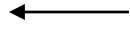


Adınızı soyadınızı giriniz

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)

**MANTAR TEDAVİSİNE YARDIMCI YENİLİKÇİ
KOZMETİK FORMÜLASYONLAR GELİŞTİRİLMESİ VE
ETKİNLİĞİNİN TEST EDİLMESİ**

CANER ACAR

**DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA GÜLGÜN YENER**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Caner ACAR



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın tüm aşamalarında, akademik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimle ilgili tüm sorunlarımla yakından ilgilenen, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gülgün YENER'e,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesine imkan sunan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet ARAMAN'a,

Tezimin hazırlanması sırasında yardımlarını ve katkılarını her daim gösteren Sayın Prof. Dr. Melike ÜNER'e ve Sayın Prof. Dr. Ümit GÖNÜLLÜ'ye,

Mikrobiyolojik çalışmaları gerçekleştiren, İstanbul Üniversitesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üye ve yardımcılarına,

Tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve yardımcı olan Sayın Dr. Kimyager Kadri Gökhan ÖZOKAN'a,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesine katkı sağlayan BioArge Bitkisel Kozmetik Laboratuvarları'na ve Eczacıbaşı Tüketim Ürünleri'ne,

Son olarak tüm yaşamım boyunca olduğu gibi her zaman yanımda olan benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 32758

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	ii
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiv
ÖZET.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tırnak Ünitesi	3
2.1.1. Tırnak Yapısı	3
2.1.2. Tırnak Plağı.....	3
2.1.3. Tırnak Matriksi	4
2.1.4. Tırnak Yatağı	4
2.2. Mantar.....	4
2.2.1. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri.....	5
2.2.2. Etyoloji ve Sınıflandırma.....	6
2.2.3. Mantar Tipleri	7
2.2.3.1. Distal Subungual Mantar	7
2.2.3.2. Proksimal Subungual Mantar.....	8
2.2.3.3. Beyaz Yüzeysel Mantar	9
2.2.3.4. Kandidal Mantar	10
2.2.3.5. Total Distrofik Mantar	10
2.2.4. Mantar Tanısı	11
2.2.4.1. Örnek Toplanması.....	11
2.2.4.2. Örnek Analizi.....	12
2.2.5. Mantar Tedavisi	12
2.2.5.1. Sistemik Tedavi	13

2.2.5.2. Topikal Tedavi.....	15
2.2.6. Mantar Tedavisinde Kullanılan Piyasa Ürün Örnekleri	17
2.2.6.1. Naloc Tırnak Mantarı Solüsyonu.....	17
2.2.6.2. Wartner Tırnak Mantarı Solüsyonu	18
2.2.6.3. Penlac Tırnak Mantarı Cilasası	18
2.3. Antifungallerin Etki Mekanizması.....	19
2.3.1. Ergosterol Sentez İnhibisyonu	19
2.3.2. Ergosterol Engellenmesi.....	19
2.3.3. Glukan Sentezinin İnhibisyonu.....	19
2.3.4. Nükleik Asit Sentezinin İnhibisyonu	19
2.4. Transungual İlaç Sistemleri	19
2.4.1. İlaçların Tırnaklardan Difüzyonunu Etkileyen Faktörler	20
2.4.1.1. Tırnakların Fizikokimyasal Özellikleri.....	20
2.4.1.2. Çözünen Molekül Boyutu	21
2.4.1.3. Hidrofiliklik/Hidrofobiklik	21
2.4.1.4. İyonlaşma.....	21
2.4.2. Transungual İlaç Sistemlerinde Zorluklar	22
2.5. Nanoemülsiyonlar	22
2.5.1. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Yöntemleri	24
2.5.1.1. Düşük Enerji Gerektiren Yöntemler	25
2.5.1.2. Yüksek Enerji Gerektiren Yöntemler	29
2.5.2. Nanoemülsiyonların Avantajları.....	37
2.5.3. Nanoemülsiyonların Dezavantajları	38
2.5.4. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu.....	39
2.5.4.1. Nanoemülsiyonların Morfolojisi.....	39
2.5.4.2. Nanoemülsiyon Damlacık Boyutu, Polidispersite ve Zeta Potansiyeli	40
2.5.4.3. Viskozite Tayini.....	40
2.5.4.4. In Vitro Deri Geçirgenliği Çalışmaları	41
2.5.5. Termodinamik Kararlılık ve Yüzey Özellikleri.....	42
2.5.6. Nanoemülsiyonların Formülasyonu.....	42
2.5.6.1. Yardımcı Maddelerin Çözünürlüğünün Taranması	42
2.5.6.2. Üçgen Faz Diyagramının Oluşturulması	43
2.5.6.3. Nanoemülsiyonların Stabilitesi.....	43

2.5.7. Nanoemülsiyon Uygulamaları	44
2.5.7.1. Kontrollü İlaç Salımı İçin Nanoemülsiyonların Kullanımı	44
2.5.7.2. Nanoemülsiyonlar ve İntranazal İlaç Salımı.....	45
2.5.7.3. Nanoemülsiyonlar ve Parenteral İlaç Salımı	46
2.5.7.4. Nanoemülsiyonlar ve Aşı Salımı	46
2.5.7.5. Nanoemülsiyonların Kozmetik Endüstrisinde Kullanımı.....	47
2.5.7.6. Fitofarmasötiklerin Nanoemülsiyon Formülasyonu	47
2.5.7.7. Nanoemülsiyonların Diğer Uygulamaları.....	48
2.5.8. Nanoemülsiyonlar Üzerine Patentler	49
2.5.9. Ticari Nanoemülsiyonlar	49
2.5.10. Nanoemülsiyon İlaç Dağıtım Sistemlerinin Başlıca Zorlukları.....	50
2.5.11. Nanoemülsiyonlara Gelecekte Bakış Açılırları	50
2.6. Çalışmada Kullanılan Aktif Maddelerin Biyolojik Özellikleri.....	51
2.6.1. Lavanta (<i>Lavandula angustifolia</i>) Yağı.....	51
2.6.2. İtır (<i>Pelargonium graveolens</i>) Yağı.....	52
2.6.3. Çay Ağacı (<i>Melaleuca alternifolia</i>) Yağı	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	54
3.1. Gereç	54
3.1.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler	54
3.1.2. Kullanılan Maddeler	54
3.2. Yöntem ve Deneyler	55
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Uçucu Yağların GC-MS Analizi.....	55
3.2.2. In vitro Salım Çalışmaları.....	56
3.2.3. Formülasyon Çalışmaları.....	56
3.2.3.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerin Seçimi.....	57
3.2.3.2. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonların Hazırlanması	58
3.2.4. Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Çalışmalar	67
3.2.4.1. Santrifüj Testi	67
3.2.4.2. Termal Test	67
3.2.4.3. pH Ölçümleri	68
3.2.4.4. İletkenlik Ölçümleri.....	68
3.2.4.5. Viskozite Ölçümleri.....	68
3.2.4.6. Damlacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve Polidispersite İndeksi Ölçümleri.....	68

3.2.4.7. Organoleptik İncelemeler	69
3.2.4.8. Formülasyonlar Üzerinde Gerçekleştirilen Mikrobiyolojik Çalışmalar	69
4. BULGULAR.....	70
4.1. GC-MS Bulguları.....	70
4.1.1. <i>Lavandula angustifolia</i> GC-MS Bulguları	70
4.1.2. <i>Melaleuca alternifolia</i> GC-MS Bulguları.....	72
4.1.3. <i>Pelargonium graveolens</i> GC-MS Bulguları	74
4.2. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	76
4.2.1. Santrifüj Testi Sonuçları	76
4.2.2. Karıştırma Süresinin Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi	77
4.2.3. Termal Teste Ait Bulgular	77
4.2.4. Isıtma-Soğutma Testinin Damlacık Boyutuna Etkisi	79
4.2.5. Ortam Sıcaklığının Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi	79
4.2.6. Ortam Sıcaklığının Zeta Potansiyeli Üzerine Etkisi	80
4.2.7. Ortam Sıcaklığının Poldispersite İndeksi Üzerine Etkisi	82
4.2.8. pH Değerleri	83
4.2.9. İletkenlik Değerleri	83
4.2.10. Viskozite Değerleri	84
4.2.11. Organoleptik İncelemelere Ait Bulgular.....	86
4.2.12. In-vitro Salım Çalışmasına Ait Bulgular.....	88
4.2.13. Formülasyonların Antifungal Aktivitesinin Saptanmasına Ait Bulgular.....	89
5. TARTIŞMA.....	90
KAYNAKLAR.....	94
HAM VERİLER.....	109
FORMLAR.....	110
ETİK KURUL KARARI.....	111
PATENT HAKKI İZNİ.....	112
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	113
ÖZGEÇMİŞ.....	114

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Nanoemülsiyon formülasyonları üzerine patentler	49
Tablo 2.2: Ticari nanoemülsiyon formülasyonları	49
Tablo 3.1: Tez çalışmasında kullanılan alet ve malzemeler listesine ait tablo	54
Tablo 3.2: Tez çalışmasında kullanılan maddeler listesine ait tablo	54
Tablo 3.3: GC-MS spektrumunun alındığı deneysel koşullar	55
Tablo 3.4: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo	59
Tablo 3.5: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	59
Tablo 3.6: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo	60
Tablo 3.7: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	60
Tablo 3.8: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo	61
Tablo 3.9: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	61
Tablo 3.10: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo	62

Tablo 3.11: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	62
Tablo 3.12: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo	63
Tablo 3.13: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	63
Tablo 3.14: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo	64
Tablo 3.15: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	64
Tablo 3.16: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo.....	65
Tablo 3.17: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	65
Tablo 3.18: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo.....	66
Tablo 3.19: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo	66
Tablo 3.20: Formülasyon proseslerine karşılık gelen işlemlere ait tablo	67
Tablo 4.1: Lavantaya ait GC-MS Analizi	71
Tablo 4.2: Çay ağacına ait GC-MS Analizi	72

Tablo 4.3: İtira ait GC-MS Analizi	74
Tablo 4.4: Santrifüj testi sonucuna göre stabil kalan formülasyonlar	76
Tablo 4.5: Termal test sonuçlarına ait tablo	77
Tablo 4.6: Stabilite testine alınan formülasyonların başlangıç damlacık boyutu ve PDI değerleri	78
Tablo 4.7: Hızlandırılmış stabilite testi için seçilen formülasyonlar	79
Tablo 4.8: Isıtma-Soğutma testine ait bulguları gösteren tablo	79
Tablo 4.9: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki damlacık boyutu değişimleri ..	79
Tablo 4.10: Nanoemülsiyonların 25°C oda koşulundaki damlacık boyutu değişimleri ..	80
Tablo 4.11: Nanoemülsiyonların 40°C ortamda damlacık boyutu değişimleri	80
Tablo 4.12: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki zeta potansiyeli değişimleri ..	81
Tablo 4.13: Nanoemülsiyonların 25°C oda koşulundaki zeta potansiyeli değişimleri ...	81
Tablo 4.14: Nanoemülsiyonların 40°C ortamda zeta potansiyeli değişimleri	81
Tablo 4.15: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki polidispersite indeksi değişimleri	82
Tablo 4.16: Nanoemülsiyonların 25°C oda koşulundaki polidispersite indeksi değişimleri	82
Tablo 4.17: Nanoemülsiyonların 40°C ortamda polidispersite indeksi değişimleri	83
Tablo 4.18: Nanoemülsiyonların farklı ortam koşullarındaki pH değeri değişimleri	83
Tablo 4.19: Nanoemülsiyonların farklı ortam koşullarındaki iletkenlik değeri değişimleri	83
Tablo 4.20: F4P3-L için viskozite bulguları	84
Tablo 4.21: F4P3-I için viskozite bulguları	84
Tablo 4.22: F4P3-Ç için viskozite bulguları	85
Tablo 4.23: F4P3-K için viskozite bulguları	86
Tablo 4.24: Organoleptik incelemelere ait bulguları gösteren tablo (hızlandırılmış stabilite çalışmaları)	87

Tablo 4.25: Görünüş değerlendirmesine ait bulguları gösteren tablo (uzun süreli stabilite çalışmaları).....	87
Tablo 4.26: Renk değerlendirmesine ait bulguları gösteren tablo (uzun süreli stabilite çalışmaları).....	87
Tablo 4.27: Koku değerlendirmesine ait bulguları gösteren tablo (uzun süreli stabilite çalışmaları).....	88
Tablo 4.28: Zamana bağlı olarak linalyl acetate etken maddesinin membrandan salım miktarları.....	88
Tablo 4.29: Zamana bağlı olarak terpinen-4-ol etken maddesinin membrandan salım miktarları.....	88
Tablo 4.30: Zamana bağlı olarak citronellol etken maddesinin membrandan salım miktarları.....	89
Tablo 4.31: Formülasyonların antifungal etkinlikleri.....	89

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Tırnak Anatomisi.....	3
Şekil 2.2: Distal Subungual Mantar	8
Şekil 2.3: Proksimal Subungual Mantar	9
Şekil 2.4: Beyaz Yüzeysel Mantar.....	10
Şekil 2.5: Naloc Tırnak Mantarı Solüsyonu	17
Şekil 2.6: Wartner Tırnak Mantarı Solüsyonu.....	18
Şekil 2.7: Penlac Tırnak Mantarı Cilasası.....	18
Şekil 2.8: Makroemülsiyon, Nanoemülsiyon ve Mikroemülsiyonların Farklı Parametrelerce Karşılaştırılması	22
Şekil 2.9: Nanoemülsiyon hazırlanmasında sıcaklık ve katastrofik faz inversiyonunun şematik gösterimi	26
Şekil 2.10: Doğrudan nanoemülsiyon oluşumu sırasında damlacıkların dönüşümü	26
Şekil 2.11: Yüksek enerjili emülsiyonlaştırma yöntemlerinin şematik gösterimi	30
Şekil 2.12: Spesifik sonikasyon enerjisine karşılık (emülsiyon birim kütlesi başına) iç fazın ortalama damlacık çapı	31
Şekil 2.13: Yönlendirmeli ve karşılıklı yönlendirilen akış akışlarına sahip mikro-akışkanlaştırıcıların şematik gösterimi	35
Şekil 2.14: Membran emülsifikasyonunun çeşitli tasarımları	37
Şekil 3.1: GC-MS Cihazı	55
Şekil 3.2: Diyaliz torbası ile in-vitro salım.....	56
Şekil 4.1: Lavanta uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı.....	70
Şekil 4.2: Çay ağacı uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı.....	72
Şekil 4.3: İtir uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı.....	74

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AIDS: Acquired Immuno Deficiency Syndrome

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

GRAS: Generally Recognised As Safe

FDA: Food and Drug Administration

NE: Nanoemülsiyon

mm: milimetre

µm: mikrometre

ml: mililitre

MPa: Megapascal

ATCC: American Type Culture Collection

UV: Ultraviolet

HLB: Hydrophilic-Lipophilic Balance

PIT: Phase Inversion Temperature

PIC: Phase Inversion Composition

EIP: Emulsion Inversion Point

TEM: Transmission Electron Microscope

SEM: Scanning Electron Microscope

PCS: Photon Correlation Spectroscopy

HPLC: High Pressure Liquid Chromatography

GC-MS: Gas Chromatography-Mass Spectrometry

IPM: İzopropil Miristat

MİK: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

MFK: Minimum Fungisidal Konsantrasyon

HIV: Human Immunodeficiency Virus

ÖZET

Acar, C. (2018). Mantar Tedavisine Yardımcı Yenilikçi Kozmetik Formülasyonlar Geliştirilmesi ve Etkinliğinin Test Edilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Kozmetoloji BD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

El ve ayak tırnaklarındaki mantarlarda genellikle tırnağın kalınlaşması ve sarı bir renk alması ilk dikkat çeken belirtilerdir. Bu duruma çoğunlukla *Trichophyton rubrum* dermatofiti neden olmaktadır.

Lavanta yağı, ıtır yağı ve çay ağacı yağı yapılarında bulunan bileşenlerden dolayı antifungal özelliğe sahiptirler. Tırnak mantarı tedavisinde kullanılan oral antifungal ajanların özellikle karaciğer üzerinde ciddi yan etkileri bulunmaktadır. Bu yüzden son yıllarda topikal uygulamalara önem verilmiştir. Ancak topikal uygulamalarda da antifungal ajanların hedef bölgeye gönderilmesinde zorluklar yaşanmaktadır. Bu nedenle, tez çalışmasında nanoemülsiyon teknolojisi tercih edilmiştir. Ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak esansiyel yağların nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır.

Formülasyonlara ilk önce santrifüj ve termal test uygulanmıştır ve stabil kalan formülasyonların pH değeri, viskozite, damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ölçülmüştür ve organoleptik kontrolleri yapılmıştır. Uzun süreli stabilite testlerinde 3 ay boyunca her formülasyon buzdolabı, oda şartı ve etüvde saklanmıştır. Belirli zaman aralıklarında formülasyonların pH değeri, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli değerleri ölçülmüş ve organoleptik kontrolleri yapılmıştır.

Yukarıda bahsedilen tüm testler sonucunda başarılı olan F4P3-I (ıtır), F4P3-L (lavanta), F4P3-Ç (çay ağacı) ve F4P3-K (karışım) formülasyonlarında antifungal etkinlik ve geçiş çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya göre F4P3-I, F4P3-L, F4P3-Ç, F4P3-K formülasyonlarının mantar tedavisine yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Lavanta yağı, ıtır yağı, çay ağacı yağı, nanoemülsiyon, ultrasonikasyon.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 32758

ABSTRACT

Acar, C. (2019). Development of innovative cosmetic formulations to help fungal treatment and testing the efficiency of formulations. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Cosmetology Section, Master's Thesis, İstanbul.

In the fungus of hands and toenails, the thickening of the nail and its yellow color are the first signs of attention. Fungus on the nails of the hands and feet is often caused by *Trichophyton rubrum* dermatophyte.

They have antifungal properties due to the components found in lavender oil, geranium oil and tea tree oil structures. Oral antifungal agents used for treatment of nail fungi have serious side effects especially on liver. Therefore, topical applications have been given importance in recent years. However, in topical applications antifungal agents have difficulties in sending to the target area. For this reason, nanoemulsion technology was preferred in the thesis study. Nanoemulsion formulations of essential oils were prepared using ultrasonication method.

Centrifugal and thermal test were applied as preliminary stability to the formulations and the pH value, viscosity, droplet size and polidispersity index of the formulations passing this step were measured and organoleptic controls were performed. In the long term stability test, each formulation was kept in room condition, climate cabinet and refrigerator for three months. Measurement of pH value, conductivity, viscosity, droplet size, polidispersity index, zeta potential and organoleptic controls were performed at certain period of time.

Antifungal efficacy and transition studies were performed on the formulations F4P3-I (pelargonium), F4P3-L (lavender), F4P3-Ç (tea tree) and F4P3-K (mixture) which were successful as a result of all the tests mentioned above. According to the study, it was concluded that F4P3-I, F4P3-L, F4P3-Ç, F4P3-K formulations may help in the treatment of fungi.

Key words: Lavender oil, geranium oil, tea tree oil, nanoemulsion, ultrasonication.

This Project has been supported by İstanbul University Scientific Research Project Unit.

Project No: 32758.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mantar enfeksiyonuna tutulmuş tırnaklarda kalınlaşma, ayrılma, pürüzlenme ve renk değişikliği gibi problemler görülmektedir. Tırnak hastalıklarının %50 sini oluşturur ve çoğunlukla yaşlılarda görülür (Campbell ve ark. 2004; Järv ve ark. 2004; Elewski ve ark. 1996). Tırnak hastalıkları sadece kozmetik bir problem olmayıp ağrıya da sebep olabilen ve yaşam kalitesini önemli derecede etkileyen hastalıklardır.

Tırnaklarda oluşan mantar enfeksiyonlarının % 90 ından fazlası *Trichophyton rubrum* ve *Trichophyton mentagrophytes* dermatofitleri tarafından meydana gelmektedir. Yaklaşık %5-17 arası *Candida albicans* vb. mayalar tarafından meydana gelmektedir. Dermatofitlerin meydana getirmiş olduğu invazif mantarlara “tinea unguim” adı verilmektedir (Campbell ve ark. 2004).

Distal ve lateral subungual mantar hastalığının en sık görülen formlarıdır. Hastalığın temel klinik özellikleri hiperkeratoz, diskromi, onikoliz ve orta veya lateral tırnak plağında uzunlamasına çizgilerdir (Scher ve ark. 2007; Hay ve ark. 2011).

Mantar tedavisi klinik tipine, etkilenmiş tırnakların sayısına ve enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak değişmektedir. Mantar tedavisinde çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bu tedaviler arasında tırnakların kimyasal veya mekanik olarak çıkarılması, sistemik antifungal ilaçlar ile tedavi, topikal tırnak cilaları ile tedavi veya bunların kombinasyonu şeklinde olmaktadır (Denning ve ark. 1995). Mekanik yollar veya kimyasal maddeler kullanılarak tırnakların çıkarılması uygun bir tedavi görünmesine rağmen hastada acı ve travmaya sebep olması bu tedavinin olumsuz yönleridir. Ayrıca bu tedavi türünde hastanın enfeksiyon kapma riski de yüksektir. Çoğu vakada tırnak yatağına ve tırnak plakasına nüfuz etme yeteneklerinden dolayı terbinafin, itrakonazol ve flukonazol gibi oral antifungal ajanlar kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların ortak yan etkileri arasında baş ağrıları, gastrointestinal semptomlar, mide bulantısı ve döküntüler bulunur (Kreijkamp-Kaspers ve ark. 2017). Mantar, tedavi süresi oldukça uzun süren kronik bir hastalıktır. Bu yüzden uzun süreli sistemik ilaçlarla tedavi beraberinde ciddi yan etkiler doğurmaktadır. Topikal tedavi olarak amorolfın, ciclopirox vb. genellikle çözelti formunda olan ürünler kullanılmaktadır. Topikal antifungal ajanlar daha az yan etkilere neden olma avantajına sahipken, yetersiz tırnak plağı penetrasyonları nedeniyle etkinlikleri sınırlı ve tedavi süreleri uzundur (Elewski

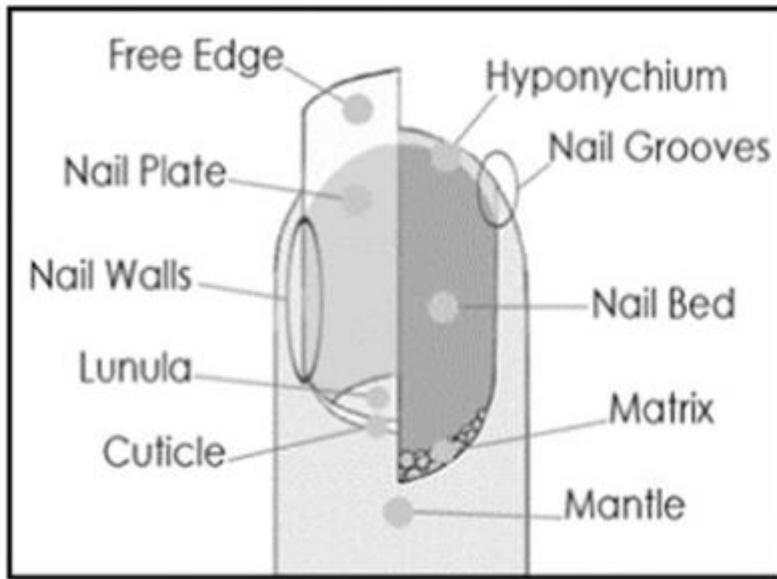
ve ark. 2013; Elewski ve ark. 2015). Topikal antifungal ajanların mantar tedavisinde etkileri olabilmeleri için tırnak yatağına minimum inhibitör konsantrasyonunda veya daha fazla bir miktarda gönderilmeleri gerekmektedir. Piyasada mantar tedavisinde topikal olarak kullanılan bazı formülasyonların içerisinde lavanta yağı, çay ağacı yağı ve ıtır yağı yer alsa da bu maddelerin nanoemülsiyon edilmiş formlarının kullanıldığı bir ürün bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasının amacı tırnak mantarı tedavisinde etken maddelerin tırnaktan daha etkili bir şekilde penetrasyonunu sağlayabilecek nanoemülsiyon formunda kozmetik formülasyonları geliştirmek, in-vitro ortamda antifungal etkinliklerini ve salım profillerini incelemektir. Bu doğrultuda lavanta yağı, çay ağacı yağı ve ıtır yağının ayrı ayrı ve üçlü karışımlarının nanoemülsiyon formları hazırlanacak ve karakterizasyon çalışmaları yürütülecektir. Başarılı olan formülasyonların *Trichophyton rubrum* dermatofiti üzerinde in-vitro antifungal etkinlikleri, nanoemülsiyon edilmiş formülasyonları ile kıyaslanacaktır. Etkili olan formülasyonların in-vitro ortamda salım çalışmaları yürütülecektir. Böylelikle etkili bir şekilde tedavi için topikal formülasyonların tırnaktan daha fazla penetre olmaları sağlanacak ve oral antifungal ajanların neden olduğu ciddi yan etkiler ortadan kaldırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tırnak Ünitesi

2.1.1. Tırnak Yapısı

Diğer canlılardaki pençelere ve tırnaklara benzeyen insan tırnakları, el becerilerimiz geliştikçe gelişmiştir. Tırnaklar, el ve ayak parmaklarının hassas uçlarını oluştururlar. El ve ayak parmaklarını hasarlara karşı korurlar ve nesnelerin tutulmasına yardımcı olurlar. Tırnaklar ayrıca estetik çekiciliğin amacına hizmet ederler. Tırnaklar saçtan farklı olarak genellikle günde 0,1 mm veya ayda 3 mm büyümektedirler. Ayak tırnaklarının yaklaşık olarak yarısı el tırnaklarının üçte biri oranında gelişir. Ayak tırnakları 8-12 ay veya daha fazla sürede yenilenirken, el tırnakları ise 4-6 ay sürede yenilenmektedir.



Şekil 2.1: Tırnak Anatomisi

Tırnak ünitesi; tırnak plağı, tırnak matriksi, tırnak yatağı, hiponychium ve ayrıca proksimal ve lateral tırnak kıvrımlarından oluşur (Gupchup ve ark. 1999; Walters ve ark. 1983; Murdan 2002).

2.1.2. Tırnak Plağı

Tırnak plağı ince (0,25-0,6 mm), sert ancak biraz esnek, yarı saydam ve keratinden meydana gelen bir yapıdan oluşur. Dışarıdan içeriye doğru dorsal, orta ve ventral tabakalar olmak üzere üç tabakadan oluşur. Dış tabaka yoğun ve dayanıklı

olması özelliklerini sağlayan mısırlı keratin hücrelerinden oluşur. Ara tabaka, tırnağın büyüme yönüne dik açılı hizalanmış lifli tabakadır. Ventral tabaka tırnak plağı ile tırnak yatağına katılır. Onlar hücrelerin adhezyonundan sorumlu çeşitli hücreler arası bağlantılar ve desmozomlar aracılığıyla birbirlerine kuvvetli bir şekilde bağlıdırlar (Kobayashi ve ark. 1999).

2.1.3. Tırnak Matriksi

Matris unguis, onikostroma veya germinal matriks olarak da bilinen tırnak matriksi tırnağın arkasındaki deri altında bulunur ve tırnak tarafından korunur. Sinirleri, lenfleri ve kan damarlarını içerir. Tırnak plağını oluşturmak için onikokeratinizasyon geçirir. Tırnak plağının şekli ve kalınlığı matriks tarafından belirlenir (Gupchup ve ark. 1999; Walters ve ark. 1983; Murdan 2002).

2.1.4 Tırnak Yatağı

Tırnak yatağı lunuladan hiponsiyuma kadar uzanan, ince, yumuşak epitel kısımdır. Tırnak plağının ventral kısmı ile temas eder. Tırnak plağının büyümesinde taşıyıcı olarak görev yapar ve plağın hiponsiyuma doğru uzamasını sağlar. Tırnak yatağı kan ve lenfatik damarlar bakımından zengindir (Weitzman ve ark. 1995).

İç dermis ve yüzeyel epidermis olmak üzere iki tip dokudan oluşur. Epidermis tırnak plağının hemen altında bulunurken dermis kemiğe bağlanır. Hem dermis hem de epidermis matris armalar olarak bilinen küçük uzunlamasına oluklarla birbirine bağlıdır. Destek için tırnağın proksimal ve lateral tarafında kutanöz kıvrımlar veya yarık benzeri yapılar bulunur. Kütikülün oluşturmuş olduğu proksimal tırnağın distal kısmı tırnağı çevresel patojenlerden ve iritanlardan korumaya yardımcı olur. Hiponyumum, tırnak plağının serbest kenarı ile parmağın derisi arasındaki tırnak biriminin kısımdır. Tırnak kökü, matriks kaynaklı ve derinin altına gömülü olan tırnağın basal kısmını oluşturur (Gupchup ve ark. 1999; Walters ve ark. 1983; Murdan 2002).

2.2. Mantar

Mantar; dermatofitlerin, mayaların ve dermatofit olmayan küflerin meydana getirdiği bir veya daha fazla tırnak ünitesinin mantar enfeksiyonunu tanımlamak için kullanılan bir terimdir (Murray ve ark. 2002). Mantar, dünya nüfusunun yaklaşık % 5 ini etkiler (Achten ve ark. 1978) ve onikopatilerin %20-40' ını ve mikotik kütanoz enfeksiyonlarının yaklaşık %30' unu temsil eder (Heikkalø ve ark. 1995). Gelişmekte

olan ülkelerde, sosyoekonomik kaygılardaki yüksek öncelikler ve diğer hastalıklar için sağlık sorunları, hekimler ve genel halk tarafından mantar konusunda düşük bir farkındalığa neden olmuştur. Gelişmiş kişisel hijyen ve yaşam ortamına rağmen, mantar yayılmaya ve devam etmeye devam etmektedir. Her ne kadar bu durumla ilişkili açıkça hastalıklı bir görünüm olsa da, mantar çoğu kez tedaviye yönelme çabalarına değmeyecek olan, nispeten önemsiz kozmetik bir problem olarak kabul edilmektedir. Bu inanış, daha önceki antifungal ajanların bazılarıyla ilişkili yan etkiler ve uzun dozlanma süreleri ile desteklenmiş olabilir. Sadece son yirmi yıl içerisinde hastaların duygusal, sosyal ve mesleki işlevselliği üzerinde önemli olumsuz etkilere sahip olabilen bu kronik yüzeysel mantar hastalığı için güvenli ve etkili sistemik tedavi rejimleri mevcuttur. Mantar nadiren yaşamı tehdit etse de, yüksek insidansı ve prevalansı ve buna bağlı morbidite onu önemli bir halk sağlığı problemi haline getirmektedir.

2.2.1. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

Mantar prevalansı ile ilgili raporlar, batı popülasyonunda %2-3 ile %13 arasında değişen tahminlerle çelişmektedir (Elewski ve ark. 1997; Bramono 2001). Tırnak bozukluklarının sık görüldüğü batı ülkelerinin aksine Güneydoğu Asya’da mantar prevalansı nispeten düşüktür. Asya’da 1990’ların sonlarında mantar prevalansının tropik ülkelerde (%3,8) subtropikal ülkelere ve ılıman bölgedeki ülkelere (%18) göre daha düşük olduğu büyük ölçekli bir araştırma ile kısmen doğrulanmıştır (Williams 1993). Mantar prevalansı yaş, predispozan faktör, sosyal sınıf, meslek, iklim, yaşam ortamı ve seyahat sıklığı ile belirlenir (Ghannoum ve ark. 2000). İnsan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonu (HIV) olan hastalarda prevalans daha yüksektir (%25) (Havu ve ark. 1997). Birçok çalışma, mantar prevalansının yaşla birlikte arttığını, bunun nedenlerinin zayıf periferik dolaşım, diyabet, tekrarlanan tırnak travması, patojenik mantarlara daha uzun süre maruz kalma, suboptimal bağışıklık fonksiyonu, inaktivite veya ayak tırnaklarını kesememe veya iyi bir ayak bakımı sağlayamama olarak göstermiştir (Bramono 2001). Yetişkinler arasında olduğu gibi, çocuklarda mantar için yaygınlık oranları oldukça değişkendir: birçok ülkede yapılan çalışmaların yakın tarihli bir gözden geçirmesi, %0’ dan (Birleşik Devletler, Galler ve Finlandiya) %2,6’ ya (Guatemala) kadar değişen yaygınlık oranları sıralamaktadır. Çocuklarda mantar prevalansındaki bu 30 kat azalmanın nedenleri, patojen içeren ortamlarda daha az zaman harcanması nedeniyle mantarlara daha az maruz kalmayı, daha hızlı tırnak büyümesini, invazyon için daha

küçük tırnak yüzeyi içermesini ve tinea pedis' in daha düşük yaygınlığını içerir (Kaur ve ark. 2007). Ancak mantarın dünya prevalansı artmaktadır. Yeni Delhi' de farklı nüfus katmanlarını temsil eden bireylerde mantar prevalansı ve risk faktörlerini değerlendiren bir çalışmada, analiz edilen hastaların %45' inde mantar prevalansı doğrulanmıştır. Bu yükselişe birtakım faktörler sebep olabilir. Birincisi, nüfus yaşlandıkça, kronik sağlık problemlerinde (diyabet) ve zayıf periferik dolaşımda bir artış vardır. İkincisi, HIV ve immünosüpresif tedavi, kanser kemoterapisi veya antibiyotik kullanımı nedeniyle immün sistemi baskılanmış kişilerin sayısı artmaya devam etmektedir. Üçüncüsü, hevesli spor katılımı, sağlık kulüpleri, ticari yüzme havuzları ve egzersizler için oklüzif ayakkabıların kullanımını arttırmaktadır (Odom 1994). Kişilerin küçük bir yüzdesinde, mantar, bağışıklık fonksiyonunda bir değişikliğe neden olan genetik bir bozukluktan kaynaklanabilir (Midgley ve ark. 1994). Enfeksiyonun kaynağı ile temas bir risk faktörü oluşturur. Mantar riskini artıran diğer faktörler tırnak ısırma da dahil olmak üzere tırnağa doğrudan travmadır. İmmün yetmezliği olan hastalarda mantar daha ciddi bir sağlık sorunu oluşturabilir (Odom 1994).

2.2.2. Etiyoloji ve Sınıflandırma

Dermatofitler, mantarlarda en sık rastlanan ajanlardır (yaklaşık %90' ı ayak tırnaklarında ve en az %50' si tırnak enfeksiyonlarında). Önceden kirletici olarak kabul edilen mayalar, tırnak enfeksiyonlarında git gide bazı küfler gibi patojen olarak daha fazla tanınmaktadır (Greer 1995). Dermatofitik mantarlar veya mantarlara neden olan küfler dışındakilerin klinik insidansı ve klinik önemi iyi bilinmemektedir. Çünkü bunlar patojenlerden ziyade kolonışan organizmalar olabilir. Non-dermatofit küfler, mantarların %1,5-6' sına neden olurlar (Elewski ve ark. 1995). Non-dermatofit küfler, tırnakları etkileyen cilt hastalığı olan ve bağışıklık sistemi baskılanmış yaşlılarda mantara en çok neden olan ikinci etkindir. Ayaklarda parmaklardan daha sık görülür. Bu mantarların çoğunluğu, sikloheksimite karşı oldukça duyarlıdır ve eğer örnek, Sabouraud glukoz agar, Littman Oxgall agar veya patates dekstroza agar gibi sikloheksimid içermeyen bir ortam üzerinde de aşılınmamışsa gözden kaçırılabilir. Mantarla ilgili dermatofitler, dermatofit olmayan küfler ve mayalar olmak üzere üç grup mantar vardır. Mantar rahatsızlığı ile ilişkili yaygın fungal ajanlar:

1. Dermatofitler

Trichophyton rubrum

Trichophyton mentagrophytes

Epidermophyton floccosum

2. Dermatofit Olmayan Küfler

Acremonium species

Alternaria species

Aspergillus species

Botryodiplodia theobromae

Fusarium species

Onychochola canadensis

Scytalidium dimidiatum

Scytalidium hyalinum

Geotrichum candidum

Cladosporium carrionii

Scopulariopsis brevicaulis

3. Mayalar

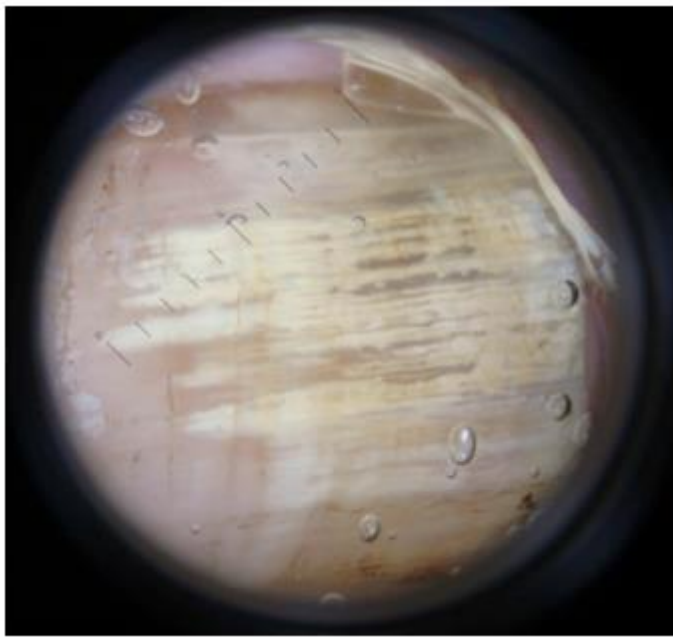
Candida albicans

2.2.3. Mantar Tipleri

2.2.3.1. Distal Subungual Mantar

En sık görülen mantar, distal lateral subungual mantar, tırnak yatağının invazyonu ve tırnak plağının alt tarafı ile karakterizedir. En iyi “tırnak yatağı dermatofitozu” olarak tanımlanır. Enfekte organizma, tırnak matriksi altında yatan proksimal boyunca göç eder. Fokal parakeratoz ve subungual hiperkeratoz sonucu hafif inflamasyon gelişir ve onikoliz ve subungual kalınlaşma ile sonuçlanır. Tırnak yatağı kornifiye olur ve normal tırnak çevresi kaybolur. Kalınlaşmış boynuzsu tabaka tırnak plağının serbest kenarını, tırnak plağının tırnak yatağına olan bağlantısını

parçalamasıyla yükseltir. Distal subungual mantar, tırnaklar, ayak tırnakları veya her ikisi üzerinde gelişebilir. Dermatofitler, dermatofit olmayan mantarların nadiren tutulumuyla nedensel ajanlar olarak baskındır. Bu tip mantara neden olan en yaygın dermatofit türleri *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* ve *E. floccosum*' dur. Distal lateral subungual mantar' daki örneklerin toplanması için ideal bölge, tırnak ucuna en yakın olan tırnak plağının alt tarafındaki tırnak yatağıdır. Distal lateral subungual mantar, tüm tırnak plağı ve yatağının da dahil olduğu total distrofik mantara ilerleyebilir.



Şekil 2.2: Distal Subungual Mantar

2.2.3.2. Proksimal Subungual Mantar

Proksimal subungual mantar veya proksimal beyaz subungual mantar olarak bilinir. Göreceli olarak yaygın olmayan proksimal subungual mantar, tırnak ünitesini tırnak yüzeyinden proksimal tırnak katmanı yoluyla istila ederek, yeni oluşturulan tırnak plağına penetre olarak, subungual hiperkeratoza, proksimal onikolize ve lökonyoya distal olarak göç ederek ve proksimal tırnak plağının yıkımına neden olarak ortaya çıkar. Distal tırnak ünitesi normal kalırken, proksimal tırnak kıvrımının fungal invazyonu genellikle beyazımsı sarı renkte bir renklenme olarak kütikül içinde görülür. Periungual inflamasyon oldukça belirgin ve ağrılı olabilir ve bazı durumlarda pürülan akıntı ile ilişkili olabilir. Bu hastalar sıklıkla bakteriyel enfeksiyonu olduğu için yanlış

teşhis edilir. Tırnakları ve ayak tırnaklarını eşit olarak etkiler. Öncelikle *T.rubrum*'dan kaynaklanır; ancak *T.mentagrophytes* ve diğer nadir nedenlerin de bu duruma neden olduğu bildirilmiştir. Proksimal subungual mantar, edinilmiş immün yetmezlik sendromu (AIDS) olan hastalarda artmış sıklıkta tanımlanmıştır. Ayak tırnakları tutulumu daha sıktır ve *T.rubrum* en sık görülen patojendir. Bu hasta popülasyonunda artan prevalansın açıklaması açık değildir. Örnek, tırnak levhasından ve proksimal tırnak yatağından mümkün olduğunca lunulaya yakın olarak alınır. Hastalığın ileri durumlarında subungual hiperkeratoz, onikomatis ve tüm tırnak plağının nihai yıkımı ve dökülmesi olabilir (Daniel 1991).



Şekil 2.3: Proksimal Subungual Mantar

2.2.3.3. Beyaz Yüzeysel Mantar

Beyaz yüzeysel mantar, daha az yaygın olan, tırnak plağının invazyonunun birincil bölgesi olduğu ayırt edici bir modeldir. Bu öncelikle mantarın tırnak plağının yüzeysel tabakalarını doğrudan istila etmesi ve *T.mentagrophytes*'in ve bazı dermatofit olmayan *Acremonium* spp., *Aspergillus terreus* ve *Fusarium oxysporum* gibi küflerin neden olduğu tırnağın yüzey enfeksiyonudur. Dış tırnak plağında iyi tanımlanmış opak ‘‘beyaz adalar’’ ın varlığıyla fark edilebilir. Bunlar hastalık ilerledikçe yayılır, bu da tırnağın pürüzlü, yumuşak ve ufalanabilir bir şekilde ortaya çıkmasına neden olur. Beyaz yüzeysel mantar hastalarında canlı doku tutulmadığı için genellikle inflamasyon minimaldir. Beyaz yüzeysel mantar öncelikle ayak tırnaklarında görülür. Ayrıca immün yetmezlik sendromu olan hastalarda da bulunabilir. Tırnak plağının yüzey kazıntıları, mantarları göstermek için ideal örneklerdir.



Şekil 2.4: Beyaz Yüzeysel Mantar

2.2.3.4. Kandidal Mantar

Kandida tırnak enfeksiyonları kronik mukokutanöz kandidiyazisli hastalarda ortaya çıkar ve mayanın neden olduğu mantar vakalarının %70' inde *C. albicans* neden olur; *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* olguların geri kalanı için sorumludur. Ayak tırnaklarının ve tırnakların her ikisi de dahil olabilir (Elewski 1998). Organizma tırnak plağını doğrudan işgal eder ve üç alt tipe sahiptir:

Kandida paronişi: Bu en yaygın tiptir ve “beyazım” olarak da adlandırılan proksimal ve lateral tırnak kıvrımlarının şişmesi ve eritemiyle işaretlenir. Tırnak matriksinin enfeksiyonu meydana geldikten sonra, tırnak plağında konveks, düzensiz ve pürüzlü ve sonuçta distrofik hale gelen enine çöküntüler (Beau çizgileri) meydana gelebilir.

Kandida granülomu: Bu tip nadirdir ve tırnak plağının doğrudan invazyonu ve kalınlaşması ile karakterizedir. Bu durum bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda görülür. Organizma, tırnağın bütün kalınlığını etkileyebilir, bu durum, basamağın bir yalancı topaklanma veya “tavuk baget” görünümü geliştirene kadar proksimal ve lateral tırnak kıvrımlarının şişmesine neden olacak ileri vakalara neden olabilir. Hem tırnak plakalarından hem de enfekte olmuş tırnağın subungual kalıntılarından örnek almak faydalıdır.

Kandida onikoliz: Tırnak plakasının tırnak yatağından ayrıldığı zaman ortaya çıkar. Distal subungual hiperkeratoz, tırnak plağını kaldırarak sarımsı gri bir kitle olarak görülebilir. Lezyon, distal subungual mantar' lı hastalarda görülene benzerdir.

2.2.3.5. Total Distrofik Mantar

Bu tipte, genellikle mantarın dört ana modelinden herhangi birinin sonucu olabilecek tırnak plağının tamamen tahribi vardır. Tüm tırnak ünitesi kalın ve distrofik

hale gelir. Total distrofik mantar, son dönem tırnak hastalığını tanımlamak için kullanılır, ancak bazı klinisyenler farklı bir alt tip olduğunu düşünürler.

2.2.4. Mantar Tanısı

Mantarın klinik tanısı hastanın hikayesine, fiziki muayenesine, mikroskopi ve tırnak örneklerinin kültürüne dayanır. Diyabet, yaşlılık, hiperhidroz, onikoglifores, tırnak travması, zayıf periferik dolaşım gibi predispozan faktörlerin mevcut olması muhtemeldir. Mantar tırnak enfeksiyonlarını taklit edebilen birkaç tırnak bozukluğu, en uygun tedaviyi başlatabilmek için birbirinden ve mantardan ayrılmalıdır. Bunlar psoriasis, liken planus, bakteriyel enfeksiyonlar, kontakt dermatit, travmatik onikodistrofi, paronişi konjenital, tırnak yatağı tümörleri, sarı tırnak sendromu, idiyopatik onikoliz vb. durumlar olabilir. Mantarın tanısında birtakım aşamalar vardır. Bunlar örneklerin toplanması, analizi ve tırnak mantarına neden olan türlerin ortaya çıkarılması gibi aşamalardır.

2.2.4.1. Örnek Toplanması

Doğru tanı ve uygun bir tedavinin başlatılabilmesi için uygun bir örnek toplanması gereklidir. Numune toplama işleminin ilk adımı, kirleticileri gidermek için tırnak bölgesinin alkol ile iyice temizlenmesidir.

Distal subungual mantar için, anormal tırnak proksimal olarak kesilir ve tırnak yatağı ve tırnak plakasının alt kısmı 1-2 mm dişli bir küretle kazınır; en dıştaki enkaz atılmalıdır. Canlı hipha olasılığının en yüksek olduğu tırnak eteğine en yakın olan enfekte olmuş kenardan tırnak malzemesinin elde edilmesi önemlidir.

Proksimal subungual mantar için, tırnak plağının normal yüzeyi no:15 cerrahi bıçakla kısaltılır ve beyaz enkaz, plakanın ve proksimal tırnak yatağının derinliklerinden keskin bir küretle toplanır.

Beyaz yüzeysel mantar için, tırnaktaki beyaz lekeler kazınır ve en dıştaki yüzey atılır; doğrudan altındaki beyaz enkaz sonra toplanır.

Candida enfeksiyonu için, proksimal ve lateral tırnak kenarlarına en yakın materyal elde edilmelidir. Eğer candida onikolizden şüpheleniliyorsa, kaldırılmış tırnak yatağı ve gerekirse tırnak plakasının alt yüzeyi kazınır.

Total distrofik mantar için, örnek olarak tırnak plağının veya yatağın herhangi bir anormal alanı kullanılabilir.

Örnek alınan materyaller doğrudan mikroskopi için ve diğeri kültür olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Eğer tırnak materyali kullanılacaksa, büyük parçalar yerine ince talaşlar veya küçük saçaklar tercih edilir.

2.2.4.2. Örnek Analizi

Etiyolojik ajanın kesin olarak tanımlanması için hem doğrudan mikroskopi hem de örneklenmiş materyal kültürü gereklidir. Doğrudan mikroskopi, sadece mantarların varlığı veya yokluğu için bir tarama testi olarak kullanılır; kültür aslında patojenlerin ayırt edilmesinde ve etiyolojik ajanın tanımlanmasında yardımcı olabilir. Doğrudan mikroskopi genellikle zaman alıcıdır. Çünkü tırnak döküntüleri kalındır ve kaba ve hifler genellikle seyrekler. Ayrıca yaklaşık %5 ile %15 oranında yanlış negatif sonuç olasılığı da vardır. Örnek, %10 ile %30 KOH veya %5 gliserol ile karıştırılmış NaOH çözeltisine monte edilebilir, lipitleri emülsifiye etmek için ısıtılır ve 40x objektif lens altında incelenir. Alternatif bir formülasyon %20 KOH ve %36 DMSO' dan oluşur (Elewski 1998).

Tırnak örneklerini kültürlemek için iki farklı ortam kullanılır. Birinci ortam, çoğu non-dermatofit küf ve mantarlara karşı seçici olan sikloheksimid içeren dermatofit test ortamıdır. İkinci ortam ise sikloheksimid içermeyen, dermatofit olmayan tırnak patojenlerinin izolasyonuna izin veren Sabouraud glikoz agarı, Littman' ın oxgall ortamı ve patates dekstroza agarıdır.

2.2.5. Mantar Tedavisi

Mantar tedavisinin temel amaçları arasında patojenlerin yok edilmesi, sağlıklı tırnakların restorasyonu ve nüksün önlenmesi yer almaktadır. Mantar tedavisi klinik tipe, tutulan tırnakların sayısına ve enfeksiyonun ciddiyetine bağlıdır. Oral tedavilerin genellikle ilaç etkileşimleri ve potansiyel hepatotoksiteden dolayı etkilerinin sınırlı olması, topikal antifungaller kullanıldığında ise tırnak plağı debridmanı kullanılmıyorsa etkinin sınırlı olması tedavilerin dezavantajlarındandır. Hem sistemik tedavi hem de topikal tedavinin kombinasyonu çoğu zaman en iyi seçimdir (Piraccini ve ark. 2015).

2.2.5.1. Sistemik Tedavi

Sistemik tedavi ile topikal tedavi arasında karar vermek gerekirken birçok parametre göz önünde bulundurulmalıdır. Bu parametrelerden bazıları, lunular veya matriks tutulumu varsa, toplam şiddet (tırnak tutulumu sayısı), hastanın risk faktörleri (hepatik, kalp, vb.), eşlik eden ilaçlar ve CYP450 için ilaç etkileşimleri potansiyeli, alkol alımı ile yaşam tarzı seçimleri, laboratuvar için hasta güvenilirliği, takip ve izleme ve tabii ki hastanın tercihi, endişeleri ve korkularıdır (Baudraz-Rosselet ve ark. 2010).

Son on yılda, mantar tedavisi için farklı topikal antifungal ajanlar tanıtılmıştır. Oral antifungal ajan olarak Griseofulvin, Ketokonazol, Itrakonazol, Flukonazol ve Terbinafin yaygın olarak kullanılmaktadır.

Griseofulvin 1958 yılında tanıtılmış olup, ilk oral antifungal ajandır. Mantar tedavisinde büyük bir ilerleme olarak görülmüştür. Ancak klinik pratikte potansiyeli tam olarak gerçekleştirilememiştir. Klinik ve mikolojik iyileşme gerçekleşene kadar tedaviye devam edilmesi gerekir. Enfekte tırnağın tamamen sağlıklı tırnağa dönmesi tırnağın büyüme hızına bağlıdır ve normalde tırnak enfeksiyonlarının tedavisi için 4-6 aylık, ayak tırnaklarındaki enfeksiyonlar için ise 12-15 aylık tedavi gereklidir.

Griseofulvin ile ciddi yan etkilerin görülme sıklığı düşüktür. Griseofulvin ile karşılaşılan en yaygın advers reaksiyonlar baş ağrısı ve gastrointestinal intoleransdır. Daha az yaygın advers etki olarak ürtiker ve ışığa duyarlılık görülmektedir. Hepatotoksisite de gözlemlenmiştir (Meinhof 1993; Epstein ve ark. 1972; Davies ve ark. 1967; Hay 1993).

Ketokonazol ilk oral olarak aktif imidazol ilaçtır. Çoğu yüzeysel dermatofitleri ve kandida türlerini kapsayan geniş bir spektruma sahiptir. Ketokonazolün üyesi olduğu azol ilaçları, lanosterol oluşumunda sitokrom P450' ye bağlı demetilasyon aşamasını bloke ederek çalışırlar. Bu sırasıyla mantar hücre zarında ergosterolün oluşumunu engeller ve böylece lanosterol ve toksik metabolitler birikir. Bu birikim hücre zarında akışkanlığın artmasına ve sonunda hücre erimesine yol açar (Meinhof 1993; Hay 1993).

Ketokonazol, keratin için yüksek bir afiniteye sahiptir. Tırnaklarda ketokonazolün tedavi sonrası seviyelerinde hiçbir çalışma yapılmamasına rağmen, tedavinin başlamasından 11 gün sonra distal tırnakta ketokonazol saptanmıştır. Yüksek doku seviyesi ve keratine olan yüksek afinitesi yüzünden ketokonazol mantar tedavisi için umut verici bir ajandır (Meinhof 1993). Griseofulvin' e göre daha az yaygın

olmakla birlikte gastrointestinal intolerans yan etkisi görülmektedir. Ketokonazolün en rahatsız edici yan etkisi, ilaca bağlı hepatitin kendine özgü bir şeklidir. En az yedi adet karaciğer yetmezliği vakası raporlanmış olup ve bu vakalardan biri ölümle sonuçlanmıştır (Knight ve ark. 1991). Karaciğer iltihabından dolayı, ketokonazol onikomikoz tedavisinde nadiren kullanılmaktadır. Ketokonazol ilk imidazoldür ve kandida'ya karşı etkilidir ancak yan etkileri (özellikle karaciğer iltihabı) ile sınırlıdır (Botek 2003).

Itrakonazol, yeni triazol antifungal ilaçlardan biridir; mantar da dahil olmak üzere çeşitli mikozlar için kullanılmıştır. Mantar enfeksiyonlarında, kandida tırnak enfeksiyonlarının yanı sıra daha önceden yanıt vermeyen dermatofitlerin tedavisinde etkili bulunmuştur (Hay ve ark. 1988). Her ne kadar itrakonazolün etki şekli ketokonazol ile görülene benzer olsa da (Fromtling 1988), mantar hücresinin içinde bulunan sitokrom P450' ye özgü olduğu görülmektedir. İlaç penetrasyonu ve tırnağa bağlanmasından dolayı itrakonazol çalışmaları başka bir heyecan verici gerçeğe dikkat çekmektedir. Itrakonazol lipitte çözünür bir ilaçtır, tırnak yatağı yoluyla tırnağa penetre olmakta ve oradan da hızlı bir şekilde tırnak matrisine nüfuz eder (Matthiew ve ark. 1991).

En sık görülen yan etkiler minor gastrointestinal rahatsızlık ve baş ağrısı olarak bildirilmiştir (Alcantara ve ark. 1988). Rifampisin, fenobarbital ve fenitoin gibi mikrozomal enzim indükleyici ajanların muhtemelen enzim indüksiyonu yoluyla itrakonazolün kan ve doku seviyelerinde bir düşüş meydana getirdiği gözlemlenmiştir.

Bu etkileşimin sonucu olarak, antifungal tedavinin başarısızlığı bildirilmiştir (Grant ve ark. 1989).

Triazol grubunun bir başka azol antifungal ilacı olan flukonazol temel olarak sistemik hastalık veya yüzeysel kandidiyazis tedavisinde kullanılır (Fromtling 1988). Flukonazol, mantar tedavisi için FDA tarafından onaylanmak üzere reddedilmiştir. Bununla birlikte etkinliği hakkında bir çok vaka raporu vardır (Coldiron 1992; Nahss ve ark. 1993).

Flukonazolün azol antifungalleri içerisinde suda çözünübilirliği alışılmadık bir durumdur ve bu durum tırnağa hızlı bir şekilde nüfuz etmesini sağlar. Flukonazol ilaç seviyeleri tedavide 48 saat içerisinde tırnaklarda tespit edilebilir (Hay 1988). Haftada bir kez 150 mg olmak üzere 6 ay boyunca verilen flukonazolün mantar tedavisinde

başarılı olduğu raporlanmıştır (Nahss ve ark. 1993). Flukonazolün özellikle gastrointestinal olmak üzere düşük yan etkileri vardır.

Terbinafin mantar tedavisi için 1996 yılında onaylanmıştır. Ergosterolün biyosentetik yolunun başlarında önemli olan fungal enzim skualen epoksidazı inhibe eden allilamin antifungal ilaçlar grubunun bir üyesidir. Ergosterol, zar bütünlüğü ve ayrıca büyüme için gerekli olduğu için hemen hemen tüm mantar hücrelerinin temel bir bileşenidir. Terbinafin tarafından yapılan inhibisyonun bir sonucu olarak, mantar hücreleri hızlı bir şekilde ara skualeni biriktirmekte ve son ürün ergosterolde eksik kalmaktadır. Bu mantar hücre zarının anormal gelişmesine yol açar ve düşük konsantrasyonlar bile terbinafin üzerinde mantar öldürücü etki yapar (Petranyi ve ark. 1984).

Terbinafin imidazoller gibi sitokrom P450 enzimlerini etkilemez. Terbinafin mantara neden olan tüm dermatofitlere karşı in-vitro olarak aktiftir. Kandida' ya karşı bir etkinliği olsa da, dermatofit olmayan küflere karşı hiçbir etkinliği olmadığı görülmektedir. Yan etkileri ağırlıklı olarak hafif-orta derecede gastrointestinal semptomlar, hafif-orta derecede baş ağrıları ve deri döküntüleridir.

Terbinafin oldukça lipofilik ve keratofiliktir; adipoz doku, dermis, epidermis ve tırnaklara yaygın olarak yayılır. Araştırmalar terbinafinin normal ve anormal (mantar) tırnaklara hızlı bir şekilde nüfuz ettiğini göstermiştir.

2.2.5.2. Topikal Tedavi

Mevcut antifungallere odaklanarak topikal antifungallerin yeni formülasyonlarının geliştirilmesi ve yeni ajanları formüle etme çalışmaları, son yıllarda etkili bir topikal modaliteye belirgin bir ihtiyaç olduğu için devam etmektedir. Yeni topikal formülasyonlar, yeni teknoloji taşıyıcı sistemler sayesinde aktif antifungallerin optimal uygulanması ile çok umut verici görünmektedirler. Bir ilacın etkinliğinin belirlenmesinde, tırnak plağına ve tırnak yatağına giriş yolu hayati bir rol oynar. Oral ajanlar, kan akışında minimum inhibitör konsantrasyonunun üzerinde antifungal seviyelere ulaşarak tırnak yatağına ulaşırlar (Gupta ve ark. 2015).

Topikal cıllar için ilaç dağıtımının birincil yolu, tırnak plakasının dorsal yönüne ajanın uygulanması ve daha sonra altta yatan tırnak yatağına nüfuz etmesidir. Tırnak penetrasyonunda artışa yol açan çözümleri ve düşük yüzey gerilimine sahip

olmalarından dolayı ABD’ de mantar tedavisi için onaylanmış yeni topikal ajanlar, tırnak plakası ve tırnak yatağı arasındaki boşluktan nüfuz ederler. Penetrasyonun artmasında düşük yüzey gerilimine, klinik başarıya ulaşılmasında ise tırnak yatağına çift yönlü teslimatın olduğuna inanılmaktadır (Bhatt ve ark. 2015). Bu yol, tırnak plağının kalınlığını dolaştırarak ilacın verilmesi için önemli bir araçtır.

%8’ lik topikal ciclopirox kullanımı hem klinik çalışmalarda hem de pratikte düşük temizleme yüzdeleri ile hayal kırıklığına uğratmıştır (Gupta ve ark. 2000). Zayıf tırnak penetrasyonuna sahip olması etkinliğini sınırlandırmış olup, ciclopirox hastalığın daha hafif vakalarına ayrılmıştır (Rogers ve ark. 2001).

Efinakonazol, dermatofitlere, non-dermatofitlere ve mayalara karşı geniş bir aktivite yelpazesine sahiptir. *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* ve *C. albicans* da dahil olmak üzere en yaygın patojenlere karşı çalışır ve mevcut antifungallerden daha güçlü olduğu bulunmuştur (Jo Siu ve ark. 2013; Rodriguez 2015).

Elewski ve ark. mantar hastalığına sahip 11 denek üzerinde bir günlük bir çalışma yürütmüşlerdir (Elewski ve ark. 2014). Onlar, %10’ luk efinakonazol topikal solüsyonunu ayak tırnağının distal ucuna flüoresan ile uyguladıktan sonra tırnak plağı ile tırnak yatağı arasındaki alt deri boşluğuna yayılma yeteneğini değerlendirdiler. Bu çalışmanın avantajları, ilaçların UV ışığında yerini gösteren yayınladıkları fotoğraflardır. Hem gözle görülür hem de UV ışığında yapılan değerlendirmeler, taşıyıcının, tırnak yatağı da dahil olmak üzere taşıyıcının yayıldığı her yerde flüoresan bırakılmasıyla, subungual boşluğa ulaştığını göstermiştir.

2013 yılında, iki adet çok merkezli, randomize, çift kör araç kontrollü 52 haftanın üzerinde ve ayak tırnağı distal lateral subungual mantarı olan 1655 katılımcı üzerinde çalışma yapılmıştır (Elewski ve ark. 2013). Hastalar efinakonazole veya araç grubuna randomize edildi (3:1) ve 48 hafta boyunca günde bir kez uygulandı, dört haftalık bir tedavi sonrası ziyaret edilerek takip edildi. Çalışmanın birincil bitiş noktası tam bir tedaviydi, negatif potasyum hidrokisit incelemesi ve 52. haftada negatif mantar kültürüne ek olarak hedef ayak tırnağının klinik tutulumunun olmamasıdır. Mikolojik iyileşme oranı %56 idi; önemli ölçüde araç grubundan fazlaydı. 52. hafta takip ziyaretinde, her iki çalışmada da deneklerin neredeyse yarısı, efinakonazol ile tedavi başarısı göstermiş, deneklerin yaklaşık %50’ sinde ayak tırnağı %90 oranında

temizlenmiştir. Dahası, ciclopirox ile yapılan önceki çalışmaların aksine, etkinlik günlük debridmana bağlı değildi.

Tavaborole, protein sentezi inhibitörlerinden oluşan, antifungal özellikler gösteren yeni bir antifungal sınıfı temsil eder (Alley ve ark. 2007). *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* ve Tavaborole' nin neden olduğu mantar tedavisi için onaylı yeni, bor bazlı bir topikal ajandır (Kerydin 2014). Tavaborole, fungal protein sentezinin inhibisyonu ve fungal hücrenin yok oluşuyla sonuçlanan lösil-Trna-sentetazı inhibe eder (Rock ve ark. 2007). İki faz-III çalışmasında, %20 ila %60 oranında etkilenen hafif ve orta şiddette distal lateral subungual mantarı olan hastalarda hedeflenen ayak tırnağına 2:1 tavaborole veya araçla 48 hafta boyunca günde bir kez randomize edildi. Negatif mikoloji oranlarını (%31,1- %35,9, %7,2- %12,2) ve tam tedaviyi (%6,5- %9,1 %0,5- %1,5) buldular. Bu yüzden 48 haftalık tedaviden sonra oranlar araçtan önemli ölçüde daha iyiydi (Elewski ve ark 2015). Ayrıca tavaborole' nin ciclopirox' a göre tırnak plağından yaklaşık 250 kat daha fazla nüfuz ettiği bulundu (Hui ve ark. 2007).

2.2.6. Mantar Tedavisinde Kullanılan Piyasa Ürün Örnekleri

2.2.6.1. Naloc Tırnak Mantarı Solüsyonu

Propilen glikol, üre ve laktik asit içeren patentli bir bileşime sahiptir (Şekil 2.5). Ciddi bir düzelme elde edilebilmesi için en az 3-6 ay kullanılması önerilir.



Şekil 2.5: Naloc Tırnak Mantarı Solüsyonu-naloc.com.tr

2.2.6.2. Wartner Tırnak Mantarı Solüsyonu

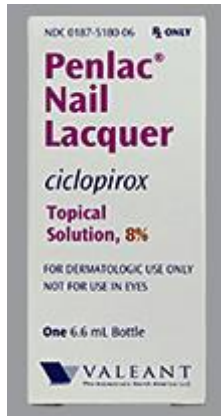
Etki mekanizması enfeksiyonun daha fazla yayılmasını ve büyümesini önleyen bir film oluşturan silikon yağlara dayanmaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Wartner Tırnak Mantarı Solüsyonu-wartner.eu

2.2.6.3. Penlac Tırnak Mantarı Cilası

İçerisinde %8 sentetik antifungal ajan ciclopirox içerir (Şekil 2.7). Dermatofitlerin neden olduğu tırnak mantarı tedavisinde kullanılır.



Şekil 2.7: Penlac Tırnak Mantarı Cilası-webmd.com

2.3. Antifungallerin Etki Mekanizması

2.3.1. Ergosterol Sentez İnhibisyonu

Allilamin grubu antifungal ajanlar ergosterol sentezini erken bir basamakta inhibe ederler. Bu grup ajanlar squalen epoksidaz enzim inhibisyonu ile antifungal etki gösterirler. Enzim inhibisyonu sonucu sonraki basamaklar gerçekleşmediğinden ergosterol oluşumu durdurulur. Ergosterol üretiminin durması fungistatik bir etki oluşturur. Ergosterol üretimi durunca prekürsörler ortamda birikirler. Fungisidal etki squalenin ortamda birikmesi sonucu oluşur.

Azol grubu antifungal ajanlar 14α -dimetilaz inhibisyonu yaparak lanosterolün ergosterole dönüşümünü engellerler. Sonuç olarak membran yapısı ve fonksiyonu değişir. Bu fungistatik etki ile birlikte prekürsörlerin ortamda birikmesi sonucu fungisidal etki de gerçekleşir.

Morfolin bileşikleri $\Delta 14$ -redüktaz ve $\Delta 8$ - $\Delta 7$ -izomeraz inhibisyonu yaparlar. Böylece ergosterol yapısı değişir ve plazma membranının normal fonksiyonları değişir.

2.3.2. Ergosterol Engellenmesi

Polienlerin lipofilik kısımları ergosterol ile etkileşir. Sekiz polienin oligomerizasyonu sonucu sulu porlar oluşur. Sulu porların oluşumu membranın permeabilitesini artırır. Sitoplazmatik moleküller hücre membranından hücre dışına çıkarlar. Bu durumda fungisidal bir etki sağlar.

2.3.3. Glukan Sentezinin İnhibisyonu

Kandınlar tarafından hücre duvarı yapısındaki makromoleküllerin sentezi inhibe edilir. Bu durumda hücre duvarı fonksiyonunu etkileyerek fungisidal bir etki sağlar.

2.3.4. Nükleik Asit Sentezinin İnhibisyonu

Flusitozin, bir nükleik asidini taklit ederek protein sentezini ve DNA replikasyonunu engeller. Flusitozin fungal sitosindeaminaz ile 5-flurourasil'e dönüştürülür. RNA zincirine urasil yerine bir analogunun girmesi fungal protein sentezini engeller (Tanrıverdi 2012).

2.4. Transungual İlaç Sistemleri

Tırnağın fizikokimyasal özellikleri, tırnağın stratum korneum gibi lipofilik membranın aksine bir hidrofilik jel membranı gibi davrandığını gösteren çeşitli

deneylerde kanıtlanmıştır. İnsan tırnak plakasında tırnak aparatının görünen kısmı buradan ilacın penetrasyonundan sorumludur (Bhowmik ve ark. 2012). Tırnak plağının yapısı ve bileşimi, ilaçların penetrasyonunu yüksek oranda engeller ve ilaçların bir kısmı penetre olabilir.

Topikal uygulama ilk geçiş metabolizmasını atlar ve hedef bölgede ilacın biyoyararlanımını artırır. Ayrıca, topikal yol sistemik yan etkilere sahip değildir ve depo oluşumu yoluyla ilacın kontrollü ve uzun süreli salınımını sağlar. Topikal uygulama bu nedenle oral yolla karşılaştırıldığında daha fazla biyoyararlanım ve daha hızlı etki başlangıcı gösterir. İlacın tırnak yoluyla topikal olarak verilmesi, transungual ilaç iletimi olarak da bilinir. “Transungual” kelimesinde “trans” geçiş, “ungual” ise tırnak anlamına gelmektedir (Khanna ve ark. 2012; Baran ve ark. 2003; Gupta ve ark. 2000).

Topikal tedavi kazançlı bir seçenektir. Bununla birlikte, non-invaziv olması nedeniyle etki bölgesini hedefleyen ilaç, sistemik advers olayların ve ilaç etkileşimlerinin ortadan kaldırılmasını, hasta uyumunun artmasını ve azaltılmış tedavi maliyetini mümkün kılar (Kumar ve ark. 2014).

Nüfusun yaklaşık %19’ unu etkileyen mantar tedavisinde öncelikle topikal terapötikler için tırnak geçirgenliğinin önemi anlaşılmıştır. Topikal transungual salımdaki son gelişmeler antifungal cilalar ile gelmiştir. Tırnağa nüfuz etme konusundaki güncel araştırmalar, kimyasal işlemler ve penetrasyon arttırıcılar vasıtasıyla tırnak plakası bariyerini değiştirmeye odaklanmaktadır. Fiziksel ve mekanik yöntemler de incelenmektedir (Firoz ve ark. 2011).

2.4.1. İlaçların Tırnaklardan Difüzyonunu Etkileyen Faktörler

2.4.1.1. Tırnakların Fizikokimyasal Özellikleri

Tırnak bir keratin proteini ağından oluşur. Keratin filamanları, tırnak büyüme düzlemi ile çapraz olarak hizalanır. Bu tip bir düzenleme tırnak plağına sertlik kazandırır. Ayrıca keratin filamanları, çeşitli disülfür bağları, hidrojen bağları ve tırnağın bariyer gibi bütünlüğünün korunmasından sorumlu elektrostatik köprülerle birbirine bağlanır. Tırnak ne kadar kalınsa ilacın penetrasyonu için direnç o kadar fazladır. Tırnaklar, kendilerine esnek bir yapı kazandıran fosfolipitlerden oluşur. Lipidler hidrofilik karakteri tırnak plağına verir. Dolayısıyla penetrasyon hidrofobik

moleküller için hız sınırlayıcı bir adımdır. Su, tırnak için plastikleştirici görevi görür; tırnağa hassasiyet ve esneklik kazandırır (Firoz ve ark. 2011; Elkeeb ve ark. 2010; Pandhi ve ark. 2012).

İlaçların tırnaklardan geçişinde aktif moleküllerin fizikokimyasal özellikleri de önemli bir rol oynamaktadır.

2.4.1.2. Çözünen Molekül Boyutu

Tırnak plakası, disülfür bağları ile birleştirilen kapsamlı keratin şeritleri ağından oluşur; şeritler arasındaki mesafe tırnak plağının moleküler elek gibi çalışmasına neden olacak şekilde sınırlı bir boyuta sahip olmalıdır. Küçük moleküller bu boşluklardan kolayca geçerken daha büyük moleküller kısıtlanır. Moleküler büyüklük arttıkça, keratin tellerinden nüfuz etme direnci yüksektir. Bu nedenle, formülasyon açısından, ilacın optimum parçacık büyüklüğü zorunludur.

2.4.1.3. Hidrofiliklik/Hidrofobiklik

Tırnak plağının düşük moleküler ağırlıklı homolog alkollerle yüksek moleküler ağırlıklı alkollere kıyasla geçirdiği gözlenmiştir. Hidrofobik maddelerin nüfuz oranı düşüktür; tırnak plağı selektif olarak polar maddelerin nüfuz etmesini polar olmayan maddelere kıyasla kolaylaştırır. Walters ve ark. tarafından geçirgenlik karakterini araştırmak için yapılan çalışmalarda karbon atomlarının sayısının birden sekize çıkarılmasında, geçirgenlik katsayısı azalmıştır. Zincir uzunluğu artarken on iki karbon atomu geçirgenlikte bir artış göstermiştir.

2.4.1.4. İyonlaşma

Zayıf asit veya bazik maddelerin iyonik karakteristikleri formülasyonların pH değerine bağlıdır. Etraftaki pH değerindeki değişim, aynı zamanda çözünürlüğünü ve geçirgenlik karakteristiğini değiştirerek hidrofilik/hidrofobik karakteri de etkileyen maddelerin iyonlaşmasını değiştirir. Çalışmalar, benzoik asidin tırnak plağı içinden geçirilmesinin, ortamın pH değerindeki değişikliklerle değiştiğini göstermiştir. Ortamın pH'ının 2.0' dan 8.5' e çıkarılmasıyla, benzoik asidin geçirgenlik katsayısının %95,5 azaldığı ve gecikme süresinin arttığı bulundu (Firoz ve ark. 2011; Elkeeb ve ark. 2010; Pandhi ve ark. 2012).

2.4.2. Transungual İlaç Sistemlerinde Zorluklar

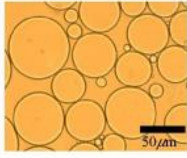
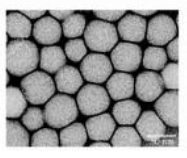
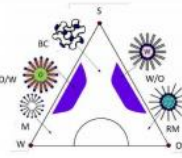
Tırnak hastalıklarının tedavisi için ilaçların topikal olarak tırnak plağı içinden difüzyonu uygundur; bununla birlikte topikal tedavilerin performansı aşılması gereken kendi zorluklarıyla sınırlandırılmıştır. Etkili bileşenin performansını doğru miktarda ve zamanda arttırmak üzerine yeni yaklaşımlar araştırılmaktadır.

Son yıllarda aktif bileşenlerin tırnak plağından geçişini kolaylaştırmak adına aktif maddenin partikül büyüklüğünü azaltmak için nanoemülsiyon çalışmaları üzerinde durulmuştur (Elkeeb ve ark. 2010).

2.5. Nanoemülsiyonlar

Nanoemülsiyonlar, 50-1000 nm arasında değişen ortalama damlacık çaplarına sahip su içinde yağ (o/w) emülsiyonlarıdır. Ortalama damlacık boyutları genellikle 100-500 nm arasındadır. Parçacıklar, su içinde yağ ve yağ içinde su formları olarak bulunabilir, burada parçacığın çekirdeği sırasıyla yağ veya sudur.

Nanoemülsiyonlar, insan tüketimi için onaylanmış yüzey aktif maddelerden ve FDA tarafından onaylanmış “Genellikle Güvenli Olarak Kabul Edilen” (GRAS) yaygın gıda maddeleri tarafından yapılır. Bu emülsiyonlar, suya karışmayan bir yağ fazının, yüksek kayma gerilimi altında bir sulu faz ile karıştırılmasıyla veya dünya çapında mevcut olan mekanik ekstrüzyon işlemi kullanılarak büyük miktarlarda üretilir (Shah ve ark. 2010).

	macroemulsions	nanoemulsions	microemulsions
			
size	1-100 µm	20-500 nm	10-100 nm
shape	spherical	spherical	spherical, lamellar
stability	thermodynamically unstable, weakly kinetically stable	thermodynamically unstable, kinetically stable	thermodynamically stable
method of preparation	high & low energy methods	high & low energy methods	low energy method
polydispersity	often high (>40%)	typically low (<10-20%)	typically low (<10%)

Şekil 2.8: Makroemülsiyon, Nanoemülsiyon ve Mikroemülsiyonların Farklı Parametrelerce Karşılaştırılması (Gupta ve ark.)

Nanoemülsiyonlar, ayrıca mini emülsiyonlar, ultra ince emülsiyonlar ve mikron altı emülsiyonlar olarak da adlandırılır. Faz davranışı çalışmaları, damlacıkların boyutunun sıcaklık veya kompozisyon ile indüklenen inversiyon noktasında sürfaktan faz yapısı (iki kademeli mikroemülsiyon veya lamel) tarafından yönetildiğini gösterir.

Nanoemülsiyonların büyük miktarlarda hidrofobik çözülme kapasitesi, karşılıklı uyumlulukları ve ilaçları hidroliz ve enzimatik bozunmalardan koruma kabiliyetleri, onları parenteral taşıma için ideal araçlar haline getirmektedir. Ayrıca, enjeksiyonların sıklığı ve dozu ilaç tedavisi süresince azaltılabilir, çünkü bu emülsiyonlar uzun süre boyunca sürekli ve kontrollü bir şekilde ilaç salınımını garanti eder. Ayrıca, büyük yüzey alanı ve serbest enerji sayesinde büyük partikül büyüklüğüne sahip emülsiyonlara karşı flokülasyon, sedimantasyon ve kremalaşma eksikliği gibi avantajlar sunar.

Nanoemülsiyonların çok büyük arayüzey alanları, ilaç taşımacılığını ve dağıtımlarını olumlu yönde etkilerken, ilaçların belirli bölgelere hedeflenmelerini sağlar (Ravi ve ark. 2011; Anton ve ark. 2009).

Damlacık boyutlarının nano ölçeğe indirgenmesi, optik saydamlık ve olağandışı elastik davranış gibi çok ilginç bazı fiziksel özelliklere yol açar. Nanomalzemeler dünyasında, nanoemülsiyonlar sıvıdan yüksek oranda değişen akış özelliklerine ve opaktan neredeyse saydamlığa kadar değişen optik özelliklerinden dolayı deforme olabilen nano-ölçekli damlacıkların faydalı dispersiyonlarının kullanımı gibi yüksek vaatler vermektedir. Dahası, nanoemülsiyonların tipik olarak nano yapıli liyotropik mikroemülsiyon fazları için gerekenden önemli ölçüde daha az yüzey aktif madde kullanılarak formüle edilebilmeleri onların ticari olarak giderek daha önemli bir rol oynamalarını sağlar. Nanoemülsiyonlar, çok fazlı kolloidal dağılımlar sınıfının geniş bir parçasıdır. Her ne kadar “miseller fazlar”, “mezofazlar” ve “mikroemülsiyonlar” olarak da bilinen bazı liyotropik sıvı kristal fazlar, bileşim ve nano ölçekteki yapılarından dolayı nanoemülsiyonlara benzerlik gösterebilirler. Liyotropik sıvı kristaller, lamel levhalar, altıgen şeklinde paketlenmiş kolonlar ve solucan benzeri misel fazları gibi sıvılar ve yüzey aktif maddelerden kendiliğinden termodinamik montaj yoluyla oluşan denge yapılarıdır. Buna karşılık, nanoemülsiyonlar kendiliğinden oluşmaz; daha büyük parçacıkları küçük parçacıklar haline getirmek için harici bir enerji uygulanmalıdır. Mikroemülsiyon fazlarına kıyasla nanoemülsiyonların yaratılması ve kontrol edilmesi hakkında nispeten az şey bilinmektedir. Bunun temel

nedeni, damlacıkların nano ölçekli rejime girmesini engellemek için yüzey geriliminin etkilerinin üstesinden gelmek için sıradan karıştırma cihazlarının erişemeyeceği yerlerin ötesinde aşırı kayma uygulanması gerektiğidir (Mason ve ark. 2006).

2.5.1. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Yöntemleri

Nanoemülsiyonlar, yapılandırılmış sıvıların denge dışı sistemleridir (Ravi ve ark.; Anton ve ark. 2009; Mason ve ark. 2006) ve bu yüzden hazırlanmaları için enerji ya da yüzey aktif maddelerinin büyük bir miktarının girişi ve bazı durumlarda ikisinin de kombinasyonu gerekir. Sonuç olarak, formüle edilmelerinde yüksek enerji veya düşük enerji yöntemleri kullanılabilir (Anton ve ark. 2009). Yüksek enerjili yöntem, nanolaşmış damlacıklar oluşturmak için yağ ve su fazlarını parçalayan yoğun yıkıcı kuvvetler oluşturmak için mekanik cihazlar kullanır. Bu, ultrasonikatörler, mikrofluidizerler ve yüksek basınçlı homojenizatörlerle sağlanabilir (Mason ve ark. 2006; Graves ve ark. 2005; Jafari ve ark. 2007). Buradaki partikül büyüklüğü, kullanılan cihazların tipine ve örnek özellikleri ve kompozisyonları ile birlikte zaman ve sıcaklık gibi çalışma koşullarına bağlıdır (Quin ve ark. 2011). Bu yöntem, emülsiyonun stabilitesini, reolojisini ve rengini kontrol eden partikül büyüklüğünün daha büyük kontrolüne ve geniş bir bileşim seçimine izin verir. Her ne kadar yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemleri istenen özelliklere sahip nanoemülsiyonlar üretse ve endüstriyel ölçeklenebilirliğe sahip olsalar da, proteinler, enzimler ve nükleik asitler dahil olmak üzere retinoidler ve makromoleküller gibi termal olarak kullanılabilir ilaçlar için uygun olmayabilir.

Nanoemülsiyon, yakın zamanda geliştirilmiş olan düşük enerjili bir emülsiyonlaştırma yöntemi ile bileşenlerin faz davranışı ve özelliklerine göre ultra-küçük damlacıkları elde ederek hazırlanabilir (Sonneville-Aubrun ve ark. 2004; Solans ve ark. 2005). Bu düşük enerjili teknikler kendiliğinden emülsiyonlaşma, faz geçişi ve faz inversiyon sıcaklığı yöntemlerini içerir (Wang ve ark. 2007). Düşük enerji yöntemi ilginçtir, çünkü küçük damlacıklar oluşturmak için sistemin depolanan enerjisini kullanır. Bu emülsiyonlaştırma, sıcaklık, bileşim vb. sistemin hidrofilik ve lipofilik dengesini (HLB) etkileyecek olan parametreleri değiştirerek sağlanabilir (Sole ve ark. 2006; Sole ve ark. 2010). Enerji emülsiyon formülasyonunda genellikle gereklidir, çünkü süreç kendiliğinden olmayabilir. Nanoemülsiyon üretimi, makroemülsiyon üretmek için gerekenden daha fazla enerji harcar. Sürfaktanların

varlığı, yağ ve su arasındaki yüzey gerilimlerinin azaltılmasına yardımcı olur. İyonik olmayan yüzey aktif maddeler gibi küçük moleküller yüzey gerilimini poli (vinil alkol) gibi polimerik yüzey aktif maddelerden daha fazla azaltır. Sürfaktanın bir diğer önemli rolü, arayüzey arasındaki dilatasyonel modül üzerindeki etkisidir (Tadros ve ark. 2004). Emülsiyonlaştırma sırasında, arayüzey alanında bir artış meydana gelir ve bu, yüzey fazlalığında bir azalmaya neden olur. Denge, yüzey aktif maddenin kütleden adsorpsiyonu ile restore edilir, ancak bu zaman alır (daha yüksek yüzey aktif madde aktivitesinde daha kısa zamanlar meydana gelir). Polimerik yüzey aktif maddeleri ile denge eksikliği ve yavaşlığından dolayı, dilatasyonel modül, ara yüzün genleşmesi ve sıkışması için aynı olmayacaktır (Tadros ve ark. 2004). Uygulamada, yüzey aktif madde karışımları kullanılır ve bunlar yüzey gerilimi ve dilatasyonel modüller üzerinde belirgin etkilere sahiptir. Bazı spesifik yüzey aktif madde karışımları, iki ayrı bileşenden herhangi birine göre daha düşük yüzey gerilimi değerleri verir. Polimer-yüzey aktif madde karışımları, bazı sinerjik yüzey aktivitesini gösterebilir.

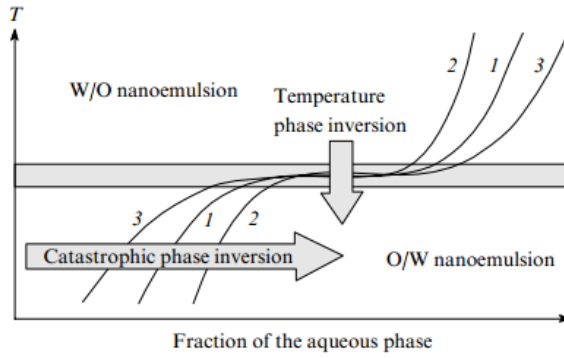
Emülgatörün bir diğer önemli rolü, emülsiyonlaştırma sırasında kayma kaynaklı koalesansın önlenmesidir. Bunun için sürekli fazın kayda değer miktarda yüzey aktif madde içermesi gerekmektedir.

2.5.1.1. Düşük Enerji Gerektiren Yöntemler

Nanoemülsiyonların düşük enerji ile hazırlanma yöntemleri yüksek enerjili olanlardan çok daha sonra gelişmiştir. Bu yöntemler, bileşim veya sıcaklıktaki bir değişiklikten sonra emülsiyondaki faz inversiyonuna dayanır.

1960 yıllarında Japon araştırmacılar tarafından önerilen ilkeler düşük enerjili yöntemlerin temelini oluşturmaktadır. Sürfaktan adsorbe edilen katmanın eğriliği sıcaklıkla değişir. Belli bir sıcaklıkta, sistem tek tabakalı yüzey aktif maddenin sıfır eğriliği ve düşük arayüzey gerilimi ile karakterize edilen duruma ulaşır. Sulu fazın oranı veya diğer bileşenlerin konsantrasyonu değiştiğinde, sistem kompozisyonundaki değişimin üzerine eğrilik yarıçapında kendiliğinden bir değişiklik meydana gelebilir.

Faz İversiyon Sıcaklığı Yöntemi: Faz inversiyon sıcaklığı (PIT) yöntemi, yüzey aktif maddelerinin (özellikle iyonik olmayan etoksile edilmiş yüzey aktif maddeler) spesifik özelliklerine yani sıcaklığa bağlı olarak su ve yağ afinitesini değiştirebilme özelliğine dayanır.

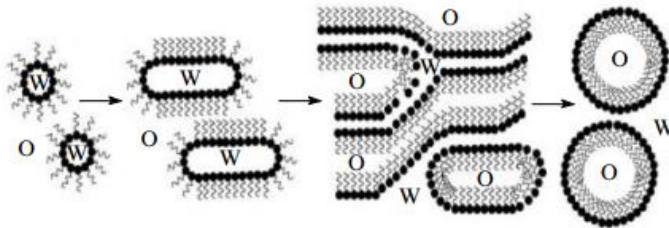


Şekil 2.9: Nanoemülsiyonların hazırlanmasında sıcaklık ve katastrofik faz inversiyonunun şematik gösterimi.

Eğri(I), bölgedeki faz inversiyon koşullarına karşılık gelir; Eğri II ve III, eğri (I) nin histerez bölgesini sınırlamaktadır.

Etoksile edilmiş yüzey aktif maddelerinin molekülleri, polar grupların hidrasyonu nedeniyle düşük sıcaklıklarda hidrofiliktir. Hidratlanmış polar grupların kapladığı yüzey alanı, hidrofobik hidrokarbon zincirlerinin kapladığı alandan daha büyüktür. Bu nedenle, yüzey aktif madde tek tabakalı kıvrımlar ve O/W emülsiyonları oluşur. Sıcaklık arttıkça, oksietilen grupları kolayca dehidre edilir ve moleküller lipofilik hale gelir. Bu durumda, hidrokarbon zincirlerinin işgal ettiği yüzey alanı, kutup grupları tarafından işgal edilenden daha büyük hale gelir ve W/O emülsiyonlarının oluşumu daha elverişli hale gelir (Shinoda ve ark. 1986).

Etoksile yüzey aktif madde ile stabilize edilmiş bir W/O emülsiyonu yüksek sıcaklıkta hazırlanır ve daha sonra soğutulursa, faz inversiyonu belirli bir sıcaklıkta gerçekleşir ve bir O/W emülsiyonu oluşur.



Şekil 2.10: Doğrudan nanoemülsiyon oluşumu sırasında damlacıkların dönüşümü (Fernandez ve ark. 2004).

‘O’ yağı ve ‘W’ suyu gösterir.

PIT'ye yakın sıcaklıklarda bulunan ultra düşük arayüzey gerilimleri, küçük damlacıkların oluşumlarını kolaylaştırır, ancak bu koşullar altında birleşmeleri de artar (Shinoda ve ark. 1986). Bu nedenle, dar damlacık boyutu dağılımına sahip kinetik olarak stabil nanoemülsiyonların hazırlanması için sistemin hızlı soğutulması gerekir (Solans ve ark. 2005).

Birçok araştırmacı, emülsifikasyonun başladığı sıcaklıkta sistemin izotropik sulu faz veya sıvı kristal faz (L_α) ile dengede mevcut olan bir iki taraflı mikroemülsiyon veya geleneksel bir mikroemülsiyonu (D) temsil etmesi durumunda nanoemülsiyonların daha küçük damlacıklara sahip olduğuna inanmaktadır (Taisne ve ark. 1998; Friberg ve ark. 1978; Izquierdo ve ark. 2005; Förster ve ark. 1995; Izquierdo ve ark. 2004).

Çoğu PIT emülsifikasyon çalışmasında etoksile edilmiş yüzey aktif maddeleri ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonlar hazırlanmıştır. Çünkü bu yüzey aktif maddelerinin hidrofilik-lipofilik dengesi, sıcaklık değişimlerine karşı en hassas olanıdır. Bununla birlikte, diğer sürfaktanlar ile stabilize edilmiş nanoemülsiyonlar da bu yöntem ile hazırlanmıştır. Örneğin, bir çalışmada nanoemülsiyon kütlece 0.56:0.44 oranında alınan bir polioksietilen (20) sorbitan monooleat (Tween 80) ve sorbitan monooleat (Span 80) karışımı ile stabilize edilmiştir (Mei ve ark. 2011). Sulu fazdaki elektrolit konsantrasyonunun artışı PIT' in 85' ten 40 -50°C' ye düştüğünü göstermiştir.

PIT yöntemi çok iyi bir şekilde araştırılmıştır. Etoksile yüzey aktif maddeleri kullanılarak stabilize edilen nanoemülsiyonların hazırlanmasında bu yöntem başarılı bir şekilde kullanılır. Bununla birlikte, hidrofilik-lipofilik dengesi sıcaklıktaki değişikliklere karşı daha az hassas olan iyonik ve iyonik olmayan yüzey aktif maddeler kullanıldığında bu yöntem uygulanamaz. PIT yönteminin endüstride kullanılması üzerine bazı komplikasyonlar ortaya çıkabilir, çünkü ticari olarak temin edilebilen etoksillenmiş yüzey aktif maddeleri çeşitli oligomerlerin karışımlarını temsil eder; bu konsantrasyon aralıklarının ve emülsifikasyonun sıcaklık rejiminin düzeltilmesini gerektirir (Salager ve ark. 2004).

Faz İncersiyon Kompozisyonu Yöntemi: Nanoemülsiyonların bir başka hazırlanma yöntemi olan faz incersiyon yöntemi, emülsiyon sistemindeki kompozisyonun değişimine dayanmaktadır. Method, sabit sıcaklıkta sistemin hidrofilik $\pm$ lipofilik dengesini değiştiren maddelerin sokulmasını içerir. Bu yüzey aktif cismi katmanlarının eğrilik yarıçapında ve katastrofik faz incersiyonunda kendiliğinden

değişikliklerle sonuçlanır. Örneğin, yağda su damlacıklarının oluşumu, sulu fazın organik faza aşamalı olarak ilave edilmesi üzerine meydana gelir. Sulu faz miktarında belirli bir eşik değerinin üstündeki bir artış, faz inversiyonuna neden olur ve organik fazın sudaki damlacıkları oluşur (Dickinson 1982). Faz inversiyonu, sisteme elektrolitlerin, diğer yüzey aktif maddelerin, alkollerin vb. eklenmesiyle de gerçekleştirilebilir (Salager ve ark. 2004).

Literatürde, bu yöntem genellikle emülsiyon inversiyon noktası (EIP) veya faz inversiyon kompozisyonu (PIC) olarak adlandırılır; bazen buna ‘titrasyon’ da denir. Bu yöntem (Marszall 1975), O/W emülsiyonlarını hazırlamak ve çeşitli yüzey aktif maddelerin karışımlarını içeren sistemlerde faz inversiyonu için gereken minimum sulu faz miktarını ölçmek için kullanılmıştır.

Sürfaktanların dağılması da nano damlacıkların oluşumunda önemli bir rol oynar. Doğrudan emülsiyonlar bu yöntemle hazırlandığında, sulu faz bir yağ karışımına ve organik olarak zayıf biçimde çözünen bir yüzey aktif maddeye eklenir. Sulu fazın eklenmesi, yüzey aktif maddenin organik fazdan sulu faza difüzyonuna neden olur. Bu düşük arayüzey gerilimi altında nano damlacıkların oluşumunu desteklemektedir (Sajjadi 2006). Faz inversiyon sıcaklığı ve faz inversiyon bileşimi yöntemlerinin karşılaştırması, EIP yönteminin aşağıdaki avantajlarını ortaya koymaktadır.

Her şeyden önce, hidrofilik±lipofilik dengesi sıcaklığa daha az bağımlı olan daha geniş bir yüzey aktif madde yelpazesini kullanma olanağı sağlar. Daha sonra, termal olarak stabil olmayan maddeleri enkapsüle ederken önemli olan sıcaklık gradyanlarını kullanmaya gerek yoktur. Bununla birlikte, EIP yöntemi, emülsifiye edilen karışımın bileşimindeki değişikliklere karşı çok hassastır.

Spontan Nanoemülsifikasyon: Birbirleri ile dengede olmayan iki sıvı fazı birbirleriyle temas ettirmek, kendiliğinden emülsifikasyonla takip edilir (Lopez-Montilla ve ark. 2002). 1878’ de ilk kez kendiliğinden emülsifikasyon yapıldı (Gad 1878). Bu sürecin üç temel mekanizması vardır (Gopal 1969). Bunlardan birincisi, difüzyondan sonra yüzey gerilimi gradyanı tarafından indüklenen fazlar arası kararsızlık (Marangoni etkisi). İkincisi, kısa bir zaman dilimi içerisinde arayüzey geriliminin neredeyse sıfıra kadar azalması sonucu dispersiyon meydana gelir ve bu arayüzün yüzey alanında kendiliğinden artışa neden olur (Davies ve ark. 1961). Sonuncusu, yerel süper doygunluk alanlarında yeni bir faz yoğunlaştığında emülsiyonlaşma meydana gelir.

Spontan emülsifikasyonda damlacık boyutu ve damlacık boyutu dağılımı sadece arayüzey gerilimi değil, aynı zamanda arayüzey viskozitesi ve dağılmış fazın viskozitesi ile yüzey aktif madde yapısı ve konsantrasyonuna bağlıdır (Lopez-Montilla ve ark. 2002).

Arayüzey gerilimi ve organik fazın viskozitesi düştükçe, sulu fazda yağ daha yoğun emülsifiye edilir (Aranow ve ark. 1963). Organik fazın viskozitesi yüksek ise, damlacıkların ayrılması daha zordur.

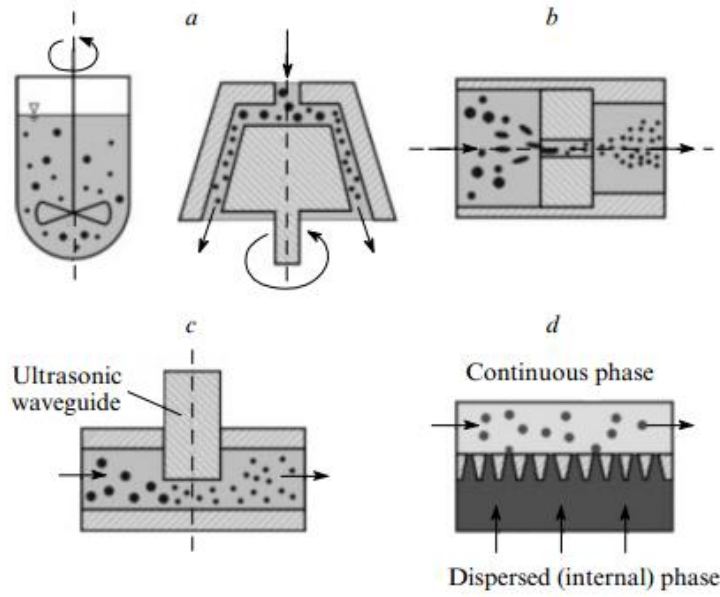
Kendiliğinden emülsifikasyon yöntemi pratik uygulamada oldukça basittir. Emülsiyonlaştırma, karışımın bütün hacminde ilerler; bu nedenle kolaylıkla ölçeklenebilir. Yöntemin en büyük dezavantajı, iç fazın düşük bir kısmı olan emülsiyonları hazırlamak için uygun olmasıdır.

Yüksek enerjili yöntemler kullanıldığında, toplam enerji tüketimi ve işlemin süresi üretilecek olan nanoemülsiyonun boyutuna bağlıdır. Düşük enerjili yöntemler kullanıldığında, böyle bir bağımlılık yoktur, çünkü emülsiyonlaştırma tüm hacimde ve neredeyse aynı zamanda gerçekleşir. Sadece sistemin bir sıcaklığa ısıtılmasını gerektiren PIT yöntemi, dağılmakta olan karışımın hacmine bağlı olarak bir miktar enerji tüketimi ile karakterize edilir.

Düşük enerjili yöntemler söz konusu olduğunda, spontan emülsiyonlaştırma üzerine oluşturulan nanoemülsiyonun bileşimi, sadece sistemin fizikokimyasal özellikleri tarafından yönetilmektedir.

2.5.1.2. Yüksek Enerji Gerektiren Yöntemler

Nanoemülsiyonlar, yüksek enerji yöntemleri ile hazırlandığında iç fazın damlacık boyutu genellikle nanometre aralığını aşar. Bu durum her şeyden önce, özellikle viskoz sistemler söz konusu olduğunda, dispersiyon için gerekli olan yüksek enerji tüketiminden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, damlacık büyüklüğündeki bir artış, ara yüz üzerinde dağılma üzerine oluşturulan tüm damlacıkların tamamen adsorpsiyonunu sağlamak için yetersiz miktarda yüzey aktif madde nedeniyle olabilir. Bu durumda, sistemde birleşme meydana gelir ve ortalama damlacıkların boyutu artar.



Şekil 2.11: Yüksek enerjili emülsiyonlaştırma yöntemlerinin şematik gösterimi (Schultz ve ark. 2004), rotor-stator sistemi (a), yüksek basınç homojenizasyon (b), ultrasonik emülsifikasyon (c), membran dispersiyonu (d).

Son damlacıkların boyutunu etkileyen önemli bir faktör, yüzey aktif maddenin adsorpsiyon hızıdır. Eğer adsorpsiyon hızı birleşme hızından daha düşüktür, nanometre boyutunda damlacıklar oluşmuş ve yeterli miktarda yüzey aktif madde olsa bile, emülsiyondaki damlacıklar dispersiyon işleminin tamamlanmasından sonra büyüyecektir. Bu faktör, özellikle yağda çözünür yüzey aktif maddeleri kullanarak stabilize edilmiş ters emülsiyonlar için önemlidir, çünkü yüzey aktif madde difüzyonunun organik fazdaki ara yüze doğru hızı, sulu fazdan çok daha düşüktür (Fainerman 1988).

Yüksek Kesmeli Karıştırma: İlk olarak, nanoemülsiyonların hazırlanmasında yüksek enerjili mikserler ve rotor-stator sistemleri kullanıldı. Bu cihazlardaki karışım yoğunluğunu artırarak, iç fazın damlacık boyutunu önemli ölçüde azaltabilir, ancak ortalama damlacık boyutu 200-300 nm' den daha az olan emülsiyonların hazırlanması oldukça zordur.

İşlem, parti rejiminde geleneksel karıştırıcılarda gerçekleştirilebilir. Sürekli bir mod gerçekleştirmek ve dispersiyon üzerine kayma gerilimini artırmak için kolloid değirmenleri kullanılır. Bunlar arasında en popülerleri, daha verimli emülsifikasyon elde

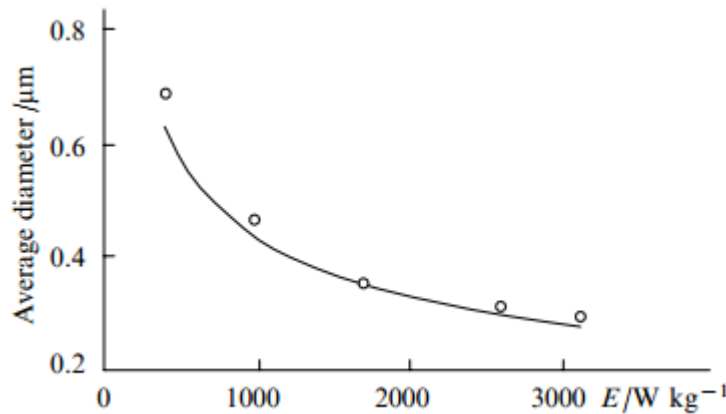
etmek için farklı konfigürasyonlara sahip rotor ve statorların bulunduğu Silverson akış karıştırıcılarıdır (Baldyga ve ark. 2007).

Yüksek rotor hızında, parçalayıcı kafanın içinde yüksek bir nadir yüzeylenme yaratılır ve emülsiyon bileşenleri rotor $\pm$ stator ünitesinde emilir. Santrifüj kuvvetinin etkisi altında, emülsiyon çevre bölgelere atılır ve rotor ve statorun iç duvarı arasındaki boşlukta yoğun dağılım meydana gelir. Daha sonra, emülsiyon, statorun dış ağzından yüksek hızda geçer ve aparattan çıkar. Emülsiyonlaştırma sırasındaki havalandırma derecesi çok düşük olacak şekilde modern aparatlar tasarlanmıştır. Genellikle, tek geçişli rejimde sistem için maksimum derecede dağılımın sağlanamaması; bu nedenle, geleneksel olarak çoklu geçiş rejimi kullanılmaktadır.

Viskoz ortam kullanıldığında, yüksek kesmeli karıştırma etkinliği önemli ölçüde azalır (Stone ve ark. 1986; Grace 1982) ve iç fazın yüksek bir fraksiyonu ile emülsiyonlarda damlacık boyutu $1 \mu\text{m}$ ' den daha büyük olmaktadır.

Ultrasonik Emülsifikasyon: Nanometre boyutundaki emülsiyon damlacıkları, kavitasyon kabarcığının çökmesi ve önemli miktarda enerjinin yerel olarak salınması nedeniyle sonikasyon altında oluşturulur (Mason 1992; Canselier ve ark. 2002).

Ultrasonik gücün belirli bir sınıra yükselmesi, iç fazın daha küçük damlacıklarının oluşmasına neden olur (Abismail ve ark. 2000). Ultrasonik gücün daha da artması damlacık boyutunda önemsiz değişikliklere neden olur.



Şekil 2.12: Spesifik sonikasyon enerjisine karşılık (emülsiyon birim kütlesi başına) iç fazın ortalama damlacık çapı (Abismail ve ark. 2000).

Etkili emülsiyonlaştırma, yalnızca dalga kılavuzu radyatörünün yakın çevresinde gerçekleşir. Büyük hacimlerin emülsifikasyonu, karışımın mekanik olarak karıştırılmasını gerektirir. Bu nedenle, bu yöntemi araştırma amaçlı veya küçük miktarlardaki nanoemülsiyonların hazırlanmasında kullanmak en uygunudur.

Nanoemülsiyonlar adı verilen O/W emülsiyonları (Jafari ve ark. 2006) sonikasyon altında hazırlandı. Emülsiyonların organik fazı, d-limonen tarafından oluşturulurken sulu fazı, sulu serum proteini ve maltodekstrin çözeltisinden oluşmuştur. Ortalama damlacık boyutunun emülsifikasyon süresi ile düştüğü, iç fazın minimum ortalama damlacık çapının 243 nm olduğu gösterilmiştir.

Hacimce % 15 keten tohumu yağı, %5,6 polioksietilen (20) sorbitan monopalmitat (Tween 40) ve %79,4 deiyonize sudan oluşan O/W nanoemülsiyonların hazırlanması tarif edilmiştir (Kentish ve ark. 2008). Karışımın ön emülsifikasyonu, mekanik bir karıştırıcıda 13500 rpm’ de gerçekleştirildi ve sonra karışım sonikasyona uğratıldı; sonuç olarak, ortalama çapı 135 ± 5 nm olan damlacıklar oluşturuldu.

Sonikasyon altında 60-70 nm damlacık boyutuna sahip bir O/W nanoemülsiyon hazırlandı (Abismail ve ark. 1999). Nanoemülsiyon damlacıkları, iç çekirdekten (hekzadekan), dengeleyici kabuğundan (fosfolipitler, katyonik ve iyonik olmayan yüzey aktif maddeler içeren çok katmanlı lamelli yapılar) ve lameller tabakaları arasında çözündürülmüş hekzadekandan oluşur.

Yüksek enerjili karıştırma ve sonikasyon altında hazırlanan doğrudan emülsiyonların dispersiyon dereceleri sırasıyla Ultra-Turrax (10000 rpm) ve Misonix Sonicator XL 2020 (20 kHz, 130 W) cihazları kullanılarak karşılaştırıldı (Imai ve ark. 2006). Organik faz kerosendi ve dengeleyici polioksietilen (20) sorbitan monostearat (Tween 60) veya benzeri idi (Montanox 60). Emülsifikasyon işleminin eşit süresi boyunca, iç fazın daha küçük damlacıklara sahip olduğu doğrudan emülsiyonların sonikasyon altında oluşturulduğu gösterilmiştir.

Bu nedenle, ultrasonik emülsiyonlaştırma, iç fazın nispeten küçük ortalama damlacık çaplarına sahip emülsiyonların hazırlanmasına izin verir; ancak, daha büyük damlacıklar (100 nm’ den daha büyük) da oldukça sık oluşturulur.

Yüksek Basıncılı Homojenizasyon: Yüksek basınçlı homojenizasyon, en sık olarak düşük ve orta viskoziteli sistemlerin emülsifikasyonunda kullanılır. Yüksek

basıncı sistemler sürekli çalışır. Dispersiyon hücresindeki akış yönü tipine göre, homojenizatörler radyal difüzörler, jet dağıtıcılar ve nozul cihazlarına ayrılmıştır.

Geleneksel bir radyal difüzörde, emülsiyon akışı, başlangıç yönünden 90° kadar sapmaktadır. Hareketli bir valf, yarık genişliğini değiştirmeyi ve böylece emülsifiye edilen sıvıların akış hızını ve uygulanan basıncı kontrol eder. Düz valfli homojenleştiriciler en çok endüstriyel emülsiyon imalatında sıklıkla kullanılır.

Jet ve nozul dağıtıcıların hareketli parçası yoktur; bu, radyal difüzörler ile karşılaştırıldığında daha yüksek basınçlar üretilmesine izin verir.

Yüksek basınçlı homojenleştirme koşulları altında, sistem eş zamanlı olarak kesme kuvvetleri, türbülans ve kavitasyondan etkilenir. Emülsiyonlardaki damlacık ebadı, akışkan akış rejimi (vanaya ve çıkış ağızlığı tasarımına bağlı olarak), akışkan viskozitesine ve homojenleştiricide üretilen basınç ile belirlenir. 10 ila 350 MPa geniş basınç aralığında çalışan homojenleştiriciler vardır. Piston ve çıkış ağzı arasındaki yarık genişliği 10-100µm dir; bu nedenle, sıvının akış hızı çok yüksektir ve saniyede yüzlerce metredir. Emülsiyon damlacıklarının yarıka kalma süresi birkaç milisaniyedir (Baldyga ve ark. 2007).

Süpfaktanların denge adsorpsiyonunu sağlamak için gereken zaman genellikle bu tür dağılım koşulları altında yeni damlacıkların oluşum zamanından daha uzundur (Brösel ve ark. 1999); dolayısıyla, nanoemülsiyonların hazırlanmasında, arayüzde çok yüksek bir adsorpsiyon oranı ile karakterize edilen yüzey aktif maddeleri kullanılmalıdır. Dispersiyon bölgesindeki emülsiyonların toplam tutma süresi kısadır ve oluşan damlacıklar hızlı bir şekilde türbülanslı akış bölgesinden çıkar ve yetersiz şekilde stabilize edilmiş damlacıkların birleştiği laminar akış bölgesine girer. Damlacıkların yüksek basınçlı homojenizatörlerde birleşmesi, yüksek adsorpsiyon oranına sahip yüzey aktif maddeler kullanılarak oldukça yavaşlatılabilir, ancak durdurulamaz. Bu yüzden yüksek basınçlı homojenleştiriciler, çoklu geçiş rejiminde çalışırlar.

Sistemde yeterli miktarda yüzey aktif madde varsa, yüksek basınçlı homojenizasyon, iç fazın damlacık boyutu 50 ila 350 nm arasında olan emülsiyonlara neden olur (Taisne ve ark. 1996; Lobo ve ark. 2003; Marie ve ark. 2002).

Mikroakışkan ve Membran Yöntemleri: Mikroakışkan yöntemler, kontrollü sıvı damlacıkları ve gaz kabarcıkları oluşumunu gerçekleştirmeyi ve bunları

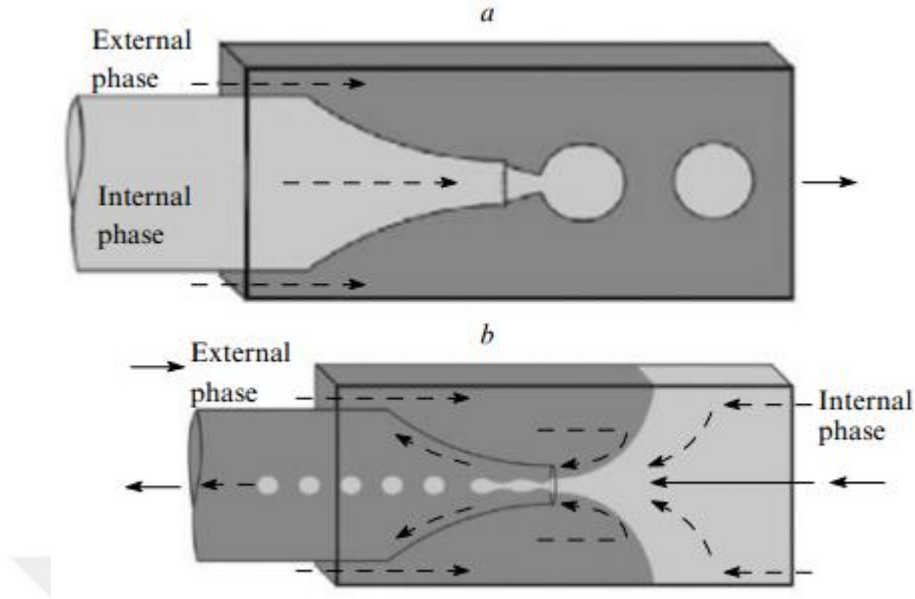
mikrokanallarda taşımayı mümkün kılar. Mikroakışkan yöntemlerinin son zamanlardaki geniş kapsamlı gelişimi, çipte bir laboratuvar yaratma olasılığı ile bağlantılıdır (Fair 2007; Malic ve ark. 2010). Bu cihazlar, bir mikrokanallar sistemi vasıtasıyla bir sıvının mikronceliklerini, belirli bir yere bir mikrokanal sistem yoluyla damlalar ve kabarcıklar şeklinde aktararak ve örneğin damla içeriğinin hızlı bir analizini gerçekleştirerek kimyasal ve biyokimyasal işlemlerin minyatürleştirilmesini mümkün kılar. Proteinlerin izolasyonu (Preckel ve ark. 2002), DNA analizi (Srisa-Art ve ark. 2007), enzimler (Huebner ve ark. 2008), hücrelerin kapsüllenmesi (Choi ve ark. 2007), biyosensörlerin üretilmesi (Ferguson ve ark. 2009) için bu tür cihazların gerçekleştirilmesi üzerine çalışmalar şu anda devam etmektedir.

Mikroakışkanlaştırıcılarda, emülsifikasyon, yüksek basınç altında mikrokanallarda hareket eden iki karışmaz sıvının akış akımlarının çarpışması yoluyla gerçekleşir (Stone ve ark. 2004). Emülsiyonlaştırma rejiminin stabilitesi, kanal duvarlarının emülsiyon bileşenleri tarafından ıslanmasına bağlıdır. Genellikle W/O ve O/W emülsiyonları sırasıyla hidrofobik ve hidrofilik yüzeyli cihazlarda üretilir (Okushima ve ark. 2004; Barbier ve ark. 2006). Islatma açısı, mikrokanal malzemeyi seçerek veya yüzey aktif maddeler dahil çeşitli yüzey değiştiricileri kullanarak kontrol edilebilir.

Bu homojenizatörlerde dağılma, kayma deformasyonu, çarpma gerilimi ve kavitasyon etkisi altında gerçekleşir (Paquin 1999).

Akış akımlarının mikroakışkanlaştırıcılarda, yani eş yönlü, zıt yönlerde ve T-şekilli kavşaklarda düzenlenmesi için üç temel seçenek vardır.

Eş yönlü akış akımı hareketi, bir kılcal ve borunun eşeksenli düzenlemesine sahip cihazlarda uygulanır (Şekil 2.13 (a)). Bu akış geometrisi ortak akış olarak adlandırılır. Sıvının akış hızı düşükse, neredeyse tek tek monodispers damlacıklar oluşur. Çıkış hızının arttırılmasıyla, kılcal çıkışında bir jet oluşturulur; bu durumda, damlacık ebadı dağılımı daha geniştir.



Şekil 2.13: Yönlendirmeli (a) ve karşılıklı yönlendirilen (b) akış akışlarına sahip mikro-akışkanlaştırıcıların şematik gösterimi (Utada ve ark. 2007).

Ters yönde akış akışı hareketi ‘akış odaklama’ adı verilen cihazlarda gerçekleştirilir. Bu durumda, iki sıvı farklı yönlerden beslenir, dış faz iç fazı yakalar ve dar bir kılcal damar içine girer (Şekil 2.13 (b)). Bu geometri ile daha küçük damlacıklar oluşur (Wyss ve ark. 2006).

İlk mikroakışkanlaştırıcılarda T-şekilli mikrokanalların kesişimi kullanılmıştır (Nisisako ve ark. 2002; Thorsen ve ark. 2001; Graaf ve ark. 2005; Xu ve ark. 2006).

Genel olarak, mikro-akışkanlaştırıcılar, yüksek performans ile karakterize edilir ve iç fazın kontrollü damlacık büyüklüğüne sahip neredeyse monodispers emülsiyonlar hazırlanmasına izin verir (Shah ve ark. 2008). Örneğin, iç fazdaki damlacık çapının ortalama değerden standart sapması, T-şekilli geometrili cihazlar için %2’ yi geçmez ve karşılıklı yönelimli akışlar için %5’ ten az (Takeuchi ve ark. 2005) ve eş yönlü akış akışı hareketi için %3’ ten düşüktür (Umbanhowar ve ark. 2000).

Damlacık boyutu, emülsifiye edilen sıvıların özelliklerine, akış rejimine, kanal geometrisine ve kanal yüzeylerinin özelliklerine bağlıdır. Damlacık boyutu, akış hızını ve sürekli fazın viskozitesini düşürerek azalır ve iç fazın akış hızını artırarak artar (Garstecki ve ark. 2006; Ward ve ark. 2005; Garstecki ve ark. 2007).

Damlacık boyutunu azaltmak için, farklı bağlantı açılarına sahip çeşitli akış kesişme tasarımları kullanılır (Menetrier-Deremble 2006). Ancak, bu tür mikro-akışkanlaştırıcılar kullanarak nanoemülsiyonların hazırlanması mümkün değildir. Çünkü emülsiyonlardaki damlacık boyutu birkaç mikrometre mertebesinde.

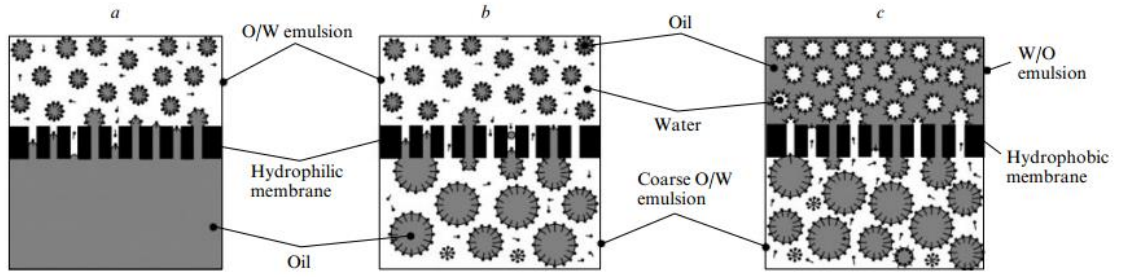
Mikro-akışkanlaştırıcılar, çoklu emülsiyonların hazırlanmasında da kullanılabilir (Fair 2007; Okushima ve ark. 2004; Engl ve ark. 2008; Panizza ve ark. 2008).

Mikro-akışkanlaştırıcılar neredeyse monodispers damlacıkların hazırlanmasına izin verse de, bazı dezavantajları vardır. İmalatları diğer yüksek enerjili cihazlara göre pahalıdır. Pratik kullanımda daha az kullanışlıdır çünkü kanallar katı parçacıklar ve gaz kabarcıkları tarafından engellenebilir (Hardt ve ark. 2007). Ayrıca, ilaç ve farmakoloji için emülsiyon hazırlamak için kullanıldığında mikroakışkanların sterilizasyonu ile ilgili problemler ortaya çıkmaktadır.

Mikroakışkan yöntemler gibi, membran emülsifikasyon yöntemleri, akışkan akışının süresizliği altında türbülanslı rejimde emülsifikasyondan farklı olarak bireysel damlacıkların oluşum yöntemlerine aittir (Williams 2001). Membran yöntemlerinde, iç fazın damlacıkları bir sıvının bir zardaki birçok gözenek veya mikrokanaldan ekstrüzyonu ile oluşturulur (Şekil 2.14) (Vladisavljevia ve ark. 2005; Graaf ve ark. 2005).

Tek aşamalı emülsifikasyonda, iç faz membrandan ekstrüde edildiğinde damlacıklar membran/sürekli faz arayüzünde oluşur. İç fazın daha küçük damlacıklarına sahip emülsiyonlar hazırlamak için, membran emülsifikasyon ön dispersiyondan sonra gerçekleştirilir, örneğin, kaba emülsiyon, gözenek büyüklüğü kaba emülsiyonun damlacık boyutundan daha küçük olan bir zardan geçirilir. Kaba doğrudan emülsiyonun bir hidrofilik membrandan pompalanması, damlacık boyutunda azalmaya neden olur. Eğer kaba doğrudan emülsiyon hidrofobik bir membrandan pompalanırsa, faz inversiyonu ince bir ters emülsiyon oluşumu ile sonuçlanır (Suzuki ve ark. 1996).

Membran bir cihaza sabitlenmişse, damlacıkların yüzeyden daha hızlı ayrılması için ya sirkülasyon ya da oluşan emülsiyonun karıştırılması gerçekleştirilir. Dönen veya titreşen membranlı cihazlar damlacıkların ayrılmasını hızlandırmak için kullanılır; ancak, bu aparatların tasarımlarını önemli ölçüde karmaşıktırılmaktadır.



Şekil 2.14: Membran emülsifikasyonunun çeşitli tasarımları (Vladisavljevia ve ark. 2005). Tek adımlı emülsiyonlaştırma (a), ön emülsifikasyonlu (faz inversiyonu olmadan) (b), ön emülsifikasyonlu ve faz inversiyonu (c).

2.5.2. Nanoemülsiyonların Avantajları

Nanoemülsiyonların kişisel bakımda ve kozmetikte olduğu kadar sağlıkta da uygulanmasındaki çekiciliği aşağıdaki avantajlardan kaynaklanmaktadır (Tadros ve ark. 2004; Aboofazeli 2010).

- 1) Çok küçük damlacık büyüklüğü yerçekimi kuvvetinde büyük bir azalmaya neden olur ve Brownian hareketi yerçekiminin üstesinden gelmek için yeterli olabilir. Bu depolamada herhangi bir kremlenme veya tortulaşma meydana gelmediği anlamına gelir
- 2) Küçük damlacık boyutu, damlacıkların topaklanmasını da önler. Zayıf topaklanma önlenir ve bu, sistemin ayrılma olmadan dağınık kalmasını sağlar.
- 3) Küçük damlacıklar ayrıca onların birleşmelerini de önler, çünkü bu damlacıklar elastiktir, yüzey dalgalanmaları önlenir.
- 4) Nanoemülsiyonlar, aktif bileşenlerin cilt yoluyla etkili bir şekilde verilmesi için uygundur. Emülsiyon sisteminin geniş yüzey alanı, aktif maddelerin hızlı bir şekilde nüfuz etmesini sağlar.
- 5) Sistemin şeffaf yapısı, akışkanlıkları (makul yağ konsantrasyonlarında) ve herhangi bir kıvamlaştırıcının yokluğu, onlara hoş bir estetik karakter ve cilt hissi verebilir.
- 6) Mikroemülsiyonların aksine (genellikle %20 ve daha yüksek bir bölgede yüksek bir yüzey aktif madde konsantrasyonu gerektirir), nanoemülsiyonlar makul yüzey aktif madde konsantrasyonu kullanılarak hazırlanabilir. %20 o/w nanoemülsiyon için, %5 ila %10 arasındaki bir yüzey aktif madde

konsantrasyonu yeterli olabilir. Nanoemülsiyonlar genellikle insan tüketimi (GRAS) için onaylanmış yüzey aktif maddelerle formüle edilir, enterik yolla alınabilir.

- 7) Damlacıkların küçük ebadı, substratlar üzerinde homojen birikmelerini sağlar. Islatma, yayılma ve nüfuz etme, tüm sistemin düşük yüzey gerilimi ve o/w damlacıklarının düşük arayüzey gerilimi sonucunda da arttırılabilir.
- 8) Nanoemülsiyonlar, birçok kişisel bakım ürününe dahil edilebilecek koku verici maddelerin teslimatı için uygulanabilir. Bu, alkolsüz formüle edilmesi istenen parfümlere de uygulanabilir.
- 9) Nanoemülsiyonlar, lipozomlar ve veziküllerin (çok daha az stabil olan) bir ikame maddesi olarak tatbik edilebilir ve bazı durumlarda nanoemülsiyon damlacıklarının etrafına lameller sıvı kristal fazlar oluşturmak mümkündür.

2.5.3. Nanoemülsiyonların Dezavantajları

Nanoemülsiyonların avantajlarına rağmen, aşağıdaki nedenlerle nanoemülsiyonlar son yıllarda ilgi çekmiştir (Tadros ve ark. 2004; Aboofazeli 2010).

- 1) Nanoemülsiyonların hazırlanması, birçok durumda, yüksek basınçlı homojenizatörlerin yanı sıra ultrasoniklerin kullanılması gibi özel uygulama tekniklerini gerektirir. Bu tür ekipman (Microfluidiser gibi) sadece son yıllarda mevcut olmuştur.
- 2) Kişisel bakım ve kozmetik endüstrisinde nanoemülsiyonların üretilmesinin pahalı olduğu yönünde bir algı vardır. Yüksek konsantrasyonlarda emülgatör kullanımıyla birlikte pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulur.
- 3) Submikron damlacıklarının üretim mekanizmasının ve yüzey aktif maddelerin ve yardımcı yüzey aktif maddelerin rolünün anlaşılamaması.
- 4) Klasik makroemülsiyon sistemleri ile karşılaştırıldığında nanoemülsiyon kullanımından elde edilebilecek faydaların gösterilememesi.
- 5) Nanoemülsiyonların üretiminde rol oynayan arayüzey kimyasının anlaşılamaması.

2.5.4. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu

Optik mikroskopi, diferansiyel girişim kontrastı veya diğer faz kontrast yöntemleri kullanılsa bile, nanoemülsiyonların incelenmesi için genellikle uygun bir yöntem değildir. Aşağıda tartışıldığı gibi, nanoemülsiyonların yapısını ve davranışını araştırmak için tipik olarak dinamik ışık saçılımı, x-ışını veya nötron saçılması, atomik kuvvet mikroskopisi veya kriyo-elektron mikroskobu gibi daha karmaşık teknikler gerekir (Mason ve ark. 2006).

Nanoemülsiyonlar, bunları sıradan mikro ölçekli emülsiyonlardan ayıran bazı ilginç fiziksel özelliklere sahiptir. Örneğin, mikro ölçekli emülsiyonlar tipik olarak, görünür ışığın güçlü çoklu saçılımını sergilerler ve sonuç olarak beyaz bir görünüme sahiptirler. Dağınık ve sürekli fazlar arasında belirgin bir kırılma indisi kontrastı olması koşuluyla, ışık, damlacıklar, filmler ve plato sınırları boyunca birçok kez kırıldığı için çoklu saçılma meydana gelir. Optik absorpsiyonun yokluğunda, emülsiyona giren fotonlar, emülsiyondan ayrılmadan önce birçok kez mikro ölçekli yapılar tarafından yayılır (Mason ve ark. 2006). Buna karşılık, nanoemülsiyonlardaki yapılar, görünür dalga boylarından çok daha küçüktür, bu nedenle nanoemülsiyonların çoğu, büyük faz hacim oranında ve kırılma endeksindeki büyük fark için bile, optik olarak şeffaf görünmektedir. Nanoemülsiyonlar, damlacık büyüklüğündeki artışın bir sonucu olarak zamanla şeffaflıklarını kaybedebilir. Nanoemülsiyonlar, sıradan emülsiyonlardan çok daha büyük bir yüzey alanına / hacim oranına sahiptir, bu nedenle elastik modül gibi damlacıkların deformasyonu ile ilgili olaylar, tipik olarak nanoemülsiyonlarda sıradan emülsiyonlara oranla daha büyüktür. Nanoemülsiyonlarda damlacık arayüzlerinin büyük yüzey / hacim oranına bağlı olarak, onları stabilize etmek için gereken yüzey konsantrasyonunun konsantrasyonu, mikro ölçekli emülsiyonlardan daha büyüktür, ancak genellikle liyotropik mikroemülsiyon fazlarından daha küçüktür. Nanoemülsiyonlar için farklı karakterizasyon parametreleri aşağıdaki bölümlerde ele alınmıştır:

2.5.4.1. Nanoemülsiyonların Morfolojisi

Nanoemülsiyonların morfolojisi transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile belirlenebilir. SEM, globüllerin üç boyutlu görüntüsünü verir (Kayes 1999). Numuneler, farklı büyütme ölçeklerinde, genellikle 20 kV olmak üzere uygun hızlandırma voltajında incelenir. Formülasyondaki dispers fazın

yüzey morfolojisinin iyi bir analizi SEM ile elde edilir. Görüntü analiz yazılımı (örneğin, Leica Imaging systems, Cambridge, İngiltere), şekil ve yüzey morfolojisinin otomatik bir analiz sonucunu elde etmek için kullanılabilir (Barea ve ark. 2010).

TEM' de dispers fazın daha yüksek çözünürlüklü görüntüleri elde edilir. Dijital görüntü işleme programı kullanılarak, TEM mikrografların boyut ve boyut dağılımının kalitatif ölçümleri yapılabilir (Samah ve ark. 2010).

2.5.4.2. Nanoemülsiyon Damlacık Boyutu, Polidispersite ve Zeta Potansiyeli

Foton Korelasyon Spektroskopisi (PCS) olarak adlandırılan dinamik ışık saçılımı, Brownian hareketinden dolayı damlacıkların / parçacıkların saçılma yoğunluğundaki dalgalanmaları analiz etmek için kullanılır (Ruth ve ark. 1995). Nanoemülsiyon damlacık boyutu, polidispersite ve zeta potansiyeli, bir parçacık boyutu analiz cihazı kullanılarak PCS ile değerlendirilebilir. Bu araç aynı zamanda, dinamik ışık saçılımının kümülatif analizinden elde edilen boyut dağılımının genişliğinin bir ölçüsü olan çok yaygınlık endeksini de ölçer. Polidispersite indeksi dispersiyonun kalitesini veya homojenliğini gösterir (Li ve ark. 2011). PCS, z-ortalama parçacık çapı verir. Lazer kırınımı, parçacık boyutunu ölçmek için başka bir tekniktir. Bu teknikle elde edilen temel partikül büyüklüğü dağılımı hacim tabanlıdır ve eşdeğer kürelerin hacmi (% DN) ve hacim dağılımının ağırlıklı ortalaması (kütle ortalama çapı) cinsinden ifade edilir. Lazer kırınım sistemi bu analiz için kullanıldığından, kaba bir eşdeğer parçacık polidispersitesi eşdeğeri iki faktör değerle verilebilir, tek biçimlilik (dağılımın medyan nokta etrafında ne kadar simetrik olduğu) ve yayılma (dağılımın genişliği). Yayılma değeri, aşağıdaki ifade ile tanımlanır:

$$\text{Span} = (D90\% - D10\%) / D50\%$$

Burada % DN (N = % 10, % 50, % 90), % N' ye eşit % DN' ye kadar çapa sahip parçacıkların hacim yüzdesi anlamına gelir. Açıklık değeri ne kadar küçük olursa, parçacık boyutu dağılımı o kadar dar olur.

2.5.4.3. Viskozite Tayini

Bu bir viskozimetre kullanılarak gerçekleştirilir. Nanoemülsiyonların viskozitesi, yüzey aktif maddenin, su ve yağ bileşenlerinin ve bunların konsantrasyonlarının bir fonksiyonudur. Su içeriğinin arttırılması, viskoziteyi düşürürken, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde miktarının azaltılması, su

ve yağ arasındaki ara yüzey gerilimini arttırmakta ve sonuç olarak viskozite artmaktadır. Viskozite stabilite ve etkili ilaç salımı için çok önemlidir. Nanoemülsiyon taşıyıcı formülasyonları temel olarak su içinde yağdır ve bu nedenle yağ içinde su formülasyonlarından daha az yağlı olmasının yanı sıra, genellikle daha düşük görünen viskozitelere sahiptir. Bu nedenle aktif bileşenlerin daha hızlı salınım göstermeleri ve cilt yüzeyine uygulandıktan sonra kolayca yıkanmaları beklenir. Nanoemülsiyon taşıyıcılarının reolojik özelliklerinin değerlendirilmesi için çeşitli ekipman ve yöntemler mevcuttur. Viskozite değişiminin izlenmesi, nanoemülsiyon formülasyonları dahil olmak üzere sıvı ve yarı katı preparatların stabilitesini değerlendirmek için bir yöntemdir.

2.5.4.4. In Vitro Deri Geçirgenliği Çalışmaları

Franz difüzyon hücresi, transdermal uygulama için formülasyonlar durumunda nanoemülsiyon formülasyonunun ilaç salım profilini elde etmek için kullanılır. Serbest bırakılan içerik tarafından cilt penetrasyonunun kapsamı veya derinliği, konfokal tarama lazer mikroskopisi ile görüntülenebilir. In vitro ilaç salımı, bariyer olarak bir zara sahip bir Franz hücresinin donör bölmesinde terkip miktarının dağıtılması ve kapsüllenmiş ilacın alım ortamında, genellikle PBS'de (pH 7.4) görünmesinin izlenmesi ve karışımın manyetik karıştırıcı aracılığıyla, 300 rpm'de ve $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de karıştırılmasıyla belirlenebilir. Dispersiyon örnekleri (1 ml) ortamdan alınır ve belirli aralıklarla eşdeğer miktarda ortam ile değiştirilir. Alınan numune daha sonra 0.22 - 50 μm 'lik bir filtre (örneğin Millipore, ABD) kullanılarak filtre edilir ve serbest bırakılan ilaç daha sonra ilacın tepe emiliminin dalga boyunda UV-görünür spektroskopi kullanılarak analiz edilir (Agrawal ve ark. 2010). Alternatif ve popüler bir ex-vivo salım çalışması yöntemi, difüzyon hücresi kullanılarak gerçekleştirilir. Deri kulaktan veya karın bölgesinden kesilir ve altta bulunan kıkırdak ve yağlar dikkatlice çıkarılır. Daha önceden reseptör solüsyon ile doldurulmuş olan difüzyon hücresine uygun boyutta cilt kesilir ve yerleştirilir. Veziküler preparat örnekleri daha sonra cildin dorsal yüzeyine uygulanır ve cihaz başlatılır. 24 saate kadar aralıklarla, örnekler reseptör ortamdan çekilmiş ve eşit miktarda ortam ile değiştirilmiş ve alınan numunelerin ilaç geçirgenliği HPLC (Touitou ve ark. 2000; Bendas ve ark. 2007) veya UV-spektrofotometre cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. In vitro salım çalışmalarında cilt yerine rejenere selüloz gibi yarı geçirgen

membran kullanılabilir (Jain ve ark. 2007; Dave ve ark. 2010). İlacın cilt veya membran boyunca akı (J) miktarı aşağıdaki formülden hesaplanır:

$$J = D \, dc/dx$$

D difüzyon katsayısı ve difüzyon molekülünün büyüklüğü, şekli ve esnekliğinin yanı sıra membran direncinin bir fonksiyonudur, c difüzör türlerin konsantrasyonu, x uzaysal koordinattır (Dave ve ark. 2010).

Aksi takdirde dermatofarmokinetik olarak adlandırılan in vivo salım çalışması, preparatın bütün canlı hayvana uygulanmasıyla gerçekleştirilir. Daha sonra kan örnekleri aralıklarla çekilir, santrifüjlenir ve plazma, HPLC cihazı kullanılarak ilaç içeriği için analiz edilir. In vitro ve in vivo çalışmalardan elde edilen sonuçlar, ilaç formülasyonunun biyoyararlanımını yansıtacak şekilde hesaplanır.

2.5.5. Termodinamik Kararlılık ve Yüzey Özellikleri

Bir nanoemülsiyonun fiziksel görünüşü bir mikroemülsiyonunkine benzese de, her iki sistemin de saydam ve düşük viskoziteli olabilmesi için, iki sistem arasında önemli bir fark vardır. Bir nanoemülsiyon en iyi kinetik olarak kararlı iken, mikroemülsiyon termodinamik olarak kararlıdır (Shafiq ve ark. 2007). Küçük damlacık ebadı nedeniyle nanoemülsiyonlar, tortulaştırma veya kremlenmeye karşı mikroemülsiyonlara göre daha yüksek stabiliteye sahiptir (Amselem ve ark. 1998). İki sistem çok farklıdır, çünkü nanoemülsiyonlar mekanik kayma ile, mikroemülsiyon fazları da kendiliğinden montaj yoluyla oluşturulur.

2.5.6. Nanoemülsiyonların Formülasyonu

2.5.6.1. Yardımcı Maddelerin Çözünürlüğünün Taranması

İlacın çeşitli yağlarda, yüzey aktif maddelerde ve yardımcı yüzey aktif maddelerinde çözünürlüğü, fazla miktarda ilacın seçilen yağların, yüzey aktif maddelerin ve birlikte yardımcı yüzey aktif maddelerinin küçük miktarlarında çözülmesi ve bir karıştırıcı kullanılarak karıştırılmasıyla belirlenir. Çözünürlük tayini için yağların bir kombinasyonu da kullanılabilir.

Karışımların izotermal bir karıştırıcıda çevre sıcaklığında dengelenmesine izin verilir (Shakeel ve ark. 2007). Numuneler çalkalayıcıdan çıkarılır ve santrifüjlenir. Süpernatant 0,45 µm' lik bir membran filtreden süzülür. İlacın konsantrasyonu, her bir

yağ, yüzey aktif madde, yardımcı yüzey aktif madde ve yağların kombinasyonunda, HPLC veya UV spektrofotometre ile ilgili λ_{max} ' larında belirlenir.

2.5.6.2. Üçgen Faz Diyagramının Oluşturulması

Nanoemülsiyonlar için bileşenlerin konsantrasyon aralığını bulmak için, ortam sıcaklığında su titrasyon yöntemi kullanılarak üçlü faz diyagramları oluşturulmuştur (Pradip ve ark. 2006). Yüzey aktif maddenin yardımcı yüzey aktif maddeye değişen ağırlık oranları ile birlikte farklı faz diyagramları hazırlanmıştır. Faz diyagramlarının detaylı bir çalışması için bu oranlar, yüzey aktif maddeye göre artan yardımcı yüzey aktif madde konsantrasyonunda ve yardımcı yüzey aktif maddeye göre artan yüzey aktif madde konsantrasyonunda seçilir. Her bir faz diyagramı için ağırlıkça yüzey aktif madde yardımcı yüzey aktif madde oranı, yağların yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde karışımına oranı değişmektedir. Bazı ağırlık oranlarında yağ, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde karışımları, manyetik karıştırma altında, damla damla su ile seyreltilir. Şeffaf ve kolayca akabilen nanoemülsiyonlar için görsel gözlemler yapılır. Nanoemülsiyonların fiziksel durumu, üçlü faz diyagramında sulu fazı temsil eden birinci eksen, yağı temsil eden ikinci eksen ve sabit ağırlık oranındaki yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde karışımını temsil eden üçüncü eksen olarak işaretlenmiştir (Shakeel ve ark. 2007).

2.5.6.3. Nanoemülsiyonların Stabilitesi

Bir dozaj formunun stabilitesi, dozaj biriminin kimyasal ve fiziksel bütünlüğüne ve uygun olduğunda, dozaj biriminin mikrobiyolojik kontaminasyona karşı korumayı sürdürme kabiliyetine karşılık gelir (Floyd 1999; Shakeel ve ark. 2008). İlaç ürününün stabilitesi, emülsiyonların, mikroemülsiyonların ve nanoemülsiyonların geliştirilmesi ile bağlantılı sorunlardan biridir. Nanoemülsiyonların, ilaçların fiziksel ve kimyasal stabilitesini arttırdığı bilinmektedir (Shafiq ve ark. 2007; Shakeel ve ark. 2008; Baboota ve ark. 2007).

Nanoemülsiyonlar üzerinde birkaç ay boyunca buzdolabında ve oda sıcaklığında saklanarak stabilite çalışmaları yapılır. Viskozite, kırılma indisi ve damlacık büyüklüğü bu depolama süresince belirlenir. Bu parametrelerdeki önemsiz değişiklikler, formülasyon stabilitesini gösterir. Hızlandırılmış stabilite çalışmaları da yapılabilir.

2.5.7. Nanoemülsiyon Uygulamaları

İç fazın küçük boyutlarındaki damlacıkları, göreceli olarak yüksek kinetik kararlılığı ve geleneksel makroemülsiyonlarla karşılaştırıldığında optik şeffaflığı nedeniyle, NE' ler birçok araştırmacının dikkatini çeker. NE' lerin hazırlanması ve araştırılması konusundaki neredeyse tüm çalışmaların yazarları, bu sistemlerin pratik uygulamaları için büyük umutları vurgulamaktadır.

NE' lerin uygulamalarına ilişkin büyük araştırmalar, ilaçların enkapsülasyonu ve insan vücuduna kontrollü şekilde verilmesi için kullanımlarının (veya NE'lere dayanan diğer taşıyıcıların kullanılması) beklentileri ile ilgilidir. NE'lerin tarım kimyasalları ve petrol endüstrilerinde, yazıcı mürekkebi vb. üretiminde olası kullanımı hakkında yayınlar da bulunmaktadır.

2.5.7.1. Kontrollü İlaç Salımı İçin Nanoemülsiyonların Kullanımı

İnsanların organizmasına ilaçların taşınmasında NE'lerin kullanılması olasılığı birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Griplere karşı aşılarda yaratılması için (Myc ve ark. 2003; Huang ve ark. 2009), kanser hastalıklarının tedavisi için (Tagne ve ark. 2008; Primo ve ark. 2007; Primo ve ark. 2007), HIV bulaşmış hastaların kombine tedavisi için (Vyas ve ark. 2008), antiviral ilaçların ve dezenfektanların, Ebola virüsüne (Chepurnov ve ark. 2003) karşı olanlar da dahil olmak üzere, genetik materyalin verilmesi (Pan ve ark. 2003) vb. O/W NE'lerin kullanılması önerilir.

NE'leri kullanan ilaçların penetrasyon oranının makroemülsiyonlar, misel çözeltileri, jeller, süspansiyonlar ve diğer taşıyıcılar kullanıldığındakinden daha yüksek olduğu tekrar tekrar vurgulanmıştır (Tagne ve ark. 2008; Shakeel ve ark. 2007; Kotyla ve ark. 2008; Wu ve ark. 2001; Janjic ve ark. 2008). Aseklafenak (Shakeel ve ark. 2007), tokoferol (Kotyla ve ark. 2008) ve nimesulid (Alves ve ark. 2007) dahil olmak üzere çeşitli farmasötikler için NE' ler kullanılarak transdermal taşınma çalışmaları yapılmıştır. Ters NE'lerin su damlacıklarında çözünen inülin transfoliküler taşınması araştırıldı (Wu ve ark. 2001). İnülin transferinin hızı ve derecesi, NE'leri stabilize etmek için kullanılan yüzey aktif maddelerinin hidrofilik $\pm$ lipofilik dengesinin azalması ile artmıştır. Farklı moleküler kütlelere sahip olan inülin ve traneksamik asitin transfer oranları pratik olarak eşitti. Bu, NE'nin su damlacıklarının, maddelerin taşıyıcıları olduğunu gösterir.

Beyin dokusunda intranazal olarak kontrollü risperidon verilmesi için 15.5 ± 16.7 nm damlacık büyüklüğüne sahip O/W NE'lerin kullanılması önerildi (Kumar ve ark. 2008). Kitosanın bu gibi NE'lere sokulması, formülün muko-yapışkan özelliklerinin (mukoza tuniklerine yapışma kabiliyeti) önemli ölçüde iyileştirilmesine ve kan ve beyin dokusundaki risperidon konsantrasyonlarının 0.948'e kadar artmasına izin vermiştir.

Hem NE'ler hem de bunlara dayanan çeşitli yapılar, örneğin nanoküreler ve nanokapsüller, kontrollü ilaç dağıtımı için kullanılabilir.

2.5.7.2. Nanoemülsiyonlar ve İntranazal İlaç Salımı

İntranazal ilaç dağıtım sistemi, parenteral ve oral yolların yanındaki ilaçların uygulanmasında güvenilir bir yol olarak kabul edilmiştir. Nazal mukoza, sistemik ilaçların uygulanması için terapötik olarak uygun bir kanal olarak ortaya çıkmıştır ve ayrıca, ilaçların hedef bölgeye doğrudan girmesinin önündeki engellerin üstesinden gelmek için uygun bir yol gibi görünmektedir (Pires ve ark. 2009). Bu rota aynı zamanda ağrısız, non-invaziv ve iyi tolere edilir. Burun boşluğu, enzimatik aktivitesinin azalması, immünoaktif bölgelerin yüksek bulunabilirliği ve orta derecede geçirgen epiteli nedeniyle en verimli bölgelerden biridir (Ugwoke ve ark. 2005). İlaçları beyne, özellikle de hidrofilik ve yüksek moleküler ağırlıklı olanları hedeflemeyle ilgili birkaç problem vardır. Bunun nedeni, sistemik dolaşımı ve kan ile beyin arasındaki engeli bölen endotelin geçirimsiz doğasıdır (Pardridge 1999). Nazal mukozanın koku alma bölgesi burun ve beyin arasında doğrudan bir bağlantı sağlar ve ilaç yüklü nanoemülsiyonlar kullanılarak Alzheimer hastalığı, migren, depresyon, şizofreni, parkinson hastalıkları, menenjit gibi durumlar tedavi edilebilir (Kumar ve ark. 2008; Mistry ve ark. 2009).

Burundan beyne iletilmesi için risperidon içeren nanoemülsiyonların hazırlandığı bildirilmiştir (Mistry ve ark. 2009). Bu emülsiyonun, intravenöz yoldan ziyade, nazal yoldan daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. İntranazal ilaç verme sisteminin terapötik maddelerdeki bir başka uygulaması, aşılarda geliştirilmesinde kullanılmasıdır. Muhtemel dağıtım sistemleri arasında, nano bazlı taşıyıcıların kullanımı, biyomoleküllerin korunması, mukoza ile nanotaşıyıcı etkileşiminin teşvik edilmesi ve antijenin lenfoid dokulara yönlendirilmesi için büyük bir söz vermektedir. Bu nedenle, intranazal ilaç verme sistemindeki nanoemülsiyonların kullanımı, merkezi

sinir sistemi ile ilgili hastalıkların tedavisinde ilaçları beyine hedeflemede önemli sonuçlar doğuracak şekilde ayarlanmıştır (Clark ve ark. 2001).

2.5.7.3. Nanoemülsiyonlar ve Parenteral İlaç Salımı

Bu, genellikle biyoyararlanımı düşük ve dar terapötik indekse sahip aktifler için benimsenen en yaygın ve etkili ilaç verme yollarından biridir. Karşılıklı uyumlulukları ve ilaçları hidroliz ve enzimatik bozunmalardan koruma kabiliyetleri ile birlikte büyük miktarda hidrofobiyi çözme kapasiteleri nanoemülsiyonları parenteral taşıma amacıyla ideal araçlar haline getirir. Ayrıca, bu emülsiyonlar, uzun süre boyunca sürekli ve kontrollü bir modda ilaçların salınmasını garanti ettiğinden, enjeksiyonların sıklığı ve dozu ilaç tedavisi süresince azaltılabilir. Ek olarak, büyük bir yüzey alanı ve serbest enerji ile birlikte topaklanma, tortulaşma ve kremlenme eksikliği, bu uygulama yolu için daha büyük partikül büyüklüğünde emülsiyonlara karşı belirgin avantajlar sunar (Ravi ve ark. 2011). Çok büyük arayüzey alanları, ilaç taşımalarını ve dağıtımlarını ve bunların belirli bölgelere yönelik hedeflerini olumlu yönde etkilemektedir. Bu nedenle majör klinik ve preklinik çalışmalar parenteral nanoemülsiyon bazlı taşıyıcılarla gerçekleştirildi. Bu yeni ilaç dağıtım sistemindeki gelişmeler Patel ve Patel tarafından gözden geçirilmiştir (Patel ve ark. 2010). Talidomid yüklü nanoemülsiyonlar, 25 mg kadar düşük bir dozun terapötik olabilen plazma konsantrasyonlarına yol açtığı yerlerde sentezlenmiştir (Araujo ve ark. 2011). Meme ve yumurtalık kanserine karşı lipofilik antikanser ajan olan Chlorambucil kullanılmıştır. Farmakokinetiği ve antikanser aktivitesi, yüksek enerjili ultrason yöntemiyle hazırlanan parenteral emülsiyonlara yüklenerek incelenmiştir. Bu nanoemülsiyon ile farede kolon adenokarsinomunun tedavisi, düz ilaç çözeltisi tedavisine kıyasla daha yüksek tümör baskılama oranına yol açar, ilaç yüklü emülsiyonun kanser tedavisinde verilmesi için etkili bir taşıyıcı olabileceği sonucuna varıldı (Ganta ve ark. 2010). Yaygın olarak kullanılan bir antikonvülsan ilaç olan karbamazepin, zayıf suda çözünürlüğü nedeniyle hastalar için parenteral tedavi mevcut değildi. Kelmann ve diğ. (Kelmann ve ark. 2007), intravenöz uygulama için, in vitro salım kinetiğinin olumlu olduğunu gösteren bir nanoemülsiyon geliştirmiştir.

2.5.7.4. Nanoemülsiyonlar ve Aşı Salımı

Nanoemülsiyonları kullanan bir aşı taşıyıcı sistem şu anda araştırılmaktadır. Bu ilaç verme sistemi, insan immün yetmezlik virüsüne (HIV) karşı aşı yapmak için

nanoteknolojiyi kullanır. HIV'in mukozal bağışıklık sistemini etkileyebileceğine dair son kanıtlar vardır. Bu nedenle, nanoemülsiyonların kullanımı yoluyla mukozal bağışıklık geliştirmek, gelecekte HIV ile mücadelede çok önemli olabilir (Bielinska ve ark. 2008). Yağ bazlı emülsiyon, geleneksel aşı yollarının aksine burun içine uygulanır. Araştırmalar, genital mukoza bağışıklığının, burun mukozasına uygulanan aşılarda elde edilebileceğini göstermektedir (Berkowltz ve ark. 2009).

2.5.7.5. Nanoemülsiyonların Kozmetik Endüstrisinde Kullanımı

Kozmetik ürünler olarak farklı moleküler kütlelere sahip (insan derisi üzerinde en iyi etki için) yağ karışımını temsil eden organik fazda O/W NE' lerin kullanılması olasılığı özellikle ilgi çekicidir (Sonneville-Aubrun ve ark. 2004). Yüksek moleküler kütleli yağların oranındaki artış, O/W NE' lerin Ostwald olgunlaşmasına karşı stabilitesinin artmasına neden olur. Bununla birlikte, yüksek moleküler kütleli yağlar daha kötü emilir ve cilt yüzeyinde yağlı filmler bırakır. Bir emülsiyon düşük molekül ağırlıklı yağlar içeriyorsa, cildin yüzey katmanlarına daha hızlı nüfuz eder, ancak Ostwald olgunlaşmasına karşı stabilitesi düşer. Oldukça kararlı NE'ler, düşük ve yüksek moleküler kütleli bileşenlerin belirli bir oranına sahip bir yağ karışımı kullanılarak elde edilebilir.

NE'lerin çeşitli kremlerde, losyonlarda, jellerde, saç bakımı için kullanılan ilaçlarda kullanılması önerildi (Sonneville-Aubrun ve ark. 2004). A, D, C, E vitaminlerini içeren NE' lerin ve bunların türevlerini ve fosfolipidlerini ve ayrıca epidermin restorasyonuna yönelik NE' lerin hazırlanış bileşimleri ve yöntemleri patentlidir. Özellikle L'Oreal grubu onlarca patent almıştır.

2.5.7.6. Fitofarmasötiklerin Nanoemülsiyon Formülasyonu

Fitofarmasötikler mikroemülsiyonlar halinde formüle edilmiştir. Aynı nanoemülsiyonlar için söylenemez. Literatür taraması, farklı etkinlik derecelerine sahip az sayıda belgelenmiş bitkisel ilaç mikroemülsiyonu göstermiştir. Curcumin'in çözünürlüğünü ve oral emilimini arttırmak için yeni bir kendi kendine mikro emülsifiye edici ilaç dağıtım sistemi başarıyla geliştirilmiştir (Cui ve ark. 2009 pp.148-155). Bir mikroemülsiyon halinde formüle edilmiş anti-enflamatuar, UV koruyucu ve antioksidan etkiye sahip bir flavonoid olan hesperetin, hesperetinin sulu ve izopropil miristat (IPM) süspansiyonuna kıyasla in vitro geçirgenlikte artış gösterdi (Tsai ve ark. 2010 pp. 257-262). Neem yağı mikroemülsiyonu da formüle edildi ve akarisit aktivitesi araştırıldı (Xu

ve ark. 2010 pp. 399-403). Globül büyüklüğünün bir fonksiyonu olduğu için, bu mikroemülsiyonlar aynı zamanda globüllerin nano aralığına bölünmesine neden olabilecek uygun teknolojiler yoluyla nanoemülsiyonlara da dönüştürülebilir.

2.5.7.7. Nanoemülsiyonların Diğer Uygulamaları

NE'leri başka alanlarda kullanma olanakları araştırılmaktadır. Nanoemülsiyonlar tarım ilaçlarında pestisitler ve herbisitler içeren ürünlerin hazırlanmasında kullanılabilir. Kural olarak, bunlar, spontan emülsifikasyon nedeniyle su ile seyreltme üzerine NE'leri veren emülsiyon konsantrasyonlarıdır (Lee ve ark. 1982).

Su veya bir elektrolit çözeltisi ile seyreltikten sonra, damlacık boyutu 50 ± 100 nm olan O/W NE'lere dönüştürebilen mikroemülsiyonlar bildirilmiş (Srivastava ve ark. 2006) ve yıkama ajanları olarak muhtemel uygulamaları gösterilmiştir.

Kontrollü ebattaki nanoparçacıkların sentezinde, iç fazın damlacıkları parçacık büyümesini sınırlandıran bir matris görevi görür.

Örneğin, sulu bir çözeltinin bir yağ / yüzey aktif madde karışımı içinde dağıtılmasıyla hazırlanan ters NE'lerde büyüklüğü 30 ± 230 nm olan SiO_2 ve TiO_2 nanoparçacıklarının oluşumu rapor edilmiştir (Porras ve ark. 2005). Ayrıca, 3Y-ZrO₂ nanoparçacıkları yaklaşık 30 nm boyutunda (Ai ve ark. 2004), indiyum ve kalay oksit yaklaşık 38 nm büyüklüğünde nanopartiküller (Devi ve ark. 2002), 0 ± 150 nm büyüklüğünde kitosan nanopartikülleri (Jia ve ark. 2005) ve 15 ± 100 nm boyutunda baryum sülfat nanopartikülleri (Su ve ark. 2007) ters NE' ler olarak hazırlanmıştır. Hidroksiapatit nanopartikülleri ve nanokürelerinin 10 ± 30 nm büyüklüğünde hazırlandığı bildirildi (Zhou ve ark. 2008). Bununla birlikte, nanoparçacıkların mikroemülsiyonlar kullanılarak en sık sentezlendikleri, çünkü termodinamik olarak stabil oldukları, kendiliğinden oluştukları ve damlacıklarının daha dar bir boyut dağılımı ile karakterize edildiği vurgulanmalıdır.

Soğuk akümülatörler olarak su içerisinde parafin nanoemülsiyonu kullanılması önerildi (Schalbart ve ark. 2010). Ayrıca, ağır ham petrolün kaldırılması için viskoz ters emülsiyonlar yerine O/W NE' lerin kullanılması önerildi (Salager ve ark. 2004).

Bu nedenle, son yayınlar NE uygulamasının oldukça geniş bir umut vaat eden alanlarını özetlemektedir.

2.5.8. Nanoemülsiyonlar Üzerine Patentler

Bir çoğu henüz pazara ulaşmamış olmasına rağmen, nanoemülsiyon formülasyonları üzerine çok sayıda patent alınmıştır. Muhtemelen nanoemülsiyonların endüstriyel ölçekli üretimindeki zorluklar nedeniyle, az sayıda patent ticari ürünlere aktarılmıştır. Nanoemülsiyonlarla ilgili bazı patentler Tablo 2.1’ de verilmiştir (pharmacast.com; wipo.org; patentstorm.us).

Tablo 2.1: Nanoemülsiyon formülasyonları üzerine patentler

Patent Claim	Assignee	Patent Number
Transparent nanoemulsion less than 100 nm based on fluid non-ionic amphiphilic lipids and use in cosmetics or in dermopharmaceuticals	L’Oreal (Paris, FR)	US Patent number: 5,753,241
Nanoemulsions based on sugar fatty ethers and its uses in the cosmetics, dermatological and/ophthalmological fields	L’Oreal (Paris, FR)	US Patent number: 6,689,371
Non-toxic antimicrobial compositions and methods of use	NanoBio Corporation US	Patent Number: 6,559,189 and 6,635,676
Method of preventing and treating microbial infections	NanoBio Corporation US	Patent Number: 6,506,803
Nanoemulsion of 5-aminolevulinic acid	ASAT AG Applied Science and Technology (Zug, CH)	PCT/EP99/08711
Nanoemulsion of poorly soluble pharmaceutical active ingredients and methods of making the same		WO/2007/103294
Nanoemulsion based on ethylene oxide & propylene oxide block copolymers and its use in the cosmetics, dermatological & ophthalmological fields	L’Oreal (Paris, FR)	Patent Number: 6,464,990
Nanoemulsion based on glycerol fatty esters and its uses in cosmetics, dermatological & ophthalmological fields	L’Oreal (Paris, FR)	Patent Number: 6,541,018
Nanoemulsions based on oxyethylenated or non-oxyethylenated sorbitan fatty esters and its uses in cosmetics, dermatological and ophthalmological fields	L’Oreal (Paris, FR)	Patent Number: 6,335,022
Nanoemulsions based on phosphoric acid fatty acid esters and its uses in cosmetics, dermatological and/ ophthalmological fields	L’Oreal (Paris, FR)	Patent Number: 6,274,150

2.5.9. Ticari Nanoemülsiyonlar

Bazı zorluklara rağmen, bazı nanoemülsiyon formülasyonları, piyasada kullanım için mevcut olan ticari ürünlere dönüştürülmüştür. Bazı ticari nanoemülsiyon formülasyonları Tablo 2.2’ de listelenmiştir (Shah ve ark. 2010 pp. 24-32).

Tablo 2.2: Ticari nanoemülsiyon formülasyonları

Drug/Bioactive	Brand Name	Manufacturer	Indication
Palmitate alprostadil	Liple	Mitsubishi Pharmaceutical, Japan	Vasodilator, platelet inhibitor
Dexamethason	Limethason	Mitsubishi Pharmaceutical, Japan	Steroid
Propofol	Diprivan	Astra Zanece	Anaesthetic
Flurbiprofenaxtil	Ropion	Kaken Pharmaceutical, Japan	NSAID
Vitamins A, D, E and K	Vitalipid	Fresenius Kabi Europe	Parenteral nutrition

2.5.10. Nanoemülsiyon İlaç Dağıtım Sistemlerinin Başlıca Zorlukları

Nanoemülsiyonların üretimi önemli miktarda enerji girişi gerektirir ve düşük enerjili yöntemler olmasına rağmen, endüstriyel ölçekli üretim için uygun değildir, düşük enerjili yöntemler genellikle yüksek konsantrasyonlarda yüzey aktif madde gerektirir ve genellikle kararlı nanoemülsiyonlar vermez.

Nanoemülsiyonlar, endüstriyel ölçekte, çok maliyetli, oldukça yoğun enerji ve bakımı zor olan yüksek basınçlı homojenizatörler gibi mekanik cihazları kullanan yüksek enerjili yöntemle üretilir. Bu zorluk açıkça patentli nanoemülsiyon formülasyonlarının ticari ürünlere düşük oranda çevrilmesinden sorumludur.

Ayrıca mikron altı damlacıkların üretim mekanizmasının ve yüzey aktif maddelerin ve yardımcı yüzey aktif maddelerin rolünün anlaşılmaması ve nanoemülsiyonların üretiminde rol oynayan arayüzey kimyasının anlaşılmaması da vardır (Tadros ve ark. 2004 pp. 303-318). Örneğin, birkaç formülasyon kimyacı, faz inversiyon sıcaklığı (PIT) konseptinin ve bunun küçük emülsiyon damlacıklarının üretimi için nasıl faydalı bir şekilde uygulanabileceğinin farkındadır.

Son olarak, maliyet ve faydaların tam bir değerlendirmesi yapılmadan yeni sistemlere girme korkusu vardır (Tadros ve ark. 2004 pp. 303-318).

2.5.11. Nanoemülsiyonlara Gelecekte Bakış Açıları

Nanoemülsiyonun ortaya çıkışından bu yana çok yönlü ve kullanışlı yeni ilaç dağıtım sistemi olduğu kanıtlanmıştır. Nanoemülsiyonlar, polar olmayan aktif bileşikler çözme kapasiteleri nedeniyle, eczacılıkta ilaç verme sistemleri olarak sayısız uygulama için önerilmektedir. Nanoemülsiyonun gelecekteki bakış açıları, saç veya cilt için kozmetik geliştirilmesinde farklı tedavi uygulamaları veya uygulama alanlarında umut vericidir. Nanoemülsiyonların çok yönlü uygulamalarından biri, çeşitli yollardan tatbikatı kolaylaştıran, biyoaktif maddeler için etkin taşıyıcılar görevi gördüğü ilaç verme alanındadır. Onların parenteral teslimi, beslenme gereksinimlerini sağlamak, kontrollü ilaç salımı, aşı teslimi ve belirli bölgelere ilaç hedeflemesi için kabul edilmiştir. Bu araçlar yoluyla oral ilaç dağıtımının avantajları ve uygulamaları, damlacık boyutunun gastrointestinal kanaldaki emilimi ile ilgili olduğu yerlerde çoktur. Nanoemülsiyonlar, farmakolojik ilaçların kendi çözeltilerine göre daha uzun sürdüğü oküler uygulamada kullanımları için de incelenmiştir. Pulmoner ve transdermal yollar, nano-emülsifiye edilmiş dağıtım sistemini uygulamanın diğer başarılı yollarıdır. Diğer

alanlarda nanoemülsiyon uygulamaları hakkında çok fazla rapor olmamasına rağmen, kimyasal ve fiziksel bilimler, tarım ve mühendislik gibi diğer alanlarda nanoemülsiyon uygulamaları için büyük bir potansiyel vardır.

Nanoemülsiyonların üretiminde bazı sınırlamalar vardır, ancak ilaç ve gıda endüstrilerinin nanoemülsiyon üretimine uyum sağlamak için teknolojilerini ayarlaması gerekir. Nanoemülsiyonların birçok alanda formülasyon bilim adamlarına sunduğu çok yönlü platformları göz önüne alarak, üretim tesislerinin yeniden yapılandırılması veya orijinal olarak parenteral ve makro emülsiyonların üretiminde yer alan endüstrilerin teknolojisinde doğrudan değişiklik yapılması, uzun vadede çok fazla ekonomik düşüşe neden olacaktır. Bunun nedeni, hazırlıktaki zorluğun etkisi ve nanoemülsiyon üretiminde rol alabilecek yüksek enerji girdisinin kısa vadede hissedilmesi olabilir. Nanoemülsiyon üretimi için teknolojiyi edinmenin maliyeti yüksek olabileceği gibi, nanoemülsiyonların üretimi, daha az çok yönlülük içeren diğer bazı ürünlerin üretiminde yer alan birçok adımı telafi eden sadece birkaç adım içerir. Bitkisel ilaç formülasyonuna olan ilginin artması nedeniyle, nanoemülsiyon, bu formüle edilmesi zor olan fitofarmasötikler için ideal dağıtım platformu olabilir. Bitkisel ilaçların yeni nanoemülsiyon dozaj formları, ilaç endüstrisi için daha yüksek ücretlendirme sağlayacaktır.

Yüksek basınçlı homojenizasyon için yeni araçların ortaya çıkması ve çeşitli üreticiler arasındaki rekabet ile nanoemülsiyonların üretim maliyeti düşecektir. Sürfaktanların nanoemülsiyon üretimindeki rolünün araştırılmasına ilişkin temel araştırmalar, optimize edilmiş emülsiyonlaştırıcı sistemlere yol açacak ve sürfaktanların daha ekonomik kullanımı ortaya çıkacaktır. Nanoemülsiyonlar, hedeflenmiş dağıtım için manipüle edilebilir ve bu, tümörlerin tedavisi ve beyne ilaç dağıtımı için onkoloji alanında önemli umutlar taşır.

2.6. Çalışmada Kullanılan Aktif Maddelerin Biyolojik Özellikleri

2.6.1. Lavanta (*Lavandula angustifolia*) Yağı

Lavanta esansiyel yağı, antosiyaninler, fitosteroller, şekerler, mineraller, kumarik asit, glikolik asit, valerik asit, ursolik asit, herniarin, kumarin ve tanenleri içerir.

Lavanta esansiyel yağının nitel ve nicel bileşimi, genotip, yetiştirme yeri, iklim koşulları, üreme ve morfolojik özelliklere bağlıdır. Esansiyel yağ 300' den fazla kimyasal bileşikten oluşur, ana olanları linalool (% 9,3 ila % 68,8) ve linalil asetatı (% 1,2 ila % 59,4) (Gora ve ark. 2005).

Yapılan bir çalışmada lavanta yağının ve ana bileşenlerinden olan linalool bileşeninin %1 lik çözeltileri hazırlanmış ve 3 farklı dermatofit (*Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum* ve *T. tonsurans*) üzerinde in-vitro etkinliklerine bakılmıştır. In-vivo olarak ise 2 aylık erkek fareler üzerinde toksikolojik ve antifungal etkileri incelenmiştir ve lavanta esansiyel yağı ve linalool bileşeninin dermatofitler üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Sokovic ve ark. 2012 pp. 959-966).

Candida albicans' ın 50 klinik izolatına karşı yapılan antifungal aktivite çalışmasında lavanta esansiyel yağı kullanılmıştır. Lavanta yağı, *C.albicans* suşlarına karşı hem fungistatik hem de fungusit aktivite göstermiştir. Düşük konsantrasyonlarda, mikrop oluşumunu ve hifal uzamayı inhibe ettiği, *C.albicans* dimorfizmine karşı etkili olduğu görülmüştür. Böylece mantar ilerlemesini ve enfeksiyonun konak dokularda yayılmasını azaltabileceği sonucuna varılmıştır (D' auria ve ark. 2005 pp. 391-396).

2.6.2. ıtır (*Pelargonium graveolens*) Yağı

ıtır esansiyel yağının kimyasal bileşimi hakkındaki mevcut verilere göre baskın bileşenleri sitrionellol ve geraniol' dür.

Yapılan bir çalışmada, farklı mantarlar üzerinde ıtır esansiyel yağının antifungal etkisi incelenmiştir. Esansiyel yağın çeşitli mantarlara karşı MİK (Minimum inhibisyon konsantrasyonu) ve MFK (Minimum fungisidal konsantrasyonu) değerleri bulunmuştur ve antifungal etkinliği olduğu gösterilmiştir (Dzamic ve ark. 2014).

Esansiyel yağların antifungal etkinliğine bakıldığı bir çalışmada, tek başlarına ve ketokonazol ile birlikte mantarlar üzerindeki antifungal etkisinde nasıl bir değişiklik olduğuna bakılmıştır. Çalışmada birden fazla esansiyel yağ kullanılmıştır. Bu esansiyel yağların *Trichophyton* türü dermatofitler üzerinde antifungal etkinliklerine bakabilmek adına MİK ve MFK değerleri bulunmuştur. Geraniol ve sitrionellol monoterpenlerini içeren ıtır esansiyel yağı 5 farklı *Trichophyton* dermatofiti üzerinde en etkili olmuştur. Ketokonazol ile karıştırılıp hem sinerjik etki yaratıp yaratılmadığı hem de ketokonazol konsantrasyonunun azaltılarak tedavi süresince vermiş olduğu yan etkileri azaltmak

adına incelenmiştir. Yapılan karışımın 3 farklı Trichophyton dermatofiti üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Shin ve ark. 2004 pp. 1289-1296).

2.6.3. Çay Ağacı (*Melaleuca alternifolia*) Yağı

Çay ağacı esansiyel yağı, terpen hidrokarbonlarından, özellikle monoterpenlerden, seskiterpenlerden ve bunlarla ilişkili alkollerden oluşur. Yağın ana bileşenleri terpinen-4-ol ve 1,8 sineol' dür.

Yapılan bir çalışmada, çay ağacı yağı içeren nanokapsül süspansiyonu, nanoemülsiyon, emülsiyon ve plasebonun *Trichophyton rubrum* dermatofiti üzerindeki in-vitro antifungal etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda antifungal etki olarak en etkili formülasyon, çay ağacı yağı içeren nanokapsül süspansiyonu olmuştur (Flores ve ark. 2013 pp. 281-286).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler

Tablo 3.1’de tez çalışmasında kullanılan alet ve malzemelere ait liste verilmiştir.

Tablo 3.1: Tez çalışmasında kullanılan alet ve malzemeler listesine ait tablo

Manyetik Karıştırıcı	IKA RCT Basic	Almanya
Mekanik Karıştırıcı	IKA RW 20 Digital	Almanya
Ultrasonik Su Banyosu	KUDOS	Türkiye
Santrifüj Cihazı	Hettich Universal 320	Almanya
Ultrasonikatör	Hielscher UP200Ht	Almanya
Damlacık büyüklüğü ölçüm aleti	Zetasizer Nano ZS	Malvern Inst., İngiltere
İklimlendirme kabini	JSR	Japonya
pH metre ve İletkenlik Ölçüm cihazı	Mettler Toledo SevenExcellence	ABD
Hassas Terazı	And Gr-200	Japonya
GC-MS	Agilent Cary 60	ABD
Dialysis Bag	Spectra/Por 2, 12-14 kDa MWCO	Spectrum Labs, ABD
Viskozimetre	Brookfield DV-II	Brookfield Engineering Lab., ABD
Ultra-Turrax	IKA T-25 Digital	Almanya
Ultra saf su cihazı	Direct-Q 3UV	ABD
Buzdolabı	Indesit	İtalya
Mikropipet	Ependorf	Almanya
Parafilm	American Can Co	ABD
Cam malzemeler	Isolab	Almanya

3.1.2. Kullanılan Maddeler

Tablo 3.2’de tez çalışmasında kullanılan maddelere ait liste verilmiştir.

Tablo 3.2: Tez çalışmasında kullanılan maddeler listesine ait tablo

Lavanta yağı	Herbarom	Fransa
Çay ağacı yağı	Herbarom	Fransa
İtir yağı	Herbarom	Fransa
Distile su	Direct-Q 3UV	ABD

Geogard Ultra	Lonza	İsviçre
Pluronic® F 68	BASF	Almanya
Transcutol® HP	Gattefosse	Fransa
Tween 20	Sigma Aldrich Chemistry	İsviçre
Trichophyton rubrum ATCC® 28188	ATCC	ABD
RPMI-1640 Medium	Sigma Aldrich Chemistry	İsviçre
Ketoconazole	Liofilchem	İtalya

3.2. Yöntem ve Deneyler

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Uçucu Yağların GC-MS Analizi

Lavanta (*Lavandula angustifolia*), çay ağacı (*Melaleuca alternifolia*) ve ıtır (*Pelargonium graveolens*) yağlarının GC-MS spektrumunun alındığı deneysel koşullar Tablo 3.3’ deki gibidir.

Tablo 3.3: GC-MS spektrumunun alındığı deneysel koşullar

İlk Sıcaklık	60 °C
Artış Hızı	3 °C/dakika
Son Sıcaklık	260 °C
Toplam Analiz Süresi	66,6 dakika
Numune Hazırlama	5 µl esansiyel yağ / 1,5 ml su:aseton (1:10)
Enjekte Edilen Numune Hacmi	2 µl
Enjektör Sıcaklığı	220 °C
Kolon	HP-5ms Ultra Inert, 30 m x 250 µm x 0,25 µm
Taşıyıcı Gaz	Helyum, 1,1 ml/dakika; Split oranı:10:1



Şekil 3.1: GC-MS Cihazı

3.2.2. In vitro Salım Çalışmaları

Nanoemülsiyon ve süspansiyon formülasyonları içerisindeki esansiyel yağların in-vitro ortamda membrandan salım çalışmaları için diyaliz torbası tekniği kullanılmıştır. İlk önce etkinliği kanıtlanmış formülasyonlar seçilmiştir. 10 ml formülasyon 12-14 kDa moleküler ağırlığına sahip rejenere selüloz membran yapısındaki diyaliz torbasının içerisine yerleştirildikten sonra torbanın iki ucu da kapatılmış ve 150 ml pH=7,4 tampon çözelti içeren ortama daldırılmıştır. Bu ortam 37°C sıcaklıkta sabit tutulmuş ve 300 rpm hızda manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Numuneler 30. dk, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., ve 8. saatlerde alınmıştır ve yerine 37°C sıcaklıkta alınan numune miktarı kadar pH=7,4 tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Farklı zaman dilimlerinde alınan numunelerin analizleri GC-MS cihazında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2: Diyaliz torbası ile in-vitro salım

3.2.3. Formülasyon Çalışmaları

Bu tez çalışmasında *Trichophyton rubrum* dermatofitininin neden olduğu el ve ayak tırnak mantarı problemlerinde etki göstermesi beklenen lavanta yağı, ıtır yağı, çay ağacı yağı ve üçlü karışımlarının Y/S tipi nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır. Bu formülasyonlar hazırlanırken yağ fazı: Smix (surfaktan karışımı) oranı, ön karıştırma süresi ve ultrasonik homojenizatör uygulama süresi göz önüne alınarak farklı denemeler yapılmış olup nanoemülsiyonların karakterizasyon (damlacık büyüklüğü, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli) sonuçlarına göre en uygun olan

formüllerle çalışmalara devam edildi. Bu formüllerin stabilite testleri de yapılarak en uygun formülasyon seçildi.

3.2.3.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerin Seçimi

- **Yağ Fazı ve Miktarının Belirlenmesi**

Yapılan literatür çalışmalarında (Shin ve ark. 2004 pp. 1289-1296) lavanta yağı, ıtır yağı ve çay ağacı yağının *Trichophyton rubrum* dermatofitine karşı etkili olduğu MİK değerleri bulunmuş ve bu oranlarda kullanılmasına karar verilmiştir (Shin ve ark. 2004 pp. 1289-1296).

- **Surfaktan ve Kosurfaktan Maddelerin Türü ve Miktarının Belirlenmesi**

Çalışmalarda Tween 20 + Transcutol® HP ve Pluronic® F68 + Transcutol® HP surfaktan ve kosurfaktan madde karışımları 1:1 ve 1:2 oranında kullanıldı ve yürütülen hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite testleri sonucunda Pluronic® F68 + Transcutol® HP kombinasyonunun 1:2 oranında kullanımının uygun olduğuna karar verildi.

- **Diğer Hammaddelerin Belirlenmesi**

Çalışmada koruyucu olarak Geogard Ultra (Gluconolactone, Sodyum benzoat, Kalsiyum glukonat) kullanılmıştır.

- **Nanoemülsiyon Oluşturulmasında Hazırlama Methodu, Karıştırıcı Türü, Karıştırma Hızı ve Süresinin Belirlenmesi**

Çalışmada nanoemülsiyon hazırlama yöntemlerinden olan ve yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanıldı. Formülasyonlar ultrasonikatörden önce ultra-turrax cihazında ön karıştırmaya tabi tutuldu. Ön karıştırma işleminin nanoemülsiyon formülasyonlarının karakterizasyonuna etkisinin olup olmadığını görmek için formülasyonların yarısına sadece %50 bant genişliğine sahip ultrasonikasyon yöntemi, diğer yarısına ise 8100 rpm hızda ön karıştırma ve ultrasonikasyon yöntemi uygulandı. Çalışmada 4 farklı proses denemesi yapılacağından her bir formülasyondan 4 örnek hazırlanmasına karar verildi. Formülasyonlara uygulanan prosesler arasında 20 dk ultrasonikasyon, 30 dk ultrasonikasyon, 5 dk ön karıştırma + 20 dk ultrasonikasyon, 5 dk ön karıştırma + 30 dk ultrasonikasyon yer aldı.

3.2.3.2. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Y/S tipi nanoemülsiyon formülasyonlarını hazırlarken yağ fazı ve su fazı bileşenleri ayrı beherlerde hassas terazide tartılmıştır. Yağ fazını esansiyel yağlar ve kosurfaktan olan Transcutol® HP oluşturmaktadır. Su fazı ise surfaktan olarak Tween 20 veya Pluronic® F68 maddesinden, koruyucu olarak ise Geogard Ultra maddesinden oluşmaktadır.

Su fazında yer alan Tween 20 veya Pluronic® F68 maddesi ve koruyucu olarak kullanılan Geogard Ultra iyice karıştırılıp çözündürüldükten sonra yağ fazı su fazına yavaş yavaş ilave edildi ve cam bagetle karıştırıldı. Formülasyonlara 4 farklı proses uygulanacağından dolayı her formülasyondan 4 aynı örnek hazırlandı. Tablo 3.4-3.19’ da hazırlanan formülasyonların bileşenleri ve ağırlıkça yüzdeleri ve Tablo 3.20’de uygulanan proseslere karşılık gelen işlemler belirtilmiştir.

4 farklı proses uygulanarak 50 gram hazırlanan formülasyonlara ön stabilite için santrifüj testi uygulandı. Bu testi başarılı olarak geçen formülasyonlara ultrasonik su banyosunda termal stres testi uygulandı. Formülasyonlara 40°C sıcaklıktan başlanarak her yarım saatte bir 5°C sıcaklık artışları ile 80°C sıcaklığa kadar termal stres uygulandı. Numuneler her sıcaklık noktasında yarım saat tutuldu. Ayrıca başarılı olan her formülasyona 3 siklus olacak şekilde ısıtma-soğutma testi ve dondurma-çözülme testi uygulandı. Isıtma-soğutma testinde 1 siklus, formülasyonun 24 saat 40°C sıcaklıkta, 24 saat ise 4°C sıcaklıkta bekletilmesinden oluşur. Dondurma-çözülme testinde ise 1 siklus, formülasyonun 24 saat -20°C sıcaklıkta, 24 saat ise ortam sıcaklığında (25°C) bekletilmesinden oluşur.

Ön stabilite testlerini geçen formülasyonların pH ve iletkenlik değeri, viskozitesi, damlacık büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerleri ölçüldü ve organoleptik (renk, koku, görünüş) kontrolleri yapıldı.

Tüm bu testleri başarılı geçen 4 adet formülasyonun 180 gramlık miktarları hazırlandı ve uzun süreli stabilite testlerine kaldırılmak üzere 9 farklı cam tüpe eşit miktarlarda olacak şekilde bölüştürüldü.

Uzun süreli stabilite testlerine alınan her formülasyon oda koşulu (25°C ± 2°C, %60 nem), etüv (40°C ± 2°C, %75 nem) ve buzdolabında (4°C ± 2°C) bekletildi.

1.gün oda sıcaklığına, 1. ay, 2. ay ve 3. ay sonunda 3 farklı koşula maruz kalan tüm formülasyonların pH ve iletkenlik değerleri, viskozite değerleri, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerlerinin ölçümü alındı ve organoleptik değerlendirilmesi yapıldı.

Tablo 3.4: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1-L	F1P2-L	F1P3-L	F1P4-L	F2P1-L	F2P2-L	F2P3-L	F2P4-L
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,025	0,025	0,025	0,025	0,016	0,016	0,016	0,016
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15
YAĞ FAZİ								
Lavanta Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,025	0,025	0,025	0,025	0,034	0,034	0,034	0,034

Tablo 3.5: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1-L	F3P2-L	F3P3-L	F3P4-L	F4P1-L	F4P2-L	F4P3-L	F4P4-L
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,05	0,05	0,05	0,05	0,033	0,033	0,033	0,033
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
YAĞ FAZİ								
Lavanta Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,05	0,05	0,05	0,05	0,067	0,067	0,067	0,067

Tablo 3.6: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1-L	F1P2-L	F1P3-L	F1P4-L	F2P1-L	F2P2-L	F2P3-L	F2P4-L
SU FAZI								
Tween 20	0,025	0,025	0,025	0,025	0,016	0,016	0,016	0,016
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15
YAĞ FAZI								
Lavanta Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,025	0,025	0,025	0,025	0,034	0,034	0,034	0,034

Tablo 3.7: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak lavanta yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1-L	F3P2-L	F3P3-L	F3P4-L	F4P1-L	F4P2-L	F4P3-L	F4P4-L
SU FAZI								
Tween 20	0,05	0,05	0,05	0,05	0,033	0,033	0,033	0,033
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
YAĞ FAZI								
Lavanta Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,05	0,05	0,05	0,05	0,067	0,067	0,067	0,067

Tablo 3.8: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1-I	F1P2-I	F1P3-I	F1P4-I	F2P1-I	F2P2-I	F2P3-I	F2P4-I
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,025	0,025	0,025	0,025	0,016	0,016	0,016	0,016
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15
YAĞ FAZİ								
İtır Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,025	0,025	0,025	0,025	0,034	0,034	0,034	0,034

Tablo 3.9: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1-I	F3P2-I	F3P3-I	F3P4-I	F4P1-I	F4P2-I	F4P3-I	F4P4-I
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,05	0,05	0,05	0,05	0,033	0,033	0,033	0,033
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
YAĞ FAZİ								
İtır Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,05	0,05	0,05	0,05	0,067	0,067	0,067	0,067

Tablo 3.10: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1-I	F1P2-I	F1P3-I	F1P4-I	F2P1-I	F2P2-I	F2P3-I	F2P4-I
SU FAZİ								
Tween 20	0,025	0,025	0,025	0,025	0,016	0,016	0,016	0,016
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15	99,15
YAĞ FAZİ								
İtır Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,025	0,025	0,025	0,025	0,034	0,034	0,034	0,034

Tablo 3.11: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak ıtır yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1-I	F3P2-I	F3P3-I	F3P4-I	F4P1-I	F4P2-I	F4P3-I	F4P4-I
SU FAZİ								
Tween 20	0,05	0,05	0,05	0,05	0,033	0,033	0,033	0,033
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1
YAĞ FAZİ								
İtır Yağı	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Transcutol® HP	0,05	0,05	0,05	0,05	0,067	0,067	0,067	0,067

Tablo 3.12: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1- Ç	F1P2- Ç	F1P3- Ç	F1P4- Ç	F2P1- Ç	F2P2- Ç	F2P3- Ç	F2P4- Ç
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,05	0,05	0,05	0,05	0,033	0,033	0,033	0,033
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05
YAĞ FAZİ								
Çay Ağacı Yağı	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Transcutol® HP	0,05	0,05	0,05	0,05	0,067	0,067	0,067	0,067

Tablo 3.13: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1- Ç	F3P2- Ç	F3P3- Ç	F3P4- Ç	F4P1- Ç	F4P2- Ç	F4P3- Ç	F4P4- Ç
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,1	0,1	0,1	0,1	0,067	0,067	0,067	0,067
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95
YAĞ FAZİ								
Çay Ağacı Yağı	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Transcutol® HP	0,1	0,1	0,1	0,1	0,133	0,133	0,133	0,133

Tablo 3.14: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1- Ç	F1P2- Ç	F1P3- Ç	F1P4- Ç	F2P1- Ç	F2P2- Ç	F2P3- Ç	F2P4- Ç
SU FAZI								
Tween 20	0,05	0,05	0,05	0,05	0,033	0,033	0,033	0,033
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05
YAĞ FAZI								
Çay Ağacı Yağı	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Transcutol® HP	0,05	0,05	0,05	0,05	0,067	0,067	0,067	0,067

Tablo 3.15: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak çay ağacı yağı içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1- Ç	F3P2- Ç	F3P3- Ç	F3P4- Ç	F4P1- Ç	F4P2- Ç	F4P3- Ç	F4P4- Ç
SU FAZI								
Tween 20	0,1	0,1	0,1	0,1	0,067	0,067	0,067	0,067
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95	98,95
YAĞ FAZI								
Çay Ağacı Yağı	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Transcutol® HP	0,1	0,1	0,1	0,1	0,133	0,133	0,133	0,133

Tablo 3.16: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1-K	F1P2-K	F1P3-K	F1P4-K	F2P1-K	F2P2-K	F2P3-K	F2P4-K
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,1	0,1	0,1	0,1	0,067	0,067	0,067	0,067
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85
YAĞ FAZİ								
Karışım	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Transcutol® HP	0,1	0,1	0,1	0,1	0,133	0,133	0,133	0,133

Tablo 3.17: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1-K	F3P2-K	F3P3-K	F3P4-K	F4P1-K	F4P2-K	F4P3-K	F4P4-K
SU FAZİ								
Pluronic® F68	0,2	0,2	0,2	0,2	0,133	0,133	0,133	0,133
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65
YAĞ FAZİ								
Karışım	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Transcutol® HP	0,2	0,2	0,2	0,2	0,267	0,267	0,267	0,267

Tablo 3.18: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait birinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F1P1-K	F1P2-K	F1P3-K	F1P4-K	F2P1-K	F2P2-K	F2P3-K	F2P4-K
SU FAZİ								
Tween 20	0,1	0,1	0,1	0,1	0,067	0,067	0,067	0,067
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85	98,85
YAĞ FAZİ								
Karışım	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Transcutol® HP	0,1	0,1	0,1	0,1	0,133	0,133	0,133	0,133

Tablo 3.19: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak Tween 20 ve etken madde olarak karışım (lavanta yağı + ıtır yağı + çay ağacı yağı) içeren formülasyon bileşenlerine ait ikinci tablo

Maddeler (g)	FORMÜLASYONLAR							
	F3P1-K	F3P2-K	F3P3-K	F3P4-K	F4P1-K	F4P2-K	F4P3-K	F4P4-K
SU FAZİ								
Tween 20	0,2	0,2	0,2	0,2	0,133	0,133	0,133	0,133
Geogard Ultra	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Distile Su	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65	98,65
YAĞ FAZİ								
Karışım	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Transcutol® HP	0,2	0,2	0,2	0,2	0,267	0,267	0,267	0,267

L: Lavanta yağı I: İtır yağı

Ç: Çay ağacı yağı K: Karışım (Lavanta+İtır+Çay ağacı)

Tablo 3.20: Formülasyon proseslerine karşılık gelen işlemlere ait tablo

P1	20 dakika ultrasonikasyon
P2	5 dakika ön karıştırma + 20 dakika ultrasonikasyon
P3	30 dakika ultrasonikasyon
P4	5 dakika ön karıştırma + 30 dakika ultrasonikasyon

3.2.4. Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

Hazırlanan Y/S tipi nanoemülsiyonlara ilk önce santrifüj testi uygulandı. Santrifüj testini başarılı ile geçen formülasyonlara termal test gerçekleştirildi. Ön stabilite testlerini geçen formülasyonların pH, iletkenlik, viskozite, partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçüldü ve organoleptik (renk, koku, görünüş) analizleri yapıldı. Bu testleri geçen 4 adet formülasyonun buzdolabı ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem) ve etüvde ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) bekletildiği uzun süreli stabilite testlerinde belirli zaman aralıklarında (1. gün, 1. ay, 2. ay, 3. ay) pH, iletkenlik, viskozite, partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli ölçüldü ve organoleptik değerlendirilmesi yapıldı.

3.2.4.1. Santrifüj Testi

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonları ilk etapta santrifüj tüpü içinde Hettich Universal 320 santrifüj cihazında 4500 rpm hızda 30 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonuçları stabilite problemleri (faz ayrımı, koalesans, çökme vb.) açısından değerlendirildi ve uygun olmayan formülasyonlar elendi.

3.2.4.2. Termal Test

Hızlandırılmış ön stabilite çalışmalarının ikinci aşamasını termal test oluşturmaktadır. Santrifüj testini geçen formülasyonlar öncelikle 40°C 'lik KUDOS su banyosuna bırakıldı. Daha sonra her yarım saatte bir sıcaklık 5°C artırılarak formülasyonlar maksimum 80°C 'ye kadar ısıtıldı. Bu testi de başarılı geçen formülasyonlarla diğer çalışmalara devam edildi.

3.2.4.3. pH Ölçümleri

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlarından ön stabilite testlerini geçenlerin pH değerleri Mettler Toledo SevenExcellence cihazı kullanılarak ölçüldü ve kaydedildi. Ön stabilite testlerini geçen formülasyonların büyük ölçekli miktarları hazırlandıktan sonra buzdolabı ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem) ve etüvde ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) bekletilen formülasyonların pH değerleri 1.gün, 1.ay, 2.ay ve 3.ayda ölçüldü.

3.2.4.4. İletkenlik Ölçümleri

İletkenlik ölçümü emülsiyonlarda faz değişiminin olup olmadığını gösteren bir stabilite testidir. Ön stabilite testlerini geçen nanoemülsiyon formülasyonlarının iletkenlik değerleri Mettler Toledo SevenExcellence cihazı ile ölçüldü. Uzun süreli stabilite çalışmalarında buzdolabı ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem) ve etüvde ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) bekletilen formülasyonların iletkenlik değerleri 1.gün, 1.ay, 2.ay ve 3.ayda ölçüldü.

3.2.4.5. Viskozite Ölçümleri

Nanoemülsiyon formülasyonlarının viskozite ölçümleri Brookfield DV 3T viskozimetre cihazı ve CP 40 plağı ile $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirildi. Formülasyonların viskoziteleri 70 rpm, 75 rpm, 80 rpm, 85 rpm, 90 rpm, 95 rpm, 100 rpm, 105 rpm, 110 rpm ve 115 rpm'de ölçüldü. Hızlandırılmış stabilite testini geçen formülasyonların büyük ölçekli miktarları hazırlanmadan önce viskozite değerleri ölçüldü. Büyük ölçekli miktarları hazırlandıktan sonra oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), etüv ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) bekletilen formülasyonların viskozite değerleri 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda ölçüldü.

3.2.4.6. Damlacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve Polidispersite İndeksi Ölçümleri

Nanoemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyel ölçümleri ışık saçılımı prensibine göre çalışan Malvern Zetasizer Nano ZS cihazı ile yürütülmüştür. Ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. 3 ölçümün ortalaması alınmıştır. Formülasyonlar balon jojede 1/100 oranında seyreltilmiştir. Uygun formülasyonların ölçümleri uzun süreli stabilite testlerine geçmeden önce yapılmıştır. Uzun süreli stabilite testlerinde ise oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), etüv ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) bekletilen formülasyonların

ölçümleri 1.gün, 1.ay, 2.ay ve 3.ayda alınmıştır. Ayrıca ısıtma soğutma testi sonunda formülasyonların damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüştür.

3.2.4.7. Organoleptik İncelemeler

Nanoemülsiyonların genel görünüşü, renk ve koku gibi özelliklerinde değişim olup olmadığı değerlendirildi. Hızlandırılmış stabilite testini geçen formülasyonların büyük ölçekli miktarları hazırlanmadan önce organoleptik değerlendirilmeleri yapıldı. Büyük ölçekli miktarları hazırlandıktan sonra oda koşulu (25°C, %60 nem), etüv (40°C $\pm$ 2°C, %75 nem) ve buzdolabında (5°C $\pm$ 2°C) bekletilen formülasyonların organoleptik değerlendirilmeleri 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda yapıldı.

3.2.4.8. Formülasyonlar Üzerinde Gerçekleştirilen Antifungal Aktivite Çalışmaları

Yapılan tüm testler sonucunda stabil kalan F4P3-L, F4P3-I, F4P3-Ç ve F4P3-K formülasyonlarının in-vitro ortamda *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 standart suşuna karşı antifungal etkinliği disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Bu amaçla, 200 ml'lik % 2 glukoz ve % 2 agar karışımı otoklavda steril edilmiş, ardından RPMI 1640 besiyerine (Applichem, Darmstadt, Almanya) ilave edilerek Petri kutularına dağıtılmıştır. Deneyde kullanılacak mikroorganizmaya ait inokulum CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) M38-A kriterleri doğrultusunda hazırlanmıştır (Rex ve ark. 2008). Çalışmada kullanılan dermatofit konidyum süspansiyonu $1-5 \times 10^6$ olacak şekilde 5 ml steril % 0.9 tuzlu su kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan konidyum süspansiyonu % 2 glukoz ilaveli steril RPMI 1640 besiyeri içeren petri kutularının yüzeyine yayılmış ve petriler 15 dakika süreyle aseptik şartlarda kurumaya bırakılmıştır. Ardından petri kutuları üzerine 10 µl formülasyon ürünleri emdirilmiş diskler ilave edilmiştir. 10 µg Ketokonazol içeren diskler (Liofilchem) kontrol olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Petri kutuları 25°C'de 4-7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda diskler etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülerek aktivite değerlendirilmiştir.

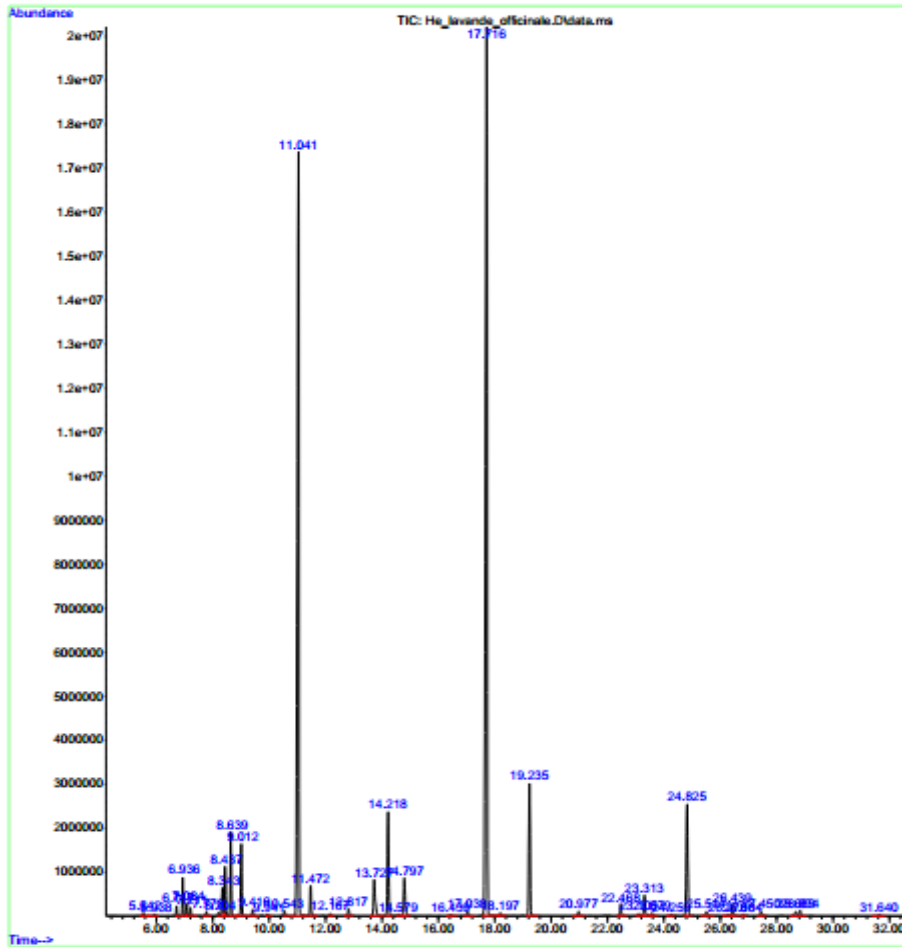
4. BULGULAR

4.1. GC-MS Bulguları

Lavandula angustifolia, *Melaleuca alternifolia* ve *Pelargonium graveolens* uçucu yağlarının GC-MS analizleri ile sonuçlar elde edilmiş ve Tablo 4.1-4.3’de gösterilmiştir.

4.1.1. *Lavandula angustifolia* GC-MS Bulguları

Lavanta’nın GC-MS analizine göre toplamda 43 farklı bileşen tespit edilmiştir. Lavanta uçucu yağına antifungal özelliği kazandıran başlıca bileşenlerden linalool ve linalil asetat yüzdeleri sırasıyla % 31,69 ve % 38,81 olarak bulunmuştur.



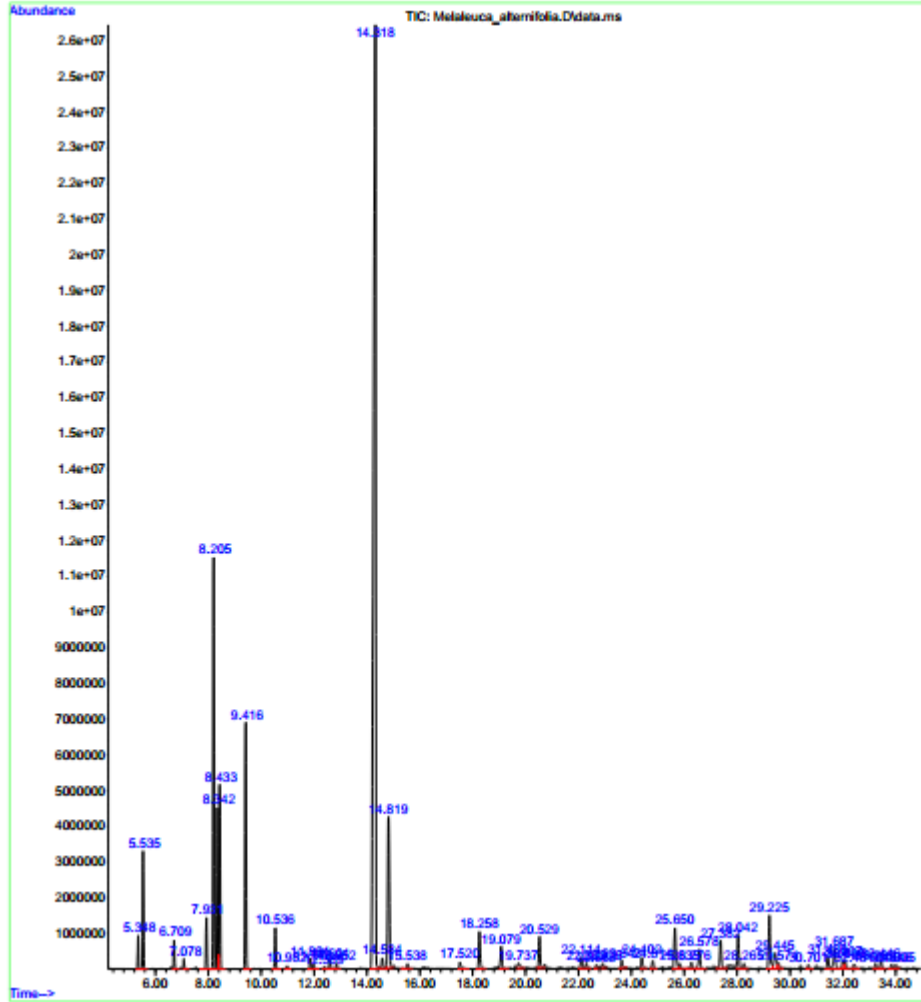
Şekil 4.1: Lavanta uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı

Tablo 4.1: Lavantaya ait GC-MS Analizi

No	% Bileşen	Kimyasal Bileşen
1.	38,81	Linalyl acetate
2.	31,69	Linalool
3.	4,62	Lavandulyl acetate
4.	4,57	Caryophyllene
5.	3,55	Terpinen-4-ol
6.	2,21	trans- β -Ocimene
7.	1,98	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-
8.	1,59	Endo-Borneol
9.	1,42	α -Terpineol
10.	1,39	Eucalyptol
11.	0,94	3-Octanone
12.	0,89	1-Octen-3-yl-acetate
13.	0,83	D-Limonene
14.	0,81	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-acetate
15.	0,43	cis-beta-Farnesene
16.	0,42	Propanoic acid
17.	0,32	β -Myrcene
18.	0,25	1-Octen-3-ol
19.	0,25	2-Bornanone
20.	0,24	Naphthalene
21.	0,23	Lavandulyl-2-methylbutanoate
22.	0,22	Butanoic acid
23.	0,22	Coumarin
24.	0,19	γ -Terpinene
25.	0,19	Butanoic acid, 3-methyl-, hexyl ester
26.	0,18	Germacrene
27.	0,17	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)
28.	0,16	Hexyl tiglate
29.	0,15	Acetic acid, hexyl ester
30.	0,14	2-Methyl-5-6-methylhept-5-en-2-yl-hex-2-ene
31.	0,12	3-isopropyl-6,8-dimethyl-1,2,4,5,8,8-hexahydroazulene
32.	0,10	o-Cymene
33.	0,10	Acetoxy-cis-linalooloxide
34.	0,08	α -Pinene
35.	0,08	2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-
36.	0,07	Benzenemethanol, $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl-p-Cymen-8-ol
37.	0,07	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-
38.	0,07	2-methyl-5-6-methylhept-5-en-2-yl-hex-2-ene
39.	0,07	β -Bisabolene
40.	0,06	Ethyl-2-5-methyl-5-vinyltetrahydrofuran-2-yl-propan-2-yl carbonate
41.	0,06	Humulene
42.	0,05	Camphene
43.	0,04	Propanoic acid, 2-methyl-, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester

4.1.2. *Melaleuca alternifolia* GC-MS Bulguları

Çay ağacı'nın GC-MS analizine göre toplamda 50 farklı bileşen tespit edilmiştir. Çay ağacı uçucu yağına antifungal özelliği kazandıran başlıca bileşenlerden terpinen-4-ol % 46,66 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.2: Çay ağacı uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı

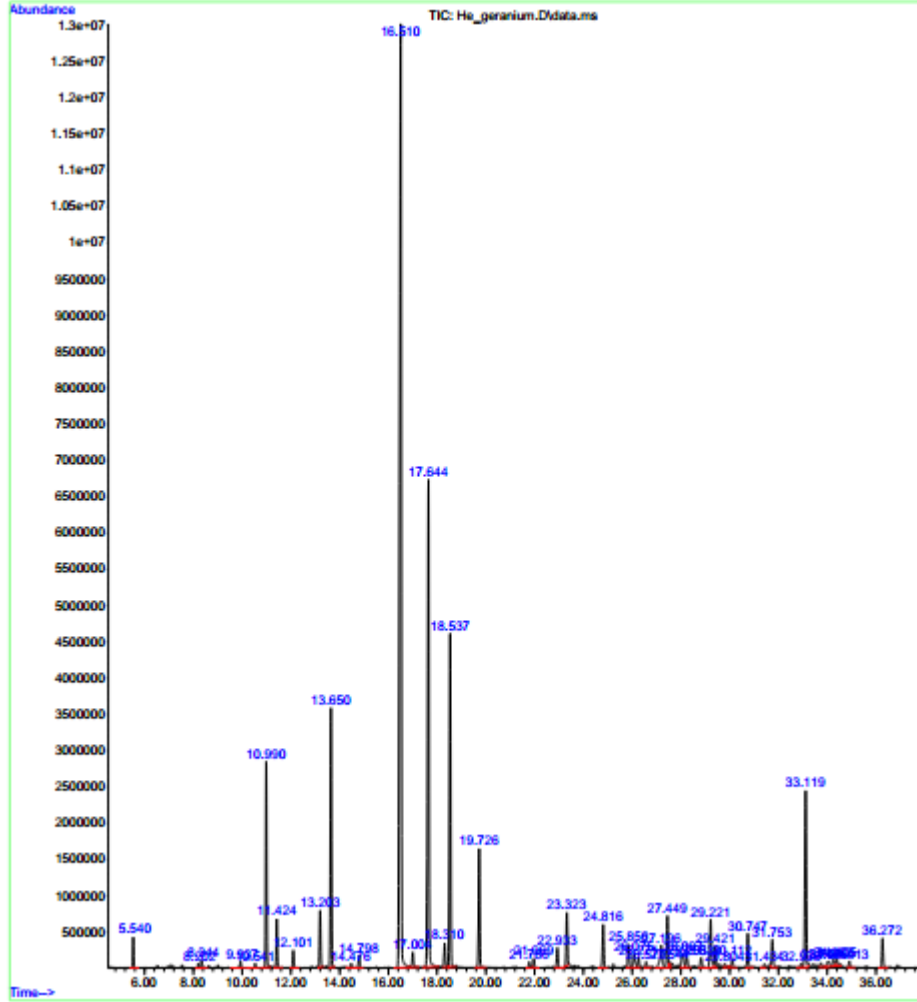
Tablo 4.2: Çay ağacına ait GC-MS Analizi

No	% Bileşen	Kimyasal Bileşen
1.	46,66	Terpinen-4-ol
2.	9,73	p-Cymene
3.	5,92	γ -Terpinene
4.	5,82	α -Terpineol
5.	4,21	Eucalyptol
6.	3,81	D-Limonene
7.	2,26	α -Pinene

8.	1,94	Napthalene,1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-
9.	1,66	Aromandendrene
10.	1,16	trans-Ascaridol glycol
11.	1,16	1-Cyclopropeazulene,1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-
12.	1,15	4-Carene
13.	1,04	Trihydroxy-p-menthane
14.	1,03	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-
15.	0,99	2-methylene-1-cyclohexanol
16.	0,91	Globulol
17.	0,84	1,2,3-Propanetricarboxylic acid, 2-hydroxy-, triethyl ester
18.	0,75	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-
19.	0,72	Alloaromadendrene
20.	0,61	Bicyclohex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-
21.	0,61	Bicycloheptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-
22.	0,42	Cycloprop(e)azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-
23.	0,40	3,7-Dimethyl-6,7-epoxyoctan-2-one
24.	0,39	Benzenemethanol, $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl-
25.	0,39	1-Cyclopropa(a)naphthalene,1a,2,3,3a,4,5,6,7b-octahydro-1,1,3a,7-tetramethyl-
26.	0,32	Azulene,1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1, 4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-
27.	0,30	1,4-dihydroxy-p-menth-2-ene
28.	0,30	Methyl hept-2-ynoate
29.	0,29	Epicubenol
30.	0,28	p-menth-2-en-1-ol
31.	0,28	4-Methyl-2-furfuryl alcohol
32.	0,28	Caryophyllene
33.	0,27	γ -Terpinene
34.	0,27	1-Naphthalenemethanol,1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro- $\alpha,\alpha,4,7$ -tetramethyl-
35.	0,26	1,4-dihydroxy-p-menth-2-ene
36.	0,21	β -Myrcene
37.	0,20	2-Naphthalenemethanol,2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro- $\alpha,\alpha,4a,8$ -tetramethyl-
38.	0,19	p-menthane-2,4-diol
39.	0,19	Cubenene
40.	0,19	5,7,7-Trimethylbicyclooct-8-en-2-one
41.	0,18	Alloaromadendrene
42.	0,17	Cyclooctanone
43.	0,17	α -Muurolene
44.	0,16	4,8-epoxy-p-menth-1-ene
45.	0,16	2-Cyclohexen-1-ol,3-methyl-6-(1-methylethyl)-,cis-
46.	0,16	α -Copaene
47.	0,16	Spathulenol
48.	0,15	cis-muurola-3,5-diene
49.	0,13	Epiglobulol
50.	0,12	2-Pentanone,1-(2-furanyl)-2-Pentanone,1-(2-furyl)-

4.1.3. *Pelargonium graveolens* GC-MS Bulguları

İtır'ın GC-MS analizine göre toplamda 48 farklı bileşen tespit edilmiştir. İtır uçucu yağına antifungal özelliği kazandıran başlıca bileşenlerden geraniol ve sitronellol yüzdeleri sırasıyla % 14,68 ve % 33,57 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.3: İtır uçucu yağına ait GC-MS kromatogramı

Tablo 4.3: İtır aıt GC-MS Analizi

No	% Bileşen	Kimyasal Bileşen
1.	33,57	Citronellol
2.	14,68	Geraniol
3.	9,17	6-Octen-1-ol,3,7-dimethyl-,formate
4.	6,58	1-Menthone
5.	5,80	2-4a,8-Dimethyl-1,2,3,4
6.	4,56	Linalool
7.	3,11	Geranyl formate

8.	1,64	Naphthalene,1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-
9.	1,61	Germacrene
10.	1,47	1-Menthone
11.	1,45	β -Bourbonene
12.	1,28	Caryophyllene
13.	1,12	4-Methyl-2-(2-methylprop-1-en-1-yl)tetrahydro-2H-pyran
14.	1,04	2,6-Octadien-1-ol,3,7-dimethyl-acetate
15.	0,96	Lavandulyl butyrate
16.	0,93	2-Phenylethyl tiglate
17.	0,81	Geranyl tiglate
18.	0,78	6-Octen-1-ol,3,7-dimethyl-, propanoate
19.	0,70	Bicyclogermacrene
20.	0,64	Citral
21.	0,60	2,6,-Octadiene,2,6-dimethyl-
22.	0,59	α -Copaene
23.	0,57	cis-muurolo-3,5-diene
24.	0,55	α -Pinene
25.	0,48	2,6-Octadienal,3,7-dimethyl-
26.	0,43	4-Methyl-2-(2-methylprop-1-en-1-yl)tetrahydro-2H-pyran
27.	0,37	α -Muurolole
28.	0,35	Terpineol
29.	0,35	γ -Muurolole
30.	0,33	Isodihydroagarofuran-4-ol
31.	0,31	Humulene
32.	0,31	5-Acetyl-2-ethylsulfanyl-6-methyl-nicotinonitrile
33.	0,31	Benzene,1,2,4-triethyl-1,2,4-Triethylbenzene
34.	0,27	2,6-Octadiene,2,6-dimethyl-
35.	0,23	D-Limonene
36.	0,23	Germacrene
37.	0,20	Aromandendrene
38.	0,19	Citronellyl tiglate
39.	0,18	Ethyl 2-(5-methyl-5-vinyltetrahydrofuran-2-yl)propan-2-yl carbonate
40.	0,18	Agarospireol
41.	0,17	α -Cubebene
42.	0,15	Naphthalene,decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-
43.	0,14	Epicubenol
44.	0,13	Cyclohexanol,5-methyl-2-(1-methylethyl)-
45.	0,12	delta-Selinene
46.	0,12	Spathulenol
47.	0,11	Trans-linalool oxide
48.	0,10	o-Cymene

4.2. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Santrifüj Testi Sonuçları

Seçilen formülasyonlar 4500 rpm hızda 30 dk boyunca teste tabii tutuldu. Ön karıştırma işlemine tabi tutulan nanoemülsiyon formülasyonları stabil bir performans gösteremedi. Smix olarak Pluronic F68:Transcutol HP karışımları, Tween 20:Transcutol HP karışımlarına göre daha stabil bulunmuştur. Santrifüj testi sonucunda stabil olan formülasyonlar aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Tablo 4.4: Santrifüj testi sonucuna göre stabil kalan formülasyonlar

Formülasyon Numarası	YF:Smix	Ultrasonik Karıştırma Süresi (dk)	Santrifüj Testi Sonucu
F1P1-L	1:1	20	Stabil
F1P3-L	1:1	30	Stabil
F2P1-L	1:1	20	Stabil
F2P3-L	1:1	30	Stabil
F3P1-L	1:2	20	Stabil
F3P3-L	1:2	30	Stabil
F4P1-L	1:2	20	Stabil
F4P3-L	1:2	30	Stabil
F1P1-I	1:1	20	Stabil
F1P3-I	1:1	30	Stabil
F2P1-I	1:1	20	Stabil
F2P3-I	1:1	30	Stabil
F3P1-I	1:2	20	Stabil
F3P3-I	1:2	30	Stabil
F4P1-I	1:2	20	Stabil
F4P3-I	1:2	30	Stabil
F1P1-Ç	1:1	20	Stabil
F1P3-Ç	1:1	30	Stabil
F2P1-Ç	1:1	20	Stabil
F2P3-Ç	1:1	30	Stabil
F3P1-Ç	1:2	20	Stabil
F3P3-Ç	1:2	30	Stabil
F4P1-Ç	1:2	20	Stabil
F4P3-Ç	1:2	30	Stabil
F1P1-K	1:1	20	Stabil
F1P3-K	1:1	30	Stabil
F2P1-K	1:1	20	Stabil
F2P3-K	1:1	30	Stabil
F3P1-K	1:2	20	Stabil
F3P3-K	1:2	30	Stabil
F4P1-K	1:2	20	Stabil
F4P3-K	1:2	30	Stabil

4.2.2. Karıştırma Süresinin Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlarının bir kısmına 20 dk ve 30 dk sadece ultrasonik homojenizatör uygulanırken bir kısmına ise 5 dk ön karıştırma uygulandıktan sonra 20 dk ve 30 dk ultrasonik homojenizatör uygulanmıştır. Ön karıştırma işlemi yapılarak daha stabil formüller elde edilmesi planlanırken santrifüj testinde formülasyonların tümünde çökme, ayrışma vb. gözlemlendi. Ürünlerin damlacık boyutları ölçüldüğünde partikül boyutlarının istenilen aralıkta olmadığı ve homojen bir karışım elde edilemediği saptanarak ön karıştırma işlemi yapılmadan sadece ultrasonik homojenizatör ile çalışmalara devam edildi.

4.2.3. Termal Teste Ait Bulgular

Termal testler Bölüm 3.2.4.2.'de belirtildiği gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.5'de verilmiştir.

Tablo 4.5: Termal test sonuçlarına ait tablo

Formülasyon Numarası	Gözlemlenen Özellikler
F1P1-L	Çökme
F1P3-L	Orta seviyede çökme
F2P1-L	Çökme
F2P3-L	Çökme
F3P1-L	Koalesans
F3P3-L	Orta Seviyede Çökme
F4P1-L	Homojen
F4P3-L	Homojen
F1P1-I	Koalesans
F1P3-I	Çökme
F2P1-I	Orta Seviyede Çökme
F2P3-I	Homojen
F3P1-I	Çökme
F3P3-I	Homojen
F4P1-I	Homojen
F4P3-I	Homojen
F1P1-Ç	Hafif çökme ve koalesans
F1P3-Ç	Homojen
F2P1-Ç	Koalesans
F2P3-Ç	Homojen
F3P1-Ç	Çökme
F3P3-Ç	Homojen
F4P1-Ç	Homojen
F4P3-Ç	Homojen
F1P1-K	Çökme

F1P3-K	Çökme
F2P1-K	Homojen
F2P3-K	Hafif çökme ve koalesans
F3P1-K	Homojen
F3P3-K	Orta Seviyede Çökme
F4P1-K	Homojen
F4P3-K	Homojen

Tablo 4.6: Stabilite testine alınan formülasyonların başlangıç damlacık boyutu ve PDI değerleri

Formülasyon Numarası	YF:Smix	Ultrasonik Karıştırma Süresi (dk)	Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	PDI (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)
F4P1-L	1:2	20	384,4 ± 1,1	0,348 ± 0,005
F4P3-L	1:2	30	182,4 ± 1,5	0,182 ± 0,005
F2P3-I	1:1	30	462,2 ± 1,08	0,480 ± 0,042
F3P3-I	1:2	30	322,1 ± 1,11	0,298 ± 0,08
F4P1-I	1:2	20	300,4 ± 1,3	0,194 ± 0,01
F4P3-I	1:2	30	141,2 ± 0,9	0,220 ± 0,07
F1P3-Ç	1:1	30	498,4 ± 0,27	0,520 ± 0,06
F2P3-Ç	1:1	30	297,4 ± 1,22	0,388 ± 0,035
F3P3-Ç	1:2	30	349,3 ± 1,26	0,382 ± 0,021
F4P1-Ç	1:2	20	377,6 ± 0,7	0,211 ± 0,02
F4P3-Ç	1:2	30	188,1 ± 1	0,166 ± 0,015
F2P1-K	1:1	20	411,1 ± 0,79	0,366 ± 0,04
F3P1-K	1:2	20	311,2 ± 1,21	0,303 ± 0,02
F4P1-K	1:2	20	400,1 ± 0,7	0,148 ± 0,007
F4P3-K	1:2	30	108,2 ± 0,3	0,111 ± 0,003

Yukarıdaki sonuçlar neticesinde en iyi 4 formül belirlendi ve hızlandırılmış stabilite testine tabii tutuldu.

Tablo 4.7: Hızlandırılmış stabilite testi için seçilen formülasyonlar

Formülasyon Numarası	YF:Smix	Ultrasonik Karıştırma Süresi (dk)	Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	PDI (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)
F4P3-L	1:2	30	182,4 ± 1,5	0,182 ± 0,05
F4P3-I	1:2	30	141,2 ± 0,9	0,220 ± 0,07
F4P3-Ç	1:2	30	188,1 ± 1,0	0,166 ± 0,04
F4P3-K	1:2	30	108,2 ± 0,3	0,111 ± 0,03

4.2.4. Isıtma-Soğutma Testinin Damlacık Boyutuna Etkisi

Seçilen nanoemülsiyon formülasyonları 24 saat etüv (40°C), 24 saat buzdolabında (4°C) 3 döngüde tutularak test yapıldı. Daha sonrasında damlacık boyutları ölçüldü.

Tablo 4.8: Isıtma-Soğutma testine ait bulguları gösteren tablo

Formülasyon Numarası	Damlacık Boyutu (nm), (n=3)	PDI (n=3)	Zeta Potansiyeli (mV), (n=3)
F4P3-L	192,1 ± 1,1	0,222 ± 0,03	-31,2±1,05
F4P3-I	185,4 ± 0,9	0,220 ± 0,01	-21,2±0,98
F4P3-Ç	154,2 ± 0,7	0,281 ± 0,04	-24,8±0,95
F4P3-K	118,1 ± 1,2	0,291 ± 0,08	-29,4±1,11

4.2.5. Ortam Sıcaklığının Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi

Seçilen formülasyonlar 3 ortam koşulunda 3 ay boyunca tutularak formülasyonların damlacık boyutu değişimleri gözlemlendi.

Tablo 4.9: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (5°C±2)	2.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (5°C±2)	3.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (5°C±2)
F4P3-L	195,4 ± 1,21	232,1 ± 0,78	270,2 ± 1,11
F4P3-I	199,2 ± 1,08	229,4 ± 0,56	255,1 ± 0,44
F4P3-Ç	198,4 ± 1,02	345,2 ± 1,19	389,8 ± 0,92
F4P3-K	119,2 ± 1,11	317,1 ± 1,22	391,4 ± 1,20

Tablo 4.10: Nanoemülsiyonların 25°C oda koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	2.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	3.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)
F4P3-L	205,4 ± 1,06	239,1 ± 0,88	277,2 ± 1,09
F4P3-I	229,2 ± 1,13	270,4 ± 1,01	318,1 ± 1,11
F4P3-Ç	205,4 ± 1,21	300,2 ± 1,14	378,8 ± 0,43
F4P3-K	151,2 ± 0,78	241,1 ± 0,58	331,4 ± 1,19

Tablo 4.11: Nanoemülsiyonların 40°C ortamda değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)	2.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)	3.ay Damlacık Boyutu (nm) (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)
F4P3-L	325,4 ± 0,92	411,1 ± 0,88	482,2 ± 0,91
F4P3-I	188,2 ± 1,14	255,4 ± 1,08	342,1 ± 1,22
F4P3-Ç	236,4 ± 0,78	342,2 ± 1,09	442,8 ± 0,87
F4P3-K	193,2 ± 0,88	281,1 ± 0,71	401,4 ± 0,99

Yapılan çalışmalar sonucunda 40°C %75 nem ortamında bulunan çalışmaların oda koşulu ve buzdolabında tutulan numunelere kıyasla damlacık boyutlarının daha yüksek olduğu saptandı.

4.2.6. Ortam Sıcaklığının Zeta Potansiyeli Üzerine Etkisi

Seçilen formülasyonlar 3 ortam koşulunda 3 ay boyunca tutularak formülasyonların zeta potansiyeli değişimleri gözlemlendi.

Tablo 4.12: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (5°C±2)	2.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (5°C±2)	3.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (5°C±2)
F4P3-L	-34,7 ± 0,72	-32,7 ± 0,69	-27,7 ± 1,01
F4P3-I	-29,2 ± 0,78	-24,2 ± 1,11	-29,2 ± 0,68
F4P3-Ç	-23,4 ± 1,08	-23,8 ± 0,71	-23,4 ± 0,61
F4P3-K	-39,2 ± 0,67	-37,2 ± 1,03	-39,2 ± 1,14

Tablo 4.13: Nanoemülsiyonların 25°C oda koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	2.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	3.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)
F4P3-L	-36,0 ± 0,82	-38,7 ± 0,65	-26,3 ± 1,03
F4P3-I	-31,2 ± 0,46	-28,2 ± 1,45	-26,2 ± 0,61
F4P3-Ç	-33,4 ± 1,44	-31,4 ± 0,56	-36,4 ± 1,62
F4P3-K	-37,2 ± 0,77	-39,2 ± 0,99	-38,2 ± 1,47

Tablo 4.14: Nanoemülsiyonların 40°C ortamda değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)	2.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)	3.ay Zeta potansiyeli (mV) (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)
F4P3-L	-24,7 ± 0,79	-35,7 ± 0,77	-30,7 ± 0,99

F4P3-I	$-29,8 \pm 0,66$	$-26,2 \pm 1,25$	$-28,2 \pm 1,55$
F4P3-Ç	$-30,4 \pm 1,22$	$-31,4 \pm 0,77$	$-27,4 \pm 0,58$
F4P3-K	$-37,2 \pm 1,64$	$-39,2 \pm 1,22$	$-31,2 \pm 0,73$

4.2.7. Ortam Sıcaklığının Polidispersite İndeksi Üzerine Etkisi

Seçilen formülasyonlar 3 ortam koşulunda 3 ay boyunca tutularak formülasyonların polidispersite indeksi değişimleri gözlemlendi.

Tablo 4.15: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay PDI (n=3), (5°C±2)	2.ay PDI (n=3), (5°C±2)	3.ay PDI (n=3), (5°C±2)
F4P3-L	$0,278 \pm 0,05$	$0,258 \pm 0,007$	$0,288 \pm 0,061$
F4P3-I	$0,225 \pm 0,02$	$0,215 \pm 0,021$	$0,225 \pm 0,022$
F4P3-Ç	$0,241 \pm 0,07$	$0,238 \pm 0,082$	$0,222 \pm 0,088$
F4P3-K	$0,244 \pm 0,06$	$0,249 \pm 0,064$	$0,244 \pm 0,061$

Tablo 4.16: Nanoemülsiyonların 25°C oda koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay PDI (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	2.ay PDI (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)	3.ay PDI (n=3), (25°C±2, %60 R.N.)
F4P3-L	$0,266 \pm 0,082$	$0,288 \pm 0,092$	$0,289 \pm 0,003$
F4P3-I	$0,278 \pm 0,022$	$0,220 \pm 0,024$	$0,272 \pm 0,022$
F4P3-Ç	$0,232 \pm 0,071$	$0,274 \pm 0,081$	$0,287 \pm 0,066$
F4P3-K	$0,282 \pm 0,042$	$0,296 \pm 0,064$	$0,277 \pm 0,098$

Tablo 4.17: Nanoemülsiyonların 40°C ortamda değişimleri

Formülasyon Numarası	1.ay PDI (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)	2.ay PDI (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)	3.ay PDI (n=3), (40°C±2, %75 R.N.)
F4P3-L	0,204 ± 0,088	0,115 ± 0,023	0,255 ± 0,083
F4P3-I	0,222 ± 0,054	0,266 ± 0,028	0,262 ± 0,021
F4P3-Ç	0,208 ± 0,081	0,288 ± 0,093	0,211 ± 0,069
F4P3-K	0,275 ± 0,042	0,201 ± 0,055	0,287 ± 0,011

4.2.8. pH Değerleri

Stabiliteye alınan formülasyonların buzdolabı, oda ve etüv koşulundaki pH değerleri aşağıdaki gibidir.

Tablo 4.18: pH değeri sonuçları

Formülasyon Numarası	Başlangıç Değeri	5°C±2°C			25°C±2°C (%60 R.N.)			40°C±2°C (%75 R.N.)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F4P3-L	3,59	3,64	3,65	3,68	3,69	3,71	3,74	3,73	3,79	3,84
F4P3-I	3,54	3,58	3,62	3,69	3,68	3,71	3,79	3,66	3,69	3,76
F4P3-Ç	3,50	3,56	3,58	3,61	3,69	3,70	3,70	3,71	3,73	3,73
F4P3-K	3,53	3,57	3,57	3,62	3,63	3,67	3,72	3,73	3,79	3,81

4.2.9. İletkenlik Değerleri**Tablo 4.19: Nanoemülsiyonların iletkenlik değerleri**

Formülasyon Numarası	Başlangıç Değeri	5°C±2°C			25°C±2°C (%60 R.N.)			40°C±2°C (%75 R.N.)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F4P3-L	102,9	102,64	101,65	104,68	102,88	103,71	100,74	104,68	104,55	109,84

F4P3-I	97,6	98, 58	99, 62	100, 69	103, 68	102, 71	104, 79	103, 66	106, 69	106, 99
F4P3-Ç	105,1	106, 56	108, 58	110, 61	110, 78	111, 70	113, 70	114, 71	115, 73	115, 88
F4P3-K	102,6	102, 57	103, 78	104, 62	105, 63	108, 67	110, 79	111, 73	113, 84	114, 81

4.2.10. Viskozite Değerleri

Tablo 4.20: F4P3-L için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	5°C±2°C			25°C±2°C (%60 R.N.)			40°C±2°C (%75 R.N.)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	46,49	43, 12	43, 62	43, 58	45, 24	45, 37	45, 49	41, 66	41, 47	41, 53
75	46,35	42, 22	42, 11	42, 38	46, 18	46, 43	46, 79	40, 14	40, 50	40, 83
80	46,49	43, 12	43, 89	43, 17	46, 13	46, 29	46, 38	39, 17	39, 27	39, 38
85	44,55	41, 27	41, 13	41, 11	43, 77	43, 61	43, 54	40, 10	40, 19	40, 64
90	44,68	41, 90	41, 57	41, 99	43, 16	43, 82	43, 28	37, 55	37, 17	37, 19
95	43,22	43, 17	43, 29	43, 88	44, 19	44, 55	44, 63	39, 89	39, 72	39, 62
100	43,18	42, 27	42, 78	42, 87	43, 19	43, 91	43, 57	41, 14	41, 41	41, 84
105	43,01	41, 18	41, 52	41, 59	43, 58	43, 11	43, 89	38, 63	38, 36	38, 14
110	41,85	41, 99	41, 13	41, 16	42, 22	42, 18	42, 13	37, 78	37, 87	37, 54
115	41,22	40, 44	40, 49	40, 68	41, 05	41, 19	41, 91	38, 18	38, 09	38, 90

Tablo 4.21: F4P3-I için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	5°C±2°C			25°C±2°C (%60 R.N.)			40°C±2°C (%75 R.N.)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	43,29	42,	42,	42,	44,	44,	44,	40,	40,	40,

		14	19	47	74	46	90	16	11	84
75	43,88	43,22	43,31	43,18	44,19	44,23	44,87	40,08	40,81	40,74
80	43,11	42,02	42,84	42,79	43,10	43,01	43,48	38,16	38,81	38,73
85	43,47	42,14	42,81	42,32	44,08	44,24	44,43	40,09	40,74	40,49
90	43,20	42,71	42,49	42,58	43,15	43,81	43,61	40,19	40,83	40,38
95	42,07	42,34	42,29	42,33	43,19	43,92	43,55	39,02	39,27	39,50
100	42,51	42,47	42,34	42,41	43,87	43,79	43,44	38,17	38,70	38,12
105	42,01	42,14	42,27	42,21	43,19	43,34	43,29	38,55	38,51	38,41
110	41,51	41,41	41,37	41,39	40,34	40,31	40,09	38,24	38,29	38,21
115	41,34	40,39	40,31	40,48	41,01	41,88	41,74	38,11	38,19	38,91

Tablo 4.22: F4P3-Ç için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	5°C±2°C			25°C±2°C (%60 R.N.)			40°C±2°C (%75 R.N.)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	42,33	42,30	42,15	42,19	43,09	43,41	43,82	38,02	38,44	38,17
75	42,14	42,27	42,19	42,91	43,08	43,15	43,70	38,14	38,93	38,96
80	42,02	42,81	42,73	42,60	43,14	43,68	43,55	38,09	38,41	38,88
85	42,03	42,18	42,31	42,39	43,14	43,51	43,19	38,81	38,42	38,31
90	42,29	42,16	42,39	42,44	43,41	43,60	43,58	38,19	38,22	38,81
95	42,82	42,77	42,70	42,65	42,11	42,48	42,59	38,13	38,45	38,99
100	41,01	41,57	41,15	41,51	42,77	42,81	42,89	38,09	38,13	38,48
105	41,22	41,34	41,13	41,39	42,12	42,48	42,81	38,11	38,41	38,83
110	40,21	40,08	40,29	40,88	41,33	41,39	41,77	37,13	37,31	37,49
115	40,59	39,13	39,69	39,88	40,11	40,33	40,74	37,52	37,48	37,91

Tablo 4.23: F4P3-K için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	5°C±2°C			25°C±2°C (%60 R.N.)			40°C±2°C (%75 R.N.)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	42,05	42, 13	42, 21	42, 55	43, 18	43, 29	43, 98	39, 15	39, 33	39, 81
75	42,19	42, 81	42, 44	42, 87	43, 13	43, 59	43, 54	39, 76	39, 41	39, 91
80	41,31	41, 53	41, 38	41, 40	42, 13	42, 18	42, 39	38, 51	38, 43	38, 48
85	41,38	41, 55	41, 33	41, 71	42, 14	42, 58	42, 63	38, 33	38, 27	38, 82
90	41,59	41, 02	41, 19	41, 35	42, 42	42, 49	42, 57	38, 51	38, 78	38, 61
95	40,14	40, 40	40, 08	40, 97	41, 57	41, 19	41, 73	37, 75	37, 81	37, 54
100	40,52	40, 21	40, 71	40, 39	41, 33	41, 79	41, 55	37, 44	37, 49	37, 88
105	40,91	40, 55	40, 13	40, 80	41, 16	41, 22	41, 63	37, 51	37, 59	37, 66
110	40,88	40, 08	40, 19	40, 55	41, 16	41, 26	41, 78	37, 32	37, 53	37, 66
115	40,47	39, 12	39, 75	39, 19	41, 51	41, 32	41, 58	37, 15	37, 53	37, 55

4.2.11. Organoleptik İncelemelere Ait Bulgular

Nanoemülsiyonların renk, koku ve genel görünüşü gibi özelliklerinde değişim olup olmadığı değerlendirildi. Hızlandırılmış stabilite testini geçen formülasyonların büyük ölçekli miktarları hazırlanmadan önce organoleptik değerlendirilmeleri yapıldı. Büyük ölçekli miktarları hazırlandıktan sonra buzdolabı (5°C ± 2°C), oda koşulu (25°C, %60 nem) ve etüvde (40°C ± 2°C, %75 nem) bekletilen formülasyonların organoleptik değerlendirilmeleri 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda yapıldı. Sonuçlar Tablo 4.24, 4.25, 4.26 ve 4.27' de verilmiştir.

Tablo 4.27: Koku değerlendirmesine ait bulguları gösteren tablo (uzun süreli stabilite çalışmaları)

	Koku									
Formülasyon Kodu	5°C±2			25°C±2				40°C±2		
	1.ay	2.ay	3.ay	1.gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F4P3-L	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F4P3-I	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F4P3-Ç	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F4P3-K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K

4.2.12. In-vitro Salım Çalışmasına Ait Bulgular

Yapılan tüm testler sonucunda stabil kalan F4P3-L, F4P3-I, F4P3-Ç ve esansiyel yağların süspansiyonları için in-vitro salım çalışması Bölüm 3.2.2.'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Zamana bağlı olarak yağların etken maddelerinin membrandan geçiş yüzdeleri Tablo 4.28-4.30'da verilmiştir.

Tablo 4.28: Zamana bağlı olarak linalil asetat etken maddesinin membrandan salım miktarları

	Linalil Asetat								
Formülasyon	30.dk	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat	6.saat	7.saat	8.saat
Lavanta Süspansiyonu	%0,7	%0,9	%1,3	%1,5	%1,5	%2,2	%3,5	%4,9	%6,2
F4P3-L	%1,8	%5,9	% 11	%17,5	%24	%31,7	%39,7	%46,2	%52,2

Tablo 4.29: Zamana bağlı olarak terpinen-4-ol etken maddesinin membrandan salım miktarları

	Terpinen-4-ol								
Formülasyon	30.dk	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat	6.saat	7.saat	8.saat
Çay ağacı yağı Süspansiyonu	%0,4	%1,1	%1,6	%2,1	%2,2	%3,7	%5,8	%7,1	%8,4
F4P3-Ç	%2,2	%3,4	% 8,5	%11,2	%19,4	%29,7	%35,7	%49,2	%61,4

Tablo 4.30: Zamana bağı olarak sitronellol etken maddesinin membrandan salım miktarları

	Sitronellol								
Formülasyon	30.dk	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat	6.saat	7.saat	8.saat
İtır yağı									
Süspansiyonu	%0,8	%1,3	%1,9	%3,3	%3,7	%6,7	%7,9	%8,3	%9,8
F4P3-I	%1,9	%4,9	% 7,2	%13,9	%21,1	%30,6	%38,3	%47,2	%58,5

4.2.13. Formülasyonların Antifungal Aktivitesinin Saptanmasına Ait Bulgular

Antifungal aktivite çalışmaları Bölüm 3.2.4.8’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan esansiyel yağların saf hallerinin ve stabilite testlerini başarılı ile geçen nanoemülsiyon formlarının antifungal etkinliği Tablo 4.31’de verilmiştir.

Tablo 4.31: Formülasyonların antifungal etkinlikleri

Ürünler	İnhibisyon zon çapı (mm)
Lavanta yağı	-
İtır yağı	-
Çay ağacı yağı	-
Karışım	-
F4P3-L	13.8
F4P3-I	12.9
F4P3-Ç	10.0
F4P3-K	11.0
Ketokonazol, 10 ug disk	21.4

- : Aktivite yok.

5. TARTIŞMA

Tırnakta ortaya çıkan mantar rahatsızlıklarının %85' ini dermatofit (*Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* vb.) enfeksiyonları oluşturur.

Dermatofitlerin neden olduğu tırnak mantarı rahatsızlıklarında genellikle oral antifungal ajanlar kullanılmaktadır. Ancak oral yolla alınan bu ilaçların karaciğer üzerinde ciddi yan etkileri bulunmaktadır.

Bu yüzden son yıllarda topikal uygulamalara önem verilmiştir. Ancak topikal uygulamalarda da antifungal ajanların hedef bölgeye gönderilmesinde zorluklar yaşanmaktadır.

Başta tıp, eczacılık ve kozmetik sektörü olmak üzere son yıllarda nanoteknolojinin kullanımı artmaktadır. Pek çok bilimsel çalışmaya yenilik ve avantajlarından dolayı konu olmuştur.

Nanoemülsiyonlar, ortalama damlacık boyutları genellikle 100-500 nm arasında olan yağ fazı, surfaktan/kosurfaktan ve su fazından oluşan emülsiyon tipi yeni taşıyıcı sistemlerdir.

Yapılan literatür taramasında tırnak mantarı tedavisine yardımcı olmaya yönelik bitkisel içerikli kozmetik nanoemülsiyon formülasyonları ile ilgili herhangi bir bilimsel çalışmaya rastlanmamıştır. Buradan yola çıkarak bitkisel hammaddeler ve güvenilir yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif maddeler içeren tırnak mantarının tedavisine yardımcı olabilecek kozmetik nanoemülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesine karar verilmiştir. Literatür çalışmaları ile tırnak mantarı tedavisine yardımcı olduğu kanıtlanan bitkisel hammaddelerin nanoemülsiyon teknolojisi ile daha ufak boyutlara getirilerek istenilen bölgeye gönderilmesi hedeflenmiştir.

Tez çalışmasında, tırnak mantarına neden olan dermatofitlerden *Trichophyton rubrum* üzerinde etkinliklerinin incelenmesi için lavanta yağı, çay ağacı yağı, ıtır yağı ve üçünün karışımının nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak ketokonazol kullanılmıştır.

Nanoemülsiyon oluşumu için yüksek enerji gerektiren yöntemler arasında olan ultrasonikasyon yöntemi seçilmiştir. Yapılan literatür araştırmalarına göre bu yöntem ile nanoemülsiyon formülasyonları oluşturulurken ön karıştırma yapıldığına dair

alışmalara rastlanmıştır (Hosseini ve ark. 2015). Ultrasonikasyon yönteminde formülasyonlara farklı ultrasonikasyon süreleri uygulanarak nanoemülsiyon oluşumuna olan etkisi incelenmiştir (Ghosh ve ark. 2013; Carpenter ve ark. 2016). Bu alışmalar doğrultusunda her bir formülasyona 4 farklı proses uygulanacağından dolayı her formülasyondan 4 örnek hazırlanmasına karar verilmiştir. 4 farklı proses arasında 20 dakika ultrasonikasyon, 5 dakika n karıştırma + 20 dakika ultrasonikasyon, 30 dakika ultrasonikasyon, 5 dakika n karıştırma + 30 dakika ultrasonikasyon yer almaktadır.

Formülasyonlar oluşturulurken yağ fazı : yüzey etken madde oranları 1:1 ve 1:2 olacak şekilde seçilmiştir. Yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve Tween 20 denenmiştir. Yardımcı yüzey etken madde olarak ise sadece Transcutol® HP kullanılmıştır. Yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etken madde oranları 1:1 ve 1:2 olarak seçilmiştir.

Yağ fazında yer alan lavanta yağı, çay ağacı yağı ve ıtır yağının oranları *Trichophyton rubrum* dermatofiti üzerinde bu esansiyel yağların MİK değerlerinin bulunması ile ilgili yapılan çalışmaya göre karar verilmiştir (Shin ve ark. 2004 pp. 1289-1296).

Tüm bu parametreler doğrultusunda 128 adet formülasyon çalışılmıştır. Formülasyonlara yapılacak stabilite testleri; hızlandırılmış (n) ve uzun süreli stabilite testleri olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır.

Hızlandırılmış stabilite testlerinde, tüm formülasyonlara santrifüj ve termal dayanım testleri uygulanmıştır. Bu testleri başarıyla geçen formülasyonların ilk pH, iletkenlik, viskozite, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli değerleri ölçülmüş ve organoleptik kontrolleri yapılmıştır.

Hızlandırılmış stabilite testlerinde n karıştırma prosesi uygulanan formülasyonların santrifüj ve termal dayanım testlerinde başarılı olamadığı grlmştir. Sadece ultrasonikasyon prosesi uygulanan formülasyonların daha stabil olduğu grlmştir. İlk llen damlacık boyutu ve PDI değerlerine bakıldığında 30 dakika ultrasonikasyon prosesi uygulanan, yağ fazı : yüzey etken madde oranı 1:2 olan ve yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 ve yardımcı yüzey etken madde olarak ise Transcutol® HP nin kullanıldığı formülasyonların daha uygun olduğu bulunmuştur. Bundan dolayı uzun süreli stabilite testlerinde bu şartlara uyan 4 adet nanoemülsiyon formülasyonu ile devam edilmiştir. Yağ fazı : yüzey etken madde oranı 1:2 olan

formülasyonların yağ : yüzey etken madde oranı 1:1 olan formülasyonlara göre damlacık boyutlarının daha az ve PDI değerlerinin istenen aralıkta olduğu görülmüştür. Yüzey etken madde olarak Pluronic® F68 içeren formülasyonların Tween 20 içeren formülasyonlara göre daha kararlı olduğu görülmüştür.

Uzun süreli stabilite testlerinde 3 farklı ortam koşullarına bırakılan formülasyonların 1.gün, 1.ay, 2.ay ve 3.ayda pH değerleri ölçülmüştür. 1.gün değerleri ile kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

Nanoemülsiyonlarda diğer önemli bir parametre ise iletkenlik değeridir. Dış fazı su olan formülasyonlarda iletkenlik değerlerinin yüksek çıkması beklenmektedir. Tez çalışmasında yapılan formülasyonların dış fazı su olduğundan 3 farklı ortam koşullarına bırakılan formülasyonların 1.gün, 1.ay, 2.ay ve 3.ayda iletkenlik değerleri ölçülmüş ve 1.gün değerleri ile bakıldığında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Bu da formülasyonun dış fazını su olarak koruduğunun göstergesidir.

Formülasyonların stabilitesini etkileyen önemli parametrelerden bir tanesi de viskozite ölçümüdür. 3 ay boyunca yapılan viskozite ölçümleri sonucunda nanoemülsiyon formülasyonlarında ciddi bir değişikliğe rastlanmamıştır.

Nanoemülsiyonlar, damlacık boyutu 100-500 nm arasında olan sistemlerdir. 3 ay boyunca formülasyonlarda yapılan damlacık boyutu ölçümlerine göre bu aralığın dışına çıkmamıştır. Tüm formülasyonların damlacık boyutu değerleri 100-300 nm arasında bulunmuştur.

Nanoemülsiyonlarda polidispersite indeksi değerleri dispersiyon sisteminin ne kadar homojen olduğunu göstermektedir ve 0 ile 1 arasında bir değerdir. Polidispersite indeksi değerinin 0,3' ün altında olması sistemin homojen olduğunu göstermektedir (He ve ark. 2011). Uzun süreli stabilitesi yapılan F4P3-L, F4P3-I, F4P3-Ç ve F4P3-K formülasyonlarının polidispersite indeksi 3 ay boyunca 0,3' ün altında kalmıştır. Nanoemülsiyonların stabilitesinde etkili olan önemli parametrelerden bir diğeri ise zeta potansiyelidir. Zeta potansiyeli, parçacıklar arasındaki itme ve çekme kuvvetlerinin toplamıdır. Zeta potansiyeli ölçümleri sonunda formülasyonların zeta potansiyeli değeri -20 ile -40 mV arasında çıkmıştır.

Stabilite aşamalarından biri olan ısıtma-soğutma testi sonucunda formülasyonların polidispersite indeksi, zeta potansiyeli ve damlacık boyutları

ölçülmüştür. Ölçüm sonuçlarında tüm formülasyonların polidispersite indeksinin 0,22-0,29, zeta potansiyelinin -21,2 - -31,2 mV ve damlacık boyutunun 118,1-192,1 nm arasında çıkması formülasyonların ısıtma-soğutma testi sonucunda stabil kaldığını göstermektedir.

3 ay boyunca yapılan stabilitede formülasyonların organoleptik (renk, koku, görünüş) kontrolleri yapılmış olup formülasyonlarda herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Stabilite testlerini başarılı olarak tamamlayan nanoemülsiyon formülasyonlarının 8 saat boyunca in-vitro koşullarda membrandan geçişleri diyaliz torbası yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Yapılan 8 saatlik çalışma sonucunda miktarsal olarak lavanta yağının etken maddesi olan linalil asetat; saf haline göre yaklaşık 8,5 kat, ıtır yağının etken maddesi olan sitronellol; saf haline göre yaklaşık 6 kat, çay ağacı yağının etken maddesi olan terpinen-4-ol; saf haline göre yaklaşık 7,5 kat daha fazla geçmiştir. 3 esansiyel yağın karışımı olan nanoemülsiyon formülasyonunun in-vitro diyaliz membrandan geçişi karışım birden fazla esansiyel yağ içerdiğinden incelenememiştir.

Yapılan uzun süreli stabilite testleri sonucunda başarılı olan bitkisel içerikli 4 adet nanoemülsiyon formülasyonlarının in-vitro koşullarda *Trichophyton rubrum* dermatofitine karşı antifungal etkinlik testi disk difüzyon yöntemi ile yapılmış olup, F4P3-L (lavanta nanoemülsiyonu) nin inhibisyon zon çapı 13,8 mm, F4P3-I (ıtır nanoemülsiyonu) nin inhibisyon zon çapı 12,9 mm, F4P3-Ç (çay ağacı yağı nanoemülsiyonu) nin inhibisyon zon çapı ise 10 mm bulunmuştur. F4P3-K (lavanta+ıtır+çay ağacı yağı) nin inhibisyon zon çapı ise 11 mm olarak bulunmuştur. Lavanta, ıtır ve çay ağacı yağlarının nanoemülsiyon formülasyonları antifungal etkinlik gösterirken, karışım (lavanta+ıtır+çay ağacı yağı) formunda olan nanoemülsiyon formülasyonu beklenen antifungal etkinliği gösterememiştir. Karışım olan nanoemülsiyon formülasyonunun; birden fazla esansiyel yağ içermesi ve etken maddelerin birbirleri ile geçimli olamayarak sinerjik bir etki yaratamadığını ve buna bağlı olarak beklenen performansın ortaya çıkamadığını düşündürmüştür.

Tüm çalışmalar sonucunda nanoemülsiyon formundaki sırasıyla F4P3-L, F4P3-I, F4P3-K ve F4P3-Ç formülasyonlarının daha derine penetre olabileceği ve saf hallerine göre antifungal etkilerinin daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abismail, B., Canselier, J.P., Wilhelm, A.M., Delmas, H. ve Gourdon, C. (1999). *Ultrason. Sonochem.* 6, 75.
- Abismail, B., Canselier, J.P., Wilhelm, A.M., Delmas, H. ve Gourdon, C. (2000). *Ultrason. Sonochem.* 7, 187.
- Aboofazeli R. (2010). “Nanometric Scaled Emulsions (Nanoemulsions),” *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(4), 325-326.
- Agrawal, Y., Petkar, K.C. ve Sawant, K.K. (2010). “Development, Evaluation and Clinical Studies of Acitretin Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Topical Treatment of Psoriasis,” *International Journal of Pharmaceutics*, 401(1-2), 93-102.
- Ai, D. ve Kang, S. (2004). *Ceram. Int.* 30, 619.
- Alcantara, R. ve Garibay, J.M. (1988). Itraconazole therapy in dermatomycoses and vaginal candidiasis: effects and adverse effects profile in a large multi-center study. *Adv Ther*, 5(6), 326-34.
- Alley, M.R.K., Baker, S.J., Beutner, K.R. ve Plattner, J. (2007). Recent progress in the topical therapy of onychomycosis. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 16, 157-167.
- Alves, M.P., Scarrone, A.L., Santos, M., Pohlmann, A.R. ve Guterres, S.S. (2007). *Int. J. Pharm.* 341, 215.
- Amselem, S. ve Friedman, D. (1998). “Submicron Emulsions as Drug Carriers for Topical Administration,” In: S. Benita, Ed., *Submicron Emulsions in Drug Targeting and Delivery*, The Netherlands, Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 153-173.
- Anton, N. ve Vandamme, T. (2009). “The Universality of Low-Energy Nano-Emulsification,” *International Journal Pharmaceutics*, 377(1-2), 142-147.
- Aranow, R.H. ve Witten, L. (1963). *Phys. Fluids*, 6, 535.
- Araujo, F.A., Kelmann, R.G., Araujo, B.V., Finatto, R.B., Teixeira, H.F. ve Koester, L.S. (2011). “Development and Characterization of Parenteral Nanoemulsions

Containing Thalidomide,” *European Journal of Pharmaceutical Science*, 42(5), 238-245.

Baboota, S., Shakeel, F., Ahuja, A., Ali, J. ve Shafiq, S. (2007). “Design Development and Evaluation of Novel Nanoemulsions Formulations for Transdermal Potential of Celecoxib,” *Acta Pharmaceutica*, 8, 316-332.

Baldyga, J., Orciuch, W., Makowski, L., Malski-Brodzicki, M. ve Malik, K. (2007). *Chem. Eng. Proc.*, 46, 851.

Baran, R., Dawber, R., Haneke, E., Tosto, A. ve Bristow, I. (2003). *A Text Atlas of Nail Disorders*, 3. Taylor & Francis Group, London.

Barea, M.J., Jekins, M.J., Gaber, M.H. ve ark. (2010). “Evaluation of Liposomes Coated with a pH Responsive Polymer,” *International Journal of Pharmaceutics*, 402(1), 89-84.

Baudraz-Rosselet, F., Ruffleux, C., Lurati, M., Bontems, O. ve Monod, M. (2010). Onychomycosis insensitive to systemic terbinafine and azole treatments reveals non-dermatophyte moulds as infectious agents. *Dermatology*, 220, 164-168.

Bendas, E.R. ve Tadros, M.I. (2007). “Enhanced Transdermal Delivery of Salbutamol Sulfate via Ethosomes,” *AAPS PharmSciTech*, 8(4), 214-220.

Berkowltz, A.C. ve Goddard, D.M. (2009). “Novel Drug Delivery Systems: Future Directions,” *Pharmacology Update*.

Bhatt, V. ve Pillai, R. (2015). Efinaconazole Topical Solution, 10%: Formulation Development Program of a New Topical Treatment of Toenail Onychomycosis. *J. Pharm. Sci.*, 10, 10-12.

Bielinska, A., Janxzak, K. ve Landers, J. (2008). “Nasal Immunization with a Recombinant HIV gp120 and Nanoemulsion Adjuvant Produces Th1 polarized Responses and Neutralizing Antibodies to Primary HIV Type Isolates,” *AIDS Research and Human Retroviruses*, 24(2), 271-281.

Botek G. (2003). Fungal nail infection: assessing the new treatment options. *Cleveland Clin J Med*, 70(2), 110-8.

Brösel, S. ve Schubert, H. (1999). *Chem. Eng. Proc.*, 38, 533.

Campbell, A.W., Anyanwu, E.C. ve Morad, M. (2004). Evaluation of the Drug Treatment and Persistence of Onychomycosis. *The Scientific World Journal*, 4, 760-777.

Canselier, J.R., Delmas, H., Wilhelm, A.M. ve Abismail B. (2002). *J. Dispers. Sci. Technol.* **23**, 333.

Carpenter, J. ve Saharan V.K. (2016). Ultrasonic assisted formulation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization. *Ultrasonics Sonochemistry*, 35, 422-430.

Chepurnov, A.A., Bakulina, L.F., Dadaeva, A.A., Ustinova, E.N., Chepurnova, T.S. ve Baker, J.R. (2003). *Jr Acta Tropica*, **87**, 315.

Choi, C.H., Jung, J.H., Rhee, Y.W., Kim, D.P., Shim, S.E. ve Lee C.S. (2007). *Biomed. Microdev*, **9**, 855.

Clark, A.M., Jepson, M.A. ve Hirst, B.H. (2001). ‘‘Exploiting M Cells for Drug and Vaccine Delivery,’’ *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50(1-2), 81-106.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2008). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved Standard. CLSI document M38-A2. 2nd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute.

Coldiron, B. (1992). Recalcitrant onychomycosis of the toenails successfully treated with fluconazole. *Arch Dermatol*, 128, 909-10.

Cui, J., Yu, B., Zhao, W., Li, H., Lou, H. ve Zhai, G. (2009). ‘‘ Enhancement of Oral Absorption of Curcumin by Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems,’’ *International Journal of Pharmaceutics*, 371 (1-2), 148-155.

Dave, V., Kumar, D., Lewis, S. ve ark. (2010). ‘‘Ethosome for Enhanced Transdermal Drug Delivery of Aceclofenac,’’ *International Journal of Drug Delivery*, 2, 81-92.

Davies, J.T. ve Rideal, E.K. (1961). *Interfacial Phenomena*, New York:Academic Press, 343.

Davies, R.R., Everall, J.D. ve Hamilton E. (1967). Mycological and clinical evaluation of griseofulvin in onychomycosis. *BMJ*, 3464.

Denning, D.W., Evans, E.G., Kibbler C.C. ve ark. (1995). Fungal nail disease: a guide to good practice (report of a Working Group of the British Society for Medical Mycology). *BMJ*, 311:1277-81.

Dickinson, E. (1982). *J. Colloid Interface Sci.*, 87, 416.

Epstein, W.L., Shah, V.P. ve Riegelman, S. (1972). Griseofulvin levels in the stratum corneum: study after oral administration in man. *Arch Dermatol*; 106:344-8.

Elewski, B.E. ve Hay, R.J. (1996). Update on the management of onychomycosis: highlights of the Third Annual International Summit on Cutaneous Antifungal Therapy. *Clin Infect Dis.*, 23(2):305–13.

Elewski, B.E., Rich, P., Pollak, R., Pariser, D.M., Watanabe, S., Senda, H., Ieda, C., Smith, K., Pillai, R., Ramakrishna, T. ve ark. (2013). Efinaconazole 10% solution in the treatment of toenail onychomycosis: Two phase III multicenter, randomized, double blind studies. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 68, 600–608.

Elewski, B.E., Aly, R., Baldwin, S.L., González Soto, R.F., Rich, P., Weisfeld, M., Wiltz, H., Zane, L.T., ve Pollak, R. (2015). Efficacy and safety of tavaborole topical solution, 5%, a novel boron-based antifungal agent, for the treatment of toenail onychomycosis: Results from 2 randomized phase-III studies. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 73, 62–69.

Elewski, B.E., Rich, P., Tosti, A., Pariser, D.M., Scher, R., Daniel, R.C. ve Gupta, A.K. (2013). Onychomycosis: An Overview. *J Drugs Dermatol.*, 12, 96-103.

Elewski, B.E., Pollak, R.A., Pillai, R. ve Olin, J.T. (2014). Access of efinaconazole topical solution, 10%, to the infection site by spreading through the subungual space. *J. Drugs Dermatol.*, 13, 1394-1398.

Elkeeb, R., Khan, A.A., Elkeeb, L., Hui, X. ve Maibach, H.I. (2010). Transungual drug delivery: current status, *Int J. Pharm.*, 384, 1-8.

Engl, W., Backov, R. ve Panizza P. (2008). *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 13, 206.

Fainerman, V.B. (1988). *Zh. Fiz. Khim.*, 62, 393.

Fair, R.B. (2007). *Microfluid. Nanofluid.*, 3, 245.

Ferguson, B.S., Fuchsbaum, B.S., Swensen, J.S., Hsieh, K., Lou, X.H. ve Soh, H.T. (2009). *Anal. Chem.*, 81, 6503.

Fernandez, P., Andre, V., Rieger, J. ve Kühnle, A. (2004). *Colloids Surf.*, 251, 53.

Firoz, S. ve Naga Sirisha, M. (2011). Transungual drug delivery system-A review. *International Journal of Innovative Drug Discovery*, 1(1):914.

Flores, F.C., Beck, R.C.R. ve da Silva, C.B. (2016). Essential oils for treatment for onychomycosis: A mini-review. *Mycopathologia*, 181, 9-15.

Floyd, A.G. (1999). “Top Ten Considerations in the Development of Parenteral Emulsions,” *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 2(4), 134-143.

Förster, T., Rybinski, W.V. ve Wadle, A. (1995). *Adv. Colloid Interface Sci.*, 58, 119.

Friberg, S. ve Solans, C. (1978). *J. Colloid Interface Sci.*, 66, 367.

Fromtling, R.A. (1988). Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clin Microbiol Rev.*, 1:187-217.

Gad, J. (1878). *Arch. Anat. Physiol.*, 181.

Ganta, S., Deshpande, D., Korde, A. ve Amiji, M. (2010). “A Review of Multifunctional Nanoemulsion Systems to Overcome Oral and CNS Drug Delivery Barriers,” *Molecules and Membrane Bioliology*, 27(7), 260-273.

Garstecki, P., Fuerstman, M.J., Stone, H.A. ve Whitesides, G.M. (2006). *Lab. Chip*, 6, 437.

Garstecki, P., Stone, H.A. ve Whitesides, G.M. (2007). *Phys. Rev. Lett.*, 94, 164501.

Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjec, A. ve Chandrasekaran, N. (2013). Cinnamon oil Nanoemulsion Formulation by Ultrasonic Emulsification: Investigation of Its Bactericidal Activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 13, 114-122.

Gopal, E.S.R. (1969). *In Emulsion Science* (Ed. P Sherman) (London: Academic Press).

- Graaf, S., Steegmans, M.L.J., Sman, R.G.M., Schroen, C.G.P.H. ve Boom, R.M. (2005). *Colloids Surf., A*, 266, 106.
- Grace, H.P. (1982). *Chem. Eng. Commun.*, 14, 225.
- Grant, S.M. ve Clissold, S.P. (1989). Itraconazole- a review. *Drugs*; 37:310-44.
- Graves, S., Meleson, K. ve Wilking, J. (2005). “Structure of Concentrated Nanoemulsions,” *Journal of Chemical Physics*, 122(13).
- Gupchup, G.V. ve Zatz, G.L. (1999). Structural characteristics and permeability properties of human nail, *J. CosmetSci.*, 50, 363-385.
- Gupta, A.K. ve Baran, R. (2000). Ciclopirox nail lacquer solution 8% in the 21st century, *J.Am. Acad. Dermatol.*, 43(4), 100-106.
- Gupta, A.K. ve Joseph, W.S. (2000). Ciclopirox 8% nail lacquer in the treatment of onychomycosis of the toenails in the United States. *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.*, 90, 495-501.
- Gupta, A.K. ve Simpson, F.C. (2015). Routes of drug delivery into the nail apparatus: Implications for the efficacy of topical nail solutions in onychomycosis. *J. Dermatol. Treat.*, 18, 1-3.
- Gupta, A., Eral, H.B., Hatton, T.A. ve Doyle, P.S. (2016). *Soft Matter*.
- Hardt, S. ve Schönfeld, F. (2007). *Microfluidic Technologies for Miniaturized Analysis Systems*.
- Hay, R.J. (1988). New oral treatment for dermatophytosis. In: St. Georgiev V, editor. *Antifungal drugs*. Ann. NY. Acad. Sci., 544:580-5.
- Hay, R.J., Clayton, Y.M., Moore, M.K. ve Midgley, G. (1988). An evaluation of itraconazole in the management of onychomycosis. *Br. J. Dermatol.*, 119:359-66.
- Hay, R.J. (1993). Risk/benefit ratio of modern antifungal therapy: focus on hepatic reactions. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 29:50-4.
- Hay, R.J. (2011). Onychomycosis: a proposed revision of the cilinical classification. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 65:1219-27.
- He, W., Tan, Y., Tian, Z., Chen, L., Hu, F. ve Wu, W. (2011). Food protein stabilized nanoemulsions as potential delivery systems for poorly water-soluble drugs:

preparation, in vitro characterization, and pharmacokinetics in rats. *Int J Nanomedicine*, 6, 521-533.

Hosseini, S., Tarzi, B.G., Gharachorloo, M., Ghavami, M. ve Bakhada, H. (2015). Optimization on the Stability of Linseed Oil-in Water Nanoemulsions Generated by Ultrasonic Emulsification Using Response Surface Methodology (RSM). *Orient J Chem.*, 31(2), 1223-1230.

Huang, M.H., Huang, C.Y., Lin, S.C., Chen, J.H., Ku, C.C., Chou, A.H., Liu, S.J., Chen, H.W., Chong, P. ve Leng, C.H. (2009). *Microb. Infect.*, 11, 654.

Huebner, A., Olguin, L.F., Bratton, D., Whyte, G., Huck, W.T.S., de Mello, A.J., Edel, J.B., Abell, C. ve Hollfelder, F. (2008). *Anal. Chem.*, 80, 3890.

Hui, X., Baker, S.J., Wester, R.C., Barbadillo, S., Cashmore, A.K., Sanders, V., Hold, K.M., Akama, T., Zhang, Y.K., Plattner, J.J. ve ark. (2007). In vitro Penetration of a Novel Oxaborole Antifungal (AN2690) into the Human Nail Plate. *J. Pharm. Sci.*, 96, 2622-2631.

Izquierdo, P., Esquena, J., Tadros, T.F., Dederen, J.C., Feng, J., Garcia-Celma, M.J., Azemar, N. ve Solans, C. (2004). *Langmuir*, 20, 6594.

Izquierdo, P., Feng, J., Esquena, J., Tadros, T.F., Dederen, J.C., Garcia, M.J., Azemar, N. ve Solans, C. (2005). *J. Colloid Interface Sci.*, 285, 388.

Jafari, S.M., He, Y. ve Bhandari, B. (2007). “Optimization of Nanoemulsion Production by Microfluidization,” *European Food Research Technology*, 225(5-6), 733-741.

Jain, S., Tiwary, A.K., Sapra, B. ve ark. (2007). “Formulation and Evaluation of Ethosomes for Transdermal Delivery of Lamivudine,” *AAPS PharmSciTech*, 8(4), 249-257.

Jarv, H., Naaber, P., Kaur, S., Eisen, M. ve Silm, H. (2004). Toenail onychomycosis in Estonia. *Mycoses*, 47(1-2), 57-61.

Jia, Z., Yujun, W. ve Guangsheng, L. (2005). *React. Funct. Polym.*, 65, 249.

Jo Siu, W.J., Tatsumi, Y., Senda, H., Pillai, R., Nakamura, T., Sone, D. ve Fothergill, A. (2013). Comparison of *in vitro* antifungal activities of efinaconazole and

currently available antifungal agents against a variety of pathogenic fungi associated with onychomycosis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 57, 1610-1616.

Kayes, J.B. (1999). “Disperse systems,” In: M.E. Aulton, Ed., *Pharmaceutics the Science of Dosage Form Design*, 1st Edition, Churchill Livingstone, Edinburgh, 571, 81-118.

Kelmann, R.G., Kuminek, G., Teixeira, H. ve Koester, L.S. (2007). “Carbamazepine Parenteral Nanoemulsions Prepared by Spontaneous Emulsification Process,” *International Journal of Pharmaceutics*, 342(1-2), 231-239.

Kerydin (Package Insert); Anacor Pharmaceuticals, Inc: Palo Alto, CA, USA, 2014.

Khanna, S. ve Bajaj, R. (2012). Pharmacotherapeutic Principles of Ungual Drug Delivery System. *International Journal of Drug Development & Research*, 4(3), 9-18.

Knight, T., Shokuma, C. ve Knight, J. (1991). Ketoconazole-induced fulminant hepatitis necessitating liver transplantation. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 25, 398-400.

Kobayashi, Y., Miyamoto, M., Sugibayashi, K. ve Morimoto, Y. (1999). Drug permeation through the three layers of the human nail plate. *J. Pharm. Pharmacol.*, 51, 271-278.

Kotyla, T., Kuo, F., Moolchandani, V., Wilson, T. ve Nicolosi, R. (2008). *Int. J. Pharm.*, 347, 144.

Kreijkamp-Kaspers, S., Hawke, K., Guo, L., Kerin, G., Bell-Syer, S.E., Magin, P., Bell-Syer, S.V. ve van Driel, M.L. (2017). Oral antifungal medication for toenail onychomycosis. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 7, Cd010031.

Kumar, M., Mishra, A., Babbar, A.K., Mishra, A.K., Mishra, P. ve Pathak, K. (2008). *Int. J. Pharm.*, 358, 285.

Kumar, K. ve Fateh, V. (2014). Drug delivery across human nail: a newer approach. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*; 3(6), 1217-1222.

Lee, G.W.J. ve Tadros, T.F. (1982). *Colloids Surf.*, 5, 105.

- Li, X., Anton, N., Ta., T.M.C., Zhao, M., Messaddeq, N. ve Vandamme, T.F. (2011). "Microencapsulation of Nanoemulsions: Novel Trojan Particles for Bioactive Lipid Molecule Delivery," *International Journal of Nanomedicine*, Vol. 2011, 6, 1313-1325.
- Lobo, L. ve Svereika, A. (2003). *J. Colloid Interface Sci.*, 261, 498.
- Lopez-Montilla, J.C., Herrera-Morales, P.E., Pandey, S. ve Shah, D.O. (2002). *J. Dispers. Sci. Technol.*, 23, 219.
- Malic, L., Brassard, D., Veres, T. ve Tabrizian, M. (2010). *Lab. Chip*, 10, 418.
- Marie, P., Perrier-Cornet, J.M. ve Gervais, P. (2002). *J. Food Eng.*, 53, 43.
- Marszall, L. (1975). *Cosmet. Parfum.*, 90, 37.
- Mason, T.G., Graves, S.M., Wilking, J.N. ve Lin, M.Y. (2006). "Extreme Emulsification: Formation and Structure of Nanoemulsions," *Journal of Physics and Condensed Matter*, Vol. 9, 1, 193-199.
- Mason, T.J. (1992). *Ultrasonics*, 30, 192.
- Matthiew, I., De Doncker, P., Cauwenbergh, G. ve ark. (1991). Itraconazole penetrates the nail via the nail matrix and the nail bed: an investigation in onychomycosis. *Clin Exp Dermatol*, 16, 374-6.
- Mei, Z., Xu, J. ve Sun, D. (2011). *Colloids Surf.*, 375, 102.
- Meinhof, W. (1993). Kinetics and spectrum of activity of oral antifungals: the therapeutic implications. *J Am Acad Dermatol*; 29, 37-41.
- Menetrier-Deremble, L. ve Tabeling, P. (2006). *Phys. Rev.* E74 035303.
- Mistry, A., Stolnik, S. ve Illum, L. (2009). "Nanoparticles for Direct Nose-to-Brain Delivery of Drugs," *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 379, 1, 146-157.
- Murdan, S. (2002). Drug delivery to the nail following topical application, *Int J. Pharm.*, 236, 1-26.
- Myc, A., Kukowska-Latallo, J.F., Bielinska, A.U., Cao, P., Myc, P.P., Janczak, K., Sturm, T.R., Grabinski, M.S., Landers, J.J., Young, K.S., Chang, J., Hamouda, T., Olszewski, M.A. ve Baker, J.R. (2003). *Jr Vaccine*, 21, 3801.

Nahss, G.T. ve Sisto, M. (1993). Onychomycosis: successful treatment with once-weekly fluconazole. *Dermatology*, 186, 59-61.

Naloc Tırnak Mantarı Solüsyonu-naloc.com.tr

Nisisako, T., Torii, T. ve Higuchi, T. (2002). *Lab. Chip*, 2, 24.

Okushima, S., Nisisako, T., Torii, T. ve Higuchi, T. (2004). *Langmuir*, 20, 9905.

Pan, G., Shower, M., Øie, S. ve Lu, D.R. (2003). *Pharm. Res.*, 20, 738.

Pandhi, D. ve Verma, P. (2012). Nail avulsions: Indications and methods, *Indian J. Dermatol Venereol. Leprol.* 78, 299-308.

Panizza, P., Engl, W., Hany, C. ve Backov, R. (2008). *Colloids Surf.*, A312, 24.

Pardridge, W.M. (1999). “Non-Invasive Drug Delivery to Human Brain Using Endogenous Blood Brain Barrier Transport System,” *Pharmaceutical Science and Technology Today*, Vol.2, 2, 49-59.

Paquin, P. (1999). *Int. Dairy J.*, 9, 329.

Patel, R. ve Patel, K.P. (2010). “Advances in Novel Parenteral Drug Delivery Systems,” *Asian Journal of Pharmaceutics*, Vol.4, 3, 193-199.

Penlac Tırnak Mantarı Cilasısı- webmd.com

Petranyi, G., Ryder, N.S. ve Stütz, A. (1984). Allylamine derivatives: new class of synthetic antifungal agents inhibiting fungal squalene epoxidase. *Science*; 224, 2139-41.

Piraccini, B.M., Rech, G. ve Tosti, A. (2008). Photodynamic therapy of onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 59, 75-76.

Pires, A., Fortuna, A., Alves, G. ve Falcao, A. (2009). “Intranasal Drug Delivery: How, Why and What for,” *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 12, 288-311.

Porras, M., Martiinez, A., Solans, C., Gonzalez, C. ve Gutierrez, J.M. (2005). *Colloids Surf.*, A270-271, 189.

Pradip, K.G., Rita, J., Majithya, M.U. ve Rayassa, S.R. (2006). “Design and Development of Microemulsion Drug Delivery System of Acyclovir for Improvement of Oral Bioavailability,” *AAPS PharmSciTech*, Vol. 7, 3, 1-6.

Preckel, T., Luedke, G., Valer, M., Barthmaier, P. ve Buhlmann, C. (2002). *Mol. Biol. Cell*, 13, 543a.

Primo, F.L., Rodrigues, M.M.A., Simioni, A.R., Bentley, M.V.L.B., Morais, P.C. ve Tedesco, A.C. (2007). *J. Magn. Magn. Mater.*, 311, 354.

Primo, F.L., Macaroff, P.P., Lacava, Z.G.M., Azevedo, R.B., Morais, P.C. ve Tedesco, A.C. (2007). *J. Magn. Magn. Mater.*, 310, 2838.

Quin, C. ve Mc Clement, D.J. (2011). “Formation of Nanoemulsions Stabilized by Model Food Grade Emulsifiers Using High Pressure Homogenization: Factors Effecting Particle Size,” *Food Hydrocolloids*, Vol. 25, 5, 1000-1008.

Ravi, T.P.U. ve Padma, T. (2011). “Nanoemulsions for Drug Delivery through Different Routes,” *Research in Biotechnology*, Vol.2, 3, 1-13.

Rock, F.L., Mao, W., Yaremchuk, A., Tukalo, M., Crepin, T., Zhou, H., Zhang, Y.K., Hernandez, V., Akama, T., Baker, S.J. ve ark. (2007). An antifungal agent inhibits an aminoacyl-tRNA synthetase by trapping tRNA in the editing site. *Science*, 316, 1759-1761.

Rodriguez, D.A. (2015). Efinaconazole Topical Solution, 10%, for the treatment of Mild and Moderate Toenail Onychomycosis. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, 8, 24-29.

Rogers, P. ve Bassler, M. (2001). Treating onychomycosis. *Am. Fam. Phys.*, 63, 663-673.

Ruth, H.S., Attwood, D., Ktistis, G. ve Taylor, C. (1995). “Phase Studies and Particle Size Analysis of Oil-in-Water Phospholipid Microemulsions,” *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 116, 2, 253-261.

Sajjadi, S. (2006). *Langmuir*, 22, 5597.

Salager, J.L., Forgiarini, A., Marquez, L., Pena, A., Pizzino, A., Rodriguez, M.P. ve Rondon-Gonzalez, M. (2004). *Adv. Colloid Interface Sci.*, 259, 108-109.

Samah, N.A., Williams, N. ve Heard, C.M. (2010). “Nanogel Particulates Located within Diffusion Cell Receptor Phases Following Topical Application Demonstrates Uptake into and Migration Across Skin,” *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 401, 1-2, 72-78.

Schalbart, P., Kawaji, M. ve Fumoto, K.P. (2010). *Int. J. Refrigeration*, 33, 1612.

Scher, R.K., Tavakkol, A., Sigurgeirsson, B. ve ark. (2007). Onychomycosis: diagnosis and definition of cure. *J Am Acad Dermatol*, 56, 939-44.

Shafiq, S., Faiyaz, S., Sushma, T., Ahmad, F.J., Khar, R.K. ve Ali, M. (2007). "Development and Bioavailability Assessment of Ramipril Nanoemulsion Formulation," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol. 66, 2, 227-243.

Shah, R.K., Shum, H.C., Rowat, A.C., Lee, D., Agresti, J.J., Utada, A.S., Chu, L.Y., Kim, J.W., Fernandez-Nieves, A., Martinez, C.J. ve Weitz, D.A. (2008). *Mater. Today*, 11, 18.

Shah, P., Bhalodia, D. ve Shelat, P. (2010). "Nanoemulsion: A Pharmaceutical Review," *Systematic Reviews in Pharmacy*, Vol. 1, 1, 24-32.

Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Aqil, M. ve Shafiq, S. (2007). "Nanoemulsions as Vehicles for Transdermal Delivery of Aceclofenac," *AAPS PharmSciTech*, Vol. 8, 4, 191-199.

Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Faisal, M.S. ve Shafiq, S. (2008). "Stability Evaluation of Celecoxib Nanoemulsion Containing Tween 80," *Thailand Journal of Pharmaceutical Science*, Vol. 32, 4-9.

Shin, S. ve Lim, S. (2004). "Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trichophyton* spp." *Journal of Applied Microbiology*, 97, 1289-1296.

Shinoda, K. ve Friberg, S.E. (1986). *Emulsions and Solubilization*, New York: Wiley-Interscience.

Sokovic, M., Glamoclija, J., Ciric, A., Kataranovski, D., Marin, P.T., Vukojevic, J. ve Brkic, D. (2012). Antifungal Activity of the Essential Oils and Components in vitro and in vivo on Experimentally Induced Dermatomycoses at Rats. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, Vol. 7, 3, 959-966.

Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N. ve Garcia-Celma, M.J. (2005). “Nano-Emulsions,” *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, Vol. 10, 3-4, 102-110.

Sole, I., Maestro, A., Pey, C.M., Gonzalez, C., Solans, C. ve Gutierrez, J.M. (2006). “Nanoemulsions Preparation by Low Energy Methods in an Ionic Surfactant System,” *Colloids and Surfaces A: Physiochemical Engineering Aspects*, Vol. 288, 138-143.

Sole, I., Pey, C.M., Maestro, A., Gonzalez, C., Porras, M., Solans, C. ve Gutierrez, J.M. (2010). “Nanoemulsions Prepared by Phase Inversion Composition Method: Preparation Variables and Scale up,” *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol. 344, 2, 417-423.

Sonneville-Aubrun, O., Simonnet, J.T. ve L’Alloret, F. (2004). “Nanoemulsions: A New Vehicle for Skincare Products,” *Advances in Colloids and Interface Science*, Vol. 108-109, 145-149.

Srivastava, V.K., Kini, G. ve Rout, D. (2006). *J. Colloid Interface Sci.*, 304, 214.

Srisa-Art, M., de Mello, A.J. ve Edel, J.B. (2007). *Anal. Chem.*, 79, 6682.

Stone, H.A., Bentley, B.J. ve Leal, L.G. (1986). *J. Fluid Mech.*, 173, 131.

Stone, H.A., Stroock, A.D. ve Ajdari, A. (2004). *Annu. Rev. Fluid Mech.*, 36, 381.

Su, Y.F., Kim, H. ve Kovenklioglu, S. ve Lee, W.Y. (2007). *J. Solid State Chem.*, 180, 2625.

Suzuki, K., Shuto, I. ve Hagura, Y. (1996). *Food Sci. Technol. Int.*, 2, 43.

Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J. ve Solans, C. (2004). “Formation and Stability of Nanoemulsions,” *Advances in Colloids and Interface Science*, Vol. 108-109, 303-318.

Taisne, L., Walstra, P. ve Cabane, B. (1996). *J. Colloid Interface Sci.*, 184, 378.

Taisne, L. ve Cabane, B. (1998). *Langmuir*, 14, 4744.

Tagne, J.B., Kakumanu, S., Ortiz, D., Shea, T. ve Nicolosi, R.J. (2008). *Mol. Pharm.*, 5, 280.

Takeuchi, S., Garstecki, P., Weibel, D.B. ve Whitesides, G.M. (2005). *Adv. Mater.*, 17, 1067.

Tanrıverdi, S.T. (2012). Onikomikoz Tedavisi İçin Transungual İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Tasarımı, Doktora Tezi.

Thorsen, T., Roberts, R.W., Arnold, F.H. ve Quake, S.R. (2001). *Phys. Rev. Lett.*, 86, 4163.

Touitou, E., Dayan, N., Bergelson, L. ve ark. (2000). “Ethosomes Novel Vesicular Carriers for Enhanced Delivery: Characterization and Skin Penetration Properties,” *Journal of Controlled Release*, Vol. 65, 3, 403-418.

Tsai, Y., Lee, K., Huang, Y. ve Wu, P. (2010). In Vitro Permeation and in Vivo Whitening Effect of Topical Hesperetin Microemulsion Delivery System,” *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 388, 1-2, 257-262.

Ugwoke, M.I., Agu, R.U., Verbeke, N. ve Kinget, R. (2005). “Nasal Mucoadhesive Drug Delivery: Background, Applications, Trends, and Future Perspectives,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 57, 11, 1640-1665.

Umbanhowar, P.B., Prasad, V. ve Weitz, D.A. (2000). *Langmuir*, 16, 347.

Utada, A.S., Chu, L.Y., Fernandez-Nieves, A., Link, D.R., Holtze, C. ve Weitz, D.A. (2007). *MRS Bull.*, 32, 702.

Vladisavljevia, G.T. ve Williams R.A. (2005). *Adv. Colloid Interface Sci.*, 113, 1.

Vyas, T.K., Shahiwala, A. ve Amiji, M.M. (2008). *Int. J. Pharm.*, 347, 93.

Walters, K.A. ve Flynn, G.L. (1983). Permeability characteristics of the human nail plate. *Int J. CosmetSci.*, 5, 231-246.

Wang, L., Li, X., Zhang, G., Dong, J. ve Eastoe, J. (2007). “Oil-in-Water Nanoemulsions for Pesticide Formulations,” *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol. 314, 1, 230-235.

Ward, T., Faivre, M., Abkarian, M. ve Stone, H. (2005). *Electrophoresis*, 26, 3716.

Wartner Tırnak Mantarı Solüsyonu-wartner.eu

Williams, R.A. (2001). *Ingenia*, 7, 26.

Wu, H.L., Ramachandran, C., Weiner, N.D. ve Roessler, B.J. (2001). *Int. J. Pharm.*, 220, 63.

www.pharmacast.com

www.wipo.org

www.patentstorm.us

Wyss, H.M., Blair, D.L., Morris, J.F., Stone, H.A. ve Weitz, D.A. (2006). *Phys. Rev.*, E74, 061402.

Xu, J.H., Li, S.W., Tan, J., Wang, Y.J. ve Luo, G.S. (2006). *AIChE J.*, 52, 3005.

Xu, J. ve ark. (2010). “The Preparation of Neem Oil Microemulsion (*Azadirachta indica*) and the Comparison of Acaricidal Time between Neem Oil Microemulsion and Other Formulations in Vitro,” *Veterinary Parasitology*, Vol. 169, 3-4, 399-403.

Zhou, W.Y., Wang, M., Cheung, W.L., Guo, B.C. ve Jia, D.M. (2008). *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 19, 103.

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

MANTAR TEDAVİSİNE YARDIMCI YENİLİKÇİ KOZMETİK FORMÜLASYONLAR GELİŞTİRİLMESİ VE ETKİNLİĞİNİN TEST EDİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%12	%1	%1	%12
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%10
2	www.esteline.com İnternet Kaynağı	<%1
3	www.dermokozmetik.com İnternet Kaynağı	<%1
4	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<%1
5	toad.edam.com.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	<%1
7	Submitted to Mehmet Akif Ersoy Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
8	PENJURI, Subhash Chandra Bose, DAMINENI, Saritha, RAVOURU, Nagaraju and POREDDY,	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	CANER	Soyadı	ACAR
Doğ.Yeri	BAKIRKÖY/İSTANBUL	Doğ.Tar.	11.05.1990
Email	caneracar11@gmail.com	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Yıldız Teknik Üniversitesi-Kimya Mühendisliği	2014
Lise	Eyüp Süper Lisesi (Y.D.A)	2009

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Ar-Ge Uzmanı	Eczacıbaşı Tüketim Ürünleri	2019-
2.	Ar-Ge Uzmanı	BioArge Laboratories	2016-2019
3.	Ar-Ge Uzmanı	DermoClean Laboratories	2014-2016

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	-	-

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	75,37209	74,23208	64,59846
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Word, Excell, Powerpoint	İyi
Matlab	İyi
Mathcad	İyi
ChemCad	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, seyahat etmek, badminton oynamak