

**TİTANYUM DİOKSİT İÇEREN
KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLERİN
HAZIRLANMASI ve *İN VİTRO*
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ecz. Ebru CENGİZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TİTANYUM DİOKSİT İÇEREN
KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI
ve *İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ecz. Ebru CENGİZ

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği uyarınca
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı,
Kozmetoloji Bilim Dalı'nda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN

Şubat-2003

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ebru CENGİZ'in TİTANYUM DİOKSİT İÇEREN KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI ve *İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ başlıklı Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Kozmetoloji Bilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi, 18.02.2003 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından, Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN

Üye : Doç. Dr. Özgen ÖZER

Üye : Yrd. Doç. Dr. Müzeyyen DEMİREL

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
05.02.2003 tarih ve 03/1 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. M. C. ÖZTÜRK

ÖZET

Güneşten koruyucu preparatların kullanımı güneşin zararlı etkilerine gereken önemin verilmesiyle zorunlu hale gelmiştir. Bu preparatların uzun süreli ve sık kullanımları nedeniyle etkinliklerinin ve güvenilirliklerinin tam olarak sağlanması gerekmektedir. Günümüzde güneş ışını filtre edici madde formülasyonları daha çok emülsiyon, losyon, yağlı çözelti, jel, sprej ve stik şeklindeki preparatlardır. Bu sistemler haricinde, katı lipit nanopartiküllerin (SLN) UV ışınlarını dağıtarak ve yansıtarak etki gösterdiklerinin saptanması ile güneş ışını filtre edici madde formülasyonları için yeni taşıyıcı sistem olarak değerlendirilmişler ve araştırmalar SLN'ler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Yapılan çalışmalar, güneş ışını filtre edici maddelerin SLN'ler şeklindeki formülasyonlarında UV ışınlarına karşı sinerjik koruma etkisi saptamıştır. SLN'ler ile, ciddi yan etkiler oluşturabilen güneş ışını filtre edici maddelerin güneşten koruma faktörü değiştirilmeden konsantrasyonlarının azaltılması ile, daha etkili ve daha güvenli formülasyonların hazırlanması mümkün olabilmektedir.

Çalışmamızda, klasik ve yeni etkin madde yükleme yöntemleri kullanılarak hazırlanan titanyum dioksit yüklenmiş SLN formülasyonlarının kararlılıkları, fizikokimyasal özellikleri değerlendirilerek araştırılmıştır. Formülasyonların UV'den koruyucu özellikleri *in vitro* *TransporeTM* ve *Sun To SeeTM* Test yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Veriler, klasik SLN formülasyonları, yeni SLN ve emülsiyon formülasyonları ile karşılaştırılarak tartışılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, yeni etkin madde yükleme yöntemleri ile hazırlanan SLN formülasyonlarının UV'den koruma özelliklerinin, klasik SLN formülasyonlarına üstünlüğünü, bununla beraber, SLN'lerin emülsiyon şekline olan üstünlüğünü açıkça göstermiştir. Güneş ışını filtre edici madde olan titanyum dioksitin, SLN halinde formüle edilmesi, kararlı ve güvenilir, güneş ışınlarından koruyucu özelliği yüksek formülasyonlar oluşturulmasına imkan vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Katı Lipit Nanopartiküller (SLN), Titanyum Dioksit, *TransporeTM* Test, *Sun To SeeTM* Test

ABSTRACT

Use of sunscreening preparations became absolutely necessary after the attention had been given to the harmful effects of the sun rays. Efficacy and safety of the products must be maintained because of their frequent and long term usage. Emulsions, lotions, oils, gels, sprays and sticks are the most common formulation types of sunscreens. Besides those systems, solid lipid nanoparticles (SLN), which were determined to scatter and reflect UV rays, were evaluated as new delivery systems for sunscreening materials and researches have intensified on SLNs.

Many research results showed synergistic UV protection effect after incorporation of the sunscreening materials into SLN formulations. With SLNs, there is a possibility of preparing more efficacious and safer formulations by decreasing the concentrations of the sunscreening agents, which may lead to serious side effects, without changing the sun protection factor.

In this study, titanium dioxide incorporated SLN formulations prepared using both classical and novel incorporation methods were investigated by evaluating their stabilities and physicochemical characteristics. UV protection abilities of formulations were investigated using *in vitro* *TransoreTM* and *Sun To SeeTM* Test methods. Results have been discussed by comparing the classical SLN formulation with the novel SLN and the emulsion formulations. The results showed the superiority of the novel SLN formulations compared to the classical SLN; superiority of the SLN formulations compared to the emulsion formulations. Incorporation of titanium dioxide as a sunscreen agent into the SLN formulations gives opportunity to produce stable and safe formulations with high UV protection ability.

Key Words : Solid Lipid Nanoparticles (SLN), Titanium Dioxide, *TransoreTM* Test, *Sun To SeeTM* Test

TEŞEKKÜR

Bana tüm bu çalışmam boyunca her türlü olanağı sağlayan, bilgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen, sonsuz anlayış ve iyi niyet gösteren, danışman hocam Prof. Dr. Yasemin YAZAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında, dört ay süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, Berlin Freie Üniversitesi'nden Prof. Dr. Rainer H. MÜLLER'e ve Dr. Sylvia WISSING'e yardımları ve gösterdikleri yakınlıktan ötürü sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımı yurt dışında gerçekleştirmemde destek ve yardımlarını esirgemeyen Rektörümüz Prof. Dr. Engin ATAÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Titanyum dioksit miktar tayin analizlerinin gerçekleştirilmesine olanak sağlayan, Eskişehir Hava İkmal Üretim Komutanı Tuğgeneral Bora ÇAĞLAR'a ve Kimyager Şule Akbacak'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgilerini ve yardımlarını gördüğüm bölüm arkadaşlarım, Araş. Gör. Uzm. Ecz. Gülay BÜYÜKKÖROĞLU'na, Araş. Gör. Uzm. Ecz. Bahar Selen KALAVA'ya, Araş. Gör. Ecz. E. Dilek HÜNER'e, Araş. Gör. Ecz. Evrim AKYIL'a, Araş. Gör. Ecz. Ş. Berker SEVİN'e, Araş. Gör. Ecz. Murat S. BERKMAN'a ve Kimyager Sefa AVCIER'e çok teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyen, yüreklendiren ve bana maddi manevi her türlü desteği sağlayan fedakar aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ebru CENGİZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	4
2.1. GÜNEŞ IŞINI FİLTRE EDİCİ MADDELER	4
2.1.1. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin Biyolojik Etkileri	4
2.1.2. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin Sınıflandırılması	6
2.1.2.1. Kimyasal Olarak Güneş Işını Filtre Edici Maddeler	6
2.1.2.1.1. Para-amino benzoik asit ve Türevleri	7
2.1.2.1.2. Salisilatlar	8
2.1.2.1.3. Sinnamatlar	8
2.1.2.1.4. Benzofenonlar	9
2.1.2.1.5. Antranilatlar	9
2.1.2.1.6. Dibenzoilmetanlar	9
2.1.2.1.7. Kafur Türevleri	10
2.1.2.1.8. Misel Yapılı Kimyasal Maddeler	10
2.1.2.2. Fiziksel Olarak Güneş Işını Filtre Edici Maddeler	10
2.1.2.2.1. Çinko Oksit	10
2.1.2.2.2. Titanyum Dioksit	11
2.1.3. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin Formülasyonu	11
2.1.4. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin <i>İn Vitro</i> ve <i>İn Vivo</i> Değerlendirilmesi	15
2.2. KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLER	18
2.2.1. Tanım	18
2.2.2. Katı Lipit Nanopartikülleri Hazırlama Yöntemleri	21

2.2.2.1.	Sıcak Homojenizasyon Yöntemi	22
2.2.2.2.	Soğuk Homojenizasyon Yöntemi	23
2.2.3.	Katı Lipit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	25
2.2.3.1.	Parçacık Şekli ve Boyutu	25
2.2.3.2.	Elektriksel İletkenlik	27
2.2.3.3.	Etkin Madde Yüklenmesi	27
2.2.3.4.	Tekrar Kristallenme Özellikleri	28
2.2.4.	Katı Lipit Nanopartiküllerin Sterilizasyonu	29
2.2.5.	Katı Lipit Nanopartiküllerin Kararlılıkları	30
2.2.6.	Katı Lipit Nanopartiküllerin Toksisitesi	32
2.2.7.	Katı Lipit Nanopartiküllerin Topikal Kullanımı	33
2.3.	TİTANYUM DİOKSİT	35
2.3.1.	Kimyasal Yapısı ve Fiziksel Özellikleri	35
2.3.2.	Güneş Işını Filtre Edici Özelliği	35
2.3.3.	Formülasyonu	37
2.3.4.	Tanınması ve Miktar Tayini	38
2.3.4.1.	Tanınması	38
2.3.4.2.	Miktar Tayini	38
2.3.5.	Diğer Farmakolojik ve Kimyasal Özellikleri	39
3.	GEREÇ ve YÖNTEMLER	40
3.1.	GEREÇLER	40
3.1.1.	Kullanılan Maddeler	40
3.1.2.	Kullanılan Cihazlar	40
3.2.	YÖNTEMLER	41
3.2.1.	Çalışılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalar	41
3.2.1.1.	Titanyum Dioksit ile Yapılan Çalışmalar	41
3.2.1.1.1.	Parçacık Boyutu Analizi	41
3.2.1.1.1.1.	Foton Korelasyon Spektroskopisi	41
3.2.1.1.1.2.	Lazer Kırınım Cihazı	41
3.2.1.1.2.	Parçacık Şekli Analizi	41
3.2.1.1.2.1.	Işık Mikroskobu	41
3.2.1.2.	Dynasan® 116 ile Yapılan Çalışmalar	41

3.2.1.2.1.	Erime Derecesi Tayini	41
3.2.1.2.1.1.	Erime Derecesi Tayin Cihazı	41
3.2.1.2.1.2.	Termal Analiz	41
3.2.2.	Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan Çalışmalar	42
3.2.2.1.	Formülasyonları	42
3.2.2.2.	Formülasyonların Hazırlanışları	42
3.2.2.2.1.	Yöntem A	42
3.2.2.2.1.1.	Yöntem A ile Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanışı	42
3.2.2.2.1.2.	Yöntem A ile Klasik Emülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanışı	43
3.2.2.2.2.	Yöntem B	44
3.2.2.2.3.	Yöntem C	44
3.2.3.	Katı Lipit Nanopartiküllerin Özelliklerine Ait Çalışmalar	45
3.2.3.1.	Parçacık Boyutu Analizi	45
3.2.3.1.1.	Foton Korelasyon Spektroskopi	45
3.2.3.1.2.	Lazer Kırınım Cihazı	45
3.2.3.2.	Parçacık Şekli Analizi	45
3.2.3.2.1.	Işık Mikroskobu	45
3.2.3.3.	Elektriksel İletkenlik	46
3.2.3.4.	pH Analizi	46
3.2.3.5.	Termal Analiz	46
3.2.3.6.	Miktar Tayini	46
3.2.4.	Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan <i>İn Vitro</i> Çalışmalar	46
3.2.4.1.	<i>TransporeTM</i> Testi	47
3.2.4.2.	<i>Sun To SeeTM</i> Testi	47
4.	SONUÇ ve TARTIŞMA	48
4.1.	SONUÇLAR	48
4.1.1.	Çalışılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalara Ait Sonuçlar	48
4.1.1.1.	Titanyum Dioksit ile Yapılan Çalışmalara Ait Sonuçlar	48
4.1.1.1.1.	Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları	48
4.1.1.1.1.1.	Foton Korelasyon Spektroskopi	48

4.1.1.1.1.2.	Lazer Kırınım Cihazı	48
4.1.1.1.2.	Parçacık Şekli Analiz Sonuçları	48
4.1.1.1.2.1.	Işık Mikroskobu	48
4.1.1.2.	Dynasan® 116 ile Yapılan Çalışmalara Ait Sonuçlar	49
4.1.1.2.1.	Erime Derecesi Tayini	49
4.1.1.2.1.1.	Erime Derecesi Tayin Cihazı	49
4.1.1.2.1.2	Termal Analiz	49
4.1.1.3.	Katı Lipit Nanopartiküllerin Özelliklerine Ait Çalışma Sonuçları	49
4.1.1.3.1.	Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları	49
4.1.1.3.1.1.	Foton Korelasyon Spektroskopisi	49
4.1.1.3.1.2.	Lazer Kırınım Cihazı	49
4.1.1.3.2.	Parçacık Şekli Analiz Sonuçları	49
4.1.1.3.2.1.	Işık Mikroskobu	49
4.1.1.3.3.	Elektriksel İletkenlik Analiz Sonuçları	49
4.1.1.3.4.	pH Analiz Sonuçları	49
4.1.1.3.5.	Termal Analiz Sonuçları	61
4.1.1.3.6.	Miktar Tayini Analiz Sonuçları	61
4.1.1.4.	Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan <i>In vitro</i> Çalışma Sonuçları	61
4.1.1.4.1.	<i>Transpore™</i> Test	61
4.1.1.4.2.	<i>Sun To See™</i> Test	61
4.2.	TARTIŞMA	67
4.2.1.	Çalışılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalara Ait Değerlendirmeler	67
4.2.1.1.	Titanyum Dioksit	67
4.2.1.2.	Dynasan® 116	68
4.2.2.	Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan Çalışmalara Ait Değerlendirmeler	69
4.2.2.1.	Formülasyonları	69
4.2.2.2.	Özellikleri	73
4.2.2.2.1.	Parçacık Boyutu	73

4.2.2.2.2.	Parçacık Şekli	74
4.2.2.2.3.	Elektriksel İletkenlik	74
4.2.2.2.4.	pH Analizi	75
4.2.2.2.5.	Termal Analiz	75
4.2.2.2.6	Miktar Tayini	76
4.2.2.2.7.	Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan <i>İn vitro</i>	77
	Çalışmalara Ait Değerlendirmeler	
4.2.2.2.7.1.	<i>TransporeTM</i> Test	78
4.2.2.2.7.2.	<i>Sun To SeeTM</i> Test	79
5. KAYNAKLAR		81
ÖZGEÇMİŞ		94

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
2.1.4. <i>In Vitro</i> Ortamda, Güneş Işını Filtre Edici Madde Formülasyonlarının Etkinliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan <i>Transpore™</i> Test Yöntemi'nin Şematik Olarak Gösterimi	16
2.2.2. Piston Aralıklı Teknik ile Üretim Yapan Micron LAB 40 Aletinin Şematik Gösterimi	21
2.2.2.1. Sıcak Homojenizasyon Yöntemi ile Katı Lipit Nanopartikül Hazırlanması	23
2.2.2.2. Hidrofilik Etkin Maddelerin Erimiş Lipit İçersinde Çözündürülmesi Yöntemi	25
2.2.3.3. Katı Lipit Nanopartiküllere Yüklenmiş Etkin Maddelerin Yerleşim Şekilleri	28
4.1.1.1.2.1. Işık Mikroskopunda 63x10 ve 40x10 Mercekleri Kullanıldığında Titanyum Dioksit Süspansiyonunun Görünümleri.	48
4.1.1.3.1.1. Homojenizasyon Sayısının ve Farklı Sıcaklıkların Parçacık Boyutu ve Polidisperslik İndisleri Üzerine Etkisi	50
4.1.1.3.1.1. Farklı Sıcaklıkların 1, 2, 3, 4 Formülasyonlarının Parçacık Boyutları ve Polidisperslik İndisleri Üzerindeki Etkisi	51
4.1.1.3.1.1. Farklı Sıcaklıkların 5, 6, 7, 8 Formülasyonlarının Parçacık Boyutları ve Polidisperslik İndisleri Üzerindeki Etkisi	52
4.1.1.3.1.1. Farklı Sıcaklıkların, X1, X2, XC, XD Formülasyonlarının Parçacık Boyutları ve Polidisperslik İndisleri Üzerindeki Etkisi	53
4.1.1.3.1.1. Farklı Sıcaklıkların Y1, Y2, YC, YD Formülasyonlarının Parçacık Boyutları ve Polidisperslik İndisleri Üzerindeki Etkisi	54

4.1.1.3.2.1.	B, C, D Formülasyonlarının Işık Mikroskobu Altında Çekilen Resimleri	56
4.1.1.3.2.1.	1 ve 6 Formülasyonlarının Işık Mikroskobu Altında Çekilen Resimleri	57
4.1.1.3.2.1.	7 ve 8 Formülasyonlarının Işık Mikroskobu Altında Çekilen Resimleri	58
4.1.1.4.1.	Formülasyonların <i>TransporeTM</i> Test Analiz Verileri	65
4.1.1.4.2.	Formülasyonların <i>Sun To SeeTM</i> Test Analiz Verileri	66

ÇİZELGELER DİZİNİ

		<u>Sayfa</u>
2.1.2.	FDA Category I Listesindeki Maddelerin En Düşük, En Yüksek Kullanım Konsantrasyonları ve Etkili Oldukları UV Aralığı	7
3.2.2.1.	Sıcak Homojenizasyon Tekniğinde Kullanılan Parametreler	42
3.2.2.2.1.1.	Yöntem A ile Hazırlanan Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonları	43
3.2.2.2.1.2.	Yöntem A ile Hazırlanan Klasik Emülsiyon Formülasyonları	43
3.2.2.2.2.	Yöntem B ile Hazırlanan Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonları	44
3.2.2.2.3.	Yöntem C ile Hazırlanan Hibrit Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonları	45
4.1.1.1.1.2.	Titanyum Dioksit Süspansiyonunun Lazer Kırınım Cihazı Analiz Verileri	48
4.1.1.3.1.2.	Formülasyonların Lazer Kırınım Cihazı ile Saptanan Ortalama Parçacık Boyutları Dağılımının Sıcaklık ve Günlere Göre Dağılımı	55
4.1.1.3.2.	Formülasyonların Elektriksel İletkenliklerinin Gün ve Sıcaklıklara Göre Dağılımları	59
4.1.1.3.3.	Formülasyonların pH Değerlerinin Sıcaklık ve Günlere Göre Değişimi	60
4.1.1.3.5.	20°C’de Saklanan Formülasyonların Termal Analiz Verileri	62
4.1.1.3.5.	40°C’de Saklanan Formülasyonların Termal Analiz Verileri	63
4.1.1.3.5.	4°C’de Saklanan Formülasyonların Termal Analiz Verileri	64

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
C	: Işık Hızı
cb	: İletim Bandı
CMC	: Karboksimetil Selüloz
COLIPA	: The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association (Avrupa Kozmetik ve Parfüm Kuruluşu)
C1	: 1 kez homojenize edilmiş örnek
C3	: 3 kez homojenize edilmiş örnek
d	: Gün
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
E	: Enerji
EEC	: European Economic Community (Avrupa Ekonomik Topluluğu)
EM	: Elektron Mikroskobu
EPR	: Elektron Paramanyetik Rezonans
FDA	: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Kuruluşu)
FFF	: Field Flow Fractionation
GRAS	: Genellikle Güvenilir Olduğu Kabul Edilen
h	: Planck Sabiti
H-SLN	: Hibrit Katı Lipit Nanopartikül
H-SLN+M	: Myritol® 331 içeren Hibrit Katı Lipit Nanopartikül
IR	: Infrared (Kızılötesi)
LD	: Lazer Kırınım Cihazı
LD₅₀	: Letal Doz
LM	: Işık Mikroskobu
M	: Myritol® 331
PABA	: Para-amino benzoik asit
PB	: Parçacık Boyutu
PCS	: Foton Korelasyon Spektroskopisi
PEG	: Polietilen Glikol
Plas-Emul	: Plasebo Emülsiyon

Plas-Emul+M:	Myritol İçeren Plasebo Emülsiyon
Plas-SLN	: Plasebo Katı Lipit Nanopartikül
Plas-SLN+M	: Myritol İçeren Plasebo Katı Lipit Nanopartikül
PI	: Polidisperslik İndisi
PIDS	: Polarization Intensity Differential Scattering (Polarizasyon Şiddetli Diferansiyel Kırınım)
SLN	: Solid Lipid Nanoparticles (Katı Lipit Nanopartikül)
SPF	: Sun Protection Factor (Güneşten Koruyucu Faktör)
T-SLN	: Klasik Katı Lipit Nanopartikül
T-SLN+M	: Myritol İçeren Klasik Katı Lipit Nanopartikül
TA	: Tokoferol Asetat
TEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
UT	: Ultraturraks ile Hazırlanan Formülasyonlar
UV	: Ultraviyole
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
UVC	: Ultraviyole C
UVR	: Ultraviyole Radyasyonu
vb	: Valans Bant
λ	: Dalga Boyu
A-UT-20 °C	: A : Formülasyon Adı UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış 20 °C : Saklama Sıcaklığı
A-C1-20 °C	: A : Formülasyon Adı C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş 20 °C : Saklama Sıcaklığı
A-C3-20 °C	: A : Formülasyon Adı C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş 20 °C : Saklama Sıcaklığı
A-UT-40 °C	: A : Formülasyon Adı UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış 40 °C : Saklama Sıcaklığı

- A-C1-40 °C** : A : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- A-C3-40 °C** : A : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- A-UT-4 °C** : A : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- A-C1-4 °C** : A : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- A-C3-4 °C** : A : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-UT-20 °C** : B : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-C1-20 °C** : B : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-C3-20 °C** : B : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-UT-40 °C** : B : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-C1-40 °C** : B : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

- B-C3-40 °C** : B : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-UT-4 °C** : B : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturaks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-C1-4 °C** : B : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- B-C3-4 °C** : B : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-UT-20 °C** : C : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturaks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-C1-20 °C** : C : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-C3-20 °C** : C : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-UT-40 °C** : C : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturaks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-C1-40 °C** : C : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-C3-40 °C** : C : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

- C-UT-4 °C** : C : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-C1-4 °C** : C : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- C-C3-4 °C** : C : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı
- D-UT-20 °C** : D : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- D-C1-20 °C** : D : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- D-C3-20 °C** : D : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı
- D-UT-40 °C** : D : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- D-C1-40 °C** : D : Formülasyon Adı
C1 : 1 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- D-C3-40 °C** : D : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı
- D-UT-4 °C** : D : Formülasyon Adı
UT : Sadece Ultraturraks ile Karıştırılarak Hazırlanmış
4 °C : Saklama Sıcaklığı

D-C1-4 °C	: D	: Formülasyon Adı
	C1	: 1 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı
D-C3-4 °C	: D	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı
1-C3-20 °C	: 1	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	20 °C	: Saklama Sıcaklığı
1-C3-40 °C	: 1	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	40 °C	: Saklama Sıcaklığı
1-C3-4 °C	: 1	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı
2-C3-20 °C	: 2	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	20 °C	: Saklama Sıcaklığı
2-C3-40 °C	: 2	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	40 °C	: Saklama Sıcaklığı
2-C3-4 °C	: 2	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı
3-C3-20 °C	: 3	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	20 °C	: Saklama Sıcaklığı
3-C3-40 °C	: 3	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	40 °C	: Saklama Sıcaklığı

3-C3-4 °C	: 3	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı
4-C3-20 °C	: 4	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	20 °C	: Saklama Sıcaklığı
4-C3-40 °C	: 4	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	40 °C	: Saklama Sıcaklığı
4-C3-4 °C	: 4	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı
5-C3-20 °C	: 5	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	20 °C	: Saklama Sıcaklığı
5-C3-40 °C	: 5	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	40 °C	: Saklama Sıcaklığı
5-C3-4 °C	: 5	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı
6-C3-20 °C	: 6	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	20 °C	: Saklama Sıcaklığı
6-C3-40 °C	: 6	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	40 °C	: Saklama Sıcaklığı
6-C3-4 °C	: 6	: Formülasyon Adı
	C3	: 3 kez Homojenize Edilmiş
	4 °C	: Saklama Sıcaklığı

7-C3-20 °C : 7 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

7-C3-40 °C : 7 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

7-C3-4 °C : 7 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

8-C3-20 °C : 8 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

8-C3-40 °C : 8 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

8-C3-4 °C : 8 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

X1-C3-20 °C : X1 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

X1-C3-40 °C : X1 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

X1-C3-4 °C : X1 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

X2-C3-20 °C : X2 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

X2-C3-40 °C : X2 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

X2-C3-4 °C : X2 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

XC-C3-20 °C : XC : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

XC-C3-40 °C : XC : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

XC-C3-4 °C : XC : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

XD-C3-20 °C : XD : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

XD-C3-40 °C : XD : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

XD-C3-4 °C : XD : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

Y1-C3-20 °C : Y1 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

Y1-C3-40 °C : Y1 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

Y1-C3-4 °C : Y1 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

Y2-C3-20 °C : Y2 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

Y2-C3-40 °C : Y2 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

Y2-C3-4 °C : Y2 : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

YC-C3-20 °C : YC : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

YC-C3-40 °C : YC : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

YC-C3-4 °C : YC : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

YD-C3-20 °C : YD : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
20 °C : Saklama Sıcaklığı

YD-C3-40 °C : YD : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
40 °C : Saklama Sıcaklığı

YD-C3-4 °C : YD : Formülasyon Adı
C3 : 3 kez Homojenize Edilmiş
4 °C : Saklama Sıcaklığı

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ozon tabakasının her on yılda % 3 azalması sonucunda, genetik ve immünoşüpresif etkiler nedeniyle oluşan kanser (malin melanoma) vakalarının sayısının her beş yılda iki kat arttığı saptanmıştır (1, 2). Ozon tabakasının bu hızla incelmeyi sürdürmesi ve güneşten koruyucu preparatların uzun süreli ve sık kullanımları nedeniyle, etkinliklerinin ve güvenilirliklerinin tam olarak sağlanması gerekmektedir (1, 3). Güneş ışını filtre edici maddelerin klasik formülasyonlar şeklinde hazırlandıklarında, konsantrasyonlarına ve kimyasal yapılarına bağlı olarak, UV radyasyonunun (UVR) cilde olan zararlı etkilerini azalttıkları ancak tam olarak engelleyemedikleri ortaya çıkmıştır (2). Ayrıca, güneşten koruyucu formülasyonların uzun süreli ve etkin bir koruma için cilde defalarca uygulanmaları ve sık kullanımları ile güneş ışını filtre edici maddelerin cilt yüzeyinde kalarak etki göstermesi beklenmektedir (2, 4-6). Ancak, bazı güneş ışını filtre edici maddeler özellikle krem veya losyonlarda yağlı fazın yardımıyla cilde nüfuz etmektedirler (1, 2). Bunun sonucunda, etkinliklerinde azalma ve ciltte istenmeyen yan etkiler oluşmaktadır (2, 4). Bu istenmeyen etkileri ortadan kaldırmak amacıyla, araştırmacılar, güneş ışını filtre edici madde konsantrasyonu düşük, ancak koruma oranı yüksek yeni formülasyon şekilleri arayışına girmişlerdir (3).

SLN'ler yakın bir zamanda farmasötik ve kozmetik amaçlı etkin maddeler için topikal taşıyıcı sistem olarak tanımlanmıştır (1, 7). SLN'ler küçük parçacık boyutları sayesinde cilt yüzeyinde ince tabaka oluşturarak cilt yüzeyindeki nem miktarının artmasını sağlamaktadır (7). Katı lipit yapıları sayesinde kimyasal kararlılık problemi olan maddelerin formülasyonuna olanak sağlarlar. Bu durum, kozmetik endüstride kullanılan hidrofilik veya hidrofobik birçok değerli fakat kararsız maddenin formüle edilebilmesi anlamına gelmektedir (8-10).

Etkin madde yüklenmemiş SLN'lerin beyaz renklerinden dolayı pigment etkisi yarattıkları bir çok çalışma ile saptanmıştır (5, 9). Bu nedenle, kozmetik ürünlerin görünümünün değiştirilmesinde de kullanılabilirler (9). Bunun yanı sıra, SLN'lerin kristal yapıları nedeniyle fiziksel güneş ışını filtre edici maddeler (örn. titanyum dioksit) gibi güneş ışınlarını yansıtıcı ve dağıtıcı etkilerinin saptanması ile, bu taşıyıcı sistemlerin güneş preparatlarının

formülasyonuna girmeleri gündeme gelmiştir (1-3, 11-13). Yapılan çalışmalarda, SLN'ler halinde formüle edilen güneş ışını filtre edici preparatların UV ışınlarına karşı sinerjik koruma etkisi sağladıkları saptanmıştır (1, 2, 5). SLN'ler, ayrıca, yüksek konsantrasyonda iritan olan maddeler ve moleküler güneş ışını filtre edici maddeler için kontrollü salım sağlayan etkin taşıyıcı sistem olarak da birçok üstünlük sunmaktadır (2, 3, 12).

Güneşten koruyucu preparatlarda çoğunlukla tercih edilen kimyasal olarak güneş ışını filtre edici maddelerin yan etkileri nedeniyle, formülasyonlarda fiziksel olarak güneş ışını filtre edici maddelerin kullanımı gündeme gelmektedir. Titanyum dioksit, bilinen en iyi UV filtresi olarak tanımlanmaktadır (14). Yüksek güneşten koruma faktörü istenen formülasyonlar için çok uygun bir madde olarak kabul edilmektedir (15). İnorganik ve inert yapısı sayesinde formülasyonlarındaki herhangi bir madde ile reaksiyona girmemektedir. Bu nedenle de alerjik reaksiyonların oluşması söz konusu olmamaktadır. Yüksek kararlılığı ile, diğer maddeler gibi ışık etkisi ile bozunmaması, güneşten koruyucu formülasyonlarda kullanımını bir hayli arttırmıştır (16).

Çalışmamızda yukarıda anlatılan özelliklerinden dolayı güneş ışını filtre edici etkin madde olarak titanyum dioksit tercih edilmiştir. Maddenin SLN şeklinde formüle edilmesi ile, kararlı, yüksek etkinliğe sahip, yan etkisi düşük sistemlerin oluşturulması hedeflenmektedir. SLN'lerin katı lipit yapılarının sağladığı üstünlük ile etkin maddenin konsantrasyonunun da azaltılabileceği formülasyon çalışmaları gerçekleştirilecektir.

Formülasyonların güneş ışını filtre edici özellikleri, etkinliklerinin *in vitro* analiz yöntemleri olan *TransporeTM* ve *Sun To SeeTM* Test'lerinin kullanılması ile saptanacaktır. Çalışmamızda, farklı yöntemler ile hazırlanacak aynı SLN formülasyonlarının etkinlikleri, bahsi geçen *in vitro* yöntemler yardımıyla birbirleri ile karşılaştırılacaktır. Sonuçların, tarafımızdan uygulanacak etkin madde yükleme şeklinin, klasik SLN formülasyonlarına olan üstünlüğünü ortaya koyabileceği düşünülmektedir. Bununla beraber, klasik güneş ışını filtre edici madde formülasyonu olan emülsiyonlar ile SLN'ler, UV ışınlarını engelleme özellikleri açısından aynı *in vitro* yöntemler kullanılarak karşılaştırılacaktır. Analizler sonucunda, SLN'lerin emülsiyonlara olan üstünlüklerinin açıkça

görölmesi amaçlanmaktadır. Katı lipid yapının % 50 azaltılması ile elde edilecek hibrit SLN formölasyonların da güneş ışınlarından koruyucu etkileri, klasik SLN ve emölسیون formölasyonları ile karşılaştırılacaktır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. GÜNEŞ IŞINI FİLTRE EDİCİ MADDELER

2.1.1. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin Biyolojik Etkileri

Çok fazla literatüre sahip olunmasa da, eski çağlardan beri insanların güneş ışınlarından korunmak için çeşitli yöntemler kullandıkları bilinmektedir. Yaklaşık 5000 yıl önce dokumanın keşfi ile, eski Mısır, Hindistan, Çin gibi ülkelerde pamuk, yün ve ketenden yapılan sık dokunmuş kumaşlardan elbiseler, şapkalar ve geniş şemsiyeler sayesinde insanlar o zamanlar güzellik ve toplumsal statü sembolü olan beyaz tene sahip olmak için vücutlarını güneşten korumuşlardır (17).

1920 yılında Fransız moda tasarımcısı Coco Chanel'in tatilden bronz bir ten ile dönmesiyle bronz ten aniden moda dünyasında büyük kabul görerek "Chanel Görünümü (Chanel Look)" adını almıştır. Bu tarihten itibaren, bronz ten prestijin, başarının ve güzelliğin sembolü olarak kabul edilmiştir (18, 19).

Ancak, güneş ışınlarının zararlı etkilerinin farkına varılmasıyla bu ışınlardan korunmak için formülasyon çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Güneş ışınlarını filtre edici maddeler ile çalışmaların, 1820 yılında, İngiliz bir fizikçi tarafından güneş ışınlarının sıcaklık haricinde başka etkilerinin de olduğunun farkına varmasıyla başladığı kabul edilmiş, bu tarihten itibaren birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. 1935 yılında, Eder ve Freund adlı araştırmacılar, güneş ışınlarını filtre edici maddelerin formülasyonlarının geliştirilmesi hakkında, hala kullanılan bilgiler içeren, çok kapsamlı bir çalışma yayınlamışlardır (17).

1935 yılında Eugene Schueller adlı araştırmacı, yağlı bir taşıyıcı sistemde benzil salisilat maddesini formüle ederek büyük bir başarı sağlamıştır. Bu çalışmanın hemen ardından, Farben daha sonra "Delial" adı ile kullanılmış olan benzilimidazol sülfonik asit maddesinin patentini almıştır (17).

Modern güneş ışını filtre edici maddelerin formülasyon çalışmaları arasında en ilginç, 1942 yılında II. Dünya Savaşı sırasında Amerikan askerlerini çöl şartlarına karşı korumak için on iki farklı maddenin karışımının denendiği çok gizli bir çalışmadır (17-19). Bu çalışma, Albay Otis Benson Jr.'ın, General Electric Lighting Laboratuvarları ile Western Reserve Tıp Fakültesinden Coll ve Sollman adlı araştırmacılardan bu konuda bir çalışma istemesiyle yapılmıştır (17).

Bu çalışma ile başlayan güneşten koruyucu preparatlar üzerindeki çalışmalar son yirmi yılda oldukça artmıştır. Birçok ışıdan oluşan güneş ışığından korunmak için her ışına karşı özel filtre maddesi içeren karmaşık formülasyonlar oluşturularak tam bir korunma sağlanmaya çalışılmaktadır.

Ciltte zararlı etkiler oluşturan güneş ışınları “Ultraviyole (UV)” ışınları olarak adlandırılırlar (20). Üç tip UV ışınından bahsetmek mümkündür: UVA, UVB, UVC (21).

UVA, 320-400 nm (2, 22-24) dalga boyundaki ışınlar verilen genel addır. Bu ışınlar epidermisin renginin koyulaşmasında rol oynarlar (2). Ancak, eritem ve güneş yanıklarına da neden olabilirler. Cilde fazla nüfuz ettikleri için ciltte esneklik kaybı sonucu sarkma ve kırışıklık gibi erken yaşlanma belirtilerini meydana getiren ışınlardır (2, 19-22). Ayrıca, UVA ışınları hücre membranı lipiti olan keratinositlere etki eden oksijeni ortaya çıkararak, enzim inaktivasyonuna, protein denatürasyonuna, hücre organelleri ve hücre membranı hasarına, dolayısıyla DNA hasarına yol açabilir (19). İmmün sistem üzerinde de zararlı etkilere neden olarak kanser oluşumunu başlatabilmektedirler (2, 19, 20). UVA ışınları, tetrasiklin, fenotiyazin ve trisiklik antidepresan yapılı ilaçlar kullanıldığında ışığa duyarlı reaksiyonlara neden olmaktadır (21).

280 veya 290-320 nm arasındaki UVB ışınları, düşük dalga boyları, dolayısıyla yüksek enerjileri ile ciltte eritem başta olmak üzere yanıklar ve kanser oluşumuna kadar giden ciddi olaylara neden olurlar (2, 20-22, 25). Ayrıca, UVB ışınları, temas ile aşırı duyarlılık, gecikmiş tip aşırı duyarlılık ve immün sistem üzerinde olumsuz etkiler meydana getirmektedir (26).

UVA ışınları ozon tabakası tarafından emilmezken, UVB ışınlarının bir kısmı emilir. Yeryüzüne ulaşan UVB ışınları UVA ışınlarının % 1'i kadar olmasına rağmen, taşıdığı yüksek foton enerjisi ile aynı miktarda minimal eritemal doz oluşturmak için gerekli miktarı UVA ışınlarının sadece % 0,1'i kadardır (21). Bu nedenle, güneşten koruyucu preparatlar daha çok UVB'yi engelleyen formülasyonlara sahiptir (19, 21, 22).

200-290 nm dalga boyu aralığındaki UVC ışınları ozon tabakası tarafından tamamen emildiği için yeryüzüne ulaşamaz. Bu nedenle, güneşten koruyucu

preparatların formülasyonlarında UVA ve UVB ışınlarının cilt üzerindeki etkileri göz önüne alınmaktadır (21).

Ozon tabakasının her on yılda % 3 azalması sonucunda genetik ve immünoşüpresif etkiler nedeniyle oluşan kanser (malin melanoma) vakalarının sayısının her beş yılda iki kat arttığı saptanmıştır (1, 2). Ozon tabakasının bu hızla incelmeye devam etmesi, güneşten koruyucu preparatların hazırlanmasında UVC ışınlarının da göz önüne alınarak formülasyonların geliştirilmesini gerektirebilecek kadar ciddi durumlar yaratabilecektir (21).

UVC ışınları germisit etkilerinden dolayı yapay kaynaklı olarak kullanılmaktadır. Günümüzde, UVC ışınlarından korunma sadece bronzlaşmak için UVC filtresi olmayan yapay kaynaklar kullanıldığında gerekli olmaktadır (21).

Kanser (nonmelanomal cilt kanseri, bazal hücre karsinoması, squamlı hücre karsinoması) oluşumundaki en büyük etkenin yaşam boyunca maruz kalınan güneş ışını miktarı olduğu yapılan çalışmalar sonucunda kanıtlanmıştır (19).

2.1.2. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin Sınıflandırılması

Güneş ışını filtre edici maddeler, kimyasal yapıları veya etki gösterdikleri UV aralığına göre sınıflandırılmaktadırlar. FDA-Amerika Birleşik Devletleri, COLIPA-Avrupa ve Japonya'daki kuruluşlar, güneşten korunmak amacıyla kullanılan 40'a yakın maddeden çoğunu kabul etmemektedir. Kullanılan maddeler ve oranları ülke ve otoritelere göre değişebilmektedir (27).

Dünya genelinde, kimyasal olarak güneş ışını filtre edici maddelerin sınıflandırılması genellikle yapılarına göre yapılmaktadır.

2.1.2.1. Kimyasal Olarak Güneş Işını Filtre Edici Maddeler

- 1- Para-amino benzoik asit ve Türevleri
- 2- Salisilatlar
- 3- Sinnamatlar
- 4- Benzofenonlar
- 5- Antranilatlar
- 6- Dibenzoilmetanlar
- 7- Kafur Türevleri

8- Misel Yapılı Kimyasal Maddeler (22, 28).

Çizelge 1. FDA Category I Listesindeki Maddelerin En Düşük, En Yüksek Kullanım Konsantrasyonları ve Etkili Oldukları UV Aralığı (29, 30)

Bileşik İsmi	Etki aralığı		Konsantrasyon (%)	
	UVA	UVB	En düşük	En yüksek
Aminobenzoik asit		x	5	15
Butil metoksidibenzoilmetan	x		2	3
Sinoksat			1	3
Dietanolamin metoksisinnamat		x	8	10
Digalloil trioleat		x	2	5
Dioksibenzon	x		3	3
Etil 4-[bis(hidroksipropil)] aminobenzoat		x	1	5
Gliseril aminobenzoat		x	2	3
Homosalat		x	4	15
Dihidroksiaseton ile birlikte <i>Lawson</i>	x	x	0.25	3
Metil antranilat	x		3.5	5
Oktosilen	x		7	10
Oktil metoksisinnamat	x	x	2	7.5
Oktil salisilat		x	3	5
Oksibenzon	x		2	6
Paraaminobenzoik asit (Padimate-O®)		x	1.4	8
Fenilbenzimidazol sülfonik asit		x	1	4
Kırmızı vazelin	x	x	30	100
Sulisobenzon	x		5	10
Titanyum dioksit	x	x	2	25
Trolamin salisilat		x	5	12
Çinko oksit	x	x	2	25

2.1.2.1.1. Para-amino benzoik asit ve Türevleri

Bu grupta yer alan para-amino benzoik asit (PABA), 1950-1960 yılları arasında en fazla kullanılmış güneş ışını filtre edici madde olarak tanımlanmıştır. 296 nm' de maksimum absorbansa sahip madde, benzen yapısına para-konumundan bağlı amino ve karboksilik asit olmak üzere iki fonksiyonel gruba sahiptir. Elektron veren amino (-NH₂) grubu ile elektron alan karboksil grubu (-COOH) nedeniyle UVB aralığında elektron yer değiştirmesi bir hayli kolay olmaktadır. Ancak, PABA'nın günümüzde kullanılmamasındaki etkenler olan giysilerde oluşturduğu renk kaybı, formülasyonlarda oluşan kristal yapılar, sudaki yüksek çözünürlük ve pH değişimine karşı aşırı duyarlılığının nedeninin de bu yapılar olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu, bu etkileri ortadan kaldırmak için PABA'nın türevleri oluşturulmuştur (28). Bu türevlerden Padimate-O® olarak da tanımlanan N,N-dimetil PABA oktil esteri, 290-315 nm aralığında etkin koruma gerçekleştirerek FDA'nın listesinde sıkça kullanılan maddeler arasında yer almaktadır (22, 28).

Etil 4-bis (hidroksipropil) aminobenzoat (etil dihidroksipropil PABA), UVB aralığında çok etkili emilim gerçekleştirmesine karşın, kozmetik çözücülerde çok düşük çözünürlüğü nedeniyle sınırlı kullanıma sahiptir. Oktildimetil PABA çok iyi UVB ışınları filtre edici madde olmasına rağmen güneşten koruyucu formülasyonların PABA içermelerinin istenmemesi nedeniyle tercih edilmemektedir (29).

2.1.2.1.2. Salisilatlar

Kullanılan en eski güneş ışını filtre edici maddelerden biri olarak salisilatlar ciltte duyarlılık oluşturmamaları nedeniyle en güvenli güneş ışını filtre edici maddeler olarak tanımlanmaktadır (28). Zayıf etkili koruma sağlamaları ve sudaki yüksek çözünürlükleri nedeniyle sınırlı kullanıma sahiptirler (31).

Bu gruptaki salisilatlar, benzil salisilat, oktil salisilat, homometil salisilat (homosalat), trietanolamin salisilat, potasyum salisilat, amil salisilat, p-izopropilfenil salisilat ve 4-izopropilbenzil salisilat' tır (28). Homosalat (295-315 nm), Amerika Birleşik Devletleri'nde en çok kullanılan salisilat olarak belirtilmiştir. Salisilatlar ayrıca saç preparatlarında da kullanılmaktadır (22, 28).

2.1.2.1.3. Sinnamatlar

Bu kimyasal gruba ait 17 bileşik Avrupa COLIPA listesinde tanımlanmakta, fakat bu maddelerden ancak dört tanesi FDA tarafından kabul edilmektedir (28).

Elektron serbestleştiren metoksi ($\text{CH}_3\text{-O-}$) grupları ve para- konumundaki elektron alan gruplar nedeniyle UVB aralığında moleküler yapı boyunca elektron yer değişimi görülmektedir (19).

Oktil-p-metoksisinamat en çok kullanılan sinnamat grubu bileşiktir. Sudaki çözünürlüğü oldukça azdır. Bu sayede güneş ışını filtre edici maddelerin formülasyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır (28). Yapılan çalışmalar, çok nadir olarak kontakt dermatit oluşturduğunu ortaya koymuştur. Etil hekzil p-metoksisinamat ve oktil metoksisinamat da diğer önemli sinnamat bileşikleridir (32). Etil hekzil p-metoksisinamat dünyada en çok kullanılan güneş ışını filtre edici maddelerden biri olarak kabul edilmektedir. Çok iyi koruma özelliğinin yanı sıra herhangi bir yan etkisinin olmaması, yağlardaki yüksek, sudaki çok düşük çözünürlüğü ile neredeyse mükemmel bir güneş ışını filtre edici

madde olarak tanımlanmaktadır. Dietanolamin p-metoksisinamat, oktil metoksisinamatın suda çözüneabilen türevidir. Çoğu formülasyonda sudaki yüksek çözünürlüğü nedeniyle kullanılamasa da oktil metoksisinamat gibi mükemmel koruma sağlamaktadır (29).

2.1.2.1.4. Benzofenonlar

Aromatik keton grubuna ait tek güneş ışını filtre edici madde grubu olarak tanımlanmaktadır. Diğerleri gibi bu gruptaki bileşikler de elektron yer değişimi sayesinde etki göstermektedirler. Bu yapılar, kimyasal açıdan ester yapılı maddelerden çok farklılardır. Esterler *in vivo* ortamda metabolize olabilen yapılardır. Yapılan çalışmalar, benzofenon türevlerinin oluşturduğu alerjik reaksiyonların, PABA' in oluşturduğu reaksiyonlardan çok daha fazla olduğunu göstermiştir. Benzofenonlar farklı sistemlerde farklı dalga boylarında maksimum absorpsiyon vermektedirler. Örneğin, dioksibenzon (benzofenon-8) polar çözücülerde 326 nm'de absorpsiyon verirken, apolar çözücülerde 352 nm'de absorpsiyon verir (28).

En çok kullanılan bileşiklerden oksibenzon ve dioksibenzon ile hazırlanan formülasyonlar bazı duyarlılık reaksiyonları oluşturmuşlardır. Bu bileşikler sabun ve şampuanların formülasyonlarında da kullanılmaktadırlar (32).

2.1.2.1.5. Antranilatlar

Antranilatlar, salisilat grubu maddeler gibi kararlı ve güvenli bileşikler olarak kabul edilmektedir. Orto-konumunda disüstitüe yapıları sayesinde yüksek çözünürlüğe sahiptirler. Homometil-N-asetilantranilat ve metil antranilat ticari olarak bulunan bileşiklerdir. Orto-disüstitüe amino benzoat olan metil antranilat, 336 nm'de absorpsiyon vermektedir (28).

2.1.2.1.6. Dibenzoilmetanlar

Bu grup, diketon yapıları ile güneş ışını filtre edici maddelerin yeni bir sınıfı olarak gösterilmektedir. Işık kararlılıklarının düşük olduğu bildirilen bu gruptaki maddelerin diketon yapılarında gerçekleştirilen bir takım değişiklikler ile oluşturulan dibenzoilmetan yapıları ile kararlılıkları arttırılmaya çalışılmaktadır (28).

Parsol® 1789 (Avobenzon®, butil dibenzoilmetan), Eusolex® 8020 (izopropildibenzoilmetan) ve Parsol® DAM tanımlanan bileşiklerdir. Şu anda

yalnızca Parsol® 1789 Amerika Birleşik Devletleri'nden onay alabilmiştir (28). Parsol® 1789'un UVA (320-400 nm) aralığında özel etki gösterdiği bildirilmiştir (32).

2.1.2.1.7. Kafur Türevleri

Bisiklik yapıya sahip altı adet bileşik Avrupa Ekonomik Birliği (EEC) tarafından kabul görürken, bu maddelerin hiçbiri Amerika Birleşik Devletleri'nce onaylanmamıştır. Bu yapılardan birisi hariç diğerleri katı şekildedir. Diğer madde ise, yağlı bir görünüme sahiptir. 290-300 nm, yani UVB aralığında, etki gösteren kafur türevlerinin yüksek ışık kararlılığına sahip olduğu belirlenmiştir (28).

2.1.2.1.8. Misel Yapılı Kimyasal Maddeler

Bu grupta, FDA-Category I, EEC ve COLIPA listelerinde yer alan çeşitli maddeler bulunmaktadır.

FDA, % 2-5 konsantrasyonda digalloil trioleat'ın, çok nadir olarak dihidroksi aseton ile birlikte *Lawsone*'un ve % 1-4 konsantrasyonda 2-fenilbenzimidazol-5-sülfonik asit yapılarının kullanımına izin vermektedir. Dihidroksi aseton ile birlikte *Lawsone*'un daha çok cilt rengini, güneş ışınlarına maruziyet olmaksızın, doğal olmayan yollardan koyulaştırıcı özelliği nedeniyle kullanıldığı belirtilmiştir (28).

EEC, % 1- % 4 konsantrasyonda 2-fenilbenzimidazol-5-sülfonik asit, 3-imidazol-4-akrilik asit ve etil ester (urokanik asit), koşullu olarak % 4 konsantrasyonda 5-metil-2-fenilbenzoksazol ve % 5 konsantrasyonda sodyum 3,4-dimetoksifenilglioksilat maddelerini onaylamaktadır (28).

COLIPA ise, genellikle kozmetik amaçlı kullanımı olmayan 2,2'-hidroksi-5-metilfenilbenzotriazol maddesi ile UVB filtre maddesi olan dibenzalazin (dibenzaldehidrazin) maddelerine listesinde yer vermektedir (28).

2.1.2.2. Fiziksel Olarak Güneş Işını Filtre Edici Maddeler

1- Çinko Oksit

2- Titanyum Dioksit (15).

2.1.2.2.1. Çinko Oksit

Fiziksel olarak güneş ışını filtre edici maddeler UV ışınlarını yansıtarak, dağıtarak ve küçülen parçacık boyutları sayesinde absorpsiyon gerçekleştirerek etki gösteren kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır (18). Bunlardan en çok

kullanılanlardan biri olan çinko oksit UV ışınlarını emme özelliği çok uzun yıllardan beri bilinmektedir. Çinko oksit, UVB aralığında titanyum dioksit kadar geniş spektrumlu bir koruma sağlayamamakta, ancak UVA aralığında çok daha etkili olmaktadır. Bu nedenle, çoğu durumda, iki madde birlikte formülasyona sokulmaktadır (15).

Çinko oksit, titanyum dioksitten çok daha hidrofilik bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, yağ fazında tutulması oldukça zor olmaktadır. PH 6'dan düşük ortamlardaki çözünürlüğü de formülasyonların kararlılığını etkilemektedir (15). Mikronize haldeki çinko oksit etkin formülasyonlarını oluşturmak ilk başlarda oldukça güç olmuştur (33). Araştırmacılar, yaklaşık 0.1 mikron boyuta sahip parçacıkların UV ışınlarına karşı etkili olduğunu saptamışlardır. Mikron boyutunun altındaki parçacıklarda etkinin azaldığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, daha büyük parçacık boyutu da cilt yüzeyinde beyaz tabaka oluşmasına neden olmakta ve etkinliğini azaltmaktadır (34).

Fiziksel olarak güneş ışını filtre edici maddeler emilim gerçekleştirdiklerinde, yer değiştiren elektron, oksidasyon ve indirgeme özelliği ile organik bileşiklerle reaksiyona girerek dokulara zarar verebilmektedir (18). Bu nedenle, makyaj ve bebek ürünlerinde çok sık kullanılan bu maddenin FDA listesinden çıkartılması gündeme gelmiştir (34).

2.1.2.2.2. Titanyum Dioksit

Bu madde hakkında bilgi Bölüm 2.3.'de verilmiştir.

2.1.3. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin Formülasyonu

Güneşten koruyucu preparatların kullanımı güneşin zararlı etkilerine gereken önemin verilmesiyle zorunlu hale gelmiştir. Bu preparatların uzun süreli ve sık kullanımları nedeniyle etkinliklerinin ve güvenilirliklerinin tam olarak sağlanması gerekmektedir (1, 3).

İdeal bir güneş ışını filtre edici formülasyonun,

- 1- UV ışınlarına karşı yeterli koruma sağlayabilmek,
- 2- Herhangi bir risk taşımamak, güvenli olmak,
- 3- Su ve terleme ile cilt yüzeyinden uzaklaşmamak,
- 4- Ciltte rahatsız edici his uyandırmamak,
- 5- Giysilere bulaşmamak,

gibi özellikleri taşıması gerekmektedir (35). Günümüzde güneş ışını filtre edici maddelerin formülasyonları daha çok emülsiyon (2, 14, 20, 26, 36-38), losyon (2, 39, 40), yağlar (37, 38), jel (37, 38), krem (2), sprej (2, 20) veya stik (20) şeklindeki preparatlardır (2, 20). Emülsiyonlar, bu taşıyıcı sistemler arasında, güneş ışını filtre edici maddeler için en çok tercih edilen formülasyon tipidir (37-39). 50,000 centipoise (cps) dan düşük viskoziteleri sayesinde kolay bir akışa sahip olmaları ve cilde kolay uygulanabilmeleri tercih edilmelerindeki en büyük etkendir (38). Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da kullanılan emülsiyonların büyük bir çoğunluğunu su-içinde-yag (y/s) tip emülsiyonlar oluşturmaktadır (37). Emülsiyonların zor formüle edilebilmesi ve kararlılıklarının sağlanmasının oldukça zor olması bile bu taşıyıcı sistemlerin kullanımını azaltamamıştır. Bunun başlıca nedeni, güneş ışını filtre edici maddelerin genellikle yağlar ve yağda çözünebilen maddeler olmaları nedeniyle emülsiyonlarda kolay formüle edilebilmeleridir. Ayrıca, emülsiyonların su hacminin fazla olması sayesinde formülasyonun maliyeti bir hayli düşük olmaktadır. Cilde uygulandıklarında estetik açıdan düzgün, ipeksi bir film oluşturmaları tercih edilmelerindeki bir diğer önemli etkendir. Ancak, emülsiyonlar mikrobik kontaminasyon için mükemmel bir ortam oluşturdıkları için preparat çok çabuk bozulmaktadır. Ayrıca, emülsiyonlar cilt üzerinde ince bir film tabakası oluşturdıkları için yüksek koruma faktörlü preparat hazırlanması oldukça güç olmaktadır (38).

Yağlı çözeltiler güneş ışını filtre edici maddeler için en eski ve en kolay formülasyon şeklidir. Tek bir faz içerdiği için mükemmel kararlılığa sahiptir. Güneş ışını filtre edici maddelerin birçoğu lipofilik yapıları olduklarından yağlarda kolayca çözünürler. Cilde uygulanması son derece kolay olan bu taşıyıcı sistemin cilt yüzeyinde çok ince saydam bir tabaka oluşturmaları koruma faktörünü bir hayli düşürmektedir (37, 38). Yağlar apolar yapıda olan güneş ışını filtre edici maddeler ile formüle edildiklerinde uyarılmaları için enerjiye ihtiyaçları vardır (37). Bu ek enerji, UV aralığında oluşan eğrinin bir kısmını 290 nm'nin de altına kaydırarak formülasyonun koruma faktörünün azalmasına neden olur. Bu sistemler maliyeti düşürecek su gibi başka bir faz olmadığı için diğer taşıyıcı sistemler arasında en pahalı sistemlerden birisidir. Ayrıca, güneş ışını filtre edici maddelerin

esterlerinin çok iyi çözücü özelliklerinden dolayı, formülasyonları ambalajda kullanılan plastiklerle etkileşime girebilmektedirler. Bunun önlenmesi için ambalajın iç kısmı özel maddelerle kaplanabilmekte, ancak bu da maliyeti oldukça arttırmaktadır (38).

Jel yapılı formülasyonlar estetik açıdan en çok kabul görebilecek formülasyon tipi olmasına karşın, kozmetik pazarda preparatlarına çok az rastlanmaktadır. Su yapılı oldukları için lipofilik yapılı güneş ışını filtre edici maddelerin bu sistemdeki formülasyonları bir hayli zor olmaktadır. Bu sorun çözücü eklenmesiyle ortadan kaldırılabilecek gibi görünse de gerekli olan miktar çok fazla olmaktadır. Bu sistemin en önemli sakıncası ise, su bazlı oldukları için, terleme ve yüzme ile ciltten kolayca uzaklaşmalarıdır (37).

Bu sistemlere dahil olan merhemler de istenmeyen yağlı his uyandırmaları nedeniyle pek tercih edilen bir formülasyon tipi değildir. Pahalı sistemlerdir. Yağlar gibi, merhemler de apolar yapıları ile güneş ışını filtre edici maddelerin UV aralığındaki eğrilerinin UV aralığı dışına kaymasına neden olarak koruma faktörünü azaltırlar (37). Merhemler yağlı yapıları ile ciltten kolayca uzaklaştırılamadıkları için, bu preparatlar kullanıldığında, yüzme ve terleme gibi etkenlerle dahi, güneş ışını filtre edici maddeler cilt yüzeyinde kalarak etki gösterirler (38).

Sprey yapılı formülasyonlar ise son yıllarda kolay kullanımları nedeniyle tercih edilen formülasyon tipidir. Ancak, spreylere kullanıldığında ciltte homojen bir filmin oluşup oluşmadığı kesin olarak belirlenememektedir. Bu sistemlerde temel olarak yağlı taşıyıcı olduğu için, bunlar da çok pahalı ve düşük koruma faktörüne sahip sistemlerdir (37, 38).

Son yıllarda geliştirilen bir diğer sistem ise köpük yapılı formülasyonlardır. Emülsiyon yapılı bu formülasyonlar, özel ambalajlarda, düşük basınçta itici bir gaz sayesinde köpüğün oluşması ile oluşturulan sistemlerdir. Bu sistemlerde güneş ışını filtre edici maddeler iç faz olan yağ fazına eklenebilir. Kullanımları oldukça kolay olan bu sistemler basınçlı ambalajları nedeniyle sıcaklığa karşı aşırı duyarlıdırlar. Bundan dolayı, ambalajlarının hazırlanmasında çok dikkatli çalışma gerekmektedir (38).

Güneş ışını filtre edici maddelerin daha çok dudak, göz çevresi, kulaklar gibi özel bölgelerin korunması amacıyla hazırlanmış diğer bir formülasyon şekli ise stik şeklindeki formülasyonlardır (20, 38). Kullanımları oldukça kolay ve pratiktir. Her kullanımda küçük bir alana uygulanabildikleri için tüm vücuttaki kullanımları belirli bölgelerle sınırlı kalmıştır. Formülasyonda kullanılan parafin ve balmumu nedeniyle ciltte istenmeyen çok yağlı bir his uyandırmalarına karşın, tüm formülasyonlar arasında su geçirgenliği en az olan formülasyon şeklidir. Formüle edilirken seçilen titanyum dioksit gibi opak güneş ışını filtre edici maddeler kullanılarak daha iyi bir koruma elde etmek mümkündür. Organik güneş ışını filtre edici maddeler kullanıldığında saydam görümlü stikler elde edilebilse de kararlılık problemleri ve yüksek maliyetleri ile henüz kozmetik pazarda yeterince yer alamamışlardır (38).

Güneş ışını filtre edici maddeler bu klasik formülasyonlar şeklinde hazırlandıklarında, konsantrasyonlarına ve kimyasal yapılarına bağlı olarak UV radyasyonunun (UVR) cilde olan zararlı etkilerini azalttıkları ancak tam olarak engelleyemedikleri ortaya çıkmıştır (2). Ayrıca, güneşten koruyucu formülasyonların uzun süreli ve etkin bir koruma için cilde defalarca uygulanmaları gerekir (6). Bu sık kullanımları ile güneş ışını filtre edici maddelerin cilt yüzeyinde kalarak etki göstermesi gerekmektedir (2, 4, 5). Ancak, bazı güneş ışını filtre edici maddeler özellikle krem veya losyonlarda yağlı fazın yardımıyla cilde nüfuz etmektedirler (1, 2). Bunun sonucunda, etkinliklerinde azalma ve ciltte istenmeyen yan etkiler oluşmaktadır (2, 4). Bu istenmeyen etkileri ortadan kaldırmak için araştırmacılar güneş ışını filtre edici madde konsantrasyonu düşük, ancak koruma oranı yüksek yeni formülasyon şekilleri arayışına girmişlerdir (3).

Daha az yan etkileri nedeniyle, kimyasal güneş ışını filtre edici maddelerin yerini fiziksel güneş ışını filtre edici maddelerin alması üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Daha çok parçacık boyutları küçültülüp cilt üzerinde oluşturdukları opak görüntü (21) ortadan kaldırılarak, kullanıcılar tarafından da kabul edilebilecek formülasyonlar oluşturulmaya çalışılmıştır. Ancak, nanometre boyutuna inen parçacık boyutları ile penetrasyon yetenekleri bir hayli artan bu maddelerin oluşturdukları yan etkiler de artmıştır (41).

Bu sistemler haricinde, katı lipit yapıları nanopartiküler sistemlerin (SLN) katı lipit yapılarının fiziksel güneş ışını filtre edici maddeler gibi UV ışınlarını yansıtarak ve dağıtarak önledikleri belirlenmiştir (2, 3, 5, 41). Böylece, bu yapıların fiziksel güneş ışını filtre edici maddelerin yerini alma fikri ortaya çıkmış (2) ve araştırmalar SLN'ler üzerinde yoğunlaşmıştır.

2.1.4. Güneş Işını Filtre Edici Maddelerin *In Vitro* ve *In Vivo* Değerlendirilmesi

Güneş ışını filtre edici madde formülasyonlarının etkinliklerinin belirlenmesinde “Güneşten Koruyucu Faktör (SPF)” terimi kullanılmaktadır (6, 18). İlk kez Avusturyalı bilim adamı Franz Greiter tarafından kullanılan bu terim Federal Register (ABD) tarafından da tanımlanmıştır (30).

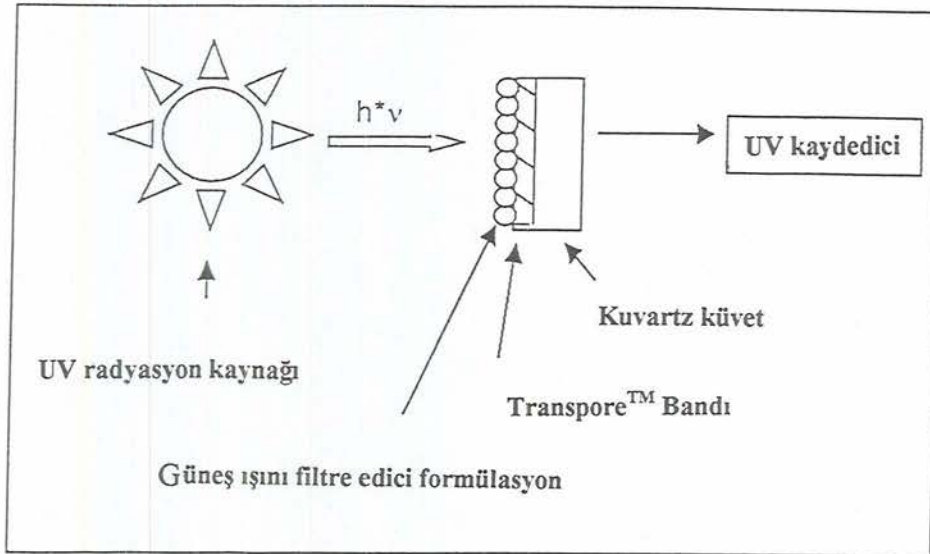
Güneşten koruyucu faktör, güneş ışını filtre edici madde içeren formülasyonunun uygulandığı ciltte oluşan minimal eritemal dozun, formülasyon uygulanmayan ciltte oluşan minimal eritemal doza olan oranı şeklinde tanımlanmaktadır (6, 18). Minimal eritemal doz terimi ise, ciltte en az eritemi oluşturacak UV radyasyonu miktarı ($J.m^{-2}$) olarak tanımlanmaktadır (6, 42).

FDA son yıllarda güneşten koruyucu faktör değerine sınırlama getirmiştir. Daha önceleri 50 ve daha yüksek koruma değerine sahip sistemlerin olduğu iddia edilirken, artan konsantrasyon nedeniyle artan maliyet ve ortaya çıkabilecek yan etkilerden dolayı yeni düzenleme yapılmış ve en yüksek değerin 30 olabileceği ve daha yüksek değerlerin 30+ şeklinde ifade edileceği belirtilmiştir (19, 32, 43). Formülasyonların değerlendirilmesinde, güneşten koruma faktörü 30 ve 30+ olanlar yüksek koruma faktörlü, 12-29 arasındakiler orta derecede koruma faktörlü, 2-11 arasındakiler ise düşük koruma faktörlü olarak değerlendirilmektedirler (43). Güneş ışını filtre edici maddelerin formülasyonlarının suya karşı dayanıklılıklarının değerlendirilmesinde de çeşitli terimler kullanılmaktadır. Formülasyonun güneşten koruma faktörü, su ile 40 dakika temasından sonra, aynı değerini koruyorsa ‘suya dirençli’, 80 dakika temastan sonra aynı değerini koruyorsa ‘sudan etkilenmez’ (suya çok dirençli) olarak tanımlanmaktadır (22, 42).

Güneş ışını filtre edici maddelerin formülasyonlarının etkinlikleri çok çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Pratikte, çalışmalar sırasında uygulanan

miktardan çok daha azının cilde uygulandığı saptanmıştır. Bu nedenle, formülasyonun öne sürülen koruma faktörü kullanıcı tarafından elde edilememektedir. Terleme, su ile temas ve silinme gibi çevresel etkiler ile de koruma faktörü azalmaktadır. Bazı güneş ışını filtre edici maddelerin ışık etkisi ile bozunmaları da etkinliklerini bir hayli azaltmaktadır. Uzun süreli, eritem oluşturmayaacak düzeyde UV'ye maruz kalma, immün sistemin baskılanmasına, DNA hasarına, ciltte yaşlanmaya ve mutasyon sonucunda tümör oluşumlarına neden olabilmektedir (18, 19).

Güneş ışını filtre edici madde formülasyonlarının etkinlikleri *in vitro* ortamda çeşitli yöntemlerle değerlendirilmektedir. *TransporeTM* Test sık kullanılan yöntemlerden birisidir (Şekil 1) (3, 44). Çalışmalar sonucunda, *in vitro* sonuçlar ile *in vivo* sonuçların paralel olduğu saptanmıştır (1, 2). Uygulaması oldukça kolay olan bir yöntemdir. Kuvartz küvetler üzerine yapıştırılan *TransporeTM* bandın yüzeyine uygulanan formülasyon, homojen olarak yüzeye sürülerek yaklaşık 15 dakika kurumaya bırakılmaktadır. Daha sonra, *TransporeTM* bandı yapıştırılmış referansa karşı, UV spektrofotometresi kullanılarak spektrum alınarak analiz gerçekleştirilmektedir (Şekil 1) (1-3, 12).



Şekil 1. *In Vitro* Ortamda, Güneş Işını Filtre Edici Madde Formülasyonlarının Etkinliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan *TransporeTM* Test Yöntemi'nin Şematik Olarak Gösterimi

In vitro bir diğer yöntem ise *Suntosee*TM UV bantları ile yapılan analizdir. UV ışınlarına maruz kaldığında, 603 nm’de maksimum absorbans veren mavi bir boya içeren bantların, 3.8 cm²’lik yüzeyine 70-100 mg örnek uygulanarak; bantlar 90 dakika boyunca 30 cm uzaklıktan, UV lambası altında, UV ışınlarına maruz bırakılmaktadır. Bantların yüzeyinde kalan örnek artıkları temizlenerek, oluşan boya, 2 mL asetonda çözündürülmekte ve daha sonra çözeltilerin 603 nm’de absorbansları bulunmaktadır (1). Sonuçlar, yüksek koruma faktörünün daha az boyanın oluşmasına olanak sağlaması esasına göre değerlendirilmektedir.

Güneş ışını filtre edici madde formülasyonlarının cilde uygulandıktan sonra oluşturdukları penetrasyon dereceleri ise, *in vitro* olarak Franz Difüzyon Hücreleri ile yapılan çalışmalarla analiz edilmektedir (36, 45). Bu yöntemde hazneler arasına yerleştirilen dokunun dermis kısmında toplayıcı sıvı, *stratum corneum* kısmında ise etkin maddenin taşıyıcı sistemi bulunmaktadır. Toplayıcı sıvıda uygun miktar tayini analizleri gerçekleştirilerek penetrasyon derecesi saptanmaktadır. Bu yöntemde insan dokuları kullanılabildiği gibi, bu yapıya en yakın olarak tanımlanan domuz kulağı da kullanılmaktadır (45).

Penetrasyon derecesi, *in vivo* olarak ‘*Tape Stripping*’ yöntemi ile de belirlenebilmektedir. Ön kolda seçilen bölgeye, COLIPA standartlarına göre 2 mg.cm⁻² örnek uygulandıktan sonra 30 dakika beklenmektedir. Bölgenin 30 dakika sonunda kuru bir mendil ile temizlenmesinin ardından, saydam bantlar uygulama yerine yapıştırılıp kaldırılarak ciltten korneositler toplanmaktadır. Yaklaşık 7-10 bant uygulanmasından sonra ilk bant hariç diğer bantlar uygun çözücülerde çözündürülerek miktar tayini analizleri gerçekleştirilerek penetrasyon derecesi saptanmaktadır (31, 46). Bu yöntem çok tercih edilmesine karşın, birkaç sakıncayı da beraberinde getirmektedir. İlk olarak, bantlar ile alınan korneosit miktarı kişiye bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca, uygulanan formülasyonun içeriği korneosit miktarını ve penetrasyon süresini etkilemektedir (23).

Benzofenon ile yapılan bir çalışmada ise, bir diğer yöntem olan ‘*Difference*’ yöntemi kullanılmıştır. Ön kolda seçilen bölge hekzan ile işaretlenmiş ve benzofenon içeren aseton çözeltisi mikro şırınga ile damlatılmıştır. Çözücünün uçmasından sonra bölge alüminyum folyo ile kapatılmış; 4 saat sonra

folyo bölgeden uzaklaştırılarak kalan benzofenon hekzan ile yıkanarak alınmıştır. 287 nm’de absorbansı belirlenerek miktar tayini analizi gerçekleştirilmiştir (31).

Yapılan çalışmalar sonucunda, perkütan emilim derecesinin maddenin molekül ağırlığı, kaynama noktası ve yağda çözünürlüğü gibi fizikokimyasal faktörlerden etkilendiği saptanmıştır (31).

2.2. KATI LİPİT NANOPARTİKÜLLER

2.2.1. Tanım

Katı lipit nanopartiküller (SLN) kozmetik ve farmasötik etkin maddeler için yeni taşıyıcı sistem olarak tanımlanmaktadır (1, 2, 8, 12, 47-52).

SLN’ler parenteral uygulama için kullanılan kolloidal lipit süspansiyonlar ve y/s tip emülsiyonlar (örn. intralipit, lipofundin) ile benzer özelliklere sahip sistemlerdir. Bu sistemlerde, katı lipit nanopartikülleri oluşturmak üzere oda sıcaklığında katı halde bulunan lipitler kullanılmaktadır (53). Büyük benzerliklerine karşın, hazırlama yöntemleri ve kimyasal kompozisyonları nedeniyle, aynı tip içerik ve yüzey etkin madde konsantrasyonuna sahip formülasyonlar karşılaştırıldıklarında, kolloidal lipit emülsiyonları ve süspansiyonları arasında temel fizikokimyasal farklılıklar ortaya çıkmıştır (54).

Foton korelasyon verilerine göre 50-1000 nm aralığında parçacık boyutu dağılımına sahip olan kolloidal yapılı bu sistemler, hidrofilik, hidrofobik veya suda çözünmeyen etkin maddeler ile vücutla uyumlu ve vücutta metabolize olabilen katı lipitlerin sudaki dispersiyonlarından oluşmaktadır (13, 48, 49, 52, 55-57).

Trigliseritler, kısmen esterleşmiş gliseritler, yağ asitleri, steroidler ve balmumu gibi çok sayıda lipit SLN’lerin hazırlanmasında kullanılabilir. Molekül ağırlıkları ve elektriksel yapıları göz önüne alınarak bütün yüzey etkin maddeler bu lipit dispersiyonlarının kararlılığını sağlamak için kullanılabilir. Yüzey etkin maddelerin karışım halinde kullanıldığı çalışma sonuçları aglomerasyonun daha etkili bir biçimde engellendiğini ortaya koymuştur (11).

SLN’lerin parçacık ve katı lipit yapıları diğer konvensiyonel ilaç taşıyıcı sistemlere pek çok üstünlük sağlamıştır. SLN’ler emülsiyonların ve lipozomların vücutla geçimli maddeler içermeleri gibi özelliklerinin yanısıra, aynı zamanda

polimerik nanopartiküller gibi kontrollü etkin madde salımına olanak sağlamaları ve etkin maddenin kimyasal ve fiziksel bozunmaya karşı korunması gibi üstünlükleri birleştirirken, düşük etkin madde yüklenmesi gibi önemli sakıncalarını da ortadan kaldırarak çok çeşitli olanaklar sunmaktadır (52, 58-60).

SLN'lerin geliştirilme amaçları:

- 1- Kontrollü ilaç salımı ve etkin madde hedeflendirilmesi,
- 2- Yüksek etkin madde konsantrasyonu,
- 3- Yüksek etkin madde kararlılığı,
- 4- Lipofilik ve hidrofilik etkin madde yüklenmesi,
- 5- Taşıyıcı sistemin biyotoksik olmaması,
- 6- Organik çözücü içermemesi,
- 7- Geniş çapta üretim olanağı,
- 8- Sterilizasyonda herhangi bir problem olmamasıdır (11).

Su-içinde-yağ tipi emülsiyonlar parenteral amaçla ilk kez 50'li yıllarda uygulanmaya başlanmıştır (11, 13). Buna rağmen, farmasötik pazarda ürünleri (örn. Diazepam Lupiro, Diazemuls) sınırlı sayıdadır. Bunun en önemli nedeni, etkin maddenin yol açtığı fiziksel kararsızlıktır (13).

Yağ emülsiyonları düşük sitotoksisiteye ve düşük sistemik toksisiteye sahip olmalarına ve büyük ölçekte hazırlanabilmelerine karşın, birçok etkin maddenin yağ damlacıkları ve kan arasındaki dağılımının yüksek olması nedeni ile bu sistemlerden etkin madde salımı çok hızlı olmaktadır (53, 61, 62). Ayrıca, bu sistemlerde, etkin madde, saklama sırasında dışarı ve vücut sıvılarına sızabilmektedir (63).

Polimerik nanopartiküller ise 30 yılı aşkın çalışma süresinin sonunda henüz farmasötik pazarda yerini alamamıştır. Yalnızca Nycomed firmasının Abdoscan® adlı ürünü piyasaya çıkmıştır. Bu ürün de kronik tedavi amaçlı olmayıp sadece tanı amacıyla kullanılan bir ajandır (13, 53). Polimerik nanopartiküllerin geniş çaplı üretimleri mümkün değildir. Nanometreden birkaç mikrometreye kadar parçacık boyutu aralığına sahip polimerlerin (örn. polyester polimerleri) intravenöz kullanımları otoriteler (FDA, BfArM-Almanya) tarafından kabul görmüştür (53). Ancak, bu polimerik nano- ve mikropartiküller kullanımlarından sonra hücre içine alınabilmekte (örn. makrofajlar) ve burada

degradasyona uğrayarak sitotoksositeye neden olabilmektedirler (13, 53). Polimerik nanopartiküllerin üretimlerinden kalan organik çözücü artıkları, sterilizasyon problemleri ve pahalı sistemler oluşları da ürün geliştirme olanaklarını kısıtlamaktadır (53).

1987 yılında Dior firması ilk lipozomal yapılı Capture® adlı ürünü piyasaya çıkarmasından bu güne birçok lipozom yapılı ürün kozmetik piyasada yerini almıştır. Ancak, lipozomların özellikle y/s tip emülsiyonların içine katılmaları halinde ortaya çıkan sınırlı fiziksel kararlılıkları ve etkin maddeyi kimyasal bozunmaya karşı koruyamamaları bu ürünler için büyük problem oluşturmaktadır (64). Lipozomlarda da etkin madde salımı yağlı ve sulu faz arasındaki dağılım sonucunda oluşmakta ve bu salımın kontrolü çok güç olmaktadır (62).

Tüm bu sistemlere alternatif olarak geliştirilen SLN'ler, emülsiyonların ve lipozomların aksine yüklenen etkin maddeyi katı lipit yapıları sayesinde kimyasal ve fiziksel bozunmaya karşı koruyabilmekte (48, 49, 52, 53, 59, 64), uzatılmış etkin madde salımını gerçekleştirebilmekte (49, 53, 57, 59) ve daha kararlı bir yapı sergilemektedirler (64). Ayrıca, lipozomların aksine SLN'lerin fiziksel kararlılıkları diferansiyel taramalı kalorimetre ile kolayca kanıtlanabilmektedir (65). Bunların yanı sıra, SLN'ler geniş çapta ($2-2000 \text{ kg.h}^{-1}$) üretilebilmekte (48, 57) ve içerdikleri GRAS (genellikle güvenilir olduğu kabul edilen) özellikteki Dynasan® 114, Dynasan® 116, Dynasan® 118, Compritol® ve setil palmitat gibi lipitler, Miranol® ve Tego Care® gibi yüzey etkin maddeler kullanıldığında ve etkin maddenin de özelliklerinin uygun olduğu durumlarda, vücutta metabolize olabilen düşük toksisiteye sahip parçacıklar elde edilmektedir (59).

SLN'ler aseptik olarak üretilebilmekte veya farmasötik endüstride kullanılan tüm yöntemlerle (otoklav, gama ışınlama vs.) sterilize edilebilmektedir (13).

Kolay üretim ve ucuz maliyet imkanı sayesinde SLN'lere olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (66). Katı lipit matrisleri sayesinde ürünlerin istenmeyen renk ve kokularını maskelemek amacıyla da SLN'ler kullanılabilir (49).

SLN'ler topikal kullanımlarında cilt üzerinde adhesif film oluşturarak su kaybını önleyerek etkin maddenin cilde penetrasyonunu arttırabilmektedirler (10).

2.2.2. Katı Lipit Nanopartikülleri Hazırlama Yöntemleri

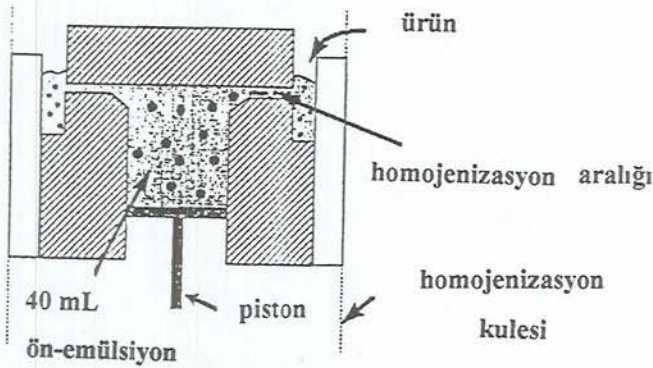
SLN'ler, yüksek basınçlı homojenizasyon başta olmak üzere mikroemülsiyon tekniği, lipit parçacıkların çöktürülmesi, eriyik haldeki lipitin karıştırma ve çalkalama ile yüzey etkin madde çözeltisinde dağıtılması (lipit nanopelletler ve lipit nanoküreler) (13), çözücü emülsifikasyonu veya çözücü uçurulması (11) ve eriterek emülsifikasyon (67) gibi çok çeşitli yöntemlerle hazırlanabilmektedirler. Ayrıca, püskürterek kurutma (59) ve liyofilizasyon (11) yöntemleriyle kuru halde SLN elde edilmesi mümkün olmaktadır.

Yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği 1950 yılından bu yana farmasötik endüstriden (parenteral emülsiyonların hazırlanması) yiyecek sanayine (süt homojenizasyonu) kadar çok geniş kullanım alanına sahip, geniş üretim imkanına olanak sağlayan bir tekniktir (1, 13).

İki tip yüksek basınçlı homojenizasyon tekniğinden söz edilebilir:

- 1- Piston aralıklı (piston-gap) teknik,
- 2- Jet akış (jet-stream) tekniği (68).

Piston aralıklı teknikte, sıvı 25 μm genişliğinde dar bir aralıktan, yüksek basınç yardımıyla 1000 km.s^{-1} 'dan daha yüksek bir hızla geçirilir. Boşluklar arasındaki kuvvetler, kayma gerilimi ve türbülans, parçacık boyutu ve parçacık boyutu dağılımını en aza indirerek, monodispers nanopartikül dispersiyonunun oluşmasını sağlar (Şekil 2) (1, 11).



Şekil 2. Piston Aralıklı Teknik ile Üretim Yapan Micron LAB 40 Aletinin Şematik Gösterimi

% 5-10 aralığında lipit içeriğine sahip olan bir sıvıda herhangi bir homojenizasyon sorunu yaşanmaz. Lipit konsantrasyonu % 40 ve üzerinde olan formülasyonların da bu yöntemle homojenize edilmesi oldukça kolaydır (13, 68).

SLN'lerin yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği ile üretimlerinde, homojenizasyon basamaklarına ve bileşenlerin yapısına bağlı olarak iki temel yaklaşım sözkonusudur:

- 1- Sıcak homojenizasyon yöntemi,
- 2- Soğuk homojenizasyon yöntemi (2, 11, 13).

2.2.2.1. Sıcak Homojenizasyon Yöntemi

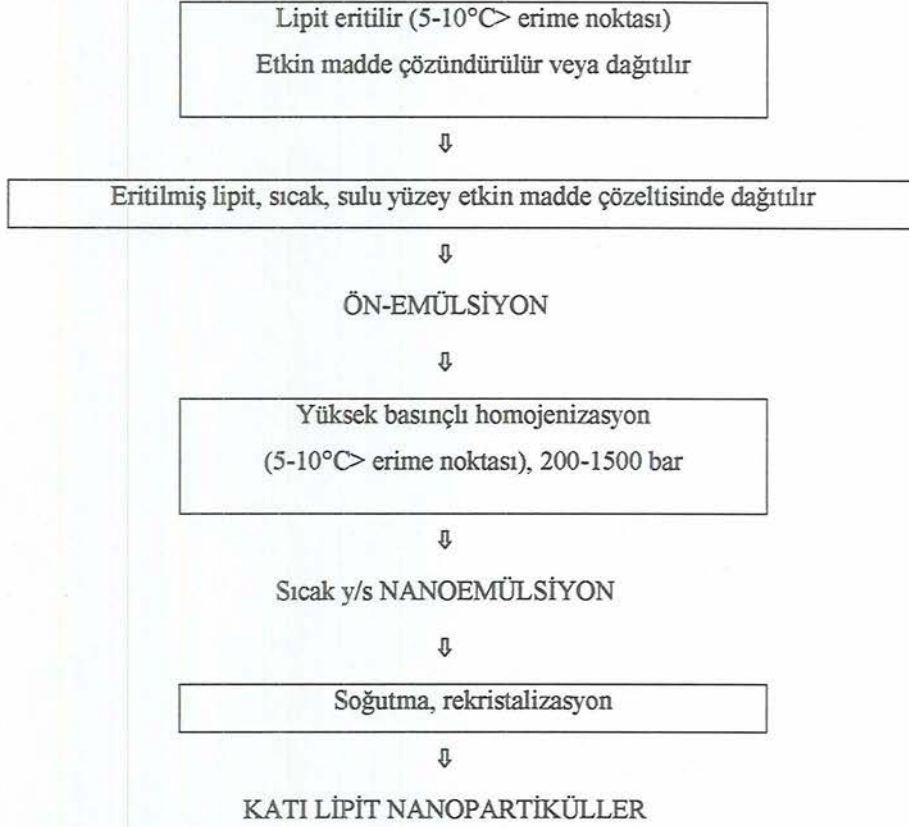
Sıcak homojenizasyon yönteminde işlemler, lipitin erime derecesinin üzerinde yürütüldüğü için emülsiyonun homojenizasyonu şeklinde değerlendirilebilir (11). Temel olarak suda çözünmeyen, lipofilik ve sıcaklığa dayanıklı olan maddeler için uygun bir yöntemdir (2, 62). Bu yöntemde, lipit, erime derecesinin 5-10°C üzerinde bir sıcaklığa kadar ısıtılır. Etkin madde bu eriyik içerisinde çözündürülür veya dağıtılır. Bu karışım, daha sonra, aynı sıcaklığa getirilmiş sıcak yüzey etkin madde çözeltisinde Ultraturrax gibi bir karıştırıcı yardımıyla dağıtılarak ön emülsiyon oluşturulur (1, 2, 11, 13, 53, 56, 59). Oluşan ön emülsiyon yüksek basınçlı homojenizatörde (örn. piston aralıklı; Micron LAB 40) yine erime derecesinin 5-10°C üzerindeki sıcaklıkta homojenize edilir (13, 53, 68). Homojenize edilmiş sıcak nanoemülsiyon özelliklerine sahip ürün, daha sonra, oda sıcaklığına soğutulduğunda, lipit tekrar kristallenerek katı lipit nanopartikülleri oluşturur (Şekil 3) (1, 2, 11, 13, 62).

Lipitin tekrar kristallenmesi dikkat gerektiren bir süreçtir; çünkü kısa zincirli gliseritler (örn. Dynasan® 112) veya oda sıcaklığına yakın, düşük erime derecesine sahip gliseritler kullanıldığında, nanoemülsiyonları oda sıcaklığından daha düşük derecelere soğutarak tekrar kristallenme başlatılabilir. Ayrıca, bu gibi durumlarda tekrar kristallenme liyofilizasyon ile de başlatılabilmektedir (13).

Yüksek basınçlı sıcak homojenizasyon yönteminde istenilen basınç ayarlanarak ve istenilen sayıda homojenizasyon gerçekleştirilerek üretim yapmak mümkündür. Çalışmalar göstermiştir ki, çoğu durumda 3-5 homojenizasyon sayısı ile 500-1500 bar basınç kullanılması katı lipit nanopartiküllerin hazırlanmasında etkili olmaktadır (11, 61). Ancak, homojenizasyon sırasında sıcaklığın arttığı

(500 bar basınç ile $\sim 10^{\circ}\text{C}$) göz önünde tutulmalıdır. Artan sıcaklıkla etkin maddenin taşıyıcı içindeki parçalanma oranının da artabileceği belirlenmiştir (11).

Sıcak homojenizasyon yöntemi ile, yüksek sıcaklığın iç faz viskozitesini azaltması nedeniyle, diğer yöntemlere oranla daha küçük parçacık boyutu ve parçacık boyutu dağılımı elde edilebilir (2, 11).



Şekil 3. Sıcak Homojenizasyon Yöntemi ile Katı Lipit Nanopartikül Hazırlanması

Yapılan bir çalışmada, bu yöntemle hazırlanan nanosüspansiyon formülasyonlarındaki ağır metal varlığının 1 ppm' den az olduğu saptanmıştır. Çoğu durumda, 10 ppm yabancı madde varlığının endüstriyel açıdan kabul edilebildiği göz önünde tutulduğunda, bu yöntemin güvenli formülasyonlar üretmeye imkan sağladığı görülmüştür (69).

2.2.2.2. Soğuk Homojenizasyon Yöntemi

Sıcak homojenizasyon yöntemi, hidrofilik etkin maddeler için uygun bir üretim yöntemi değildir. Lipit eriyiğinin, sulu yüzey etkin madde çözeltisinde dağıtılması hidrofilik etkin madde için % 90'ından fazlasının su fazında kaybı

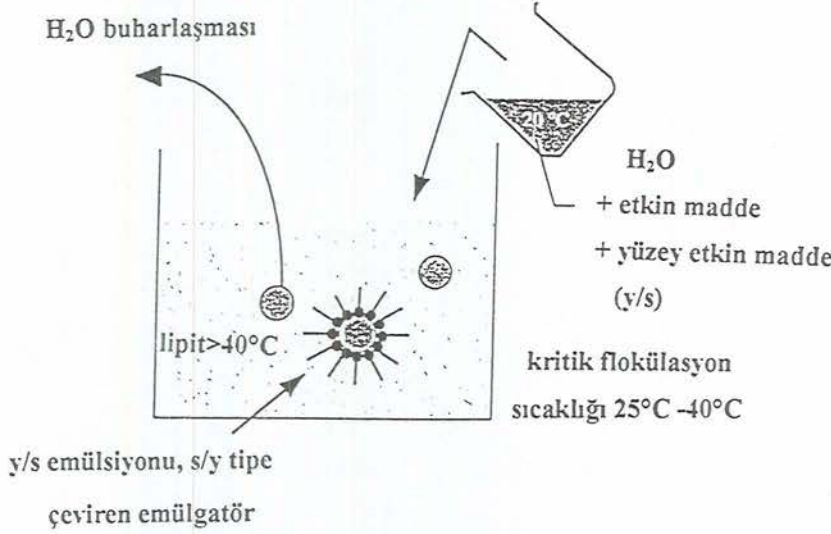
anlamına gelmektedir (53). Sıcağa aşırı duyarlı maddeler için de sıcak homojenizasyon yöntemi uygun bir üretim yöntemi değildir (13). Bunun yanı sıra, sıcak homojenizasyonda tekrar kristallenme basamağı, nanoemülsiyonları çeşitli değişimlere ve/veya süper soğutulmuş eriyiklere dönüştüren karmaşık bir aşamadır (11).

Bu tip maddelerin formülasyonları ancak soğuk homojenizasyon tekniği ile gerçekleştirilebilir. Bu teknikte, ilk aşamada etkin madde erimiş lipit içerisinde çözündürülür veya dağıtılır. Daha sonra kuru buz veya sıvı azot yardımıyla karışım aniden soğutulur (11). Yüksek soğutma oranı lipit matriste etkin maddenin homojen dağılmasına ve lipitin kırılabilirliğinin artmasına olanak sağlar. Etkin madde içeren lipit öğütücüler yardımıyla, 50-100 µm boyutuna sahip mikropartiküller elde edilir (11, 13, 53, 62).

Hidrofilik etkin maddeler ile hazırlanan formülasyonlarda ise, etkin madde lipit eriyiğine çözünürlük yöntemine göre gömülür. Etkin madde sulu çözelti halindeyken lipit faza eklenir. Yüzey etkin madde çözeltisinin erimiş lipit fazındaki çözünürlüğü tam olarak kanıtlanamamıştır. Bunun sonucunda da, suyun uçurulmasından sonra büyük madde kristalleri oluşur. Bu nedenle, yüzey etkin madde, etkin madde içeren sulu faza eklenmektedir. Sulu çözelti bir karıştırıcı yardımıyla erimiş lipit faza damla damla eklenir ve su buharlaştırılır. Böylece, etkin madde yüzey etkin madde miselleri içinde kalır. Etkin maddenin lipit fazda çözünmesi için s/y tipi yüzey etkin madde kullanmak gerekmektedir. Pek çok s/y tipi yüzey etkin madde sulu fazda çözünmez. Bu sorunu çözmek için yüzey etkin maddeler 25-40°C aralığında yani kritik flokülasyon sıcaklığında kullanılır. Etkin madde içeren sulu fazda oda sıcaklığında çözünebilen y/s tipi yüzey etkin maddeler, sıcak lipit eriyiğine eklendiklerinde s/y tipi yüzey etkin maddelere dönüşürler ve su damlalarını yağ fazında kararlı halde tutabilirler. Bu işlemde de, suyun buharlaştırılmasından sonra sistem soğutulur ve yine öğütücüler yardımıyla mikropartikül boyutuna küçültülür (**Şekil 4**) (62).

Her iki yöntemde de lipitin öğütülmesi ile elde edilen mikropartiküller soğuk yüzey etkin madde çözeltisinde dağıtılırlar (11, 13, 53, 62). Oluşan ön süspansiyon oda sıcaklığında veya çok daha düşük sıcaklıklarda (örn. 0°C) homojenize edilir. Boşluklar arası kuvvetler ile mikropartiküller nanopartikül

boyutuna küçültülebilirler (13). Bu yöntem ile lipitin erimesi önlendiği veya azaltıldığı için, katı lipid matris sayesinde etkin maddenin sulu faza geçme oranı azaltılmıştır (13, 53). Hidrofilik etkin maddelerin kaybını daha da azaltmak için su fazı yerine etkin maddenin çözünürlüğünün az olduğu sıvılar (örn. PEG 600 veya yağlar) kullanılabilir (13).



Şekil 4. Hidrofilik Etkin Maddelerin Erimiş Lipit İçerisinde Çözündürülmesi Yöntemi

Bu yöntemde de, homojenizasyon basamaklarının, ürünün sıcaklığını her basamak için yaklaşık 10-20°C arttırdığı göz önünde tutulmalıdır (13).

2.2.3. Katı Lipit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

2.2.3.1. Parçacık Şekli ve Boyutu

Kolloidal bir taşıyıcı sistem olan katı lipid nanopartiküllerin karakterizasyonunda parçacık boyutu ve parçacık boyut dağılımı en önemli fizikokimyasal özelliklerdir (59, 67). Küçük parçacık boyutu ile yüksek kararlılık ve düşük toksisite sağlamak mümkündür (59, 63). Foton korelasyon spektroskopisi (PCS) ve Lazer Kırınım yöntemi (LD) parçacık boyutlarının rutin ölçümleri için kullanılan en etkili yöntemlerdir. Küçük parçacıkların saptanmasındaki güçlükler ve kolloidal dispersiyonu kararsız hale getirecek elektrolitlere olan gereksinim nedeniyle, Coulter Counter yöntemi SLN'lerin parçacık boyutu ölçümlerinde çok nadir kullanılmaktadır (11, 13).

PCS, parçacığın hareketi sonucunda yansıyan ışığın yoğunluğundaki değişimi ölçerek parçacık boyutunu saptar. Bu yöntem ile, birkaç nanometreden

3 μm 'ye kadar olan parçacıkların boyutları belirlenebilmektedir (11, 50). PCS verileri ile birlikte elde edilen polidisperslik indisi (PI) verileri de, ayrıca, parçacık boyutu dağılımı hakkında bilgi vermektedir. Parçacık boyutu dağılımının genişliğini 0-1 arasında değerler alarak gösteren PI tek tip yani homojen bir dağılımda 0-0.5 aralığında değerler almaktadır (67, 70, 71).

Küçük parçacıklar, büyük parçacıklara oranla ışığı daha geniş açı ile yansıtırlar. LD, ışığın parçacık yarıçapına bağlı kırınım açısını belirleyerek ölçümü gerçekleştirir. Nanometreden milimetre (40 nm-2 mm) boyutuna kadar geniş bir aralıkta ölçüm gerçekleştirebilmesi LD'nin en önemli üstünlüğüdür (50). Polarizasyon şiddetli diferansiyel kırınım (PIDS-Polarization Intensity Differential Scattering) teknolojisinin geliştirilmesi ile çok daha küçük parçacıkların boyutunun saptanmasına olanak sağlanmaktadır (11, 13). LD ile elde edilen % 50 ortalama parçacık boyutu, LD'nin geniş ölçüm aralığı nedeniyle, çoğu zaman, PCS verilerinden yüksek değerler alabilmektedir (50). Ancak, yine de, parçacık boyutu analizlerinde her iki yöntemle de parçacık boyutu verilerinin belirlenmesi sonuçları güvenilir kılmaktadır (11, 13). Her iki yöntem de parçacık boyutunu ölçmez, parçacığın neden olduğu ışık kırınımından yola çıkarak parçacık boyutunu hesaplar (11).

Bunların dışında Field-Flow-Fractionation (FFF) yöntemi ile de katı lipid nanopartiküllerin parçacık boyutları saptanabilmektedir. Bu yöntemde, parçacıklar doğrusal akım altında, dikey bir alanın yapısına bağlı olarak kütlelerine, boyutlarına veya elektriksel iletkenliklerine göre ayrılmaktadırlar. Bu yöntemin PCS göre üstünlüğü ise, çok küçük parçacık boyutu farklarına sahip olan parçacıkların bile ayırdedilebilmesidir (11, 13).

SLN şekillerinin belirlenmesinde, atomik kuvvet mikroskobu (AFM) (59, 66, 70), elektron mikroskobu (EM) (59, 70), ışık mikroskobu (LM) (72, 73) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılabilmektedir (11, 54, 55, 74, 75). AFM, genellikle, SLN'lerin morfolojik yapılarının belirlenmesinde kullanılmaktadır (11).

SLN'lere yüklenen etkin maddelerin yerleşim yerlerinin saptanması için elektron paramanyetik rezonans yöntemi (EPR) kullanılmaktadır. Ayrıca, bu yöntemle SLN'lerin hücre ve dokularla olan etkileşimleri de araştırılabilmektedir.

Böylece, maddenin SLN'den hücrelere geçiş yolu da öğrenilmektedir (55, 71). Yüklenen maddenin fizikokimyasal özelliklerinin ve yapısının SLN dispersiyonları içindeki dağılımını da etkilediği göz önüne alınmalıdır (76).

2.2.3.2. Elektriksel İletkenlik

Zeta potansiyelin belirlenmesi kolloidal dispersiyonların saklama esnasındaki kararlılıklarının öngörülmesine olanak sağlamaktadır (11, 13). Zeta potansiyel agregasyonun en önemli nedenlerinden birisidir (77). Yüklü parçacıkların itme kuvvetleri sayesinde parçacıklar yeteri kadar hıza ve kinetik enerjiye sahip olduklarında birbirleri ile çarpışmakta ve agregasyon daha az oluşmaktadır. Zeta potansiyelin azalması fiziksel kararsızlığı da beraberinde getirmektedir (78).

Yapılan çalışmalarda ışık ve ısı etkisinin SLN dispersiyonları üzerindeki etkisi araştırılmış ve yüksek oranda maruz kalmanın zeta potansiyelini ve dolayısıyla formülasyonların kararlılığını azalttığı saptanmıştır (78). Elektriksel iletkenlikte artış olmaması için, NaCl elektrolit bazı olarak ilave edilerek, 50-100 μ S. iletkenlik aralığında sabit potansiyellerin oluşması sağlanabilmektedir. Elektrolit bazın ilavesi, distile sudaki iletkenliğin neden olduğu küçük değişimlerin emülsiyonları etkilememesinin sağlanması ile, çok daha etkili ölçümler gerçekleştirilebilmektedir (73).

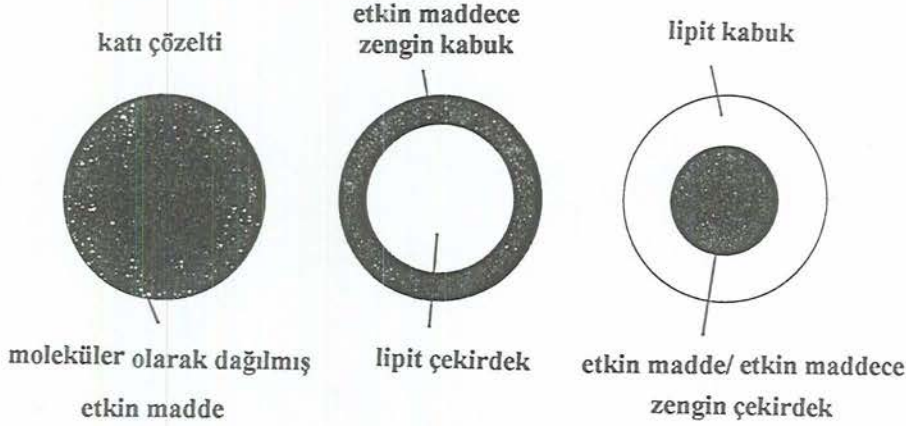
Elektriksel iletkenlikleri, -31--60 mV aralığındaki formülasyonlar orta dereceli, -61--80 mV aralığındaki formülasyonlar iyi ve -81--100 mV aralığındaki formülasyonlar da mükemmel elektrostatik kararlılığa sahip sistemler olarak tanımlanmaktadır (73).

2.2.3.3. Etkin Madde Yüklenmesi

Etkin maddeler, hazırlanan lipit matris içinde katı çözelti halinde homojen olarak dağıtılabilir; lipit kabuk tarafından çevrelenerek çekirdekte yoğunlaşabilir; parçacık yüzeyinde veya parçacık yüzeyine yakın bir yere yerleşebilirler (Şekil 5) (59).

SLN'lerin etkin madde yükleme kapasitesini, etkin maddenin erimiş lipitteki çözünürlüğü veya karışabilirliği, katı lipit matrisin kimyasal ve fiziksel yapısı, lipit maddenin polimorfik durumu ve lipitin konsantrasyonu belirlemektedir (13, 79).

Yapılan çalışmalarda, ubidekarenon etkin maddesi için % 50, tetrakain ve etomidat maddeleri için % 10-20, retinol için % 5, koenzim Q10 için % 20 ve siklosporin için % 20-25 arasında etkin madde yükleme oranları elde edilmiştir (13).



Şekil 5. Katı Lipit Nanopartiküllere Yüklendi Etkin Maddelerin Yerleşim Şekilleri

SLN'lere etkin madde yükleme kapasitesini etkileyen faktörler:

- 1- Etkin maddenin lipitteki çözünürlüğü,
- 2- Etkin madde eriyiği ile lipit eriyiğinin karışabilirliği,
- 3- Katı lipit matrisin kimyasal ve fiziksel yapısı,
- 4- Lipit maddenin polimorfik durumudur (13).

Yüksek etkin madde yüklenmesi istenilen durumlar için etkin maddenin erimiş lipit içersinde çözünürlüğünün yüksek olması gerekmektedir. Ayrıca, lipitin kimyasal yapısı da çok önemli bir etmendir. Yüksek kristal yapılı parçacıklar oluşturan lipitler mükemmel bir kafes oluşturarak etkin maddenin parçacık içine alınmasını engelleyebilmektedirler (13).

2.2.3.4. Tekrar Kristallenme Özellikleri

Parçacık dispersiyonlarının kristallik derecesinin belirlenmesi için diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılmaktadır (50, 80). Etkin maddenin fiziksel durumu ve yerleşimi de DSC ve X-ışını kırınım cihazı ile tespit edilebilmektedir (59).

Erimiş lipitin tekrar kristallenmesi nanopartikülün hazırlanmasının hemen ardından oluşmaz. Basınç altında gerçekleştirilen homojenizasyondan sonraki

tekrar kristallenme hızı, SLN boyutu, erime noktası, yüzey etkin madde ile lipit konsantrasyonunun bir fonksiyonudur. Mikropartiküllerin tersine, tekrar kristalizasyon ve nanokristallerin oluşumunu geciktirmek, parçacık büyüklüğünü azaltarak, lipit miktarını düşürerek ve yüzey etkin madde konsantrasyonunu arttırarak mümkün olabilmektedir (59, 63).

DSC, farklı lipit modifikasyonlarının farklı erime noktası ve erime entalpi değerleri oluşturması esasına dayanılarak kullanılır (11). Lipitin kristal yapısı ve oluşabilecek olası polimorfizm de DSC ile tespit edilebilir (81). Tekrar kristallenmenin belirlenmesi ile hapsedilen etkin maddenin salım profili ve yerleşimi hakkındaki bilgileri öngörmek mümkün olabilmektedir (66).

X-ışını kırınımı ile SLN'lerde oluşacak lipit kafesin kısa ve uzun boşluklarının uzunlukları hesaplanabilmektedir. Olası çözücü artığının farklılıklara neden olmaması için SLN dispersiyonlarının kendi başlarına analiz edilmeleri tavsiye edilmektedir (11, 13). Bu yöntemde, *synchrotron* ışınması ile kolloidal sistemlerin ara durumlarının belirlenmesi ve duyarlılık problemleri ile uzun ölçüm süresi gibi sakıncaların üstesinden gelmek mümkün olmaktadır (11).

Reometre de SLN dispersiyonlarının viskoelastik özelliklerinin belirlenmesinde sınırlı olarak kullanılabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, lipit içerikleri karşılaştırıldığında, SLN dispersiyonlarının emülsiyonlara oranla daha yüksek elastik özellik gösterdikleri saptanmıştır (11).

IR ve Raman spektroskopileri de lipitin özelliklerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Ancak, bu yöntemin SLN dispersiyonlarının karakterizasyonunda kullanılması araştırma konusudur (13).

2.2.4. Katı Lipit Nanopartiküllerin Sterilizasyonu

Sterilizasyon yönteminin formülasyonun özelliklerini değiştirmemesi, fiziksel kararlılığı ve etkin madde salım kinetiklerini etkilememesi gerekmektedir (13). SLN'lerin sterilizasyonu parenteral amaçlı hazırlanan formülasyonlar için gerekli olmaktadır. SLN'lerin aseptik hazırlanabilmelerinin yanısıra, filtrasyon, buhar ve gama ışınları ile sterilize edilmeleri de mümkün olabilmektedir (59, 63).

SLN'lerin filtrasyon ile sterilizasyonlarında yüksek basınç gerekmektedir ve 0.2 μm 'den büyük parçacıklar için uygun bir yöntem değildir. Bu nedenle,

formülasyonlar sıvı haldeyken filtrasyon uygulanmalıdır. Böylece, filtrenin por çapından daha büyük parçacıkların da sterilizasyonu mümkün olmaktadır (13).

Buhar ile sterilizasyon SLN'lerin sterilizasyonunda çoğunlukla tercih edilen yöntemdir. Lipozomların sterilizasyonunda da kullanılan bu yöntemde, sıcaklığa bağlı olarak fiziksel kararlılıkta değişiklikler ve parçacık aglomerasyonu görülebilmektedir. Sterilizasyon 121°C'de 15 dakika süreyle gerçekleştirilirken (11, 61) SLN'ler erimekte ve soğuma esnasında tekrar oluşmaktadırlar (13). Buhar ile sterilizasyonda doğru yüzey etkin madde seçimi önemlidir. Yapılan çalışmalar, ısı ile sterilizasyon sonrası parçacık boyutunda çok az da olsa bir artış olduğunu göstermiştir. Poloxamer® 188 ile kararlı hale getirilen Compritol® SLN'lerin parçacık boyutlarında görülen artış, sterilizasyon sıcaklığının polimerlerin kritik flokülasyon sıcaklığına çok yakın olması nedeniyle olmaktadır. Bu nedenle, Poloxamer® serilerinin kullanıldığı formülasyonların ısı ile sterilize edilmemeleri veya sterilizasyon sıcaklığının azaltılması (örn. 110 °C) ve buna bağlı olarak sterilizasyon süresinin uzatılması gerekmektedir (11, 13). Ayrıca, ısı ile sterilizasyonda, bu tip yüzey etkin maddeler etilen glikol bağlarından su kaybına neden olurlar ve bunun sonucunda koruyucu tabakanın kalınlığı azalır (11).

Isıya duyarlı maddelerin sterilizasyonu için gama ışınları ile sterilizasyon da alternatif bir yöntem olmaktadır (11). Işınlar ile sterilizasyonda gama ışınları yüksek enerjileri nedeniyle serbest radikallerin oluşmasına yol açmaktadır. Bu radikaller de formülasyondaki maddeler ile etkileşerek kimyasal farklılıklara neden olabilmektedir (11, 13).

Kısaca, literatür bilgilerine göre, SLN'ler farmasötik endüstride kullanılan tüm sterilizasyon yöntemleri ile sterilize edilebilirler (13).

2.2.5. Katı Lipit Nanopartiküllerin Kararlılıkları

Kimyasal ve fiziksel kararlılıktan beklentiler, hidroliz gibi parçalanma reaksiyonlarından ve başlangıç parçacık boyutu değişiminden formülasyonu korumak olarak tanımlanabilmektedir (11). Kararlı SLN dispersiyonunun sulu ortamda, saklama süresince, agregatlar oluşmadan dispers halde olması gerekmektedir (67). SLN süspansiyonları üzerinde yapılan çalışmalar, optimum koşullar altında (karanlık, 8°C, 1. kalite cam ve azot gazı altında) 6 aydan 3 yıla

kadar kararlı kalabildiklerini göstermiştir (78, 82). Bazı kozmetik formülasyon içindeki SLN'lerin de kararlılıklarını 6 ay korudukları belirtilmiştir (8, 83).

SLN'lerin kararlılığını, süper soğutulmuş eriyikler olmaları, farklı modifikasyonları ve küresel olmayan şekilleri nedeniyle, diğer kolloidal sistemlerden farklı olarak değerlendirmek gereklidir. Jel yapının oluşması, parçacık boyutundaki artış ve etkin maddenin taşıyıcı lipitten dışarı sızması saklama sırasında karşılaşılan en önemli sorunlardır (11).

Erimiş lipitin, lipit kristaline dönüşmesi parçacık yüzeyinde artışa ve hapsedilme oranında azalmaya neden olarak kararlılık problemlerini arttırmaktadır (11).

Sulu SLN süspansiyonlarına alternatif olarak, kimyasal ve fiziksel kararlılığı arttırmak için kullanılabilen yöntemlerden birisi dondurarak kurutmadır. Katı şekle dönüştürmek formülasyonları Ostwald olgunlaşmasına ve hidrolize karşı korur. Ayrıca, dondurarak kurutma ile, SLN dispersiyonlarının pellet, tablet ve kapsül şeklinde kullanımına olanak sağlanabilmektedir (11).

Dondurarak kurutma sırasında osmolarite ve pH değerlerinde farklılıklar ortaya çıkabilir (13). Tekrar çözünmede ise, parçacık agregasyonu ve parçacık boyutunda artış gözlelenebilmektedir (11, 13). Dondurma sırasında su kristallenirken, çözünmüş haldeki etkin madde konsantrasyonu ötektik karışım düzeyine erişene kadar artar. Bu durumda, ortamda elektrolit varlığı ve zeta potansiyelin azalması agregasyonun en önemli nedenleri olarak kabul edilmektedir (77, 84). Dondurarak kurutmadan sonra parçacıkların tekrar dağıtılması gerektiği durumlarda sorunlar yaşanabilmektedir (63).

Püskürterek kurutma, sulu SLN dispersiyonlarını kuru hale getirmek için kullanılan ve dondurarak kurutmaya oranla daha ucuz bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda, suda tekrar dağıtılabilen SLN'nin i.v. kullanıma uygun dispersiyonları hazırlanabilmiştir. Yine de, yüksek sıcaklık, kayma gerilimi ve kısmi erime parçacık boyutunda artışa neden olabilmektedir (11, 63). Püskürterek kurutma yönteminin 70°C ve üzerindeki lipitler için uygun olduğu belirlenmiştir (11). Püskürterek kurutma sırasında karşılaşılabilecek en büyük sorun SLN dispersiyonunun püskürtme süresi içinde donmasıdır. Toksikolojik açıdan organik çözücü artıklarını ortamdaki uzaklaştıracak *inlet* sıcaklığının yeteri kadar yüksek

bir sıcaklığa erişmesi gerekmektedir. Püskürterek kurutma, ortam sıcaklığının lipitin erime derecesinden daha düşük olduğu sıcaklıklarda mümkün olabilmektedir (85).

Formülasyonlara karbonhidrat eklenmesi ile parçacıkların etrafında şeker tabaka oluşturularak koalesans engellenebilmektedir. Ayrıca, alkol içeren çözeltiler sulu çözeltiler yerine kullanıldıklarında düşük *inlet* değerinin yeterli olması nedeniyle lipitin erime oranı azalmaktadır (85).

2.2.6. Katı Lipit Nanopartiküllerin Toksisitesi

Etkin madde taşıyıcı sistemler için toksisite ve bileşenlerin durumu en önemli konulardır. Bileşenlerin durumu SLN'leri uygulama yoluna bağlı olarak değerlendirilmelidir. Topikal ve oral uygulamalar en problemsiz yollardır. Topikal olarak uygulanan SLN formülasyonlarında tüm krem ve losyon içerikleri kullanılabilir. Oral olarak kullanılan SLN formülasyonlarında da tablet, pellet ve kapsüllerde kullanılan tüm lipid ve yüzey etkin maddeler kullanılabilir. Ayrıca GRAS özellikte veya gıda endüstrisinde kullanılan tüm maddeler ile formülasyon oluşturulabilmektedir (13).

Parenteral olarak kullanılan SLN formülasyonlarında ise durum biraz farklıdır. Bugüne kadar i.v. olarak kullanılan SLN formülasyonu geliştirilememiştir. Parenteral olarak kullanılan preparatların toksikolojik çalışmalarının yapılması zorunludur (13). Ayrıca, bu formülasyonların pirojen madde de içermemeleri gerekmektedir (11). Bu tip formülasyonlarda, i.v. olarak kullanılması onaylanan yüzey etkin maddeler (lesitin, Tween® 80, Poloxamer® 188) yer alabilir (13). Kapiler blokaj nedeniyle, i.v. uygulamada parçacık boyutu da çok önemlidir. İnce kapillerlerin çapı 9 mikron civarındadır. Ancak, bütün parçacıkların boyutunun nanometre aralığında olması istenmektedir (11).

Setil palmitat SLN'lerinin kullanıldığı bir çalışmada, karaciğerde herhangi bir büyümeye yol açılmadığı, histopatolojik incelemeler sonucunda da herhangi kritik bir değer oluşturulmadığı belirlenmiştir (13).

İnsan granülositleri ile yapılan bir çalışma, Poloxamer® 188 ile kararlı hale getirilen Compritol® SLN'leri ile setil palmitat SLN'lerinin fagositoz oranlarının polistiren nanopartiküllerine oranla daha düşük olduğunu göstermiştir (86). Bir

başka çalışmada, Poloxamine® 908 ve Poloxamer® 407 nanopartiküllerinin de polistiren nanopartiküllerine oranla daha düşük fagositoz oranına sahip olduğu gözlenmiştir (87, 88).

2.2.7. Katı Lipit Nanopartiküllerin Topikal Kullanımı

SLN'ler kolloidal etkin madde taşıyıcı sistemler olarak çok geniş kullanım alanına sahiptirler. Oral, parenteral kullanım çalışmalarının yanısıra topikal kullanımları araştırılmaktadır (89).

SLN'ler yakın bir zamanda farmasötik ve kozmetik amaçlı etkin maddeler için topikal taşıyıcı sistem olarak tanımlanmıştır (1, 7). SLN'ler küçük parçacık boyutları sayesinde cilt yüzeyinde ince tabaka oluştururlar ve bu tabaka sonucu cilt yüzeyindeki nem miktarı artarak etkin madde penetrasyonu ve etkinliği artar (7, 8, 10, 84, 90).

Sulu SLN dispersiyonları topikal amaçlı kullanılmak üzere, çoğunlukla jel veya krem gibi formülasyonların bünyesinde kullanılmışlardır. Ancak, bu sistemlerde düşük SLN yükleme kapasitesi ve olası geçimsizlikler söz konusu olmaktadır (7, 84, 91). Ayrıca, lipit yapıda oluşan farklılıkların, SLN sistemlerin saklanması sırasında, lipit matristen etkin maddenin açığa çıkmasına neden olduğu belirtilmektedir (92). Topikal formülasyonlarda bu durum iki şekilde önlenebilmektedir:

- 1- SLN dispersiyonlarının krem formülasyonlarına eklenmesi (92, 93),
- 2- Katı ve sıvı lipitlerin bir arada kullanılarak kontrollü nano-yapıda lipit matris oluşturulması (92).

Sıvı lipit eklenmesi, kristal lipit yapının mükemmelliğini bozarak, etkin maddenin moleküler veya amorf şekilde bulunabileceği bölgeler oluşturabilmesine olanak sağlamasının yanısıra, birçok etkin maddenin sıvı lipitlerdeki çözünürlüklerinin fazla olması nedenleri ile tercih edilmektedir (92).

SLN'ler, katı lipit yapıları sayesinde kimyasal kararlılık problemi olan maddelerin formülasyonuna olanak sağlar. Bu durum, kozmetik endüstride kullanılan hidrofilik veya hidrofobik birçok değerli fakat kararsız maddenin formüle edilebilmesi anlamına gelmektedir (8-10).

Yapılan bir çalışmada, Chanel firmasının ürettiği Allure® adlı parfüm SLN'ler ile formüle edilmiş ve tabaka oluşumuna bağlı olarak emülsiyon

sistemlere oranla uzatılmış etkili salım profili belirlenmiştir (94). Diğer bir çalışmada ise, kozmetik formülasyonlarda böcek kovucu olarak kullanılan limon yağı maddesi katı lipit nanopartiküllere hapsedilerek formüle edilmiştir. Yapılan çalışmalar, klasik emülsiyonlara oranla SLN formülasyonlarının % 50 daha az etkin madde kaybına neden olduğunu göstermiştir. Ciltte oluşturdıkları ince tabaka sonucu SLN formülasyonlarından uzatılmış etkili salım gerçekleşmiştir (95).

Ozon tabakasının giderek artan bir hızla incelmesi ve buna bağlı olarak kanser vakalarındaki artış, güneş ışını filtre edici maddelerin formülasyonlarının geliştirmesini zorunlu hale getirmiştir (1, 2, 13). Kullanılan çoğu sistemlerden güneş ışını filtre edici maddelerin cilde penetre olarak yan etkiler oluşturmaları yeni sistemlere olan gereksinimi bir kez daha kanıtlamıştır (2).

Etkin madde yüklenmemiş SLN'lerin beyaz renklerinden dolayı pigment etkisi yarattıkları saptanmıştır (5, 9). Bu nedenle, kozmetik ürünlerin görünümünün değiştirilmesinde de kullanılabilmektedirler (9). Bunun yanı sıra, SLN'lerin kristal yapıları nedeniyle fiziksel güneş ışını filtre edici maddeler (örn. titanyum dioksit) gibi güneş ışınlarını yansıtıcı ve dağıtıcı etkilerinin saptanması ile, bu taşıyıcı sistemlerin güneş preparatlarının formülasyonuna girmeleri gündeme gelmiştir (1-3, 11-13). Yapılan çalışmalarda, parçacık yapıları sayesinde diğer taşıyıcı sistemlerden daha etkili koruma sağladıkları belirlenmiştir. Ayrıca, SLN'ler ile formüle edilen güneş ışını filtre edici preparatların UV ışınlarına karşı sinerjik koruma etkisi sağladıkları saptanmıştır (1, 2, 5).

SLN'ler, ayrıca, yüksek konsantrasyonda iritan olan maddeler ve moleküler güneş ışını filtre edici maddeler için kontrollü salım sağlayan etkin taşıyıcı sistem olarak da birçok üstünlük sunmaktadır (2, 3, 12).

Yapılan bir çalışmada, retinol hapsedilmiş SLN içeren krem ile yalnızca retinol içeren krem karşılaştırılmıştır. Cilt esnekliği, nem miktarı ve cilt düzgünlüğü etkileri karşılaştırıldığında, retinol hapsedilmiş SLN formülasyonunun daha olumlu sonuçlar verdiği ortaya çıkmıştır (13).

Bu sayede ciddi yan etkiler oluşturabilen güneş ışını filtre edici maddelerin, güneşten koruma faktörü değiştirilmeden, konsantrasyonlarının

azaltılması ile daha etkili ve daha güvenli formülasyonların hazırlanması mümkün olabilecektir (1-3, 12).

2.2. TİTANYUM DİOKSİT

2.2.1. Kimyasal Yapısı ve Fiziksel Özellikleri

TiO₂ molekül formülü ile ifade edilen titanyum dioksit, 79.87 g molekül ağırlığına sahip, beyaz toz yapısında bir maddedir (96). Kokusuzdur. 1855 °C erime noktasına sahip maddenin 'rutile', 'anatase' ve 'brookite' olmak üzere üç farklı yapısı tanımlanmaktadır (97).

Pratik olarak, suda, hidroklorik asitte, nitrik asitte, seyreltik mineral asitlerde, organik çözücülerde çözünmemekte; sıcak sülfürik asitte yavaş, hidroflorik asitte kolayca çözünmektedir (97, 98).

Beyaz pigmentlerden en önemlisi olarak tanımlanan titanyum dioksit'in kırılma indisi 2.52-2.71 arasında, yapısına bağlı olarak değişmektedir. Tetragonal kristal yapısına sahip maddenin % 5'lik dispersiyonunun pH değeri 3-7.5 arasında değerler alabilmektedir (35).

Titanyum dioksit'in belirtilen herhangi bir karsinogenik etkisi bulunmamakta, yalnızca inhalasyon ile çok düşük sağlık riski oluşturmaktadır. Göze temasta ise mekanik irritasyona neden olabilmektedir. Belirtilen oral LD₅₀ değeri fareler için 7.5 mg.kg⁻¹ olarak belirtilmiştir (99).

Parçacık boyutunun 30-50 nm aralığına inmesi sonucu çok düşük yoğunluğu ve mükemmel dağıtılabilirliği ile kullanım alanı bir hayli genişlemiştir. Küçük boyutu, örtücü ve renklendirme özelliklerinin azalmasına neden olmuş, ancak yüksek ısı ve ışık kararlılığı gibi üstünlükler de sağlamıştır (35).

2.2.2. Güneş Işını Filtre Edici Özelliği

Kimyasal olarak güneş ışını filtre edici maddelerin yan etkileri nedeniyle, formülasyonlarda fiziksel olarak güneş ışını filtre edici maddelerin kullanımı gündeme gelmektedir. Titanyum dioksit, bilinen en iyi UV filtresi olarak tanımlanmaktadır (14). Yüksek güneşten koruma faktörü istenen formülasyonlar için çok uygun bir madde olarak kabul edilmektedir (15). İnorganik ve inert yapısı sayesinde formülasyonlarındaki herhangi bir madde ile reaksiyona girmemektedir. Bu nedenle de alerjik reaksiyonların oluşması söz konusu olmamaktadır (16).

Yüksek kararlılığı ile, diğer maddeler gibi ışık etkisi ile bozunmaması, güneşten koruyucu formülasyonlarda kullanımını bir hayli arttırmıştır (16).

Kararlılığını daha da arttırmak için 'anatase' yapı yerine 'rutile' yapı parçacıklar üretilmektedir. Ayrıca, parçacık yüzeyleri SiO₂ veya Al₂O₃ gibi maddeler ile kaplanarak, organik ve sulu çözeltilerdeki dağılımları oldukça kolaylaşmıştır (15).

Küçük boyutları sayesinde saydam formülasyonların hazırlanmasına olanak sağlayarak birçok kozmetik preparata eklenmektedir (35).

UV ışınlarını dağıtarak etki göstermesinin yanı sıra, küçülen parçacık boyutu ile ışınları emerek de etki gösterdiği araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, UVA, UVB ve hatta görünür bölgede de etkili olduğu görülmüştür (100). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, titanyum dioksit parçacıklarının, UV kaynaklı immünosüpresyona engel oldukları saptanmıştır (101).

Çoğunlukla, emilen ışın nedeniyle, titanyum dioksit'in yapısındaki elektronlar valans banttan (vb) iletim banda (cb) geçiş yapabilmektedir. Quantum teorisine göre:

$$\lambda = \frac{hc}{E}$$

λ = Dalga Boyu

h = Planck Sabiti

C = Işık Hızı

E = Enerji

385-405 nm' den daha düşük dalga boyuna sahip ışınların emilimi mümkün olmaktadır. Bu aralığın dışında kalan, daha uzun dalga boylu ışınlar, emilim yerine dağıtılarak engellenmektedirler (15). Titanyum dioksit parçacıklarında, elektronların etkilenip daha sonra eski enerji düzeylerine dönmeleri, 10⁻⁶- 10⁻¹¹ s gibi kısa bir sürede gerçekleşmektedir (15, 100). Su içeren formülasyonlarda, ayrıldıkları enerji düzeyinde "+" yüklü boşluklar bırakan elektronlar, "-" yükleri nedeniyle oksijen ile; "+" yüklü boşluklar ise hidroksil iyonları ile etkileşerek süperoksit ve hidroksil radikallerini oluşturmaktadır (100).

2.2.3. Formülasyonu

Fiziksel olarak güneş ışını filtre edici maddelerin taşıyıcı sistemleri teknik ve ticari birçok faktörden etkilenecek belirlenmektedir. Bu sistemlerden en yaygın kullanılanı emülsiyonlardır. 2-30 faktörlü güneşten korunma sağlanabilmektedir. Titanyum dioksit'in hem hidrofilik hem lipofilik yapıda üretilebilmesi ile, hem s/y hem de y/s tipi emülsiyon sistemlerini oluşturmak mümkün olmaktadır. Su varlığından ötürü düşük maliyetli sistemlerdir. Kararlılıklarını sağlamak, partiküler maddelerin de formülasyona katılması ile daha da zorlaşmaktadır (15).

Yağ çözeltilerinin kararlılıkları oldukça yüksektir. Düşük yan etkileri ve kolay uygulanabilmelerine karşın, yağın cilt yüzeyindeki boşluklarda birikmesi nedeni ile homojen dağılım elde edilememektedir (15).

Jel yapılı formülasyonlar ile saydam formülasyonlar hazırlanabilmesine karşın etkinlikleri düşük olmaktadır (15).

Titanyum dioksit'in formülasyonlardan cilde penetrasyonu iki şekilde gerçekleşmektedir:

- 1- Transepidermal hücreler arası yoldan,
- 2- Porlar veya saç folikülleri yardımı ile.

Araştırmalar, çok ufak boyutlu titanyum dioksitin daha çok sebum yağları ve saç folikülleri yardımıyla cilde penetre olduğunu göstermiştir (14).

Titanyum dioksit formülasyonları, CMC eklenmesi ile azalan penetrasyon ve sedimentasyon oranları ile daha kararlı hale getirilebilmektedirler. Ayrıca, silikon yağlarının eklenmesi de formülasyonların cilde uygulanmasını oldukça kolaylaştırmaktadır (14).

Titanyum dioksit tek başına formüle edilebildiği gibi, çeşitli kimyasal olarak güneş ışını filtre edici maddeler ile birlikte de formüle edilebilmektedir. Bu sistemlerde, sinerjik etkiden dolayı beklenen koruma faktöründen çok daha yüksek koruma elde edilebilmektedir (15).

Formülasyonlarda oluşabilecek aglomerasyonun önlenmesi, ortamın yük dengesine bağlı olmaktadır. Her parçacığın yüksüz olduğu bir pH bulunmaktadır. Bu nedenle, sonuç yükünü ortamın pH'sı belirlemektedir (15).

2.2.4. Tanınması ve Miktar Tayini

2.2.4.1. Tanınması

500 mg titanyum dioksit üzerine 5 mL sülfürik asit eklenerek hafifçe ısıtılır. Sülfür trioksit buharının çıkmaya başlamasından sonra 10 saniye daha ısıtılmaya devam edilir. Süspansiyon soğutulur ve 100 mL'ye distile su ile dikkatlice seyreltilir ve süzülür. Süzüntünün 5 mL'si üzerine birkaç damla hidrojen peroksit TS damlatılır. Aniden, sarı- kırmızıdan turuncu- kırmızıya bir renk değişimi gözlenir (96).

2.2.4.2. Miktar Tayini

Yaklaşık 300 mg tam tartılmış titanyum dioksit 250 mL'lik behere aktarılır. Üzerine 20 mL sülfürik asit ve 7-8 g amonyum sülfat eklenir. Karışım, sülfür trioksit buharı oluşana dek karıştırılarak ısıtılır. Isıtmaya yüksek alevde, çözelti tam olarak oluşana veya silisli çözünmemiş maddelerin varlığında çözelti görüntüsü oluşana dek devam edilir. Karışım soğutulur. 100 mL su ile dikkatlice seyreltilir. Kaynayınca dek karıştırılarak dikkatlice ısıtılır ve çözünmemiş maddelerin çökmesi sağlanır. Karışım filtre ile süzülür ve filtre 2 N soğuk sülfürik asit ile yıkanır. Süzüntü 200 mL'ye su ile seyreltilir ve 10 mL amonyum hidroksit dikkatle sisteme eklenir. 25 cm Jones redüktör tüpü içersinde, tüpün alt kısmına cam yünü konularak, çinko amalgam kolonu hazırlanır. Kolona doldurulan çinko amalgamın hazırlanışı şu şekildedir. 20-30 mesh çinko, civa klorür çözeltisine 1/50 oranında eklenir, her 100 g çinko için 100 mL çözelti gerekir. 10 dakika sonra çözelti çinko üzerinden alınır. Çinko amalgam kolonu 100 mL, 2 N sülfürik asit ile, 1 damla 0.1 N potasyum permanganat'ın rengini değiştirmeyene dek porsiyonlar halinde yıkanır. 50 mL demir amonyum sülfat TS, 1000 mL'lik vakum erlene alınarak, 0.1 N potasyum permanganat, açık pembe renk 5 dakika sabit kalıncaya kadar eklenir. Jones redüktör tüpü erlenin boynuna yerleştirilir. Kolondan 2 N, 50 mL sülfürik asit 30 mL.dak⁻¹ hızda geçirilir. Hazırlanan titanyum çözeltisi de aynı hızda kolondan geçirilir. Filtrat hemen 0.1 N potasyum permanganat VS ile titre edilir. 0.1 N potasyum permanganatın her mililitresi 7.988 mg titanyum dioksite karşılık gelmektedir (96).

Bir diğer yöntemde, titanyum içi boş katot lamba kullanılarak Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (AAS) ile analizler gerçekleştirilmektedir (14).

Birçok çalışmada kullanılan bu yöntemde, titanyum dioksit içeren formülasyon, sülfürik asit ile amonyum sülfatın kaynama noktasında karıştırılması ile oluşan karışımda çözündürüldükten sonra grafit fırına enjekte edilir (46). İlk örnek kurutulur. 1300°C’ de pirolize edilmesinin ardından, titanyum dioksit 2600 °C’de atomize edilerek miktar tayini gerçekleştirilir (14).

2.2.5. Diğer Farmakolojik ve Kimyasal Özellikleri

Titanyum dioksit’in ‘*rutile*’ yapısı seramik boyaları için uygun bir renklendirici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, gıda endüstrisinde boya maddesi olarak da tercih edilmektedir. ‘*Anatase*’ yapısı da, yine özellikle beyaz boyalarda, su bazlı boyalarda, plastiklerde, kağıt üretiminde, ayakkabı beyazlatıcılarında ve seramiklerde kullanılmaktadır (97).

Titanyum dioksit, farmasötik amaçla, sert jelatin kapsül hazırlanmasında ve tabletlerin dış yüzeylerinin kaplanması amacıyla kullanılmaktadır (98). Ayrıca, fotobakterisit olarak kullanıldığı belirtilmiştir (102).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Maddeler

Aseton	Merck	Almanya
Dynasan® 116 (Palmitik asit trigliserit)	Sasol	Almanya
Miglyol® 812 (Kaprilik/Kaprik trigliserit)	Beiersdorf	Almanya
Myritol® 331 (Kokogliserit)	Henkel	Almanya
Titanyum Dioksit	Whittaker	ABD
Tyloxapol®	Sigma-Aldrich	Almanya
(Formaldehit ve oksiran ile 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol polimeri)		

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi	Perkin Elmer 5100
Diferansiyel Taramalı Kalorimetre	Mettler Toledo DSC 821
Erime Derecesi Tayin Cihazı	Electrothermal 9100
Foton Korelasyon Spektroskopisi	Zetasizer 4 Malvern
Hassas Terazisi	Mettler AT 200
Homojenizatör	Micron Lab 40
Işık Mikroskobu	Orthoplan CF 20 DX
İletkenlik Ölçer	LF 532 WTW Tetracon 96
Lazer Kırınım Cihazı	Coulter LS 230
Manyetik Isıtmalı Karıştırıcı	Ikamag RCT
Ultrasonik Banyo	Elma Transsonic 470/H
Ultraturraks	Janke& Kunkel T 25
	IKA Labortechnik
Ultraviyole Lamba	Heimsonne Q 17
Ultraviyole Spektrofotometre	Uvikon 940
Yağ Analiz Cihazı	Fas-2
Yatay Çalkalayıcı	Bandelin Sonorex RK 100H
Zeta Potansiyel Ölçüm Cihazı	Zetasizer 4 Malvern

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Çalışılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1. Titanyum Dioksit ile Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1.1. Parçacık Boyutu Analizi

3.2.1.1.1.1. Foton Korelasyon Spektroskopisi

Titanyum dioksit'in % 3'lük yüzey etkin madde (Tyloxapol®) çözeltisi içerisindeki % 1'lik süspansiyonunun parçacık boyutu analizi foton korelasyon spektroskopisi cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1.1.2. Lazer Kırınım Cihazı

Titanyum dioksit'in % 3'lük yüzey etkin madde çözeltisi içerisindeki % 1'lik süspansiyonunun parçacık boyutu analizi lazer kırınım cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1.2. Parçacık Şekli Analizi

3.2.1.1.2.1. Işık Mikroskobu

Titanyum dioksit'in % 3'lük yüzey etkin madde çözeltisi içerisindeki % 1'lik süspansiyonunun parçacık şekli analizi ışık mikroskobu yardımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.2. Dynasan® 116 ile Yapılan Çalışmalar

3.2.1.2.1. Erime Derecesi Tayini

3.2.1.2.1.1. Erime Derecesi Tayin Cihazı

Dynasan® 116'nın erime derecesi tayini, kılcal tüp içerisinde erime derecesi tayin cihazı ile gerçekleştirilmiştir. İşlem 3 kez tekrarlanmıştır.

3.2.1.2.1.2. Termal Analiz

Dynasan® 116'nın erime derecesi tayini diferansiyel taramalı kalorimetre ile gerçekleştirilmiştir. Boş alüminyum referansa karşı 10^{-4} duyarlılıkta ~ 2 mg lipid alınmış ve basınç yardımıyla sıkıca kapatılmış alüminyum örnek kabında, 200 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 5 K.dk⁻¹ ısı artışı ve 5 K.dk⁻¹ soğutma hızı ile 25-85°C aralığında analizi yapılmıştır. Soğutma işlemi sıvı azot altında gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan Çalışmalar

3.2.2.1. Formülasyonları

Katı lipit nanopartiküllerin hazırlanmasında sıcak homojenizasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde kullanılan parametreler Çizelge 2’de özetlenmiştir.

Çizelge 2. Sıcak Homojenizasyon Tekniğinde Kullanılan Parametreler

<u>Parametre</u>	<u>Denev Koşulları</u>
Etkin Madde	TiO ₂ (% 1, % 4)
Katı Lipit	Dynasan® 116 (% 10, % 20)
Sıvı Lipit	Miglyol® 812 (% 10, % 20)
Yüzey etkin madde	Tyloxapol® (% 3)
Yardımcı madde	Myritol® 331 (% 1, % 5)
Çözünme sıcaklığı	85°C, 95°C
Çözünmede karıştırma hızı	8000 rpm
Karıştırma süresi	1 dakika
Karıştırma yöntemi	Ultraturraks (UT)
Homojenizasyon sayısı	1 ve/veya 3 (C1, C3)
Saklama koşulları	20°C, 40°C, 4°C

3.2.2.2. Formülasyonların Hazırlanışları

3.2.2.2.1. Yöntem A

3.2.2.2.1.1. Yöntem A ile Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanışı

Titanyum dioksit 85°C veya 95°C’deki erimiş Dynasan® 116 içersine eklenmiştir. Erimiş lipit, aynı sıcaklığa getirilen yüzey etkin madde çözeltisine eklenmiş ve karışım 8000 rpm’de ultraturraks ile 1 dakika süresince karıştırılmıştır. Bu karışımdan bir miktar örnek (UT) analizler için alınmıştır. Daha sonra, karışım 85°C veya 95°C’ye kadar tekrar ısıtılarak aynı sıcaklığa ayarlanan homojenizatöre alınarak 500 bar basınç ile homojenize edilmiştir. Bir kez homojenize edilen (C1) bu karışımdan da yine bir miktar örnek alınmıştır. (UT ve C1 örnekleri yalnızca A, B, C, D formülasyonlarından alınmıştır.) Kalan karışım iki defa daha homojenize edilerek (C3) üç ayrı sıcaklıkta saklanmak üzere flakonlara alınmıştır. Homojenizasyon basamakları arasında karışımın sıcaklığının 85°C veya 95°C’de olduğu kontrol edilerek üretim gerçekleştirilmiştir.

Myritol® 331 içeren formülasyonlarda, Myritol® 331 erimiş lipid fazına eklenerek formülasyonlar hazırlanmıştır. Bu formülasyonlar ve üretim sıcaklıkları Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Yöntem A ile Hazırlanan Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonları

Kod	Dynasan® 116 (%)	TiO ₂ (%)	Myritol® 331 (%)	Tyloxapol® (%)	Distile Su (%)	Üretim Sıcaklığı (°C)
A	20	-	-	3	77	85
B	20	-	5	3	72	85
C	20	1	-	3	76	85
D	20	1	5	3	71	85
1	20	4	-	3	73	95
2	20	4	5	3	68	95
5	20	-	-	3	77	95
6	20	-	5	3	72	95

3.2.2.2.1.2. Yöntem A ile Klasik Emülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanışı

Titanyum dioksit 95°C'deki Miglyol® 812 içersine eklenmiştir. Karışım aynı sıcaklığa getirilen yüzey etkin madde çözeltisine eklenmiş ve 8000 rpm'de ultraturraks ile 1 dakika süresince karıştırılmıştır. Karışım sıcaklığı 95°C'ye kadar tekrar ısıtılarak aynı sıcaklığa ayarlanan homojenizatörde, 500 bar basınç ile üç kez homojenize edilmiştir. Hazırlanan emülsiyon üç ayrı sıcaklıkta saklanmak üzere flakonlara alınmıştır. Homojenizasyon basamakları arasında karışımın sıcaklığının 95°C'de olduğu kontrol edilerek üretim gerçekleştirilmiştir. Myritol® 331 içeren formülasyonlarda, Myritol® 331 sıcak lipid fazına eklenerek formülasyonlar hazırlanmıştır. Bu formülasyonlar Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Yöntem A ile Hazırlanan Klasik Emülsiyon Formülasyonları

Kod	Miglyol® 812 (%)	TiO ₂ (%)	Myritol® 331 (%)	Tyloxapol® (%)	Distile Su (%)	Üretim Sıcaklığı (°C)
3	20	4	-	3	73	95
4	20	4	5	3	68	95
7	20	-	-	3	77	95
8	20	-	5	3	72	95

3.2.2.2.2. Yöntem B

95°C'ye ısıtılan Dynasan® 116 yine aynı sıcaklıktaki yüzey etkin madde çözeltisine eklenmiştir. Ultraturaks ile 8000 rpm'de 1 dakika karıştırılmıştır. Karışım, 95°C'deki homojenizatörde 500 bar basınç yardımıyla homojenize edilmiştir. Bir kez homojenize edilen karışıma etkin madde (titanyum dioksit) eklenerek tekrar ultraturaks ile 8000 rpm'de 1 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 95°C'de iki kez daha homojenize edilmiş (C3) ve üç ayrı flakona paylaştırılarak üç ayrı ortamda saklanmıştır. Homojenizasyon basamakları arasında karışımın sıcaklığının 95°C'de olduğu kontrol edilmiştir. Myritol® 331 içeren formülasyonlarda, Myritol® 331 erimiş lipid fazına eklenerek formülasyonlar hazırlanmıştır. Bu yöntem ile hazırlanan formülasyonlar Çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 4. Yöntem B ile Hazırlanan Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonları

Kod	Dynasan® 116 (%)	TiO ₂ (%)	Myritol® 331 (%)	Tyloxapol® (%)	Distile Su (%)	Üretim Sıcaklığı (°C)
XC	20	1	-	3	76	95
XD	20	1	1	3	75	95
X1	20	4	-	3	73	95
X2	20	4	1	3	72	95

3.2.2.2.3. Yöntem C

Hibrit katı lipid nanopartiküllerin elde edildiği bu yöntemde katı ve sıvı lipid birarada kullanılmıştır. 95°C'de erimiş Dynasan® 116 aynı sıcaklıktaki yüzey etkin madde çözeltisine eklenmiştir. Ultraturaks ile 8000 rpm'de 1 dakika karıştırılan bu karışıma aynı sıcaklıktaki sıvı lipid (Miglyol® 812) eklenerek, yine ultraturaks ile 1 dakika boyunca 8000 rpm'de karıştırılarak homojen bir dağılım sağlanmıştır. Karışım, 95°C'deki homojenizatörde 500 bar basınç yardımıyla homojenize edilmiştir. Bir kez homojenize edilen karışıma etkin madde (titanyum dioksit) eklenerek 1 dakika süresince 8000 rpm'de ultraturaks ile karıştırılarak etkin maddenin homojen olarak dağıtılması sağlanmıştır. Karışım 95°C'de iki defa daha homojenize edilerek (C3) üç farklı sıcaklıkta saklanmak üzere flakonlara alınmıştır. Hazırlanan formülasyonlar Çizelge 5'de özetlenmiştir.

Çizelge 5. Yöntem C ile Hazırlanan Hibrit Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonları

Kod	Dynasan® 116 (%)	Miglyol® 812 (%)	TiO ₂ (%)	Myritol® 331 (%)	Tyloxapol® (%)	Distile Su (%)	Üretim Sıcaklığı (°C)
YC	10	10	1	-	3	76	95
YD	10	10	1	1	3	75	95
Y1	10	10	4	-	3	73	95
Y2	10	10	4	1	3	72	95

3.2.3. Katı Lipit Nanopartiküllerin Özelliklerine Ait Çalışmalar

3.2.3.1. Parçacık Boyutu Analizleri

3.2.3.1.1. Foton Korelasyon Spektroskopisi

Katı lipit nanopartiküllerin parçacık boyutları ve polidisperslik indisi verileri, dispersiyonların foton korelasyon spektroskopisi cihazı yardımıyla analizleri sonucunda elde edilmiştir.

Formülasyonların distile sudaki dispersiyonları ultrasonik banyoda 3-5 dakika çalkalanması ile hazırlanmıştır.

Her üç koşulda saklanan tüm formülasyonların, 0., 1., 7., 14., 28. ve bazı formülasyonlar için 60. gün ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.1.2. Lazer Kırınım Cihazı

Katı lipit nanopartiküllerin ultrasonik banyo yardımıyla 3-5 dakika distile suda çalkalanması ile dağıtılan formülasyonlarının parçacık boyutu ölçümleri lazer kırınım cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, her üç koşulda saklanan formülasyonlar için 0., 1., 7., 14., 28. ve bazı formülasyonlar da 60. günlerde yapılmıştır.

3.2.3.2. Parçacık Şekli Analizi

3.2.3.2.1. Işık Mikroskobu

Katı lipit nanopartiküllerinin parçacık şekilleri ışık mikroskobu kullanılarak üç ayrı mercek (40X, 63X, 100X) yardımıyla saptanmıştır. Merceklerin 1-2.5 µm aralığındaki parçacıkların ölçümüne olanak sağladığı bu işlemde, 100X mercek kullanıldığında immersiyon yağı tekniği kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.3. Elektriksel İletkenlik

Katı lipid nanopartiküllerinin elektriksel iletkenlikleri Zetasizer 4 cihazı (foton korelasyon spektroskopisi) yardımıyla belirlenmiştir. Elektriksel iletkenlikte artış olmaması için, NaCl elektroliti baz olarak eklenerek, 50-100 μS iletkenlik aralığında sabit potansiyellerin oluşması sağlanabilmektedir. Elektrolit bazın eklenmesiyle, distile sudaki iletkenliğin neden olduğu küçük değişimlerin emülsiyonları etkilememesinin sağlanması sonucu, çok daha etkili ölçümler gerçekleştirilebilmektedir (73). Bu çalışma referans alınarak, formülasyonların 50 μS iletkenliğe NaCl ile ayarlanmış distile suda dağıtılmasının ardından ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.4. pH Analizi

Formülasyonların 50 μS iletkenliğe NaCl ile ayarlanmış distile sudaki dispersiyonlarının pH değerleri de pH Metre yardımıyla kaydedilmiştir.

3.2.3.5. Termal Analizleri

Basınç yardımıyla sıkıca kapatılan alüminyum örnek kabında 10^{-4} duyarlılıkla ~ 10 mg tartılan örneklerin, boş alüminyum referansa karşı 200 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 5 K.dk⁻¹ ısı artışı ve yine 5 K.dk⁻¹ soğuma hızı ile 25-85°C aralığında analizleri gerçekleştirilmiştir. Soğutma işlemi sıvı azot altında gerçekleştirilmiştir.

Her üç koşulda saklanan tüm formülasyonlar için termal analiz 1., 7., 14., 28. ve bazı formülasyonlar için 60. günde, diferansiyel taramalı kalorimetre cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.6. Miktar Tayini

Etkin madde olarak SLN'lere yüklenen titanyum dioksit miktar tayini, Bölüm 2.2.4.2.'de anlatıldığı şekilde, atomik absorpsiyon spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizler, taşıyıcı azot oksit gazı yerine asetilen gazı yardımıyla, Perkin Elmer 5100 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan *In Vitro* Çalışmalar

Formülasyon içindeki güneş ışını filtre edici maddelerin güneşten koruyucu özellikleri, *in vitro* olarak, iki şekilde belirlenmiştir:

3.2.4.1. *TransporeTM* Test

Kuvartz UV küvetleri üzerine yapıştırılan *TransporeTM* bandının üzerine 4 mg örnek düzgün bir şekilde sürülmüştür. 15 dakika kurumaya bırakılan örneklerin, boş *TransporeTM* bandı yapıştırılmış referansa karşı, 280-450 nm aralığında çift ışınlı UV spektrofotometresi kullanılarak spektrumları alınmıştır. Her  rnek için işlem üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.4.2. *Sun To SeeTM* Test

100 mg örnek, 3.8 cm² olan bant yüzeyine düzgün bir şekilde sürülmüştür. UV lambası altında, 90 dakika boyunca 30 cm uzaklıktan UV ışınlarına maruz bırakılmıştır. 90 dakikanın sonunda formülasyon artıkları temizlenen bantlar 2 mL asetonda yatay çalkalayıcı yardımıyla çözündürülerek 603 nm’de absorbanları bulunmuştır. Referans da dahil olmak üzere her örnek için işlem üç kez tekrarlanmıştır.

4. SONUÇ ve TARTIŞMA

4.1. SONUÇLAR

4.1.1. Çalışılan Maddeler ile Yapılan Çalışmalara Ait Sonuçlar

4.1.1.1. Titanyum Dioksit ile Yapılan Çalışmalara Ait Sonuçlar

4.1.1.1.1. Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

4.1.1.1.1.1. Foton Korelasyon Spektroskopisi

Foton korelasyon spektroskopisi cihazı ile gerçekleştirilmiş titanyum dioksit'in % 3'lük yüzey etkin madde çözeltisi içerisindeki % 1'lik süspansiyonunun ortalama parçacık çapı, üç ölçümün ortalaması olarak, 674.2 ± 9.12 nm ve polidisperslik indisi (PI) de 0.309 ± 0.008 olarak bulunmuştur.

4.1.1.1.1.2. Lazer Kırınım Cihazı

Titanyum dioksit'in % 3'lük yüzey etkin madde çözeltisi içerisindeki % 1'lik süspansiyonunun parçacık boyutu dağılımının lazer kırınım cihazı analiz verileri Çizelge 6'da verilmiştir.

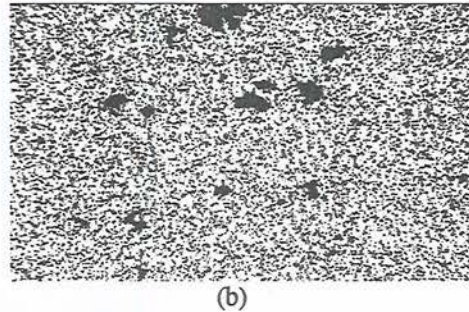
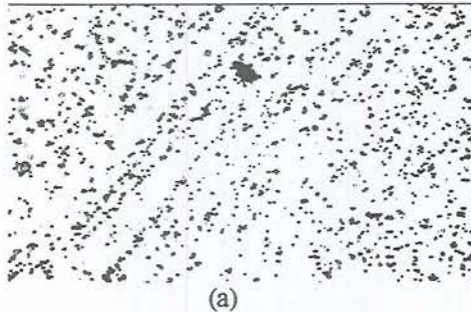
Çizelge 6. Titanyum Dioksit Süspansiyonunun Lazer Kırınım Cihazı Analiz Verileri

% Hacim	1. Ölçüm (μm)	2. Ölçüm (μm)	3. Ölçüm (μm)	Ortalama (μm) $\pm$ SH
% 50	0.241	0.211	0.209	0.220 ± 0.010
% 90	0.580	0.578	0.567	0.575 ± 0.004
% 95	0.612	0.610	0.602	0.608 ± 0.003
% 99	0.677	0.643	0.621	0.647 ± 0.016

4.1.1.1.2. Parçacık Şekli Analiz Sonuçları

4.1.1.1.2.1. Işık Mikroskobu

Titanyum dioksit'in % 3'lük yüzey etkin madde çözeltisi içerisindeki % 1'lik süspansiyonunun parçacık şekli analizi ışık mikroskobu yardımı ile gerçekleştirilmiş, sonuçlar Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Işık Mikroskobunda 63X (a) ve 40X (b) Mercekleri Kullanıldığında Titanyum Dioksit Süspansiyonunun Görünümleri.

4.1.1.2. Dynasan® 116 ile Yapılan Çalışmalara Ait Sonuçlar

4.1.1.2.1. Erime Derecesi Tayini

4.1.1.2.1.1. Erime Derecesi Tayin Cihazı

Dynasan® 116'nın erime derecesi 63°C olarak bulunmuştur. (n=3)

4.1.1.2.1.2. Termal Analiz

Dynasan® 116'nın erime derecesi tayini, diferansiyel taramalı kalorimetre ile ölçüldüğünde 63.62°C olarak bulunmuştur.

4.1.1.3. Katı Lipit Nanopartiküllerin Özelliklerine Ait Çalışma Sonuçları

4.1.1.3.1. Parçacık Boyutu Analiz Sonuçları

4.1.1.3.1.1. Foton Korelasyon Spektroskopisi

Hazırlanan katı lipit nanopartiküllerin parçacık boyutu verileri ve polidisperslik indisleri formülasyonların foton korelasyon spektroskopisi cihazında analizleri sonucunda elde edilmiştir. Parçacık boyut verileri (y_1 eksen), Şekil 7.1-7.5'de, homojenizasyon sayısı ve saklama sıcaklıkları (x eksen) ile ilişkili olarak, polidisperslik indisleri (y_2 eksen) ile birlikte gösterilmiştir.

4.1.1.3.1.2. Lazer Kırınım Cihazı

Katı lipit nanopartiküllerin parçacık boyutu analizleri lazer kırınım cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Çizelge 7'de saklama sıcaklığı ve süresi ile bağlantılı olarak verilmiştir.

4.1.1.3.2. Parçacık Şekli Analiz Sonuçları

4.1.1.3.2.1. Işık Mikroskobu

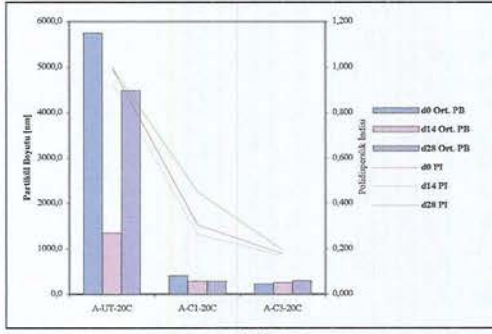
Katı lipit nanopartiküllerin parçacık şekilleri ışık mikroskobu yardımıyla analiz edilmiştir. Mikroskop altında çekilen fotoğraflar Şekil 8.1-8.3'de sunulmuştur.

4.1.1.3.3. Elektriksel İletkenlik Analiz Sonuçları

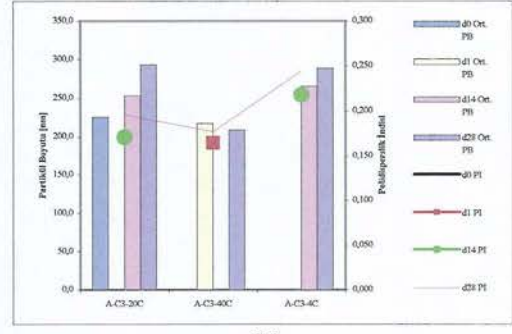
Katı lipit nanopartiküllerin Zetasizer 4 cihazı ile saptanan elektriksel iletkenlikleri Çizelge 8'de verilmiştir. Çizelge 8'de elektriksel iletkenliğe saklama sıcaklığı ve süresinin etkisi de gösterilmiştir.

4.1.1.3.4. pH Analiz Sonuçları

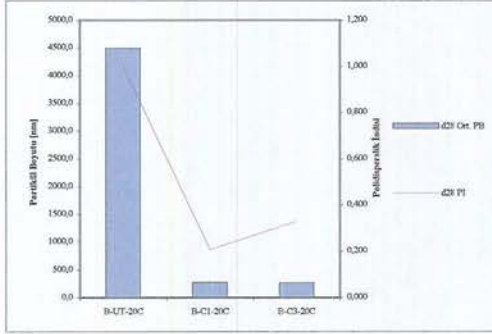
Bölüm 3.2.3.4.'de anlatıldığı şekilde ölçülen pH değerleri Çizelge 9'da sunulmuştur. Ayrıca, Çizelge 9'da saklama sıcaklığı ve süresinin etkisi de yer almaktadır.



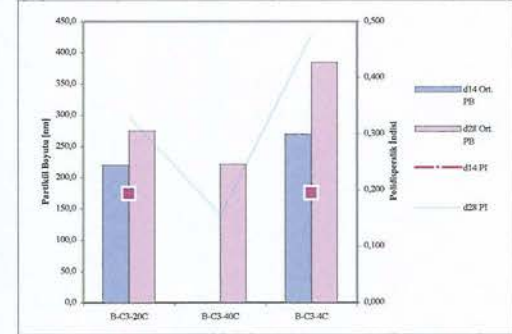
(a)



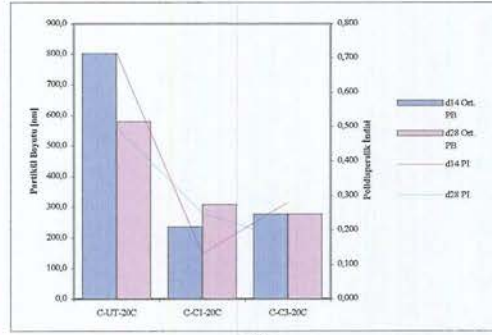
(b)



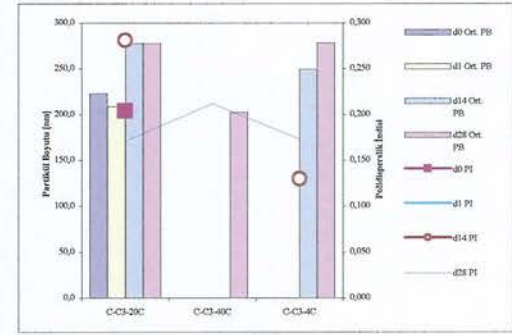
(c)



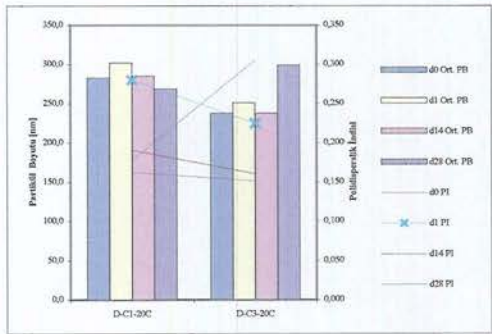
(d)



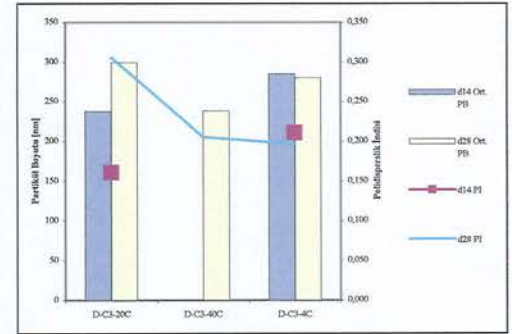
(e)



(f)

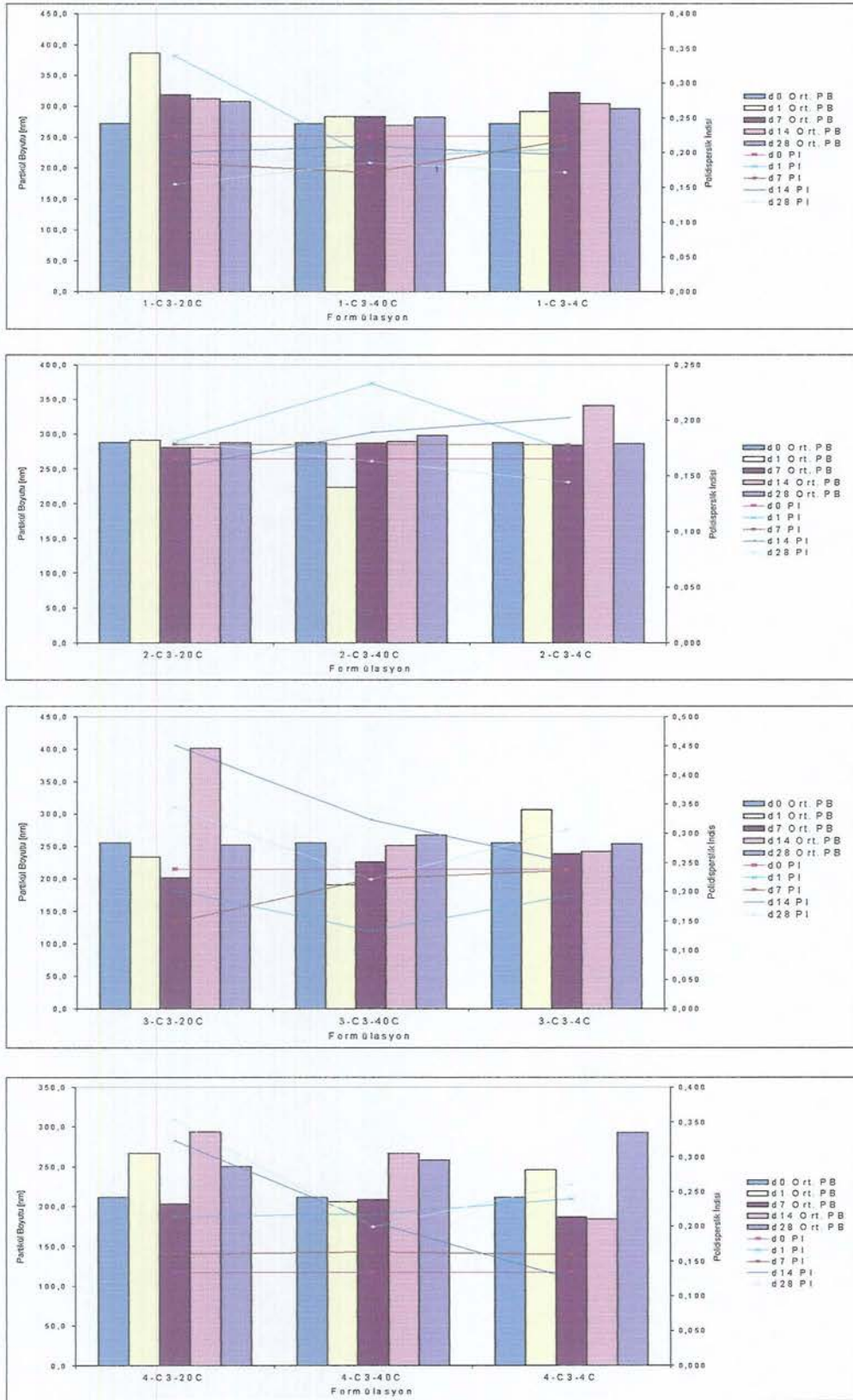


(g)

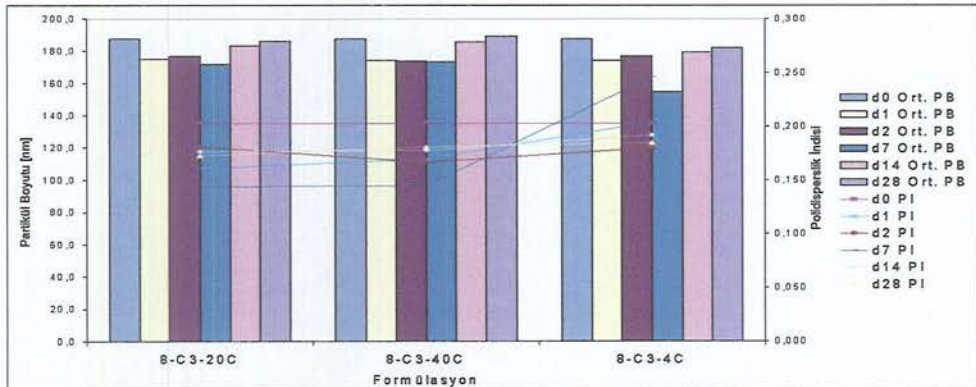
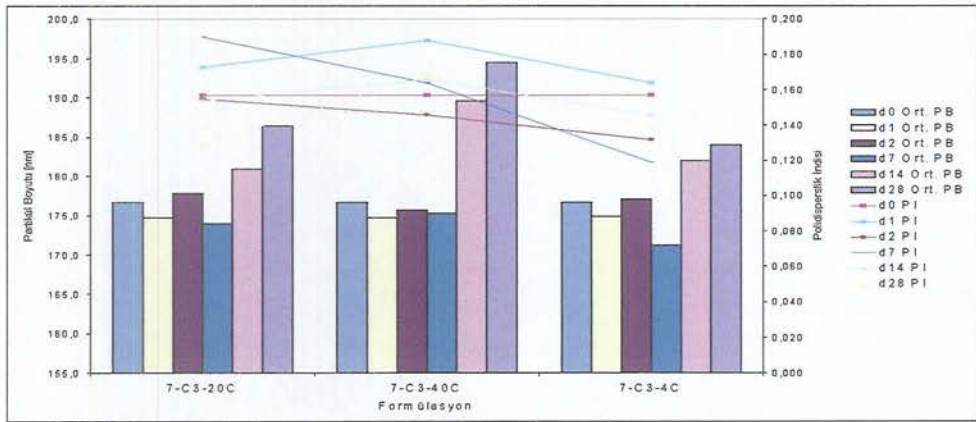
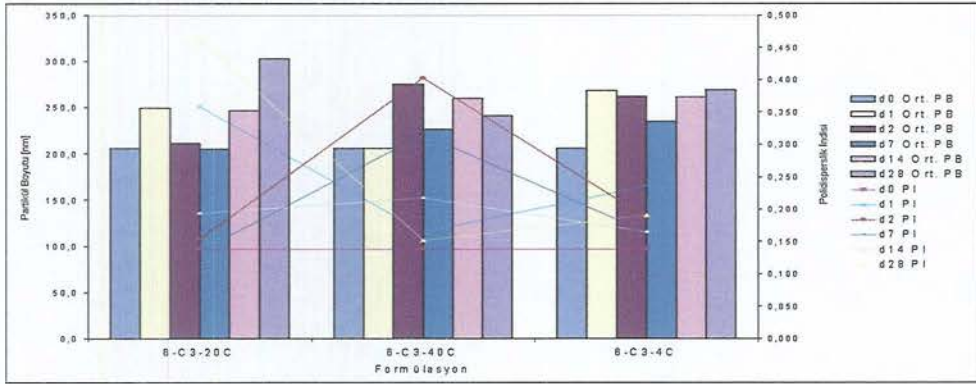
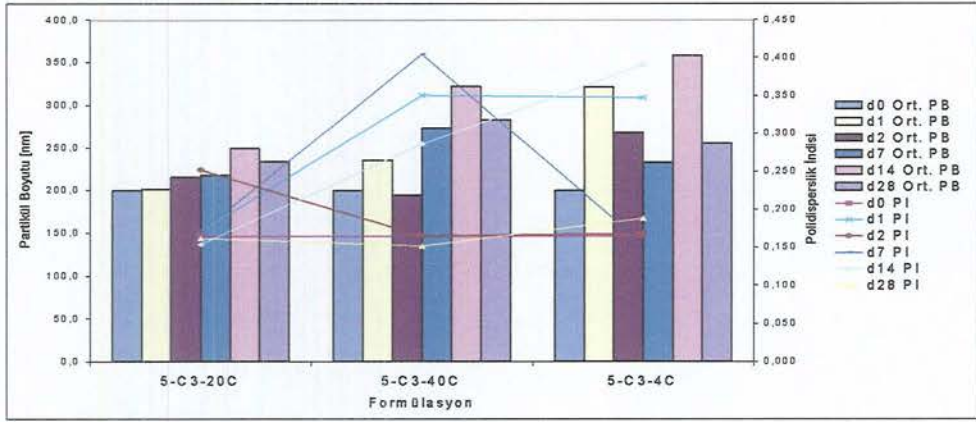


(h)

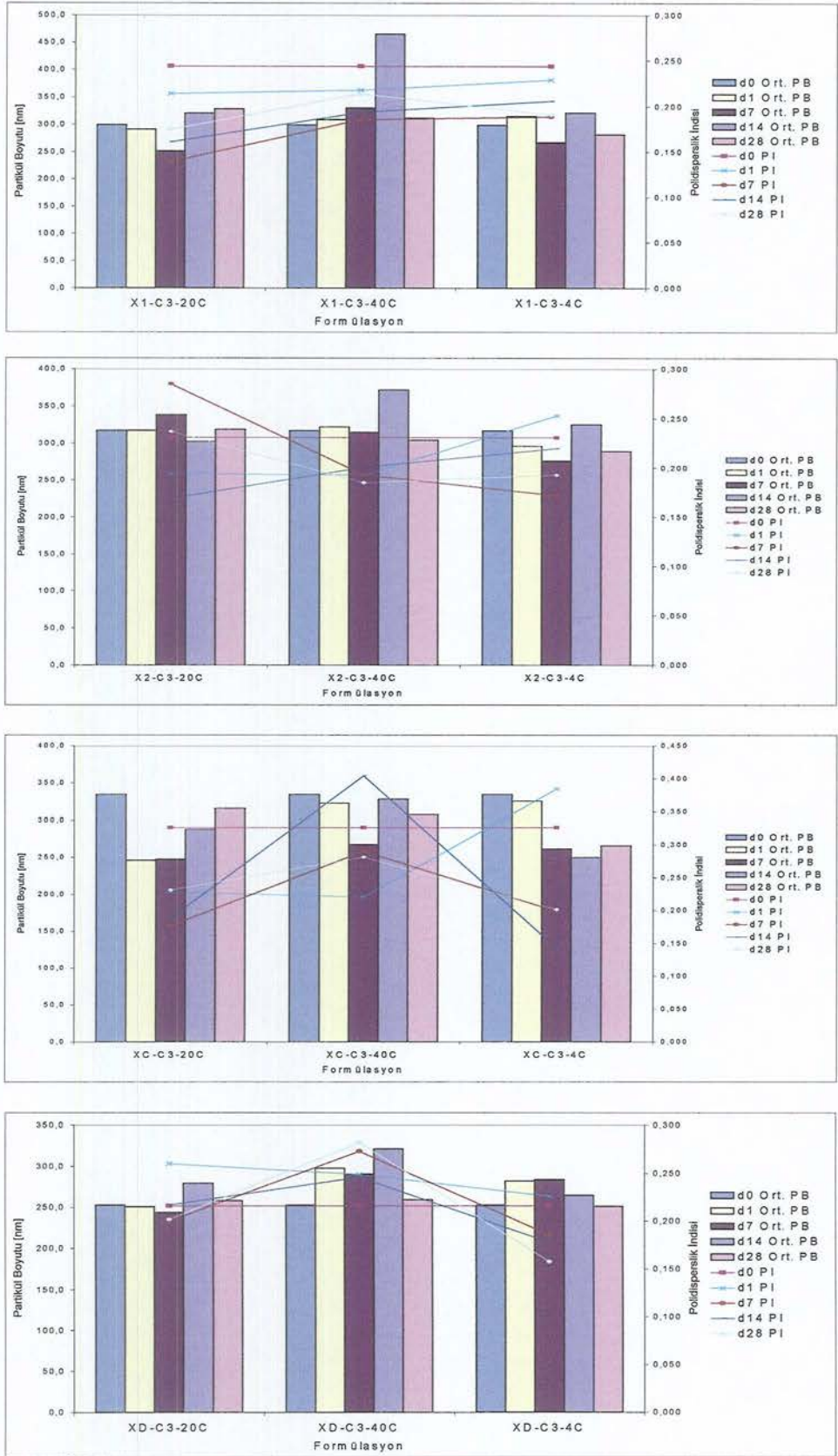
Şekil 7.1. Homojenizasyon Sayısının [a, c, e, g] ve Farklı Sıcaklıkların [b, d, f, h] (x eksen), Parçacık Boyutu (y_1 eksen) ve Polidisperslik İndisleri (y_2 eksen) Üzerine Etkisi



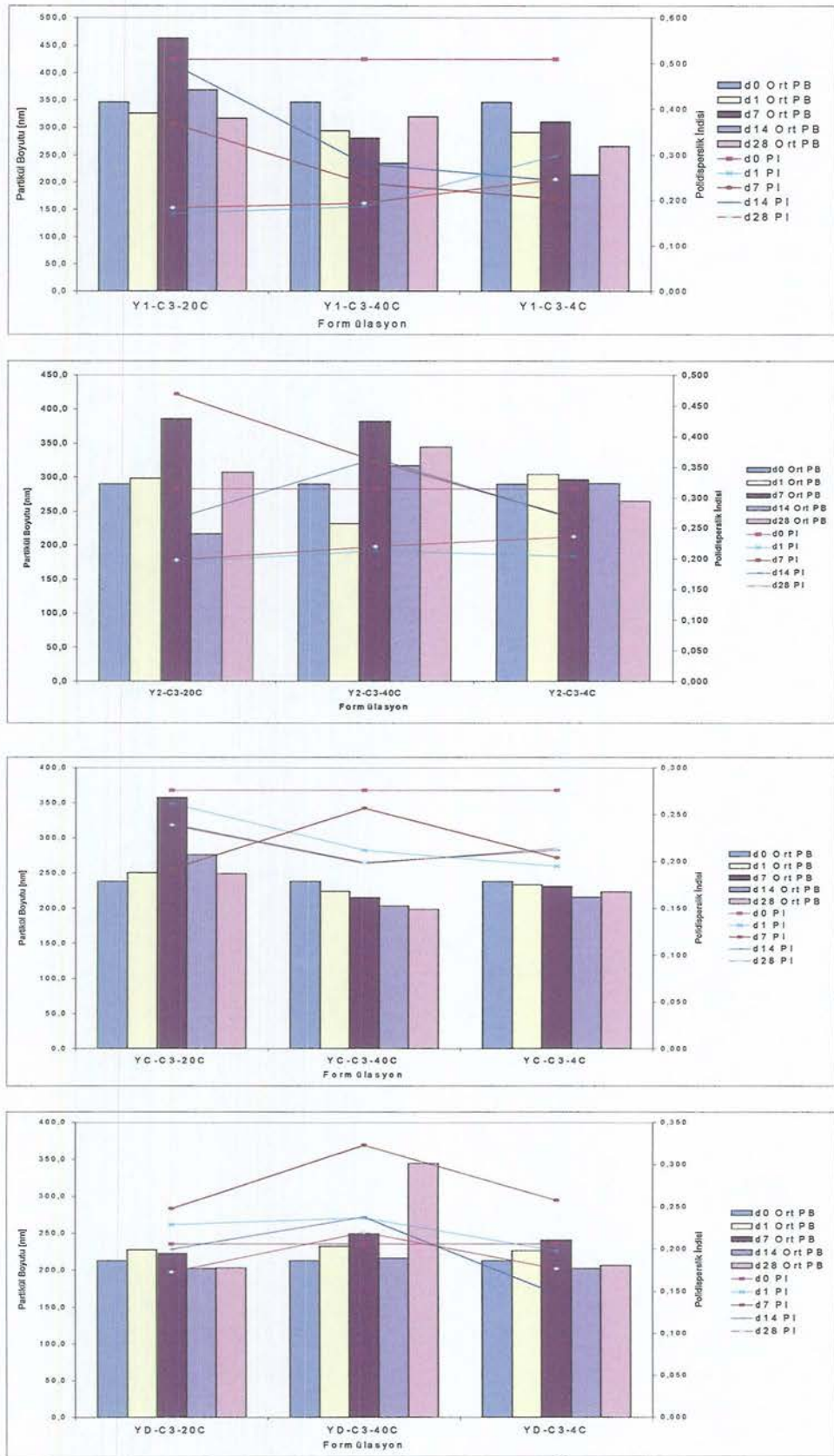
Şekil 7.2. Farklı Sıcaklıkların (x eksen), 1, 2, 3, 4 Formülasyonlarının Parçacık Boyutları (y₁ eksen) ve Polidisperslik İndisleri (y₂ eksen) Üzerindeki Etkisi



Şekil 7.3. Farklı Sıcaklıkların (x eksen), 5, 6, 7, 8 Formülasyonlarının Parçacık Boyutları (y₁ eksen) ve Polidisperslik İndisleri (y₂ eksen) Üzerindeki Etkisi



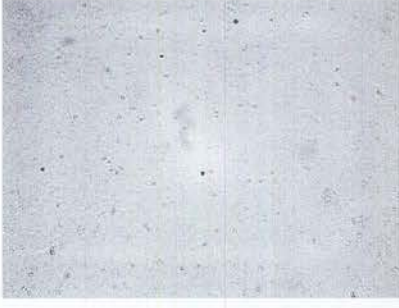
Şekil 7.4. Farklı Sıcaklıkların (x ekseni), X1, X2, XC, XD Formülasyonlarının Parçacık Boyutları (y₁ ekseni) ve Polidispersite İndisleri (y₂ ekseni) Üzerindeki Etkisi



Şekil 7.5. Farklı Sıcaklıkların (x eksen), Y1, Y2, YC, YD Formülasyonlarının Parçacık Boyutları (y₁ eksen) ve Polidisperslik İndisleri (y₂ eksen) Üzerindeki Etkisi

Çizelge 7. Formülasyonların Lazer Kırınım Cihazı ile Saptanan Ortalama Parçacık Boyutlarının Sıcaklık ve Günlere Göre Dağılımı (n=3)

		Ortalama Partikül Boyutu (µm)																	
Günler		0			1			7			14			28			60		
Sıcaklık (°C)		20	40	4	20	40	4	20	40	4	20	40	4	20	40	4	20	40	4
Formülasyon Kodları	A-UT	16.050	-	-	-	-	-	17.005	-	-	17.023	-	-	16.920	-	-	-	-	-
	A-C1	1.205	-	-	-	-	-	0.244	-	-	0.230	-	-	0.231	-	-	-	-	-
	A-C3	0.694	-	-	-	0.247	-	0.234	0.154	0.310	0.192	0.218	0.210	0.218	0.160	0.238	-	-	-
	B-UT	16.050	-	-	-	-	-	12.950	-	-	14.297	-	-	13.220	-	-	-	-	-
	B-C1	0.937	-	-	0.338	-	-	0.211	-	-	0.264	-	-	0.261	-	-	-	-	-
	B-C3	0.986	-	-	0.248	0.254	-	-	0.198	0.284	0.140	0.240	0.268	0.352	0.240	0.199	-	-	-
	C-UT	-	-	-	-	-	-	16.243	-	-	18.055	-	-	16.860	-	-	-	-	-
	C-C1	0.908	-	-	-	-	-	0.267	-	-	0.166	-	-	0.272	-	-	-	-	-
	C-C3	0.691	-	-	-	0.217	-	0.273	0.125	0.259	0.252	0.189	0.257	0.267	0.190	0.275	-	-	-
	D-UT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-C1	0.844	-	-	0.372	-	-	0.105	-	-	0.242	-	-	0.264	-	-	-	-	-
	D-C3	0.806	-	-	0.247	0.279	-	0.130	0.194	0.312	0.217	0.243	0.287	0.296	0.294	0.289	-	-	-
	1-C3	0.426	-	-	0.347	0.356	0.436	0.439	0.422	0.346	0.442	0.435	0.444	0.416	0.404	0.408	0.378	0.413	0.297
	2-C3	0.429	-	-	0.383	0.196	0.389	0.399	0.398	0.399	0.410	0.440	0.442	0.400	0.389	0.397	0.387	0.365	0.385
	3-C3	0.337	-	-	0.361	0.124	0.313	0.203	0.309	0.347	0.427	0.280	0.328	0.284	0.405	0.337	0.259	0.344	0.315
	4-C3	0.138	-	-	0.369	0.194	0.345	0.183	0.138	0.117	0.382	0.409	0.114	0.253	0.383	0.417	0.407	0.319	0.407
	5-C3	0.203	-	-	0.159	0.203	0.213	0.135	0.152	0.199	0.205	0.216	0.260	0.121	0.222	0.220	-	-	-
	6-C3	0.228	-	-	0.212	0.223	0.234	0.133	0.202	0.212	0.216	0.169	0.222	0.188	0.119	0.270	-	-	-
	7-C3	0.179	-	-	0.174	0.171	0.173	0.191	0.197	0.183	0.173	0.186	0.179	0.200	0.206	0.183	-	-	-
	8-C3	0.235	-	-	0.177	0.192	0.183	0.185	0.228	0.169	0.183	0.187	0.180	0.198	0.213	0.189	-	-	-
	X1-C3	0.444	-	-	0.452	0.438	0.390	0.252	0.430	0.251	0.314	0.444	0.314	0.417	0.429	0.316	-	-	-
	X2-C3	0.433	-	-	0.419	0.343	0.335	0.456	0.399	0.342	0.425	0.419	0.349	0.420	0.386	0.380	-	-	-
	XC-C3	0.395	-	-	0.235	0.467	0.276	0.399	0.342	0.215	0.263	0.298	0.184	0.318	0.360	0.226	-	-	-
	XD-C3	0.331	-	-	0.269	0.357	0.230	0.247	0.230	0.263	0.220	0.408	0.208	0.233	0.168	0.173	-	-	-
	Y1-C3	0.301	-	-	0.412	0.459	0.385	0.332	0.320	0.440	0.294	0.296	0.277	0.266	0.271	0.381	-	-	-
	Y2-C3	0.368	-	-	0.451	0.339	0.468	0.313	0.338	0.356	0.266	0.321	0.338	0.426	0.291	0.357	-	-	-
	YC-C3	0.348	-	-	0.346	0.312	0.321	0.456	0.213	0.224	0.328	0.203	0.256	0.329	0.198	0.280	-	-	-
	YD-C3	0.253	-	-	0.312	0.315	0.267	0.224	0.222	0.249	0.208	0.228	0.204	0.222	0.284	0.207	-	-	-



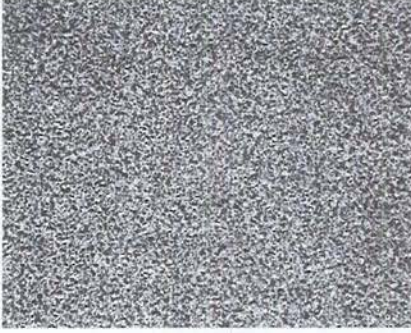
B-C3-20°C

*40X



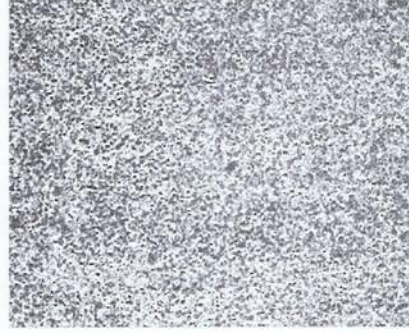
B-C3-20°C

*63X



C-C3-20°C

*40X



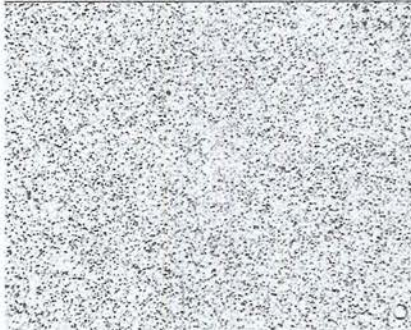
C-C3-20°C

*63X



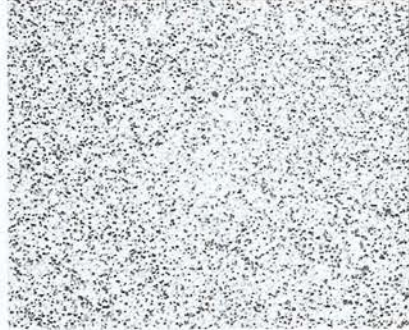
C-C3-20°C

*100X



D-C3-20°C

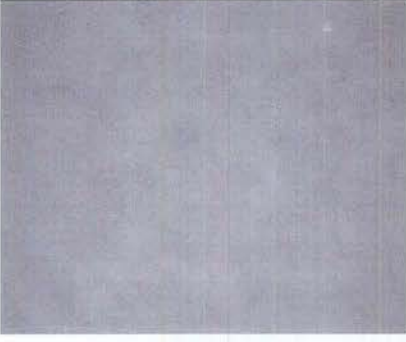
*40X



D-C3-20°C

*63X

Şekil 8.1. B, C, D Formülasyonlarının Işık Mikroskobu Altında Çekilen Resimleri
(* = Mercek Boyutu)



1-C3-20°C

*40X



1-C3-20°C

*63X



1-C3-20°C

*100X



6-C3-20°C

*40X



6-C3-20°C

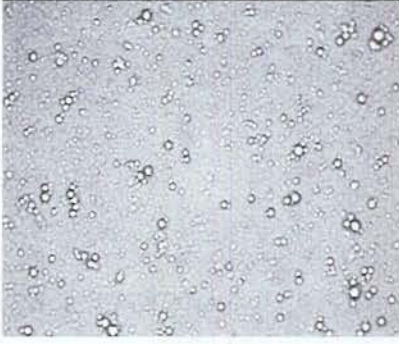
*63X



6-C3-20°C

*100X

Şekil 8.2. 1 ve 6 Formülasyonlarının Işık Mikroskobu Altında Çekilen Resimleri
(*= Mercek Boyutu)



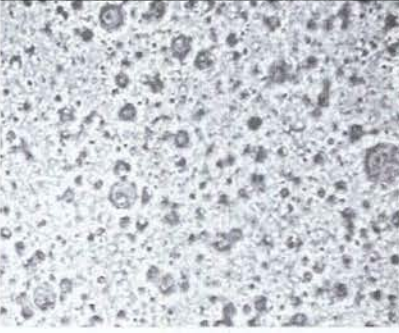
7-C3-20°C

*40X



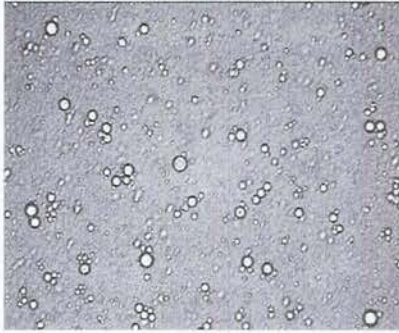
7-C3-20°C

*63X



7-C3-20°C

*100X



8-C3-20°C

*40X



8-C3-20°C

*63X



8-C3-20°C

*100X

Şekil 8.3. 7 ve 8 Formülasyonlarının Işık Mikroskobu Altında Çekilen Resimleri
(* = Mercek Boyutu)

Çizelge 8. Formülasyonların Elektriksel İletkenliklerinin Gün ve Sıcaklıklara Göre Dağılımları (n=3)

		Ortalama Elektriksel İletkenlik														
Günler		0			1			7			14			28		
Sıcaklık (°C)		20	40	4	20	40	4	20	40	4	20	40	4	20	40	4
Formülasyon Kodları	A-UT	-	-	-	-	-	-	-13.6	-	-	-20.6	-	-	-24.3	-	-
	A-C1	-	-	-	-	-	-	-17.9	-	-	-30.9	-	-	-49.4	-	-
	A-C3	-	-	-	-	-	-	-15.2	-16.5	-13.5	-22.0	-23.9	-19.8	-32.4	-37.5	-33.1
	B-UT	-	-	-	-	-	-	-12.7	-	-	-19.8	-	-	-22.5	-	-
	B-C1	-	-	-	-	-	-	-17.7	-	-	-18.4	-	-	-31.4	-	-
	B-C3	-	-	-	-	-	-	-17.2	-23.6	-17.5	-21.8	-22.5	-18.8	-33.4	-37.7	-25.2
	C-UT	-	-	-	-	-	-	-11.8	-	-	-26.7	-	-	-25.5	-	-
	C-C1	-	-	-	-	-	-	-22.8	-	-	-23.8	-	-	-27.5	-	-
	C-C3	-	-	-	-	-	-	-9.6	-19.2	-18.4	-23.1	-20.8	-18.5	-33.3	-28.2	-23.7
	D-UT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-C1	-	-	-	-	-	-	-14.9	-	-	-17.3	-	-	-32.1	-	-
	D-C3	-	-	-	-	-	-	-16.9	-20.4	-20.5	-23.5	-20.3	-20.4	-35.1	-28.8	-30.1
	1-C3	-29.5	-	-	-32.9	-27.5	-26.5	-28.2	-29.4	-25.2	-37.1	-34.0	-33.4	-24.2	-30.9	-30.9
	2-C3	-27.8	-	-	-35.4	-23.2	-28.0	-29.8	-31.0	-33.2	-34.5	-37.9	-31.2	-29.6	-31.4	-34.9
	3-C3	-28.6	-	-	-34.7	-18.4	-27.1	-22.4	-28.3	-28.6	-37.7	-32.6	-32.5	-22.4	-32.1	-33.1
	4-C3	-28.3	-	-	-24.3	-20.1	-25.6	-23.2	-29.8	-20.9	-30.2	-37.2	-28.1	-24.8	-29.5	-27.8
	5-C3	-33.7	-	-	-24.3	-22.7	-29.4	-27.1	-30.7	-32.5	-32.7	-25.1	-21.6	-	-	-
	6-C3	-29.8	-	-	-24.3	-24.3	-31.8	-39.2	-34.3	-27.5	-30.9	-29.1	-29.8	-	-	-
	7-C3	-23.3	-	-	-21.8	-24.3	-34.6	-35.7	-35.2	-32.3	-27.9	-32.5	-30.6	-	-	-
	8-C3	-25.7	-	-	-23.8	-30.4	-37.1	-31.1	-28.0	-27.9	-30.2	-28.7	-32.6	-	-	-

Çizelge 9. Formülasyonların pH Değerlerinin Sıcaklık ve Günlere Göre Değişimi (n=1)

		pH														
Günler		0			1			7			14			28		
Sıcaklık (°C)		20	40	4	20	40	4	20	40	4	20	40	4	20	40	4
Formülasyon Kodları	A-UT	-	-	-	-	-	-	6.01	-	-	5.94	-	-	6.01	-	-
	A-C1	-	-	-	-	-	-	5.64	-	-	6.03	-	-	6.04	-	-
	A-C3	-	-	-	-	-	-	5.94	5.87	5.95	5.81	5.83	5.80	6.12	6.10	6.18
	B-UT	-	-	-	-	-	-	5.94	-	-	6.10	-	-	5.92	-	-
	B-C1	-	-	-	-	-	-	6.15	-	-	5.93	-	-	6.04	-	-
	B-C3	-	-	-	-	-	-	6.30	6.15	5.86	6.13	5.92	5.98	6.16	6.06	6.06
	C-UT	-	-	-	-	-	-	5.77	-	-	5.86	-	-	5.96	-	-
	C-C1	-	-	-	-	-	-	6.21	-	-	6.15	-	-	6.12	-	-
	C-C3	-	-	-	-	-	-	6.02	5.85	5.98	5.93	5.96	5.84	6.04	6.15	6.08
	D-UT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-C1	-	-	-	-	-	-	5.94	-	-	5.87	-	-	5.96	-	-
	D-C3	-	-	-	-	-	-	6.14	5.89	5.82	6.04	5.90	6.01	6.09	5.93	5.80
	1-C3	6.81	-	-	6.92	6.15	6.26	7.79	6.22	6.32	6.22	5.71	5.48	6.56	5.61	5.63
	2-C3	6.19	-	-	6.87	6.33	6.31	6.54	6.20	6.01	6.01	5.87	5.58	6.42	5.70	5.59
	3-C3	6.27	-	-	6.46	5.89	6.31	6.18	6.13	6.40	5.79	5.97	5.71	5.81	5.83	5.49
	4-C3	6.13	-	-	6.32	5.86	6.19	6.12	6.22	6.40	5.61	5.95	5.59	5.72	5.50	5.60
	5-C3	5.84	-	-	5.85	5.86	5.68	5.78	5.75	6.04	6.52	5.75	5.46	-	-	-
	6-C3	5.51	-	-	5.77	5.78	5.73	5.72	5.83	5.67	6.15	5.62	5.63	-	-	-
	7-C3	5.49	-	-	5.74	5.54	5.79	5.78	5.81	5.87	5.75	5.69	5.66	-	-	-
	8-C3	5.82	-	-	5.63	5.45	5.65	5.80	5.79	5.77	5.57	5.57	5.67	-	-	-

4.1.1.3.5. Termal Analiz Sonuçları

Diferansiyel taramalı kalorimetre ile gerçekleştirilmiş termal analiz verileri Çizelge 10.1-10.3’de verilmiştir.

4.1.1.3.6. Miktar Tayini Analiz Sonuçları

Bölüm 2.3.4.2.’de anlatılan şekilde, atomik absorpsiyon spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirilen analizlerde, cihazın titanyum dioksit kalibrasyonunun olmasına karşın kesin bir titanyum dioksit konsantrasyonu saptanamamıştır.

4.1.1.4. Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan *In Vitro* Çalışma Sonuçları

Formülasyonlarda bulunan güneş ışını filtre edici maddelerin güneşten koruyucu özellikleri *in vitro* olarak iki yöntemle saptanmıştır.

4.1.1.4.1. *TransporeTM* Test

Bölüm 3.2.4.1.’de anlatıldığı şekilde, *TransporeTM* bandı yapıştırılmış referansa karşı 280-450 nm aralığında, çift ışınlı UV spektrofotometresi kullanılarak alınan spektrum sonuçları Şekil 9’de sunulmuştur.

4.1.1.4.2. *Sun To SeeTM* Test

Bölüm 3.2.4.2.’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen analizlerde, 603 nm’de maksimum absorbans veren sabit mavi renkli boya miktarı UV spektrofotometresi kullanılarak saptanmış ve standart hata değerleri ile birlikte Şekil 10’da verilmiştir.

Çizelge 10.1. 20°C’de Saklanan Formülasyonların Termal Analiz Verileri

Günler	1				7				28			
İşlem	Isıtma		Soğutma		Isıtma		Soğutma		Isıtma		Soğutma	
	Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)
A-UT	-	-	-	-	61.54	37.66	38.66	-24.36	-	-	-	-
A-C1	-	-	-	-	60.42	42.59	24.19	-26.08	60.99	44.72	23.87	-27.65
A-C3	-	-	-	-	60.85	43.25	23.99	-25.90	60.76	41.91	23.91	-23.94
B-UT	-	-	-	-	61.18	25.62	37.75	-16.20	-	-	-	-
B-C1	-	-	-	-	60.71	54.17	20.48	-33.83	60.89	30.87	20.36	-27.47
B-C3	-	-	-	-	60.23	32.55	21.01	-30.24	-	-	40.57	-46.85
C-UT	-	-	-	-	62.16	17.18	38.26	-11.26	-	-	-	-
C-C1	-	-	-	-	60.42	37.02	23.89	-21.71	60.55	37.18	22.77	-22.37
C-C3	-	-	-	-	60.56	39.92	23.96	-11.91	60.51	43.14	22.72	-26.17
D-UT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-C1	-	-	-	-	60.83	38.32	21.28	-29.85	60.88	35.22	21.12	-25.93
D-C3	-	-	-	-	60.38	37.00	21.56	-29.40	60.60	36.20	21.45	-27.86
1-C3	60.50	50.38	23.87	-30.60	60.59	50.46	23.51	-31.17	60.77	47.38	23.13	-30.30
2-C3	60.05	38.05	21.36	-26.92	60.32	38.65	21.37	-28.23	60.22	39.29	21.55	-30.34
3-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-C3	60.24	7.20	22.34	-29.55	60.29	44.20	22.33	-28.04	-	-	-	-
6-C3	60.82	3.90	21.41	-31.86	60.19	41.85	21.35	-31.09	-	-	-	-
7-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
8-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
X1-C3	-	-	-	-	60.85	43.39	24.03	-28.03	61.20	40.67	23.10	-23.28
X2-C3	-	-	-	-	60.13	23.92	21.33	-24.23	60.66	26.44	21.07	-24.10
XC-C3	-	-	-	-	60.10	39.57	22.46	-25.68	60.95	39.89	22.43	-23.12
XD-C3	-	-	-	-	60.46	36.25	21.39	-30.46	60.68	28.44	21.05	-28.24
Y1-C3	0	0	9.61	-12.54	0	0	9.61	-12.54	-	-	-	-
Y2-C3	0	0	9.13	-13.09	0	0	9.13	-13.09	-	-	-	-
YC-C3	0	0	9.66	-14.99	0	0	9.66	-14.99	-	-	-	-
YD-C3	0	0	9.25	-13.26	0	0	9.25	-13.26	-	-	-	-

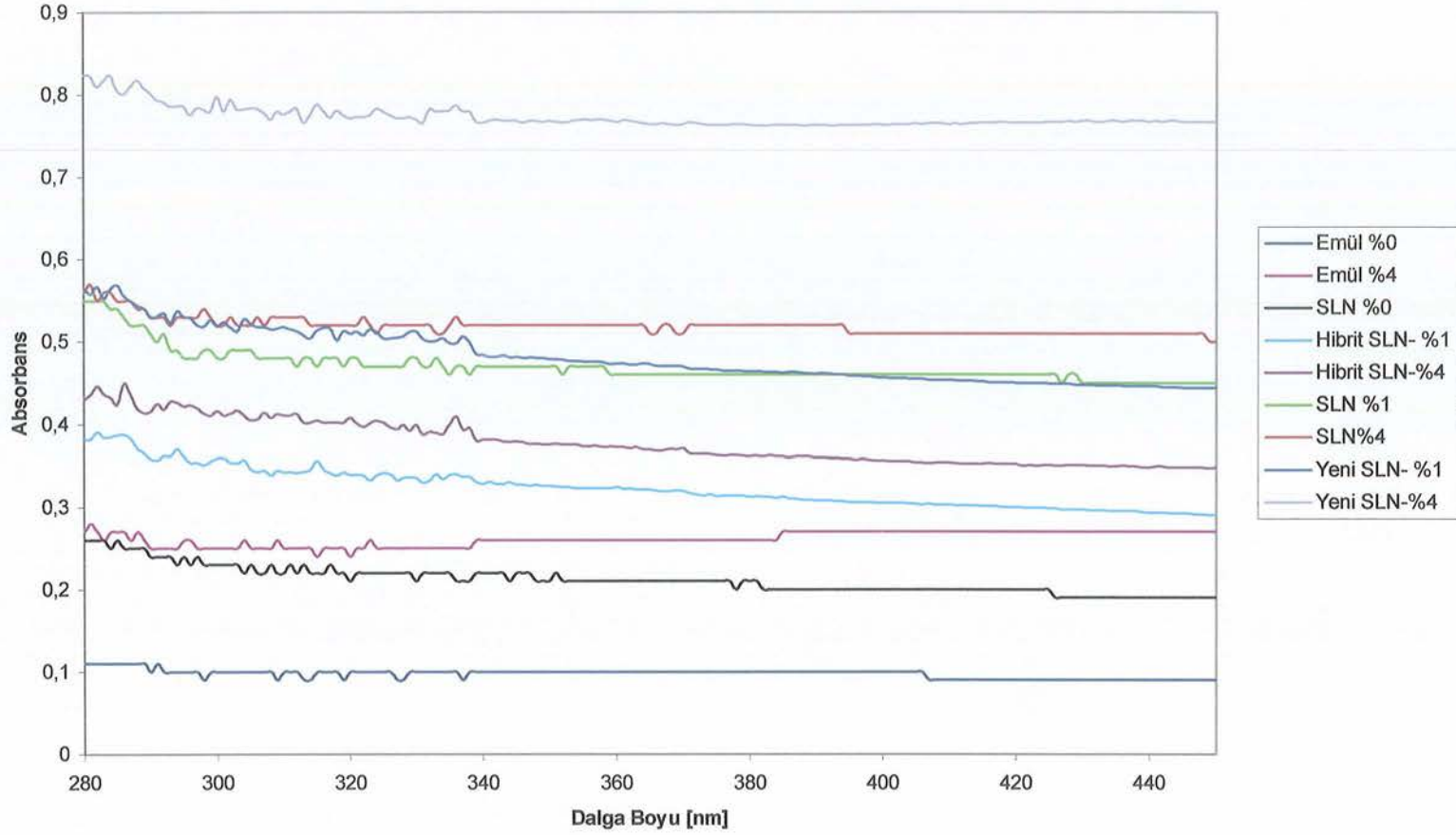
Formülasyonlar (20°C)

Çizelge 10.2. 40°C’de Saklanan Formülasyonların Termal Analiz Verileri

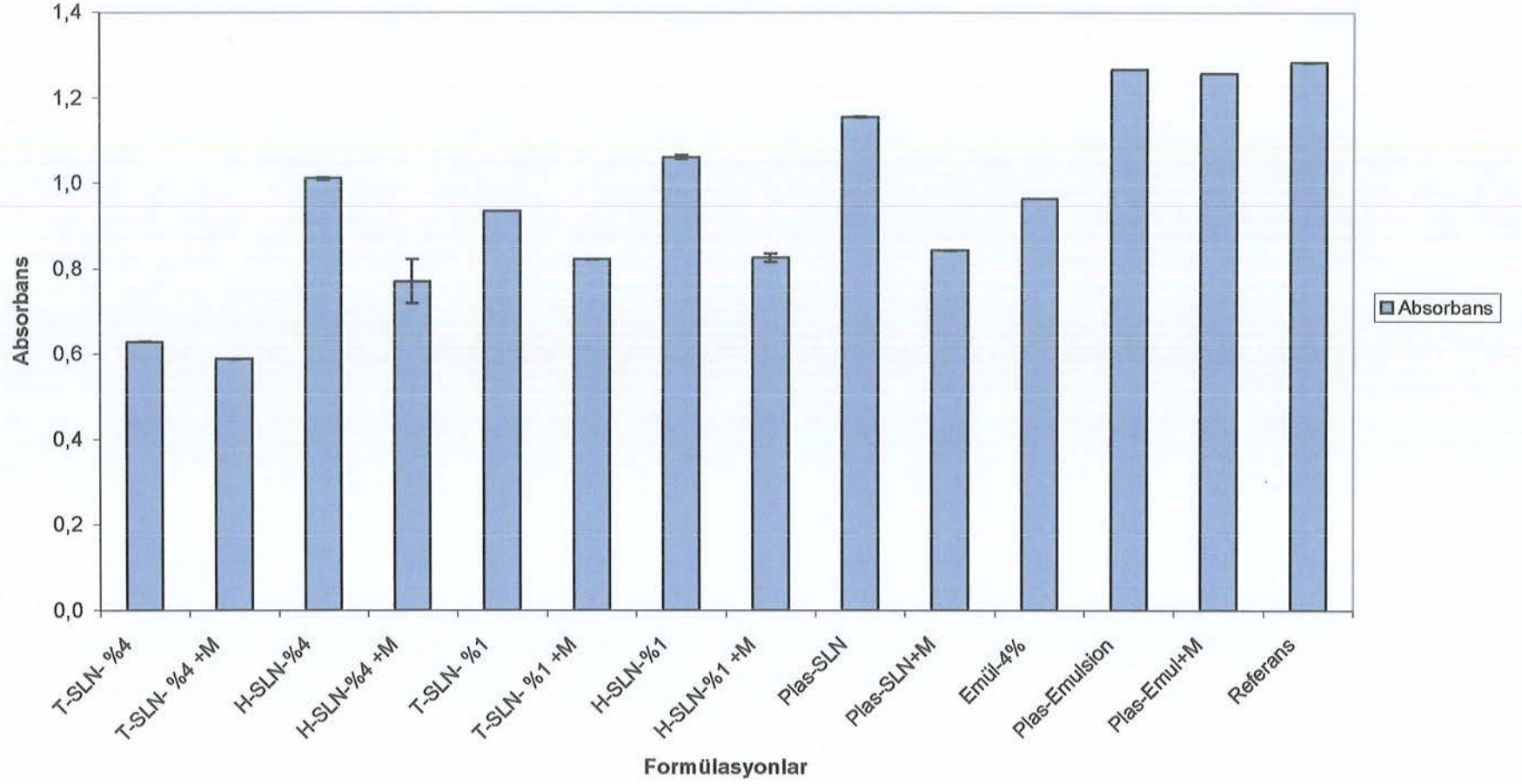
Günler		1				7				28			
İşlem		Isıtma		Soğutma		Isıtma		Soğutma		Isıtma		Soğutma	
		Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)
Formülasyonlar (40°C)	A-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A-C3	-	-	-	-	60.56	8.30	22.50	-25.32	-	-	-	-
	B-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B-C3	-	-	-	-	61.09	1.89	21.04	-31.75	-	-	-	-
	C-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C-C3	-	-	-	-	60.48	6.22	22.37	-25.49	-	-	-	-
	D-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-C3	-	-	-	-	60.94	1.98	21.51	-29.97	-	-	-	-
	1-C3	59.85	20.08	22.36	-31.11	60.43	28.70	22.43	-31.75	60.89	30.66	22.28	-35.80
	2-C3	59.89	2.31	21.64	-28.61	60.65	13.01	21.41	-29.05	61.38	10.07	21.24	-37.67
	3-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5-C3	60.38	44.09	24.22	-29.96	60.76	44.84	22.80	-27.66	-	-	-	-
	6-C3	-	-	21.71	-14.91	60.05	43.75	21.42	-30.55	-	-	-	-
	7-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
	8-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
	X1-C3	-	-	-	-	-	-	-	-	61.01	4.47	22.01	-25.94
	X2-C3	-	-	-	-	-	-	-	-	61.27	2.60	21.19	-24.20
	XC-C3	-	-	-	-	-	-	-	-	60.57	10.44	22.14	-25.33
	XD-C3	-	-	-	-	-	-	-	-	61.47	1.89	21.17	-28.16
	Y1-C3	-	-	-	-	0	0	9.64	-13.72	-	-	-	-
	Y2-C3	-	-	-	-	0	0	8.85	-11.93	-	-	-	-
	YC-C3	-	-	-	-	0	0	9.46	-14.67	-	-	-	-
	YD-C3	-	-	-	-	0	0	9.09	-13.51	-	-	-	-

Çizelge 10.3. 4°C’de Saklanan Formülasyonların Termal Analiz Verileri

Günler	İşlem	1				7				28			
		Isıtma		Soğutma		Isıtma		Soğutma		Isıtma		Soğutma	
		Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Erime Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)	Rekristalizasyon Noktası (°C)	Enerji (jul.g ⁻¹)
Formülasyonlar (4°C)	A-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A-C3	-	-	-	-	59.87	37.43	23.97	-22.50	-	-	-	-
	B-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B-C3	-	-	-	-	60.61	47.09	20.89	-31.52	-	-	-	-
	C-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C-C3	-	-	-	-	59.79	41.32	23.50	-24.12	-	-	-	-
	D-C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-C3	-	-	-	-	60.72	44.06	23.01	-27.57	-	-	-	-
	1-C3	60.37	40.26	23.99	-27.42	60.27	45.46	24.06	-29.34	60.01	48.00	23.82	-31.12
	2-C3	60.71	42.20	23.07	-28.07	60.25	44.78	23.14	-28.40	60.73	39.37	22.97	-25.70
	3-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5-C3	60.07	39.84	23.79	-25.07	60.27	48.54	23.59	-30.76	-	-	-	-
	6-C3	60.25	45.84	23.21	-30.54	60.38	46.25	23.03	-29.06	-	-	-	-
	7-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
	8-C3	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
	X1-C3	-	-	-	-	60.11	41.09	24.03	-26.91	60.52	40.14	23.66	-25.65
	X2-C3	-	-	-	-	60.34	35.69	22.95	-24.39	60.65	41.05	22.81	-27.97
	XC-C3	-	-	-	-	59.85	37.29	23.83	-23.65	60.19	32.59	23.32	-19.50
	XD-C3	-	-	-	-	60.30	41.07	23.16	-27.21	60.71	40.92	22.89	-26.42
	Y1-C3	-	-	-	-	53.95	17.70	9.75	-13.96	-	-	-	-
	Y2-C3	-	-	-	-	53.70	17.14	9.08	-13.63	-	-	-	-
	YC-C3	-	-	-	-	54.00	20.25	9.71	-15.01	-	-	-	-
	YD-C3	-	-	-	-	53.80	16.06	9.15	-13.32	-	-	-	-



Şekil 9. Formülasyonların TransporeTM Test Analiz Verileri (% Konsantrasyon Titanyum Dioksit Miktarını Belirtmektedir)



Şekil 10: Formülasyonların Sun To See™ Test Analiz Verileri (% Konsantrasyon Titanyum Dioksit Miktarını Belirtmektedir)
(T=Klasik, H=Hibrit, Plas=Plasebo, Emul=Emülsiyon, M=Myritol)

4.2. TARTIŞMA

Bu bölümde, formülasyonlarda kullanılan etkin ve yardımcı maddelerin fizikokimyasal özelliklerine ait bulgular ile SLN'lerin güneş ışını filtre edici özellikleri, elde edilen *in vitro* çalışma verileri ile tartışılmıştır.

4.2.1. Çalışılan Maddelerle Yapılan Çalışmalara Ait Değerlendirmeler

4.2.1.1. Titanyum Dioksit

Etkin madde olarak kullanılan titanyum dioksit'in, % 3'lük yüzey etkin madde çözeltisi içerisindeki % 1 konsantrasyona sahip süspansiyonu üzerinde gerçekleştirilen parçacık boyutu analizleri, sonuçların güvenilirliğinin yüksek olması amaçlanarak, PCS ve LD kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu iki yöntem SLN'lerin parçacık boyutlarının saptanmasında en etkili yöntemler olarak tanımlanmışlardır (11, 13).

PCS'nde gerçekleştirilen ölçümler sonucunda, titanyum dioksit süspansiyonunun parçacık boyutu 674.2 ± 9.12 nm ($n=3$), LD ile gerçekleştirilen ölçümlerde ise ortalama parçacık boyutu 220 ± 0.01 nm ($n=3$) olarak saptanmıştır. Veriler madde spesifikasyonu ile karşılaştırıldığında, her iki sonucun belirtilen aralıkta olduğu belirlenmiştir (103).

Her iki yöntemle saptanan parçacık boyutu değerleri arasında görülen farkın, cihazların parçacık boyutlarını ölçmede kullandıkları prensiplerin birbirlerinden farklı olması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. PCS, parçacığın hareketi sonucunda yansıyan ışığın yoğunluğundaki değişimi esas alarak ölçüm yaparken, LD, parçacığın yarıçapına bağlı kırınım açısını belirleyerek parçacık boyutunu saptamaktadır (11, 50). Bunun yanı sıra, PCS, birkaç nanometreden 3 mikron boyutuna kadar bir aralıktaki parçacıkları saptayabilirken, LD, 40 nm'den 2 mm'ye kadar, çok geniş bir aralıkta ölçümlere imkan vermektedir (11, 13, 50). Bu nedenle cihazlar arası duyarlılık dereceleri de ölçüm aralıklarına bağlı olarak değişebilmektedir.

Yapılan bir çalışmada, formülasyonun parçacık boyutu PCS ile belirlenebilirken, LD ile parçacıklar saptanamamıştır (73). Bir başka çalışmada ise, LD ile küçük parçacıklarda daha az duyarlı ölçümler gerçekleştirilmiş olduğu saptanmıştır (72). Geliştirilen PIDS tekniği sayesinde LD, küçük parçacıkların ölçümünde daha duyarlı sonuçlar vermektedir (11, 13).

Titanyum dioksit'in % 3'lük yüzey etkin madde çözeltisi içersindeki % 1 konsantrasyona sahip süspansiyonu üzerinde parçacık şekli analizi, ışık mikroskobu altında, 3 ayrı mercek (40X, 63X, 100X) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sırası ile, 2.5 µm-1.59 µm-1 µm boyutundaki parçacıkların görülebildiği mercekler ile, tüm parçacıkların nanometre boyutunda olmaları nedeniyle, titanyum dioksit parçacıklarının şekilleri belirlenememiştir. Bu ölçümler ile parçacık şekilleri belirlenememiş ancak, parçacık boyutları hakkında, PCS ve LD ölçümlerini destekleyen bilgiler elde edilebilmiştir.

Literatürlerde, su ile seyreltilen formülasyonların parçacık şekillerinin belirlenmesi için birden fazla fotoğrafın gerekliliğinin vurgulanması nedeniyle, çalışmamızda örneğin analizi, formülasyonun doğrudan lamele uygulanması sonucunda gerçekleştirilmiştir (72).

4.2.1.2. Dynasan® 116

Dynasan® 116'nın fizikokimyasal özellikleri, erime derecesi tayini ve termal analizi gerçekleştirilerek incelenmiştir.

SLN'ler ile yapılan birçok çalışmada katı lipid olarak tercih edilen Dynasan® 116'nın (3, 54, 71, 76, 104, 105) erime derecesi, erime derecesi tayin cihazı ile 63°C olarak saptanmış ve bu veri literatür bilgileri ile paralellik göstermiştir (105).

Dynasan® 116'nın DSC ile gerçekleştirilen termal analiz çalışmalarında ise erime derecesi 63.62°C olarak saptanmıştır. Sonuç, literatür bilgileri ve madde spesifikasyonu ile karşılaştırıldığında, bilgilerle uyumlu olduğu görülmüştür (105, 106).

Yapılan bir çalışmada, Dynasan® 116'nın tekrar kristallenme özelliği DSC yardımıyla analiz edilmiştir. Çözücü uçurulması tekniği ile hazırlanan ve % 1.5 Dynasan® 116 içeren formülasyonda tekrar kristallenme özelliği, formülasyonun hazırlanmasından 2 saat sonra saptanabilmiştir. Ancak çözücünün uçması nedeniyle kesin bir konsantrasyon verilememiştir (105).

4.2.2. Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan Çalışmalara Ait Değerlendirmeler

4.2.2.1. Formülasyonları

Güneş ışınlarını filtre edici formülasyonların içeriklerinde, çoğunlukla, kimyasal olarak güneş ışını filtre edici maddeler bulunmaktadır. Oluşturdukları yan etkiler ve düşük koruma düzeyi nedeniyle, bu maddelerin yerini titanyum dioksit gibi fiziksel olarak güneş ışını filtre edici maddelerin kullanılması sistemlere pek çok üstünlük sağlamaktadır. Ancak, ciltte oluşturdukları beyaz görüntü nedeniyle formülasyonların hazırlanmasında yenilikler gerekmektedir. Bu çalışmada, titanyum dioksit SLN halinde, yüksek basınçlı homojenizatör yardımıyla formüle edilerek, parçacık boyutlarının nanometre düzeyine indirilmesi sağlanarak bu sakınca ortadan kaldırılmıştır. SLN'lerin katı lipit yapıları sayesinde, herhangi bir güneş ışını filtre edici madde eklenmesine gerek olmaksızın, güneşten koruma özelliklerinin saptanması ile, formüle edilecek etkin maddelerin konsantrasyonlarını azaltmak mümkün olmaktadır. Bu çalışmada ayrıca, titanyum dioksit, SLN şeklinde formüle edilerek yan etkisi düşük, koruma seviyesi yüksek formülasyonların elde edilmesi hedeflenmiştir. SLN'ler yakın zamanda, özellikle kozmetik formülasyonlarda kullanılacak, lipozomlardan sonraki yeni ilaç taşıyıcı sistem olarak tanımlanmaktadır (13). Cilt yüzeyinde oluşturdukları ince tabaka, cilt yüzeyinden su kaybını engelleyerek, nem miktarının artmasını sağlamaktadır. Nem artışı ile birlikte ciltte oluşabilecek ekzema belirtilerinin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, yüksek nem miktarı, topikal kullanılan etkin maddelerin penetrasyonunu da arttırmaktadır (90). SLN'lerin y/s emülsiyonlarla birlikte formüle edildiği çalışmalar, DSC analizleri sonucunda sistemin kararlılığını 6 ay süresince koruduğunu göstermiştir (70). Bu bilgiler değerlendirildiğinde, titanyum dioksitin SLN'ler ile formüle edilmesi ile yüksek kararlılığa sahip formülasyonlar oluşturulması tasarlanmıştır.

Çalışmamızda, etkin madde olarak kullanılan titanyum dioksit'in parçacık boyutu $\leq 1 \mu\text{m}$ olan şekli seçilerek, formülasyonun hazırlanmasında uygulanacak basınç azaltılmıştır. Düşük basınç uygulanarak, SLN formülasyonlarında, yüksek basıncın yol açtığı agregasyonun oluşma olasılığı ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. Yapılan parçacık boyutu analizleri sonucunda elde edilen veriler

agregatların oluşmadığını kanıtlamıştır. Literatürde titanyum dioksit parçacıklarının kaplanması fotokatalitik aktiviteyi azalttığı belirtilmiştir (107). Ayrıca, titanyum dioksit'in inert bir madde olması nedeniyle, maddenin kaplanmamış şekilleri tercih edilerek, kaplama maddelerinin formülasyondaki diğer maddeler ile reaksiyona girme riski ortadan kaldırılmıştır.

Katı lipit olarak seçilen Dynasan® 116'nın düşük erime noktası sayesinde üretim, düşük sıcaklıklarda gerçekleştirebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, yüksek erime derecesine sahip lipitler kullanıldığında, büyük boyutlu parçacıkların varlığı saptanmıştır (11). Çalışmamızda elde edilen küçük parçacık boyutu ile bu literatür bilgisine paralel veriler elde edilmiştir. Sudaki çözünürlüğü neredeyse hiç olmayan titanyum dioksit'in % 1'lik ve % 4'lük formülasyonları Dynasan® 116 ile kolayca hazırlanabilmiştir. % 4 etkin madde konsantrasyona sahip formülasyonlar diğer formülasyonlardan farklı olarak 95°C'de hazırlanarak, titanyum dioksit konsantrasyonuna bağlı olarak artan viskozite azaltılmıştır. Dynasan® 116, 63°C'lik erime derecesi ile, formüle edildiği topikal sistemlerde cilt sıcaklığında erimemesi nedeniyle, güneş ışını filtre edici madde formülasyonları için ideal bir lipit olarak düşünülmüş ve bu nedenle tercih edilmiştir.

Çalışmamızda, katı lipit haricinde sıvı lipit, Miglyol® 812, kullanılarak aynı formülasyonlara sahip emülsiyonlar hazırlanmış ve SLN'ler ile klasik emülsiyon formülasyonları birbirleriyle, fizikokimyasal özellikleri ve UV ışınlarından koruma özellikleri açısından karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, emülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutları sıvı lipit nedeniyle daha küçük olmuş, ancak, bu emülsiyon şekillerinin UV ışınlarından koruyucu özellikleri SLN formülasyonlarından çok düşük değerler göstermiştir. Sıvı lipit olarak Miglyol® 812'nin tercih edilmesinin nedeni, güçlü çözücü özelliği nedeniyle, yüksek titanyum dioksit oranları ile çok iyi karıştırılabileceğinin düşünülmüş olmasıdır.

Formülasyonlarda yüksek katı lipit konsantrasyonuna bağlı olarak artan viskoziteyi azaltmak ve katı lipit yapının formülasyonların etkinlikleri ve parçacık boyutu üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, katı lipit ile sıvı lipitin birarada kullanıldığı hibrit formülasyonlar oluşturulmuştur. Bu formülasyonlarda diğer

madde oranları sabit tutularak, % 20 katı lipit oranı, % 10 Dynasan® 116 ve % 10 Miglyol® 812 olarak değiştirilmiştir. Parçacık boyutu ölçümleri değerlendirildiğinde, hibrit formülasyonlar ile diğer formülasyonlar arasında çok önemli farklar olmadığı saptanmıştır. Bazı ölçümlerde parçacık boyutlarının önceki formülasyonlardan daha büyük olduğu saptanmıştır. Bunun nedeninin, iki lipitin birbirlerine olan olası bağlanması sonucu olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, emülsiyon formülasyonlar içindeki SLN yapıların saptanması amacıyla *Floresans Mikrosopi* kullanılmıştır. Floressein'in lipofilik işaret maddesi olarak kullanıldığı çalışmada, lipit matrisin floresan etki gösterdiği SLN'ler elde edilmiştir. SLN'lerin emülsiyon formülasyonlarına yüklenmesinin ardından, emülsiyonda da floresan etki görülmüş, ancak yine de SLN'ler sistemde saptanabilmiştir. Bu yöntem ile, ayrıca, SLN'lerin emülsiyon ile olası etkileşimleri de saptanabilmektedir (49). Çalışmamızda, katı ve sıvı lipit arasındaki olası etkileşmelerin saptanması, ileride çalışılacak konular arasında, detaylı olarak araştırılmalıdır.

Güneş ışınlarını engelleme özellikleri karşılaştırıldığında ise, hibrit SLN'lerin klasik SLN formülasyonları ile emülsiyon sistemler arasındaki aralıkta absorban değerleri alarak emülsiyon sistemlerden yüksek, klasik SLN formülasyonlardan daha düşük koruma değeri oluşturduğu saptanmıştır. Bu sonuç, katı lipit yapının güneş ışınlarını engelleme özelliğini arttırdığını açıkça göstermiştir.

Güneş ışını filtre edici maddelerin UV ışınlarını engelleme özelliklerini desteklediği ve iyi bir polar emülsiyon yapıcı ajan olması nedeniyle Myritol® 331 (108) formülasyonlara eklenerek, uygulanması kolay, küçük parçacık boyutuna sahip ve yüksek koruma sağlayan formülasyonların elde edilmesi hedeflenmiştir. Emülsiyon yapıcı ajanların formülasyonların uygulanmasını kolaylaştırdığı ve güneş ışını filtre edici maddelerin cilde penetrasyon yeteneklerini arttırdıkları belirtilmiştir (109). Alınan *in vitro* çalışma sonuçları, maddenin UV ışınlarından koruma özelliği üzerinde, uygulama kolaylığına bağlı olduğu düşünülen, olumlu etki sağladığını göstermiştir. Bunun yanı sıra, yapılan parçacık boyutu analizleri sonucunda, maddenin, parçacık boyutunun saklama süresince kararlı kalmasını kolaylaştırdığı ve agregatların oluşmasını engellediği, aynı formülasyona sahip

Myritol® 331 içermeyen formülasyonlar ile karşılaştırılmaları sonucunda saptanmıştır.

Formülasyonların kararlılıkları, Tyloxapol®'ün yüzey etkin madde olarak kullanılması ile sağlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, % 2 Tyloxapol®'ün % 10 Dynasan® 116 konsantrasyonuna sahip formülasyonu kararlı hale getirmek için yeterli olamadığı görülmüştür (11). Çalışmamızda, % 3 Tyloxapol® ve % 10-20 Dynasan® 116 içeren formülasyonların kararlılıkları, fizikokimyasal özellikleri yardımıyla, değişik lipid konsantrasyonlarının formülasyonların kararlılıkları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Daha yüksek yüzey etkin madde konsantrasyonunun formülasyon kararlılığını arttıracaklarının bilinmesine karşın, 1 aylık bir sürede oluşabilecek kararsızlıkların gözlenebilmesi için yüzey etkin madde konsantrasyonu en az düzeyde tutulmuştur. Bunun yanı sıra, % 2-3 konsantrasyondaki yüzey etkin maddelerin parçacık boyutunu ufaltırken, daha yüksek konsantrasyonlarda parçacık boyutunda artışa neden olduğu belirtilmektedir (11). Yapılan bir çalışmada, sıcak homojenizasyon yöntemi ile hazırlanan formülasyonların hazırlama sıcaklıkları gibi yüksek sıcaklıklarda Tyloxapol®'ün daha da etkili olduğu belirtilmiştir (105).

Çalışmamızda, sıcak homojenizasyon yöntemi ile yüksek basınçlı homojenizatörde hazırlanan formülasyonların klasik hazırlanış yöntemleri değiştirilmiş ve bu yeni yöntemler ile hazırlanan formülasyonlar fizikokimyasal özellikleri ve UV ışınlarından koruyucu etkileri açısından birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Klasik SLN hazırlama şekli olan Yöntem A'da etkin madde erimiş lipid fazda dağıtılmış ve karışım aynı sıcaklıktaki yüzey etkin madde çözeltisine eklenerek yüksek basınçlı homojenizatörde homojen hale getirilmiştir. Yöntem B'de sıcaklık 95°C çıkartılmış ve etkin madde sisteme 1. homojenizasyon basamağından sonra eklenmiştir. Burada parçacık boyutunda oluşan değişime bağlı olarak etkin madde yükleme kapasitesi araştırılmıştır. Yöntem C'de ise hem viskoziteyi azaltmak, hem de katı lipid konsantrasyonunun parçacık boyutu üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla eşit miktarlarda katı ve sıvı lipid birarada formüle edilmiştir. Çalışmalar sonucunda, Yöntem A ile karşılaştırıldığında, Yöntem B ile hazırlanan formülasyonların parçacık boyutunda kayda değer bir artış saptanamazken, Yöntem C ile hazırlanan formülasyonların, azalan katı lipid

konsantrasyonlarına bağı olarak, parçacık boyutunda ve viskozitesinde daha düşük değerler elde edilmiştir. Ayrıca 1. homojenizasyon basamağından sonra formüle eklenen titanyum dioksit ile formülasyonların UV ışınlarından koruma etkisinde çok önemli artış saptanmıştır.

4.2.2.2. Özellikleri

Bu bölümde SLN'lerin fizikokimyasal özellikleri, parçacık şekli, parçacık boyutu, elektriksel iletkenlik, pH, termal analiz verileri ve miktar tayini sonuçları tartışılmıştır.

4.2.2.2.1. Parçacık Boyutu

Parçacık boyutu ve dağılımı kolloidal taşıyıcı sistemlerin fizikokimyasal karakteristiklerini belirlemede kullanılan en önemli veri olarak tanımlanmaktadır (67). Bu nedenle, PCS ve LD'nun her ikisi ile gerçekleştirilen ölçümlerde formülasyonların distile sudaki dispersiyonları, ultrasonik banyoda hazırlandıktan sonra cihazlara enjekte edilmiştir (11, 13, 67, 70). 0., 1., 7., 14., 28. ve 60. günlerde, 20°C, 40°C, 4°C'de saklanan formülasyonların parçacık boyutundaki değişimlere bağı olarak kararlılıkları incelenmiş ve bu süre boyunca, her 3 koşuldaki formülasyonlardan, özellikle C3 şeklinde ifade edilen, 3 kez homojenize edilmiş formülasyonlarda yüksek kararlılık saptanmıştır. En az kararlılık hiç homojenizasyon uygulanmayan, sadece ultratüraks ile karıştırılarak hazırlanan, UT formülasyonlarında belirlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, homojenizasyon sayısının parçacık boyutunu küçültücü etkisinin olduğu belirlenmiştir. Elde edilen polidisperslik indis verilerinin 0'a yakın değerler olarak homojen parçacık boyutu dağılımını göstermesi ile daha az agregatın oluştuğu ve buna bağı olarak formülasyonlarda yüksek kararlılık elde edildiği belirlenmiştir.

PCS'de, 90°'lik sabit açı ile gelen lazer ışını yardımıyla gerçekleştirilen ölçümlerde, parçacık sayısının 100,000 parçacık. s⁻¹ olması gerektiği üretici firma tarafından önerilmektedir. PCS ölçümleri sonucunda parçacığın hidrodinamik çapı elde edilmektedir. Bu değer parçacığın gerçek çapından büyük bir değerdir. ve ölçüm verileri yaklaşık değerleri göstermektedir. Parçacık boyutu dağılımını değerlendirmek için ayrıca 0-1 arasında değerler alan PI verileri de kullanılabilmektedir (71). 0'a yakın değerlerin homojen bir dağılımı gösterdiği PI

verileri değerlendirildiğinde, çoğu formülasyon için 0.200'den düşük değerler olarak homojen bir parçacık boyutu dağılımının olduğu gösterilmiştir.

Bazı formülasyonlar için, takip eden günlerde yapılan ölçümlerde, parçacık boyutunda beklenen artışın aksine, azalma saptanmıştır. Bu olağandışı durum, dispersiyonların hazırlanmasında sabit tutulan sonikasyon süresinin, bazı formülasyonlar için yeterli olamadığını açıkça göstermektedir. Buna karşın, 60. gün ölçümleri sonucunda elde edilen veriler 500 nm'nin altında olup, formülasyonların kararlılıklarının yüksek olduklarını göstermektedir.

4.2.2.2.2. Parçacık Şekli

SLN'lerin ışık mikroskobu altında 3 ayrı mercek yardımıyla (40X, 63X, 100X) gerçekleştirilen analizlerinden (72, 73) elde edilen resimlerde belirleyici bir parçacık şekli, tüm parçacıkların merceklerin ölçüm aralıkları ($2.5\mu\text{m}$ - $1.59\mu\text{m}$ - $1\mu\text{m}$) dışındaki küçük boyutları nedeniyle saptanamamıştır. Işık mikroskobu, parçacık şekilleri ve büyüklükleri hakkında çabuk sonuç alınabilecek bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Bu yöntem ile parçacık şekillerinin yanı sıra mikrometre boyutuna sahip parçacıklar da kolayca saptanabilmektedir (13). İlerde gerçekleştirilecek çalışmalarda, parçacık şekli analizleri TEM ile gerçekleştirilerek, formüle edilen SLN'lerin şekilleri hakkında kesin bilgilere ulaşmak mümkün olabilecektir.

4.2.2.2.3. Elektriksel İletkenlik

SLN formülasyonlarının kararlılığını belirlemede kullanılan bir başka veri de formülasyonların elektriksel iletkenliklerinde zamana bağlı oluşan değişimdir (11, 13). Süspansiyonlarda parçacıklar arasındaki Van der Waals kuvvetleri, lipofilik parçacıklar arasındaki hidrofobik etkileşmeler ve arayüzeyin azalması nedeniyle agregasyon oluşabilmektedir. Yağlı emülsiyonların düşük elektriksel iletkenlik değerlerine karşın kararlı oldukları saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda, yağlı emülsiyonların -45 mV elektriksel iletkenliklerinin 24 aylık saklama süresince sabit kaldığı saptanmıştır. 24 ay sonunda oluşan artış distile sudaki kısmen yüksek elektrolit konsantrasyonuna bağlanmıştır. Yüzeylerarası pH etkisinin ortadan kaldırılması için, NaOH eklenmesi ile pH'nın 5.2'ye ayarlanması gerekmektedir. Elektriksel iletkenlikte artış olmaması için, NaCl elektroliti baz olarak eklenerek, 50-100 μS iletkenlik aralığında sabit

potansiyellerin oluşması sağlanabilmektedir. Elektrolit bazın eklenmesi, distile sudaki iletkenliğin neden olduğu küçük değişimlerin emülsiyonları etkilememesinin sağlanması ile, çok daha etkili ölçümler gerçekleştirilebilmektedir (73).

Elektriksel iletkenlikleri, -31--60 mV aralığındaki formülasyonlar orta dereceli, -61--80 mV aralığındaki formülasyonlar iyi ve -81--100 mV aralığındaki formülasyonlar da mükemmel elektrostatik kararlılığa sahip sistemler olarak tanımlanmaktadır (73).

Yapılan birçok çalışma referans alınarak analizlerimizde formülasyonlar NaCl ile 50 μ S iletkenliğe ayarlanmış distile su içerisinde disperse edilerek ölçümler gerçekleştirilmiştir (61, 110-113). Çalışmamızda gerçekleştirilen analizler sonucunda, farklı sıcaklıklarda saklanan formülasyonların, 0., 1., 7., 14. ve 28. günlerde gerçekleştirilen elektriksel iletkenlik ölçümlerinde kayda değer büyük farklılıklar saptanmamıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, formülasyonların kararlılıklarını saklama süresince koruduğu belirlenmiştir.

4.2.2.2.4. pH Analizi

Çinko oksit ve titanyum dioksit yüzeylerinin pH değişimlerine karşı duyarlı oldukları literatürlerde açıkça belirtilmiştir. Parçacıkların yüzey yükleri, pH ve elektrolit konsantrasyonu gibi değerlerden kolaylıkla etkilenmektedir. Verilen pH'da parçacıkların yüzey yüklerinin bilinmesi parçacıklar arası etkileşimin öngörülmesine imkan vermektedir (114).

Çalışmamızda, 20°C, 40°C ve 4°C'deki ortamlarda saklanan formülasyonların, 0., 1., 7., 14. ve 28. günlerde, pH değerleri değerlendirilmiştir. Saklama süresi boyunca pH değerlerinde büyük değişiklikler olmadığı saptanmış ve buna bağlı olarak sonuçlar formülasyonların kararlı oldukları şeklinde yorumlanmıştır.

4.2.2.2.5. Termal Analiz

DSC, farklı lipit modifikasyonlarının farklı erime derecesi ve farklı erime entalpisi oluşturması gerçeğinden hareketle lipit yapıların analizinde kullanılmaktadır (13). Çalışmamızda, lipit yapıda oluşan değişikliklerin belirlenmesinde en çok kullanılan yöntem olan DSC ile analizler gerçekleştirilmiştir (50, 80). Katı lipit içeren her formülasyon için, 0., 1., 7., 14. ve

28. günlerde yapılan ölçümlerde, erime ve donma pikleri birbirlerine yakın değerler almıştır. 1. gün ölçümlerinden pek de farklı değerler almayan 28. gün ölçümleri ile lipit yapıda da saklama süresince kayda değer bir değişiklik olmadığı saptanmış ve formülasyonların kararlı oldukları sonucuna varılmıştır.

Dynasan® 116 ile gerçekleştirilen bir DSC analizinde, 56°C’de gelen bir pik az miktardaki β' ve β modifikasyonu gösteren bir geçiş piki olarak tanımlanmıştır. Çalışmada, formülasyon filtrasyon ile konsantre hale getirildiğinde, 46 °C’de α modifikasyonu gösteren bir pik ile 53.5 °C’de β' ve β modifikasyonu gösteren bir pik elde edilmiştir. Genellikle, β polimorf modifikasyonuna sahip Dynasan® 116, 63°C’ye yakın derecelerde erime piki vermektedir. Bu sonuç, sadece çözücü emülsifikasyonu ile hazırlanan nanopartiküller için geçerli olmayıp, eriterek emülsifiye edilen sistemler için de kabul edilen değerler olarak belirtilmiştir. Ayrıca, *Kelvin* etkisine göre de, küçük parçacıkların, büyük parçacıklardan (80-100 nm ve üzeri) daha düşük değerlerde eridikleri saptanmıştır. Küçük parçacıkların α modifikasyonu göstermeleri nedeniyle bu parçacıkların formülasyonlarda belirlenmesi zor olmaktadır (105). DSC analizlerinde, 1-2 mg lipit olacak şekilde formülasyonlardan tartım alınmış ve boş alüminyum referansa karşı analizler gerçekleştirilmiştir (105, 115).

Çalışmamızda hazırlanan SLN parçacıklarının, yukarıda tanımlandığı şekilde analiz sonucunda 63°C’ye yakın derecelerde erime noktalarına sahip oldukları görülmüştür. Bu nedenle, sistemlerin β polimorfik yapıya sahip oldukları düşünülmektedir. Saklama süresince erime piklerinin 63°C’ye yakın değerler alması, sistemlerin β modifikasyon yapısını saklama süresince koruduğunu ve sistemlerin kararlı oldukları saptanmıştır.

4.2.2.2.6. Miktar Tayini

Titanyum dioksit’in SLN formülasyonları içindeki miktarının belirlenmesi amacıyla, USP-24’de anlatılan titrasyon yöntemi, AAS yöntemine oranla uygulanmasının güç olması nedeniyle tercih edilmemiştir. Titrasyon yönteminde sağlıklı sonuçların alınabilmesi için çok miktarda örneğe ihtiyaç duyulması nedeni de öngörülerek, AAS yöntemi en uygun yöntem olarak belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada, formülasyonlara yüklenen titanyum dioksit parçacıklarının cilde penetrasyon derecelerinin belirlenmesi amacıyla,

'Tape Stripping' yöntemi ile elde edilen cilt örneklerinde titanyum dioksit miktar tayini AAS kullanılarak gerçekleştirilmiştir (46). Sülfürik asit ile kaynama noktasında karıştırılmış amonyum sülfat karışımında, elde edilen cilt örnekleri çözündürülmüş, daha sonra seyreltilmiş ve filtre edilmiş örnekler grafit fırına enjekte edilerek analizler gerçekleştirilmiştir (46).

Yapılan bir diğer çalışmada ise, titanyum dioksit miktar tayin analizi AAS ile, örneklerin sıcak sülfürik asit içinde çözündürülmesinin ardından gerçekleştirilmiştir. İlk örneğin 1300°C'de pirolize edilmesinin ardından 2600 °C'de atomize edilerek titanyum miktarı saptanmıştır (14).

Bu çalışmalar ışığında, analizlerimiz Perkin Elmer 5100 model AAS kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihazın titanyum dioksit kalibrasyonunun bulunmasına karşın tüm formülasyonlarda kesin bir titanyum dioksit miktarı belirlenememiştir. Taşıyıcı gaz olarak azot oksit gazı'nın kullanılmasının gerekliliği, analizi gerçekleştiren merkez tarafından vurgulanmış, ancak, teknik olanaksızlıktan dolayı analizlerde bu gaz kullanılamamıştır. Bu nedenle, asetilen gazı ile analizler tekrarlanmış ancak yine de kesin miktarlara ulaşılamamıştır. Örneğin pirolize edilmesi için gereken 1300°C'lik sıcaklık ve 2600°C'lik atomizasyon sıcaklıklarının, cihazın teflon fırına sahip olmaması nedeniyle sağlanamama olasılığı öngörülerek, titanyum dioksit miktarının belirlenememe nedeni büyük oranda bu olanaksızlığa bağlanmıştır.

Kesin bir titanyum dioksit miktarının saptanamaması nedeni ile, analiz merkezinde Fas-2 Spektrometrik Analiz Cihazı kullanılarak, yağ analizi gerçekleştirilerek, titanyum dioksit miktarı saptanmaya çalışılmıştır. Örnekler analiz edildiklerinde yine kesin bir miktar belirlenememiştir. Örneklerin % 50 oranında seyreltilmesi ve analizlerin tekrarlanmasına karşın kesin bir konsantrasyon değeri bu analiz yöntemi ile de elde edilememiştir.

4.2.2.2.7. Katı Lipit Nanopartiküller ile Yapılan *İn Vitro* Çalışmalara Ait Değerlendirmeler

Bu bölümde, SLN formülasyonlarının farklı hazırlama teknikleri ve formülasyon içeriklerinin güneş ışını filtre edici özellikleri üzerindeki etkisi, *in vitro* yöntem sonuçlarına bağlı olarak tartışılmıştır.

4.2.2.2.7.1. *Transpore*TM Test

Yapılan bir çalışmada, tokoferol asetat (TA) SLN'lerinin güneş ışını filtre edici etkileri *Transpore*TM Test yöntemi ile analiz edilmiştir. 50 µL örnek, kuartz küvet üzerine yapıştırılan 4.5 cm²'lik bant yüzeyine sürülmüş ve kuruduktan sonra analizler 280-400 nm'de gerçekleştirilmiştir. TA'nın SLN formülasyonlarına yüklenmesi absorpsiyonu artırmıştır. 300 nm altında TA'nın karakteristik piki gözlenmiştir. Literatür bilgilerinde de olduğu gibi, bu çalışmada da SLN'lerin moleküler ve fiziksel güneş ışını filtre edici maddeler ile birlikte formülasyonu, etkinliği yüksek formülasyonlar oluşturmuştur (1).

Bir diğer çalışmada ise, titanyum dioksit içeren formülasyonların UV ışınlarını engelleme özellikleri *Transpore*TM Test yöntemi ile analiz edilmiştir (46). *In vitro* etkinlikler, 2 mg.cm⁻² formülasyonun bant üzerine uygulanmasının ardından, 290-400 nm aralığında analizleri gerçekleştirilerek araştırılmıştır (46).

Bölüm 3.2.4.1.'de anlatılan şekilde gerçekleştirilen analizler sonucunda, en düşük koruma derecesi emülsiyon formülasyonlarından elde edilmiştir. SLN'lerin etkin madde yüklenmemiş formülasyonları ile % 4 titanyum dioksit konsantrasyonuna sahip emülsiyon formülasyonu birbirine çok yakın koruma değeri göstermiştir. Sıvı ve katı lipitin birarada kullanıldığı hibrit SLN'ler de, düşük katı lipit oranına karşın, oldukça yüksek koruma sağlamışlardır. Klasik SLN formülasyonları, emülsiyon formülasyonları ile karşılaştırıldıklarında, SLN formülasyonlarının üstünlüğü açıkça görülmektedir. Emülsiyon formülasyonlarından yaklaşık 3 kat yüksek absorbansa sahip SLN formülasyonları için, emülsiyon formülasyonlarından 3 kat fazla koruma sergiledikleri yorumu yapılabilmektedir.

Bu analizde en çarpıcı sonuçlar titanyum dioksit yükleme yöntemi değiştirilerek hazırlanmış formülasyonlardan elde edilmiştir. % 1 titanyum dioksit konsantrasyonuna sahip yeni SLN formülasyonları, % 4 titanyum dioksit konsantrasyonuna sahip klasik SLN formülasyonu ile neredeyse aynı absorpsiyonu oluşturmuştur. Yeni yöntemle hazırlanan SLN formülasyonlarından % 4 titanyum dioksit içeren şekli diğer formülasyonlardan çok yüksek absorpsiyon gerçekleştirmiştir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, etkin madde yükleme yönteminin değiştirilmesinin parçacık boyutu üzerinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır. Ancak, bu yöntem ile formülasyonların UV ışınlarından koruma etkisini önemli derecede artırdığı gözlenmiştir. Denenen bu etkin madde yükleme yöntemi ile SLN formülasyonlarının diğer formülasyonlara olan üstünlüğü daha da arttırılmıştır.

4.2.2.2.7.2. *Sun To SeeTM* Test

Güneş ışını filtre edici madde olarak kullanılan TA yüklenmiş SLN'lerin kullanıldığı bir çalışmada, formülasyonların UV ışınlarını engelleme özellikleri *Sun To SeeTM* Test'i kullanılarak araştırılmıştır. 70 mg örnek 3.8 cm²'lik bant yüzeyine homojen olarak sürülmüştür. 30 cm uzaklıktan UV ışınlarına 90 dakika boyunca maruz bırakılan bantlar daha sonra 2 mL aseton içerisinde çözündürülmüştür. Oluşan boya miktarı, 603 nm'de UV spektrofotometresinde analiz edilerek saptanmıştır (1).

Bir diğer çalışmada ise, benzofenon-3 ve TA madelerinin etkinlikleri, yeni geliştirilen bu yöntem kullanılarak araştırılmıştır. 100 mg örnek bant yüzeyine uygulandıktan sonra 32°C'de 30 dakika kurutulmasının ardından, 90 dakika UV ışınlarına maruz bırakılmıştır. Oluşan renk, 2 mL aseton içerisinde çözündürülerek 603 nm'de absorbanslar elde edilmiştir (12).

Bölüm 3.2.4.2.'de anlatıldığı şekilde ve yukarıda anlatılan çalışmalar referans alınarak analizler gerçekleştirilmiş ve oluşan renk konsantrasyonu 603 nm'de gerçekleştirilen spektrofotometrik analizler sonucunda saptanmıştır. Absorpsiyon verileri değerlendirildiğinde, titanyum dioksit içermeyen emülsiyon formülasyonunun koruyucu özelliğinin neredeyse hiç olmadığı, referans ile aynı absorbansı oluşturması ile açıkça görülmüştür. Titanyum dioksit içermeyen plasebo SLN formülasyonunun etkisinin de düşük olduğu görülmüştür. Hibrit SLN'lerin % 1 titanyum dioksit içeren formülasyonu ile yine aynı konsantrasyona sahip klasik SLN formülasyonundan yüksek absorbanslar saptanmıştır. Hibrit SLN'lerin % 4 titanyum dioksit konsantrasyona sahip formülasyonu, klasik SLN'lerin % 1 titanyum dioksit içeren formülasyonu ile yakın absorbans değerleri vermiştir. Bu sonuç, hibrit SLN'lerin düşük katı lipid konsantrasyonlarına bağlı olarak oluşmuştur. % 4 titanyum dioksit içeren hibrit SLN formülasyonları, % 1

titanyum dioksit içeren hibrit SLN formülasyonlarından daha düşük absorbands oluşturmuşlardır. % 4 emülsiyon formülasyonu ile % 1 titanyum dioksit içeren klasik SLN formülasyonlarının absorbands değerleri de birbirine çok yakın değerler almışlardır. En yüksek koruma faktörü, öngörüldüğü gibi en düşük absorbandsı oluşturan % 4 titanyum dioksit içeren klasik SLN formülasyonlarından elde edilmiştir.

Madde spesifikasyonlarında UV ışınlarını engelleme özelliği olduğu iddia edilen Myritol® 331'in etkinliği bu yöntemle araştırılmıştır. Myritol® 331 içeren formülasyonların oluşturduğu absorbands verileri değerlendirildiğinde, maddenin, formülasyonların koruma oranını kayda değer derecede arttırdığı saptanmıştır. Bunun yanı sıra, yüksek emülsiyon yapıcı ajan özelliğinden dolayı formülasyonların uygulanmasında da büyük kolaylık göstermiştir.

Yapılan tüm analizler değerlendirildiğinde, titanyum dioksit yüklenmiş SLN formülasyonlarının yeni hazırlama teknikleri ve farklı madde konsantrasyonları ile kararlı, güneş ışını filtre edici özellikleri yüksek, uygulanması kolay formülasyonları elde edilmiştir. Katı lipit yapının güneş ışını filtre edici özelliği ile, titanyum dioksit konsantrasyonu düşük, ancak etkinliği yüksek formülasyonların oluşturulması sağlanabilmiştir. Bu sayede, etkin maddenin yan etkileri en aza indirgenmiş ve güvenli formülasyonlar oluşturulması sağlanmıştır. Böylece, güneş ışını filtre edici madde formülasyonları için en önemli sakınca da ortadan kaldırılmıştır.

Diğer taşıyıcı sistemlere olan üstünlükleri ile SLN'ler, güneşten koruyucu preparatların, yeni etkin madde taşıyıcı sistemleri olarak, kozmetik endüstride araştırılmaya devam edilmesi gereken yapılardır. İleri üretim tekniklerinin geliştirilmesi ile daha güvenli ve kararlı formülasyonların oluşturulmasında bir hayli yol katedilecektir.

5. KAYNAKLAR

1. WISSING, S. A., MÜLLER, R. H., *A Novel Sunscreen System Based on Tocopherol Acetate Incorporated into Solid Lipid Nanoparticles*, International Journal of Cosmetic Science, **23** (4), s. 233-244, (2001).
2. WISSING, S. A., MADER, K., MÜLLER, R. H., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN)- A Novel Carrier for UV Blockers*, Die Pharmazie, **10**, s.783-786, (2001).
3. WISSING, S. A., MÜLLER, R. H., *The Development of an Improved Carrier System for Sunscreen Formulations Based on Crystalline Lipid Nanoparticles*, 13th International Symposium on Microencapsulation, Poster No:55, (2001).
4. GODWIN, D. A., KIM, N., FELTON, L. A., *Influence of Transcutol® CG on the Skin Accumulation and Transdermal Permeation of Ultraviolet Absorbers*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **53**, s. 23-27, (2002).
5. WISSING, S. A., MÜLLER, R. H., *In Vitro and In Vivo Skin Permeation of Sunscreens From Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM), Supercooled Melts and Emulsions*, 4th World Meeting ADRITELF/APGI/APV, 8/11 April 2002, Florence, s. 1135-1136, (2002).
6. PRUIM, B., GREEN, A., *Photobiological Aspects of Sunscreen Re-Application*, Australasian Journal of Dermatology, **40**(1), s. 14-22, (1999).
7. LIPPACHER, A., MÜLLER, R. H., MADER, K., *Semisolid SLNTM Dispersions for Topical Application: Influence of Formulation and Production Parameters on Viscoelastic Properties*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **53** (2), s. 155-160, (2002).
www.elsevier.com/locate/ejphabio
8. MÜLLER, R. H., DINGLER, A., HILDEBRAND, G. E., GOHLA, S., *Development of Cosmetic Products (LipopearlsTM) Based on Solid Lipid Nanoparticles (SLN)*, Proceeding International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, **25**, s. 238-239, (1998).

9. DINGLER, A., MÜLLER, R. H., GOHLA, S., *Incorporation of Hydrophilic Active Ingredients in Solid Lipid Nanoparticles for the Topical Application*, Proceeding 2nd World Meeting APGI/APV, 25/28 May 1998, Paris,(1998).
10. SCHÜTT, D. H., KAISER, E., STAMM, I., KUBIS, A., MÜLLER, R. H., *New Generation of Cosmetic Products Based on Solid Lipid Nanoparticles (Lipopearls®)*, Proceeding 2nd World Meeting APGI/APV, 25/28 May 1998, Paris,(1998).
11. MEHNERT, W., MADER, K., *Solid Lipid Nanoparticles; Production, Characterization and Application*, Advanced Drug Delivery Reviews, **47(2-3)**, s. 165-196, (2001).
12. WISSING, S. A., MÜLLER, R. H., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN) as Sunscreens: Advantages over Conventional Emulsion Based Systems*, 28th International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, 23/27.June.2001, Sandiego, (2001).
13. MÜLLER, R. H., MADER, K., GOHLA, S., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Controlled Drug Delivery- a Review of the State of the Art*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **50**, s. 161-177, (2000).
14. GOYMANN, B., GOYMANN, M., *Skin Penetration and Stabilization of Formulations Containing Microfine Titanium Dioxide as Physical UV Filter*, International Journal of Cosmetic Science, **22 (4)**, s.271-279, (2000).
15. ANDERSON, M. W., HEWITT, J. P., SPRUCE, S. R., *Broad -Spectrum Physical Sunscreens: Titanium Dioxide and Zinc Oxide*, Sunscreens, Cosmetic Science and Technology Series, **15**, s. 353-399, Marcel and Dekker, New York, (1997).
16. UNIQEMA NEWS, *Protect Yourself from UVA Rays With Titanium Dioxide and Zinc Oxide*, www.uniqema.com/news/indpc2.htm.
17. URBACH, F., *The Historical Aspects of Sunscreens*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, **64 (2-3)**, s. 99-104, (2001).

18. WOLF, R., WOLF, D., MORGANTI, P., RUOCCO, V., *Sunscreens, Clinics in Dermatology*, **19** (4), s. 452-459, (2001).
19. WOLF, R., TÜZÜN, B., TÜZÜN, Y., *Sunscreens, Dermatologic Therapy*, **14** (3), s. 208-308, (2001).
20. Virtual Hospital, Department of Dermatology, *Sun Protection and Sunscreens*, www.blackwell-synergy.com/servlet/useragent, (2002).
21. Sunscreens 2000- *What You Need to Know*, www.solumedia.com/sunscreens.
22. BISSONNETTE, R. Dr., *Update on Sunscreens*, Skin Therapy Letter, **2** (5), www.dermatology.org/skintherapy/st10205.html, (1997).
23. LADEMANN, J., *Tape Stripping in Combination with Spectroscopic Measurements: Qualitative Analysis of the Penetration Behaviour of Sunscreens and Drugs into the Skin*, Skin Care Forum, **23**, www.scf-online.com, (2000).
24. Ultraviolet Radiation: *Why Full Spectrum Protection is Needed*, Skin Care Forum, **22**, www.scf-online.com, (2000).
25. STEGE, H., ROZA, L., VINK, A. A., GERWE, M., RUZICKA, T., GREYER-BECK, S., KRUTMANN, J., *Enzyme Plus Light Therapy to Repair DNA Damage in Ultraviolet-B-Radiated Human Skin*, Proceedings National Academy of Sciences, **97** (4), s. 1790-1795, (2000).
26. MOYAL, D. D., FOURTAINER, A. M., *Broad-Spectrum Sunscreens Provide Better Protection from the Suppression of the Elicitation Phase of Delayed-Type Hypersensitivity Response in Humans*, Journal of Investigative Dermatology, **117** (5), s. 1186-1198, (2001).
27. CHISVERT, A., PASCUAL-MARTI, M. C., SALVADOR, A., *Determination of the UV Filters Worldwide Authorised in Sunscreens by High-Performance Liquid Chromatography Use of Cyclodextrins as a Mobile Phase Modifier*, Journal of Chromatography A, **921** (2), s. 207-215, (2001).

28. SHAATH, N. A., *Evaluation of Modern Sunscreen Chemicals*, Sunscreens, (N. J. LOWE, N. A. SHAATH, M. A. PATHAK, Editors), Cosmetic Science and Technology Series, **15**, s. 3-35, Marcel and Dekker, New York, (1997).
29. KLEIN, K., STEINBERG, D., *Introduction and Regulatory Discussion*, Sun Products, Protection and Tanning, s. 11-30, Allured Publishing Corporation, Illinois, (1998).
30. GRIFFIN, M. E., BOURGET, T. D., LOWE, N. J., *Sun Protection Factor Determination in the United States*, Sunscreens, (N. J. LOWE, N. A. SHAATH, M. A. PATHAK, Editors), Cosmetic Science and Technology Series, **15**, s. 499-513, Marcel and Dekker, New York, (1997).
31. FERNANDEZA, C., NIELLOUDB, F., FORTUNE, R., VIANC, L., MARTI-MESTRES, G., *Benzophenone-3: Rapid Prediction and Evaluation Using Non-Invasive Methods of In Vivo Human Penetration*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, **28** (1), s. 57-63, (2002).
32. NAYLOR, M. F., FARMER, K. C., *Sunscreens*, www.telemedicine.org/sundam/sundam2.4.2.html.
33. OSTERWALDER, U., HERZOG, B., *New System of Broad Spectrum UV Protection*, IFSCC Magazine, July/September 2002, **5** (3), s.169-175, (2002).
34. MITCHNICK M. A., *Zinc Oxide*, Sun Products, Protection and Tanning, s. 130-142, Allured Publishing Corporation, Illinois, (1998).
35. MITSUI, T., *Body Cosmetics*, New Cosmetic Science, (T. MITSUI, Editor) 1st Edition, s.446-478, Elsevier Science, Amsterdam, (1997).
36. MONTENEGRO, L., PAOLINO, D., PUGLISI, G., *In Vitro Skin Permeation of Sunscreen Agents from O/W Emulsions*, Proceeding 4th World Meeting ADRITELF/APGI/APV, Florence, 8/11 April 2002, s. 1145-1146, (2002).
37. KLEIN, K., *Formulating with Sunscreens*, Sun Products, Protection and Tanning, s. 5-11, Allured Publishing Corporation, New York, (1998).

38. KLEIN, K., *Sunscreen Products: Formulating and Regulatory Considerations*, Sunscreens, (N. J. LOWE, N. A. SHAATH, M. A. PATHAK, Editors), Cosmetic Science and Technology Series, 15, s. 285-313, Marcel and Dekker, New York, (1997).
39. SCALIA, S., SIMEONI, S., IACONINOTO, A., *Improvement in the Photostability of Ethylhexyl-methoxycinnamate Upon Complexation with β -Cyclodextrin*, Proceeding 4th World Meeting ADRITELF/APGI/APV, Florence, 8/11 April 2002, s. 1389-1390, (2002).
40. FREITAS, Z. M. F., GONCALVES, J. C. S., SANTOS, E. P., VERGNANINI, A., *Glyceridic Esters of p-Methoxycinnamic Acid. A New Sunscreen in Cinnamate Class*, International Journal of Cosmetic Science, 23 (3), s. 147-151, (2001).
41. NANOBIOTEC®GmbH, *Nanopearls*,
www.nanobiotec-berlin.de/nanopearls.htm.
42. Part 352-Sunscreens, www.cfsan.fda.gov/
43. WYNGATE, P., *FDA Changes Sunscreen Labeling Requirements*,
www.newhope.com/nfm-online/index.cfm.
44. Sun Care 2000, www.creative-developments.co.uk/papers/sun
45. FERNANDEZA, C., MARTI-MESTRES, G., RAMOSC, J., MAILLOLSB, H., *LC Analysis of Benzophenone-3: II Application to Determination of 'In Vitro' and 'In Vivo' Skin Penetration from Solvents, Coarse and Submicron Emulsions*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 24 (1), s. 155-165, (2000).
46. GOTTBATH, S., MÜLLER-GOYMANN, C. C., *Detection of Titanium Dioxide in Deeper Layers of Stratum Corneum- Influence of Stabilization with Hypermellose*, Proceeding 4th World Meeting ADRITELF/APGI/APV, 8/11 April 2002, Florence, s. 1217-1218, (2002).
47. WISSING, S. A., LIPACHER, A., MÜLLER-GOYMANN, C. C., MÜLLER, R. H., *Highly Concentrated Solid Lipid Nanoparticles (SLN): Production and Transmission Electron Microscopy (TEM) Investigations*, 4th World Meeting ADRITELF/APGI/APV, 8/11 April 2002, s. 811-812, (2002).

48. GOHLA, S. H., DINGLER, A., *Scaling up Feasibility of Production of Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM)*, *Pharmazie*, **56** (1), 61-63, (2001).
49. DINGLER, A., HILDEBRAND, G., KEILHOLZ, J., PFEIFFER, S., DEBUS, N., MÜLLER, R. H., GOHLA, S., *Electron and Fluorescence Micrographical Characterisation of LipopearlsTM (SLMTM)*, *International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials*, **24**, s. 925-926, (1997).
50. WISSING, S. A., LIPPACHER A., MÜLLER, R. H., *Investigations on the Occlusive Properties of Solid Lipid Nanoparticles (SLN)*, *Journal of Cosmetic Science*, **52**, s. 313-324, (2001).
51. ZIMMERMANN, E., MÜLLER, R. H., *Electrolyt and pH Stabilities of Aqueous Solid Lipid Nanoparticle (SLNTM) Dispersions in Artificial Gastrointestinal Media*, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **52**, s. 203-210, (2001).
52. DINGLER, A., LUKOWSKI, G., GOHLA, S., MÜLLER, R. H., *Production and Characterisation of Solid Lipid Nanoparticles as Colloidal Carrier System for Cosmetic Products*, *2nd World Congress on Emulsion*, Bordeaux, 4-2-296, (1997).
53. MÜLLER, R. H., LIPPACHER A., GOHLA, S., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN) as a Carrier System for the Controlled Release of Drugs*, *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, (D. Wise, Editor), s. 377-391, (2000).
54. WESTESEN, K., SIEKMANN, B., *Investigation of the Gel Formation of Phospholipid-Stabilized Solid Lipid Nanoparticles*, *International Journal of Pharmaceutics*, **151**, s. 35-45, (1997).
55. SENTJURC, M., AHLIN, P., STRANCAR, J., KRISTL, J., *Investigation of Solid Lipid Nanoparticles by EPR*, www.ibmb.uni.wroc.pl/sentjurc.htm
56. MÜHLEN, A. zur., SCHWARZ, C., MEHNERT, W., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN) For Controlled Drug Delivery- Drug Release and Release Mechanism*, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **45**, s. 149-155, (1998).

57. MÜLLER, R. H., MEHNERT, W., DINGLER, A., RUNGE, S. A., MÜHLEN, A. zur, FREITAS, C., *Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM, LipopearlsTM)-Present State of Development*, International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, **24**, s. 923-924, (1997).
58. DEMİREL, M., YAZAN, Y., MÜLLER, R. H., KILIÇ, F., BOZAN, B., *Formulation and In Vitro-In Vivo Evaluation of Piribedil Solid Lipid Micro- and Nanoparticles*, Journal of Microencapsulation, **18** (3), s. 359-371, (2001).
59. DEMİREL, M., YAZAN, Y., *Katı Lipid Nanopartiküller (SLN)*, FABAD Journal of Pharmaceutical Science, **25**, s.167-179, (2000).
60. SCHÖLER, N., HAHN, H., MÜLLER, R. H., LIESENFELD, O., *Effect of Lipid Matrix and Size of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) on the Viability and Cytokine Production of Macrophages*, International Journal of Pharmaceutics, **231** (2), s. 167-176, (2002).
61. SCHWARZ, C., MEHNERT, W., LUCKS, J. S., MÜLLER, R. H., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Controlled Drug Delivery. I. Production, Characterization and Sterilization*, Journal of Controlled Release, **30**, s. 83-96, (1994).
62. MÜLLER, R. H., HILDEBRAND, G. E., RUNGE, S. A., DINGLER, A., *Dispersion of Solid Lipids-Solid Lipid Nanoparticles (SLN): Production and Possible Applications in Food, Cosmetic and Pharmaceutical Products*, 2nd World Congress on Emulsion, Bordeaux, 1-2-195, (1997).
63. DEMİREL, M., *Pribedil Katı Lipid Nanopartiküllerinin Formülasyonu ve İn Vitro-İn Vivo Değerlendirilmesi*, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, (1999).
64. DINGLER, A., HILDEBRAND, G., NIEHUS, H., MÜLLER, R. H., *Cosmetic Anti-Aging Formulation Based on Vitamin E-Loaded Solid Lipid Nanoparticles*, International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, **25**, s. 433-434 (1998).

65. JENNING, V., THÜNEMANN, A. F., GOHLA S. H., *Characterisation of a Novel Solid Lipid Nanoparticle Carrier System Based on Binary Mixtures of Liquid and Solid Lipids*, International Journal of Pharmaceutics, **199**, s. 167-177, (2000).
66. DINGLER, A., LUKOWSKI, G., PFLEGEL, P., GOHLA S., MÜLLER, R. H., *Production of Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM) from Cosmetic Lipids and Surfactants*, 2nd World Congress on Emulsion, Bordeaux, 4-2-297, (1997).
67. AHLIN, P., KRISTL, J., SMID-KORBAR, J., *Optimization of Procedure Parameters and Physical Stability of Solid Lipid Nanoparticles in Dispersions*, Acta Pharmaceutica, **48**, s. 259-267, (1998).
68. MÜLLER, R. H., RADTKE, M., WISSING, S. A., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) in Cosmetic and Dermatological Preparations*, Advanced Drug Delivery Reviews, **54** (1), s. 131-155, (2002).
69. KRAUSE, K. P., KAYSER, O., MADER, K., GUST, R., MÜLLER, R. H., *Heavy Metal Contamination of Nanosuspensions Produced by High-Pressure Homogenisation*, International Journal of Pharmaceutics, **196**, s. 169-172, (2000).
70. DINGLER, A., BLUM, R. P., NIEHUS, H., MÜLLER, R. H., GOHLA, S., *Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM/ LipopearlsTM)- a Pharmaceutical and Cosmetic Carrier for the Application of Vitamin E in Dermal Products*, Journal of Microencapsulation, **16** (6), s. 751-767, (1999).
71. AHLIN, P., SENTJURC, M., STRANCAR, J., KRISTL, J., *Location of Lipophilic Substances and Ageing of Solid Lipid Nanoparticles Studied by EPR*, S.T.P. Pharma Sciences, **10** (2), s. 125-132, (2000).
72. MÜLLER, R. H., HEINEMANN, S., *Fat Emulsions for Parenteral Nutrition. I: Evaluation of Microscopic and Laser Light Scattering Methods for the Determination of Physical Stability*, Clinical Nutrition, **11**, s. 223-236, (1992).

73. MÜLLER, R. H., HEINEMANN, S., *Fat Emulsions for Parenteral Nutrition II: Characterisation and Physical Long-Term Stability of Lipofundin MCT/LCT*, Clinical Nutrition, **12**, s. 298-309, (1993).
74. IGARTUA, M., SAULNIER, P., HEURTAULT, B., PECH, B., PROUST, J. E., PEDRAZ, J. L., BENOIT, J. P., *Development and Characterization of Solid Lipid Nanoparticles Loaded with Magnetite*, International Journal of Pharmaceutics, **233** (1-2), s. 149-157, (2002).
75. CAVALLI, R., CAPUTO, O., CARLOTTI, M. E., TROTTA, M., SCARNECCHIA, C., GASCO, M. R., *Sterilization and Freeze Drying of Drug-Free and Drug-Loaded Solid Lipid Nanoparticles*, International Journal of Pharmaceutics, **148**, s. 47-54, (1997).
76. AHLIN, P., KRISTL, J., SENTJURC, M., STRANCAR, J., PECAR, S., *Influence of Spin Probe Structure on Its Distribution in SLN Dispersions*, International Journal of Pharmaceutics, **196** (2), s. 241-244, (2000).
77. SCHWARZ, C., MEHNERT, W., *Freeze-Drying of Drug-Free and Drug-Loaded Solid Lipid Nanoparticles (SLN)*, International Journal of Pharmaceutics, **157**, s. 171-179, (1997).
78. FREITAS, C., MÜLLER, R. H., *Effect of Light and Temperature on Zeta Potential and Physical Stability in Solid Lipid Nanoparticle (SLNTM) Dispersions*, International Journal of Pharmaceutics, **168** (2), s. 221-229, (1998).
79. KAŞ, H. S., *İlaç Taşıyıcı Partiküler Sistemler, Kontrollü Salım Sistemleri*, (A. Z. GÜRSOY, Editör), s. 65-103, Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj.San. Tic Ltd. Şti., İstanbul, (2002).
80. OLBRICH, C., KAYSER, O., MÜLLER, R. H., *Lipase Degradation of Dynasan 114 and 116 Solid Lipid Nanoparticles (SLN)- Effect of Surfactants, Storage Time and Crystallinity*, International Journal of Pharmaceutics, **237**, s. 119-128, (2002).
81. ALMEIDA, A. J., RUNGE, S., MÜLLER, R. H., *Investigations on Solid Lipid Nanoparticles (SLN) as Colloidal Carriers for Protein Antigens*, International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, **24**, s. 837-838, (1997).

82. FREITAS, C., LUCKS, J. S., MÜLLER, R. H., *Effect of Storage Conditions on Long-Term Stability of "Solid Lipid Nanoparticles" (SLN) in Aqueous Dispersions*, Proceeding 1st World Meeting APGI/APV, 9/11 May 1995, Budapest, (1995).
83. RADTKE, M., MÜLLER, R. H., *Stability Study of Creams Containing Cyclosporine SLNTM*, International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, **28**, s. 472-473, (2001).
84. LIPPACHER, A., MÜLLER, R. H., MADER, K., *Preparation of Semisolid Drug Carriers for Topical Application Based on Solid Lipid Nanoparticles*, International Journal of Pharmaceutics, **214** (1-2), s. 9-12, (2001).
85. FREITAS, C., MÜLLER, R. H., *Spray-Drying of Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM)*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **46**, s. 145-151, (1998).
86. MÜLLER, R. H., MAASSEN, S., SCHWARZ, C., MEHNERT, W., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN) as Potential Carrier for Human Use: Interaction with Human Granulocytes*, Journal of Controlled Release, **47**, s. 261-269, (1997).
87. MÜLLER, R. H., MAASSEN, S., WEYHERS, H., MEHNERT, W., *Phagocytic Uptake and Cytotoxicity of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) Sterically Stabilized with Poloxamine 908 and Poloxamer 407*, Journal of Drug Targeting, **4** (3), s. 161-170, (1996).
88. MÜLLER, R. H., RÜHL, D., RUNGE, S., SCHULZE-FORSTER, K., MEHNERT, W., *Cytotoxicity of Solid Lipid Nanoparticles as a Function of the Lipid Matrix and the Surfactant*, Pharmaceutical Research, **14** (4), s.458-462, (1997).
89. RADTKE, M., MÜLLER, R. H., *Comparison of Structural Properties of Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM) Versus Other Lipid Particles*, Proceeding International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, **27**, s. 309-310, (2000).

90. JENNING, V., GYSLER, A., SCHAFFER-KORTING, M., GOHLA, S. H., *Vitamin A Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Topical Use: Occlusive Properties and Drug Targeting to the Upper Skin*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **49**, s. 211-218, (2000).
91. LIPPACHER, A., MÜLLER, R. H., MADER, K., *Production and Physical Characterisation of Semisolid SLN Dispersions as Drug Carrier for Topical Application*, Proceeding 3rd World Meeting APV/APGI, 3/6 April 2000, Berlin, s. 427-428, (2000).
92. RADTKE, M., MÜLLER, R. H., *Semisolid NLC[®]- Dispersions as a Dermal Delivery System- Production and Characterization*, Proceeding 4th World Meeting ADRITELF/APV/APGI, 8/11 April 2002, Florence, (2002).
93. RADTKE, M., MÜLLER, R. H., *Semisolid NLC[®]- Dispersions for the Topical Administration of Cyclosporine A*, Proceeding 4th World Meeting ADRITELF/APV/APGI, 8/11 April 2002, Florence, (2002).
94. WISSING, S. A., MADER, K., MÜLLER, R. H., *Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM) as a Novel Carrier System Offering Prolonged Release of the Perfume Allure (Chanel)*, Proceeding International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, **27**, (2000).
95. WISSING, S. A., MADER, K., MÜLLER, R. H., *Prolonged Efficacy of the Insect Repellent Lemon Oil by Incorporation into Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM)*, 3rd World Meeting APV/APGI, 3/6 April 2000, Berlin, s. 439-440, (2000).
96. U. S. Pharmacopeia National Formulary, USP XXIV/ NF XIX, Mack Printing Company, Easton, (2000).
97. The Merck Index, Eleventh Edition, Merc & CO. Inc., New Jersey, (1989).
98. Martindale, The Extra Pharmacopeia, 29th Edition, The Pharmaceutical Press., London, (1989).
99. Material Safety Data Sheet for Titanium Dioxide, Cosmetic Ingredients, Whittaker Clark & Daniels Inc., Belgium.

100. DUNFORD, R., SALINARO, A., CAI, L., SERPONE, N., HORIKOSHI, S., HIDAKA, H., KNOWLAND, J., *Chemical Oxidation and DNA Damage Catalysed by Inorganic Sunscreen Ingredients*, FEBS Letters, **418** (1-2), s. 87-90, (1997).
101. Van der MOLEN, R. G., HURKS, H. M. H., OUT-LUITING, C., SPIES, F., NOORDENDE, J. M. van't , KOERTEN, H. K., MOMMAAS, A. M., *Efficacy of Micronized Titanium Dioxide- Containing Compounds in Protection Against UVB-Induced Immunosuppression in Humans In Vivo*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, **44**, s. 143-150, (1998).
102. HANCOCK-CHEN, T., SCAIANO, J. C., *Enzyme Inactivation by TiO₂ Photosensitization*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, **57**, s. 193-196, (2000).
103. Product Data Sheet for 328 Titanium Dioxide USP BC, Cosmetic Ingredients, Whittaker Clark & Daniels Inc., Belgium.
104. OLBRICH, C., MÜLLER, R. H., *Enzymatic Degradation of SLN-Effect of Surfactant and Surfactant Mixtures*, International Journal of Pharmaceutics, **180** (1), s. 31-39, (1999).
105. SIEKMANN, B., WESTESEN, K., *Investigations on Solid Lipid Nanoparticles Prepared by Precipitation in O/W Emulsions*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **43** (2), s. 104-109, (1996).
106. Trade Name Information, Dynasan 116,
www.infochems.com/product/product
107. KOBAYASHI, M., KALRIESS, *Photocatalytic Activity of Titanium Dioxide and Zinc Oxide*, Sun Products: Protection and Tanning, s. 142-147, Allured Publishing Corporation, Illinois, (1998).
108. Myritol 331,
www.surfactants.net/formulary/produkte_rezepturen/myritol_331.htm.
109. DAHMS, G. H., *Choosing Emollients and Emulsifiers for Sunscreen Products*, Sun Products: Protection and Tanning, s. 170-182, Allured Publishing Corporation, Illinois, (1998).

110. JENNING, V., SCHAFER-KORTING, M., GOHLA, S., *Vitamin A-Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Topical Use: Drug Release Properties*, Journal of Controlled Release, **66**, s. 115-126, (2000).
111. ALMEIDA, A. J., RUNGE, S., MÜLLER, R. H., *Peptide-Loaded Solid Lipid Nanoparticles (SLN): Influence of Production Parameters*, International Journal of Pharmaceutics, **149**, s. 255-265, (1997).
112. JENNING, V., GOHLA, S., MÜLLER, R. H., *Solid Lipid Nanoparticles (SLN), Effect of Homogenization Parameters on Drug Stability*, Proceeding 2nd World Meeting APGI/APV, 25/28 May 1998, s. 619-620, (1998).
113. YAZIKSIZ-IŞCAN, Y., WISSING, S. A., HEKİMOĞLU, S., MÜLLER, R. H., *Development of a Novel Carrier System for Vitamin K Using Solid Lipid Nanoparticles (SLNTM)*, 4th World Meeting ADRITELF/APV/APGI, 8/11 April 2002, Florence, (2002).
114. FAIRHURST, D., *Surface Coating and the Optimization of Microfine Oxides in Sunscreen Formulations*, Sun Products, Protection and Tanning, s. 147-159, Allured Publishing Corporation, Illinois, (1998).
115. CAVALLI, R., PEIRA, E., CAPUTO, O., GASCO, M. R., *Solid Lipid Nanoparticles as Carriers of Hydrocortisone and Progesterone Complexes with β -Cyclodextrins*, International Journal of Pharmaceutics, **182 (1)**, s. 59-69, (1999).