

← Adınızı soyadınızı giriniz

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



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

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KORTİKOSTEROİD İÇEREN TOPİKAL EMÜLJEL
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE İN
VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

DENİZ ONAN

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. MERYEM SEDEF ERDAL**

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

İSTANBUL-2021

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca anlayışı, güler yüzü, bilgi ve deneyimleriyle her zaman manevi desteğini hissettiğim, tez çalışmalarım süresince tezimin yönetilmesi ve çalışmalarımın yönlendirilmesindeki yakın ilgi ve desteğinden ötürü sevgili danışman hocam Sayın **Doç Dr. Meryem Sedef Erdal**'a;

Çalışmalarım süresince gösterdiği destek ve hoşgörüsü ile her zaman yanımda olan ikinci danışman hocam Sayın **Dr.Öğr.Üyesi Esra Demirtürk**'e;

Yardım ve desteklerinden dolayı Eczacılık Teknolojisi Bölümü ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer**'e;

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında ilgi ve yardımlarıyla yol gösteren, desteğini her zaman hissettiğim arkadaşım **Arş. Gör. Aslı Gürbüz**'e;

Bünyesinde yer aldığım ve tez çalışmalarım esnasında olanaklarından faydalanmamı sağlayan **Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü**'ne;

Her zaman maddi manevi destekleriyle ve tüm sabırlarıyla yanımda olan sevgili **AİLEME** teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36903

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	2
İÇİNDEKİLER	3
TABLolar LİSTESİ	6
ŞEKİLLER LİSTESİ	10
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	13
ÖZET	14
ABSTRACT	15
1. GİRİŞ VE AMAÇ	16
2. GENEL BİLGİLER	17
2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler	17
2.1.1. Deri Yapısı ve Özellikleri	17
2.1.2. Derinin Tabakaları	17
2.1.2.1. Dermis	17
2.1.2.2. Epidermis	18
2.1.3. Deriden Geçiş	19
2.1.3.1. Deriden Geçiş Yolları	20
2.1.3.2. Etkin Maddenin Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler	21
2.2. Emülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler	22
2.2.1. Yüzey Etkin Madde ve Hidrofilik-Lipofilik Denge Değeri	22
2.2.2. Emülsiyonların Uygulama Yolları ve Avantajları	23
2.3. Jeller Hakkında Genel Bilgiler	24
2.3.1. Jellerin Tanımı ve Özellikleri	24
2.3.2. Jel Formülasyonların Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler	24
2.4. Emüljeller	27
2.5. Topikal Kortikosteroidler	31
2.6. Diflukortolon Valerat Hakkında Genel Bilgiler	32
2.6.1. Diflukortolon Valerat'ın Tanımı ve Özellikleri	32
2.6.2. Diflukortolon Valerat İçeren Preparatlar	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36

3.1. Gereçler.....	36
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler	37
3.1.2.1. Kullanılan Aletler	37
3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler	38
3.2. Yöntem.....	38
3.2.1. Diflukortolon Valerat'ın Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi:	38
3.2.2. Diflukortolon Valerat'ın Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Analizi:	38
3.2.3. Diflukortolon Valerat Miktar Tayini Yöntemi.....	39
3.2.4. Diflukortolon Valerat Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	39
3.2.4.1. Doğrusallık	39
3.2.4.2. Kesinlik	40
3.2.4.3. Doğruluk	41
3.2.4.4. Seçicilik.....	42
3.2.4.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti	43
3.2.4.6. Numunelerin Stabilitesi.....	43
3.2.5. Çözünürlük Çalışmaları	43
3.2.5.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmaları ...	43
3.2.5.2. Etkin Maddenin Çözünme Ortamındaki Çözünürlük Çalışmaları	45
3.2.6. Ön Formülasyon Çalışmaları	46
3.2.7. Emüljel Formülasyonlarının Hazırlanması ve Optimizasyonu	47
3.2.7.1. Emülsiyon Fazının Hazırlanması	47
3.2.7.2. Jel Fazının Hazırlanması	48
3.2.7.3. Emüljellerin Hazırlanması	48
3.2.8. Emüljel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	48
3.2.8.1. Fiziksel Görünüm.....	48
3.2.8.2. pH ve İletkenlik Ölçümleri.....	48
3.2.8.3. Reoloji ve Viskozite Tayini	48
3.2.8.3.1. Kayma Gerilimi ve Kayma Hızı Testleri	48
3.2.8.3.2. Osilasyon Testleri	49
3.2.8.4. Emüljel Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini.....	49
3.2.9. Stabilitate Çalışmaları	49

3.2.10. <i>İn vitro</i> Salım Çalışmaları	49
3.2.11. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması	50
3.2.12. İstatistiksel Analiz	50
4. BULGULAR	51
4.1. Diflukortolon Valerat'ın Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi:	51
4.2. Diflukortolon Valerat'ın Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Analizi:	51
4.3. Diflukortolon Valerat'ın Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	52
4.3.1. Doğrusallık	52
4.3.2. Kesinlik	54
4.3.3. Doğruluk	55
4.3.4. Seçicilik	58
4.3.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti	58
4.3.6. Numunelerin Stabilitesi	58
4.4. Çözünürlük Çalışmaları	60
4.4.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışması	60
4.4.2. Etkin Maddenin Farklı Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması	61
4.5. Ön Formülasyon Çalışmaları	61
4.6. Emülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Optimizasyonu	62
4.7. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	64
4.7.1. pH ve İletkenlik Ölçümleri	64
4.7.2. Reoloji ve Viskozite Özelliklerinin Değerlendirilmesi	65
4.7.2.1. Kayma Gerilimi ve Kayma Hızı Testleri	65
4.7.2.2. Osilasyon Testleri	76
4.7.3. Emülsiyonlarda Etkin Madde Miktar Tayini	82
4.8. Stabilitate Çalışmalarının Değerlendirilmesi	82
4.9. <i>In Vitro</i> Salım Sonuçlarının Değerlendirilmesi	90
4.10. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması	100
5. TARTIŞMA	102
6. KAYNAKLAR	107
İNİTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	114

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Farmaöstik amaçlı jel formülasyonların hazırlanmasında kullanılan polimerler.....	26
Tablo 2-2: Potenslerine göre topikal kortikosteroidler ve kullanım konsantrasyonları..	32
Tablo 2-3: Ulusal pazarda yer alan Diflukortolon Valerat içeren müstahzarlar.....	34
Tablo 3-1: Diflukortolon Valerat'ın plasebo formülasyonları.....	42
Tablo 3-2: Çözünürlük çalışmasında kullanılan yardımcı maddeler.....	44
Tablo 3-3: <i>In vitro</i> çalışmalarda kullanılacak reseptör fazın belirlenmesi için yardımcı maddelerle hazırlanan pH 5.5 ve pH 7.4 PBS çözeltileri	46
Tablo 3-4: Ön formülasyon çalışmaları esnasında kullanılan yardımcı maddeler	47
Tablo 4-1: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait bulgular	52
Tablo 4-2: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait r^2 ve doğru denklemi.....	53
Tablo 4-3: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait bulgular	53
Tablo 4-4: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait r^2 ve doğru denklemi.....	54
Tablo 4-5: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik çalışmasına ait bulgular.....	54
Tablo 4-6: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik çalışmasına ait bulgular.....	54
Tablo 4-7: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik çalışmasına ait bulgular.....	55
Tablo 4-8: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik çalışmasına ait bulgular.....	55
Tablo 4-9: Plasebo 1 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	55
Tablo 4-10: Plasebo 2 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	56

Tablo 4-11: Plasebo 3 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	56
Tablo 4-12: Plasebo 4 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	56
Tablo 4-13: Plasebo 5 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	56
Tablo 4-14: Plasebo 1 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	57
Tablo 4-15: Plasebo 2 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	57
Tablo 4-16: Plasebo 3 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	57
Tablo 4-17: Plasebo 4 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	57
Tablo 4-18: Plasebo 5 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları.....	58
Tablo 4-19: Mobil faz kullanılarak hazırlanan standartların stabilite bulguları	59
Tablo 4-20: Reseptör faz kullanılarak hazırlanan standartların stabilite bulguları.....	59
Tablo 4-21: Diflukortolon valerat'ın yardımcı maddeler içerisindeki çözünürlük değerleri	60
Tablo 4-22: Diflukortolon valerat'ın farklı çözünme ortamlarındaki çözünürlük bulguları.....	61
Tablo 4-23: Optimum Emüljel Formülasyonları	63
Tablo 4-24: Emüljel formülasyonlarının pH değerlerine ait bulgular	64
Tablo 4-25: Emüljel formülasyonlarının iletkenlik değerlerine ait bulgular.....	64
Tablo 4-26: LPT kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	65
Tablo 4-27: LPM kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	66
Tablo 4-28: LPP kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	67

Tablo 4-29: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	68
Tablo 4-30: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	69
Tablo 4-31: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	70
Tablo 4-32: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	71
Tablo 4-33: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	72
Tablo 4-34: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri	73
Tablo 4-35: TXT kodlu ticari formülasyonun farklı akış modellerine uygun değerleri ..	74
Tablo 4-36: Emüljel Formülasyonları ve Ticari Preparata Ait Osilasyon Test Bulguları	81
Tablo 4-37: Emüljel formülasyonlarının etkin madde miktar tayini sonuçları	82
Tablo 4-38: Emüljel formülasyonlarının pH bulguları	83
Tablo 4-39: Emüljel formülasyonlarının etkin madde miktar tayini değerleri	83
Tablo 4-40: LPT kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	84
Tablo 4-41: LPM kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	84
Tablo 4-42: LPP kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	85
Tablo 4-43: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	86
Tablo 4-44: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	86
Tablo 4-45: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	87
Tablo 4-46: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	88

Tablo 4-47: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	88
Tablo 4-48: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri	89
Tablo 4-49: LPT kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	90
Tablo 4-50: LPM kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	91
Tablo 4-51: LPP kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	92
Tablo 4-52: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	93
Tablo 4-53: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	94
Tablo 4-54: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	95
Tablo 4-55: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	96
Tablo 4-56: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	97
Tablo 4-57: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	98
Tablo 4-58: TXT kodlu ticari formülasyonun <i>in vitro</i> salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri.....	99
Tablo 4-59: Emüljel formülasyonları ve ticari preparata ait salım kinetiği parametreleri	101

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin Tabakaları	17
Şekil 2-2: Epidermis tabakaları.....	18
Şekil 2-3: Deriden geçiş yolları	21
Şekil 2-4: Sürfaktan yapısı ve emülsiyon tipleri.....	23
Şekil 2-5: Diflukortolon Valerat'ın kimyasal yapısı.....	33
Şekil 4-1: Diflukortolon Valerat'ın FT-IR spektrumu.....	51
Şekil 4-2: Diflukortolon Valerat'ın DSC termogramı	51
Şekil 4-3: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait kalibrasyon eğrisi	52
Şekil 4-4: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait kalibrasyon eğrisi	53
Şekil 4-5: LPT kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	66
Şekil 4-6: LPM kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	67
Şekil 4-7: LPP kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	68
Şekil 4-8: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	69
Şekil 4-9: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	70
Şekil 4-10: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	71
Şekil 4-11: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	72
Şekil 4-12: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	73
Şekil 4-13: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	74

Şekil 4-14: TXT kodlu ticari formülasyonun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi	75
Şekil 4-15: Emüljel formülasyonları ve TXT kodlu ticari preparatın değişen kayma hızı değerlerine karşı viskozitesi.....	75
Şekil 4-16: LPT kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü	76
Şekil 4-17: LPM kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü	77
Şekil 4-18: LPP kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü.....	77
Şekil 4-19: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü.....	78
Şekil 4-20: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü....	78
Şekil 4-21: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü	79
Şekil 4-22: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü	79
Şekil 4-23: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü.....	80
Şekil 4-24: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü	80
Şekil 4-25: TXT kodlu ticari formülasyonun viskoz ve elastik modülü.....	81
Şekil 4-26: LPT kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	84
Şekil 4-27: LPM kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	85
Şekil 4-28: LPP kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	85
Şekil 4-29: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	86
Şekil 4-30: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	87
Şekil 4-31: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	87
Şekil 4-32: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	88
Şekil 4-33: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	89

Şekil 4-34: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği	89
Şekil 4-35: LPT kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili	90
Şekil 4-36: LPM kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili	91
Şekil 4-37: LPP kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili	92
Şekil 4-38: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili.....	93
Şekil 4-39: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili.....	94
Şekil 4-40: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili.....	95
Şekil 4-41: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili.....	96
Şekil 4-42: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili.....	97
Şekil 4-43: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili.....	98
Şekil 4-44: TXT kodlu ticari formülasyonun <i>in vitro</i> salım çalışmasına ait salım profili	99
Şekil 4-45: Emüljel formülasyonları ve ticari preparattan serbestleşen kümülatif diflukortolon valerat miktarı.....	100

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

a/a: Ağırlık/Ağırlık

a/h: Ağırlık/Hacim

ACN: Asetonitril

DFV: Diflukortolon Valerat

DSC: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre

FT-IR: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre

G': Elastik Modül

G'': Viskoz Modül

h/h: Hacim/Hacim

HLB: Hidrofilik Lipofilik Denge

HPLC: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

IPM: İzopropil Miristat

LVR: Lineer Viskoelastik Bölge

MF: Mobil Faz

MTL: Miktar Tayin Limiti (LOD)

Ort.: Ortalama

PBS: Fosfat Tamponu

PEG 400: Polietilen Glikol 400

r^2 : Determinasyon Katsayısı

rpm: Dakikadaki Dönüş Sayısı

RSD: Bağlı Standart Sapma

S/Y: Yağ içinde Su

SD: Standart Sapma

TL: Teşhis Limiti (LOQ)

TXT: Temetex Krem

Y/S: Su içinde Yağ

ÖZET

Onan, D. (2021). Kortikosteroid içeren topikal emüljel formülasyonlarının geliştirilmesi ve in vitro değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Topikal kortikosteroidler antiinflamatuvar, antiproliferatif ve immünosupresif etkilerinden ötürü egzama, seboreik egzama, psöriyazis gibi cilt rahatsızlıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Diflukortolon valerat (DFV), topikal kortikosteroidler arasında Sınıf III'te yer alan güçlü etkili bir glukokortikoiddir. Krem ve merhem şeklinde ticari preparatları bulunmaktadır. DFV'nin lipofilik karakteri ve sudaki zayıf çözünür özelliği, etkin maddenin su bazlı bir ilaç taşıyıcı sistem içerisine yüklenmesini kısıtlamaktadır.

Topikal ilaç taşıyıcı sistemlerin uygulanmasında *stratum corneum* ilacın formülasyondan salımı, deriden permeasyonu ve dokulara penetrasyonu sürecinde önemli bir bariyer oluşturmaktadır. Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri, kullanılan yardımcı maddeler ve derinin fizyolojik koşulları da deriden permeasyonu önemli ölçüde etkiler. Topikal uygulamalarda biyoyararlanımda artış sağlamak amacıyla formülasyonlara penetrasyon arttırıcı ajanlar ilave edilebilmektedir.

Emüljeller yağ içinde su veya su içinde yağ tipindeki emülsiyonlar ve jel yapıcı ajanlar kullanılarak hazırlanan topikal ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Emülsiyon ve jellerin avantajlarına sahip emüljeller, hidrofobik ve hidrofilik etkin maddelerin yüklenmesine olanak sunarak, etkin maddenin formülasyon içerisinden kontrollü salımını sağlar.

Bu tez çalışması kapsamında farklı penetrasyon arttırıcı ajanlar kullanılarak, lipofilik özellikteki DFV'nin emüljel formülasyonları hazırlanmış ve fizikokimyasal parametreler bakımından değerlendirilen optimum formülasyonlar ile *in vitro* salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Optimum emüljel formülasyonlarından elde edilen bulgular değerlendirildiğinde DFV'nin ticari krem preparatına kıyasla kümülatif salımında artış olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler : kortikosteroid, diflukortolon valerat, emüljel, topikal, in vitro salım

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36903

ABSTRACT

Onan, D. (2021). Preparation and in vitro evaluation of topical emulgel formulations containing topical corticosteroid. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology. Master Thesis. İstanbul.

Topical corticosteroids are widely used in the treatment of skin conditions such as eczema, seborrheic eczema, psoriasis due to their anti-inflammatory, antiproliferative and immunosuppressive effects. Diflucortolone valerate (DFV) is a potent glucocorticoid that belongs to Class III topical corticosteroids. Commercial preparations are available in the form of cream and pomade. Lipophilic character and poor water solubility of DFV limit loading of the active substance into a water-based drug delivery system.

Stratum corneum forms an important barrier for the release of topical drugs from the formulation, their permeation through the skin and their penetration into tissues. The physicochemical properties of active and excipient substances, the physiological conditions of the skin also significantly affect the permeation through the skin. Penetration enhancers can be added to formulations to improve bioavailability in topical preparations.

Emulgels are the topical drug delivery systems which are prepared using water-in-oil or oil-in-water emulsions and gel forming agents. Having the advantages of emulsions and gels, emulgels allow the hydrophobic and hydrophilic active ingredients to be loaded and provide controlled release of the active substance from the formulation.

Within the scope of this study, emulgel formulations of DFV with lipophilic properties were prepared using different penetration enhancing agents and in vitro release studies were carried out with optimum formulations evaluated in terms of physicochemical parameters. The results obtained from the optimum emulgel formulations showed that there was an increase in the cumulative release of DFV compared to the commercial preparation.

Key Words: topical, corticosteroid, emulgel, in vitro release, diflucortolone valerate

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 36903

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Emüljeller dermatolojik ve kozmetolojik kullanım amacıyla, yağ içinde su veya su içinde yağ tipindeki emüliyonların, jel yapıcı ajanlar yardımıyla elde edilen jel formülasyonları ile bir araya getirilmesi sonucunda hazırlanan topikal ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Emüljeller emülsiyon ve jellerin avantajlarına sahip olduğundan, uygulama bölgesinde yağlı his bırakmadan uzun süre temas sağlayabilir (Ajazuddin ve ark. 2013; Kumar 2016). Hidrofobik ve hidrofilik etkin maddelerin yüklenmesine olanak sunan emüljel sistemler ile kontrollü ilaç salımı sağlanarak, hasta uyuncu yüksek, stabil ve üretim maliyeti düşük ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilebilmektedir (Arora ve ark 2017).

Diflukortolon valerat, valerik asit ile esterlenmiş, suda pratik olarak çözünmeyen, lipofilik karakterde ve potenslerine göre sınıflandırılan topikal kortikosteroidler arasında Sınıf III'te yer alan güçlü etkili bir glukokortikoid türevidir. Farmakokinetik etkisini, diğer topikal kortikosteroidler gibi fosfolipaz A2 inhibisyonu sonucunda araşidonik asit oluşumunu inhibe ederek inflamatuvar yanıtı sağlayan metabolitlerin oluşumunu engellemesiyle gösterir. Antiinflamatuvar, antiproliferatif ve vazokonstriktif etkisi nedeniyle kaşınma, şişme, kızarıklık ve pullanma şeklinde belirti gösteren egzama, seboreik egzama, psöriyazis gibi cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Hoppe 1988). % 0.1 ve % 0.3 oranında etkin madde içeren krem ve merhem preparatları bulunan diflukortolon valeratın literatüre kayıtlı nanopartikül jel (Özcan ve ark., 2013), katı lipid nanopartikül (SLN) (Abdelsalam ve ark. 2016) ve nanoyapılı lipid taşıyıcı (NLC) (Abdelsalam ve ark. 2017) çalışmaları bulunmakla birlikte, emüljel formülasyonuna rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasının amacı topikal kortikosteroid olarak kullanılmakta olan diflukortolon valerat etkin maddesinin emüljel formülasyonlarının geliştirilmesi sonucunda hazırlanan formülasyonların fizikokimyasal karakterizasyon çalışmaları ile birlikte optimize edilmiş ve stabil emüljel formülasyonlarından, diflukortolon valerat salımının *in vitro* çalışmalarla değerlendirilmesi olarak belirlenmiştir. Diflukortolon valerat içeren emüljel sistemler ile topikal uygulama bakımından alternatif bir formülasyon geliştirilmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler

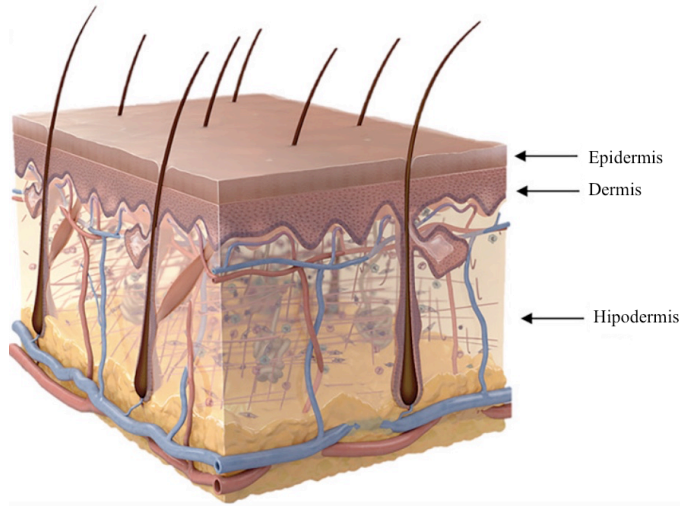
2.1.1. Deri Yapısı ve Özellikleri

Deri tüm vücudun en dış tabakasını oluşturan, yaklaşık 1,8 m² yüzey alanına sahip, organizmayı fiziksel ile kimyasal uyarılara ve patojenlere karşı koruyan bir yapıdır. Su kaybını önlemek ve vücut sıcaklığını düzenlemek gibi yaşamsal görevleri vardır. Sağlıklı bir bireyde deri pH'ı 4 ile 6 arasında değişmektedir. (Kolarsick ve ark. 2011; Honari ve Maibach 2014)

2.1.2. Derinin Tabakaları

Deri yapısı, epidermis ve dermis olmak üzere 2 ana tabakadan meydana gelir (Şekil 2-1). Subkütanöz doku (hipodermis) ise en altta bulunan deri altı yağ tabakası olup kıl folikülleri, kılcallar ve duyu nöronlarını içerir. Mekanik bir bariyer işlevi görür ve ısı yalıtımını sağlar (Vitorino ve ark. 2015; Ita 2020).

Şekil 2-1: Derinin Tabakaları (Abdo ve ark 2020)



2.1.2.1. Dermis

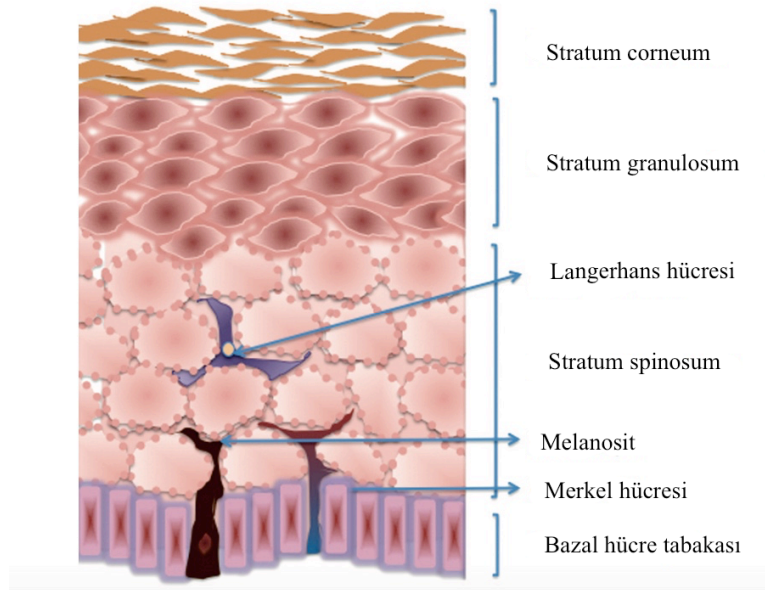
Epidermis ile subkütanöz doku arasında bulunan dermis, bölgesel olarak değişmekle birlikte yaklaşık 3-4 mm kalınlığındadır. Fibroblast hücreler tarafından üretilen kolajen, elastin ve proteinlerden meydana gelen dermis deriye mekanik destek

sağlar ve elastik özellik kazandırır. Epidermis hücrelerine de katkı sağlayan kılcallar, lenf hücreleri, sinir hücreleri ekstraselüler matriks içerisinde dağınık halde bulunur (Chambers ve Vukmanovic 2019). Dermis papiller ve retiküler tabakadan meydana gelir. Papiller tabaka, epidermisin *stratum basale* tabakasıyla temas ederek dermal-epidermal ara yüzeyi oluşturan, kapiller, kolajen ve elastin lifler içeren, gevşek bağ dokuya sahip, ince bir katmandır. Retiküler tabaka ise papiller tabakanın alt kısmında bulunan, yoğun bağ dokuya sahip, fibroblastlar, kolajen lifleri, ter bezleri, duyu reseptörleri ve kan damarları içeren, lipofilik direnci daha yüksek, kalın bir dermis katmanıdır (Yadav ve ark. 2019, Losquadro 2017; Yousef ve ark. 2017).

2.1.2.2. Epidermis

En dış tabakada bulunan, yaklaşık 0,1 mm kalınlığındaki epidermis su kaybını önleyen bir bariyer görevi görür. Epidermiste temel olarak %80 oranında keratinositler, melanin salgısıyla UV bariyeri oluşturan melanosit hücreler, dendritik hücreler, Langerhans ve Merkel hücreleri bulunur. Epidermis, hücresel fonksiyon ve morfolojik görünüm bakımından yüzeyden alt tabakaya doğru *stratum corneum*, *stratum lucidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* ve *stratum basale* olmak üzere deriden geçişte asıl rolü oynayan 5 katmandan oluşur (Şekil 2-2) (Chu 2008; Kolarsick ve ark. 2011).

Şekil 2-2: Epidermis tabakaları (Honari ve Maibach 2014)



Stratum basale (stratum germinativum) en alttaki bazal hücre tabakası olup epidermis ile dermisi birbirine bağlar. Buradaki stern hücrelerinin çoğalması ve deri yüzeyine doğru keratinizasyonu sonucunda oluşan keratinositler diğer tabakalara doğru gelişerek ve en dış tabakada korneosit hücresine farklılaşarak *stratum corneum* tabakasını oluşturmaktadır. Sinirsel iletimden sorumlu Merkel hücreleri ve melanin sentezinde görev alan melanositler de bu tabakada bulunur.

Stratum spinosum skuamöz hücre tabakası olarak da bilinen, *stratum basale*'den sonra gelen bu tabakadaki hücreler arası boşluklarda desmozom yapısı spinoz hücreler arası mekanik kenetlenmeyi sağlarken, gevşek bağlantılar sayesinde de kimyasal uyarılar aracılığıyla hücreler arası fizyolojik iletişim sağlanır. *Stratum basale*'den gelen keratinositlerin yanı sıra Langerhans hücreleri adı verilen dendritik hücreler immün bariyer oluşturur.

Stratum granulosum granular hücre tabakası olup epidermin yüzeye yakın konumda canlı hücreler içeren son tabakasıdır. Bu tabakanın çok ince olması veya bulunmaması hücreler *stratum corneum*'a doğru hareket ederken keratinosit çekirdeklerinin varlığını sürdürmesi sonucu oluşan parakeratoz nedeniyle psöriyazise yol açabilir.

Stratum lucidum tabakası yalnızca derinin kalın olduğu avuç içi ve ayak tabanı gibi bölgelerde bulunur.

Stratum corneum, epidermin en dış tabakası olup bazal tabakadan gelen hücrelerin tamamen keratinize olması ve çekirdeklerini kaybetmesi sonucu oluşan korneositlerden meydana gelmektedir. Ortalama 15 mm kalınlığındaki bu tabakada bulunan keratin proteini *stratum corneum*'un %80'ini oluşturur. Seramitler, uzun zincirli yağ asitleri ve kolesterol çift tabakadan oluşan lipid tabakaya gömülü şekilde bulunan korneositler yapıya briket-harç modeli kazandırarak derinin bariyer işlevinin gerçekleştirilmesini sağlar (Değim 2009; Kolarsick ve ark. 2011; Walicka 2018; Ita 2020).

2.1.3. Deriden Geçiş

Topikal ve transdermal uygulamalar, oral yoldan kullanıldığında iyi absorbe olamayan veya gastrointestinal kanalda degradasyona uğrayan ilaçlar için alternatif bir ilaç taşıyıcı sistem olarak, karaciğerden ilk geçiş etkisi görülmemesi nedeniyle

biyoyararlanımda artış, hasta uyuncunun yüksek olması, gerekli durumlarda dozaj formunun kolaylıkla uzaklaştırılabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Bu ilaç taşıyıcı sistemler için kısıtlayıcı temel faktör ise deriden absorpsiyon sürecidir.

Lokal veya sistemik etki göstermesi amacıyla deriye uygulanan etkin maddelerin geçişinde ana engeli *stratum corneum* tabakası oluşturmaktadır. Deriden geçişte difüzyon aşağıdaki eşitlikte gösterilen, Fick'in 1. Kanununa göre gerçekleşir. (Yüksel ve Tarımcı 1988)

$$\left(\frac{J}{A}\right) = \frac{dQ}{dt} = K \times D \times \frac{(C_1 - C_2)}{\Delta x}$$

(J/A) :geçiş hızı = birim zamanda birim alandan geçen ilaç miktarı (mol cm⁻²s⁻¹)

A: membranın yüzey alanı(cm²)

Δx: membranın kalınlığı (cm)

D: membranda ilacın difüzitesi (cm⁻²s⁻¹)

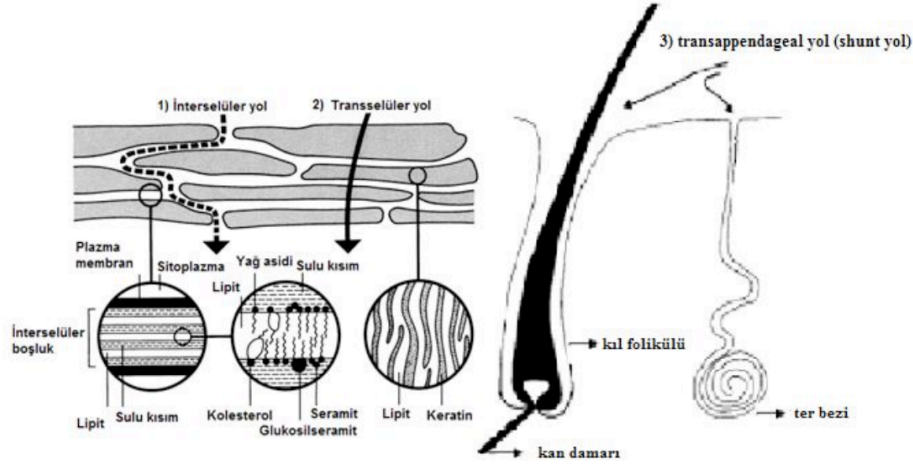
K: membran ve faz 1 arasındaki ilacın partiyon katsayısı

C₁ - C₂ : membranın her iki yüzeyi arasındaki konsantrasyon farkı (mol cm⁻³)

2.1.3.1. Deriden Geçiş Yolları

Topikal formülasyonların deriden geçişinde, ilacın stratum corneum tabakasında partiyonu ve epidermisten difüzyonu sonucunda dermise penetrasyonu gerçekleşir. Deriden geçiş için 3 farklı mekanizma bulunmaktadır. Bunlar interselüler yol (hücreler arası geçiş), transselüler yol(hücre içi geçiş) ve yan geçiş yollarıdır (Şekil 2-3). İlaçların büyük çoğunluğunun deri permeasyonu transepidermal yol olan transselüler ve interselüler yol ile gerçekleşirken, %1'i transfoliküler yol, %0,1'den daha azı ise transekrin yol ile geçmektedir (Ölçer ve Gönül 2002).

Şekil 2-3: Deriden geçiş yolları



İnterselüler (hücreler arası) geçiş yolu Genellikle düşük molekül ağırlıklı maddeler için bir geçiş yolu olan interselüler yolda, molekülün oktanol/su partiyon katsayısı deriden geçişi etkileyen önemli bir faktördür. İlaç molekülünün *stratum corneum* yapısında bulunan lipit bileşenlere partiyon kabiliyeti deri permeasyonunu etkiler.

Transselüler (hücre içi) geçiş yolu Polaritesi ve molekül ağırlığı düşük maddeler için bir geçiş yoludur.

Yan geçiş yolları Kıl folikülleri (transfoliküler) ve ter bezleri (transekrin) aracılığıyla maddelerin geçişini sağlayan bu yol suda çözünürlüğü yüksek maddeler ve polar özellikteki elektrolitler için önem arz eder. İlaç molekülünün iyontoforez yöntemiyle geçişini sağlayabilmektedir. (Brisson 1974; Değim 2009)

2.1.3.2. Etkin Maddenin Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler

Derinin fizyolojik durumu, etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri, formülasyon şekli ve yardımcı maddelerin özellikleri perkütan absorpsiyonu etkileyen parametrelerdir. Yaş, cinsiyet gibi bireysel faktörler, uygulama bölgesine ait özellikler (lipit içeriği, hidrasyonu), özellikle suda çözünmeyen moleküller için *stratum corneumun* hidrasyonu, etkin maddenin çözünürlük özellikleri, pKa değeri, oktanol/su partiyon katsayısı, iyonizasyon durumu, formülasyonda kullanılan yardımcı maddeler

(penetrasyon arttırıcı ajanlar gibi) ve formülasyon pH'ı etkin maddenin deriden penetrasyonunu etkileyen faktörlerdir (Vitorino ve ark. 2015).

2.2. Emülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler

Emülsiyonlar genellikle yağ ve su olmak üzere, birbiriyle karışmayan en az 2 sıvının yüzey etkin maddeler (sürfaktanlar) yardımıyla birbiri içinde dağılması sonucu, dağılan faz (iç faz) olarak koloidal damlacıklar ve sürekli fazdan (dış faz) oluşan homojen görünümdeki heterojen sistemlerdir.

Emülsiyon koloidal yağ damlacıklarını su içinde içeriyorsa bu emülsiyon tipi, su içinde yağ (y/s) olup, su damlacıklarını yağ içinde içerdiği durumda yağ içinde su (s/y) tipinde olabilmektedir. y/s/y veya s/y/s tipinde çoklu emülsiyon, 140 nm'den küçük damlacık boyutuna sahip mikroemülsiyon ve nanoemülsiyon tipleri de mevcut olup bunlar spesifik emülsiyonlar arasında yer almaktadır.

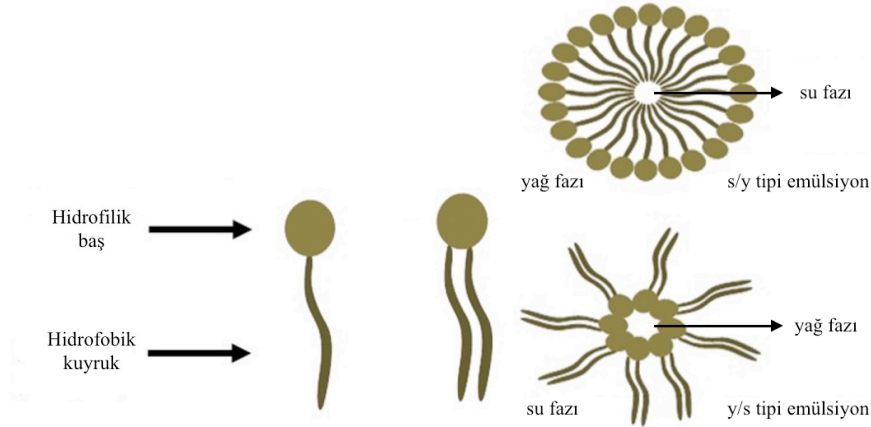
Emülsiyonlar genellikle topikal ilaç taşıyıcı sistemlerde farmasötik etki veya kozmetik amaçla hazırlanırlar. Formülasyonlarda yağ fazı, su fazı ve yüzey etkin madde ile birlikte penetrasyon arttırıcı ajan, koruyucu madde, antioksidan veya antimikrobiyal maddeler, kullanım amacına göre koku ve tat düzenleyiciler bulunabilir (Çelebi 2009; Lu ve Gao 2010).

2.2.1. Yüzey Etkin Madde ve Hidrofilik-Lipofilik Denge Değeri

Termodinamik olarak kararsız yapıdaki emülsiyon formülasyonunda stabiliteyi sağlamak için yüzey etkin madde (sürfaktan) ilavesi gerekir. Yüzey etkin maddeler, iç fazdaki koloidal damlacıkların koalesansına engel olarak ve sürekli fazda homojen bir şekilde dağılarak stabil kalmalarına yardımcı olan, hidrofil ve lipofilik uçları bir arada içeren amfifilik yapıda moleküllerdir (Şekil 2-4). Bu sayede formülasyon içerisinde hidrofilik uçlarıyla su molekülüne, hidrofobik uçlarıyla yağ molekülüne bağlanarak stabil sistemler oluşturabilirler.

Sentetik yüzey etkin maddeler iyon yükü durumuna göre anyonik, katyonik ve non-iyonik olarak sınıflandırılmaktadır. Yüzey etkin maddelerin yağ ve su moleküllerine bağlanma oranı, emülsiyon tipini belirlemektedir. Hidrofilik yüzey etkin maddeler y/s tipi emülsiyonların oluşmasına katkı sağlarken, lipofilik yüzey etkin maddeler ile s/y tipinde emülsiyonlar elde edilebilir.

Şekil 2-4: Sürfactan yapısı ve emülsiyon tipleri (Bnyan ve ark. 2018)



Emülsiyon formülasyonlarının hazırlanmasında lipofilik ve hidrofilik uçları bir arada içeren yüzey etkin maddelerin Hidrofilik-Lipofilik Denge (HLB) değerlerinden yararlanılmaktadır. Bu değer 0 ile 20 arasında olup, yüzey etkin maddenin HLB değeri 0'a yaklaştıkça lipofilik karakter, 20'ye yaklaştıkça ise hidrofilik karakter baskınlık göstermektedir. Stabil emülsiyon oluşumunda yağ fazı için gerekli HLB değerine (RHLB değeri) yakın HLB değerindeki yüzey etkin maddeler formülasyon içerisine tek başına veya farklı oranlardaki karışımları ile dahil edilerek stabil emülsiyonlar elde edilebilir (Yazan 2004; Çelebi 2009; Hong ve ark. 2018).

2.2.2. Emülsiyonların Uygulama Yolları ve Avantajları

Emülsiyonlar oral, topikal veya parenteral ilaç taşıyıcı sistemler olarak hazırlanabilmektedir. Dozaj şeklinin verilış yolu, etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri ve uygulama bölgesinde istenen etkiye göre formülasyon tipi belirlenebilmektedir. Emülsiyon sistemler kullanılarak;

- Etkin maddelere ait istenmeyen özellikler (kötü tat veya koku) maskelenebilir.
- Biyolojik membranlarda etkin maddenin absorpsiyonu ve penetrasyonu artırılabilir.

- Etkin maddenin, formülasyonun iç fazına yüklenmesiyle özellikle çözelti formülasyonuna kıyasla stabilitesinde iyileşme ve kontrollü salımı sağlanabilir.
- Birbiriyle geçimli olmayan maddelerin farklı fazlara eklenmesi ile aynı sistem içinde hedeflenen bölgeye taşınması sağlanabilir. (Yazan 2004; Çelebi 2009)

2.3. Jeller Hakkında Genel Bilgiler

2.3.1. Jellerin Tanımı ve Özellikleri

Jeller, makromoleküllerin sıvı faz içerisinde tamamen çözünmesi ve şişmesiyle veya küçük yapıdaki inorganik partiküllerin süspansiyonu ile oluşan, viskoelastik özellik gösteren, deriye veya mukoz membranlara uygulanabilen yarı katı dozaj şekilleridir. Çözünmenin gerçekleştiği faza göre hidrojel (su bazlı) veya organojel (su içermeyen çözücü bazlı) yapıda olabilirler. Jel hazırlamada kullanılan jel yapıcı ajanın molekül ağırlığı, sistemin viskozitesiyle doğrudan ilişkilidir (Nabi ve ark. 2016; Aggarwal ve Nagpal 2018). Jel sistemlerin avantajları;

- Diğer yarı-katı dozaj şekillerine göre hazırlaması kolaydır.
- Uygulama bölgesinde yağlı his bırakmaz ve deri ile uyumlu özellik gösterir.
- Polimerin formülasyon içerisinde oluşturduğu ağ yapısı sayesinde etkin maddenin kontrollü salımı sağlanabilir.
- Biyobozunur ve biyouyumlu formülasyonlardır.
- Uygulama bölgesinde kalış süresi, diğer topikal formülasyonlara kıyasla daha uzundur.
- Su bazlı formülasyonlar olduğundan istenildiğinde uygulama bölgesinden kolaylıkla uzaklaştırılabilirler.

2.3.2. Jel Formülasyonların Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler

Jel yapıcı ajan olarak kullanılan polimer doğal, sentetik veya yarı-sentetik yapıda olabilir. Jel matrisi oluşturan polimerin türü ve konsantrasyonu stabiliteyi ve

etkin maddenin formülasyondan salım hızını etkiler. Çeşitli jel yapıcı ajanlar ve kullanım konsantrasyonları Tablo 2-1’de gösterilmiştir.

Doğal kaynaklı polimerler polisakkarit veya protein yapıda olabilirler. Genellikle anyonik yapı göstermekle birlikte guar zmkı gibi non-iyonik yapıda olanları da mevcuttur. Kolajen, jelatin karagenan, pektin, kitosan, ksantan zmkı ve kitre zmkı bu gruba örnek olarak verilebilir.

Yarı-sentetik polimerler Selüloz türevi polimerlerdir. Karboksimetil selüloz, metil selüloz, hidroksipropil selüloz, hidroksietil selüloz jel formülasyonlarında sıklıkla kullanılan polimerlerdir.

Sentetik polimerler Carbomer, poloksamer, polivinil alkol, polivinil prolidon yaygın olarak kullanılan sentetik polimerlerdir. Bu grup jel yapıcılar su ile hazırlandıklarında 10 kata kadar şişme özelliği gösterebilirler. (Aggarwal ve Nagpal 2018)

Tablo 2-1: Farmaöstik amaçlı jel formülasyonların hazırlanmasında kullanılan polimerler (Rathod ve Mehta 2015)

	Jel yapıcı ajan	Konsantrasyon (%)	Gerekli iyonlar
Protein	Kolajen	0,2 - 4	
	Jelatin	2 - 15	
Polisakkaritler	Agar	0,1 - 1	
	Aljinatlar	0,5 - 1	Ca ²⁺
		5 - 10	Na ⁺
	Guar zımkı	2,5 - 10	
	Hyaluronik asit	2	
Yarı sentetik polimerler (selüloz türevleri)	Karboksimetil selüloz (CMC)	4 - 6	Na ⁺
	Hidroksi propil selüloz (HPC)	8 - 10	
	Hidroksi propil metil-selüloz (HPMC)	2 - 10	
	Metil-selüloz (MC)	2 - 4	
	Carbomer	0,2 - 5	
Sentetik Polimerler	Poloksamer	15 - 50	
	Polivinil alkol	10 - 20	

2.4. Emüljeller

Emüljeller su içinde yağ veya yağ içinde su tipinde emülsiyonlar ile hidrojenlerin bir araya getirilmesi ile hazırlanan topikal ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Farmasötik dozaj formu olarak emüljeller, özellikle dermatolojik formülasyonlarda sıklıkla olarak kullanılmaktadır. Hem emülsiyon hem de jellerin avantajlarına sahip emüljeller, krem, merhem gibi topikal formülasyonlara kıyasla yoğun, yağlı yapıda olmadığından ve uygulama bölgesinden uzaklaştırma güçlüğü bulunmadığından cilde rahatlıkla uygulanabilen hasta uyuncu yüksek formülasyonlardır. Topikal kullanımdaki pek çok avantajına rağmen hidrofobik ilaçların uygulanmasında kısıtlamalarla karşılaşılan jellerin emülsiyonlarla bir araya getirilmesi sonucunda başarılı formülasyonlar elde edilebilmektedir. Bu sayede emülsiyon formülasyonlarının da stabilite ve penetrasyon kabiliyetinde iyileşme görülerek kontrollü salımları sağlanabilmektedir. Jel fazının varlığı sistemin yağlı olmasını önler ve ciltteki temas süresini uzatır. (Panwar ve ark. 2011; Arora ve ark. 2017)

Geliştirilen ilaçların pek çoğu düşük çözünürlük, yüksek permeabiliteye sahip BCS Sınıf II ilaçlardır. İlaç taşıyıcı sistem olarak emüljeller kullanılarak, hidrofilik ve hidrofobik özellikteki etkin maddelerin formülasyonları hazırlanabilmektedir. Su içinde yağ tipi emülsiyon sistemler kullanılarak lipofilik yapıdaki etkin maddeler iç faz olan yağ fazına yüklenebilmektedir. Etkin maddenin buradan dışa faza difüzyonu, ardından deriye penetrasyonu sağlanarak kontrollü bir ilaç salımı elde edilebilir. Emüljeller ilaç salımının arttırılması, gelişmiş ilaç yükleme kapasitesi, üretim kolaylığı ve uygulanabilirlik, gelişmiş stabilite, kontrollü salım ve hasta uyuncu gibi avantajlara sahiptir. Bu sayede son yıllarda literatürde çeşitli hidrofobik ilaçların (ketokonazol, asiklovir, diklofenak ve kalsipotriol) topikal kullanımına yönelik emüljel formülasyonlarının hazırlandığı bildirilmiştir (Ajazuddin ve ark. 2013; Kumar ve ark. 2016).

Emüljeller viral bakteriyel ve fungal kökenli enfeksiyonlar gibi çeşitli cilt rahatsızlıklarının tedavisinde ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadır. Literatürde emüljellerin farklı farmakolojik etkinlikteki ilaçların topikal olarak uygulanması amacıyla geliştirilen formülasyonlar bulunmaktadır. Etkin madde olarak diklofenak sodyum içeren emüljel formülasyonu kas ve eklemlerdeki ağrıların giderilmesinde

kullanılmaktadır (Kumar ve ark. 2016). Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde yanık tedavisinde transdermal olarak kullanılmak amacıyla gümüş sülfadiazin (Ghodekar ve ark. 2012), antikanser bir ilaç olan nimorazol (Singh ve ark. 2015), antiviral amaçla kullanılan asiklovir ve antifungal etkinlikteki ketokonazol (Jacobs ve ark. 2016) içeren emüljel formülasyonları geliştirilmesine yönelik çalışmalar dikkat çekmektedir.

Psöriyazis tedavisinde kullanılmak üzere vitamin D3 analogu olan kalsipotriol etkin maddesini içeren emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Geliştirilen formülasyonlar görünüm, viskozite, tiksotropi, yayılabilirlik, mukoadhezif özellik, difüzyon kabiliyeti ve deri iritasyonu bakımından değerlendirilmiştir. Seçilen formülasyon ticari merhem preparatına kıyasla daha iyi ilaç salımı göstererek kalsipotriolün topikal ilaç taşıyıcı sistemlerde emüljel formülasyonu olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir (Varma ve ark. 2014).

Thakur ve ark. (2012) tarafından akne tedavisinde kullanılmak amacıyla benzoil peroksit içeren topikal emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Benzoil peroksit kullanımından kaynaklanan deri iritasyonu ve kuruluğu önlemek amacıyla formülasyona çeşitli nemlendirici ajanlar ve yağ bileşenleri (jojoba yağı, badem yağı gibi) çeşitli konsantrasyonlarda ilave edilmiştir. Formülasyonlar *in vitro* permeasyon çalışmaları, antimikrobiyal aktivite ve deri iritasyonu bakımından değerlendirilerek piyasa preparatı ile karşılaştırılmıştır. Seçilen formülasyonun gelişmiş ilaç salımı ve antimikrobiyal aktivite göstererek deri iritasyonuna neden olmadığı görülmüştür (Thakur ve ark. 2012).

Non-steroidal antiinflatuvar bir ilaç olan mefenamik asidin topikal emüljel formülasyonu geliştirilmiştir. Hidrofobik etkin maddenin emüljel formülasyonunun hazırlanması ile deri penetrasyonunda artış amaçlanmıştır. Formülasyonlar reoloji, yayılabilirlik, biyoadhezif özellik, deri iritasyonu, *in-vitro* ve *ex-vivo* salım, antiinflatuvar ve analjezik aktivite bakımından değerlendirilmiştir. Geliştirilen formülasyon piyasa preparatı olan jel formülasyonu ile kıyaslandığında artan analjezik ve antiinflatuvar etkinlik göstermiştir (Khullar ve ark. 2012).

Geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye sahip ofloksasin içeren emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Ofloksasin BCS Sınıf II'ye ait, düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite gösteren florokinolon türevi bir ilaçtır. Emüljel formülasyonları geliştirilerek özellikle oral yolla kullanılan bu etkin maddenin karaciğerden ilk geçiş

etkisini ortadan kaldırarak kullanım esnasında hasta uyuncunu arttırmak amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda *in vitro* deney sonuçlarına göre kontrollü ve gelişmiş bir ilaç salımı elde edilmiştir (Jagdale ve ark. 2017). Bir başka antibakteriyel ilaç olarak metronidazol içeren soya lesitini bazlı emüljel formülasyonları geliştirilerek ilaç salımı ve antimikrobiyal aktivite bakımından değerlendirildiğinde, topikal ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilirliği gözlenmiştir (Singh ve ark. 2016).

Yüksek analjezik etkinlikteki non-steroidal bir antiinflamatuvar ilaç olan ketolorak trometaminin transdermal ilaç taşıyıcı sistem olarak emüljel formülasyonları hazırlanmıştır. Ketolorak trometaminin oral ve intramusküler olarak kullanımları mevcuttur. Enjeksiyonun invazif bir yöntem olması sebebiyle hasta uyuncunu azaltması ve oral kullanımda non-steroidal ilacın gastrik kanama, peptik ülser gibi yan etkilere neden olabilmesi sebebiyle transdermal ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Böylece ilacın uzatılmış süreli kan düzeyi sağlanarak, tekrarlanan dozların önüne geçmek ve gastrointestinal yan etkileri ortadan kaldırmak amaçlanmıştır. *Stratum corneum*'un bariyer işlevinden kaynaklanan düşük cilt permeabilitesi pek çok ilacın transdermal yolla uygulanışını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle fomülasyona penetrasyon artırıcı ajanlar ilave edilerek geliştirilen formülasyonlar, *in vitro* salım özellikleri bakımından incelenmiştir. Penetrasyon artırıcı ajan olarak izopropil miristat ve Brij 92 maddelerinin kullanıldığı formülasyonlar fiziksel özellik, *in vivo* permeasyon çalışmaları ve analjezik etki bakımından değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre penetrasyon artırıcı olarak izopropil miristat ve propilen glikol ile Brij 92'nin kullanımının ilaç permeasyonunu belirgin düzeyde etkilediği gözlenmiştir. Özellikle Brij 92'nin kullanıldığı formülasyonun, oral ketolorak trometamol ile benzer analjezik ve antiinflamatuvar etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Çalışmada ketolorak trometamol içeren emüljel formülasyonunun dermal ve transdermal ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanım için uygunluğu belirtilmiştir (El-Setouhy ve ark. 2010).

Antifungal etkinlikteki, sentetik bir imidazol türevi olan klotrimazolün emüljel formülasyonları hazırlanmıştır. Hidroksipropil metil selüloz (HPMC), Carbopol 934 ve bu jel yapıcı ajanların kombinasyonunu farklı konsantrasyonlarda içeren emüljel formülasyonları jojoba yağı kullanılarak hazırlanmıştır. Dermatolojik araştırmalar jojoba yağının fungal enfeksiyonlardan kaynaklı inflamasyonu onarmada etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada dermatofit ve *Candida albicans* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan klotrimazolünün emüljel formülasyonları

hazırlanarak fiziksel özellik, reoloji ve salım özellikleri değerlendirilmiş ve piyasadaki krem preparatı ile kıyaslanmıştır. Jel yapıcı ajanların kombinasyonunu içeren formülasyon (HPMC ve Carbopol 934) en yüksek ilaç salımı ve stabiliteyi göstermiştir. Klotrimazolün jojoba yağı içeren emüljel formülasyonunda çözünürlüğünün artması ve gelişmiş salım özelliklerine bağlı olarak formülasyon, antimikotik aktivite bakımından *in vitro* olarak değerlendirildiğinde piyasa preparatına kıyasla üstün antifungal aktivite göstermiştir (Shahin ve ark. 2011a). Aynı jel yapıcı ajanlar kullanılarak antifungal ve antibakteriyel etkinlikteki klorfenesin içeren emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Jel yapıcı ajan olarak düşük oranda HPMC ve yüksek oranda sıvı parafin emülgatör olarak kullanıldığında, topikal olarak kullanılan piyasa preparatına kıyasla daha iyi bir ilaç salımı ve antifungal aktivite gözlenmiştir (Mohamed 2004).

Antifungal etkili klotrimazol kullanılarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada, akrilik asidin hidrofobik olarak modifiye edilen türevi Pemulen içeren emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Emülgatör olarak jojoba yağı ve Pemulen kombinasyonu içeren formülasyon en iyi stabilite verilerini ve yüksek klotrimazol salımı göstermiştir. Formülasyon aynı miktarda etkin madde içeren krem formundaki piyasa preparatına kıyasla daha iyi antifungal aktivite göstermiştir (Shahin ve ark. 2011b).

Emüljel taşıyıcı sistem olarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada, kütanöz leishmaniasis tedavisinde kullanılmak üzere Amfoterisin B içeren emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Leishmaniasis, leishmania protozoan mikroorganizmalarının neden olduğu hastalık kompleksidir (Harman 2015). Amfoterisin B, bu hastalığın tedavisinde kullanılan antifungal bir ilaçtır ve parenteral uygulama gerektirir. Ancak ciddi yan etkilere sahip olduğundan yeni ve güvenli bir tedavi arayışı söz konusudur. Bu amaçla geliştirilen Amfoterisin B içeren emüljel formülasyonları fizikokimyasal özellik, *in vitro* salım profili ve leishmanial aktivite bakımından değerlendirildiğinde topikal uygulama ve hasta uyuncunun iyileşmesine yönelik başarılı sonuçlarla birlikte tedavide alternatif bir yaklaşım elde edilmiştir (Coelho ve ark. 2018; Pinherio ve ark. 2019). Bir HMG-CoA redüktaz inhibitörü olan ve hepatik düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör aktivitesini arttırarak kolesterol tedavisinde kullanılan pravastatin etkin maddesi ile krem ve emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Bu çalışmadaki amaç pravastatinin oral kullanımında karaciğerden ilk geçiş etkisinin önüne geçilerek topikal dozaj formunun geliştirilmesidir. Formülasyonlar

fizikokimyasal özellik bakımından değerlendirildiğinde, emülgjelerin ilaç salım özellikleri ve *ex-vivo* permeasyon sonuçlarının krem formülasyonuna kıyasla daha iyi olduğu gözlenmiştir (Burger ve ark. 2015).

Yara ve yanık tedavisinde kullanılmak amacıyla propolis içeren emülgjel formülasyonları geliştirilmiştir. Propolis antiseptik, antibakteriyel ve antimikotik etkilere sahip doğal, reçineli bir maddedir. Emülgatör olarak izopropil palmitat ve sıvı parafin ile yağ fazı konsantrasyonunun etkin madde salımına etkisini değerlendirmek amacıyla formülasyonlar hazırlanmıştır ve fiziksel görünüm, pH, propolis içeriği, viskozite ve *in vitro* propolis salımı bakımından değerlendirilmiştir. *In vivo* olarak gerçekleştirilen yara ve yanık tedavisi sonuçlarına göre, emülgatör olarak %5 oranında izopropil palmitat içeren formülasyonunun tedavide etkin ve güvenilir olduğu gözlenmiştir (Balata ve ark. 2018).

2.5. Topikal Kortikosteroidler

Tedavi amacıyla 1950'lerin ilk dönemlerinden itibaren kullanılan topikal kortikosteroidler, vazokonstriktif, antiinflamatuvar, antiproliferatif ve immünosupresif özellikleriyle steroid tedavisi gerektiren psöriyazis, akne, egzama gibi cilt hastalıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Wiedersberg ve ark. 2008).

Glukokortikoidler, mikroorganizma, fiziksel veya kimyasal faktörlerin sebep olduğu, lokal ödem, kızarıklık, sıcaklık, ağrı, fonksiyon kısıtlanması, kapiler dilatasyon gibi etkiler gösteren akut ve kronik inflamasyonu inhibe eder. Glukokortikoidler, akut inflamasyon nedeniyle aktive olan nötrofil lökositlerin dokuya aktarımında görev alan moleküllerin sentezini inhibe ederek veya aktive edilmiş monositler ile makrofajlar tarafından salgılanan araşidonik asit moleküllerinin etkilerini inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterirler. Glukokortikoid ilaçlar, membran fosfolipitlerinden araşidonik asit oluşumunu katalizleyen fosfolipaz A2 enzimi inhibitör proteinlerini indükleyerek prostaglandin, tromboksan ve lökotrienler gibi araşidonik asit metabolitlerinin oluşumunu azaltırlar. Diğer bir antiinflamatuvar ilaç grubu olan non-steroidal antiinflamatuvarlar (NSAİ) siklooksijenaz (COX) enzimlerinin araşidonik asit üzerindeki etkisini inhibe ederek prostaglandin ve tromboksanların oluşumunu azaltırken, glukokortikoidler, lökotrienler ve lipoksijenaz metabolitlerinin oluşumunu inhibe ettiğinden daha güçlü antiinflamatuvar etki göstermektedirler. İmmünosupresif

etkilerini ise hücreler arası iletişimi sağlayan faktörlerin inhibisyonuyla gerçekleştirirler (Kayaalp 2002; Uva ve ark. 2012).

Topikal uygulamada tercih edilen hidrokortizonun sentetik türevlerinde mineralokortikoid etkinliğinin azaltılması amacıyla karbon grupları (C17 veya C21) üzerindeki hidroksil gruplarının asetat, butil asetat, valerat gibi organik asitlerle esterleştirilmesiyle uzun etki süreli türevleri elde edilmiştir. Tablo 2-2’de gösterildiği gibi, topikal kortikosteroidler potenslerine göre 7 sınıfa ayrılırlar.

Tablo 2-2: Potenslerine göre topikal kortikosteroidler ve kullanım konsantrasyonları (Uva ve ark. 2012)

Sınıf I Çok yüksek potens	Sınıf II/III Yüksek potens	Sınıf IV/V Orta potens	Sınıf VI/VII Düşük potens
Betametazon dipropiyonat glikol % 0,05	Betametazon dipropiyonat %0,05	Betametazon valerat %0,1	Betametazon valerat %0,05
Klobetazol 17- propiyonat % 0,05	Dezoksimetazon %0,25	Klobetazol 17-bütirat %0,05	Hidrokortizon %1 – 2,5
Halobetazol propiyonat % 0,05	Diflukortolon valerat %0,1	Hidrokortizon 17- valerat %0,2	Hidrokortizon asetat %0,5 - 1
	Triamnisolon asetonid %0,5		Triamnisolon asetonid %0,025

2.6. Diflukortolon Valerat Hakkında Genel Bilgiler

2.6.1. 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

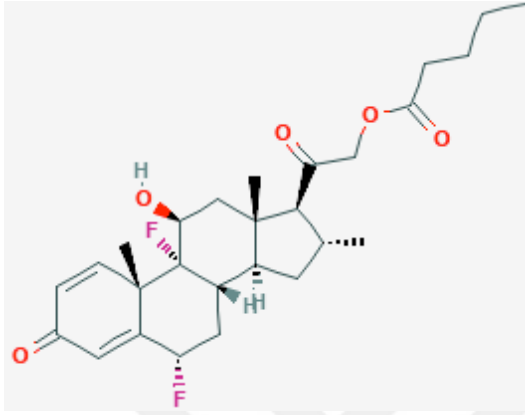
Moleküler Ağırlık: 478,58 g/mol

logP değeri: 4,2

Erime derecesi: 195 °C

Fiziksel Özellikleri: Beyaz-krem kristal toz. Suda pratik olarak çözünmez. (İngiliz Farmakopesi, 2016)

Şekil 2-5: Diflukortolon Valerat'ın kimyasal yapısı



Diflukortolon valerat, antiinflamatuvar, immünosupresif ve vazokonstrüktif etki gösteren valerik asit ile esterlenmiş güçlü etkili bir topikal kortikosteroiddir. Egzama, seboreik egzama, psöriyazis gibi cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Kaşınma, şişme, kızarıklık ve pullanma olarak belirti gösteren bu rahatsızlıklarda, antiinflamatuvar etkisi nedeniyle tercih edilmektedir.

Diflukortolon valerat, yapısındaki ester molekülü nedeniyle spesifik sitoplazmik reseptörlere diflukortolona kıyasla farklı bir bağlanma gerçekleştirerek daha güçlü bir etki gösterir (Hoppe 1988). Farmakokinetik etkisini fosfolipaz A2 inhibisyonuyla, araşidonik asit oluşumunu inhibe etmesi ve inflamatuvar yanıtı sağlayan metabolitlerinin oluşumunu engellemesi sonucu gösterir.

2.6.2. Diflukortolon Valerat İçeren Preparatlar

Ulusal pazarda diflukortolon valerat içeren preparatlar %0,1 krem ve %0,1 veya %0,3 merhem formülasyonları olarak bulunmaktadır. Kombine olarak ise %0,1 diflukortolon valerat ile % 1 izokonazol nitrat veya % 1 klorkinalol içeren müstahzarları bulunmaktadır. Dflukortolon valerat içeren müstahzarlar Tablo 2-3'te gösterilmiştir. (TEBRP 2020)

Tablo 2-3: Ulusal pazarda yer alan Diflukortolon Valerat içeren müstahzarlar
(DFV: diflukortolon valerat)

Preparat İsmi	İçeriği	Üretici Firma
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	Koçal Farma
Impetex Krem	% 0,1 DFV + % 1 Klorkinaldol	Deva Holding
Izocort 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

Oly Plus Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	Santa Farma
Temetex Krem	% 0,1 DFV	Deva Holding
Temetex Merhem	% 0,1 DFV	Deva Holding
Temetex Forte Merhem	% 0,3 DFV	Deva Holding
Tevoral Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	İlko İlaç
Tinagen Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	Generica İlaç
Tracovol Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	Deva Holding
Travazol Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	Bilim İlaç
Travocort Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	Abdi İbrahim
Troderm Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	Biofarma İlaç
Trokar Krem	% 0,1 DFV + % 1 <i>İzokonazol Nitrat</i>	Birpharma

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Diflukortolon Valerat (*DEVA İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.*)
- Sıvı Parafin (*Merck*)
- İzopropil Miristat (*Merck*)
- İzopropil Palmitat (*Sigma-Aldrich*)
- Maisine CC® (Gliseril monolinoleat) (*Gattefossé*)
- Peceol® (Gliseril monooleat) (*Gattefossé*)
- Labrasol® (Kaprilokapriol polioksi-8 gliserid) (*Gattefossé*)
- Labrafac PG® (Propilen glikol gikaprilokaprat EP) (*Gattefossé*)
- Labrafac Lipophile WL1349® (Orta zincirli karprilik / kaprik asit trigliserit) (*Gattefossé*)
- Transcutol® (Dietilen glikol monoetil eter) (*Gattefossé*)
- Tamanu yağı (*Art de Huile*)
- Oleik Asit (*Sigma-Aldrich*)
- Propilen Glikol (*Sigma-Aldrich*)
- PEG 400 (Polietilen glikol-400) (*Sigma-Aldrich*)
- Kolliwax CA® (Setil Alkol) (*BASF*)
- Kolliwax HCO® (Hidrojene hint yağı) (*BASF*)
- Setostearil Alkol (*Sigma-Aldrich*)
- Stearil Alkol (*Sigma-Aldrich*)
- Kolliphor CS20® (Polioksil 20 setostearil eter) (*BASF*)
- Monosteol® (Propilen glikol monopalmistostearat) (*Gattefossé*)
- Trietanolamin (*Merck*)
- Carbopol 980 NF (*Lubrizol*)
- Etanol (HPLC Saflığında) (*Merck*)

- Asetonitril (HPLC Saflığında) (*Merck*)
- Span 80 (Polioksietilen sorbitan monooleat) (*Sigma-Aldrich*)
- Span 20 (Polioksietilen sorbitan monolaurat) (*Sigma-Aldrich*)
- Plurol Oleique CC 497® (Poligliseril 3-dioleat) (*Gattefosse*)
- Plurol Diisostearique® (Poligliseril – 3 diizostearat) (*Gattefosse*)
- Capryol 90® (Propilen glikol monokaprilat Tip II NF) (*Gattefosse*)
- Labrafil M1944® (Oleil polioksil-6 gliserid) (*Gattefosse*)
- Labrafil M2125® (Linalol polioksil-6 gliserid) (*Gattefosse*)
- Cremophor EL® (*BASF*)
- Cremophor RH40® (*BASF*)
- Tween 20 (Polietilen glikol sorbitan monolaurat) (*Sigma Aldrich*)
- Tween 80 (Polietilen glikol sorbitan monooleat) (*Merck*)
- Disodyum Hidrojen Fosfat (Na_2HPO_4) (*Merck*)
- Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4) (*Merck*)
- Sodyum Klorür (*Merck*)
- Potasyum Klorür (*Merck*)
- Metil Paraben (*Sigma-Aldrich*)
- Propil Paraben (*Sigma-Aldrich*)

3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler

3.1.2.1. Kullanılan Aletler

- FT-IR (Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre) (*Jasco, FT/IR-6700*)
- DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri) (*Mettler Toledo, DSC 3*)
- Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (*Shimadzu, Model LC 20AT*)
- C18 Kolon (*LiChroCART® , C18 4,6 150 cm, 5 m*)
- Franz Difüzyon Sistemi (*PermeGear, V6A Stirrer*)
- Ultrasonik Banyo (*Bersonic*)
- Terazî (*Denver Instruments, TB-Series*)
- Santrifüj (*Hettich, D-7200, Type 2041*)
- Orbital Çalkalayıcı (*Thermo Electron Corporation, Model 420*)

- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (*IKA®-Werke, R 15*)
- pH Metre / Kondüktometre (*Eutech Instruments PC 2700*)
- Reometre (*Haake RheoStress 1*)
- Vorteks (*IKA® -Werke*)
- Ultra saf su cihazı (*Purelab Ultra, ELGA*)

3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler

- HPLC şişeleri
- Mikropipet uçları
- Cam Malzeme (Beher, Cam şişe, Balon joje)
- Eppendorf tüpleri (1,5-2 mL)
- Şırınga ucu filtre (Millipore LCR, 13 mm, 0,45 µm)
- 0,22 mm Membran Filtre (GSWP) (*Merck*)
- 0,45 mm Selüloz Asetat Membran (Sartorius)
- Diyaliz tubing selüloz membran (D9777-100FT, Sigma-Aldrich)

3.2. Yöntem

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

IR spektroskopisi, ışığın incelenen madde tarafından soğurulması ve moleküldeki bağların aydınlatılmasını sağlayan analitik bir yöntemdir. Bağlar arasındaki titreşim ve dönüşler için gerekli miktarda dalga enerjisine frekans olarak karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin karakterizasyonu sağlanır (Skoog ve ark. 1998).

Diflukortolon valeratın IR spektrumu *Jasco FT/IR-6700* cihazında orta dalga boylu kızılötesi bölgesinde (MIR) 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} aralığında incelendi.

3.2.2. Diflukortolon Valerat'ın Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi:

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) analizi kimyasalların erime noktalarına göre saflık derecelerinin belirlenmesini ve karakterizasyonunu sağlayan kantitatif bir yaklaşımdır (Durowoju ve ark. 2017).

2,5 mg diflukortolon valerat hassas bir şekilde tartılarak alüminyum hazneye yerleştirildi. Analiz *Mettler Toledo, DSC 3* cihazında gerçekleştirildi. 10-350°C aralığında 10°C/dk sabit bir ısıtma hızıyla sıcaklık artışı sağlandı ve termogram kaydedildi.

3.2.3. Diflukortolon Valerat Miktar Tayini Yöntemi

Diflukortolon valerat'ın miktar tayini çalışmaları için literatüre kayıtlı (Özcan ve ark. 2013) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) analizinden hareketle geliştirilen bir yöntem kullanıldı. Analizler 240 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Kolon olarak 4,6 x 150 mm boyutunda 5 µm partikül boyutuna sahip C18 kolon (*Merck LiChroCART® ,C18 4,6 150 cm, 5 m*) kullanıldı. Kolon sıcaklığı 40° C'ye ve enjeksiyon hacmi 100 µL'ye ayarlandı. 1,0 mL/dk akış hızında etkin madde retansiyon zamanı 10 dakika olarak saptandı.

Mobil Faz Hazırlanması: Asetonitril:Su (70:30) (h/h) oranında karıştırıldı. Mobil faz sisteme verilmeden önce 20 dk boyunca ultrasonik banyoda degaze edildi.

3.2.4. Diflukortolon Valerat Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, analitik yöntemin hedeflenen amaç doğrultusunda belirli koşullardaki uygunluğunu kanıtlama amacıyla yürütülen işlemlerin tamamıdır. Analitik yöntem validasyonunda değerlendirilmesi gereken parametreler temel olarak, doğrusalılık, doğruluk, kesinlik, tekrar elde edilebilirlik, tekrarlanabilirlik, seçilim, stabilite, teşhis limiti (TL) ve miktar tayin limitidir (MTL) (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2017).

Diflukortolon valerat'ın miktar tayin yönteminin validasyonu çözünürlük çalışmaları ve formülasyonun stabilite analizlerinde etkin madde miktar tayini takibi amacıyla mobil faz ve *in vitro* salım çalışmalarında reseptör faz olarak kullanılan PBS 5.5 pH + % 40 etanol karışımı ile ayrı ayrı yapıldı.

3.2.4.1. Doğrusallık

Analitik yöntemin doğrusallığı, numunede doğru orantılı olan analit konsantrasyonu ile belirli bir aralıktaki test sonuçlarının elde edilebilmesidir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2017).

Çözünürlük çalışmaları ve formülasyonun stabilite takibinde etkin madde miktar tayini amacıyla gerçekleştirilen validasyon çalışmasında 10 mg diflukortolon valerat tartıldı, 50 mL'lik balon jodede asetonitril ile tamamlandı. 200 µg/mL diflukortolon valerat içeren çözelti 5 dakika süreyle vortekslenerek stok çözelti hazırlandı. Stok çözeltiden hesaplanan miktarlarda mobil faz ile seyreltme yapılarak 0,1; 0,5; 1; 2,5; 5; 10; 15 ve 20 µg/mL konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı. Seyreltmelerin homojen gerçekleşmesi amacıyla standartlar vortekslendi. *İn vitro* salım çalışmalarında kullanılmak amacıyla gerçekleştirilen validasyon çalışmasında ise stok çözelti aynı şekilde ve aynı konsantrasyonda hazırlandı. Kullanılan yönteme yönelik validasyon çalışması kapsamında stok çözeltiden hesaplanan miktarlarda, bu kez 0,025; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 2,5; 5; 10 ve 15 µg/mL konsantrasyonda standartlar hazırlandı. Bu amaçla reseptör faz olarak kullanılan PBS pH 5,5+%/40 etanol ile seyreltmeler yapıldı.

Standartlar 100 µL enjeksiyon hacmi ile HPLC cihazına enjekte edildi. Her iki validasyon çalışması için farklı konsantrasyonlardaki standartların 3 ayrı enjeksiyonu ile elde edilen pik alanları hesaplandı ve kalibrasyon eğrileri elde edildi. Doğru denklemi, determinasyon katsayısı (r^2), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) değerleri her iki validasyon çalışması için ayrı ayrı hesaplandı.

3.2.4.2. Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği, aynı yöntem ile belirli koşullar altında elde edilen aynı örnek çözeltisinden birden fazla seyreltme sonucu hazırlanan bir seri ölçüm arasındaki yakınlığın uyumudur. Bir seri ölçümün standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) değerleri ile ifade edilen kesinlik için RSD değerinin %2'den düşük olması gerekmektedir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2017).

Analitik yöntemin kesinliğinin belirlenmesi için yöntem 3.2.4.1.'de belirtilen konsantrasyonlardaki mobil faz ve reseptör ortam kullanılarak hazırlanan standartlar ile gün içi ve günler arası kesinlik çalışmaları aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

Gün içi kesinlik: 200 µg/mL konsantrasyonda stok çözelti hazırlamak amacıyla 10 mg diflukortolon valerat tartılarak, 50 mL'lik balonda asetonitril ile tamamlandı. Stok çözeltiden hareketle 1-2,5-5 µg/mL konsantrasyonlarındaki standartlar, mobil faz ve reseptör faz ile seyreltilerek ayrı ayrı hazırlandı. Standart çözeltiler vortekslendikten

sonra, 100 µL enjeksiyon hacmi ile HPLC cihazına enjekte edildi. Her konsantrasyon mobil faz ve reseptör fazı içeren her iki çözücü için 3 ayrı seride hazırlandı. 3 enjeksiyon sonucu belirlenen pik alanlarının ortalaması alındı ve doğru denklemi kullanılarak diflukortolon valerat miktarı hesaplandı. Sonuçların ortalaması alınarak SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

Günler arası kesinlik: 1.gün yapılan kesinlik çalışmaları 2. ve 3. günlerde tekrarlandı. Elde edilen tüm sonuçların ortalaması alındı. SD ve %RSD değerleri hesaplandı.

3.2.4.3. Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğu, uygulanan yöntem sonucu elde edilen değerlerin gerçek değere yakınlığı olarak ifade edilmektedir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2017).

Doğruluk çalışması kapsamında formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerden Sıvı Parafin, Tamanu yağı, Peceol, Maisine CC, Kolliwax HCO ve Kolliwax CA'nın en yüksek konsantrasyondaki oranları kullanılarak Tablo 3-1'de belirtilen plasebo formüller hazırlandı. Çalışma, yöntem 3.2.4.1.'de hazırlanan stok çözeltiden hareketle formülasyondaki %0,1'lik ilaç konsantrasyonunu sağlayacak şekilde gerçekleştirildi. Her bir plasebo formülasyon için 1-2,5 ve 5 µg/mL konsantrasyonlarda seyreltmeler yapılarak, mobil faz ve reseptör faz için ayrı ayrı çalışıldı. Diflukortolon valerat için geri kazanım değerleri hesaplanarak yöntemin doğruluğu belirlendi.

Tablo 3-1: Diflukortolon Valerat'ın plasebo formülasyonları

Birim Formül	Placebo 1 (%)	Placebo 2 (%)	Placebo 3 (%)	Placebo 4 (%)	Placebo 5 (%)
Diflukortolon Valerat	-	-	-	-	-
Sıvı Parafin	2,5	2,5	2,5	4,850	2,425
Tamanu yağı	2,5	-	-	-	-
Maisine CC	-	2,5	-	-	-
Peceol	-	-	2,5	-	2,425
Kolliwax CA	-	-	-	0,150	0,150
Kolliwax HCO	0,050	0,050	0,150	-	-
Span 20	3	3	3	3	3
Etanol	1,250	1,250	1,250	1,250	1,250
Transcutol	1	1	1	1	1
Propil Paraben	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Metil Paraben	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Tween 20	3	3	3	3	3
Carbopol 980 NF	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Distile Su	86,15	86,15	86,05	86,20	86,20

3.2.4.4. Seçicilik

Analitik yöntemin seçiciliği, yöntemin analizi gerçekleştirilecek madde ile girişime neden olabilecek diğer bilşenlerden ayrı olarak doğru bir şekilde ölçülebilmesi yeteneğidir (Lang ve Bolton 1991).

Analizi gerçekleştirilen madde ile girişime sebep olabilecek diğer formülasyon bileşenleri, Asetonitril:Su (70:30)(h/h) ile hazırlanan mobil faz ve reseptör faz olarak

hazırlanan pH 5,5 PBS + %40 etanol ile analiz edilerek Yöntem 3.2.3.'te belirtilen HPLC çalışma koşullarında girişime sebep olup olmadığı tayin edildi.

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

Analitik yöntemin tayin edebileceği en düşük madde konsantrasyonu teşhis limiti (TL) olarak tanımlanmaktadır. Miktar tayin limiti ise analitik yöntemin uygun doğruluk ve kesinlikte tayin edebileceği en düşük madde konsantrasyonudur (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2017).

Teşhis Limiti ve Miktar Tayin Limiti için en az üç kalibrasyon eğrisinin eğim ile kesişim noktalarına ait standart sapma (SD) değerleri kullanıldı. Standart sapma, kalibrasyon eğrisinin eğimine bölündükten sonra bu değer 3,3 ile çarpılarak Teşhis Limiti; 10 ile çarpılarak ise Miktar Tayin Limiti hesaplandı.

3.2.4.6. Numunelerin Stabilitesi

In vitro salım çalışmaları ve analizler esnasında diflukortolon valerat numunelerinin stabil kaldığını teyit etmek amacıyla stabilite çalışması gerçekleştirildi. 200 µg/mL konsantrasyondaki stok çözeltisinden hareketle 1-2,5 ve 5 µg/mL konsantrasyondaki standartlar hazırlanarak 0., 24. ve 48. saatlerde analiz edildi. Analiz neticesinde standartların diflukortolon valerat konsantrasyonunda değişiklik durumu ve farklı bir pik gözlenip gözlenmediği tespit edildi.

3.2.5. Çözünürlük Çalışmaları

3.2.5.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışmaları

Diflukortolon valerat'ın emülsiyon formülasyonlarında kullanılacak yağ ve yüzey etkin maddeler (YEM) içerisindeki çözünme durumu incelendi. Bu amaçla, 1'er gram yardımcı madde tartılarak ependorfa alındı ve üzerlerine belirli miktarda diflukortolon valerat ilave edilerek vortekslendi. Bulanık görünüm elde edinceye dek etkin madde ilavesine devam edildi. Ardından orbital çalkalayıcıda 25°C 200 rpm'de 24 saat süreyle çalkalamaya bırakıldı. 24 saatin sonunda ependorflar çalkalayıcıdan alındı, 15000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve çözeltide asılı kalan etkin maddenin çökmesi sağlandı. Üstte kalan kısımdan alınarak 0.45 µm PTFE membran filtreden süzüldü ve Yöntem 3.2.3.'te belirtilen koşullarda analizi gerçekleştirildi. Her numune için ölçümler 3'er kez tekrarlanarak çözünen diflukortolon valerat miktarı, ortalama değer ve standart

sapma değerleri hesaplandı. Çalışma kapsamında kullanılan yardımcı maddeler Tablo 3-2’de yer almaktadır.

Tablo 3-2: Çözünürlük çalışmasında kullanılan yardımcı maddeler

Yağlar	Sıvı Parafin
	İzopropil Miristat (IPM)
	İzopropil Palmitat (IPP)
	Oleik Asit
	Labrafac PG
	Labrafac Lipophile
	Maisine CC
	Peceol
	Tamanu yağı
	Propilen Glikol
Yüzey Etkin Madde ve Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler (Sürfaktan ve Ko-sürfaktan)	PEG 400
	Transcutol
	Labrasol
	Etanol
	Tween 80
	Tween 20
	Span 80
	Span 20
	Plurol Oleique
	Kolliphor EL
	Kolliphor RH40

3.2.5.2. Etkin Maddenin Çözünme Ortamındaki Çözünürlük Çalışmaları

In vitro salım çalışmalarının, *in vivo* veriler ile korelasyon gösterebilmesi ve fizyolojik koşulları taklit edebilmesi istenmektedir. Topikal olarak uygulanacak formülasyonların *in vitro* salım çalışmalarında ise reseptör ortam olarak genellikle pH 5.5 ve pH 7.4 fosfat tamponu tercih edilmektedir (Markovich, 2001; Sheshala ve ark. 2019).

Geliştirilen pek çok ilaç molekülü BCS Sınıf II'ye ait olarak düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite özelliği göstermektedir. Dissolüsyon çalışmasının doğru bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için ise etkin maddenin çözünme ortamında sink koşulu sağlayacak şekilde çözünmesi gerekir. Bu amaçla reseptör ortama sürfaktanlar, inorganik tuzlar ve organik ko-solvanlar gibi çözünürlük düzenleyici ajanlar ilave edilebilmektedir (Phillips ve ark. 2012).

Diflukortolon valerat içeren formülasyonların *in vitro* salım çalışmasında kullanılmak amacıyla farklı pH'daki tampon çözeltileri ve yardımcı maddeleri farklı oranda içeren içeren çözeltiler hazırlanarak çözünürlük çalışması gerçekleştirildi. Bu amaçla Tablo 3-3'te hazırlanan çözeltilerden hareketle sink koşulu sağlayan reseptör ortamın seçilmesi amaçlandı. Çalışma kapsamında 1'er mL pH 5.5 ve pH 7.4 fosfat tamponu içeren karışımlar ependorfa alındı ve üzerlerine belirli miktarda diflukortolon valerat ilave edilerek vortekslendi. Bulanık görünüm elde edilinceye dek etkin madde ilavesine devam edildi. Ardından orbital çalkalayıcıda 25°C 200 rpm'de 24 saat süreyle çalkalamaya bırakıldı. Ependorflar çalkalayıcıdan alınarak 15000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve çözeltide asılı kalan etkin maddenin çökmesi sağlandı. Üstte kalan kısımdan 500 µL alınarak 5 mL'lik balonlarda mobil faz ile seyreltildi. Numuneler 0,45 µm PTFE membran filtreden süzülerek Yöntem 3.2.3.'te belirtilen koşullarda HPLC'de analiz edildi. (n=3 olacak şekilde bu işlem tekrarlandı.)

Tablo 3-3: *In vitro* çalışmalarda kullanılacak reseptör fazın belirlenmesi için yardımcı maddelerle hazırlanan pH 5.5 ve pH 7.4 PBS çözeltileri

Fosfat Tampon	Yardımcı Maddeler	Oranlar
pH 5.5	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)
	Dietilen glikol monoetil eter (Transcutol®)	% 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)
	Dietilen glikol monoetil eter (Transcutol®)	% 5 (a/h)

3.2.6. Ön Formülasyon Çalışmaları

Diflukortolon valerat'ın optimum emülsiyon formülasyonlarını belirlemek amacıyla Tablo 3-4'te gösterilen yağ, sürfaktan ve kosürfaktanların farklı oranları kullanılarak ön formülasyon çalışmaları yapıldı.

Tablo 3-4: Ön formülasyon çalışmaları esnasında kullanılan yardımcı maddeler

Yağ	IPM, Peceol, Maisine CC, Labrafac PG, Labrafac Lipophile, Sıvı Parafin, Tamanu yağı, Oleik asit, Kolliwax CA, Kolliwax HCO, Stearil Alkol, Setostearil Alkol, Kolliphor CS 20, Monosteol
Süpfaktan	Tween 20, Tween80, Span 20, Span 80, Cremophor EL, Cremophor RH40, Labrafil M 1944, Labrafil M 2125
Kosüpfaktan	Dietilen glikol monoetil eter, Labrasol, Etanol, Propilen Glikol, PEG 400, Plurol Oleique, Plurol Diisostearique, Capryol 90

Emüljel formülasyonu hazırlanmasının ikinci adımı olan jel formülasyonunun hazırlanmasında jel yapıcı ajan olarak Carbopol 980 NF'nin farklı oranlarıyla ön formülasyon denemeleri yapıldı.

3.2.7. Emüljel Formülasyonlarının Hazırlanması ve Optimizasyonu

Çalışmamız kapsamında emüljel formülasyonlarının hazırlanması 3 basamakta gerçekleştirildi. Öncelikle emülsiyon fazı daha sonra ise jel fazı hazırlandı. Son adım olarak bu 2 faz bir araya getirilerek homojen formülasyonlar elde edildi.

3.2.7.1. Emülsiyon Fazının Hazırlanması

Öncelikle etkin maddenin yağ fazındaki solvan/kosolvan içerisinde çözünmesi gerçekleşti. Etkin madde içeren bu bileşenler ile yağ, yağda çözünen süpfaktan ve yağ fazına eklenen koruyucu bir araya getirilerek yağ fazı hazırlandı. Su, suda çözünen süpfaktan ve su fazına eklenen koruyucu ise yine aynı prensipte bir araya getirildi. Yağ fazı ve su fazı ayrı ayrı 70-80 °C'ye getirildi. Aynı sıcaklığa getirilen bu iki faz manyetik karıştırıcıda devamlı karıştırılarak, yağ fazının su fazına yavaşça eklenmesi suretiyle bir araya getirilerek emülsiyon oluşumu sağlandı. Emülsiyon oda sıcaklığına gelinceye dek karıştırılmaya devam edildi. Daha sonra 5 dakika 500 rpm'de homojenizatörde karıştırıldı (Khullar ve ark. 2012; Arshad ve ark. 2019).

3.2.7.2. Jel Fazının Hazırlanması

Jel yapıcı ajan olarak Carbopol 980 NF ile çalışıldı. Polimer belirli miktarda su ile sabit hızda sürekli karıştırılarak 24 saat şişmeye bırakıldı. Daha sonra trietanolamin ilavesiyle pH nötralize edildi (Mohamed, 2004).

3.2.7.3. Emüljellerin Hazırlanması

Emülsiyon fazı ile jel fazı 1:1 (a/a) oranında homojen olarak karıştırılarak %0.1 etkin madde içeren emüljel formülasyonları elde edildi.

3.2.8. Emüljel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Hazırlanan emüljel formülasyonları morfolojik özellik, stabilite, pH, reoloji ve viskozite bakımından değerlendirildi.

3.2.8.1. Fiziksel Görünüm

Hazırlanan emüljel formülasyonlarının genel görünümü, faz ayrımı gibi fiziksel stabilite problemlerinin olup olmadığı, renk ve koku gibi morfolojik özellikleri incelendi.

3.2.8.2. pH ve İletkenlik Ölçümleri

Hazırlanan emüljel formülasyonlarının pH ve iletkenlik ölçümleri Eutech Instruments PC 2700 pH metre/kondüktometresi ile gerçekleştirildi. Ölçümler oda sıcaklığında 3'er kez tekrarlanarak aritmetik ortalama ve SD değerleri hesaplandı.

3.2.8.3. Reoloji ve Viskozite Tayini

Emüljel formülasyonları ve ticari preparat (Temetex Krem) reoloji ve viskozite profilleri tayini kapsamında Haake RheoStress 1 reometre cihazı kullanılarak kayma gerilimi (shear stress), kayma hızı (shear rate) ve iki aşamalı osilasyon testleri (frekans tarama testi ve kayma gerilimi genliği testi) yapıldı. Analizde 35 mm çap, 1° açılı plaka sistemi (gap 0,053 mm) kullanıldı ve ölçümler $25 \pm 0,20$ °C sıcaklıkta gerçekleştirildi (Szucs ve ark 2008).

3.2.8.3.1. Kayma Gerilimi ve Kayma Hızı Testleri

Kayma gerilimi ve kayma hızı testleri kapsamında $0,00 \text{ s}^{-1}$ 'den 200 s^{-1} 'e kadar değişen kayma hızlarındaki kayma gerilimi değerleri, $25 \pm 0,20$ °C sıcaklık ve 120 s çalışma süresi ile hesaplandı (Daudt ve ark. 2015). Farklı akış modelleri için

hesaplamalar yapılarak formülasyonun uygun olduğu akış modeli tespit edildi. Kayma hızı (τ), kayma gerilimi ($\dot{\gamma}$) ve viskozite (η) grafikleri gösterildi. Tüm ölçümler her bir formülasyon için 3 kez tekrarlandı.

3.2.8.3.2. Osilasyon Testleri

Osilasyon ölçümleri iki aşamada gerçekleştirildi. Öncelikle $25 \pm 0,20$ °C’de 0.1-100 Hz aralığında frekans tarama testi yapılarak formülasyonların farklı frekanslardaki durumu incelendi. Frekans tarama testi sonuçlarına göre osilasyon testlerinin ikinci aşaması olan kayma gerilimi genliği testi aynı sıcaklık koşullarında, 0,1592 Hz sabit frekansta (5 rad/s) yapıldı. Lineer viskoelastik bölgedeki (LVR) G' (elastik modül), G'' (viskoz modül) grafikleri kaydedildi ve eğrilerin eğim değerleri ($\tan\delta$) hesaplandı (Daudt ve ark. 2018). Tüm ölçümler 3 kez tekrarlanarak aritmetik ortalama ve SD değerleri hesaplandı.

3.2.8.4. Emüljel Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini

Seçilen emüljel formülasyonlarında etkin madde miktar tayini amacıyla 0,25 g formülasyon tartılarak 10 mL asetonitril ile tamamlandı. Ultrasonik banyoda parçalanmasının ardından vortekslendi. Çözeltiden 1 mL alınarak 10 mL’lik balonlarda mobil faz ile tamamlandı. 0,45 μ m PTFE membran filtreden süzülerek Yöntem 3.2.3.’te belirtilen koşullarda HPLC’de analiz edildi. Her bir formülasyon için ölçümler 3 kez tekrarlanarak aritmetik ortalama ve SD değerleri hesaplandı.

3.2.9. Stabilite Çalışmaları

Seçilen emüljel formülasyonlarının stabilite tayinleri kapsamında, formüller 25°C sıcaklık, %60 relatif nem şartlarındaki stabilite kabininde (Nüve test cabinet, TC120) 3 ay süreyle muhafaza edilerek pH, etkin madde miktar tayini ve viskozite bakımından değerlendirildi.

3.2.10. *In vitro* Salım Çalışmaları

Emüljel formülasyonları ve ticari preparatın (Temetex Krem) *in vitro* salım çalışmaları $37,0 \pm 0,5$ °C sabit sıcaklık, 12 mL hacim ve 1,77 cm² yüzey alanına sahip Franz Difüzyon Sistemi (PermeGear, V6A Stirrer) hücrelerinde 500 rpm dönüş hızında gerçekleştirildi. Yöntem 3.2.5.2.’de anlatıldığı şekilde yürütülen çözünürlük çalışması sonucuna göre pH 5.5 PBS:Etanol (60:40) karışımı reseptör ortam olarak kullanılarak

sink koşul sağlandı. Reseptör faz ultrasonik banyoda degaze edildikten sonra her bir hücreye hava kabarcığı oluşmayacak şekilde dolduruldu, manyetik karıştırıcı konuldu ve hücrelerin üzerine 0,45 µm por çapına sahip selüloz asetat membranlar yerleştirildi. Donör faz olarak diflukortolon valerat içeren emüljel formülasyonları 0,5'er g tartılarak hassas bir şekilde yerleştirildi ve parafilm ile kapatılarak çalışma başlatıldı. Numuneler 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 8. saatlerde 1'er mL olarak alındı; 0,45 µm membran filtreden süzülerek viallere konuldu ve yerine 1 mL taze reseptör ortam alınarak hücrelere ilave edildi. Numuneler 240 nm dalga boyunda, 4,6 x 150 mm boyut ve 5 µm partikül boyutuna sahip C18 kolonda (Merck LiChroCART® ,C18 4,6 150 cm, 5 m) 40°C sıcaklıkta, 100 µL enjeksiyon hacmi ile 1,0 mL/dk akış hızında analiz edildi ve 10. dakikadaki pik alanları belirlendi. Her bir formülasyon için çalışma en az 3 hücrede gerçekleştirildi.

3.2.11. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

In vitro salım çalışması sonuçları, numunelerin etkin madde içeriklerinin Yöntem 3.2.4.1'de reseptör ortamda elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılmasıyla elde edildi ve zamana karşı grafiklendirildi. Farklı salım modellerine göre formülasyonların *in vitro* salım profilleri oluşturuldu ve determinasyon katsayıları (r^2) hesaplandı.

3.2.12. İstatistiksel Analiz

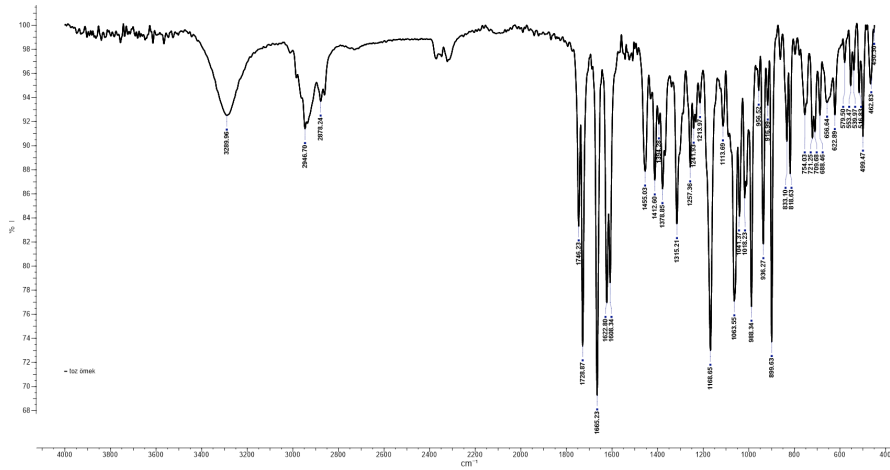
Emüljel formülasyonlarının *in vitro* salım çalışması sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla *GraphPad Prism 5.01*, *1 way Anova*, *Dunnet's multiple Comparison Test* kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlı fark değeri $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Diflukortolon Valerat'ın Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi:

Diflukortolon Valerat'ın Yöntem 3.2.1'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen FT-IR analizi sonucu spektrumu Şekil 4-1'de gösterilmiştir.

Şekil 4-1: Diflukortolon Valerat'ın FT-IR spektrumu

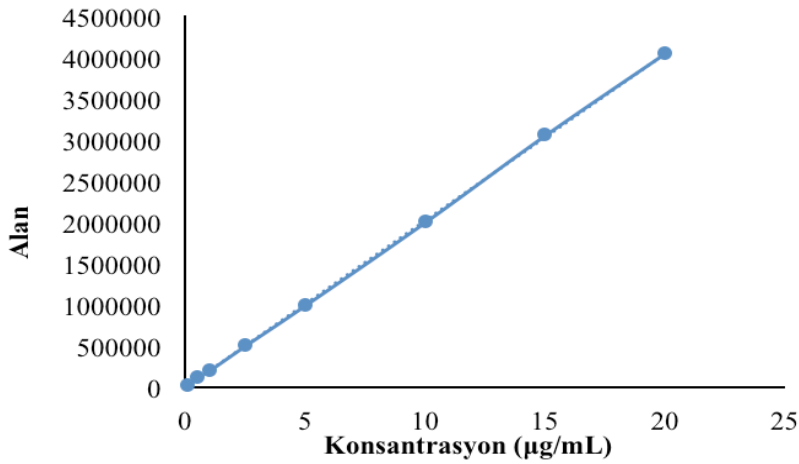


4.3. Diflukortolon Valerat'ın Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

4.3.1. Doğrusallık

Diflukortolon valerat için doğrusallık çalışmaları Yöntem 3.2.4.1'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Mobil faz ve reseptör faz kullanılarak elde edilen standart eğri grafikleri Şekil 4-3 ve Şekil 4-4'de, standart eğri grafiklerinin oluşturulmasında kullanılan ortalama pik alanları, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-1 ve Tablo 4-3'te, r^2 ve doğru denklemi ise Tablo 4-2 ile Tablo 4-4'te gösterilmiştir.

Şekil 4-3: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait kalibrasyon eğrisi



Tablo 4-1: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait bulgular

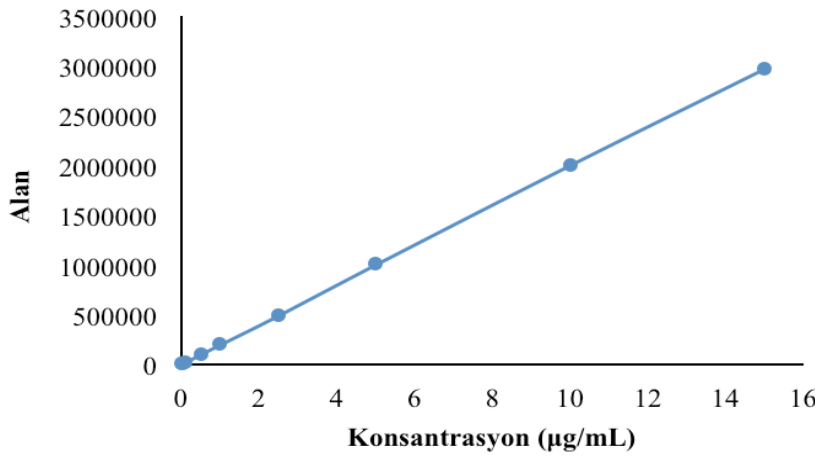
Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD (%)
0,1	18657,67	370,00	1,98
0,5	112447	4425,61	3,94
1	200552	695,62	0,35
2,5	503026,67	946,29	0,19
5	992415,33	286,70	0,03
10	2000457,67	1244,76	0,06
15	3053545	2235,65	0,07
20	4047306,33	5044,33	0,13

Tablo 4-2: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait r^2 ve doğru denklemi

Doğru denklemi	$y = 202546x - 3664,5$
Determinasyon katsayısı (r^2)	0,9999

y= Alan, x= Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)

Şekil 4-4: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait kalibrasyon eğrisi



Tablo 4-3: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait bulgular

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ortalama Alan	SD ($\pm$)	RSD (%)
0,025	5064,67	173,90	3,43
0,05	10492,00	172,29	1,64
0,1	18232,67	169,05	0,93
0,5	102093,33	104,79	0,10
1	199907,33	158,32	0,08
2,5	493362,67	209,99	0,04
5	1005363,00	353,29	0,04
10	2004949,00	3866,17	0,19
15	2975898,00	4584,43	0,15

Tablo 4-4: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışmasına ait r^2 ve doğru denklemi

Doğru denklemi	$y = 199006x + 1593,7$
Determinasyon katsayısı (r^2)	0,9999

y = Alan, x= Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)

4.3.2. Kesinlik

Kesinlik çalışması Yöntem 3.2.4.2'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Mobil faz ve reseptör faz kullanılarak ayrı ayrı elde edilen gün içi kesinlik bulguları Tablo 4-5 ve Tablo 4-6'da, günler arası kesinlik bulguları ise Tablo 4-7 ve Tablo 4-8'de gösterilmiştir.

Tablo 4-5: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik çalışmasına ait bulgular

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ortalama Alan	SD ($\pm$)	RSD (%)
1	204584,67	2974,52	1,45
2,5	512610,67	7753,51	1,51
5	1007152,33	16567,11	1,64

Tablo 4-6: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik çalışmasına ait bulgular

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ortalama Alan	SD ($\pm$)	RSD (%)
1	205751,00	8063,77	3,92
2,5	504498,33	5187,53	1,03
5	996677,33	3893,16	0,39

Tablo 4-7: Diflukortolon Valerat'ın mobil faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik çalışmasına ait bulgular

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD (%)
1	205751,00	8063,77	3,92
2,5	504498,33	5187,53	1,03
5	996677,33	3893,16	0,39

Tablo 4-8: Diflukortolon Valerat'ın reseptör faz kullanılan HPLC miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik çalışmasına ait bulgular

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD (%)
1	210892,33	9656,59	4,58
2,5	515105,33	10548,54	2,05
5	1008950,67	19552,46	1,94

4.3.3. Doğruluk

Doğruluk çalışması Yöntem 3.2.4.3'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Belirlenen konsantrasyonlar için mobil faz ve reseptör faz kullanılarak ayrı ayrı elde edilen geri kazanım (%), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (RSD) değerleri hesaplanmıştır. Plasebo formülasyonlar için doğruluk çalışması bulguları Tablo 4-9 ve Tablo 4-18 aralığında gösterilmiştir.

Tablo 4-9: Plasebo 1 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,0185	101,8482	0,5491	0,5391
2,5	2,4915	99,6599	0,7130	0,7155
5	5,0171	100,3421	0,8967	0,8936

Tablo 4-10: Plasebo 2 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,0062	100,6243	0,8101	0,8050
2,5	2,5363	101,4525	1,1993	1,1821
5	4,9662	99,3249	0,2868	0,2887

Tablo 4-11: Plasebo 3 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,0105	101,0528	0,8622	0,8532
2,5	2,5378	101,5100	1,1399	1,1230
5	4,9718	99,4353	0,5484	0,5515

Tablo 4-12: Plasebo 4 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,0130	101,2953	0,3043	0,3004
2,5	2,5131	100,5237	0,2853	0,2839
5	4,9986	99,9727	0,7966	0,7968

Tablo 4-13: Plasebo 5 formülasyonu için mobil faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,0082	100,8185	0,4411	0,4376
2,5	2,5361	101,4452	1,0390	1,0242
5	4,9880	99,7598	0,3219	0,3227

Tablo 4-14: Plasebo 1 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	0,9869	98,6888	0,2432	0,2464
2,5	2,4649	98,5977	0,4622	0,4688
5	5,0346	100,6928	0,3675	0,3650

Tablo 4-15: Plasebo 2 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,0099	101,7371	2,5106	2,4678
2,5	2,4676	98,0069	1,4135	1,4423
5	5,0319	98,7173	1,3888	1,4068

Tablo 4-16: Plasebo 3 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	1,0099	100,9939	0,7299	0,7227
2,5	2,4676	98,7046	1,0479	1,0616
5	5,0319	100,6382	0,6044	0,6006

Tablo 4-17: Plasebo 4 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	0,9992	99,9228	2,0440	2,0455
2,5	2,5102	100,4064	0,3411	0,3397
5	5,0227	100,4547	0,6916	0,6885

Tablo 4-18: Plasebo 5 formülasyonu için reseptör faz kullanılan miktar tayini yöntemine ait doğruluk çalışması bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Ort Geri Kazanım	Ort (%) Geri Kazanım	SD (±)	RSD (%)
1	0,9892	98,9173	2,0167	2,0388
2,5	2,4960	99,8394	1,1261	1,1279
5	4,9890	99,7795	0,3773	0,3781

4.3.4. Seçicilik

Yöntem 3.2.4.4'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda formülasyon bileşeni olarak kullanılan yağ, sürfaktan, kosürfaktan, koruyucu amaçlı kullanılan metil paraben ve propil paraben ile reseptör faz ve mobil faz ile hazırlanan numunelerin diflukortolon valeratın pik alıkonma zamanında girişim oluşturmadığı saptanmıştır.

4.3.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti

Yöntem 3.2.4.5'te anlatıldığı şekilde Teşhis limiti (TL) ve Miktar Tayin Limiti (MTL) hesaplanmıştır. Asetonitril:Su (70:30) karışımı kullanılarak hazırlanan standartlar için TL=0,026 ve MTL=0,080 olarak, pH 5,5 PBS:Etanol (60:40) karışımı kullanılarak hazırlanan standartlar için ise TL=0,006 MTL=0,019 olarak hesaplanmıştır.

4.3.6. Numunelerin Stabilitesi

Stabilite çalışması Yöntem 3.2.4.5'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen stabilite bulguları Tablo 4-19 ve Tablo 4-20'de gösterilmiştir.

Tablo 4-19: Mobil faz kullanılarak hazırlanan standartların stabilite bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Zaman	Alan	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
0,5	0 saat	199790	199687,33	1323,99	0,66
	24 saat	198315			
	48 saat	200957			
1	0 saat	501956	504299	3367,48	0,67
	24 saat	502783			
	48 saat	508158			
2,5	0 saat	992304	985371	6123,78	0,62
	24 saat	983109			
	48 saat	980700			

Tablo 4-20: Reseptör faz kullanılarak hazırlanan standartların stabilite bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	Zaman	Alan	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
0,5	0 saat	199873	198344,33	1841,47	0,93
	24 saat	198860			
	48 saat	196300			
1	0 saat	493201	488726,33	4172,92	0,85
	24 saat	484941			
	48 saat	488037			
2,5	0 saat	1005112	996188,33	8167,42	0,82
	24 saat	989084			
	48 saat	994369			

4.4. Çözünürlük Çalışmaları

4.4.1. Etkin Maddenin Formülasyon Bileşenlerindeki Çözünürlük Çalışması

Formülasyon bileşenleri ile çözünürlük çalışması Yöntem 3.2.5.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Tablo 4-21’de yer alan sonuçlar değerlendirilerek ve maddelerin özellikleri göz önünde bulundurularak ön formülasyon çalışmalarında kullanımı uygun olan yardımcı maddeler belirlenmiştir.

Tablo 4-21: Diflukortolon valerat’ın yardımcı maddeler içerisindeki çözünürlük değerleri

Yardımcı Madde	1 g’daki çözünürlük değerleri ($\pm$ SD)
Peceol	8,62 mg $\pm$ 1,17
Tamanu	6,15 mg $\pm$ 1,52
Maisine	3,96 mg $\pm$ 1,06
İPM	2,3 mg $\pm$ 0,09
İPP	1,43 mg $\pm$ 0,07
Sıvı Parafin	0,1 mg $\pm$ 0,06
Labrafac PG	4,66 mg $\pm$ 1,32
Labrafac Lipophilic	2,5 mg $\pm$ 0,36
Oleik Asit	11,5 mg $\pm$ 1,23
Propilen Glikol	3,49 mg $\pm$ 0,37
PEG 400	15,94 mg $\pm$ 1,62
Transcutol	64,88 mg $\pm$ 1,96
Labrasol	23,17 mg $\pm$ 1,74
Etanol	31,07 mg $\pm$ 1,86
Tween 80	18,83 mg $\pm$ 1,67
Tween 20	15,93 mg $\pm$ 1,57
Span 80	1,43 mg $\pm$ 0,08
Span 20	2,6 mg $\pm$ 0,38
Plurol Oleique	7,65 mg $\pm$ 1,15
Kolliphor EL	5,06 mg $\pm$ 0,85
Kolliphor RH40	3,98 mg $\pm$ 0,24

4.4.2. Etkin Maddenin Farklı Çözünme Ortamlarındaki Çözünürlük Çalışması

Farklı çözünme ortamlarındaki çözünürlük çalışması Yöntem 3.2.5.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Tablo 4-22’de yer alan sonuçlar değerlendirilerek *in vitro* salım çalışmalarında kullanılacak olan reseptör ortam belirlenmiştir.

Tablo 4-22: Diflukortolon valerat’ın farklı çözünme ortamlarındaki çözünürlük bulguları

Yardımcı Madde	1 mL’deki çözünürlük değerleri ($\pm$ SD)
PBS pH 5.5 + Etanol (50:50)	1047,90 μ g $\pm$ 16,90
PBS pH 5.5 + Etanol (60:40)	161,88 μ g $\pm$ 6,40
PBS pH 5.5 + Etanol (70:30)	21,56 μ g $\pm$ 11,56
PBS pH 7.4 + Etanol (50:50)	1006,32 μ g $\pm$ 20,13
PBS pH 7.4 + Etanol (60:40)	155,68 μ g $\pm$ 11,55
PBS pH 7.4 + Etanol (70:30)	20,91 μ g $\pm$ 3,78
PBS pH 5.5 + PEG 400 (70:30)	12,21 μ g $\pm$ 11,15
PBS pH 7.4 + PEG 400 (70:30)	6,28 μ g $\pm$ 4,67
PBS pH 5.5 + Tween 80 (%2)	64,62 μ g $\pm$ 1,51
PBS pH 7.4 + Tween 80 (%2)	59,76 μ g $\pm$ 0,14
PBS pH 5.5 + Transcutol (%5)	1,72 μ g $\pm$ 0,08
PBS pH 7.4 + Transcutol (%5)	2,70 μ g $\pm$ 0,23

4.5. Ön Formülasyon Çalışmaları

Ön formülasyon çalışmaları kapsamında ilk olarak Tablo 3-4’te yer alan yardımcı maddeler farklı içerik ve oranlarda kullanılarak, Yöntem 3.2.6’te belirtildiği şekilde formülasyonlar hazırlanmıştır. Emülsiyonlar ilk aşamada stabil formülasyonların hazırlanabilmesi adına fiziksel kararlılık göstergesi bakımından görsel olarak değerlendirilmiştir.

Çözünürlük çalışması sonuçlarına göre emülsiyon formülasyonları hazırlamak adına sıvı yağlardan, İPM, tamanu yağı, Labrafac PG, Peceol, oleik asit ve kullanılan yardımcı maddelerin karakteristik özellikleri de göz önünde bulundurulduğunda sıvı parafin, Labrafac Lipophile, Maisine CC ile bunların farklı oranlardaki karışımlarında, formülasyon içerisindeki miktarı %1 - %12 aralığında tutularak ön formülasyon

denemeleri yapılmıştır. Formülasyon geliştirme aşamasında literatürde yer alan çalışmaların yanısıra, kullanılacak yağların RHLB (Gerekli Hidrofil-Lipofil Denge) değerleri de göz önünde bulundurularak, çeşitli sürfaktanlar ve farklı oranlar kullanılarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Katı yağ olarak setil alkol, stearyl alkol, setostearil alkol, Monosteol, Kolliphor CS 20 ve Kolliwax HCO ile %0,1 - %2 aralığında çalışılmıştır.

Yapılan ön formülasyon çalışmalarında sıvı yağ olarak temelde sıvı parafin ile tamanu yağı, Peceol ve Maisine CC'in çeşitli oranları ile katı yağ olarak setil alkol veya Kolliwax HCO içeren formülasyonların uzun süre stabil kaldığı görülmüştür.

Yağ fazına Span 80, Span 20, Plurol oleique, Plurol Diisostearique, Labrafil M1944, Labrafil M2125 ve Capryol 90 sürfaktanları farklı oranlarda ilave edilerek denemeler yapıldığında Span 20 ile hazırlanan formülasyonlarda faz ayrımı oluşmadığı gözlenmiştir. Su fazına farklı oranlarda ilave edilen sürfaktanlardan Tween 80, Tween 20, Cremophor EL ve Cremophor RH40 ile yapılan denemeler sonucunda ise Tween 20 içeren formülasyonların stabil kaldığı gözlenmiştir. Etkin maddenin formülasyon içerisindeki çözünürlüğünü arttırmak amacıyla PEG 400, Labrasol, Transcutol ve etanol ile denemeler yapılmıştır. Transcutol ve etanol içeren formüller stabil kalmıştır. Bu nedenle tüm formülasyonlarda Transcutol %2 ve etanol %2,5 oranında bulunmaktadır.

Yöntem 3.2.7.2'de anlatıldığı şekilde % 0.5, 1 ve 2 Carbopol 980 NF içeren jel formülasyonları hazırlanarak denemeler yapılmıştır. Çalışmamızda hazırlanan emülsiyon formülasyonları ile jel formülasyonlarının bir araya getirilmesi sonucu oluşan emüljel yapısına % 1 oranında Carbopol 980 NF içeren jelin en uygun olduğu belirlendiğinden jel yapıcı ajan tüm formülasyonlara bu oranda ilave edilmiştir.

4.6. Emüljel Formülasyonlarının Hazırlanması ve Optimizasyonu

Emüljel formülasyonları Yöntem 3.2.7.3'te anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Ön formülasyon çalışmaları sonucuna göre seçilen optimum emüljel formülasyonları Tablo 4-23'te yer almaktadır.

4.7. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.7.1. pH ve İletkenlik Ölçümleri

Emüljel formülasyonlarında Yöntem 3.2.8.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen pH ve iletkenlik ölçümü sonuçları sırasıyla Tablo 4-24 ve Tablo 4-25’te yer almaktadır.

Tablo 4-24: Emüljel formülasyonlarının pH değerlerine ait bulgular

Formülasyon	pH	
	Ortalama	SD (±)
LPT	4,41	0,03
LPM	4,26	0,02
LPP	4,28	0,00
LPT-KHCO	4,31	0,01
LPM-KHCO	4,21	0,01
LPP-KHCO 0.1	4,20	0,01
LP-KCA	4,19	0,01
LPP-KCA	4,14	0,03
LPP-KHCO 0.3	4,28	0,02

Tablo 4-25: Emüljel formülasyonlarının iletkenlik değerlerine ait bulgular

Formülasyon	İletkenlik (mS)	
	Ortalama	SD (±)
LPT	260,50	20,88
LPM	172,20	0,46
LPP	169,53	6,36
LPT-KHCO	205,77	1,91
LPM-KHCO	154,17	0,12
LPP-KHCO 0.1	154,94	3,75
LP-KCA	164,60	0,79
LPP-KCA	144,73	2,35
LPP-KHCO 0.3	155,90	5,46

4.7.2. Reoloji ve Viskozite Özelliklerinin Değerlendirilmesi

4.7.2.1. Kayma Gerilimi ve Kayma Hızı Testleri

Formülasyonların kayma gerilimi ve kayma hızı testleri Yöntem 3.2.8.3.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Akma gerilimi (τ_0), kıvam indeksi (k), akış davranış indeksi (n) ve determinasyon katsayısı (r^2) değerlerinin farklı akış modellerine uygun olarak hesaplanması sonucu, hazırlanan emüljel formülasyonlarının akış özelliğinin Herschel-Bulkley modeline uygun olduğu gözlenmiştir.

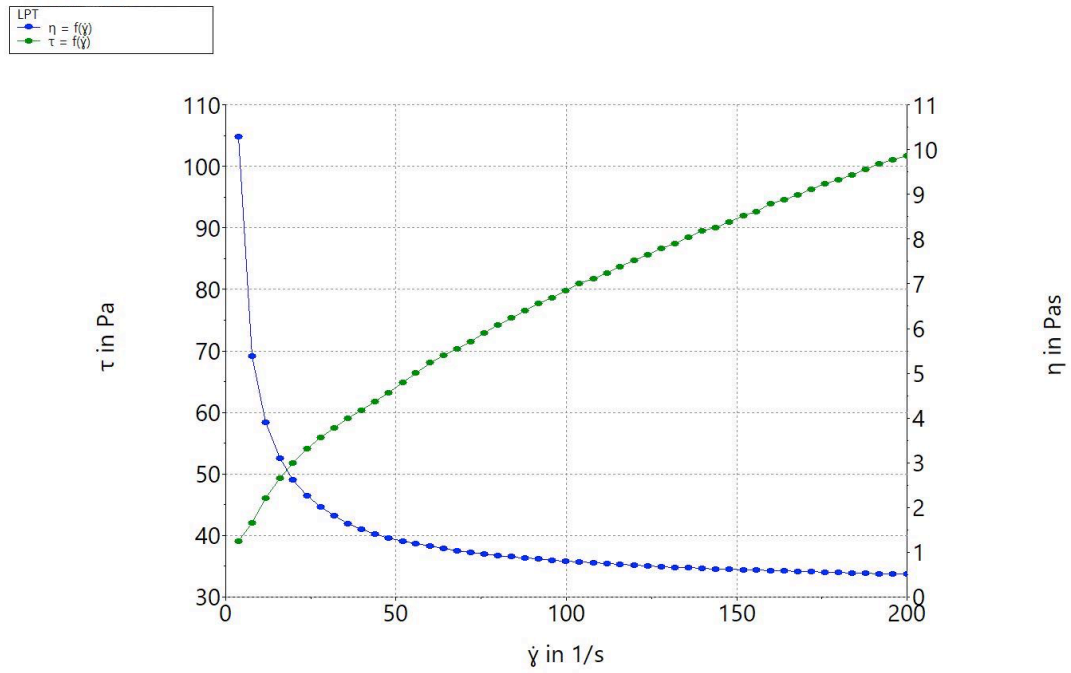
Akış davranış indeksi (n), sıvının Newton olmayan akış özelliklerini ifade etmektedir. Newton tipi akışta $n=1$ ’dir ve viskozite yalnızca reolojik parametrelere bağlıdır. Newton tipi olmayan akışta ise n değeri 1’den farklıdır. $n > 1$ olan dilatan sistemler ise kayma ile kalınlaşan (*shear thickening*) akış davranışı göstermektedir. $n < 1$ olan psödoplastik akışta sistem kayma ile incelen (*shear-thinning*) akış özelliğine sahiptir ve kayma hızı arttıkça viskozite azalır. Bu sistemlerde sıvının viskozitesi arttıkça kıvam indeksi (k) artmaktadır. Akış davranış indeksi (n) ve kıvam indeksi (k) sıcaklığı bağlı değerlerdir (Pang ve ark. 2020).

Hazırlanan emüljel formülasyonları ve ticari preparata ait kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafikleri 4-5 ile 4-14 arasında yer almaktadır. Hazırlanan emüljel formülasyonlarına ait farklı akış modellerine uygun değerlerin yer aldığı Tablo 4-26 ile Tablo 4-35 arasında görüldüğü gibi, $n < 1$ olduğundan formülasyonların psödoplastik akışa uygun olduğu görülmektedir. Şekil 4-5 ile 4-15 arasında ise formülasyonların kayma hızı-kayma gerilimi ve viskozite grafikleri gösterilmiştir.

Tablo 4-26: LPT kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPT	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$33,37 \pm 3,57$	$4,90 \pm 0,84$	$0,53 \pm 0,02$	$0,999 \pm 0,001$
Ostwald de Waale	-	$23,27 \pm 2,21$	$0,29 \pm 0,01$	$0,987 \pm 0,003$
Casson	$37,58 \pm 3,42$	-	-	$0,996 \pm 0,001$

Şekil 4-5: LPT kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi

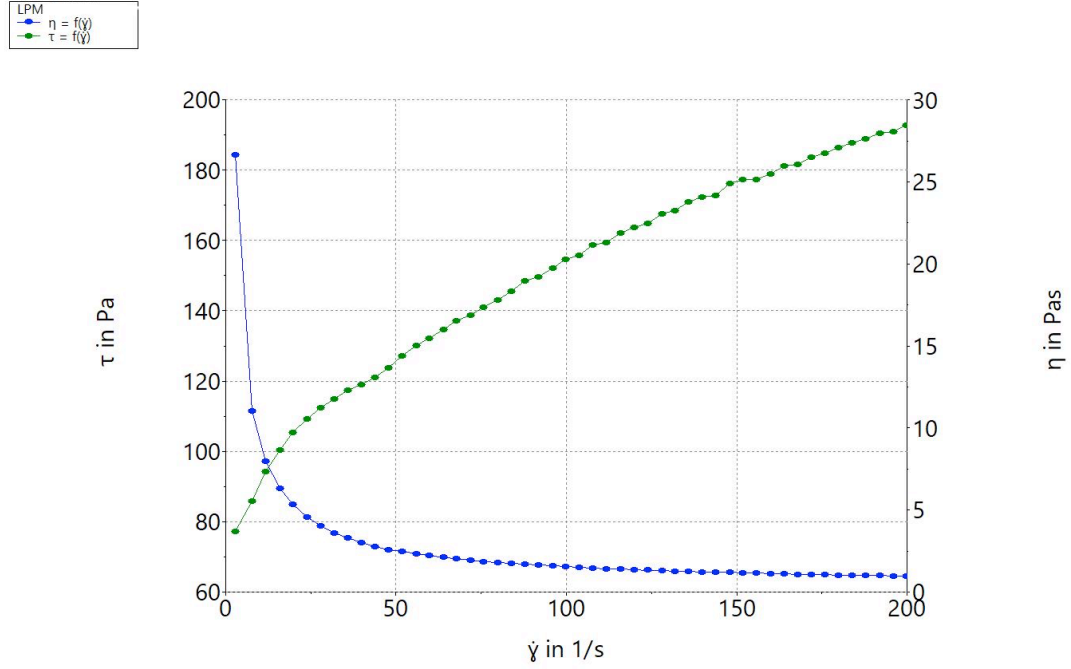


HAAKE RheoWin 4.86.0002

Tablo 4-27: LPM kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPM	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$58,33 \pm 16,13$	$10,39 \pm 7,54$	$0,51 \pm 0,12$	$0,993 \pm 0,009$
Ostwald de Waale	-	$44,50 \pm 1,73$	$0,27 \pm 0,00$	$0,976 \pm 0,007$
Casson	$67,98 \pm 2,45$	-	-	$0,980 \pm 0,030$

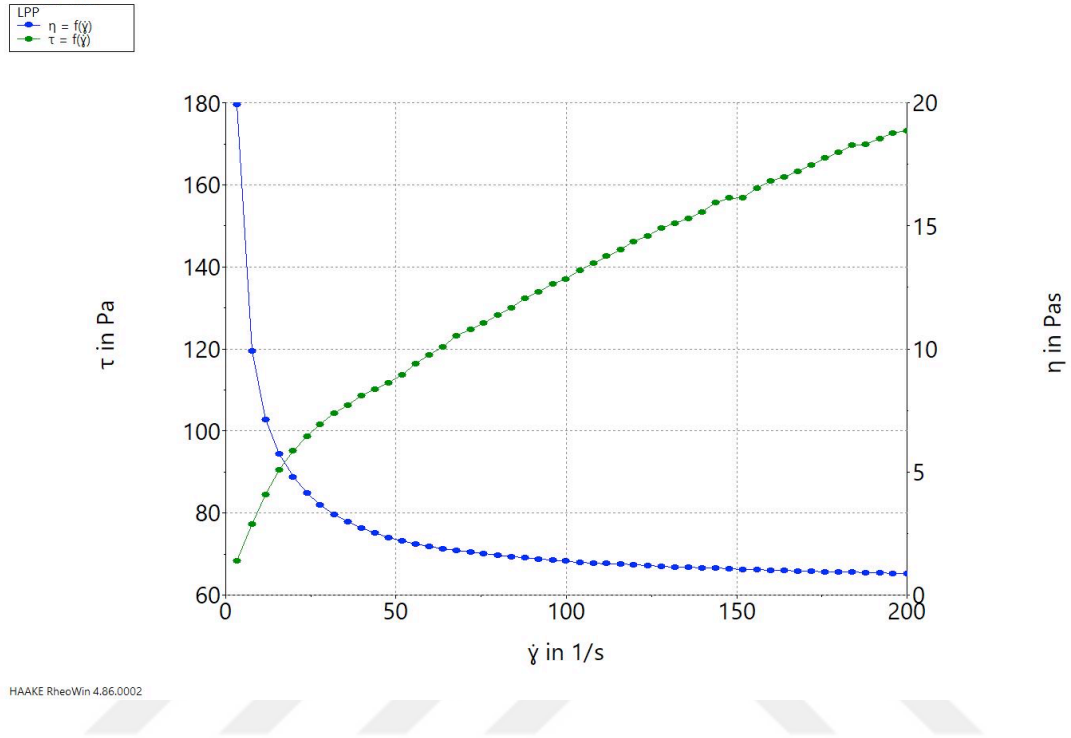
Şekil 4-6: LPM kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Tablo 4-28: LPP kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPP	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$64,74 \pm 8,37$	$5,02 \pm 1,88$	$0,59 \pm 0,06$	$0,998 \pm 0,000$
Ostwald de Waale	-	$43,96 \pm 2,48$	$0,26 \pm 0,01$	$0,974 \pm 0,009$
Casson	$67,25 \pm 3,07$	-	-	$0,997 \pm 0,001$

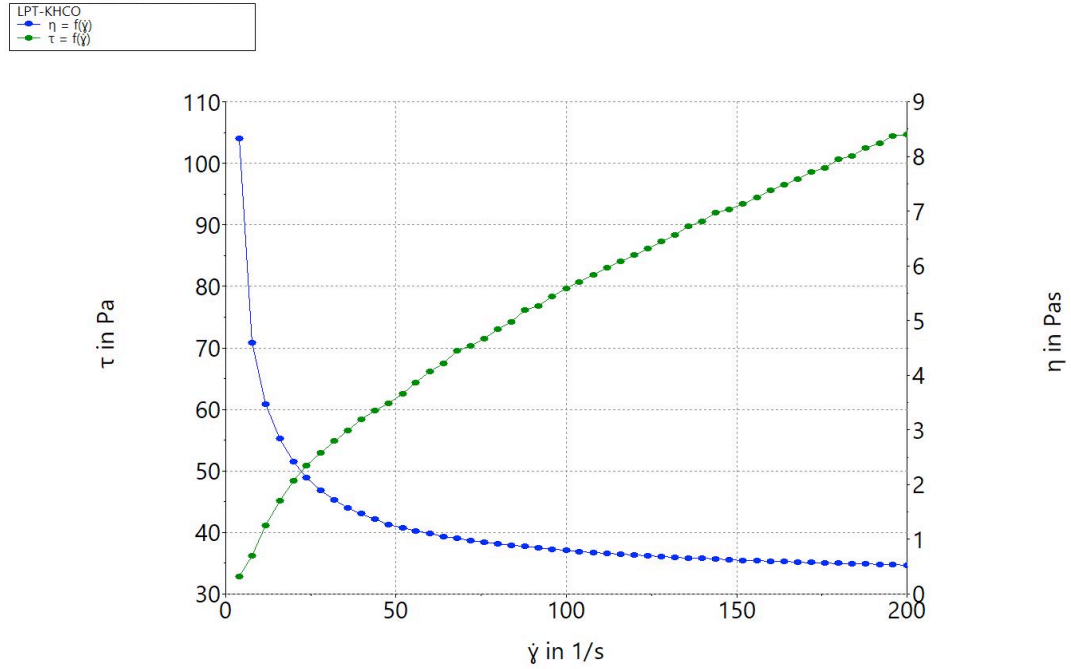
Şekil 4-7: LPP kodlu emülgel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Tablo 4-29: LPT-KHCO kodlu emülgel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPT-KHCO	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$26,86 \pm 3,81$	$4,40 \pm 0,56$	$0,55 \pm 0,02$	$0,999 \pm 0,000$
Ostwald de Waale	-	$17,82 \pm 1,35$	$0,33 \pm 0,01$	$0,990 \pm 0,003$
Casson	$30,38 \pm 2,08$	-	-	$0,997 \pm 0,002$

Şekil 4-8: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi

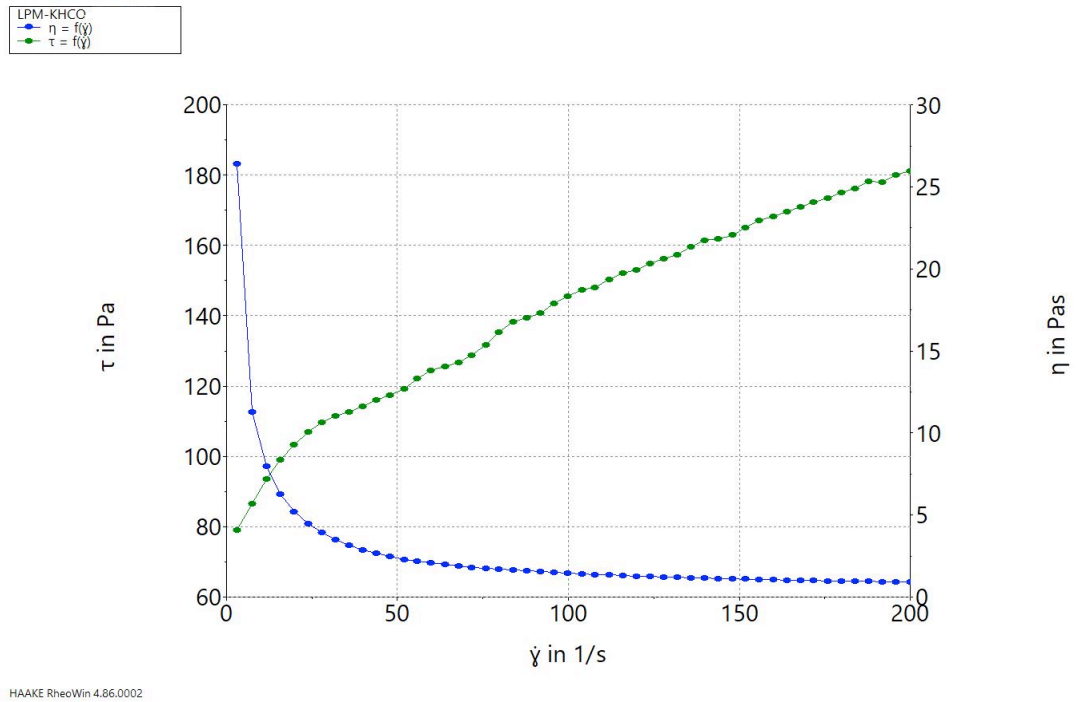


HAAKE RheoWin 4.86.0002

Tablo 4-30: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPM-KHCO	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$68,92 \pm 4,05$	$4,40 \pm 0,62$	$0,59 \pm 0,02$	$0,996 \pm 0,001$
Ostwald de Waale	-	$44,81 \pm 2,03$	$0,25 \pm 0,01$	$0,969 \pm 0,006$
Casson	$67,43 \pm 3,20$	-	-	$0,995 \pm 0,002$

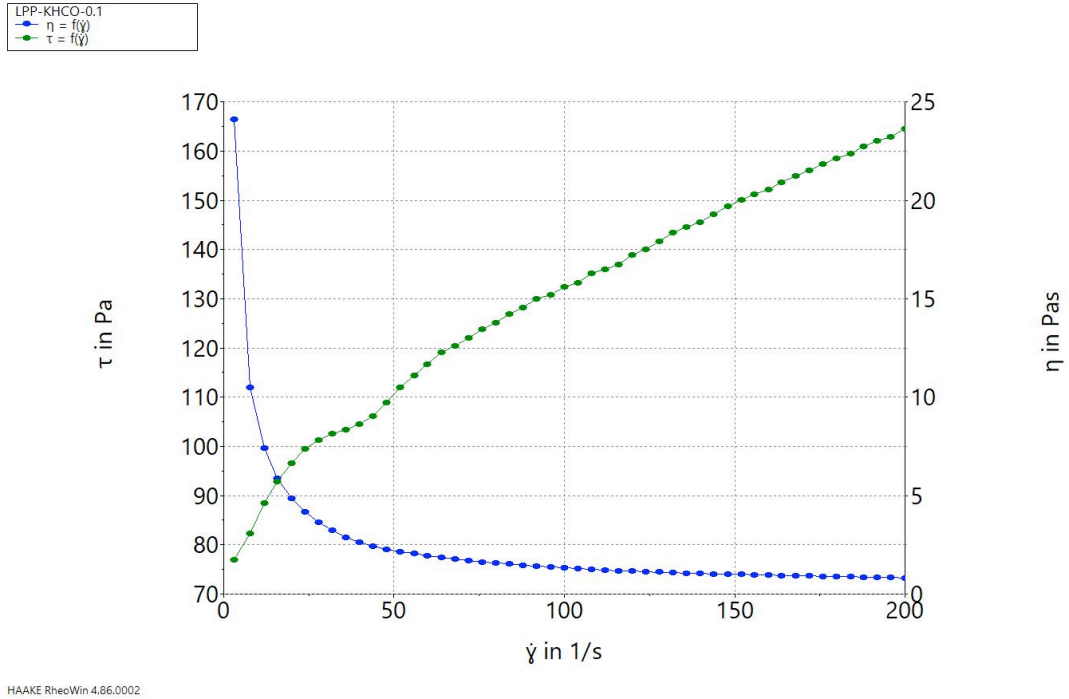
Şekil 4-9: LPM-KHCO kodlu emülgel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Tablo 4-31: LPP-KHCO-0.1 kodlu emülgel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPP-KHCO-0.1	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$68,99 \pm 7,99$	$3,78 \pm 1,06$	$0,61 \pm 0,05$	$0,996 \pm 0,003$
Ostwald de Waale	-	$44,78 \pm 4,09$	$0,24 \pm 0,01$	$0,966 \pm 0,010$
Casson	$66,42 \pm 4,90$	-	-	$0,994 \pm 0,003$

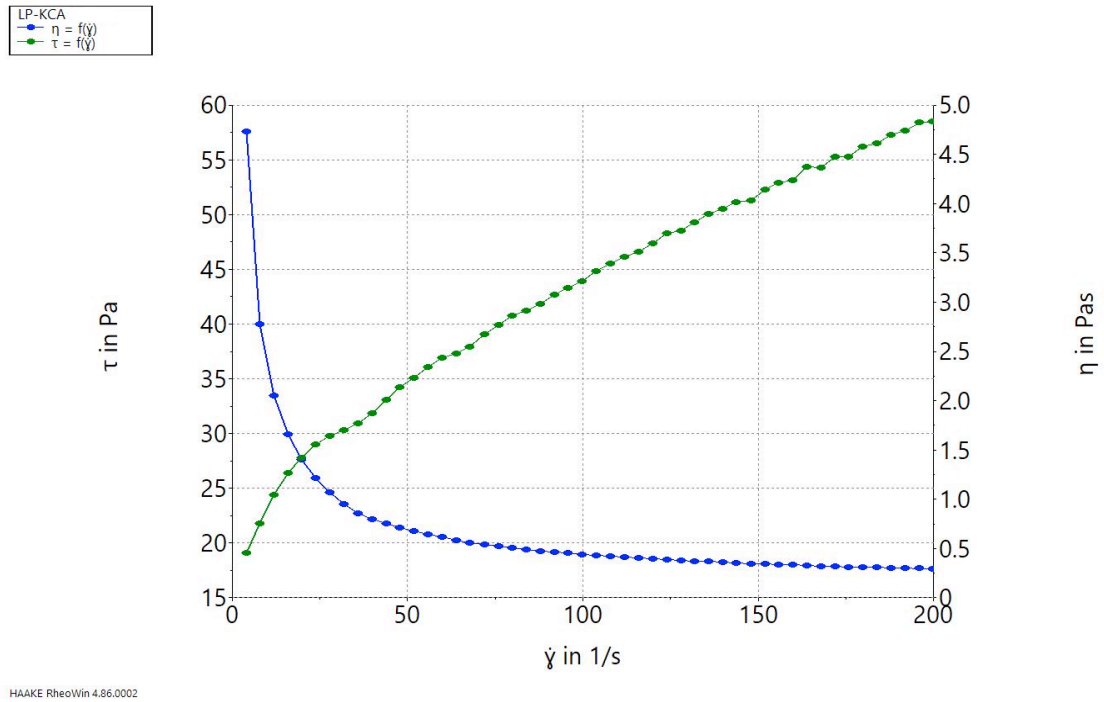
Şekil 4-10: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Tablo 4-32: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LP-KCA	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$14,67 \pm 2,31$	$1,67 \pm 0,24$	$0,60 \pm 0,03$	$0,999 \pm 0,000$
Ostwald de Waale	-	$8,46 \pm 1,04$	$0,35 \pm 0,01$	$0,986 \pm 0,003$
Casson	$14,83 \pm 1,66$	-	-	$0,998 \pm 0,001$

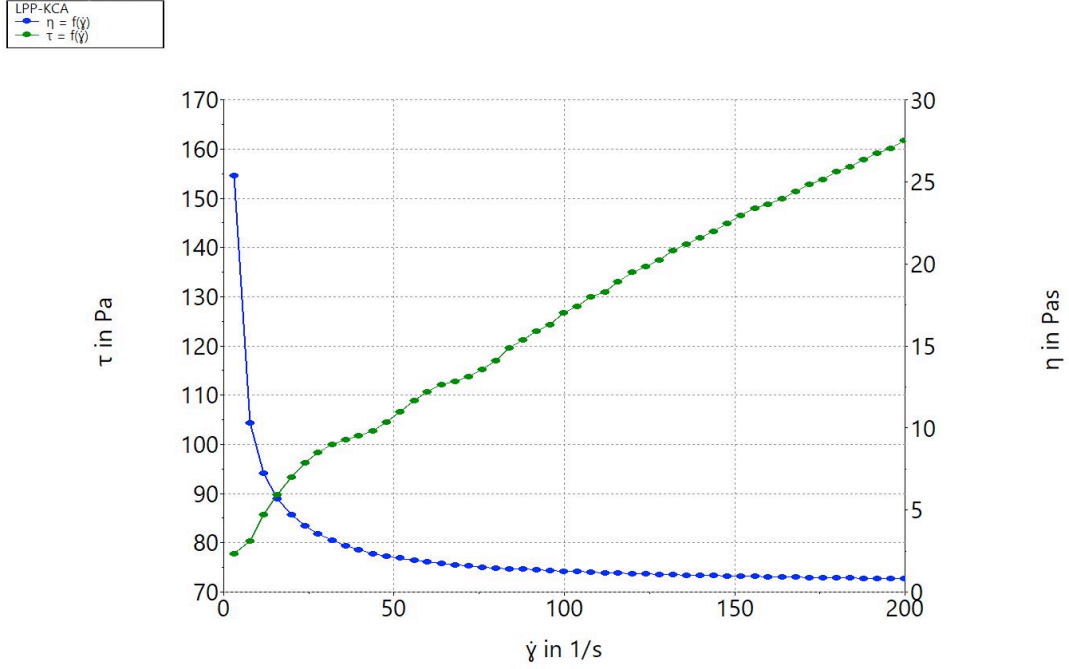
Şekil 4-11: LP-KCA kodlu emülgel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Tablo 4-33: LPP-KCA kodlu emülgel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPP-KCA	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$71,81 \pm 3,80$	$1,78 \pm 0,33$	$0,74 \pm 0,03$	$0,997 \pm 0,000$
Ostwald de Waale	-	$40,42 \pm 3,65$	$0,25 \pm 0,02$	$0,949 \pm 0,004$
Casson	$61,95 \pm 3,85$	-	-	$0,994 \pm 0,001$

Şekil 4-12: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi

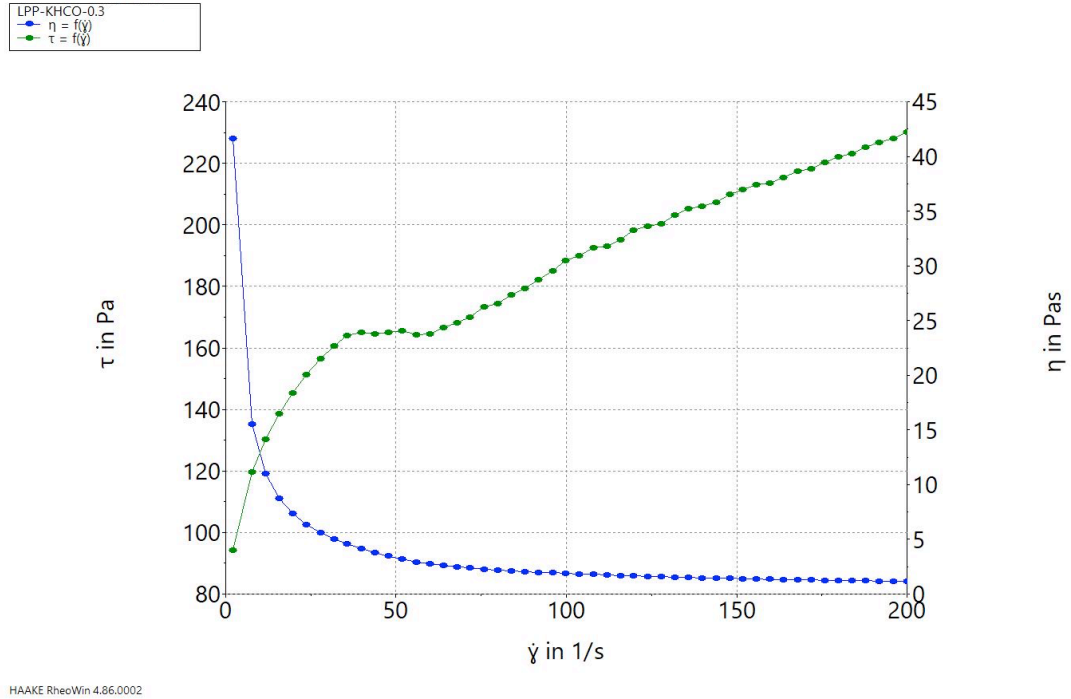


HAAKE RheoWin 4.86.0002

Tablo 4-34: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun farklı akış modellerine uygun değerleri

LPP-KHCO-0.3	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$77,61 \pm 9,02$	$20,25 \pm 6,97$	$0,38 \pm 0,05$	$0,994 \pm 0,002$
Ostwald de Waale	-	$76,61 \pm 3,44$	$0,20 \pm 0,01$	$0,966 \pm 0,004$
Casson	$105,67 \pm 3,45$	-	-	$0,958 \pm 0,005$

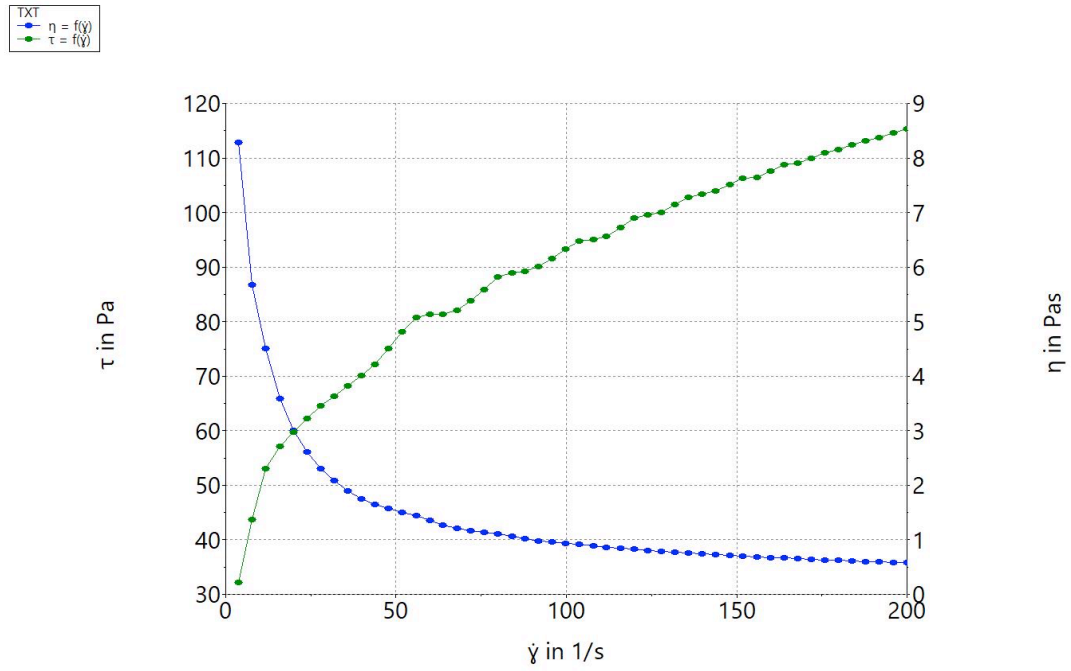
Şekil 4-13: LPP-KHCO-0.3 kodlu emülgel formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



Tablo 4-35: TXT kodlu ticari formülasyonun farklı akış modellerine uygun değerleri

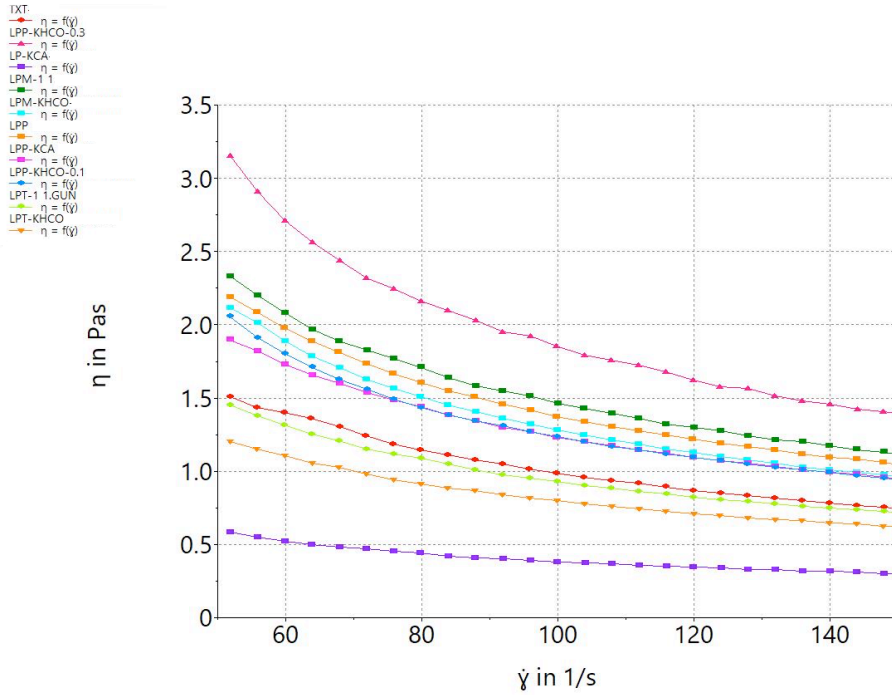
LPP-KHCO-0.3	τ_0	k	n	r^2
Herschel-Bulkley	$-0,53 \pm 0,12$	$24,4 \pm 5,73$	$0,30 \pm 0,04$	$0,997 \pm 0,001$
Ostwald de Waale	-	$24,04 \pm 3,51$	$0,29 \pm 0,02$	$0,964 \pm 0,004$
Casson	$37,66 \pm 1,17$	-	-	$0,997 \pm 0,001$

Şekil 4-14: TXT kodlu ticari formülasyonunun değişen kayma hızına karşı kayma gerilimi ve viskozitesi



HAAKE RheoWin 4.86.0002

Şekil 4-15: Emüljel formülasyonları ve TXT kodlu ticari preparatın değişen kayma hızı değerlerine karşı viskozitesi

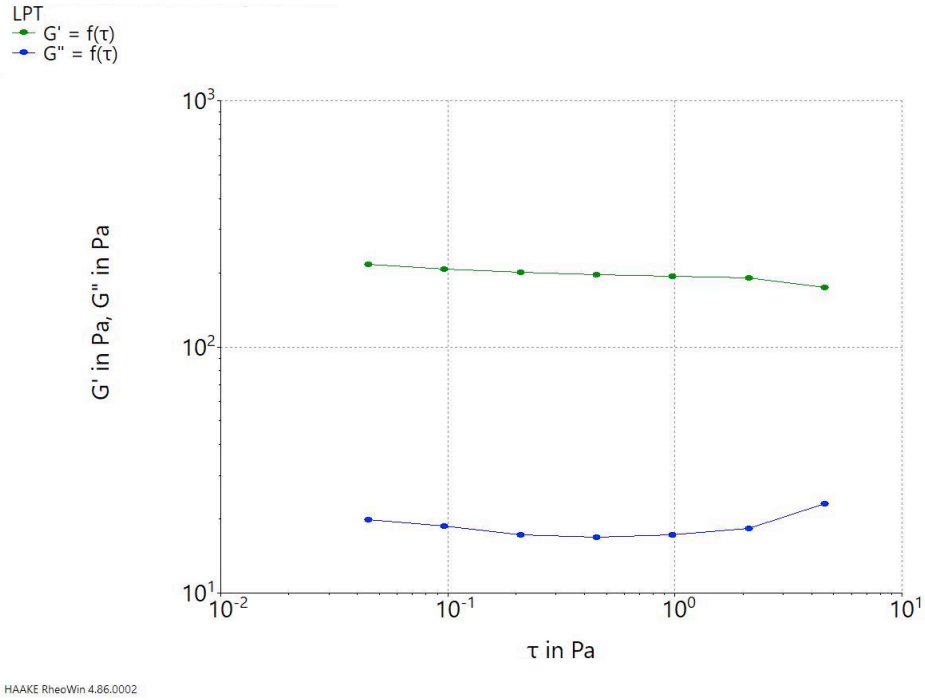


HAAKE RheoWin 4.86.0002

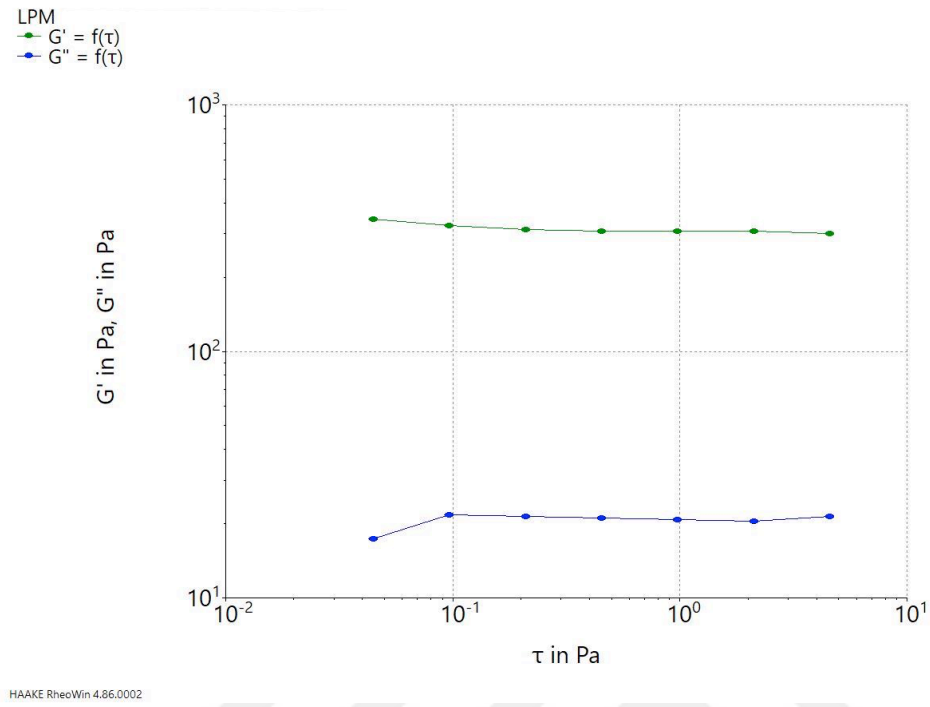
4.7.2.2. Osilasyon Testleri

Yötem 3.2.8.3'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen osilasyon testleri sonucuna göre formülasyonların G' , G'' ve $\tan\delta$ değerleri hesaplanmıştır. G' elastik modülü, G'' ise viskoz modülü temsil etmektedir. $G' > G''$ olduğunda $\tan\delta < 1$ 'dir ve formülasyonlar viskoelastik katı veya yarı katı özellik ve daha stabil bir yapı gösterirler. $G'' > G'$ olduğunda ise $\tan\delta > 1$ 'dir ve yapı sıvıya benzer özellik gösterir (Dong ve ark. 2015). Yapılan hesaplamalar sonucunda elde edilen değerler Tablo 4-36'da yer almaktadır. Burada emüljel formülasyonlarının G' değerlerinin G'' 'den büyük ve $\tan\delta$ değerinin 1'den küçük olduğu gözlenmiştir. Şekil 4-16 ile 4-25 arasında formülasyonların osilasyon çalışmasına ait grafikler gösterilmiştir.

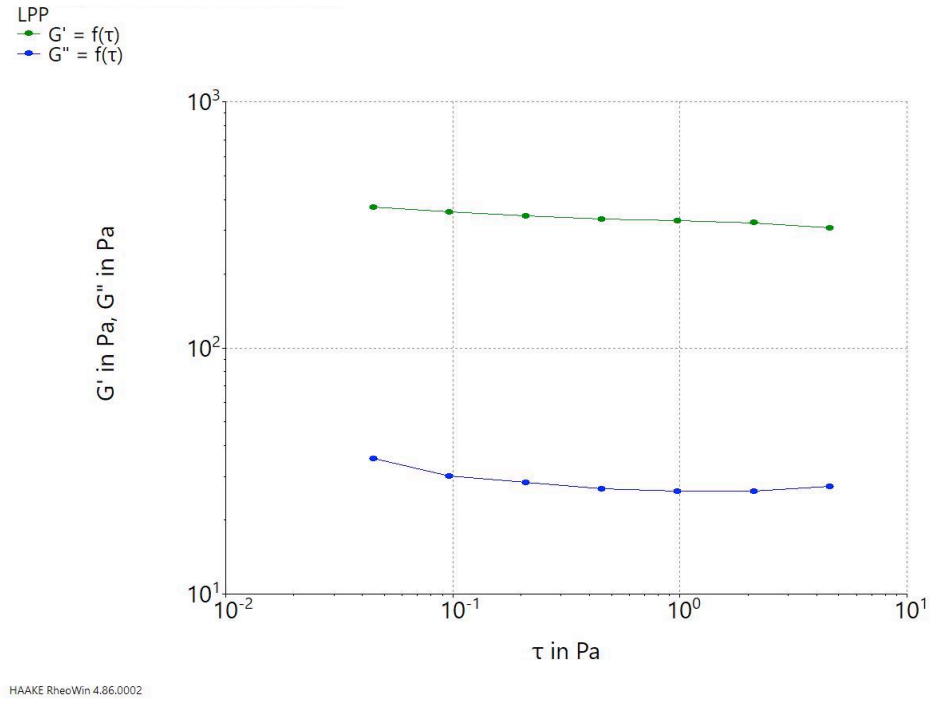
Şekil 4-16: LPT kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü



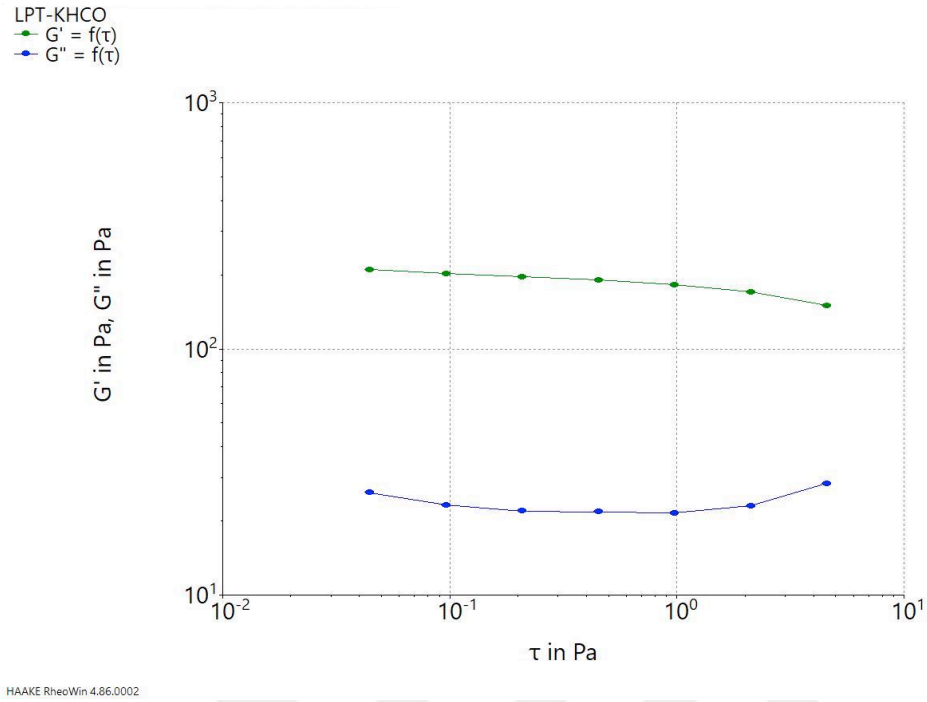
Şekil 4-17: LPM kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü



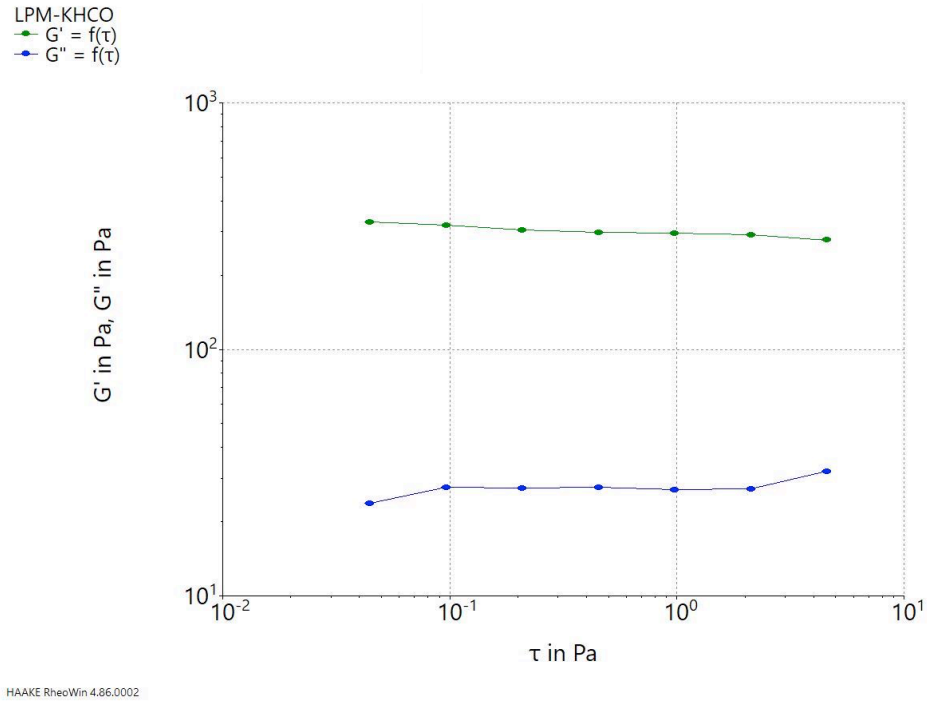
Şekil 4-18: LPP kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü



Şekil 4-19: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü

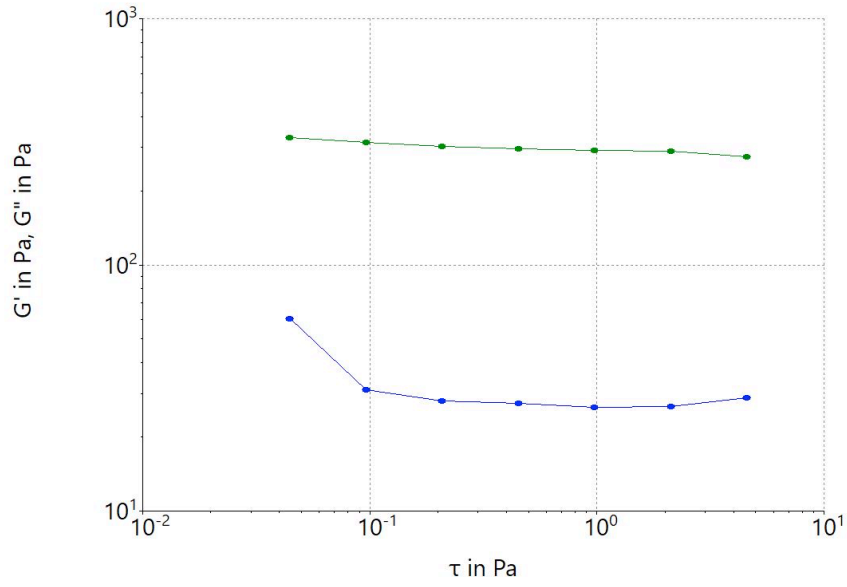


Şekil 4-20: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü



Şekil 4-21: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü

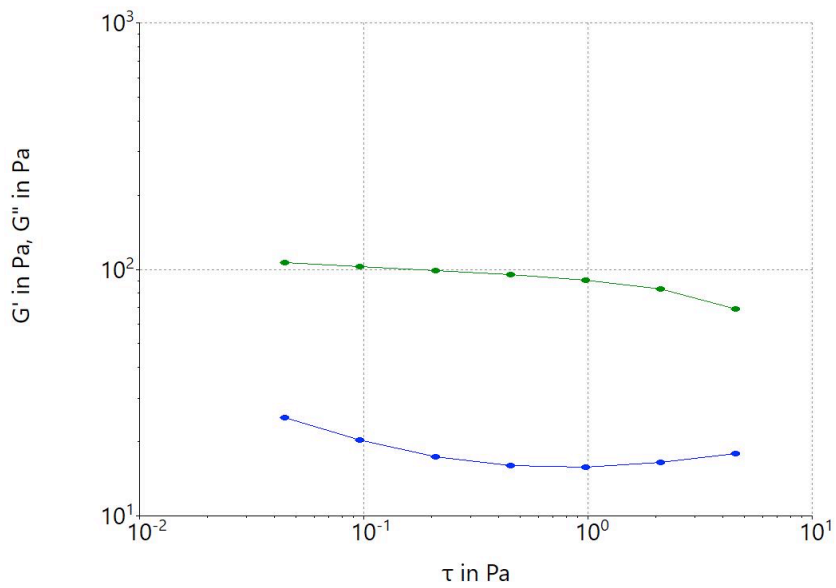
LPP-KHCO-0.1
 $G' = f(\tau)$
 $G'' = f(\tau)$



HAAKE RheoWin 4.86.0002

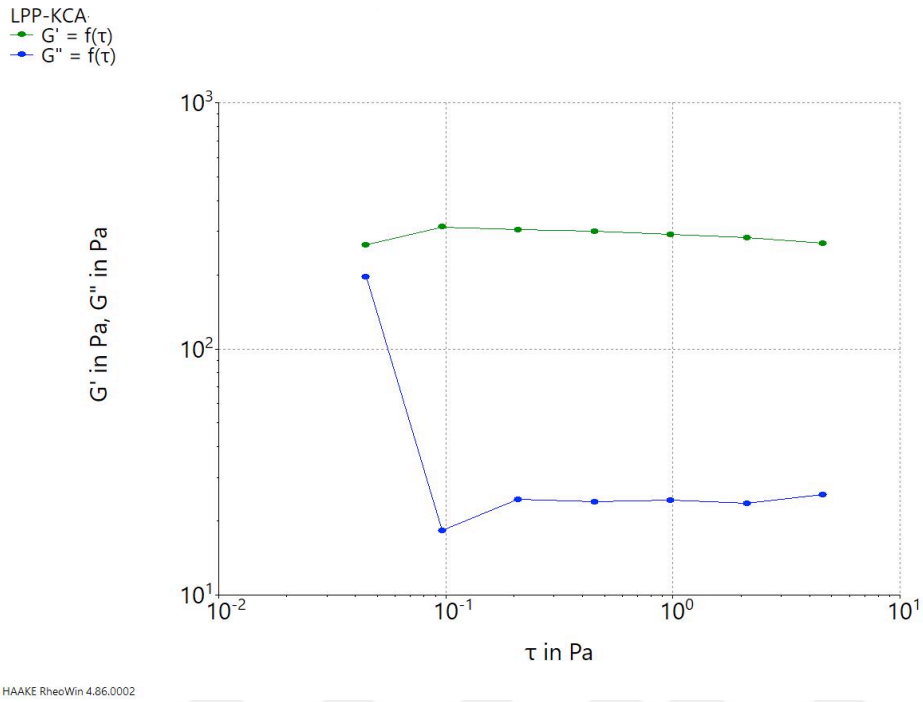
Şekil 4-22: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü

LP-KCA
 $G' = f(\tau)$
 $G'' = f(\tau)$

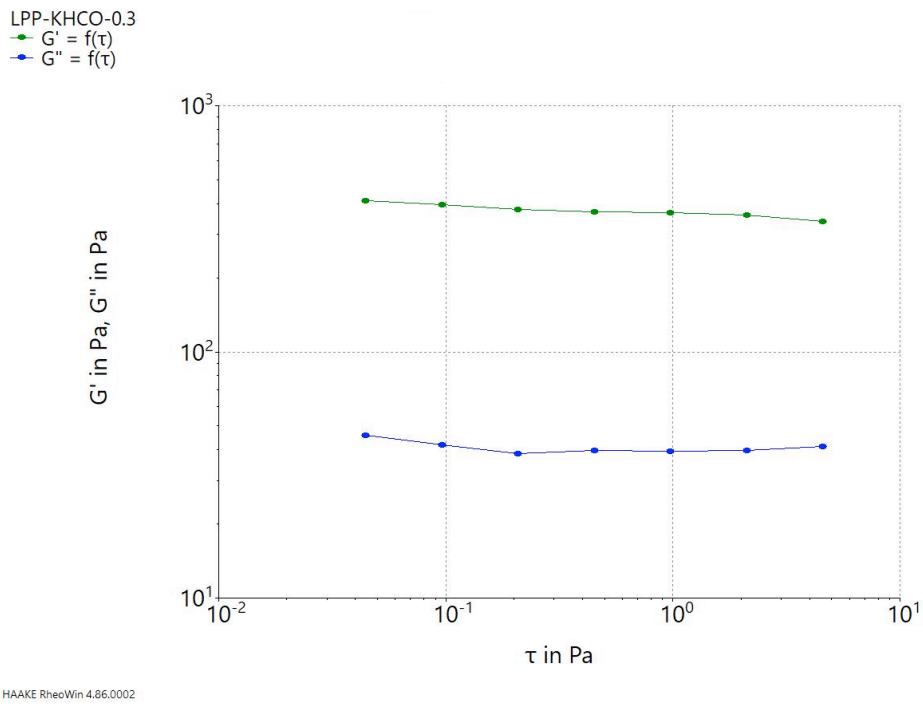


HAAKE RheoWin 4.86.0002

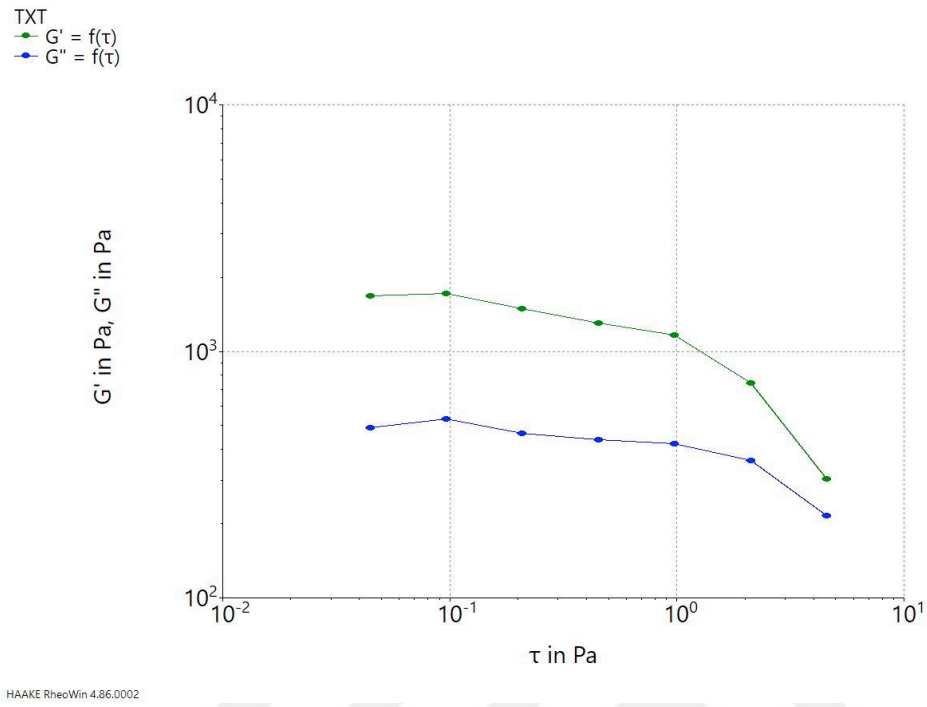
Şekil 4-23: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü



Şekil 4-24: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun viskoz ve elastik modülü



Şekil 4-25: TXT kodlu ticari formülasyonun viskoz ve elastik modülü



Tablo 4-36: Emüljel Formülasyonları ve Ticari Preparata Ait Osilasyon Test Bulguları

Formülasyon	G'	G''	$\tan\delta$
LPT	$197,2 \pm 2,12$	$20,6 \pm 1,49$	$0,10 \pm 0,01$
LPM	$308,7 \pm 2,32$	$22,5 \pm 1,54$	$0,07 \pm 0,01$
LPP	$317,2 \pm 0,73$	$29,2 \pm 0,69$	$0,09 \pm 0,01$
LPT-KHCO	$180,1 \pm 3,71$	$23,6 \pm 2,55$	$0,13 \pm 0,02$
LPM-KHCO	$305,6 \pm 1,38$	$28,9 \pm 2,24$	$0,09 \pm 0,01$
LPP-KHCO 0.1	$292,0 \pm 1,08$	$26,8 \pm 0,06$	$0,09 \pm ,01$
LP-KCA	$62,8 \pm 2,59$	$14,4 \pm 1,84$	$0,23 \pm 0,04$
LPP-KCA	$288,6 \pm 1,27$	$25,2 \pm 1,74$	$0,09 \pm 0,01$
LPP-KHCO 0.3	$355,9 \pm 0,95$	$35,6 \pm 0,10$	$0,10 \pm 0,01$
TXT	$1350,2 \pm 3,92$	$441,5 \pm 0,14$	$0,33 \pm 0,01$

* G' : elastik modül, * G'' : viskoz modül, * $\tan\delta$: G''/G'

4.7.3. Emüljellerde Etkin Madde Miktar Tayini

Emüljel formülasyonlarında Yöntem 3.2.8.4'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen etkin madde miktar tayini çalışmaları sonucu Tablo 4-37'de gösterilmektedir.

Tablo 4-37: Emüljel formülasyonlarının etkin madde miktar tayini sonuçları

	Ortalama	SD ($\pm$)
LPT	% 100,3	$\pm$ 0,13
LPM	% 100,4	$\pm$ 0,35
LPP	% 99,7	$\pm$ 0,22
LPT-KHCO	% 100,7	$\pm$ 0,58
LPM-KHCO	% 100,4	$\pm$ 0,41
LPP-KHCO 0.1	% 99,8	$\pm$ 0,24
LP-KCA	% 99,5	$\pm$ 0,53
LPP-KCA	% 100,6	$\pm$ 0,45
LPP-KHCO 0.3	% 99,6	$\pm$ 0,17

4.8. Stabilité Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Emüljel formülasyonlarının stabilite çalışmaları Yöntem 3.2.9'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Fiziksel görünüm, pH, viskozite ve etkin madde miktarı bakımından değerlendirilen formülasyonların stabilite verileri aşağıda yer almaktadır.

Fiziksel görünüm Formülasyonların fiziksel görünümünde herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır.

pH Emüljel formülasyonlarına ait Tablo 4-38'de yer alan 0. gün ve 30. gün pH bulgularına göre değerlerde anlamlı bir fark görülmemiştir.

Tablo 4-38: Emüljel formülasyonlarının pH bulguları

Formülasyon	pH	
	0.gün	30.gün
LPT	4,41 ± 0,03	4,39 ± 0,02
LPM	4,26 ± 0,02	4,27 ± 0,04
LPP	4,28 ± 0,00	4,25 ± 0,01
LPT-KHCO	4,31 ± 0,01	4,30 ± 0,01
LPM-KHCO	4,21 ± 0,01	4,19 ± 0,01
LPP-KHCO 0.1	4,20 ± 0,01	4,20 ± 0,01
LP-KCA	4,19 ± 0,01	4,22 ± 0,02
LPP-KCA	4,14 ± 0,03	4,15 ± 0,06
LPP-KHCO 0.3	4,28 ± 0,02	4,39 ± 0,01

Etkin madde miktar tayini Emüljel formülasyonlarına ait Tablo 4-39’da yer alan 0. gün ve 30. gün etkin madde miktar tayini bulgularına göre ilaç içeriğinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Tablo 4-39: Emüljel formülasyonlarının etkin madde miktar tayini değerleri

Formülasyon	0.gün	30.gün
LPT	100,28 ± 0,13	99,63 ± 0,11
LPM	100,41 ± 0,35	99,86 ± 0,38
LPP	99,73 ± 0,22	99,45 ± 0,18
LPT-KHCO	100,67 ± 0,58	99,88 ± 0,64
LPM-KHCO	100,39 ± 0,41	99,95 ± 0,32
LPP-KHCO 0.1	99,83 ± 0,24	99,71 ± 0,18
LP-KCA	99,47 ± 0,53	98,89 ± 0,45
LPP-KCA	100,61 ± 0,45	99,91 ± 0,51
LPP-KHCO 0.3	99,62 ± 0,17	99,34 ± 0,12

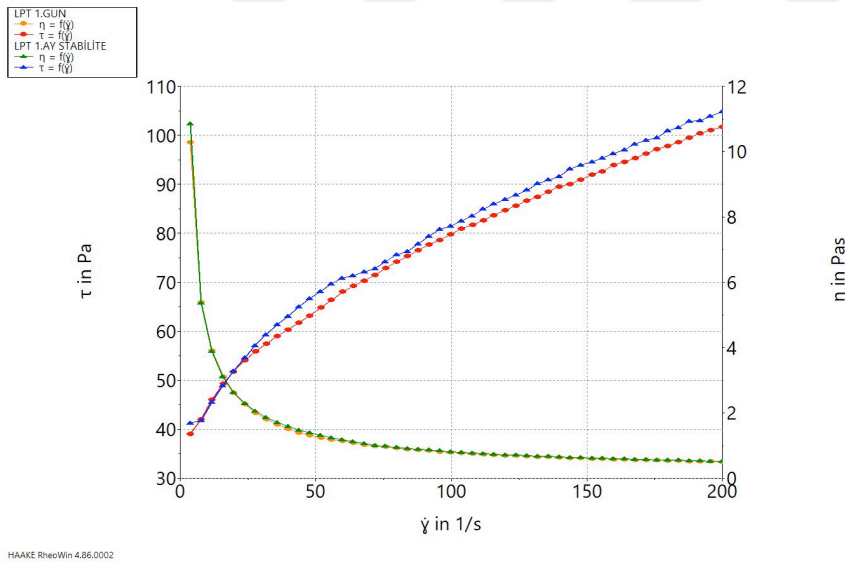
Kayma gerilimi ve kayma hızı testleri Yöntem 3.2.8.3.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen kayma hızı ve kayma gerilimi testi ile stabilite takibi yapılmıştır.

Formülasyonların akış özelliklerinin uyduğu matematiksel model belirlenerek 0. ve 30. günler için akma gerilimi (τ_0), kıvam indeksi (k), akış davranış indeksi (n) ve determinasyon katsayısı (r^2) değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler Tablo 4-40 ile 4-48 arasında gösterilmiştir. Kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafikleri ise Şekil 4-26 ile 4-34 arasında yer almaktadır.

Tablo 4-40: LPT kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPT	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$33,37 \pm 3,57$	$4,90 \pm 0,84$	$0,53 \pm 0,02$	$0,999 \pm 0,001$
30.gün	$27,09 \pm 2,53$	$5,28 \pm 0,98$	$0,51 \pm 0,02$	$0,998 \pm 0,001$

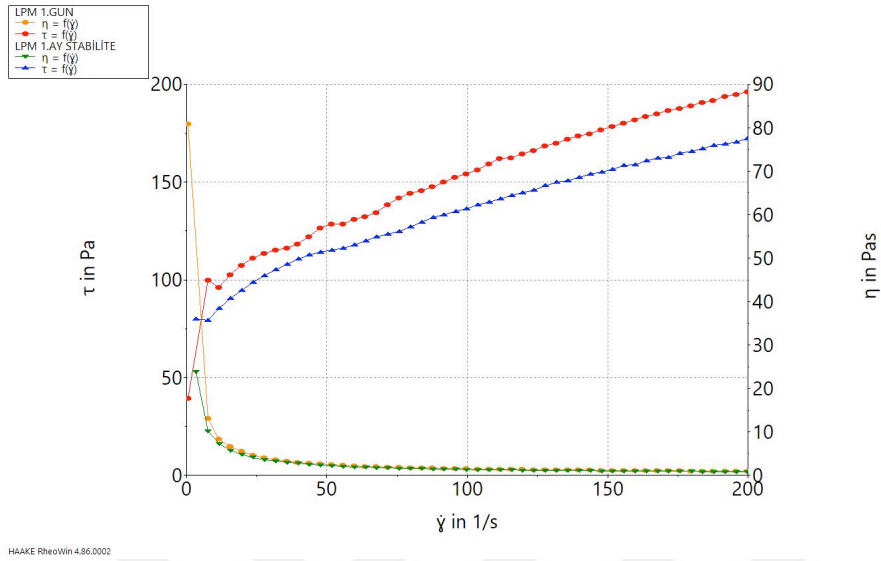
Şekil 4-26: LPT kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-41: LPM kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPM	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$58,33 \pm 16,13$	$10,39 \pm 7,54$	$0,51 \pm 0,12$	$0,993 \pm 0,009$
30.gün	$67,20 \pm 1,45$	$5,00 \pm 0,59$	$0,58 \pm 0,02$	$0,998 \pm 0,001$

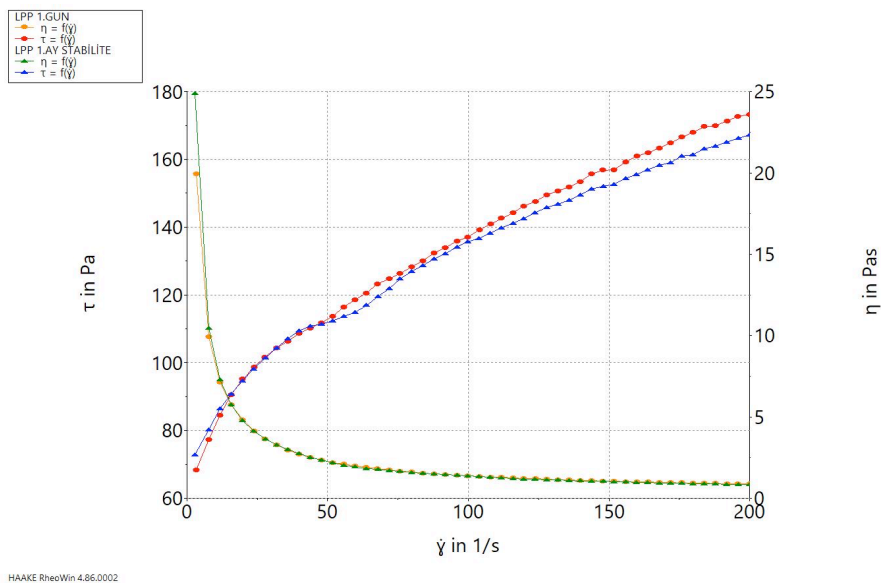
Şekil 4-27: LPM kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-42: LPP kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPP	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$67,74 \pm 8,37$	$5,02 \pm 1,88$	$0,59 \pm 0,06$	$0,998 \pm 0,000$
30.gün	$68,94 \pm 6,37$	$4,53 \pm 1,55$	$0,59 \pm 0,06$	$0,998 \pm 0,000$

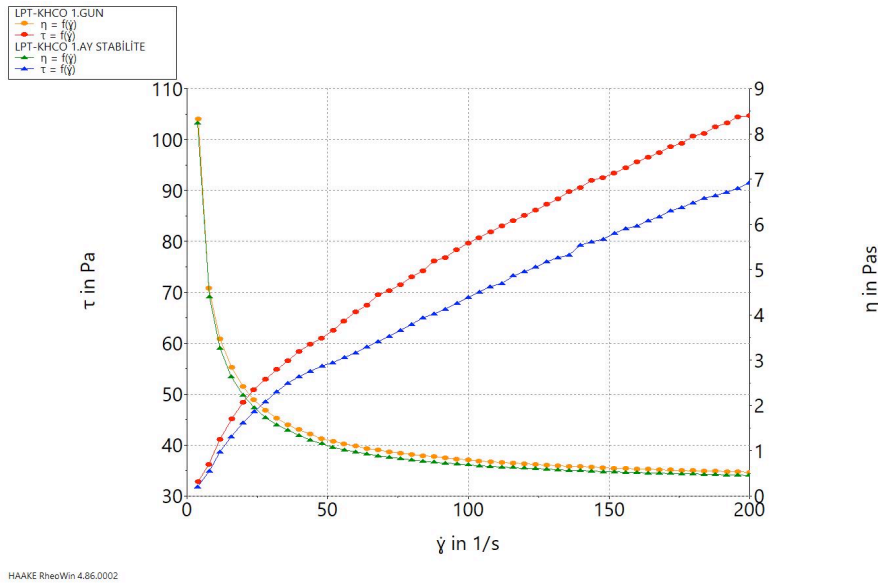
Şekil 4-28: LPP kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-43: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPT-KHCO	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$26,86 \pm 3,81$	$4,40 \pm 0,56$	$0,55 \pm 0,02$	$0,999 \pm 0,000$
30.gün	$26,06 \pm 0,95$	$3,04 \pm 0,13$	$0,58 \pm 0,01$	$0,998 \pm 0,000$

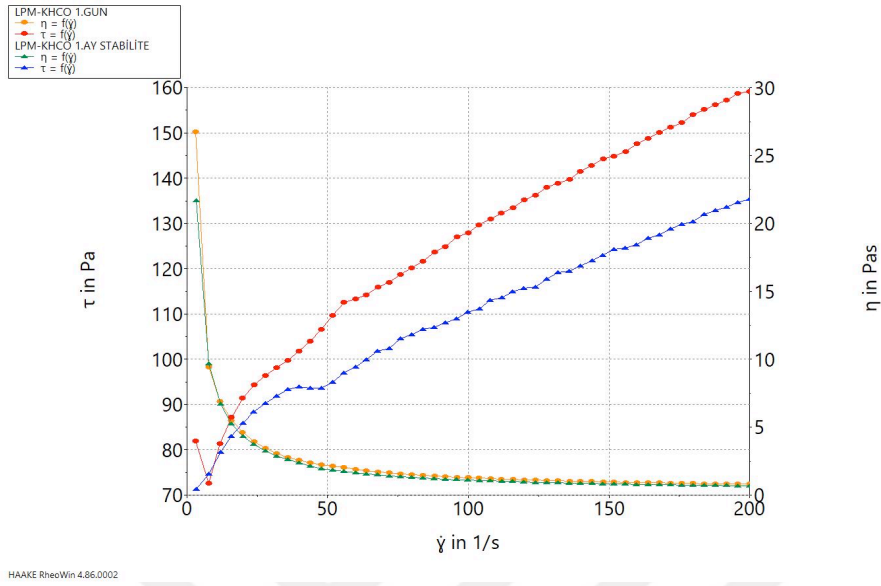
Şekil 4-29: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-44: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPM-KHCO	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$68,92 \pm 4,05$	$4,40 \pm 0,62$	$0,59 \pm 0,02$	$0,996 \pm 0,001$
30.gün	$63,60 \pm 5,29$	$2,28 \pm 0,76$	$0,64 \pm 0,05$	$0,994 \pm 0,002$

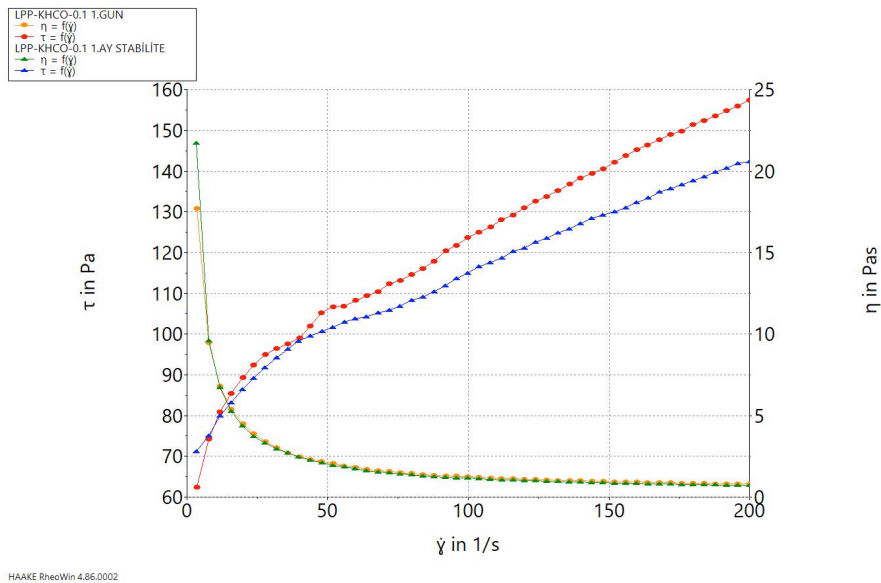
Şekil 4-30: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-45: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPP-KHCO 0.1	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$68,99 \pm 7,99$	$3,78 \pm 1,06$	$0,61 \pm 0,05$	$0,996 \pm 0,003$
30.gün	$65,05 \pm 5,25$	$2,79 \pm 0,31$	$0,62 \pm 0,02$	$0,995 \pm 0,001$

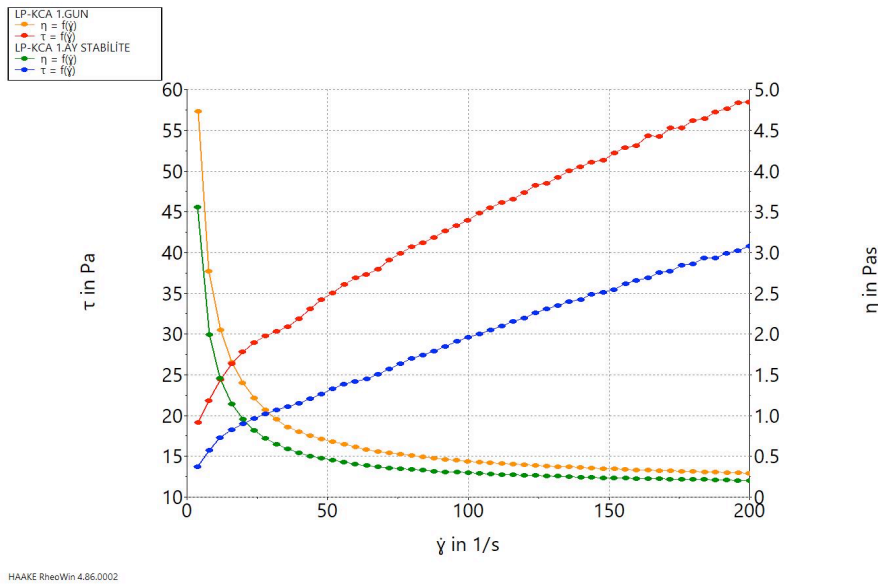
Şekil 4-31: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-46: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LP-KCA	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$14,67 \pm 2,31$	$1,67 \pm 0,24$	$0,60 \pm 0,03$	$0,999 \pm 0,000$
30.gün	$12,60 \pm 1,15$	$0,45 \pm 0,08$	$0,76 \pm 0,03$	$0,998 \pm 0,000$

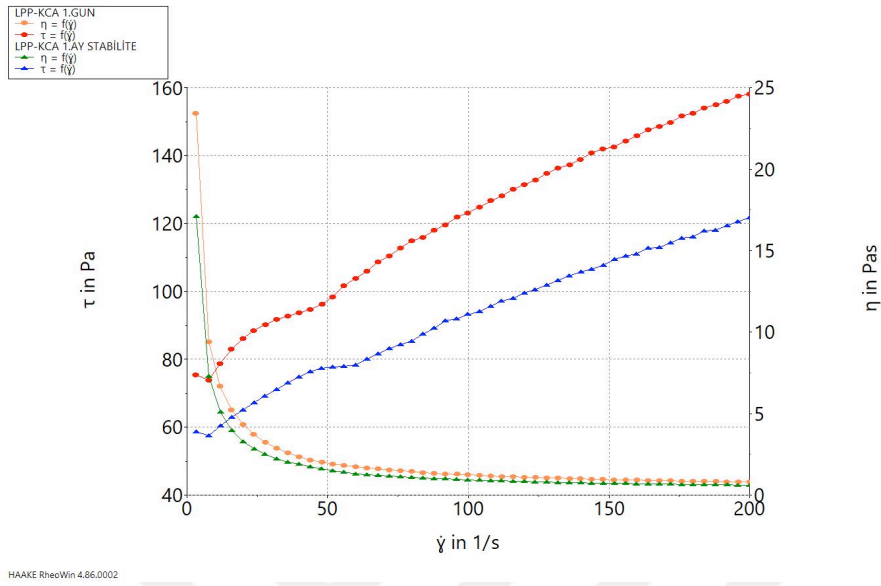
Şekil 4-32: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-47: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPP-KCA	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$71,81 \pm 3,80$	$1,78 \pm 0,33$	$0,74 \pm 0,03$	$0,997 \pm 0,000$
30.gün	$51,04 \pm 5,12$	$1,53 \pm 1,08$	$0,75 \pm 0,11$	$0,993 \pm 0,008$

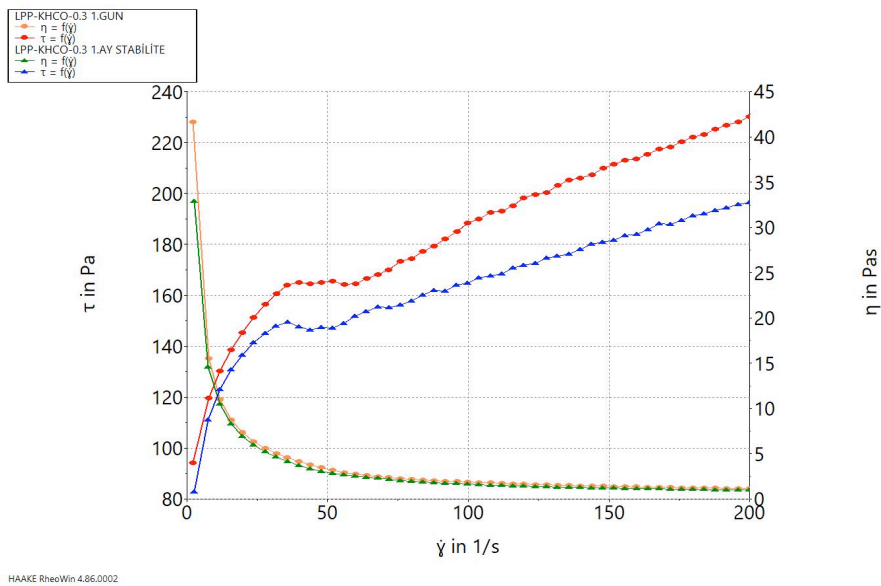
Şekil 4-33: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



Tablo 4-48: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun Herschel-Bulkley akış modeline uygun değerleri

LPP-KHCO 0.3	τ_0	k	n	r^2
0.gün	$77,61 \pm 9,02$	$20,25 \pm 6,97$	$0,38 \pm 0,05$	$0,994 \pm 0,002$
30.gün	$76.21 \pm 2,91$	$13,90 \pm 5,34$	$0,38 \pm 0,08$	$0,989 \pm 0,003$

Şekil 4-34: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun kayma gerilimi-kayma hızı ve viskozite grafiği



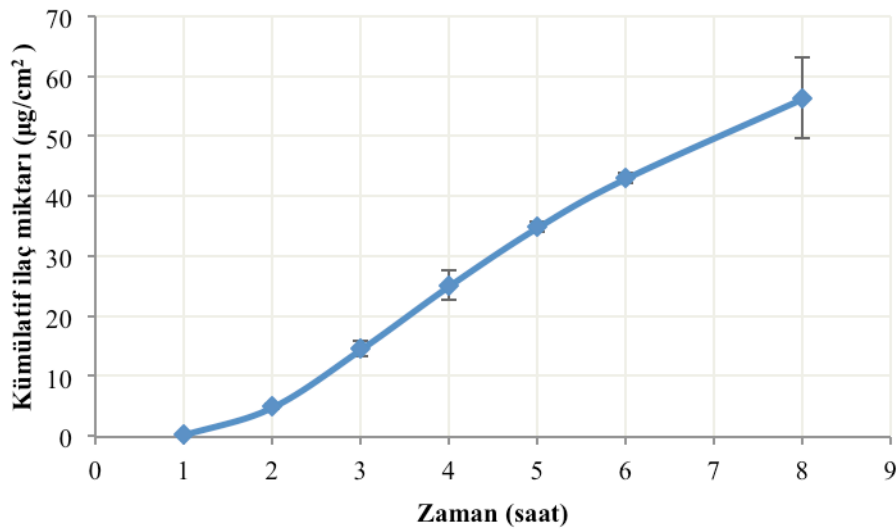
4.9. *İn Vitro* Salım Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İn vitro salım çalışmaları Yöntem 3.2.10'da anlatıldığı şekilde, seçilen emüljel formülasyonları ve diflukortolon valeratın piyasa preparatı ile 8 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen değerler Tablo 4-49 ile 4-58 aralığında, salım profiline ait grafikler ise Şekil 4-35 ile 4-45 aralığında gösterilmektedir.

Tablo 4-49: LPT kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	0,28	0,06
2	4,98	0,42
3	14,61	1,32
4	25,20	2,44
5	34,95	0,89
6	43,13	0,87
8	56,45	6,75

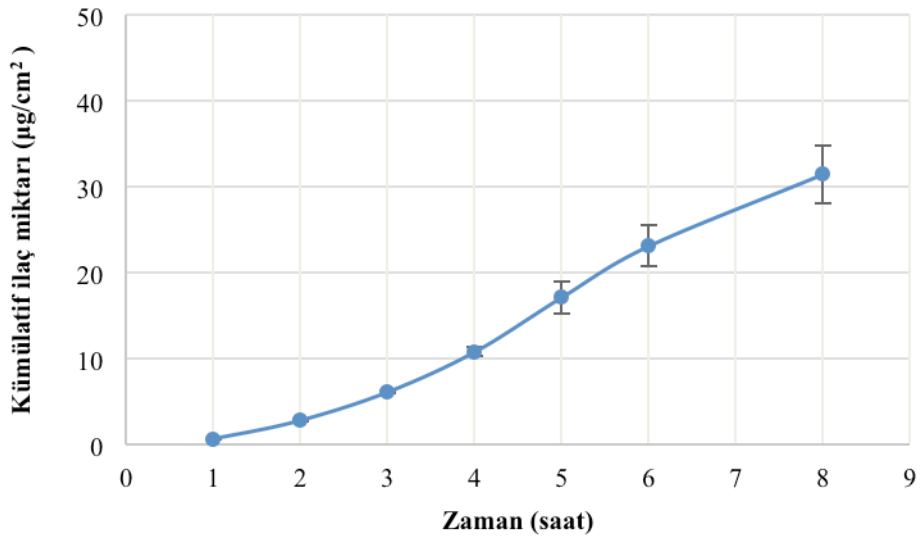
Şekil 4-35: LPT kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-50: LPM kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	0,56	0,02
2	2,79	0,13
3	6,09	0,19
4	10,76	0,54
5	17,12	1,84
6	23,10	2,42
8	31,46	3,34

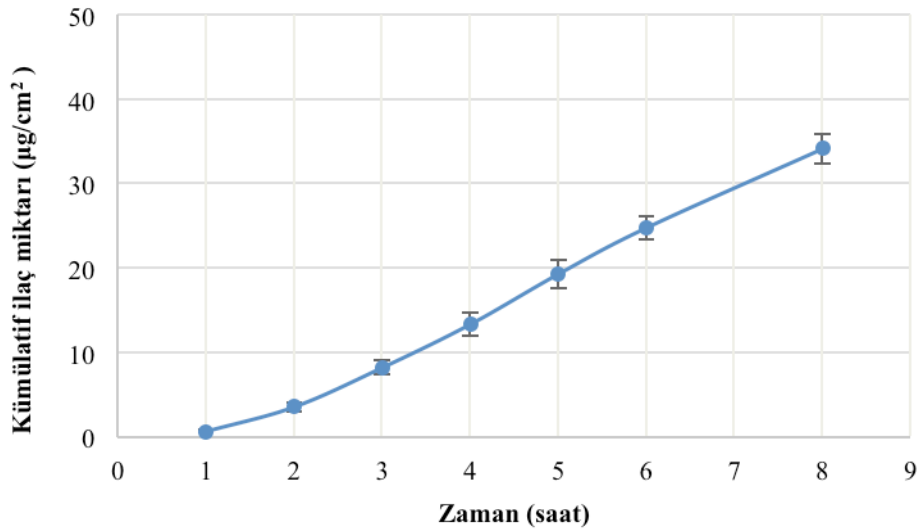
Şekil 4-36: LPM kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-51: LPP kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	0,62	0,19
2	3,53	0,55
3	8,19	0,86
4	13,33	1,41
5	19,29	1,72
6	24,76	1,43
8	34,13	1,80

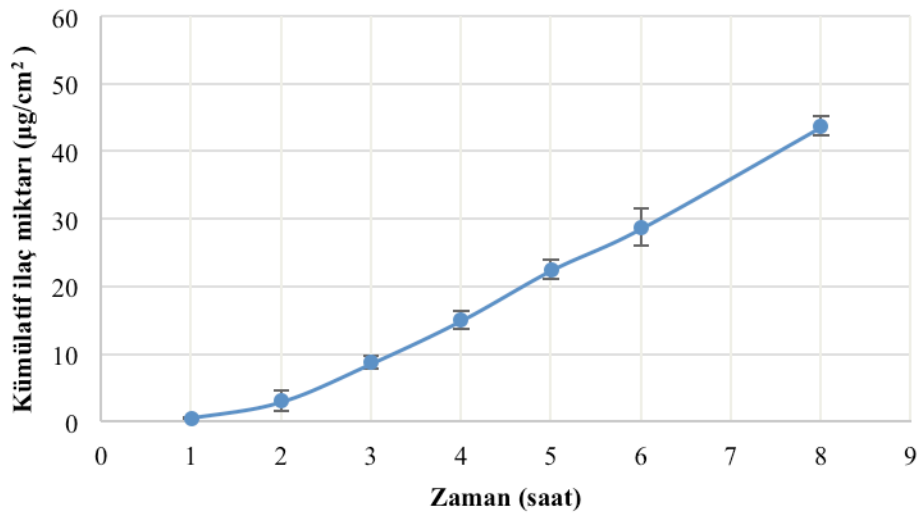
Şekil 4-37: LPP kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-52: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	0,46	0,16
2	3,02	1,47
3	8,69	0,92
4	15,04	1,34
5	22,47	1,47
6	28,68	2,73
8	43,71	1,50

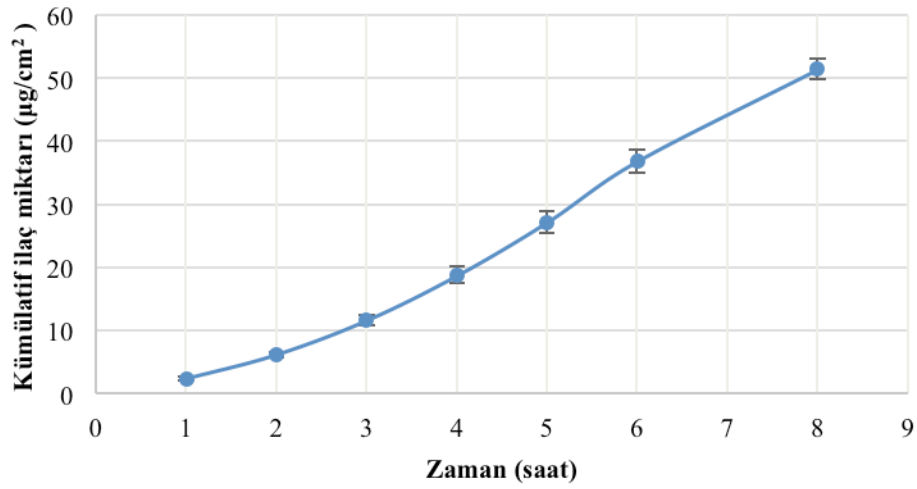
Şekil 4-38: LPT-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-53: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	2,27	0,37
2	6,12	0,44
3	11,54	0,81
4	18,63	1,36
5	27,08	1,68
6	36,73	1,90
8	51,30	1,63

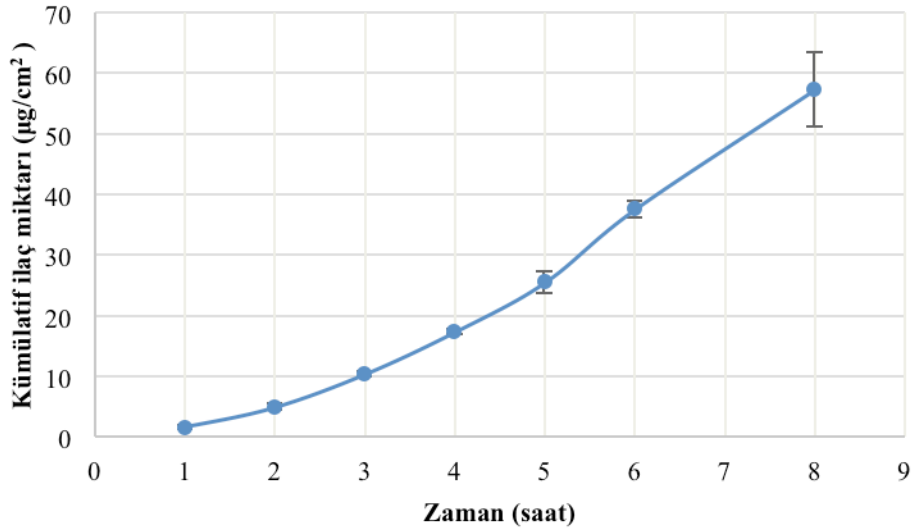
Şekil 4-39: LPM-KHCO kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-54: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	1,64	0,29
2	5,02	0,53
3	10,46	0,52
4	17,41	0,45
5	25,57	1,86
6	37,61	1,44
8	57,36	6,11

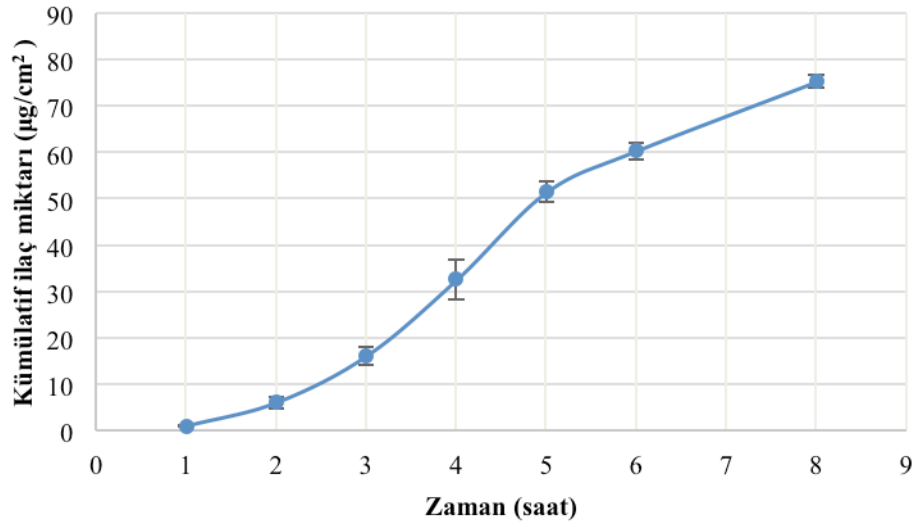
Şekil 4-40: LPP-KHCO-0.1 kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-55: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	1,05	0,16
2	6,20	1,22
3	16,26	1,88
4	32,68	4,38
5	51,53	2,17
6	60,41	1,74
8	75,35	1,43

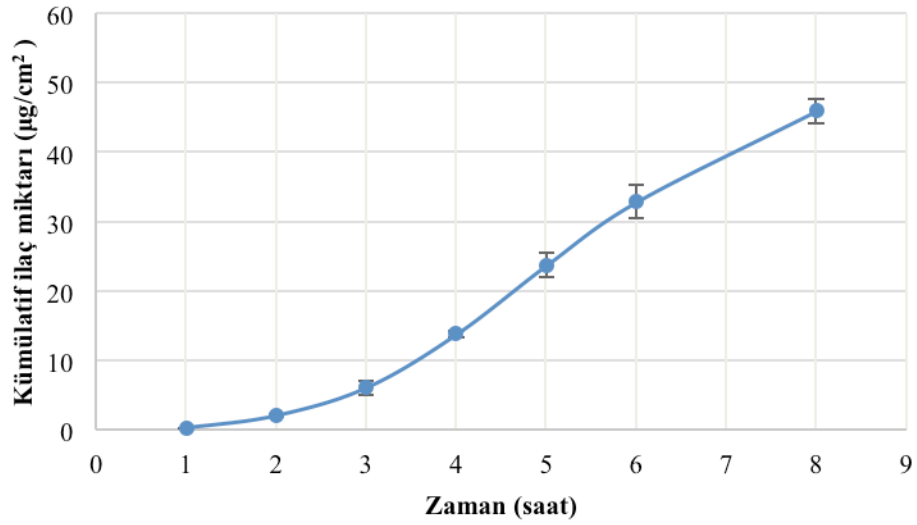
Şekil 4-41: LP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-56: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	0,25	0,03
2	2,14	0,17
3	6,16	1,02
4	13,84	0,53
5	23,76	1,79
6	32,86	2,44
8	45,96	1,74

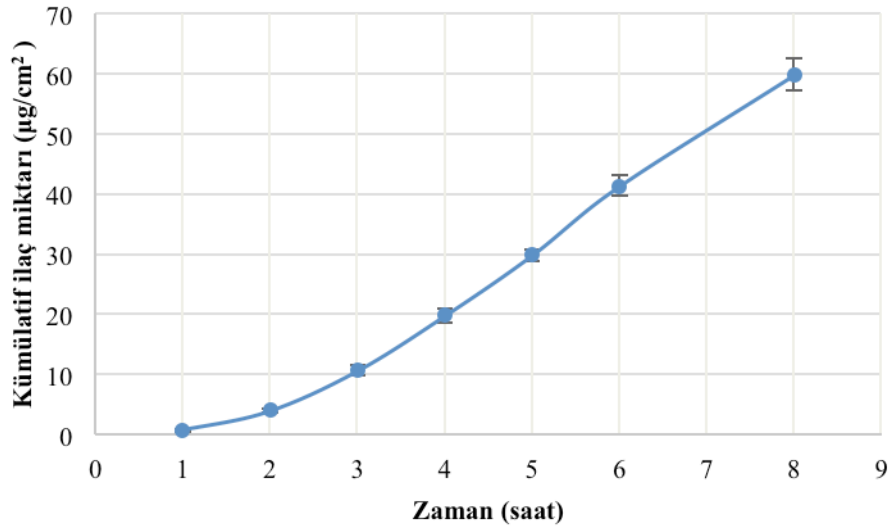
Şekil 4-42: LPP-KCA kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Tablo 4-57: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	0,71	0,22
2	4,03	0,36
3	10,65	0,89
4	19,78	1,24
5	29,82	0,91
6	41,29	1,75
8	59,76	2,71

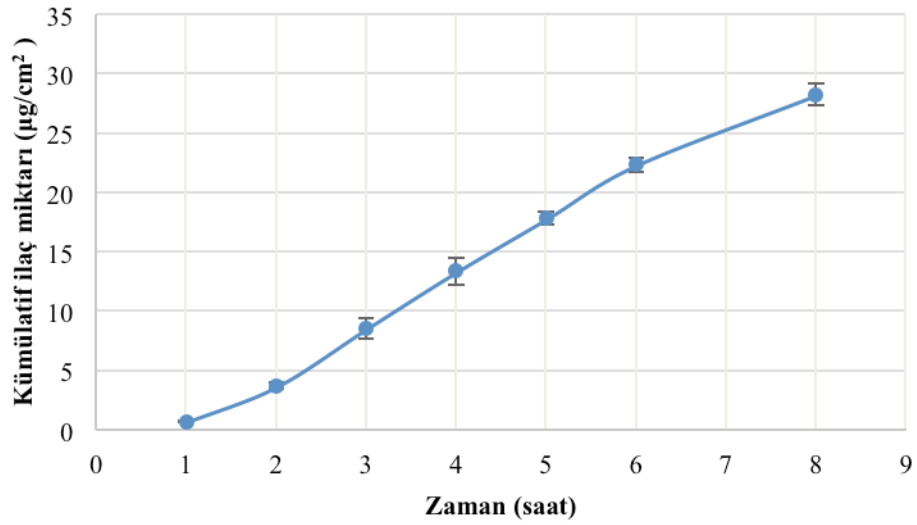
Şekil 4-43: LPP-KHCO-0.3 kodlu emüljel formülasyonunun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



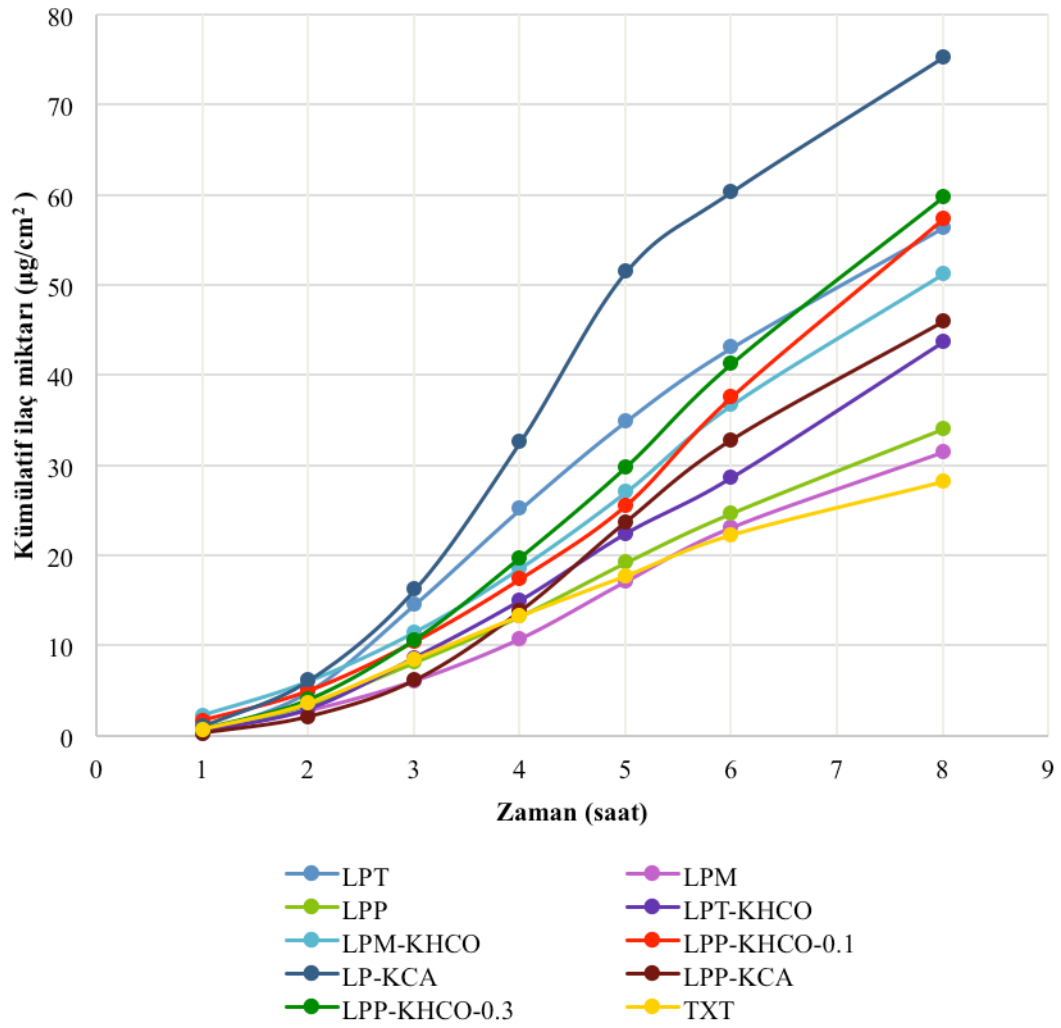
Tablo 4-58: TXT kodlu ticari formülasyonun *in vitro* salım çalışmasında diflukortolon valeratın ortalama kümülatif değeri ve SD değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Saat	Ortalama ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD ($\pm$)
1	0,67	0,05
2	3,66	0,28
3	8,54	0,84
4	13,33	1,14
5	17,80	0,58
6	22,32	0,57
8	28,24	0,90

Şekil 4-44: TXT kodlu ticari formülasyonun *in vitro* salım çalışmasına ait salım profili



Şekil 4-45: Emüljel formülasyonları ve ticari preparattan serbestleşen kümülatif diflukortolon valerat miktarı



4.10. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

Hazırlanan emüljel formülasyonları ve ticari preparattan elde edilen salım kinetiği sonuçları Tablo 4-59’da gösterilmektedir.

Tablo 4-59: Emülsiyon formülasyonları ve ticari preparata ait salın kinetiği parametreleri

Formülasyon	Sıfırıncı Derece (r^2)	Birinci Derece (r^2)	Higuchi (r^2)	Hixson-Crowell (r^2)	Korsmeyer-Peppas (r^2)	Korsmeyer-Peppas (n)
LPT	0,9915	0,9932	0,9928	0,9902	0,9728	22,392
LPM	0,9843	0,9822	0,9358	0,9830	0,8397	11,931
LPP	0,9948	0,9934	0,9584	0,9940	0,8734	12,899
LPT-KHCO	0,9876	0,9827	0,9349	0,9845	0,8366	16,159
LPM-KHCO	0,9870	0,9820	0,9358	0,9838	0,8386	18,530
LPP-KHCO 0.1	0,9697	0,9593	0,9003	0,9630	0,7894	20,248
LP-KCA	0,9735	0,9766	0,9545	0,9758	0,8821	30,773
LPP-KCA	0,9728	0,9690	0,9135	0,9704	0,8074	17,669
LPP-KHCO 0.3	0,9830	0,9761	0,9267	0,9787	0,8244	22,314
TXT	0,9924	0,9937	0,9808	0,9933	0,9179	10,999

5. TARTIŞMA

Emülgeller gelişmekte olan, dermatolojik ve kozmetolojik uygulama açısından etkili, yağ içinde su (s/y) veya su içinde yağ (y/s) olarak hazırlanabilen emülsiyon fazı ve jel yapıcı ajanlar ilavesiyle elde edilen jel fazının, uygun oranlarda bir araya getirilmesi sonucu elde edilen topikal ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Her iki ilaç taşıyıcı sistemin avantajlarına sahip emüljel formülasyonunun deri yüzeyine uygulanmasıyla, emülsiyon sistemin iç fazına yüklenen etkin maddenin dış faza geçişi ve jel sistemin ağısı yapısı sayesinde kontrollü salımı gerçekleşir (Kumar ve ark. 2016).

Emülgellerin deri yüzeyinde yağlı his bırakmadan nemlendirici özelliğe sahip olmaları, kolayca yayılabilmeleri ve uygulama bölgesinden rahatlıkla uzaklaştırılabilmeleri gibi hasta uyuncunu arttıran özellikleri mevcuttur. Özellikle su içinde yağ (y/s) tipi emülsiyonlardan hareketle hazırlanan emüljel formülasyonlarında, düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite gösteren BCS sınıf II ilaçların yağ fazına yüklenmesi ile etkin dozaj formları geliştirilebilmesi mümkündür (Ajazuddin ve ark 2013).

Topikal kortikosteroidler 1950'lerin ilk dönemlerinden itibaren antiinflamatuvar ve immünosupresif etkileri nedeniyle psoriyazis, atopik dermatit gibi cilt rahatsızlıklarının tedavisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Vazokonstrüktif etkiye sahip bu ilaçlar iltihap bölgesinde lökosit lokalizasyonunu azaltarak inflamasyonu azaltırlar (Wiedersberg ve ark., 2008). Suda pratik olarak çözünmeyen, lipofilik karakterdeki diflukortolon valerat, hidrokortizon yapısının valerik asitle esterlenmiş bir türevidir. Topikal kortikosteroidler arasında yüksek etkinlikteki Sınıf III glukokortikoidler arasında yer almaktadır. Ticari olarak %0.1 ve %0.3 oranında etkin madde içeren krem ve merhem preparatları egzama, seboreik egzama, psöriyazis gibi inflamatuvar cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Hoppe 1988 ; Özen ve ark. 2015). Literatürde diflukortolon valerat'ın nanoyapılı lipit taşıyıcıları (Abdelsalam ve ark. 2017), lesitin-kitosan nanopartiküler sistemleri ve lipozomları çalışılmıştır (Özcan vd ark. 2013; Eroğlu ve ark. 2016). Yüksek lisans tez çalışmamızda ise emüljel formülasyonları geliştirilmiştir. Emüljel formülasyonlarını seçmemizin nedeni, gerek etkin maddenin emüljel formülasyonuna ait bir çalışmaya rastlamamış olmamız gerekse

de büyük ölçekli ticari üretime adapte edilebilecek ve mevcut uygulamalara alternatif bir topikal formülasyon geliştirilmesi ve patent başvurusu yapmaktır.

Zayıf çözünür özellikteki diflukortolon valeratın su içinde yağ(y/s) tipi emülsiyon formülasyonlarının hazırlanmasından hareketle emüljel formülasyonları geliştirilerek, elde edilen formülasyonların karakterizasyon çalışmaları ile seçilen optimum formülasyonların *in vitro* salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda diflukortolon valeratın miktar tayini analizlerinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılarak yöntemin validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Analitik yöntemin validasyon çalışmaları kapsamında doğrusalılık, doğruluk, kesinlik (gün içi ve günler arası), seçicilik, stabilite, teşhis limiti (TL) ve miktar tayin limiti (MTL) araştırılmıştır (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2017). Diflukortolon valerat'ın miktar tayin yönteminin validasyonu çözünürlük çalışmaları ve formülasyonların etkin madde miktar tayini amacıyla mobil faz olarak kullanılan Asetonitril:Su (70:30) karışımı ve *in vitro* salım çalışmalarında reseptör faz olarak kullanılan PBS 5.5 pH v+ % 40 etanol karışımı ile ayrı ayrı yapılmıştır. Her iki yöntem için gerçekleştirilen doğrusalılık çalışmasında determinasyon katsayısı (r^2) 0,9999 olarak belirlenirken gün içi ve günler arası kesinlik, stabilite, doğruluk ve seçicilik sonuçları uygun bulunmuştur. Asetonitril:Su (70:30) karışımı kullanılarak hazırlanan standartlar için teşhis limiti 0,026 µg/mL ve miktar tayin limiti 0,080 0,026 µg/mL olarak hesaplanırken, pH 5,5 PBS:Etanol (60:40) karışımı kullanılarak hazırlanan standartlar için ise teşhis limiti 0,006 026 µg/mL ve miktar tayin limiti 0,019 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Emüljellerin formülasyon çalışmalarında öncelikle Yöntem 3.2.5.1'de anlatıldığı şekilde diflukortolon valeratın emülsiyonun yağ fazında kullanılacak yağ, yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin maddeler içerisindeki çözünürlükleri incelenmiş ve sonuçlar Tablo 4-21'de gösterilmiştir. Ön formülasyon çalışmalarında etkin maddenin çözünürlük çalışması sonuçları göz önünde bulundurulmakla birlikte, kullanılan yağ, sürfaktan ve kosürfaktanların formülasyon içerisindeki durumları, stabil formülasyon eldesi ve kullanım amaçları da dikkate alınmıştır. Bu nedenle ön formülasyon çalışmalarında emülsiyon fazının hazırlanmasında sıvı yağ olarak, sıvı parafin topikal preparatlarda yumuşatıcı ve nemlendirici özelliği ile özellikle atopik dermatit gibi kuru cilt rahatsızlıklarının tedavisindeki etkinliğinden ötürü (Speight 2020; Rowe ve ark. 2009) ve tamanu yağı yara tedavisi ile cilt hassasiyetindeki etkinliğinden dolayı

(Raharivelomanana ve ark 2018) tercih edilirken, lipofilik karakterdeki etkin maddenin çözünürlük çalışması sonuçları göz önünde bulundurularak, Peceol ($8,62 \pm 1,17$ mg/g), Maisine ($3,69 \pm 1,06$ mg/g), Labrafac PG ($4,66 \pm 1,32$ mg/g), Labrafac lipophile ($2,5 \pm 0,36$ mg/g), İPM ($2,3 \pm 0,09$ mg/g) ve oleik asit ($11,5 \pm 1,23$ mg/g) %1 - %12 aralığında kullanılmıştır. Katı formdaki yağlar ise %0,1 - %2 aralığında kullanılarak setil alkol, monosteol, stearil alkol, setostearyl alkol, Kolliwax HCO ve Kolliphor CS20 ile denemeler yapılmıştır. Çalışmalar sonucunda sıvı yağ olarak temelde sıvı parafin olmak üzere, tamanu yağı, Peceol ve Maisine CC'in çeşitli oranları ile katı yağ olarak setil alkol veya Kolliwax HCO içeren formülasyonların stabil kaldığı görülmüştür. Yöntem 4-5'te anlatıldığı şekilde çeşitli sürfaktanların farklı oranlarında yapılan denemeler sonucunda, yağ fazında Span 20 ve su fazında Tween 20 sürfaktanları kullanılarak stabil emülsiyonlar elde edilmiştir. Tüm formülasyonlarda penetrasyon artırıcı ve çözücü özellikleri nedeniyle Transcutol %2 ve etanol %2,5 oranında bulunmaktadır (Osborne 2011; Verma ve Fahr 2004). Daha sonra jel fazının hazırlanması amacıyla Yöntem 3.2.7.2'de anlatıldığı şekilde farklı oranlarda Carbopol 980 NF içeren jeller hazırlanarak denemeler yapılmış ve emüljel yapısına % 1 oranında Carbopol 980 NF içeren formülasyonun uygun olduğu belirlenmiştir.

Seçilen emüljel formülasyonları fiziksel görünüm, pH, iletkenlik, stabilite, reolojik özellikler ile viskozite bakımından değerlendirilmiştir. pH ve iletkenlik bulguları formülasyonların kimyasal stabilitesi hakkında bilgi vermektedir. (Akthar ve ark. 2011). Dış fazı su olan emülsiyon formülasyonları ile jel formülasyonların bir araya getirilmesiyle hazırlanan emüljel formülasyonları yüksek oranda su içerdiğinden iletkenlik değerleri $144,7 \pm 2,35$ ile $260,50 \pm 2,88$ arasında, pH değerleri ise $4,14 \pm 0,03$ ile $4,41 \pm 0,03$ arasında tayin edilmiştir. Formülasyonların 0. Gün ilaç içeriği değerleri % $99,47 \pm 0,53$ ile $100,67 \pm 0,58$ arasındadır. Emüljel formülasyonlarının stabilitesi 25°C sıcaklık ve %60 relatif nem koşullarında takip edilmiştir. Formülasyonların 30. gün ilaç içeriği değerleri % $98,89 \pm 0,45$ ile $99,95 \pm 0,32$ arasında tayin edilmiştir. Belirlenen süre boyunca ilaç içeriğinin yanı sıra fiziksel görünüm, pH ve reolojik özellikler bakımından incelenen formülasyonlarda anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Akış bilimi olarak tanımlanan reoloji, yapının akış özellikleri ve viskoelastik davranışı hakkında bilgi verir (Abraham ve ark. 2017). Çalışmamız kapsamında reolojik karakterizasyon Yöntem 3.2.8.3.1'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Farklı akış modellerine göre yapılan hesaplamalar sonucunda seçilen emüljel

formülasyonlarının Herschel-Bulkley modeline uygun olduğu belirlenmiştir. Kayma ile incelen (*shear thinning*), kayma hızı artışıyla azalan viskoziteyi tanımlayan modelde, akış davranış indeksi (n) değeri 1'den küçük ve akışın başlaması için gereken eşik değer olan akma gerilimi (τ_0) 0'dan büyüktür. Yöntem 3.2.8.2'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen osilasyon testleri bulgularına göre ise tüm formülasyonlarda G' (elastik modül) değerinin G'' (viskoz modül) değerinden büyük ve $\tan\delta$ (G''/G') değerinin 1'den küçük olduğu belirlenerek formülasyonların viskoelastik karakteristiklerinin yarı katı özellik gösterdiği doğrulanmıştır (Mezger 2006).

Seçilen emüljel formülasyonlarında *in vitro* salım çalışmaları Yöntem 3.2.10'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle, *in vitro* salım çalışması esnasında sink koşulu sağlamak ve korumak adına, diflukortolon valeratın çeşitli pH ve farklı oranlarda yardımcı maddeler kullanılarak hazırlanan tampon çözeltilerdeki çözünürlük değeri belirlenmiştir. Tablo 4-22'de yer alan çözünürlük çalışması sonuçlarına göre diflukortolon valerat için sink koşulun sağlandığı pH 5.5 fosfat tamponu : etanol (60:40) ($161,88 \pm 6,40 \mu\text{g/mL}$) reseptör ortam olarak seçilmiştir. 12 mL hacim ve $1,77 \text{ cm}^2$ yüzey alanına sahip Franz Difüzyon Sistemi (PermeGear, V6 Stirrer) hücrelerinde gerçekleştirilen çalışmamızda $0,45 \mu\text{m}$ por çapına sahip selüloz asetat membran ve pH 5.5 fosfat tamponu : etanol (60:40) reseptör ortam kullanılarak $37,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de sıcaklık ve 500 rpm dönüş hızında çalışılmıştır. Çalışmamızda 0,25 g diflukortolon valerat içeren emüljel formülasyonları ve ticari preparat donör faz olarak kullanılmak üzere hücrelere yerleştirilerek çalışma başlatılmış ve 1., 2., 3., 4., 5., 6., ile 8. saatlerde alınan numuneler Yöntem 3.2.4'te validasyonu sağlanmış çalışma koşullarında HPLC'de analiz edilerek pik alanları belirlenmiştir. Kümülatif salım hesaplamaları sonucunda elde edilen veriler farklı *in vitro* salım modellerine uygulanarak Tablo 4-59'da gösterildiği gibi determinasyon katsayıları (r^2) hesaplanmış ve her bir formülasyon için uygun salım modeli belirlenmiştir.

Geliştirilen tüm emüljel formülasyonları, diflukortolon valeratın ticari preparatından (Temetex Krem) daha yüksek kümülatif salım göstermiştir (Şekil 4-45). 8. saatin sonunda en yüksek diflukortolon valerat salımı LP-KCA kodlu formülasyonda ($75,35 \pm 1,43 \mu\text{g/cm}^2$) gözlenmiştir. LP-KCA formülasyonu, tez çalışmamızda yer alan diğer emüljel formülasyonları ile karşılaştırıldığında en düşük viskozite değerine sahiptir (Şekil 4-15). Ayrıca %4,85 ile en yüksek sıvı parafin içeriğine sahip formülasyondur. LP-KCA kodlu formülasyon akış modeli olarak diğer emüljel

formülasyonları gibi Herschel-Bulkley modeline uymakla beraber bu formülasyonlardan daha düşük viskozite, akma gerilimi ve kıvam indeksine sahiptir. Osilasyon bulgularında ise elastik davranışı temsil eden G' değerinin yine diğer formülasyonlardan düşük olduğu ve viskoz modülün elastik modüle bölünmesi sonucu hesaplanan $\tan\delta$ değerinin 1'e daha yakın olduğu görülmektedir. $\tan\delta$ değerinin 1'e yaklaştıkça yapının sıvı özellik kazandığı bilinmektedir. Bu özelliklerin *in vitro* salım çalışmalarında kümülatif ilaç salımı bakımından avantaj sağladığı düşünülmektedir (Adeyeye ve ark. 2002; Bonferoni ve ark. 1992).

Diflukortolon valerat içeren emüljel formülasyonları ile gerçekleştirilen *in vitro* salım çalışmalarında, 8 saatin sonundaki kümülatif salım değerleri ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) karşılaştırıldığında; LPM ve LPP kodlu formülasyonlar ile ticari preparat (TXT) arasında anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0.05$), etkin maddenin diğer emüljel formülasyonlarından kümülatif salımı, istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p<0,0001$). Çalışmamız sonucunda stabilite ve emüljel formülasyon özellikleri bakımından uygun olan LPP-KHCO-0.3 ($59,76 \pm 2,71 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) ve LPP-KHCO-0.1 ($57,36 \pm 6,11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) kodlu emüljellerin de hem yüksek ilaç salımı hem de belirtilen fizikokimyasal özelliklerinden ötürü diflukortolon valeratın topikal uygulaması bakımından alternatif oluşturabileceği düşünülmektedir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında geliştirilen ve optimize edilen emüljel formülasyonları; fizikokimyasal özellikleri, ilaç salım karakteristikleri ve stabiliteleri bakımından uygun bulunmuştur. Diflukortolon valerat'ın topikal olarak deriye uygulanmasında alternatif bir yaklaşım olarak emüljel formülasyonlarının kullanılabilceği düşünülmektedir. Bundan sonraki aşamada, etkin maddenin optimum formülasyonlardan model hayvan derisine penetrasyonunun ve derideki birikiminin çalışılması hedeflenmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Abdelsalam, F.S., Elkheshen, S.A., Mahmoud, A.A., Ammar, H.O. (2016). Diflucortolone valerate loaded solid lipid nanoparticles as a semisolid topical delivery system. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* **54**, 1–7.
- Abdelsalam, F.S., Mahmoud, A.A., Ammar, H.O., Elkheshen, S.A. (2017). Nanostructured lipid carriers as semisolid topical delivery formulations for diflucortolone valerate. *Journal of Liposome Research*, **27**, 41–55.
- Abdo, M.J., Sopko, N.A., Milner, S.M. (2020). The applied anatomy of human skin: a model for regeneration. *Wound Medicine* **28**, 100179.
- Abraham, J., Sharika, T., Mishra, R.K., Thomas, S. (2017). Rheological characteristics of nanomaterials and nanocomposites, Micro and Nano Fibrillar Composites (MFCs and NFCs) from Polymer Blends. *Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering*, 327-350.
- Adeyeye, M.C., Jain, A. C., Ghorab, M.K.M., Reilly, W. (2002). Viscoelastic evaluation of topical creams containing microcrystalline cellulose/sodium carboxymethyl cellulose as stabilizer. *AAPS PharmSciTech* **3**, Article 8.
- Aggarwal, G., Nagpal, M.(2018). Pharmaceutical polymer gels in drug delivery. *Polymer Gels*. 249-284.
- Ajazuddin, Alexander, A., Khichariya, A., Gupta, S., Patel, R., Giri, T.K., Tripathi, D.K. (2013). Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel. *Journal of Controlled Release*, **171**, 122–132.
- Akhtar, N., Khan, B.A., Khan, M.S., Mahmood, T., Khan, H.M.S., Iqbal, M., Bashir, S. (2011). Formulation, development and moisturising effects of a topical cream of *Aloe vera* extract. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, **75**, 172-180.
- Arora, R., Khan, R., Ojha, A., Upadhyaya, K., Chopra, H. (2017) Emulgel: a novel approach for hydrophobic drugs. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, **7**, 43-60.

- Arshad, W., Khan, H.M.S., Akthar, N., Nawaz, M. (2019). Assessment of changes in biophysical parameters by dermocosmetic emulgel loaded with *Cinnamomum tamala* extract: A split-faced and placebo-controlled study. *J Cosmet Dermatol*, 1-9.
- Balata, G.F., Shamardi, H.E., Elmoneim, H.M., Hakami, A.A., Almodhwahi, M.A. (2018). Propolis emulgel: a natural remedy for burn and wound. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **44**, 1797–1808.
- Bnyan, R., Khan, I., Ehtezazi, T., Saleem, I., Gordon, S., Neill, F., Roberts, M. (2018). Surfactant effects on lipid-based vesicles properties. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **107**, 1237-1246.
- Bonferoni, M.C., Caramella, C., Sangalli, M.E., Conte, U., Hernandez, R.M., Pedraz, J.L. (1992). Rheological behaviour of hyrophilic polymers and drug release from edodible matrices. *Journal of Controlled Release*, **18**, 205-212.
- Brisson, P. (1974) Percutaneous absorption. *Can Med Assoc J*, **110**, 1182–1185.
- Burger, C., Gerber, M., Preez, J.L., Plessis, J. (2015). Optimised transdermal delivery of pravastatin. *International Journal of Pharmaceutics*, **496**, 518–525.
- Çelebi, N. (2009). Emülsiyonlar. İçinde F. Acartürk, İ. Ağabeyoğlu, N. Çelebi, T. Değim, Z. Değim, T. Doğanay, S. Takka ve F. Tırnaksız (Ed.), *Modern Farmasötik Teknoloji*. Ankara: Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 277-299.
- Chambers, E., Vukmanovic, M. (2019). Skin barrier immunity and ageing. *Immunology*, **160**, 116–125.
- Chu, D. H. (2008). Overview of biology, development, and structure of skin. İçinde K. Wolff, L.A. Goldsmith, S.I. Katz, B.A. Gilchrest, A.S. Paller, D.J. Leffell (Ed.), *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. New York, McGraw-Hill: 57-73.
- Coelho, E., Lopes, G.L., Pinherio, I.M., Holanda, J.N., Alves, N.M., Nogueira, N.C., Carvalho, F.A., Carvalho, A.L.M. (2018). Emulgel based on amphotericin B and bacuri butter for the treatment of cutaneous leishmaniasis: characterization and in vitro assays. *Drug Dev Ind Pharm*, **44**, 1713–1723.
- Daudt, R.M., Back, P.I., Cardozo, N.S., Marczak, L.D., Guerreiro, I.C. (2015). Pinhao starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and sensory analysis. *Carbohydrate Polymers* **134**, 573–580.

Daudt, R.M., Cardozo, N.S., Marczak, L.D., Guerreiro, I.C. (2018). Rheological and physical parameters correlations in formulations with pinhao derivatives stability study: building up an analytical route. *Pharmaceutical Development and Technology*, **23**, 620–627.

Değim, T. (2009). Deriden emilim ve deriye uygulanan yarı katı preparatlar. İçinde F.Acartürk, İ. Ağabeyoğlu, N. Çelebi, T. Değim, Z. Değim, T. Doğanay, S. Takka ve F.Tırnaksız (Ed.), *Modern Farmasötik Teknoloji*. Ankara: Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 337-364.

Dong, L., Liu, C., Cun, D., Fang, L. (2015). The effect of rheological behavior and microstructure of the emulgels on the release and permeation profiles of Terpinen-4-ol. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **78**, 140–150.

Durowoju, I.B., Bhandal, K.S., Hu J., Carpick, B., Kirkitadze, M. (2017). Differential scanning calorimetry: a method for assessing the thermal stability and conformation of protein antigen. *Journal of Visualized Experiments*, **121**, e55262.

El-Setouhy, D.A. ve El-Ashmony, S.M. (2010). Ketorolac trometamol topical formulations: release behaviour, physical characterization, skin permeation, efficacy and gastric safety. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **62**, 25–34.

Eroğlu, İ., Azizoğlu, E., Özyazıcı, M., Nenni, M., Gürer Orhan H., Özbal, S., Tekmen, I., Ertam, İ., Ünal, İ., Özer, Ö. (2016) Effective topical delivery systems for corticosteroids: dermatological and histological evaluations. *Drug Delivery*, **23**, 1502-1513.

Ghodekar, S.V., Chaudhari, S.P., Ratnaparakhi, M.P. (2012). Development and characterization of silver sulfadiazine emulgel for topical drug delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4**, 305-316.

Harman, M. (2015). Cutaneous Leishmaniasis. *Turkish Journal of Dermatology*, **9**, 168-176.

Honari, G., Maibach, H. (2014). Skin tructure and function. *Applied Dermatotoxicology Clinical Aspects* 1-10.

- Hong, I.K., Kim, S.I., Lee, S.B. (2018). Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: Droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **67**,123–131.
- Hoppe, G. (1988). Diflucortolone Valerate Asian Experience, *Drugs* **36**, **5**, 24-33.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). 2017.
- Ita, K. (2020) Anatomy of the human skin. *Transdermal drug delivery concepts and application*. Amerpican Press; 9-18.
- Jacobs, G. A., Gerber, M., Malan, M.M., Preez, J.L., Fox, L.T., Plessis, J. (2016). Topical delivery of acyclovir and ketoconazole. *Drug Delivery*, **23**, 631–641.
- Jagdale, S., Pawar, S. (2017), Gellified emulsion of ofloxacin for transdermal drug delivery system. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, **7**, 229-239.
- Kayaalp, O. (2002). *Tıbbi Farmakoloji*. (10. Basım) Ankara: Hacettepe Taş
- Khullar, R., Kumar, D., Seth, N., Saini, S. (2012). Formulation and evaluation of mefenamic acid emulgel for topical delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **20**, 63–67.
- Kolarsick, P.A.J., Kolarsick, M.M.A., Goodwin, C. (2011). Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses Association*, **3**, 203-213.
- Kumar, D., Singh, J., Antil, M., Kumar V. (2016). Emulgel - novel topical drug delivery system – a comprehensive review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **7**, 4733-4742.
- Lang, J.R. ve Bolton, S. (1991). A comprehensive method validation strategy for bioanalytical applications in the pharmaceutical industry - Experimental considerations. *Journal of Phurmaceutical & Biomedical Analysis*, **9**, 357-361.
- Losquadro, W.D. (2017). Anatomy of the skin and the pathogenesis of nonmelanoma skin cancer. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, **25**, 283-289
- Lu, G.W. ve Gao, P. (2010). Emulsions and microemulsions for topical and transdermal drug delivery. İçinde V.S. Kulkarni(Ed.), *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems*, Oxford: Elsevier Inc; 59-94 .

Markovich, R. (2001). Dissolution testing of semisolid dosage forms. *American Pharmaceutical Review*, 71-79.

Mezger, T.G. (2006). The Rheology Handbook: For users of rotational and oscillatory rheometers. Hannover: Vincentz Network GmbH&Co KG

Mohamed, M. (2004). Optimization of chlorphenesin emulgel formulation. *The AAPS Journal*, **6**, 81-87.

Nabi, S.A., Sheraz, M.A., Ahmed, S., Mustaan, N., Ahmad, I.(2016). Pharmaceutical gels: a review, *RADS-JPPS*, **4**, 40-48.

Ölçer, A., Gönül, N. (2002). Percutaneous absorption and factors influencing percutaneous absorption. *J. Fac. Pharm*, **31**, 33-49.

Osborne, D.W. (2011). Diethylene glycol monoethyl ether: an emerging solvent in topical dermatology products. *Journal of Cosmetic Dermatology*, **10**, 324–329.

Özcan, İ., Azizoğlu, E., Şenyiğit, T., Özyazıcı, M., Özer, Ö. (2013). Enhanced dermal delivery of difluocortolone valerate using lecithin/chitosan nanoparticles: in-vitro and in-vivo evaluations. *International Journal of Nanomedicine*, **8**, 461–475.

Özen, G., Gümüştas, M., Kara, H.E., Göger, N., Uslu, B., Özkan, S. (2015). Quantitative determination of isoconazole nitrate and difluocortolone valerate in pharmaceutical creams by UPLC, HPLC and improved derivative UV spectrophotometry. *Rev Roum Chim*, **60**, 527-535.

Pang, B., Wang, S., Chen, W., Hassan, M., Lu, H. (2020). Effects of flow behavior index and consistency coefficient on hydrodynamics of power-law fluids and particles in fluidized beds. *Powder Technology*, **366**, 249–260.

Panwar, A.S., Upadhyay, N., Bairagi, M., Gujar, S., Darwhekar, G.N., Jain, D.K. (2011). Emulgel: a review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, **1**, 333-343.

Phillips, D., Pygall, S., Cooper, V., Mann, J. (2012). Overcoming sink limitations in dissolution testing: a review of traditional methods and the potential utility of biphasic systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **64**, 1549–1559.

Pinheiro, I.M., Carvalho, I.P.S., Neto, J.A.T, Lopes, G.L.N., Coelho, E.S., Sobrinho, E.P.C., Alves, M.M., Carvalho, F.A.A., Carvalho, A.L.M. (2019). Amphotericin B loaded emulgel: Effect of chemical enhancers on the release profile and antileishmanial activity in vitro. *AAPS PharmSciTech*, **20**, 122.

Raharivelomanana, P., Ansel, J.L., Lupo, E., Mijouin, L., Guillot, S., Butaud, J.F., Ho, R., Lecellier, G., Pichon, C. (2018). Tamanu oil and skin active properties: from traditional to modern cosmetic uses *EDP Sciences OCL*, 25

Rathod, H.J., Mehta, D.P. (2015). A review on pharmaceutical gel. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1, 33-47.

Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E., (Ed.). (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Washington, DC: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association

Shahin, M., Hady, S.A., Hammad, M., Mortada, N. (2011a). Novel jojoba oil-based emulsion gel formulations for clotrimazole delivery. *AAPS PharmSciTech*, 12, 239-47.

Shahin, M., Hady, S.A., Hammad, M., Mortada, N. (2011b). Optimized formulation for topical administration of clotrimazole using pemulen polymeric emulsifier. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37, 559-568.

Sheshala, R., Anuar, NK., Samah, N.H.U., Wong, T.W. (2019). In vitro drug dissolution/permeation testing of nanocarriers for skin application: a comprehensive Review. *AAPS PharmSciTech*, 20, 164.

Singh, C., Sharma, P., Bal, T., Ghosh, M., Dubey, R., Das, S. (2015). Preparation and evaluation of radiosensitizing agent nimorazole in topical emulgel. *Der Pharmacia Lettre*, 7, 132-142.

Singh, V.K., Pandey, P.M., Agarwal, T., Kumar, D., Banerjee, I., Anis, A., Pal, K. (2016). Development of soy lecithin based novel self-assembled emulsion hydrogels. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 55, 250–263.

Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. (1998). Principles of Instrumental Analysis. (5. Baskı) E. Kılıç, F. Köseoğlu, H. Yılmaz. (Ed.). Ankara: Bilim Yayıncılık; 850.

Speight, J.G. (2020) *Handbook of Industrial Hydrocarbon Processes*. Oxford: Elsevier Inc; 553-595.

Szucs, M., Sandri, G., M., Bonferoni, M.C., Caramella, C.M., Vaghi, P., Szabo-Revesz, P., Eros, I. (2008). Mucoadhesive behaviour of emulsions containing polymeric emulsifier. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34, 226–235.

Thakur, N.K., Bharti, P., Sheefali, M., Rao, R. (2012). Formulation and Characterization of benzoyl peroxide gellified emulsions. *Scientia Pharmaceutica*, **80**, 1045-1060.

Uva, L., Miguel, D., Pinherio, C., Antunes, J., Cruz, D., Ferreira, J., Filipe, P. (2012). Mechanisms of action of topical corticosteroids in psoriasis. *International Journal of Endocrinology*, Article 561018.

Varma, S.K., Maheshwari, P.V., Navya, M., Reddy, S.C., Shivakumar, H.G., Gowda, D.V. (2014). Calcipotriol delivery into the skin as emulgel for effective permeation. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **22**, 591–599.

Verma, D.D., Fahr, A. (2004). Synergistic penetration enhancement effect of ethanol and phospholipids on the topical delivery of cyclosporin A. *Journal of Controlled Release*, **97**, 55–66.

Vitorino, C., Sousa, J., Pais, A. (2015). Overcoming the skin permeation barrier: challenges and opportunities. *Current Pharmaceutical Design*, **21**.

Walicka, A. (2018). Drug diffusion transport through human skin. *Int J of Applied Mechanics and Engineering*, **23**, 977-988.

Wiedersberg, S., Leopold, C.S., Guy, R.H. (2008). Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **68**, 453–466.

Yadav, N., Parveen, S., Chakravarty, S., Banerjee, M. (2019). *Skin Aging & Cancer*. Singapore: Springer; 1-10.

Yazan, Y. (2004). Emülsiyonlar. İçinde A. Gürsoy (Ed.), *Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri*. Kontrollü Salım Sistemleri Derneği; 273-286

Yousef, H., Alhajj, M., Sharma, S. (2017). *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

Yüksel, A., Tarımcı, N. (1988). Percutaneous absorption: an overview of the biological mechanism. *J Pharm Univ Mar*, **4**, 35-44.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KORTİKOSTEROİD İÇEREN TOPIKAL EMÜLJEL FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

%**6**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**4**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**3**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%**2**

2

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%**2**

3

Submitted to Marmara University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

4

mersin.mitosweb.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

app.trdizin.gov.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

repository.helvetia.ac.id

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

**William L. Whaley, Jen-Te Tseng, Jeremy D.
Rummel, Cody L. Wommack.**

**"Monohydroxyflavones: Distribution Coefficients
and Affinities for Reverse-Phase (C18) and**

<%**1**