



**ANTİFUNGAL ETKİLİ MUKOADEZİF VAJİNAL JEL
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

Güler KESKİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2022

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Güler KESKİN

03/02/2022

ANTİFUNGAL ETKİLİ MUKOADEZİF VAJİNAL JEL FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Güler KESKİN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2022

ÖZET

Bu çalışmanın amacı kandidiyazis enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan suda çözünürlüğü düşük antifungal bir etkin madde olan vorikonazol (VZ)'ün vajinal uygulanması için kontrollü salım yapan mukoadezif organojellerinin geliştirilmesi, in vitro ve ex vivo karakterizasyonu ile in vitro antifungal etkinlik çalışmalarının değerlendirilmesidir. Bu amaçla VZ'nin çözünürlüğünü artırmak için esansiyel yağlar kullanılmış ve bu yağlar içinde çözünen VZ'nin yağlı çözeltisi HPMC jel içine dahil edilerek organojel formülasyonları geliştirilmiştir. VZ'nin erime derecesi tayini, DSC, FT-IR analizi ve partiyon katsayısı çalışmaları ile fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Daha sonra sekiz farklı esansiyel yağda VZ'nin çözünürlük çalışması yapılmış ve çözünürlüğü en yüksek olan oleik asit, lavanta yağı ve karanfil yağı organojel formülasyonlarında kullanılmak üzere seçilmiştir. Organojel formülasyonlarının su fazı için ise HPMC K100M polimeri %2 oranında kullanılarak hidrojel hazırlanmıştır. Karşılaştırmalı çalışmalar amacıyla farklı oranlarda yağ fazı: su fazı oranı denenmiş ve optimize yağ fazı: su fazı oranı 1:4 (h:h) ve 1:5 (h:h) olarak belirlenmiştir. Bu oranlarda hazırlanan organojel formülasyonlarının karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar arasında; fiziksel görünüş, pH, viskozite ve reolojik özellikler, etkin madde miktar tayini, doku profili analizi, yayılabilirlik testi, ex vivo mukoadезyon çalışmaları, in vitro olarak Franz difüzyon hücresinde geçiş çalışmaları, ex vivo permeabilite, in vitro antifungal etkinlik ve stabilite çalışmaları bulunmaktadır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojelin (VL2) pH, viskozite, yayılabilirlik, mekanik ve mukoadezif özellikleri vajinal uygulama için uygun bulunmuştur. Ayrıca VL2 formülasyonu yüksek in vitro salım profiline ve ex vivo permeabilite oranına sahiptir ve 4°C'de 3 ay boyunca stabilitesini koruduğu görülmüştür. VL2 organojel formülasyonu *Candida albicans*'a karşı yüksek in vitro antifungal etkinlik sergilemiştir. VZ'nin vajinal uygulaması ve topikal etkisi için organojel temelli formülasyonları başarıyla geliştirilmiştir.

Bilim Kodu : 1020

Anahtar Sözcükler : Vorikonazol, Organojel, Mukoadезyon, Vajinal İlaç Formülasyonları, İn Vitro Antifungal Aktivite

Sayfa Adedi : 167

Danışman : Doç. Dr. Fatma Nur TUĞCU DEMİRÖZ

DEVELOPMENT OF ANTIFUNGAL EFFECTIVE MUCOADHESIVE VAGINAL GEL FORMULATIONS

(M. Sc. Thesis)

Güler KESKİN

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

February 2022

ABSTRACT

The aim of the study was to develop controlled-release mucoadhesive organogels for vaginal application of voriconazole (VZ), an active substance with low water-solubility used in the treatment of candidiasis infections, to evaluate in vitro and ex vivo characterization and in vitro antifungal efficacy studies. For this purpose, essential oils were used to increase the solubility of VZ and organogel formulations were developed by including the oily solution of VZ dissolved in these oils into HPMC gel. The physicochemical properties of VZ were determined by the determination of melting point, DSC, FT-IR analysis and partition coefficient studies. Then, the solubility study of VZ in eight different oils was carried out and oleic acid, lavender oil and clove oil with the highest solubility were selected for use in organogel formulations. For the water phase of the organogel formulations, a hydrogel was prepared by using 2% HPMC K100M polymer. For comparative studies, different ratios of oil phase: water phase were tested and the optimized oil phase: water phase ratio was determined as 1:4 (h:h) and 1:5 (h:h). Characterization studies of organogel formulations prepared at these rates were carried out. Among these studies; There are physical appearance, pH, viscosity and rheological properties, determination of active substance, texture profile analysis, spreadability test, ex vivo mucoadhesion studies, in vitro permeability studies in Franz diffusion cell, ex vivo permeability, in vitro antifungal activity and stability studies. When all the results were evaluated, the pH, viscosity, spreadability, mechanical and mucoadhesive properties of the organogel (VL2) prepared in a 1:5 (h:h) oil phase: water phase ratio with lavender oil were found suitable for vaginal application. In addition, the VL2 formulation had a high in vitro release profile and ex vivo permeability rate and it was observed that it remained stable for 3 months at 4°C. The VL2 organogel formulation exhibited high in vitro antifungal activity against *Candida albicans*. An organogel-based formulation was successfully developed for the vaginal application and topical action of VZ.

Science Code : 1020

Keywords : Voriconazole, Organogel, Mucoadhesion, Vaginal Drug Formulations, In Vitro Antifungal Activity

Number of Pages : 167

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Fatma Nur TUĞCU DEMİRÖZ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim sırasında tezimin yönetilmesi ve çalışmalarımın yönlendirilmesinde gösterdiği destek ve yardımlarından dolayı bilimsel bakış açısıyla tecrübelerinden faydalandığım danışman hocam Doç. Dr. Fatma Nur TUĞCU DEMİRÖZ'e, ders döneminde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Nevin ÇELEBİ'ye, Prof. Dr. Füsün ACARTÜRK'e, Prof. Dr. Zeynep Şafak TEKSİN'e, Prof. Dr. Sevgi TAKKA'ya, Prof. Dr. Figen TIRNAKSIZ'a, Doç. Dr. Sibel İLBASMIŞ TAMER'e, Doç. Dr. Tuba İNCEÇAYIR'a ve Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve bölüm sekretimiz Fatma ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecine başlamam konusunda beni destekleyen ve bana olan inancından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Ş. Güniz KÜÇÜKGÜZEL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin *in vitro* antifungal etkinlik çalışmalarını yürüterek tezime değerli katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki Doç. Dr. Gülçin AKÇA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında yardımları ile beni yalnız hissettirmeyen Arş. Gör. Sinem SAAR'a ve Arş. Gör. Zehra DİK'e, Ecz. Ayşegül YILDIZ'a, Arş. Gör. Özlem ÇULCU'ya ve diğer araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yardımlarını, benden esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Serdar TORT'a, Arş. Gör. Mehmet BİRER'e ve Ecz. Esra KODAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Gen İlaç'ta çalışmış olduğum süre boyunca yüksek lisans eğitim sürecimi destekleyen ve etkin maddemin temininde yardımcı olan Sayın Uzm. Ecz. M. Ahmet ŞENCAN'a, Sayın Egemen Burak ÖNCEL'e ve desteklerinden dolayı eski çalışma arkadaşım Uzm. Ecz. Burak DİNLER'e teşekkürlerimi sunarım.

Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve bana her zaman olan inancı ile hayatımda her alanda olduğu gibi bu süreçte de katkılarından dolayı biricik eşim Arş. Gör. Kadir KESKİN'e, canım anneme ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Vajinanın Anatomik ve Fizyolojik Özellikleri	5
2.1.1. Vajinanın anatomisi ve fizyolojisi	5
2.1.2. Vajinal sıvı ve enzimatik aktivite	7
2.1.3. Vajinal flora ve pH	8
2.2. Vajinal İlaç Uygulaması	9
2.2.1. Vajinal absorpsiyon	10
2.2.2. Vajinal ilaç taşıyıcı sistemlerinin avantajları ve dezavantajları.....	11
2.2.3. Vajinaya uygulanan ilaçlar	12
2.3. Mukoadezyon	14
2.3.1. Mukoadezyon mekanizmaları	15
2.3.2. Mukoadezyon teorileri	16
2.3.3. Mukoadezyonu etkileyen faktörler	17
2.3.4. Mukoadezif vajinal uygulanan ilaç şekilleri	18
2.3.5. Vajinal mukoadesif ilaç sistemlerin avantajları ve dezavantajları	19

	Sayfa
2.4. Organojel Sistemleri	20
2.4.1. Organojel mekanizması	22
2.4.2. Organojellerin sınıflandırılması	22
2.4.3. Organojel sistemlerin avantajları ve dezavantajları	23
2.4.4. Organojellerin hazırlanması	24
2.4.5. Vajinal ilaç taşıyıcı sistemleri olarak organojeller	25
2.5. Kullanılan Yardımcı Maddeler	27
2.5.1. HPMC	27
2.5.2. Esansiyel yağlar ve vajinal çalışmalar	32
2.6. Kullanılan Etkin Maddenin Özellikleri	43
2.6.1. Etkin maddenin farmakolojik özellikleri	43
2.6.2. Etkin Maddenin fizikokimyasal özellikleri	45
2.6.3. Etkin maddenin farmakokinetik özellikleri	46
2.6.4. Vorikonazol ile yapılan vajinal formülasyon çalışmaları	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1. Gereç	53
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	53
3.1.2. Kullanılan araç ve gereçler	53
3.1.3. Kullanılan yazılımlar	54
3.2. Yöntem	54
3.2.1. Deneylerde kullanılan tampon çözeltinin hazırlanışı	54
3.2.2. Vorikonazolün fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi	55
3.2.3. Vorikonazol'ün spektrofotometrik miktar tayin yönteminin geliştirilmesi	58
3.2.4. Vajinal organojel formülasyon geliştirme çalışmaları	61
3.2.5. Organojel formülasyonu ile yapılan karakterizasyon çalışmaları	63

	Sayfa
3.2.6. Organojel formülasyonlarının doku profil analizi	64
3.2.7. Organojel formülasyonlarında yayılabilirlik (spreadability) tayini	67
3.2.8. Organojel formülasyonlarında ex vivo mukoadesyon çalışmaları	69
3.2.9. Organojel formülasyonlarının Franz difüzyon hücresi ile geçiş çalışmaları.....	71
3.2.10. Organojel formülasyonlarında ex vivo permeabilite çalışması ...	72
3.2.11. Organojel formülasyonlarının stabilite çalışması	74
3.2.12. Organojel formülasyonlarında in vitro antifungal etkinlik çalışmaları	74
3.2.13. İstatistiksel analizler.....	77
4. BULGULAR	79
4.1. Vorikonazol'un Fizikokimyasal Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular	79
4.1.1. Erime noktası tayini	79
4.1.2. IR spekturumu	79
4.1.3. DSC analizi.....	80
4.1.4. Partisyon katsayısı	81
4.1.5. Çözünürlük	81
4.2. Vorikonazol'un Spektrofotometrik Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyon Bulguları	82
4.2.1. UV spekturumuna ait bulgular	82
4.3. Organojel Formülasyonu ile Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	90
4.3.1. Organojel formülasyonunda fiziksel görünüş ve pH tayini	90
4.3.2. Organojel formülasyonlarının akış özelliklerinin ve viskozitesinin incelenmesi.....	90
4.3.3. Organojel formülasyonlarında etkin madde miktar tayini	93
4.3.4. Organojellerin doku profil analizi'ne (TPA) ait bulgular	93

Sayfa

4.3.5. Organojel formülasyonlarında yayılabilirlik (spreadability) testine ait bulgular	98
4.3.6. Organojel formülasyonlarında ex vivo mukoadesyon çalışmalarına ait bulgular	103
4.3.7. Organojel formülasyonlarının Franz difüzyon hücresinde geçiş çalışmalarına ait bulgular	109
4.3.8. Organojel formülasyonlarında ex vivo permeabilite çalışmalarına ait bulgular	111
4.3.9. Organojel formülasyonlarının stabilite çalışmalarına ait bulgular	114
4.3.10. Organojel formülasyonlarında in vitro antifungal etkinlik çalışmalarına ait bulgular.....	116
5. TARTIŞMA.....	121
5.1. Vorikonazolün Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesine Yönelik Değerlendirmeler	121
5.1.1. DSC analizi ve erime derecesi.....	121
5.1.2. FT-IR analizi	122
5.1.3. Partisyon katsayısı saptanması	123
5.1.4. Çözünürlük	123
5.1.5. VZ'nin spektrofotometrik miktar tayini yöntemi ve validasyonu....	124
5.2. Organojel Formülasyonlarında Yapılan Çalışmalara Ait Değerlendirmeler	125
5.2.1. Organojel formülasyonlarında pH, viskozite, akış özellikleri ve etkin madde miktar tayininin değerlendirilmesi	125
5.2.2. Organojellerin doku profil analizinin (TPA) değerlendirilmesi	129
5.2.3. Organojellerin yayılabilirlik özelliklerinin değerlendirilmesi	132
5.2.4. Organojellerin mukoadesyon testinin değerlendirilmesi.....	133
5.2.5. Organojel formülasyonlarının Franz difüzyon hücresinde geçiş çalışmasının değerlendirilmesi	136
5.2.6. Organojel formülasyonlarında ex-vivo permeabilite çalışmalarının değerlendirilmesi	139

Sayfa

5.2.7. Organojel formülasyonlarında stabilitenin değerlendirilmesi.....	141
5.2.8. Organojel formülasyonlarında antifungal etkinlik çalışmalarının değerlendirilmesi	143
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	147
KAYNAKLAR	151
ÖZGEÇMİŞ	167

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Piyasada patentli vorikonazol içeren preparatlar	44
Çizelge 2.2. Vorikonazol'ün fizikokimyasal özellikleri	46
Çizelge 3.1. Etkin madde içermeyen organojel formülasyon bileşenleri	63
Çizelge 3.2. Etkin madde içeren organojel formülasyon bileşenleri.....	63
Çizelge 3.3. Mukoadazyonda kullanılan test koşulları ve cihaza ait parametreler	71
Çizelge 4.1. VZ'nin yağlarda çözünürlük değerleri	82
Çizelge 4.2. Vorikonazol'ün pH 4,5 fosfat tamponundaki kalibrasyon parametreleri	84
Çizelge 4.3. Vorikonazol'ün metanoldeki kalibrasyon parametreleri.....	85
Çizelge 4.4. VZ'nin distile sudaki kalibrasyon parametreleri.....	85
Çizelge 4.5. VZ'nin pH 4,5 fosfat tapmonunda yapılan analize ait geri elde sonuçları.....	86
Çizelge 4.6. VZ'nin metanolde yapılan analize ait geri elde sonuçları	86
Çizelge 4.7. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponundaki tekrar edilebilirlik sonuçları....	87
Çizelge 4.8. VZ'nin metanoldeki tekrar edilebilirlik sonuçları	87
Çizelge 4.9. Etkin madde içeren ve içermeyen organojel formülasyonlarının pH değerleri.....	90
Çizelge 4.10. Etkin madde içermeyen organojel formülasyonlarının viskozite, rpm değerleri ve spindle numaraları	90
Çizelge 4.11. Etkin madde içeren organojel formülasyonlarının viskozite, rpm değerleri ve spindle numaraları	92
Çizelge 4.12. Etkin madde miktar tayini sonuçları	93
Çizelge 4.13. Organojel formülasyonlarının doku profili analizi sonucu elde edilen sertlik, adeziflik, koheziflik ve sıkışabilirlik parametreleri..	97
Çizelge 4.14. Organojel formülasyonlarının doku profili analizi sonucu elde edilen elastikiyet, kırılabilirlik ve esneklik parametreleri.....	98
Çizelge 4.15. Etkin madde içermeyen organojel formülasyonlarının yayılabilirlik kuvveti ve yayılabilirliğe karşı yaptığı iş.....	102

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.16. Etkin madde içeren organojel formülasyonlarının yayılabilirlik kuvveti ve yayılabilirliğe karşı yaptığı iş	102
Çizelge 4.17. Etkin madde içermeyen organojel formülasyonlarının mukoadazyon ölçüm sonuçları	107
Çizelge 4.18. Etkin madde içeren organojel formülasyonlarının mukoadazyon ölçüm sonuçları	107
Çizelge 4.19. Organojel formülasyonlarından etkin maddenin inek vajinal dokusundan geçişinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen akı değerleri	113
Çizelge 4.20. Organojel formülasyonlarından etkin maddenin inek vajinal dokusundan geçişinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen akı değerleri	114
Çizelge 4.21. VO1' nin stabilite sonuçları	114
Çizelge 4.22. VL1' nin stabilite sonuçları	114
Çizelge 4.23. VK1' nin stabilite sonuçları.....	115
Çizelge 4.24. VO2' nin stabilite sonuçları	115
Çizelge 4.25. VL2' nin stabilite sonuçları	115
Çizelge 4.26. VK2' nin stabilite sonuçları.....	115
Çizelge 4.27. Saf yağların, VZ'nin ve VZ'nin yağlarla (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı) çözeltilerinin in vitro antifungal etkinlik çalışmasında ölçülen inhibisyon çapı	116
Çizelge 4.28. Organojel formülasyonlarının (1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında) in vitro antifungal etkinlik çalışmasında ölçülen inhibisyon çapı	117

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kadın üreme sistemi ve vajinanın anatomik yapısı	6
Şekil 2.2. Mukoadesyon mekanizmaları	16
Şekil 2.3. Organojellerin sınıflandırılması	22
Şekil 2.4. Vorikonazolün kimyasal yapısı.....	45
Şekil 2.5. Vorikonazolün metabolik yolları	49
Şekil 3.1. Doku profil analizi, birinci ve ikinci kompresyon döngüsü grafiği.....	67
Şekil 3.2. Yayılabilirliğe ait kuvvet-mesafe eğrisi	68
Şekil 3.1. Doku profil analizi, birinci ve ikinci kompresyon döngüsü grafiği.....	70
Şekil 4.1. VZ'nin DSC termogramı.....	79
Şekil 4.2. VZ, HPMC K100M ve VZ-HPMC K100M karışımının IR spektrumları.....	80
Şekil 4.3. VZ, HPMC K100M ve VZ-HPMC K100M karışımının DSC termogramları	80
Şekil 4.4. VZ ve yardımcı maddelerin DSC termogramları; a) VZ, b) VZ'nin lavanta yağındaki çözeltisi, c) lavanta yağı, d) oleik asit, e) VZ'nin oleik asit çözeltisi f) VZ'nin karanfil yağındaki çözeltisi, g) karanfil yağı.....	81
Şekil 4.5. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponundaki UV spektrumu	82
Şekil 4.6. VZ'nin metanoldeki UV spektrumu.....	83
Şekil 4.7. VZ'nin distile sudaki UV spektrumu	83
Şekil 4.8. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponundaki standart doğru ve denklemi.....	84
Şekil 4.9. VZ'nin metanoldeki standart doğru ve denklemi	84
Şekil 4.10. VZ'nin distile sudaki standart doğru ve denklemi	85
Şekil 4.11. Yardımcı maddelerin pH 4,5 fosfat Tamponu'ndaki UV spektrumları; a) oleik asit b) lavanta yağı c) karanfil yağı d) HPMC K100M	88
Şekil 4.12. Yardımcı maddelerin metanoldeki UV spektrumları; a) Oleik asit b) lavanta yağı c) karanfil yağı d) HPMC K100M.....	88

Şekil	Sayfa
Şekil 4.13. VZ'nin pH 4,5 fofat tamponunda $25\pm0,5^{\circ}\text{C}$ 'deki stabilitesi	89
Şekil 4.14. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponunda $37\pm0,5^{\circ}\text{C}$ 'deki stabilitesi.....	89
Şekil 4.15. Etkin madde içermeyen O1-O2-L1-L2 organojel formülasyonlarının 25°C 'deki akış diyagramı.....	91
Şekil 4.16. Etkin madde içermeyen K1-K2 organojel formülasyonlarının 25°C 'deki akış diyagramı	91
Şekil 4.17. Etkin madde içeren VO1, VL1, VO2, VL2 organojel formülasyonlarının 25°C 'deki akış diyagramı.....	92
Şekil 4.18. Etkin madde içeren VK1-VK2 organojel formülasyonu 25°C 'deki akış diyagramı	93
Şekil 4.19. Oleik asit ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VO1; b) O1.....	94
Şekil 4.20. Oleik asit ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VO2; b) O2.....	95
Şekil 4.21. Lavanta yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VL1; b) L1	95
Şekil 4.22. Lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VL2; b) L2	96
Şekil 4.23. Karanfil yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VK1; b) K1	96
Şekil 4.24. Karanfil yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VK2; b) K2	97
Şekil 4.25. Oleik asit ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VO1 ve b) O1	99
Şekil 4.26. Oleik asit ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VO2 b) O2	99
Şekil 4.27. Lavanta yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VL1 ve b) L1	100
Şekil 4.28. Lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri; a) VL2 ve b) L2	100
Şekil 4.29. Karanfil yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VK1 ve b) K1;	101
Şekil 4.30. Karanfil yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri; a) VK2 ve b) K2	101

Şekil	Sayfa
Şekil 4.31. Etkin madde içermeyen organojellerde yayılabilirliğin kıyaslanması.....	102
Şekil 4.32. Etkin madde içeren organojellerde yayılabilirliğin kıyaslanması.....	103
Şekil 4.33. Oleik asit ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) O1 b) VO1	104
Şekil 4.34. Oleik asit ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) O2 b) VO2	104
Şekil 4.35. Lavanta yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) L1 b) VL1	105
Şekil 4.36. Lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) L2 b) VL2	105
Şekil 4.37. Karanfil yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) K1 b) VK1	106
Şekil 4.38. Karanfil yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) K2 b) VK2	106
Şekil 4.39. VZ içermeyen organojellerin inek vajinal mukozasında yapılan mukoadazyon ölçümlerinin kıyaslanması	108
Şekil 4.40. VZ içeren organojellerin inek vajinal mukozasında yapılan mukoadazyon ölçümlerinin kıyaslanması	108
Şekil 4.41. a) VZ içermeyen b) VZ içeren; organojellerin inek vajinal mukozasında yapılan mukoadazyon ölçümlerinin istatistiksel olarak kıyaslanması	109
Şekil 4.42. 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VO1, VL1, VK1 formülasyonlarından VZ'nin diyaliz membrandan geçişi.....	110
Şekil 4.43. 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VO2, VL2, VK2 formülasyonlarından VZ'nin diyaliz membrandan geçişi.....	111
Şekil 4.44. 1:4 (h:h) yağ fazı:su fazı oranında hazırlanan VO1, VL1, VK1 organojel formülasyonlarından VZ'nin inek vajinal dokusundan geçişi	112
Şekil 4.45. 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VO2, VL2, VK2 organojel formülasyonlarından VZ'nin inek vajinal dokusundan geçişi	113

Şekil	Sayfa
Şekil 4.46. VZ, yağlar (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı) ve VZ ile yağ çözeltilerinin antifungal etkinliklerinin karşılaştırılması	117
Şekil 4.47. Organojel formülasyonlarının (1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında) antifungal etkinlik sonuçlarının karşılaştırılması	118
Şekil 4.48. VZ'nin, lavanta yağının ve karanfil yağının agar kuyucuk difüzyon yönteminde 100 µL ve 200 µL uygulanmasının antifungal etkinliklerinin üzerine etkisinin istatistiksel karşılaştırılması	118
Şekil 4.49. 1:5 (h:h) yağ: su oranında hazırlanan VL2, L2, K2, VK2 organojel formülasyonlarının agar kuyucuk difüzyon yönteminde 100 µL ve 200 µL uygulanmasında etkinliklerinin üzerine etkisinin istatistiksel karşılaştırılması	119

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. a) Yağ fazı (oktanol) ve su fazının (distile su) doyurulması b) ayırma hunisi yardımıyla fazların birbirinden ayrılması	57
Resim 3.2. VZ'nin yağlardaki çözünürlük deney düzeneği	58
Resim 3.3. TPA analizi deney düzeneği	65
Resim 3.4. Yayılabilirlik deney düzeneği	67
Resim 3.5. Mukoadezyon çalışması deney düzeneği.....	69
Resim 3.6. Franz difüzyon hücresi deney düzeneği	72
Resim 3.7. Permeabilite çalışması deney düzeneği	73
Resim 3.8. Agar kuyucuk difüzyon yönteminin deney düzeneği.....	76
Resim 4.1. Agar Kuyucuk difüzyon metodunda VL2 ve VK2 organojellerinin C. albicans ATCC 10231 etkenine karşı oluşturduğu inhibisyon alanı görüntüsü a) 100 µL hacimde organojel uygulanması b) 200 µL hacimde organojel uygulanması.....	119

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simge ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
AUC	Plazma Konsantrasyon-Zaman Eğrisi Altında Kalan Alan
C	Derişim
C _{max}	Maksimum Plazma Konsantrasyonu
Cd	Donör Fazdaki İlaç Konsantrasyonu
cm	Santimetre
cP	Sentipoise
dk	Dakika
F	Kopma Kuvveti
g	Gram
h	Hacim
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
l	Litre
Log K	Partisyon Katsayısı
mg	Miligram
mJ	Milijoule
mL	Mililitre
mV	Milivolt
N	Newton
nm	Nanometre
ort	Ortalama
r	Determinasyon Katsayısı
r ²	Korelasyon Katsayısı

Simgeler	Açıklamalar
rpm	Dakikada Devir Sayısı
s	Saat
sn	Saniye
X_{ort}	Örneklerin Ortalaması
t_{1/2}	Biyolojik Yarı Ömür
λ_{max}	Maksimum Dalga Boyu
W	Yapılan Toplam İş
P	Permeabilite Katsayısı
Js	Denge Halindeki Düzgün Akı

Kısaltmalar	Açıklamalar
AIDS	Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu
AOT	Sodyum Bis-2-Etilheksil-Sülfosüksinat
BCS	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (Biopharmaceutics Classification System)
BS	Bağıl Sapma
BV	Bakteriyel Vajinozis
C.	Candida
CLSI	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute)
CMC	Karboksi Metil Selüloz
CYP	Sitokrom
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (Differential Scanning Calorimetry)
EMA	Avrupa İlaç Ajansı (European Medicines Agency)
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (U.S. Food and Drug Administration)
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre)
GRAS	Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen (Generally Recognize as Safe)
HCl	Hidroklorik Asit
HEC	Hidroksi Etil Selüloz

Kısaltmalar	Açıklamalar
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HPC	Hidroksi Propil Selüloz
HPMC	Hidroksipropil Metilselüloz
HP-β-CD	Hidroksi Propil Beta Siklodekstrin
ICH	Uluslararası Uyumlaştırma Kongresi (International Conference on Harmonization)
IV	İntravenöz
LHRH	Lütein Hormonu Salgılatan Hormon
MIC	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MRV	Maravirok
NCAC	Candida Albicans Dışı Candida Türleri
OA	Oleik Asit
PAA	Poli Akrilik Asit
PGE1	Prostaglandin E1
PL	Poloksamer
SA	Sodyum Aljinat
SDA	Sabouraud Dekstrozu Agar
SS	Standart Sapma
TPA	Doku Profili Analizi (Texture Profile Analysis)
USP	Amerikan Farmakopesi
UV	Ultraviyole
VFS	Vajinal Sıvı Stimülanı
VVC	Vulvovajinal Kandidiyazis
VZ	Vorikonazol

1. GİRİŞ

Mukoadezif vajinal ilaç taşıyıcı sistemler lokal ve sistemik tedaviler için son yıllarda ilgi çekmektedir. Antifungaller, antiviraller, doğum indükleyiciler, spermisid ajanlar ve hormonlar gibi çeşitli ilaç sınıfları vajinal mukoza yoluyla uygulanmıştır (Vermani ve Garg, 2000; Das Neves ve Bahia, 2006; Deshkar, Shirolkar ve Patil, 2020). Mukoadezif vajinal sistemler, vajinanın geniş yüzey alanı, yüksek ilaç geçirgenliği, zengin damar ağı içeriği gibi önemli avantajları ve ilk geçiş metabolizması ve gastrointestinal bozulma problemlerinin üstesinden gelmesi sayesinde alternatif bir ilaç uygulama yolu olarak değerlendirilmiştir (Das Neves, Nunes, Machado ve Sarmiento, 2015; Salmazi ve diğerleri, 2015; Dos Santos ve diğerleri, 2020). Yenilikçi mukoadesif vajinal ilaç sistemlerinin en önemli avantajı, geleneksel dozaj formlarına kıyasla formülasyonun vajinal mukozada uzun süre kalmasını sağlayarak ilacın dozlama sıklığını azaltmak ve terapötik etkinliğini artırmaktır (Pitorre ve diğerleri, 2017; Dos Santos ve diğerleri, 2020).

Sağlıklı insan vajinasında baskın flora olan laktobasil ile temel gram-negatif anaeroblar arasındaki mikrobiyal dengenin bozulması sonucunda bakteriyel vajinozis (BV), vulvovajinal kandidiyazis (VVC), trikomoniyazis, idrar yolu enfeksiyonları, aerobik vajinit gibi hastalıklar ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV), herpes simpleks virüsü ve insan papilloma virüsü gibi virüslerin neden olduğu cinsel yolla bulaşan hastalıklar ortaya çıkabilmektedir (De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012).

Vajinal enfeksiyonlar yaygın bir durum olup, her yaş grubundan kadın yaşamı boyunca bu tür enfeksiyonlarla mücadele etmektedir. Üç çeşit enfeksiyöz vajinit vardır: VVC, BV ve trikomoniyazistir. VVC, üreme çağındaki kadınların yaklaşık %75'inde en sık görülen enfeksiyonlardan biridir (Deshkar ve Palve, 2019; Johal, Garg, Rath ve Goyal, 2016). Bu hastalıklar, cinsel ve duygusal ilişkiler ile iş performansını etkilediği için her yıl milyonlarca kadının yaşam kalitesini olumsuz yönde etkiler (De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012).

VVC kadınlarda çok yaygın olarak görülen *Candida* türlerinin neden olduğu bir enfeksiyondur. Bu enfeksiyona antibiyotik kullanımı, gebelik, diyabet, AIDS

(Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu) hastalarında olduğu gibi immün sistemin baskılanması, sık cinsel ilişki, spermisit ve rahim içi araçlar ve vajinal duş faktörleri neden olabilir. *Candida albicans* (*C. albicans*)'ın neden olduğu enfeksiyon en yaygın olanıdır (Gonçalves ve diğerleri, 2016; Johal ve diğerleri, 2016). Kandida enfeksiyonları yüzeyseldir ancak bağışıklık sistemi zayıf hastalarda ciddi sistemik enfeksiyonlara zemin hazırlayabilmektedir (Gonçalves ve diğerleri, 2016). Eğer tedavi edilmezse, şiddetli maya enfeksiyonu, pelvik enflamatuvar hastalıklar da dahil olmak üzere bazı sorunlara neden olabilir. Sınırlı tedavi seçenekleri nedeniyle, bu enfeksiyonlar tekrar eder ve cinsel yolla bulaşan diğer enfeksiyonların oluşmasında önemli bir rol oynar (Deshkar ve Palve, 2019).

Tedavide topikal antimikotik ajanlar krem, losyon, merhem, pudra ve ovül şeklinde uygulanabilir. Topikal uygulamanın dışında oral antifungal ajanlar da kullanılmaktadır (Gonçalves ve diğerleri, 2016; Johal ve diğerleri, 2016). Ancak tedavi potansiyel yan etkilere yol açabilir (Gonçalves ve diğerleri, 2016). VVC tedavisinde en sık kullanılan antifungal ajanlar oral veya intravajinal yollarla uygulanan flukonazol, klotrimazol, mikonazol, ekonazol, ticonazol, izokonazol ve vorikonazoldür (Querobino ve diğerleri, 2019; Johal ve diğerleri, 2016).

İkinci kuşak triazol bir antifungal ajan olan vorikonazol (VZ), gelişmiş antifungal aktiviteye sahip bir flukonazol türevidir. *Scedosporium apiospermum* ile *Fusarium* türlerinin neden olduğu ciddi mantar enfeksiyonları tedavilerinde kullanılmak amacıyla FDA tarafından onaylanmıştır (Ascioglu ve Chan, 2014). VZ ciddi sistemik yan etkilere neden olduğundan, vajinal kandida enfeksiyonu için topikal bir formülasyonunun geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Deshkar ve Palve, 2019). Suda çözünürlüğü düşük olan VZ Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) sınıf II grubuna dahildir. Çözünürlüğü düşük olduğu için istenilen etkinin elde edilmesinde sorunlar yaşanmaktadır. Düşük çözünürlük etkin maddenin absorpsiyonunu ve dolayısıyla da biyoyararlanımını etkiler ve formülasyon geliştirilme çalışmalarını sınırlayıcı bir basamak oluşturur (Siafaka ve diğerleri, 2016).

Günümüzde birçok araştırmacı tarafından VZ'nin çözünürlüğünü artırmaya yönelik formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Bunlar arasında; siklodekstrinle kompleks oluşumu (Deshkar ve Palve, 2019), elektro-çekim nanolifler (Siafaka ve diğerleri,

2016), lipozomlar (De Sá, Taveira, Gelfuso, Lima ve Gratieri, 2015), mikroemülsiyon bazlı hidrojel sistemleri (Raju, Chowdary, Nair ve Basha, 2017; Kumar ve Sinha, 2014; Ashara, Paun, Soniwala ve Chavda, 2017) ve nanoemülsiyon sistemleri (Rasoanirina ve diğerleri, 2020) bulunmaktadır. Bunlara ek olarak VZ'nin suda düşük çözünürlüğüne bağlı kısıtlamaları önlemek amacıyla suda çözünür bir matris içinde dağılmış bir yağ fazı kullanılarak, terapötik etkinliği artırılmış VZ organojel formülasyonları da geliştirilmiştir (Querobino ve diğerleri, 2019).

Bitkilerden elde edilen esansiyel yağların birçok araştırmada antimikrobiyal ve fungisidal aktiviteye sahip olduğu gösterildiği için son yıllarda güvenli doğal alternatifler olarak kabul edilmektedir ve bu yönde kullanımları artmıştır (Aguilar-González, Palou ve López-Malo, 2015; Hasheminejad, Khodaiyan ve Safari, 2019). Genel olarak jel bazlı ürünler, harici sıvı bileşenin polaritesine bağlı olarak hidrojel veya organojel olarak kategorize edilebilir. Su, hidrojellerin harici sıvı bileşenidir; genel olarak yapısında hem hidrofobik hem de hidrofilik bileşikleri barındıran organojeller, heksan, izopropil miristat, ayçiçek yağı, mısır yağı veya esansiyel yağlar gibi polar olmayan çözücüler kullanılarak formüle edilir (İbrahim, Hafez ve Mahdy, 2013).

Kozmetik/farmasötik alanda topikal kullanımı olan organojeller yağlı sistemlerdir ve lipofilik ajanları çözme yetenekleri iyidir. Uygulandıkları bölgeden kolay bir şekilde uzaklaştırılmazlar (Lupi ve diğerleri, 2016). Organojellerin hazırlanması kolaydır ve lipofilik yapıları sayesinde mukozal dokulardan ilaç geçirgenliğini artırabilirler (Shakeel ve diğerleri, 2019).

Bu bilgiler doğrultusunda bu tez çalışmasında;

- ✓ VVC enfeksiyonlarının vajinal tedavisi için çözünürlüğü düşük etkin madde olan VZ'nin esansiyel yağlı sistemler kullanılarak çözünürlüğünün artırılması,
- ✓ VZ'nin toksik olmayan organojel formülasyonun geliştirilmesi ve vajinal uygulanan ilaç sistemi olarak in vitro ve ex vivo testler ile değerlendirilmesi,
- ✓ VZ içeren organojellerin kandida türlerine karşı antifungal aktivitesinin standart *C. albicans* (ATCC 10231) suşları kullanılarak in vitro olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Vajinanın Anatomik ve Fizyolojik Özellikleri

2.1.1. Vajinanın anatomisi ve fizyolojisi

Kadın üreme sistemi; fallop tüpleri, yumurtalıklar, serviks, ektoserviks ve vajinadan oluşur (Şekil 2.1). Vajina genişleyebilen kas yapısı ile üreme sisteminde rol oynayan önemli bir organdır. Vajina; rektum, mesane ve üretra arasında yerleşik olarak bulunur. Ön duvarı boyunca 6,5-7 cm ve arka duvarı boyunca yaklaşık 9 cm uzunluğundadır (Valenta 2005; Dos Santos ve diğerleri, 2020; De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012; Das Neves ve Bahia, 2006).

Vajina duvarı içten dışa doğru yapı olarak farklı üç tabakadan oluşmaktadır (Das Neves ve Bahia 2006, Dos Santos ve diğerleri, 2020; Deshkar ve diğerleri, 2020);

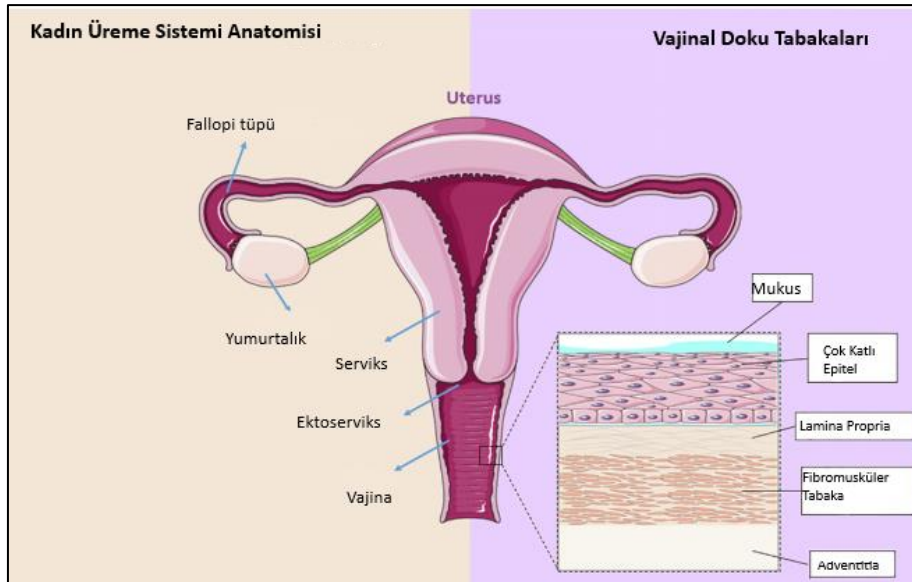
- Tunica mucosa (Mukoza tabakası),
- Tunica muscularis (Fibromusküler kas tabakası),
- Tunica adventitia (Organı saran bağ dokusu).

Mukoza tabakası çok katlı epitel ve lamina propriadan oluşur. Vajinal mukozayı çok katlı yassı keratinize olmayan epitel oluşturur. Diğer mukozal yapılardan farklı olarak vajinal mukozada salgı bezleri bulunmaz. Mukozayı sürekli ıslak ve kaygan tutan salgının bir kısmı serviksten gelmekte, diğer kısmı ise uterus salgısının içerdiği bileşikler ve vajinada bulunan mikroorganizmaların etkisi ile oluşmaktadır. Vajinal epitel kalınlığı yaklaşık 200–300 µm'dir (Çalış, Şumnu ve Hıncal, 1994).

Vajinal epitel kalınlığı yaşa ve hormonal seviyelere özellikle östrojen seviyesine bağlıdır. Hormonal aktivite ile vajinal epitel kalınlığı artar ve üreme safhasında en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Ayrıca vajina yumurtlama sırasında ise en yüksek glikojen içeriğine sahiptir (Valenta, 2005; Caramella, Rossi, Ferrari, Bonferoni ve Sandri, 2015; De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012).

Fibromusküler kas tabakası olduğu düz ve elastik lifler sayesinde gerilebilir ve böylece etkili bir esnekliğe sahiptir. Dış tarafındaki çok daha güçlü olan dikey tabaka ve iç tarafında olan dairesel tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Dikey lifler uterusun yüzeysel kas lifleri olarak devam eder. Bu iki tabaka birbirinden ayrı değildir, bir tabakadan diğerine geçen eğik çapraz demetlerle birbirlerine temas ederler. Bu kas tabakasının dışı büyük kan damar ağı içeren bağ dokusunun bir tabakasıdır (Valenta, 2005).

Tunica adventitia, kas örtüsünü kaplar ve epitelin gerilmesine izin veren gevşek bağ dokusundan oluşur (De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012; Caramella ve diğerleri 2015).



Şekil 2.1. Kadın üreme sistemi ve vajinanın anatomik yapısı (Dos Santos ve diğerleri, 2020)

Vajina yüzeyi, genellikle vajina duvarında gerilebilen, destek ve geniş bir yüzey alanı sağlayan rugae olarak bilinen çok sayıda kıvrımdan oluşur. Epitel hücre yüzeyindeki vajinal kıvrım ve mikro çıkıntılar vajinanın genişlemesine ve uygulanan vajinal formülasyonların yerleşmesine kolaylık sağlar, böylelikle vajinanın yüzey alanı ve ilaç emilimi artar. Ayrıca bu kıvrımlar vajina duvarlarına destek sağlar (C. Sahoo, Nayak, Sarangi ve T. Sahoo, 2013; Deshkar ve diğerleri, 2020).

Vajina duvarlarında bol miktarda vajinaya kan sağlayan kan damarları ve lenfatik damarlar bulunur. Vajinadan rahme ilaç transferi, yani “uterin ilk geçiş etkisi”, ilacın

vajinadan emildikten sonra vajinal toplardamardan uterus arter kanına geçmesi ile üretraya geçişin sağlanmasıdır. Böylece ilk geçiş metabolizmasından etkilenmeden bu iki doku arasındaki kan damar bağlantıları sayesinde vajinadan uterusu doğrudan bir lokal taşıma olur (Cook ve Brown, 2018; Deshkar ve diğerleri, 2020).

2.1.2. Vajinal sıvı ve enzimatik aktivite

Vajina sıvısı, servikal mukus ve endometriyal sıvılar gibi üst üreme yolundan gelen sıvıların ve vajina epitelinden sızan hücrelerarası kan damarlarından gelen transudatın karışımından oluşur. Vajinal açıklığın arka bölümünün her iki yanında yer alan Bartholin bezleri ve ön tarafın her iki yanında yer alan Skene bezleri de cinsel uyarılma sırasında az miktarda sıvı salgılayarak vajina sıvı bileşimine katılır (Cook ve Brown, 2018).

Servikal mukus, vajinal sekresyonlar ve lokal bakteri florası vajinayı enfeksiyonlara karşı korumaya yardımcı olan vajinanın doğal savunma mekanizmalarıdır (Deshkar ve diğerleri, 2020).

Vajinal sıvının bileşenleri su (%90-95), müsinler, karbonhidratlar, üre, tuzlar, immünoglobulinler, yağ asitleri, albümin ve diğer bileşenlerdir. Bu sıvı bileşimi ile birlikte proteolitik enzimler, enzim inhibitörleri, proteinler, aminoasitler, serin ve sistein proteazları ve alkoller de içerebilir. Vajinal sıvıda; laktik asit, asetik asit, gliserol, üre ve glikoz gibi bileşikler önemli konsantrasyonlarda bulunur. Glikojen, laktik asit üretimiyle sonuçlanan mikrobiyal ve enzimatik işlemlerin bir substratı görevindedir (Caramella ve diğerleri 2015; Cook ve Brown, 2018; De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012). Menopoz öncesi dönemde östrojen üretimi düşer ve menopoz süresince vajinal glikojen içeriğinde kalıcı bir düşüş söz konusudur. Bu dönemde asidofilik organizmalar baskın değildir ancak varlıklarını sürdürür (Valenta, 2005).

Literatüre göre yaklaşık 6 g/gün vajinal sıvı üretimi ve vajinada yaklaşık 0.5-0.75 ml bir sıvı hacmi olduğu gösterilmiştir (Caramella ve diğerleri, 2015). Vajinal sıvı heterojen bir salgıdır, epitel üzerinde koruyucu, kaydırıcı etkiye sahiptir. Vajinal epitelin kalınlığı gibi vajinal sıvının miktarı ve bileşeni de menstrual döngü boyunca

değişir (Hussain ve Ahsan, 2005) Vajinal sıvı miktarı cinsel uyarım ve östrojen miktarıyla da değişmektedir (Cook ve Brown, 2018).

Ayrıca, vajinal sıvı intavajinal yol ile uygulanan ilaçların vajinal emilimini önemli ölçüde etkilemektedir. Bir ilacın emilebilmesi için önce çözelti içinde olması gerektiğinden, bir avantaj sağlar, ancak bunun aksine kalın bir servikal mukusun varlığı, ilaç absorpsiyonuna bir engel oluşturmakta ve uygulanan formülasyonun vajinadan sızıntıya sebep olmasına katkıda bulunarak hasta uyuncunu azaltmaktadır (Valenta, 2005; Dos santos ve diğerleri, 2020; Cook ve Brown, 2018).

Vajinada mevcut enzimler arasında bulunan proteazlar özellikle peptit- protein yapısındaki ilaçların sistemik absorpsiyonu önünde bir engeldir (Hussain ve Ahsan, 2005). Acartürk ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, sıçan, kobay, tavşan, koyun ve insanlarda vajinal enzimatik aktivite açısından aminopeptidazın spesifik enzimatik aktivitesi yüksekten düşüğe doğru sıralanmıştır: koyun> kobay> tavşan ≥ insan ≥ sıçan. Bu çalışmanın sonucuna göre sıçan ve tavşanın insanlara benzer enzimatik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Acartürk, Parlatan ve Saracoğlu, 2001).

2.1.3. Vajinal flora ve pH

Normal, sağlıklı, üreme çağındaki bir kadında vajinal sekresyonlar, ortalama 10 milyar/ml konsantrasyonda aerobik ve anaerobik bakteri florası içerebilir (Deshkar ve diğerleri, 2020). *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Prevotella bivia* ve *Atopobium vaginae* vajinal mikrobiyotada yaygın olan türlerdir ve bunların varlığı sağlıklı bir mikrobiyota göstergesidir (Doerflinger, Throop ve Herbst-Kralovetz, 2014).

Sağlıklı insan vajinasında *Lactobacillus* türleri baskındır. *Lactobacilli*, vajinal pH'ı düşüren ve istilacı patojenlere karşı koruyan ve servikovajinal ortamı (pH <4,5) asitleştiren glikojen yan ürünlerinin fermentasyonu yoluyla laktik asit üretir (Muzny, Łaniewski, Schwebke ve Herbst-Kralovetz, 2020). Vajinal pH'ın yaklaşık 4-4,5 arasında hafif asidik değerlerde tutulmasını sağlayan glikojen konsantrasyonu 3 ile 5 g/l arasındadır (Caramella ve diğerleri 2015). Ürogenital enfeksiyonlara karşı korunmada önemli rol oynayan vajinada bulunan bir laktobasil türü olan

Lactobacillus acidophilus tarafından glikojenden üretilen laktik asit, vajinal pH'ı 3,8 ila 4,2 arasında tutmak için bir tampon görevi görür (De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012).

Vajinal laktobasiller tarafından üretilen laktik asit vajinal pH'ı düşürür. Yeterince asidik pH değerinde laktik asit güçlü bir mikrobisitdir ve böylece vajinal mukozayı mikrobiyal saldırılara karşı korur (O'Hanlon, Moench ve Cone, 2013). Birkaç in vitro çalışma, laktik asidin, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, grup B *Streptococcus* ve HIV dahil olmak üzere, genital patojenlerinin çoğalmasını/büyümesini inhibe eden güçlü bir antiviral ve bakterisidal bileşik olduğunu göstermiştir (Muzny ve diğerleri, 2020).

Vajinal mikroflora; epitel hücrelerinin glikojen içeriği, pH, hormonal seviyeler, doğum kontrol yöntemleri, yaş, tedavi ve doğum gibi çeşitli faktörlerden etkilenir.

Vajinanın yapı ve fizyolojisi yaş, hormon durumu, gebelik, menstrüasyon, östrojen seviyesi ve bakteriyel üreme gibi çeşitli faktörlerin neden olduğu pH değişikliklerinden etkilenir. Vajinal sekresyonlar ve sıvı bileşenleri yapı olarak alkali olduğundan adet döngüsü veya cinsel ilişki vajinal pH'da artışa neden olabilir. Servikal mukus varlığı, enfeksiyon oluşumu, vajinal duş ve yaş faktörü da vajinal pH'ı değiştirebilir. Vajinal pH, ilaçların emiliminde ve vajinal ilaç taşıyıcı sistem formülasyonlarının geliştirilmesi sırasında dikkate alınması gereken önemli bir parametredir (Valenta, 2005; Das Neves ve Bahia, 2006; Deshkar ve diğerleri, 2020).

2.2. Vajinal İlaç Uygulaması

Vajinal mukoza anatomik yerleşimi, zengin damar ağına sahip olması ve geniş yüzey alanı özellikleriyle günümüzde potansiyel bir ilaç uygulama alanı olarak kabul edilmektedir (Acartürk, 2009). İnsan vajinası hem lokal hem de sistemik uygulamalar için özel olarak tasarlanmış taşıyıcı sistemler ile ilaç uygulaması için önemli bir yol olmaktadır (Sahoo ve diğerleri 2013; Valenta, 2005). Son yıllarda vajinal anatomi, fizyoloji, mikroflora ve salgıların iyi araştırılması ve algılanması sayesinde vajinal ilaç uygulanmasında önemli gelişmeler kaydedilmiştir (Vermani ve Garg, 2000).

Vajinal ilaç uygulanmasında istenilen terapötik etkinliğin sağlanabilmesi için;

- Formülasyon vajinal sıcaklıkta yani 36 °C'de erimelidir (vajinal ovüller için geçerli),
- Vajina içi ilaç taşıyıcı sistem tahriş edici ve toksik olmamalıdır,
- Preparat, ıslatıcı ve emülsifiye edici özelliklere sahip olmalıdır.
- Vajinadan sızıntıyı engelleyebilecek düzeyde uygun viskoziteye sahip olmalıdır, (yarı katı dozaj formu olması durumunda),
- Formülasyon, mukoza ile temas süresinin artırılması amacıyla biyo/muko adeziv özelliklere sahip olmalıdır (Sahoo ve diğerleri 2013).

2.2.1. Vajinal absorpsiyon

Sistemik etki için ilaçların vajinadan emilmesi istenir. Lokal uygulama için ilaç absorpsiyonu beklenmez. İlaçlar vajinal epitel boyunca;

- Hücre içine konsantrasyona bağlı difüzyon yoluyla (hücre içi yol),
- Sıkı bağlantı noktalarıyla (hücrelerarası yol) ve
- Veziküler veya reseptör aracılığıyla olmak üzere 3 ana yoldan taşınırlar.

Vajina yoluyla ilaç emilimini etkileyen fizyolojik faktörler aşağıda sıralanmıştır:

- Siklus değişiklikleri,
- Epitelin kalınlığı ve porozitesi,
- Vajinal sıvının viskozitesi, hacmi ve pH'sı,
- Hormonal seviyeler,
- Servikal mukus varlığı,
- Enzimatik aktivite.

Vajinal yoldan emilimi, uygulanan ilacın fizikokimyasal özellikleri de etkiler. Bu fizikokimyasal özellikler şöyle sıralanabilir:

- Molekül ağırlığı,
- Lipofiliklik,

- İyonlaşma ve yüzey yükü.

Bu faktörler, formülasyonun yayılmasını, tutulmasını ve ayrıca vajinal absorpsiyonu ve ilaç salımını etkiler (Valenta, 2005; Hussain ve Ahsan, 2005; Sahoo ve diğerleri 2013; Deshkar ve diğerleri, 2020).

İlaç absorpsiyonun sağlanması için ilaç ortamda çözünmelidir. Vajinada bulunan sıvı, ilaçların çözünmesine yardımcı olur, ancak servikal mukus salgısı bir bariyer teşkil eder ve fazla miktarda bulunduğunda ilacın absorpsiyon bölgesinden uzaklaşmasına neden olur (Dos santos ve diğerleri, 2020; Cook ve Brown, 2018; Valenta, 2005).

2.2.2. Vajinal ilaç taşıyıcı sistemlerinin avantajları ve dezavantajları

Vajinal ilaç taşıyıcı sisteminin avantajları;

- Yoğun kan damar ağı sayesinde hem sistemik hem lokal ilaç uygulanması sağlanabilir (Machado, A. Palmeira-De-Oliveira, Martinez-De-Oliveira ve R. Palmeira-De-Oliveira, 2013),
- Vajina geniş yüzey alanına sahip olduğu için ilaçların sistemik etkisi için uygun bir yoldur (De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012),
- Uzun süreli salım sağlanabilir ve kontrollü ilaç uygulanabilir (Sahoo ve diğerleri 2013),
- Vajinal mukozanın yüksek geçirgenliği sayesinde düşük molekül ağırlıklı ilaçlar uygulanabilir (Carvalho ve diğerleri, 2021),
- Biyoyararlanımda artış sağlanır (Sahoo ve diğerleri 2013),
- Oral doza göre daha düşük dozlarda ilaç uygulaması sağlanır ve doz aralığı dalgalanması önlenir (Carvalho ve diğerleri, 2021),
- Geleneksel dozaj formlarına kıyasla formülasyonun vajinal mukoza üzerinde uzun süre kalmasını sağlayarak, ilacın dozlama sıklığının azaltılması ve dolayısıyla terapötik etkinliğinin artırılması sağlanabilir (Pitorre ve diğerleri, 2017)
- Gastrointestinal ilk geçiş metabolizmasının önüne geçilir (Valenta, 2005),
- Dozaj formunun kendi kendine kolay bir şekilde uygulanması ve kendiliğinden çıkarılabilmesi sağlanabilir (De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012),

- Gastrointestinal sıvılar ile temastan kaçınılır ve mide tahrişi önlenir (Valenta, 2005),
- İlacın bozulması en aza indirilir (Sahoo ve diğerleri 2013),
- Bulantı ve kusma gibi gastrointestinal yan etkiler ortadan kalkar (Deshkar ve diğerleri, 2020),
- Steroit, hormon yerine koyma tedavisi ve kontrasepsiyon amacıyla kullanılan ilaçların hepatik yan etkileri azaltılır (Vermani ve Garg, 2000).

Vajinal ilaç taşıyıcı sistemlerin dezavantajları;

- Cinsiyete özgüdür (Machado ve diğerleri, 2013),
- Hasta uyuncu sorunu (Deshkar ve diğerleri, 2020),
- Vajinal lümende tutulma problemi nedeniyle ilaç sızıntısı (Carvalho ve diğerleri, 2021),
- Bu yoldan sadece birkaç ilaç sınıfı uygulanabilmesi (Sahoo ve diğerleri, 2013),
- İlaç emilimini etkileyen vajinal epitel, pH ve östrojen miktarında döngüsel değişiklikler (Deshkar ve diğerleri, 2020),
- Adet döngüsü, menopoz ve gebelikte ilaç emiliminin etkilenmesi (Sahoo ve diğerleri, 2013),
- Kişisel hijyen (Machado ve diğerleri, 2013),
- Cinsel ilişkinin etkisi (Machado ve diğerleri, 2013),
- Bazı ilaçların vajinal pH'ya hassas olmasıdır (Sahoo ve diğerleri, 2013).

2.2.3. Vajinaya uygulanan ilaçlar

Vajinaya uygulanan ilaçların farmakolojik grupları

Vajinaya uygulanan ilaçlar farmakolojik gruplarına göre şöyle sıralanabilir (Vermani ve Garg, 2000; Cook ve Brown, 2018; Das Neves ve Bahia, 2006):

- Antibakteriyel ilaçlar: metronidazol, klindamisin, penisilin ve gentamisin
- Antifungal ve antiparazitler: ekonazol, ketokonazol, flukonazol, klotrimazol vb.
- Antiviral ilaçlar: asiklovir, sidofovir, dapivirin
- Antikanser ilaçlar: sisplatin, bleomisin

- Prostaglandinler: prostaglandin E2, PGE1 analogu misoprostol
- Spermisitler, mikrobisidler: nonoxynol-9, 5-Fluorourasil
- Hormon ve steroidler: progesteron ve estrogen, oksitosin, kalsitonin
- Peptit ve proteinler: insülin, LHRH agonistleri, İnsan Büyüme Hormonu,
- Aşılar, antijenler ve gen tedavisi

Vajinal yolun antibakteriyel, antifungal, antiviral, spermisid ajanlar, prostaglandinler ve steroidler gibi lokal olarak etkili ilaçların verilmesi için uygun olduğu kanıtlanmıştır (Acartürk, 2009; Sahoo ve diğerleri, 2013).

Vajina aynı zamanda geniş yüzey alanı, yüksek membran geçirgenliği ve geniş kan akışı sayesinde ilaçların sistemik uygulanmasında potansiyel bir alandır. Propranolol, oksitosin, misoprostol, kalsitonin, LHRH agonistleri, insan büyüme hormonu, insülin ve steroidler gibi bazı ilaçlar için parenteral yola göre iyi bir alternatif olmaktadır (Vermani ve Garg, 2000; Sahoo ve diğerleri, 2013).

Vajinaya uygulanan ilaçların farmasötik şekilleri

Vajinal uygulanan farmasötik ilaç şekilleri şöyle sıralanabilir (Hussain ve Ashan, 2005; Deshkar ve Palve, 2019; Johal ve diğerleri, 2016; Cook ve Brown, 2018):

- Yarı katılar (jeller, kremler ve merhemler),
- Vajinal halka, film,
- Vajinal supozituar ve ovül,
- Biyoadeziv sistemler (mikropartiküller, tabletler),
- Vajinal kapsül, tablet,
- Vajinal emülsiyon ve süspansiyonlar,
- Vajinal implantlar,
- Nanotaşıyıcılar (nanopartiküller, yarı katı nanopartiküller, lipozomlar, nanolifler, dendrimerler, nanoemülsiyonlar, mikroküreler).

Yukarıda sıralandığı gibi vajinaya uygulanan çeşitli farmasötik formlar mevcuttur. Vajinal enfeksiyonun tedavisi için en çok tercih edilen geleneksel topikal dozaj formları kremler, merhemler ve jeller gibi yarı katı preparatlardır.

Farmasötik dozaj formlarına ilaç uygulama yolunun lokal ya da sistemik etkili oluşuna göre karar verilir. Antibakteriyeller ve spermisitler gibi ilaçların lokal olarak uygulanması için, formülasyon vajinal kavite boyunca homojen olarak dağılmayı sağlamalıdır (Deshkar ve diğerleri, 2020). Hormon ve steroid gibi ilaçların sistemik olarak uygulanmasında seçilen farmasötik ilaç şeklinin ilacın vajinal epitelden geçmesi sağlanmalıdır (Hussain ve Ashan, 2005).

2.3. Mukoadezyon

Mukoadezyon, farmasötik bir dozaj formu ile mukozal epitel yüzeyini kaplayan mukus veya mukozal membran arasında meydana gelen etkileşimi ifade eder. Salgılanan mukus, mukusun kaynağına ve konumuna bağlı olarak glikoproteinler (müsinler), su, elektrolitler, epitel hücreleri, enzimler, bakteriler, bakteriyel ürünler ve diğer çeşitli materyallerden meydana gelir (Valenta, 2005; Boddupalli, Mohammed, Nath ve Banji, 2010). Müsinler, mukoza yüzeyi üzerinde viskoelastik bir koruyucu tabakayı oluşturan disülfür köprüleri ile birleştirilmiş yaklaşık 500 kDa alt birimlerinden oluşan yüksek miktarda suyu hapseden glikoproteinlerdir (Caramella ve diğerleri, 2015). Van der Waals ve hidrojen bağlarının oluşumunu kolaylaştıran birkaç karboksilik grupla anyonik bir yapıya sahip olan mukus sayesinde, mukoadezyon fizikokimyasal bir süreçten meydana gelir (De Lima ve diğerleri, 2017).

Mukoadezyon, vajinal mukozanın biyoadeziv yardımcı maddeler ile etkileşimidir ve bu da formülasyonun yüzey ile daha iyi temasını ve daha uzun süre kalmasını sağlar. Bu durum ilacın biyoyararlanımını iyileştirir. Formülasyon geliştirme aşamasında polimerik ekspanyanların katılması ile mukoadeziv özellik elde edilir (Caramella ve diğerleri, 2015; De Lima ve diğerleri, 2017). Mukoadeziv olarak kabul edilebilmesi için, polimerin; yüksek moleküler ağırlığına, polimer ve mukoza arasındaki iç içe geçişi sağlayan zincir esnekliğine, büyük miktarda su içeren, mukus ile güçlü yapışma sağlayan hidrofilik yapıya, dokuya hızlı yapışma özelliğine ve yüzeye özgü olma gibi bazı özelliklere sahip olması beklenir. Bununla birlikte katyonik polimerler, yapıları nedeniyle mukoadeziv olarak kabul edilirler (De Lima ve diğerleri, 2017). En yaygın mukoadeziv polimerler arasında karbomer ve polikarbofil gibi poliakrilik asit türevleri, sodyum karboksimetilselüloz (CMC), hidroksipropil selüloz (HPC), hidroksipropil metilselüloz (HPMC) gibi selüloz türevleri, kitosan ve

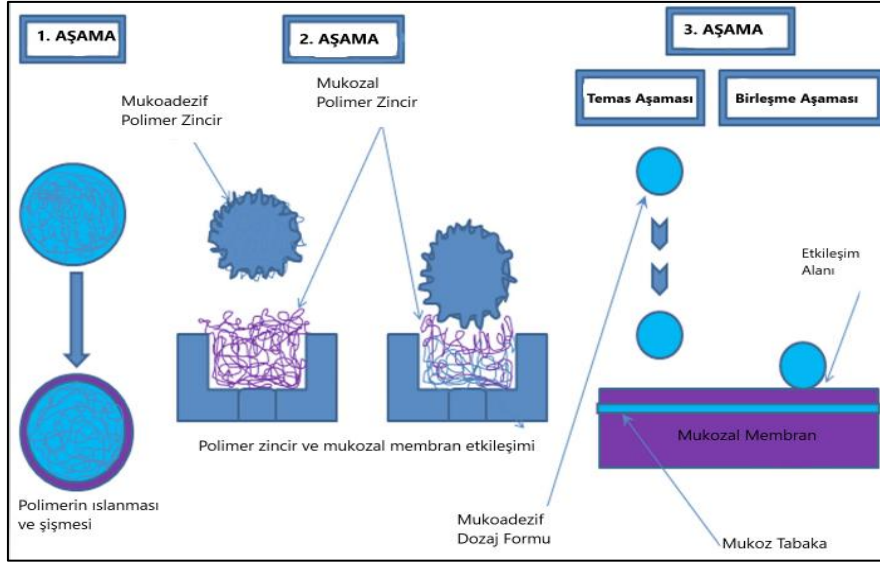
türevleri, hyaluronik asit ve türevleri, poli (etilen glikol), aljinat, karagenan, sülfatlanmış polisakkaritler ve zamklar yer almaktadır (Valenta, 2005; Acartürk, 2009).

Mukoadezif özellik, farmasötik dozaj formunun etki bölgesinde kalış süresini artırır. Mukoadezif dozaj formları, hedef organda artan kalış süresi, ilaç plazma konsantrasyonlarını ve ayrıca terapötik etkinliğin artırılmasında avantaj sağlayan ilaç şekilleridir (Valenta, 2005; Boddupalli ve diğerleri 2010).

2.3.1. Mukoadezyon mekanizmaları

Mukoadezyon mekanizmaları, temelde temas aşaması (birincil) ve birleşme aşaması (ikincil) olarak iki önemli aşamadan oluşmaktadır. Ana mekanizma mukoadezif bağın oluşumudur. İlk aşamada, mukoadezif dozaj formunun yerleştirilmesi sonucu yayılması ve mukoza üzerinde meydana gelen derin bir temasla polimer maddenin ıslanması ve şişmesi gerçekleşir. Temas aşaması, mukus tabakası ile derin temasını başlatan mukoadezif polimer ile mukozal membran arasındaki temas ile ifade edilir (Komati, Swain, Rao, Jena ve Dasi, 2019; Boddupalli ve diğerleri, 2010; Smart, 2005; Asati, Jain ve Choubey, 2019).

Birleşme aşamasında, mukoadezif malzemeler nem varlığı ile aktifleşir. Nem, mukoadezif moleküllerin serbestleşerek zayıf van der Waals bağları ve hidrojen bağları ile bağlanmasını sağlar. Mukoadezif polimer zincirleri ve mukozal tabaka, adezif bağların oluşumuyla etkileşime girer ve mukoadezif madde doku üzerinde nüfuz eder. Doku temasından sonraki her iki aşama da birleşme aşaması olarak kabul edilmektedir. Birleşme aşamasında kimyasal bağ etkileşiminde kovalent bağları, hidrojen bağları ve vander Waals bağları etkilidir (Komati ve diğerleri, 2019; Boddupalli ve diğerleri, 2010; Smart, 2005; Asati ve diğerleri, 2019) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Mukoadezyon mekanizmaları (Komati ve diğerleri, 2019)

2.3.2. Mukoadezyon teorileri

İki molekül arasında itme ve çekme kuvvetleri gibi etkileşim güçleri sonucu mukoadesyon oluşumu teorileri ile açıklanmaktadır. Mukoadesyon karmaşık bir süreçtir ve ilgili mekanizmaları açıklamak için çok sayıda teori ortaya atılmıştır. Mukoadesyon teorileri aşağıdaki şekilde sıralanır (Komati ve diğerleri, 2019; Asati ve diğerleri, 2019; Mansuri ve diğerleri, 2016; Smart, 2005; Khurana, Madhav ve Tangri, 2011; Boddupalli ve diğerleri 2010):

- **Elektronik teori:** Mukoadezif ve biyolojik yüzeylerin farklı yapıya ve elektrik yüklerine sahip olması ilkesiyle elektronik hipoteze dayandırılmaktadır. Teori, mukus ve mukoadesif polimer arayüzünde iki yüzey de birbirleriyle temas ettiğinde elektron transferi sonucunda iki katlı bir elektronik katman ve iki yüzey arası çekici kuvvetlerin oluşmasıyla açıklanmaktadır.
- **Adsorpsiyon Teorisi:** Adsorpsiyon teorisinde, mukoadesif materyal, vander Waals kuvvetleri ve hidrojen bağları gibi ikincil kimyasal etkileşimler veya hidrofobik etkileşimler gibi iki yüzeyin molekülleri arasında etki eden kuvvetler ile mukusa yapışır.
- **Islanma Teorisi:** Mukoadezif polimerin biyolojik yüzeye yakın temas oluşturma ve kendiliğinden yayılma yeteneği üzerine dayandırılmaktadır. Bu tür birleşme eğilimi oluşumunda en önemli parametre temas açısıdır. Temas açısı ne kadar

küçükse sıvı katı yüzey afinitesi o kadar büyüktür. İstenen yayılabilirliği sağlamak için temas açısının sıfıra eşit veya sıfıra yakın olması gerekir.

- **Difüzyon Teorisi:** Difüzyon teorisi, müsin ve polimer zincirlerinin yarı yapışkan bağ oluşturmasıdır. Bu amaçla mukoadezif polimer zincirlerinin mukus tabakasının glikoprotein zincir ağına zamana bağlı difüzyonunu söz konusu olur ve zincirler iç içe geçer. Polimer zincirlerinin penetrasyon hızı ile adezyon kuvvetin arttığı savunulmaktadır. Penetrasyon hızı, mukoadezif zincirlerin esnekliği, difüzyon katsayısı, temas süresi, hareketlilik gibi çeşitli parametrelere bağlıdır.
- **Kopma teorisi:** Bu teori, mukoadazyon ölçümü ile ilişkili çalışmalarda en iyi bilinen teorilerden biridir. Yapışma oluşumu tamamlandıktan sonra, her iki yüzeyi de ayırmak için gereken kuvveti ele alır.
- **Mekanik teori:** Mekanik teori, pürüzlü bir yüzeydeki düzensizliklerin mukoadezif bir sıvıyla temasından sonuçlanan yapışmayı dikkate alır. Ek olarak, bu tür düzensizlik, etkileşimler için mevcut arayüz alanını artırır.
- **Mukozal yerleştirilmiş vezikül teorisi:** Bu teori, spesifik mukozal epitelde absorpsiyonun varlığına işaret eder. Globüllerin mukoza ve mukozal bazal membran ile karşılıklı ilişki içerisinde olmasını ifade eder. Farmakolojik olarak aktif ilaçlar, vezikül içinde, mukozal tabakanın bazal membranına enine yayılma, yapışma veya kopma anında ilaç taşınmasında kan akışına girme eğilimindedir.

2.3.3. Mukoadazyonu etkileyen faktörler

Mukoadazyonu etkileyen faktörler aşağıda sıralanmıştır (Mansuri ve diğerleri, 2016; Komati ve diğerleri, 2019; Asati ve diğerleri, 2019);

- **Polimer ile ilgili faktörler:** Polimerlerin moleküler ağırlığı, konsantrasyonu, şişmesi, polimer zincirlerinin esnekliği, hidrofilitiklik.
- **Çevre ile ilişkili faktörler:** Polimer substrat arayüzünün pH'sı, fonksiyonel güç ve ilk temas süresi.
- **Fizyolojik faktörler:** Hastalık durumu ve müsin miktarı.

2.3.4. Mukoadezif vajinal uygulanan ilaç şekilleri

Mukoadezif ilaç taşıyıcı sistemler, dozaj formunun absorpsiyon bölgesi ile yakın temasını sağlayarak uygulama bölgesinde kalış süresini uzatır. Böylece ilacın terapötik etkinliğini iyileştirir. Son yıllarda oral, bukkal, nazal, rektal ve vajinal yollar için hem sistemik hem de lokal etkili birçok mukoadezif ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir (Boddupalli ve diğerleri 2010).

Mukoadezif vajinal ilaç taşıyıcı sistemleri, aşağıdaki şekilde kategorize edilmiştir (Acartürk, 2009; Caramella ve diğerleri 2015; Boddupalli ve diğerleri 2010);

- 1) Mukoadezif jeller ve merhemler
- 2) Mukoadezif tabletler
- 3) Mukoadezif filmler
- 4) Emülsiyon tipi mukoadezif sistemler
- 5) Pesariler, halkalar veya fitiller
- 6) Nanopartikül taşıyan sistemler

Vajinal boşluk, terapötik maddelerin kontrollü veya sürekli olarak uygulanmasında pürüzsüz ve geniş yüzey alanı, geçirgenliği ile mukoadezif dozaj formunun kullanımı için uygundur. İlacın vajinal mukoza yoluyla verilmesinde biyoadezif yarı katılar, ilacın vajinal bölgede kalış süresini uzatır ve biyoyararlanımı iyileştirir. Ayrıca, uygun bir aplikatör kullanılarak mukozaya kolayca uygulanabilir ve vajinal mukoza içinde uzun süre tutulur. Vajinaya uygulanan mukoadezif dozaj formları, geleneksel oral dozaj formlarına göre birçok özelliği sayesinde tercih edilmektedir (De Araujo Pereira ve Bruschi, 2012).

Sürekli salım yapan vajinal dozaj formunun geliştirilmesi ile ilacın uzun bir sürede salınması sağlanabilir, ancak bu, sürekli terapötik etki elde etmek için yeterli değildir. İlacın salındığı bölgede uzun süre kalması, absorpsiyon bölgesinden temizlenmemesi gerekir. Mukoadezif dozaj formu hem sürekli salım sağlar hem de absorpsiyon bölgesinde dozaj formunun uzun süreli kalışına olanak sağlar (Boddupalli ve diğerleri, 2010).

Mukoadezif vajinal ilaç taşıyıcı sistemleri arasında en yaygın kullanılan ilaç şekli jellerdir. Özellikle jinekolojik tedavide tasarlanmış ilaçlardan mukoadezif jeller, aktif bileşen ile vajinal mukoza arasında uzun süreli temasını ve aktif bileşenin zaman içinde kontrollü olarak salınmasını sağlamaktadır. Böylece iyileştirilmiş ilaç etkinliği ve hasta uyuncu açısından ideal bir mukoadezif vajinal ilaç şekli tasarlanmış olmaktadır (Tuğcu-Demiröz, 2009).

Mukoadezif vajinal uygulanan formülasyonlar arasında jellerin üretimi kolaydır ve mukus yüzeyine yayılma ve vajinal mukoza ile yakın bir temas sağlama yetenekleri ile tercih edilebilirler. Mukoadezif formülasyonlar ilacın vajinal mukoza ile temas süresini ve mukozadan geçirgenliğini artırmaktadır. Bu durumda formülasyonun kaybını geciktirmekte ve terapötik etkiyi uzatabilmektedir (Acartürk, 2009).

2.3.5. Vajinal mukoadezif ilaç sistemlerin avantajları ve dezavantajları

Mukoadezif vajinal sistemlerin temel avantajları aşağıdaki gibidir (Acartürk, 2009; Mansuri ve diğerleri, 2016; Boddupalli, 2010):

- Düşük üretim maliyetleri,
- Sulu veya organik çözücülerden kaçınma,
- Aplikatör kullanmaya gerek kalmadan kendi kendine uygulama kolaylığı ve hasta uyuncunun artırılması,
- Gastrointestinal asidik ortamda ilaç bozulmasının önlenmesi,
- İlk geçiş metabolizmasının önlenmesi ve ilacın biyoyararlanımında artış,
- Vajina boşluğundan ilacın kontrollü salınması,
- Vajinada uzun süre kalış süresi ile ilacın emiliminin artırılması ve terapötik etkinliğinde artış sağlanması,
- Kimyasal ve fiziksel stabilitenin geliştirilmesi,
- Dozaj formunun belirli bir bölgede hedeflenmesi ve lokalizasyonu,
- Mukoadezif sistemlerin dozaj formu ile mukoza arasında yakın temas ve dokuda yüksek ilaç akışını sağlamasıdır.

Mukoadezif vajinal sistemlerin dezavantajları aşağıdaki gibidir (Khurana ve diğerleri, 2011):

- Bazı ilaçların uzun süreli kalışı nedeniyle lokal ülser etkilerinin ortaya çıkması,
- Mukozal uygulamalar için uygun ilaçları tanımlamak için in vitro testler için iyi bir modelin olmaması,
- Tahriş hissi açısından hasta uyuncu sorunu olmasıdır.

2.4. Organojel Sistemleri

İlaçların topikal uygulanmasında farmasötik teknolojide birçok ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Mevcut topikal uygulamalarda son yıllarda, uygulama kolaylığı ve daha iyi emilim özellikleri sayesinde jeller üzerine araştırmalar yapılmaktadır (Sreedevi, Ramya ve Vedha, 2012). Jeller, katı bileşen olan jel yapıcı madde molekülleri ile sıvı sürekli fazın hareketini engelleyerek birbiri ile bağlantılı kümeleşmiş üç boyutlu ağ yapısında yarı katı preparatlardır (Almdal, Hvidt ve Kramer, 1993). Organojeller, hidrojjeller, emülsiyon jeller, bijeller gibi araştırılmış çeşitli polimerik jel kategorileri vardır (Ajazuddin ve diğerleri, 2013). Jeller, çözücünün doğasına bağlı olarak hidrojjeller veya organojeller olarak sınıflandırılabilir. Hidrojjeller hidrofilik çözücüler içerirken, organojeller sürekli fazları olarak organik bir çözücüye sahiptir (Sreedevi ve diğerleri, 2012; Esposito, Kirilov ve Roullin, 2018). Etkin madde ve polimerlerin suda çözünmesi ile hazırlananlara hidrojel sistemler, alkol veya mineral yağlar gibi diğer organik sıvıların kullanılmasıyla hazırlananlara ise organojel sistemler denir (Arslan, 2016).

Organojeller, jel yapıcı madde, polar olmayan çözücü ve bir polar çözücü içeren yarı katı preparatlardır (Sreedevi ve diğerleri, 2012). Düşük konsantrasyonlarda jel yapıcı madde moleküllerinin kendiliğinden birleşmesiyle oluşmakta ve bir araya gelen moleküller birbirine dolaşan genellikle uzun lifler halinde yapılar meydana getirmektedirler. Bu şekilde, sıvı büyük ölçüde hareketsiz hale gelmektedir (Terech ve Weiss, 1997). Polar ve polar olmayan çözücünün eklenmesi, ters misellerin büyümesi sonucu üç boyutlu ağ oluşumu gözlenir (Sreedevi ve diğerleri, 2012). Bu viskoelastik sistemler üç boyutlu bir ağ içinde hareketsiz hale getirilmiş, organik bir

çözücü, bir mineral veya bitkisel yağ gibi sürekli bir sıvı fazdan meydana gelmiştir (Esposito ve diğerleri, 2018).

Kimya, ilaç, kozmetik, biyoteknoloji ve gıda teknolojisi dahil olmak üzere çok çeşitli uygulama alanları vardır. Organojeller, transdermal, oral ve parenteral gibi çeşitli yollarla ilaç uygulama şekli olarak kullanılırlar. İlaç taşıyıcı sistem olarak kullanımları, seçilen organik çözücülerin toksisitesi nedeniyle sınırlandırılabilir. Son zamanlarda organojel sistemler biyo-uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir organik çözücü ve organojel yapıcı maddeler ile hazırlanarak çeşitli biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda kullanılmıştır (Esposito ve diğerleri, 2018; De Francisco ve diğerleri, 2019; Cerqueira ve diğerleri, 2017; Vintiloiu ve Leroux, 2008).

Organojel formülasyonlarında yaygın olarak bilinen organik çözücüler genellikle hekzan, sikloheksan, alken skualen gibi alkanlar ve aynı zamanda mineral ve bitkisel yağlardır. Kullanılan mineral ve bitkisel yağlar ayçiçek yağı, soya fasulyesi yağı veya izopropil miristat ve orta zincirli trigliseritler gibi biyoyumlu çözücülerdir (İbrahim ve diğerleri, 2013; Esposito ve diğerleri, 2018). Son yıllarda araştırılan bitkisel yağlar, kakao yağı, mango yağı gibi çeşitli biyoyumlu bileşenler; farmasötik ve biyomedikal kullanım için matrisler olarak organojeller için yeni alternatif oluşturmuştur (Esposito ve diğerleri, 2018). Organojel bileşeni olarak kullanılan maddeler aynı zamanda bilinen penetrasyon artırıcılardır. Yağ asitleri, yüzey aktif maddeler, alkoller, üre, sülfoksitler, uçucu yağlar, terpenler ve glikoller örnek olarak verilebilir. Penetrasyon artırıcı özelliklerinden dolayı en çok tercih edilen oleik asit olmak üzere çeşitli doymuş ve doymamış yağ asitleri organojel formülasyonlarının bileşeni olarak kullanılmaktadır (Vintiloiu ve Leroux, 2008).

Kozmetik/farmasötik alanda topikal kullanımı olan organojeller yağlı sistemlerdir ve lipofilik ajanları çözme yetenekleri iyidir (Lupi ve diğerleri, 2016).

1988'den beri organojellerin ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması olasılığının araştırılmasında bir artış olmuştur. Organojel sistemlerin, uzun raf ömrü, kimyasal madde ilave edilmeden güçlü penetrasyon yeteneği, kolay bir şekilde hazırlanabilmesi ve hem hidrofilik hem de lipofilik terapötik ajanların formüle edilebilmesi özellikleri sayesinde çeşitli taşıyıcı sistemlerde kullanım alanını

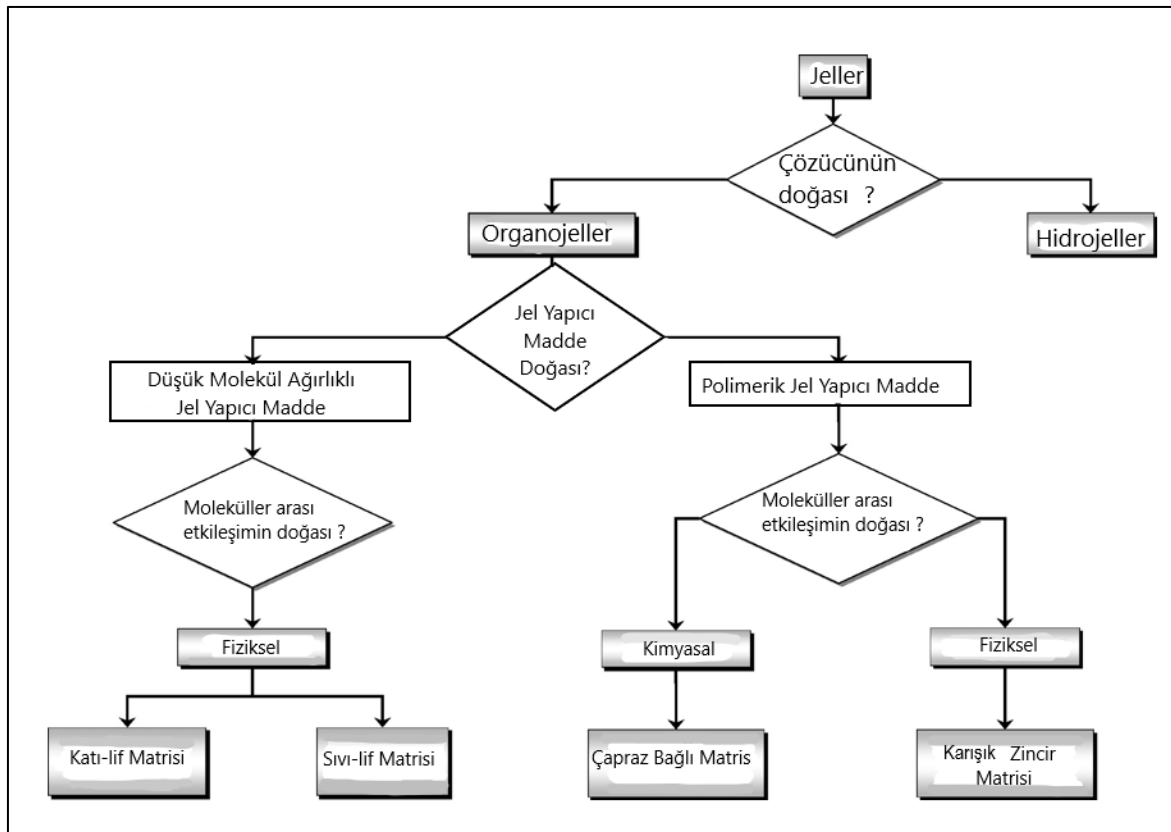
genişletmiştir. Organojellere olan ilgi son yıllarda özellikle farmasötik alanda oldukça artmıştır (Gopalan ve Jose, 2020; Sahoo ve diğerkleri, 2011).

2.4.1. Organojel mekanizması

Organojel formülasyonlarında heksan, izopropil miristat, ayçiçek yağı gibi polar olmayan ler penetrasyon artırıcı görevi görür. Organojellerin penetrasyonunda yer alan adımlar şunları içerir (Sreedevi ve diğerkleri, 2012);

1. Penetre olacağı mukozal yüzeyde ince film oluşturur.
2. İlaç taşıyıcı sistemde lr, yüzeyde penetre olur ve difüzyon gerçekleşir.

2.4.2. Organojellerin sınıflandırılması



şekil 2.3. Organojellerin sınıflandırılması (Vintiloiu ve Leroux, 2008)

Jelleşme matrisinin oluşumuyla sonuçlanan süreç, jel bileşenlerinin moleküler etkileşimlerine ve bunların fizikokimyasal özelliklerine bağıdır. lerin, jel yapıcı maddelerin ve moleküller arası etkileşimlerin doğasına bağılı olarak kabul

gören çeşitli jel sınıflandırmalarının derlendiği bir akış şeması Şekil 2.3'te verilmektedir. Organojeller, ağırlıklı olarak organik sürekli fazlarıyla hidrojellerden ayırt edilebilir ve daha sonra polimerik veya düşük moleküler ağırlıklı jel yapıcı madde olmak üzere jelleşen molekülün doğasına göre daha da alt sınıflara ayrılır. Polimerler, sırasıyla kimyasal ve fiziksel jeller için çapraz bağlı veya karışık zincirlerden oluşan bir ağ oluşturarak organik çözücüyü hareketsiz hale getirir. Fiziksel etkileşimler sonucu düşük molekül ağırlıklı jel yapıcı madde molekülleri ve çözücünün kendiliğinden birleşmesi ve jelleşmesi sonucu uzun agregatların oluşumu gözlenir. Agregatların kinetik özelliklerine bağlı olarak, düşük molekül ağırlıklı organojelleri arasında katı (veya güçlü) ya da sıvı (veya zayıf) lif ağlardan oluşanlar şeklinde sınıflandırma yapılabilir (Vintiloiu ve Leroux, 2008).

2.4.3. Organojel sistemlerin avantajları ve dezavantajları

Organojel sistemlerin avantajları aşağıda belirtilmiştir (Sreedevi ve diğerleri, 2012);

- Hazırlanması kolaydır.
- Az sayıda bileşen olduğundan maliyeti azdır.
- Raf ömrü uzundur.
- Termodinamik olarak stabildir.
- Hem hidrofobik hem de hidrofilik bileşenlerden oluştuğu için hem hidrofobik hem de hidrofilik ilaçlar için uygundur.
- Organik çözücüler doğal kaynaklı seçilebilir.

Organojel sistemlerin dezavantajları aşağıda belirtilmiştir (Sreedevi ve diğerleri, 2012);

- Polar olmayan çözücülerin bazıları toksisiteye sebep olabilir.
- Yenilebilir yağlar ve daha az toksik penetrasyon artırıcıların kullanımıyla iyileştirilebilen stabilite sorunları gözlenebilir.

2.4.4. Organojellerin hazırlanması

Organojellerin hazırlanması oldukça kolaydır (Shakeel ve diğerleri, 2019). Organojel sistemleri, yağ fazının jelleşmesi (yani organo-jelleşme), üç boyutlu (organo) jel yapıcı madde ağının oluşumu nedeniyle polar olmayan sıvıları yumuşak katılara dönüştürmek için etkili ve ilgi çekici bir yol olarak kabul edilmiştir. Tekli jelleştirici sistemlerin yanı sıra, jelleşmiş sistemin özelliklerini değiştirmek için farklı jelleştiricilerin kullanışlı özelliklerini birleştirerek çok bileşenli organojeller de hazırlanabilir (Shakeel, Farooq, Gabriele, Marangoni ve Lupi, 2021) Üç boyutlu jel yapıcı madde molekülleri ağı, yağ fazını fiziksel olarak hapsederek viskoelastik bir jel oluşturur (Shakeel ve diğerleri, 2019).

Yenilenebilir ve elde edilmesi kolay olan doğal kaynaklar endüstrilerin yeni kaynak arayışında önde gelmektedir. Özellikle tohum artıklarından elde edilen bitkisel yağlar, organik ürünlerin sentezi ve geliştirilmesinde hammadde olarak öne çıkmaktadır. Organojelleri hazırlanmasında çok çeşitli organik çözücüler ve jel yapıcı maddeler kullanılmaktadır (De Francisco, 2019).

Organojeller, yağ fazındaki küçük moleküllerin (yani tipik olarak yenilebilir yağ) birleşmesiyle veya polimerlerin herhangi bir başka çözücü içinde çapraz bağlanması / kendi kendine birleşmesi ile hazırlanabilir (Shakeel ve diğerleri, 2021).

De Francisco ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada farmasötik uygulama çarkıfelek meyvesi tohumlarının yağı ve Poloksamer 188 kullanılarak organojel formülasyonu hazırlanmış ve reolojik ve mekanik özellikler açısından değerlendirilmiştir (De Francisco ve diğerleri, 2019).

Oganojellerin topikal uygulama için potansiyel taşıyıcı sistemlerden biri olduğu gösterilmiştir. Diğer lipit bazlı taşıyıcı sistemlerle karşılaştırıldığında, bunların etkinlik, fizibilite ve raf ömrü açısından daha iyi olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle ilaç moleküllerinin organojeller gibi yeni formülasyonlarını geliştirmek uygun maliyetli ve uygulanabilir olmaktadır. Bu taşıyıcı sistem, topikal uygulama alanında önem arz etmektedir (Sreedevi ve diğerleri, 2012).

2.4.5. Vajinal ilaç taşıyıcı sistemleri olarak organojeller

Vajinal ilaç uygulanmasında ilacın vajinal yüzeye yetersiz yayılması, düşük ilaç penetrasyonu, vajinanın kendi kendini temizlemesi gibi nedenlerle ilaç kaybı ve terapötik etkinin sağlanamaması durumlarında dozlamının artırılması gerekmektedir. Günlük dozun artırılması, hasta uyuncunun azalması ve tedavi masraflarının artması gibi sonuçlar doğurmaktadır. İdeal bir vajinal ilaç taşıyıcı sistem vajinal kavite boyunca eşit olarak dağılmalı, uygulama bölgesinde uzun süre kalmalı ve lokal yan etkilere neden olmadan kontrollü olarak ilaç salımını sağlamalıdır. Vajinal ilaç uygulanmasında karşılaşılan bu sorunların ve dezavantajların üstesinden gelmek ve ideal vajinal ilaç uygulanmasını sağlamak için son yıllarda yeni yaklaşımları geliştirilme ihtiyacı duyulmuştur. Çeşitli jel formülasyonları geliştirilerek in situ hidrojel, polimerik hidrojel ve organojeller üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Pandey ve diğerleri, 2021).

Son yıllarda, vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde antifungal ajanların veziküler ilaç uygulama sistemleri için nanopartikül bazlı taşıyıcılar ve yerinde jelleşme sistemleri gibi yeni yaklaşımlar üzerinde durulmaktadır. Vulvovajinal kandidiyazisin lokal tedavisinde kullanılmak üzere nanofiberler, polimerik jeller, polimerik organojeller, mikro/nanoemülsiyonlar, yerinde jelleşen sistemler, polimerik filmler, katı lipid nanopartiküller gibi pek çok yenilikçi vajinal ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilmektedir. Bu sistemler, hedeflenen ilaç uygulanması ve salımı, ilacın bozunmaya karşı korunması ve daha iyi ilaç çözünürlüğü ve biyoyararlanımı gibi çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Bu yenilikçi sistemler, ilacı bir depo işlevi görerek doz azaltma ve hasta uyuncunu artırma ile zaman içinde ilaç salımını uzatırlar. Ayrıca, vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde kullanımı olan vorikonazol gibi lipofilik suda çözünürlüğü düşük antifungal etkin maddelerin vajinal yoldan uygulanmasına olanak sağlayan yenilikler sunmaktadır (Chindamo, Sapino, Peira, Chirio ve Gallarate, 2021).

Farklı vajinal enfeksiyon türleri için vajinal ilaç uygulanmasında mukoadhezif polimerik yaklaşım olan organojel üzerine araştırmacılar tarafından yapılan çeşitli çalışmalar verilmiştir.

Ilomuanya ve diğerkleri yaptıkları çalışmada, HIV'in profilaksisi için bir antiretroviral ilaç olan maravirok (MRV)'un vajinal yolla uygulanması amacıyla bir palm yağı/hyaluronik asit bazlı organojel geliştirmişlerdir. Hidrofobik karakterde bir ilaç olan MRV'nin organojel vajinal taşıyıcı sisteminin geliştirilmesi, hidrofilik bir matris olan hidrojel taşıyıcı sistemin aksine MRV'nin salımını iyileştirmiştir. MRV'nin hyaluronidaz varlığında salım yüzdesi, hyaluronidaz yokluğundakinden 2,5 kat daha yüksek bulunmuştur. İn vitro etkinlik analizine dayalı olarak, organojel ile tedavi edilen hücrelerde düşük HIV enfektivitesi gözlemlenmiştir. Optimize edilmiş organojelin, *Lactobacillus crispatus*'un canlılığını koruduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca, in vitro sitotoksisite testine göre, organojel formülasyonu sitotoksik bulunmamıştır. Bu çalışmada, hyaluronik asit/palm yağı bazlı organojelin güvenli ve mukoadhezif olabileceği öne sürülmüştür ve vajinal yoldan kullanılabileceğine dair gelecek çalışmalara kanıt oluşturmuştur (Ilomuanya ve diğerkleri, 2020).

Querobino ve diğerklerinin, yaptıkları çalışmada, *C. albicans* kaynaklı vajinal enfeksiyonların tedavisinde VZ'nin lokal uygulanması amacıyla organojel bazlı formülasyonlar geliştirilmiştir. Yağ fazı olarak oleik asit (OA), su fazı olarak poloksamer (PL) 407 hidrojel tek başına veya poloksamer (PL)188 ile birlikte kullanılmış ayrıca sulu faz olarak %0,25-1 sodyum aljinat (SA) içeren poloksamer denenmiştir. Su fazına yağ fazının eklenmesi ile VZ içeren organojeller hazırlanmıştır. Vorikonazol içeren OA-PL407 formülasyonunun 0,5 ile 4 saat arasında etkin maddeyi hızlı bir şekilde saldığı gözlenmiştir (24 saate kadar ~%100). SA'nın organojellere eklenmesi, %0,25 SA (~%75), %0,5 SA (~%55) ve %1 SA (~%35) için farklı salım yüzdeleriyle VZ salımını değiştirmiştir. OA-PL407-188-SA organojelleri, yüksek in vitro antifungal aktiviteleri ve düşük sitotoksisiteleri sayesinde gelecek vaat eden vajinal organojel formülasyonu olarak gösterilmiştir. Bu çalışmanın bulguları, OA-PL407-188-SA vorikonazol organojellerinin gelecekteki vajinal uygulamalarda kullanılmak üzere yeni ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabileceğini kanıtlamıştır (Querobino ve diğerkleri, 2019).

Singh ve diğerkleri, metronidazolün vajinal uygulanması için sorbitan monostearat-susam yağı organojeli ve Carbopol 934 hidrojel kullanılarak hazırlanan bijellerin geliştirilmesi amacıyla mukoadhezif özelliklerini araştıran farklı bir çalışma tasarlamıştır. İlaç yüklü jeller, *Escherichia coli*'ye karşı iyi bir antimikrobiyal etkinlik

göstermiştir. Sonuçlar, floresan mikroskobu ile incelendiğinde dış faz olarak Carbopol 934 hidrojel ve dağılmış fazın damlacıkları olarak sorbitan monostearat-susam yağı organojeli ile su içinde yağ tipi emülsiyon jelinin oluşumunu göstermiştir. Hidrojel ve organojel kombinasyonu, reolojik olarak değerlendirildiğinde vajinal uygulama sırasında kolayca yayılmasını sağlayan daha yüksek bir kesme hızı ile viskozitenin azaldığı gözlenmiştir ve viskoelastik yapı sergilemiştir. In vitro salım deneyleri, bakteriyel vajinozis tedavisi için tercih edilen ilaç olan metronidazol yüklü hidrojel ve organojelden oluşan bijellerde difüzyon aracılı ilaç salımını göstermiştir. Özetle, geliştirilen bijeller, ilaçların vajinal yolla verilmesi için taşıyıcı sistem olarak kullanılabileceğini kanıtlamıştır. Ek olarak, vajinal yolla bakteriyel enfeksiyon tedavisi için potansiyel bir yaklaşım içeren, piyasada patentli Metrogyl® jel ile karşılaştırıldığında geliştirilen bijellerin antifungal etkinliğinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (Singh ve diğerleri, 2014).

Vajinal yenilikçi jel sistemleri üzerine yapılan başka bir çalışmada, tenofovir etkin maddesi kullanılarak guar zımkı ve susam yağı ile organojel formülasyonu hazırlanmıştır. Sürfaktanlar (Span®60 ve Tween®60) yardımıyla iki faz belli oranlarda karıştırılarak bijel formülasyonları oluşturulmuştur. Jellerin TA-XT Plus Texture Analyzer ile susam yağı içeriğine göre en düşük guar zımk hidrojelı içeren formülasyonun adezifliği ve biyoadezyonu en yüksek bulunmuştur. Sitotoksisite çalışmasında herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir. Salım profillerine bakıldığında istenen kontrollü salımın gerçekleştiği görülmüştür. Adezyonu en iyi olan formülasyon 120 saatte %100 salımı gerçekleştirmiştir. Geliştirilen organojel formülasyonun en uzun mukoadesyon süresi ve iyi kontrollü salım özellikleriyle kadınlarda HIV'in cinsel yolla bulaşmasının önlenmesinde etkili bir alternatif olabileceği gösterilmiştir (Martín-Illana ve diğerleri, 2019).

2.5. Kullanılan Yardımcı Maddeler

2.5.1. HPMC (hidroksi propil metil selüloz)

Hidroksi propil metil selüloz (HPMC), farmasötik ve gıda formülasyonlarında yaygın olarak kullanılan temel selüloz türevlerinden biridir. HPMC, metil (hidrofobik) ve hidroksipropil (hidrofilik) fonksiyonel gruplarının anhidroglukoz yapı birimine

eklenmesiyle oluşan noniyonik bir selüloz türevidir. HPMC, potansiyeli olan jel formülasyonuna jel kuvvetini geliştirmek için yardımcı bir madde olarak eklenebilir (Jiang, Zhang ve Li, 2020).

Bu polimer moleküler ağırlık, viskozite ve kimyasal sübstitüsyona göre farklılık gösteren selüloz ailesi üyesidir (Jiang ve diğerleri, 2020; Punitha, Uvarani ve Panneerselvam, 2020; M. Larsson, Viriden, Stading ve A. Larsson, 2010). Bu tür farklılıklar, formülasyonda viskozite ve çözünürlük gibi kritik parametrelere etkisi sayesinde istenilen polimer özelliklerine sahip polimer seçimine olanak sağlar. Arzu edilen özelliklere sahip bir polimer farklı viskozite ve sübstitüsyon derecelerine göre seçilebilir. Örneğin metoksi grubu, hidroksipropoksiden daha hidrofobiktir ve iki ikame edicinin miktarı değiştirilerek, farklı çözünürlüklerde polimer elde edilir (Larsson ve diğerleri, 2010).

HPMC, uluslararası kabul görmüş mükemmel stabilitesi ve pH'tan bağımsız performansı, çok yönlülüğü ve ilaçların salım profilleri için uygunluk özellikleri ile hidrofilik matris olarak en çok tercih edilen polimerlerden biridir (Gafitanu ve diğerleri, 2017).

Günümüzde yaygın kullanımı Hipromelloz olarak bilinen HPMC, polimer selülozun sentetik modifikasyonu ile üretilir ve insanlarda güvenli kullanımı ile çok çeşitli farmasötik ve gıda ürünlerinde yardımcı madde olarak kullanılmaktadır (Al-Tabakha, 2010). Viskozite artırıcı ajan, kaplama polimeri, jellerde biyoadhezif polimer, katı dispersiyonda çözünürlüğü artırıcı, tabletlerde granülasyon sürecinde bağlayıcı, süspansiyonlarda süspansiyon ajanı ve kontrollü salım sistemlerinde modifiye edilmiş salım formülasyonlarında salım geciktirici olarak kullanımı ile farmasötik teknolojide uygulamaları kanıtlanmıştır (Al-Tabakha, 2010; Tuğcu-Demiröz, 2009). HPMC çeşitli ilaç taşıyıcı sistemlerinde bir bağlayıcı, dağıtıcı ajan, biyoyararlanım artırıcı olarak ve kapsül oluşturma materyali olarak da kullanılmaktadır. Birbirine bağlı, suyu tutan ve böylece mükemmel bir hidrofilik jel oluşturan polimer görevi gören polimerik birimlerden oluşur. Su ile temas ettiğinde şişer, genişler ve ilacın kontrollü bir şekilde salımını sağlar ve viskoz jel oluşturur (Guarve ve Kriplani, 2021).

HPMC, hidrofilik jel matrisi olarak farklı farmasötik ürünlerin formülasyonunda da kullanılmaktadır. HPMC gibi suda çözünür selüloz eterler, hidrofilik matris oluşturan bileşenler olarak etkilidir (Punitha ve diğerleri, 2020). Farmasötik alanda, selüloz eterler genellikle ilaç salımı için hız kontrol ajanları olarak da kullanılır ve bu nedenle film kaplamaları ve tablet preparatları gibi çeşitli formülasyonlara katılır ve uzatılmış salımlı formülasyonlarda kullanılmaktadır (Larsson ve diğerleri, 2010).

HPMC, vajinal ilaç taşıyıcı sistemlerinde, terapötik etkinliği sağlayabilecek kadar ilacın vajinal mukoza ile uzun süreli temasını ve kontrollü bir ilaç salımını sağlamak amacıyla çeşitli türlerde kullanılan sentetik polimerler arasındadır. Mukoadezif özellikleri sayesinde genellikle vajinal ilaç taşıyıcı sistemlerinin bileşenleri olarak, jeller veya viskoz sıvılarda, ayrıca tabletlerde ve mikro veya nanopartiküllerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Osmalek ve diğerleri, 2021).

HPMC mukoadezif özelliği ile uygulanan dozaj formunun vajinal mukozaya iyi yapışmasını sağlar ve doz sıklığının azaltılması, hasta uyuncunun artırılması, arzu edilen tedavi etkinliğinin sağlanması gibi sonuçlarla vajinal ilaç taşıyıcı sistemlerinde yardımcı madde olarak rol oynar (Bilensoy, Rouf, Vural, Sen ve Hincal, 2006).

Rençber ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, HPMC, mukoadezif gücü, iyi şişme özellikleri, düşük toksisitesi, düşük tahriş ediciliği, diğer kimyasallarla uyumluluğu ve vajinal pH'deki stabilitesi özellikleri ile klotrimazolün jel formülasyonunun geliştirilmesinde mukoadezif özelliği artırmak ve formülasyonu iyileştirmek amacıyla seçilmiştir (Rençber ve diğerleri, 2017).

Tuğcu Demiröz ve diğerlerinin yaptığı çalışmada hazırlanan jel formülasyonlarının mukoadezif özellikleri, her bir formülasyon ile vajinal mukoza arasındaki bağın kopması için gereken ayırma kuvvetinin değerlendirilmesiyle TPA cihazı ile incelenmiştir. Bu formülasyonlarda mukoadezif jel hazırlanması için iyi biyoadezif özellikli HPMC, kitosan, carbopol ve poloxamer polimerleri kullanılmıştır. HPMC içeren formülasyonların mukoadezyon işi diğer polimerlerle hazırlanan formülasyonlara göre daha yüksek bulunmuştur. HPMC K100M'nin en iyi mukoadezyon özelliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar, HPMC'nin vajinal

ilaç taşıyıcı sistemleri için en uygun mukoadezif polimer olabileceğini desteklemiştir (Tuğcu-Demiröz, Acartürk ve Özkul, 2015).

Bilensoy ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada klotrimazol (%1), Pluronik F127 (%20) içeren Carbopol 934 veya HPMC polimeri kullanılarak vajinal hidrojel formülasyonları hazırlanmıştır. Klotrimazolün çözünürlüğünü arttırmak için β -siklodekstrin içeren bir inklüzyon kompleksi kullanılmıştır. Klotrimazol kompleksinin hidrojellerden salımı kontrollü olarak uzattığı ve aktif bileşeni uzun süreli olarak saldığı gözlenmiştir. Ayrıca, carbopol bazlı jellerde çökme gözlenirken HPMC bazlı jeller stabil ve homojen kalmıştır. Çalışmanın sonuçları, vajinal ilaç taşıyıcı sistemi açısından HPMC bazlı hidrojellerin kullanılmasının uygulama bölgesinde daha uzun kalış süresi sağlayarak ilacın kontrollü olarak salımı ve yüksek terapötik etkinliğini kanıtlamaktadır (Bilensoy ve diğerleri, 2006).

Başka bir çalışmada butokonazol nitrat yüklü bir antifungal vajinal sünger farklı polimerler (kitosan, jelatin, HPMC ve Carbopol 934) kullanılarak liyofilizasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. İlaç salım hızı, mukoadazyon, kalış süresi ve şişme indeksinin değerlendirilmesi ile en uygun süngerin kitosan: HPMC (1: 1)'den oluştuğu bulunmuştur. Sonuç olarak, bu mukoadezif sistemin, piyasada bulunan diğer vajinal dozaj formlarına kıyasla, daha uzun kalış süresi ve daha iyi hasta uyuncu özellikleri ile vajinal antifungal tedavide umut verici bir alternatif olabileceği gösterilmiştir (Shaker, Ismail, Hamed ve El-Shishtawy, 2018).

Başka bir çalışmada vajinal lezyonların tedavisi amacıyla, poliakrilik asit, metil selüloz, karboksi metil selüloz, hidroksi propilselüloz ve HPMC kullanılarak asiklovir içeren vajinal biyoadezif tabletler hazırlanmıştır. Biyoadezif polimer olarak poliakrilik asit türevi Carbopol 934 ve HPMC kullanılan tabletlerin, laktik asit çözeltisi ve distile suda 6 saat boyunca şiştiği ve etkin madde salımının sekiz saatten uzun sürdüğü görülmüştür (Genç, Oğuzlar ve Güler, 2000).

Carbopol 934-HPMC bazlı bir jel formülasyonunun vajinal ilaç taşıyıcı sistemi olarak uygulanabilirliğinin değerlendirildiği bir çalışmada insan vajinal mukusunu simüle etmek için vajinal sıvı simülanı (VFS) kullanılmıştır. Carbopol-HPMC jel sisteminin ve VFS'nin viskozitesi, bir koni ve plaka viskozimetre kullanılarak incelenmiştir.

Carbopol jelin sıçan vajinal membranının konformasyonel değişiklikleri üzerindeki etkisi, diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) kullanılarak incelenmiştir. Sistemin pH'ı 4,0'dan 6,0'a yükseldikçe carbopol jelin viskozitesi artmıştır. HPMC jelinin viskozitesi, sistemin pH'sından bağımsız olarak değişmemiştir. Sisteme HPMC (%0,5-1.5) eklendiğinde carbopol jelin viskozitesi önemli ölçüde artmıştır. Optimal viskozite değeri (1.5-2.0 p), %1,0-1.5 HPMC varlığında %1,0-1.5 carbopolde (pH 4,0) elde edilmiştir. DSC çalışması, carbopol jelin iyi biyouyumluluk gösterdiğini ve sıçan vajinal membranında herhangi bir konformasyonel değişikliğe neden olmadığını göstermiştir. Carbopol ve HPMC kombinasyonu ile hazırlanan jel formülasyonunun vajinal bir taşıyıcı ilaç sistemi olarak ideal bir formülasyon olduğu sonucuna varılmıştır (Wang ve Lee, 2002).

Başka bir çalışmada, 1:2 ve 1:3 oranlarında anason/flukonazol β -siklodekstrin inklüzyon kompleksleri ile HPMC, poli akrilik asit (PAA) veya sodyum aljinat (SA) biyoadezif polimerler olarak kullanılmış ve vajinal jel formülasyonları hazırlanmıştır. Liyofilize jellerin süper gözenekli morfolojisi, dinamik su buharı soğurma ölçümleri, ilaç salım kinetiği çalışmaları ve bunların antimikrobiyal aktiviteleri sunulmaktadır. HPMC içeriği, su moleküllerini emen jel ağları arasındaki etkileşimler nedeniyle özellikle HPMC bazlı PAA jellerinin emme ve soğurma davranışını ve jel formülasyonlarının morfolojisini etkilemiştir. Flukonazol/siklodekstrin inklüzyon komplekslerinden flukonazol salımını kontrollü bir şekilde sağlamıştır ve 43 saat sonunda en yüksek ilaç salım yüzdesi %92 olarak bulunmuştur. Vajinal formülasyonlar, gram pozitif bakteriler üzerinde seçicilik ve p-siklodekstrin inklüzyon kompleksleri ile geliştirilmiş antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Biyoadezif jel formülasyonlarının, vajinal mantar enfeksiyonlarının tedavisi için gelecekte topikal uygulama alternatifi olabileceği gösterilmiştir (Gafitanu ve diğerleri, 2017)

Tuğcu Demiröz ve diğerlerinin yaptıkları başka bir çalışmada ise hiperaktif mesane tedavisinde kullanılmak üzere oral hemen salınan oksibutin tablete alternatif olarak vajinal oksibutin içeren uzun etkili jel formülasyonları geliştirilmiştir. Bu amaçla kitosan, HPMC (K100M ve K15M) ve poloxamer ile termosensitif ve mukoadezif jel formülasyonları hazırlanmıştır. Düşük viskoziteli HPMC K15M ile hazırlanan formülasyonda, 24 saat sonunda %95 civarı ilaç salımı gözlemlenmiştir. Yüksek viskoziteli HPMC K100M jelinde ise 24 saat sonunda %76 oranında ilaç salımı

gözlemlenmiştir. HPMC K100M konsantrasyonunun formülasyonun ilaç difüzyon davranışını etkilemediği gösterilmiştir. Biyoyararlanım çalışmasında en yüksek AUC değeri HPMC içeren vajinal jel formülasyonu ile elde edilmiştir. Biyoadeziv jellerin, oksibutininin vajinal uygulaması için yenilikçi bir vajinal taşıyıcı sistem olabileceği gösterilmiştir (Tuğcu-Demiröz, Acartürk ve Erdoğan, 2013).

2.5.2. Esansiyel yağlar ve vajinal çalışmalar

Esansiyel yağlar, çeşitli bitki kısımlarının özütünden alınan uçucu, aromatik, konsantre, hidrofobik yağlı sıvılardır. Temel bileşenleri, monoterpenler, seskiterpenler ve fenolik biyoaktif bileşiklerdir. Fenolik bileşikler, antimikrobiyal özelliklerden sorumludur. Uçucu yağların, temelde biyoaktif bileşiklerin varlığından olduğu düşünülen antiviral, antifungal, insektisidal, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Abd Rashed, Rathi, Ahmad Nasir ve Abd Rahman, 2021). Uçucu yağlar bazı bitkilerde yüksek konsantrasyonda bulunur ve çeşitli bakteri ve mantarları inhibe ettiği gösterilmiştir. Bitkilerden elde edilen esansiyel yağların birçok araştırmada antimikrobiyal ve fungisidal aktiviteye sahip olduğu gösterildiği için sentetik antimikrobiyal ajanlara göre güvenli ve doğal alternatifler olarak kabul edilmektedir (Aguilar-Gonzalez ve diğerleri, 2015; Hasheminejad ve diğerleri, 2019; Haba ve diğerleri, 2014).

Uçucu yağlar, ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından GRAS (genellikle güvenli olarak kabul edilir) olarak kategorize edilmiştir. Bu nedenle, düşük toksisiteleri ve biyolojik özellikleri nedeniyle formülasyonlarda uçucu yağların kullanımı artmıştır (Da Silva Campelo ve diğerleri, 2021; Aguilar-Gonzalez ve diğerleri, 2015; Hasheminejad ve diğerleri, 2019). Uçucu yağlar, aktif maddelerin fiziksel stabilitesini, suda çözünürlüğünü ve böylece biyoyararlanımı artırma, buharlaşmasını ve toksisitesini azaltma amacıyla polimerik matrislerle biyoaktif bileşikler olarak formülasyona katıldıklarında etkili bir terapötik sistem sunarlar (Gafitanu ve diğerleri, 2017). Esansiyel yağların formülasyon bileşenleri olarak mikro ve nanoemülsiyonlar gibi gelişmiş nanoyapılı taşıyıcı sistemlerde kullanılması ilacın biyoyararlanımının geliştirilmesine katkıda bulunur. Formülasyonlarda kullanılacak esansiyel yağ fazı, ilacı çözündürme gücüne ve sistemin terapötik amacına göre seçilir (Hosny ve diğerleri, 2021).

Esansiyel yağların antifungal ajan olarak potansiyeli bulunmaktadır ve ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilmektedir. Yüksek oranda monoterpen içeren esansiyel yağlar, güçlü aktivite göstermiştir. Lavanta, oregano, karanfil ve kekik gibi esansiyel yağların çeşitli deri hastalıklarına karşı etkili antifungal özellikler gösterdiği kanıtlanmıştır. Bazı araştırmacılar, esansiyel yağların antifungal ajan olarak etkinliğini daha fazla değerlendirmek için jel ve merhem gibi yarı katı formlarını geliştirmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda, piyasada satılan antifungal ajanlara alternatif olarak esansiyel yağların ticari uygulamalar için araştırılması gerektiğinin üzerinde durulmuştur. Dolayısıyla topikal antifungal tedavilerinin geliştirilmesi için esansiyel yağ bazlı çalışmaların devam etmesinin oldukça önemli olduğu ortaya koyulmuştur (Abd Rashed ve diğerleri, 2021; Esmaeili ve diğerleri, 2016; Kammoun ve diğerleri, 2021).

Esansiyel yağların biyoaktif bileşikler olarak yeni geliştirilen vajinal jel formülasyonlarında polimerik matrislere eklenmesi sonucunda formülasyonun fiziksel stabilitesi artırılabilir, etkin maddenin suda çözünürlüğü ve biyoyararlanımı artırılabilir, yağların uçması engellenebilir, toksisitesi azaltılabilir ve hastaya uygulanabilirliği sağlanabilir (Gafitanu ve diğerleri, 2016).

Karanfil yağı

Karanfil yağı eski zamanlardan beri stimulan, lezzet verici ve antiseptik ajan olarak aromaterapi ve kozmetikte yaygın olarak kullanılmaktadır (Chee ve Lee, 2007). Karanfil yağı öjenol, öjenen asetat ve b-karyofenilen gibi ana bileşenlere sahip %84-95 oranında fenol içermektedir (Ahmad ve diğerleri, 2005; Da Silva Campelo ve diğerleri, 2021). Ana bileşiği öjenol, latince adı *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum*) olan karanfil esansiyel yağı, Myrtaceae ailesine aittir (De Siqueira ve diğerleri, 2019). Karanfil yağının antifungal, antiviral, antikanser ve antitümoral özellikleri ve ek olarak, analjezik ve antienflamatuar aktiviteleri literatürde yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Öjenol ana bileşeninin yapılan çeşitli çalışmalarla penetrasyon artırıcı özelliği kanıtlanmıştır ve emulsiyon bazlı jel gibi topikal formülasyonlarda penetrasyon artırıcı olarak ilave edilmiştir (El-Subaie ve diğerleri, 2015; Esmaeili ve diğerleri, 2016; Ahmad ve diğerleri, 2019; Kammoun ve diğerleri, 2021). Karanfil yağı, Asya ülkelerinde, özellikle Hindistan ve diğer gelişmekte olan

lkelerde deri, ağız, idrar ve vajina yollarında ortaya çıkan mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için geleneksel tıpta kullanılmıştır (Khan ve Ahmad, 2012). Karanfil yağı birçok bakteriyel ve fungal patojene karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Karanfil esansiyel yağı, mantarların hücre zarları ile etkileşimi sonucu temel elementlerinin sızmasına neden olur ve fungisidal etki gösterir (Lee ve diğerkleri, 2007). Karanfil yağının doğrudan veya formüle edilerek uygulanmasının *Aspergillus parasitica*, *C. albicans* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı etkili olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır (Chee ve Lee 2007; Da Silva Campelo ve diğerkleri, 2021; Shetty, Jose, Kumar ve Charyulu, 2019; Hasheminejad ve diğerkleri, 2019).

Klinik kullanımda olan fungisit ajanlara karşı direnç gelişimi, bu mantarların tedavisi için yenilikçi formülasyonları geliştirme ihtiyaı doğurmuştur. Karanfil yağı literatürde analjezik, antiinflamatuvar, antioksidan ve antifungal özellikleri olan bir yağ olarak gösterilmiştir. Karanfil yağının *C. albicans* ve *C. glabrata*'ya karşı kanıtlanmış antifungal aktivitesi nedeniyle mantar enfeksiyonların tedavisinde geleneksel ajanların yan etkilerinden kurtulmak ve yenilikçi formülasyonlar geliştirmek amacıyla fungusidal ajanlara uygun bir alternatif bileşik olarak belirtilmiştir (Kumar ve diğerkleri, 2012; Yassin, Mostafa ve Al-Askar, 2020; De Siqueira ve diğerkleri, 2019).

Öjenol, topikal uygulamasında toksik etki göstermektedir. Bu nedenle, kutanöz uygulama üzerindeki toksisite etkisinin üstesinden gelmek için toksik etkisi azaltılmış uygun bir formülasyon geliştirilmesi önerilmiştir. Karanfil yağı içeren formülasyonların hazırlanabilmesi için emülsiyonlar, lipozomlar ve nanoemülsiyonlar gibi uygun ilaç şekilleri tercih edilmelidir (De Siqueira ve diğerkleri, 2019; Kheawfu, Pikulkaew, Rades, Mllertz ve Okonogi, 2018; Kammoun ve diğerkleri, 2021).

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar ile karanfil uçucu yağın vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde antifungal etkinliği kanıtlanmıştır ve vajinal kullanımında güvenli olduğu gösterilmiştir (Ahmad ve diğerkleri, 2005; Murina, Vicariotto ve Francesco, 2018; Pinto, Vale-Silva, Cavaleiro ve Salgueiro, 2009; F. Chami, N. Chami, Bennis, Trouillas ve Remmal, 2004; Khan ve Ahmad, 2012; Yassin ve diğerkleri, 2020).

Ahmad ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada vajinal kandidiyazis tedavisinde karanfil yağının etkisi in vivo olarak fare kandidiyaz modelinde incelenmiştir ve piyasada bulunan antifungal ajan nistatin ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar topikal tedavinin hem nistatin hem de karanfil yağı formülasyonları için subkütan tedaviden daha etkili olduğunu açıkça göstermektedir. Karanfil yağının vajinal yolla uygulanmasından 14 gün sonra, tedavi edilen hayvanlarda mantar enfeksiyonun tamamen ortadan kaldırdığı ve başarılı olduğu bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları karanfil yağının, yapılan in vitro ve in vivo testlerde vajinal mantar enfeksiyonu üzerine güçlü antifungal etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir (Ahmad ve diğerleri, 2005).

Pinto ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada karanfilde bulunan bileşiklerin etkisi ve karanfil uçucu yağının hücresel fonksiyonların korunmasından sorumlu ergosterol gibi mantar hücre zarının belirli bileşenleri üzerindeki antifungal aktivitesi *C. albicans* suşlarında değerlendirilmiştir. Alt inhibitör konsantrasyonlarda üreyen *C. albicans* suşları, kontrol grubuna kıyasla membranlarında daha düşük miktarlarda ergosterol göstermiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre karanfil yağı ve öjenol, *C. albicans* ergosterol biyosentezini kayda değer bir biçimde engellemektedir. Sonuç olarak bu çalışma, karanfil yağı ve öjenolün flukonazole dirençli suşlar da dahil olmak üzere klinik olarak ilgili mantarlara karşı önemli antifungal aktiviteye sahip olduğunu ve antifungal tedavide klinik kullanımının araştırılması gerektiğini savunmaktadır. Karanfil yağının antifungal aktivitesi değerlendirildiğinde, vulvovajinal kandidiyazis gibi mukokutanöz hastalıkların klinik tedavisinde etkili bir ajan olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Pinto ve diğerleri, 2009).

Da Silva Campelo ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmanın amacı, vajinal kandidiyazisin tedavisi için karanfil uçucu yağı içeren yeni bir yarı katı farmasötik form formüle etmektir. Nanoemülsifiye bir sistemde polisakkarit bazlı yenilikçi bir emuljel formülasyonu geliştirilmiştir. Nanoemülsiyonlar, 30 mV'den yüksek zeta potansiyeli değerleri ve 198.8 ile 321.0 nm arasında hidrodinamik çap ve orta derecede polidispersite ile mükemmel koloidal stabilite ve vajinal kullanım için yeterli pH değerleri göstermiştir. Nanoemülsiyonda karanfil uçucu yağının kapsülleme verimliliğinin %99'dan fazla olduğu kanıtlanmıştır. Karboksi metilselüloz bazlı emuljel formülasyonu aljinat bazlı formülasyona göre, *C. albicans*'a karşı daha yüksek bir inhibitör etki göstermiştir. Bunun nedeni karboksi metilselüloz bazlı

emuljel formülasyonlarının daha yüksek uçucu yağ içeriğine sahip olmasıdır. Emuljel reolojik olarak pseudoplastik tipte, newtonian olmayan bir davranış sergilemiştir. Yapılan çalışma ile karanfil uçucu yağın, oda sıcaklığında uçucu hale gelmesi, düşük çözünürlüğü ve düşük viskoziteleri gibi sorunlarının üstesinden gelinmiştir ve vajinal ilaç taşıyıcı sistem olarak emuljeller başarılı bir şekilde geliştirilmiştir. Antioksidan ve antifungal aktivitenin sonuçlarına göre, karanfil uçucu yağı ile hazırlanan nanoemülsifiye sistemin vajinal kandidiyazisin tedavisi için etkinliği kanıtlanmıştır (Da Silva Campelo ve diğerleri, 2021).

Yassin ve diğerleri yaptığı çalışmada hamile kadınlarda kandidal vajinit tedavisinde yeni ve güvenli doğal bir terapötik ajan bulmayı amaçlamışlardır. Bu amaçla, *Syzygium aromaticum* ekstraktlarının *C. albicans*, *C. glabrata*'ya karşı disk difüzyon yöntemi ile antifungal aktivitesi ve insan karaciğer hücre hattına karşı farklı karanfil ekstraktlarının sitotoksitesi değerlendirilmiştir. Karanfil uçucu yağ bileşenleri, kandidal vajinite neden olan en yaygın ve baskın suşlara karşı yüksek oranda antifungal etkinlik göstermiştir. Ayrıca, sonuçlar karanfil ekstraktının terbinafin (kontrol) ile karşılaştırıldığında yüksek bir potensi olduğunu göstermiştir. Wistar sıçanlarının, vücut ve organ ağırlıklarında, oftalmik incelemelerinde, hematolojide ve klinik biyokimya değerlerinde toksikolojik değişikliklerin olmadığı saptanmıştır. Sonuç olarak, karanfil yağının düşük konsantrasyonlarda yüksek antifungal aktivitesi ile doğal, güvenli ve etkili bir antifungal ajan olarak hamile kadınlarda kandidal vajinit tedavisinde kullanılabileceği kanıtlanmıştır (Yassin ve diğerleri, 2020).

Khan ve Ahmad yaptıkları çalışmada, limon otu ve karanfil yağı uçucu yağlarının, *C. albicans*'ın güçlü biyofilm oluşturan suşlarına karşı antifungal aktivitesini incelemişlerdir. Etkili antifungal aktivitesi, bu yağların *C. albicans* biyofilmlerinin amfoterisin B ve flukonazole karşı gösterdiği direnç mekanizmalarına karşı etkili olmuştur. Bu çalışma, *Candida* türlerinin biyofilm büyümesine bağlı ortaya çıkan oral, vajinal ve idrar yolu aftları gibi mukokutanöz enfeksiyonlarda karanfil ve limon otu uçucu yağlarının etkin bir tedavi olabileceğini kanıtlamıştır (Khan ve Ahmad, 2012).

Chami ve diğerkleri yaptığı in vivo çalışmada kekik ve karanfil uçucu yağlarının temel fenolik bileşenleri olan karvakrol ve öjenolün vajinal kandidiyazisin profilaksi ve tedavisinde etkinliğini değerlendirmişlerdir. Mikrobiyolojik ve histolojik tekniklerle antikandida aktivite için analiz edilmiştir. Öjenolün, enfekte olmuş sıçanların vajinalarındaki *C. albicans* koloni sayısını aşılamaadan 10 gün sonra %98,9 oranında azalttığı saptanmıştır. Histolojik olarak, tedavi edilen tüm sıçanlarda vajina lümeninde *Candida* suşlarına rastlanmamıştır. Sonuç olarak karvakrol ve öjenol ana bileşiklerinin, vajinal kandidiyazis tedavisinde ve profilaksisinde kullanılmak üzere yeni nesil etkili ve doğal antifungal ajanlar olabileceğı kanıtlanmıştır (Chami ve diğerkleri, 2004).

Sosto ve diğerklerinin yaptığı bir çalışmada, timol ve öjenol esansiyel yağlarının ile yapılan vajinal duşun klinik aktivitesinin, VVC’de ekonazol veya metronidazol gibi standart bir referans ilaç tedavisi kadar etkili olup olmadığını test etmeyi amaçlamıştır. Bu çalışma, antienflamatuvar, antibakteriyel ve antimikotik aktiviteye sahip doğal aktif maddelere dayalı bir vajinal duşun, bakteriyel vajinozis ve kandidiyazisde patentli ilaçlar kadar etkili olabileceğini güvenilir bir şekilde ortaya koymuştur (Sosto, Benvenuti ve Group, 2011).

Kammoun ve diğerkleri yaptığı bir çalışmada, VZ’nin etkinliğini arttırmak amacıyla vorikonazol ve karanfil yağı taşıyan nano-transferezomlar hazırlanmış ve bir jel formükasyonuna elenerek intra nazal penetrasyonun artırılması amaçlanmıştır. Vorikonazolün çözünürlüğü artırılarak ilaç taşıyıcı sistemlerindeki biyoyararlanım probleminin üstesinden gelinmiş ve nefrotoksik yan etkileri, antioksidan aktiviteye sahip olan karanfil yağının eklenmesiyle azaltılmıştır. Ayrıca antifungal aktivitesi güçlendirilmiştir. Sonuç olarak, vorikonazol ve karanfil yağı taşıyan nano-transferezomlar ile yüklü jel, gelişmiş antifungal özelliklere sahip etkili yeni bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kabul edilmiştir (Kammoun ve diğerkleri, 2021).

Lavanta yağı

Lavandula cinsinin üyelerinden damıtılan uçucu yağlar hem kozmetik hem de terapötik olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır ve en yaygın olarak kullanılan türler *L. angustifolia*, *L. latifolia*, *L. stoechas* ve *L. intermedia*’dır. Lavanta yağı için

araştırmalar sonucunda antibakteriyel, antifungal, gaz giderici, düz kas gevşetici, yatıştırıcı, antidepresan, yanık ve böcek ısırıklarında etkili olduğu gösterilmiştir (Cavanagh ve Wilkinson, 2002). *Lavandula binaludensis* (L. *binaludensis*), Lamiaceae familyasına aittir. Bu bitkinin uçucu yağı genellikle aromaterapide gevşetici, gaz giderici ve yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır (Minooeianhaghighi, Sepehrian ve Shokri, 2016).

Lavandula türleri, çoğunlukla Akdeniz bölgesinde bulunmaktadır ve belirgin terapötik özelliklere sahiptir (Blazekovic, Stanic, Pepeljnjak ve Vladimir-Knezevic, 2011). *Lavandula* türleri özellikle par f meri, ilaç, kozmetik, gıda işleme ve aromaterapi amacıyla eski zamanlardan beri kullanılmaktadır (Zuzarte ve diğerleri, 2009; Zuzarte ve diğerleri, 2012a). *Lavandula angustifolia* kimyasal bileşiminde major olarak linalil asetat, linalool ve terpinen-4-ol bulunmaktadır (De Rapper, Kamatou, Viljoen ve Van Vuuren, 2013; Haba ve diğerleri, 2014). Geleneksel olarak soğuk algınlığı, bař ağrısı ve migren tedavisinde kullanılmaktadır (Zuzarte ve diğerleri, 2012a). Lavanta esansiyel yağı antibakteriyel özelliği ile gıda kalitesini artırmak ve raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır. Ayrıca depresyon ve uykusuzluk dahil olmak üzere çeşitli nörolojik bozuklukların tedavisinde etkili olduğu da gösterilmiştir (Deng, J. Chen ve W. Chen, 2020). Lavanta yağının biyolojik aktiviteleri arasında anti-spazmodik, herbisidal, insektisidal, antioksidan, antibakteriyel ve antifungal aktivite yer almaktadır (Moon, Cavanagh ve Wilkinson, 2007; Czerwińska ve Szparaga, 2015; Zuzarte ve diğerleri, 2011; Zuzarte ve diğerleri, 2012b). Antifungal aktivitesi pek çok farklı çalışmada incelenmiş ve mantar enfeksiyonlarına karşı etkili olabileceği gösterilmiştir. Lavanta yağı, flukonazole dirençli suşlara karşı aktiftir ve bu durum antifungal etki mekanizmasının azollerinkinden farklı olduğunu düşündürmektedir (Minooeianhaghighi ve diğerleri, 2016).

Behmanesh ve diğerlerinin yaptığı çalışmada lavanta esansiyel yağı ve klotrimazolün vajinal kandidiyazisinden izole edilen *C. albicans*  zerindeki in vitro etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlar, lavantanın antifungal aktivitesini kanıtlamıştır ve bir antifungal ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Behmanesh ve diğerleri, 2015).

Haba ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, uçucu yağ bileşiminin ve emülsiyon formülasyonunun *C. albicans*'a karşı antifungal etkinliği incelenmiştir. Ramnolipid karışımı ve lavanta uçucu yağını içeren emülsiyonlar hazırlanmıştır. Üçlü faz diyagramları, uçucu yağa bağlı olarak değişen emülsiyon stabilitesini değerlendirmek için tasarlanmıştır. Uçucu yağların ve emülsiyonların in vitro antifungal aktivitesi değerlendirilmiştir. Emülsifikasyon ile uçucu yağların tek başına gösterdiği *C. albicans*'a karşı antifungal aktivitesini arttırmıştır. Hazırlanan emülsiyon formülasyonları, esansiyel yağ bazlı sistemlerinin geliştirilmesinde etkili olabileceğini kanıtlamıştır (Haba ve diğerleri, 2014).

Dauria ve diğerleri yaptığı çalışmada Lavanta yağı ve ana bileşenleri olan linalool ve linalil asetat bileşenlerinin antifungal aktivitesini, *C. albicans* (28 orofaringeal suş, 22 vajinal suş) suşlarına ve 50 klinik izolatına karşı analiz etmişlerdir. Büyüme inhibisyonu, inhibisyon süresi ve germ tüpü oluşumunun inhibisyonu incelenmiştir. Lavanta yağı, *C. albicans* büyümesini inhibe etmiştir. Linalool, uçucu yağdan daha etkili bulunmuştur ve linalil asetat etkisiz bulunmuştur. Lavanta yağı (%2) 15 dakika içinde *C. albicans* hücrelerinin %100'ünü inhibe etmiştir. Linalool ise (%0,5) 30 saniye içinde hücrelerin %100'ünü inhibe etmiştir. Uçucu yağ, ana bileşenler (linalool için %0.11 ve linalil asetat için %0.08) germ tüpü oluşumunu inhibe etmiştir. Lavanta yağı, *C. albicans* suşlarına karşı hem fungistatik hem de fungisidal aktivite sergilemiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda, *C. albicans* dimorfizmine karşı etkili olduğunu ve böylece mantar ilerlemesini ve konakçı dokularda enfeksiyonun yayılmasını azaltabileceğini gösteren, germ tüpü oluşumunu inhibe etmiştir (D'auria ve diğerleri, 2005).

Badr ve diğerleri yaptığı çalışmada lavanta yağı, kamfen ve terpinil gibi monoterpen bileşenler ile lavanta yağı kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonlarda karşılaştırmalı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar arasında stabilite, antimikrobiyal ve antioksidan etkinlik, *C. albicans* karşı antifungal aktivite testi vardır. Antifungal analiz verilerine göre lavanta yağı nanoemülsiyonu, *C. albicans*'a karşı en yüksek inhibitör etki göstermiştir. Nanoemülsiyonların *aspergillus* ve *C. albicans* olmak üzere tüm mantarlara karşı saf lavanta yağı ve monoterpen bileşenlerinden daha etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışma, antimikrobiyaller ve antioksidanlar olarak

bakteri, mantar ve mayanın neden olduğu enfeksiyonlara karşı lavanta yağıının kullanımını kanıtlamıştır (Badr, Badawy ve Taktak, 2021).

Başka bir çalışmada lavanta yağıının *C. albicans* izolatlarına karşı etkinliğı analiz edilmiştir ve flukonazol ile kıyaslanmıştır. MIC değeri, flukonazolün MIC değerlerine kıyasla çok daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, lavanta uçucu yağıının ana bileşeni terpinen vajinal *C. albicans* izolatlarına karşı iyi bir antifungal aktiviteye sahip olduğı gösterilmiştir. VVC'nin tedavisi sistemik antifungal ajanlara dayanmasına rağmen, VVC'li kadınlarda uçucu yağların topikal ajanlar olarak uygulanmasını değerlendirmek için daha fazla çalışmaya öncü olmuştur (Minooeianhaghighi ve diğeri, 2016).

Vakilian ve diğeri'nin yaptığı bir çalışmada Lavandula'nın epizyotomi iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirilmiştir. Normal vajinal doğumun ardından perineal iyileşme için lavanta yağı ve plasebo kullanan 635 kadın ile klinik bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada, lavanta yağı kullanan kadınlarda ortalama rahatsızlık puanı daha düşük bulunmuştur. Önemli bir yan etki gözlenmemiştir. Lavanta yağı kullanan hasta grubunda ağrı durumu daha düşük gözlenmiştir ve deneklerin bir kısmında da ek analjezik kullanımını azaltmıştır (Vakilian, Atarha, Bekhradi ve Chaman, 2011).

Başka bir çalışmada lavanta esansiyel yağı önce su içinde yağ emülsiyonlarına yüklenmiştir ve daha sonra hidrojelde kapsüllenmiştir. Sonuçlar, hidrojel partiküllerinin hem saklama sırasında hem de kullanım zamanında lavanta esansiyel yağın stabilitesini geliştirdiğini ve lavanta yağının salımını da geciktirdiğini göstermiştir. Bu çalışma, uçucu yağların kontrollü salımı için hidrojellerin uygulamasını göstermektedir (Deng ve diğeri, 2020).

Lavanta esansiyel yağının yara iyileşmesinde etkili olduğı da bulunmuştur. Lavanta esansiyel yağı ve meyan kökü özü içeren nanoemülsiyon formülasyonu, sıçanlarda eksizyonel yara modeline yönelik gelecek vaadeden bir yara iyileştirme potansiyelini kanıtlamıştır (Kazemi ve diğeri, 2020).

Oleik asit

Doymamış yağ asitleri ve türevleri ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Oleik asit (cis-9-oktadekenoik asit) doğada en çok bulunan doymamış yağ asididir (Kaneko, Yamazaki, Kitagawa ve Kikyo, 1997).

Oleik asit, birçok bitkisel ve hayvansal yağda esterlenmiş halde bulunabilen doymamış bir yağ asididir. Oleik asit, formülasyonlarda yardımcı yüzey aktif madde olarak rol oynar. Ayrıca, oleik asit ve kolesterol gibi yağlı bileşenlerin kullanımı, sıvı kristallerden ilaç salımının kontrolünü de sağlar (De Araujo ve diğerleri, 2019).

Oleik asit, mikroemülsiyonlarda ve çeşitli topikal ilaç şekillerinde yağ fazı olarak penetrasyon artırıcı etkisi ile en sık kullanılan yağ asididir (Kumar ve Sinha, 2014; El-Hadidy, Ibrahim, Mohamed ve El-Milligi, 2012; Raju ve diğerleri, 2017; Ashara ve diğerleri, 2017). Yapılan araştırmalar jel yapıcı madde olarak kullanıldığında oleik asidin tek başına bir organojel yapıcı ajan olarak işlev göremediğini, ancak sodyum oleat ile kombinasyon halinde kararlı bir jel oluşturulabileceğini göstermiştir (Nikiforidis, Gilbert ve Scholten, 2015; Cornet, Campo, Martínez-Sanz, Scholten ve Gilbert, 2021).

Cerqueira ve diğerleri yaptıkları çalışmada, reolojik analiz ile yağ ve jel yapıcı madde yapısının organojellerin özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Kullanılan jel yapıcı maddeler (gliseril tristearat-GT; sorbitan tristearat-ST; sorbitan monostearat-SM ve gliseril monostearat-GM) orta zincirli trigliserit ve yüksek oleik ayçiçeği (sırasıyla MCT ve LCT) yağı fazlarında analiz edilmiştir. Yağ fazı ve jel yapıcı madde farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 15, 20 ve %25) 80 °C'de 30 dakika karıştırılarak organojeller hazırlanmıştır. Jel yapıcı madde konsantrasyonunun artmasıyla değişen kristal yapı, organojellerin reolojik özelliklerinin değişmesine neden olmuştur. Sonuçlar, yağ tipinin (yani orta ve uzun zincirli trigliserit) ve hidrofilik jel yapıcı maddenin (yani sorbitana karşı gliseril) organojellerin fiziksel özellikleri üzerinde etki yaptığını, ancak monostearat varlığının daha güçlü organojellerin oluşumunu sağladığını ortaya koymuştur (Cerqueira ve diğerleri, 2017).

De Araujo ve diğerkleri yaptığı çalışmada vajinal dozaj formlarının birçok farmakolojik tedavinin etkinliğini engelleyen vajinal sıvının etkisiyle vajinal mukozada kalış sürelerinin düşük olması sorununun üstesinden gelmek için, %30 oleik asit ve kolesterol (7:1), %40 setil alkol ve %16 Poloxamer 407 dispersiyonu ile in situ jel formülasyonu geliştirilmiştir. Reolojik çalışmalar, doku profili analizi (TPA), mukoadesyon çalışması, ilaç modeli olarak hiperisin in vitro ilaç salım testi ve sitotoksitesite testi yapılmıştır. Vajinal uygulama için uygun reolojik davranış ve TPA ve mukoadesyon deneyleri, formülasyonun vajinal mukoza üzerinde kalış süresinin uzadığını kanıtlamıştır. Hazırlanan formülasyon sürekli salım profili sergilemiştir. Sonuç olarak, tüm formülasyonların güvenli vajinal ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (De Araujo ve diğerkleri, 2019).

Cornet ve diğerkleri yaptığı çalışmada, mikro ve nano ölçekte jel kuvveti ile yapı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla, jelleştirici maddeler olarak oleik asit ve sodyum oleat karışımları kullanılarak trigliserit yağında (ayçiçeği, zeytin, orta zincirli trigliserit) organojel formülasyonları hazırlamışlardır. Mikroskopi, artan sodyum oleat içeriği ile jellerin kristal boyutunda bir azalma olduğunu sergilemiştir. Jel gücü sodyum oleat konsantrasyonu ile artmıştır, ancak sabit bir sodyum oleat konsantrasyonunda oleik asit ilavesiyle azalmıştır ve ters misel yapılarının varlığına neden olmuştur. OA'nın jel gücü üzerindeki olumsuz etkisinin, SO₂'nin OA tarafından kısmen çözölmesinden kaynaklandığını düşünölmüştür (Cornet ve diğerkleri, 2021).

Takalkar ve Desai yaptıkları çalışmada, oleik asit ve laktik asit kullanılarak uygun zeta potansiyelde flukonazol nanolipid dispersiyonları geliştirilmiş ve stabil nanotaşıyıcılar elde etmişlerdir. Nanolipid dispersiyonlara ilave edilmek üzere mukoadesif polimer olarak carbopol 974P kullanılarak vajinal jel etkin bir şekilde hazırlanmıştır. Flukonazolün optimize edilmiş mukoadesif vajinal jeli, in vitro salım çalışmalarında 8 saate kadar sürekli ilaç salımını göstermiştir. Domuz vajinal mukozası yoluyla yapılan ex vivo permeabilite çalışmaları, lokal vajinal enfeksiyonların tedavisinde yeterli etkinlikte doku birikimi sergilemiştir. Dişi Wistar sıçanlarında yapılan hayvan çalışmaları, dokunun histopatolojik incelenmesi sonucunda herhangi bir vajinal mukozal tahriş gözlenmemiştir. Stabilite çalışmaları, geliştirilmiş jelin hızlandırılmış koşullarda 3 ay boyunca stabil olduğunu ortaya

koymuştur. Sonuç olarak, flukonazol içeren nanolipid dispersiyonunu taşıyan jel, vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde vajinal uygulama için, azaltılmış sistemik yan etkileri nedeniyle lokal etki için kullanılabileceği kanıtlanmıştır (Takalkar ve Desai, 2018).

2.6. Kullanılan Etkin Maddenin zellikleri

Tez alışmamızda etkin madde olarak gelişmiş antifungal aktiviteye sahip bir flukonazol turevi olan ikinci kuşak triazol bir antifungal ajan olan vorikonazol kullanılmıştır.

2.6.1. Etkin maddenin farmakolojik zellikleri

Etki mekanizması

VZ etki mekanizması, mantar hücre zarının temel bileşenlerinden olan ergosterolün biyosentezinde lanosteroln ergosterole dönüşmesinden sorumlu sitokrom P-450 enzimlerinden biri olan 14--sterol demetilazın inhibe edilmesi şeklindeyir. Böylece lanosteroln mantar hücre zarı temel bileşeni olan ergosterole dönüşümünü engelleyerek ergosterol tükenmesine ve metillenmiş sterollerin birikmesine sebep olur (Saravolatz, Johnson ve Kauffman, 2003; Donnelly ve De Pauw, 2004; Pearson Rogers, Cleary ve Chapman, 2003; Sandherr ve Maschmeyer, 2011).

Etki mekanizması yoluyla ergosterollerin tükenmesi ve metil sterollerin hücre zarı içinde birikmesi, ilgili tre ve antifungal bileşiğe bağlı olarak mantar hücresi büyümesinin inhibisyonu veya ölümüyle sonuçlanmaktadır. Triazoller genellikle fungistatiktir, yani mantar hücre büyümesini inhibe eder, itrakonazol ve VZ *Aspergillus* türlerine karşı fungisidaldir (Murphy, Bernard, Ishimaru ve Armstrong, 1997; Lass-Flörl, 2011). Vorikonazolün, insan metabolizması ve biyosentezi üzerinde etkisi olmamakla birlikte mayalara karşı fungistatik ve kflere karşı fungisidaldir (Mikulska ve diğerleri, 2012).

Etki spektrumu ve kullanıldığı preparatlar

Vorikonazol, genellikle lokal ve sistemik ciddi mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan triazol grubu antifungal bir ajandır. Vorikonazol, *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* ve *Histoplasma* türleri de dahil olmak üzere birçok fırsatçı

mantar patojenine karşı geniş bir antifungal aktivite spektrumuna sahip olan bir flukonazol türevidir (N. Ü. Okur, Yozgatlı, M. E. Okur, Yoltaş ve Siafaka, 2019; Dupuis, Tournier, Moal ve Venisse, 2009; Deshkar ve Palve, 2019; Purkins ve diğerleri, 2003; Murphy ve diğerleri, 1997). *Scedosporium* ve *Fusarium* türlerine de etkilidir (Purkins ve diğerleri, 2003).

EMA (Avrupa İlaç Ajansı) tarafından 2002 yılında invazif aspergillozis, nötropenik olmayan hastalardaki *Candida*'nın sistemik enfeksiyonlarında, *Candida krusei* dahil flukonazole dirençli ciddi invazif *Candida* enfeksiyonlarında, *Scedosporium* ve *Fusarium* türlerinin sebep olduğu ciddi mantar enfeksiyonlarında kullanılmak üzere onaylanmıştır. 17 Mayıs 2002 tarihinde ise akut invazif aspergilloz tedavisi ve *Scedosporium apiospermum* ile *Fusarium* türlerinin neden olduğu ciddi mantar enfeksiyonları tedavilerinde kullanılmak amacıyla FDA (Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi) tarafından onaylanmıştır (Girmenia, 2009; Ascioğlu ve Chan, 2014; Pearson ve diğerleri, 2003). Pfizer tarafından 2002 yılında VFEND olarak piyasaya sürülmüştür (Schulz, Kluwe, Mikus, Michelet ve Kloft, 2019).

Triazol antifungal bir ajan olan VZ'nin oral, parenteral (IV) ve oküler formülasyonları geliştirilmiştir. Oral tablet, oral süspansiyon ve intravenöz enjeksiyonluk preparatları ciddi mantar enfeksiyonları için piyasada bulunmaktadır ve patentlidir (Ascioğlu ve Chan, 2014; Pearson ve diğerleri, 2003; Purkins ve diğerleri, 2003). Piyasada mevcut olan VZ içeren ürünler 2002 yılından beri oküler mantar enfeksiyonları için kullanılmaktadır (Arikan ve diğerleri, 2018). Hem topikal hem de sistemik olarak göz ile ilgili birçok mantar enfeksiyonunu tedavi etmek için ilk basamak tedavisi olarak kullanılır. Bununla birlikte, VZ göz damlası preparatı ülkemizde ticari olarak mevcut değildir (Arikan ve diğerleri, 2018; Dupuis ve diğerleri, 2009).

Çizelge 2.1. Piyasada patentli vorikonazol içeren preparatlar

Müstahzar	Dozaj Şekli	Firma adı
VFEND®	IV 200 mg infüzyon çözeltisi için toz içeren flakon	Pfizer
VFEND®	40 mg/ml oral süspansiyon için toz	Pfizer
VFEND®	50 mg film kaplı tablet	Pfizer
VFEND®	200 mg film kaplı tablet	Pfizer
VOZOLE ®	30 mg göz damlası içeren liyofilize toz flakon	Aurolab

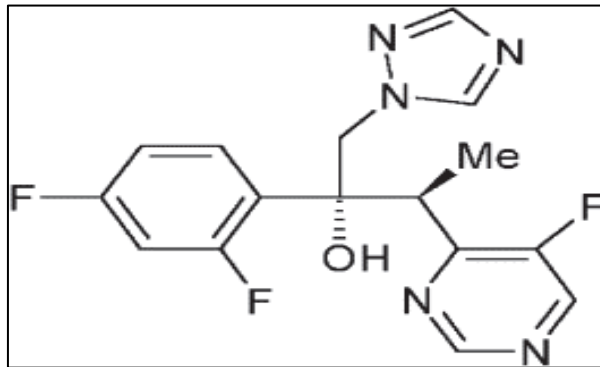
Vorikonazol içeren piyasada patentli preparatlar Çizelge 2.1'de verilmektedir.

Vorikonazolün vajinal mukozada *Candida glabrata*'nın neden olduğu kronik vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde etkinliği çeşitli prelinik ve klinik çalışmalarla iyi bir şekilde ispatlanmıştır fakat piyasada patentli vajinal ticari preparatı bulunmamaktadır (Deshkar ve Palve, 2019).

2.6.2. Etkin Maddenin fizikokimyasal özellikleri

Kimyasal yapı

Vorikonazol, flukonazolün yapısından bir triazol parçasının bir floropirimidin grubu ile yer değiştirmesi ve alfa metilasyonu ile elde edilir (Perea ve diğerleri, 2000). Vorikonazol kimyasal olarak [(2R, 3S) -2- (2,4-diflorofenil) -3- (5-floropirimidin-4-il) -1- (1H-1,2,4-triazol-1-il) butan-2 -ol]] şeklinde adlandırılır (Siafaka ve diğerleri, 2016; Okur, Çağlar ve Yozgatli, 2016; Schulz ve diğerleri, 2019). Vorikonazolün kimyasal yapısı Şekil 2.4'te gösterilmiştir (Tang ve Wang, 2018).



Şekil 2.4. Vorikonazolün kimyasal yapısı (Okur ve diğerleri, 2016)

Ampirik formülü $C_{16}H_{14}F_3N_5O$ (Bkz. Şekil 2.4) ve molekül ağırlığı 349.3 g/mol olan bir etkin maddedir. Suda çözünürlüğü düşük olan VZ, Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) sınıf II antifungal ilaçtır (Siafaka ve diğerleri, 2016; Okur ve diğerleri, 2016; Ashara ve diğerleri, 2017). Log P 1,8 değerine sahip lipofilik (pKa: 1.76) bir moleküldür (Çizelge 2.1). Vorikonazol beyaz renkli toz şeklinde bir etkin maddedir (FDA, 2019). Vorikonazolün fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.2'de verilmektedir.

Çizelge 2.2. Vorikonazol'ün fizikokimyasal özellikleri

	Özellikler	Referans
Ampirik Formül	C ₁₆ H ₁₄ F ₃ N ₅ O	(Okur ve diğerleri, 2016),
Molekül Ağırlığı	349,3 g/mol	(Okur ve diğerleri, 2016; Krishna ve diğerleri, 2017)
Çözünürlük	Metanol, etanol ve asetonda serbestçe çözünmektedir. Suda pratikte çözünmemektedir (0,0978 mg/mL).	(Mori ve diğerleri, 2017; PubChem, 2019; Drugbank, 2020)
Erime noktası	127-130 °C	(PubChem, 2019)
Log P	1,8	(Qi ve diğerleri, 2017; Schulz, 2019; Drugbank, 2020)
pKa (Güçlü Bazik)	1,76	(Qi ve diğerleri, 2017; Schulz, 2019)

2.6.3. Etkin maddenin farmakokinetik özellikleri

Absorpsiyon

Vorikonazol lineer olmayan farmakokinetiğe sahiptir ve doz-cevap ilişkisi değişkenlik göstermektedir. Terapötik indeksi dar olup, serum konsantrasyonları çeşitli faktörlerle birlikte ilaç-ilaç etkileşimlerinden etkilenir (Sandherr ve Maschmeyer, 2011).

Vorikonazol oral veya intravenöz infüzyon şeklinde uygulanmaktadır. Oral VZ, dozaj rejimine bağlı olarak 5-7 günlük çoklu oral uygulamalardan sonra sabit kan konsantrasyonlarına ulaşır. Kararlı kalma süresi bir yükleme dozu ile başlayarak 1-2 güne kadar azaltılabilir. Çalışmalar, ilacın hem intravenöz hem de oral uygulaması için plazma konsantrasyon zaman eğrisi altındaki alan (AUC) ve maximum plazma konsantrasyonu (C_{max}) lineer olmayan farmakokinetiği göstermiştir (Sandherr ve Maschmeyer, 2011).

Vorikonazol metabolizmasında rol oynayan sitokrom P450 (CYP) izoenzimlerinin genetik polimorfizmlerine bağlı olarak plazma konsantrasyonunda ve sistemik maruziyette değişkenlik göstermektedir (Wang ve diğerleri, 2015; Sandherr ve Maschmeyer, 2011). Yapılan çalışmalarda VZ farmakokinetik parametrelerinin bireyler arası değişkenliğine sitokrom P450 enzim indükleyicilerinin veya inhibitörlerinin birlikte kullanımı, hastalar arasındaki karaciğer fonksiyonundaki ve beslenmedeki farklılıkların sebep olduğu bulunmuştur (Wang ve diğerleri, 2015).

Vorikonazol, CYP450 izoenzimleri için bir substrat olduğundan, çoklu ilaç-ilaç etkileşimleri söz konusudur. Özellikle, CYP2C19 genotipi ve aktivitelerini düzenleyen ilaçların birlikte uygulanması VZ serum konsantrasyonunu etkiler (Sandherr ve Maschmeyer, 2011).

Vorikonazol, oral uygulamadan sonra hızlı ve tamamına yakın oranda emilir, maksimum plazma konsantrasyonuna (C_{max}) uygulamadan 1-2 saat sonra erişilir. Oral uygulamadan sonra VZ'nin mutlak biyoyararlanımının %96 olduğu bildirilmiştir (FDA, 2019; Schulz ve diğerleri, 2019). Vorikonazolün biyoyararlanımı gastrik pH'dan etkilenmez. Gıda ile alımında emilimi gecikir, biyoyararlanımı %22 oranında azalır. Yüksek yağlı öğünlerle uygulamada çoklu VZ dozları bir tablet olarak uygulandığında, ortalama C_{max} ve AUC sırasıyla %34 ve %24 azalırken, VZ oral süspansiyon olarak uygulandığında sırasıyla %58 ve %37 oranında azalır (Okur ve diğerleri, 2016; Schulz ve diğerleri, 2019; Scholz ve diğerleri, 2009). Bu sebeple VZ oral uygulaması yemeklerden bir saat önce veya bir saat sonra önerilmektedir (Theuretzbacher ve Derendorf, 2006; Mikulska ve diğerleri, 2012).

Bazı çalışmalarda hastalarda VZ'nin biyoyararlanımının sağlıklı gönüllülere göre önemli ölçüde düşük olduğu gösterilmiştir (Schulz ve diğerleri, 2019; Sandherr ve Maschmeyer, 2011). Bu azalmış biyoyararlanımın, sağlıklı gönüllülere kıyasla hastalarda ilacın farmakokinetiğinin değişmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Özellikle hastanede yatan hastalarda çeşitli faktörlerden dolayı (inflamasyon-eşzamanlı yiyecek alımı-gastrointestinal komplikasyonlar) farmakokinetiği değişkenlik göstermektedir (Theuretzbacher ve Derendorf, 2006).

Dağılım

Vorikonazol'ün plazma proteine bağlanması plazma konsantrasyonundan bağımsız olarak %58'dir. Vorikonazol'ün ortalama eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) yaklaşık 6 saattir ve toplam dozun %80'i idrardan metabolit olarak geri kazanılır. Vorikonazol, yaklaşık 4,6 L/kg'lık bir dağılım hacmine sahip olup dokulara geniş ölçüde dağılır (Sandherr ve Maschmeyer, 2011; Theuretzbacher ve Derendorf, 2006).

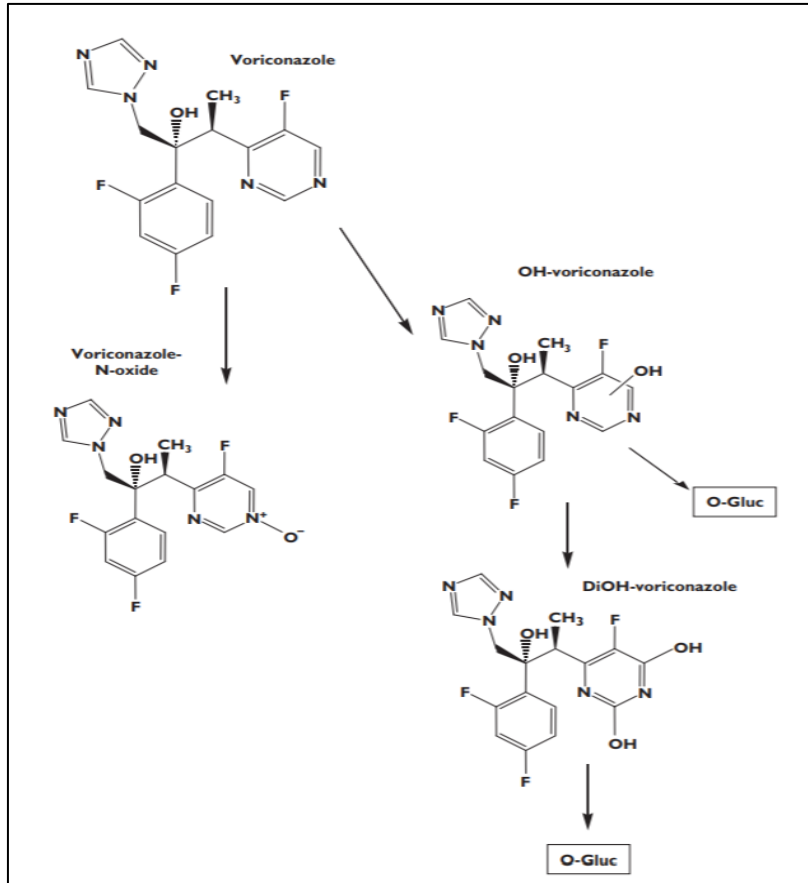
Metabolizma ve eliminasyon

Yapılan çalışmalara göre VZ karaciğerde, esas olarak sitokrom P450 (CYP) izoenzimi olan CYP2C19 veya az da olsa CYP2C9 ve CYP3A4 tarafından metabolize edilir (Yanni ve diğlerleri, 2008; Scholz ve diğlerleri, 2009; Wang ve diğlerleri, 2015).

İn vivo ve in vitro alışmalar, VZ'nin, N-oksidasyondan kaynaklanan dolaşımdaki ana metabolit ile yoğun şekilde metabolize olduğunu göstermiştir. Fluoropirimidin halkanın N-oksidasyonu, hidroksilasyonu ve bitişik metil grubunun hidroksilasyonu (şekil 5) bilinen VZ oksidatif ana metabolizma yollarıdır. N-oksit, insanda dolaşımdaki majör metabolittir (Yanni ve diğlerleri, 2008).

CYP2C19 enzimi genetik polimorfizmi VZ'nin farmakokinetik değişkenliğine büyük ölçüde katkıda bulunur (Sandherr ve Maschmeyer, 2011; Scholz ve diğlerleri, 2009; Wang ve diğlerleri, 2015).

Scholz ve diğlerlerinin yaptıkları çalışmada, VZ'nin N-oksidasyon ve hidroksilasyon yolları ile metabolizması (şekil 2.5) ve bu yolakların CYP2C19 enzim genetik polimorfizmine göre modülasyonunun değerlendirmesi ele alınmıştır. Sonuç olarak VZ, yüksek biyoyararlanıma sahiptir ve CYP2C19 genotipleri arasında büyük bir fark yoktur. Vorikonazol eliminasyonunun hidroksilasyon yolu, N-oksidasyonu ve her ikisi de CYP2C19 genotipinden etkilendiği görünmektedir. Her iki hidroksile metabolitin enterohepatik dolaşımdan geçmesi muhtemeldir. şekil 2.5'te VZ'nin metabolizma yolları görülmektedir (Scholz ve diğlerleri, 2009).



Şekil 2.5. Vorikonazolün metabolik yolları (Scholz ve diğerleri, 2009)

2.6.4. Vorikonazol ile yapılan vajinal formülasyon çalışmaları

Vajinal uygulanan VZ süspansiyonunun fare modelinde *C. albicans*'a karşı etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, flukonazole dirençli bir *C. albicans* izolatının neden olduğu enfeksiyona karşı VZ aktivitesi araştırılmıştır. Vorikonazol ve flukonazol içeren piyasa preparatları sırasıyla Vfend ve Diflucan olarak farelere oral yol ile uygulanmıştır. Vorikonazol ve flukonazol (Pfizer, ABD) toz olarak %0,3 Noble agar içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyonlar, enfeksiyondan sonraki 1-5 günlerde günde bir kez 0,5, 1 ve 5 mg/kg'da 20 mL hacimde intravajinal olarak uygulanmıştır. Bu çalışma, vajinal enfeksiyonların fare modelinde vorikonazolün *C. albicans*'a karşı etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır ve elde edilen veriler, vulvovajinal kandidozun tedavisi için vajinal olarak uygulanan VZ'nin etkinliğini ortaya koymaktadır. Vorikonazolün intravenöz infüzyon, tabletler ve oral süspansiyon olarak piyasada mevcut preparatları vardır, ancak vajinal uygulama için VZ içeren herhangi bir formülasyona rastlanmamıştır. Vulvovajinal kandidozis tedavisinde VZ içeren yeni vajinal formülasyonların geliştirilmesi için VZ'nin

süspansiyon olarak uygulandığı bu çalışmanın öncülük edebileceği vurgulanmıştır (Gonzalez ve diğerleri, 2009).

Deshkar ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada VZ'nin vajinal jel formülasyonları geliştirilmiştir. VZ'nin suda çözünürlüğünü ve stabilitesini geliştirmek amacıyla VZ'nin hidroksil propil-beta-siklodekstrin (HP- β -CD) bazlı kompleksi püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Oluşturulan ilaç kompleksi kullanılarak Poloxamer 407 (P 407) ve Poloxamer 188 (P188) içeren in situ jel formülasyonları hazırlanmıştır. Formülasyonlar, jelleşme sıcaklığı ve kabiliyeti, viskozite, mukoadesyon, in vitro ilaç salımı ve sıçanlarda in vivo vajinal doku permeabilitesi açısından test edilmiştir. Hazırlanan optimize formülasyonun (VZ-HP- β -CD-%18 P407-%5 P188-%0,4 HPMC) iyi bir jelleşme sıcaklığı ve kabiliyetine sahip olduğu görülmüştür. Mukoadesif polimer olarak %0,4 oranında HPMC ilavesi ile iyi bir mukoadesif kuvvet sağlanmıştır. In vitro veriler optimize formülasyonun sekiz saatten uzun süre boyunca sürekli ilaç salımını göstermiştir. İn vivo veriler ise HP- β -CD kompleksi ile VZ'nin instu jel formülasyonun daha yüksek ilaç doku seviyelerine ulaştığını göstermiştir. Bu çalışma, VZ'nin vajinal yolla uygulanmasında HP- β -CD bazlı in situ jel formülasyonun etkinliğini kanıtlamıştır ve gelecek çalışmalar için öncü olmuştur (Deshkar ve Palve, 2019).

Querobino ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, sodyum aljinat kullanılarak hazırlanan oleik asit-poloxamer içeren organojellerin geliştirilmesi esas alınmıştır. Oleik asitten (OA) oluşan bir yağ fazı ve tek başına veya poloxamer PL188 ile birlikte poloxamer PL407'den oluşan bir sulu faz ve %0,25-1 sodyum aljinat (SA) kullanılarak hazırlanan poloxamer sodyum aljinat (SA) sulu fazına yağ fazının eklenmesi ile VZ içeren organojeller hazırlanmıştır. VRC-OA-PL407 formülasyonunun 0,5 ile 4 saat arasında etkin maddeyi hızlı bir şekilde saldıgı gözlenmiştir (24 saate kadar ~%100). SA'nın organojellere eklenmesi, %0,25 SA (~%75), %0,5 SA (~%55) ve %1 SA (~%35) için farklı salım yüzdeleriyle VZ salımını desteklemiştir. OA-PL407-188-SA organojelleri, yüksek antifungal aktiviteleri ve düşük sitotoksik etkileri sayesinde gelecek vaat eden in vitro performans göstermiştir. Sonuç olarak, bu çalışmanın bulgularına göre, OA-PL407-188-SA kodlu VZ içeren organojellerinin gelecekteki vajinal uygulamalarda kullanılmak

üzere yeni taşıyıcı sistemlerin de geliştirilebileceğini kanıtlamıştır (Querobino ve diğerleri, 2019).

Başka bir çalışmada, VZ'nin vulvovajinal kandidiyazis tedavisinde kullanılmak üzere homojenizasyon ve ultrasonikasyon uygulayarak düşük konsantrasyonda lipid içeren karışık lipid nanoyapılı yarı katı bir vajinal formülasyonu hazırlanmıştır. Mukoadeziv karakterlerine göre seçilen farklı oranlarda katı lipidler, yüzey aktif maddeler ve yağlar kullanılarak ön formülasyon çalışmaları sonucunda optimum formülasyon bulunmuştur. Katı lipid (Sterotex NF (hidrojene bitkisel yağ: Gliseril monostearat) oranının 1,92:1 ve yağ oranının (Gliseril monolineolat: Gliseril monooleat) 1:1 olduğu %10 toplam lipid oranına sahip vajinal preparatlar için uygun emülgatörler olarak glikol stearat PEG-6 stearat PEG-32 stearat ve gliseril stearat ve PEG-75 stearat kullanılarak optimize edilmiş formülasyonlar hazırlanmıştır. Vajinal kullanıma uygun pH ($4,55 \pm 0,26$), viskozite ($964,49 \pm 57,99$ cp), yayılabilirlik ($24,55 \pm 1,32$ g. cm.sn) ve mukoadesif özelliklere sahip optimize edilmiş formülasyonda, VZ'nin $67,16 \pm 3,45$ 'ini hapseden nanopartiküller 8 saat içinde %70 salım profili göstermiştir. Yüksek biyoadesif özellikli optimize edilmiş formülasyon, sulu VZ süspansiyonu ile karşılaştırıldığında vajinal kandidiyazis ile enfekte olmuş dişi Wistar sıçanlarında mantar yükünü etkili bir şekilde azaltmıştır. Ayrıca, in vivo histopatolojik bulgular, vajinal uygulamadan sonra optimize edilmiş katı lipid nanopartikül formülasyonunun etkinliğini ve güvenliğini kanıtlamıştır. Sonuç olarak, hazırlanan optimize formülasyon, vulvovajinal kandidiyaz tedavisi için VZ'nin vajinal taşıyıcı sisteminde kullanılmasına öncü olmuştur. Optimize edilmiş formülasyonun VVC tedavisinde etkinliğini kanıtlamak ve geliştirmek amacıyla daha fazla klinik çalışma tasarlanmaktadır (Abd-Elsalam, Nagy ve Abouelatta, 2021).

Ek olarak, VZ'nin klinik etkinliği ve hasta kabul edilebilirliğini iyileştirmek için, vajinada meydana gelen sızıntı ve dağınıklığın önlenmesi, uzun süreli ve kontrollü ilaç salımının sağlanması ve yan etkilerinin azaltılması dolayısıyla hasta uyuncunun sağlanması açısından vajinal ilaç taşıyıcı sistemi olarak nanosistem bazında formülasyonlarının geliştirilmesi, son yıllarda ilgi çekmektedir ve yeni yapılan araştırmalarda yerini almaya başlamıştır (El-Hammadi ve Arias, 2021; Swant ve Khan 2017; Abd-Elsalam ve diğerleri, 2021).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Vorikonazol	Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co. Ltd., Çin-Gen İlaç, Türkiye
Badem Yağı.....	Balen, Türkiye
Disodyum Hidrojen Fosfat.....	Merck KGaA, Darmstadt,Almanya
HCl.....	Merck KGaA, Darmstadt,Almanya
HPMC-Methocel K100M CR Premium.....	USP/EP Colorcon Limited, UK
İzopropil Miristat	Sigma Aldrich, ABD
Karanfil Yağı.....	Sigma Aldrich, ABD
Kekik Yağı.....	Balen, Türkiye
Lavanta Yağı.....	Balen,Türkiye
Metanol.....	Merck KGaA, Darmstadt, Almanya
Nane Yağı.....	Balen,Türkiye
Oktanol	Merck, Darmstadt, Almanya
Oleik Asit.....	Zag Kimya,Türkiye
Sitrik Asit.....	Merck, Almanya
Susam Yağı.....	Sigma Aldrich, ABD

3.1.2. Kullanılan araç ve gereçler

Brookfield DV III+Rheometer Viskozimetresi, ...	ABD
Distile su cihazı.....	Nüve NS112,İngiltere
Diyaliz membran (cut off: 12000 Dalton).....	Sigma, Almanya
Diferansiyal taramalı kalorimetri cihazı.....	(DSC 60, Shimadzu, Japonya)
Franz Difüzyon Hücreleri	Çalışkan Cam, Türkiye
Fourier transform infrared spektrofotometri cihazı. (Spectrum 400, Perkin Elmer, ABD)	
Hassas Terazî.....	Shimadzu AW-320, Kolombiya
IKA Eurostar 20 high dijital mekanik karıştırıcı.....	(IKA, Almanya)
IKA RW 20 dijital mekanik karıştırıcı.....	(IKA, Almanya)
Isıticılı su banyosu.....	Nüve NB-20, Türkiye

İklim Dolabı.....	(Model MLR 350H, Japonya)
Manyetik karıştırıcı.....	Thermo Scientific,Almanya
Otomatik pipet 10-100 µL, 100-1000 µL, 1000-5000 µL.....	Eppendorf, Almanya
pH metre.....	Sartorius,Almanya
Santrifüj.....	Selecta Mixatase,İspanya
Spektrofotometre küveti.....	Helma QS 100,Almanya
TA.XT. Plus Texture Analyzer Cihazı.....	Stable Micro Systems, UK
Ultrasonik su banyosu.....	Branson 221, Almanya
UV spektrofotometre.....	Shimadzu UV 1700,Japonya

3.1.3. Kullanılan yazılımlar

Doku Profil Analiz Yazılımı	Texture Exponent (2.0.6.0)
İstatistiksel Analiz Yazılımı.....	GraphPad Prism 9.0.0, GraphPad Software Inc., ABD
İstatistiksel Analiz Yazılımı.....	DDSolver Software Inc.

3.2. Yöntem

Çalışmanın bu bölümünde VZ'nin fizikokimyasal özelliklerinin tespiti, miktar tayini yöntemlerinin geliştirilmesi, formülasyonların geliştirilmesi, doku profili analizi, mukoadesyon, in vitro ilaç salımı, ex vivo permeabilite ve in vitro antifungal etkinlik çalışmalarına ait deneyler detaylı olarak sunulmaktadır. Formülasyon geliştirme aşamasında HPMC K100M polimeri ve farklı oranlarda yağ fazı (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı) kullanılarak organojel formülasyonları hazırlanmıştır. Organojel formülasyonları için gerekli farmasötik karakterizasyon testleri in vitro ve ex vivo olarak yapılmış ve vajinal uygulama için en uygun formülasyona karar verilmiştir.

3.2.1. Deneylerde kullanılan tampon çözeltinin hazırlanışı

pH 4,5 Fosfat Tamponu (USP XXVII)

Disodyum Hidrojen Fosfat.....32,4 g

Sitrik Asit.....12 g

Distile Su.....ym 1000 mL

Maddeler yukarıdaki miktarda tartıldıktan sonra manyetik karıştırıcıda homojen çözelti oluşana kadar karıştırıldı ve pH metre ile ölçüm yapıldı. Vajinal pH'ya uygun olması için HCl ilave edilerek pH'nın 4,5'a gelmesi sağlandı. İn vitro ve ex vivo çalışmalarda hazırlanan pH 4,5 fosfat tamponu kullanılmıştır.

3.2.2. Vorikonazolün fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

Vorikonazolün erime derecesi tayini

Erime derecesi tayini için diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) cihazı (DSC 60 Shimadzu) kullanıldı. Deney 10°C/dk tarama hızında yapıldı ve 300°C'ye kadar olan sıcaklık aralığı kullanıldı. DSC cihazı açıldıktan sonra nitrojen tüpü vanası açılarak azot gazı akışı dakikada 5 ml olacak şekilde ayarlandı. Bu cihazın sol hazne kısmına referans olarak alüminyum pan yerleştirildi, sağ hazneye de VZ içeren alüminyum pan yerleştirilip ısıtma hücresine konuldu. 0-300°C sıcaklığında, azot atmosferi altında erime derecesi tayini yapıldı.

FT-IR analizi

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) maddelerin yapısında bulunan fonksiyonel grupların kimyasal yapılarını aydınlatmak için kullanılır. Yapıdaki moleküllerin titreşim enerji seviyeleri hakkında bilgi vermektedir. Formülasyonda kullanılan HPMC K100M ve VZ'nin ayrı ayrı ve 1:1 oranında karıştırılıp örnekler hazırlandı. Toz karışımı, 1000 kg. cm^{-1} lük basınç altında sıkıştırıldı. Elde edilen karışım disklerin FTIR spektroskopisi ile ölçümleri gerçekleştirildi.

DSC analizi

Etkin madde ve yardımcı maddeler arasındaki geçimsizlik olup olmadığını belirlemek için DSC analizleri sıklıkla kullanılmaktadır. DSC-60 Shimadzu cihazı kullanılarak önce VZ, HPMC K100M, oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı ve yağ-VZ karışımlarının ayrı ayrı azot gazı altında 10°C/dk ısıtma hızında, 25-300°C arasında termogramları alındı. Bunun için ayrı ayrı olacak şekilde VZ ve HPMC K100M 2 mg tartılarak, yağlar ise 10 µl ölçülerek alüminyum pana alındı ve basınç

altında sıkıştırıldı. Elde edilen örneklerin aynı koşullarda termogramları alınarak etkin madde-yardımcı madde geçimsizliği kontrol edildi.

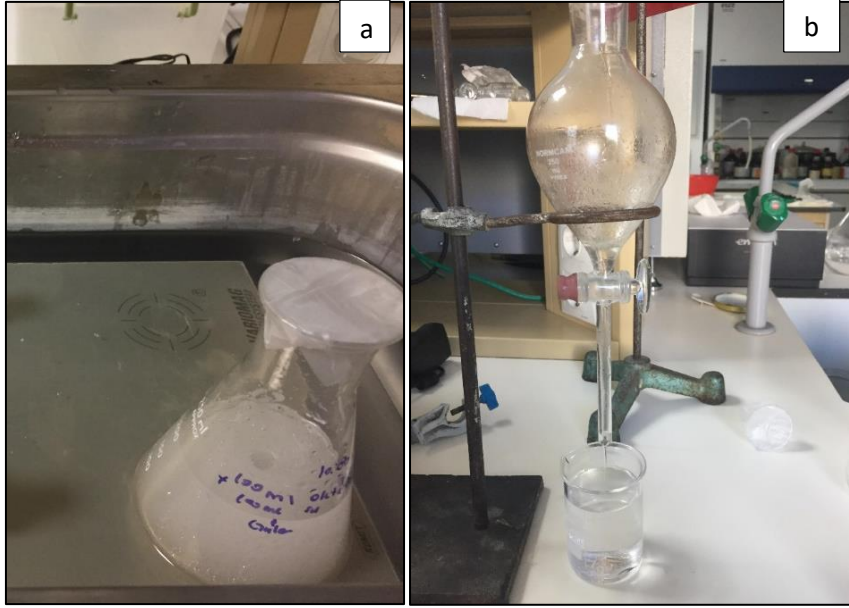
Partisyon katsayısının saptanması

Partisyon katsayısı etkin maddenin çözücü ve su arasında nasıl bir dağılım gösterdiğinin ifadesidir. VZ'nin yağ fazı olarak oktanol ve su fazı olarak distile su arasındaki yağ /su partisyon katsayısı saptandı. Bu amaçla 100 mL yağ fazı (oktanol) ve 100 mL su fazı (distile su) $25\pm0,5$ °C sıcaklıktaki su banyosunda manyetik karıştırıcı yardımıyla 24 saat karıştırılarak fazların birbiriyle doyması sağlandı. Daha sonra ayırma hunisinde fazlar ayrıldı (Resim 3.1a ve b). Bu işlem sonucunda elde edilen su fazında VZ'nin 20 µg/ml derişimde çözeltisi hazırlandı. Altı adet balon jojede her birine 10 ml suyla doyurulmuş yağ fazı ve 10 ml yağ ile doyurulmuş su fazında hazırlanan VZ çözeltisi ilave edilerek her bir saat için kullanılacak olan karışımlar hazırlandı. Hazırlanan karışımlar, $25\pm0,5$ °C sıcaklıktaki su banyosunda manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı. Sırasıyla balon jojedeki karışımlar 1., 2., 4., 6., 8. ve 24. saatlerde ayırma hunisi kullanılarak Resim 3.1 b'de gösterildiği gibi fazları ayrıldı. Ayırma hunisinden ayrılmış olan su fazı santrifüj tüplerine alınıp, 4.000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edildi. Elde edilen su fazlarının UV spektrofotometrede belirlenen dalga boyunda absorbanları okundu. Kör olarak yağ ile doyurulmuş su fazı kullanıldı. Elde edilen derişimlerden hareketle partisyon katsayısı hesabı yapıldı. (Eş. 3.1).

$$\text{Log } K = \text{Log } [C_{(\text{oktanol})} / C_{(\text{Distile su})}] \quad (3.1)$$

K: partisyon katsayısı

C: derişim

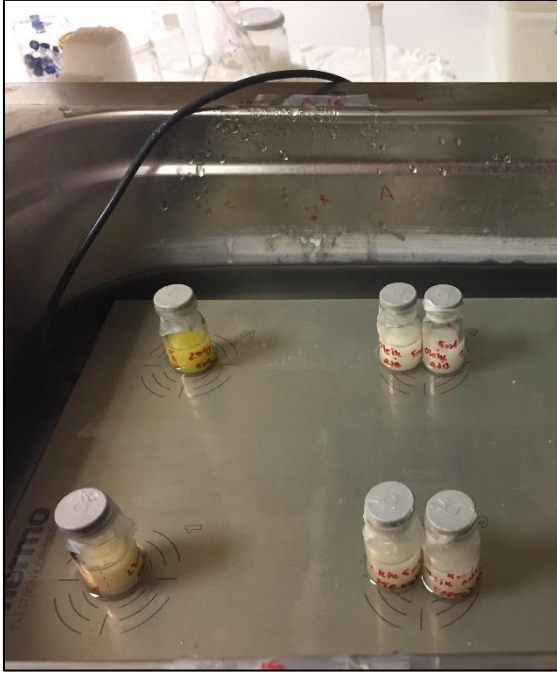


Resim 3.1. a) Yağ fazı (oktanol) ve su fazının (distile su) doyurulması b) ayırma hunisi yardımıyla fazların birbirinden ayrılması

Çözünürlük

Vorikonazol'ün yağlardaki çözünürlüğünü belirlemek için, etkin maddenin aşırı miktarı yağların (nane yağı, badem yağı, kekik yağı, susam yağı, oleik asit, isopropil miristat, karanfil yağı, lavanta yağı) 5ml'sine eklendi, süspande karışımlar 3 paralel hazırlandı (n=3). Çözeltiler $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki su banyosunda manyetik karıştırıcı yardımıyla 72 saat karıştırıldı (Resim 3.2).

5 ml'lik karışımlar santrifüj cihazında 10000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edildi. Uygun seyreltmeler yapılarak, belirlenen dalga boyunda (λ_{max}) UV spektrofotometre ile yağlarda çözünürlüğünü tespit etmek için yağları ve etkin maddeyi çözebilen madde olarak seçilen metanole karşı absorbans değerleri okundu. Belirlenen kalibrasyon denkleminde bu absorbanslar kullanılarak konsantrasyon değerleri hesaplandı.



Resim 3.2. VZ'nin yağlardaki çözünürlük deney düzeneği

3.2.3. Vorikonazol'ün spektrofotometrik miktar tayin yönteminin geliştirilmesi

Etkin maddenin λ_{max} değerinin hesaplanması

Vorikonazol'ün λ_{max} değerinin belirlenmesi için pH 4,5 tamponunda, distile suda ve metanolde sırasıyla 40 $\mu\text{g/ml}$, 36 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$ derişiminde çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin kuvartz küvet kullanılarak UV spektrofotometrede 200-800 nm arasında köre karşı spektrumları alındı ve λ_{max} değerleri saptandı.

Standart doğrunun hazırlanması ve validasyon

Vorikonazol'ün difüzyon deneylerinde ve miktar tayininde kullanılması için pH 4,5 fosfat tamponunda ve yanı sıra distile suda ve yağlarda çözünürlüğünü tespit etmek için yağları ve etkin maddeyi çözebilen madde olarak metanolde kalibrasyon doğrusu ve denklemi bulundu. Bunun için etkin maddenin, 50 $\mu\text{g/ml}$ derişimde stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltisinden hareketle uygun seyreltmeler yapılarak pH 4,5 fosfat tamponu için 5-50 $\mu\text{g/ml}$, distile su için 14-38 $\mu\text{g/ml}$ ve metanol için 12-38 $\mu\text{g/ml}$ aralığında artan derişimlerde seyreltilmiş çözeltiler hazırlandı. Önceden belirlenen maksimum dalga boyunda bu derişimlere karşılık gelen absorbans değerleri okundu. Çalışmalar 3 defa tekrarlandı ve ortalama absorbans değerleri

hesaplandı. Vorikonazol derişimine karşı, absorbans değerlerinin grafikleri oluşturuldu. Gerekli hesaplamalar yapılarak standart doğru denklemleri bulundu.

Vorikonazol'ün spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonu

Validasyon, etkin maddenin tayini için, yöntemin doğru ve kesin bir şekilde sürekli olarak önceden belirlenmiş gerekliliklere uygun olduğundan emin olmak için gerçekleştirilen çalışmalardır. Böylece yöntemin doğruluğu, güvenilirliği ve tekrarlanabilirliği kanıtlanmış olur.

Yöntemin geçerliliğinin ispatlanması için hesaplanacak bazı temel parametreler vardır. Bunlar doğrusallık, doğruluk, geri elde, kesinlik ve tekrar edilebilirlik, özgünlük, seçicilik ve stabilite parametreleridir. Bu parametreler VZ'nin hem metanolde hem de pH 4,5 fosfat tamponundaki çözeltilerine uygulanarak yöntemin güvenilirliği saptanmıştır.

Doğrusallık (linearity)

Örnekteki maddenin belli sınırlar içindeki derişimi ile elde edilen bulguların belirli aralıkta orantılı olduğunun göstergesidir. Bu amaçla derişime karşılık gelen absorbans değerleri regresyon doğrusu ile hesaplandı. Vorikonazol'ün pH 4,5 fosfat tampon çözeltisinde, metanolde ve distile suda 50 µg/ml derişimde 3'er adet stok çözeltisi hazırlandı ve her stoktan seyreltmeler yapılarak 8 noktada farklı derişimlerde çözeltiler elde edildi. Her derişim ve bu derişime karşılık gelen absorbans değerleri en küçük kareler yöntemine göre değerlendirilip, standart doğru denklemi bulundu. Standart doğrunun eğimi ve determinasyon katsayısı (r^2) hesaplandı.

Doğruluk(accuracy) ve Geri Elde(recovery)

Gerçek değer ile saptanan değerlerin birbirine olan yakınlığı, miktar tayini yönteminin doğruluğunu gösterir. Geri elde ile hesaplanır. Yöntemin doğruluğu bu geri elde yüzdesine bağlıdır. %95 olasılıkla daha öncesinden kabul edilen ölçütler arasında kalmalıdır.

Bu amaçla VZ'nin pH 4,5 fosfat tampon çözeltisinde ve metanolde 50 µg/ml derişimde stok çözeltisi hazırlandı. Etkin madde miktarının %80'ini, %100'ünü ve %120'sini kapsayan miktarlarda 3 ayrı geri elde çalışması yapıldı. Uygun seyreltmeler yapılarak 16 µg/ml, 20 µg/ml ve 24 µg/ml derişimlerde çözelti hazırlandı. Çalışmalar 3 defa tekrarlandı. Her bir ortam için bulunan standart doğru denklemlerinde UV spektrofotometrede bulunan absorbans değerleri yerine konularak derişimler hesaplandı. Derişim değerlerinin ortalaması (X_{ort}), standart sapması (SS) ve % bağıl sapma (%BS) değerleri bulunmuştur. Her bir derişim için hesaplanan % BS değerinin %2 den az olup olmadığına bakıldı.

Kesinlik (precision) ve tekrar edilebilirlik (repeatability)

Analitik metodun kesinliği, miktar tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntemin birbirini takip eden ölçümleri arasındaki yakınlık derecesidir. Standart sapma ve bağıl sapma ile ifade edilir. Kesinlik, bir yöntemin tekrar edilebilirlik ve yeniden yapılabirlik derecesinin bir ölçütüdür. İki kısımda incelenir bunlar; deneyler arası kesinlik ve deney içi kesinlik. Biz deney içi kesinliği deneylerimizin validasyonunda kullandık.

Bu amaçla, VZ'nin kalibrasyon doğru denklemlerinden hareketle stok çözeltisinden (50 µg/ml) seyreltme ile pH 4,5 tampon çözeltisinde 12 µg/ml ve metanolde 20 µg/ml derişimindeki çözelti hazırlandı. Çalışmalar 3 defa tekrarlandı. Örneklerin spektrofotometrede ve önceden belirlenen dalga boyunda 10 kez art arda ölçülmesi ile bulunan absorbanslara karşı gelen derişimlerin ortalaması (X_{ort}), standart sapması (SS) ve bağıl sapması (%BS) hesaplandı. %2' den küçük bağıl sapma yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermektedir.

Özgünlük ve seçicilik (specificity, selectivity)

Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin özgünlüğü ve seçiciliği sadece analiz edilmesi istenen yapıyı saptayabilmesidir. Bu amaçla formülasyonlarda kullanılan etkin madde dışındaki bileşenlerin pH 4,5 fosfat tamponunda ve metanolde 200-800 nm dalga boyları arası taranarak spektrumları alındı.

Stabilite (stability)

Etkin maddenin çözünme ortamında analiz boyunca kimyasal olarak stabil olup olmadığının belirlenmesi için yapıldı. Bu amaçla VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponunda oda sıcaklığındaki $25\pm0,5^{\circ}\text{C}$ ve $37\pm0,5^{\circ}\text{C}$ 'deki stabilitesi incelendi. Yapılan analizlerde absorbans değerlerinin okunmasında kullanılmak üzere etkin maddeyi çözebilen bir madde olarak seçilen metanolde yüksek uçuculuğundan dolayı stabilite testi yapılamamıştır. Örneklerin UV spektrofotometrede analizi kısa süreli olduğundan metanolde ve distile suda stabilite testine gerek duyulmamıştır. Etkin maddenin 16 µg/ml derişimlerde çözeltisi hazırlanıp, oda sıcaklığında ve $37\pm0,5^{\circ}\text{C}$ 'de su banyosunda 24 saat boyunca bekletildi. Çalışmalar 3 defa tekrarlandı. 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8. ve 24. saatlerde numune alınarak UV spektrofotometrede belirlenen dalga boyunda absorbans değerleri okundu ve derişimler hesaplanmıştır. Derişimlerin ortalaması (X_{ort}), standart sapması (SS) ve bağıl sapması (%BS) bulundu. Derişimlerde herhangi bir değişiklik olup olmadığı incelendi.

3.2.4. Vajinal organojel formülasyon geliştirme çalışmaları

Ön formülasyon çalışmaları

VZ'nin ajinal uygulaması için organojel formülasyonlarının seçilmesinin nedeni, VZ'nin yağ fazında çözünmesini sağlamak ve böylece antifungal etkinlik gücünü iyileştirmektir (Hosny ve diğerleri, 2021). Organojel formülasyonlarında kullanılacak yağ fazının seçilmesi amacıyla daha önce yapılan çalışmalarda antifungal etkinliği bilinen vajinal formülasyonda uygulanabilecek esansiyel yağlar belirlenmiştir. Literatürde antifungal etkinliği bildirilen yağ olarak nane yağı, badem yağı, susam yağı, kekik yağı, karanfil yağı ve lavanta yağı seçilmiştir (Massa ve diğerleri, 2018; D'auria ve diğerleri, 2005; Pietrella ve diğerleri, 2011; Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernández-López ve Pérez-Álvarez, 2007; Kumar ve diğerleri, 2012; Bona ve diğerleri, 2016; Lavaee ve diğerleri, 2019). Karşılaştırmalı çalışmalar amacıyla da antifungal etkinliği olmayan yağ fazı olarak oleik asit ve isopropil miristat seçilmiştir. Seçilen tüm yağlarda etkin maddenin çözünürlük çalışması yapılmıştır. Çözünürlük çalışması sonucunda (Bkz. Çizelge 4.1) elde edilen verilere göre karar verilen oleik

asit, lavanta yağı ve karanfil yağı olmak üzere üç farklı esansiyel yağ kullanılarak üç farklı organojel formülasyonu hazırlanmıştır. Mukoadezif polimer olarak %2 HPMC K100M kullanılarak hazırlanan hidrojel formülasyonlarına yağ fazı:su fazı 1:2 (h:h), 1:3(h:h), 1:4 (h:h), 1:5 (h:h) olacak şekilde farklı oranlarda yağ fazının katıldığı bir organojel formülasyonu tasarlanmıştır.

1:4 (h:h) ve 1:5 (h:h) yağ: su fazı oranlarında hazırlanan formülasyonlarda faz ayrışması gözlenmediği için formülasyon çalışmalarına bu organojellerle devam etmeye karar verilmiştir. Bu kapsamda farklı (oleik asit, lavanta yağı ve karanfil yağı) esansiyel yağlar kullanılarak yağ fazı/su fazı olacak şekilde karar verilen iki farklı oranda (1:4 (h:h), 1:5 (h:h)) vajinal organojel formülasyonları geliştirilmiştir.

Tez çalışmamız kapsamında VZ etkin maddesinin esansiyel yağ fazındaki çözeltisi mukoadezif polimer olan HPMC K100M ile hazırlanmış hidrojele katılmış ve böylece organojel formülasyonları oluşturulmuştur. HPMC K100M hidrojelinin kullanılmasına daha önce yapılan vajinal çalışmamızda en iyi mukoadezif özelliği gösterdiği için karar verilmiştir (Tuğcu-Demiröz ve diğerleri, 2015).

Organojel formülasyonlarının hazırlanması

%2 oranında polimer içeren jel hazırlamak amacı ile, 2g HPMC K100M, 98 g distile suda disperse edildi ve 800 rpm'de 60 dakika karıştırıldı sonrasında 60 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek homojen bir hal alması sağlandı. Oluşan hava kabarcıklarının çıkması için +4 °C'de 24 saat bekletildi. VZ'nin oleik asit, lavanta yağı ve karanfil yağından oluşan yağ fazlarında ayrı ayrı çözülmesi sağlandı. Daha sonra içerisinde VZ'nin çözündüğü yağ fazı %2 oranında HPMC K100M ile hazırlanan sulu faz olan hidrojele yavaş yavaş ilave edilerek homojen görünüm elde edilinceye kadar 800 rpm'de 30-40 dakika karıştırıldı.

Yağ fazı: su fazı 1:4 (h:h) ve 1:5 (h:h) oranında olacak şekilde formülasyonlar hazırlandı. Böylece etkin madde içeren organojel formülasyonları hazırlanmış oldu. Hazırlanan etkin madde içermeyen organojel formülasyonlarının bileşenleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Etkin madde içeren organojel formülasyonları ise Çizelge 3.2'de

verilmektedir. Formülasyonların nihai VZ konsantrasyonu 5 mg/mL olacak şekilde ayarlanmıştır (Querobino ve diğerleri, 2019).

Çizelge 3.1. Etkin madde içermeyen organojel formülasyon bileşenleri

Organojel Formülasyonları	%2 HPMC K100M jel (ml)	Yağ (5 ml)	Yağ fazı: Su fazı (h:h)
O1	20	Oleik Asit	1:4
L1	20	Lavanta Yağı	1:4
K1	20	Karanfil Yağı	1:4
O2	25	Oleik Asit	1:5
L2	25	Lavanta Yağı	1:5
K2	25	Karanfil Yağı	1:5

Çizelge 3.2. Etkin madde içeren organojel formülasyon bileşenleri

Organojel Formülasyonları	VZ (mg)	%2 HPMC K100M jel (ml)	Yağ (5 ml)	Yağ fazı: Su fazı (h:h)
VO1	125	20	Oleik Asit	1:4
VL1	125	20	Lavanta Yağı	1:4
VK1	125	20	Karanfil Yağı	1:4
VO2	150	25	Oleik Asit	1:5
VL2	150	25	Lavanta Yağı	1:5
VK2	150	25	Karanfil Yağı	1:5

3.2.5. Organojel formülasyonu ile yapılan karakterizasyon çalışmaları

Fiziksel görünüş

Etkin madde içeren ve içermeyen organojel formülasyonlarının fiziksel görünüşü, oda sıcaklığındaki renk ve homojen olup olmadığı gibi özellikleri değerlendirildi.

pH

Etkin madde içeren ve içermeyen organojel formülasyonlarının pH değerleri pH-metre kullanılarak belirlendi. Her bir ölçüm 3'er kez tekrarlanarak ortalama değerler ve standart sapma hesaplandı.

Reolojik özellikler ve viskozite

Etkin madde içeren ve içermeyen organojel formülasyonlarının akış özelliklerinin ve viskozitesinin incelenmesi 25,0±0,1°C'de Brookfield Programmable, DV-III viskozimetresi ile yapıldı. Organojeller 0,5 ml alınarak enjektör yardımıyla ölçüm

haznesinin merkezine eklendi. Bu çalışmada her bir ölçüm % dönme momenti (% torque) değeri 10-100 arasında olacak şekilde ayarlandı ve 52 numaralı spindle kullanılarak ölçümler yapıldı. Ölçümler oda sıcaklığında yapıldı ve viskozitenin karşılaştırılabilir olması için formülasyonlar benzer rpm'lerde ölçüldü. Her bir ölçüm 3'er kez tekrarlanarak ortalama değerler hesaplandı. Vizkozimetrenin yazılım programının (Rheocalc V2.4) verdiği kayma hızı ve kayma geriliminden hareketle formülasyonların reolojik özelliği saptandı. Kayma hızına karşı kayma gerilimi grafiğe geçirilerek jellerin akış özellikleri belirlendi.

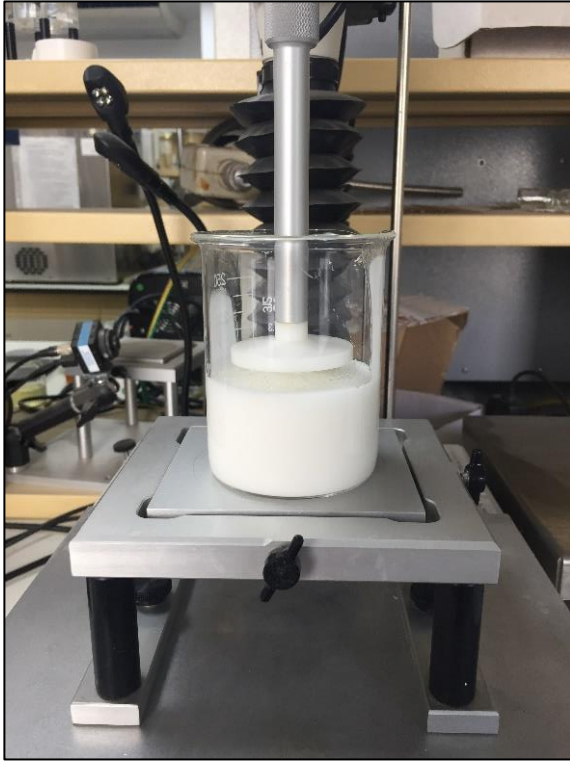
Organojellerde etkin madde miktar tayini

İçinde belli miktarda VZ içeren organojel formülasyonlarından, 1 g jel tartılarak 100 mL'lik pH 4,5 fosfat tamponu çözeltisine eklendi. Jelin tamponda çözünmesi için dijital manyetik karıştırıcıda 2 saat karıştırıldı ve ultrasonik banyoda bekletildi. Çözeltiler santrifüj cihazında 10.000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edildi. Çalışmalar 3 paralel yapıldı. Uygun seyreltmeler yapılarak UV spektrofotometrede 255 nm'de okundu. Bulunan absorbans değeri belirlenen kalibrasyon denkleminde kullanılarak konsantrasyon değerleri hesaplandı. Hesapla bulunan konsantrasyon değerlerinden hareketle hazırlanan formülasyon içeriğinden elde edilen miktar tayini %'si bulundu.

3.2.6. Organojel formülasyonlarının doku profil analizi (TPA)

Organojel formülasyonlarında mekanik özelliklerin tayini

Organojellerin, mekanik özelliklerinin ve viskozite dışındaki diğer reolojik özelliklerinin (jel sertliği, sıkışabilirliği, elastikiyeti, adezifliği ve kohezifliği gibi) tayini TA-XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK)TM cihazı kullanılarak yapıldı. Bu cihaza Resim 3.3'te görülen penetrometre probu takılarak $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de ölçümler yapıldı, sonuçlar cihaza bağlı bir yazılım programı (Texture Exponent 2.0.6.0.) ile değerlendirildi.



Resim 3.3. TPA analizi deney düzeneği

Mekanik özellikleri belirlenecek olan organojeller 250 ml'lik beherlere konuldu ve organojel yüksekliğinin standart olarak belirlenen bir yükseklik olmasına dikkat edildi. Daha sonra bu beherlerdeki organojeller ultrasonik su banyosunda 20 dakika bekletildi. Böylece sıcaklığı 37°C'ye ayarlanmış oldu ve hava kabarcıklarının çıkması sağlandı. Cihaz uygulamaya başlanmadan prob belirlenen yükseklikte kalibre edildi. 10 mm çapındaki prob ile organojellerin yüzeyine iki defa belirli hızda (2 mm/s) ve belli derinlikte (15 mm) baskı uygulandı ve probun jel yüzeyini baskılayıp itmesi sağlandı. Cihaz otomatik olarak bu baskıyı 2 defa tekrarladı. Her periyotta iki baskı arasında 10 saniye olacak şekilde ayarlandı (Tuğcu-Demiröz ve diğerleri, 2015; Baloğlu ve diğerleri, 2011). Her çalışma 3 defa tekrarlanmıştır.

Ölçüm sonucunda elde edilen veriler, cihazın kendine ait olan *Texture Exponent* 2.0.6.0. yazılım programı kullanılarak hesaplandı.

Etkin madde içeren ve içermeyen organojel formülasyonlarının TPA diye kısaca söz edebileceğimiz doku profil analizi yukarıda anlatıldığı gibi yapılmış ve formülasyonların adezifliği, kohezifliği, sertliği, sıkışabilirliği, kırılabilirliği, elastikiyeti ve esnekliği incelenmiştir.

Sertlik (Hardness): Uygulanan belirli bir kuvvet sonucunda malzemenin direncinin ölçüsüdür veya ilk baskı döngüsüne ait pikin maksimum kuvvetidir (N, g, kg) (Pandit, Patel, Bhanushali, Kulkarni ve Kakad, 2017; Cevher, Sensoy, Taha ve Araman, 2008a). Şekil 3.1’de F(g) noktası olarak gösterilmektedir.

Adeziflik (Adhesiveness): İlk kompresyondaki negatif kuvvet alanı olarak tanımlanır ve probun yüzeyi ile jelin yüzeyi arasındaki çekici kuvveti yenmek için gereken işi temsil eder (N.mm, g.sec) (Małeckı, Tomasevic, Djekic ve Sołowiej, 2020; Cevher ve diğerleri, 2008a). Şekil 3.1’de adezyon, A3(g.s) alanı olarak gösterilmektedir.

Koheziflik (Cohesiveness): Birinci kompresyon döngüsündeki (Şekil 3.1) kuvvet-zaman eğrisi altında kalan alan ile ikinci kompresyon döngüsündeki eğri altında kalan alanın oranı olarak tanımlanmaktadır. Birimi bulunmamaktadır (Małeckı ve diğerleri, 2020). Şekil 3.1’de kohezyon, $A_4/(A_1+A_2)$ olarak gösterilmektedir.

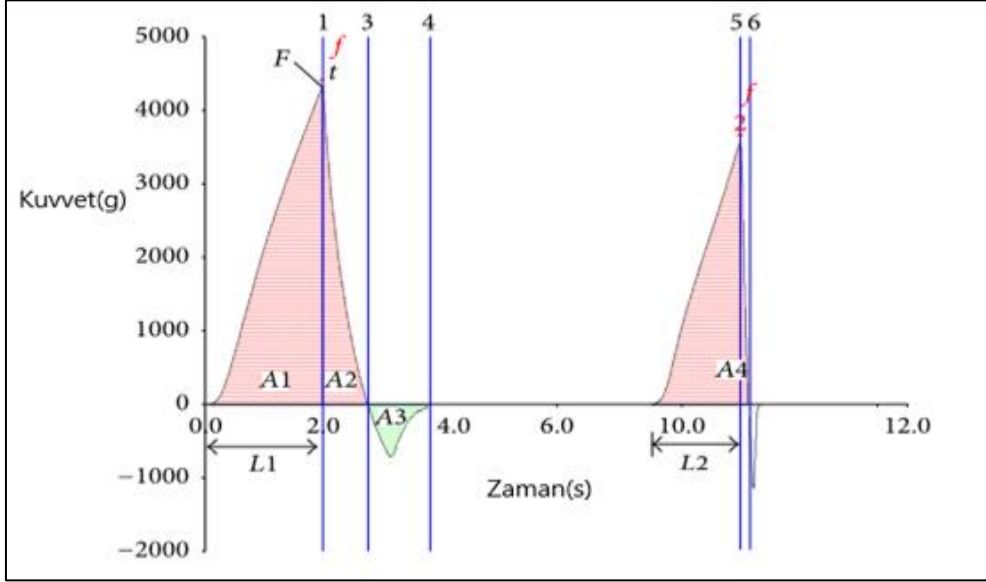
Sıkışabilirlik (Compressibility): Probun ilk kompresyon döngüsünde ürünün biçiminin deforme olması için gereken iş olarak tanımlanır (N.mm, g.sec). Şekil 3.1’de sıkışabilirlik, probun mukoadezif jele birinci batma periyodu süresince elde edilen eğrinin altında kalan alan (A_1+A_2) olarak gösterilmektedir (Bansal ve diğerleri, 2009; Jones, Woolfson ve Brown, 1997).

Kırılabilirlik (Fracturability): Kırılabilirlik (başlangıçta kırılabilirlik olarak adlandırılır), TPA eğrisindeki ilk önemli kırılmadaki kuvvet olarak tanımlanır (Tunick, 2000; Małeckı ve diğerleri, 2020). Belirli bir yük altındaki deformasyon ne kadar küçük olursa, yapışkanlık o kadar düşük ve ürünün kırılma kabiliyeti o kadar büyük olur. Birimler kg, g veya N'dir.

Elastikiyet (Springiness): Birinci ve ikinci kompresyon döngülerindeki (Şekil 3.1) maksimum yapısal deformasyonun oluşması için gerekli sürelerin oranı olarak tanımlanmaktadır ve birimsiz bir parametredir (Cevher ve diğerleri, 2008a). Bu oranın 1’e yakın olması sistemin elastik özelliğinin gayet iyi olduğunu gösterir.

Esneklik (Resilience): Esneklik, numunenin hem hız hem de türetilmiş kuvvetler açısından deformasyondan nasıl kurtulduğunun bir ölçümüdür. Hesaplama, ilk

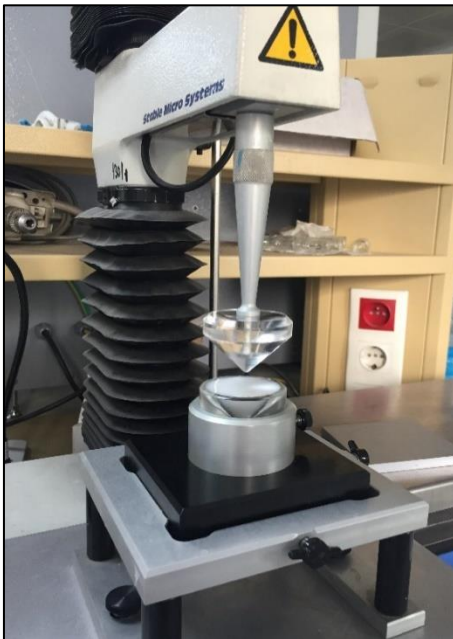
sıkıştırma sırasında oluşan alan ile geri çekilmesi sırasındaki alanın birbirine oranıdır. Şekil 3.1'de esneklik, A_2/A_1 olarak gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Doku profil analizi, birinci ve ikinci kompresyon döngüsü grafiği

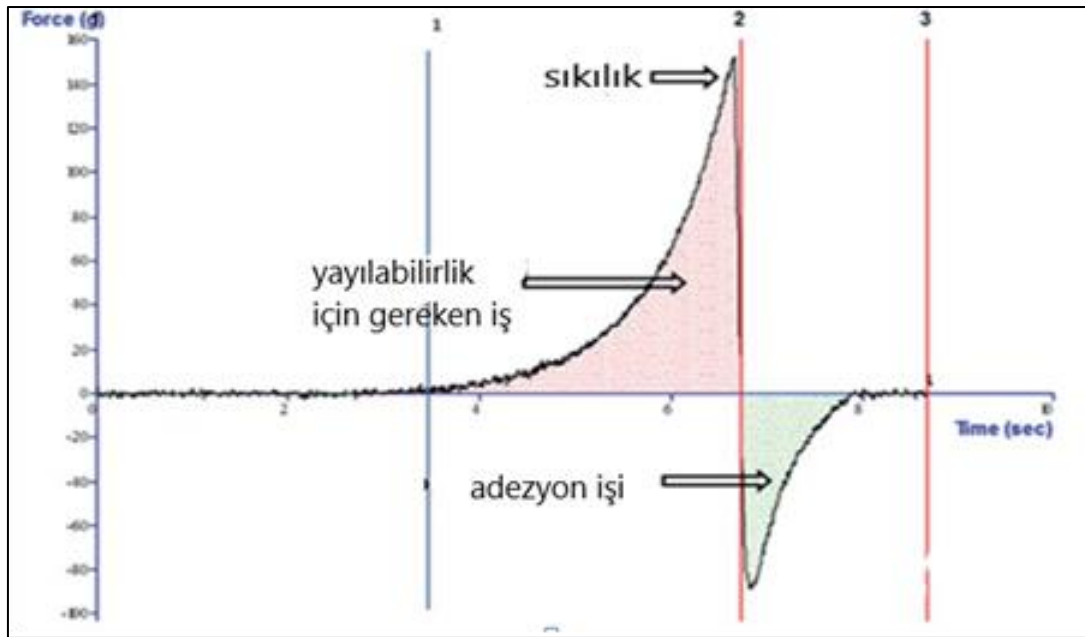
3.2.7. Organojel formülasyonlarında yayılabilirlik (spreadability) tayini

Yayılabilirlik, bir ürünün yayılabilme kolaylığıdır yani sıklığı ile ilgilidir ve yayılma kolaylığından daha çok sıklığın kaybı ile ilişkilidir. Bu özellik merhemlerin, kremlerin ve jellerin uygulanması açısından önemli bir özelliktir (Patil ve Muthusamy, 2020).



Resim 3.4. Yayılabilirlik deney düzeneği

Yayılabilirlik aparatı, tam olarak eşleşen, sabit ve hareketli olmak üzere koni şeklindeki 2 prob setinden oluşmaktadır (Resim 3.4). Koni şeklindeki prob setleri cihaza takıldı ve cihaz kullanıma başlanmadan üst hareketli koni şeklindeki prob belirlenen yükseklikte (23 mm) kalibre edildi. Organojeller malzemenin alt sabit koni şeklindeki prob içine bir spatula ile hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek Resim 3.4'te görüldüğü gibi dolduruldu yüzeyin düz hale gelmesi sağlandı. Daha sonra üst koni şeklindeki prob belirlenen yükseklikte (23 mm) ayarlanarak cihazın yazılım programı üzerinden yayılabilirlik testi uygulandı. Organojel, test sırasında koni şeklindeki prob yüzeyleri arasında alt koni probundan dışa doğru akmaya zorlandı, bu da yayılabilirlik derecesini (Sıkıştırma kuvvet piki) gösterdi. Üst koni probunun numuneden geri çekilmesi, mevcut olabilecek adeziv özellikleri hakkında bilgi sağladı. Maksimum negatif tepe (geri çekme kuvvet piki) organojelin adezivliğinin, organojelin diskten ayrılma direncinin bir göstergesidir. Organojel ne kadar viskoz olursa probun yukarı doğru hareket etmesi için daha büyük bir kuvvet gerektirir ve bu da daha büyük bir negatif alan oluşturur. Her jel için 3 ölçüm yapıldı. Ölçüm sonucunda elde edilen veriler, cihazın *Texture Exponent 2.0.6.0.* yazılım programı kullanılarak hesaplandı. Ölçüm sonucunda sıklık (Firmness, g, N) ve organojelin yayılabilirliği için gerekli olan iş (Work of shear, g.sec, N.mm) verileri elde edildi. Yapılan toplam iş (W) kuvvet-zaman eğrisi altında kalan alana eşittir.



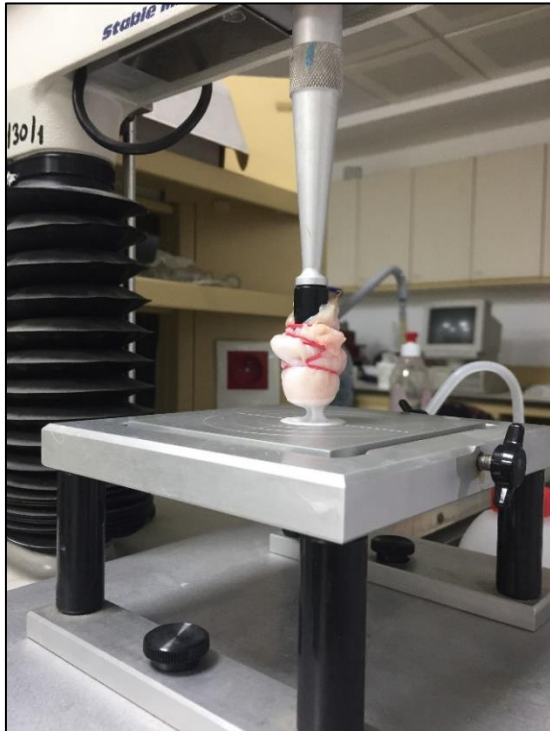
Şekil 3.2. Yayılabilirliğe ait kuvvet-mesafe eğrisi

3.2.8. Organojel formülasyonlarında ex vivo mukoadesyon çalışmaları

TA.XT. Plus Texture Analyser ile hazırlanan jel formülasyonlarının mukoadesyon özellikleri belirlendi. Bu çalışmalar sırasında kopma kuvveti (F) ve yapılan adezyon işi (W) bulundu. Mukoadesyon testi için yapılan çalışmalarda vajinal mukoza kaynağı olarak koyun, sıçan, tavşan ve domuz gibi çeşitli hayvan türleri kullanılmıştır. İnsan vajinal mukoza özelliklerine en benzer özellikte olan mukozanın inek vajinal mukozası olduğu bildirilmiştir (Das Neves, Amaral ve Bahia, 2008; Valenta, Kast, Harich ve Bernkop-Schnürch, 2001). Yapılan çalışmalarda inek vajinal mukozasının insan vajinal mukozasına benzer özellikte olması, kolay bulunur olması ve yüzey alanının geniş olması nedeniyle model mukoza olarak inek vajinal mukozası kullanılmıştır.

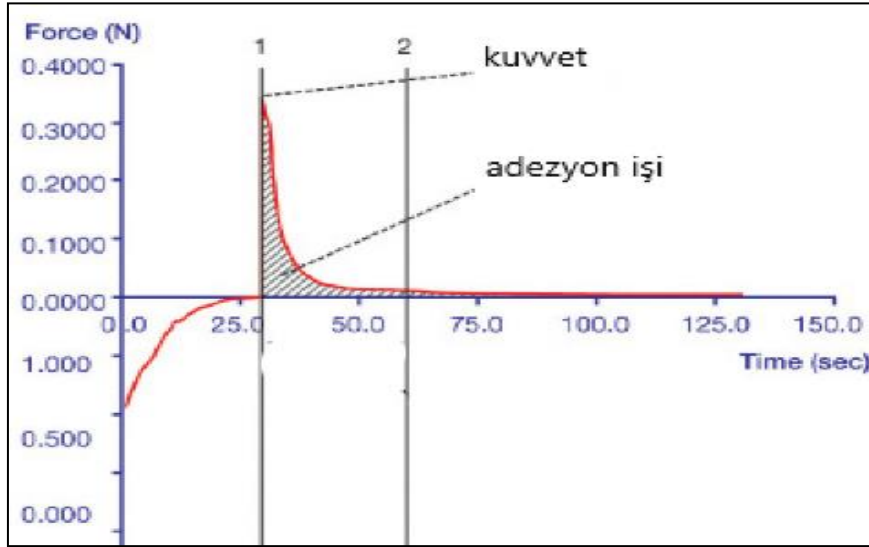
Mukoza inekten çıkarıldıktan hemen sonra %0,9'luk NaCl çözeltisi içinde -20°C'de dondurulmuştur. Çalışma yapılana kadar bu şekilde saklanan mukoza çalışmadan 1 saat önce çözölmüştür.

Hazırlanan vajinal organojel formülasyonlarının inek vajinal mukozasına dokunduktan sonra ayrılırken oluşan kopma kuvveti ve bu sırada yapılan iş TA.XT. Plus Texture Analyser cihazı kullanılarak ölçölmüştür.



Resim 3.5. Mukoadesyon çalışması deney düzeneği

Teste başlamadan önce donmuş halde bulunan inek vajinası 25°C'de 1 saat bekletildi. Tam erime gerçekleşmeden, henüz sertken mukozal yüzeyden 2 mm kalınlığında ve yaklaşık 10 mm çapında kesitler alındı. Kesitler 37°C'de pH 4,5 fosfat tamponunda bekletilerek sıcaklığı ayarlandı. Bu kesitler lastikler ile Resim 3.5'te gösterildiği gibi proba sabitlendi. Hazırlanan organojel formülasyonları 37°C'lik su banyosunda bekletilerek sıcaklıkları 37°C 'ye getirildi. Formülasyonlardan enjektör yardımıyla 0,5 ml organojel örnekleri alınarak probun inerek dokunacağı haznenin merkezine ilave edildi. Vajinal mukozayı taşıyan prob belirlenen optimum süre ile organojelin bulunduğu noktaya inerek belirlenen sürede bekletildi. Temas süresi 120 sn olarak ayarlandı (Cevher, Taha, Orlu ve Araman, 2008b; Tuğcu-Demiröz, 2009) (Resim 3.5). Her organojel ölçümünde vajina dokusu değiştirildi. Yöntemin tekrarlanabilir olup olmadığını anlamak için her ölçüm 3 kez tekrarlandı. Prob organojelin yüzeyinden ayrılırken oluşan kopma kuvveti ve yapılan mukoadesyon işi cihazın yazılımı ile hesaplandı. Hazırlanan etkin madde içermeyen ve içeren organojellerde mukoadesyon işlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması GraphPad yazılım programı kullanılarak yapıldı.



Şekil 3.3. Mukoadesyon çalışmasına ait kuvvet-zaman eğrisi

Kullanılan test koşulları

Organojellerin mukoadesyon ölçümleri Çizelge 3.2'de belirlenen optimal parametrelere göre yapıldı (Das Neves ve diğerleri, 2008; Cevher ve diğerleri, 2008b; Tuğcu-Demiröz, 2009).

Çizelge 3.3. Mukoadazyonda kullanılan test koşulları ve cihaza ait parametreler

Test koşulları ve cihaza ait parametreler	
Daldırma sıvısı	pH 4,5 fosfat tamponu
Prob hızı (mm/sn)	1,0
Probun uygulandığı kuvvet(N)	0,2
Mukoza ile örneğin temas süresi	120 sn

Organojellerde mukoadazyon işi hesaplanması

Ölçümler 3 paralel deney şeklinde yapılmıştır. TA.XT. Plus Texture Analyser cihazındaki yazılım programı bize kopma kuvvetini ve yapılan işi hesaplayarak vermektedir. Yapılan iş, kuvvet-mesafe grafiğinde (Şekil 3.3) eğri altında kalan alandan hesaplanmaktadır, birimi N.mm'dir. Mukoadazyon işini bulmak için aşağıdaki denklem (Eş. 3.2) kullanılmıştır (Cevher ve diğerleri, 2008b; Tuğcu-Demiröz, 2009).

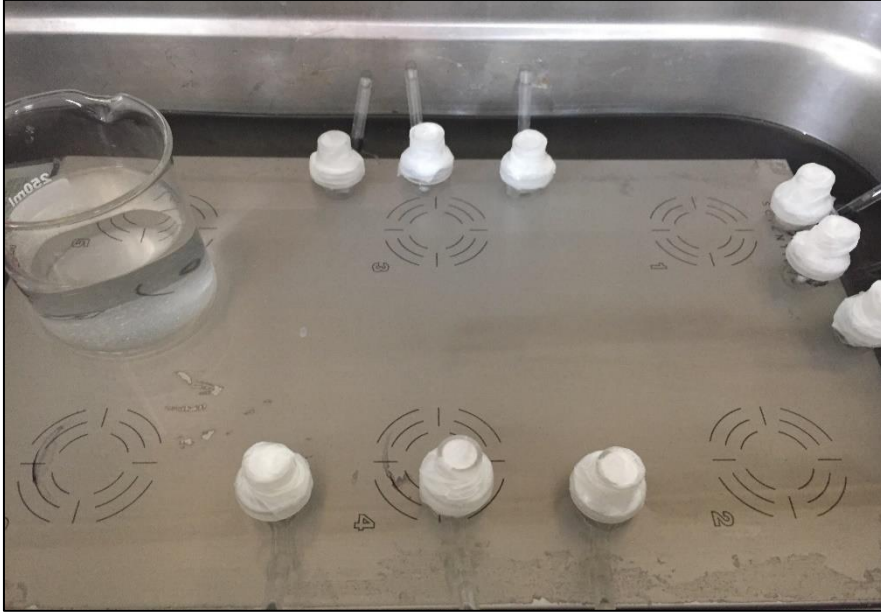
$$\text{Mukoadazyon işi} = \frac{\text{AUC}}{\pi r^2} \quad (3.2)$$

πr^2 = jel ile temas eden mukozal yüzeyin alanı=1,1304 cm²

3.2.9. Organojel formülasyonlarının Franz difüzyon hücresi ile geçiş çalışmaları

Etkin maddenin diyaliz membrandan geçişinin incelenmesi için Franz difüzyon hücreleri kullanıldı. Resim 3.6'da geçiş çalışması için kurulan düzeneğin resmi gösterilmiştir.

12000 Dalton'dan küçük moleküllere geçirgen olan diyaliz membrandan 37 °C'de geçiş çalışmaları yapıldı. 24 saat pH 4,5 fosfat tamponunda bekletilen membran yatay Franz difüzyon hücresine kompartmanlar arasına yerleştirildi ve hücrenin sabitlenmesi sağlandı (Resim 3.6).



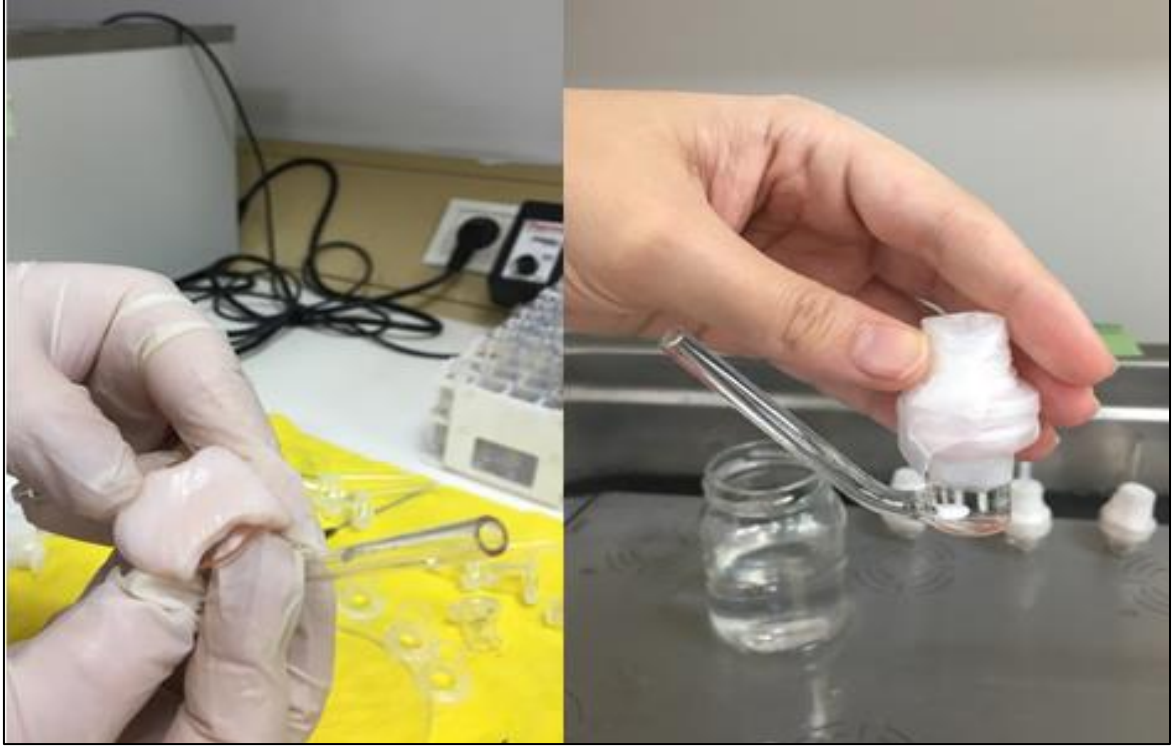
Resim 3.6. Franz difüzyon hücresi deney düzeneği

Hazırlanan organojeller, enjektör yardımı ile terazi üzerinde tartılarak (0,5 ml) difüzyon hücresinin (üst kısmına) sink koşulu sağlanarak donör kompartmanına yerleştirildi. Reseptör kompartmana (hücresinin alt kısmına) ise 2,5 ml pH 4,5 fosfat tamponu ilave edildi. Küçük manyetik karıştırıcılar konularak $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki su banyosu üzerine yerleştirildi. Geçiş bölgesinin alanı 1 cm^2 'dir. Donör kompartmana konulan organojellerin geçiş profilini belirlemek amacıyla belirli zamanlarda reseptör kompartmandan (0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 24 ve 48 saatlerde) örneğin tamamı alındı ve yerine taze pH 4,5 fosfat tamponu ilave edildi. Örnekler UV spektrofotometrede uygun seyreltmeler yapılarak tayin edildi. Sonuçlar standart doğru denklemine yerine konularak diyaliz membrandan geçen etkin madde miktarı hesaplandı. 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı ve 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellerin geçiş profillerinin DDSolver yazılım programı kullanılarak benzerlik faktörleri hesaplandı ve benzerlik tayini yapıldı.

3.2.10. Organojel formülasyonlarında ex vivo permeabilite çalışması

Ex vivo permeabilite çalışmaları Bölüm 3.2.8'de anlatılan sistem kullanılarak yapılmıştır. Diyaliz membran yerine inek vajina dokusu (Resim 3.7) kullanılarak VZ'nin permeabilite özelliği değerlendirilmiştir. Franz hücrelerinin kullanıldığı çalışmada pH 4,5 fosfat tamponu ile sink koşulu sağlanarak 48 saat boyunca (0,5;

1; 2; 4; 6; 8; 24 ve 48 saatlerde) belli aralıklarla örnek alınmış ve dokudan geçen etkin maddenin permeabilitesi hesaplanmıştır.



Resim 3.7. Permeabilite çalışması deney düzeneği

Ex vivo geçişte permeabilite katsayısı hesabı, zamana karşı (saat) çizilen dokudan penetre olan etkin madde miktarı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) grafiğinden hareketle yapıldı. Çizilen grafikteki doğrusal kısmın eğimi denge halindeki düzgün akı değerini (J_s) verir ve bu değer donör fazdaki etkin madde konsantrasyonuna bölünmesi ile permeabilite katsayısı (P) denklem (Eş. 3.3) kullanılarak bulundu.

$$P = J_s / C_d \quad (3.3)$$

P : Permeabilite katsayısı (cm/saat)

J_s : Denge halindeki düzgün akı ($\mu\text{g} / \text{cm}^2.\text{saat}$)

C_d : Donör fazdaki ilaç konsantrasyonu ($\mu\text{g} / \text{cm}^3$)

Akı (J_s) = $(C_1 - C_2) \times (\text{Alan} \times \text{Permeabilite katsayısı}) / \text{Kalınlık}$

$C_1 - C_2$: Konsantrasyon farkı

3.2.11. Organojel formülasyonlarının stabilite çalışması

Organojel formülasyonları ICH klavuzuna göre stabilite çalışması amacıyla 4°C/ortam nemi, 25°C/%60 bağıl nem ve 40°C/%75 bağıl nem ortamlarını sağlayan iklim dolaplarında üç ay süreyle muhafaza edilmiştir. Formülasyonların her ay sonunda görünüş, pH, viskozite ve miktar tayini gibi farmasötik karakterleri incelenerek stabilitesi değerlendirilmiştir.

3.2.12. Organojel formülasyonlarında in vitro antifungal etkinlik çalışmaları¹

Besiyerinin ve mantarın hazırlanması

Üretici firma talimatlarına göre Mueller Hinton Agar besiyeri hazırlandı. Bu karışıma final derişim 20 g/L olacak şekilde (%2) dekstroz ve inhibisyon zonunun daha iyi görölmesini sağlamak amacıyla 0,5 mg/L konsantrasyonda metilen mavisini ilave edilerek çözöndüröldü. Karışım 121 °C'de 15 dakika süreyle otoklavlanarak sterilize edildi. Sterilizasyon bitiminde besiyerinin pH'sı 7,2-7,4 arasında olacak şekilde ayarlandı ve 4 mm kalınlık sağlanacak şekilde steril petri plaklarına dökölerek donması sağlandı. Hazırlanan besiyerleri 4 °C' de en fazla bir hafta boyunca bekleyecek şekilde kullanıldı. Sterilite kontrolü için rastgele seçilen 2 dökölmüş plak, 48 saat boyunca 37°C' de etövde inkübasyona bırakıldı. Daha sonra mantarın hazırlanmasına geçildi ve Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Faköltesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarı költür koleksiyonundan kullanılmak üzere *C. albicans* ATCC 10231 suşu ekilerek üremesi kontrol edildi. Çalışmada besiyeri olarak Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) besiyeri (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır. *C. albicans* suşu SDA besiyerine ekilerek 37 °C'de aerobik koşullarda 24-48 saat üretilmiştir. Daha sonra üreyen kolonilerden steril öze yardımıyla alınarak önceden steril edilmiş Sabouraud Dekstroz Broth (SDB, Merck, Almanya) sıvı besiyeri içeren steril vida kapaklı tüplere konulmuştur. Konsantrasyonu 0,5 McFarland bulanıklık standardında ($1-5 \times 10^8$ CFU/mL) olacak şekilde türbidimetrik olarak ayarlanmıştır.

¹ Organojel formülasyonlarında in vitro antifungal etkinlik çalışmaları Doç. Dr. Gülçin AKÇA ile birlikte Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Faköltesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Kendisine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Mikrobiyolojik testlerin uygulanması

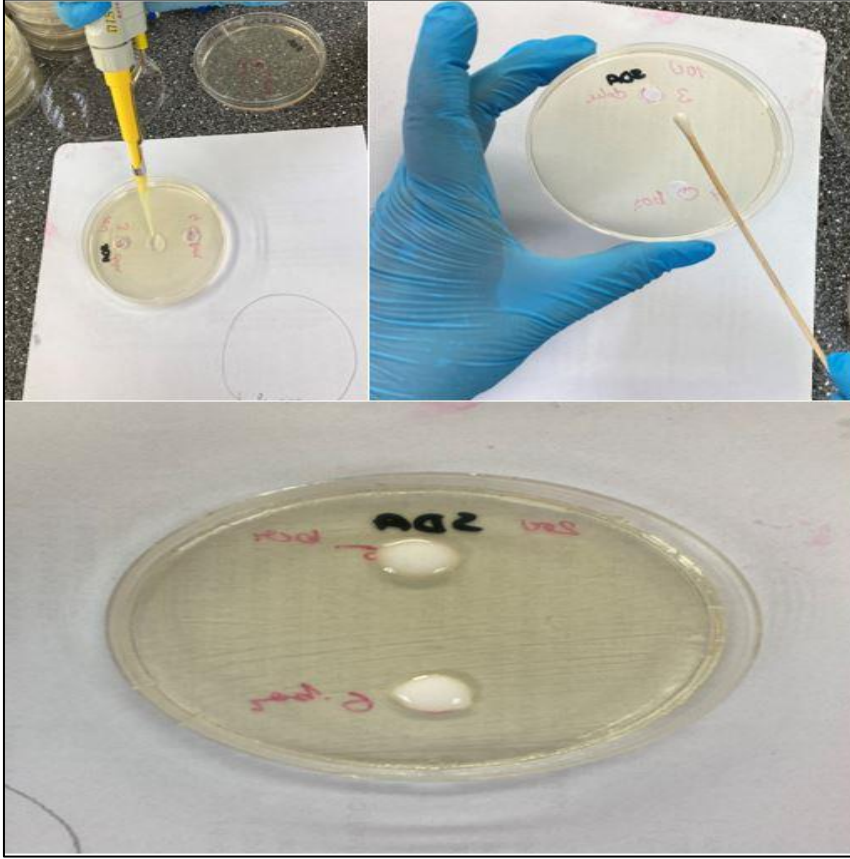
Hazırlanan organojel formülasyonlarının antifungal etkinliklerini incelemek için *C. albicans*, SDA besiyerine ekilerek 37 °C'de 24-48 saat üretilmiştir. Daha sonra üreyen kolonilerden steril öze yardımıyla alınarak önceden steril edilmiş Sabourraud Dekstroz Broth (SDB, Merck, Almanya) sıvı besiyeri içeren steril vida kapaklı tüplere konulmuştur. Fungal konsantrasyonu 0,5 McFarland bulanıklık standardında ($1-5 \times 10^8$ CFU/mL) olacak şekilde türbidimetrik olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan VZ içeren organojellerin (VO2, VL2, VK2), VZ içermeyen organojellerin (O2, L2, K2), VZ'nin yağlardaki çözeltilerinin (VO, VL, VK) ve kontrol amaçlı olarak ayrı ayrı olmak üzere VZ'nin ve yağların (O, L, K) da *C. albicans* üzerine antifungal etkinlikleri geleneksel disk difüzyon ve agar kuyucuk difüzyon yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Her iki yöntemle 24 ve 48 saat süre sonra oluşturdıkları inhibisyon alanının çapı, CLSI (Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü) M44 kriterleri esas alınarak ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Bu testler 2 kere tekrar edilmiş ve ölçümlerin ortalamaları alınmıştır.

Agar kuyucuk difüzyon metodu ile antifungal etkinin değerlendirilmesi

Sterilite koşullarına dikkat edilerek, agar üzerinde çapı 6 ve 8 mm' lik kuyucuklar açıldı. SDA'da üretilmiş 24 saatlik mantar, konsantrasyonu 0,5 McFarland bulanıklık standardında ($1-5 \times 10^8$ CFU/mL) olacak şekilde steril distile su içinde ayarlandı. Mantar 100 µL miktarda usulüne uygun şekilde besiyerinin her yerine eşit şekilde ekildi. Her bir kuyucuğa 100 µL ve 200 µL olacak şekilde iki ayrı hacimde tek başına yağlar, yağ çözeltileri ve organojel formülasyonlarından etkin maddeye eşdeğer miktarda alınan numuneler daha önce belirtilen şekilde hazırlanmış Mueller Hinton Agar petri plaklarında açılan kuyucuklara konuldu (Resim 3.8). VZ içeren organojeller (VO2, VL2, VK2), VZ içermeyen organojeller (O2, L2, K2), VZ'nin yağlardaki çözeltileri (VO, VL, VK) ve kontrol amaçlı olarak ayrı ayrı olmak üzere VZ ve yağlar (O, L, K) da 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda besiyerlerinin merkezinde açılan kuyucukların çevresinde mantar üremesinin engellendiği bir alan oluştu ve bu "inhibisyon alanı"nın çapı ölçüldü. Her bir formülasyon için üremenin inhibisyon alanının çapı ölçüldü ve kaydedildi. Bu işlem 2 kez tekrar edilerek ölçümlerin aritmetik ortalamaları alındı.

Kuyucuk difüzyon yönteminde 100 μ L ve 200 μ L uygulanmasının antifungal etkinliklerinin üzerine etkisi GraphPad yazılım programı yardımıyla istatistiksel olarak değerlendirildi.



Resim 3.8. Agar kuyucuk difüzyon yönteminin deney düzeneği

Disk difüzyon metodu ile antifungal etkinin değerlendirilmesi

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi için hazırlanmış aynı mantar solüsyonu kullanılarak aynı şekilde usulüne uygun şekilde SDA besiyerlerine mantar ekimi gerçekleştirildi. Difüzyon metodunda ise 6 mm çapındaki steril ticari diskler, sterilitenin bozulmamasına özen gösterilerek VZ içeren organojeller (VO2, VL2, VK2), VZ içermeyen organojeller (O2, L2, K2), VZ'nin yağlardaki çözeltileri (VO, VL, VK) ve kontrol amaçlı olarak VZ ve yağlardan (O, L, K) ayrı ayrı olmak üzere 25 μ L olacak şekilde numuneler alınarak disklerle emdirildi ve steril pensler ile mantar ekilmiş besiyerlerinin üzerine CLSI kriterlerine uyularak yerleştirildi. Ekim yapılmış besiyerleri 37 °C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerlerinde açılan kuyucukların çevresinde mantar üremesinin engellendiği "inhibisyon alanı"nın

apı lld. Her bir formülasyon için 2 tekrar yapılarak mantar büyümesini nleme bölgesinin çapı ölçüldü ve aritmetik ortalamaları alındı.

3.2.13. İstatistiksel analizler

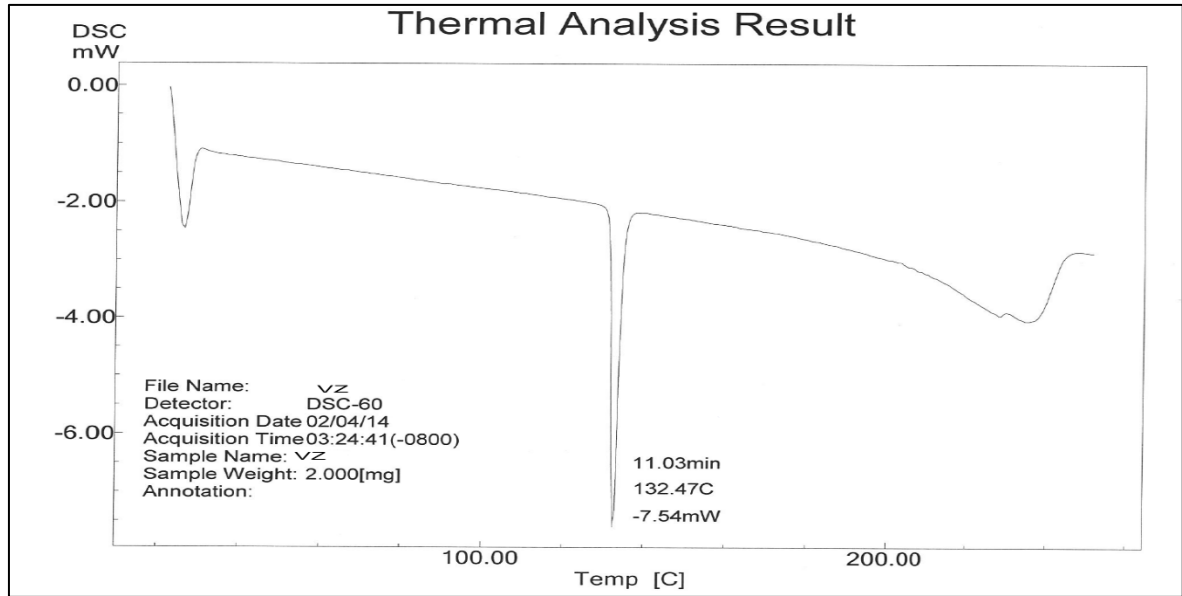
Ex vivo mukoadesyon ve in vitro antifungal aktivite çalışmalarındaki istatistiksel analizler GraphPad Prism (GraphPad Prism 9.0.0, GraphPad Software Inc., ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ex vivo permeabilite ve in vitro salım çalışmalarındaki istatistiksel analizlerde ise DDSolver yazılım kullanılmıştır. Tüm analizlerde parametrik testler kullanılmıştır. Grupların kıyaslanması tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. alışmalar %95 güven aralığında yapılmıştır. Analizlerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı fark olarak değeriendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Vorikonazol'ün Fizikokimyasal Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular

4.1.1. Erime noktası tayini

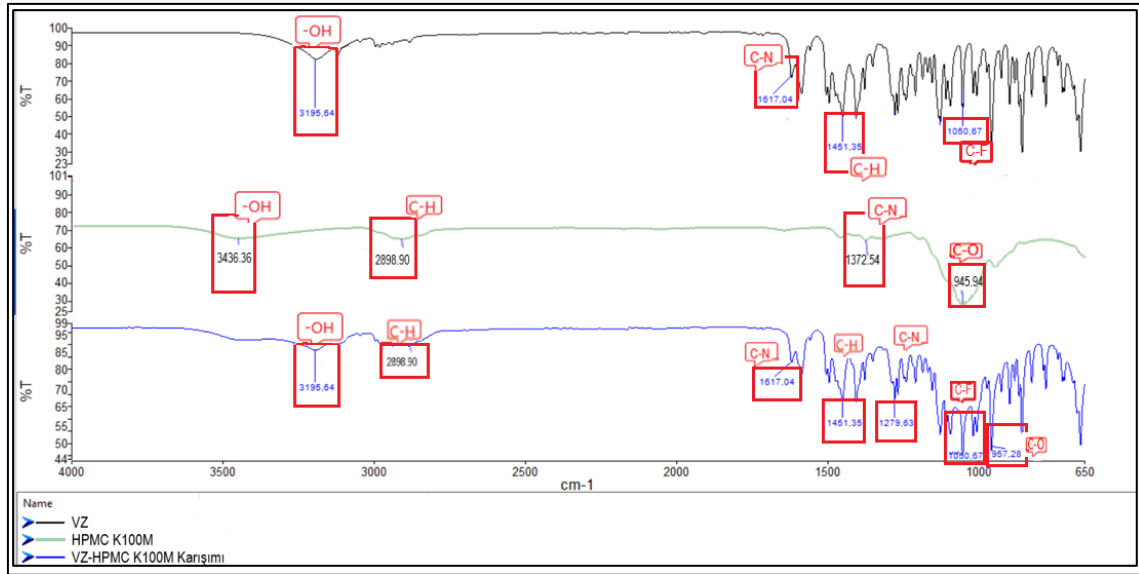
Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi erime noktası Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) tayin edildi. VZ'nin keskin endotermik piki (erime derecesi) 132,47 °C'de saptanmıştır (Şekil 4.1). Literatürden elde edilen erime derecesi bulunan sonucun uygun olduğunu doğrulamaktadır (Mori ve diğerleri, 2017; Deshkar ve diğerleri, 2020).



Şekil 4.1. VZ'nin DSC termogramı

4.1.2. IR spekturumu

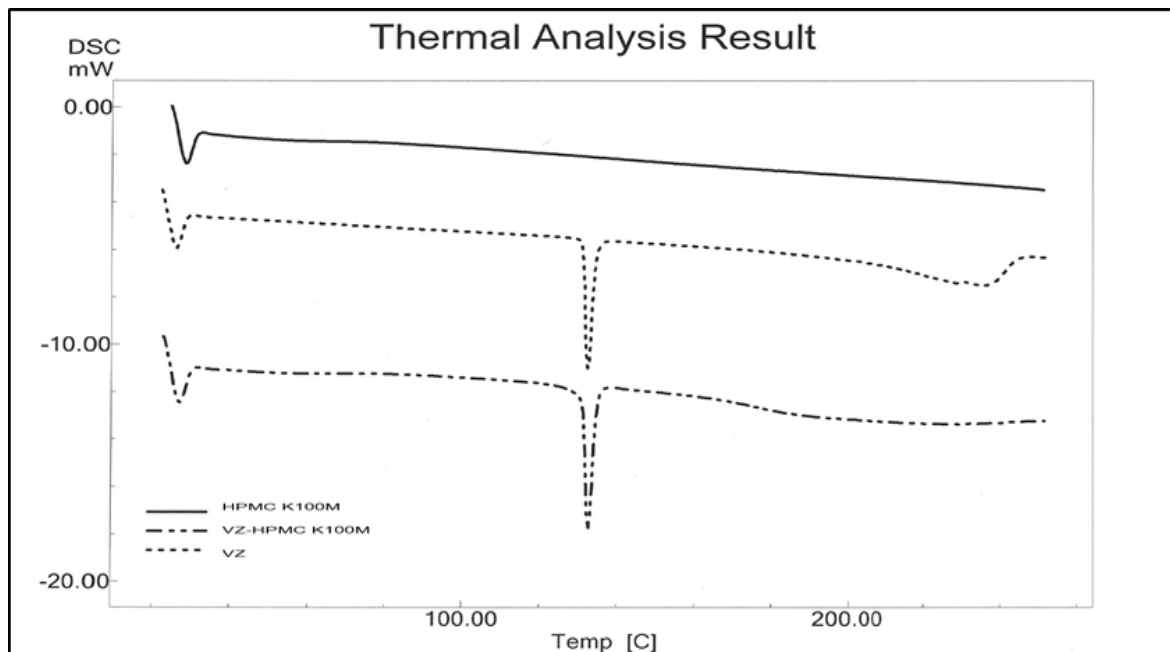
IR spektrumları Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi belirlenmiştir. VZ'nin, HPMC K100M'ün ve VZ-HPMC K100M karışımının FT-IR spektrumları Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Elde edilen piklere bakıldığında aralarında herhangi bir etkileşim olmadığı görülmektedir.



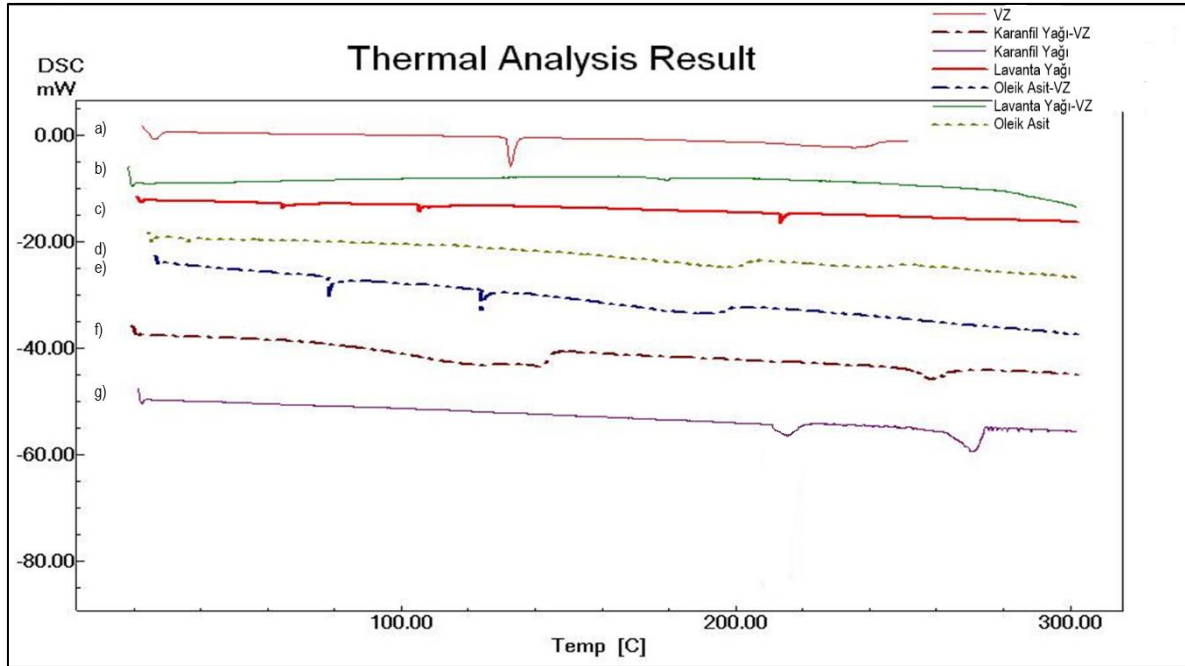
Şekil 4.2. VZ, HPMC K100M ve VZ-HPMC K100M karışımının IR spektrumları

4.1.3. DSC analizi

VZ'nin HPMC K100M ve oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı ile geçimliliğini değerlendirmek üzere Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı şekilde DSC termogramları elde edilmiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). Termogramlar incelendiğinde kullanılan HPMC K100M'in ve yağların VZ'nin erime derecesinde herhangi bir kaymaya neden olmadığı görüldü. Elde edilen sonuçlara göre bu yardımcı madde olarak kullanılan HPMC K100M ve yağlar ile VZ arasında etkileşim görülmemektedir.



Şekil 4.3. VZ, HPMC K100M ve VZ-HPMC K100M karışımının DSC termogramları



Şekil 4.4. VZ ve yardımcı maddelerin DSC termogramları; a) VZ, b) VZ'nin lavanta yağındaki çözeltisi, c) lavanta yağı, d) oleik asit, e) VZ'nin oleik asit çözeltisi f) VZ'nin karanfil yağındaki çözeltisi, g) karanfil yağı

4.1.4. Partisyon katsayısı

VZ'nin partisyon katsayısı tayini Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de yapıldı. Çalışmada 1. saatte su fazındaki VZ konsantrasyonu $3,34 \mu\text{g/ml}$ iken 2. Saatte $2,5 \mu\text{g/ml}$, 4 saatte $1,61 \mu\text{g/ml}$, 6 saatte $1,58 \mu\text{g/ml}$ ve 24. Saatte $1,30 \mu\text{g/ml}$ olarak tespit edildi. $20 \mu\text{g/ml}$ olarak hazırlanan çözeltinin $1,30 \mu\text{g/ml}$ 'si su fazındayken geri kalanı oktanol içerisinde dağılmaktadır. Çalışma sonucunda ise VZ oktanol/su partisyon katsayısı 14,38 ve Log P değeri ise 1,16 olarak hesaplandı.

4.1.5. Çözünürlük

Vorikonazol'ün $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de esansiyel yağlardaki çözünürlük çalışması Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı şekilde yapıldı. 25°C 'deki çözünürlüğü X_{ort} ve SS değerleri Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. VZ'nin yağlarda çözünürlük değerleri (n=3)

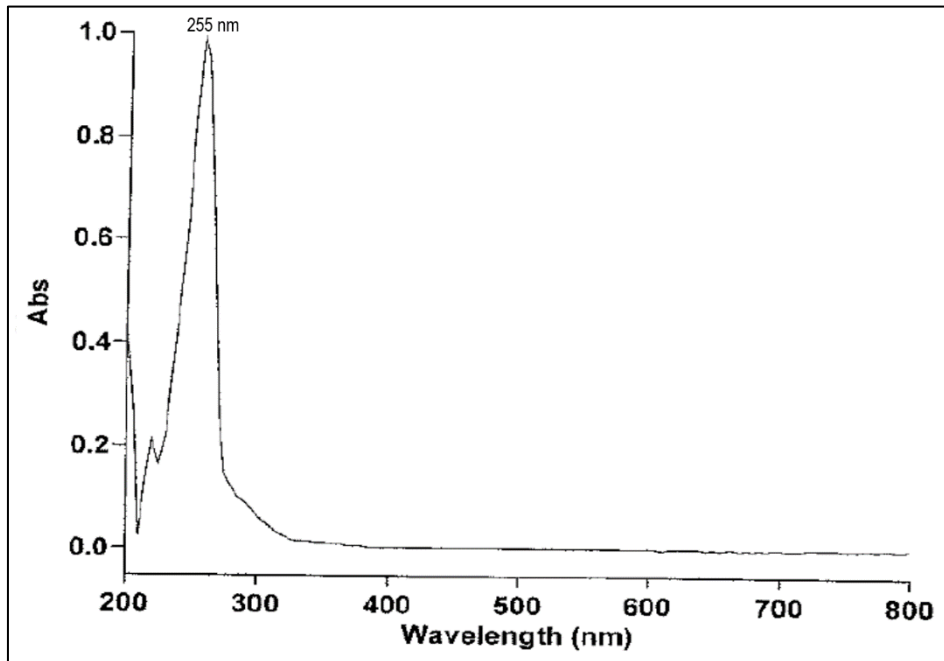
Esansiyel Yağlar	Çözünürlük (mg/mL) (ort±SS)
Oleik asit	34,72±1,23
Isopropil Miristat	10,06±1,39
Nane Yağı	6,70±2,56
Badem Yağı	2,60±0,05
Kekik Yağı	21,76±1,16
Karanfil Yağı	158,9±2,2
Lavanta Yağı	76,7±1,3
Susam Yağı	12,5±1,8

4.2. Vorikonazol'ün Spektrofotometrik Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyon Bulguları

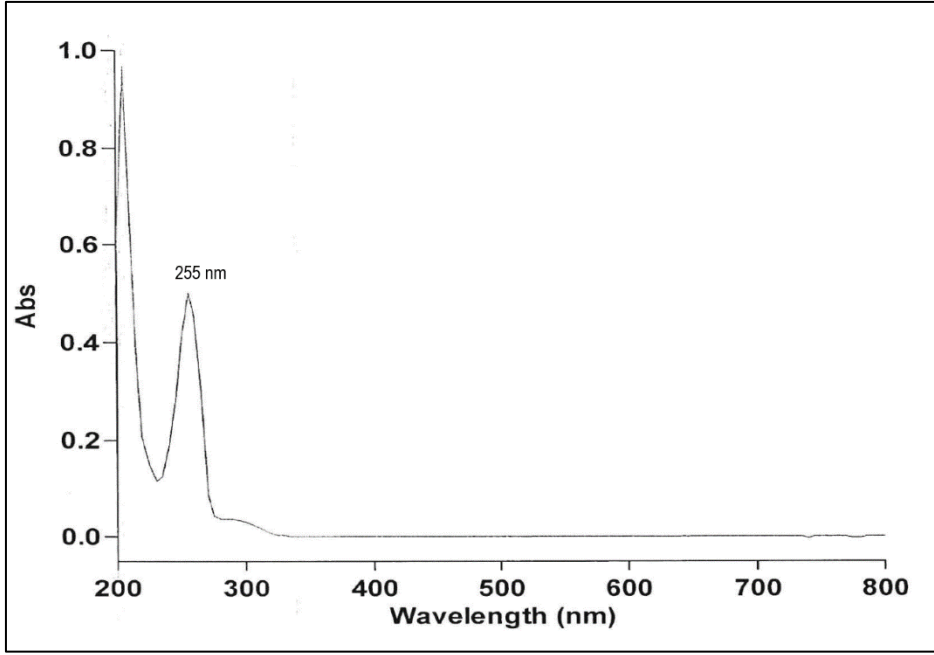
4.2.1. UV spekturumuna ait bulgular

Etkin maddenin λ_{max} değerinin hesaplanması

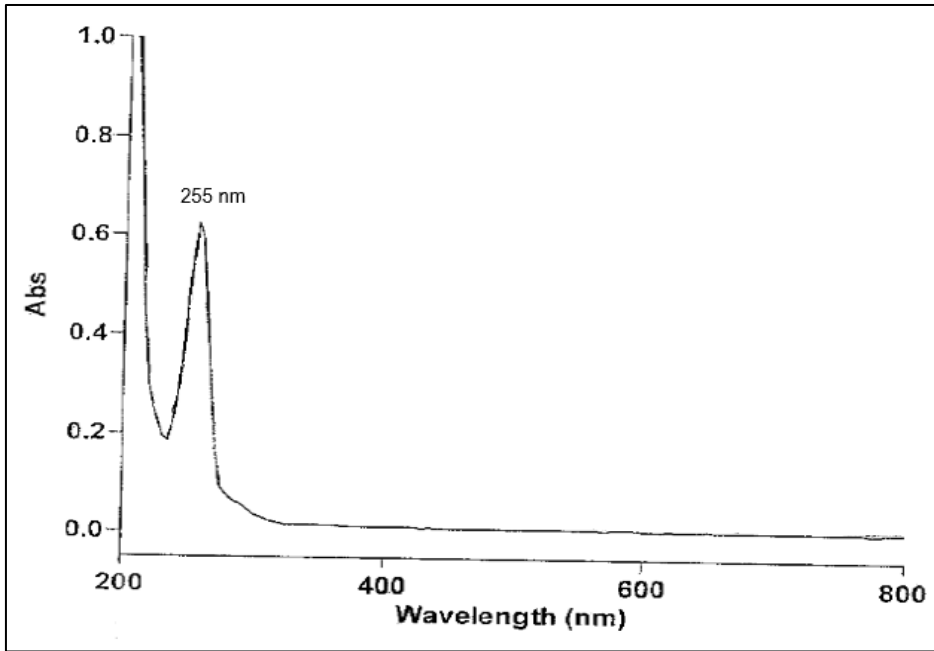
Vorikonazol'ün pH 4,5 fosfat tamponundaki (Şekil 4.5), metanoldeki (Şekil 4.6) ve distile sudaki (Şekil 4.7) UV spektrumları aşağıda gösterilmiştir. Yapılan çalışmalara göre VZ'nin her bir çözünme ortamında da maksimum absorbens verdiği dalga boyu 255 nm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponundaki UV spektrumu



Şekil 4.6. VZ'nin metanoldeki UV spektrumu

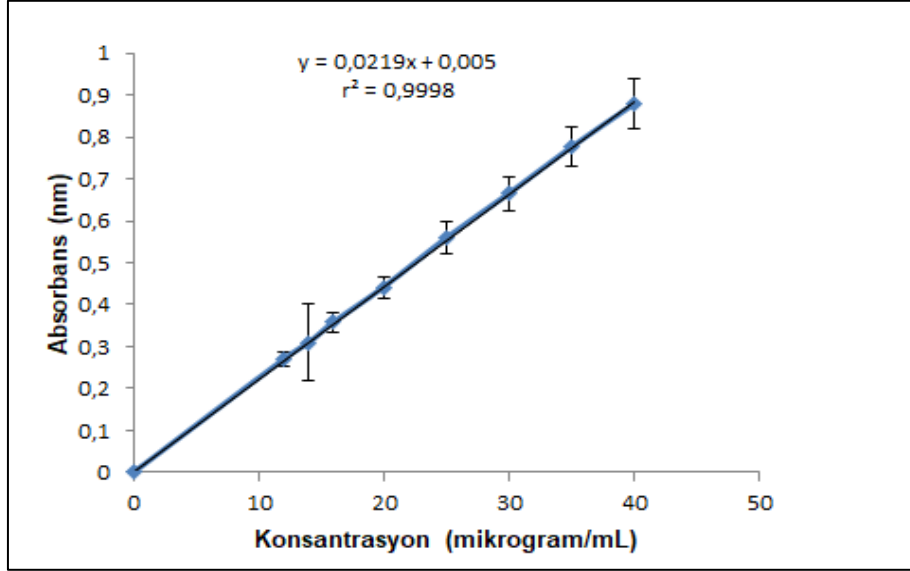


Şekil 4.7. VZ'nin distile sudaki UV spektrumu

Vorikonazol'ün spektrofotometrik miktar tayin ve standart doğrunun hazırlanması

Vorikonazol'ün standart doğru denklemini bulmak için pH 4,5 fosfat tamponunda, metanolde ve distile suda 50 µg/ml derişimlerde stok çözeltileri hazırlandı. Uygun seyreltmeler yapılarak pH 4,5 fosfat tamponu için 5-50 µg/ml, distile su için 14-38 µg/ml ve metanol için 12-38 µg/ml aralığında artan derişimlerde seyreltilmiş

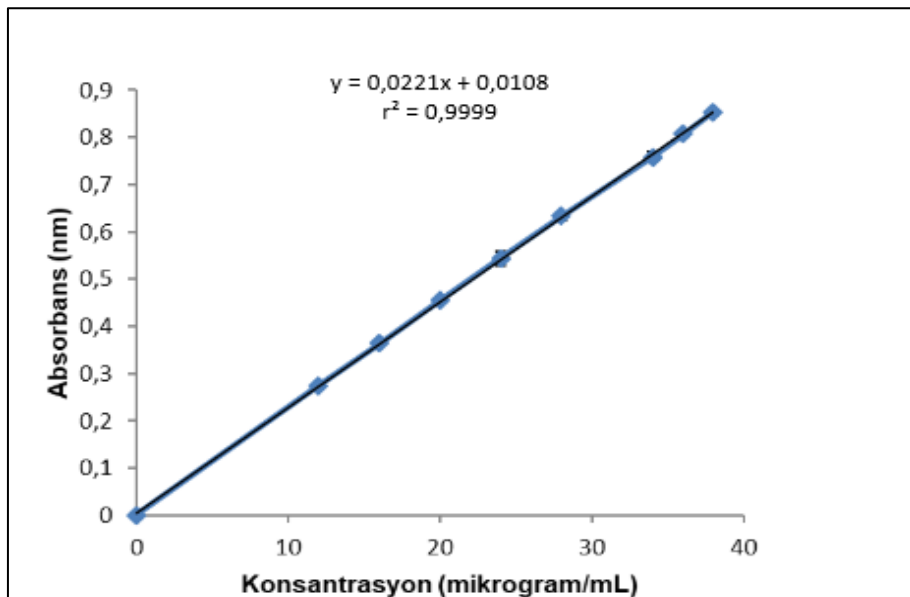
çözeltiler hazırlandı. Vorikonazolün pH 4,5 fosfat tamponundaki (Şekil 4.8), metanoldeki (Şekil 4.9) ve distile sudaki (Şekil 4.10) standart doğru ve kalibrasyon denklemleri görülmektedir. Standart doğruya ait kalibrasyon parametreleri ise Çizelge 4.2, 4.3 ve 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.8. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponundaki standart doğru ve denklemi

Çizelge 4.2. Vorikonazol'ün pH 4,5 fosfat tamponundaki kalibrasyon parametreleri (n=3)

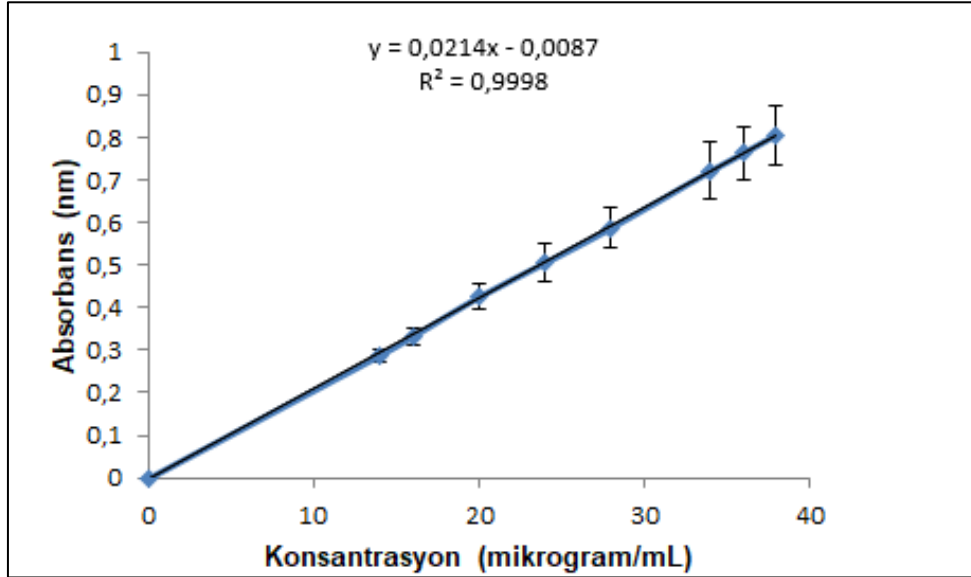
Eğim±SS	0,0219±0,0020
Korelasyon Katsayısı (r)	0,9999±0,0002
Determinasyon katsayısı (R ²)	0,9998±0,0001



Şekil 4.9. VZ'nin metanoldeki standart doğru ve denklemi

Çizelge 4.3. Vorikonazol'ün metanoldeki kalibrasyon parametreleri (n=3)

Eğim±SS	0,0221±0,0005
Korelasyon Katsayısı (r)	0,9999±0,0001
Determinasyon katsayısı (R ²)	0,9999±0,0010



Şekil 4.10. VZ'nin distile sudaki standart doğru ve denklemi

Çizelge 4.4. VZ'nin distile sudaki kalibrasyon parametreleri (n=3)

Eğim±SS	0,0214±0,0040
Korelasyon Katsayısı (r)	0,9999±0,0008
Determinasyon katsayısı (R ²)	0,9998±0,0004

Vorikonazol'ün spektrofotometrik miktar tayini yöntemlerinin validasyon bulguları

Doğruluk(accuracy) ve geri elde(recovery)

Deneyler 3.2.3'de anlatıldığı gibi yapıldı. Vorikonazol'ün pH 4,5 fosfat tamponunda ve metanolde %80, %100 ve %120 etkin madde içeren stok çözeltileri hazırlandı. Çalışmalar 3 defa tekrarlandı. Hesapla bulunan VZ derişimlerinin ortalamaları alındı ve çözeltilerden geri elde edilen etkin madde miktarları hesaplandı. Deney sonuçları Çizelge 4.5 ve 4.6'de gösterildi. Bağıl sapma yüzdeleri %2'den az olduğu ve geri elde yüzdeleri %97-%103 arasında tespit edildiği için sonuçlar uygun bulundu.

Çizelge 4.5. VZ'nin pH 4,5 fosfat tapmonunda yapılan analize ait geri elde sonuçları

	VZ derişimi (µg/ml)	Hesapla bulunan VZ derişimi(µg/ml)	Ortalama derişim (µg/ml)	Standart sapma (SS)	%Bağıl sapma (%BS)	%Geri elde
%80 VZ içeren stok	16	15,72	15,89	0,18	1,101	99,3
		15,86				
		16,07				
%100 VZ içeren stok	20	20,71	20,47	0,21	1,041	102
		20,36				
		20,34				
%120 VZ içeren stok	24	24,06	24,17	0,10	0,404	101
		24,25				
		24,19				

Çizelge 4.6. VZ'nin metanolde yapılan analize ait geri elde sonuçları

	VZ derişimi (µg/ml)	Hesapla bulunan VZ derişimi(µg/ml)	Ortalama derişim (µg/ml)	Standart sapma (SS)	%Bağıl sapma (%BS)	%Geri elde
%80 VZ içeren stok	16	15,66	15,78	0,15	0,93	98,6
		15,94				
		15,73				
%100 VZ içeren stok	20	19,95	20,13	0,39	1,92	101
		20,57				
		19,86				
%120 VZ içeren stok	24	23,78	23,95	0,34	1,43	99,8
		24,34				
		23,73				

Doğrusallık

Ölçülen ortalama absorbans değerleri derişime karşı grafiklendi. Gerekli matematiksel işlemler yapılarak (doğrusal regresyon) standart doğru denklemleri elde edildi ve bu denklemlerin r^2 değerleri hesaplandı. Belirlenen derişim aralığında regresyon denklemlerinin determinasyon katsayıları pH 4,5 fosfat tamponunda 0,9998 (Şekil 4.7), metanolde 0,9999 (Şekil 4.8) ve distile suda 0,9998 (Şekil 4.9) olarak tespit edildi. Böylece sonuçların doğrusallığı kanıtlandı.

Kesinlik ve tekrar edilebilirlik

Deneyler 3.2.3 'de anlatıldığı gibi yapıldı. Vorikonazol'ün (50 µg/ml) pH 4,5 fosfat tamponunda ve metanolde stok çözeltileri hazırlandı. Çalışmalar 3 defa tekrarlandı. Etkin maddeye ait kesinlik-tekrar edilebilirlik sonuçları Çizelge 4.7 ve 4.8'de gösterildi. Bağıl sapma yüzdeleri %2'den az olduğu için sonuçlar uygun bulundu.

Çizelge 4.7. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponundaki tekrar edilebilirlik sonuçları

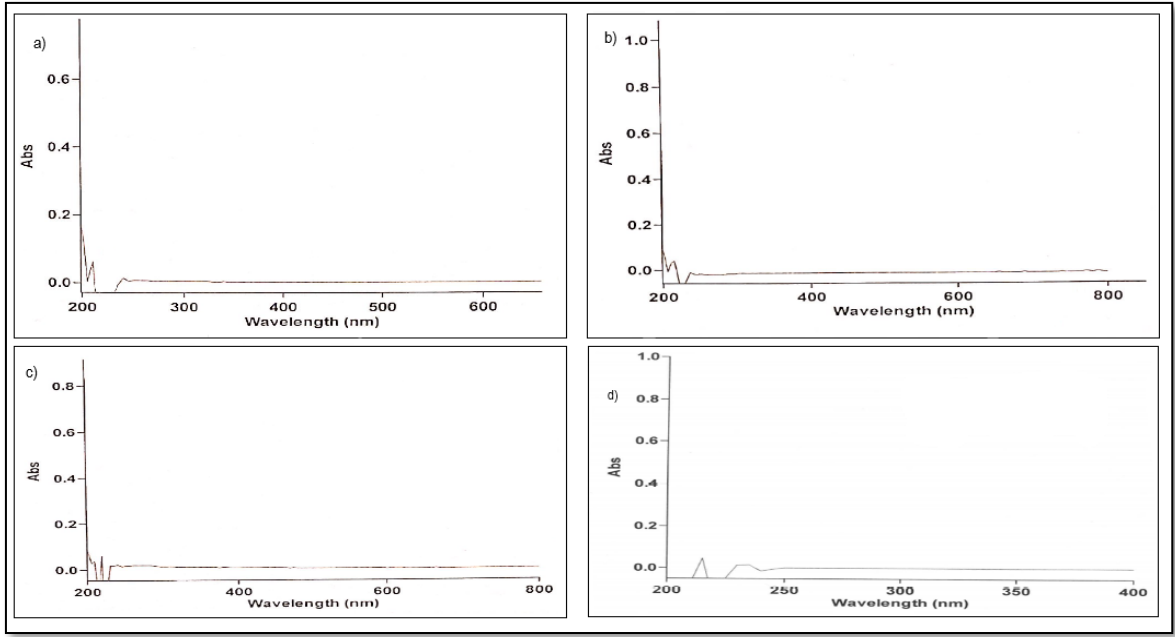
Örnek No	VZ derişimi (µg/ml)	Hesapla bulunan Ortalama VZ derişimi (µg/ml)
1	12	11,73
2	12	12,29
3	12	12,03
4	12	11,99
5	12	11,91
6	12	11,82
7	12	11,87
8	12	11,92
9	12	12,07
10	12	11,80
Ortalama (X_{ort})		11,94
Standart Sapma (SS)		0,16
% Bağıl Sapma (%BS)		1,36

Çizelge 4.8. VZ'nin metanoldeki tekrar edilebilirlik sonuçları

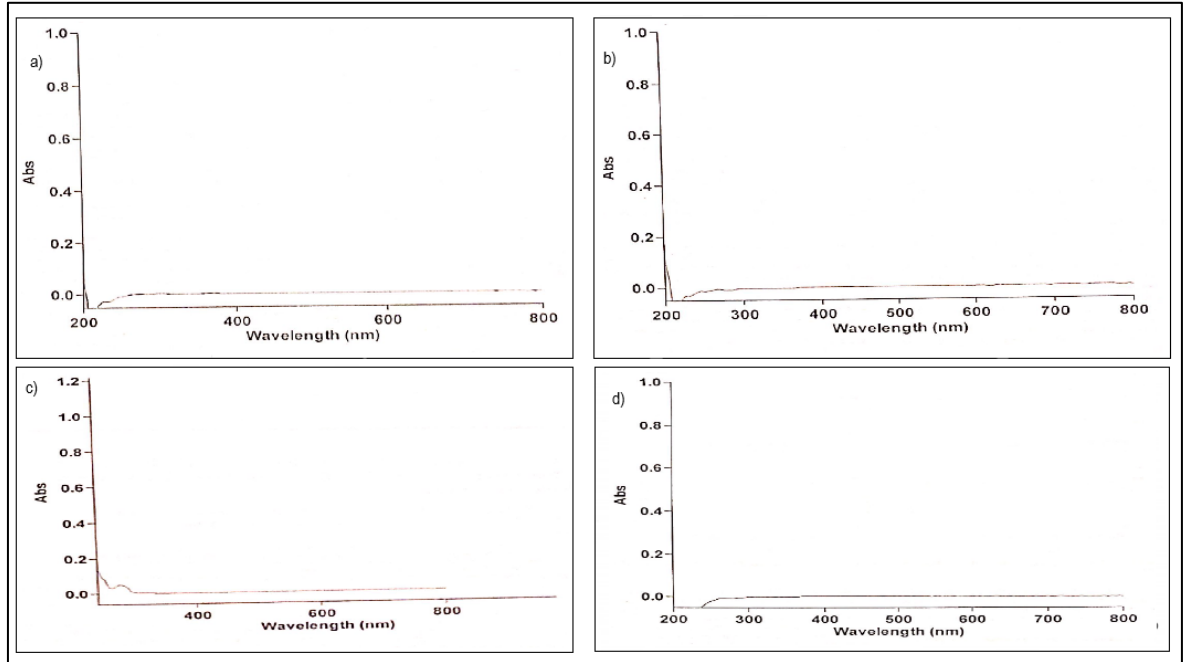
Örnek No	VZ derişimi (µg/ml)	Hesapla bulunan Ortalama VZ derişimi (µg/ml)
1	20	19,81
2	20	19,67
3	20	19,78
4	20	20,48
5	20	20,88
6	20	20,70
7	20	20,28
8	20	20,20
9	20	20,09
10	20	20,29
Ortalama (X_{ort})		20,22
Standart Sapma (SS)		0,40
% Bağıl Sapma (%BS)		1,97

Özgünlük (*specificity, selectivity*)

Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin sadece analiz edilmesi istenen yapıyı analiz ettiğini kanıtlamak için formülasyona giren VZ dışındaki bileşenlerin 200-800 nm dalga boyları arası taranarak spektrumları incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda kullanılan çözücü ortamı ve formülasyonda bulunan VZ dışındaki bileşenler 255 nm'de pik vermemiştir. Yöntem etkin maddeye özgü bulunmuştur. Yardımcı maddelerin (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı, HPMC K100M) pH 4,5 fosfat tamponunda spektrumları Şekil 4.11'de gösterilmektedir. Yardımcı maddelerin (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı, HPMC K100M) metanolde spektrumları Şekil 4.12'de gösterilmektedir.



Şekil 4.11. Yardımcı maddelerin pH 4,5 fosfat Tamponu'ndaki UV spektrumları; a) oleik asit b) lavanta yağı c) karanfil yağı d) HPMC K100M

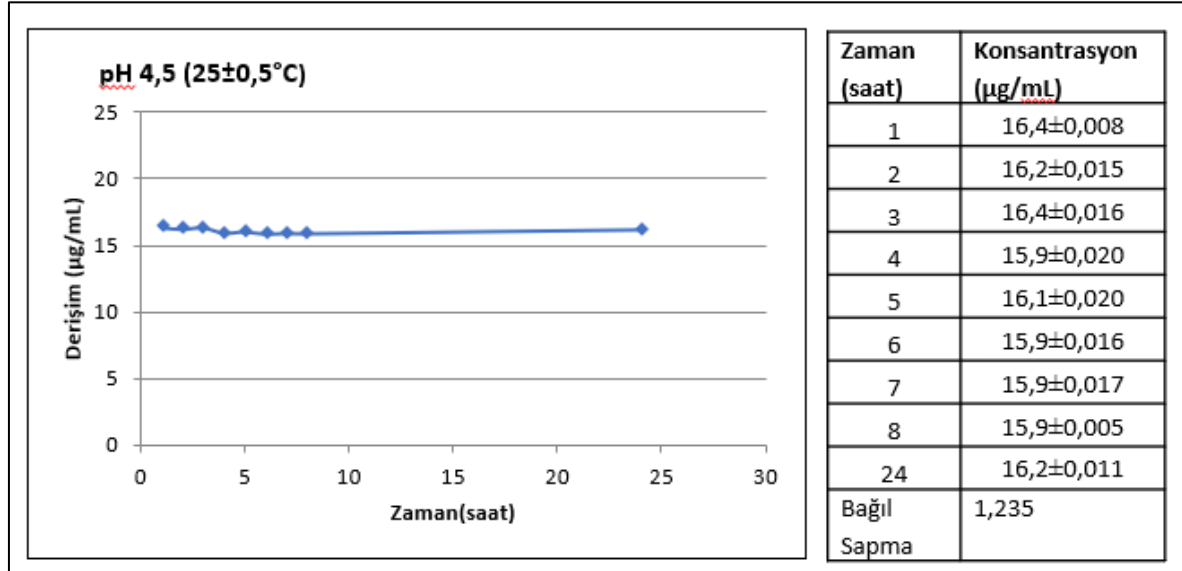


Şekil 4.12. Yardımcı maddelerin metanoldeki UV spektrumları; a) Oleik asit b) lavanta yağı c) karanfil yağı d) HPMC K100M

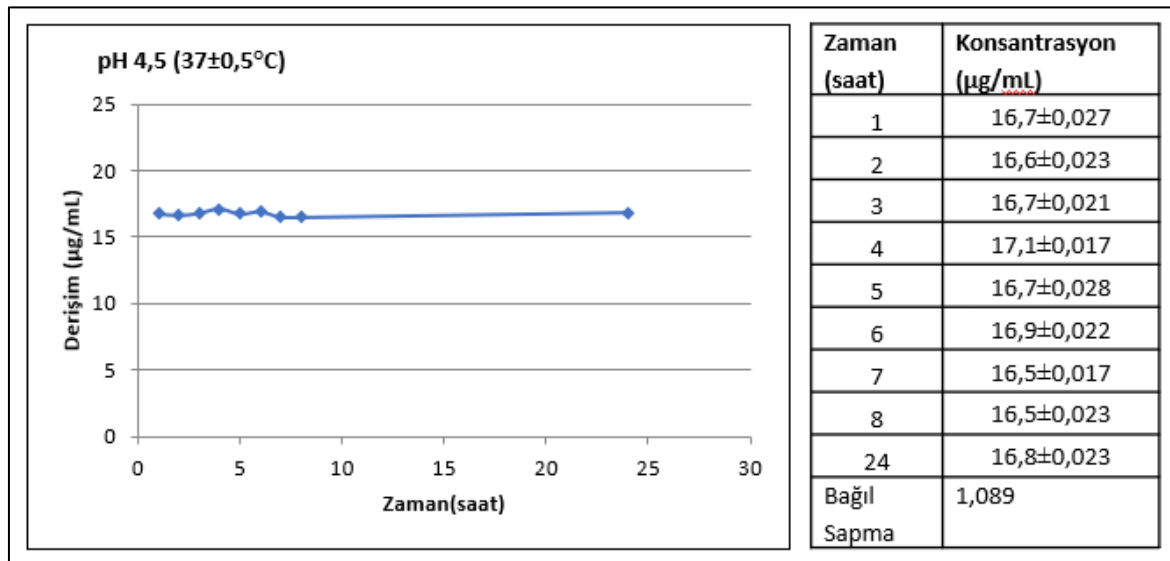
Stabilite

Vorikonazol'ün pH 4,5 çözünme ortamındaki stabilitesini takip etmek için yapılan deneyler sonucunda absorbans değerlerinde ve spektrumlarında bir değişiklik tespit

edilmedi. pH 4,5 fosfat tamponunda 24 saat boyunca takip edilen zaman derişim grafikleri ve etkin maddeye ait stabilite sonuçları Şekil 4.13 ve 4.14'te verilmektedir.



Şekil 4.13. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponunda 25±0,5°C'deki stabilitesi



Şekil 4.14. VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponunda 37±0,5°C'deki stabilitesi

4.3. Organojel Formülasyonu ile Yapılan Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. Organojel formülasyonunda fiziksel görünüş ve pH tayini

Tüm organojeller için oda sıcaklığında beyaz renkli ve homojen bir görünüm elde edildi. Etkin madde içeren ve içermeyen tüm organojel formülasyonlarının pH'sı vajinal uygulama için uygundur. pH değerleri Çizelge 4.9' da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Etkin madde içeren ve içermeyen organojel formülasyonlarının pH değerleri

Organojel Formülasyonları	pH	Etkin Madde İçeren Organojel Formülasyonları	pH
O1	4,0±0,5	VO1	3,6±0,2
L1	4,6±0,4	VL1	4,6±0,1
K1	4,7±0,3	VK1	4,6±0,2
O2	3,9±0,1	VO2	3,8±0,2
L2	4,6±0,2	VL2	4,5±0,2
K2	4,5±0,1	VK2	4,7±0,2

4.3.2. Organojel formülasyonlarının akış özelliklerinin ve viskozitesinin incelenmesi

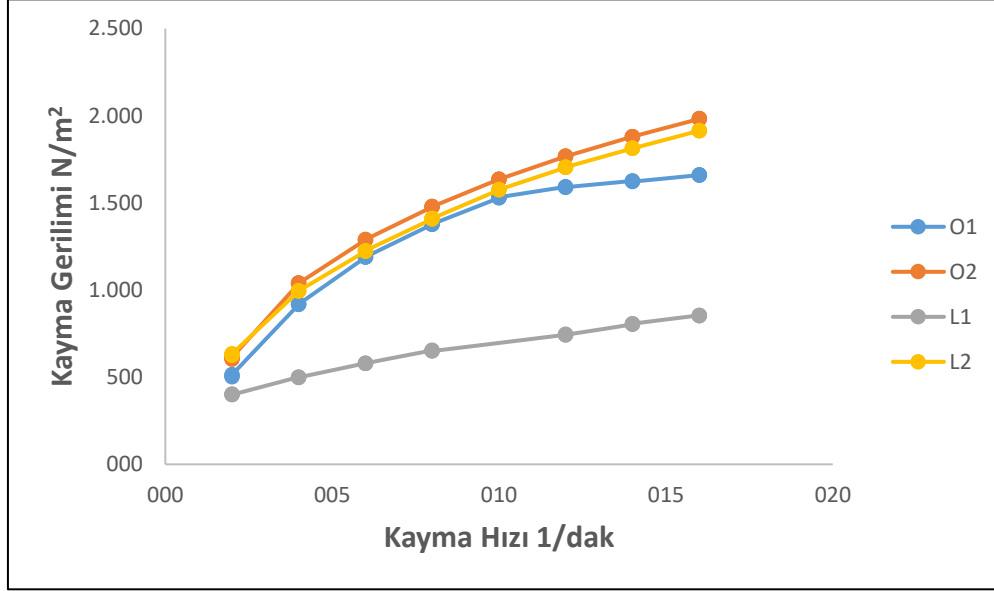
Organojel formülasyonlarının akış özellikleri ve viskozitesi oda sıcaklığında Brookfield Programmable, DV-III viskozimetresinde tayin edildi. Çalışmada sonuçların karşılaştırılabilir olması için aynı spindle ve aynı rpm'de ölçüm yapmaya çalışıldı. Ancak viskozitesi yüksek olan organojeller Torque değeri 100'ü aşacağı için 20 rpm'de ölçülememiştir. Bu nedenle çok viskoz olan organojellerin viskoziteleri ölçülürken rpm değerleri düşürülmüştür. Viskozite, rpm ve Spindle No değerleri Çizelge 4.10'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Etkin madde içermeyen organojel formülasyonlarının viskozite, rpm değerleri ve spindle numaraları

Organojel Formülasyonları	Spindle No	rpm	Viskozite (cP)
O1	52	5	15308±20
L1	52	5	6110±12
K1	52	20	1001±3
O2	52	5	16361±4
L2	52	5	15758±12
K2	52	20	1352±0

Formülasyonların akış özelliklerinin saptanmasında 8 farklı rpm'de ölçüm yapılarak akış diyagramları oluşturulmuştur (Şekil 4.15 ve 4.16). Reogramlardan anlaşıldığı

üzere bütün jellerin Newtonian olmayan akış tipinde pseudoplastik akışa uydukları görülmektedir.



Şekil 4.15. Etkin madde içermeyen O1-O2-L1-L2 organojel formülasyonlarının 25°C'deki akış diyagramı



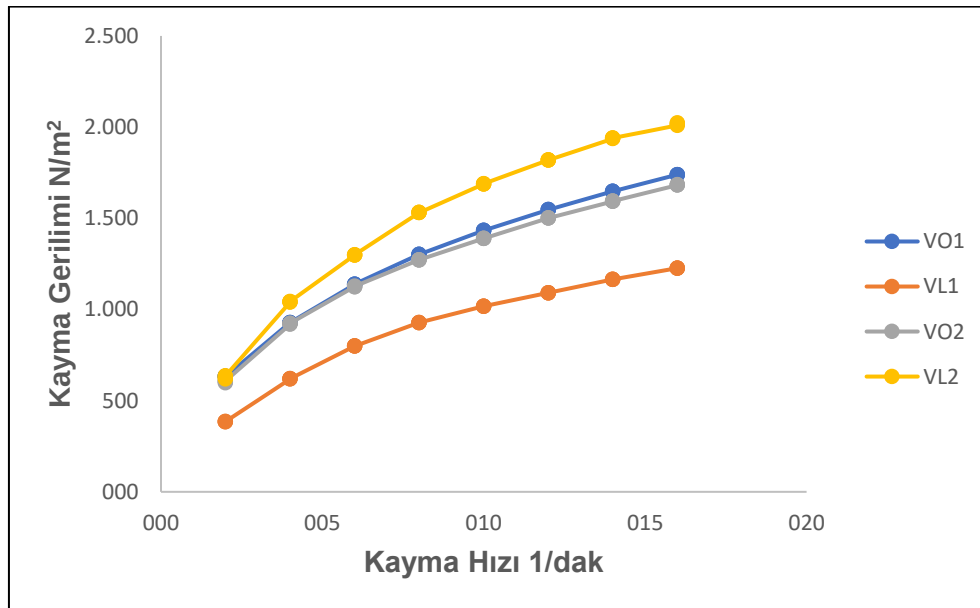
Şekil 4.16. Etkin madde içermeyen K1-K2 organojel formülasyonlarının 25°C'deki akış diyagramı

Etkin madde içeren organojel formülasyonlarına viskozite değerleri Çizelge 4.11’de verilmiştir.

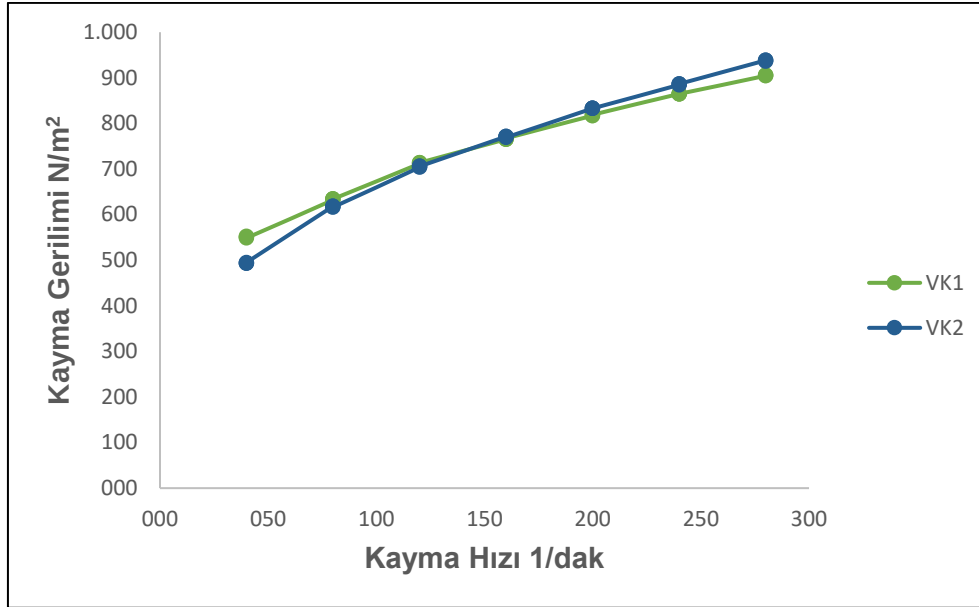
Çizelge 4.11. Etkin madde içeren organojel formülasyonlarının viskozite, rpm değerleri ve spindle numaraları

Organojel Formülasyonları	Spindle No	rpm	Viskozite (cP)
VO1	52	5	14333±2
VO2	52	5	13896±4
VL1	52	5	10179±1
VL2	52	5	16885±12
VK1	52	20	1377±5
VK2	52	20	1234±3

Viskozitesi yüksek olan VO1, VL1, VO2, VL2 formülasyonlarının karşılaştırmalı akış diyagramları Şekil 4.17’de verilmiştir. Etkin madde ve karanfil yağı içeren organojel formülasyonları (VK1, VK2) viskozitesi düşük olduğu için 20 rpm’de ölçüm yapılmıştır ve Şekil 4.18’de akış diyagramı verilmiştir. Etkin madde içeren organojeller arasında en yüksek viskozite değerleri VL2 ve VO1 jel formülasyonlarında gözlenirken en düşük viskozite değeri VK2 organojel formülasyonunda gözlenmektedir. Etkin madde içeren 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı ve 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranlarında hazırlanan tüm organojellerin Newtonian olmayan akış tipinde pseudoplastik akışa uydukları görülmektedir.



Şekil 4.17. Etkin madde içeren VO1, VL1, VO2, VL2 organojel formülasyonlarının 25°C’deki akış diyagramı



Şekil 4.18. Etkin madde içeren VK1-VK2 organojel formülasyonu 25°C'deki akış diyagramı

4.3.3. Organojel formülasyonlarında etkin madde miktar tayini

Hazırlanan organojel formülasyonlarının içerdiği VZ'nin miktar tayini analizi Bölüm 3.2.5'in alt bölümünde anlatıldığı gibi yapılmıştır. ICH klavuzuna göre etkin maddenin ilaç şekli içinde %95-%105 arasında bir oranda olması beklenmektedir (ICH Q3). Miktar tayini sonuçlarımız bu aralıklarda bulunmuştur. Etkin madde miktar tayini sonuçları Çizelge 4.12'de verilmektedir.

Çizelge 4.12. Etkin madde miktar tayini sonuçları(n=3) (ort±SS)

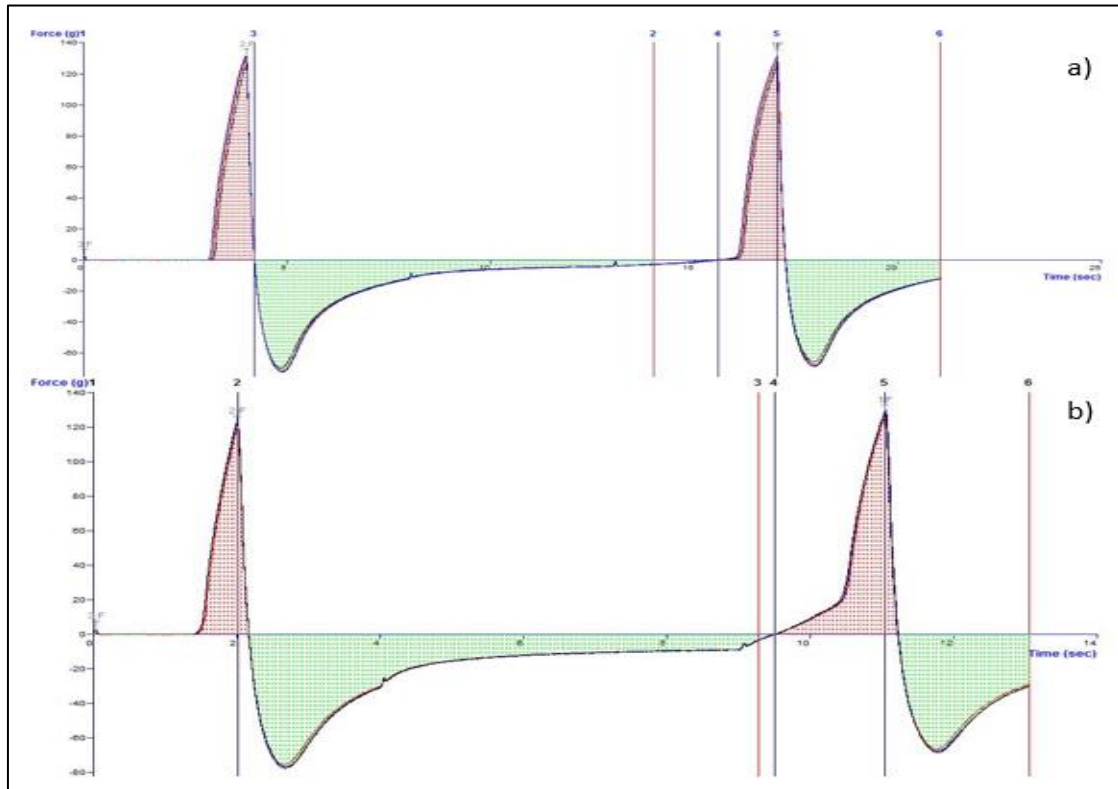
Formülasyon	VZ derişimi (µg/ml)	Analiz sonucu bulunan ortalama derişimi (µg/ml)	VZ Miktar Tayini (%)
VO1	50	49,69	99,4±0
VO2	50	51,01	102±0
VL1	50	48,64	97,3±0
VL2	50	50,5	101±0
VK1	50	49,14	98,3±0,2
VK2	50	51,02	102±0

4.3.4. Organojellerin doku profil analizi'ne (TPA) ait bulgular

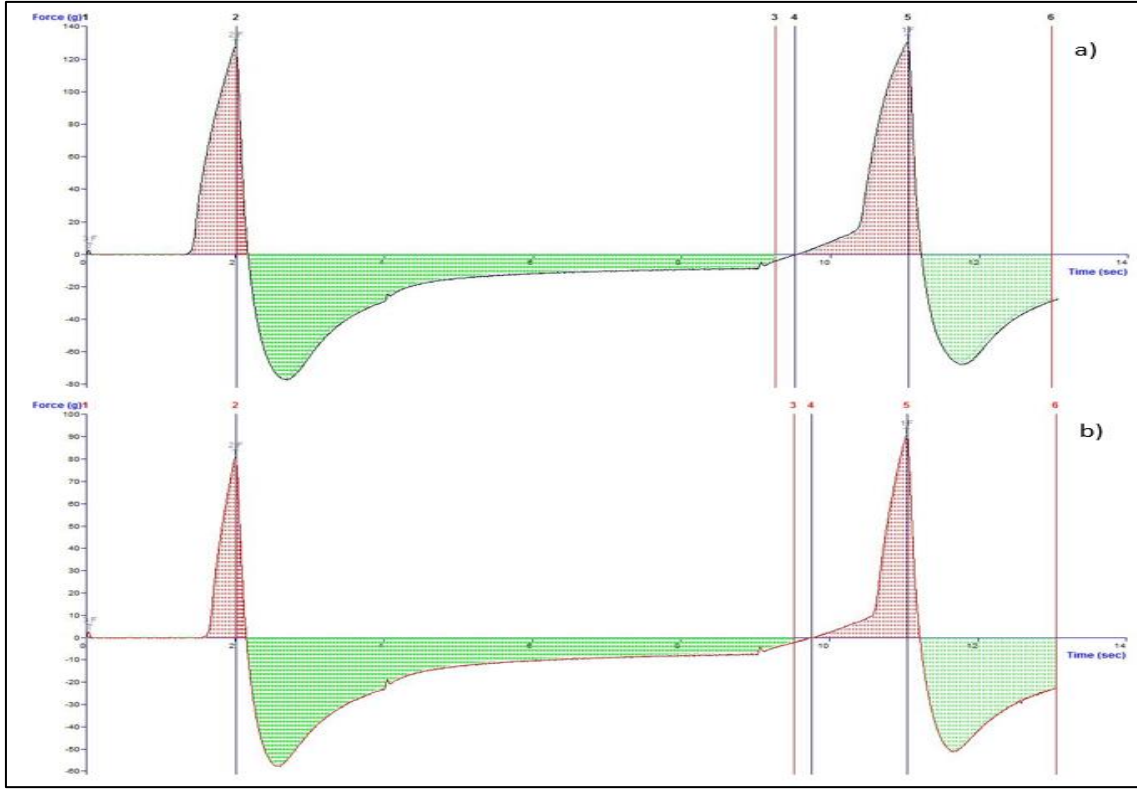
Vajinaya uygulanacak yarı katı ilaç şekillerinin geliştirilmesinde dikkat edilecek en önemli parametre ilacın vajinada kalış süresidir. Jelin vajinada kalış süresi ilacın emilimini ve biyoyararlanımını etkiler. TPA sonuçlarının değerlendirilmesinde

adezyon, kohezyon kuvvetleri ile elastikiyetin büyük olması beklenir. Büyük oldukları durumlarda formülasyonun vajinada kalış süresi uzar. Adezifliği yüksek, sertlik ve sıkışabilirliği düşük, elastikiyet ve kohezifliği uygun olan jel formülasyonları vajinal uygulama için tercih edilir (Arpa ve diğerleri, 2020).

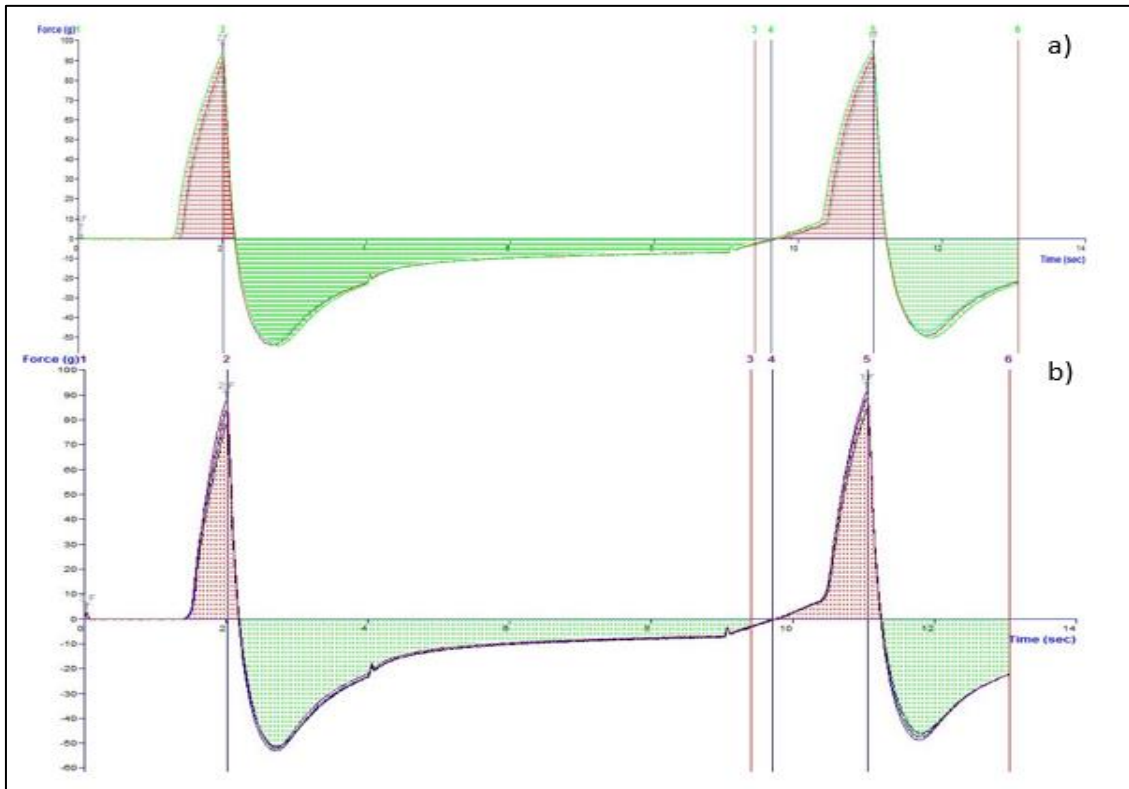
Biz de çalışmamızda vajinaya uygulanacak mukoadezif organojellerin geliştirilmesi sırasında organojellerin mekanik özelliklerini belirleyerek optimum formülasyona ulaşmaya çalıştık. Bölüm 3.2.6'da anlatıldığı üzere yapılan TPA analizi sonucunda adeziflik, koheziflik, sertlik, sıkışabilirlik, elastikiyet, esneklik ve kırılabilirlik parametreleri tüm organojel formülasyonları için TPA grafiklerinden belirlendi. Formülasyonlara ait grafikler Şekil 4.19-4.24'de gösterilmektedir. Elde edilen grafiklere göre cihazın yazılımı yardımıyla hesaplanan organojellere ait TPA verileri Çizelge 4.13 ve 4.14'de yer almaktadır.



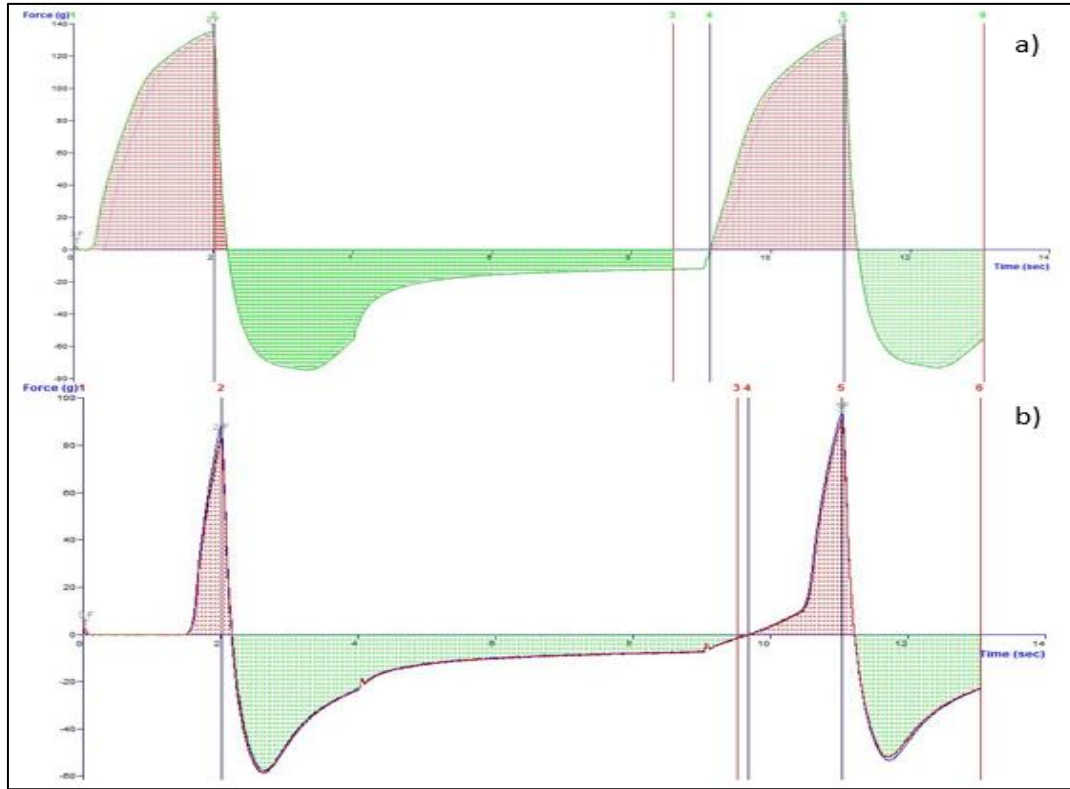
Şekil 4.19. Oleik asit ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VO1; b) O1



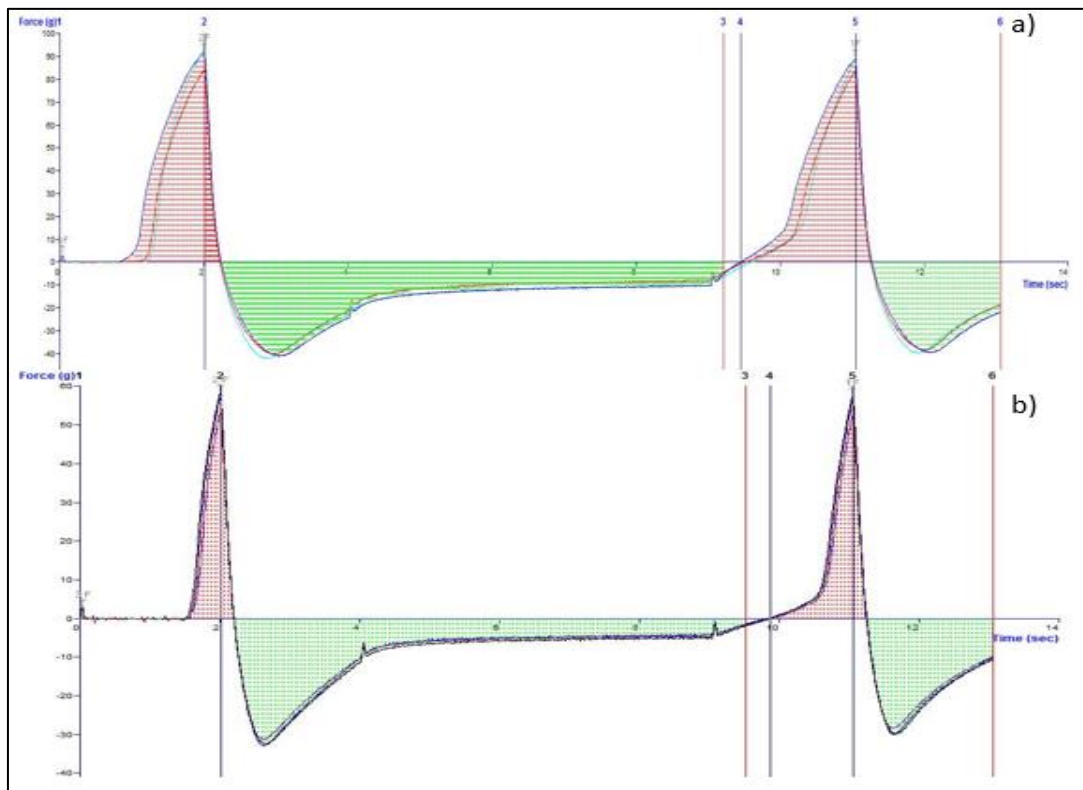
Şekil 4.20. Oleik asit ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VO2; b) O2



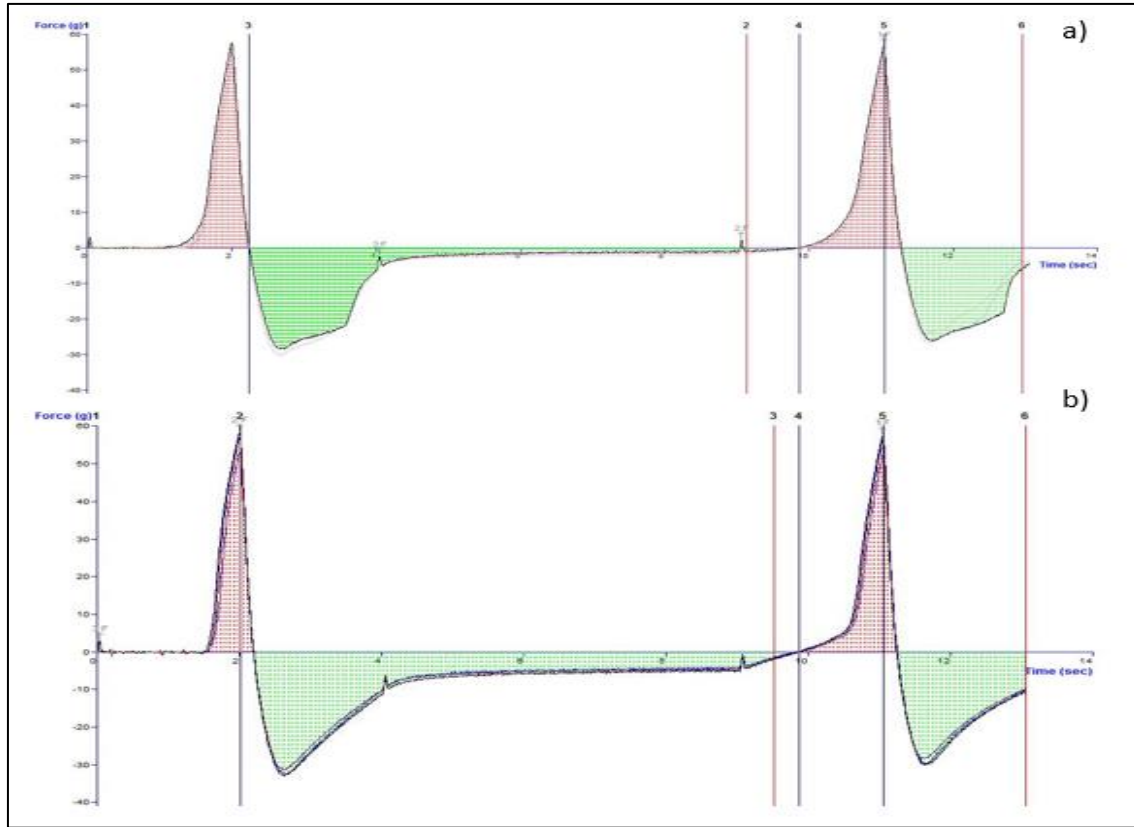
Şekil 4.21. Lavanta yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VL1; b) L1



Şekil 4.22. Lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VL2; b) L2



Şekil 4.23. Karanfil yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VK1; b) K1



Şekil 4.24. Karanfil yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait TPA grafikleri a) VK2; b) K2

Çizelge 4.13. Organojel formülasyonlarının doku profili analizi sonucu elde edilen sertlik, adeziflik, koheziflik ve sıkışabilirlik parametreleri (n=3) (ort±SS)

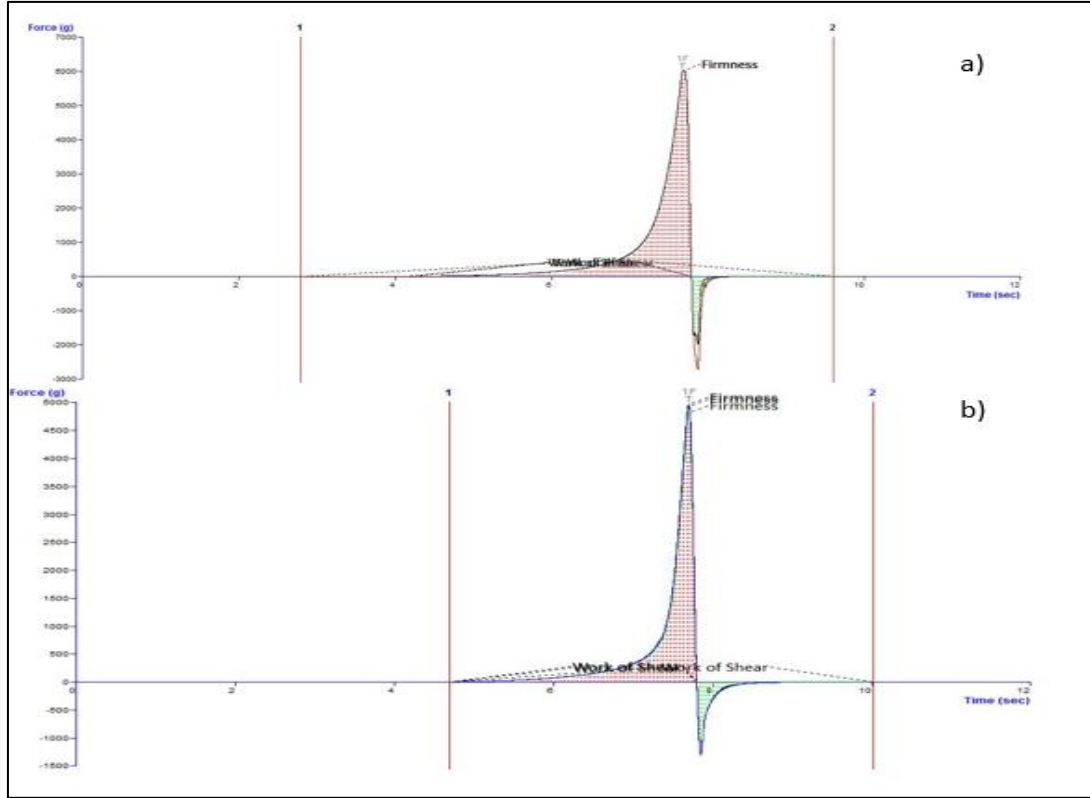
Formülasyon		Sertlik(g) Hardness	Adeziflik(g.sec) Adhesiveness	Koheziflik Cohesiveness	Sıkışabilirlik (g.sec) Compressibility
Oleik Asit	O1	121,711±2,450	-162,096±1,705	1,493±0,015	112,710±3,900
	VO1	91,620±5,898	-121,754± 2,957	0,925±0,664	83,636±11,778
	O2	51,884±48,174	-125,495±1,081	0,718±0,810	67,539±24,155
	VO2	126,329±4,445	-156,693±3,257	0,108±0,017	167,764±38,660
Lavanta Yağı	L1	83,693±4,785	-120,261±3,403	0,241±0,393	65,023±29,607
	VL1	88,206±0,892	-108,398±10,177	0,836±0,584	95,057±0,846
	L2	84,745±3,020	-125,526±2,095	1,528±0,034	69,703±2,644
	VL2	135,320±0,938	-199,870±4,956	2,159±1,895	265,515±5,556
Karanfil Yağı	K1	56,228±2,678	-68,025±2,817	0,557±0,521	55,875±12,600
	VK1	89,552±4,850	-117,671±8,070	0,609±0,802	98,502±15,460
	K2	46,216±3,556	-55,025±2,218	0,589±0,521	38,516±2,236
	VK2	54,564±3,143	-47,234±1,855	1,158±0,048	40,695±4,237

Çizelge 4.14. Organojel formülasyonlarının doku profili analizi sonucu elde edilen elastikiyet, kırılabilirlik ve esneklik parametreleri (n=3) (ort±SS)

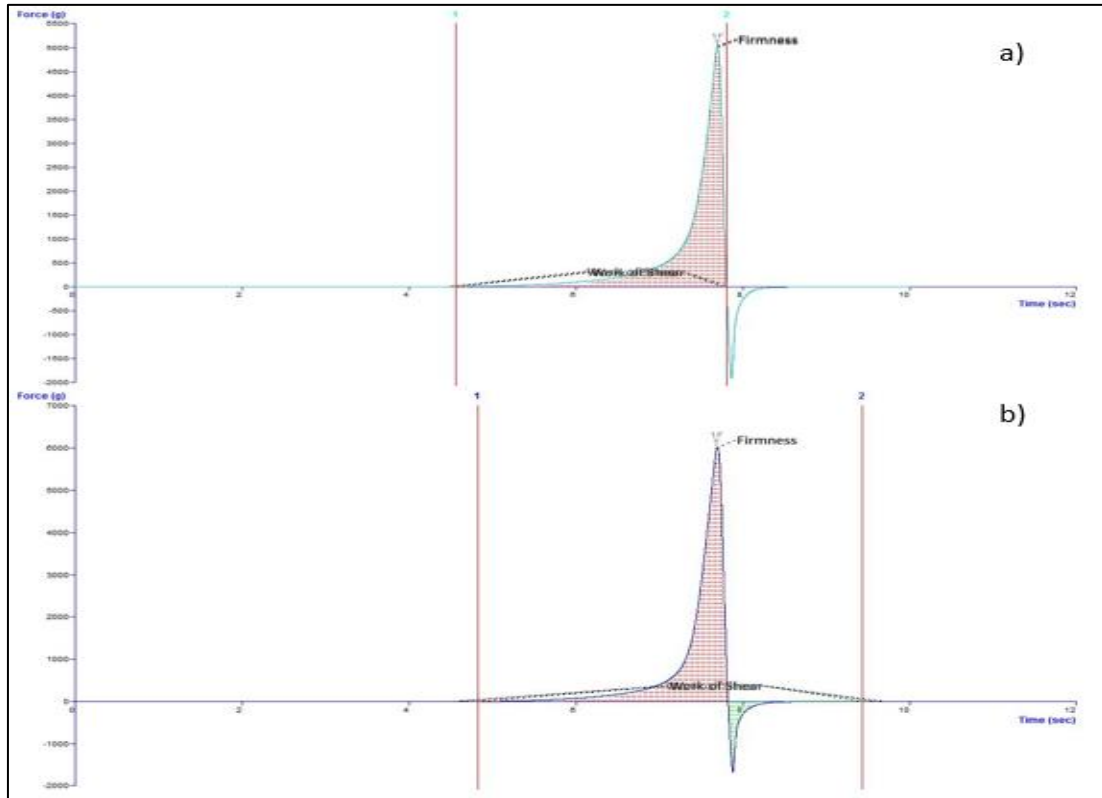
Formülasyon		Elastikiyet Springiness	Kırılabilirlik (g) Fracturability	Esneklik Resilience
Oleik Asit	O1	0,767±0,008	3,052±0,083	0,257±0,006
	VO1	0,659±0,028	2,861±0,025	0,915±2,544
	O2	0,639±0,003	2,436±42,68	4,630±4,332
	VO2	0,746±0,012	2,796±0,055	3,291±0,238
Lavanta Yağı	L1	0,644±0,017	2,973±0,105	4,466±0,419
	VL1	0,746±0,048	2,984±0,019	1,046±2,128
	L2	0,680±0,006	2,969±0,044	0,290±0,006
	VL2	0,946±0,012	2,832±0,043	0,321±0,679
Karanfil Yağı	K1	0,596±0,020	2,948±0,164	3,408±2,987
	VK1	0,748±0,045	2,937±0,066	0,527±1,216
	K2	0,465±0,036	3,268±0,126	3,652±2,268
	VK2	0,559±0,020	2,937±0,076	0,395±0,019

4.3.5. Organojel formülasyonlarında yayılabilirlik (spreadability) testine ait bulgular

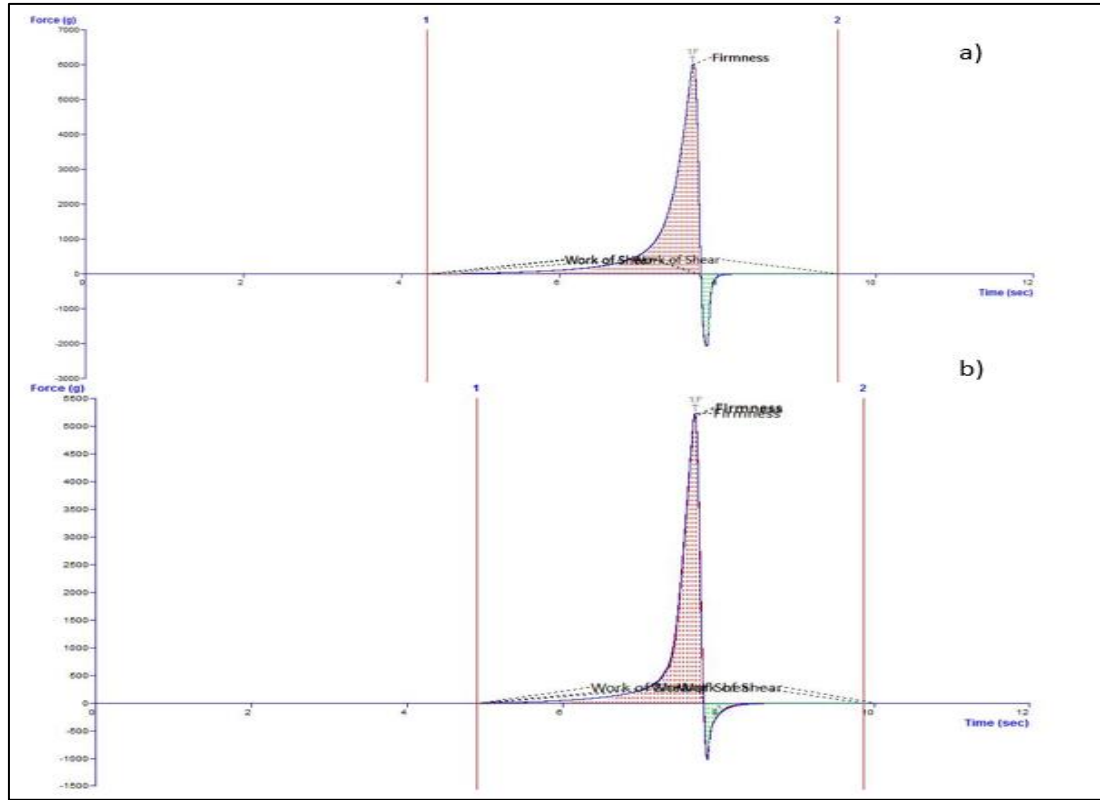
Vajinaya uygulanacak yarı katı ilaç şekillerinin geliştirilmesinde önemli bir parametre olan organojellerin yayılabilirlik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla TA-XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) cihazı kullanılarak yayılabilirlik tayini yapıldı. Bölüm 3.2.7’de anlatıldığı gibi yapılan yayılabilirlik testleri sonucunda etkin madde içeren ve içermeyen organojeller için, yayılabilirlik kuvvet-mesafe grafikleri yazılım yardımıyla oluşturuldu (Şekil 4.25-4.30). Cihazın yazılımı kullanılarak organojellerin yayılmaya karşı yaptıkları iş (work of shear) ve kuvvet (Firmness) özellikleri hesaplandı. Sonuçlar, Çizelge 4.15 ve 4.16’da yer almaktadır. Formülasyonların yayılabilirliğinin kıyaslanması ise Şekil 4.31 ve 4.32’de yer almaktadır.



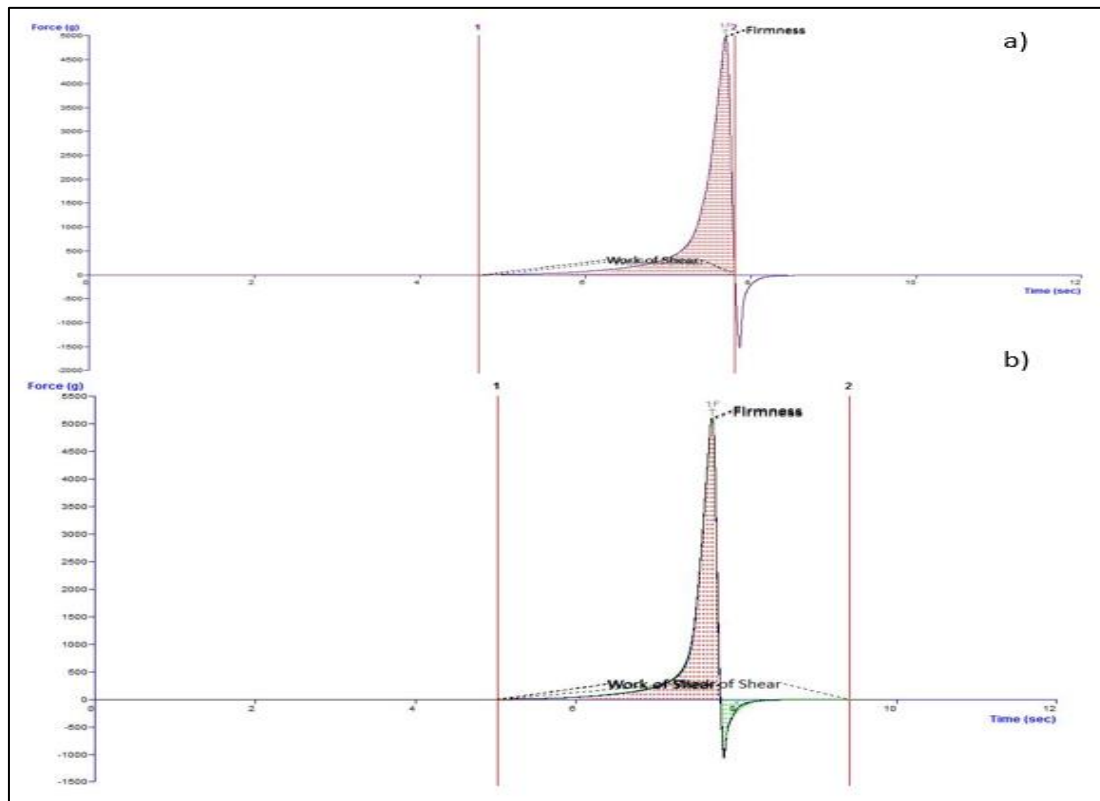
Şekil 4.25. Oleik asit ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VO1 ve b) O1



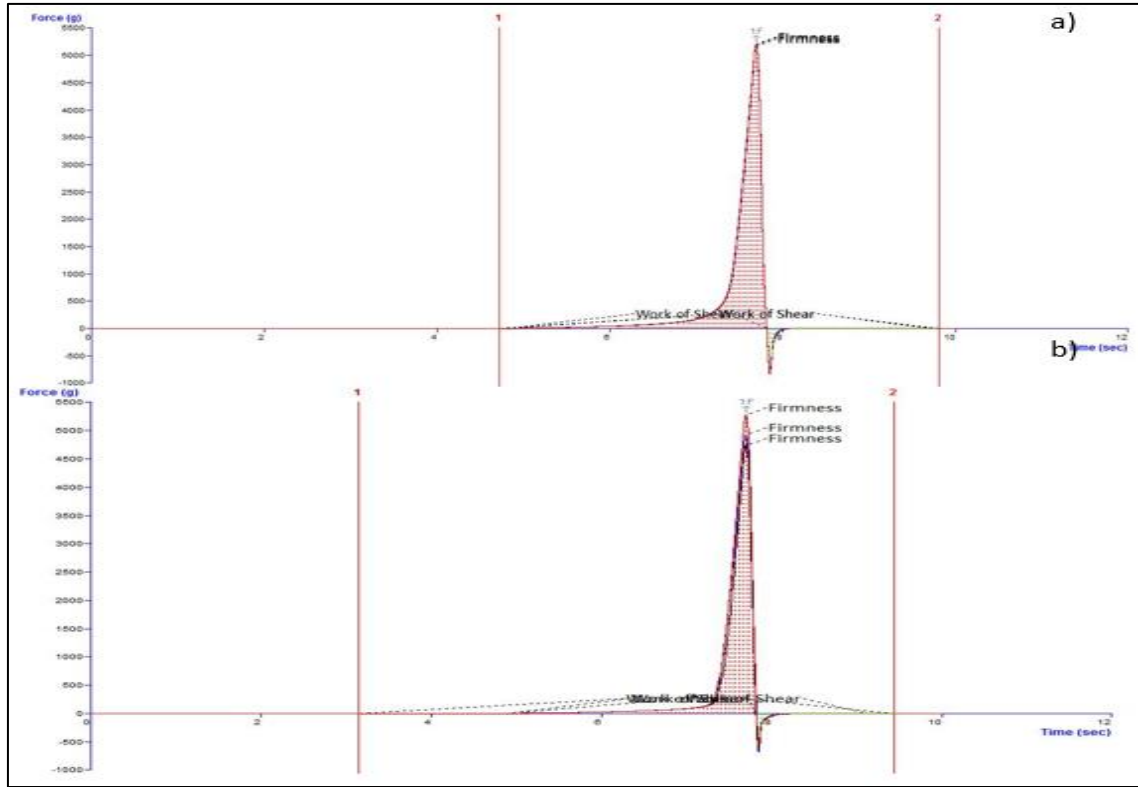
Şekil 4.26. Oleik asit ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VO2 b) O2



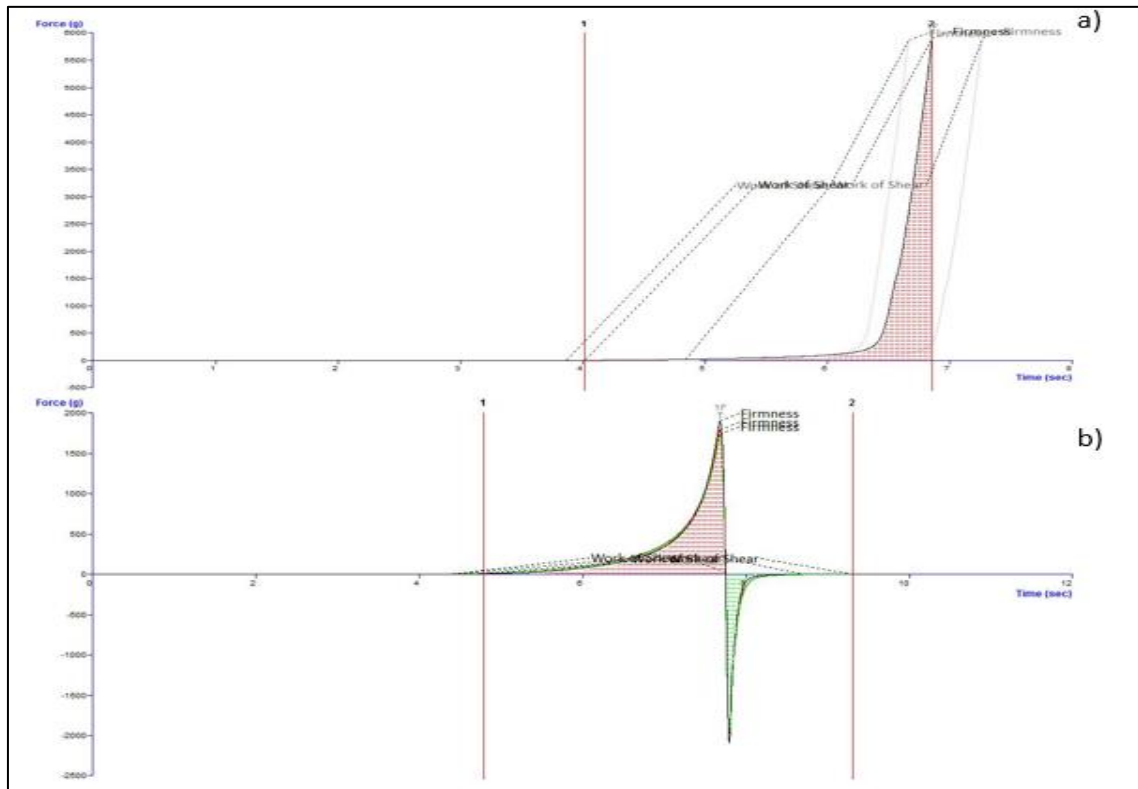
Şekil 4.27. Lavanta yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VL1 ve b) L1



Şekil 4.28. Lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri; a) VL2 ve b) L2



Şekil 4.29. Karanfil yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri a) VK1 ve b) K1;



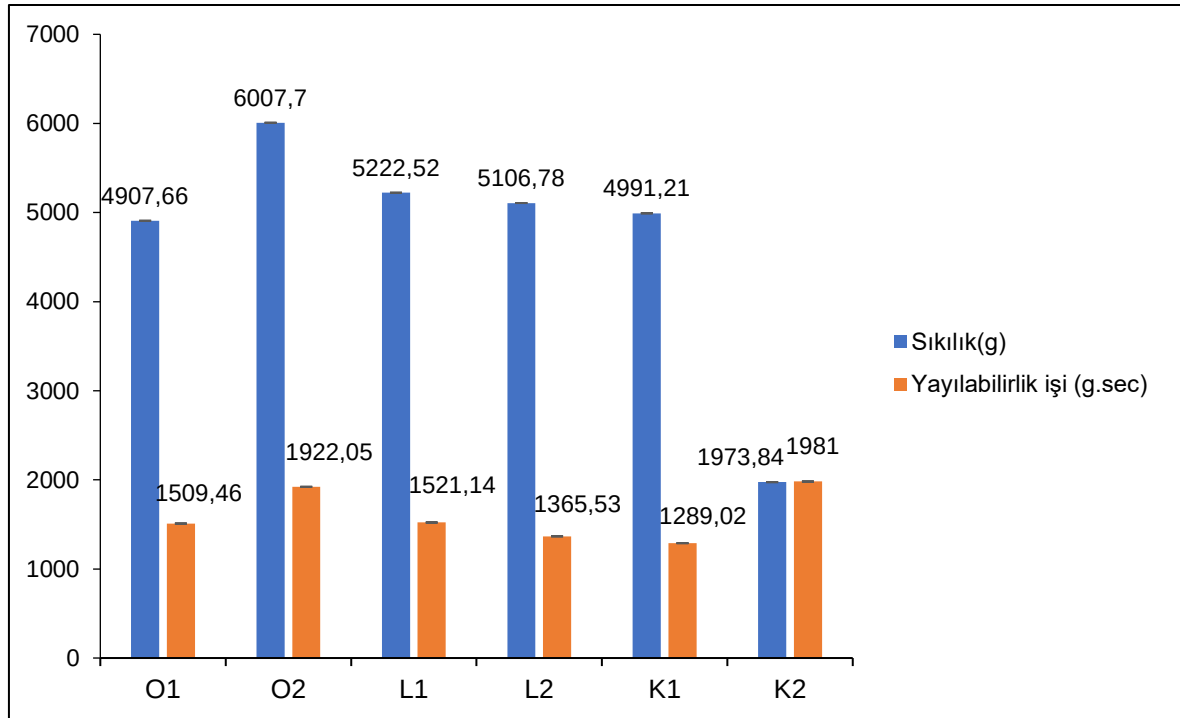
Şekil 4.30. Karanfil yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait yayılabilirlik grafikleri; a) VK2 ve b) K2

Çizelge 4.15. Etkin madde içermeyen organojel formülasyonlarının yayılabilirlik kuvveti ve yayılabilirliğe karşı yaptığı iş (n=3) (ort±SS)

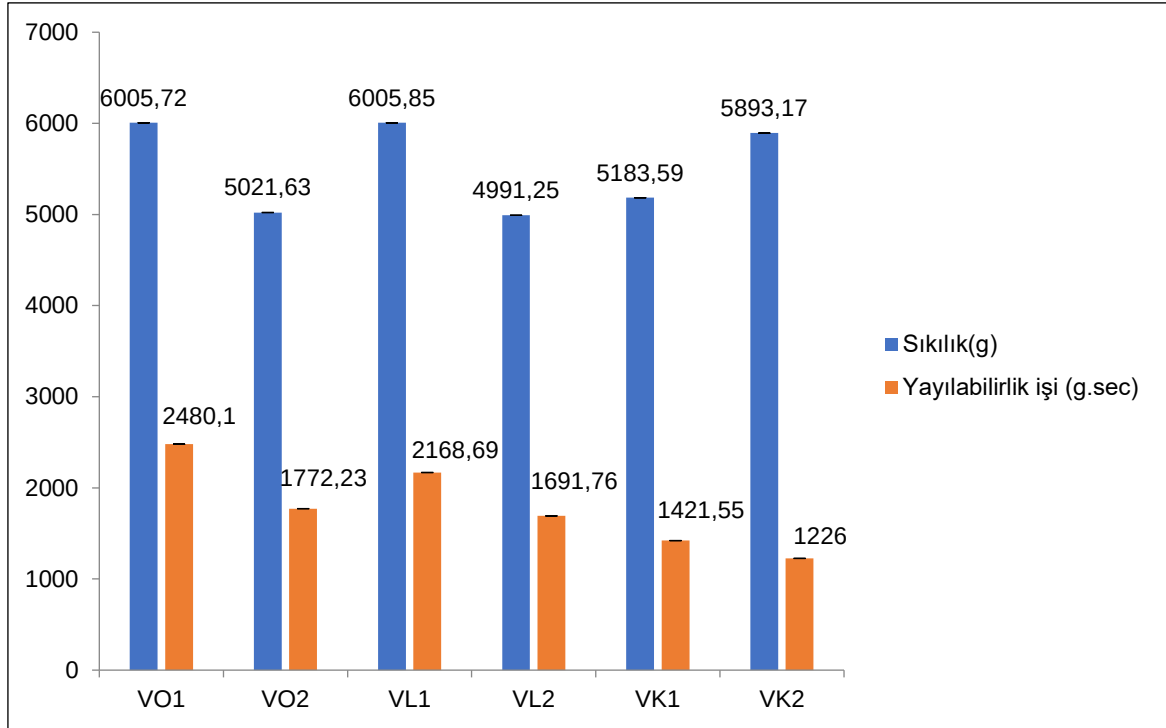
Formülasyon	Sıklık (g)	Yayılabilirlik işi (g.sec)
O1	4907,66±64,59	1509,46±21,10
O2	6006,70±0,01	1922,05±24,08
L1	5222,52±18,90	1521±17,52
L2	5106,78±18,13	1365,53±57,96
K1	4991,21±222,45	1289,02±70,18
K2	1973,84±17,28	1981,00±18,00

Çizelge 4.16. Etkin madde içeren organojel formülasyonlarının yayılabilirlik kuvveti ve yayılabilirliğe karşı yaptığı iş (n=3) (ort±SS)

Formülasyon	Sıklık (g)	Yayılabilirlik işi (g.sec)
VO1	6005,72±0,07	2480,10±3,74
VO2	5021,63±13,95	1772,23±11,74
VL1	6005,85±0,02	2168,69±130,55
VL2	4991,25±5,94	1691,76±10,63
VK1	5183,59±19,21	1421,55±34,67
VK2	5893,17±13,91	1226,00±56,36



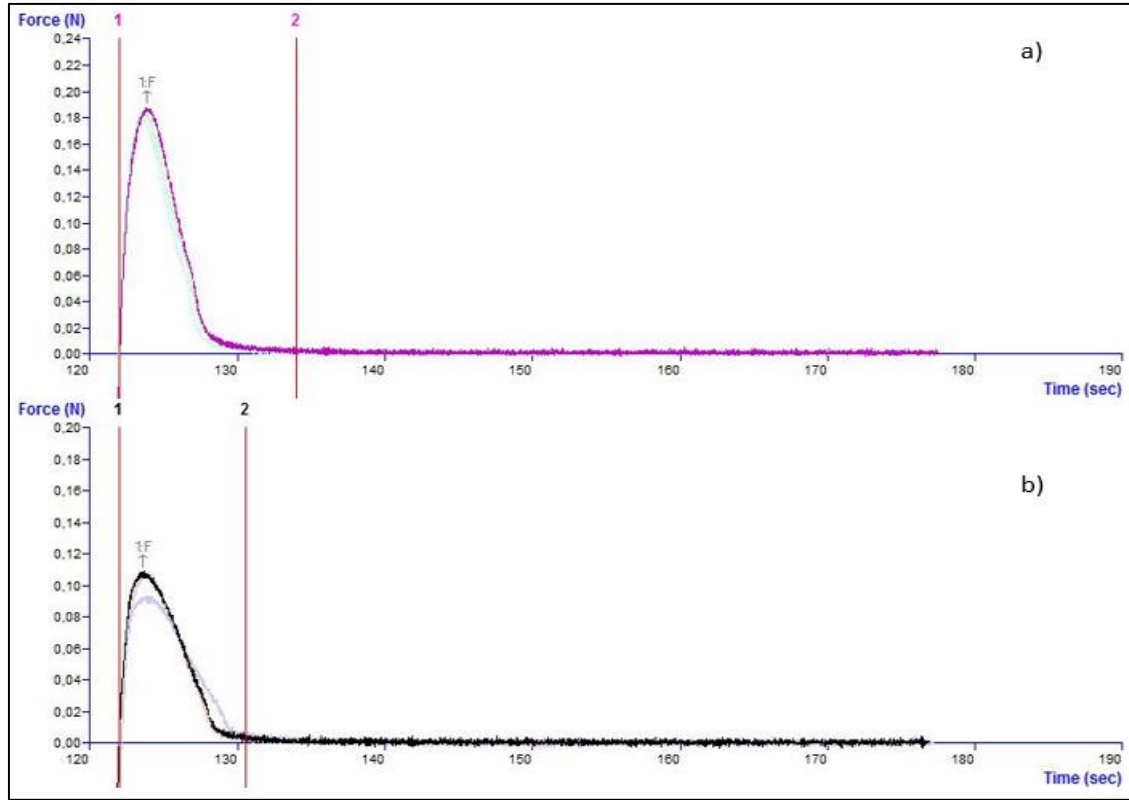
Şekil 4.31. Etkin madde içermeyen organojellerde yayılabilirliğin kıyaslanması (n=3) (ort±SS)



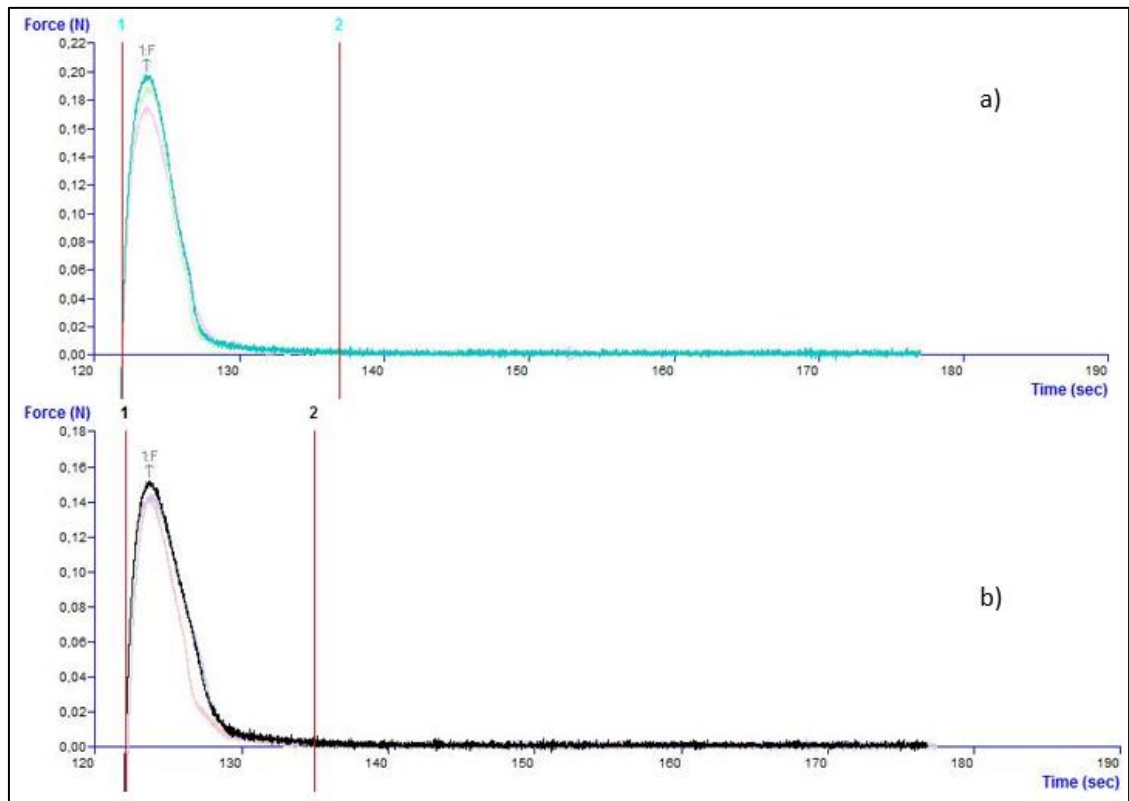
Şekil 4.32. Etkin madde içeren organojellerde yayılabilirliğin kıyaslanması (n=3) (ort±SS)

4.3.6. Organojel formülasyonlarında ex vivo mukoadesyon çalışmalarına ait bulgular

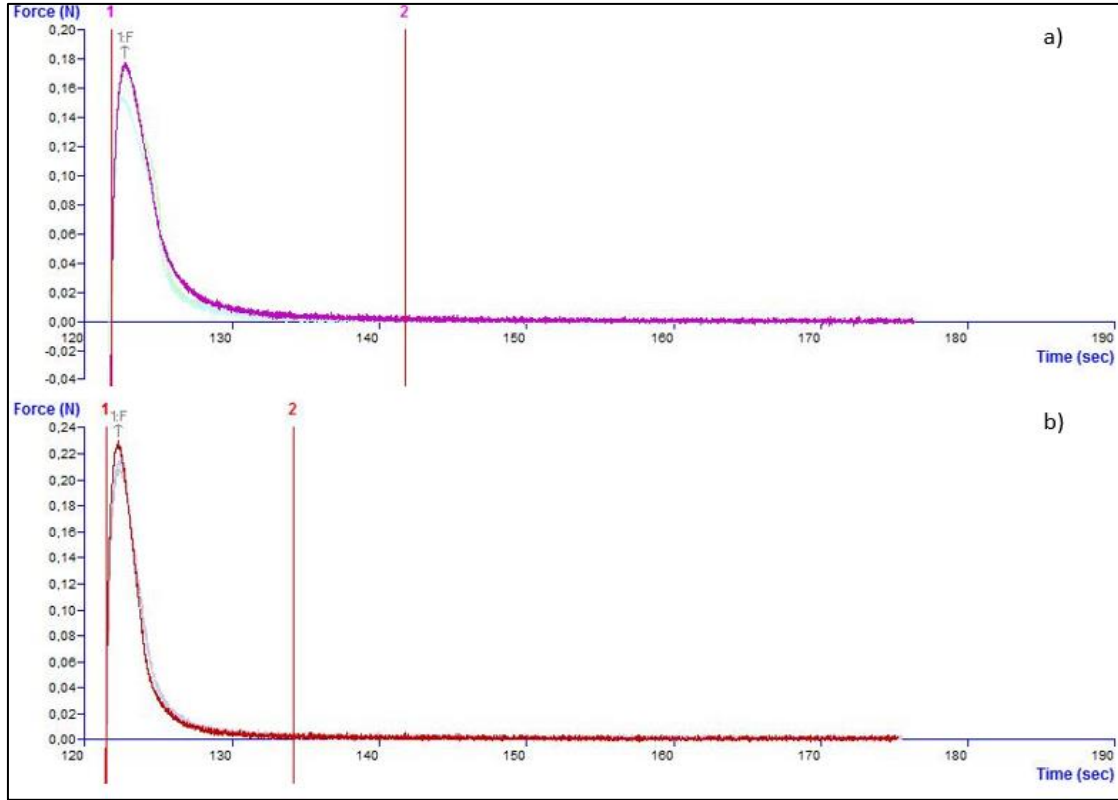
Organojellerin mukoadesif özelliğini tayini ex vivo mukoadesyon çalışması Bölüm 3.2.8'de anlatıldığı gibi inek vajinal dokusunda yapılmıştır. VZ içeren ve içermeyen organojeller üzerinde yapılan ölçümler sonucunda kuvvet-mesafe grafikleri Şekil 4.33-4.38'de gösterilmektedir. Mukoadesyon işine ait sonuçlar Çizelge 4.17 ve 4.18'de yer almaktadır. Formülasyonların mukoadesyon işlerinin kıyaslanması ise Şekil 4.39 ve 4.40'da yer almaktadır. VZ içeren ve içermeyen organojel formülasyonlarının mukoadesyon işlerinin GraphPad yazılımı kullanılarak istatistiksel olarak kıyaslanması ise Şekil 4.41'de yer almaktadır.



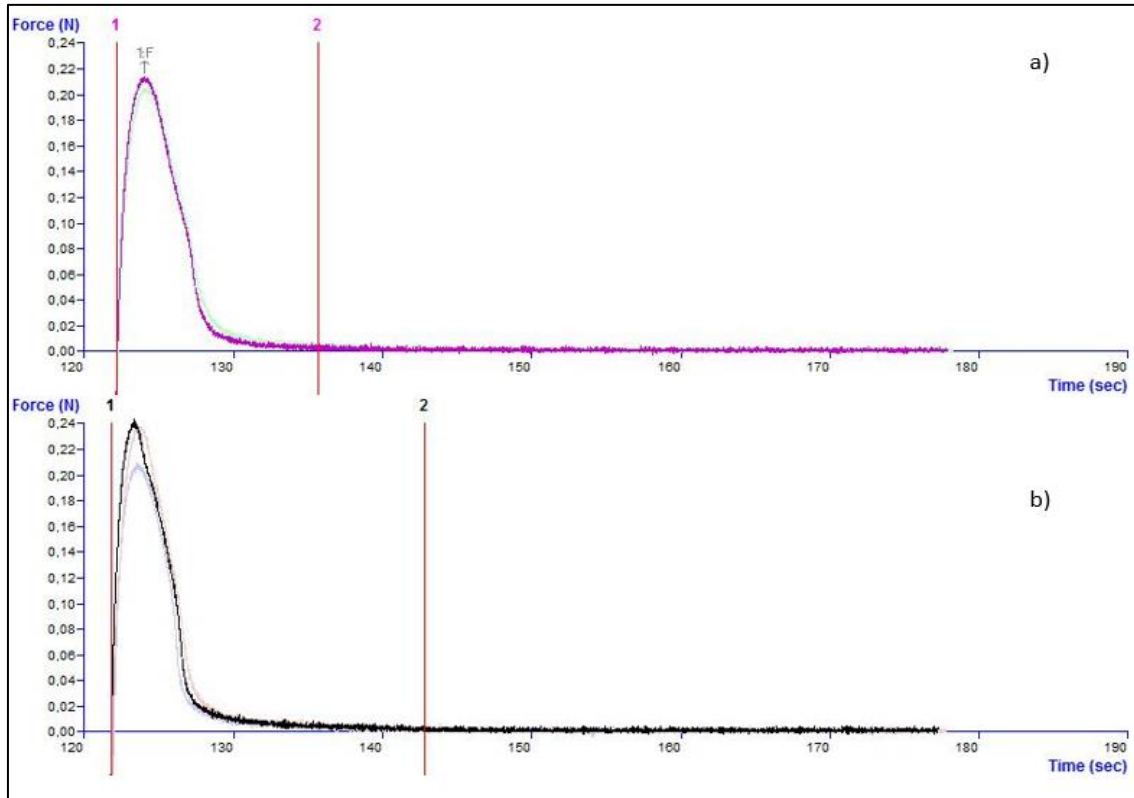
Şekil 4.33. Oleik asit ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadesyon grafikleri a) O1 b) VO1



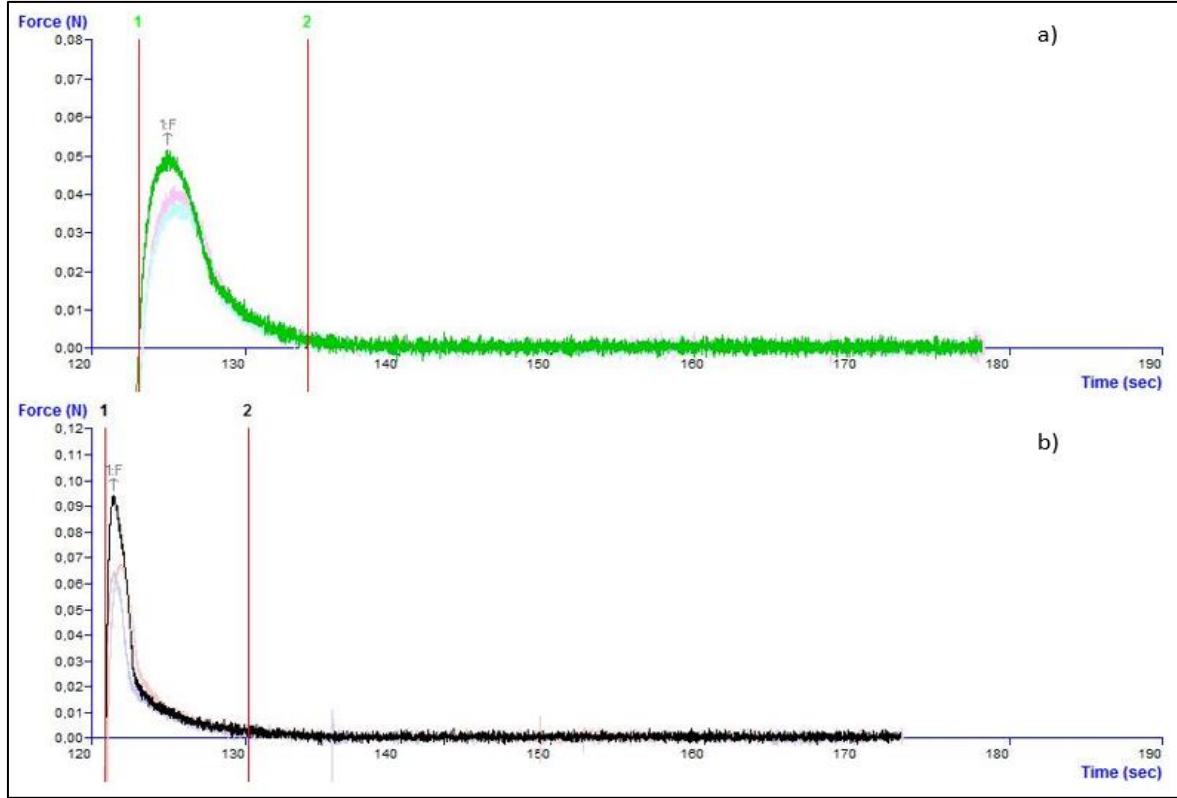
Şekil 4.34. Oleik asit ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadesyon grafikleri a) O2 b) VO2



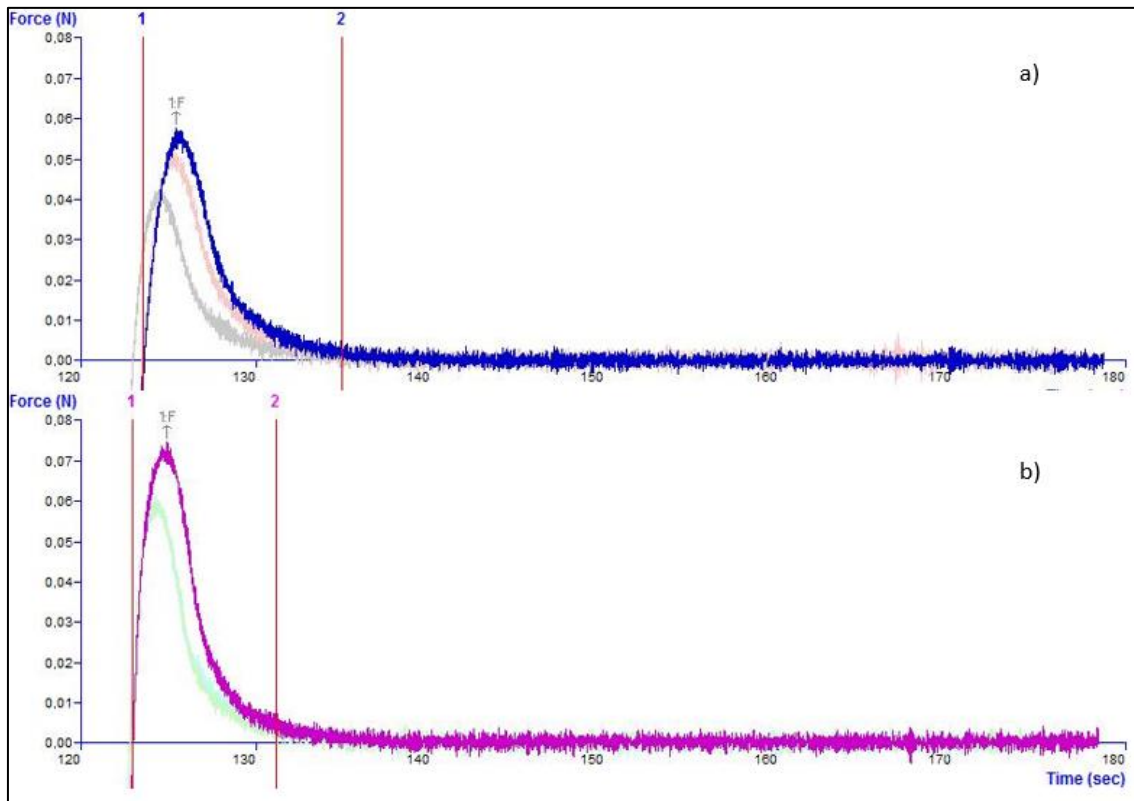
Şekil 4.35. Lavanta yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) L1 b) VL1



Şekil 4.36. Lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadazyon grafikleri a) L2 b) VL2



Şekil 4.37. Karanfil yağı ile 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadesyon grafikleri a) K1 b) VK1



Şekil 4.38. Karanfil yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellere ait mukoadesyon grafikleri a) K2 b) VK2

Etkin madde içermeyen organojellerin mukoadazyon ölçümlerinin sonuçları Çizelge 4.17’de verilmektedir. Sonuçları değerlendirdiğimizde en yüksek mukoadazyona sahip organojelin L2 organojeli olduğu görülmüştür.

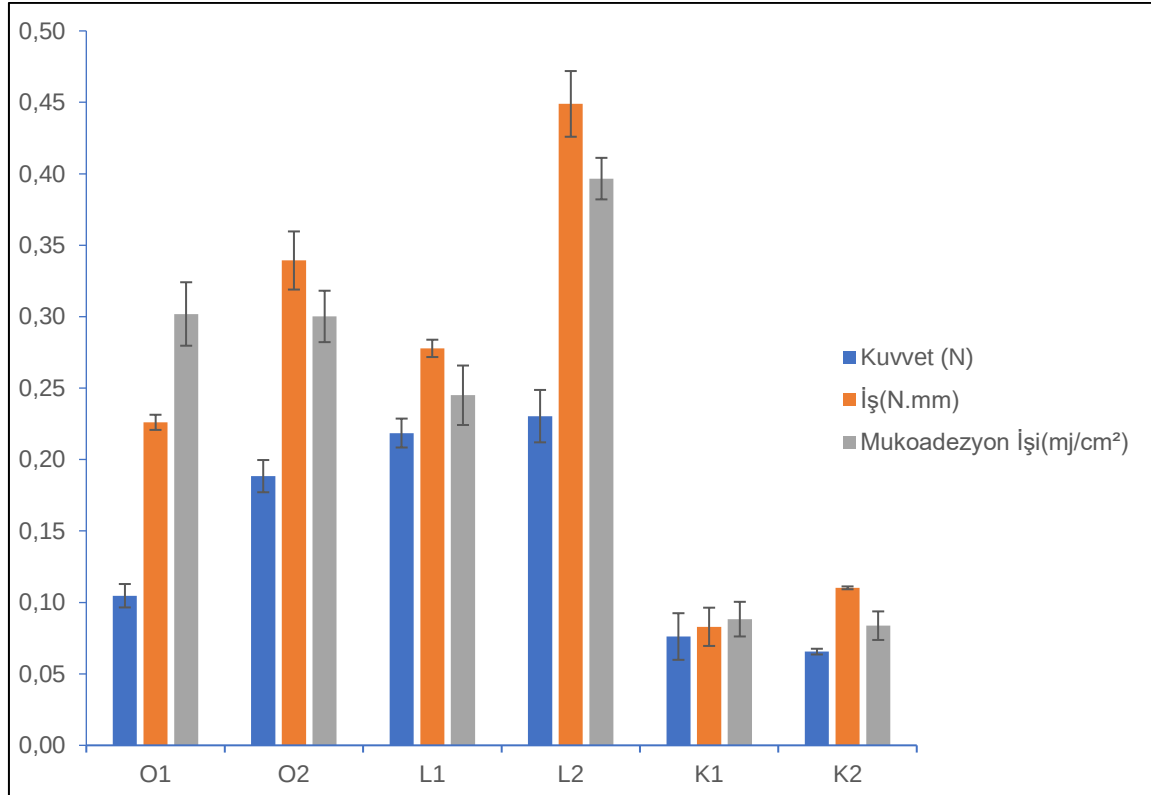
Çizelge 4.17. Etkin madde içermeyen organojel formülasyonlarının mukoadazyon ölçüm sonuçları(n=3) (ort±SS)

Formülasyon	Kuvvet (N) ±SS	İş (N.mm) ±SS	Mukoadazyon işi (mj/cm ²) ±SS
O1	0,184±0,004	0,341±0,025	0,302±0,022
O2	0,188±0,011	0,339±0,020	0,300±0,018
L1	0,171±0,013	0,277±0,024	0,245±0,021
L2	0,211±0,005	0,448±0,016	0,397±0,015
K1	0,044±0,007	0,100±0,014	0,088±0,012
K2	0,051±0,008	0,094±0,022	0,084±0,019

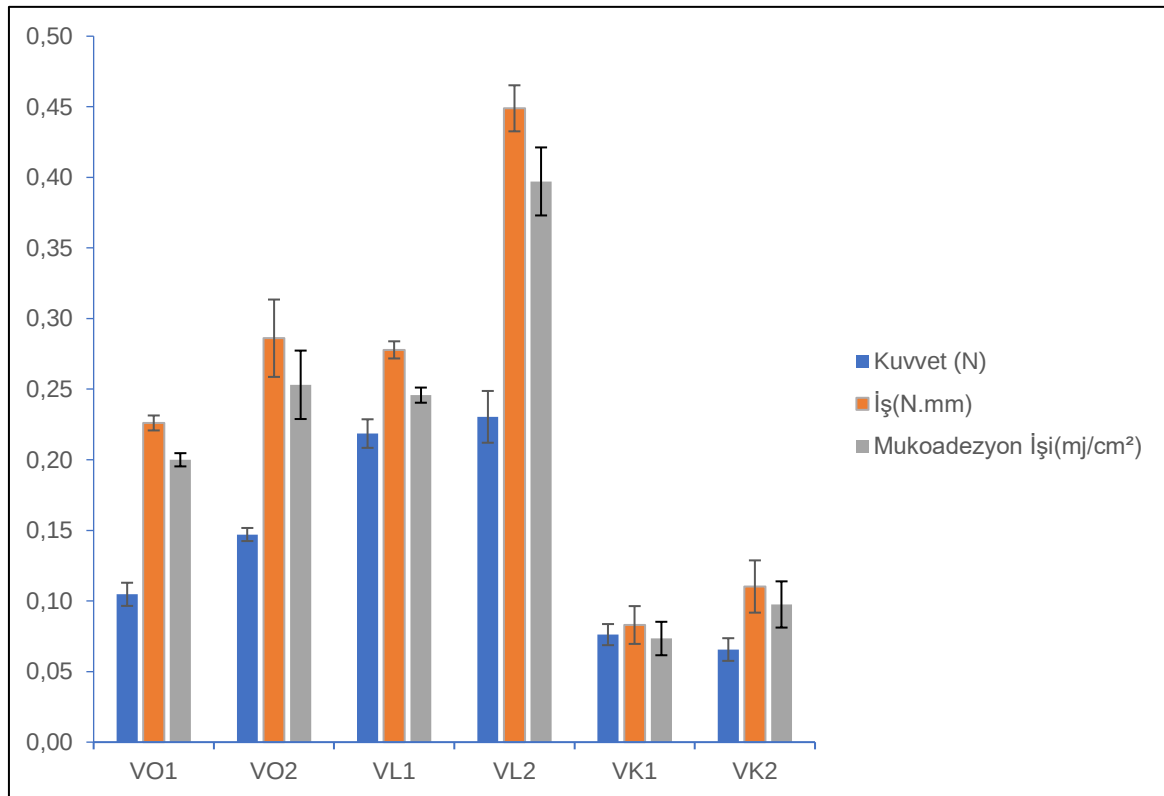
VZ içeren organojellerin mukoadazyon ölçümlerinin sonuçları Çizelge 4.18’de verilmektedir. Sonuçları değerlendirdiğimizde en yüksek mukoadazyona sahip organojelin VL2 organojeli olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.18. Etkin madde içeren organojel formülasyonlarının mukoadazyon ölçüm sonuçları

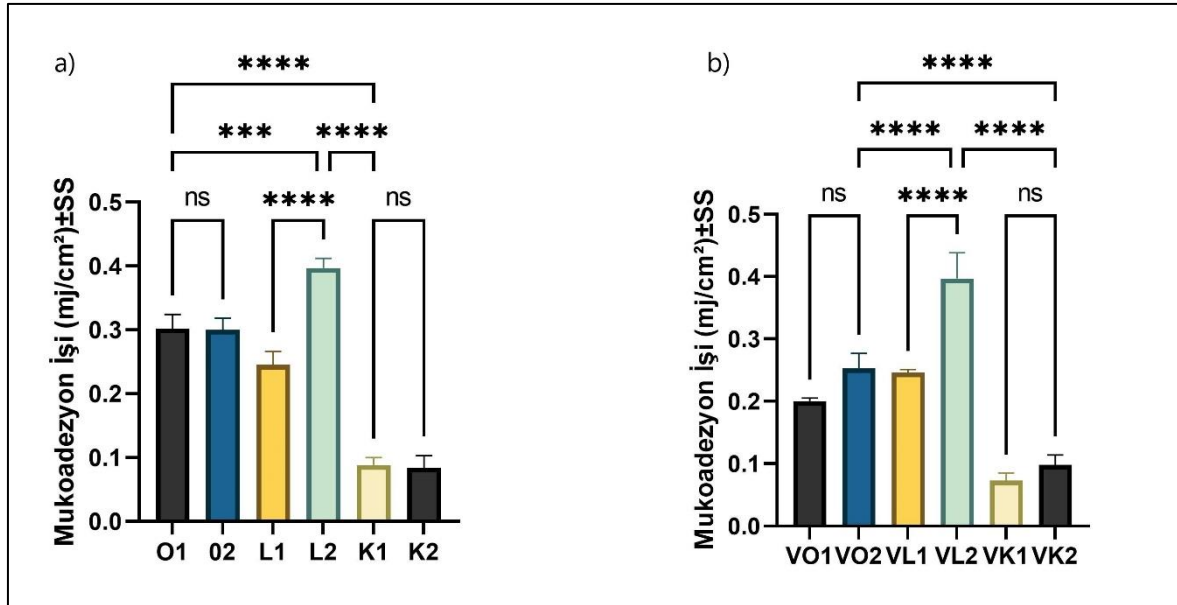
Formülasyon	Kuvvet (N) ±SS	İş (N.mm) ±SS	Mukoadazyon işi (mj/cm ²) ±SS
VO1	0,105±0,008	0,226±0,005	0,200±0,005
VO2	0,147±0,005	0,286±0,027	0,253±0,024
VL1	0,219±0,010	0,278±0,006	0,246±0,005
VL2	0,230±0,018	0,449±0,046	0,397±0,041
VK1	0,076±0,016	0,083±0,013	0,073±0,012
VK2	0,066±0,008	0,110±0,019	0,098±0,016



Şekil 4.39. VZ içermeyen organojellerin inek vajinal mukozasında yapılan mukoadesyon ölçümlerinin kıyaslanması (n=3) (ort±SS)



Şekil 4.40. VZ içeren organojellerin inek vajinal mukozasında yapılan mukoadesyon ölçümlerinin kıyaslanması (n=3) (ort±SS)



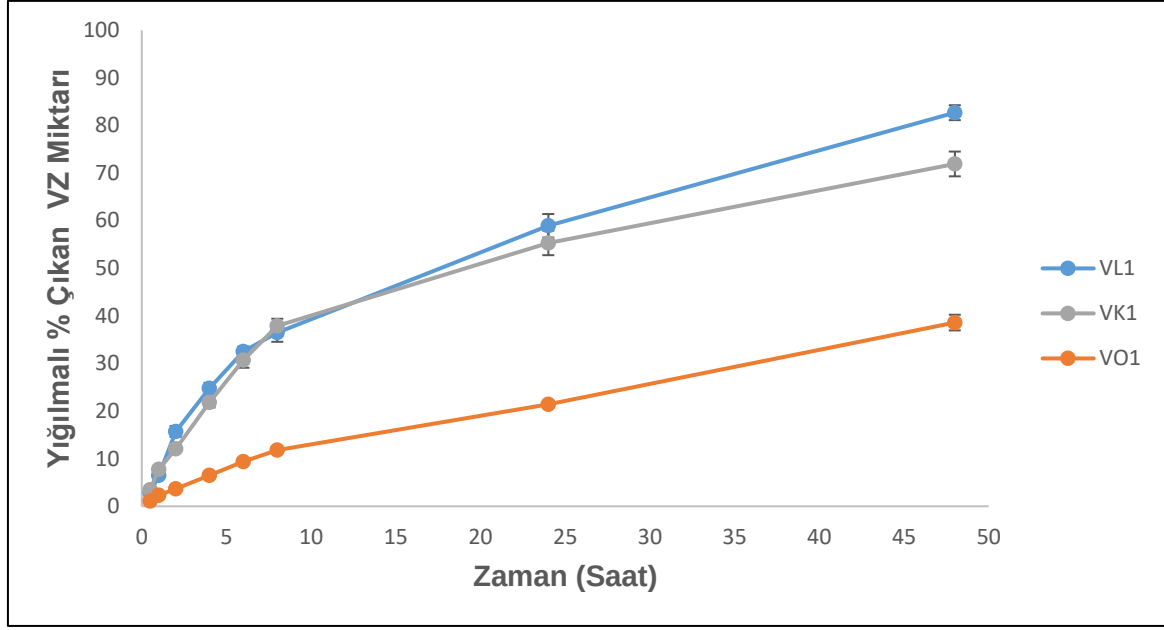
Şekil 4.41. a) VZ içermeyen b) VZ içeren; organojellerin inek vajinal mukozasında yapılan mukoadezyon ölçümlerinin istatistiksel olarak kıyaslanması (n=3 * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001; ns: p>0,05)

4.3.7. Organojel formülasyonlarının Franz difüzyon hücrelerinde geçiş çalışmalarına ait bulgular

Bölüm 3.2.9'da anlatıldığı gibi organojel formülasyonlarında pH 4.5 fosfat tamponunda yapılan, Franz difüzyon hücrelerinde 12000 Dalton'dan küçük moleküllere geçirgen olan diyaliz membrandan etkin maddenin geçiş deneyine ait profiller Şekil 4.42 ve 4.43'de verilmiştir.

1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojel formülasyonlarının geçiş profilleri

1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojel formülasyonlarının geçiş profilleri incelendiğinde oleik asit içeren VO1 formülasyonundan geçiş 8 saatin sonunda %11,8±0,8, 24 saatin sonunda %21,4±0,7 ve 48 saatin sonunda ise %38,6±2,8 olmuştur. Lavanta yağı içeren VL1 formülasyonundan geçiş profilleri incelendiğinde ise 8 saatin sonunda %36,5±3,3, 24 saatin sonunda %58,9±4,2 ve 48 saatin sonunda ise 82,7±2,7 olmuştur. Karanfil yağı içeren VK1 formülasyonundan geçiş 8 saatin sonunda %37,9±2,6, 24 saatin sonunda %55,3±4,5 ve 48 saatin sonunda ise 71,9±4,5 olmuştur.



Şekil 4.42. 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VO1, VL1, VK1 formülasyonlarından VZ'nin diyaliz membrandan geçişi (n=3) (ort±SS)

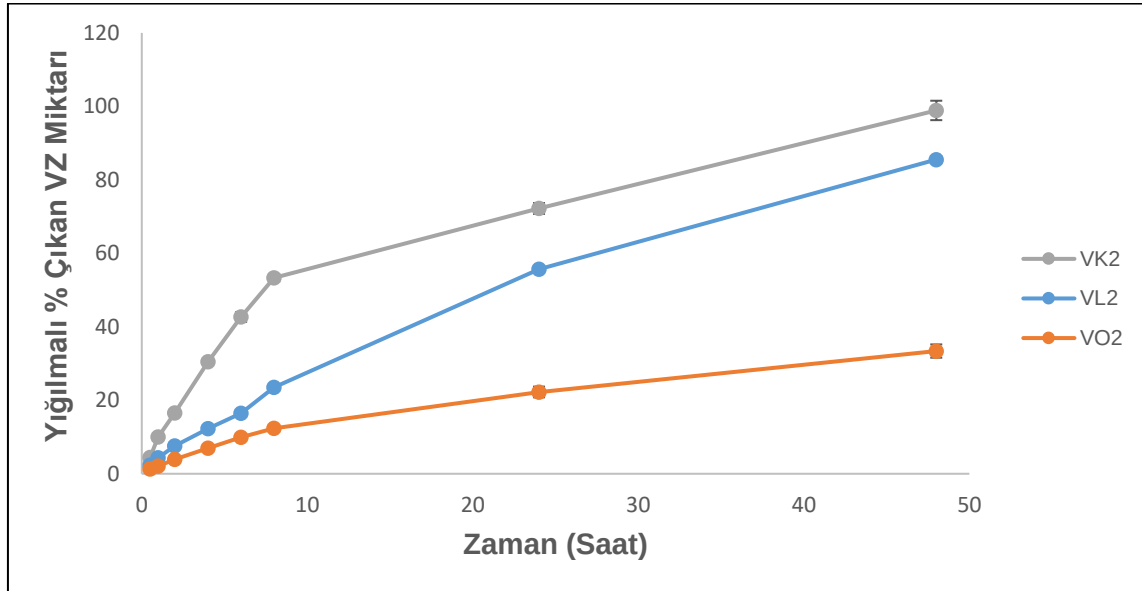
Bu sonuçlara göre vajinal organojel formülasyonlarından lavanta ve karanfil yağı içeren VL1 ve VK1 formülasyonlarının 48 saat boyunca kontrollü salım yaptığı gözlenmiştir. Ancak oleik asit kullanılarak hazırlanan VO1 formülasyonu 48. saatte etkin maddenin yaklaşık %39'u geçerek oldukça düşük bir geçiş göstermiştir.

1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojel formülasyonlarının 48 saatlik in vitro geçiş profilleri kıyaslanmıştır ve sonuçlar Şekil 4.42'de verilmiştir. DDSolver yazılımı yardımıyla geçiş profillerinden F2 benzerlik faktörü analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda VO1 ve VL1 organojelleri arasındaki F2 faktörü 31, VO1 ve VK1 organojelleri arasındaki F2 faktörü 35, VL1 ve VK1 organojelleri arasındaki F2 faktörü ise 68 olarak bulunmuştur.

1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojel formülasyonların geçiş profilleri

1:5 (h:h) yağ fazı/su fazı oranında hazırlanan formülasyonların geçiş profilleri incelendiğinde oleik asitle hazırlanan VO2 formülasyonundan geçiş 8 saatin sonunda %12,4±0,7, 24 saatin sonunda %22,3±2,5 ve 48 saatin sonunda ise %33,4±3,1 olmuştur. Lavanta yağı ile hazırlanan VL2 formülasyonundan geçiş 8 saatin sonunda %23,5±1,3, 24 saatin sonunda %55,7±0,6 ve 48 saatin sonunda ise

%85,5±1,5 olmuştur. Karanfil yağı ile hazırlanan VK2 formülasyonundan geçiş 8 saatin sonunda %53,4±1,8, 24 saatin sonunda %72,2±2,6 ve 48 saatin sonunda ise %98,9±4,5 olmuştur.



Şekil 4.43. 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VO2, VL2, VK2 formülasyonlarından VZ'nin diyaliz membrandan geçişi (n=3) (ort±SS)

1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojel formülasyonlarının 48 saatlik in vitro geçiş profilleri kıyaslanmıştır ve grafik Şekil 4.43'de verilmiştir. DDSolver yazılımı yardımıyla salım profillerinden F2 benzerlik faktörü analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda VO2 ve VL2 organojelleri arasındaki F2 faktörü 42, VO2 ve VK2 organojelleri arasındaki F2 faktörü 22, VL2 ve VK2 organojelleri arasındaki F2 faktörü ise 55 olarak bulunmuştur.

4.3.8. Organojel formülasyonlarında ex vivo permeabilite çalışmalarına ait bulgular

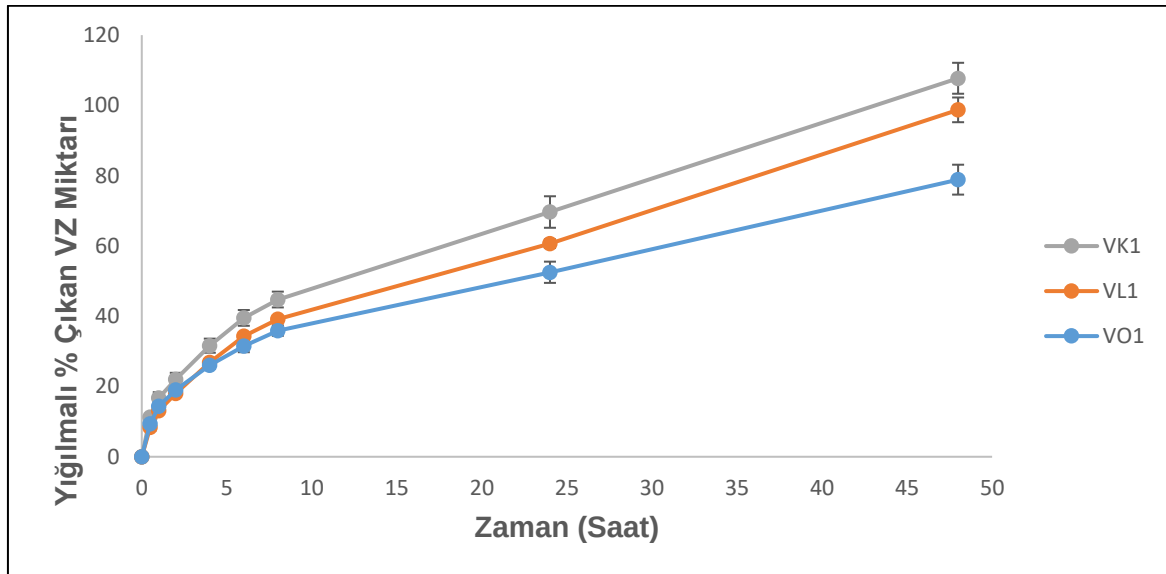
Organojel formülasyonlarının inek vajinal dokusu kullanılarak ex vivo permeabilite deneyleri bölüm 3.2.10'da anlatıldığı gibi yapıldı ve deneylere ait permeabilite profilleri oluşturuldu (Şekil 4.44 ve 4.45).

1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan formülasyonların permeabilite profilleri

Organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde VO1 formülasyonundan 8 saatin sonunda $35,9 \pm 2,5$ oranında, 24 saatin sonunda $52,5 \pm 5,2$ oranında, 48 saatin sonunda ise $78,8 \pm 7,4$ oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir.

VL1 organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde ise 8 saatin sonunda $39,1 \pm 0,9$ oranında, 24 saatin sonunda $60,6 \pm 2,1$ ve 48 saatin sonunda ise $98,7 \pm 6,1$ oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir.

VK1 organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde ise 8 saatin sonunda $44,7 \pm 3,9$ oranında, 24 saatin sonunda $69,7 \pm 7,7$ ve 48 saatin sonunda ise $107,7 \pm 7,6$ oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir.



Şekil 4.44. 1:4 (h:h) yağ fazı:su fazı oranında hazırlanan VO1, VL1, VK1 organojel formülasyonlarından VZ'nin inek vajinal dokusundan geçişi (n=3)

1:4 (h:h) yağ fazı:su fazı oranında hazırlanan organojel formülasyonlarının etkin maddenin inek vajinal dokusundan geçiş profilleri kıyaslanmıştır ve grafik Şekil 4.44'te verilmiştir. Organojel formülasyonlarına ait ex vivo geçiş verilerinden akı hesabı yapılmış ve Çizelge 4.19'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.19. Organojel formülasyonlarından etkin maddenin inek vajinal dokusundan geçişinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen akı değerleri (n=3) (ort±SS)

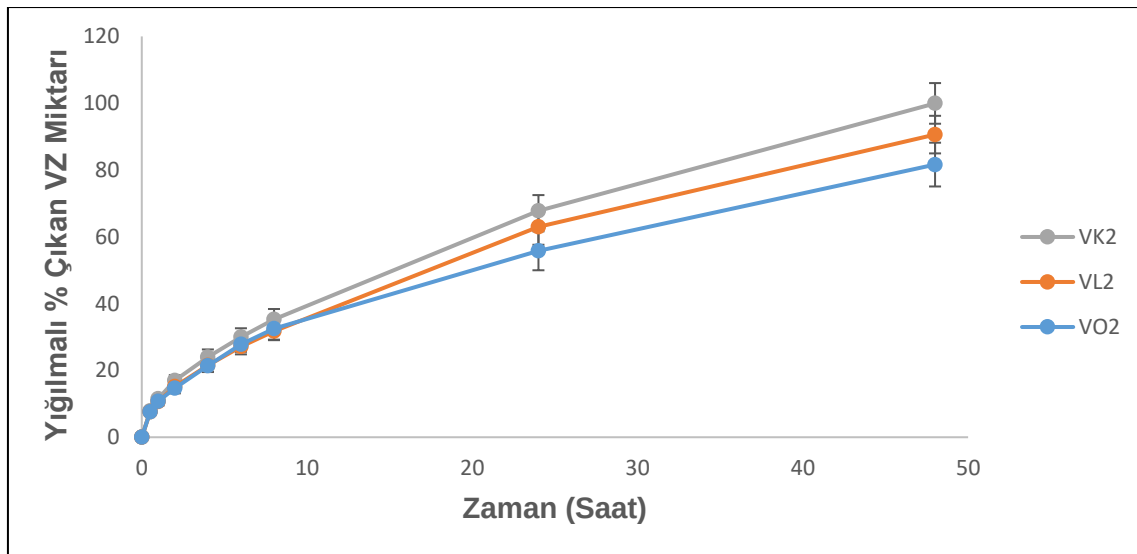
Formülasyon	Akı ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$) $\pm\text{SS}$	Permeabilite katsayısı $\pm\text{SS}$
VO1	26,9±4,2	0,011±0,002
VL1	37,4±4,4	0,015±0,001
VK1	40,1±3,4	0,016±0,001

1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan formülasyonların permeabilite profilleri

Organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde VO2 organojel formülasyonundan 8 saatin sonunda %32,5±5,6 oranında, 24 saatin sonunda %55,8±10,1 oranında, 48 saatin sonunda ise %81,6±0,8 oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir.

VL2 organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde ise 8 saatin sonunda %31,7±4,5 oranında, 24 saatin sonunda %63,1±9,3 ve 48 saatin sonunda ise %90,6±9,7 oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir.

VK2 organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde ise 8'inci saat sonunda %35,3±5,3 oranında, 24'üncü saat sonunda %67,8±8,1 ve 48 inci saat sonunda ise %99,9±10,5 oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir.



Şekil 4.45. 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VO2, VL2, VK2 organojel formülasyonlarından VZ'nin inek vajinal dokusundan geçişi (n=3)

1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojel formülasyonlarının inek vajinal dokusundan geçiş profilleri kıyaslanmıştır ve grafik Şekil 4.45’de verilmiştir. Organojel formülasyonlarına ait ex vivo geçiş verilerinden akı hesabı yapılmış ve Çizelge 4.20’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.20. Organojel formülasyonlarından etkin maddenin inek vajinal dokusundan geçişinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen akı değerleri (n=3) (ort±SS)

Formülasyon	Akı ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$) ±SS	Permeabilite katsayısı ±SS
VO2	38±8,0	0,015±0,002
VL2	49,5±7,4	0,020±0,002
VK2	51,8±4,8	0,021±0,001

4.3.9. Organojel formülasyonlarının stabilite çalışmalarına ait bulgular

Tez çalışmalarımızda hazırlanan organojel formülasyonları ICH Klavuzuna göre 4°C/ortam nemi, 25°C/%60 bağıl nem ve 40°C/%75 bağıl nem ortamlarında saklanmış ve 3 ay boyunca her ay görünüş, pH, viskozite ve etkin madde miktar tayini testleri yapılmıştır. Stabilite sonuçlarına ait bulgular Çizelge 4.21-4.26 ’da yer almaktadır.

Çizelge 4.21. VO1' nin stabilite sonuçları (ort±SS)

VO1		pH	Görünüş	Viskozite(cP) (5 rpm)	Miktar Tayini (%)
4°C/ortam nemi	Başlangıç	4,20	Beyaz-Homojen	18793±11	99,4±1,4
	1.ay	4,18	Beyaz-Homojen	9496±11	98,8±0,9
	2.ay	4,18	Beyaz-Homojen	10765±11	98,2±0,1
	3.ay	4,20	Beyaz-Homojen	9496±11	96,2±0,8
25°C/%60 bağıl nem	Başlangıç	4,20	Beyaz-Homojen	18793±11	99,4±1,4
	1.ay	4,20	Beyaz-Homojen	17679±100	98,6±0,8
	2.ay	4,19	Beyaz-Homojen	12146±130	97,5±0,8
	3.ay	4,20	Açık sarı-Homojen	11682±12	96,5±0,9
40°C/%75 bağıl nem	Başlangıç	4,20	Beyaz-Homojen	18793±11	99,4±1,4
	1.ay	4,18	Beyaz-Homojen	15758±90	97,4±0,9
	2.ay	4,25	Beyaz-Homojen	15804±40	97,5±0,2
	3.ay	4,20	Açık sarı-Homojen	14896±23	96,1±1,2

Çizelge 4.22. VL1' nin stabilite sonuçları (ort±SS)

VL1		pH	Görünüş	Viskozite(cP) (5 rpm)	Miktar Tayini (%)
4°C/ortam nemi	Başlangıç	4,29	Beyaz-Homojen	16686±50	99,8±1,2
	1.ay	4,30	Beyaz-Homojen	16600±20	98,5±0,9
	2.ay	4,28	Beyaz-Homojen	12789±30	98,8±0,1
	3.ay	4,59	Beyaz-Homojen	11567±21	97,9±0,2
25°C/%60 bağıl nem	Başlangıç	4,29	Beyaz-Homojen	16686±50	99,8±1,2
	1.ay	4,30	Beyaz-Homojen	16162±40	98,4±0,9
	2.ay	4,65	Beyaz-Homojen	11683±30	97,4±0,9
	3.ay	4,32	Beyaz-Homojen	15685,32±26	97,5±0,5
40°C/%75 bağıl nem	Başlangıç	4,29	Beyaz-Homojen	16686±50	99,8±1,2
	1.ay	4,30	Beyaz-Homojen	1955±11	97,4±0,6
	2.ay	4,36	Beyaz-Homojen	3522±19	95,7±0,6
	3.ay	4,35	Beyaz-Homojen	4586±171	96,6±0,6

Çizelge 4.23. VK1' nin stabilite sonuçları (ort±SS)

VK1		pH	Görünüş	Viskozite(cP) (20 rpm)	Miktar Tayini (%)
4°C/ortam nemi	Başlangıç	4,26	Beyaz-Homojen	1614±3	97,4±0,8
	1.ay	4,32	Beyaz-Homojen	2159±3	96,5±0,9
	2.ay	4,44	Beyaz-Homojen	1553±22	95,5±1,2
	3.ay	-	Faz ayrışması	-	-
25°C/%60 bağıl nem	Başlangıç	4,26	Beyaz-Homojen	1614±3	97,4±0,8
	1.ay	4,31	Beyaz-Homojen	739±3	96,4±1,6
	2.ay	-	Faz ayrışması	-	-
	3.ay	-	Faz ayrışması	-	-
40°C/%75 bağıl nem	Başlangıç	4,26	Beyaz-Homojen	1614±3	97,4±0,8
	1.ay	4,28	Beyaz-Homojen	525±3	95,4±1,9
	2.ay	-	Faz ayrışması	-	-
	3.ay	-	Faz ayrışması	-	-

Çizelge 4.24. VO2' nin stabilite sonuçları (ort±SS)

VO2		pH	Görünüş	Viskozite(cP) (5 rpm)	Miktar Tayini (%)
4°C/ortam nemi	Başlangıç	4,36	Beyaz-Homojen	20039±20	99,8±1,6
	1.ay	4,65	Beyaz-Homojen	18956±14	98,5±0,8
	2.ay	4,56	Beyaz-Homojen	15677±30	98,2±1,2
	3.ay	4,54	Açık sarı-Homojen	9698±30	97,3±1,2
25°C/%60 bağıl nem	Başlangıç	4,36	Beyaz-Homojen	20039±20	99,8±1,6
	1.ay	4,46	Beyaz-Homojen	16245±36	98,2±1,8
	2.ay	4,45	Beyaz-Homojen	14771±98	98,5±1,0
	3.ay	4,56	Beyaz-Homojen	18429±68	97,9±1,2
40°C/%75 bağıl nem	Başlangıç	4,36	Beyaz-Homojen	20039±20	99,8±1,6
	1.ay	4,38	Beyaz-Homojen	8956±29	97,8±0,8
	2.ay	4,46	Açık sarı-Homojen	7667±31	95,3±1,2
	3.ay	4,45	Açık sarı-Homojen	9198±36	95,3±1,2

Çizelge 4.25. VL2' nin stabilite sonuçları (ort±SS)

VL2		pH	Görünüş	Viskozite(cP) (5 rpm)	Miktar Tayini (%)
4°C/ortam nemi	Başlangıç	4,15	Beyaz-Homojen	18356±12	98,7±1,9
	1.ay	4,25	Beyaz-Homojen	18296±15	98,5±2,5
	2.ay	4,39	Beyaz-Homojen	19244±59	97,8±0,2
	3.ay	4,45	Beyaz-Homojen	15859±12	97,3±0,6
25°C/%60 bağıl nem	Başlangıç	4,15	Beyaz-Homojen	18356±12	98,7±1,9
	1.ay	4,35	Beyaz-Homojen	16678±19	97,4±0,9
	2.ay	4,35	Beyaz-Homojen	18018±29	97,4±0,9
	3.ay	4,45	Beyaz-Homojen	15228±91	96,5±0,8
40°C/%75 bağıl nem	Başlangıç	4,15	Beyaz-Homojen	18356±12	98,7±1,9
	1.ay	4,15	Beyaz-Homojen	8257±15	98,3±0,6
	2.ay	4,25	Beyaz-Homojen	7458±25	97,5±0,2
	3.ay	4,35	Beyaz-Homojen	6700±39	97,3±0,6

Çizelge 4.26. VK2' nin stabilite sonuçları (ort±SS)

VK2		pH	Görünüş	Viskozite(cP) (20 rpm)	Miktar Tayini (%)
4°C/ortam nemi	Başlangıç	4,45	Beyaz-Homojen	3406±8	96,8±0,9
	1.ay	4,39	Beyaz-Homojen	3108±2	96,5±0,9
	2.ay	4,56	Beyaz-Homojen	1256±10	95,3±0,9
	3.ay	-	Faz ayrışması	-	-
25°C/%60 bağıl nem	Başlangıç	4,45	Beyaz-Homojen	3406±8	96,8±0,9
	1.ay	4,41	Beyaz-Homojen	2568±7	96,1±1,6
	2.ay	-	Faz ayrışması	-	-
	3.ay	-	Faz ayrışması	-	-
40°C/%75 bağıl nem	Başlangıç	4,45	Beyaz-Homojen	3406±8	96,8±0,9
	1.ay	4,44	Beyaz-Homojen	895±10	94,4±1,9
	2.ay	-	Faz ayrışması	-	-
	3.ay	-	Faz ayrışması	-	-

4.3.10. Organojel formülasyonlarında in vitro antifungal etkinlik çalışmalarına ait bulgular

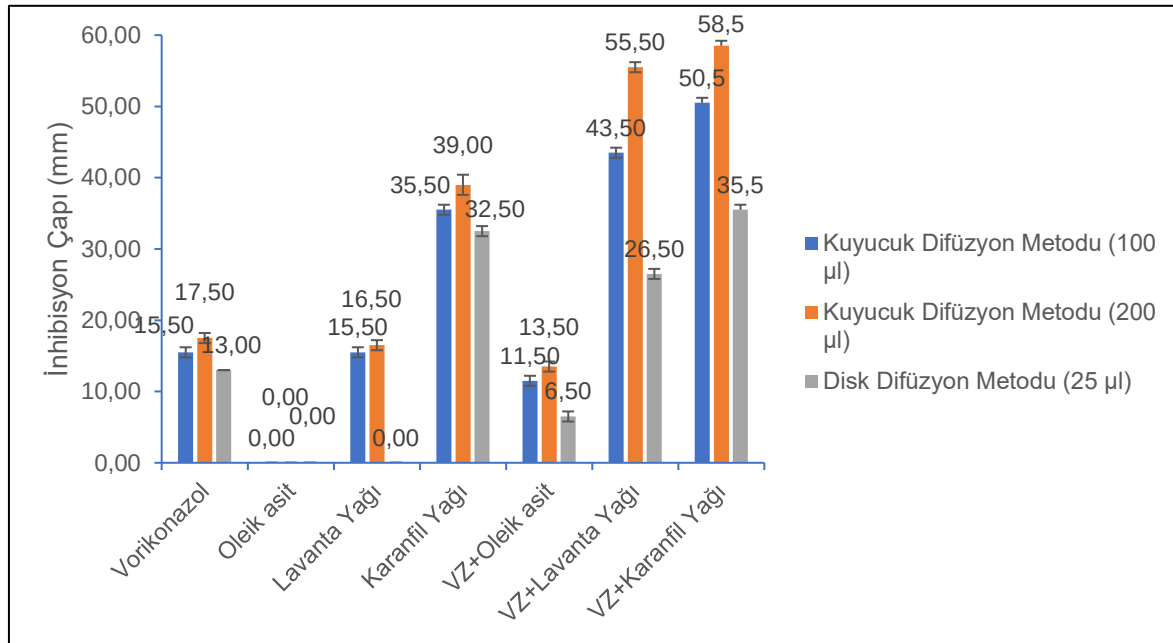
Tez çalışmalarımızda Bölüm 3.2.12’de anlatıldığı gibi, hazırlanan organojel formülasyonlarının *C. albicans* ATCC 10231 mantar suşu üzerinde inhibisyon alanı oluşturduğu alanın çapı agar kuyucuk difüzyon ve disk difüzyon yöntemleri ile tayin edilmiştir. Yağlar ve VZ’nin ölçüm sonuçları Çizelge 4.27’de ve 1:5 (h:h) yağ: su oranında hazırlanan organojel formülasyonların antifungal etkinlik sonuçları ise Çizelge 4.28’de sunulmuştur. Saf yağların, VZ’nin ve VZ’nin yağlarla (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı) çözeltilerinin karşılaştırıldığı grafik Şekil 4.46’da verilmektedir. Organojel formülasyonlarının antifungal etkinlik sonuçlarının karşılaştırıldığı grafik ise Şekil 4.47’de verilmiştir. VZ’nin, lavanta yağının ve karanfil yağının agar kuyucuk difüzyon yönteminde 100 µL ve 200 µL uygulanmasının antifungal etkinliklerinin üzerine etkisinin istatistiksel karşılaştırılması Şekil 4.48’de verilmektedir. Lavanta yağı ve karanfil yağı kullanılarak 1:5 (h:h) yağ: su oranında hazırlanan L2, K2, VL2, VK2 organojel formülasyonlarının agar kuyucuk difüzyon yönteminde 100 µL ve 200 µL uygulanmasında antifungal etkinliklerinin üzerine etkisinin istatistiksel karşılaştırılması Şekil 4.49’da verilmektedir. Agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle 100 µL ve 200 µL uygulanmasında yapılan değerlendirme sonucunda en yüksek inhibisyon alanına sahip bulunan VL2 ve VK2 organojellerinin *C. albicans* ATCC 10231 etkenine karşı oluşturduğu inhibisyon alanlarının görüntüsü Resim 4.1’de verilmektedir.

Çizelge 4.27. Saf yağların, VZ’nin ve VZ’nin yağlarla (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı) çözeltilerinin in vitro antifungal etkinlik çalışmasında ölçülen inhibisyon çapı (ort±SS) (n=2)

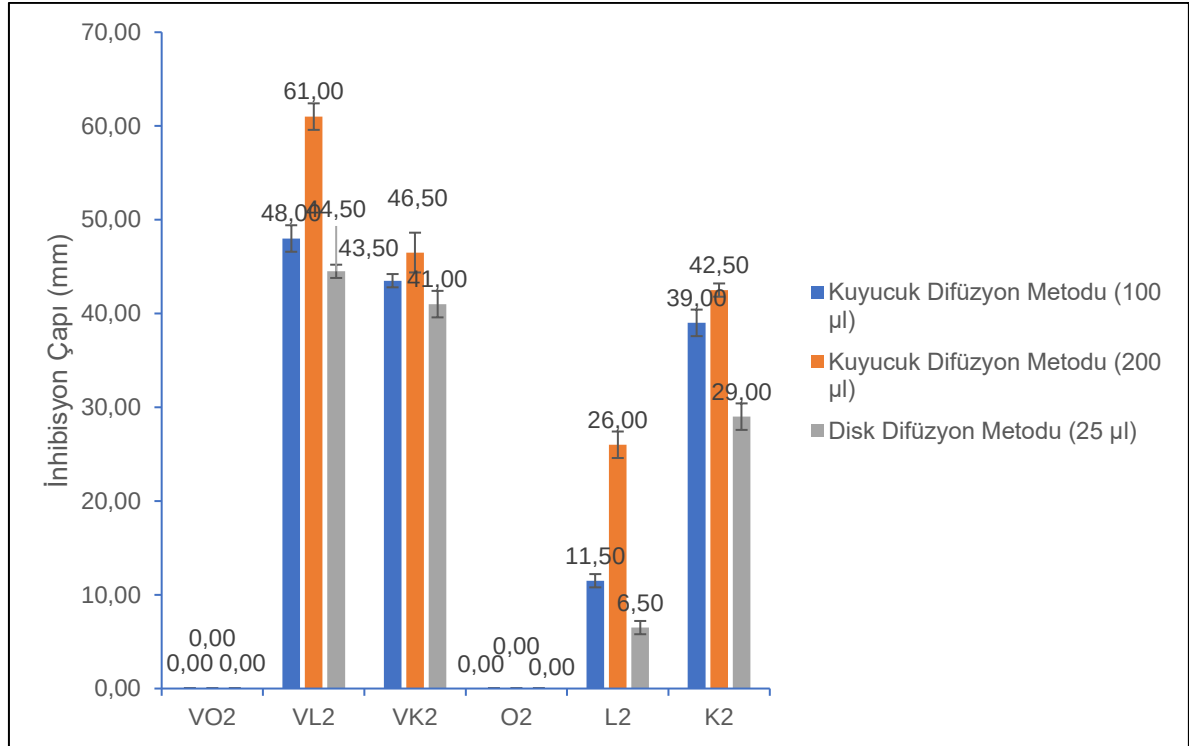
Yağlar ve Etkin Madde	İnhibisyon Çapı Kuyucuk difüzyon metodu (mm)		İnhibisyon Çapı Disk difüzyon metodu (mm)
	100 µL	200 µL	25 µL
Vorikonazol	15,5±0,7	17,5±0,7	13
Oleik asit	0	0	0
Lavanta yağı	15,5±0,7	16,5±0,7	0
Karanfil yağı	35,5±0,7	39±1	32,5±0,7
VZ+Oleik asit	11,5±0,7	13,5±0,7	6,5 ±0,7
VZ+Lavanta yağı	43,5±0,7	55,5±0,7	26,5±0,7
VZ+Karanfil yağı	50,5±0,7	58,5±0,7	35,5±0,7

Çizelge 4.28. Organojel formülasyonlarının (1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında) in vitro antifungal etkinlik çalışmasında ölçülen inhibisyon çapı (ort±SS) (n=2)

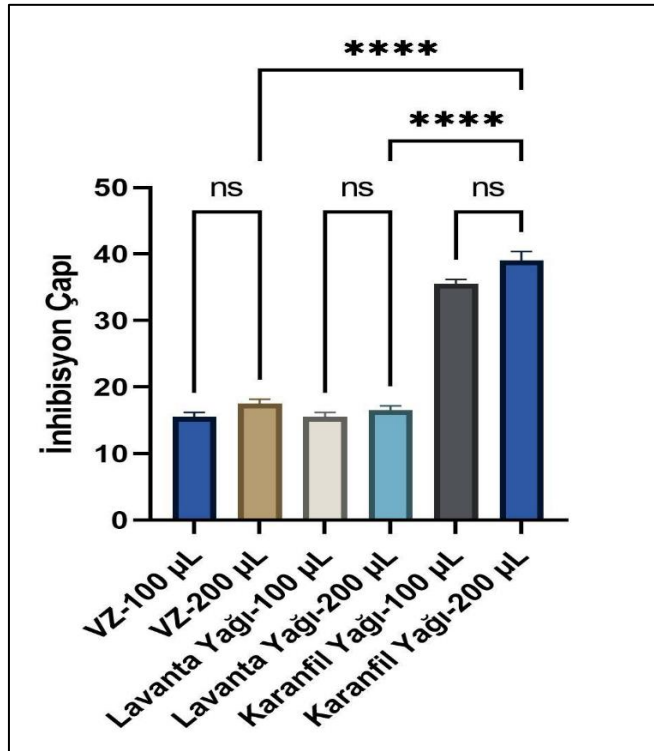
Organojel Formülasyonları	İnhibisyon Çapı Kuyucuk difüzyon metodu (mm)		İnhibisyon Çapı Disk difüzyon metodu (mm)
	100 µL	200 µL	25 µL
VO2	0	0	0
VL2	48±1	61±1	44,5±0,7
VK2	43,5±0,7	46,5±2,1	41±1
O2	0	0	0
L2	11,5±0,7	26±1	6,5±0,7
K2	39±1	42,5±0,7	29±1



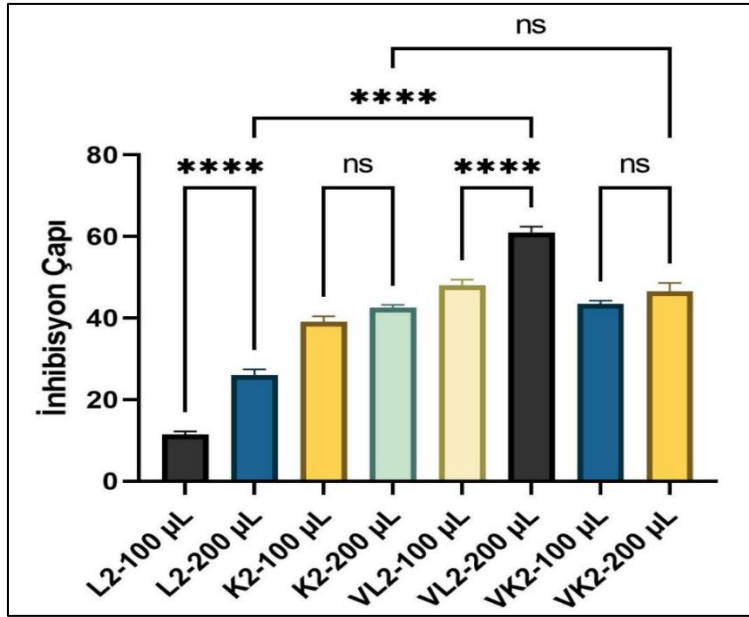
Şekil 4.46. VZ, yağlar (oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı) ve VZ ile yağ çözeltilerinin antifungal etkinliklerinin karşılaştırılması (ort±SS) (n=2)



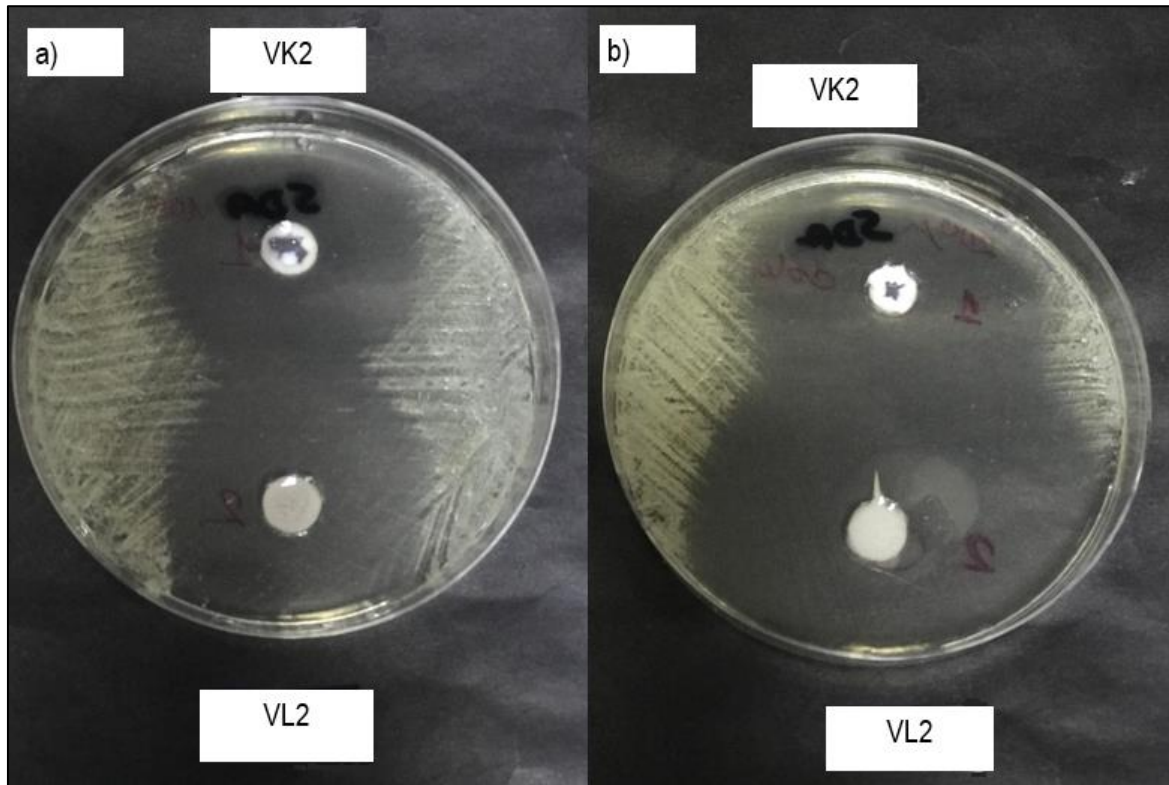
Şekil 4.47. Organojel formülasyonlarının (1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında) antifungal etkinlik sonuçlarının karşılaştırılması (ort±SS) (n=2)



Şekil 4.48. VZ'nin, lavanta yağının ve karanfil yağının agar kuyucuk difüzyon yönteminde 100 µL ve 200 µL uygulanmasının antifungal etkinliklerinin üzerine etkisinin istatistiksel karşılaştırılması (n=2, * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001; ns: p>0,05)



Şekil 4.49. 1:5 (h:h) yağ: su oranında hazırlanan VL2, L2, K2, VK2 organojel formülasyonlarının agar kuyucuk difüzyon yönteminde 100 µL ve 200 µL uygulanmasında etkinliklerinin üzerine etkisinin istatistiksel karşılaştırması (n=2, * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; **** p<0,0001; ns: p>0,05)



Resim 4.1. Agar Kuyucuk difüzyon metodunda VL2 ve VK2 organojellerinin *C. albicans* ATCC 10231 etkenine karşı oluşturduğu inhibisyon alanı görüntüsü a) 100 µL hacimde organojel uygulanması b) 200 µL hacimde organojel uygulanması

5. TARTIŞMA

Tez kapsamında suda çözünürlüğü düşük antifungal bir etkin madde olan VZ'nin vajinal uygulanması için organojel formülasyonu geliştirilmiştir. VZ'nin çözünürlüğünü artırmak için esansiyel yağlar içinde çözünmesi sağlanmış ve sonrasında HPMC jel içine dahil edilmiştir. Lipofilik olan VZ'nin öncelikle fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi için erime derecesi tayini, DSC analizi, FT-IR analizi ve partiyon katsayısı çalışmaları yapılmıştır. Daha sonra sekiz farklı yağda VZ'nin çözünürlük çalışması yapılmış ve çözünürlüğü en yüksek olan oleik asit, lavanta yağı ve karanfil yağı organojel formülasyonlarında kullanılmak üzere seçilmiştir. Tez çalışması sırasında VZ'nin, miktar tayini için pH 4,5 fosfat tamponunda ve metanolde spektrofotometrik analiz yöntemleri geliştirilmiş ve valide edilmiştir. VZ'nin vajinaya uygulanması için geliştirilen organojel formülasyonlarında karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar arasında; fiziksel görünüş ve pH, viskozite ve reolojik özellikler, etkin madde miktar tayini, doku profili analizi, yayılabilirlik testi, ex vivo mukoadesyon çalışmaları, in vitro olarak Franz difüzyon hücresinde geçiş çalışmaları, ex vivo permeabilite, in vitro olarak antifungal etkinlik ve stabilite çalışmaları bulunmaktadır.

Bu bölümde tez kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen bulguların değerlendirilmesi, yorumlanması ve tartışılması yapılmıştır.

5.1. Vorikonazolün Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesine Yönelik Değerlendirmeler

Vorikonazolün fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla erime derecesi tayini, DSC analizi, FT-IR analizi, partiyon katsayısının saptanması ve çözünürlük deneyleri yapılmıştır.

5.1.1. DSC analizi ve erime derecesi

Formülasyonlarda kullanılan etkin madde olan VZ ve yardımcı maddeler (HPMC K100M, oleik asit, lavanta yağı, karanfil yağı) karakterize edilerek aralarında herhangi bir etkileşim ya da geçimsizlik olup olmadığının belirlenmesi amacıyla DSC

çalışmaları yapılmıştır. VZ'nin DSC'de tespit edilen erime noktası ($132,47\text{ }^{\circ}\text{C}$), literatürdeki erime derecesi aralığı ile uyumlu olarak bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.1). Literatürde VZ pikleri, $132,53\text{--}135,53\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve $131,76\text{--}134,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ aralıklarında bulunmuş olup erime derecesi $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ olarak saptanmıştır (Mori ve diğerleri, 2017). Yapılan başka bir çalışmada VZ'nin DSC termogramında erime noktasını $131,67\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de keskin bir endoterm pik olarak gösterilmektedir (Deshkar ve Palve, 2019).

DSC analizi sonuçları değerlendirildiğinde VZ ile organojel formülasyonlarındaki yardımcı maddeler (HPMC K100M, oleik asit lavanta yağı, karanfil yağı) arasında herhangi bir etkileşim olmadığı görülmektedir.

5.1.2. FT-IR analizi

FT-IR spektrum analizinde VZ'e ait karakteristik pikler görülmektedir.

VZ için 3195 cm^{-1} civarında --OH grubu, 1617 cm^{-1} 'de C--N gerilme bandı, 1451 cm^{-1} 'de C--H gerilme bandı, 1050 cm^{-1} 'de C--F gerilme bandı, VZ'nin spektrumlarında ve ayrıca VZ ve yardımcı maddelerin fiziksel karışımında görülmektedir, bu da VZ'nin saflığının göstergesidir (Bkz. Şekil 4.2). VZ ve HPMC K100M fiziksel karışımında ve VZ ile yardımcı madde arasında kimyasal etkileşim olduğunu doğrulayan herhangi bir pikin görünümü veya kaybolması olmamıştır. Literatürdeki karakteristik band aralıkları uyumlu bulunmuştur (Mori ve diğerleri, 2017; Ashara ve diğerleri, 2017; Deshkar ve Palve, 2019). VZ spektrumunun 3200 ve 3121 cm^{-1} 'de geniş pikler sergilediği, sırasıyla hidroksil gruplarına ve aromatik halkalara karşılık geldiği söylenebilir. Aromatik C--C gerilme tepeleri 1615 ve 1586 cm^{-1} 'de görülürken, (Floro) gruplarının varlığı 690 ila 515 arasındaki keskin tepelerle gösterilir. Literatürde VZ ve yardımcı maddelerin karışım spektrumları yeni pikler sergilememektedir. Bu durumda etkin madde ve yardımcı maddeler geçimlidir. Literatüre benzer şekilde çalışmamızda da yeni kaydedilen piklerin olmaması yardımcı maddelerle geçimliliğini kanıtlamaktadır (Bkz. Şekil 4.2) (Okur ve diğerleri, 2019).

HPMC polimerinin FT-IR spektrumunda O-H gruplarının titreşim bantları, su pikleri ile örtüşerek 3500 ila 3300 cm^{-1} aralığında geniş ve yayvanlaşmış olarak

görülmektedir. Metil grubundan C-H titreşim gerilmesi 3000–2800 cm^{-1} bölgesindeki aralıkta, glikoz halkasındaki C-O grubunun titreşim gerilmesi 1630 ve 1590 cm^{-1} arasındaki bantlarda görülmektedir (Zıba, Akarsu, Çelikçi ve Dolaz, 2017).

FT-IR analizi sonuçları değerlendirildiğinde VZ ile HPMC K100M arasında herhangi bir etkileşim olmadığını kanıtlamaktadır.

5.1.3. Partisyon katsayısı saptanması

Fizikokimyasal analizlerden biri olan oktanol/su partisyon katsayısının belirlenmesi formülasyon tasarımı açısından önem taşımaktadır. Yapılan çalışma sonunda VZ'nin yağ/su partisyon katsayısının logaritması alınmış değeri ($\log P$) 1,16 olarak bulunmuştur. Literatürde VZ $\log P$ değeri 1,65 olarak belirtilmiştir ve lipofilik yapıda olduğu gösterilmiştir (Mori ve diğerleri, 2017; Ashara ve diğerleri 2017; Rasoanirina ve diğerleri, 2020). Genellikle orta derecede lipofiliteye sahip olan ilaçların $\log P$ değeri 1-3 arasındadır. Partisyon katsayısı deney sonucuna göre VZ'nin lipofilik karakterde olması lipit kaynaklı ilaç sisteminin geliştirilmesinin uygun olabileceğini ortaya koymuştur.

5.1.4. Çözünürlük

Sudaki çözünürlüğü düşük (0,0978 mg/mL) olan VZ, BCS sınıf II kategorisinde bir etkin maddedir (Siafaka ve diğerleri, 2016; Okur ve diğerleri, 2016; Ashara ve diğerleri, 2017). Lipofilik olan VZ'nin yağlardaki (nane yağı, badem yağı, kekik yağı, oleik asit, isopropil miristat, karanfil yağı, lavanta yağı, susam yağı) çözünürlüğünü belirlemek için çözünürlük deneyi yapılmıştır. Çözünürlük çalışmaları sonucunda en yüksek çözünürlük değeri karanfil yağında bulunmuştur ($158,86 \pm 2,15$ mg/ml). Lavanta yağı ve oleik asitteki çözünürlük değerleri de yeterli bulunmuştur (sırasıyla $76,67 \pm 1,25$ mg/ml ve $34,64 \pm 1,23$ mg/ml) (Bkz. Çizelge 4.1). Literatürde oleik asit ve isopropil miristat yağlarındaki VZ çözünürlük değerleri sırasıyla $36,95 \pm 1,34$ ve $14,04 \pm 2,12$ bulunmuştur. Deneyle bulunan çözünürlük değerleri literatürle uyumludur. Çözünürlük deneyi sonuçlarından yola çıkarak yağ fazında antifungal etkili vajinal kullanıma uygun esansiyel yağ olarak karanfil yağı ve lavanta yağı, karşılaştırmalı çalışmalar amacıyla da ek olarak VZ çözünürlüğü daha önceki

çalışmalarda da bildirilmiş olan oleik asit tercih edilmiştir. Formülasyonlar bu yağlar kullanılarak hazırlanmıştır (Kumar ve Sinha, 2014; Raju ve diğerleri, 2017).

5.1.5. VZ'nin spektrofotometrik miktar tayini yöntemi ve validasyonu

Etkin maddenin pH 4,5 fosfat tamponu ortamında, metanolde ve distile suda UV spektrumu ve maksimum absorbans değerleri elde edilmiştir. VZ'nin her bir ortamda da 255 nm'de maksimum absorbans verdiği bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.4; 4.5; 4.6), bu dalga boyu literatürde belirtilen dalga boyu ile uyumludur (Adams, Steppe, Frehlich ve Bergold, 2006; Prajapati, S. Patel, N. Patel, D. Patel and S. Patel, 2008).

VZ'nin pH 4,5 fosfat tamponu ortamı, metanol ve distile su için geliştirilen analitik yöntemle ait kalibrasyon çalışmaları sonucu elde edilen standart doğrunun determinasyon katsayısının yüksek olması nedeniyle doğru denklemlerinin miktar tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Vorikonazolün miktar tayini analizi için kullanılan tüm ortamlardaki kalibrasyonuna ait parametreler istatistiksel olarak uygun bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.2, 4.3, 4.4).

VZ'nin spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonu Amerikan Farmakopesi (USP XXX) esas alınarak geliştirilmiştir. Geliştirilen analitik yöntemlerin geçerli ve güvenilir olduğunu ispat etmek amacıyla pH 4,5 fosfat tamponunda ve metanolde doğruluk-geri elde, doğrusalılık, kesinlik, özgünlük ve stabilite çalışmalarını kapsayan validasyon çalışmaları yapılmıştır.

pH 4,5 fosfat tamponunda ve metanolde miktar tayini validasyonu için yaptığımız çalışmalarda, doğruluk-geri elde, kesinlik-tekrar edilebilirlik ve stabilite için hesaplanan tüm %bağıl sapma sonuçları %2'in altındadır. Özgünlüğün saptanabilmesi için yapılan çalışmalarda ise VZ dışındaki karışımın, spektrofotometrik olarak çalışıldığı dalga boyunda herhangi bir pik vermediği saptanmıştır. Kullanılan yöntem etkin maddeye özgün bulunmuştur.

Stabilite çalışmalarında VZ'nin çözünme ortamlarında 24 saat boyunca $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ve $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de stabilitesi spektrofotometrik yöntem kullanılarak incelenmiş ve

konsantrasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p>0.05$).

Bütün bu bulgulara dayanılarak VZ için kullanılan analitik yöntemin ICH klavuzuna göre valide edildiğine ve yöntemin miktar tayininde güvenle kullanılabileceğine karar verilmiştir.

5.2. Organojel Formülasyonlarında Yapılan Çalışmalara Ait Değerlendirmeler

5.2.1. Organojel formülasyonlarında pH, viskozite, akış özellikleri ve etkin madde miktar tayininin değerlendirilmesi

Vajinal enfeksiyonları tedavi etmek için hazırlanan jel formülasyonu tasarlanırken, formülasyonun vajinal bölgede istenen terapötik etkiyi oluşturabilmesi uygun pH değerine sahip olması gerekir. Jellerin 4,0 ila 5,5 arasında değişen pH aralığında olmasına dikkat edilmelidir. Bu sebeple hazırlanan organojel formülasyonlarının pH'sının vajinal uygulama için uyumlu olması beklenmektedir (Gupta, Kaur ve Prabha, 2016).

Önformülasyon çalışmasında vajinaya uygun pH'da organojeller hazırlanmaya çalışılmıştır. Hazırlanan tüm organojel formülasyonlarının pH metre ile yapılan ölçümler sonucu pH'sı 3,8 ve 5,0 arasında bulunmuştur. Lavanta yağı (VL2) ile hazırlanan organojel formülasyonunda pH değeri (4,5) en uygundur. Sağlıklı kadınlarda vajinal pH'ı 3,8-5 arasında olup geliştirilen vajinal organojel formülasyonlarının pH değerlerinin vajinal uygulama için uygun olduğu değerlendirilmiştir (Deshkar ve diğerleri, 2020; Querobino ve diğerleri, 2019).

Viskozite, etkin maddenin yayılabilirliğini, yapısal özelliklerini ve etkin madde salımını etkilediği için jelleri karakterize etmek için önemli bir parametredir (Shankar, R. Kumar, N. Kumar ve Brata, 2010). Yarı katı formülasyonların viskoziteleri, vajinal uygulama ve kalış süresini de etkiler. Viskozitenin yüksek olması ile vajinal mukozada kalış süresi uzatılırken etkin maddenin salımı yavaşlamaktadır. Hazırlanan formülasyonların vajinal uygulamayı kolaylaştıracak kadar yüksek viskoziteye ve salımı geciktirmeyecek kadar da düşük viskoziteye sahip olması

gerekmektedir. Formülasyonların viskozitelerinin, aplikatörden kolaylıkla çıkışına ve vajinal bölgede iyi bir şekilde yayılmasını kolaylaştıracak şekilde olması gerekir. Aynı zamanda adezyonun sağlanabilmesi için vajinal bölgede kalabilmeli ve sızıntı ile uzaklaşmamalıdır (Levy-Gomez ve diğerleri, 2019). Bu amaçlarla VZ içeren ve içermeyen formülasyonların viskoziteleri ölçülüp değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda hazırlanan organojellerin viskozitelerinin karşılaştırılabilir olması için viskoziteleri birbirinden çok farklı olan organojellerin ortak spindle numarasında ve ortak rpm'de ölçülmesine özen gösterilmiştir. Ancak viskozitesi yüksek olan jeller Torque değeri 100'ü aşacağı için ortak olan 20 rpm'de ölçülememiştir. Bu nedenle çok viskoz olan jellerin viskoziteleri ölçülürken rpm değerleri düşürülmüştür. Ortak rpm değerlerinde ölçüm yapılan organojeller arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Formülasyonlara ait akış özelliğinin saptanması için, Brookfield viskometresi kullanılarak $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ 'de 8 farklı rpm 'de ölçüm yapılmıştır. Çizilen kayma gerilimine karşı, kayma hızı grafiğinde aralarındaki ilişkinin doğrusal olmadığı görülmüştür. Etkin madde içeren ve içermeyen organojellerin akış özellikleri incelendiğinde, çizilen reogramlar tüm organojellerin Newtonian olmayan akış tipinde pseudoplastik akışa uygun olduğunu göstermektedir. Literatürde de yağlarla yapılan jel ve nanoemülsiyon çalışmalarında kayma hızı artışına bağlı olarak formülasyonların viskozitesinin azaldığı gözlenmiştir. Bu davranışın Newtonian olmayan akış tiplerinden pseudoplastik akışa ait bir özellik olduğu belirtilmiştir (Kumar ve Sinha, 2014; Ashara ve diğerleri, 2017; Querobino ve diğerleri, 2019; Da Silva Campelo ve diğerleri, 2021; Hosny ve diğerleri, 2021).

Organojel formülasyonlarında kullandığımız HPMC K100M (%2) polimeri vajinal jellerin hazırlanmasında kullanılmış ve vajinal uygulama için uygun bir viskozite değeri oluşturmuştur. Akış tipi ise Newtonian olmayan akış tiplerinden pseudoplastik akış olarak belirtilmiştir. Bu sonuçlar literatür ile uyumludur (Tugcu-Demiröz ve diğerleri, 2013).

Oleik asit kullanılarak hazırlanan jel çalışmalarında, formülasyonda penetrasyon artırıcı olan oleik asit konsantrasyonlarının artırılması ile jel formülasyonunun viskozitesini arttığı ve böylece oleik asidin jel viskozitesinin geliştirilmesine katkıda

bulunduğu kanıtlanmıştır. Artan viskozite sonucunda oleik asit içeren jeller için formülasyondan in vitro ilaç salımının azaldığı görülmüştür. Literatürde yapılan çalışmalarda uzun süreli ilaç salımı gözlenmiş ve ilaç salımının gecikmesi de jellerde meydana gelen viskozite artışına bağlanmıştır (Kumar ve Sinha, 2014; Sant, Moreira, De Sousa ve Pierre, 2010; Karakatsani, Dedhiya ve Plakogiannis, 2010). Çalışmamızda da yağ fazı olarak oleik asitle hazırlanan organojel formülasyonlarının VO1 ($14333 \pm 2,3$ cP) ve VO2'nin ($13896 \pm 3,60$ cP) viskozite değerleri vajinal uygulama için uygun bulunmuştur.

Da Silva Campelo ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada karanfil yağı kullanılarak geliştirilen vajinal emuljel formülasyonları, reolojik olarak pseudoplastik tipte, Newtonian olmayan reolojik davranış ve düşük viskozite değerleri sergilemiştir. Kayma hızındaki artışın, polimer zincirleri arasındaki moleküller arası etkileşimleri bozarak sistemin viskozitesinde bir azalmaya yol açtığı düşünülmektedir. Ek olarak, formülasyonun düşük viskozitesinin (0.081 Pa.s), vajinal kandidiyazis tedavisi için istenen etkinin sağlanmasında karanfil esansiyel yağının transdermal ilaç geçişini desteklediği görülmüştür (Da Silva Campelo ve diğerleri, 2021).

Başka bir çalışmada, karanfil esansiyel yağı kullanılarak hazırlanan emuljel formülasyonlarının reolojik davranışı, Newtonian tipi olmayan pseudoplastik akış türü yani kayma gerilimi arttıkça kesme hızlarında ve viskozitede (29.4 cps) azalmalar görülmüştür. Çalışmanın sonucunda, jel yapıcı maddelerin (Carbopol 940, Carbopol 934 ve HPMC K4M) akış yönlendirmelerinin emuljelin direncini ve viskozitesini azalttığı düşünülmektedir. Emulgatör ve karanfil yağı konsantrasyonlarının, formülasyonların reolojik özelliklerine etkisi olduğu yapılan çalışma ile kanıtlanmıştır (Nikumbh, Sevankar ve Patil, 2015).

Çalışmamızda da karanfil yağı ile hazırlanan organojel formülasyonlarının viskozite değerleri diğer organojel formülasyonlarından 6-15 kat daha düşüktür. Diğer esansiyel yağlarla hazırlanan organojeller arasında çok daha düşük viskozite değerlerine sahip olduğu için vajinal uygulamaya uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Karanfil esansiyel yağı ile hazırlanan organojel formülasyonlarının bulduğumuz düşük viskozite değerleri literatürde karanfil yağı ile hazırlanan nanoemülsiyon bazlı jel formülasyonunda bulunan ($34,28 \pm 6$ cp) düşük viskozite

değeri ile desteklenmektedir (Ahmad ve diğerleri, 2019). Yapılan çalışmalarda karanfil esansiyel yağı (öjenol) ile hazırlanan nanoemülsiyon bazlı jel formülasyonları ve emuljel formülasyonları reolojik olarak Newtonian olmayan akış tiplerinden pseudoplastik akışa uymaktadır ve artan kayma gerilimine istinaden viskozitenin azaldığı belirlenmiştir (Barradas ve diğerleri, 2017; Esmaeili ve diğerleri, 2016; Nikumbh ve diğerleri, 2015; Da silva Campelo ve diğerleri, 2021).

Hosny ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, pensiklovir içeren lavanta yağı bazlı lipid taşıyıcı kitosan hidrojel formülasyonuna eklenerek nanoemülsifiye edici bir ilaç uygulama sistemi tasarlanmıştır. Etkin madde eklenen hidrojel, lavanta yağı içeren mikroemülsiyon bazlı hidrojel ve kitosan hidrojel formülasyonları arasında reolojik davranış, viskozite, in vitro ilaç salımı ve ex vivo permeabilite çalışmaları ile karşılaştırma yapılmıştır. Yapılan kıyaslamada lavanta yağı içeren mikroemülsiyon bazlı hidrojel formülasyonunun minimum (8112 ± 1548 cP) ve maximum (135.400 ± 12654 cP) viskozite değerlerine sahip olduğu görülmüş olup diğer hidrojeller arasında en yüksek viskozite değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. Hazırlanan hidrojel ve lavanta yağı ilave edilen jel formülasyonlarında kayma hızı artışına bağlı olarak formülasyonun viskozitesinin azaldığı gözlenmiş, bu davranışın Newtonian olmayan akış tiplerinden pseudoplastik akışa uygun reolojik davranış olduğu görülmüştür (Hosny ve diğerleri, 2021). Literatürde de bahsedildiği gibi (lavanta ve oleik asit) lipid bazlı nanoyapıların veya mikroemülsiyonların hidrojele eklenmesiyle jel formülasyonunun viskozitesinin arttığı ve jelleşmeye katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır (Raju ve diğerleri, 2017; Hosny ve diğerleri, 2021; Sabale ve Vora, 2012).

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde lavanta yağı ve oleik asit ile hazırlanan organojellerin viskozitesi, karanfil yağı ile hazırlanan organojellerin viskozite değerlerinden anlamlı ölçüde daha büyük bulunmuştur ($p < 0,005$). VL2 organojel formülasyonu $16885 \pm 11,5$ cP viskozite değeri ile diğer organojel formülasyonları arasında en viskoz formülasyondur. Literatürde de lavanta yağının ilave edilmesiyle hidrojel viskozitesinin artması çalışmamızın sonuçlarını desteklemektedir (Hosny ve diğerleri, 2021). Etkin madde içeren organojel formülasyonları viskozite ölçüm sonuçlarına göre $VL2 > VO1 > VO2 > VL1 > VK1 > VK2$ şeklinde sıralanabilir.

Miktar tayini sonuçlarını incelendiğinde (Bkz. Çizelge 4.12) %97-%102 arasında olduğu görülmüştür. ICH klavuzuna göre etkin maddenin ilaç şekli içinde bulunması gereken miktarı %95-%105 olduğu için miktar tayini sonucunun uygun sınırlar içinde olduğu değerlendirilmiştir.

5.2.2. Organojellerin doku profil analizinin (TPA) değerlendirilmesi

TPA, kuvvet/deformasyon eğrilerinden elde edilen parametreler yarı katıların mekanik özelliklerini karakterize etmek için kullanılır (Bansal ve diğerleri, 2009; Lau, Tang ve Paulson, 2000). Topikal farmasötik ürün geliştirilmesinde ve tasarımında TPA parametreleri ürünün kaptan çıkarılması ve uygulanması ile doğrudan bağlantılı olup ideal formülasyona karar verme aşamasında önem arz etmektedir (Jones ve diğerleri, 1997; Bansal ve diğerleri, 2009). Vajinal yolla uygulanacak yarı katı formülasyonların aplikatörden kolayca çıkarılması, istenilen bölgeye uygulanabilmesi ve vajinal mukozada uygun yayılabilirliği ve uygulama yerinde klinik etkinliği sağlayacak şekilde dağılmadan kalabilmesi için optimal mekanik özelliklere sahip olması gerekmektedir (Cevher ve diğerleri, 2008a; Arpa ve diğerleri, 2020).

Organojel formülasyonlarının sertlik, adeziflik, koheziflik, sıkışabilirlik, elastikiyet ve esneklik, gibi mekanik özellikleri saptanmıştır. Böylece, vajinal mukozaya uygulanacak organojellerin geliştirilmesi aşamasında mekanik özellikleri değerlendirilerek optimum formülasyona ulaşılmaya çalışılmıştır.

Adeziflik, jelin yüzeyi ile probun yüzeyi arasındaki çekici kuvvetlerin üstesinden gelmek için gereken iş olarak tanımlanır. Adezif özellik, mukozal yüzeyde istenen jel temasını ve tutunmasını sağlayacağından jel tasarımında önemli bir parametredir. İdeal bir jel formülasyonun dokuya tutunabilme özelliğinin iyi olması için adezifliğinin yüksek olması istenir (Jones ve diğerleri, 1997; Bansal ve diğerleri, 2009; Pandit ve diğerleri, 2017). Adezyon kuvvetinin yüksek olması topikal formülasyonun uygulama yerinde daha fazla kalabilmesini, daha fazla tutunmasını, klinik etkinliği ve dolaylı olarak hasta uyuncunu artıran bir kolaylık sağlamaktadır (Cevher ve diğerleri, 2008a). Çalışma sonucunda yüksek viskozite değerine sahip VL2 ($199,870 \pm 4,956$ g.sec) formülasyonu en adezif bulunmuştur. Viskozite değeri en düşük olan K2 formülasyonu ise en düşük adezif özelliği ($55,025 \pm 2,218$ g.sec)

göstermiştir (Bkz. Çizelge 4.13). Organojellerin faz oranlarının ve etkin madde ilavesinin adeziflik üzerine etkisi homojen bulunmadığı için genel bir değerlendirme yapılamamıştır.

Koheziflik, jelin iç yapısının parçalanmasındaki zorluğu gösterir ve probun aşağı hareketinden sonra jelin tekrar eski halini almasının ölçüsü olarak tanımlanır. Jelin uygulama yerinde kalıcılığının ve dolaylı olarak etkinliğinin yüksek olması için önemli olan parametrelerden biridir. Koheziflik değeri yüksek bir jel mukozaya uygulanmasından sonra uzun süre mukozada kalabilmektedir (Lau ve diğerleri, 2000; Bansal ve diğerleri, 2009; Pandit ve diğerleri, 2017). Jel formülasyonunun vajinal mukozada tutulması, vajinal sekresyonlar ve zayıf kohezyon kuvvetleri nedeniyle sınırlıdır. Jelin kohezifliği, uygulama sonrası jelin yapılandırılma yeteneğini gösterir ve yüksek kohezyon değeri, jel uygulaması sonrası tam yapısal geri kazanım sağlayarak uygulandığı bölgede etkinliğini artırır (Tuğcu-Demiröz ve diğerleri, 2015). Çalışmamızdaki organojel formülasyonlarını karşılaştırdığımızda VL2 ($2,159 \pm 1,895$) en yüksek kohezifliğe sahip bulunmuştur. VO2 ($0,108 \pm 0,017$) ise en düşük koheziflik değerindedir (Bkz. Çizelge 4.13). Organojellerin faz oranlarının ve etkin madde ilavesinin koheziflik üzerine etkisi homojen bulunmadığı için genel bir değerlendirme yapılamamıştır.

Sertlik, prob ile sıkıştırma kuvveti uygulandıktan sonra jelin direncinin ölçüsü olarak tanımlanır. Sıkıştırma döngüsü sırasında belirli bir deformasyona ulaşmak için gerekli olan maksimum tepe kuvveti olarak ifade edilir. Sertlik, uygulanabilirliği etkileyen bir özelliktir. Vajinal uygulanması amaçlanan jel formülasyonlarında jelin vajinal mukozaya kolay uygulanabilmesi için sertliğin düşük olması beklenir (Cevher ve diğerleri 2008a; Pandit ve diğerleri, 2017; Bansal ve diğerleri, 2009; Jones ve diğerleri, 1997; Lau ve diğerleri, 2000). Bizim çalışmamızda en düşük sertlik değerine sahip organojel K2 ($46,216 \pm 3,556$ g)'dir. En yüksek sertlik değerine ise VL2 organojeli sahiptir ($135,320 \pm 0,938$).

Sıkışabilirlik, probun ilk sıkıştırılması sırasında jeli deforme etmek için gerekli olan iş olarak tanımlanır. Bu parametre aynı zamanda jelin belirli uzaklıkta sıkıştırılmasını ve prob yüzeyi üzerine yayılmasını sağlamak için gereken iş olarak da ifade edilebilir. Jel formülasyonunun vajinal aplikatöründen kolay bir şekilde çıkarılması,

kolayca uygulanabilmesi ve istenen bölgede uygun yayılabilirliği için sıkışabilirliğinin düşük olması beklenir (Baloğlu ve diğerleri, 2011; Arpa ve diğerleri, 2020; Cevher ve diğerleri, 2008a; Bansal ve diğerleri, 2009; Jones ve diğerleri, 1997). Sıkışabilirlik değeri en yüksek olan formülasyon VL2 ($265,515 \pm 5,556$) ve en düşük olan ise K2 ($38,516 \pm 2,236$) jelidir.

Elastikiyet, ikinci sıkıştırma sırasında jelin tepe kuvvetine kadar sıkıştırıldığı mesafenin yüzde olarak elde edilen ilk jel yüksekliğine bölünmesiyle tanımlanır. Elastikiyet, jelin ilk sıkıştırılmada deforme edici kuvvetin kaldırılmasından sonra deforme edilmemiş eski haline geri dönebilme hızı yani esnediği yüksekliğin maksimum deformasyona oranı olarak ifade edilebilir. Elastikiyet özelliği jelin yapısına bağlıdır (Lau ve diğerleri, 2000; Mousavi, Rafe ve Yeganehzad 2019; Liu ve diğerleri, 2021). Çalışmamızda hazırlanan formülasyonlar arasında en iyi elastikiyet özelliğini VL2 ($0,946 \pm 0,012$) formülasyonu göstermiştir (Bkz. Çizelge 4.14).

Esneklik, ilk döngünün ikinci yarısının ilk yarının eğrisi altındaki alanın oranı olarak tanımlanır. Esneklik jelin deformasyondan nasıl kurtulduğunun bir ölçüsüdür. Jelin kuvvet uygulandıktan sonra orijinal yüksekliğine ulaşabilmek için gösterdiği çaba olarak da ifade edilebilir (Gani, Benjakul ve Nuthong, 2018; Palabiyik ve diğerleri, 2020). Hazırlanan vajinal organojel formülasyonları arasında en yüksek esneklik değeri lavanta yağı ile hazırlanan L2 ($4,630 \pm 4,332$) jeline aittir (Bkz. Çizelge 4.14).

Kırılabilirlik, ilk deformasyonda jelin parçalara ayrılma ölçüsüdür. Jelin kırılmasına neden olan kuvvet olarak da tanımlanır (Tunick, 2000). Belirli bir yük altındaki deformasyon ne kadar küçük olursa, kohezyon o kadar düşük ve ürünün kırılma kabiliyeti o kadar büyük olur. Sertlik ve ilişkili olarak kırılabilirlik parametresinin düşük değerlerde olması, yüksek adezif özellik ve kohezyon değerlerini göstermektedir (Małeckı ve diğerleri, 2020). Bu sebeple hazırlanan formülasyondan düşük kırılabilirlik değerleri beklenir. Kırılabilirlik değerleri formülasyonlar arasında çok farklılık göstermemekle birlikte adezif ve kohezif özellikleri yüksek bulunan VO2 ($2,796 \pm 0,055$) ve VL2 ($2,832 \pm 0,043$) organojellerinde en düşük kırılabilirlik değerleri gözlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.14).

İdeal jel formülasyonun, iyi bir klinik etkinlik ve hasta uyuncu için düşük sertlik ve sıkıştırılabilirlik ancak yüksek mukoadesiflik, adeziflik ve koheziflik gibi belirli mekanik özelliklere sahip olması istenir. Jel sertliğinin ve sıkıştırılabilirliğinin düşük olması, minimum iş ile jelin kolay bir şekilde aplikatörden çıkarılması ve vajinal mukozaya uygulanmasını sağlarken, jel adezyonun ve kohezyonun yüksek olması, uygulama sonrası jelin mukozaya uzun süre tutunmasını vajinal boşlukta jelin uzun süre kalabilmesini dolayısıyla uygulama sıklığının azalmasını ve yapısal olarak etkin tedaviyi sağlamaktadır (Bansal ve diğerleri, 2009; Cevher ve diğerleri, 2008a; Jones ve diğerleri, 1997; Gupta ve diğerleri, 2016).

Organojel formülasyonlarını karşılaştırdığımızda vajinal uygulama açısından lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VL2 organojel formülasyonun, diğer organojel formülasyonlarından daha iyi mekanik özelliklere sahip olduğuna karar verilmiştir. Bu sonucun nedeni olarak VL2 organojel formülasyonunun en iyi viskozite değerine sahip olması gösterilebilir.

5.2.3. Organojellerin yayılabilirlik özelliklerinin değerlendirilmesi

Vajinal yolla uygulanacak terapötik etkinlikte bir jel formülasyonu geliştirilirken jelin vajinal boşluk içindeki reolojik ve dokusal özelliklerinin tespit edilmesi gereklidir. Topikal dozaj formülasyonunun uygulandığı bölgede tutulması ve yayılabilirliği formülasyon geliştirmede rol oynayan önemli reolojik özelliklerdendir (Gupta ve diğerleri, 2016; Chow, Chan ve Heng, 2008). Topikal olarak uygulanan formülasyonların yayılmasının, stratum corneum'daki ilaç konsantrasyonu ve ilaç absorpsiyonu gibi farmakokinetik sonuçlar üzerinde etkisi olduğu gösterilmiştir (Chow ve diğerleri, 2008). Ayrıca, topikal preparatların terapötik etkinliği, jelin uygulanacak bölgeye homojen uygulanmasına yardımcı olduğu için bir jelin yayılabilirliğine bağlıdır. Yayılabilirlik özelliği iyi olan jel kısa zamanda kolay bir şekilde uygulanabilir ve hasta uyuncunu artırabilir (Al-Subaie, Hosny, El-Say, Ahmed ve Aljaeid, 2015). Yayılabilirlik, jelin vajinal kaviteyi daha iyi kaplanmasını sağlar ve bu özellikleri sayesinde klinik etkinlik açısından önemli bir parametredir (Gupta ve diğerleri, 2016; Shankar ve diğerleri, 2010; Chow ve diğerleri, 2008). Elde edilen grafiklerde (Şekil 4.24) maksimum kuvvet değeri, numunenin belirtilen

derinlikteki sıklığının bir ölçüsüdür. Sıklığı ifade eden maksimum kuvvet piki yüksek olan jellerin yayılabilirliği düşüktür (Patil ve Muthusamy, 2020).

Tez çalışmamızda karanfil yağı ile hazırlanan ve VZ içeren VK1 ve VK2 formülasyonlarının düşük yayılabilirlik işi ve sıklık değerleri bulunmuş olup bunun nedeninin düşük viskoziteye sahip olmaları olarak değerlendirilmiştir. Formülasyonlardan 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranına sahip olanların vizkozite ve yayılabilirlik işi sıralamaları $VO1 > VL1 > VK1$ şeklinde bulunmuştur. Viskozite değerinin bu formülasyonlarda yayılabilirlik işini etkilediği söylenebilir. Lavanta yağı ile 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan VL2 formülasyonunun en düşük sıklık değerine (4991.25 ± 5.94 g) sahip olduğu ve yayılabilirlik işinin ise $1691,76 \pm 10.63$ g.sec olarak ortalama bir değer olduğu bulunmuştur.

Shetty ve diğerleri yaptığı bir çalışmada karanfil yağı kullanılarak etozomal jel formülasyonu hazırlanmıştır. Etozomal jel formülasyonlarının yayılabilirlik değeri, 12.10 ile 16.23 g/cm² aralığında bulunmuştur Optimize formülasyon yayılabilirliği 14.79 g/cm² olarak seçilmiştir. Sonuçlar, jellerin az miktarda sıvı ile kolayca yayılabileceğini göstermiştir (Shetty ve diğerleri, 2019).

5.2.4. Organojellerin mukoadazyon testinin değerlendirilmesi

Mukoadezif özellikli ilaç veriliş sistemleri, formülasyonun uygulama yerinde daha uzun süre tutulması ile kalış süresinin uzamasını sağlar. Formülasyonun uzun süre kalıcı olması uygulandığı bölgeden sürekli ilaç salımı ile sonuçlandığından oldukça önemlidir. Böylece bu sistemlerle daha düşük dozlarla bile tedavi etkinliği artırılarak hasta uyuncunun iyileştirilmesine olanak tanır (Cevher ve diğerleri, 2008b; Baloğlu ve diğerleri, 2011). Mukoadezif özellik arttıkça ilacın vajinada kalış süresi uzamaktadır (Rençber ve diğerleri, 2017; Deshkar ve Palve, 2019). Mukoadazyon, lokal ilaç retansiyonunu, yayılmasını ve biyoyararlanımını doğrudan etkileyebileceğinden vajinal ilaç uygulama sistemlerinin geliştirilmesinde en önemli parametredir. Vajinal ilaç formülasyonlarında mukoadezif polimerler kullanılmasıyla mukoadazyon işi artırılarak arzu edilen uzun süreli retansiyon, geliştirilmiş ilaç absorpsiyonu, kontrollü ilaç salımı gibi avantajlar sağlanır. Selüloz türevi

polimerlerin vajinal jel geliştirilmesinde en yüksek mukoadesyon sağladığı yapılan karşılaştırılmalı çalışmada ispatlanmıştır (Das Neves ve diğerleri, 2008).

Tuğcu Demiröz ve diğerlerinin yaptığı çalışmada, oksibutininin uzun etkili mukoadesif vajinal jel formülasyonları geliştirilmiştir. Mukoadesif jeller, HPMC K100M, kitosan ve Poloxamer 407 (Pluronic F 127) ile hazırlanmıştır. TPA'daki ölçümler sonucu HPMC K100M içeren jel formülasyonunda adezyon, kohezyon, viskozite ve mukoadesif özelliğinin en yüksek olduğu bulunmuştur. Biyoyararlanım çalışmalarında en yüksek AUC değeri HPMC içeren vajinal jel formülasyonu ile elde edilmiştir (Tuğcu-Demiröz ve diğerleri, 2013).

TA.XT. Plus Texture Analyser cihazı ile organojel formülasyonlarının mukoadesyon işinin ölçülmesi için model mukoza olarak inek vajinası kullanılmıştır. Organojellerin mukoadesyon testinde kuvvet, iş ve mukoadesyon işi ölçülmüştür.

1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellerin mukoadesyon değerleri 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojellerden daha yüksek bulunmuştur. 1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında ve 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranında hazırlanan organojeller istatistiksel olarak kıyaslandığında oleik asit ve karanfil yağı ile hazırlanan organojellerde (VO1 ile VO2, O1 ile O2, VK1 ile VK2, K1 ile K2) anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Lavanta yağı ile hazırlanan organojellerde ise 1:5 (h:h) yağ: su oranında hazırlanan VL2 organojeli mukoadesyon işi 1:4 (h:h) yağ: su oranında hazırlanan VL1 organojeline göre kıyaslandığında VL2 organojelinin mukoadesyon işinin istatistiki olarak farkı anlamlı bulunmuştur ($p<0,0001$) (Bkz. Şekil 4.40). L2 ve VL2 organojellerinin mukoadesyon işi diğer organojellere kıyasla daha yüksek bulunmuştur. VL2 organojeli VK2 ve VO2 organojelleriyle istatistiksel olarak kıyaslandığında VL2 organojelinin mukoadesyon işi değerinin VK2 ve VO2'ye göre yüksek olması istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0,0001$) (Bkz. Şekil 4.40). Sonuç olarak, 1:5 (h:h) yağ: su oranında hazırlanan VL2 organojelinin mukoadesyon özelliklerinin diğer organojellere kıyasla daha iyi olduğunu istatistiksel olarak da doğrulamaktadır.

Mukoadesyon işi, kuvvet ve iş değerleri hazırlandıkları yağlı sistem baz alındığında lavanta yağı> oleik asit>karanfil yağı şeklinde sıralanabilir. 1:5 (h:h) yağ fazı:su fazı

oranında hazırlanan jellerin adezyon kuvvetleri de aynı şekilde daha yüksektir. Adezyon değeri ve viskozite değeri en yüksek olan VL2 jelinin ($199,870 \pm 4,956$) mukoadazyon testi sonucuna göre mukoadazyon işi ($0,397 \pm 0,04$ mJ/cm²) de en yüksek bulunmuştur. Hazırlanan jellerin mukoadazyon işleri adezyon sonuçlarıyla benzer şekilde sıralanmaktadır (lavanta yağı >oleik asit> karanfil yağı). Sonuçlar literatürde de desteklenmektedir. Literatürde yapılan çalışmalarda mukoadazyon, viskozite ile de ilişkili bulunup mukoadazyon verileri incelendiğinde viskozite arttıkça mukoadazyon da artmaktadır (Cevher ve diğerleri, 2008b). Ayrıca mukoadezif kuvvetle adezyon kuvvetin de benzer şekilde arttığı gözlenmiştir (Şenyiğit ve diğerleri, 2014).

Deshkar ve Palve yaptıkları bir çalışmada vajinal kandidiazis tedavisi için VZ ile %18 Poloxamer 407, %5 Poloxamer 188 içeren in situ jellere %0,4 HPMC, polikarbofil ve hidroksi etil selüloz (HEC) gibi mukoadezif polimer ilavesiyle vajinal jel formülasyonları geliştirmişlerdir. Poloxamer 407 in situ jelle HPMC ve HEC polimerlerinin ilavesi, selüloz türevindeki polimerlerin hidroksil grubu ile müsinin hidroksil grubu arasında hidrojen bağlarının oluşumunu sağladığından mukoadezif kuvvetini önemli ölçüde arttırdığı ve vajinal geçirgenliğe katkı sağladığı kanıtlanmıştır (Deshkar ve Palve, 2019).

Ahmad ve diğerleri yaptığı bir çalışmada yağ fazı olarak karanfil yağı içeren nanoemülsiyon formülasyonu hazırlanmıştır. Optimize edilmiş nanoemülsiyon carbopol 934 jeline ilave edilmiştir. Nanoemülsiyon bazlı jel viskozite ve mekanik özellikler açısından karakterize edildiğinde karanfil esansiyel yağ (%5,5) oranının en düşük kullanıldığı formülasyonda optimal viskozite, yayılabilirlik ($5,83 \pm 0,06$ cm) ve mukoadezif güç ($32,87 \pm 0,92$ g) değerleri sergilediği görülmüştür (Ahmad ve diğerleri, 2019). Bizim çalışmamızda da karanfil yağının ilavesi mekanik ve mukoadezif özelliklerin düşmesine neden olmuştur. Daha önce yaptığımız çalışmalarda HPMC K100M ile %2 oranında hazırlanmış vajinal jel formülasyonun mukoadazyon işi değeri 0.605 ± 0.036 mJ/cm² olarak bulunmuştur (Tuğcu-Demiröz ve diğerleri, 2013). Tez çalışmamızda esansiyel yağlar ve HPMC jel kullanılarak hazırlanan vajinal organojel formülasyonlarının mukoadazyon işi değeri (Çizelge 4.17 ve 4.18) de HPMC K100M (%2) jelden daha düşüktür.

Labib ve Aldawsari yaptığı bir çalışmada, oral kandidiyazis tedavisinde yeni stratejilerin araştırılması amacıyla doğal esansiyel yağ yüklü orabase formülasyonlarına daha önceki çalışmalarda kanıtlanan antimikotik aktivitelere sahip kekik ve karanfil uçucu yağların veya bunların ekstrakte edilmiş aktif bileşenleri eklenmiştir ve karakterizasyonu yapılmıştır. Karanfil yağı, kekik yağı, öjenol ve timol yüklü formülasyonlar mantar önleyici aktiviteleri, viskozite, mekanik özellikleri ve ex vivo mukoadesyon özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Öjenol içeren jeller, ex vivo mukoadesyon çalışmasında mukozada 6 saatten fazla süren kalış süresi ile etkili ölçüde mukoadesif özellik sergilemiştir. Geliştirilen formülasyonlar adeziflik ve yayılabilirlik özellikleri açısından da uygun bulunmuştur (Labib ve Aldawsari, 2015).

5.2.5. Organojel formülasyonlarının Franz difüzyon hücresinde geçiş çalışmasının değerlendirilmesi

Organojel formülasyonlarından VZ'nin diyaliz membrandan geçişinin incelenmesi amacıyla 2,5 ml hacme sahip Franz difüzyon hücreleri ve 12000 daltondan küçük moleküllere geçirgen olan diyaliz membran kullanılmıştır. VZ'nin diyaliz membrandan geçiş çalışması sonuçları tüm organojel formülasyonlarının kontrollü ve uzun süreli geçiş yaptığı yönünde değerlendirilmiştir.

Geçiş profilleri incelendiğinde (Bkz. Şekil 4.42 ve 4.43) lavanta ve karanfil yağı içeren VL2 ve VK2 formülasyonlarından 48 saat boyunca kontrollü geçiş yaptığı ancak oleik asit içeren VO2 formülasyonunun etkin maddenin 48 saatin sonunda %33 gibi oldukça düşük geçiş yaptığı gözlenmiştir. 1:4 (h:h) yağ fazı: su fazı oranıyla hazırlanan organojel formülasyonlarının geçiş profilleri değerlendirildiğinde VL1 ve VK1 salım profilleri ve salınan miktarlar birbirine çok yakındır. Bu formülasyonlarda su fazını oluşturan HPMC hidrojelinin formülasyondaki oranının artması geçişi etkilememiştir. F2 benzerlik faktörü analizi sonucunda oleik asitle hazırlanan VO1'in VL1 ve VK1 organojelleriyle arasındaki F2 faktörü 50'nin altında olduğundan geçiş profilleri arasında benzerlik olmadığı anlamına gelmektedir. F2 benzerlik faktörünün 50'den büyük olması durumlarında formülasyonların geçişleri arasında anlamlı fark olmadığı ve benzer olduğu anlamına gelmektedir. VL1 ve VK1 organojelleri

arasındaki F2 faktörü ise 68 olup VL1 ve VK1 organojellerinin ise benzer in vitro geçiş profilleri sergilediğini göstermektedir ($p>0,05$) (Xie, Ji ve Cheng, 2015).

1:5 (h:h) yağ fazı: su fazı oranıyla hazırlanan organojel formülasyonlarının geçiş profilleri değerlendirildiğinde VL2 ve VK2 salım profilleri ve salınan miktarlar birbirine çok yakındır. Bu formülasyonlarda su fazını oluşturan HPMC hidrojelinin formülasyondaki oranının artması geçişi etkilememiştir. F2 benzerlik faktörü analiz sonucunda oleik asitle hazırlanan VO2'in VL2 ve VK2 organojelleriyle arasındaki f2 faktörünün 50'nin altında bulunması geçiş profilleri arasında benzerlik olmadığı anlamına gelmektedir. VL2 ve VK2 organojelleri arasındaki F2 faktörü ise 55 olup VL2 ve VK2 organojellerinin ise benzer in vitro geçiş profilleri sergilediğini göstermektedir (Duan, Riviere ve Marroum, 2011; Xie ve diğerleri, 2015).

Sant ve diğerleri yaptığı bir çalışmada zayıf penetrasyonu olan lumiracoksibnin sistemik uygulama ile ilişkili yan etkilerden kaçınmak için transdermal uygulaması amaçlanmıştır. Bir lipid penetrasyon artırıcı olarak seçilen oleik asidin (OA) poloksamer bazlı taşıyıcı jel sisteminde lumiracoksibnin in vitro salımı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tüm formülasyonlarda sürekli ve kontrollü bir geçiş profili gösterdiği izlenmiştir (Sant ve diğerleri, 2010).

Querobino ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, vajinal kandidiyazis tedavisi için sodyum aljinat (SA) kullanılarak hazırlanan oleik asit ve poloksamer içeren organojellerin geliştirilmesi esas alınmıştır. OA-PL407-188-SA organojellerinin VZ salımı üzerindeki etkileri 0,25, 0,5 ve %1 SA ilavesi olmadan ve eklenerek değerlendirilmiştir. VZ, 0,5 ile 4 saat arasındaki süre boyunca OA-PL407'den hızlı geçiş görülmüştür ve 4 saate kadar yaklaşık %100 ilaç geçişi göstermiştir. OA-PL407-188 için, OA-PL407 ile karşılaştırıldığında, 8 saate kadar yaklaşık %30-75 kademeli ilaç geçişi ve daha düşük geçiş profili gözlenmiştir. Ayrıca, SA'nın organojellere dahil edilmesi, %0.25 SA (%75), %0,5 SA (%55) ve %1 SA (%35) için farklı geçiş profilleri elde edilmiştir (Querobino ve diğerleri, 2019).

Çalışmamızda oleik asit kullanılarak hazırlanan formülasyonların oleik asidin VZ'ye olan yüksek afinitesi sebebiyle düşük in vitro salım profilleri ve düşük permeabilite değerleri göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Benzer bir sonuç VZ'nin topikal

uygulaması için hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında da gözlenmiştir (El-Hadidy ve diğerleri, 2012; Querobino ve diğerleri, 2019; Raju ve diğerleri, 2017; Kumar ve Sinha, 2014). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda oleik asidin konsantrasyonu artırıldıkça geçiş yüzdesi azalmıştır ve çalışmamızda da olduğu gibi kontrollü ve uzun süreli in vitro geçiş izlenmiştir (Sabale ve Vora, 2012; Sant ve diğerleri, 2010).

Tez çalışmamızda lavanta yağı içeren VL1 ve VL2 formülasyonundan etkin madde geçişinin 48 saat boyunca kontrollü şekilde yaptığı gözlenmiştir. Hosny ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada, lavanta yağı ile hazırlanan pensiklovir yüklü nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmış ve kitosan hidrojel içinde taşınmıştır. Bu formülasyon, pensiklovir sulu süspansiyonu ve piyasada bulunan pensiklovir krem formülasyonları ile viskozite, in vitro ilaç salımı ve ex vivo mukozal permeabilite açısından karşılaştırılmıştır. Lavanta yağlı nanoemülsiyon bazlı hidrojel formülasyonunun diğerlerine göre kontrollü bir şekilde in vitro ilaç geçiş profili sergilediği görülmüştür. Optimize formülasyondan hem artan konsantrasyonda hem de sürekli bir ilaç geçişi izlenmiştir ve geçişin yavaş ve sürekli olması yüksek viskozite değerlerine ve ilacın çözünürlüğüne bağlanmıştır. Lavanta yağlı sistemden elde edilen yüksek ilaç çözünürlüğü ve yağlı sistemlerin suda az çözünen ilaçların salımını desteklediği ve polimer jelin formülasyondan ortama ilaç difüzyonu için bir bariyer olduğunu ve böylece sürekli bir şekilde geçişi sağladığı belirtilmiştir (Hosny ve diğerleri, 2021). Çalışmamızda da literatürde belirtildiği gibi geçişin yavaş ve sürekli olması lavanta yağı ile hazırlanan organojellerde gözlenen yüksek viskozite değerlerine ve VZ'nin lavanta yağındaki yüksek çözünürlüğüne bağlanmıştır.

Ahmad ve diğerleri yaptığı bir çalışmada yağ fazı olarak karanfil yağı içeren nanoemülsiyonların carbopol 934 jeline ilave edilmesiyle nanoemülsiyon bazlı hidrojel geliştirilmiştir. Nanoemülsiyon bazlı jel, in vitro salım açısından karakterize edildiğinde 12. saatin sonunda %74,68 ve 24. saatin sonunda %79,01'e ulaşan salım yüzdeleri görülmüştür ve oldukça kontrollü salım yaptığı izlenmiştir. Nanoemülsiyonların jele ilave edilmesi viskozite değerlerini artırmış karanfil yağı ile hazırlanan nanoemülsiyon bazlı jel formülasyonun tedavi edici bölgede kalışını sağlayarak ilaç salımını yavaşlatmıştır ve böylece ilacın uzun süre kontrollü salımı gerçekleşmiştir. Çalışmada yarı katı dozaj formlarının viskoziteleri artırıldığında

salımın yavaşlamasına bağlı olarak uzun süreli ve kontrollü olduğu bildirilmiştir (Ahmad ve diğerleri, 2019). Biz de çalışmamızda VZ'nin karanfil yağı içindeki yüksek çözünürlüğünden yararlandık ve bu VZ içeren karanfil yağını vajinal uygulama için HPMC hidrojeline dahil ettik. Bu şekilde hazırlanan VK1 ve VK2 organojel formülasyonları 48 saat boyunca VZ'nin kontrollü geçişini sağlamıştır. Geçiş özelliği açısından uygun formülasyonlar olsa da viskozite, mekanik ve mukoadhezif özellikleri açısından karanfil yağı içeren organojel formülasyonları vajinal uygulama için yeterli değildir. Organojel formülasyonlarından 48 saat sonundaki etkin madde geçiş %'leri $VK2 > VL1 > VL2 > VK1 > VO1 > VO2$ şeklinde sıralanmaktadır. Viskozitelerinin sıralanmasına göre aralarında ters ilişki ($VL2 > VO1 > VO2 > VL1 > VK1 > VK2$) olduğundan söz edilebilir. Literatürlerle benzer olarak diyaliz membrandan geçiş çalışmalarında viskoziteleri yüksek olan formülasyonların ilaç salım yüzdelerinin az olduğu bulunmuştur (Şenyiğit ve diğerleri, 2014; Rençber ve diğerleri, 2017). Organojel formülasyonlarında patlama etkisi (burst effect) gözlenmemiştir. Organojel formülasyonları VZ'yi yağ fazı olarak hidrojel içinde hareketsiz olarak bulundurduğu için salımın kontrollü olduğu düşünülmüştür. Genel olarak organojellerden etkin maddenin geçişinde patlama etkisini önlediğini ve lipofilik etkin maddelerin kontrollü salımı sağladığını literatürde belirtilmektedir (Iwanaga, Sumizawa, Miyazaki ve Kakemi, 2010; Esposito ve diğerleri, 2018; Pereira Camelo, Franceschi, Perez, Girod Fullana ve Ré, 2016).

5.2.6. Organojel formülasyonlarında ex-vivo permeabilite çalışmalarının değerlendirilmesi

Ex vivo permeabilite çalışmaları, inek vajinası kullanılarak Franz difüzyon hücrelerinde $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ de fosfat tamponu ile sink koşulunu sağlayarak 48 saat süreyle her organojel formülasyonu için 3 tekrar şeklinde gerçekleştirilmiştir. Ex vivo permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde VO2 formülasyonundan 8'inci saat sonunda $32,5 \pm 5,6$ oranında, 24'üncü saat sonunda $55,8 \pm 10,1$ oranında, 48'inci saat sonunda ise $81,6 \pm 0,8$ oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir. Diyaliz membrandan geçiş çalışmalarında bu formülasyonlar oldukça düşük değerlerde geçiş yapmıştı (48 saat sonunda yaklaşık %38). Vajinal doku kullanıldığında VZ geçişinin arttığı gözlenmiştir. Bu durumun nedeni VZ nin lipofilik yapısından dolayı mukozal yapıya olan afinitesi olarak düşünülmektedir.

VL2 organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde ise 8'inci saat sonunda %31,7±4,5 oranında, 24'üncü saat sonunda %63,1±9,3 ve 48'inci saat sonunda ise %90,6±9,7 oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir. Çalışmamızda da lavanta yağı ile hazırlanan organojelin (VL2) yüksek permeabilite yüzdesi, akı değerleri ve permeabilite katsayısı değeri oluşturduğu bulunmuştur (Çizelge 4.20). VL2 formülasyonun permeabilite katsayısı 0,020±0,002 ve akı değeri ise 49,46±7,42 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 'dir. Bu değerler oleik asit içeren VO2 formülasyonundan daha yüksektir.

Hosny ve diğerleri yaptığı bir çalışmada lavanta yağı ile hazırlanan nanoemülsiyon bazlı pensiklovir yüklü kitosan hidrojel, pensiklovir yüklü kitosan hidrojel, pensiklovir sulu süspansiyon ve piyasada bulunan pensiklovir krem formülasyonları arasında ex vivo mukozal permeabilite çalışmaları ile karşılaştırma yapılmıştır. Deriden geçen kümülatif ilaç miktarı sırasıyla 4911±405 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 1402±142 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 1028±109 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 2373±221 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ve permeabilite katsayısı sırasıyla 11.5×10^{-4} , $4,7 \times 10^{-4}$, $3,6 \times 10^{-4}$, $8,6 \times 10^{-4}$ olarak bulunmuştur. Ex vivo permeabilite verilerine göre lavanta yağı ile hazırlanan fomülasyonun yüksek permeabilite katsayısına ve yüksek ilaç miktarı geçişine (4911±405 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) sahip olduğu görülmüştür. Lavanta yağı gibi esansiyel yağlı sistemlerin ilaç penetrasyonunu artırdığı yönünde yapılan çalışmalar, VL2 organojel formülasyonundan elde edilen etkin maddenin yüksek permeabilite ve akı değerlerini desteklemektedir (Hosny ve diğerleri, 2021).

VK2 organojel formülasyonunun pH 4,5 fosfat tamponunda yapılan permeabilite deneylerine ait profil incelendiğinde ise 8'inci saat sonunda %35,3±5,3 oranında, 24 saat sonunda %67,8±8,1 ve 48 saat sonunda ise %99,9±10,5 oranında dokudan VZ geçişi gerçekleşmiştir. VK2 formülasyonun permeabilite katsayısı 0,021±0,001 ve akı değeri ise 51,46±7,42 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 'dir. Bu değer VO2 formülasyonundan daha yüksektir, ancak VL2 formülasyonu ile arasında anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

Kammoun ve diğerleri yaptığı bir çalışmada, VZ'nin etkinliğini arttırmak amacıyla VZ-karanfil yağı nano-transferezomları ile yüklü jel formülasyonu hazırlamışlardır. Bu formülasyonlar reolojik özellikleri, in vitro ilaç salım profili ve ex vivo permeabilite açısından değerlendirilmiştir. Ex vivo permeabilite çalışması taze nazal dokuda yapılmış ve verileri, karanfil yağı ile hazırlanan formülasyondaki toplam ilacın

%83,4'ünün dokuya nüfuz ettiğini göstermiştir. Bu değer, karanfil yağı olmadan hazırlanan formülasyon için %47,3'dür. Karanfil yağı ile hazırlanan nano-transferezomları bazlı VZ yüklü hidrojel, VZ yüklü hidrojel, vorikonazol sulu süspansiyonu formülasyonları arasında ex vivo mukozal permeabilite çalışmaları ile karşılaştırma yapılmış ve permeabilite katsayısı sırasıyla 2.414×10^{-3} , 1.754×10^{-3} , 0.411×10^{-3} cm/dk olarak bulunmuştur. Yapılan bu çalışma sonucunda karanfil yağının hem lipid hem de polar geçiş yollarını değiştirerek ilaç geçirgenliğinde 5,4 kat artışla etkin maddenin permeabilitesini arttırdığını kanıtlamıştır (Kammoun ve diğerleri, 2021). Bizim çalışmamızda VK2 formülasyonundan etkin maddenin permeabilite katsayısı $0,021 \pm 0,001$ olarak bulunmuştur ve literatürdeki örneğe göre oldukça yüksektir. Bu sonucun nedeni olarak VZ'nin karanfil yağındaki yüksek çözünürlüğü ve karanfil yağının penetrasyon artırıcı özelliği gösterilebilir (Kammoun ve diğerleri, 2021; Nikumbh ve diğerleri, 2015; Ahmad ve diğerleri, 2019; Al-Subaie ve diğerleri, 2015).

VZ organojel formülasyonlarına ait ex vivo geçiş verilerinden akı ve permeabilite katsayısı hesabı yapılmıştır. VK2 ve VL2 formülasyonlarında etkin madde en yüksek akı ve permeabilite katsayısı değerlerine sahiptir. Ancak formülasyonların akı değerlerinde anlamlı bir fark yoktur ($p > 0,05$).

5.2.7. Organojel formülasyonlarında stabilitenin değerlendirilmesi

Tez çalışmamızda geliştirilen organojel formülasyonları 4°C/ortam nemi, 25°C/%60 bağıl nem ve 40°C/%75 bağıl nem ortamlarında 3 ay saklanmış ve başlangıçta ve her ay görünüş, pH, viskozite etkin madde miktar tayini testleri yapılmıştır.

ICH klavuzuna göre etkin maddenin ilaç şekli içinde %95-105 arasında bir oranda olması beklenmektedir (ICH Q3). Miktar tayini sonuçlarımız bu aralıklarda bulunmuştur. Tüm organojel formülasyonlarında pH tayini sonuçları vajinal uygulama için uygun bulunmuştur ve miktar tayininde anlamlı bir azalma görülmemiştir ($p > 0,05$). 40°C/%75 bağıl nem ve 25°C/%60 bağıl nem saklanan orgnojellerin pH değerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Oleik asitle hazırlanan VO1 ve VO2 organojel formülasyonlarında 4°C ve 40°C/ %75 bağıl nem saklama şartlarında 3. ayda viskozite değerleri yarı yarıya düşmüştür ve görünüş olarak değerlendirildiğinde açık sarı bir renk almıştır. VO2 organojel formülasyonu 25°C/%60 bağıl nem saklama ortamında 3. ay sonunda beyaz ve homojen bir görüntüye sahiptir ve pH 4,56, viskozitesi 18429±68 cP, miktar tayini ise %97,9±1,2 bulunmuştur.

Oleik asitle hazırlanan VO1 ve VO2 formülasyonları için 25°C/%60 bağıl nem saklama şartında 3 ay boyunca daha stabil olduğu sonucuna varılmıştır. Literatürde yapılan stabilite çalışmalarında da oleik asitle hazırlanan mikroemülsiyon bazlı jellerin 3 ay boyunca 25°C oda sıcaklığında viskozitesinde bir miktar düşüş dışında miktar tayini ve görünüş açısından uygun ve stabil olduğu bulunmuştur (El-Hadidy ve diğerleri, 2012; Sabale ve Vora, 2012).

Lavanta yağı ile hazırlanan VL1 ve VL2 organojel formülasyonlarında 40°C/ %75 bağıl nemde 3. ayda viskozitede anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,05$). VL2 organojel formülasyonu 4°C/ortam nem ortamında 3. ay sonunda beyaz ve homojen bir görüntüye sahiptir ve pH 4,45, viskozitesi 15859±12 cP, miktar tayini ise %97,3±0,6 bulunmuştur. VL1 organojel formülasyonunda ise 4°C nem ortamında 3. ay sonunda beyaz ve homojen bir görüntüye sahiptir ve pH 4,59, viskozitesi 11568±21 cP, miktar tayini ise %97,9±0,2 bulunmuştur.

Terpenlerin (linalool, cineole, limonen) organojelin reolojisi ve kimyasal stabilitesi üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, organojel formülasyonlarına kimyasal penetrasyon artırıcı olarak eklenen terpenlerin, topikal ilaç taşıyıcı sistemlerinde organojel formülasyonlarının kimyasal stabilitesini etkilemediği gözlenmiştir (Lim ve diğerleri, 2008). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak linalool içeren lavanta yağı ile geliştirilen organojel (VL1 ve VL2) formülasyonlarının 4°C'de 3 ay boyunca homojen ve beyaz görüntüsü değişmemekte kimyasal stabilitesini korumaktadır. pH ve miktar tayini sonuçlarında 3 ay boyunca anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Karanfil yağı ile hazırlanan VK1 ve VK2 formülasyonlarında 25°C/%60 bağıl nem ve 40°C/%75 bağıl nem ortamlarında 1 ay renk değişikliği ve faz ayrışımı

gözlenmezken 2. aydan itibaren faz ayrışması gözlenmiştir ve pH, miktar tayini ve viskozite tayini yapılamamıştır.

Barradas ve diğerleri yaptığı bir çalışmada, esansiyel yağlarla hazırlanan nanoemülsiyonların hidrojel sistemleri üzerinde 90 günlük bir süre boyunca hızlandırılmış stabilite çalışmaları yapılmıştır. Formülasyonlar 45°C'lik yüksek sıcaklıkta 30 güne kadar herhangi bir destabilizasyon belirtisi, renk veya koku değişikliği göstermezken, 60 gün yüksek sıcaklığa maruz bırakıldıktan sonra, karanfil uçucu yağı ile hazırlanan formülasyonların renginde hafif değişiklik ve koyu renk gözlenmiştir. Hızlandırılmış stabilite çalışmasında 90 günün sonunda, karanfil yağı içeren jellerde, yağ oksidasyonunu düşündüren güçlü kahverengimsi renk oluşmuştur ve pH değerlerine anlamlı bir düşüş izlenmiştir. Çalışma sonucunda, polimer madde kitosan ve nanoemülsiyon bileşenleri arasındaki etkileşim, karanfil uçucu yağı içeren jellerin kararsızlık sürecini hızlandırabileceğini düşündürmektedir (Barradas ve diğerleri, 2017). Çalışmamızda da karanfil yağı ile geliştirilen VZ yüklü organojel formülasyonlarında (VK1 ve VK2) homojen ve beyaz olan görüntü belirlenen tüm saklama koşullarında literatürle uyumlu olarak 3. ay stabilite çalışması sonucunda homojenliğini kaybetmiş ve koyu sarı-kahverengi renge dönüşmüştür. VK1 ve VK2 formülasyonları, 4°C'de 2 ay stabil olmakla birlikte tüm ortam şartları için de 3 ay stabil olmadığı sonucuna varılmıştır. VK1 ve VK2 formülasyonlarının salım ve permeabilite değerleri vajinal uygulama için yeterli olsa da reolojik, mekanik özellikleri yeterli değildir, ayrıca stabilitesinin de uygun olmadığı tespit edildiği için sonuç formülasyon olarak belirlenmemiştir.

Organojellerin geleneksel jellere göre bir avantajının da mikrobiyolojik stabilitesinin iyi olması ve koruyucuya gerek duyulmaması olarak literatürde belirtilmektedir (Sahoo ve diğerleri, 2011; Sreedevi ve diğerleri 2012). Bizim çalışmamızda da üç ay süre ile organojel formülasyonlarının hiçbirinde mikrobiyolojik üreme gözlenmemiştir.

5.2.8. Organojel formülasyonlarında antifungal etkinlik çalışmalarının değerlendirilmesi

Çalışmamızda çizelge 4.27 ve 4.28'deki inhibisyon çapları değerlendirildiğinde oleik asidin ve oleik asitle hazırlanan O2 organojelin hiç antifungal aktivite göstermediği

bulunmuştur. Ek olarak VZ içeren ve oleik asit ile hazırlanan organojel formülasyonu da (VO2) herhangi bir antifungal etkinlik göstermemiştir. Fakat VZ-oleik asit çözeltisi halinde uygulandığında VZ den kaynaklanan az da olsa antifungal etkinlik görülmektedir. Bu durumun oleik asidin VZ'ye afinitesinin olması ve VO2 organojelinden VZ'nin difüzyon membrandan geçiş yüzdesinin 48 saatin sonunda $33,4 \pm 3,1$ bulunarak oldukça düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. El Hadidy ve diğerleri yaptığı bir çalışmada, optimize edilen mikroemülsiyonlar, *Candida albicans* suşu ATTC 90028'e karşı (5×10^5 hücre/mL konsantrasyonunda sabouraud dekstroza agardan elde edildi) agar difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir ve referans bir VZ süspansiyonu ile karşılaştırılmıştır. Oleik asit içeren ve içermeyen VZ mikroemülsiyon formülasyonları, yardımcı madde olarak kullanılan jojoba yağının antifungal aktivitesinden dolayı olduğu düşünülen VZ süspansiyonundan daha büyük inhibisyon bölgelerine sahip olduğu bulunmuştur ve oleik asidin antifungal aktivite üzerine etkisi görülmemiştir (El Hadidy ve diğerleri, 2012).

Lavanta yağı *C. albicans* suşunda tek başına uygulandığında ($16,5 \pm 0,7$ mm) oluşan inhibisyon bölgeleri karşılaştırıldığında VZ'ye benzer etkinlik gösterirken VZ+lavanta yağı çözeltisi ($55,5 \pm 0,7$ mm) halinde uygulandığında yüksek antifungal etkinlik sergilemiştir. Lavanta yağı ile geliştirilen organojel formülasyonları (VL2, L2) incelendiğinde ise VL2'nin ölçülen inhibisyon bölgesi çapı, L2'den anlamlı derecede yüksektir (Bkz. Şekil. 4.48). Bu durum bize geliştirilen VL2 organojelinin kuyucuk difüzyon metodunda gözlenen en yüksek mantar büyümesini önleme bölgesi çapı (61 ± 1 mm) ile istenen antifungal etkinliği sağladığını ve VZ'nin etkinliğini büyük ölçüde güçlendirdiğini kanıtlar niteliktedir. VZ ve lavanta yapının organojel formülasyonunda bir araya getirilmesi antifungal aktivite açısından sinerjist etki yapmıştır. Behmanesh ve diğerlerinin yaptığı çalışmada lavanta esansiyel yağı ve klotrimazolün vajinal kandidiyazisinden izole edilen *C. albicans* üzerindeki in vitro etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlar, lavantanın antifungal aktivitesini kanıtlamıştır ve bir antifungal ajan olarak kullanılabilirliğini göstermektedir (Behmanesh ve diğerleri, 2015). Badr ve diğerleri yaptığı çalışmada lavanta yağı, kamfen ve terpinil gibi monoterpen bileşenleri ve lavanta yağı ile hazırlanan nanoemülsiyonları *C. Albicans*'a karşı antifungal aktivite açısından test etmişlerdir. Antifungal analiz verilerine göre lavanta yağı nanoemülsiyonu, *C. albicans*'a karşı en yüksek inhibitör etki göstermiştir.

Nanoemülsiyonların aspergillus ve *C. albicans* olmak üzere tüm mantarlara karşı saf lavanta yağı ve monoterpen bileşenlerinden daha etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışma, antimikrobiyaller ve antioksidanlar olarak bakteri, mantar ve mayanın neden olduğu enfeksiyonlara karşı lavanta yağının kullanımını kanıtlamıştır (Badr ve diğerleri, 2021).

Çalışmamızda karanfil yağı tek başına uygulandığında (39 ± 1 mm) antifungal etkisi oldukça yüksek görülmüştür ve literatür de bu bilgiyi desteklemektedir (Shetty ve diğerleri, 2019). Karanfil yağı Şekil 4.47'de görüldüğü gibi lavanta yağından ve süspansiyon halinde uygulanan VZ'den anlamlı olarak daha fazla inhibisyon çapı oluşturmuştur. VZ'nin karanfil yağındaki çözeltisinin antifungal aktivitesi kuyucuk difüzyon metodu ile incelendiğinde inhibisyon çapı $58,5 \pm 0,7$ mm olarak bulunmuştur. VZ ile birlikte karanfil yağının antifungal etkinliği büyük ölçüde artırdığı literatürde de (Kammoun ve diğerleri, 2021) belirtilmiştir. Bu durumun VZ'nin karanfil yağında yüksek çözünürlüğünden ($158,86 \pm 2,15$ mg/ml) kaynaklandığı düşünülmektedir. Karanfil yağı ile geliştirilen organojel formülasyonları (VK2, K2) incelendiğinde ise inhibisyon bölgesi çapları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Bkz. Şekil. 4.48). Organojel formülasyonu (VK2, K2) içerisine yüklendiğinde karanfil yağı VZ'nin antifungal etkinliğini VZ çözeltisine (VZ+Karanfil yağı) kıyasla daha az güçlendirmiştir. Karanfil yağının *C. albicans*'a karşı antifungal etkisi çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Literatürde bildirildiği gibi, öjenol, mantar hücrelerinden potasyum sızıntısına neden olarak, bu tür hücreler tarafından enerji alımını ve kullanımını engelleyebilir ve mantar hücre zarını bozabilmektedir (Ahmad ve diğerleri, 2005; Kammoun ve diğerleri, 2021). Ahmad ve diğerleri yaptığı bir çalışmada, karanfil yağının mantar patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmiştir. Karanfil yağının fırsatçı mantarlara karşı güçlü antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. *C. albicans*, gibi patojenlere doza bağımlı bir etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Karanfil yağı bazlı emülsiyondaki yağ konsantrasyonu arttıkça inhibisyon bölgesi çapı artmaktadır. Çeşitli formülasyonların değerlendirilmesinde, lipozomlu karanfil yağı uygulamasının vajinal kandidiyazis tedavisine karşı en etkili olduğu bulunmuştur (Ahmad ve diğerleri, 2005). Shetty ve diğerleri yaptığı bir çalışmada geliştirilen etozomal jelde bulunan karanfil yağının *C. albicans*'a karşı antifungal aktivitesi kap plaka yöntemiyle belirlenmiştir. Standart karanfil yağı ve plasebo jeli için inhibisyon bölgesi, optimize edilmiş etozomal jel formülasyonu ile karşılaştırılmıştır. Etozomal jel ($28,91 \pm 5,23$ mm) standart saf ilaç

(nistatin) ile karşılaştırıldığında ($21\pm4,89$ mm) daha yüksek inhibisyon bölgesi göstermiştir. Bu nedenle, etozomal jel saf karanfil yağı ve piyasadaki antifungal ajan ile karşılaştırıldığında *C. albicans* mantarına karşı tatmin edici antifungal aktivite göstermiştir (Shetty ve diğerleri, 2019)

Sonuç olarak, VK2 ve VL2 organojellerinin kuyucuk difüzyon çalışmasında, 200 μ L uygulandığında, 100 μ L uygulamaya göre gözlenen daha yüksek inhibisyon bölgeleri ile doza bağımlı iyi antifungal etkinlik sergilediği görülmektedir. Antifungal etkinlik çalışmasından elde edilen bulgulara göre geliştirilen organojeller arasında VL2 organojel formülasyonu kuyucuk difüzyon ve disk difüzyon metodunda sırasıyla $61\pm1,414$ ve $44,5\pm0,707$ olmak üzere izlenen en yüksek mantar inhibisyon bölge çapı ile *C. albicans*'a karşı en iyi antifungal etkinlik göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında vajinal kandida enfeksiyonlarının tedavisi için VZ içeren mukoadezif organojel formülasyonları başarılı bir şekilde geliştirilmiştir. Organojeller %2 HPMC'den oluşan su fazı ve üç farklı yağ fazı (karanfil yağı, lavanta yağı ve oleik asit) ile hazırlanmıştır. Yağ fazı: su fazı 1:4 (h:h) ve 1:5 (h:h) oranında kullanılmıştır. Organojel formülasyonlarının özellikleri aşağıdadır;

- Karakterizasyon çalışmaları kapsamında yapılan FT-IR ve DSC analizleri sonuçlarında VZ pikleri ayrı bir şekilde görülmüştür ve yardımcı maddelerle geçimsizlik veya bir etkileşim görülmemiştir.
- Geliştirilen tüm organojellerin vajinal uygulama için pH'sı, reolojik özellikleri ve viskozite ölçüm sonuçları uygun bulunmuştur. Ancak karanfil yağı ile hazırlanan formülasyonların viskozite değerleri diğerlerine göre düşüktür.
- Geliştirilen tüm organojellerde yapılan etkin madde miktar tayini sonuçları etkin maddenin başarılı bir şekilde yüklendiğini doğrulamıştır.
- Çalışmalarımızda lavanta yağı (VL1, VL2) ve oleik asit (VO1, VO2) kullanılarak hazırlanan organojeller üzerinde yapılan TPA, yayılabilirlik ve ex vivo mukoadesyon değerleri bakımından organojeller vajinal uygulama için uygun bulunmuştur. Karanfil yağı ile hazırlanan formülasyonların mekanik ve mukoadezif özellikleri diğerlerine göre daha düşüktür.
- İn vitro geçiş sonuçlarına bakıldığında tüm formülasyonların diyaliz membrandan uzun süreli ve kontrollü bir geçiş yaptığı görülmektedir. VO2, VL2 ve VK2 formülasyonlarından etkin maddenin diyaliz membrandan geçişi, 48 saat sonunda sırasıyla %33,4±3,1, %85,5±1,5 ve %98,9±4,5 olarak gerçekleşmiştir.
- Ex vivo permeabilite sonuçları incelendiğinde tüm formülasyonların inek vajina dokusundan kontrollü bir geçiş yaptığı görülmektedir. VO2, VL2 ve VK2, formülasyonlarının 48 saat sonundaki inek vajinal dokusundan geçiş yüzdeleri uygun bulunmuştur. Ex vivo permeabilite sonuçları 48 saat sonunda %81-100 arasındadır. Permeabilite katsayısı ve akı değerleri karşılaştırıldığında ise VL2 ve VK2 formülasyonlarında VZ'nin yüksek permeabilite gösterdiği bulunmuştur.
- VO1 ve VO2 formülasyonlarının 25°C/%60 bağıl nem saklama şartında 3 ay boyunca stabil olduğu bulunmuştur. Lavanta yağı ile hazırlanan, VL1 ve VL2

formülasyonlarının 4°C'de 3 ay boyunca stabilitesini koruduğu sonucuna varılmıştır. Karanfil yağı ile hazırlanan formülasyonlar 3 ay süre ile stabilitelerini hiçbir ortamda koruyamamıştır. Formülasyonlarımıza koruyucu veya faz ayrışmasını önleyecek olarak yüzey aktif madde ilave edilmemiştir. Vajinal formülasyonların toksik olmaması ve biyouyumlu olması için içerik olarak en sade formülasyon geliştirilmeye çalışılmıştır.

- İn vitro antifungal etkinlik çalışması sonuçlarına göre *C. albicans* ATCC 10231 mantar suşu üzerinde inhibisyon alanı oluşturduğu bölgenin çapı en büyük olan VL2 organojel formülasyonu en iyi antifungal etkinlik sergilemiştir.
- Bu sonuçlara göre sonuç formülasyon olarak lavanta yağı ile hazırlanan VL2'ye karar verilmiştir. Oleik asit içeren formülasyonlarının etkin madde geçiş ve permeabilite değerleri, karanfil yağı içeren formülasyonlarının da reolojik ve mukoadhezif özellikleri yetersiz bulunmuştur. Ayrıca karanfil yağı içeren formülasyonlarda stabilite sorunu da vardır.

Lavanta yağı ile hazırlanan organojel formülasyonu (VL2) vajinal uygulamaya uygun pH değerine, reolojik özelliklere, mekanik ve mukoadhezif özelliklere, yüksek in vitro geçiş profiline ve ex vivo permeabilite yüzdesine sahiptir. Ayrıca +4 °C'de 3 aylık stabilitesi uygun bulunmuştur. *C. albicans*'a karşı diğer formülasyonlara göre yüksek antifungal etkinlik göstermiştir. Bütün bu nedenlerden dolayı VL2 formülasyonu vajinal kandidiyazis tedavisinde kullanılmak üzere en ideal vajinal organojel formülasyonu olarak seçilmiştir.

Tüm bulgular göz önüne alındığında esansiyel yağlar ile hazırlanan vajinal organojel formülasyonlarının istenen şekilde tasarlanmasıyla vajinal ilaç taşıyıcı sistemlerde etkili bir formülasyon olabileceği görülmüştür. Üretimleri ve ölçek büyütmelemlerinin kolay olması ayrıca biyouyumlu olmaları önemli bir avantajdır.

Suda çözünürlüğü düşük etkin madde olan VZ'nin esansiyel yağlı sistemleri kullanılarak çözünürlüğü artırılmıştır. Sulu jel içinde gözlenen çözünürlük problemi önlenmiştir. VZ'nin antifungal aktivitesi ile lavanta yağının antifungal aktivitesi sinerjistik etki gözlenmiştir. Antifungal etkili ve vajinaya uygulanabilen yağlı sistemler ile suda çözünürlüğü düşük etkin madde olan VZ gibi maddelerin etkinliğinin

artırılması ile klinik çalışmalar sonucunda daha etkili vajinal organojel formülasyonları geliştirilebileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda görülen bazı sorunlar ve bu sorunlara karşı yapılan çözüm önerileri şunlardır:

- Stabilité çalışmalarının daha uzun süre yapılarak raf ömrünün belirlenmesi sağlanabilir. Uygun saklama koşulu ve ambalaj materyali üzerinde çalışma yapılabilir. Stabilité iyileştirme yöntemleri denenebilir.
- Karanfil yağı penetrasyon ve antifungal etki açısından oldukça etkilidir. Reolojik ve mukoadesif özellikleri iyileştirilerek vajinal formülasyonlar hazırlanabilir.
- Tüm formülasyonların toksite ve biyouyumluluk çalışmasına ihtiyacı vardır.
- Sonuç formülasyonumuz üzerinde in vivo çalışmalar yapılarak antifungal etkinliği tayin edilebilir.

KAYNAKLAR

- Abd Rashed, A., Rathi, D. N. G., Ahmad Nasir, N. A. H., and Abd Rahman, A. Z. (2021). Antifungal properties of essential oils and their compounds for application in skin fungal infections: conventional and nonconventional approaches. *Molecules*, 26(4), 1093.
- Abd-El salam, W. H., Nagy, Y. I., and Abouelatta, S. M. (2021). Tailoring thixotropic mixed-lipid nanoconstructs of voriconazole for the management of Vulvovaginal candidiasis: Formulation, statistical optimization, in vitro characterization and in vivo assessment. *Drug Delivery*, 28(1), 1877-1889.
- Acarturk, F. (2009). Mucoadhesive vaginal drug delivery systems. *Recent Patents on Drug Delivery and Formulation*, 3(3), 193-205.
- Acartürk, F., Parlatan, Z. I., and Saracoğlu, Ö. F. (2001). Comparison of vaginal aminopeptidase enzymatic activities in various animals and in humans. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(11), 1499-1504.
- Adams, A. I., Steppe, M., Frehlich, P. E., and Bergold, A. M. (2006). Comparison of microbiological and UV-spectrophotometric assays for determination of voriconazole in tablets. *Journal of AOAC International*, 89(4), 960-965.
- Aguilar-González, A. E., Palou, E., and López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32, 181-185.
- Ahmad, N., Alam, M. K., Shehbaz, A., Khan, A., Mannan, A., Hâkim, S. R., and Owais, M. (2005). Antimicrobial activity of clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis. *Journal of Drug Targeting*, 13(10), 555-561.
- Ahmad, N., Ahmad, F. J., Bedi, S., Sharma, S., Umar, S., and Ansari, M. A. (2019). A novel nanoformulation development of eugenol and their treatment in inflammation and periodontitis. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(6), 778-790.
- Almdal, K., Dyre, J., Hvidt, S., and Kramer, O. (1993). Towards a phenomenological definition of the term 'gel'. *Polymer Gels and Networks*, 1(1), 5-17.
- Al-Subaie, M. M., Hosny, K. M., El-Say, K. M., Ahmed, T. A., and Aljaeid, B. M. (2015). Utilization of nanotechnology to enhance percutaneous absorption of acyclovir in the treatment of herpes simplex viral infections. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 3973.
- Al-Tabakha, M. M. (2010). HPMC capsules: current status and future prospects. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 13(3), 428-442.

- Arikan, G., Karatas, E., Lebe, B., Ayhan, Z., Utine, C. A., Kutsoylu, O. E., and Yilmaz, O. (2018). Topically applied 1% voriconazole induces dysplastic changes on the ocular surface: animal study. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 37(4), 328-331.
- Arpa, M. D., Yoltaş, A., Onay Tarlan, E., Şenyüz, C. Ş., Sipahi, H., Aydın, A., and Üstündağ Okur, N. (2020). New therapeutic system based on hydrogels for vaginal candidiasis management: formulation–characterization and in vitro evaluation based on vaginal irritation and direct contact test. *Pharmaceutical Development and Technology*, 25(10), 1238-1248.
- Arslan, A. (2016). *Antifungal etkili bir termosensitif jel formülasyonunun geliştirilmesi, kontrol ve analizlerinin ratlarda değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 9.
- Asati, S., Jain, S., and Choubey, A. (2019). Bioadhesive or mucoadhesive drug delivery system: a potential alternative to conventional therapy. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4-A), 858-867.
- Ascioglu, S., and Chan, K. A. (2014). Utilization and comparative effectiveness of caspofungin and voriconazole early after market approval in the US. *PloS One*, 9(1), e83658.
- Ashara, K. C., Paun, J. S., Soniwala, M. M., and Chavda, J. R. (2017). Microemulgel of voriconazole: an unfathomable protection to counter fungal contagiousness. *Folia Medica*, 59(4), 461-471.
- Badr, M. M., Badawy, M. E., and Taktak, N. E. (2021). Characterization, antimicrobial activity, and antioxidant activity of the nanoemulsions of *Lavandula spica* essential oil and its main monoterpenes. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 65, 102732.
- Baloglu, E., Karavana, S. Y., Senyigit, Z. A., Hilmioglu-Polat, S., Metin, D. Y., Zekioglu, O., and Jones, D. S. (2011). In-situ gel formulations of econazole nitrate: preparation and in-vitro and in-vivo evaluation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(10), 1274-1282.
- Bansal, K., Rawat, M. K., Jain, A., Rajput, A., Chaturvedi, T. P., and Singh, S. (2009). Development of satranidazole mucoadhesive gel for the treatment of periodontitis. *Aaps Pharmscitech*, 10(3), 716-723.
- Barradas, T. N., Senna, J. P., Cardoso, S. A., Nicoli, S., Padula, C., Santi, P., and Mansur, C. R. E. (2017). Hydrogel-thickened nanoemulsions based on essential oils for topical delivery of psoralen: Permeation and stability studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 116, 38-50.
- Behmanesh, F., Pasha, H., Sefidgar, A. A., Taghizadeh, M., Moghadamnia, A. A., Adib Rad, H., and Shirkhani, L. (2015). Antifungal effect of lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) and clotrimazole on *Candida albicans*: an in vitro study. *Scientifica*, 261397.

- Bilensoy, E., Rouf, M. A., Vural, I., Šen, M., and Hincal, A. A. (2006). Mucoadhesive, thermosensitive, prolonged-release vaginal gel for clotrimazole: β -cyclodextrin complex. *AAPS PharmSciTech*, 7(2), 54-60.
- Blazekovic, B., Stanic, G., Pepeljnjak, S., and Vladimir-Knezevic, S. (2011). In vitro antibacterial and antifungal activity of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka'. *Molecules*, 16(5), 4241-4253.
- Boddupalli, B. M., Mohammed, Z. N., Nath, R. A., and Banji, D. (2010). Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 1(4), 381.
- Bona, E., Cantamessa, S., Pavan, M., Novello, G., Massa, N., Rocchetti, A., and Gamalero, E. (2016). Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents?. *Journal of Applied Microbiology*, 121(6), 1530-1545.
- Caramella, C. M., Rossi, S., Ferrari, F., Bonferoni, M. C., and Sandri, G. (2015). Mucoadhesive and thermogelling systems for vaginal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 92, 39-52.
- Carvalho, G. C., Araujo, V. H. S., Fonseca-Santos, B., de Araújo, J. T. C., de Souza, M. P. C., Duarte, J. L., and Chorilli, M. (2021). Highlights in poloxamer-based drug delivery systems as strategy at local application for vaginal infections. *International Journal of Pharmaceutics*, 602, 120635.
- Cavanagh, H. M. A., and Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301-308.
- Cerqueira, M. A., Fasolin, L. H., Picone, C. S., Pastrana, L. M., Cunha, R. L., and Vicente, A. A. (2017). Structural and mechanical properties of organogels: Role of oil and gelator molecular structure. *Food Research International*, 96, 161-170.
- Cevher, E., Sensoy, D., Taha, M. A., and Araman, A. (2008). Effect of thiolated polymers to textural and mucoadhesive properties of vaginal gel formulations prepared with polycarbophil and chitosan. *Aaps Pharmscitech*, 9(3), 953-965.
- Cevher, E., Taha, M. A. M., Orlu, M., and Araman, A. (2008). Evaluation of mechanical and mucoadhesive properties of clomiphene citrate gel formulations containing carbomers and their thiolated derivatives. *Drug Delivery*, 15(1), 57-67.
- Chami, F., Chami, N., Bennis, S., Trouillas, J., and Remmal, A. (2004). Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(5), 909-914.
- Chee, H. Y., and Lee, M. H. (2007). Antifungal activity of clove essential oil and its volatile vapour against dermatophytic fungi. *Mycobiology*, 35(4), 241-243.

- Chindamo, G., Sapino, S., Peira, E., Chirio, D., and Gallarate, M. (2021). Recent advances in nanosystems and strategies for vaginal delivery of antimicrobials. *Nanomaterials*, 11(2), 311.
- Chow, K. T., Chan, L. W., and Heng, P. W. (2008). Characterization of spreadability of nonaqueous ethylcellulose gel matrices using dynamic contact angle. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8), 3467-3482.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). (2009) *Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing for yeasts: Approved guideline* (2nd Ed.). CLSI Document, M44-A2, Pennsylvania, USA, 1-13.
- Cook, M. T., and Brown, M. B. (2018). Polymeric gels for intravaginal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 270, 145-157.
- Cornet, S., de Campo, L., Martínez-Sanz, M., Scholten, E., and Gilbert, E. P. (2021). Small-angle neutron scattering reveals basis for composition dependence of gel behaviour in oleic acid-sodium oleate oleogels. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 73, 102763.
- Czerwińska, E., and Szparaga, A. (2015). Antibacterial and antifungal activity of plant extracts. *Rocznik Ochrona Środowiska*, 17(1), 209-229.
- Çalış, S., Şumnu, M., and Hıncal, A. A. (1994). Topik ilaç şekilleri, formülasyonları, uygulamaları ve kontrolleri. *FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi*, 19, 85-95.
- Da Silva Campelo, M., Melo, E. O., Arrais, S. P., do Nascimento, F. B. S. A., Gramosa, N. V., de Aguiar Soares, S., and Ricardo, N. M. P. S. (2021). Clove essential oil encapsulated on nanocarrier based on polysaccharide: A strategy for the treatment of vaginal candidiasis. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 610, 125732.
- Das Neves, J., Amaral, M. H., and Bahia, M. F. (2008). Performance of an in vitro mucoadhesion testing method for vaginal semisolids: Influence of different testing conditions and instrumental parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(2), 622-632.
- Das Neves, J., and Bahia, M. F. (2006). Gels as vaginal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 318(1-2), 1-14.
- Das Neves, J., Nunes, R., Machado, A., and Sarmento, B. (2015). Polymer-based nanocarriers for vaginal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 92, 53-70.
- D'auria, F. D., Tecca, M., Strippoli, V., Salvatore, G., Battinelli, L., and Mazzanti, G. (2005). Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Medical Mycology*, 43(5), 391-396.
- De Araujo Pereira, R. R., and Bruschi, M. L. (2012). Vaginal mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 38(6), 643-652.

- De Araújo, P. R., Calixto, G. M. F., da Silva, I. C., de Paula Zago, L. H., Junior, J. A. O., Pavan, F. R., Ribeiro, A. O., Fontana, C. R., and Chorilli, M. (2019). Mucoadhesive in situ gelling liquid crystalline precursor system to improve the vaginal administration of drugs. *AAPS PharmSciTech*, 20(6), 1-12.
- De Francisco, L. M. B., Rosseto, H. C., de Toledo, L. D. A. S., dos Santos, R. S., de Souza Ferreira, S. B., and Bruschi, M. L. (2019). Organogel composed of poloxamer 188 and passion fruit oil: Sol-gel transition, rheology, and mechanical properties. *Journal of Molecular Liquids*, 289, 111170.
- De Lima, J. A., Paines, T. C., Motta, M. H., Weber, W. B., Dos Santos, S. S., Cruz, L., and da Silva, C. D. B. (2017). Novel Pemulen/Pullulan blended hydrogel containing clotrimazole-loaded cationic nanocapsules: Evaluation of mucoadhesion and vaginal permeation. *Materials Science and Engineering*, 79, 886-893.
- De Rapper, S., Kamatou, G., Viljoen, A., and van Vuuren, S. (2013). The in vitro antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in combination with other aroma-therapeutic oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 852049.
- De Sá, F. A. P., Taveira, S. F., Gelfuso, G. M., Lima, E. M., and Gratieri, T. (2015). Liposomal voriconazole (VOR) formulation for improved ocular delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 133, 331-338.
- De Siqueira, L. B. D. O., dos Santos Matos, A. P., da Silva Cardoso, V., Villanova, J. C. O., Guimarães, B. D. C. L. R., Dos Santos, E. P., and Junior, E. R. (2019). Clove oil nanoemulsion showed potent inhibitory effect against *Candida* spp. *Nanotechnology*, 30(42), 425101.
- Deng, X., Chen, J., and Chen, W. (2020). Hydrogel particles as a controlled release delivery system for lavender essential oil using pH triggers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 603, 125134.
- Deshkar, S. S., and Palve, V. K. (2019). Formulation and development of thermosensitive cyclodextrin-based in situ gel of voriconazole for vaginal delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 49, 277-285.
- Deshkar, S. S., Shirolkar, S. V., and Patil, A. T. (2020). Vaginal bioadhesive drug delivery systems and their applications. In K. L. Mithal, I. S. Bakshi, and J. K. Narang (Eds.), *Bioadhesives in drug delivery*. USA: Wiley-Scrivener, 307-369.
- Doerflinger, S. Y., Throop, A. L., and Herbst-Kralovetz, M. M. (2014). Bacteria in the vaginal microbiome alter the innate immune response and barrier properties of the human vaginal epithelia in a species-specific manner. *The Journal of Infectious Diseases*, 209(12), 1989-1999.
- Donnelly, J. P., and De Pauw, B. E. (2004). Voriconazole-a new therapeutic agent with an extended spectrum of antifungal activity. *Clinical Microbiology and Infection*, 10, 107-117.

- Dos Santos, A. M., Carvalho, S. G., Araujo, V. H. S., Carvalho, G. C., Gremião, M. P. D., and Chorilli, M. (2020). Recent advances in hydrogels as strategy for drug delivery intended to vaginal infections. *International Journal of Pharmaceutics*, 590, 119867.
- Duan, J. Z., Riviere, K., and Marroum, P. (2011). In vivo bioequivalence and in vitro similarity factor (f₂) for dissolution profile comparisons of extended release formulations: How and when do they match? *Pharmaceutical Research*, 28(5), 1144-1156.
- Dupuis, A., Tournier, N., Le Moal, G., and Venisse, N. (2009). Preparation and stability of voriconazole eye drop solution. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(2), 798-799.
- El-Hadidy, G. N., Ibrahim, H. K., Mohamed, M. I., and El-Milligi, M. F. (2012). Microemulsions as vehicles for topical administration of voriconazole: formulation and in vitro evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 38(1), 64-72.
- Esmaeili, F., Rajabnejhad, S., Partoazar, A. R., Mehr, S. E., Faridi-Majidi, R., Sahebgharani, M., and Amani, A. (2016). Anti-inflammatory effects of eugenol nanoemulsion as a topical delivery system. *Pharmaceutical Development and Technology*, 21(7), 887-893.
- Esposito, C. L., Kirilov, P., and Roullin, V. G. (2018). Organogels, promising drug delivery systems: An update of state-of-the-art and recent applications. *Journal of Controlled Release*, 271, 1-20.
- Gafitanu, C. A., Filip, D., Cernătescu, C., Ibănescu, C., Danu, M., Pâslaru, E., and Macocinschi, D. (2016). Formulation and evaluation of anise-based bioadhesive vaginal gels. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 83, 485-495.
- Gafitanu, C. A., Filip, D., Cernătescu, C., Rusu, D., Tuchilus, C. G., Macocinschi, D., and Zaltariov, M. F. (2017). Design, preparation and evaluation of HPMC-Based PAA or SA freeze-dried scaffolds for vaginal delivery of fluconazole. *Pharmaceutical Research*, 34(10), 2185-2196.
- Gani, A., Benjakul, S., and Nuthong, P. (2018). Effect of virgin coconut oil on properties of surimi gel. *Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 496-505.
- Genc, L., Oğuzlar, C., and Güler, E. (2000). Studies on vaginal bioadhesive tablets of acyclovir. *Die Pharmazie*, 55(4), 297-299.
- Girmenia, C. (2009). New generation azole antifungals in clinical investigation. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 18(9), 1279-1295.
- Gonçalves, B., Ferreira, C., Alves, C. T., Henriques, M., Azeredo, J., and Silva, S. (2016). Vulvovaginal candidiasis: epidemiology, microbiology and risk factors. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(6), 905-927.

- Gonzalez, G. M., Portillo, O. J., Uscanga, G. I., Andrade, S. E., Robledo, M., Rodríguez, C., and Elizondo, M. (2009). Therapeutic efficacy of voriconazole against a fluconazole-resistant *Candida albicans* isolate in a vaginal model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(3), 571-573.
- Gopalan, K., and Jose, J. (2020). Development of amphotericin b Based organogels against mucocutaneous fungal infections. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56(2), 1-17.
- Guarve, K., and Kriplani, P. (2021). HPMC-A marvel polymer for pharmaceutical industry-patent review. *Recent Advances in Drug Delivery and Formulation: Formerly Recent Patents on Drug Delivery and Formulation*, 15(1), 46-58.
- Gupta, S., Kaur, I. P., and Prabha, V. (2016). Evaluation of antifertility effect of gel formulation containing sperm immobilizing factor: In vitro and in vivo studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81, 67-74.
- Haba, E., Bouhdid, S., Torrego-Solana, N., Marqués, A. M., Espuny, M. J., García-Celma, M. J., and Manresa, A. (2014). Rhamnolipids as emulsifying agents for essential oil formulations: antimicrobial effect against *Candida albicans* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Pharmaceutics*, 476(1-2), 134-141.
- Hasheminejad, N., Khodaiyan, F., and Safari, M. (2019). Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. *Food Chemistry*, 275, 113-122.
- Hosny, K. M., Sindi, A. M., Alkhalidi, H. M., Kurakula, M., Alruwaili, N. K., Alhakamy, N. A., and Alshehri, S. (2021). Oral gel loaded with penciclovir–lavender oil nanoemulsion to enhance bioavailability and alleviate pain associated with herpes labialis. *Drug Delivery*, 28(1), 1043-1054.
- Hussain, A. and Ahsan, F. (2005). The vagina as a route for systemic drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 103, 301–303.
- Ibrahim, M. M., Hafez, S. A., and Mahdy, M. M. (2013). Organogels, hydrogels and bigels as transdermal delivery systems for diltiazem hydrochloride. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 48-57.
- Ilomuanya, M. O., Elesho, R. F., Amenaghawon, A. N., Adetuyi, A. O., Velusamy, V., and Akanmu, A. S. (2020). Development of trigger sensitive hyaluronic acid/palm oil-based organogel for in vitro release of HIV/AIDS microbicides using artificial neural networks. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 1-14.
- Iwanaga, K., Sumizawa, T., Miyazaki, M., and Kakemi, M. (2010). Characterization of organogel as a novel oral controlled release formulation for lipophilic compounds. *International Journal of Pharmaceutics*, 388(1-2), 123-128.
- İnternet: Drug Bank. (2020). Voriconazole. Web: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00582> adresinden 30 Nisan 2021’de alınmıştır.

- Internet: Pubchem. (2020). Compound summary: Voriconazole. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Voriconazole#section=Chemical-and-Physical-Properties> adresinden 30 Nisan 2021'de alınmıştır.
- Internet: FDA. (2019). Labeling-package insert. Web: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/021630s034,021266s045,021267s055lbl.pdf adresinden 30 Nisan 2021'de alınmıştır.
- Jiang, Q., Zhang, P., and Li, J. (2020). Elucidation of colloid performances of thermosensitive in situ-forming ophthalmic gel formed by poloxamer 407 for loading drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(5), 1703-1713.
- Johal, H. S., Garg, T., Rath, G., and Goyal, A. K. (2016). Advanced topical drug delivery system for the management of vaginal candidiasis. *Drug Delivery*, 23(2), 550-563.
- Jones, D. S., Woolfson, A. D., and Brown, A. F. (1997). Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 151(2), 223-233.
- Kammoun, A. K., Khedr, A., Hegazy, M. A., Almalki, A. J., Hosny, K. M., Abualsunun, W. A., and Bakhaidar, R. B. (2021). Formulation, optimization, and nephrotoxicity evaluation of an antifungal in situ nasal gel loaded with voriconazole–clove oil transferosomal nanoparticles. *Drug Delivery*, 28(1), 2229-2240.
- Kaneko, F., Yamazaki, K., Kitagawa, K., and Kikyo, T. (1997). Structure and crystallization behavior of the phase of oleic acid. *Journal of Physical Chemistry B*, 5647(96), 1803–1809.
- Karakatsani, M., Dedhiya, M., and Plakogiannis, F. M. (2010). The effect of permeation enhancers on the viscosity and the release profile of transdermal hydroxypropyl methylcellulose gel formulations containing diltiazem HCl. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 36(10), 1195-1206.
- Kazemi, M., Mohammadifar, M., Aghadavoud, E., Vakili, Z., Aarabi, M. H., and Talaei, S. A. (2020). Deep skin wound healing potential of lavender essential oil and licorice extract in a nanoemulsion form: Biochemical, histopathological and gene expression evidences. *Journal of Tissue Viability*, 29(2), 116-124.
- Khan, M. S. A., and Ahmad, I. (2012). Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 140(2), 416-423.
- Kheawfu, K., Pikulkaew, S., Rades, T., Müllertz, A., and Okonogi, S. (2018). Development and characterization of clove oil nanoemulsions and self-microemulsifying drug delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 46, 330-338.
- Khurana, S., Madhav, N. S., and Tangri, P. (2011). Mucoadhesive drug delivery: mechanism and methods of evaluation. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 458-467.

- Komati, S., Swain, S., Rao, M. E. B., Jena, B. R., and Dasi, V. (2019). Mucoadhesive multiparticulate drug delivery systems: An extensive review of patents. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(4), 521.
- Krishna, M. V., Dash, R. N., Venugopal, P., Reddy, B. J., Sandeep, P., and Madhavi, G. (2017). Development of a RP-HPLC method for evaluation of in vitro permeability of voriconazole in the presence of enhancers through rat skin. *Journal of Saudi Chemical Society*, 21(1), 1-10.
- Kumar, A., Thakur, S., Thakur, V. C., Kumar, A., Patil, S., and Vohra, M. P. (2012). Antifungal activity of some natural essential oils against *Candida* species isolated from blood stream infection. *Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University*, 1(1), 61-66.
- Kumar, R., and Sinha, V. R. (2014). Preparation and optimization of voriconazole microemulsion for ocular delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 117, 82-88.
- Labib, G. S., and Aldawsari, H. (2015). Innovation of natural essential oil-loaded Orabase for local treatment of oral candidiasis. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 3349.
- Larsson, M., Viridén, A., Stading, M., and Larsson, A. (2010). The influence of HPMC substitution pattern on solid-state properties. *Carbohydrate Polymers*, 82(4), 1074-1081.
- Lass-Flörl, C. (2011). Triazole antifungal agents in invasive fungal infections. *Drugs*, 71(18), 2405-2419.
- Lau, M. H., Tang, J., and Paulson, A. T. (2000). Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. *Food Research International*, 33(8), 665-671.
- Lavaee, F., Moshaverinia, M., MalekHosseini, S. A., Jamshidzade, A., Zarei, M., Jafarian, H., and Badiie, P. (2019). Antifungal effect of sesame medicinal herb on *Candida* Species: original study and mini-review. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, e17479.
- Lee, S. J., Han, J. I., Lee, G. S., Park, M. J., Choi, I. G., Na, K. J., and Jeung, E. B. (2007). Antifungal effect of eugenol and nerolidol against *Microsporum gypseum* in a guinea pig model. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(1), 184-188.
- Leyva-Gómez, G., Prado-Audelo, D., María, L., Ortega-Peña, S., Mendoza-Muñoz, N., Urbán-Morlán, Z., and Cortés, H. (2019). Modifications in vaginal microbiota and their influence on drug release: challenges and opportunities. *Pharmaceutics*, 11(5), 217.
- Lim, P. F. C., Liu, X. Y., Kang, L., Ho, P. C. L., and Chan, S. Y. (2008). Physicochemical effects of terpenes on organogel for transdermal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 358(1-2), 102-107.

- Liu, Y., Sun, Q., Pan, Y., Wei, S., Xia, Q., Liu, S., and Hao, J. (2021). Investigation on the correlation between changes in water and texture properties during the processing of surimi from golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Journal of Food Science*, 86(2), 376-384.
- Lupi, F. R., Shakeel, A., Greco, V., Rossi, C. O., Baldino, N., and Gabriele, D. (2016). A rheological and microstructural characterisation of bigels for cosmetic and pharmaceutical uses. *Materials Science and Engineering: C*, 69, 358-365.
- Machado, R. M., Palmeira-De-Oliveira, A., Martinez-De-Oliveira, J., and Palmeira-De-Oliveira, R. (2013). Vaginal films for drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(7), 2069-2081.
- Małecki, J., Tomasevic, I., Djekic, I., and Sołowiej, B. G. (2020). The effect of protein source on the physicochemical, nutritional properties and microstructure of high-protein bars intended for physically active people. *Foods*, 9(10), 1467.
- Mansuri, S., Kesharwani, P., Jain, K., Tekade, R. K., and Jain, N. K. (2016). Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *Reactive and Functional Polymers*, 100, 151-172.
- Martín-Illana, A., Cazorla-Luna, R., Notario-Pérez, F., Bedoya, L. M., Ruiz-Caro, R., and Veiga, M. D. (2019). Freeze-dried bioadhesive vaginal bigels for controlled release of Tenofovir. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 127, 38-51.
- Massa, N., Cantamessa, S., Novello, G., Ranzato, E., Martinotti, S., Pavan, M., and Bona, E. (2018). Antifungal activity of essential oils against azole-resistant and azole-susceptible vaginal *Candida glabrata* strains. *Canadian Journal of Microbiology*, 64(10), 647-663.
- Mikulska, M., Novelli, A., Aversa, F., Cesaro, S., de Rosa, F. G., Girmenia, C., and Viscoli, C. (2012). Voriconazole in clinical practice. *Journal of Chemotherapy*, 24(6), 311-327.
- Moon, T., Cavanagh, H. M., and Wilkinson, J. M. (2007). Antifungal activity of Australian grown *Lavandula* spp. essential oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Essential Oil Research*, 19(2), 171-175.
- Mori, N. M., Patel, P., Sheth, N. R., Rathod, L. V., and Ashara, K. C. (2017). Fabrication and characterization of film-forming voriconazole transdermal spray for the treatment of fungal infection. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55(1), 41-51.
- Mousavi, S. M. R., Rafe, A., and Yeganehzad, S. (2019). Textural, mechanical, and microstructural properties of restructured pimiento alginate-guar gels. *Journal of Texture Studies*, 50(2), 155-164.

- Murina, F., Vicariotto, F., and Di Francesco, S. (2018). Thymol, eugenol and lactobacilli in a medical device for the treatment of bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *New Microbiologica*, 41(3), 220-224.
- Murphy, M., Bernard, E. M., Ishimaru, T., and Armstrong, D. (1997). Activity of voriconazole (UK-109,496) against clinical isolates of *Aspergillus* species and its effectiveness in an experimental model of invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(3), 696-698.
- Muzny, C. A., Łaniewski, P., Schwebke, J. R., and Herbst-Kralovetz, M. M. (2020). Host-vaginal microbiota interactions in the pathogenesis of bacterial vaginosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 33(1), 59.
- Nikiforidis, C. V., Gilbert, E. P., and Scholten, E. (2015). Organogel formation via supramolecular assembly of oleic acid and sodium oleate. *RSC Advances*, 5(59), 47466-47475.
- Nikumbh, K. V., Sevankar, S. G., and Patil, M. P. (2015). Formulation development, in vitro and in vivo evaluation of microemulsion-based gel loaded with ketoprofen. *Drug Delivery*, 22(4), 509-515.
- O'Hanlon, D. E., Moench, T. R., and Cone, R. A. (2013). Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PloS One*, 8(11), e80074.
- Okur, N. Ü., Çağlar, E. Ş., and Yozgatli, V. (2016). Development and validation of an HPLC method for voriconazole active substance in bulk and its pharmaceutical formulation. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20(2), 79-85.
- Okur, N. Ü., Yozgatlı, V., Okur, M. E., Yoltaş, A., and Siafaka, P. I. (2019). Improving therapeutic efficacy of voriconazole against fungal keratitis: Thermo-sensitive in situ gels as ophthalmic drug carriers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 49, 323-333.
- Osmalek, T., Froelich, A., Jadach, B., Tatarek, A., Gadziński, P., Falana, A., Gralińska, K., Ekert, M., Puri, V., Wrotyńska-Barczyńska, J., and Michniak-Kohn, B. (2021). Recent advances in polymer-based vaginal drug delivery systems. *Pharmaceutics*, 13(6), 884.
- Palabiyik, I., Güleri, T., Gunes, R., Öner, B., Toker, O. S., and Konar, N. (2020). A fundamental optimization study on chewing gum textural and sensorial properties: The effect of ingredients. *Food Structure*, 26, 100155.
- Pandey, M., Choudhury, H., Abdul-Aziz, A., Bhattamisra, S. K., Gorain, B., Carine, T., and Win Yi, L. (2021). Promising drug delivery approaches to treat microbial infections in the vagina: a recent update. *Polymers*, 13(1), 26.
- Pandit, A. P., Patel, S. A., Bhanushali, V. P., Kulkarni, V. S., and Kakad, V. D. (2017). Nebivolol-loaded microsphere gel for healing of diabetic wound. *AAPS PharmSciTech*, 18(3), 846-854.

- Patil, S., and Muthusamy, P. (2020). A bio-inspired approach of formulation and evaluation of Aegle marmelos fruit extract mediated silver nanoparticle gel and comparison of its antibacterial activity with antiseptic cream. *European Journal of Integrative Medicine*, 33, 101025.
- Pearson, M. M., Rogers, P. D., Cleary, J. D., and Chapman, S. W. (2003). Voriconazole: a new triazole antifungal agent. *Annals of Pharmacotherapy*, 37(3), 420-432.
- Perea, S., Pennick, G. J., Modak, A., Fothergill, A. W., Sutton, D. A., Sheehan, D. J., and Rinaldi, M. G. (2000). Comparison of high-performance liquid chromatographic and microbiological methods for determination of voriconazole levels in plasma. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(5), 1209-1213.
- Pereira Camelo, S. R., Franceschi, S., Perez, E., Girod Fullana, S., and Ré, M. I. (2016). Factors influencing the erosion rate and the drug release kinetics from organogels designed as matrices for oral controlled release of a hydrophobic drug. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 42(6), 985-997.
- Pietrella, D., Angiolella, L., Vavala, E., Rachini, A., Mondello, F., Ragno, R., and Vecchiarelli, A. (2011). Beneficial effect of *Mentha suaveolens* essential oil in the treatment of vaginal candidiasis assessed by real-time monitoring of infection. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), 1-10.
- Pinto, E., Vale-Silva, L., Cavaleiro, C., and Salgueiro, L. (2009). Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 58(11), 1454-1462.
- Pitorre, M., Gondé, H., Haury, C., Messous, M., Poilane, J., Boudaud, D., Kanber, E., Ndombina, G. A. R., Benoit, J. P., and Bastiat, G. (2017). Recent advances in nanocarrier-loaded gels: Which drug delivery technologies against which diseases?. *Journal of Controlled Release*, 266, 140-155.
- Prajapati, A. M., Patel, S. A., Patel, N. J., Patel, D. B., and Patel, S. K. (2008). Development and validation of reversed-phase column high-performance liquid chromatographic and first-derivative UV spectrophotometric methods for estimation of voriconazole in oral suspension powder. *Journal of AOAC International*, 91(5), 1070-1074.
- Punitha, S., Uvarani, R., and Panneerselvam, A. (2020). Effect of pH in aqueous (hydroxy propyl methyl cellulose) polymer solution. *Results in Materials*, 7, 100120.
- Purkins, L., Wood, N., Greenhalgh, K., Eve, M. D., Oliver, S. D., and Nichols, D. (2003). The pharmacokinetics and safety of intravenous voriconazole—a novel wide-spectrum antifungal agent. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 56, 2-9.

- Qi, F., Zhu, L., Li, N., Ge, T., Xu, G., and Liao, S. (2017). Influence of different proton pump inhibitors on the pharmacokinetics of voriconazole. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(4), 403-409.
- Querobino, S. M., de Faria, N. C., Vigato, A. A., da Silva, B. G., Machado, I. P., Costa, M. S., and Alberto-Silva, C. (2019). Sodium alginate in oil-poloxamer organogels for intravaginal drug delivery: Influence on structural parameters, drug release mechanisms, cytotoxicity and in vitro antifungal activity. *Materials Science and Engineering: C*, 99, 1350-1361.
- Raju Y. P., Chowdary V. H., Nair, R. S., and Basha, D. J. (2017). In vitro assessment of non-irritant microemulsified voriconazole hydrogel system. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(8), 1539-1547.
- Rasoanirina, B. N. V., Lassoued, M. A., Kamoun, A., Bahloul, B., Miladi, K., and Sfar, S. (2020). Voriconazole-loaded self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) to improve transcorneal permeability. *Pharmaceutical Development and Technology*, 25(6), 694-703.
- Rençber, S., Karavana, S. Y., Şenyiğit, Z. A., Eraç, B., Limoncu, M. H., and Baloğlu, E. (2017). Mucoadhesive in situ gel formulation for vaginal delivery of clotrimazole: formulation, preparation, and in vitro/in vivo evaluation. *Pharmaceutical Development and Technology*, 22(4), 551-561.
- Sabale, V., and Vora, S. (2012). Formulation and evaluation of microemulsion-based hydrogel for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2(3), 140.
- Sahoo, C. K., Nayak, P. K., Sarangi, D. K., and Sahoo, T. K. (2013). Intra vaginal drug delivery system: an overview. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, 1, 43-55.
- Sahoo, S., Kumar, N., Bhattacharya, C., Sagiri, S. S., Jain, K., Pal, K., and Nayak, B. (2011). Organogels: properties and applications in drug delivery. *Designed Monomers and Polymers*, 14(2), 95-108.
- Salmazi, R., Calixto, G., Bernegossi, J., dos Santos Ramos, M. A., Bauab, T. M., and Chorilli, M. (2015). A curcumin-loaded liquid crystal precursor mucoadhesive system for the treatment of vaginal candidiasis. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 4815.
- Sandherr, M., and Maschmeyer, G. (2011). Pharmacology and metabolism of voriconazole and posaconazole in the treatment of invasive aspergillosis-review of the literature. *European Journal of Medical Research*, 16(4), 139-144.
- Sant, T., Moreira, A., de Sousa, V. P., and Pierre, M. B. R. (2010). Influence of oleic acid on the rheology and in vitro release of lumiracoxib from poloxamer gels. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 286-302.
- Saravolatz, L. D., Johnson, L. B., and Kauffman, C. A. (2003). Voriconazole: a new triazole antifungal agent. *Clinical Infectious Diseases*, 36(5), 630-637.

- Scholz, I., Oberwittler, H., Riedel, K. D., Burhenne, J., Weiss, J., Haefeli, W. E., and Mikus, G. (2009). Pharmacokinetics, metabolism and bioavailability of the triazole antifungal agent voriconazole in relation to CYP2C19 genotype. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 68(6), 906-915.
- Schulz, J., Kluwe, F., Mikus, G., Michelet, R., and Kloft, C. (2019). Novel insights into the complex pharmacokinetics of voriconazole: a review of its metabolism. *Drug Metabolism Reviews*, 51(3), 247-265.
- Shakeel, A., Farooq, U., Gabriele, D., Marangoni, A. G., and Lupi, F. R. (2021). Bigels and multi-component organogels: An overview from rheological perspective. *Food Hydrocolloids*, 111, 106190.
- Shakeel, A., Farooq, U., Iqbal, T., Yasin, S., Lupi, F. R., and Gabriele, D. (2019). Key characteristics and modelling of bigels systems: A review. *Materials Science and Engineering*, 97, 932-953.
- Shaker, D.S., Ismail, S., Hamed, S., and El-Shishtawy, E.M. (2018). Butoconazole nitrate vaginal sponge: Drug release and antifungal efficacy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 48, 274-287.
- Shankar, N. B., Kumar, R. P., Kumar, N. U., and Brata, B. B. (2010). Development and characterization of bioadhesive gel of microencapsulated metronidazole for vaginal use. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(3), 209.
- Shetty, S., Jose, J., Kumar, L., and Charyulu, R. N. (2019). Novel ethosomal gel of clove oil for the treatment of cutaneous candidiasis. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 18(3), 862-869.
- Siafaka, P., Üstündağ Okur, N., Mone, M., Giannakopoulou, S., Er, S., Pavlidou, E., and Bikiaris, D. (2016). Two different approaches for oral administration of voriconazole loaded formulations: Electrospun fibers versus β -cyclodextrin complexes. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3), 282.
- Singh, V. K., Anis, A., Banerjee, I., Pramanik, K., Bhattacharya, M. K., and Pal, K. (2014). Preparation and characterization of novel carbopol based bigels for topical delivery of metronidazole for the treatment of bacterial vaginosis. *Materials Science and Engineering*, 44, 151-158.
- Smart, J. D. (2005). The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11), 1556-1568.
- Sreedevi, T., Ramya, D., and Vedha, H. (2012). An emerging era in topical delivery: organogels. *An Emerging Era in Topical Delivery: Organogel*, 2, 35-40.
- Şenyiğit, Z. A., Karavana, S. Y., Erac, B., Gürsel, Ö., Limoncu, M. H., and Baloğlu, E. (2014). Evaluation of chitosan based vaginal bioadhesive gel formulations for antifungal drugs. *Acta Pharmaceutica*, 64(2), 139-156.
- Takalkar, D., and Desai, N. (2018). Nanolipid gel of an antimycotic drug for treating vulvovaginal candidiasis—development and evaluation. *AAPS Pharmscitech*, 19(3), 1297-1307.

- Tang, G. M., and Wang, Y. T. (2018). Two Voriconazole salts: Syntheses, crystal structures, solubility and bioactivities. *Journal of Molecular Structure*, 1152, 287-293.
- Terech, P., and Weiss, R.G. (1997). Low Molecular Mass Gelators of Organic Liquids and the Properties of Their Gels. *Chemistry Reviews*, 97, 3133-3159.
- Theuretzbacher, U., Ihle, F., and Derendorf, H. (2006). Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile of voriconazole. *Clinical Pharmacokinetics*, 45(7), 649-663.
- Tuğcu-Demiröz, F. (2009). *Kontrollü salım yapan biyoadeziv yeni vajinal ilaç şekilleri üzerinde çalışmalar*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 5-30.
- Tuğcu-Demiröz, F., Acartürk, F., and Erdoğan, D. (2013). Development of long-acting bioadhesive vaginal gels of oxybutynin: Formulation, in vitro and in vivo evaluations. *International Journal of Pharmaceutics*, 457(1), 25-39.
- Tuğcu-Demiröz, F., Acartürk, F., and Özkul, A. (2015). Preparation and characterization of bioadhesive controlled-release gels of cidofovir for vaginal delivery. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 26(17), 1237-1255.
- Tunick, M. H. (2000). Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. *Journal of Dairy Science*, 83(8), 1892-1898.
- Vakilian, K., Atarha, M., Bekhradi, R., and Chaman, R. (2011). Healing advantages of lavender essential oil during episiotomy recovery: a clinical trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 17(1), 50-53.
- Valenta, C. (2005). The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11), 1692-1712.
- Valenta, C., Kast, C. E., Harich, I., and Bernkop-Schnürch, A. (2001). Development and in vitro evaluation of a mucoadhesive vaginal delivery system for progesterone. *Journal of Controlled Release*, 77(3), 323-332.
- Vermani, K., and Garg, S. (2000). The scope and potential of vaginal drug delivery. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 3(10), 359-364.
- Vintiloiu, A., and Leroux, J. C. (2008). Organogels and their use in drug delivery—a review. *Journal of Controlled Release*, 125(3), 179-192.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., and Pérez-Álvarez, J. A. (2007). Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. *Journal of Food Safety*, 27(1), 91-101.
- Wang, T., Xie, J., Wang, Y., Zheng, X., Lei, J. E., Wang, X., and Dong, Y. (2015). Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral voriconazole in patients with invasive fungal infections. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 35(9), 797-804.

- Wang, Y., and Lee, C. H. (2002). Characterization of a female controlled drug delivery system for microbicides. *Contraception*, 66(4), 281-287.
- Xie, F., Ji, S., and Cheng, Z. (2015). In vitro dissolution similarity factor (f₂) and in vivo bioequivalence criteria, how and when do they match? Using a BCS class II drug as a simulation example. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 66, 163-172.
- Yanni, S. B., Annaert, P. P., Augustijns, P., Bridges, A., Gao, Y., Benjamin, D. K., and Thakker, D. R. (2008). Role of flavin-containing monooxygenase in oxidative metabolism of voriconazole by human liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition*, 36(6), 1119-1125.
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. F., and Al-Askar, A. A. (2020). In vitro anticandidal potency of *Syzygium aromaticum* (clove) extracts against vaginal candidiasis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 1-9.
- Zıba, C.A., Akarsu, S., Çelikçi, N., and Dolaz, M. (2017). Klima tozundan hidroksipropilmetil selüloz (HPMC) sentezi ve karakterizasyonu. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 20(4), 23-29.
- Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Canhoto, J., Vale-Silva, L., Silva, M. J., and Salgueiro, L. (2011). Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Her. *Journal of Medical Microbiology*, 60(5), 612-618.
- Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Dinis, A. M., Canhoto, J. M., and Salgueiro, L. R. (2009). Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula pedunculata* (MILLER) CAV. *Chemistry and Biodiversity*, 6(8), 1283-1292.
- Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Cavaleiro, C., Canhoto, J., Vaz, S., and Salgueiro, L. (2012). *Lavandula luisieri* essential oil as a source of antifungal drugs. *Food Chemistry*, 135(3), 1505-1510.
- Zuzarte, M., Vale-Silva, L., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Vaz, S., Canhoto, J., and Salgueiro, L. (2012). Antifungal activity of phenolic-rich *Lavandula multifida* L. essential oil. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 31(7), 1359-1366.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KESKİN, Güler

Uyruğu : T.C.

:
:
:

Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/ Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı	Devam Ediyor
Lisans	Marmara Üniversitesi/ Eczacılık Fakültesi	2017
Lise	İzmir Anadolu Lisesi	2012

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2021- devam ediyor	Pharminal İlaç Sanayi ve Tic.Ltd. Şti.	Mesul Müdür
2017-2021	Gen İlaç ve Sağlık Ürünleri A.Ş.	Mesul Müdür V.

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

Han, M. I., Gürol, G., Yildirim, T., Kalaycı, S., Şahin, F., and Küçükgülzel, Ş. G. (2017). Synthesis and antibacterial activity of new hydrazide hydrazones derived from Benzocaine. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(4), 961-966.

Poster Bildirileri

Keskin, G., Saar, S. ve Tuğcu-Demiröz, F. (2021). *Development and characterization of voriconazole loaded organogels formulations for vaginal delivery*. 3rd GPSS International Gazi Pharma Symposium Series, Faculty of Pharmacy Gazi University, 8-11 September, Ankara.

Keskin, G., Saar, S. ve Tuğcu-Demiröz, F. (2021). *Preparation and characterization of vaginal delivery of voriconazole loaded mucoadhesive organogels*. 12th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology (PBP), 11-14 May 2021.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..