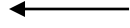


Adınızı soyadınızı giriniz

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



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



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**SOYA EKSTRESİ İÇEREN HİPERPİGMENTASYON
PROBLEMİNE YÖNELİK NANOEMÜLSİYON
FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

ÖZLEM KURT

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

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**SOYA EKSTRESİ İÇEREN HİPERPİGMENTASYON
PROBLEMİNE YÖNELİK NANOEMÜLSİYON
FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

ÖZLEM KURT

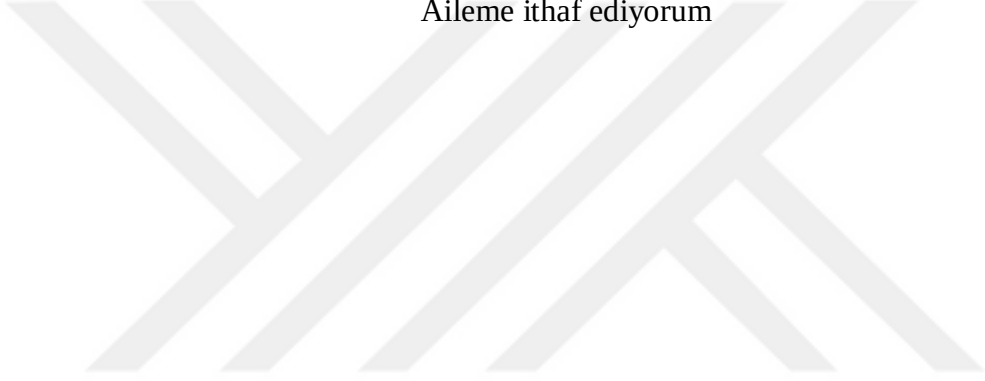
**İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ EBRU ALTUNTAŞ**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum



TEŞEKKÜR

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

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesine imkan sunan ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e,

Tez çalışmamın bütün aşamalarında bilgi ve deneyimlerini paylaşan, yardımları ile beni yalnız bırakmayan sevgili hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ebru ALTUNTAŞ'a

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı araştırma görevlileri ve lisanüstü öğrencilerine,

Çalışmamda kullanmış olduğum soya ektresinin temininde yardımlarından dolayı ACTV Biyoteknoloji'ye

Hayatımın her aşamasında beni destekleyen ve hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili aileme teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xii
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Derinin Yapısı ve Özellikleri	4
2.1.1. Derinin Fonksiyonları	5
2.1.1.1. Fiziksel Bariyer Mekanizması	5
2.1.1.2. Kimyasal bariyer mekanizması.....	5
2.1.1.3. İmmünolojik Bariyer Mekanizması	5
2.1.1.4. Ultraviyole (UV) (radyasyondan koruma) Bariyer Mekanizması	6
2.1.2. Derinin Katmanları	6
2.1.2.1. Epidermis.....	6
2.1.2.2. Dermis	10
2.1.2.3. Hipodermis.....	11
2.2. Hiperpigmentasyon.....	11
2.2.1. Hiperpigmentasyon Hakkında Genel Bilgiler	12
2.2.2. Hiperpigmentasyonun Nedenleri	14
2.2.3. Melasma	15
2.2.4. Hiperpigmentasyonda Tanı ve Tedavi Yöntemleri.....	16
2.2.5. Doğal Bir Depigmentasyon Ajanı Olarak Soya Ekstresi	18
2.3. Nanoemülsiyonlar.....	20
2.3.1. Nanoemülsiyonların Avantajları.....	21

2.3.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları.....	22
2.3.3. Nanoemülsiyonların Bileşimi	23
2.3.4. Nanoemülsiyonların Fiziksel ve Kimyasal Yapısı.....	24
2.3.5. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Metodları	26
2.3.5.1. Yüksek Enerji Gerektiren Metodlar	26
2.3.5.2. Düşük Enerji Gerektiren Metotlar	28
2.3.6. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu	29
2.3.7. Nanoemülsiyonların Uygulama Alanları.....	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Gereçler	33
3.1.1. Kullanılan Aletler.....	33
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
3.2. Kullanılan Yöntemler	34
3.2.1. Formülasyon Çalışmaları	34
3.2.2. Formülasyon Bileşenlerinin Seçimi[.....	34
3.2.3. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar	45
3.2.3.1. Santrifüj Testi.....	45
3.2.3.2. Termal Test	45
3.2.3.3. pH Ölçümü.....	45
3.2.3.4. İletkenlik Ölçümü.....	46
3.2.3.5. Viskozite Ölçümleri	46
3.2.3.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli Ölçümü	46
3.2.3.7. Organoleptik Kontroller	47
3.2.3.8. Doku Profili Analizi (texture profile analyse, TPA)	47
4. BULGULAR	49
4.1. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	49
4.1.1. Santrifüj Testi	49
4.1.2. Termal Test.....	49
4.1.3. Formülasyon Üzerinde hidroksipropil selüloz (HPC), Yağ Miktarı ve Ön Karıştırmanın Etkisi.....	49
4.1.4. pH Ölçümlerine Ait Bulgular	54
4.1.5. İletkenlik Ölçümlerine Ait Bulgular	55

4.1.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeline Ait Bulgular .	56
4.1.7. Viskoziteye Ait Bulgular	59
4.1.8. Organoleptik İncelemere Ait Bulgular	68
4.1.9. Doku Profil Analizi (texture profile analyse, TPA) Ölçümlerine Ait Bulgular	81
5. TARTIŞMA	82
KAYNAKLAR	88
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	94
ÖZGEÇMİŞ	94



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Önformülasyon aşamasında hazırlanan yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	37
Tablo 3-2: Önformülasyon aşamasında hazırlanan yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	38
Tablo 3-3: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve polimer olarak %0,2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	39
Tablo 3-4: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve polimer olarak %0,2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	40
Tablo 3-5: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %0,2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	41
Tablo 3-6: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %0,5 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	42
Tablo 3-7: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %1 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	43
Tablo 3-8: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.	44
Tablo 3-9: Formülasyon proseslerine ait tablo.	44
Tablo 4-1: HPC eklenmeden önce formülasyonların 1. güne ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümlerine ait tablo.	51
Tablo 4-2: HPC eklendikten sonra formülasyonların 1. güne ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümlerine ait tablo.	52
Tablo 4-3: Uzun süreli stabilite çalışması için seçilen formülasyonlar.....	53
Tablo 4-4: Uzun süreli stabilite çalışmasında pH ölçümlerine ait bulgular	54

Tablo 4-5: Uzun süreli stabilite çalışmasında iletkenlik değerine ait bulgular	55
Tablo 4-6: Uzun süreli stabilite takibinde damlacık boyutuna ait bulgular	56
Tablo 4-7: Uzun süreli stabilite takibinde polidispersite indeksine ait bulgular	57
Tablo 4-8: Uzun süreli stabilite takibinde zeta potansiyeline ait bulgular.	58
Tablo 4-9: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F5P1 formülasyonuna ait viskozite bulguları.	59
Tablo 4-10: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F5P2 formülasyonuna ait viskozite bulguları.	60
Tablo 4-11: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F6P1 formülasyonuna ait viskozite bulguları.....	61
Tablo 4-12: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F6P2 formülasyonuna ait viskozite bulguları.....	62
Tablo 4-13: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F5P1 formülasyonuna ait viskozite bulguları.....	63
Tablo 4-14: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F5P2 formülasyonuna ait viskozite bulguları.....	64
Tablo 4-15: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F6P1 formülasyonuna ait viskozite bulgular.....	65
Tablo 4-16: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F6P2 formülasyonuna ait viskozite bulgu	66
Tablo 4-17: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %2 F6P1 formülasyonuna ait viskozite bulguları.....	67
Tablo 4-18: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %2 F6P2 formülasyonuna ait viskozite bulguları.....	68
Tablo 4-19: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların görünümüne ait bulgular.....	69
Tablo 4-20: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların renklerine ait bulgular	70
Tablo 4-21: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların kokusuna ait bulgular.	71
Tablo 4-22: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların TPA (doku profili analizi) özelliklerine ait bulgular	81

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin anatomisi ve katmanları (64).....	4
Şekil 2-2 Epidermisin genel yapısı (11)	7
Şekil 2-3 Stratum corneumun yapısı (19).....	10
Şekil 2-4 Deride melanosit ve melanozomların yerleşimi (61)	13
Şekil 2-5 Yüz bölgesinde melasma lokalizasyonu (62)	16
Şekil 2-6 Nanoemülsiyonların yapısı y/s ve s/y formları (30).....	21
Şekil 2-7 Küçük ve orta ölçekli üretimler için kullanılan ultrasonik homojenizatör (63)	28
Şekil 4-1: HPC içermeyen oda koşulunda bekletilen formülasyonların 1 hafta sonundaki görüntüleri.....	50
Şekil 4-2: HPC kullanılarak oda koşulunda bekletilen formülasyonların bir hafta sonundaki durumu	51
Şekil 4-3: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 25°C oda koşulu 1.gün.	72
Şekil 4-4: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü buzdolabı koşulu 1.gün.	73
Şekil 4-5: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 40°C iklimlendirme kabini koşulu 1.gün.....	74
Şekil 4-6: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 25°C oda koşulu 1.ay.	75
Şekil 4-7: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü buzdolabı koşulu 1.ay.	76
Şekil 4-8: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 40°C iklimlendirme kabini koşulu 1.ay.....	77
Şekil 4-9: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 25°C oda koşulu 2.ay.	78
Şekil 4-10: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü buzdolabı koşulu 2.ay.	79
Şekil 4-11: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 40°C iklimlendirme kabini koşulu	

2.ay.....	
.....	80



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

EPI: Emülsiyon Dönüşüm Noktası Yöntemi

H: Homojen

K: Karakteristik

K: Koalesans

KFA: Kısmi Faz Ayrımı

SR: Süt Renginde

Y/S: Su içinde yağ

S/Y: Yağ içinde su

OS: Opak-Sarı

PDI: Polidispersite İndeksi

PIT: Faz Geçiş Sıcaklığı Yöntemi

S: Sedimentasyon

S: Saydam

Smix: Yüzey etkin

madde karışımı

YF: Yağ Fazı

YS: Yarı Saydaam

TFA: Tam faz ayrımı

HPC: Hidroksipropil Selüloz

ÖZET

Kurt, Ö, (2022). Soya Ektresi İçeren Hiperpigmentasyon Problemine Yönelik Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Karakterizasyonu. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Kozmetoloji BD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Pigmenter bozukluklar toplumda yaygın görülen hastalıklar arasındadır. Eksojen ve endojen faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan hiperpigmentasyonun tedavisi de oldukça zordur. Mevcut cilt rengini açıcı ajanlar yaygın olarak kullanılmakla beraber bir takım yan etkiler de doğurmaktadır. Bundan dolayı doğal kaynaklı ekstreler içeren güvenli ve etkili formülasyonların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Soyanın, hiperpigmentasyon üzerine olumlu etkilerinin olduğu daha önce yapılan bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu tez çalışmasında da soya ektresi içeren hiperpigmentasyon üzerine etkili piyasadaki diğer ürünlere alternatif olabilecek doğal içerikli kozmetik bir nanoemülsiyonun geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Ultrasonikasyon yöntemi ile farklı konsantrasyonlarda nanoemülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonlar öncelikle hızlandırılmış stabilite testleri olan santrifüj ve termal testlere tabi tutulmuştur. Bu testler sonucunda bozulma göstermeyen formülasyonların pH değeri, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüş ve organoleptik açıdan değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu testler ve ölçümler sonucunda stabil kalan formülasyonlarla uzun süreli stabilite takibine başlanmıştır. Formülasyonlar 2 ay boyunca oda koşulunda ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) ve 45°C 'de, %75 relatif nem ortamındaki iklimlendirme kabinde saklanmıştır. Formülasyonların 1. gün, 1.ay ve 2.ay sonunda pH değeri, iletkenliği, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüş ve organoleptik açıdan değerlendirilmiştir. Ayrıca formülasyonların Doku profili analizi (TPA) ölçümleri ilk gün yapılmıştır. Bahsedilen bütün testler sonucunda stabilite ve diğer değerlendirme kriterlerine göre en iyi formülasyon olarak %5 soya ektresi ve %1'lik HPC içeren F6P2 kodlu formülasyonun hiperpigmentasyon tedavisine yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hiperpigmentasyon, soya ekstresi, nanoemülsiyon, ultrasonikasyon, leke açıcı bitkisel ajanlar

ABSTRACT

Kurt, Ö. (2022). Preparation and Characterization of Nanoemulsion Formulations Containing Soy Extract for Hyperpigmentation Problem. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Cosmetology Section, Master's Thesis, İstanbul.

Pigmenter disorders are common dermatological disorders. It is related to endogenous and exogenous factors. These disorders are difficult to treat, hence, the need for skin lightening agents including cosmeceuticals. Due to the potential side effects of current treatments, there is a rising trend towards the development of effective and safe formulations containing naturally derived extracts for hyperpigmentation.

Soy (Glycine soja) has evidenced to be both powerful and safe. A number of skin care products containing soy are available to improve hyperpigmentation. It has been proven by scientific studies that soy has positive effects on hyperpigmentation. In this thesis study, it is aimed to develop a cosmetic nanoemulsion with natural content, which could be an alternative to other products on the markets, effective on hyperpigmentation containing soy extract.

Various nanoemulsions containing soy extract were prepared by using ultrasonication method. Then accelerated stability tests such as centrifuge and thermal tests were applied. pH value, viscosity, droplet size and polydispersity index of the formulations remaining stable were measured and organoleptic assessment was conducted. Each formulation that passed centrifuge and thermal tests was kept in ambient condition, in a refrigerator and in a climate chamber at 45°C, for two months. Measurement of pH value, viscosity, droplet size, polydispersity index and zeta potential and organoleptic assessment were conducted at predetermined time points. In addition, TPA (texture profile analysis) measurements of the formulations were made on the first day.

As a result of all the tests mentioned, it was concluded that the F6P2 coded formulation containing %5 soy extract and 1% HPC as the best formulation could be beneficial in treatment of hyperpigmentation.

Key words: Hyperpigmentation, soy extract, skin lightening herbs, ultrasonication, nanoemulsion

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pigmenter bozukluklar toplumda en yaygın olarak görülen dermatolojik hastalıklar arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Cildimize asıl rengini veren melanositlerin sayı ve fonksiyonlarında artış olduğu zaman ya da deriye renk veren diğer maddelerin birikimi sonucunda deri renginde normale nazaran meydana gelen koyulaşmaya hiperpigmentasyon adı verilir. Hiperpigmentasyon problemi yüz bölgesinde görüldüğü zaman melasma adını alır. Melasma kişinin kozmetik konforunu bozan ve tedavisi zor inatçı bir hastalıktır (43).

Toplumda daha çok orta yaşlı kadınlarda görülen hiperpigmentasyon sorunu kozmetik ürün kullanımı, güneşe maruz kalma ve hormonal bozukluklar gibi birçok endojen ve eksojen faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu tür hastalıkların tedavi edilmesi oldukça zor olmakla birlikte tedaviden bir süre sonra tekrar nüksetme ihtimali de vardır. Günümüzde leke tedavisi için birçok medikal işlem ve leke açıcı ajanlar kullanılmaktadır. Fenolik bileşikler (hidrokinon, rezorsinol, katekol), azelaik asit, kojik asit, askorbik asit (C vitamini), retinoid (retinoik asit, tretionin), arbutin ve dioksiarbutin, α - lipoik asit, doymamış yağ asitleri, kimyasal peeling, enzim peeling, dermabrazyon, likit nitrojen kriyoterapi (dondurma tedavisi), lazer operasyonu ve diğer ışın tedavileri hiperpigmentasyon probleminde kullanılan tedavi yöntemlerindendir (41). Ancak bu mevcut tedaviler beraberinde cilt irritasyonu, okronozis, kızarıklık, karsinogenez gibi bir takım yan etkiler ve güvenlik problemi de getirmektedir. Mevcut tedavilerdeki bu potansiyel yan etkileri önlemek adına daha çok doğal özler içeren güvenli ve etkili formülasyonların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Soya ekstresi kullanılabilecek bu doğal özlerden bir tanesidir (49). Soyanın hiperpigmentasyon üzerine olumlu etkilerinin olduğu daha önce yapılmış olan bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Yapılan bir çalışmada hiperpigmentasyon problemi yaşayan orta yaşlı 65 adet gönüllü üzerinde 12 hafta boyunca günde 2 defa soya içerikli bir cilt bakım ürününün kullanılması sonucunda cilt renginin açılmasında ciddi bir iyileşme sağlandığı gözlemlenmiştir (52).

Etkili ve güvenli bir depigmentasyon ajanı olarak kabul edilen soya bu etkisini hücrel bazda melanin sentezini inhibe ederek göstermektedir. Soya'nın başlıca bileşenleri fosfolipidler (%45 - 60) ve esansiyel yağlardır (%30 - 35). Ayrıca izoflavonlar, E vitamini ve serin proteaz inhibitörleri-soya fasulyesi tripsin önleyicisi

(STI) ve Bowman-Birk proteaz inhibitörü (BBI) gibi aktif maddeler içerir. Proteaz inhibitörleri PAR-2 aktivasyonunu inhibe ederek melanozom transferini engeller (50). Soya yağ asitleri, PAR-2'nin bilinen bir etkinleştiricisi olan tripsin'i inhibe eder. Dahası, izoflavonlar DOPA oksidaz aktivitesini engeller ve böylece melanogenezi inhibe eder. Sonuç olarak da melanin üretimi baskılanır, cildin üst katmanlarına melanin pigmenti taşınmaz ve hiperpigmentasyon önlenmiş olur (51).

Nanoemülsiyonlar, yağ ve su fazının bir surfaktan/kosurfaktan yardımı ile birleşmesi sonucunda meydana gelen kinetik açıdan stabil ancak termodinamik açıdan kararsız olan ilaç taşıyıcı sistemlerdir (24). Ortalama damlacık boyutu 100-500 nm arasında değişen dispers sistemlerdir (25). Nanoemülsiyonlar saydam veya yarı saydam bir görüntüye sahip olup nano boyuttaki damlacıkları çok iyi dağılım gösterdikleri için üretildikten sonra çökme, kremalaşma, koalesans gibi problemlerin yaşanmasına olanak vermezler. Bu özelliklerinden dolayı nanoemülsiyonlar ilaç, kimya ve kozmetik sanayiinde çok fazla tercih edilmektedir. S/Y (yağ içinde su) ve Y/S (su içinde yağ) gibi formları üretilebilmektedir (27). Nanoemülsiyonlar genel olarak güvenli olarak kabul edilen farmasötik surfaktanlar kullanılarak hazırlanmaktadır (28). Nanoemülsiyonlarda kullanılan surfaktanlar su ve yağ fazı ara yüzündeki basıncı azaltmaktadırlar. Emülsiyon oluşturucu bu ajanlar bir yandan lipofilik kuyrukla yağ fazına bağlanırken diğer taraftan hidrofilik baş ile de su fazına bağlanır. Böylece uzun süre homojen kalabilen stabil formülasyonlar üretilebilmektedir (29).

Nanoemülsiyon teknolojisi ile hazırlanan ürünler nano boyuttaki damlacıkları sayesinde deriden kolayca penetre olabilmektedir. Bu şekilde kullanılan ürünlerdeki etken maddenin güvenli ve etkili bir şekilde alt katmanlara iletilmesi sağlanmış olmaktadır. Topikal olarak kullanılan birçok köpük, krem, losyon, spray bu şekilde formüle edilebilmektedir (56).

Nanoemülsiyonlar düşük miktarda surfaktan içerdikleri için toksik ve iritan özellikleri de klasik emülsiyonlara göre daha düşüktür. Ayrıca uzun süre stabil kalabilmeleri, cilt penetrasyonunu arttırmaları ve hoş görünüşleri nedeniyle tıp ve eczacılık alanlarının yanında kozmetik, farmasötik, gıda ve diğer sektörlerde kullanılabilen cazip sistemlerdir. Nanoemülsiyonlar çok küçük damlacık boyutuna sahip oldukları için ayrıca stratum korneum tabakası ile daha yakın temas sağlamakta böylece istenen bölgeye daha fazla etken madde erişimi sağlayabilmektedir. Bu ve

benzeri avantajlarından dolayı nanoemülsiyonlar özellikle kozmetik alanında geniş bir kullanım yelpazesi sunmaktadır (57).

Bu tez çalışmasının amacı cilt için güvenli olduğu kabul edilen ve hiperpigmentasyon probleminin tedavisinde başarılı olduğu bilinen soya ekstresi kullanılarak topikal yolla kullanılabilecek yeni bir kozmetik nanoemülsiyon geliştirmektir. Bu çalışma ile ilk defa biyoteknoloji ve kozmetik bilimleri kullanılarak bitki hücre kültürü teknolojisi ile üretilmiş doğal bir ekstre olan soya ekstresi yardımı ile cilt rengini beyazlatıcı topikal bir nanoemülsiyon üretilmiştir.

Bu tez çalışmasında yöntem olarak yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak farklı konsantrasyonlarda nanoemülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan bu formülasyonlar, ilk olarak hızlandırılmış stabilite testleri olan santrifüj ve termal testlerine tabi tutulmuştur. Bu testler sonucunda bozulma göstermeyen formülasyonların pH değeri, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüş ve formülasyonlar organoleptik açıdan değerlendirilerek karakterizasyonları yapılmıştır. Bu testler ve ölçümler sonucunda stabil kalan ve organoleptik açıdan herhangi bir problem göstermeyen formülasyonlarla uzun süreli stabilite takibine başlanmıştır. Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonlar 2 ay boyunca oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), buzdolabı ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) ve iklimlendirme kabininde ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) bekletilmiştir. Formülasyonların 1. gün, 1.ay ve 2.ay sonunda, pH değeri, iletkenliği, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüş ve organoleptik açıdan değerlendirmesi yapılmıştır. Ayrıca formülasyonların doku profil analizleri (TPA) formülasyonun üretildiği ilk gün yapılmış, bununla ürünün mekanik özellikleri incelenmiş ve sertlik, sıkıştırılabilirlik, adezivlik ve kohezivlik gibi parametrelerde bilgi edinilmiştir.

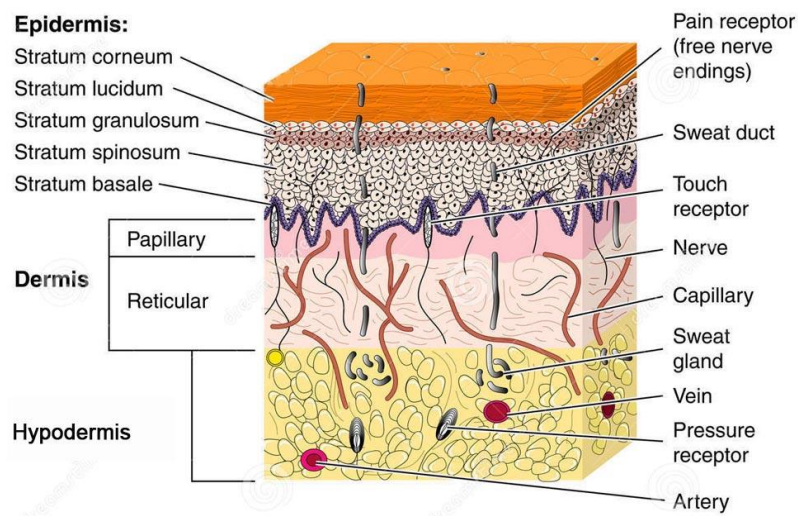
Yukarıda bahsedilen bütün çalışmalar, testler ve ölçümler sonucunda stabilite ve diğer değerlendirme kriterlerine göre en iyi formülasyon olarak %5 soya ekstresi ve %1'lik HPC (hidroksipropil selüloz) içeren F6P2 kodlu formülasyonun hiperpigmentasyon tedavisine yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Derinin Yapısı ve Özellikleri

Deri insan vücudu ile dış dünya arasında iletişimi sağlayan mükemmel bir organdır. Deri bu özelliği sayesinde bazı maddeleri içeri alabildiği gibi gerekli durumlarda bariyer görevi de görebilmektedir (1). Deri, yetişkin bir insan vücut ağırlığının yaklaşık % 15'ini oluşturmakta ve yaklaşık olarak 1.5 - 2 m²'lik yüzey alanını kaplamaktadır. Ancak bu oran yaş, cinsiyet ve kişiye göre değişebilmektedir. Bu haliyle deri insan vücudundaki en büyük organ olma özelliğini taşımaktadır aynı zamanda. Deri çok katmanlı tabakalı bir yapıya sahiptir. Derinin yapısı ve işlevlerini bilmek sağlıklı bir cildin biyolojisini ve cilt hastalıklarının patofizyolojisini anlamak adına büyük önem arz etmektedir (2).

Deri ve bileşenleri, diğer dokularla iletişim kurmayı sağlar. Sitokin, nörotransmitter ve hormonları ve bunlara karşılık gelen reseptörleri üreterek metabolizmayı düzenlemeye yardımcı olur. Deri bu nöro-immüno-endokrin işlevler vasıtasıyla merkezi düzenleyici sistemlerle güçlü bir bağ kurar. Deri aynı zamanda yenilenme için geniş bir kök hücre rezervi niteliğindedir. Bu yapıların tümü, cildin fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlara karşı koruma da dahil birçok hayati görevi yerine getirmesini sağlar (3). Deri vücudumuzun en dış katmanı olduğundan dolayı aynı zamanda sosyal görüntümüzü de yansıtmaktadır bu nedenle de cilt görünümüne her zaman maksimum bakım ve özen gösterilmektedir.



Şekil 2-1: Derinin anatomisi ve katmanları (64).

2.1.1. Derinin Fonksiyonları

Deri vücutta genel dengeyi sağlamakla görevli temel mekanizmalara sahiptir. Ağrı, basınç, sıcaklık, dokunma gibi dış uyaranların algılanmasını sağlar yani çevre için bir duyu organıdır. İnsan metabolizması için çok önemli bir vitamin olan D vitaminin vücuda alınıp sentezlenmesine yardımcı olur

Ciltte su kaybını önler, terleme ile ısı regülasyonunu sağlar. Yine terleme ile çeşitli zararlı atıkların vücuttan atılmasını sağlar (2).

2.1.1.1. Fiziksel Bariyer Mekanizması

Cilt yüzeyinin dış etmenlere karşı maruziyetini azaltan mekanizmadır. Bunu epidermis tabakasının en dışında yer alan stratum corneum aracılığı ile yapar. Farklı geçirgenlik oranlarına sahip vücut bölgeleri bu fiziksel bariyer aracılığı ile korunmaktadır (4).

2.1.1.2. Kimyasal bariyer mekanizması

Vücudu dışardan gelebilecek birçok virüs, bakteri ve patojen mikroorganizmaya karşı koruyan mekanizmadır. Deri yağ dokusu sayesinde salgıladığı maddelerle bu fonksiyonunu yerine getirmektedir. Deriden salgılanan düşük pH (asidik) daki bu salgılar vücuda yerleşip çoğalabilecek virüs ve bakterilerin yaşamasına izin vermemektedir (4).

2.1.1.3. İmmünolojik Bariyer Mekanizması

Vücudun var olan dengesini bozmaya yönelik dışarıdan bir saldırı olduğunda cilt kendini korumaya yönelik harekete geçer. Cilt dışardan gelen bu antijenlere karşı bağışıklık mekanizması olan immünolojik bariyerini devreye sokar. Bunu da var olan belirli hücreleri aracılığı ile yapar. Bu yapılar epidermiste bulunan langerhans hücreleri, dermiste yer alan dentritik hücrelerdir bunun dışında ayrıca makrofaj hücreleri ve mast hücreleri de vücutta immünolojik cevap oluşturan hücrelerdir (5). Bu bariyer kırıldığı zaman veya patojenler arasındaki dengenin bozulduğu durumlarda birçok çeşitli cilt hastalıkları ve hatta sistemik hastalıklar ortaya çıkabilmektedir (6).

2.1.1.4. Ultraviyole (UV) (radyasyondan koruma) Bariyer Mekanizması

Cilt zararlı UV ışınlarına (UVA, UVB, UVC) maruz kaldığında hızlı bir yaşlanma sürecine girmekte ve zaman içinde deforme olmaktadır. Eğer ki bu maruziyet ciddi oranda olursa cilt kanseri ve DNA hasarı dahi meydana gelebilmektedir. Ozon tabakasının gün geçtikçe incilmesi bu olasılığı daha da güçlendirmektedir. Ancak insan derisi kendine has bazı özellikleri sayesinde bu hasarı en aza indirmekte ve cildi UV ışınlarına karşı korumaktadır. Bunlardan ilki stratum corneumun UV ışınlarından gelen radyasyonu geri yansıtmasıdır. Diğer özellik ise zararlı UV ışınlarına maruz kalındığı zaman derideki melanosit sayı ve fonksiyonunda artışa geçmesidir. Bu sayede maruziyet durumunda miktarında artış olan melanozom ve melanin de keratinositlere transfer edilmektedir. Sonuç itibarıyla UV radyasyonun cilt tarafından absorpsiyonu azaltılmış olmaktadır (4).

Deri dış dünya ile aramızda bir duyu organı görevi görmektedir. Dokunma, basınç, ağrı, sıcaklık gibi hisleri deri vasıtası ile alabilmekteyiz. Deri bu işlevini serbest sinir uçları, messinjer ve pacinian korpüsküller sayesinde yerine getirmektedir. Deri termoregulasyon özelliği sayesinde vücut ısını düzenlerken aynı zamanda yağ dokusunda depolanan lipidler sayesinde izolasyonu sağlamaktadır. Vücut için gerekli olan su ve oksijenin vücuda alınmasının bir yolu da cilt tarafından absorbe edilmesidir. Bir diğer fonksiyon ise cildin estetik görünüm yoluyla cazibe ve iletişim aracı olmasıdır (7).

2.1.2. Derinin Katmanları

Deri temel olarak üç tabakadan oluşmaktadır. Bu tabakalar aşağıda sıralanmıştır.

1. Epidermis
2. Dermis
3. Hipodermis (yağ tabakası) tabakalarından oluşu

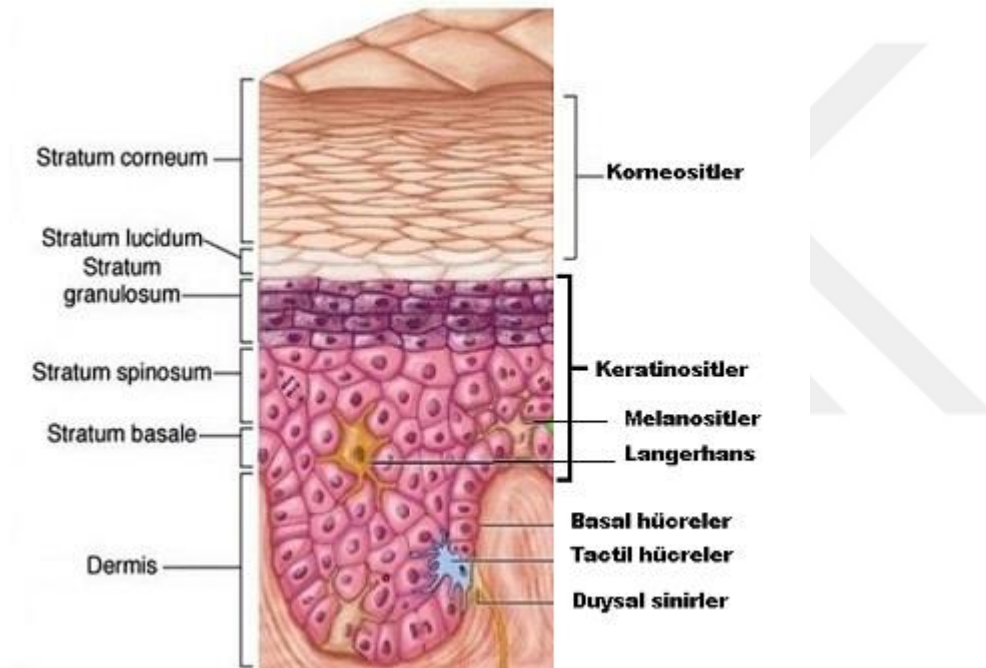
Bunların haricinde bir de vücutta deri ekleri dediğimiz yapılar mevcuttur. Yağ bezleri, ter bezleri, tırnaklar ve saç deri eklerini oluşturmaktadır.

2.1.2.1. Epidermis

Epidermis en dıştaki deri tabakası olup kendini her zaman yenileyen bir yapıya sahiptir. Damarlar ve lenf sistemi açısından zayıf olan bu tabaka ağrının hissedilmesi

için fazla miktarda sinir uçları bulundurur. Bu tabakanın kalınlığı yaklaşık olarak 150-180 μm arasındadır (8).

Epidermis keratinositler ve dendritik hücreler olmak üzere iki temel yapıdan oluşmaktadır. Keratinositler içermiş olduğu sitoplazma ve intraselüler köprüler ile dendritik hücrelerden ayrılır (9). Epidermin büyük bir kısmını keratinosit hücreler oluştururken Melanosit hücreleri, Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri de bu tabakada bulunmaktadır. Epidermis temel olarak beş kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlar bazal tabaka, spinöz tabaka, granüler tabaka, lüsidum tabaka ve korneum tabakası olarak adlandırılmaktadır (10).



Şekil 2-2 Epidermin genel yapısı (11).

Keratinositler: Epidermisteki hücrelerin %80 ini keratinositler oluşturur. Keratinositler aşınmayı ve su kaybını önler. Epidermiste bazal tabakadan dış yüzeye doğru sürekli bir hücre göçü vardır ve bu göç sırasında hücreler bir farklılaşma süreci geçirirler işte bu farklılaşmaya keratinizasyon denir. Keratinizasyon süreci sentetik ve degradatif fazdan oluşmaktadır (9). Sentetik fazda sitoplazmada keratin filamentleri meydana gelir sonrasında ise keratin filamentleri birleşir ve plazma membranında desmozom adı verilen yapıları oluşturur. Keratinizasyon boyunca degradatif fazda hücrelerin organelleri kaybolur, filamentler ve amorf hücre zarf karışımlarının meydana

gelmesi için hücre içerikleri bütünleşir. Bu olgunlaşma süreci hücre ölümü ile sonuçlanarak terminal farklılaşma adını alır (10).

Melanosit hücreler: Bazal tabakada yer alan bu yapılar pigment üretiminden sorumludur. Melanositler melanin sentezleyip bu melaninin keratonisitlere ulaşmasını sağlarlar. Melanin maddesi melanozom adı verilen oorganellerde üretilir. Melanin üretim süreci uzun olup reaksiyon boyunca reseptörler aracılığı ile yapılır. Ayrıca hormonlar tarafından uyarılarak gerçekleşen bu reaksiyonların yürütülmesinde enzimler de yer alarak süreci hızlandırmaktadır (9). Keratonisitler üretilen melaninin en dış tabakada depolanmasını sağlar. Bu tabakada depolanan melaninler zararlı UV ışınlarının keratinosit çekirdeklerine hasar vermesinin önüne geçerler (7).

Merkel hücreleri: Genel olarak mukozalarda yer alan hücrelerdir bir diğer yerleşim alanı ise saçlı veya tüysüz deridir. Merkel hücreleri melanin içerip desmosomlar aracılığı ile keratonisitlere bağlanır. İşlevi tam olarak açıklanamayan bu hücreler duyuşal sinirler ile iletişim halinde olup uyarılabilir özelliktedirler (12).

Langerhans hücreleri: Langerhans hücreleri daha çok derideki immünolojik cevabın oluşturulmasında görev almaktadırlar. T hücrelerinin aktive edilmesinde rol oynamaktadırlar. Bu aktivasyon işlemi langerhans hücrelerinin antijenle karşılaşmasından sonra başlar. Antijenle karşılaşan langerhans hücreleri bulundukları yerden lenf nodlarına doğru hareket ederek T hücrelerini uyarırlar (13). Langerhans hücreleri etrafındaki diğer hücrelerle hücreşel bağ meydana getirmeşler. Toplamı %2-%8 oranında olan bu hücreler vücutta belirli alanlarda bulunurlar. Epidermiste skuamöz tabaka, granüler ve bazal tabakada yer alır. Bunun dışında özafagus, vajina, ağız boşluğu gibi bölgelerde, dermiste ve lenfoid organlarda bulunur (9).

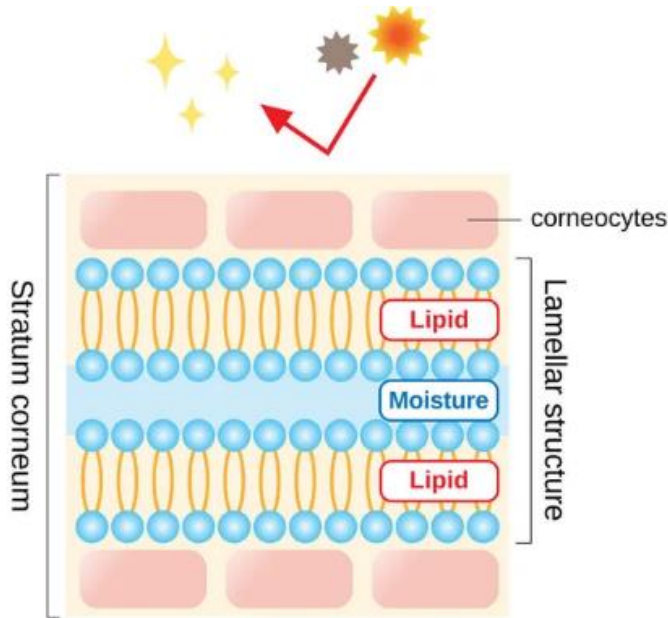
Bazal Tabaka (Stratum Basale): Diğer adı Stratum germinativum olan bu tabaka kolon biçimindeki keratinositler ile dermise bağlanır. Bazal hücreler birbirlerine ve skuamöz hücrelere desmozom bağlarırları aracılığı ile bağlanır (9). Bazal tabaka, biyokimyasal ve morfolojik değişimlerin bir sonucu olarak epidermisin en dıştaki katmanında yer alacak olan çekirdeksiz boynuzsu hücreleri oluşturur (14). Bazal tabaka deri için bir kök hücre kaynağıdır, hücrelerin stratum germinativumdan boynuzsu tabakaya geçişi en az 14 gün devam eder sonrasındaki 14 gün boyunca da boynuzsu tabakadan en dış tabakaya transfer sağlanır.

Spinöz Tabaka (Stratum Spinosum): Skumöz hücre tabakası olarak da bilinen ince bir tabakadır. Stratum spinosum tabakası yapı ve şekil olarak birbirinden farklılık gösteren birçok hücreden oluşur. Bu tabakada en çok Lamelar granüller bulunur ve bu granüller bol miktarda hidrolitik enzim içerir. Bu özelliğinden dolayı lamelar granüllerin bir tür çeşit lizozom olduğu da düşünülmektedir (9).

Granüler Tabaka (Stratum Granulosum): Epiderminin en dıştaki tabakası olan ve canlı hücre içeren bölümüdür. Stratum granulosum veya granüler tabaka olarak da bilinir. Bunun nedeni sitoplazmasında fazla miktarda keratohyalin granülleri barındıran düz şekilli hücrelerden oluşmasıdır. Buradaki hücreler keratinizasyon aşamasında proteinlerin modifikasyonu ve sentezi işlemlerinde görev alırlar (9). Hücrelerin çekirdeklerinin parçalanması bu tabakada başlamasına karşın halen çekirdek bulunmaktadır (14). Bu tabakanın kalınlığı vücudun belirli yerlerinde değişiklik göstermektedir. Elin üst kısmı ve yüz bölgesinde daha ince iken avuç ve ayak tabanında çok daha kalın olabilmektedir (9). Üst katmanda ölü hücrelerin sayısının artmasının nedeni burada plazma membranı kalınlaştığı ve granüller parçalandığı içindir (16).

Lusidum Tabaka (Stratum Lucidum): Ölü hücrelerden oluşan bu tabaka vücutta sadece belli bölgelerde bulunur. Bu bölgeler daha çok ayak tabanı, parmak ucu ve avuç içi gibi daha kalın alanlardır. Stratum lucidum adıyla da bilinen bu tabaka ölü ve ince keratinositlerden oluşmaktadır (7).

Korneum Tabaka (Stratum Corneum): Epiderminin en dışında yer alan bu tabaka Stratum korneum olarak adlandırılır. Adından da anlaşılacağı üzere bu tabaka çok sayıda korneosit içermektedir. Tabakanın yapısını oluşturan bir diğer öge ise estraselüler lamelar membrandır. Bu membran lipid içeriği açısından oldukça zengindir. Bu tabaka en dışta olması sebebiyle aynı zamanda doku ve hücreler için bir bariyer görevi görmektedir. Bu sayede dış ortamdan gelebilecek zararlar bu tabaka sayesinde engellenmiş olmaktadır (17). Stratum korneum belli aralıklarla kendini yenilemektedir. Bu yenileme işlemi yaklaşık olarak 15 günde bir gerçekleşmektedir (15). Stratum korneum tabakası en dışta olması sebebiyle de çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Sıcaklık ve nem gibi özellikler bu tabakanın mekanik özelliklerini değiştirebilmektedir. Bu nedenle cilde uygulanan nemlendirici, saf su vs gibi ürünler cilt hidrasyonunun değişmesine neden olmaktadır (18).



Şekil 2-3 Stratum corneumun yapısı (19).

2.1.2.2. Dermis

Ciltte epidermis ve hipodermis arasında bulunan tabakaya dermis tabakası adı verilir. Vücutta bulunduğu bölgeye göre kalınlığı değişen dermis tabakası sırt bölgesinde 5mm kadar iken göz kapaklarındaki kalınlığı 1 mm'den az olabilmektedir (4). Dermis ile epidermis arasında Dermal-Epidermal bağlantı bölgeleri bulunmaktadır. İki tabaka bu şekilde bağlantı halinde olup yaraların iyileşmesi ve derinin yenilenmesi olaylarında birlikte görev alırlar birlikte Cilt kütleini oluşturan dermis tabakası esneklik ve cilde mekanik kuvvet sağlamakla görevlidir. Bu işlevi sayesinde dermis tabakası yaralanmalara karşı vücudu korumaktadır. Dermis bunun haricinde duyu reseptörleri içerir cilt hidrasyonunu sağlar ve termoregulasyona yardımcı olur (9). Dermis tabakası bir bağ dokusu olup hücreler, fibriller ve çeşitli ana maddelerden oluşmaktadır. Protein ve polisakkaritler dermis ana maddelerini oluşturmaktadır. Kolajen ve elastin içeren fibroblastlar ise bu tabakanın hücreleridir. Bunlar dışında bir de melanosit, mast hücreleri ve fagositler bulunmaktadır (4). Dermiste yüzeye yakın kısımlarda kan damarları bulunur, korpuskulomlar serbest sinir uçları ve lenfatik kanallar ise mevcut diğer yapılardır (2). Kanlanma bölgesi olduğu için lenfatik sistem ve kan damarları yoluyla dışardan alınan ilaç vb gibi maddeler daha derin tabakalara ve sistemik dolaşıma buradan geçmektedir (20). Dermiste yer alan Kolajen ana maddesi aynı zamanda tüm vücudun da ana proteindir. İnsan derisinde en az 15 farklı tür kolajen mevcuttur. Dermisin hacminin %30'unu, kuru ağırlığının ise %70'ini kolajen oluşturmaktadır. Vücutta en fazla bulunan kolajen Tip I kolajen olurken vücuttaki oranı %75'tir, Tip III kolajenin oranı ise %15'tir. Elastik fibriller ise yapı ve kimya açısından

kolajenden farklılık göstermektedir. Cildin esnekliğinin sağlanmasında görev alan elastik fibriller kolajen gibi yırtılma ve deformasyon durumlarında koruma sağlayamamaktadırlar. Yine bu tabakada yer alan Hyaluronik asit normalde küçük bir komponent olmasına karşın herhangi bir patolojik durumda büyük bir mukopolisakkarit gibi davranmaktadır (4-10).

2.1.2.3. Hipodermis

Yağ tabakası olarak da bilinen hipodermis dermis tabakasının altında yer almaktadır. Bu katmanda adipositler denilen yağ hücreleri bulunmaktadır. Adipositler yağ dokunun yaklaşık üçte birini oluştururlar. Diğer kısmı ise preadipsitler, fibroblastlar, sinir uçları ve kan damarları oluşturur (21). İnsan vücut ağırlığının %80'i bu katmanda yer almaktadır. Ancak bu oran obez olmayan sağlıklı kişiler için geçerlidir (2). İki çeşit yağ dokusu mevcuttur. Bunlar beyaz yağ dokusu ve kahverengi yağ dokusudur. Beyaz yağ dokusu enerji fazlalığı durumunda trigliseritleri depolar böylece vücut enerji dengesinin bozulmamasına yardımcı olur, vücut enerjisi eksildiği zaman ise yine beyaz yağ dokusu yapısında bulunan serbest yağ asitlerini dışarı salar, adipokinezi başlatarak glikoz ve lipit dengesinin yeniden düzenlenmesine yardımcı olur. Miktarı kişiye göre değişen kahverengi yağ dokuları ise vücuttaki depo yağları parçalayarak enerjiye dönüştürür (22).

2.2. Hiperpigmentasyon

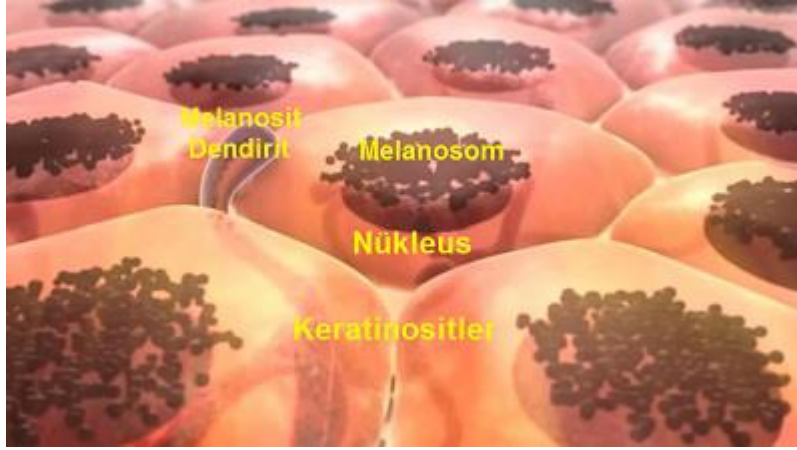
Normal deri rengimizin belirlenmesinde genetik, fizyolojik ve çevresel olmak üzere birçok faktör etkili olmaktadır. Bu faktörlerin başında melanosit ve keratinositlerdeki melanin pigmentinin tip ve miktarı yer almaktadır. Bunlar dışında epidermis tabakasının en dış katmanı olan stratum korneumun kalınlığı, damar yapısı ve karotenoid gibi eksojen pigmentlerin varlığı da etkili olmaktadır (41,42). Melanositlerin sayısı ve fonksiyonlarında artış olduğu zaman ya da deriye renk veren diğer maddelerin birikimi sonucunda deri renginde normale nazaran bir koyulaşma meydana gelir. Deri renginde meydana gelen bu koyulaşma problemine hiperpigmentasyon adı verilir. Hiperpigmentasyon cilt renginde koyulaşmayı ifade eden genel bir terimdir. Hiperpigmentasyon vücudun birçok bölgesinde ortaya çıkabilmektedir. Ancak en sık görülen bölge dış çevreye ve güneşe maruziyetten de dolayı yüz bölgesi olmaktadır. Hiperpigmentasyon problemi özellikle yüz bölgesinde görüldüğü zaman kişiyi hem psikososyal olarak hem de kozmetik açıdan rahatsız eden yaşam kalitesi ve görüntü

konforunu bozan son derece rahatsız edici bir durumdur. Hiperpigmentasyonun birçok nedeni vardır. En çok görülen hiperpigmentasyon çeşitleri arasında melazma, postinflamatuvar hiperpigmentasyon ve ilaca bağlı hiperpigmentasyonu sayabiliriz (43,44).

2.2.1. Hiperpigmentasyon Hakkında Genel Bilgiler

Melanositler: Melanositler deriye rengini veren ve melanoblastlardan orijin alan epidermis hücreleridir. Melanositler genel olarak epidermiste bazen de dermiste lokalize olurlar. Saç ve cildimizin renginin belirlenmesini esasen melanositler sağlamaktadır. Melanositler bu işlevi yerine getirirken aynı zamanda cildimizi güneşin zararlı ışınlarından da korumaktadır. Melanositler keratinositlerle bağlantı halindedir ve bu bağlantı yoluyla üretilen melanini derinin üst tabakalarına iletir. Melanositler vücudun farklı bölgelerinde farklı yoğunlukta bulunmaktadır. Örneğin kafa derisi ve önkolda milimetrekaire başına 2000 adet melanosit denk gelmektedir. Vücudun geri kalan kısımlarında ise bu oran yaklaşık milimetrekaire başına 1000 adet melanosite denk gelmektedir (42).

Melanozom: Deriye rengini veren melanin pigmentinin üretilip depolandığı organel benzeri yapılara melanozom adı verilir. Melanozom oluşumu dört aşamada gerçekleşir. I. evre melanozomlar henüz melanin içermeyen küresel kompartmanlardır. II. evre melanozomlar ovaldir, paralel ve uzunlamasına filamanlar içerirler; bu yapılarda minimum seviyede melanin birikimi mevcuttur aynı zamanda tirozin aktivitesi yüksektir. III. evre melanozomlar oval bir organelle sahip olmakla birlikte melanin birikimi ve tirozinaz aktivitesi yüksektir. IV. evre melanozomlarda ise yoğun melanin birikimi ve minimum tirozinaz aktivitesi görülmektedir (45).



Şekil 2-4 Deride melanosit ve melanozomların yerleşimi (61).

Melanin Pigmenti ve Üretimi: Deriye rengini veren esas madde melanositler aracılığıyla üretilen melanin pigmentidir. Melanin L-tirozin ya da L-fenilalanin adındaki amino asitlerin metabolize olması sonucu oluşmaktadır. Bu reaksiyonun ilk basamağı tirozinaz enzimi aracılığıyla yürümektedir. Tirozin melanozom adı verilen lizozom-benzeri organellerde metabolize edilir ve melanozomlar melanin biriktirerek melanositlerin dendrit-benzeri uzantılarından aşağıya yönlendirerek, bitişikteki keratinositlere aktarırlar. Tirozin iki tip melanine metabolize olmaktadır bunlar; eumelanin (kahverengi-siyah melanin) veya feomelanin (sarı-kırmızı melanin) dir. Pigment oranı yüksek olan kişilerde eumelanin/feomelanin oranı daha yüksektir. Bütün bu melanin üretimi sürecine melanogenez de denilmektedir. Kişinin cilt rengi melanozomların keratinositlere aktarılma miktarı, tipi ve etkinliği tarafından yönetilmektedir. Açık renkli tene sahip kişilerde büyük oranda II-III. Evre melanozomlar, koyu renkli tene sahip kişilerde ise daha çok IV. Evre melanozomlar görülmektedir (45). Melanin maddesi, cilt tonunu düzenlemenin yanında güneş ışınları tarafından uyarıldığında doğal bir güneş koruyucu gibi de davranmaktadır. Ancak güneş ışınlarına aşırı maruziyet melanositlerin sayısında artışa neden olur ve ciltte solar lentigo (yaşlılık lekesi de denir) dediğimiz geniş koyu lekeler oluşur. Bazen de melanosit sayısında bir değişim olmamasına rağmen melanin pigmentinin aşırı ya da düzensiz üretimi ile sonuçlanan hiperpigmentasyonlar oluşmaktadır. Bu durum vücudun yüz ve eller gibi güneşe daha çok maruz kalan kısımlarında görülmektedir. Yüzde görülen melazma (güneş lekesi) veya kloazma (hamilelik lekesi) olarak adlandırılan lekeler de görünüşte yaşlılık lekelerine benzer, ancak ciltte daha geniş bir alan kaplar ve oldukça inatçı lekelerdir. Bu durumlar hamilelik, doğum kontrol hapı kullanımı,

östrojen/progesterone takviyesi gibi hormon düzensizliğine neden olan durumlarda melanin üretiminin artışı sonucu oluşmaktadır. Ayrıca cildin operasyon/travma sonrası inflamasyonu ve akne gibi inflamasyonlu durumları, inflamasyon iyileştikten sonra ciltte yüzeyi düz lekeler bırakabilmektedir. Cilt tonu ve inflamasyonun şiddetine bağlı olarak bu lekeler pembemsi, kırmızı, kahverengi ya da siyah olabilmektedir (46,47).

2.2.2. Hiperpigmentasyonun Nedenleri

Hiperpigmentasyonun birden fazla nedeni olabilmektedir. Bu nedenler arasında genetik, fizyolojik ve çevresel faktörler yer almaktadır. Genetik faktörlerin yanında UV maruziyeti, gebelik, hormonal tedavi, kullanılan ilaçlar ve bilinçsiz kullanılan kozmetik ürünleri de sayabiliriz. Bunların dışında yanlış yapılan epilasyon işlemleri, lazer yanıkları ve güneş yanıkları da hiperpigmentasyon nedenleri arasındadır. Hiperpigmentasyonlar pigmentasyonun derinliğine göre epidermal ve dermal olarak değerlendirilmektedir. Tüm vücudu genel olarak etkileyen hiperpigmentasyonlar olabildiği gibi vücudun belli bir bölgesinde lokalize olan pigmentasyonlar da olmaktadır, bunların nedenlerini şu şekilde sıralayabiliriz;

Tüm vücudu etkileyebilen genel pigmentasyonlar:

- Güneşin ultraviyole ışınları (doğal veya yapay bronzlaşma)
- Hormonal sebepler (gebelik, östrojen kullanımı, addison hastalığı, nelson sendromu)
- Metabolik sebepler (hemokromatozis, malabsorpsiyon)
- Kullanılan ilaçlar (minoksisiklin gibi akne ilaçları, fenotiyazin, amiodaron gibi ilaçlar)
- Karotenemi (fazla beta-karoten tüketiminden dolayı cildin turuncu-sarı renkte görünmeye başlaması)
- Aritema diskromikum perstan
- Aktinik Pigmente Liken Planus
- Makuler Amiloidozis
- İdiopatik Eriptif Makuler Pigmentasyon
- Dowling Degos Hast.
- Prurigo Pigmentosa
- Konfluen ve retiküler papillomatoz

- Hipertiroidi

Vücutun belli bir bölgelerinde lokalize olan pigmentasyonlar:

- Efelidler (çiller)
- Lentigolar
- Post inflamatuvar sonrası hiperpigmentasyonlar (yanıklar,psöriazis, liken planus,pemphigus,during,ekzemalar, ışık dermatozları,porfiri,kseroderma pigmentozum)
- Melazma-Kloazma (gebelik,kontraseptifler, kozmetikler, güneş)
- Café-au-lait (kafeola) makülleri
- Peutz-legher sendromu
- Melanositik nevüsler
- Akantozis nigricans
- Pitriazis versicolor
- Riehl Melanozu
- Civatte'nin Poikiloderması
- Eritromelanozis Follikularıs Fasiei
- Brocg'un Peribukkal Pigmentasyonu
- Eksojen Okronozis
- Ailesel Periorbital Hiperpigmentasyon
- Travmatik Tutuaj
- Akkiz dermal melanositoz (41.45)

2.2.3. Melasma

Hiperpigmentasyon eğer vücutta yüz bölgesinde lokalize olmuşsa bu melasma veya kloazma adını almaktadır. Melasma hiperpigmentasyonun inatçı bir formu olmakla birlikte eğer doğru tedavi yöntemi belirlenmezse tekrarlama ihtimali de çok yüksektir. Melasma kelimesi yunancada melas (siyah) kelimesinden köken almaktadır, kloazma ise klaozein (yeşil) kelimesinden gelmektedir. Melasma dediğimiz yüz ve boyun pigmentasyonları kozmetik görüntü açısından en çok önemsenen pigmentasyonlardır. Daha çok orta yaşlı kadınlarda görülen melasmanın nedenleri arasında endojen (hormonal dengedeki değişişim ve bozukluklar) problemler, güneşe ve uv lambalara maruz kalma sayılabilmektedir. Melasma koyu kahverengi lekeler ile karakterize olup yüzde daha çok alın, şakak, dudak üstü, nadiren burun ve çenede görölmektedir.

Fizyopatogenezi hakkındaki bilgilerin hala sınırlı oluğu melasma klinik muayene ile kolayca teşhis edilebilen sık tekrarlayabilen kronik bir hastalıktır. Mevcut leke tedavilerine karşı direnç gösteren bir pigmentasyon türüdür. Melasma tedavisinde genel amaç melanogenezin neden olan enzimi inhibe etmektir, böylece melanin sentezini baskılamaktır. Günümüzde bunun için birçok tedavi yöntemi denenmektedir.



Şekil 2-5 Yüz bölgesinde melasma lokalizasyonu (62).

2.2.4. Hiperpigmentasyonda Tanı ve Tedavi Yöntemleri

Birçok hastalıkta olduğu gibi hiperpigmentasyon probleminde de en önemli adım doğru tanıyı koyabilmektir. Hastalığın orijinini nereden aldığı doğru belirlendikten sonra doğru ve etkili tedaviyi bulmak da daha kolay olacaktır. Örneğin hastalığın genetik mi yoksa ilaç kullanımına bağlı mı ortaya çıktığı belirlendikten sonra tedaviyi bulma da daha kolay olacaktır. Bilindiği üzere tirozinaz, melanin sentezinde rol alan en önemli enzimdir. Bu nedenle pigmentasyonun devam etmemesi için tirozinazın aktivitesi inhibe edilmeye çalışılır. Tedavide kullanılan birçok depigmentasyon ajanı da bu mekanizma mantığı ile işlemektedir. Bunun dışında başka mekanizmalar da vardır. Bu mekanizmaları genel olarak şu şekilde açıklayabiliriz;

- Melanin sentezinden önce tirozinaz aktivitesini inhibe etme (hidrokinon vb ajanlar bu şekilde etki etmektedir)
- Melanin sentezi sırasında tirozinaz inhibisyonu, peroksidaz inhibisyonu veya oluşacak ürünlerin azaltılması
- Melanin sentezinden sonra tirozinazın yıkımı ve melanozom transferinin inhibisyonu (48).

Hiperpigmentasyon probleminde doğru tanı konulduktan sonra tedavi basamağına geçilmektedir. Günümüze kadar denenmiş birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Bu tedavi seçeneklerini aşağıdaki gibi sıralayabiliriz;

- Depigmentasyon ajanlarının kullanılması: Fenolik bileşikler (hidrokinon, rezorsinol, katekol), azelaik asit, kojik asit, askorbik asit (C vitamini), retinoid (retinoik asit, tretionin), meyankökü ekstresi, arbutin ve dioksiarbutin, soya ekstresi, ayva ekstresi, α - lipoik asit, doymamış yağ asitleri.
- Kimyasal peeling, enzim peeling (piyasada bulunan cosmolan krem ve maske glikolik asit, kojik asit, azelaik asit, fitik asit, salisilik asit içermekte olup enzim peeling örnek verilebilir)
- Dermabrasyon
- Likit nitrojen kriyoterapi (dondurma tedavisi)
- Lazer operasyonu
- Diğer ışın tedavileri

Yukarıda sıraladığımız leke açıcı tedavide kullanılan kimyasal/bitkisel ajanlar ve medikal işlemlerin hepsi genel olarak iki mekanizma üzerinden yürümektedir. Bunlardan ilki cildi soyarak cilt rengini açma ikincisi ise hücrelerde melanin üretimini baskılayarak (tirozinaz enzimini inhibe ederek) cilt rengini açmadır (41). Tüm bu işlemlerin kendine özgü avantaj ve zorlukları olabilmekte uygulama sıklığı ve süresine göre bazen cilde zarar da verebilmektedir. Medikal tedavi seçeneklerinin birçoğu girişimsel (invaziv) olup, hastanın uygulama sırasında profesyonel birine ihtiyaç duyduğu ve uygulama sırasında acı veren kimyasal içerikli yöntemlerdir. Cilt rengini açıcı topikal ürünlerle yapılan tedavi ise genellikle monoterapi şeklindedir ve uzun bir süre sonunda (en az 3 ay) etkili sonuç alınabilmektedir bazen sonuç da alınamamaktadır

(48). Hidrokinon, kortikosteroidler ve kojik asit gibi klasik depigmentasyon ajanları çok etkili olmalarına karşın, uzun süreli maruziyetle ilişkili okronozis, atrofi, karsinogenez ve diğer lokal veya sistemik yan etkiler gibi çeşitli güvenlik problemleri ortaya çıkarmaktadırlar (49). Bu ve buna benzer nedenlerden dolayı son dönemlerde hiperpigmentasyon probleminde kozmesötik dediğimiz piyasada dermokozmetik ürün olarak da bilinen ürünler daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Kozmesötik ürünler etken madde içeren ilaç kategorisinde değildir ancak ilaç gibi etki eden aktif bir içeriğe sahiptir. Bu aktif (etkin) madde çeşitli yardımcı maddeler içeren taşıyıcılarla cilde uygulanır. Hiperpigmentasyonda kullanılan kozmesötik ürünlerde kimyasal madde içeriği olabildiğince düşük tutulmakta ve sorununun çözülmesi amacıyla içeriğinde bitkisel kökenli maddelerin yer aldığı formülasyonların geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmaktadır.. Bunun nedeni topikal uygulamalarda dahi uzun süreli tedavide kimyasal içeriklerin sistemik dolaşıma katılarak vücuda zarar verebilmeleridir. Konvansiyonel topikal hiperpigmentasyon tedavisi sonucu meydana gelen cilt iritasyonu, kontakt dermatit ve koyu tenli kişilerde ortaya çıkan eksojen okronozis gibi çok çeşitli yan etkiler görülebilmektedir. Bitkisel ekstreler ise melanositlerde sitotoksiste veya mutajenite meydana getirmeden melanin oluşumunu inhibe ederek yan etki riski oluşturmadan etki gösterirler (50). Sonuç olarak, pek çok potansiyel aktif bileşen içeren bitkisel ekstrelerin kullanımı yeni ürün geliştirmede alternatifler sunmaktadır. Soya ekstresi, meyan kökü, ayva ekstresi, arbutin, curcumin (zerdeçal) gibi aktif (etkin) maddeler kozmesötiklerde hiperpigmentasyon probleminde çokça kullanılmakta ve güvenle tercih edilmektedir.

2.2.5. Doğal Bir Depigmentasyon Ajanı Olarak Soya Ekstresi

Yaşla beraber cildin eski elastikiyet ve tazeliğini kaybetmesi kırışıklıklar ve hiperpigmentasyonun baş göstermesi insanları yaşlanma karşıtı ürünlere özellikle de doğal kaynaklı ürünlere yönlendirmiştir. ABD’de yapılan bir istatistiki çalışmaya göre mağazadaki yaşlanmayı geciktirici ürünlerin satışında 2005 yılında 2001’e göre %33 artış yaşanarak 664 miilyon dolara ulaşmıştır. Soya da son dönemlerde bu amaç kullanılan ajanlardan bir tanesidir. Özellikle son on yılda soya ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve soyanın birçok etkinliği keşfedilmiştir. Perimenapozal semptomları azaltması, kalp hastalıkları riskini düşürmesi, karsinogenez üzerine olumlu etkileri yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bunun yanında soyanın cilt üzerine de birçok olumlu etkisi

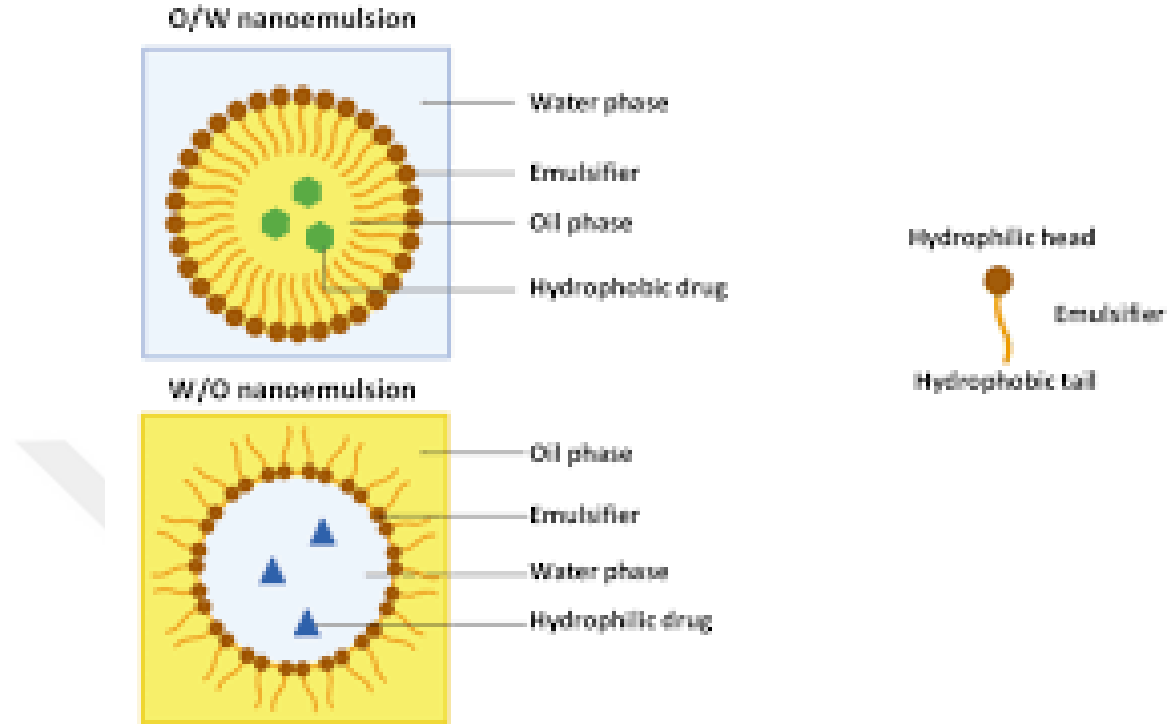
mevcuttur. Fotoyaşlanmadan koruması, yaşa bağlı kırışıklıkları azaltması, azalmış olan cilt elastikiyetini geri kazandırması ve hiperpigmentasyonu iyileştirmesi cilt üzerindeki olumlu etkileri arasındadır. Güvenlik açısından da sorun teşkil etmeyen soya ektresinin içeriği ve etkinliğinden bahsedebiliriz. Soya'nın başlıca bileşenleri fosfolipidler (% 45-60) ve esansiyel yağ yağlarıdır (% 30-35). Ayrıca izoflavonlar, E vitamini ve serin proteaz inhibitörleri-soya fasulyesi tripsin önleyicisi (STI) ve Bowman-Birk proteaz inhibitörü (BBI) gibi aktif maddeler içerir. Proteaz inhibitörleri PAR-2 aktivasyonunu inhibe ederek melanozom transferini engeller. Soya yağ asitleri, PAR-2'nin bilinen bir etkinleştiricisi olan tripsin'i inhibe eder. Dahası, izoflavonlar DOPA oksidaz aktivitesini engeller ve böylece melanogenezi inhibe eder. Melanogenezi inhibisyonu sonucu üretilen melanin miktarı azalır pigmentasyon problemi de ortadan kalkmaya başlar (51). Soya'nın hem etkili hem de güvenli olduğu bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Soya içeren çeşitli cilt bakım ürünleri, hiperpigmentasyonun iyileştirilmesi için mevcuttur. Soyanın hiperpigmentasyonu giderici etkisi geri dönüşümlüdür ve yürütülen bir çalışmada soyanın 7 ay boyunca günlük topikal uygulaması herhangi bir yan etki oluşturmadığı gözlenmiştir. Soya'nın hem etkili hem de güvenli olduğu bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada yine soyanın cilt rengini açıcı özelliğinin olduğu denekler üzerindeki 12 haftalık uygulama ve ölçümler sonucu kanıtlanmıştır. Bu çalışmada denatüre olmayan soya türevleri kullanılmıştır. Denatüre olmayan soya türevleri serin proteaz enzimini (soya fasulyesi tripsin önleyicisi-STI) ve Bowman-Birk proteaz inhibitörü (BBI) içerdiğinden dolayı PAR-2 reaksiyonunu inhibe eder böylece melanozomlar keratinositler tarafından parçalanarak hiperpigmentasyon önlenmiş olur. Denatüre olmayan STI ve BBI içeren yeni bir soya nemlendiricisini cilt tonu, pigmentasyon ve fotoyaşlanma üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Çalışmada yüzünde orta derecede hiperpigmentasyon olan 65 kadın üzerinde 12 hafta boyunca aktif madde olarak soya içeren ürün ve plasebo amaçlı ürün kullanılıp takip edilmiştir. Denekler üzerinde 2,4,8 ve 12 haftada çeşitli ölçümler ve klinik gözlemler yapılmış deneklerdeki görsel değişim fotoğraf yolu ile de takip edilmiştir. Bu 12 hafta sonunda deneklerde benekli pigmentasyon, leke, ince çizgi, donukluk, genel doku ve genel cilt tonu üzerinde anlamlı iyileşmelerin olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma sonucunda soya özleri içeren bir nemlendiricinin güvenli ve etkili olduğu genel cilt tonunu düzenlemede ve fotoyaşlanmada kullanılabileceği anlaşılmıştır (52).

Hiperpigmentasyon sorunu birçok nedenden kaynaklanabilmektedir ve günümüzde birçok tedavi yöntemi bulunmakatdır. Ancak tedavi yöntemlerinin yanında hiperpigmentasyondan korunmak da son derece önem arz etmektedir. Özellikle melasmaya eğilimli ve güneşe karşı hassas olan kişiler bu konuda daha dikkatli olmalıdırlar. Yüksek faktörlü güneş koruyucuları düzenli olarak kullanmak sounun büyümesini önleyecektir. Yine tedavi aşamasında da güneşten koruyucu ürünleri kullanmak gerekmektedir. Güneş koruma faktörlü ürünler tedavi sırasında hassaslaşan cildin daha fazla zarar görmemesi için adeta kalkan görevi görmektedir. Özellikle cildi soyarak tedavi edici ürünler kullanılıyorsa 50+ SPF li güneş koruyucuların kullanılması büyük önem taşımaktadır. Bu dönemde güneş koruyucular sadece güneşe çıkılacağı zamanda değil ev ve iş ortamında da kullanmaya dikkat edilmelidir. Çünkü UV ışınları kadar telefon ve bilgisayardan aldığımız ışınlar, ortamdaki aydınlatıcı lambalardan yüzümüze yansıyan ışık da pigmentasyonu tetiklemektedir. Bu nedenle özellikle tedavi sırasında güneş koruyucu kremler kullanmaya özen gösterilmeli ve bunun tedavinin çok önemli bir tamamlayıcısı olduğu unutulmamalıdır.

2.3. Nanoemülsiyonlar

Emülsiyonlar birbiri ile karışmayan farklı fazlardaki sıvıların birbiri içerisinde heterojen bir şekilde damlacıklar halinde dağıldığı sistemlerdir. Emülsiyonlar diğer dispers sistemlerde olduğu gibi iç fazdaki serbest enerji yüksekliği nedeniyle termodinamik olarak stabil olmayan bir yapıya sahiptirler (23). Nanoemülsiyonlar ise yağ ve su fazının bir surfaktan/kosürfaktan ile birleşmesi sonucunda meydana gelen termodinamik veya kinetik açıdan stabil olan ilaç taşıyıcı sistemlerdir (24). Nanoemülsiyonlar damlacık boyutu 100 - 500 nm arasında değişen dispers sistemlerdir (25). Nanoemülsiyonlar boyut olarak klasik emülsiyon ve mikroemülsiyon arasında bir damlacık boyutuna sahiptir (26). Nanoemülsiyonlar yarı saydam bir görüntüye sahiptirler ve üretildikten sonra çökme, kremalaşma gibi problemlerin yaşanmasına olanak vermezler. Bu özelliklerinden dolayı nanoemülsiyonlar ilaç, kimya ve kozmetik sanayiinde çok fazla tercih edilmektedir. Nanoemülsiyonlar S/Y (yağ içinde su) ve Y/S (su içinde yağ) formlarında üretilebilmektedir (27). Nanoemülsiyonlar genel olarak güvenli olarak kabul edilen farmasötik sürfaktanlar kullanılarak hazırlanmaktadır (28). Nanoemülsiyonlarda kullanılan sürfaktanlar su ve yağ fazı ara yüzündeki basıncı

azaltmaktadırlar. Emülsiyon oluşturuıcı ajanlar bir yandan lipofilik kuyrukla yağ fazına bağlanırken diğer taraftan hidrofilik baş ile de su fazına bağlanı (29).



Şekil 2-6 Nanoemülsiyonların yapısı y/s ve s/y formları (30).

2.3.1. Nanoemülsiyonların Avantajları

Nanoemülsiyonların kullanım alanları günümüzde oldukça yaygınlaşmıştır. Özellikle ilaç ve kozmetik sektöründe yaygın olarak tercih edilmektedir. Nanoemülsiyonların bu şekilde tercih edilme sebebi belli bir takım avantajlara sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Nanoemülsiyonların spesifik özelliklerinden dolayı sahip oldukları avantajları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Nanoemülsiyonlar diğer taşıyıcı sistemlere göre aktif maddenin daha çok absorbe edilmesini sağlar.
- Nanoemülsiyonlar absorbe edilen madde miktarının değişmesine engel olur. Formülasyon homojen olacağından dolayı absorpsiyon da değişmemektedir.
- Nanoemülsiyon yöntemi ile üretilen lipofilik karakterdeki ilaçlar daha iyi çözünme özelliği taşımaktadır.
- Nanoemülsiyon yöntemi ile üretilen formülasyonlarda biyoyararlanım da artmaktadır.

- Nanoemülsiyonların vücutta birden fazla uygulama yolu mevcuttur. Bu uygulamalar intravenöz, topikal veya oral yoldan yapılabilir (26).

- Nanoemülsiyon yöntemi ile üretilen kozmetik ürünlerin cilt hidrasyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir.

- Nanoemülsiyon yöntemi ile üretilen kozmetik ürünlerin ciltte daha iyi yayılım gösterdiği ve daha iyi duymasal özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir.

- Nanoemülsiyon yöntemi ile üretilen lipofilik karakterdeki daha uzun salının yapma özelliği gösterirler.

- Nanoemülsiyonlar damalcık boyutunun kontrollü bir şekilde elde edilmesini sağlar (23).

- Nanoemülsiyonlar ürünlerin kötü kokularını maskelemede başarılı sonuçlar b-vermektedir.

- Nanoemülsiyon teknolojisi yardımıyla krem, sıvı, spre ve köpük gibi birçok form üretilmektedir.

- Nanoemülsiyonlar parfümlerde ve diğer kişisel bakım ürünlerinde taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir. Bu şekilde alkol kullanılmadan parfümler üretilmektedir.

- Nanoemülsiyonlar taşıyıcı sistemler arasında deriden aktif maddelerin etkili bir biçimde taşınmasına yardımcı olan sistemlerdir (16).

- Mikroemülsiyonlarda surfaktan oranı %20 civarında iken nanoemülsiyonlarda bu oran %5 kadar olmaktadır. Bu da ortaya daha güvenli bir ürünün çıkmasını sağlamaktadır. Nanoemülsiyonlar güvenli kullanım onay izni almış GRAS (Generally Recognised As Safe) surfaktanlarla elde edilmektedir.

- Nanoemülsiyonlar normalde kimyasal olarak stabil olmayan bileşenleri ışıktan ve oksidatif bozunmadan koruyarak daha uzun bir stabilite imkanı yaratmaktadır (31).

2.3.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları

- Nanoemülsiyonlarda damlacık boyutunun küçültülmesi prosesi genel olarak daha pahalı bir hale getirmektedir. Bu formülasyon hazırlama işleminde birçok özel cihaz ve aletin kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Kullanılan homojenizatörün

tedarik edilmesi veya mikrofluidizasyon ve ultrasonikasyon için önceden hazırlanmış bir finansal destek gerekmektedir.

- Nanoemülsiyonların avantajlarından bir tanesinin stabiliteyi arttırdığı belirtilse de damalcık boyutu küçüldüğü için Ostwald olgunlaşmasının yaşanma riski söz konusu olabilmektedir. Bundan dolayı nanoemülsiyonların kullanılmalarından kısa süre önce üretilmesi tavsiye edilir.

- Erime noktaları yüksek olan maddeler için çözünme sorunu söz konusu olabilmektedir.

- Nanoemülsiyonlar her ne kadar stabil formülasyonlar olarak açılansa da pH ve sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir.

- Submikron damlacıkların üretim aşama ve mekanizmasının açıklanması yeterli değildir. Aynı zamanda sürfaktan ve kosürfaktan maddelerinin nanoemülsiyon sistemindeki rolü de yeterince açıklanmamıştır.

- Nanoemülsiyonların üretim aşamasında ara yüzey kimyası yeterince açıklanmamıştır (31).

2.3.3. Nanoemülsiyonların Bileşimi

Nanoemülsiyonlar temel olarak 3 bileşenden meydana gelir. Bu bileşenler şunlardır:

- Su
- Yağ
- Sürfaktan / Kosürfaktan

1. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Sürfaktanlar

- Capryol 90
- Gelucire 44/14, 50/13
- Cremopher RH 40
- Imwitor 191, 308 (1), 380, 742, 780 K, 928, 988
- Labrafil M, 1944 CS, M 2125 CS
- Plurol Oleique CC 497

- Poloxamer 124 , 188
- Softigen 701,767
- Tween 80
- Pluronic F68

2. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Kosurfaktanlar

- Transcutol HP
- Gliserin, Etilen Glikol
- Propilen Glikol
- Etanol
- Propanol
- PEG 400
- Lauroglycol 90

3. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Yağlar

- Captex 355
- Captex 200
- Captex 8000
- Witepsol
- Myritol 318
- Isopropil miristat

2.3.4. Nanoemülsiyonların Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

Nanoemülsiyonlar için ilaçların fiziksel ve kimyasal stabilitesini arttırmak denilse de ilacın stabilitesini korumayı sürdürmesi konusunda nanoemülsiyonların üretim teknolojisi ile ilgili sorunlar hala devam etmektedir. Yaşanan bu stabilize sorunlarını azaltmak için;

Nanoemülsiyon üretim aşamasında ara yüzey geriliminin az olması için kullanılacak surfaktanlar dikkatli seçilmelidir.

Emülsiyonda damlacıkların stabilizasyonu için surfaktan oranı yeterli olmalıdır.

Nanoemülsiyon oluşumunda ara yüzeyin esnek tutulmasına önem verilmelidir (31).

Nanoemülsiyonlar, ısı ve sıcaklıktan çabuk etkilenen sistemlerdir. Termodinamik açıdan kararsız olan bu sistemlerde zamanla bazı bozunmalar görülebilmektedir. Ostwald olgunlaşması, kremalaşma, sedimentasyon, flokülasyon, koalesans görülebilen bu değişimlerden (32).

- **Ostwald Olgunlaşması (damlacık büyümesi):** Emülsiyon içindeki ufak damlacıkların zamanla çözünmesi ve damlacık boyutunun daha büyük bir hale gelmesidir.

- **Koalesans:** Emülsiyonda fazlar arasındaki filmlerin parçalanması sonucu iki damlacığın yan yana gelip birleşerek daha büyük tek bir damlacığı meydana getirmesidir (32).

- **Kremalaşma / sedimentasyon:** Kremalaşma ve sedimentasyon birbirinin tam tersi olaylardır. Sedimentasyonda iç fazda yer alan damlacıklar emülsiyon içinde aşağıya doğru hareket dipte çökerken kremalaşmada ise damlacıklar emülsiyon yüzeyine doğru hareket ederek yüzeyde bir film tabakası oluşturur. Emülsiyonlarda sedimentasyon ve kremalaşma hızlarını bulmak için Stokes eşitliği kullanılmaktadır.

$$v = \frac{2r^2(\rho - \rho_0)g}{9\eta}$$

v hız

r damlacık yarı- çapı,

η dış fazın viskozitesi,

ρ iç faz damlacıklarının yoğunluğu,

ρ_0 dış faz damlacıklarının yoğunluğu,

g yer çekimi ivmesidir (33).

- **Flokülasyon:** Emülsiyon içinde dağılmış vaziyette bulunan damlacıkların tekrar bir araya gelmesidir.

• **Faz Değişimi:** Emülsiyon eğer bir fazdan diğer bir faza geçerse yani maddenin hali değişirse buna faz değişimi denir. Faz değişimine emülsiyondaki yüzey aktif maddenin oranı veya kullanılan diğer maddelerin oranı etki edebilmektedir (32).

2.3.5. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Metodları

Nanoemülsiyonların hazırlanma methodlarına baktığımızda karşımıza temel olarak iki yöntem çıkmaktadır. Bunlardan ilki yüksek enerji gerektiren yöntem diğeri ise düşük enerji gerektiren yöntemdir. Yüksek enerji gerektiren yöntemde amaç kullanılan yüksek enerji yardımı ile damlacıkların boyutunu küçültmektir. Bu amaçla yüksek hızlı karıştırıcılar, yüksek basınçlı homojenizatörler ve ultrasonik jeneratörler kullanılmaktadır. Bir diğer yöntem olan düşük enerji gerektiren yöntemler ise “faz dönüşüm sıcaklığı (PIT)” ve “emülsiyon dönüşüm noktası (EIP)” dır. Bu nanoemülsiyon üretim yöntemlerinde sistemde yer alan maddelerin kimyasal enerjisi ve sistemin fizikokimyasal özellikleri dikkate alınır (27).

2.3.5.1. Yüksek Enerji Gerektiren Metodlar

Yüksek enerji gerektiren methodlarda amaç yüksek kinetik enerjiye sahip nanoemülsiyon meydana getirmektir. Bunun için de yüksek mekanik enerji yaratan aletler kullanılır. Üretim işlemi sırasında yağ fazı ve su fazı arasındaki gerilim sıfırlanmaya çalışılır. Bu amaçla kullanılan cihazlar yüksek basınçlı homojenizatörler, ultrasonikatörler ve mikrofluidizerlardır. Oluşacak damlacık boyutunun büyüklüğü hem cihazların modeline hem bileşenlerin içeriğine hem de cihazın zaman sıcaklık gibi çalışma prensiplerine göre değişmektedir. Yüksek basınçlı homojenizasyon, ultrasonik emülsifikasyon ve mikrofluidizasyon kullanılan bu methodlardandır (16).

Yüksek basınçlı homojenizasyon: Nanoemülsiyonların hazırlanması aşamasında homojenizasyon işlemi için yüksek basınç uygulayan homojenizatörler kullanılmaktadır. Bu homojenizatörler 50-100 MPa basınçla çalışırlar. Homojenizasyon işlemi sırasında cihazda kavitasyon, laminar akış ve yoğun türbülans uygulanarak nano boyutta damlacıklar elde edilir. İstenilen damlacık boyutu ve PDI (polidispersite indeksi) elde edilene kadar işlem siklüsü tekrarlanabilir (31). Daha önce yapılan bir bilimsel çalışmada β -carotene yüklü Y/S nanoemülsiyonunun hazırlanmasında yüksek basınçlı homojenizasyon methodu kullanılmıştır. Kullanılan emülgatör çeşidi ve konsantrasyonu, homojenizasyon basıncı, sıcaklık ve siklüs sayısı gibi etmenlerin nanoemülsiyonun stabilitesi ve özellikleri üzerine olan etkileri Zetasizer ve Turbiscan

Lab cihazları ile ölçölüp değerlendirilmiştir. Tween 20 ile hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık boyutunun daha küçük ve yine boyut aralığının daha dar olduğu gözlemlenmiştir. Homojenizasyon basıncı ve siklüs sayısının artması aynı zamanda sıcaklığın yükseltilmesi damlacık boyutunu daha da küçülmüştür. Yalnız bu durumda fiziksel stabilite de sıcaklığın artmasıyla azalmıştır ancak basıncın 100 MPa'ya ve siklüs sayısının 3'e yükseltilmesiyle de artmıştır (34).

Mikrofluidizasyon: Mikrofluidizasyon işlemi ile yumuşak agregatların, sıcak eriyiklerin ve sıvıların akım indüklü kaymasını esas almaktadır. İşlem sırasında yüksek basınç pompası kullanılır. Bu şekilde işlenen bu maddelerin nano boyuttaki dispersiyonu elde edilir. Ayrıştırılan emülsiyon hızlı bir şekilde sert, paslanmaz çelik mikro kanallara doğru zorlanır (35). İstenilen damlacık boyut aralığına ve dağılıma sahip nanoemülsiyonlar elde etmek için basınç ve interaktif hazneler boyunca geçiş sayısını değiştirilerek elde edilebilmektedir (31).

Ultrasonik Emülsifikasyon: Bu yöntemde temel prensip kavitasyon kuvvetini kullanarak makroemülsiyonları parçalayarak onları nano boyuta getirmektedir. Bunun için ultrasonik dalgalar yayan probalar kullanılmaktadır. İşlem sırasında zaman ve ultrasonik enerji girdisini değiştirilerek istenilen özellikteki nanoemülsiyonlara ulaşılabilir. Yüksek basınçlı homojenizasyon ve mikrofluidizasyon methodları ile nanoemülsiyon hazırlama genellikle daha büyük ölçekli laboratuvar ve endüstriyel üretim için kullanılırken ultrasonik emülsifikasyon daha çok laboratuvar düzeyindeki üretim için kullanılmaktadır. Bunun yanında yüksek enerjili methodlarda spesifik aletler ve yüksek miktarda enerji girdisine ihtiyaç duyulduğu için nanoemülsiyonların üretim maliyeti çok artmaktadır. Farmasötik bilimlerde bu konu da büyük önem taşımaktadır (31).



Şekil 2-7 Küçük ve orta ölçekli üretimler için kullanılan ultrasonik homojenizatör (63)

2.3.5.2. Düşük Enerji Gerektiren Metotlar

Nanoemülsiyonların üretiminde kullanılan düşük enerji gerektiren yöntemlerde herhangi bir özel cihaz ya da ekipmana ihtiyaç duyulmamaktadır. Bu metotlarda surfaktan, yağ ve sudan oluşan sistemde sıcaklık gibi parametreler değiştirilip daha basit karıştırma prosedürleri uygulanarak nanoemülsiyonlar hazırlanır. Bu yöntemlerin maliyeti daha düşük olduğu için daha çok tercih edilebilirler. Nanoemülsiyonların üretilmesinde düşük enerji gerektiren başlıca metotlar emülsiyon dönüşüm noktası, membran emülsifikasyonu ve faz geçiş sıcaklığı yöntemi (PIT) dir.

Membran emülsifikasyon: Bu yöntemde sürekli bir faz içerisinde (örnek olarak su veya yağ fazı olabilir), membran aracılığı ile dağınık bir faz (örnek olarak yağ veya su olabilir) oluşturulmaya çalışılır. Diğer yöntemlere nazaran daha az surfaktana ihtiyaç duyulan ve az enerji gerektiren bir işlemdir aynı zamanda dar bir boyut dağılım aralığı elde edilir. Bu uygulamada kullanılacak en küçük membranların gözenek boyutu 50 nm kadardır. Bu yöntemle elde edilen nanoemülsiyonların gözenek boyutu hakkında birden fazla görüş bulunmaktadır. Birtakım araştırmacıya göre oluşan son emülsiyonun damlacık boyutu genel olarak membranın gözenek boyutunun 2-10 katı kadar olmakta, bazı araştırmacılara göre ise oluşan emülsiyonun damlacık boyutu membranın gözenek boyutundan daha küçük boyutta olabilmektedir (40).

Faz Geçiş Sıcaklığı Yöntemi (PIT): Bu yöntem ile ilgili araştırmacılar arasında görüş farklılıkları bulunmaktadır. Bazı araştırmacılara göre bu yöntem nanoemülsiyonların üretilmesinde geçerli olmayan bir yöntem olarak yorumlanırken

bazı araştırmacılara göre ise bu yöntemi etkili olarak kabul edilmiştir. PIT yöntemi polioksietilen tipi iyonik olmayan surfaktanların sıcaklık ile çözünme miktarlarında meydana gelen değişimlere bağlıdır. Bu tip surfaktanlar, sıcaklığın yükselmesi ile birlikte polioksietilen zincirlerinin dehidrasyonu sonucu lipofilik karakterli olurlar. PIT yöntemi, HLB sıcaklığında elde edilen zayıf ara yüzey geriliminden yararlanır. Ancak koalesans hızı yüksektir. Bu yöntem ile üretimde HLB sıcaklığında emülsiyonlar hızlı bir şekilde ısıtıp ve soğutma sonucunda oldukça küçük boyutlu damlacıklara ve dar bir boyut aralığına sahip stabil emülsiyonlar elde edilmektedir (27). PIT yöntemi ile emülsiyon hazırlanırken sistemi faz dönüşüm sıcaklığının yaklaşık 2-4 °C altına ısıtmak gerekmektedir. Bu şekilde yüzey gerilimi düşer ve sistem yine hızlıca soğutulur bozulma engellenmiş olur. Bu şekilde küçük boyutlu damlacıklar elde edilmiş olunur.

Emülsiyon Dönüşüm Noktası Yöntemi (EIP): Bu yöntemde nanoemülsiyon elde etmek için herhangi bir sıcaklık değişimine ihtiyaç yoktur. Bu yöntem ile sıcaklık ya da organik çözücü kullanmaksızın oda sıcaklığında nanoemülsiyon elde edilmektedir.. Bu spontan nanoemülsiyon üretim yöntemi emülsifikasyon süresince faz değişimiyle alakalıdır ve proses boyunca lamelar sıvı kristal ya da D-tip sünger mikroemülsiyon içermektedir.

2.3.6. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu

Nanoemülsiyonların değerlendirilmesinde birçok parametre kullanılmaktadır. Bunlar damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, refraktif indeks ölçümü, morfolojik değerlendirme, in vitro/in vivo çalışmalar, pH değeri, iletkenlik, viskozite, morfoloji, termodinamik çalışmalar gibi karakterizasyon işlemleridir (36).

Morfoloji: Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve taramalı elektron mikroskobu ile nanoemülsiyonların morfolojisi incelenebilmektedir. Transmisyon elektron mikroskobuyla damlacıkların hem yapısı hem de morfolojisi incelenebilmektedir. TEM ile nanoemülsiyonların damlacıklarının şekil ve boyutunun belirlenmesinde kullanılır (36). Taramalı elektron mikroskobunda ise dispers fazın yüksek çözünürlükteki görüntüleri elde edilir. Bu görüntüler damlacıkların yüzey ve şekil özellikleri hakkında bilgi verir. Bu tarz mikroskopların maliyeti düşüktür ve kısa sürede geniş alanların incelenmesine imkan verir (37). Bunlar dışında bir de X-ray veya nötron saçılımı, atomik güç mikroskopisi veya kriyo elektron mikroskopları da nanoemülsiyonların morfolojik özelliklerini değerlendirmede kullanılmaktadır (31).

Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli:

Nanoemülsiyonlarda damlacık boyutunun, polidispersite indeksinin ve zeta potansiyelinin analiz edilmesinde foton korelasyon spektroskopisi esasına dayanan cihazlar kullanılmaktadır. Polidispersite indeksinin iyi çıkması dispersiyon kalitesinin ve homojenitenin iyi olduğunu gösterir (38).

Viskozite: Nanoemülsiyonların viskozitesi viskozimetre cihazları ile ölçülmektedir. Nanoemülsiyonun viskozite değeri sürfaktan, yağ ve su fazı bileşiminin ve bunların konsantrasyonlarının bir fonksiyonu olarak elde edilir. Emülsiyondaki su miktarının artması viskoziteyi azaltmakta, sürfaktan ve kosürfaktan miktarının artması ise su ve yağ arasındaki arayüzey gerilimini arttıracak için viskoziteyi arttırmaktadır. Viskozite nanoemülsiyonların stabilitesi ve etkin ilaç salımı için önemli bir parametredir. Y/S tipi nanoemülsiyonlar S/Y nanoemülsiyonlarına kıyasla daha az yağ oranına sahip oldukları için daha düşük viskozite değeri gösterirler. Bundan dolayı Y/S nanoemülsiyonlarında salımın daha hızlı ve uygulandıktan sonra ciltten kolaylıkla uzaklaştırılması beklenir. Viskozitede değişikliklerin olması nanoemülsiyonlar dahil olmak üzere diğer sıvı ve yarı katı formülasyonların da değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir (38).

İn vitro deriden salımı: Nanoemülsiyonlarda in vitro salım çalışmaları Franz difüzyon hücresi ile izlenir ve yarı geçirgen membran kullanılır. Franz difüzyon hücresinin donör bölümüne yerleştirilen formülasyonun reseptör fazına geçişi gözlemlenir. Hücreler magnetik karıştırıcıda 100 rpm hızda ve $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de karıştırılır. Belirlenen zaman aralıklarında reseptör ortamdan 1 ml'lik örnekler alınır ve ortamın eşdeğer miktarıyla değiştirilir. Bu örnekler 0,22-50 μm 'lik filtrelerden süzülür ve en çok absorpsiyonun görüldüğü dalga boyunda HPLC veya UV-Vis spektroskopide numuneler okutularak etken maddenin salım miktarı hakkında bilgi elde edilir (38).

İn vivo biyoyarlanım çalışmaları: Nanoemülsiyonlarda İn vivo salım çalışmaları da diğer in vivo çalışmalarda olduğu gibi canlı hayvanlar kullanılarak yapılır. Bu çalışma için genellikle sıçanlar canlı denek olarak kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan sıçanlardan belli aralıklarda kan örnekleri alınıp santrifüj edilmektedir. Daha sonra proteinlerden arındırılan plazmalar HPLC'de okutulmakta ve formülasyon içeriği belirlenmektedir (39).

2.3.7. Nanoemülsiyonların Uygulama Alanları

Nanoemülsiyonlar belli başlı avantajlarından dolayı ilaç ve kozmetik sektörü başta olmak üzere birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır. Bu kullanım alanlarını aşağıdaki gibi sıralabiliriz.

- Nanoemülsiyonlar günümüz modern taşıyıcı sistemleri arasında yer almaktadır. Nano boyutları sayesinde maddelerin etkin bir biçimde alt katmanlara taşınmasını sağlar. Bu özelliği ile lipozomlarla benzerlik göstermektedir. Kozmetikte nanoemülsiyonların kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle aktif madde içeren ürünlerin cilt tarafından optimum olarak emilmesi ve etkinliğini göstermesi açısından tercih edilmektedir. Nanoemülsiyonların y/s formunda olanları özellikle cilt hidrasyonunun artmasını dolayısıyla da ciltte nemlenme ve iyileşme başlamasını sağlarlar. Bu özelliği ile nanoemülsiyonlar aynı zamanda ciltte transepidermal su kaybını da azaltırlar. Daha önce yapılan çalışmalarda nanoemülsiyonların lipit içeriğinin ve nanoemülsiyon yükünün cildin hidrasyonu, kızarıklığı ve esnekliği üzerinde olumlu etkileri olduğu gözlemlenmiştir (54). Nanoemülsiyonlar diğer sistemlerde olan koalesans, kremalaşma, sedimentasyon gibi sorunlar görülmediği için kozmetik ve ilaç sektöründe tercih edilmektedir. Ayrıca yüksek enerjili sistemler kullanılarak hazırlandıkları için cilt açısından iritan özellik gösteren surfaktanların miktarı azaltılarak nanoemülsiyon hazırlanabilmektedir (55).
- Nanoemülsiyonlar düşük miktarda surfaktan içerdikleri için bu surfaktan miktarı deri için zarar teşkil etmez ancak mikrobiyal ajanları uzak tutmak adına büyük önem taşımaktadır. Daha önce sistemik antibiyotiklerle elde edilen antimikrobiyal korunma şimdi nanoemülsiyonlar sayesinde çok daha kolay bir şekilde topikal ürünlerle de elde edilebilmektedir (55).
- Günümüzde sağlık alanında nanoemülsiyonlar daha çok tercih edilmeye başlanmıştır. Son dönemdeki çalışmalar nanoemülsiyonların yeni aşı geliştirmede kullanılabileceğini göstermiştir. Bu aşılar mukozal alana uygulanabilecek yağ bazlı emülsiyonlar olarak düşünülmektedir. Özellikle influenza ve HIV 'de mukozal yoldan uygulanabilecek yağ

bazılı nanoemülsiyonların immüniteyi anlamlı oranda yükselteceği düşünülmekte ve bu alandaki klinik çalışmalar devam etmektedir.

- Nanoemülsiyonlarda kontrollü salım sağlanabildiği ve stabilite problemi çok yaşanmadığı için parenteral ilaç uygulamalarında da nanoemülsiyon taşıma sistemlerinden yararlanılmaktadır. Özellikle biyoyararlanımı az ve terapötik indeksi dar ilaçlarda nanoemülsiyon teknolojisi ile biyoyararlanım oranı arttırılabilmektedir.
- Nanoemülsiyonlar kanser tedavisinde kullanılan akıllı ilaç üretimde başarılı bir kolloidal ilaç taşıyıcı sistem olarak kabul edilmektedir. Nanoemülsiyonlar submikron boyutları sayesinde istenilen alana hedeflendirilebilmektedir. Bu şekilde tümörlü alana hedeflendirilen nanoemülsiyonlar vücudun diğer alanlarını etkilemeden tedavi yanıtı etkili bir şekilde alınabilmektedir (31).

Günümüzde kullanım alanları hızlı bir şekilde genişlemekte olan nanoemülsiyonlar ayrıca hücre kültürü çalışmalarında, çözünürlüğü az olan oral ilaçların geliştirilmesinde, fitofarmaside ve gıda sektöründe de kullanılmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Aletler

İklimleme kabini - Nüve ve San. Malz. İm. ve Tic. A.Ş.- Türkiye

Damlacık büyüklüğü ölçüm aleti - ZetaSizer Nano ZS, Malvern Inst. - İngiltere

Santrifüj cihazı - Nüve ve San. Malz. İm. ve Tic. A.Ş. - Türkiye

pH Metre- HANNA (Hanna edge multiparametre)- ABD

İletkenlik ölçüm cihazı -HANNA (Hanna edge multiparametre)- ABD

Hassas terazi - AND GR-200 - Japonya

Su banyosu - WiseBath®, DAIHAN Scientific Co, Ltd. - Güney Kore

Mekanik karıştırıcı - Wise Stir® HS-100D, DAIHAN Scientific Co, Ltd. - Güney Kore

Ultrasonikatör - Vibra-Cell, SONICS, Sonics & Materials, Inc.,- ABD

Viskozimetre - Brookfield DV3T - Brookfield Engineering Lab.- ABD

Distile su cihazı - PureLab UV/UF lonpure - ABD

Buzdolabı - Indesit - İtalya

Mikropipet - Ependorf - Almanya

Texture Pro CTV1 - Brookfield DV3T- Brookfield Engineering Lab.,- ABD

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Transcutol HP (Gattefossé)

Isopropyl Myristate (Merck)

Caprylic CapricTriglyceride (Croda)

Sensiva PA 30 (Schülke&Mayr GmbH)

DL-Alpha Tocopherol (Sigma Aldrich)

İzodesil neopentanoat-DUB VCI 10 (StearineriesDubois)

Lauroglycol 90 (Gattefossé)

Kolliphor® P 188 (Pluronic F68) (Sigma Aldrich)

Hidroksi Popilen Selüloz-HPC- (Alkan Kimya)

Soya Ekstresi (ACTV Biotechnology)

PEG-400

3.2. Kullanılan Yöntemler

3.2.1. Formülasyon Çalışmaları

Bu tez çalışmasında soya ekstresi içeren su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyonu formülasyonları hazırlanmıştır. Ön formülasyon çalışması aşamasında birçok formülasyon denemesi yapılmıştır. İlk seri denemelerde polimer kullanılmamış ve ön karıştırma prosedürü uygulanmıştır. Polimer eklenmeyen formülasyonlarda bir süre sonra kısmi faz ayrımı gözlenmiştir. Meydana gelen faz ayrımını önlemek için formülasyon denemelerine bir polimer olan HPC (hidroksipropil selüloz) eklenerek devam edilmiştir. HPC'nin eklenmesi ile hem formülasyonun kıvamı bir miktar artmıştır hem de formülasyon daha stabil bir hale gelmiştir. Literatür çalışmaları da baz alınarak %0,2, %0,5, %1 ve %2 gibi farklı HPC oranları kullanılarak en stabil ve damlacık boyutu en uygun form bulunmuştur (53). Çalışmlarda yağ fazının yüzey etken maddeye oranı 1:2, 1:4, 1:5, 1:6, 1:8, 1:10 olan formülasyonlar denenmiştir.

3.2.2. Formülasyon Bileşenlerinin Seçimi

- **Etkin Madde Oranının Belirlenmesi:** Bu çalışmada hiperpigmentasyon probleminde cilt rengini açıcı özellik gösteren soya ekstresi kullanılmıştır. Soya ekstresi oranı %5 olarak belirlenerek formülasyon çalışması yapıldı. Soya için çözücü olarak iyi bir çözünme ortamı olan distile su kullanılmıştır.

- **Yüzey Etkin Maddelerinin Tür ve Oranlarının Belirlenmesi:** Çalışmalarda yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400 + Transcutol HP ve Lauroglycol 90 + Transcutol HP kombinasyonları kullanıldı. Surfaktan/kosurfaktan oranı 1:1 olarak belirlendi. Formülasyondaki toplam yüzey etken madde oranı ise %20 olarak belirlenerek formülasyonlar hazırlandı. Yürütülen çalışmalarda Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılan formülasyonların PEG 400 + Transcutol HP kullanılanlara kıyasla daha başarılı olduğu görüldü. Çalışmaya Pluronic F68, Lauroglycol 90 ve Transcutol HP kullanılarak devam edildi.

- **Diğer Hammadelerin Belirlenmesi:** Yağ fazı olarak Caprylic Capric Triglyceride, Isopropyl Myristate, DUB VCI 10 (Isodecyl Neopentanoate), Vitamin E (DL-alfa tokoferol asetat) kullanıldı. Koruyucu olarak Sensiva PA 30 kullanıldı. Formülasyonların bir kısmı Caprylic Capric Triglyceride ve Isopropyl Myristate maddelerinin oranları düşürülerek, bir kısmı da bu maddeler tamamen çıkarılarak denendi. Caprylic Capric Triglyceride ve Isopropyl Myristate çıkarılarak yapılan formülasyonlar daha başarılı bulundu ve bunlarla devam edildi.

- **Nanoemülsiyonları Hazırlama Yöntemi, Karıştırma Hız ve Süresinin Belirlenmesi:** Bu tez çalışmasında yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanıldı. Formülasyonların bir kısmında ön karıştırma yapıldı ve bunun için mekanik karıştırıcı kullanıldı. Ön karıştırmadan sonra ultrasonikatör kullanıldı. Ultrasonikatörün band genişliği %50 olarak belirlendi. Ultrasonikasyonun amplitüt ayarı fazla ısınmayı önlemek amacıyla 30 saniye çalışacak ve 30 saniye duracak şekilde ayarlandı. Yapılan formülasyonlarda 4 yöntem belirlendi. Birinci olarak formülasyonların yarısına sadece %50 bant genişliğine sahip ultrasonikasyon yöntemi uygulanırken, ikinci yöntem olarak 8100 rpm hızda ön karıştırma yapıldıktan sonra ultrasonikasyon yöntemi uygulandı. Bu yöntemlerde 5 dakika mekanik karıştırıcı ile ön karıştırma işleminden sonra 15 dakika ve 30 dakika süreleri boyunca ultrasonikasyon uygulandı. Ancak ön karıştırmanın hazırlanan formülasyonların stabillitesi üzerinde olumsuz etkileri belirlendikten sonra formülasyonlara sadece 15 dakika ve 30 dakika ultrasonikatör uygulanarak formülasyonlar hazırlandı ve stabilizeye alındı.

- **Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması:** Y/S tipi nanoemülsiyonlar aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır;

Yağ fazında yer alan maddeler hassas terazide ayrı ayrı ölçüldükten sonra bir cam beher içerisinde karıştırıldı. Su fazı hazırlanırken önce hassas terazi üzerinde cam beherde su tartıldı ve daha sonra Pluronic F68 tartılıp su içinde iyice çözündürüldü. Ardından tartılan soya ektresi çözünmüş olan bu karışımın üzerine eklenip cam baget yardımıyla iyice karıştırıldı. Son olarak, su fazı bileşenleri yağ fazı bileşenlerinin üzerine eklenip cam bagetle karıştırıldı.

Bu karışımdan toplam 4 adet hazırlanıp aşağıdaki işlemler uygulandı;

- 8100 rpm mekanik karıştırıcıda 5 dk ön karıştırma 15 dk ultrasonikasyon

- 8100 rpm mekanik karıştırıcıda 5 dk ön karıştırma 30 dk ultrasonikasyon
- Sadece 15 dk ultrasoniksasyon
- Sadece 30 dk ultrasonikasyon

HPC kullanılan formülasyonlarda en başta HPC suyun yarısında jelleştirildi. HPC suya eklenip pervaneli karıştırıcıda 400 rpm'de 30 dk boyunca karıştırılarak jelleştirildi. Son aşama olarak elde edilen jel ultrasonikasyondan çıkan nanoemülsiyonun üzerine eklendi. Ardından yine pervaneli karıştırıcıda 350 rpm'de 30 dk boyunca karıştırıldı. Polimerin emülsiyonda dağılıp şişmesi için 24 saat beklemeye bırakıldı. 24 saat sonunda gerekli ölçümler yapılmaya başlandı. Damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri yapılırken polimerin ölçümleri etkilememesi amacıyla hazırlanan numuneler 0,45 mikronluk membran filtrelerden geçirilerek ölçümler alındı.

20 gram olarak hazırlanan formülasyonlarda ilk olarak Zeta sizer cihazında partikül boyutlu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri alındı. Daha sonra formülasyonlar santrifüj testine tabi tutuldu ve santifüj testini geçen formülasyonlara termal test uygulandı. Santrifüj ve termal teste maruz bırakılan formülasyonlardan faz ayrımı, sedimentasyon, kremalaşma gibi stabilite problemlerini göstermeyenlerle çalışmalara devam edildi.

Stres testlerini geçen formülasyonların pH değeri, viskozitesi, damlacık büyüklüğü, zeta potansiyeli ve PDI değerleri ölçülerek ve organoleptik incelemesi (renk, koku, görünüş) yapılarak karakterizasyonları yapıldı.

Sayılan aşamaları geçen toplam 10 adet formülasyon ile uzun süreli stabilite çalışmalarına başlandı. Her bir formülasyon 100 gramlık miktarlarda hazırlandı. Hazırlanan formülasyonlar 4 ayrı cam deney tüpüne alındı. Hazırlanan her formülasyon 2 ay boyunca oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), iklimlendirme kabini ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) bekletildi.

Hazırlanan her formülasyonun birinci günde pH, iletkenlik, viskozite, damlacık boyutu, zeta potansiyeli ve mekanik özellikleri analiz edildi. Her 3 koşulda tutulan formülasyonların 1. ay ve 2. ay sonunda yine pH, iletkenlik, viskozite, damlacık boyutu, polidispersite ve zeta potansiyelleri analiz edildi. Formülasyonlar organoleptik açıdan (renk, koku, görünüş) değerlendirildi.

Tablo 3-1: Önformülasyon aşamasında hazırlanan yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

Bilşenler (g/20 g formülasyon)	F1P1	F1P2	F1P3	F1P4	F2P1	F2P2	F2P3	F2P4
YAĞ FAZI								
İzopropil miristat	0,4	0,4	0,4	0,4	0	0	0	0
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Kaprilik/kaprik trigliserid	0,96	0,96	0,96	0,96	0,36	0,36	0,36	0,36
SU FAZI								
Soya ekstresi	1	1	1	1	1	1	1	1
PEG 400	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2	2	2	2	2
Distile su	13	13	13	13	13	13	13	13
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	yok	8100rpm 5dk	8100rpm 5dk	yok	yok	8100rpm 5dk	8100rpm 5dk
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı:

F1P1-4 için Yağ fazı: Smix (1:2)

F2P1-4 için Yağ fazı: Smix (1:4) olarak çalışıldı.

Tablo 3-2: Önformülasyon aşamasında hazırlanan yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

Bilşenler (g/20 g formülasyon)	F3P1	F3P2	F3P3	F3P4	F4P1	F4P2	F4P3	F4P4
YAĞ FAZI								
İzopropil miristat	0	0	0	0	0	0	0	0
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Kaprilik/kaprik trigliserid	0,16	0,16	0,16	0,16	0,026	0,026	0,026	0,026
SU FAZI								
Soya ekstresi	1	1	1	1	1	1	1	1
PEG 400	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2	2	2	2	2
Distile su	14,2	14,2	14,2	14,2	14,334	14,334	14,334	14,334
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	yok	8100 rpm 5 dk	8100 rpm 5 dk	yok	yok	8100 rpm 5 dk	8100 rpm 5 dk
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı:

F3P1-4 için Yağ fazı: Smix (1:5)

F4P1-4 için Yağ fazı: Smix (1:6) olarak çalışıldı.

Tablo 3-3: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve polimer olarak %0,2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

	Polimer ilave edilen formülasyonlar (HPC %0,2)					
Bilşenler (g/20 g formülasyon)	F3P1	F3P2	F3P3	F3P4	F4P1	F4P2
YAĞ FAZI						
İzopropil miristat	0	0	0	0	0	0
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Kaprılık/kaprik trigliserid	0,16	0,16	0,16	0,16	0,026	0,026
SU FAZI						
Soya ekstresi	1	1	1	1	1	1
PEG 400	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
HPC	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2	2	2
Distile su	14,16	14,16	14,16	14,16	14,294	14,294
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	yok	8100 rpm 5 dk	8100 rpm 5 dk	yok	yok
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı: F3P1-4 için Yağ fazı: Smix (1:5)

F4P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:6) olarak çalışıldı.

Tablo 3-4: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve polimer olarak %0,2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

Bileşenler (g/20 g formülasyon)	Polimer ilave edilen formülasyonlar (HPC %0,2)			
	F3P1	F3P2	F4P1	F4P2
YAĞ FAZI				
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,2	0,2	0,2	0,2
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,4	0,4
Kosurfactant (Lauroglycol 90)	1,5	1,5	1,5	1,5
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5
Kaprilik/kaprik trigliserid	0,16	0,16	0,026	0,026
SU FAZI				
Soya ekstresi	1	1	1	1
HPC	0,04	0,04	0,04	0,04
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2
Distile su	14,16	14,16	14,294	14,294
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	yok	yok	yok
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı:

F3P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:5)

F4P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:6) olarak çalışıldı.

Tablo 3-5: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %0,2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

	Polimer ilave edilen formülasyonlar (HPC %0,2)			
Bilşenler (g/20 g formülasyon)	F5P1	F5P2	F6P1	F6P2
YAĞ FAZI				
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,06	0,06	0	0
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,36	0,36
Kosurfactant (Lauroglycol 90)	1,5	1,5	1,5	1,5
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5
SU FAZI				
Soya ekstresi	1	1	1	1
HPC	0,04	0,04	0,04	0,04
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2
Distile su	14,46	14,46	14,46	14,46
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	Yok	yok	yok
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı:

F5P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:8)

F6P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:10) olarak çalışıldı.

Tablo 3-6: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %0,5 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

	Polimer ilave edilen formülasyonlar (HPC %0,5)			
Bilşenler (g/20 g formülasyon)	F5P1	F5P2	F6P1	F6P2
YAĞ FAZI				
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,06	0,06	0	0
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,36	0,36
Kosurfactant (Lauroglycol 90)	1,5	1,5	1,5	1,5
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5
SU FAZI				
Soya ekstresi	1	1	1	1
HPC	0,1	0,1	0,1	0,1
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2
Distile su	14,5	14,5	14,5	14,5
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	Yok	yok	yok
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı:

F5P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:8)

F6P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:10) olarak çalışıldı.

Tablo 3-7: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %1 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

	Polimer ilave edilen formülasyonlar (HPC %1)			
Bilşenler (g/20 g formülasyon)	F5P1	F5P2	F6P1	F6P2
YAĞ FAZI				
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,06	0,06	0	0
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,36	0,36
Kosurfactant (Lauroglycol 90)	1,5	1,5	1,5	1,5
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5
SU FAZI				
Soya ekstresi	1	1	1	1
HPC	0,2	0,2	0,2	0,2
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2
Distile su	14,3	14,3	14,4	14,4
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	Yok	yok	yok
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı:

F5P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:8)

F6P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:10) olarak çalışıldı.

Tablo 3-8: Önformülasyon aşamasında hazırlanan polimer olarak %2 HPC, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Lauroglycol 90 + Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyon bileşenlerine ait tablo.

	Polimer ilave edilen formülasyonlar (HPC %2)			
Bilşenler (g/20 g formülasyon)	F5P1	F5P2	F6P1	F6P2
YAĞ FAZI				
DL-alfa tokoferol asetat	0,04	0,04	0,04	0,04
İzodesil neopentanoat	0,06	0,06	0	0
Sensiva® PA 30	0,4	0,4	0,36	0,36
Kosurfactant (Lauroglycol 90)	1,5	1,5	1,5	1,5
Kosurfaktan (Transcutol HP)	0,5	0,5	0,5	0,5
SU FAZI				
Soya ekstresi	1	1	1	1
HPC	0,2	0,2	0,4	0,4
Surfaktan (Pluronic F68)	2	2	2	2
Distile su	14,2	14,2	14,2	14,2
ÖN KARIŞTIRMA SÜRESİ	yok	Yok	yok	yok
ULTRASONİKASYON UYGULAMA SÜRESİ	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı:

F5P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:8)

F6P1-2 için Yağ fazı: Smix (1:10) olarak çalışıldı.

Tablo 3-9:Formülasyon proseslerine ait tablo.

P1	Ön karıştırma yok 15 dk ultrasonikasyon
P2	Ön karıştırma yok 30 dk ultrasonikasyon
P3	5 dk ön karıştırma ardından 15 dk ultrasonikasyon
P4	5 dakika ön karıştırma ardından 30 dk ultrasonikasyon

3.2.3. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

Ön formülasyon çalışmaları aşamasında hazırlanan formülasyonlara ilk olarak santrifüj testi uygulandı. Santrifüj testini geçen formülasyonlar ardından termal stabilite testine tabi tutuldu. Daha sonra bu formülasyonlarda damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, viskozite ve pH değerlerine bakıldı. Formülasyonların organoleptik kontrolleri (renk, koku, görünüm) yapıldı. Bu testleri geçen 10 adet formülasyon ile uzun süreli stabilite çalışmasına başlandı. Stabilite takibi yapılacak formülasyonlarda ölçek büyütüldü her bir formülasyon 100 gram olarak üretildi. Stabilite çalışması gereği formülasyonlar 3 ayrı koşulda yani oda ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), iklimlendirme kabini ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) 2 ay boyunca bekletildi. Formülasyonların 1. gün , 1. ay ve 2. ay sonunda pH, iletkenlik, viskozite, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeline bakıldı ve formülasyonlar organoleptik olarak kontrol edildi.

3.2.3.1. Santrifüj Testi

Hazırlanan nanoemülsiyonlar ilk olarak santrifüj testine tabi tutuldu. Oda sıcaklığında ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) bulunan formülasyonlar santifüj tüpü içinde santrifüj cihazında 3500 rpm hızda 30 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu süre sonunda fomülasyonlara makroskobik inceleme yapıldı. Santifüj testi sonunda faz ayrımı, sedimentasyon, kremalaşma gibi stabilite problemleri gösteren formülasyonlar elendi.

3.2.3.2. Termal Test

Daha önce yapılan santrifüj testini geçmiş olan formülasyonlara termal test uygulandı. Öncelikle formülasyonlar 40°C 'lik WiseBath® su banyosuna bırakıldı. Formülasyonlar banyoya konulduktan sonra her yarım saatte bir sıcaklık 5°C arttırılarak maksimum 80°C 'ye kadar ısıtıldı. Süre sonunda tekrar makroskobik inceleme yapıldı. Faz ayrımı, sedimentasyon, kremalaşma gibi stabilite problemleri gösteren formülasyonlar elendi.

3.2.3.3. pH Ölçümü

Hazırlanmış olan formülasyonların pH değerleri Hanna edge multiparametre cihazı kullanılarak ölçüldü. Uzun süreli stabilite için hazırlanan büyük ölçekli formülasyonların pH ölçümleri 3 ayrı koşulda yani oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem),

iklimlendirme kabini ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) belli aralıklarla (1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda) alındı. Buzdolabı ve iklimlendirme kabininde bulunan formülasyonların ölçümleri formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

3.2.3.4. İletkenlik Ölçümü

İletkenlik testi, hazırlanmış olan formülasyonlarda faz değişiminin olup olmadığını belirlemek amacı ile yapılan testtir. Formülasyonların iletkenlik değerleri değerleri Hanna edge multiparametre cihazının iletkenlik probu kullanılarak ölçüldü. Uzun süreli stabilite için hazırlanan büyük ölçekli formülasyonların iletkenlik değerleri 3 ayrı koşulda yani oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), iklimlendirme kabini ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) belli aralıklarla (1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda) alındı. Buzdolabı ve iklimlendirme kabininde bulunan formülasyonların ölçümleri formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

3.2.3.5. Viskozite Ölçümleri

Hazırlanmış olan nanoemülsiyonların viskozite ölçümleri Brookfield DV3T viskozimetre cihazı kullanılarak ölçüldü. Hazırlanan nanoemülsiyonlarda farklı oranlarda polimer (hidroksipropil selüloz) kullanıldığı için formülasyonların kıvamları da farklı oldu. Bundan dolayı ölçümlerde 2 farklı plak CP40 ve CP52 kullanıldı. HPC %0,5 oranı ile hazırlanan formülasyonlar daha akışkan oldukları için CP40 plağı kullanıldı. HPC %1 ve HPC %2 oranında kullanılarak hazırlanan formülasyonların viskozite değerleri daha yüksek olduğu için viskozite değerleri CP52 plağı kullanılarak ölçüldü. Formülasyonların viskoziteleri 10 rpm, 15 rpm, 20 rpm, 25 rpm, 30 rpm, 35 rpm, 40 rpm, 45 rpm, 50 rpm, 60rpm kayma hızlarında ölçüldü. Uzun süreli stabilite için hazırlanan büyük ölçekli formülasyonların viskozite değerleri 3 ayrı koşulda yani oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), iklimlendirme kabini ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) ve buzdolabında ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) belli aralıklarla (1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda) ölçüldü. Buzdolabı ve iklimlendirme kabininde bulunan formülasyonların ölçümleri formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

3.2.3.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli Ölçümü

Hazırlanan formülasyonların damlacık boyutu, zeta potansiyeli ve PDI ölçümleri Malvern Zeta Sizer Nano SZ cihazı kullanılarak yapıldı. Bu cihaz ışık saçılım

prensibine göre çalışmaktadır. Ölçüm yapmak için her bir formülasyondan otomatik pipet yardımı ile numune alındı ve alınan numune 10 ml'lik balon jodede 1:100 oranında seyreltilti. Daha sonra numune zeta küvetine konulup ölçüm alındı. Yalnız polimer (hidroksipropil selüloz) kullanılan formülasyonlarda ölçüm alınırken numunenin polimerden arınması için filtreleme işlemi yapıldı. Bunun için 0.45 µm'lik selüloz asetat membran filtreler kullanılarak balon jodede seyreltilmiş olan numune süzöldükten sonra zeta küvetine alınıp ölçümler yapıldı. Uzun süreli stabilite için hazırlanan büyük ölçekli formülasyonların damlacık boyutu, zeta potansiyeli ve PDI değerleri 3 ayrı koşulda yani oda koşulu (25°C±2°C, %60 nem), iklimlendirme kabini (40°C ±2°C, %75 nem) ve buzdolabında (5°C ± 2°C) belli aralıklarla (1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda) ölçöldü. Buzdolabı ve iklimlendirme kabiniinde bulunan formülasyonların ölçümleri formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

3.2.3.7. Organoleptik Kontroller

Hazırlanmış olan nanoemölsiyon formülasyonlarının görünüm, renk, koku gibi özelliklerinde zaman içinde değışim olup olmadığı kontrol edildi. Formülasyonların ilk üretim günü ile stabilite süreci boyunca ne gibi değışimler geçirdiğı takip edildi. Formülasyon görünömlerinde meydana gelen değışimler belli aralılarla (1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda) fotoğrafları çekilerek kaydedildi.

3.2.3.8. Doku Profili Analizi (texture profile analyse, TPA)

Hazırlanan formülasyonların mekanik özelliklerini belirlemek amacıyla doku profili analizi cihazında (Brookfield Texture Pro CTV1) ölçümler alındı. Bu analizler formülasyonların üretildiğı birinci gün yapıldı. Yapılan analizlerde formülasyona ait;

- Sertlik (Hardness Cycle- mN birimi ile ölçölür)
- Sıkıştırılabilirlik (Hardness Work Cycle- mJ birimi ile ölçölür)
- Adhezyon kuvveti (Adhesive Force- mN birimi ile ölçölür)
- Adeziflik (Adhesiveness- mJ birimi ile ölçölür)
- Koheziflik (Cohesiveness) gibi özellikler incelendi.

Adhezifliğin yüksek olması ürünün cilde daha iyi penetre olduğunu gösterir. Kohezyonun yüksek olması ise stabilite sorunu yaşanabileceğini gösterir. Yaptığımız nanoemölsiyonda sıkıştırılabilirlik özelliğı de önem taşımaktadır çünkü bu özellik

formülasyon seri üretime geçtiğinde nasıl bir ambalajda piyasaya sunulması gerektiği konusunda yardımcı olur. Stabilite çalışması için hazırlanan formülasyonların TPA ölçümleri ilk gün için alındı ve değerlendirildi.



4. BULGULAR

4.1. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.1.1. Santrifüj Testi

Yapılan ön formülasyon çalışmalarında tablo 3-1, tablo 3-2, tablo 3-3, tablo 3-4 ve tablo 3-5’de görülen formülasyonlar santrifüj testine tabi tutulduktan sonra çeşitli stabilite sorunları görülmüş formülasyonlarda sedimentasyon meydana gelmiştir. Bu nedenle bu formülasyonlarla çalışmaya devam edilmemiştir. Tablo 3-6, tablo 3-7 ve tablo 3-8’de bulunan formülasyonlar ise santrifüj testi sonucunda stabilite problemi göstermemiştir. Bu nedenle uzun süreli stabilite çalışmalarına bu formülasyonlarla devam edilmiştir.

4.1.2. Termal Test

Yapılan ön formülasyon çalışmalarında tablo 3-1, tablo 3-2, tablo 3-3, tablo 3-4 ve tablo 3-5’de görülen formülasyonlar termal teste tabi tutulduktan sonra çeşitli stabilite sorunları görülmüş formülasyonların yüzeyinde kremalaşma meydana gelmiş ve/veya faz ayrımı gözlenmiştir. Bu nedenle bu formülasyonlarla çalışmaya devam edilmemiştir. Tablo 3-6, tablo 3-7 ve tablo 3-8’de bulunan formülasyonlar ise termal teste tabi tutulduktan sonra belirgin bir stabilite problemi göstermemiştir. Bu yüzden uzun süreli stabilite çalışmalarına bu formülasyonlarla devam edilmiştir.

Santrifüj ve termal test sonucu elenen formülasyonlardan birer numune bu stres testlerine maruz bırakılmadan direk oda koşulunda muhafaza edilip organoleptik olarak bir ay boyunca takip edilmiştir. Bu bir ay sonunda tablo 3-1, tablo 3-2, tablo 3.3 ve tablo 3-4’ de bulunan formülasyonlarda tam faz ayrımı gözlenirken sadece tablo 3-5’ de ise oda sıcaklığında kısmi faz ayrımının gözlenmiştir.

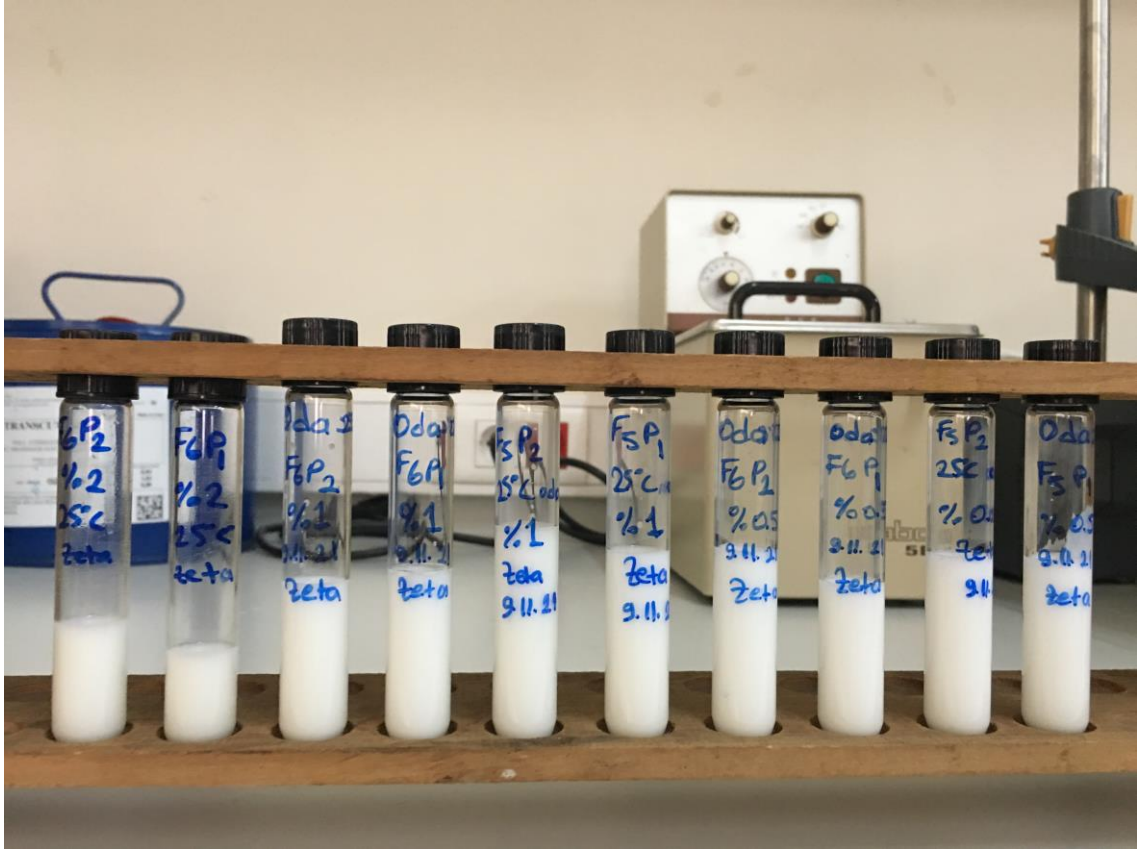
4.1.3. Formülasyon Üzerinde hidroksipropil selüloz (HPC), Yağ Miktarı ve Ön Karıştırmanın Etkisi

Ön formülasyon denemelerinin bir kısmı stabiliteyi arttırmak amacıyla bir polimer olan HPC kullanılarak yapıldı bir kısmı ise HPC’siz yapıldı. İçine HPC konulan formülasyonların beklenildiği gibi daha stabil kaldığı gözlemlendi. Oda koşulunda HPC kullanılmayan formülasyonlarda çok kısa bir süre sonra faz ayrımı görülürken, HPC kullanılan formülasyonlar daha uzun süre stabil kalabildi. Formülasyonlarda HPC,

%0,2, %0,5, %1 ve %2 oranına göre kullanıldı. %0,2 konsantrasyonunun üzerindeki formülasyonların daha stabil kaldığı gözlemlendi. Yağ fazının yüzey etken maddeye oranı 1:2, 1:4, 1:5, 1:6, 1:8 ve 1:10 olan formülasyon denemeleri yapıldı ve yağ oranı azaldıkça stabilitenin de iyileştiği gözlemlendi. Uzun süreli stabilite çalışması için yağ fazının yüzey etken maddeye oranı 1:8 ve 1:10 olan formülasyonlar tercih edildi. Ön formülasyon çalışmasında formülasyonların bir kısmında ön karıştırma yapılırken bir kısmında ise ön karıştırma prosedürü uygulanmadı. Değerlendirme aşamasında hazırlanan nanoemülsiyonlarda ön karıştırma işleminin partikül boyutu ve PDI üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlemlendi. O nedenle, uzun süreli stabilite çalışmasına alınan formülasyonlarda ön karıştırma prosedürü uygulanmadı.



Şekil 4-1: HPC içermeyen oda koşulunda bekletilen formülasyonların 1 hafta sonundaki görüntüleri.



Şekil 4-2: HPC kullanılarak oda koşulunda bekletilen formülasyonların bir hafta sonundaki durumu.

Tablo 4-1: HPC eklenmeden önce formülasyonların 1. güne ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümlerine ait tablo.

HPC EKLENMEDEN ÖNCE FORMÜLASYONLARIN 1. GÜN ÖLÇÜMLERİ			
FORMÜLASYON	DAMLACIK BOYUTU (nm)	PDI	ZETA POTANSİYELİ (mV)
HPC %0.5 eklenmeden önce			
F5P1	200.30±7.20	0.066±0.003	-26±9.12
F5P2	275.80±9.10	0.237±0.004	-18,9±8.23
F6P1	163.50±6.30	0.073±0.001	-19,3±8.90
F6P2	154.20±10.4	0.114±0.008	-19,7±5.20
HPC %1 eklenmeden önce			
F5P1	128.50±4.80	0.135±0.009	-22,2±4.80
F5P2	132,00±9.20	0.247±0.007	-4,9±5.30
F6P1	141.40±8.70	0.115±0.003	-16,8±4.20

F6P2	149.50±8.30	0.072±0.005	-24,4±3.50
HPC %2 eklenmeden önce			
F6P1	154.30±3.90	0.088±0.002	-31,3±5.13
F6P2	150.70±5.60	0.088±0.003	-23,4±8.19

Tablo 4-2: HPC eklendikten sonra formülasyonların 1. güne ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümlerine ait tablo.

HPC EKLENDİKTEN SONRA FORMÜLASYONLARIN 1. GÜN ÖLÇÜMLERİ			
FORMÜLASYON	DAMLACIK BOYUTU	PDI	ZETA POTANSİYELİ
HPC %0.5			
F5P1	218.10±0.35	0,075±0,007	-16.6±6.62
F5P2	218.90±0.98	0,067±0,006	-16.6±12.9
F6P1	221.55±0.9	0,105±0,004	-18.2±9.37
F6P2	219.65±1.9	0,073±0,007	-15.9±7.86
HPC %1			
F5P1	209±207.65	0,097±0,003	-7.53±5.95
F5P2	197.75±1.7	0,130±0,007	-16.7±7.79
F6P1	192.55±0.6	0,110±0,005	-10.8±6.41
F6P2	198.60±1.41	0,120±0,008	-9.23±6.64
HPC %2			
F6P1	204,00±2.12	0.200±0.005	-6.73±4.25
F6P2	202.95±0.9	0.180±0.008	-8.96±5.16

Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonlara HPC eklenmesi damlacık boyutunu bir miktar arttırmakla beraber formülasyonların viskozitelerini ve stabilitelerini de arttırdı. Şekil 4-1 (HPC'siz formülasyonlara ait görüntü) ve Şekil 4-2 (HPC eklenen formülasyonlara ait görüntü) karşılaştırıldığında, HPC'nin stabilite üzerindeki olumlu etkisi açıkça görülmektedir.

Tablo 4-3: Uzun süreli stabilite çalışması için seçilen formülasyonlar

	FORMÜLASYONLAR									
Bileşenler (%a/a)	F5P1 %0,5 HPC	F5P2 %0,5 HPC	F6P1 %0,5 HPC	F6P2 %0,5 HPC	F5P1 %1 HPC	F5P2 %1 HPC	F6P1 %1 HPC	F6P2 %1 HPC	F6P1 %2 HPC	F6P2 %2 HPC
YAĞ FAZI										
DL-alfa tokoferol asetat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
İzodesil neopentanot	0,3	0,3	0	0	0,3	0,3	0	0	0	0
Sensiva® PA 30	2	2	1,8	1,8	2	2	1,8	1,8	1,8	1,8
Kosurfactan (Lauroglycol 90)	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Kosurfaktan (Transcutol HP)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
SU FAZI										
Soya ekstresi	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
HPC	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1	1	2	2
Surfaktan (Pluronic F68)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Distile su	72	72	72	72	71,5	71,5	72	72	71	71
Ön karıştırma Süresi	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk	15 dk	30 dk

4.1.4. pH Ölçümlerine Ait Bulgular

Uzun süreli stabilite takibinde belli aralıklarla formülasyonların pH değerleri ölçülmüş ve alınan sonuçlar aşağıdaki tabloda (Tablo 4-4) gösterilmiştir.

Tablo 4-4: Uzun süreli stabilite çalışmasında pH ölçümlerine ait bulgular

Kod	Başlangıç değeri	pH, (n=3)					
		5°C±2°C		25°C±2°C (%60 R.N.)		40°C±2°C (%75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC%0.5							
F5P1	5.78±0.150	5.55±0.010	5,55±0,014	5.34±0.07	5,21±0,077	4.89±0.01	4,52±0,021
F5P2	5.55±0.06	5.52±0.010	5,50±0,014	5.25±0.03	5,16±0,014	5.35±0.005	5,06±0,028
F6P1	5.59±0.036	5.58±0.005	5,52±0,028	5.39±0.02	5,26±0,007	4.97±0.005	4,68±0,007
F6P2	5.70±0.035	5.64±0.140	5,54±0,028	5.55±0.02	5,36±0,021	5.06±0.005	4,77±0,014
HPC%1							
F5P1	5.63±0.06	5.63±0.005	5,58±0,014	5.31±0.01	5,18±0,014	4.94±0.01	4,75±0,035
F5P2	5.60±0.017	5.58±0.005	5,5±0,028	5.37±0.01	5,32±0,014	4.92±0.06	4,81±0,007
F6P1	5.91±0.015	5.72±0.01	5,70±0,007	5.47±0.01	5,29±0,021	5.19±0.005	4,99±0,007
F6P2	5.61±0.06	5.55±0.005	5,45±0,028	5.33±0.005	5,23±0,007	5.05±0.005	4,88±0,014
HPC%2							
F6P1	5.55±0.101	5.50±0.02	5,49±0,014	5.34±0.05	5,18±0,028	4.72±0.01	4,21±0,007
F6P2	5.47±0.02	5.54±0.005	5,48±0,021	5.26±0.005	5,17±0,063	4.77±0.007	4,10±0,028

4.1.5. İletkenlik Ölçümlerine Ait Bulgular

Uzun süreli stabilite takibinde belli aralıklarla formülasyonların iletkenlik değerleri ölçülmüş ve alınan sonuçlar aşağıdaki tabloda (Tablo 4-5) gösterilmiştir.

Tablo 4-5: Uzun süreli stabilite çalışmasında iletkenlik değerine ait bullgular

Kod	Başlangıç değeri	İletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$), (n=3)					
		5°C±2°C		25°C±2°C (% 60 R.N.)		40°C±2°C (% 75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC %0.5							
F5P1	127.33±0.49	114.33±2.47	131,7±5,93	140.06±1.00	162,5±17,67	155.83±0.15	185,25±1,060
F5P2	121.86±10.7	116.1±2.15	136,6±3,95	137.16±0.38	140,85±0,494	165.9±2.91	191,25±0,777
F6P1	125.7±0.98	120.63±0.47	137,8±4,66	138.26±0.47	143,1±1,27	157.5±0.95	163,85±0,494
F6P2	124.03±0.78	120.96±0.49	139,25±1,62	145.4±036	146,75±0,070	151.46±0.15	155,5±0,636
HPC %1							
F5P1	125.13±0.50	123.96±1.60	140,25±0,777	128.6±0.62	135,2±0,848	152.6±0.60	167,5±0,282
F5P2	122.26±0.06	124.96±4.13	134±2,12	129.73±012	135,55±0,494	156.5±0.78	171,9±1,27
F6P1	118.78±0.42	120.5±0.36	132,25±5,16	128.1±0.1	133,6±1,27	154.93±2.43	188,35±0,919
F6P2	122.13±0.45	119.43±2.62	136,55±1,62	128.76±0.208	128,65±0,212	156.87±0.702	178,25±0,212
HPC %2							
F6P1	86.76±0.68	96.2±1.4	93±5,65	104.7±1.57	119±1,41	91.0±1.9	117,25±0,212
F6P2	88.29±0.75	86.3±1.11	90,75±1,20	92.3±0.25	103,5±2,12	105.8±0.62	140,6±0,565

4.1.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeline Ait Bulgular

Uzun süreli stabilite takibinde belli aralıklarla formülasyonların damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerleri ölçülmüş ve alınan sonuçlar tablo 4-6, 4-7, 4-8’ de gösterilmiştir.

Tablo 4-6: Uzun süreli stabilite takibinde damlacık boyutuna ait bulgular

Kod	Başlangıç değeri	Damlacık Boyutu (nm), (n=3)					
		5°C±2°C		25°C±2°C (%60 R.N.)		40°C±2°C (%75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC %0.5							
F5P1	218,1±0,35	223,9±6,78	2292,5±24,74	381,7±8,20	252,7±6,92	362,7±4,38	139,8±8,62
F5P2	218,9±0,98	376,45±37,68	2388,5±43,13	297,1±15,13	314,95±18,	356,6±8,62	235,95±14,0
F6P1	221,55±0,9	320±9,61	2898±12,02	339,3±20,50	321,35±9,2	331,65±14,3	330,1±4,66
F6P2	219,65±1,9	235,9±6,22	3022,5±50,20	352,0±1,41	363,95±10,	255,95±10,5	310,3±218,3
HPC %1							
F5P1	209±207,65	342,2±23,19	3315,5±86,97	383,05±14,77	397,05±10,	265±23,19	309,85±11,38
F5P2	197,75±1,7	220,35±11,66	6072±243,24	385,05±27,36	412,9±20,3	254,5±9,89	339,55±24,39
F6P1	192,55±0,6	340,05±21,56	1805,5±65,76	342±4,24	442,15±51,	331,75±10,2	282,45±5,58
F6P2	198,6±1,41	223,4±10,60	862,05±2,47	350,95±2,89	338,5±14,8	226,85±15,9	358,35±9,12
HPC %2							
F6P1	204±2,12	340,35±14,35	2801,5±64,34	292,65±3,88	269,2±13,29	255,85±2,33	308,2±13,15
F6P2	202,95±0,9	314,6±6,36	5379,5±683,7	262,45±4,73	261,55±12,2	324,7±36,48	259,8±83,86

Tablo 4-7: Uzun süreli stabilite takibinde polidispersite indeksine ait bulgular

Kod	Başlangıç değeri	PDI (polidispersite indeksi), (n=3)					
		5°C±2°C		25°C±2°C (%60 R.N.)		40°C±2°C (%75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC %0.5							
F5P1	0,075±0,007	0,248±0,005	995±7,071	0,067±0,019	0,203±0,002	0,172±0,003	0,284±0,002
F5P2	0,067±0,006	0,226±0,198	992,5±10,60	0,205±0,004	0,217±0,003	0,185±0,002	0,429±0,008
F6P1	0,105±0,004	0,133±0,007	995±7,071	0,083±0,026	0,261±0,003	0,225±0,002	0,326±0,004
F6P2	0,073±0,007	0.5445±0.514	997,5±3,53	0.096±0.048	0,258±0,002	0.113±0.014	0,29±0,005
HPC %1							
F5P1	0,097±0,003	0.085±0.007	992,5±10,60	0.1285±0.009	0,158±0,002	0.191±0.008	0,38±0,005
F5P2	0,13±0,007	0.273±0.006	0,600±0,006	0.1255±0.053	0,283±0,001	0.084±0.077	0,363±0,008
F6P1	0,11±0,005	0.132±0.004	0,93±0,005	0.128±0.002	0,189±0,002	0.17±0.021	0,252±0,004
F6P2	0,12±0,008	0.341±0.029	0,691±0,004	0.147±0.215	0,159±0,002	0.147±0.0098	0,454±0,008
HPC %2							
F6P1	0,2±0,005	0.207±0.004	995±7,071	0.345±0.218	0,206±0,004	0.194±0.0042	0,352±0,010
F6P2	0,184±0,008	0.173±0.034	0,446±0,004	0.207±0.043	0,193±0,004	0.186±0.045	0,267±0,005

Tablo 4-8: Uzun süreli stabilite takibinde zeta potansiyeline ait bulgular.

Kod	Başlangıç değeri	Zeta potansiyeli (Mv) (n=3)					
		5°C±2°C		25°C±2°C (%60 R.N.)		40°C±2°C (%75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC %0,5							
F5P1	-16,6±6,62	-14,4±5,91	-7,19±4,29	-8,15±3,93	-3,87±8,98	-15,7±4,31	-10,3±3,28
F5P2	-16,6±12,9	-5,59±6,63	-9,56±3,30	-11,2±4,74	-7,68±5,03	-11,5±4,41	-9,10±4,70
F6P1	-18,2±9,37	-7,75±4,04	-6,73±5,37	-8,57±4,28	-5,58±8,16	-11,5±8,25	-7,47±3,85
F6P2	-15,9±7,86	-11,4±6,38	-8,87±5,65	8,98±4,03	-8,38±2,74	-29,3±6,44	-9,22±3,08
HPC %1							
F5P1	-7,53±5,95	-8,07±3,62	-11,1±3,38	-8,08±4,98	-3,89±9,51	-17±5,50	-7,07±5,59
F5P2	-16,7±7,79	-14,7±3,32	-7,77±3,28	-7,71±4,74	-7,40±6,63	-17,2±4,67	-3,45±3,52
F6P1	-10,8±6,41	-3,86±4,72	-4,61±4,84	-8,60±5,42	-9,01±5,57	-9,87±3,93	-8,66±3,80
F6P2	-9,23±6,64	-14,7±6,30	-5,25±5,87	-7,10±3,95	-10±4,42	-16,5±5,20	-9,38±5,54
HPC %2							
F6P1	-6,73±4,25	-8,35±4,19	-6,73±5,78	-8,25±4,62	-5,45±5,03	-8,25±3,97	-4,48±7,67
F6P2	-8,96±5,16	-6,46±4,02	-7,31±2,87	-6,53±4,74	-4,94±4,20	-9,15±4,97	-3,18±3,63

4.1.7. Viskoziteye Ait Bulgular

Uzun süreli stabilite takibinde belli aralıklarla formülasyonların viskozite değerleri ölçülmüş ve alınan sonuçlar tablo 4-9, 4-10, 4-11, 4-12, 4-13, 4-14, 4-15, 4-16, 4-17, 4-18’de gösterilmiştir.

Tablo 4-9:Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F5P1 fomülasyonuna ait viskozite bulguları.

HIZ(RPM)	HPC %0.5 F5P1 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	197.5±177.8	124.5±52	61.4±10.1	71.94±15.72	122.65±24.53	96.8±22.20	53.62±0.92
15	199.6±179.2	250.9±221	55.6±6.01	90.47±46.56	146.92±73.36	91.97±19.69	52.75±0.615
20	65.18±8.66	79.95±12.7	49.2±5.39	64.74±11.09	124.41±48.77	81.58±10.86	50.84±1.61
25	91.38±40.92	68.67±0.18	44.71±5.1	61.61±11.28	93.78±6.84	77.17±8.88	49.57±0.18
30	60.60±13.97	64.53±1.23	38.2±8.16	60.06±10.94	88.51±1.85	74.88±7.24	49.16±1.07
35	66.42±3.42	83.54±25.3	34.78±7.8	60.825±14.13	85.58±6.34	72.78±4.35	48.49±1.18
40	117.9±46.05	135.2±10.6	33.03±7.2	54.2±6.36	78.39±5.66	69.89±4.74	47.82±1.27
45	61.4±4.07	61.62±3.49	30.12±4.9	55.66±7.60	78.98±10.99	68.30±1.64	47.52±0.20
50	97.99±36.99	89.99±42.7	25.85±2.8	52.19±4.99	72.79±6.74	66.70±0.74	47.41±1.20
60	62.40±15.88	71.55±24.7	23.14±1.1	51.12±3.69	70.25±6.09	63.44±0.155	46.92±0.07

Tablo 4-10: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F5P2 fomülasyonuna ait viskozite bulguları.

HIZ(RPM)	HPC %0,5 F5P2 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	83.38±9.83	67.69±7.86	68.23±27.811	68.23±27.811	98.4±10.59	201.43±163.71	476.8±186.39
15	77.31±11.45	66.92±7.09	62.93±22.49	62.93±22.49	97.46±7.12	114.24±33.31	167.9±85.70
20	71.94±9.35	60.17±6.47	58.75±22.08	58.75±22.08	89.43±2.53	103.32±22.17	127.21±47.64
25	69.15±10.11	58.46±5.73	57.11±21.45	57.11±21.45	83.71±2.22	95.6±15.69	141.92±82.69
30	66.92±9.82	58.31±5.70	55.95±20.16	55.95±20.16	80.76±2.31	90.36±12.79	123.7±63.63
35	65.58±9.39	57.17±5.55	54.75±19.255	54.75±19.255	78.94±1.71	87.82±13.21	79.32±6.73
40	64.25±9.36	55.34±5.66	53.9±19.542	53.9±19.542	77.99±3.93	83.79±10.98	73.98±1.72
45	62.88±8.43	53.62±5.96	52.46±19.11	52.46±19.11	76.95±2.36	81.82±10.47	67.50±4.82
50	61.74±8.72	53.56±5.08	51.71±18.65	51.71±18.65	75.21±2.95	78.02±7.49	97.79±42.29
60	60.09±7.67	52.02±5.47	50.28±17.83	50.28±17.83	73.08±1.77	75.15±6.71	85.72±28.11

Tablo 4-11: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F6P1 fomülasyonuna ait viskozite bulguları

HIZ(RPM)	HPC %0.5 F6P1 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	93.73±30.15	106.62±11.13	101.7±0.42	116.45±2.75	121.65±5.58	291±34.22	89.9±22.62
15	87.92±31.32	97.68±8.65	96.35±2.46	107.9±8.90	114.2±3.67	175.25±6.15	156.75±113.77
20	80.67±28.40	90.41±7.62	89.59±0.92	101.71±9.73	107.95±4.17	184.75±47.16	80.28±13.18
25	77.78±25.35	86.59±7.76	85.02±1.85	98.23±12.39	104.9±4.80	135.9±1.27	75.60±8.50
30	75.28±25.09	83.60±6.93	82.94±2.31	93.43±10.98	101.23±3.20	114.45±9.54	73.25±8.01
35	73.37±24.48	81.28±6.07	80.81±1.98	91.09±10.43	99.23±2.92	103.88±5.53	89.03±32.90
40	71.12±23.01	79.78±5.55	78.72±1.50	86.9±6.59	96.22±3.12	98.53±5.46	87.79±33.52
45	68.6±22.95	78.48±4.72	78.04±1.43	86.47±7.81	95.04±2.87	94.10±6.05	67.07±4.62
50	67.66±22.41	76.12±4.99	76.06±1.56	82.79±6.10	92.73±2.96	91.43±4.44	68.34±7.30
60	65.14±21.89	72.81±3.39	74.28±1.15	79.67±5.23	89.32±1.61	87.30±3.85	63.38±1.30

Tablo 4-12: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %0,5 F6P2 fomülasyonuna ait viskozite bulguları

HIZ(RPM)	HPC %0.5 F6P2 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	61.04±3.83	83.06±7.39	104.64±48.87	66.71±9.24	112.7±40.01	131.5±41.15	89.9±22.62
15	54.93±2.30	77.60±6.78	109.57±70.12	67.8±8.93	145.06±103.61	117.73±28.38	156.75±113.77
20	52.64±3.77	71.44±6.24	82.52±29.98	62.29±6.70	118.36±65.68	109.88±24.06	80.28±13.18
25	50.92±3.45	67.36±4.25	80.65±25.52	61.86±10.17	93.29±27.48	104.14±21.86	75.60±8.50
30	48.76±3.39	65.72±3.54	103.8±22.74	61.48±10.79	96.64±38.11	96.59±16.98	73.25±8.01
35	47.46±3.56	64.37±4.62	93.99±17.86	59.89±10.70	106.56±57.59	92.56±14.89	89.03±32.90
40	42.21±3.77	63.11±4.85	70.90±15.911	58.04±9.48	85.51±23.47	90.90±15.26	87.79±33.52
45	45.49±3.91	62.20±5.55	69.56±16.03	57.04±7.29	86.28±25.29	86.98±10.58	67.07±4.62
50	44.47±3.72	60.62±4.53	68.06±14.92	55.85±832	74.68±9.54	86.85±13.32	68.34±7.30
60	43.63±3.76	59.08±4.62	66.02±14.61	54.82±6.47	72.12±7.95	84.15±12.02	63.38±1.30

Tablo 4-13: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F5P1 fomülasyonuna ait viskozite bulguları

HIZ(RPM)	HPC %1 F5P1 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	134.93±4.71	267.9±14.00	535.75±224.5	287.75±14.07	347.5±14.07	410.10±30.34	148.85±14.07
15	125.56±5.72	238.15±37.40	449.8±168.43	271.2±9.33	297.65±9.40	414.53±62.49	165.4±9.33
20	112.06±4.14	233.15±7.00	411.75±77.14	243.1±7.07	307.6±14.00	370.4±30.34	148.85±14.07
25	105.76±3.96	242.1±5.65	361.15±84.21	246.1±0	293.7±22.48	343.96±24.24	142.9±0
30	100.70±4.164	228.2±14.00	350.6±65.47	251.4±0	284.45±18.73	328.53±21.25	142.2±4.66
35	96.73±3.5	223.95±12.09	345.85±80.11	243.8±0	272.15±16.05	323.2±17	147.4±8.06
40	92.59±3.01	220.75±10.53	312.55±56.07	238.1±0	267.9±21.07	320.8±32.28	138.9±0
45	89.33±2.03	218.3±3.11	295.45±49.85	229.3±0	266.8±15.55	301.33±17.83	143.3±3.11
50	86.72±3.21	212.35±8.41	279.8±36.48	228.2±2.82	259.95±14.07	292.33±16.05	134.95±5.58
60	134.93±4.71	205.05±4.73	266.2±35.072	219.95±2.33	251.35±14.07	278.9±12.49	132.3±4.66

Tablo 4-14: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F5P2 fomülasyonuna ait viskozite bulguları

HIZ(RPM)	HPC %1 F5P2 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	114.01±20.64	258±0	764±154.29	277.85±28.07	347.25±14.07	370.4±11.43	327.4±14.00
15	120.26.8±21.41	238.15±18.73	608.55±37.40	251.35±18.73	317.5±0	339.53±15.29	304.3±0
20	97.14±18.25	243.1±7.07	466.35±14.07	262.95±7.00	307.6±0	330.73±15.17	282.75±7.00
25	91.05±18.51	230.2±0	488.15±95.38	261.9±0	285.8±0	314.83±12.12	285.75±11.24
30	87.26±18.42	218.3±0	423.35±28.07	251.35±9.40	281.1±4.66	304.3±6.6	284.4±9.33
35	84.02±17.71	215.4±0	374.2±0	243.8±8.06	274.95±4.03	292.96±11.80	283.5±8.06
40	80.66±17.08	215.8±3.53	391.9±21.07	240.65±10.53	267.9±7.07	279.46±7.53	275.35±3.46
45	78.14±15.42	216.1±0	350.6±9.33	240.3±3.11	262.4±3.11	276.33±9.15	269±6.22
50	75.42±15.87	212.3±2.82	359.15±30.90	234.15±5.85	259.95±2.75	263.23±9.96	265.9±5.65
60	114.01±20.64	206.75±2.33	325.8±25.73	226.55±2.33	248.1±0	258±8.73	253.05±7.00

Tablo 4-15: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F6P1 fomülasyonuna ait viskozite bulgular

HIZ(RPM)	HPC %1 F6P1 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	129.7±2.62	267.9±42.14	704.45±14.07	277.85±28.07	307.6±14.00	310.90±11.43	238.1±0
15	122.5±9.80	257.95±28.07	515.95±74.88	264.55±37.40	304.3±0	295.43±20.21	165.4±9.33
20	109.66±7.83	233.15±7.00	476.3±0	248.1±0	277.8±0	274.53±20.66	188.5±0
25	103.5±6.90	218.3±16.82	428.65±11.24	234.15±5.58	265.9±5.65	275.16±12.16	190.5±0
30	98.67±7.55	221.6±14.00	386.95±14.07	224.9±9.33	267.9±4.66	275.6±10.08	185.2±0
35	95.16±7.31	212.6±3.95	360±12.02	218.35±4.03	260.8±0	264.56±8.66	181.4±0
40	91.78±6.92	208.35±7.00	320±3.53	213.35±7.00	253.05±7.00	256.33±7.53	181.1±3.53
45	88.75±7.26	198.4±0	330.75±18.73	213.9±3.11	249.15±3.18	242.53±8.85	178.6±3.11
50	85.85±7.44	196.45±2.75	311.55±25.24	206.4±0	242.1±5.65	242.1±4	174.6±0
60	129.7±2.62	190.15±2.33	291.05±23.40	201.7±0	231.5±4.66	228.2±5.71	170.35±2.33

Tablo 4-16: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %1 F6P2 fomülasyonuna ait viskozite bulgu

HIZ(RPM)	HPC %1 F6P2 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	109±4.21	296.1±10.1	301.2±8.1	205±0.9	250.4±12.07	350±7.03	190.3±0.8
15	110.9±5.3	275.1±12.3	280.25±9.4	198±9.33	241.5±18.6	330.9±9.3	185.2±18.6
20	101.38±4.5	266.65±11.2	270.15±9.1	190.2±0	233.6±14.07	325.7±5.21	184.45±17.1
25	96.88±3.4	250.5±13.2	266.4±9.31	189.3±0	230.8±15.65	321.5±5.85	180.55±15.5
30	92.79±3.5	230.6±16.3	261.35±7.40	180.6±4.6	225.7±4.66	318.6±2.81	175.9±14.6
35	89.19±3.2	220.65±11.8	258.9±11.04	170.2±4.8	217.8±18.06	310.1±10.29	169.6±13.9
40	85.78±3.0	221.8±15.3	255.75±10.5	167.8±3.5	210.8±17.00	307.1±7.58	165.6±11.2
45	82.93±2.3	215.4±12.9	247.75±11.1	150.5±3.11	204.8±19.33	300.9±5.50	148.4±13.1
50	79.7±2.3	210.95±14.7	245.5±10.82	148.4±2.82	200.9±15.58	194.4±8.17	146.7±12.9
60	75.2±4.2	203.4±13.1	244.7±11.73	155.7±4.73	195.0±19.40	191.9±11.58	150.4±14.7

Tablo 4-17: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %2 F6P1 fomülasyonuna ait viskozite bulguları

HIZ(RPM)	HPC %2 F6P1 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	325.23±59.82	1657±379.00	2093.5±323.14	1726.5±27.57	1736.5±491.4	1687±504.87	919.47±161.67
15	275.73±50.12	1475±196.57	1607.5±9.19	1547.5±37.47	1647±308.29	1561.5±449.01	837.87±142.69
20	237.1±46.57	1354.5±133.64	1473±7.07	1439±28.28	1523±231.93	1399±393.15	780.53±109.25
25	212.86±40.70	1354±173.94	1361.5±50.20	1345±5.65	1429±179.60	1278±347.89	759.36±114.81
30	202.56±40.52	1293±154.14	1266.5±41.71	1253.5±4.94	1333±154.14	1200.5±313.24	769.5±93.58
35	183.63±37.03	1239±140.00	1193.5±44.54	1187.5±12.02	1239±140.00	1122.75±288.85	782.4±68.99
40	182.33±40.11	1190.5±147.78	1138.5±45.95	1138.5±10.60	1175.5±133.64	1054.1±269.97	798.7±40.56
45	192.76±66.27	1118±103.23	1096±28.28	1104.5±9.19	1129±131.52	999±271.52	804.06±34.27
50	190.77±61.42	1105.5±120.91	1040±22.62	1050±8.48	1071.65±129.18	956.45±252.5	796.4±32.04
60	153.65±49.19	1021.75±97.93	974±16.40	987.25±7.00	998.55±116.60	877.9±240.55	750.73±28.82

Tablo 4-18: Uzun süreli stabilite çalışmasında HPC %2 F6P2 fomülasyonuna ait viskozite bulguları

HIZ(RPM)	HPC %2 F6P2 (n:3)						
	1.GÜN	1.AY			2.AY		
	25°C±2°C (%60 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)	5°C±2°C	25°C±2°C (%60 R.N.)	40°C±2°C (%75 R.N.)
10	148.66±134.4	1498.5±238.2	1835.5±41.7	813.6±123.9	1736.5±491.4	1786±364.8	813.6±123.9
15	126.3±119.8	1422.5±159.0	1640±0	758.4±62.5	1647±308.2	1614±318.1	758.47±62.53
20	114.33±104.3	1305±35.35	1473.5±3.6	691.2±48.9	1523±231.9	1443.5±245.3	691.2±48.9
25	104.4±94.53	1262±11.31	1361±5.6	679.9±39.1	1429±179.6	1345.5±252.4	679.9±39.1
30	96.63±87.67	1210.5±27.5	1296.5±9.1	672.5±38.7	1333±154.1	1253.5±248.1	672.5±38.7
35	89.43±80.83	1185±39.5	1227.5±3.5	665.2±43.2	1239±140.0	1173.5±224.1	665.2±43.2
40	83.36±75.25	1156±49.4	1158.5±3.5	664.8±49.6	1175.5±133.6	1108.75±213.8	664.8±49.6
45	79.0±71.11	1113.5±40.3	1104.5±9.1	658.5±57.5	1129±131.5	1056.3±190.4	658.5±57.5
50	74.47±62.25	1083.5±55.8	1068±0	649.56±61.7	1071.65±129.1	1008±190.8	649.5±61.7
60	74.12±7042	1008.7±51.3	990.5±16.2	616.2±59.6	998.55±116.6	927.7±180.0	616.2±59.6

4.1.8. Organoleptik İncelemere Ait Bulgular

Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonlar belli aralıklarla organoleptik olarak kontrol edilmiştir. Formülasyonların renk, görünüm, koku gibi özellikleri incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Buzdolabı ve iklimlendirme kabinindeki formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra değerlendirmeleri yapıldı. Organoleptik incelemede aşağıdaki kısıtlımlar kullanıldı.

- Görünüm: Homojen (H), Koalesans (K), Kısmi Faz ayrımı (KFA), Tam Faz ayrımı (TFA), Sedimentasyon (S)
- Renk: Saydam (S), Yarı saydam (YS), Süt rengi (SR), Sarımsı-beyaz (SB)
- Koku: Karakteristik (K)

Tablo 4-19: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların görünümüne ait bulgular

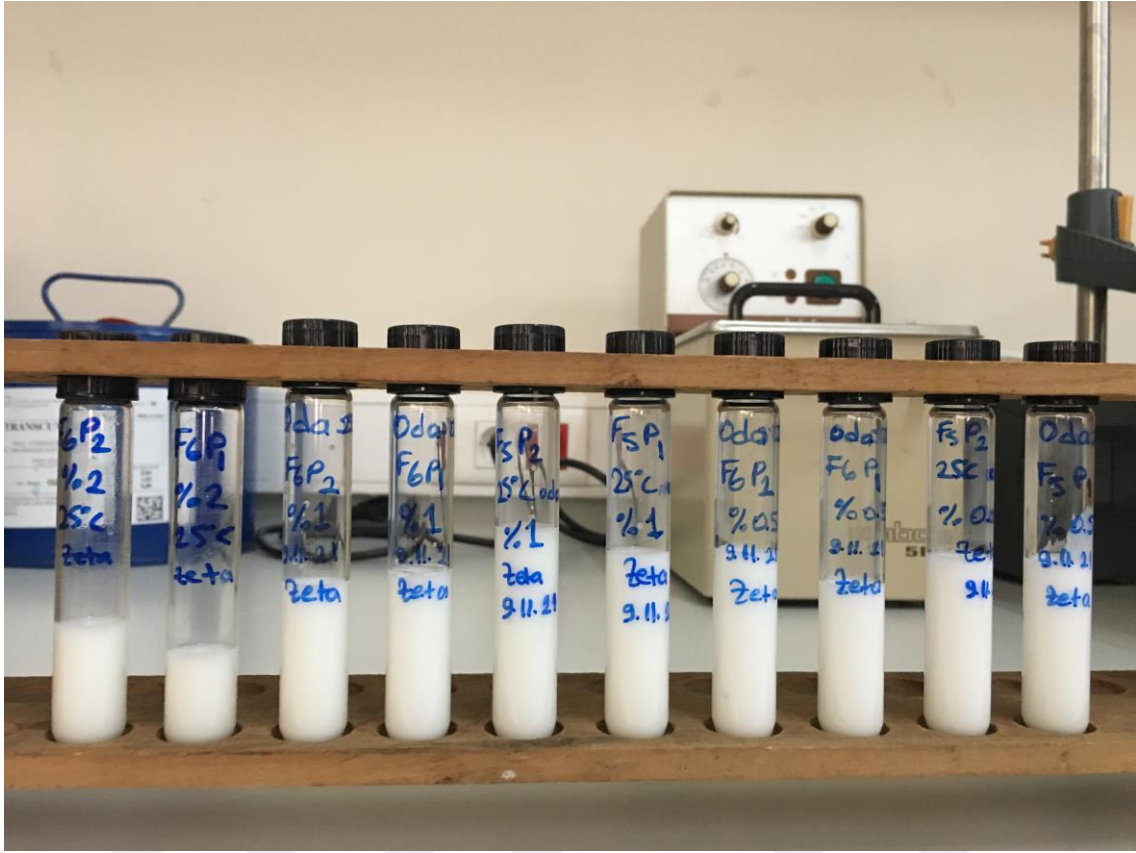
Kod	Başlangıç değeri	Görünüm					
		5°C±2°C		25°C±2°C (%60 R.N.)		40°C±2°C (%75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC%0.5							
F5P1	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
F5P2	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
F6P1	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
F6P2	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
HPC%1	H						
F5P1	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
F5P2	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
F6P1	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
F6P2	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
HPC%2	H						
F6P1	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA
F6P2	H	KFA	KFA	H	H	KFA	KFA

Tablo 4-20: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların renklerine ait bulgular

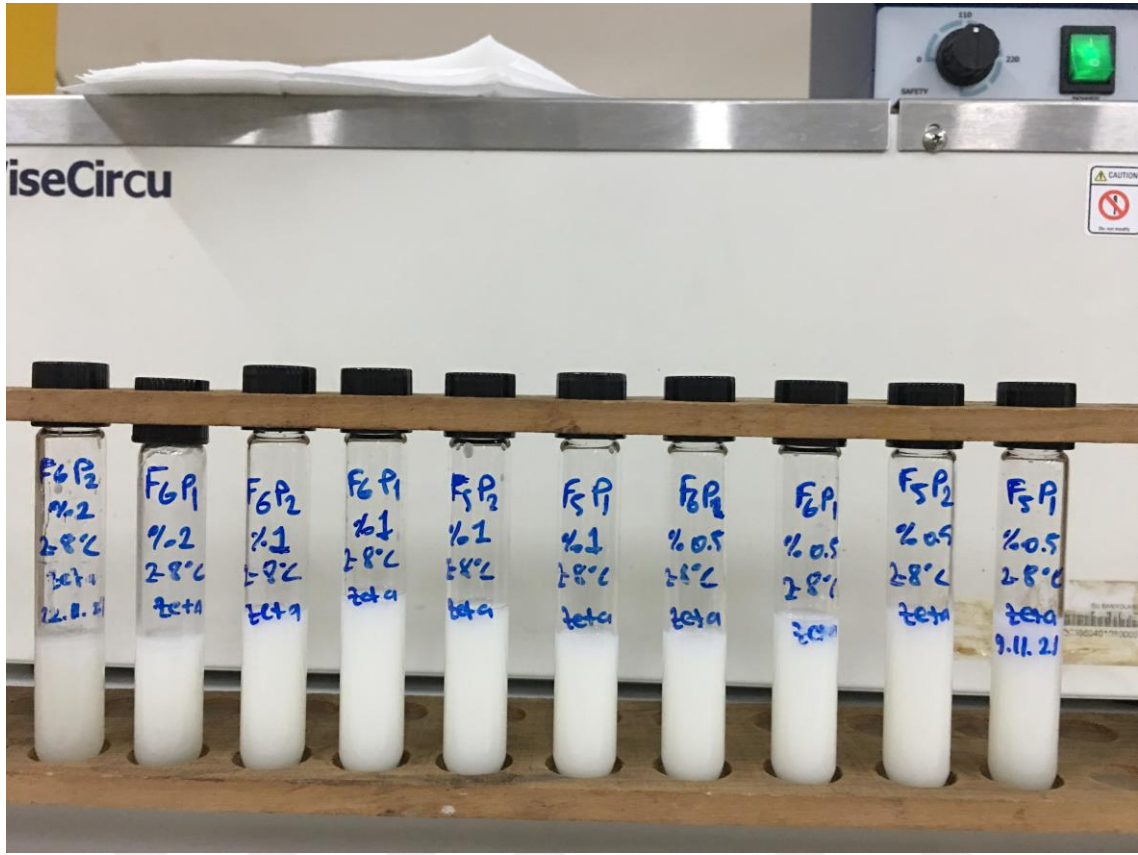
Kod	Başlangıç değeri	RENK					
		5°C±2°C		25°C±2°C (%60 R.N.)		40°C±2°C (%75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC%0.5							
F5P1	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
F5P2	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
F6P1	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
F6P2	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
HPC%1							
F5P1	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
F5P2	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
F6P1	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
F6P2	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
HPC%2							
F6P1	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS
F6P2	SR	YS	YS	SR	SR	YS	YS

Tablo 4-21: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların kokusuna ait bulgular.

Kod	Başlangıç değeri	Koku					
		5°C±2°C		25°C±2°C (%60 R.N.)		40°C±2°C (%75 R.N.)	
		1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
HPC%0.5							
F5P1	K	K	K	K	K	K	K
F5P2	K	K	K	K	K	K	K
F6P1	K	K	K	K	K	K	K
F6P2	K	K	K	K	K	K	K
HPC%1							
F5P1	K	K	K	K	K	K	K
F5P2	K	K	K	K	K	K	K
F6P1	K	K	K	K	K	K	K
F6P2	K	K	K	K	K	K	K
HPC%2							
F6P1	K	K	K	K	K	K	K
F6P2	K	K	K	K	K	K	K



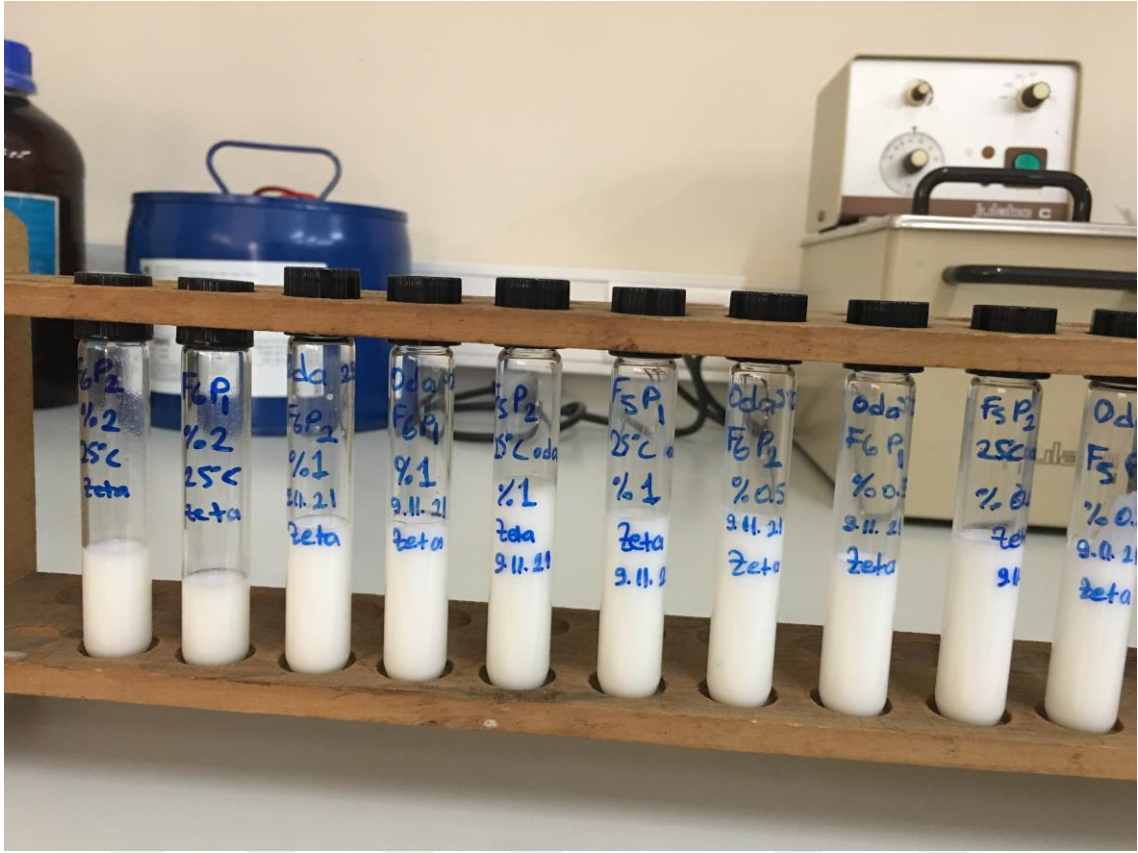
Şekil 4-3: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 25°C oda koşulu 1.gün.



Şekil 4-4: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü buzdolabı koşulu 1.gün.



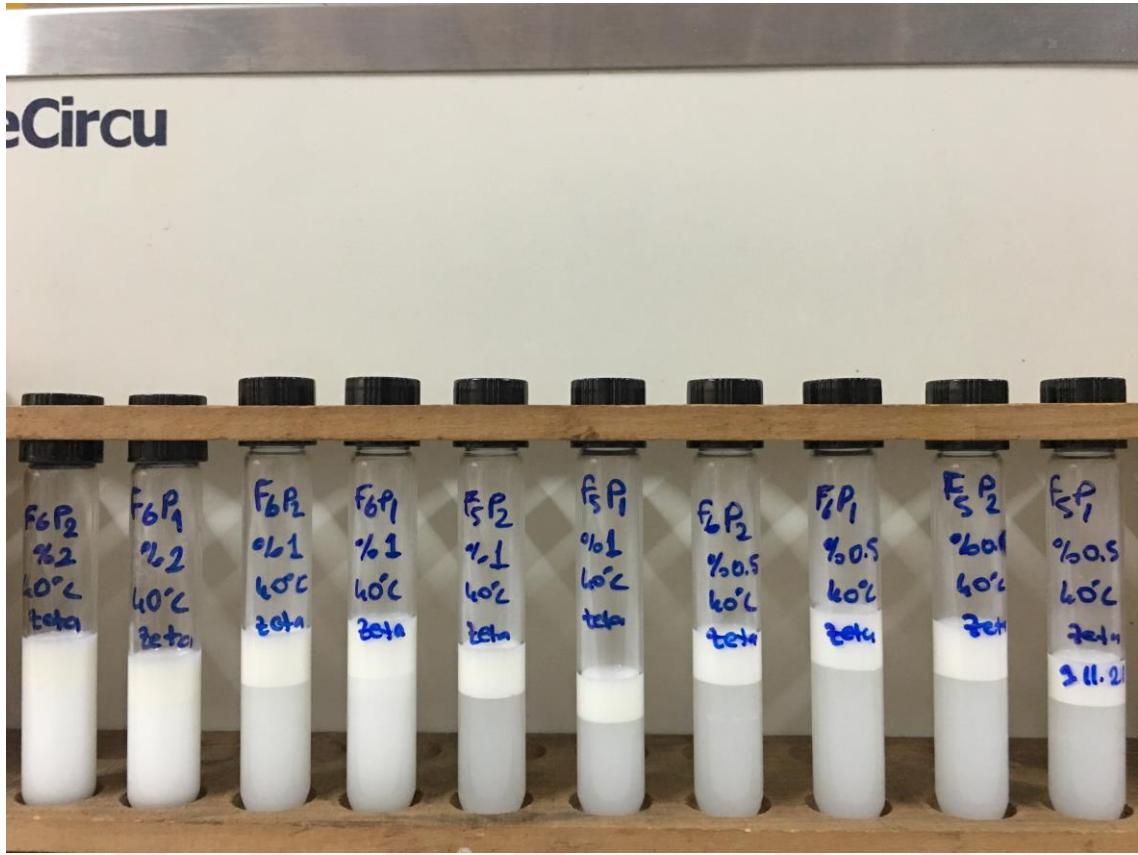
Şekil 4-5: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 40°C iklimlendirme kabini koşulu 1.gün.



Şekil 4-6: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 25°C oda koşulu 1.ay.



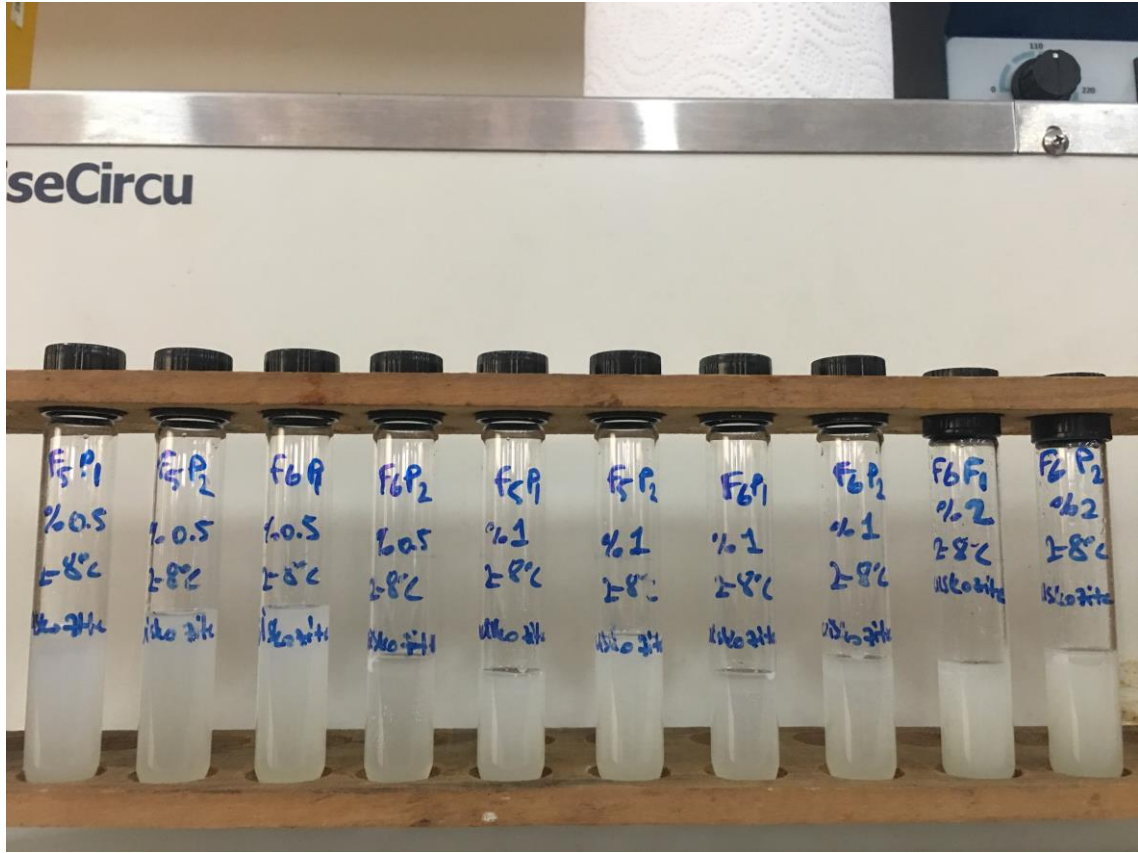
Şekil 4-7: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü buzdolabı koşulu 1.ay.



Şekil 4-8: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 40°C iklimlendirme kabini koşulu 1.ay.



Şekil 4-9: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 25°C oda koşulu 2.ay.



Şekil 4-10: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü buzdolabı koşulu 2.ay.



Şekil 4-11: Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların görünümü 40°C iklimlendirme kabini koşulu 2.ay.

4.1.9. Doku Profil Analizi (texture profile analyse, TPA) Ölçümlerine Ait Bulgular

Uzun süreli stabilite çalışmasında nanoemülsiyonların üretildiği ilk gün Texture Pro CTV1 cihazı ile formülasyonların mekanik özellikleri incelendi. Ölçümlere ait bulgular aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4-22: Uzun süreli stabilite çalışmasında formülasyonların TPA (doku profili analizi) özelliklerine ait bulgular

formülasyon	TPA (doku profili analizi)				
	Adhezyon kuvveti (mN)	Adheziflik (mJ)	Koheziflik	Sertlik (mN)	Sıkıştırılabilirlik (mJ)
HPC %0.5					
F5P1	29.00±10.00	0,13±0.15	0.81±0.65	42,33±5,77	0,10±0.00
F5P2	28.66±29.50	0.10±0.00	-0.32±0.14	49.00±0.00	0.15±0.07
F6P1	35.66±5.77	0.10±0.10	0.44±1.96	58.67±16.74	0.13±0.05
F6P2	35.66±5.77	0.03±0.05	0.63±0.48	55.67±5.77	0.10±0.00
HPC %1					
F5P1	39.33±9.50	0.16±0.23	0.33±2.05	62.33±11.54	0.25±0.07
F5P2	39.33±9.50	0.30±0.17	-0.73±4.22	58.33±19.50	0.20±0.10
F6P1	45.66±5.77	0.30±0.23	-3.67±3.87	59.00±0.00	0.20±0.00
F6P2	44.00±7.07	0.20±0.00	0.035±0.10	73.50±6.33	0.30±0.00
HPC %2					
F6P1	49.00±8.5	0.35±0.20	0.43±4.02	79.34±13.60	0.30±0.07
F6P2	49.33±5.7	0.27±0.15	0.35±2.02	81.37±15.30	0.35±0.00

5. TARTIŞMA

Pigment bozuklukları toplumda en yaygın olarak görülen dermatolojik hastalıklar arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Cildimize asıl rengini veren melanositlerin sayı ve fonksiyonlarında artış olduğu zaman ya da deriye renk veren diğer maddelerin birikimi sonucunda deri renginde normale nazaran meydana gelen koyulaşmaya hiperpigmentasyon adı verilir. Hiperpigmentasyon problemi yüz bölgesinde görüldüğü zaman melasma adını alır. Melasma kişinin kozmetik konforunu bozan ve tedavisi zor inatçı bir hastalıktır (43).

Genellikle çok orta yaşlı kadınlarda daha çok görülen hiperpigmentasyon sorunu temel olarak genetik, çevresel ve fizyolojik olmak üzere birçok faktöre bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. İlaç ve kozmetik ürün kullanımı, güneşe maruz kalma ve hormonal bozukluklar bu nedenlerden birkaç tanesidir. Bu tür hastalıkların tedavi edilmesi oldukça zor olmakla birlikte tedaviden bir süre sonra tekrar nüksetme ihtimali de vardır.

Günümüzde leke tedavisi için birçok medikal işlem ve leke açıcı ajanlar kullanılmaktadır. Fenolik bileşikler (hidrokinon, rezorsinol, katekol), azelaik asit, kojik asit, askorbik asit (C vitamini), retinoid (retinoik asit, tretionin), arbutin ve dioksiarbutin, α - lipoik asit, doymamış yağ asitleri, imyasal peeling, enzim peeling, dermabrasyon, likit nitrojen kriyoterapi (dondurma tedavisi), lazer operasyonu ve diğer ışın tedavileri hiperpigmentasyon probleminde kullanılan tedavi yöntemlerindendir (41). Ancak bu mevcut tedaviler beraberinde cilt irritasyonu, okronozis, kızarıklık, karsinogenez gibi bir takım yan etkiler ve güvenlik problemi de getirmektedir. Mevcut tedavilerdeki bu potansiyel yan etkileri önlemek adına daha çok doğal özler içeren güvenli ve etkili formülasyonların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Soya ekstresi kullanılabilecek bu doğal özlerden bir tanesidir (49).

Soyanın hiperpigmentasyon üzerine olumlu etkilerinin olduğu daha önce yapılmış olan bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Yapılan bir çalışmada hiperpigmentasyon problemi yaşayan orta yaşlı 65 adet gönüllü üzerinde 12 hafta boyunca günde 2 defa soya içerikli bir cilt bakım ürününün kullanılması sonucunda cilt renginin açılmasında ciddi bir iyileşme sağlandığı gözlemlenmiştir (52).

Etkili ve güvenli bir depigmentasyon ajanı olarak kabul edilen soya bu etkisini hücrel bazda melanin sentezini inhibe ederek göstermektedir. Soya'nın başlıca bileşenleri fosfolipidler (% 45-60) ve esansiyel yağlardır (% 30-35). Ayrıca izoflavonlar, E vitamini ve serin proteaz inhibitörleri-soya fasulyesi tripsin önleyicisi (STI) ve Bowman-Birk proteaz inhibitörü (BBI) gibi aktif maddeler içerir. Proteaz inhibitörleri PAR-2 aktivasyonunu inhibe ederek melanozom transferini engeller (50). Soya yağ asitleri, PAR-2'nin bilinen bir etkinleştiricisi olan tripsin'i inhibe eder. Dahası, izoflavonlar DOPA oksidaz aktivitesini engeller ve böylece melanogenezi inhibe eder. Sonuç olarak da melanin üretimi baskılanır, cildin üst katmanlarına melanin pigmenti taşınmaz ve hiperpigmentasyon önlenmiş olur (51).

Nanoemülsiyonlar ortalama damlacık boyutu 100-500 nm arasında değişen yağ ve su fazlarından oluşan dispers sistemlerdir (25). Nanoemülsiyonlar saydam veya yarı saydam bir görüntüye sahip olup nano boyuttaki damlacıkları çok iyi dağılım gösterdikleri için üretildikten sonra çökme, kremalaşma, koalesans gibi problemlerin yaşanmasına olanak vermezler. Bu özelliklerinden dolayı nanoemülsiyonlar ilaç, kimya ve kozmetik sanayiinde sıkça tercih edilmektedir.

Nanoemülsiyonların S/Y (yağ içinde su) ve Y/S (su içinde yağ) gibi formları üretilebilmektedir (27). Nanoemülsiyonlar genel olarak güvenli olarak kabul edilen farmasötik sürfaktanlar kullanılarak hazırlanmaktadır (28). Nanoemülsiyonlarda kullanılan sürfaktanlar su ve yağ fazı ara yüzündeki basıncı azaltmaktadırlar. Emülsiyon oluşturu bu ajanlar bir yandan lipofilik kuyrukla yağ fazına bağlanırken diğer taraftan hidrofilik baş ile de su fazına bağlanır. Böylece uzun süre homojen kalabilen stabil formülasyonlar üretilebilmektedir (29).

Nanoemülsiyon teknolojisi ile hazırlanan ürünler nano boyuttaki damlacıkları sayesinde deriden kolayca penetre olabilmektedir. Bu şekilde kullanılan üründeki etken maddenin güvenli ve etkili bir şekilde alt katmanlara iletilmesi sağlanmış olmaktadır. Topikal olarak kullanılan birçok köpük, krem, losyon, spray bu şekilde formüle edilebilmektedir (56).

Nanoemülsiyonlar düşük miktarda sürfaktan içerdikleri için toksik ve iritan özellikleri de klasik emülsiyonlara göre daha düşüktür. Ayrıca uzun süre stabil kalabilmeleri, cilt penetrasyonunu arttırmaları ve hoş görünimleri nedeniyle tıp ve eczacılık alanlarının yanında kozmetik, farmasötik, gıda ve diğer sektörlerde

kullanılabilen cazip sistemlerdir. Nanoemülsiyonlar çok küçük damlacık boyutuna sahip oldukları için ayrıca stratum korneum tabakası ile daha yakın temas sağlamakta böylece istenen bölgeye daha fazla etken madde erişimi sağlayabilmektedir. Bu ve benzeri avantajlarından dolayı nanoemülsiyonlar özellikle kozmetik alanında geniş bir kullanım yelpazesi sunmaktadır (57).

Yapılan literatür incelemesinde daha önce yapılmış olan hiperpigmentasyon problemine yönelik soya içerikli herhangi bir nanoemülsiyon çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle bu tez çalışması ile ilk defa biyoteknoloji ve kozmetik bilimleri kullanılarak doğal bir öz olan soya ekstresi yardımı ile cilt rengini beyazlatıcı topikal bir nanoemülsiyon geliştirilmesi hedeflenmiştir. Üretilcek olan ürünün nanoteknolojik yapısı nedeniyle piyasada bulunun mevcut klasik leke açıcı ürünlere iyi bir alternatif sunabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında yöntem olarak yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak Y/S (su içinde yağ) nanoemülsiyonu hazırlanması amaçlanmıştır. Ultrasonikasyon yöntemi ile hazırlanan nanoemülsiyon çalışmaları incelenirken formülasyon hazırlama aşamasında ön karıştırma prosedürü uygulandığına ayrıca ultrasonikasyon uygulama sürecinde de değişik zaman aralıkları ile çalışıldığına dair bilimsel araştırmalara rastlanmıştır (58,59). Çalışmamızda ultrasonikatörün band genişliği %50 olarak ultrasonikasyonun amplitüt ayarı ise 30 saniye açık 30 saniye kapalı prensibine göre ayarlanmıştır. Nanoemülsiyon hazırlama aşamasında formülasyonlara 8100 rpm hızda mekanik karıştırıcıda 5 dk ön karıştırma sonrasında 15 dk ultrasonikasyon, 8100 rpm hızda mekanik karıştırıcıda 5 dk ön karıştırma sonrasında 30 dk ultrasonikasyon, sadece 15 dk ultrasoniksasyon ve sadece 30 dk ultrasonikasyon olmak üzere dört farklı prosedür uygulanmıştır.

Formülasyon çalışmalarında etkin maddemiz olan soya %5 oranında kullanılmıştır. Soyanın çözünme ortamı olarak ise iyi bir çözücü olan su kullanılmıştır.

Literatür çalışmaları baz alınarak yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak PEG 400, Lauroglycol 90 ve Transcutol HP kullanıldı (60). Surfaktan/kosurfakton oranı 1:1 olarak belirlendi. Formülasyondaki toplam yüzey etken madde oranı ise %20 olarak belirlenerek formülasyonlar hazırlanmıştır. Yürütülen çalışmalarda Lauroglycol 90 kullanılan formülasyonların daha başarılı olduğu

görüldüğünden çalışmaya Pluronic F68, Lauroglycol 90 ve Transcutol HP kullanılarak devam edilmiştir.

Yağ fazı olarak Caprylic Capric Triglyceride, Isopropyl Myristate, DUB VCI 10 (Isodecyl Neopentanoate), Vitamin E (DL-alfa tokoferol asetat) ve koruyucu olarak Sensiva PA 30 kullanılmıştır. Önformülasyon denemelerinin bir kısmı kaprilik kaprik trigliserid ve izopropil miristat maddelerinin oranları düşürülerek, bir kısmı da bu maddeler tamamen çıkarılarak denenmiştir. Çalışmada, yağ fazının yüzey etken maddeye oranı 1:2, 1:4, 1:5, 1:6, 1:8, 1:10 olan formülasyonlar denenmiştir.

Ön formülasyon çalışması aşamasında birçok formülasyon denemesi yapılmıştır. İlk seri denemelerde polimer kullanılmamış ve ön karıştırma prosedürü uygulanmıştır. Tablo 3-1 ve 3-2’ de görülen polimer kullanılmayan formülasyonlarda bir süre sonra yüzeyde kremalaşma ve faz ayrımı gibi stabilite sorunları gözlenmiştir. Meydana gelen faz ayrımını önlemek için formülasyon denemelerine bir polimer olan HPC eklenerek devam edilmiştir. HPC’nin eklenmesi ile hem formülasyonun kıvamı bir miktar artmıştır hem de formülasyon daha stabil bir hale gelmiştir. Literatür çalışmaları da baz alınarak %0,2, %0,5, %1 ve %2 gibi farklı HPC oranları kullanılarak en stabil ve damlacık boyutu en uygun form bulunmaya çalışılmıştır (53). Bunun için tablo 3-3, 3-4, 3-5, 3-6, 3-7 ve 3-8’deki formülasyon çalışmaları yapılmıştır.

Ön formülasyon çalışmasında test formülasyonlarının hepsine ilk olarak santrifüj testi uygulanmıştır. Santrifüj testini geçen formülasyonlara sonrasında termal test uygulanmış ve formülasyonlar organoleptik açıdan değerlendirilmiştir. Santrifüj ve termal testi geçip organoleptik açıdan iyi görünen formülasyonların pH ve viskozite değerlerine bakılmış, foton korelasyon prensibine göre çalışan zeta sizer cihazında partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyellerine bakılmıştır. Bu ölçümler sonucunda uygun partikül boyutu, zeta potansiyeli ve PDI değerlerine sahip olan formülasyonlarla uzun süreli stabilite çalışmasına başlanmıştır.

Önformülasyon denemelerinden sonra Tablo 4-3’de görülen formülasyonlar ile uzun süreli stabilite çalışmasına başlanmıştır. Üretilen formülasyonlar 2 ay boyunca oda koşulu ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem), buzdolabı ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) ve iklimlendirme kabinde ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) bekletilmiştir. Formülasyonların 1. gün, 1.ay ve 2.ay sonunda pH değeri, iletkenliği, viskozitesi, damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçülmüş ve organoleptik açıdan değerlendirmesi yapılmıştır. Ayrıca formülasyonların TPA (texture

profile analyse) ölçümleri formülasyonun üretildiği ilk gün yapılmış olup bununla ürünün duyuusal özellikleri incelenmiş ve cilde adezyonu konusunda bilgi edinilmiştir.

pH ölçümleri incelendiğinde 3 farklı koşulda bulunan formülasyonların 1. gün, 1.ay ve 2.ay sonunda pH'larında anlamlı bir değişim olmadığı gözlenmiştir.

Üretilen formülasyonlar Y/S formunda dış fazı su olan nanoemülsiyonlar oldukları için yüksek iletkenlik değerlerine sahiptirler. 3 farklı koşulda bulunan formülasyonların 1. gün, 1.ay ve 2.ay sonunda iletkenlik değerleri incelendiğinde buzdolabı ve oda koşulunda bulunan formülasyonların iletkenlik değerlerinde anlamlı bir değişim gözlenmezken iklimlendirme kabini (40°C ± 2°C, %75 nem) bulunan formülasyonların iletkenlik değerlerinde bir miktar artış olduğu görülmektedir.

Nanoemülsiyonlar ortalama damlacık boyutu 100-500 nm arasında olan dispers sistemlerdir. Damlacık boyutunun yanında PDI değerinin de 0,3'ün altında olması bize sistemin homojen olduğunu, damlacık boyut aralığının dar olduğunu göstermektedir. 3 farklı koşulda 2 ay boyunca ölçülen damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli değerlerine baktığımızda zeta potansiyelinin bu süre boyunca anlamlı bir değişim göstermediğini görmekteyiz. Damlacık boyutu ve PDI'nın ise buzdolabı (5°C ± 2°C) ve iklimlendirme kabini (40°C ± 2°C, %75 nem) koşullarında artış eğilimi gösterdiğini ve nanoemülsiyon karakterinden çıktığını görmekteyiz. Oda koşulunda (25°C ± 2°C, %60 nem) bulunan formülasyonların ise 1. gün, 1.ay ve 2.ay sonunda yapılan ölçümlerinde damlacık boyutunun genel olarak 400 nm'nin altında olduğu PDI'nın ise genel olarak 0,261'in altında olduğu görülmektedir. En iyi formülasyon olduğu düşünülen %1 HPC içeren F6P2 kodlu formülasyonun 2.ay sonundaki damlacık boyutu 338 ± 14.8 ve PDI değeri ise 0.159 ± 0.002 olarak ölçülmüştür.

%0,5, %1 ve %2 konsantrasyonlarda HPC içeren formülasyonların viskozite değerlerine baktığımızda polimer oranı arttıkça viskozite değerinin de arttığını görmekteyiz. En düşük viskozite değeri %0,5 HPC içeren formülasyonlarda görülüp zaman içinde viskozite değeri düşüş eğilimi göstermiştir. %1 ve %2 'lik HPC içeren formülasyonlarda ise viskozitenin zamanla arttığını görmekteyiz. Kıvam olarak %0,5 HPC içeren seri çok akışkan iken %2 HPC içeren seri ise çok yoğun bir kıvam almıştır. Viskozite değerleri ve kıvam olarak %1 HPC içeren serinin daha başarılı olduğu düşünülmektedir.

Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonların ayrıca ilk gün TPA (texture profile analyse) değerlerine bakılmış ve ürünün ciltte nasıl bir hissiyat yaratacağı ve cilde sürülebilirliği tahmin edilmeye çalışılmıştır. Her formülasyon için adhezyon, kohezyon, sertlik ve sıkıştırılabilirlik değerleri incelenmiştir. Ölçümler sonucunda optimum mekanik özelliklere sahip formülasyonun %5 soya ekstresi ve %1 HPC içeren F6P2 kodlu formülasyon olduğu görülmüştür.

Uzun süreli stabilite takibinde 3 farklı koşulda bulunan formülasyonlar 1. gün, 1.ay ve 2.ay sonunda organoleptik açıdan değerlendirilmiştir. İlk gün oda koşulunda bütün formülasyonlar homojen bir görünüm göstermiştir. 1.ay sonunda oda koşulundaki formülasyonlar homojen kalmaya devam ederken, buzdolabı ve etüv koşulunda bulunan formülasyonlarda kısmi faz ayrımı meydana gelmiş ayrıca buzdolabı koşulundaki formülasyonların rengi süt renginden yarı saydam hale dönmüştür. 2.ay sonunda yapılan değerlendirmede oda koşulundaki formülasyonların hepsi homojen kalmaya devam ederken, buzdolabı ve etüv koşulundaki formülasyonların görünümleri daha da bozulmuş ve formülasyonlar tam faz ayrımına doğru gitmeye başlamıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında hazırlanan nanoemülsiyonların uzun süreli stabilite takibinde yapılan çalışmalar sonucunda formülasyonların buzdolabı ($5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) ve iklimlendirme kabininde ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 nem) stabilite problemi yaşayıp bozulduğu oda koşulunda ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, %60 nem) ise homojen kaldığı görülmüştür.

Bütün bu veriler değerlendirildiğinde %5 soya ekstresi ve %1 HPC içeren F6P2 kodlu formülasyonun oda koşulunda stabil kalan en iyi formülasyon olduğu ve hiperpigmentasyon probleminin tedavisi için geliştirilecek ürünler konusunda yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Hadgraft, J. (2004). Skin deep. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 58(2), 291-299.
2. Lai-Cheong, J. E., & McGrath, J. A. (2013). Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*, 41(6), 317-320.
3. Y. Gilaberte, L. Prietto-Torres, I. Patushenko, A. Jarranz- Chapter 1 - Anatomy and Function of the Skin-Nanoscience in Dermatology-p 1-14 (2016)
4. Venus, M., Waterman, J. ve McNab, I. (2010). Basic physiology of the skin. *Surgery*, 28 (10), 469-472.
5. Kabashima K, Honda T, Ginhoux F, Egawa G. The immunological anatomy of the skin. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(1):19-30. doi:10.1038/s41577-018-0084-5
6. Byrd A, Belkaid Y, Segre J. The human skin microbiome-nature reviews microbiology-html nature.com 15 january 2018
7. Davenport, S. G. (2006). İntegumentary System. *Anatomy and Physiology Text and Laboratory Workbook*
8. Değim, T. (2007). Deriden Emilim ve Deriye Uygulanan Yarı Katı Preparatlar. İçinde Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., Doğanay, T., Takka, S. ve Tırnaksız, F. *Modern Farmasötik Teknoloji*. (2.nci baskı). Ankara: Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 337-364.
9. Kolarsick, P., Kolarsick, M. ve Carolyn, G. (2011). Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3(4), 203-213.
10. James, W.D., Berger, T.G., Elston, D.M. ve Neuhaus I.M. (2016). *Andrews' diseases of the skin: Clinical dermatology*. (12th ed.). China: Elsevier, Inc
11. <https://hakanbuzoglu.com/component/content/article/202-dermatoloji/kozmetik-danismanlik-unitesi/1545-dus-sonrasi-neden-nemlendirici-kullanmaliyiz>
12. Irmak, M.K. (2010). Multifunctional Merkel cells: their roles in electromagnetic reception, finger-print formation, Reiki, epigenetic inheritance and hair form. *Med Hypotheses*, (75)2, 162-168.

13. Raaby, L., Rosada, C., Langkilde, A., Lauridsen, K.L., Vinter, H., Ommen, P. ve ark. (2017). Langerhans cell markers CD1a and CD207 are the most rapidly responding genes in lesional psoriatic skin following adalimumab treatment. *Exp Dermatol*.
14. Jones, P.H. (1996). Isolation and characterization of human epidermal stem cells. *Clinical Science*, 91(2), 141–146.
15. Değim, T. (2007). Deriden Emilim ve Deriye Uygulanan Yarı Katı Preparatlar. İçinde Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., Doğanay, T., Takka, S. ve Tırnaksız, F. *Modern Farmasötik Teknoloji*. (2.nci baskı). Ankara: Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 337-364.
16. Dalo, F. (2017), Seboreik Dermatitli Hastalara Yönelik Kozmetik Nanoemülsiyonların Geliştirilmesi, Karakterizasyonu ve Etkinliğinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Kozmetoloji BD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.
17. Uchida, Y. ve Park, K. (2016). Stratum corneum. İçinde K. Kabashima (Ed.), *Immunology of the Skin: Basic and Clinical Sciences in Skin İmmune Responses*. Japan: Springer; 15-30.
18. Geerligs, M. (2010). Skin layer mechanics. Eindhoven: Technische Universiteit Eindhoven DOI: 10.6100/IR657803.
19. <https://tr.depositphotos.com/vector-images/stratum-corneum.html?qview=25100701>
20. Annisimov, Y.G., Jeeps, O.G., Dancik, Y. ve Roberts, M.S. (2013). Mathematical and pharmacokinetic modelling of epidermal and dermal transport process. *Adv. Drug Del.Rev*, 65(2), 169-190.
21. Avram, A.S., Avram, M.M. ve James, W.D. (2005). Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53(4), 671-683.
22. Feng, B., Zhang, T. ve Xu, H.(2013). Human adipose dynamics and metabolic health. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1281(1), 160-177.

23. Abolmaalia, S.S., Tamaddona A.M., Farvadia, F.S., Daneshamuza, S. ve Moghimib H. (2011). Pharmaceutical Nanoemulsions and Their Potential Topical and Transdermal Applications. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 139-150.
24. Haritha*, Syed Peer Basha, Koteswara Rao P, A Brief Introduction to Methods of Preparation, Applications and Characterization of Nanoemulsion Drug Delivery Systems, Chakravarthi Vedantham Nimra College of Pharmacy, Vijayawada, India
25. Sharma and Sarangdevot, IJARPB, 2012; Vol.2 (3):408-415 Shah P et al. Review Pharma, 2010; 1: Issue 1, January-June. Shah P, Bhalodia D, Shelat P, Nanoemulsion : A Pharmaceutical Review, Sys Rev Pharm, 2010, volume 1(1), 24-32.
26. Xin X., Zhang H., Xu G., Tan Y. Influence of CTAB and SDS on the properties of oil-in-water nano-emulsion with paraffin and span 20/Tween 20, 2013
27. Solans C., Izquierdo P., Nolla J., Garcia-Celma M.J., Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* Volume 10, Issues 3–4, October 2005, Pages 102-110.
28. Lovelyn, Ch. ve Attama, A.A. (2011). Current state of nanoemulsions in drug delivery. *J. Biomat. Nanobiotech.*, 2, 626-639.
29. Ganta, S., Talekar, M., Singh, A., Coleman, T.P. ve Amiji, M.M. (2014). Nanoemulsions in Translational Research—Opportunities and Challenges in Targeted Cancer Therapy. *AAPS PharmSciTech.*, 15(3), 694–708.
30. https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-an-O-W-nanoemulsion-top-and-W-O-nanoemulsion-bottom-Based-on-58-59_fig2_349596121
31. Chime, S. A., Kenechukwu, F. C., & Attama, A. A. (2014). *Nanoemulsions—advances in formulation, characterization and applications in drug delivery* (Vol. 3, pp. 77-126). chapter.
32. İlyasoğlu, H., & El, S. N. (2010). Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, yapıları ve kollodial salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. *Gıda*, 35(2), 143-150.

33. Velikov, K. P., & Pelan, E. (2008). Colloidal delivery systems for micronutrients and nutraceuticals. *Soft matter*, 4(10), 1964-1980.
34. Yuan, R., & Lin, Y. (2000). Traditional Chinese medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. *Pharmacology & therapeutics*, 86(2), 191-198.
35. Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., & Graves, S. M. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: condensed matter*, 18(41), R635.
36. Mishra, R.K., Soni, G.C. ve Mishra R.P. (2014). A review article on nanoemulsion. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(9), 258- 274
37. Hatziantoniou, S., Deli, G., Nikas, Y., Demetzos, C. ve Papaioannou, G.T. (2007). Scanning electron microscopy study on nanoemulsions and solid lipid nanoparticles containing high amounts of ceramides. *Microscopy in Nanobiotechnology*, 38(8), 819-823.
38. Lovelyn, Ch. ve Attama, A.A. (2011). Current state of nanoemulsions in drug delivery. *J. Biomat. Nanobiotech.*, 2, 626-639.
39. hao, L., Wei, Y., Huang, Y., He, B., Zhao, Y. ve Fu, J. (2013). Nanoemulsion improves the oral bioavailability of baicalin in rats: in vitro and in vivo evaluation. *Int J Nanomedicine*, 8, 3769-3779.
40. Augustin MA, Sanguansri P. 2006. Nanoscale materials development - a food industry perspective. *Trends Food Sci Technol*, 17, 547-556.
41. Perez-Bernal, A., Munoz-Perez, M. A., & Camacho, F. (2000). Management of facial hyperpigmentation. *American journal of clinical dermatology*, 1(5), 261-268
42. Miot, L. D. B., Miot, H. A., Silva, M. G. D., & Marques, M. E. A. (2009). Physiopathology of melasma. *Anais brasileiros de dermatologia*, 84, 623-635.
43. Plensdorf, S., & Martinez, J. (2009). Common pigmentation disorders. *American family physician*, 79(2), 109-116..

44. Stulberg, D. L., Clark, N., & Tovey, D. (2003). Common hyperpigmentation disorders in adults: Part I. Diagnostic approach, cafe au lait macules, diffuse hyperpigmentation, sun exposure, and phototoxic reactions. *American family physician*, 68(10), 1955-1960. Stulberg DL, Clark N, Tovey.
45. Larocca, C. A., Kundu, R. V., & Vashi, N. A. (2014). Physiologic pigmentation: Molecular mechanisms and clinical diversity. *Pigment International*, 1(2), 44.
46. Cardinali, G., Kovacs, D., & Picardo, M. (2012, December). Mechanisms underlying post-inflammatory hyperpigmentation: lessons from solar lentigo. In *Annales de dermatologie et de venerologie* (Vol. 139, pp. S148-S152). Elsevier Masson.
47. <https://www.hakanbuzoglu.com/hiperpigmentasyon-hastaliklari>
48. Park, K. C., Huh, S. Y., Choi, H. R., & Kim, D. S. (2010). Biology of melanogenesis and the search for hypopigmenting agents. *Dermatologica Sinica*, 28(2), 53-58.
49. Zhu, W., & Gao, J. (2008, April). The use of botanical extracts as topical skin-lightening agents for the improvement of skin pigmentation disorders. In *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (Vol. 13, No. 1, pp. 20-24). Elsevier.
50. Thornfeldt, C. (2005). Cosmeceuticals containing herbs: fact, fiction, and future. *Dermatologic Surgery*, 31, 873-881.
51. Leyden, J., & Wallo, W. (2011). The mechanism of action and clinical benefits of soy for the treatment of hyperpigmentation. *International journal of dermatology*, 50(4), 470-477.
52. Wallo, W., Nebus, J., & Leyden, J. J. (2007). Efficacy of a soy moisturizer in photoaging: a double-blind, vehicle-controlled, 12-week study. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 6(9), 917-922.
53. Krishnaiah, Y. S. R., Satyanarayana, V., & Karthikeyan, R. S. (2002). Penetration enhancing effect of menthol on the percutaneous flux of nicardipine hydrochloride through excised rat epidermis from hydroxypropyl cellulose gels. *Pharmaceutical development and technology*, 7(3), 305-315.

54. Yilmaz, E., & Borchert, H. H. (2006). Effect of lipid-containing, positively charged nanoemulsions on skin hydration, elasticity and erythema—an in vivo study. *International journal of pharmaceutics*, 307(2), 232-238.
55. Debnath, S. U. B. H. A. S. H. I. S., Satayanarayana, K. V., & Kumar, G. V. (2011). Nanoemulsion—a method to improve the solubility of lipophilic drugs. *Pharmanest*, 2(2-3), 72-83.
56. Sharma, S., & Sarangdevot, K. (2012). Nanoemulsions for cosmetics. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Sciences*, 1(4), 408-416.
57. Ribeiro, R. C. D. A., Barreto, S. M. A. G., Ostrosky, E. A., Rocha-Filho, P. A. D., Veríssimo, L. M., & Ferrari, M. (2015). Production and characterization of cosmetic nanoemulsions containing *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill extract as moisturizing agent. *Molecules*, 20(2), 2492-2509
58. Hosseini, S., Tarzi, B. G., Gharachorloo, M., Ghavami, M., & Bakhoda, H. (2015). Optimization on the stability of linseed oil-in-water nanoemulsions generated by ultrasonic emulsification using response surface methodology (RSM). *Orient. J. Chem*, 31(2), 1223-1230
59. Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2013). Cinnamon oil nanoemulsion formulation by ultrasonic emulsification: investigation of its bactericidal activity. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 13(1), 114-122
60. Kildaci, L., Budama-Kilinc, Y., Kecel-Gunduz, S., & Altuntas, E. (2021). Linseed Oil Nanoemulsions for Treatment of Atopic Dermatitis Disease: Formulation, Characterization, In Vitro and In Silico Evaluations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 102652.
61. <https://www.hakanbuzoglu.com/melanin-pigmenti>
62. <https://www.hakanbuzoglu.com/melazma-tedavisi>
63. <http://www.lamdalab.com/ultrasonik-homogenizator>
64. <https://www.tech-worm.com/deri-nedir-derinin-yapisi-fonksiyonlari-ve-katmanlari-nelerdir>

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

SOYA EKSTRESİ İÇEREN HİPERPİGMENTASYON PROBLEMİNE YÖNELİK NANOEMÜLSİYON FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

ORJİNALLİK RAPORU

%**4**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**4**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

%**1**

2

docplayer.biz.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

3

acikerisim.ybu.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

4

www.bti.secna.ru

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

www.docstoc.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

www.researchgate.net

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

earsiv.anadolu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

8

www.capsugel.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

acikbilim.yok.gov.tr

