corneum*'un hücreler arası lipid lamellerinde oluşturulan serbest alanlar (serbest hacim), difüzyon yeteneğini artıracak hidrokarbon zincirlerine büyük hareket yeteneği sağlarlar (Walter K. 2002 pp 8-10).



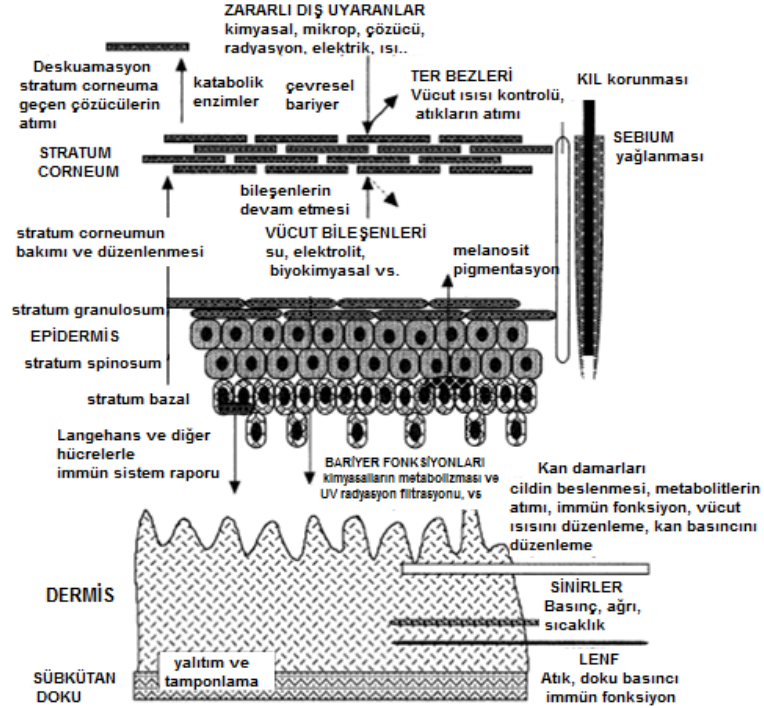
**Şekil 2-3: Hücreler arası bölgede bulunan lipidler (Moser ve ark. 2001)**

### 2.1.2.2. Dermis

*Dermis*, *epidermis*'in beslenmesini, bağışıklığını sağlayan, destekleyen ve sıcaklık-basınç, ağrı düzenlenmesinde rol oynayan bağ doku olup vücudun kritik bir bileşenlerindedir (Ranade ve Hollinger, 2004). *Dermis*, yaklaşık 0.1- 0.5 cm kalınlığındadır ve %70 civarında tampon görevi gören, elastik kollajen lifleri içerir (Yamashita ve Hashida 2003). *Dermis* jel yapısındadır, fibröz protein (kollajen, elastin) matriks, koloidal amorf zemine gömülüdür. Kan ve lenf damarları da *dermis* tabakasında bulunur (Walters K 2002 pp. 1-10; Azeem ve ark. 2009)

### 2.1.2.3. Hipodermis (Deri altı yağ dokusu)

Deri altı yağ tabakaları *dermis* ve *epidermise* önemli destek sağlamaktadır. Yalıtım için çok önem taşır (Walter, K. 2002 pp. 1-10). Derinin yapısını ve fonksiyonlarının özeti şematik olarak Şekil 2-4'te verilmiştir.



Şekil 2-4: Deri yapısı ve fonksiyonlarının özeti (Walter K. 2002 p.5)

### 2.1.3. Deriden Geçiş

Derinin daha derin tabakalarına ilacın penetrasyonuna karşı en önemli bariyer *Stratum corneum* 'dur. Bu tabaka interselüler sıvı matris tarafından sarılmış koenositlerden yapılmıştır. Bu tabaka tuğla ve harç olarak tanımlanabilir. *Stratum corneum* tabakası hidrofobik bir membran olarak davranmaktadır (Elias ve ark., 1981; Azeem ve ark., 2009; Gürbüz A. 2014 ).

### 2.1.4. Deriden Geçiş Yolları

İlaç hücreler arası sıvı tabaka içinden geçerek veya gözenekler ve saç folikülleri gibi başka hücreler arası geçiş yollarından geçerek epidermis 'e nüfuz edebilir (Kogan ve Garti 2006; Hennig ve ark., 2008; Patzelt, Değim 2009 p. 343).

#### 2.1.4.1. Hücreler Arası (intersellüler) Geçiş Yolu

Uygulanan polar olmayan çok sayıda ilaç, interselüler sıvı matrisin içine intraselüler yola kıyasla çok daha kolayca nüfuz edebilir; öyle ki, söz konusu bu yol pasif ilaç penetrasyonu için en önemli yollardan biri olarak bilinir (Kalia ve Guy 2001; Hadgraft ark., 2004). Aktif içerik maddeler sıvı çift katlı tabakaya penetrasyonu yükselticiler yardımıyla nüfuz eder ve daha sonra derinin derin tabakalarına yayılır (Kreilgaard M. 2002, Gürbüz A. 2014).

#### 2.1.4.2. Hücre içi (intraselüler) geçiş yolu

Korneositler, aktif içerik maddelerin bu yolla nüfuz etmesini zorlaştıran yoğun çapraz bağlantılı proteinlerden yapılmıştır. Ancak çok düşük molekül ağırlığına sahip olan bazı polar olmayan ilaçlar bu yoldan kolayca deriye nüfuz etmeyi başarabilir (Roberts ve ark., 2002; ; Patzelt, A. ve ark., 2008).

#### 2.1.4.3. Yan geçit yolu

Polar ilaçların derinin daha derin tabakalarına nüfuz etmesi açısından ter bezleri, saç folikülleri ve yağ bezi alternatif bir yol sunabilir. Saç folikülleri deri alanının yalnızca %0.1 ini kaplamaktadır.

Bu yol büyük molekül ağırlığına sahip polar ilaçlar için çok önemli olabilir (Lademann ve ark., 2006; Patzelt ve ark., 2008; Güngör ve ark. 2013).

## **2.1.5. Etkin Maddenin Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler**

### **2.1.5.1. Etkin maddeye ait fizikokimyasal faktörler**

*Etkin madde lipofilitesi:* Çok sayıda ilacın pasif difüzyonla *Stratum corneum* tabakasına nüfuz etmesi gerçeğinden yola çıkarak, ilaç partiyon katsayısının (log P) difüzyon süreci üzerinde önemli bir etkisi olduğu söylenebilir. Optimum partiyon katsayısı (log P) 1-3 arasındadır. Daha yüksek Log P değeri olan ilaçlar *Stratum corneum* tabakasının yağ tabakaları arasında birikmeye meyillidir ve daha hidrofilik olduklarından (log P < 1) iki katlı yağ tabakasını daha yavaş bir hızla geçmiş olacaktadırlar (Grassi M. 1999; Langer 2004).

*Etkin madde konsantrasyonu:* İlaç uygulama sisteminde aktif içerik maddenin konsantrasyonu, ilacın deri tabakalarına nüfuz etmesini etkilemektedir. Daha doyurulmuş olduğunda, nüfuz etme hızının daha yüksek olduğu görülür (Sintov ve Shapirio 2004; Azeem A. 2009).

*Etkin maddenin molekül ağırlığı ve molekül hacmi:* Aktif içerik maddenin molekül ağırlığı veya molekül hacmi ne kadar yüksek ise, ilacın nüfuz etmesi daha düşük olmaktadır. Genelde, molekül ağırlık 500 Dalton birimden daha düşük olmalıdır (Naik ve ark., 2000; Langer R. 2004).

*Etkin maddenin iyonizasyon derecesi ve pH:* Formülün pH değeri zayıf asitlerin veya baz ilaçların nüfuz etmesini etkilenmektedir. Zayıf asitler asitli formüllerde iyonize olmazlar ve aynı şekilde, zayıf baz ilaçlar bazik formüllerde iyonize olmazlar. İyonize olmayan ilaçlar deri yoluyla çok daha iyi bir pasif difüzyona sahiptir (Vavrova ve ark., 2008).

*Etkin maddenin difüzyon katsayısı, erime derecesi ve sudaki çözünürlüğü:* Difüzyon katsayısı ne kadar yüksek olursa, ilacın nüfuz ermesi o kadar yüksek olur. Sudaki çözünürlükleri 1 mg/ml 'den daha düşük olan ve erime noktası 200 C 'ın altında kalan

ilaçların daha yüksek bir difüzyon katsayısına sahip oldukları ileri sürülmüştür (Naik ve ark., 2000).

### **2.1.5.2. Deriye ait Fizyolojik Faktörler**

Deriden emilimi etkileyen deriye ait fizyolojik faktörler; derinin bütünlüğü, su içeriği, sıcaklığı, kanlanma hızı, derinin yaşı ve deride gerçekleşen metabolik faaliyetler şeklinde sıralanabilir. Farklı türlere, bölgelere, cinsiyet ve ırka göre de derinin geçirgenliği değişmektedir (Grassi ve Colombo 1999).

*Derinin bütünlüğü:* Yara ve kimyasal çözücüler gibi derinin bariyer fonksiyonunu tahrip edebilecek faktörler ilacın deriye nüfuz etme kabiliyetini arttırabilir. İyontoforez ve elektroporasyon derinin bütünlüğünü etkilemek suretiyle dermal penetrasyonu arttırabilir (Elias ve ark 2002; Walters ve Brain 2004 p.271).

*Derinin hidrasyonu:* Derinin hidrasyonu hidrofilik ve lipofilik ilaçların deri yoluyla geçirgenliğinin arttırılmasıyla sonuçlanabilir. Bu durum suyun sıvı matris üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır (Williams ve Barry 2004; Silva ve ark., 2007).

*Derinin yaşı:* Bebek derisinin epidermis tabakasının geçirgenliği daha yaşlı derilerin geçirgenliğinden çok daha fazladır. Bunun nedeni, bebek derisindeki yüksek su miktarıdır (Brain ve ark., 2002; Azeem A. 2009; Değim T. 2009).

*Derinin bölgeleri:* Derinin farklı yerleri arasındaki *Stratum corneum* tabakasının derinliği değişik olabilir ve bu durum insan derisinin farklı yerlerine ilacın iletkenliğini etkileyebilir (Brain ve ark., 2002).

*Tür farklılıkları:* İlacın nüfuz etmesi uygulanan derinin türüne göre değişir. Araştırma amacıyla, insan derisine alternatif olması açısından fareler, tavşanlar ve domuz derisi kullanılmıştır. Domuz derisinin sıvı matrisi insan derisine en yakın deri olduğu anlaşılmıştır (Mills ve Cross 2006; Stewart ve Downing 1999).

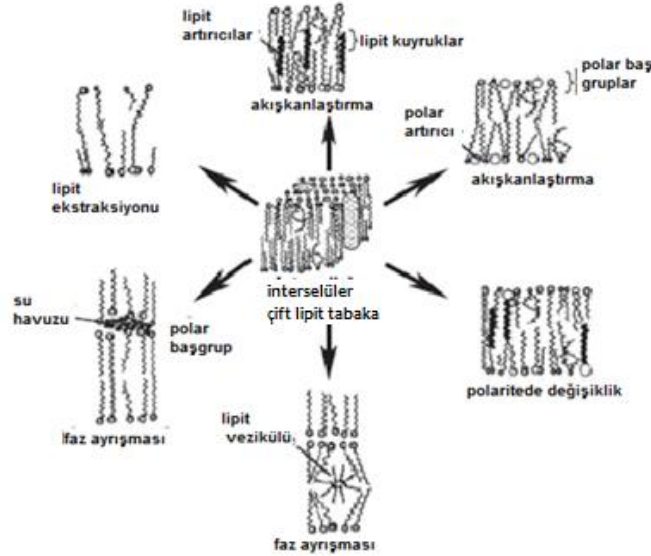


### *İlaç Taşıyıcı Sistemine ait Özellikler*

İlaç uygulama sistemleri ilacın salıverilme hızını ve *Stratum corneum* tabakasına ilacın nüfuz etmesini etkileyebilir. Ayrıca, ilacın çözünürlüğünü ve ilacın sıvı matris içine yayılmasını da etkileyebilir.

Nitekim *Stratum corneum* tabakasının derin tabakalarına ilacın nüfuz etmesini arttırmakta önemli bir rol oynarlar (Walters ve Brain 2004 p. 271). Bu durum ilacın nüfuz etmesini arttırmak için formülasyon süreci boyunca penetrasyonu artırıcıların kullanılmasıyla ilgili olasılığını ortaya koyacaktır (Williams 2003 p. 274; Gürbüz A. 2014).

*Penetrasyon artırıcıların etki mekanizmaları:* İlaçların deriden penetrasyonunu artırmaya yönelik en sık kullanılan yaklaşım derinin bariyer direncini etkileyerek azaltan kimyasal penetrasyon artırıcıların formülasyon bileşenlerine ilave edilmesidir (Williams ve Barry 2004). Penetrasyon artırıcılar, hücreler arası lipit matriksinin yapısını bozarlar ya da membrandaki maddeler için bir çözücü olarak işlev görerek, doku içine ilaç dağılımını artırabilir (Şekil 2-5) (Williams ve Barry 2004; Benson H. 2005; Moser ve ark 2001).



**Şekil 2-5: Penetrasyon artırıcıları ile lipit bozunması (Williams ve Barry 2004).**

Azon, DMSO, alkoller ve terpenler gibi birçok penetrasyon artırıcıların, permeabilityyi stratum korneumun lipit yapısını bozarak artırdıkları gösterilmiştir (Benson ve ark 2005) Oleik asit gibi diğer penetrasyon artırıcılar ise, yüksek konsantrasyonlarda lipit alanlarında geçirgen sulu havuzlar oluştururlar. Üre ve sürfaktanlar keratin ile etkişebilir ve bunun sonucunda korneositlerde bozunma meydana gelebilir (Smith ve Maibach 2006; Moser ve ark 2001). Birçok çözücü, *stratum corneum*'un çözündürme özelliğini ve geçirgenlik katsayısını artırır. (Smith ve Maibach 2006; Kanikkannan ve ark 1999).

Formülasyon optimizasyonunda penetrasyon artırıcı seçimi kolay değildir. Penetrasyon artırıcı etkileri etkin maddeye özgü görünür ya da benzer fiziko-kimyasal özellikleri (benzer dağılma katsayısı, moleküler ağırlık ve çözünürlük)de geçirgenlik zinciri için verimli olabilir (Williams ve Barry 2004; Moser ve ark 2001).

## **2.2. Mantar Enfeksiyonları Hakkında Genel Bilgiler**

### **2.2.1. Mantar Enfeksiyonları**

İnsan sağlığını ve hayatını tehdit eden ve süreklilik gösteren mantar enfeksiyonları; (a) mantar proteinlerinin neden olduğu alerjik reaksiyonlar, (b) bazı mantarlarda bulunan toksinlerin neden olduğu toksik etkiler, (c) enfeksiyonlar (mikoz) olarak sınıflandırılabilir. Sağlıklı bireyler, ayak ve tırnak mantarları gibi yüzeysel mantar enfeksiyonları ile *kütanoz* ve *sübükütanoz* etkili mantar enfeksiyonlarının yanında, hayatı tehdit eden birçok sistemik enfeksiyona bağlı hastalıklara yatkın olabilmektedir (Kathiravan ve ark 2012). Dünyada, son yirmi yıldır, yüzeysel ve sistemik mantar enfeksiyonlarında artış olduğu görülmektedir. Gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde, mantar enfeksiyonlarından muzdarip yaklaşık 40 milyon insan olduğu tahmin edilmektedir. (Güngör ve ark. 2013; Lalit ve ark. 2014).

Mantar enfeksiyonları organizmada geniş bir yayılım gösterirler ve mantar enfeksiyonlarına bağlı olarak büyük sağlık problemleri ortaya çıkabilmektedir. Özellikle son yıllarda sistemik mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığının; immün sistem zayıflığı bulunan, kemoterapi uygulaması alan, HIV/AIDS gibi hastalıklar ile yoğun bakım ünitelerinde, organ ya da kök hücre nakili tedavisi altındaki yüksek riskli hasta gruplarında

görülme olasılığının arttığı kayıtlıdır. Özellikle, AIDS gibi immunojenik hastalıklarla birlikte görülen mantar enfeksiyonlarının tedavisi daha zor olmaktadır. Diğer taraftan, günümüzde hala hastaların dermatologlara görünmelerinin temel nedeni yüzeysel mantar enfeksiyonlarıdır. Dermatolojik mantar enfeksiyonların tedavisinde; hastanın kendisi tarafından uygulanabilir olması, dolayısı ile hasta uyuncunun yüksek olması ve uygulanan ilaçların sistemik yan etkilerin ortadan kalkması nedenleriyle, topikal mantar tedavisi en sık tercih edilen yaklaşımdır (Yang ve ark. 2008; Kaur ve ark. 2010).

*Dermafitoz, pitiryazis versikolor ve kandidiyazis*, deride en sık görülen mantar enfeksiyonlarıdır. Ayrıca, dermatolojik diğer mantar enfeksiyonları arasında *blastomiyozis, kromoblastomiyozis, missetoma, mukormiyozis, prototekozis* ve *sporotrikozis* de yer almaktadır (Kaur ve ark. 2010). *Dermatofitler* en sık izole edilen mantar organizmaları olarak görülmektedir. En sık karşılaşılan yüzeysel mantar enfeksiyonlarından *tinea*'ların en sık görülen türleri *tinea pedis, tinea corporis* ve *tinea cruris* olarak kayıtlıdır. *Dermafitozlar, dermatofitler* tarafından geliştirilen enfeksiyonlar olup, *Trichophyton, Microsporum* ve *Epidermophyton* cinsleri ile, toprakta yaşayan organizmalar ve insan hayvan patojenlerini içeren bir grup mantarın sebep olduğu mantar enfeksiyonları olarak tanımlanır. *Trichophyton rubrum* bu *dermomikoz*'ların en yüksek etkeni olarak gösterilmektedir. *Dermafitoz*'lar, Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık rapor edilen deri hastalıkları içinde akneden sonra ikinci sırada gelmektedir (Kaur ve ark. 2010; Roderick H. 2009).

Yüzeysel deri enfeksiyonları sıklıkla *Candida* türleri kaynaklı olarak da gelişmektedir. *Candida glabrata, Candida krusei, Candida parapsilosis* ve *Candida Tropicalis* yanında en sık maruziyet *Candida albicans* tarafından meydana gelmektedir. *Candida* türleri, yüzeysel enfeksiyonlar olarak, cilt kıvrım enfeksiyonları (*intertrigo*), bebeklerde görülen *dermatitis*, kronik tırnak iltihabı (tırnak kıvrım enfeksiyonu) ve *onikomikoz*'a (tırnak düz yüzeyi enfeksiyonu) neden olmaktadır (Kaur ve ark 2010).

## 2.2.2. Dermatolojik Mantar Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antifungal Etkin Maddeler

Deride görülen mantar enfeksiyonları çoğunlukla *deskuamasyon* ile derinin yenilenmesini engellemek için *stratum corneum*'a hücum ederler. Deride görülen mantar enfeksiyonlarının topikal tedavisinde; mantarları öldürücü etkiye sahip farmakolojik ilaçlar (*fungisit*) ya da en azından mantarın üremesini ve büyümesini önleyecek (fungistatik) farmakolojik ajanlar krem, losyon, jel ve sprey tipi dozaj şekilleri ile uygulanmaktadır (Kaur ve ark 2010).

Topikal tedavinin etkinliği için, deride etkin ilaç konsantrasyon seviyeleri sağlanmalıdır. Deri yüzeyine uygulanan ilaç molekülleri, derinin en dış katmanı olan *stratum corneum*'ı aşarak daha alt katmanlara özellikle canlı *epidermis*'e ulaşmalıdır. Antifungal ilaçların klinik etkinliği, *kütanoz* dokudaki sağlanan ilaç konsantrasyonuna bağlıdır. Bu durum, ilacın molekül ağırlığı, yağ/su partiyon katsayısı, sudaki çözünürlüğü gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak dokulara penetre olma yeteneği ile ilişkilidir (Kaur ve ark 2010). Ayrıca, topikal formülasyonların içeriği, tipi ve ilacın deri ile temas süresi de deriden penetrasyonunun artırılmasında, dolayısı ile tedavinin etkinliğinde büyük rol oynamaktadır. Ketokonazolün piyasaya sunulması, yaşamı tehdit etmeyen mantar hastalığının daha önceki tedavilerde dramatik gelişmelerin yaşandığı bir dönem başlamıştır. Neredeyse on yıllık bir kullanım süresini takiben, farmakokinetik profil, etkinlik spektrumu ve güvenlik açısından önemli iyileşmelere bağlı olarak, ketokonazolün yerini hızla flukonazol ve itrakonazol gibi diğer triazololler almıştır (David ve ark. 2015)

Yüzeysel mantar enfeksiyonları deri, tırnak ve gözde ortaya çıkarlar ve sistemik enfeksiyona daha az görülürler. Bununla beraber, uygun bir şekilde tedavi edilmedikleri takdirde tehlikeli olabilirler. Derinin en derin yerinde kökleşmiş olan mantar enfeksiyonlarının tedavisinde genelde krem, toz, jeller vs. gibi konvansiyonel dozaj şekilleri kullanılmaktadır. Ancak, konvansiyonel formülasyondan salınan ilacın düşük penetrasyon kapasitesine bağlı olarak, derideki hedef bölgeye ulaşamaması nedeniyle, *invasif asperjiloz* ve *invasif kandidiyaz* gibi derinin en derin yerinde kökleşmiş olan mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek daha zor olabilir. Buna benzer olarak, tırnakta veya gözde

mantar enfeksiyonu görülen hastalarda, konvansiyonel formüllerin daha düşük bir biyoyararlanım sorunu gösterdikleri bilinmektedir (Lalit ve ark. 2014).

### 2.2.3. Yüzeysel Mantar Enfeksiyonların Tedavisinde Kullanılan konvansiyonel İlaçları

*Subkutanöz* mantar enfeksiyonunun tedavisinde, konvansiyonel olarak *Tinea corporis* ve *Tinea faciei* gibi deri hastalıkları oral ve topik antifungal preparatlarla tedavi edilebilir. Hastalığın yayılarak zararlı özellikler sergilemesi halinde oral tedavi uygulanabilir. Bu gibi hastalıkların tedavisinde çeşitli azol türevlere ait krem formüller (klotrimazol, ketokonazol, mikonazol ve ekonazol gibi) ve terbinafin kullanılabilir. Oral yol ile kullanılan antifungal ilaçlara örnek olarak, griseofulvin, itrakonazol, flukonazol ve terbinafin sayılabilir (Stary ve Sarnow 1998). *Tinea pedis* diğer lokal mantar enfeksiyonlarına göre daha büyük çaptaki mantar enfeksiyonlardır. Lokal olarak antifungal tozlarla (tolnaftat, mikonazol ve klotrimazol) veya antifungal jellerle (terbinafin, naftifin ve siklopiroks) tedavi edilebilir (Lalit ve ark 2014).

Özellikle hastalığın *onikomikoz* ile birlikte ortaya çıktığı durumlarda hastaların birçoğunda lokal tedavi başarısız bulunmuştur (Hart ve ark. 1999). Oral tedavi ise şiddetli veya yaygın hastalık koşullarında kullanılır. *Tinea pedis*'in tedavisinde kullanılan çeşitli antifungal ilaçların dozları; beş hafta, her gün 250 mg terbinafin; beş ile altı hafta, haftada bir defa 200 ile 300 mg flukonazol; altı ile sekiz hafta a, günde iki defa 500 mg griseofulvin olarak önerilir (McClellan ve ark. 1999).

*Tinea capitis* etkili olan tek oral antifungal ajanların kullanıldığı bir hastalıktır. Oral griseofulvin kullanarak, çocuklarda/pediyatrik hastalarda *Tinea capitis* tedavi edilebilir. Terbinafin beş yaşın üzerindeki çocuklarda kullanılmak üzere, *Tinea capitis*'in tedavisinde FDA tarafından 2007 yılında onaylanmış başka bir antifungal ajandır (Fleece ve ark 2004). Lokal olarak *Tinea capitis*, ketokonazol veya selenyum sülfid içeren antifungal bir şampuan uygulanarak tedavi edilebilir. *Tinea barbae* de ise, genelde üç ile dört hafta boyunca hastaya 0.5 ile 1 g/gün oral griseofulvin verilir.

Lokal yoldan uygulandığında tırnak yatağına penetrasyonu zayıf olmasından dolayı, *onikomikoz* tedavisinde lokal tedavi yerine genellikle oral tedavi tercih edilir. *Onikomikoz*'un erken dönemde tedavisinde %8 konsantrasyona kadar siklopiroks içeren

tırnak cılası kullanılır (Gupta ve ark 2000). Onikomikoz tedavisinde kullanılan oral antifungal ilaçlar ise flukonazol, itrakonazol, terbinafin ve griseofulvindir (Elewski B.1999). Onikomikoz tedavisinde 6 ile 8 hafta süreyle günde 250 mg 'lık bir dozaj ile terbinafin uygulanır. İtrakonazol ise 2 ile 3 ay süreyle günde 200 mg 'lık bir dozaj ile bir dozda uygulanır (Evans ve Sigurgeirsson 1999). Bu hastalığın tedavisi için reçeteye yazılan dozaj, beş ile altı ay süreyle haftada bir defa 200 ile 300 mg arasında flukonazoldür. Dozaj enfeksiyonun şiddetine göre değişebilir (Scher ve ark 2007).

Gözün mantar enfeksiyonunun tedavisinde kullanılacak olan ilaçlar Natamisin, Flukonazol ve Amfoterisin B ve Flukonazol oftalmik çözeltisidir. Yanıt alınamayan enfeksiyon vakalarında Amfoterisin B Göz Damlası kullanılır. Söz konusu göz damlaları gözde toksik etkiler gösterebilir, bu nedenle mutlaka uzman tıp doktorların kontrolü altında uygulanmalıdır (Thomas 1994; Thomas ve ark 1997). Yüzeysel mantar enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ve piyasada bulunan formüller Tablo 2-1'de gösterilmiştir.

**Tablo 2-1: Yüzeysel mantar enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ve piyasada bulunan ilaçlar**

<b>Etkin Madde</b>	<b>Ticari adı</b>	<b>Dozaj Şekli</b>	<b>Firma</b>
	Lotrimin (%1)		Schering
Klotrimazol	Gyne-Lotrimin (%1)	Krem	Scering-plough
	Mycelex-G (%1)		Miles
Mikonazol	Manistat-ErmD %2	Krem	Pfizer
	Micatin %2		Ortho-McNeil
Ketokonazol	XoleJel %2	Jel	Stiefel Labs
	Nizoral %2	Krem	Janssen

**Tablo 2-1 (Devamı)**

Ekonazol	Spectazole (%1)	Krem	Ortho
	Econail (%5)	Tırnak cilası	Macrochem corporation
Sertakonazol	Ertaczo (%2)	Krem	Ortho Neutrogena
	Laprox (%0.77)	Jel	Hoechst-Marrion-Roussel
Siklopiroks	Laprox (%0.77)	Krem	Aventis Pharma
	Lamisil (%1)	Krem	Merz Pharmaceuticals
Terbinafin	Flucomet (%0.3)		Sun (Milmet)
	Syscan (%0.3)	Göz Damlası	Torrent
	Zocon (0.3%)		FDC
Natamisin	Natacyn (%5)	Oftalmik Süspansiyon	Alcon
	Onylac (%8)		Cipla
Siklopiroksamin	Penlac (%8)	Tırnak cilası	Dermik
	Nailon (%8)		Protech biosystem
Amorolfin	Loceryl (%5)	Tırnak cilası	Roche Lab

## 2.2.4. Antifungal İlaçların Sınıflandırması

### 2.2.4.1. Polienler

Nistatin ve Amfoterisin B topikal olarak uygulanan polienlerdir. Her iki molekülün etki mekanizması aynıdır ve ergosterole bağlanarak hücre membran permeabilitesini artırır. Polienler, *fungisit* ve *fungistatik* özelliklerinden dolayı içeren *mukokütanoz* ve *kütanozün* tedavisinde kullanılmaya çok elverişlidirler. Ancak, *dermatofit*lerde etkinliğinin yetersiz olduğunun anlaşılması sonucu tedavide kullanımları kısıtlanmıştır (Kaur ve ark 201).

### 2.2.4.2. Allilamin ve Benzilaminler

Terbinafin ve naftifin allilamin grubunda yer alan antifungal ajanlardır. Her iki ilaç da *tinea corporis*, *tinea cruris*, *tinea pedis*, *cutaneous candidiasis* ve *pityriasis versicolor*'un sebep olduğu geniş yayımlı *dermatofit* ve mayalara karşı hem çok etkilidir. Aynı zamanda terbinafin ve naftifinin hastalar tarafından iyi tolere edildiği de bilinmektedir. Uygulama sırasında lokal iritasyon ya da yangı gibi nadiren advers etkilere neden olurlar. Ayrıca, naftifinin antienflamatuar aktivitesinin de kayıtlıdır. Butenafin, allilaminlerle benzer yapıya, etki mekanizmasına ve aktiviteye sahip bir ajandır. Yüzeysel dermatofit enfeksiyonlarının tedavisinde %1 lik topikal kremleri şeklinde uygulanır (Kaur ve ark 2010.)

### 2.2.4.3. Hidroksipiridonlar

Siklopiroks geniş spektrumlu antifungal aktiviteye sahip bir ilaçtır. Dermatofitoz ve pityriasis versicolor olarak adlandırılan kütanoz candidiazis ve diğer deri mantar enfeksiyonlarının tedavisinde, krem, solüsyon ve toz preparatları ile kullanılır ( Kaur ve ark 2010.)

### 2.2.4.4. Morfolin türevleri

Amorolfın; polien, azol ya da allilamin sınıfından olmayan antifungal bir ilaçtır. *Dermatofit*ler, mantarlar ve lifsi mantarlara (küfler) karşı aktiviteye sahiptir.( Kaur ve ark 2010.)



### 2.2.5. Azoller

Azol grubu ilk topikal antifungal etkin madde olan klormidazol, 1959'da geliştirilmiştir. Azoller, imidazoller ve triazoller altında alt bölümlere ayrılmıştır. Bütün azol grubu ilaçlar aynı etki mekanizması ile işlevlerini yerine getirirler. Etki mekanizmaları ise; ergosterol sentezindeki temel enzim olan sitokrom P450- bağımlı enzim 14- $\alpha$ -dimetilaz'ın inhibisyonudur. (Kaur ver ark 2010, Jeu ve ark 2003). Antifungal ajanların listesi, etki mekanizmaları ve aktiviteleri Tablo 2-2'de özetlenmiştir (Kaur ver ark 2010, Jeu ve ark 2003).

**Tablo 2-2: Antifungal İlaçların Sınıflandırması, Etki Mekanizmaları ve Aktivite Listesi**

Farmakolojik Grup	Antifungal ilaç	Etki Mekanizması	Aktivite
	<b>Nistatin</b>	Nistatin bir sitokrom P450 enzimi olan 14- $\alpha$ -demetilazı inhibe ederek lanosterolün ergosterole dönüştürülmesinde gerekli olan ergosterol sentezini inhibe eder ve bunun sonucunda mantar hücresi geçirgenliğini artırır.	Mayalara karşı geniş spektrumlu aktivitesi vardır.
	<b>Amfoterisin B</b>	Duyarlı mantarın hücre membranındaki sterollere bağlanarak membran geçirgenliğini değiştirir ve intraselüler bileşiklerin sızmasına neden olur.	Geniş spektrum aktivite gösterir.
<b>Polienler</b>	<b>Natamisin</b>	Hücre membranındaki sterol kısmına bağlanır. Poliensterol kompleksi membran permeabilitesini değiştirerek temel hücresel bileşenlerinin atımını başlatır.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.

Tablo 2-2: (Devamı)

<b>Morfolin Türevleri</b>	<b>Amorolfin</b>	Amorolfin, ergosterol tüketiminden sorumlu ve 14- $\alpha$ -demetilazı inhibe ederek lanosterolün ergosterole dönüştürülmesinde gerekli olan ergosterol sentezini inhibe eder ve bunun sonucunda mantar hücreleri için gerekli olan ergosterol biyosentezini inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	<b>Klotrimazol</b>	Klotrimazol, bir sitokrom P450 enzimi olan 14- $\alpha$ -demetilazı inhibe ederek lanosterolün ergosterole dönüştürülmesinde gerekli olan ergosterol sentezini inhibe eder ve bunun sonucunda mantar hücreleri için gerekli olan ergosterol biyosentezini inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	<b>Mikonazol</b>	Mikonazol, bir sitokrom P450 enzimi olan 14- $\alpha$ -demetilazı inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	<b>Ketokonazol</b>	Ketokonazol 14- $\alpha$ -demetilazı inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	<b>Ekonazol</b>	Ekonazol, Lanosterolün 14- $\alpha$ -demetilasyonunu inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
<b>Azoller (Imidazol)</b>	<b>Oksikonazol</b>	Oksikonazol forsitoplazmik mantar membran bütünlüğü için gerekli olan ergosterol biyosentezini inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	<b>Sulkonazol</b>	Tüm imidazoller gibi, 14- $\alpha$ -demetilazı inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	<b>Sertakonazol</b>	Sertakonazol 14- $\alpha$ -demetilazı inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
<b>Azoller (Imidazol)</b>	<b>Bifonazol</b>	Bifonazol ergosterol isimli maddenin üretimini durdurarak etkisini gösterir.	Mantar ve mayaların yok edilmesidir.
	<b>Butokonazol</b>	Antifungal etki mekanizması bilinmemektedir, ancak işlevsel olarak diğer imidazol türevleri gibi ve steroid sentezini inhibe ederek etki ettikleri farz edilmektedir.	<i>Candida albicans</i> nedeniyle oluşan vajinal enfeksiyonlara karşı klinik etki gösterir.

Tablo 2-2 (Devamı)

			Geniş spektrumlu
	Flukonazol	Flukonazol 14- $\alpha$ –demetilazı inhibe eder.	aktivite gösterir.
<b>Azol (Triazol)</b>	Itrakonazol	Itrakonazol, Lanosterolun 14- $\alpha$ –demetilasyonunu inhibe eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	Vorikonazol	Vorikonazol temel olarak sitokrom P450 bağımlı 14 $\alpha$ -sterol demetilazı inhibe ederek etki gösterir.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
	Terbinafin	Terbinafin'in skualen epoksidazı inhibe ederek etki ettiği varsayılmaktadır, böylece mantar hücre membranının temel bileşeninden olan ergosterol biyosentezini bloke eder.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
<b>Allilaminler</b>	Naftifin	Mantarlara karşı etki mekanizması bilinmemesine rağmen, naftifin skualen 2,3-epoksidaz enzimini inhibe ederek sterol biyosentezini önler.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.
<b>Benzil aminler</b>	Butenafin	Allilaminler gibi Butenafin skualen epoksidazı inhibe ederek ergosterol biyosentezini inhibe eder.	Ana etki <i>dermatofitler</i> üzerine, <i>Candia albicans</i> üzerine de etkisi vardır.
<b>Hidroksi- piridonlar</b>	Sikloproks	Sikloproks'un Fe <sup>3+</sup> ve Al <sup>3+</sup> gibi çok değerli metal katyonlarının şelatları boyunca etki ettiği düşünülmüştür. Bu katyonlar sitokrom içeren birçok enzimi inhibe eder, böylece mitokondriyal elektron taşıma sistemi ve enerji üretimi gibi hücresel aktivitenin aksamasına neden olur.	Geniş spektrumlu aktivite gösterir.

### 2.2.5.1. Yeni Kuşak Azol Antifungal İlaçlar

İkinci kuşak triazololler arasında Vorikonazol, Posakonazol, Ravukonazol, İsavukonazol ve Albakonazol yer almaktadır. Bu ilaçların tümü olumlu bir farmakokinetiğe ve toksisite profiline sahiptir. Dirençli ve yeni ortaya çıkan patojenlere karşı oldukça yüksek bir etkinlik de gösterirler. Bununla beraber, yalnızca vorikonazol ve posakonazol yeterli olarak Faz III çalışmalarında araştırılmış ve ruhsatlandırma daireleri tarafından invazif mantar enfeksiyonların sırasıyla, tedavisinde ve profilaksisinde kullanılmak üzere onaylanmıştır. Bunun aksine, ravukonazol, isavukonazol ve albakonazol klinik deneylerde henüz yeterli bir şekilde araştırılmamıştır ve uygun verilerin olmadığı durumlarda, rakip ilaçlar olarak tanımlanan bu ilaçların invazif mikozların tedavisinde ve önlenmesinde kullanılmasına ilişkin söz konusu bu ajanlarla ilgili gerçek verileri henüz kesin olarak bilinmemektedir (Corrado G.2009; David ve ark 2015).

Yeni antifungal stratejilere ilişkin yapılan araştırmalar, aslında toksisitenin azaltılması, biyoyararlanımının artırılması, antifungal spektrumun iyileştirilmesi ve dirençle ilgili karşıt reaksiyon üzerine odaklanmıştır. Ancak enfeksiyonların büyük bir kısmı, bağışıklık sistemi hasar görmüş olan hastaların tüm kategorilerinde halen *Aspergillus* ve *Candida* türlerinden kaynaklanmaktadır. Bununla beraber, *Aspergillus* haricindeki küflerden ve *Candia* haricindeki mayalardan kaynaklanan enfeksiyonlar da giderek artmaktadır (Pasqualotto ve ark 2008; Corrado G.2009).

Her iki triazol (Vorikonazol, Posakonazol ), imidazollere kıyasla çok daha geniş bir antifungal etkinlikle ilgili spektrum sergilemiştir ve amfoterisin B ve ketokonazol'a kıyasla, belirgin olarak daha iyi geliştirilmiş bir güvenlik profiline sahiptirler. Flukonazol ve itrakonazol, sırasıyla 1981 ve 1989 yıllarında ilk sentez edilen ve 1987 ile 1992 yılları arasında Avrupa ve FDA lisanslarına sahip olan ilaçlardır (Charlier ve ark 2006; Maertens ve ark 2005). Her iki ilacın yüzeysel ve derin dermal mantar enfeksiyonların tedavisinde geniş ölçüde kullanımı uzun bir süre devam etmiştir. Bununla beraber, direncin gelişmesine ilişkin suboptimal bir etkinlik aralığı sergilemesi ve az da olsa toksik bir özelliğe sahip olmasından dolayı, klinik çalışmalarda önemli ölçüde birtakım sınırlamalar göstermiştir (Corrado G.2009).

Özellikle itrakonazol, ki bu ilaç *Aspergillus* türlerine karşı etkinlik gösteren ilk antifungal azol ilaçlardandır, optimumdan çok daha düşük bir farmakokinetik profile sahiptir ve değişken biyoyararlanım (özellikle kapsüllerde) bir gösterir. Ayrıca, tehlikeli ilaç-ilaç etkileşimleri ile birlikte reaksiyon verebilir ve dolayısıyla çok iyi tolere edilmeyebilmektedir (Corrado G.2009; David ve ark 2015).

Yukarıda bahsi geçen sınırlamaların üstesinden gelebilmek adına, çok sayıda analoglar geliştirilmiştir. Vorikonazol, posakonazol, ravukonazol, isavukonazol ve albakonazol dahil, “ikinci kuşak” triazoller olarak anılan bu ilaçlar, daha büyük bir potense ve dirençli ve yeni ortaya çıkan patojenlere karşı daha üstün bir etkinliğe sahiptir(Bellmann ve ark 2007).

İkinci kuşak triazoller arasında Vorikonazol, Posakonazol ve Albakonazol (UR-9825) aktif ilaçlar olarak kullanıma sunulmuştur. İsavukonazol (BAL-4815), suda çözünebilir önilaç isavukonazonyumun aktif metabolitidir. Oral veya intravenöz uygulamayı takiben, plazma esterazlar tarafından katalize edilen bir reaksiyon sayesinde, isavuconazonyum hızla isavukonazole dönüşür (Schmitt-Hoffmann ve ark 2006).

İsavukonazol ve ravukonazolün önilaçları suda çözünür ve çözünürlüklerini arttırmak/kolaylaştırmak için, itrakonazol ve vorikokonazol i.v. çözeltilerinde olduğu gibi, siklodekstrin ilave edilmesini gerektirmemektedir. Vorikonazol, ravukonazol, isavukonazonyum ve albakonazolün kimyasal yapıları flukonazola çok benzemektedir. Posakonazolün kimyasal yapısı itrakonazolü andırmaktadır (Corrado 2009). Birinci ve ikinci kuşak triazollerin farmakokinetik özellikleri Tablo 2-3’de gösterilmiştir.

**Tablo 2-3: Birinci ve ikinci kuşak triazollerin farmakokinetik özellikleri (Corrado G. 2009)**

Farmakokinetik özellik	Flukonazol	İtrakonazol	Vorikonazol	Posakonazol	İsavukonazol	Ravukonazol	Albakonazol
Kullanılabilir şekilleri	Oral ve i.v.	Oral ve i.v.	Oral ve i.v.	Yalnızca oral	Oral ve i.v.	Oral ve i.v.	Yalnızca oral
Absorpsiyon hızı: oral uygulamayı takiben maksimum plazma konsantrasyonlarıyla ilgili süre	1 saat	Kapsül için 5 saat, oral çözelti için 2 saat	2 saat	5 saat	2 – 3 saat	4 saat	2 – 4 saat
Biyo-yararlanım, serum seviyesinin ağız yolunu takiben i.v yoluyla uygulanmasına olan oranı olarak ifade edilir	%9.5	Kapsül için %30, Çözelti için %5.5	%9.5	İnsanlarda uygulanamaz (yalnızca oral formülü kullanıma sunulmuştur) Hayvanlarda %52 – 100	Çok yüksek	Hayvanlarda %48 – 74	(yalnızca oral formülü kullanıma sunulmuştur) Hayvanlarda %80 – 100
Absorpsiyon üzerinde yiyeceğin etkisi	Azalmış	Kapsüllerde artmış ve çözeltide azalmış	Azalmış	Artmış, özellikle yağlı yemekler yüzünden	Etki yok	Artmış	Veri yok

**Tablo 2-3: Devamı Birinci ve ikinci kuşak triazollerin farmakokinetik özellikleri (Corrado G. 2009)**

Farmakokinetik özellik	Flukonazol	İtrakonazol	Vorikonazol	Posakonazol	İsavukonazol	Ravukonazol	Albakonazol
Dağılım hacmi (l/kg)	0.75	10.7	4.6	6.5	4.4 – 7.7	10.8	Çok büyük
Maksimum plazma konsantrasyonları, mg/l	9.1 (doz 400 mg)	0.3 (hem kapsül hem de çözelti için dozaj 200 mg)	3 (Ağızdan verildiğinde dozaj 3 mg/kg b.i.d. i.v.); 1.89 (dozaj 200 mg b.i.d.)	0.6 (400 mg ‘lık tek bir dozajı takiben), 1.3 (200 mg t.i.d. dozajı takiben)	2.5 (dozaj 100 mg)	0.8 – 1.7 (Ağızdan verildiğinde dozajlar 400 ile 800 mg arasında değişiyor)	Veri yok
Oral uygulamayı takiben durağan-durum	5 – 7 gün sonrasında erişildi	8 – 15 gün sonrasında erişildi	5 – 6 gün sonrasında erişildi	7 – 10 gün sonrasında erişildi	7 – 10 gün sonrasında erişildi	29 gün sonrasında erişildi	Veri yok
Plazma konsantrasyonları göz önüne alarak durağan-durumdaki serum seviyeleri (dozaj)	18 mg/l (400 mg/24 saat)	1 mg/l (200 mg/12 saat)	5 mg/l (4 mg/(kg 12 saat))	1 mg/l (400 mg/12 saat)	2 mg/l (100 mg/24 saat)	6 mg/l (400 mg/24 saat)	Veri yok
CNS/CSF penetrasyonu, serum seviyelerin yüzdesi	> %60	< %10	> %50	Düşük	Low in BOS ‘da düşük, beyinde daha yüksek	Tavşan modelinde %10	Tavşan modelinde %1.5

İntravenöz (i.v.) Ravukonazol ‘un (BMS-207147) prodrogu, Ravukonazol di-lizin fosfoester (BMS-379224) ‘dir

### 2.3. Topikal Yeni İlaç Taşıyıcılar

Antifungal ilaçlar, deriye uygulanması sonrası canlı *epidermis*'te etkinlik gösterebileceği terapötik konsantrasyona ulaşmalıdır. Ancak, ilaç moleküllerinin sahip olduğu fizikokimyasal özelliklere bağlı olmakla birlikte, merhem krem ve jel tipi konvansiyonel dozaj şekilleri ile *stratum corneum* tabakasının aşılması ilaçların geçirgenliği yeterli olarak sağlanamamaktadır. Bu durumun ve konvansiyonel dozaj şekillerinin diğer dezavantajların üstesinden gelmek için; polimerik ve lipidik yapıdaki nano boyutlu partiküler sistemler, veziküler taşıyıcılar ve koloidal ilaç taşıyıcı sistemler içeren yeni ilaç taşıyıcılarının optimizasyonu önem taşımaktadır. (Güngör ve ark. 2013; Kaur ve ark 2010; Lalit ve ark 2014). Antifungal ilaçların dermal uygulanmasına yönelik yeni ilaç taşıyıcı sistemleri arasında; mikroemülsiyonların da aralarında bulunduğu koloidal ilaç taşıyıcı sistemler ile lipozom, etozom, transferzom ve niozom gibi veziküler taşıyıcılar olarak yer almaktadır (Güngör ve ark. 2013). Antifungal ilaçların topikal uygulanmasına yönelik yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin optimizasyonu ile ilgili çalışmalar Tablo 2-4'da özetlenmiştir.

Tablo 2-4: Antifungal ilaçların dermal uygulanmasına yönelik yeni ilaç taşıyıcı sistemleri

İlaç	Taşıyıcı Sistem	Bulgular	Kaynak
	Lipozom	Boyutu ve stabilitesi optimize edilmiş ve ıalaçın deride permeabilitesi artırılmıştır.	(Agarwal ve Katare 2002)
	Submikron Mikroemülsiyon	Mikroemülsiyonlar ile ilacın topikal biyoyararlanımı artırılmıştır.	(Piemi ve ark 1999)
	Niozomlar	Topikal mantar enfeksiyonlarının tedavisinde etkinliği gösterilmiştir.	(Firthouse ve ark 2011)
<b>Mikonazol</b>	Katı Lipit Nanopartiküller (SLN)	SLN ile pazardaki jel formülasyonu karşılaştırıldığında, SLN'lerin derideki hedeflendirmesinin yüksek olduğu gösterilmiştir.	(Bhalekar ve ark 2009)
	Mikrokapsüller	Mikrokapsüller, Mikonazol'un ticari merhem formülasyonlarına göre daha yüksek etki göstermiştir.	(Yeun ve ark 2011)



**Tablo 2-4: Devamı Antifungal ilaçların dermal uygulanmasına yönelik yeni ilaç taşıyıcı sistemleri**

<b>Flukonazol</b>	Lipozomlar, Niozomlar	Lipozom içeren jeller, konvansiyonel jellere göre 14.2 kat daha yüksek ilaç biriki sağlamıştır. Niozom içeren jeller ile 3.3 kattan fazla ilaç biriki sağlamıştır. (Gupta ve ark 2010)
	Etozom, Lipozom	Etmozomlar ile ilacın sıçan derisinden difüzyonu lipozomlara göre iki kat, hidroetanolik çözeltiye göre üç kat daha olduğu saptanmıştır. (Bhalaria ve ark 2009)
	Mikroemülsiyon	Mikroemülsiyon formülasyonu ile yüksek perkütan absorpsiyon, yüksek stabilite ve iyi antifungal etki saptanmıştır. (Shah ve ark 2009)
	Katı Nanopartiküller (SLN)	Lipit SLN preparatları ilacın dermal lokalizasyonunu artırmış ve 24 saatin üzerinde sürekli salım sağlamıştır. (Gupta ve ark 2011)
	Katı Nanopartiküller (SLN) ve Yapılı Taşıyıcılar (NLC)	Lipit NLC ile, SLN'e göre, deride daha iyi birikim ve hedef dokuya ulaşmanın sağlandığı saptanmıştır. (Gupta ve Vyas 2012)
	Miseller	Miseller formülasyon, azolün antifungal kütanöz biyoyararlanımını artırabilirler ve çok daha iyi antifungal etki elde edebilirler. (Bachhav ve ark 2011)
	Mikroemülsiyon	Mikroemülsiyon kaynaklı hidrojellerin, konvansiyonel kremlere kıyasla, deride daha yüksek oranda biriktiği ve <i>Candida albicans</i> 'lara karşı daha yüksek <i>in vitro</i> antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. (Hashem ve ark 2011)
	Katı Nanopartikülleri (SLN) ve Lipid Taşıyıcıları (NLC)	Lipit NLC'lerin SLN ile karşılaştırıldığında aynı konsantrasyonda daha yüksek etki ve daha hızlı salım profili gösterdiği bildirilmiştir. (Souto ve ark 2004)
	Miseller	Miseller ile antifungal kütanöz biyoyararlanımının artırabileceği gösterilmiştir. (Bachhav ve ark 2011)

**Tablo 2-4: Devamı Antifungal ilaçların dermal uygulanmasına yönelik yeni ilaç taşıyıcı sistemleri**

Lipozom	Lipozomların jel ve kremlere göre ilacın deride birikimini artırdığı gösterilmiştir. (Patel ve ark 2009)
Mikroemülsiyon	Damlacık boyutundaki mikroemülsiyon, antifungal etkide etkilidir ve küçük damlacık boyutunun ketokonazolün in-vitro deri geçişinde mikroemülsiyonları mükemmel taşıyıcı yaptığı gözlemlenmiştir. (Patel ve ark 2010)
Katı Lipit Nanopartikülleri (SLN) ve Nanoyapılı Lipit Taşıyıcıları (NLC)	SLN ler saklanma koşullarına üç ay boyunca stabildir ancak, ışığa maruziyet sebebiyle değişime uğrarlar. NLC ler ilacı stabilize etseler de sulu NLC dispersiyonlarında saklama koşulları altında boyutunda büyüme meydana gelir. (Souto ve Muller 2005)
Katı Lipit Nanopartikülleri (SLN) –Hidrojel	Hazırlanan formülasyonların reolojik özellikler uygulama bölgesinde kalması için optimize edilmiştir. (Paolicellia ve ark 2011)
<b>Ketokonazol</b>	
Etozom	Ekonazol nitratin optimize edilmiş etozom formülasyonlarının 12 saat kontrollü salımı ile sıçan derisinden ilacın geçişinin lipozom içeren ve hidroetanolik jellerden neredeyse iki kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. (Verma ve Pathak 2012)
<b>Ekonazol</b>	
Mikroküre	İlacın çözünürlüğünün artırıldığı ve <i>in vitro</i> biyoyararlanımını artırdığı ve <i>Candida albicans</i> 'a karşı <i>in vitro</i> antifungal aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. (Albertini ve ark. 2009)
<b>Terbinafin</b>	
Niozomlar	Niozomları içeren jel formülasyonu ile maksimum antifungal aktivite sağlanmıştır. (Sathali ve Rajalakhmi 2010)
<b>Sertakonazol</b>	
Mikroemülsiyon	Mikroemülsiyon formülasyonu ile sertakonazolün fare derisindeki biriken miktarının doymuş sulu çözeltisine göre 2.93 kat fazla olduğu bulunmuştur. (Sahoo ve ark 2011)

**Tablo 2-4: Devamı Antifungal ilaçların dermal uygulanmasına yönelik yeni ilaç taşıyıcı sistemleri**

	Niozomlar	Proniozomal jel, sade formülasyona sahip olduğu gibi 6 kat daha yüksek deri geçişine sahiptir. (Kassem ve 2005)
<b>Griseofulvin</b>	Deforme membran	Optimize edilmiş DMV ile lipozomlara göre, ilacın daha yüksek oranda deriden permeabilitesinin ve deride tutunmasının arttığını göstermişlerdir. (Aggarwal ve Goindi 2012)
	Vezikülleri (DMV)	
	Mikroemülsiyonlar	Mikroemülsiyonların itrakonazol'ün topikal uygulanmasında çok avantajlı olduğu bulunmuştur. (Lee ve ark 2010)
<b>Itrakonazol</b>	Niozomlar	Yüksek ilaç tutulumu ve daha iyi penetrasyon sağlamıştır. (Ataei ve ark 2011)
	Mikroemülsiyon	Vorikonazol yüklü mikroemülsiyonun, aşırı doymuş vorikonazol çözeltilerinden önemli ölçüde daha iyi antifungal aktivite gösterdiği bulunmuştur. (El-hadidy G.2012)
<b>Vorikonazol</b>	Transetozom	Vorikonazol'ün DL, CL ve kontrole kıyasla, dermis/epidermis bölgesinde hem in vitro hem de in vivo deri birikiminde artma görülmüştür. (Song ve ark 2012)

DL: Esnek Lipozom CL: Konvansiyonel lipozom

## 2.4. Vorikonazol Hakkında Genel Bilgiler

### 2.4.1. Vorikonazol'ün Özellikleri

Vorikonazol, flukonazolun yapısal türevi olan geniş spektrumlu azol grubu bir antifungal etkin maddedir. 2002/2003 yılında İlk defa FDA/EMEA ile ruhsatlandırmış ve İdeal antifungal ajandan biridir. (Corrado G.2009).

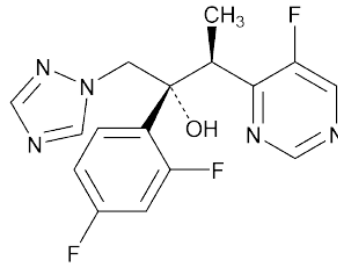
Vorikonazolün, konvansiyonel antifungallerin başlangıç tedavisinde toleransın düşük ya da dirençli olması halinde başarılı bir alternatif olacağı bildirilmektedir (Lilly ve ark 2003).

Tedavide kullanımı, invaziv *aspergillosis* ve *Scedosporium apiospermum* ve *Fusarium* türlerinin neden olduğu, hastalarda düşük tolerans gösteren veya diğer antifungal tedaviye dirençli ciddi enfeksiyonlar olarak belirtilmiştir (Lilly ve ark 2003).

Vorikonazolün mayalar, ipliksi mantarlar ve dimorfik mantarlar üzerindeki *in vitro* testleri, geniş çeşitlilikte ve klinik anlamda önemli maya ve küflere karşı sergilenen antifungal etkinin, mantar büyümesinin %90 oranında inhibe edilmesi gereken konsantrasyon (MIC90) < 4 µg/mL olduğunda, genellikle Vorikonazole duyarlılık gösterdiği ve MIC >8 µg/mL olduğunda ise direnç gösterdiği görülmüştür (Lilly ve ark 2003).

#### 2.4.2. Vorikonazol'un Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

Vorikonazolün açık kimyasal formülü şekil 2-6 da verilmiştir.



#### 2-6: Vorikonazolün Yapısı C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O

Flukonazolun yapısal türevi olan geniş spektrumlu azol grubu bir antifungal etkin maddedir. Vorikonazol'un yağ su partiyon katsayısı (log P) 1.8 ve moleküler ağırlığı 349.31 dalton olan Vorikonazol, beyaz renkte toz şeklindedir. Aseton ve metilen klorürde serbestçe çözünür; methanol ve kloroformda çözünür; suda ise kısmen çözünmektedir (USP 2007; Thiel M. 2007).

#### 2.4.3. Farmakodinamik Özellikleri

##### 2.4.3.1. Vorikonazolün Etki Mekanizması

Diğer triazol grubu antifungal ilaçlarda olduğu gibi, vorikonazol öncelikle sitokrom P450 ve ergosterol biyosentez yolağındaki, lanosterolün 14α-dimetil lanosterole dönüşmesinden sorumlu 14α-sterol demetilaz enziminin inhibisyonuna neden olur.

Ergosterol mantar hücre membranının temel bileşeni olup, membran akışkanlığını ve geçirgenliğinin yanısıra membran-bağımlı enzimlerin aktivitesini de düzenleyen bileşiktir. Ergosterol, aynı zamanda mayalar için de veziküllerden salgılanan temel bileşendir ve oksidatif fosforilasyon reaksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. 14 $\alpha$ -sterol demetilaz inhibisyonu, sadece ergosterol tüketimine ve sonrasında bütünlüğün, hücre zarının işlevinin bozulmasına neden olmaz, aynı zamanda skualen, zimosterol, lanosterol, 4,14-dimetilzimosterol ve 24-metilendihidrolanosterol içeren toksik sterol öncülerinin de birikmesine neden olur (David Ve ark 2015; Corrado G. 2009; Lilly ve ark 2003).

#### **2.4.3.2. Vorikonazol'ün Endikasyonları**

Orofarengeal kandidiyazın tedavisinde, itrakonazol ve/veya flukonazol refrakter vakalar dahil, şiddetli bir şekilde immün sistemleri bozulmuş olan konak hastalarda, örneğin hemapoetik kök hücre transplantasyon alıcısı hastalarda olduğu gibi, *graft-versus-host* hastalığı veya kemoterapiden kaynaklanan uzun süreli nötropeni olan hematolojik maligniteleri bulunan hastalardaki invazif asperjiloz ve disseminated kandidiyazın tedavisinde ( Corrado G. 2009) FDA tarafından onaylanmıştır.

Amfoterisin B veya itrakonazola karşı inatçı bir hastalığı olan invazif asperjiloz hastalarının veya söz konusu tıbbi ürünlere toleransı olmayan hastaların tedavisinde (Corrado G. 2009; David ve ark 2015) Amfoterisin B 'ye karşı inatçı bir hastalığı olan hastalardaki fusariöz hastalığının tedavisinde veya amfoterisin B 'ye toleransı olmayan hastaların tedavisinde; Kromblastomikoz'un tedavisinde ve itrakonazola karşı inatçı bir hastalığı olan hastalardaki miysetoma'nın tedavisinde veya itrakonazola karşı toleransı olmayan hastaların tedavisinde; Amfoterisin B, itrakonazol veya flukonazole karşı inatçı bir hastalığı olan hastalardaki koksidioidomikoz hastalığının tedavisinde veya söz konusu tıbbi ürünlere toleransı olmayan hastaların tedavisinde; orofarengeal kandidiyaz 'ın tedavisinde: Şiddetli bir hastalığı olan veya bağışıklık sistemleri bozulmuş olan hastaların birinci basamak tedavilerinde, öyle ki akut miyelojenöz lösemi veya miyelodisplastik sendromları olan hastalarda veya remisyon-endüksiyona bağlı olarak kemoterapinin profilaksisi için invazif fungal enfeksiyonları olan hastalarda ve *graft-versus-host* hastalığına bağlı olarak, hematopoietik kök hücre transplant alıcıların lokal tedaviye

verecekleri yanıtın zayıf olacağı düşünülmektedir, yüksek-doza immüno-supresif tedavi görmekte olan hastaların tedavisinde (Corrado G. 2009; David ve ark 2015; Lalit ve ark 2014) EMA tarafınan onaylanmıştır.

#### **2.4.3.3. Vorikonazol'un Kullanım Dozu**

Vorikonazol intravenöz (i.v.) ve oral (ağızdan) yollardan uygulanır. Vorikonazol i.v. enfüzyon olarak liyofilize tozundan hazırlanmış bir çözelti ve tablet ve oral uygulama için süspansiyon olarak toz halinde formüle edilmiştir. Her ne kadar destekleyici yayınlanmış farmakolojik çalışmalar olmasa da, vorikonazol yetişkinlerde birinci gün 6 mg/kg her 12 saatte bir (yükleme dozu) ve daha sonraki günlerde her 12 saatte bir 4 mg/kg olacak şekilde, i.v. dozaj vücut ağırlığı esas alınarak uyarlanmıştır. Oral doz rejimi, vücut ağırlığı göz önüne alınarak, birinci gün her 12 saatte bir 200 mg veya 400 mg ve daha sonraki günlerde her 12 saatte bir 100 mg veya 200 mg olarak uygulanır (sırasıyla, < veya >40 kg). Vorikonazol yemeklerden önce veya sonra alınmalıdır. Çocuklarda (2-12 yaş) vorikonazol birinci gün her 12 saatte bir 6 mg/kg ve daha sonraki günlerde her 12 saatte bir 4 mg/kg olarak oral veya intravenöz yoldan uygulanır (Dominique ve ark 2006; David ve ark 2015; Corrado G. 2009).

#### **2.4.3.4. Vorikonazol'un Yan Etkileri**

Vorikonazolün en önemli advers etkisi görme bozukluğu ve hepatik enzim düzeylerinde yükselmedir. Ayrıca vorikonazol ilaç etkileşimi yönünden yüksek potansiyele sahiptir ve karaciğer üzerindeki etkilerini azaltmak için kullanım dozunun düşürülmesi önerilmektedir. Vorikonazolün yan etkileri arasında ateş, görme bozukluğu, kızarıklık, bulantı kusma, diyare, sepsis, baş ağrısı, solunum bozukluğu ve periferik ödem bulunur (David ve ark 2015; Corrado G. 2009; Lilly ve ark 2003).

#### **2.4.3.5. Farmakokinetik Özellikleri**

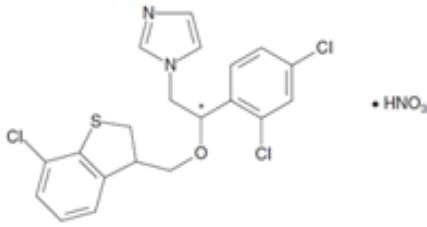
Vorikonazol'un oral uygulama takiben maksimum plazma konsantrasyonlarıyla ilgili süre 2 saat bulunmaktadır, protein bağlama %58 ve CNS/CSF penetrasyonu >%50 bulunmaktadır. Vorikonazol'un Farmakokinetik özellikleri Tablo 2-3'de gösterilmiştir.

## 2.5. Sertakonazol Hakkında genel bilgiler

### 2.5.1. Sertakonazolün Özellikleri

Sertakonazol (Dermofix , Ertaczo, Ginedermofix, Monazol, Mykosert or Zalain) imidazol türevi bir antifungal etkin maddedir, Sertakonazol da geniş aktiviteye sahip sistemik ve lokal olarak kullanılan bir antifungaldir. Mantardaki temel hücre duvarı komponenti olan ergosterol sentezini inhibe ettiği bildirilmiştir 12/2003 yılında İlk defa FDA ile rusatlandırmış (Jamie ve ark. 2009; Susijit ve ark. 2011)

### 2.5.2. Sertakonazolün Yapısı ve Özellikleri



#### 2-7: Sertakonazol Nitrat Yapısı (C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>OS)

Imidazol türevi bir antifungal etkin maddedir. Sertakonazolün moleküler ağırlığı 500.8 Dalton, ve log P değeri 6.2 beyaz ya da beyaza yakın renkte bir tozdur. Pratik olarak suda çözünmez; alkol ve diklorometanda kısmen çözünür; metil alkolde ise çözünür özelliktedir (European pharmacopoeia, 2007). Sertakonazol yüzeysel candidiyazisin tedavisinde topikal nitratları olarak kullanılan, %2 krem, jel, çözelti ya da toz dozaj formları bulunan imidazol türevi bir antifungaldir,(Sweetman S. 2009; Jamie ve ark 2009)

### 2.5.3. Sertakonazolün Farmakodinamik Özellikleri

#### 2.5.3.1. Sertakonazol'un Etki Mekanizması

Diğer azollerde olduğu gibi, sertakonazol de mantar hücre duvarının temel bileşeni olan ergosterol sentezini inhibe ederek mantar büyümesini ve çoğalmasını engeller. Ancak yüksek konsantrasyonlarda Sertakonazol, mantar hücre duvarındaki nonsterol lipitlere direk olarak bağlanarak, permeabilitede artışa ve akabinde miselyum lizisine yol açar. Böylece, konsantrasyona bağlı olarak, Sertakonazol *fungistatik ve fungusit* aktivite sergileyebilir. Sertakonazol, *Trichophyton*, *Epidermophyton* ve *Microsporum* cinsi dermatofitleri, *Candida* cinsleri ve *Cryptococcus* mayaları üzerinde geniş spektrumlu antifungal aktiviteye sahiptir. Ayrıca, fırsatçı ipliksi mantarlar ve gram pozitif bakterilere karşı da etkilidir. Buna ek olarak, Sertakonazol'un antifungal aktivitesi, dermatofitlerin klinik izolatlarında diğer azollere göre duyarlılıkta azalma göstermiştir (Jamie ve ark. 2009; Alfonso ve ark. 2013).

#### 2.5.3.2. Sertakonazol'un Endikasyonları

Avrupa'da dermatofitler (*tinea corporis*, *tinea cruris*, *tinea manus*, *tinea barbae* and *tinea pedis*), kütanoz *candidiasis*, *pityriasis versicolor* ve saçlı derideki seboreik dermatit gibi yüzeysel mikozların tedavisinde kullanımı belirtilmişken, ABD'de sadece *tinea pedis* için kullanım belirlenmiştir (Croxtall J. 2009; Alfonso ve ark 2013 ). Sertakonazol, *Trichophyton*, *Epidermophyton* ve *Microsporum* cinsi dermatofitleri, *Candida* cinsleri ve *Cryptococcus* mayaları üzerinde geniş spektrumlu antifungal aktiviteye sahiptir. Ayrıca, fırsatçı ipliksi mantarlar ve Gram pozitif bakterilere karşı da etkilidir. Buna ek olarak, Sertakonazolün antifungal aktivitesi, dermatofitlerin klinik izolatlarında diğer azollere göre duyarlılıkta azalma göstermiştir (Croxtall J. 2009; Alfonso ve ark 2013).

Sertakonazol, *Trichophyton*, *Epidermophyton* ve *Microsporum* türlerinin sebep olduğu dermatofitler ve *Candida* türleri ve *Cryptococcus* ların neden olduğu mayalara karşı geniş spektrumlu aktiviteye sahiptir. Buna ek olarak, Sertakonazolün fungisidal aktivitesi, minimum fungisidal konsantrasyon değeri 0.5- 64 mg/mL olduğunda, *Candida spp* çeşitliliği üzerinde belirgindir. Ayrıca, Sertakonazol 0.88 mg/mL MIC değerinde ve 21



izole Gram-pozitif bakteriye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. (Croxtall J. 2009; Alfonso ve ark 2013; Jamie ve ark 2009).

Sertakonazol ayrıca Avrupa Birliğinde 300 mg ovül, 500 mg tablet ve %2'lik krem olarak vajinal kandidiyazın tedavisi için kullanıma sunulmuştur. ABD'de ise, Sertakonazol yalnızca %2'lik krem olarak ve *Tinea pedis* tanısı olan 12 yaşın üzerindeki hastaların tedavisi için kullanıma sunulmuştur (Croxtall J. 2009; Alfonso ve ark 2013; Jamie ve ark 2009).

#### **2.5.3.3. Sertakonazol'un Kullanım Dozu**

Yüzeysel mikozlu hastalar için, günlük 2 kez %2'lik sertakonazol krem uygulaması (Croxtall J., 2009). Yüzeysel mikozların tedavisinde, günde bir defa veya günde iki defa etkilenmiş bölgeye krem veya çözelti halinde Sertakonazol uygulanabilir. Her ne kadar hasataların tedavis süreleri değişkenlik gösterse de, tam bir klinik iyileşme ve mikrobiyolojik eliminasyon elde etmek ve enfeksiyonun yeniden tekrarlanması olasılığını indirmek açısından genelde 4 haftalık bir tedavi kürünün uygulanması önerilir (Alfonso ve ark 2013; Jamie ve ark 2009). Vajinal kandidiyazın tedavisinde ise, Sertakonazol ya 300 mg ovül ya da 500 mg 'lık tablet (eğer gerekirse 7 gün sonrası ikinci bir uygulama ile) olarak olarak tek bir uygulama ile uygulanır veya %2 'lik krem formu 7 gün boyunca günde bir defa uygulanır. Sertakonazol imidazollere veya ekspiyen bileşenlerine karşı alerjisi olduğu bilinen hastalarda kullanılmamalıdır. Sertakonazol azol sınıfından kullanıma hazır en etkin antifungal ajanlardan biridir (Croxtall J. 2009; Alfonso ve ark 2013; Jamie ve ark 2009).

#### **2.5.3.4. Sertakonazol'un Farmakokinetik Özellikleri**

Sertakonazol deride uygulamasından sonra *stratum corneum*'e nüfuz etmiş ve % 5 uygulanan miktarından deriden geri kazanabilmiştir . Yedi sağlıklı gönüllülerin kol üzerinde 13 gün boyunca % 2 sertakonazol krem tekrarlanan uygulamalar serum içinde ilaç bulunamamıştır. Bir tek doz, vajinal tablet, 500 mg veya vajinal Ovu 300 mg, ilacın 72-96 saat boyunca vajinal sıvılarda yüksek Sertakonazol konsantrasyonu bulunmaktadır ve serum sıvılarında hiç bir miktarda bulunamamaktadır (Jan ve ark 2009).

## **2.6. Mikroemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler**

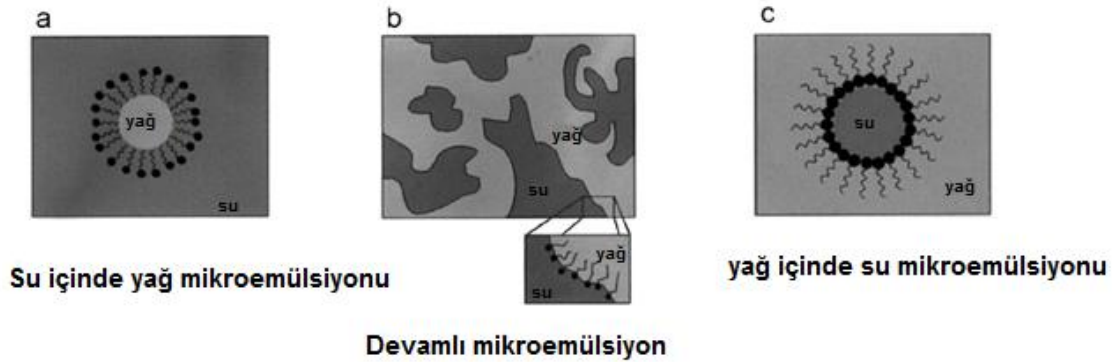
### **2.6.1. Mikroemülsiyon Tanım ve Özellikleri**

1959 yılında, Schulman, Stoeckenius ve Prince, electron mikroskopi ile ufak emülsiyon benzeri yapıların varlığını görüntülemişlerdir ve bu yapılar için “mikroemülsiyon” terimini kullanmışlardır. Mikroemülsiyonlar, bir enerji uygulanmasını gerektirmeyen, dolayısı ile kolaylıkla hazırlanabilen (yüzeyler arası gerilimin sıfır ve neredeyse kendiliğinden oluşması), optik açıdan şeffaf, izotropik, yüksek çözündürme kapasitesine sahip ve 200 nm den daha küçük damlacık boyutuna sahip koloidal yapılar olarak tanımlanmaktadır (Adnan A. 2009).

### **2.6.2. Mikroemülsiyonların Formülasyonu**

Mikroemülsiyonlar, yağ, su ve sürfaktan ve sıklıkla bir ko-sürfaktan karışımı halindedir. Farmasötik ve gıdae endüstrisinde yüksek uygulanma potansiyeline sahip olduklarından, son on yıl süresince birçok bilim insanı ve teknologlar tarafından üzerinde yoğun olarak çalışılan ilaç taşıyıcılar arasındadır (Anna K. 2006).

Mikroemülsiyonlar; yapı bakımından, su içinde yağ (y/s), yağ içinde su (s/y) ve sürekli mikroemülsiyonlar olarak sınıflandırılır (Şekil 2-8). S/Y emülsiyonlarında, su damlacıkları devamlı yağ fazı içinde disperse olmuşlardır, diğer yandan y/s mikroemülsiyonları yağ damlaları devamlı su fazında disperse olduğunda oluşmaktadır. Su ve yağ miktarlarının aynı olduğu sistemlerde sürekli (devamlı) mikroemülsiyonlar oluşabilir. Mikroemülsiyonların bu her üç tipinde de, ara faz, sürfaktan ve/veya ko sürfaktanların uygun oranlarının belirlenmesi ile stabilize edilmektedir(Adnan A. 2007).



Şekil 2-8: Mikroemülsiyonların Yapısı (M. Jayne Lawrenceca, 2000).

### 2.6.2.1. Yağ Fazı

Mikroemülsiyonlara yüklenecek etkin maddeler için en yüksek çözündürme potansiyeline sahip yağ fazı seçilmelidir. Soya yağı gibi aşırı derecede uzun hidrokarbon zincirli yağların mikro emülsifikasyonunun zor olduğu bilinmektedir. Orta-zincirli trigliseritler, orta-zincirli mono- ve di-gliseritler gibi daha kısa zincirli yağların mikro emülsifikasyonları ise daha kolaydır. Diğer taraftan, Lipofilik kısmın çözünürlük kapasitesi genellikle yağın zincir uzunluğunun artışıyla paralel olarak artmaktadır. Böylece, kullanılacak yağın seçimi sıklıkla etkin maddenin çözündürme yeteneği ile istenilen karakteristikteki mikroemülsiyonların oluşum kolaylığı arasındaki uyuma bağlıdır. C10 –C12 deki doymuş alkil zincirli ve polar başlı artırıcılar ve oleik asit gibi C18 doymamış alkil zinciri taşıyan yağlar en uygunları olarak önerilmiştir. (Cosima S. 2009; Anna K 2006). Doymamış cis konfigürasyonu, trans konfigürasyonun yaptığından daha fazla lipid yoğunlaşmasına maruz kalırlar. *Stratum corneum* çift tabakasının kuyruk kısmı hidrofobik olduğundan, yağ asitleri çift tabakaya geçebilir, ayrı alanların oluşumuna maruz kalabilir ve bu şekilde *stratum corneum* yüksek geçirgen yollara neden olabilir (Cosima S. 2009; Anna K. 2006). En sık kullanılan yağlar Tablo 2-5’de gösterilmiştir.

**Tablo 2-5: Mikroemülsiyon formülasyonlarında sık kullanılan yağlar ve uygulanma yolları  
(Stubenrauch C. 2009)**

Genel Sınıf	Örnekler	Ticari Adları	Uygunluğu
Sabit yağlar	Soya yağı, Kastor yağı		P/O/T/Ok/M
Orta-zincirli Trigliseritler	Kaprık/ Kaprilik asit Trigliseritleri	Miglyol 810, Labrafac CC,Croadamol GTCC, Captex 300, 355,	P/O/T/Ok/M
	Triasitin	Captex 500	
Orta-zincirli mono ve digliseritler	Kapril/ Kaprilik asit Mono and digliseritleri	Capmul MCM, Imwitor 742, , Akoline MCM.	O/T
Uzun-zincirli Monogliseritler	Gliseril Monooleat Gliseril monolinoleat	Paceol, Campul-GMO Maisine-35	O/T
Propilen glikol (PG)	PG monokaprilat PG monolaurat	Caproyl 90, Capmul PG8 Lauroglycol 90, Capmul PG-12	O/T
Yağ aside esterleri	PG dikaprilat/kaprat	Miglyol 840, Captex200,	O/T
Yağ aside esterleri	Etiloleat,		P/O/T/Ok/M
	Izopropil Miristat	Crodamol EO	P/ T/Ok/M
	Izopropil Palmitat		P/ T/Ok/M
Yağ asitleri	Oleik asit, Kaprilik asit	Crossential O94	O/T/M
Vitaminler	Vitamin E		P/O/T/Ok/M

**P:parentral; O: oral; T: topikal(dermal) ; Ok: oküler; M:Mukozal**

### 2.6.2.2. Sürfactanlar

Yüzey aktif madde hali hazırda damlalar etrafında deforme olur ve ara yüzey bölgesinde doğru bir eğrilik temin etmek üzere uygun lipofilik özellikleri olabilir, çok küçük değerlerde bir esnek film için ara yüzey gerilimini düşürmek mümkün olmalıdır. Mikroemülsiyon formülasyonu için kullanılacak sürfactanın seçimi de çok kritiktir. Seçilmiş sürfactan, hem seçilen yağ içinde mikro emülsifiye olmalıdır, hem de aktif farmasötik bileşen için iyi çözünme potansiyeline sahip olmalıdır. İlâveten, uygulama yolu için kabul edilebilirlik, yüzey aktif madde seçimi için de eşit derecede önemli bir kriterdir (Stubenrauch, 2009). Sürfactan seçimi yüzeyler arası gerilimi damlacıklar etrafında kolaylıkla deforme olabilecek esnek film oluşturacak kadar küçük bir değere düşürmelidir ve yüzeyler arası bölgede, uygun lipofilik karakter doğru eğimi sağlamalıdır. Düşük HLB li sürfactanlar s/y formülasyonunları için, yüksek HLB li sürfactanların (>12) y/s mikroemülsiyonları için tercih edildiği kabul edilmektedir. Birçok durumda, tek zincirli sürfactanların yalnız başına kullanıldıklarında, mikroemülsiyon oluşturabilmek için, y/s arayüzey gerilimini yeterli düzeyde düşürme kapasitesine sahip değillerdir (Stubenrauch C, 2009); Anna K. 2006). Mikroemülsiyonların oluşturulmasında en sık kullanılan sürfactanlar Tablo 2-6’de gösterilmiştir.

**Tablo 2-6: Mikroemülsiyonlarda sık kullanılan sürfactanlar listesi ve uygulama yolları (Stubenrauch C. 2009)**

Genel Sınıf	Örnekler	Ticari İsimleri	Uygulama Yoluna Göre Uygunluğu
<b>Polisorbatlar</b>	POE-20-Sorbitanmonooleat	Tween 80, Crillet 4	P/O/T/Ok/M
	POE-20-Sorbitan monolaurat	Tween 20, Crillet 1	
	Sorbitan monooleat	Span 80, Crill 4	P/O/T/Ok/M
	Sorbitan monolaurat	Span 20, Crill 1	
<b>Sorbitan esterleri</b>	Sorbitan monostearat	Span 60, Crill 3	O/T/M

**Tablo 2-6: (Devam) Mikroemülsiyonlarda sık kullanılan sürfaktanlar listesi ve uygulama yolları (Subenrauch C. 2009)**

<b>PEO-PPO kopolimeri</b>	<b>blok</b>	Polaksomer 188	Pluronic/Lutrol F 68	P/O/T/Ok/M
		Polaksmer 407	Pluronic/Lutrol F 127	O/T/Ok/M
<b>POE alkil eterleri</b>		POE-10-Oleil eter	Brij 96 v	T
<b>POE kastor yağı</b>		POE-35-Kastor yağı	Cremophore EL, Etocas 35 HV	P/O/T/Ok/M
<b>POE hidrojene kastor yağı</b>		POE-40- hidrojene kastor yağı POE-60 hidrojene kastor yağı	Cremophore RH40 HCO 40, Croduret 40 LD, Cremophore RH60, HCO	P/O/T/Ok/M
<b>POE Stearat</b>		PEG 660-12-hidroksi Stearat	Solutol HS 15	P/O/T/Ok/M
<b>POE Vitamin E</b>		Tokoferil-PEG1000-Suksinat	Vitamin E TPGS	O/T/Ok/M
<b>Sükroz esterleri</b>		Sükroz Laurat Sükroz Palmitat		O/T
<b>Alkil poliglukositler</b>		Kaprilik glukozitler	Oramix CG 10, NS 10.	T
<b>Poliglikoliz gliseritler</b>		Linoleoil makrogol gliseritleri	Labrafil 2125 CS	
		Oleoil makrogol gliseritleri	Labrafil 1944 CS	
		Kaprilokaproil makrogol gliseritleri	Labrasol	
		Poligliseril oleat	Plurol oleique CC 497	O/T
		Lauroil makrogol gliseritleri	Gelucire 44/14	
<b>Polieter alkoller</b>		Stearoil makrogol gliseritleri	Gelucire 50/13	
		Politetrametil butil fenol eter	Tyloxapol	Ok/T/Pulmoner
		Izononoil fenil POE 9 eter	Nonoxynol 9	Vajinal

**Tablo 2-6: (Devam) Mikroemülsiyonlarda sık kullanılan sürfaktanlar listesi ve uygulama yolları (Subenrauch C. 2009)**

	Soya fasulyesi lesitini		
	Yumurta lesitini		
<b>Fosfolipitler</b>	Diöleil fosfotidil kolin		Tümü
	Diizostearoil fosfotidil gliserol		
	PEGile fosfatidil		
	Dimiristol fosfotidil kolin		
<b>Alkil sülfatlar</b>	Dioktil sodium sulfosüksinat	Aerosol (AOT)	O/T

**P:parentral; O: oral; T: topikal(dermal) ; Ok: oküler; M:Mukozal**

### 2.6.2.3. Kosürfaktanlar

Mikroemülsiyonların oluşturulmasında; sürfaktanlar sıklıkla tek olarak yağ-su ara yüzey gerilimini yeterli derecede düşürememektedir. Bu nedenle, bir amfifilik kısa-zincirli molekülün ya da ko-sürfaktan olarak adlandırılan yardımcı yüzey aktif maddelerin ilave edilmesi gerekmektedir. Sahip oldukları kısa-zincirli amfifilik karakterleri (karbon zincir uzunluk aralığı C2-C10), bu maddelerin ara yüzeyde sürfaktanın monomoleküler tabakalarla etkileşmesini ve böylece yoğunlaşmalarına olanak sağlamaktadır (Subenrauch C. 2009). Ko-sürfaktanların ortamda bulunması, mikroemülsiyon oluşması için yeterli esnekliğe sahip bir arayüzey filmin oluşumuna izin vermektedir (Adnan A. 2009). Mikroemülsiyonların oluşmasında, yardımcı yüzey etkin maddelerin üç fonksiyonu vardır:

- 1- Ara yüzey kıvrımlarını modifiye ederler. Yardımcı yüzey etkin maddelerin zincir uzunluğu ara yüzey kıvrımına ve mikroemülsiyon yapısına önemli derecede etkileri bulunur. Daha kısa-zincirli alkollerin baş kısımları kuyruk kısımdan daha fazla şişer (pozitif kıvrım). (Subenrauch C, 2009)
- 2- Ara yüzey filminin akışkanlığını değiştirir. Sürfaktan film çok kalıplaşmış ve esnemez olduğunda, likit kristal faz oluşur. Yardımcı yüzey etkin maddeler,

sümfaktan monomoleküler tabakays penetre olarak aynı zamanda ara yüzey filminin akışkanlığını sağlarlar, böylece mikroemülsyon oluşur. (Adnan A. 2009).

3-Yardımcı yüzey etkin maddeler su ve yağ fazı arasında dağılırlar ve bu şekilde kimyasal yapıyı değiştirir ve buradan da çözücülerin hidro/ lipofilite ilgilerini değiştirirler (Stubenrauch C. 2009) (Adnan A. 2009). Mikroemülsiyonlarda kullanılan Yardımcı Yüzey Etkin Maddelere ait örnekler uygulama yoluna göre uygunluğu ile Tablo 2-7’de verilmiştir.

**Tablo 2-7: Mikroemülsiyonlarda kullanılan Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler (Stubenrauch C. 2009).**

Genel Sınıf	Örnek	Uygulama Yoluna Göre Uygunluğu
Kısa-zincirli alkoller	Etanol, Benzil alkol	P/O/T/Ok/M
	İzopropanol, Fenetil alkol	T
Alkan diol ve triolleri	Propilen glikol	P/O/T/Ok/M
	Gliserol	
Poliäten glikoller PEG	Butilen glikol	T
	PEG 400	P/O/T/Ok/M
Glikol Eterleri	Dietilen glikol monoetil eter (Transcutol)	O/T
	Tetrahidrofurfüril PEG eter (Tetra glikol ya da Glikofürol)	
Pirolidin türevleri	N-metil pirolidon (pharmasolve)	T
	2-pirolidon (Soluphor P)	O/T
Safra tuzları	Sodyum deoksalat	O/T/P
Organik asit tuzları	Kaprilik asit	T/O



**Tablo 2-7 (Devamı)**

Sodyum kaprilat	O/T/M
Potasyum sorbat	O/T

**P:parentral; O: oral; T: topikal(dermal) ; Ok: oküler; M:Mukozal**

#### **2.6.2.4. Sulu Faz**

Mikroemülsiyon formülasyonlarında su fazı olarak genellikle su kullanılır. Suda çözünen veya su ile karışabilen hidrofilik maddeler de sulu fazda yer alabilir. (Kogan ve Garti 2006; Santos ve ark. 2008; Yazan 2002).

#### **2.6.2.5. Etkin Madde**

Mikro emülsiyonun faz davranışı, molekül ağırlığı, Log P, iyonizasyon ve molekül yapısı gibi aktif içerik maddelerin fiziko-kimyasal özelliklerinden etkilenebilir (Patravale ve Date 2009 p. 266-267). Aktif içerik maddelerin lipofilitesi ayrıca mikro emülsiyonun fazlarının yüzde dağılımını da belirlemektedir. Eğer aktif içerik madde iç fazın içinde dağılırsa, bu durum mikro emülsiyondan serbest kalma hızını azaltabilir (Kan ve ark., 1999b; Yazan 2002; Kan ve ark., 1999a).

#### **2.6.2.6. Sıcaklık ve pH etkisi**

Mikro emülsiyonlar sıcaktan etkilenebilir; öyle ki, polar olmayan sürfaktanlar kullanıldığında sıcaklığın artması fazın inversiyonuna yol açabilir ve bunun gibi, sıcaklığın düşmesi mikro emülsiyonlarda stabilite ile ilgili sorunların ortaya çıkmasına neden olabilir. Mikro emülsiyonların stabilitesi üzerinde sıcaklığın etkisini saptamak amacıyla stabilite testi yapılabilir (Kreilgaard 2002; Patravale ve Tarih 2009 p. 267). Mikro emülsiyonun stabilitesini etkileyebilecek asitli ortamlara tabi olacak olan mikro emülsiyonların kullanılması durumunda, mikro emülsiyonun pH değeri de önem kazanacaktır (Kreilgaard 2002; Patravale ve Date 2009 p. 267).

### 2.6.3. Mikroemülsiyon Fizikokimyasal Özelliklerin İncelenmesi

Hazırlanan mikro emülsiyonlar damlacık büyüklüğü ve dağılım ve iletkenlik, pH ve mikro emülsiyon tipi için incelenir. Aktif içerik maddenin ilave edilmesi, ayrıca mikro emülsiyonun fiziko-kimyasal özelliklerini etkileyebilir (Moulik ve Paul 1998; Kreilgaard 2002).

Mikroemülsiyonların karakterizasyonu için Dinamik Işık Saçılımı (*Dynamic Light Scattering, DLS*), Dar Açılı Nötron Saçılımı (*Small Angle Neutron Scattering, SANS*) ve Dar açılı X-Ray Saçılımı (*Small Angle X-Ray Scattering*) gibi çok sayıda yöntemler bulunur. Polidispersite endeksi mikroemülsiyonun homojenitesi hakkında bilgi verebilir. Optik izotropi ise polarize ışık mikroskobu yardımıyla araştırılabilir. Bu durum berrak mikro emülsiyonun netlikle ilgili olarak gözün araştırılmasında kullanılabileceğini gösterir. Ayrıca mikro emülsiyonun saydamlığı refraktif endeksin ölçülmesiyle araştırılabilir. Mikroemülsiyonun iletkenliği ölçülerek mikro emülsiyonun faz davranışı araştırılabilir. Eğer mikro emülsiyonun dış fazı hidrofilik ise daha yüksek bir iletkenlik değer elde edilir (Moulik ve Paul 1998; Santos ve ark., 2008; Kalaitzaki ve ark., 2014).

Deride tahrişe veya herhangi bir yaralanmaya mani olmak açısından mikro emülsiyonun pH değeri topik formüllerde normal aralıkta bulunmalıdır (Ge ve ark., 2014; Corswant ve ark., 1998).

### 2.6.4. Mikroemülsiyonların Avantajları

Mikroemülsiyonların ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmalarının avantajları aşağıdaki şekilde sıralanabilmektedir (Çomoğlu ve Gönül 1997; Grassi ve ark. 2000; Kreilgaard ve ark. 2002; Sintov ve Shapiro 2004; Kogan ve Garti 2006; Chen ve ark. 2007; Santos ve ark. 2008; Patravale ve Date 2009 p. 260-261)

- Mikroemülsiyon formülasyonunun yapısı hidrofilik ve lipofilik maddelerin tek başına veya birlikte yüklenebilmesine olanak sağlar.
- Büyük yüzey alanları nedeni ile gerek hidrofilik gerekse lipofilik karakterdeki maddeleri yüksek oranda çözme yeteneğine sahiptirler. İlaç taşıma kapasitesileri

yüksek olduğu için etkin maddenin biyoyararlanımını arttırmaları da beklenmektedir.

- Yüksek çözücü etkilerinden dolayı etkin maddenin deriye karşı termodinamik aktivitesini arttırabilirler.
- Diğer koloidal sistemlerle karşılaştırıldığında mikroemülsiyonların kendiliğinden oluşabilmesi, üretimlerini ve ölçek büyütmei kolaylaştırır.
- Mikroemülsiyonların yüzey geriliminin çok düşük olması, deriye uygulandıklarında iyi temas etmelerini ve iyi penetre olabilmelerini sağlamaktadır.
- Mikroemülsiyonlar derinin hidrasyonunu arttırarak formülasyonun penetrasyon arttırıcı etkisine katkıda bulunur.
- Mikroemülsiyon yapısı ve bileşimi ile ilacın salım hızı kontrol edilebilir. Etkin madde moleküllerinin iç fazda bulunması salımı yavaşlatır ve depo etki oluşturur.
- Stabilite sorunu olan maddelerin stabilitelerinin artmasına yardımcı olurlar.
- Çok küçük damlacık çapına sahiptirler ve termodinamik olarak kararlıdır.
- Termodinamik açıdan kararlı olduklarından oluşumları için minimum enerjiye ihtiyaç duyarlar ve raf ömürleri uzundur.
- Yutulması güç olan katı ilaç şekillerinin yerine kullanılabilirler.
- Çeşitli uygulama yollarına yönelik (dermal, transdermal, oral, parenteral, pulmoner, oküler) hazırlanabilirler.

### 2.6.5. Mikroemülsiyonların Dezavantajları

Mikroemülsiyonların avantajları yanında bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Stabil mikroemülsiyonların eldesi yüksek konsantrasyonlarda sürfaktan ve kosürfaktan kullanımını gerektirir. Kullanılan sürfaktan ve kosürfaktana bağlı olarak alerjik ve iritan reaksiyonlar, toksisite ortaya çıkabilmektedir. Mikroemülsiyon stabilitesi sıcaklık ve pH gibi çevresel faktörlerden etkilenebilmektedir. Etkin maddenin sisteme ilavesi faz davranışını değiştirebilmektedir (Bagwe ve ark 2001; Kreilgaard 2002; Yazan 2002; Djordjevic ve ark. 2005; Muzaffar ve ark. 2013; Lopes ve ark 2014).

### 2.6.6. Mikroemülsiyonların Topikal/Transdermal olarak Uygulanması

Konvansiyonel formüllerle karşılaştırıldıklarında, ilaçların dermal uygulanması konusunda mikroemülsiyonlar önemli avantajlara sahiptir. Derinin daha derindeki tabakalarına nüfuz edebildiğinden ilaçların hem dermal, hem de transdermal olarak uygulanmasında kullanılabilir (Kogan ve Garti 2006; Santos ve ark., 2008).

Mikro emülsiyonların yüksek çözünürlük özelliğinden dolayı, etkin maddenin yüksek konsantrasyonlarını uygulama yerine taşıyabilmekte ve bunun sonucunda biyo-yararlanım ve ilacın geçirgenliğini artacaktır. Küçük damlacık büyüklüğü ve çok düşük yüzey gerilimi uygulama sonrasında deriye çok daha iyi temas olacağı anlamındadır ve bu durum ilacın geçirgenliğinde bir artış meydana gelmesiyle sonuçlanacaktır. Mikro emülsiyonlar dermal penetrasyonu artırarak yapısının değişmesine ve rahatsız olmasına neden olmak suretiyle interselüler sıvı matrisi etkileyebilir (Zhu ve ark., 2008; Santos ve ark., 2008).

## 2.7. ATR-FTIR spektroskopisi

Infrared (IR) spektroskopisi *stratum corneum* yapı ve dinamiğine ilişkin çok önemli bulgular sağlayan biyofiziksel bir yöntemdir (Naik ve Guy 1997 p.87-162; Tanojo ve ark. 1997; Mendelsohn ve Moore 2000). Özel bir IR tekniği olan Hafifletilmiş Toplam Yansıtma (Attenuated Total Reflectance, ATR) spektroskopisi, FTIR spektroskopisinin, *in vitro* ölçümlerin yanı sıra *in vivo* değerlendirmelerde de geniş oranda fayda sağlayan bir teknik halini almasını sağlamıştır (Stuart 2004 p. 138-140; Yadav ve ark 2009).

ATR-FTIR spektroskopisi, *stratum corneum* hücrelerarası lipit yapı düzeninde oluşan değişiklikler ve formülasyonlarda yer alan penetrasyon artırıcı çeşitli yardımcı maddelerin deri üzerindeki etkilerinin incelenmesinde etkin, hassas ve güvenilir bir yöntemdir (Aqil ve ark 2007).

ATR-FTIR yönteminde örnek IR ye geçirgen olan özel bir kristalin yüzeyi ile temas ettirilir. Deri söz konusu olduğunda, IR radyasyonun penetrasyon derinliği, cihaza, ATR kristaline, ilgilenilen dalga boyuna ve deri örneğinin hidrasyon seviyesine bağlı olarak 0.3-3 µm arasındadır. Dolayısı ile deri, bu teknik ile doğrudan analiz edildiğinde, tek bir ATR-FTIR spektrumundan elde edilen bilgi kristal ile temas eden ilk tabakalara aittir. *Stratum corneum*' un daha derin kısımları ile ilgili bilgiler, bant ile soyma yöntemi sonucunda elde edilebilir. Bantla soyma yöntemi (*tape stripping*) ile ATR-FTIR spektroskopisi birlikte kullanılarak yapılan ölçümlerle topikal uygulanan formülasyonlardan etkin maddelerin derideki birikimleri saptanabilmektedir (Inoue ve ark. 2001; Prashch ve Forster 2002 p.227-254; Stuart 2004 p. 138-140).

*Stratum corneum* üzerinde gerçekleştirilen spektroskopik çalışmalarda en fazla bilgi sağlayan lipit absorbanları, hidrofobik alkil zincirlerinden kaynaklanırlar. *Stratum corneum*'daki hücrelerarası lipitlerin alkil zincir düzeninde sıcaklığa ya da formülasyonda yer alan yardımcı maddelerin *stratum corneum* bileşenleri ile etkileşmesine bağlı olarak gerçekleşen bozulmalar, karbon-hidrojen (C-H) asimetric ( $2920\text{ cm}^{-1}$ ) ve simetric ( $2850\text{ cm}^{-1}$ ) gerilme bantlarının dalga numaralarının daha yüksek değerlere kaymasına neden olur (Harrison ve ark 1996; Jadoul ve ark 1996; Naik ve Guy 1997 p. 87-162).

## **2.6. Bant ile Soyma (*Tape Stripping*) Yöntemi**

Bant ile soyma yöntemi, topikal olarak uygulanan ilaçların ve kozmetik ürünlerin derideki dağılımını, penetrasyonunu ve dermatofarmakokinetiğini değerlendirmede kullanılan noninvaziv bir tekniktir (Wiedersberg ve Nicoli 2012 p. 109-127).

### **2.7.1. Bant ile Soyma Yönteminin Prensibi**

Deriye ilacın uygulanmasını takiben, *Stratum corneum* 'daki ilacın miktarını saptamak için bant soyma tekniği kullanılır. Bir ay sonrasında başka yapışkanlı bantlar uygulanır ve ilacın uygulandığı alandaki bant soyulur. Böylece *Stratum corneum* 'un her bir tarafındaki bant sırayla soyulmuş olur. Soyulan *Stratum corneum* tabakasındaki ilacın miktarı uygun yöntemlerle saptanabilir.

Birinci bant genelde absorbe olmamış ilacı temsil eder (Pershing ve ark., 1992; Lademann ve ark., 2009, Gürbüz A. 2014).

### **2.7.2. Bant ile Soyma Yöntemini Etkileyen Faktörler**

Bandın türü, uygulanan basın., soyma gücü ve ekstraksiyon ve kullanılan analitik prosedür gibi bu tekniği etkileyebilecek çok sayıda faktör bulunmaktadır (Brain ve ark., 2002; Lademann ve ark 2009).

Söz konusu yerdeki saç miktarına bağlı olarak uygulama yeri de bu tekniği etkileyebilir (Breternitz ve ark., 2007). Yapışma gücüne ve bandın esnekliğine bağlı olarak, kullanılan bandın türü bu tekniği etkileyebilmektedir. Ayrıca soyma süresi ve hızı ve banda uygulanan basınç da bu tekniği etkilemektedir ve dolayısıyla dikkatle kontrol edilmelidir. Kontrol edilmesi gereken bir diğer önemli faktör ise, bant şeritlerinden aktif içerik maddelerin ekstraksiyon süresidir (van Hoogdalem 1992; Coderch ve ark., 1996; Coderch ve ark., 1999; Herkenne ve ark., 2008)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇLER

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Vorikonazol (Mylan laboratories Ltd., Hindistan)
- Sertakonazol Nitrat (Optimus Drugs PVT. Ltd., Hindistan)
- Oleik Asit (Sigma-Aldrich)
- Transcutol HP (Kaprilokaproil macrogol-8 gliseritleri) (Gattefosse)
- Tween 80 (Polietelin Glycol sorbitan monooleat) (Sigma-Aldrich)
- Polietilen Glikol (PEG) (Merck)
- O-Fosforik Asit (Merck)
- Etil Oleat (Fluca Chemical)
- İzopropil Miristat (IPM) (Merck)
- Sodyum Klorür (Riedel de Haen)
- Asetonitril (HPLC saflığında)(Merck)
- Metanol (HPLC saflığında)(Merck)
- Propilen Glikol (Sigma Aldrich)
- Etanol (Merck)
- Lipoid S100 (Soya fosfatidil Kolin)
- Triton X100 (Sigma Aldrich)
- Trietil amin (Merck)
- Disodyum hidrojen fosfat (Merck)
- Potasyum dihidrojen fosfat (Merck)

##### 3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler

###### 3.1.2.1. Kullanılan Aletler

- UV Spektrofotometresi (*Shimadzu, Model 1601*)
- Damlacık Büyüklüğü Ölçüm Aleti (*Malvern Zetasizer-Nano ZS*)

- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (*Shimadzu, Model LC 20AT*)
- Kolon (*Oktadesilsilan, ACE C8 4,6 x 150 mm, 5µm*)
- Kolon (*CN, Spherisorb 4 x 250 mm, 10 µm*)
- Franz Difüzyon Sistemi (*PermeGear, V6A Stirrer*)
- Ultrasonik Banyo (*Bersonik*)
- Terazî (*Denver Instruments, TB Series*)
- Santrifüj (*Hettich, D-7200, Type 2041*)
- Orbital Çalkalayıcı (*Thermo Electron Corporation, Model 420*)
- Manyetik Karıştırıcı (*IKA<sup>®</sup>-Werke, R15*)
- pH metre / Kondüktometre (*Eutech Instruments, PC 2700*)
- Distile Su Aleti (*Elga, Pure Lab Flex*)
- Nutche Erleni Süzme sistemi (*Sartorius D-3400*)
- Dermatome (*Zimmer<sup>TM</sup> Electric Dermatome*)
- Refraktometre (*Abbe 5 Refraktometre B+S Code: 44-571*)
- Nutche Erleni süzme sistemi (*Sartorius D-3400*)
- Polarize ışık mikroskobu (*Olympus CX31-P*)

### 3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler

- Zetasizer Küveti (Tek Kullanımlık)
- HPLC şişeleri
- Mikropipet ve Uçları
- Cam Malzeme (Beher, Erlen Mezur, Cam şişie, Pipet, Balon joje, Petri Kütüsü vs.)
- Santrifüj Eppendörfleri (1,5-2ml)
- Domuz Derisi (Yerel bir kesim evinden sağlanmıştır.)
- 0,45 Membran filtre HAWP
- Yapışkan Bant (*Scotch Book Tape*)(3M )
- 0,45 mm Millex<sup>®</sup>-LCR (PTFE) Filtre (*Millipore*)
- 0,22 mm Membran Filtre (GSWP) (*Millipore*)



- 0,45 mm Membran Filtre (HVLP) (*Millipore*)

### 3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

- Microsoft Office Word 2007
- Microsoft Office Excel 2007
- Sigma Plot 12.3 (Systat software Inc. v.12)
- Grapher 9 (Golden Software Inc. v.9)
- Triplot v1-4-2
- Refutas Calculator V.1

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. Vorikonazol Infrared (IR) Spektrumu

Bu çalışma için ATR-FTIR spektrometresi (*Perkin Elmer Zn Spectrum One*) kullanıldı. Toz halde Vorikonazol ATR-kristali üzerine yerleştirildi ve 100 N kuvvet uygulanarak  $4000-650\text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında,  $4\text{ cm}^{-1}$  çözünürlükle spektrum alındı.

### 3.2.2. Sertakonazol Infrared (IR) Spektrumu

Bu çalışma için ATR-FTIR spektrometresi (*Perkin Elmer Zn Spectrum One*) kullanıldı. Toz halde Sertakonazol ATR-kristali üzerine yerleştirildi ve 100 N kuvvet uygulanarak  $4000-650\text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında,  $4\text{ cm}^{-1}$  çözünürlükle spektrum alındı.

### 3.2.3. Vorikonazol'ün HPLC Analizi ve Validasyonu

Literatürde kayıtlı yöntem (A. Adams, 2005) de bazı değişiklikler yapılarak Vorikonazol'ün miktarında kullanmak üzere HPLC analiz yöntemi oluşturuldu. Analiz yönteminin geçerliliğini incelemek için validasyonu yapıldı (ICH kılavuzu (2005))

**Mobil Faz Hazırlama:** Trietanolaminin %0,6 konsantrasyondaki çözeltisini hazırlamak üzere, 6 ml trietilamin 1000 ml beherin içine alındı üzerine distile su ile ilave edilerek manyetik karıştırıcı ile 5 dakika boyunca karıştırıldı ve hacmine balon jode tamamlandı. Mobil faz, %0,6 trietilamin ve metanolün eşit miktarlarda (50: 50)

kariştirilmesi ve orto-fosforik asit çözeltilisi kullanarak pH'nın 6'ya ayarlanması ile hazırlanmıştır.

**Kromatografik koşullar:** Yüksek Basınçlı Sıvı kromatografisi (HPLC) sistemi; 255 nm UV dedektör ve ACE 5, 150 x 4,6 mm kolon ile kullanılmıştır. Akış hızı 1,3 ml/dakika, alıkonma süresi 8,5 dakika ve enjeksiyon hacmi 20 µl'dir. Kolon sıcaklığı oda sıcaklığında korunmuştur.

**Örnek Hazırlama:** Vorikonazol belirlenen konsantrasyona göre metanolde çözüldürüldü ve 1 dakika boyunca sonikatörde tutuldu. Seyreltilme çözeltilisi olarak metanol ve su karışımı (15:10) kullanıldı.

### 3.2.4. Vorikonazol analiz yönteminin validasyonu

ICH kılavuzuna (2005) göre analitik bir yöntemin validasyonunun amacı o yöntemin kullanım amacına uygunluğunu kanıtlamaktır. Bu analitik yöntemin validasyonu için doğrusalılık, kesinlik, tekrarlanabilirlik, doğruluk ve hassasiyet araştırılmıştır.

#### 3.2.4.1. Doğrusallık

Analitik yöntemin doğrusalılığı belirli bir aralıkta elde edilen test sonuçlarının örneğin içindeki analiz edilecek maddenin konsantrasyonu ile doğrudan orantılı olmasıdır. Analitik yöntemin doğrusalılığı için, 100 µg/ml stok çözeltilisi elde edebilmek için 0,01 g Vorikonazol 100 ml'lik balon jöjeye alınmış ve metanol ilave edilip 1 dakika boyunca ultrasonik banyoda sonike edilmiştir.

Gerekli seyreltmeler yapılarak, sırasıyla 0,04; 0,100; 1,00; 2,50; 5,00; 10,00 µg/ml konsantrasyonlarında 6 örnek hazırlanmıştır. Her bir örnekten 0,45 membran filtreden geçirilmiş ve HPLC vialine alınarak HPLC analizi için otomatik numune alıcısına konmuştur. Otomatik numune alıcı kullanılarak her bir numuneden 20 µL çekilip Vorikonazol'ün miktarının belirlenmesi için HPLC de analiz edilmiştir. Akış hızı 1.3 ml/dakika ve UV dalga boyu ise 255 nm olarak ayarlanmıştır. Alıkonma süresi 8,5 dakika olarak bulunmuştur ve eğri altında kalan alan (AUC) belirlenmiştir.

Her bir örneğin eğri altında kalan alanı (AUC) kaydedilip, standart sapması ve relative standart sapması hesaplanmıştır. Konsantrasyon/AUC verileri ile standart doğru denklemi denklem ve korelasyon kat sayısı ( $r^2$ ) Excel 2007 kullanılarak belirlenmiştir.

#### **3.2.4.2. Kesinlik**

Analitik yöntemin kesinliği, önceden belirtilen koşullarda herhangi bir değer in tekrarlanabilme kabiliyeti veya bireysel test sonuçlarının birbirine yakınlığının bir derecesidir. Bu amaçla 0,01 g Vorikonazol 100 ml'lik balonjojeye konarak 100 µg/ml Vorikonazol çözeltisi ile stok solüsyonu hazırlanmış ve metanolde eklenerek numune bir dakika boyunca ultrasonic banyoda tutulmuştur. Gerekli seyreltme yapılarak 5µg/ml, 2,5µg/ml ve 1,00 µg/ml konsantrasyonda üç numune hazırlanmıştır. Numuneler HPLC'de analiz edilip Vorikonazolün miktarı hesaplanmıştır. Bu işlem üç gün boyunca tekrarlanmış olup her bir numune için ortalama değer, standart sapma ve relatif standart sapma hesaplanmıştır.

#### **3.2.4.3. Tespit Limiti ve Miktar Tayini Limit**

İlgili analitik yöntemin tayin sınırı numune içindeki analiz edilecek maddenin tespit edilebilen endüşük miktarı olmakla beraber kesin değer in hesaplanması gerekli değildir. Gürültü sinyal yaklaşımını kullanarak, numune içindeki analiz edilecek maddenin bilinen düşük konsantrasyonları boş numunelerle karşılaştırıldığında analiz edilecek maddenin minimum konsantrasyonu güvenilir bir şekilde tespit edilebilmektedir. Tespit Limiti için sinyal gürültü oranları genellikle 3:1 olarak kabul edilmektedir. Miktar Tayini Limiti için sinyal gürültü oranları genellikle 10:1 olarak kabul edilmektedir.

#### **3.2.5. Sertakonazol için HPLC Analizi Yöntemi Geliştirilmesi ve Validasyonu**

Literatürde kayıtlı yöntem dikkate alınarak (Sertakonazolün analizi için yeni bir HPLC yöntemi geliştirilmiş ve validasyonu yapılmıştır. Mobil fazın bileşenlerinin oranlarını belirleme için, gradiyent akış kullanılırken, maksimum UV absorpsiyonunu belirlemek için ise ışık diyot grubu dedektörü (photo diode array detector) kullanılmıştır.

**Mobil Faz Hazırlama:** Sertakonazol için kullanılan HPLC yöntemi için mobil faz olarak asetonitril ve 0.01 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O çözeltisi karışımı 45:55 oranlarında hazırlanmıştır.

**Kromatografik koşullar:** HPLC sistemi 180-400 nm aralığında UV absorpsiyonunda tarama yapılmasına izin veren bir foto diyot array detektörle donatılmıştır. Maksimum absorpsiyon 230 nm’de seçilmiştir. Bu dalga boyunda yüksek hassasiyete sahip çok iyi tanımlanan bir pik şekli elde edilmiştir. Bu durum Sertakonazol’ün çok düşük miktarlarda tespit edilmesine izin vermiştir. Bir 10 µm Spherisorb CN sütun kullanılmış, akış hızı 3,2 ml/dakika ve sıcaklık 35 °C olarak ayarlanmıştır. Bir otomatik örnekleyici yardımıyla 50µL örnek çözelti sisteme enjekte edilmiştir. Bu arada sistem basıncı 128 bar ve alıkonma süresi 7.5 dakikadır.

### **Örnek Hazırlama**

Tam tartılmış Sertakonazol nitrat asetonitril içinde çözdürülür. Çözelti 10 dakika boyunca manyetik bir karıştırıcı yardımıyla karıştırılır. Asetonitril ile hacmine tamamlanmıştır.

#### **3.2.5.1. Sertakonazol Analiz Yönteminin Validasyonu**

Bu yöntemin validasyonu için de sertakonazol de olduğu gibi doğrusallık, gün-içi ve günler arası tekrarlanabilirlik parametreleri çalışılarak yöntemin validasyonu sağlanmıştır.

#### **3.2.5.2. Doğrusallık**

Elde edilen sonuçların konsantrasyonla doğrudan orantılı olup olmadıklarını belirlemek üzere bir doğrusallık çalışması yapılmıştır. Konsantrasyonu 43.6 µg/ml olan bir standart çözeltinin hazırlanması için, 0.100 g Sertakonazol nitrat ‘ın 250 ml’ lik bir balon jöjeye alınıp ve gereken hacme asetonitril ile tamamlanmıştır. Çözelti 10 dakika boyunca manyetik bir karıştırıcı yardımıyla karıştırılır. Gerekli seyreltmeler yapılarak, 10,9, 5,45, 1,09, 0,545, 0,109, 0,0763 ve 0,0436 µg/ml konsantrasyonda 7 adet örnek hazırlanmıştır. Her bir örnekten alınan 50µL kromatogram içine enjekte edilmiş ve pik altında kalan alan kaydedilmiştir. Standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (RSD, %) hesaplanmıştır.

Konsantrasyona karşın eğri altında kalan alan (AUC) arasındaki lineer ilişki üzerinden standart doğruya ait denklem ve korelasyon hesaplanmıştır.

### 3.2.5.3. Kesinlik

Tekrarlanabilirliğin saptanması için 5,54, 0,109 ve 0,0763 µg/ml konsantrasyonlarda üç örnek preparat hazırlanmış ve aynı gün, ancak farklı saatlerde olmak üzere analiz işlemi üç defa tekrarlanmıştır (tekrarlanabilirlik). Standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) hesaplanmıştır. Ara kesinliğin test edilmesi için 5,54, 0,109, 0,0763 µg/ml'lik konsantrasyonlarda üç örnek preparat hazırlanmıştır. Etken madde kromatografi yoluyla saptanmıştır. Bu prosedür üç farklı günlerde tekrarlanmıştır. Standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) da ayrıca hesaplanmıştır.

### 3.2.5.4. Tespit Limiti ve Miktar Tayini Limit

Sertakonazol'un tespit limiti için sinyal gürültü oranı için 3:1; miktar tayini Limiti için sinyal gürültü oranı 10:1 kabul edilerek, ilgili değerler hesaplanmıştır.

### 3.2.6. Vorikonazol (eklenecek) Çözünürlük Çalışmaları

Vorikonazol'un mikroemülsiyon sistemlerinin farklı bileşenlerindeki çözünürlüğünü saptamak için, üç farklı Eppendorf tüpünün içine 2 ml Oleik Asit, İzopropil Miristat (IPM), IPM: Oleik Asit 50:50, Transcutol ve Tween 80 ve daha sonra her bir Eppendorf tüpün içine çözünebileceğinden fazla miktarda Vorikonazol ilave edilmiştir. Her bir Eppendorf tüp sıkıca kapatılmış ve 200 hızda, 72 saat boyunca oda sıcaklığında bir orbital çalkalama aletinde (Thermo Electron Corporation, Model 420) çalkalanmıştır. 72 saatin sonunda örnekler çalkalama aletindeki yerlerinden çıkartılmış ve dakikada 15000 tur yapabilen bir santrifüj cihazında (Hettich, D-7200, Tip 2041) bir saat boyunca santrifüj edilmiştir.

Çözeltinin üstünde kalan süpernatant kısımdan 0.1 g alınır ve 10 ml'lik bir volümetrik erlene aktarılır. Üzerine 10 ml'ye kadar metanol ilave edilir ve her örnek 1 dakika süreyle çalkalanır. Her bir çözeltiden 1 ml alınır ve metanol ile 10 ml'ye kadar seyreltilir ve 1 dakika boyunca çalkalanır. Her bir 15 örnekten 5 ml alınır ve 0.45 µm'lik bir membran filtresinden iki defa geçirilerek süzülür. Süzülen örnekler daha sonra çözünen

miktarın tayin edilmesi için HPLC yöntemiyle analiz edilir. Vorikonazol 'un çözünebilir miktarını hesaplamak için aşağıda yer alan formül kullanılır:

$$C = \frac{AUC_s}{AUC_{st}} \times C_{st} \times 1000$$

C: Çözünebilir Vorikonazol gr/gr olarak konsantrasyonu

AUC<sub>s</sub>: Örnek eğrinin altında kalan alan

AUC<sub>st</sub>: Standart eğrisinin altında kalan alan

C<sub>st</sub>: Standardın g/g olarak konsantrasyonu

### 3.2.7. Ön Formülasyon Çalışmaları

Mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilirken Tablo 3-1'de verilen yağ, sürfaktan ve kosürfaktan ve bu maddelerin farklı oranlardaki karışımları ile ön formülasyon çalışmaları yapıldı. Ön formülasyon çalışmalarında literatürde kayıtlı olan su ile titrasyon yöntemi kullanıldı (Talegaonkar ve ark. 2008; Al Abood ve ark. 2013). Bu amaçla %5'lik artışı sağlayacak şekilde, yağ sürfaktan ve ko-sürfaktan sistemdeki yağa su ilave edildi. Bulanık karışımlarda ise berraklık elde edildiği andan tekrar bulanıklık meydana gelene kadar kullanılan su miktarları kaydedildi. Elde edilen formülasyonlar su tutma kapasiteleri, damlacık boyutu ve dağılımı, sürfaktan/kosürfaktan oranı ve yüzdeleri, yağ fazı yüzdeleri bakımından değerlendirildi.

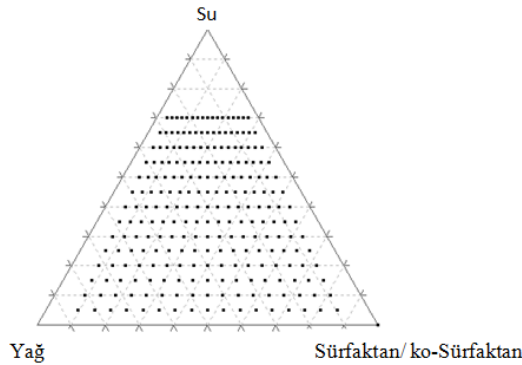
**Tablo 3-1: Mikroemülsiyonların ön formülasyon çalışmalarında kullanılan yağ, sürfaktan ve kosürfaktanlar**

Sürfaktan	<b>Tween 80</b>			
Ko-Sürfaktan	Transkutol	Propilen glikol	Etanol	PEG 400
Yağ	Oleik Asit	İzopropil Miristat		

### 3.2.8. Mikroemülsiyonların Hazırlanması

Mikroemülsiyonun formüle edilmesi için gerekli bileşenler, bu bileşenlerde etken maddenin daha iyi çözünabilirliğine ve hazırlanmış olan mikroemülsiyon formülün stabilitesine göre seçilmiştir. Mikroemülsiyonların hazırlanmasında aşağıda yer alan prosedür izlenmiştir.

Bilinen gerekli oranlarda sürfaktan ve ko-sürfaktan (karışım) bir cam behere ilave edilerek, üzeri Paraflim ile örtülür ve daha sonra bir manyetik karıştırıcı ile 15 dakika karıştırıldı. Sürfaktan karışım karıştırılırken, daha önceden ağırlığı belirlenmiş seçilen yağ Tablo 3-2'e göre her bir 17 boş flakona alındı. Daha sonra sürfaktan ve ko-sürfaktan karışımdan arzu edilen miktar tanımlanan orana ulaşmak açısından seçilen yağın içine ilave edildi. Suyun ilave edilmesinden önce, karışım manyetik bir karıştırıcı yardımıyla bir dakika karıştırıldı. Bir mikro pipet yardımıyla, her ilave işlemi takiben su miktarında %5'lik artışı sağlayacak şekilde, yağ sürfaktan ve ko-sürfaktan sistemdeki yağa su ilave edildi. Suyun ilavesi bileşenler bir manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılırken yapıldı. Her su ilavesini takiben sistem şeffaflık açısından veya herhangi bir şekilde faz ayrılığına dair bir işaret için çıplak gözle incelendi. Yapılan gözlem yeni geliştirilen gözlem formuna kaydedildi. Flakon bulanık hale geldiğinde suyun ilave edilmesi durduruldu. Bu durumda her bir sistem için bir üçlü faz diyagramı yaratılmış oldu. Her mikroemülsiyon formülasyonu için mikroemülsiyon oluşum alanı ile ilgili taranan alan Şekil 3-1'de verilmiştir.



**Şekil 3-1: Her mikroemülsiyon sistemle ilgili taranan alanı gösteren üçlü faz diyagramı**

**Tablo 3-2: Yağ ve sürfaktan/ko-sürfaktan karışımın miktarları ve oranları**

	Yağ (g)	S-karışım (g)	Yağ: S- karışım oranı
1	0,250	2,250	1 : 9
2	0,375	2,125	1,5 : 8,5
3	0,500	2,000	2 : 8
4	0,625	1,875	2,5 : 7,5
5	0,750	1,750	3 : 7
6	0,875	1,625	3,5 : 6,5
7	1,000	1,500	4 : 6
8	1,125	1,375	4,5 : 5,5
9	1,250	1,250	5 : 5
10	1,375	1,125	5,5 : 4,5
11	1,500	1,000	6 : 4
12	1,625	0,875	6,5 : 3,5
13	1,750	0,750	7 : 3
14	1,875	0,625	7,5 : 2,5
15	2,000	0,500	8 : 2
16	2,125	0,375	8,5 : 1,5
17	2,25	0,250	9 : 1

### 3.2.8.1. Mikroemülsiyonların Oluşumu ile İlgili Görsel Değerlendirme

Daha hızlı ve daha kolay preparat hazırlamak amacıyla bir mikroemülsiyon oluşumu ile ilgili görsel değerlendirmeler yapılarak bir formu oluşturuldu (Tablo 3-3). Bu gözlem formunda mikroemülsiyon preparatının bileşenleriyle ilgili yüzde değerlerin tamamı önceden hesaplanmıştır. Böylece suyun her ilave edilmesini takiben her noktadan yağ, su ve sürfaktan/ko-sürfaktan yüzde oranları tanımlanmıştır. Bu gözlem formu yalnızca 2.5 g sürfaktan, ko-sürfaktan karışım ve yağ için kullanılmıştır.



Bu gözlem formun avantajları şunları kapsamaktadır:

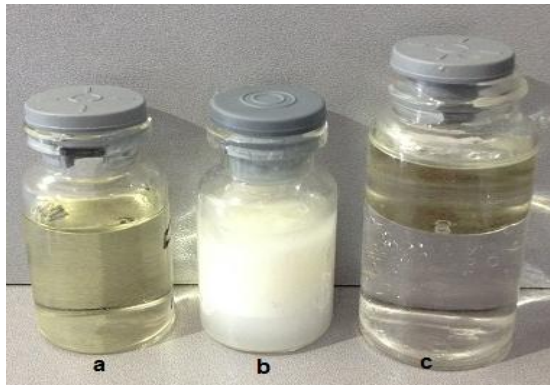
- Her noktadan elde edilen sonuçlar daha hızlı bir şekilde yorumlanmaktadır. Öyle ki, suyun her ilave edilmesini takiben yağ, sürfaktan/ko-sürfaktan karışımı ve su yüzde değerler başka hesaplamalara gerek kalmaksızın bilinir.
- Gözlem formundan elde edilen veriler üçlü faz diyagramın çizilmesi için doğrudan çizim yazılımına aktarılabilir. Bununla ilgili başka bir hesaplama yapılmasına gerek kalmaz ve bu da boş yere zamanın tüketilmesine mani olur.
- Her sistem için aynı puanların taranacağını garanti eder.

### 3.2.9. Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi

Üçgen faz diyagramları, mikroemülsiyonun olduğu alandaki bileşenlerin (yağ, su, surfaktan veya surfaktan/ko-surfaktan) % değerlerini belirlemek için kullanıldı. Mikroemülsiyon bölgesi, berrak ve şeffaf formülasyonların saptandığı alan olarak tanımlandı (Constantinides ve Scalart 1997). Ön formülasyon çalışmalarından elde edilen veriler doğrultusunda yağ fazı, sürfaktan ve kosürfaktan olarak hangi yardımcı maddeler ile çalışılacağına karar verildi.

### 3.2.10. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçimi

Ön formülasyon çalışmalarının ardından, üçgen faz diyagramları kullanılarak hazırlanan formülasyonlar arasından etkin madde yüklenecek olanlar su tutma kapasiteleri, damlacık boyutları, fiziksel görünümleri dikkate alınarak seçildi.



Şekil 3-2: Mikroemülsiyon kontrol Şekli a) mikroemülsiyon b) bulanık c) faz ayrımı

**Tablo 3-3: Mikroemülsiyon oluşum formu**

2,5g Mikroemülsiyon

Su ilaveden sonra yapılan gözlem

Yağ: \_\_\_\_\_ S-karışım: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Oran	0	132	146	163	184	208	238	275	321	379	455	556	694	893	1190	Notlar
		µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	µL	
<b>1:9</b>																
yağ %		9,50	9,00	8,50	8,00	7,50	7,00	6,50	6,00	5,50	5,00	4,50	4,00	3,50	3,00	
<b>1,5:8,5</b>																
yağ %		14,25	13,50	12,75	12,00	11,25	10,50	9,75	9,00	8,25	7,50	6,75	6,00	5,25	4,50	
<b>2:8</b>																
yağ %		19,00	18,00	17,00	16,00	15,00	14,00	13,00	12,00	11,00	10,00	9,00	8,00	7,00	6,00	
<b>2,5:7,5</b>																
yağ %		23,75	22,50	21,25	20,00	18,75	17,50	16,25	15,00	13,75	12,50	11,25	10,00	8,75	7,50	
<b>3:7</b>																
yağ %		28,50	27,00	25,50	24,00	22,50	21,00	19,50	18,00	16,50	15,00	13,50	12,00	10,50	9,00	
<b>3,5:6,5</b>																
yağ %		33,24	31,50	29,75	28,00	26,25	24,50	22,75	21,00	19,25	17,50	15,75	14,00	12,25	10,50	
<b>4:6</b>																
yağ %		37,99	36,00	34,00	32,00	30,00	28,00	26,00	24,00	22,00	20,00	18,00	16,00	14,00	12,00	
<b>4,5:5,5</b>																
yağ %		42,74	40,50	38,25	36,00	33,75	31,50	29,25	27,00	24,75	22,50	20,24	18,00	15,75	13,50	
<b>5:5</b>																
yağ %		47,49	45,00	42,50	40,00	37,50	35,00	32,50	30,00	27,50	25,00	22,49	20,00	17,50	15,00	
<b>5,5:4,5</b>																
yağ %		52,24	49,50	46,75	44,00	41,25	38,50	35,75	33,00	30,25	27,49	24,74	22,00	19,25	16,50	
<b>6:4</b>																
yağ %		56,99	54,00	51,00	48,00	45,00	42,01	39,00	36,00	33,00	29,99	26,99	24,00	21,00	18,00	
<b>6,5:3,5</b>																
yağ %		61,74	58,50	55,25	52,00	48,75	45,51	42,25	39,00	35,75	32,49	29,24	26,00	22,75	19,50	
<b>7:3</b>																
yağ %		66,49	62,99	59,50	56,00	52,51	49,01	45,50	42,00	38,50	34,99	31,49	28,00	24,50	21,00	
<b>7,5:2,5</b>																
yağ %		71,24	67,49	63,75	60,00	56,26	52,51	48,75	45,00	41,25	37,49	33,74	30,00	26,25	22,50	
<b>8:2</b>																
yağ %		75,99	71,99	68,00	64,00	60,01	56,01	52,00	48,00	43,99	39,99	35,99	31,99	28,00	24,00	
<b>8,5:1,5</b>																
yağ %		80,74	76,49	72,25	68,00	63,76	59,51	55,25	51,00	46,74	42,49	38,24	33,99	29,75	25,50	
<b>9:1</b>																
yağ %		85,49	80,99	76,50	72,00	67,51	63,01	58,50	54,00	49,49	44,99	40,49	35,99	31,49	27,00	

S:

Sürfaktan

K:

K

### 3.2.11. Seçilen Formülasyonlarının Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Seçilen formülasyonların fiziksel görünüşü, refraktif indeksi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi (PDI), iletkenliği, pH'sı ve stabilitesi değerlendirildi. Polariz ışık mikroskobu ve cryo-TEM görüntüleri değerlendirildi.

#### 3.2.11.1. Refraktif İndeks Değerlendirmesi

Mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri Abbe 5 (*Abbe 5 Refraktometre B+S Code: 44-571,UK*) refraktometresi ile ölçüldü. Refraktometre prizmasının üzerine bir damla formülasyon damlatıldı ve kapağı kapatıldı. Görüntü netliği sağlanana kadar ayarlama yapıldı ve elde edilen değerler okundu. Ölçümler her formülasyon için 3 kez tekrarlandı, sonuçların aritmetik ortalaması alınarak SD değerleri hesaplandı.

#### 3.2.11.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksinin Değerlendirilmesi

Hazırlanan mikroemülsiyonların damlacık büyüklüğünü ve dağılımını saptamak amacıyla, formülasyonlar, Zetasizer (Malvern Zetasizer-Nano ZS, Worcestershire, UK.) cihazı ile incelenmiştir. Örneklerin tümü 0.45 µm'lik filtre membran yardımıyla süzülüş ve damlacık büyüklüğünü ölçmeden önce hava kabarcıkların bertaraf edilmesi amacıyla, numuneler 30 dakika kadar bekletilmiştir. Bu çalışmalarda, tek kullanımlık polistiren küvetler kullanılmıştır. Bu test 15 gün sonra tekrarlanmıştır. Standart sapmalar hesaplanmış ve büyüklük dağılımıyla ilgili diyagramlar çizilmiştir.

#### 3.2.11.3. pH ve İletkenlik İncelenmesi

pH metre/kondüktometre (Eutech Instruments, PC 2700,Crescent, Singapore) yardımıyla etkin madde yüklenmemiş boş mikroemülsiyon formülasyonları ile %1 Vorikonazol ve %2 Sertakonazol içeren mikroemülsiyonların pH ve iletkenliği test edilmiştir. Hazırlanan mikroemülsiyonların iletkenliği test etmek için, ilaç yüklenmiş mikroemülsiyonlar mümkün olabilecek en düşük miktarda suyla hazırlandı ve sonra bu preparata daha önceden hesaplanmış yüzde oranda ilave edildi. Her ilave işlemini takiben mikroemülsiyonlar bir dakika karıştırılarak pH metre/kondüktometre yardımıyla pH ve iletkenlik değerleri ölçüldü. Testler üç defa tekrarlanır, her bir örnek preparat için standart sapma hesaplanarak, pH/su ve iletkenlik/su miktarlarıyla ilgili diyagramlar çizildi.

#### 3.2.11.4. Optik İzotropinin Değerlendirilmesi

Mikroemülsiyonların optik İzotropisi Olymous CX31-P polarize ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Lamel üzerine damlatılan formülasyonlar 10x objektif (30 W) ile görüntüledi.

#### 3.2.11.5. Stabilitenin Değerlendirilmesi

**Santrifüj testi:** Her bir formülasyonun 2.5 ml'si santrifüjde (Hettich, D-2700, tip 2041, İngiltere) 15000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edildi ve daha sonra herhangi bir faz değişikliği açısından görsel olarak kontrol edildi.

**Soğutma testi:** Mikroemülsiyonun stabilitesi üzerinde sıcaklığın değişmesiyle ortaya çıkan değişikliklerin etkisini test etmek için örneklerin tümü 30 gün boyunca  $5\pm 1$  °C sıcaklıkta ve oda sıcaklığında tutuldu ve fazlarda meydana gelebilecek her türlü değişiklikler gözlemlendi.

**Dondurma ve çözme testi:** Mikroemülsiyonların fiziksel stabilitesini değerlendirmek üzere, örnekler 24 saat boyunca  $-15 \pm 1$  °C'de tutuldu ve daha sonra  $25\pm 1$  °C'de 24 saat daha tutuldu. Bu işlem üç devre tekrarlandı. Daha sonra her bir formülasyon faz ayrışması açısından görsel olarak kontrol edildi.

**Saklama testi:** Etkin madde yüklenmemiş boş mikroemülsiyon formülasyonları ile %1 Vorikonazol ve %2 Sertakonazol içeren mikroemülsiyonlar 6 ay süre ile oda sıcaklığında saklanarak, faz değişiklikleri görsel olarak değerlendirildi.

#### ***Mikroemülsiyonların damlacık büyüklüğü ve dağılımı üzerinde donmanın etkisinin incelenmesi***

Hazırlanan mikroemülsiyonların fiziksel stabilitesinin test edilmesi amacıyla, donma/eritme testinden başarıyla geçen örneklerin tümü daha sonra damlacık büyüklüğü analizine tabi tutulmuştur. Standart sapmalar hesaplanmış ve büyüklük dağılımıyla ilgili diyagramlar çizilmiştir.

### 3.2.12. Mikroemülsiyon Formülasyonlarından Vorikonazol'ün *In vitro* Salım Çalışmaları

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarından etkin maddelerin salımı Franz difüzyon hücreleri kullanılarak izlenmiştir. Membran olarak 0,45 µm Millipore membran kullanılmıştır. Franz difüzyon hücrelerinin cidarlarından sürekli geçirilen 37±1°C'ye ısıtılmış su ile deri yüzeyinin 37±1°C' de kalması sağlandı.

*İn vitro* salım çalışmalarında, %1 vorikonazol içeren CF, DF, EF, GF ve HF kodlu formülasyonlar kullanıldı (Tablo 3-4). Çalışmada reseptör faz olarak serum fizyolojik/PEG 400 (3:2) karışımı kullanıldı (Song ve ark, 2012) ve 500 rpm hızla karıştırma uygulandı. 30 dakika süre ile fizyolojik serum fizyolojik ile hidrate edilen reseptör ve donör kompartmanlar arasına yerleştirilerek, 1 mL mikroemülsiyon formülasyonu donör kompartmana ilave edildi. Deney süresince evaporasyonun önlenmesi amacı ile donör kompartmanın üstü Parafilm ile kapatıldı. 24 saat süre ile belirli zaman aralıklarında reseptör fazdan örnek alınmış (0.2 mL), alınan örnekler 0,45 µm membran filtreden süzülerek HPLC ile analiz edildi. Mikroemülsiyonlardan 24 saat süre ile cm<sup>2</sup> den serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları hesaplandı.

**Tablo 3-4: %1 vorikonazol içeren mikroemülsiyon formülasyonlar**

Kod	Su%	Tween80:Etanol% (1:1)	Oleik Asit %	% Vorikonazol
<b>CF</b>	25	60	15	1
<b>DF</b>	30	56	14	1
<b>EF</b>	10	55	35	1
<b>GF</b>	25	56	19	1
<b>HF</b>	15	55	30	1

### 3.2.13. Mikroemülsiyonlardan Sertakonazolün *In vitro* Salım Çalışmaları

*İn vitro* salım çalışmalarında, %2 Sertakonazol içeren BS, CS, DS, ES, GS ve HS kodlu formülasyonlar kullanılmıştır. Membran olarak 0,45 µm Millipore membran kullanıldı. Çalışmada reseptör faz olarak etanol:su karışımı (3:7) kullanıldı ve 500 rpm hızla karıştırma uygulandı. 30 dakika süre ile fizyolojik serum fizyolojik ile hidrate

edilen reseptör ve donör kompartmanlar arasına yerleştirilerek, 1 mL mikroemülsiyon formülasyonu donör kompartmana ilave edildi. Deney süresince evaporasyonun önlenmesi amacı ile donör kompartmanın üstü Parafilm ile kapatıldı. 24 saat süre ile belirli zaman aralıklarında reseptör fazdan örnek alınmış (0.2 mL), alınan örnekler 0,45 µm membran filtreden süzülerek HPLC ile analiz edildi. Mikroemülsiyonlardan 24 saat süre ile cm<sup>2</sup> den serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları hesaplandı.

**Tablo 3-5: %1 Sertakonazol içeren mikroemülsiyon formülasyonlar**

Kod	Su%	Tween80:Etanol% (1:1)	Oleik Asit %	%Sertakonazol
<b>SB</b>	20	64	16	2
<b>SC</b>	25	60	15	2
<b>SD</b>	30	56	14	2
<b>SE</b>	10	55	35	2
<b>SG</b>	25	56	19	2
<b>SH</b>	15	55	30	2

### 3.2.14. Vorikonazol ve Sertakonazolün *In vitro* Koşullarda Deriye Penetrasyonlarının Bant Soyma Yöntemi ile İncelenmesi

%2 Sertakonazol içeren SD ve %1 Vorikonazol içeren EF kodlu mikroemülsiyon formülasyonlarından penetrasyonu izlendi, mikroemülsiyon formülasyonlarının *in vitro* penetrasyon çalışmalarında, domuz derisinin dorsal bölgesi dermatom edilerek kullanıldı. Penetrasyon çalışmasında kullanılacak derilerden Zimmer<sup>TM</sup> Electric Dermatome ile 750 µm kalınlığında homojen kesitler alındı. Bu şekilde epidermin tamamını ve derminin bir kısmını içeren deri parçaları *in vitro* penetrasyon çalışmalarında kullanılacakları zamana kadar -20°C’de en fazla bir ay süre ile muhafaza edildi.

Çalışmanın gerçekleştirileceği gün derin dondurucudan alınan deri bir süre oda sıcaklığında, sonrasında ise yarım saat reseptör faz içinde bekletildi. *In vitro* penetrasyon çalışmaları, hücrelerinin hacmi 12 mL, difüzyon alanı 1,77 cm<sup>2</sup> ve dönme hızı 500 rpm olan PermeGear Franz Difüzyon Sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Vorikonazol için fizyolojik serum / PEG 400 (3:2) (Song ve ark. 2012), Sertakonazol için etanol:su (3:7) karışımı reseptör faz olarak kullanıldı.

Reseptör faz ultrasonik banyoda degaze edildikten sonra hücelere dolduruldu, her bir hücreye birer magnet konuldu. Domuz derileri, *stratum corneum* kısmı üstte kalacak şekilde Franz Difüzyon hücelerine yerleştirildi. Hücelerin üzerinde hava boşluğu olmamasına özen gösterildi. Hücelerin etrafında kalan deri parçaları kesildi. Su banyosu 37 °C’de sabitlendi. Donör faz olarak mikroemülsiyon formülasyonlarından mikropipet yardımıyla 1’er mL uygulandı ve üzerleri parafilm ile kapatıldı.

Her bir formülasyon için en az 3’er hücre ile çalışıldı. 24 saatlik süre sonunda, daha sonra derilere ardışık olarak 20 kez yapışkan bant (Scotch Book Tape, 2x2 cm) ile soyma işlemi yapıldı. İlk bant tek olarak ayrı bir tüpe alındı, sonraki 4 bant ikinci bir tüpe, 5 bant üçüncü bir tüpe, 5 bant dördüncü bir tüpe ve 5 bant beşinci bir tüpe yerleştirildi. Kalan deri çok küçük parçalara kesilerek ayrı bir tüpte tutuldu. Bantlar ve derinin bulunduğu tüplere 3’er mL mobil faz ilavesinin ardından 12 saat süre ile ekstraksiyon uygulandı. Ekstraksiyon işlemi öncesi ve sonrasında tüpler 2’şer dakika vortekslendi. Ekstraksiyon işlemi bittikten sonra ekstraksiyon sıvısı 0,45 µm’lik membran filtreden süzülerek doğrudan HPLC’de analiz edildi.

Vorikonazol yüklü mikroemülsiyonlarla gerçekleştirilen *in vitro* penetrasyon çalışmasından elde edilen sonuçlar Vorikonazol’un aşağıda hazırlanışı ve bileşimi verilen konvansiyonel merhem formülasyonu ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı. Sertakonazol yüklü mikroemülsiyonlarla gerçekleştirilen *in vitro* penetrasyon çalışmasından elde edilen sonuçlar piyasa preparatı olan Zalain krem (%2 sertakonazol) ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı. % 1 EF kodlu Vorikonazol mikroemülsiyon konvansiyonel formülasyonu Şekil 4-45’de gösterilmiştir.

Setil alkol ve beyaz parafin su banyosunda 75°C’ye kadar ısıtılarak eritildi. Sodyum lauril sülfat, propilen glikol ve vorikonazol sıcak distile suya eklendi ve karıştırılarak 75°C’ye kadar ısıtıldı. Daha sonra tüm bileşenler merhem oluşuncaya kadar karıştırıldı (Asija ve ark 2015).

**Tablo 3-6. Konvansiyonel Vorikonazol formülasyonu bileşenleri**

<b>Sodyum lauril sülfat</b>	10g
<b>Propilen glikol</b>	120g
<b>Setil Alkol</b>	250g
<b>Beyaz parafin</b>	250g
<b>Su</b>	360g
<b>Vorikonazol</b>	10 g

### **3.2.15. ATR-FTIR Spektroskopisi ile Mikroemülsiyon Bileşenlerinin Deri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi**

Yöntem 3.2.14’da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen *in vitro* penetrasyon çalışmasında kullanılan deriler, bant ile soyuma çalışmasına geçmeden önce ATR-FTIR analizine tabi tutuldu (*Perkin Elmer ZnSe Spectrum One*). 4000-650 nm aralığında alınan her bir spektrum 40 taramanın bileşiminden oluştu. Deri lipitlerinden kaynaklanan CH<sub>2</sub> simetrik (2950 cm<sup>-1</sup>) ve asimetrik (2920 cm<sup>-1</sup>) gerilme bantlarının absorbanlarındaki değişimler değerlendirildi. Spektrum kayıtları değerlendirilirken literatürde kayıtlı bilgiye dayanarak normalizasyon işlemi yapıldı (Hathout ve Elshafeey 2012). %1 (a/a) Vorikonazol içeren mikroemülsiyon formülasyonları veya %2 (a/a) Sertakonazol içeren mikroemülsiyon formülasyonları 8 saatlik uygulama sonrasında *stratum corneum* hücrelerarası lipitlerinin yapısal düzeni ve akışkanlığında meydana getirdiği değişiklikler Perkin Elmer version 6.0.2 yazılımı kullanılarak saptandı. Deri örneklerinden uygulama öncesi spektrum kaydı alınarak normalizasyon prosedüründe kullanıldı.



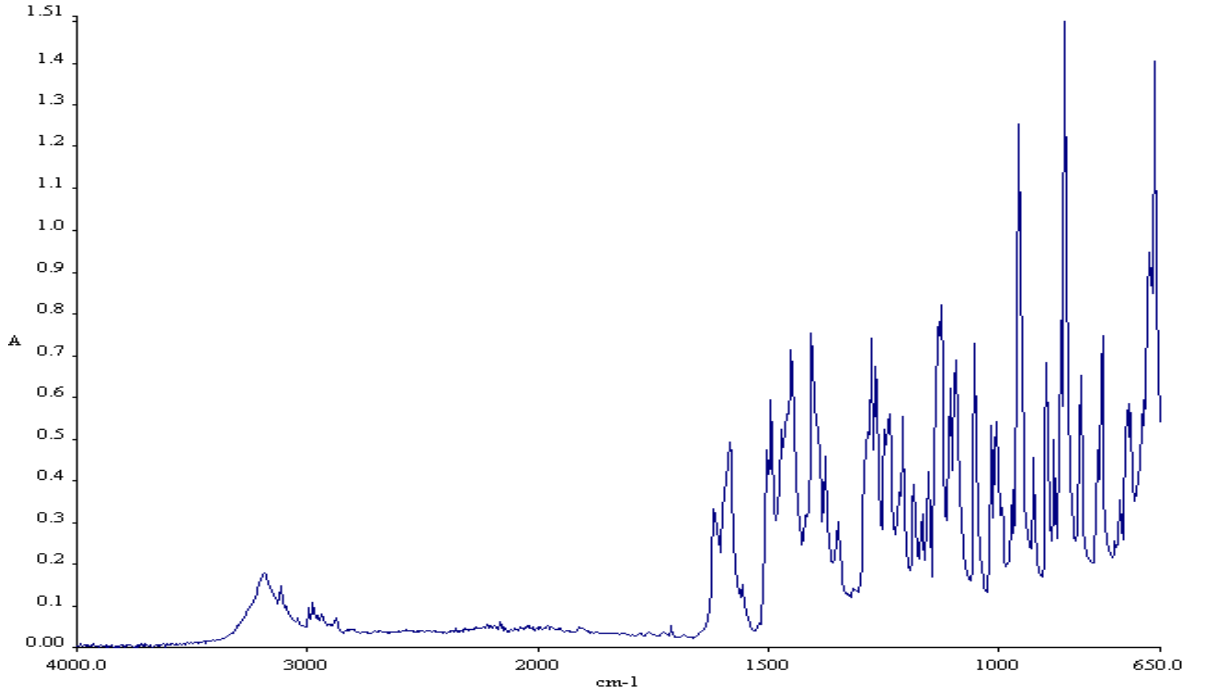
### **3.2.16. İstatistiksel Analiz**

*In vitro* salım ve penetrasyon çalışması sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Student t-testi (GraphPad Prism 5.01) kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Vorikonazol Infrared (IR) Spektrumu

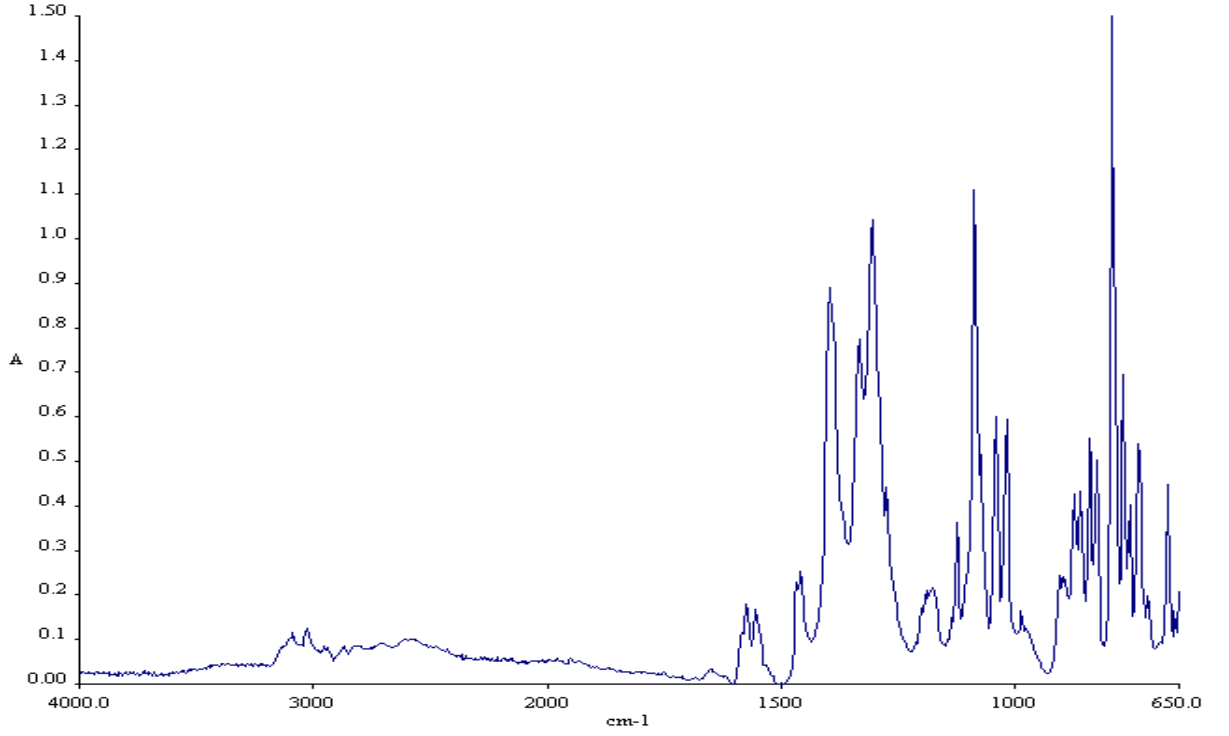
Yöner 3.2.1’de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmada Vorikonazol’un FT-IR spektrumu Şekil 4-1’ de görölmektedir.



Şekil 4-1: Vorikonazol’un IR Spektrumu

### 4.2. Sertakonazol Infrared (IR) Spektrumu

Yöner 3.2.1’de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmada Sertakonazol’un FT-IR spektrumu Şekil 4-1’ de görölmektedir.



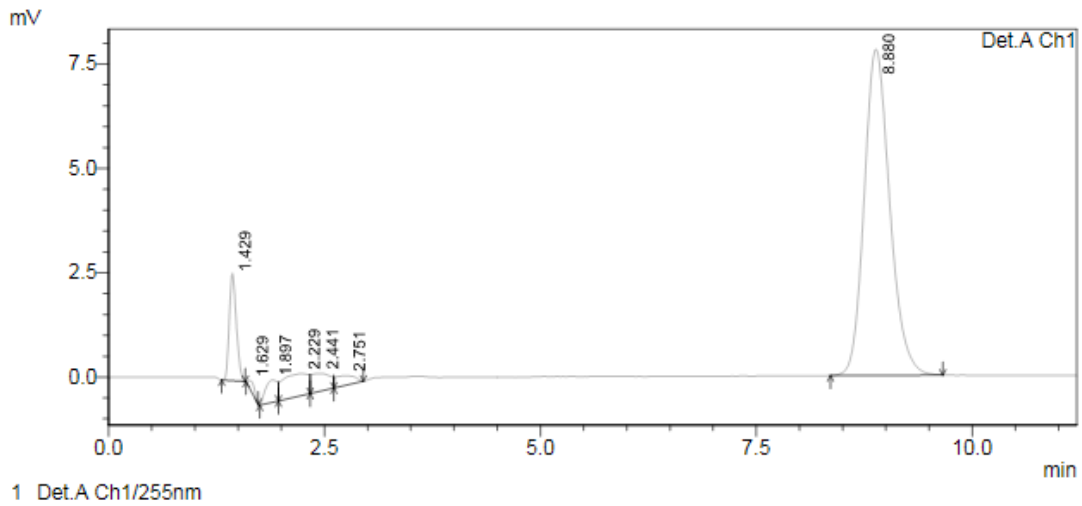
**Şekil 4-2: Sertakonazolün IR spektrumu.**

### **4.3. Vorikonazol Analiz Yönteminin Validasyonuna ait Bulgular**

Yöntem 3.2.3’de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen validasyon bulguları aşağıda verilmiştir.

#### **4.3.1. Doğrusallık**

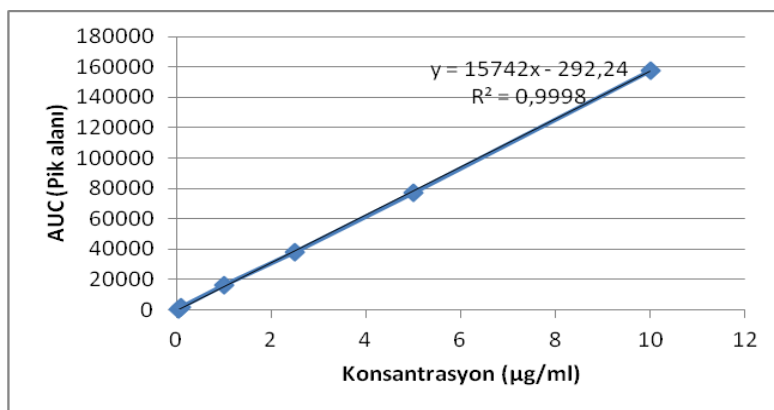
Yöntemin doğrusallığına ait veriler Tablo 4-1’de verilmiştir. Konsantrasyonlara karşılık gelen eğri altında kalan alanlar Şekil: 4-4’de çizilmiştir. Doğru denklemi de aşağıda verilmiştir.



**Şekil 4-3: Vorikonazol ait HPLC Kromatogramı**

**Tablo 4-1: Vorikonazol analiz sonuçları**

Konsantrasyon $\mu\text{g/ml}$	Pik Alanaları ortalaması	SD	RSD%
0,04	518	6,51	1,26
0,10	1540	13,75	0,89
1,00	16306	96,27	0,59
2,50	38177	539,22	1,41
5,00	77329	1292,15	1,67
10,00	157799	2814,37	1,78



**Şekil: 4-4: Vorikonazol'un standart eğrisine ait grafik**

$$y = 15742x - 292.24$$

$$R^2 = 0.9998$$

Y=Pik alanı

X= Konsantrasyon( $\mu\text{g/ml}$ )

$R^2$ = Konsantrasyon katsayısı(korelasyon katsayısı)

#### 4.3.2. Kesinlik

Günler arası ve Günler içi kesinlik bulgular verilmiştir ve gün içi kesinlik bulgular Tablo 4-2 ve Tablo 4-3'de verilmiştir.

**Tablo 4-2: Vorikonazol'un miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları (n=3).**

Konsantrasyon	1.Gün	2.Gün	3.Gün	Ortalama	SD	%RSD
<b>1,0 mcg/ml</b>	16439	16029	16107	16191,67	217,72	1,34
<b>2,5mcg/ml</b>	38177	38971	39205	38784,33	217,72	0,56
<b>5,0 mcg/ml</b>	77329	73002	82470	77600,33	538,82	0,69

**Tablo 4-3: Vorikonazolun miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulgular n=3**

Konsantrasyon	Pik alana ortalaması	SD	RSD(%)
1 $\mu\text{g/ml}$	16439	167,94	1,02
2.5 $\mu\text{g/ml}$	38177	539,22	1,41
5 $\mu\text{g/ml}$	77329	1292,14	1,67

#### 4.3.3. Teşhis Limiti (TL) ve Miktar Tayini Limiti (MTL)

Gürültüyü ölçmek için sinyalin en yüksek ve en düşük düzeyler arasındaki farkı hesaplandı ve 1 mV olarak tesbit edilmiştir.

$$\frac{5\mu\text{g/ml}}{x} = \frac{4794\text{mV}}{1\text{mV}} \quad x = 0,00104 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{2.5 \mu\text{g/ml}}{x} = \frac{2294\text{mV}}{1\text{mV}} \quad x = 0,00109 \mu\text{g/ml}$$

$$\frac{1\mu\text{g/ml}}{x} = \frac{965\text{mV}}{1\text{mV}} \quad x = 0,00104 \mu\text{g/ml}$$

Ortalaması= 0,00106  $\mu\text{g/ml}$

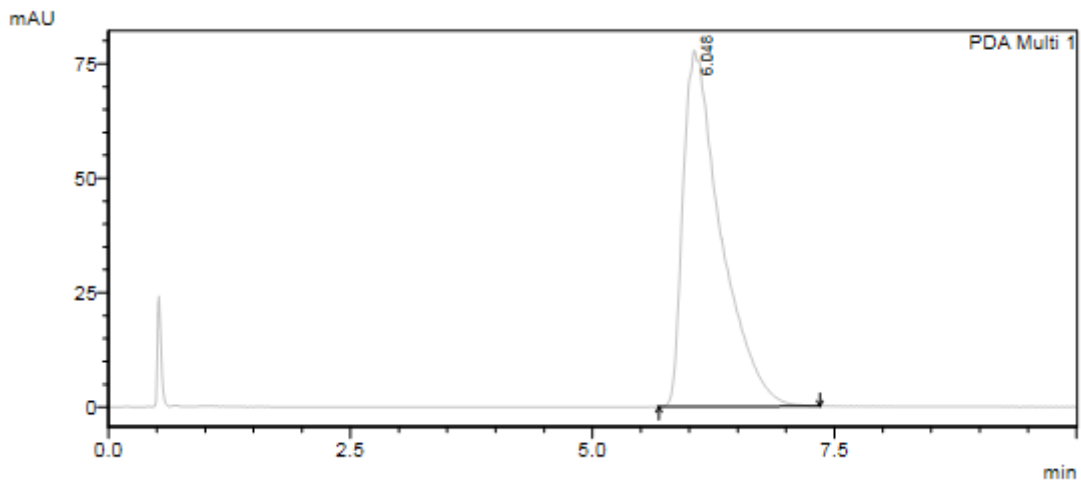
$$TL = 3 \times 0,00106 = 0,003 \mu\text{g/ml}$$

$$MTL = 0,010 \mu\text{g/ml}$$

#### 4.4. Sertkonazolün Analiz Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular

##### 4.4.1. Doğrusallık

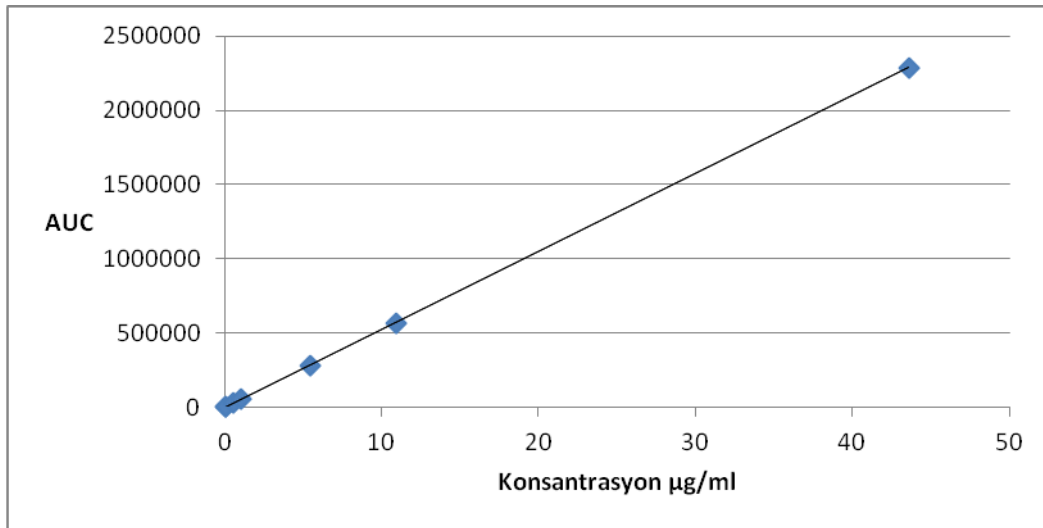
Yöntemin doğrusallığına ait veriler Tablo 4-4'de verilmiştir. Konsantrasyonlara tekabül eden eğri altında kalan alanlar Şekil 4-6'de çizilmiştir. Doğru denklemi de aşağıda verilmiştir.



Şekil 4-5: Sertakonazol ait HPLC Kromatogramı

**Tablo 4-4: Sertakonazolün 'un miktar tayini yönteminin doğrusallık bulguları (n=3)**

Konsantrasyon µg/ml	Pik Ortalama	SD	%RSD
43,6	2287702	15676	0,68
10,9	565762	1150	0,20
5,45	284172	1137	0,40
1,09	59875	555	0,93
0,55	27590	376	1,36
0,11	6187	82	1,32
0.08	5159	68	1.32

**Şekil 4-6: Sertakonazol standart eğrisine ait grafik**

Doğru denklemi ve determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) belirlenmiştir:

$$y=52450x-538.99$$

$$r^2=1$$

#### 4.4.2. Kesinlik

Günler arası kesinlik bulgular Tablo 4-5'de verilmiştir ve gün içi kesinlik bulgular Tablo 4-6'da verilmiştir

**Tablo 4-5: Sertakonazol'un günler arası kesinlik bulguları ( n=3)**

Konsantrasyon mcg/ml	Gün 1	Gün 2	Gün 3	Ortalama	SD	%RSD
5,450	284172	283356	280288	282605	2047	0,72
0,109	6187	6199	6204	6196	8	0,14
0,0763	5195	5245	5230	5223	25	0,49

**Tablo 4-6: Sertakonazol Günler içi kesinlik bulguları ( n=3)**

Konsantrasyon µg/ml	Pik Ortalama	SD	%RSD
5,450	284420	1489	0,52
0,109	6149	70	1,13
0,076	5192	53	1,02

#### 4.5. Vorikonazol'un Çözünürlük Sonuçları

Yöntem 3.2.6'de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen çözünürlük bulguları Tablo 4-7'de verilmiştir.

**Tablo 4-7: Mikroemülsiyonların değişik bileşenlerinin içinde vorikonazolün çözünürlük miktarları**

Örnek	Konsantrasyon (a/a)	RSD	Konsantrasyonu (%)
Tween 80	0,0440	1,80	4,4
Etanol	0,0980	1,80	9,8
Oleik Asit	0,0486	1,50	4,8
Transcutol P	1,5982	0,72	159,8
İzopropil miristat	0,0088	1,90	0,9

#### 4.6. Ön Formülasyon Çalışmaları

Mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilirken yağ, sürfaktan ve kosürfaktan ve bu maddelerin farklı oranlardaki karışımları ile ön formülasyon çalışmaları yapıldı. Su



içinde yağ mikroemülsiyonları hazırlanabilmesi için en yüksek su tutma kapasitesine sahip formülasyonlar seçilmeye çalışıldı. Su tutma kapasitesi yüksek olan formülasyonlar damlacık boyutu ve polidispersite indeksi açısından değerlendirildi.

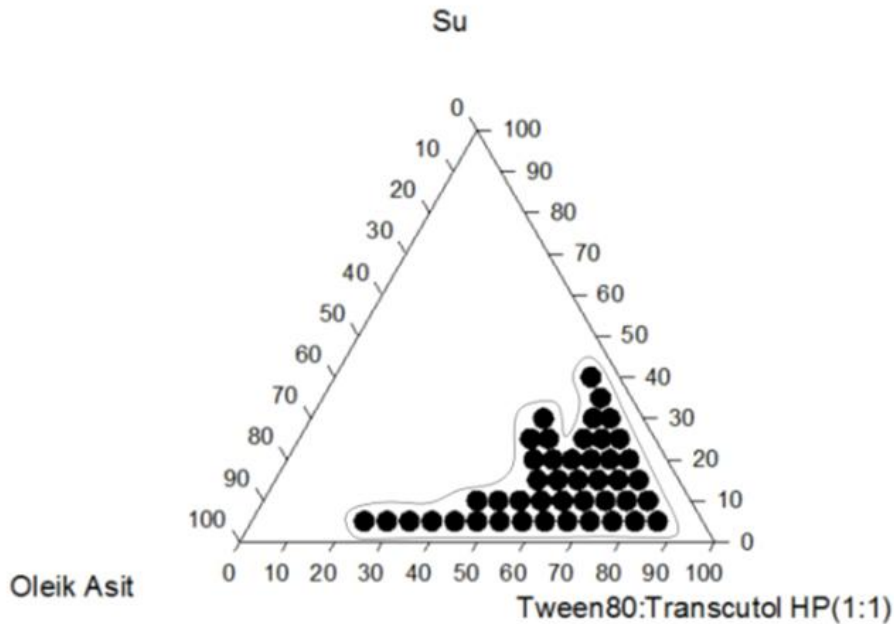
#### 4.7. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diagramlarının Oluşturulması

Mikroemülsiyon oluşturmak için aşağıdaki sistemler denenmiştir.

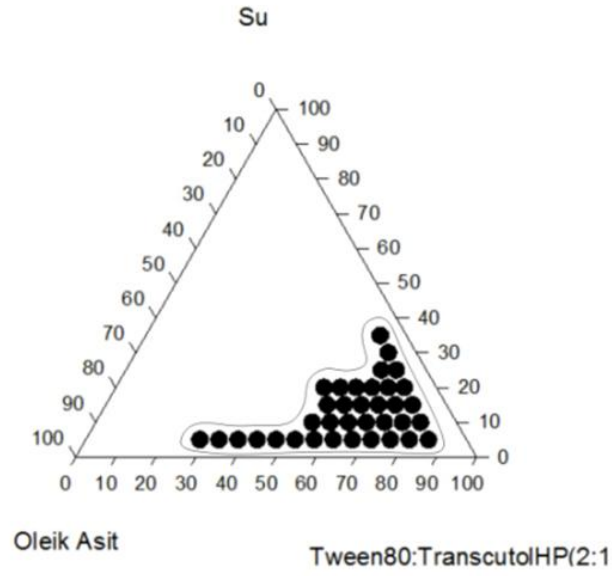
##### 4.7.1. Oleik asit, Tween 80, Transcutol ve Su İçeren Mikroemülsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına ait Bulgular

Yağ fazı olarak oleik asit, sürfaktan olarak Tween 80, kosürfaktan olarak Transcutol P ve sulu faz olarak su kullanılmıştır. Sürfaktan/kosürfaktan oranları şu şekilde denenmiştir:

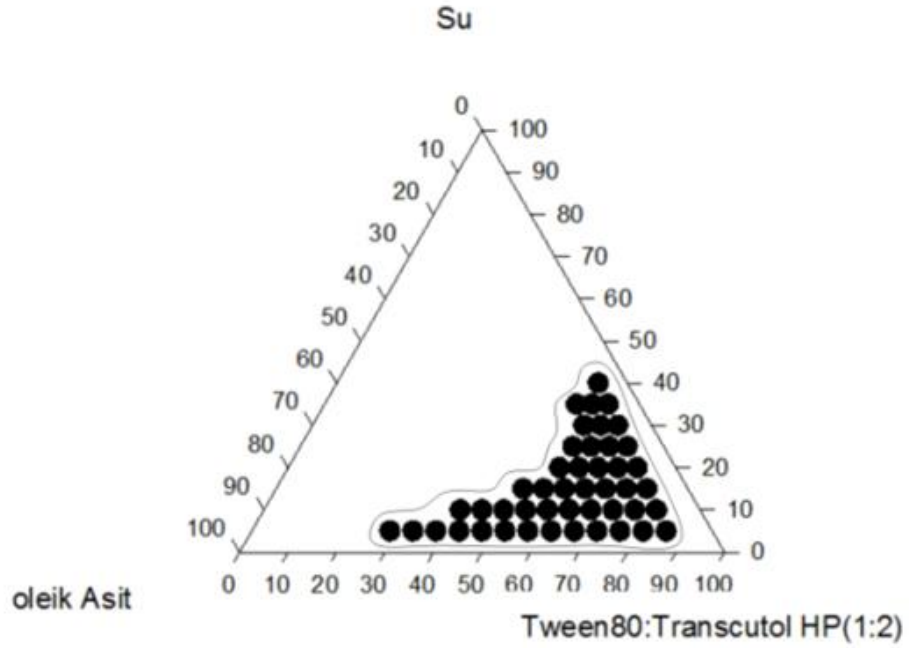
1:1, 1:2, 1:3, 2:1 olarak oluşturulan faz diyagramı Şekil 4-7,8,9,10'de gösterilmiştir. 2:1 sürfaktan/kosürfaktan oranına sahip formül, formülasyon boyunca çok fazla hava tutmasıyla yüksek viskoziteye sahiptir. %40 su içeriğine sahip 1:3 Sürfaktan-Sürfaktan karışım oranına sahip mikroemülsiyon en düşük viskoziteye sahip olduğu saptanmıştır.



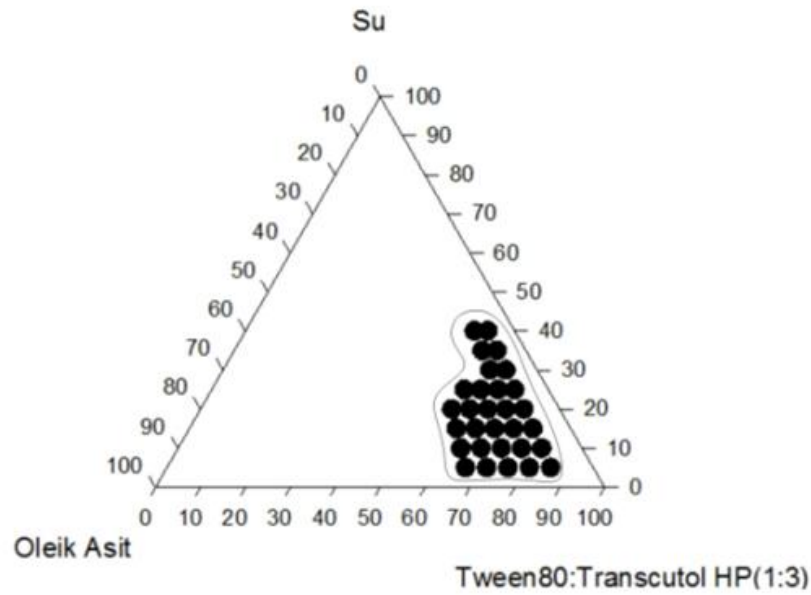
Şekil 4-7: Oleik Asit, Tween 80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:1).



Şekil 4-8: Oleik Asit, Tween 80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 2:1).



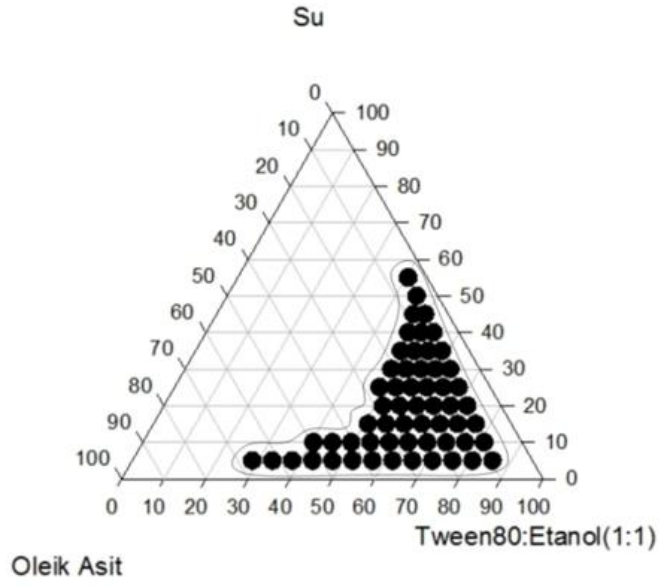
Şekil 4-9: Oleik Asit, Tween80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:2).



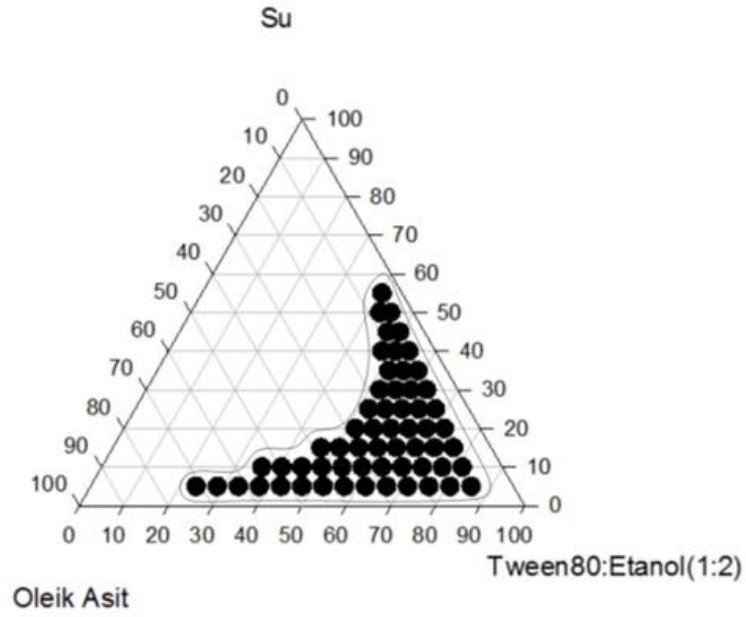
**Şekil 4-10: Oleic Asit, Tween80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:3)**

#### **4.7.2. Oleik asit, Tween 80, Etanol ve Su İçeren Mikroemülsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına Ait Bulgular**

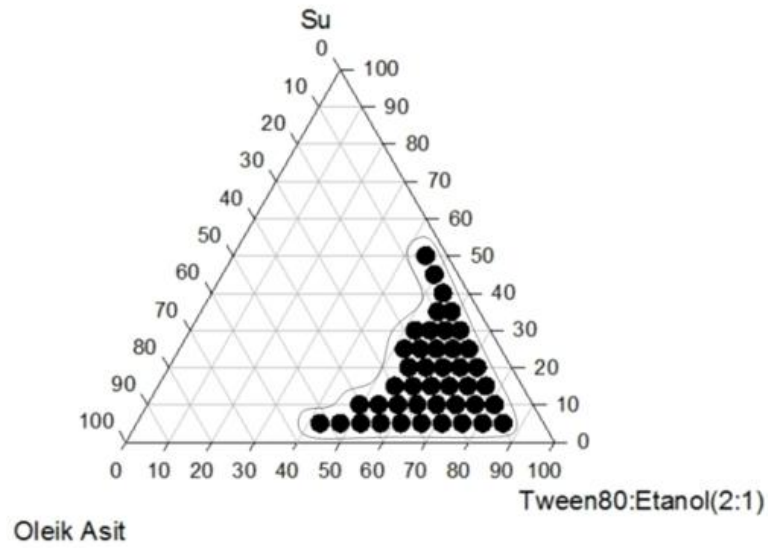
Sürfaktan/Kosürfaktan oranları 1:1, 1:2 ve 2:1 oranında kullanılmıştır. Bu sistemler iyi viskozite ve stabiliteye sahiptir, en fazla su içeriğine sahip 1:1 oranında mikroemülsiyon sisteminin oda sıcaklığında üç hafta saklandıktan sonra fiziksel olarak stabil kaldığı gözlenmiştir. Oluşturulan faz diyagramları Şekil 4-11, 12, 13'de gösterilmiştir.



**Şekil 4-11:** Oleik asit, Tween80, Etanol, Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:1).



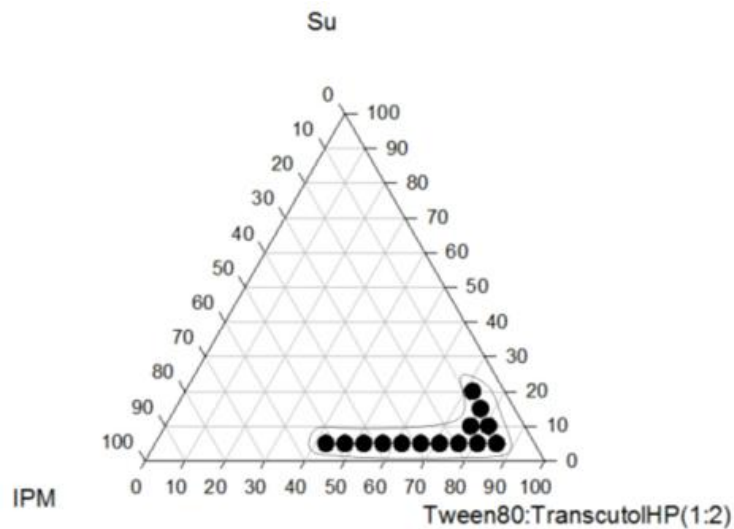
**Şekil 4-12:** Oleik asit, Tween80, Etanol, Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:2).



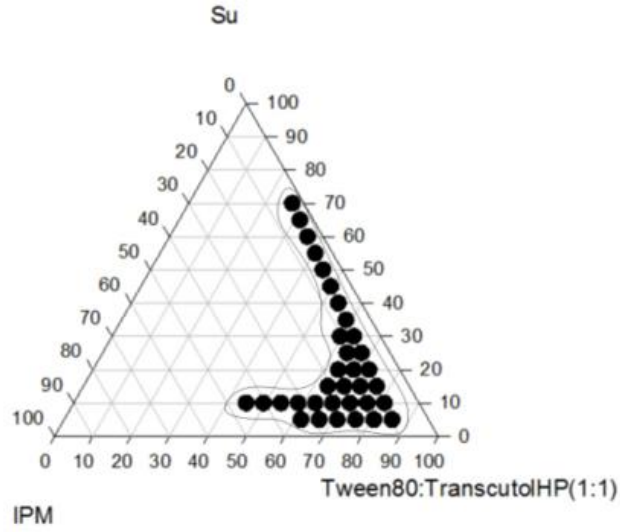
**Şekil 4-13: Oleik asit, Tween80, Etanol, Su içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 2:1).**

#### 4.7.3. İzopropil Miristat, Tween 80, Transcutol İçeren Mikroemülsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına ait Bulgular

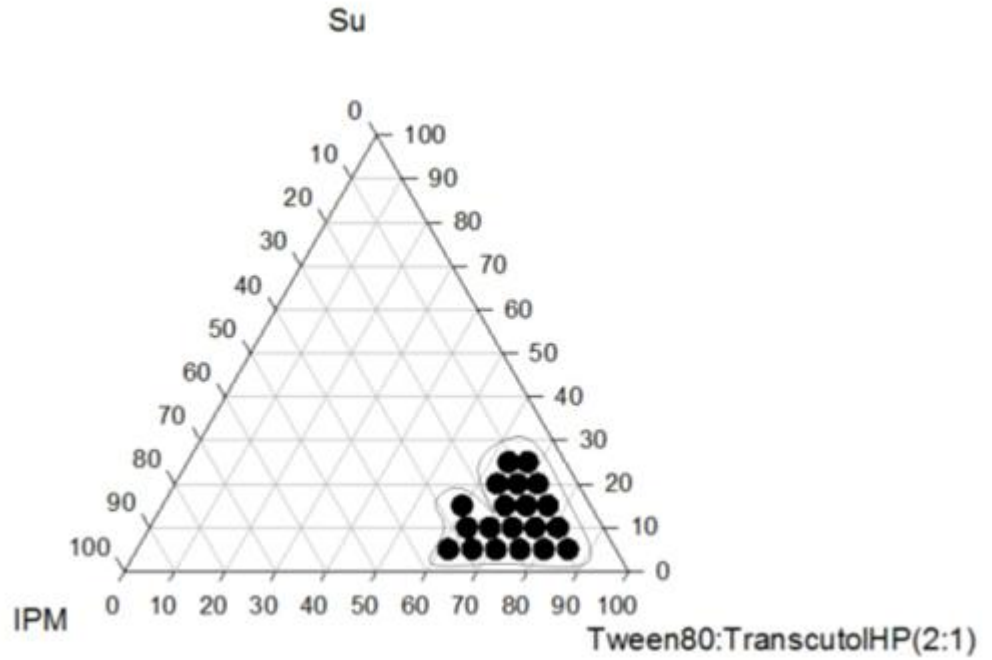
Sürfaktan/Kosürfaktan oranları 1:1, 1:2 ve 2:1 oranında kullanılmıştır. En fazla su içeriğine sahip 1:1 oranında sistem oda sıcaklığında bir gece sonunda, stabil kalmadığı gözlenmiştir. Oluşturulan faz diyagramları Şekil 4-14, 15, 16'de gösterilmiştir.



**Şekil 4-14: İzopropil miristat, Tween80, Transcutol, Su içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:2).**



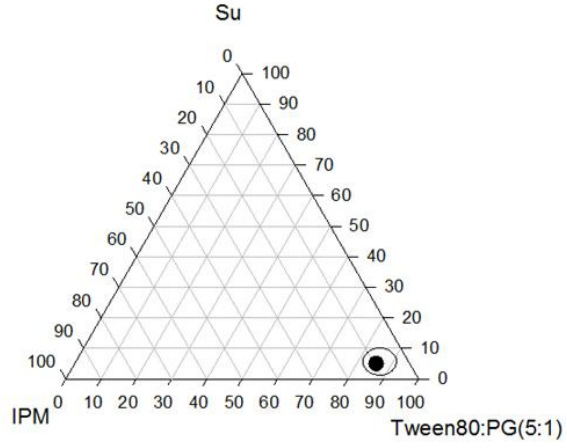
**Şekil 4-15: İzopropil miristat, Tween80, Transcutol, Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:1).**



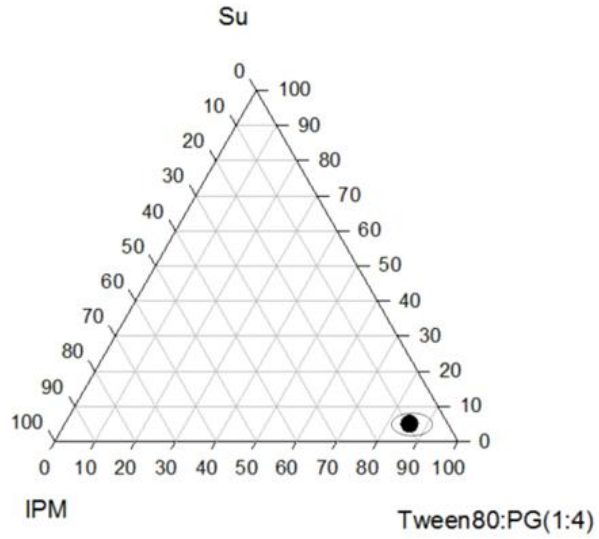
**Şekil 4-16: İzopropil miristat, Tween80, Transcutol, Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 2:1).**

#### **4.7.4. İzopropil Mirisat, Tween80, Propilen Glikol İçeren Mikroemulsiyon Sistemlerinin Hazırlanmasına ait Bulgular**

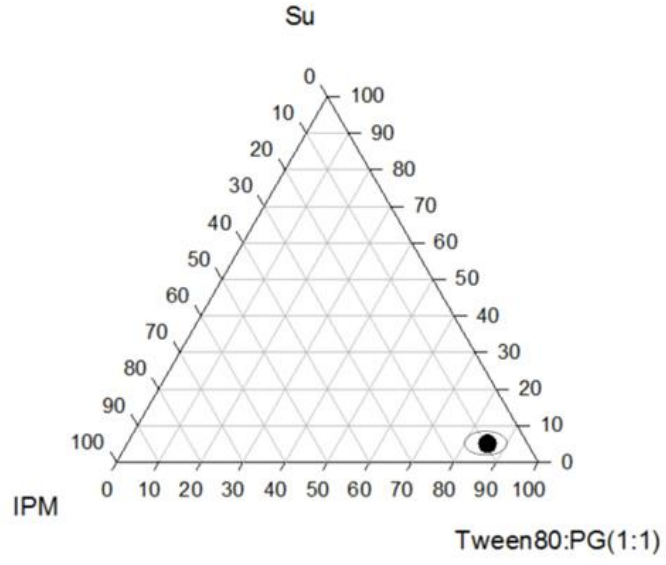
Sürfaktan/Kosürfaktan oranları 1:1, 1:2,1:3,1:4,1:5, 2:1 ,3:1, 5:1 kullanılmıştı, sistemin viskozluğu çok yüksek bulunmuştur. Oluşturulan faz diyagramları Şekil 4-17,18, 19 ,20 ,21 ,22 ,23, 24’de gösterilmiştir.



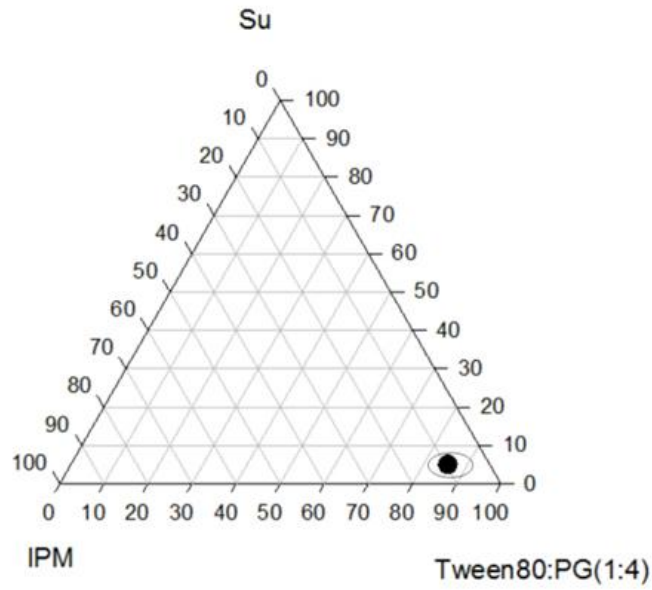
**Şekil 4-17: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol Su ve içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 5:1).**



**Şekil 4-18: İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:4).**

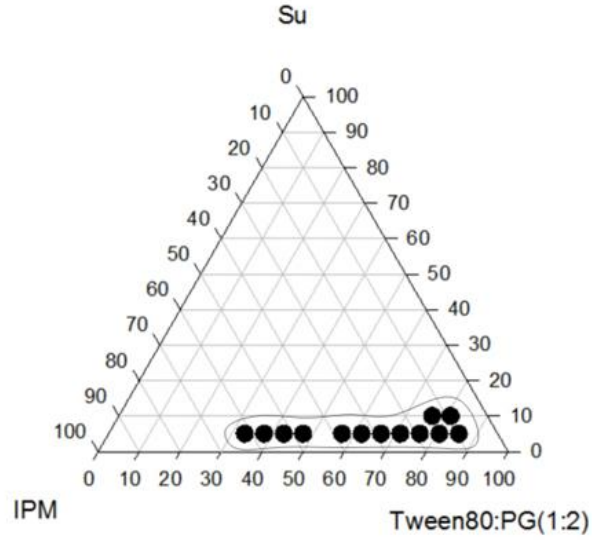


**Şekil 4-19:** : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:1).

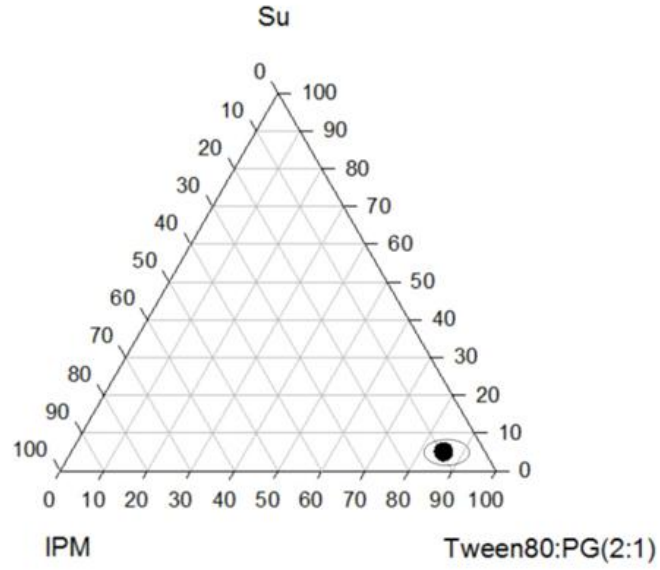


**Şekil 4-20:** : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:4).

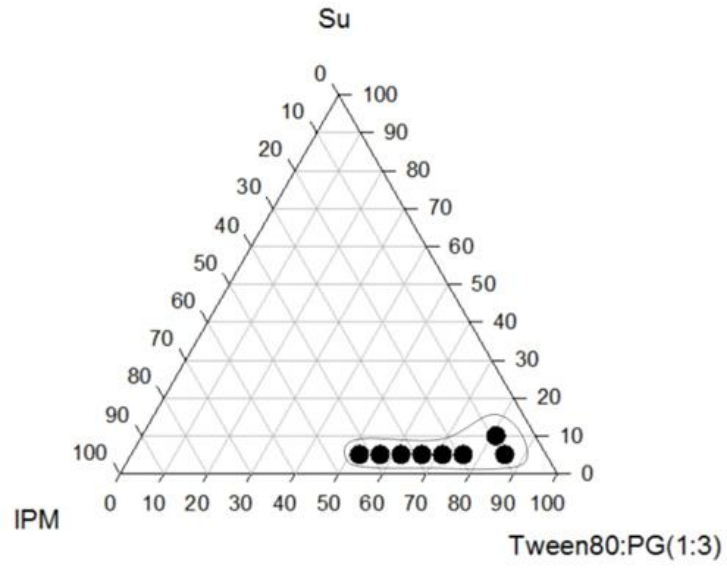




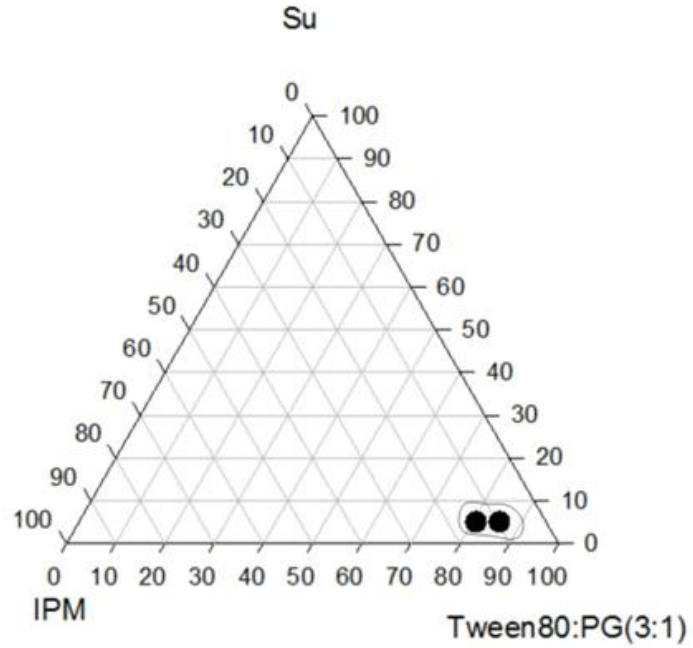
**Şekil 4-21: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:2).**



**Şekil 4-22: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 2:1).**



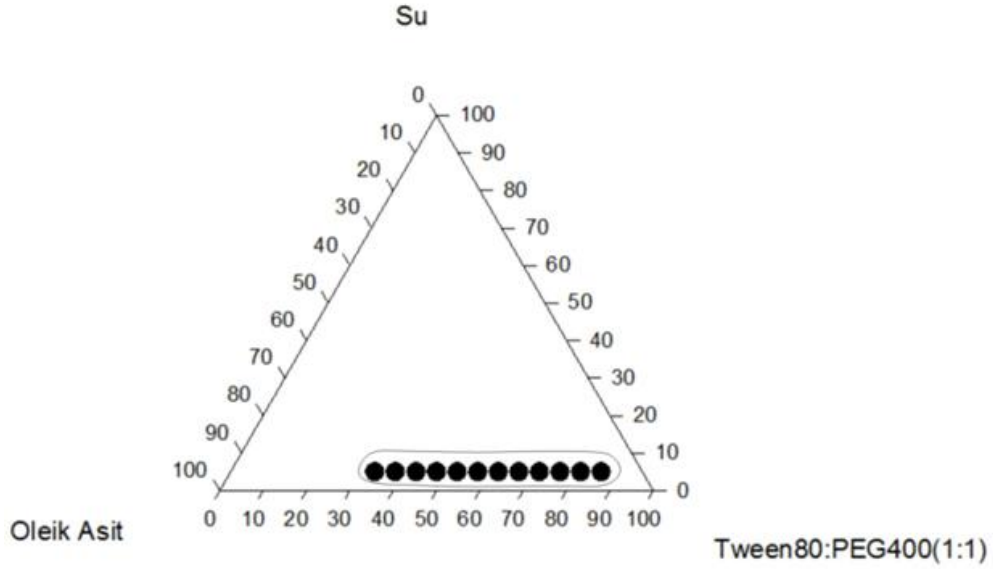
Şekil 4-23: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:3).



Şekil 4-24: : İzopropil miristat, Tween 80, Propilen Glikol ve Su içeren mikroemulsiyon sistemlerinin faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 3:1).

#### 4.7.5. Oleik asit, Tween 80, PEG400 ve Su İçeren Mikroemülsiyon Sistemleri

Bu sistemde sürfaktan:kosürfaktan oranı sadece 1:1 kullanıldı. Sistemin viskozitesi çok yüksek bulunmuştur. Oluşturulan faz diyagramları Şekil 4-25 gösterilmiştir.



Şekil 4-25: Oleik asit, Tween 80, Polietilen Glikol 400 ve Su içeren mikroemülsiyon sistemlerinin faz diyagramı (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:1).

#### 4.8. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçimi

Ön formülasyon çalışmaları ve üçgen faz diyagramları kullanılarak hazırlanan mikroemülsiyonlar fiziksel görünümleri, su tutma kapasiteleri, damlacık boyutları ve dağılımları dikkate alınarak seçildi. Seçilen formülasyonlara verilen kodlar, formülasyon bileşenleri ve yüzdeleri Tablo 4-8'de verilmiştir.

#### 4.9. Mikroemülsiyonlara İlaç Yüklenmesi

Seçilen formülasyonlara (Tablo 4-8) yöntem 3.2.8'de belirtildiği şekilde çalışılarak %1 Vorikonazol veya %2 Sertakonazol oranında yüklendi. Etkin madde tam olarak çözünmesi ve sistemin dengeye gelmesi için beklendi.

#### 4.10. Seçilen Mikroemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Ön formülasyon çalışmaları ile optimize edilen ve fiziksel stabilitesi uygun bulunan formülasyonların kodları ve bileşenleri ile oranları Tablo 2-8 de verilmiştir.

**Tablo 4-8: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların kodları ve bileşenlerinin oranları**

Kod	Su%	Tween80:Etanol% (1:1)	Oleik Asit %	%Vorikonazol	%Sertokonazol
<b>A</b>	15	68	17	-	-
<b>B</b>	20	64	16	-	-
<b>C</b>	25	60	15	-	-
<b>D</b>	30	56	14	-	-
<b>E</b>	10	55	35	-	-
<b>G</b>	25	56	19	-	-
<b>H</b>	15	55	30	-	-
<b>AF</b>	15	68	17	1	-
<b>BF</b>	20	64	16	1	-
<b>CF</b>	25	60	15	1	-
<b>DF</b>	30	56	14	1	-
<b>EF</b>	10	55	35	1	-
<b>GF</b>	25	56	19	1	-
<b>HF</b>	15	55	30	1	-
<b>SA</b>	15	68	17		2
<b>SB</b>	20	64	16		2
<b>SC</b>	25	60	15		2
<b>SD</b>	30	56	14		2
<b>SE</b>	10	55	35		2
<b>SG</b>	25	56	19		2
<b>SH</b>	15	55	30		2

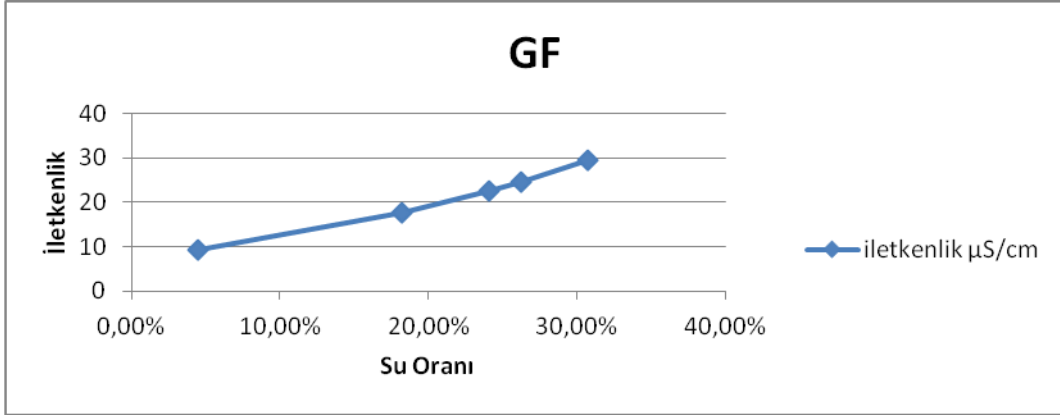
#### 4.10.1. pH ve İletkenlik Değerlendirilmesi

Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların pH ve iletkenlikleri ne ait sonuçlar Tablo 4-9'da verilmiştir. Sistemdeki su içeriğinin GF ve SG kodlu mikroemülsiyonların iletkenlik değerine etkisi Şekil 4-27, Şekil 4-28'de gösterilmektedir. Çalışmamızda, yağ fazı olarak oleik asit içeren mikroemülsiyonlardan su yüzdesi daha yüksek olanların elektriksel iletkenliğinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

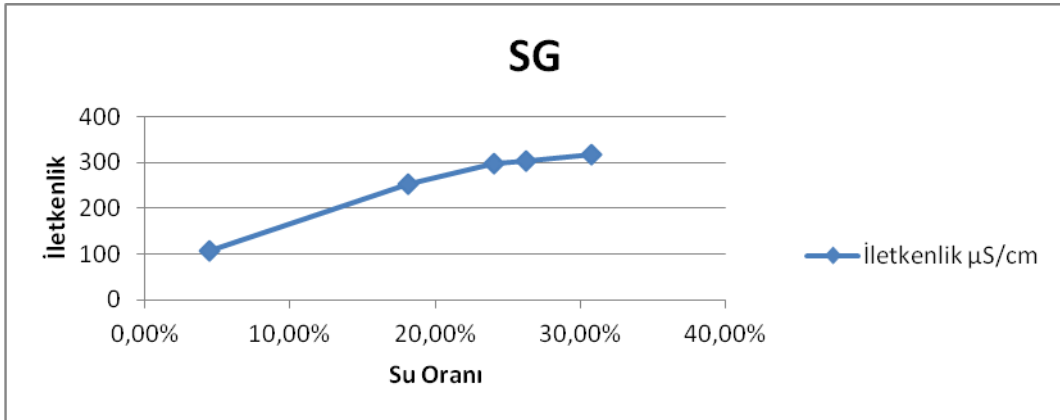
**Tablo 4-9: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların pH ve iletkenlik değerleri (n=3)**

<b>Kod</b>	<b>pH±SD</b>	<b>İletkenlik ( <math>\mu</math>S/cm) ±SD</b>
<b>A</b>	5,95±0.09	18,79±0.05
<b>B</b>	5,76±0.12	23,84±0.07
<b>C</b>	5,38±0.02	25,50±0.1
<b>D</b>	5,30±0.1	29,75±0.09
<b>E</b>	5,33±0.03	9,61±0.04
<b>G</b>	5,27±0.02	23,98±0.1
<b>H</b>	5,29±0.06	12,07±0.07
<b>AF</b>	5,93±0.9	17,2±0.09
<b>BF</b>	5,68±0.10	21,56±0.13
<b>CF</b>	5,39±0.03	24,54±0.17
<b>DF</b>	5,31±0.07	33,12±0.18
<b>EF</b>	5,54±0.08	8,69±0.07
<b>GF</b>	5,35±0.01	23,11±0.06
<b>HF</b>	5,33±0.02	12,14±0.09
<b>SA</b>	4,12±0.05	219,76±0.1
<b>SB</b>	4,20±0.05	273,53±0.1
<b>SC</b>	3,95±0.02	314,36±0.11
<b>SD</b>	3,85±0.06	368,6±0.13
<b>SE</b>	3,78±0.01	109,1±0.1
<b>SG</b>	3,92±0.04	293,7±0.16
<b>SH</b>	3,78±0.09	173,4±0.13

**Şekil 4-26: Formülasyon G'nin İletkenliği**



**Şekil 4-27: Formülasyon GF'nin İletkenliği**



**Şekil 4-28: Formülasyon SG'nin İletkenliği**

#### 4.11. Refraktif İndeks Bulguları

Yöntem 3.2.11.13.2.11.1'de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen mikroemülsiyon formülasyonlarına ait refraktif indeks değerleri Tablo 4-10'da verilmiştir.

**Tablo 4-10: Seçilmiş mikroemülsiyonlara ait refraktif indeks değerleri**

Mikroemülsiyon Kodu	Refraktif İndeks
CF	1,407
DF	1,403
EF	1,424
GF	1,408
HF	1,419
BS	1,413
DS	1,405
CS	1,410
ES	1,427
HS	1,421

#### **4.12. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksinin Değerlendirilmesi**

Hazırlanan boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların partikül büyüklüğü analizinde Malvern Zetasizer-Nano ZS kullanılmış, 0,45µm por çapına sahip membran filtreden süzülen örnekler seyreltilmeden doğrudan ölçüm yapılmıştır. Her ölçüm en az üç kez tekrarlanmıştır. Partikül büyüklüğü ve dağılımı ölçümleri mikroemülsiyonlar hazırlandıktan hemen sonra Tablo 4-11’de verilmiştir.

**Tablo 4-11: Boş ve etkin madde yüklü partikül boyutu ve dağılımına ait sonuçlar değerleri (n=3)**

Kod	Partikül Boyutu (nm)	PDI
A	1,8±0,01	0,53±0,01
B	3,3±0,06	0,60±0,03
C	5,3±0,01	0,51±0,01
D	12,9±0,03	0,52±0,02
E	1,9±0,04	0,34±0,06
G	10,1±0,02	0,32±0,08
H	6,5±0,07	0,60±0,08
AF	1,6±0,01	0,49±0,01
BF	3,3±0,02	0,62±0,02
CF	5,6±0,02	0,53±0,01
DF	9,3±0,01	0,32±0,01
EF	1,7±0,04	0,45±0,05
GF	11,1±0,04	0,45±0,01
HF	3,2±0,01	0,55±0,01
SA	1,5±0,01	0,49±0,01
SB	2,7±0,02	0,58±0,02
SC	4,6±0,03	0,57±0,04
SD	6,6±0,03	0,49±0,03
SE	2,4±0,11	0,31±0,05
SG	7,5±0,03	0,40±0,07
SH	2,7±0,02	0,53±0,01



#### **4.13. Optik İzotropinin Değerlendirilmesi**

Yöntem 3.2.11.4'de anlatıldığı şekilde yapılan optik izotropi çalışmalarında polarize ışık mikroskobu (Olympus CX31-P) görüntülerine göre formülasyonlar karanlık görünümdeydi yani optik olarak açıdan izotropiktir.

#### **4.14. Stabilitenin Değerlendirilmesi**

Yöntem 3.2.11.5' de anlatıldığı şekilde çalışılarak mikroemülsiyonların stabiliteleri değerlendirildi. Santrifüj işlemi sonucunda hiçbir formülasyonda faz ayrımı görülmedi. Daha sonra formülasyonlar sıcaklık değişimi testine tabi tutuldu ve homojenite, faz ayrımı ve bulanıklık bakımından incelendi. Berrak olan mikroemülsiyonların damlacık boyutları ölçüldü ve damlacık boyutlarında artış olup olmadığı incelendi. Bu veriler ön formülasyon çalışmasında da kullanıldı. Bu işlemler sonucu damlacık boyutu büyüyen formülasyonlar elendi.

Seçilen formülasyonlar oda sıcaklığında 15 gün bekletildi, sonra damlacık boyutu ölçümleri alınarak stabiliteleri değerlendirildi. Formülasyonların damlacık boyutlarındaki değişim ve polidispersite indekslerindeki değişim Tablo 4-11'de verilmiştir.

Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların soğutma, dondurma, eritme test stabilite testlerinin ardından damlacık boyutu ve dağılımına ait sonuçlar Tablo 4-12'de verilmiştir.

**Tablo 4-12: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların fiziksel stabilite testlerinin ardından damlacık boyutu ve dağılımına ait sonuçlar (n=3).**

Formülasyon Kod	Damlacık boyutu (nm)	PDI	Damlacık boyutu (nm)	PDI
	Yeni Hazırlanmış Formüller		Stabilite Testlerinden Sonra	
A	1,8±0,01	0,53±0,01	1,93±0,01	0,55±0,01
B	3,3±0,06	0,60±0,03	5,81±0,05	0,60±0,05
C	5,3±0,01	0,51±0,01	4,44±0,01	0,56±0,01
D	12,9±0,03	0,52±0,02	6,34±0,02	0,48±0,01
E	1,9±0,04	0,34±0,06	3,73±0,12	0,20±0,03
G	10,1±0,02	0,32±0,08	10,26±0,07	0,43±0,07
H	6,5±0,07	0,60±0,08	2,8±0,02	0,54±0,06
AF	1,6±0,01	0,49±0,01	5,22±0,11	0,33±0,02
BF	3,3±0,02	0,62±0,02	5,84±0,03	0,53±0,04
CF	5,6±0,02	0,53±0,01	6,97±0,03	0,58±0,02
DF	9,3±0,01	0,32±0,01	7,7±0,03	0,38±0,06
EF	1,7±0,04	0,45±0,05	6,24±0,13	0,19±0,01
GF	11,1±0,04	0,45±0,01	9,12±0,02	0,32±0,01
HF	3,2±0,01	0,55±0,01	2,42±0,01	0,51±0,01
SA	1,5±0,01	0,49±0,01	1,81±0,09	0,40±0,07
SB	2,7±0,02	0,58±0,02	4,32±0,04	0,55±0,03
SC	4,6±0,03	0,57±0,04	6,54±0,12	0,65±0,05
SD	6,6±0,03	0,49±0,03	6,98±0,01	0,52±0,01
SE	2,4±0,11	0,31±0,05	6,46±0,04	0,47±0,05
SG	7,5±0,03	0,40±0,07	7,56±0,11	0,34±0,06
SH	2,7±0,02	0,53±0,01	3,09±0,03	0,49±0,02

**Tablo 4-13: Boş ve etkin madde yüklü mikroemülsiyonların (yeni hazırlanmış ve 15 gün sonunda) damlacık boyutu ve dağılımına ait sonuçlar değerleri (n=3)**

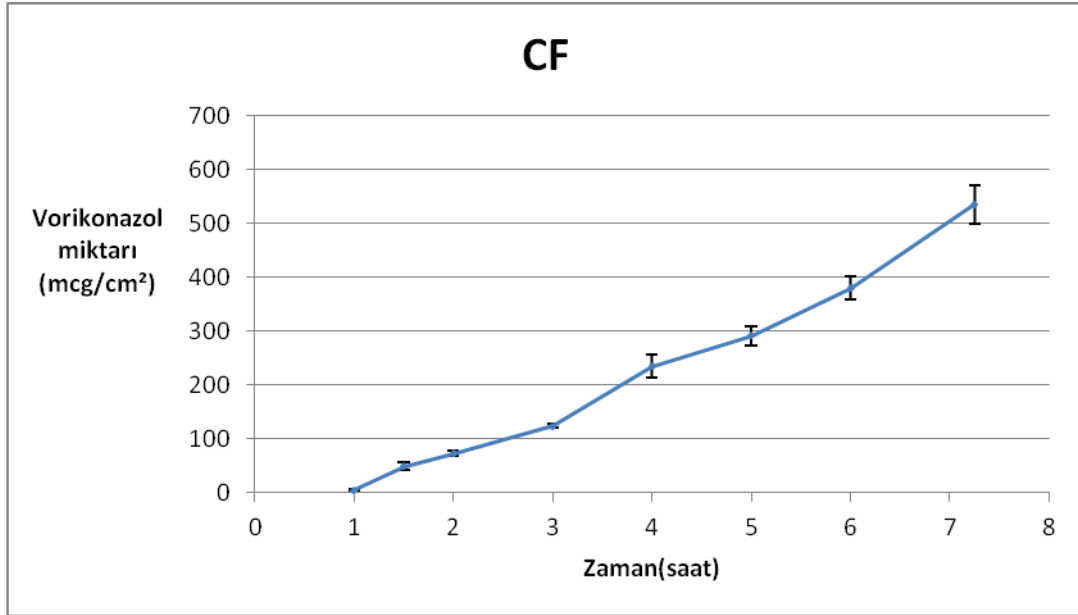
<b>Formülasyon Kodu</b>	<b>Damlacık boyutu (nm) Yeni Hazırlanmış Formüller</b>	<b>PDI</b>	<b>Damlacık boyutu (nm) 15 gün sonra</b>	<b>PDI</b>
A	1,8±0,01	0,53±0,01	3,3±0,01	0,68±0,01
B	3,3±0,06	0,60±0,03	3,2±0,01	0,62±0,01
C	5,3±0,01	0,51±0,01	2,7±0,01	0,56±0,02
D	12,9±0,03	0,52±0,02	4,1±0,01	0,34±0,01
E	1,9±0,04	0,34±0,06	18,6±2,65	0,23±0,12
G	10,1±0,02	0,32±0,08	6,9±0,08	0,33±0,01
H	6,5±0,07	0,60±0,08	1,8±0,03	0,52±0,01
AF	1,6±0,01	0,49±0,01	2,7±0,02	0,63±0,05
BF	3,3±0,02	0,62±0,02	3,0±0,01	0,58±0,01
CF	5,6±0,02	0,53±0,01	7,2±0,01	0,55±0,01
DF	9,3±0,01	0,32±0,01	6,7±0,01	0,33±0,01
EF	1,7±0,04	0,45±0,05	3,8±0,25	0,18±0,03
GF	11,1±0,04	0,45±0,01	1,8±0,04	0,47±0,01
HF	3,2±0,01	0,55±0,01	1,7±0,01	0,48±0,01
SA	1,5±0,01	0,49±0,01	1,6±0,06	0,47±0,01
SB	2,7±0,02	0,58±0,02	7,4±0,20	0,51±0,03
SC	4,6±0,03	0,57±0,04	3,1±0,04	0,60±0,04
SD	6,6±0,03	0,49±0,03	4,7±0,05	0,58±0,03
SE	2,4±0,11	0,31±0,05	5,0±0,02	0,53±0,01
SG	7,5±0,03	0,40±0,07	2,8±0,30	0,17±0,07
SH	2,7±0,02	0,53±0,01	3,6±0,20	0,65±0,23

#### 4.15. Mikroemülsiyon Formülasyonlarından Vorikonazol *In vitro* Salm Çalışmaları

Yöntem 3.2.12’de anlatıldığı şekilde, Mikroemülsiyondan Vorikonazol *in vitro* salımı incelendi. Franz difüzyon hücrelerinde gerçekleştirilen *in vitro* salım deneylerinde, vorikonazol yüklü CF, DF, EF, GF ve HF kodlu mikroemülsiyonlar kullanılmıştır. Bu mikroemülsiyonların bileşenleri Tablo 4-8’de verilmiştir. Mikroemülsiyonlardan 8 saat süre ile  $\text{cm}^2$  den serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları ilgili Tablolar ve grafiklerse aşağıda verilmiştir.

**Tablo 4-14: CF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

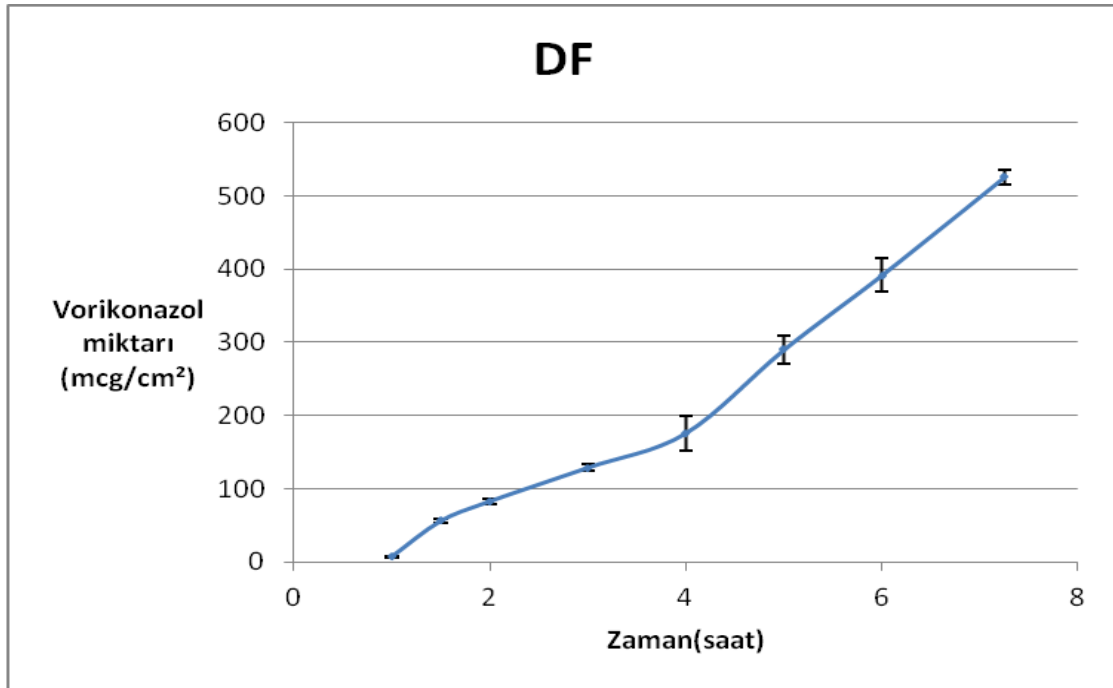
Zaman (saat)	Kümülatif Miktar ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$\pm\text{SD}$
1	5,1	1,02
1,5	49,03	6,7
2	73,09	4,4
3	124,33	3,4
4	234,23	21,3
5	291,12	18,6
6	380,21	22,27
8	535,05	36,47



**Şekil 4-29: CF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

**Tablo 4-15: DF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

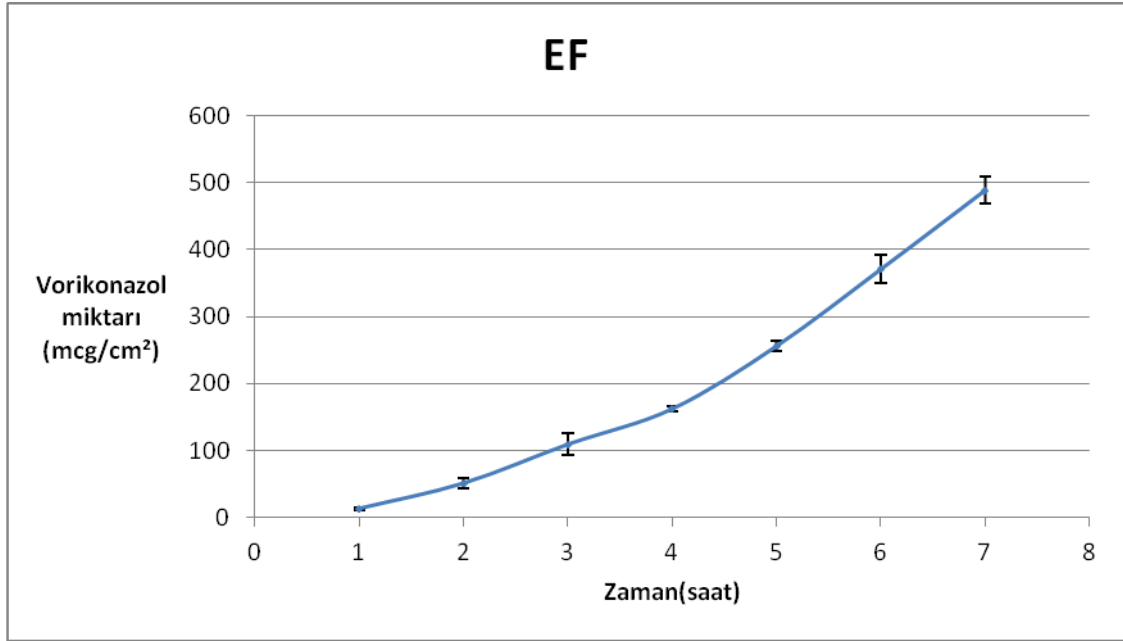
Zaman	Kümülatif Miktar ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$\pm\text{SD}$
1	7,01	1,21
1,5	56,08	2,77
2	83,20	3,45
3	129,20	5,20
4	176,07	23,41
5	290,03	18,79
6	392,04	22,17
8	526,13	9,84



**Şekil 4-30: DF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

**Tablo 4-16: EF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

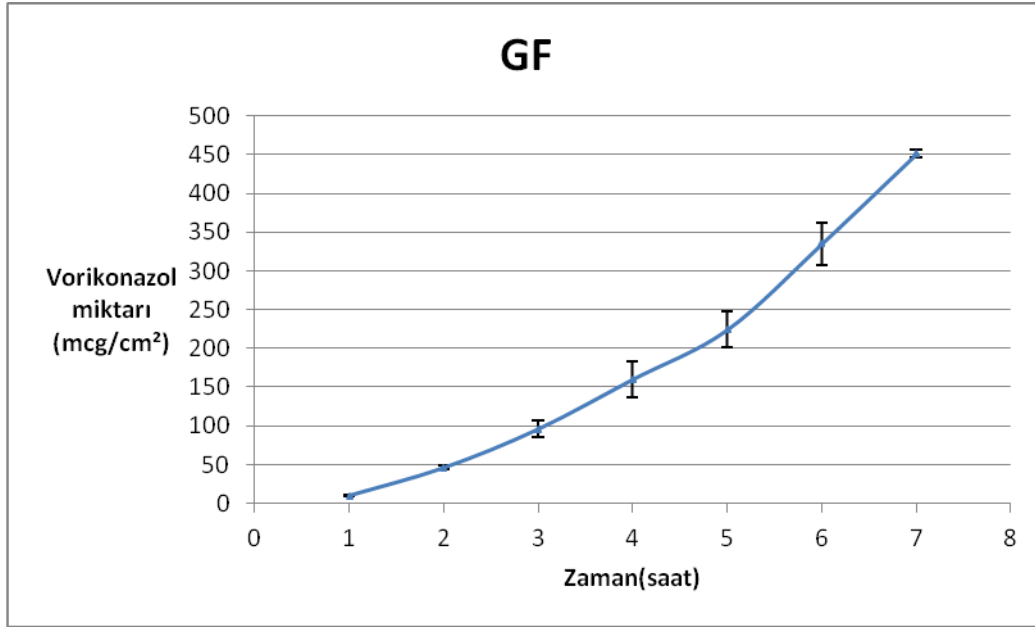
Zaman	Kümülatif Miktar ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$\pm\text{SD}$
1	13,30	1,85
2	51,21	8,28
3	109,02	16,13
4	162,04	3,58
5	256,13	8,43
6	371,05	21,65
8	489,19	19,66



**Şekil 4-31: EF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

**Tablo 4-17: GF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

Zaman	Kümülatif Miktar ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$\pm\text{SD}$
1	10,07	1,8
2	46,11	8,2
3	96,21	16,12
4	160,09	3,58
5	224,34	8,43
6	335,25	21,65
8	451,33	19,66

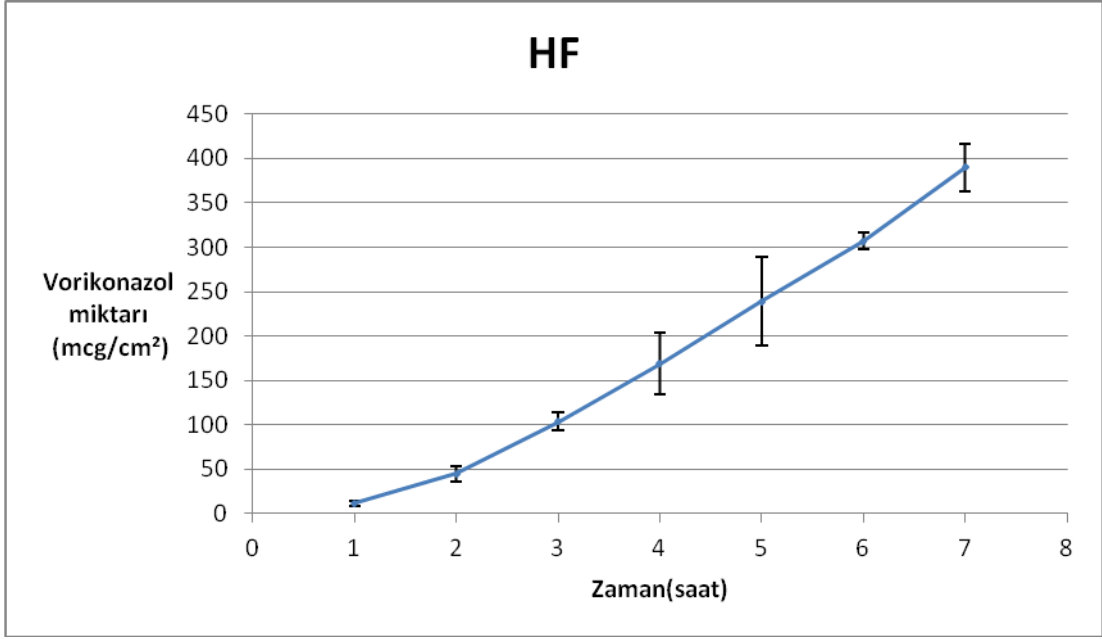


**Şekil 4-32: GF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

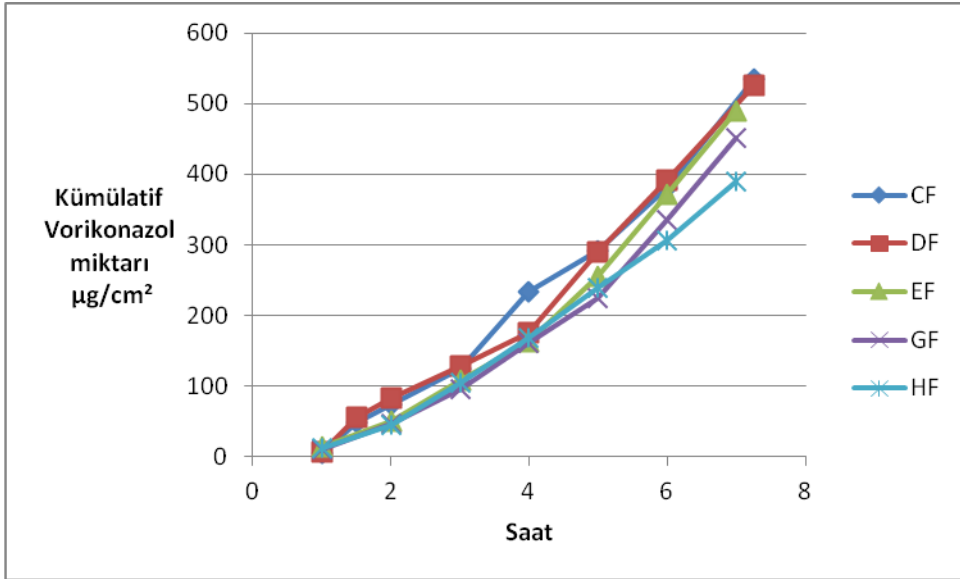
**Tablo 4-18: HF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**

Zaman	Kümülatif Miktar ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$\pm\text{SD}$
1	12,10	1,29
2	45,04	2,61
3	104,06	10,14
4	169,2	22,97
5	239,02	23,06
6	307,04	27,72
8	390,11	5,34





**Şekil 4-33: HF kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif vorikonazol miktarları**



**Şekil 4-34: Vorikonazol'un mikroemülsiyonlarından salım profili**

Sertakonazol ve Vorikonazol'un salım bulgular Tablo 4-19 ve Tablo 4-20'de verilmiştir

**Tablo 4-19: Vorikonazol'un salım hızı karşılaştırması (Higuchi ve Fick's)**

Kod	Higuchi		Fick's	
	Salım Hızı	R <sup>2</sup>	Salım hızı	R <sup>2</sup>
CF	295,35	0,9464	63,33	0,9842
DF	287,26	0,9213	104,88	0,9998
EF	351,27	0,9377	116,5	0,9999
GF	258,87	0,8966	113,5	0,9998
HF	231,39	0,9461	73,1	0,9979

**Tablo 4-20: Sertakonazol'un salım hızı karşılaştırması (Higuchi ve Fick's)**

Kod	Fick's		Higuchi	
	Salım hızı	R <sup>2</sup>	Salım Hızı	R <sup>2</sup>
BS	77	0,9999	222,66	0,9835
CS	61,5	0,9999	170,33	0,9868
DS	116,05	0,9996	370,6	0,9861
ES	73,91	0,9863	238,44	0,9904
GS	82,45	0,9917	278,48	0,9836
HS	43,12	0,9996	191,13	0,9747

#### 4.16. Sertakonazol Çözünürlük Bulguları

Sertakonazolün Farklı Çözücülerdeki Çözünürlüğünün İncelenmesi: In vitro salım çalışmalarında kullanılacak reseptör faz ortamının belirlenebilmesi amacı ile farklı çözücülerde sertakonazolün çözünürlüğüne ait sonuçlar (Tablo 4-21)'de verilmiştir.

**Tablo 4-21: Sertakonazol çözünürlük tayinine ait sonuçlar**

Reseptör Faz	Çözünen Sertakonazol (µg/mL)	%RSD
Etanol:H <sub>2</sub> O (30:70)	1701,01	1,5
Etanol:Tampon pH4 (30:70)	399,02	1,1
Tampon pH4	2,00	1,8

Elde edilen sonuçlara dayanarak reseptör ortamının 30:70 etanol:su karışımı olmasına karar verilmiştir.

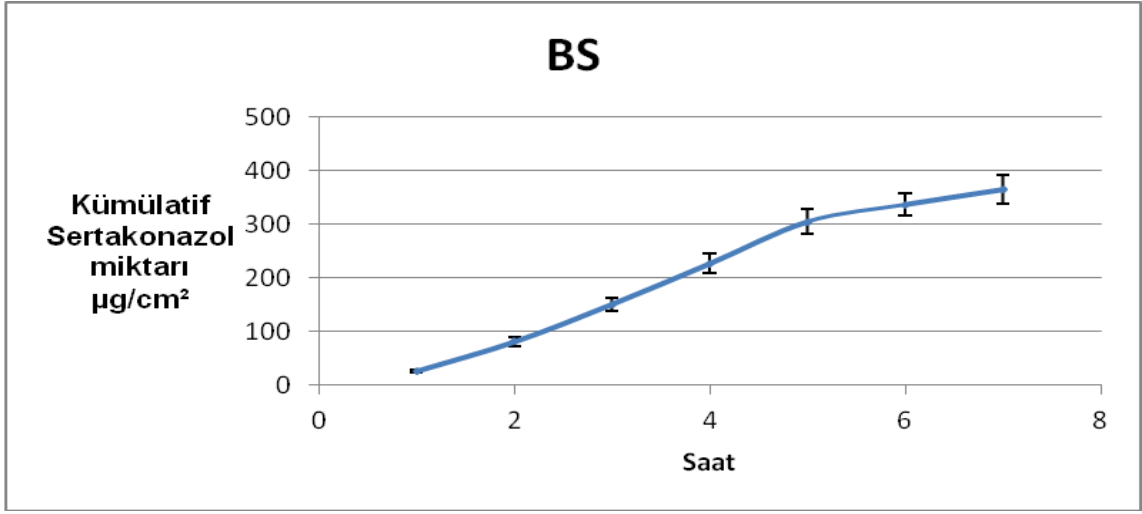
#### 4.17. Mikroemülsiyon Formülasyonlarından Sertakonazol *In vitro* Salım Çalışmaları

Yöntem 3.2.12 3.2.13' de anlatıldığı şekilde Franz difüzyon hücrelerinde gerçekleştirilen *in vitro* salım çalışmalarında, sertokonazol yüklü BS, CS, DS, ES, GS ve HS kodlu mikroemülsiyonlar kullanılmıştır. Bu mikroemülsiyonların bileşimleri Tablo 4-8'de verilmiştir. Mikroemülsiyonlardan 8 saat süre ile cm<sup>2</sup> den serbestleşen kümülatif sertokonazol miktarları Tablo 4-22, Tablo 4-23, Tablo 4-25, ve

Tablo 4-26, Tablo 4-27 ve Tablo 3-28'de 'de verilmektedir. İlgili grafikler Şekil 4-35'den 45'e gösterilmiştir.

**Tablo 4-22: BS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

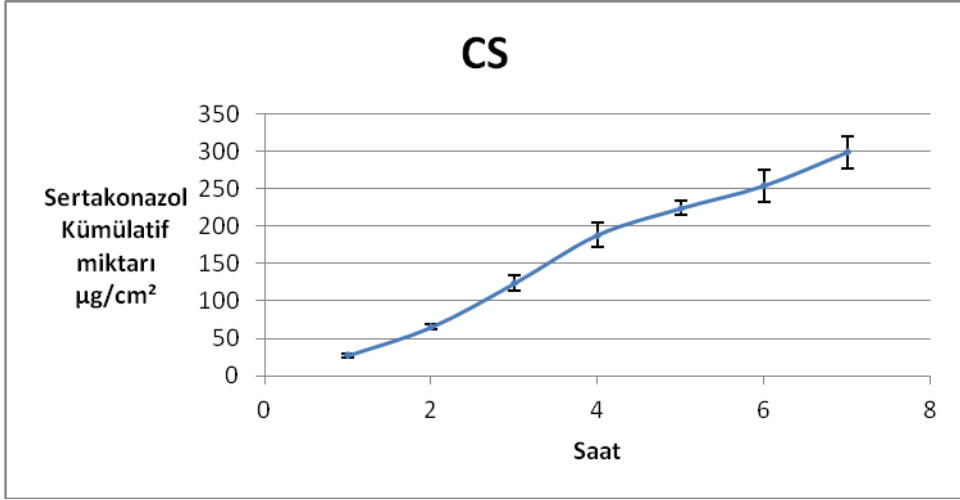
Zaman (saat)	Kümülatif Miktar (µg/ cm <sup>2</sup> )	±SD
1	26,1	2,01
2	81,02	7,66
3	151,09	12,66
4	227,20	18,79
5	305,01	23,39
6	337,04	20,09
7	365,05	25,84



**Şekil 4-35: BS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

**Tablo 4-23: CS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

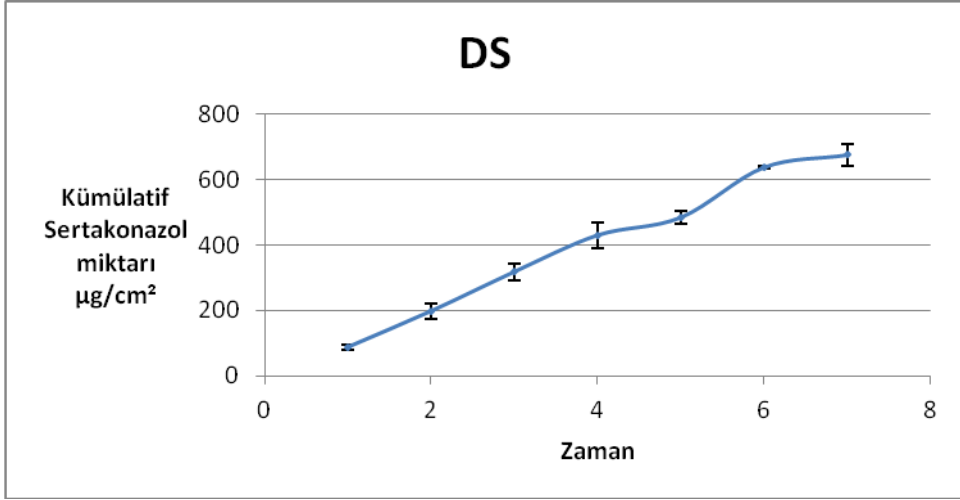
Zaman	Kümülatif Miktar (µg/ cm <sup>2</sup> )	±SD
1	27,50	2,74
2	65,40	4,13
3	124,01	10,79
4	188,40	15,66
5	224,01	9,62
6	254,20	21,16
7	298,81	21,41



**Şekil 4-36: CS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

**Tablo 4-24: DS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

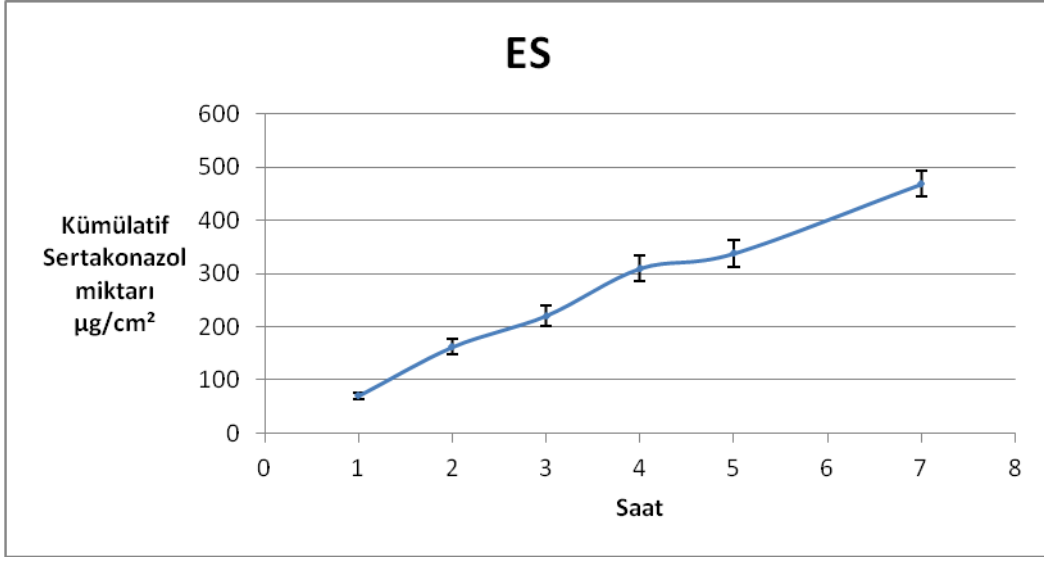
Zaman	Kümülatif Miktar (µg/ cm <sup>2</sup> )	SD
1	87,16	7,61
2	197,59	23,18
3	317,87	25,36
4	429,70	4,02
5	484,00	18,27
6	637,53	4,30
7	675,35	15,06



**Şekil 4-37: DS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

**Tablo 4-25: ES kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif Sertakonazol miktarları**

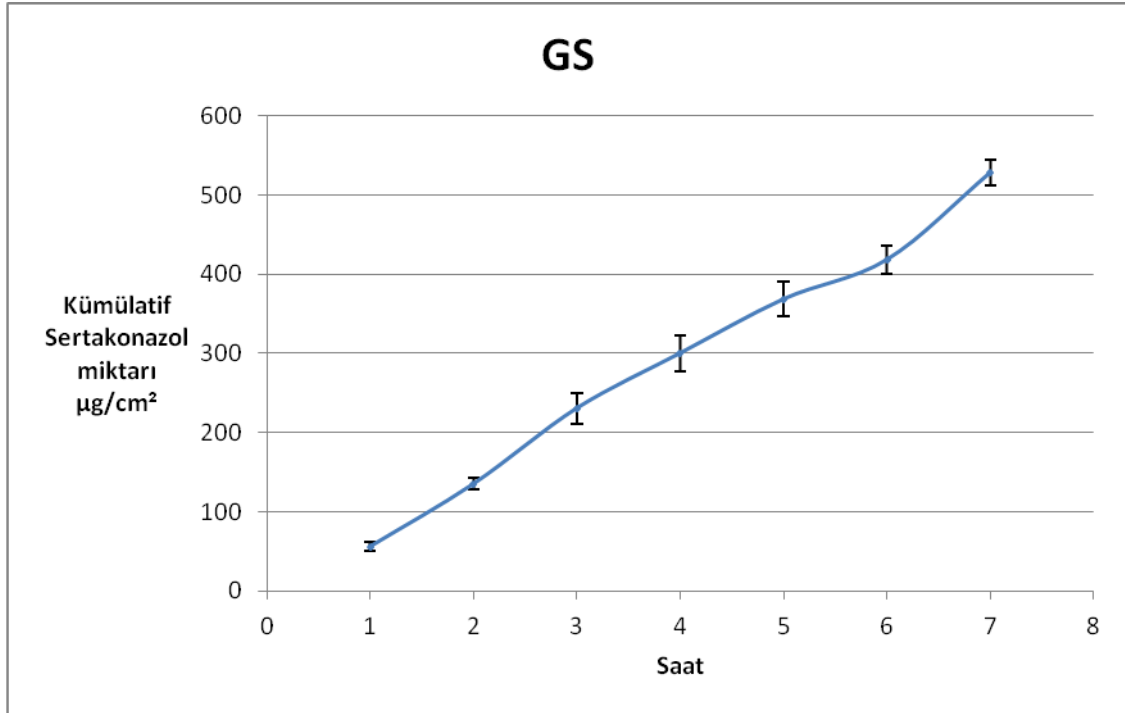
Zaman	Kümülatif Miktar (µg/ cm <sup>2</sup> )	±SD
1	69,90	6,80
2	161,97	14,10
3	220,77	18,35
4	309,79	24,96
5	338,00	25,60
7	468,52	23,80



**Şekil 4-38: ES kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

**Tablo 4-26: GS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif Sertakonazol miktarları**

Zaman	Kümülatif Miktar ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	$\pm\text{SD}$
1	56,23	5,71
2	135,43	7,29
3	230,95	19,29
4	300,34	22,48
5	368,63	21,82
6	418,46	18,00
7	528,49	15,72

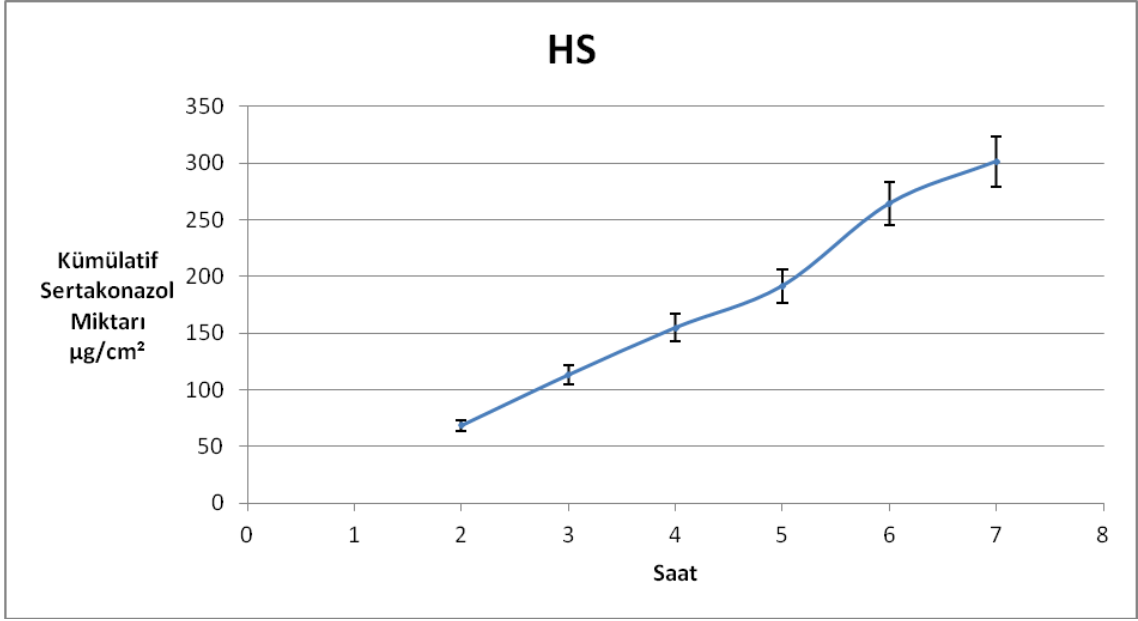


**Şekil 4-39: GS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

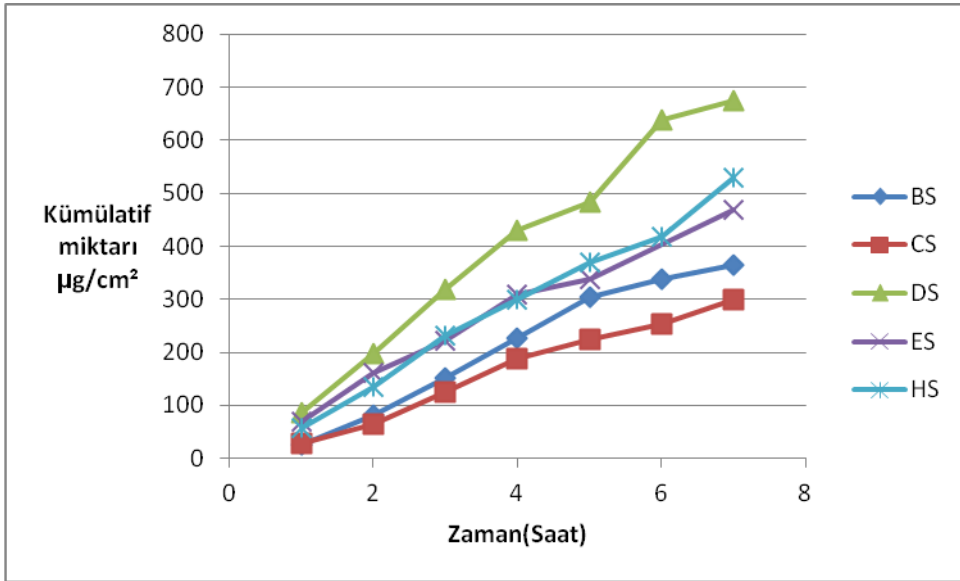
**Tablo 4-27: HS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**

Zaman	Kümülatif Miktar (µg/ cm <sup>2</sup> )	±SD
2	68,42	5,15
3	113,07	8,63
4	154,67	12,33
5	191,58	14,68
6	263,99	19,14
7	301,19	21,92





**Şekil 4-40: HS kodlu mikroemülsiyon formülasyonundan serbestleşen kümülatif sertakonazol miktarları**



**Şekil 4-41: Sertakonazol'un mikroemülsiyonlarından salım profilleri**

#### 4.18. EF ve DS Kodlu Formülasyonlardan Deriye Penetrasyonlarının *In vitro* Koşullarda İncelenmesi

3.2.14’de belirtilen yöneteme göre *in vitro* deriye penetrasyon çalışmasında ilk olarak yüklü olan ve *in vitro* salım çalışmalarında en fazla etkin madde akısı sağlayan mikroemülsiyon formülasyonlar (DS ve EF) seçilmiştir. Bu mikroemülsiyondan sertakonazolün deriye penetrasyonu ve derinin farklı tabakalarındaki dağılımı piyasa preparatı olan Zalain krem (%2 sertakonazol) ile karşılaştırılmıştır.

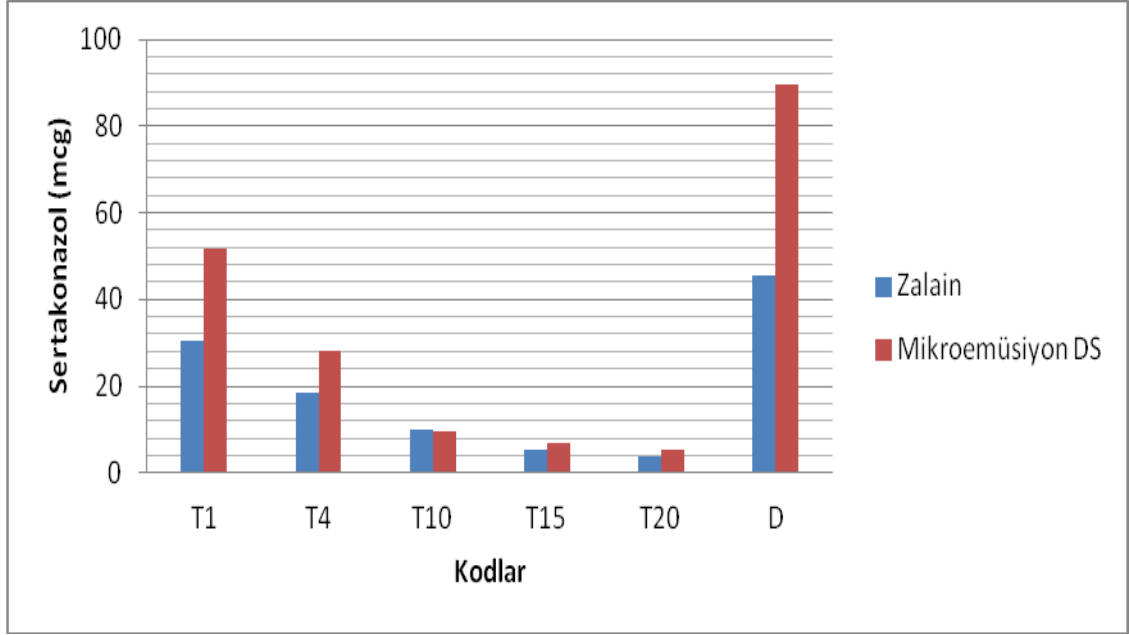
**Tablo 4-28: DS kodlu Sertakonazol içeren mikroemülsiyon fomülasyonu ile gerçekleştirilen *in vitro* penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3)**

Bant Sayısı	Sertakonazol Miktarı (µg)	±SD
T1	52,00	9.5
T4	28,04	8.8
T10	10,06	3.2
T15	7,10	1.0
T20	5,11	0.9
Deri	89,05	3.2

**Tablo 4-29: Sertakonazol ticari preparatı (Zalain) ile gerçekleştirilen *in vitro* penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3)**

Bant Sayısı	Sertakonazol Miktarı (µg)	±SD
T1	31,02	1,2
T4	18,01	0,78
T10	10,20	0,37
T15	5,02	0,19
T20	4,03	0,6
Deri	45,07	0,47

**Şekil 4-42: Sertakonazol'ün mikroemülsiyon ve kontrol formülasyonu ile *in vitro* domuz derisinden penetrasyonuna ait karşılaştırmalı grafik**

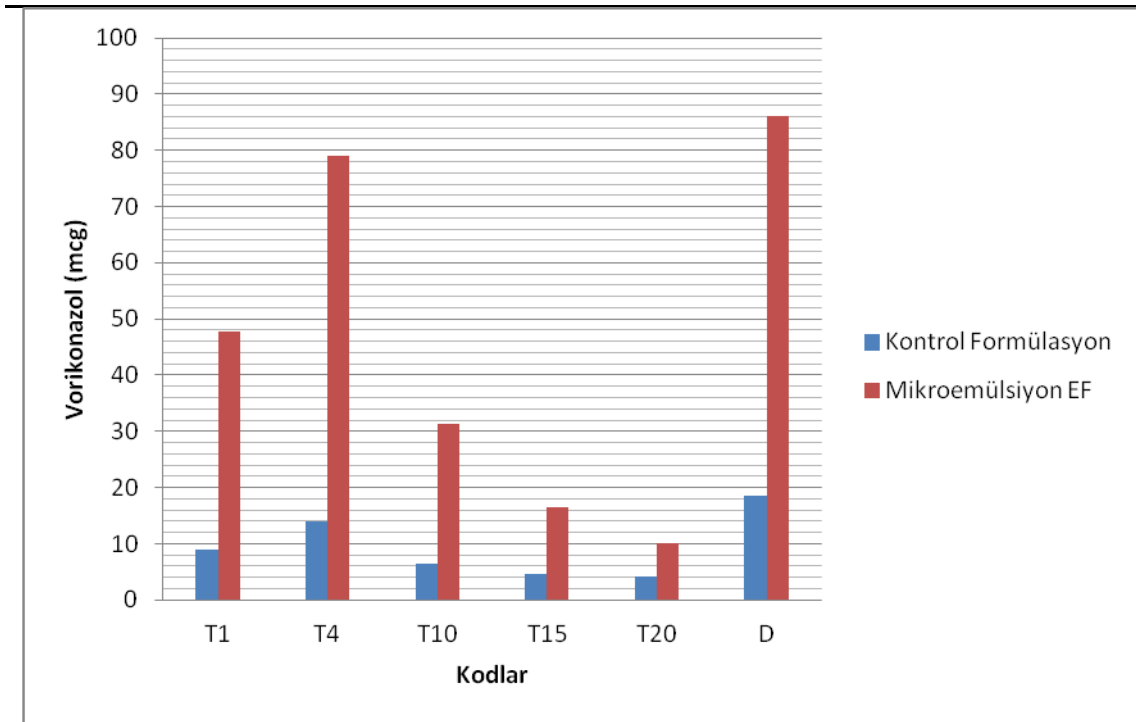


**Tablo 4-30: EF kodlu Vorikonazol içeren mikroemülsiyon fomülasyonu ile gerçekleştirilen *in vitro* penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3)**

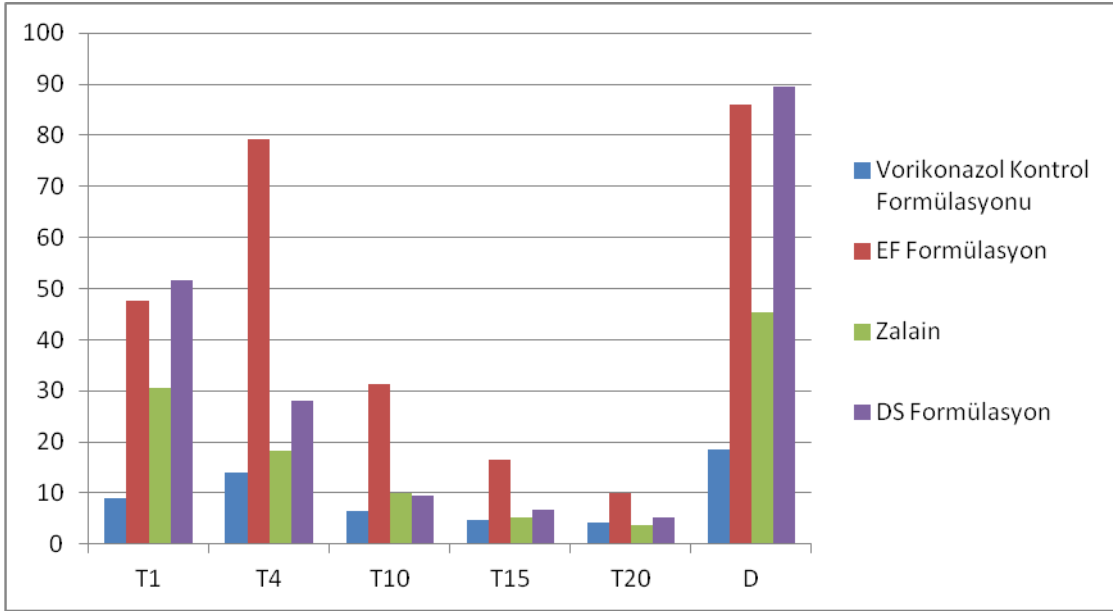
Bant Sayısı	Vorikonazol Miktarı (µg)	±SD
T1	48,01	1,92
T4	79,08	1,8
T10	31,11	0,87
T15	16,12	0,59
T20	10,21	0,22
Deri	86,2	1,47

**Tablo 4-31: Kontrol fomülasyonu ile gerçekleştirilen *in vitro* penetrasyon çalışmasına ait sonuçlar (n=3)**

Bant Sayısı	Vorikonazol Miktarı ( $\mu\text{g}$ )	$\pm\text{SD}$
T1	9,21	3,2
T4	14,10	3,8
T10	6,21	2,7
T15	5,12	2,9
T20	4,30	2,2
Deri	18,01	8,7



**Şekil 4-43: Vorikonazol'ün mikroemülsiyon ve kontrol formülasyonu ile *in vitro* domuz derisinden penetrasyonuna ait karşılaştırmalı grafik**



**Şekil 4-44: Vorikonazol ve Seratakonazol'ün mikroemülsiyon ve kontrol formülasyonu ile *in vitro* domuz derisinden penetrasyonuna ait karşılaştırmalı grafik**

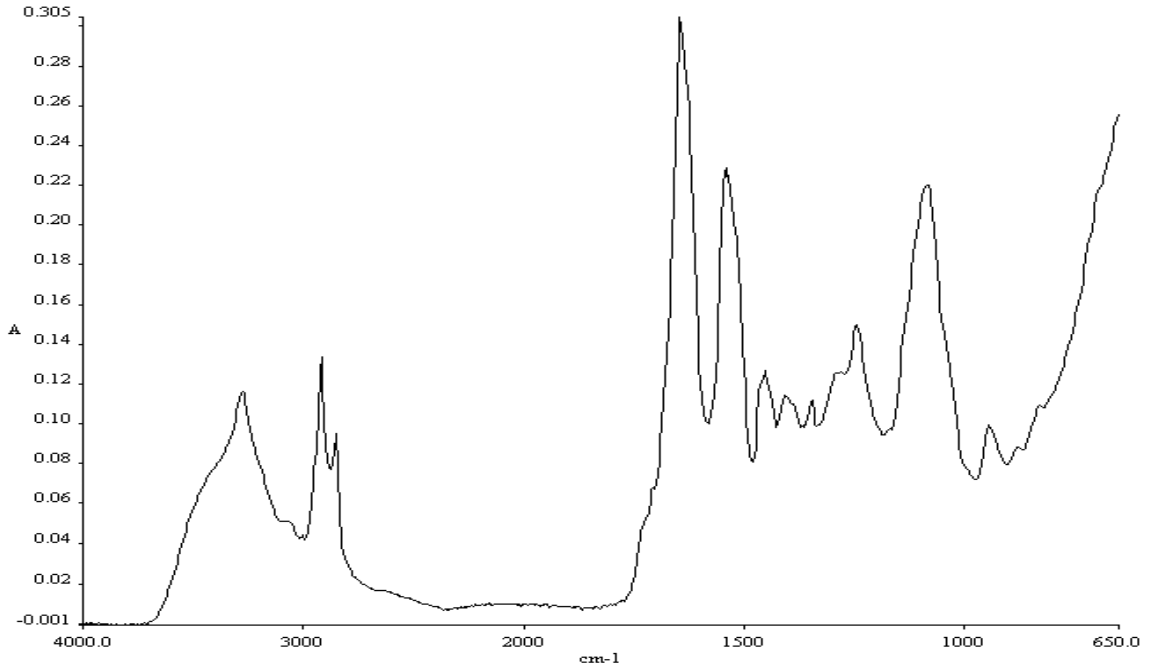
#### **4.19. ATR-FTIR Spektroskopisi ile Mikroemülsiyon Bileşenlerinin Deri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi**

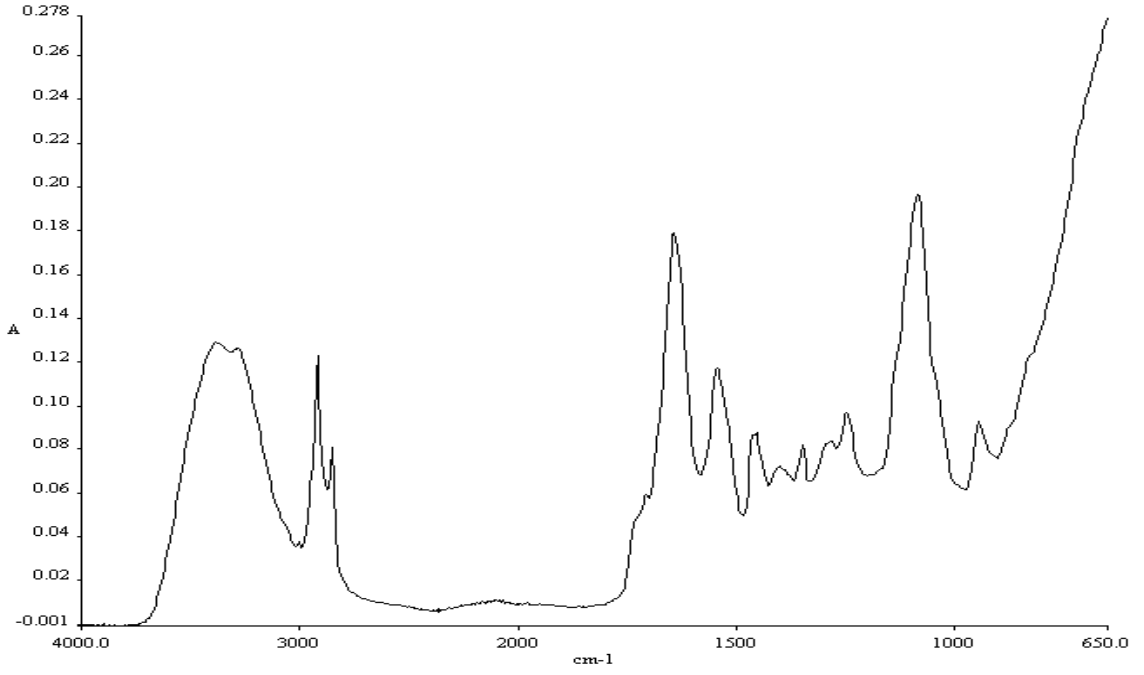
ATR-FTIR çalışması Yöntem 3.2.15'de anlatıldığı şekilde yapıldı. *In vitro* penetrasyon çalışması ile 8 saat sonra CH<sub>2</sub> asimetric (2950 cm<sup>-1</sup>) ve simetric (2920 cm<sup>-1</sup>) gerilme bantlarındaki değişimler Tablo 4-32'de verildi. Vorikonazol ve Sertakonazol yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumları sırası ile Şekil 4-45 ile Şekil 4-46 aralığında gösterildi.

Vorikonazol ve Sertakonazol yüklü Konvensional formülasyonlarının uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumları sırası ile Şekil 4-47 ile Şekil 4-48 aralığında gösterildi. Kontrol deri alınan ATR-FTIR Şekil 4-49 gösterildi.

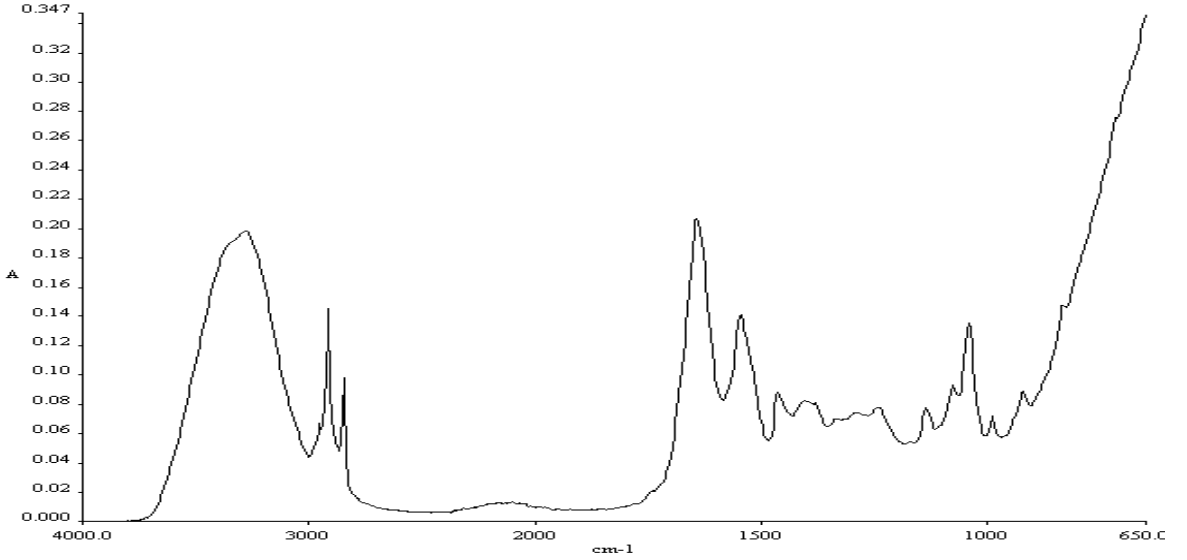
**Tablo 4-32: ATR-FTIR Analiz Sonuçları**

	Asimetrik Gerilme Absorbansı (cm <sup>-1</sup> )	Simetrik Gerilme Absorbansı (cm <sup>-1</sup> )
Kontrol Deri	2917,86	2851,36
Vorikonazol Kontrol Formülasyonu	2917,46	2850,11
Sertakonazol Kontrol Formülasyonu (Zalain)	2918,93	2851,06
Vorikonazol Mikroemülsiyonu	2923,35	2854,51
Sertakonazol Mikroemülsiyonu	2923,30	2854,22

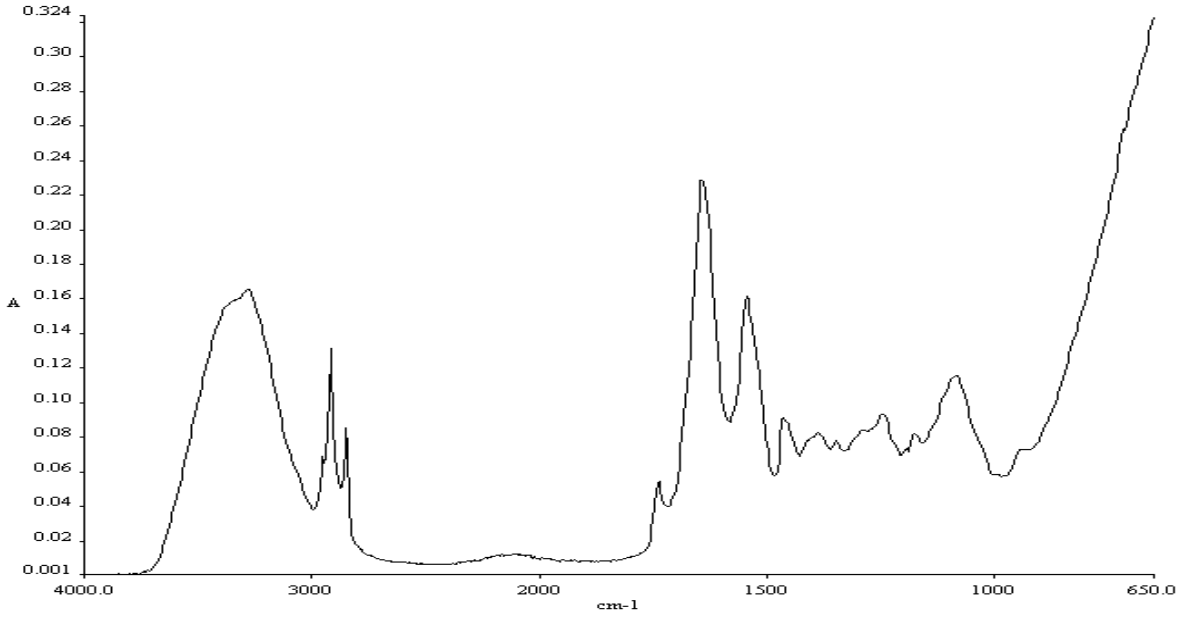
**Şekil 4-45: Vorikonazol yüklü mikroemülsiyon formülasyonunun (EF) uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu**



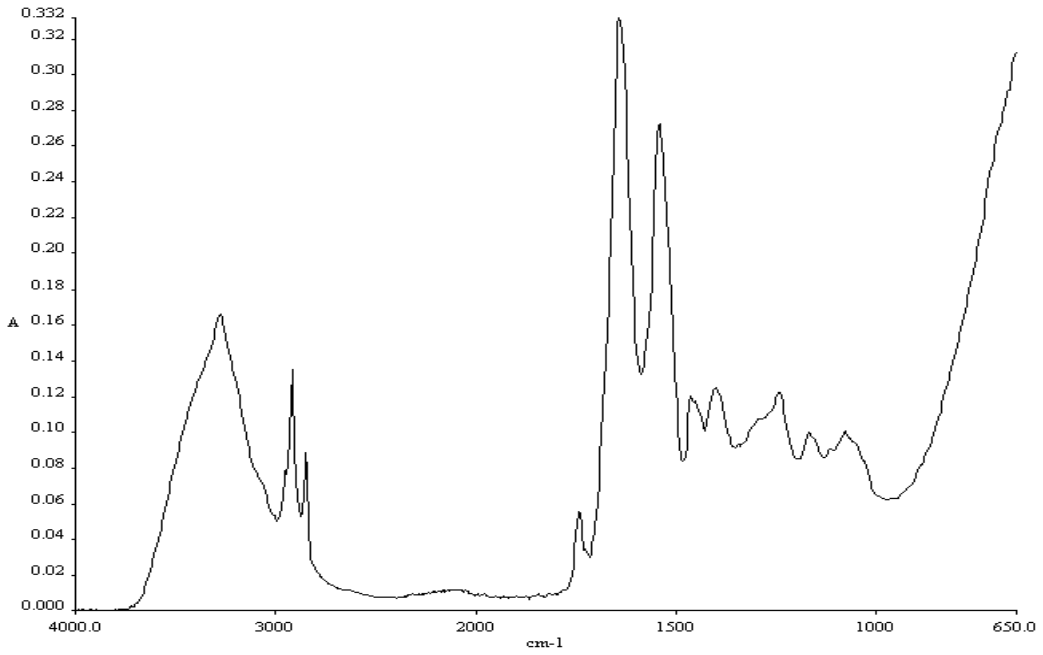
**Şekil 4-46: Sertakonazol yüklü mikroemülsiyon formülasyonunun (DS) uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu**



**Şekil 4-47: Vorikonazol Konvansiyonel formülasyonlarının uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu**



**Şekil 4-48: Sertakonazol Konvansiyonel (Zalain) formülasyonunun uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumu**



**Şekil 4-49: Kontrol deriye ait (formülasyon uygulaması yapılmamış olan) ATR-FTIR spektrumu**



## 5. TARTIŞMA

Son yirmi yıldır yüzeysel ya da sistemik mantar enfeksiyonlarının görülme sıklığı giderek artmaktadır. Ayrıca, AIDS gibi immünojenik hastalıkların eşlik ettiği durumlarda mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek daha da güçleşmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ortalama 40 milyon kişi mantar enfeksiyonu geçirmektedir (Güngör ve ark. 2013; Lalit ve ark 2014)

İnsan yaşamını ve sağlığını tehdit eden biri olan mantar enfeksiyonları şu şekilde sınıflandırılabilir: (a) mantar proteinlerine karşı alerjik reaksiyonların geliştirilmesi, (b) bazı mantarlarda bulunan toksinlere karşı toksik reaksiyonların oluşması, (c) enfeksiyonlar (mikozlar). Sağlıklı bireyler yüzeysel, kütanöz, subkütanöz ve bazı durumlarda sistemik enfeksiyonlara karşı duyarlıdır ve bu enfeksiyonlar atlet ayağı ve tırnak enfeksiyonlarından ciddi, hayatı tehdit edici, yaygın hastalıklara kadar (histoplazmozis gibi) çeşitli durumlara sebep olabilirler (Kathiran ve ark 2012).

Oral antifungal tedaviyle ciddi hepatik toksisite, nadiren Stevens-Johnson sendromu ciddi yan etkiler ve ilacın sitokrom P450 sistemiyle metabolize edilmesinden dolayı bazı ilaç etkileşimleri görülebilir (Kaur ve ark 2010). Bu nedenle, mantar enfeksiyonlarının tedavisinde ilaçların enfeksiyon alanına hedeflendirilmesi, sistemik yan etkilerin azalması, tedavinin etkinliğinin ve hasta uyuncunun artması gibi avantajları nedeniyle ilk tercih topikal tedavidir (Güngör ve ark.). Ancak, antifungal ilaçların topikal uygulanmasında derideki ilaç konsantrasyonu terapötik açıdan etkin seviyelerine ulaşılmalıdır. Diğer taraftan, etkin maddeler derinin en dış tabakası olan stratum corneumu geçerek derinin daha alt tabakalarına özellikle de canlı epidermise ulaşmalıdırlar. Derinin özellikle invazif mantar enfeksiyonlarının tedavisinde temel yaklaşım ilacın derinin daha derin katmanlarına penetrasyonun sağlanmasıdır (Lalit ve ark 2014). Dermal uygulamadan sonra antifungal ilaçların canlı epidermiste etkin terapötik seviyelere ulaşması istenir. Dermal ilaç salımındaki en büyük engel *stratum corneum* dur ve bu tabakanın geçirgenliğini artırmak için yeni formülasyon yaklaşımları araştırılmaktadır. Koloidal sistemler, veziküler taşıyıcılar ve nanopartiküllerin de arasında bulunduğu yeni ilaç salım sistemleriyle ilaçların deriye salımı ve deriden penetrasyonu artırılabilir (Güngör ve ark. 2013; Kaur ve ark 2010).

Vorikonazol, triazol türevi olan dar spektrumlu azol türevi antifungal bir ajandır. Vorikonazol suda az çözünen lipofilik bir ilaçtır. İnvazif aspergillozis ve ciddi mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır, piyasada 50 mg ve 100 mg'lık oral tabletleri (Vfend®) ve 200 mg/flakon dozunda enjeksiyonluk toz intravenöz formülasyonları (Vfend®) bulunmaktadır. Vorikonazolün yan etkileri; ateş, anormal görme, kaşıntı, bulantı, kusma, ishal, sepsis, baş ağrısı, solunum bozukluğu ve periferik ödemdir (Jeu L. ve ark 2003) Vorikonazol kullanımına bağlı görme anomalilerinden hepatik enzimlerde yükselmelere kadar büyük yan etkiler gözlenir ve ilaç etkileşimleri açısından yüksek potansiyele sahiptir. Ayrıca karaciğer yetmezliği olan hastalarda doz azaltılması önerilir.

Sertakonazol benzotiyofen halkası içeren imidazol türevi, dar spektrumlu antifungal bir ilaçtır. Sertakonazolün fungistatik, fungisidal, antibakteriyel, antienflamatuar, antitrikomonal ve antipirüritik etkileri diğer imidazol türevlerinden daha üstün bulunmuştur. Piyasada topikal preparat olarak %2 lik krem ve çözeltisi, vajinal olarak 300 mg'lık tablet ve 500 mg'lık supozituarları (Dermofix®, Ertaczo®, Ginedermofix®, Monazol, Mykosert®, Zalain®) bulunmaktadır. Sertakonazolün deri üzerindeki yan etkileri kontakt dermatit, deride kızarma ve kuruluk olarak sıralanmaktadır (Pfaller ve Sutton, 2006).

Mikroemülsiyonlar yağ, su ve sürfaktan ve genellikle bir kosürfaktan kombinasyonundan oluşan, optik olarak izotropik, termodinamik olarak stabil, berrak koloidal sistemlerdir. İlaç ve gıda sanayisindeki potansiyel uygulamalarından dolayı son yıllarda mikroemülsiyonlar araştırmacılar tarafından oldukça fazla çalışılmaktadır (Kogan ve Garti 2006). Mikroemülsiyon oluşumunu etkileyen faktörler: (1) yağ, sürfaktan, kosürfaktan ve sulu fazın yapısı ve konsantrasyonu, (2) yağ/sürfaktan ve sürfaktan/kosürfaktan oranı, (3) sıcaklık, (4) ortamın pH'sı ve (5) etkin maddenin hidrofilik/lipofilikliği gibi fizikokimyasal özellikleridir. Mikroemülsiyonlar sadece hazırlanmaları kolay ve ucuz olduğu için avantajlı değildir, ayrıca deriye ilaç penetrasyonunu artırdıkları için biyoyararlanımı da artırır. (Kogan ve Garti 2006).

Çalışmamızda vorikonazol ve sertakonazolün deriden penetrasyonunun artırılması için mikroemülsiyon formülasyonlarının optimizasyonu araştırıldı. İlaçların HPLC analizi için metotlar geliştirildi ve validasyonu yapıldı. Ön formülasyon çalışmaları kapsamında; mikroemülsiyon oluşumu için farklı yardımcı maddeler

kullanılarak faz diyagramları çizildi ve gerekli oranlar tespit edildi. Seçilen mikroemülsiyon formülasyonları damlacık boyutları, polidispersite indeksleri, pH, iletkenlik ve refraktif indeksleri bakımından değerlendirilerek karakterize edildi. Seçilen formülasyonların stabilitelelerini değerlendirmek üzere mikroemülsiyonlar bazı stres koşullarına maruz bırakılarak damlacık boyutları ve fiziksel görünüşleri bakımından incelendi. Seçilen formülasyonlardan etkin maddelerin salım özellikleri sentetik membranlar kullanılarak değerlendirildi ve en yüksek salım hızına sahip olan formülasyonlar konvansiyonel formülasyonlarıyla bantla soyma tekniği kullanılarak deriden penetrasyonu açısından karşılaştırıldı.

Analitik validasyon çalışmaları kapsamında; (Tablo 4-10) vorikonazol çözeltilerinin HPLC validasyon çalışmaları yapıldı. Akış hızı 1.3 ml/dk ve alıkonma süresi 8.5 dakika olarak bulundu. Microsoft Excel 2007 programı kullanılarak eğri altında kalan alanın, konsantrasyona karşı grafiği çizilerek (AUC/Konsantrasyon) korelasyon katsayısının ( $r^2$ ) 0.999 olduğu saptandı. Vorikonazol HPLC analiz metodunun günler arası tekrarlanabilirliği (Tablo 4-2) konsantrasyonlarındaki çözeltiler kullanılarak incelendi. Ardışık üç gün boyunca değerleri elde edilerek günler arası tekrarlanabilirliğin iyi olduğu gösterildi. Gün içi tekrarlanabilirliğini gösterebilmek amacıyla üç ayrı örnek için HPLC analizi yapıldı ve örneklerin konsantrasyonları belirlendi. Bu işlem aynı gün içinde üç defa tekrarlandı ve % RSD değerleri  $< 1.67$  elde edilerek gün içi tekrarlanabilirliğin iyi olduğu gösterildi. Yöntemin teşhis limiti 0.003  $\mu\text{g/ml}$  ve minimum miktar tayin limiti 0.011  $\mu\text{g/ml}$  olarak hesaplandı. ICH kılavuzuna göre, geliştirilen analitik yöntem validedir ve yapılan çalışmalarda vorikonazolün miktar tayini için kullanılabilmesine karar verildi.

Sertakonazolün HPLC miktar tayini metodunun geliştirilmesi için örnekler fotodiyot dedektör içeren bir HPLC ile gradiyent akış verilerek analiz edildi. Maksimum UV absorpsiyonu 230 nm olarak saptandı. Mobil faz bileşenlerinin oranının bulunması amacıyla sisteme gradiyent akış verildi ve en iyi Asetonitril:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  oranı (45:55) (h/h) olarak saptandı. Bu oran ve maksimum absorpsiyon değeri kullanılarak yüksek hassaslıkta bir pik elde edilmiştir.

Sertakonazolün HPLC analiz metodunun validasyonu için Tablo 4-4'e göre konsantrasyonlarında örnekler hazırlandı ve her birindeki ilaç miktarı belirlenerek eğri

altında kalan alanın, konsantrasyona karşı grafiği (AUC/Konsantrasyon) çizildi. Elde edilen doğru denkleminin korelasyon katsayısı ( $r^2$ ) 1 ve % RSD değerleri  $< \% 1.32$  olarak hesaplandı. Günler arası ve gün içi tekrarlanabilirliği (Tablo 4-5 ve Tablo 4-6 ) sterebilmek amacıyla örneklere HPLC analiz yapıldı. Ardışık üç gün boyunca tekrarlanan analizlerle günler arası % RSD değerleri  $< \% 0.72$  olarak, gün içi % RSD değerleri  $< \% 1$  olarak hesaplandı. Yöntemin teşhis limiti  $0.005 \mu\text{g/ml}$  ve miktar tayin limiti  $0.015 \mu\text{g/ml}$  olarak hesaplandı. ICH kılavuzuna göre, geliştirilen analitik yöntem validedir ve yapılan çalışmalarda sertakonazolün miktar tayini için kullanılabilceğine karar verildi.

Yeni mikroemülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesi için vorikonazolün farklı bileşenlerdeki çözünürlüğünün saptanması gerekir. Bunun için oleik asit, izopropil miristat (IPM), Transcutol ve Tween 80 içeren ependorf tüplerinin içine çözünebileceğinden fazla miktarda vorikonazol ilave edildi. Her bir ependorf tüpü 72 saat boyunca bir orbital karıştırıcıda çalkalandı, sonra 15 dk santrifüj edildi ve üstte kalan kısım  $0.45\mu\text{m}$  membran filtreden süzülerek çözünmeyen partiküller uzaklaştırıldı. Gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra süzüntüdeki vorikonazol miktarı valide edilmiş HPLC yöntemiyle analiz edildi.

Vorikonazolün hesaplanan çözünürlükleri (a/a) şöyledir: Tween 80'deki 0.044, etanoldeki 0.098, oleik asitteki 0.0486, Transcutol'deki 1.598 ve IPM'deki 0.009 g/g olarak belirlendi (Tablo 4-7). Vorikonazol en fazla Transcutol içinde çözülmüştür. Vorikonazol'ün çözünürlük değerleri azalan sıraya göre şöyledir: Transcutol > Etanol > Oleik asit > Tween 80 > IPM. Bu sonuçlara göre; IPM ile karşılaştırıldığında vorikonazol'ün daha fazla çözünürlüğünden dolayı oleik asit yağ fazı olarak mikroemülsiyon oluşumu için daha iyi bir bileşendir. Etanol ile karşılaştırıldığında ise vorikonazolün daha fazla çözünürlüğünden dolayı Transcutol kosürfaktan olarak mikroemülsiyon oluşumu için daha iyi bir bileşen olacaktır. Mikroemülsiyon formülasyonlarının oluşumunu etkileyen çözünürlük dışındaki önemli faktörlerden birisi de mikroemülsiyonların stabilitesidir. Transcutol ile hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının su tutma kapasiteleri daha yüksek saptandı ve formülasyonların stabil olmadığı gözlemlendi. Birkaç gün sonra bulanıklık oluştu ve bu yüzden kosürfaktan olarak Transcutol yerine etanolün kullanılmasına karar verildi.

Mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanması için gerekli bileşenler, etkin maddelerin bu bileşenler içindeki çözünürlüklerine ve mikroemülsiyon formülasyonlarının stabilitesine göre seçildi. Mikroemülsiyon formülasyonlarının geliştirilirken su ile titrasyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla farklı oranlardaki sürfaktan ve kosürfaktan olarak belirlenen maddeler yağ fazı içerisine ilave edildi ve homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırıldı. Bu karışıma sistemin bulanıklaştığı noktaya kadar damla damla distile su ilave edildi.

Mikroemülsiyon formülasyonlarının oluşabilmesi için gerekli olan sürfaktan/kosürfaktan oranları, yağ fazı ve su fazının miktarları belirlendi. Daha doğru ve daha kolay formülasyon hazırlamak ve faz diyagramındaki mikroemülsiyon alanını belirleyebilmek amacıyla bir mikroemülsiyon gözlem formu oluşturuldu (Tablo 3-3). Bu gözlem formunda suyun her ilave edilmesini takiben tüm bileşenlerle ilgili yüzde değerlerinin tamamı önceden hesaplanmıştır. Karışıma her su eklenmesi su içeriğinde % 5 artışla sonuçlanmaktadır. Su ile titrasyon sonucunda mikroemülsiyon oluşup oluşmadığı görsel olarak değerlendirildi ve bu gözlem formuna kaydedildi.

Önceden hesaplanan mikroemülsiyon bileşenlerinin oranları sonrasında başka hesaplama yapılmadan direkt olarak Grapher 9 (Golden Software Inc. v.9) programına aktarılarak üçgen faz diyagramları çizildi. Bu prosedür sayesinde mikroemülsiyon formülasyonu için gerekli bileşenlerin oranları daha hızlı değerlendirildi ve üçgen faz diyagramlarındaki mikroemülsiyon alanlarının sınırları daha doğru bir şekilde belirlenmiş oldu.

Oleik asit, Tween 80, Transcutol ve su içeren formülasyonlarda; oleik asit yağ fazı olarak, Tween 80 sürfaktan olarak, Transcutol kosürfaktan olarak ve su hidrofilik faz olarak kullanılmıştır. Sürfaktan:kosürfaktan oranları 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 şeklindedir (Şekil 4-7, Şekil 4-8, Şekil 4-9, Şekil 4-10). 1:3 sürfaktan:kosürfaktan oranının kullanıldığı formülasyonda maksimum su içeriği %40'a ulaştı ve yüksek viskoziteden dolayı köpürme meydana geldi (Şekil 4-10: Oleic Asit, Tween80, Transcutol içeren mikroemülsiyon sistemlerinin üçgen faz diyagramları (sürfaktan:kosürfaktan oranı; 1:3).

IPM, Tween 80, Transcutol ve su içeren formülasyonlarda; IPM yağ fazı olarak, Tween 80 sürfaktan olarak, Transcutol kosürfaktan olarak ve su hidrofilik faz olarak kullanılmıştır. Sürfaktan:kosürfaktan oranları 1:1, 2:1, 1:2 şeklindedir (Şekil 4-12, Şekil

4-13, Şekil 4-14). Hazırlanan formülasyonların su tutma kapasitesi ve viskozitesi iyi olmasına rağmen formülasyonlar bir gece bekletildikten sonra faz ayrımı gözlemlendi ve formülasyonlar stabil olmadığından dolayı elendi.

IPM, Tween 80, propilen glikol ve su içeren formülasyonlarda; IPM yağ fazı olarak, Tween 80 sürfaktan olarak, propilen glikol kosürfaktan olarak ve su hidrofilik faz olarak kullanılmıştır. Sürfaktan:kosürfaktan oranları 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 2:1, 3:1, 5:1 şeklindedir (Şekil 4-15-Şekil 4-22). Bu formülasyonların viskozitesi yüksek olduğundan dolayı mikroemülsiyondan ziyade mikroemüljel oluşumuna yatkınlık gözlemlendi.

Oleik asit, Tween 80, PEG 400 ve su içeren formülasyonlarda sürfaktan:kosürfaktan oranı 1:1'dir (Şekil 4-23). Bu sistemde viskozite çok yüksek bulundu ve düşük su tutma kapasitesi gözlemlendi. Bu yüzden bu formülasyonlar da elenmiştir.

Oleik asit, Tween 80, etanol ve su içeren formülasyonlarda 1:1, 1:2, 2:1 sürfaktan:kosürfaktan oranları kullanıldı ve üçgen faz diyagramları çizildi (Şekil 4-11, Şekil 4-12, Şekil 4-13). 1:1 sürfaktan:kosürfaktan oranında içeren formülasyon %55'e kadar su tutma kapasitesine sahipti. Ayrıca stabilitesi iyiydi, üçgen faz diyagramında geniş bir mikroemülsiyon oluşum alanına sahipti ve kullanımı açısından uygun viskozite değerlerine sahipti. Bu sebeplerden dolayı ilaç yüklenmesi için bu orandaki formülasyon seçildi (Tablo 4-9).

Seçilen orandaki mikroemülsiyon formülasyonlarına %1 oranında vorikonazol yüklendi, stabilite ve karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Sertakonazolün de imidazol türevi bir antifungal ilaç olduğunu ve vorikonazol ile benzer fizikokimyasal özelliklere sahip olduğunu göz önüne alırsak seçilen mikroemülsiyon formülasyonuna sertakonazol de yüklenebilir. Seçilen mikroemülsiyon sisteminde yedi farklı formülasyona %2 oranında sertakonazol yüklendi, stabilite ve karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Mikroemülsiyonların içerdiği su miktarı %15-30 arasındadır.

Boş mikroemülsiyonlara etkin maddelerin eklenmesiyle (Tablo 4-8) mikroemülsiyonların fiziksel özelliklerinde meydana gelebilecek ufak değişiklikleri önlemek amacıyla formülasyonlar üçgen faz diyagramındaki mikroemülsiyon oluşum sınırlarına yakın olmayan kısımlardan seçilmiştir.

İlaç yüklü mikroemülsiyonların hazırlanması amacıyla Etanol Tween 80 ile birlikte 30 dakika boyunca karıştırılarak bir sürfaktan karışımı oluşturulmuştur ve daha

sonra sürfaktan karışımı oleik aside ilave edilerek manyetik bir karıştırıcı yardımıyla 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. %1 vorikonazol veya %2 sertakonazol bu karışıma ilave edilmiştir. Oluşan karışım 48 saat boyunca manyetik bir karıştırıcıyla karıştırılmıştır, daha sonra miktarı önceden belirlenen oranda su, karışım devamlı karıştırılarak damla damla karışıma ilave edilmiştir. İlaç yüklü mikroemülsiyonların oluşması ve sistemin dengeye gelmesi için 24 saat bekletilmiştir.

SE, SD ve SH formülasyonları su eklenmeden önce bulanıktı ve çökme gözlemlendi. Su eklendikten sonra mikroemülsiyonların sertakonazolü çözme kapasitesi arttığından dolayı berrak ve stabil mikroemülsiyonlar elde edildi.

Her bir formülasyonun damlacık boyutunun belirlenmesi için örnekler alındı, 0.45µm membran filtreden süzüldü ve Zetasizer cihazı ile analiz edildi. Hem boş hem de ilaç yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutları 1.8-12.9 nm arasında bulundu (Tablo 4-11). Bu analiz 14 gün sonra tekrarlandı ve mikroemülsiyonların damlacık boyutlarında önemli farklılıklar saptanmadı (Tablo 4-13). Bu sonuçlara göre mikroemülsiyonların damlacık boyutları bu süre boyunca stabil olduğu saptandı. Daha sonra mikroemülsiyon formülasyonları stres koşullarına maruz bırakılarak damlacık boyutlarındaki değişimleri araştırıldı.

Mikroemülsiyonların stres koşulları altındaki stabilitesini değerlendirmek amacıyla örnekler -15 °C'de 24 saat saklandı, sonra 25° C'de 24 saat bekletildi ve bu işlem üç defa tekrarlandı. Daha sonra her bir formülasyonda faz ayrımı olup olmadığına bakıldı ve mikroemülsiyonların damlacık boyutları ZetaSizer cihazı ile ölçüldü (Tablo 4-12). Mikroemülsiyonların fiziksel görünüşünde hiçbir değişiklik olmadığı ve faz ayrımı bulunmadığı gözlemlendi. Stres koşullarına maruziyet sonrasında mikroemülsiyonların damlacık boyutunda önemli bir değişiklik olmadığı da saptandı. Mikroemülsiyon formülasyonları  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında 30 gün boyunca saklandı ve mikroemülsiyonların fiziksel görünüşlerinde bir değişikliğe rastlanmadı. Tüm örnekler 6 ay boyunca oda sıcaklığında saklandı ve düzenli olarak fiziksel görünüşlerinde bir değişiklik ya da faz ayrımı açısından değerlendirildi. Hiçbir formülasyonda fiziksel değişikliğe rastlanmadı. Mikroemülsiyonların 2.5 ml'si 30 dk boyunca Hettich D-2700 tip 2041 santrifüj cihazı kullanılarak 1500 rpm'de santrifüj edildi. Hiçbir fiziksel değişim ya da faz ayrımı gözlenmedi, örnekler berrak ve stabil olduğu gözlemlendi.

Abbe refraktometre cihazı kullanılarak ölçülen refraktif indeks değerleri Tablo 4-10'da gösterilmiştir. Bu değerler literatürde hazırlanan mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleriyle uyumludur. (Moghimpour ve ark 2013)

GF, SG ve G formülasyonlarının içerdiği su miktarının mikroemülsiyonların iletkenliğine olan etkisi incelendi. Mikroemülsiyonlar en az miktarda su kullanılarak hazırlandı ve su miktarı artırılırken mikroemülsiyonların iletkenliği ölçüldü. Su miktarı arttıkça iletkenlikte kademeli olarak artış gözlemlendi. Elektrik iletkenliğinde ani bir artışın olmaması faz ayırımının olmadığını göstermektedir. (Hathout ve ark 2010a)

Tüm formülasyonlarda artan su miktarıyla birlikte iletkenlikte artış gözlemlendi. Boş mikroemülsiyonlarla %1 vorikonazol yüklü mikroemülsiyonların iletkenliklerinde çok farklılık gözlemlenmedi ancak %2 sertakonazol yüklü mikroemülsiyonların (SG2) iletkenliğinin boş emülsiyonlara göre daha yüksek olduğu görüldü. Bu durumun Sertakonazol'un su fazında daha fazla oranda çözünmesi nedeniyle mikroemülsiyonların elektrik iletkenliğinin artmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

A, B, C, D, E, G ve H kodlu boş mikroemülsiyonlarının pH değerleri üç kere ölçüldü ve SD değerleri hesaplandı. Bütün formülasyonların birbirine yakın değerlerde ve hafif asidik pH değerlerinde olduğu görüldü (Tablo 4-9). Boş mikroemülsiyonların iletkenlik değerleri  $9.61 \pm 0.4 \mu\text{S/cm}$  (formülasyon E) ve  $29.75 \pm 0.09 \mu\text{S/cm}$  (formülasyon D) arasında değişmektedir. Formülasyon E'nin en düşük iletkenlik değerine sahip olmasının nedeni en az miktarda (%10) su içermesidir. Formülasyon D %30 oranında su içerdiği için daha fazla elektrik iletkenliğine sahiptir. %1 vorikonazol yüklü mikroemülsiyonların (AF, BF, CF, DF, EF, GF, HF) ölçülen pH değerleri Tablo 4-9'da gösterilmiştir. Boş mikroemülsiyonlarla karşılaştırıldığında; vorikonazolün mikroemülsiyonların pH'sı üzerinde bir etkisinin olmadığı saptandı. %1 vorikonazol yüklü mikroemülsiyonların (AF, BF, CF, DF, EF, GF, HF) iletkenlikleri Tablo 4-9'da gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre boş mikroemülsiyonlara vorikonazol yüklenmesi formülasyonların pH ve iletkenlik değerlerini çok fazla değiştirmemiştir ancak %2 sertakonazol içeren mikroemülsiyonların pH ve iletkenlik değerlerinde değişiklik gözlemlenmiştir (Tablo 4-9). %2 sertakonazol nitrat yüklü mikroemülsiyonların (SA, SB, SC, SD, SE, SG, SH) ölçülen iletkenlik değerleri Tablo 4-9'da gösterilmiştir. Bu değerler boş ya da %1 vorikonazol yüklü mikroemülsiyonlarla karşılaştırıldığında;



sertakonazolün eklenmesiyle etkin maddenin tuzunun iyonizasyonu ile mikroemülsiyonların asitlik derecesinin ve iletkenliğinin arttığı gözlenmiştir.

Mikroemülsiyonların bileşenlerinin oranları göz önüne alındığında, su miktarı arttıkça faz ayırımının gözlenmemesi mikroemülsiyonların Y/S (su içinde yağ) tipi mikroemülsiyonlar olduğunu göstermektedir (Djordjevic ve ark 2004).

Vorikonazolün seçilen formülasyonlardan salımını incelemek amacıyla Franz difüzyon hücrelerinden *in vitro* koşullarda salım çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada reseptör faz olarak serum fizyolojik/PEG 400 (3:2) karışımı kullanılmıştır. 0.45µm'lik membran filtreler donör ve reseptör faz arasına yerleştirilmiştir. Formülasyonlardan (CF, DF, EF, GF and HF2) 1'er ml donör faza eklenmiştir (Yöntem 3.2.12). *In vitro* salım çalışmasında vorikonazol yüklü (Su:Süfaktan karışımı:Oleik asit) içeren CF (25:60:15), DF (30:56:14), EF (10:55:35), GF (25:56:19) ve HF (15:55:30) kodlu mikroemülsiyon formülasyonlarından etkin maddenin salım karakteristiği incelenmiştir. Vorikonazol yüklü mikroemülsiyonların membrandan geçiş hızı (akı) değerleri Fick Yasası ve denge durumu göz önüne alınarak hesaplanmıştır. EF formülasyonunun en yüksek salım hızı (akı) değerine sahip olduğu saptanmıştır (116.5 µg/cm<sup>2</sup>) (Tablo 4-19, Şekil 4-31).

Elde edilen bulgular; mikroemülsiyonların yağ miktarının artırılmasıyla vorikonazolün membrandan salım hızının arttığını göstermiştir. Bu durumun etkin maddenin lipofilik karakterde olması nedeniyle formülasyondaki çözünürlüğünün ve dolayısı ile termodinamik aktivitesinin artmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (Kumar ve Sinha 2014).

EF formülasyonunun yağ içeriği arttıkça vorikonazolün sentetik membrandan penetrasyonu da artmıştır. Bu durumun formülasyonlarda kullanılan yağların (oleik asit) derinin permeabilitesini, özellikle lipit tabakanın geçirgenliğinin artırmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. (William ve Barry 2004). Bu yüzden bu formülasyon hayvan derisinin kullanıldığı *in vitro* permeasyon çalışmalarında kullanılmak üzere seçildi.

Sertakonazolün seçilen formülasyonlardan salımını incelemek amacıyla Franz difüzyon hücrelerinden salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sertakonazol için en uygun reseptör fazın belirlenmesi amacıyla farklı pH'larda farklı bileşenler kullanılarak

çözünürlük çalışması gerçekleştirildi. Deriden geçiş çalışmalarında sink koşulun sağlanması için uygun reseptör fazının belirlenmesi oldukça önemlidir (Ramteke ve ark 2014).

Sertakonazol ile yapılan ilk geçiş çalışmasında reseptör faz olarak su:etanol (50:50) kullanıldı (Sahoo, Barik, Pani, & Sahoo, 2011) fakat birkaç saat sonra kullanılan membranın bütünlüğünün bozulduğu ve reseptör fazın bulanıklaştığı fark edildi. Bu yüzden yeni reseptör fazı için araştırmalar yapıldı. Çalışmamızda etanol miktarının azalmasının sertakonazolün çözünürlüğü üzerine olan etkisi araştırıldı. Sertakonazol nitratın etanol:su (30:70) karışımındaki çözünürlüğü 1701 µg/ml olarak bulundu. Bu çözücüdeki suyun yerine pH=4 tampon çözeltisi eklendiğinde sertakonazol nitratın çözünürlüğünde azalma oldu (399 µg/ml). Etanol eklenmeden sadece tampon çözeltisindeki çözünürlüğü ise 2 µg/ml olarak hesaplandı (Tablo 4-21). Deneme amaçlı yapılan salım çalışmalarından sonra etanol:su (30:70) oranındaki reseptör ortamının membran bütünlüğünü bozmadığı ve reseptör ortamının bulanıklaşmadığı gözlemlendi. Bu orandaki reseptör faz, salım çalışmalarında kullanılmak üzere seçildi.

Sertakonazolün seçilen formülasyonlardan salımını incelemek amacıyla Franz difüzyon hücrelerinden salım çalışması gerçekleştirilmiştir. 0.45µm'lik membran filtreler donör ve reseptör faz arasına yerleştirilmiştir. Formülasyonlardan (BS, CS, DS, ES, GS and HS) 1'er ml donör faza eklenmiştir. Donör fazda sink koşulun sağlanması amacıyla reseptör faz 500 rpm'de karıştırılmıştır. Franz difüzyon hücrelerinden madde kaybının ve buharlaşmanın önlenmesi için açık yerler parafilm ile kapatılmıştır. Önceden belirlenen zamanlarda donör kompartmandan örnekler alınmıştır. Membrandan geçen kümülatif sertakonazol nitrat miktarı hesaplanmıştır.

İn vitro salım çalışmasında kullanılan %2 sertakonazol nitrat yüklü mikroemülsiyon formülasyonları (Su:Sümfaktan karışımı:Oleik asit) karışımından oluşan BS (20:64:16), CS(25:60:15), DS (30:56:14), ES (10:55:35), GS (25,56,19), HS (15:55:30) kodlu formülasyonlardır. Sertakonazol nitrat yüklü mikroemülsiyonların membrandan geçiş hızı (akı) değerleri sink koşul ve denge durumu göz önüne alınarak hesaplanmıştır. Formülasyonları için salım hızı (akı) değerleri hesaplanmıştır. En fazla su içeren formülasyon olduğundan dolayı DS formülasyonu en fazla akı yüksek salım hızı (akı) değerine sahiptir (116.1 µg/cm<sup>2</sup>) (Tablo 4-20, Şekil 4-42).

Sertakonazolün logP değeri 6.2'dir ve vorikonazolden daha lipofilik özelliktedir. Bu yüzden formülasyonun içerdiği su miktarı arttıkça sertakonazolün mikroemülsiyondan salım hızı da artmıştır

Sertakonazolün mikroemülsiyonlardan deriye permeasyonunun incelenmesi amacıyla 750 µm kalınlığında dermatom edilmiş domuz derileri Franz difüzyon hücrelerinde donör ve reseptör faz arasına yerleştirildi. Derinin farklı tabakalarına penetre olan sertakonazol miktarları bantla soyma yöntemiyle (Wiedersberg ve Nicoli 2012) belirlendi. Deriler 24 saat sonra ortamdaki uzaklaştırıldı ve düz bir zemine yerleştirildi. 3M yapışkan bantlar kullanılarak bantla soyma işlemi gerçekleştirildi. Bantla soyma işlemindeki değişkenlerin azaltılması amacıyla bantlara eşit sürede eşit miktarda basınç uygulandı. Deri örneklerinin yapısal farklılıkları ve içerdikleri kıl folikülü sayıları kontrol edilemeyen parametrelerdir. Her bantla soyma işleminde sertakonazol miktarı belirlendi (Yöntem 3.2.14). Bantla soyma işlemi şu sıraya göre gerçekleştirildi: T1, deriye penetre olmayan ilacı içeren ilk banttır. T4, T1'den sonra başarılı bir şekilde alınan 4 banttır. T10, T4'ten sonraki 5 banttır. T15, T10'dan sonraki 5 banttır. T20, T15'ten sonraki 5 banttır. Her bir bant grubu birlikte ekstrakte edildi ve grupların içerdikleri sertakonazol miktarları (Lademannv ve ark 2009) metoduna göre belirlendi.

Elde edilen bulgulara göre, %2 sertakonazol içeren DS formülasyonu için *stratum corneum* da bulunan ilaç miktarı  $50.3 \pm 3,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , dermiste bulunan ilaç miktarı  $89.05 \pm 3,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve toplamda deriye penetre olan ilaç miktarı  $139,35 \pm 3,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olduğu hesaplanmıştır (Tablo 4-29). Diğer taraftan; %2 Zalain krem preparatı için *stratum corneum* da bulunan ilaç miktarı  $37,25 \pm 0,37 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , dermiste bulunan ilaç miktarı  $45,07 \pm 3,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve toplamda deriye penetre olan ilaç miktarı  $82,32 \pm 0,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak hesaplanmıştır (Tablo 4-30). %2 sertakonazol içeren DS kodlu mikroemülsiyon formülasyonu, Zalain krem ile karşılaştırıldığında; sertakonazolün deriye penetrasyonunun anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). %1 vorikonazol içeren EF formülasyonu için *stratum corneum* da bulunan ilaç miktarı  $76.83 \pm 1.00 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , dermiste bulunan ilaç miktarı  $48.59 \pm 1,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ve toplamda deriye penetre olan ilaç miktarı  $155 \pm 1.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 'dir (Tablo 4-31). Laboratuvarda hazırlanan %1 vorikonazol içeren konvansiyonel krem formülasyonu için *stratum corneum* da bulunan ilaç miktarı  $29,73 \pm 3,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , dermiste bulunan ilaç miktarı

18,01±8,7 µg/cm<sup>2</sup> ve toplamda deriye penetre olan ilaç miktarı 47,47±6,3 µg/cm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır. %1 vorikonazol içeren EF kodlu mikroemülsiyon formülasyonu, aynı konsantrasyonda vorikonazol içeren konvansiyonel krem formülasyonuna göre deriye anlamlı olarak daha yüksek oranda etkin madde penetre olmuştur (P < 0,05).

In vitro penetrasyon bulgularına dayalı olarak; mikroemülsiyonların topikal uygulamada deriden geçişi artırma yaklaşımları olan lipofilik ve aşırı lipofilik karakterdeki etkin maddelerin formülasyon içerisindeki çözünürlüğünün artması ile açıklanabilir. Ayrıca formülasyon bileşimlerinin deriden geçişi arttırmaları; derinin membran bütünlüğünü bozmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (Muzaffar ve ark 2003).

Sertakonazol ve vorikonazol yüklü mikroemülsiyonların stratum corneum hücrelerarası lipitleri üzerindeki etkilerini araştırmak amacı ile in vitro penetrasyon çalışmasını takiben ATR-FTIR spektroskopisi analizleri gerçekleştirildi. Yöntem 3.2.15'te anlatıldığı şekilde yapılan ATR-FTIR çalışmasının ardından elde edilen C-H asimetric (2920 cm<sup>-1</sup>) ve simetric (2950 cm<sup>-1</sup>) gerilme bantlarındaki değişimlere ait sonuçlar Tablo 4-32'te verildi. Vorikonazol yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının uygulanmasının 8 saat sonrasında deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumları Şekil 4-45 ve Şekil 4-49'de gösterildi. Sertakonazol piyasa preparatı Zalain'in ve hazırlanan vorikonazol konvansiyonel merheminin de aynı koşullar altında uygulanmasından sonra deri yüzeyinden alınan ATR-FTIR spektrumları Şekil 4-46 ve Şekil 4-48'de, kontrol olarak kullanılan deriden alınan spektrum ise Şekil 4-49'de gösterildi.

*Stratum corneum*'daki hücrelerarası lipitlerin alkil zincir düzeninde sıcaklığa bağlı olarak gerçekleşen bozulmalar, C-H asimetric (2920 cm<sup>-1</sup>) ve simetric (2950 cm<sup>-1</sup>) gerilme bantlarının dalga numaralarının daha yüksek değerlere kaymasına neden olur (Jadoul ve ark. 1996; Naik ve Guy. 1997; Stuart 2004). Çalışmamızda kontrol derisine ait spektrumda asimetric ve simetric gerilme bantlarının dalga numaraları sırası ile 2917,86 cm<sup>-1</sup> ve 2851,36 cm<sup>-1</sup> olarak saptanmıştır ve bu değerler lipit çifte tabakanın kristalize faz düzeninde olduğuna işaret etmektedir. Vorikonazol'ün mikroemülsiyon formülasyonları ile asimetric ve simetric gerilme bantlarının dalga numaralarında sırası ile 5,49 ve 3,15'lik artış saptanmıştır. Vorikonazol'ün kontrol formülasyonları ile asimetric ve simetric gerilme bantlarının dalga numaralarında artış saptanmamıştır.

Sertakonazol'ün mikroemülsiyon formülasyonları ile asimetric ve simetric gerilme bantlarının dalga numaralarında sırası ile 5,44 ve 2,86'lik artış saptanmıştır.

Sertakonazol'un kontrol formülasyonları ile asimetrik bantlarının dalga numaralarında sırası ile 1,07 'lik artış saptanmıştır ve simetrik gerilme bantlarının dalga numaralarında artış saptanmamıştır.

Elde edilen bulgular; optimize edilen mikroemülsiyon formülasyonlarının sertakonazol ve vorikonazol etkin maddelerinin stratum corneum bariyerini aşması ve derinin hedef tabaklarındaki birikimini sağlamasında, deri lipitlerinin yapısal düzenini bozmasına bağlı olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, sertakonazol ve vorikonazolün konvansiyonel formülasyonlarının deri lipitlerinin yapısal düzeninde belirgin bir etkiye yol açmadığı görülmektedir. Bu preparatların deriye uygulanmasını takiben, heriki etkin maddenin derideki birikiminin ise mikroemülsiyonlarla karşılaştırıldığında; anlamlı olarak daha düşük miktarda olduğu saptanmıştır ( $p<0.01$ ). Bu durum da koloidal bir ilaç taşıyıcı system olan mikroemülsiyonların, taşıdığı yapısal özelliklerinin etkin maddelerin deriye taşınması ve stratum corneum bariyerini aşabilmesinde önemli olduğunu ve konvansiyonel formülasyonlara üstünlük sağladığını göstermektedir.

Sonuç olarak; çalışmamızda optimize edilen mikroemülsiyon formülasyonları mantar enfeksiyonlarının, özellikle daha invazif enfeksiyonların topikal tedavisi için, sertakonazol ve vorikonazolün derinin hedef tabakalarına penetrasyonunu sağlaması açısından konvansiyonel ilaç taşıyıcılarına alternatif ve ideal sistemler olarak önerilebilir.

## KAYNAKLAR

- Adams A. ve Bergold M. (2005). Development and validation of a high performance liquid chromatographic method for the determination of voriconazole content in tablets. *Chromatographia*, **62** (7-8),429–34.
- Aggarwal N., Nidhi, Goindi S., ve Khurana. R. (2013). formulation, characterization and evaluation of an optimized microemulsion formulation of griseofulvin for topical application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **105**,158–66.
- Alam, S., Iqbal, Z., Ali, A., Khar, R.K., Ahmad, F.J., Akhter, S. ve Talegaonkar, S. (2010). Microemulsion as a potential transdermal carrier for poorly water soluble antifungal drug itraconazole. *Journal of Dispersion Science and Technology*, **31**, 84–94.
- Aqil, M., Ahad, A., Sultana, Y. ve Ali, A. (2007). Status of terpenes as skin penetration enhancers. *Drug Discovery Today*, **12**, 1061-1067.
- Arne N., Heisig M., ve Wittum, G. (2013). Detailed modeling of skin penetration-an overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **65(2)**, 191–207.
- Asija, R., Dhaker P. ve, Nama N. (2015). Formulation & Evaluation of Voriconazole Ointment for Topical Delivery. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics* 3(26): 7–14.
- Azeem, A., Iqbal, K., Aqil, M., Jalees, F., Kishan, R. ve Sushama, T. (2009). Microemulsions as a surrogate carrier for dermal drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **35(5)**, 525–47.
- Benson, H. (2005): “ Transdermal drug delivery: penetration techniques”. *Current Drug Delivery*, **2**, 23-33
- Bouwstra,. J. ve Honeywell-Nguyen, P. (2002). (Skin structure and mode of action of Vesicles). *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54, suppl. 1**, S41-S55.
- Brain, K.R., Walters, K.A. ve Watkinson, A.C. (2002). Methods for Studying Percutaneous Absorption. İçinde K.A. Walters (Ed.), *Dermatological and Transdermal Formulations*. New York: Marcel Dekker

- Bronaugh, R., Maibach, H. (2005). Percutaneous Absorption Drugs-Cosmetics -
- Carrillo-Munoz, J., TurTur, C., Giusiano G. (2013). Sertaconazole: an antifungal agent for the topical treatment of superficial candidiasis. *Expert Review Anti Infective Therapy*, **11(4)**: 347–58.
- Chen, H., Chang, X., Weng, T., Zhao, X., Gao, Z., Yang, Y. ve ark. (2004). A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. *Journal of Controlled Release*, **98**, 427-436.
- Çomoğlu, T. ve Gönül, N. (1997). Microemulsions. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, 26, 95-108.
- Corrado, G. (2009). New generation azole antifungals in clinical investigation. *Expert opinion on investigational drugs*, **18(9)**, 1279–95.
- Croxtall, J. ve Plosker G. (2009). Sertaconazole: a review of its use in the management of superficial mycoses in dermatology and gynaecology.” *Drugs* **69(3)**: 339–59.
- Darlenski, R., Sassning, S., Tsankov, N. ve Fluhr W. (2009). non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **72(2)**, 295–303.
- David A., Wilson D., Drew R., ve Perfect J. (2015). Azole antifungals: 35 years of invasive fungal infection management.” *Expert Review of Anti-infective Therapy*, **13(6)**, 787–798.
- Değim, T. (2009). Deriden emilim ve deriye uygulanan yarı katı preparatlar. İçinde F. Acartürk, İ. Ağabeyoğlu, N. Çelebi, T. Değim, Z. Değim, T. Doğanay, S. Takka ve F. Tırnaksız (Ed.), *Modern Farmasötik Teknoloji*. Ankara: Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 337-364.
- Elias, P.M., Tsai, J., Menon, G.K., Holleran, W.M., Freingold, K.R. (2002). The Potential of Metabolic Interventions to Enhance Transdermal Drug Delivery. *The Society for Investigative Dermatology*, 7, 79-85.
- Forslind B, Lindberg, M. (Eds) (2004). *Skin, Hair and Nail Structure and Function*. Marcel Dekker, INC., New York.

- Goldust, M., Rezaee, E. ve Raghifar R. (2013). Treatment of seborrheic dermatitis: comparison of sertaconazole 2% cream versus pimecrolimus 1% cream. *Irish Journal of Medical Science*: 1–4.
- Goymann C. (2004). Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **58(2)**: 343–356
- Grassi, M. ve Colombo, I. (1999). Mathematical modelling of drug permeation through a swollen membrane. *Journal of Controlled Release*, **59**, 343-359
- Güngör, S, Erdal M.S., Aksu, B. 2013. New formulation strategies in topical antifungal therapy. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, **03(01)**: 56–65.
- Guy, R, ve Hadgraft, J. (Ed.) (2003). *Transdermal Drug Delivery*, 2nd edition. Marcel Dekker, INC., New York
- Gürbüz A. (2014). Topikal Izotretinoin Uygulamasına Yönelik Kolloidal İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi, pp. 4-40.
- Hadgraft, J. (1999). Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **184**, 1–6.
- Herkenne, C., Naik, A., Kalia, Y.N., Hadgraft, J. ve Guy, R.H. (2006). Pig ear skin ex vivo as a model for in vivo dermatopharmacokinetic studies in man. *Pharmaceutical Research*, **23**, 1850-1856.
- Inoue, T., Yanagihara, S.I., Misono, Y. ve Suzuki, M. (2001). Effect of fatty acids on phase behavior of hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer: saturated versus unsaturated fatty acids. *Chemistry and Physics of Lipids*, **109**, 117-133.
- Jadoul, A., Doucet, J., Durand, D. ve Preat, V. (1996). Modifications induced on stratum corneum structure after in vitro iontophoresis: ATR-FTIR and X-ray scattering studies. *Journal of Controlled Release*, **42**, 165-173.
- Jeu L, Piacenti, F., Lyakhovetskiy, G. ve Fung. B. (2003). Voriconazole. *Clinical Therapeutics*, **25(5)**: 1321–81.



- Kalia, Y.N. ve Guy, R.H. (2001). Modeling transdermal drug release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48, 159–172.
- Kanikkannan, ve ark. (1999). Structure-activity relationship of chemical penetration Mechanisims-Methodology , Fourth edition. Taylor & Francis, New York.
- Kaur P. ve Kakkar S. (2010). Topical delivery of antifungal agents. *Expert opinion on drug delivery* **7(11)**, 1303–27.
- Keady, S. ve Meera T. (2005). Voriconazole in the treatment of invasive fungal infections. *Intensive and Critical Care Nursing*, **21(6)**, 370–73.
- Kogan, A., Garti, N. (2006). Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 123-126, 369-385
- Kreilgaard, M. (2002). Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54,77-98.
- Kumar,L. ve ark (2013). Eradication of superficial fungal infections by conventional and novel approaches: a comprehensive review. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 1–15.
- Lademann, J., Jacobi, U., Surber, C., Weigmann, H.J. ve Fluhr, J.W. (2009). The tape stripping procedure-evaluation of some critical parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 317-323.
- Langer, R. (2004). Transdermal drug delivery: past, progress, current status and future prospects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 557– 558.
- Lawrence, J. ve Gareth R. (2012). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**, 175–93.
- Lawrence, M.J. ve Rees, G.D. (2000). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **45**, 89-121.
- Lee, S., Lee, J., ve Kim, S. (2009). Topical and Oral Voriconazole in the Treatment of Fungal Keratitis. *Korean Journal of Ophthalmology*, 23(1), 46–48
- Levêque, D., Yasmine N., François, J., ve Raoul Herbrecht. (2006). Clinical pharmacokinetics of voriconazole. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **27(4)**: 274–84.
- Lilly A., Frank P., ve Aleksandr, L. 2003. Voriconazole. *Clinical therapeutics* 25(5): 1321–81.

- Lopes, L.B. (2014). Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Journal of Pharmaceutics*, **6**, 52-77
- Madhu, G., Agrawal U., ve Vyas, S. (2012). Nanocarrier-based topical drug delivery for the treatment of skin diseases. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9(7): 783–804.
- Marttin, E., Neilissen-Subnel, M.T.A., De Haan, F.H.N. ve Bodde, H.E. (1996). A critical comparison of methods to quantify stratum corneum removed by tape stripping. *Skin pharmacology and Physiology*, 9, 69-77
- Mills, P.C. ve Cross, S.E. (2006). Transdermal drug delivery: Basic principles for the veterinarian. *The Veterinary Journal*, 172, 218-233.
- Moghimpour, E., Salimi, A., & Eftekhari, S. (2013). Design and characterization of microemulsion systems for naproxen. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1), 63–71.
- Moser, K., Kriwet, K., Naik, A., Kalia, Y.N. ve Guy, R.H. (2001). Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52, 103-112.
- Moulik, S.P. ve Paul, B.K. (1998). Structure, dynamics and transport properties of microemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 78, 99-195.
- Movasaghi, Zanyar, Shazza Rehman, and Dr. Ihtesham ur Rehman. 2008. “Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues.” *Applied Spectroscopy Reviews* 43(2): 134–79.
- Muñoz, P., Jesus G., Loreto R., and Emilio B., (2010). New antifungal agents for the treatment of candidaemia. *International Journal of Antimicrobial Agents* **36**(SUPPL. 2).
- Muzaffar, F., Singh, U.K. ve Chauhan, L. (2013). Review on microemulsion as futuristic drug delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **5**, 39-53
- Naik, A. ve Guy, R.H. (1997). Infrared Spectroscopic and Differential Scanning Calorimetric Investigations of the Stratum Corneum Barrier Function. İçinde R.O. Potts ve R.H. Guy (Ed.), *Mechanisms of Transdermal Drug Delivery*. New York: Marcel Dekker; 87-162.
- Naik, A., Kalia, Y.N. ve Guy, R.H. (2000). Transdermal drug delivery: overcoming the skin’s barrier function. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, **3**, 318-326.

- Odds, C., Alistair B., ve Neil G. (2003). Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends in Microbiology*, **11(6)**, 272–79.
- Pasqualotto, C., Melissa, X., Huander A., Ve Rafael, L. (2010). Voriconazole therapeutic drug monitoring: focus on safety. *Expert Opinion On Drug Safety* **9(1)**: 125–37.
- Patel, H.K., Barot, B.S., Parejiya, P.B., Shelat, P.K. ve Shukla, A. (2013). Topical delivery of clobetasol propionate loaded microemulsion based gel for effective treatment of vitiligo: Ex vivo permeation and skin irritation studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 86- 94.
- Pathak Y., Thassu, D. (2009). *Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization*. London: Informa Healthcare.
- Pearson, Margaret M. et al. 2003. “Voriconazole: A New Triazole Antifungal Agent.” *Annals of Pharmacotherapy* 37(3): 420–32.
- Pfaller, A., ve Deanna A. S.(2006). Review of in vitro Activity of Sertaconazole Nitrate in the treatment of superficial fungal Infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **56(2)**, 147–52.
- Ph. Eur (2007). *Council of Europe, 2007, European Pharmacopoeia Sixth Edition, Strasbourg.*
- Polizelli, M.A., Telis, V.R.N., Amaral, L.Q. ve Feitosa, E. (2006). Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 281, 230–236.
- Prasch, T. ve Förster, T. (2002). Detection of Cosmetic Changes in Skin Surface Lipids by Infrared and Raman Spectroscopy. İçinde T. Förster (Ed.), *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*. New York: Marcel Dekker; 227-254.
- Ramteke K., Digheö P., Kharatö A., Patil S. (2014). Mathematical Models of Drug Dissolution: A Review. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 3(5): 388-396.
- Riviere, J. (Ed.) (2006). *Dermal Absorption Models in Toxicology and Pharmacology*. CRC Press, Boca Raton
- Roderick., H. ( 2013). Superficial fungal infections. *Medicine (United Kingdom)*, **41(12)**: 716–18.

- Sahoo, S., Barik, B., Pani, N., ve Sahoo, S. (2011). Formulation and characterization of microemulsion of an anti-fungal drug. *Journal of Pharmacy Research* , 4(7): 2397-2399.
- Silva, C.L., Topgaard, D., Kocherbitov, V., Sousa, J.J.S., Pais, A.A.C.C. ve Sparr, E. (2007). Stratum corneum hydration: Phase transformations and mobility in stratum corneum, extracted lipids and isolated corneocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1768, 2647-2659
- Simmel, F. ve ark. (2008). Development and validation of an efficient HPLC method for quantification of voriconazole in plasma and microdialysate reflecting an important target site. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **392(3)**, 479–88.
- Sintov, A.C. ve Shapiro, L. (2004). New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo. *Journal of Controlled Release*, **95**, 173-183.
- Smith, E, Maibach, H. (Eds.) (2006). Percutaneous Penetration Enhancers, 2nd Edition. CRC Press, Boca Raton.
- Song, K. ve ark. (2012). A novel vesicular carrier, transethosome, for enhanced skin delivery of voriconazole: characterization and in vitro/in vivo evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **92**: 299–304.
- Steiling, W., Kreutz, J. ve Hofer, H. (2001). Percutaneous penetration/dermal absorption of hair dyes in vitro. *Toxicology in Vitro*, **15**, 565–570.
- Stewart, M.E. ve Downing, D.T. (1999). A new 6-hydroxy-4-sphingenine-containing ceramide in human skin. *Journal of Lipid Research*, 40, 1434- 1439.
- Stewart, M.E. ve Downing, D.T. (1999). A new 6-hydroxy-4-sphingenine-containing ceramide in human skin. *Journal of Lipid Research*, **40**, 1434- 1439
- Stuart B. (2004). Biological Applications. İçinde B. Stuart (Ed.), *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, England: John Wiley&Sons; 138-140.
- Surber, C. ve Davis, A.F. (2002). Bioavailability and Bioequivalence of Dermatological Formulations. İçinde K.A. Walters (Ed.), *Dermatological and Transdermal Formulation*. New York: Marcel Dekker.

Susilo, Rudy, Hans C. Korting, Wolfgang Greb, and Uwe Phillip Strauss. (2006). Nail Penetration of Sertaconazole with a Sertaconazole-Containing Nail Patch Formulation. *American Journal of Clinical Dermatology*. 7(4): 259–62.

Swarbrick J. (2007). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Third Edition*. USA, Informa Healthcare.

Thiel, M. ve ark. (2007). Voriconazole concentration in human aqueous humor and plasma during topical or combined topical and systemic administration for fungal keratitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51(1), 239–44.

Touitou, E, Barry, B. (Eds.) (2007): *Enhancement in Drug Delivery*. CRC Press, New York

Touitou, Elka, Victor M. Meidan, ve Ehud Horwitz. 1998. Methods for quantitative determination of drug localized in the skin. *Journal of Controlled Release* 56(1-3), 7–21.

USP (2011, Mayıs ). Voriconazole. United States Pharmacopeial Convention, Yetkili Beklemede Mongoraf, sürüm 1.

[http://www.usp.org/sites/default/files/usp\\_pdf/EN/USPNF/pendingStandards/m2761.pdf](http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/pendingStandards/m2761.pdf)

Van Hoogdalem, E.J. (1992). Assay of erythromycin in tape strips of human stratum corneum and some preliminary results in man. *Skin Pharmacology and Physiology*, 5, 124-128.

Vavrova, K., Lorencova, K., Novotny, J., Holy, A. ve Hrabalek, A. (2008). Permeation enhancer dodecyl 6-(dimethylamino) hexanoate increases transdermal and topical delivery of adefovir: Influence of pH, ion-pairing and skin species. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70, 901-907.

Vipaporn, P., Charoensri S., ve Tantituvanont A. (2012). Formulation of microemulsion systems for dermal delivery of Silymarin. *AAPS PharmSciTech*, 13(2), 389–99.

Walter, K. (Ed). (2002). *Dermatological and Transdermal Formulations*, Marcel Dekker, INC., New York.

Wiedersberg, S. ve Nicoli, S. (2012). *Skin Permeation Assessment: Tape Stripping*. İçinde H.A.E. Benson ve A.C. Watkinson (Ed.), *Transdermal and Topical Drug Delivery Principles and Practice*. New Jersey: John Wiley & Sons; 109-130.

Williams, A.C. ve Barry, B.W. (2004). Penetration Enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**, 603-618.

Wishart D., Knox C., Guo A., Cheng D., Shrivastava S., Tzur D., Gautam B., Hassanali M., 2008, DrugBank a knowledgebase for drugs drug actions and drug targets, *Nucleic Acids Res.* 36(Database issue):D901-6. PMID: 18048412

<http://www.drugbank.ca/drugs/DB01153>

Yamashita, F. ve Hashida, M. (2003). Mechanistic and empirical modeling of skin permeation of drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **55**,1185-1199.

Yang, W., Nathan, W. ve Robert O. (2008) “Drug delivery strategies for improved azole antifungal action. *Expert opinion on drug delivery* **5(11)**, 1199–1216.

Yazan, Y. (2002). Emülsiyon Sistemler. İçinde A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul. *Kontrollü Salım Sistemleri Derneği* Yayını; 133-150.

Yuan, Y., San, L., Feng, M., ve Da Fang Z. (2006). Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam. *International Journal of Pharmaceutics* **321(1-2)**, 117–23.

Zhang, J. ve Bozena M. (2011). Investigation of microemulsion microstructures and their Relationship to transdermal permeation of model Drugs: Ketoprofen, Lidocaine, and Caffeine.” *International Journal of Pharmaceutics*, **421(1)**, 34–44.

Zhu, Weiwei ve ark. (2008). Formulation design of microemulsion for dermal delivery of penciclovir. *International Journal of Pharmaceutics* **360(1-2)**: 184–90.

**HAM VERİLER**

**FORMLAR**



## **ETİK KURUL KARARI**

**PATENT HAKKI İZİNİ**

## TELİF HAKKI İZİNİ

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Moammal	<b>Soyadı</b>	Qurt
<b>Doğ.Yeri</b>	Filistin	<b>Doğ.Tar.</b>	7/11/1974
<b>Uyruğu</b>	Filistinli	<b>TC Kim No</b>	
<b>Email</b>	Pharamco@yahoo.com	<b>Tel</b>	00970569201547

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı	2015
<b>Yük.Lis.</b>	Alquds Üniversitesi	2009
<b>Lisans</b>	Amman Üniversitesi	1997
<b>Lise</b>	Katolik Okulu	1992

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Eczacı	Salah Edeen	2000-2015
2.	Eczacı	Birzeit Üniv	1998-2000
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
<b>Arapça</b>	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
<b>İngilizce</b>	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>			
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

### Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

### Özel İlgi Alanları (Hobileri):

