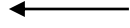


Adınızı soyadınızı giriniz

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 DOKTORA TEZİ)

**Peptit ve Bitkisel Ekstreler İçeren Anti-Aging Kozmetik Yüz
Maske Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu**

AFSANA AGHAZADA

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

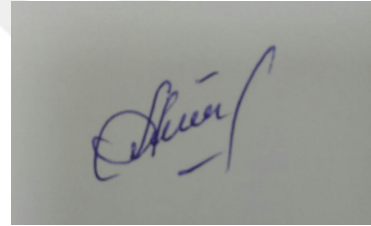
**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI**

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 olmadığı beyan ederim.

AFSANA AGHAZADA(İmza)



ITHAF

Canım aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında tezimin yürütülmesi ve çalışmalarımın yönlendirilmesinde gerekli olanakları sağlayan ve bana her konuda destek olan değerli danışman hocam **Prof. Dr. Fatma Gülgün Yener**'e;

Tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yüksek lisans öğrenimim boyunca gösterdiği yardımlarından dolayı **Arş.Gör.Dr. Ebru Altuntaş**'a;

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında UPLC-HRMS cihazı ile yapılan çalışmalarda bilgi ve deneyimini esigemeyen, gösterdiği samimiyet ve yardımlarından dolayı **Prof.Dr.Ahmet Ceylan Gören**'e ve **Şule Yalçın**'a;

Her zaman beni maddi manevi destekleyen ve tüm sabırlarıyla her an yanımda olan **AİLEME** teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34222

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	ii
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Deri.....	4
2.1.1. Derinin Anatomik Yapısı	5
2.1.1.1. Epidermis	6
2.1.1.2. Dermis	9
2.1.1.3. Hipodermis.....	11
2.2. Deri Yaşlanması.....	12
2.2.1. Dermal Yaşlanmanın Moleküler Mekanizmaları.....	13
2.2.2. Yaşlanma Karşıtı Kullanılan Topikal Etken Maddeler.....	13
2.2.2.1. Antioksidanlar	14
2.2.2.2. Hücre Regülatörleri.....	14
2.2.2.3. Topikal Peptitler.....	15
2.2.2.4. Asetil Hekzapeptid-8.....	21
2.2.3. Yaşlanma Karşıtı Kullanılan Bitkisel Ekstreler	22
2.3. Kozmetik Maskeler	23
2.3.1. Kozmetik Maske Formülasyonları.....	23
2.3.2. Kozmetik Maskelerin Sınıflandırılması	23
2.4. Hidrojeller	27
2.4.1. Hidrojellerin Özellikleri.....	28
2.4.2. Hidrojellerin Avantajları	28

2.4.3. Hidrojellerin Dezavantajları.....	29
2.4.4. Hidrojellerin Sınıflandırılması	29
2.4.5. Hidrojellerin Hazırlanmasında Kullanılan Yöntemler	36
2.4.6. Hidrojellere İlaçların Yüklenmesi.....	38
2.4.7. Hidrojel Matrisinden İlaçların Salım Mekanizması.....	39
2.4.8. Hidrojellerin Karakterizasyonu	39
2.4.9. Hidrojellerin Farmasötik Ve Biyomedikal Uygulama Alanları.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49
3.1. Gereç	49
3.1.1. Kullanılan Maddeler	49
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	50
3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Programları	51
3.2. Yöntem.....	51
3.2.1. Asetilhekzapeptit-8 Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	51
3.2.1.1. Asetilhekzapeptit-8'in Infrared (IR) Spektrumu.....	51
3.2.1.2. Asetilhekzapeptit-8 Çözeltilsinin Hazırlanması.....	51
3.3. Ön Formülasyon Çalışmaları	52
3.3.1. Hidrojel Maske Formülasyon Bileşenlerinin Seçimi ve Formülasyonların Hazırlanması	53
3.3.2. Seçilen Hidrojel Formülasyonlarına Asetilhekzapeptit-8 Çözeltilsinin İlave Edilmesi	56
3.4. Seçilmiş Hidrojel Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Karakterizasyon Çalışmaları	57
3.4.1. pH' nın İncelenmesi	57
3.4.2. Reolojik Özelliğin İncelenmesi.....	57
3.4.3. Şişme Özelliklerinin İncelenmesi	58
3.4.4. Mekanik Özelliklerinin Saptanması.....	59
3.4.5. Hidrojellerin Biyoadhezif Özelliklerinin Tayini.....	61
3.4.6. Film Kalınlığının Ölçülmesi	62
3.4.7. Gerilme Özelliklerinin İncelenmesi	62
3.4.8. Hidrojel formülasyonlarının ve Polimerlerinin Infrared (IR) Spektrumunun İncelenmesi	62
3.4.9. Hidrojel formülasyonlarında Stabilitenin İncelenmesi	63

3.4.9.1. Hidrojel Formülasyonlarında Asetilhekzaeptit-8'in Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresiyle (UPLC-HRMS) İle Miktar Tayini	63
4. BULGULAR.....	66
4.1. Asetilhekzaeptit-8 Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular.....	66
4.1.1. Asetilhekzaeptit-8'in Infrared (IR) Spektrumuna Ait Bulgular	66
4.2. Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	66
4.2.1. Hidrojel Maske Formülasyon Bileşenlerinin Seçimine Ait Bulgular	67
4.2.2. Seçilen Hidrojel Formülasyonlarına Asetilhekzaeptit-8 Çözeltilisinin İlave edilmesine Ait Bulgular	67
4.2.3. Son Hidrojel Formülasyonlarının Seçimine Ait Bulgular.....	67
4.3. Seçilen Hidrojel Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	67
4.3.1. pH Ölçümlerine Ait Bulgular.....	67
4.3.2. Reolojik Özelliğin İncelenmesine Ait Bulgular.....	68
4.3.3. Şişme Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular	72
4.3.4. Hidrojellerin Mekanik Özelliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular	75
4.3.5. Hidrojellerin Biyoadhezif Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular.....	77
4.3.6. Hidrojel Film Kalınlığının Ölçülmesine Ait Bulgular	77
4.3.7. Hidrojel Filmlerin Gerilme Özelliklerine Ait Bulgular	78
4.3.8. Hidrojel Formülasyonlarının ve Polimerlerinin Infrared (IR) Spektrumunun İncelenmesine Ait Bulgular	84
4.3.9. Hidrojel Formülasyonlarının Stabilesinin İncelenmesine Ait Bulgular	87
4.3.9.1. Hidrojel Formülasyonlarında Asetilhekzaeptit-8'in Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresiyle (UPLC-HRMS) İle Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	88
5. TARTIŞMA	94
KAYNAKLAR	97
HAM VERİLER	104
FORMLAR	105
ETİK KURUL KARARI	106
PATENT HAKKI İZNİ	107
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	108
ÖZGEÇMİŞ	109

TABLOLAR LISTESİ

Tablo 2-1: Peptit ve proteinlerin genel özellikleri

Tablo 2-2: Farklı yolla uygulanan farklı hidrojel sistemleri

Tablo 2-3: Kullanılan alet ve malzemeler

Tablo 2-4: Asetilhekzaeptit-8' in %0,05-lik çözeltisi

Tablo 2-5 : Ön formülasyon çalışmalarında kullanılan polimerler

Tablo 2-6: Farklı konsantrasyonlarda k-Karrajenan ve Keçiboynuzu zamlı polimerleri kullanılarak yapılan hidrojel formülasyonları

Tablo 2-7: Ön formülasyon çalışmalarında kullanılan çözücü ve penetrasyon artırıcılar

Tablo 2-8: Hidrojel formülasyonlarının faz bileşenleri

Tablo 2-19: Etken madde içermeyen seçilen formülasyonlar

Tablo 2-10: Etken madde içeren seçilen formülasyonlar

Tablo 3-1: Gradyan parametreleri

Tablo 3-2: F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonunun (1.gün ;15. gün ;30 gün) pH değerlerine ait bulgular (5°C ± 2°C)

Tablo 3-3: F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonunun (0.gün ;15. Gün; 30 gün.) pH değerlerine ait bulgular (25°C±2°C) (%60 R.N.)

Tablo 3-4: Hidrojel formülasyonlarının Herschel-Bulkley modeline uygun simüle edilen sonuçları

Tablo 3-5: Hidrojel formülasyonlarının Cross modeline uygun simüle edilen sonuçları

Tablo 3-6: Hidrojel formülasyonların Casson modeline uygun simüle edilen sonuçları

Tablo 3-7: Hidrojel formülasyonların osilasyon değerleri

Tablo 3-8: F₁A₅ ve F₁A₁₀ hidrojel formülasyonlarının (25°C±2°C)-deki mekanik özelliklerine ait bulgular

Tablo 3-9: Hidrojel formülasyonlarının biyoadhezyon göstergileri

Tablo 3-10: Gerilme özelliklerinin tayininde kullanılan hidrojel maskelerin kalınlıkları

Tablo 4-1: Hidrojel formülasyonlarının gerilme özellikleri

Tablo 4-2: F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonların pH değerlerine ait hızlandırılmış stabilite çalışması

Tablo 4-3: Asetilhekzaeptit-8 standartının kalibrasyon eğrisi verileri

Tablo 4-4: Hidrojel nümunelerinde 1. gün , 15. gün ve 30. gün UPLC-HRMS ile tayin edilen Asetilhekzapeptit-8 miktarları (mg/l)



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin tabakaları

Şekil 2-2: Dermis

Şekil 2-3: Asetilhekzapeptit-8'in kimyasal formula

Şekil 2-4: Kağıt (tabaka) maskeler çeşitleri

Şekil 2-5: Hidrojel maske

Şekil 2-6: Biyoselüloz maske

Şekil 2-7: Soyulabilen yüz maskesi

Şekil 2-8: Sıcaklığın sulu bir HPC çözeltisinin viskozitesi üzerindeki etkisi

Şekil 3-1: HAAKE RheoStress Reometre

Şekil 3-2: Brookfield CT3 doku analiz cihazı

Şekil 3-3: Jellerin sertlik, adeziflik ve kohezifliğine ait kuvvet-zaman grafiği

Şekil 3-4: Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi (Thermo Q-Exactive Orbitrap)

Şekil 3-5: Asetilhekzapeptit-8'in IR spektrumu

Şekil 3-6: F₁A₅ hidrojelinin viskozite-kayma hızı grafiği

Şekil 3-7: F₁A₁₀ hidrojelinin viskozite-kayma hızı grafiği

Şekil 3-8: F₁A₅ hidrojel formülasyonunun G' ve G'' değerlerinin açısal frekans ile değişimi

Şekil 3-9: F₁A₁₀ hidrojel formülasyonunun G' ve G'' değerlerinin açısal frekans ile değişimi

Şekil 3-10: Farklı pH (1,2 ,7,12) çözeltilerine daldırılmış hidrojel formülasyonları

Şekil 4-1: pH7 çözeltisinde dengeye ulaşmış hidrojel

Şekil 4-2: pH 7 tampon çözeltisinde oda sıcaklığında farklı Asetilhekzapeptit-8 konsantrasyonlarına sahip hidrojellerin şişme davranışı

Şekil 4-3: pH 12 tampon çözeltisinde oda sıcaklığında farklı Asetilhekzapeptit-8 konsantrasyonlarına sahip hidrojellerin şişme davranışı

Şekil 4-4: 37°C -de farklı Asetilhekzapeptit-8 konsantrasyonlarına sahip hidrojellerin büzülme davranışı

Şekil 4-5: F_1A_5 hidrojel formülasyonunun sertlik,adeziflik ve kohezifliğine ait kuvvet-zaman grafiği

Şekil 4-6: F_1A_{10} hidrojel formülasyonunun sertlik,adeziflik ve kohezifliğine ait kuvvet-zaman grafiği

Şekil 4-7: F_1 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-8: F_2 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-9: F_3 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-10: F_4 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-11: F_5 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-12: F_6 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-13: F_7 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-14: F_8 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-15: F_9 hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 4-16: F_{10} hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Şekil 5-1: F_1A_5 hidrojel formülasyonunun IR spektrumu

Şekil 5-2: F_1A_{10} hidrojel formülasyonunun IR spektrumu

Şekil 5-3: Hidrojel formülasyonlarında kullanılan polimer fiziksel karışımının IR spektrumu

Şekil 5-5: Hidrojel formülasyonlarında kullanılan peptit-polimer fiziksel karışımının IR spektrumu

Şekil 5-6: Hidrojel bileşikleri ve formülasyonlarının karşılaştırılmalı IR spektrumları

Şekil 5-7: Asetilhekzapeptit-8 standardının kalibrasyon eğrisi

Şekil 5-8: F_1A_5 hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (1.gün)

Şekil 5-9: F_1A_5 hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (15.gün)

Şekil 5-10: F_1A_5 hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (30.gün)

Şekil 6-1: F_1A_{10} hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (1.gün)

Şekil 6-2: F_1A_{10} hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (15.gün)

Şekil 6-3: F₁A₁₀ hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (30.gün)

Şekil 6-4: F₁A₁₀ hidrojel maske formülasyonu



SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESİ

- ECM:** Ekstraselüler Matriks
- FA:** Formik Asit
- FTIR:** Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
- HA:** Hyaluronik Asit
- HEC:** Hidroksietil Selüloz
- HPC:** Hidroksipropil Selüloz
- HPMC:** Hidroksipropil metil Selüloz
- IS:** İç Standart
- LCST:** Alt Kritik Çözelti Sıcaklığına
- MC:** Metil Selüloz
- MeOH:** Metanol
- MMP:** Matriks Metalloproteinaz
- NMR:** Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
- PCL:** Poli-Kaprolakton
- PEG :** Polietilenglikol
- PLA:** Poli-Laktik Asit
- PLGA:** Poli Laktik ko-Glikolik Asit
- PVA:** Polivinil Alkol
- ROS:** Reaktif Oksijen Türleri
- SANS :** Küçük Açılı Nötron Saçılımı
- SAXS:** Küçük Açılı X-ışını Saçılması
- SEM :** Optik Taramalı Elektron Mikroskopisi
- SNARE :** çözünür N-etilmaleimide duyarlı faktör aktive edici protein reseptörü
- SR:** Şişme Oranı
- TEM:** Transmisyon (Geçirimli) Elektron Mikroskopisi
- TEWL:** transepidermal su kaybı
- TFA:** Trifloroasetik asit
- TGA:** Termal Gravimetrik Analiz
- UCST :** Üst Kritik Çözelti Sıcaklığına
- UPLC-HRMS:** Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi



ÖZET

Aghazada, A (2020). Bitkisel Ekstreler ve Peptit İçeren Anti-Aging Kozmetik Yüz Maske Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Kozmetoloji BD.Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Dermal yaşlanma ekstrinsik ve intrinsik faktörlerden dolayı derinin molekül seviyesinde oluşan değişiklikler sonucu ortaya çıkan fizyolojik bir süreçtir.

Günümüzde insanların, dünya kozmetik pazarının yaklaşık beşte birini oluşturan yaşlanma karşıtı ürünlere olan ihtiyacı ve ilgisi artmaktadır. Yaşlanma karşıtı aktif bileşenlerin yan etkisiz, doğal yapılı taşıyıcı sistemler halinde formüle edilmesi tercih edilmektedir.

Bu tez çalışmasında, Asetilhekzapeptit-8, Kadife çiçeği ekstresi ve Aynısafa çiçeği ekstresi kullanılarak yaşlanma karşıtı etki etmesi beklenen hidrojel maske formülasyonları geliştirilmiştir.

Çalışmamızda, Asetilhekzapeptit-8 etken maddesini stabil bir şekilde formüle edebilmek amacıyla, yüksek su içeriği sayesinde peptitlerin etkinliğini koruyabilen ve denatürasyonunu önleyen hidrojel taşıyıcı sistemleri kullanılmıştır.

Bu çalışmamızda, diğer kağıt maske türlerinden farklı olarak kırılğan yapıya sahip olan hidrojel maskelerin bu dezavantajını gidermek amacıyla farklı polimerler kullanılarak, dayanıklı hidrojel maske formülasyonları geliştirilmiştir.

Bu kapsamda, hazırlanan formülasyonların reolojik , mekanik ve gerilme özellikleri, şişme davranışının tayini, biyoadhezyon kuvvetleri, etken madde içeriği ,fizikokimyasal stabiliteleri ve IR spektrumları araştırılmıştır.

Yukarıda bahs edilen çalışmalar sonucunda, Asetilhekzapeptit-8 (% 5 ve %10) ve bitkisel ekstreler içeren F₁A₅ ve F₁A₁₀ hidrojel maske formülasyonlarının kozmetik kalite kriterlerine uygun formülasyonlar olduğu tespit edilmiştir. İleriki aşamada seçilen hidrojel maskelerin in vivo çalışmalar ile etkinlik testleri yapılması planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler : Yaşlanma, Yüz maskesi, Hidrojel, Asetilhekzapeptit-8, Kadife çiçeği ekstresi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34222



ABSTRACT

Aghazada, A. (2020). Development and Characterization of Anti-Aging Cosmetic Facial Mask Formulations Containing Herbal Extracts and Peptides. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Cosmetology Section, Master's Thesis, İstanbul.

Dermal aging is a physiological process that occurs as a result of changes in the molecular level of the skin due to extrinsic and intrinsic factors.

Today, people's need and interest in anti-aging products, which constitute about one-fifth of the world cosmetics market, is increasing.

It is preferred that the anti-aging active ingredients be formulated as natural-structured carrier systems without side effects.

In this thesis study, hydrogel mask formulations that are expected to have an anti-aging effect have been developed using Acetylhexapeptide-8, Marigold extract and Calendula flower extract.

In our study, in order to formulate the Acetylhexapeptide-8 active ingredient stable, hydrogel carrier systems have been used, which can preserve the efficiency of peptides and prevent their denaturation due to their high water content.

In this study, unlike other types of sheet masks, durable hydrogel mask formulations have been developed using different polymers in order to eliminate this disadvantage of hydrogel masks, which have a fragile structure.

In this context, the rheological, mechanical and tensile properties, determination of swelling behavior, bioadhesion forces, active substance content, physicochemical stability and IR spectra of the formulations were investigated.

Consequently, it was determined that F₁A₅ and F₁A₁₀ hydrogel mask formulations containing Acetylhexapeptide-8 (5% and 10%) and herbal extracts are formulations that comply with the cosmetic quality criteria.

In the next stage, it is planned to conduct in vivo studies and efficiency tests of the selected hydrogel masks.

Keywords: Aging, Facial mask, Hydrogel, Acetylhexapeptide-8, Marigold extract

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 34222

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanın yaşlanması, vücut sistemlerinin homeostatik kapasitesindeki ilerici bir kayba tekabül eden, çevresel tehditlere ve belirli hastalık durumlarına karşı hassasiyeti artıran fizyolojik bir süreçtir. Sistematik yaşlanma, tüm vücutta 30-45 yaşları arasında gerçekleşir (Baumann 2009).

Deri yaşlanması, ekstrasik (kronik ışığa maruz kalma, kirlilik, iyonlaştırıcı, radyasyon, kimyasallar veya toksinler) ve intrinsik (genetik, fizyolojik) faktörler sonucu ciltte gerçekleşen bir süreçtir (Zouboulis ve ark. 2019).

Yaşlanmayla birlikte derinin dermal bileşenlerinde çeşitli değişiklikler oluşur. Artmış kollajen degradasyonu ,azalmış kollajen biyosentezi ve anormal kollajen homeostazı net bir kollajen eksikliğine neden olur. Bu süreç, hem doğal , hem de fotoyaşlanmış ciltlerde gözlenen cilt kırışıklığı ve elastikiyet kaybı gibi klinik değişikliklere yol açar (Shin ve ark. 2019).

Yaşlanma karşıtı kullanılan topikal etken maddeler, antioksidanlar ve hücre regülatörleri olarak sınıflandırılmıştır.Topikal peptitler yaygın kullanılan hücre regülatörleridir (Zouboulis ve ark. 2019).

Asetilhekzapeptid-8, kozmetik endüstrisinde kırışıklık giderici olarak nörotransmitter inhibitör peptit grubuna dahil olan yaygın kullanılan peptitlerden biridir (Schagen 2017). Asetil hekzapeptid-8'in kırışıklık karşıtı etkilerinin botulinum nörotoksin / botulin toksinine benzer olduğu bildirilmiştir. Yüksek toksisitesi nedeniyle, botulin toksini sıkı tıbbi kontrol altındadır. Asetilhekzapepti-8, Botulinum toksin ile karşılaştırıldığında çok daha az toksik olduğu kanıtlanmıştır.(Zhou ve ark. 2011)

Bu peptit SNARE (çözünür N-etilmaleimide duyarlı faktör aktive edici protein reseptörü) komplekslerindeki SNAP-25 proteinleriyle yapısal benzerliklere sahiptir ve bu komplekslerin bağlanma sahaları için rekabet eder, yapılarının destabilitesine yol açar ve sinir uçlarında asetilkolin salınımını önler. (Lima ve Pedriali Moraes 2018).

Bitkisel ekstreler içerdikleri aktif bileşikler sayesinde sıklıkla kozmetik ürün geliştirilmesinde kullanılmaktadırlar. Kadife çiçeği ekstresi ve fraksiyonları hyaluronidaz, elastaz ve MMP-1'e (Matriks Metaloproteinaz) karşı inhibe edici aktiviteye sahiptir. Bu etki, Kadife çiçeğin ekstresinde bulunan potansiyel kırışıklık önleyici maddeler olan β -amirin ve siringik asitin varlığıyla kanıtlanmıştır (Maity, ver ark 2011)

Kalendula bitkisi Kadife bitkisiyle aynı familyaya (Asteraceae) aittir. Kadife çiçeği ekstresinde olduğu gibi polifenollar içerir ,antioksidan ve fotokoruyucu özellikleri vardır (Al-Snafi 2015).

Hidrojeller, yapısal özelliklerinden dolayı ilaç taşıyıcı sistemlerde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Hedef bölgeye modifiye edilmiş bir salım sağlamak, uygulanacak bölgeyle temas süresini uzatmak, toksisiteyi ve yan etkileri azaltmak için tasarlandığından büyük önem taşımaktadırlar. Hidrojeller sadece küçük moleküller için mükemmel bir taşıyıcı olarak değil, aynı zamanda peptit ve protein gibi hassas biyoaktif büyük moleküller için de mükemmel bir taşıyıcı görevi görür. Yüksek su içeriği nedeniyle, peptit ve proteinlerin aktivitesini korur ve denatürasyonun karşısını alır (Raza ve ark. 2018).

Hidrojeller, yüksek su içerikleri ve ciltde bir matris oluşturan hidrofilik bazları nedeniyle sıklıkla yüz maskesi olarak seçilir, böylece aktif bileşenlerin cilde iletilmesinde yüksek etkinlik sağlarlar. Hidrojel maskelerin deri ile temas sürelerinin uzun olması, kolay uygulanabilirliği, nemlendirici ve yenileyici etkiye sahip olması ,aynı zamanda cilt sıcaklığını kontrol etmesi ve yağlı hiss bırakmaması istenilen özelliklerdendir (Surini ve Auliyya 2017).

Bu çalışmada, Asetilhekzaeptit-8 ve bitkisel ekstreler kullanılarak kırıxıklık karşıtı etki etmesi beklenen ve farklı polimerler kullanılarak daha dayanıklı hidrojel maske formülasyonları geliştirmek amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında, hazırlanan formülasyonların reolojik , mekanik ve gerilme özellikleri, şişme davranışının tayini, biyoadezyon kuvvetleri, etken madde içeriği , fizikokimyasal stabiliteleri ve IR spektrumları araştırılması planlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri

Deri, vücudun en büyük organıdır ve toplam yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturur (Kolarsick ve ark. 2011) ve vücut yüzeyinin yaklaşık 2 m²'sini kaplar. Vücut ve çevresi arasındaki sınırı tanımlar, böylece hayati bedensel fonksiyonların kontrollü bir fizyolojik ortamda gerçekleşmesini sağlar (Ng ve Lau 2015). Dış tabaka hücrelerinin sürekli dökülüp yüzeye hareket eden iç hücrelerle değiştirilmesi cildin dinamik bir organ olmasını sağlar. Anatomik bölgeye ve bireyin yaşına göre cildin kalınlığı değişir (Gawkrödger 2002).

Cilt, önemli fizyolojik fonksiyonları yerine getiren, kompleks metabolik aktif bir organdır. Cildimizin fonksiyonları aşağıda sıralanmıştır;

- 1- Vücudun iç fizyolojik ortamını, dış fizyolojik olmayan ortamdaki fiziksel, kimyasal ve immünolojik bariyerle korur.
- 2- Duyu organı gibi davranır.
- 3- Bazal tabakada melanositler, UV radyasyonunun zararlı etkilerini azaltarak cildin bariyer fonksiyonunda önemli rol oynar (Ng ve Lau 2015).
- 4- Temel vücut sıvı kaybının ve toksik maddelerin nüfuz edilmesini önler (Gilaberte ve ark. 2016).
- 5- Deri, bazı steroidler, melatonin ve D vitamini (kolekalsiferol) gibi hormon benzeri aktiviteye sahip çeşitli hormonlar ve maddeler üretme kapasitesine sahiptir (Gilaberte ve ark. 2016).
- 6- Derideki termoreseptörler ısıyı ve soğuğu algılar , hipotalamusu uyararak vücut sıcaklığını dengeler (Ng ve Lau 2015).
- 7- Cildin önemli bir fonksiyonu termoregülasyondur. Derin veya yüzeysel pleksuslardaki kan damarlarının vazodilatasyonu veya vazokonstriksiyonu ısı kaybını düzenlemeye yardımcı olur (McGrath ve Uitto 2010).
- 8- Fiziksel bir bariyer görevi görmesinin yanı sıra, cilt önemli bir immünolojik rol oynar. Normalde β hücreleri hariç, hücresel bağışıklığın tüm öğelerini içerir (Gawkrödger 2002).
- 9- Terde çözünen bazı mineraller, metabolik atıklar, toksik maddeler deriyle vücuttan atılır.

2.1.1. Derinin Anatomik Yapısı

Yüzeyinden içe doğru cilt aşağıdaki katmanlardan oluşur;

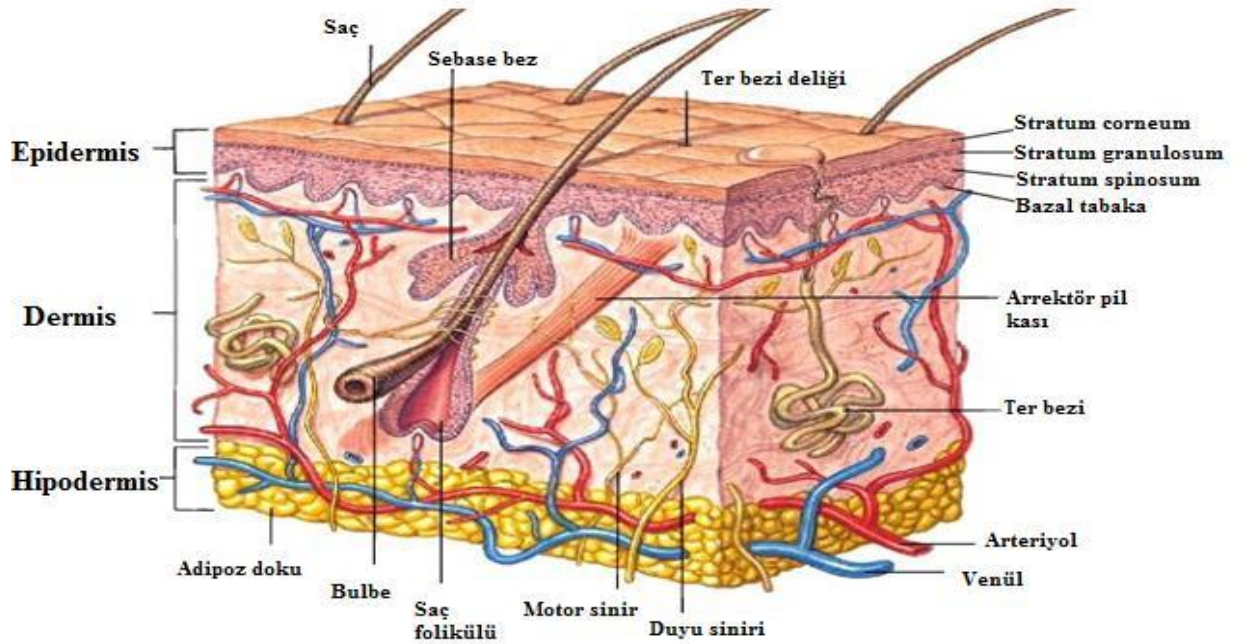
- ✓ Epidermis
- ✓ Dermis
- ✓ Hipodermis (Ng ve Lau 2015).

Tüm katmanlar hem ekstraselüler matrikse (ECM), hem de farklı hücrelere ve ayrıca kan damarları, bezler, sinirler ve saç gibi her bir katmana özgü olabilecek diğer yapılara sahiptirler.

Cildin yapısı yer, yaş, cinsiyet, ırk ve hastalıklara bağlı olarak değişir. ECM-in hacmi deride hücrelerdekenden oldukça fazladır ve deri ağırlığının yaklaşık % 75'ini oluşturur (Benítez ve Montáns 2017).

ECM, üç biyomolekül sınıfından oluşur:

- yapısal proteinler (kolajen, fibrillin ve elastin);
- özel proteinler (hücreleri ECM-e bağlayan fibrokonektin ve integrin tipleri ve özellikle bazal laminada çeşitli laminin tipleri);
- proteoglikanlar (Griffiths ve ark. 2016).



Şekil 2-1: Derinin tabakaları (<https://medium.com/@cindymeza/layers-of-the-skin-fa974368418>)

2.1.1.1. Epidermis

Epidermis , temelde iki tip hücreden (keratinositler ve dendritik hücreler) oluşan tabakalı, skuamöz bir epitel katıdır. Çoğunlukla keratinosit hücre tipi içeren epidermis, melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri gibi başka hücre popülasyonlarını da barındırır (Murphy 1997; Kolarsick ve ark. 2011). Epidermiste kan damarları yoktur ve kalınlığı göz kapaklarında 0,1 mm'den avuç içi ve ayak tabanlarında yaklaşık 1 mm'e kadar değişir (Weller ve ark. 2011)

Alt tabakalardan cilt yüzeyine doğru hareket ederken, epidermis dört tabakaya ayrılır:

- stratum basale (bazal veya germinativum hücre katmanı)
- stratum spinosum (spinöz tabaka)
- stratum granulosum (granüler tabaka)
- stratum corneum (boynuzsu tabaka)

Bazal tabaka, spinöz tabaka ile birlikte 'Malpighian tabakası' olarak bilinir. Ek bir katman, lusidum tabaka (şeffaf katman), vücudun bazı kısımlarında, avuç içi ve ayak tabanı gibi kalınlaşmış deride bulunur (Ng ve Lau 2015).

Epidermiste kan damarları yoktur ve epidermise nüfuz eden moleküller sistemik dolaşıma girebilmek için dermo-epidermal tabakayı geçmelidir (Gawkrödger 2002)

Keratinositler

Keratinositler, epidermisteki hücrelerin % 95'ini oluştururlar. "Berrak" dendritik hücrelerden farklı olarak hücreler arası köprülere ve bol miktarda boyanabilir sitoplazmaya sahiptirler (Murphy 1997).

Keratin filamentleri, keratinositlerin ana bileşenleridir ve yapısal destek sağlarlar. İki tip keratin filamenti vardır: asidik (tip I, K10–20) ve temel (tip II, K 1-10). Asidik ve temel tip birlikte keratin filamentini oluştururlar. Keratinositler, dermal-epidermal kavşakta , epidermisin tabanında kök hücreler tarafından üretilirler, bunlara ayrıca bazal hücreler de denir, çünkü epidermisin bazal katmanında bulunurlar. Kök hücreler bölündüğünde, epidermisin yüzeyine göç eden "kız hücrelerini" oluştururlar (Baumann 2009). "Kız hücreleri" nin bazal katmandan cildin yüzeyine göç ettikçe ortaya çıkan farklılaşma süreci, keratinositin önce sentetik ve daha sonra degradatif fazdan geçtiği bir işlem olan keratinizasyon ile sonuçlanır (Kolarsick ve ark. 2011). Keratinositler, epidermisin katmanları boyunca göç ettikçe içerikleri ve fonksiyonları,

içinde hareket ettikleri spesifik epidermal katmana bağlı olarak değişir (Baumann 2009).

Bazal hücre katmanındaki “kız hücreleri”nin bölünmesi ve epidermin yüzeyinden dökülmesine kadar olan işlemlerin süresi yaklaşık 40 ile 56 gündür (Yagi ve Yonei 2018).

Melanositler

Bazal katman keratinositlere ek olarak, diğer ihtisaslaşmış hücre tiplerini içerir. Melanositler, melanin pigmentinin tirozinden sentezlenmesinden ve bu pigmentin keratinositlere transferinden sorumludur. Melanin, bir dizi reseptör aracılığıyla, hormonla uyarılmış, enzim katalizli reaksiyonla melanozom olarak bilinen yuvarlak, zara bağlı bir organel içerisinde üretilir (Kolarsick ve ark. 2011). İki tür melanin bulunur: kahverengi-siyah eumelanin daha yaygındır, daha az yaygın olan feomelanin ise kırmızı veya sarıdır. Melanositler, dendritik bağlantılar yoluyla yakın keratinositlerle yüzey temasını sağlar ve bu, pigment granüllerinin, melanositlerden keratinositlere geçmesine izin verir (Gawkrodger 2002).

Langerhans Hücreleri

Langerhans hücreleri, doğumdan önce cilt epidermisindeki yaygın makrofaj prekürsörlerinden tohumlanan eşsiz bir mononükleer fagosit popülasyonudur (West ve Bennett 2018).

Melanositlere benzer, ancak pigment içermeyen ve dopa negatif olan dendritik hücreler, insan epidermisinde varlığını altın klorürle boyayarak ortaya koyduğunu gösteren Langerhans tarafından tarif edilmiştir. Langerhans hücreleri, makrofajlar ve dermal dendrositler, cildin mononükleer fagosit sistemini oluşturur.

Langerhans hücreleri enfeksiyon, şişkinlik ve kanser dahil olmak üzere çeşitli cilt patolojilerinde, bağışıklık ve periferik tolerans arasındaki dengenin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynarlar (McGrath ve Uitto 2010).

Merkel hücreleri

Bu hücreler bazal tabakanın içinde veya bu tabakaya yakın bulunan, nondendritik hücrelerdir ve keratinositlerle aynı büyüklükte dirler (Hunter ve ark. 2002). Merkel hücreleri, omurgalıların epidermisi boyunca dağılmış ve epidermal hücrelerin % 0.25'ini oluşturan post-mitotik hücrelerdir. Bazal keratinositler arasında yerleşirler ve esas olarak tüylü ciltlerde, tüysüz ciltlerin dokunsal bölgelerinde, tat tomurcuklarında, anal kanalda, labial epitelde ve ekrin ter bezlerinde bulunurlar. Merkel hücreleri

yaklaşık 15 µm uzunluğunda bazal membrana paralel yönlendirilmiş eksene sahip ovallardır.

Güneşe maruz kalan cilt, güneşe maruz kalmayan cilde göre iki kat daha fazla Merkel hücresi içerebilir. Duyusal sinir uçları ile yakın bağlantılar kurar ve bazı peptitleri salgılar veya eksprese eder. Merkel hücrelerinin kıl köklerindeki fonksiyonu belirsizdir, bununla birlikte, yeni anagen devirlerinin indüksiyonunda rol oynayabilirler (McGrath ve Uitto 2010).

Boynuzsu Tabaka (Stratum Corneum)

Epiderminin en yüzeysel katmanı olan boynuzsu tabaka yaklaşık 15 hücre katmanı kalınlığındadır. Bu tabakada keratinizasyon işlemini tamamlayan olgunlaşmış keratinositler bulunur. Protein sentezlenemediği ve hücresel sinyallere cevap vermediği için bu katman “ölü katman” olarak tanımlanmaktadır. Korneum tabaka koruyucu bir bariyer işlevi görür. Koruyucu işlevlerinden biri, transepidermal su kaybını önlemektir (Baumann 2009).

Boynuzsu tabakadaki hücreler normalde çekirdek veya intrasitoplazmik organellere sahip değildir, bunlar lamellar granüller ve granüler hücrelerin lizozomlarında bulunan hidrolitik ve bozucu enzimler tarafından tahrip olunur (Hunter ve ark. 2002).

Granüler Tabaka (Stratum Granulosum)

Keratinizasyon bu tabakada başlar. Keratinositlerde keratinler ve keratohyalinler (lamellar granüller) bu tabakaya granüler görünüm verir. Bu keratohyalin granülleri, ~26-48 kDa-luk filagrinlere (filament toplayıcı proteinler) bölünen ~400-500 kDa-luk protein olan profilaggrin'den oluşur. Profilaggrin bölünmesi, keratinositler stratum granulosumdan stratum corneum'a hareket ettikçe meydana gelir (Woo 2019)

Spinöz Tabaka (Stratum Spinosum)

Bazal hücre katmanının üst kısmında yerleşen, 5-10 hücre kalınlığında olan bu tabaka skuamöz hücre katmanı ve ya spinöz tabaka olarak bilinir (Murphy 1997).

İlk keratinizasyon belirtisi olarak kabul edilen lamellar granüller, ilk önce spinöz tabakada ortaya çıkar. Keratinler 1 ve 10 ilk önce bu suprabazal keratinosit tabakasında görülür. Bu keratinler, hücreye daha fazla mekanik mukavemet kazandıran daha katı bir hücre iskeleti oluşturur (Baumann 2009).

Lamellar granüller, glikoproteinler, glikolipitler, fosfolipitler, serbest steroller ve lipazlar, proteazlar, asit fosfatazlar ve glikozidazlar dahil bir dizi asit hidrolaz içeren

zara bağı organellerdir (Kolarsick ve ark. 2011). Bu tabakaya desmozomların çok belirginliyi nedeniyle “sivri katman” adı verilmiştir (Baumann 2009).

Lusidum Tabaka (Stratum Lucidum)

Bu tabaka sadece kalın cilt epidermisinde, özellikle avuç içlerinde ve tabanda bulunur. Mikroskopik olarak, stratum lucidum pürüzsüz ve görünüşte yarı şeffaf bir görünüme sahiptir (Woo 2019).

Bazal Tabaka (Stratum Basale)

Bu alt katman, dermisin sınırlarını oluşturur. Epidermisteki suyun yaklaşık % 8'ini tutar. Yaşlanma ile birlikte, bu tabaka incelik ve su tutma kabiliyetini kaybeder (Igarashi ve ark. 2007).

Bazal katman epidermisin en derin alt katmanıdır ve tek bir bazal hücre katmanından oluşur. Bazal hücreler sürekli hücre popülasyonunu yenileyerek epidermisin korunmasından sorumludur. Bu hücreler, diğer bazal hücrelere ve üzerindeki spinöz hücrelere, desmozomlar yoluyla birleşerek bazal membran oluşturur. Bazal hücrelerin diğer ayırt edici özelliği, koyu renkli oval veya uzun çekirdekler ve bitişik melanositlerden aktarılan melanin pigmentinin varlığıdır (Murphy 1997). Bazal tabakadan hücrelerin % 10'u kök hücre, % 50'si yükseltici hücreler ve % 40'ı postmitotik hücrelerdir. Normal olarak, kök hücreler yavaş-yavaş yeni hücrelere bölünürler, ancak yara iyileşmesi veya büyüme gibi belirli koşullar altında bölünme işlemi hızlanır (Baumann 2009).

2.1.1.2. Dermis

Dermis, epidermis ile derialtı yağ tabakası arasında bulunur. Dermisin kalınlığı vücudun farklı bölgelerine göre değişir, büyüklüğü 3 ile 7 yaşlar arasında ve tekrar ergenlikte iki katına çıkar. Yaşlanma ile birlikte, bu temel katmanın kalınlığı ve nemi azalır (Baumann 2009).

Dermis, esas olarak, tüm bileşenleri için bir çeşit "çimento" görevi gören hücreler arası amorf maddeden oluşur. Bu amorf maddenin içerisinde;

- dermisin hücreleri,
- kollajen ve elastin lifleri,
- kan damarları,
- sinirler ve duyu organları,
- yağ bezleri,

- kıllar ve ter bezleri bulunur (Shai ve ark. 2009).

Sinirlerle, kan damarlarıyla ve ter bezleriyle yüklü dermis, çoğunlukla kolajenden oluşur. Epidermin altındaki bu tabakanın en üst kısmı, papiller dermis, alt kısmı ise retiküler dermis olarak bilinir.

Retiküler dermisle kıyaslandıkta papiller dermis daha küçük kollajen demetleri, fazla hücresel yapı ve yüksek yoğunlukta vasküler elementle karakterize olunur. Fibroblastlar, dermisteki temel hücre tipidir; kolajen, elastin, diğer matris proteinleri ve kollajenaz ve stromelisin gibi enzimleri üretirler.

Lökositler, lenfositler ve makrofajlar gibi immün hücreler de dermiste bulunur (Baumann 2009).

Kolajen

Kolajen, en güçlü doğal proteinlerden biridir, cilde dayanıklılık ve esneklik kazandırır. Kolajen, aslında 11'i dermiste bulunan 18 proteinli karmaşık bir bileşiktir. Her bir kolajen tipi üç zincirden oluşur. Kolajen, fibroblastlarda prokolajen adı verilen bir prekursorundan sentezlenir.

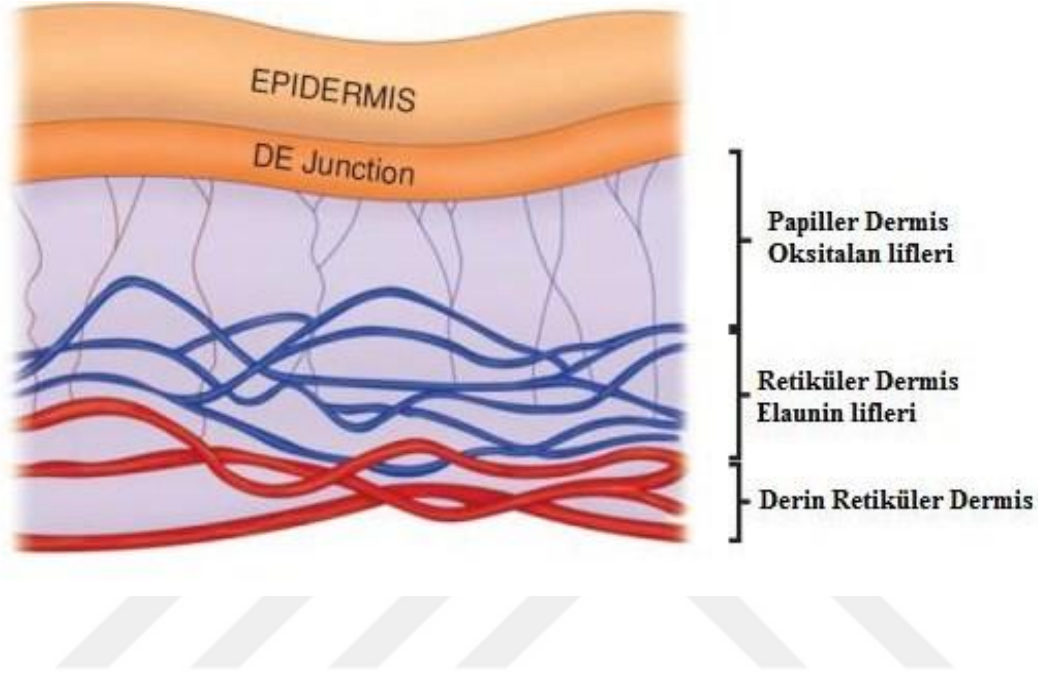
Tip I kollajen, dermal matrisin % 80 ile % 85'ini oluşturur ve derminin gerilme kuvvetinden sorumludur. Kolajen I cilt yaşlanması açısından en önemli kolajen türüdür. Kolajen III, dermisteki en önemli ikinci kollajen şeklidir ve matrisin % 10 ile % 15'ini oluşturur. Bu kolajen tipi kolajen I'den daha küçük çapa sahiptir ve cilt esnekliğini sağlayan küçük demetler oluşturur. Embriyonik yaşamda baskın olduğu için “fetal kollajen” olarak da bilinen Tip III, kan damarları çevresinde ve epidermin altında daha yüksek miktarda görülür (Baumann 2009).

Elastin

Elastik lifler, bağ dokusunun ekstraselüler matrisin temel bileşenlerinden biridir. Elastik lifler iki bileşene sahiptir. Ana bileşenleri olan elastin, şekilsiz, çözünmeyen bir bağ dokusu proteindir ve ikinci bileşen olan mikro liflerle çevrilidir. Elastin, cildin kuru ağırlığının % 2- 3'ünü, akciğerin % 3-7'sini , ana kan damarlarının % 28 -32'sini ve elastik bağ dokusunun % 50'sini oluşturur.

Elastin, öncü tropoelastinden fibroblastlarda, ayrıca endotel hücrelerinde ve vasküler düz kas hücrelerinde üretilir. Kollajen liflerinin aksine, elastin lifleri dermiste çeşitli olgunluk seviyelerinde bulunur. Az olgunlaşmış elastin liflerine oksitalan, daha olgun olanlara elastin denir. En olgun elastin lifleri ise retiküler dermiste daha derinde

bulunur. Mikrofibiller elastogenezde çok önemli bir rol oynar ve tropoelastin depolanmasında bir 'iskele' görevi görür. Dermisteki elastik lif ağı, yüzeysel dermisteki olgunlaşmamış oksitalan liflerinden ve orta dermisteki daha olgun elaunin liflerinden oluşur. En olgun elastik lifler isimsizdir ve derin retiküler dermiste bulunur (Baumann 2009).



Şekil 2-2: Dermis (Baumann 2009).

2.1.1.3. Hipodermis

Subkutan doku veya hipodermis, insan vücudundaki en büyük dokulardan biridir. Bu tabakanın ana bileşenleri adipositler, lifli dokular ve kan damarlarıdır. Bu tabaka ayrıca kolajen I, III ve V tiplerini de içerir. Yağ dokusu iki morfolojik tipte sınıflandırılır: beyaz ve kahverengi yağ dokusu. Beyaz yağ dokusu normalde β -karoten birikimi nedeniyle sarı görünürken, kahverengi yağ dokusu zengin vasküler kaynağa sahip olduğundan kahverengi adlandırılmıştır.

Hipodermisin fonksiyonları;

- Vücuttaki en büyük enerji deposudur,
- Retinoik asit gibi türevler dahil olmak üzere yağda çözünen vitaminleri (A, D, E, K) depolar,
- Vücudun yüzeyini şekillendirmeye yardımcı olur ve yağ yastıkları oluşturur,
- Dahili organlara verilen zararı hafifletmek için dışardan gelen kuvvet veya stresi dağıtmaya yardımcı olur,

- Diğer dokular arasındaki boşlukları doldurur ve organların yerinde kalmasına yardımcı olur,
- Vücudu ısı kaybına karşı korur,
- Androjen ve östrojen seviyelerinin düzenlenmesinde rol oynar;
- Sitokin salgılayan bir organ olarak işlev görür (Baumann 2009).

2.2. Deri Yaşlanması

İnsanın yaşlanması, vücut sistemlerinin homeostatik kapasitesindeki ilerici bir kayba tekabül eden, çevresel tehditlere ve belirli hastalık durumlarına karşı hassasiyeti artıran fizyolojik bir süreçtir. Sistematik yaşlanma, tüm vücutta 30-45 yaşları arasında gerçekleşir (Baumann 2009).

Deri yaşlanması ekstrinsik (kronik ışığa maruz kalma, kirlilik, iyonlaştırıcı, radyasyon, kimyasallar veya toksinler) ve intrinsik (genetik, fizyolojik) yaşlanma olarak sınıflandırılabilir (Zouboulis ve ark. 2019).

Intrinsik yaşlanma

Hücrel yaşlanma (doğal yaşlanma olarak da bilinir) içsel faktörlerden kaynaklanır ve hem fizyolojik faktörler , hem de genetik yatkınlık ile belirlenir. Hücrel proliferasyon ve hormon seviyeleri azaldıkça, çeşitli faktörlerin bir sonucu olarak farklı yaşlanma belirtileri ortaya çıkar: telomer kısalması ve displastik keratinositlerin birikmesi, ECM-nin bozulması; nükleer ve mitokondriyal genlerdeki mutasyonlar ve çoklu lipit veya amino asit metabolik sapmaları. Bu tür değişiklikler, suyun doğru şekilde paylanmaması veya higroskopik maddelerin eksikliği nedeniyle fonksiyonel ve fiziksel değişikliklere neden olur (Mesa-Arango ve ark. 2017).

Ekstrinsik yaşlanma

Ekstrinsik yaşlanma çeşitli faktörlerden dolayı gelişir: iyonlaştırıcı radyasyon, ciddi fiziksel ve psikolojik stres, alkol alımı, yetersiz beslenme, aşırı yeme, çevre kirliliği ve UV radyasyonuna maruz kalma. Tüm bu çevresel faktörler arasında UV radyasyonu yaşlanmaya % 80'e kadar katkıda bulunur. Hem UVB (290-320 nm) , hem de UVA (320-400 nm) radyasyonunun neden olduğu cilt değişiklikleri, ışığa maruz kalan cildin fenotipine bağlıdır.

UVB, esas olarak epidermal düzeyde değişiklikler meydana getirir , UVA ise dermise daha derinlemesine nüfuz eder ve hem epidermis, hem de dermise zarar verir (Puizina-Ivic 2008).

2.2.1. Dermal Yaşlanmanın Moleküler Mekanizmaları

Yaşlanma ile Dermal Bileşenlerdeki Değişiklikler

Kollajen-Kollajen liflerindeki kantitatif ve yapısal değişiklikler yaşlı deride bulunan önemli değişikliklerdir. Artmış kollajen degradasyonu ,azalmış kollajen biyosentezi ve anormal kollajen homeostazı net bir kollajen eksikliğine neden olur.Bu süreç, hem doğal , hem de fotoyaşlanmış ciltlerde gözlenen cilt kırışıklığı ve elastikiyet kaybı gibi klinik değişikliklere yol açar (Shin ve ark. 2019).

Artan Matriks Metalloproteinaz (MMP) Seviyeleri- Reaktif oksijen türleri (ROS) yaşlı deride MMP düzeyindeki artışa neden olur. ROS deride hem dış , hem de iç faktörlerden kaynaklanır (örneğin ultraviyole ışınları ve metabolik olarak üretilen pro-oksidanlar).Yaşlı ciltte MMP seviyelerinin yükselmesine, endojen MMP inhibitörlerinin seviyelerinde karşılık gelen bir artış eşlik etmez. Bu dengesizlik dermiste progresif kollajen fragmantasyonunu hızlandırır ,bu da cilt yaşlanmasına neden olur (Shin ve ark. 2019).

Elastik lifler yenilenmesi-Yaşlanma sürecinde elastik lif sistemi yapısal değişikliklere uğrar. İntrinsik cilt yaşlanmasında papiller dermisteki fibrillin bakımından zengin mikrofibriller seçici olarak bozulur. İntrinsik yaşlanmanın aksine, fotoyaşlanma, “solar elastozis” adlanan dermis boyunca düzensiz elastik liflerin birikmesi ile karakterize edilir. Yaşlanma ile, fonksiyonel elastik liflerin sayısı azalır ve bu, yaşlı ciltte elastikiyet kaybı ve kırışıklığa neden olur (Shin ve ark. 2019).

Glikozaminoglikanlardaki değişiklikler- Glikozaminoglikanlar ECM-in önemli bir bileşenidir. Kondroitin sülfat , dermatan sülfat , keratan sülfat , heparin sülfat , heparin ve hyaluronik asit (HA) dahil olmak üzere altı türü vardır. Dermal HA esas olarak fibroblastlar tarafından üretilir ve papiller dermiste bol miktarda bulunur. Kollajen gibi diğer ECM proteinleri ile çapraz bağlanır, bu da doku sertliğinin artmasına neden olur.İntrinsik yaşlı ciltte , HA bağlayıcı proteinler genç ciltlere kıyasla azalırken, genç ve yaşlı ciltler arasında hyaluronik asit moleküllerinin miktarında önemli fark gözlenmemektedir. Fotoyaşlanmış ciltte dermal HA içeriği, özellikle solar elastozlu bölgelerde önemli ölçüde artar (Shin ve ark. 2019).

2.2.2. Yaşlanma Karşıtı Kullanılan Topikal Etken Maddeler

Yaşlanma karşıtı olarak kullanılabilecek maddeler iki ana gruba ayrılır:

- ✓ antioksidanlar

✓ hücre regülatörleri.

2.2.2.1. Antioksidanlar

Vitaminler, polifenoller ve flavonoidler gibi antioksidanlar, dokulardaki serbest radikallerin konsantrasyonunu azaltarak kollajen degradasyonunu azaltır (Zouboulis ve ark. 2019).

Deride doğal olarak oluşan antioksidatif enzimler süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz; enzimatik olmayan endojen antioksidatif moleküller ise alfa-tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), glutatyon ve ubikinondur (Baumann 2009)

Antioksidanların farklı etki mekanizmaları;

- serbest oksijen radikallerini doğrudan nötralize eder,
- peroksit konsantrasyonlarını azaltır ve oksitlenmiş membranları onarır,
- ROS üretimini azaltmak için aktif demiri azaltırlar,
- lipit metabolizması ile, kısa zincirli yağ asitleri ve kolesterol esterler ROS-u nötralize eder .
- ancak esas olarak serbest radikal temizleyicileri olarak bilinirler (Zouboulis ve ark. 2019).

Topikal olarak uygulanan antioksidanlar

Yağda çözünen antioksidanlar- bunlar hücre membranının lipofilik kısmında bulunur . E vitamini, karotenoidler , koenzim Q10 ve onun sentetik analogu idebenon ve gıda türevli likopen yağda çözünen antioksidanlardır.

Suda çözünen antioksidanlar- bunlar hücrenin hidrofobik alanlarında bulunur , C vitamini ve glutatyon suda çözünen antioksidanlardır.

Yağda ve suda çözünen antioksidanlar- hem suda , hem de lipitte çözünür olduğu bilinen tek ağ antioksidanı lipoik asittir.

Diğer antioksidanlar-genistein, piknogenol, dehidroepiandrosteron, melatonin ve selenyum (Baumann 2009)

2.2.2.2. Hücre Regülatörleri

Retinoller, peptitler, hormonlar (büyüme faktörleri dahil) ve polifenoller hariç bitkisel bileşenler gibi hücre regülatörleri doğrudan kollajen metabolizması üzerine etki eder, kollajen ve elastik liflerin üretimini uyarır (Zouboulis ve ark. 2019).

A vitamini (retinol) ve türevleri (retinaldehit ve tretinoin) antioksidan etkiye sahiptirler. Kollajen biyosentezini indükleyebilir ve MMP 1 (kolajenaz 1) ekspresyonunu azaltırlar. Birinci jenerasyonun aromatik olmayan bir retinoidi olan tretinoin, Amerika Birleşik Devletleri'nde % 0,05'lik bir konsantrasyonda yaşlanma karşıtı ürün olarak tedavide onaylanmıştır (Ganceviciene ve ark. 2012).

2.2.2.3. Topikal Peptitler

Proteinlere benzer şekilde peptitler, peptit bağlarıyla bağlanan amino asit zincirlerinden oluşan organik bileşiklerdir. Bununla birlikte, proteinlerden önemli ölçüde küçük oldukları için farklıdır. Bunlar iki, üç, birkaç (3 ile 10) veya birçok amino asitten oluşur ve sırasıyla dipeptitler, tripeptitler, oligopeptitler ve polipeptitler olarak adlandırılırlar (Sivamani ve ark 2016).

Peptitlerin Permeasyon Yolları

Peptitlerin cilt üzerinde farklı etkileri (özellikle kozmetik amaçlı) vardır , ancak peptitleri topikal olarak kullanmak için önemli bir engel, cilde nüfuz etme geçirgenliğinin olmasıdır.

Stratum Korneum topikal ilaçlar için üç permeasyon yolu sunar:

- hücreiçi (intraseküller)
- hücrearası (transseküller)
- transappendageal

Hücre içi (intraseküller) penetrasyon, 0.013 µm'den büyük olmayan lipidler arasındaki kıvrımlı açıklıkları içerir ve topikal peptit permeasyonunun ana yöntemidir. Hücrearası (transseküller) yol aksine, keratinize korneositler yoluyla permeasyon yöntemidir, bu yol en az muhtemeldir. Transappendageal taşıma ter bezlerinde veya saç köklerinde ve bunlarla ilişkili yağ bezlerinde meydana gelir. Bu tür geçirgenlik sürfaktanlar ve glikoller tarafından desteklenmektedir. Genel olarak, yaşlı cilt daha az lipid molekülleri içerir. Bu nedenle, yaşlı insanlarda topikal peptitler genç popülasyonlara göre daha etkili olabilir. Pasif bir difüzyon işlemi olarak, peptitlerin permeasyonu , pKa, moleküler boyut, stabilite, bağlanma afinitesi, suda çözünürlük ve bölme katsayısı dahil onların fizyokimyasal özelliklerine, aynı zamanda topikal peptid uygulamasının yerine, alanına ve süresine, kullanılan herhangi bir transdermal taşıyıcı sistemin özelliklerine ve uygulama yerinde lokal bir depo oluşturmaya bağlıdır. Son

olarak, geçirgenlik yaşı, cildin bütünlüğü, kalınlığı ve bileşenleri ile kutanöz metabolizma gibi biyolojik faktörlerden etkilenir (Sivamani ve ark. 2016)

Özetle, aşağıda listelenen parametreler topikal ilaçlar için idealdir;

- ✓ Molekül ağırlığı 500 Da'dan az;
- ✓ 2,1 ve 3 arasında oktanol / su orta dağılım katsayısı;
- ✓ Erime noktası 200C'den az;
- ✓ Makul suda çözünürlük ($> 1 \text{ mg/mL}$);
- ✓ yok veya az sayıda polar merkez (Gorouhi ve Maibach 2009)

Topikal peptitlerin sınıflandırılması

Topikal peptitler dört gruba ayrılır:

- Sinyal peptitleri,
- Enzim inhibitörü peptitleri,
- Nörotransmitter-inhibitör peptitleri
- Taşıyıcı peptitler.

Sinyal peptitleri

Bu peptitler, genel olarak matriks protein üretimini ve spesifik olarak kollajen sentezini uyarır, fibroblastları stimüle eder . Matrikinler olarak da adlandırılan sinyal peptitleri ayrıca elastin, proteoglikan, glikozaminoglikanlar ve fibronektinlerin çoğalmasını arttırabilir. Matriks hücre aktivitelerini çoğaltarak kollajen üretimini artırır, cilt daha sıkı ve genç görünür. Bu kategorideki en yaygın iki sentetik peptit sekansı lizin-treonin-treonin-lizin-serin (KTTKS) ve glisil-L-histidil-L-lizin (GHK) – dır (Gorouhi ve Maibach 2009).

Tip I prokollajende bulunan KTTKS sinyal peptidi ile ilgili farklı çalışmalar yayınlanmıştır. Bu pentapeptid yeni kollajen sentezini uyarılması, tip I ve II kollajen ve fibronektin gibi hücre dışı matris proteinlerinin üretiminin artmasına neden olmaktadır. GHK hem sinyal,hem de taşıyıcı peptit olarak bilinir. Ekstra büyük kollajen agregatlarının yaralarda birikmesini, normal ciltte düzenli kollajen sentezini, elastin, proteoglikan ve glikozaminoglikan üretimini, farklı hücre tiplerinin büyüme hızı ve yer değiştirmesini hızlandırır, anti-enflamatuvar ve antioksidan etki eder (Gorouhi ve Maibach 2009; Łubkowska ve ark. 2010).

Enzim inhibitörü peptitleri

Bu peptitler, bir enzimi doğrudan veya dolaylı olarak inhibe eder. Soya proteini veya peptiti, soya tohumlarından doğal olarak ekstrakte edilen enzim inhibitör peptitidir. Bu peptid proteinazların oluşumunu engeller. Soya proteini sıklıkla yaşlanma karşıtı, cilt nemlendiricisi, anti-solar ajan olarak kullanılır.

Pirinç peptitleri / amino asitleri , matriks metalloproteinaz aktivitesini inhibe eder ve keratinositlerde hiyalüronan sentaz 2 geninin ekspresyonunu indükler (Gorouhi ve Maibach 2009).

Taşıyıcı peptitler

Sinyal oligopeptitlerin bir alt kategorisidir. Bir maddenin taşınmasını kolaylaştıran genel bir kategoriye aittir, ancak başlıca uygulamaları, yara iyileşmesi ve enzimatik süreçler için gerekli olan önemli eser(iz) elementlerini (Cu ve Mn gibi) taşımaktır. Bu peptitler ve proteinler, nüfuz edici peptitler veya membran transdüksiyon peptitleri olarak bilinir ve yapılarında temel transdüksiyon alanlarına sahiptirler (Gorhi ve Maibach 2009).

Nörotransmitter-inhibitör peptitleri

Kas kasılması, ince çizgiler ve kırışıklıklar gibi yaygın yaşlanma belirtilerini azaltmak için kullanılan peptitlerdir. Kaslar, nöronlardan nörotransmitter salınımı ile kasılır (Schagen 2017).

Kas kasılmasının meydana gelmesi için, nörotransmitter asetilkolin ihtiva eden veziküller, nöromusküler kavşaklarda salınmalı ve SNARE kompleksleri (çözünür N-etilmaleimide duyarlı faktör aktive edici protein reseptörü) ile etkileşime girmelidir.

Bu işlem, bir reseptör proteini olan SNAP-25 ile modüle edilir. Bu protein , vezikül ile ilişkili ve doğrudan SNARE kompleksini içeren bağlanma ve vezikül füzyonunu düzenleyen bir membran proteinidir. Bazı peptitler, SNARE komplekslerindeki SNAP-25 proteinleriyle yapısal benzerliklere sahiptir ve bu komplekslerin bağlanma sahaları için rekabet eder, yapılarının destabilitesine yol açar ve sinir uçlarında asetilkolin salınımını önler, bu nörotransmitterin etkilerini modüle eder (Lima ve Pedriali Moraes 2018).

Membran potansiyelindeki lokal bir modifikasyon, kalsiyum iyonlarının terminal yoluyla nörona girmesini tetikler. Bu iyonlar pre-sinaptik terminale girdiğinde, asetilkolin içeren veziküller, asetilkolini serbest bırakmak için nöronun diğer kısımlarına katılır. Bu işleme, vezikül ilişkili membran proteini, membrana bağlı protein

sintaksini ve sinaptozomal ilişkili protein 25-i içeren bir SNAP reseptör proteini aracılık eder. SNARE kompleksi vezikülleri yakalar ve membranla birleştirir. Bu veziküllerin füzyonu meydana geldiğinde, asetilkolin kas ve sinir arasındaki sinaps içine salınır. Asetilkolin kas hücrelerinin yüzeyinde bulunan asetilkolin reseptörlerine bağlanır ve bu da kas kasılmasına yol açar. Sinaptik protein SNAP-25'in amino asit dizisini taklit eden topikal sentetik peptitler nörosekresyonun spesifik inhibitörleri olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, bu peptitler ayrıca nörotransmitter inhibitör peptitleri olarak adlandırılır. Bu kozmetik peptitler cilde nüfuz eder ve kasları gevşeterek kırışıklıkların ve ince çizgilerin azalmasına ve yumuşamasına neden olur (Schagen 2017).

Nörotransmitter inhibitör peptitleri, nöromusküler kavşakta asetilkolin salınımını inhibe eder ve kürar benzeri etkiye sahiptirler (Gorouhi ve Maibach 2009).

Tüm botulinum nörotoksin serotipleri (A-G), üç aşamalı bir işlemde nöromusküler kavşakta asetilkolin salınımını önleyen tek zincirli polipeptitlerdir (Lupo ve Cole 2007).

Tablo 2-1: Peptit ve proteinlerin genel özellikleri (Gorouhi ve Maibach 2009)

Peptit ve protein	Jenerik ismi	Kaynak	Mekanizması	Kozmesötik uygulamalar	Peptit grubu
"Biopeptit-CL	Pal-GHK	Sentetik	Kollajen ve glikozaminoglikan sentezini uyarır	Yaşlanma karşıtı, kırışıklık karşıtı, anti-solar, sıkılaştırıcı, nemlendirici	Sinyal peptit
Palmitoil tripeptit-3/5	<i>SYN®-COLL</i>	Sentetik	Trombospondin-I tripeptit sekansını taklit eder ve kollajen oluşumunu teşvik eder	Kırışıklık karşıtı, nemlendirici, ve çatlakları iyileştirir, cildin sıkılığını ve tonunu geliştirir.	Sinyal peptit
Peptamid-6	FVAPFP veya phe-val-ala-pro-phe-pro	Biyoteknolojik (Saccharomyces maya fermentasyonu)	Kollajen sentezini artırır, büyüme faktörlerini, matriks proteinlerini düzenler	tüm yüz / vücut / göz kremleri için ideal Sıkılaştırıcı, Yaşlanma karşıtı	Sinyal peptit
Asetil tetrapeptit-9	AcTP1	Sentetik	Kollajen I ve lumikan sentezini uyarır	Yaşlanma karşıtı, Kırışıklık karşıtı, sıkılaştırıcı	Sinyal peptit
Asetil	AcTP2	Sentetik	Keratinosit hücre	Yaşlanma karşıtı	Sinyal peptit

tetrapeptit-11			büyümesini ve kırışıklık karşıtı, sindekan-1 sentezini sıkılaştırıcı uyarır	
Tripeptit-10	Decorin-e benzer		Kollajen fibrillogenesisini	
Sitrulline	tetrapeptit (Decorinyl™)	Sentetik	düzenler ve kollajen liflerinin çapını ve yerleşimini etkiler	Yaşlanma karşıtı, Sinyal peptit sıkılaştırıcı
İnsan büyüme hormone	hGH	Biyoteknolojik (rekombinasyon)	Artmış IGF-1 üretimi, fibroblast ve keratinosit aktivitesi ve sebum üretimi	Yaşlanma karşıtı, kırışıklık karşıtı, cilt yenileme sonrası Sinyal peptit
Interferon-Alfa	IFN-α	Biyoteknolojik (rekombinasyon)	Dendritik hücrelerin ve CD1a ve HLA-DR pozitif hücrelerin konsantrasyonunu artırır	Yaşlanma karşıtı, kırışıklık karşıtı Sinyal peptit
Isı şoku Proteini (70)	Hsp70	Biyoteknolojik (rekombinasyon)	Hücreleri apoptoza, yaşlanmaya ve UV hasarına karşı korur	Yaşlanma karşıtı, kırışıklık karşıtı Sinyal peptit
Akvaporin	AQP	Doğal (Ajuga turkestanica'dan ekstre edilir)	Epidermal proliferasyonu ve farklılaşmayı artırır, Stratum korneum'u daha kalın yapar Bakırlı şelatlar, lipid	Yaşlanma karşıtı, kırışıklık karşıtı, cilt nemlendirici Sinyal protein
İpek proteini	Sericin	Doğal	peroksidasyonunu ve tirozinaz aktivitesini ve keratinosit apoptozunu inhibe eder	Yaşlanma karşıtı, kırışıklık karşıtı, cilt nemlendirici Enzim inhibitörü peptid
Soya proteini /amino asitler	Glycine Soja Protein Veya Preregen®	Doğal	Proteinaz oluşumunu engeller, kıl köklerinin sayısını ve uzunluğunu artırır.	Yaşlanma karşıtı, cilt nemlendirici, anti-solar, yenileyici etki Enzim inhibitörü peptid

Asetil hekzaeptit-3	Argireline [®] veya acetyl hexapeptide- 8	Sentetik	SNARE kompleks Kırıksıklık önleyici oluşumunu ve özellikle periorbital, cilt Nörotransmitter- katekolamin nemlendirici, cildin inhibitör salınımını engeller sıklığını ve tonunu peptitleri geliştirir
Pentapeptit- 18	Leuphasyl [®]	Sentetik	Enkefalinlerin doğal mekanizmasını taklit Kırıksıklık önleyici eder ve nöronal (periorbital), cilt Nörotransmitter- aktiviteyi ve nemlendirici, inhibitör katekolamin cildin sıklığını ve peptitleri salınımını inhibe tonunu geliştirir eder
Pentapeptit-3	Vialox [®]	Sentetik	Rekabetçi antagonist asetilkolin Yaşlanma karşıtı, reseptörlerinde kırıksıklık karşıtı Nörotransmitter- inhibitör peptitleri
Tripeptit-3 veya dipeptit diaminobutiroil Benzilamid diasetat	Syn [®] -Ake	Sentetik	Waglerin 1'in Yaşlanma karşıtı, etkisini taklit eder kırıksıklık karşıtı Nörotransmitter- inhibitör peptitleri
Bakır tripeptit Kompleksi	Copper tripeptide-1 veya GHK- Cu veya Iamin [®]	Sentetik	'Ekstra büyük' kolajen oluşumunu azaltır, daha düzenli kolajen Yaşlanma Karşıtı, sentezi, elastin, Kırıksıklık Karşıtı, cilt Sinyal ve proteoglikanlar, nemlendirici, saç taşıyıcı peptit" glikozaminoglikanlar büyüme stimülatörü üretimi ve anti- inflamatuvar ve antioksidan etki

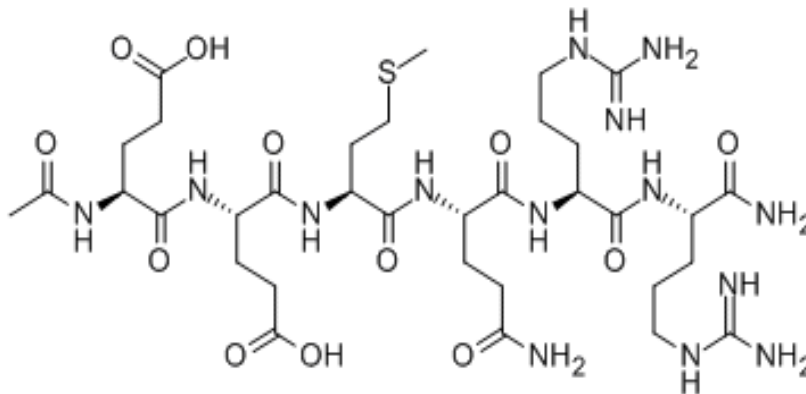
2.2.2.4. Asetil Hekzapeptid-8

Daha önce asetil hekzapeptid-3 olarak bilinen asetil hekzapeptid-8 ve ya Ac-EEMQRR-amid, kozmetik endüstrisinde kırışıklık giderici olarak en yaygın kullanılan peptitlerden biridir.

İspanyol şirketi Lipotec tarafından Argireline® ticari markası altında pazarlanmaktadır. 1993 ve 1999 yılları arasında Miguel Hernández Üniversitesi ve Lipotec SA ile işbirliği içinde San Diego'daki California Üniversitesi'ndeki Profesör Montiel'in laboratuvarı tarafından geliştirilmiştir (Zhou ve ark. 2011)

Ac-EEMQRRamid'in kırışıklık karşıtı etkilerinin botulinum nörotoksin/botulin toksinine benzer olduğu bildirilmiştir. Yüksek toksisitesi nedeniyle, botulin toksini sıkı tıbbi kontrol altındadır. Ac-EEMQRR-amid, Botulinum toksin ile karşılaştırıldığında çok daha az toksiktir. Ac-EEMQRR-amid, SNAP-25 proteininin N-terminal ucunu taklit eder , kas kasılması için gerekli olan SNARE kompleksindeki bir pozisyon için doğal proteinle rekabet eder (Zhou ve ark. 2011).

Hekzapeptit-8'in asetilasyonu ile elde edilen madde olarak tanımlanır. Bu asetillenmiş peptit dizisi Ac-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂'dir. Asetil Hekzapeptit-8, C-terminalinin bir amid olduğu hekzapeptit-8'in asetilasyonu ile elde edilir. Asetil Hekzapeptit-8, moleküler ağırlığı 889,0 Da olan beyaz bir tozdur. Asetil Hekzapeptit-8 içeren kozmetik ürünler, cilde veya göz çevresine, % 0,005'e kadar konsantrasyonlarda uygulanabilir. Rujlarda % 0,00025'e, yüz pudralarında % 0,0001'e kadar konsantrasyonlarda kullanılır (Belsito ve ark. 2020).



Şekil 2-3: Asetil Hekzapeptit-8'in kimyasal formülü (Slaga ve Snyder 2020)

2.2.3. Yaşlanma Karşıtı Kullanılan Bitkisel Ekstreler

Bitkilerde yaşlanma karşıtı fayda sağlayan çok sayıda biyoaktif bileşik(antioksidanlar ve polifenoller dahil) vardır.

Polifenoller ekzojen antioksidanlar olarak işlev görürler ; serbest radikaller ve diğer reaktif türlere elektron ve hidrojen veren aromatik halkaya bağlı donör hidroksil (-OH) grubuna sahiptirler.

Antioksidanların topikal uygulaması MMP'lerin indüksiyonunu azaltabilir.Azalmış transepidermal su kaybı (TEWL), cilt elastikiyetinde artış, kollajen oluşumunda artış ve yüz pigmentasyonunda azaltıcı etkiler sunar.

Botaniklerden bazılarının (kadife çiçeği , krosin, argan yağı,hindistan cevizi yağı,yeşil çay, soya , nar ve b.) potansiyel yaşlanma karşıtı etki göstermesi bilimsel olarak kanıtlanmıştır (Campa ve Baron 2018).

Yaşlı ciltte ECM'nin bozulması, düşük glikozaminoglikan, hyaluronan, dermatin sülfat, elastin, kollajen lifleri seviyesiyle ilişkilidir. Kirlilik, kimyasallar, reaktifler, güneş ışığından gelen UV ışıınımı gibi çeşitli çevresel faktörler, dermal enzimlerin (hyaluronidaz, elastaz, MMP) artmasına neden olur ki, bu da ECM in bozulmasıyla sonuçlanır.

Bu nedenle, bu enzimler üzerinde engelleyici potansiyele sahip olan ve cilt yaşlanmasında kırışıklık önleyici madde olarak kullanılabilen doğal kaynaklardan biri de Kadife çiçeği ekstresidir. Kadife çiçeğinin farklı kısımlarının fitokimyasal çalışmaları, tiofenler, flavonoidler, karotenoidler, triterpeniyodlar gibi çeşitli kimyasal bileşenlerin tanımlanmasını sağlamıştır.

Kadife çiçeği ekstresi ve fraksiyonları hyaluronidaz, elastaz ve MMP-1'e karşı inhibe edici aktiviteye sahiptir. Bu etki, Kadife çiçeğin ekstresinde bulunan potansiyel kırışıklık önleyici maddeler olan β -amirin ve siringik asitin varlığıyla kanıtlanmıştır. (Maity ve ark 2011)

Aynısafa bitkisi Kadife bitkisiyle aynı familyaya (Asteraceae) aittir. Kadife çiçeği ekstresinde olduğu gibi polifenollar içerir ,antioksidan ve fotokoruyucu özellikleri gösterir (Al-Snafi 2015).

2.3. Kozmetik Maskeler

2.3.1. Kozmetik Maske Formülasyonları

Maskeler cilt yüzeyinin görünümünü hızla iyileştirmek için yararlı aktif bileşenler içeren krem, jel, losyon, serum, tabaka (kağıt) vb. şekilde formüle edilen kozmetik formülasyonlardır (Morganti ve ark. 2019).

Kozmetik maskelerin avantajları:

- Maskeler yağ azaltıcı, beyazlatıcı, zayıflatıcı, tonlama, yaşlanma karşıtı ve kırışıklık karşıtı faydaları sağlamak için yüz, çene ve boyun bölgelerine uygulanabilmektedirler.
- Ayrıca, bir maskenin Stratum corneum'dan istenmeyen yağların, kirliliklerin ve ölü hücrelerin giderilmesi için adsorpsiyon etkisi olduğu düşünülür.
- Epidermisin hiperhidrasyonunda, cilt tonunda ve dokusunda iyileşme sağlar.
- Bilimsel olarak tasarlanmış bir maske, ayrıca maksimum emilim ve biyoyararlanım kazandırarak topikal uygulama için cilt ve vücuda faydalı bileşenler sunar (Gupta 2006).

2.3.2. Kozmetik Maskelerin Sınıflandırılması

Maskeler yüze ve bedene uygulanmaktadır ve aşağıdaki çeşitleri vardır:

- Kağıt (tabaka) maskeler
 - Hidrojel maskeler
 - Biyoselülöz maskeler
 - Soyulabilen maskeler
 - Durulanan maskeler
- Soyulabilen maskeler
- Durulanan maskeler

2.3.2.1. Kağıt (tabaka) Maskeler

Bu tür maskelerde aktif bileşen içeren formülasyonun (emülsiyon, serum ve s.) emprenye edilebildiği bir destek vardır ki, bu destek sayesinde bu aktif bileşenler genel kozmetik formülasyonlardan (emülsiyon, serum ve s.) daha uzun bir süre cilt üzerinde etki ederler.

Ayrıca, desteğin oklüzif etkisi, bir aktif bileşenin cilde nüfuz etmesini artırır ve bu nedenle (kağıt) tabaka tipi maskelerin, cilt nemlendirme ve iyileştirme üzerinde önemli etkileri vardır (Lee ve ark. 2013). Bu maskelerin diğer maskelerden en önemli farkı iyi absorpsiyon ve penetrasyon profili, etkili ve hijyenik (tek kullanımlık) bir

ambalaja sahip olan ve kullanımdan sonra temizlenmesi gerekmeyen ‘Occlusive Dressing Treatment’ (ODT) mekanizmasına sahip olmasıdır. Kağıt (tabaka) maskeler aktif maddelerin nemlendirici, beyazlatıcı, yaşlanma karşıtı ve diğer yönlerdeki etkilerini artırabilen mükemmel sızdırmazlık özelliklerine sahiptirler (Reveny ve ark. 2017).



Şekil2-4: Kağıt (tabaka) maske çeşitleri

(<https://www.skinceuticals.com/biocellulose-restorative-mask-3606000497573.html>)

2.3.2.1.1. Hidrojel Maskeler

Hidrojeller, yüksek su içerikleri ve ciltde bir matris oluşturan hidrofilik bazları nedeniyle sıklıkla yüz maskesi olarak seçilir, böylece aktif bileşenlerin cilde iletilmesinde yüksek etkinlik sağlarlar.

Hidrojel maskeleri sadece cilt üzerinde üstün bir nemlendirme ve yenileyici etkiye sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda cilt sıcaklığını kontrol edebilir ve fizyolojik aktiviteyi artırabilirler . Ayrıca, hidrojel maskeleri iyi esnekliğe sahiptir ve uygulanması kolaydır (Surini ve Auliyya 2017).

Hidrojel, farklı suda çözünür polimerlerden oluşan jel dokuya sahip şeffaf bir malzemedir. Hidrojel maskeleri genellikle üst ve alt kısım olarak yüze uygulanacak şekilde iki parçalı sistemler olarak paketlenir. Bu maskeler yüze yapışır ve cilt aktif

maddeleri emdiğinde koruyucu bir tabaka oluşturur. Yaygın kağıt(tabaka) maskelerinin aksine, serum jel üretim işlemi sırasında doğrudan polimerlere eklenir. Hidrojel maskelerinin diğer kağıt (tabaka) maskelerinden daha kırılğan olduğu bilinmektedir.



Şekil 2-5: Hidrojel maske (<https://www.cosmeticproof.com/2018/06/neutrogena-hydro-boost-hydrogel-mask-review.html>)

2.3.2.1.2. Biyosellüloz Maskeler

Selüloz, doğada en çok bulunan biyo-bozunur malzemelerden biridir. Günümüzde selüloz, tümü doğal sentez prosedürleri olan bitki fotosentezi, mikrobiyal (bakteriyel) sentez ve sentetik yöntemlerle farklı şekillerde üretilmektedir. Biyosellüloz biyoyuymululuk sayesinde katma değerli kozmetik ürün geliştirirken kullanılan yenilenebilir kaynaklar içerisinde büyük önem taşır. Yüksek su tutma kapasitesi ve iyi gaz geçirgenliği nedeniyle bakteriyel selülozün (BC) aktif bileşenlerin cilde verilmesi için uygun bir taşıyıcı olduğu iddia edilmektedir. Son yapılan çalışmalarda, BC-un hidrofilik kozmetik bileşikleri cilde vermek için bir substrat olarak kullanımı geliştirilmiştir. BC-un Su tutma kapasitesi bitki selülozundan 100 kat (kütlege) daha fazladır ve kuru ağırlığının 100-200 katıdır (Perugini ve ark. 2018).

Bir Amerikan çalışması, kültür suyuna doğrudan ginseng özleri (antioksidan ve anti-enflamatuar özellikleri ile bilinir) ekleyerek bakteriyel biyosellülozdan maskeler üretmek için bir yöntem açıklanmıştır ve sonuçlar 30 yaş üstü kadınlarda nemli his ve cilt elastikiyeti açısından genel kullanıcı memnuniyetini göstermektedir (Lee ve ark. 2013).



Şekil 2-6: Biyoselüloz maske

[\(https://www.medik8.com.tr/urun/ultimate-recovery-bio-cellulose-mask-56/\)](https://www.medik8.com.tr/urun/ultimate-recovery-bio-cellulose-mask-56/)

2.3.2.1.3. Soyulabilen Maskeler (peel-off masks)

Soyulan yüz maskeleri film oluşturuucu polimerlerin kullanımından dolayı tamamen kuruduktan sonra, herhangi bir kalıntı bırakmadan ürünün elle çıkarılmasına izin veren çok yapışkan plastik bir tabaka oluşturan maskeler olarak tanımlanmaktadırlar.

Bu maskeler;

- ✓ sıkılaştırıcı etki göstererek, temiz bir cilt hissine yol açar ,
- ✓ ayrıca hafif nemlendirici etki sağlar ,
- ✓ çıkarıldıktan sonra deri üzerinde biriken kalıntıları temizler,
- ✓ plastik polimerik tabakanın neden olduğu oklüzif etkinin bir sonucu olarak, aktif bileşiklerin epitel üzerindeki etkisini artırır.

Soyulabilen yüz maskeleri polivinil alkol (PVA) ve polivinil asetat (PVAc) içeren formülasyonlardır ve jel formunda ve kuru formda olurlar (Nilforoushzadeh 2018).

Beringhs ve ark. (2013) yaptığı çalışmada, yeşil kilin uygulanabilirliğini ve çıkarılmasını kolaylaştırmak ve ayrıca Aloe Vera'nın terapötik özelliklerini geliştirmek için optimize edilmiş soyulan yüz maske formülasyonunun matematiksel ve teknolojik gelişimi için bir öneri sunmuştur.



Şekil 2-7: Soyulabilen yüz maskesi (://www.garnier.com.tr/saf-ve-temiz-komurlu-soyulabilen-siyah-maske)

2.3.2.1.4. Durulanan maskeler

Bu maskeler genellikle, jel ve krem bazlı formülasyonlar olup, cilde nispeten kalın bir tabaka halinde uygulanarak belirli bir süre tamamında su ile durulanan maskelerdir.

2.4. Hidrojeller

Hidrojeller, çözünmeden su ile emilebilen ve şişebilen hidrofilik, üç boyutlu polimerik matrislerdir. Genellikle hidrojel olarak adlandırılan hidrofilik jeller, polimer zincirlerinden oluşan, dispersiyon ortamı su olan kolloidal jellerdir (Ahmed 2015).

Polimerlerin hidrofilik grupları veya segmentleri, bir jel yapısı oluşturmak için nötr koşullar altında hidratlanabilirler. Çapraz bağlı ağ yapısı, hidrofilik polimer zincirlerinin veya segmentlerinin çözünmesini önler. Hidrojeller katı faza benzer ve akıcı olmayan karaktere sahiptirler. Çapraz yapıları olmayan düşük konsantrasyonlu sulu hidrofilik polimer çözeltileri, genellikle, Newtonian mekanik akışı sergiler. Çapraz bağlı hidrojeller, katı faza benzer şekilde son derece yüksek viskoziteli ($>10^5$ Pa s) ve yüksek elastikiyette (kayma gerilimi > 2000 Pa) reolojik özelliklere sahiptir (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

2.4.1. Hidrojellerin Özellikleri

Fiziksel özellikler-Hidrojellerin suyla şişmiş polimerik matrisler olduğu göz önüne alındığında, bir hidrojel içindeki suyun özellikleri doğal olarak bir hidrojin nasıl çalıştığının önemli bir göstergesidir. Su kuru hidrojele ilave edilirken ,önce hidrojin en çok polar hidrofilik grupları su molekülleri (“birincil bağlı su” molekülleri) ile etkileşime girerek, hidratlanır. Hidrofilik gruplar hidratlandıktan sonra hidrofobik gruplar sırayla su molekülleriyle (“ikincil bağlı su” molekülleri) etkileşime girer. “Birincil ve ikincil bağlı su” moleküllerinin kombinasyonu "toplam bağlı su" olarak bilinir. Osmotik kuvvetler ilave su alır, ancak kovalent veya fiziksel çapraz bağlar tarafından yapıdaki şişme ve s. gibi değişikliklerin karşısı alınır ve hidrojin şişme seviyesi dengeye ulaşır (Harrison ve Spada 2018).

Mekanik özellikler- Hidrojeller mekanik özelliklerinin gereksinimlere bağlı olarak önemli ölçüde değişebilmesi nedeniyle, çeşitli uygulama alanlarında kullanılmaktadırlar. Hidrojel yapısının sertliği ısıtılarak azaltılabilirken, çapraz bağlanma derecesinin artırılmasıyla daha sert hale getirilebilir. Serbest suyu emdiği düşünülen bir hidrojel yapısı içindeki gözenekler, hidrojel şişme dengesine ulaştığında, matristeki çapraz bağlanma derecesini değiştirerek boyut olarak artı veya azalabilir (Harrison ve Spada 2018).

2.4.2. Hidrojellerin Avantajları

- Hidrojeller, küçük (NSAIDS) ve büyük (peptitler ve proteinler) molekül ağırlıklı etken maddelerin eski geleneksel dozaj formlarının eksikliklerini tamamlayabilen lokal ve kontrollü ilaç dağıtımı için olağanüstü taşıyıcılardır.
- Hidrojeller çeşitli doğal, sentetik ve yarı sentetik biyobozunur polimerlerden oluşur ve biyoyumluluk özelliğine sahiptirler (Raza ve ark. 2018).
- Hidrojeller, önemli su tutma kapasitesinden dolayı ,doğal dokuya çok benzer bir esneklik derecesine sahiptirler.
- Hidrojeller enjekte olunabilirler.
- Hidrojeller ilaç dağıtımı için iyi taşıyıcı olmakla beraber,aynı zamanda kolay modifiye olunabilirler.
- Çevredeki dış faktörlere duyarlı olan hidrojjeller, pH, sıcaklık veya metabolit konsantrasyonundaki değişiklikleri algılama özelliğine sahiptir ler (Singh ve ark 2014).

- Yüksek su içeriği hidrojelilerin yağlı hiss bırakmamasını sağlar ve cilt üzerinde oluşan buharlaşma serinletici etki oluşturur.
- Cilt nemini artırır ve transepidermal su kaybını azaltırlar.
- Temas süresi krem veya losyonlardan daha uzun olduğu için ilaç emiliminde iyileşme görünür (Harrison ve Spada 2018)

2.4.3. Hidrojellerin Dezavantajları

Hidrojellerin birçok avantajlı özelliğinin yanısıra , dezavantajları da mevcuttur.

- İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanımlarını sınırlayabilecek zayıf bir gerilme mukavemetine sahiptirler ve hidrojin hedeflenen doku ve organlardan erken çözünmesine veya akmasına neden olabilirler.
- Hidrojellerde , birkaç saat içinde nispeten hızlı ilaç salımı ile sonuçlanan yüksek miktarda su ve büyük boyutlu gözenekler vardır.
- Bazı hidrojeliler uygulama zamanı enjekte edilmek üzere ultra deforme olabilir, çoğunlukla ise olamazlar, bu nedenle cerrahi yerleştirme gerekir.
- Hidrofobik ilaçların miktarı hidrojelilerde en aza indirilir ve hidrofobik ilaçlar hidrojelilerle homojen olmayan (veya homojenliyi düşük) sistemler oluşturur (Raza ve ark. 2018).
- Sentetik hidrojeliler doğal hidrojeliler kadar biyouyumlu değildirler (Harrison ve Spada 2018).

2.4.4. Hidrojellerin Sınıflandırılması

Hidrojeller çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılabilir:

- ✓ Hazırlanma ve polimer bileşimine göre (homo-, ko- ve multi-polimer),
- ✓ Ağ elektrik yükü (Noniyonik (nötr), İyonik (anyonik ve katyonik)
Amfoterik(amfolitik),Zwitterionik (polibetainler)
- ✓ Kaynağa göre (doğal, sentetik veya her ikisinin bir kombinasyonu),
- ✓ Özelliklerine göre (mekanik veya fiziksel),
- ✓ Polimer yan gruplarının türüne göre (iyonik veya iyonik olmayan),
- ✓ Çapraz bağlanma türüne göre (kimyasal veya fiziksel)
- ✓ Smart hidrojeliler
 - Kimyasal uyarıcılara hassas (pH , iyonik yük, çözücü bileşimi, molekül)
 - Biyokimyasal uyarıcılara hassas (antijen,enzim,ligand)
 - Fiziksel uyarıcılara hassas (sıcaklık, ışık, basınç, elektrik ve magnetik alan)

- ✓ Biyobozunurluluğuna göre (biyobozunur ve biyobozunur olmayan)
- ✓ Nanohidrojeller
- ✓ DNA hidrojeller (Sharma ve ark. 2018)

Hidrojel hazırlanmasında en önemli bileşenler monomerler, çapraz bağlayıcılar ve başlatıcılardır.

➤ *Hidrojel yapısına göre*

Homopolimer hidrojeller- tek tip bir monomerden oluşturulur. Monomerlerin yapısına ve polimerizasyon tekniğine göre, homopolimerlerin çapraz bağlı yapılara sahip olması mümkündür.

Kopolimer hidrojeller- iki veya daha fazla tip monomerden oluşur. Bu hidrojellerde, bir veya daha fazla hidrofilik bileşenin varlığı gereklidir. Hidrojellerin şişmesi kopolimerlerdeki hidrofilik kısma bağlıdır.

Multipolimer hidrojeller- iki bağımsız çapraz bağlı polimerden oluşur .Bu polimerler, tekli polimerlerin her birinden daha üstün özelliklere sahiptir (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

➤ *Kaynağa göre*

Doğal hidrojeller- kollajen, jelatin, hiyalüronik asit, fibrin, sodyum aljinat, agar, kitozan, dekstran, siklodekstrin vb.gibi doğal polimerlerden oluşur. ECM-in doğal bileşenleri olarak bu polimerler yüksek biyoyuymululuk özelliğine sahiptirler (Harrison ve Spada 2018).

Doğal polimerlerden oluşan hidrojeller , genellikle biyoyuymululuk, biyobozunurluk ve iyi adhezif özelliklerine göre biyomedikal uygulamalar için sentetik polimer hidrojellere göre birçok avantaj sergiler (Vermonden ve ark. 2012).

Doğal hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan polimerler:

Kitozan

Kitozan mukoadhezif ,biyoadhezif, emilim artırıcı,kontrollü ilaç salımı özelliklerine göre ilaç taşıyıcı sistemlerinde kullanılan suda çözünen (hafif asidik pH'ta) ve katyonik (pozitif yüklü) bir doğal polimerdir. Bu polimerin en önemli avantajı biyoyuymululuk ve düşük toksisiteye sahip olmasıdır. Kitozan ayrıca küçük spesifik

yüzey alanı ve aşılması gereken boşluk fraksiyonu gibi bazı sınırlamalara sahiptir (Esquerdo ve ark. 2014).

Hyaluronik asit

Hyaluronik asit (HA), kıkırdak ve bağ dokusunda doğal olarak bulunan bir mukopolisakarittir. Bu polimer poli-anyonik yapıya sahiptir ve bu nedenle katyonik polimerlere çapraz bağlanabilir. HA, biyoyumlu ve biyobozunur yapısından dolayı sahip olduğu eşsiz visko-elastik ve reolojik özellikleri nedeniyle lokal sistemler için uygun bir seçimdir. HA hücre hareketliliğini, hücre çoğalmasını indükleyebilir ve ayrıca yara iyileşmesine neden olabilir. Uzun süreli ilaç salımı ve etki avantajına sahip bir polimer olarak hidrojel hazırlanmasında kullanılır (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

Karrajenan

Karrajenan anyonik, biyoyumlu ve düşük toksisiteye sahip doğal bir polisakkarittir. κ -Karragenan, ilaç dağıtımı ve doku mühendisliğinde kullanılan en uygun karrajenan türüdür. (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

Aljinik asit

Aljinik asit, yüksek oranda suda çözünen ve jelleşme özelliğine sahip anyonik bir polisakkarittir. Biyoyumlu ve düşük toksisitelidir. Aljinik asit kalsiyum iyonları ile kombinasyon halinde bir jel oluşturur ve ilaç taşıyıcı olarak kullanılır.

Kollajen

Kollajen, ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılan biyoyumlu ve biyobozunur polimerdir. İmplant hazırlanmasında çok uygun bir seçimdir ve doku mühendisliğinde de 'iskele' olarak kullanılır. Kollajen, hidrojellerden ilaç salımını kontrol edebilir ve ayrıca hücre büyümesini indükler (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

Sentetik hidrojeller- yapay koşullar altında ilave reaksiyon veya polimerizasyon yöntemleri ile hazırlanan çapraz bağlı polimerlerdir. Poliakrilik asit ve türevleri , polivinil alkol, polietilen glikol ve kopolimerleri , polivinilpirolidon vb. genellikle sentetik hidrojeller hazırlamak için 'iskelet' olarak kullanılır. Sentetik hidrojeller, kolay endüstriyel üretim ve kimyasal modifikasyon avantajlarına ve hassas kontrol edilebilirlik özelliğine sahiptirler (Chen Y. 2020).

Bununla birlikte, sentetik hidrojel, doğal bir hidrojel ile aynı biyoyumluluk sunmaz, biyolojik dokuların kendi kendini iyileştirme özelliği gibi avantajları olmasa bile, onları taklit edecek şekilde tasarlanabilirler (Harrison ve Spada 2018).

Sentetik hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan polimerler:

Polietilenglikol (PEG)

PEG biyoyumluluk ve uyarlanabilir fiziksel özelliklere sahip sentetik ve biyofonksiyonel bir polimerdir. PEG, bir fotobaşlatıcıya cevap veren veya çapraz bağlayıcılarla karıştırılarak kontrollü jelleşme oluşturabilir. PEG hidrojellerinin yapılarında parçalanabilir (hidrolize edilebilir) kısımlar vardır (Almany ve Seliktar 2005).

Poli laktik asit (PLA)

PLA sentetik, biyobozunur, biyoyumlu ve hidrofobik bir polimerdir. Polimerik yapılarında hidrofilik maddelerin dispersiyonu ve kontrolsüz ilaç salımı örneklerinde kullanımı zamanı kısıtlamaları vardır. PLA-in güçlü hidratlanan ve ilaç salımını sürdüren ve uzatan hidrofilik PEG polimerlerine çapraz bağlanması ile bu sorunlar çözülebilir (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

Poli laktik ko-glikolik asit (PLGA)

PLGA, uygun mekanik özelliklere sahip, biyolojik olarak uyumlu, biyobozunur bir polimerdir. PLGA sürekli ve uzun süreli ilaç salımı özelliğine göre ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılabilir. PLGA'nın biyobozunur bir polimer olmasına rağmen, polimer bozulmasını takiben oluşan mikro çevresel asitlik, formülasyon uygulama alanında tahrişe neden olur ve hidrojelere yüklenen peptit / protein maddelerine de zarar verebilir (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

Polivinil alkol (PVA)

PVA biyobozunur, biyoyumlu, hidrofilik ve sentetik bir polimerdir. PVA, hasarlı organları veya dokuları onarmak için doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılır. Optimal PVA / Su oranının kullanılması zamanı doğal doku özelliklerini simüle edebilen uygun bir hidrojel oluşturulabilir (Jiang ve ark. 2011).

Polikaprolakton (PCL)

PCL, ilaç dağıtımı ve doku mühendisliğinde yüksek oranda kullanılan biyoyumlu, biyobozunur ve hidrofobik sentetik bir poliesterdir. PCL, hem doğal hem de sentetik polimerlerle uyumludur. Hidrofobik yapısından dolayı lipofilik ilaçlar

polimerik matriksde homojen olarak dağılabilir, ancak hidrofilik ilaçlar çoğunlukla PCL polimerlerinin yüzeyine göç ederler (Dash ve Konkimalla 2012).

Yarı sentetik hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan polimerler:

Karboksimetil selüloz (CMC)

CMC biyomedikal amaçlar için yaygın olarak kullanılan biyouyumlu ve biyobozunur polimerdir. CMC, suda çözünen bir selüloz türevidir (selüloz eteri) olarak düşük maliyetli olup, yüksek saflıkta piyasada bulunmaktadır. CMC, hidrojel üretiminde kolayca çapraz bağlanabilir (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

Hidroksietil selüloz (HEC)

HEC suda çözünen ve biyouyumlu selüloz türevidir. Yapısında birçok hidroksil (-OH) grubuna sahiptir, vinil gruplarla polimerizasyonu zamanı modifiye edilebilir ve geliştirilebilir (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

HEC, CMC ile çapraz bağlandığında daha iyi şişme özelliklerine sahip yeni hidrojeller oluşturur. Bu hidrojellerin su emme ve şişme özelliği, hidrojel hazırlanırken kullanılan çapraz bağlayıcıların miktarı ve uygun HEC / CMC oranı ayarlanarak optimize edilebilir (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani 2019).

Metil selüloz (MC)

MC, selülozun yarı esnek doğrusal bir türevidir ve metoksi gruplarının bazıları hidroksil gruplarının yerini almıştır. Hidroksil gruplarının metoksi gruplarına oranı polimerin suda çözünürlüğünü gösterir. MC jelleşmesi çekirdeklenme ve büyüme mekanizması ile sol-jel geçiş sıcaklığında (T_g) gerçekleştirilebilir (Lott ve ark. 2013).

Hidroksipropil selüloz (HPC)

HPC, suda çözünür bir selüloz türevidir. HPC, 20 ila 1500 kDa arasında değişen ortalama molekül ağırlığı derecelerine sahip farklı viskozite derecelerinde ticari olarak temin edilmektedir. Düşük molekül ağırlık dereceleri bağlayıcı olarak kullanılır. Yüksek hidroksipropilasyon seviyeleri (~% 70) nedeniyle, HPC diğer suda çözünür selüloz eterlere kıyasla daha plastik ve nispeten hidrofobiktir (Badawy ve ark. 2019).

Hidroksipropil metil selüloz (HPMC)

HPMC, kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerinde yaygın olarak kullanılan suda çözünür bir selüloz türevidir. HPMC'nin en önemli özelliği, dahil edilen aktif farmasötik bileşenin salımını kontrol edebilen yüksek şişme özelliğidir. HPMC polimerlerinin

fizikokimyasal özellikleri yapılarındaki moleküler ağırlığına, metoksi- ve hidroksipropoksi- gruplarına göre tanımlanabilir (Siepmann ve Peppas 2012).

Hibrit Hidrojeller- hem doğal, hem de sentetik polimerlerin potansiyel özelliklerini bir hidrojelde ortaya çıkaran kombine hidrojel türüdür. Bu potansiyel özellikler, sentetik hidrojellerin mekanik kuvveti, doğal hidrojellerde ise biyouyumluluk ve geri dönüştürülebilirlik özellikleridir. Örneğin, doğal kollajen veya ECM bazlı hidrojellerin protein yapısındaki amin grupları PEG türevleri ile çapraz bağlanma yoluyla güçlendirilebilir ve PEG-in inertliği nedeniyle sentetik omurgaya sahip, ancak doğal hidrojel ile aynı biyokimyasal özellikleri olan kuvvetli bir hibrit hidrojel oluşturulabilir (Harrison ve Spada 2018).

Smart (Akıllı) Hidrojeller

Çevresel uyarıcılara yanıt olarak geçici değişikliklere uğrayabilen maddelerden oluşan yeni hidrojel türüdür. Bu hidrojellerde, pH, sıcaklık, çözücü, basınç, iyonik yük, ışık ve spesifik biyomoleküllerin konsantrasyonu gibi dış fiziksel veya kimyasal uyarıcılara maruz kaldığında şişme, büzülme, degradasyon vb. gibi değişiklikler ortaya çıkar ki, bu değişiklikler de hidrojel için belirli işlevler (kontrollü ilaç salımı, protein ayrışması ve kas aktivitesi) sağlar (Raza ve ark. 2018).

Kimyasal uyarıcılara hassas hidrojeller

pH-a hassas hidrojeller- Mide, bağırsak, endozom / lizozom ve tümör gibi fizyolojik ve patolojik bölgelerde meydana gelen pH aralığı, bu hidrojellerin oluşumu için kullanılır. Çevresel pH değişikliklerine bağlı olarak hidrojeller protonları kabul eder veya bağışlar. pH değişimi, büyük ozmotik şişme kuvveti oluşturan ani hacim geçişine yol açar. İki tip pH'a hassas hidrojel tipi bilinmektedir: anyonik ve katyonik hidrojeller. Anyonik hidrojeller, karboksilik veya sülfonik asit gruplarına, katyonik hidrojeller ise amin gruplarına sahiptirler (Raza ve ark. 2018).

Biyomoleküle duyarlı hidrojeller- bu hidrojeller, zaman içinde değişen fizyolojik konsantrasyonları (örneğin, insülin veya hormonlar) taklit edebilen ilaçların kontrollü salımı için özellikle önemlidir (Vermonden ve ark. 2012).

Glikoza duyarlı hidrojeller- glikoz konsantrasyonundaki değişikliklere yanıt veren hidrojellerdir. Örneğin, diyabet tedavisi için kullanılan insülin taşıyıcı hidrojeller, glikoza bağlı olarak insülin salınımını başlatır ve insülin iletimi için uygun glikoz sensörü içerir. Glikoz oksijen varlığında glikoz oksidaz enzimleri tarafından glukonik aside dönüştürüldüğünde sistemin lokal pH'ı azalır ve bu zaman hidrojelin şişmesi

insülin salınımını tetikler. Glikoz oksidaz, insülin salınımının kontrol edilmesi için hidrojel ağına kovalent olarak bağlanmıştır. Bu hidrojeller hidroksietilmetakrilat (veya polimetakrilatlar) içerirler (Raza ve ark. 2018).

Fiziksel uyarıcılara hassas hidrojeller

Sıcaklığa hassas (termosensitif) hidrojeller- ortamdaki sıcaklığa bağlı olarak şişer veya büzülürler. Örneğin, kitosan bazlı termosensitif hidrojel, enjekte edilebilir amaç için kullanılan polimerik çözeltidir. Termosensitif hidrojeller pozitif veya negatif sıcaklığa hassas sistemler olarak sınıflandırılabilir.

Pozitif termosensitif hidrojeller- spesifik üst kritik çözelti sıcaklığına (UCST) sahip hidrojellerdir.

Hidrojellerin şişmesi için UCST-nin üzerinde sıcaklık gereklidir. UCST-nin altındaki bir sıcaklıkta dehidrasyon meydana gelir, hidrojeller büzülür ve matrsten çözücüleri veya sıvıları salar. Bu hidrojeller, hidrojen bağlarıyla karmaşık bir yapı oluşturduğundan düşük sıcaklıklarda büzülür. Pozitif termosensitif hidrojeller poli (akrilik asit) ve poliakrilamid içerir.

Negatif termosensitif hidrojeller- alt kritik çözelti sıcaklığına (LCST) sahip hidrojellerdir. Sıcaklık LCST-nin üzerine çıktığında büzülme ,aksi halde bir şişme gösterir. LCST bu hidrojeller için en kritik parametredir ve jellere az miktarda iyonik kopolimerin karıştırılması veya çözücünün değiştirilmesiyle değiştirilebilir. Hidrofilik ve hidrofobik bileşenlerin oranı LCST-ni belirler. Sıcaklık LCST-nin altındaki bir sıcaklıkta olurken su hidrofilik gruplarla etkileşime girer ve hidrojen bağlar oluşur, hidrojel şişer. Sıcaklık LCST-nin üzerine çıktığında ise hidrofobik etkileşim meydana gelir ,hidrojen bağları zayıflar ki, bu da hidrojin büzülmesine yol açar. Negatif termosensitif hidrojeller polivinilpirolidon / poli (N-izopropilakrilamid) içerir (Raza F. ve ark. 2018)

Nanohidrojeller-Nanohidrojeller, kimyasal veya fiziksel yöntemlerle hazırlanan yüksek oranda çapraz bağlı nano ölçekli hidrojellerdir. Terapötik ajanın erken salınımını önleyen ve bu ajanın sürdürülebilir bir şekilde salınımını hayata geçiren taşıyıcı sistemlerdir. Nanohidrojeller hücreler tarafından emilebilir, bu yüzden terapötik ajanların hücre içi iletimi için etkili taşıyıcı sistemlerdir. Nanohidrojeller, ulaşımı zor olan bölgelere intravenöz olarak uygulanabilirler (Chen 2020).

DNA hidrojeller-hibrit biyonomateryaller, yapı taşı olarak DNA kullanılarak geliştirilebilir, iki veya üç boyutlu yapılar DNA moleküllerinden oluşur. Yüksek

yapılandırılmış ağlar, tamamlayıcı DNA moleküllerinin hibritlenmesi sonucu oluşur ve nihai hidrojel yapıları, şişmeye neden olan sulu bir ortamla karşılaşıldığında genişler. Yüksek çözünürlük, biyo-uyumluluk, çok yönlülük ve hassaslık, bu tür hidrojellerin temel özellikleridir. Bu özelliklerin yanı sıra, in vitro biyolojik çalışmalarda uygun floresan molekülleri ile de izlenebilirler (Narayanaswamy ve Torchilin 2019).

2.4.5. Hidrojellerin Hazırlanmasında Kullanılan Yöntemler

Hidrojeller hidrofilik monomerlerin çok işlevli çapraz bağlayıcılarla, kopolimerizasyon /çapraz bağlayıcı serbest radikal polimerizasyon yöntemleri kullanılarak üretilirler.

Hem doğal hem de sentetik kaynaklı suda çözünür doğrusal polimerler, hidrojeller oluşturmak için çeşitli şekillerde çapraz bağlanır:

1. Polimer zincirlerinin kimyasal reaksiyon yoluyla bağlanması;
2. İyonlaştırıcı radyasyon kullanarak çapraz-bağlantı kavşaklarında rekombine olunan ana zincir serbest radikallerini üretmek;
3. Dolaşıklıklar , elektrostatikler ve kristalit oluşumu gibi fiziksel etkileşimler

Çeşitli polimerizasyon tekniklerinden (yığın , çözelti ve süspansiyon polimerizasyonu dahil olmak üzere) herhangi biri jeller oluşturmak için kullanılabilir.

Genel olarak, hidrojellerin hazırlanmasında monomer, başlatıcı ve çapraz bağlayıcı kullanılır. Polimerizasyon ısısını ve nihai hidrojellerin özelliklerini kontrol etmek için su veya diğer çözücüler kullanılabilir.

Yığın (kütle) polimerizasyonu- bu yöntemle hazırlanan hidrojellerin üretimi zamanı bir veya daha fazla tipte monomer kullanılır. Birçok vinil monomerlerinden bu yöntemle hidrojeller hazırlanır. Çok çeşitli monomerler, hidrojinin belirli bir uygulama için istenen fiziksel özelliklere sahip olmasını sağlar. Genellikle, herhangi bir hidrojel formülasyonuna az miktarda çapraz bağlayıcı eklenir. Polimerizasyon reaksiyonu normalde radyasyon, ultraviyole veya kimyasal katalizörler ile başlatılır. Uygun bir başlatıcı seçimi, kullanılan monomerlerin ve çözücülerin tipine bağlıdır. Polimerize hidrojeller, filmler, membranlar, çubuklar ve emülsiyonlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda üretilirler (Singh ve ark. 2017).

Serbest radikal polimerizasyonu- bu yöntemde hidrojellerin hazırlanması için kullanılan ana monomerler akrilatlar, vinil laktamlar ve amidlerdir. Bu polimerler uygun fonksiyonel gruplara sahiptir veya radikalla polimerize edilebilir gruplarla

fonksiyonelleştirilmiştir. Bu yöntem tipik serbest radikal polimerizasyon zamanı oluşan çoğaltma, zincir transferi, başlatma ve sonlandırma adımlarını içerir. Başlatma adımıdaki radikal üretim için çok çeşitli termal, ultraviyole, görünen ve redoks başlatıcılar kullanılır ve radikaller monomerlerle reaksiyona girerek onları aktif formlara dönüştürür (Singh ve ark. 2017).

Çözelti polimerizasyonu / çapraz bağlanma-bu yöntem zamanı iyonik veya nötr monomerler çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcı ajanlarla ile karıştırılır. Polimerizasyon işlemi, UV ışınlaması veya bir redoks tetikleyici ile termal olarak başlatılır. Isını absorbe eden çözücünün mevcudiyeti, çözelti polimerizasyonunun yığın polimerizasyona göre en büyük avantajıdır. Polimerizasyon sırasındaki su miktarı, şişme işleminin denge seviyesine karşılık gelen su içeriğinden fazla olduğunda faz ayrımı meydana gelir ve heterojen hidrojel oluşur. Bu yöntemde su, etanol, su-etanol karışımı ve benzil alkol gibi çözücüler kullanılır (Ahmed 2015).

Süspansiyon polimerizasyonu veya ters süspansiyon polimerizasyonu-Bu yöntemin avantajı, ürünlerin toz veya mikroküreler olarak elde edilmesi ve bu nedenle öğütme işleminin gerekli olmamasıdır. Daha yaygın su içinde yağ (Y/S) yerine yağ içinde su (S/Y) işlemi seçildiğinden, polimerizasyona "ters süspansiyon" denir. Bu teknikte, monomerler ve başlatıcı hidrokarbon fazında homojen bir karışım halinde dağıtılır. Reçine parçacık boyutu ve şekli, monomer çözeltisinin viskozitesini, rotor tasarımı, çalkalama hızını ve dağıtıcı tipini yönetmek için kullanılır. Dispersiyon termodinamik olarak kararsız olur ve hem sürekli çalkalama, hem de süspansiyona düşük bir hidrofilik-lipofilik dengeye (HLB) sahip olan maddenin eklenmesini gerektirir.

Desteğe nakletmek-genellikle, yığın polimerizasyon yöntemi ile hazırlanan hidrojeller zayıf yapıya sahip olduğundan, bu hidrojellerin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi için daha güçlü bir destek üzerine kaplanan yüzey üzerine aşılanabilmektedirler (Singh ve ark 2017).

Işınlama ile polimerizasyon-doymamış bileşiklerin hidrojellerinin hazırlanması için gama ve elektron ışınları gibi iyonlaştırıcı yüksek enerjili radyasyon başlatıcıları kullanılır. Sulu polimer çözeltisinin ışınlaması polimer zincirlerinde radikallerin oluşumuna yol açar. Makro-radikallerin farklı zincirlerde rekombinasyonu kovalent bağların oluşumu ile sonuçlanır ve çapraz bağlı bir yapı oluşur. Işınlama ile polimerizasyon yönteminde poli (vinil alkol), poli (etilen glikol) ve poli (akrilik asit)

kullanılır. Bu yöntem ile nispeten saf ve başlatıcı içermeyen hidrojeller üretilir (Singh ve ark. 2017).

Fiziksel çapraz bağlanma- fiziksel etkileşimler yoluyla polimerlerin çapraz bağlanmasıyla hidrojel oluşumu için en yaygın ve kolay yöntemdir. Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan çeşitli yöntemler;

- *Bir polimer çözeltisinin ısıtılması / soğutulması*-Fiziksel olarak çapraz bağlı jeller oluşturmak için sıcak jelatin veya karrajenan çözeltilerinin soğutulmasıyla hazırlanır.
- *Kompleks koaservasyon-* poli (anyon)ların bir poli (katyon)la karıştırılması zamanı kompleks koaservat jeller oluşur.Bu yöntemin temel prensibi, zıt yüklere sahip polimerlerin birbirine yapışması ve ilgili çözeltilerin konsantrasyonuna ve pH'ına bağlı olarak çözünür ve çözünmez kompleksler oluşturmasıdır (örneğin polikasyonik kitozan ile birlikte yoğunlaşan polianyonik ksantan)
- *İyonik etkileşim-* İyonik polimer içine iki veya üç değerlikli zıt iyonların eklenmesi, polimerler arasında zıt yüklerin çok değerlikli bir iyonu (örn., $\text{Ca}^{2+} + 2\text{Cl}^-$) jelleştirilmesi prensibinin temelini oluşturur. Diğer bazı örnekler kitozan-polilizin, kitozan-gliserol fosfat tuzu ve kitozan dekstrandır.
- *Hidrojen bağı*-hidrojen bağı, elektron eksikliği olan hidrojen atomu ve yüksek elektron yoğunluğu olan fonksiyonel bir grup arasında oluşur. Örnek olarak, bir PA ve PNVP arasında hidrojen bağının oluşumu hidrojelin oluşması ile sonuçlanır. Hidrojelleri etkileyen faktörler her bir polimerin mol oranı, polimer konsantrasyonu, çözücü tipi, çözelti sıcaklığı ve polimer yapısıdır.

Kimyasal çapraz bağlanma- bu yöntemde iki polimer zincirini bağlamak için bir çapraz bağlayıcı madde kullanılır ve monomerlerin ‘omurgasına aşılanır’. Doğal ve sentetik polimerlerin çapraz bağlanması,onların fonksiyonel gruplarının (-OH, -COOH ve -NH₂ gibi) aldehid gibi çapraz bağlayıcılarla (örn. Glutaraldehid, adipik asit, dihidrazid) reaksiyonu yoluyla elde edilebilir (Singh ve ark. 2017).

2.4.6. Hidrojellere İlaçların Yüklenmesi

İlaçlar hidrojel matrislerine iki şekilde yüklenebilir;

- (a) sonradan yükleme (“post loading”)
- (b) Yerinde yükleme (“in situ loading”)

Sonradan yükleme yönteminde önce polimer ve ilaç karıştırılır, daha sonra matrisinde ilaç olan jeli polimerize etmek amacıyla başlatıcılar ve çapraz bağlayıcılar eklenir. Yerinde yüklemede yönteminde ise önceden oluşturulmuş bir hidrojel ilaç çözeltisine yerleştirilir ve denklik seviyesine kadar şişirilir.

Her iki yöntemde de , hidrojel ilaç yüklendikten sonra kurutulur. Hidrojel içerisine ilacın yüklenmesi, polimer ve çözücü etkileşimi, polimerik ağın çapraz bağlama dansitesi , bir çözücünün varlığı vb. gibi çeşitli faktörlerden asılıdır (Raza ve ark. 2018).

2.4.7. Hidrojel Matrisinden İlaçların Salım Mekanizması

İlaçların hidrojellerden salım mekanizmaları aşağıdaki gibi kategorize edilebilir:

1. Difüzyon kontrollü salım
2. Şişme kontrollü salım
3. Kimyasal kontrollü salım

Difüzyon kontrollü salım mekanizması Fick kanununa dayanarak ilaç salımı için en yaygın mekanizma olarak tanımlanır. Difüzyon yoluyla ilaç salımı, hidrojin matris maddesinin ağ boyutlarına bağlıdır, bu da çapraz bağlanma derecesi, monomerlerin kimyasal yapısı ve dış uyarıcılar gibi çeşitli faktörler tarafından kontrol edilir.

İkinci salım, bir ilacın difüzyonunun çok daha hızlı olduğu şişme kontrollü mekanizmadır. Şişme prosesinin ilacın salım davranışını kontrol ettiği düşünülmektedir. Jel matrisinde kimyasal reaksiyonların meydana geldiği salım kimyasal kontrollü salımdır. Bu reaksiyonlar, polimer zincirinin hidrolitik ,enzimatik veya polimer ağındaki tersinir / tersinmez reaksiyonlar yoluyla kırılmasını içerir. Bu reaksiyonlar ilacın matristen salımına yol açar (Raza ve ark. 2018).

2.4.8. Hidrojellerin Karakterizasyonu

Hidrojeller iki şekilde karakterize edilebilir: sulu veya kurutulmuş (havada veya dondurularak kurutulur). Hidrojel karakterizasyonu, liflerin / zincirlerin çapraz bağlanma yoğunluğunun ve kalitesinin, hidrojel mukavemetinin, lif oryantasyonunun, bileşiminin, çapraz bağlı lifler arasındaki boşluğun, sistemdeki bağlı ve serbest suyun miktarının ölçülmesinden oluşur.

Farklı pH, konsantrasyon, sıcaklık ve iyonik yük değerlerinde hidrojellerin yapı ve mukavemetinin statik ve dinamik davranışının değerlendirilmesi de oldukça önemlidir.

1. Mekanik özellikler

➤ Reoloji

Reoloji statik ve dinamik viskoelastik yanıtları karakterize etmek için tercih edilen bir tekniktir. Reolojide, jelasyon kinetiği ve jel sertliği, bir kayma gerilimi uygulanarak ve gerinim ölçülerek ortaya çıkar.

Hidrojellerin reolojisinde, kayma depolama modülü (G' ; deformasyonda depolanan enerji), kayma kayıp modülü (G'' ; deformasyonda enerji salınımı) ve kayıp faktörü ($\tan \Delta = G'' / G'$) ölçülür. Bu parametreler, hidrojellerin ölçüm süresi, frekansı ve gerinim açısından viskoelastik özelliklerini tanımlar. $G'' > G'$ ($\tan \Delta > 1$) viskoz-likit hidrojel, $G'' < G'$ ($\tan \Delta < 1$) ise elastik-katı hidrojel olduğunu gösterir.

Hidrojellerin reolojisi ile bağlı birinci sorun, özellikle kimyasal olarak çapraz bağlanan hidrojeller için yıkıcı bir yöntem olması ve hidrojelin ölçümlerden sonra geri kazanılamamasıdır. İkinci bir sorun ise, aynı ölçüm parametreleri için farklı değerlere yol açabilecek farklı ölçüm geometrilerinin kullanılmasıdır (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

2. Hidrojellerin Şişme ve Çapraz Bağlanma Yoğunluğu

➤ Şişme oranı

Şişme oranı (SR) su içeriğini belirler; su ana bileşen olduğu için hidrojel karakterizasyonunda önemli bir parametredir.

Hidrojellerde su difüzyonu ve ardından gelen şişme hidrojellerin ağ yapısını ve mekanik mukavemetini büyük ölçüde değiştirir.

Hidrojellerin şişme oranı lokal hidrojel yapısı ile ilişkili olup çoğunlukla pH, iyonik yük ve hidrofobiklikten etkilenir. SR, hidrojel kuru kütlelerini hidrojelin şişmiş sulu kütleleriyle karşılaştırarak belirlenir ve şu şekilde tanımlanır:

$$SR = \frac{M_{\text{şişmiş}} - M_{\text{kuru}}}{M_{\text{kuru}}}$$

$M_{\text{şişmiş}}$ - şişmiş hidrojelin kütlesi

M_{kuru} - kuru hidrojelin kütlesi

SR-şişme oranı

➤ **Çapraz bağlanma yoğunluğu**

Polimer zincirlerinin çapraz bağlama yoğunluğu (mol/m³), lokal hidrojel yapısını oluşturmak için birim hacim başına birbiriyle bağlı polimer zincirlerinin sayısını temsil eder .

Çapraz bağlanma yoğunluğu (CLD), kayma modülü, şişme oranı ve difüzyon katsayısı gibi hidrojellerin birçok özelliğini etkiler. CLD ρ_x olarak tanımlanır ve farklı özelliklere göre değişir. Klasik polimer fiziğinden CLD, Mooney-Rivlin gerilim-gerinim yöntemi ile hesaplanır:

$$\sigma / 2 (\lambda - \lambda^{-2}) = C_1 + C_2 \lambda^{-1}$$

Burada, σ gerilme, λ nispi uzama ve C_1 ve C_2 sabitlerdir (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

3. **Lokal Hidrojel Yapısı**

Lokal hidrojel yapısının ve morfolojisinin belirlenmesi, hidrojel karakterizasyonu için en önemli parametrelerden biridir. Çoklu hidrojel özellikleri, liflerin bağlanması , oryantasyonu ve lifler arasındaki gözeneklerin oluşturduğu yapıya bağlıdır. Hidrojel yapısını ve morfolojisini açıklamak için hem doğrudan görüntülem, hem de dolaylı saçılma yöntemleri mevcuttur.

Optik, taramalı elektron mikroskopisi (SEM), transmisyon (geçirimli) elektron mikroskopisi (TEM) veya bunların varyansları hidrojel yapısının yüzey görüntülenmesini sağlayan doğrudan bir yöntemdir (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

➤ **Optik mikroskopi**

Optik mikroskopi hidrojellerin görüntülenmesine izin verir ; ancak, ışığın jellere nüfuz edebileceği kalınlıkta sınırlamalar vardır, bu da sınırlı çözünürlük ve kalın örnekler için bilgi kaybına yol açar. Hidrojellerin optik şeffaflığı 100x büyütme ve 0,2-0,5 mikrometre arasında değişen çözünürlükteki örnekte görüntünün oluşması için avantajlar sunar.

Optik mikroskopide, tekrarlanabilirliğin önemli bir engeli hidrojelin hızlı kurumasıdır (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

➤ **Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ve Transmisyon (Geçirimli) elektron mikroskopisi (TEM)**

Elektron mikroskopisi (SEM ve TEM), hidrojel morfolojisini ve yüzey tomografisini mikro, nano ve atomik ölçekte ortaya çıkarmak için kullanılır. Elektron mikroskopisi SEM ile 2 nm'ye ve TEM ile 0,2 nm'ye kadar çözünürlüğe sahip yapıyı 5.00.000X katına kadar büyötmek mümkündür.

SEM'in görüş alanı yaklaşık 1 mm'dir ve birkaç mikrometrenin derinliklerini ölçebilir.

TEM, elektronları iletmek için çok ince numuneler (100 nm kalınlığında) gerektirir; 100 nm'lik küçük bir görüş alanına sahiptir.

Elektron mikroskobundaki görüntüler düşük basınçlı bir odada yapılır ve deneylerden önce numunelerin dondurulması veya havada kurutulması gerekir.

Ayrıca, elektron mikroskobu iletken örnekler gerektirir, aksi takdirde numunenin yük etkileri görüntüyü bulanıklaştırır ve görüntü kalitesini etkiler (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

➤ Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

AFM nano ölçekte lokal yapıyı ıslak durumda araştırır ve 3D görüntülenmeye izin verir . Genel olarak, AFM 0,2 nm yatay çözünürlük, 0,05 nm dikey çözünürlük ve 100 mikrometrelik bir görüş alanı ile 1.000.000X büyötmeye sağlar. Çözünürlük ve görüntü kalitesi nümunenin yüzeyini tarayan manivelenin ucuna ve cihaz ayarlarına bağlıdır. AFM deneyleri doğrudan nümuneler üzerinde yapılabilir ve elektron mikroskobunda olduğu gibi iletken nümunelere gerek yoktur (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

4. Ağ boyutu

Hidrojellerde aktif maddelerin difüzyon işlemi, polimer zincirlerinin çapraz bağlanması nedeniyle oluşan gözeneklere bağlıdır. Hidrojel ağı arasındaki boşluk (veya gözenekler), korelasyon uzunluğu veya ağ boyutu ξ olarak tanımlanan komşu iki çapraz zincir arasındaki doğrusal mesafedir. Ağ boyutunun dağılımı birkaç nanometreden mikro ölçekli aralığa kadar değişebilir. Daha büyük ağ boyutu ($\xi >$ aktif madde çapı) hidrojel ağındaki aktif maddelerin hızlı difüzyonunu sağlarken, daha küçük ağ boyutu difüzyon sürecini engeller. pH ve iyonik yük , protonasyondaki artış, hidrojen bağlarının oluşumu ve yük ayrılması nedeniyle hidrojel ağ boyutunu (lokal çapraz bağlı yapı) güçlü bir şekilde etkiler. Çok şişmiş hidrojeller için ağ boyutu aşağıdaki denklemlerle hesaplanır :

$$\xi = Q^{1/3} (C_n N L^2)^{1/2}$$

Burada, ξ ağ boyutu,

C_n polimerin Flory karakteristik oranı,

L , polimerin murgası boyunca bağın uzunluğudur.

Q , hidrojin hacimsel şişme oranıdır,

N , iki çapraz bağ arasındaki bağ sayısıdır.

Denge seviyesinden önce ve sonra hidrojinlerin hacmi Q ve N değerini verir (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

➤ Küçük açılı X-ışını saçılması (SAXS) ve Küçük açılı nötron saçılımı (SANS)

Şişmiş hidrojinlerin ağ boyutunun, yüksek su fraksiyonu nedeniyle doğrudan yöntemlerle ölçülmesi zordur. Ancak, dolaylı saçılma yöntemleri hazır numunelere uygulanabilir, bu da saçılma eğrilerinin analizinden çapraz bağlanmış lifler arasındaki korelasyon uzunluğunun (ağ boyutu) değerlendirilmesini sağlar.

SAXS veya SANS ile küçük açılı saçılma (SAS) yöntemi 1-1000 nm aralığında hidrojin ağının nano ölçekli yapılarının belirlenmesi için güçlü ve destrüktif olmayan kontrast bazlı bir yöntemdir.

Numune katı, hidrojinler, köpük, toz veya sıvıdan herhangi bir özel formda ölçülebilir .

SAS deneyi için hidrojin numuneleri hazırlamak ve yüklemek kolaydır, ölçüm süresi hızlı olabilir ve olaydaki foton / nötron akışına ve saçılma kontrastına bağlıdır.

SANS, radyasyon hasarına duyarlı yumuşak hidrojin bileşeni için tercih edilir.

SAS hidrojinlerde, lif dağılımı, ortalama lif çapı ve korelasyon uzunluğu (ağ boyutu) ile ilgili bilgi verir (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

5. Bileşim ve Moleküler Etkileşimler

Hidrojinlerin özellikleri ve işlevselliği kimyasal bileşim, lifler arası etkileşimler, çevre ve lif etkileşimi ile ilgilidir.

➤ Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR)

FTIR kızılötesi titreşimleri ölçerek kimyasal bileşimin miktarın belirlemek için etkili bir tekniktir. FTIR, farklı kimyasal bağlarla ilgili spesifik kimyasal grupları izleyerek , hidrojin kimyasal yapısının belirlenmesine yardımcı olur. FTIR'de,

örnekler kızıl ötesi (IR) iletim için yeterince katı ve inceyse iletim modunda ölçülebilir. Sıvı, toz ve kaplanmış film örnekleri iletim modunda ölçülemedikleri için zayıflatılmış iletim yansıma (ATR-FTIR) modu tercih edilir. IR ölçümleri basit, hızlı ve kolaydır. FTIR, hidrojel ağının fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanmasını belirlemek için başarıyla kullanılmaktadır (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

➤ **Raman spektroskopisi**

Raman spektroskopisi hidrojellerde suyun moleküler etkileşimini ve yapısını değerlendirmek için başka bir yöntemdir. Gerilme titreşiminin Raman pik analizi, bir hacim fazı geçişi sırasında hidrofilik ve hidrofobik polimer-su etkileşimi hakkında endikasyonlar sağlar. Raman spektrum analizi, su moleküllerinin polimer zincirleri ile hidrojen bağları oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, hidrofobik ve hidrofilik su-polimer etkileşimleri, polimer zincirlerinin çapraz bağlanma yoğunluğundan etkilenir, bu da hidrojin şişme derecesinde dengeyi etkiler (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

➤ **Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)**

NMR, hidrojellerin kimyasal yapısını belirlemek için güçlü bir analitik tekniktir. NMR spektrumlarında, pik kayması ve yoğunluğu polimer bileşimini, moleküler ağırlığı ve moleküler organizasyonu, morfoloji sekans dağılımlarını ve etkileşimlerini ortaya koyar. NMR piklerinin genişliği, belirli bir kimyasal bileşen veya grubun iç hareketliliğini gösterir. Bir izotropik sistem (sıvı benzeri) için NMR pik genişliği dardır, izotropik olmayan (jel benzeri) için NMR pik geniştir (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

6. Termal stabilite

➤ **Termal Gravimetrik Analiz (TGA)**

TGA, hidrojin termal kararlılığını ölçmek için kullanılır. Nümune kütleindeki değişiklikler, sabit bir ısıtma hızında (1-10°C / dak) artan sıcaklık fonksiyonu olarak izlenir. TGA'da su uzaklaştırma sıcaklığı 127 °C'de, su kaynama noktasının 27°C üzerinde başlar. Polimer zincirleri (hidrojel ağı) ile bağlı su moleküllerinin varlığı geçiş sıcaklığını artırır.

➤ Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

DSC, su moleküllerinin erime, kristalizasyon ve camsı geçiş sıcaklığı gibi (T_g) termal faz geçişlerini ölçebilen başka bir termal analitik tekniktir. DSC, bir sistemdeki faz geçişi sırasında ısı akışını (ekzotermik veya endotermik) ölçerek hidrojel ağında etkileşen / bağlı su moleküllerinin miktarını belirler (Raghuwanshi ve Garnier 2019).

2.4.9. Hidrojellerin Farmasötik Ve Biyomedikal Uygulama Alanları

Önemli sayıda patent ve ticari ürünleri ele alarak, hidrojel uygulamalarının ana alanlarının kontakt lensler, yara pansumanları, ilaç dağıtım sistemleri, doku mühendisliği ve hijyen ürünleri olduğu bilinmektedir.

- Kontakt lensler
- Yara pansumanları
- İlaç dağıtım sistemleri
- Doku mühendisliği
- Hijyen ürünleri

1. Kontakt lensler

1960 yılında, kontakt lens uygulamaları için faydalı sentetik bir biyo-uyumlu malzeme olarak poli-2-hidroksietilmetakrilat (PHEMA) bazlı bir hidrojel tanımlayan ilk kişiler Wichterle ve Lim olmuştur. 1965 yılında Ulusal Patent Geliştirme Şirketi (NPDC) bu teknolojiye lisans almıştır (Caló ve Khutoryanskiy 2015).

2. Yara pansumanları

Son zamanlarda, yara pansuman endüstrisi, pansumanların konforunu ve uygunluğunu, sık olmayan değişikliklere, maliyet etkinliğine ve uzun bir raf ömrüne sahip olmanın önemini vurgulamıştır . Bu nedenle, belirli bir yaraya uyacak doğru pansumanın seçimi, optimum iyileşme ve hastanın yaşam kalitesi için esastır.

Halihazırda temin edilebilen ürünlerin çoğu, düşük yapışkanlı pansumanlar, yarı geçirgen filmler, hidrokolloidler, hidrojeller, aljinatlar, köpük pansumanlar veya antimikrobiyal pansumanlar olarak sınıflandırılabilir.

Hidrojeller yaygın olarak debride edici ajanlar, nemli pansumanlar ve yara bakımı için macun bileşenleri olarak kullanılır. Hidrojeller, diğer yara pansumanlarıyla birlikte bazı yara sargılarının yapısına dahil edilmiştir ve birçok yara tipine uygun kompozit ürünler oluşturur.

Shah ve diğ. (1996), bir termoplastik hidrojel oluşturuucu polimer ile emdirilmiş pamuklu bir gazlı bez veya başka bir lifli substrattan oluşan bir materyali tarif ettiler. Bu kompozit sargı, yara eksüdasını emerek, daha fazla travmaya neden olabilecek ve daha az değişikliklere izin vererek, yara yüzeyine yapışmayı önleyerek ince bir kıvam alabilir (Caló ve Khutoryanskiy 2015)

3. İlaç dağıtım sistemleri

Hidrojeller, benzersiz fiziksel özellikleri nedeniyle ilaç dağıtımında geniş kullanılmaktadırlar. Hidrojelleri karakterize eden yüksek gözeneklilik, matrislerindeki çapraz bağların yoğunluğunu ve suya olan afinitesini kontrol edilerek kolayca ayarlanabilir. Gözenekli yapıları ayrıca ilaçların yüklenmesine ve daha sonra serbest bırakılmasına izin verir. Hidrojellerin ilaç dağıtım sistemleri için sunduğu avantajlar arasında, uzun bir süre boyunca aktif bir farmasötik bileşenin yüksek lokal konsantrasyonunun muhafaza edilmesiyle sonuçlanan sürekli salım olasılığı bulunmaktadır. İlaç bir hidrojel içine yüklenebilir ve daha sonra salınması çeşitli mekanizmalarla ilerleyebilir: difüzyon kontrollü, şişme kontrollü, kimyasal olarak kontrol edilen ve çevreye duyarlı salım.

Hidrojel bazlı dozaj formları, ilaç uygulama yoluna bağlı olarak farklı tasarımlara ve şekillere sahip olabilir.

Tablo 2-2: Farklı yolla uygulanan farklı hidrojel sistemleri (Narayanaswamy ve Torchilin 2019)

Uygulama yolları	Uygulama şekli	Tipik Boyut
Peroral	Küresel boncuklar	1 µm ile 1mm
	Diskler	Çapı 0,8 cm ve kalınlığı 1mm
	Nanopartiküller	10-1000 nm
Rektal	Suppozituarlar	Geleneksel yetişkin suppozituar boyutları (uzunluk ≈ 32 mm) 7 mm merkezi boşluk ve duvar kalınlığı 1,5 mm

Vajinal	Vajinal tabletler	1,3 cm yüksekliği ve 0.9 cm kalınlığı 2,3 cm
	Torpedo şekilli pessariler	30 mm uzunluk ve 10 mm kalınlık
	Kontakt lensler	(tipik $\varnothing \approx 12$ mm)
Oküler	Damla	Göz damlasında bulunan hidrojel parçacıkları 10 μ m'den küçük
	Merhemler	
	Süspansiyonlar	İstenilen boyut
Transdermal	Pansuman	Değişken
	Diskler	14 mm $\varnothing$ ve 0,8 mm
İmplant	Silindirler	kalınlık $\varnothing$ 3 mm ve uzunluğu 3,5 cm

Biyoadheziv hidrojeller

Biyoadheziv sistem, biri biyolojik olan iki fazın birbirine bağlanması sonucu olarak ortaya çıkan sistemdir. Bu sistemler polimer esaslı filmler, jeller ve tabletler şeklinde hazırlanmaktadır.

Biyoadhezyon, birbirine yapışan iki membranın ayrılmasına direnen moleküler kuvvettir.

Biyoadheziv hidrojellerin avantajları

- Adsorbsiyon oranının artması;
- Diffüzyon bariyerlerinin en aza indirilerek amaçlanan bölgede emilimin sağlanması;
- Uygulama yerinde kalma süresinin uzatılması;
- İki kat arasındaki kontaktın iyileştirilmesi;
- Biyolojik hassas molekülleri koruması;
- Genel olarak biyoyararlanımın artırılması.

Su, biyoadhezyonda çok önemli bir rol oynamaktadır. Suyun nüfuz etmesi, polimerin reaktif fonksiyonel gruplarıyla bağ oluşumuna neden olur.

Biyoadhezivlik karakterizasyonu için, ilaç salım davranışını incelemek, difüzyon çalışmaları yapmak, mekanik ve dokusal özelliklerin değerlendirilmesi, kayma gerilimi, viskoelastisite, stabilite ve ürünün genel bütünlüğünün belirlenmesi gibi çeşitli yöntemler kullanılabilir.

Biyoadhezyon kapsamına giren mukoadhezyon, doğal veya sentetik biyomalzemelerin uzun bir süre boyunca mukoza yüzeyine yapıştığı bir süreç olarak tanımlanır. Mukus, yaklaşık %5 suda çözünmeyen glikoprotein ve %95 sudan oluşan yarı saydam, viskoelastik bir hidrojeldir. Mukus göz, kulak, burun ve ağızda oluşur (Kashyap ve ark. 2005)

4. Doku mühendisliği

Doku mühendisliği, hücreleri düzenleyen ve gerekli bir dokunun gelişimini sağlamak için uyarıcılar sunan ,biyoaktif maddeler için dağıtım araçları olan , üç boyutlu yapılar olarak uygulanabilen hidrojellerin yeni bir uygulamasıdır.

Hidrojellerin doku mühendisliği için önemli bir özelliği biyouyumluluğudur ki, bu bir materyalin, çevresindeki dokulara herhangi bir zarar vermeden ve istenmeyen bir yanıtı tetiklemeden vücut organlarıyla temas halinde olması olarak tanımlanabilir.

Doku mühendisliği için uygun hidrojeller oluşturabilen sentetik malzemeler arasında poli (etilen oksit), poli (vinil alkol), poli (akrilik asit), poli (propilen fumarat-ko-etilen) glikol ve polipeptidler vardır. Agaroz, aljinat, kitozan, kollajen, fibrin, jelatin ve hiyalüronik asit, bu amaç için de kullanılabilen doğal polimerlerdir (Caló ve Khutoryanskiy 2015)

5. Hijyen ürünleri

Süper emici polimerler (Superabsorbent polymers – SAPs) tarım ve bebek bezi endüstrisinde hijyen ürünleri olarak yaygın kullanılmaktadırlar. 90'ların sonunda, "süper gözenekli hidrojeller" (Superporous hydrogels-SPH'ler) farklı tipte bir su emici polimer sistemi olarak tanıtıldı ve piyasaya sunuldu. SAP'ler olarak SPH'ler, kovalent olarak çapraz bağlı hidrofilik polimerler tarafından oluşturulur, ancak SAP'lerin aksine, istisnai boyuttan bağımsız bir hızlı şişme kinetiği gösterirler. SPH'ler genellikle yüksek oranda hidrofilik akrilamid, akrilik asit tuzları ve sülfopropil akrilattan yapılmaktadırlar (Caló ve Khutoryanskiy 2015)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Maddeler

- Asetilhekzapeptit-8 (*Medchemexpress*)
- Kadife çiçeği ekstresi (*Tagetes erecta L.*) (*Hydro Kimya A.Ş.*)
- Aynısafa çiçeği ekstresi (*Calendula officinalis L.*) (*Hydro Kimya A.Ş.*)
- k- Karrajenan (*Sigma-Aldrich*)
- Hidroksipropilselülöz-M (*Nippon Soda CO.,LTD.*)
- Keçiboynuzu zımkı (*Yıldız Kimya A.Ş.*)
- Ksantan zımkı (*Aromel Kimya*)
- Hidroksietilsellülöz (*Merck*)
- Sodyum aljinat (*Sigma-Aldrich*)
- Sorbitol (*Doğa İlaç Hammaddeleri Ticaret LTD.ŞTİ*)
- Gliserin (*Aromel Kimya*)
- 1,3-butanediol (Butilen glikol) (*TCI*)
- 1,2-hekzanediol (*Sigma-Aldrich*)
- Fenoksietanol (*Acar Kimya A.Ş.*)
- Formik asit (*Merck*)
- Trifloroasetik asit (*Merck*)
- Asetonitril (*Merck*)
- Ammonyum format (*Merck*)
- Kalsiyum klorür dihidrat (*Merck*)
- Potasyum klorür (*Merck*)
- Sodyum hidroksit (*Merck*)
- Sitrik asit monohidrat (*Merck*)
- Metanol (*Merck*)
- Potasyum dihiroyen fosfat (*Merck*)
- Distile su (*Elga, Pure Lab option DV25*)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Tablo 2-3’de tez çalışmasında kullanılan alet ve malzemelere ait liste verilmiştir.

Tablo 2-3: Kullanılan alet ve malzemeler.

Şırınga ucu hidrofilik PTFE filtre (0.22µm 25 mm)	Bezoss
Mikropipet (10-100µl, 100-1000 µl,)	CAPP Bravo
Vortex	IKA GENIUS 3
Su banyosu	WiseBath DAIHAN Scientific Co, Ltd.
Hassas terazi	AND GR-200
Ultra hassas terazi	Sartorius
Santrifüj	Heraeus Primo R Centrifuge Thermo Fisher Scientific
pH-metre	Hanna instruments Edge
Test kabini TK 120	Nuve Sanayi Malzemeleri İmalat ve Ticaret A.Ş.
Kurutma etüvü	WiseWen, Wised Laboratory instruments, WON-32
Ultrasonik banyo	Wiseclean, Wised Laboratory instruments, D06H
Isıticılı çoklu manyetik karıştırıcı	Wisestir, Wised Laboratory instruments, MS-MP8
Pervaneli karıştırıcı	WiseBath, Wised Laboratory instruments, HS-100D
Çalkalamalı karıştırıcı	US501 IKA Labortechnik Staufen
Doku analiz cihazı	Brookfield CT3/TA-Xt Plus
Reometre	HAAKE™ RheoStress™ Thermo Scientific
Distille su cihazı	Elga, Pure Lab option DV25
Mikrometre	Carbon Fiber Composites Digital Caliper
ATR-FTIR Spektroskopisi	Brucker model Alpha II
UPLC-HRMS	Thermo Fisher Scientific

3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

- Microsoft Office (Word, Excel, Paint)
- TexturePro CT
- Exponent
- Origin
- Termo Scientific LC-MS software

3.2. Yöntem

3.2.1. Asetilhekzapeptit-8 Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1. Asetilhekzapeptit-8'in Infrared (IR) Spektrumu

Bu çalışma, ATR-FTIR spektrometresi (*Brucker model Alpha II*) kullanılarak yapıldı. Toz (kristal) halde olan Asetilhekzapeptit-8, ATR-kristali üzerine yerleştirildi. İşlem $4000-400\text{cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında 100 N kuvvet uygulanarak gerçekleştirildi ve 4 cm^{-1} çözünürlükle spektrum alındı (Sun ve ark. 2020)

3.2.1.2. Asetilhekzapeptit-8 Çözeltisinin Hazırlanması

Asetilhekzapeptit-8' in % 0,05-lik çözeltisi Tablo 2-4'de gösterilen oranlarda hazırlandı ve buzdolabında 4°C koşulda saklandı. 0,5 g/L peptit içeren çözelti, maske formülasyonlarına soğuk halde %5 ve %10-luk konsantrasyonda ilave edildi (Ruiz ve ark. 2007).

Tablo 2-4: Asetilhekzapeptit-8' in %0,05-lik çözeltisi

Bileşenler	(%)
Asetilhekzapeptit-8	0,05
Fenoksietanol	0,5
Distille su	99,45

3.3. Ön Formülasyon Çalışmaları

Bu tez çalışmasında kırışıklık(yaşlanma) belirtilerini azaltması beklenen Asetilhekzapeptit-8 ve *Kadife çiçeği (Tagetes Erecta L.)* ve *Aynısafa çiçeği (Calendula Officinalis L.)* ekstrelerinin kullanılmasıyla hidrojel tipi maske formülasyonları hazırlanmıştır.

Asetilhekzapeptit-8 ve bitkisel ekstre içeren optimum formülasyonu/ları belirlemek için farklı oranlarda farklı polimer(polimer karışımları) ve yardımcı maddeler kullanılmıştır.

Ön formülasyon çalışmalarında farklı polimerler denendi. Formülasyonumuz için uygun polimer seçimi zamanı polimer karışımının sol-jel geçiş sıcaklığı değerlendirilerek fazlar belirlendi, etken madde olan Asetilhekzapeptit-8 yüksek ısıda denatürasyona uğradığı için peptit çözeltisinin ilave edileceği fazda bulunan polimer karışımının sıcaklığı en aza indirildi.

Kullanılan polimerler ve oranları Tablo 2-5' de gösterilmiştir.

Tablo 2-5: Ön formülasyon çalışmalarında kullanılan polimerler

Polimerler	Oran (%)
Sodyum Aljinat	2-4
Ksantan zmkı	0,05-0,25
Keçiboynuzu zmkı	0,1-2
Arap zmkı	0,1-2
Karbopol	0,4-0,5
PVA	0,25-10
k-Karrajenan	0,25-2
HEC	0,1-4
HPC – H	0,1-1
HPC – M	0,1-1
HPMC	0,1-2
NaCMC	0,5-5

3.3.1. Hidrojel Maske Formülasyon Bileşenlerinin Seçimi ve Formülasyonların Hazırlanması

- **Polimer seçimi**

Ön formülasyon çalışmalarında seçilen polimerler farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak, gerilme testleri sonucunda uygun hidrojel formülasyon/ları belirlendi.

Tablo 2-6: Farklı konsantrasyonlarda k-Karrajenan ve Keçiboynuzu zamkı polimerleri kullanılarak yapılan hidrojel formülasyonları

Bileşenler (%)	Formülasyonlar									
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀
k-Karrajenan	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Hidroksipropilselüloz-M	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Keçiboynuzu zamkı	0,15	0,175	0,2	0,225	0,25	0,15	0,175	0,2	0,225	0,25
1,3-Butanediol (Butilen glikol)	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
1,2-Hekzanediol	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Fenoksietanol	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Distille su	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.

- **Penetrasyon artırıcı seçimi**

Kimyasal penetrasyon artırıcı maddelere polihidrik alkoller, amidler, eterler, yağ asitleri ve b. bileşikler dahildirler. Bu bileşiklerden, polihidrik asitlerin farklı çeşitleri formülasyon geliştirilmesinde kullanılmıştır. Polihidrik alkoller, aktif bileşenlerin cilde nüfuz etme özelliğinin artırılması ve formülasyonun stabilitesinin iyileştirilmesi için önemli bileşiklerdir. Bu çalışmada, Tablo 2-7’ de gösterilen farklı polihidrik alkoller denenerek, makroskobik inceleme sonucu formülasyon/lar için en uygun olanı seçilmiştir (Lane ,2013)

Tablo 2-7: Ön formülasyon çalışmalarında kullanılan çözücü ve penetrasyon artırıcılar

Penetrasyon artırıcılar	Oran(%)
Sorbitol	5-15
Gliserin	5-15
PEG	5-15
1,3-Butanediol	5-15
1,3-Hekzanediol	5-15

➤ **Hazırlanma yöntemi ve faz bileşenlerinin belirlenmesi**

Formülasyonlar iki fazdan (“A” ve “B”) oluşturuldu:

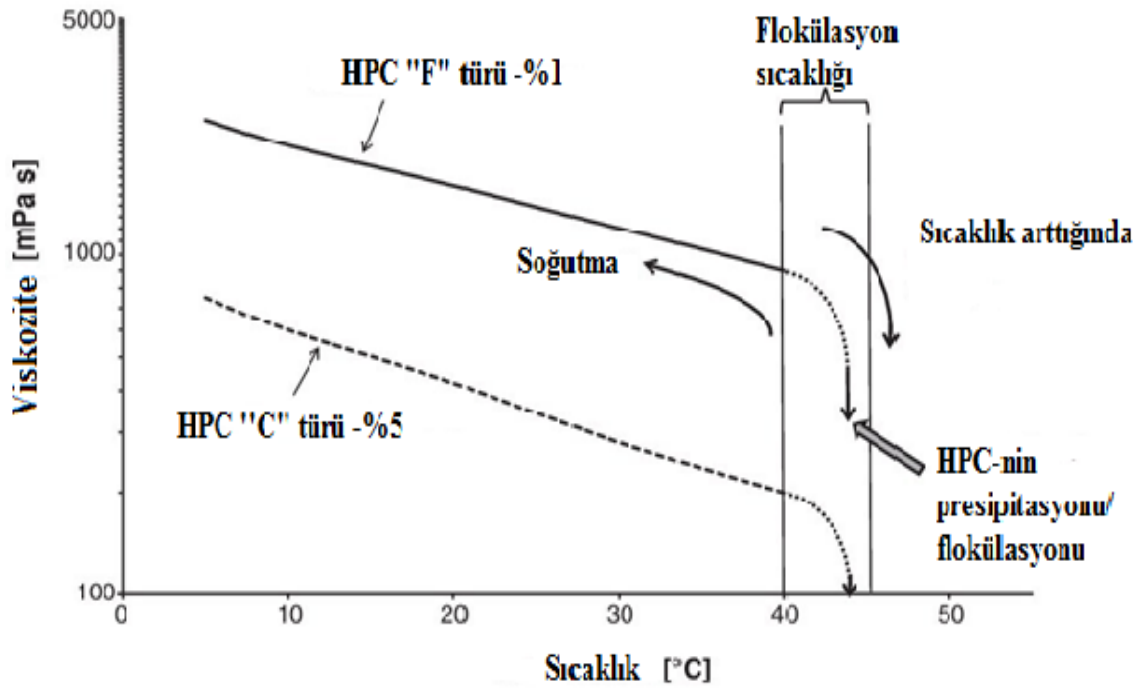
A fazı:

HPC-M suda çözünerek 38° C 'nin (100° F) altındaki sıcaklıklarda berrak çözelti oluşturur. 40–45 °C (104–113 °F) üzerindeki sıcaklıklarda ise suda çözünmez ve ve çözünmüş polimerin sulu çözeltisi "flokülasyon"a maruz kalır (Wüstenberg, 2014). Bu sebeple, diğer polimerler yüksek ısıda çözünerek jelleştiği için HPC-M diğerlerinden farklı olarak A fazında kullanılmıştır. HPC-M kullanılan suyun bir kısmında önceden disperse edildi. Elde edilen berrak polimer çözeltisi üzerine hesaplı miktarda 1,3-Butanediol (Butilen glikol), Fenoksietanol, Kadife çiçeği ekstresi, Aynısafa çiçeği ekstresi ve Asetilhekzapeptit-8'in % 0,05-lik çözeltisi ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 200 rpm-de homojenize oluncaya kadar karıştırıldı.

B fazı:

Hesaplı miktarda k-Karrajenan, Keçiboynuzu zamkı, 1,2-Hekzanediol ve su karışımı magnetik karıştırıcıda 5 dakika ön karıştırma ,çalkalamalı su banyosunda 80° C-ye kadar ısıtılarak 25-30 dakika karıştırıldı.

Hazırlanan fazlar aynı ısıya getirilerek ‘B’ fazı ‘A’ fazı üzerine ilave edildi ve pervaneli karıştırıcıda 200 rpmde homojenize oluncaya kadar karıştırıldı. Elde edilen jel petri kaplarına dökülerek hidrojel film oluşturuldu.



Şekil 2-8: Sıcaklığın sulu bir HPC çözeltisinin viskozitesi üzerindeki etkisi (Wüstenberg 2014).

Tablo 2-8: Hidrojel formülasyonlarının faz bileşenleri

A fazı	B fazı
Asetilhekzapeptit-8 çözeltisi (%0,05)	k-Karrajenan
Kadife çiçeği ekstresi	Keçiboynuzu zımkı
Aynısafa çiçeği ekstresi	1,2-Hekzanediol
HPC-M	
Fenoksietanol	
1,3-Butanediol (Butilen glikol)	
Distille su	

Tablo 2-9: Etken madde içermeyen seçilmiş formülasyonlar

Bileşenler (%)	Formülasyonlar	
	F ₁ A ₅	F ₁ A ₁₀
k-Karrajenan	0,35	0,35
Hidroksipropilselülöz-M	0,15	0,15
Keçiboynuzu zımkı	0,225	0,225
1,3-Butanediol	10,0	10,0
1,2-Hexanediol	2,0	2,0
Fenoksietanol	0,5	0,5
Distille su	q.s	q.s

3.3.2. Seçilen Hidrojel Formülasyonlarına Asetilhekzapeptit-8 Çözeltisinin İlave Edilmesi

Tablo 2-9’da gösterilen göre seçilmiş formülasyonlara Asetilhekzapeptit-8 çözeltisi A fazına ilave edilir.

Tablo 2-10: Etken madde içeren seçilmiş formülasyonlar

Bileşenler (%)	Formülasyonlar	
	F ₁ A ₅	F ₁ A ₁₀
k-Karrajenan	0,35	0,35
Hidroksipropilselülöz-M	0,15	0,15
Keçiboynuzu zımkı	0,225	0,225
1,3-Butanediol	10,0	10,0
1,2-Hexanediol	2,0	2,0
Asetilhekzapeptit çözeltisi (%0,05)	5,0	10,0
Kadife çiçeği ekstresi	0,5	0,5
Aynısafa çiçeği ekstresi	0,5	0,5
Fenoksietanol	0,5	0,5

Distille su	q.s	q.s.
-------------	-----	------

3.4. Seçilmiş Hidrojel Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Karakterizasyon Çalışmaları

Seçilmiş formülasyonların pH, reolojik özellikleri, şişme özellikleri, mekanik özellikleri, gerilme özellikleri, IR spektrumu ve etken madde miktar tayini değerlendirildi.

3.4.1. pH' nın İncelenmesi

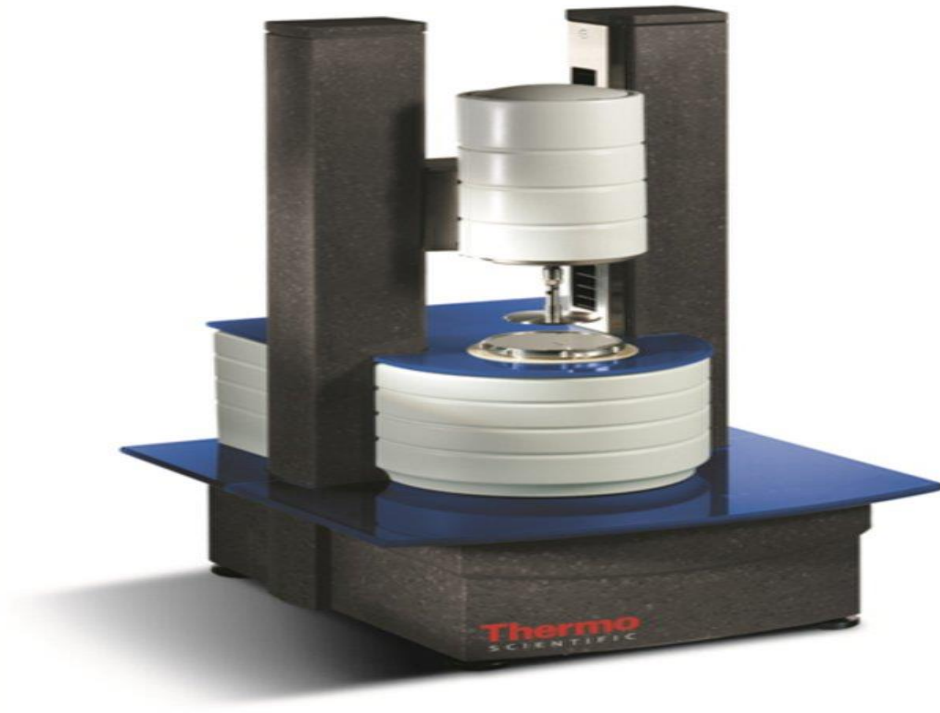
Formülasyonların pH değerleri belirlenen zaman aralıklarında (1. gün; 15. gün; 30. gün) farklı koşullarda ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) dijital pH-metre kullanılarak tayin edildi. 5 gr maske 10 ml distille suyunda ($\text{pH } 6,5 \pm 0,1$) 2 saat bekletildi. Ölçümler her hidrojel formülasyonu için 3 kez tekrarlandı ve standart sapma (SD) değerleri hesaplandı (Surini ve Auliyya 2017).

3.4.2. Reolojik Özelliğin İncelenmesi

Jel durumundaki hidrojel formülasyonların reolojik ölçümleri, HAAKE™ RheoStress™ (Thermo Scientific, Karlsruhe, Almanya) markalı rotasyonel bir reometre ile gerçekleştirildi. Tüm reoloji ölçümleri, 20 mm çapında bir koni (1° açısı) ve plaka geometrisi kullanılarak yapıldı. Sıcaklık, bir Peltier ısıtma sistemi ile (Phoenix II, Thermo Scientific, Karlsruhe, Almanya) ile 25°C 'de kontrol edildi. Örnekler dikkatlice alt plakanın yüzeyine yerleştirildi ve üst koni 0,052 mm boşluk mesafesine kadar aşağıya indirildi. Testten önce, mekanik ve sıcaklık dengesini sağlamak için numuneler beş dakika dengelenmeye bırakıldı.

Viskozite-kayma hızı testleri, $0-200 \text{ s}^{-1}$ kayma hızı aralığında değiştirilerek 120 s periodunda çalışıldı.

Osilasyon testlerinde, seçilen hidrojel formülasyonlarının jel haldeki reolojik davranışı, kayma depolama modülü (G' ; deformasyonda depolanan enerji), kayma kayıp modülü (G'' ; deformasyonda enerji salınımı) ve kayıp faktörü ($\tan \Delta = G''/ G'$) 0,1–200 Hz aralığında ve 25°C 'de tayin edildi. (Cuomo ve ark. 2019)



Şekil 3-1: “HAAKE RheoStress” Reometre

3.4.3. Şişme Özelliklerinin İncelenmesi

Hidrojellerin şişme çalışmaları, üç farklı tampon çözeltisinde (pH1,2 pH7 ve pH12) oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

Numuneler, her tampon çözeltisinin 30 ml'si ile doldurulmuş Petri kaplarına daldırıldı. Farklı aralıklarda, hidrojeller çıkarıldı ve jellerin yüzey suyu filtre kağıdı kullanılarak silindi ve tartıldı. Hidrojellerin şişme oranı (SR) aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$SR (\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

burada W_t , t zamanında şişmiş hidrojellerin ağırlığı ve W_0 , başlangıçtaki hidrojellerin ağırlığıdır.

Şişme çalışması, hidrojeller dengeye ulaşana kadar gerçekleştirildi. Testler, hatayı en aza indirmek için üç kez gerçekleştirildi ve ortalama bir değer olarak bildirildi.

Dengeye ulaşan numuneler büzülme testi için Petri kaplarına konuldu ve 37 °C'de kurutma etüvüne yerleştirildi. Numuneler önceden belirlenen zaman aralıklarında kurutma etüvünden çıkarılarak, kuru ağırlığı oda sıcaklığında terazi kullanılarak ölçüldü (Hezaveh ve Muhamad 2013).

Basit ve kullanışlı bir ampirik “güç yasası” denklemi, polimerik ağlarda difüzyon mekanizmasını belirlemek için yaygın olarak kullanılır:

$$M_t/M_\infty = kt^n$$

M_t - anında hidrojinin içerdği çözücü kütlesi,

M_∞ - Dengeye ulaşan hidrojinin içerdği çözücü kütlesi,

n - Çözücünün difüzyon türünü gösteren difüzyon katsayısı,

k - Hidrojinin yapısal ve geometrik özelliklerine bağlı olarak değişen bir sabittir.

Difüzyonel katsayı (n), taşıyıcı sistemden ilaç salım mekanizma türünü belirler. Bir film difüzyon mekanizması, $n = 0,5$ olursa Fick difüzyon , $n > 0,5$ olursa anormal (Fick olmayan) difüzyon ve $n = 1$ olursa, durum II (gevşeme kontrollü) difüzyon mekanizmasına uygundur (Ganji ve ark. 2010).

3.4.4. Mekanik Özelliklerinin Saptanması

Hidrojel formülasyonlarının mekanik özellikleri (kohezyon, adezyon, sertlik,sıkıştırılabilirlik) Brookfield CT3 Doku Analiz cihazı kullanılarak saptandı. Yaklaşık 50 mL jel formülasyonu 100 ml-lik bir standart behere dolduruldu, böylece numuneye hava girmesi önlenildi ve pürüzsüz bir üst yüzey oluşturulması sağlandı. 12,7 mm çapındaki silindirik analitik prob (TA5) jele daldırılarak, geri çekildi (Hurler ve ark. 2011).

Hız oranı ve mesafe (dalma derinliği) dahil olmak üzere yöntem hidrojele göre seçilmiştir. Temas, 10 mN'lik bir tetikleme kuvveti ile başlatıldı ve ardından prob 10 mm derinliğe kadar devam etti, sonra (2mm / s) yüzeye döndü ve 15 saniye sonra ikinci bir sıkıştırma başlatıldı.

Her bir formülasyon için ölçüm aynı koşullar altında oda sıcaklığında 5'er kez tekrarlandı.

Oluşan kuvvet-zaman grafiğinden (TPA eğrisinden) numunelerin sertliği, sıkıştırılabilirliği, adezifliği ve kohezifliği gibi jel parametreleri belirlendi.

Veri toplanmasında TexturePro CT V1.6 Build yazılımı kullanıldı (Chavda ve ark. 2009).



Şekil 3-2: Brookfield CT3 doku analiz cihazı

Kullanılan test parametreleri:

Prob: TA5 (12,7 mm çapındaki silindirik analitik prob)

Fikstür: TA-BT-KIT

Test tipi: TPA

Test zamanı probun hızı: 2 mm/s

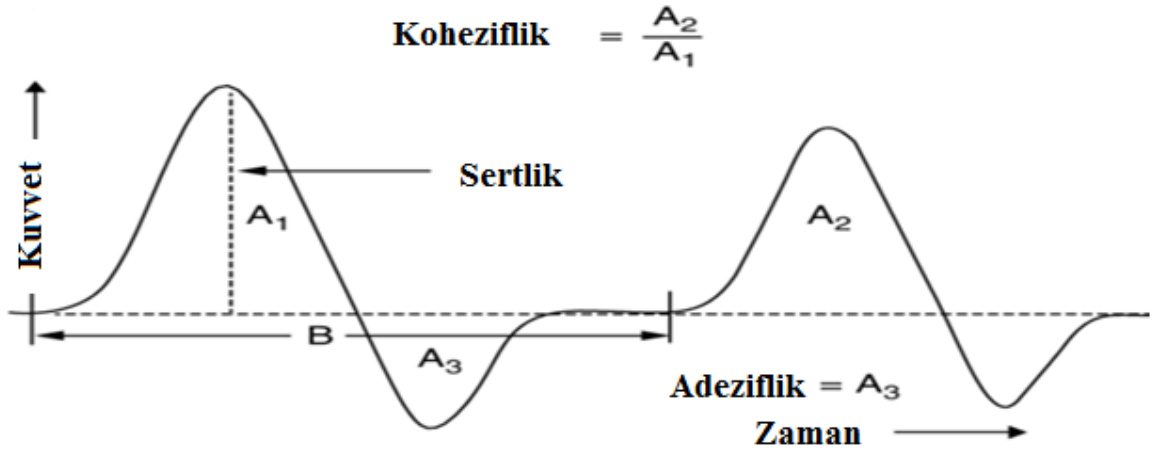
Probun geri dönüş mesafesi: 10 mm

Jele uygulanan kuvvet: 10 mN

Geri kazanım zamanı: 15 s

Jellerin sertliği: Bir probun jel içerisine daldığı zaman, jeli deforme edebilmesi (belirli bir derinliğe çökertmesi) için gereken kuvvet jel sertliği olarak tanımlanır. Probun birinci batma periyodunda elde edilen güç değeri jellerin sertlik değeri (Newton, N) olarak bilinir.

Jellerin sıkıştırılabilirliği: Bir probun jel içerisine daldığı zaman, jeli deforme edebilmesi (belirli bir derinliğe çökertmesi) için gereken işdir. Probun birinci batma periyodunda elde edilen eğrinin altında kalan alan jelin sıkıştırılabilirlik değeridir ve $\text{Newton} \times \text{mm}$ ile ifade edilmektedir.



Şekil 3-3: Jellerin sertlik, adezivlik ve kohezifliğine ait kuvvet-zaman grafiği (Kohyama 2020)

3.4.5. Hidrojellerin Biyoadheziv Özelliklerinin Tayini

Domuz kulak derisi ve hidrojeller arasındaki biyoadhezyon kuvveti, TA-XT plus doku analiz cihazı (Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere) kullanılarak değerlendirildi. Bunun için kulaklar suyla ($25 \pm 0,5$ ° C) temizlendi ve hasar görmemiş deriler kıkırdaktan bir neşter ile çıkarıldı ve bir dermatomla adipoz dokudan 400 µm kalınlığında epidermis ayrıldı.

Deneme için hazırlanan deri, % 0,9 sodyum klorür içeren fizyolojik solüsyonda $25 \pm 0,5$ ° C'de 30 dakika bekletildikten sonra, üzerindeki tüler makasla temizlendi. Daha sonra deri kauçuk halkayla 10 mm çapındaki silindirik analitik proba tutturuldu ve hidrojeller probun altında yerleştirilen $32 \pm 0,5$ ° C-lik su banyosuna daldırıldı.

Üzerinde deri bulunan prob, 2 mN'lik bir tetikleme kuvveti ile 1mm/s hızda aşağı inerek hidrojel yüzeyine temas ettirildi ve 60 saniye boyunca temas halinde tutuldu . Daha sonra prob 0,5 mm/s hızla geri çekildi.

Oluşan kuvvet-mesafe grafiğinden biyoadhezyon işi hesaplandı. Biyoadhezyon işi kuvvet-mesafe eğrisi altında kalan alandır ve birimi mJ (N x mm)-dur (Carvalho ve ark.2013).

3.4.6. Film Kalınlığının Ölçülmesi

Film kalınlığı bir mikrometre (Bonj Karbonfiber Dijital Kumpas 150 mm) ile rastgele her filmde altı pozisyon seçilerek ölçüldü. Mikrometrenin doğruluğu $\pm 0,2/0,01$ mm-dir.

Alınan sonuçların ortalama aritmetik değerleri hesaplanarak, gerilme testleri sonuçlarında kullanılmıştır (Fabra ve ark. 2008)

3.4.7. Gerilme Özelliklerinin İncelenmesi

Filmlerin çekme (gerilme) mukavemeti (TS) ve kopma uzaması (EB) gibi gerilme özellikleri, bir doku analiz cihazı olan (TA.XT Express C, Stable Micro Systems, Surrey, UK) kullanıldı. (8 cm x 1,5 cm)- lik bant boyutunda kesilen filmler ölçüm için makinenin sabit kulpları arasına sıkıştırıldı. Her filmin farklı yerlerinden 5'er adet kesildi (Sun ve ark. 2018)

Doku analiz cihazı analizler için kullanılmadan önce 2 kg yük ile kalibre edildi. Film bantlarının her iki ucu 2 cm'lik bir çizgi ile işaretlendi ve cihazın sabit kulpları arasına filtre kağıtıyla sıkıştırıldı. Ön test hızı 300 mm/dakika, test sonrası hız 600 mm/dakika olarak ayarlandı. Kopma noktasındaki TS ve EB, Texture Exponent 32 yazılımı V.4.0.5.0 kullanılarak doğrudan kuvvet-zaman eğrilerinden belirlendi.

Film numunelerinin kalınlığı, 0,01 mm hassasiyetle bir dijital mikrometre kullanılarak ölçüldü (Binti Che Wan 2018).

Filmlerin TS ve EB gibi gerilme özellikleri aşağıdaki gibi hesaplandı:

$$\text{Gerilme mukavemeti (TS,MPa)} = \frac{F}{x \times W}$$

$$\text{Kopma uzaması (EB,\%)} = \Delta L / L_0 \times 100$$

burada F filmin kopması için gereken kuvvet (N),

x-film kalınlığı (mm),

W-filmin genişliği (mm) idi,

ΔL - film kopması zamanı artan uzunluk (mm) ve

L_0 - başlangıç film uzunluğudur (mm) (Johnson ve ark. 2004)

3.4.8. Hidrojel formülasyonlarının ve Polimerlerinin Infrared (IR) Spektrumunun İncelenmesi

Bu çalışma için ATR-FTIR spektrometresi (*Brucker model Alpha II*) kullanıldı. Polimerlerin fiziksel karışımı, polimer/etken madde fiziksel karışımı ve liyofilize edilmiş formülasyonlar ATR-kristali üzerine yerleştirildi. İşlem $4000-400\text{cm}^{-1}$ dalga

boyu aralığında 100 N kuvvet uygulanarak gerçekleştirildi ve 4 cm^{-1} çözünürlükle spektrum alındı (Sun ve ark. 2020)

3.4.9. Hidrojel formülasyonlarında Stabilitenin İncelenmesi

Seçilen hidrojel formülasyonları farklı koşullarda ($(25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)) bekletildi. Belirlenen zaman aralıklarında (1. gün; 15. gün; 30. gün) hidrojellerde pH, etken madde içeriği incelendi ve organoleptik gösterciler değerlendirildi.

3.4.9.1. Hidrojel Formülasyonlarında Asetilhekzapeptit-8'in Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresiyle (UPLC-HRMS) İle Miktar Tayini

Hidrojel formülasyonlarında Asetilhekzapeptit-8'in miktar tayini Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresiyle (UPLC-HRMS) tayin edildi.



Şekil 3-4: Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi (Thermo Q-Exactive Orbitrap)

Deney yöntemi ve prosedürü

HPLC şartları

Mobil faz A : %1 FA-H₂O

Mobil faz B: %1 FA-MeOH

HPLC kolonu: 5 μ m Troyasil C 18- 150 $\times$ 3.0 mm

Mobil faz sistemi A (%1 FA-H₂O) ve B (%1 FA-MeOH)-dur.Kullanılan akış hızı 0,35 mL/dk, enjeksiyon hacmi ise 20 µl-dir. Gradyan parametreleri Tablo 3-1’ de verilmiştir.

Tablo 3-1: Gradyan parametreleri

Zaman	Akış hızı (mL/dk)	%B
0,00	0,35	50
1,00	0,35	50
3,00	0,35	100
6,00	0,35	100
7,00	0,35	50
10,00	0,35	50

MS Şartları

Sistem: Thermo ORBITRAP Q – EXACTIVE

İyon kaynağı : Elektrosprey İyonizasyon (ESI)

Kütle Tarama Aralığı : 300-950 m/z

Kılcal sıcaklık: 320° C

Sprey gerilimi: 3.80 kV

“Sheath” gaz akış oranı: 45

“Aux” gaz akış oranı: 10

Çevre şartları

Sıcaklık: (22,0±5,0)°C

Bağıl nem: (50±15) %rh

Çalışmamızda doğrusal aralığı bulmak için iç standart yöntemiyle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur (Zhou ve ark. 2011)

İç standartın seçilmesi

Analiz zamanı belirli miktarda nümuneye ve kalibrasyon standartlarına eklenen, kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında ve nümune hazırlık işlemlerinde sabit tutulan madde , iç standart (IS) olarak tanımlanmaktadır. İç standart analiz zamanı hataların belirlenmesinde kullanılır. Çalışmamızda IS olarak Dihidrokapaisin kullanılmıştır.

Standart çözeltilerinin hazırlanması

Kalibrasyonda Asetilhekzapepit-8 için 0,5-10 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ arasında değişen altı farklı çözelti hazırlanmıştır.

Bunun için 5 mg Asetilhekzapeptit-8 tartıldı ve FA:MeOH (1:99) karışımı ile 50 mL'ye tamamlanarak 100 $\mu\text{g/mL}$ -lik ana stok çözelti elde edildi.

10 $\mu\text{g/mL}$ ve 25 $\mu\text{g/mL}$ -lik ikinci stok çözelti ana stok çözeltinin "FA:MeOH" (1:99) karışımı ile seyreltilmesi yolu ile hazırlandı.

Kalibrasyon eğrisi oluşturulması için ikinci stok çözeltinin "TFA:FA:ACN:H₂O" (0,1:0,1:15:85) karışımı ile seyreltilmesi yolu ile 0,5-10 $\mu\text{g/mL}$ -lik çözeltiler elde edildi.

0,5 $\mu\text{g/mL}$ -lik çözelti hazırlamak için 10 mL 10 $\mu\text{g/mL}$ -lik ikinci stok çözelti üzerine 190 mL "TFA:FA:ACN:H₂O" (0,1:0,1:15:85) karışımı ilave edildi.

1 $\mu\text{g/mL}$ -lik çözelti hazırlamak için 10 mL 10 $\mu\text{g/mL}$ -lik ikinci stok çözelti üzerine 90 mL "TFA:FA:ACN:H₂O" (0,1:0,1:15:85) karışımı ilave edildi.

2 $\mu\text{g/mL}$ -lik çözelti hazırlamak için 10 mL 10 $\mu\text{g/mL}$ -lik ikinci stok çözelti üzerine 40 mL "TFA:FA:ACN:H₂O" (0,1:0,1:15:85) karışımı ilave edildi.

5 $\mu\text{g/mL}$ -lik çözelti hazırlamak için 10 mL 10 $\mu\text{g/mL}$ -lik ikinci stok çözelti üzerine 20 mL "TFA:FA:ACN:H₂O" (0,1:0,1:15:85) karışımı ilave edildi.

10 $\mu\text{g/mL}$ -lik çözelti hazırlamak için 10 mL 25 $\mu\text{g/mL}$ -lik ikinci stok çözelti üzerine 15 mL "TFA:FA:ACN:H₂O" (0,1:0,1:15:85) karışımı ilave edildi (Zhou ve ark. 2011)

Nümunne hazırlanması

2 g hidrojel maske formülasyonu tartıldı ve üzerine 100 μL IS (Dihidro kapsaisin) eklendi ve "TFA:FA:ACN:H₂O" (0,1:0,1:15:85) karışımı ile 10 mL'ye tamamlandı. Elde edilen karışım 3 dk vorteksle karıştırıldı, daha sonra 10 dk sonikasyon yapıldı ve yeniden 3 dk vorteksle karıştırılarak, son olarak 10 dk 4500 rpm'de santrifüj edildi.

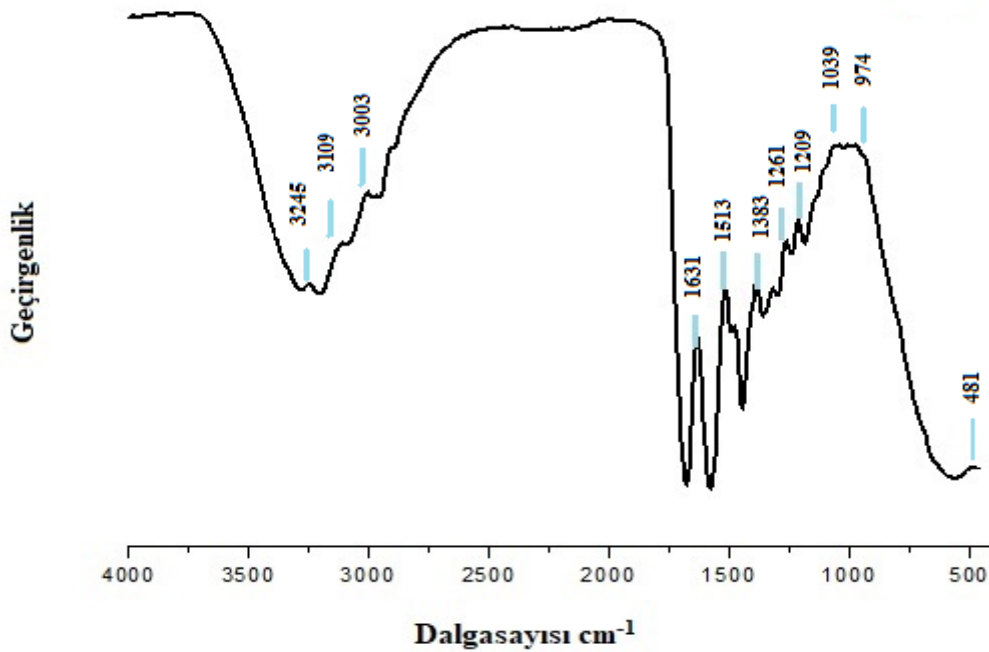
4. BULGULAR

4.1. Asetilhekzapeptit-8 Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.1. Asetilhekzapeptit-8'in Infrared (IR) Spektrumuna Ait Bulgular

Yöntem 3.2.1.1' de anlatıldığı şekilde 100 N kuvvet uygulanarak 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükle yapılan çalışmada alınan Asetilhekzapeptit-8'in FT-IR spektrumu Şekil 3-5' de gösterilmiştir.

Asetilhekzapeptit-8'in IR spekturumunda bulunan 3003 cm^{-1} , 3109 cm^{-1} , 3245 cm^{-1} bantlar literatürde peptitlerin Amid (A ve B), 1261 cm^{-1} , 1383 cm^{-1} , 1513 cm^{-1} 1631 cm^{-1} bantlar ise Amid (I, II ve III) bant grublarına uygun gelmektedir (Tamm ve Tatulian 1997).



Şekil 3-5: Asetilhekzapepit-8'in IR spektrumu

4.2. Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

Ön formülasyon çalışmalarında çeşitli polimerler farklı oranlarda denenerek, hidrojel maske formülasyonu için en uygun olanları seçildi. Hidrojellerin kırılğan yapısı, farklı oranlarda polimer ve polimer karışımları kullanılarak optimize edildi. En uygun polimerler (k-Karrajenan, Keçiboynuzu zamkı ve HPC-M) seçildi.

4.2.1. Hidrojel Maske Formülasyon Bileşenlerinin Seçimine Ait Bulgular

Hidrojel formülasyonlarında kullanılan polimerler farklı konsantrasyonlarda denenerek, gerilme testleri sonucunda uygun konsantrasyonlar belirlendi. k-Karrajenan : Keçiboynuzu zamkı : HPC-M polimerleri formülasyonlara sırasıyla %0,35 ,%0,225 , %0,15 konsantrasyonlarında ilave edildi.

Hidrojel maske formülasyonlarında uygun penetrasyon artırıcı olarak, %5-10 oranında glikoller kullanıldı. Hidrojellerin fiziksel görünümü değerlendirilerek, daha şeffaf hidrojel formülasyonu için 1,3-Butanediol ve 1,2-Hekzanediol karışımının uygun olduğu belirlendi. Formülasyonlarda %10 1,3- Butanediol ve %2 1,2-Hekzanediol kullanıldı.

4.2.2. Seçilen Hidrojel Formülasyonlarına Asetilhekzapeptit-8 Çözeltilisinin İlave edilmesine Ait Bulgular

Asetilhekzapeptit-8 çözeltisi (%0,05-lik) %5 ve %10 oranlarda soğuk halde hidrojel formülasyonlarının A fazına ilave edildi. B fazının sıcaklığı sol-jel geçiş sıcaklığı değerlendirilerek 30-40°C aralığına kadar indirildi. Bu çalışmalar, sıcaklık etkisiyle peptitin denatürasyona uğramasının karşısını almak için yapıldı.

4.2.3. Son Hidrojel Formülasyonlarının Seçimine Ait Bulgular

Polimer ve çözücü seçimleri, hidrojellerin gerilme özellikleri dikkate alınarak, Tablo 2-6' da gösterilen formülasyonlar arasından F4 formülasyonu seçildi.

Etken madde olan Asetilhekzapeptit-8'in %0,05-lik çözeltisi F4 formülasyonuna % 5 ve % 10 konsantrasyonlarında ilave edilerek F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonları oluşturuldu ve karakterizasyon çalışmaları bu formüller üzerinde yürütüldü.

Asetilhekzapeptit-8'in %0,05-lik çözeltisinin farklı konsantrasyonlarda kullanılması, ileri çalışmalarda etkinlik testlerinin değerlendirilmesi için amaçlanmıştır.

4.3. Seçilen Hidrojel Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. pH Ölçümlerine Ait Bulgular

Yöntem 3.4.1' de anlatıldığı gibi yapılan ölçümler sonucu formülasyonlara ait pH değerleri Tablo 3-2' de verilmiştir.

Tablo 3-2: F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonunun (1.gün ;15. gün ;30 gün) pH değerlerine ait bulgular (5°C ± 2°C)

Gün	Formülasyon Kodu	pH değeri				
		1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ortalama	SD
1.gün	F ₁ A ₅	5,84	5,89	5,93	5,88	0,04
	F ₁ A ₁₀	5,96	5,94	5,94	5,94	0,01
15.gün	F ₁ A ₅	6,42	6,32	6,28	6,34	0,07
	F ₁ A ₁₀	6,29	6,27	6,26	6,27	0,01
30.gün	F ₁ A ₅	6,27	6,27	6,23	6,25	0,02
	F ₁ A ₁₀	6,21	6,18	6,18	6,19	0,01

Tablo 3-3: F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonunun (0.gün ;15. Gün; 30 gün.) pH değerlerine ait bulgular (25°C±2°C) (%60 R.N.)

Gün	Formülasyon Kodu	pH değeri				
		1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ortalama	SD
1.gün	F ₁ A ₅	5,42	5,61	5,60	5,54	0,1
	F ₁ A ₁₀	5,50	5,57	5,64	5,57	0,07
15.gün	F ₁ A ₅	6,48	6,48	6,48	6,48	0
	F ₁ A ₁₀	6,97	6,96	6,95	6,96	0,01
30.gün	F ₁ A ₅	6,12	6,12	6,08	6,10	0,02
	F ₁ A ₁₀	6,69	6,76	6,77	6,74	0,04

4.3.2. Reolojik Özelliğin İncelenmesine Ait Bulgular

Jel durumundaki hidrojellerin reolojik çalışmaları 3.3.2 'de verilen yöntemle gerçekleştirildi. Jel halindeki filmlerin reolojik özellikleri akış eğrisine uyması için Cross ,Herschel-Bulkley ve Casson modeli kullanılarak simüle edildi ve en uygun modelin Cross modeli olduğu tespit edildi (Cuomo ve ark. 2019)

Tablo 3-4: Hidrojel formülasyonlarının Herschel-Bulkley modeline uygun simüle edilen sonuçları

Formülasyonlar	τ_0 Pa	K	n	Chi ²	r
F ₁ A ₅ -1	-35,98	36,29	0,09101	275,3	0,8693
F ₁ A ₅ -2	-83,25	89,61	0,01028	61,35	0,6079
F ₁ A ₅ -3	-23,32	35,7	-0,005011	264,3	0,06971
F ₁ A ₁₀ -1	-313,9	338,6	-0,009428	103,8	0,8847
F ₁ A ₁₀ -2	-190,7	209,9	-0,00996	135,1	0,736
F ₁ A ₁₀ -3	-306,9	329,8	-0,007588	192,8	0,7394

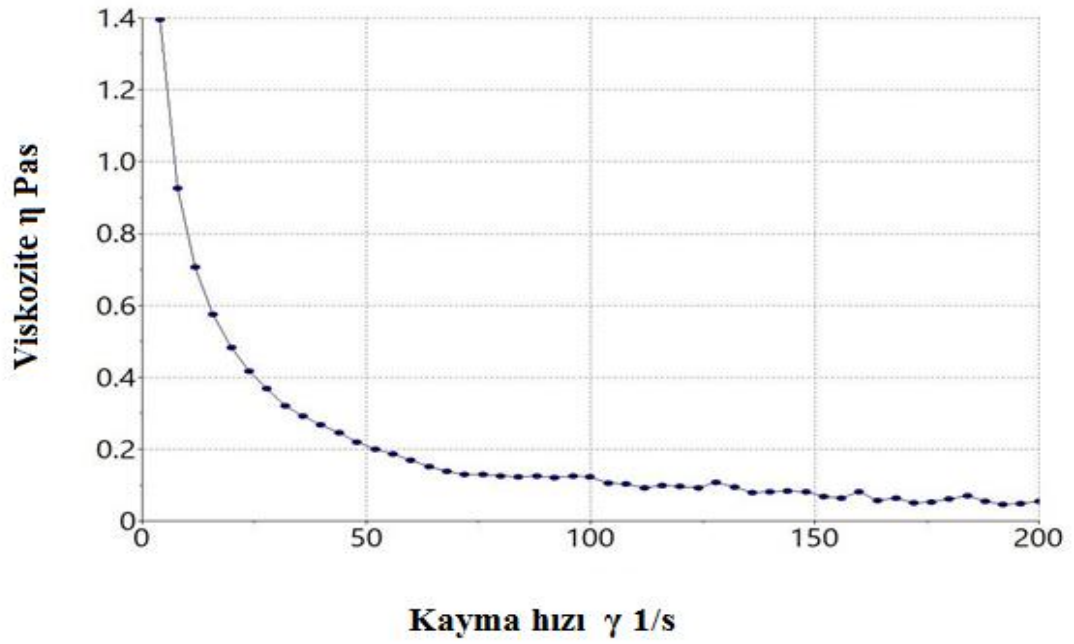
Tablo 3-5: Hidrojel formülasyonlarının Cross modeline uygun simüle edilen sonuçları

Formülasyonlar	η_0 Pas	η_{∞} Pas	$\dot{\gamma}_B$ 1/s	n	Chi ²	r
F ₁ A ₅ -1	0,5935	0,1135	50,22	2,685	217,6	0,8983
F ₁ A ₅ -2	4,908	-0,01995	1,513	0,8603	48,24	0,7101
F ₁ A ₅ -3	0,7694	0,03096	38,79	2,162	45,8	0,9096
F ₁ A ₁₀ -1	5,495	0,003174	6,174	1,44	39,13	0,9582
F ₁ A ₁₀ -2	2,771	0,02485	11,38	1,7	63,38	0,886
F ₁ A ₁₀ -3	2,937	0,01479	11,98	1,584	75,47	0,907

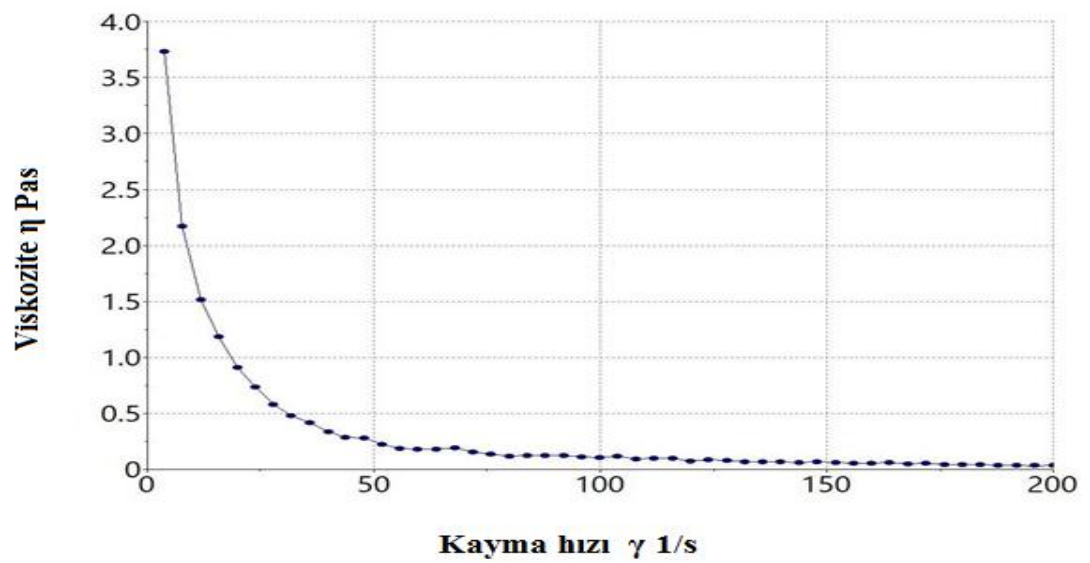
Tablo 3-6: Hidrojel formülasyonların Casson modeline uygun simüle edilen sonuçları

Formülasyonlar	τ_0 Pas	η_c Pas	Chi ²	r
F ₁ A ₅ -1	7,24	0,0254	4,987	0,8543
F ₁ A ₅ -2	8,371	0,001229	1,861	0,5091
F ₁ A ₅ -3	13,08	0,0005621	5,579	0,225
F ₁ A ₁₀ -1	20,36	0,01605	1,424	0,9256
F ₁ A ₁₀ -2	15,98	0,007053	2,937	0,7485
F ₁ A ₁₀ -3	19,66	0,01011	2,72	0,8144

Hidrojel formülasyonlarının jel durumundaki viskozite-kayma hızı grafiği Şekil 3-6 ve Şekil 3-7’ de gösterilmiştir. Hidrojellerin viskozitesi, kayma oranının artmasıyla kademeli olarak azalır, bu da kayma ile incelen (shear thinning) özelliklere sahip psedöplastik akış gösteren sistemlere uygundur.



Şekil 3-6: F₁A₅ hidrojelinin viskozite–kayma hızı grafiği

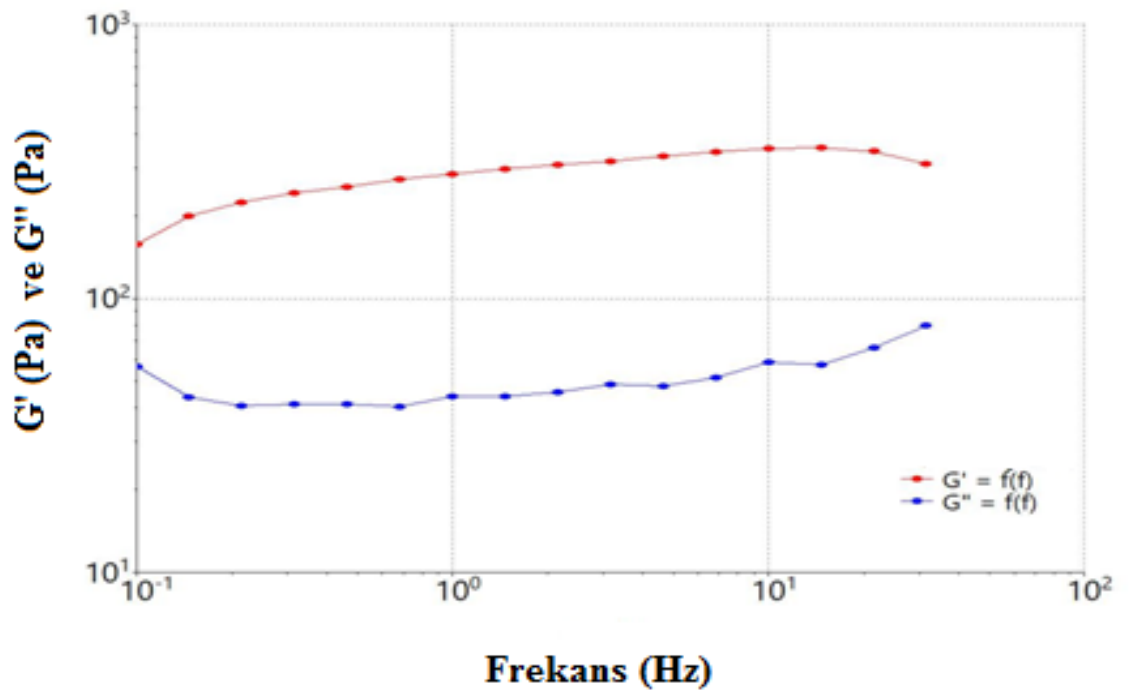


Şekil 3-7: F₁A₁₀ hidrojelinin viskozite–kayma hızı grafiği

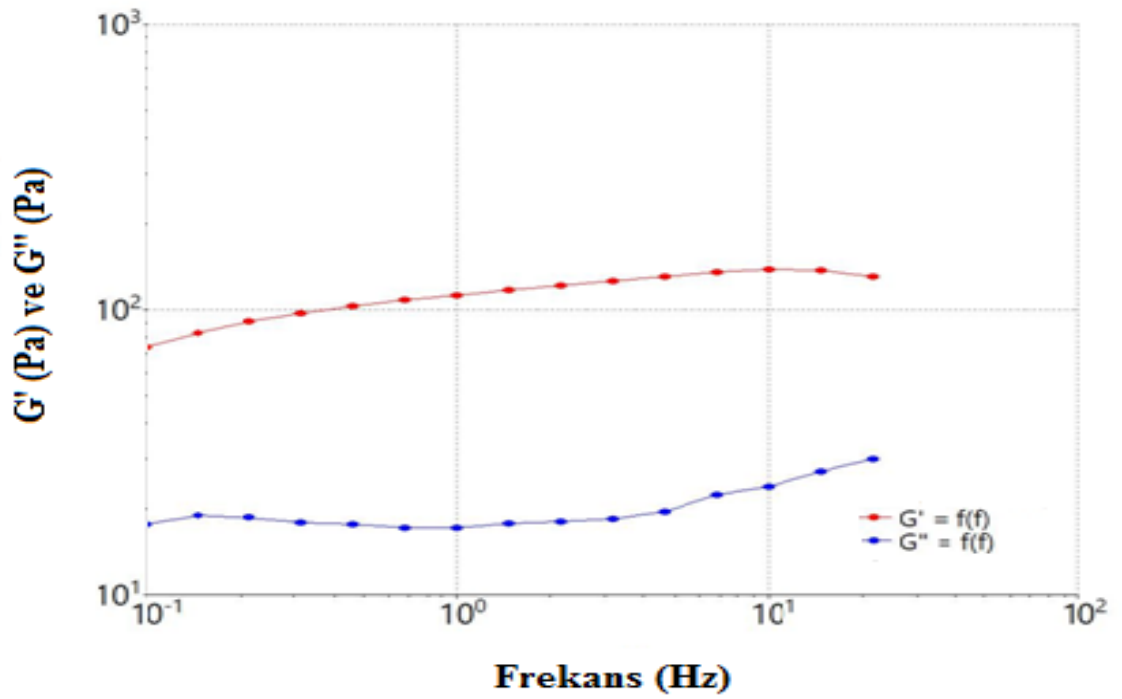
Doğrusal viskoelastik bölgedeki dinamik akış davranışı açısal frekansın bir fonksiyonu olarak jelleşmiş hidrojel formülasyonlarının elastik modülü (G') ve viskoz modül (G'') ile birlikte araştırıldı. Tablo , G' ve G'' 'nın açısal frekansla pozitif ilişkili olduğunu ve G' değerlerinin G'' 'den daha yüksek olduğunu gösterdi.

Tablo 3-7: Hidrojel formülasyonların osilasyon değerleri

Formülasyon Kodu	ÖLÇÜM	τ in Pa	T in °C	G' in Pa	G'' in Pa	T
						$\tan(\delta)$ in -
F1A5	1.ölçüm	0,100600	24,99999	296,1114	44,47291	0,150275
	2.ölçüm	0,100267	24,99999	294,0432	48,56474	0,158256
	3.ölçüm	0,100027	24,99999	298,0629	46,0079	0,154644
F1A10	1.ölçüm	0,146265	24,99999	134,6511	21,97696	0,162992
	2.ölçüm	0,100026	24,99999	141,3116	27,85262	0,198441
	3.ölçüm	0,148204	24,99999	134,3860	26,49012	0,197158



Şekil 3-8: F1A5 hidrojel formülasyonunun G' ve G'' değerlerinin açısal frekans ile değişimi



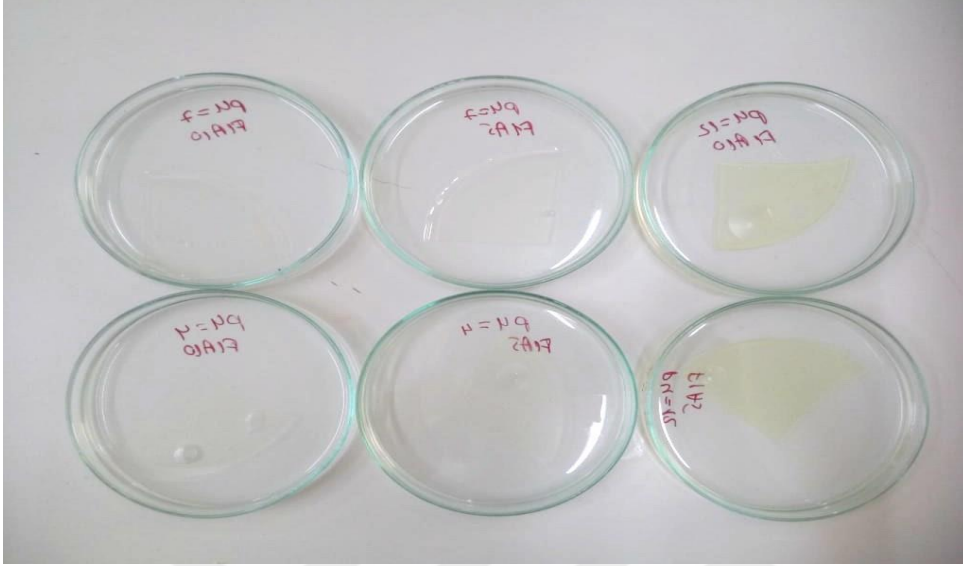
Şekil 3-9: F₁A₁₀ hidrojel formülasyonunun G' ve G'' değerlerinin açısal frekans ile değişimi

4.3.3. Şişme Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular

Formülasyonların şişme oranı (%) tayini testleri 3' er kez tekrarlandı. Asidik (pH 1,2), nötr (pH 7) ve alkalın (pH 12) ortamlardaki sonuçlarda , iyonik kimyasal potansiyel farkı şişme işlemi kontrol ettiği için işlemin başlanğıcında şişme oranının yüksek olduğu belirlendi . İç ve dış iyonlar dengeye ulaştığında ,iyonik kimyasal potansiyel farkından daha az olan polimer ve çözücü arasındaki etkileşimler işleme hakim oldu ve sonuç olarak şişme oranı azaldı.

Asidik ortamda (pH 1,2) hidrojeller yaklaşık 0,5-1 saat içinde dengeye ulaştı ve sonra parçalanma başladı. Nötr ortamdaki hidrojeller, asidik ve alkali ortama kıyasla daha kararlı olduğunu gösterdi. Nötr ortamda, 6 saat boyunca hidrojel ağırlığında herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi. Hidrojeller 6 saat sonra dengeye ulaştı, ancak yeniden şişmeye bırakıldığında önceki ağırlıkları geri kazanılamadı. Alkalın ortamın, nötr ortama kıyasla şişme oranının az farkla daha düşük oranda olduğu tespit edildi.

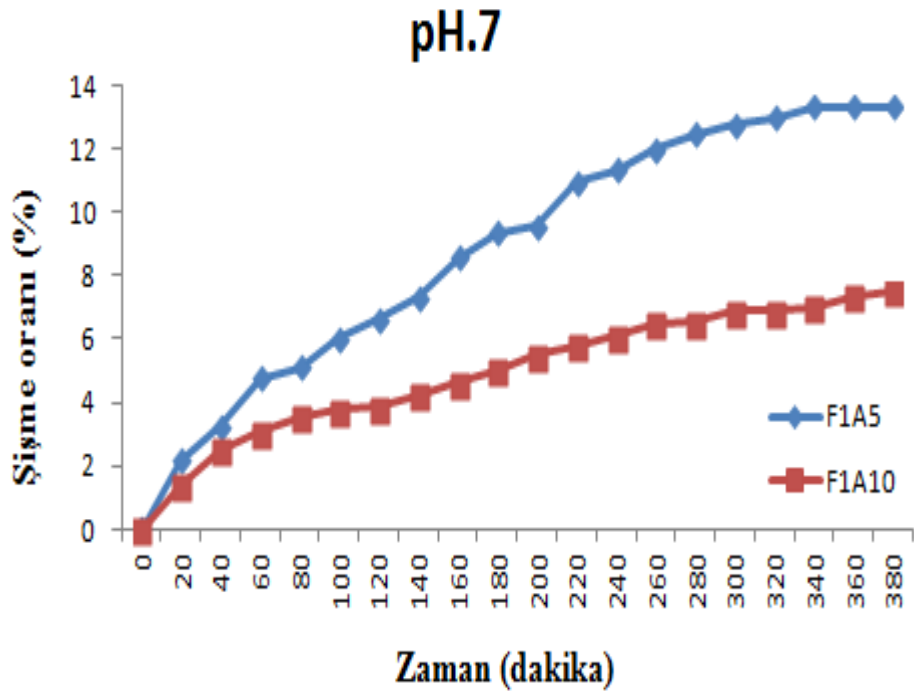
Hidrojellerin difüzyon katsayısı hesaplanarak, anormal (Fick olmayan $n > 0,5$) difüzyon mekanizmasına uygun olduğu tespit edildi.



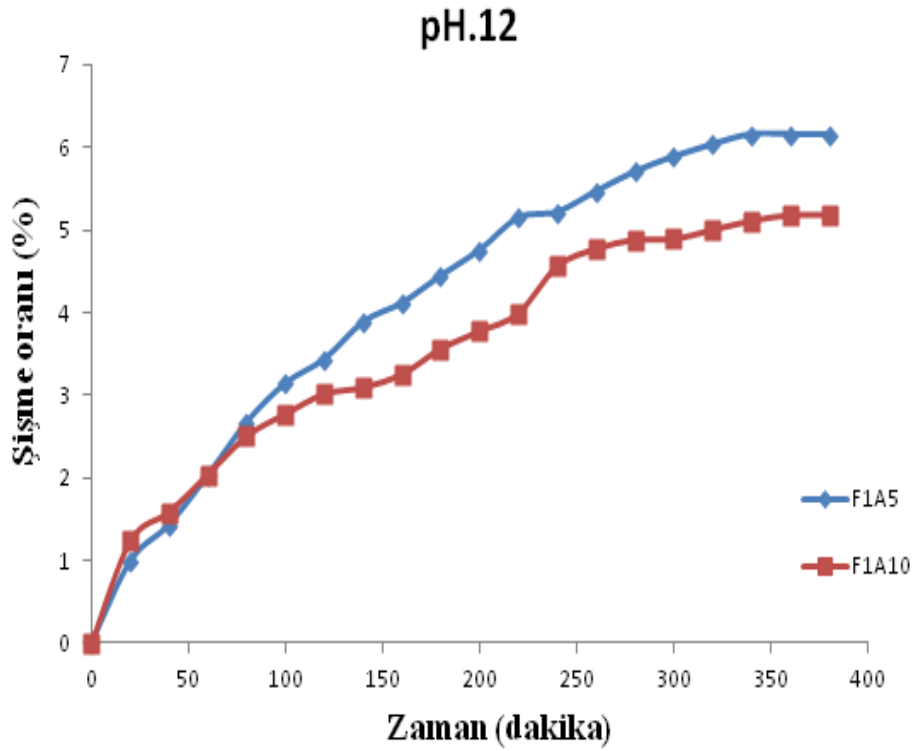
Şekil 3-10: Farklı pH(1,2 ,7,12) çözeltilerine daldırılmış hidrojel formülasyonları



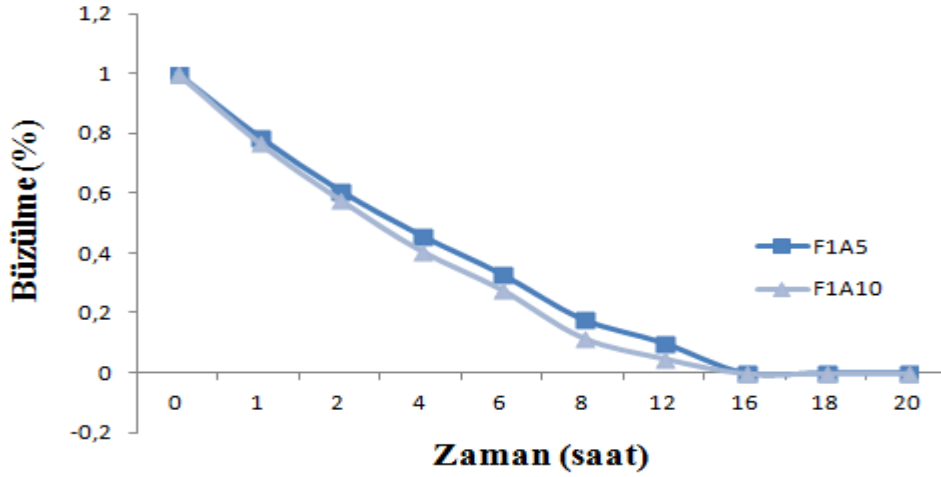
Şekil 4-1: pH7 çözeltisinde dengeye ulaşmış hidrojel



Şekil 4-2: pH 7 tampon çözeltisinde oda sıcaklığında farklı Asetilhekzaeptit-8 konsantrasyonlarına sahip hidrojelilerin şişme davranışı



Şekil 4-3: pH 12 tampon çözeltisinde oda sıcaklığında farklı Asetilhekzapeptit-8 konsantrasyonlarına sahip hidrojellerin şişme davranışı



Şekil 4-4: 37°C –de farklı Asetilhekzapeptit-8 konsantrasyonlarına sahip hidrojellerin büzülme davranışı

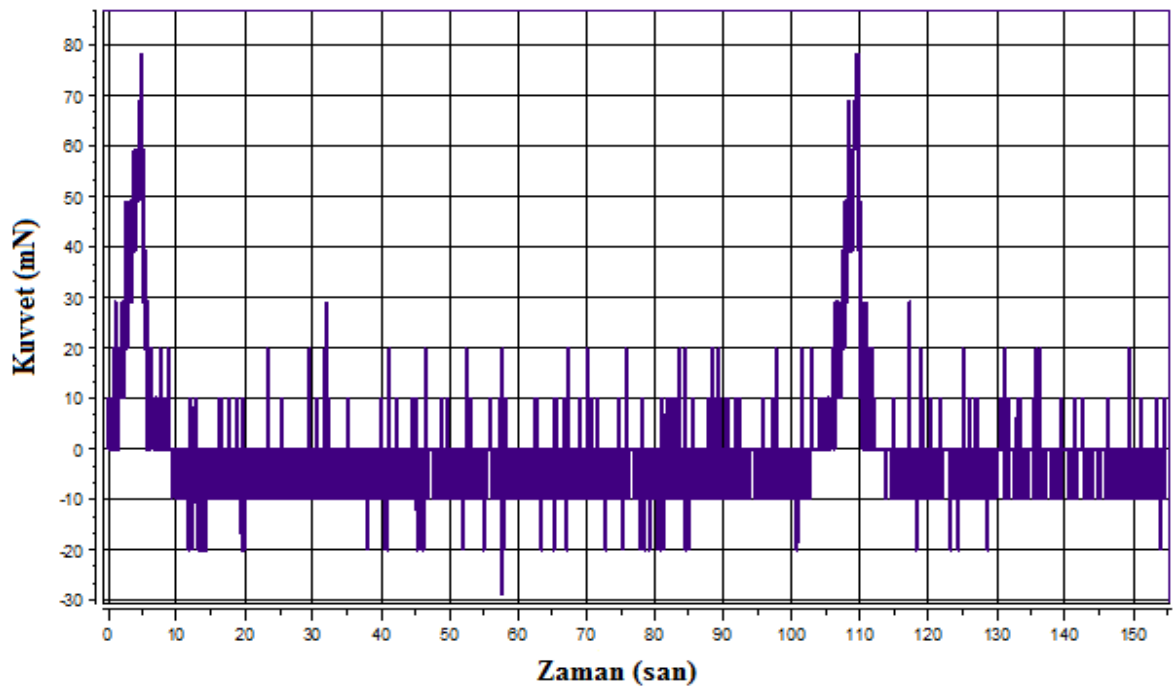
4.3.4. Hidrojellerin Mekanik Özelliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

Yöntem 3.4.4’ de belirtilen metodla hidrojel­lerin jel durumundaki mekanik özellikleri tayin edilmiştir. Formülasyonların oda sıcaklığındaki (25°C±2°C) mekanik özellikleri, Brookfield doku analiz cihazı kullanılarak saptanmıştır. Sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik ve koheziflik gibi mekanik özellikler formülasyonların elde edilen kuvvet-zaman eğrileri sonuçlarına göre belirlenmiştir.

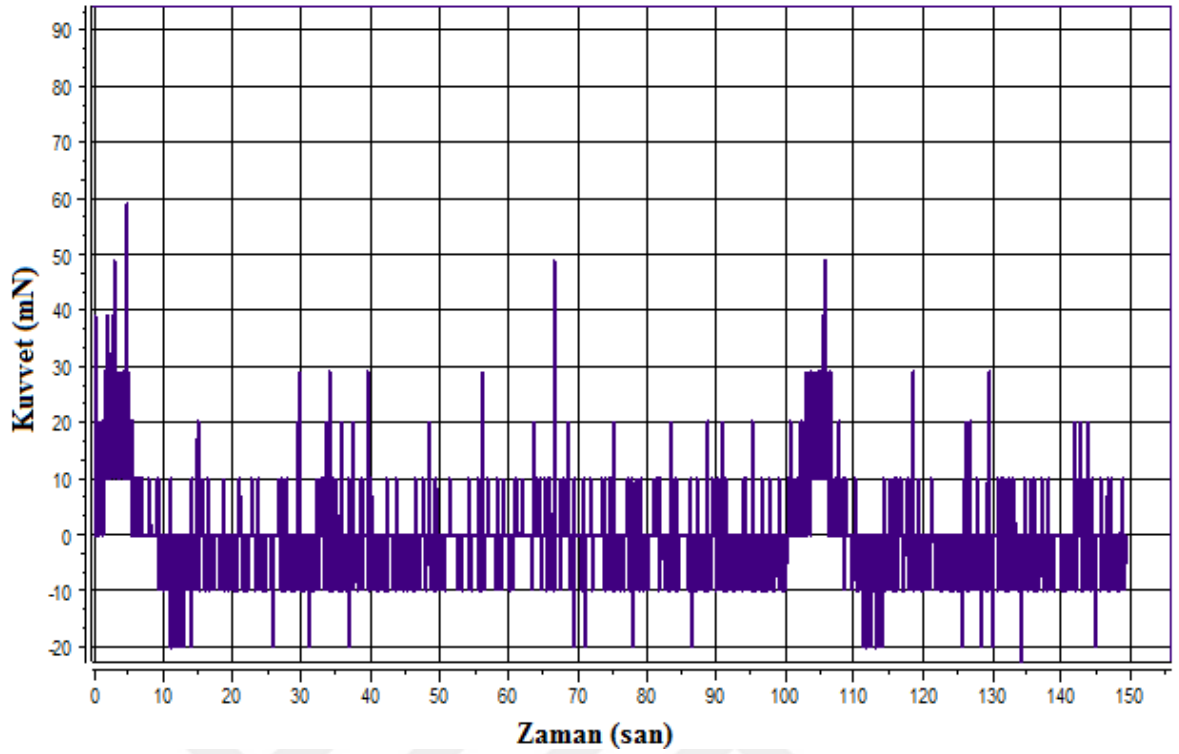
Tablo 3-8: F1A5 ve F1A10 hidrojel formülasyonlarının (25°C±2°C)-deki mekanik özelliklerine ait bulgular

Formülasyon kodu	Ölçüm	Sertlik (mN)	Sıkıştırılabilirlik (mJ)	Adeziflik (mJ)	Koheziflik
F1A5	1.	59,00	0,30	0,10	1,85
	2.	49,00	0,10	0,20	0,71
	3.	78,00	0,30	0,10	0,61
	4.	78,00	0,30	0,20	0,61

	5.	108,00	0,40	0,20	0,53
	1.	78,00	0,30	0,80	2,45
	2.	127,00	0,50	0,10	0,83
F₁A₁₀	3.	127,00	0,60	0,20	0,83
	4.	88,00	0,30	0,10	0,74
	5.	59,00	0,30	0,20	0,73



Şekil 4-5: F₁A₅ hidrojel formülasyonunun sertlik,adeziflik ve kohezifliğine ait kuvvet-zaman grafiği



Şekil 4-6: F₁A₁₀ hidrojel formülasyonunun sertlik, adezivlik ve kohezifliğine ait kuvvet-zaman grafiği

4.3.5. Hidrojellerin Biyoadheziv Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular

3.4.5’ de verilen yöntemle göre tayin edilen hidrojellerin biyoadheziv özellikleri Tablo3-9’da gösterilmiştir.

Tablo 3-9: Hidrojel formülasyonlarının biyoadhezyon göstercileri

Formülasyonlar	Biyoadhezyon işi		
	1.Ölçüm	2.Ölçüm	3.Ölçüm
F ₁ A ₅	0,76	0,82	0,74
F ₁ A ₁₀	0,98	0,92	0,88

4.3.6. Hidrojel Film Kalınlığının Ölçülmesine Ait Bulgular

Hidrojel filmlerinin kalınlığı 3.4.6’ da gösterilen metodla dijital mikrometreyle ölçüldü. Gerilme özelliklerinin tayininde bu parametreler kullanıldı.

Tablo 3-10: Gerilme özelliklerinin tayininde kullanılan hidrojel maskelerin kalınlıkları

Hidrojel film	Kalınlık (mm)	Uzunluk (mm)	Genişlik (mm)
F ₁	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₂	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₃	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₄	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₅	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₆	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₇	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₈	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₉	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02
F ₁₀	0,6±0,01	8,0±0,2	1,5±0,02

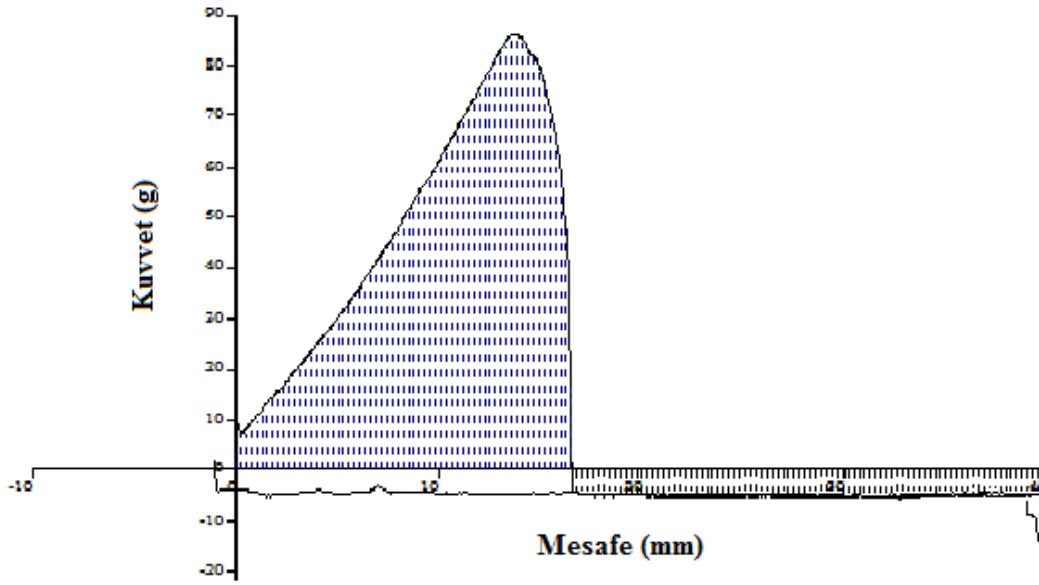
4.3.7. Hidrojel Filmlerin Gerilme Özelliklerine Ait Bulgular

Hidrojel formülasyonlarının gerilme özellikleri 3.4.7’ de verilen yöntemle göre yapılmıştır. Tablo 3-10’ da hidrojel formülasyonlarının gerilme özellikleri gösterilmiştir.

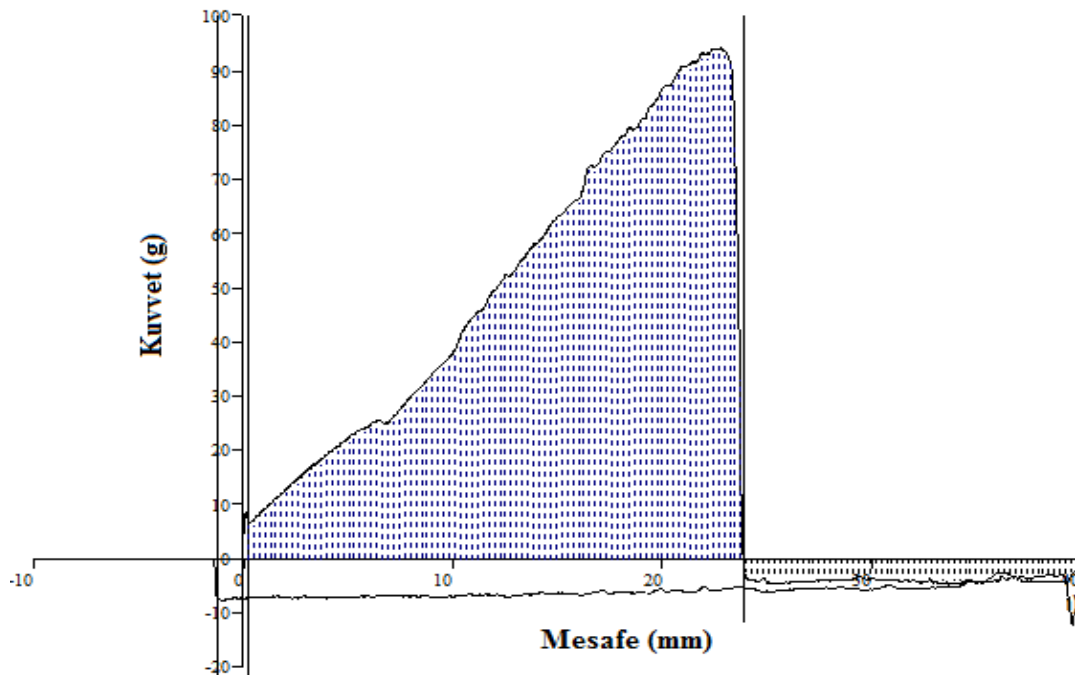
Tablo 4-1: Hidrojel formülasyonlarının gerilme özellikleri

Formülasyonlar	Kalınlık (mm)	Gerilme mukavemeti (MPa)	Kopma uzaması (%)
F ₁	0,6±0,01	0,94±0,03	20,00±2,12
F ₂	0,6±0,01	1,02±0,06	30,00±2,54
F ₃	0,6±0,01	1,64±0,04	22,50±2,03
F ₄	0,6±0,01	2,52±0,04	40,00±1,21
F ₅	0,6±0,01	3,21±0,05	36,25±2,20
F ₆	0,6±0,01	0,92±0,02	17,50±1,58

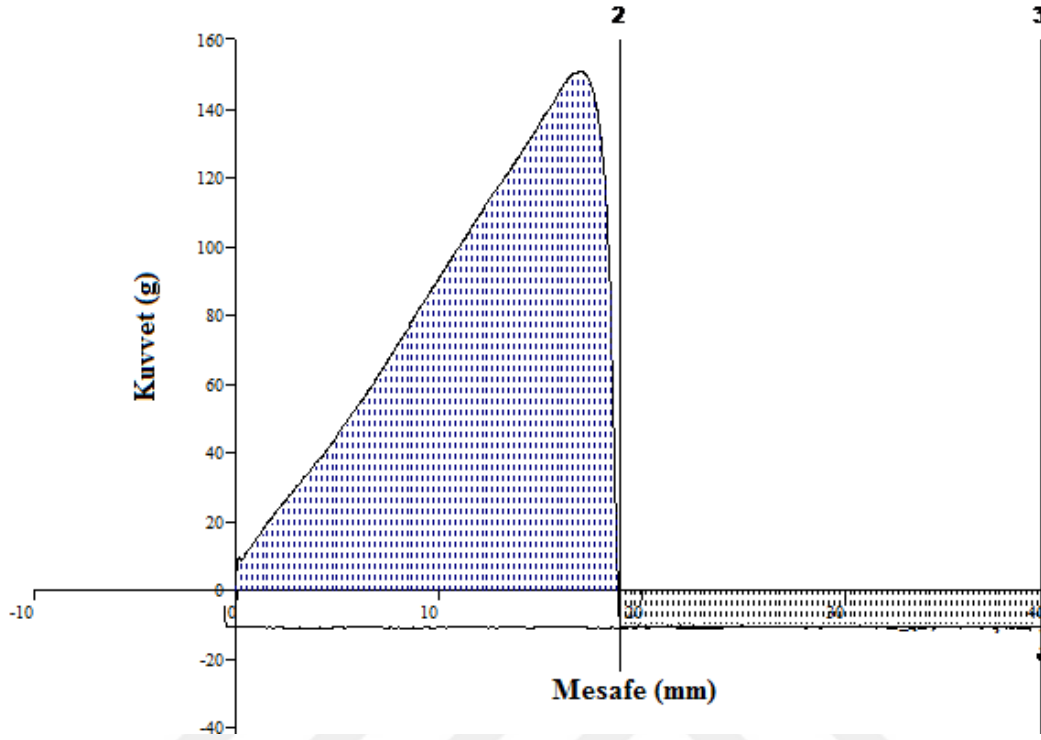
F ₇	0,6±0,01	1,35±0,06	21,25±2,00
F ₈	0,6±0,01	1,83±0,04	32,50±2,44
F ₉	0,6±0,01	2,04±0,08	25,00±2,24
F ₁₀	0,6±0,01	2,51±0,02	21,25±2,00



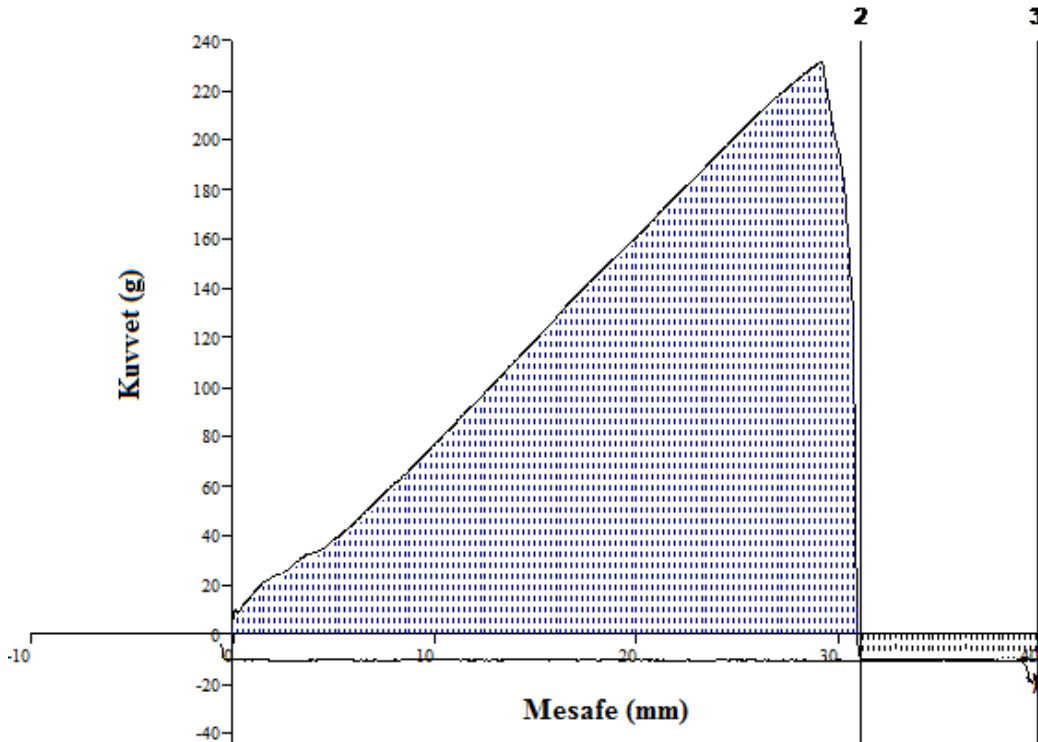
Şekil 4-7: F₁ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



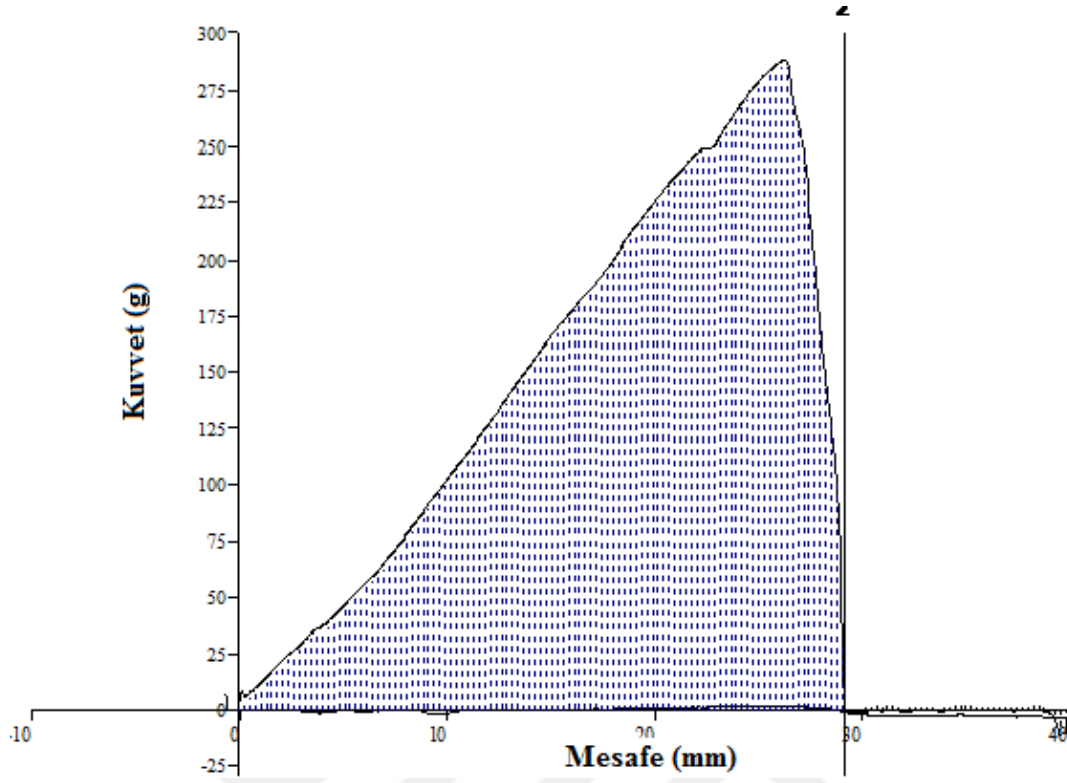
Şekil 4-8: F₂ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



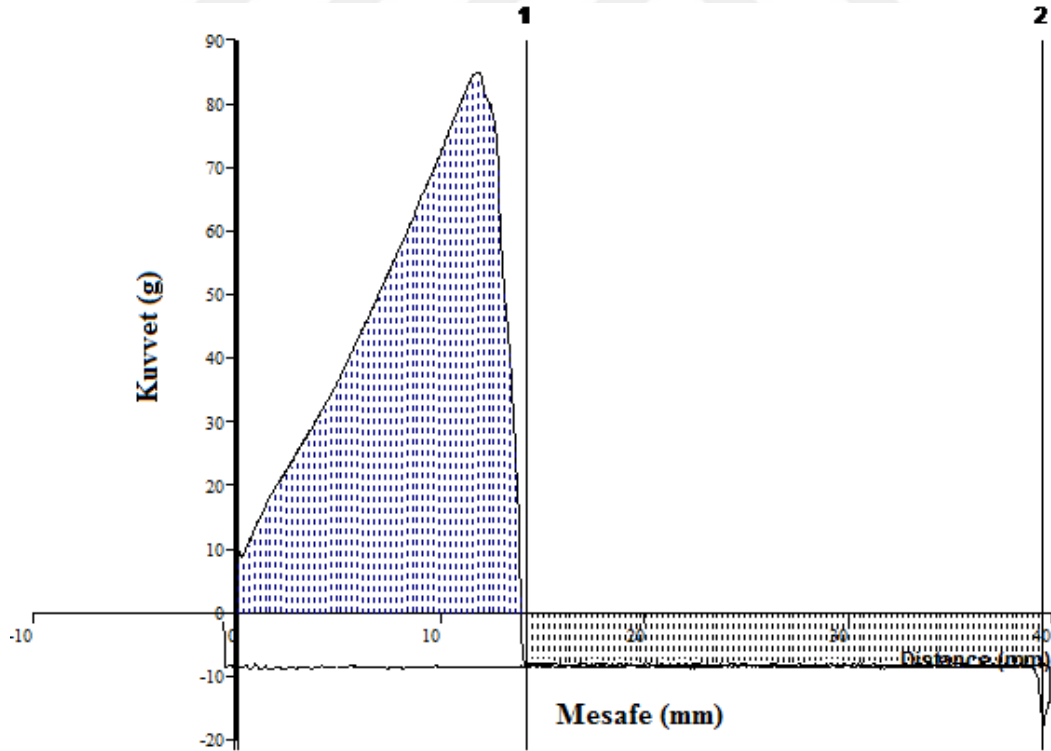
Şekil 4-9: F₃ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



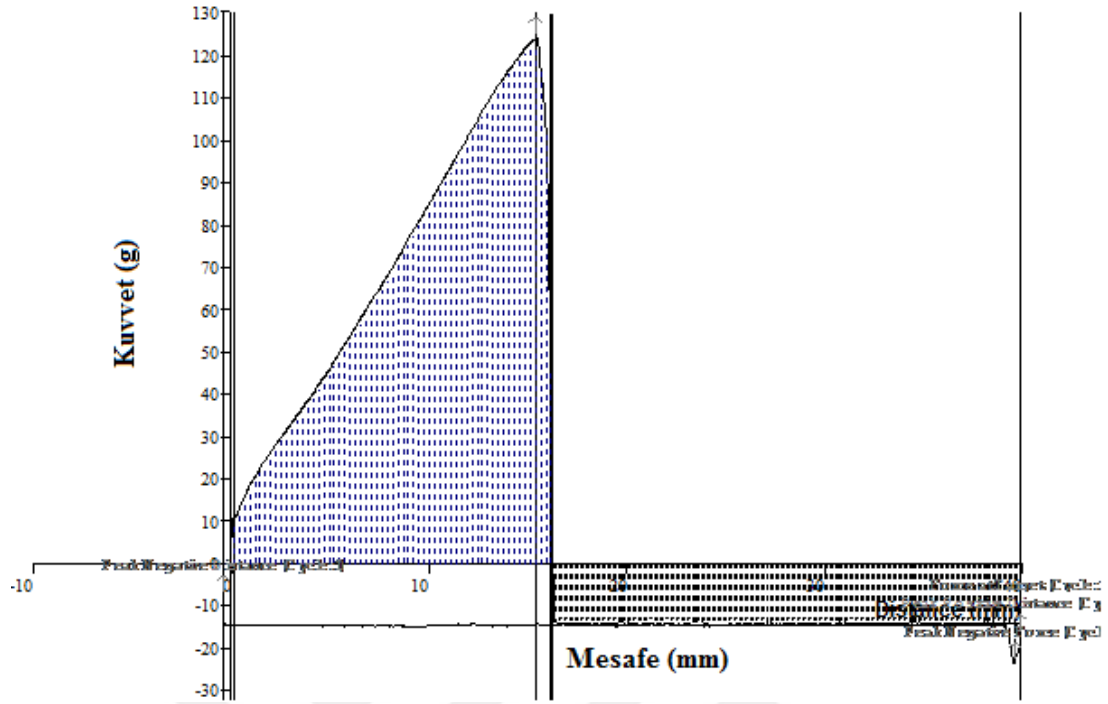
Şekil 4-10: F₄ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



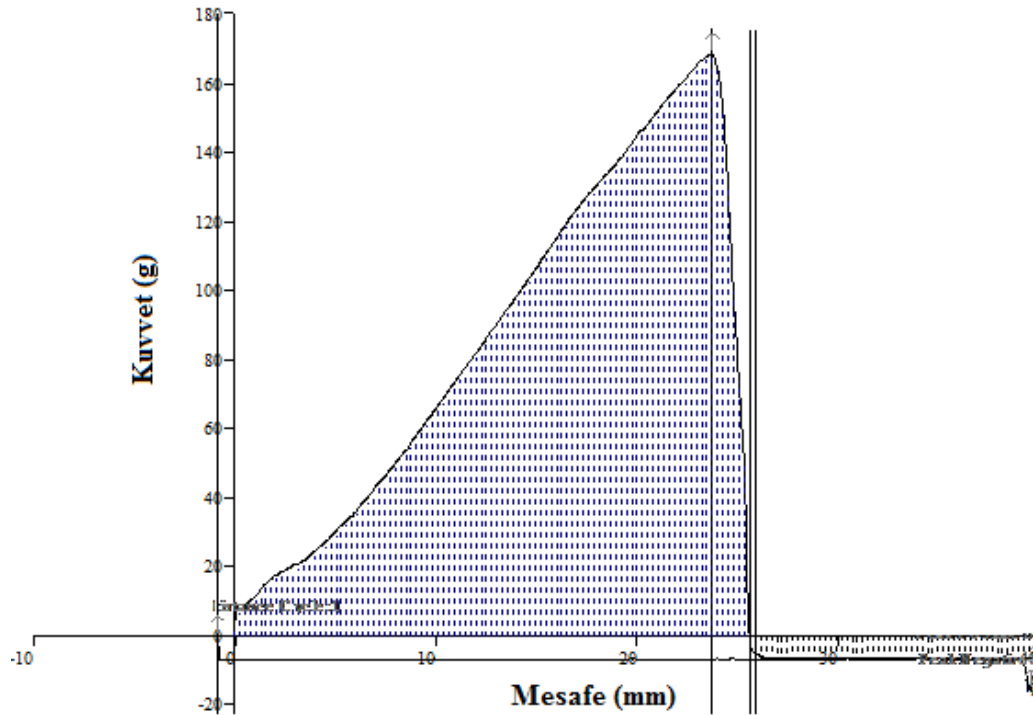
Şekil 4-11: F₅ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



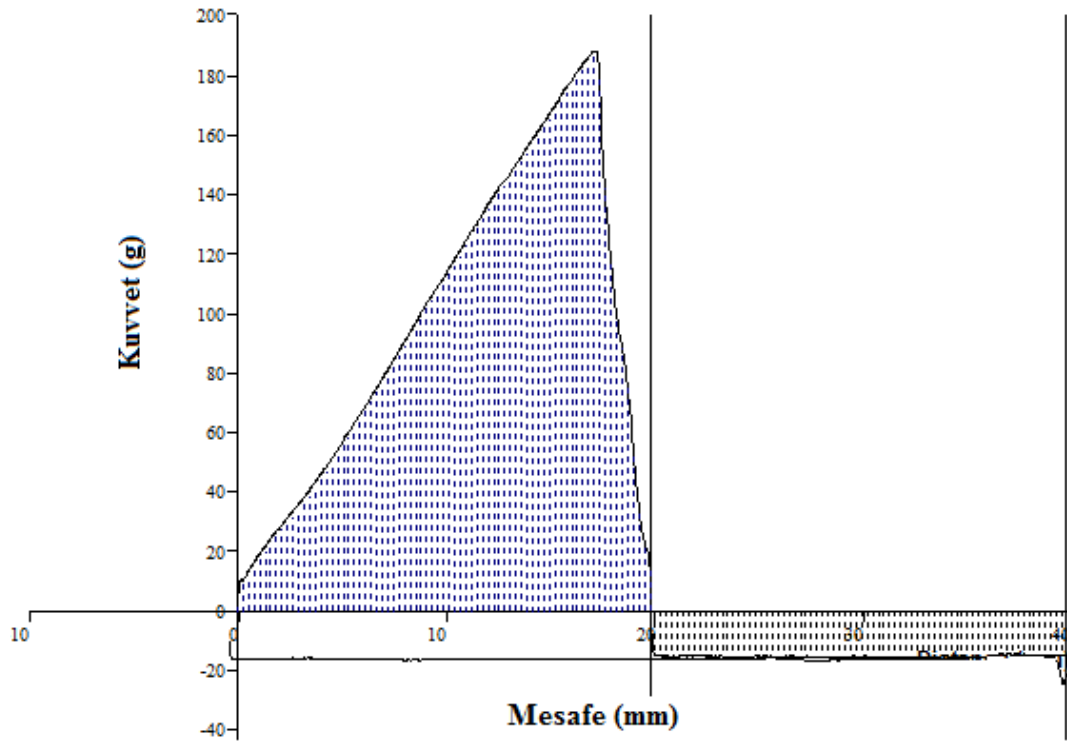
Şekil 4-12: F₆ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



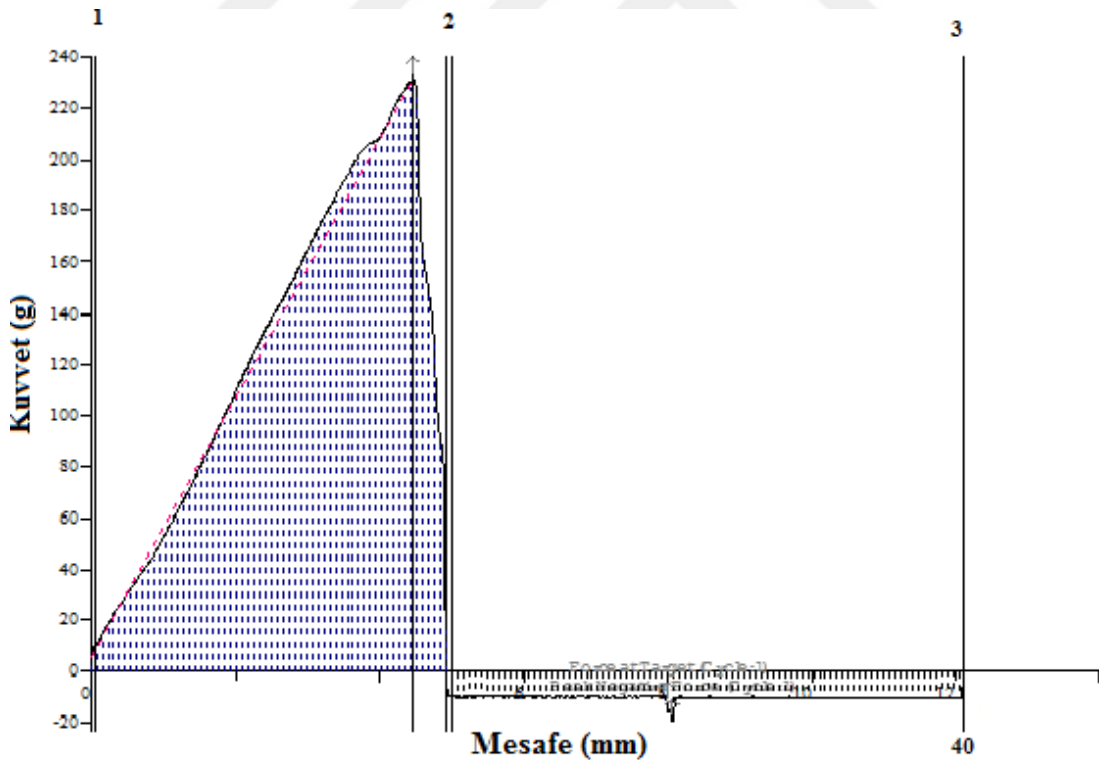
Şekil 4-13: F₇ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



Şekil 4-14: F₈ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



Şekil 4-15: F₉ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği



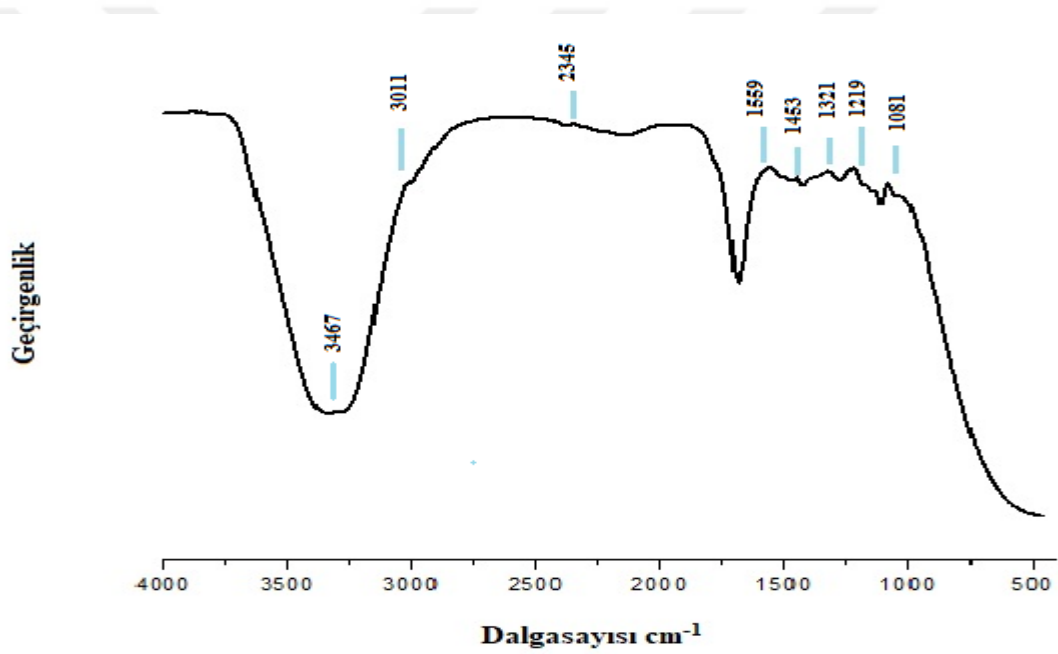
Şekil 4-16: F₁₀ hidrojel filminin gerilme özelliklerine ait kuvvet-mesafe grafiği

Gerilme özelliklerinin tayini testlerinin sonucu olarak, Tablo 2-6' da gösterilen formülasyonlardan F₄ ve F₅ formülasyonları daha dayanıklı hidrojel filmler olarak seçilmiştir. F₄ hidrojel formülasyonunun hazırlanmasında kullanılan polimer karışımının

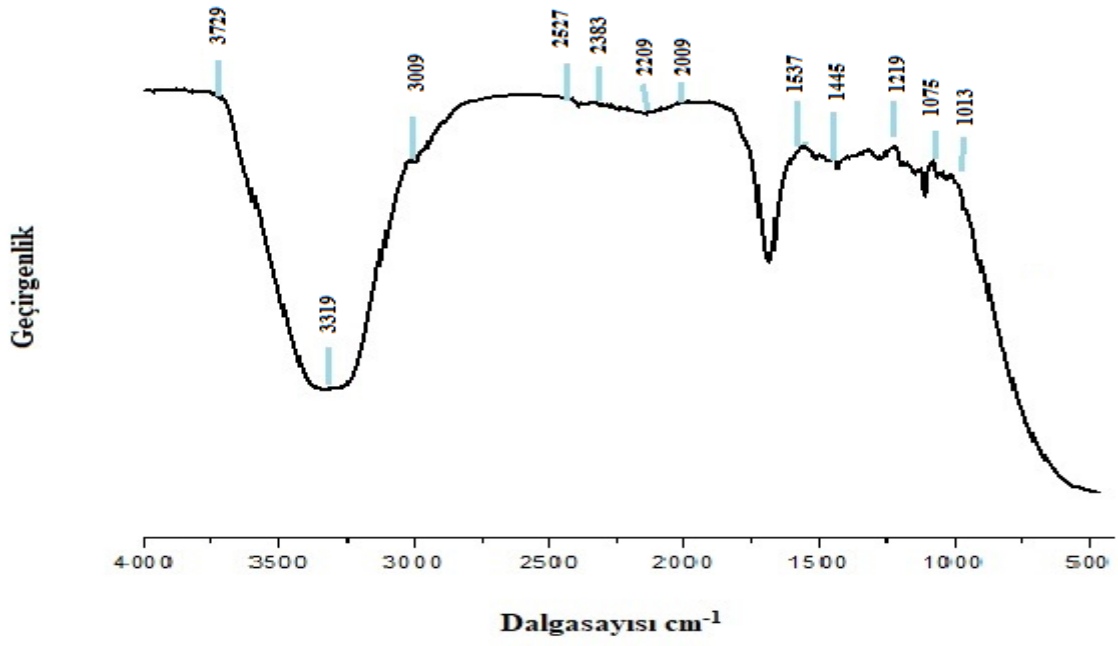
sıcaklığı F₅'e göre daha düşük sıcaklığa kadar indirilmiştir ki, bu da Asetilhekzapeptit-8 çözeltisinin ilave edilmesi için istenilen ortamı oluşturmuştur. Bu nedenle, farklı konsantrasyonda da % 0,05-lik Asetilhekzapeptit-8 çözeltisi F₄ formülasyonuna ilave edilerek, yaşlanma karşıtı etki etmesi beklenen hidrojel maske formülasyonları geliştirilmiştir.

4.3.8. Hidrojel Formülasyonlarının ve Polimerlerinin Infrared (IR) Spektrumunun İncelenmesine Ait Bulgular

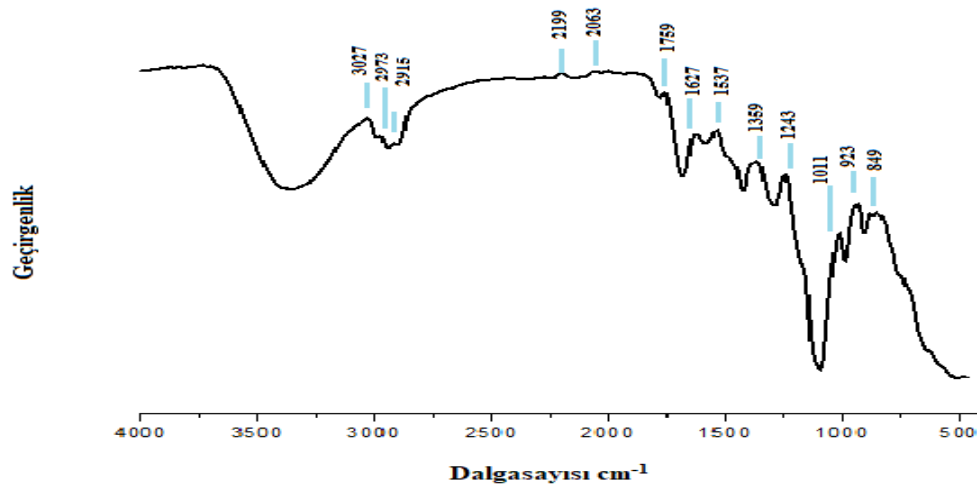
3.4.8'de verilen yöntemle hidrojel formülasyonlarının ve polimerlerinin Infrared (IR) spektrumu alınmıştır.



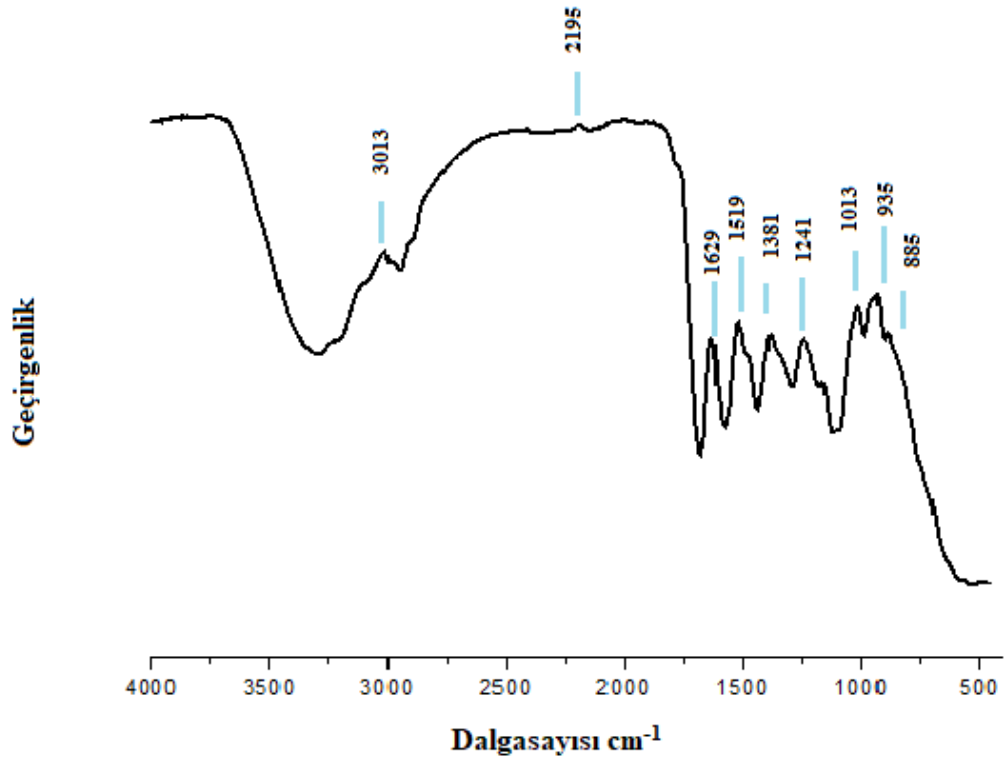
Şekil 5-1: F₁A₅ hidrojel formülasyonunun IR spektrumu



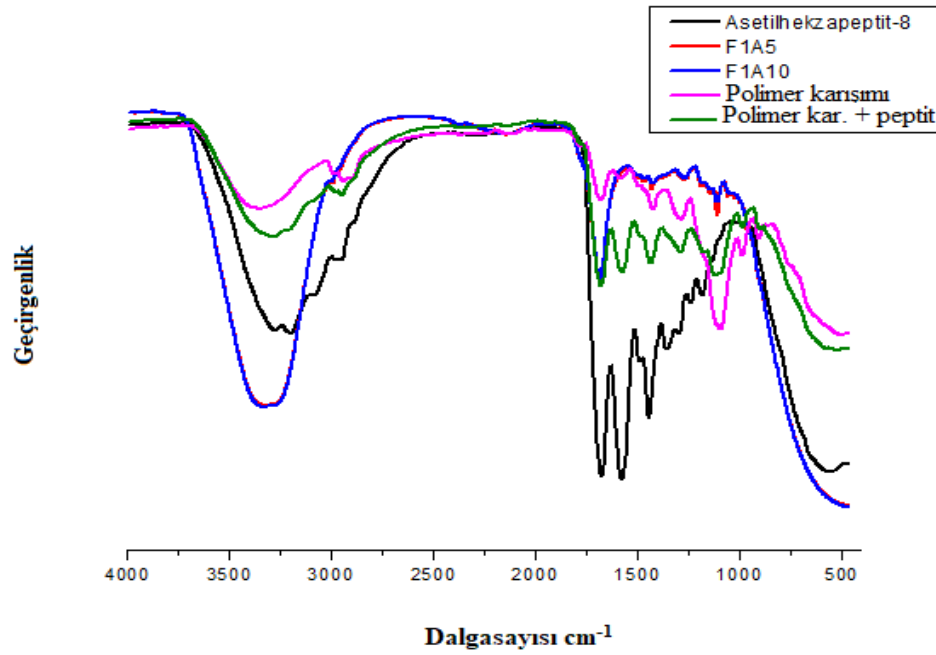
Şekil 5-2: F₁A₁₀ hidrojel formülasyonunun IR spektrumu



Şekil 5-3: Hidrojel formülasyonlarında kullanılan polimer fiziksel karışımının IR spektrumu



Şekil 5-5: Hidrojel formülasyonlarında kullanılan peptit-polimer fiziksel karışımının IR spektrumu



Şekil 5-6: Hidrojel bileşikleri ve formülasyonlarının karşılaştırılmalı IR spektrumları

4.3.9. Hidrojel Formülasyonlarının Stabilitésinin İncelenmesine Ait Bulgular

Hızlandırılmış stabilite çalışmalarında hidrojel formülasyonlarının pH, etken madde içeriği ve organoleptik göstericileri değerlendirildi. Buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) ve oda sıcaklığında ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) (%60 R.N.) saklanan hidrojel formülasyonların pH göstericileri Tablo 4-1' de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonların pH değerlerine ait hızlandırılmış stabilite çalışması

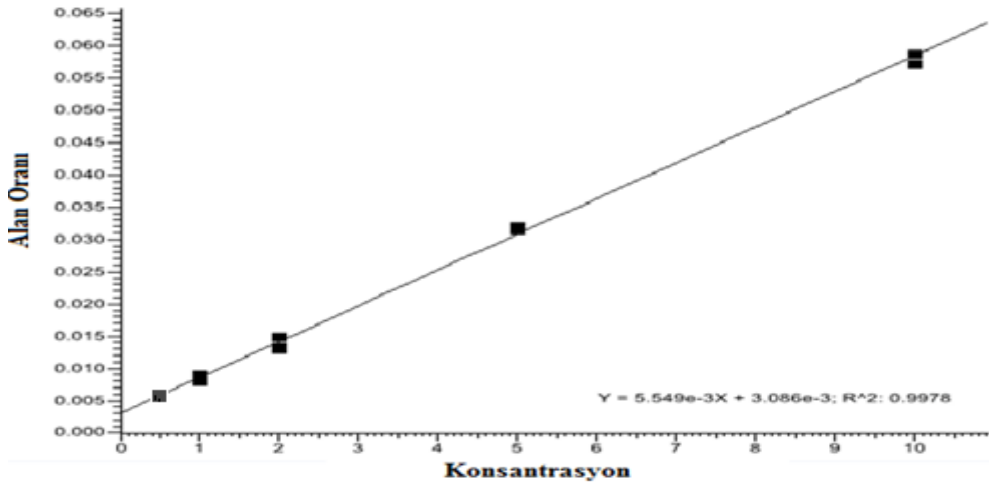
Formülasyon Kodu	pH değeri					
	(5°C ± 2°C)			(25°C±2°C) (%60 R.N.)		
	0.gün	15.gün	30.gün	0.gün	15.gün	30.gün
F ₁ A ₅	5,88	6,34	6,25	5,54	6,48	6,10
F ₁ A ₁₀	5,94	6,27	6,19	5,57	6,96	6,74

Farklı koşullarda alüminyum ambalajlarda saklanan hidrojel formülasyonlarının organoleptik göstericilerinde değişiklik olmamıştır.

4.3.9.1. Hidrojel Formülasyonlarında Asetilhekzapeptit-8'in Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresiyle (UPLC-HRMS) İle Miktar Tayinine Ait Bulgular

3.4.9.1' verilen yöntemle hidrojel formülasyonlarında Asetilhekzapeptit-8' in miktar tayini yapıldı ve Şekil 5-7'de gösterilen kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

Asetilhekzapeptit-8'in kalibrasyon eğrisi için elde edilen denklem, bir korelasyon katsayısı $R^2 = 0,9978$ olan $y = 5,454e^3x + 3,302e^{-3}$ -dir.



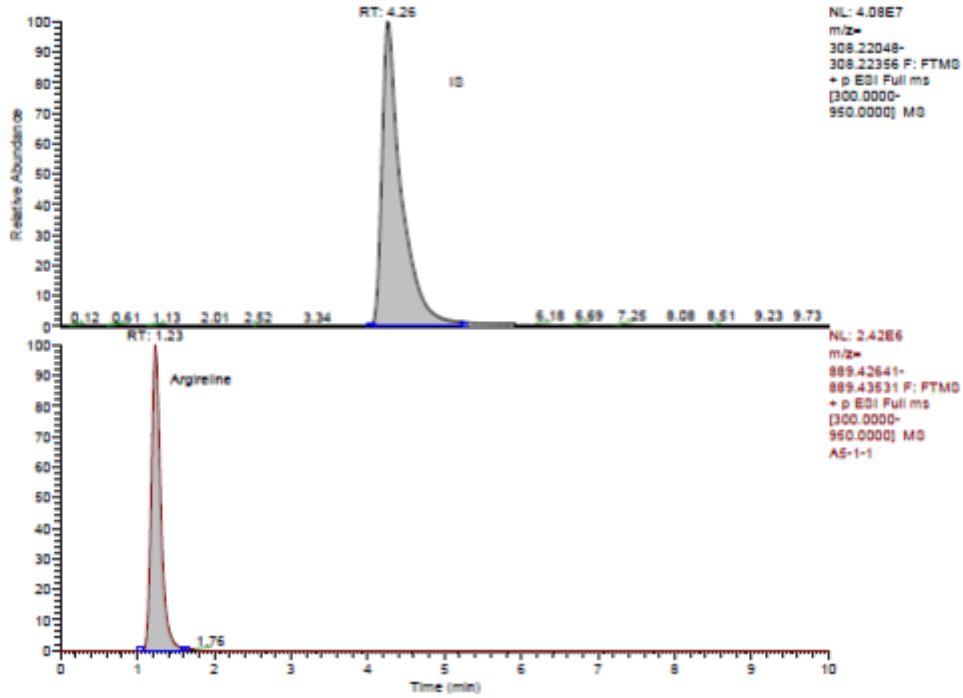
Şekil 5-7: Asetilhekzapeptit-8 standardının kalibrasyon eğrisi

Tablo 4-3: Asetilhekzapeptit-8 standartının kalibrasyon eğrisi verileri

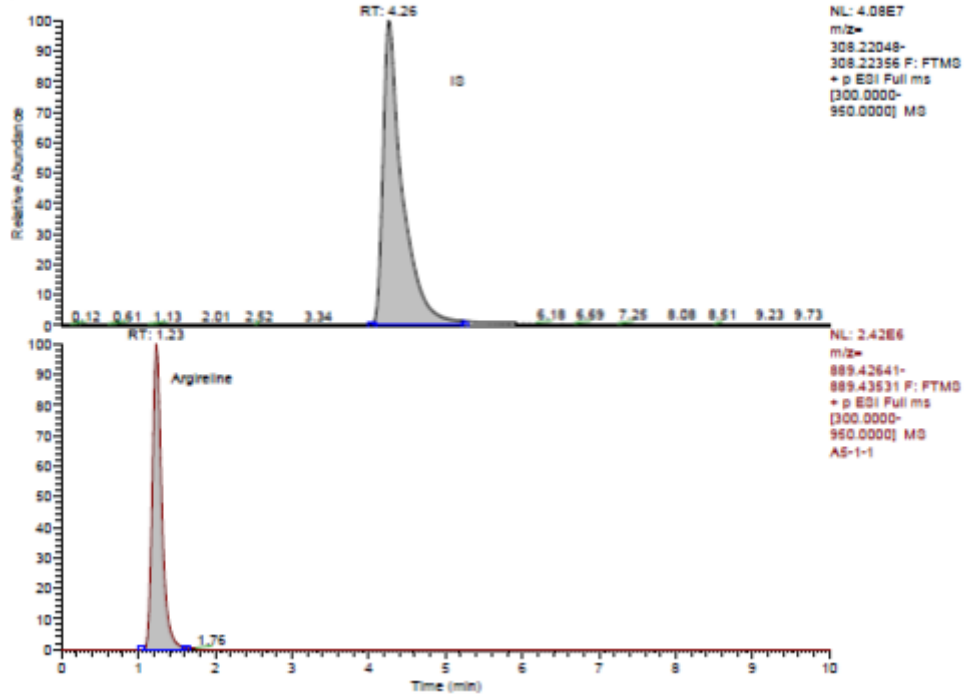
LC-HRMS	Asetilhekzapeptit-8
Lineer Regresyon Denklemi	$y = 5,454e^3x + 3,302e^{-3}$
Korelasyon Katsayısı (r^2)	0,9978
Kalibrasyon Aralığı (µg/mL)	0,5-10
İyonizasyon Modu	Pozitif

Tablo 4-4: Hidrojel nümunelerinde 1. gün , 15. gün ve 30. gün UPLC-HRMS ile tayin edilen Asetilhekzapeptit-8 miktarları (mg/l)

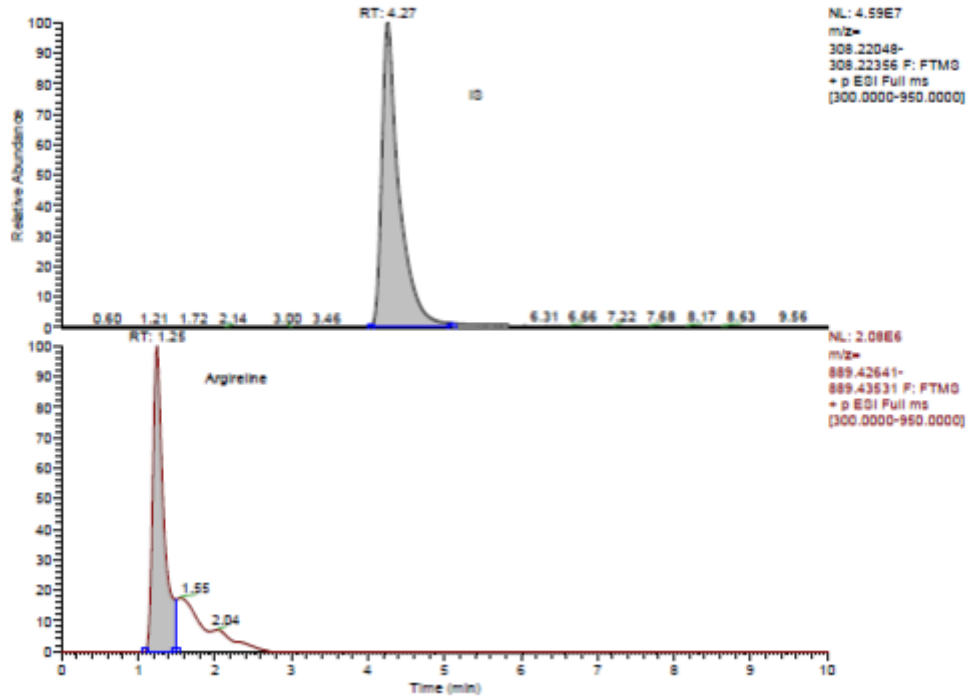
Formülasyon	lm	İlave edilen Asetilhekzapeptit-8 miktarı (mg/l)	Bulunan Asetilhekzapeptit-8 U miktarı (mg/l) (k=2) (n=3)
F ₁ A ₅	1.gün	5,00	5,05
	15.gün	5,00	4,84
	30.gün	5,00	4,18
F ₁ A ₁₀	1.gün	10,00	9,89
	15.gün	10,00	9,66
	30.gün	10,00	9,65



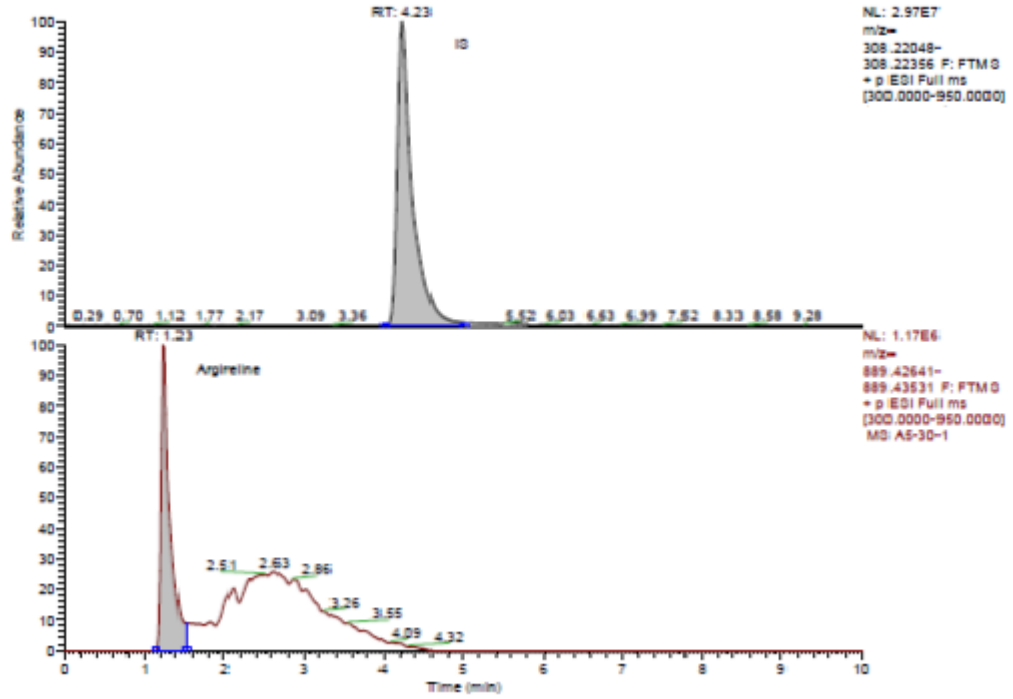
Şekil 5-8: F₁A₅ hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (1.gn)



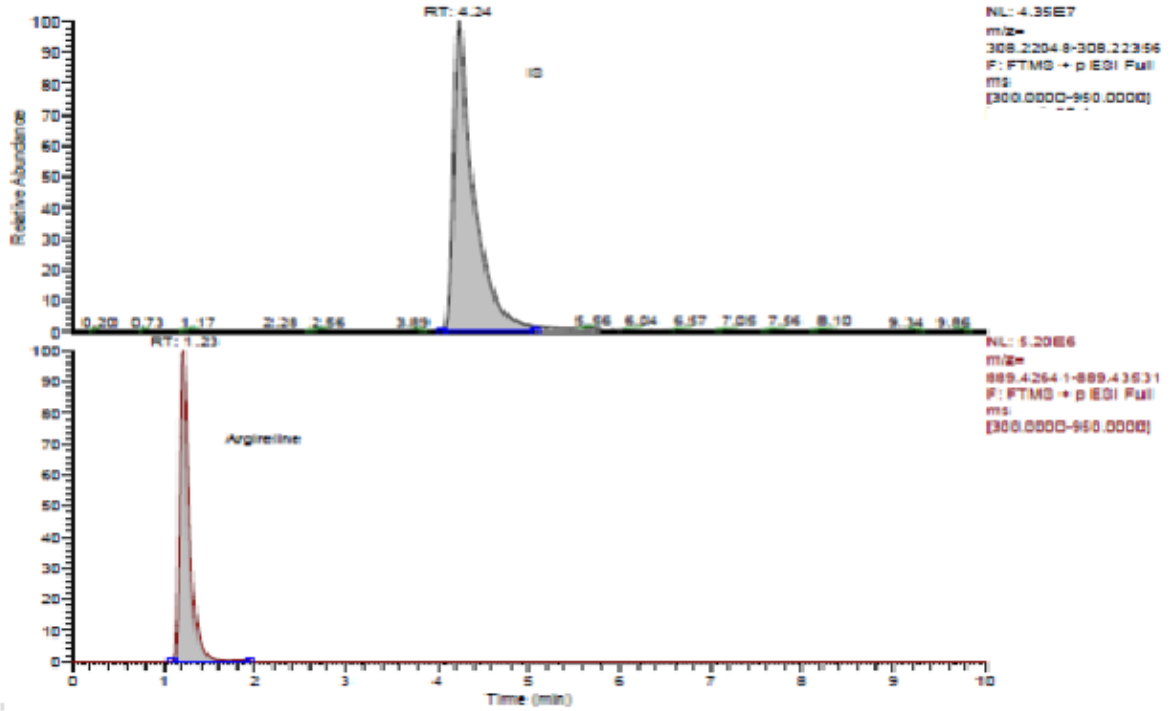
Şekil 5-9: F₁A₅ hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (15.gün)



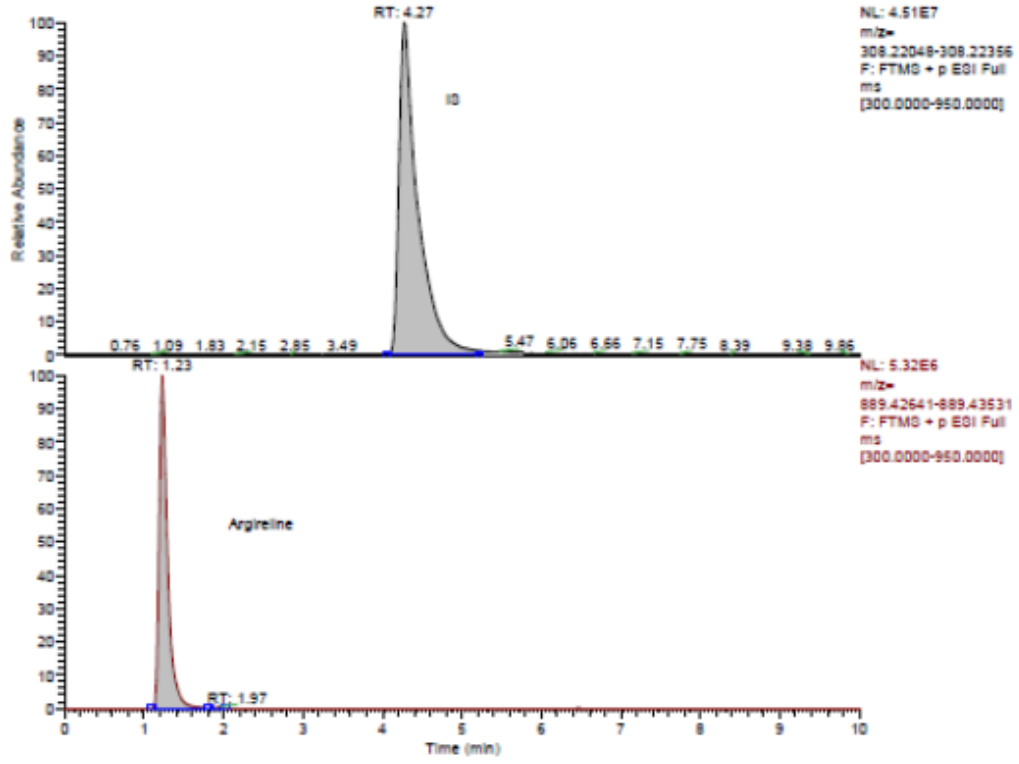
Şekil 5-10: F₁A₅ hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (30.gün)



Şekil 6-1: F₁A₁₀ hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (1.gün)



Şekil 6-2: F₁A₁₀ hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (15.gün)



Şekil 6-3: F1A₁₀ hidrojel formülasyonunda Asetilhekzapeptit-8'in UPLC-HRMS kromatogramı (30.gün)



Şekil 6-4: F1A₁₀ hidrojel maske formülasyonu



5. TARTIŞMA

TARTIŞMA

Dermal yaşlanma ekstrinsik ve intrinsik faktörlerden dolayı derinin molekül seviyesinde oluşan değişiklikler sonucu ortaya çıkan fizyolojik bir süreçtir.

Günümüzde insanların, dünya kozmetik pazarının yaklaşık beşte birini oluşturan yaşlanma karşıtı ürünlere olan ihtiyacı ve ilgisi artmaktadır. Yaşlanma karşıtı aktif bileşenlerin yan etkisiz, doğal yapılı taşıyıcı sistemler halinde formüle edilmesi tercih edilmektedir.

Hidrojeller, yapısal özelliklerinden dolayı ilaç taşıyıcı sistemlerde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Hedef bölgeye modifiye edilmiş bir salım sağlamak, uygulanacak bölgeyle temas süresini uzatmak, toksisiteyi ve yan etkileri azaltmak için tasarlandığından büyük önem taşımaktadırlar. Hidrojeller sadece küçük moleküller için mükemmel bir taşıyıcı olarak değil, aynı zamanda peptit ve protein gibi hassas biyoaktif büyük moleküller için de mükemmel bir taşıyıcı görevi görür. Yüksek su içeriği nedeniyle, peptit ve proteinlerin aktivitesini korur (Raza ve ark. 2018)

Hidrojeller, yüksek su içerikleri ve ciltde bir matris oluşturan hidrofilik bazları nedeniyle sıklıkla yüz maskesi olarak seçilir, böylece aktif bileşenlerin cilde iletilmesinde yüksek etkinlik sağlarlar. Hidrojel maskelerin deri ile temas sürelerinin uzun olması, kolay uygulanabilirliği, nemlendirici ve yenileyici etkiye sahip olması ,aynı zamanda cilt sıcaklığını kontrol etmesi ve yağlı his bırakmaması istenilen özelliklerdendir (Surini ve Auliyya 2017).

Daha önce Asetil hekzaeptid-3 olarak bilinen Asetil hekzaeptid-8 ve ya Ac-EEMQRR-amid, kozmetik endüstrisinde kırıxıklık giderici olarak en yaygın kullanılan peptitlerden biridir. Sinaptik protein SNAP-25'in amino asit dizisini taklit eden, topikal sentetik peptitler den biri olan Asetil hekzaeptid-8 nörotransmitter inhibitör peptit grubuna dahildir. Asetil hekzaeptid-8 cilde nüfuz eder ve kasları gevşeterek kırıxıklıkların ve ince çizgilerin azalmasına ve yumuşamasına neden olur (Schagen 2017).

Asetil hekzaeptid-8' in kırıxıklık karşıtı etkilerinin botulinum nörotoksin / botulin toksinine benzer olduğu bildirilmiştir. Yüksek toksisitesi nedeniyle, botulin

toksini sıkı tıbbi kontrol altındadır. Bu peptit, Botulinum toksin ile karşılaştırıldığında çok daha az toksiktir (Zhou ve ark. 2011)

Literatürde, Asetilhekzapeptit-8 içeren krem ve jel (Ruiz ve ark. 2007), emülsiyon (Hoppel ve ark 2015) şeklinde farklı formülasyonlar bildirilmiştir.

Bu çalışmada, Asetilhekzapeptit-8'in etkinliğini korumak ve denatürasyonun önlemek amacıyla kağıt maske türlerinden hidrojel tipi seçilmiştir.

Potansiyel kırılgılık önleyici maddeler olan β -amirin ve siringik asit içeren Kadife çiçeği ekstresi (Maity, ver ark 2011) ve antioksidan, fotokoruyucu özelliklere sahip polifenollar içeren Aynısafa çiçeği ekstresi (Al-Snafi 2015) Asetilhekzapeptit-8'le birlikte formüle edilerek yaşlanma karşıtı etki etmesi beklenen stabil hidrojel maske formülasyonları tasarlanmıştır.

Hidrojel maskeler diğer kağıt maske türlerinden farklı olarak, kırılabilir yapıya sahiptirler (Surini ve Auliyya 2017). Bu dezavantajı gidermek amacıyla, farklı polimerler kullanılarak daha dayanıklı formülasyonlar geliştirilmiştir.

Çalışmamızda, Asetilhekzapeptit-8 ve bitkisel ekstraktlar içeren optimize stabil hidrojel maske formülasyonları geliştirilmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır.

Ön formülasyon çalışmalarında, farklı polimerler kullanılarak hidrojel formülasyonları için en uygun polimerler (k-Karrajenan, HPC-M ve Keçiyoynuzu zankı) seçilmiştir. Gerilme testleri kapsamında, seçilen polimerlerin konsantrasyonları belirlenmiştir.

Geliştirilen dayanıklı hidrojel formülasyonlarına etken madde olan Asetilhekzapeptit-8 soğuk halde %5 ve % 10 konsantrasyonlarında ilave edilmiştir.

Hidrojel formülasyonlarının karakterizasyon ve stabilite çalışmaları yapılmıştır.

Reolojik çalışmalarda, hidrojeller farklı reolojik modellere uygun olarak simüle edilmiş ve viskozite, kayma depolama modülü, kayma kayıp modülü ve kayıp faktörü değerleri ölçülmüştür. Hidrojellerin psedöplastik akış gösteren sistemlere uygunluğu tespit edilmiştir (Cuomo ve ark. 2019)

Hidrojellerin farklı tampon çözeltilerinde şişme davranışı izlenmiş, hidrojeller nötr ve alkali ortamlarda 6 saat sonra dengeye ulaşmıştır. Difüzyon katsayısı belirlenerek, $n > 0,5$ hidrojellerin Fick olmayan difüzyon mekanizmasına sahip olduğu belirlenmiştir (Ganji ve ark. 2010)

Doku analiz cihazıyla hidrojellerin mekanik ve gerilme özellikleri ölçülmüş, dayanıklı formülasyonlar belirlenmiştir.

ATR-FTIR çalışmalarında hidrojel bileşiklerinin ve formülasyonlarının IR spektrumları alınmış ve etkileşimler izlenmiştir.

Hızlandırılmış stabilite çalışmalarında yer alan pH ölçümlerinde iki farklı koşulda saklanan formülasyonların pH değeri 1.gün, 15.gün ve 30.günde ölçülmüştür. Süre sonunda pH değerlerinde ve organoleptik göstericilerinde genel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Hidrojel maske formülasyonlarında 1.gün, 15.gün ve 30.günde Ultra Performanslı Sıvı Kromatografi-Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi ile Asetilhekzapeptit-8 maddesinin miktar tayini testleri yapılmış ve peptit içeriğinin stabil kaldığı görülmüştür (Zhou ve ark. 2011)

Tüm bu çalışmalar sonucunda, Asetilhekzapeptit-8 ve bitkisel ekstrakter içeren F₁A₅ ve F₁A₁₀ formülasyonlarının stabil olduğu belirlenmiş ve ileri çalışmalarda bu formülasyonların etkinlik testlerinin yapılması amaçlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of advanced research*, 6(2), 105-121.
- Almany, L., & Seliktar, D. (2005). Biosynthetic hydrogel scaffolds made from fibrinogen and polyethylene glycol for 3D cell cultures. *Biomaterials*, 26(15), 2467-2477.
- Al-Snafi, A. E. (2015). The chemical constituents and pharmacological effects of *Calendula officinalis*-A review. *Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research*, 5(3), 172-185.
- Badawy, S. I. F., Narang, A. S., Lamarche, K. R., Subramanian, G. A., & Varia, S. A. (2019). Handbook of Pharmaceutical Wet Granulation.
- Baumann, L., & Saghari, S. (2009). Chemical peels. *Cosmetic Dermatology: Principles and Practice*. 2nd ed. New York, NY, USA: McGraw-Hill Companies.
- Belsito, M. D., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks Jr, J. G., & Peterson, L. A. (2020). Safety Assessment of Acetyl Hexapeptide-8 and Acetyl Hexapeptide-8 Amide as Used in Cosmetics.
- Benítez, J. M., & Montáns, F. J. (2017). The mechanical behavior of skin: Structures and models for the finite element analysis. *Computers & Structures*, 190, 75-107.
- Beringhs, A. O. R., Rosa, J. M., Stulzer, H. K., Budal, R. M., & Sonaglio, D. (2013). Green clay and aloe vera peel-off facial masks: response surface methodology applied to the formulation design. *Aaps Pharmscitech*, 14(1), 445-455.
- Caló, E., & Khutoryanskiy, V. V. (2015). Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*, 65, 252-267.
- Campa, M., & Baron, E. (2018). Anti-aging effects of select botanicals: scientific evidence and current trends. *Cosmetics*, 5(3), 54.
- Carvalho, F. C., Calixto, G., Hatakeyama, I. N., Luz, G. M., Gremião, M. P. D., & Chorilli, M. (2013). Rheological, mechanical, and bioadhesive behavior of hydrogels to optimize skin delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39(11), 1750-1757.

- Chavda, H. V., Patel, C. N., & Karen, H. D. (2009). Preparation and characterization of chitosan-based superporous hydrogel composite. *Journal of Young Pharmacists*, 1(3), 199.
- The Cosmetic Proof,Skincare/Neutrogena Hydro Boost Hydrogel Mask (2018).Erişim 21.03.2020,(<https://www.cosmeticproof.com/2018/06/neutrogena-hydro-boost-hydrogel-mask-review.html>)
- The Medik8,Ultimate Recovery Bio-cellulose Mask (2019). Erişim 07.12.2019, (<https://www.medik8.com.tr/urun/ultimate-recovery-bio-cellulose-mask-56/>)
- Slaga, T. J., & Snyder, P. W. (2020). Safety Assessment of Acetyl Hexapeptide-8 and Acetyl Hexapeptide-8 Amide as Used in Cosmetics.
- Chen, Y. (2020). Properties and development of hydrogels. In *Hydrogels Based on Natural Polymers* (pp. 3-16). Elsevier.
- Cuomo, F., Cofelice, M., & Lopez, F. (2019). Rheological characterization of hydrogels from alginate-based nanodispersion. *Polymers*, 11(2), 259.
- Dash, T. K., & Konkimalla, V. B. (2012). Poly-ε-caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. *Journal of Controlled Release*, 158(1), 15-33.
- Esquerdo, V. M., Cadaval Jr, T. R. S., Dotto, G. L., & Pinto, L. A. A. (2014). Chitosan scaffold as an alternative adsorbent for the removal of hazardous food dyes from aqueous solutions.*Journal of colloid and interface science*, 424, 7-15.
- Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2008). Effect of alginate and λ-carrageenan on tensile properties and water vapour permeability of sodium caseinate–lipid based films. *Carbohydrate Polymers*, 74(3), 419-426.
- Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., & Zouboulis, C. C. (2012). Skin anti-aging strategies.*Dermato-endocrinology*, 4(3), 308-319.
- Ganji, F., Vasheghani, F. S., & VASHEGHANI, F. E. (2010). Theoretical description of hydrogel swelling: a review.
- Gawkrodger D.J. (2002). *Dermatology, An Illustrated Colour Text*. (3rd ed.) Edinburgh: Churchill Livingstone
- Ghasemiyeh, P., & Mohammadi-Samani, S. (2019). Hydrogels as Drug Delivery Systems; Pros and Cons. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 7-24.
- Gilaberte, Y., Prieto-Torres, L., Pastushenko, I., & Juarranz, A. (2016). Anatomy and Function of the Skin. In *Nanoscience in Dermatology* (pp. 1-14). Academic Press.

- Gorouhi, F., & Maibach, H. I. (2009). Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. *International journal of cosmetic science*, 31(5), 327-345.
- Griffiths, C., Barker, J., Bleiker, T. O., Chalmers, R., & Creamer, D. (Eds.). (2016). *Rook's textbook of dermatology*. John Wiley & Sons.
- Gupta, S. (2006). Cosmetic and Pharmaceutical Masks for Skin Improvement. U.S. Patent Application No. 11/164,709.
- Harrison, I. P., & Spada, F. (2018). Hydrogels for atopic dermatitis and wound management: a superior drug delivery vehicle. *Pharmaceutics*, 10(2), 71.
- Hezaveh, H., & Muhamad, I. I. (2013). Modification and swelling kinetic study of kappa-carrageenan-based hydrogel for controlled release study. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(2), 182-191.
- Hoppel, M., Reznicek, G., Kählig, H., Kotisch, H., Resch, G. P., & Valenta, C. (2015). Topical delivery of acetyl hexapeptide-8 from different emulsions: influence of emulsion composition and internal structure. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68, 27-35.
- Hunter J.A.A. , Savin J.A. ve Dahl M.V. (2002). *Clinical Dermatology* (3rd ed.) USA: Blackwell Science, Inc.
- Hurler, J., Engesland, A., Poorahmary Kermany, B., & Škalko-Basnet, N. (2012). Improved texture analysis for hydrogel characterization: Gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness. *Journal of Applied Polymer Science*, 125(1), 180-188.
- Igarashi, T., Nishino, K. & Nayar, S. K. (2007). The Appearance of Human Skin: A Survey. *Foundations and Trends® in Computer Graphics and Vision*, 3(1), 1–95.
- Jiang, S., Liu, S., & Feng, W. (2011). PVA hydrogel properties for biomedical application. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 4(7), 1228-1233.
- Johnson, B., Bauer, J. M., Niedermaier, D. J., Crone, W. C., & Beebe, D. J. (2004). Experimental techniques for mechanical characterization of hydrogels at the microscale. *Experimental mechanics*, 44(1), 21.
- Kashyap, N. K. M. R. K. N., Kumar, N., & Kumar, M. R. (2005). Hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 22(2).
- Kohyama, K. (2020). Food Texture–Sensory Evaluation and Instrumental Measurement. *Textural characteristics of world foods*, 1-13.

- Kolarsick, P. A., Kolarsick, M. A., & Goodwin, C. (2011). Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3(4), 203-213.
- Lane, M. E. (2013). Skin penetration enhancers. *International journal of pharmaceuticals*, 447(1-2), 12-21.
- Lee, C. K., Hsu, K. C., Cho, J. C., Kim, Y. J., & Han, S. H. (2013). . Cosmetic Bio-Cellulose Mask Pack Sheet and Method for Manufacturing Same. *U.S. Patent Application No. 13/881,967*.
- Lima, T. N., & Pedriali Moraes, C. A. (2018). Bioactive peptides: applications and relevance for cosmeceuticals. *Cosmetics*, 5(1), 21.
- Lott, J. R., McAllister, J. W., Arvidson, S. A., Bates, F. S., & Lodge, T. P. (2013). Fibrillar structure of methylcellulose hydrogels. *Biomacromolecules*, 14(8), 2484-2488.
- Łubkowska, B., Grobelna, B., & Maćkiewicz, Z. (2010). The use of synthetic polypeptides in cosmetics. *Copernican Letters*, 1, 75-82.
- Lupo, M. P., & Cole, A. L. (2007). Cosmeceutical peptides. *Dermatologic therapy*, 20(5), 343-349.
- Maity, N., Nema, N. K., Abedy, M. K., Sarkar, B. K., & Mukherjee, P. K. (2011). Exploring Tagetes erecta Linn flower for the elastase, hyaluronidase and MMP-1 inhibitory activity. *Journal of ethnopharmacology*, 137(3), 1300-1305.
- McGrath J.A and Uitto J. (2010). *Rook's Textbook of Dermatology, Volume 1, (8th ed.)* USA: Blackwell Publishing Ltd.
- Mesa-Arango, A. C., Flórez-Muñoz, S. V., & Sanclemente, G. (2017). Mechanisms of skin aging. *Iatreia*, 30(2), 160-170.
- Morganti, P., Morganti, G., Chen, H. D., & Gagliardini, A. (2019). Beauty Mask: Market and Environment. *J. Clin. Cosmet. Dermatol*, 3(2).
- Murphy, G.F. (1997). Histology of the skin, *Lever's histopathology of the skin* (8th ed., pp. 5–45). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Narayanaswamy, R., & Torchilin, V. P. (2019). Hydrogels and their applications in targeted drug delivery. *Molecules*, 24(3), 603.
- Ng, K. W., & Lau, W. M. (2015). Skin deep: the basics of human skin structure and drug penetration. In *Percutaneous penetration enhancers chemical methods in penetration enhancement* (pp. 3-11). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Nilforoushzadeh, M. A., Amirkhani, M. A., Zarrintaj, P., Salehi Moghaddam, A., Mehrabi, T., Alavi, S., & Mollapour Sisakht, M. (2018). Skin care and rejuvenation by cosmeceutical facial mask. *Journal of cosmetic dermatology*, 17(5), 693-702.
- Perugini, P., Bleve, M., Cortinovis, F., & Colpani, A. (2018). Biocellulose masks as delivery systems: a novel methodological approach to assure quality and safety. *Cosmetics*, 5(4), 66.
- Puizina-Ivic, N. (2008). Skin aging. *Acta Dermatovenerologica Alpina Panonica Et Adriatica*, 17(2), 47.
- Raghuwanshi, V. S., & Garnier, G. (2019). Characterisation of hydrogels: Linking the nano to the microscale. *Advances in colloid and interface science*, 274, 102044.
- Raza, F., Zafar, H., Zhu, Y., Ren, Y., Ullah, A., Khan, A. U., ... & Ge, L. (2018). A review on recent advances in stabilizing peptides/proteins upon fabrication in hydrogels from biodegradable polymers. *Pharmaceutics*, 10(1), 16.
- Reveny, J., Tanuwijaya, J., & Stanley, M. (2017). Formulation and evaluating anti-aging effect of vitamin E in Biocellulose sheet mask.
- Ruiz, M. A., Clares, B., Morales, M. E., Cazalla, S., & Gallardo, V. (2007). Preparation and stability of cosmetic formulations with an anti-aging peptide. *Journal of cosmetic science*, 58(2), 157-171.
- Schagen, S. K. (2017). Topical peptide treatments with effective anti-aging results. *Cosmetics*, 4(2), 16.
- Shah, K. R., Kydonieus, A., Jamshidi, K., Decker, S. C., & Chang, T. L. (1996). *U.S. Patent No. 5,527,271*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Shai, A., Maibach, H. I., & Baran, R. (2009). Skin Aging and Its Management. In *Handbook of Cosmetic Skin Care* (pp. 57-68). CRC Press
- Sharma, S., Parmar, A., & Mehta, S. K. (2018). Hydrogels: From simple networks to smart materials—advances and applications. In *Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems* (pp. 627-672). William Andrew Publishing.
- Shin, J. W., Kwon, S. H., Choi, J. Y., Na, J. I., Huh, C. H., Choi, H. R., & Park, K. C. (2019). Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2126.
- Siepmann, J., & Peppas, N. A. A. (2012). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced drug delivery reviews*, 64, 163-174.

- Singh, G., Lohani, A., & Bhattacharya, S. S. (2014). Hydrogel as a novel drug delivery system: A review. *J. Fundam. Pharm. Res*, 2(1), 35-48.
- Sivamani, R. K., Jagdeo, J. R., Elsner, P., & Maibach, H. I. (Eds.). (2015). *Cosmeceuticals and active cosmetics*. CRC Press.
- Rheological behaviors and physical properties of plasticized hydrogel films developed from κ -carrageenan incorporating hydroxypropyl methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 85, 61-68.
- Surini, S., & Auliyya, A. (2017). Formulation of an anti-wrinkle hydrogel face mask containing ethanol extract of noni fruit (*Morinda citrifolia* L) for use as a nutracosmeceutical product. *Int J App Pharm*, 9, 74-76.
- Sun, G., Chi, W., Xu, S., & Wang, L. (2020). Developing a simultaneously antioxidant and pH-responsive κ -carrageenan/hydroxypropyl methylcellulose film blended with *Prunus maackii* extract. *International journal of biological macromolecules*, 155, 1393-1400..
- Tamm, L. K., & Tatulian, S. A. (1997). Infrared spectroscopy of proteins and peptides in lipid bilayers. *Quarterly reviews of biophysics*, 30(4), 365-429.
- The Scinceuticals/Biocellulose Restorative Mask. Erişim 08.07.2019, (<https://www.skinceuticals.com/biocellulose-restorative-mask-3606000497573.html>)
- Vermonden, T., Censi, R., & Hennink, W. E. (2012). *Hydrogels for Protein Delivery*. *Chemical Reviews*, 112(5), 2853–2888
- Weller, R. P., Hunter, J. A., Savin, J. A., & Dahl, M. V. (2011). *Dermatologia kliniczna*. Wydawnictwo Czelej.
- West, H. C., & Bennett, C. L. (2018). Redefining the role of langerhans cells as immune regulators within the skin. *Frontiers in immunology*, 8, 1941.
- Woo, W. M. (2019). Skin Structure and Biology. *Imaging Technologies and Transdermal Delivery in Skin Disorders*, 1-14.
- Wüstenberg, T. (2014). *Cellulose and cellulose derivatives in the food industry: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- Yagi, M., & Yonei, Y. (2018). Glycative stress and anti-aging: 7. Glycative stress and skin aging. *Glycative Stress Res*, 5(1), 50-54.
- Zhou, W., Wang, P. G., Krynitsky, A. J., & Rader, J. I. (2011). Rapid and simultaneous determination of hexapeptides (Ac-EEMQRR-amide and H₂N-EEMQRR-amide) in anti-wrinkle cosmetics by hydrophilic interaction liquid chromatography–solid phase

extraction preparation and hydrophilic interaction liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(44), 7956-7963.

Zouboulis, C. C., Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Elewa, R., & Makrantonaki, E. (2019). Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. *Clinics in dermatology*, 37(4), 365-372.



HAM VERILER



FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI IZNI

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Afsana	Soyadı	Aghazada
Doğ. Yeri	Gabala, Azerbaycan	Doğ. Tar.	14.07.1995
Email	Afsana.aghazada@ogr.iu.edu.tr	Uyruğu	Azerbaycan

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Azerbaycan Tıp Üniversitesi	2016
Lise	Namiq Mammadov adına 9 No-lu orta mekteb	

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Eczacı	Avromed "MMC"	2016-2017
2.			-
3.			-

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

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
C1	+
HTML & CSS	+

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):