

Adınızı soyadınızı giriniz

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



YÜKSEK LİSANS TEZİ;

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

(YÜKSEK LİSANS)

**DESLORATADİN İÇEREN YENİLİKÇİ TOPİKAL
FORMÜLASYONLARIN OLUŞTURULMASI VE İN VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ**

CAN KARASOY

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. MELTEM OCAK DEMİRCİ**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca vermiş olduğu manevi desteğini yanımda hissettiğim **Doç. Dr. Meltem OCAK DEMİRCİ**'ye,

Yüksek lisans çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, her zaman güleryüzlü ve samimi olan, desteğini her zaman hissettiğim hocam **Doç. Dr. Meryem Sedef ERDAL**'a,

Yardım ve desteklerinden her zaman yararlandığımız Eczacılık Teknolojisi Bölümü ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı **Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY ERGİNER**'e,

Çalışmam boyunca yanımda olan, bilgisini paylaşan, her zaman yol gösteren, tezimde çok önemli katkıları bulunan **Araş. Gör. Dr. Ecz. Aslı GÜRBÜZ**'e

Maddi-manevi destekleri ve sevgileriyle yanımda olan, motivasyon kaynağım **AİLEME** teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33758

Tez çalışmamda imkanlarından yararlandığım İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesine, etken madde temini için Neutec İlaç, yardımcı madde temini için BASF Türkiye, Gattefose ve Lipoid firmalarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	Xİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	XVİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XX
ÖZET	XXİİİ
ABSTRACT.....	XXİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Derinin Özellikleri ve Anatomisi.....	3
2.1.1. Epidermis	3
2.1.2. Dermis.....	7
2.1.3. Deri Altı Yağ Dokusu (Hipodermis).....	7
2.2. Epidermal Uzantılar	7
2.3. İlaçların Deriden Geçişİ	8
2.4. Deriden Geçiş Yolları	8
2.4.1. Yan Geçit Yolu (Transappendagal Yol)	8
2.4.2. İntrasellüler Yol (hücreler ve lipitlerden geçiş)	9
2.4.3. İntersellüler Yol	9
2.4.4. Etken maddenin deriden geçişini etkileyen faktörler.....	10
2.5. Mikroemülsiyonlar.....	10
2.5.1. Mikroemülsiyon Oluşum Teorileri	12
2.5.2. Mikroemülsiyon Formülasyonunu Oluşturan Bileşenler	13
2.5.2.1. Yağ Fazı	13
2.5.2.2. Yüzey Aktif Madde (Sümfaktan).....	14
2.5.2.3. Yardımcı Yüzey Aktif Madde (Ko-sümfaktan).....	17
2.5.2.4. Sulu Faz.....	18

2.5.3. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Diğer Formülasyonlara Göre Üstünlükleri	18
2.5.4. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Dezavantajları.....	19
2.5.5. Mikroemülsiyonların Hazırlanma Yöntemleri	19
2.5.5.1. Faz Titrasyon Yöntemi.....	20
2.5.5.2. Faz İnversiyon Yöntemi	20
2.5.6. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları	20
2.5.7. Mikroemülsiyonların Dermal-Transdermal Çalışmaları.....	21
2.6. Desloratadin Hakkında Genel Bilgiler	24
2.6.1. Desloratadinin Özellikleri	24
2.6.2. Desloratadinin Tanımı ve Tarihçesi	25
2.6.3. Etki Mekanizması	26
2.6.4. Farmakodinamik Özellikleri	26
2.6.5. Farmakokinetik Özellikleri	26
2.6.6. Yan Etkileri ve İlaç Etkileşimleri.....	27
2.6.7. Desloratadin ile İlgili Yapılan Farklı Çalışmalar	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Gereçler.....	30
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
3.1.2. Kullanılan Aletler.....	31
3.1.3. Kullanılan Malzemeler.....	31
3.2. Yöntem.....	33
3.2.1. Desloratadinin IR Spektrumu.....	33
3.2.2. Desloratadinin UV-Vis Spektroskopisi ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi.....	33
3.2.3. Desloratadinin UV-Vis Spektroskopisi ile Miktar Tayini Yönteminin Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu)	33
3.2.3.1. Doğrusallık.....	33
3.2.3.2. Doğruluk	34
3.2.3.3. Kesinlik	35
3.2.3.3.1. Gün içi Kesinlik.....	35
3.2.3.3.2. Günlerarası Kesinlik.....	35

3.2.3.4. Teşhis Limiti (TL) ve Miktar Tayini Limiti (MTL).....	35
3.2.3.5. Numunlerin Stabilitesi	36
3.2.4. Desloratadinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Yöntemi.....	36
3.2.5. Desloratadinin Miktar Tayini Yönteminin (HPLC) Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu).....	36
3.2.6. Çözünürlük Çalışması	40
3.2.6.1. Desloratadinin Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışması	40
3.2.6.2. Desloratadinin Farklı Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması	41
3.2.7. Önformülasyon Çalışmaları	42
3.2.8. Mikroemülsiyonların ve Üçgen Faz Diyagramlarının Hazırlanması	42
3.2.9. Uygun Mikroemülsiyon Formülasyonlarına DL yüklenmesi	43
3.2.10. Mikroemülsiyonların ön stabilite işleme tabi tutulması.....	43
3.2.11. Mikroemülsiyon Formülasyonları için Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları.....	44
3.2.11.1. Fiziksel Görünüm.....	44
3.2.11.2. Damlacık Boyutu Ölçümü ve Polidispersite İndeksi	44
3.2.11.3. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Faz Ayrımı Çalışması	44
3.2.11.4. Mikroemülsiyonların Elektriksel İletkenliğinin Belirlenmesi (Tip Tayini).....	44
3.2.11.5. Mikroemülsiyonların Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi.....	44
3.2.11.6. Mikroemülsiyonların Refraktif İndeksinin Ölçülmesi	45
3.2.11.7. Mikroemülsiyonların pH değerinin ölçülmesi	45
3.2.12. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Stabilitate Çalışması	45
3.2.13. <i>In vitro</i> Salım Çalışması.....	45
3.2.14. Mikroemülsiyonların Kinetik Parametrelerinin Hesaplanması.....	45
4. BULGULAR.....	47
4.1. Desloratadinin IR Spektrumu	47
4.2. Desloratadinin UV-Vis Spektroskopisi ile Miktar Tayini Yönteminin Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu)	48
4.2.1. Doğrusallık.....	48
4.2.2. Doğruluk	49
4.2.3. Kesinlik	50
4.2.4. Numunelerin Stabilitesi.....	51

4.3. Desloratadinin Miktar Tayini Yönteminin Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu).....	52
4.3.1. Doğrusallık.....	52
4.3.2. Doğruluk	53
4.3.3. Kesinlik	54
4.3.4. Seçicilik.....	55
4.3.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti	55
4.3.6. Numunelerin Stabilitesi.....	55
4.4. Çözünürlük Çalışmaları	56
4.4.1. Desloratadinin Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışması	56
4.4.2. Desloratadinin Farklı Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması	56
4.5. Ön-Formülasyon Çalışmaları.....	57
4.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının ve Üçgen Faz Diyagramlarının Oluşturulması	59
4.7. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Belirlenmesi.....	64
4.8. Seçilen Formülasoylara DL yüklenmesi	64
4.9. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Ön Stabilitate İşlemine Tabi Tutulması	64
4.10. Mikroemülsiyonların Karakterizasyonuna Yönelik Çalışmalar	66
4.10.1. Fiziksel Görünüm.....	66
4.10.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi	67
4.10.3. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Faz Ayrımı Çalışması	78
4.10.4. Mikroemülsiyon elektriksel iletkenliğinin belirlenmesi (Tip tayini).....	78
4.10.5. Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi	79
4.10.6. Refraktif İndeksinin Ölçülmesi	94
4.10.7. pH Değerlerinin Ölçülmesi	94
4.10.8. Stabilitelerin Takibi.....	95
4.11. <i>İn vitro</i> salım çalışması sonuçları	103
4.12. Formülasyonların Kinetik Parametrelerinin Hesaplanması	113
5. TARTIŞMA	115
6. KAYNAKLAR	121
HAM VERİLER	135
FORMLAR	136
ETİK KURUL KARARI	137

PATENT HAKKI İZNİ	138
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	139
ÖZGEÇMİŞ	140



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Etken maddenin deriden geçişini etkileyen faktörlerin özeti.....	10
Tablo 2.2: Desloratadinin genel bilgileri.....	25
Tablo 3.1: Plasebo formülasyonundaki kullanılan maddeleri yüzde tablosu.....	34
Tablo: 3.2: Plasebo formülasyonundaki kullanılan maddeleri yüzde tablosu.....	38
Tablo 3.3: Çözünürlük çalışmasında kullanılan maddeler.....	41
Tablo 3.4: Etken maddenin reseptör faz içerisindeki çözünürlüğünü belirlemek amacıyla kullanılan ortamlar.....	42
Tablo 4.1: Desloratadinin ultraviye (UV) spektrofotometresindeki miktar tayini yönteminin doğrusalılık çalışmasına ait bulgular.....	48
Tablo 4.2: Metanolün kullanıldığı doğrusalılık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R^2 değeri.....	49
Tablo 4.3: Metanolün kullanıldığı doğruluk Plasebo-1 çalışması sonuçları.....	49
Tablo 4.4: Metanolün kullanıldığı doğruluk Plasebo-2 çalışması sonuçları.....	49
Tablo 4.5: Desloratadinin UV spektroskopisi ile yapılan gün içi kesinlik sonuçları.....	50
Tablo 4.6: Desloratadinin UV spektroskopisi ile yapılan günler arası kesinlik sonuçları.....	51
Tablo 4.7: Desloratadinin UV spektroskopisi ile yapılan numune stabilitesi çalışması sonuçları.....	51
Tablo 4.8: Desloratatinin PBS pH 5.5 ile yapılan doğrusalılık çalışmasına ait miktar tayini yönteminin doğrusalılık çalışmasına ait bulgular.....	53
Tablo 4.9: PBS pH 5.5'in kullanıldığı doğrusalılık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R^2 değeri.....	53
Tablo 4.10: Reseptör fazın PBS pH 5.5 kullanıldığı Plasebo-I doğruluk çalışması sonuçları.....	54

Tablo 4.11: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı Plasebo-II doğruluk çalışması sonuçları.....	54
Tablo 4.12: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı gün içi kesinlik çalışması sonuçları.....	54
Tablo 4.13: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı günler arası kesinlik çalışması sonuçları.....	55
Tablo 4.14: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı numunelerin stabilitesi çalışması sonuçları.....	55
Tablo 4.15: Desloratadinin yardımcı maddelerdeki çözünürlük verileri.....	56
Tablo 4.16: Desloratadinin çözünme ortamlarındaki çözünürlük verileri.....	57
Tablo 4.17: Ön formülasyon çalışmasında kullanılan yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanlar ve oranları.....	57
Tablo 4.18: Yağ fazı Maisine CC, Labrasol-Etanol Km değeri 3:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları.....	60
Tablo 4.19: Yağ fazı Maisine CC, Labrasol-Etanol Km değeri 2:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları.....	61
Tablo 4.20: Yağ fazı Oleik Asit, Labrasol-Etanol Km değeri 3:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları.....	62
Tablo 4.21: Yağ fazı Oleik Asit, Labrasol-Etanol Km değeri 4:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları.....	63
Tablo 4.22: Ön formülasyon sonucunda seçilen formülasyonlarda kullanılan maddelerin oranları.....	64
Tablo 4.23: Boş mikroemüsiyonların ilk gün ve 96 saat sonraki damlacık boyutu değişimi.....	65
Tablo 4.24: DL yüklü mikroemüsiyonların ilk gün ve 96 saat sonraki damlacık boyutu değişimi.....	66
Tablo 4.25: Belirlenen mikroemüsiyonların iletkenlik değerleri.....	79

Tablo 4.26: Boş formülasyonların viskozite, kayma gerilimi ve r^2 değerleri (Newtonian akış modeline göre).....	80
Tablo 4.27: DL yüklü formülasyonların viskozite, kayma gerilimi ve r^2 değerleri (Newtonian akış modeline göre).....	81
Tablo 4.28: Belirlenen mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri.....	94
Tablo 4.29: Belirlenen mikroemülsiyonların pH değerleri.....	95
Tablo 4.30: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların görsel inceleme sonucu.....	96
Tablo 4.31: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların görsel inceleme sonucu.....	97
Tablo 4.32: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların polidispersite indeksi takibi sonucu.....	98
Tablo 4.33: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların polidispersite indeksi takibi sonucu.....	99
Tablo 4.34: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların damlacık boyutu takibi sonucu.....	100
Tablo 4.35: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutu takibi sonucu.....	101
Tablo 4.36: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların pH değeri takibi sonucu.....	102
Tablo 4.37: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların pH değeri takibi sonucu.....	103
Tablo 4.38: MLE 2821 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	104
Tablo 4.39: MLE 2821 A2 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	105
Tablo 4.40: MLE 2831 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	106
Tablo 4.41: DL-MLE 2831 A2 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik.....	107
Tablo 4.42: DL-MLE 3721 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	108

Tablo 4.43: MLE 3731 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	109
Tablo 4.44: MLE 3731 A2 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	110
Tablo 4.45: OLE 1931 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	111
Tablo 4.46: OLE 1941 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri.....	112
Tablo 4.47: Salım çalışması yapılan formülasyonların kinetik parametreleri.....	114

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Derinin tabakaları.....	3
Şekil 2.2: Epidermisin tabakaları.....	4
Şekil 2.3: Deriden geçiş yolları.....	10
Şekil 2.4: Yüzey aktif madde gösterimi.....	15
Şekil 2.5: Desloratadinin kimyasal yapısı (a) ve 3D gösterimi (b).....	24
Şekil 4.1: Desloratadin IR Spektrumu.....	47
Şekil 4.2: Desloratadinin metanol kullanıldığı miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait standart eğrisi.....	48
Şekil 4.3: Desloratadinin PBS 5.5 ile yapılan doğrusallık çalışmasına ait standart eğrisi.....	52
Şekil 4.4: Km değeri 3:1 olan (MLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı.....	60
Şekil 4.5: Km değeri 2:1 olan (MLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı.....	61
Şekil 4.6: Km değeri 3:1 olan (OLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı.....	62
Şekil 4.7: Km değeri 4:1 olan (OLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı.....	63
Şekil 4.8: Maisine Labrasol Etanol (2821) A2 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	67
Şekil 4.9: Maisine Labrasol Etanol (2821) A1 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	67
Şekil 4.10: Maisine Labrasol Etanol (3721) A2 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	68
Şekil 4.11: Maisine Labrasol Etanol (3721) A1 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	68
Şekil 4.12: Maisine Labrasol Etanol (3731) A2 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	69
Şekil 4.13: Maisine Labrasol Etanol (3731) A1 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	69
Şekil 4.14: Oleik asit- Labrasol Etanol (1931) A2 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	70

Şekil 4.15: Oleik asit-Labrasol Etanol (1931) A1 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	70
Şekil 4.16: Oleik asit- Labrasol Etanol (1941) A1 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri.....	71
Şekil 4.17: Oleik asit- Labrasol Etanol (1941) A2 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri	71
Şekil 4.18: Desloratadin yüklü MLE 2821 A1 formülasyonun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri.....	72
Şekil 4.19: Desloratadin yüklü MLE 2821 A2 formülasyonun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri.....	72
Şekil 4.20: Desloratadin yüklü MLE 2831 A1 formülasyonun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri.....	73
Şekil 4.21: Desloratadin yüklü MLE 2831 A2 formülasyonun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri.....	73
Şekil 4.22: Desloratadin yüklü MLE 3721 A1 formülasyonun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri.....	74
Şekil 4.23: Desloratadin yüklü MLE 3721 A2 formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri.....	74
Şekil 4.24: Desloratadin yüklü MLE 3731 A1 formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri.....	75
Şekil 4.25: Desloratadin yüklü MLE 3731 A2 formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri.....	75
Şekil 4.26: Desloratadin yüklü OLE 1931 A1 formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri.....	76
Şekil 4.27: Desloratadin yüklü OLE 1931 A2 formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri.....	76
Şekil 4.28: Desloratadin yüklü OLE 1941 A1 formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri.....	77
Şekil 4.29: Desloratadin yüklü OLE 1941 A2 formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri.....	77
Şekil 4.30: MLE 2821 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	82
Şekil 4.31: MLE 2821 A2 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	82

Şekil 4.32: MLE 2831 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	83
Şekil 4.33: MLE 2831 A2 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	83
Şekil 4.34: MLE 3721 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	84
Şekil 4.35: MLE 3721 A2 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	84
Şekil 4.36: MLE 3731 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	85
Şekil 4.37: MLE 3731 A2 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	85
Şekil 4.38: OLE 1931 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	86
Şekil 4.39: OLE 1931 A2 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	86
Şekil 4.40: OLE 1941 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	87
Şekil 4.41: OLE 1941 A2 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	87
Şekil 4.42: DL yüklü MLE 2821 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	88
Şekil 4.43: DL yüklü 2821 A2 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	88
Şekil 4.44: DL yüklü 2831 A1 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	89
Şekil 4.45: DL yüklü 2831 A2 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	89
Şekil 4.46: DL yüklü 3721 A1 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	90
Şekil 4.47: DL yüklü 3721 A2 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	90
Şekil 4.48: DL yüklü 3731 A1 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	91
Şekil 4.49: DL yüklü 3731 A2 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	91

Şekil 4.50: DL yüklü OLE 1931 A1 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	92
Şekil 4.51: DL yüklü OLE 1931 A2 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	92
Şekil 4.52: DL yüklü OLE 1941 A1 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	93
Şekil 4.53: DL yüklü OLE 1941 A2 formülasyonunun değişen kayma hızında kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri.....	93
Şekil 4.54: DL-MLE 2821 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik.....	104
Şekil 4.55: DL-MLE 2821 A2 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik.....	105
Şekil 4.56: DL-MLE 2831 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik.....	106
Şekil 4.57: DL-MLE 2831 A2 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik.....	107
Şekil 4.58: DL-MLE 3721 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik.....	108
Şekil 4.59: DL-MLE 3731 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik.....	109
Şekil 4.60: DL-MLE 3731 A2 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik	110
Şekil 4.61: DL-OLE 1931 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik.....	111
Şekil 4.62: DL-OLE 1941 A1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik.....	112
Şekil 4.63: <i>In vitro</i> salım çalışması yapılan formüllerin toplu salım grafikleri.....	113

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

DL: Desloratadin

APC: Profesyonel antijen sunucu hücresi

LC:Langerhans hücresi

UV:Ultraviyole

SC: Stratum korneum

HLB: Hidrofilik lipofilik denge

y/s: Su içinde yağ

s/y: Yağ içinde su

CPP: Kritik paketlenme parametresi

SLS: Statik ışık saçılımı

DLS: Dinamik ışık saçılımı

SANS: Dar açılı nötron saçılımı

SAXS: Dar açılı X-ray saçılımı

NMR: Nükleer manyetik rezonans

TEM: Transmission elektron mikroskobu

SEM: Taramalı elektron mikroskobu

TPA: 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat

IL-6: İnterlökin-6

TNF- α : Tümör nekroz faktörü

IL-4: İnterlökin-4

IL-3: İnterlökin-3

IL-13: İnterlökin

C_{max}: Tepe plazma konsantrasyonu

UGT: Üridin difosfat glukuronotransferaz

SARS-COV-2: Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüsü

ACE-2: Anjiyotensin dönüştürücü enzim-2

Capryol 90: Propilen glikol mono kaprilat

Kollicream IPM: İzopropil miristat

Kolliphor R: Kolliphor RH 40

Kolliphor H: Kolliphor HS 15

Kolliphor E: Kolliphor EL

Plurol O: Plurol oleik

PEG400: Polietilen glikol

TPGS: D- α - tokoferol-polietilenglikol-1000-süksinat

Labrafil M: Labrafil MS 1944 CS

Labrafak: Labrafak PG

Maisine CC: Gliserol monolinoleat

Oleik A.: Oleik Asit

Transcutol P: Dietilen glikol monoetil eter

PDI: Polidispersite indeksi

IR: Infrared Spektrumu

rpm: Dakikadaki devir sayısı

CoS: Ko-sürfaktan

RANTES: Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted

PTFE: Poliflorofloroetilen

r^2 : Determinasyon katsayısı

SD: Standart sapma

RSD: Bağlı standart sapma

HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

PBS: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi

PDI: Polidispersite indeksi

TL: Teşhis limiti

MTL: Miktar tayini limiti

EP: Avrupa Farmakopesi



ÖZET

Karasoy, C. Desloratadin İçeren Yenilikçi Topikal Formülasyonların Oluşturulması ve *In Vitro* Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2022

H₁ reseptör antagonistleri klinik olarak alerjik rinit, alerjik konjuktivit, kontakt dermatit, rinore, dermatit, solar dermatit gibi histamin aracılı alerjik durumların tedavisinde kullanılmaktadır. Loratadinin aktif metaboliti olan desloratadin (DL), H₁ resptörlerine yüksek afiniteye sahip iken H₂ reseptörlerine düşük afiniteye sahip bir moleküldür. Oral yol ile kullanılan desloratadinin en sık rastlanan yan etkileri yorgunluk, ağız kuruluğu ve baş ağrısıdır. Molekül olarak küçük molekül sınıfında olup katı ve sıvı formülasyonları bulunmaktadır.

Topikal ilaç uygulama yolu üzerine yapılan çalışmaların son yıllarda yaygınlaştığını görmekteyiz. Topikal yolda esas bariyer stratum korneumdur. Topikal yol ile ilaçların deriden permeasyon ve penetrasyonunu etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörler formülasyon, etken madde ve fizikokimyasal faktörler olarak sayılabilir. Topikal uygulamada derinin bariyer özelliğini ortadan kaldırmak ve etken maddenin deriden geçişini arttırmak için çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır.

Mikroemülsiyonlar, yağ, su ve surfaktan fazlarından oluşan şeffaf, termodinamik olarak kararlı, 10-100 nm damlacık boyutuna sahip kolloidal sistemlerdir. Birçok etken madde için deri iletim araçları olarak son yıllarda daha fazla araştırılmaktadır. Bu kolloidal sistemler dışarıdan enerji gerektirmeden, kendiliğinden oluşmaktadır.

Yüksek lisans tez çalışmaları kapsamında desloratadin içeren mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilmiştir. Mikroemülsiyon formülasyonları fizikokimyasal olarak karakterize edilmiş olup 6 aylık stabilite takibi yapılmıştır. Stabilite takibi sonucunda seçilen formülasyonlara *in vitro* salım çalışması gerçekleştirilmiştir. Stabilite ve salım çalışması verilerine göre formülasyonlar karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilerden hazırlanması kolay, kendiliğinden oluşan desloratadin içeren mikroemülsiyon taşıyıcı sisteminin sistemik yan etkilerinden kaçınılarak, katı ve sıvı formülasyonlara alternatif bir formülasyon olabileceği sonucuna varılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: H₁ reseptör antagonisti, mikroemülsiyon, desloratadin, *in vitro* salım, topikal

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33758

ABSTRACT

Karasoy, C. (2022). Preparation and *In Vitro* Evaluation of Innovative Topical Formulations Containing Desloratadine Istanbul University Institute of Health Sciences, Pharmaceutical Technology Program. Master Thesis. Istanbul

H₁-receptor antagonists are clinically used in the treatment of histamine-mediated allergic conditions such as allergic rhinitis, allergic conjunctivitis, contact dermatitis, rhinorrhea, dermatitis, solar dermatitis. Desloratadine (DL), the active metabolite of loratadine, is a molecule with high affinity for H₁ receptors while low affinity for H₂ receptors. The most common side effects of oral desloratadine are fatigue, dry mouth and headache. It is in the small molecule class as a molecule, and there are commercially available tablet and syrup formulations.

The topical route of drug administration is an area of interest. The main barrier in the topical route is the stratum corneum. There are many factors that affect the permeation and penetration of drugs by the topical route through the skin. These factors can be counted as formulation, active ingredient and physicochemical factors. In topical application, there are various approaches to eliminate the barrier property of the skin and increase the penetration of the active substance through the skin.

Microemulsions are transparent, thermodynamically stable, colloidal systems with a droplet size of 10-100 nm, consisting of oil, water and surfactant phases. In recent years, it has been investigated more as skin delivery vehicles for many active substances. These colloidal systems are formed spontaneously, without the need for external energy.

Within the scope of this master thesis, microemulsion formulations containing desloratadine were developed. Microemulsion formulations were characterized physicochemically and 6-month stability follow-up was performed. As a result of stability monitoring, an *in vitro* release study was carried out on the selected formulations. Formulations were compared according to stability and release study data. Based on these data, it is thought that the self-forming desloratadine loaded microemulsion carrier system, which is easy to prepare, can be an alternative formulation to solid and liquid formulations by avoiding systemic side effects.

Key Words: H₁ receptor antagonists, microemulsion, desloratadine, *in vitro* release, topical

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 33758

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikroemülsiyonlar termodinamik olarak kararlı, şeffaf, nano boyuta sahip kolloidal sistemlerdir. Yağ, sürfaktan, ko-sürfaktan ve su fazlarından oluşmaktadır. Damlacıkların yapısına göre su içinde yağ, yağ içinde su, sürekli (bi-continious) şeklinde olabilmekle birlikte, farklı küresel damlacıklar oluşturmada fazların hepsi bir arada bulunmaktadır. Mikroemülsiyonların topikal ilaç uygulamalarında kullanımı için birçok avantajı bulunmaktadır. Mikroemülsiyonların hazırlanması sırasında kullanılan sürfaktan ve ko-sürfaktan sayesinde yüksek konsantrasyonda ilaç yüklenebilmekte, stratum corneumun bariyer özelliğini azaltılarak ilacın geçirgenliği artırılabilir. Dışarıdan enerji gerektirmeden kendiliğinden oluşan, kolay hazırlanabilen ekonomik formülasyonlardır. Damlacık boyutunun küçük olması ilaç emilimi için yüzey alanı/hacim oranını artırarak deriye nüfuzunu artmasına neden olmaktadır. Son yıllarda mikroemülsiyonların hem lipofilik hem de hidrofilik ilaç molekülleri için ilaç taşıyıcısı olarak kullanılması yönünde yapılan araştırmaların arttığını görmekteyiz (Stoeckenius ve ark. 1959, Bardhan ve ark. 2015, Callender ve ark. 2017, Nafisi, S. ve Maibach, H. I. 2017, Nastiti ve ark. 2017, Benbow ve Campbell 2019).

Desloratadin uzun etkili, piperidin türevi bir H_1 reseptör antagonsitidir. 2001 yılında FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından alerjik rinit semptomlarını hafifletmek için onaylanmıştır. Alerjik rinit, nazal konjesyon, kronik idiyopatik ürtiker, böcek sokmalarına bağlı dermatit ve solar dermatit tedavilerinde kullanılmaktadır. Bu tedavilerde katı (tablet) ve sıvı (şurup, oral çözelti) formülasyonları mevcuttur. Bu tedavilerde katı (tablet), sıvı (şurup, oral çözelti) formülasyonları mevcut olup oral kullanılan katı ve sıvı formülasyonlarında boğaz ağrısı, ağız kuruluğu, yorgunluk, uyku hali ve menstrüasyon ağrısı gibi yan etkiler görülmüştür (Murdoch ve ark. 2012, Murdoch ve ark. 2003, Dubuske L.M. 2012, Geha R.S. ve Meltzer E.O. 2001, Levi A ve Enk. C.D. 2015).

Yüksek lisans tez çalışmamızda yaptığımız literatür taramaları neticesinde tespit ettiğimiz, henüz literatürde olmayan desloratadin yüklü topikal mikroemülsiyon formülasyonu geliştirilmesi, karakterizasyonu, formüllerin optimize edilmesi, optimize olan mikroemülsiyonların *in vitro* salım çalışması yapılması, salım kinetiğinin hesaplanması ve sonuçların incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Desloratadinin katı ve sıvı

formülasyonlarında görülen yan etkilerin ortadan kaldırılması ve bu formülasyonlara alternatif olarak topikal ilaç taşıyıcısının geliştirilmesi hedeflenmiştir.

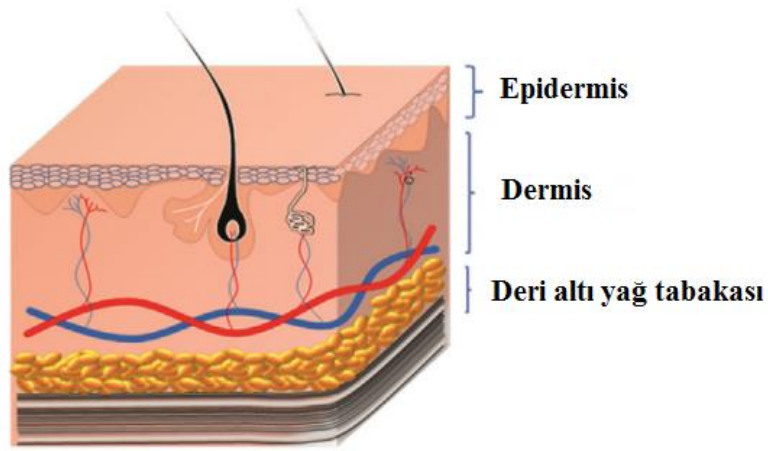


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Derinin Özellikleri ve Anatomisi

İnsanda vücuttaki en büyük organ olma özelliğinde olan deri, vücudu toksik kimyasallar, mikroorganizmalar ve mekanik travmadan koruyan ilk savunma hattıdır (Dabrowska ve ark. 2018). Derinin toplam yüzey alanı ortalama 1,5-2 m² arasındadır ve toplam vücut ağırlığının ise yaklaşık %15-20'sini oluşturmaktadır. Aynı zamanda deri ısı, su kaybını önleyerek vücudun karasal yaşam ile uyumunu sağlamaktadır. Farklı özellikleri bir arada bulundurmasından dolayı hem lokal hem de sistemik uygulamalar bakımından deri, ilaç geliştirme çalışmalarında bulunan araştırmacılar için bir uygulama yolu hedefi haline gelmiştir (A. Dehdashtian ve ark.2018. Benson ve ark. 2019).

İnsan derisi dıştan içe doğru epidermis, dermis ve deri altı yağ tabakası olmak üzere farklı özelliklere sahip 3 tabakadan oluşmaktadır (Şekil 2.1 Derinin Tabakaları) (Kolarsick ve ark. 2011, Javadzadeh ve Bahari 2017).



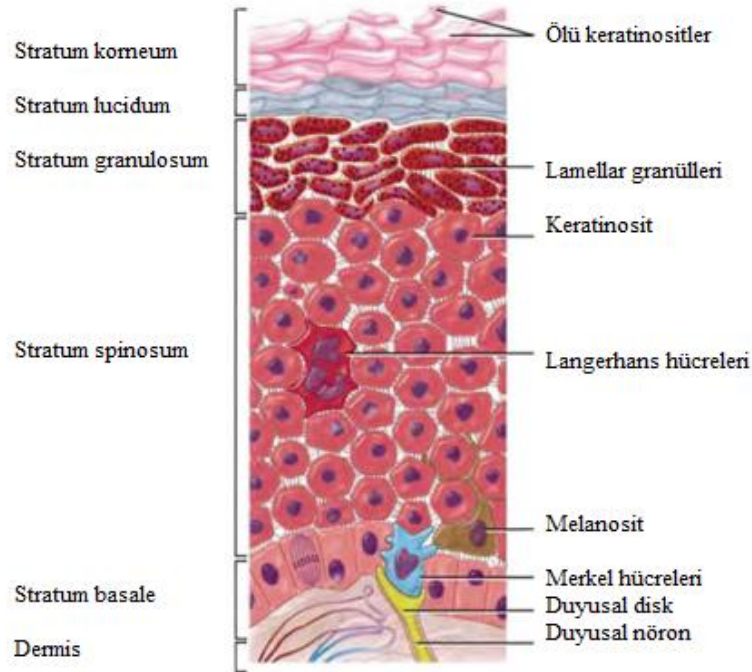
Şekil 2.1: Derinin tabakaları

2.1.1. Epidermis

Dış anlamındaki epi ve cilt anlamındaki dermis kelimelerinden türeyen epidermis, keratinize olan ve adreksiyal yapıları oluşturan ve kendisini devamlı yenileyen çok katlı sküamöz epitel tabakasıdır. Derinin en ince tabakası olan bu yapı kan damarı içermemektedir. Canlılığı korumak için beslenmesini dermisten difüzyon yoluyla yapar. Esas görevi iç bölge ile dış çevre arasında bariyer işlevi görmektir. Kalınlığı vücudun çeşitli bölgelerinde değişmektedir. Örneğin ayak tabanları ve avuç

içlerinde kalın iken göz kapaklarında incedir. Epidermise nüfuz eden moleküller, sistemik dolaşıma girebilmek için dermo-epidermal tabakayı geçmelidir. Epidermis, dermisin üstündeki canlı hücreler ve bazal tabakadan dışa doğru göç etmiş ölü keratin hücrelerinden oluşan stratum korneumdan oluşmaktadır. Bazal tabaka ve stratum korneum da dahil olmak üzere epidermisin aşağıdan yukarıya doğru 5 tabakadan oluşmaktadır (Şekil 2.2 Epidermisin Tabakaları) (Gilaberte ve ark. 2016, Tomala ve ark. 2012).

- 1-stratum basale (epidermisin en derin kısmı),
- 2-stratum spinosum,
- 3-stratum granulosum,
- 4-Stratum lucidum,
- 5-Stratum korneum (epidermisin dış kısmı).



Şekil 2.2: Epidermisin tabakaları

Epidermis melanositler, langerhans hücreleri ve merkel hücreleri gibi birçok hücre tipini içermekle birlikte keratinositler, hücrelerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır (Venus ve ark. 2010). Bazal tabaka dışındaki tüm tabakalardaki

hücrelere keratinosit denir. Bir keratinosit, protein keratini üreten ve depolayan hücredir. Stratum korneumdaki keratinositler ölüdür ve daha derin katmanlardaki hücrelerle değiştirilerek düzenli olarak yok olurlar (Kolarsick ve ark. 2011). Profesyonel antijen sunucu hücrelerin (APC) bir alt kümesi olan Langerhans hücreleri (LC'ler), keratinositler arasında bulunur (Kabashima ve ark. 2019). Bu hücreler, yabancı antijenlere karşı yanıtlar oluşturması için dermisteki T hücrelerine antijenler sunabilmektedir (N. Dragicevic, H.I. Maibach, 2015).

Stratum basale esas olarak bazal hücrelerden yapılmış tek bir hücre tabakasıdır. Bazal hücre, epidermin keratinositlerinin öncüsü olan küboidal şekilli bir kök hücredir. Stratum bazalisteki keratinositler, desmozomlar tarafından oluşturulan hücreler arası köprülerle yakındaki diğer keratinositlere ve hemidesmozomlar ile bazal membrana bağlanır.

Tüm keratinositler, sürekli olarak yeni hücreler üretmek için mitozdan geçen bu tek hücre katmanından üretilir. Yeni hücreler oluşturuldukça, mevcut hücreler yüzeysel olarak stratum basale'den itilir (I. Moll ve ark. 2005, Jennifer Y. Lin ve ark. 2007, Abraham J. ve ark. 2019).

Stratum basalede melanositler ve merkel hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelerden melanositler keratinositler arasında dağılmıştır. Melanositler bir aminoasit olan tirozinden türetilmiş pigment olan melanini üretirler. Deriye ve saça rengini veren melanin pigmentini üretmektedir. Deriyi UV (Ultraviyole) radyasyonuna karşı korur. Merkel hücreleri ise yaklaşık 10-15 µm uzunluğunda, oval/eliptik yapıdadır. Sinir uçlarıyla yakından ilişkili stratum basale tabakasında bulunmaktadır. Mekanotransdüksiyon, ve nosiseptif fonksiyonlarına sahiptir. Avuç içi, ayak tabanı, oral ve genital mukoza ve tırnak yatağında yaygın olarak bulunmaktadır (I. Moll ve ark. 2005, J.A. Bouwstra ve M. Ponc, 2006, Jennifer Y. Lin ve ark. 2007, J.S.Barbieri, 2014, Abraham J. ve ark. 2019).

Stratum spinosum, stratum basalenin üstündeki tabakadır ve tipik olarak beş ila on hücre tabakası kalınlığındadır. Keratinositler birbirlerine desmozomlarla tutunur. Desmozomlar hücreler arasındaki bağı güçlendirir. Mikroskopik olarak keratin oluşumu bu tabakada başlar ve vücutta su kaybını önlemeye yardımcı glikolipid yapsındaki maddeler buradan salınır. Stratum basale üzerinde yeni keratinositler üretilirken, stratum spinosum keratinositleri stratum granulosum içine itilir. Bu katmanın

keratinositleri arasına serpiştirilmiş langerhans hücreleri bulunmaktadır. Langerhans hücreleri bu tabakada meydana gelen bakterileri, yabancı partikülleri ve hasarlı hücreleri sararak bir makrofaj işlevi gören bir dendritik hücre türüdür (Thomason ve ark. 2010, Delva ve ark. 2009, Barbieri ve ark. 2014).

Stratum granulosum (veya granüler tabaka) epidermiste ince bir hücre tabakasıdır. Bu tabakadaki granüler hücreler stratum spinosumdan göç eden keratinositlerdir. Bu hücreler, keratin filamanlarını birbirine bağladığı görülen histidin ve sistein bakımından zengin proteinlerle dolu keratohyalin granülleri içerir. Keratohyalin granüllerinin ana işlevi ara keratin filamanlarını birbirine bağlamaktır (Thomason ve ark. 2010, Baroni ve ark. 2012, Barbieri ve ark. 2014).

Stratum lucidum'u oluşturan keratinositler ölüdür. Avuç içi ve ayak tabanı gibi kalınlaşmış cilde sahip vücudun bölümlerinde görülür. Keratohyalin dönüşüm ürünü olan eleidinden oluşmuştur (Barbieri ve ark. 2014, K.W. Ng ve W.M. Lau 2015).

Epidermisin en dış tabakasındaki stratum korneum (SC); büyük ölçüde yassı, keratinize, ölü ve çekirdeksiz hücreler olan korneositlerden oluşmaktadır. Epidermal hücre farklılaşmasının son ürünü olarak bilinen bu yapı topikal ve transdermal çalışmalar için ayrı bir epidermal tabaka olarak düşünülmektedir. Derinin önemli bariyer özellikleri büyük ölçüde epidermisin dış tabakasını temsil eden stratum korneum'a bağlıdır (Rausnitz ve ark. 2012). Stratum korneum yapısal olarak korneositler, korneodesmosomlar, yığılmış korneositler arasındaki kıvrımlı yolu dolduran lipidler, lipolitik ve proteolitik enzimler, stratum korneum ve granulosum arayüzünde oluşan lamellaer yapılarını içermektedir. 18-20 hücre sırasını içeren korneositler, derinin bariyer oluşturmaya esas katkıyı sağlayan hücrelerdir. Korneodesmozomlar ise korneositleri bir arada tutma işlevi görür. Desmozomlar en dıştaki yıpranmış korneositlerin kademeli olarak deskuamasyonunu sağlamak için programlanmıştır. Kıvrımlı yolu dolduran lipidler ise seramid, kolesterol ve serbest yağ asitlerinin heterojen karışımından oluşmaktadır. Lipolitik ve proteolitik enzimler desmozomların bozunmasında rol oynarlar ve stratum korneumda devam eden biyokimyasal aktivitelere katkıda bulunurlar. Stratum korneum ve granulosum arayüzünde oluşan lamellaer yapılar, çoklu lipid lamellere yol açan enzimler ve antimikrobiyal peptitlerden oluşan ön-bariyer lipidleridir. Bu bileşenlerden herhangi

birinin işlevsel özelliklerine müdahale etmek veya bunları değiştirmek, bariyeri zayıflatabilir (Rausnitz ve ark. 2012, Wertz 2013, I Iwai ve ark.2012).

2.1.2. Dermis

Epidermal tabakanın altında bulunan dermis, derinin en kalın tabakasıdır. Kalınlığı vücut bölgelerine bağlı olarak 0.5-5 mm arasındadır. Ağırlıklı olarak cilde destek ve esneklik sağlayan kolajen ve elastik dokudan oluşur. Dermis papiller ve retiküler dermis olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Papiller dermis nispeten incedir. Kan damarları ve bağ dokunun yoğun olduğu bir bölgedir. Kan damarları dermisin ve epidermisin beslenmesine de yardımcı olur. Cildin elastikiyetinden ve mekanik direncinden sorumludur. Dermisteki sinir uçları dokunma, sıcaklık, basınç ve ağrı gibi uyarıları tespit edebilir. Dermis tabakası ciltteki en yüksek kan dolaşımına sahiptir ve böylece vücut sıcaklığını düzenler. Toksinleri ve diğer istenmeyen molekülleri atımını sağlamaktadır. Hidrofilik özelliği yüksek olan dermisten, hidrofilik etken maddelerin geçişi kolayken, lipofilik etken maddelerin geçişi daha zordur (D.N'Da ve ark. 2014, Lai-Cheong ve ark. 2017, McGrath ve ark. 2004, Malvey ve ark. 2019).

2.1.3. Deri Altı Yağ Dokusu (Hipodermis)

Derinin en alttaki tabakasıdır. Esas olarak yağ ve gevşek bağ dokusundan oluşur. Deriyi kas, kemik gibi daha derin dokulara bağlayarak köprü görevi görür. Obez olmayan bireylerde, tüm vücut yağının yaklaşık %80'i deri altı içinde bulunur. Bu yağ tabakasının esas görevi vücudu izole etmek ve fiziksel şoka karşı mekanik koruma sağlamaktır. Ayrıca yüksek enerjili moleküllerin temini de bu tabakadan sağlanmaktadır (Lai-Cheong ve ark 2017, A.D. Metcalfe ve M.W.J. Ferguson 2007).

2.2. Epidermal Uzantılar

2.2.1.Ekrin Bezler

Keşfedilen ilk ter bezi türüdür. 1833'te Purkinje ve Wendt ve 1834'te Breschet ve Roussel de Vouzzeme tarafından tanımlanmıştır. Schiefferdecker tarafından yaklaşık 100 yıl sonrasına kadar ektrin bezleri olarak adlandırılmamışlardır. Ektrin bezleri genellikle küçük bez çeşidi olarak adlandırılır, en yaygın ter bezi türüdür. Deride hem tüylü hem de tüysüz bölgelerde bulunmaktadır. Esas olarak derinin sıcaklığının düzenlenmesinden sorumludur (J.S.Barbieri ve ark. 2014, Baker L.B. 2019).

2.2.2. Apokrin Bezler

Apokrin bezi, ilk olarak 1844'te Krause tarafından tanınmıştır, daha sonra 1922'de Schiefferdecker tarafından isimlendirilen bir ter bezi türüdür. Bu bezler ekrin bezlerinden daha büyük olmaları ve cilt yüzeyi yerine kıl foliküllerine açık olmaları bakımından farklılık gösterir. Ek olarak, doğumdan itibaren mevcut olmasına rağmen, apokrin bezlerinin salgılama işlevi ergenliğe kadar başlamamaktadır. Apokrin bezleri, aynı zamanda proteinler, şekerler ve amonyaktan oluşan yapışkan, lipitten zengin ter üretmektedir (Barbieri ve ark. 2014, Baker L.B. 2019).

2.3. İlaçların Deriden Geçiş

Deriden emilim (perkütan absorpsiyon) ilacın deri tabakalarını geçerek, derinin alt bölgelerindeki kan damarlarına ulaşması olarak tanımlanabilir (Ölçer ve Gönül, 2002). Lipofilitesi yüksek olan bazı ilaçların geçişinde esas engel canlı epidermis olsa da birçok molekül için stratum korneum hız sınırlayıcı bir basamaktır (Cosco ve ark., 2008). Stratum korneumun hız sınırlayıcı basamak olmasını tuğla ve harç olarak belirtilen yapısından kaynaklanmaktadır. Dirençli hücre zarfları ve keratin mikrofibrillerine sahip stratum korneum korneositleri tuğla iken, hücreler arasındaki seramidler, kolesterol, kolesterol esterler ve uzun zincirli yağ asitleri gibi lipid tabakalar ise harç olarak isimlendirilir (Wickett RR ve Visscher MO 2006). Derinin sızdırmazlığı, özellikle hücre dışı lipitlerde yüksek derecede moleküler düzene bağlanabilir (Scheuplein R.J. ve Blank I.H. 1971).

2.4. Deriden Geçiş Yolları

2.4.1. Yan Geçit Yolu (Transappendagal Yol)

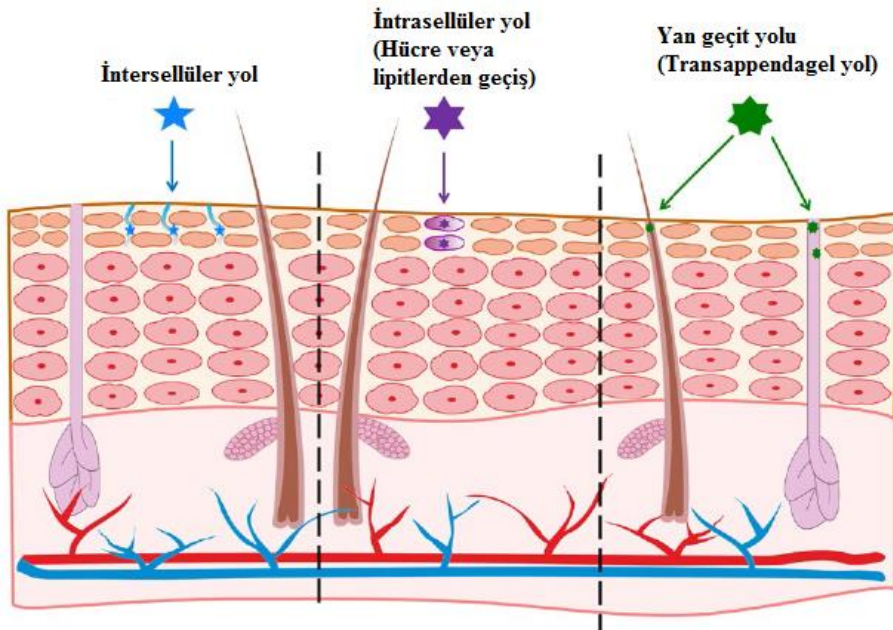
Kıl folikülleri ile ter ve yağ bezleri gibi deri uzantılarından etken maddenin geçişini içermektedir (Şekil 2.3). Yan geçit yolu ile etken madde, stratum korneumun oluşturduğu engele uğramadan daha derin bölgelere ulaşabilmektedir. Bununla birlikte cilt uzantıları toplam cilt yüzey alanının %0.1'ini kaplar. Dolayısıyla bu yolun sınırlı, yüzeyi küçük olduğundan ilaç emilim miktarı kısıtlıdır. Stratum korneum hücreleri boyunca ve çevresinde kararlı denge durumu oluşturulmadan önce yan geçit yolu ile daha hızlı yayılabilen büyük polar moleküller, iyonlar, hidrofilik moleküller veya diğer geçişi yavaş olan maddeler için önemli olabilmektedir (Scheuplein R.J. ve Blank I.H. 1971, Katz, M. ve Poulsen B. 1971, FDA Bioequivalence standards 2014).

2.4.2. İntersellüler Yol (Hücreler ve Lipitlerden Geçiş)

Etken maddenin dermise, düz bir yol ile korneositler ve lipid matriksinden geçişini içermektedir (Şekil 2.3). Değişen derecelerde hidrofilik ve lipofilik alanlarda bölünme ve difüzyonunu içermektedir. Diğer yollara göre mesafe daha kısa olmasına rağmen bu yol, etken maddenin geçişine karşı büyük bir engel olarak kabul edilmektedir. Bu yolda tekrarlayan engeller bulunmaktadır. Hem polar hem de polar olmayan etken maddeler bu yolu geçebilir, ancak difüzyon miktarı ve oranı geçen maddenin özelliğine bağlıdır (Ng ve Lau 2015; Dabrowska ve ark. 2018).

2.4.3. İntersellüler Yol

İntersellüler yol ile etken maddenin stratum korneumdaki korneositler arasında bulunan hücreler arası lipid bölgeden geçişini içermektedir (Şekil 2.3). İntersellüler yolda etken madde, intrasellüler yoldaki gibi hücrelerden geçmeden, hücre dışı matris içerisindeki kıvrımlı yoldan geçmektedir. Bu durumda etken madde tarafından alınan yol stratum korneum kalınlığından önemli ölçüde fazla olmaktadır. Küçük hidrofilik moleküller genellikle hücreler arası yol üzerindeki transsellüler yolu tercih etmektedir. Birçok etken maddenin (özellikle lipofilik ilaçlar) stratum korneumun 0.1 μm 'den daha küçük olan intersellüler yol ile girdiği kabul edilmektedir (FDA Bioequivalence standards 2014, Ng ve Lau 2015, Dabrowska ve ark. 2018).



Şekil 2.3: Deriden geçiş yolları

2.4.4. Etken Maddenin Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler

Etken maddenin deriden geçişini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Etken maddenin deriden geçişini etkileyen faktörler Tablo 2.1’de gösterilmektedir (Grasso ve Lansdown 1972, Supe ve Takudage 2021, Hadgraft ve ark. 1956, Hadgraft 2004).

Tablo 2.1: Etken maddenin deriden geçişini etkileyen faktörlerin özeti

Fizyolojik faktörler	Etken maddeye ait faktörler	Formülasyon ile ilgili faktörler
Derinin yaşı	Su-yag çözünürlüğü	Taşıyıcılar
Vücut bölgesi	Moleküler büyüklüğü	Sümfaktanlar
İrk farklılıkları	Moleküler ağırlığı	Formülasyon tipi
Cinsiyet	Molekülün hidrojen bağ grupları	
Derinin pH değeri		
Derinin sıcaklığı		
Derinin hidrasyonu		

2.5. Mikroemülsiyonlar

Mikroemülsiyon terimi 1940'ların başlarında, orta zincirli bir alkol ile sütlü bir emülsiyon titrasyonunu kullanarak berrak tek fazlı bir bileşim geliştiren Hoar ve Schulman tarafından tanıtıldı. 1959'da Schulman ve arkadaşları elektron mikroskopisi ile küçük emülsiyon benzeri yapıların varlığını görselleştirdiler. Mikroemülsiyonlar, düşük yüzey gerilimi ve küçük damlacık boyutuna sahip şeffaf, optik olarak izotropik ve termodinamik olarak kararlı faz geçiş sistemleridir. Bu sistemler, birbirini izleyen sümfaktan ve ko-sümfaktan moleküllerinden oluşan bir ara yüzey filmi ile stabilize edilmiş tek bir faz oluşturmak için karıştırılan iki sıvı (su ve yağ) ile oluşturulur (Nafisi, S., & Maibach, H. I. 2017, Stoeckenius ve ark. 1959).

Yağ ve su fazı arasındaki ara yüzey gerilimi yüksektir. Bu yüzden birbiri içerisinde çözünmezler. Yapıya hem polar hem de apolar gruplar içeren yüzey aktif madde eklenmesi, yüzey gerilimini düşmesine neden olmaktadır. Ek olarak yardımcı yüzey aktif madde denilen ikinci bir yüzey aktif madde eklenmesiyle birlikte yüzey gerilimi sıfıra yaklaşır ve damlacık boyutu da önemli bir miktarda küçülmektedir.

Mikroemülsiyon sistemleri, ışığı görünür dalga boyu alanında neredeyse saçmayan küçük damlacıklar (10–100 nm) oluşturmaktadır. Oluşan damlalar ışığın kırılmasına ve dağılmasına izin vermeyecek kadar küçük olduğu için optik olarak şeffaf veya yarı şeffaftır. Damlacık boyutunun küçük olması, daha büyük yüzey alanı sağlamaktadır ve etken maddenin membranlara bağlanma ihtimalini arttırdığı gibi daha yüksek miktarda ilaç yüklemesini de sağlamaktadır (Xavier ve ark. 2017, S.P. Callender ve ark. 2017 Rakshit ve ark. 2019). Mikroemülsiyonlar, çeşitli uygulama yollarında lipofilik etken maddeleri formüle etmek için kullanılmıştır (Nastiti ve ark. 2017, Rakshit ve ark. 2019, Sintov 2015, Shekade ve ark. 2020).

Mikroemülsiyonlar hastalara oral, dermal-transdermal, nazal vb. gibi çeşitli yollarla verilebilmek için kullanılabilir. Ancak topikal uygulamasına ilgi artmıştır. Mikroemülsiyon uygulaması dermal ve transdermal ilaç uygulamasında birçok avantaj sunmaktadır. İlaçların deri yoluyla verilmesi için mikroemülsiyonun avantajlarını açıklamak için üç ana mekanizma önerilmiştir. İlk olarak, mikroemülsiyon sistemlerinin hem lipofilik hem de hidrofilik ilaçları için yüksek çözünürlük potansiyeli, cilde yönelik termodinamik aktiviteyi artırabilir. İkinci olarak, geçirgenliği artırıcı olarak hareket eden mikroemülsiyon bileşenleri, stratum korneumun yapısını bozabilir ve deri yoluyla ilaç akışını artırabilir. Üçüncüsü, ilacın mikroemülsiyondan geçirgenlik oranı artabilir, çünkü bir ilacın iç faza afinitesi, stratum korneuma partiyonunu kolaylaştırmak için kolayca değiştirilebilir (Okur ve ark. 2014, Callender ve ark. 2017, Benbow ve Campbell 2019).

Mikroemülsiyonlar yapısal olarak su içinde yağ (y/s), yağ içinde su (s/y) ve geçişli (bicontinuous) mikroemülsiyonlar olmak üzere 3 farklı tipte sınıflandırılır. Su içinde yağ y/s tipi mikroemülsiyonlarında yağın hacim oranı düşüktür, bu durumun aksine yağ içinde su s/y tipi mikroemülsiyonlarında suyun hacim oranı düşüktür. Geçişli yapılarda ise su ve yağ oranı az ve birbirine yakın, yüzey aktif madde oranı nispeten yüksektir (Chauhan ve ark. 2019).

Mikroemülsiyon oluşumu yüzey aktif madde yapısına bağlıdır; örneğin tek hidrokarbon zincirli iyonik yüzey aktif madde yüksek hidrofilik karakterleri nedeniyle mikroemülsiyon oluşumu için ortak bir yüzey aktif madde veya elektrolitlerin eklenmesini gerektirir. Bu durumun aksine, çift zincirli iyonik yüzey aktif maddeler ve

etoksillenmiş non-iyonik yüzey aktif maddeler kosürfaktan olmadan da mikroemülsiyon oluşturabilir.

2.5.1. Mikroemülsiyon Oluşum Teorileri

Mikroemülsiyonun oluşması için yağ ve su fazları arasındaki ara-yüzey gerilimi sıfıra yaklaşmalıdır. Mikroemülsiyonların oluşumu ve stabilitesini değerlendirmek için karışık film teorisi, çözündürme teorisi ve mikroemülsiyonun oluşumunun termodinamikleri olmak üzere 3 farklı yaklaşım önerilmiştir (Muzaffar ve ark. 2013).

Bowcott ve Schulman tarafından 1955 yılında önerilen karışık film teorisi, sürfaktan ve ko-sürfaktanın arayüzeyde bir film oluşturduğunu ve oluşan mikroemülsiyon tipinin bu filmin eğriliğinin bükülmesine bağlı olduğunu varsaymaktadır. Arayüzeyde sürfaktan-ko-sürfaktan ikili filmin oluşumu, yağ-su arasındaki gerilimin daha düşük değerlere inmesini sağlamaktadır. İkili filmin yayılma basıncı, yağ su gerilimini aşmasıyla birlikte negatif ara yüzey gerilimi ve damlacıkların boyutunda azalmaya neden olmaktadır. Meydana gelen net ara yüzey gerilimi, dinamik dengede gerçekleşen ve sonunda sıfır veya çok küçük bir pozitif değere ulaşan bir süreci içermektedir (Sharma ve ark. 2016).

Çözündürme teorisi, şişmiş misel sisteminin mikroemülsiyon şeklinde oluştuğunu varsaymaktadır. Mikroemülsiyon oluşumunu suyun ters misellerde çözündürüldüğü, yağı ise normal misellerde çözündürüldüğü şişmiş miseller olarak açıklamaktadır (Mehta ve ark. 2015).

Mikroemülsiyonların oluşumunda serbest enerji, yüzey gerilimi ve ara yüzey alanı gibi çeşitli termodinamik özellikler ise aşağıdaki denklemle gösterilir. Serbest enerjinin özellikleri, yüzey gerilimi ve mikroemülsiyonların ara yüzey alanı ile ilişkilidir.

$$DG_f = \gamma DA - TDS$$

DG_f 'nin serbest oluşum enerjisi olduğu durumda, γ ; yağ su arayüzünün yüzey gerilimidir; DA mikroemülsifikasyonda ara yüzey alanındaki değişimi, DS , etkili bir dağılım entropisi olan sistemin entropisindeki değişimi ifade etmektedir. Ve T sıcaklıktır. Negatif serbest enerji oluşumu değerleri, yüzey gerilimindeki büyük düşüşlere pozitif entropi değişikliklerin eşlik ettiği durumlarda elde edilmektedir. Bu

nedenle, mikroemülsiyon oluşumu kendiliğinden ve termodinamik olarak kararlı bir süreçtir (Sharma ve ark. 2016).

2.5.2. Mikroemülsiyon Formülasyonunu Oluşturan Bileşenler

Mikroemülsiyon sistemlerinin bileşenleri olarak çok sayıda yağ, sürfaktan kullanılabilir. Ancak bu maddelerin toksisiteleri, tahriş etme durumları ve belirli olmayan etki mekanizmaları nedeniyle kullanılmamaktadır. Formülasyonu oluştururken maddelerin biyouyumlu, toksik olmayan, klinik olarak kabul edilebilen maddelerden seçilmesi gereklidir (Kreilgaard 2002).

2.5.2.1. Yağ Fazı

Mikroemülsiyonda yağ fazı, etken maddenin çözündüğü ve emilimine yardımcı olduğu için ilacın lipoidal biyolojik membranlardan geçişini kolaylaştırır. Yağın reolojisi ve özellikleri mikroemülsiyonun stabilitesinde önemli rol oynamaktadır (Sapra ve ark. 2013).

Yağ fazı seçimi ilacın yapısına ve uygulanacak bölgesine göre değişmektedir. Seçilen yağ ilacı çözme potansiyeline sahip olmalıdır. Üçgen faz diyagramında oluşacağı alanın büyüklüğü önemlidir. Lipofilik etken maddeler tercihen su içinde yağ mikroemülsiyonlarında çözündürülür. Yağ fazını seçmek için ana kriter, ilacın içinde yüksek çözünürlüğe sahip olması gerektiğidir. Bu durum, etken maddenin terapötik dozunu kapsüllenmiş bir formda vermek için formülasyon hacmini en aza indirecektir. (Talegaonkar ve ark. 2008) Ek olarak, diğer yardımcı maddelerdeki çözünürlük (sürfaktan ve ko-sürfaktan) bilinmelidir (Sapra ve ark. 2013).

Yağ fazı, sürfaktan tekli tabakasının kuyruk grubu bölgesine nüfuz etme ve bu nedenle şişme kabiliyeti ile eğriliği etkiler. Kısa zincirli yağlar kuyruk grubu bölgesine uzun zincirli alkanlardan daha fazla nüfuz eder ve bu nedenle bu bölgeyi daha fazla şişerek negatif eğriliğe (ve etkili HLB'nin (Hidrofilik-lipofilik denge) azalmasına) neden olur (Ghosh ve Murthy 2006).

Yağ fazının bileşenleri yağ asitleri, alkoller, yağ asitleri ve alkollerin esterleri, orta zincirli trigliseritler, gliserol ve asetik asit (triasetin), terpenler, çeşitli penetrasyon arttırıcılara kadar değişir (Santos ve ark. 2008). Doymuş ve doymamış yağ asitleri penetrasyon arttırıcı özelliklere sahiptir ve uzun süredir kullanılmaktadır. Yağ asitlerinin derinin geçirgenliğini arttırdığı mekanizma, stratum korneum'un hücre dışı

boşluklarını dolduran yoğun şekilde paketlenmiş lipidlerin bozulmasını içerdiği görülmüştür (Tanojo, Bowstra, Junginger ve Bodde, 1997). C₁₀ – C₁₂ doymuş yağ asitlerinin partiyon katsayısı veya çözünürlük parametreleri ile cilde afinite arasında optimal bir dengeye sahip olduğu bildirilmiştir (Ogiso ve Shintani, 1990). Bunun aksine, doymamış alkil zincirleri içeren penetrasyon arttırıcılar için C18, optimum seviyeye yakın görünür. Bu tür doymamış bileşikler için, cis-konfigürasyonu lipit yapısını trans konfigürasyonundan daha fazla bozar (Aungst, Rogers ve Shefter, 1986).

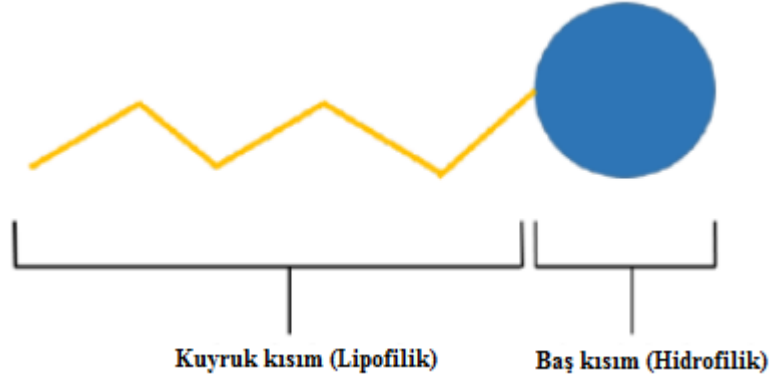
Cis-doymamış yağ asitlerinin (örn., Oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit), yayılma yolu uzunluğunu veya direncini etkili bir şekilde azaltan stratum korneum lipitleri içinde ayrı alanlar oluşturduğu ve bu şekilde stratum corneumda geçirgenliği arttırdığı bulunmuştur. Oleik asidin polar ve polar olmayan ilaçlar için etkili bir penetrasyon arttırıcısı olduğu bilinmektedir (Ongpipattanakul, Burnette ve Potts, 1991; Tanojo, Bowstra, Junginger ve Bodde, 1997; Barry, 1987). Yapıda çift bağların bulunmasının, cilt boyunca suyun geçişine izin vermek için lipit yapısında bükülmelerin oluşmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (Potts ve Francoeur, 1990). Doymuş (laurik, miristik ve kaprik asit) yağ asitleri de penetrasyon arttırıcı özelliğe sahiptir. Yağ fazı olarak laurik, miristik ve oleik asidin etil veya metil esterleri gibi yağ asidi esterleri de kullanılmıştır (Talegaonkar ve ark. 2008).

Mikroemülsiyonlarda, izopropil palmitat, izopropil miristat, etil oleat, izostearil izoasetat, setearil oktanat en çok kullanılan esterlere örnektir. Migritol 812, kaprik ve kaprilik asitin orta zincirli trigliseritleri gibi orta zincirli trigliseritler bir çok deriye uygulanan mikroemülsiyon formülasyonunda kullanılmıştır (Santos ve ark. 2008, D. Paolino ve ark. 2002; P. Špiclin ve ark. 2001; P. Špiclin ve ark. 2003; Valenta, K. Schultz 2004). Limonen, sineol, camphor and mentol gibi terpenlerin penetrasyonu arttırma özellikleri bulunmaktadır. Ayrıca transdermal formülasyonlarda gliserolün triasetik asit esteri olan triasetin (+)-(R)- monolein etil oleat da kullanılmıştır. Oktanol, dekanol, benzil alkol gibi alkollerde yaygın olmasa da kullanılmıştır (He, He ve Gao 2010).

2.5.2.2. Yüzey Aktif Madde (Süpfaktan)

Yüzey aktif madde (Süpfaktan), moleküler yapılarında hem hidrofilik (baş) hem de lipofilik (kuyruk) alanlarına sahip amfifilik maddelerdir (Şekil 2.4 Yüzey aktif maddenin gösterimi). Amfifilik yapıları sayesinde yüzey aktif maddeler, optimum

eğrilik ile damlacıkların etrafında deforme olabilen yeterli esnek bir film elde etmek için ara yüz gerilimini düşürerek karışmayan iki fazın karışmasını sağlar. Emülsifikasyon işlemi sırasında yağ-su arayüzünde hızla emilirler ve damlacıkların birikmesini önlerler (Pavoni ve ark. 2020).



Şekil 2.4: Yüzey aktif madde gösterimi

Seçilen yüzey aktif madde ara yüzey gerilimini düşürebilmelidir. Yüzey geriliminin düşmesi mikroemülsiyon hazırlanması sırasında dispersiyon işlemine yardımcı olarak damlacıkların etrafında kolayca deforme olabilen esnek bir film oluşturulmasını kolaylaştırır. İstenilen mikroemülsiyon tipine göre arayüzey bölgesinde doğru eğriliği sağlamak için uygun lipofilik karakterde olmalıdır. Seçilen terapötik maddeler için uygun çözündürme potansiyeline sahip olmalıdır. İstenilen uygulama yolu için kabul edilebilirlik zararsız olmaması da önemli bir parametredir. Yüksek oranda kullanılan yüzey aktif maddeler deri irritasyonuna sebep olabilir. Bu yüzden düşük miktarda kullanılması gerekmektedir.

Zamanla birlikte mikroemülsiyonlara olan ilginin artması ile birlikte geometrisini ve özelliklerini optimize etmeye yarayan modeller çalışıldı. En eski ve hala kullanılan modellerden birisi olan HLB kavramı, 1949'da griffin tarafından tanıtıldı. HLB, bir yüzey aktif madde molekülünün hidrofilik ve lipofilik kısımlarının büyüklüğünün ve gücünün dengesidir. Yüzey aktif maddenin HLB değeri surfaktanın seçiminde yarar sağlar. HLB ölçeği 0 ila 20 arasındadır. Genellikle düşük HLB değerine sahip yüzey aktif maddeler yağ içinde su formülasyonları için kullanılırken yüksek HLB değerine sahip yüzey aktif maddeler (>12) su içinde yağ mikroemülsiyonların oluşturulması için kullanılır. HLB değeri 20'den büyük olan yüzey aktif maddeler, mikroemülsiyon oluşumu için etkili HLB değerini azaltmak için kosurfaktan varlığını

gerektirmektedir (Y. Zheng ve ark. 2015; Ghosh ve Murthy 2006; Talegaonkar ve ark. 2009). 1976'da Israelachvili ve arkadaşları kritik paketleme parametresi (CPP) fikrini ortaya attılar. CPP sürfaktanın belirli agregatlar oluşturma kabiliyetini molekülün kendisinin geometrisi ile ilişkilendirmektedir. CPP formülü aşağıdaki gibidir;

$$CPP = V/a_0l,$$

a_0 : Baş kısmının alanı,

l : Hidrofobik kuyruk bölümünün uzunluğu,

v : Hacim

0-1 arası değerlerin olduğu değerler, su içinde yağ tipi, 1'den büyük değerlerde yağ içinde su tipi yapıların olduğu bilinmektedir. CPP'nin 1/3'ten küçük olması küresel yapılar oluşturma eğilimi gösterir, 1/2 civarı silindirik yapılar oluşabilir ve 1'e yakın değerler planar katman yapılarına eğilimi göstermektedir. Fakat bu parametre amfifilin doğal geometrisini tek başına göstermektedir. Hidrokarbon penetrasyonu ve yardımcı yüzey aktif madde varlığı yapıyı doğal eğiliminden tamamen değiştirebileceği gibi hidrokarbon kuyruk kısmına yağ penetrasyonu hidrofobik hacmi arttıracak böylece kritik paketleme parametresini arttıracaktır. Orta zincirli alkol içeren yardımcı yüzey aktif maddeler kritik paketleme parametresini düşürmektedir. Yüzey aktif maddenin konsantrasyonu ve oranı yapıda önemli rol oynamaktadır. Yüksek miktarda iyonik yüzey aktif maddeler yüksek miktarda iyonik güç sağlayacaklar ve polar baş kısmının azalmasına ve CPP değerinin düşmesine sebep olabilmektedir. Düşük miktarda yüzey aktif madde konsantrasyonu eklenmesi de faz ayrışmasına neden olabilmektedir (A.B.H. Susan ve ark. 2000, Tartaro ve ark. 2020).

Yüzey aktif maddeler elektrik yüklerine göre (i) non-iyonik, (ii) zwitter-iyonik, (iii) katyonik veya (iv) anyonik olarak sınıflandırılabilir. Yüzey aktif maddelerin elektriksel özellikleri, bir formülasyonun oluşumu ve stabilitesi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bu özellik, yüzey aktif maddenin polar baş kısmını sulu ortam ile stabilize edici mekanizmasını etkiler. Aslında, non-iyonik sürfaktanlar suyun hidrasyon tabakası ile dipol ve hidrojen bağı etkileşimleri ve sterik engelleme nedeniyle itici kuvvetler tarafından stabilize edilirken, iyonik yüzey aktif maddeler ayrıca elektrostatik etkileşimlerle stabilize edilir (Muzaffar ve ark. 2013).

Birçok noniyonik yüzey aktif madde, insan derisi uygulaması için güvenli kabul edilir ve genellikle noniyonik yüzey aktif maddeler daha az tahriş edici olarak kabul edilir. Tersine, anyonik yüzey aktif maddeler, insan ve hayvan derisine güçlü tahriş edici maddeler olarak kabul edilirken, katyonik yüzey aktif maddeler, anyonik ile eşit derecede tahriş edici, ancak anyonikten daha sitotoksik olduğu bilinmektedir (Santos ve ark. 2008).

Polisorbat (Tween 80 ve Tween 20), Lauromacrogol 300, Lesitinler, Desil poliglukosit (Labrafil M 1944 LS), Poligliseril-6 dioleat (Plurol Oleik), Dioktil sodyum sülfosüksinat (Aerosol OT), PEG-8 kaprilik / kapril gliserit mikroemülsiyon formülasyonlarında yaygın olarak kullanılan yüzey aktif maddelerdir (Padmini ve ark. 2011).

2.5.2.3. Yardımcı Yüzey Aktif Madde (Ko-sürfaktan)

Birçok durumda bir yüzey aktif madde mikroemülsiyon elde etmek için gerekli olan sifıra yakın yağ-su yüzey gerilimini yeterince azaltamaz. Yüzeyler arası gerilimi sifıra yaklaştırmak için amfifilik kısa zincirli molekül veya yardımcı yüzey aktif madde eklenmesini gerekir. Ayrıca, yardımcı yüzey aktif madde arayüzeydeki hidrokarbon bölgesinin akışkanlığını artırır sıvı kristal fazları bozar, sistemin entropisini artırarak arayüzey gerilimini daha da azaltabilir. Yardımcı yüzey aktif maddeler küçük damlacık boyutu sağladığı gibi, yüzey aktif madde tek katmanlı film tabakasına nüfuz ederek arayüze ilave akışkanlık kazandırır. Ayrıca sulu ve yağ fazları arasına da dağılır böylece sistemin lipofilikliğini de değiştirirler (Finnin ve ark. 1998, Lawrence ve Rees 2000, N. Laothaweerungsawat ve ark. 2020).

Kısa/orta zincirli alkoller genellikle mikroemülsiyon oluşumuna yardımcı olmak ve sistemin suda çözünme kapasitesini arttırmak için yardımcı yüzey aktif madde olarak kullanılır. Kısa orta zincirli alkoller hidrokarbon zincirine ve bir hidroksil grubuna sahip olan, amfipilik bir yapıya sahip küçük moleküllerdir. Alkollerin, bu fazlar arasında partiyonu nedeniyle sulu ve yağ fazlarının karışabilirliğini de artırabilir. Ayrıca hidrokarbon kuyruğunun hareketliliğini ve aynı zamanda yağ fazının bu bölgeye daha fazla nüfuzunu arttırırlar (Ghosh ve Murthy 2006, Talegaonkar ve ark. 2008).

Kısa zincirli alkollerden etanol, permeasyon arttırma amaçlı ile en çok kullanıldandır (Heard ve ark. 2006, Wormuth 1988). Etanol, etken maddenin çeşitli mekanizmalar yoluyla penetrasyonunu etkilemektedir. İlacın çözünürlüğünü arttırarak

permeasyon akısını artırır ve buharlaşması ile birlikte ilacın konsantrasyonunu artırarak geçiş için itici bir güç ile aşırı doymuş bir durum sağlayabilir (Cai-Xia 2010). 1-bütanol, dekanol, gliserol, propilen glikol, polietilen glikol türevi ve sorbitol yaygın olarak kullanılan alkollere örnek olarak verilebilir. Transkutol (dietilen glikol monoetil eter) toksik olmaması, cilt ile biyouyumlu ve üstün çözme özelliklerinden dolayı transdermal formülasyonlarda yaygın olarak kullanılır (Talegaonkar ve ark 2008, Williams ve Barry 2004).

Yüzey aktif madde/yardımcı yüzey aktif madde oranı, faz özelliklerini etkileyen önemli bir faktör olup, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddenin yağ/su ara yüzeyinde topaklanma farklılıklarına bağlıdır. Seçilen yüzey aktif madde, yardımcı yüzey aktif madde ve yağ fazına bağlı olacağından sabit bir oran belirlemek mümkün değildir. Bu açıdan bakıldığında en uygun kalitatif-kantitatif bileşimi bulmak için bir formülasyon çalışması yapılması gerekir. En çok kullanılan tarama aracı üçgen faz diyagramıdır. Üçgen faz diyagramlarıyla formülasyon bileşiminde bulunan maddelerin mikroemülsiyon oluşturduğu alanlar belirlenebilir (Kumar ve ark. 2015).

2.5.2.4. Sulu Faz

Genel olarak, su, mikroemülsiyonların çoğunda ve daha özel olarak dermal uygulama için sulu bir faz olarak kullanılır (Date ve Patravale 2007). Mikroemülsiyon formülasyonunda sulu fazda, suya ek olarak viskozite artırma ajanları, sodyum klorür, tampon tuzları, hidrofilik etken madde, koruyucu ve penetrasyon arttırıcıları içerebilir (Peltola ve ark. 2003. Peira ve ark. 2001, Jadhav ve ark. 2008).

Lesitin esaslı mikroemülsiyonlarda, sulu fazın pH'ının 7-8'e ayarlanması, mikroemülsiyonun pH'ını azaltabilen ve stabiliteyi etkileyebilen fosfolipitlerin ve trigliseridlerin yağ asitlerine hidrolizini en aza indirmek için de önemlidir (Date ve Patravale 2007).

2.5.3. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Diğer Formülasyonlara Göre Üstünlükleri

- Nano ve makroemülsiyonların aksine dışarıdan enerji gerekmezken kendiliğinden oluşurlar.
- Küçük damlacık boyutları, ilaç emilimi için yüzey alanı/hacim oranını artırarak gelişmiş biyoyararlanıma yol açar.

- Termodinamik olarak kararlıdır.
- Yüzey aktif maddeler ve yağ bileşenleri kolaylıkla temin edilebilir ve çoğunlukla formülasyon ekonomiktir.
- Hazırlanmaları kolaydır.
- Aynı mikroemülsiyon hem lipofilik hem de hidrofilik ilaçları taşıma kabiliyetine sahip olabilir.
- Mikroemülsiyonlar daha düşük viskoziteye sahiptir.
- Dağılan faz, lipofilik veya hidrofilik (y/s veya s/y mikroemülsiyonlar) ilaçların potansiyel bir rezervuarı olarak kabul edilebilir.
- Farklı uygulama yolları hedeflendirilerek hazırlanabilir (oral, dermal, transdermal, parenteral, oküler).
- Düşük veya yüksek sıcaklıkta kararsız hale gelebilirler, ancak sıcaklık stabilite aralığına döndüğünde mikroemülsiyon yeniden oluşur (Chauhan ve ark. 2019, Xavier ve ark. 2017, Callender ve ark. 2017).

2.5.4. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Dezavantajları

Mikroemülsiyonların termodinamik olarak stabil olmasının yanısıra yapısındaki sürfaktan oranı nanoemülsiyon gibi yapılara daha yüksektir. Mikroemülsiyonlarda ne kadar fazla sürfaktan varsa cilt tahrişi gelişme riski o kadar yüksektir. Bu durum toksisiteye neden olabilir. Bu yüzden sürfaktanlar, yalnızca belirli konsantrasyonlara kadar kabul edilebilir. Bu kural, toksisite gösteren belirli yağlar için de geçerlidir. Mikroemülsiyonların genel olarak çözündürme kapasitesi yüksektir fakat erime derecesi yüksek maddeler için çözme kapasitesi düşüktür. Mikroemülsiyonlar sıcaklık ve tuzluluk değişikliklerine duyarlıdır ve normalden daha yüksek veya daha düşük sıcaklıklara veya tuzluluk konsantrasyonlarına maruz kaldıklarında faz değişimleri gözlenebilir. Bu durum, mikroemülsiyonun 'kırılmasına' ve sonunda faz ayrılmasına yol açabilir (Nastiti ve ark. 2017; Callender ve ark. 2017; Chauhan ve ark. 2019; Neubert ve ark. 2011).

2.5.5. Mikroemülsiyonların Hazırlanma Yöntemleri

Mikroemülsiyonların hazırlanmasında faz titrasyon ve faz inversiyon yöntemleri kullanılabilir.

2.5.5.1. Faz Titrasyon Yöntemi

Mikroemülsiyonlar, kendiliğinden emülsifikasyon yöntemi (faz titrasyon yöntemi) ile hazırlanır ve faz diyagramı yardımıyla gösterilebilir. Kuaterner faz diyagramı (dört bileşenli sistem) zaman alıcı ve yorumlanması zor olduğundan, psödoterneer faz diyagramı (üçgen faz diyagramı), diyagramın her köşesinin belirli bileşenlerin % 100'ünü temsil ettiği mikroemülsiyon bölgesi dahil olmak üzere farklı bölgeleri bulmak için oluşturulur. Yağ, su ve yardımcı yüzey aktif madde/yüzey aktif madde karışımlarının psödoterneer faz diyagramları, sabit yüzey aktif madde/yüzey aktif madde ağırlık oranlarında oluşturulur. Faz diyagramları önceden tartılarak su ile titre edilecek bileşenlerin oda sıcaklığında iyice karıştırılmasıyla elde edilir. Görsel inceleme, tek fazlı/iki fazlı sistemin oluşumunu doğrulamak için kullanılır. Bulanıklığın ortaya çıkması ve ardından faz ayrılması durumunda, numuneler iki fazlı olarak kabul edilmektedir. Tek fazlı, berrak ve şeffaf karışımların karıştırıldıktan sonra görselleştirilmesi durumunda; numuneler faz diyagramında nokta olarak işaretlenmektedir. Bu noktaların kapladığı alan mikroemülsiyon oluşum bölgesi olarak kabul edilmektedir (Chauhan ve ark. 2019).

2.5.5.2. Faz İnversiyon Yöntemi

Mikroemülsiyonun faz dönüşümü, dispers olan fazın eklenmesiyle veya sıcaklığa tepki olarak gerçekleşebilir. Faz dönüşümü sırasında, hem *in vitro* hem de *in vivo* ilaç salınımını nihai olarak etkileyebilecek parçacık boyutundaki değişiklikler dahil olmak üzere ciddi fiziksel değişiklikler meydana gelir. Non-iyonik yüzey aktif maddeler için sistemin sıcaklığını değiştirerek, düşük sıcaklıkta bir su içinde yağ mikroemülsiyonundan daha yüksek sıcaklıklarda bir yağ içinde su mikroemülsiyonuna geçişi zorlayarak başarılabılır. Soğutma sırasında, sistem, ince bir şekilde dağılmış yağ damlacıklarının oluşumunu teşvik ederek, bir noktadan sıfır spontane eğriliği ve minimum yüzey gerilimini geçebilmektedir. Bu duruma sebep olarak sıcaklık dışında tuz konsantrasyonu veya pH değeri de düşünülebilir (Chauhan ve ark. 2019).

2.5.6. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

Mikroemülsiyonların hazırlanması kolay olsa da, yapılarını belirlemek yıllar içinde farklı teknikler kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu sistemleri tam olarak karakterize edebilmek için tek bir yöntem yerine, yöntemlerin birbirlerini tamamlayıcılığı gerekmektedir. Mikroemülsiyonların damlacık yapılarını belirlemede

elektron mikroskobu, Statik Işıık Saçılımı, (SLS), Dinamik Işıık Saçılımı, (DLS), Dar Açılı Nötron Saçılımı (SANS) ve Dar Açılı X-ray Saçılımı, Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) yöntemlerinin yanısıra ara yüzey gerilimi, damlacık boyutu ölçümü, elektriksel iletkenlik, viskozite ve faz ayrımı gibi karakterizasyon teknikleri de kullanılmaktadır. Bu karakterizasyon teknikleri, mikroemülsiyon sistemi hakkında önemli bilgiler sağlayabilmektedir (Lawrence ve Rees 2000; Gradzielski 2008).

Elektron mikroskobu ile teknikleri Schulman tarafından mikroemülsiyon tanımlanmasında kullanılmıştır. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) nano yapıları tespit etmek için kullanılmaktadır (Acharya ve Hartley 2012).

Elektriksel iletkenlik ölçümleri, mikroemülsiyon sistemlerinin yapısı ve faz davranışı ile ilgili değerli bilgiler sağlayabilir. Mikroemülsiyonun sürekli fazın hangisi veya hangileri (y/s, s/y, bicontinuous) olduğu hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca bileşimde ve sıcaklıktaki değişimlerden kaynaklanan faz sınırları hakkında da bilgi vermektedir. Su içinde yağ tipi mikroemülsiyonların elektriksel iletkenliği yağ içinde su tipi mikroemülsiyonlara göre daha yüksektir (Alany ve Wen. 2010).

Foton korelasyon spektroskopisi olarak da bilinen DLS, ile boyut dağılımı ve standart sapmanın ortalama damlacık boyutuna oranı olan polidispersite indeksini elde etmek mümkün olabilir. Bu yöntem basittir ve deney süreleri kısadır (Volpe ve ark. 2020). Mikroemülsiyon sistemlerinin viskozitesi de yapısal değişikliklere duyarlıdır ve genellikle newton tipi akışı göstermektedir. Mikroemülsiyonun düşük viskozitesi, genel yapının akışkan karakterini yansıtır ve bu, çoğu mikroemülsiyon uygulaması için uygun bir özelliktir (Alany ve Wen. 2010).

2.5.7. Mikroemülsiyonların Dermal-Transdermal Çalışmaları

Dermal uygulama sistemleri etken maddeyi deride lokalize ederken, transdermal sistemler etken maddeyi deri yoluyla kan dolaşımına verir. Transdermal dağıtım sistemleri, daha uzun etki süresi nedeniyle dozlama sıklığını azaltabilir, karaciğerdeki ilk geçiş etkisini elimine etme özelliklerinden dolayı ilaçların biyoyararlanımını iyileştirmek için kullanılabilir (Sapra ve ark. 2013).

Mikroemülsiyonlar geleneksel emülsiyon sistemlerinden farklı olarak termodinamik olarak kararlıdır. Emülsiyonlar ise kararsızdır ve zamanla faz ayrımı

eğilimi gösterir. Mikroemülsiyonların hazırlanması, tekdüze bir dispersiyon oluşturmak için yalnızca minimum karıştırma gerektirir. Emülsiyonlara oranla düşük yüzey gerilimine sahiptir. Mikroemülsiyonları bir dozaj formu olarak seçmenin bir avantajı, dispersiyonun raf ömrü gereksinimlerini karşılamak için hiçbir ek çabanın gerekmemesi ve uzun raf ömrüdür. Üstelik, lipofilik ilaçların çözünürlüğü, yüksek seviyelerdeki yüzey aktif madde/yardımcı yüzey aktif madde nedeniyle önemli ölçüde artırılabilir. Ayrıca dispersiyonların mikroyapısı, çözünürlüğün artmasına katkıda bulunur. Ek olarak, birçok yayın mikroemülsiyonlardan elde edilen etken maddelerin artmış biyoyararlanımını bildirmiştir (Ita 2017).

Mikroemülsiyonlar ile dermal-transdermal olarak 2017 – 2020 yılları arasında literatürde kayıtlı çalışmaların bazıları aşağıda özetlenmiştir.

F.Paca ve arkadaşları akut cilt iltihabını azaltıcı etkide % 0.05 A ve % 0.1 E vitamini içeren yağ içinde su tipinde mikroemülsiyon sistemi geliştirmişlerdir. Formülasyonda yağ fazı olarak izopropil miristat, sürfaktan olarak tween 80, kosürfaktan olarak propilen glikol kullanılmıştır. *İn vitro* salım çalışmasında domuz derisi kullanılırken hücre kültürü çalışmasında da fare fibroblastları ve insan keratinosit hücre hatları kullanılmıştır. *İn vivo* olarak 12-O-Tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA) kaynaklı hücre inflamasyonu çalışması için fare derisi kullanılmıştır. Sonuç olarak geliştirilen mikroemülsiyonların hücre toksisitesine neden olmadığı, çeşitli inflamatuvar deri hastalıkları için E ve A vitamini içeren mikroemülsiyonların kullanılma potansiyeli olduğu belirtilmiştir (Praça et al. 2020).

V.volpe ve arkadaşları topikal ve intranazal kullanıma yönelik staphylococcus aureusa etkili siproflaksasin içeren su içinde yağ tipinde mikroemülsiyon sistemi geliştirmişlerdir. *İn vitro* salım ve *in vivo* etkinlik çalışmaları yapılmıştır. *İn vitro* salım çalışmasında selüloz asetat membranı kullanılmıştır. *İn vivo* çalışmada antibakteriyel ve antibiyofilm aktivitelerine yönelik değerlendirme yapılmıştır. Sonuç olarak, izopropil miristat, tween 80 ve etil alkolden hazırlanan mikroemülsiyon, burun kolonizasyonunda ve deri enfeksiyonunda S. aureusun önemli derecede azalmasına neden olduğunu tespit etmişlerdir (V.volpe ve ark. 2020).

Das ve arkadaşları (%1) ivermektin yüklü su içinde yağ tipinde mikroemülsiyon ve mikroemülsiyon jel geliştirmişlerdir. Hazırlanan mikroemülsiyonlar damlacık boyutu, polidispersite indeksi, mikroskopik görüntüleme ve miktar tayini yöntemi

bakımından değerlendirilmiştir. Jel tipi mikroemülsiyonların mikroemülsiyonlara göre daha iyi stabilite gösterdiği gözlenmiştir. Salım çalışmasında jel tipi mikroemülsiyonlar referans ürüne (%1 ivermektin krem) göre daha iyi permeasyon göstermişlerdir. Sonuç olarak geliştirilen mikroemülsiyon ve jel tipi mikroemülsiyon ivermektinin topikal ilaç uygulaması için iyi bir taşıyıcı olduğunu göstermektedir (Das ve ark. 2020).

Ryu ve arkadaşları Koenzim Q10 yüklü mikroemülsiyon geliştirmişlerdir. Mikroemülsiyon bileşenleri izopropil miristat, kremophor EL ve transcitol HP kullanılarak hazırlanmıştır. Km değeri 2:1 olan mikroemülsiyonun keratinostilerde ve fibroblastlarda yara iyileştirici etkide olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak Koenzim Q10 yüklü IPM, kremohor EL, ve transcitol HP içeren mikroemülsiyonun dermal uygulamada iyi birer taşıyıcı olduğunu göstermektedir (Ryu ve ark. 2020).

Yoon ve arkadaşları Glochidion wallichianum yaprak ekstralerinden antioksidan özelliği olan mikroemülsiyon geliştirmişlerdir. Farklı oranları bulanan yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktan içeren mikroemülsiyonlar hazırlanmıştır. Sürfaktanının ko-sürfaktana optimum oranı ve bileşimi etken maddenin salınımını veya deriden geçişini etkileyebildiğini göstermişlerdir (Yoon ve ark. 2020).

Laothaweerungsawat ve arkadaşları analjezik ve antienflamatuvar etkisi olan karvakrol içeren mikroemülsiyon geliştirmişlerdir. Origanum vulgare uçucu yağı karvakrol açısından zengindir ve yağ fazı olarak kullanılmıştır. Optimum mikroemülsiyon origanum vulgare uçucu yağı, tween 60, bütlen glikol ve deiyonize sudan oluşmaktadır. Mikroemülsiyonlar fiziksel görünüş, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyel, elektriksel iletkenlik, refraktif indeks, viskozite, iletkenlik, pH, stabilite açısından karakterize edilmiştir. Mikroemülsiyonların tahriş etme potansiyelini tavuk yumurtası-koryoallantoik membrane testi ile araştırılmıştır. İnterlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), enzim bağımlı immünosorbent testi kullanılarak araştırılmıştır. Sonuç olarak origanum vulgare yağı ve karvakrol içeren mikroemülsiyonun interlökin (IL-6) inhibisyonunu önemli ölçüde arttırdığı ve karvakrolün transdermal iletimi ve anti-enflamatuvar aktivitelerini arttırması için kullanımı önerilmiştir (Laothaweerungsawat ve ark. 2020).

Monton ve arkadaşları oral kandyazis tedavisinde etkili karanfil yağı içeren mikroemülsiyon hazırlamışlardır. Karanfil yağı, Tween 80, PEG 400 (içeren ve içermeyen), sudan oluşan formülasyonlar hazırlanmıştır. Tüm formülasyonlar 90 gün

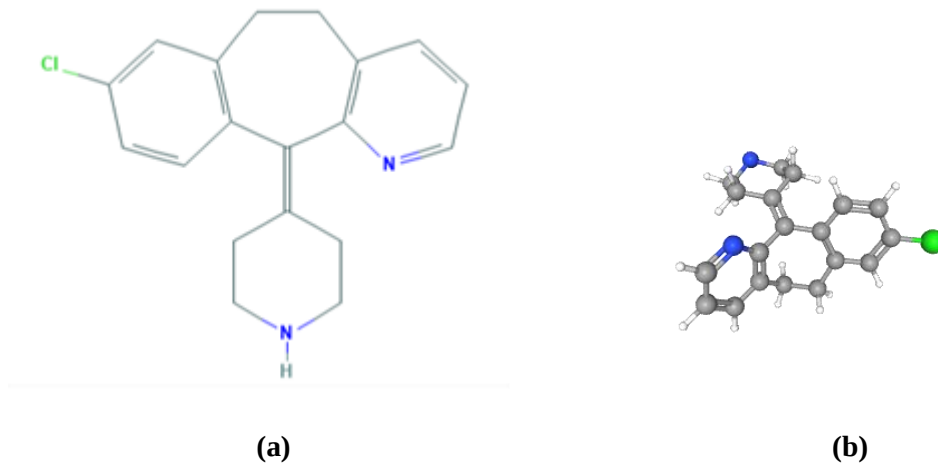
boyunca *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivite göstermiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada geliştirilen karanfil yağı mikroemülsiyonu içeren oral sprey oral kandidiyazis tedavisinde kullanılabileceği önerilmiştir (Monton ve ark. 2020).

El Khayat ve arkadaşları indometazinin transdermal uygulaması için mikroemülsiyon geliştirmişlerdir. Sürfaktan olarak Tween 80, kosürfaktan olarak polietilen glikol ve etanol kullanılmıştır. İndometazinin *in vitro* salım hızının test edilen formülasyon bileşimine bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Polietilen glikol esaslı sistemden daha düşük bir viskoziteye sahip olan etanol esaslı sistem ilacı daha düşük bir oranda salım yaptığı tespit edilmiştir. Daha düşük viskoziteye daha yüksek bir salım hızına yol açtığı için sonuç beklenmemektedir (El Khayat ve ark. 2018).

2.6. Desloratadin Hakkında Genel Bilgiler

2.6.1. Desloratadinin Özellikleri

Desloratadin beyaz veya beyaza yakın tozdur. Suda az çözünür, fakat propilen glikol ve etanolde çok çözünen bir maddedir. Aynı zamanda loratadinin aktif metaboliti olan desloratadin, reseptöre bağlanma ve güvenlik profili olarak loratadine benzemektedir. Yapı olarak loratadinden farkı piperidin halkasına bağlı etoksikarbonil grubunun hidrojen ile yer değiştirmesidir. Desloratadinin kimyasal yapısı ve 3D gösterimi Şekil 2.5 (Desloratadinin kimyasal yapısı (a) ve 3D gösterimi (b) genel bilgileri) ve Tablo 2.2 (Desloratadinin genel bilgileri) gösterilmiştir (Chemicalbook,desloratadine, pubchem,desloratadine, drugbank, delsoratadine).



Şekil 2.5: Desloratadinin kimyasal yapısı (a) ve 3D gösterimi (b)

Tablo 2.2: Desloratadinin genel bilgileri

Molekül formülü	C ₁₉ H ₁₉ ClN ₂
IUPAC Adı	13-kloro-2-piperidin-4-ylidene-4-azatrisiklo[9.4.0.0 ^{3,8}]pentadeka 1(11),3(8),4,6,12,14-hegzan
Moleküler ağırlık	310,8
CAS Kayıt no	100643-71-8
Log P değeri	3,97
Erime noktası:	150 °C
Kaynama noktası	467,9 °C
Sudaki çözünürlük değeri	0.00395 mg/mL

2.6.2. Desloratadinin Tanımı ve Tarihçesi

Desloratadin uzun etkili, piperidin türevi bir antihistaminiktir. Histamin H₁ reseptörlerine seçici bağlanırken H₂ ve muskarinik reseptörlere afinitesi düşüktür. Kan beyin bariyerini aşmadığı için diğer geleneksel H₁ reseptör antagonistlerinde santral sinir sisteminde görülen yan etkiler daha azdır. Alerjik rinit, nazal konjesyon, kronik idiyopatik ürtiker, böcek sokmalarına bağlı dermatit ve solar dermatit tedavisinde kullanılmaktadır. Aralık 2001 tarihinde Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onay almıştır. Daha sonraki yıllarda kronik idiyopatik ürtiker ve perineal alerjik rinit için ek endikasyon onayları almıştır (Dubuske L.M. 2012, Murdoch ve ark. 2003, Geha R.S. ve Meltzer E.O. 2001, Levi A ve Enk. C.D. 2015).

2.6.3. Etki Mekanizması

Desloratadin seçici periferik histamin H₁ reseptör antagonistidir. Reseptör bağlanma veriler 2-3 ng/ mL konsantrasyonda desloratadinin insan H₁ reseptörü ile önemli etkileşim göstermektedir. Kan-beyin bariyerine giremeği için sedatif özelliği bulunmamaktadır. Desloratadin, *in vitro* çalışmalardan antihistaminik özellikler göstermiştir. Bunlar, IL-4, IL-6, IL-8 ve IL-13 gibi proinflamatuvar sitokinlerin insan mast hücrelerinden / bazofillerden salınmasının inhibe edilmesini ve ayrıca endotelial hücreler üzerinde adezyon molekülü P-selektinin salınımının inhibisyonunu içermektedir (Geha ve Meltzer 2001).

2.6.4. Farmakodinamik Özellikleri

Desloratadinin farmakodinamik özellikleri ile ilgili reseptöre bağlanma, antihistaminik, antiinflamatuvar etkileri *in vitro* ve *in vivo* olarak birçok çalışma yapılmıştır ve literatürde kayıtlıdır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Desloratadinin H₁ reseptör antagonisti olan loratadin ile karşılaştırıldığı bir çalışmada desloratadin guinea piglerde ovalbümine antijen yüklemesinden sonra doza bağımlı olarak öksürük sayısını azaltmıştır. Bu çalışmada desloratadin loratadinden 3 kat daha etkilidir. Ek olarak oral desloratadinin guinea piglerde loratadinin kabarıklık ve alevlenmeyi inhibe etmekten 2-3 kat güçlü olduğunu belirtmiştir.

Desloratadin histamin ile indüklenen fare pençe ödemi inhibe etmede loratadinden 4 kat daha güçlü olduğu ve histamin yüklemesine bağlı kobay nazal yanıtlarını azaltmada loratadinden 10 kat daha etkili olduğu bulunmuştur. Guinea piglerde desloratadin letal histamin dozlarına karşı loratadine göre daha fazla koruma sağladığı bulunmuştur (Kreutner ve ark. 2000).

Desloratadinin antiinflamatuvar etkilerine yönelik bir çalışmada desloratadinin (1-10 µmol / L) *in vitro* insan bazofilleri tarafından hem IgE aracılı hem de IgE aracılı olmayan IL-4 ve IL-13 oluşumunu inhibe ettiğini göstermiştir (Murdoch ve ark. 2003).

2.6.5. Farmakokinetik Özellikleri

Oral tablet uygulamasından sonra desloratadin hızla emilmektedir. Maksimum konsantrasyona yaklaşık 3 saat sonra ulaşmaktadır. Sağlıklı insanlarda 5-20 mg arasındaki tek doz aralığında absorpsiyonu doğrusallık göstermektedir. Çoklu ve tek doz farmakokinetik profilleri genellikle benzerdir. Oral 5 mg/gün ile tedavide kararlı durum

plazma konsantrasyonuna yedinci günde ulaşır. Oral 5 mg dozun terminal yarılanma ömrü 27 saattir. Yiyecekler oral biyoyararlanımını önemli ölçüde değiştirmemektedir (Murdoch ve ark. 2003).

Sağlıklı gönüllülerde 10 gün süreyle günde bir kez oral 5 mg desloratadin uygulamasından sonra, ortalama 3.17 saatte ortalama tepe plazma konsantrasyonu (C_{max}) 3.98 µg/L elde edilmiştir. 24 saate kadar plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki ortalama alan 56,9 µg.sa/L'dir. Desloratadinin yaklaşık % 82-87'si plazma proteinlerine bağlanır. 3-hidroksi desloratadinin plazma proteinlerine bağlanma oranı daha yüksektir (% 85-% 89) (Murdoch ve ark. 2003).

Desloratadinin temel metaboliti karaciğerde metabolize olan 3-hidroksi desloratadindir. Ancak daha az miktarlarda 5-OH, 6-OH ve dihidroksi desloratadin metabolitleri de oluşmaktadır. Bu metabolitler karaciğerde etkisiz hale gelmektedir. Desloratadinin 3-hidroksidesloratadine dönüşümünde rol oynayan enzim yolu bilinmemektedir. Bir çalışma, 3-hidroksidesloratadininden 3-hidroksi desloratadin glukuronidin in vitro oluşumunun insan karaciğerinde üridin difosfat glukuronotransferaz (UGT) 1A1, UGT1A3 ve UGT2B15 aracılığıyla gerçekleştiğini göstermiştir (Devillier ve ark. 2008). Afrikalı Amerikalılarda yaklaşık %20 ve genel popülasyonun % 6-7'si desloratadini yavaş metabolize etmektedir. Yavaş metabolize edenlerde desloratadinin biyoyararlanımı artmaktadır. Radyo-işaretli desloratadinin dozunun yaklaşık olarak %85'i metabolitler halinde idrar (%40) ve dışkıdan (%45) atıldığı gösterilmiştir (Murdoch ve ark. 2003).

2.6.6. Yan Etkileri ve İlaç Etkileşimleri

Desloratadinin piyasada tablet ve şurup formülasyonları bulunmaktadır. Oral formülasyonlarında yaygın olarak görülen yan etkiler boğaz ağrısı, ağız kuruluğu, kas ağrısı, yorgunluk, uyku hali ve menstriasyon ağrısıdır.

Klinik çalışmalarda oral kullanılan desloratadinin sitokrom p450 inhibitörü olan ketokonazol, eritromisin veya azitromisin ile birlikte uygulanmasının desloratadinin ve ana metaboliti olan 3-hidroksi desloratadinin plazma konsantrasyonlarında artışa yol açtığı ortaya çıkmıştır. Desloratadinin seçici bir serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) olan fluoksetin ile birlikte uygulanması, desloratadin ve ana metaboliti olan 3-hidroksidesloratadinin plazma konsantrasyonlarında artışa neden olmuştur. Desloratadinin bir histamin H_2 -reseptör antagonisti olan simetidin ile birlikte

uygulanması, desloratadin ve ana metaboliti olan 3-hidroksidesloratadinin plazma konsantrasyonlarında artışa neden olmuştur (Murdoch ve ark. 2003, Henz, 2001, Murdoch ve ark. 2003, Geha R.S. ve Meltzer E.O. 2001).

2.6.7. Desloratadin ile İlgili Yapılan Farklı Çalışmalar

Desloratadinin günümüzde tablet, şurup ve oral çözelti formülasyonları bulunmaktadır. Oral tedavide görülen dezavantajların üstesinden gelmek, alternatif uygulama yollarının üstünlüğünü sağlamak, farklı etkileri üzerine çalışmak ve oral yoldan veya alternatif yollardan biyoyararlanımı arttırma gibi stratejileri içeren birçok çalışma yapılmıştır ve literatürde kayıtlıdır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Ma. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan desloratadinin mesane kanserine yönelik antikanser etkileri *in-vitro* olarak incelenmiştir. Çalışmada hücre kültürü olarak insan mesane geçiş hücreli karsinomu, insan endometrial adenokarsinomu hücreleri kullanılmıştır. Desloratadin doza bağımlı olarak bu hücrelerin canlılığını inhibe etmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada desloratadinin mesane kanserine yönelik antikanser etkilerinin olabileceğini belirtmiştir (Ma, J. ve ark. 2020).

Hoffman ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada desloratadinin insan epidermal hücreleri üzerindeki potansiyel antiinflamatuvar etkileri incelenmiştir. Çalışmada deriden keratinosit kültürleri alınmıştır. Desloratadinin varlığında ve yokluğunda interferon ile aktive edilmiştir ve CXCL8 salınımı, RANTES açısından değerlendirilmiştir. Doza bağımlı olarak CXCL8 ve RANTES salınımını inhibe etmiştir. Ek olarak doza bağımlı olarak T-yardımcı (TH)1 ve TH2 hücrelerinin interferon-gama ile uyarılan keratinositlere göçünü azaltmıştır ve interferon-gama ile indüklenen kemoatraktanların salınmasını inhibe etmiştir. Bu çalışmalarda sitokinlerin inhibisyonu için gerekli desloratadin konsantrasyonu tipik bir 10 mg/gün dozdan daha fazla olabileceğini belirtmiştir (Hoffman ve ark. 2006).

Hou ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada loratadin ve desloratadinin şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüsü-2 (SARS-COV-2) üzerindeki etkileri *in-vitro* olarak incelenmiştir. İnsan embriyonik böbrek hücreleri kullanılan çalışmada desloratadinin loratadine kıyasla daha etkili olduğu gözlenmiştir. Ek olarak hücre bağlanma deneyleri yapılmıştır. Her iki etken maddeninde anjiyotensin dönüştürücü enzim-2 (ACE-2) bağlanabilirliğinin olduğunu ve desloratadinin bağlanma

afinitesinin loratadine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Moleküler doking sonuçları da her iki etken maddenin SARS-COV-2 bağlanma alanının arayüzünde ACE-2'ye bağlanabileceğini açıklamaktadır. Sonuç olarak loratadinin ve desloratadinin SARS-COV-2 virüsünün anjiyotensin dönüştürücü enzime bağlanmasını bloke ederek virüsün hücreye girişini önleyebileceğini göstermiştir (Hou ve ark. 2021).

Frietz ve arkadaşları H₁ antihistaminiklerin meme kanseri mortalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada 2006-2013 yılları arasında 6 farklı H₁-antihistaminik (setirizin, klemastin, desloratadin, ebastin, feksofenadin ve loratadin) kullanımının 61.627 isveçli kadın arasında meme kanserine özgü genel mortalite üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Desloratadin, ebastin ve loratadin alan kadınlarda meme kanserinde sağkalım iyileşme gözlenmiştir. Diğer antihistaminik kullananlarda da hayatta kalma oranı kullanmayanlara göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Frietz ve ark. 2020).

US 2007/0280972 A1 numaralı çalışmada adhesif katı jel formülasyonu geliştirilmiştir. Desloratadinin diğer antihistaminikler ile kombinasyonunun kaşıntıyı azaltabileceği ayrıca ağrı kesici etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir (<https://patents.google.com/patent/US20070280972A1/en?q=US+2007%2f0280972+>).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bütanol (Merck)

Capryol 90 (Propilen glikol monokaprilat) (Gattefose)

Desloratadin (Neutec İlaç) (Hediye)

Etanol (Merck)

Kollicream IPM (İzopropil miristat) (BASF)

Kolliphor EL (Polioksil kastor yağı) (BASF)

Kollisol v PEG 400 (Polietilen glikol) (BASF)

Kolliphor RH 40 (Makrogol-gliserolhidroksisterat) (BASF)

Labrafil M 1944 CS (Oleil makrogol 6-gliserit) (Gattefose)

Labrasol (Kaprilokaproil makrogol 8-gliserit) (Gattefose)

Maisine CC (Gliserol monolinoleat) (Gattefose)

Metanol HPLC grade (Merck)

Oleik Asit (Sigma Aldrich)

Peceol (Gliserol mono-oleat (Tip 40)) (Gattefose)

Phospholipon 90 G (Lipoid)

Propilen glikol (Merck)

Solutol HS 15 (Makrogol 15-hidroksistearat) (BASF)

Triasetin (BASF)

Tween 20 (Polisorbat 20) (BASF)

Tween 80 (Polisorbat 80) (BASF)

TPGS (D- α - tokoferol polietilen glikol 1000 süksinat) (BASF)

Transkutol P (Dietilen glikol monoetil eter)

Ultra saf su

3.1.2. Kullanılan Aletler

Franz Difüzyon Sistemi (PermeGear, VA Strirrer)

UV Spektrofotometresi (Shimadzu, Model 1601)

Partikül Boyutu Ölçüm Aleti (Malvern Zeta sizer-Nano ZS)

Ultrasonik Banyo (Bersonic)

Terazi (Denver Instruments, TB-Series)

Miligram Terazisi

Santrifüj Cihazı (Hettich, D-7200, Type 2041)

Manyetik Karıştırıcı (IKA-Werke, R 15)

pH metre/Kondüktometre (Eutech Instruments, PC 2700)

Viskozimetre (Brookfield R/S Plus SST)

Distile Su Aleti (Elga, Pure Lab Flex)

Nutche Erleni Süzme Sistemi (Sartorius D-3400)

Refraktometre (Abbe 5 Refraktometre B + S Code: 44-571)

Ultrasonik Banyo (Bersonic)

Stabilite Kabini (Nüve kabini)

3.1.3. Kullanılan Malzemeler

0,45 µm membran filtre (HVLP)

Cam Malzemeler (Erlen, Balon joje, Beher, Mezür, Petri kutusu, Cam şişe)

Ependorf Tüpleri (1,5 – 2 mL)

Parafilm

Pastör pipeti

Pens

Mikropipet ve uçları

Tartım kağıdı

Makas

Spatül

Kullan-at tipi zeta-sizer küveti



3.2. Yöntem

3.2.1. Desloratadinin IR Spektrumu

Desloratadinin IR Spektrumu taraması için ATR-FTIR spektrometresi (Perkin Elmer Zn Spectrum One) kullanıldı. ATR-kristaline toz desloratadin yerleştirildi. 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında 100 N kuvvet uygulayarak 4 cm^{-1} çözünürlükle spektrum alındı.

3.2.2. Desloratadinin UV-Vis Spektroskopisi ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi

Desloratadinin çözünürlük çalışmasındaki miktar tayinini belirlemek üzere UV-Vis spektroskopisi cihazı kullanıldı. Toz desloratadin metanole eklendi ve UV-Vis spektroskopisi dalga boyu taraması yapıldı. Ayrıca taranan dalga boylarına yönelik literatür araştırması yapıldı. Taranan dalga boyu ile literatürdeki dalga boyları karşılaştırıldı. Bu çalışmada literatürde kayıtlı olan UV-Vis spektroskopisi yöntemi kullanıldı. Okuma 242 nm dalga boyunda metanole karşı yapıldı (Roge ve ark. 2019).

3.2.3. Desloratadinin UV-Vis Spektroskopisi ile Miktar Tayini Yönteminin Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu)

Analitik yöntemin validasyonu, belirli bir analiz yönteminin performans özelliklerini, amaçlanan analitik uygulamada, gereksinimleri laboratuvar koşulları ile karşıladığını göstermek için yapılan işlemlerin tamamıdır (USP XXIII/NF). UV-VIS spektroskopisi miktar tayini yöntemi validasyonu çalışması için doğrusalılık, doğruluk, kesinlik, teşhis limiti, miktar tayini limiti, stabilite analitik parametreleri kullanılmıştır.

3.2.3.1. Doğrusallık

Analitik bir yöntemin doğrusalılığı, numunedeki analit konsantrasyonunun miktarı ile belirli bir aralıkta test sonuçlarının doğru orantılı olarak elde edilmesidir. Standart stok çözeltisinin seyreltilmesi ile elde edilebilir. Doğrusallığın oluşturulması için minimum 5 farklı konsantrasyon gereklidir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)). Doğrusallık çalışması kapsamında çalışmamızda 2.5, 5, 10, 12.5, 15, 20 $\mu\text{g/mL}$ desloratadin içeren 6 farklı konsantrasyon üzerinde çalışılmıştır.

10 mg toz desloratadin miligram terazisinde tartıldı. 50 ml'lik balon jojeye eklendi. Metanol ile 50 mililitreye tamamlandı. Stok çözeltisinin konsantrasyonu 200

$\mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi. Stok çözeltisi vortekste beş dakika boyunca karıştırıldı. Stok solüsyonundan 1,0, 0,75, 0,625, 0,5, 0,25 mL hacimlerinde alınarak 10 mL'lik balon jöjelere aktarıldı. 10 mL'lik balon jöjelerde metanol ile hacmine tamamlandı. Balon jöjelerin ağız kısmı parafilm ile sıkıca kapatıldı. Her bir balon jöje vortekste 5 dakika boyunca karıştırıldı. Spektrofotometrenin küveti metanol ile sıfırlandı. Daha sonra küvet farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözelti ile doldurularak konsantrasyona karşı 242 nm'de absorban değerleri ölçüldü.

Her bir konsantrasyon için ölçülen absorban değerlerinin ortalaması alınarak standart eğri grafiği çizildi. Grafiğin doğru denklemi hesaplandı. Grafiğin tayin katsayısı (r^2), standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri hesaplandı.

3.2.3.2. Doğruluk

Analitik bir yöntemin doğruluğu ölçülen değer ile referans değer arasındaki yakınlığı ifade etmektedir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)). Kullanılan analitik yöntemin doğruluğunu belirlemek için, farklı yağların en yüksek derişimleri içeren Plasebo 1 (Maisine CC, Labrasol, Etanol) ve Plasebo 2 (Oleik asit, Labrasol, Etanol) hazırlandı. Geri kalan miktar ise su olarak belirlendi. Plasebo formülasyonları oranları Tablo 3.1'de gösterilmektedir. Doğrusallık çalışmasında yapıldığı gibi stok ve ara stok çözeltisi hazırlandı.

Tablo 3.1 : Plasebo formülasyonundaki kullanılan maddelerin yüzde tablosu

Birim Formül	Plasebo 1	Plasebo 2
Desloratadin	-	-
BHA	0,1	0,1
Maisine CC	20	-
Oleik Asit	-	7
Labrasol	39	47,2
Etanol	17,33	14,5
Su	23,57	31,2

Her bir plasebo formülasyon için 10 ml'lik balon jojelere 5-10-15 µg/ml konsantrasyonları sağlayacak şekilde sırasıyla 0,25-0,5-0,75'er ml stok çözelti ve 0,005-0,01-0,015'er g plasebo formüller ilave edildi. Balon jojeler metanol ile hacimlerine tamamlandı. Aynı işlem reseptör faz ile gerçekleştirilen numuneler içinde yapıldı. Numuneler 5 dakika vortekslenildi ve enjektör ucu filterlerinden süzüldü. Analiz işlemi Yöntem 3.2.3.1'deki gibi yapıldı. Çalışma 3 kez tekrarlandı. Konsantrasyonlar doğru denklemi yardımıyla belirlendi ve desloratadin için geri kazanım değerleri bulundu.

3.2.3.3. Kesinlik

Analitik bir yöntemin kesinliği belirtilen koşullarda aynı homojen örneğin birden fazla örneklenmesinden elde edilen ölçümlerin birbiri arasındaki benzerliğin yakınlığı olarak ifade edilmektedir. Genellikle bir dizi ölçümün varyansı, standart sapması veya varyasyon katsayısı olarak ifade edilir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)). Doğrusallık çalışmasında belirtildiği gibi, ana stok çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 2.5, 5, 10, 12.5, 15, 20 µg/mL desloratadin konsantrasyonlarında çalışıldı.

3.2.3.3.1. Gün içi Kesinlik

Desloratadinin 2.5, 5, 10, 12.5, 15, 20 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlandı. Her bir konsantrasyondan üçer adet hazırlandı. 242 nm dalga boyuna karşı absorbans verdiği değerler ölçüldü. Ölçümlerin ortalaması, standart sapması, bağıl standart sapması hesaplandı.

3.2.3.3.2. Günler arası Kesinlik

Gün içi kesinlik çalışmalarında yapılan ölçümler 1.gün olarak değerlendirildi. Gün içi kesinlik çalışmasında belirtilen ölçümler 2. ve 3.gün içinde tekrarlandı.

3.2.3.4. Teşhis Limiti (TL) ve Miktar Tayini Limiti (MTL)

Analitik bir yöntemin miktar tayini limiti, bir numunedeki uygun hassasiyet ve doğrulukla kantitatif olarak belirlenebilen en düşük analit miktarıdır. Analitik yöntemin teşhis limiti ise, bir numunedeki ölçülebilen en düşük analit miktarıdır (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)).

3.2.3.5. Numunlerin Stabilitesi

Analiz süresi boyunca desloratadinin stabil olduğundan emin olmak için stabilite çalışması yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında Yöntem 3.2.3.1’de anlatıldığı gibi desloratadinin 5, 10 ve 15 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlandı ve buzdolabında stabiliteye bırakıldı. Stabiliteye bırakılan numuneler için 0, 24 ve 48. saatlerinde herhangi bir değişiklik olup olmadığını belirlemek için UV spektroskopisinde etken madde miktar tayini yapılmıştır.

3.2.4. Desloratadinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Miktar Tayini Yöntemi

Desloratadin yüklü mikroemülsiyonlar için yapılacak olan *in vitro* salım çalışmasında desloratadinin miktar tayini analizi için Avrupa Farmakopesine kayıtlı HPLC yöntemi bir miktar değiştirilerek kullanılmıştır. Kullanılan HPLC yöntemi aşağıdaki gibidir. Analizlerde 4,6 x 150 mm boyutunda 5 µm partikül boyutuna sahip C18 (Merck LiChroCART®, c18 4,6 150 cm 5 µm) kolonu kullanılarak, 280 nm dalga boyunda çalışıldı. Kolon sıcaklığı 35 °C, Akış hızı 1.5 ml/dk, enjeksiyon hacmi 100 µl olarak belirlendi. Bu koşullara göre etkin madde olan desloratadinin retensiyon zamanı 9. dk olarak belirlendi (Avrupa Farmakopesi (EP), 2021).

Mobil faz hazırlanması: Mobil faz olarak tampon:asetonitril (ACN) 53:47 (h:h) karışımı kullanıldı. Tampon bileşimi: 0.865 g sodyum dodesil sülfat ve 0,5 ml trifloroasetik asit 1000 ml’ye HPLC grade su ile tamamlandı. pH değeri 2.45 olarak ölçüldü. Manyetik karıştırıcıda karışım 15 dakika karıştırıldı, 15 dakika degaze edildikten sonra sisteme verildi (Avrupa Farmakopesi (EP), 2021).

3.2.5. Desloratadinin Miktar Tayini Yönteminin (HPLC) Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu)

Bir yöntemin validasyonu (geçerli kılınması) yöntemi geliştirici tarafından istenen amacına yönelik güvenilirliği, doğruluğu ve kesinliği açısından test edildiği ve uygulanabilir olduğunu gösteren süreçtir (FDA Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods, 1994, ISO 9000:2000). Salım çalışmasında kullanılan validasyon parametreleri aşağıdaki gibidir:

- Doğrusallık
- Doğruluk

- Kesinlik (Gün içi ve günler arası kesinlik)
- Seçicilik
- Tekrarlanabilirlik
- Teşhis limiti (TL)
- Miktar Tayini Limit (MTL)

3.2.5.1. Doğrusallık

Doğrusallık çalışması kapsamında 10 mg desloratadin hassas terazide tartıldıktan sonra 50 ml'lik balon jojeye eklendi. Üzerine asetonitril ile 50 ml'ye tamamlandı. Etken maddenin karışması ve çözünmesi için 6-7 dakika boyunca vortekslendi. 200 µg/mL konsantrasyonundaki desloratadin stok çözeltisi hazırlanmış oldu. Stok çözeltisinden fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) pH 5.5 ile çeşitli seyreltmeler yapıldı. 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 15 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan 0.05-15 µg/mL konsantrasyonundaki çözeltiler 6-7 dakika vortekslendi. Bu çözeltiler 100 µl enjeksiyon hacmi olan HPLC cihazına verildi. Her bir konsantrasyon için 3 okuma yapıldı. Pik alanları tespit edildi ve değerlere göre standart doğru hazırlandı. Elde edilen doğru denklemi ile determinasyon katsayısı (r^2), standart sapma değeri (SD) ve relatif standart sapma değeri (RSD) hesaplandı.

3.2.5.2. Doğruluk

Analitik bir yöntemin doğruluğu ölçülen değer ile referans değer arasındaki yakınlığı ifade etmektedir. *In vitro* salım çalışmasında kullanılan yöntemin doğruluğunu belirlemek için formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin (Maisine CC, Oleik Asit, Labrasol, Etanol) en yüksek derişimini içeren plasebo formülasyonları hazırlandı. Formülasyon bileşenleri Tablo 3.2'de gösterilmektedir.

Tablo: 3.2: Plasebo formülasyonundaki kullanılan maddelerin yüzde tablosu

Birim Formül	Plasebo 1	Plasebo 2
Desloratadin	-	-
BHA	0,1	0,1
Maisine CC	20	-
Oleik Asit	-	7
Labrasol	39	47,2
Etanol	17,33	14,5
Su	23,57	31,2

Doğruluk çalışması kapsamında 1, 2,5 ve 5 µg/mL desloratadin konsantrasyonları çalışıldı. 1 µg/mL desloratadin konsantrasyonunu hazırlamak için; 0.1 g plasebo 1, 10 mL hacmindeki balon jojelere tartıldı. Üzerine 200 µg/mL konsantrasyonundaki desloratadin stok çözeltisinden 0.5 mL eklendi ve asetonitril ile 10 mL hacme tamamlandı. İyiye karışması amacıyla vortekslendi. 2.5 µg/mL desloratadin konsantrasyonunu hazırlamak için 0.25 g plasebo 1, 10 mL hacmindeki balon jojelere tartıldı. Üzerine 200 µg/mL konsantrasyonundaki desloratadin stok çözeltisinden 1.25 mL eklendi ve asetonitril ile 10 mL hacme tamamlandı. İyiye karışması amacıyla vortekslendi. 5 µg/mL desloratadin konsantrasyonunu hazırlamak için 0.5 g plasebo 1, 10 mL hacmindeki balon jojelere tartıldı. Üzerine 200 µg/mL konsantrasyonundaki desloratadin stok çözeltisinden 2.50 mL eklendi ve asetonitril ile 10 mL hacme tamamlandı. İyiye karışması amacıyla vortekslendi. Hazırlanan çözeltiler 0.45 µm PTFE membran filtreden süzildükten sonra 100 µl enjeksiyon hacmi ile HPLC'ye verildi. Pik alanları ölçüldü. Elde edilen denklem ile desloratadin miktarları hesaplandı. Plasebo 1 için yapılan işlemlerin aynısı plasebo 2 içinde tekrarlandı.

3.2.5.3. Kesinlik

Analitik bir yöntemin kesinliği belirtilen koşullarda aynı homojen örneğin birden fazla örneklenmesinden elde edilen ölçümlerin birbiri arasındaki benzerliği

yakınlığı olarak ifade edilmektedir. Genellikle bir dizi ölçümün varyansı, standart sapması veya varyasyon katsayısı olarak ifade edilir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)). Doğrusallık çalışmasında belirtildiği gibi, ana stok çözeltisinden seyreltmeler yapılarak 1, 2.5, 5 µg/mL desloratadin konsantrasyonlarında çalışıldı.

3.2.5.3.1. Gün İçi Kesinlik

Desloratadinin 1, 2.5, 5 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlandı. Her bir konsantrasyondan üçer adet hazırlandı ve iyice karışması amacıyla vortekslendi. Hazırlanan çözeltiler süzöldükten sonra 100 µl enjeksiyon hacmi ile HPLC'ye verildi. Pik alanları ölçüldü. Ortalamaları alındı. Standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri hesaplandı.

3.2.5.3.2. Günler Arası Kesinlik

Gün içi kesinlik çalışmalarında yapılan ölçümler 1.gün olarak değerlendirildi. Gün içi kesinlik çalışmasında belirtilen ölçümler 2. ve 3.gün içinde tekrarlandı. Ortalamaları alındı. Standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri hesaplandı.

3.2.5.4. Seçicilik

Analitik yöntemin seçiciliği, numunede olması beklenen bileşenlerin varlığında analiti kesin olarak doğru olarak değerlendirme yeteneğidir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)). Bu amaçla kullanılan yağ, sürfaktan ve kosürfaktan, kullanılan antioksidan madde olan bütil hidroksi tolüen (BHT) ve reseptör faz olan PBS pH 5.5 karışımı hazırlanarak 100 µl enjeksiyon hacmi ile HPLC'ye verildi. 280 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Desloratadinin pik verdiği alanda diğer madde piklerinin olup olmadığına bakıldı.

3.2.5.5 Teşhis Limiti (TL) ve Miktar Tayini Limiti (MTL)

Analitik bir yöntemde teşhis limiti, bir numunedeki tespit edilebilen ancak kesin bir değer olarak nicelendirilmesi gerekmeyen en düşük analit miktarıdır.

Analitik bir yöntemde miktar tayini limiti, analiz edilecek numunedeki uygun kesinlik ve doğrulukta nicel olarak belirlenebilen en düşük analit miktarıdır. Miktar tayini limiti safsızlıkların veya bozunma ürünlerinin belirlenmesi amacıyla kullanılır.

Miktar tayini limiti numunedeki düşük seviyede bulunan maddelerin analizi için önemli bir parametredir. Bu parametre numunedeki safsızlıkların veya bozunma ürünlerinin olup olmadığını belirlemek amaçlı kullanılabilir. Teşhis ve Miktar tayini limitlerini hesaplarken yanıt ve eğimin standart sapmasına dayalı yöntem kullanıldı. Teşhis limitini belirlerken yanıtın standard sapması 3.3 ile çarpılıp, kalibrasyon eğrisinin eğimine bölünmektedir. Miktar tayini limitini belirlerken yanıtın standard sapması 10 ile çarpılıp, kalibrasyon eğrisinin eğimine bölünmektedir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)).

3.2.5.6. Numunelerin Stabilitesi

Analizler ve *in vitro* salım çalışması boyunca desloratadinin stabil kalıp kalmadığını belirlemek için stabilite çalışması yapıldı. Stabilite çalışması kapsamında 10 mg desloratadin hassas terazide tartıldıktan sonra 50 ml'lik balon jojeye eklendi. Üzerine asetonitril ile 50 ml'ye tamamlandı. Etken maddenin karışması ve çözünmesi için 6-7 dakika boyunca vorteksledi. 200 µg/mL konsantrasyonundaki desloratadin stok çözeltisi hazırlanmış oldu. Stok çözeltiden, reseptör faz olan PBS pH 5.5 ile yapılan seyreltmeler ile 1, 2,5 ve 5 µg/mL konsantrasyonlarında hazırlandı. İlk gün, ikinci ve üçüncü gün olarak aynı işlemler yapıldı ve 100 µL enjeksiyon hacmindeki HPLC'ye verildi. Etken maddenin günler arasında farklı pik olup olmadığı veya miktarının değişip değişmediği kontrol edildi.

3.2.6. Çözünürlük Çalışması

3.2.6.1. Desloratadinin Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışması

Desloratadinin doyurulmuş çözeltideki çözünürlüğü belirlemek için shake-flask metodu kullanıldı. Her bir yardımcı madde için 3 ependorf tüpü hazırlandı Her bir ependorf tüpüne etken maddenin çözünürlüğü belirlenecek olan yardımcı maddeler 1 gram olacak şekilde tartıldı. Hassas terazide numunelerin üzerinde etken madde doygunluğa gelinceye kadar eklendi. Her bir tüp için eklenen miktar kaydedildi. Vortekste 10 dakika boyunca karıştırıldı. Etken madde açısından doygun çözelti dengeye gelmesi için 175 rpm hızındaki orbital karıştırıcıda 24 saat boyunca karışmaya bırakıldı. Doygun çözeltiler 3000 rpm hızında 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Her bir süpernatant temiz ependorflara aktarıldı. İkinci kez 3000 rpm hızında 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantın 242 nm dalga boyunda UV-spektrometresi ile ölçümü

yapıldı. Bu çalışma oda sıcaklığında yapılmıştır. Çözünürlük çalışmasında kullanılan yardımcı maddeler Tablo 3.3’ de verilmiştir.

Tablo 3.3: Çözünürlük çalışmasında kullanılan maddeler

Çözünürlük Çalışması Kapsamında Kullanılan Maddeler	
Kullanılan Yağlar	İzopropil Miristat, Maisine CC, Triasetin, Oleik asit, Plurol Oleik, Migritol 812 N, Etil oleat
Süfaktan ve ko-süfaktanlar	Kollisolv PEG 400, Labrasol, Cetiol, Capryol POMC, Trietanolamin, Transkutol P, Propilen Glikol,

3.2.6.2. Desloratadinin Farklı Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması

İn vitro salım çalışmasının yapılma amacı *in vivo* koşulu taklit etmektir. *İn vitro* salım çalışmasında, reseptör ortamını belirlemek ve sink koşulunu sağlamak için farklı çözünürlük ortamlarında, etken maddenin çözünürlük çalışması yapıldı. Bu amaçla etken maddenin çeşitli ortamlarında çözünürlük çalışması gerçekleştirildi. Çözünürlük çalışmasında kullanılan ortamlar Tablo 3.4’te gösterilmiştir.

Eppendorflara hazırlanan PBS ortamlarından 1 mL alındı. 1 mL PBS ortamı bulunan eppendorflara çözebileceği miktardan bir miktar fazla desloratadin eklendi. Orbital çalkalayıcıda 250 rpm hızında ve oda sıcaklığında (25°C) 24 saat boyunca bekletildi. Bekletilen eppendorflar 15000 rpm hızında 15 dakika boyunca santrifüj cihazında santrifüje bırakıldı. Santrifüjden sonra eppendorflardaki süpernatant yeni eppendorflara alındı. Santrifüj işlemi aynı koşullarda tekrar edildi. Eppendorftaki süpernatanttan 500 µL alındı. Mobil faz ile 1 mL’lik balon jojede seyreltildi. 5 dakika boyunca vortekste karıştırıldı. 0,45 µm PTFE membran filtreden süzüldü. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisinde (HPLC) 280 nm dalga boyunda numuneler okundu. Her bir numune için bu işlem 3 kez tekrarlandı.

Tablo 3.4: Etken maddenin reseptör faz içerisindeki çözünürlüğünü belirlemek amacıyla kullanılan ortamlar

Fosfat Ortamı	Yardımcı Maddeler	Oranlar
PBS pH 5.5	-	-
PBS pH 7.4	-	-

3.2.7. Önformülasyon Çalışmaları

Çözünürlük çalışmasından elde edilen bilgilere göre yağ fazı olarak izopropil miristat, maisine CC, oleik asit, etil oleat, plurol oleikin yağ fazı olarak kullanılması düşünüldü. Formülasyon çalışmamda en uygun formülasyonu bulabilmek için yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanın farklı oranlarda karışımları hazırlandı. İlk önce 2:1, 3:1, 4:1 oranında sürfaktan ve ko-sürfaktan karışımı hazırlandı. Yağ miktarının sürfaktan karışımına oranı 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 olarak eklendi. Yağ-sürfaktan karışımının uygun bir şekilde karışması için üstü parafilm ile kapatılarak orta hızdaki manyetik balıkla birlikte karıştırarak dengeye gelmesi beklendi. Karışma işlemi tamamlandıktan sonra parafilm çıkarıldı. Orta hızlı karıştırıcıda karışma damla damla ultra saf su eklendi. Bulanıklaşmaya başladığı su miktarı kaydedildi. Uygun formülasyonların belirlenmesinde su tutma kapasitesi, yağ-yüzey aktif madde-yardımcı yüzey aktif maddenin birbiri içerisindeki oranları ve kullanım yüzdeleri, damlacık boyutu ve polidispersite indeksi gibi birçok faktöre bakılarak değerlendirme yapıldı. Formülasyon olarak seçilmesi düşünülen mikroemülsiyonlar hem hazırlandıkları gün ve hem de 96 saat bekletilerek polidispersite indeksleri ve damlacık boyutları ölçüldü. Polidispersite indeksleri ve damlacık boyutlarına bakılarak günler arasında bir farkın olup olmadığı değerlendirildi. Mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve polidispersite indeksi numuneler seyreltilmeden ölçülmüştür. Mikroemülsiyonlar kullan-at küvetine döküldü (Das ve ark. 2020).

3.2.8. Mikroemülsiyonların ve Üçgen Faz Diyagramlarının Hazırlanması

Ön formülasyon, çözünürlük verileri dikkate alındığında yağ fazı olarak maisine CC ve oleik asit kullanıldı. Etken maddenin yağ içerisindeki çözünürlük verileri, formülasyonun su tutma kapasitesi, faz görünümü, polidispersite indeksi ve damlacık boyut özellikleri dikkate alınarak maisine cc ve oleik asit yağ fazı olarak seçildi. Su

tutma kapasiteleri dikkate alınarak sürfaktanın ko-sürfaktana oranı 2:1, 3:1, 4:1 olarak belirlendi.

Üçgen faz diyagramları, yağ, sürfaktan, su fazlarının hacim farklılıklarındaki değişikliklerin sistemin faz davranışı üzerindeki etkisini gösteren, mikroemülsiyon bölgelerini elde etmek için yaygın olarak kullanılan diyagramlardır. Diyagramdaki mikroemülsiyon alanı, emülsiyon stabilitesini ifade etmektedir (Shewaiter ve ark. 2021, Volpe ve ark 2020). Çalışmamızda yağ-sürfaktan karışımı 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 oranlarında flakonlarda karıştırıldı. Mikroemülsiyonların hazırlanma adımında olduğu gibi yukarıda belirtilen orandaki sürfaktan ve ko-sürfaktan karışımı hazırlandı ve manyetik karıştırıcıda belirli bir süre dengeye gelmesi bekledi. Yeterli karışma sağlandıktan sonra yine karıştırıcı üzerinde damla damla ultra saf su eklendi. Her eklemekten sonra karıştırıcıda sistemin dengeye gelmesi bekledi. Su eklenirken karışımlarda şeffaflık, viskozite ve faz dönüşümü gibi parametrelere bakılarak değerlendirildi. Karışımların şeffaflıktan bulanıklaştığı andaki eklenen su miktarı kaydedildi. Bulanıklaşmanın devam edip etmediğini anlamak için bir süre bekledi. Eğer bulanıklaşma devam ediyorsa önceki kaydedilen su miktarı alındı. Şayet bulanıklaşan karışım karıştırmadan sonra şeffaflaşıyorsa bulanıklaştığı noktadaki su miktarı da önceki kaydedilen miktara eklendi. Karışımlardaki yardımcı maddelerin oranları belirlendi ve üçgen faz diyagramları oluşturuldu.

3.2.9. Uygun Mikroemülsiyon Formülasyonlarına Desloratadin Yüklenmesi

Etken madde lipofilik karakterde olduğu için formülasyon oluşturulurken yağ fazı eklemesi, daha sonra etken maddenin eklenmesine dikkat edilmiştir. Manyetik karıştırıcıda etken maddenin iyice çözündüğünden emin olduktan sonra sürfaktan karışımı sisteme eklendi. Su fazı da damla damla eklenmiştir. Sistemin karışması için beklenmiştir. Polidispersite indeksi ve damlacık boyutu düşük olan formülasyonlara % 0,1 oranında desloratadin eklenirken, %0.05 oranında BHT koruyucu olarak eklendi.

3.2.10. Mikroemülsiyonların Ön Stabilité İşleme Tabi Tutulması

Stabilitéye bırakılması düşünülen mikroemülsiyonlar hazırlandıkları gün ve 96 saat bekletilerek damlacık boyutu değerleri ölçüldü. Sonuçların arasında büyük oranda fark olup olmadığı değerlendirildi.

3.2.11. Mikroemülsiyon Formülasyonları için Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.11.1. Fiziksel Görünüm

Hazırlanan mikroemülsiyonlar renk, homojen olma, faz ayrımı gibi parametreler açısından değerlendirilmiştir.

3.2.11.2. Damlacık Boyutu Ölçümü ve Polidispersite İndeksi

Polidispersite indeksi değeri, sistemin nanopartikül kararlılığını ve tekdüze olma durumunu yansıtır; yüksek polidispersite indeksi değerleri çok çeşitli partikül boyutlarına karşılık gelirken, düşük polidispersite indeksi değerleri homojen boyutlu partiküllerden oluşan numuneleri ifade eder (Gharbavi ve ark. 2020). Damlacık boyutu ve polidispersite indeksi Nano ZS cihazıyla oda sıcaklığında (25 °C) ve 173°C'lik açı ile dinamik ışık saçılımı (DLS) tekniği kullanılarak yapıldı. Damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ölçülecek numuler su ile seyreltme yapılmadan direkt küvete dökülerek ölçüldü. Her bir formülasyon için üçer kez ölçüm yapıldı. Ölçülen sonuçların aritmetik ortalaması ve standart sapma (SD) değerleri hesaplandı.

3.2.11.3. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Faz Ayrımı Çalışması

Hem boş hem de etken madde yüklü mikroemülsiyonlar için literatürde kayıtlı olan yöntem kullanıldı. Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca 10000 rpm hızıyla (Hettich, D-7200, Type 2041) santrifüj edildi. Santifüjden sonra faz ayrımı olup olmadığı kontrol edildi (Moghimipour ve ark. 2013).

3.2.11.4. Mikroemülsiyonların Elektriksel İletkenliğinin Belirlenmesi (Tip Tayini)

Stabiliteye bırakılması düşünülen mikroemülsiyonların tip tayinini belirlemek için elektriksel iletkenlik cihazı kullanıldı. Elektriksel iletkenlik mikrosiemens birimi olarak tayin edildi. Elektriksel iletkenlik cihazında ölçüm yapılmadan önce cihazın kalibrasyonu yapıldı. Kalibrasyon için iletkenliği 1412 (μ S) birim olan kalibrasyon çözeltisi ile kalibrasyonu yapıldı. Hem boş hemde desloratadin yüklü mikroemülsiyonların iletkenlikleri ölçüldü. Her bir formülasyon için ölçümler 3 kez tekrarlandı. Sonuçların ortalaması ve standart sapma değerleri belirlendi.

3.2.11.5. Mikroemülsiyonların Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi

Stabiliteye bırakılacak formülasyonlar için reolojik özellikler belirlendi. Haake RheoStress 1 reometre cihazı bu amaçla kullanıldı. Kayma gerilimi ve kayma hızı

testleri yapıldı. Kayma gerilimi ve kayma hızı testleri zamanı kayma hızı başlangıç olarak 0,00 1/s, son hız 200 1/s, süre 2 dakika olarak belirlendi. Ölçümler 25°C sıcaklıkta yapıldı. Newtonian akış modeline göre kayma gerilimi ve viskozite grafikleri oluşturuldu. Her numune için ölçüm 3 kez tekrarlandı.

3.2.11.6. Mikroemülsiyonların Refraktif İndeksinin Ölçülmesi

Hem boş hem de desloratadin yüklü mikroemülsiyon örneklerinin refraktif indeksi değeri Abbe 5 refraktometresi kullanılarak oda sıcaklığında (25°C) belirlendi. Refraktometre prizmasının üzerinde 2 damla mikroemülsiyon damlatıldı. Kapak kapatıldı. Görüntü netliği sağlanana kadar ayarlama yapıldı. Her mikroemülsiyon formülasyonu için ölçüm 3 kez tekrarlandı. Elde edilen sonuçların ortalaması ve standart sapma değerleri belirlendi.

3.2.11.7. Mikroemülsiyonların pH Değerinin Ölçülmesi

Oakton Eutech Instruments Bench 2700 series pH metre/kondüktometresi kullanılarak mikroemülsiyon formülasyonlarının pH değerleri ölçüldü. Ölçüme başlamadan önce pH-metre pH 4.01, 7.01 ve 10.01 tampon çözeltileri kullanılarak kalibre edildi. Oda sıcaklığında pH metrenin elektrodu ölçümü yapılacak mikroemülsiyonlara doğrudan daldırıldı. Dengeye ulaşılması için bir süre beklendi. Daha sonra pH değerleri kaydedildi. Boş ve desloratadin yüklü mikroemülsiyonların pH değeri ölçüldü. Ölçümler her mikroemülsiyon için 3 kez tekrarlandı. Ölçüm sonuçlarının ortalaması ve standart sapma değerleri hesaplandı.

3.2.12. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Stabilité Çalışması

Hem boş hem de etken madde yüklü mikroemülsiyonlar, 25°C'deki stabilite kabinin (Nüve test cabinet, TC120) içinde her ay kontrol edilerek bekletildi. Ölçümler 6 ay süresince yapıldı. Hem boş hem de etken madde yüklü mikroemülsiyonlar fiziksel görünüm, pH, miktar tayini, damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri gibi özelliklere bakılarak aylar arasındaki herhangi bir fark olup olmadığı gözlemlendi.

3.2.13. *In vitro* Salım Çalışması

In vitro salım çalışması, nanoyapıdaki ilaç dağıtım sistemlerinin güvenliğini, etkinliğini ve kalitesini değerlendirmek için kritik bir testtir (Weng ve ark. 2020). İlaçların deriden geçişini veya birikimini ölçmek niteliksel yöntemler ve niceliksel-yarı niceliksel yöntemler olmak üzere temel olarak 2 yöntem vardır. Kantitatif teknikler,

difüzyon hücreleri, cilt-PAMPA ve tape-striping+HPLC'yi içerir. kalitatif veya yarı kalitatif teknikler, farklı mikroskobik ve spektroskopik yöntemler ve bunların kombinasyonlarıdır. Kantitatif *in vitro* testler, bir reseptör chamberda toplanan etken madde miktarıyla ilgili difüzyon alanıyla ilgili olarak zaman içinde bir membrandan geçen etken madde miktarını ölçmek için düzenli olarak gerçekleştirilir. Kalitatif tekniklerde, amaç genellikle etken maddeyi takip etmektir. Farklı cilt katmanlarında etken madde varlığı veya nispi miktarı belirlenebilir (Zsikó ve ark. 2019). Franz Difüzyon Hücresi, (PermeGear, V6A Stirrer) *in vitro* salım çalışması için kullanıldı. Deney sıcaklığı $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ olarak sabit sıcaklıkta çalışıldı. Donör faz ile reseptör faz arasında membran olarak karışık selüloz ester membranı (Filtre çapı, 47 mm, por çapı $0,22 \mu\text{m}$) kullanıldı. Reseptör faz olarak çözünürlük çalışmasında belirlenen PBS pH 5.5 kullanıldı. Reseptör hazneye reseptör faz ile birlikte manyetik balık eklendi. Bu işlemleri yaparken hava kabarcığı olup olmadığına bakıldı. Eğer hava kabarcığı var ise hava kabarcığı giderildi, yok ise bir sonraki aşamaya geçildi. Üzerine karışık selüloz ester (selüloz nitrat) membran eklendi ve donör hazne yerleştirildi. 0.5 mL desloratadin içeren mikroemülsiyon donör faz olarak eklendi ve donör faz birkaç kat parafilm ile iyice kapatıldı. Reseptör fazdan 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 8. saatlerde numune alındı. Numune alma işleminde salım çalışması durduruldu. 1 mL numune çelik enjektör aracılığıyla alındı. Alınan numune kadar reseptör faz eklendi. Haznede hava kabarcığı olup olmaması tekrar kontrol edildi. Hava kabarcığı var ise çıkarıldı, yok ise bir sonraki aşamaya geçildi. Örneklem borusu parafilm ile iyice kapatıldı. Saat başı alınan numuneler membran filtreden $0,45 \mu\text{m}$ membran filtreden viallere süzüldü. Vialler HPLC'ye okuması için verildi. 6 hücre, her bir formülasyon için çalışıldı. Salım numuneleri 280 nm dalga boyuna karşı okutuldu.

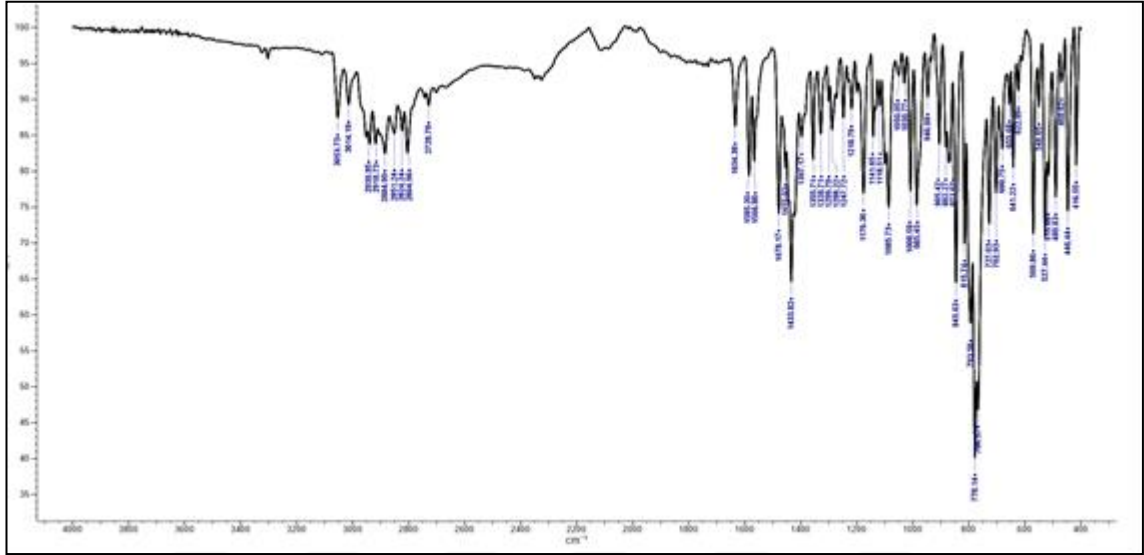
3.2.14. Mikroemülsiyonların Kinetik Parametrelerinin Hesaplanması

In vitro salım çalışması sonucundan sağlanan bulgular; Yöntem 3.2.6.2'deki reseptör ortamdan sağlanan doğru denklemi yardımıyla miktar tayini zamana karşı grafiği elde edildi. Formülasyonların salım profilleri hesaplanarak determinasyon katsayıları (r^2) hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Desloratadinin IR Spektrumu

Yöntem 3.2.1.'de belirtildiği gibi desloratadinin FT-IR ölçümü alındı. Şekil 4.1.'de desloratadinin IR spektrumu gösterilmektedir.

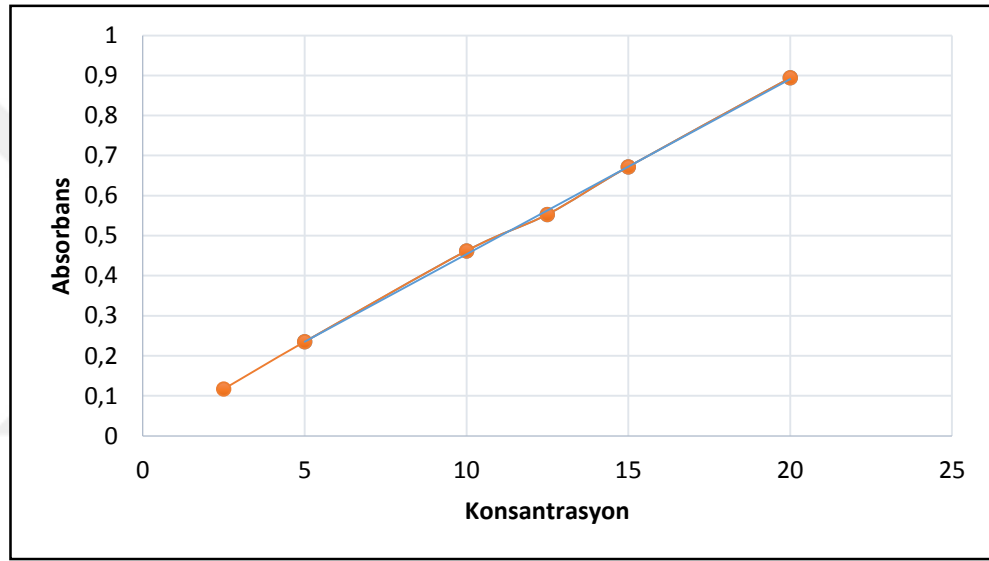


Şekil 4.1: Desloratadin IR Spektrumu

4.2. Desloratadinin UV-Vis Spektroskopisi ile Miktar Tayini Yönteminin Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu)

4.2.1. Doğrusallık

Desloratadin için yapılan doğrusallık çalışması Yöntem 3.2.2.1.'de belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Şekil 4.2'de reseptör faz olarak metanolün kullanıldığı doğrusallık çalışmasının standart eğrisi, tablo 4.1'de konsantrasyonlara göre elde edilen absorbanların ortalama değeri, standart sapması (SD), bağıl standart sapması (%RSD), Tablo 4.2.'de elde edilen doğru denklemi ve hesaplanan r^2 değeri gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Desloratadinin metanol kullanıldığı miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait standart eğrisi

Tablo 4-1: Desloratadinin ultraviyole (UV) spektrofotometresindeki miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait bulgular

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
2,5	0,117	0,02	1,70
5	0,235	0,02	0,85
7,5	0,323	0,0009	0,27
10	0,412	0,03	0,72
15	0,649	0,03	0,46
20	0,894	0,02	0,22

Tablo 4-2: Metanolün kullanıldığı doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R² değeri

Doğru denklemi: $y=0,0437x + 0,0165$

R² = 0,9993

4.2.2. Doğruluk

Yöntem 3.2.3.2’de belirtildiği gibi doğruluk çalışması gerçekleştirildi. Plasebo 1 ve Plasebo 2 formülasyonlarına ait SD(+), RSD (%), Ortalama Geri Kazanım, Ortalama Geri Kazanım % bulguları Tablo 4.3. ve Tablo 4.4 te verilmiştir.

Tablo 4.3: Metanolün kullanıldığı doğruluk Plasebo-1 çalışması sonuçları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Geri Kazanım	Ortalama Geri Kazanım %	SD (±)	RSD (%)
5	5,007	100,15	0,001	0,649
10	10,087	100,877	0,001	0,334
15	15,175	101,166	0,007	1,104

Tablo 4.4: Metanolün kullanıldığı doğruluk Plasebo-2 çalışması sonuçları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Geri Kazanım	Ortalama Geri Kazanım %	SD (±)	RSD (%)
5	5,076	101,525	0,003	1,348
10	10,133	101,334	0,003	0,764
15	15,137	100,91	0,006	0,967

4.2.3. Kesinlik

Gün içi kesinlik: Yöntem 3.2.3.3.'te belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Gün içi kesinlik çalışması kapsamında konsantrasyonlara ait absorbans değerleri ile hesaplanan standart sapma (SD), bağıl standart sapma (% RSD) değerleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5: Desloratadinin UV spektroskopisi ile yapılan gün içi kesinlik sonuçları

Absorbans değeri						
Konsantrasyon (µg/mL)	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ortalama	Standart sapma (SD±)	Relatif Standart Sapma (% RSD)
2,5	0,127	0,129	0,129	0,128	0,001	0,899
5	0,236	0,239	0,237	0,237	0,001	0,643
10	0,467	0,472	0,471	0,47	0,002	0,562
12,5	0,572	0,564	0,566	0,567	0,004	0,733
15	0,689	0,692	0,681	0,687	0,005	0,827
20	0,886	0,892	0,892	0,89	0,003	0,389

Günler arası kesinlik: Gün içi kesinlik çalışmasında yapıldığı gibi günler arası kesinlik çalışması 3 gün boyunca tekrarlandı. Günler arası kesinlikte gün içi kesinlikteki değerler birinci gün olarak kabul edildi. Günler arası kesinlik çalışması kapsamında konsantrasyonlara ait absorbans değerleri ile hesaplanan standart sapma (SD), bağıl standart sapma (% RSD) değerleri Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6: Desloratadinin UV spektroskopisi ile yapılan günler arası kesinlik sonuçları

Absorbans değeri						
Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	1.gün	2.gün	3.gün	Ortalama	Standart sapma (SD $\pm$)	Relatif Standart Sapma (RSD%)
2,5	0,128	0,132	0,135	0,131667	0,003512	2,667254
5	0,237	0,246	0,23	0,237667	0,008021	3,374813
10	0,47	0,468	0,462	0,466667	0,004163	0,892143
12,5	0,567	0,559	0,571	0,565667	0,00611	1,080159
15	0,687	0,696	0,669	0,684	0,013748	2,009902
20	0,89	0,876	0,892	0,886	0,008718	0,98395

4.2.4. Numunelerin Stabilitesi

Yöntem 3.2.3.5'te belirtildiği gibi numunelerin stabilite çalışması gerçekleştirildi. Metanol ile hazırlanan stok çözeltileri 3 gün boyunca stabil kalmıştır. Numunelerin stabilitesi kapsamında konsantrasyonlara ait absorbans değerleri ile hesaplanan standart sapma (SD), bağıl standart sapma (% RSD) değerleri Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7: Desloratadinin UV spektroskopisi ile yapılan numune stabilitesi çalışması sonuçları

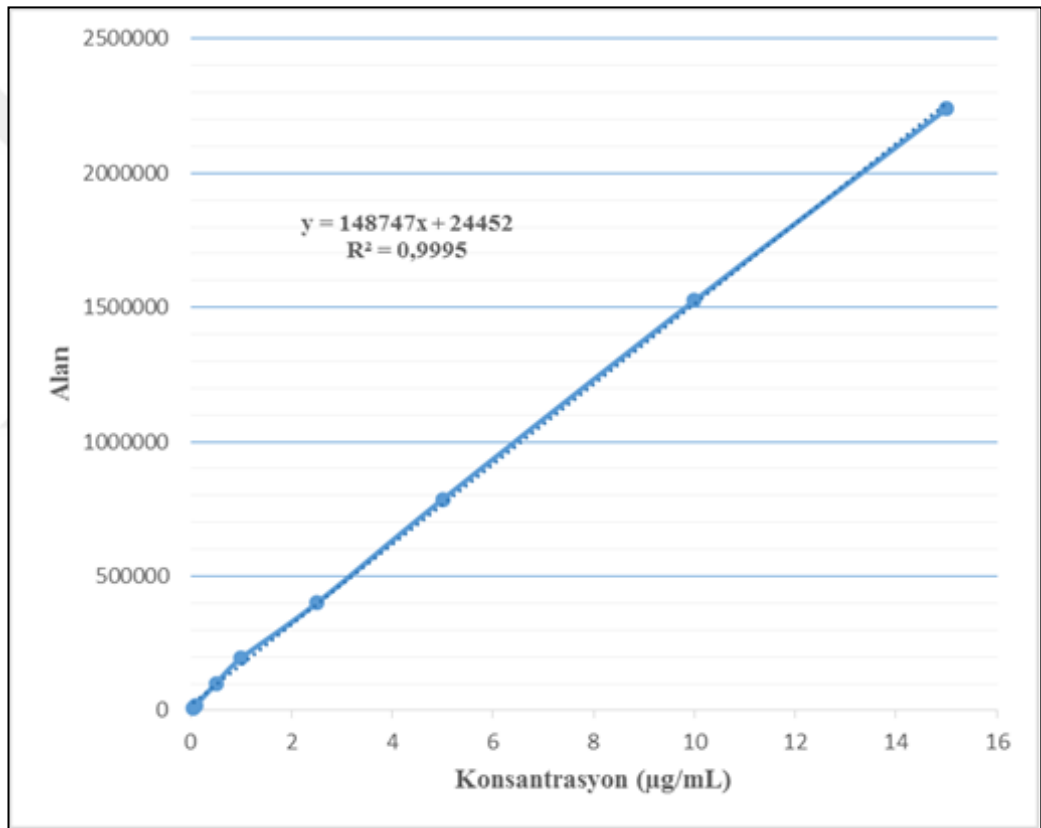
Absorbans değeri						
Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	1.gün	2.gün	3.gün	Ortalama	Standart sapma (SD $\pm$)	Relatif Standart Sapma (RSD%)
5	0,228	0,239	0,235	0,234	0,005	2,379
10	0,482	0,474	0,479	0,478	0,004	0,844
15	0,678	0,689	0,667	0,678	0,011	1,622

4.3. Desloratadinin Miktar Tayini Yönteminin Geçerliliğinin Test Edilmesi (Validasyonu)

Yöntem 3.2.4'te belirtildiği gibi *in vitro* salım çalışmaları için desloratadin HPLC yöntemi validasyonu yapıldı. Bu validasyonlar kapsamında mobil faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldı. Retensiyon zamanı 9 dakika olarak belirlendi.

4.3.1. Doğrusallık

Yöntem 3.2.5.1'de belirtildiği gibi resptör faz olan PBS pH 5.5 ile yapılan doğrusallık çalışması kapsamında standart eğrisi Şekil 4.3'te, doğru denklemi ve r^2 değeri Tablo 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3: Desloratadinin PBS pH 5.5 ile yapılan doğrusallık çalışmasına ait standart eğrisi

Tablo 4.8. Desloratadinin PBS pH 5.5 ile yapılan doğrusallık çalışmasına ait miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait bulguları

Konsantrasyon (µg/ml)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD (%)
0,05	8986	84,071	0,935
0,1	20904	153,267	0,733
0,5	100466	1188,061	1,182
1	195079	1461,958	0,749
2,5	399765	2526,983	0,632
5	785587	3265,423	0,415
10	1525880	6044,364	0,396
15	2238674	9328,022	0,416

Tablo 4.9: PBS pH 5.5'in kullanıldığı doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R² değeri

Doğru denklemi: $y=148747x + 24452$

R² = 0,9995

4.3.2. Doğruluk

Yöntem 3.2.5.2'de belirtildiği gibi doğruluk çalışması gerçekleştirildi. Reseptör faz (PBS pH 5.5) için her plasebo formülasyonu ile 3 konsantrasyonda geri kazanım, ortalama geri kazanım yüzdesi, standart sapma (SD) ve rölatif standart sapma (%RSD) sonuçları Plasebo-I için Tablo 4.9'te, Plasebo-II için Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10: Reseptör fazın PBS pH 5.5 kullanıldığı Plasebo-I doğruluk çalışması sonuçları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Geri Kazanım	% Ortalama Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,055	105,467	0,875	0,071
2,5	2,539	101,558	0,023	0,019
5	5,134	102,672	0,029	0,024

Tablo 4.11: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı Plasebo-II doğruluk çalışması sonuçları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Geri Kazanım	% Ortalama Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,124	112,462	0,231	0,188
2,5	2,592	103,689	0,044	0,035
5	5,143	102,871	0,036	0,030

4.3.3. Kesinlik

Yöntem 3.2.5.3'te belirtildiği gibi kesinlik çalışması gerçekleştirildi. Gün içi kesinlik çalışmasına ait sonuçlar Tablo 4.11'de günler arası kesinlik çalışmasına ait sonuçlar Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı gün içi kesinlik çalışması sonuçları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD (%)
1	204855	12686,02	6,192
2,5	402766	6363,80	1,580
5	771764	20378,1	2,640

Tablo 4.13: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı günler arası kesinlik çalışması sonuçları

Konsantrasyon (µg/mL)	1.gün	2.gün	3.gün	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
1	204855	197775	213872	205550,66	8067,9	3,926
2,5	402766	382038	398342	394382	10916,67	2,77
5	771764	788469	780987	780406,66	8367,607	1,072

4.3.4. Seçicilik

Yöntem 3.2.5.4'te belirtildiği gibi seçicilik çalışması gerçekleştirildi. Plasebo olarak hazırlanan formülasyonların Desloratadinin alanında pik oluşturmadığı tespit edildi.

4.3.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti

Yöntem 3.2.5.5'te belirtildiği gibi Teşhis Limiti (TL) ve Miktar tayini limiti (MTL) hesaplandı. Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanılan deneyler sonucunda teşhis limiti 0,586 µg/mL iken miktar tayini limiti (MTL) 0,193 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

4.3.6. Numunelerin Stabilitesi

Yöntem 3.2.5.6'da belirtildiği gibi numunelerin stabilitesi çalışması gerçekleştirildi. Ana stok çözeltisi hazırlandı. Buzdolabında saklandı. Bu ana stok çözeltisinden 3 gün süresince hesaplanan seyreltmeler yapıp HPLC'de okuması yapıldı. Çalışmaya ait sonuçlar Tablo 4.13'te belirtilmiştir.

Tablo 4.14: Reseptör faz olarak PBS pH 5.5 kullanıldığı numunelerin stabilitesi çalışması sonuçları

	0.saat	24.saat	48.saat	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
1	201775	214100	203212	206362,3	6739,426	3,265
2,5	394851	398543	397765	397053	1946,25	0,49
5	776169	786129	785572	782623,3	5596,55	0,715

4.4. Çözünürlük Çalışmaları

4.4.1. Desloratadinin Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışması

Çözünürlük çalışması Yöntem 3.2.6.1’de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Çözünürlük çalışmasına ait bulgular Tablo 4.14’te sunulmaktadır. Mikroemülsiyon formülasyonu oluşturulurken yapılan çözünürlük çalışması dikkate alınmıştır.

Tablo 4.15: Desloratadinin yardımcı maddelerdeki çözünürlük verileri

Desloratadinin yardımcı maddelerdeki çözünürlüğü	
Yardımcı madde	Çözünürlük (g/ ml)
İzopropil Miristat	5,68 ± 0,02
Maisine CC	10,83 ± 0,05
Triacetin	7,25 ± 0,02
Oleik Asit	12,96 ± 0,06
Etil Oleat	11,29 ± 0,12
Plurol Oleik	10,85 ± 0,12
Kollisol PEG 400	15,17 ± 0,08
Labrasol	10,79 ± 0,04
Migritol	7,87± 0,08
Cetiol	8,62 ± 0,007
Capryol POMC	15,02 ± 0,01
Trietanolamin	12,98 ± 0,02
Transkutol P	10,10 ± 0,01
Propilen Glikol	7,61 ± 0,09

4.4.2. Desloratadinin Farklı Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması

Desloratadinin çözünme ortamlarındaki çözünürlük çalışması yöntem 3.2.6.2’de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.15’te belirtilen sonuçlara göre *in vitro* salım

çalışmasında hangi reseptör ortamının kullanılacağına karar verilmiştir. Bu verilerden hareket ile reseptör ortamı PBS pH 5.5 olmasına karar verilmiştir.

Tablo 4.16: Desloratadinin çözünme ortamlarındaki çözünürlük verileri

Yardımcı madde	Çözünürlüğü (µg/mL)
PBS pH 5.5	9022,31 (µg/mL)
PBS pH 7.4	533,75 (µg/mL)

4.5. Ön-Formülasyon Çalışmaları

Yöntem 3.2.7’de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Veriler Tablo 4.16’da verilmiştir.

Tablo 4.17: Ön formülasyon çalışmasında kullanılan yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanlar ve oranları

Örnek	Yağ fazı	Sürfaktan	Ko-sürfaktan	Y/(S+CoS)	S/CoS	Sonuç
1	Triasetin	Labrasol	Propilen Glikol	1:9	1:1	Bulanık
2	Labrafak*	Labrasol	Transcutol P	1:9	3:1	Bulanık
3	Plurol O*	Labrafil M*	Etanol	1:9	3:1	Bulanıklaşma
4	IPM	Kolliphor R*	Kolliphor H*	1:9	1:1	Bulanıklaşma
5	Cetiol	Labrasol	Transcutol P	1:9	4:1	Bulanıklaşma
6	Maisine*	Labrasol	PEG 400	2:8	3:1	Bulanıklaşma
7	Etil oleat	Labrasol	Etanol	1:9	3:1	Girişim
8	IPM	Labrasol	Propilen Glikol	1:9	3:1	Girişim
9	Labrafil M*	Kolliphor E*	Transcutol P	1:9	2:1	Yüksek PDI
10	Maisine*	Kolliphor E*	Transcutol P	1:9	1:1	Yüksek PDI

11	Triasetin	Tween 20	Propilen Glikol	1:9	2:1	Yüksek PDI
12	Etil oleat	Kolliphor E*	PEG 400	1:9	2:1	Yüksek PDI
13	Maisine*	Kolliphor R*	Etanol	1:9	2:1	Yüksek PDI
14	Maisine*	Kolliphor E*	Etanol	1:9	2:1	Yüksek PDI
15	Maisine*	Labrasol-TPGS	Transcutol P	1:(4:0.5)	1:1	Yüksek PDI
16	Maisine*	Labrasol	Etanol	1:9	3:1	Berrak
17	Maisine*	Labrasol	Etanol	2:8	3:1	Berrak
18	Maisine*	Labrasol	Etanol	2:8	2:1	Berrak
19	Maisine*	Labrasol	Etanol	3:7	3:1	Berrak
20	Maisine*	Labrasol	Etanol	3:7	2:1	Berrak
21	Oleik A.	Labrasol	Etanol	1:9	3:1	Berrak
22	Oleik A.	Labrasol	Etanol	1:9	4:1	Berrak
23	Oleik A.	Labrasol	Propilen Glikol	1:9	2:1	Berrak

Oleik A: Oleik asit, **Maisine:** Maisine CC, **Labrafak:** Labrafak PG, **Plurol O:** Plurol Oleik, **Labrafil M:** Labrafil MS 1944 CS, **IPM:** İzopropil miristat, **TPGS:** D- α - tokoferol-polietilenglikol-1000-süksinat, **PEG400:** Polietilenglikol, **Kolliphor R:** Kolliphor RH 40, **Kolliphor H:** Kolliphor HS 15, **Kolliphor E:** Kolliphor EL, PDI: Polidispersite indeksi

Yöntem 3.2.7’de belirtildiği gibi Tablo 4.16’deki maddeler kullanılarak mikroemülsiyon formülasyonları hazırlanmaya çalışıldı. Formülasyonları seçerken ilk önce formülasyonlar görsel olarak incelendi. Su tutma kapasitesi yüksek olan şeffaf formülasyonlar damlacık boyutu ve polidispersite indeksi kriterlerine göre değerlendirildi.

1 ve 2 numaralı formülasyonlarda su eklenmeden bulanıklık gerçekleşti. 3, 4, 5 ve 6 numaralı formülasyonların su tutma kapasitesi düşüktü. 7 ve 8 numaralı formülasyonlar yeterli miktarda su aldı fakat boyut ölçümünde kullan-at küveti ile

girişim meydana geldiği kullanılmadı. 9,10, 11, 12, 13, 14, 15 numaralı formülasyonlar yeterli miktarda su aldı fakat polidispersite indeksi kabul edilmesi gereken değerden yüksek bulundu. 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 numaralı formülasyonlar berraktı.

Bu bilgilerden hareket ile maisine CC ve oleik asit yağ fazı olarak seçilirken, bir non-iyonik sürfaktan olan labrasol sürfaktan olarak kullanıldı. Hem etken maddedeki çözünürlüğü yüksek olmasından dolayı hem de etken maddedeki çözünürlüğü yüksek olan etanol ise ko-sürfaktan olarak tercih edildi. Karşılaştırma açısından kolaylık olması için 23 numaralı formülasyon stabiliteye bırakılmadı.

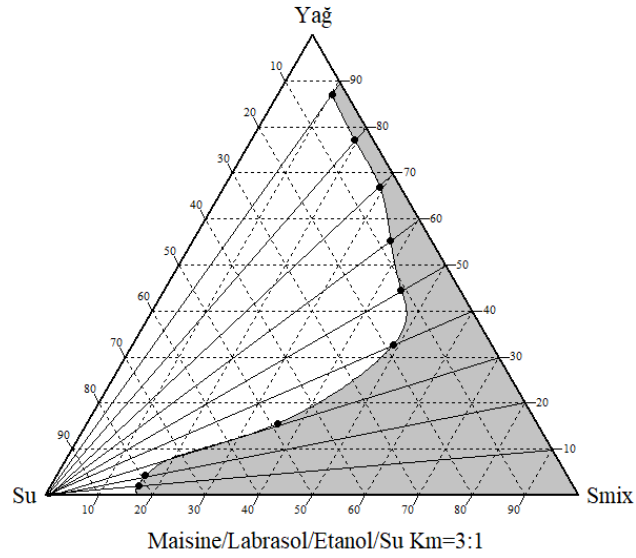
4.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının ve Üçgen Faz Diyagramlarının Oluşturulması

Ön formülasyon verilerinden hareket ile mikroemülsiyonların üçgen faz diyagramları Yöntem 3.2.8’de belirtildiği gibi hazırlandı. Mikroemülsiyon alanları belirlendi. Yağ fazı olarak, Maisine CC’nin seçildiği, Labrasol/Etanol oranının 3:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları Tablo 4.17’de, bu formülasyonun üçgen faz diyagramı Şekil 4.4’de; Labrasol/Etanol oranını 2:1 olduğu olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları Tablo 4.18’de, bu formülasyonun üçgen faz diyagramı Şekil 4.5’te gösterilmiştir.

Yağ fazı olarak, Oleik asit’in seçildiği, Labrasol/Etanol oranının 3:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları Tablo 4.19’da , bu formülasyonun üçgen faz diyagramı Şekil 4.6’te; Labrasol/Etanol oranını 4:1 olduğu olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları Tablo 4.20’de, bu formülasyonun üçgen faz diyagramı Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.18: Yağ fazı Maisine CC, Labrasol-Etanol Km değeri 3:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları

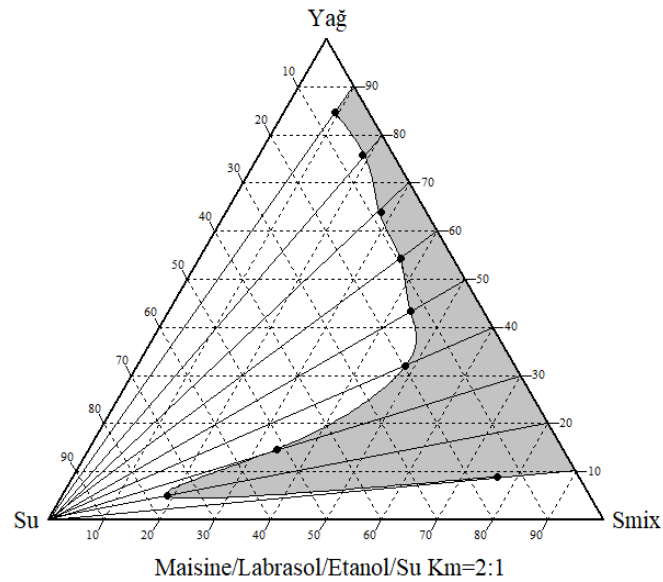
Numarası	Yağ / (S+KoS)	Maisine CC	S+CoS karışımı	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	8,85
2	2:8	0,4	1,6	7,70
3	3:7	0,6	1,4	1,92
4	4:6	0,8	1,2	0,45
5	5:5	1	1	0,25
6	6:4	1,2	0,8	0,17
7	7:3	1,4	0,6	0,8
8	8:2	1,6	0,4	0,7
9	9:1	1,8	0,2	0,5



Şekil 4.4: Km değeri 3:1 olan (MLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.19: Yağ fazı Maisine CC, Labrasol-Etanol Km değeri 2:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları

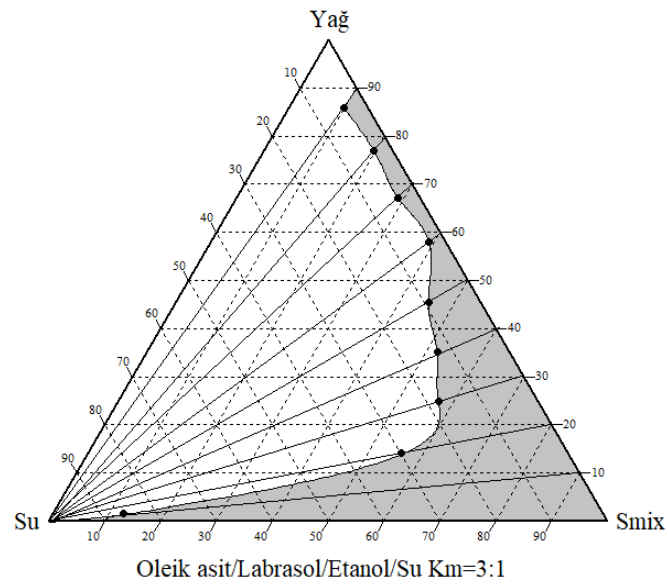
Numarası	Yağ / (S+KoS)	Maisine CC	S+CoS karışımı	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	0,35
2	2:8	0,4	1,6	6,34
3	3:7	0,6	1,4	2,14
4	4:6	0,8	1,2	0,50
5	5:5	1	1	0,30
6	6:4	1,2	0,8	0,21
7	7:3	1,4	0,6	0,18
8	8:2	1,6	0,4	0,11
9	9:1	1,8	0,2	0,13



Şekil 4.5: Km değeri 2:1 olan (MLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.20: Yağ fazı Oleik Asit, Labrasol-Etanol Km değeri 3:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları

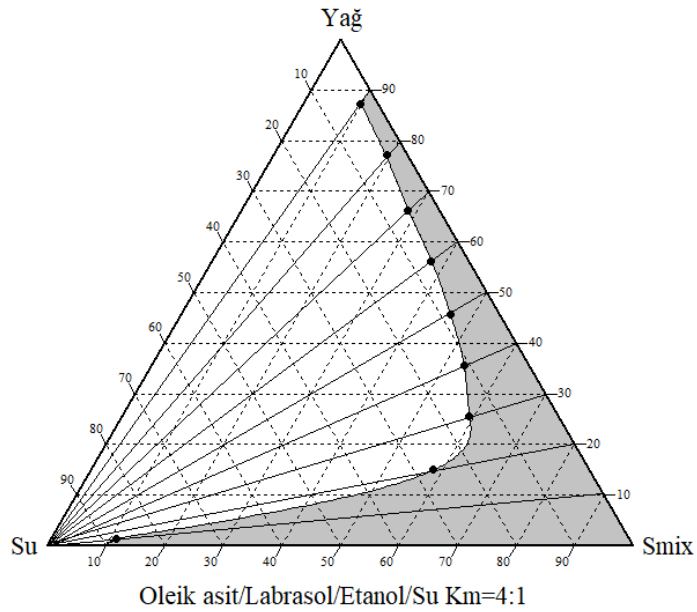
Numarası	Yağ / (S+KoS)	Maisine CC	S+CoS karışımı	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	12,31
2	2:8	0,4	1,6	0,86
3	3:7	0,6	1,4	0,43
4	4:6	0,8	1,2	0,30
5	5:5	1	1	0,21
6	6:4	1,2	0,8	0,06
7	7:3	1,4	0,6	0,08
8	8:2	1,6	0,4	0,07
9	9:1	1,8	0,2	0,09



Şekil 4.6: Km değeri 3:1 olan (OLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.21: Yağ fazı Oleik Asit, Labrasol-Etanol Km değeri 4:1 olan formülasyonun üçgen faz diyagramı çizilirken kullanılan maddelerin oranları ve su miktarları

Numarası	Yağ / (S+KoS)	Maisine CC	S+CoS karışımı	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	13,96
2	2:8	0,4	1,6	0,73
3	3:7	0,6	1,4	0,36
4	4:6	0,8	1,2	0,25
5	5:5	1	1	0,18
6	6:4	1,2	0,8	0,14
7	7:3	1,4	0,6	0,11
8	8:2	1,6	0,4	0,07
9	9:1	1,8	0,2	0,06



Şekil 4.7: Km değeri 4:1 olan (OLE) formülasyonun üçgen faz diyagramı

4.7. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Belirlenmesi

Ön formülasyon çalışmaları neticesinde, üçgen faz diyagramları da göz önünde bulundurularak hazırlanan formülasyonlar, su tutma kapasiteleri, polidispersite indeksi, damlacık boyutu gibi özelliklere bakılarak seçildi. Seçilen formülasyonlar Tablo 4.21’de gösterilmiştir.

Tablo 4.22 Ön formülasyon sonucunda seçilen formülasyonlarda kullanılan maddelerin oranları

Formülasyon	Y/(S+CoS)	S/CoS	BHA (%)	Ole.A. (%)	Maisine*	Labrasol (%)	Etanol (%)	Su (%)
MLE 2821 A2	2:8	2:1	0,05	-	13	34,66	17,33	35
MLE 2831 A2	2:8	3:1	0,05	-	13	39	13	35
MLE 2821 A1	2:8	2:1	0,05	-	12	32	16	40
MLE 2831 A1	2:8	3:1	0,05	-	12	36	12	40
MLE 3721 A2	3:7	2:1	0,05	-	20	30	15	35
MLE 3731 A2	3:7	3:1	0,05	-	20	33,75	11,25	35
MLE 3721 A1	3:7	2:1	0,05	-	18	28	14	40
MLE 3731 A1	3:7	3:1	0,05	-	18	31,5	10,5	40
OLE 1931 A2	1:9	3:1	0,05	7	-	43,5	14,5	35
OLE 1941 A2	1:9	4:1	0,05	7	-	47,2	11,8	35
OLE 1931 A1	1:9	3:1	0,05	6	-	40,5	13,5	40
OLE 1941 A1	1:9	4:1	0,05	6	-	43,2	10,8	40

4.8. Seçilen Formülasyonlara Desloratadin Yüklenmesi

Yöntem 3.2.9’da belirtildiği gibi Tablo 4.21’de belirtilen formülasyonlara antioksidan olarak % 0,05 oranda BHT, % 0,1 oranında desloratadin yüklenmiştir.

4.9. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Ön Stabilite İşlemine Tabi Tutulması

Seçilen mikroemülsiyonların stabilizeye bırakılmadan önce ön stabilize işlemine tabi tutulması için stabilizeye bırakılması düşünülen mikroemülsiyonların hazırlandıkları gün ve oda sıcaklığında 96 saat bekletilerek polidispersite indeksi ve damlacık boyutu

değerleri ölçüldü. Ölçümlerde aradaki herhangi bir fark olup olmadığı gözlemlendi. DLS sonuçları damlacık boyutlarının (200 nm'den küçük) nano boyutta olduğunu ve büyük bir fark olmadığını göstermektedir. Boş mikroemülsiyonların ilk gün ve 96 saat sonraki damlacık boyutları Tablo 4.22'de desloratadin yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutları Tablo 4.23'te verilmiştir.

Tablo 4.23: Boş mikroemülsiyonların ilk gün ve 96 saat sonraki damlacık boyutu değişimi

Damlacık Boyutu (nm) (25 °C)		
Formülasyon	Boş mikroemülsiyon (İlk gün)	Boş mikroemülsiyon (96 saat)
MLE 2821 A1	7,42 ± 0,12	7,29 ± 0,13
MLE 2821 A2	7,64 ± 0,21	7,53 ± 0,03
MLE 2831 A1	5,73 ± 0,37	5,76 ± 0,22
MLE 2831 A2	6,01 ± 0,09	6,36 ± 0,11
MLE 3721 A1	16,03 ± 0,32	16,57 ± 0,22
MLE 3721 A2	16,23 ± 0,19	16,03 ± 0,32
MLE 3731 A1	13,54 ± 0,21	13,88± 0,26
MLE 3731 A2	13,15 ± 0,12	13,40± 0,32
OLE 1931 A1	3,74 ± 0,04	3,64 ± 0,19
OLE 1931 A2	4,01 ± 0,09	3,77 ± 0,29
OLE 1941 A1	4,16 ± 0,012	5,39 ± 0,16
OLE 1941 A2	4,44 ± 0,10	4,62 ± 0,15

Tablo 4.24: DL yüklü mikroemülsiyonların ilk gün ve 96 saat sonraki damlacık boyutu değişimi

Damlacık Boyutu (nm) (25 °C)		
Formülasyon	DL yüklü mikroemülsiyon (ilk gün)	DL yüklü mikroemülsiyon (96 saat sonra)
DL-MLE 2821 A1	7,42 ± 0,12	7,23 ± 0,23
DL-MLE 2821 A2	7,64 ± 0,21	7,32 ± 0,15
DL-MLE 2831 A1	5,56 ± 0,15	5,79 ± 0,12
DL-MLE 2831 A2	6,59 ± 0,07	6,45 ± 0,21
DL-MLE 3721 A1	16,22 ± 0,13	16,34 ± 0,34
DL-MLE 3721 A2	16,35 ± 0,18	16,09 ± 0,25
DL-MLE 3731 A1	12,48 ± 0,11	12,79± 0,31
DL-MLE 3731 A2	12,66 ± 0,23	12,77± 0,32
DL-OLE 1931 A1	3,42 ± 0,06	3,51 ± 0,18
DL-OLE 1931 A2	5,76 ± 0,08	5,19 ± 0,12
DL-OLE 1941 A1	3,73 ± 0,01	3,59 ± 0,19
DL-OLE 1941 A2	4,03 ± 0,02	4,12 ± 0,17

4.10. Mikroemülsiyonların Karakterizasyonuna Yönelik Çalışmalar

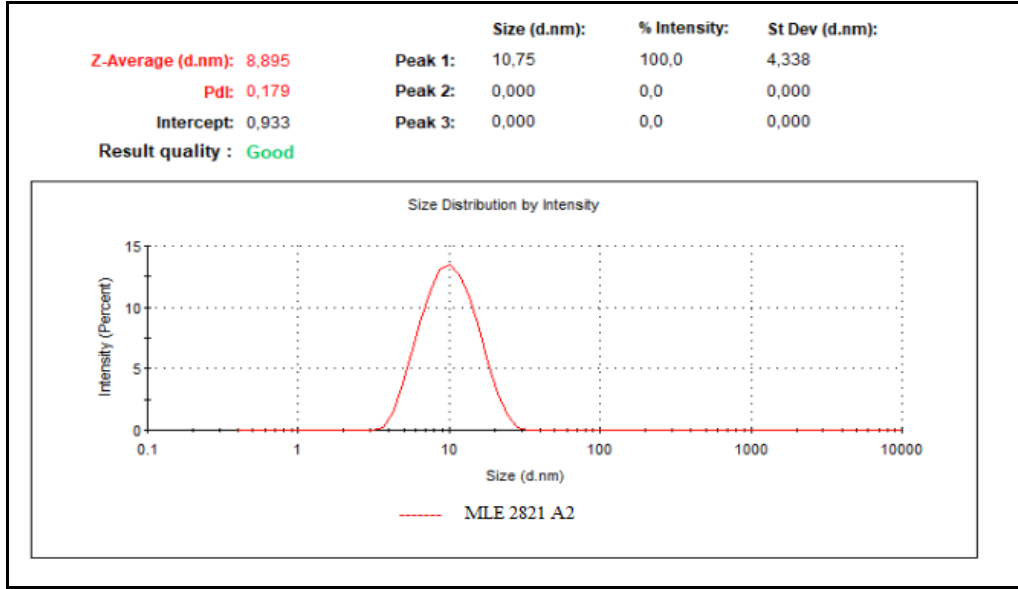
Çalışma kapsamında mikroemülsiyonların fiziksel görünüm, damlacık boyutu ve polidispersite indeksi, pH, iletkenlik, refraktif indeks, reolojik özellikler açısından karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.10.1. Fiziksel Görünüm

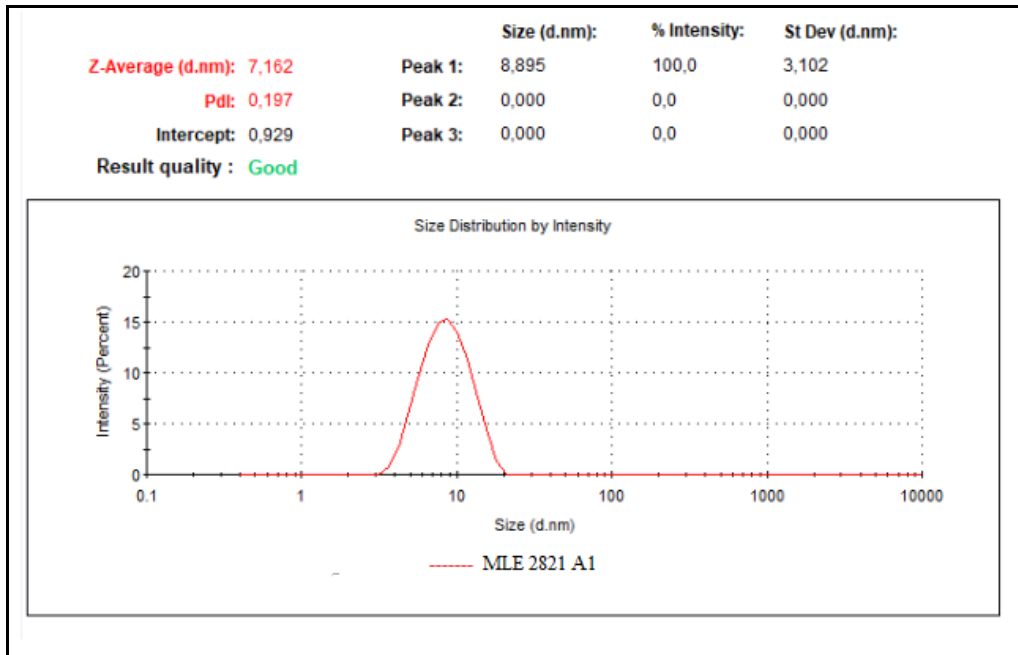
Seçilen mikroemülsiyonların hepsi fiziksel görünüm olarak homojendir. Etken madde yükledikten sonra yağ fazı maisine CC olan formülasyonların renkleri turuncuydu. Diğer bütün formülasyonlar renksiz olarak gözlenmiştir. Bütün formülasyonlarda faz ayrımı ve bulanma görülmemiştir.

4.10.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi

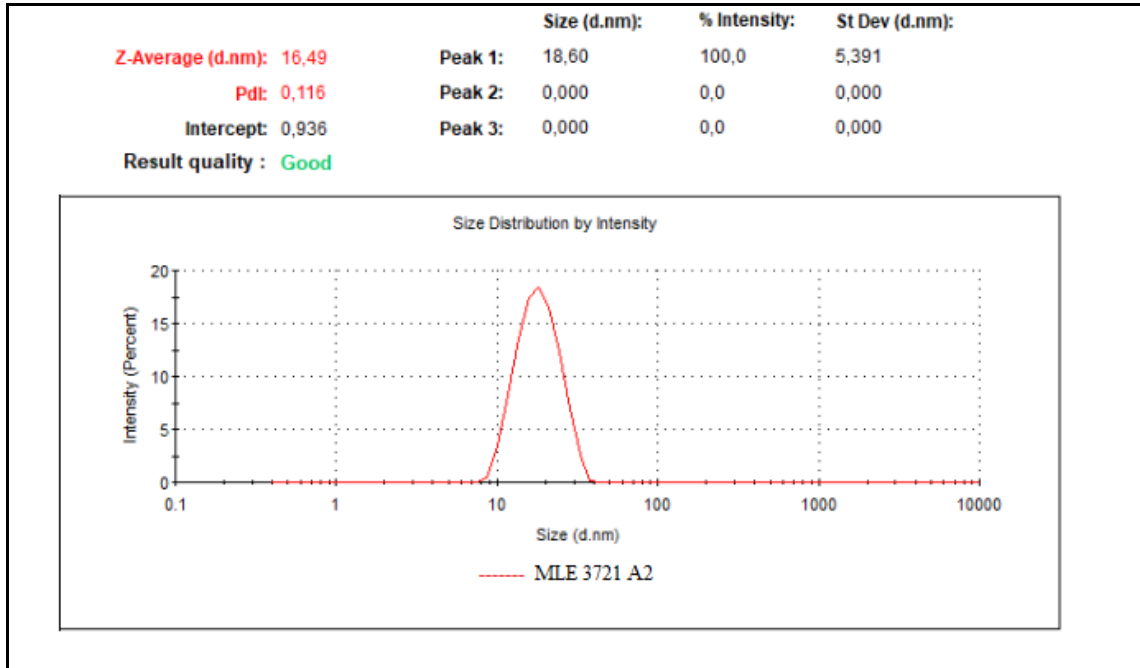
Yöntemde 3.2.11.2’de belirtildiği gibi damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ölçümü gerçekleştirildi. Seçilen hem boş hem de desloratadin yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutuna ve polidispersite indeksine yönelik grafikler Şekil 4.8 - 4.29’da gösterilmiştir.



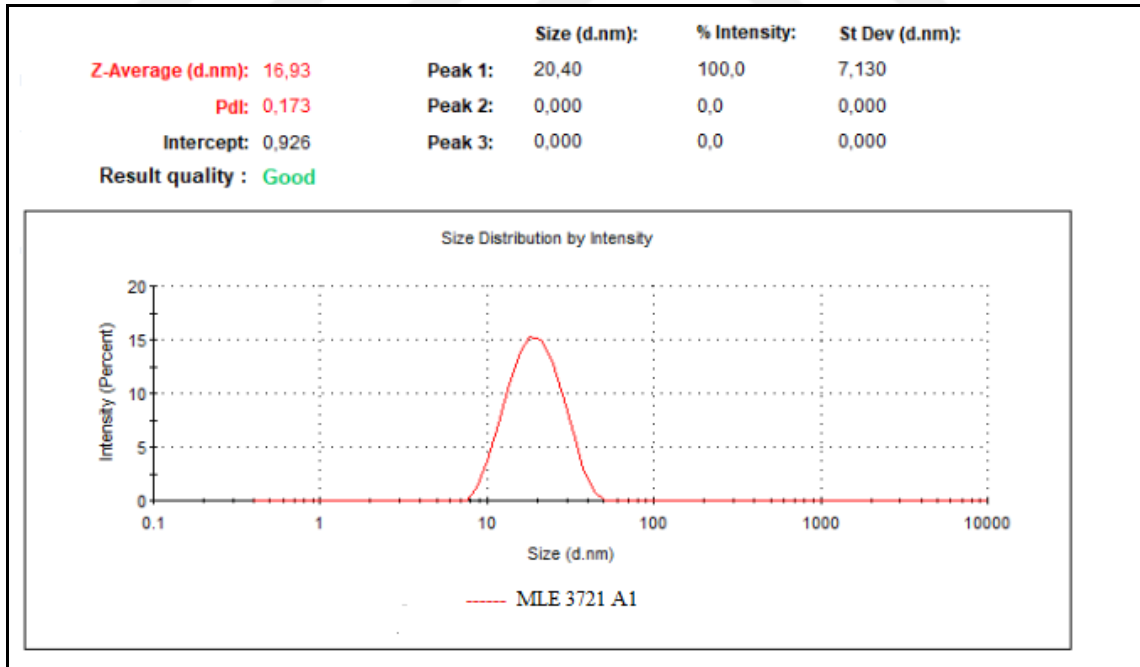
Şekil 4.8: Maisine Labrasol Etanol (2821) A2 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



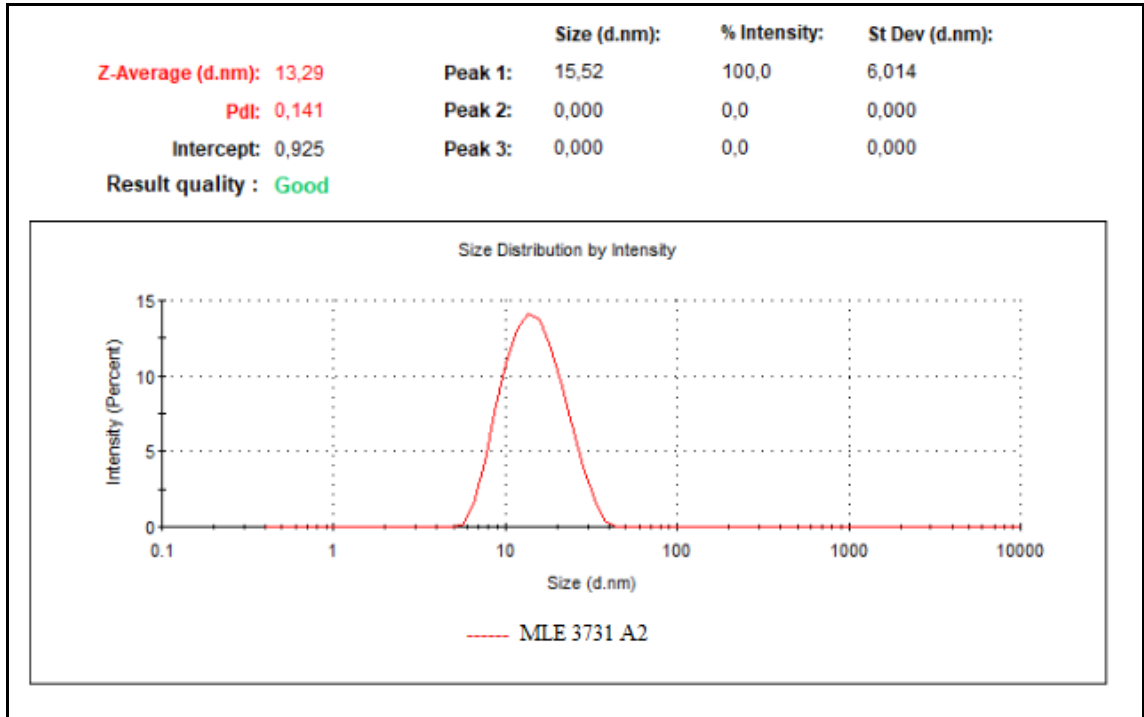
Şekil 4.9: Maisine Labrasol Etanol (2821) A1 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



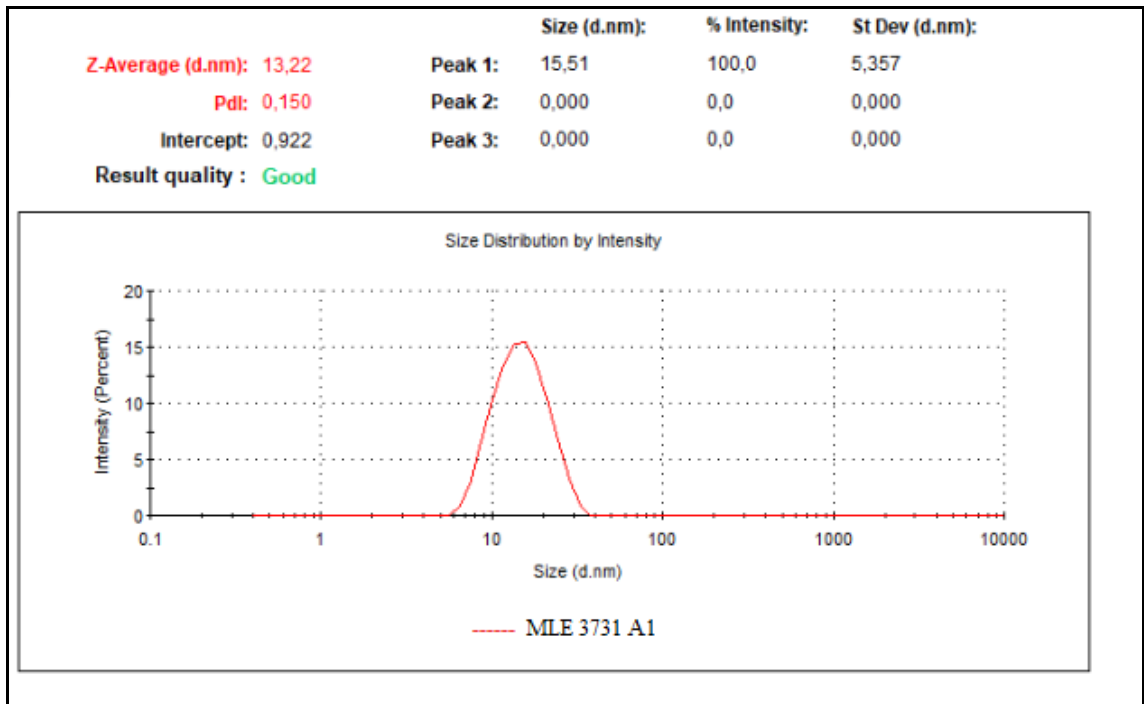
Şekil 4.10: Maisine Labrasol Etanol (3721) A2 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



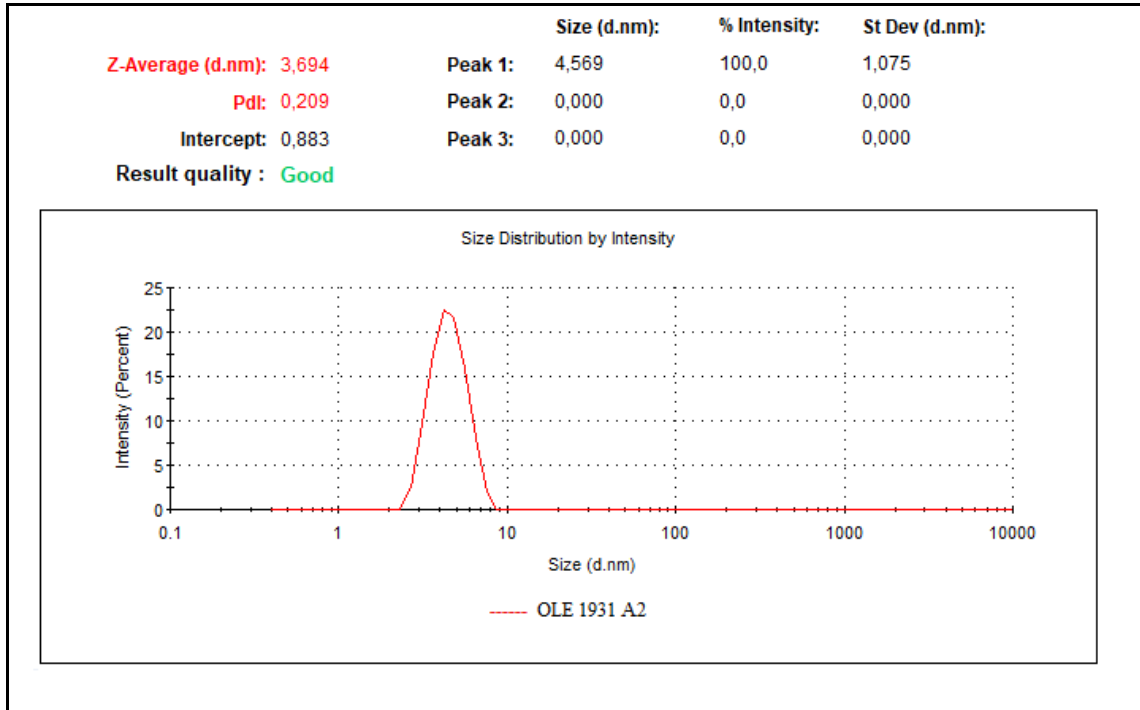
Şekil 4.11: Maisine Labrasol Etanol (3721) A1 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



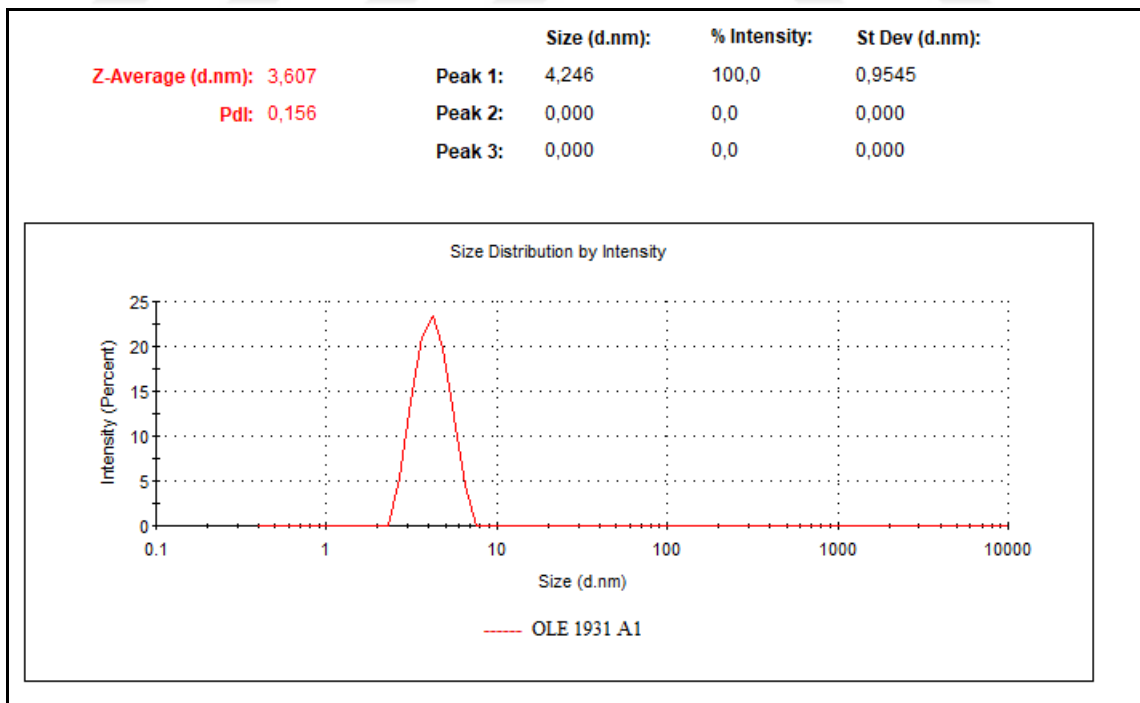
Şekil 4.12: Maisine Labrasol Etanol (3731) A2 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



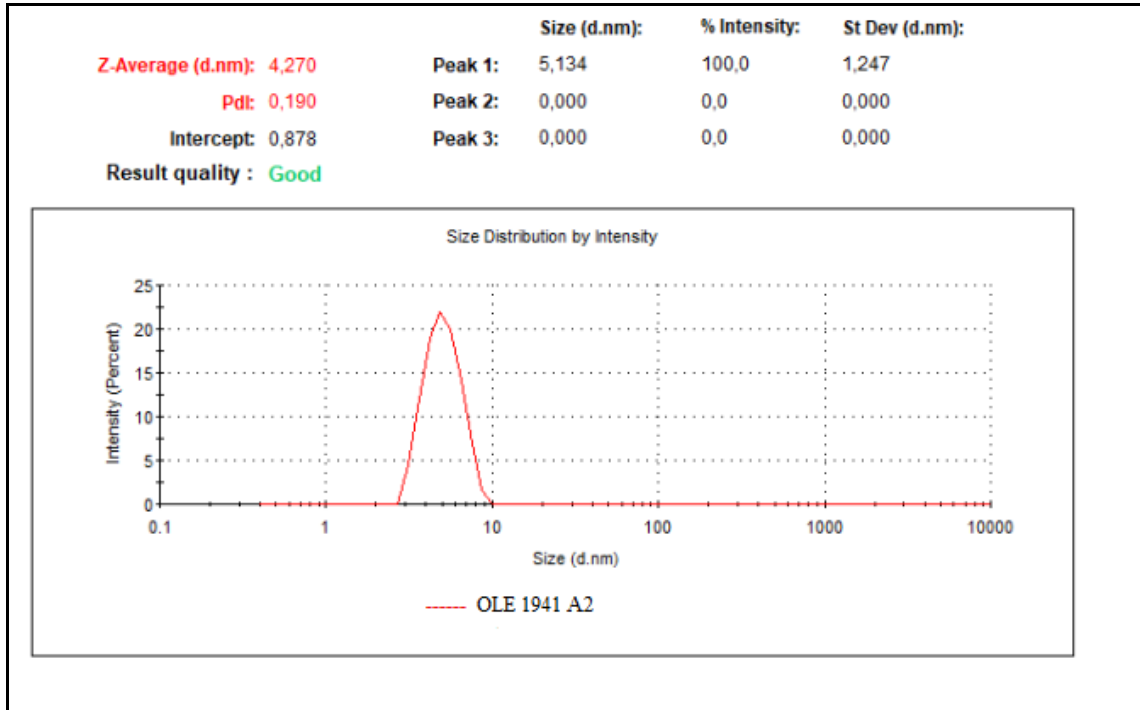
Şekil 4.13: Maisine Labrasol Etanol (3731) A1 su içeren formülasyonun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



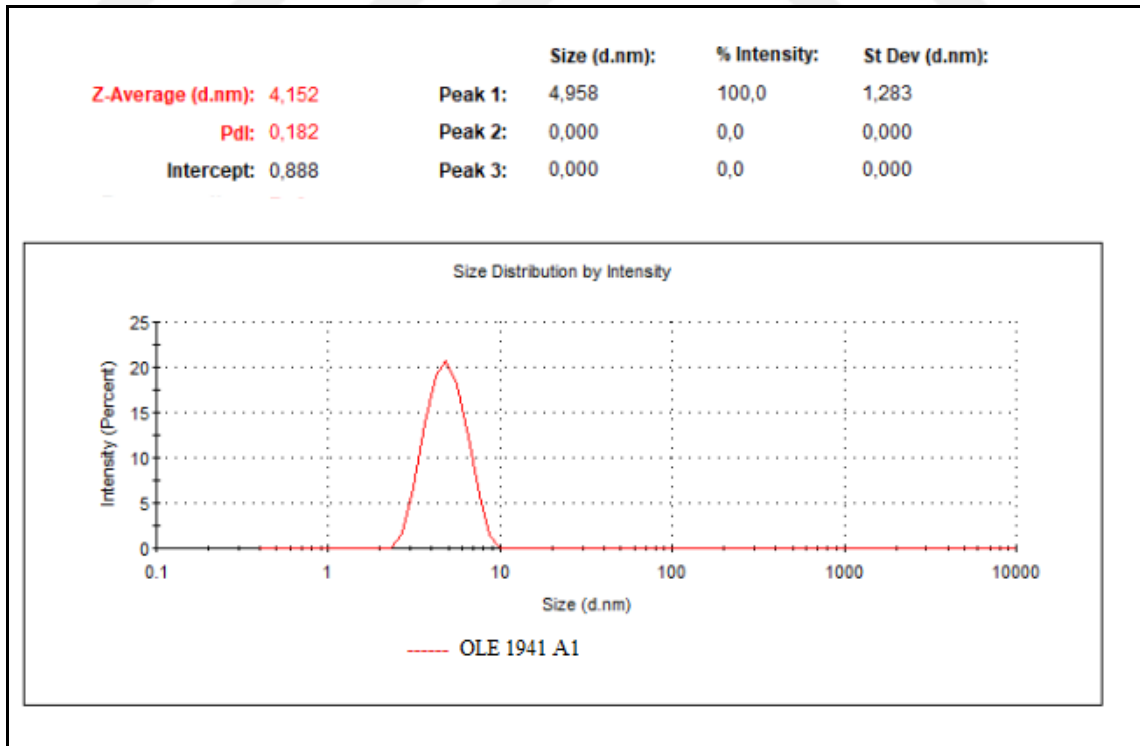
Şekil 4.14: Oleik asit-Labrasol Etanol (1931) A2 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



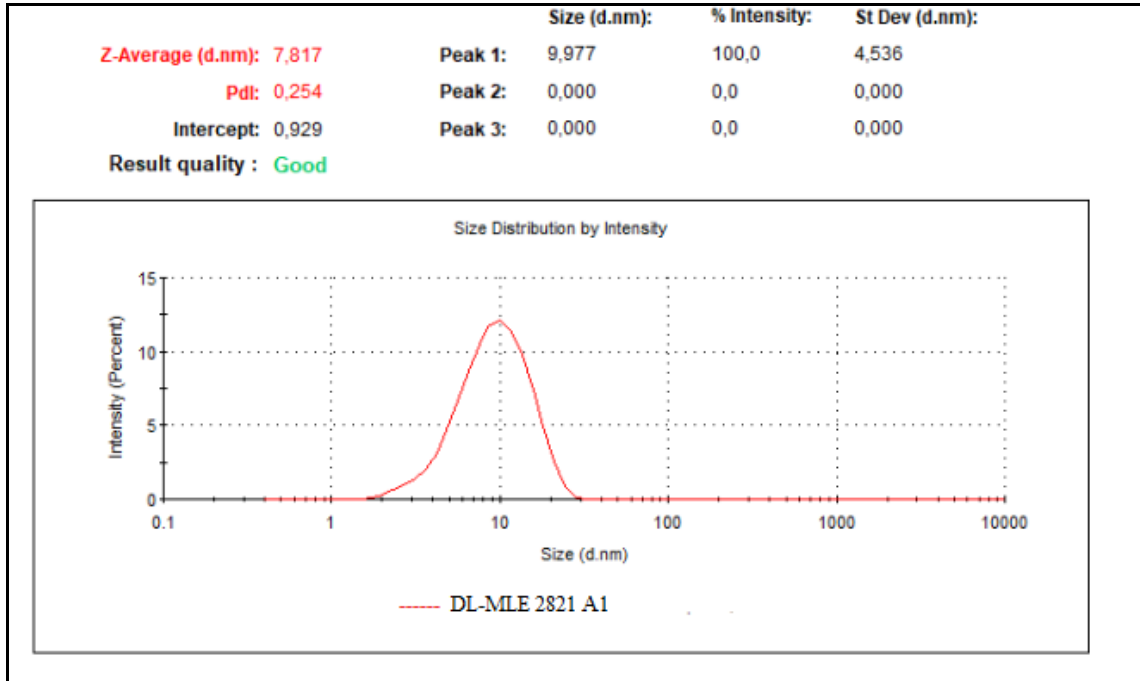
Şekil 4.15: Oleik asit-Labrasol Etanol (1931) A1 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



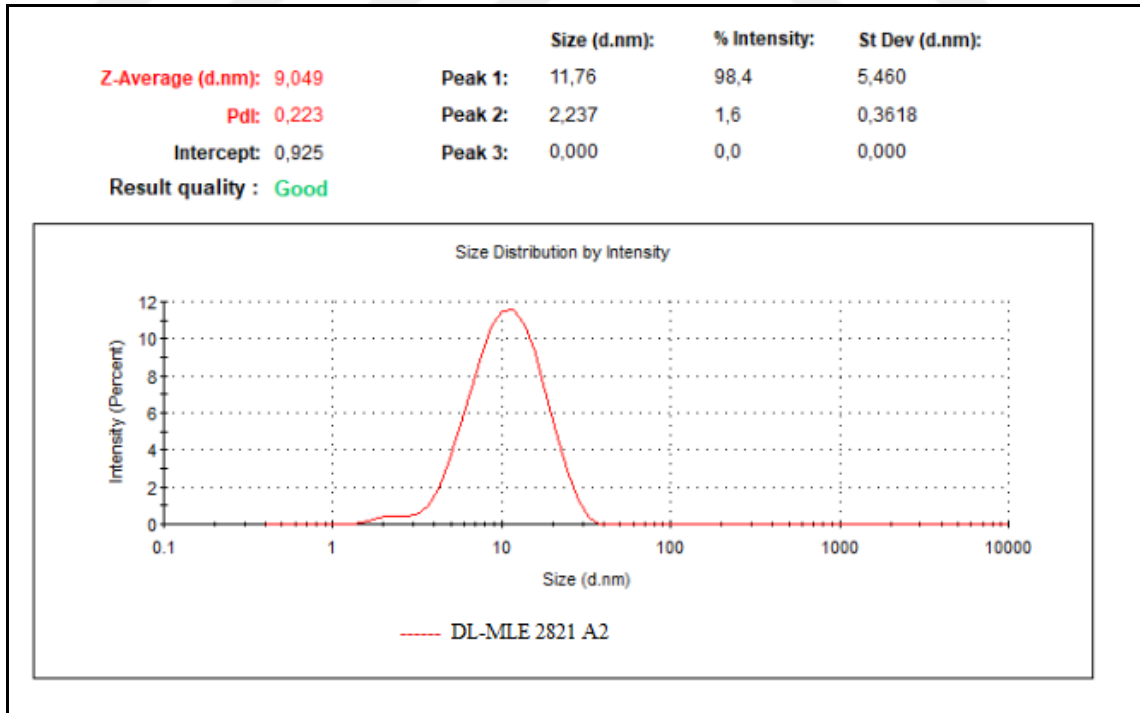
Şekil 4.16: Oleik asit-Labrasol Etanol (1941) A2 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



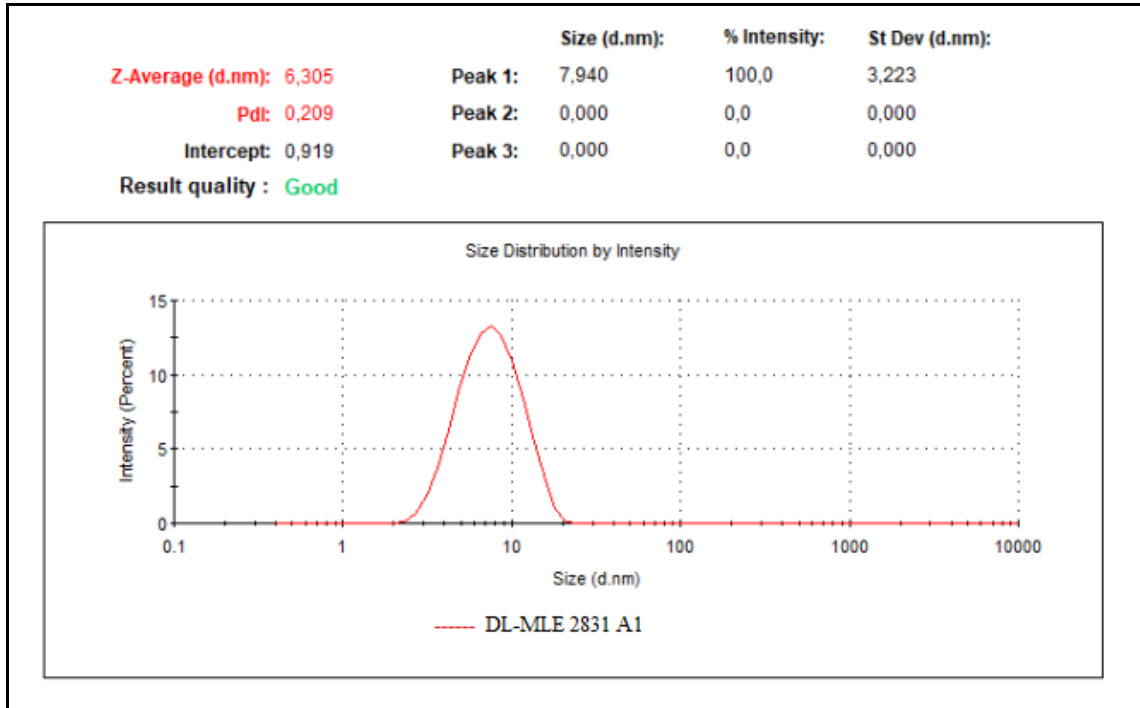
Şekil 4.17: Oleik asit-Labrasol Etanol (1941) A1 su formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu ölçümleri



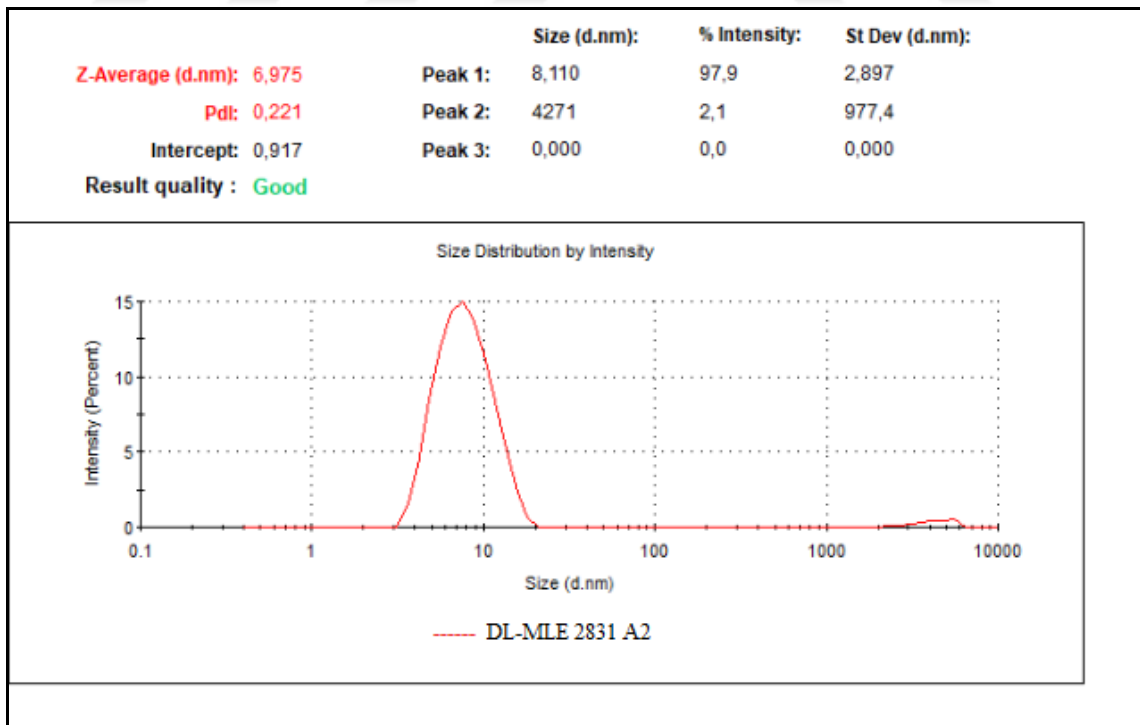
Şekil 4.18: Desloratadin yüklü MLE 2821 A1 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu



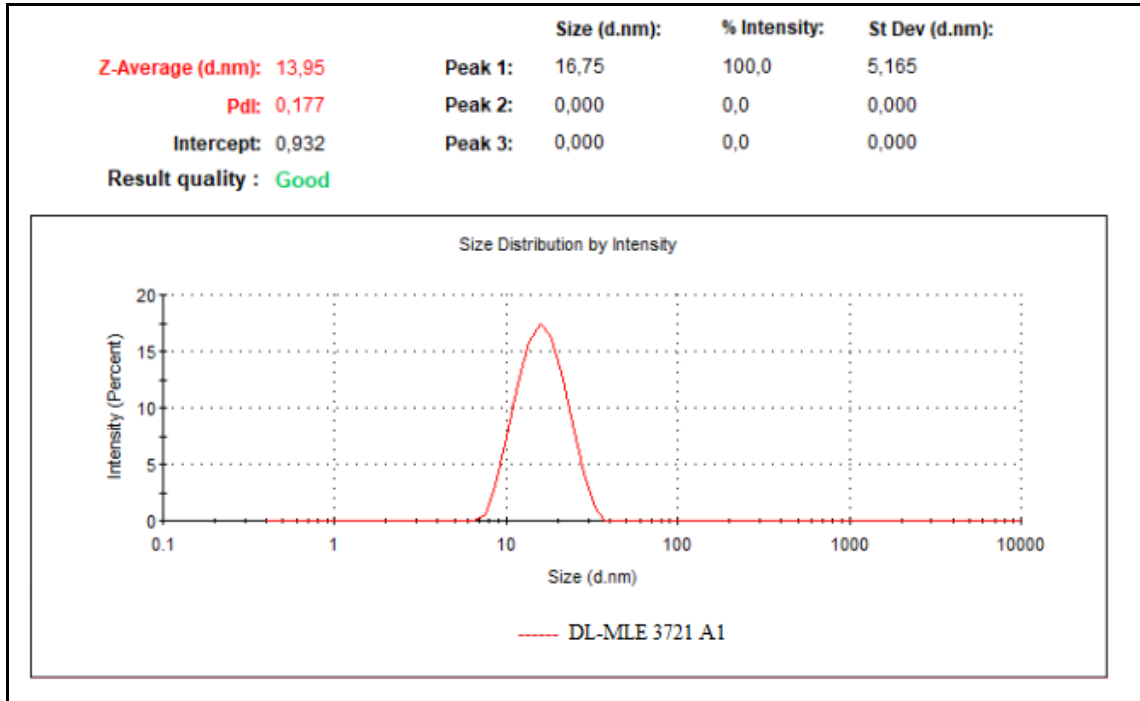
Şekil 4.19: Desloratadin yüklü MLE 2821 A2 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



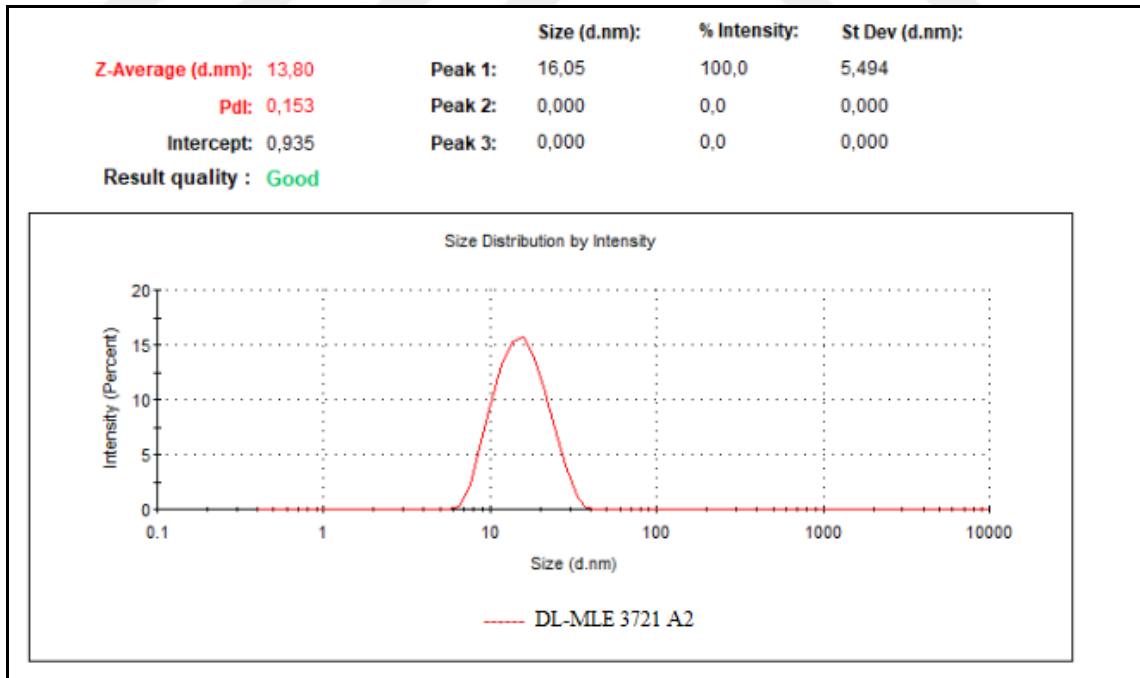
Şekil 4.20: Desloratadin yüklü MLE 2831 A1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri



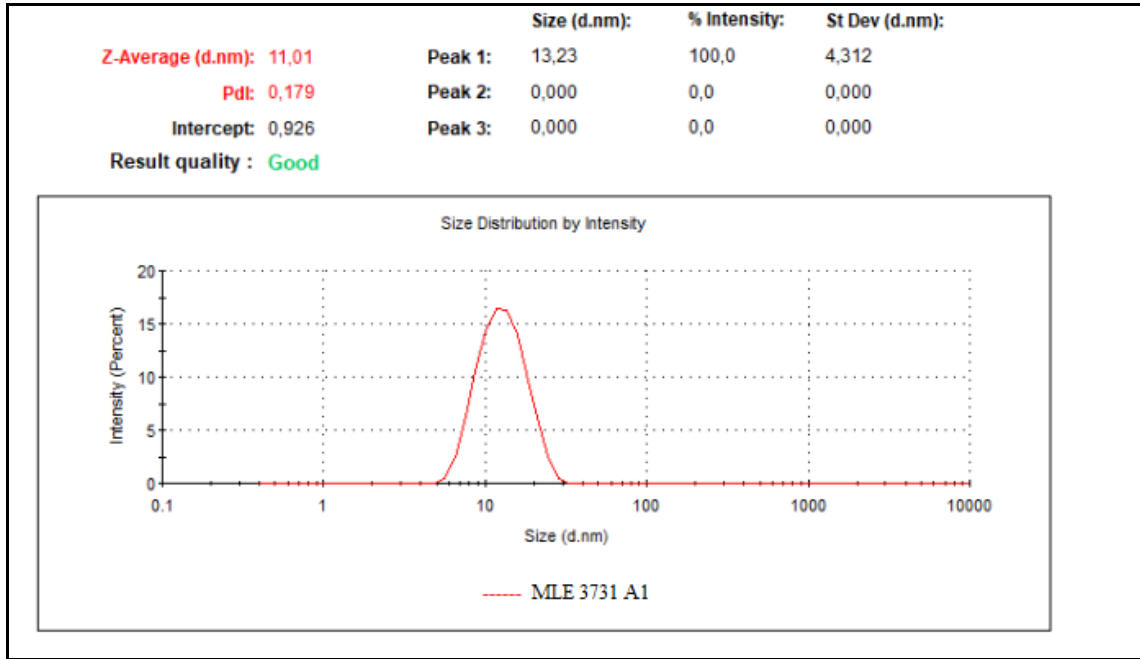
Şekil 4.21: Desloratadin yüklü MLE 2831 A2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi değeri



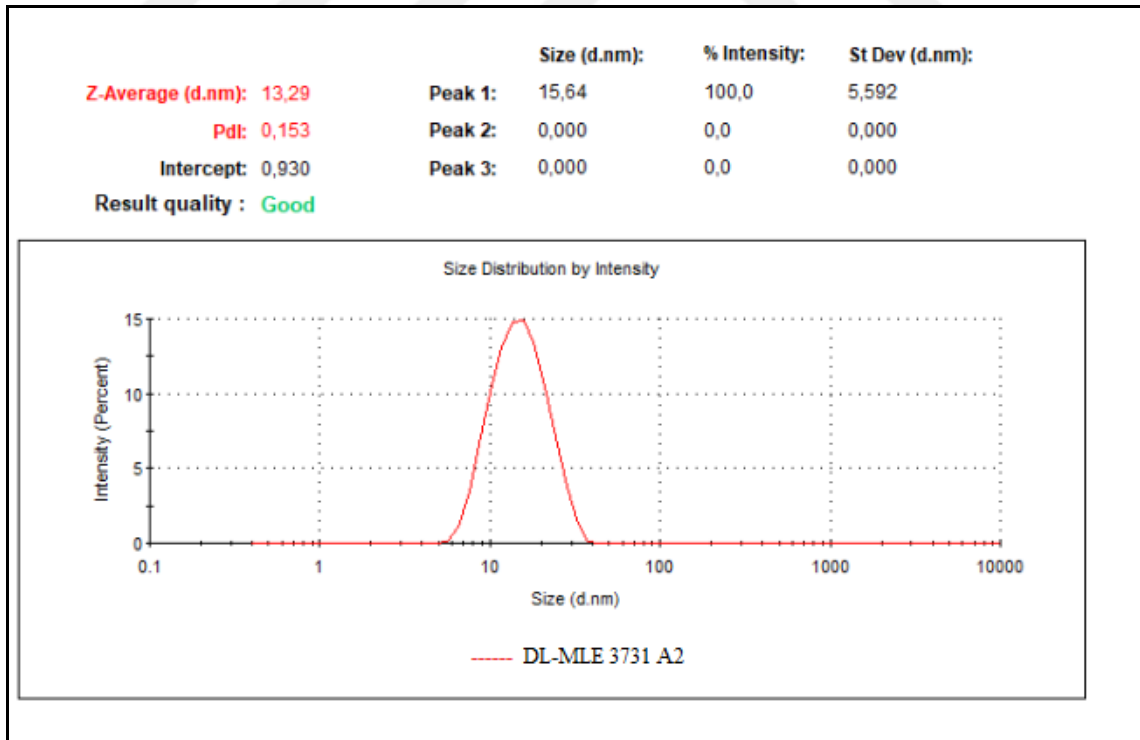
Şekil 4.22: Desloratadin yüklü MLE 3721 A1 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



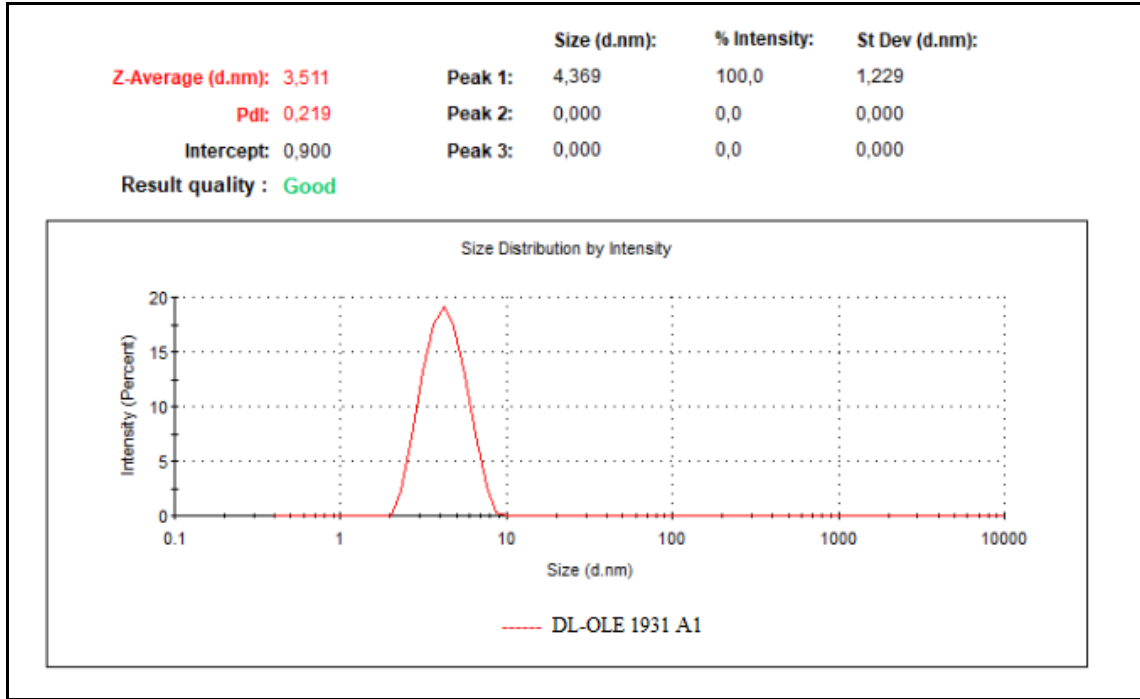
Şekil 4.23: Desloratadin yüklü MLE 3721 A2 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



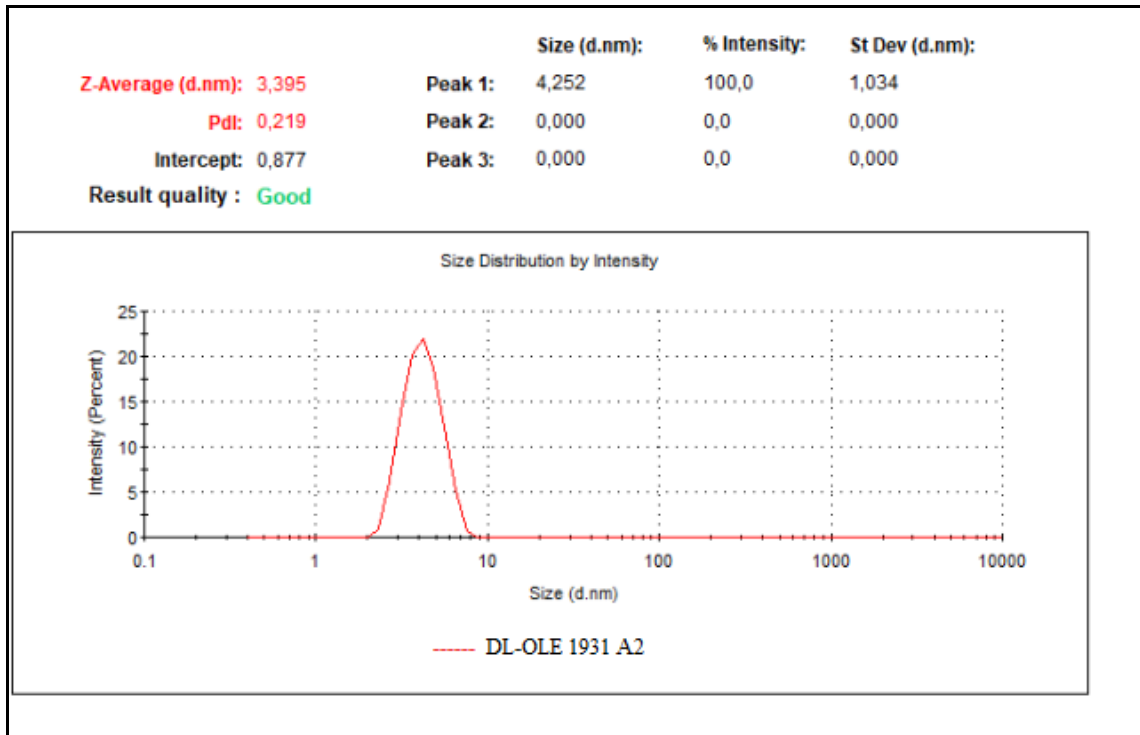
Şekil 4.24: Desloratadin yüklü MLE 3731 A1 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



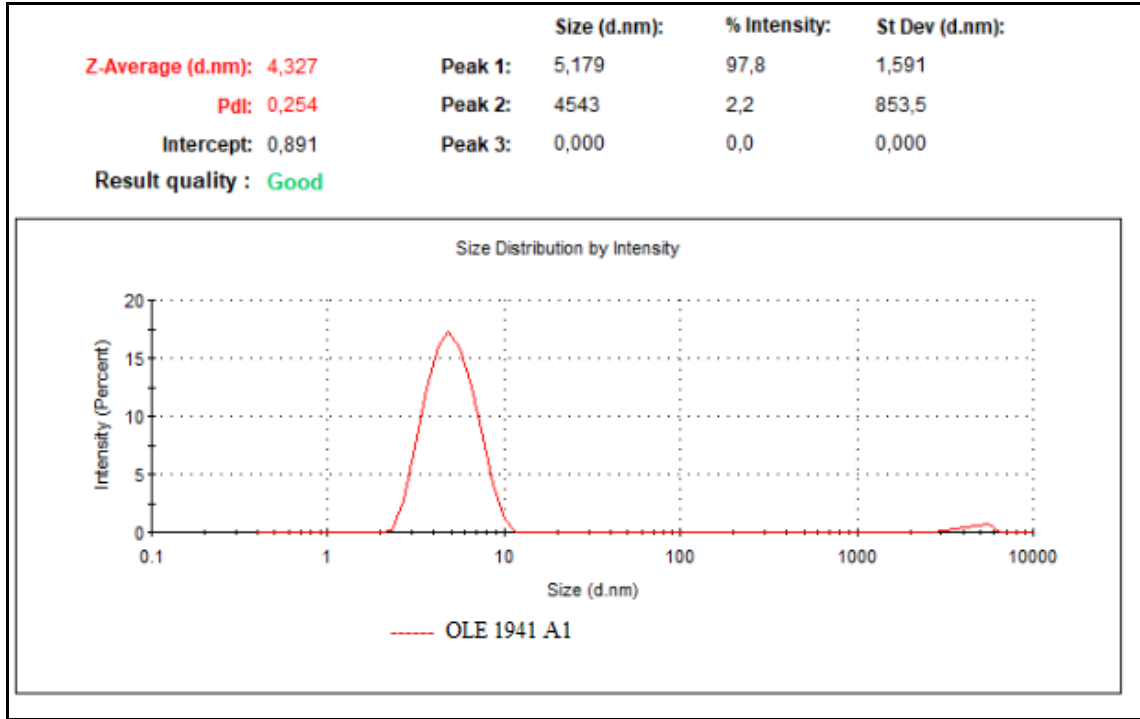
Şekil 4.25: Desloratadin yüklü MLE 3731 A2 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



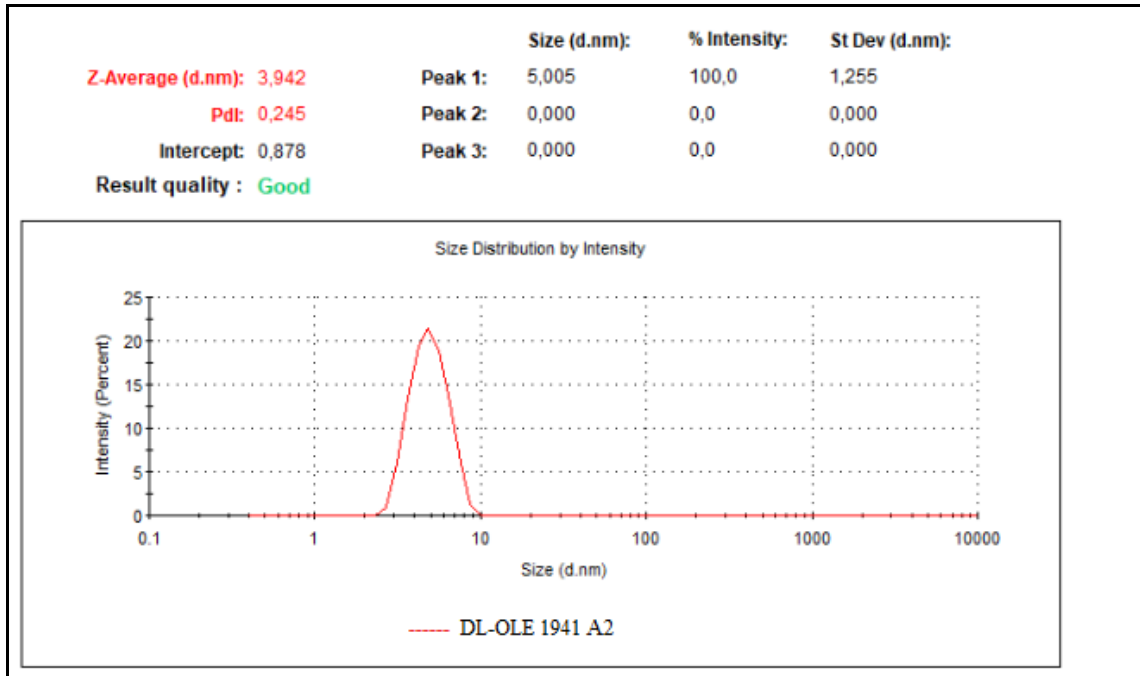
Şekil 4.26: Desloratadin yüklü OLE 1931 A1 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



Şekil 4.27: Desloratadin yüklü OLE 1931 A2 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



Şekil 4.28: Desloratadin yüklü OLE 1941 A1 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri



Şekil 4.29: Desloratadin yüklü OLE 1941 A2 formülasyonunun polidispersite indeksi ve damlacık boyutu değeri

4.10.3. Mikroemülsiyonlar için Yapılan Faz Ayrımı Çalışması

Hem boş hem de etken madde yüklü mikroemülsiyonlar için Yöntem 3.2.11.3'te belirtildiği gibi faz ayrımı çalışması yapılmıştır. Hiçbir formülasyonda faz ayrımı gerçekleşmemiştir.

4.10.4. Mikroemülsiyon Elektriksel İletkenliğinin Belirlenmesi (Tip Tayini)

Yöntem 3.2.11.4'te belirtildiği gibi iletkenlik değerleri ölçülmüştür. Boş mikroemülsiyonlarda iletkenlik değeri $10,02 \pm 0,01 \mu\text{S/cm}$ ile $16,06 \pm 0,05 \mu\text{S/cm}$ arasında değişirken, desloratadin yüklü mikroemülsiyonlarda iletkenlik değeri $9,56 \pm 0,01 \mu\text{S/cm}$ ile $17,28 \pm 0,04 \mu\text{S/cm}$ arasında değişmektedir. Bu durum mikroemülsiyonların sürekli fazının su olduğunu göstermektedir. Hem boş hemde desloratadin yüklü mikroemülsiyonların iletkenlik değerleri Tablo 4.24'te gösterilmiştir.

Tablo 4.25: Belirlenen mikroemülsiyonların iletkenlik değerleri

İletkenlik değeri (25° C) (μS/cm)		
Formülasyon	Boş mikroemülsiyon	DL yüklü mikroemülsiyon
MLE 2821 A1	13,78 ± 0,03	14,19 ± 0,02
MLE 2821 A2	11,66 ± 0,10	12,63 ± 0,01
MLE 2831 A1	15,84 ± 0,11	13,54 ± 0,02
MLE 2831 A2	14,05 ± 0,04	12,43 ± 0,03
MLE 3721 A1	12,4 ± 0,11	12,07 ± 0,06
MLE 3721 A2	10,57 ± 0,19	10,65 ± 0,02
MLE 3731 A1	12,33 ± 0,03	11,72 ± 0,02
MLE 3731 A2	10,02 ± 0,01	9,56 ± 0,01
OLE 1931 A1	15,85 ± 0,02	12,07 ± 0,06
OLE 1931 A2	15,83 ± 0,03	10,65 ± 0,02
OLE 1941 A1	16,06 ± 0,05	17,28 ± 0,04
OLE 1941 A2	15,83 ± 0,03	10,11 ± 0,01

4.10.5. Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi

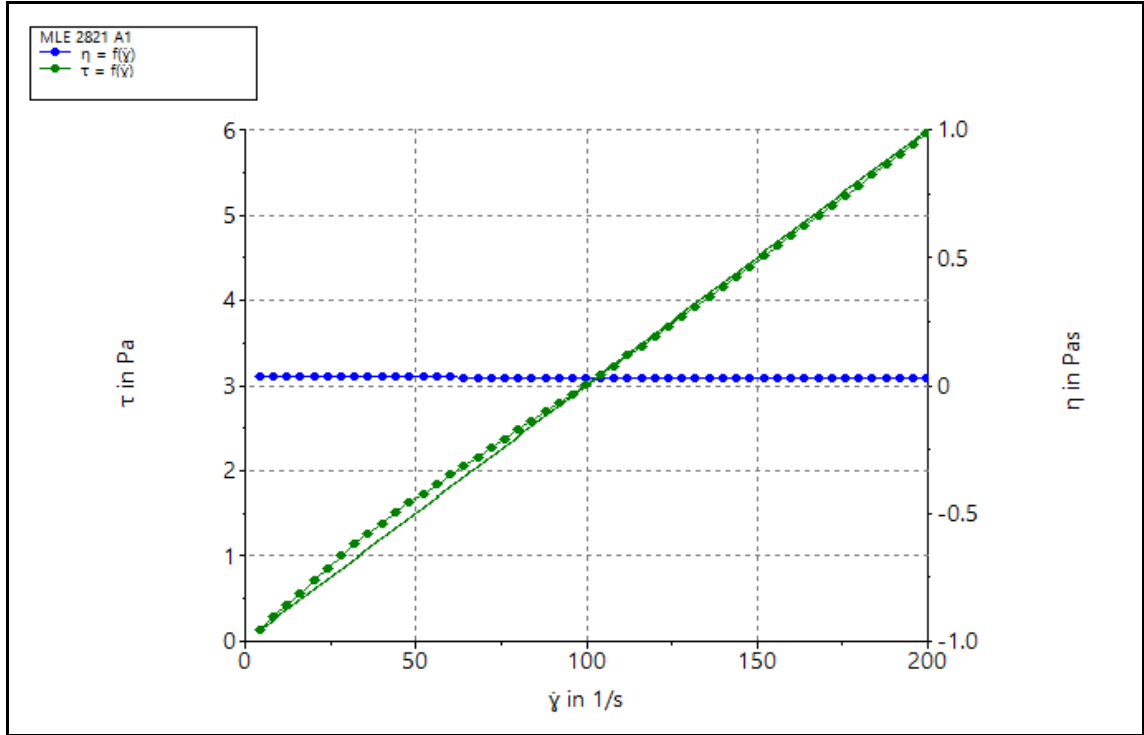
Yöntem 3.2.11.5'te belirtildiği gibi mikroemülsiyonların reolojik özelliği belirlenmiştir. Bütün formülasyonların değişen kayma hızında Newtonian akış gösterdiği belirlenmiştir. Boş ve desloratadin yüklü mikroemülsiyonların ölçüm değerleri boş mikroemülsiyonlar için Tablo 4.25'te desloratadin yüklü mikroemülsiyonlar için Tablo 4.26'da, kayma gerilimi ve viskozitenin, kayma oranına karşı değişme grafikleri Şekil 4.30-53'te verilmiştir.

Tablo 4.26: Boş formülasyonların viskozite, kayma gerilimi ve r^2 değerleri (Newtonian akış modeline göre)

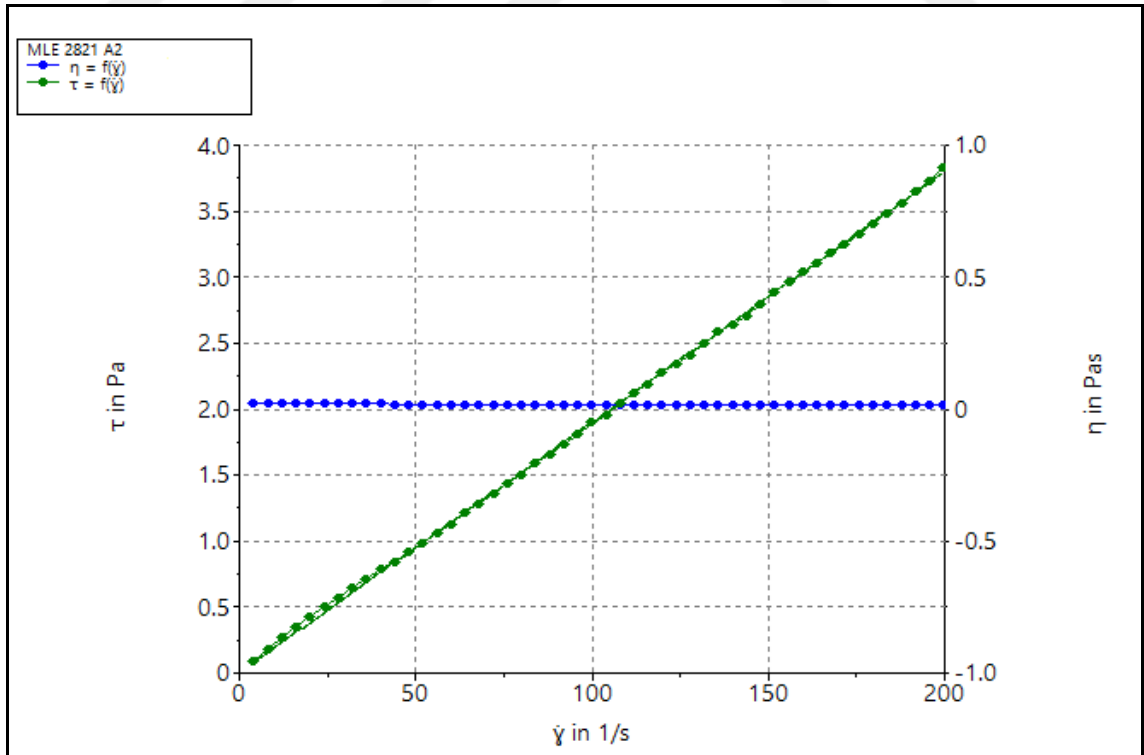
Formülasyon	τ (Pa)	η (Pas)	R^2
MLE 2821 A1	2,9125	0,02976	$0,999 \pm 0,0078$
MLE 2821 A2	2,6149	0,02583	$0,999 \pm 0,0078$
MLE 2831 A1	3,1169	0,03071	$0,996 \pm 0,0001$
MLE 2831 A2	3,3132	0,3179	$0,999 \pm 0,0014$
MLE 3721 A1	2,8676	0,02786	$0,999 \pm 0,00012$
MLE 3721 A2	3,1862	0,0322	$0,999 \pm 0,000$
MLE 3731 A1	3,5624	0,03678	$0,999 \pm 0,008$
MLE 3731 A2	4,0198	0,04048	$0,999 \pm 0,0007$
OLE 1931 A1	1,8681	0,01843	$0,999 \pm 0,00005$
OLE 1931 A2	2,1543	0,02112	$0,999 \pm 0,004$
OLE 1941 A1	1,7993	0,01994	$0,999 \pm 0,0006$
OLE 1941 A2	2,6608	0,027	$0,999 \pm 0,0009$

Tablo 4.27: DL yüklü formülasyonların viskozite, kayma gerilimi ve r^2 değerleri (Newtonian akış modeline göre)

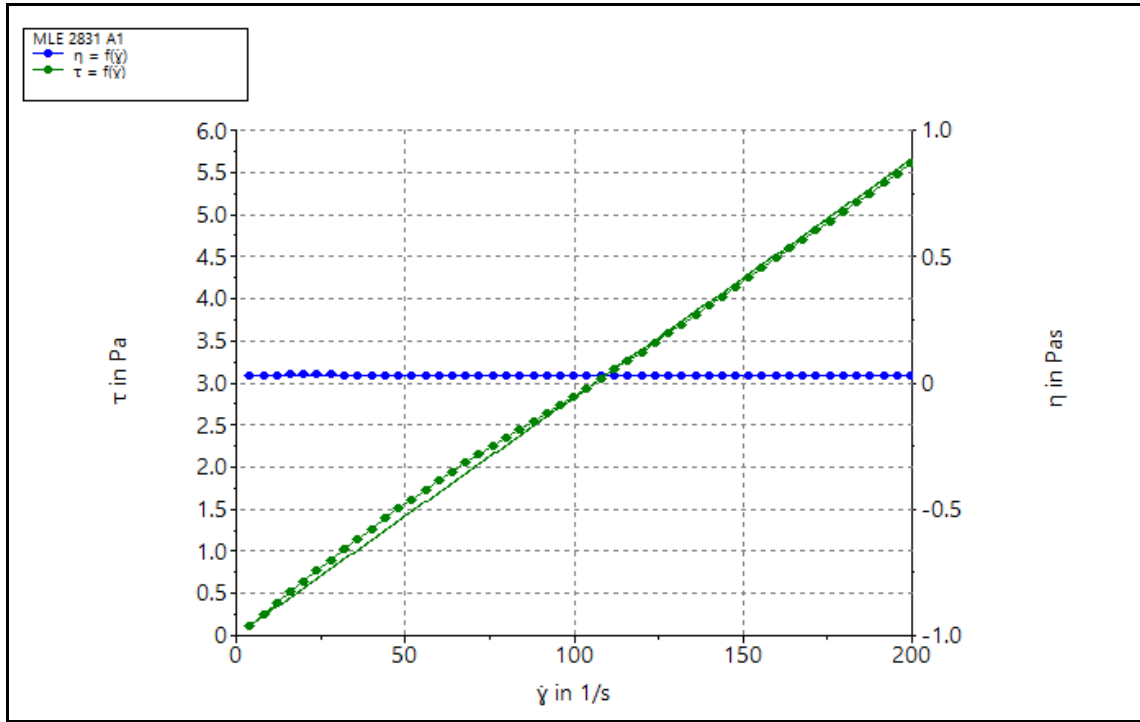
Formülasyon	τ (Pa)	η (Pas)	R^2
DL-MLE 2821 A1	1,7463	0,01737	$0,999 \pm 0,0$
DL-MLE 2821 A2	1,8819	0,01891	$0,999 \pm 0,0014$
DL-MLE 2831 A1	2,7532	0,02788	$0,999 \pm 0,0003$
DL-MLE 2831 A2	3,0705	0,03071	$0,997 \pm 0,0006$
DL-MLE 3721 A1	2,9343	0,02972	$0,998 \pm 0,003$
DL-MLE 3721 A2	2,4801	0,02452	$0,999 \pm 0,0043$
DL-MLE 3731 A1	3,5836	0,03550	$0,999 \pm 0,0021$
DL-MLE 3731 A2	3,6303	0,3586	$0,999 \pm 0,0013$
DL-OLE 1931 A1	1,9947	0,01976	$0,999 \pm 0,0003$
DL-OLE 1931 A2	2,4408	0,02473	$0,999 \pm 0,00004$
DL-OLE 1941 A1	2,5345	0,02575	$0,999 \pm 0,0009$
DL-OLE 1941 A2	2,5732	0,02550	$0,996 \pm 0,0012$



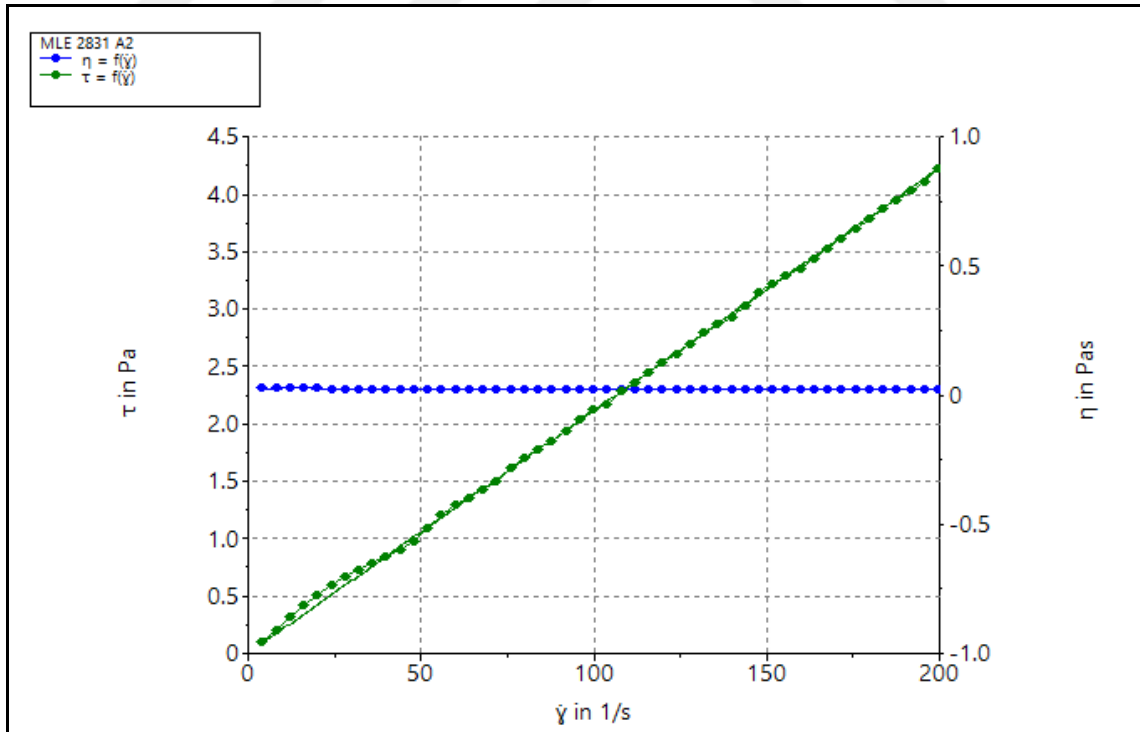
Şekil 4.30: MLE 2821 A1 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



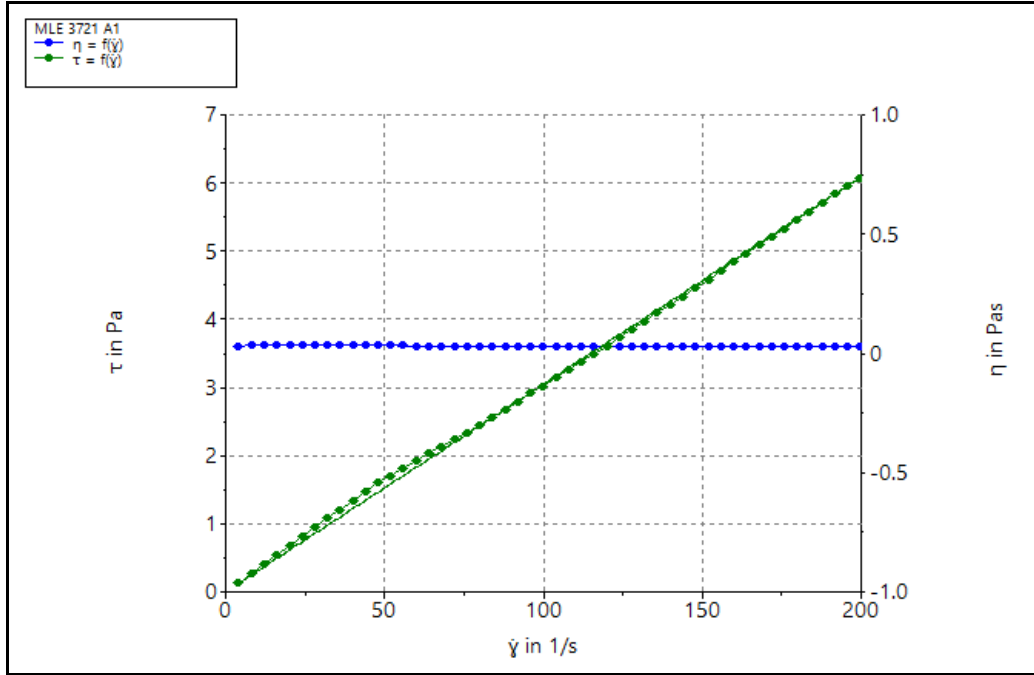
Şekil 4.31: MLE 2821 A2 formülasyonun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



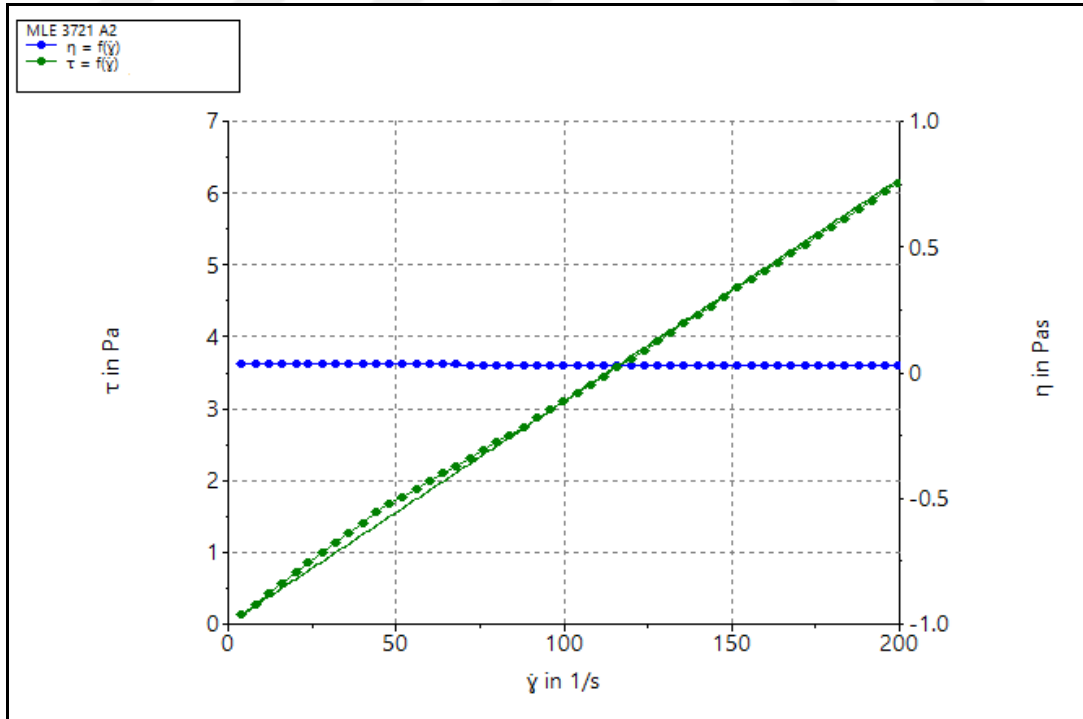
Şekil 4.32: MLE 2831 A1 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



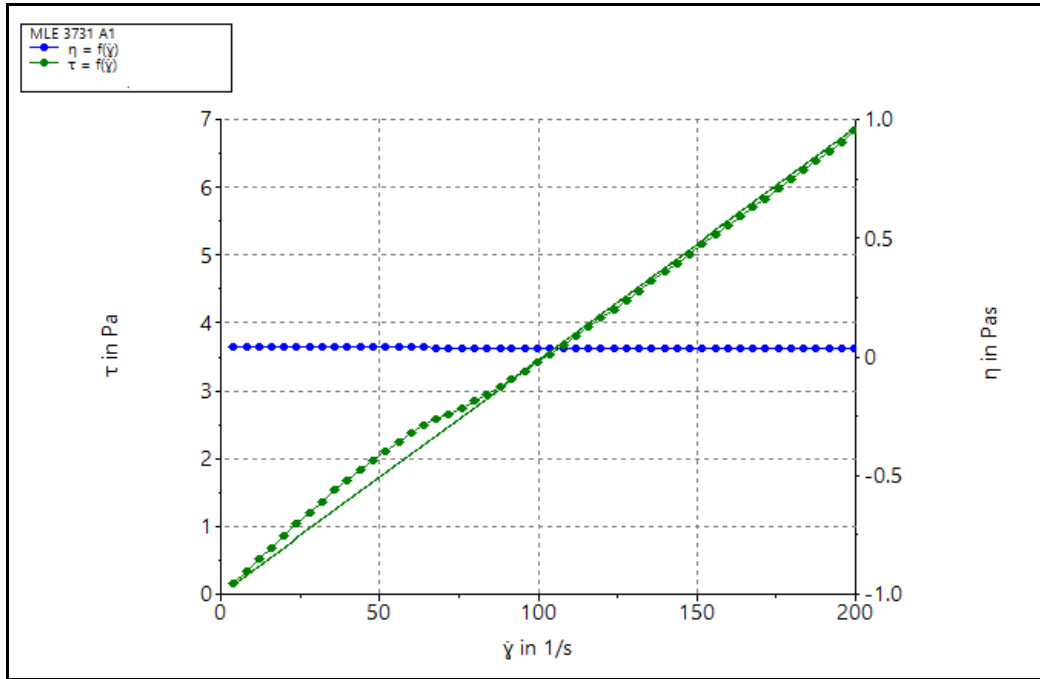
Şekil 4.33: MLE 2831 A2 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



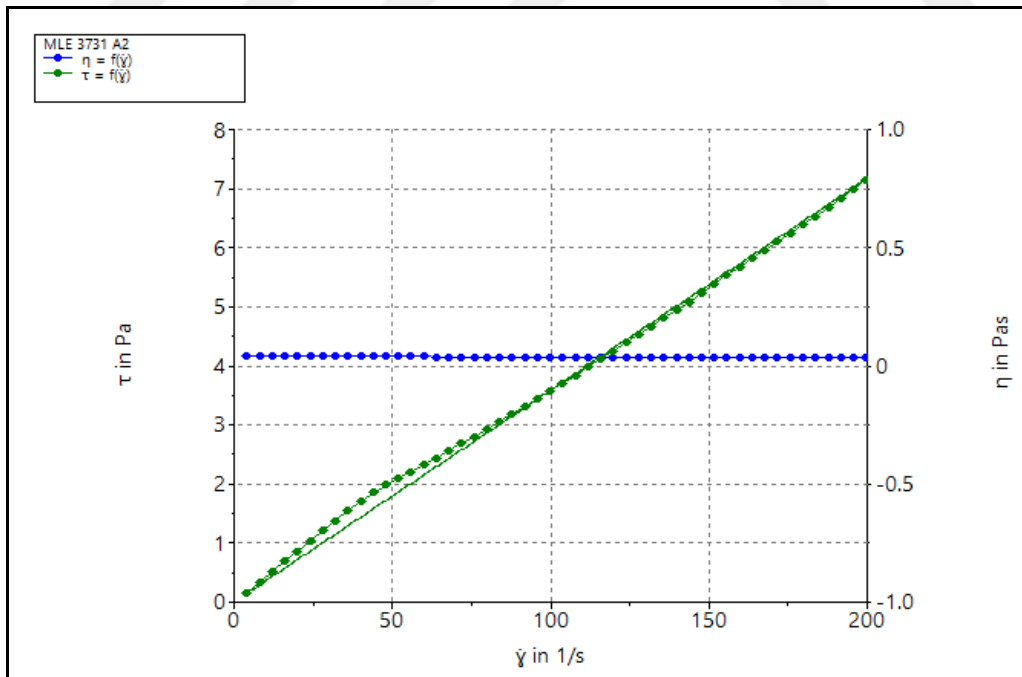
Şekil 4.34: MLE 3721 A1 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



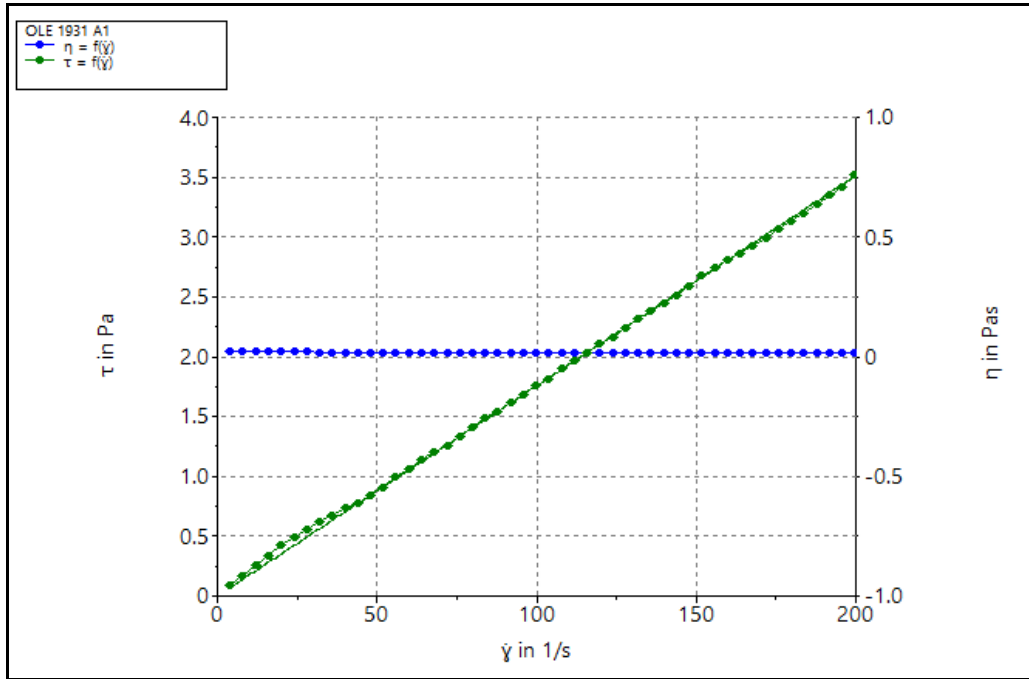
Şekil 4.35: MLE 3721 A2 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



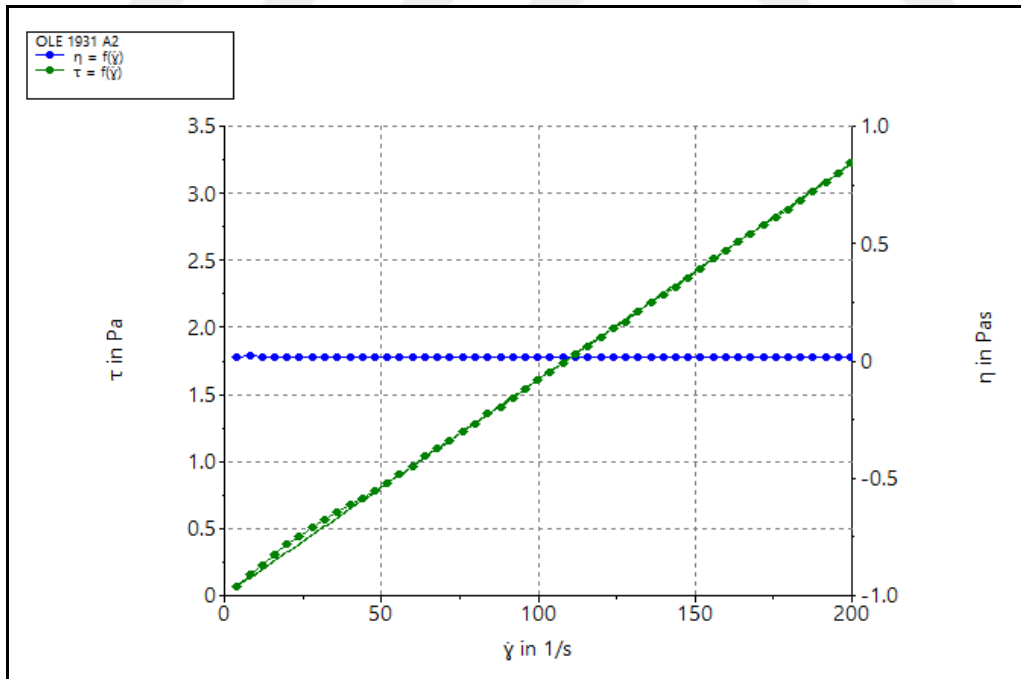
Şekil 4.36: MLE 3731 A1 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



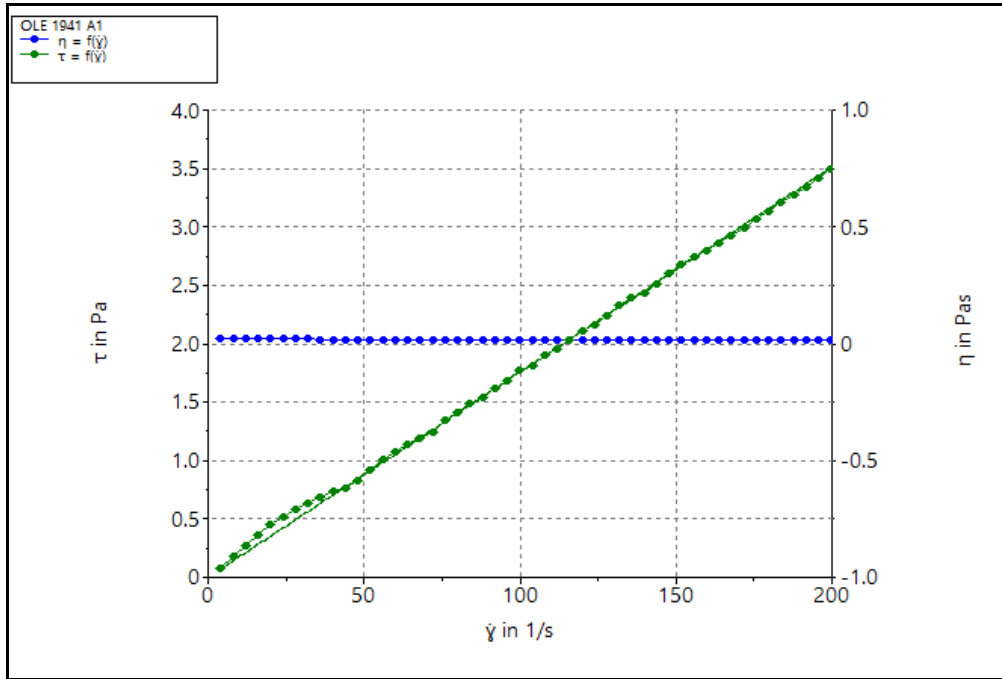
Şekil 4.37: MLE 3731 A2 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



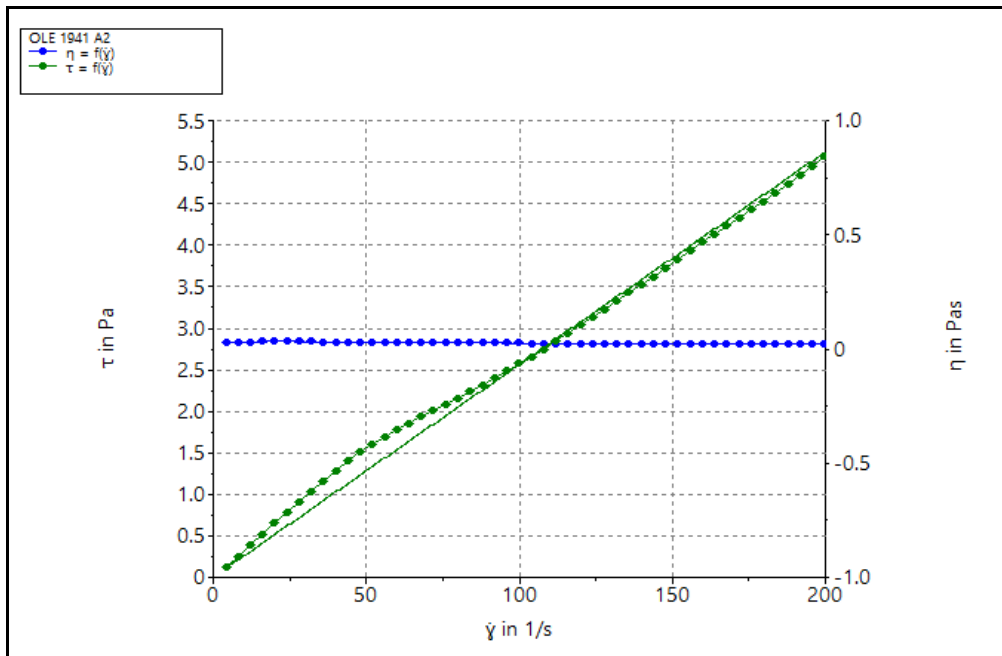
Şekil 4.38: OLE 1931 A1 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



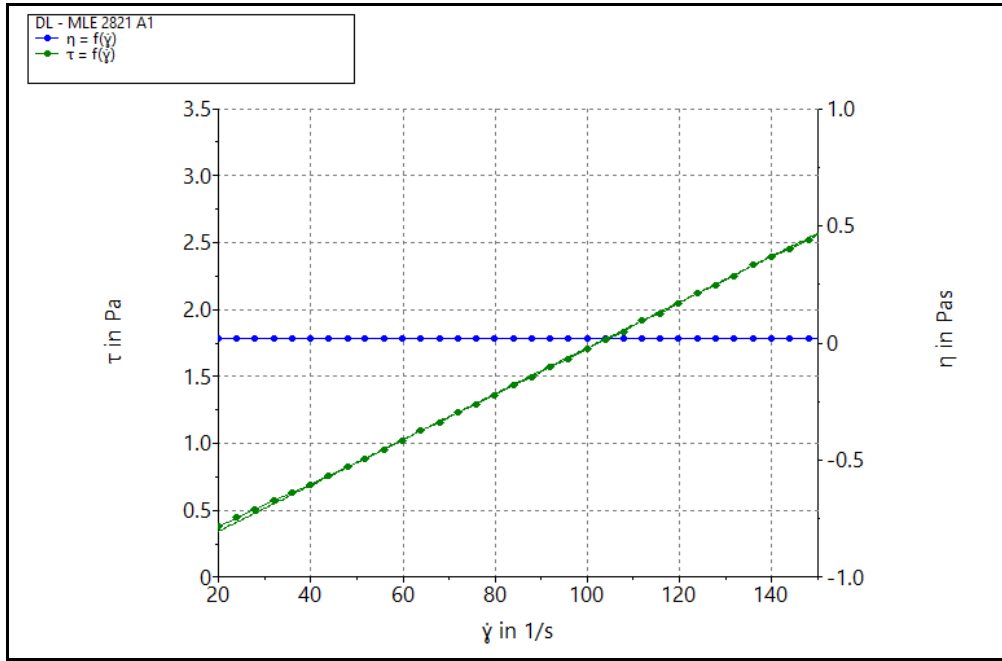
Şekil 4.39: OLE 1931 A2 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



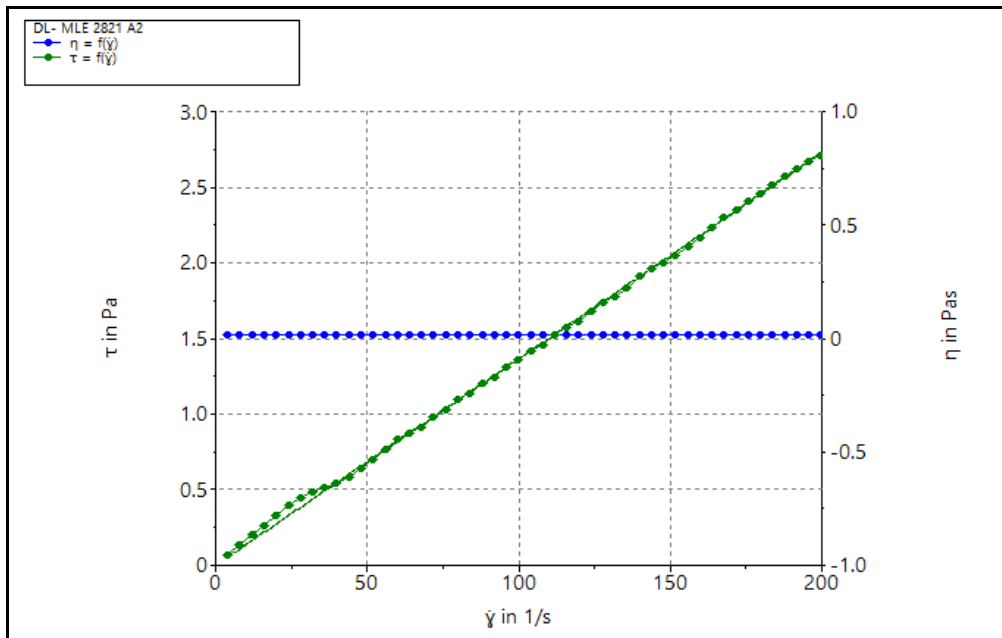
Şekil 4.40: OLE 1941 A1 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



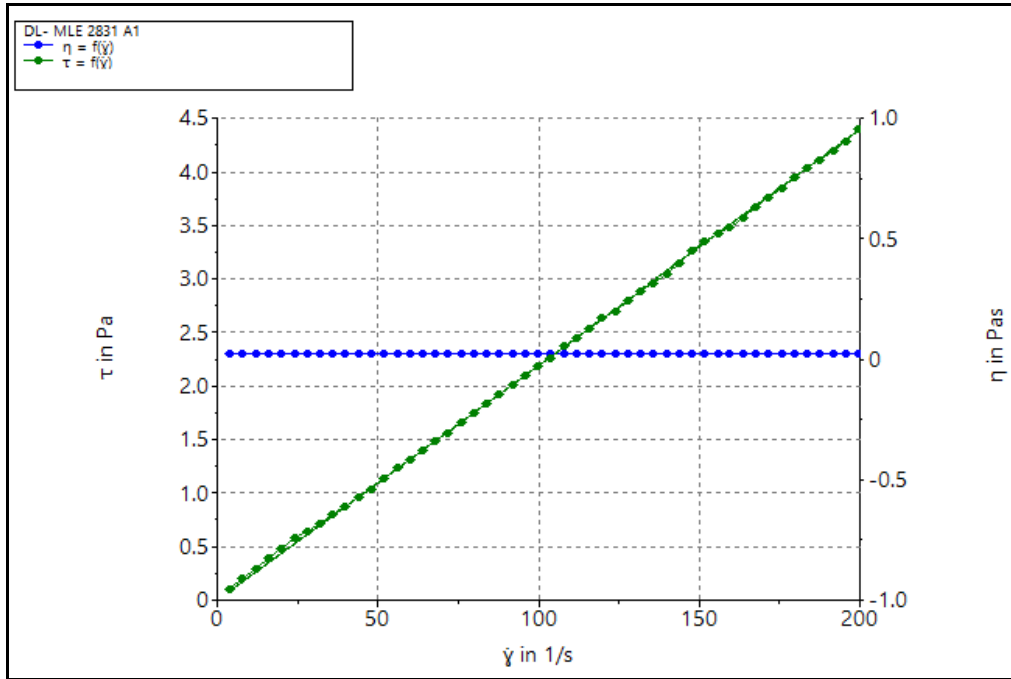
Şekil 4.41: OLE 1941 A2 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



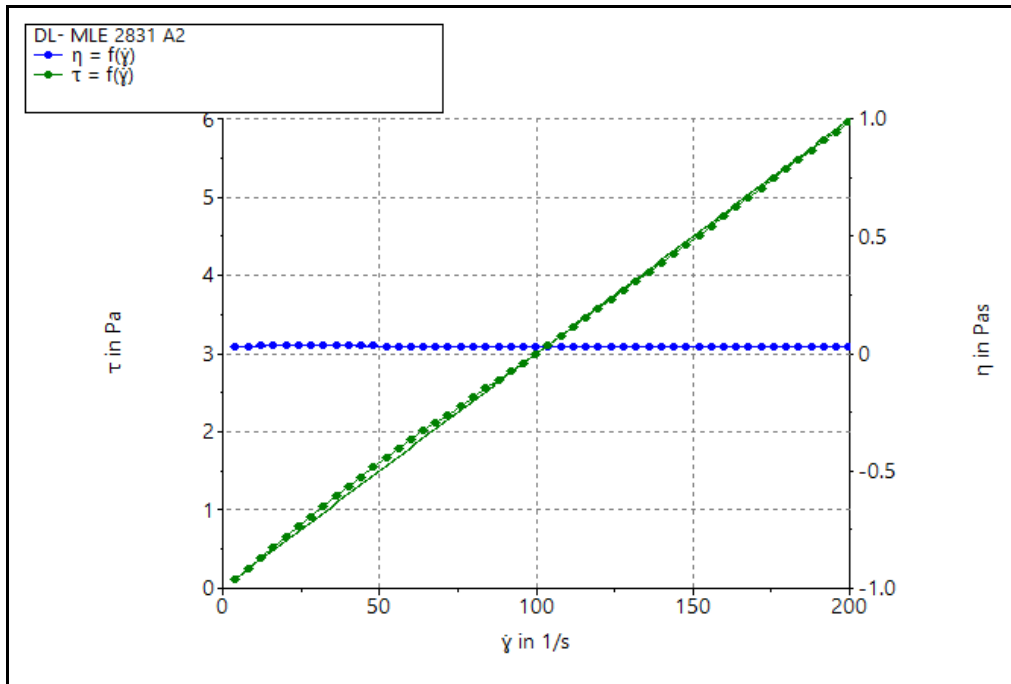
Şekil 4.42: DL yüklü MLE 2821 A1 formülasyonunun kayma hızı, kayma gerilimi ve viskozite değeri



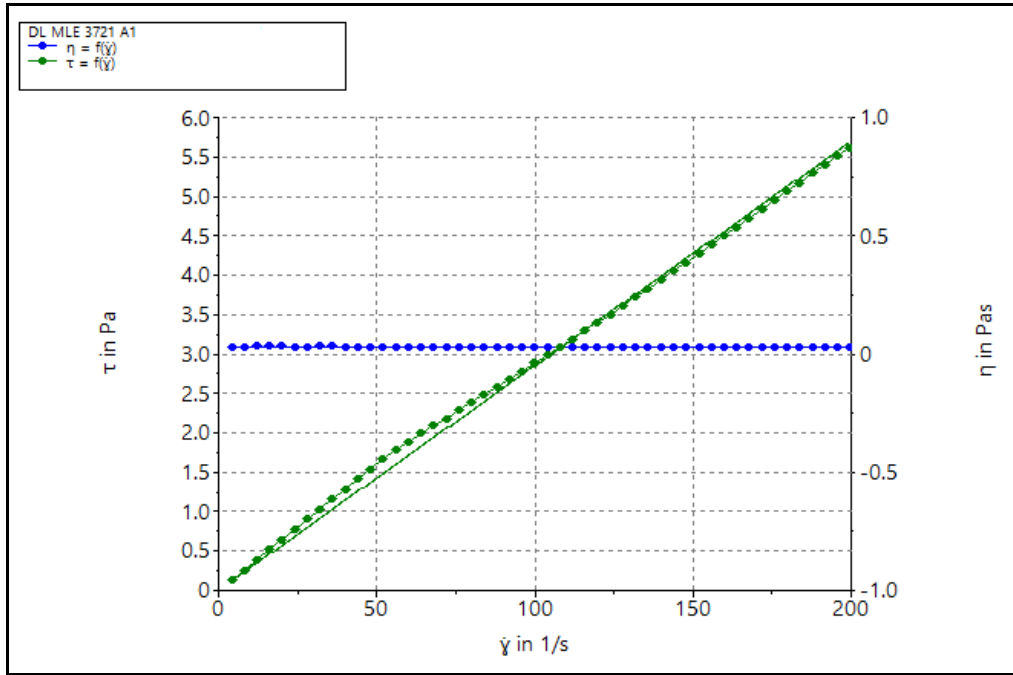
Şekil 4.43: DL yüklü 2821 A2 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



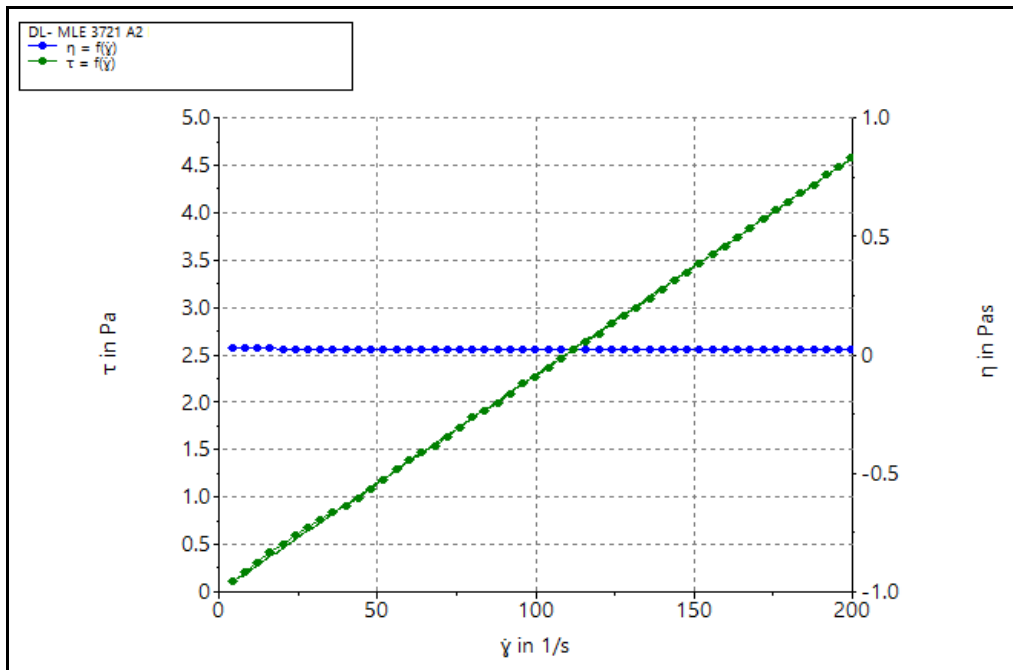
Şekil 4.44: DL yüklü 2831 A1 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



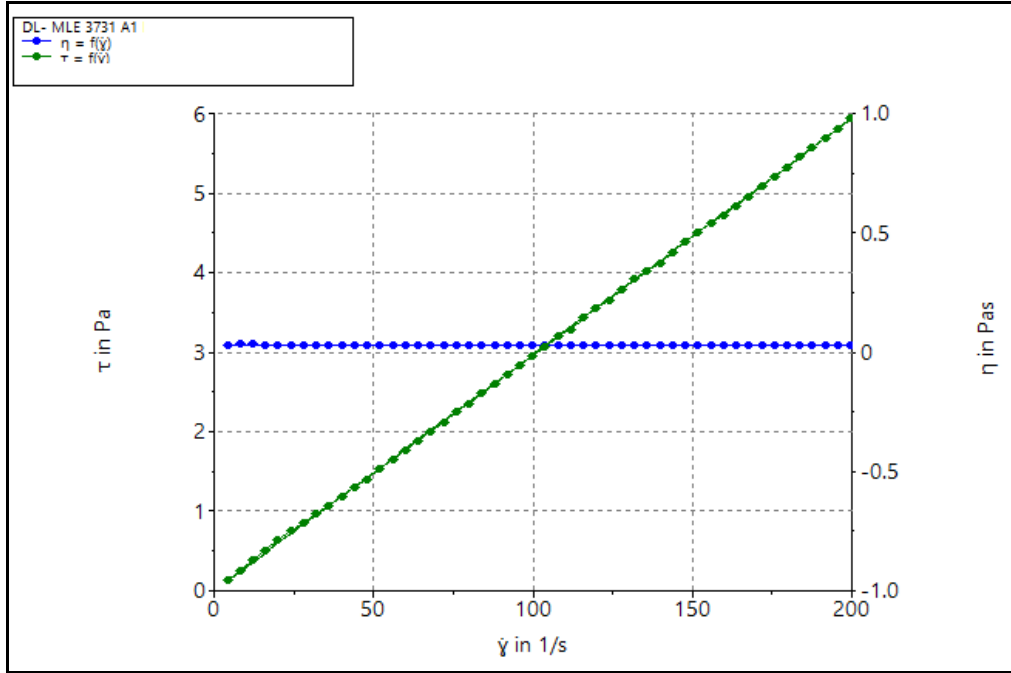
Şekil 4.45: DL yüklü 2831 A2 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



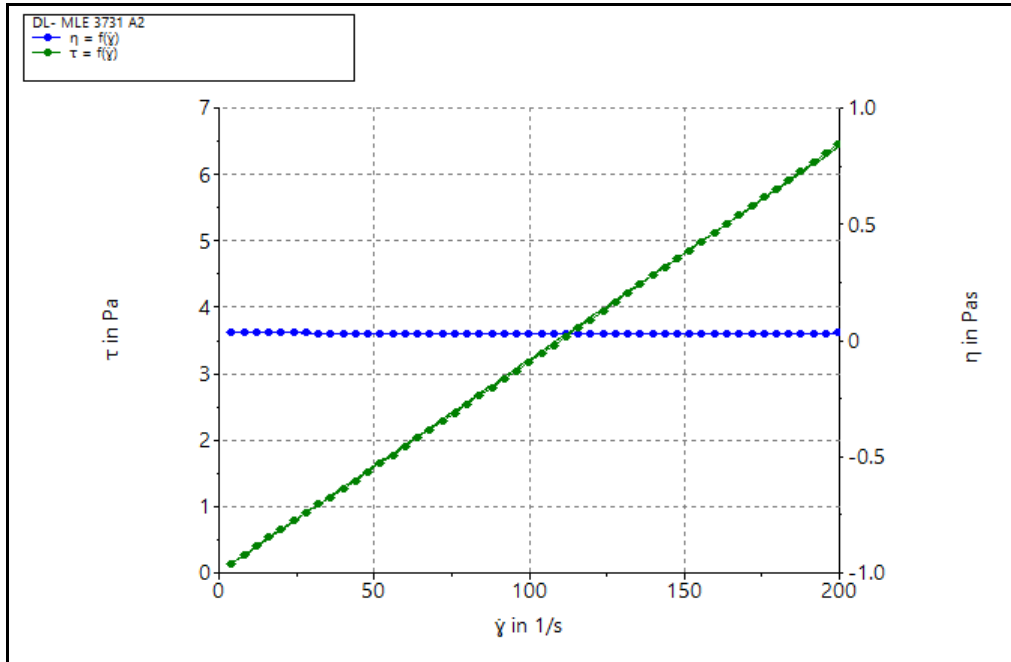
Şekil 4.46: DL yüklü 3721 A1 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



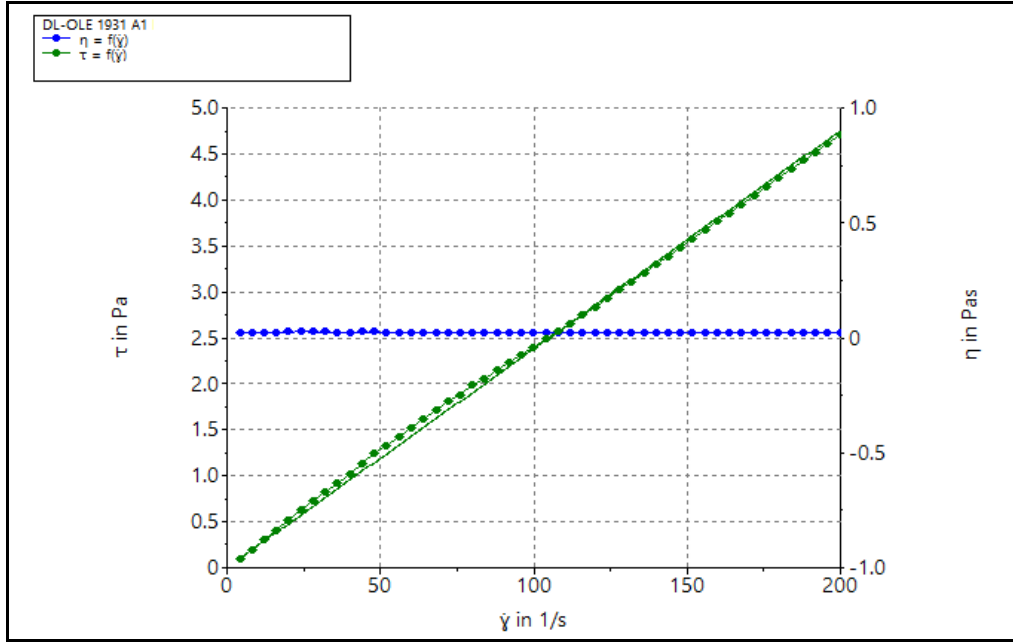
Şekil 4.47: DL yüklü 3721 A2 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



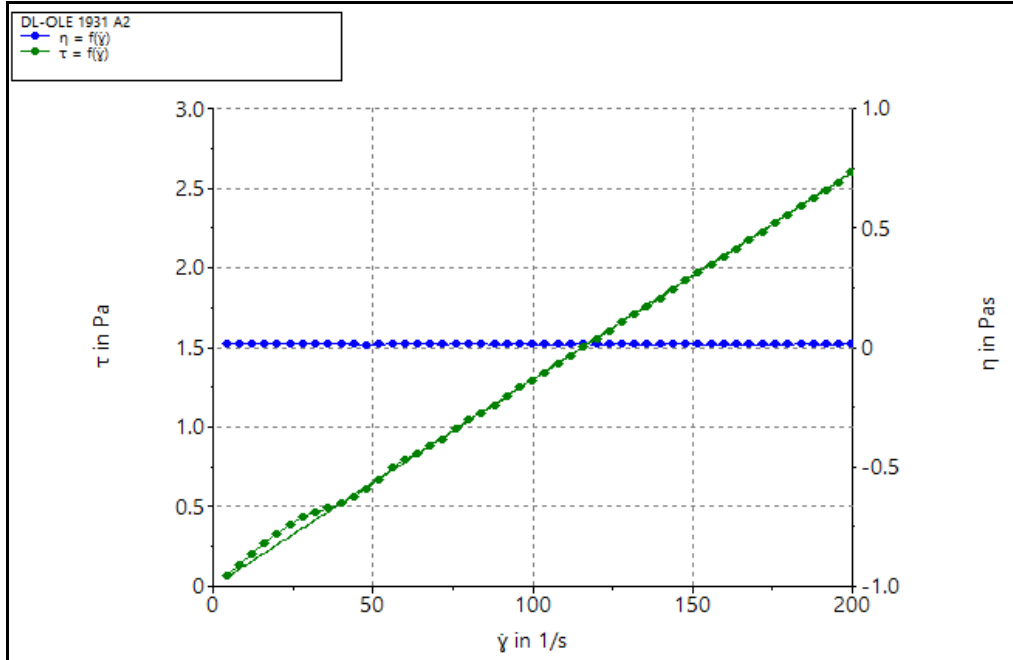
Şekil 4.48: DL yüklü 3731 A1 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



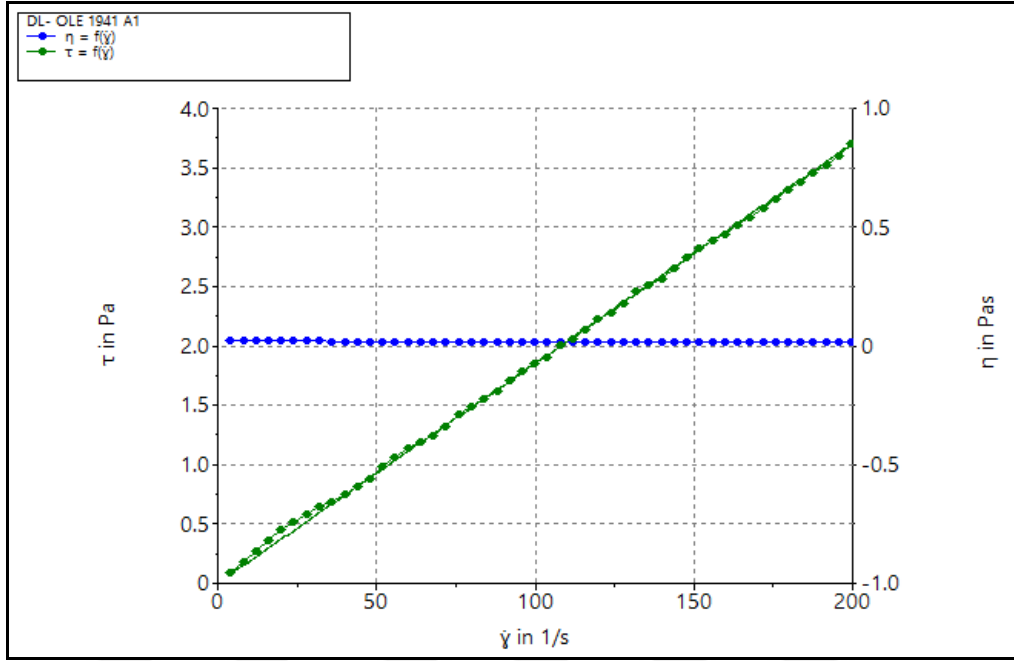
Şekil 4.49: DL yüklü 3731 A2 formülasyonun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



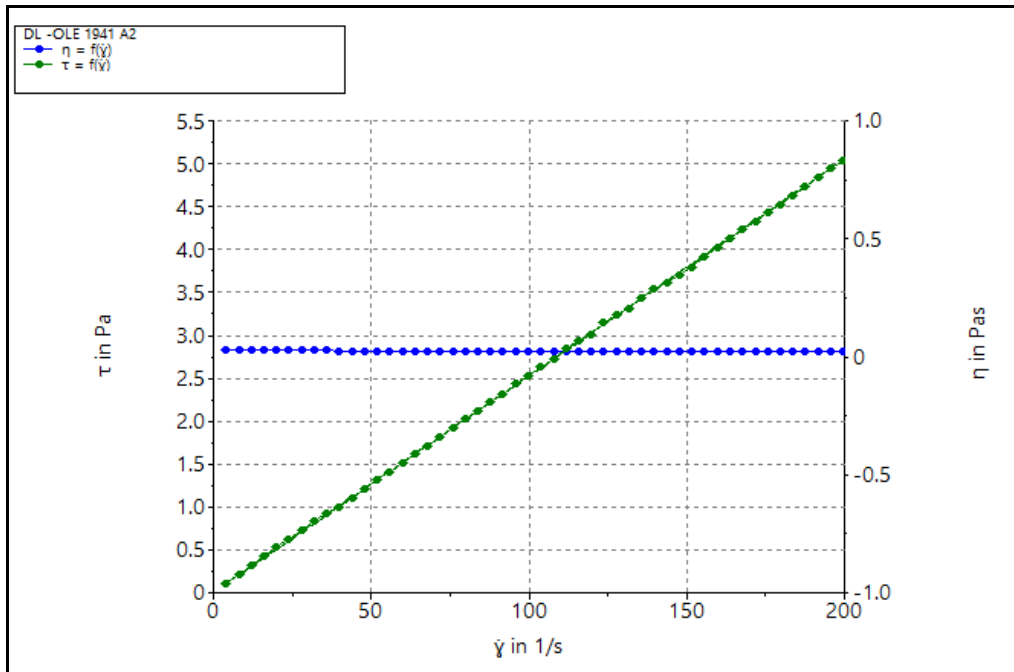
Şekil 4.50: DL yüklü OLE 1931 A1 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



Şekil 4.51: DL yüklü OLE 1931 A2 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



Şekil 4.52: DL yüklü OLE 1941 A1 formülasyonunun kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri



Şekil 4.53: DL yüklü OLE 1941 A2 formülasyonunun değişen kayma hızında kayma hızının kayma gerilimi ve viskozite değeri

4.10.6. Refraktif İndeksinin Ölçülmesi

Yöntem 3.2.11.6’da belirtildiği gibi refraktif indeks değerleri ölçülmüştür. Refraktif indeks değerleri genel olarak birbirine yakındır. Refraktif indeks ölçümleri Tablo 4.27’de gösterilmiştir.

Tablo 4.28: Belirlenen mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri

Refraktif indeksi		
Formülasyon	Boş mikroemülsiyon	DL yüklü mikroemülsiyon
MLE 2821 A1	1405,16 ± 0,28	1401 ± 0
MLE 2821 A2	1410,33 ± 0,28	1405,66 ± 0,28
MLE 2831 A1	1404 ± 0	1405,66 ± 0,28
MLE 2831 A2	1405,16 ± 0,28	1406 ± 0
MLE 3721 A1	1403 ± 0	1403 ± 0
MLE 3721 A2	1408 ± 0	1408,83 ± 0,28
MLE 3731 A1	1406,33 ± 0,28	1406 ± 0
MLE 3731 A2	1412 ± 0	1413 ± 0
OLE 1931 A1	1401,5 ± 0	1401 ± 0
OLE 1931 A2	1406,5 ± 0	1407 ± 0
OLE 1941 A1	1402,91 ± 0,14	1403,5 ± 0,5
OLE 1941 A2	1409,83 ± 0,28	1409 ± 0

4.10.7. pH Değerlerinin Ölçülmesi

Yöntem 3.2.11.7’de belirtildiği gibi formülasyonların pH değerleri ölçülmüştür. Ölçümler Tablo 4.30’da gösterilmiştir.

Tablo 4.29: Belirlenen mikroemülsiyonların pH değerleri

Formülasyon	pH	
	Boş mikroemülsiyon	DL yüklü mikroemülsiyon
MLE 2821 A1	4,58 ± 0,01	7,58 ± 0,02
MLE 2821 A2	4,63 ± 0,02	7,38 ± 0,02
MLE 2831 A1	4,48 ± 0,01	7,54 ± 0,01
MLE 2831 A2	4,59 ± 0,01	7,49 ± 0,09
MLE 3721 A1	4,59 ± 0,01	8,13 ± 0,03
MLE 3721 A2	4,61 ± 0,01	7,98 ± 0,02
MLE 3731 A1	4,57 ± 0,01	7,87 ± 0,06
MLE 3731 A2	4,77 ± 0,005	7,79 ± 0,02
OLE 1931 A1	4,06 ± 0,02	5,27 ± 0,01
OLE 1931 A2	4,06 ± 0,02	5,35 ± 0,03
OLE 1941 A1	4,14 ± 0,02	5,35 ± 0,01
OLE 1941 A2	4,11 ± 0,02	5,39 ± 0,02

4.10.8. Stabilitelerin Takibi

Yöntem 3.2.12’de belirtildiği gibi mikroemülsiyonların 6 ay boyunca stabilite takibi gerçekleştirildi. Stabiliteye bırakılan mikroemülsiyonlar görsel olarak, polidispersite indeksi, partikül boyutu ve pH takibi açısından incelendi. OLE 1931 A1 formülasyonunun 3. ay stabilite takibinde bulanıklık gözlemlendi. 6.ay takibinde incelendiğin bulanıklık gözlenmedi. Bu durum haricinde 6 ay boyunca hiçbir formülasyonda faz ayrımı ve bulanıklık yoktu. Görsel inceleme boş mikroemülsiyonların görsel inceleme sonucu Tablo 4.29’da, desloratadin yüklü mikroemülsiyonların görsel inceleme sonucu Tablo 4.30’da, polidispersite indeksi takibi boş mikroemülsiyonlar için Tablo 4.31’de, desloratadin yüklü mikroemülsiyonlar için Tablo 4.32’de, damlacık boyutu takibi boş mikroemülsiyonlar için Tablo 4.33’te, desloratadin yüklü mikroemülsiyonlar için Tablo 4.34’te pH ölçümü sonuçları boş

mikroemülsiyonlar için Tablo 4.35’de, desloratadin yüklü mikroemülsiyonlar için Tablo 4.36’da gösterilmektedir.

Tablo 4.30: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların görsel inceleme sonucu

Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
MLE 2821 A1	-	-	-	-	-
MLE 2821 A2	-	-	-	-	-
MLE 2831 A1	-	-	-	-	-
MLE 2831 A2	-	-	-	-	-
MLE 3721 A1	-	-	-	-	-
MLE 3721 A2	-	-	-	-	-
MLE 3731 A1	-	-	-	-	-
MLE 3731 A2	-	-	-	-	-
OLE 1931 A1	-	-	-	+	-
OLE 1931 A2	-	-	-	-	-
OLE 1941 A1	-	-	-	-	-
OLE 1941 A2	-	-	-	-	-

- :Şeffaf, +: Bulanık -T: Şeffaf-Turuncu

Tablo 4.31: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların görsel inceleme sonucu

Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
DL-MLE 2821 A1	-T	-T	-T	-T	-T
DL-MLE 2821 A2	-T	-T	-T	-T	-T
DL-MLE 2831 A1	-T	-T	-T	-T	-T
DL-MLE 2831 A2	-T	-T	-T	-T	-T
DL-MLE 3721 A1	-T	-T	-T	-T	-T
DL-MLE 3721 A2	-T	-T	-T	-T	-T
DL-MLE 3731 A1	-T	-T	-T	-T	-T
DL-MLE 3731 A2	-T	-T	-T	-T	-T
DL-OLE 1931 A1	-	-	-	-	-
DL-OLE 1931 A2	-	-	-	-	-
DL-OLE 1941 A1	-	-	-	-	-
DL-OLE 1941 A2	-	-	-	-	-

- :Şeffaf, +: Bulanık -T: Şeffaf-Turuncu

Tablo 4.32: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların polidispersite indeksi takibi sonucu

Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
MLE 2821 A1	0,227 ± 0,007	0,190 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,209 ± 0,007	0,210 ± 0,02
MLE 2821 A2	0,179 ± 0,01	0,199 ± 0,01	0,259 ± 0,01	0,191 ± 0,01	0,195 ± 0,02
MLE 2831 A1	0,215 ± 0,02	0,221 ± 0,01	0,347 ± 0,09	0,178 ± 0,01	0,185 ± 0,04
MLE 2831 A2	0,257 ± 0,03	0,19 ± 0,01	0,314 ± 0,01	0,166 ± 0,01	0,197 ± 0,05
MLE 3721 A1	0,149 ± 0,02	0,137 ± 0,02	0,121 ± 0,02	0,107 ± 0,01	0,109 ± 0,01
MLE 3721 A2	0,147 ± 0,04	0,117 ± 0,01	0,100 ± 0,01	0,104 ± 0,006	0,100 ± 0,01
MLE 3731 A1	0,171 ± 0,03	0,133 ± 0,01	0,149 ± 0,02	0,12 ± 0,06	0,111 ± 0,02
MLE 3731 A2	0,165 ± 0,02	0,123 ± 0,02	0,100 ± 0,01	0,067 ± 0,006	0,059 ± 0,03
OLE 1931 A1	0,184 ± 0,03	0,21 ± 0,007	0,279 ± 0,01	0,250 ± 0,01	0,234 ± 0,02
OLE 1931 A2	0,234 ± 0,02	0,245 ± 0,001	0,271 ± 0,02	0,194 ± 0,01	0,190 ± 0,02
OLE 1941 A1	0,247 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,281 ± 0,01	0,217 ± 0,01	0,21 ± 0,01
OLE 1941 A2	0,231 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,304 ± 0,01	0,190 ± 0,01	0,200 ± 0,02

Tablo 4.33: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların polidispersite indeksi takibi sonucu

Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
DL- MLE 2821 A1	0,237 ± 0,01	0,233 ± 0,01	0,272 ± 0,01	0,235 ± 0,01	0,230 ± 0,01
DL-MLE 2821 A2	0,182 ± 0,01	0,197 ± 0,03	0,254 ± 0,01	0,183 ± 0,02	0,207 ± 0,02
DL-MLE 2831 A1	0,245 ± 0,006	0,238 ± 0,01	0,264 ± 0,01	0,235 ± 0,01	0,227 ± 0,02
DL-MLE 2831 A2	0,207 ± 0,006	0,233 ± 0,01	0,311 ± 0,02	0,221 ± 0,003	0,207 ± 0,03
DL-MLE 3721 A1	0,184 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,182 ± 0,02	0,153 ± 0,01	0,150 ± 0,03
DL-MLE 3721 A2	0,154 ± 0,01	0,14 ± 0,04	0,150 ± 0,01	0,115 ± 0,02	0,107 ± 0,01
DL-MLE 3731 A1	0,171 ± 0,006	0,207 ± 0,01	0,231 ± 0,03	0,165 ± 0,01	0,160 ± 0,03
DL-MLE 3731 A2	0,151 ± 0,01	0,158 ± 0,02	0,145 ± 0,01	0,155 ± 0,005	0,150 ± 0,02
DL-OLE 1931 A1	0,214 ± 0,01	0,22 ± 0,002	0,287 ± 0,01	0,245 ± 0,01	0,247 ± 0,01
DL-OLE 1931 A2	0,235 ± 0,01	0,217 ± 0,01	0,245 ± 0,01	0,225 ± 0,002	0,230 ± 0,02
DL-OLE 1941 A1	0,218 ± 0,02	0,247 ± 0,01	0,252 ± 0,01	0,203 ± 0,01	0,209 ± 0,03
DL-OLE 1941 A2	0,230 ± 0,02	0,244 ± 0,01	0,285 ± 0,01	0,197 ± 0,02	0,207 ± 0,01

Tablo 4.34: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların damlacık boyutu takibi sonucu

Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
MLE 2821 A1	$7,68 \pm 0,17$	$7,05 \pm 0,23$	$8,30 \pm 0,26$	$6,92 \pm 0,11$	$7,01 \pm 0,02$
MLE 2821 A2	$8,78 \pm 0,21$	$8,27 \pm 0,28$	$9,75 \pm 0,17$	$7,71 \pm 0,11$	$7,79 \pm 0,02$
MLE 2831 A1	$6,22 \pm 0,29$	$5,93 \pm 0,21$	$8,01 \pm 0,09$	$4,88 \pm 0,08$	$5,32 \pm 0,01$
MLE 2831 A2	$7,46 \pm 0,42$	$6,75 \pm 0,08$	$8,36 \pm 0,14$	$6,67 \pm 0,01$	$5,90 \pm 0,02$
MLE 3721 A1	$17,15 \pm 0,38$	$16,96 \pm 0,50$	$17,37 \pm 0,20$	$17,77 \pm 0,32$	$17,32 \pm 0,15$
MLE 3721 A2	$16,79 \pm 0,29$	$16,23 \pm 0,19$	$16,03 \pm 0,32$	$16,49 \pm 0,16$	$17,02 \pm 0,23$
MLE 3731 A1	$13,75 \pm 0,13$	$13,54 \pm 0,21$	$15,31 \pm 0,20$	$16,87 \pm 0,16$	$15,99 \pm 0,23$
MLE 3731 A2	$13,43 \pm 0,16$	$13,15 \pm 0,12$	$15,85 \pm 0,80$	$13,98 \pm 0,15$	$15,12 \pm 0,17$
OLE 1931 A1	$3,65 \pm 0,07$	$3,603 \pm 0,04$	$5,63 \pm 0,08$	Ölçülemedi	$4,36 \pm 0,26$
OLE 1931 A2	$3,82 \pm 0,15$	$4,01 \pm 0,09$	$5,03 \pm 0,17$	$3,92 \pm 0,02$	$3,99 \pm 0,16$
OLE 1941 A1	$4,30 \pm 0,13$	$4,16 \pm 0,01$	$5,39 \pm 0,05$	$5,18 \pm 0,01$	$5,17 \pm 0,43$
OLE 1941 A2	$4,55 \pm 0,18$	$4,22 \pm 0,1$	$5,52 \pm 0,25$	$4,40 \pm 0,01$	$4,78 \pm 0,17$

Tablo 4.35: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutu takibi sonucu

Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
MLE 2821 A1	7,25 ± 0,05	7,19 ± 0,1	8,15 ± 0,13	8,18 ± 0,02	8,12 ± 0,15
MLE 2821 A2	8,66 ± 0,11	8,34 ± 0,16	9,07 ± 0,22	9,32 ± 0,15	8,45 ± 0,06
MLE 2831 A1	5,79 ± 0,11	5,55 ± 0,1	6,00 ± 0,29	5,93 ± 0,24	5,86 ± 0,33
MLE 2831 A2	6,09 ± 0,16	6,43 ± 0,12	10,03 ± 0,05	5,83 ± 0,01	6,19 ± 0,38
MLE 3721 A1	14,14 ± 0,23	14,10 ± 0,15	13,89 ± 0,27	13,96 ± 0,22	14,00 ± 0,12
MLE 3721 A2	13,82 ± 0,42	13,86 ± 0,42	13,74 ± 0,13	13,43 ± 0,11	13,76 ± 0,09
MLE 3731 A1	10,80 ± 0,21	10,91 ± 0,05	12,46 ± 0,20	10,4 ± 0,29	10,91 ± 0,09
MLE 3731 A2	13,00 ± 0,21	13,28 ± 0,34	13,11 ± 0,30	14,67 ± 0,52	12,97 ± 0,17
OLE 1931 A1	3,41 ± 0,04	3,43 ± 0,07	6,12 ± 0,11	3,47 ± 0,23	3,55 ± 0,06
OLE 1931 A2	3,30 ± 0,04	3,42 ± 0,03	3,57 ± 0,06	3,54 ± 0,09	3,56 ± 0,08
OLE 1941 A1	3,60 ± 0,03	3,88 ± 0,05	4,15 ± 0,15	4,19 ± 0,23	4,13 ± 0,07
OLE 1941 A2	3,76 ± 0,01	4,08 ± 0,16	4,58 ± 0,21	4,30 ± 0,30	4,03 ± 0,30

Tablo 4.36: Stabiliteye bırakılan boş mikroemülsiyonların pH değeri takibi sonucu

Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
MLE 2821 A1	4,58 ± 0,01	4,52 ± 0,02	4,24 ± 0,01	4,23 ± 0,01	3,73 ± 0,01
MLE 2821 A2	4,63 ± 0,02	4,65 ± 0,01	4,54 ± 0,01	4,33 ± 0,03	4,47 ± 0,01
MLE 2831 A1	4,48 ± 0,01	4,46 ± 0,03	4,46 ± 0,04	3,98 ± 0,02	4,07 ± 0,1
MLE 2831 A2	4,59 ± 0,01	4,58 ± 0,04	4,47 ± 0,01	4,47 ± 0,02	4,45 ± 0,02
MLE 3721 A1	4,59 ± 0,01	4,59 ± 0,01	4,47 ± 0,03	4,32 ± 0,02	4,65 ± 0,02
MLE 3721 A2	4,61 ± 0,01	4,56 ± 0,01	4,30 ± 0,01	4,19 ± 0,04	3,93 ± 0,02
MLE 3731 A1	4,57 ± 0,01	4,59 ± 0,01	4,35 ± 0,005	4,21 ± 0,01	4,75 ± 0,005
MLE 3731 A2	4,78 ± 0,005	4,78 ± 0,01	4,72 ± 0,01	4,65 ± 0,07	4,29 ± 0,04
OLE 1931 A1	4,06 ± 0,02	4,05 ± 0,005	4,05 ± 0,01	3,82 ± 0,01	4,60 ± 0,03
OLE 1931 A2	4,06 ± 0,02	4,06 ± 0,005	4,06 ± 0,005	3,74 ± 0,01	4,22 ± 0,01
OLE 1941 A1	4,14 ± 0,02	4,08 ± 0,02	4,17 ± 0,02	3,86 ± 0,005	3,68 ± 0,005
OLE 1941 A2	4,11 ± 0,01	4,10 ± 0,02	4,07 ± 0,005	4,04 ± 0,005	4,35 ± 0,005

Tablo 4.37: Stabiliteye bırakılan desloratadin yüklü mikroemülsiyonların pH değeri takibi sonucu

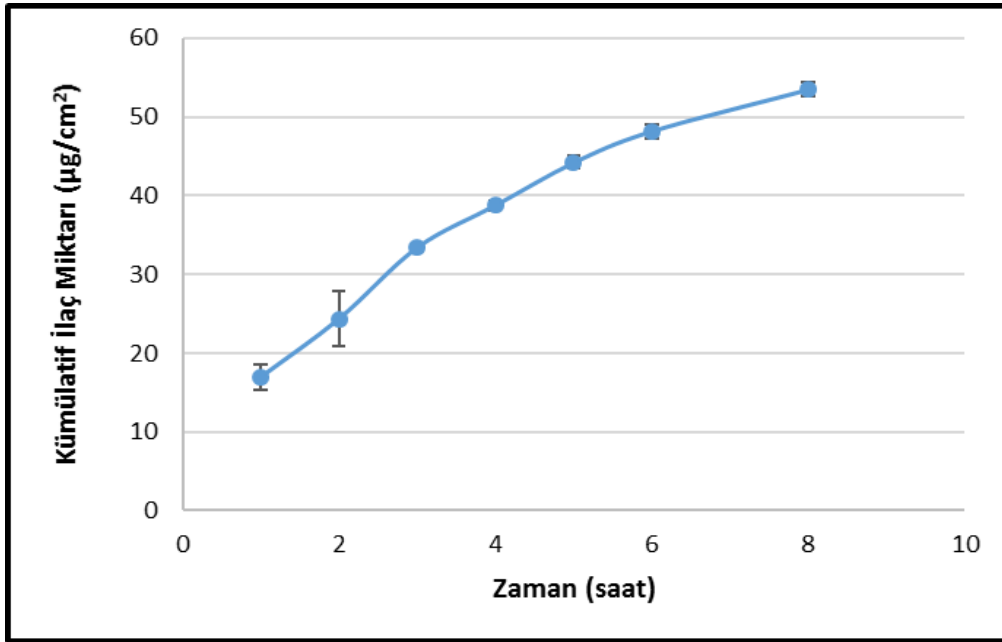
Formül	0.gün	1.ay	2.ay	3.ay	6.ay
MLE 2821 A1	7,58 ± 0,02	7,41 ± 0,03	7,1 ± 0,01	6,69 ± 0,01	6,16 ± 0,03
MLE 2821 A2	7,38 ± 0,01	7,38 ± 0,02	7,11 ± 0,01	6,67 ± 0,01	6,41 ± 0,02
MLE 2831 A1	7,54 ± 0,11	7,33 ± 0,005	7,01 ± 0,01	6,6 ± 0,01	6,28 ± 0,01
MLE 2831 A2	7,49 ± 0,09	7,28 ± 0,005	6,87 ± 0,01	6,73 ± 0,01	6,37 ± 0,01
MLE 3721 A1	8,13 ± 0,03	7,51 ± 0,02	6,85 ± 0,03	6,62 ± 0,04	6,28 ± 0,02
MLE 3721 A2	7,98 ± 0,02	7,39 ± 0,04	7,14 ± 0,11	6,62 ± 0,03	6,38 ± 0,01
MLE 3731 A1	7,87 ± 0,06	7,44 ± 0,01	7,02 ± 0,01	6,46 ± 0,01	6,22 ± 0,02
MLE 3731 A2	7,79 ± 0,02	7,37 ± 0,01	7,03 ± 0,02	6,43 ± 0,02	6,26 ± 0,01
OLE 1931 A1	5,27 ± 0,01	5,29 ± 0,01	5,3 ± 0,00	5,03 ± 0,01	4,78 ± 0,005
OLE 1931 A2	5,35 ± 0,03	5,29 ± 0,01	5,22 ± 0,01	5,08 ± 0,01	4,64 ± 0,02
OLE 1941 A1	5,35 ± 0,01	4,13 ± 0,03	5,23 ± 0,01	5,09 ± 0,01	4,74 ± 0,01
OLE 1941 A2	5,39 ± 0,02	4,17 ± 0,01	5,19 ± 0,005	5,15 ± 0,01	4,80 ± 0,02

4.11. *İn vitro* salım çalışması sonuçları

In vitro salım çalışmaları Yöntem 3.2.13'de belirtildiği gibi yapıldı. Salım sonuçları Tablo 4.37-45, kinetik parametreleri Tablo 4.46, salım profiline ait grafik de Şekil 4.54-64 aralığında belirtilmiştir. Salım çalışması yapılan tüm formülasyonların grafikleri Şekil 4.65'te gösterilmiştir.

Tablo 4.38: DL-MLE 2821 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

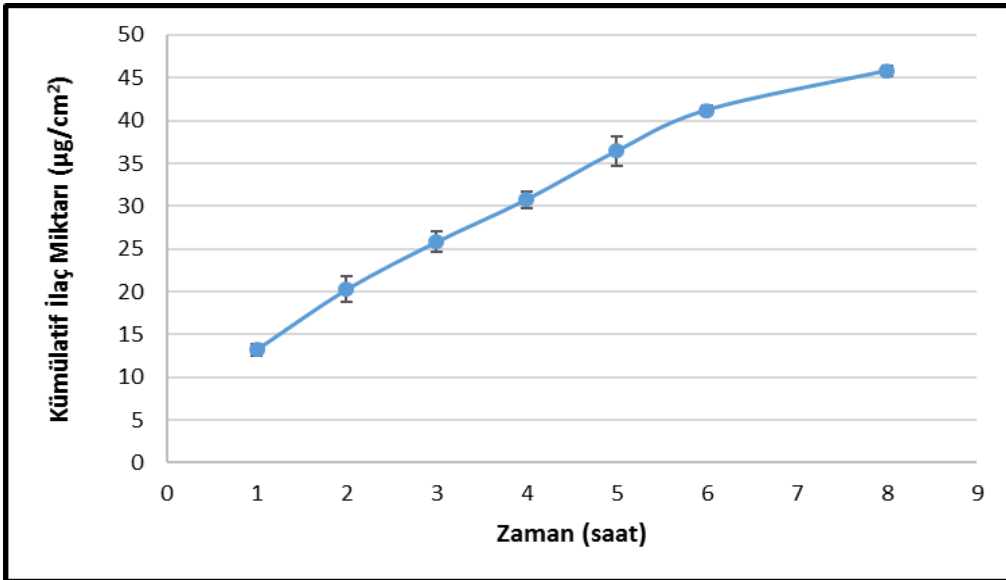
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	16,9602	1,6312
2	24,3690	3,4931
3	33,4357	0,4699
4	38,7891	0,6554
5	44,2143	0,8104
6	48,2095	0,9032
8	53,5184	0,9633



Şekil 4.54: DL-MLE 2821 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik

Tablo 4.39: DL-MLE 2821 A2 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

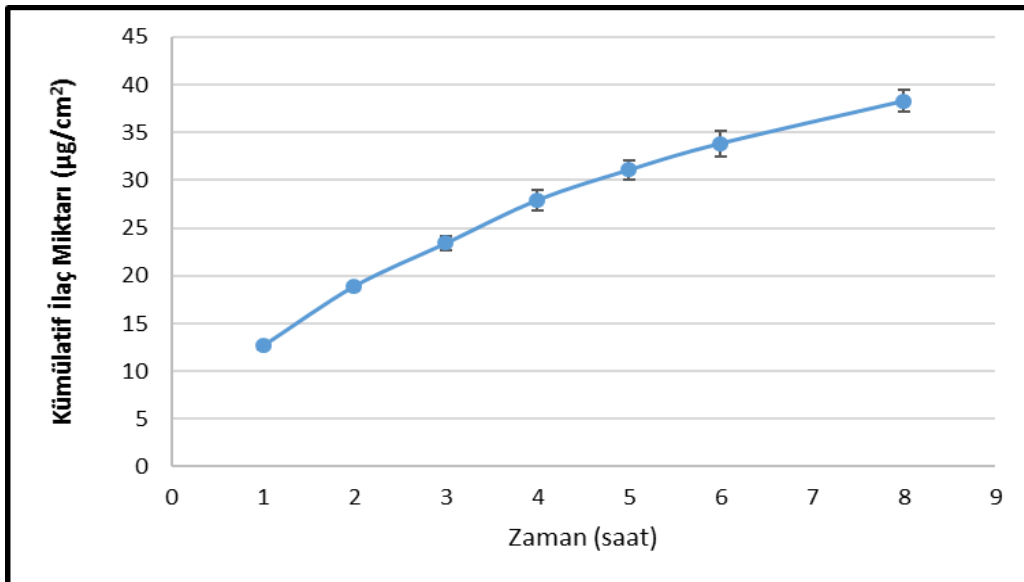
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	13,2079	0,7067
2	20,2455	1,5121
3	25,7995	1,2028
4	30,7643	0,9971
5	36,4371	1,7109
6	41,2079	0,5092
8	45,7914	0,5276



Şekil 4.55: DL-MLE 2821 A2 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik

Tablo 4.40: DL-MLE 2831 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

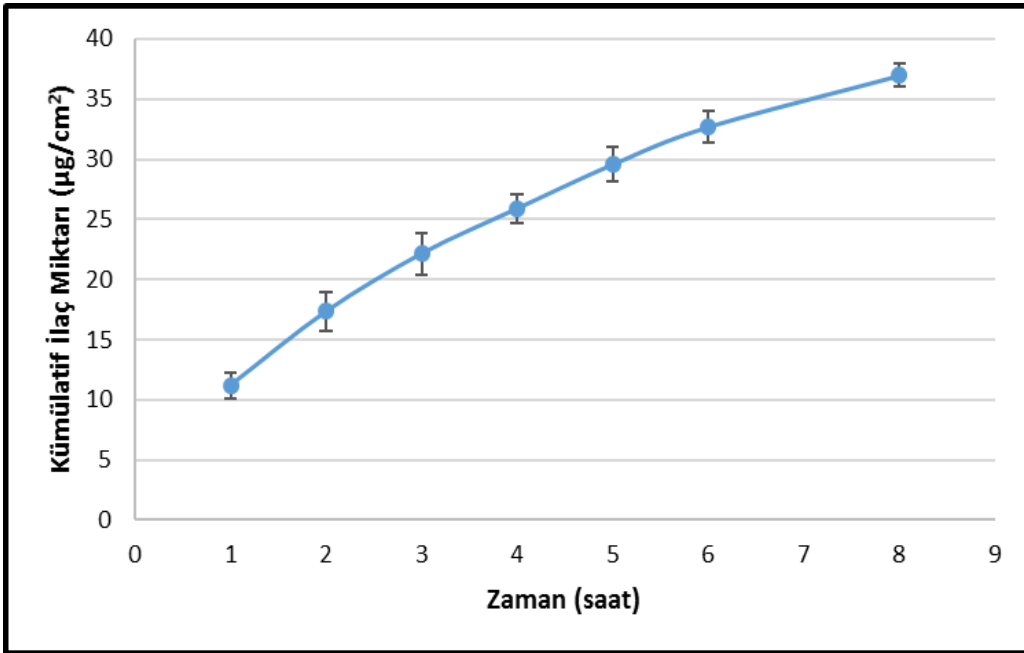
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	12,6629	0,3656
2	18,9059	0,4586
3	23,4046	0,8037
4	27,9152	1,0658
5	31,0704	1,0041
6	33,8274	1,3943
8	38,2724	1,1439



Şekil 4.56: DL-MLE 2831 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik

Tablo 4.41: DL-MLE 2831 A2 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik

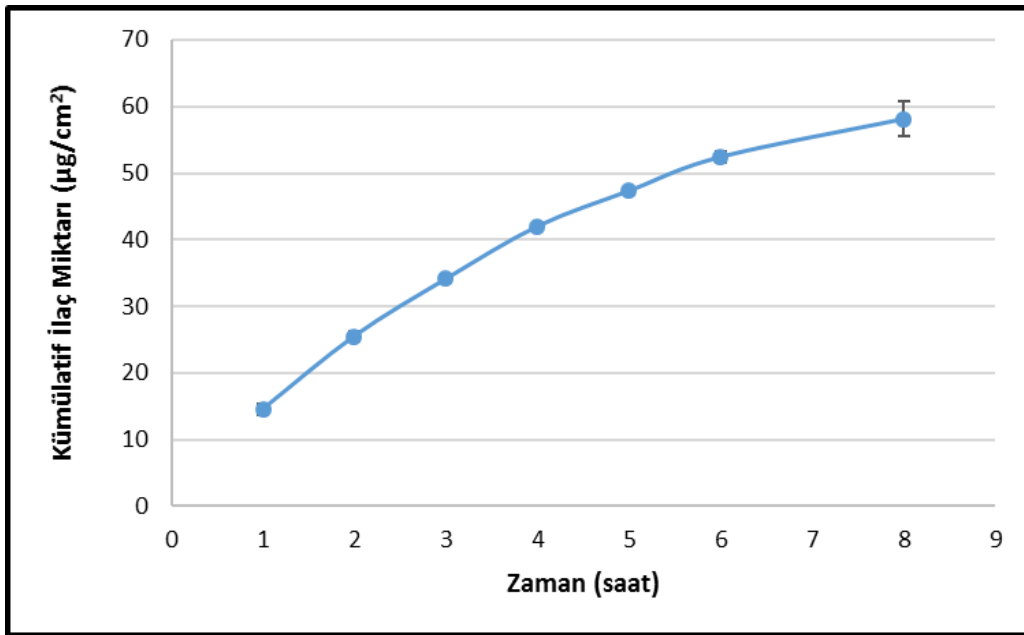
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	11,1781	1,1140
2	17,3361	1,6559
3	22,1593	1,7176
4	25,9117	1,1874
5	29,5744	1,4156
6	32,6884	1,2741
8	36,9735	0,9720



Şekil 4.57: DL-MLE 2831 A2 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik

Tablo 4.42: DL-MLE 3721 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

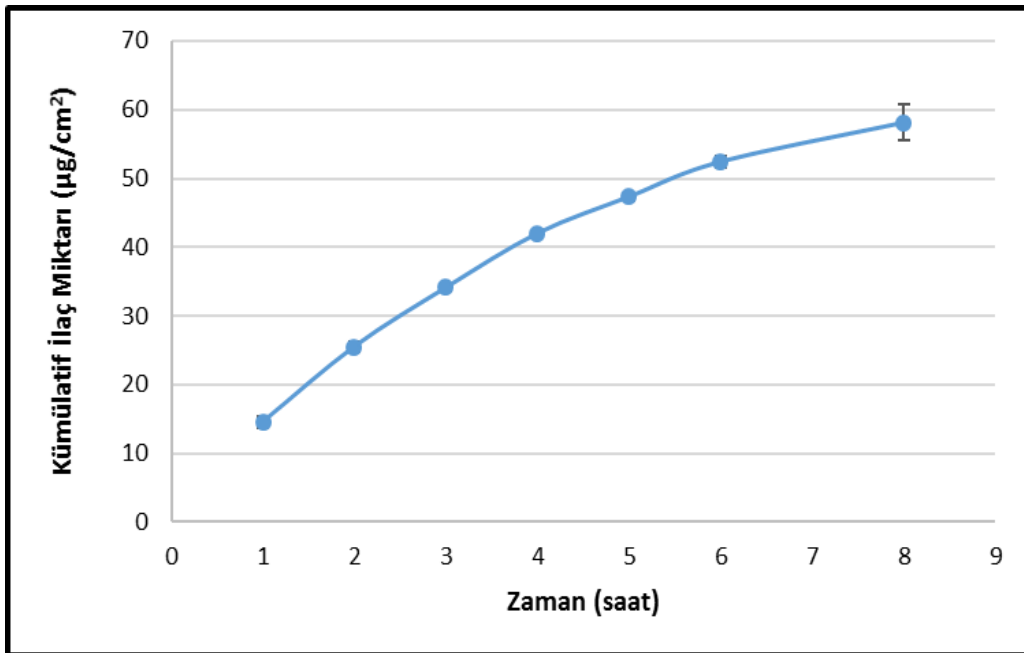
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	14,5678	0,8573
2	25,5173	0,7092
3	34,1087	0,5186
4	41,9941	0,4833
5	47,3104	0,5092
6	52,3939	0,8408
8	58,0996	2,6573



Şekil 4.58: DL-MLE 3721 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif desloratadin miktarını gösteren grafik

Tablo 4.43: DL-MLE 3731 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

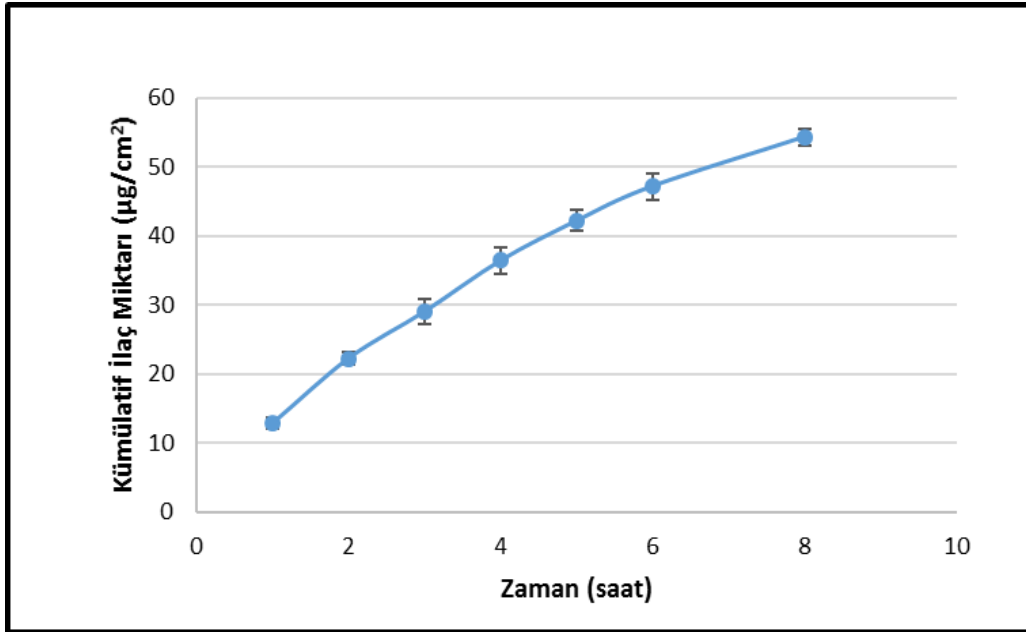
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	23,8175	0,6657
2	37,6847	0,9516
3	50,4693	0,5324
4	60,9816	1,2479
5	70,5566	0,7939
6	77,0247	0,5696
8	87,8994	0,3758



Şekil 4.59: DL-MLE 3731 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik

Tablo 4.44: DL-MLE 3731 A2 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

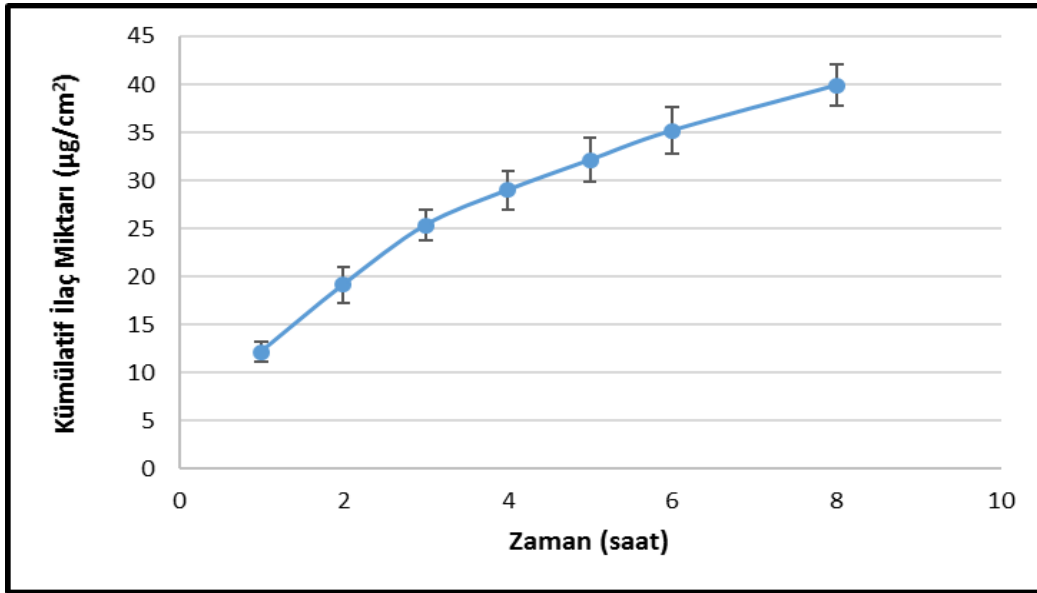
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	12,8798	0,8415
2	22,2549	0,8700
3	29,0311	1,7341
4	36,4116	1,9085
5	42,1894	1,4877
6	47,1740	1,9028
8	54,3216	1,2221



Şekil 4.60: DL-MLE 3731 A2 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik

Tablo 4.45: DL-OLE 1931 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

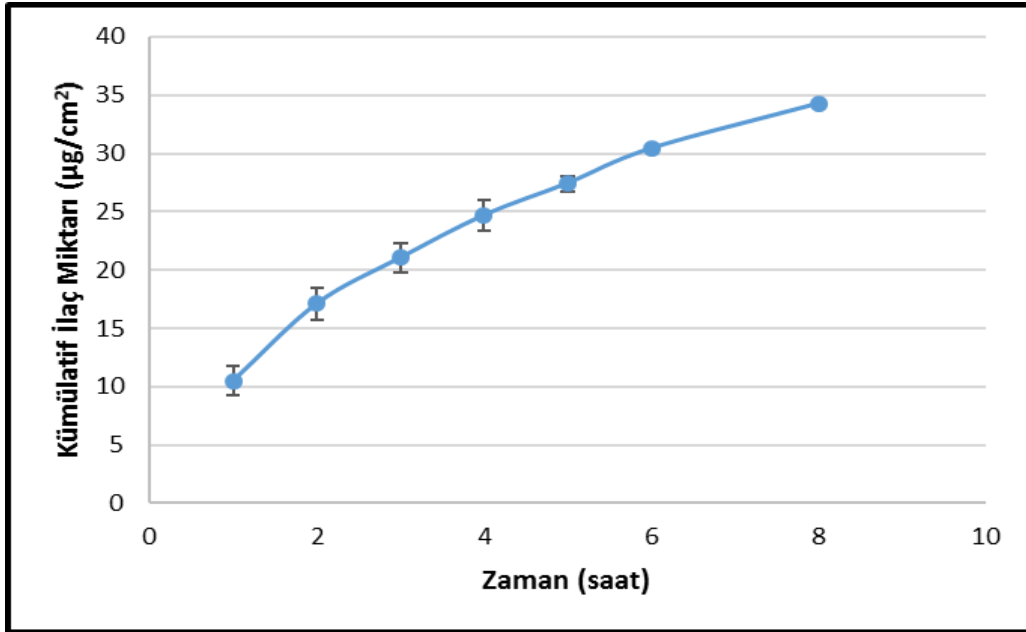
Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	12,1632	1,0780
2	19,1393	1,8703
3	25,3303	1,5785
4	28,9867	2,0533
5	32,1085	2,2956
6	35,1687	2,4477
8	39,8831	2,1526



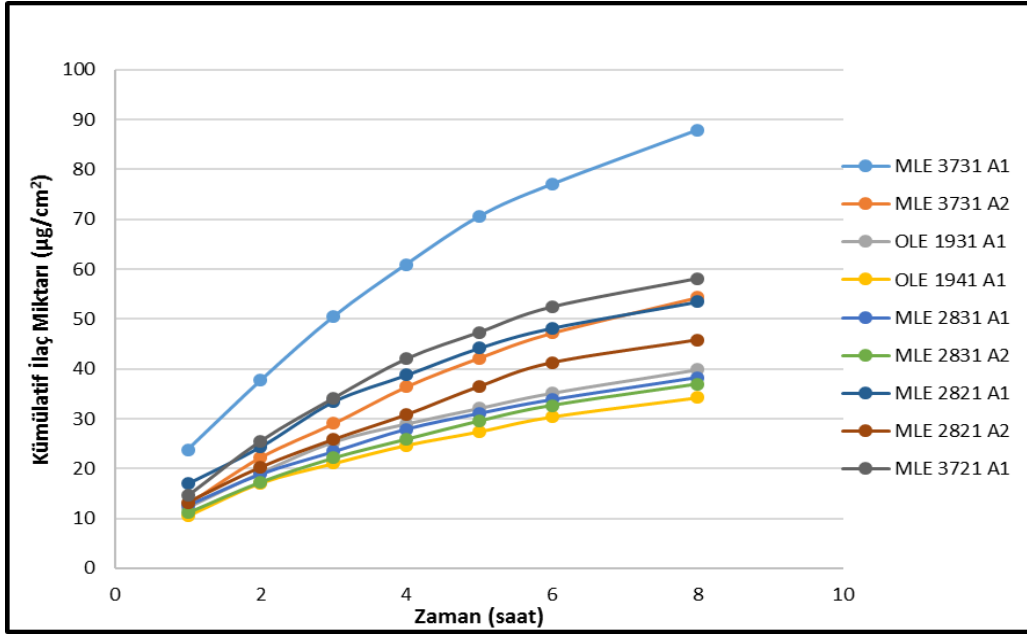
Şekil 4.61: DL-OLE 1931 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik

Tablo 4.46: DL-OLE 1941 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının ortalama salınan kümülatif desloratadin miktarı ve standart sapma değeri

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Standard Sapma (STD)
1	10,5003	1,2861
2	17,1082	1,3561
3	21,0481	1,2222
4	24,6949	1,3545
5	27,4277	0,6488
6	30,4084	0,2107
8	34,2579	0,2706



Şekil 4.62: DL-OLE 1941 A1 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasının kümülatif ilaç miktarını gösteren grafik



Şekil 4.63: *In vitro* salım çalışması yapılan formüllerin toplu salım grafikleri

4.12. Formülasyonların Kinetik Parametrelerinin Hesaplanması

Stabiliteye bırakılan formülasyonlardan *in vitro* salım çalışması için seçim yapıldı. Yöntem 3.2.14'te belirttiği gibi *in vitro* salım çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre hesaplanan salım kinetikleri Tablo 4.46'da gösterilmiştir.

Tablo 4.47: Salım çalışması yapılan formülasyonların kinetik parametreleri

Formülasyon kodu	Sıfırıncı derece (r^2)	Birinci derece (r^2)	Hixson Crowell (r^2)	Higuchi (r^2)	Korsmeyer-Peppas (r^2)	Korsmeyer-Peppas (n)
MLE 3721 A1	0,9635	0,9708	0,9684	0,9963	0,9805	14,5057
MLE 3731 A2	0,9713	0,9753	0,9740	0,9979	0,9760	9,2968
OLE 1931 A1	0,9492	0,9531	0,9518	0,9932	0,9918	6,1599
OLE 1941 A1	0,9559	0,9590	0,9579	0,9955	0,9901	5,2444
MLE 2831 A1	0,9616	0,9646	0,9636	0,9970	0,9852	5,7224
MLE 2831 A2	0,9655	0,9683	0,9674	0,9979	0,9831	5,7650
MLE 2821 A1	0,9512	0,9556	0,9542	0,9911	0,9821	8,4136
MLE 2821 A2	0,9713	0,9740	0,9731	0,9943	0,9679	7,4160
MLE 3721 A1	0,9439	0,9496	0,9477	0,9904	0,9897	9,9450

5. TARTIŞMA

Mikroemülsiyonlar yüksek oranda yüzey aktif madde varlığında yağ ve su fazlarının birleşmesiyle oluşan yüzey gerilimi sıfıra yakın, enerji gerektirmeden (kendiliğinden) oluşan ve termodinamik olarak kararlı sistemlerdir. Bu sistemlerin damlacık boyutları 0.1 μm 'den küçüktür. Damlacık boyutunun, görünür ışığın damlacık boyutundan (400-800 nm) daha küçük olduğu için görünmezler ve ışığı yansıtma ve optik mikroskop ile görülmemektedir. Mikroemülsiyonlardaki faz tipleri, yağ fazının su fazında dağıldığı Y/S, su fazının yağ fazı içerisinde dağıldığı S/Y veya yağ ve su fazının birbirine yakın olduğu bicontinuous tipinde olabilmektedirler. Oral, dermal, transdermal, parenteral, oküler gibi farklı uygulama yolları için kullanılabilirler. Çözünürlük özellikleri birbirinden farklı olan etken maddeleri bir arada hazırlayabilme, stabilitelerinin uzun olması gibi özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılan ilaç taşıyıcı sistemleridir (Shukla T. ve ark. 2018, Suoto E.B. ve ark. 2022, Szumale P. ve Macierzanka A. 2022, Callender ve ark. 2017, Benbow ve Campbell 2019).

Desloratadin etki süresi uzun, lipofilik karakterde, piperidin türevi bir H_1 reseptör antagonist ilaç sınıfında olan bir moleküldür. Alerjik rinit, nazal konjesyon, kronik idiyopatik ürtiker, böcek sokmalarına bağlı dermatit ve solar dermatit gibi alerjiye bağlı antihistaminik sınıfında bir ilaçtır. Ağız kuruluğu, baş ağrısı ve yorgunluk yaygın olarak görülen yan etkileridir. Piyasada tablet, şurup ve oral çözelti formülasyonları bulunması ile, genel kullanım yolu oral kullanıma yöneliktir (Forough A.S. ve ark. 2021, Canonica G.W. ve Blaiss M. 2011, Dubuske L.M. 2002, Dubuske L. M. 2007, Diehl K. L. 2021, Tharp M.D. 2005).

Literatürde bir başka H_1 reseptör antagonisti olan setirizinin topikal uygulamaya yönelik formülasyonlarının olması ve mikroemülsiyonların, diğer topikal emülsiyon sistemlerine göre tek fazlı bir sistem olup daha uzun stabiliteye sahip olması, kolay üretimi, kinetik stabilitesinin yüksek olması ve hazırlanmasında yüksek enerji gerekmediği için tercih edilmiştir (Kalpesh C ve ark. 2014, Ciurlizza C. ve ark. 2014).

Çalışmada desloratadinin yardımcı maddeler içerisindeki çözünürlüğünü belirlerken spektrofotometre cihazı kullanıldı. Çözücü olarak metanolün kullanıldığı yöntemde, 242 nm dalga boyunda çalışıldı. Spektrofotometre ile çalışılan yöntemin validasyonu yapıldı. Validasyon kapsamında doğrusalılık, seçicilik, doğruluk, kesinlik

(gün içi ve günler arası kesinlik) teşhis limiti, miktar tayini limiti, stabilite (numune) deneyleri gerçekleştirildi. Spektrometre yöntemiyle yapılan doğrusallık çalışmasında determinasyon katsayısı (r^2) değeri 0,9996, miktar tayini limiti 3,4086 µg/mL iken teşhis limiti 1,1248 µg/mL olarak bulunmuştur.

Hazırlanan mikroemülsiyonların *in vitro* salım çalışması ve çözünme ortamlarındaki çözünürlüğünün belirlenmesinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanıldı. HPLC yöntemi kullanılırken Avrupa Farmakopesindeki yöntemden yararlanıldı revize edildi. Mobil faz olarak 53:47 tampon : asetonitril karışımı kullanıldı. Tampon olarak sodyum dodesil sülfat ve trifloroasetik asit karışımı kullanıldı. Validasyon çalışmaları kapsamında doğrusallık, seçicilik, doğruluk, kesinlik (gün içi ve günler arası kesinlik), teşhis limiti, miktar tayini limiti, stabilite (numune) deneyleri gerçekleştirildi. Kullanılan yöntemin validasyon çalışmaları için doğrusallık çalışmasında determinasyon katsayısı (r^2) değeri 0.9994, miktar tayini limiti 0,58662 µg/mL iken teşhis limiti 0,1935 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Mikroemülsiyon formülasyonu çalışılırken desloratadinin kullanılacak olan yağ, sürfaktan ve yardımcı sürfaktan içerisindeki çözünürlüklerine bakılmıştır. Elde edilen sonuçları Tablo 4.14'te belirtilmiştir. Formülasyonları oluşturmadan önce etken maddenin yardımcı maddeler içerisindeki çözünürlük çalışmaları dikkate alınmıştır.

Hazırlanan formülasyonlarda yağ fazının seçiminde etken maddeyi yüksek oranda çözmesi ve emilimine yardımcı olması amaçlanmıştır. Hazırlanan formülasyonlarda yağ fazı olarak oleik asit ve maisine CC kullanılmıştır. Oleik asitin advers etki oluşturmadan antienflamatuvar etki oluşturması, penetrasyon artırıcı etkisinin bulunması, stabilitesi yüksek bir ajan olması, her iki maddenin de HLB değerinin düşük olması (1) yağ fazı seçiminde dikkate alınmıştır (Pegoraro ve ark. 2021).

Süfaktan yağ ile su arasındaki yüzey gerilimini düşürmelidir. Birçok noniyonik süfaktanlar, katyonik ve anyonik süfaktanlara göre insan derisi için güvenli kabul edilir. Yüksek HLB değerine sahip süfaktanlar su içerisinde yağ (y/s) tipi mikroemülsiyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Labrasol, kaprik ve kaprilik asidin orta zincirli yağ asidi trigliseritinin bir PEG türevidir. Hem non-iyonik süfaktan olması hem de HLB değerinin yüksek olmasından (HLB değeri, 14) dolayı

formülasyonlarda sürfaktan olarak labrasol tercih edilmiştir (Negi, 2019; Espinoza ve ark. 2020).

Ko-sürfaktan yağ-su ara yüzey gerilimini düşürmek amaçlı kullanılabilir. Ko-sürfaktan ara-yüzeydeki hidrokarbon bölgesinin akışkanlığını arttırabilir. Kısa zincirli alkoller yağ ile su fazı arasındaki akışkanlığı arttırabildiği gibi hidrokarbon kuyruğunun hareketliliğini de arttırmaktadır. Bu durumdan hareket ile ko-sürfaktan olarak etanol kullanılmıştır. Etanol kısa zincirli bir yapıdadır. Etken maddenin yapı içerisinde çözünmesini kolaylaştırır. Hızlı buharlaşması ile birlikte deriye serinlik vererek etken maddenin derideki konsantrasyonunu arttırır, topikal formülasyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Szumala P. 2014, Kar M. ve ark. 2019, Etman M.A. ve ark. 2014, Maghraby G.M. ve ark. 2004, Üstündağ Okur N. ve ark. 2014).

Tez çalışması sırasında hazırlanan formülasyonların, formülasyon bileşimlerindeki (yağ-sürfaktan-su) hacim farklılıklarındaki değişimlerin faz davranışı üzerindeki etkisini belirlemek, mikroemülsiyon oluşan veya oluşmayan bölgeleri belirlemek için üçgen faz diyagramları hazırlanmıştır. Yağ-sürfaktan karışımı hazırlanırken 1:9 oranından 9:1 oranına kadar hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonların su alma kapasitesi karıştırma anında damla damla su eklenerek belirlenmiştir. Su alma kapasitesini belirlerken formülasyonlarda şeffaflık, viskozite, faz dönüşümü gibi parametrelere bakılarak değerlendirilmiştir. Su alma kapasitelerinden yola çıkarak üçgen faz diyagramları hazırlanmıştır. Maisine CC-Labrasol-Etanol formülasyonunda Km değeri 3:1 formülasyonu 2:1 formülasyonuna göre daha büyük bir yüzey alanı oluşturduğu tespit edilmiştir. Oleik asit-Labrasol-Etanol formülasyonunda Km değeri 4:1 olan üçgen faz diyagramının alanı 3:1 olan üçgen faz diyagramından daha büyük yüzey alanı oluşturduğu tespit edilmiştir.

Salım ve stabilite çalışmaları amacıyla mikroemülsiyon formülasyonları seçilmiştir. Mikroemülsiyonlar stabiliteye bırakılmadan önce, pH, elektriksel iletkenlik, formülasyonun belirli zamanda stabil kalması, polidispersite indeksi, damlacık boyutu, reolojik özellikler, fiziksel görünüm, su oranı açısından değerlendirilmiştir. pH değeri boş formülasyonda 4,06 ile 4,63 arasında değişirken desloratadin yüklü formülasyonlarda ise $8,13 \pm 0,03$ ile $5,27 \pm 0,01$ arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Elektriksel iletkenlik formülasyonun sürekli fazını belirlemede önemli bir parametredir. Elektriksel iletkenlik değeri boş formülasyonda $10,02 \pm 0,01$ ile $16,06 \pm$

0,05 arasında iken desloratadin yüklü formülasyonlarda $9,56 \pm 0,01$ ile $17,28 \pm 0,04$ arasında değişmektedir. Bu değerler hem boş hem de desloratadin yüklü mikroemülsiyon formülasyonların sürekli fazının su olduğunu göstermektedir. Damlacık boyutu ve polidispersite indeksi mikroemülsiyon karakterizasyonu açısından önemli bir parametredir (Acharya D.P. Hartley P.G. 2012). Boş mikroemülsiyonların damlacık boyutu $3,65 \pm 0,07$ ile $17,15 \pm 0,03$ arasında değişmekte iken, desloratadin yüklü mikroemülsiyonlarda $3,30 \pm 0,04$ ile $14,14 \pm 0,23$ arasında değişmektedir. Polidispersite indeksi boş formülasyonlarda $0,147 \pm 0,04$ ile $0,257 \pm 0,03$ arasında değişirken desloratadin yüklü mikroemülsiyonlarda $0,151 \pm 0,01$ ile $0,245 \pm 0,001$ arasında değişmektedir. Stabiliteye bırakılan bütün formülasyonların polidispersite indeksi değeri 0,3 değerinden küçüktür.

Süfaktan oranı toksisite açısından önemli bir parametredir. Stabiliteye bırakılan formülasyonlarda süfaktan oranının düşük olması amaçlandı. Stabiliteye bırakılan formülasyonlarda süfaktan karışımı oranı %42 ile %59 arasında değişmektedir. Formülasyonlarda en düşük süfaktan oranı MLE 3731 A1 VE 3721 A2 formülasyonu iken, en yüksek oranı OLE 1941 A2 formülasyonudur.

Stabiliteye bırakılan mikroemülsiyonlar için reolojik özelliği reometre cihazıyla ölçüldü. Mikroemülsiyonların reolojik davranışı karakterizasyonu açısından önemli bir parametredir. Çalışmamızda hem boş hem de desloratadin yüklü mikroemülsiyonlarda yapılan ölçümde değişen kayma hızında sabit viskozitede olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara bağlı olarak Newtonian akış gösterdiği tespit edilmiştir. Reometre ile yapılan ölçümlerde MLE 3721 A1 ve A2 formülasyonları hariç olacak şekilde aynı Km ve yağ oranına sahip formülasyonlarda su oranı arttıkça viskozitenin azaldığı gözlenmiştir. Aynı Km oranına sahip formülasyonlarda yağ oranının artması viskoziteyi arttırmıştır. Yağ oranı ve su oranı aynı olan formülasyonlarda süfaktan oranının artması viskoziteyi arttırmıştır. Formülasyonda yağ ve süfaktan oranının artması viskoziteyi arttırırken su oranının artması viskoziteyi azaltmıştır. Bu sonuçlardan hareketle viskozitesi en yüksek formülasyon MLE 3731 A2 sonucuna varılabilir. Stabiliteye bırakılan bütün mikroemülsiyonlar optik olarak şeffaf olduğu gösterilmiştir. Bütün boş formülasyonlar berrak ve şeffaf iken desloratadin yüklü mikroemülsiyonlardan yağ fazı Maisine CC olan mikroemülsiyonlar şeffaf ve turuncu renkte olduğu gözlemlenmiştir. Yağ fazı Oleik asit olan desloratadin yüklü mikroemülsiyonlar berrak ve şeffaf olduğu tespit

edilmiştir. Stabiliteye bırakılan bütün formülasyonların akış modeli Newtonian akış modelidir.

Stabiliteye bırakılan formülasyonlarda aynı Km değerine sahip formülasyonlar damlacık boyutu bakımından karşılaştırıldığında yağ oranının arttığı formülasyonlarda damlacık boyutunun arttığı, formülasyonda sürfaktan oranının artması ise damlacık boyutunu azalttığı tespit edilmiştir.

Etken maddenin çözücü ortamlarında çözünürlüğünü belirlemek için PBS pH 5.5 ve PBS pH 7.4 tamponların içerisindeki çözünürlüğüne bakılmıştır. PBS pH 5.5'deki çözünürlüğü (9022,31 µg/mL) PBS pH 7.4 (533,75 µg/mL)'deki çözünürlüğünden daha yüksek olduğu ve yeterli olduğu için PBS pH 5.5 kullanılmasına karar verilmiştir.

Salım çalışması kapsamında stabiliteye bırakılan formülasyonlardan MLE 3731 A1, MLE 3731 A2, OLE 1931 A1, OLE 1941 A1, MLE 2831 A1, MLE 2831 A2, MLE 2821 A1, MLE 2821 A2 ve MLE 3721 A1 formülasyonları seçilmiştir ve salım çalışması yapılmıştır. MLE 3731 A1 formülasyonu MLE 3731 A2 formülasyonuna göre daha yüksek miktarda desloratadin salımı göstermiştir. MLE 3731 A1 ve MLE 3731 A2 su içeren formülasyonlar Km değeri aynı olan MLE 2831 A1 ve MLE 2831 A2 olan formülasyonlara göre daha yüksek miktarda desloratadin salımı göstermiştir. Km oranı aynı olan (2:1) MLE 2821 A1 formülasyonu MLE 2821 A2 formülasyonuna göre daha yüksek miktarda desloratadin salımı gösterdiği tespit edilmiştir. Km oranı aynı olan (3:1) MLE 2831 A1 formülasyonu ile MLE 2831 A2 formülasyonlarının salım sonuçlarına bakıldığında su miktarı yüksek olan formülasyonun daha yüksek miktarda desloratadin salımı gösterdiği tespit edilmiştir. MLE 3721 A1 formülasyonu Km oranı aynı olan MLE 2821 A1 ve MLE 2821 A2 formülasyonlarına göre daha iyi desloratadin salımı göstermiştir. Maisine CC içeren formülasyonlarda yağ fazının oranının artışı etkisi sürfaktan oranının değişiminden salım açısından daha yüksek bir etkiye sahiptir. Oleik asit içeren 1931 formülasyonu 1941 içeren formülasyona göre üçgen faz diyagramında daha az alan vermesine rağmen daha yüksek bir salım vermiştir. Bu sonuçlardan hareket ile yağ fazı maisine CC olan formülasyonlarda yağ fazı oranı arttıkça desloratadin salımlarında iyileşme gerçekleşmiştir. Oleik asit içeren formülasyonlarda formülasyondaki sürfaktan oranının azalması salımı iyileştirmiştir. Aynı km değerine sahip formülasyonlarda su oranı arttıkça salım iyileşmiştir. Salım

çalışması kapsamında 0.derece, 1.derece, Hixon Crowell, Higuchi, Kors-Meyer kinetiklerine göre hesaplama yapılmıştır. Salım çalışması kapsamındaki çalışılan bütün formülasyonlar Higuchi kinetiğine göre salım yaptığı tespit edilmiştir. .

Yüksek lisans tez çalışmamızda daha önce yaptığımız literatür taramalarında karşılaşmadığımız ve üzerinde çalışılmamış olan deriye topikal uygulamaya yönelik desloratadin yüklü mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilmiştir. Desloratadin lipofilik bir madde olduğundan farklı maddeler ve oranları içeren (y/s) tipinde mikroemülsiyon geliştirilmesi tercih edilmiştir. Mikroemülsiyon formülasyonu seçilirken partikül boyutunun belirli aralıkta ve sabit olması, fiziksel görünüm, damlacık boyutu ve düşük polidispersite indeksi olması, viskozite, elektriksel iletkenlik parametrelerine bakılmıştır. Formülasyonların karakterizasyonu açısından 6 aylık stabilite parametreleri takip edilmiştir. Stabiliteye bırakılan formülasyonlar damlacık boyutu, polidispersite indeksi, pH açısından ölçülmüştür. *In vitro* salım çalışması sonuçlarının da uygun olduğu bulunmuştur. Bu etken maddenin tablet, şurup ve oral çözelti formülasyonları bulunmaktadır. Literatürde desloratadin içeren topikal uygulamaya yönelik mikroemülsiyon formülasyonu bulunmamaktadır. Bu sonuçlara bağlı olarak hazırlaması kolay mikroemülsiyon taşıyıcı sisteminin, tablet, şurup, oral çözelti formülasyonlarına alternatif bir formülasyon olabileceği düşünülmektedir. Bu amaçla bir sonraki adım bu etken maddenin deride birikim miktarını belirleyen çalışmayı yapmaktır.

6. KAYNAKLAR

- Bardhan, S., Kundu, K., Chakraborty, G., Saha, S. K., & Paul, B. K. (2015). The schulman method of cosurfactant titration of the oil/water interface (dilution method): a review on a well-known powerful technique in interfacial science for characterization of water-in-oil microemulsions. *Journal of Surfactants and Detergents*, 18(4), 547-567.
- Dąbrowska, A. K., et al. "The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors." *Skin Research and Technology* 24.2 (2018): 165-174.
- Dehdashtian, A., Stringer, T. P., Warren, A. J., Mu, E. W., Amirlak, B., & Shahabi, L. (2018). Anatomy and Physiology of the Skin. In *Melanoma* (pp. 15-26). Springer, Cham.
- Benbow, T., & Campbell, J. (2019). Microemulsions as transdermal drug delivery systems for nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): a literature review. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45(12), 1849-1855.
- Benson, H. A., Grice, J. E., Mohammed, Y., Namjoshi, S., & Roberts, M. S. (2019). Topical and transdermal drug delivery: from simple potions to smart technologies. *Current drug delivery*, 16(5), 444-460.
- Gilaberte, Y., Prieto-Torres, L., Pastushenko, I., & Juarranz, Á. (2016). Anatomy and Function of the Skin. In *Nanoscience in Dermatology* (pp. 1-14). Academic Press.
- Kolarsick, P. A., Kolarsick, M. A., & Goodwin, C. (2011). Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3(4), 203-213.
- Javadzadeh, Y., & Bahari, L. A. (2017). Therapeutic nanostructures for dermal and transdermal drug delivery. In *Nano-and Microscale Drug Delivery Systems* (pp. 131-146). Elsevier.
- Shekade, S. V., Shirolkar, S. V., & Chaudhari, Y. (2020). A Review on Microemulsion Drug Delivery System for Nasal Application. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(1), 63-73.
- Venus, M., Waterman, J., & McNab, I. (2010). Basic physiology of the skin. *Surgery* (Oxford), 28(10), 469-472.

- Kabashima, K., Honda, T., Ginhoux, F., & Egawa, G. (2019). The immunological anatomy of the skin. *Nature Reviews Immunology*, 19(1), 19-30.
- Moll, I., Roessler, M., Brandner, J. M., Eispert, A. C., Houdek, P., & Moll, R. (2005). Human Merkel cells—aspects of cell biology, distribution and functions. *European journal of cell biology*, 84(2-3), 259-271.
- Barry, B. W. (1987). Mode of action of penetration enhancers in human skin. *Journal of controlled release*, 6(1), 85-97.
- Lin, J. Y., & Fisher, D. E. (2007). Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*, 445(7130), 843-850.
- Abraham, J., & Mathew, S. (2019). Merkel cells: a collective review of current concepts. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 9(1), 9.
- Barbieri, J. S., Wanat, K., & Seykora, J. (2014). Skin: basic structure and function.
- Thomason, H. A., Scothern, A., McHarg, S., & Garrod, D. R. (2010). Desmosomes: adhesive strength and signalling in health and disease. *Biochemical Journal*, 429(3), 419-433.
- Delva, E., Tucker, D. K., & Kowalczyk, A. P. (2009). The desmosome. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 1(2), a002543.
- Baroni, A., Buommino, E., De Gregorio, V., Ruocco, E., Ruocco, V., & Wolf, R. (2012). Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in dermatology*, 30(3), 257-262.
- Susan, M. A. B. H., Begum, M., Takeoka, Y., & Watanabe, M. (2000). Effect of pH and the extent of micellization on the redox behavior of non-ionic surfactants containing an anthraquinone group. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 481(2), 192-199.
- Ng, K. W., & Lau, W. M. (2015). Skin deep: the basics of human skin structure and drug penetration. In *Percutaneous penetration enhancers chemical methods in penetration enhancement* (pp. 3-11). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Prausnitz, M. R., Elias, P. M., Franz, T. J., Schmuth, M., Tsai, J. C., Menon, G. K., ... & Feingold, K. R. (2012). Skin barrier and transdermal drug delivery. *Dermatology*, 3, 2065-2073.

Fischer, C. L., Walters, K. S., Drake, D. R., Blanchette, D. R., Dawson, D. V., Brogden, K. A., & Wertz, P. W. (2013). Sphingoid bases are taken up by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and induce ultrastructural damage. *Skin pharmacology and physiology*, 26(1), 36-44.

Grampurohit, N., Ravikumar, P., & Mallya, R. (2011). Microemulsions for topical use—a review. *Ind J Pharm Edu Res*, 45(1), 100-107.

Iwai, I., Han, H., Den Hollander, L., Svensson, S., Öfverstedt, L. G., Anwar, J., ... & Norlén, L. (2012). The human skin barrier is organized as stacked bilayers of fully extended ceramides with cholesterol molecules associated with the ceramide sphingoid moiety. *Journal of Investigative Dermatology*, 132(9), 2215-2225.

N'Da, D. D. (2014). Prodrug strategies for enhancing the percutaneous absorption of drugs. *Molecules*, 19(12), 20780-20807.

Tomala, A., Göçerler, H., & Gebeshuber, I. C. (2012). Bridging nano-and microtribology in mechanical and biomolecular layers. In *Scanning Probe Microscopy in Nanoscience and Nanotechnology 3* (pp. 431-483). Springer, Berlin, Heidelberg.

Lai-Cheong, J. E., & McGrath, J. A. (2017). Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*, 45(6), 347-351.

Cosco, D., Celia, C., Cilurzo, F., Trapasso, E., & Paolino, D. (2008). Colloidal carriers for the enhanced delivery through the skin. *Expert opinion on drug delivery*, 5(7), 737-755.

McGrath, J. A., Eady, R. A. J., & Pope, F. M. (2004). Anatomy and organization of human skin. *Rook's textbook of dermatology*, 1, 3-2.

Malvey, S., Rao, J. V., & Arumugam, K. M. (2019). Transdermal drug delivery system: A mini review. *Pharma Innov*, 8, 181-197.

Metcalf, A. D., & Ferguson, M. W. (2007). Bioengineering skin using mechanisms of regeneration and repair. *Biomaterials*, 28(34), 5100-5113.

Baker, L. B. (2019). Physiology of sweat gland function: The roles of sweating and sweat composition in human health. *Temperature*, 6(3), 211-259.

BEDİZ-ÖLÇER, A., & GÖNÜL, N. Perkütan Absorpsiyon Ve Perkütan Absorpsiyonu Etkileyen Faktörler: Percutaneous Absorption And Factors Influencing Percutaneous Absorption.

Colloidal carriers for the enhanced delivery through the skin. Expert opinion Drug delivery. 5 (7), 737-755

Wickett, R. R., & Visscher, M. O. (2006). Structure and function of the epidermal barrier. American journal of infection control, 34(10), S98-S110.

Scheuplein, R.J. and Blank, I.H., Permeability of the skin. Physiological Reviews, 1971. 51(4): p. 702-47.

Mechanisms of percutaneous absorption II. Transient diffusion and the relative importance of various routes of skin penetration J. Invest Dermatol 48:79-88.

Katz, M. and Poulsen, B.J., Absorption of drugs through the skin, in Handbook of Experimental Pharmacology, B.B. Brodie and J. Gillette, Editors. 1971, Springer-Verlag, 103-74: Berlin. p. 103-174.

FDA Bioequivalence standards 2014 13. Bölüm.

Grasso, P., & Lansdown, A. B. G. (1972). Methods of measuring, and factors affecting, percutaneous absorption. J. soc. cosmet. chem, 23, 481-521.

Supe, S., & Takudage, P. (2021). Methods for evaluating penetration of drug into the skin: A review. Skin Research and Technology, 27(3), 299-308.

Hadgraft, J. W., & Somers, G. F. (1956). Percutaneous absorption. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 8(1), 625-634.

Hadgraft, J. (2004). Skin deep. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics, 58(2), 291-299.

Nafisi, S., & Maibach, H. I. (2017). Nanotechnology in cosmetics. Cosmetic science and technology: theoretical principles and applications, 337.

J. H., Stoeckenius, W., & Prince, L. M. (1959). Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. The Journal of physical chemistry, 63(10), 1677-1680.

- Xavier-Junior, F. H., Vauthier, C., Morais, A. R. V., Alencar, E. N., & Egito, E. S. T. (2017). Microemulsion systems containing bioactive natural oils: an overview on the state of the art. *Drug development and industrial pharmacy*, 43(5), 700-714.
- Nastiti, C. M., Ponto, T., Abd, E., Grice, J. E., Benson, H. A., & Roberts, M. S. (2017). Topical nano and microemulsions for skin delivery. *Pharmaceutics*, 9(4), 37.
- Rakshit, A. K., Naskar, B., & Moulik, S. P. (2019). Commemorating 75 years of microemulsion. *Current Science*, 116(6), 898. .
- Sintov AC. Transdermal delivery of curcumin via microemulsion. *Int J Pharm* 2015;481:97–103
- Callender, S. P., Mathews, J. A., Kobernyk, K., & Wettig, S. D. (2017). Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 526(1-2), 425-442.
- Okur, N. Ü., Yavaşoğlu, A., & Karasulu, H. Y. (2014). Preparation and evaluation of microemulsion formulations of naproxen for dermal delivery. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 62(2), 135-143.
- Benbow, T., & Campbell, J. (2019). Microemulsions as transdermal drug delivery systems for nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): a literature review. *Drug development and industrial pharmacy*, 45(12), 1849-1855.
- Chauhan, L., Thakur, P., & Sharma, S. (2019). Microemulsions: New vista in novel drug delivery system.
- Muzaffar, F. A. I. Z. I., Singh, U. K., & Chauhan, L. (2013). Review on microemulsion as futuristic drug delivery. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(3), 39-53
- Sharma, A. K., Garg, T., Goyal, A. K., & Rath, G. (2016). Role of microemuslsions in advanced drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 44(4), 1177-1185.
- Mehta, D. P. (2015). Microemulsions: A potential novel drug delivery system. *Int. J. Pharm. Sci*, 1, 48.
- Geha, R. S., & Meltzer, E. O. (2001). Desloratadine: a new, nonsedating, oral antihistamine. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(4), 751-762.

Kreilgaard M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54 Suppl 1:S77-98)

Sapra, B., Thatai, P., Bhandari, S., Sood, J., Jindal, M., & Tiwary, A. (2013). A critical appraisal of microemulsions for drug delivery: part I. Therapeutic delivery, 4(12), 1547-1564.

Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, F. J., Khar, R. K., Pathan, S. A., & Khan, Z. I. (2008). Microemulsions: a novel approach to enhanced drug delivery. *Recent patents on drug delivery & formulation*, 2(3), 238-257.

Ghosh, P. K., & Murthy, R. S. R. (2006). Microemulsions: a potential drug delivery system. *Current drug delivery*, 3(2), 167-180.

Heard, C. M., Kung, D., & Thomas, C. P. (2006). Skin penetration enhancement of mefenamic acid by ethanol and 1, 8-cineole can be explained by the 'pull' effect. *International Journal of Pharmaceutics*, 321(1-2), 167-170.

Ma, J., Qi, J., Li, S., Zhang, C., Wang, H., Shao, L., ... & Sha, Q. (2020). Desloratadine, a novel antigrowth reagent for bladder cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 19, 1533033820926591.

Santos, P., Watkinson, A. C., Hadgraft, J., & Lane, M. E. (2008). Application of microemulsions in dermal and transdermal drug delivery. *Skin pharmacology and physiology*, 21(5), 246-259.

Tanojo, H., Bouwstra, J. A., Junginger, H. E., & Boddé, H. E. (1997). In vitro human skin barrier modulation by fatty acids: skin permeation and thermal analysis studies. *Pharmaceutical research*, 14(1), 42-49.

Fritz, I., Wagner, P., Broberg, P., Einefors, R., & Olsson, H. (2020). Desloratadine and loratadine stand out among common H1-antihistamines for association with improved breast cancer survival. *Acta Oncologica*, 59(9), 1103-1109.

Shintani, M., & Ogiso, T. (1990). Mechanism for the enhancement effect of fatty acids on the percutaneous absorption of propranolol. *Journal of pharmaceutical sciences*, 79(12), 1065-1071.

Bouwstra, J. A., & Ponec, M. (2006). The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1758(12), 2080-2095.

Aungst, B. J., Rogers, N. J., & Shefter, E. (1986). Enhancement of naloxone penetration through human skin in vitro using fatty acids, fatty alcohols, surfactants, sulfoxides and amides. *International journal of pharmaceutics*, 33(1-3), 225-234.

Ongpipattanakul, B., Burnette, R. R., Potts, R. O., & Francoeur, M. L. (1991). Evidence that oleic acid exists in a separate phase within stratum corneum lipids. *Pharmaceutical research*, 8(3), 350-354.

Francoeur, M. L., Golden, G. M., & Potts, R. O. (1990). Oleic acid: its effects on stratum corneum in relation to (trans) dermal drug delivery. *Pharmaceutical research*, 7(6), 621-627.

Paolino, D., Ventura, C. A., Nistico, S., Puglisi, G., & Fresta, M. (2002). Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability. *International Journal of pharmaceutics*, 244(1-2), 21-31.

Shukla, T., Upmanyu, N., Agrawal, M., Saraf, S., Saraf, S., & Alexander, A. (2018). Biomedical applications of microemulsion through dermal and transdermal route. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 1477-1494.

Špiclin, P., Gašperlin, M., & Kmetec, V. (2001). Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions. *International journal of pharmaceutics*, 222(2), 271-279.

Valenta, C., & Schultz, K. (2004). Influence of carrageenan on the rheology and skin permeation of microemulsion formulations. *Journal of controlled release*, 95(2), 257-265.

Souto, E. B., Cano, A., Martins-Gomes, C., Coutinho, T. E., Zielińska, A., & Silva, A. M. (2022). Microemulsions and nanoemulsions in skin drug delivery. *Bioengineering*, 9(4), 158.

Špiclin, P., Homar, M., Zupančič-Valant, A., & Gašperlin, M. (2003). Sodium ascorbyl phosphate in topical microemulsions. *International journal of pharmaceutics*, 256(1-2), 65-73.

He, C. X., He, Z. G., & Gao, J. Q. (2010). Microemulsions as drug delivery systems to improve the solubility and the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Expert opinion on drug delivery*, 7(4), 445-460.

An overview of micro-and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability.

Dantas, T. N. C., Santanna, V. C., Souza, T. T. C., Lucas, C. R. S., Neto, A. D., & Aum, P. T. P. (2019). Microemulsions and nanoemulsions applied to well stimulation and enhanced oil recovery (EOR). *Brazilian Journal of Petroleum and Gas*, 12(4).

Wan, T., Xu, T., Pan, J., Qin, M., Pan, W., Zhang, G., ... & Xu, Y. (2015). Microemulsion based gel for topical dermal delivery of pseudolaric acid B: In vitro and in vivo evaluation. *International journal of pharmaceutics*, 493(1-2), 111-120.

Tartaro, G., Mateos, H., Schirone, D., Angelico, R., & Palazzo, G. (2020). Microemulsion microstructure (s): A tutorial review. *Nanomaterials*, 10(9), 1657.

Grampurohit, N., Ravikumar, P., & Mallya, R. (2011). Microemulsions for topical use—a review. *Ind J Pharm Edu Res*, 45(1), 100-107.

Morgan, T. M., O'Sullivan, H. M., Reed, B. L., & Finnin, B. C. (1998). Transdermal delivery of estradiol in postmenopausal women with a novel topical aerosol. *Journal of pharmaceutical sciences*, 87(10), 1226-1228.

Jena, N., & Kar, M. K. (2019). Ethanol production from various plant sources using *Saccharomyces cerevisiae*. *IJCS*, 7(6), 2968-2971.

Lawrence, M. J., & Rees, G. D. (2000). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced drug delivery reviews*, 45(1), 89-121.

Laothaweerungsawat, N., Neimkhum, W., Anuchapreeda, S., Sirithunyalug, J., & Chaiyana, W. (2020). Transdermal delivery enhancement of carvacrol from *Origanum vulgare* L. essential oil by microemulsion. *International Journal of Pharmaceutics*, 579, 119052.

Chen, H., Chang, X., Du, D., Li, J., Xu, H., & Yang, X. (2006). Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 315(1-2), 52-58.

Canonica, G. W., & Blaiss, M. (2011). Antihistaminic, anti-inflammatory, and antiallergic properties of the nonsedating second-generation antihistamine desloratadine: a review of the evidence. *World Allergy Organization Journal*, 4(2), 47-53.

Szumała, P., & Macierzanka, A. (2022). Topical delivery of pharmaceutical and cosmetic macromolecules using microemulsion systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 121488.

Wormuth, K. R. (1988). Phase behavior and microstructure of microemulsions (Doctoral dissertation, University of Washington).

Xia, C. A. I., Zhu-fen, L. V., & Yan-zhong, C. H. E. N. (2010). Preparation of Fluxetine Hydrochloride Microemulsion and Its Percutaneous Penetration on Rats in Vitro. China Pharmacy.

DuBuske, L. (2007). Desloratadine for chronic idiopathic urticaria. *American journal of clinical dermatology*, 8(5), 271-283.

Tanojo, H., Boelsma, E., Junginger, H. E., Ponec, M., & Boddé, H. E. (1998). In vivo human skin barrier modulation by topical application of fatty acids. *Skin Pharmacology and Physiology*, 11(2), 87-97.

Etman, M. A., Gamal, M., Nada, A. H., & Shams-Eldeen, M. A. (2014). Formulation of desloratadine oral disintegrating tablets. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(11), 054-061.

Kweon, J. H., Chi, S. C., & Park, E. S. (2004). Transdermal delivery of diclofenac using microemulsions. *Archives of pharmacal research*, 27(3), 351-356.

El Maghraby, G. M. M., Williams, A. C., & Barry, B. W. (2004). Interactions of surfactants (edge activators) and skin penetration enhancers with liposomes. *International journal of pharmaceutics*, 276(1-2), 143-161.

Kumar, N. (2015). D-optimal experimental approach for designing topical microemulsion of itraconazole: Characterization and evaluation of antifungal efficacy against a standardized Tinea pedis infection model in Wistar rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 67, 97-112.

Date, A. A., & Patravale, V. B. (2007). Microemulsions: applications in transdermal and dermal delivery. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 24(6).

Peltola, S., Saarinen-Savolainen, P., Kiesvaara, J., Suhonen, T. M., & Urtti, A. (2003). Microemulsions for topical delivery of estradiol. *International journal of pharmaceutics*, 254(2), 99-107.

Peira, E., Scolari, P., & Gasco, M. R. (2001). Transdermal permeation of apomorphine through hairless mouse skin from microemulsions. *International journal of pharmaceutics*, 226(1-2), 47-51.

Jadhav, K. R., Ambade, K. W., Jadhav, S. L., Gambhire, M. N., Kurmi, S. D., & Kadam, V. J. (2008). Formulation and evaluation of flurbiprofen microemulsion. *Current drug delivery*, 5(1), 32-41.

Goebel, A. S., Neubert, R. H., & Wohlrab, J. (2011). Dermal targeting of tacrolimus using colloidal carrier systems. *International journal of pharmaceutics*, 404(1-2), 159-168.

Gradzielski, M. (2008). Recent developments in the characterisation of microemulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 13(4), 263-269.

Acharya, D. P., & Hartley, P. G. (2012). Progress in microemulsion characterization. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17(5), 274-280.

Forough, A. S., Fakharian, A., Joubani, S. F., Afsari, A., Esfahani, P. R., & Fahimi, F. (2021). The clinical efficacy of desloratadine, a non-sedating antihistamine, in the management of allergic conditions: A review of the evidence. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut*, 44(2), 477-510.

Pavoni, L., Perinelli, D. R., Bonacucina, G., Cespi, M., & Palmieri, G. F. (2020). An overview of micro-and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability. *Nanomaterials*, 10(1), 135.

Zargar-Shoshtari, S., Wen, J., & Alany, R. G. (2010). Formulation and physicochemical characterization of imwitor 308 based self microemulsifying drug delivery systems. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(10), 1332-1338.

Volpe, V., Giacomodonato, M. N., Sordelli, D. O., Insausti, M., Buzzola, F. R., & Grünhut, M. (2020). Ciprofloxacin loaded o/w microemulsion against *Staphylococcus*

aureus. Analytical and biological studies for topical and intranasal administration. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57, 101705.

Ita, K. (2017). Progress in the use of microemulsions for transdermal and dermal drug delivery. *Pharmaceutical development and technology*, 22(4), 467-475.

Praça, F. G., Viegas, J. S. R., Peh, H. Y., Garbin, T. N., Medina, W. S. G., & Bentley, M. V. L. B. (2020). Microemulsion co-delivering vitamin A and vitamin E as a new platform for topical treatment of acute skin inflammation. *Materials Science and Engineering: C*, 110, 110639.

Volpe, V., Giacomodonato, M. N., Sordelli, D. O., Insausti, M., Buzzola, F. R., & Grünhut, M. (2020). Ciprofloxacin loaded o/w microemulsion against *Staphylococcus aureus*. Analytical and biological studies for topical and intranasal administration. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57, 101705.

Machado, M., Dantas, I. L., Galvao, J. G., Lima, A. D., da Cunha Gonsalves, J. K. M., Almeida, E. D. P., ... & Lira, A. A. M. (2020). Microemulsion systems to enhance the transdermal permeation of ivermectin in dogs: A preliminary in vitro study. *Research in Veterinary Science*, 133, 31-38.

Ryu, K. A., Park, P. J., Kim, S. B., Bin, B. H., Jang, D. J., & Kim, S. T. (2020). Topical delivery of coenzyme Q10-loaded microemulsion for skin regeneration. *Pharmaceutics*, 12(4), 332.

Sae Yoon, A., & Sakdiset, P. (2020). Development of microemulsions containing *Glochidion wallichianum* leaf extract and potential for transdermal and topical skin delivery of gallic acid. *Scientia Pharmaceutica*, 88(4), 53.

Diehl, K. L., Erickson, C., Calame, A., & Cohen, P. R. (2021). A Woman With Solar Urticaria and Heat Urticaria: A Unique Presentation of an Individual With Multiple Physical Urticarias. *Cureus*, 13(8).

Monton, C., Settharaksa, S., Suksaeree, J., & Chusut, T. (2020). The preparation, characterization, and stability evaluation of a microemulsion-based oral spray containing clove oil for the treatment of oral candidiasis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57, 101735.

Khayat NW, El Donia AA, Mady OY, et al. Optimization of eugenol microemulsion for transdermal delivery of indomethacin. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2018;48:311–318.

[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_cb3462564.htm]

[<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Desloratadine>]

[<https://go.drugbank.com/drugs/DB00967>]

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.110575.html>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Desloratadine#section=3D-Conformer>

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Desloratadine, CID=124087 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Desloratadine>

FDA-Clarinx Tablet-Spmc-pil

Desloratadine 5 mg Film Coated Tablet- Smpc-pil-Emc

Kreutner, W., Hey, J. A., Anthes, J., Barnett, A., Young, S., & Tozzi, S. (2000). Preclinical pharmacology of desloratadine, a selective and nonsedating histamine H1 receptor antagonist. *Arzneimittelforschung*, 50(04), 345-352.

Murdoch, D., Goa, K. L., & Keam, S. J. (2003). Desloratadine. *Drugs*, 63(19), 2051-2077.

Devillier, P., Roche, N., & Faisy, C. (2008). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of desloratadine, fexofenadine and levocetirizine. *Clinical pharmacokinetics*, 47(4), 217-230.

Henz, B. M. (2001). The pharmacologic profile of desloratadine: a review. *Allergy*, 56, 7-13.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Desloratadine, CID=124087 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Desloratadine>

DuBuske, L. (2007). Desloratadine for chronic idiopathic urticaria. *American journal of clinical dermatology*, 8(5), 271-283.

O'Donoghue, M., & Tharp, M. D. (2005). Antihistamines and their role as antipruritics. *Dermatologic therapy*, 18(4), 333-340.

Levi, A., & Enk, C. D. (2015). Treatment of solar urticaria using antihistamine and leukotriene receptor antagonist combinations tailored to disease severity. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 31(6), 302-306.

Ma, J., Qi, J., Li, S., Zhang, C., Wang, H., Shao, L., ... & Sha, Q. (2020). Desloratadine, a novel antigrowth reagent for bladder cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 19, 1533033820926591.

Ciurlizza, C., Fernández, F., Calpena, A. C., Lázaro, R., Parra, A., & Clares, B. (2014). Semisolid formulations containing cetirizine: human skin permeation and topical antihistaminic evaluation in a rabbit model. *Archives of dermatological research*, 306(8), 711-717.

Ashara, K. C., Paun, J. S., Soniwala, M. M., Chavada, J. R., & Mori, N. M. (2014). Micro-emulsion based emulgel: a novel topical drug delivery system. *Asian pacific journal of tropical disease*, 4, S27-S32.

Traidl-Hoffmann, C., Münster, I., Ring, J., & Behrendt, H. (2006). Impact of desloratadine and loratadine on the crosstalk between human keratinocytes and leukocytes: implications for anti-inflammatory activity of antihistamines. *International archives of allergy and immunology*, 140(4), 315-320.

Hou, Y., Ge, S., Li, X., Wang, C., He, H., & He, L. (2021). Testing of the inhibitory effects of loratadine and desloratadine on SARS-CoV-2 spike pseudotyped virus viropexis. *Chemico-Biological Interactions*, 338, 109420.

Fritz, I., Wagner, P., Broberg, P., Einefors, R., & Olsson, H. (2020). Desloratadine and loratadine stand out among common H1-antihistamines for association with improved breast cancer survival. *Acta Oncologica*, 59(9), 1103-1109.

US 2007/0280972 A1- Adhesive Solid Gel-Forming Formulations For Dermal Drug Delivery

CN103432075A - Desloratadine nanoemulsion and preparation method thereof

Roge A.B, Shendarkar G.R., Ghante.M.H., Ghiware N.B. (2019) Development of Validated UV Spectrophotometric Stability Indicating Method for Estimation of Desloratadine from Its Tablet Dosage Form

USP XXIII/NF USP National Pharmacopeia

ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005, Q2 (R1)

FDA Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods, 1994

(ISO 9000:2000) Quality Management System

Das, S., Lee, S. H., Chia, V. D., Chow, P. S., Macbeath, C., Liu, Y., & Shlieout, G. (2020). Development of microemulsion based topical ivermectin formulations: Pre-formulation and formulation studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 189, 110823.

Gharbavi, M., Johari, B., Eslami, S. S., Mousazadeh, N., & Sharafi, A. (2020). Cholesterol-conjugated bovine serum albumin nanoparticles as a tamoxifen tumor-targeted delivery system. *Cell Biology International*, 44(12), 2485-2498.

Moghimpour, E., Salimi, A., & Eftekhari, S. (2013). Design and characterization of microemulsion systems for naproxen. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 3(1), 63.

Weng, J., Tong, H. H., & Chow, S. F. (2020). In vitro release study of the polymeric drug nanoparticles: development and validation of a novel method. *Pharmaceutics*, 12(8), 732.

Zsikó, S., Csányi, E., Kovács, A., Budai-Szücs, M., Gácsi, A., & Berkó, S. (2019). Methods to evaluate skin penetration in vitro. *Scientia Pharmaceutica*, 87(3), 19.

Pegoraro, N. S., Camponogara, C., Cruz, L., & Oliveira, S. M. (2021). Oleic acid exhibits an expressive anti-inflammatory effect in croton oil-induced irritant contact dermatitis without the occurrence of toxicological effects in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 267, 113486.

Negi, J. S. (2019). Nanolipid materials for drug delivery systems: A comprehensive Review. *Characterization and Biology of Nanomaterials for Drug Delivery*, 137-163.

Espinoza, L. C., Vera-García, R., Silva-Abreu, M., Domènech, Ò., Badia, J., Rodríguez-Lagunas, M. J., ... & Calpena, A. C. (2020). Topical pioglitazone nanoformulation for the treatment of atopic dermatitis: design, characterization and efficacy in hairless mouse model. *Pharmaceutics*, 12(3), 255.

HAM VERİLER

FORMLAR

PATENT HAKKI İZİNİ

DES Loratadin İÇEREN YENİLİKÇİ TOPIKAL
FORMÜLASYONLARIN OLUŞTURULMASI VE İN VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%10	%9	%1	%3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr	%6
İnternet Kaynağı		
2	nek.istanbul.edu.tr:4444	%2
İnternet Kaynağı		
3	Submitted to Istanbul University	%1
Öğrenci Ödevi		
4	Submitted to Anadolu University	<%1
Öğrenci Ödevi		
5	polen.itu.edu.tr	<%1
İnternet Kaynağı		
6	docplayer.biz.tr	<%1
İnternet Kaynağı		
7	dspace.trakya.edu.tr	<%1
İnternet Kaynağı		
8	repository.unair.ac.id	<%1
İnternet Kaynağı		