

ELİF PINAR ÖZALP

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2021



Adınızı soyadınızı



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

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya

(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**DİFLUKORTOLON VALERAT YÜKLÜ TOPİKAL
MİKROEMÜLSİYON FORMÜLASYONLARININ
GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

ELİF PINAR ÖZALP

**DANIŞMAN
DOÇ DR. MERYEM SEDEF ERDAL**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI/
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2021

İTHAF

Eşime ve Aileme ithaf ediyorum,

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimin tez süresince karşılaştığım her aşamada gerek bilgi ve deneyimiyle, çalışmalarımı yönlendirmesiyle, gerek güler yüzü ve ilgisiyle her anlamda desteğini yanımda hissettiğim sevgili danışman hocam Sayın **Doç. Dr. Meryem Sedef Erdal'a**;

Yardım ve destekleri için, bilgisinden her daim faydalandığımız Eczacılık Teknolojisi Bölümü ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı sevgili hocam Sayın **Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e**;

Tez çalışmamın başından sonuna kadar yanımda olan, her daim çekinmeden soru sorabildiğim, ilgisine minnettar olduğum sevgili hocam **Arş. Gör. Aşlı Gürbüz'e**;

Yüksek lisans öğrenimimin boyunca her anlamda en çok yanımda olan, en büyük destekçim sevgili **EŞİME** ve bugünlere gelmemde en büyük paya sahip, bitmeyen yardımları ve sevgileri için canım **AİLEME** teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37139

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	2
İTHAF.....	2
TEŞEKKÜR.....	3
İÇİNDEKİLER	4
TABLolar LİSTESİ.....	8
ŞEKİLLER LİSTESİ	12
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	18
ÖZET	20
ABSTRACT.....	22
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	24
2. GENEL BİLGİLER	27
2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler	27
2.1.1. Deri Yapısı ve Özellikleri	27
2.1.2. Derinin Tabakaları	28
2.1.2.1. Epidermis	28
2.1.2.2. Dermis.....	33
2.1.3. Deriden Geçiş Yolları	33
2.1.4. Derinin Koruyucu Fonksiyonları	34
2.1.4.1. Fiziksel Koruma.....	34
2.1.4.2. Bağışıklık Fonksiyonları ile Koruma.....	35
2.1.4.3. Ultraviyole (UV) Radyasyondan Koruma	35
2.1.5. Deriden Geçiş Etkileyen Faktörler	36
2.1.5.1. Absorpsiyonu Kontrol Eden Parametreler	36
2.1.5.2. İlaç Taşıma Aracının Rolü	37
2.1.5.3. İlaç Konsantrasyonu	37
2.1.5.4. Partisyon Katsayısı	38
2.1.5.5. Bölgesel Varyasyon	38
2.2. Mikroemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler.....	38
2.2.1. Mikroemülsiyon Bileşenleri	42
2.2.1.1. Yağ Fazı.....	42

2.2.1.2. Su Fazı	42
2.2.1.3. Yüzey Aktif Madde (Sürfaktan)	43
2.2.1.4. Yardımcı Yüzey Aktif Madde (Kosürfaktan)	44
2.2.2. Mikroemülsiyon Oluşum Teorileri	44
2.2.2.1. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Termodinamikleri.....	45
2.2.2.2. Mikroemülsiyon Oluşumunun Karışık Film Teorisi	45
2.2.2.3. Mikroemülsiyon Oluşumunun Çözünürlük Teorisi	46
2.2.3. Mikroemülsiyon Hazırlama Teknikleri	46
2.2.3.1. Faz Titrasyon Yöntemi	46
2.2.3.2. Faz Ters Çevirme Yöntemi.....	47
2.3. Topikal Kortikosteroidler	47
2.3.1. Topikal Kortikosteroidlerin Endikasyonları	51
2.3.2. Topikal Kortikosteroidlerin Etki Mekanizması	52
2.3.3. Topikal Kortikosteroidlerin Advers Etkileri	53
2.4. Diflukortolon Hakkında Genel Bilgiler	53
2.4.1. Diflukortolon Valerat'ın Tanımı ve Özellikleri.....	53
2.4.2. Diflukortolon Valerat İçeren Preparatlar	55
3. GEREÇ VE YÖNTEM	57
3.1. Gereçler	57
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	57
3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler.....	58
3.1.2.1. Kullanılan Aletler	58
3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler	58
3.2. Yöntem.....	59
3.2.1. Diflukortolon Valerat'ın Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi.....	59
3.2.2. Diflukortolon valerat'ın Miktar Tayin Yöntemi	59
3.2.3. Diflukortolon valerat'ın Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	60
3.2.3.1. Doğrusallık.....	60
3.2.3.2. Kesinlik	61
3.2.3.3. Doğruluk	61
3.2.3.4. Seçicilik	63
3.2.3.5. Teşhis Limiti (TL) ve Miktar Tayini Limiti (MTL)	63

3.2.3.6. Numunelerin Stabilitesi	63
3.2.4. Çözünürlük Çalışmaları	64
3.2.4.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmaları	64
3.2.4.2. Etkin Maddenin Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışmaları	65
3.2.5. Ön Formülasyon Çalışmaları	66
3.2.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi.....	67
3.2.7. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçimi	68
3.2.8. Seçilen Mikroemülsiyonlara DFV Yüklenmesi.....	68
3.2.9. Mikroemülsiyonların Karakterizasyonlarına Yönelik Çalışmalar	68
3.2.9.1. Fiziksel Görünüş	68
3.2.9.2. Refraktif İndeks	68
3.2.9.3. pH.....	69
3.2.9.4. İletkenlik	69
3.2.9.5. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi.....	69
3.2.9.6. Reolojik Özelliklerin Tayini	69
3.2.9.7. Stabilitate Takibinin İncelenmesi	70
3.2.10. <i>İn vitro</i> Salım Çalışmaları.....	70
3.2.11. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması	71
3.2.12. İstatiksel Analiz	71
4. BULGULAR.....	72
4.1. Diflukortolon valerat'ın Infrared (IR) spektrumu	72
4.2. Miktar tayini yönteminin validasyonu	72
4.2.1. Doğrusallık.....	72
4.2.2. Kesinlik.....	75
4.2.3. Doğruluk	77
4.2.4. Seçicilik	80
4.2.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti.....	80
4.2.6. Numunelerin Stabilitesi	80
4.3. Çözünürlük Çalışmaları	81
4.3.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışması....	81

4.3.2. Etkin Maddenin Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması	82
4.4. Önformülasyon Çalışmaları	83
4.5. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi	84
4.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçilmesi	92
4.7. Seçilen Mikroemülsiyonlara DFV Yüklenmesi	93
4.8. Mikroemülsiyonların Karakterizasyonuna Yönelik Çalışmalar.....	93
4.8.1. Fiziksel Görünüş	93
4.8.2. Refraktif İndeks	93
4.8.3. pH.....	94
4.8.4. İletkenlik	95
4.8.5. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi.....	97
4.8.6. Reolojik Özelliklerin Tayini	115
4.8.7. Stabilite Takibinin İncelenmesi	134
4.9. <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları	139
4.10. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması.....	148
5. TARTIŞMA	150
KAYNAKLAR	155
6. KAYNAKÇA.....	156
7. HAM VERİLER	163
FORMLAR	164
ETİK KURUL KARARI	165
PATENT HAKKI İZNİ	161
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	162
ÖZGEÇMİŞ	168

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Mikroemülsiyon, emülsiyon ve nanoemülsiyonun karşılaştırılması	39
Tablo 2.2 Topikal kortikosteroid formülasyonlarının konsantrasyonlarına göre potens sınıflandırılması ²⁸	48
Tablo 2.3 Topikal steroidlerle tedavi edilebilen hastalıklar ²⁹	52
Tablo 2.4 Türkiye pazarında Diflukortolon Valerat içeren müstahzarlar	55
Tablo 3.1 DFV Plasebo Formülasyonları	62
Tablo 3.2 Çözünürlük Çalışmasında Kullanılan Yardımcı Maddeler	64
Tablo 3.3 Reseptör fazı belirlemek için yapılan çözünürlük çalışmasında kullanılan yardımcı maddeler	65
Tablo 3.4 Önformülasyon çalışmalarında kullanılan yağ, sürfaktan, kosürfaktanlar ve deneme oranları.....	67
Tablo 4.1 Diflukortolon Valerat'ın mobil faz ile yapılan miktar tayini yönteminin doğrusallığına ait bulgular	73
Tablo 4.2 Mobil faz ile yapılan doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R^2 değeri.....	74
Tablo 4.3 Diflukortolon valerat'ın reseptör faz ile yapılan miktar tayini yönteminin doğrusallığına ait bulgular	74
Tablo 4.4 Reseptör faz ile yapılan doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R^2 değeri.....	75
Tablo 4.5 Diflukortolon valerat'ın mobil faz ile yapılan miktar tayinini yönteminin gün içi kesinlik bulguları	75
Tablo 4.6 Diflukortolon valerat'ın reseptör faz ile yapılan miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulguları	76
Tablo 4.7 Diflukortolon valerat'ın mobil faz ile yapılan miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları.....	76

Tablo 4.8 Diflukortolon valerat'ın reseptör faz ile yapılan miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları.....	77
Tablo 4.9 Plasebo-I formülasyonu için mobil faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları.....	77
Tablo 4.10 Plasebo-II formülasyonu için mobil faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları.....	78
Tablo 4.11 Plasebo-III formülasyonu için mobil faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları.....	78
Tablo 4.12 Plasebo-I formülasyonu için reseptör faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları.....	78
Tablo 4.13 Plasebo-II formülasyonu için reseptör faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları.....	79
Tablo 4.14 Plasebo-III formülasyonu için reseptör faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları.....	79
Tablo 4.15 Mobil faz ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesine ait bulgular	80
Tablo 4.16 Reseptör faz ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesine ait bulgular	81
Tablo 4.17 Diflukortolon valerat'ın yardımcı maddelerdeki çözünürlük bulguları	81
Tablo 4.18 Diflukortolon valerat'ın çözünme ortamlarındaki çözünürlük bulguları	82
Tablo 4.19 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 3:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları	85
Tablo 4.20 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları	86
Tablo 4.21 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları	87
Tablo 4.22 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları	88
Tablo 4.23 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları	89

Tablo 4.24 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları	90
Tablo 4.25 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:2 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları	91
Tablo 4.26 Önformülasyon çalışmaları sonucunda karar verilen mikroemülsiyon formülasyonları.....	92
Tablo 4.27 Seçilmiş olan DFV yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının refraktif indeks değerleri.....	93
Tablo 4.28 Seçilmiş olan mikroemülsiyon formülasyonlarının pH değerleri	94
Tablo 4.29 Seçilmiş olan mikroemülsiyon formülasyonlarının iletkenlik değerleri	96
Tablo 4.30 Seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarına ait polidispersite indeksi değerleri	97
Tablo 4.31 Seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarına ait damlacık boyutu değerleri	98
Tablo 4.32 DFV yüklü formülasyonların Newtonian akış modeline göre kayma gerilimi, viskozite ve r^2 değerleri	132
Tablo 4.33 Boş formülasyonların Newtonian akış modeline göre kayma gerilimi, viskozite ve r^2 değerleri.....	133
Tablo 4.34 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu stabilite takibi.....	135
Tablo 4.35 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının polidispersite indeksi stabilite takibi	136
Tablo 4.36 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının pH stabilite takibi	137
Tablo 4.37 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının etkin madde miktar tayini stabilite takibi.....	138
Tablo 4.38 MLT1 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri.....	139
Tablo 4.39 MLT3 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri.....	140

Tablo 4.40 MLT4 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri.....	141
Tablo 4.41 MLT5 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri.....	142
Tablo 4.42 PLT1 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri	143
Tablo 4.43 PLT2 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri	144
Tablo 4.44 PLT3 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri	145
Tablo 4.45 PLT4 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri	146
Tablo 4.46 Referans ürün in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri	147
Tablo 4.47 Seçilen formülasyonların salım kinetiği parametreleri.....	148

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Derinin Yapısı ve Tabakaları ⁸	28
Şekil 2.2 ‘Tuğla ve Harç’ modeli ¹³	32
Şekil 2.3 İlacın deriden geçiş yolları ¹⁵	34
Şekil 2.4 Yüzeyler arası sürfaktan ve kosürfaktanın yerleşimi ²⁴	46
Şekil 2.5 Diflukortolon valerat'ın kimyasal yapısı ³²	54
Şekil 4.1 Diflukortolon Valerat'ın FT- IR spektrumu	72
Şekil 4.2 Diflukortolon Valerat'ın mobil faz ile yapılan doğrusallık çalışmasından elde edilen standart doğru grafiği	73
Şekil 4.3 Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz ile yapılan doğrusallık çalışmasının standart doğru grafiği.....	74
Şekil 4.4 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 3:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı.....	85
Şekil 4.5 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı.....	86
Şekil 4.6 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı.....	87
Şekil 4.7 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı.....	88
Şekil 4.8 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı.....	89
Şekil 4.9 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı.....	90
Şekil 4.10 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:2 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı.....	91
Şekil 4.11 MLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	99

Şekil 4.12 DFV yüklü MLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	100
Şekil 4.13 MLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	100
Şekil 4.14 DFV yüklü MLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	101
Şekil 4.15 MLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	101
Şekil 4.16 DFV yüklü MLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	102
Şekil 4.17 MLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	102
Şekil 4.18 DFV yüklü MLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	103
Şekil 4.19 MLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	103
Şekil 4.20 DFV yüklü MLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	104
Şekil 4.21 MLT6 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	104
Şekil 4.22 DFV yüklü MLT6 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	105
Şekil 4.23 MLT7 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	105
Şekil 4.24 DFV yüklü MLT7 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	106
Şekil 4.25 PLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	106
Şekil 4.26 DFV yüklü PLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	107
Şekil 4.27 PLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	107
Şekil 4.28 DFV yüklü PLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	108
Şekil 4.29 PLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	108

Şekil 4.30 DFV yüklü PLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	109
Şekil 4.31 PLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	109
Şekil 4.32 DFV yüklü PLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	110
Şekil 4.33 TLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	110
Şekil 4.34 DFV yüklü TLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	111
Şekil 4.35 TLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	111
Şekil 4.36 DFV yüklü TLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	112
Şekil 4.37 TLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	112
Şekil 4.38 DFV yüklü TLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	113
Şekil 4.39 TLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	113
Şekil 4.40 DFV yüklü TLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	114
Şekil 4.41 TLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi	114
Şekil 4.42 DFV yüklü TLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi.....	115
Şekil 4.43 MLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	116
Şekil 4.44 DFV yüklü MLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi.....	116
Şekil 4.45 MLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	117
Şekil 4.46 DFV yüklü MLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	117

Şekil 4.47 MLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	118
Şekil 4.48 DFV yüklü MLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	118
Şekil 4.49 MLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	119
Şekil 4.50 DFV yüklü MLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	119
Şekil 4.51 MLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	120
Şekil 4.52 DFV yüklü MLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	120
Şekil 4.53 MLT6 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	121
Şekil 4.54 DFV yüklü MLT6 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	121
Şekil 4.55 MLT7 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	122
Şekil 4.56 DFV yüklü MLT7 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	122
Şekil 4.57 PLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	123
Şekil 4.58 DFV yüklü PLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	123
Şekil 4.59 PLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	124
Şekil 4.60 DFV yüklü PLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	124

Şekil 4.61 PLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	125
Şekil 4.62 DFV yüklü PLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	125
Şekil 4.63 PLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	126
Şekil 4.64 DFV yüklü PLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	126
Şekil 4.65 TLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	127
Şekil 4.66 DFV yüklü TLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	127
Şekil 4.67 TLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	128
Şekil 4.68 DFV yüklü TLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	128
Şekil 4.69 TLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	129
Şekil 4.70 DFV yüklü TLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	129
Şekil 4.71 TLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	130
Şekil 4.72 DFV yüklü TLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	130
Şekil 4.73 TLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	131
Şekil 4.74 DFV yüklü TLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	131

Şekil 4.75 MLT1 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	139
Şekil 4.76 MLT3 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	140
Şekil 4.77 MLT4 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	141
Şekil 4.78 MLT5 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	142
Şekil 4.79 PLT1 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	143
Şekil 4.80 PLT2 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	144
Şekil 4.81 PLT3 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	145
Şekil 4.82 PLT4 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği	146
Şekil 4.83Referans ürünün in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği.....	147
Şekil 4.84 In vitro geçiş çalışması yapılan tüm formülasyonlara ve referans ürüne ait salım profilleri.....	148

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ACN: Asetonitril

a/a: Ağırlık/Ağırlık

a/h: Ağırlık/Hacim

BHT: Bütil hidroksi toluen

CFF: Kritik Formülasyon Faktörleri

Cos : Kosürfaktan

DFV: Diflukortolon valerat

FT-IR: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre

h/h: Hacim/Hacim

HLB: Hidroiflik-Lipofilik denge

HPLC: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

IPM: İzopropil Miristat

KHG: Keratohyalin granülleri

TL: Teşhis Limiti

ME: Mikroemülsiyon

MTL: Miktar Tayin Limiti

NMR: Nükleer Manyetik Rezonans

NMF: Doğal Nemlendirme Faktörü

Ort: Ortalama

PDI: Polidispersite İndeksi

PBS: Fosfat tamponu

PEG 400: Polietilen Glikol 400

rpm: Dakikadaki dönüş sayısı

r^2 : Determinasyon Katsayısı

RSD: Bağlı Standart Sapma

S: Sürfaktan

SD: Standart Sapma

Smix: Sürfaktan + Kosürfaktan

S:CoS: Sürfaktan:Kosürfaktan

S/Y: Yağ içinde su

UV: Ultraviyole Spektrumu

Y/S: Su içinde yağ



ÖZET

Özalp, E.P. (2021). Diflukortolon valerat yüklü topikal mikroemülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesi ve in vitro değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Teknolojisi Bölümü ve Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Topikal kortikosteroidler antiinflamatuvar ve immünsupresan etkilere ihtiyaç duyulan cilt hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaç grubudur. Vazodilatasyonu inhibe ederek ve damar geçirgenliğini arttırarak inflamasyonu hafifletirler. Psöriyazis, atopik dermatit, egzama ve liken skleroz gibi cilt hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadırlar. Topikal kortikosteroidler etki güçlerine göre sınıflara ayrılırlar. Buna göre Diflukortolon valerat güçlü etkili kortikosteroidler grubunda yer almaktadır. Bu molekülün yeni bir formülasyonu tasarlanırken lipofilik yapıda olduğu ve zayıf suda çözünürlüğe sahip olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Diflukortolon valerat'ın piyasada konvansiyonel krem ve merhem formları bulunmaktadır.

Topikal yol ile ilaç uygulanması son derece ilgi çeken ilaç uygulama yollarından biridir. Bununla beraber deri, ilaç emilimi için önemli bir engel oluşturmaktadır. Topikal yolla uygulanmak istenen ilacın öncelikle *stratum corneum* tabakasını aşması gereklidir. Bu bariyerin geçirgenliğini etkileyen parametreleri anlamak, deri yoluyla başarılı bir ilaç tedavisi elde etmek açısından oldukça önemlidir. Deriden ilaç emilimini etkileyen faktörler; absorpsiyon parametreleri, ilaç taşıyıcı sistemin türü, ilacın konsantrasyonu ve ilacın uygulandığı bölge olarak özetlenebilir.

Mikroemülsiyonlar, genellikle 10-100 nm aralığında damlacık boyutuna sahip, optik olarak izotropik ve termodinamik olarak kararlı; yağ, yüzey aktif madde, yardımcı yüzey aktif madde ve sulu fazdan oluşan dispers sistemlerdir. İlaç taşıyıcı sistemler olarak mikroemülsiyonlar; termodinamik stabilite, kolay oluşum, lipofilik özellikteki molekülleri iyi çözebilme gibi özelliklerine sahiptir.

Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında geliştirilmiş olan diflukortolon valerat yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının; fizikokimyasal karakterizasyonları, 3 aylık stabilite takibi ölçümleri ve seçilen formülasyonların *in vitro* salım deneyleri yapılmıştır. Salım deneylerinin sonuçları neticesinde geliştirilen formülasyonların tümünün referans ürün olan krem formülasyonundan daha yüksek kümülatif ilaç miktarına sahip olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, diflukortolon yüklü mikroemülsiyonların topikal kortikosteroid uygulamalarında alternatif ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaları mümkün olabilir.

Anahtar Kelimeler: Diflukortolon valerat, mikroemülsiyonlar, koloidal ilaç taşıyıcı sistemler, topikal kortikosteroidler, topikal ilaç uygulaması

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37139



ABSTRACT

Özalp, E.P. (2021). Development and in vitro evaluation of diflucortolone valerate loaded topical microemulsion formulations. Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Pharmaceutical Technology and Pharmaceutical Technology. Master Thesis. Istanbul.

Topical corticosteroids are a group of drugs that are frequently used in the treatment of skin diseases that require anti-inflammatory and immunosuppressant effects. They alleviate inflammation by inhibiting vasodilation and increasing vascular permeability. They are frequently used in the treatment of skin diseases such as psoriasis, atopic dermatitis, eczema and lichen sclerosis. Topical corticosteroids are classified according to their potency. Accordingly, Diflucortolone valerate is in the group of potent corticosteroids. When designing a new formulation of this molecule, it should be considered that it is lipophilic and has poor water solubility. Diflucortolone valerate is available in conventional cream and ointment forms on the market.

Topical drug administration is one of the most attractive drug administration routes. However, the skin constitutes an important barrier for drug absorption. The drug to be applied topically must first penetrate the stratum corneum layer. Understanding the parameters that affect the permeability of this barrier is very important for successful drug therapy through the skin. Factors affecting drug absorption from the skin can be summarized as the absorption parameters, the type of drug delivery system, the concentration of the drug and the site where the drug is administered.

Microemulsions are optically isotropic and thermodynamically stable systems with droplet size generally in the 10-100 nm range. They are disperse systems consisting of oil, surfactant, co-surfactant and an aqueous phase. As drug carrier systems, microemulsions have properties such as thermodynamic stability, ease of formation, and improving the dissolution of molecules with lipophilic properties.

In this thesis, diflucortolone valerate loaded microemulsions were developed and characterized. The stability of the microemulsions was followed for 3 months. In vitro release experiments were performed with optimized formulations. When compared with the conventional cream formulation, the release of drug from microemulsions was significantly higher. In conclusion, diflucortolone loaded microemulsions can be used as alternative drug delivery systems in topical corticosteroid applications.

Keywords: Diflucortolone valerate, microemulsions, colloidal drug delivery systems, topical corticosteroids, topical drug delivery

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 37139

1.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikroemülsiyonlar; su, yağ, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddeden oluşan şeffaf, monofazik, optik olarak izotropik ve termodinamik olarak kararlı, çeşitli bileşikleri çözebilen çok yönlü sistemlerdir. Su fazının içerisinde yağın dağıldığı Y/S, yağ fazının içinde su fazının dağıldığı S/Y, su fazıyla yağ fazının yaklaşık olarak aynı miktarda bulunduğu bicontinuous olarak adlandırılan yarı-saydam karışımlardır. Mikroemülsiyonlar genellikle 10 ila 100 nm arasında damlacık boyutlarına sahiptirler ve bu dispers sistemler birbirleriyle karışmazlar.¹ Aktif farmasötik bileşenlerin çözünürlüğünü arttırmaları ve ilaçları stratum corneum'a indüklemeye kapasiteleri, mikroemülsiyonları transdermal ve dermal ilaç uygulanması için önemli bir araç haline getirmektedir.²

Mikroemülsiyonlar, birbiriyle karışmayan fazlar arasında çok düşük arayüzey gerilimi ile karakterizedirler. Spontan oluşmaları, termodinamik stabilite göstermeleri, üretim kolaylığı, lipofilik, hidrofilik ve amfifilik özellikteki maddeleri gelişmiş çözme kapasiteleri, biyoyararlanımları, kütle transferi için hacim başına düşen geniş alan oranı ve gelişmiş nüfuz etme potansiyeli gibi pek çok avantaj sunarlar. İlaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesinin, çok sayıda hastalığın tedavi edilebilmesinde büyük bir katkısı olmuştur. İlaçların en az yan etkiyle en yüksek farmakolojik etkilere ulaşmaları için; hedeflendiği bölge dışındaki alanlarda önemli bir dağılım göstermeden hedef bölgesine ulaştırılmaları gerekir. Mikroemülsiyon sistemleri, ilaç taşınması için transdermal, topikal, oral, nazal, intravenöz, oküler, parenteral ve diğer ilaç uygulama yolları için sürekli veya kontrollü salım sağlayan yeni araçlar olarak ortaya çıkmıştır. Mikroemülsiyonlarla ilaç taşınma sistemleri, hedef bölgeye olan seçicilik, terapötik aktiviteyi arttırmak ve ilaçların toksisitesini azaltmak için pratik ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Mikroemülsiyon sistemlerinde farklı polarite alanlarının varlığı, çeşitli ilaçlar için taşıma sistemleri olarak kullanılmak üzere muazzam bir potansiyel sağlamaktadır.³

Transdermal ve topikal yol ile ilaç uygulanması benzersiz fırsatlar sunarken; cilt yapısı, fizyolojisi ve bariyer özellikleri gibi bazı engellerin de aşılması gerekir. Vücudun en büyük organı olan deri, toksik eksojen bileşiklerin vücuda girmesine, aşırı miktarda su ve diğer temel bileşenlerin kaybını

önlemeye karşı doğal koruyucu bir bariyer oluşturmaktadır. Diğer taraftan da lokal veya sistemik etkili ilaçlar için umut verici bir giriş kapısı olarak görülmektedir. Dermal veya transdermal ilaç hedeflenmesinin amacı; belli deri katmanlarında veya kan dolaşımında ilaç birikimini sağlamaktır. Mikroemülsiyonlar, cilt dokusunun içine ve perkütan taşınmayı iyileştirmek için yaygın bir strateji olarak uygulanmaktadırlar. Bu noktada ana penetrasyon yolunun ve bu formülasyonların çalıştığı mekanizmaların belirlenmesi çok önemlidir.³

Mikroemülsiyon sistemler, her yıl çıkan sayısız yayından da anlaşılacağı üzere, topikal uygulama için gayretle araştırılmaktadır. Solüsyonlar, jeller veya kremler gibi geleneksel formülasyonlara kıyasla ilaçların transdermal nüfuzunu önemli ölçüde arttırdıkları bildirilmiştir. Hem hidrofilik (5-fluorourasil, apomorfin hidroklorür, difenhidramin hidroklorür, tetrakain hidroklorür, metotreksat) hem de lipofilik ilaçları (estradiol, finasterid, ketoprofen, meloksikam, felodipin, triptolid) bünyelerine dahil edip permeasyonlarını arttırabilmektedirler. Mikroemülsiyonlar çok bileşenli sistemler oldukları için ve yüksek oranda yüzey aktif madde konsantrasyonuna sahip olmalarından dolayı, özellikle uzun süreli uygulama amaçlandığında cilt dokusunu tahriş edebilecekleri dikkate alınmalıdır.⁴

Topikal kortikosteroidler antienflamatuvar ve immunsupresan etkilere ihtiyaç duyulan cilt hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaç grubudur. Kortikosteroidler vazodilatasyonu inhibe ederek ve inflamasyonun devamında meydana gelen damar geçirgenliğini arttırarak inflamasyonu hafifletirler. Bunun yanında inflamasyonlu bölgeye lökositlerin göç etmesini de azaltırlar. İmmunosüpresif kortikosteroidler; damar çeperinde antijen-antikor komplekslerinin çökmesiyle meydana gelen kutanöz alerjik vaskülitin toksik etkilerini inhibe ederek gecikmiş veya ani aşırı duyarlılık reaksiyonlarını azaltırlar.⁵

Diflukortolon valerat (DFV), valerik asit ile esterlenmiş güçlü bir kortikosteroiddir. Ticari olarak %0,1'lik ve %0,3'lük krem, yağlı krem ve merhem formları mevcuttur. Diflukortolon valerat; egzama, sedef hastalığı ve

diskoid lupus eritematozus gibi deri hastalıklarının tedavisinde hızlı etki etmesi ve iyi tolere edilebilirlik gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir. ⁵

Bu tez çalışmasında; diflukortolon valerat'ın topikal kullanımı için mikroemülsiyon formülasyonunun hazırlanması, hazırlanan formülasyonların karakterizasyonlarının belirlenmesi ve seçilen formülasyonların sentetik membran kullanılarak etkin madde salım profillerinin ve kinetiğinin incelenmesi amaçlanmış olup, ticari preparatla salım profili ve kinetiği karşılaştırılarak, en uygun formülasyonların belirlenmesi hedeflenmiştir.

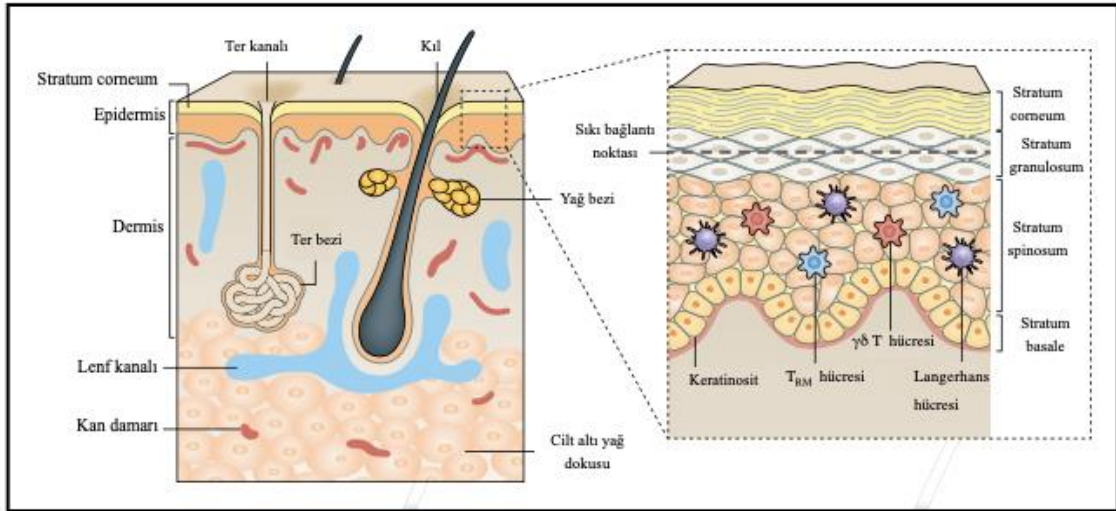


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Deri Yapısı ve Özellikleri

Deri dış dünya ile aramızda benzersiz bir bariyerdir.⁶ Yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık olarak %15'ini oluşturan, en büyük organımızdır. Dışarıdan gelebilecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlere karşı koruma, vücuttan aşırı su kaybını önleme ve termoregülasyonu sağlama dahil olmak üzere birçok hayati işlevi yerine getirmektedir. Deri vücudun yüzeyini kaplayan mukozal membranlarla bir bütündür. Bu bütüncül sistem, deri ve türev yapılarından oluşmaktadır. Deri; epidermis, dermis ve subkutan doku olmak üzere üç katmandan meydana gelmektedir. En dış katman olan epidermis; koruyucu bir role sahip, uzun, ipliksi bir protein olan keratini sentezleme işlevi gören, keratinositler olarak bilinen belirli bir hücre grubundan oluşmaktadır. Orta katman dermis, temelde kolajen olarak bilinen fibriller yapı proteininden oluşur. Dermis, subkutan doku veya lipositler olarak bilinen küçük yağ hücresi loblarını içeren panikülüs üzerinde bulunmaktadır. Bu katmanların kalınlığı, vücudun anatomisine ve bulunduğu bölgeye bağlı olarak önemli oranda değişmektedir. Örneğin göz kapağı 0,1 mm'den az olmasıyla epidermisin en ince tabakasına sahipken, ayak tabanı ve avuç içi yaklaşık 1,5 mm ile en kalın epidermal tabakaya sahiptir. Dermis tabakası ise sırtta en kalındır ve üzerindeki epidermisin 30-40 katı kalınlığa sahiptir.⁷ Deri yapısında yer alan bileşenler ve katmanları Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Derinin Yapısı ve Tabakaları⁸

2.1.2. Derinin Tabakaları

2.1.2.1. Epidermis

Epidermis esas olarak keratinositler ve dendritik hücreler olmak üzere iki tip hücreden oluşan, skuamöz bir epitel tabakasıdır. Keratinositler, hücreler arası köprülere ve bol miktarda boyanabilir sitoplazmaya sahip olmasıyla dendritik hücrelerden farklıdır. Epidermis bünyesinde; melanositler, Langerhans ve Merkel hücreleri gibi çok sayıda farklı hücre popülasyonunu barındırmaktadır. Ancak keratinositler hücrelerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır.⁷ Epidermis genel olarak keratinosit morfolojisine ve boynuzsuz hücrelere farklılaştığı durumlara göre 4 katmandan oluşur. Bunlar; stratum germinativum (bazal hücre tabakası), stratum spinosum (skuamöz hücre tabakası), stratum granulosum (granüler hücre tabakası) ve stratum corneum (kornifiye veya boynuzsuz hücre tabakası) dur. Epiderminin canlı, çekirdekli hücrelerinden oluşan alttaki üç katman stratum malpighii ve rete malpighii olarak da adlandırılmaktadır.⁹

Epidermis sürekli yenilenen bir tabakadır. Bu sayede pilosebace ünite, tırnaklar ve ter bezleri gibi türev yapıların oluşmasına olanak vermektedir. Epiderminin bazal hücreleri, üst epiderminin yenilenmesini sağlayan proliferasyon döngülerine girer. Epidermis, hücrelerinin sürekli olarak ve senkronize olmayan hareket halinde olduğu dinamik bir dokudur. Böylelikle farklı hücre popülasyonları sadece birbirlerini geçmekle kalmaz, melanositleri ve Langerhans hücrelerini de geçerek cilt yüzeyine doğru hareket ederler.⁷

Keratinositler: Epidermis, dokunun tabanından yüzeyine doğru olan ekseninde farklılaşmanın olduğu gradyan boyunca düzenlenmiş keratinositlerden oluşmaktadır. Epidermisin bariyer fonksiyonu, farklılaşma sırasında meydana gelen keratinosit biyokimyası ve morfolojisindeki değişikliklere bağlıdır ve farklı doku katmanları, alt kısımlardaki moleküler değişiklikleri yansıtan histolojik özellikler tarafından tanımlanmaktadır. Keratinosit terminal farklılaşmasını koordine etmek için; ekstrasellüler matriks ligandları, ilgili plazma membran reseptörleri ve kalsiyum (Ca^{2+}) sinyal bileşenleri dahil olmak üzere çeşitli sinyal proteinleri epidermis boyunca modüle edilmektedir.¹⁰ Hücreler bazal tabakadan deri yüzeyine göç ederken ortaya çıkan farklılaşma süreci, önce sentetik ardından yıkım fazlarından geçerek keratinizasyona neden olur. Sentetik fazda hücre, hücre iskeletinin bir parçası olarak işlev gören alfa-sarmal bir bobin düzeninde yer alan, lifli ara filaman olan sitoplazmik bir keratin kaynağı oluşturur. Bu keratin filamentlerinin demetleri, desmozom olarak bilinen hücreler arası bağlantı plakalarını oluşturan plazma membranında birleşir ve son bulurlar. Keratinizasyonun bozunma aşamasında, hücresel organeller kaybolur, hücrenin içeriği filament ve amorf hücre kılıfları karışımı halinde bir araya gelerek hücre nihayet bir boynuzsu hücre veya korneosit halini alır. Hücre ölümüyle sonuçlanan olgunlaşma süreci, terminal farklılaşma olarak da bilinmektedir.⁷

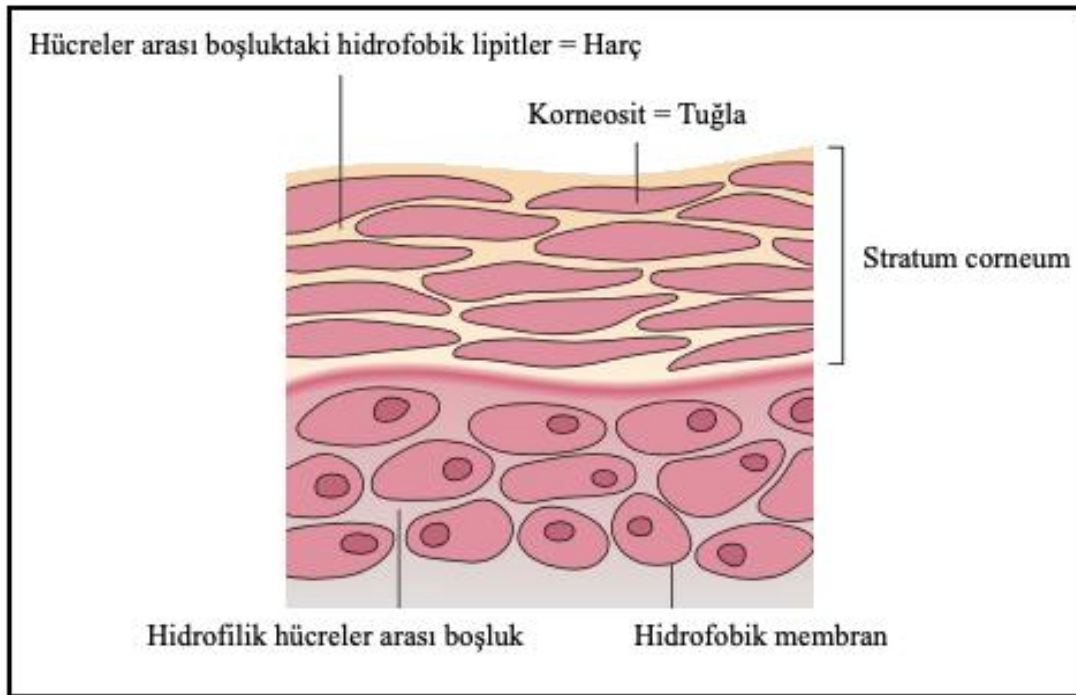
Stratum germinativum (Bazal tabaka): Stratum germinativum, diğer bir adıyla stratum basale, hemidesmozomlar yoluyla bazal membrana bağlı, tek katman sütunlu bazal hücre tabakasıdır. Stratum basale epidermal kök hücrelerden ve bunlardan türevli geçici olarak büyüyen hücrelerden oluşmaktadır. Hücreler; yüksek miktarda nükleo-sitoplazmik orana sahip ve mitokondri gibi hücre organelleri, hemidesmozomlara eklenen keratin filamentleri içermektedir. Desmozomlar bitişik ve üstte yer alan hücreleri birbirine bağlar. Bazal hücrelerde K14 ve K5 olmak üzere iki çeşit keratin eksprese edilmektedir.¹¹

Stratum spinosum (Skumöz hücre tabakası): Bazal hücre tabakasının üzerinde, 5-10 hücre kalınlığında olan skumöz hücre tabakası veya stratum spinosum olarak bilinen epidermis tabakası yer almaktadır. Skumöz tabaka, konumlarına bağlı olarak şekil, yapı ve hücre altı özellikleri bakımından farklılık gösteren çeşitli hücrelerden oluşmaktadır. Örneğin suprabasal spinöz hücreler polihedral şeklinde ve yuvarlak bir çekirdeğe sahipken, üstteki spinöz katmanların hücreleri genellikle boyut olarak daha büyüktür, cilt yüzeyine doğru itildikçe düzleşir ve lamellar granüller içermektedirler. Spinöz hücreler arasındaki boşluklar, epidermin hücreleri arasında mekanik birleşmeyi sağlayan ve fiziksel streslere karşı direnç sağlayan çok miktardaki desmozomlar tarafından köprülenir. Çekirdeğin etrafında eş merkezli olarak yerleşmiş sitoplazmadaki keratin lifleri bir ucta desmozomal plaklara bağlanır, çekirdeğe yakın ucta ise serbest kalır. Desmozomal plaklar; hücre zarının sitoplazma tarafında bulunan, desmozom yapımı ve onarımı için gerekli kalsiyumun düzenlenmesinde önemli olan altı polipeptitten oluşmaktadır. Hücre kenarları boyunca sayısız desmozomun omurgaya benzer görünümde olması, stratum spinosum'un adını alma sebebidir.⁷

Stratum granulosum (granüler tabaka): Farklı ve koyu renkli keratohyalin granülleri (KHG), histolojik preparatlarda bu tabakayı karakterize etmektedir. KHG'ler profilaggrin, lorikrin ve sistein açısından zengin bir proteinin yanı sıra keratin 1 ve 10'dan oluşmakta ve keratin sentezindeki artışla beraber üst granüositlerde giderek daha büyük hale gelirler. Profilaggrinin alt birimi olan fillagrin, keratin filamanlarını kümelemek ve hizalamak için matris molekülünün rolünü oynamaktadır. Üst granüler katmanlardaki keratin filamentleri, alt katmanlardaki hücrelere kıyasla yüksek oranda fosforillenmiştir ve geniş disülfür bağlarına sahiptir. Artmış protein sentezinde belirgin olan progresif hücre farklılaşmasına, en üstte yer alan granüositlerde en yüksek yoğunluğa ulaşan lipogenez eşlik etmektedir.¹¹

Stratum corneum (boynuzsu tabaka): Stratum corneum'un %15'i su, %70'i protein ve %15'i lipittir. Şekil 2.2'de gösterildiği şekilde 'Tuğla ve Harç'

modeline göre iki bölüme ayrılmaktadır. Tuğla olarak keratinli, lipit içermeyen korneositler, harç olarak hücreler arası, sürekli lamelli çift katman varsayılır. Korneositler, iyi organize edilmiş keratin makrofibrillerinin oluşturduğu çözünmez bir protein kompleksinden meydana gelmektedir. Bünyesinde doğal nemlendirici faktörler (NMF) ile düşük moleküler ağırlıklı, su tutulmasından sorumlu suda çözünür bileşikler barındırmaktadır. NMF esas olarak filaggrin proteininden türetilir ve amino asitler (%40), pirolidon karboksilik asit (%12), laktik asit (%12) ve üreden (%7) oluşmaktadır. Stratum corneum'un hücreler arası çift katlı lipit katmanları seramid (%50), kolesterol (%25) ve yağ asitlerinden (%10-20, linoleik asit açısından oldukça zengin) oluşan yapısıyla diğer epitelial çift katlı lipit katmanlarına kıyasla benzersiz bir bileşime sahiptir.¹² Stratum corneum'daki hidrofobik lipidler tekdüze olarak dağılmak yerine, lipit bakımından zengin matrisin korneositleri lamellar membran tarafından çevrelediği hücre dışı boşluklar içinde tutulmaktadır. Bu nedenle geçirgenlik hususunda stratum corneum'un kalınlığından ziyade; lamellar membranların sayısındaki varyasyonlar (lipid ağırlığı yüzdesi), membran yapısı ve lipid bileşimi bölgeye bağlı varyasyonlar için yapısal ve biyokimyasal temeli oluşturur. Hücre dışı zengin lipid içeriğine sahip stratum corneum matrisi sadece hidrofilik ilaçların transdermal verilmesini sınırlayan bir yapı değil, aynı zamanda topikal kortikosteroidler gibi lipidde çözünen ilaçların da birikebileceği ve yavaşça salınabildiği bir yapıdır.¹³



Şekil 2.2 'Tuğla ve Harç' modeli¹³

Stratum corneum'un başlıca özellikleri¹³:

- Deriden ilaç absorpsiyonunun önündeki ilk engeldir.
- Çift kompartmanlı yapısal organizasyona sahiptir. ("Tuğla ve Harç" modeli)
- Hücre dışı alanlarda mikroheterojendir. (harçta lipit içeriği daha fazladır)
- Metabolik aktivitelerin gerçekleştiği dinamik bir yapıdır.
- Çekirdekli hücre katmanlarına bariyer fonksiyonlarının düzenlenmesiyle birlikte epidermal DNA ve lipid sentezi gibi homeostatik bağlantılar sağlamaktadır.
- Daha derin cilt katmanlarına patofizyolojik bağlantılar içerir. Bariyerin yok edilmesi veya epidermal hasarın olduğu durumlarda epidermal hiperplaziyi ve iltihabi yanıtı başlatır.
- Biyosensör olarak işlev görmektedir. Dış ortam nem miktarındaki değişiklikleri tek başına düzenler, filaggrin proteolizi, epidermal DNA ve lipid sentezi ile inflamasyonu başlatır.

2.1.2.2. Dermis

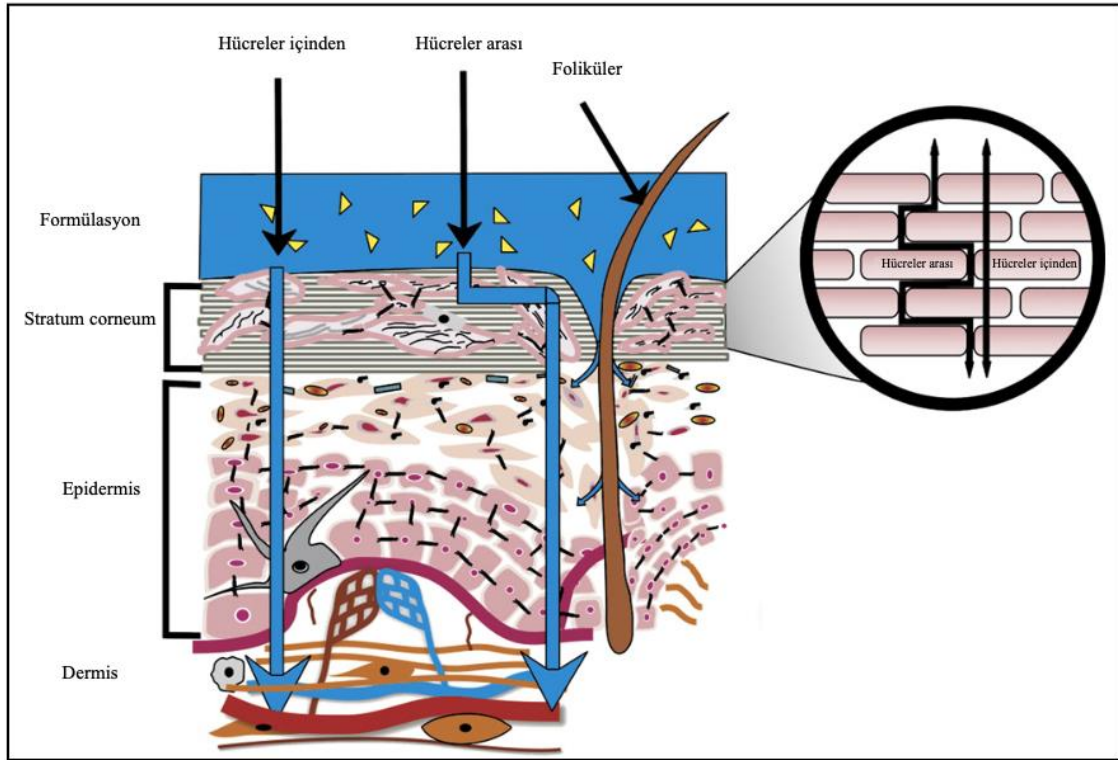
Dermis 3 boyutlu matriks yapıda fibröz proteinlerin (kolajen, elastin), amorf ve jel yapıda bir ara madde (glikozaminoglikan) içine yerleştiği esnek ve viskoelastik bir oluşumdur. Derideki kolajenin %75'i Tip I, %15'i Tip III kolajendir. Yaşlanma ile birlikte kolajenin özellikleri hem nitelik hem de nicelik olarak değişir.¹⁴

Dermis, epidermis ve derialtı yağ dokusu arasında bulunur ve epidermise dermal-epidermal ara yüzey adı verilen bir yapı ile bağlanır. Bu dermo-epidermal bileşen epidermise mekanik destek sağlar ve kısmen de dermis ve epidermis arasında hücreler ve büyük moleküllere karşı engel görevi yapar. İnsanda tüm dermis kütlesi vücut ağırlığının yaklaşık %15-20'sini oluşturur.

Dermis derin yapıları mekanik hasardan korur, vaskülarizasyonu sayesinde epidermise ihtiyacı olan besin maddelerini sağlar, deriye dayanıklılık, elastisite ve yumuşaklık verir.¹⁴

2.1.3. Deriden Geçiş Yolları

Deriye penetrasyonu etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar; tür farklılıkları, cilt yaşı ve bölgesi, cildin sıcaklığı, durumu (normal, aşınmış veya hastalıklı), uygulama bölgesi, temas süresi, cildin nem seviyesi, varsa cilde uygulanan ön tedavi ve de deriye penetre olacak olan ilacın fizikokimyasal özellikleridir. İlacın cilde nüfuz etme mekanizması ve difüzyonu konsantrasyona bağlıdır. Şekil 2.3'te görüldüğü üzere ilaç molekülleri genellikle, hücrelerin arasından veya hücre içinden geçerek ya da foliküler yolu kullanarak stratum corneum boyunca nüfuz etmektedirler.¹⁵



Şekil 2.3 İlacın deriden geçiş yolları¹⁵

2.1.4. Derinin Koruyucu Fonksiyonları

2.1.4.1. Fiziksel Koruma

Epidermis, vücuda çevresel etmenlerden koruma sağlayan kısımdır. Dermis, epidermis çıkarıldıktan sonra çok geçirgendir. Epidermisin stratum corneum tabakası, iki sebepten dolayı nispeten geçirgen değildir. İlki; keratinositlerin, fibröz protein olan keratohyalin ve histidin açısından zengin bir protein olan involucrin ile birbirine bağlı, iskele benzeri kafes şeklinde düzenlenmiş olmasıdır. İkincisi ise, hücreler arası boşlukların sağlam ve su geçirmez bir bariyer sağlayan laminer şekilde düzenlenmiş, lipid bakımından zengin bir matris ile dolu olmasıdır. Bununla birlikte, cildin absorpsiyona karşı tamamen dayanıklı olmadığını anlamak da önemlidir. Aslında çoğu malzeme cilt bariyerini farklı oranlarda olsa da geçebilmektedir. Bunun yanında farklı vücut bölgeleri de farklı geçirgenliğe sahip olabilir. Örneğin yüz, alın ve elin üst kısmı en geçirgen kısımlarken, el avuç içleri en az geçirgenliğe sahiptir.¹⁴

2.1.4.2. Başışıklık Fonksiyonları ile Koruma

Birçok fiziksel, kimyasal ve mikrobiyal uyaran cildi etkilediğinden, çeşitli tipte başışıklık hücreleri, homeostazı sürdürebilmek amacıyla deride bulunmaktadır. Epidermiste, antijen sunan hücrelerin benzersiz bir alt kümesi olan Langerhans hücreleri, keratinositler arasında bulunmaktadır. Dermiste ise, dermal dendritik hücreler, makrofajlar, mast hücreleri, T hücreleri ve doğuştan gelen lenfoid hücreler dahil olmak üzere çeşitli doğal başışıklık hücreleri vardır. Bir uyarının olmadığı normal durumda az sayıda nötrofil, monosit ve $\alpha\beta$ T hücresi patojenler için dermisi incelerken, enflamatuvar uyarılara yanıt geliştiğinde çok daha fazla başışıklık hücresi hızla birikmektedir.⁸

2.1.4.3. Ultraviyole (UV) Radyasyondan Koruma

Ultraviyole radyasyon, 400 nm ila 200 nm aralığındaki dalga boyuna sahip elektromanyetik enerjiden oluşur. UV spektrumu, UVA (400-315 nm), UVB (315-290 nm) ve UVC (290-200 nm) olmak üzere sınıflandırılabilir. UVA radyasyonu, cildin aktinik (yaşlanma) hasarından sorumludur ve UVB radyasyonu ile birlikte kanserojen etki gösterebilirler. UVB radyasyonu güneş yanığından sorumludur ve cilt kanserine neden olabilir. Onkogenik etki, DNA onarım mekanizmalarında ve epidermal hücre DNA'sında fotokimyasal hasar meydana gelmesiyle ve hücre aracılı başışıklığın baskılanması sonucu oluşur. Cildin skuamöz hücreli karsinomlarının %90'ından fazlasında tümör baskılayıcı gen olan p53'ün mutasyona uğradığı görölmüştür. UVC radyasyonu ise oldukça kanserojendir ancak ozon bakımından zengin stratosfer tabakası tarafından büyük oranda emilir. Ozonun incelenmesiyle birlikte, UVC radyasyonu gelecekte cilt kanserine yakalanmada daha önemli bir faktör haline gelebilir.¹⁴

Deri iki şekilde UV radyasyonu için koruyucu görevi görmektedir. İlki stratum corneum'un radyasyonu yansıtmasıdır. Dolayısıyla maruziyet dozunu azaltmış olur. İkincisi ise güneşe maruz kalındığında melanosit aktivitesinin artması, üretilen melanozomların sayısının ve melaninin epidermal keratinositlere transfer oranının artmasıdır. Böylelikle UV radyasyonunun DNA ve hücresel bileşenler tarafından emilimini azaltmaya yardımcı olmaktadır.¹⁴

2.1.5. Deriden Geçişi Etkileyen Faktörler

Cilt son derece ilgi çeken bir ilaç uygulama bölgesidir. Bununla beraber ilaç emilimi için önemli bir engel de oluşturmaktadır. Bu bariyerin geçirgenliğini etkileyen parametreleri anlamak, deri yoluyla başarılı bir ilaç tedavisi elde etmek açısından çok önemlidir. Lokal kütanöz etki, genellikle ilacın yarı katı bir formülasyon (örneğin krem veya merhem) içerisinde çözünmesi veya süspanse edilmesiyle sağlanırken, ilacın topikal yolla uygulanıp sistemik dolaşıma geçmesi hedeflenmesi ise patch formülasyonu ile sağlanır. Hem deri içinde terapötik etki hedeflenen durumda, hem de yüzeysel dermal kılcal damarlar yoluyla sistemik etki hedeflenmesi durumunda, ilacın cilt yüzeyinden stratum corneum tabakasına difüze olması gereklidir.¹³

2.1.5.1. Absorpsiyonu Kontrol Eden Parametreler

Deri, seçici geçirgen bir bariyerdir. Bu nedenle farklı moleküller farklı oranlarda deriye nüfuz eder. İlacın nüfuz etme oranı (J), yani birim zamanda birim alandan nüfuz eden ilaç miktarıdır (genellikle $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$). Bu geçiş, aşağıdaki denklemde belirtildiği üzere, cildin permeasyona uğrayacak olan maddeye karşı geçirgenliği ve permeantın cilt üzerindeki konsantrasyon gradyanı (ΔC) (genellikle $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) ile belirlenmektedir. Denklemde cilt geçirgenliği, geçirgenlik katsayısı K_p (genellikle $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$) ile ifade edilmektedir.⁹

$$J = K_p \cdot \Delta C$$

Pasif ilaç absorpsiyonu varsayıldığında geçirgenlik katsayısı (K_p); partiyon katsayısının (P), difüzyon katsayısının (D) ve difüzyonun gerçekleştiği yol uzunluğunun (h) hesaba katıldığı aşağıdaki denklemle ifade edilmektedir.⁹

$$K_p = \frac{P \cdot D}{h}$$

2.1.5.2. İlaç Taşıma Aracının Rolü

İlaç taşıma aracı, ilacın potensi ile terapötik etkinlik arasında önemli bir bağlantıdır. Yapılan kapsamlı farmasötik araştırmalar, taşıyıcı sistemin deriden emilim oranını ve biyoyararlanımı büyük oranda etkileyebileceğini göstermiştir. Biyoyararlanımı en üst düzeye çıkarmayı hedefleyen dermatolojik ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımında iki faktör kritik öneme sahiptir. Birincisi ilacın taşıyıcı sistem içinde çözünmesini (C_v) sağlamak; ikincisi ise ilacın formülasyondaki taşıyıcıdan stratum corneum tabakasına hareketini (K_m) maksimize etmektir. Partisyon katsayısı, bir ilacın taşıyıcısından serbestleşip, stratum corneum'a geçebilme kabiliyetini tanımlamaktadır. İlacın stratum corneum'daki çözünürlüğünün, taşıyıcı sistemdeki çözünürlüğüne oranıyla ($K_m = C_{sc}/C_v$) hesaplanmaktadır.¹³

2.1.5.3. İlaç Konsantrasyonu

Perkütan absorpsiyon için gerekli itici güç, taşıyıcı sistem içindeki çözünen ilaç konsantrasyonudur. Eski topikal ilaç formülasyonlarının birçoğu, daha yüksek konsantrasyonun daha güçlü olacağı beklentisiyle pazarlanmıştır. Bu durum, tretinoin gibi jel ve krem formülasyonlarının tüm konsantrasyonlarında (%0,01-0,1) etkin maddenin tamamen çözünebildiği ürünler için doğru olsa da, diğer ilaçlar için geçerli değildir.¹³ Örneğin hidrokortizonun %1 ve %2,5'lük krem formülasyonlarının, triamsinolon asetonidin %0,025, %0,1 ve %0,5'lik krem formlarıyla eşit potense sahip olduğu gösterilmiştir.¹⁶ Glukokortikoidlerin formüle edilme sürecindeki en önemli gelişmelerden biri, fluosinonidin formülasyonuna propilen glikol ilavesiyle ilacın tamamen çözebildiğinin keşfedilmesidir. Bu durum daha yüksek potensli kortikosteroid formülasyonların üretilmesine öncülük etmiştir. Bununla birlikte, formülasyonda fazla miktarda çözünmemiş ilaç olması, özellikle uzun süre (örneğin bir haftaya kadar) vücutta kalan transdermal bantlarda avantajlı olabilir. Çözünmüş ilaç vücut tarafından emildiğinde, çözünmemiş ilaç dengeyi sağlamak için daha sonra çözünebilir. Böylece zaman içinde sabit bir çözünmüş ilaç konsantrasyonu korunabilir ve sabit bir ilaç taşınma oranı sağlanabilir.¹³

2.1.5.4. Partisyon Katsayısı

Genel olarak topikal yolla uygulanan ilaçlar düşük oranda absorbe edilmektedir. Çünkü ilacın çok az bir kısmı stratum corneum'a geçebilmektedir. İlacın büyük bir kısmı cilt yüzeyinde kalır ve çok sayıda faktöre (pul pul dökülme, terleme, yıkama, ovma, giysiye adsorpsiyon, kimyasal veya fotokimyasal bozulma) bağlı olarak kayba uğramaktadır.¹³

Bir takım fiziksel ve kimyasal etmen ilacın formülasyondan ayrılmasını iyileştirebilir. Oklüzyona bağlı olarak cilt hidrasyonu, topikal bir formülasyon veya yama (patch) içerisindeki ilaçlar için mevcut stratum corneum rezervuar hacmini genişletir ve emilimi beş ila on katına kadar arttırabilir. Etanol ve propilen glikol gibi sıklıkla kullanılan yardımcı maddeler de cildin bariyer yapısını değiştirerek partisyonu arttırmaktadırlar. Buna ek olarak birçok yardımcı maddenin iyi çözücü özellikleri vardır ve bu da Cv'yi ve Km'yi olumlu yönde etkiler. Biyoyararlanımı maksimize etmek için formülasyonda yüksek miktarda propilen glikol kullanımı, güçlü etkili kortikosteroidler arasında yaygın hale gelmiştir ancak bunun da bir bedeli vardır. Bu tür preparatlar çatlamış veya aşınmış cilde uygulandığında yanma ve batma gibi istenmeyen etkiler yaygın olarak görülür ve temas dermatitlerine sebep olabilmektedir.¹³

2.1.5.5. Bölgesel Varyasyon

Vücut bölgelerinin hepsi eşit derecede geçirgen değildir. Stratum corneum tabakasının kalınlığındaki varyasyonlar, yağ bezlerinin sayısı ve hidrasyon durumu emilimi etkileyebilmektedir. Mevcut veriler ve klinik deneyimlere göre bölgesel geçirgenlik kabaca şu şekilde sıralanabilmektedir: tırnaklar<avuç içi/ayak tabanı<gövde/ekstremiteler<yüz/kafa derisi < skrotum.¹³

2.2. Mikroemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler

1959 yılında Schulman ve ark. elektron mikroskobu yardımıyla küçük emülsiyon benzeri yapıların varlığını görselleştirmiş ve ardından "mikroemülsiyonlar" terimini ortaya atmışlardır.¹⁷ Mikroemülsiyonlar, genellikle 10-100 nm aralığında damlacık boyutuna sahip, optik olarak izotropik ve termodinamik olarak kararlı yağ, yüzey aktif madde, yardımcı yüzey aktif madde ve sulu fazdan oluşan dispersiyon sistemleri olarak tanımlanmaktadır.¹⁸

Fazlar arasındaki arayüzeyin eğriliğine bağlı olarak genel anlamda üç farklı tip mikroemülsiyon bulunmaktadır. Bunlar; dış fazın yağ iç fazın su olduğu S/Y, bicontinuous ve dış fazın su fazı iç fazın yağ olduğu Y/S tipi mikroemülsiyonlardır. Tasarlanması istenen sistemin uygun formülasyonunu elde edebilmek için mikroemülsiyonun ayrıntılı bir faz diyagramının çizilmesi büyük önem taşımaktadır. Mikroemülsiyonların hazırlanmasındaki kolaylığın aksine, faz davranışlarının ve yapılarının karakterizasyonu daha karmaşıktır. Farklı yapısal mikroemülsiyon türleri arasında genellikle yumuşak bir geçiş gözlemlenir ve bunların tanımlanması için birkaç teknik gereklidir. Bu amaçla yaygın olarak kullanılan yöntemler NMR, iletkenlik ölçümü, elektron mikroskobu veya saçılma deneyleridir.¹⁹

İlaç taşıyıcı sistemler olarak mikroemülsiyonlar; termodinamik stabilite (uzun raf ömrü), kolay oluşum (sıfır arayüz gerilimi ve neredeyse kendiliğinden oluşum), optik izotropi, filtrasyonla sterilize edilebilme, yüksek yüzey alanı (yüksek çözünürlük kapasitesi) ve çok küçük damlacık boyutuna sahip olma gibi pek çok olumlu özellikler gösterirler. Ayrıca küçük boyuttaki damlacıklar membranlara daha iyi yapışma sağlar ve ilaç moleküllerini kontrollü bir şekilde taşırlar.⁴

Tablo 2.1 Mikroemülsiyon, emülsiyon ve nanoemülsiyonun karşılaştırılması

Parametre	Mikroemülsiyon	Emülsiyon	Nanoemülsiyon
Dispersiyon türü	Kolloidal	Kaba	Kolloidal
İç fazın boyutu (µm)*	<0,15	>0,5	<0,25
Termodinamik Stabilite	Stabil	Stabil değil	Stabil değil
Oluşum	Spontan	Enerjiye ihtiyaç duyar	Enerjiye ihtiyaç duyar

Bileşim	Fazla miktarda sürfaktan ve kosürfaktan karışımına ihtiyaç duyar	Fazla miktarda sürfaktan ve kosürfaktan karışımına ihtiyaç duyar	Az miktarda sürfaktana ihtiyaç duyar
----------------	--	--	--------------------------------------

Görsel özellikler

Kıvam	Sıvı	Sıvı/yarı-katı	Sıvı
Bulanıklık	Transparan	Sütsü görünüm	Değişken

*Bu formülasyonları birbirinden ayırt etmek için kesin bir damlacık boyutu değeri yoktur. Burada belirtilmiş olan değerler, bu konu hakkında daha önce yayınlanan çalışmalardan alınmış ve klavuz niteliğindedir.

Mikroemülsiyonlar ve emülsiyonlar farklı sistemlerdir. Mikroemülsiyonlar saydam veya yarı saydamdır ve küçük bir damlacık boyutu (genellikle 150 nm'ye kadar) sunarlar. Emülsiyonlar ise genellikle mikrometre aralığında ve biraz altında damlacık boyutlarına sahip, sütsü, kaba dispersiyonlardır. Diğer bir fark ise stabilite ile ilgilidir. Emülsiyonlar kinetik stabilite sergilemelerine rağmen, termodinamik olarak stabil değildirler ve zamanla faz ayrımı meydana gelmektedir. Diğer yandan mikroemülsiyonlar termodinamik olarak kararlıdır ve doğru koşullar altında kendiliğinden (veya çok düşük enerji girişi ile) oluşurlar. Diğer taraftan termodinamik stabilitenin de bir bedeli vardır. Mikroemülsiyonlar, emülsiyonlara kıyasla daha fazla miktarda yüzey aktif maddeye ihtiyaç duyarlar ve bu da tahriş potansiyelinin artmasına neden olabilmektedir.²⁰

Son zamanlarda lipid bazlı formülasyonlar, suda çözünürlüğü düşük ilaçların oral biyoyararlanımını iyileştirmek amacıyla büyük ilgi görmektedir. En çok tercih edilen yaklaşımlardan bazıları; sürfaktan dispersiyonları, mikroemülsiyonlar, kendi kendine emülsifiye olabilen formülasyonlar, kendi kendine mikroemülsifiye olabilen formülasyonlar ve lipozomlar gibi inert taşıyıcı bir yağa dahil edilen sistemlerdir. Böylelikle farmakokinetik profillerin

eşzamanlı modifikasyonu ile çözünürlüğü arttırarak, terapötik etkinlikte artış sağlanabilmektedir.⁴

Mikroemülsiyonlar çözünürlüğü zayıf ilaçların biyoyararlanımını arttırmak için geniş çaplı incelenmektedir. Bazı durumlarda uygun maliyetli bir yaklaşım sunmaktadırlar. Mikroemülsiyonlar çok düşük yüzey gerilimine ve küçük damlacık boyutuna sahiptir. Bu da onlara yüksek emilim ve yüksek nüfus olabılme yeteneği sağlamaktadır. Bu çok yönlü taşıyıcılara olan ilgi hergün artmakta ve uygulamaları, geleneksel oral yola ek olarak farklı uygulama yollarına çeşitlendirilmiştir.⁴ Daha önce yapılmış bir çalışmada, immunsupresan etkili bir ilaç olan siklosporinin mikroemülsiyon bazlı formülasyonu, bu ilacın standart oral formülasyonundaki zayıf ve öngörülemeyen absorpsiyonu ile ilişkili sorunların üstesinden gelmek için geliştirilmiştir. Ve geliştirilen bu farmasötik formuyla piyasada ticari ürün olarak bulunmakta ve kullanılmaktadır.²¹ Mikroemülsiyon sistemler transdermal, oküler, nazal, pulmoner, vajinal, rektal ve intravenöz yolla ilaçların uygulanabilmesi için her geçen gün daha fazla araştırılmaktadır.⁴

Mikroemülsiyonlar düşük viskoziteleri ve penetrasyon arttırıcı olarak da hizmet edebilen yüzey aktif madde (sürfaktan) ve yardımcı yüzey aktif maddelerin (kosürfaktan) varlığı nedeniyle esas olarak transdermal ilaç taşıma potansiyelleri için kullanılmaktadırlar. Nasr ve Abdel-Hamid yaptıkları bir çalışmada, mikroemülsiyonların transdermal ilaç taşıma potansiyelinden ziyade topikal kullanımlarını kolaylaştırmak için kritik formülasyon faktörlerini (CFF) optimize etmişlerdir.²² Transdermal ilaç verme yolunun, iyileştirilmiş hasta uyuncu, sürekli salım, mide iritasyonunu ve presistemik metabolizmanın olmaması gibi çeşitli avantajları vardır. Bu sebeple stratum corneum'un oluşturduğu engelin üstesinden gelmek için çok sayıda strateji geliştirilmiştir. Bu tekniklerden bazıları iyontoforez, mikroiğneler, sonoforez, kimyasal penetrasyon arttırıcılar ve mikroemülsiyonlardır. Mikroemülsiyonlardaki yüzey aktif maddeler, yardımcı yüzey aktif madde ve yağ fazı, transdermal ilaç taşınması için penetrasyon arttırıcılar olarak işlev görürler. Mikroemülsiyonlar için bileşenleri seçerken; çözünürlük, geçirgenlik özellikleriyle beraber toksikolojik açıdan da değerlendirmek önemlidir. Bazen iyi çözünürlük

potansiyeline sahip bir madde tahrişe neden olabilir veya cilt üzerinde başka zararlı etkilere neden olabilmektedir.¹

2.2.1. Mikroemülsiyon Bileşenleri

2.2.1.1. Yağ Fazı

Yağ fazının seçimi, ilacın yapısına ve uygulama yoluna bağlı olarak yapılmalıdır. Seçilen yağ, potansiyel ilaç için iyi bir çözücü olmalıdır. Ayrıca mikroemülsiyonun üçgen faz diyagramındaki seçilen yağ ile oluşturacağı mikroemülsiyon oluşum bölgesi ne kadar büyükse o kadar iyidir.³ Yağ fazı olarak farklı özelliklere sahip birçok bileşik kullanılmıştır. Bunların çoğu geleneksel yağlar (nötr, polar olmayan kimyasal maddeler) değildir ve sulu fazda genellikle çok düşük çözünürlük sergilemelerine rağmen birçoğu penetrasyon artırıcı özellikleri nedeniyle seçilmektedir.²⁰

Yağ bileşeni, yüzey aktif madde tabakasının kuyruk grubu bölgesine nüfuz etmesi ve dolayısıyla şişme kabiliyetiyle eğriliği etkilemektedir. Kısa zincirli yağlar kuyruk grubu bölgesine uzun zincirli alkanlardan daha fazla nüfuz eder ve bu nedenle bu bölgeyi daha büyük ölçüde şişirerek negatif eğriliğin artmasını (ve etkili HLB'nin azalmasını) sağlarlar. Doymuş (örneğin, laurik, miristik ve kaprik asit) ve doymamış yağ asitleri (örneğin, oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit) kendilerine ait penetrasyon artırıcı özelliğe sahiptir ve uzun süredir bunun üzerinde çalışılmaktadır.²³

Lipofilik ilaçlar tercihen Y/S tipi mikroemülsiyonlar içinde çözündürülmektedir. Yağ fazını seçmek için ana kriter, ilacın yağ içinde yüksek çözünürlüğe sahip olmasıdır. Bu sayede terapötik dozdaki enkapsüle edilmiş ilacın taşınması için formülasyon hacmi en aza inmiş olabilecektir.⁴

2.2.1.2. Su Fazı

Mikroemülsiyon formülasyonlarında yüksek oranda işlenmiş saf su kullanılmaktadır. Sulu faz içerisinde, hidrofilik ilaç ve bazı koruyucular yer alabilir. Y/S mikroemülsiyonların damlacık yapısı seyreltme sırasında sulu faz tarafından tutulurken, S/Y tipi mikroemülsiyonlarda tam tersi olur. S/Y mikroemülsiyonları söz konusu olduğunda, sulu fazın hacmindeki bir artış, yüzey aktif madde/su oranında bir azalmaya ve dolayısıyla damlacık

büyümesine yol açar. Seyreltme işlemi devam ederse, fazın ters dönmesine, ayrılmasına veya orijinal mikroemülsiyon özelliklerinin geri dönmesine neden olabilir ve bütünlük kaybolabilir.²⁴

2.2.1.3. Yüzey Aktif Madde (Süpfaktan)

Süpfaktan terimi, daha açıklayıcı bir terim olan yüzey aktif madde için bir kısaltma olarak kullanılmaktadır. Yüzey aktif madde tanımı bazen "suyun yüzey gerilimini düşüren" herhangi bir malzeme olarak tanımlanmaktadır. Fakat yüzey aktif madde için bu tanım yeterli değildir. Yüzey aktif maddenin en tatmin edici tanımı Gibbs adsorpsiyon denklemine dayanmaktadır. Bu termodinamik denkleme göre; iki bileşenli bir sistemin yüzeyler arası fazının serbest enerjisine yüzey katkısı yapan herhangi bir malzeme yüzey aktif maddedir.²⁵

Yüzey aktif madde moleküllerinin amfifilik doğası fiziksel davranışlarını açıklamak için kullanılmıştır. Süpfaktan molekül gruplarının ve bunların çeşitli arayüzeylerdeki yönelimlerinin açıklaması, aynı molekül içinde hidrofilik ve hidrofobik bölümlerin varlığına bağlıdır. Molekülün hidrofilik kısmının, sistemin sulu fazında çözünmesi veya en azından kendisini buna bağlaması beklenirken, hidrofobik kısım suda çözünmeyen fazda çözünecek veya en azından onunla temas edecektir. Tüm molekül türleri özellikle amfifiller, farklı polaritelere sahip iki faz (örneğin, su ve yağ) arasında bağlantılar sağlayabilirler. Bir yüzey aktif maddenin hidrofilik ve hidrofobik özellikleri arasındaki denge, her türden amfifillerin yardımıyla emülsiyonların formülasyonunda yaygın olarak kullanılan hidrofil-lipofil denge (HLB) sistemi tarafından kodlanmıştır. Griffin, çeşitli noniyonik yüzey aktif maddeler için deneysel bir HLB değerleri ölçeği oluşturmuştur. Griffin'in orijinal konsepti HLB'yi hidrofilin yüzdesi (ağırlıkça) olarak tanımlanmış ve daha yönetilebilir değerler elde etmek için 5'e bölmüştür.²⁵

Hidrofilik grubun (baş kısmın) yapısı, yüzey aktif maddeleri kimyasal olarak sınıflandırmanın en yararlı yolunu sağlamaktadır. Buna göre yüzey aktif maddeler aşağıda verildiği üzere 4 başlık altında incelenebilir:²⁵

1. Sürfaktan molekülü iyonize değilse, sürfaktan noniyonik olarak sınıflandırılır. Bunlardan polioksietilen (POE) türevleri tartışmasız en önemlisidir.
2. Sürfaktan molekülü suda çözündüğünde ya da dağıldığında negatif bir yük taşıyorsa, sürfaktan anyonik olarak sınıflandırılır. Anyonik yüzey aktif maddelerin en önemli grupları alkilsülfatlar ve sabunlardır.
3. Yüzey aktif madde iyonlaşarak pozitif bir iyon verirse, yüzey aktif madde katyonik olarak sınıflandırılır. Bu sınıftaki en önemli üyeler, pozitif bir yük almak için iyonize olabilen dörtlü nitrojen bileşikleri ve aminlerdir.
4. Son olarak, yüzey aktif madde grubu hem pozitif hem de negatif yükler içeriyorsa zwitteriyonik olarak adlandırılırlar. Ancak bu terminoloji bu yüzey aktif maddelere yalnızca aynı molekül üzerinde pozitif ve negatif bir yükün bulunduğu (ve birbirini nötralize ettiği) pH değerlerinde uygulanmalıdır. Diğer tüm durumlarda, amfoterik yüzey aktif madde teriminin kullanımı çok daha kabul edilebilirdir. Bu da bazı pH koşullarında molekülün pozitif yük taşıyabileceğini, bazı durumlarda ise negatif yük taşıyabileceğini göstermektedir.

2.2.1.4. Yardımcı Yüzey Aktif Madde (Kosürfaktan)

Kosürfaktanlar genellikle sistemik veya transdermal uygulama için kullanılan mikroemülsiyon formülasyonunlara dahil edilirler. Amfifilik doğaları sebebiyle, yüzeyler arası tabakada birikirler ve sürfaktan tabakasına penetre olarak akışkanlığı arttırırlar. Kosürfaktanlar arasında kısa ve orta zincirli alkoller bulunur. Transdermal uygulama için, penetrasyon arttırıcı olarak da bilinen etanol, alkanoller ve propilen glikol gibi maddeler de kosürfaktan olarak kullanılabilirler.³

2.2.2. Mikroemülsiyon Oluşum Teorileri

Bir mikroemülsiyon oluşturmak için, yağ ve su fazları arasındaki arayüzey gerilimi sıfıra yaklaşmalıdır.²⁴ ME oluşumunun yaygın olarak kabul gören üç teorisi vardır. Bunlar: (i) arayüzey veya karışık film teorileri, (ii) çözünürlük teorileri ve (iii) termodinamik teorilerdir.²⁶

2.2.2.1. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Termodinamikleri

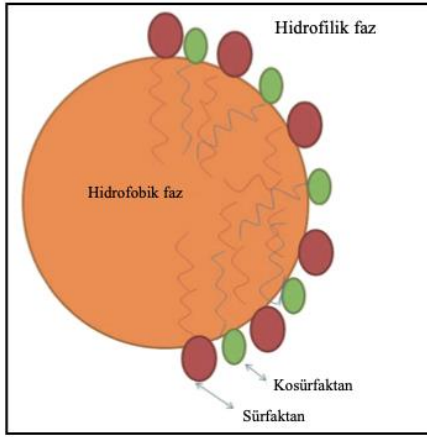
Termodinamik açıdan incelendiğinde; mikroemülsiyon oluşumunun serbest enerjisi, yüzey aktif maddenin yağ ve su fazları arasındaki yüzey gerilimini ne ölçüde düşürdüğüne ve sistemin aşağıdaki denkleme göre entropisindeki değişimine bağlıdır.²⁶

$$\Delta G_f = \gamma \Delta A - T \Delta S$$

Burada ΔG_f serbest oluşum enerjisini, γ yağ-su arayüzeyinin yüzey gerilimi, ΔA arayüzey alanındaki değişim, ΔS etkili bir dağılım entropisi olan sistemin entropi değişimidir ve T değeri de sıcaklıktır. Bir mikroemülsiyon oluştuğunda, meydana gelen çok sayıda küçük damlacık nedeniyle ΔA 'daki değişiklik artar. Daha önceki çalışmalarda ME oluşması için negatif bir γ değerinin gerekli olduğu varsayılmıştı. Ancak şimdi çok küçük olmasına rağmen ve entropi bileşeni olarak sayılmasa bile γ değerinin değeri her zaman pozitif kabul edilmektedir. Farmasötik ME'ler için bileşenler, birbiriyle geçimli ve dengede olan, toksik olmayan, ilacı çözebilen bileşenler arasından seçilmelidir.²⁶

2.2.2.2. Mikroemülsiyon Oluşumunun Karışık Film Teorisi

Karışık film teorisine göre, arayüzey film tabakasının yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddeden oluşan bir ikili olduğu ve oluşan mikroemülsiyon tipinin bu filmin eğriliğinin bükülmesine bağlı olduğu varsayımı vardır. Arayüzeyde yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde ikili filminin oluşumu, yağ ve su fazları arasındaki gerilimin son derece düşük değerlere inmesini sağlamaktadır. İkili filmin yayılma basıncı, yağ-su geriliminin değerini aşar ve bu nedenle negatif ara yüzey gerilimi, damlacıkların boyutunda bir azalmaya neden olur. Ortaya çıkan net arayüzey gerilimi, dinamik dengede gerçekleşen ve sonunda sıfır veya çok küçük bir pozitif değere ulaşan bir süreçtir.²⁴ Şekil 2.4'de arayüzey film tabakasındaki sürfaktan ve kosürfaktanın yerleşimi gösterilmektedir.



Şekil 2.4 Yüzeyler arası sümfaktan ve kosümfaktanın yerleşimi ²⁴

2.2.2.3. Mikroemülsiyon Oluşumunun Çözünürlük Teorisi

Mikroemülsiyonlarla ilgili çözünürlük sürecini etkileyen çok sayıda faktör vardır. Bunlar arasında sıcaklık çok önemli bir parametredir. Genel olarak sıcaklığın artmasıyla çözünürlük artar. Çözünürlük miselleştirme ile yakından ilişkilidir ve kiritik misel konsantrasyonu çözünürlükle ilişkili olarak artar. Elektrolitlerin yanı sıra alkoller gibi elektrolit olmayan bileşenlerin sisteme dahil edilmesi misel boyutunda bir artışa neden olur. ²⁴

2.2.3. Mikroemülsiyon Hazırlama Teknikleri

2.2.3.1. Faz Titrasyon Yöntemi

Mikroemülsiyonlar, spontan emülsifikasyon yöntemi (faz titrasyon yöntemi) ile hazırlanıp faz diyagramları yardımıyla tasvir edilebilirler. Faz diyagramının oluşturulması, farklı bileşenler karıştırıldığında ortaya çıkabilecek karmaşık etkileşimler dizisini incelemek için yararlı bir yaklaşımdır. Mikroemülsiyonlar, her bir kimyasal bileşene ve bunların konsantrasyonuna bağlı olarak çeşitli birleşme yapıları (emülsiyon, miseller, lameller, altıgen, kübik ve çeşitli jeller ve yağlı dispersiyon dahil) ile birlikte oluşturulur. Faz dengelerinin anlaşılması ve faz sınırlarının çizilmesi, temel yaklaşımlardır. ⁴

Faz Titrasyon Yöntemi düşük enerji gerektiren bir emülsifikasyon yöntemidir. Bu yöntem yüzey aktif madde veya çözücü moleküllerinin çok düşük arayüz gerilimine sahip olmaları nedeniyle sürekli faza kendiliğinden difüzyonuyla gerçekleşir. Mikroemülsiyonun hazırlanması sırasıyla yağ, su, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde olmak üzere 4 köşeden oluşan

faz diyagramında tek fazlı bölgenin oluşum alanının araştırılmasını içerir. Bu yöntemde, formülasyonun tüm bileşenleri, saydam bir faz elde etmek için %0 ila %100 arasında değişen oranlarda karıştırılır. Optimizasyon, faz diyagramındaki en net bölgeye dayalı olarak uygun şekilde yapılır ve daha sonra en kararlı ME bileşimi için işlem sonlandırılır.²⁷

Kuaterner faz diyagramı (dört bileşenli sistem) zaman alıcı ve yorumlanması zor olduğundan, genellikle üçlü faz diyagramı kullanılır. Üçlü faz diyagramı, her bir köşesinin bileşenlerden birinin %100'ünü temsil ettiği, mikroemülsiyon bölgesi dahil olmak üzere farklı bölgeleri bulmak için oluşturulmaktadır.⁴

2.2.3.2. Faz Ters Çevirme Yöntemi

Dispers fazı bicontinuous faza veya tam tersi bir dönüşüm sağlamak için kullanılan bir yöntemdir. Faz dönüşümü, dağınık fazın sürekli faz haline geldiği veya tam tersinin olduğu bir fenomendir. Y/S arayüzeyindeki yüzey aktif madde düzenlemeleri, faz ters çevirme fenomenine eşlik eden kendiliğinden bir değişime uğramaktadır. Faz dönüşümü, aşağıdaki 4 yöntemle gerçekleştirilebilir:

1. Sistemin sıcaklığındaki değişiklik
2. Tuzların eklenmesi
3. Hacim fraksiyonlarında değişiklik
4. Belirli akışların tanıtımı²⁴

2.3. Topikal Kortikosteroidler

Kortikosteroidler, dört halka halinde düzenlenmiş 17 karbon atomu içeren temel bir iskelet yapısına sahiptir. Bu temel steroid yapıda yapılan modifikasyonlar, farklı etki ve yan etki profiline sahip yeni bileşiklerin geliştirilmesini sağlamıştır. Tıbbi kullanıma ilk sunulan kortikosteroid olan kortizonun topikal aktivitesi bulunmamaktaydı. Ancak 11. konumdaki karbonil grubunun redüksiyonu, en sık kullanılan topikal kortikosteroidlerden biri olan hidrokortizonun sentezlenmesini sağlamıştır. Çift bağların ve fluoro gruplarının (pozisyon 6 ve/veya 9'a) eklenmesi gibi bu moleküle yapılan ilave modifikasyonlar, güçlü mineralokortikoid aktivitesi ile karakterize olan daha

güçlü ilaçların sentezini sağlamıştır. Bununla beraber 16. pozisyona α -hidroksil, α -metil veya -metil grubunun eklenmesiyle bu sorun ortadan kaldırılmıştır.²⁸

Yıllar boyunca yapılan araştırmalarla topikal kortikosteroidlerin olumsuz etkileri en aza indirilirken; potenslerini, özellikle antiinflamatuvar ve immünosupresif kapasitelerini optimize etmeye yönelik stratejilere odaklanılmıştır. Ancak, 'ideal' topikal kortikosteroidler henüz sentezlenmemiştir. İdeal bir kortikosteroid, yüksek serum konsantrasyonlarına ulaşmadan stratum corneum'a nüfuz edebilmeli ve epidermiste yeterli konsantrasyona ulaşabilmelidir. Bu özellikler, esterleştirme gibi reaksiyonlar yardımıyla topikal kortikosteroidlerin doğal lipofilikliğini arttırılarak elde edilebilir.²⁸

Topikal kortikosteroidler Tablo 2.2'de gösterildiği şekilde etki etme güçlerine göre sınıflandırılabilirler. Her gruptaki formülasyonlar güç bakımından benzerdir, ancak aynı değildir. Daha da önemlisi terapötik etkinlik ne kadar fazlaysa, yan etkiler de o kadar fazladır. Bu nedenle doktor hastası için uzun süreli idame tedavisi uygulayacaksa, topikal kortikosteroidi seçerken düşük potensli formülasyonlar olmasına dikkat etmelidir. Daha güçlü kortikosteroidler kısa süreli tedaviler için veya düşük potensli kortikosteroidlerin etkisiz olduğu, avuç içi ve ayak tabanı gibi bölgelerde kullanılmalıdır.²⁸

Tablo 2.2 Topikal kortikosteroid formülasyonlarının konsantrasyonlarına göre potens sınıflandırılması²⁸

Kortikosteroid	Formülasyondaki konsantrasyon (%a/a)
Sınıf I (çok güçlü etkili)	
Klobetazol propiyonat	0,05
Diflukortolon valerat	0,3
Fluosinolon asetonid	0,2
Halsinonid	0,1

Sınıf II (güçlü etkili)

Amsinonid	0,1
Betametazon valerat	0,1
Budesonid	0,025
Desonid	0,05
Dezoksimetazon	0,25
Diflorazon diasetat	0,05
Diflukortolon valerat	0,1
Fluklorolon asetonid	0.025
Fluosinolon asetonid	0,025
Fluosinonid	0,05
Flupredniden asetat	0,1
Flurandrenolon	0,05
Flutikazon propiyonat	0,05
Halsinonid	0,01
Hidrokortizon butirat	0,1
Metilprednizolon aseponat	0,1
Mometazon furoat	0,1
Prednikarbat	0,25
Triamsinolon asetonid	0,1

Sınıf III (orta etkili)

Alklometazon dipropiyonat	0,05
Beklometazon dipropiyonat	0,025
Beklometazon salisilat	0,025
Betametazon benzoat	0,025
Betametazon dipropiyonat	0,05
Betametazon valerat	0,025 - 0,05
Klobetazon butirat	0,05
Dezoksimetazon	0,05
Flumetazon pivalat	0,02
Fluosinolon asetonid	0,00625 - 0,01
Fluocortolone pivalate	0,2
Flupamerazon	0,3
Flurandrenolon	0,0125
Halometazon	0,05
Hidrokortizon butirat	0,1
Hidrokortizon aseponat	0,1
Hidrokortizon valerat	0,2
Triamsinolon asetonid	0,04

Sınıf IV (zayıf etkili)

Deksametazon	0,1
Fluosinolon asetonid	0,0025
Fluokortin butil ester	0,75
Hidrokortizon(alkol veya asetat)	0,1-1
Methilprednizolon	0,25
Prednizolone	0,5

2.3.1. Topikal Kortikosteroidlerin Endikasyonları

Tedavi için steroid seçerken doğru teşhis çok önemlidir. Deri kazıma ve potasyum hidroksit testleri, steroid ilacın mı yoksa antifungal bir ajanın mı daha uygun bir seçim olduğunu netleştirmede oldukça önemlidir. Çünkü steroidler mantar enfeksiyonunu şiddetlenmesine sebep olabilirler. Topikal kortikosteroidler; hiperproliferasyon, inflamasyon ve immünolojik tutulum ile karakterize durumlar için etkilidirler. Ayrıca yanma ve kaşıntılı lezyonlarda semptomatik açıdan rahatlama sağlayabilirler.²⁹

Tablo 2.3'te gösterildiği üzere pek çok cilt rahatsızlığı topikal steroidlerle tedavi edilmektedir. Ancak etkinlikleri yalnızca az sayıda tedavi için kanıtlanmıştır. Örneğin, yüksek veya ultra yüksek etkili topikal steroidler, tek başına veya diğer topikal tedavilerle kombinasyon halinde, sedef hastalığı tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Ayrıca, cildin belirli bir alanında görülen vitiligo tedavisinde, liken skleroz, büllöz pemfigoid ve pemfigus foliaceus tedavilerinde etkilidirler.²⁹

Orta ila yüksek potensli topikal kortikosteroidler, yetişkinlerde ve çocuklarda atopik dermatit ve egzamada, bunun yanı sıra fimosis (yani geri çekilemeyen sünnet derisi) ve akut radyasyon dermatitinde etkilidirler.²⁹

Tablo 2.3 Topikal steroidlerle tedavi edilebilen hastalıklar²⁹

Yüksek potensli steroidlerle tedavi	Orta potensli steroidlerle tedavi	Düşük potensli steroidlerle tedavi
Alopesi areata	Asteatotik egzama	Dermatit (bez dermatiti)
Diskoid lupus	Atopik dermatit	Dermatit (göz kapağı)
Hiperkeratotik egzama	Liken sklerozus	Dermatit (yüz)
Liken planus	Numuler egzama	İntertrigo
Liken sklerozus (ciltte)	Uyuz hastalığı	Perianal inflamasyon
Liken simpleks kronikus	Seboreik dermatit	
Numuler egzama	Şiddetli dermatit	
Zehirli sarmaşık alerjisi	Şiddetli intertrigo	
Psöriazis		
Şiddetli el egzaması	Statis dermatit	

2.3.2. Topikal Kortikosteroidlerin Etki Mekanizması

Kortikosteroidler antiinflamatuvar, immunosupresif ve antiproliferatif olmak üzere üç ana mekanizma ile etki gösterirler.³⁰ Topikal glukokortikoidlerin antiinflamatuvar ve immünosupresif etkilerinin, büyük ölçüde kortikosteroide yanıt veren genlerin regülasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Sitoplazma içinde steroid, glukokortikoid reseptörüne bağlanarak hızlıca çekirdeğe taşınan bir kompleks oluşturur. Çekirdeğin içine giren glukokortikoid reseptör kompleksi inflamatuvar süreci düzenlemek amacıyla, transkripsiyonu uyarmak veya inhibe etmek için glukokortikoid cevap elementi olarak adlandırılan bir DNA bölgesine bağlanır.³¹

Topikal glukokortikoidler, gen transkripsiyonundaki bu doğrudan düzenleyici etkilerine ek olarak ayrıca nükleer faktör- κ B gibi diğer transkripsiyon faktörlerinin etkilerini bloke ederek transkripsiyonu dolaylı olarak düzenleyebilirler. Topikal glukokortikoidler proinflamatuvar sitokin genlerinin (interlökinler IL-1, IL-2, IL-6, interferon gama ve tümör nekroz faktörü- α genleri dahil) T hücresi proliferasyonu ve T hücresine bağlı bağışıklığını inhibe edebilirler. Topikal glukokortikoidlerin vazokonstriktif etkisi, lezyon bölgesinde eritemi azaltmak suretiyle antiinflamatuvar etkilerine

katkı sağlayabilmektedir ve bu sayede etki bölgesinde daha uzun süre kalabilmektedirler. Bunlara rağmen etki mekanizmaları tam olarak kesinliğe kavuşmamıştır.³¹

Topikal glukokortikoidlerin klinik etkinlikleri, önemli ölçüde kortikosteroidin kendi yapısından ve formülasyondan etkilenirken, daha düşük oranda ilacın uygulanan konsantrasyonundan etkilenmektedir. Cilt tarafından absorbe edilen etkin madde miktarı ile uygulanan doz arasında ilişki olmaması, uygulanan konsantrasyondan ziyade, formülasyonun daha önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.³¹

2.3.3. Topikal Kortikosteroidlerin Advers Etkileri

Kortikosteroidlerin neden olduğu yan etkiler başlıca elektrolit ve su dengesi üzerinde, neoglikogenez, doku onarımı ve de adeno-hipofizeal fonksiyon üzerindeki inhibitör etkiyle ilişkilidir. Topikal kortikosteroidlerin çoğunluğu hem sistemik hem de topikal yan etkilere neden olabilecek miktarlarda absorbe olmaktadır. Topikal kortikosteroidlerin kullanımına bağlı başlıca sistemik yan etkilerden bazıları kilo alımı, Cushing sendromu, elektrolit dengesizliği, hipertansiyon, peptik ülser ve gastrittir. Lokal yan etkiler ise cilt atrofisi, gül hastalığı, kortikoid akne, perioral dermatit, hipopigmentasyon, katarakt ve glokomdur.²⁸

2.4. Diflukortolon Hakkında Genel Bilgiler

2.4.1. Diflukortolon Valerat'ın Tanımı ve Özellikleri

Kimyasal Adı: 6 α ,9 α -difloro-3,20-diokso-11 β -hidroksi-16 α -metilpregna-1,4-dien-21-il valerat

Kimyasal Formülü: C₂₇H₃₆F₂O₅

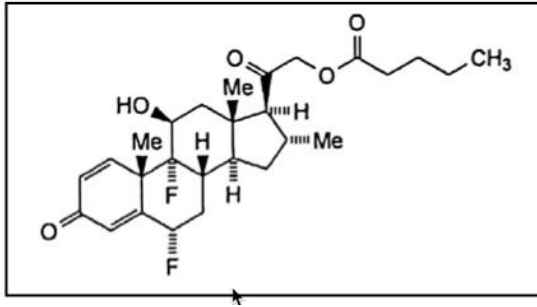
Moleküler Ağırlığı: 478,58 g/mol

logP Değeri: 4,2

Erime Derecesi: 195 °C

Fiziksel Özellikleri: Suda çözünmez, diklorometan ve 1,4-dioksanda rahat çözünürken, metanolde az ve eterde ise çok az çözünmektedir. Beyaz

renkli, kristal toz formundadır. Işıktan korunmalıdır.³² Şekil 2.5’de Diflukortolon valerat’ın kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.5 Diflukortolon valerat'ın kimyasal yapısı³²

Diflukortolon valerat (DFV), cilt hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan, güçlü, kortikosteroid yapıda bir moleküldür. Kortikosteroid sınıflandırma sistemine göre DFV’nin mevcut merhem ve krem formülasyonları, güçlü etkili steroidler grubunda yer almaktadır.³³

Diflukortolon valerat topikal bir kortikosteroid olan fluokortolonun geliştirilmiş formudur ve diğer modern topikal kortikosteroidlerin aksine, prednizolondan değil kortikosterondan elde edilir. Ester formundaki DFV, serbest diflukortolon ile karşılaştırıldığında lokal olarak daha güçlü etkilidir. Sitoplazmik kortikosteroid reseptörlerine kademeli olarak bağlanmasının bir sonucu olarak sistemik olarak daha az etkili olduğu düşünülmektedir. Bu durum istenen lokal etki ve istenmeyen sistemik etkiler arasında olumlu bir fark yaratmaktadır.³⁴

Topikal uygulamayı takiben %0,1’lik DFV cilt tarafından hızla emilir. Uygulanan bu dozun yaklaşık olarak %75,5’i bir saat içinde cilde nüfuz eder. Bununla birlikte sistemik absorpsiyonu oldukça düşüktür. Sağlam deriye uygulamadan 4 saat sonra dozun yalnızca %0,2’si sistemik absorpsiyona dahil olur. DFV’nin absorpsiyon özellikleri diğer ajanlarla kıyaslanmıştır. Bir çalışmada topikal kortikosteroidlerin perkütan sistemik absorpsiyon derecesi, dört sağlıklı genç erkekte araştırılmıştır. İlaçlar "stripped" stratum corneum'a (iltihaplı durumlarda gözlenen bozulmuş cilt bariyeri benzeri) uygulandıktan sonra değerlendirilmiştir. 24 saat sonra sistemik absorpsiyondaki seviyeleri DFV

için dozun $14,8 \pm 4,2$ 'si, fluosinolon asetonid için $39,2 \pm 2,4$ 'ü ve betametazon 17-valerat dozunun $23,5 \pm 4,1$ 'i olarak ölçülmüştür.³⁵

Yapılmış bazı karşılaştırmalı klinik çalışmaların sonuçlarına göre, DFV kremin antiinflamatuvar topikal potensinin diğer bir dizi topikal kortikosteroidlere göre daha üstün olduğunu gösterilmiştir. Vazokonstriksiyon testlerinde $0,1$ 'lik DFV'nin; uygulama sonrası etki başlama hızı ve etkililik(potens) açısından $0,1$ 'lik betametazon-17-valerat, $0,025$ 'lik fluosinolon asetonid ve $0,05$ 'lik klobetazol propiyonat ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu bulunmuştur. Ek olarak plak testi araştırmacıları sedef hastalığında $0,1$ 'lik DFV'nin, $0,05$ 'lik betametazon dipropiyonat ve $0,02$ 'lik flumetasone pivalat'a karşı antiinflamatuvar etki ve etki başlama hızı açısından üstün olduğunu bulmuşlardır.³⁵

2.4.2. Diflukortolon Valerat İçeren Preparatlar

Diflukortolon valerat içeren müstahzarlar Türkiye pazarında $0,1$ 'lik krem formunda, $0,1$ ve $0,3$ 'lük merhem olarak mevcuttur. Kombine halde bulunan formülasyonlarında ise $0,1$ diflukortolon valerat yanında 1 'lik klorkinalol veya izokonazol nitrat bulunmaktadır. Pazarda yer alan müstahzarlar aşağıda yer alan Tablo 2.4'te verilmiştir.³⁶

Tablo 2.4 Türkiye pazarında Diflukortolon Valerat içeren müstahzarlar

Preparatın İsmi	İçerdiği Madde/Maddeler	Etkin	Firma Adı
Albacort Krem	$0,1$ DFV + 1 İzokonazol Nitrat		Kentfarma İlaç
Fuggy Krem	$0,1$ DFV + 1 İzokonazol Nitrat		Tripharma İlaç
Fugisid Krem	$0,1$ DFV + 1 İzokonazol Nitrat		İstanbul İlaç

Fungoid Krem	%0,1 DFV + %1 İzokonazol Nitrat	Terra İlaç
Funocord Krem	%0,1 DFV + %1 İzokonazol Nitrat	Koçak Farma
Impetex Krem	%0,1 DFV + %1 Klorkinaldol	Deva Holding
Izokort Krem	%0,1 DFV + %1 İzokonazol Nitrat	Vem İlaç
Izosol S Krem	%0,1 DFV + %1 İzokonazol Nitrat	Eczacıbaşı
Izovef Krem	%0,1 DFV + %1 İzokonazol Nitrat	Vefa İlaç
Mantazol Krem	%0,1 DFV + %1 İzokonazol Nitrat	Pharmactive
Nerisona-C Krem	%0,1 DFV + %1 Klorkinaldol	Abdi İbrahim

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Diflukortolon valerat (DEVA İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.)
- Maisine CC[®] (Gliseril monolinoleat) (Gattefossé)
- Transcutol-P[®] (Dietilen glikol monoetil eter) (Gattefossé)
- Labrasol[®] (Kaprilokapriol polioksi- 8-gliserid) (Gattefossé)
- Peceol[®] (Gattefossé)
- Triacetin (BASF)
- Trietanolamin (Merck)
- Etanol (HPLC Saflığında) (Merck)
- BHT (Bütil hidroksi tolueen) (Sigma-Aldrich)
- Asetonitril (HPLC Saflığında) (Merck)
- Disodyum Hidrojen Fosfat (Na₂HPO₄) (Merck)
- Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH₂PO₄) (Merck)
- Propilen glikol (Sigma-Aldrich)
- Tween 80 (Polietilen glikol sorbitan monoleat) (Merck)
- Tween 20 (Polietilen glikol sorbitan monolaurat) (Sigma-Aldrich)
- PEG 400 (Polietilen glikol-400) (Sigma-Aldrich)
- Kolliphor[®] EL (BASF)
- Labrafac PG[®] (Propilen glikol gikaprilokaprat EP) (Gattefossé)
- Labrafac Liphophile WL1349[®] (Orta zincirli kaprilik/kaprik asit trigliserid) (Gattefossé)
- İzopropil Miristat (Merck)
- Capryol 90[®] (Propilen glikol monokaprilat Tip II NF) (Gattefossé)

3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler

3.1.2.1. Kullanılan Aletler

- UV Spektrofotometresi (Shimadzu, Model 1601)
- Franz Difüzyon Sistemi (PermeGear, V6A Stirrer)
- Ultrasonik banyo (Bersonic)
- Terazı (Denver Instruments, TB-Series)
- Santrifüj (Hettich, D-7200, Type 2041)
- Orbital Çalkalayıcı (Thermo Electron Corporation, Model 420)
- Malvern ZetaSizer Nano-ZS
- Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (IKA®-Werke, R 15)
- Refraktometre (Abbe 5)
- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (Shimadzu, Model LC 20AT)
- C18 Kolon (Merck LiChroCART®, C18 4,6 150 cm, 5 m)
- pH Metre / Kondüktometre (Eutech Instruments PC 2700)
- Reometre (Haake RheoStress 1)
- Vorteks (IKA®-Werke)
- Ultra saf su cihazı (Purelab Ultra, ELGA)
- *Jasco FT/IR-6700 IR*

3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler

- UV Spektrofotometre küveti
- HPLC Cam Şişeleri
- Tek kullanımlık zeta sizer küvetleri
- Manyetik balıklar

- Mikropipet
- Mikropipet uçları
- Cam malzeme (Beher, Erlen, Cam şişe, Balon joje, Flakon, Vial vs.)
- Eppendoorf tüpleri (1,5-2 mL)
- Pasteur pipeti
- Selüloz Nitrat Membran (0,22 µm por çapı) (Merck)
- 0,22 mm Membran Filtre (GSWP) (Merck)
- Şırınga ucu filtre (Millipore LCR, 13 mm, 0,45 µm)

3.2. Yöntem

3.2.1. Diflukortolon Valerat'ın Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

Kızılötesi (Infrared) spektroskopi, moleküler titreşimleri araştırma esasına dayalıdır. Fonksiyonel gruplar ve fonksiyonel grupların temel titreşimlerine karşılık gelen karakteristik kızılötesi absorpsiyon bantlarıyla ilişkilendirilmektedir. Kızılötesi (IR) veya Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, küçük moleküllerin veya moleküler komplekslerin analizlerinden hücrelerin veya dokuların analizine kadar geniş bir uygulama alanına sahiptir.³⁷

Diflukortolon valerat için IR spektrumu *Jasco FT/IR-6700* cihazında orta dalga boyundaki kızılötesi bölgesinde 4000 cm⁻¹- 400 cm⁻¹ aralığında incelendi.

3.2.2. Diflukortolon valerat'ın Miktar Tayin Yöntemi

Hazırlanan formülasyonların in vitro salım çalışmalarında elde edilen numunelerin miktar tayinini saptamak üzere, literatürde kayıtlı olan yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) metodundan³³ faydalanarak yöntem geliştirildi. Analizlerde 4,6 x 150 mm boyutunda 5 µm partikül boyutuna sahip C18 (Merck LiChroCART®, C18 4,6 150 cm, 5 m) kolonu kullanılarak, 240 nm dalga boyunda çalışıldı. Kolon sıcaklığı 40°C, enjeksiyon hacmi 100 µl, akış hızı 1,0 mL/dk olarak organize edildi. Bu şartlar altında etkin madde DFV'nin retansiyon zamanı 10. dk olarak belirlendi.

Mobil faz hazırlanması: Mobil faz olarak Asetonitril (ACN) ile su 70:30 (h:h) oranında karıştırılarak hazırlandı. Karışım manyetik karıştırıcıda 15 dk karıştırıldıktan sonra, 20 dk degaze edilip sisteme verildi.

3.2.3. Diflukortolon valerat'ın Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Validasyon, bir analitik yöntemin amaçlandığı şekilde performans gösterdiğini kanıtlamak üzere deneysel bir veritabanının kurulması olarak tanımlanmaktadır. Validasyon, yöntemi geliştiren laboratuvarın sorumluluğundadır.³⁸

Değerlendirilmesi gereken validasyon kriterleri aşağıda belirtildiği gibidir:

- Doğrusallık
- Kesinlik
- Doğruluk
- Seçicilik
- Tekrarlanabilirlik
- Teşhis Limiti (TL) ve Miktar Tayini Limiti (MTL)³⁹

3.2.3.1. Doğrusallık

Analitik bir yöntemin doğrusallığı, numunedeki madde konsantrasyonu (miktarı) ile konsantrasyonu bilinen bir stoktan, belirli bir konsantrasyon aralığı içinde hazırlanan örneklerle doğru orantılı olup olmadığının kontrol edilmesidir.³⁹

Miktar tayini yönteminin doğrusallığını tayin etmek için 10 mg DFV hassas terazide tartılıp balon jojeye konuldu ve üzeri ACN ile 50 mL'ye tamamlandı. İyice karışması ve çözünmesi için 5 dk süreyle vortekslendi. Hazırlanan 200 µg/mL konsantrasyondaki stok çözeltisinden mobil faz ile seyreltmeler yapılarak 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 15, 20 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlandı. Aynı işlem *in vitro* salım çalışması ve miktar tayininin validasyonu için reseptör ortam %60 pH 5.5 PBS ve %40 etanol karışımı ile de yapıldı. Hazırlanan çözeltiler iyice karışmaları için vortekslendi.

Hazırlanan 8 farklı konsantrasyondaki çözelti 100 µl enjeksiyon hacmi ile HPLC'ye verildi. Her bir konsantrasyon için 3 farklı enjeksiyon yapılarak pik alanları okundu ve değerlere göre standart doğru çizildi. Elde edilen doğru denklemi ile determinasyon katsayısı (r^2), standart sapma değeri (SD) ve relatif standart sapma değeri (RSD) hesaplandı.

3.2.3.2. Kesinlik

Analitik bir yöntemin kesinliği, belirli koşullar altında aynı numuneden alınan bir dizi örneğin ölçüm sonuçlarının birbirleriyle arasındaki uyumun yakınlığını (dağılım derecesi) ifade etmektedir. Kesinlik; tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve tekrar üretilebilirlik olarak üç başlıkta ele alınabilir. Kesinlik, homojen ve gerçek numuneler kullanılarak araştırılmalıdır.³⁹

Kesinlik tayini için Yöntem 3.2.2.1'de belirtilen konsantrasyonlarda DFV çözeltileri hazırlandı ve aşağıda anlatıldığı üzere çalışıldı.

Gün içi kesinlik: Diflukortolon valerat ile hazırlanan stok çözeltisinden mobil faz ile seyreltmeler yapılarak üç farklı konsantrasyonda (1, 2.5, 5 µg/mL) numuneler hazırlandı. Her konsantrasyondan 3 seri hazırlanıp vortekslelendikten sonra 100 µl enjeksiyon hacmi ile HPLC'ye verildi. Her 3 serinin pik alanlarının ortalaması alınarak doğru denkleminde yerine konuldu ve DFV miktarı hesaplandı, ortalamaları alındı, SD ve %RSD değerleri hesaplandı.

Günler arası kesinlik: Gün içi kesinlik için yapılan deneylerin aynısı 2. ve 3. günlerde de tekrarlandı. Bu 3 gün süresince alınan sonuçların ortalamaları alındı, SD ve %RSD değerleri hesaplandı.

3.2.3.3. Doğruluk

Analitik bir yöntemin doğruluğu, bu yöntemle bulunan değer ile kabul edilen referans değerinin birbirleriyle arasındaki yakınlığı ifade eder.³⁹

Kullanılan yöntemin doğruluğunu tayin etmek için formülasyonlarda kullanılan maddeler olan Maisine, Labrasol, Triacetin, Peceol, Transcutol-P'nin en yüksek derişimli formülasyonları seçildi. Formülasyonlar etkin maddesiz olarak ayrı ayrı olacak şekilde Tablo 3.1'de belirtilen oranlarda hazırlandı. Yöntem 3.2.2.1'de anlatıldığı olduğu üzere stok çözeltisi hazırlanarak

formülasyondaki %0,1'lik etkin madde miktarını karşılayacak şekilde 1, 2.5 ve 5 µg/mL konsantrasyonlarında numuneler hazırlandı.

Tablo 3.1 DFV Plasebo Formülasyonları

Formülasyon Bileşenleri	Plasebo-I (g)	Plasebo-II (g)	Plasebo-III (g)
Maisine	0,45	-	-
Triacetin	-	-	0,39
Peceol	-	0,423	-
Labrasol	1,2	0,78	0,96
Transcutol-P	0,9	1,11	0,78
Su	0,45	0,69	0,87
BHT	0,00015	0,00015	0,00015

Yukarıdaki tabloya göre Plasebo-I, Plasebo-II ve Plasebo-III formülasyonlar hazırlandı. Konsantrasyon 1 µg/mL için; 10'luk balon jojelere ayrı ayrı 3 plasebo formülasyondan 0,1 g tartıldı. Üzerine Yöntem 3.2.2.1'de anlatıldığı üzere 200 µg/mL olarak hazırlanan stok DFV çözeltisinden 0,5 mL eklendi ve ACN ile 10 mL'ye tamamlandı. İyice karışması için vortekslendi. Konsantrasyon 2,5 µg/mL için de yine aynı şekilde hazırlanan plasebo formülasyonlardan ayrı ayrı 10'luk balon jojelere 0,25 g tartıldı. Üzerlerine 1,25 mL stok çözeltisinden konuldu ve asetonytril ile 10 mL'ye tamamlandı ve vortekslendi. Konsantrasyon 5 µg/mL için de aynı şekilde plasebo formülasyonlardan 0,5 g 10'luk balon jojelere tartılıp üzerlerine 2,5 mL stok çözeltisi konuldu ve asetonytrille 10 mL'ye tamamlanıp vortekslendi. Bu hazırlanan çözeltilerin hepsinden de 1 mL alınıp mobil faz ile 10 mL'ye tamamlanıp, tekrar vortekslendi. Buradaki işlemlerin aynısı reseptör faz ile de yapıldı. Son seyreltmelerden sonra hazırlanan çözeltiler süzülüp 100 µl

enjeksiyon hacmi ile HPLC'ye verildi ve sonuçlar okundu. Ölçülen pik alanlarıyla elde edilen denklem yardımıyla DFV miktarları hesaplandı.

3.2.3.4. Seçicilik

Kromatografik bir analitik yöntemin seçiciliği, potansiyel numunedeki tüm bileşenlerinin varlığında analiz edilecek olan etken maddenin (analitin) doğru ve özgül bir şekilde ölçülebilmesi yeteneğidir. Analit ve tüm potansiyel numune bileşenlerini (plasebo formülasyonu, sentez ara maddeleri, ekşiپیانلار, bozunma ürünleri, işlem safsızlıkları vb.) içeren numunedeki analit tepkisi, yalnızca analiti içeren bir çözeltinin tepkisi ile karşılaştırılır.⁴⁰

Formülasyon bileşenleri, etkin maddesiz, antioksidan olarak kullanılan BHT ve reseptör faz olan %60 pH 5.5 PBS ve %40 etanol karışımı hazırlanarak 100 µl enjeksiyon hacmi ile HPLC'ye verildi. Absorbans sonuçları 240 nm dalga boyunda okundu ve DFV'nin pik alanında diğer maddelerin pik verip vermediğine bakıldı.

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

Analitik bir yöntemin teşhis limiti (TL), bir numunede kesin bir değer olarak tespit edilebilen en düşük analit miktarıdır.³⁹

Analitik bir yöntemin miktar tayin limiti (MTL) ise, uygun hassasiyet ve doğrulukla kantitatif olarak belirlenebilen numunedeki en düşük analit miktarıdır. Miktar tayin limiti, numune matrislerindeki düşük seviyelerde bileşikler için kantitatif tahlillerin bir parametresidir ve özellikle safsızlıkların ve bozunma ürünlerinin belirlenmesi için kullanılmaktadır.³⁹

3.2.3.6. Numunelerin Stabilesi

Salım çalışması ve analizler süresince diflukortolon valerat'ın stabil kaldığını göstermek üzere 10 mg DFV tartılıp, ACN ile 50 mL'ye tamamlandı. Daha sonra Yöntem 3.2.2.1'de anlatılmış olduğu üzere mobil faz ile 1, 2.5 ve 5 µg/mL konsantrasyonlarında 3 seri olacak şekilde standartlar hazırlandı. 1., 2. ve 3. günlerde aynı işlemler tekrarlandı ve HPLC'de analiz edildi, etkin maddenin stabil kalıp kalmadığına bakıldı. Aynı işlemler, seyreltmelerin mobil faz yerine reseptör faz ile yapılmasıyla tekrarlandı, sonuçlar alındı.

3.2.4. Çözünürlük Çalışmaları

3.2.4.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmaları

Transdermal yolla uygulanacak bir dozaj formunun tasarımında anahtar noktalardan biri de ilacın mikroemülsiyon sistem içinde çözünebilmesidir.⁴¹ Bu nedenle geliştirilmek istenen mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddelerde DFV'nin çözünürlüğünü tespit etmek için çalışıldı. Kullanılan çeşitli yağ, sürfaktan ve kosürfaktanlar Tablo 3.2'de verilmiştir. Bu maddelerden eppendorflara 1'er gram alındı ve üzerlerine çözebileceğinden fazla miktarda DFV eklendi. Orbital çalkalayıcıda 300 rpm ve 25°C oda sıcaklığında 24 saat çalkalanmaya bırakıldı. 24 saatin sonunda çalkalayıcıdan alınan eppendorflar 15 dk boyunca 15000 rpm'de santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı kısım yeni eppendorflara alınarak bir 15 dk daha 15000 rpm'de tekrar santrifüj edildi. Üstte kalan kısımdan alındı ve 0,45 µm PTFE membran filtreden süzülerek Yöntem 3.2.2'de belirtilen koşullarda numuneler okundu ve çözünen diflukortolon valerat miktarı hesaplandı.

Tablo 3.2 Çözünürlük Çalışmasında Kullanılan Yardımcı Maddeler

Yağlar	Maisine
	Peceol
	Capryol 90
	Triacetin
	İsopropil Miristat (IPM)
	Labrafac PG
	Labrafac Liphophile
	WL1349
Sürkaktan ve Kosürfaktanlar	Labrasol

Transcutol-P
Propilen glikol
PEG 400
Kolliphor EL
Tween 80
Tween 20

3.2.4.2. Etkin Maddenin Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışmaları

In vitro salım çalışmasında kullanılacak olan reseptör ortamı belirleyebilmek, sink koşulu sağlayan uygun ortamı bulabilmek amacıyla çözünürlük deneyi yapıldı. Bu amaçla Tablo 3.3'te gösterilen yardımcı maddeler ile farklı oranlarda pH 5.5 ve pH 7.4 PBS karışımları kullanıldı. Eppendorflara bu hazırlanan çözeltilerden 1 mL konuldu ve üzerlerine çözebileceklerinden fazla miktarda DFV eklendi. Orbital çalkalayıcıda 200 rpm ve 25°C oda sıcaklığında 24 saat boyunca çalkalanmaya bırakıldı. 24 saat sonra çalkalayıcıdan alınan eppendorflar 15 dk boyunca 15000 rpm'de santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı kısım yeni eppendorflara alınarak 15 dk daha 15000 rpm'de tekrar santrifüj edildi. Eppendorfun üstünde kalan kısmından 500 µL alınarak 1 mL'lik balon jojede mobil faz ile seyreltilip vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra 0,45 µm PTFE membran filtreden süzüldü. HPLC'de 240 nm dalga boyunda numuneler okundu ve sonuçlar değerlendirildi. Bu işlem her bir numune için 3 defa çalışıldı.

Tablo 3.3 Reseptör fazı belirlemek için yapılan çözünürlük çalışmasında kullanılan yardımcı maddeler

Fosfat Tampon (PBS)	Yardımcı Maddeler	Oranlar
	Etanol	70:30 (h/h)

pH 5.5	Etanol	60:40 (h/h)
	Etanol	50:50 (h/h)
	PEG 400	70:30 (h/h)
	Tween 80	% 2 (a/h)
	Transcutol-P	% 5 (a/h)
pH 7.4	Etanol	70:30 (h/h)
	Etanol	60:40 (h/h)
	Etanol	50:50 (h/h)
	PEG 400	70:30 (h/h)
	Tween 80	% 2 (a/h)
	Transcutol-P	% 5 (a/h)

3.2.5. Ön Formülasyon Çalışmaları

Ön formülasyon çalışmaları için mikroemülsiyon formülasyon denemelerinde farklı oranlarda kullanılan çeşitli yağ, sürfaktan, kosürfaktanlar Tablo 3.4'te gösterilmiştir. Hazırlama yöntemi olarak faz titrasyon metodu tercih edildi. Bu yönteme göre tartılan yağın üzerine belirlenen miktarda sürfaktan ve kosürfaktan ilave edilip, manyetik karıştırıcıda minimum 15 dk olacak şekilde, şeffaf bir görüntü elde edilinceye kadar karıştırıldı. Bu karışım manyetik karıştırıcıda karışmaya devam ederken bulanıklık başlayana kadar damla damla su eklendi. Bulanıklaştığı andaki eklenen su miktarı kaydedildi ve su eklemeye devam edildi. Su ekledikçe tekrar şeffaflama olup olmayacağı kontrol edildi. Farklı maddelerle, farklı oranlarda denenmiş olan tüm miktarlar kaydedilip, gerekli karakteristik özellikleri karşılayıp karşılamadıkları da kontrol edilerek değerlendirildi.

Tablo 3.4 Önformülasyon çalışmalarında kullanılan yağ, sürfaktan, kosürfaktanlar ve deneme oranları

Yağ	Maisine, Peceol, Triacetin, IPM, Capryol 90
Sürfaktan	Labrasol, Tween 80, Tween 20, Kolliphor EL, Kolliphor RH40
Kosürfaktan	Transcutol-P, Etanol, Labrafil M
Sürfaktanın kosürfaktana oranı (S:CoS)	1:1, 1:2, 2:1, 3:1
Yağ : (S+CoS) Oranı	1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1

3.2.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi

Mikroemülsiyonlar belirli bir konsantrasyon aralığında oluşturulabilirler. Varoluş bölgesi yağ, su, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde karışımı arasındaki oranlar üçgen faz ya da pseudo üçlü faz diyagramlarında grafiksel olarak gösterilebilir. Üçgen faz diyagramında, diyagramın her köşesi belirli bir bileşenin %100'ünü temsil eder. Köşeler genellikle yüzey aktif madde yardımcı yüzey aktif madde, su fazı/ilaç veya yağ fazı/ilaç gibi iki bileşenin karışımını temsil eder. Üçgen faz diyagramı yağ fazı, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde karışımının su ile titrasyonunu takiben çizilebilir.¹

Önformülasyon çalışmalarından elde edilen bilgiler doğrultusunda mikroemülsiyonlarda hangi yağ, sürfaktan ve kosürfaktanlar ile çalışılacağına karar verildi. Sürfaktanın kosürfaktana oranı olarak 2:1, 1:1, 1:2, 3:1 oranları; yağ fazının sürfaktan ve kosürfaktan karışımına oranları ise 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 ve 9:1 olarak denendi ve formülasyonlar hazırlandı.

Karar verilen oranlarda hazırlanan mikroemülsiyonlar ön formülasyonda olduğu gibi su ile titrasyon yöntemiyle hazırlandı. Tartılan yağ fazının üzerine hesaplandığı üzere sürfaktan kosürfaktan karışımı eklenerek manyetik karıştırıcıda iyice karıştırıldı. Bu karışımın üzerine karışma işlemi devam

ederken damla damla su eklendi. Sistemin bulanıklaştığı veya jelleştiği noktaya gelindiği anda karıştırma işlemi sonlandırıldı ve sistemin aldığı su miktarı kaydedildi. Formülasyondaki tüm maddelerin yüzdesel olarak oranları hesaplandı ve köşelerinde yağ, sürfaktan ve kosürfaktan karışımı ile su yüzdesinin yazdığı üçgen faz diyagramları çizildi.

3.2.7. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçimi

Mikroemülsiyonun türü, iç yapısı, damlacık boyutu ve viskozitesi gibi özellikler formülasyondan ilaç salımını etkileyebilmektedir.⁴² Bu bağlamda ön formülasyon çalışmalarından elde edilen bilgiler doğrultusunda iyi olduğu düşünülen mikroemülsiyon formülasyonlarının üçgen faz diyagramları çizildi. Bu formülasyonlara etkin madde DFV yüklenerek damlacık boyutu ve PDI ölçümleri, su alma kapasiteleri, görünüm açısından şeffaflıkları değerlendirilerek uygun formülasyonlara karar verildi.

3.2.8. Seçilen Mikroemülsiyonlara DFV Yüklenmesi

Seçilen formülasyonlara %0,1 oranında DFV yüklendi. Diflukortolon valerat lipofilik yapıda olduğu için yağ fazının üzerine eklenerek, manyetik karıştırıcıda iyice çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine sürfaktan ve kosürfaktan karışımı eklendi. Su fazı da damla damla yavaşça eklenerek karışmaya bırakıldı. Hazırlanan mikromülsiyonlara antioksidan olarak %0,05 oranında bütül hidroksi tolueen (BHT) eklendi.

3.2.9. Mikroemülsiyonların Karakterizasyonlarına Yönelik Çalışmalar

Çalışmamızda seçilen mikroemülsiyon formülasyonları damlacık boyutu, PDI değeri, pH, fiziksel görünüş, refraktif indeks, iletkenlik, akış özellikleri ve stabilite açısından incelendi.

3.2.9.1. Fiziksel Görünüş

Hazırlanan mikroemülsiyonlar şeffaflık, renk, faz ayrımı olup olmadığının kontrolü gibi fiziki açılardan değerlendirildi.

3.2.9.2. Refraktif İndeks

Abbe refraktometre ile, bir sıvı veya katı numunenin refraktif indeksi (n), toplam yansımanın etkisi kullanılarak belirlenmektedir.⁴³ Hazırlanan etkin

maddeli mikroemülsiyonların refraktif indeksi Abbe 5 refraktometre cihazı ile ölçüldü. Refraktometre cihazının prizma kısmına mikroemülsiyon formülasyonlarından bir damla damlatılıp kapağı kapatıldı. Görüntünün netliği sağlanıncaya kadar ayarlama yapıldı ve ölçülen değer okundu. Her bir formülasyon 3 kez ölçülüp ortalaması alındı, SD değerleri hesaplandı.

3.2.9.3. pH

Mikroemülsiyonların pH değerleri Eutech Instruments PC 2700 pH metre/kondüktometre cihazıyla ölçüldü. Ölçüm öncesi cihazın kalibrasyonu yapıldı. Hem DFV yüklü hem de boş olarak hazırlanan her bir formülasyonun 3 kez ölçümü yapıldı, 3 değerın ortalaması alındı ve SD değeri hesaplandı.

3.2.9.4. İletkenlik

Mikroemülsiyonların iletkenlikleri Eutech Instruments PC 2700 pH metre/kondüktometre cihazıyla mikrosiemens (μS) birimi cinsinden ölçüldü. Ölçüm öncesi cihazın kalibrasyonu yapıldı. Hem DFV yüklü hem de boş olarak hazırlanan her bir formülasyonun 3 kez ölçümü yapıldı, 3 değerin ortalaması alındı ve SD değeri hesaplandı.

3.2.9.5. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi

Mikroemülsiyonların damlacık boyutu, ilacın perkütan emilimini etkilemektedir. Damlacık boyutu ne kadar küçük olursa, perkütan emilimin artma şansı da o kadar yüksektir.⁴⁴ Bu tez çalışmasında mikroemülsiyonların damlacık boyutu ve polidispersite indeksi eş zamanlı olarak dinamik ışık saçılımı esasına göre çalışan Malvern ZetaSizer Nano-ZS cihazıyla ölçüldü. Ölçüm için tek kullanımlık küvetler tercih edildi. Hem boş hem de DFV yüklü formülasyonların her biri için 3'er kez ölçüm yapıldı, ortalamaları alınıp SD değerleri hesaplandı.

3.2.9.6. Reolojik Özelliklerin Tayini

Mikroemülsiyonların reolojik özellikleri mevcut agregatların türüne, şekline, sayısına ve de bu agregatlar arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Bicontinuous mikroemülsiyonlar, düşük ila orta kayma hızında Newton davranışı (sabit viskozite) sergiler, ancak yüksek kayma hızında akışın incilmesi gözlenmektedir. Öte yandan diğer mikroemülsiyonlar, daha geniş bir kayma

oranı aralığında Newton davranışı sergilerler. Bununla beraber mikroemülsiyon türlerinin mikroemülsiyon yapısının tanımlanması tamamen reolojik verilere dayanılarak yapılamaz, çünkü bu makroskobik özellik, mikroemülsiyonun içindeki mikro yapısal değişiklikleri tespit edecek kadar hassas değildir.⁴⁵

Bu tez çalışmasında hazırlanan mikroemülsiyonların reolojik özellikleri ve viskoziteleri Haake RheoStress 1 reometre cihazı ile ölçüldü. Kayma gerilimi ve kayma hızı (shear rate, shearstress) testleri yapıldı. Ölçümler 25°C oda sıcaklığında, 60 mm.lik çap 1°açılı plate/plate sistemi (35 mm, gap 0.053 mm) kullanılarak yapıldı. Ölçümler sonucunda formülasyonların hangi akış modeline uyduğu tayin edildi ve kayma gerilimi ile viskozitesi ölçüldü. Her formülasyon için 3 ölçüm yapıldı.

3.2.9.7. Stabilité

Seçilmiş olan formülasyonların 25°C'e %60 relatif nem koşullarındaki stabilite kabininde (Nüve test cabinet, TC120) 3 ay süreyle takibi yapıldı. Stabilité takibinde damlacık boyutu, PDI değeri, pH ve etkin madde miktar tayini parametreleri incelendi.

3.2.10. *İn vitro* Salım Çalışmaları

Topikal formülasyonlardan ilaç salım çalışması yapmak için Franz difüzyon hücrelerini kullanmak uygun bir yöntemdir.⁴⁶ Bu tez çalışmasında da *in vitro* salım çalışması için Franz Difüzyon Hücresi (PermeGear, V6A Stirrer) kullanıldı. Donör faz ile reseptör faz arasına 0,22 µm por çaplı selüloz nitrat membran konuldu. Reseptör faz olarak Yöntem 3.2.4.2'de yapılan çözünürlük çalışmasında belirlenen pH 5.5 PBS ve etanol (60:40) karışımı kullanıldı. Deney 37,0 ± 0,5°C sabit sıcaklıkta çalışıldı. Reseptör hazneye reseptör faz konularak hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi ve içine düzeneği karıştırmak için manyetik balık atıldı. Üzerine selüloz nitrat membran konulduktan sonra donör hazne yerleştirildi. Donör faz olarak DFV içeren mikroemülsiyon formülasyondan 0,5 mL konuldu ve donör faz parafilm ile sıkıca kapatıldı. Aynı şekilde her saat başı numune alınan hattın uç kısmı da parafilmle iyice kapatıldı ve reseptör faz manyetik karıştırıcı yardımıyla 500 rpm'de karıştırıldı. Reseptör haznenin içinden 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 8. saatlerde sistemin karışması durdurulup, paslanmaz çelik enjektör yardımıyla 1 mL numune alındı. Alınan

numune yerine aynı hacimde reseptör faz eklendi, haznede hava kabarcığı varsa çıkarıldı ve hattın ucu parafilmle kapatılıp sistem tekrar açıldı. Alınan numuneler 0,45 µm membran filtreden viallere süzüldü ve HPLC'ye verildi. Her bir formülasyon için en az 6 hücre ile çalışıldı ve sonuçlar 240 nm dalga boyunda okundu.

3.2.11. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

In vitro salım çalışmasında elde edilen sonuçlar; Yöntem 3.2.4.1'deki reseptör ortam ile elde edilen doğru denklemi yardımıyla formülasyonların etkin madde içerikleri hesaplandı ve zamana karşı grafikleri çizildi. Formülasyonların salım profillerinin modellenmesi yapılarak determinasyon katsayıları (r^2) hesaplandı.

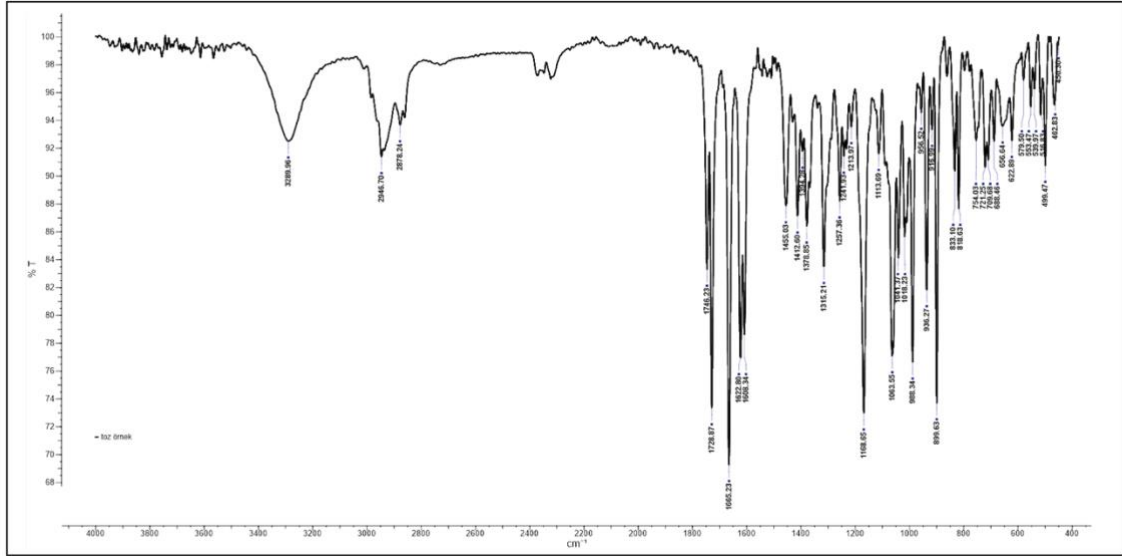
3.2.12. İstatistiksel Analiz

Mikroemülsiyon formülasyonlarının *in vitro* salım çalışması sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla GraphPad Prism 5.01, 1 way Anova, Dunnet's multiple Comparison Test kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlı fark değeri $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Diflukortolon valerat'ın Infrared (IR) spektrumu

Yöntem 3.2.1'de anlatıldığı üzere diflukortolon valerat'ın FTIR spektrumu incelendi. Şekil 4.1'de Diflukortolon valerat'ın FT-IR spektrumu verildi.

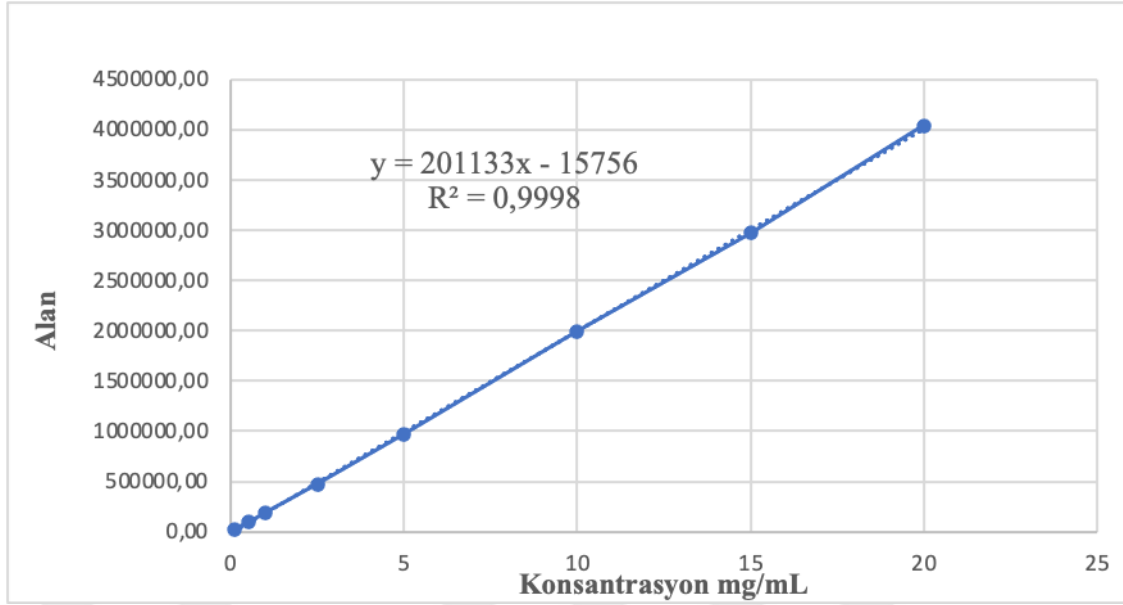


Şekil 4.1 Diflukortolon Valerat'ın FT- IR spektrumu

4.2. Miktar tayini yönteminin validasyonu

4.2.1. Doğrusallık

Yöntem 3.2.3.1'de anlatıldığı üzere mobil faz ile yapılan doğrusallık çalışmasının HPLC sonuçları Tablo 4.1'de pik alanlarının ortalaması, standart sapma değeri (SD) ve relatif standart sapma değeri (RSD), Şekil 4.2'de ise Tablo 4.1'de yer alan değerlerle çizilen doğru, Tablo 4.2'de ise doğru denklemi ve r^2 değeri yer almaktadır. Reseptör faz ile yapılan doğrusallık çalışmasının HPLC sonuçları ise Tablo 4.3'te pik alanlarının ortalaması, standart sapma değeri (SD) ve relatif standart sapma değeri (RSD), Şekil 4.3'te ise Tablo 4.3'te yer alan değerlerle çizilen doğru, Tablo 4.4'te ise doğru denklemi ve R^2 değeri yer almaktadır.



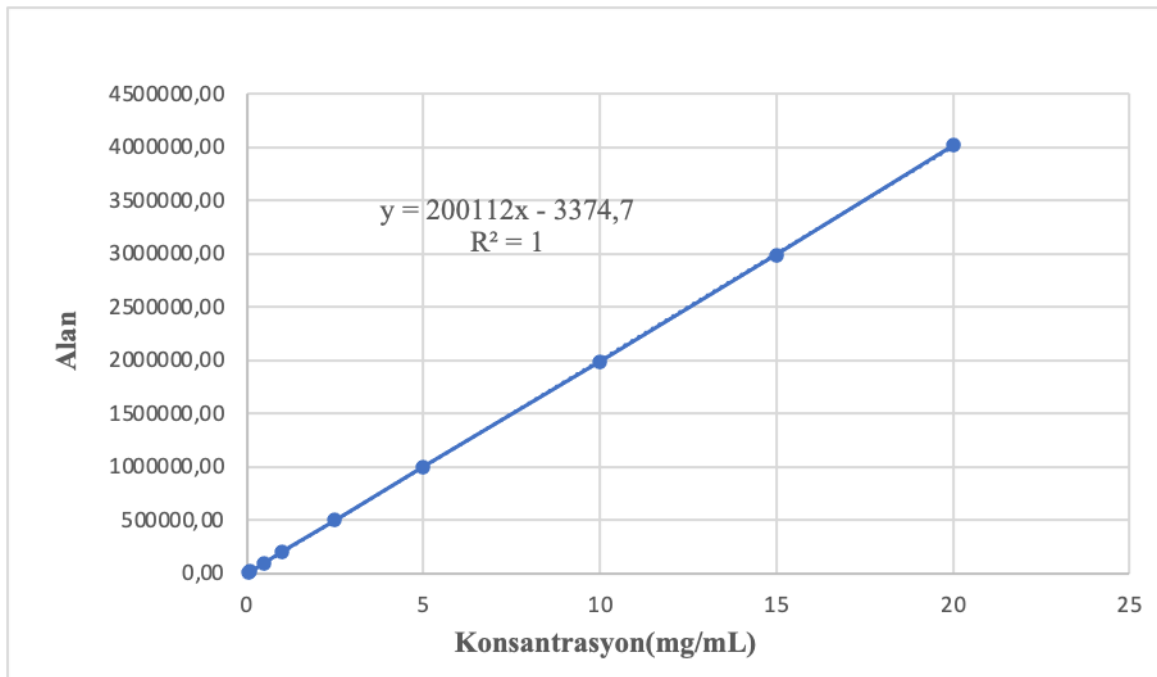
Şekil 4.2 Diflukortolon Valerat'ın mobil faz ile yapılan doğrusallık çalışmasından elde edilen standart doğru grafiği

Tablo 4.1 Diflukortolon Valerat'ın mobil faz ile yapılan miktar tayini yönteminin doğrusallığına ait bulgular

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD(%)
0,1	27229,67	494,76	1,82
0,5	93315,33	766,87	0,82
1	191774,67	1048,63	0,55
2,5	469687,00	1515,06	0,32
5	972824,67	3215,51	0,33
10	1992907,00	8019,34	0,40
15	2970182,33	14386,76	0,48
20	4037328,33	12170,87	0,30

Tablo 4.2 Mobil faz ile yapılan doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R² değeri

Doğru Denklemi	$y = 201133x - 15756$
Determinasyon Katsayısı (R²)	$R^2 = 0,9998$



Şekil 4.3 Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz ile yapılan doğrusallık çalışmasının standart doğru grafiği

Tablo 4.3 Diflukortolon valerat'ın reseptör faz ile yapılan miktar tayini yönteminin doğrusallığına ait bulgular

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD(%)
0,05	9999,00	90,07	0,90
0,1	20269,67	33,50	0,17

0,5	93874,67	70,87	0,08
1	203867,00	256,27	0,13
2,5	495741,67	717,05	0,14
5	999942,00	644,72	0,06
10	1986725,00	654,51	0,03
15	2985493,67	1319,17	0,04
20	4013136,00	6687,57	0,17

Tablo 4.4 Reseptör faz ile yapılan doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi ve R² değeri

Doğru Denklemi	$y = 200112x - 3374,7$
Determinasyon Katsayısı (R²)	$R^2 = 1$

4.2.2. Kesinlik

Yöntem 3.2.3.2’de anlatıldığı üzere mobil faz ile gerçekleştirilen kesinlik deneyi sonuçlarına göre gün içi kesinlik bulguları Tablo 4.5’te, günler arası kesinlik bulgularıysa Tablo 4.7’de verildi. Reseptör faz ile gerçekleştirilen kesinlik deneyi sonuçlarına göre ise gün içi kesinlik bulguları Tablo 4.6’da, günler arası kesinlik bulgularıysa Tablo 4.8’de verildi.

Tablo 4.5 Diflukortolon valerat’ın mobil faz ile yapılan miktar tayinini yönteminin gün içi kesinlik bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD(%)
1	203254,00	9516,73	4,68

2,5	491802,33	18537,83	3,77
5	978444,33	3361,47	0,34

Tablo 4.6 Diflukortolon valerat'ın reseptör faz ile yapılan miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD(%)
1	203155	1088	0,54
2,5	498876	2487	0,50
5	987259	13506	1,37
10	1991391	17598	0,88

Tablo 4.7 Diflukortolon valerat'ın mobil faz ile yapılan miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	1. gün	2. gün	3. gün	Ortalama	SD (±)	RSD(%)
1	192924	207280	200463	200222	7181	3,59
2,5	471262	500943	454459	475555	23537	4,95
5	975950	1000091	991027	989023	12195	1,23

Tablo 4.8 Diflukortolon valerat'ın reseptör faz ile yapılan miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	1.gün	2.gün	3.gün	Ortalama	SD (±)	RSD(%)
1	203961	203252	202858	203357	559	0,27
2,5	496101	501050	500670	499273	2754	0,55
5	1000540	1002125	1009650	1004105	4867	0,48
10	1987378	1966541	1952799	1968906	17410	0,88

4.2.3. Doğruluk

Yöntem 3.2.3.3'te anlatıldığı üzere doğruluk deneyi çalışıldı. Mobil faz ile çalışılan her plasebo formül için 3 konsantrasyondaki ortalama geri kazanma, ortalama geri kazanma yüzdesi, standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (RSD) değerleri Plasebo-I için Tablo 4.9'da, Plasebo-II için Tablo 4.10'da ve Plasebo-III formülasyonu için Tablo 4.11'de gösterildi. Reseptör faz ile yapılan deney sonuçları da Plasebo-I için Tablo 4.12'de, Plasebo-II için Tablo 4.13'te ve Plasebo-III formülasyonu için Tablo 4.14'te verildi.

Tablo 4.9 Plasebo-I formülasyonu için mobil faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanma	Ort (%)Geri Kazanma	SD (±)	RSD(%)
1	1,0031	100,3065	0,3201	0,3191
2,5	2,5691	102,7636	0,1012	0,0985
5	5,0561	101,1216	0,0977	0,0966

Tablo 4.10 Plasebo-II formülasyonu için mobil faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanma	Ort (%)Geri Kazanma	SD (±)	RSD(%)
1	0,9875	98,7470	0,4237	0,4290
2,5	2,5467	101,8669	1,1178	1,0973
5	5,0787	101,5735	0,6474	0,6373

Tablo 4.11 Plasebo-III formülasyonu için mobil faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanma	Ort (%)Geri Kazanma	SD (±)	RSD(%)
1	0,9708	97,0766	0,2330	0,2401
2,5	2,5145	100,5787	0,1087	0,1081
5	4,8669	97,3387	0,0855	0,0878

Tablo 4.12 Plasebo-I formülasyonu için reseptör faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanma	Ort (%)Geri Kazanma	SD (±)	RSD(%)
1	0,9873	98,7325	1,6597	1,6810
2,5	2,5402	101,6097	0,0602	0,0592

5	4,8850	97,7000	0,1606	0,1643
10	9,8868	98,8682	1,3275	1,3427

Tablo 4.13 Plasebo-II formülasyonu için reseptör faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanma	Ort (%)Geri Kazanma	SD (±)	RSD(%)
1	1,0234	102,3415	0,6804	0,6649
2,5	2,5486	101,9443	1,1836	1,1611
5	5,0032	100,0633	0,2139	0,2138
10	9,8878	98,8778	0,1219	0,1233

Tablo 4.14 Plasebo-III formülasyonu için reseptör faz ile yapılan doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanma	Ort (%)Geri Kazanma	SD (±)	RSD(%)
1	0,9823	98,2330	0,1966	0,2001
2,5	2,4845	99,3791	0,0265	0,0266
5	5,0041	100,0829	0,0468	0,0468
10	9,9365	99,3652	0,0395	0,0398

4.2.4. Seçicilik

Yöntem 3.2.3.4'te anlatıldığı üzere seçicilik çalışması yapıldı. Etkin maddesiz olarak hazırlanan formülasyonların Diflukortolon valerat'ın alanında pik vermedikleri görüldü.

4.2.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti

Yöntem 3.2.3.5'te anlatıldığı üzere TL ve MTL değerleri hesaplandı. Mobil faz ile yapılan deneyler sonucu TL değeri 0,018 ve MTL değeri 0,056 olarak hesaplandı. Reseptör faz ile yapılan deneyler sonucunda ise TL değeri 0,023 ve MTL değeri ise 0,07 olarak hesaplandı.

4.2.6. Numunelerin Stabilitesi

Yöntem 3.2.3.6'da anlatıldığı üzere numunelerin stabilite çalışmaları yapıldı. Hazırlanan ana stok çözeltisinden 3 gün boyunca gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC'de analiz edildi. Mobil faz ile hazırlanan standart çözeltilerin bozdolabında 3 gün boyunca stabil kaldığı görüldü. Mobil faz ile elde edilen analiz bulguları Tablo 4.15'te, reseptör faz ile elde edilen analiz bulguları Tablo 4.16'da verildi.

Tablo 4.15 Mobil faz ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesine ait bulgular

Konsantrasyon (µg/mL)	0.saat	24.saat	48.saat	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
1	191530	187039	187501	188690,00	2470,34	1,31
2,5	468240	466052	467504	467265,33	1113,35	0,24
5	969526	963761	968120	967135,67	3005,91	0,31

Tablo 4.16 Reseptör faz ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesine ait bulgular

Konsantrasyon (µg/mL)	0.saat	24.saat	48.saat	Ortalama	SD (±)	RSD(%)
1	203961	201841	199869	201890	2046	1,01
2,5	496101	494113	493127	494447	1514	0,31
5	1000540	997501	994431	997490	3054	0,31
10	1987378	1983866	1980519	1983921	3429	0,17

4.3. Çözünürlük Çalışmaları

4.3.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışması

Etkin maddenin formülasyon bileşenlerindeki çözünürlük çalışması Yöntem 3.2.4.1’de anlatıldığı üzere çalışıldı. Çözünürlük sonuçları Tablo 4.17’de verildi. Bu sonuçlara göre ön formülasyon çalışmalarında kullanılacak yardımcı maddeler seçildi.

Tablo 4.17 Diflukortolon valerat'ın yardımcı maddelerdeki çözünürlük bulguları

Yardımcı Madde	Çözünürlük Değeri (mg/g)
Maisine	19,59
Peceol	44,17
Capryol 90	29,50
Triacetin	12,32
İsopropil Miristat (IPM)	2,87
Labrafac PG	5,54

Labrafac Liphophile WL1349	5,28
Labrasol	19,77
Transcutol-P	62,11
Propilen glikol	3,32
PEG 400	7,21
Kolliphor EL	52,55
Tween 80	29,72
Tween 20	16,85

4.3.2. Etkin Maddenin Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması

Yöntem 3.2.4.2’de anlatıldığı üzere etkin maddenin çözünme ortamlarındaki çözünürlük çalışması yapıldı, sonuçlar Tablo 4.18’de verildi. Elde edilen sonuçlara göre *in vitro* salım çalışmasında kullanılacak olan çözünme ortamı olarak pH 5.5 PBS + etanol (60:40) karışımı seçildi.

Tablo 4.18 Diflukortolon valerat'ın çözünme ortamlarındaki çözünürlük bulguları

Yardımcı Madde	Çözünürlük Değeri (mg/mL)
pH 5.5 PBS + Etanol (50:50)	1,071804
pH 5.5 PBS + Etanol (60:40)	0,152825
pH 5.5 PBS + Etanol (70:30)	0,037912
pH 5.5 PBS + PEG 400 (70:30)	0,027984
pH 5.5 PBS + Tween 80 (98:2)	0,062485

pH 5.5 PBS + Transcutol-P (95:5)	0,001609
pH 7.4 PBS + Etanol (50:50)	0,695017
pH 7.4 PBS + Etanol (60:40)	0,139337
pH 7.4 PBS + Etanol (70:30)	0,026265
pH 7.4 PBS + PEG 400 (70:30)	0,012887
pH 7.4 PBS + Tween 80 (98:2)	0,059961
pH 7.4 PBS + Transcutol-P (95:5)	0,002369

4.4. Önformülasyon Çalışmaları

Yöntem 3.2.5'te belirtildiği üzere Tablo 3.4'te kullanılan maddelerin farklı oranlarda kullanımlarıyla mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilmeye çalışıldı. İlk etapta görsel olarak kriterleri karşılayan, beklediği halde transparan kalan formülasyonlar ve su içinde yağ tipi mikroemülsiyon hedeflendiği için su tutma kapasitesi yüksek olan formülasyonlar seçildi. Bu formüller damlacık boyutu ve polidispersite ölçümleri açısından değerlendirildi.

Önformülasyon çalışmalarında yağ fazı olarak Maisine, Peceol, Capryol 90, IPM ve Triacetin denendi. Maisine, Peceol ve Triacetin ile hazırlanan formülasyonların hem su tutma kapasitelerinin yüksekliği hem de damlacık boyutu açısından uygun olmaları sebebiyle formülasyonlarda bu 3 yağın kullanılmasına karar verildi.

Sürfaktan olarak Labrasol, Kolliphor EL, Kolliphor RH40, Tween 80 ve Tween 20; kosürfaktan olarak da Transcutol-P, etanol ve Labrafil M ile formülasyonlar denendi. Sürfaktan: kosürfaktan oranı olarak 1:1, 1:2, 2:1, 3:1 ve 4:1 oranları denendi. Damlacık boyutu, polidispersite indeksi, görünüm ve su tutma kapasitesi açısından en uygun sonuçların sürfaktan olarak Labrasol, kosürfaktan olarak da Transcutol-P'nin 1:1, 1:2, 2:1, 3:1 oranlarında kullanıldığı formüller olduğu görüldü.

4.5. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi

Önformülasyon çalışmalarında elde edilen sonuçlarla seçilen yağ, sürfaktan, kosürfaktanlarla, belirlenen oranlarda hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarıyla Yöntem 3.2.6'da belirtildiği şekilde üçgen faz diyagramları çizildi ve mikromemülsiyon alanları belirlendi.

Yağ fazı olarak Triacetin'in kullanıldığı, Labrasol/Transcutol-P oranının 3:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve oranları Tablo 4.19'da, bu formülasyona ait üçgen faz diyagramı Şekil 4.4'te; Labrasol/Transcutol-P oranının 1:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve oranları Tablo 4.20'de, bu formülasyona ait üçgen faz diyagramı şekil 4.5'te; Labrasol/Transcutol-P oranının 2:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve oranları Tablo 4.21'de, bu formülasyona ait üçgen faz diyagramı şekil 4.6'da gösterilmiştir.

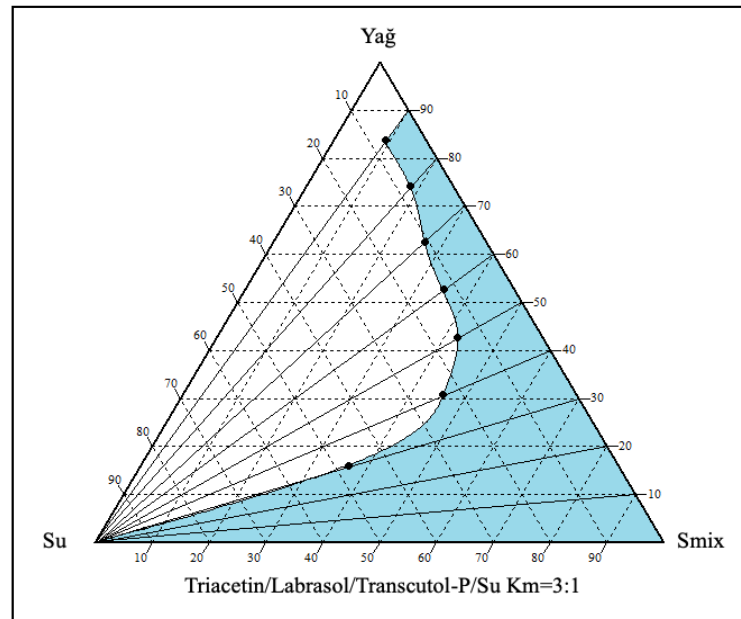
Yağ fazı olarak Maisine'in kullanıldığı, Labrasol/Transcutol-P oranının 2:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve oranları Tablo 4.22'de, bu formülasyona ait üçgen faz diyagramı Şekil 4.7'de; Labrasol/Transcutol-P oranının 1:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve oranları Tablo 4.23'te, bu formülasyona ait üçgen faz diyagramı Şekil 4.8'de gösterildi.

Yağ fazı olarak Peceol'ün kullanıldığı, Labrasol/Transcutol-P oranının 1:1 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve oranları Tablo 4.24'te, bu formülasyona ait üçgen faz diyagramı Şekil 4.9'da; Labrasol/Transcutol-P oranının 1:2 olduğu formülasyonların üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve oranları Tablo 4.25'te, bu formülasyona ait üçgen faz diyagramı Şekil 4.10'da gösterildi.

Tablo 4.19 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 3:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları

No	Yağ: (S+Cos)	Triacetin (g)	S-mix (g)	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	*
2	2:8	0,4	1,6	*
3	3:7	0,6	1,4	1,8
4	4:6	0,8	1,2	0,61
5	5:5	1	1	0,35
6	6:4	1,2	0,8	0,28
7	7:3	1,4	0,6	0,24
8	8:2	1,6	0,4	0,16
9	9:1	1,8	0,2	0,15

**Bulanıklaşma gözlenmedi.*

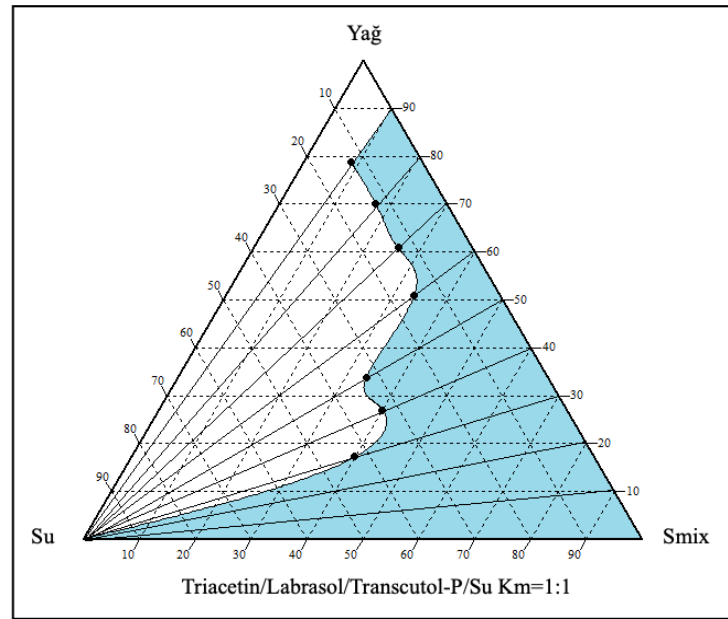


Şekil 4.4 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 3:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.20 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları

No	Yağ: (S+Cos)	Triacetin (g)	S-mix (g)	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	*
2	2:8	0,4	1,6	*
3	3:7	0,6	1,4	1,5
4	4:6	0,8	1,2	0,99
5	5:5	1	1	0,96
6	6:4	1,2	0,8	0,36
7	7:3	1,4	0,6	0,29
8	8:2	1,6	0,4	0,3
9	9:1	1,8	0,2	0,3

**Bulanıklaşma gözlenmedi.*

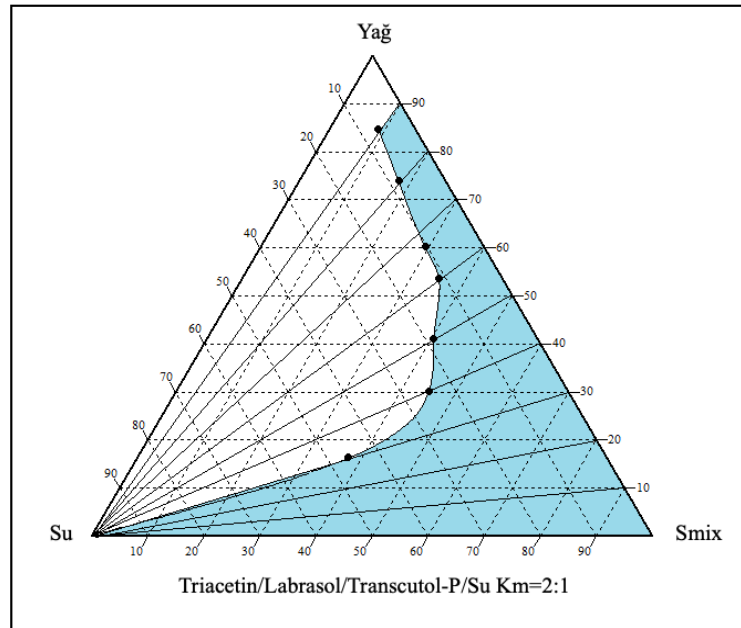


Şekil 4.5 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.21 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları

No	Yağ: (S+Cos)	Triacetin (g)	S-mix (g)	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	*
2	2:8	0,4	1,6	*
3	3:7	0,6	1,4	1,7
4	4:6	0,8	1,2	0,66
5	5:5	1	1	0,45
6	6:4	1,2	0,8	0,25
7	7:3	1,4	0,6	0,24
8	8:2	1,6	0,4	0,18
9	9:1	1,8	0,2	0,14

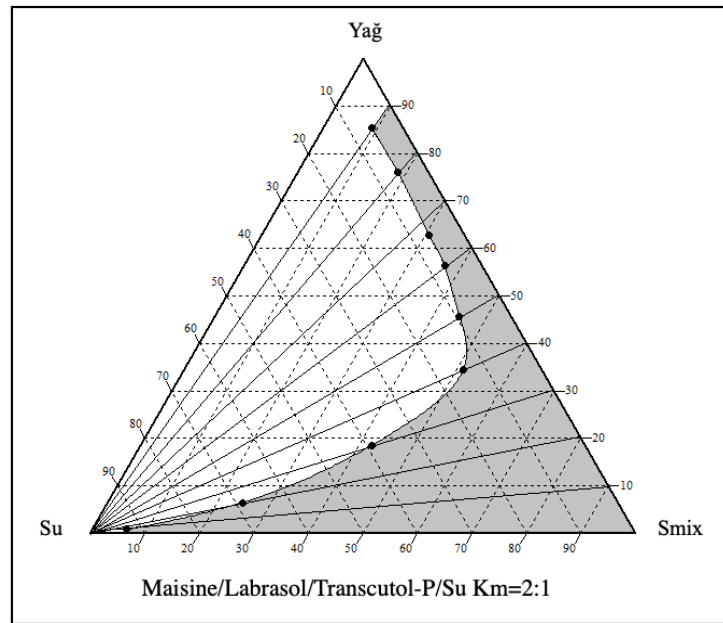
**Bulanıklaşma gözlenmedi*



Şekil 4.6 Yağ fazı Triacetin, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.22 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları

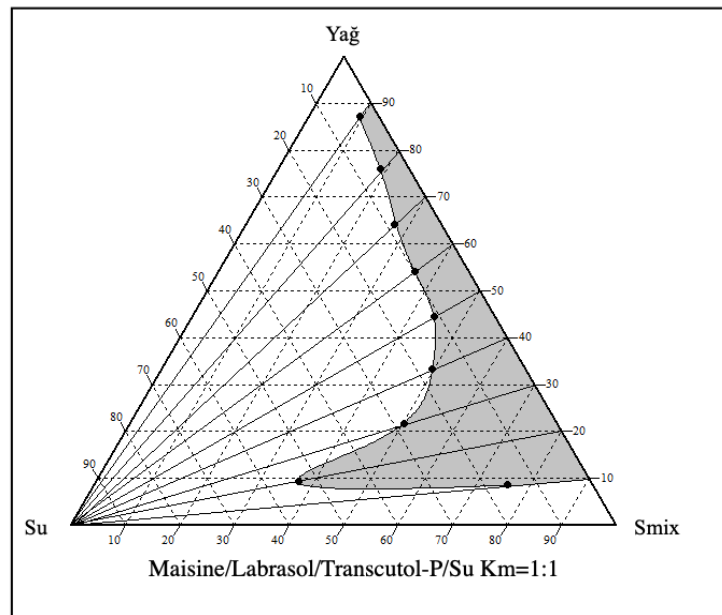
No	Yağ: (S+Cos)	Maisine (g)	S-mix (g)	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	26,29
2	2:8	0,4	1,6	4,4
3	3:7	0,6	1,4	1,28
4	4:6	0,8	1,2	0,336
5	5:5	1	1	0,208
6	6:4	1,2	0,8	0,146
7	7:3	1,4	0,6	0,148
8	8:2	1,6	0,4	0,12
9	9:1	1,8	0,2	0,12



Şekil 4.7 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 2:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.23 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları

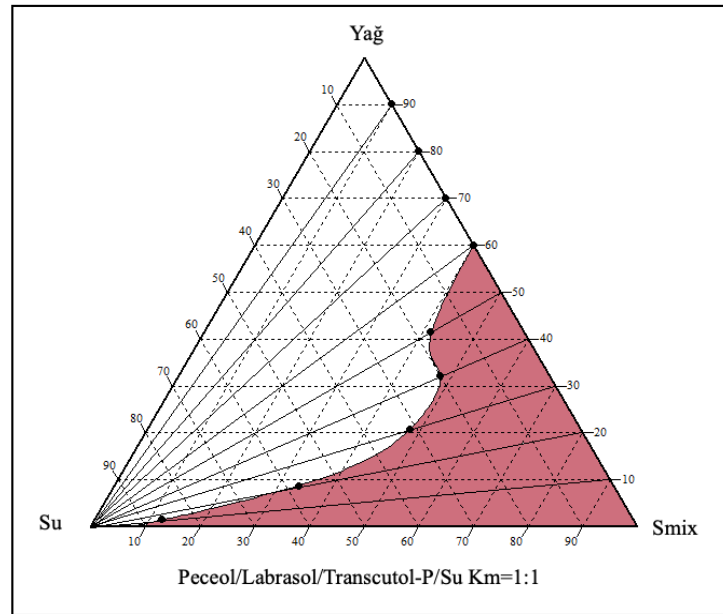
No	Yağ: (S+Cos)	Maisine (g)	S-mix (g)	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	0,37
2	2:8	0,4	1,6	4,61
3	3:7	0,6	1,4	0,78
4	4:6	0,8	1,2	0,41
5	5:5	1	1	0,25
6	6:4	1,2	0,8	0,22
7	7:3	1,4	0,6	0,19
8	8:2	1,6	0,4	0,11
9	9:1	1,8	0,2	0,07



Şekil 4.8 Yağ fazı Maisine, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.24 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları

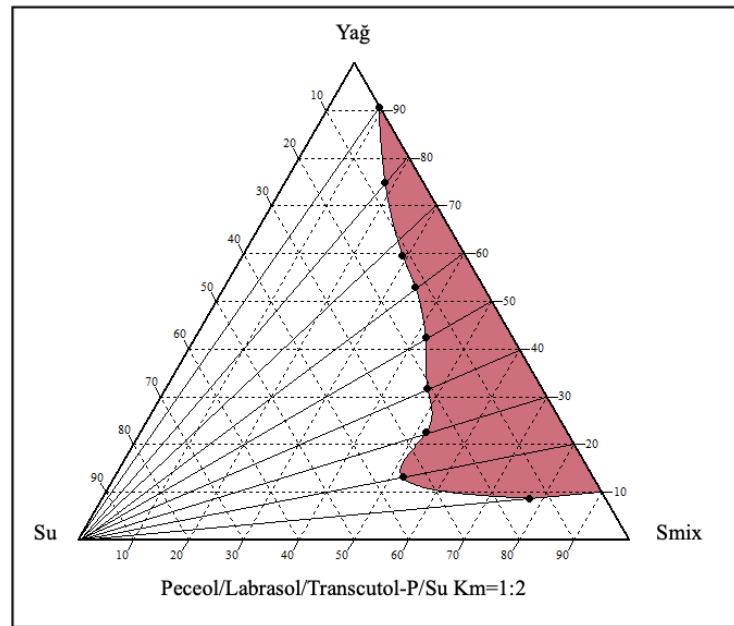
No	Yağ: (S+Cos)	Maisine (g)	S-mix (g)	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	12,435
2	2:8	0,4	1,6	2,72
3	3:7	0,6	1,4	0,91
4	4:6	0,8	1,2	0,5
5	5:5	1	1	0,41
6	6:4	1,2	0,8	Bulanık
7	7:3	1,4	0,6	Bulanık
8	8:2	1,6	0,4	Bulanık
9	9:1	1,8	0,2	Bulanık



Şekil 4.9 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:1 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı

Tablo 4.25 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:2 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı için kullanılan malzemeler ve miktarları

No	Yağ: (S+Cos)	Maisine (g)	S-mix (g)	Su (g)
1	1:9	0,2	1,8	0,32
2	2:8	0,4	1,6	2,08
3	3:7	0,6	1,4	0,68
4	4:6	0,8	1,2	0,53
5	5:5	1	1	0,37
6	6:4	1,2	0,8	0,28
7	7:3	1,4	0,6	0,27
8	8:2	1,6	0,4	0,15
9	9:1	1,8	0,2	Bulanık



Şekil 4.10 Yağ fazı Peceol, Labrasol/Transcutol-P oranı 1:2 olan mikroemülsiyon formülasyonunun üçgen faz diyagramı

4.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçilmesi

Önformülasyon çalışmaları sonucunda çizilen üçgen faz diyagramları dikkate alınarak, hazırlanan formülasyonlar damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve su tuma yüzdeleri bakımından değerlendirildi. Değerlendirme sonuçlarına göre Tablo 4.26’da belirtilen formüller seçildi.

Tablo 4.26 Önformülasyon çalışmaları sonucunda karar verilen mikroemülsiyon formülasyonları

Form. Adı	S:CoS	DFV (%)	BHT (%)	Maisine (%)	Peceol (%)	Triacetin (%)	Labrasol (%)	Transcutol- P (%)	Su (%)
MLT1	2:1	0,1	0,05	14	-	-	37,5	18,5	30
MLT2	1:1	0,1	0,05	14	-	-	28	28	30
MLT3	1:1	0,1	0,05	13,5	-	-	25,75	25,75	35
MLT4	1:1	0,1	0,05	11	-	-	22	22	45
MLT5	1:1	0,1	0,05	12	-	-	24	24	40
MLT6	2:1	0,1	0,05	15	-	-	40	20	25
MLT7	1:1	0,1	0,05	15	-	-	30	30	25
PLT1	1:2	0,1	0,05	-	14	-	18,7	37,3	30
PLT2	1:1	0,1	0,05	-	12	-	24	24	40
PLT3	1:1	0,1	0,05	-	11	-	22	22	45
PLT4	1:1	0,1	0,05	-	14	-	25,5	25,5	35
TLT1	1:1	0,1	0,05	-	-	13	26	26	35
TLT2	2:1	0,1	0,05	-	-	12	32	16	40
TLT3	2:1	0,1	0,05	-	-	20,5	33	16,5	30

TLT4	3:1	0,1	0,05	-	-	7	43,5	14,5	35
TLT5	2:1	0,1	0,05	-	-	22,5	35	17,5	25

4.7. Seçilen Mikroemülsiyonlara DFV Yüklenmesi

Tablo 4.26’da gösterilen, seçilmiş olan formülasyonlara Yöntem 3.2.8’de anlatıldığı şekilde %0,1 oranında Diflukortolon valerat ve antioksidan olarak %0,05 oranında BHT yüklendi.

4.8. Mikroemülsiyonların Karakterizasyonuna Yönelik Çalışmalar

4.8.1. Fiziksel Görünüş

Seçilen formülasyonların etkin madde ve antioksidan eklendikten sonra da fiziksel görünüş açısından homojen ve şeffaf oldukları gözlemlendi. Herhangi bir faz ayrımı ya da bulanıklaşmaya rastlanmadı.

4.8.2. Refraktif İndeks

Yöntem 3.2.9.2’de anlatıldığı şekilde seçilen formülasyonların refraktif indeksleri ölçüldü ve sonuçlar Tablo 4.27’de gösterildi.

Tablo 4.27 Seçilmiş olan DFV yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının refraktif indeks değerleri

Formülasyon	Refraktif İndeks Değeri
MLT1	1,427
MLT2	1,424
MLT3	1,418
MLT4	1,406
MLT5	1,412
MLT6	1,432

MLT7	1,430
PLT1	1,422
PLT2	1,412
PLT3	1,405
PLT4	1,418
TLT1	1,412
TLT2	1,408
TLT3	1,418
TLT4	1,417
TLT5	1,422

4.8.3. pH

Yöntem 3.2.9.3'te anlatıldığı şekilde seçilen mikroemülsiyon formülasyonlarının pH değerleri ölçüldü, sonuçlar Tablo 4.28'de verildi.

Tablo 4.28 Seçilmiş olan mikroemülsiyon formülasyonlarının pH değerleri

Formülasyon	pH	
	Boş Formülasyonlar	DFV Yüklü Formülasyonlar
MLT1	5,8 ± 0,1	4,78 ± 0,02
MLT2	5,73 ± 0,06	5,75 ± 0,03
MLT3	5,60 ± 0,05	4,90 ± 0,07

MLT4	4,49 ± 0,04	4,81 ± 0,05
MLT5	4,51 ± 0,03	4,93 ± 0,02
MLT6	4,83 ± 0,04	4,96 ± 0,01
MLT7	4,93 ± 0,03	4,90 ± 0,08
PLT1	4,93 ± 0,03	4,86 ± 0,03
PLT2	4,29 ± 0	4,54 ± 0,04
PLT3	4,13 ± 0,03	4,34 ± 0,03
PLT4	4,53 ± 0,02	4,64 ± 0,04
TLT1	4,79 ± 0,05	4,55 ± 0,04
TLT2	4,45 ± 0,02	4,50 ± 0,07
TLT3	5,2 ± 0,07	4,84 ± 0,05
TLT4	4,48 ± 0,01	4,81 ± 0,02
TLT5	4,56 ± 0,05	5,01 ± 0,12

4.8.4. İletkenlik

Yöntem 3.2.9.4'te anlatıldığı üzere seçilen formülasyonların iletkenlikleri ölçüldü, ölçüm sonuçları Tablo 4.29'da verildi.

Tablo 4.29 Seçilmiş olan mikroemülsiyon formülasyonlarının iletkenlik değerleri

Formülasyon	İletkenlik ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	
	Boş Formülasyonlar	DFV Yüklü Formülasyonlar
MLT1	$21,59 \pm 1,82$	$11,69 \pm 0,21$
MLT2	$5,64 \pm 0,52$	$3,45 \pm 0,05$
MLT3	$10,54 \pm 0,10$	$16,52 \pm 1,22$
MLT4	$22,93 \pm 0,49$	$38,27 \pm 3,13$
MLT5	$17,37 \pm 0,53$	$32,12 \pm 2,09$
MLT6	$6,23 \pm 0,06$	$6,50 \pm 0,01$
MLT7	$5,23 \pm 0,01$	$5,91 \pm 0,01$
PLT1	$3,90 \pm 0,03$	$7,16 \pm 0,05$
PLT2	$13,32 \pm 0,00$	$14,10 \pm 0,12$
PLT3	$18,70 \pm 0,09$	$18,63 \pm 0,09$
PLT4	$10,27 \pm 0,04$	$11,23 \pm 0,08$
TLT1	$13,6 \pm 0,46$	$10,55 \pm 0,02$
TLT2	$16,30 \pm 0,18$	$16,09 \pm 0,04$
TLT3	$9,15 \pm 0,21$	$12,58 \pm 0,12$
TLT4	$13,91 \pm 0,03$	$19,17 \pm 0,21$
TLT5	$6,24 \pm 0,06$	$10,64 \pm 0,65$

4.8.5. Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi

Yöntem 3.2.9.5'te anlatıldığı şekilde seçilen formülasyonların damlacık boyutu ve PDI değerleri ölçüldü. Tablo 4.31'de damlacık boyutu ölçümleri, Tablo 4.30'da ise PDI ölçümleri verildi.

Seçilen etkin madde yüklü ve boş formülasyonların damlacık boyutlarına ait grafikler Şekil 4.11-42 aralığında verildi.

Tablo 4.30 Seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarına ait polidispersite indeksi değerleri

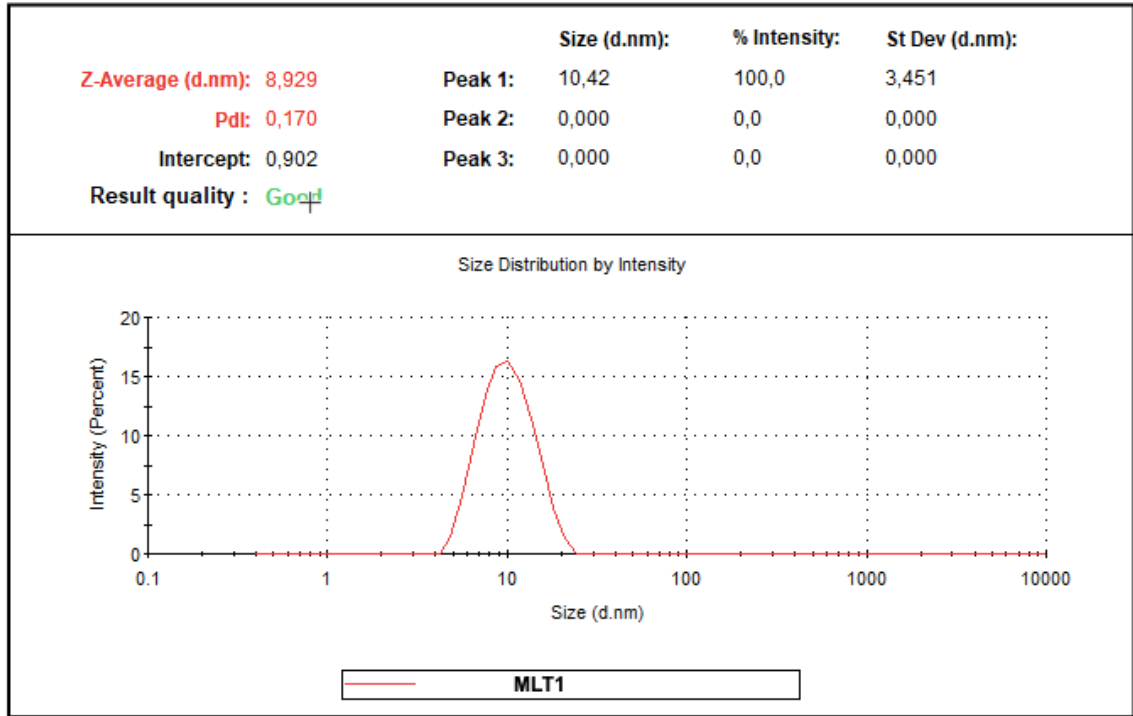
Formülasyon	Polidispersite İndeksi	
	Boş Formülasyonlar	DFV Yüklü Formülasyonlar
MLT1	0,18 ± 0,02	0,33 ± 0,03
MLT2	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,03
MLT3	0,17 ± 0,03	0,20 ± 0,02
MLT4	0,19 ± 0,02	0,20 ± 0,03
MLT5	0,17 ± 0,04	0,18 ± 0,01
MLT6	0,13 ± 0,02	0,23 ± 0,08
MLT7	0,11 ± 0,03	0,15 ± 0,08
PLT1	0,09 ± 0,04	0,09 ± 0,04
PLT2	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,02
PLT3	0,09 ± 0,05	0,14 ± 0,04
PLT4	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,03
TLT1	0,28 ± 0,03	0,21 ± 0,05

TLT2	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,03
TLT3	0,18 ± 0,02	0,21 ± 0,02
TLT4	0,25 ± 0,01	0,23 ± 0,05
TLT5	0,27 ± 0,07	0,42 ± 0,11

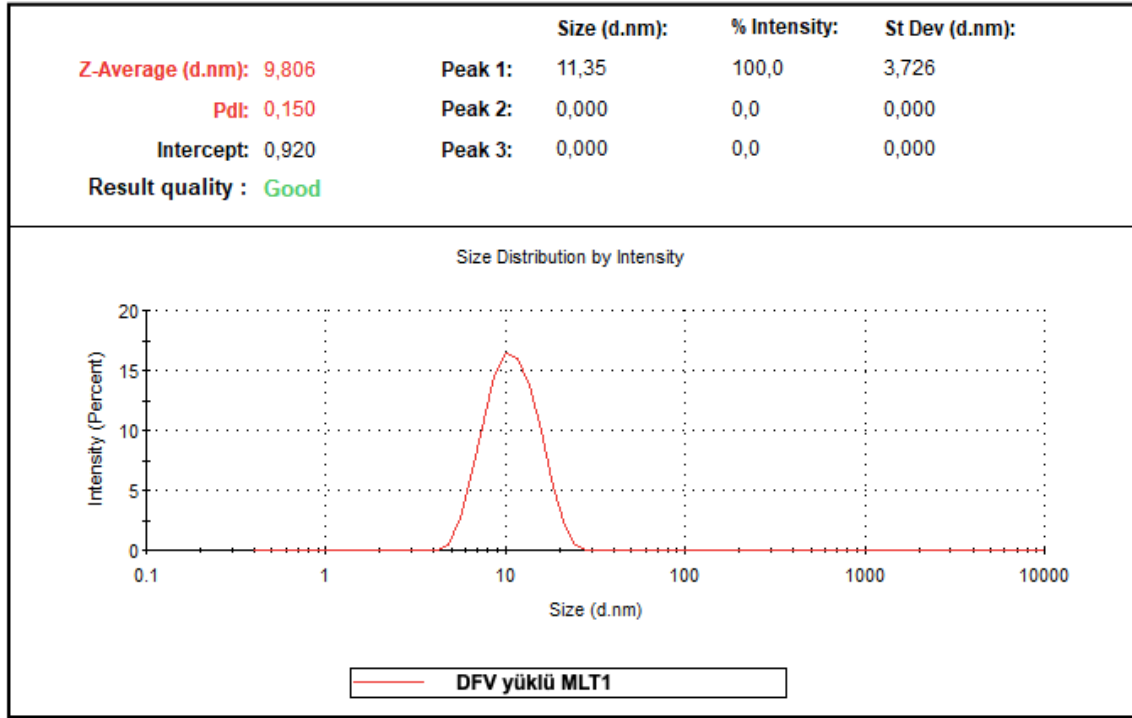
Tablo 4.31 Seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarına ait damlacık boyutu değerleri

Formülasyon	Damlacık Boyutu (nm)	
	Boş Formülasyonlar	DFV Yüklü Formülasyonlar
MLT1	9,01 ± 0,13	12,42 ± 0,19
MLT2	15,82 ± 0,25	16,75 ± 0,37
MLT3	15,43 ± 0,32	17,03 ± 0,23
MLT4	15,24 ± 0,22	14,58 ± 0,39
MLT5	15,17 ± 0,21	15,47 ± 0,42
MLT6	9,88 ± 0,1	12,81 ± 4,11
MLT7	16,99 ± 0,29	17,33 ± 0,85
PLT1	24,04 ± 0,36	25,7 ± 0,63
PLT2	10,32 ± 0,12	11,13 ± 0,2
PLT3	21,83 ± 0,69	14,06 ± 0,43
PLT4	8,90 ± 0,08	10,06 ± 0,41

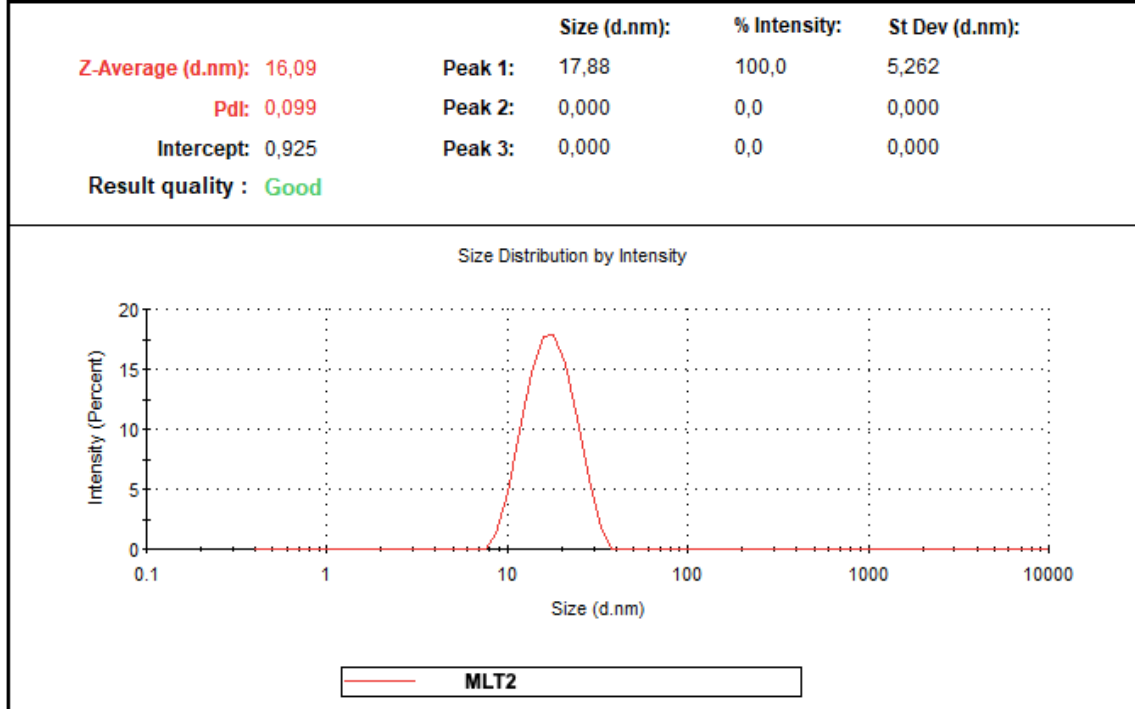
TLT1	$2,27 \pm 0,03$	$4,30 \pm 1,29$
TLT2	$3,43 \pm 0,04$	$3,85 \pm 0,15$
TLT3	$5,65 \pm 0,17$	$7,33 \pm 0,63$
TLT4	$2,94 \pm 0,03$	$3,86 \pm 0,71$
TLT5	$3,95 \pm 0,36$	$18,45 \pm 7,37$



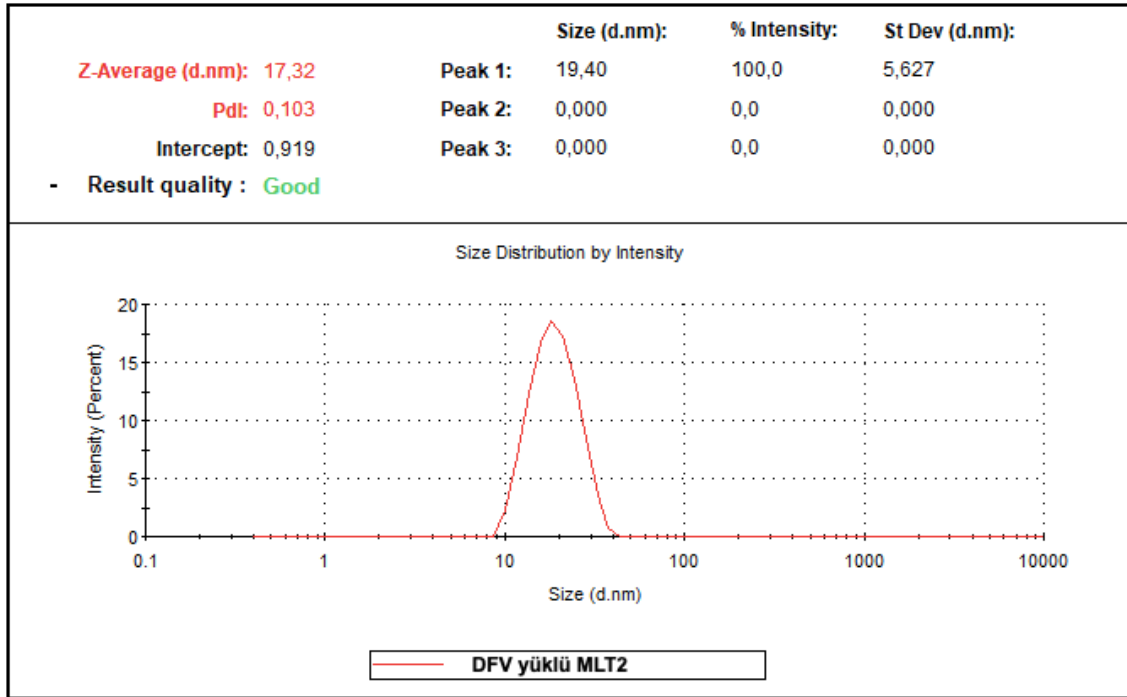
Şekil 4.11 MLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



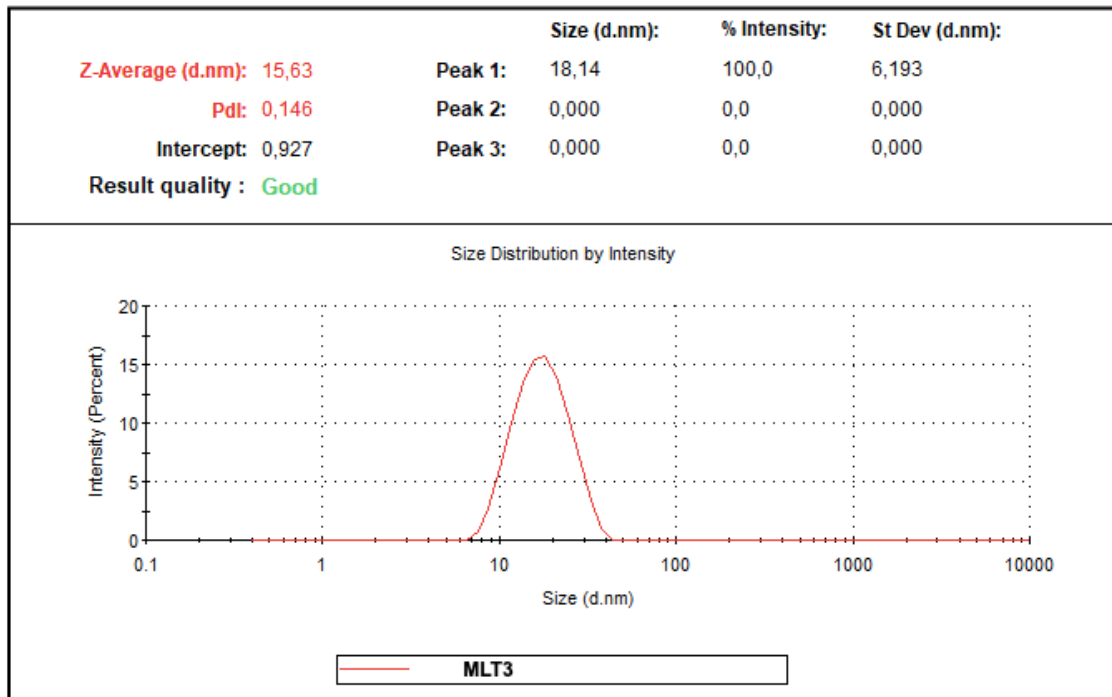
Şekil 4.12 DFV yüklü MLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



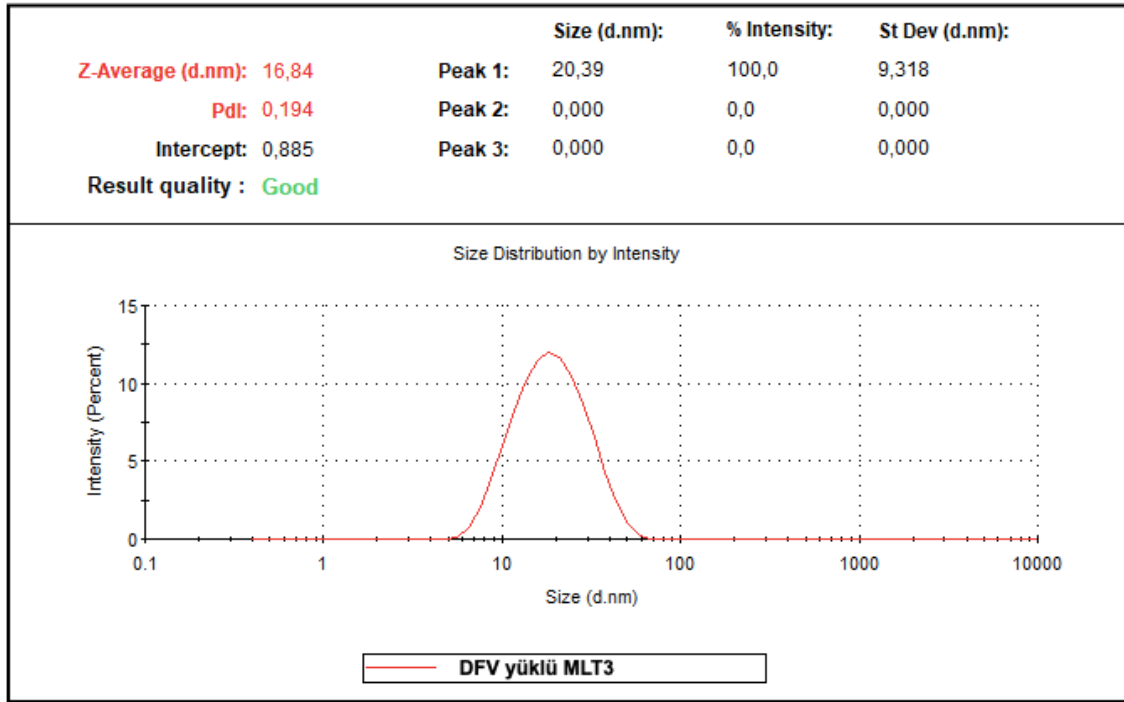
Şekil 4.13 MLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



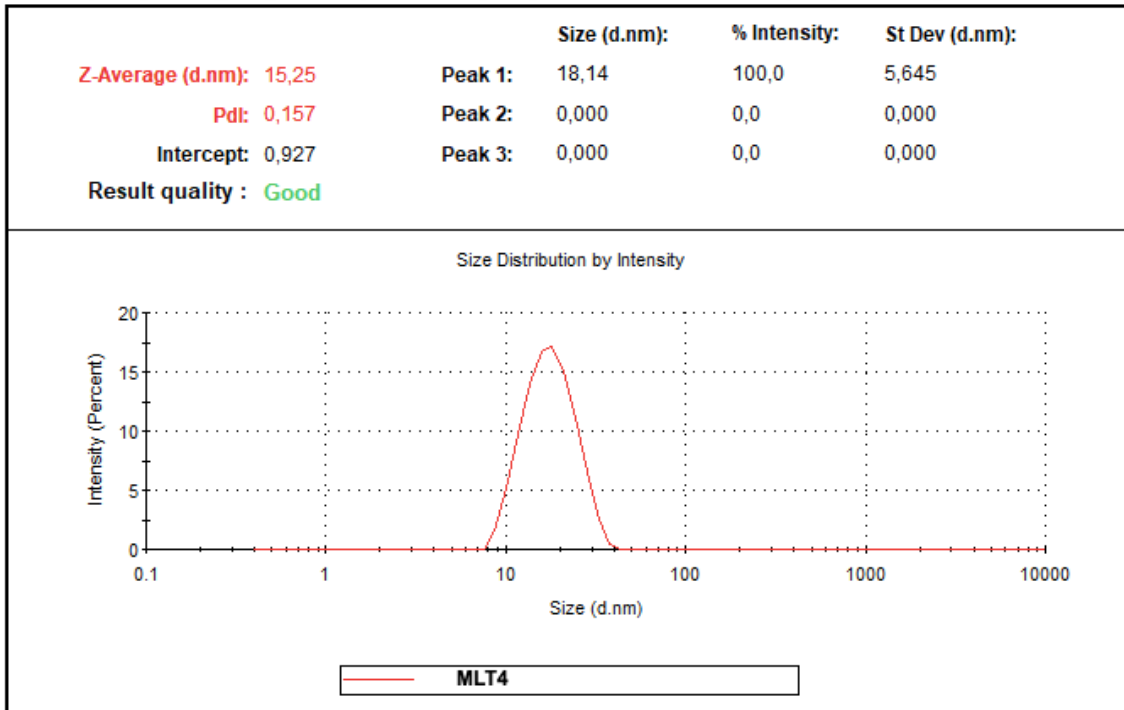
Şekil 4.14 DFV yüklü MLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



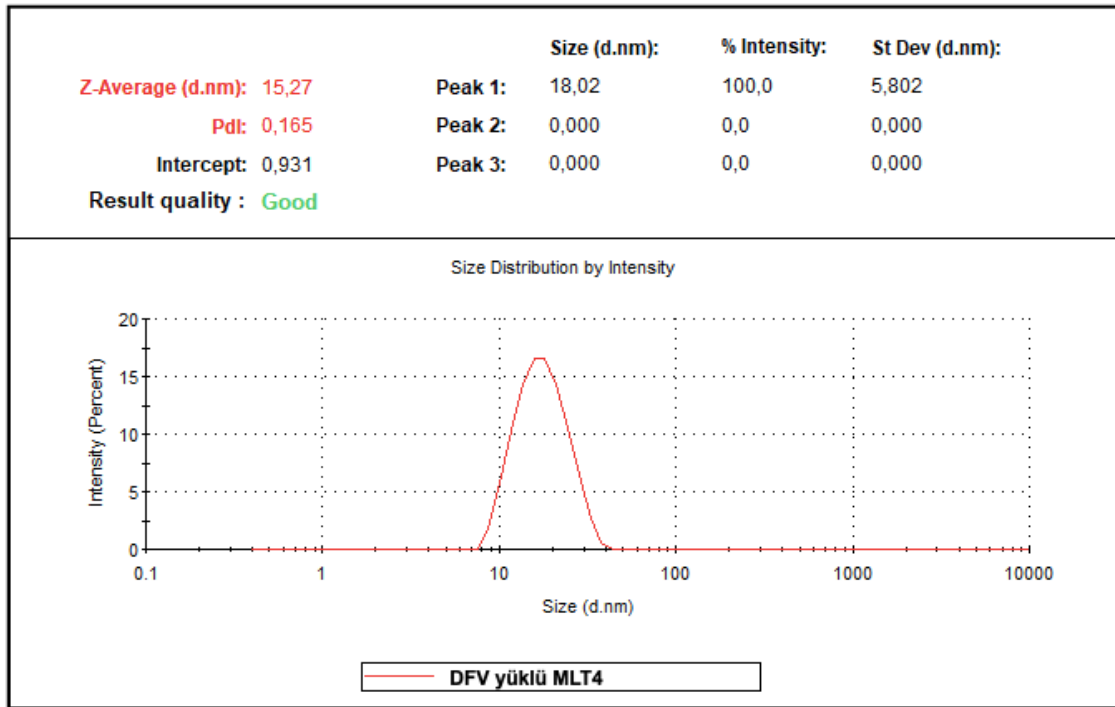
Şekil 4.15 MLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



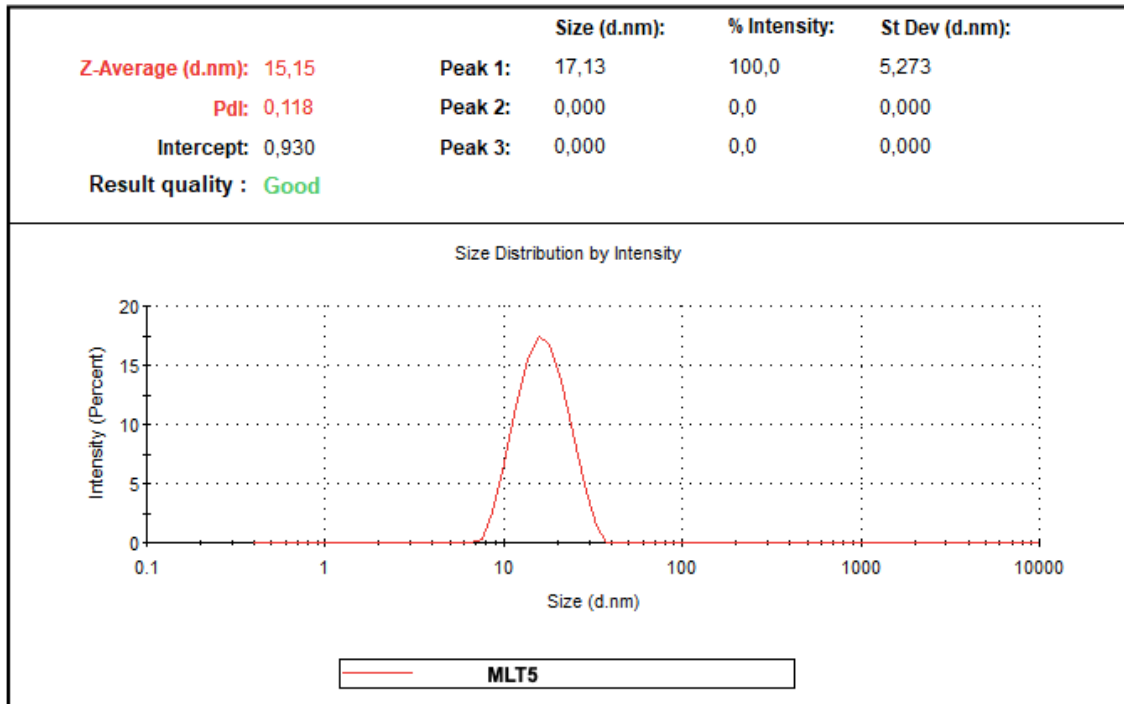
Şekil 4.16 DFV yüklü MLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



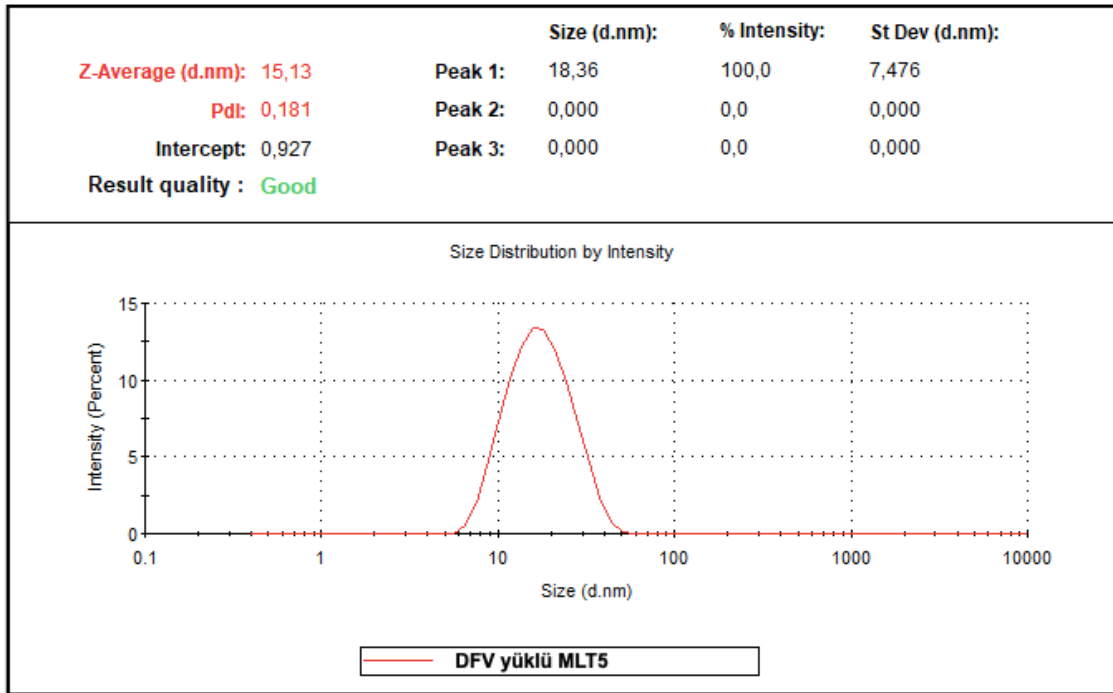
Şekil 4.17 MLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



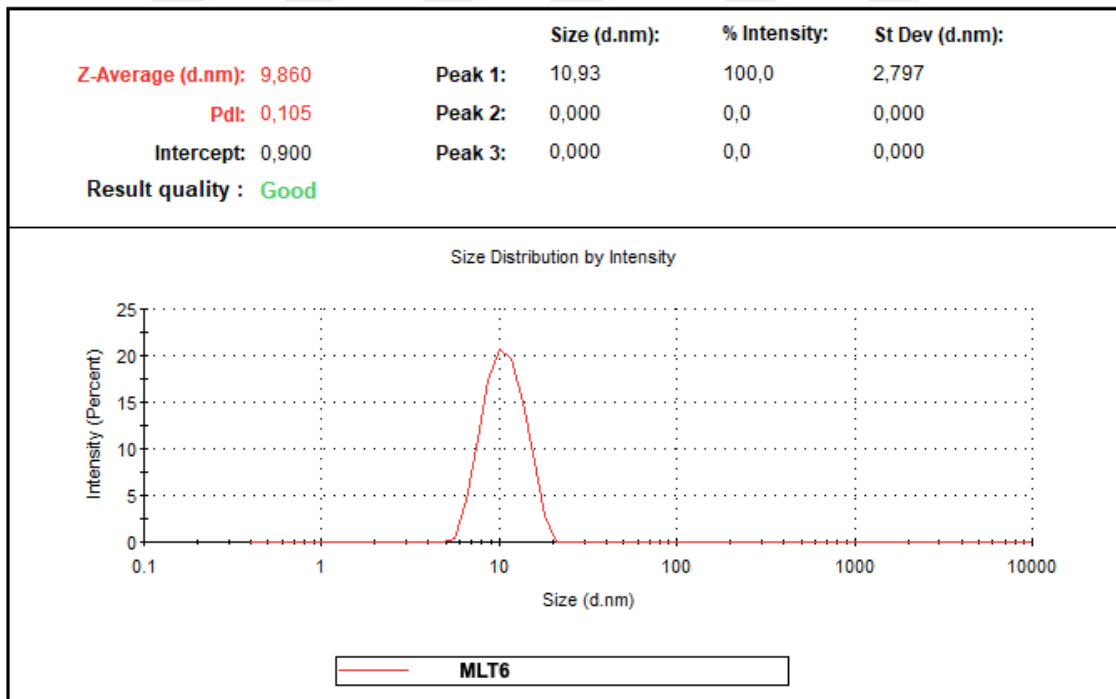
Şekil 4.18 DFV yüklü MLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



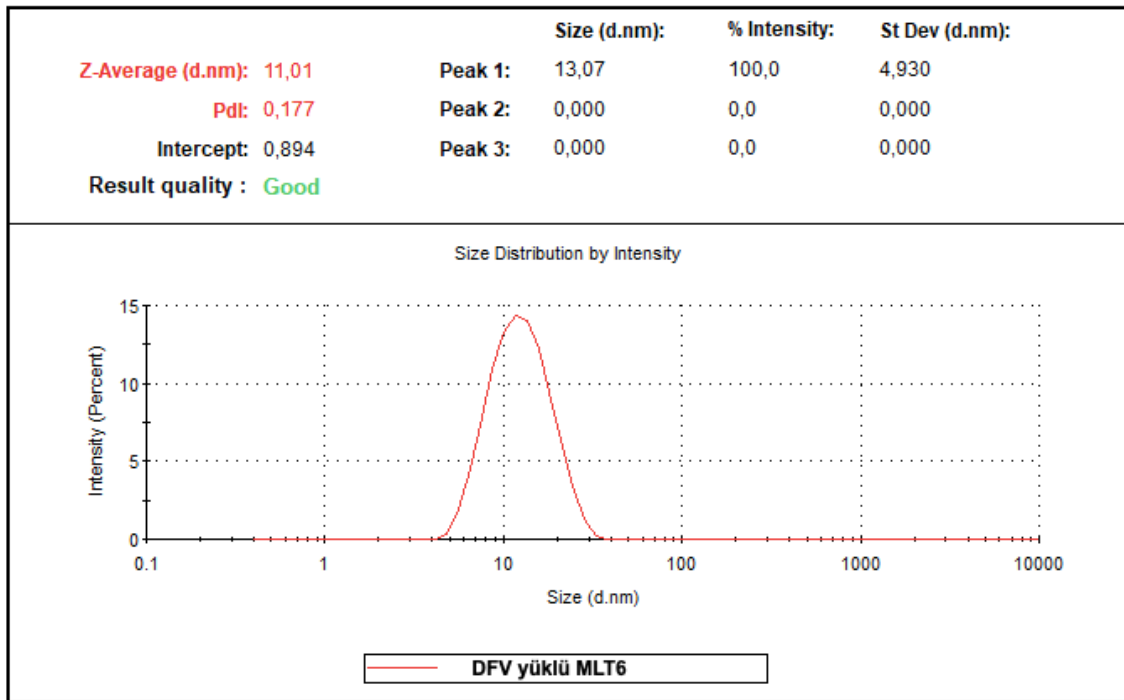
Şekil 4.19 MLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



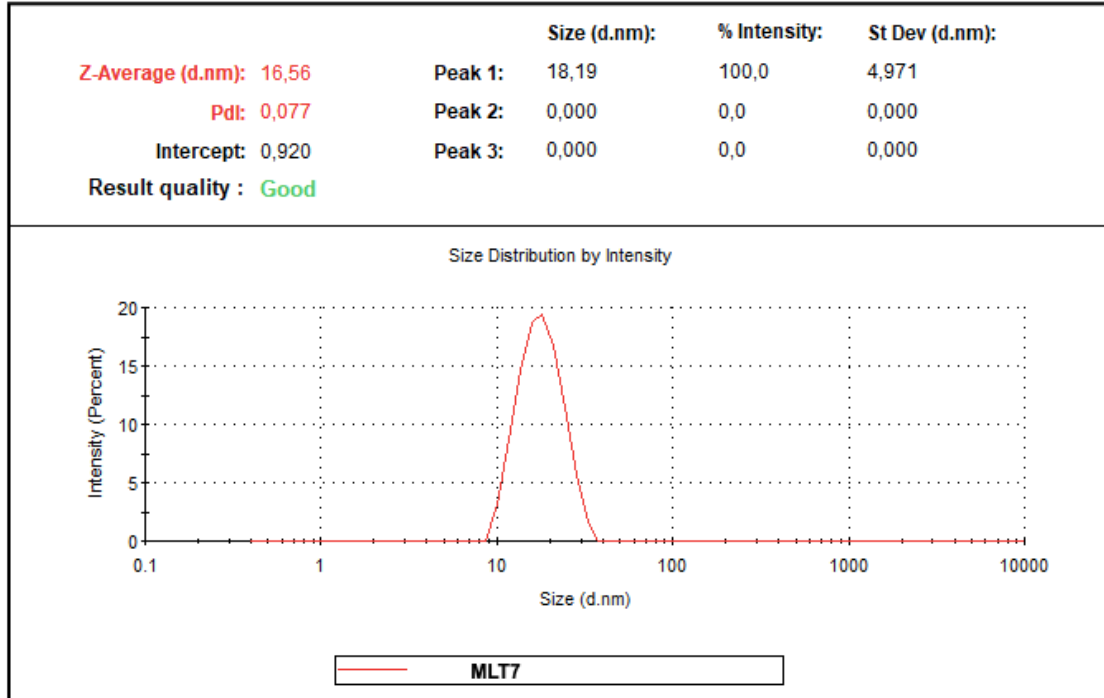
Şekil 4.20 DFV yüklü MLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



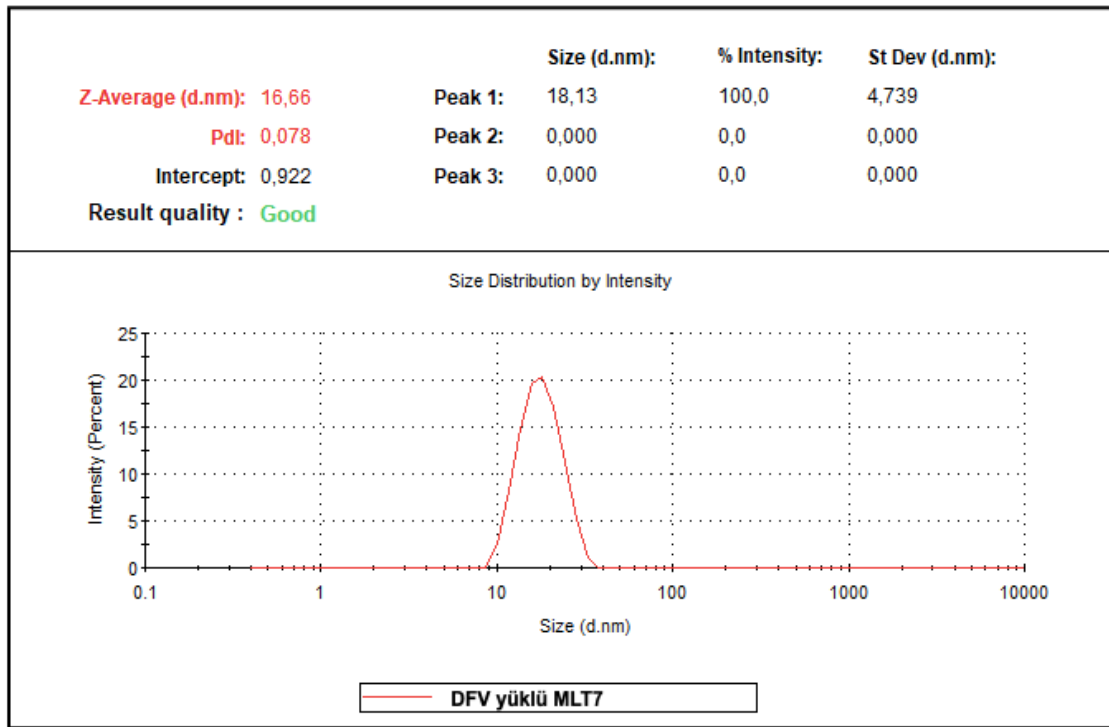
Şekil 4.21 MLT6 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



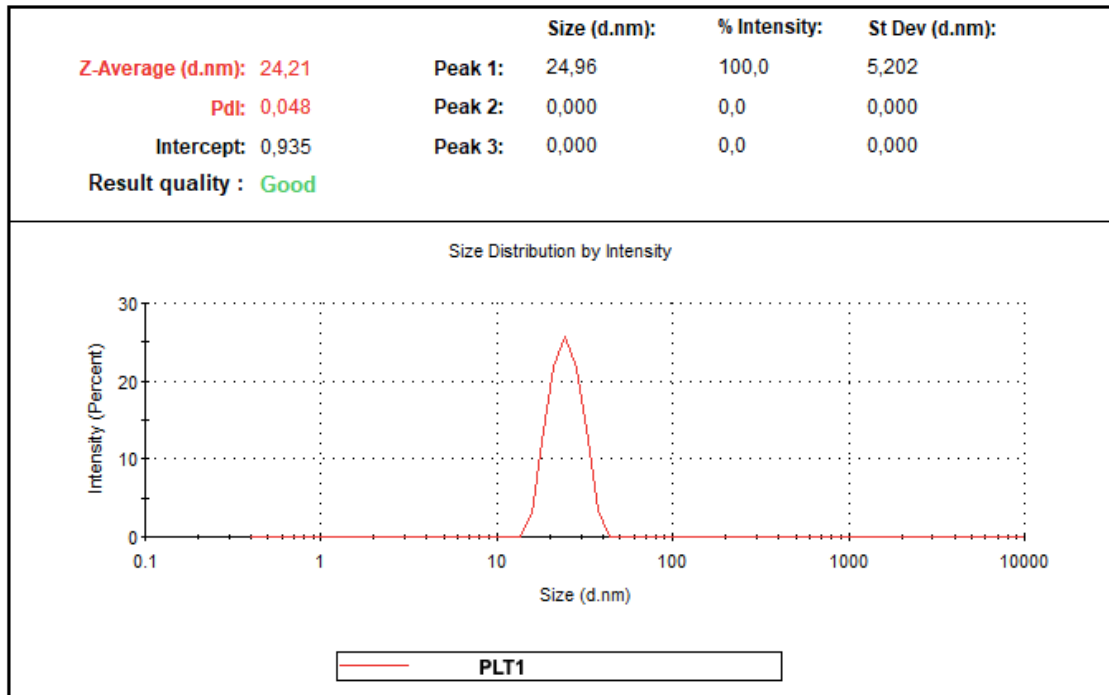
Şekil 4.22 DFV yüklü MLT6 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



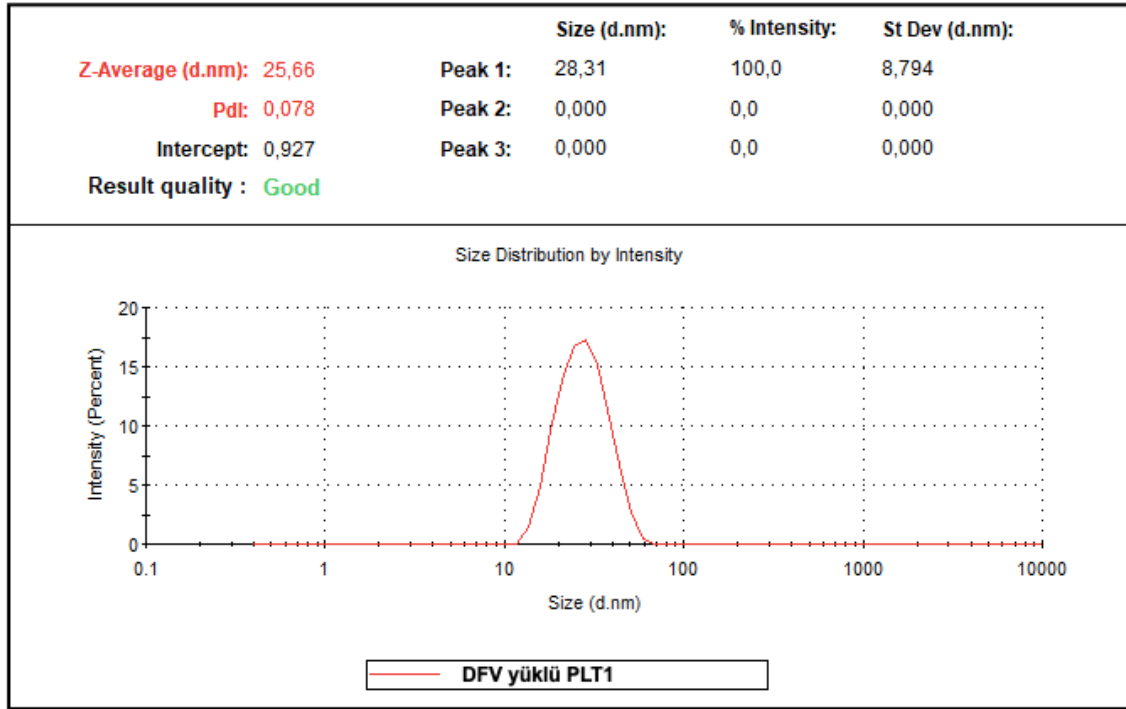
Şekil 4.23 MLT7 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



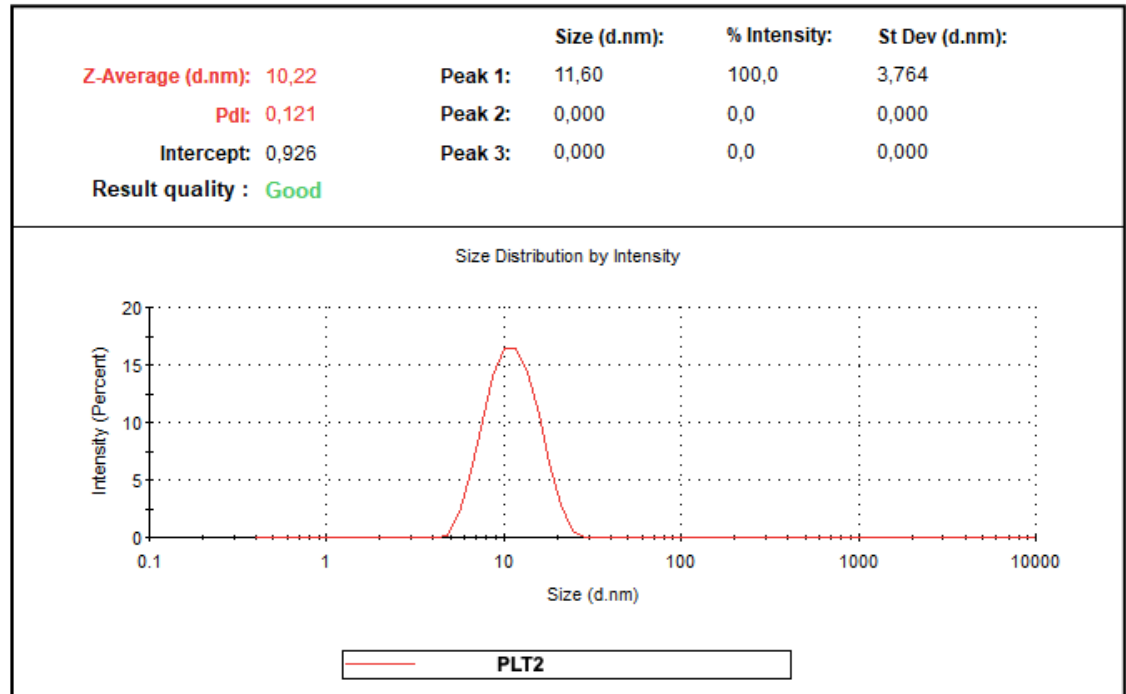
Şekil 4.24 DFV yüklü MLT7 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



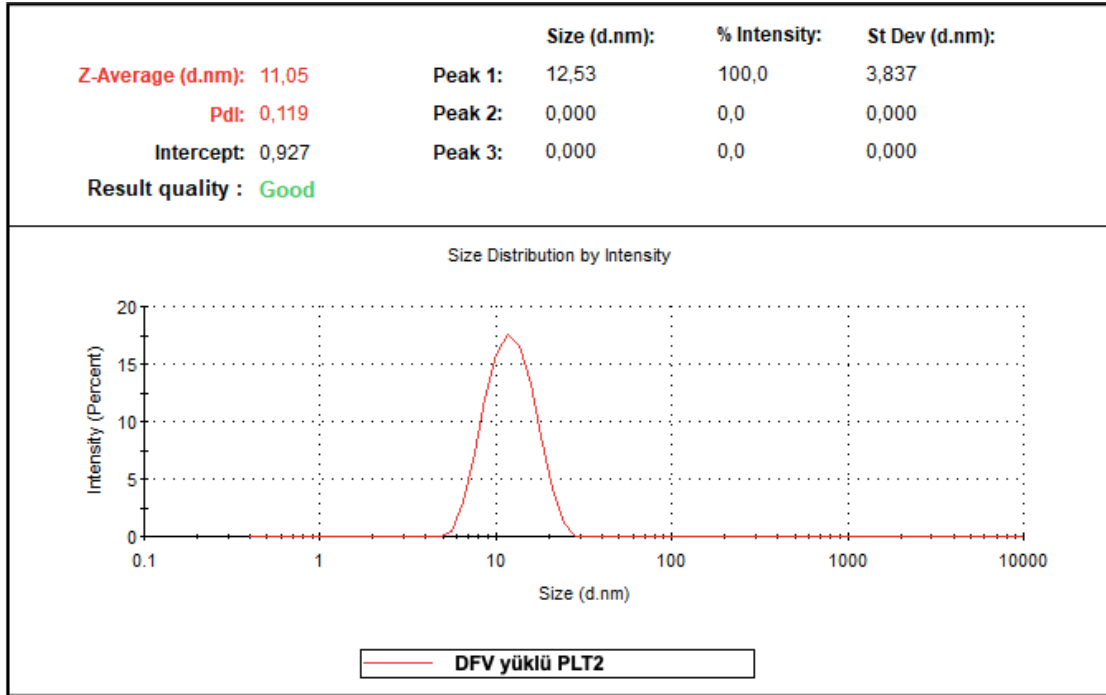
Şekil 4.25 PLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



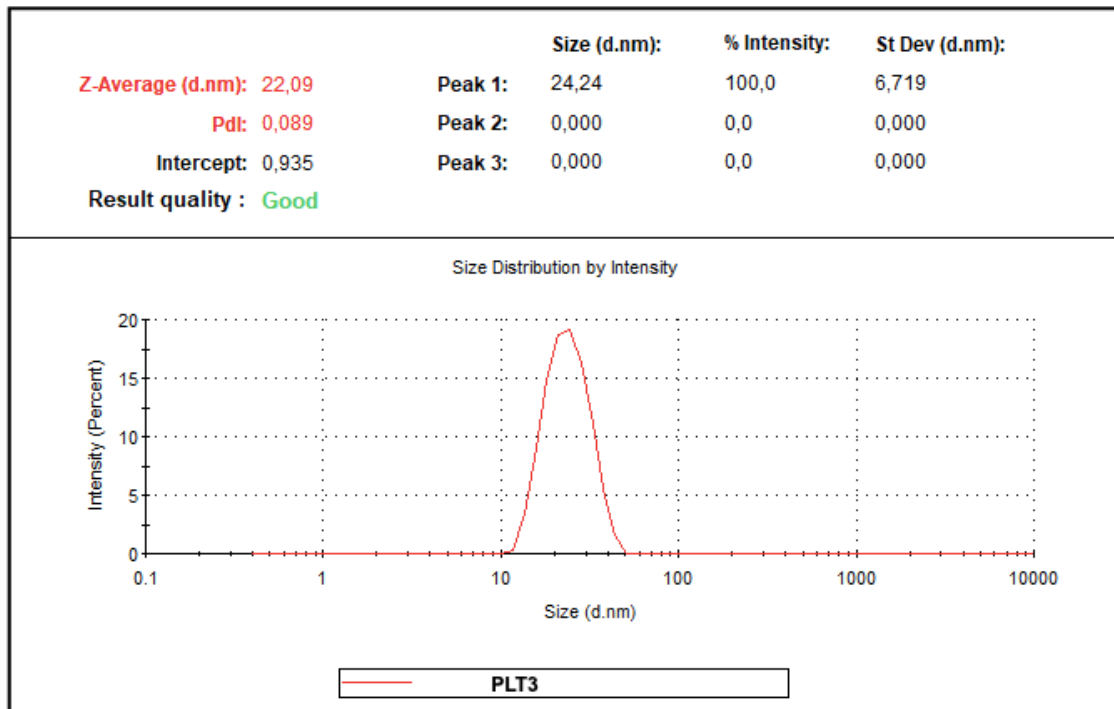
Şekil 4.26 DFV yüklü PLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



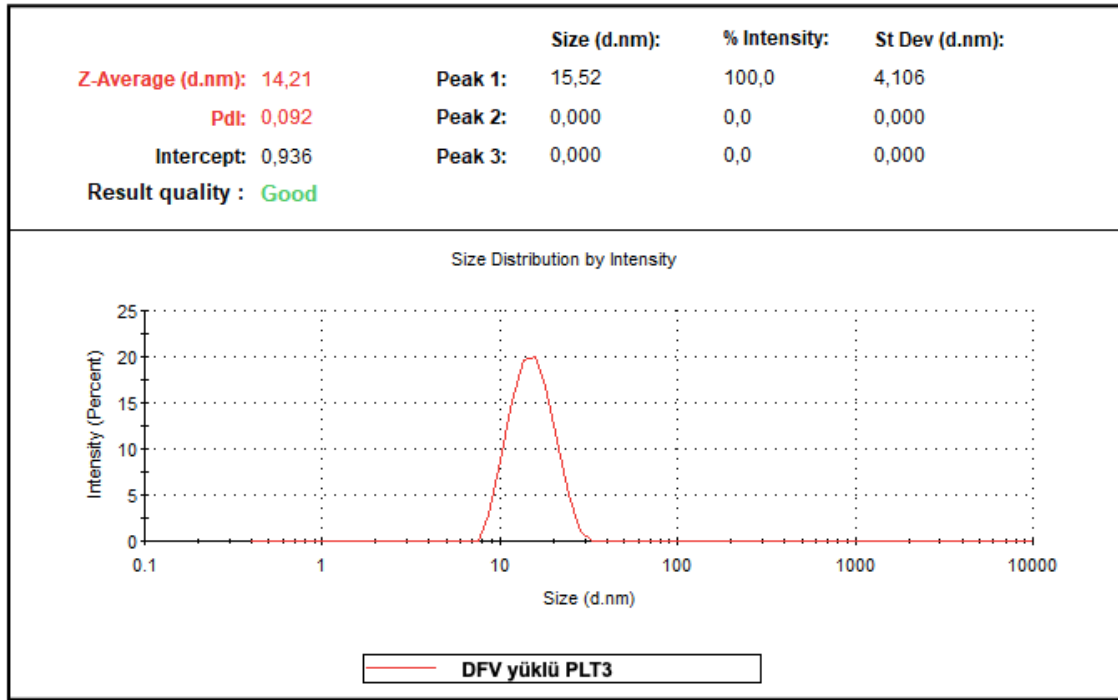
Şekil 4.27 PLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



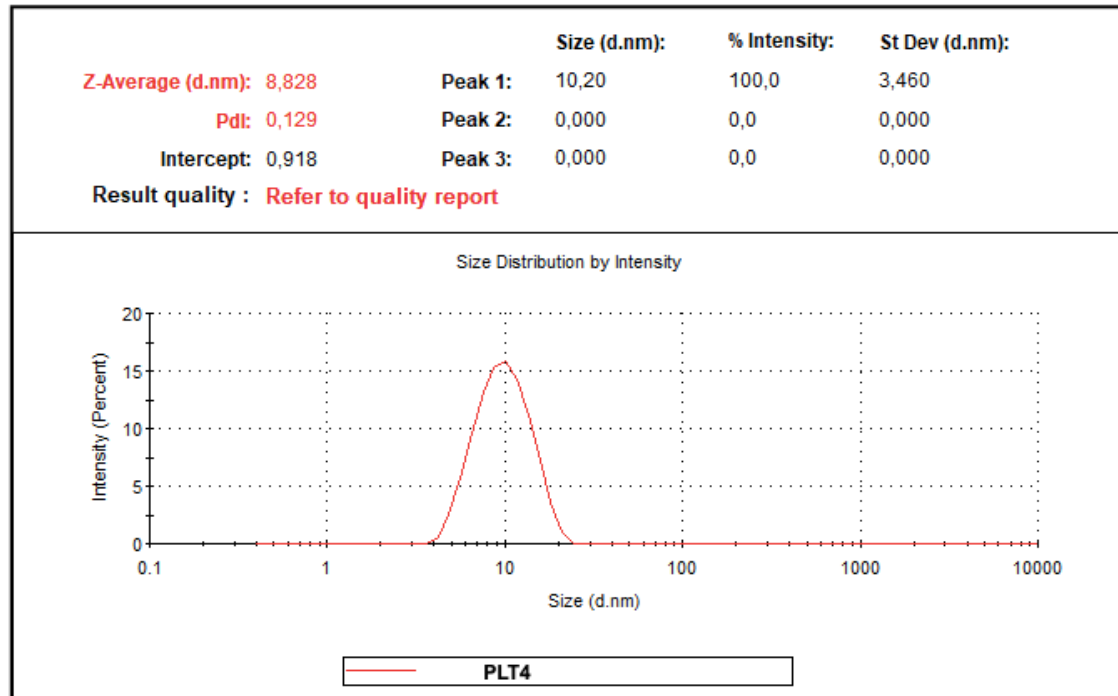
Şekil 4.28 DFV yüklü PLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



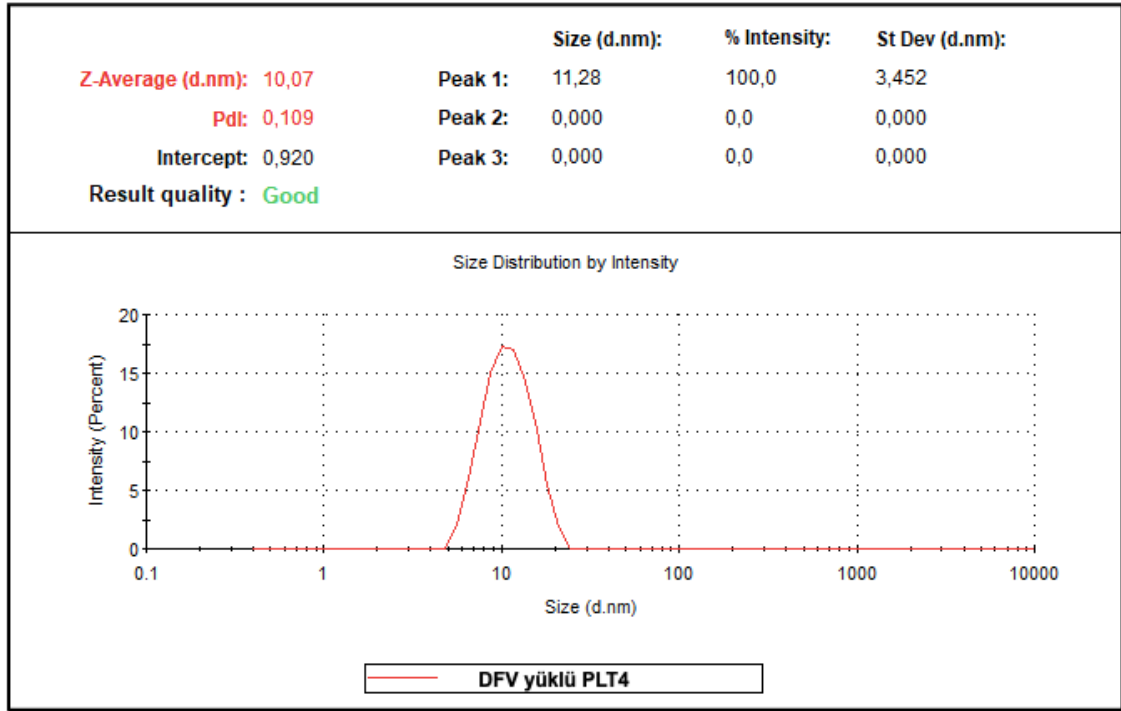
Şekil 4.29 PLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



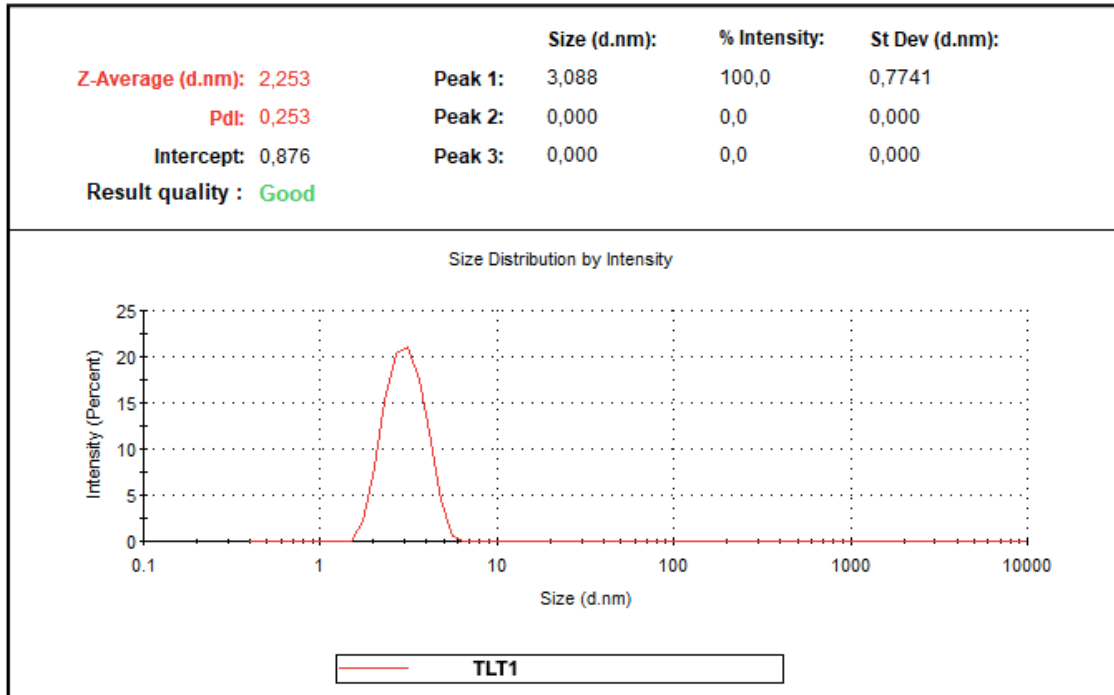
Şekil 4.30 DFV yüklü PLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



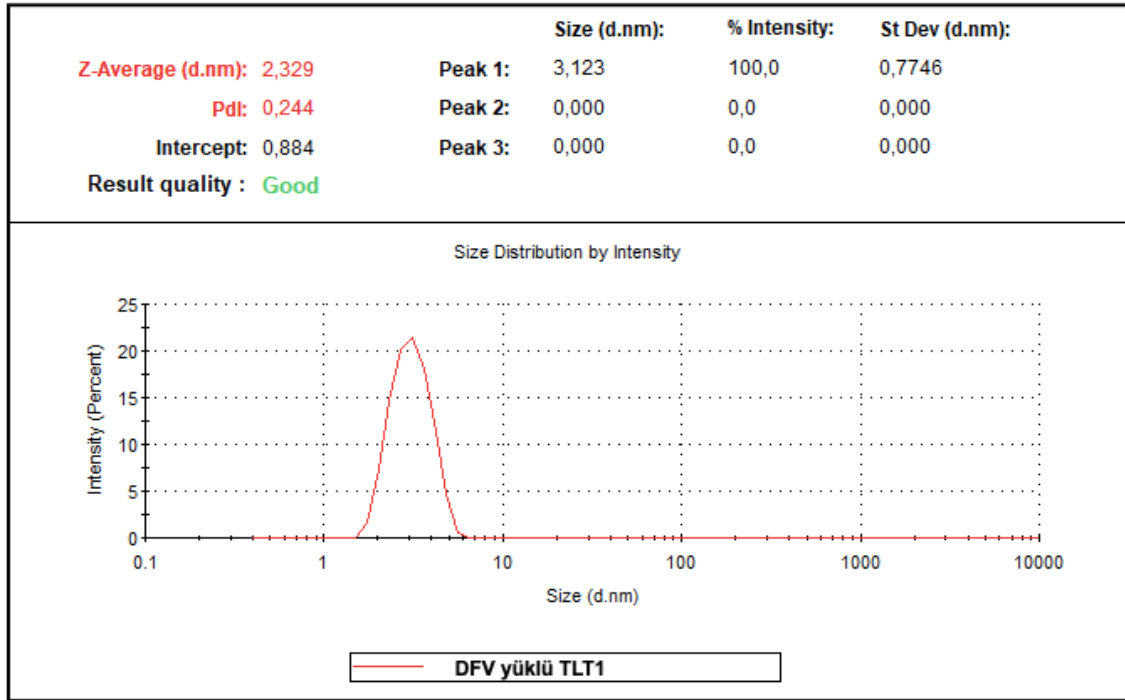
Şekil 4.31 PLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



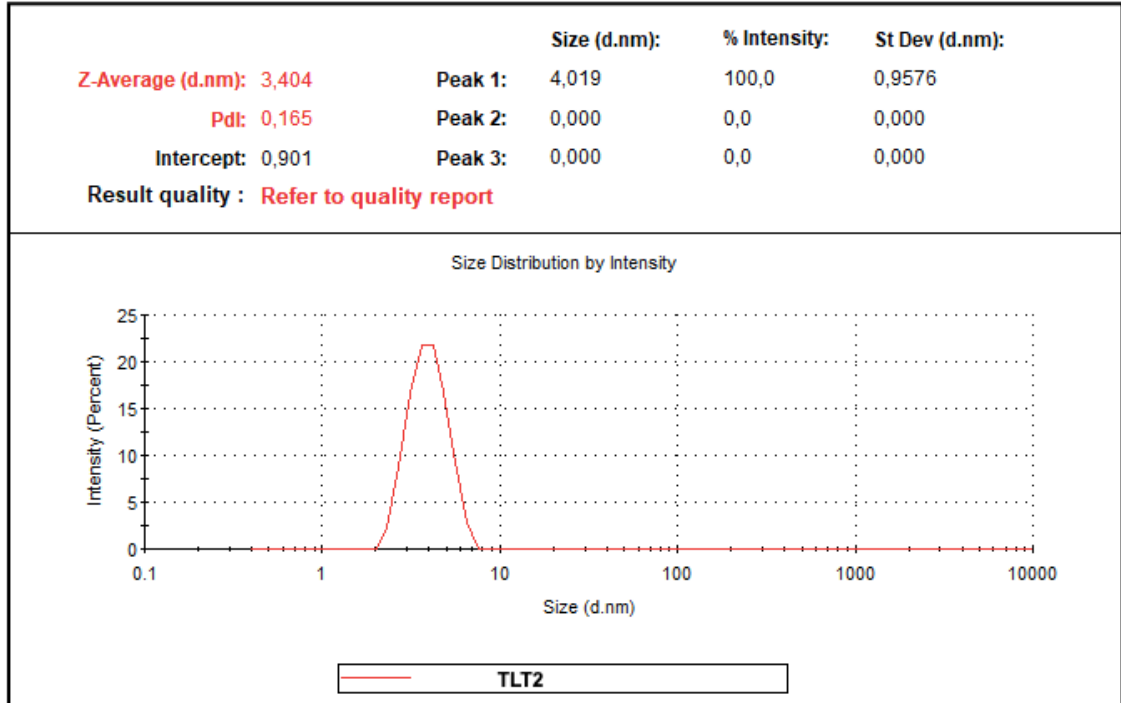
Şekil 4.32 DFV yüklü PLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



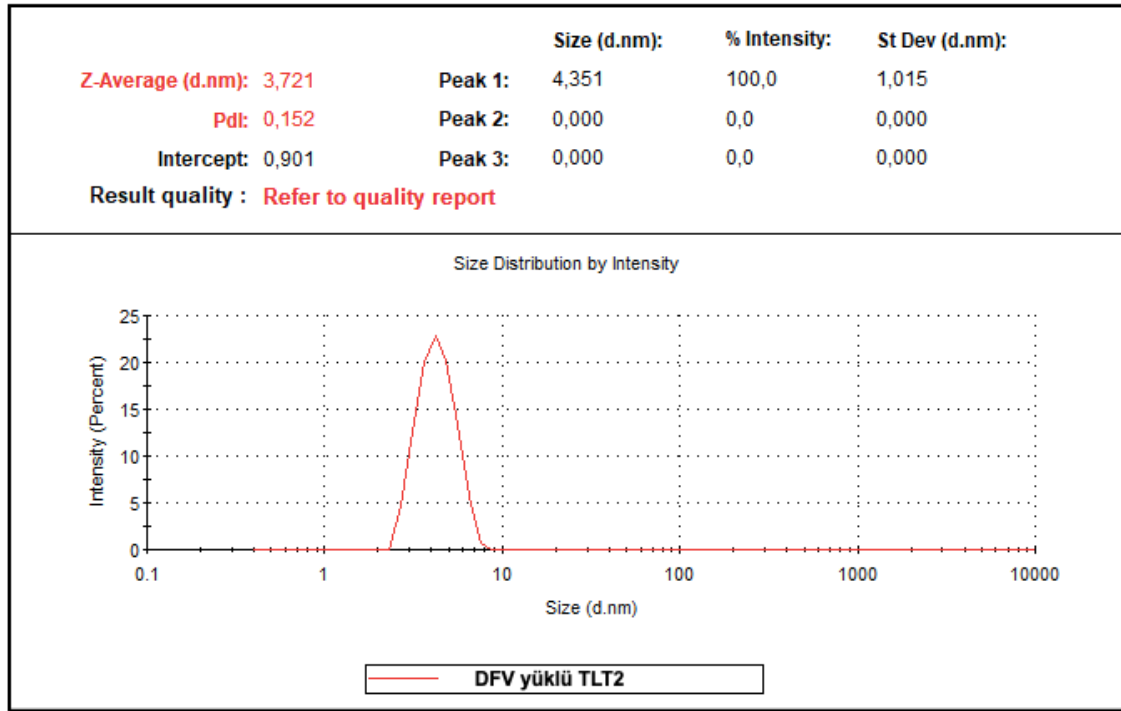
Şekil 4.33 TLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



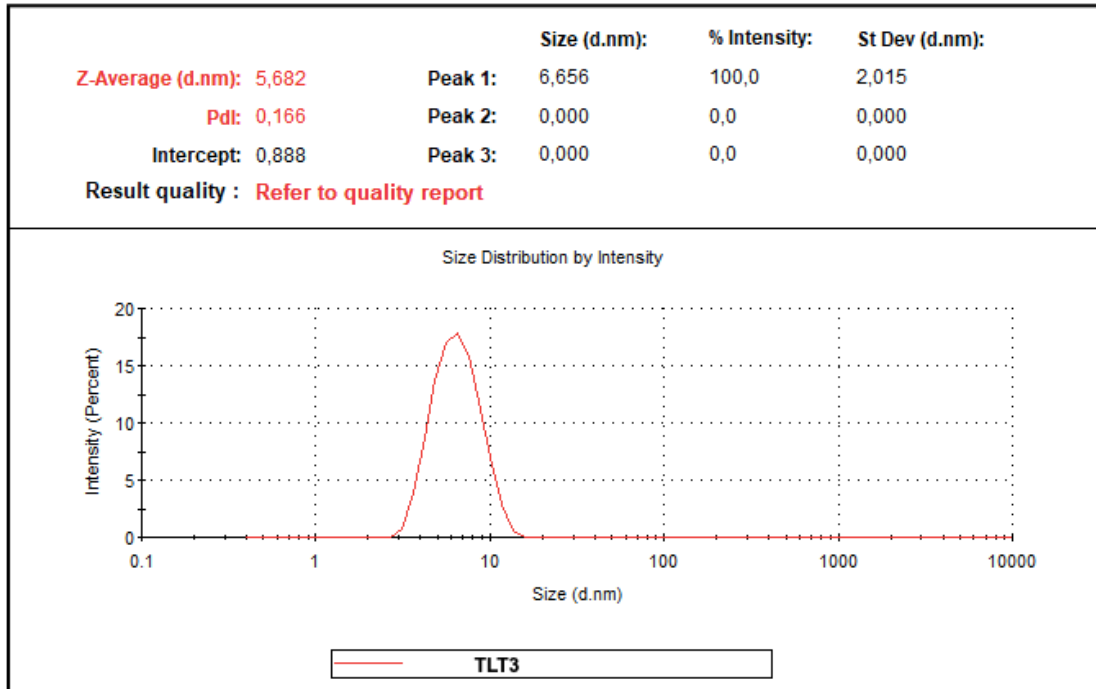
Şekil 4.34 DFV yüklü TLT1 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



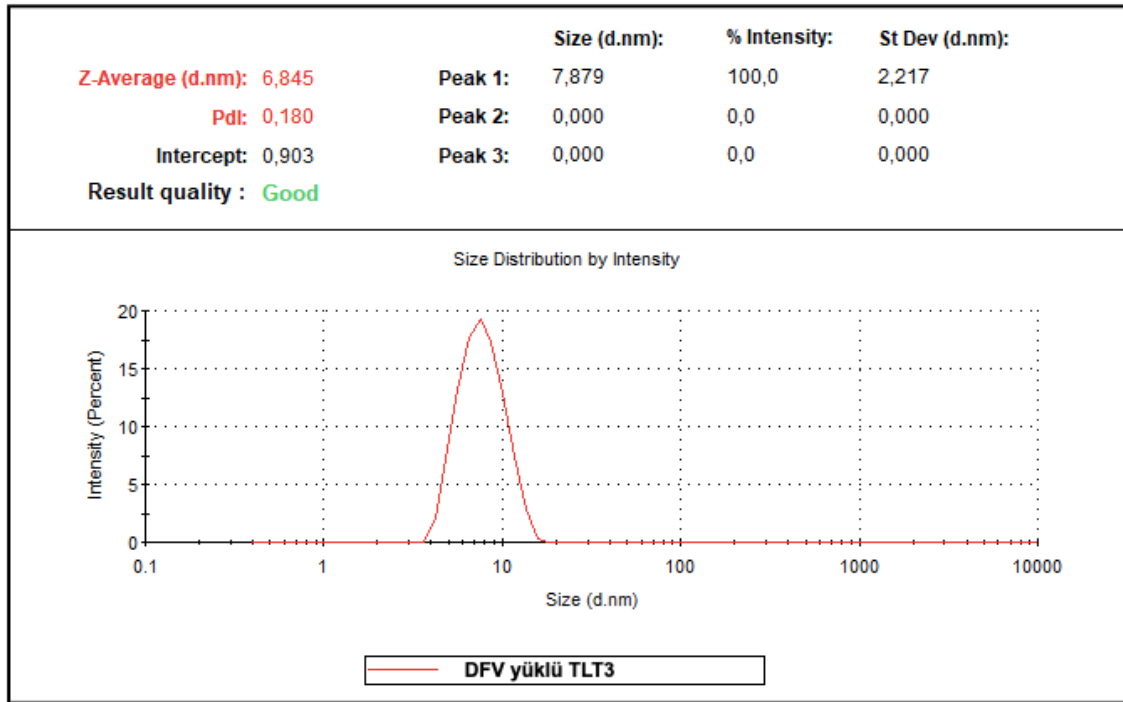
Şekil 4.35 TLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



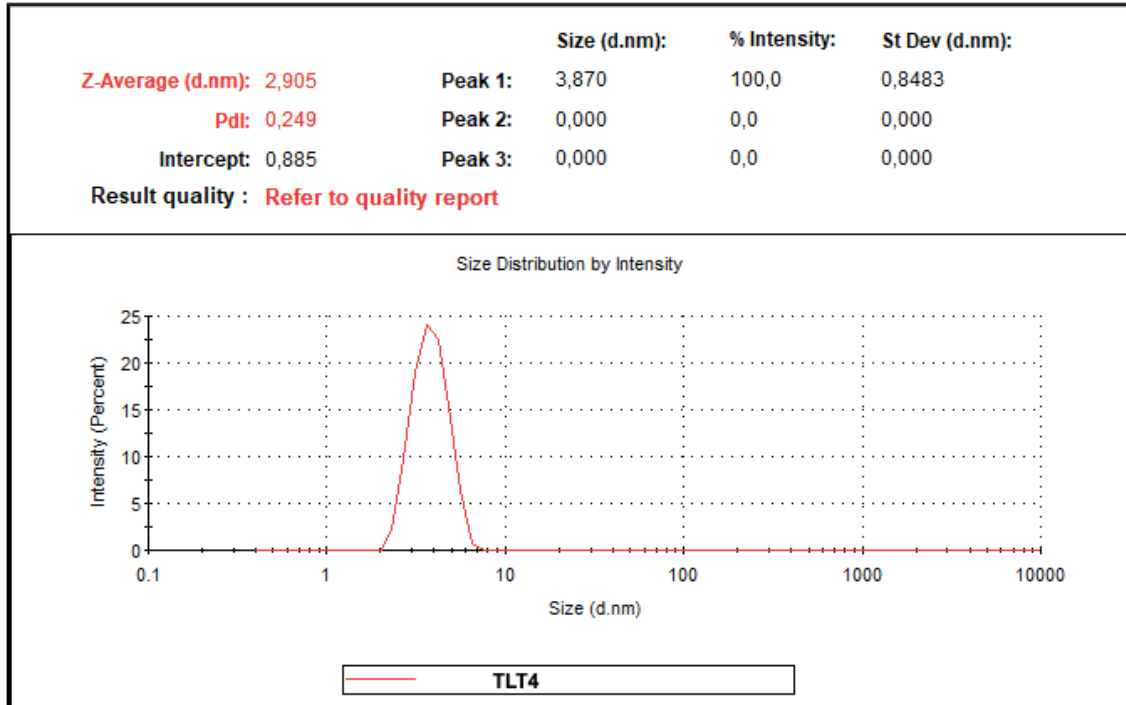
Şekil 4.36 DFV yüklü TLT2 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



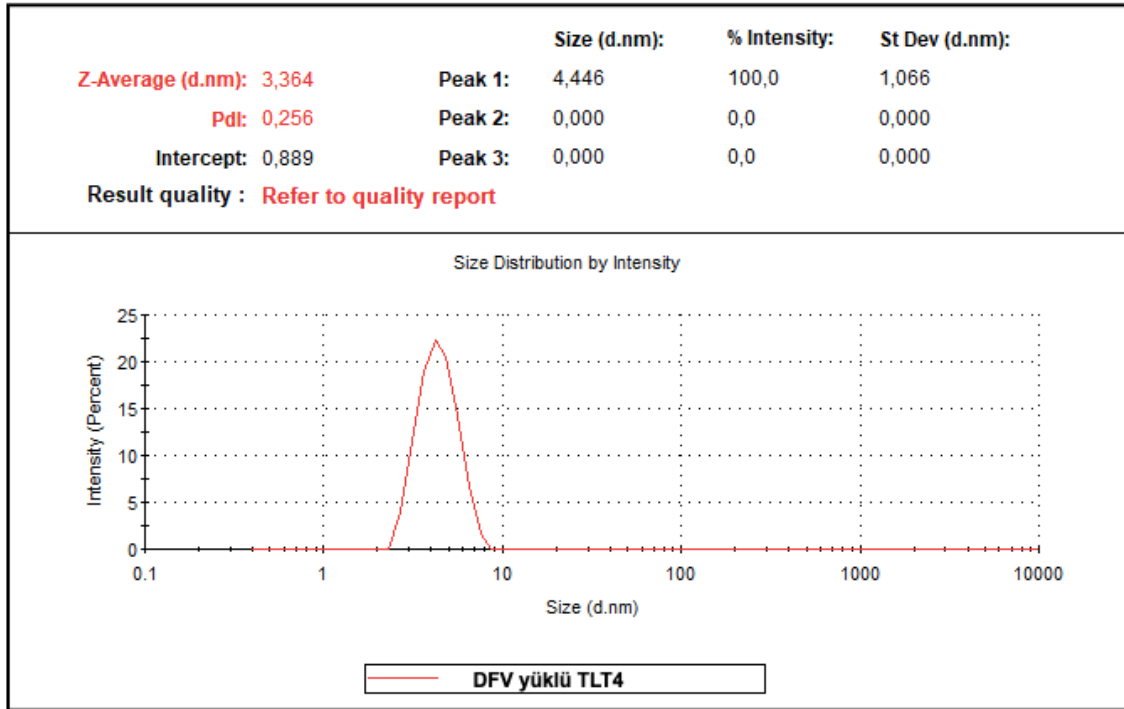
Şekil 4.37 TLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



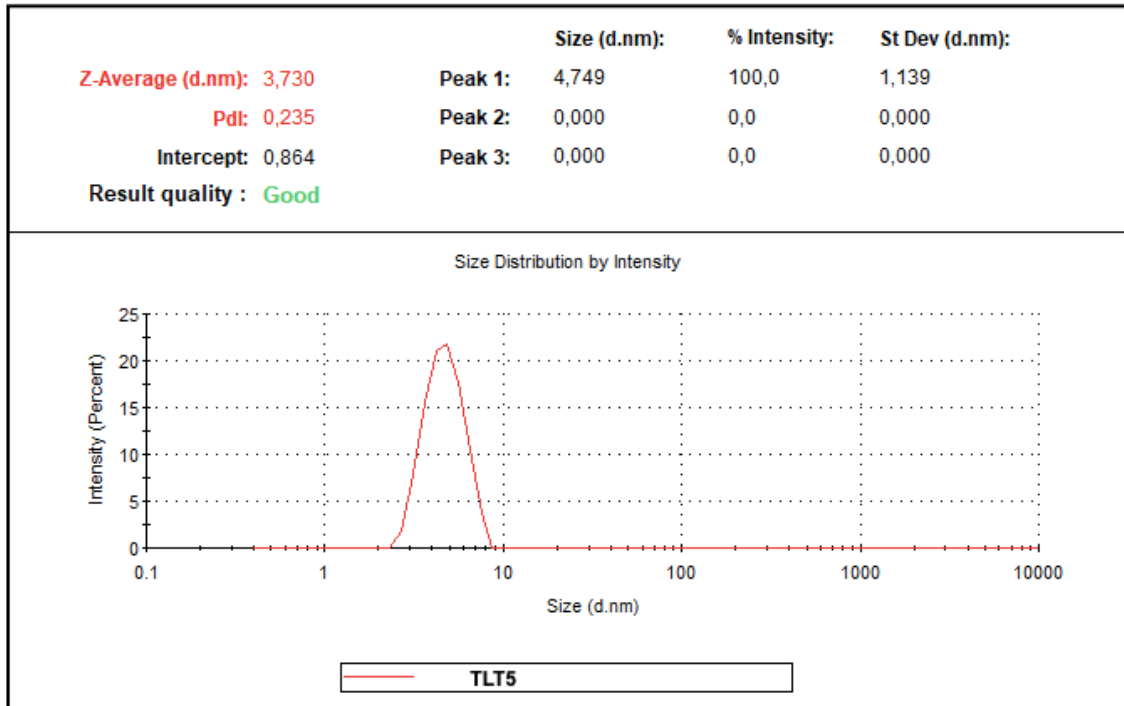
Şekil 4.38 DFV yüklü TLT3 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



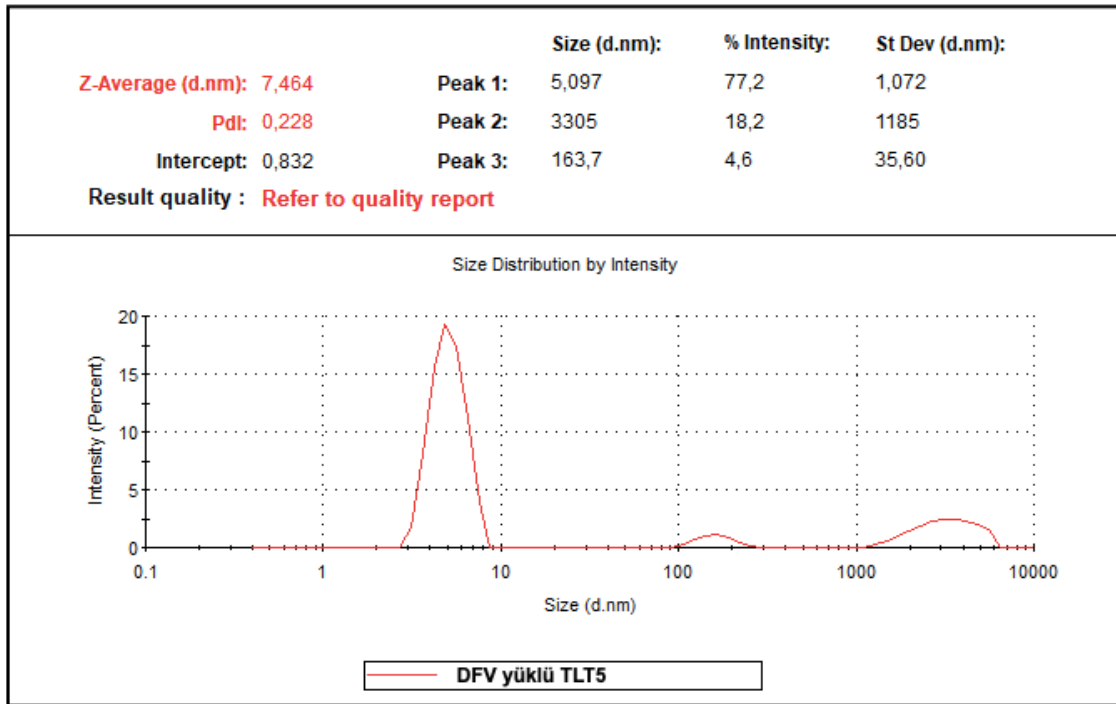
Şekil 4.39 TLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



Şekil 4.40 DFV yüklü TLT4 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



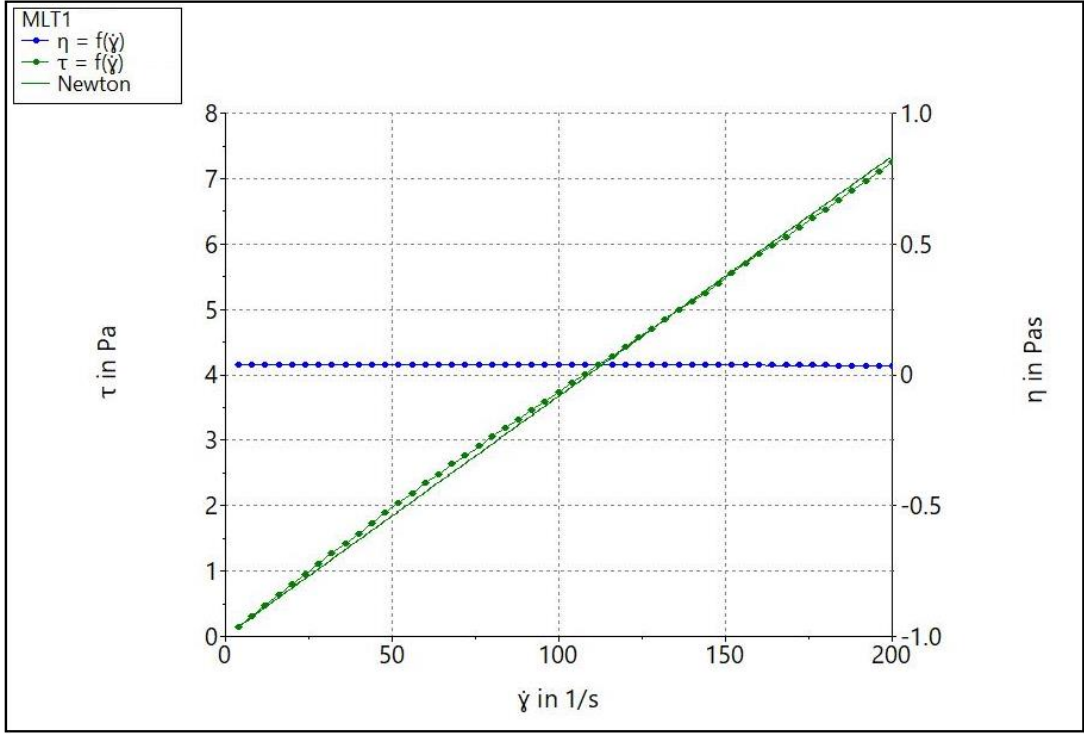
Şekil 4.41 TLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



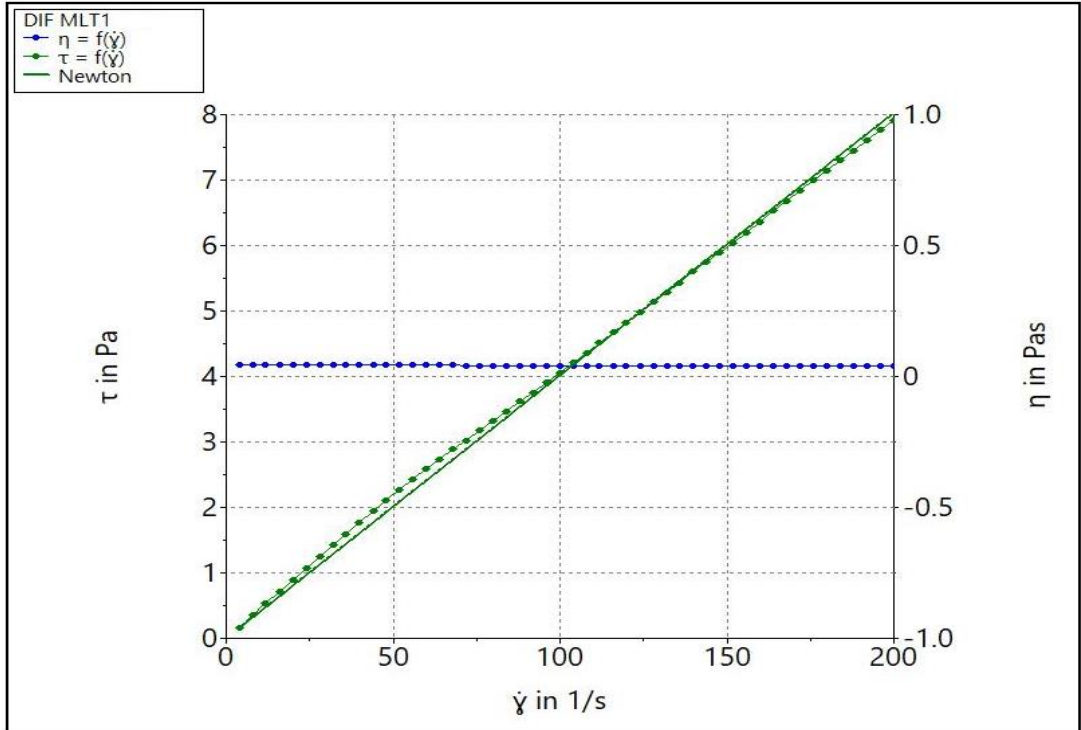
Şekil 4.42 DFV yüklü TLT5 formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi

4.8.6. Reolojik Özelliklerin Tayini

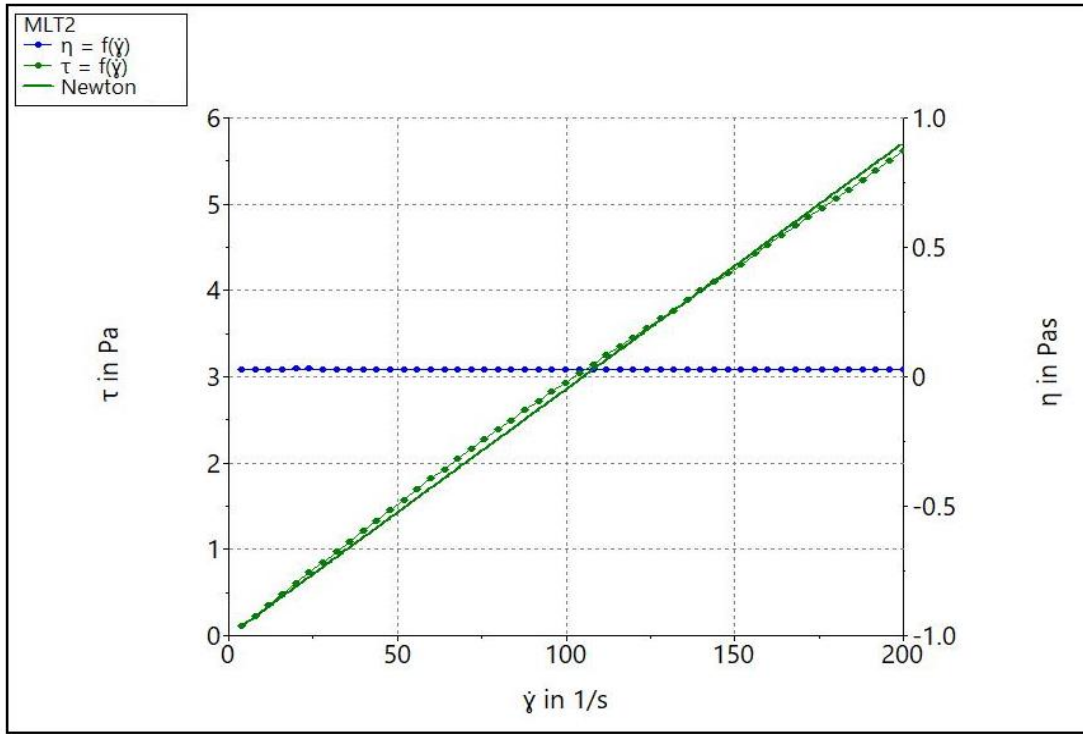
Yöntem 3.2.9.6’da belirtildiği şekilde seçilen mikroemülsiyon formülasyonların reolojik özellikleri tayin edildi. Tüm formülasyonların değişen kayma hızında sabit bir viskoziteye sahip olduğu, Newtonian akış sergiledikleri görüldü. Boş ve etkin madde yüklü formülasyonların kayma gerilimi ve viskozitelerinin kayma oranına karşı değişim grafikleri Şekil 4.43-74 arasında, ölçüm değerleri ise DFV yüklü formülasyonlar için Tablo 4.32’de, boş formülasyonlar için Tablo 4.33’te verildi.



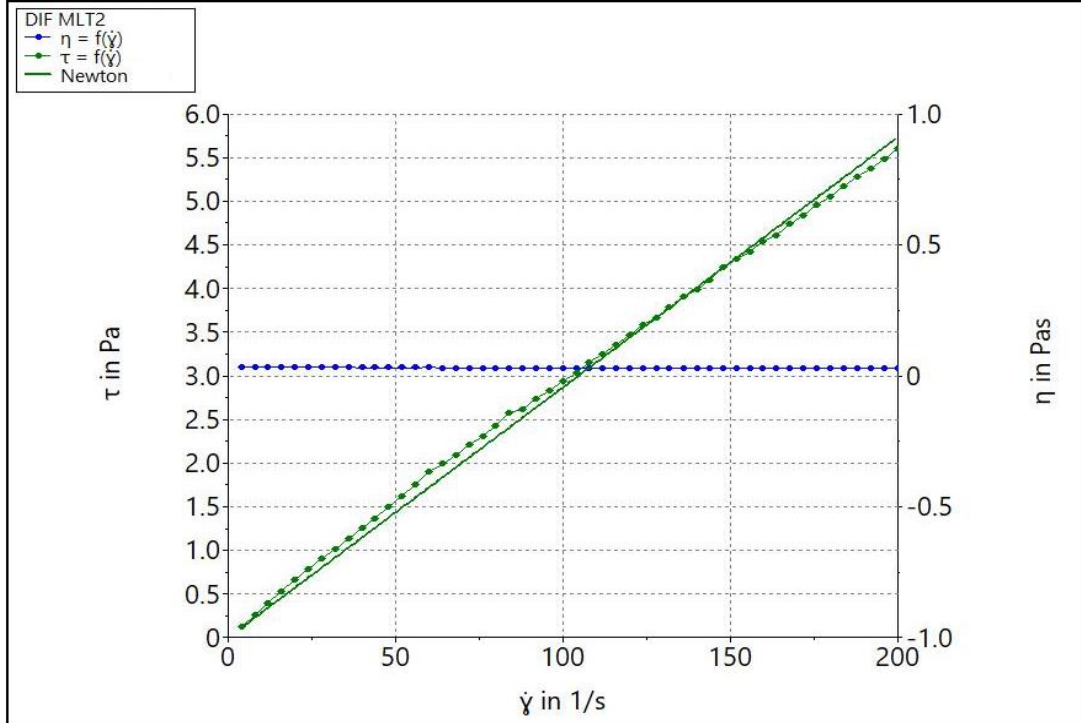
Şekil 4.43 MLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



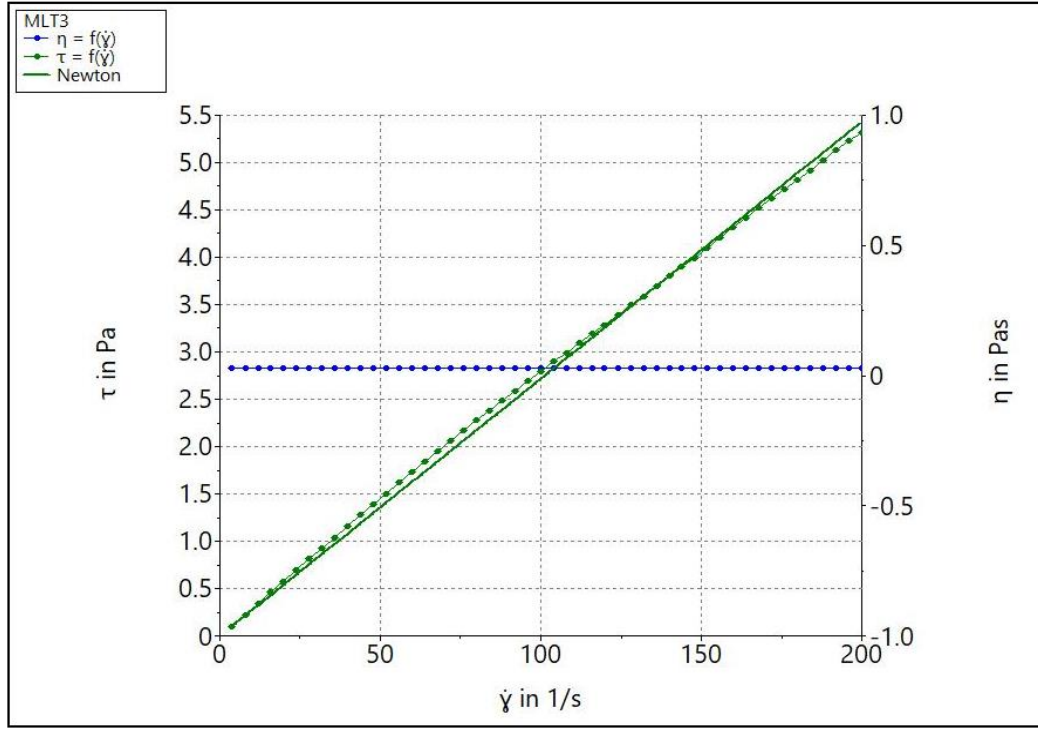
Şekil 4.44 DFV yüklü MLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



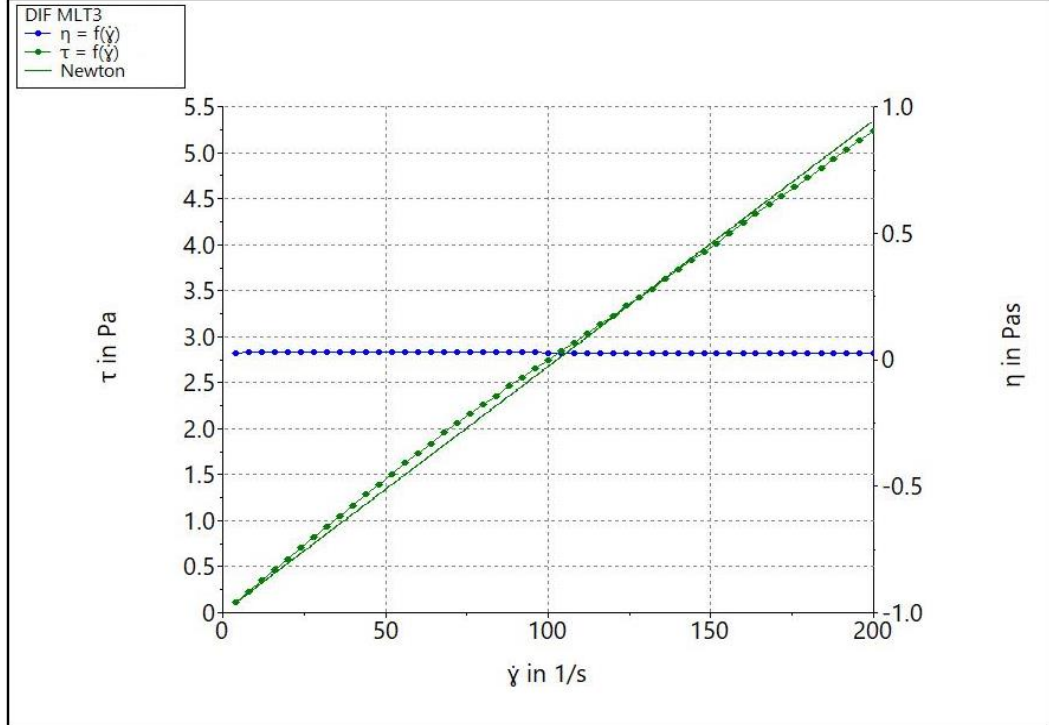
Şekil 4.45 MLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



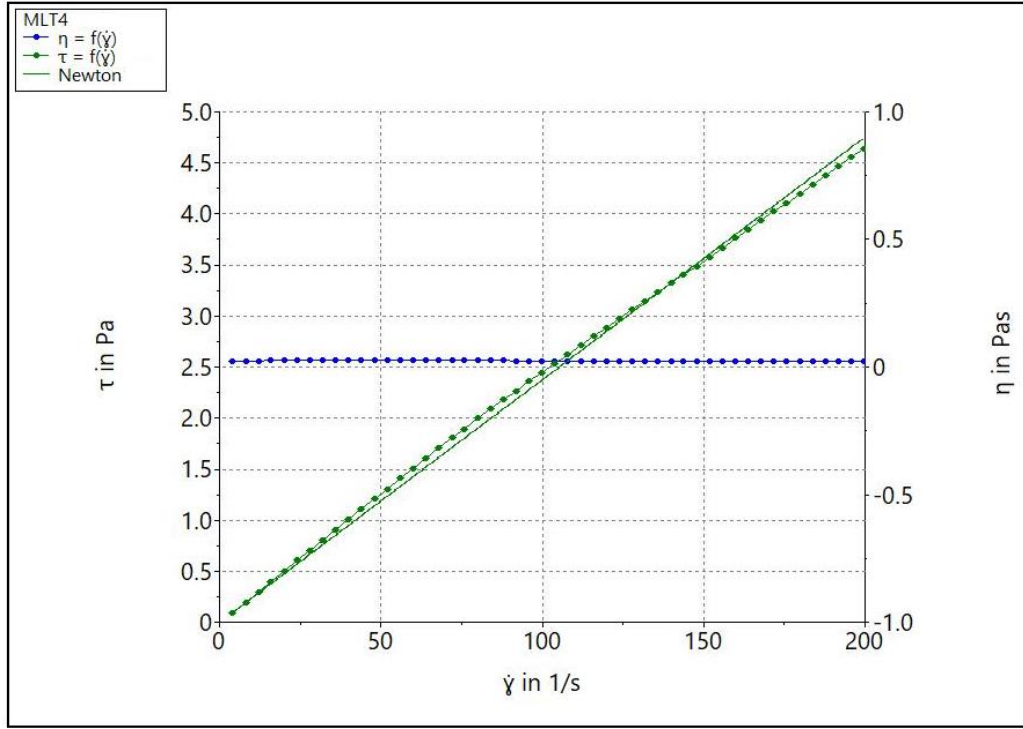
Şekil 4.46 DFV yüklü MLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



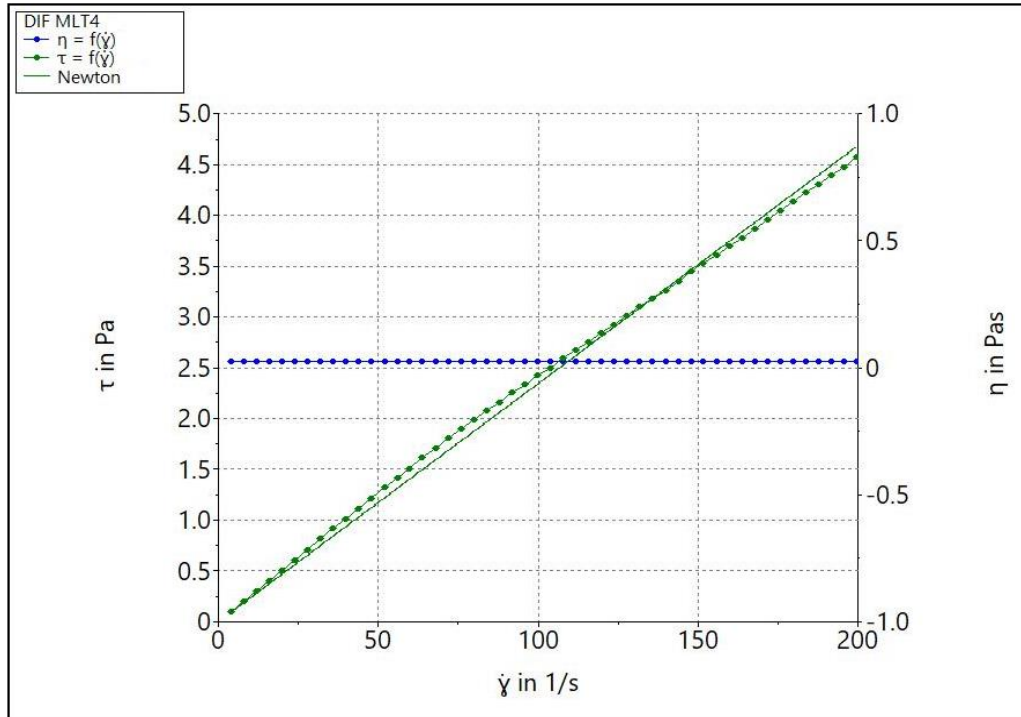
Şekil 4.47 MLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



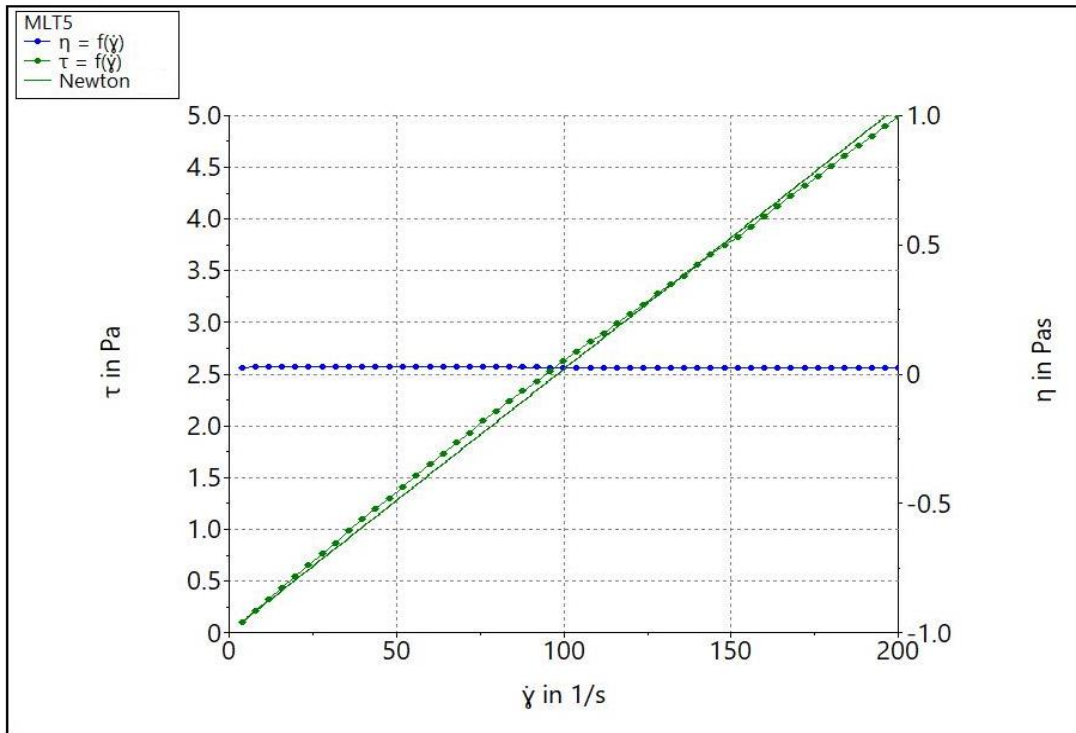
Şekil 4.48 DFV yüklü MLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



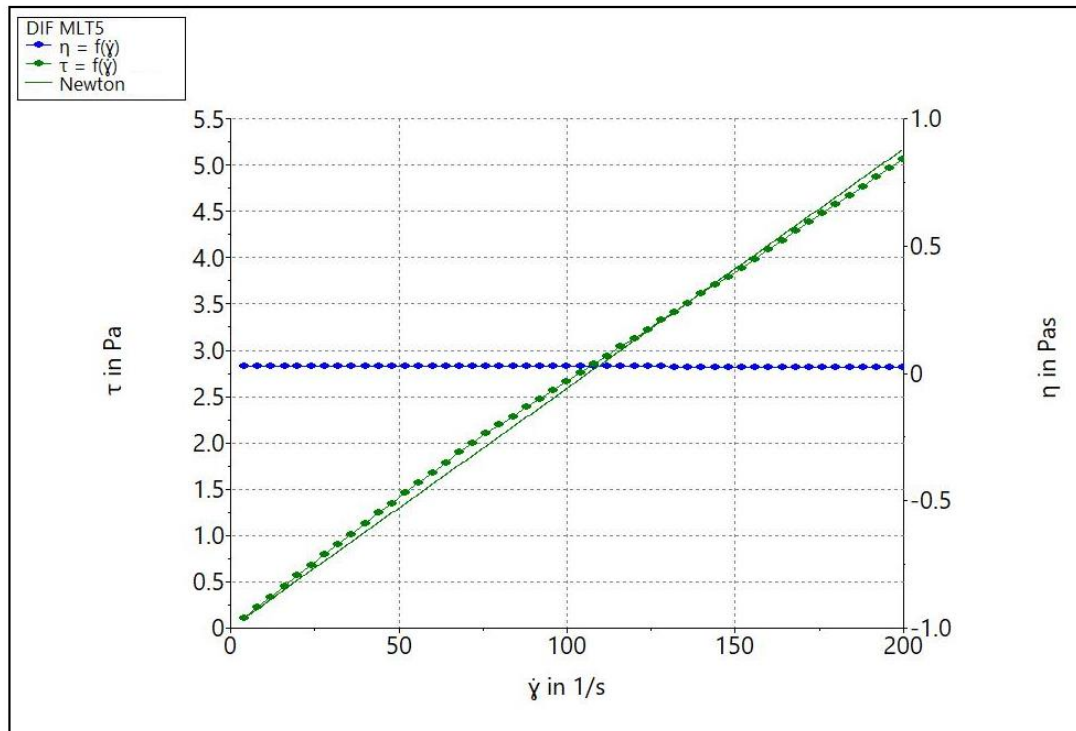
Şekil 4.49 MLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



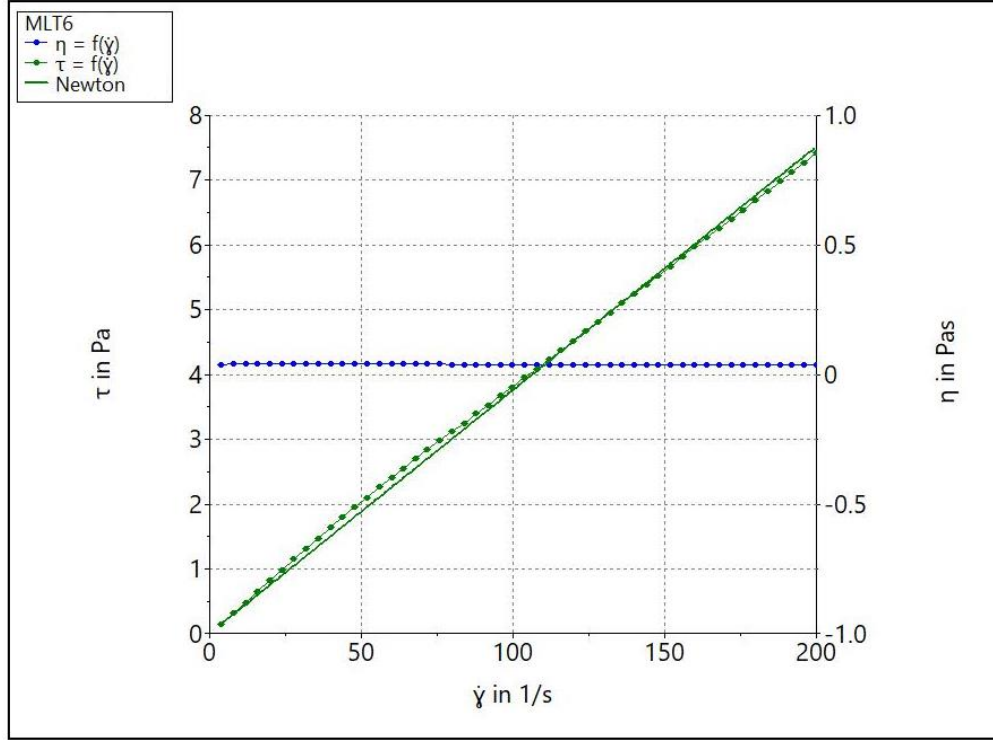
Şekil 4.50 DFV yüklü MLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



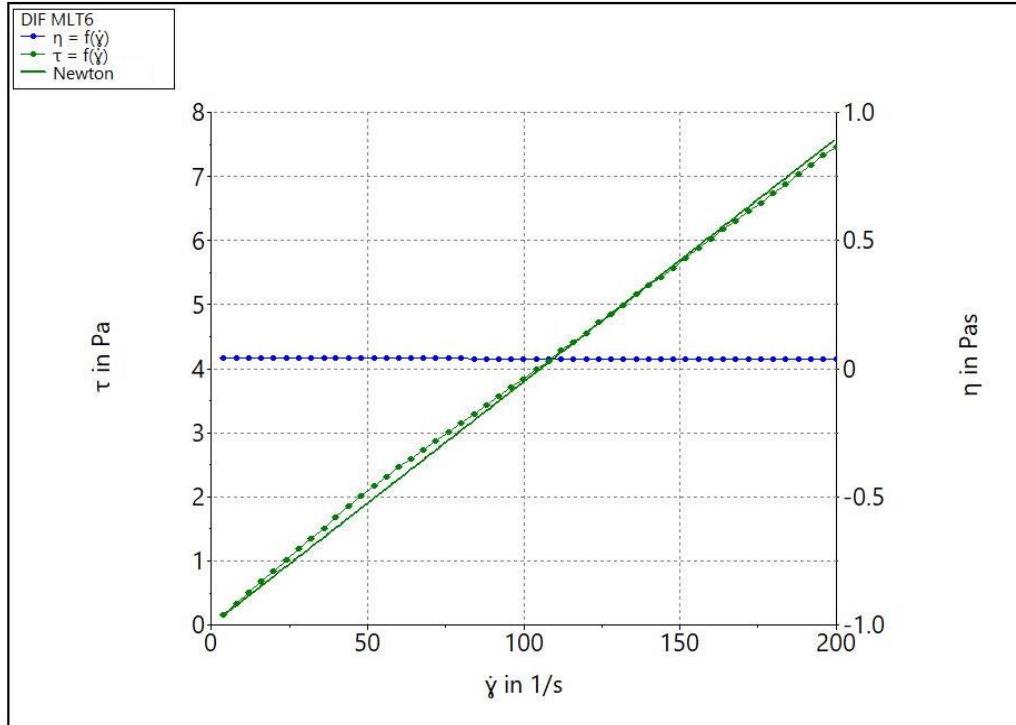
Şekil 4.51 MLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



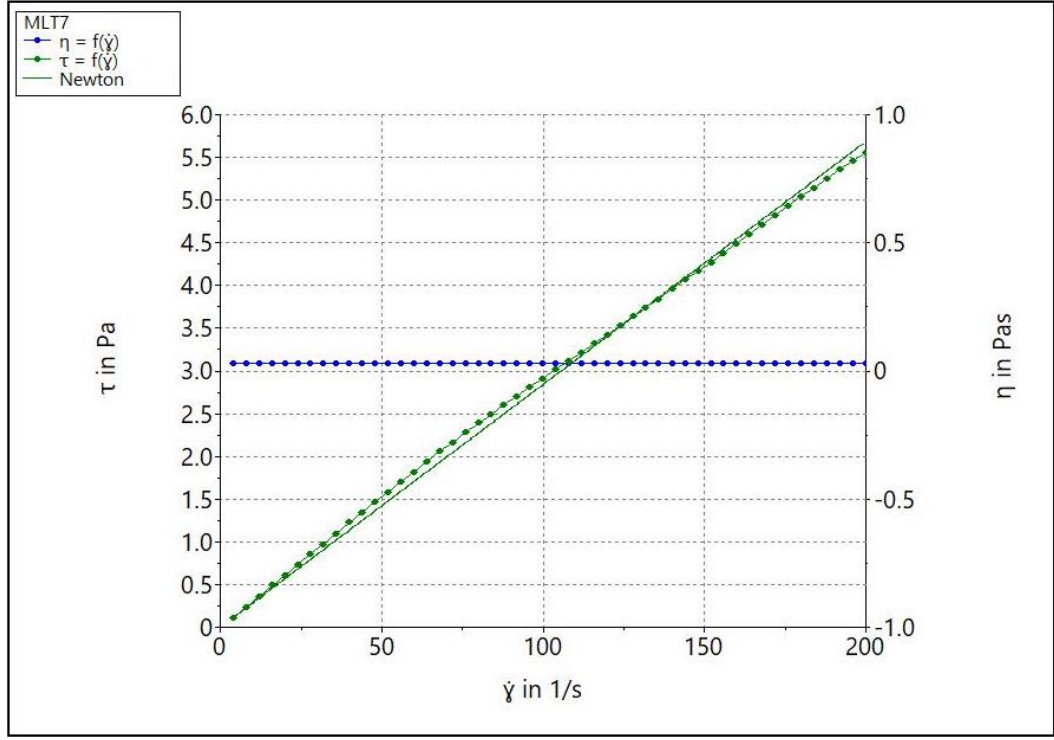
Şekil 4.52 DFV yüklü MLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



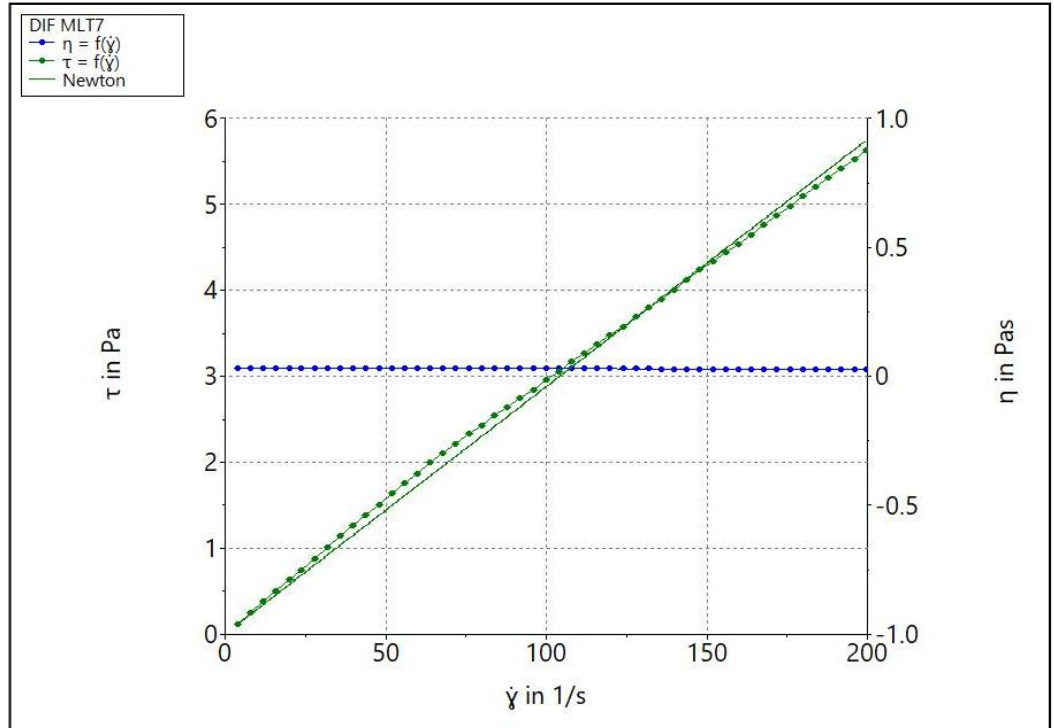
Şekil 4.53 MLT6 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



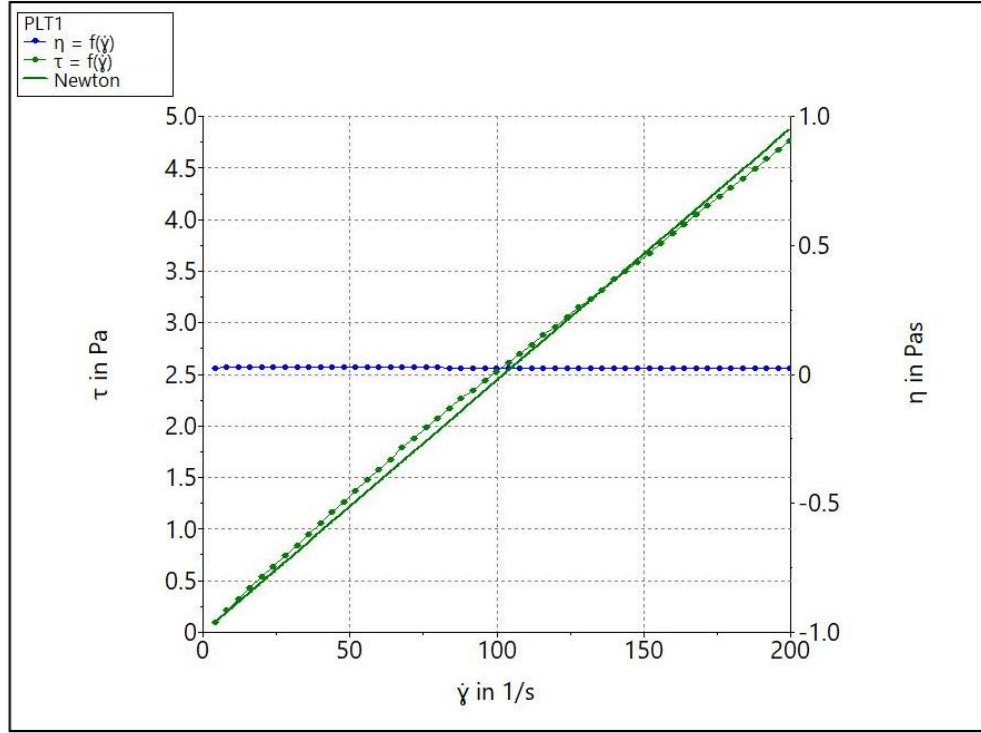
Şekil 4.54 DFV yüklü MLT6 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



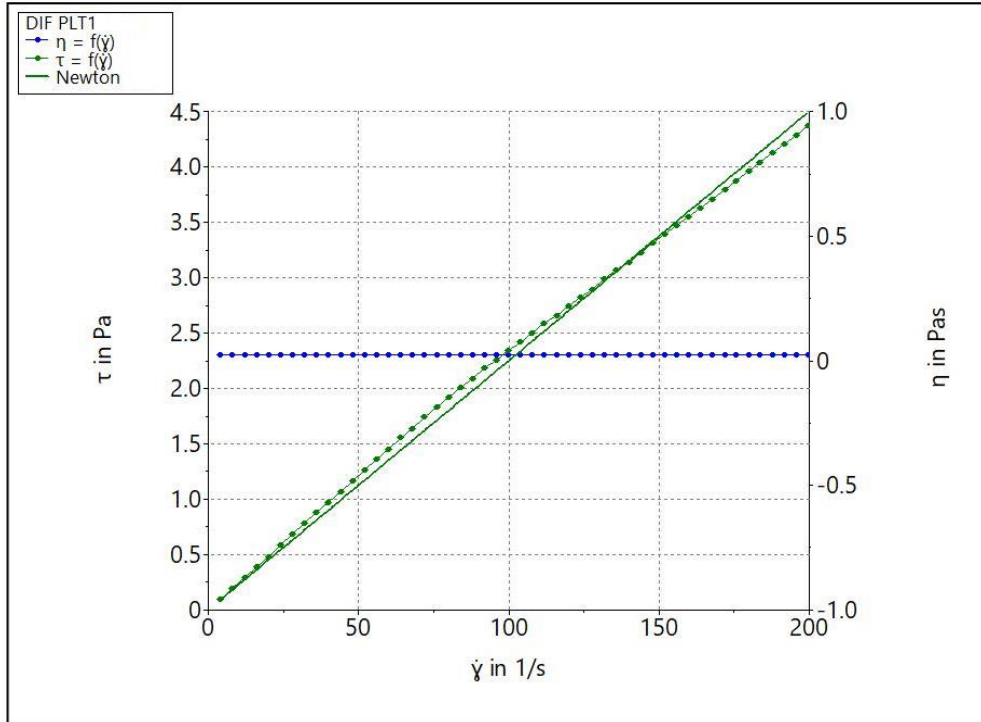
Şekil 4.55 MLT7 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



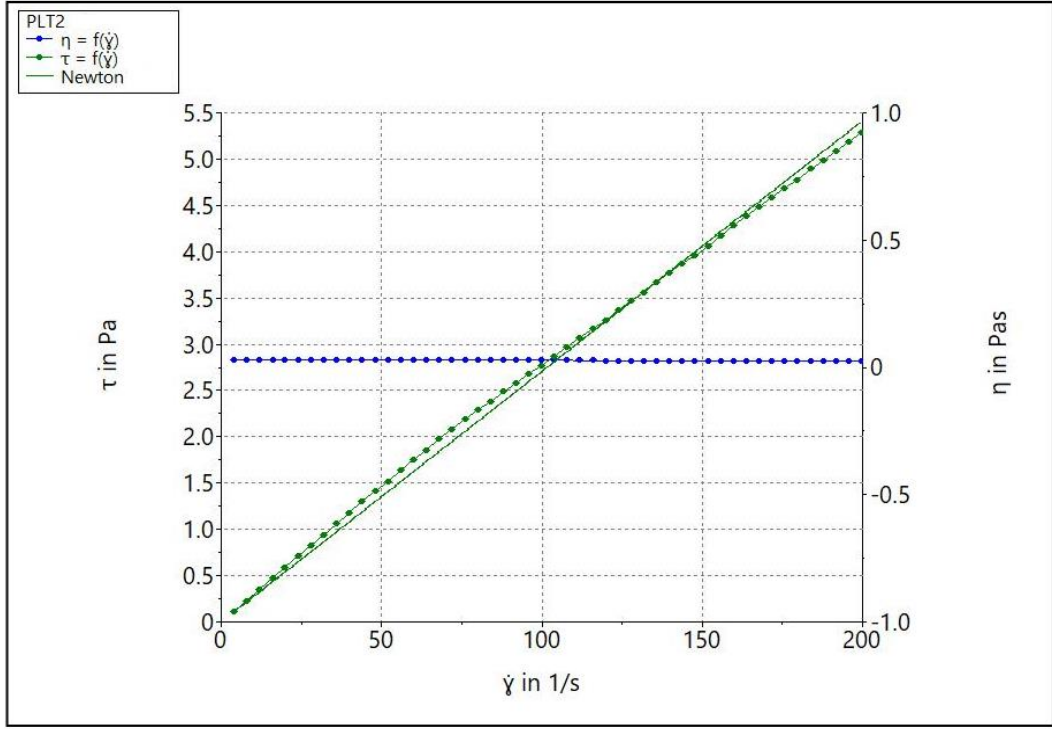
Şekil 4.56 DFV yüklü MLT7 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



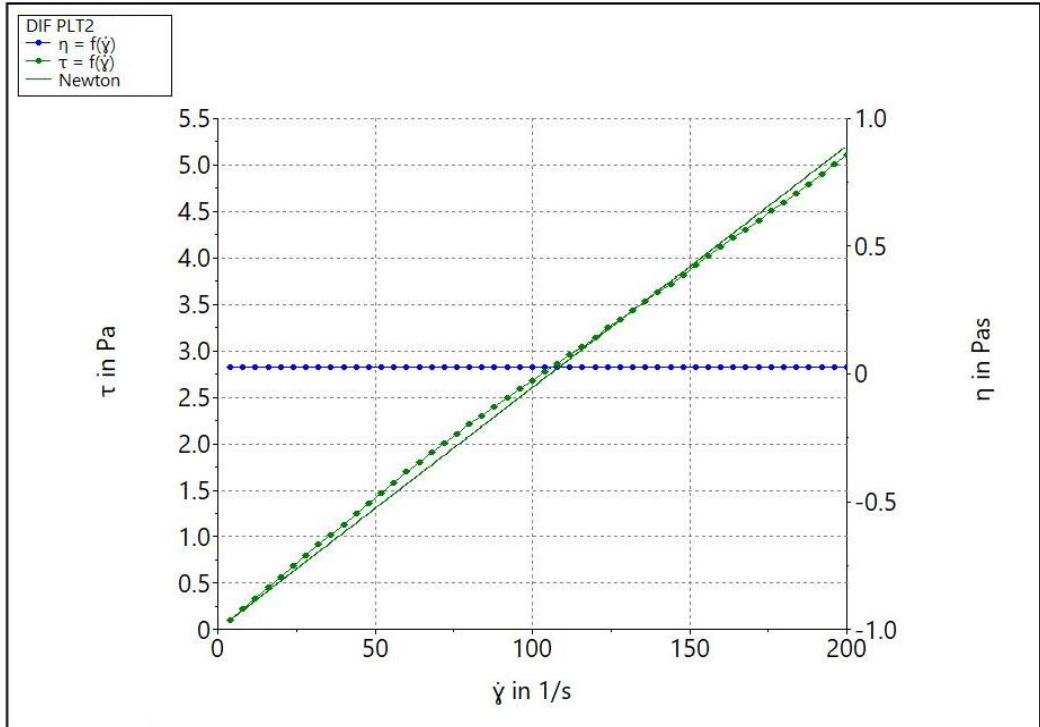
Şekil 4.57 PLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



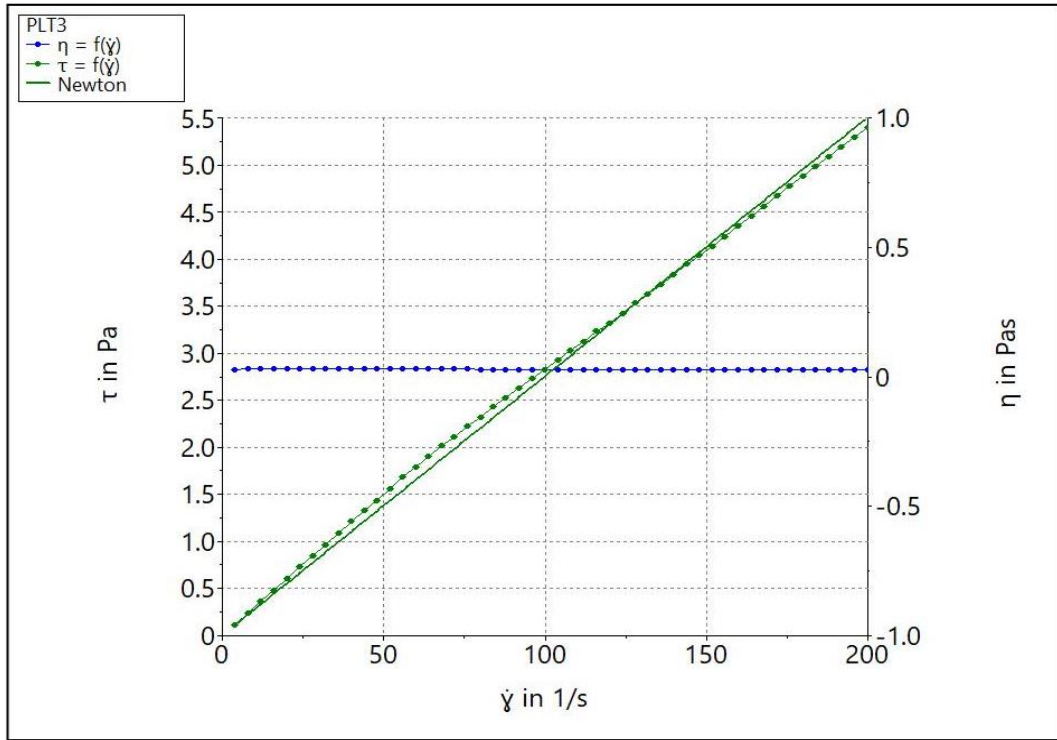
Şekil 4.58 DFV yüklü PLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



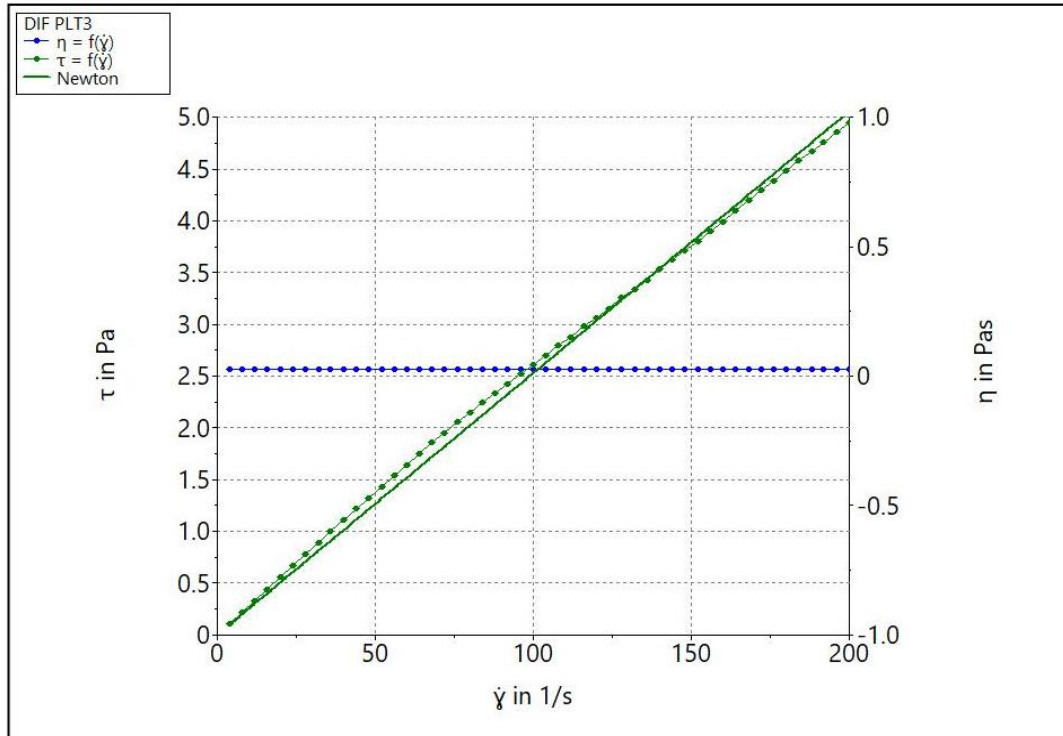
Şekil 4.59 PLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



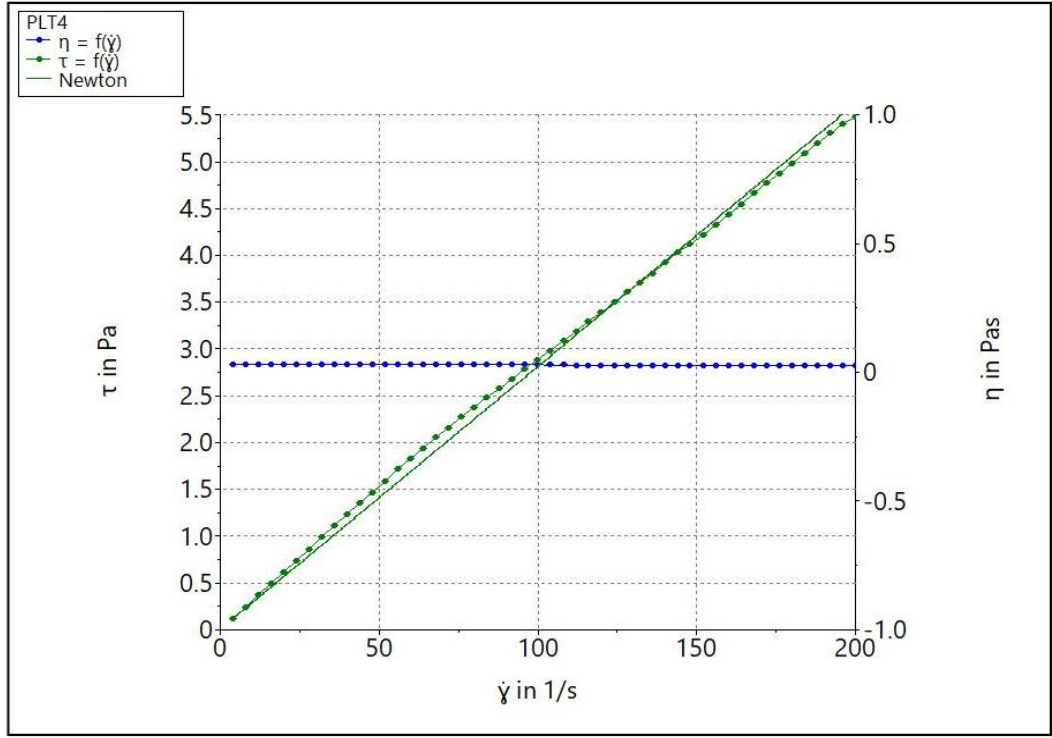
Şekil 4.60 DFV yüklü PLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



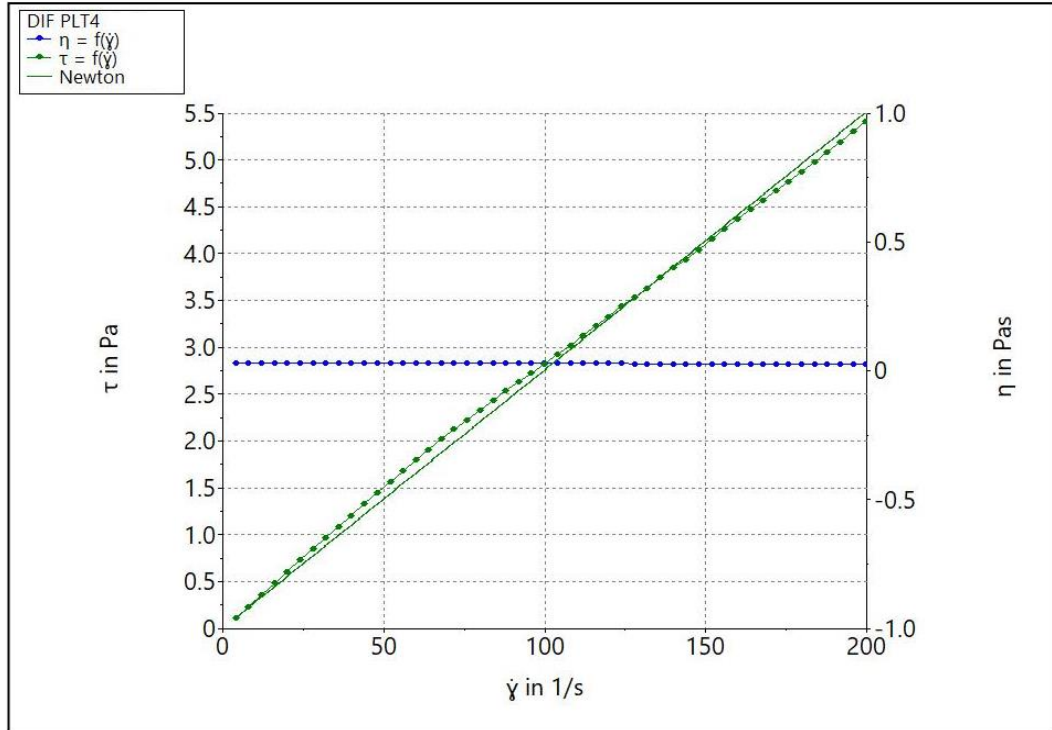
Şekil 4.61 PLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



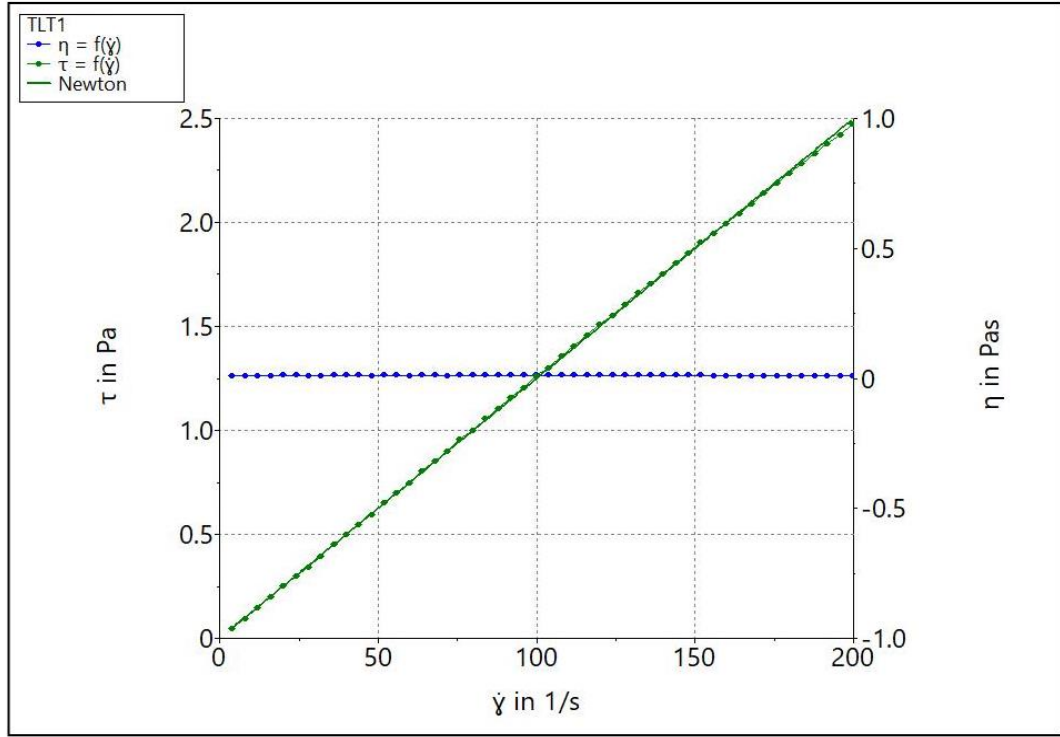
Şekil 4.62 DFV yüklü PLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



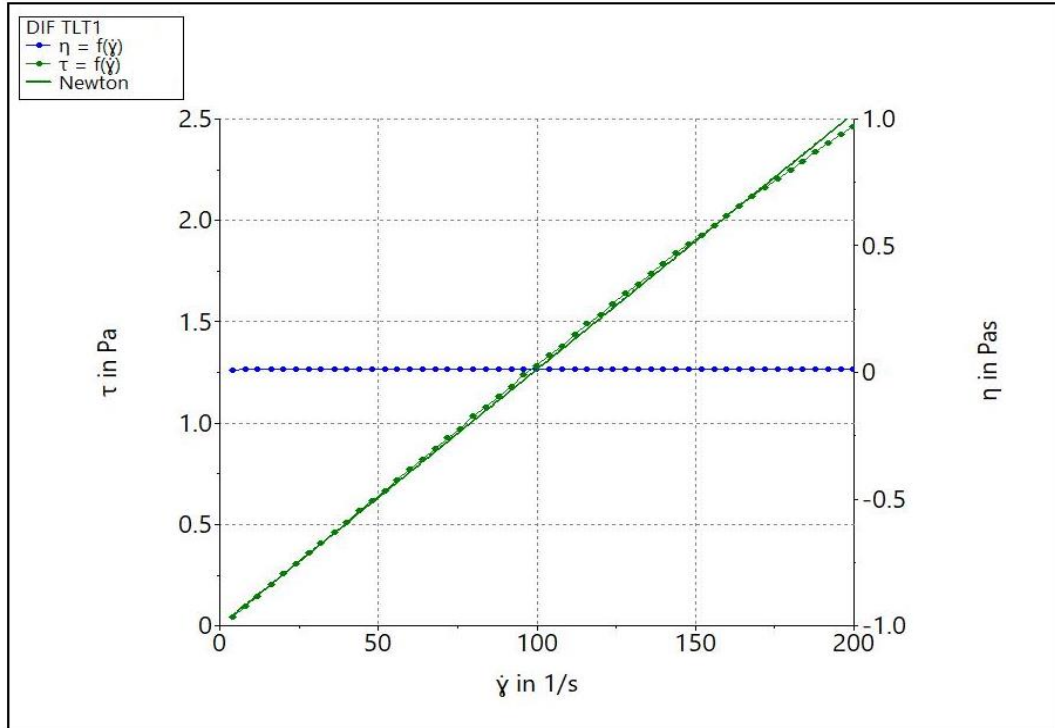
Şekil 4.63 PLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



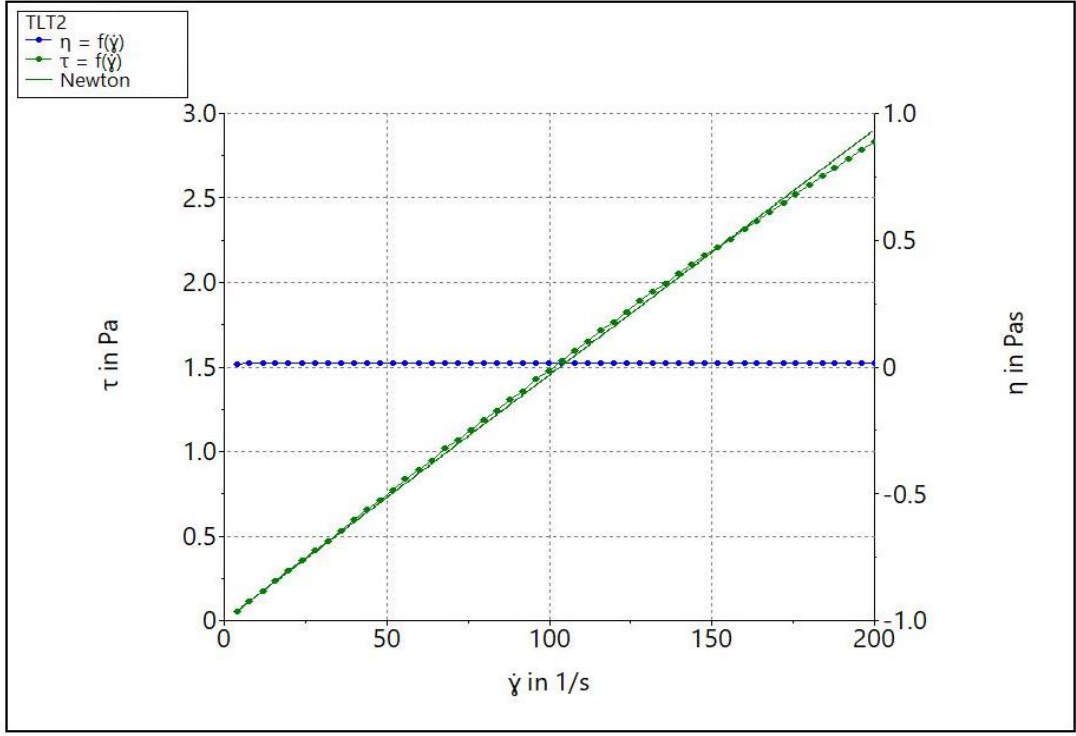
Şekil 4.64 DFV yüklü PLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



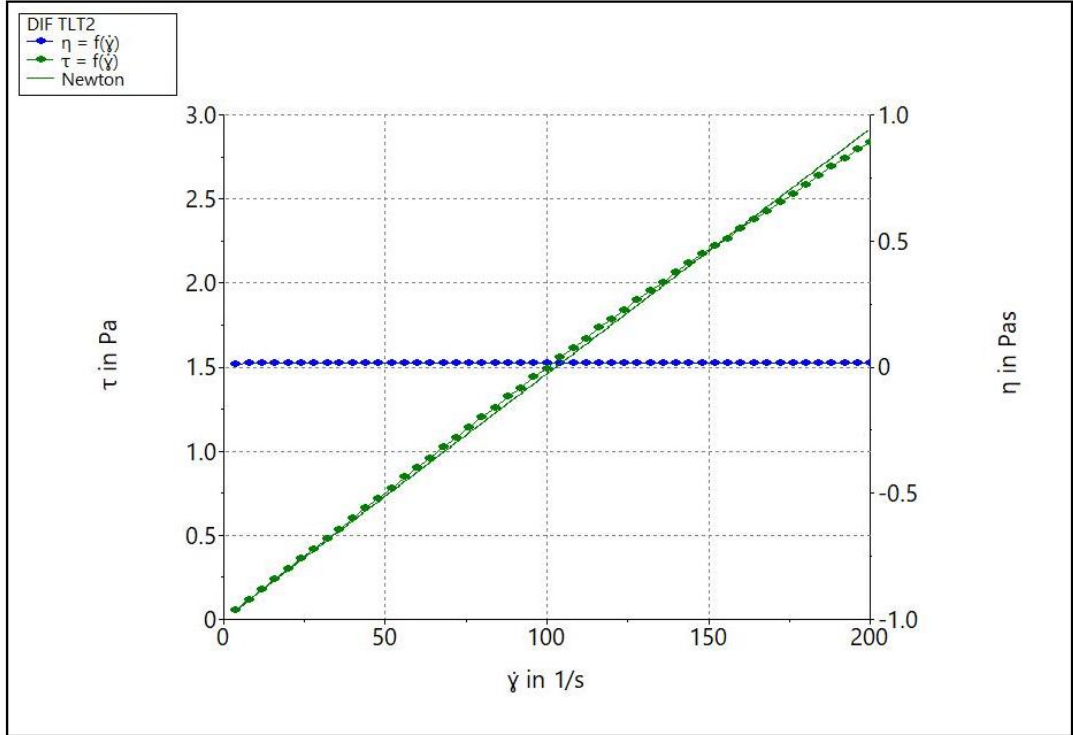
Şekil 4.65 TLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



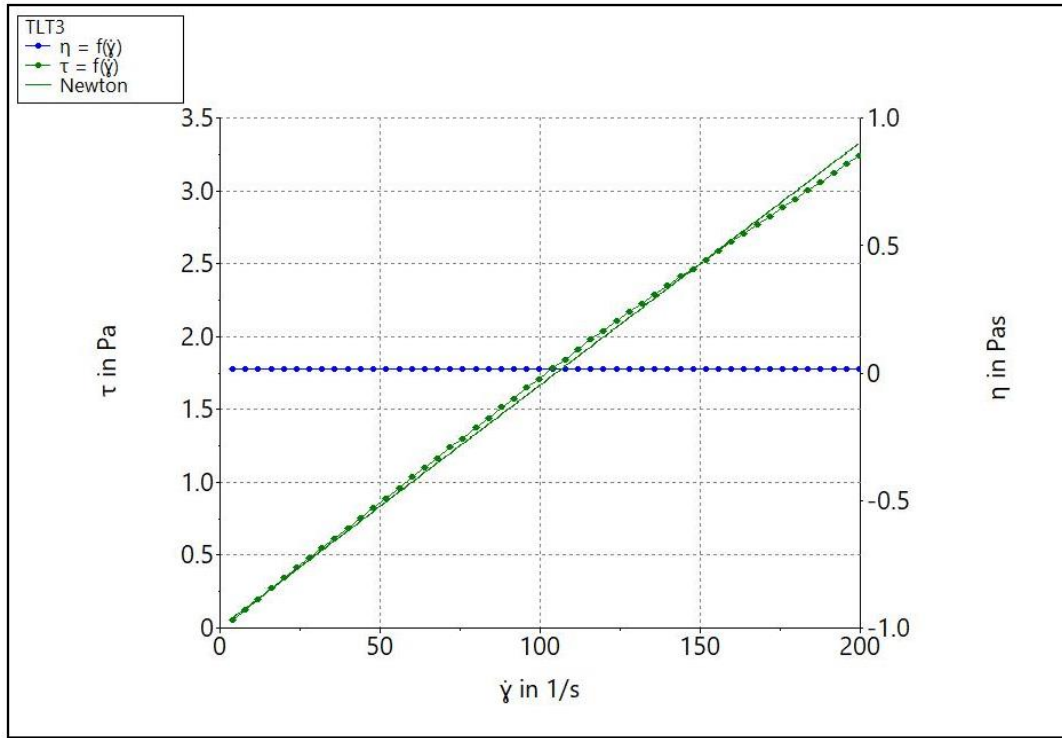
Şekil 4.66 DFV yüklü TLT1 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



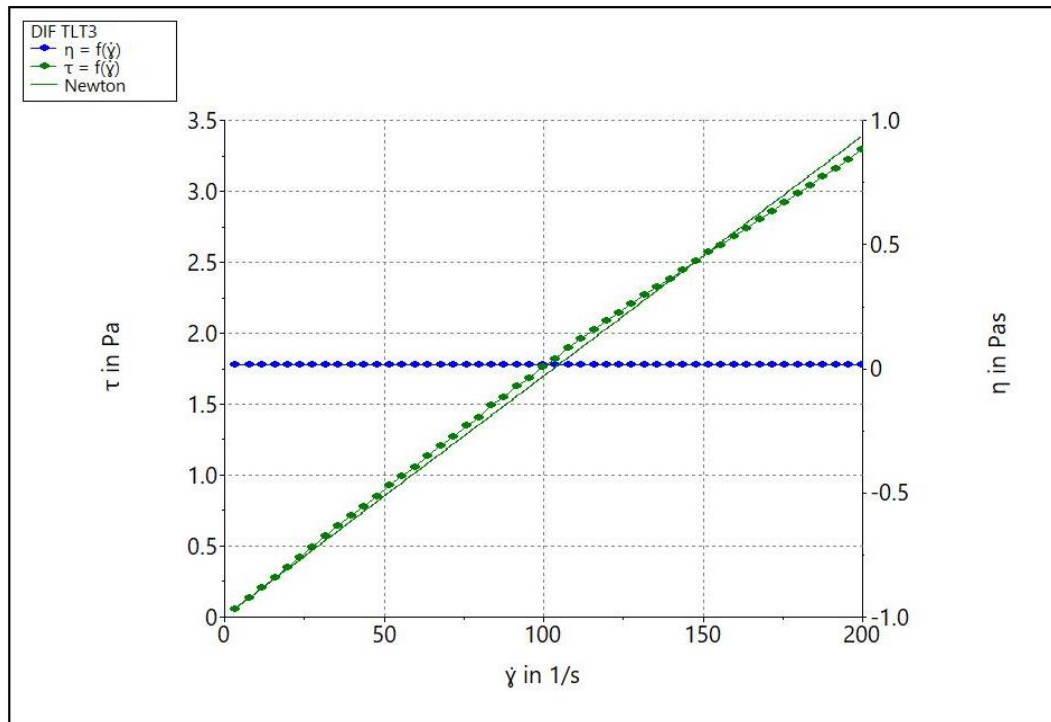
Şekil 4.67 TLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



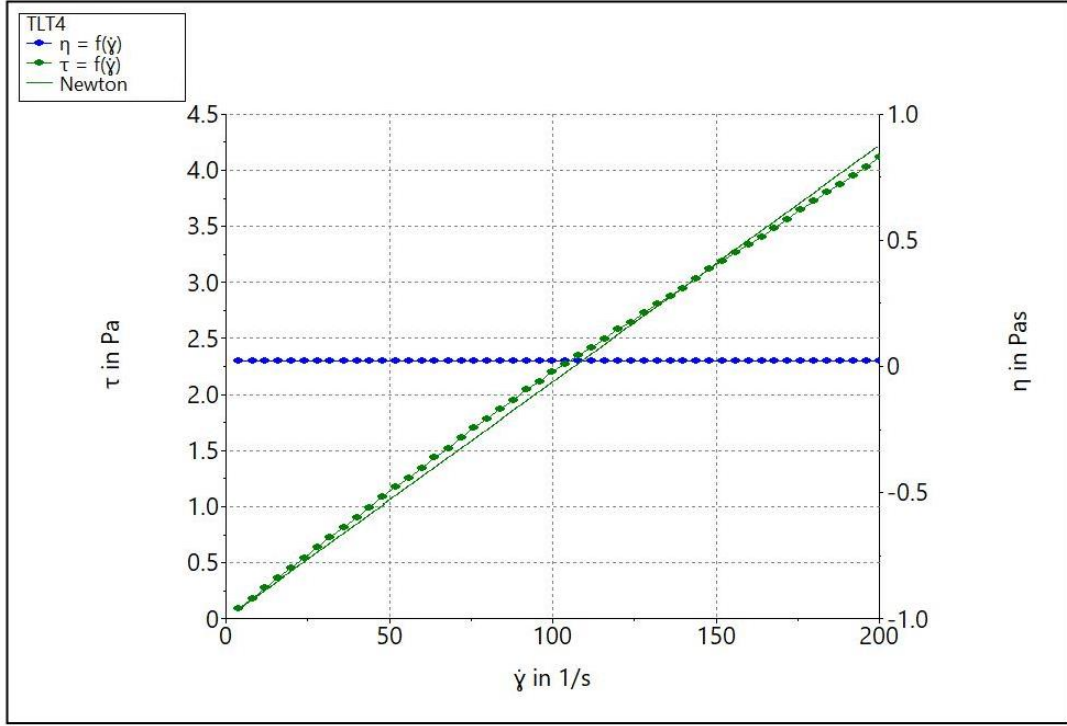
Şekil 4.68 DFV yüklü TLT2 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



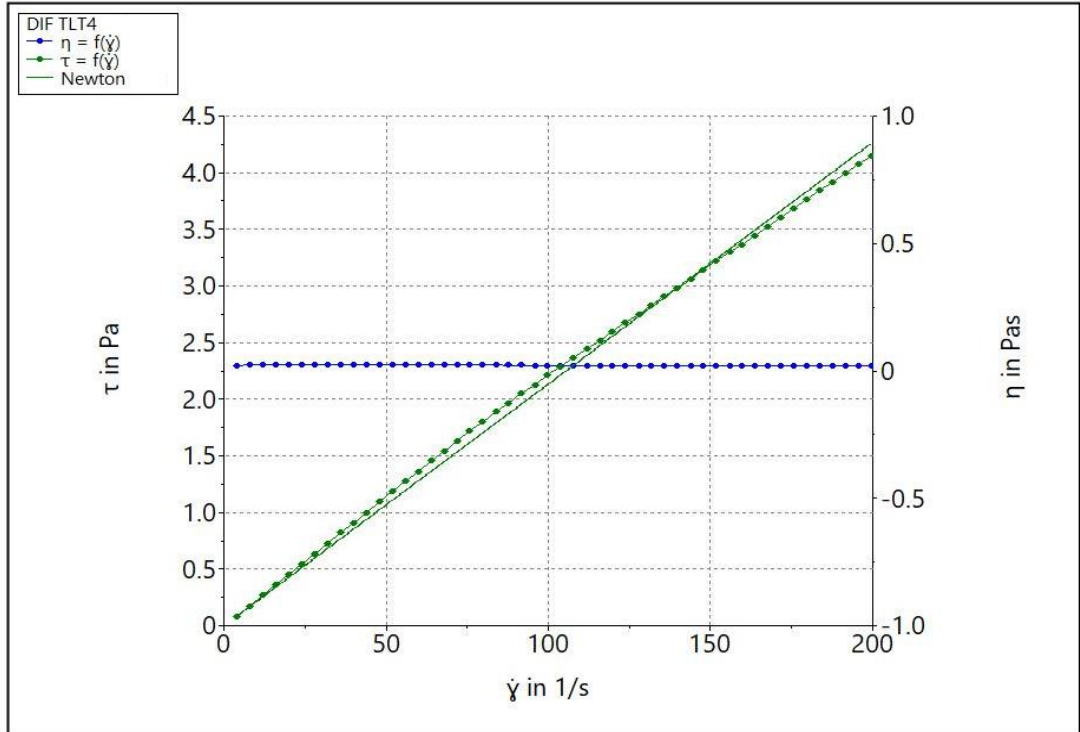
Şekil 4.69 TLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



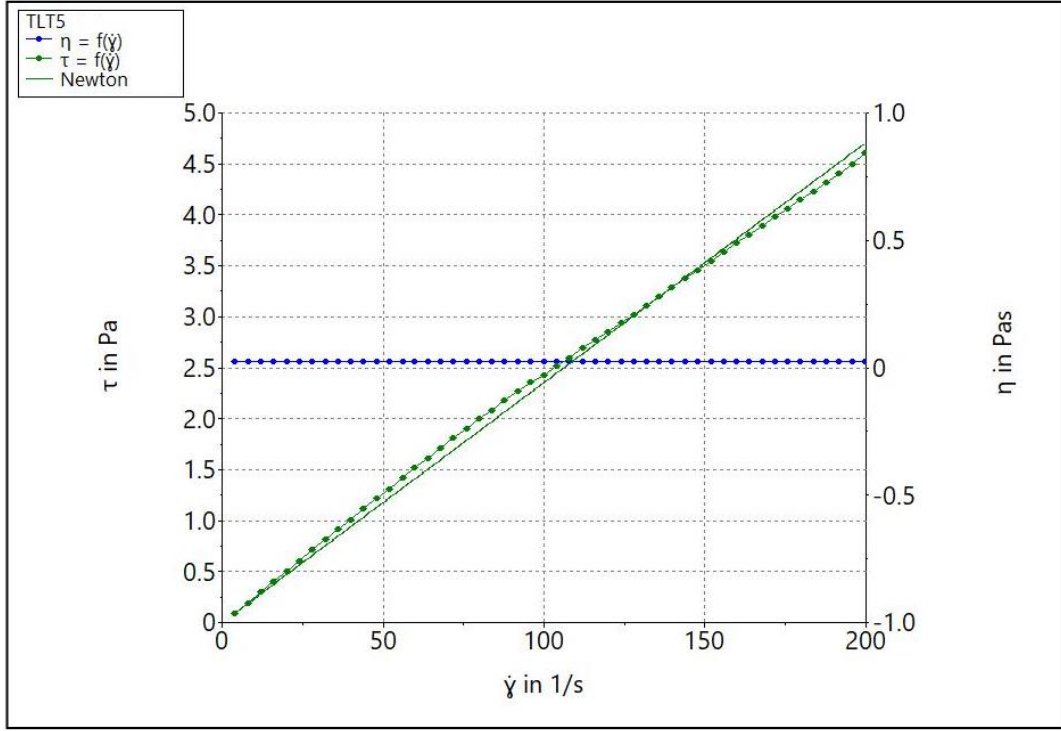
Şekil 4.70 DFV yüklü TLT3 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



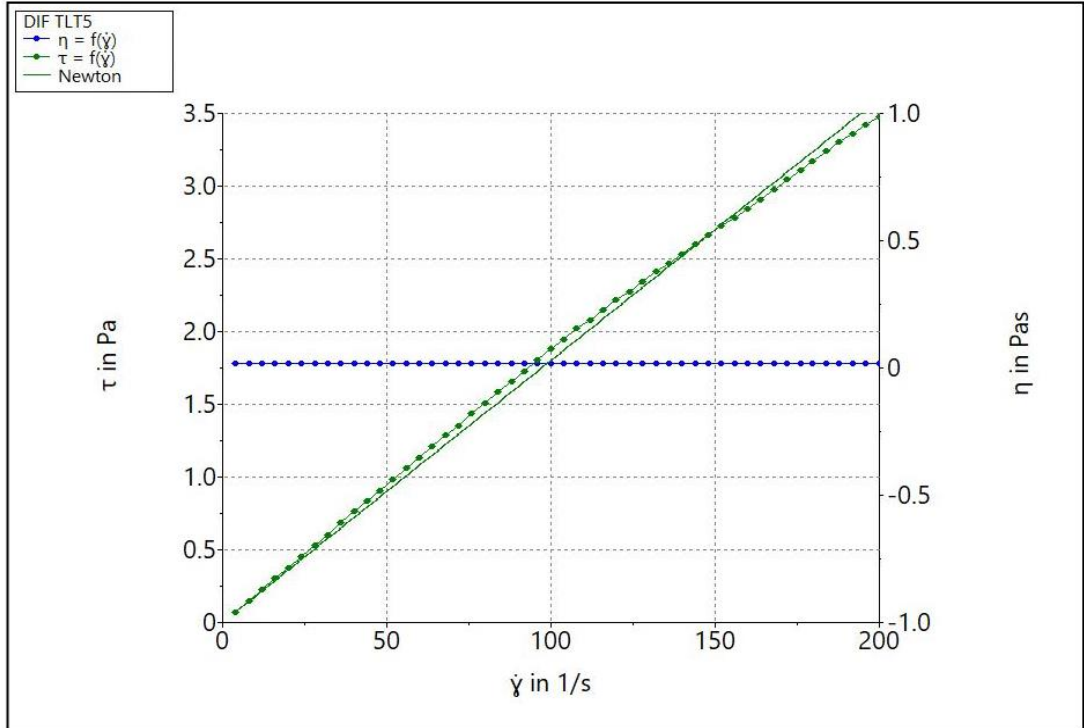
Şekil 4.71 TLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Şekil 4.72 DFV yüklü TLT4 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Şekil 4.73 TLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Şekil 4.74 DFV yüklü TLT5 formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi

Tablo 4.32 DFV yüklü formülasyonların Newtonian akış modeline göre kayma gerilimi, viskozite ve r^2 değerleri

Formülasyon	τ (Pa)	η (Pas)	r^2
MLT1	$4,12 \pm 0,018$	$0,04 \pm 0,00019$	$0,999 \pm 0,0$
MLT2	$2,95 \pm 0,012$	$0,03 \pm 0,00007$	$0,998 \pm 0,00015$
MLT3	$2,76 \pm 0,006$	$0,03 \pm 0,00006$	$0,998 \pm 0,00006$
MLT4	$2,42 \pm 0,007$	$0,02 \pm 0,00006$	$0,998 \pm 0,00006$
MLT5	$2,66 \pm 0,003$	$0,03 \pm 0,00003$	$0,998 \pm 0,00006$
MLT6	$3,89 \pm 0,020$	$0,04 \pm 0,00017$	$0,999 \pm 0,00006$
MLT7	$2,96 \pm 0,008$	$0,03 \pm 0,00008$	$0,998 \pm 0,00010$
PLT1	$2,32 \pm 0,006$	$0,02 \pm 0,00005$	$0,998 \pm 0,00006$
PLT2	$2,70 \pm 0,013$	$0,03 \pm 0,00014$	$0,998 \pm 0,00006$
PLT3	$2,62 \pm 0,011$	$0,03 \pm 0,00012$	$0,998 \pm 0,00006$
PLT4	$2,85 \pm 0,006$	$0,03 \pm 0,00006$	$0,998 \pm 0,00006$
TLT1	$1,29 \pm 0,009$	$0,01 \pm 0,00008$	$0,999 \pm 0,00010$

TLT2	1,51 ± 0,012	0,01 ± 0,00011	0,999 ± 0,00025
TLT3	1,74 ± 0,004	0,02 ± 0,00007	0,999 ± 0,00006
TLT4	2,21 ± 0,011	0,02 ± 0,00011	0,999 ± 0,00017
TLT5	1,83 ± 0,017	0,02 ± 0,00017	0,998 ± 0,00006

Tablo 4.33 Boş formülasyonların Newtonian akış modeline göre kayma gerilimi, viskozite ve r² değerleri

Formülasyon	τ (Pa)	η (Pas)	r²
MLT1	3,81 ± 0,03793	0,04 ± 0,00038	0,999 ± 0,0
MLT2	2,92 ± 0,0193	0,03 ± 0,00022	0,999 ± 0,00006
MLT3	2,79 ± 0,02688	0,03 ± 0,00025	0,999 ± 0,00012
MLT4	2,44 ± 0,00496	0,02 ± 0,00004	0,999 ± 0,00010
MLT5	2,63 ± 0,0075	0,03 ± 0,00007	0,999 ± 0,00006
MLT6	3,86 ± 0,00767	0,04 ± 0,00009	0,999 ± 0,0

MLT7	2,92 ± 0,00193	0,03 ± 0,00003	0,999 ± 0,00006
PLT1	2,47 ± 0,04652	0,02 ± 0,00045	0,998 ± 0,00067
PLT2	2,79 ± 0,02932	0,03 ± 0,00012	0,998 ± 0,00006
PLT3	2,83 ± 0,01549	0,03 ± 0,00013	0,998 ± 0,00021
PLT4	2,88 ± 0,02368	0,03 ± 0,00022	0,999 ± 0,0
TLT1	1,27 ± 0,01486	0,01 ± 0,00015	1 ± 0,00012
TLT2	1,49 ± 0,00559	0,01 ± 0,00005	0,999 ± 0,0
TLT3	1,72 ± 0,00732	0,02 ± 0,00006	0,999 ± 0,00006
TLT4	2,18 ± 0,00803	0,02 ± 0,00009	0,999 ± 0,00017
TLT5	1,84 ± 0,02734	0,02 ± 0,00025	0,999 ± 0,0002

4.8.7. Stabilité

Yöntem 3.2.9.7’de anlatıldığı şekilde seçilen mikroemülsiyon formülasyonlarının 3 ay süreyle stabilite takibi yapıldı. Formülasyonlar görsel olarak değerlendirildiğinde de hiçbirinde faz ayrımı ve bulanıklık gözlenmedi.

Seçilen DFV yüklü formülasyonların damlacık boyutu takibi Tablo 4.34'te, PDI takibi Tablo 4.35'te, pH takibi Tablo 4.36'da, etkin madde miktar tayini takibi ise Tablo 4.37'de verildi.

Tablo 4.34 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu stabilite takibi

Form. Adı	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
MLT1	12,42 ± 0,19	9,9 ± 0,1	9,97 ± 0,22	10,21 ± 0,39
MLT2	16,75 ± 0,37	16,51 ± 0,27	16,53 ± 0,27	16,46 ± 0,34
MLT3	17,03 ± 0,23	16,28 ± 0,31	16,6 ± 0,38	16,82 ± 0,17
MLT4	14,58 ± 0,39	14,83 ± 0,19	14,88 ± 0,36	15,16 ± 0,37
MLT5	15,47 ± 0,42	15,45 ± 0,3	15,63 ± 0,29	15,86 ± 0,24
MLT6	12,81 ± 4,11	11,48 ± 0,58	10,61 ± 0,24	10,69 ± 0,41
MLT7	17,33 ± 0,85	17,37 ± 0,76	16,87 ± 0,47	16,98 ± 0,38
PLT1	25,7 ± 0,63	25,74 ± 0,95	25,56 ± 0,55	25,86 ± 0,83
PLT2	11,13 ± 0,2	10,88 ± 0,09	11,29 ± 0,23	11,11 ± 0,16
PLT3	14,06 ± 0,43	13,57 ± 0,31	14,67 ± 0,23	14,83 ± 0,12
PLT4	10,06 ± 0,41	14,73 ± 0,15	10,03 ± 0,23	10,08 ± 0,19
TLT1	4,30 ± 1,29	2,67 ± 0,75	5,91 ± 6,88	10,46 ± 3,99
TLT2	3,85 ± 0,15	3,53 ± 0,04	3,71 ± 0,15	4,5 ± 0,25
TLT3	7,33 ± 0,63	5,61 ± 0,08	7,96 ± 0,38	8,33 ± 0,35
TLT4	3,86 ± 0,71	3,15 ± 0,06	5,48 ± 4,99	3,4 ± 0,25
TLT5	18,45 ± 7,37	5,97 ± 1,62	12,92 ± 4,98	13,07 ± 6,17

Tablo 4.35 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının polidispersite indeksi stabilite takibi

Form. Adı	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
MLT1	0,33 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,04	0,19 ± 0,01
MLT2	0,13 ± 0,03	0,11 ± 0,03	0,23 ± 0,21	0,12 ± 0,04
MLT3	0,20 ± 0,02	0,14 ± 0,05	0,14 ± 0,03	0,15 ± 0,04
MLT4	0,20 ± 0,03	0,22 ± 0,01	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,02
MLT5	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,19 ± 0,02
MLT6	0,23 ± 0,08	0,22 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,14 ± 0,02
MLT7	0,15 ± 0,08	0,14 ± 0,05	0,08 ± 0,04	0,12 ± 0,03
PLT1	0,09 ± 0,04	0,07 ± 0,05	0,05 ± 0,05	0,04 ± 0,02
PLT2	0,14 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,13 ± 0,02
PLT3	0,14 ± 0,04	0,14 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,1 ± 0,04
PLT4	0,14 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,13 ± 0,03
TLT1	0,21 ± 0,05	0,25 ± 0,05	0,18 ± 0,06	0,26 ± 0,08
TLT2	0,20 ± 0,03	0,18 ± 0,01	0,21 ± 0,02	0,28 ± 0,02
TLT3	0,21 ± 0,02	0,14 ± 0,04	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,02
TLT4	0,23 ± 0,05	0,28 ± 0,01	0,29 ± 0,04	0,26 ± 0,01
TLT5	0,42 ± 0,11	0,34 ± 0,05	0,27 ± 0,12	0,28 ± 0,1

Tablo 4.36 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının pH stabilite takibi

Form. Adı	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
MLT1	4,78 ± 0,02	4,71 ± 0,05	4,58 ± 0,01	4,44 ± 0,02
MLT2	5,75 ± 0,03	6 ± 0,1	5,61 ± 0,07	5,56 ± 0,03
MLT3	4,90 ± 0,07	4,71 ± 0,11	4,58 ± 0,02	4,21 ± 0,01
MLT4	4,81 ± 0,05	4,41 ± 0,04	4,31 ± 0,01	3,94 ± 0,01
MLT5	4,93 ± 0,02	4,79 ± 0,04	4,59 ± 0,02	4,15 ± 0,02
MLT6	4,96 ± 0,01	4,89 ± 0,11	4,83 ± 0,02	4,49 ± 0,03
MLT7	4,90 ± 0,08	5,05 ± 0,04	5,19 ± 0,01	4,82 ± 0,01
PLT1	4,86 ± 0,03	5,16 ± 0,02	5,65 ± 0,02	5,46 ± 0,02
PLT2	4,54 ± 0,04	4,48 ± 0,04	4,26 ± 0,01	4,03 ± 0,01
PLT3	4,34 ± 0,03	4,22 ± 0,02	4,02 ± 0,01	3,98 ± 0,03
PLT4	4,64 ± 0,04	4,7 ± 0,07	4,46 ± 0,01	4,27 ± 0,02
TLT1	4,55 ± 0,04	4,73 ± 0,05	4,43 ± 0,02	4,25 ± 0,02
TLT2	4,50 ± 0,07	4,39 ± 0,05	4,38 ± 0,02	4,05 ± 0,02
TLT3	4,84 ± 0,05	4,65 ± 0,05	4,42 ± 0,01	4,08 ± 0,02
TLT4	4,81 ± 0,02	4,57 ± 0,08	4,29 ± 0,04	4,06 ± 0,01
TLT5	5,01 ± 0,12	4,66 ± 0,06	4,67 ± 0,02	4,34 ± 0,02

Tablo 4.37 DFV yüklü seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının etkin madde miktar tayini stabilite takibi

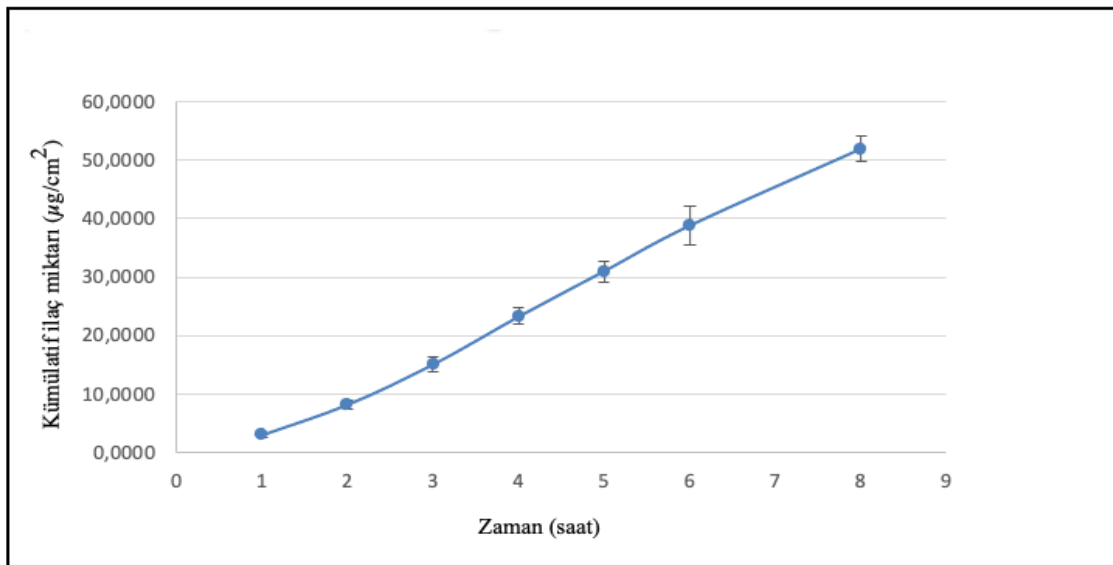
Form. Adı	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
MLT1	101,503	101,945	101,029	101,649
MLT2	102,183	101,514	100,508	101,336
MLT3	102,044	102,987	102,238	102,412
MLT4	100,084	101,108	100,801	102,989
MLT5	99,124	98,073	98,451	99,428
MLT6	97,267	98,596	97,928	97,655
MLT7	99,338	100,344	99,933	100,357
PLT1	99,886	100,307	100,980	100,858
PLT2	100,155	100,230	99,673	100,233
PLT3	99,196	100,245	99,684	99,709
PLT4	103,785	104,463	103,807	101,470
TLT1	106,975	98,652	101,053	100,669
TLT2	99,989	101,340	100,974	100,003
TLT3	99,901	101,247	99,348	100,231
TLT4	100,006	101,462	99,517	100,089
TLT5	99,839	100,312	101,044	99,322

4.9. *In vitro* Salım Çalışmaları

Yöntem 3.2.10’da anlatıldığı şekilde *in vitro* salım deneyleri yapıldı. Sonuçlar Tablo 4.38-46 aralığında, Salım profil grafikleri ise Şekil 4.75-83 aralığında verildi. Salım çalışması yapılan tüm formülasyonların ve referans ürünün birlikte yer aldığı salım grafiği ise Şekil 4.84’te verilmiştir.

Tablo 4.38 MLT1 formülasyonu *in vitro* salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

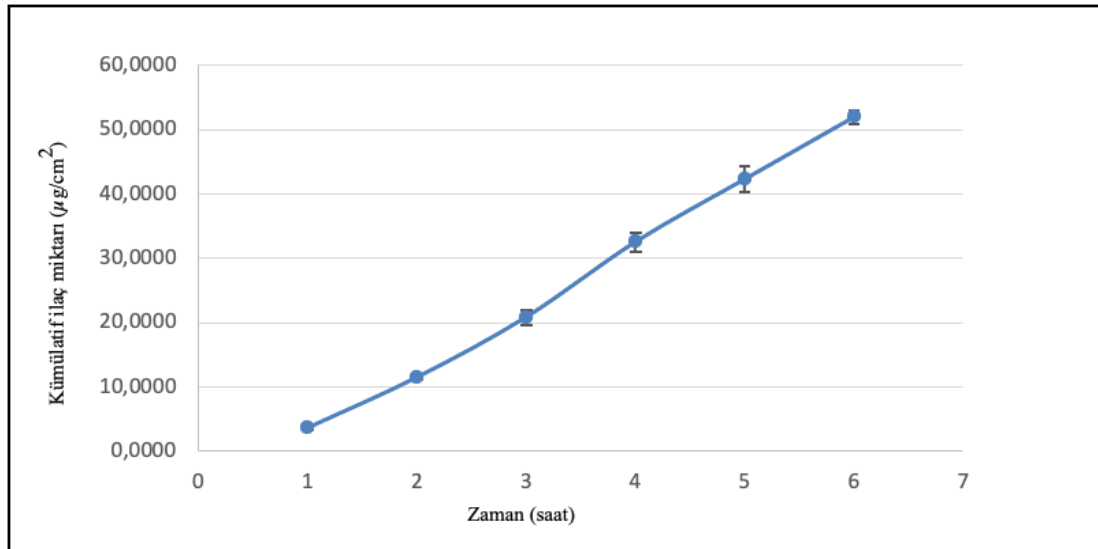
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	3,0198	0,3657
2	8,2285	0,7241
3	15,0934	1,2144
4	23,2938	1,4022
5	31,0521	1,7949
6	38,8327	3,2474
8	51,9442	2,2407



Şekil 4.75 MLT1 formülasyonunun *in vitro* geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.39 MLT3 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

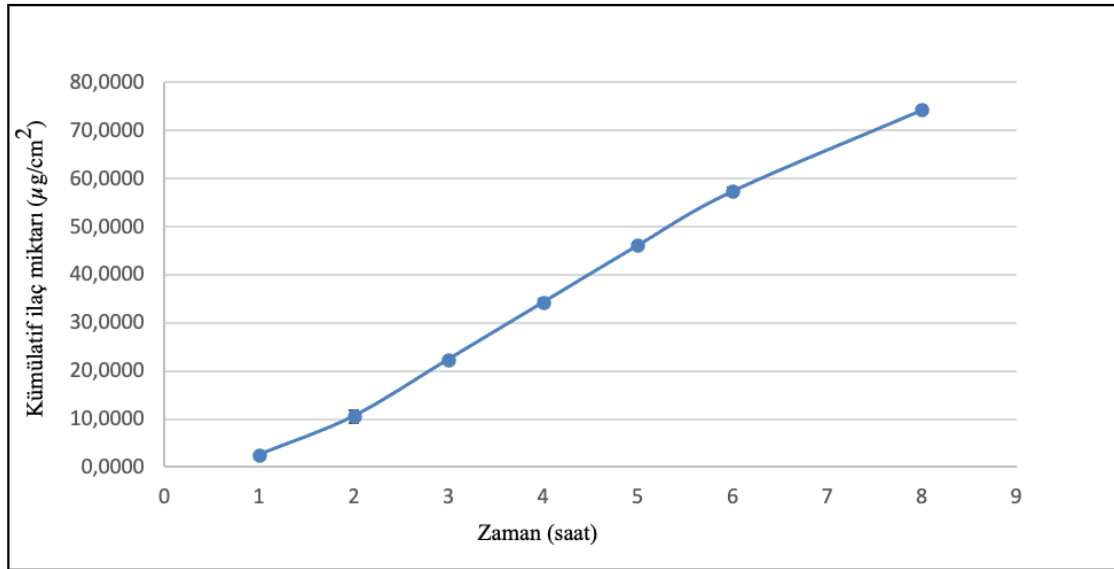
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	3,6013	0,2856
2	11,4640	0,1823
3	20,8409	1,2093
4	32,5339	1,5025
5	42,2845	2,0506
6	51,9394	1,0157
8	66,0898	1,0281



Şekil 4.76 MLT3 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.40 MLT4 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

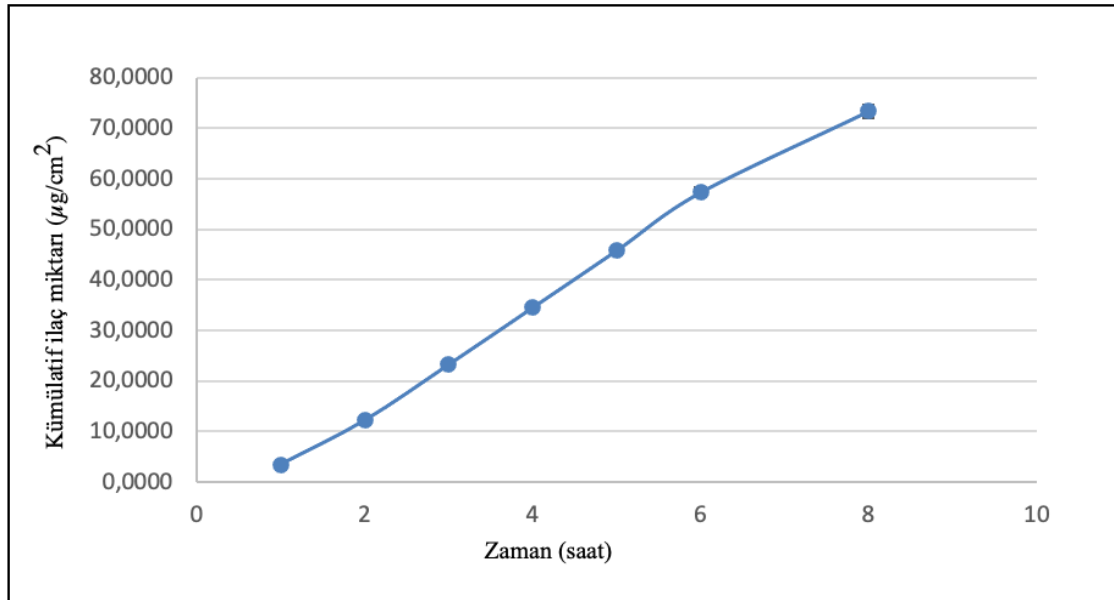
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	2,5143	0,1872
2	10,5347	1,2635
3	22,3898	0,4492
4	34,2490	0,8235
5	46,1179	0,5282
6	57,3654	0,8050
8	74,2872	0,4801



Şekil 4.77 MLT4 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.41 MLT5 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

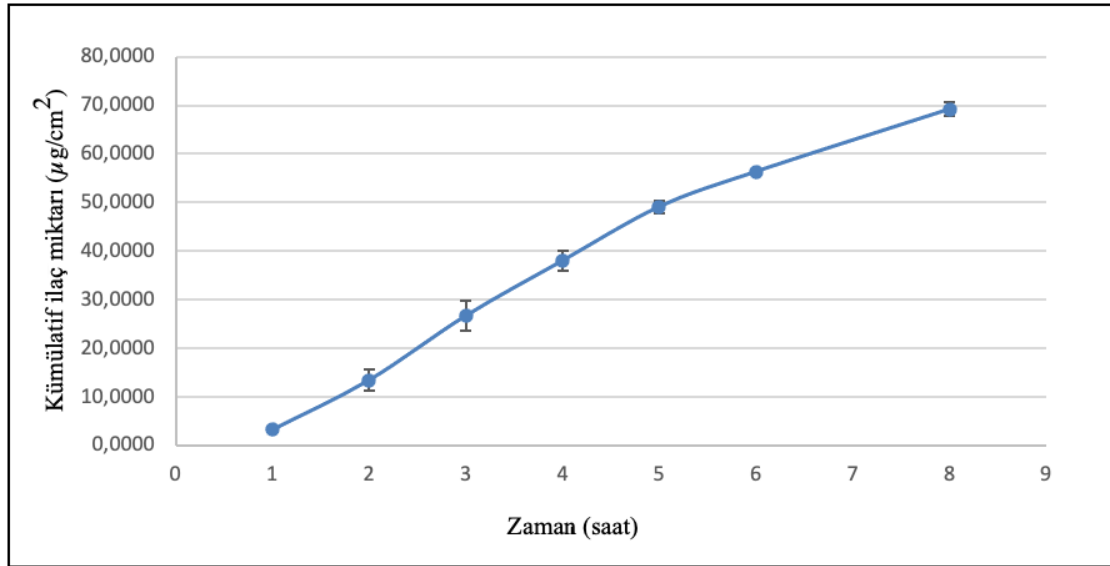
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	3,4637	0,1539
2	12,1820	0,2053
3	23,2116	0,1674
4	34,4910	0,4132
5	45,7900	0,4008
6	57,3118	0,9531
8	73,3897	1,3292



Şekil 4.78 MLT5 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.42 PLT1 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

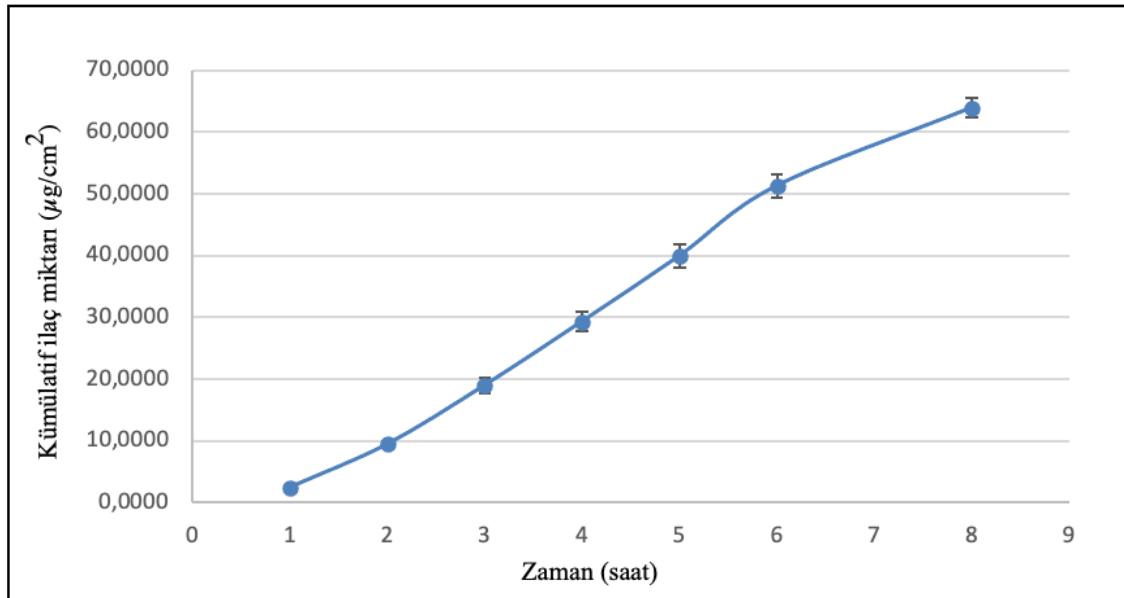
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	3,2401	0,1832
2	13,4424	2,2474
3	26,6815	2,9998
4	38,0173	1,9380
5	49,1071	1,3315
6	56,3468	0,3286
8	69,1975	1,3420



Şekil 4.79 PLT1 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.43 PLT2 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

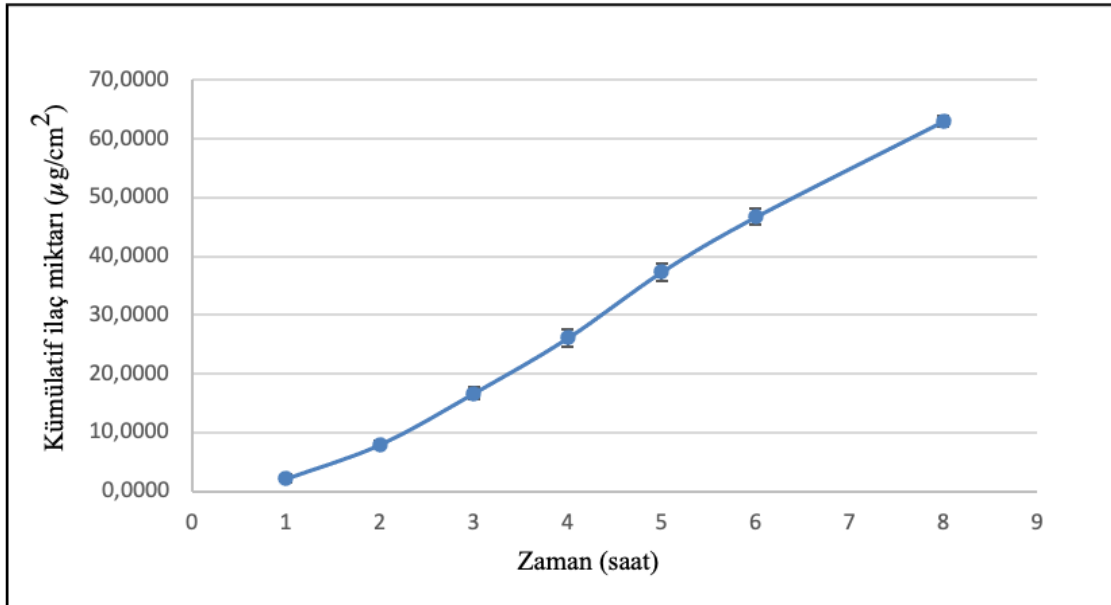
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	2,4804	0,3628
2	9,4538	0,4923
3	18,9776	1,2124
4	29,3025	1,5221
5	39,9233	1,8928
6	51,2781	1,8504
8	63,9240	1,6076



Şekil 4.80 PLT2 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.44 PLT3 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

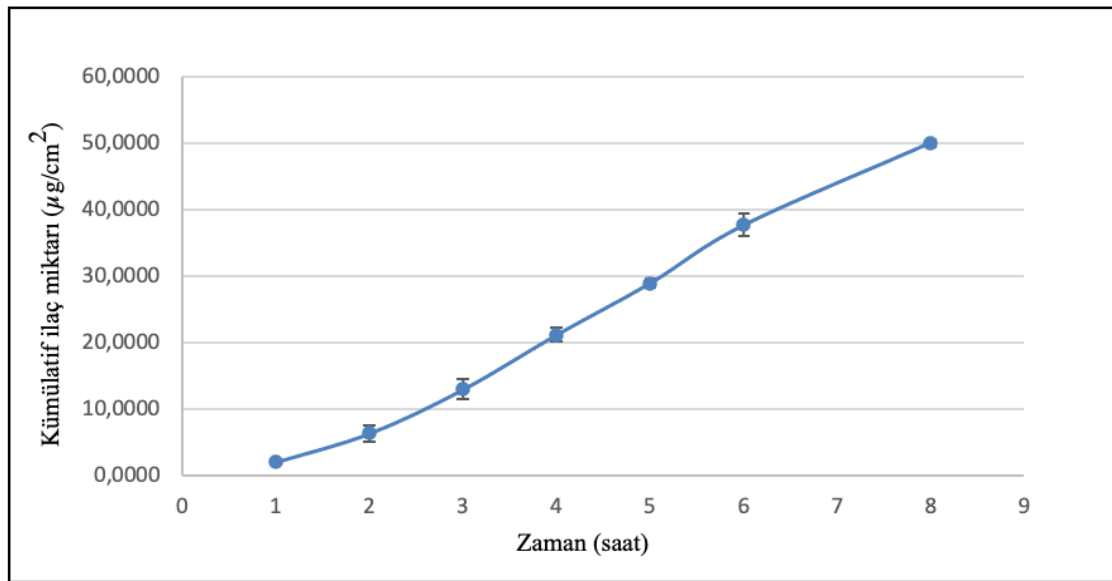
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	2,1399	0,6555
2	7,9404	0,5581
3	16,6872	1,0200
4	26,0833	1,5431
5	37,3274	1,5492
6	46,6913	1,3956
8	63,0031	0,9636



Şekil 4.81 PLT3 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.45 PLT4 formülasyonu in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

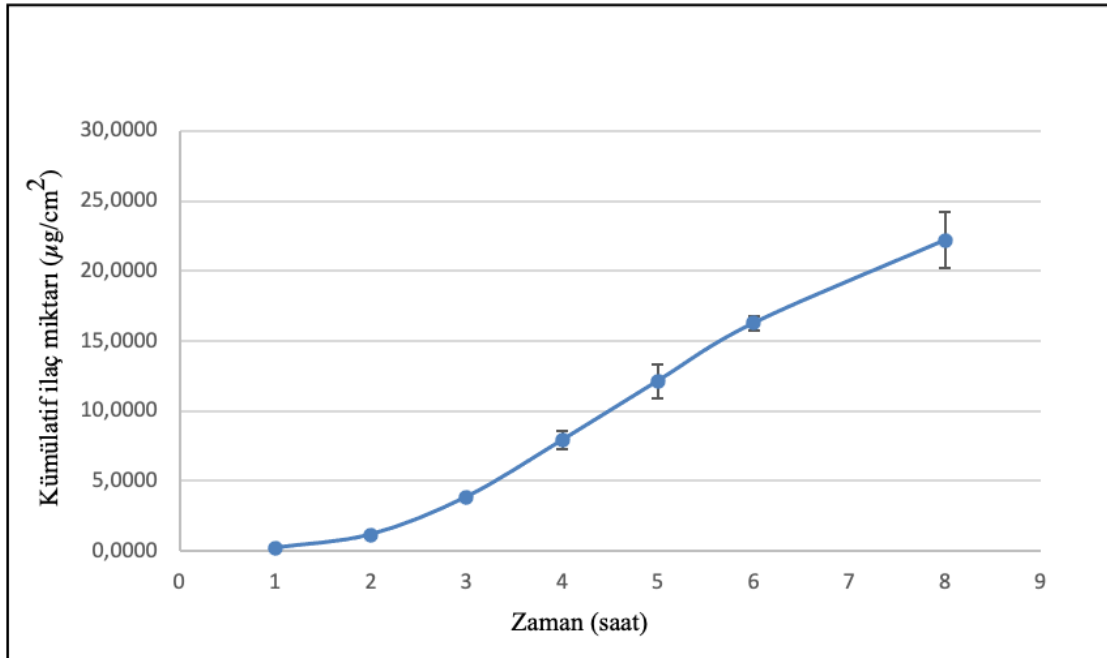
Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	2,0832	0,1457
2	6,3813	1,2729
3	12,9771	1,5031
4	21,2002	1,0606
5	28,9430	0,6872
6	37,6663	1,6580
8	50,0281	0,5888



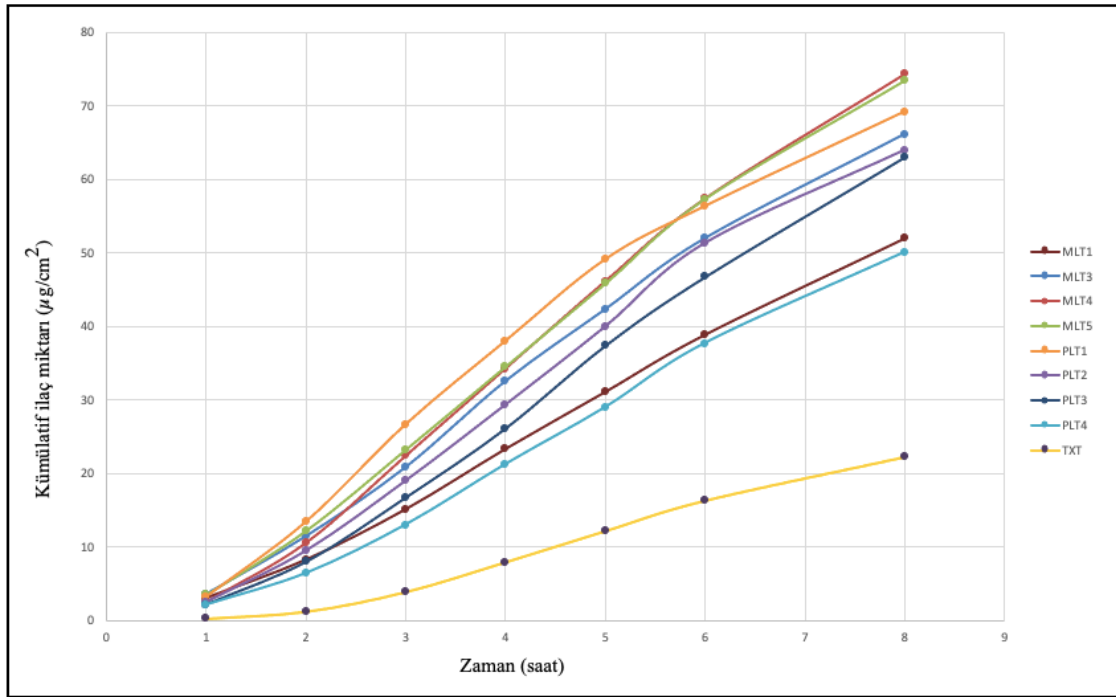
Şekil 4.82 PLT4 formülasyonunun in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği

Tablo 4.46 Referans ürün in vitro salım çalışmasına ait ortalama salınan kümülatif diflukortolon valerat miktarı ve standart sapma değeri

Saat	Ortalama($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD($\pm$)
1	0,2290	0,0110
2	1,1807	0,0699
3	3,8626	0,1066
4	7,9165	0,6609
5	12,1485	1,2189
6	16,2739	0,5372
8	22,2086	2,0106



Şekil 4.83Referans ürünün in vitro geçiş çalışmasına ait salım profili grafiği



Şekil 4.84 In vitro geçiş çalışması yapılan tüm formülasyonlara ve referans ürüne ait salım profilleri

4.10. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

Yöntem 3.2.11’de anlatıldığı şekilde seçilen ve *in vitro* salım çalışması yapılan formülasyonların kinetik parametreleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.47’de verildi, formülasyonların hangi salım kinetiğine uydukları gösterildi.

Tablo 4.47 Seçilen formülasyonların salım kinetiği parametreleri

Formülasyon Adı	0.derece (r ²)	1.derece (r ²)	Hixson Crowell (r ²)	Higuchi (r ²)	Korsmeyer-Peppas (r ²)	Korsmeyer-Peppas (n)
MLT1	0,9975	0,9964	0,9969	0,9697	0,8930	18,8856
MLT3	0,9943	0,9965	0,9960	0,9819	0,9190	24,6760
MLT4	0,9956	0,9968	0,9968	0,9791	0,9122	28,2444
MLT5	0,9961	0,9973	0,9972	0,9806	0,9151	27,4206
PLT1	0,9801	0,9885	0,9860	0,9935	0,9558	26,5595

PLT2	0,9922	0,9933	0,9932	0,9752	0,9074	24,4560
PLT3	0,9957	0,9938	0,9947	0,9649	0,8849	23,5914
PLT4	0,9945	0,9929	0,9936	0,9616	0,8796	18,6419
TMTX	0,9833	0,9823	0,9827	0,9362	0,8400	8,6233



5. TARTIŞMA

Mikroemülsiyonlar; su, yağ, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddeden oluşan şeffaf, monofazik, optik olarak izotropik ve termodinamik olarak kararlı, çeşitli bileşikleri çözebilen çok yönlü sistemlerdir. Su fazının içerisinde yağın dağıldığı Y/S, yağ fazının içinde su fazının dağıldığı S/Y ve de su fazıyla yağ fazının yaklaşık olarak aynı miktarda bulunduğu bicontinuous olarak adlandırılan yarı-saydam karışımlardır. Genellikle 10 ila 100 nm arasında damlacık boyutlarına sahiptirler ve bu dispers sistemler birbirleriyle karışmazlar.¹ Nano boyutta taşıyıcı sistemler ilaç moleküllerinin terapötik etkinliğini geliştirmek için son yıllarda çok fazla ilgi görmektedir. Nano boyutta ilaç taşıyıcı sistemler olan mikroemülsiyonlar da oral, parental, transdermal ve dermal yolla ilaç uygulanması için çeşitli farmasötik formülasyonlarda kullanılmaktadırlar. Üretim kolaylığı, farmasötik formülasyonda ilaç çözünürlüğünü iyileştirme ve membrandan permeasyonun artırılmasını sağlama gibi önemli avantajlara sahiptirler.⁴⁷

Topikal kortikosteroidler antiinflamatuvar ve immunsupresan etkilere ihtiyaç duyulan cilt hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaç grubudur. Vazodilatasyonu inhibe ederek ve inflamasyonun devamında meydana gelen damar geçirgenliğini arttırarak inflamasyonu hafifletirler. Bunun yanında inflamasyonlu bölgeye lökositlerin göç etmesini de azaltırlar. İmmunosüpresif kortikosteroidler; damar çeperinde antijen-antikor komplekslerinin çökmesiyle meydana gelen kutanöz alerjik vaskülitin toksik etkilerini inhibe ederek gecikmiş veya ani aşırı duyarlılık reaksiyonlarını azaltmaktadırlar.⁵

Diflukortolon valerat (DFV), cilt hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan, güçlü, kortikosteroid yapıda bir moleküldür. Kortikosteroid sınıflandırma sistemine göre DFV'nin mevcut merhem ve krem formülasyonları, güçlü etkili steroidler grubunda yer almaktadır.³³ Piyasada ticari ürün olarak Diflukortolon valerat'ın %0,1'lik ve %0,3'lük krem ve merhem formülasyonları mevcuttur.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında daha önce çalışılmamış olan diflukortolon valerat'ın mikroemülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir. Tez çalışmamızda mikroemülsiyon formülasyonun seçilme nedeni hem daha önce DFV ile mikroemülsiyon çalışılmamış olması hem de lipofilik özellikte bu ilacın formülasyon içindeki çözünürlüğünün ve formülasyondan ilaç salımının iyileştirilebileceğinin düşünülmesidir. Bunun yanında büyük ölçekli üretime olanak vererek, stabilite açısından dayanıklı ürünler elde etmek ve piyasadaki mevcut ürünlere alternatif sunulması hedeflenmiştir. Yapılan deneylerle lipofilik bir molekül olan DFV'nin farklı bileşenlerle Y/S tipi mikroemülsiyonları hazırlandı. Optimum olduğuna karar verilen mikromemülsiyon formülasyonlarının karakterizasyon çalışmaları, *in vitro* salım çalışmaları ve 3 aylık stabilite takipleri yapıldı.

Tez çalışmamızda etkin madde miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanıldı. Kullanılan analitik yöntemin validasyon çalışmaları yapıldı. Bu kapsamda doğrusalılık, kesinlik (gün içi ve günler arası kesinlik), doğruluk, seçicilik, teşhis limiti, miktar tayini limiti ve numunelerin stabilite deneyleri gerçekleştirildi.³⁹ Formülasyondaki diflukortolon valerat'ın miktar tayini, çözünürlük çalışmaları ve validasyon deneyleri için mobil faz olarak ACN:Su (70:30) kullanıldı. Etkin maddenin çözücü ortamlarındaki çözünürlüğünü belirleyebilmek için yapılan deneyler sonucunda, *in vitro* salım çalışmalarında reseptör ortam olarak pH 5.5 PBS + etanol (60:40) karışımı kullanılmasına karar verildi. Hem mobil faz hem de reseptör ortam için ayrı olarak validasyon çalışmaları yapıldı. Mobil faz ile yapılan doğrusalılık çalışması sonucunda determinasyon katsayısı (r^2) değeri 0,9998; reseptör faz ile yapılan doğrusalılık deneyleri sonucundaysa r^2 değeri 1 olarak bulundu. Her iki ortam için de kesinlik, doğruluk, seçicilik ve stabilite sonuçlarının uygun olduğu görüldü. Mobil faz için hazırlanan standart numunelerin teşhis limiti değeri 0,018; miktar tayin limiti 0,056 iken, reseptör ortam için teşhis limiti değeri 0,023; miktar tayin limiti de 0,07 olarak bulunmuştur.

Etkin maddenin formülasyon bileşenlerindeki çözünürlüklerini saptamak amacıyla Yöntem 3.2.4.1'de anlatıldığı şekilde çalışıldı. Çalışılan maddelerin çözünürlük sonuçları Tablo 4.17'de verildi. Çözünürlük sonuçlarına göre

önformülasyon çalışmalarında denenecek olan yağ, sürfaktan ve kosürfaktana karar verildi.

Kullanılacak olan yağ fazının seçimi, ilacın yapısı ve uygulama yolu göz önüne alınarak yapılmalıdır. Seçilen yağ ilacı iyi çözebilmeli ve üçgen faz diyagramında geniş bir oluşum alanı sunmalıdır.³ Yağ fazı bileşenleri ilacı iyi çözebilme özelliğine göre seçilse dahi bu durum ilacı iyi çözen yağ fazının cilde maksimum penetrasyon sağlayabileceği anlamına gelmemektedir. Bu noktada yapılan çalışmalarla; yağ fazı bileşenlerinin cilt üzerindeki etkisinin, ilacı çözebilme yeteneğinden daha önemli olabileceği düşünülmektedir.²⁰ Ketoprofenin mikromeülsiyon bazlı topikal formülasyonunun tasarlandığı bir çalışmada, triacetinin ketoprofen ile yapılan çözünürlük sonucu oleik aside göre neredeyse 4 kat daha yüksek olmasına rağmen, oleik asit triacetinden yaklaşık 7 kat daha fazla permeasyon göstermiştir.⁴⁸

Önformülasyon çalışmaları Yöntem 3.2.5'te anlatıldığı şekilde çalışıldı. Çalışmamızda sürfaktan olarak noniyonik bir sürfaktan olan, topikal kullanıma uygun Labrasol ile çalışılmaya karar verildi. Noniyonik yüzey aktif maddelerin cilde nüfuz etmeyi iyileştirdikleri bilinmektedir. İlaç molekülünün formülasyondan salım profiline ek olarak sürfaktanın nüfuz etmeyi artırıcı etkisinden de kaynaklanan bir iyileştirilmiş permeasyon gözlemlenebilmektedir.⁴⁹ Noniyonik yüzey aktif maddeler ayrıca pH ve iyonik yük değişimlerinden daha az etkilenmekte, kullanımları güvenli ve biyouyumlu olarak kabul edilmektedir.⁵⁰ Kosürfaktan olarak ise gelişmiş çözme kabiliyeti sebebiyle Transcutol-P seçildi. Mikroemülsiyonların su içeriğinden dolayı cilt nemlendirme özelliklerinin iyi olduğu, bu nedenle de penetrasyon artırıcı etkilerinin olduğu düşünülmektedir.²⁰ Bir penetrasyon artırıcı olarak su, topikal ve transdermal ilaç taşıyıcı sistemlerde uzun zamandır kullanılmaktadır.⁵¹ Çalışmamızda, lipofilik yapıdaki diflukortolon valerat'ın yağ fazında çözündürüldüğü Y/S tipi mikroemülsiyon oluşturulmak istendiği için su alma kapasitesi yüksek formülasyonlar seçildi.

Üçgen faz diyagramı Yöntem 3.2.6'da anlatıldığı şekilde; yağ, sürfaktan ve kosürfaktan karışımlarının üzerine sabit bir sıcaklıkta damla damla su ekleyip, bulanıklaşmanın başladığı noktayı kaydederek elde edilen değerlerle

çizilmiştir.⁴¹ Üçgen faz diyagramı, mikroemülsiyonu oluşturan bileşenlerin mikroemülsiyon oluşum alanındaki konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla çizilmektedir.⁵² Şekil 4.4-10'da görülen üçgen faz diyagramlarında Maisine/Labrasol/Transcutol-P (Km = 2:1, 1:1), Peceol/Labrasol/Transcutol-P (Km = 1:1, 1:2), Triacetin/Labrasol/Transcutol-P (Km = 1:1, 2:1, 3:1) formülasyonlarının mikroemülsiyon oluşum bölgelerinin geniş olduğu görülmektedir. Önformülasyon çalışmaları ve üçgen faz diyagramlarının çizilmesiyle yağ fazı olarak Maisine, Peceol ve Triacetin, sürfaktan olarak Labrasol, kosürfaktan olarak Transcutol-P'nin farklı oranlarda kullanıldığı, farklı yüzdelerde su içeren, görünüm, su alma kapasitesi, damlacık boyutu ve polidisperse indeksi ölçümü yapılan formülasyonlardan sonuçları uygun olanlar seçildi ve seçilen formülasyonlar ve içerik yüzdeleri Tablo 4.26'da verilmiştir.

Seçilmiş olan formülasyonların karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Fiziksel görünüm, pH değerleri, iletkenlikleri, etkin madde miktar tayini, damlacık boyutu ve polidisperse indeksleri, kayma gerilimi ve viskoziteleri ölçüldü. Dış fazı su olan DFV yüklü formülasyonların iletkenlik değerleri $3,45 \pm 0,05$ ile $38,27 \pm 3,13$ aralığında yer almaktadır. Ölçülen pH değerleri $4,34 \pm 0,03$ ile $5,75 \pm 0,03$ aralığında ölçülmüş olup, topikal kullanım için uygun bulunmuştur. PDI değerleri $0,09 \pm 0,04$ ile $0,42 \pm 0,11$ arasıyken, damlacık boyutları $3,86 \pm 0,71$ ile $25,7 \pm 0,63$ aralığındadır. Etkin madde miktar tayini ise 0. Gün için %97,267 ile %106,975 aralığında ölçülmüştür. Formülasyonların 25 °C ve %60 relatif nem koşullarında 3 ay süreyle stabilite takipleri yapıldı. Takip ölçümlerinde pH, iletkenlik ve etkin madde miktar tayini açısından anlamlı değişiklik görülmezken, yağ fazı olarak Triacetin içeren TLT formülasyonlarının PDI ve damlacık boyutlarının zamanla büyüdüğü ve değerlerde dalgalanmalar olduğu görüldü.

Mikroemülsiyonların reolojik özellikleri mevcut agregatların türüne, şekline, sayısına ve de bu agregatlar arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Mikroemülsiyonlar, Newtonian akış (sabit viskozite) sergilerler. Bununla beraber mikroemülsiyon türlerinin ve mikroemülsiyon yapısının tanımlanması tamamen reolojik verilere dayanılarak yapılamaz, çünkü bu makroskobik özellik

mikroemülsiyonun içindeki mikro yapısal değişiklikleri tespit edecek kadar hassas değildir.⁴⁵ Çalışmamızda hem DFV yüklü hem de boş mikroemülsiyon formülasyonlarının değişen kayma hızı aralığında sabit viskozitede kaldıkları ve Newtonian akış sergiledikleri Şekil 4.43-74'te grafikleriyle gösterilmiştir.

Stabilite takipleri neticesinde ölçüm değerleri diğerlerine oranla daha iyi çıkan seçilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarıyla *in vitro* salım çalışması yapıldı. Salım deneyleri Yöntem 3.2.10'da ayrıntılı olarak anlatıldığı şekilde çalışıldı. Reseptör fazın tayini için Yöntem 3.2.4.2'de anlatıldığı şekilde diflukortolon valerat'ın değişik çözünme ortamlarındaki çözünürlüğüne bakıldı. Sonuçlar neticesinde pH 5,5 PBS + etanol (60:40) karışımının reseptör faz olarak kullanılmasına karar verildi. Salım çalışması için Franz Difüzyon Sistemi (PermeGear, V6 Stirrer) kullanıldı. Sistemin hücreleri 12 mL hacimde ve 1,77 cm² alanında olup, membran olarak 0,22 µm por çapında selüloz nitrat membran kullanıldı. Sistem sıcaklığı 37,0 ± 0,5 °C, dönüş hızı da 500 rpm olacak şekilde ayarlandı. Seçilen formülasyonlardan mikropipet yardımıyla 500 µl ve karşılaştırma yapılacak olan ticari üründen (Temetex Krem) 0,25 g olacak şekilde tartılıp donör faza konuldu ve deney başlatıldı. Numune alımı 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 8. saatlerde gerçekleştirildi ve HPLC'de analiz edildi. Analiz sonuçlarına göre diflukortolon valerat'ın pik alanları bulundu, bu sonuçlarla kümülatif ilaç miktarı hesaplandı. Elde edilen sonuçlar farklı *in vitro* salım modellerine uyarlandı ve Tablo 4.47'de gösterildiği şekilde determinasyon katsayıları (r²) hesaplandı, buna göre formülasyonların hangi salım modeline uydukları belirlendi.

Salım çalışmaları yapılan geliştirilmiş mikroemülsiyon formülasyonlarının hepsinin, ticari ürün (Temetex krem) ile karşılaştırıldığında daha yüksek kümülatif ilaç salımı gösterdiği Şekil 4.84'te karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. En yüksek salım gösteren formülasyon MLT4'tür. Yağ fazı Maisine olan MLT formülasyonları içinde MLT4 formülasyonunun Km oranı (sürfaktan/kosürfaktan) 1:1 olup, %45 su içeriğine sahiptir. Yağ fazı Maisine ve Km değeri 1:1 olan formülasyonların su oranının artmasıyla salım değerlerinin iyileştiği gözlemlenmiştir. %45 su içeriğiyle MLT4 en yüksek salım değerine sahipken, %40 oranıyla MLT5 ve %35 su oranıyla MLT3 birbirini takip

etmektedir. MLT1 formülasyonu ise Km oranı 2:1 olmasıyla ve %30 su içeriğiyle MLT4, MLT5 ve MLT3'ten daha düşük salım sergilemiştir. Yağ fazının Peceol olduğu PLT formülasyonlarında ise Km değeri 1:2 olan PLT1'in en iyi salım değerine sahip olduğu görülmektedir. Km değeri 1:1 olan Peceol içeren formülasyonların içinde %40 su içeriğine sahip olan PLT2'nin, PLT3 ve PLT4'e göre daha iyi salım yaptığı gözlemlenmiştir. Yağ fazı olarak Maisine ve Peceol içeren formülasyonların salım sonuçları karşılaştırılacak olursa, su yüzdesi %35 ve Km değeri 1:1 olan MLT3 ve PLT4 formülasyonlarından MLT3'ün; su yüzdesi %45 ve Km değeri 1:1 olan MLT4 ve PLT3 formülasyonlarından MLT4'ün; su yüzdesi %40 ve Km değeri 1:1 olan MLT5 ve PLT2 formülasyonlarından da MLT5'in daha yüksek salım gerçekleştirdiği görülmektedir. Buradan hareketle yağ fazı olarak Maisine'in Peceol ile karşılaştırıldığında salım çalışmaları açısından daha iyi bir alternatif olabileceği düşünülebilir.

Bu yüksek lisans tez çalışması kapsamında geliştirilmiş olan diflukortolon valerat yüklü mikroemülsiyon formülasyonlarının; karakterizasyon açısından, 3 aylık stabilite takibi parametreleri ve *in vitro* ilaç salım sonuçları bakımından uygun oldukları bulunmuştur. Bu sonuçlar neticesinde mevcut topikal diflukortolon valerat preparatlarına alternatif olabileceği düşünülmektedir. Bu amaçla sonraki adım, model membran olarak hayvan derisinin kullanıldığı *in vitro* penetrasyon çalışmalarının yapılması olacaktır.

6.

6. KAYNAKÇA

1. Ita K. Progress in the use of microemulsions for transdermal and dermal drug delivery. *Pharm Dev Technol.* 2017;22(4):467-475. doi:10.3109/10837450.2016.1148722
2. Sintov AC. Transdermal delivery of curcumin via microemulsion. *Int J Pharm.* 2015;481(1-2):97-103. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.02.005
3. He CX, He ZG, Gao JQ. Microemulsions as drug delivery systems to improve the solubility and the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Expert Opin Drug Deliv.* 2010;7(4):445-460. doi:10.1517/17425241003596337
4. Talegaonkar S, Azeem A, Ahmad F, Khar R, Pathan S, Khan Z. Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Drug Delivery. *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2008;2(3):238-257. doi:10.2174/187221108786241679
5. Abdel-Salam FS, Elkheshen SA, Mahmoud AA, Ammar HO. Diflucortolone valerate loaded solid lipid nanoparticles as a semisolid topical delivery system. *Bull Fac Pharmacy, Cairo Univ.* 2016;54(1):1-7. doi:10.1016/j.bfopcu.2015.11.002
6. Hadgraft J. Skin deep. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004;58(2):291-299. doi:10.1016/j.ejpb.2004.03.002
7. Dehdashtian A, Stringer TP, Warren AJ, Mu EW, Amirlak B, Shahabi L. Anatomy and physiology of the skin. *Melanoma A Mod Multidiscip Approach.* Published online 2018:15-26. doi:10.1007/978-3-319-78310-9_2
8. Kabashima K, Honda T, Ginhoux F, Egawa G. The immunological anatomy of the skin. *Nat Rev Immunol.* 2019;19(1):19-30. doi:10.1038/s41577-018-0084-5
9. Ng KW, Lau WM. Skin Deep: The Basics of Human Skin Structure and Drug Penetration. *Percutaneous Penetration Enhanc Chem Methods Penetration Enhanc Drug Manip Strateg Veh Eff.* Published online 2015:1-341. doi:10.1007/978-3-662-45013-0
10. Cursons J, Gao J, Hurley DG, et al. Regulation of ERK-MAPK signaling in human epidermis. *BMC Syst Biol.* 2015;9(1):1-16. doi:10.1186/s12918-015-0187-6

11. Menon GK. New insights into skin structure: Scratching the surface. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(SUPPL.):S3. doi:10.1016/S0169-409X(02)00121-7
12. Pellanda CL. Topical Bioavailability of glucocorticosteroids: Dermatopharmacokinetic and dermatopharmacodynamic of topical applied triamcinolone acetonide in humans. Published online 2006:186.
13. Barrier S, Prausnitz MR, Elias PM, Franz TJ, Schmuth M, Tsai J. Stratum Corneum Structure and Organization. *Med Ther.* Published online 2012:2065-2073.
14. Venus M, Waterman J, McNab I. Basic physiology of the skin. *Surgery.* 2010;28(10):469-472. doi:10.1016/j.mpsur.2010.07.011
15. Alexander A, Dwivedi S, Ajazuddin, et al. Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. *J Control Release.* 2012;164(1):26-40. doi:10.1016/j.jconrel.2012.09.017
16. Stoughton RB. Vasoconstrictor Assay  Specific Applications. *Top Corticosteroids.* Published online 2015:42-53. doi:10.1159/000419858
17. Schulman JH, Stoeckenius W, Prince LM. Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. *J Phys Chem.* 1959;63(10):1677-1680. doi:10.1021/j150580a027
18. Chen H, Chang X, Weng T, et al. A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. *J Control Release.* 2004;98(3):427-436. doi:10.1016/j.jconrel.2004.06.001
19. Chiappisi L, Noirez L, Gradzielski M. A journey through the phase diagram of a pharmaceutically relevant microemulsion system. *J Colloid Interface Sci.* 2016;473:52-59. doi:10.1016/j.jcis.2016.03.064
20. Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics.* 2014;6(1):52-77. doi:10.3390/pharmaceutics6010052
21. Noble S, Markham A. Cyclosporin: A Review of the Pharmacokinetic Properties, Clinical Efficacy and Tolerability of a Microemulsion-Based Formulation (Neoral®). *Drugs.* 1995;50(5):924-941. doi:10.2165/00003495-199550050-00009

22. Nasr M, Abdel-Hamid S. Optimizing the dermal accumulation of a tazarotene microemulsion using skin deposition modeling. *Drug Dev Ind Pharm.* 2016;42(4):636-643. doi:10.3109/03639045.2015.1062512
23. Ghosh P, Murthy R. Microemulsions: A Potential Drug Delivery System. *Curr Drug Deliv.* 2006;3(2):167-180. doi:10.2174/156720106776359168
24. Sharma AK, Garg T, Goyal AK, Rath G. Role of microemulsions in advanced drug delivery. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 2016;44(4):1177-1185. doi:10.3109/21691401.2015.1012261
25. Lieberman Herbert A; Rieger Martin M; Banker Gilbert S. *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems.*; 2010.
26. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):175-193. doi:10.1016/j.addr.2012.09.018
27. Hegde RR, Verma A, Ghosh A. Microemulsion: New Insights into the Ocular Drug Delivery. *ISRN Pharm.* 2013;2013:1-11. doi:10.1155/2013/826798
28. Brazzini B, Pimpinelli N. New and established topical corticosteroids in dermatology: Clinical pharmacology and therapeutic use. *Am J Clin Dermatol.* 2002;3(1):47-58. doi:10.2165/00128071-200203010-00005
29. Ference JD, Last AR. Choosing topical corticosteroids. *Am Fam Physician.* 2009;79(2):135-140.
30. Hastal C, Bak Y. Dermatolojide Yerel Kortikosteroidler. Published online 2001:23-31.
31. Wiedersberg S, Leopold CS, Guy RH. Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008;68(3):453-466. doi:10.1016/j.ejpb.2007.08.007
32. Diflukortolon valerat-british pharmacopoeia.pdf.
33. Özcan I, Azizoğlu E, Senyigit T, Özyazici M, Özer Ö. Enhanced dermal delivery of diflucortolone valerate using lecithin/chitosan nanoparticles: In-vitro and in-vivo evaluations. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:461-475. doi:10.2147/IJN.S40519

34. Hoppe G. Diflucortolone Valerate Asian Experience. *Drugs*. 1988;36(5):24-33. doi:10.2165/00003495-198800365-00006
35. Havlickova B, Friedrich M. The advantages of topical combination therapy in the treatment of inflammatory dermatomycoses. *Mycoses*. 2008;51(SUPPL.4):16-26. doi:10.1111/j.1439-0507.2008.01615.x
36. Turk Eczacılar Birliği. Türk Eczacılar Birliği İlaç Veritabanı. Published 2021. <https://www.tebrp.com/>
37. Berthomieu C, Hienerwadel R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynth Res*. 2009;101(2-3):157-170. doi:10.1007/s11120-009-9439-x
38. Christopher M. Riley TWR. *Development and Validation of Analytical Methods*.; 1996.
39. *ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation Of Analytical Procedures*. Vol 1994.; 2005. <https://www.ich.org>
40. Simon W, Booth B. Analytical Method Validation. 2004;(2):165-185. doi:10.1201/9780203026427.ch8
41. Yuan Y, Li S ming, Mo F kui, Zhong D fang. Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam. *Int J Pharm*. 2006;321(1-2):117-123. doi:10.1016/j.ijpharm.2006.06.021
42. Tsai Y-H, Chang JT, Chang J-S, Huang C-T, Huang Y-B, Wu P-C. The Effect of Component of Microemulsions on Transdermal Delivery of Buspirone Hydrochloride. *J Pharm Sci*. 2011;101(7):2271-2280. doi:10.1002/jps
43. Rheims J, Köser J, Wriedt T. Refractive-index measurements in the near-IR using an Abbe refractometer. *Meas Sci Technol*. 1997;8(6):601-605. doi:10.1088/0957-0233/8/6/003
44. Shah RR, Magdum CS, Patil SS, Niakwade NS. Preparation and evaluation of aceclofenac topical microemulsion. *Iran J Pharm Res*. 2010;9(1):5-11. doi:10.22037/ijpr.2010.829
45. Acharya DP, Hartley PG. Progress in microemulsion characterization. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 2012;17(5):274-280. doi:10.1016/j.cocis.2012.07.002

46. Shah VP, Elkins J, Lam SY, Skelly JP. Determination of in vitro drug release from hydrocortisone creams. *Int J Pharm.* 1989;53(1):53-59. doi:10.1016/0378-5173(89)90361-X
47. Lin YH, Tsai MJ, Fang YP, Fu YS, Huang Y Bin, Wu PC. Microemulsion formulation design and evaluation for hydrophobic compound: Catechin topical application. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2018;161:121-128. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.10.015
48. Yun-Seok R, Jung-Gyo C, Eun-Seok P, Sang-Cheol C. Transdermal delivery of ketoprofen using microemulsions. *Arch Pharm Res.* Published online 2001. doi:[https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00827-4](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00827-4)
49. Montenegro L, Carbone C, Puglisi G. Vehicle effects on in vitro release and skin permeation of octylmethoxycinnamate from microemulsions. *Int J Pharm.* 2011;405(1-2):162-168. doi:10.1016/j.ijpharm.2010.11.036
50. Butani D, Yewale C, Misra A. Amphotericin B topical microemulsion: Formulation, characterization and evaluation. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2014;116:351-358. doi:10.1016/j.colsurfb.2014.01.014
51. Williams AC, Barry BW. Penetration enhancers. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):128-137. doi:10.1016/j.addr.2012.09.032
52. Hua L, Weisan P, Jiayu L, Hongfei L. Preparation and evaluation of microemulsion of vinpocetine for transdermal delivery. *Pharmazie.* 2004;59(4):274-278.

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DİFLUKORTOLON VALERAT YÜKLÜ TOPİKAL MİKROEMÜLSİYON FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%**8**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**4**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**5**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%**4**

2

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%**1**

3

Submitted to Yakın Doğu Üniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%**1**

4

acikarsiv.ankara.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

oidb.klu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

8

Emine Dilek ÖZYILMAZ, Özgün SAYINER,
Tansel ÇOMOĞLU. "Evaluation of Micro and

<%**1**