

**ÇİNKO OKSİT ve OKTOSRİLEN'İN
KATI LİPİT NANOPARTİKÜL,
MİKROEMÜLSİYON ve KREM
SİSTEMLERİ ŞEKLİNDE
FORMÜLASYONU
ve
İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

Murat Sami Berkman

Doktora Tezi

**ÇİNKO OKSİT ve OKTOSRİLEN'İN
KATI LİPİT NANOPARTİKÜL,
MİKROEMÜLSİYON ve KREM
SİSTEMLERİ ŞEKLİNDE
FORMÜLASYONU
ve
İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

Murat Sami Berkman

Doktora Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Eskişehir, Mayıs 2007

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yasemin Yazan

Bu tez çalışması, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No. 040343).

Jüri ve Enstitü Onayı

Murat Sami BERKMAN' ın “ Çinko Oksit ve Oktosrilen' in Katı Lipit Nanopartikül, Mikroemülsiyon ve Krem Sistemleri Şeklinde Formülasyonu ve *in vitro* Değerlendirilmesi” başlıklı, Farmasötik Teknoloji Bilim / Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans / Doktora tezi, 29.05.2007 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. Yasemin YAZAN Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	
Üye	Prof.Dr. Özgen ÖZER Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	
Üye	Prof.Dr. Dilek AK Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	
Üye	Yard.Doç.Dr. Lütfi GENÇ Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	
Üye	Yard.Doç.Dr Müzeyyen DEMİREL Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08.05.2007 tarih ve 15/1 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof.Dr.E.Yasemin YAZAN

ÖNSÖZ

“Çinko oksit ve oktosrilen’in katı lipid nanopartikül, mikroemülsiyon ve krem sistemleri şeklinde formülasyonu ve *in vitro* değerlendirilmesi” başlıklı çalışmamızda, güneş ışınlarını süzücü üç farklı sistem hazırlanmıştır. Hazırlanan sistemlerin karakterizasyon ve kararlılık çalışmaları yapılmış ve *in vitro* *Transpore*TM Testi ile etkinlikleri karşılaştırılmıştır.

Uluslararası “güneşten koruma faktörü” yöntemi için halen bir harmonizasyon gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle çalışmamızda, hazırlanan formülasyonların *in vivo* etkinlik özelliklerinin incelemesi yapılamamış, harmonizasyon çalışmaları tamamlandıktan sonra yapılması planlanmıştır.

Tüm çalışmam boyunca her türlü olanağı sağlayan, bilgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen, danışman hocam Prof. Dr. Yasemin YAZAN’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Etkin madde miktar tayini çalışmalarının Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmaları Merkezi’nde gerçekleştirilmesine olanak sağlayan, Prof. Dr. Rıdvan SAY ve Yrd. Doç. Dr. Lütfi GENÇ’e yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgilerini ve yardımlarını gördüğüm hocalarım ve bölüm arkadaşlarım, Yrd. Doç. Dr. Müzeyyen DEMİREL’e, Öğr. Gör. Dr. Gülay BÜYÜKKÖROĞLU’na, Araş. Gör. Uzm. Ebru Cengiz’e, Araş. Gör. Evrim YENİLMEZ’e ve Uzm. Sefa AVCIER’e çok teşekkür ederim.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi analizlerinde bilgi ve yardımını esirgemeyen Araş. Gör. Uzm. Erol ŞENER’e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyen, yüreklendiren ve bana maddi manevi her türlü desteği sağlayan değerli aileme ve eşim Ecz. Esra BERKMAN’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**ÇİNKO OKSİT ve OKTOSRİLEN'İN, KATI LİPİT NANOPARTİKÜL,
MİKROEMÜLSİYON ve KREM SİSTEMLERİ ŞEKLİNDE
FORMÜLASYONU**

**ve
İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

ÖZET

İyi bir güneş ışınlarını süzücü preparat sudan etkilenmemeli, UVA ve UVB ışınlarına karşı geniş spektrumlu koruma sağlamalıdır. Atmosferdeki ozon tabakası tarafından emilerek engellendiği için, UVC ışınları yeryüzüne ulaşamaz. Bu yüzden, UVC ışınlarının, diğerlerine göre önemi daha azdır. Güneş ışınlarını süzücü preparatların etkinliği, yüzme veya terlemeye karşı dayanıklılıklarına, UV ışınlarını emme özelliklerine, konsantrasyonlarına ve formülasyonlarına bağlıdır.

UV süzücüler, etki yöntemlerine göre kimyasal ve fiziksel olmak üzere ikiye ayrılır. Bu çalışmada, en önemli fiziksel filtre edici maddelerden biri olan çinko oksit ve kimyasal filtre edici madde olan oktosrilen, üç farklı taşıyıcı sistemde kullanılmıştır. UV ışınlarını engelleme özelliği olan ve fiziksel süzücü maddeler gibi davranan katı lipit nanopartiküller, daha da geliştirilmiş bir koruma sağlamak için, güneş ışınlarını süzücü maddelerle birlikte kullanılmıştır. Mikroemülsiyon ve krem şeklinde emülsiyonlar, formülasyonların sudan etkilenmesini önlemek için yağ-içinde-su şeklinde hazırlanmıştır.

Hazırlanan formülasyonlarda oktosrilen miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, çinko oksit miktar tayini için optik emisyon spektrometresi kullanılmıştır. Formülasyonlar, kararlılık çalışmaları için 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlara konulmuş ve 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde farklı ölçümler gerçekleştirilmiştir. UV ışınlarından koruyucu özellikleri, *in vitro* *Transpore*TM Test yöntemi ile incelenmiş ve etki açısından formülasyonların karşılaştırılması yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Katı Lipit Nanopartiküller (SLN)
Mikroemülsiyon
Krem
*Transpore*TM Testi
Çinko Oksit
Oktosrilen

FORMULATION and IN VITRO EVALUATION of ZINC OXIDE and OCTOCRYLENE in SOLID LIPID NANOPARTICLES, MICROEMULSIONS and CREAM SYSTEMS

ABSTRACT

An ultimate sunscreen should be water resistant and have a broad-spectrum protection along the entire range of the UVA and UVB spectra. UVC radiation is less of an issue, since it doesn't reach the earth's surface due to its absorption by the ozone layer in the atmosphere. Efficacy of sunscreens depends upon their UV-absorption, concentration, formulation and the ability to withstand swimming or sweating.

UV filters have been traditionally divided into chemical absorbers and physical blockers depending on their mechanism of action. In this study, one of the most important physical blocker, zinc oxide, and chemical absorber, octocrylene, were used in three different delivery systems. Solid lipid nanoparticles, which show a UV-blocking potential and act as physical sunscreens were combined with UV filters in order to achieve improved photoprotection. Microemulsion and cream emulsions were prepared in water-in-oil form to prevent the effect of water.

Determination of octocrylene in the formulations was performed by high pressure liquid chromatography. On the other hand, inductively coupled plasma - optical emission spectroscopy was used for zinc oxide. Stability tests were carried out at 25°C, 4°C and 40°C conditions and analyses were performed on 15th, 30th, 90th, 180th and 360th days. UV protection abilities of the three formulations were investigated and compared using *in vitro* Transpore™ Test method.

Key Words: Solid Lipid Nanoparticles (SLN)
Microemulsion
Cream
Transpore™ Test
Zinc Oxide
Octocrylene

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xxiii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	3
Güneş Işınlarnı Süzücü Maddeler	3
<i>Güneş Işınlarnından Korunma</i>	3
<i>Ultraviyole Işınlarnının Etkilerinin Keşfi</i>	4
<i>Ultraviyole Işınları</i>	5
<i>Güneş Işınlarnı Süzücü Maddelerin Sınıflandırılması</i>	6
<i>Güneş Işınlarnı Süzücü Maddelerin Formülasyonu</i>	8
<i>Güneşten Koruma Faktörü</i>	10
<i>İn Vivo Güneşten Koruma Faktörü Test Yöntemi</i>	11
<i>İn Vitro Güneşten Koruma Faktörü Test Yöntemi</i>	12
<i>İn Vitro Deriden Geçiş Derecesi - Franz Difüzyon Hücresi</i>	12
<i>Çinko Oksit</i>	13
<i>Oktosrilen</i>	15
Katı Lipit Nanopartiküller	17
<i>Hazırlama Yöntemleri</i>	18
<i>Yüksek Akışlı Homojenizasyon ve Ultrason Yöntemi</i>	18
<i>Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Yöntemi</i>	18
<i>Sıcak Homojenizasyon Yöntemi</i>	19
<i>Soğuk Homojenizasyon Yöntemi</i>	20
<i>Çözücü Emülsiyon Oluşturma/Buharlaştırma Yöntemi</i>	21
<i>Mikroemülsiyon Yöntemi</i>	21
<i>Etkin Madde Yüklenmesi</i>	22
<i>Etkin Madde Salımı</i>	23
<i>Topik Kullanım</i>	24

Mikroemülsiyonlar	25
<i>Bileşenler</i>	26
<i>Yapı ve Özellikleri</i>	27
<i>Makroemülsiyonlar ve Mikroemülsiyonlar</i>	28
<i>HLB Sistemi</i>	28
<i>Üçgen Faz Diyagramı</i>	29
<i>Reolojik Özellikleri</i>	30
<i>Karakterizasyon Yöntemleri</i>	30
<i>Optik Özellikler</i>	30
<i>Reolojik Özellikler</i>	30
<i>Damlacık Büyüklük Dağılımı</i>	30
<i>Elektriksel İletkenlik</i>	30
<i>pH</i>	30
<i>Faz Ayrımı</i>	30
<i>Topik Kullanım</i>	31
GEREÇLER	33
Kullanılan Maddeler	33
Kullanılan Cihazlar	33
YÖNTEMLER	35
Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar	35
<i>Parçacık Büyüklüğü Dağılımı</i>	35
<i>Termal Analiz</i>	35
<i>Reolojik Analiz</i>	35
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	35
<i>FT-IR Analizi</i>	35
<i>NMR Analizi</i>	35
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi için Validasyon Çalışmaları	36
<i>Doğrusallık</i>	36
<i>İç Standart Madde Çözeltilisinin Hazırlanması</i>	36
<i>Etkin Madde Çözeltilisinin Hazırlanması</i>	36
<i>Serilerin Hazırlanması</i>	37
<i>Doğrusallık Eşitliğinin Hesaplanması</i>	37
<i>Doğruluk</i>	37
<i>Kesinlik</i>	37

<i>Seçicilik</i>	38
<i>Duyarlılık</i>	38
<i>Sağlamlık/Tutarlılık</i>	38
<i>Sistem Uygunluk Testi</i>	38
<i>Pik Morfolojisi</i>	39
Optik Emisyon Spektroskopisi için Validasyon Çalışmaları	40
<i>Doğrusallık Eşitliğinin Hesaplanması</i>	40
Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması	41
<i>Bileşenlerin Seçimi</i>	41
<i>Katı Lipitin Erime Deresi</i>	41
<i>Ön-formülasyonlar</i>	41
<i>Etkin Madde İçeren Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonları</i>	43
Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları	45
<i>Parçacık Büyüklüğü Dağılımı</i>	45
<i>Zeta potansiyel ve Elektriksel İletkenlik</i>	45
<i>pH Ölçümü</i>	45
<i>Liyofilizasyon</i>	45
<i>Reolojik Analiz</i>	46
<i>Sedimentasyon</i>	46
<i>Fiziksel Görünüş</i>	46
<i>Morfolojik İnceleme</i>	46
<i>Termal Analiz</i>	46
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	46
<i>FT-IR Analizi</i>	46
<i>NMR Analizi</i>	46
Katı lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini	47
<i>Eusolex® OCR Miktar Tayini</i>	47
<i>İç Standart Madde Çözeltisinin Hazırlanması</i>	47
<i>Örneklerin Hazırlanması</i>	47
Çinko Oksit Miktar Tayini	48
<i>Örneklerin Hazırlanması</i>	48
Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan İn Vitro Çalışmalar	48

<i>Transpore™ Test</i>	48
Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması	49
<i>Bileşenlerin Seçimi</i>	49
<i>Ön-formülasyonlar</i>	49
<i>Üçgen Faz Diyagramı</i>	51
<i>Etkin Madde İçeren Mikroemülsiyon Formülasyonları</i>	52
Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları	53
<i>Damlacık ve Parçacık Büyüklüğü Dağılımı</i>	53
<i>Zeta potansiyel ve Elektriksel İletkenlik</i>	53
<i>pH Ölçümü</i>	53
<i>Faz Ayrımı</i>	53
<i>Reolojik Analiz</i>	53
<i>Fiziksel Görünüş</i>	54
<i>Morfolojik İnceleme</i>	54
<i>Tip Tayini</i>	54
<i>FT-IR Analizi</i>	54
<i>NMR Analizi</i>	54
Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini	54
<i>Eusolex® OCR Miktar Tayini</i>	54
<i>İç Standart Madde Çözeltilsinin Hazırlanması</i>	54
<i>Örneklerin Hazırlanması</i>	54
<i>Çinko Oksit Miktar Tayini</i>	55
<i>Örneklerin Hazırlanması</i>	55
Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan <i>İn Vitro</i> Çalışmalar	55
<i>Transpore™ Test</i>	55
Krem Formülasyonlarının Hazırlanması	55
<i>Mikroemülsiyon ve Liyofilize</i>	
<i>Katı lipid Nanopartiküllerin Formülasyonu</i>	55
Krem Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları	56
<i>pH Ölçümü</i>	56
<i>Reolojik Analiz</i>	56
<i>Fiziksel Görünüş</i>	56
<i>Termal Analiz</i>	57

<i>Faz Ayrımı</i>	57
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	57
<i>FT-IR Analizi</i>	57
<i>NMR Analizi</i>	57
Krem Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini	57
<i>Eusolex® OCR Miktar Tayini</i>	57
<i>İç Standart Madde Çözeltisinin Hazırlanması</i>	57
<i>Örneklerin Hazırlanması</i>	58
Çinko Oksit Miktar Tayini	58
<i>Örneklerin Hazırlanması</i>	58
Krem Formülasyonlarında Yapılan <i>İn Vitro</i> Çalışmalar	58
<i>Transpore™ Test</i>	58
BULGULAR ve TARTIŞMA	59
Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar	59
<i>Parçacık Büyüklüğü Dağılımı</i>	59
<i>Termal Analiz</i>	59
<i>Reolojik Analiz</i>	60
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	61
<i>FT-IR Analizi</i>	62
<i>NMR Analizi</i>	63
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi için Validasyon Çalışmaları	64
<i>Doğrusallık</i>	64
<i>Doğruluk</i>	65
<i>Kesinlik</i>	66
<i>Seçicilik</i>	66
<i>Duyarlılık</i>	69
<i>Saptama Sınırı</i>	69
<i>Miktar Tayini Sınırı</i>	69
<i>Çalışma Aralığı</i>	69
Sağlamlık/Tutarlılık (Robustness)	70
<i>Hareketli Faz</i>	70
<i>Akış Hızı</i>	70
<i>Enjeksiyon Hacmi</i>	70

<i>Fırın Sıcaklığı</i>	70
<i>Kolon</i>	70
<i>İç Standart Madde</i>	70
<i>Sistem Uygunluk Testi</i>	71
<i>Pik Morfolojisi</i>	72
Optik Emisyon Spektroskopisi için Validasyon Çalışmaları	72
<i>Doğrusallık</i>	72
Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları	72
<i>Parçacık Büyüklüğü Dağılımı</i>	72
<i>Zeta potansiyel</i>	77
<i>pH Ölçümü</i>	80
<i>Reolojik Analiz</i>	82
<i>Sedimentasyon</i>	82
<i>Fiziksel Görünüş</i>	82
<i>Morfolojik İnceleme</i>	82
<i>Termal Analiz</i>	88
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	90
<i>FT-IR Spektrumu</i>	92
<i>NMR Analizi</i>	94
Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini	97
<i>Eusolex® OCR Miktar Tayini</i>	97
<i>Çinko Oksit Miktar Tayini</i>	98
Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan <i>İn Vitro</i> Çalışmalar	99
<i>Transpore™ Test</i>	99
Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması	102
Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları	102
<i>Damlacık ve Parçacık Büyüklüğü Dağılımı</i>	102
<i>Zeta potansiyel</i>	107
<i>pH Ölçümü</i>	110
<i>Faz Ayrımı</i>	112
<i>Fiziksel Görünüş</i>	112

<i>Reolojik Analiz</i>	112
<i>Morfolojik İnceleme ve Tip Tayini</i>	115
<i>FT-IR Spektrumu</i>	116
<i>NMR Analizi</i>	118
Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini	121
<i>Eusolex® OCR Miktar Tayini</i>	121
<i>Çinko Oksit Miktar Tayini</i>	121
Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan <i>İn Vitro</i> Çalışmalar	122
<i>Transpore™ Test</i>	125
Krem Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları	125
<i>pH Ölçümü</i>	125
<i>Faz Ayrımı</i>	127
<i>Fiziksel Görünüş</i>	127
<i>Reolojik Analiz</i>	127
<i>Termal Analiz</i>	130
<i>X-Işını Kırınım Analizi</i>	132
<i>FT-IR Spektrumu</i>	134
<i>NMR Analizi</i>	136
Krem Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini	139
<i>Eusolex® OCR Miktar Tayini</i>	139
<i>Çinko Oksit Miktar Tayini</i>	139
Krem Formülasyonlarında Yapılan <i>İn Vitro</i> Çalışmalar	140
<i>Transpore™ Test</i>	140
Formülasyonların Karakterizasyon ve Kararlılık Bulgularının İstatistiksel Karşılaştırması	143
<i>Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarının Karakterizasyon ve Kararlılık Bulguları</i>	143
<i>Mikroemülsiyon ve Süspansiyon Formülasyonlarının Karakterizasyon ve Kararlılık Bulguları</i>	144
<i>Krem Formülasyonlarının Karakterizasyon ve Kararlılık Bulguları</i>	145
SONUÇ ve ÖNERİLER	146
KAYNAKLAR	147

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 Avrupa Birliği'nde ultraviyole süzgeci olarak kullanımı izinli olan maddeler	7
Çizelge 2 Emülsiyonun görünüşü ve damlacık büyüklüğü arasındaki ilişki	28
Çizelge 3 Mikroemülsiyon ve makroemülsiyon sistemlerinin karşılaştırılması	28
Çizelge 4 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi çalışma koşulları	36
Çizelge 5 Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül ön-formülasyon çalışmaları I	41
Çizelge 6 Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül ön-formülasyon çalışmaları II	42
Çizelge 7 Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül ön-formülasyon çalışmaları III	43
Çizelge 8 Etkin maddeli katı lipit nanopartikül formülasyon çalışmaları I	43
Çizelge 9 Etkin maddeli katı lipit nanopartikül formülasyon çalışmaları II	44
Çizelge 10 Katı lipit nanopartikül formülasyonları	45
Çizelge 11 Optik emisyon spektroskopisi çalışma koşulları	48
Çizelge 12 70°C ve 300 rpm'de hazırlanan mikroemülsiyon ön-formülasyonları	49
Çizelge 13 25°C ve 300 rpm'de hazırlanan mikroemülsiyon ön-formülasyonları	50
Çizelge 14 Üçgen faz diyagramı çiziminde kullanılmak üzere hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonları	51
Çizelge 15 Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının % (a/a) değerleri	52
Çizelge 16 Etkin maddeli ve etkin maddesiz mikroemülsiyon formülasyonlarının % (a/a) değerleri	53
Çizelge 17 Katı lipit nanopartikül formülasyonundaki bileşenler	56
Çizelge 18 Etkin maddeli ve etkin maddesiz krem formülasyonlarının % (a/a) değerleri	56
Çizelge 19 Doğrusallık çalışması için hazırlanan seriler	64
Çizelge 20 Gün-içi ve günler-arası (pool-days) doğrusallık sonuçları	65

Çizelge 21	Doğruluk çalışması için hazırlanan seriler ve % geri kazanım sonuçları	65
Çizelge 22	Gün-içi doğruluk ve kesinlik sonuçları	66
Çizelge 23	Günler-arası doğruluk ve kesinlik sonuçları	66
Çizelge 24	Tek konsantrasyonda gün-içi ve günler-arası (pool-days) kesinlik sonuçları	66
Çizelge 25	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazının parça, marka ve modelleri	71
Çizelge 26	Eusolex® OCR içeren formülasyonun pik morfolojisi sonuçları	71
Çizelge 27	Üç farklı konsantrasyonda çinko standart çözeltisi ile hazırlanan kalibrasyon seti	72
Çizelge 28	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlik değerleri	77
Çizelge 29	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlik değerleri	77
Çizelge 30	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının pH değerleri	80
Çizelge 31	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının pH değerleri	80
Çizelge 32	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının termal analizleri	88
Çizelge 33	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının termal analizleri	88
Çizelge 34	Katı lipit nanopartikül formülasyonları içindeki Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları	98
Çizelge 35	Katı lipit nanopartikül formülasyonları içindeki çinko oksitin % geri kazanım miktarları	99
Çizelge 36	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlikleri	107
Çizelge 37	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlikleri	107
Çizelge 38	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının pH değerleri	110
Çizelge 39	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının pH değerleri	110
Çizelge 40	Mikroemülsiyon formülasyonları içindeki Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları	121

Çizelge 41	Süspansiyon formülasyonları içindeki çinko oksitin % geri kazanım miktarları	122
Çizelge 42	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının pH değerleri	125
Çizelge 43	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının pH değerleri	125
Çizelge 44	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının termal analizleri	130
Çizelge 45	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının termal analizleri	130
Çizelge 46	Krem formülasyonları içindeki Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları	139
Çizelge 47	Krem formülasyonları içindeki çinko oksitin % geri kazanım miktarları	139
Çizelge 48	Aynı sıcaklıktaki katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün karakterizasyon ve kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması	143
Çizelge 49	Farklı sıcaklıklardaki katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 360. gün kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması	143
Çizelge 50	Aynı sıcaklıktaki mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün karakterizasyon ve kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması	144
Çizelge 51	Farklı sıcaklıklardaki mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının 360. gün kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması	144
Çizelge 52	Aynı sıcaklıktaki krem formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün karakterizasyon ve kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması	145
Çizelge 53	Farklı sıcaklıklardaki krem formülasyonlarının 360. gün kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması	145

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA	
Şekil 1	Ultraviyole ışınları ve dalgaboyları	5
Şekil 2	Transpore™ Test yönteminin şematik olarak gösterimi	12
Şekil 3	2-Etilheksil 2-siyano-3,3-difenil akrilat	15
Şekil 4	Farklı taşıyıcılar kullanılarak %2 oranında hazırlanan 3 farklı ultraviyole süzgecinin güneşten koruma faktörleri	16
Şekil 5	Katı lipit nanopartiküller için sıcak ve soğuk homojenizasyon yöntemleri	20
Şekil 6	Katı lipit nanopartiküllere etkin madde yüklenmesi	22
Şekil 7	Parçacık büyüklüğüne bağlı ince tabaka oluşumu ve nem tutma özelliği	24
Şekil 8	Mikroemülsiyonların yapısı	27
Şekil 9	Üçgen faz diyagramları	29
Şekil 10	Çinko oksitin distile su içinde parçacık büyüklüğü dağılımı	59
Şekil 11	Dynasan® 116'nın termal analizi	60
Şekil 12	Miglyol® 812 N'nin reogramı	60
Şekil 13	Dynasan® 116'nın X-ışını kırınım profili	61
Şekil 14	Çinko oksitin X-ışını kırınım profili	61
Şekil 15	Dynasan® 116'nın FT-IR spektrumu	62
Şekil 16	Eusolex® OCR'nin FT-IR Spektrumu	62
Şekil 17	Dynasan® 116'nın NMR spektrumu	63
Şekil 18	Eusolex® OCR'nin NMR Spektrumu	63
Şekil 19	1.5x10 ⁻⁵ - 7.5x10 ⁻⁵ M Eusolex® OCR konsantrasyon aralığında hazırlanan kalibrasyon setinin kromatogramları	64
Şekil 20	Eusolex® OCR'nin doğrusallık eşitliği ve grafiği	65
Şekil 21	Hareketli faz kromatogramı	66
Şekil 22	İç standart madde kromatogramı	67
Şekil 23	Eusolex® OCR kromatogramı	67
Şekil 24	İç standart madde ve Eusolex® OCR kromatogramı	67
Şekil 25	Hazırlanan Formülasyonlar için seçicilik çalışması	68
Şekil 26	Eusolex® OCR içeren formülasyonun pik morfolojisi	71

Şekil 27	Çinkonun doğrusallık eşitliği ve grafiği	72
Şekil 28	Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	73
Şekil 29	Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	73
Şekil 30	Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	74
Şekil 31	Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	74
Şekil 32	Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	75
Şekil 33	Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	75
Şekil 34	Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri	79
Şekil 35	Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri	79
Şekil 36	Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri	79
Şekil 37	Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri	79
Şekil 38	Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama pH değerleri	81
Şekil 39	Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama pH değerleri	81
Şekil 40	Etkin madde içermeyen katı lipid nanopartikül formülasyonunun 0. zaman morfolojik incelemesi	83
Şekil 41	Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonunun 0. zaman morfolojik incelemesi	84

Şekil 42	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonunun 0. zaman morfolojik incelemesi	85
Şekil 43	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonunun 25°C sıcaklıkta 360. gün morfolojik incelemesi	86
Şekil 44	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonunun 25°C sıcaklıkta 360. gün morfolojik incelemesi	87
Şekil 45	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının termal analizi	89
Şekil 46	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının termal analizi	89
Şekil 47	25°C sıcaklıktaki katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 360. gün X-ışını kırınım analizleri	90
Şekil 48	Katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman X-ışını kırınım analizleri	91
Şekil 49	Eusolex® OCR'li katı lipit nanopartikül formülasyonlarının FT-IR spektrumları	92
Şekil 50	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının FT-IR spektrumları	93
Şekil 51	Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül formülasyonunun FT-IR spektrumu	94
Şekil 52	Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül formülasyonunun NMR spektrumu	94
Şekil 53	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının NMR spektrumları	95
Şekil 54	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının NMR spektrumları	96
Şekil 55	Katı lipit nanopartikül formülasyonlarında, katı lipite hapsedilmiş, tutunmuş ve serbest halde bulunan Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları	98
Şekil 56	Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül formülasyonunun <i>Transpore</i> TM testi sonucu	99
Şekil 57	Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki <i>Transpore</i> TM testi sonuçları	100
Şekil 58	Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki <i>Transpore</i> TM testi sonuçları	101

Şekil 59	Mikroemülsiyon formülasyonlarının üçgen faz diyagramları	102
Şekil 60	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık büyüklüğü dağılımı	103
Şekil 61	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık büyüklüğü dağılımı	103
Şekil 62	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık büyüklüğü dağılımı	104
Şekil 63	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90. 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	104
Şekil 64	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	105
Şekil 65	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı	105
Şekil 66	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri	109
Şekil 67	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri	109
Şekil 68	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri	109
Şekil 69	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri	109
Şekil 70	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının ortalama pH değerleri	111
Şekil 71	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının ortalama pH değerleri	111
Şekil 72	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının reogramları	113
Şekil 73	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının reogramları	114

Şekil 74	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının morfolojik incelemesi	115
Şekil 75	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının FT-IR spektrumları	116
Şekil 76	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının FT-IR spektrumları	117
Şekil 77	Etkin madde içermeyen mikroemülsiyon formülasyonunun FT-IR spektrumu	118
Şekil 78	Etkin madde içermeyen mikroemülsiyon formülasyonunun NMR spektrumu	118
Şekil 79	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının NMR spektrumları	119
Şekil 80	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının NMR spektrumları	120
Şekil 81	Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki <i>Transpore</i> ™ testi sonuçları	123
Şekil 82	Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki <i>Transpore</i> ™ testi sonuçları	124
Şekil 83	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının ortalama pH değerleri	126
Şekil 84	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının ortalama pH değerleri	126
Şekil 85	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının reogramları	128
Şekil 86	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının reogramları	129
Şekil 87	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının termal analizi	131
Şekil 88	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının termal analizi	131
Şekil 89	25°C sıcaklıktaki krem formülasyonlarının 360. gün X-ışını kırınım analizi	132
Şekil 90	Krem formülasyonlarının 0. zaman X-ışını kırınım analizleri	133
Şekil 91	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonları FT-IR spektrumları	134
Şekil 92	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının FT-IR spektrumları	135

Şekil 93	Etkin madde içermeyen krem formülasyonunun FT-IR spektrumu	136
Şekil 94	Etkin madde içermeyen krem formülasyonunun NMR spektrumu	136
Şekil 95	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının NMR spektrumları	137
Şekil 96	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının NMR spektrumları	138
Şekil 97	Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki <i>Transpore</i> ™ testi sonuçları	141
Şekil 98	Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki <i>Transpore</i> ™ testi sonuçları	142

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

λ	: Dalga boyu
λ_{maks}	: Maksimum absorbans verdiği dalga boyu
σ	: Cevabın standart sapması
α	: Seçicilik faktörü
A	: İç standart madde stok çözeltisi
As	: Asimetri faktörü
Ar	: Argon gazı
AÜBİBAM	: Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi
B	: Eusolex® OCR stok çözeltisi
BSS	: Bağlı standart sapma
C	: Konsantrasyon
CI	: Güven aralığı
COLIPA	: The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association Avrupa Kozmetik ve Parfüm Kuruluşu
CTFA	: Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association Kozmetik, Tuvalet ve Koku Birliği
CTFA-SA	: Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association of South Africa Güney Afrika Kozmetik, Tuvalet ve Koku Birliği
DEA	: Dietanolamin
DIN	: Deutsches Institut für Normung Alman Standardizasyon Kurumu
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetre
FDA	: Food and Drug Administration Gıda ve İlaç Kurumu
FT-IR	: Fourier dönüşümlü infrared (kızılötesi)
HF	: Hareketli faz
HLB	: Hidrofilik/lipofilik denge
HPLC	: High Performance (Pressure) Liquid Chromatography Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
ICH	: International Conference on Harmonization Uluslararası Harmonizasyon Konferansı

ICP	: Inductively coupled plasma İndüktif eşleşmiş plazma
ICP-OES	: Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectroscopy İndüktif Eşleşmiş Plazma - Optik Emisyon Spektrometresi
INCI	: International Nomenclature of Cosmetic Ingredients Uluslararası Kozmetik Bileşenleri İsimlendirmesi
İS	: İç standart madde
JCIA	: Japanese Cosmetic Industry Association Japon Kozmetik Endüstri Birliği
k'	: Kapasite faktörü
LD	: Letal doz
LOD	: Saptama sınırı
LOQ	: Miktar tayini sınırı
MED	: Minimum eritem dozu
MEDp	: Güneşten koruyucu uygulanmış ciltteki MED
MEDu	: Koruyucu olmayan ciltteki MED
MEDi	: Tek bir denekten elde edilen minimum eritem doz değeri
n	: Tekrarlanan deney sayısı
N	: Teorik tabaka sayısı
NaCl	: Sodyum klorür
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance Nükleer Manyetik Rezonans
OCR	: Eusolex® OCR 2-etilhekzil 2-siyano-3,3-difenil akrilat (Oktosrilen)
Ort.	: Ortalama
PABA	: Para-amino benzoik asit
PEG	: Polietilen glikol
PDA	: Photodiode array
PDİ	: Polidisperslik indisi
PN	: Pik normalizasyonu
r	: Korelasyon katsayısı
R	: Avrupa Birliği Referans Numarası
Rs	: Ayırım gücü
Rt	: Retention time Alıkonma zamanı

S	: Kalibrasyon eğrisinin eğimi
S/Y	: Yağ-içinde-su
SAA	: Standards Association of Australia Avustralya Standartlar Birliği
SABS	: South African Bureau of Standards Güney Afrika Standartlar Bürosu
SANS	: Small angle neutron scattering Küçük açılı nötron saçılımı
SAXS	: Small angle x-ray scattering Küçük açılı x-ışını saçılımı
SCCNFP	: Scientific Committee on Cosmetic and Non-Food Products Intended for Consumers Tüketiciye Yönelik Kozmetik ve Gıda Dışı Ürünler Bilimsel Komitesi
SH	: Standart hata
SLN	: Solid Lipid Nanoparticle Katı Lipit Nanopartikül
SLS	: Static light scattering Statik ışık saçılımı
SPF	: Sun Protection Factor Güneşten Koruma Faktörü
SPFi	: Tek bir denekten elde edilen güneşten koruma faktörü
SS	: Standart sapma
t	: Kuyruklanma faktörü
T	: Geçirgenlik
USP	: United States Pharmacopeia Birleşik Devletler Farmakopesi
UV	: Ultraviyole
UVA	: Ultraviyole A
UVB	: Ultraviyole B
UVC	: Ultraviyole C
UVR	: Ultraviyole radyasyonu
VK	: Varyans katsayısı
WD	: Working distance Çalışma aralığı
Y/S	: Su-içinde-yağ

YEM	: Yüzey etkin madde
Y.YEM	: Yardımcı yüzey etkin madde
Z	: Parçacık / damlacık büyüklüğü
Zn	: Çinko
ZnO	: Çinko oksit

Formülasyon Kısaltmaları

FSB	: Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül formülasyonu
FSC	: Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonu
FSE	: Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonu
MB	: Etkin madde içermeyen mikroemülsiyon formülasyonu
MC	: Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonu
ME	: Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonu
KB	: Etkin madde içermeyen krem formülasyonu
KC	: Çinko oksit içeren krem formülasyonu
KE	: Eusolex® OCR içeren krem formülasyonu

FSC4-T0	: <i>Formülasyon</i>	: katı lipit nanopartikül
	: <i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	: <i>Saklama koşulları</i>	: 4°C sıcaklık, 0. zaman
FSC4-T15	: <i>Formülasyon</i>	: katı lipit nanopartikül
	: <i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	: <i>Saklama koşulları</i>	: 4°C sıcaklık, 15. gün
FSC4-T30	: <i>Formülasyon</i>	: katı lipit nanopartikül
	: <i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	: <i>Saklama koşulları</i>	: 4°C sıcaklık, 30. gün
FSC4-T90	: <i>Formülasyon</i>	: katı lipit nanopartikül
	: <i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	: <i>Saklama koşulları</i>	: 4°C sıcaklık, 90. gün
FSC4-T180	: <i>Formülasyon</i>	: katı lipit nanopartikül
	: <i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	: <i>Saklama koşulları</i>	: 4°C sıcaklık, 180. gün
FSC4-T360	: <i>Formülasyon</i>	: katı lipit nanopartikül
	: <i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	: <i>Saklama koşulları</i>	: 4°C sıcaklık, 360. gün

FSC25-T0	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 0. zaman
FSC25-T15	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 15. gün
FSC25-T30	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 30. gün
FSC25-T90	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 90. gün
FSC25-T180	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 180. gün
FSC25-T360	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 360. gün

FSC40-T0	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 0. zaman
FSC40-T15	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 15. gün
FSC40-T30	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 30. gün
FSC40-T90	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 90. gün
FSC40-T180	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 180. gün
FSC40-T360	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 360. gün

FSE4-T0	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 0. zaman
FSE4-T15	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 15. gün
FSE4-T30	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 30. gün
FSE4-T90	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 90. gün
FSE4-T180	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 180. gün
FSE4-T360	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 360. gün

FSE25-T0	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 0. zaman
FSE25-T15	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 15. gün
FSE25-T30	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 30. gün
FSE25-T90	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 90. gün
FSE25-T180	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 180. gün
FSE25-T360	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 360. gün

FSE40-T0	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 0. zaman
FSE40-T15	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 15. gün
FSE40-T30	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 30. gün
FSE40-T90	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 90. gün
FSE40-T180	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 180. gün
FSE40-T360	: Formülasyon	: katı lipid nanopartikül
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 360. gün

MC4-T0	: Formülasyon	: süspansiyon
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 0. zaman
MC4-T15	: Formülasyon	: süspansiyon
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 15. gün
MC4-T30	: Formülasyon	: süspansiyon
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 30. gün
MC4-T90	: Formülasyon	: süspansiyon
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 90. gün
MC4-T180	: Formülasyon	: süspansiyon
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 180. gün
MC4-T360	: Formülasyon	: süspansiyon
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 360. gün

MC25-T0	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 25°C sıcaklık, 0. zaman
MC25-T15	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 25°C sıcaklık, 15. gün
MC25-T30	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 25°C sıcaklık, 30. gün
MC25-T90	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 25°C sıcaklık, 90. gün
MC25-T180	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 25°C sıcaklık, 180. gün
MC25-T360	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 25°C sıcaklık, 360. gün

MC40-T0	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 40°C sıcaklık, 0. zaman
MC40-T15	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 40°C sıcaklık, 15. gün
MC40-T30	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 40°C sıcaklık, 30. gün
MC40-T90	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 40°C sıcaklık, 90. gün
MC40-T180	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 40°C sıcaklık, 180. gün
MC40-T360	: <i>Formülasyon</i>	: süspansiyon
	<i>Etkin madde</i>	: çinko oksit
	<i>Saklama koşulları</i>	: 40°C sıcaklık, 360. gün

ME4-T0	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 0. zaman
ME4-T15	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 15. gün
ME4-T30	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 30. gün
ME4-T90	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 90. gün
ME4-T180	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 180. gün
ME4-T360	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 360. gün

ME25-T0	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 0. zaman
ME25-T15	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 15. gün
ME25-T30	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 30. gün
ME25-T90	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 90. gün
ME25-T180	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 180. gün
ME25-T360	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 360. gün

ME40-T0	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 0. zaman
ME40-T15	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 15. gün
ME40-T30	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 30. gün
ME40-T90	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 90. gün
ME40-T180	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 180. gün
ME40-T360	: Formülasyon	: mikroemülsiyon
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 360. gün

KC4-T0	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 0. zaman
KC4-T15	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 15. gün
KC4-T30	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 30. gün
KC4-T90	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 90. gün
KC4-T180	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 180. gün
KC4-T360	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 360. gün

KC25-T0	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 0. zaman
KC25-T15	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 15. gün
KC25-T30	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 30. gün
KC25-T90	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 90. gün
KC25-T180	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 180. gün
KC25-T360	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 360. gün

KC40-T0	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 0. zaman
KC40-T15	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 15. gün
KC40-T30	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 30. gün
KC40-T90	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 90. gün
KC40-T180	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 180. gün
KC40-T360	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: çinko oksit
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 360. gün

KE4-T0	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 0. zaman
KE4-T15	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 15. gün
KE4-T30	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 30. gün
KE4-T90	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 90. gün
KE4-T180	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 180. gün
KE4-T360	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 4°C sıcaklık, 360. gün

KE25-T0	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 0. zaman
KE25-T15	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 15. gün
KE25-T30	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 30. gün
KE25-T90	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 90. gün
KE25-T180	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 180. gün
KE25-T360	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 25°C sıcaklık, 360. gün

KE40-T0	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 0. zaman
KE40-T15	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 15. gün
KE40-T30	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 30. gün
KE40-T90	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 90. gün
KE40-T180	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 180. gün
KE40-T360	: Formülasyon	: krem
	Etkin madde	: Eusolex® OCR
	Saklama koşulları	: 40°C sıcaklık, 360. gün

GİRİŞ ve AMAÇ

Yeryüzüne ulaşan güneş ışınlarının, insan ve insan derisi için birçok faydasının yanında, gözardı edilemeyecek zararları da vardır. Tüm biyolojik olayların başlaması ve sürdürülmesi, hastalık yapan mikroorganizmaların yok edilmesi, vitamin D sentezi ve insan psikolojisine olumlu etkileri ile güneş ışınlarının yaşamsal gerekliliği tartışılmaz. Ancak, özellikle açık ten rengine sahip kişilerde, bu ışınların güneş yanığı, deri kanseri oluşumu, çeşitli alerjik reaksiyonlar ve erken deri yaşlanmasına yol açtığı da bilinen gerçeklerdir (Kumrulu, 1998; Albert ve Ostheimer, 2003).

Güneş ışınlarını süzücü preparatlar, formülasyonunda ultraviyole (UV) ışınlarını süzen bir madde bulunan, deriye ulaşan UV ışınlarının miktarını kontrol eden, deriyi güneş yanığından korurken, hızlı ve düzenli bir bronzlaşma sağlayan preparatlardır (Özer, 2004). Bunu da, kimyasal olarak, UV ışınlarının zararlı kısımlarını emerek, daha uzun dalgaboylu ve daha az enerjili radyasyona çevirerek veya fiziksel olarak, ışınları dağıtarak birim yüzeydeki yoğunluğu azaltarak yaparlar (Nash ve ark., 2006). Amerika, Avrupa ve Japonya’da, UV süzgeci olarak sadece kozmetik yönetmeliklerinde listelenmiş maddelerin kullanımı kabul edilmektedir. Bu listeler, eski ve yeni formülasyonların kullanımı ve etkilerinin araştırılması ile zaman içinde güncellenmektedir (Chisvert ve ark., 2001).

Güneş ışınlarını süzücü ürünlerin, fiziksel ve kimyasal yapıda farklı tipleri mevcuttur. Son yıllarda, UVA ve UVB ışınlarının her ikisini de engelleyen gelişmiş formülasyonlar piyasaya sürülmüştür. Ancak, bunların da, su ile temas ve terleme durumunda etkilerinde azalma olduğu görülmektedir. UVC ışınlarının yeryüzüne ulaşması, atmosferdeki moleküler oksijen ve ozon tabakası tarafından emilerek engellenir (Wissing ve ark., 2001). Ozon tabakasının her on yılda % 3 azalması sonucu, güneşten koruyucu preparatların hazırlanmasında UVC ışınlarının da göz önüne alınarak formülasyonların geliştirilmesi önem kazanmıştır (Chisvert ve ark., 2001).

Bu çalışmada, cilde topik olarak uygulanabilir katı lipit nanopartikül (SLN), mikroemülsiyon ve krem formülasyonları hazırlanmıştır. Güneş ışınlarını fiziksel olarak süzen çinko oksit ile kimyasal olarak güneş ışınlarını emen oktosrilen bu sistemlere eklenmiştir.

Etkin madde yüklenmemiş SLN’lerin, beyaz renklerinden dolayı pigment etkisi yarattıkları bilinmektedir. Kristal yapıları ise, fiziksel olarak güneş ışınlarını süzücü maddeler gibi davranır (Wissing ve Müller, 2003). SLN’lerin güneş ışınlarını yansıtıcı ve dağıtıcı etkilerinden dolayı, bu çalışmada kullanılması uygun görülmüştür (Cengiz, 2003). Yapılan diğer çalışmalarda da parçacık yapıları sayesinde, diğer taşıyıcı sistemlerden daha etkili koruma sağladıkları belirlenmiştir. Ayrıca, SLN’ler ile formüle edilen güneş ışınlarını süzücü preparatların, UV ışınlarına karşı sinerjik koruma etkisi sağladıkları saptanmıştır (Liu ve ark., 2007). Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında ise, su ile temas ve terleme durumunda, güneşten koruyucu etkinin azalmaması için S/Y emülsiyonu tercih edilmiştir.

Hazırlanan formülasyonlarda oktosrilen miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), çinko oksit miktar tayini için ise optik emisyon spektrometresi kullanılmıştır. Formülasyonlar, kararlılık çalışmaları için 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlara konulmuş ve önceden belirlenen aralıklarda (15., 30., 90., 180. ve 360. günler) formülasyonlara özgü ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Formülasyonların UV'den koruyucu özellikleri *in vitro* Transpore™ Test yöntemi ile incelenmiş ve etki açısından karşılaştırılmaları yapılmıştır.

Güneşten koruyucu preparatlar için dünyaca kabul edilen *in vivo* test yöntemi, çok yakın bir tarihte reddedilerek yeni bir yöntem arayışına gidilmiştir. 2005 yılında, CTFA, ortak bir uluslararası SPF yöntem isteğini COLIPA, JCIA ve CTFA-SA ile paylaşmıştır. Haziran 2005'te başlayan görüşmeler sonucunda halen bir harmonizasyon gerçekleştirilememiştir (COLIPA, 2006). Bu nedenle çalışmamızda, hazırlanan formülasyonların *in vivo* etkinlik özelliklerinin incelemesi yapılamamış, yalnızca *in vitro* deneylerle yetinilmiştir.

KAYNAK BİLGİSİ

Güneş Işınlarını Süzücü Maddeler

Güneş Işınlarından Korunma

Eski çağlardan beri, kuzey yarıkürede, açık tenli olmak, güzelliğin gerekli bir parçası olarak düşünülmüş ve yirminci yüzyılın başlarına kadar zengin ve bakımlı insanlar, kendilerini güneş ışığının etkilerinden dikkatlice korumuştur. Bronzlaşmış deri toplum içinde dışarıda çalışan işçi sınıfını belirten sosyal bir utanç kaynağı olarak görülmüş; beyaz deri ise ideal, güzel ve çekici kabul edilerek kişinin mali gücünü gösteren bir zenginlik sembolü haline gelmiştir (Wolf ve ark., 2001a).

Çok az sayıda kaynağın günümüze ulaşabilmesine rağmen, insanların güneş ışınlarından korunmak için giysiler, şemsiyeler ve boyalar gibi birçok yöntem kullandığı bilinmektedir. Giyim, asırlardır bölgesel iklim koşullarıyla ilişkili olmuştur. M.Ö. 5000’lerde dokumanın keşfedilmesi ile, Mısır’da pamuk, yün ve keten kullanılarak giysiler yapılmış ve insanlar vücutlarını güneşten korumaya başlamıştır. Baş örtüleri, geniş kenarlı hasır şapkalar, türbanlar, fes ve peruklar birçok kültürde yaygın olarak kullanılmıştır. Çölde yaşayan kabileler halen uzun ve bol kaftanlar giymektedir. Mısır’da da benzer bir cüppe (jellaba) veya vücudu saran bir örtü (haik) korunma amaçlı giyilir. Kuzey Afrika’da ise, aynı amaçla, Tuareg Berberleri yüzlerini mavi bir peçe ile kaparlar (Urbach, 2001).

Şemsiyeler de eski çağlardan kalma bir gereçtir. Eski Mısır, Mezopotamya, Çin ve Hindistan’da önemli insanları güneşten korumak için kullanılmıştır. Şöhret ve otoriteyi de belirten bu çok geniş şemsiyelerin özel taşıyıcıları vardır. Bunun değişik bir şekli de “baldakin” adı verilen bir alettir. Önemli bir insanın üzerinde taşınan ya da bir yere sabitlenebilen bezden bir sayvandır. 18. yüzyılda ise, küçük ve zarif şemsiyeleri (parasol/güneş şemsiyesi) güneşten korunma amaçlı kullanmak moda haline gelmiş; giyim biçimleri sınıfa, mesleğe, cinsiyete göre çeşitlilik göstermiştir. Açık ten, kadınlar için ideal görülmüş ve açık tenli olma isteği ile insanlar kozmetik ürünleri kullanmaya başlamışlardır. Bu amaçla kullanılan beyaz pudra (genellikle arsenik tuzları) en eski kozmetik maddelerden birisidir (Wolf ve ark., 2001b).

Günümüze kadar fiziksel korunmanın birçok şekli denenmiştir. M.Ö. 1. yüzyılda Celsus, başı kapatmayı ve cilde yağ sürmeyi önermiştir. Tibetliler güneşten koruyucu olarak katran ve bitkilerden oluşan bir karışım kullanmışlardır. Guiana yerlileri, büyük olasılıkla kozmetik sebeplerden, derilerini çeşitli bitki ekstreleri ile süslemişler ve bu da aynı zamanda güneşten koruyucu olarak işe yaramıştır (Sikes, 1998; Urbach, 2001).

Açık tenli olma isteği, 1920 yılında Fransız moda tasarımcısı Coco Chanel’in, Palmiye Sahili’ne tatile gitmesi ile son bulmuştur (Cengiz, 2003). Paris modasının bu efsanevi ismi tatilden bronz bir ten ile dönmüş ve çevresindeki insanlardan büyük ilgi görmüştür. 1920’lerde “Chanel Görünümü” (Chanel Look) ile kadınların görünüşünde devrim yapmak çok da kolay bir iş olmamasına rağmen, güneş şemsiyeleri bir kenara kaldırılmış; kumsallar ve havuz kenarları çenelerinin altına alüminyum yansıtıcılar koyan insanlarla dolmuştur (Wolf ve ark., 2001a).

Ultraviyole Işıklarının Etkilerinin Keşfi

Güneş ışıklarının deri üzerinde sıcaklık dışında başka etkilerinin de olduğunu gösteren ilk çalışma, 1820 yılında İngiliz Fizikçi Sir Everard Home tarafından yapılan siyah bez deneyidir. Bir elini güneş ışıklarına maruz bırakırken diğer elini de siyah bir örtü ile saran Home, siyah elbisenin altında termometrenin 4-10°C daha fazla göstermesine rağmen, güneşe maruz kalmış elinin diğerinin aksine yandığını göstermiştir. Pigmentasyonun etkilerini incelemek için bir zencinin elini de güneş ışıklarına maruz tutmuş ve bir etki gözlemleyememiştir. 1900 yılında Home'un yaptığı çalışmalardan habersiz olan Finsen, siyah bez deneyini neredeyse benzer koşullarda tekrarlamıştır (Urbach, 2001).

Güneş ışıklarının zararlı etkilerinin zamanla farkedilmesiyle, bu ışıklardan korunmak için formülasyon çalışmalarına başlanmıştır. Güneş ışıklarını süzücü maddelerin değerlendirilmesi hakkındaki çalışmaların en önemlilerinden biri Eder ve Freund'un (Eder ve Freund, 1935), 1935 yılında yayımladığı detaylı ve uzunca bir makaledir. Onların özeti halen yararlı ve aydınlatıcı bilgiler vermektedir:

- Güneşten koruyucu maddeleri test etmek için kullanılan mevcut biyolojik yöntemler, insan derisinin ışık hassasiyetini etkileyen bütün faktörleri dikkate almamaktadır. Test yöntemlerinin doğruluğu azalmıştır; çünkü, preparatların, vücudun değişik yerlerine tamamen aynı kalınlıkta uygulanması imkansızdır.
- 230-396 nm arasındaki UV bölgenin tümü etkili olarak göz önünde tutulmalıdır.
- Test için kullanılan ışık kaynağına bağlı olarak, değişik sonuçlar elde edilebilir.

1935 yılında, Eugene Schueller, yağlı bir taşıyıcı sistemde benzil salisilat maddesini içeren güneşten koruyucu bir preparat hazırlamıştır (Shaath, 1997). İkinci dünya savaşından kısa bir süre sonra, 1939 yılında, I. G. Farben "Delial" adı ile satılmış olan benzilimidazol sülfonik asit maddesinin patentini almıştır (Urbach, 2001).

Güneşten koruyucu preparatların geliştirilmesinde ilginç bir çalışma, 1942 yılında meydana gelmiştir. Albay Otis Benson Jr. tarafından temsil edilen Amerikan Hava Kuvvetleri, çöl ve deniz gibi yerlerde askerleri güneş yanığından korumak için oniki farklı maddenin karışımından oluşan yeni bir formülasyon geliştirmiştir. Bir araştırma grubu oluşturularak, formülasyonun 297-365 nm aralığında etkileri incelenmiş, sudan ve soğuk hava şartlarından etkilenip etkilenmediği bulunmuştur (Shaath, 1997; Phillips, 2004)

1962 yılında, Knox ve arkadaşları, güneş ışıklarını emen bir benzofenon türevini tanıtmış ve bu maddenin fare derisini fotokarsinojen ve fotohassasiyet etkilerine karşı koruduğunu göstermiştir (Urbach, 2001). Wiskemann ve Heissen, (Wiskemann ve Heissen, 1962) deri testi için su soğutmalı ksenon arkının kullanımını önermiş ve güneş ışıklarının biyolojik etkilerini incelemişlerdir. Daha önceleri, endüstride, boya ve sentetik maddeleri korumak için kullanılmış olan benzofenon maddesinin iyi bir UV koruyucusu olduğunu göstermişlerdir (Urbach, 2001). % 10 aminobenzoik asit içeren güneş ışıklarından koruyucu preparatları *Contralum*'un, eriteme karşı son derece etkili olduğu gösterilmiştir.

Bu denemeler ile başlayan güneşten koruyucu preparatlar üzerindeki çalışmalar, son yirmi yılda oldukça artmış ve her ışına karşı özel süzgeç maddesi içeren karmaşık formülasyonlar geliştirilmiştir. UV ışınlarına bağlı erken deri yaşlanması ve kanser oluşumu gibi ciddi etkilerin ortaya çıkması ile birlikte insanlar, eskiden olduğu gibi kendilerini zararlı güneş ışınlarından tekrar korumaya başlamışlardır (Albert ve Ostheimer, 2003).

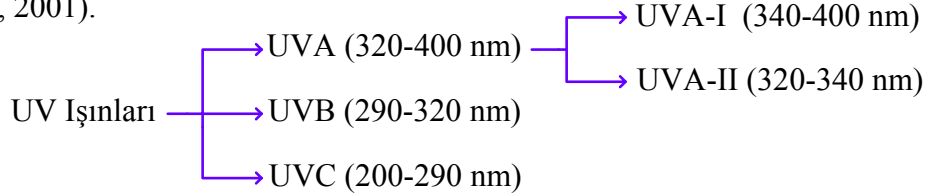
Ultraviyole Işınları

Güneşten yayılan farklı dalga boylarındaki tüm ışınlar “güneşin elektromanyetik spektrumu” olarak isimlendirilir (Petrazzuoli, 2000). Bu spektrumda, güneş ışınları dalga boylarına göre sıralanır ve aşağıda verilen temel gruplar ile ifade edilir (Diffey, 2002):

- Kozmik ışınlar
 - Gamma ışınları
 - X-ışınları
 - UV ışınları
 - Görünür ışık
 - İnfrared ışınları
 - Mikrodalgalar
 - Radyo dalgaları
- ↓
dalga boyu
artar

Ciltte zararlı etkiler oluşturan güneş ışınları, UV ışınları olarak adlandırılır. Yeryüzüne ulaşan toplam ışınların % 5’i kadarını oluştururlar.

Üç tip UV ışınından bahsetmek mümkündür; UVA, UVB ve UVC (**Şekil 1**) (Levy, 2001).



Şekil 1. Ultraviyole ışınları ve dalga boyları (Levy, 2001)

UV ışınlarının yaklaşık % 90’ını oluşturan UVA ışınları, deri yüzeyinde 100 µm derinliğe kadar etki ederek kronik zararlar oluşturabilir. Cilde fazla nüfuz ettikleri için, esneklik kaybı sonucu sarkma ve kırışıklık gibi erken yaşlanma belirtileri meydana getirir. Ayrıca, UVA ışınları hücre membran lipiti olan keratinositlere etki eden oksijeni ortaya çıkartarak, enzim inaktivasyonuna, protein denatürasyonuna, hücre organelleri ve hücre membranı hasarına, dolayısıyla DNA hasarına yol açabilir. İmmün sistem üzerinde de zararlı etkilere neden olarak, kanser oluşumunu başlatabilmektedir (Azevedo ve ark., 1999).

UVB ışınlarından daha zayıf ve daha az hasara neden olmalarına karşın, UVA ışınları güneş yanıklarına neden olabilir. Bunun sebebi, yeryüzüne UVB ışınlarına göre 100 kat daha fazla ulaşmasıdır (Wissing ve ark., 2001). UVB ışınlarının önemli bir miktarı ozon tabakası tarafından emilirken, UVA ışınları ozon tabakası tarafından emilemez. Bronzlaşma, genellikle, kişinin deri tipi ve deriye ne kadar UVA ışınının ulaştığı ile ilgilidir (Bouillon, 2000). UVA ışınlarının bir diğer özelliği de, tetrasiklin, fenotiyazin ve trisiklik antidepresan kullanan kişilerde ışığa duyarlılık reaksiyonlarına neden olmasıdır (http-1).

UVB ışınları, deride melanin pigmentinin oluşumuna ve güneş yanıklarına etkisi en fazla olan bölgedir (Azevedo ve ark., 1999). Camdan geçemez. Vitamin D'nin sentezinden sorumludur (Özer, 2004). Uzun süre UVB ışınlarına maruz kalındığında erken yaşlanma, ileri durumlarda ise deri kanseri görülebilir. UV ışınlarının dalga boyu kıaldıkça taşıdığı foton enerjisi artar (Villalobos-Hernandez ve Müller-Goymann, 2007). Bu enerji deri hücrelerinin fizyolojisini bozarak güneş yanığına neden olur. 300 nm dalga boyundaki UVB ışınları deriye, 320 nm deki UVB ışınlarından daha çok zarar verir; ancak iki durumda da güneş yanığı ve deri kanserine sebep olabilir. Yeryüzüne ulaşan UVB ışını UVA'nın 1/100'ü kadar olmasına karşın, UVB ışınlarının binde biri UVA ışınları ile aynı eritemal etkiyi gösterir (http-1).

UVC, en yüksek enerjiye ve en düşük dalga boyuna sahip UV ışınlarıdır. Yeryüzüne ulaşması, atmosferdeki moleküler oksijen ve ozon tabakası tarafından emilerek engellenir (Wissing ve ark., 2001). Ozon tabakasının her on yılda % 3 azalması sonucu, güneşten koruyucu preparatların hazırlanmasında, UVC ışınlarının da göz önüne alınması önem kazanmıştır (Chisvert ve ark., 2001). UVB ışınlarından daha az etkili olmalarına karşın, oluşabilecek hasar ciddidir ve özellikle göz için zararlıdır. Germisit etkisinden dolayı yapay olarak üretilen bu ışınlar, çok şiddetli ani güneş yanığına neden olabilir ve karsinojendir. UVC ışınlarından korunma, süzgeçsiz yapay kaynaklar kullanılarak bronzlaşılmasında gereklidir (http-1).

Güneş Işınlarını Süzücü Maddelerin Sınıflandırılması

Güneşten koruyucu preparatlar, formülasyonunda UV ışınlarını süzen bir madde bulunan, deriye ulaşan UV ışınının miktarını kontrol eden, deriyi güneş yanığından korurken, hızlı ve düzenli bir bronzlaşma sağlayan preparatlardır (Özer, 2004). Bunu da, kimyasal olarak, UV ışınlarının zararlı kısımlarını emerek, daha uzun dalga boylu ve daha az enerjili radyasyona çevirerek veya fiziksel olarak ışınları dağıtarak birim yüzeydeki yoğunluğu azaltarak yaparlar (Nash ve ark., 2006). Güneş ışınlarını süzücü maddeler, kimyasal yapıları veya etki gösterdikleri UV aralığına göre sınıflandırılabilirler (Chisvert ve ark., 2001).

Amerika, Avrupa ve Japonya'da, UV süzgeci olarak sadece kozmetik yönetmeliklerinde listelenmiş maddelerin kullanımı kabul edilir. Bu listeler, eski ve yeni formülasyonların kullanımı ve etkilerinin araştırılması ile zaman içinde güncellenmektedir (Chisvert ve ark., 2001).

Türkiye, Avrupa Birliği Kozmetik Mevzuatının 76/768/EEC sayılı Konsey Direktifi ile 96/335/EC sayılı komisyon kararına paralel olarak, 23 Mayıs 2005 tarihinde kozmetik yönetmeliğinde değişikliğe gitmiş ve Avrupa'da yürürlükte olan yönetmeliği birebir kabul etmiştir (Kozmetik Yönetmeliği, 2005)

Avrupa'da ve dolayısıyla Türkiye'de, UV süzgeci olarak kullanımı izinli olan maddeler ve maksimum kullanım konsantrasyonları **Çizelge 1**'de verilmiştir. Listede, sadece titanyum dioksit inorganik (fiziksel), diğer bütün bileşikler ise organik (kimyasal) UV süzgecidir. Kozmetik ürünlerde UV süzgeçlerinin kullanım konsantrasyonu, genellikle, % 0.1-10 arasındadır (Salvador ve Chisvert, 2005).

Çizelge 1. Avrupa Birliği'nde ultraviyole süzgeci olarak kullanımı izinli olan maddeler

R ⁽¹⁾	C ⁽²⁾	I ⁽³⁾	M.K. ⁽⁴⁾ (%)	Spektrum
1	S 1	p-aminobenzoik asit (PABA)	5	UVB
2	S 57	Kafur benzalkonyum metosülfat	6	UVB
3	S 12	Homosalat	10	UVB
4	S 38	Benzofenon-3	10	UVA-B
6	S 45	Fenilbenzimidazol sülfonik asit	8	UVB
7	S 71	Terefitaliliden dikafur sülfonik asit	10	UVA
8	S 66	Bütil metoksidibenzoilmetan	5	UVA
9	S 59	Benziliden kafur sülfonik asit	6	UVB
10	S 32	Oktosrilen	10	UVB
11	S 72	Poliakrilamidometil benziliden kafur	6	UVB
12	S 28	Etilhekzil metoksisinnamat	10	UVB
13	S 3	PEG-25 PABA	10	UVB
14	S 27	İzoamil p-metoksisinnamat	10	UVB
15	S 69	Etilheksil triazon	5	UVB
16	S 73	Drometrisol trisiloksan	15	UVA
17	S 78	Dietilhekzil bütamido triazon	10	UVB
18	S 60	4-Metilbenziliden kafur	4	UVB
19	S 61	3-Benziliden kafur	2	UVB
20	S 13	Etilhekzil salisilat	5	UVB
21	S 8	Etilhekzil dimetil PABA	8	UVA
22	S 40	Benzofenon-4	5	UVA-B
23	S 79	Metilen bis-benzotriazolil tetrametilbütilfenol	10	UVA
24	S 80	Disodyum fenil dibenzimidazol tetrasülfonat	10	UVA
25	S 81	Bis-etilhekziloksifenol metoksifenil triazin	10	UVA-B
26	S 74	Polisilikon-15	10	UVB
27	S 75	Titanyum dioksit	25	UVA-B
28	S 83	Dietilamino hidroksibenzoil hekzil benzoat	10	UVA

Avrupa Birliği'nde, UV süzgeci olarak kullanımı izinli olan maddeler arasında çinko oksit yoktur. Amerika'da, FDA farklı bileşiklerin ve konsantrasyonların kullanımını kabul etmiş; sadece, 16 bileşiği listesine almıştır. Bu bileşiklerin içinde inorganik UV süzgeci olarak çinko oksit de yer almaktadır (Petrazzuoli, 2000). Haziran 2003'te, SCCNFP'ye, COLIPA referans numarası S76 olan çinko oksitin UV süzgeci olarak kullanımı için bir rapor sunulmuş ve yapılan incelemeler sonucunda aşağıdaki kararlar alınmıştır (SCCNFP, 2003):

- Çinko oksit hakkında kapsamlı bir bilgi olmasına karşın, raporda verilen araştırmaların ve bulunan sonuçların büyük bir kısmı yaklaşık 15 sene önce gerçekleşmiştir. Günümüzün şartlarına uygun değildir.
- *In vitro* olarak, mikronize çinko oksitin hücrelerde ışığa bağlı DNA ve kromozom hasarlarına neden olduğu gösterilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar *in vivo* çalışmalarla desteklenmelidir.
- Yapılan çalışmalarda, çinko oksitin fizikokimyasal özellikleri tanımlanmamış, safsızlığı belirtilmemiştir.
- Mikronize çinko oksitin perkütan emilimi hakkında önemli bir bilgi eksikliği vardır.

⁽¹⁾ Avrupa Birliği Referans Numarası

⁽²⁾ COLIPA Referans Numarası

⁽³⁾ INCI İsmi

⁽⁴⁾ Maksimum kullanım konsantrasyonları

SCCNFP'nin hazırladığı sonuç raporunda, çinko oksitin kozmetik ürünlerde UV süzgeci olarak kullanılması ve tam bir güvenlik değerlendirmesi için, daha fazla araştırmanın yapılması istenmiştir (SCCNFP, 2003).

Güneş Işınlarnı Süzücü Maddelerin Formülasyonu

Son yıllarda, güneşin zararlı etkilerinin ortaya çıkması ve ozon tabakasındaki incelme, etkili UV koruma sistemi ihtiyacını arttırmıştır (Perugini ve ark., 2005). Bu preparatların uzun süreli ve sık kullanımları nedeniyle, etkinliklerinin ve güvenilirliklerinin tam olarak sağlanması gerekmektedir (Schaefer ve ark., 2000). Güneş ışınlarını süzücü preparatların formülasyon tasarımında aşağıdaki konular göz önüne alınmalıdır (Mitsui, 1997):

- UVA ve UVB'ye karşı geniş spektrumlu koruma sağlamalı,
- Yüksek sıcaklıklara dayanıklı olmalı ve özelliklerini korumalı,
- İrritasyona ve deride aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olmamalı,
- Terleme ve suya maruz kalma ile deriden kolayca uzaklaşmamalı,
- Çok sık uygulanacağı için, içerdiği kimyasal maddelerin deriden emilim olasılığı gözönünde tutulmalı,
- Deriye kolaylıkla uygulanmalı ve homojen bir film oluşturmali,
- Deri üzerinde yağlı, kaygan ve rahatsız edici bir his bırakmamalı,
- Giysilerde leke bırakmamalı,
- Bitmiş ürün maliyeti yüksek olmamalı.

Güneşten koruyucu preparatlar, emülsiyon, yağ, jel, merhem, köpük, sprey veya stik gibi farklı formülasyon şekillerinde hazırlanabilir; ancak, her formülasyonun tüketici tarafından seçimini etkileyen üstünlük ve sakıncaları vardır (Özer, 2004; Türkoğlu, 1998).

Güneş ışınlarını süzücü maddeler için en çok tercih edilen taşıyıcı sistem emülsiyondur. Emülsiyonların formülasyonundaki güçlükler ve kararlılıklarının zor sağlanması bile, bu taşıyıcı sistemlerin kullanımını azaltmamıştır (Klein, 1998). Kullanılan UV süzgeçleri genellikle emülsiyonlarda kolay formüle edilebilen yağlar veya yağda çözünebilen maddelerdir. Emülsiyonlar, süt şeklinden kremlere kadar değişen kıvamlarda hazırlanabilirler. Düşük viskoziteleri sayesinde kolay akışa sahip olmaları ve cilde uygulandıklarında estetik açıdan düzgün, ipeksi bir film oluşturmaları tercih edilmelerindeki en büyük etkidir (Özer, 2004; Klein, 1997).

Jel şeklindeki taşıyıcı sistemler estetik açıdan en çok kabul görebilecek formülasyon tipi olmasına karşın, ticari preparatlarına çok az rastlanmaktadır. Bu sistemler, hidrojel madde içeren sulu ya da sulu alkollü preparatlardır. Su yapılı oldukları için, terleme ve yüzme ile ciltten kolayca uzaklaşırlar ve lipofilik maddelerin bu sistemdeki formülasyonları bir hayli zor olmaktadır. Bu sorun, çözücü yardımcıları eklenmesiyle ortadan kaldırılabilir; ancak, kullanılması gerekli olan çözücü yardımcıları miktarı çok fazladır (Klein, 1998). Ayrıca, formülasyonlarında bulunan alkol tahrişe sebep olabilir. Jel tipi ürünler, yağlı ürünleri kullanamayan ve cilt üzerinde kaygan son etki istemeyen kişiler için uygundur (Türkoğlu, 1998).

Güneşten koruyucu preparatlar için en eski ve en kolay formülasyon şekli yağlardır. Sadece tek bir faz içerdiği için mükemmel kararlılığa sahiptirler. UV süzgeçlerinin birçoğu lipofilik yapıda olduğu için, yağlarda kolayca çözünürler. Cilde uygulanması son derece kolay olan bu taşıyıcı sistemin, cilt yüzeyinde çok ince ve saydam bir tabaka oluşturması koruma faktörünü bir hayli düşürmektedir. Apolar yapıdaki maddeler için, taşıyıcı sistem olarak yağlar kullanıldığında, formülasyonun kararlılığı artar ve koruma etkinlikleri için uyarılma enerjisine ihtiyaç duyar. Bu ek enerjiden dolayı, UV emilim eğrisi daha kısa dalga boylarına kayar ve formülasyonun koruma faktörünün azalmasına neden olur (Klein, 1998). Güneşten koruyucu olarak kullanılan esterler çok iyi çözücülerdir ve güneş yağlarındaki diğer esterlerle birleştiğinde, bitmiş ürün için kullanılan plastik ambalaj ile etkileşime girebilir. Bunun önlenmesi için, ambalajın iç kısmı reçine veya etilen-propilen kopolimeri ile kaplanabilmekte, ancak bu da maliyeti olumsuz yönde arttırmaktadır. Bu sistemler, maliyeti düşürecek su gibi başka bir faz olmadığı için taşıyıcı sistemler içinde en pahalılarından birisidir (Klein, 1997).

Merhemler, suya dayanıklı ve pahalı sistemlerdir. Yağlara göre deride daha kalın tabaka oluşturur. Bu yüzden, güneşten koruyucu etkileri daha fazladır. Formülasyonda hiç su içermediği için istenmeyen yağlı his bırakır. (Türkoğlu, 1998; Klein, 1997). Yağlar gibi, merhemler de apolar yapılarından dolayı koruyucu maddelerin UV emilim eğrisini daha kısa dalga boylarına kaydırır ve koruma faktörünü azaltır. Ancak, yağlı yapıları, yüzme ve terleme gibi etkenlerle koruyucu maddelerin ciltten uzaklaşmasını engeller (Klein, 1998).

Köpükler, güneşten koruyucu preparatlar için kullanımı son derece rahat olan sistemlerdir. Özel ambalajlarda, düşük basınçta, itici bir gaz sayesinde köpüğün oluşması sağlanır. Ana formülasyon Y/S tipi bir emülsiyondur ve güneş ışınlarını süzücü maddeler genellikle iç faz olan yağlı faza eklenir. Sakıncaları, ambalajlarından kaynaklanan fiyatları ve düşük basınçtaki itici gazın sıcaklığa karşı aşırı duyarlı olmasıdır. Bundan dolayı, ambalajlarının hazırlanmasında çok dikkatli çalışılması gereklidir (Klein, 1998; Özer, 2004).

Güneşten koruyucu maddeler için yeni bir taşıyıcı sistem olan stikler, dudak, göz çevresi ve kulaklar gibi vücudun belli bölgelerine uygulanan formülasyonlardır. Kullanımları oldukça kolay ve pratiktir. Formülasyon, genellikle, yağ ve yağda çözünen maddeler içerir. Parafin ve balmumu gibi maddeler kullanılarak kıvamı ve uygulama bölgesindeki film kalınlığı artırılabilir. Ciltte istenmeyen yağlı his uyandırmalarına karşın, tüm sistemler arasında su geçirgenliği en az olan formülasyonlardan birisidir. Çinko oksit ve titanyum dioksit gibi opaklık veren maddeler kullanılarak daha iyi koruma elde etmek mümkündür. Organik süzücü maddeler, alkolamitler ile birlikte kullanıldığında saydam görümlü stikler elde edilebilir; ancak, bu preparatlar, kararlılık problemleri ve yüksek maliyetleri yüzünden kozmetik pazarında yeterince yer alamamıştır (Klein, 1997).

Sprey şeklindeki formülasyonlar, kolay kullanımları nedeniyle, tercih edilen sistemlerdir. Ancak, her zaman ciltte homojen bir film oluşturamayabilir. Bu durum, güneşten koruma faktörünün azalmasına sebep olur (Klein, 1998). Ayrıca, yüz bölgesine uygulanırken, kaza ile göze temas etmesi gibi istenmeyen durumlar da gözlenebilir. Kullanılan formülasyon, emülsiyon veya yağ bazlıdır. Bu sistemlerden yağ bazlı olanı kullanıldığında ürünün maliyeti artar (Klein, 1997).

Güneşten Koruma Faktörü

Güneşten koruma faktörü (SPF-Sun Protection Factor), güneşten koruyucu ürünün etkinliğinin saptanmasında dünya çapında kabul görmüş bir belirleyicidir (Nash, 2005).

SPF ve koruyucu indis üzerine yapılan ilk çalışmalara 1930'lu yıllarda başlanmış ve 1940'larda H. Blum, 1950'lerde de R. Schulze tarafından ilk yayınlar yapılmıştır (COLIPA, 2006). Güneş ışınlarının bağıl eritem etkinliğini ilk hesaplayan Schulze, minimum eritem dozu (MED) ile güneşten koruma faktörü hesabını da ilk ortaya atan kişidir (Schulze, 1956). Daha sonra, koruma faktörü kavramı Greiter tarafından geliştirilmiştir (Voss, 2000). Bu standardizasyon arayışları ve oluşturulan bilimsel gruplar, MED ve SPF terimlerinin tanımlanmasına ve 1978 yılında da Amerika'da FDA tarafından ilk "standart koruma faktörü belirleme yöntemi"nin yayınlanmasına öncülük etmiştir (Urbach, 2001). Bu çalışmaları, 1984 yılında DIN67501⁽¹⁾ modeli ile Almanya izlemiş ve daha sonra bütün Avrupa'da kabul görmüştür. Bu iki standart, kullanılan ışık kaynağı (ksenon arc/doğal güneş ışığı ve civa lambası) ve cilde uygulanan ürün miktarı (2.0 ve 1.5 mg.cm⁻²) gibi farklılıklarla birbirinden ayrılmıştır. Bu durum da hesaplanan koruma faktörlerinin birbiri ile uyuşmamasına neden olmuştur (Heinrich, 2004; COLIPA, 2006).

Daha sonraki yıllarda yayınlanan bütün standart yöntemler, ksenon lambayı ve 2.0 mg.cm⁻² örnek uygulamayı kabul etmiştir. 1986 yılında, SAA, hem SPF hem de suya karşı direnç testini kapsayan FDA'ya benzer standartlar yayınlamıştır. Bunu, 1991 yılında, benzer bir çalışma ile JCIA izlemiştir. Güney Afrika'da da, SABS, 1992 yılında benzer bir yöntem yayınlamıştır. FDA standartının yeni bir versiyonu, "Geçici Son Monograf" adıyla, 1993 yılında yayınlanmış ve 1999 "Son Monograf" versiyonunun uygulanması belirsiz bir biçimde ertelenmiştir. Bu askıya alma, "UVA testi ve etiketlenmesi" için özel yöntemlerin saptanmasına zaman sağlamıştır.

COLIPA, 1994 SPF yönteminde, emisyon kaynağının UV spektrumu tayini ve kolorimetrik cilt tipi seçimi için yeni teknikler sunmuştur. Aynı zamanda, iki yüksek SPF standart ürünün, SPF değerlerinin artışında dikkate alınması önerilmiştir. 1998 yılında Avusturya Önorm ve 1999 yılında yeni DIN standardı, COLIPA 1994 yöntemine eklenmiştir (COLIPA, 2006).

2000 yılında COLIPA, JCIA ve CTFA-SA, SPF ölçüm yönteminin düzenlenmesi için görüşmelere başlamışlardır. Alınan ortak bir kararla Ekim 2002'de "*Uluslararası güneşten koruma faktörü (SPF) test yöntemi*" belirlenmiştir.

2005 yılında CTFA ortak bir uluslararası SPF yöntem isteğini COLIPA, JCIA ve CTFA-SA ile paylaşmıştır. Haziran 2005'te başlayan görüşmeler halen devam etmektedir (COLIPA, 2006).

⁽¹⁾ Deutsches Institut für Normung 67501, Experimental evaluation of the protection from erythema of external sunscreen products for the human skin, Alman Standardizasyon Kurumu 67501, Eritemden korunmak amacıyla insan derisi için kullanılan güneşten koruyucu ürünlerin deneysel değerlendirilmesi

İn Vivo Güneşten Koruma Faktörü Test Yöntemi

Güneşten korunma derecesi, UV radyasyona karşı derinin eritemal cevabını kullanan “güneşten koruma faktörü testi” ile hesap edilir. SPF, gönüllülerin ciltlerine güneşten koruyucu ürün uygulanarak ve hiç uygulanmadan minimum eritemal cevap için gerekli olan enerjilerden hesaplanan bir orandır. SPF belirlenmesi için yapay bir kaynaktan UV radyasyon üretilir (COLIPA, 2006).

MED, UV’ye maruz bırakılan bölgenin çoğunda 16-24 saat sonra görülen, farkedilebilir ilk eritemi üreten en az UV dozudur (Wolf ve ark., 2001a).

MED_u: Koruyucu olmayan ciltteki MED

MED_p: Güneşten koruyucu uygulanmış ciltteki MED

SPF_i değeri, aynı denekte bir ürün tarafından korunan derideki minimum eritem dozunun, hiçbir koruma olmayan derideki minimum eritem dozuna oranıdır. SPF_i aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır.

$$SPF_i = \frac{MED_i \text{ (koruyucu uygulanmış cilt)}}{MED_i \text{ (koruyucu uygulanmamış cilt)}} = \frac{MED_{pi}}{MED_{ui}} \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Bir ürünün SPF değeri, testteki bütün deneklerden sağlanan geçerli SPF_i değerlerinin aritmetik ortalamasıdır (Griffin ve ark., 1997).

Uluslararası SPF test yönteminde, ksenon ark güneş simülatörü lamba veya eşdeğeri kullanılır. Koruma faktörünün hesaplanması için, gönüllülerin cildinde seçilen küçük bölgelerde geciktirilmiş eritemal cevaplara bakılır. Uygulanacak ürünün ve referans formülasyonunun miktarı 2 mg.cm⁻²’dir. Test, bel ve omuzların arasında kalan alan ile sınırlandırılmıştır. UV uygulanacak bölge için kabul edilebilir en küçük alan 0.5 cm², önerilen alan ise en az 1 cm²’dir. Her bölgenin alanı birbiri ile aynı olmalı ve aralarındaki uzaklık en az 0.8 cm olmalıdır (COLIPA, 2006). Gönüllülerin cildinde seçilen bölge, hiçbir koruma olmadan ve seçilen bir başka bölge de bir koruyucu ürün uygulanarak UV ışınlarına maruz bırakılır. Bunun dışında, en az bir bölgeye de SPF referans formülasyonu uygulanıp, UV ışınlarına maruz bırakılmalıdır (Ferguson, 1997).

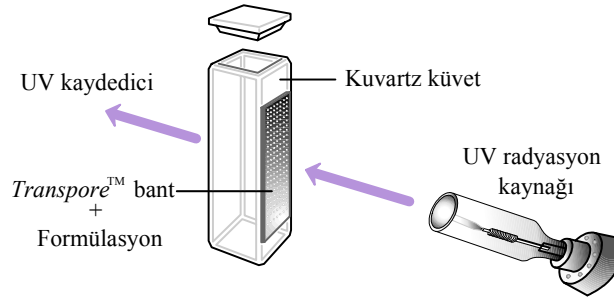
Aşamalı olarak arttırılan UV dozu ile çeşitli derecelerde eritem (yüzeysel vazodilatasyondan dolayı oluşan kızarıklık) oluşur. Bu geciktirilmiş eritemal cevaplar UV radyasyondan 16-24 saat sonra, bu konuda eğitimli birisi tarafından kızarıklık şiddetine göre görsel olarak tayin edilir (Griffin ve ark., 1997).

Korunmamış derinin minimum eritemal dozu (MED_u) ve güneşten koruyucu ürün ile korunmuş derinin minimum eritemal dozu (MED_p) aynı gönüllü üzerinde ve aynı gün tayin edilmelidir. Aynı gönüllü üzerinde birden fazla ürün test edilebilir (Federal Register, 1999).

Herbir gönüllü için SPF_i değeri, MED_{pi}/MED_{ui} oranından hesaplanır. Bir ürünün SPF değeri için testteki bütün deneklerden sağlanan geçerli SPF_i değerlerinin aritmetik ortalaması alınır. SPF hesabı için en az 10 ve en fazla 20 geçerli sonuç alınması gerekir. Ortalama SPF için güven aralığı (CI % 95) ±% 17 olmalıdır. Beklenen/tahmin edilen SPF’ye göre her testte yüksek veya düşük uygun bir SPF referans formülasyonu olmalıdır (COLIPA, 2006).

İn Vitro Güneşten Koruma Faktörü Test Yöntemi

Güneş ışınlarını süzücü formülasyonların etkinlikleri, *in vitro* ortamda çeşitli yöntemlerle değerlendirilmektedir. Diffey ve Robson'ın 1989 yılında önerdiği *Transpore™* test (**Şekil 2**), uygulaması oldukça kolay ve sık kullanılan yöntemlerden birisidir (Scalia ve ark., 2006). *Transpore™* bant, kuvarz küvetler üzerine yapıştırılır ve 2.0 mg.cm^{-2} formülasyon homojen olarak yüzeye sürülür. Uygulamadan sonra yaklaşık 15 dakika kurumaya bırakılır (Wissing ve Müller, 2002). *Transpore™* bantı yapıştırılmış referansa karşı, UV spektrofotometresi ile 290-400 nm aralığında spektrum alınarak analiz gerçekleştirilir (Cengiz ve ark., 2006). SPF'nin hesaplanması için de benzer bir yöntem kullanılır. Substrat üzerine uygun miktarda preparat, homojen olarak uygulanır. Preparat üzerinden geçen UV enerjisindeki azalmalar, özel spektrofotometreler ve bilgisayar yazılımları kullanılarak değerlendirilir; *in vivo* sonuçlara çok yakın *in vitro* SPF değerlerini verir (Pissavini ve Ferrero, 2004).



Şekil 2. *Transpore™* Test yönteminin şematik olarak gösterimi

In vitro bir diğer yöntem ise *SUN TO SEE™* UV bantları ile yapılan analizdir (Cengiz ve ark., 2006). Bu bantlar, UV ışınlarına maruz kaldığında, 603 nm'de maksimum absorbans veren mavi boya içerir. Yüksek koruma faktörlü formülasyonlar, daha az mavi boyanın oluşmasına neden olur. 70-100 mg örnek, 3.8 cm^2 'lik yüzeye uygulanır ve uygun bir lamba kullanılarak 90 dakika boyunca 30 cm uzaklıktan UV ışınlarına maruz bırakılır. Bantların yüzeyinde kalan örnek artıkları temizlenerek oluşan boya alınır ve 2 mL asetonda çözündürülür. Çözeltilerin 603 nm'de verdikleri absorbanslar karşılaştırılır (Wissing ve Müller, 2001). Uygulaması oldukça kolay bir yöntem olmasına karşın, sadece Almanya'da eczanelerde satışı olan *SUN TO SEE™* UV bantları'nın üretimi ve satışı 2006 yılında durdurulmuştur.

İn Vitro Deriden Geçiş Derecesi - Franz Difüzyon Hücresi

Güneş ışınlarını süzücü madde formülasyonlarının cilde uygulandıktan sonra oluşturdukları penetrasyon dereceleri, *in vitro* olarak, Franz Difüzyon Hücreleri ile yapılan çalışmalarla analiz edilmektedir (Fernandeza ve ark., 2000; Varvaresou, 2006). Bu yöntemde, bölümler arasına yerleştirilen dokunun dermis kısmında toplayıcı sıvı, *Stratum corneum* kısmında ise etkin maddenin taşıyıcı sistemi bulunmaktadır. Sıcaklığın sabit tutulması için genellikle termal bir ceket kullanılır. Toplayıcı sıvıda uygun miktar tayini analizleri gerçekleştirilerek penetrasyon derecesi saptanmaktadır. Bu çalışmalarda en çok kullanılan membran insan derisidir. Ancak, temini, çalışmaya hazırlanması ve saklanması zor ve masraflıdır. Bu nedenle insan derisi ile benzer özellikler gösteren domuz kulağı ya da yapay membranlar kullanılmaktadır (Gamer ve ark., 2006).

Çinko Oksit

Fiziksel olarak güneş ışınlarını süzücü maddeler, UV ışınlarını yansıtarak veya dağıtarak etki gösterir. Fiziksel süzgeç olarak en çok kullanılan maddelerden birisi olan çinko oksitin UV ışınlarını yansıtma özelliği çok uzun yıllardan beri bilinmektedir (Levy, 2001; Wolf ve ark., 2001a).

Çinko oksit doğada kendiliğinden oluşmaz; çok yaygın olarak bulunan çinkodan elde edilir. Ham çinko, genellikle, sülfür, kurşun, demir, bakır, arsenik ve civa gibi diğer metalleri de içerir. Çinkodaki safsızlıklar, genellikle, distilasyon yöntemi kullanılarak önlenir. Çinko oksit, çeşitli çinko tuzları kullanılarak üretilir. Bu yöntemlerde, ürünün saflığı, kullanılan tuzların saflığına ve çinko oksit kristallerinin ürünlerle girdiği reaksiyonlardan ne kadar iyi ayrıldığına bağlıdır. Genellikle, alüminyum, sodyum ve sülfat gibi bazı safsızlıklar çinko oksit ile birlikte kalır (Mitchnick, 1998).

Çinko oksit, kokusuz, tatsız, yanıcı olmayan, beyaz ya da sarımsı ve amorf yapıda tozudur. Güneşten koruyucu ürünlerde kullanılan mikronize çinko oksit tozlarının ortalama parçacık büyüklüğü 0.2 µm veya daha azdır (Anderson ve ark., 1997). Erime derecesi 1975°C, yoğunluğu 5.47 g.cm⁻²'dir. Su ve etanolde çözünürlüğü yok denecek kadar azdır. Seyreltik mineral asitlerde ve alkali hidroksitlerde çözünür. Güneşten koruyucu ürünlerde % 25 oranına kadar kullanılabilir (SCCNFP, 2003).

Çinko oksit, yaklaşık 2.0 olan yüksek kırılma indisine sahiptir. Bir maddenin kırılma indisi onun karakteristik özelliğidir ve değiştirilemez; ancak, etkisi azaltılabilir. Bunu yapmanın bir yolu, madde ile benzer kırılma indisi olan dağılma ortamı kullanmaktır. Bir diğer yol da, parçacık büyüklüğünü değiştirmektir (Fairhurst ve Mitchnick, 1997). Opaklık, kırılma veya absorpsiyon ile ışık geçirgenliğini engelleme yeteneğidir. Çinko oksit kristallerinin yüzeyi görünür ışığı etkin şekilde yansıtır. Bu yüzden, daha fazla sayıda yüzey, daha çok ışığın yansımaya anlamına gelir. Bu düşünce ile, küçük partiküller daha fazla yüzey alanına sahip oldukları için, daha fazla ışık kıracaktır. Ancak, bu tamamen doğru değildir. Çinko oksitin görünür ışıktaki opaklığı, 0.25 µm parçacık büyüklüğünde maksimum düzeye çıkar. 0.25 µm'den daha düşük olan parçacıklar büyüklere oranla aslında daha fazla ışık geçirir. Bunun sebebi, 0.25 µm'den ufak parçacıkların artık sadece ışığı geri yansıtılmaları; ayrıca, ışığı her yöne dağıtmalarıdır. 0.1 µm'nin altındaki parçacık büyüklüklerinde UV ışınlarından koruma özelliği azalmaya başlar. Bu ufak parçacıklardan, formülasyona başlamadan önce ya da daha sonra agregatlar oluşabilir. Agregatların son büyüklüklerine göre UV ışınlarını süzme özelliği de değişir (Mitchnick, 1998).

1927 yılında, George Stutz, 370 nm'nin altındaki opaklığın, pratik olarak hiç ışık yansıtılmadan, sadece absorpsiyon gücünden dolayı olduğunu belirtmiştir (Anderson ve ark., 1997). Etki mekanizması absorpsiyon olduğu için, saydam çinko oksit formülasyonları ile UV radyasyonun etkisi azaltılabilir. UV ışınlarını absorbe edici etkisinden dolayı, kimyasal güneşten koruyucular ile benzerlik gösterir (Maier ve Korting, 2005). 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 (Kullavanijaya ve Lim, 2005).

Çinko oksitin bebek yağlarından makyaj ürünlerine kadar çok geniş kullanım alanı olması, güneşten koruyucuların formülasyonuna girmesinde herhangi bir zorluğun çıkmaması gerektiğini düşündürebilir. Çinko oksitin diğer güneşten koruyucularla birlikte formülasyonunda bir zorluk yoktur.

Kozmetik alanda, noniyonik, anyonik ve katyonik olmak üzere üç sınıf emülsiyon yapıcı göze çarpar. Çinko oksit, bütün noniyonik emülsiyon yapıcılarla uyumludur. Etoksilatlar, sukroz esterleri ve amin oksitlerle bile hiçbir güçlük olmadan kullanılabilir. Anyonik emülsiyon yapıcılar daha karmaşık bir durum sergiler. En popüler anyonikler stearat sabunlarıdır. Stearik asit, trietanolamin, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit ya da diğer aminlerle nötralize olabilir. Oluşan emülsiyon yapıcı, son derece hidrofilik ve mükemmeldir. Eğer, çinko oksit, stearik asit içeren bir emülsiyonun içine eklenirse, çok az miktarda çinko stearat oluşur. Bu durum, Y/S emülsiyonunun kararlılığını düşürür. Diğer yandan, YEM olarak boraks ile oluşturulmuş Y/S emülsiyonuna çinko oksitin eklenmesi hiçbir kararlılık sorununa neden olmaz. Nötralize olmayan diğer anyonik emülsiyon yapıcılar kullanılabilir. Bu sınıfa iyi bir örnek olarak DEA-setilfosfat verilebilir. Katyonik emülsiyon yapıcılar çok nadir kullanılır. Eğer kullanılacak ise, çinko oksit ile uyumlu olduğunu bilmek gereklidir (Mitchnick, 1998).

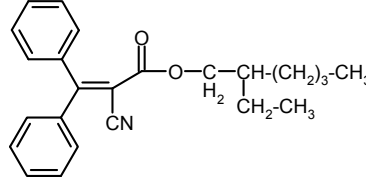
Günümüzde, güneşten koruyucu preparatların sudan etkilenmesi istenmez. Bu yüzden, hidrofilik emülsiyon yapıcılar olabildiğince az kullanılır. Çinko oksit, titanyum dioksitten çok daha hidrofilik yapıya sahiptir. Bu nedenle, yağlı fazda tutulması titanyum dioksit göre daha zordur (Anderson ve ark., 1997). Yağlı fazda hidrofilik emülsiyon yapıcılar kullanıldığında, emülsiyon oluşturmada önce, çinko oksit sıcak yağlı fazda disperse edilebilir. Her durumda, emülsiyon homojenize edilmelidir. Koruyucularla da hiçbir uyumsuzluk gözlenmemiştir. Aslında, çinko oksitin kendisi koruyucu gibi davranır (Mitchnick, 1998).

5 dişi ve 5 erkek fareye akut dermal toksisite testi uygulanmış ve 14 gün boyunca izlenmiştir. Deney boyunca hiçbir klinik toksisite gözlenmemiş ve farelerde ölüm olmamıştır. Bu çalışmada, çinko oksitin tek doz dermal uygulamadan sonra toksik olmadığı bulunmuştur (SCCNFP, 2003). Tekrarlanan dozlarda dermal toksisitesi hakkında ise bilgi yoktur. Çinko oksitin deride oluşturduğu tahrişi incelemek için 3 erkek tavşan kullanılmış, teste başlamadan 24 saat önce uygulama yapılacak bölge tıraş edilmiştir. Çinko oksit, distile suda 1:1 (a/a) oranında süspansiyon edilmiş ve 0.5 mL örnek uygulanarak 4 saat beklenmiştir. Yamanın çıkarılmasından 1, 24, 48 ve 72 saat sonra deri gözlenmiş ve hiçbir irritasyonun olmadığı görülmüştür. Tekrarlanan yama testinde de, tavşan, domuz, sıçan gibi farklı hayvanlar denenmiş ve aynı şekilde irritasyon görülmemiştir. (Guy ve ark., 1999; SCCNFP, 2003).

Çinko oksit, şiddetle ısıtılınca sarı renk alır; bu renk soğutulunca kaybolur. Seyreltik hidroklorik asitteki çözeltisi, asitin fazlası nötralize edildikten sonra çinkonun karakteristik reaksiyonlarını verir. Şiddetle sabit ağırlığa kadar yakıldığında, ağırlığının % 1.0'ından fazlasını kaybetmez. Miktar tayini yönteminde, tam tartılmış yaklaşık 1.5 g madde ve 2.5 g amonyum klorür, 50 mL hidroklorik asitte eritilir. Asitin fazlası, belirteç olarak metil oranj kullanılarak sodyum hidroksit ile titre edilir. Titrasyon sonucunda, 1 mL hidroklorik asit, 40.68 mg çinko oksite karşılık gelir (Türk Kodeksi, 1974).

Oktosrilen

Kimyasal ismi, 2-etilhekzil 2-siyano-3,3-difenil akrilat olan oktosrilen molekülü (Şekil 3), çok iyi koruma potansiyeline sahip organik UVB süzgecidir. Difenilsiyanoakrilat ve 2-etilhekzanol'un yoğuşması ile oluşmuş esterdir (Levy, 2001). Amerika ve Avrupa'da, güneşten koruyucu ürünlerde maksimum kullanım konsantrasyonu % 10'dur (Salvador ve Chisvert, 2005).



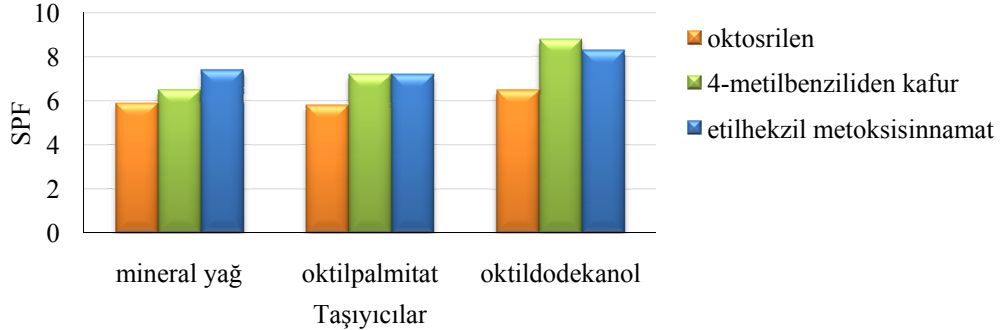
Şekil 3. 2-etilhekzil 2-siyano-3,3-difenil akrilat (Simeoni ve ark., 2005)

Saydam ve soluk sarımsı renkte kıvamlı bir sıvıdır. Molekülün akrilat kısımlarının uzun yapısı, UV ışınlarını absorbe eder ve güneş ışınlarının zararlı etkilerine karşı deriyi korur. Maksimum absorbans verdiği dalga boyu 303 nm'dir. Yapısındaki etil hekzanol kısmı, yağlı alkoldür; moleküle nemlendirici ve yağmsı özellik kazandırır. Oktosrilen, lipofilik ve kimyasal olarak dayanıklı bir bileşiktir. Suda çözünürlüğü yoktur. Bu yüzden sudan etkilenmesi istenmeyen güneşten koruyucu preparatlar için mükemmel bir UV süzgecidir. Metanol, etil asetat ve toluende çözünür. Kaynama noktası, 1.5 mmHg basınçta, 218°C; donma noktası -10°C ve kırılma indisi 20°C'ta 1.561-1.571 aralığındadır. Molekül ağırlığı 361.5 g.mol⁻¹ ve yoğunluğu 1.05 g.cm⁻³'dir (Merck, 2003; USP, 2000). Üretiminden itibaren açılmamış kabında 24 aylık raf ömrüne sahiptir. 25°C'ın altında ve sıkıca kapatılmış kaplarda saklanır (DMS, 2004).

Oktosrilenin katı UV süzgeçleri için çok iyi taşıyıcı ve çözme özelliği vardır. Oktosrilende, avobenzoneun (bütil metoksidibenzoil metan) çözünürlüğü % 22, benzofenon-3'ün % 27 ve 4-metilbenziliden kafurun ise % 30'dur. Yapılarındaki benzerlikten dolayı, genellikle, sinamatlar ile birlikte kullanılır. Fotokararlılığı son derece iyidir; bu yüzden avobenzone gibi yapılarla birlikte formüle edilerek fotokararlılığı artırıcı ajan olarak da kullanılır. Genellikle, kozmetik preparatlarda kullanılan diğer bileşenler ile uyumludur. Uygulama alanları arasında, güneşten koruyucular, bebek bakım, günlük cilt bakım ve dekoratif kozmetik ürünleri sayılabilir (http-2).

Son yıllarda, oktosrilenin ticari güneşten koruyucu preparatlardaki kullanımı oldukça artmıştır. Kullanım alanının daha da genişlemesi için, bu maddenin toksikolojik özelliklerinin de bilinmesi gereklidir. Günümüze kadar yapılmış çalışmalar, subkronik toksisite, gelişim aşaması ile ilgili toksisite ve *in vitro* genotoksik potansiyelini değerlendirmiştir. Subkronik çalışmada, erkek ve dişi Yeni Zelanda tavşanları kullanılmış, 13 hafta boyunca günde 534 mg.kg⁻¹ dozunda topikal olarak uygulanmıştır. Deride az da olsa tahriş görülmüştür. *In vitro* genotoksikite çalışmaları için hamster'ların yumurtalıklikları kullanılmış ve genotoksik bir etkisinin olmadığı bulunmuştur (Odio ve ark., 1994). Tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, göz irritasyon testi sonucunda tahriş görülmemiştir. Bakteriyel mutajenite için Ames-Test yapılmış ve mutajenik aktivite belirtisi gözlenmemiştir. Akut zehirlilik çalışması için sıçanlara oral olarak uygulanmış ve LD₅₀>67000 mg.kg⁻¹ olarak bulunmuştur (Merck, 2003).

Koruyucu özelliğini incelemek için yapılan bir çalışmada, oktosrilen, 4-metilbenziliden kafur ve etilhekzil metoksisinnamat farklı taşıyıcılar kullanılarak % 2 oranında hazırlanmış (Şekil 4), SPF değerleri *in vitro* yöntemlerle hesaplanıp karşılaştırılmıştır (http-2).



Şekil 4. Farklı taşıyıcılar kullanılarak % 2 oranında hazırlanan 3 farklı ultraviyole süzgecinin güneşten koruma faktörleri (http-2)

Oktosrilenin tanınma reaksiyonu için bir çok yöntem kullanılabilir (Salvador ve Chisvert, 2005). USP24'te, tanınma reaksiyonu için UV absorpsiyon yöntemi kullanılmıştır. Ağırlığı bilinen oktosrilen standartı asetonda çözündürülür. Seyreltme yapılarak 21 mg.mL⁻¹ konsantrasyonda standart çözelti hazırlanır. Tanınma çözeltisi hazırlamak için, 2.1 g tam tartılan oktosrilen 100 mL'ye asetonla tamamlanır. Kromatografik sistem olarak alev iyonizasyon dedektörü ile gaz kromatografisi kullanılır. 0.25 µm G1 filmi ile kaplanmış 0.32 mm x 60 m kolon ve taşıyıcı gaz olarak 6 mL.dk⁻¹ hızında helyum kullanılır. Öncelikle, kolonun sıcaklığı 80°C'a ayarlanır, enjeksiyon sonrasında sıcaklık 4°C.dk⁻¹ hızda 280°C oluncaya kadar artırılır ve 280°C'ta 10 dakika sabit tutulur. Enjeksiyon port sıcaklığı ve dedektör 300°C'a ayarlanır. Oktosrilen ve diğer piklerin arasındaki ayırım 1'den küçük olmamalı ve tekrarlanan enjeksiyonlarda bağlı standart sapma % 2'den büyük olmamalıdır. İşlem sırasında, standart çözelti ve tanınma çözeltisi, ayrı ayrı, yaklaşık 1 µL'lik eşit hacimlerde enjekte edilir ve kromatogramlar kaydedilir. Ana piklerin cevapları kullanılarak, oktosrilen miktarı mg olarak hesaplanır (USP, 2000).

Oktosrilenin de içinde bulunduğu güneşten koruyucu bir preparatta yapılan miktar tayini çalışması için, HPLC kullanılmıştır. Parçacık büyüklüğü 5 µm olan, 250 mm x 4.6 mm Hypersil BDS RP-C₁₈ kolon ile çalışılmış ve hareketli faz olarak 1.5 mL.dk⁻¹ akış hızında 90:10 (h/h) metanol:asetonitril karışımı sisteme verilmiştir. Hareketli faz kullanılarak hazırlanan 10-100 µM konsantrasyon aralığındaki oktosrilen çözeltilerinden, 313 nm dalga boyunda kalibrasyon eğrisi çıkarılmış ve yöntem validasyonu yapılmıştır. Enjekte edilen örnek çözeltisinde oktosrilenin geri kazanım oranı % 99-103 aralığında bulunmuştur (Smyrniotakis ve Archontaki, 2004).

Oktosrilen içeren bir başka güneşten koruyucu preparatta yapılan ayırım çalışmasında ise, 5 µm parçacık büyüklüğü olan 150 mm x 4.6 mm Zorbax SB-CN kolon tercih edilmiş ve hareketli faz olarak 1 mL.dk⁻¹ akış hızında, 40:10:10:40 hacim oranında metanol:asetonitril:tetrahidrofuran:su karışımı kullanılmıştır. 100 mg tam tartılan preparat 50 mL'ye metanol ile tamamlanmış ve ultrasonik banyoda çözünme gerçekleştirilmiştir. 0.45 µm'lik membran süzgeçten süzölmüş ve HPLC ile analiz edilmiştir (Simeoni ve ark., 2005).

Katı Lipit Nanopartiküller

1990'ların başında, emülsiyonlara, lipozomlara ve nanopartiküllere alternatif taşıyıcı sistem olarak, polimerler ve makromoleküllerden üretilen SLN'ler (Solid Lipid Nanoparticles) geliştirilmiştir (Müller ve ark., 2002). Diğer nanopartiküllere benzer olarak, kontrollü salım sağlayan ve kullanılan etkin maddelerin bozunmasını önleyen katı matrisleri vardır. SLN'nin matrisi oda sıcaklığında katı halde bulunan lipitlerden oluşur (Mühlen ve ark., 1998; Müller ve Wissing, 2002).

SLN'ler, konvensiyonel dozaj şekillerinin üstünlüklerini biraraya getiren, aynı zamanda da bilinen sakıncalarını önleyen sistemlerdir (Wissing ve Müller, 2003).

SLN'lerin üstünlükleri:

- Etkin madde hedeflendirmesi ve kontrollü salımın gerçekleşmesi,
- Arttırılmış ilaç kararlılığı,
- Yüksek oranda etkin madde yüklenmesi,
- Hidrofilik ve lipofilik etkin maddelerin uyum içinde birarada verilebilmesi,
- Taşıyıcının biyotoksik olmaması,
- Büyük ölçekli üretim ve sterilizasyonunda problem olmaması,
- Organik çözücü içermemesi (Mehnert ve Mäder, 2001).

SLN'ler, başlangıçta, intravenöz uygulamalar için geliştirilmiş, daha sonra oral dozaj şekillerinde de kullanılmaya başlanmıştır. Son yıllarda ise, ilgi SLN'lerin hem farmasötik hem de kozmetik amaçlı topik kullanımlarında yoğunlaşmıştır (Liu ve ark., 2007). Dünya genelinde tescillenmiş ismi SLN[®] ve topik uygulamalar için *Lipopearls[®]*'dür (Müller ve Wissing, 2002).

Topik uygulamalar için, SLN'de, farmasötik ve kozmetik amaçlı çok farklı ve çeşitli etkin maddeler kullanılmıştır. Ayrıca, krem ve jel gibi taşıyıcı sistemlerle birleştirilerek, fiziksel kararlılık, etkin madde yüklenmesi ve salım özellikleri gibi, partiküllerin karakterizasyon ve uyum çalışmaları yapılmış; bu yapılarla etkileşimleri incelenmiştir (Müller ve Wissing, 2002).

Uzun yıllardır, büyük lipit partiküller oral sistemlerde pelletler şeklinde kullanılmıştır. Buna örnek olarak, Boehringer Ingelheim (Almanya) tarafından üretilen Mucosolvan[®] adlı ürün verilebilir. İlerleyen yıllarda, lipit mikropartiküller ve püskürterek kurutma yöntemi gibi geliştirilme teknikleri de tanımlanmıştır. Lipit partiküller için bir sonraki gelişim aşaması Speiser tarafından oral uygulamalar için geliştirilmiş olan lipit nanopartiküllerdir (Demirel ve Yazan, 2000). Eritilmiş lipitler sulu YEM çözeltisi içinde bir karıştırıcı ile disperse edilir. Benzer bir sistem de, Domb tarafından, *Lipopearls[®]* için tanımlanmıştır. Ancak, düşük enerjili dispersiyon tekniği kullanmanın sakıncası, ultra ince nanopartikül ürün elde etmek için yüksek YEM konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulmasıdır (Müller ve Wissing, 2002). Bir diğer problem de, bitmiş ürünün mikropartikül yapılarından arındırılmasının zorluğudur. Bu durum, özellikle intravenöz kullanım için üretilmiş sistemlerde önemlidir. Bu sorunun çözümü için, yüksek YEM konsantrasyonuna sahip kendiliğinden emülsiyon oluşan sistemler hazırlanmış; ama yine nanopartikül ve mikropartiküllerin bir karışımı elde edilmiştir (Müller ve ark., 1995).

Hazırlama Yöntemleri

SLN'lerin genel bileşenleri, katı lipitler, YEM'ler ve sudur. Buradaki lipit, trigliseritleri (tristearin), kısmi gliseritleri (Imwitor®), yağ asitlerini (stearik asit), steroitleri (kolesterol) ve mumları (setil palmitat) kapsar (Mehnert ve Mäder, 2001). Her çeşit YEM, lipit dispersiyonunda kullanılabilir. YEM'lerin birarada kullanılması, partiküllerin aglomere olmalarını engellemede daha etkilidir (Wissing ve ark., 2004).

SLN'lerin çok belirgin bir üstünlüğü de lipit matrisin akut ve kronik toksisite riskini azaltan fizyolojik lipitlerden oluşmasıdır (Lippacher ve ark., 2002). Uygulama şekline bakılarak, YEM seçimi, parantral uygulamalarda çok daha sınırlıdır (Mehnert ve Mäder, 2001).

Ufak partikül büyüklüğüne sahip ve mikropartikül içeriği en az olan homojen ürün elde etmek için, yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi geliştirilmiştir. % 1 gibi düşük YEM konsantrasyonları kullanarak, intravenöz uygulamalar için bile kullanılacak yüksek konsantrasyonlarda SLN dispersiyonları (% 20-30) elde edilebilmiştir (Müller ve Wissing, 2002).

Yüksek Akışlı Homojenizasyon ve Ultrason Yöntemi

Yüksek akışlı homojenizasyon ve ultrason, SLN'lerin üretiminde ilk kullanılan dağıtma teknikleridir (Müller ve ark., 2000). Her iki yöntem de yaygın ve kolaydır; ancak, dispersiyon içinde bazen mikropartiküller görülebilir. Eğer ultrason kullanılacaksa, metal kontaminasyonu da göz önünde tutulmalıdır (Mehnert ve Mäder, 2001).

Ahlin ve arkadaşları (Ahlin ve ark., 1998), Lak Tek rotor-stator homojenizatör (Omni International, Gainesville, Amerika) kullanarak, eritme-emülsiyon oluşturma yöntemi ile SLN üretmişlerdir. Emülsiyon oluşturma zamanı, karıştırma oranı ve soğutma koşulları gibi değişik üretim parametrelerinin, parçacık büyüklüğü ve zeta potansiyele olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada kullanılan lipitler, trimiristin (Dynasan® 114), tripalmitin (Dynasan® 116), tristearin (Dynasan® 118), mono-, di- ve trigliseritlerin karışımı (Witepsol® W35, Witepsol® H35) ve gliserol behenat'tır (Compritol® 888 ATO). Sterik stabilizatör olarak da Poloksamer® 188 (% 0.5) kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, en iyi sonuçlar, Witepsol® W35 dispersiyonu için 20000 rpm'de 8 dakika karıştırma ve 10 dakika oda sıcaklığında 5000 rpm'de karıştırarak soğutma uygulandığında elde edilmiştir. Buna karşın, Dynasan® 116 dispersiyonu için en iyi koşullar, 10 dakika 25000 rpm'de emülsiyon oluşturma ve 5 dakika 5000 rpm'de soğuk su (16°C) içinde soğutma olarak bulunmuştur. Yüksek karıştırma oranları parçacık büyüklüğünde çok büyük bir değişiklik yaratmamış; ancak, polidisperslik indisinin arttığı gözlenmiştir. Optimum emülsiyon oluşturma ve soğutma koşullarından genel bir kural çıkarılamamış; çoğu durumda parçacık büyüklüğü 100-200 nm aralığında elde edilmiştir (Mehnert ve Mäder, 2001).

Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Yöntemi

Yüksek basınçlı homojenizasyon, SLN'lerin hazırlanmasında güvenilir ve kararlı bir yöntemdir. Parenteral uygulama için nanoemülsiyon hazırlanmasında kullanılmıştır. Diğer yöntemlere göre, ölçek yükseltme çoğu durumda problem oluşturmamıştır (Mühlen ve ark., 1998).

Yüksek basınçlı homojenizatörler, sıvıyı 100-2000 bar'lık yüksek basınçla birkaç μm aralığında dar bir geçitten iterler. Sisteme uygulanan sıvı, çok kısa bir aralıkta 1000 km.sn^{-1} 'lik yüksek bir hıza ulaşır. Yüksek kayma gerilimi ve uygulanan kuvvet, partikül büyüklüğü dağılımını $1 \mu\text{m}$ 'nin altına düşürür. SLN'lerde lipit içeriği genellikle % 5-10'dur ve homojenizatör için bir problem oluşturmaz. Yüksek lipit konsantrasyonlarında bile, lipit nanodispersiyonları elde etmek mümkündür (Lippacher ve ark., 2000).

SLN'lerin üretimi için sıcak ve soğuk homojenizasyon olmak üzere, iki genel homojenizasyon yöntemi (**Şekil 5**) kullanılabilir. Her iki durumda da lipit eriyiği içinde etkin maddenin çözünmesi ya da disperse olması söz konusudur (Mühlen ve ark., 1998; Müller ve ark., 2000).

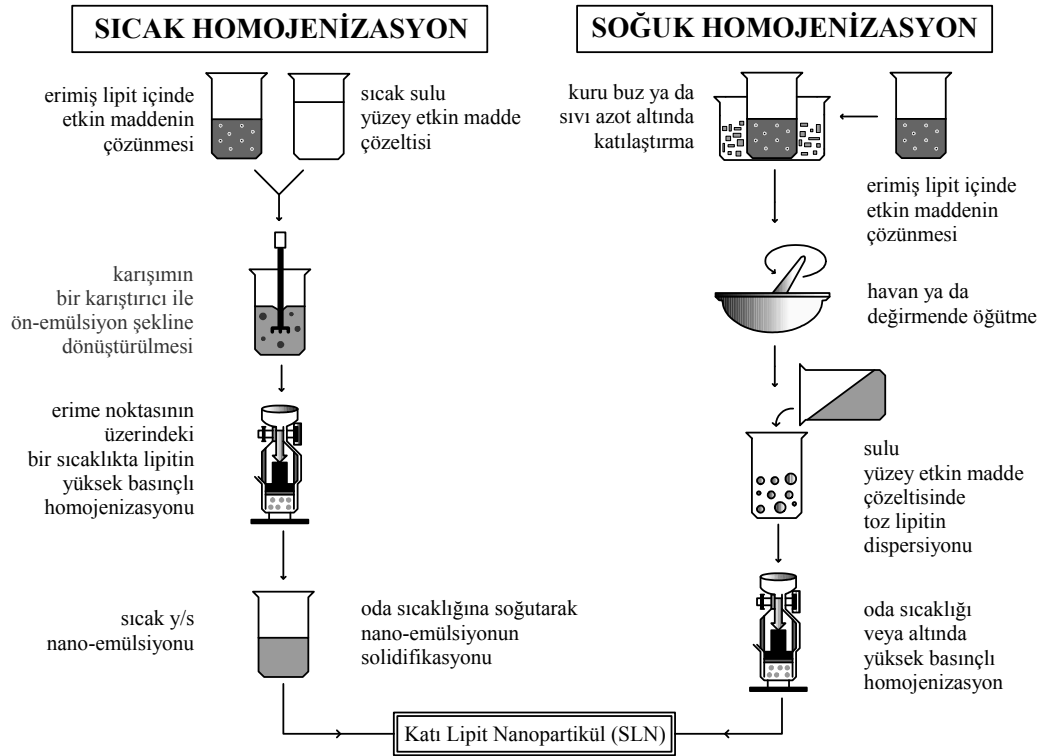
Sıcak Homojenizasyon Yöntemi

Sıcak homojenizasyon, lipitin erime noktasının üzerinde gerçekleşir ve bu yüzden emülsiyonun homojenizasyonu olarak da sayılabilir (Mehnert ve Mäder, 2001). Etkin madde yüklü lipit eriyinin ön-emülsiyonu ve YEM içeren sulu faz ile birlikte hazırlanır. Ön-emülsiyonun yüksek basınçlı homojenizasyonu lipitin erime noktasının üzerinde gerçekleşir. Genellikle 500-1500 bar basınç ve 3-5 homojenizasyon devri yeterlidir (Müller ve ark., 2002).

Etkin madde, erime noktasının $5-10^{\circ}\text{C}$ üzerine getirilmiş lipit içerisinde çözündürülür ya da dağıtılır. Daha sonra karışım, aynı sıcaklıktaki sulu YEM çözeltisi ile yüksek devirli bir karıştırıcı (Ultra-Turrax) kullanılarak disperse edilir ve ön-emülsiyon elde edilir (Lippacher ve ark., 2002). Oluşan ön-emülsiyonun kalitesi bitmiş ürünün kalitesini etkiler ve birkaç μm boyut aralığında damlacıklar elde edilmesi istenilir. Ön-emülsiyon Micron Lab 40 (APV Deutschland GmbH, Almanya) gibi piston-aralıklı bir homojenizatör kullanılarak, erime noktasının üzerinde homojenize edilir. Genellikle, yüksek sıcaklıklar, iç fazın düşen viskozitesinden dolayı, daha küçük parçacık boyutu elde edilmesini sağlar. Aynı zamanda, yüksek sıcaklık, etkin maddenin taşıyıcı içindeki parçalanma oranını da arttırabilir (Müller ve Wissing, 2002). Homojenizasyon basamağı bir çok kez tekrar edilebilir. Yüksek basınçlı homojenizasyonda örnek sıcaklığının, yaklaşık olarak 500 bar için 10°C arttığı unutulmamalıdır. Homojenizasyon basıncını ya da devir sayısını arttırmak, genellikle, parçacık büyüklüğünün artmasına yol açar. Bunun sebebi, partiküllerin yüksek kinetik enerjilerinden dolayı oluşan partikül birleşmeleridir (Schwarz ve ark., 1994).

Sıcak homojenizasyon tekniği için kullanılan üretim parametreleri, genellikle, 500-1500 bar basınç, 3-5 devir ve sıcaklık olarak $60-90^{\circ}\text{C}$ aralığıdır (Siekmann ve Westesen, 1994). Genel olarak, suda çözünmeyen, lipofilik ve sıcaklığa dayanıklı olan maddeler için uygun bir yöntemdir. Sıcak homojenizasyon tekniği kullanıldığında, hidrofilik etkin maddeler sulu faza geçer. Bu sebeple, soğuk homojenizasyon yöntemi uygulanmalıdır (Wissing ve ark., 2001).

Sıcak homojenizasyon basamağından sonra elde edilen ilk ürün bir nanoemülsiyondur. Ancak, bu durum lipitin sıvı haline göre değişir (Lippacher ve ark., 2002). Formülasyonu, oda sıcaklığına ya da oda sıcaklığının altına soğutma ile katı partiküllerin oluşması beklenir. Ufak parçacık büyüklüğünden ve YEM'lerden ötürü lipit kristalizasyonu gecikebilir ve örnek aylarca eriyik olarak kalabilir (Mehnert ve Mäder, 2001).



Şekil 5. Katı lipit nanopartiküller için sıcak ve soğuk homojenizasyon yöntemleri

Soğuk Homojenizasyon Yöntemi

Soğuk homojenizasyon, sıcak homojenizasyon yönteminde karşılaşılan üç ana problemi önlemek için geliştirilmiştir (Mehnert ve Mäder, 2001):

- Sıcaklığa bağlı etkin madde degradasyonu,
- Homojenizasyon sırasında sulu fazdaki etkin madde dağılımı,
- Birçok modifikasyonlara ve/veya süper soğutulmuş eriyiklere sebep olan nanoemülsiyonun kristalizasyon basamağının karmaşıklığı.

İlk hazırlama aşaması sıcak homojenizasyon yöntemi ile aynıdır ve etkin maddenin eritilmiş lipit içerisinde çözünmesi ya da dağılması gereklidir. Ancak daha sonraki basamaklar farklıdır (Müller ve ark., 2000). Etkin madde içeren eriyik kuru buz ya da sıvı azot kullanılarak hızlı bir şekilde soğutulur. Yüksek soğutma oranı, etkin maddenin lipit matris içinde homojen dağılmasını sağlar. Etkin madde içeren katı lipit, mikropartiküllere öğütülür. Bilyalı ya da havanda öğütülen katı lipitlerden, 50-100 µm aralığında partiküller elde edilir. Düşük sıcaklık, lipitin kırılgenliğini artırır ve partiküller ezilerek ufalanır. Katı lipit mikropartiküller soğuk YEM çözeltisi içerisinde disperse edilir. Bu ön-süspansiyona, oda sıcaklığı veya altında yüksek basınçlı homojenizasyon uygulanır. Soğuk homojenizasyonda, sıcak homojenizasyona göre daha büyük parçacık büyüklükleri ve daha geniş bir boyut dağılımı gözlenir (Müller ve ark., 2002). Homojenizasyon sırasında sıcaklık artacağı için, etkili bir sıcaklık kontrolü gereklidir. Soğuk homojenizasyon yöntemi, formülasyonun sıcaklığa bağlı bozunmasını en aza indirir; ancak, ilk basamakta, etkin madde/lipit karışımının eritilmesi sebebiyle bunu tamamen önleyemez (Demirel ve Yazan, 2000; Kaş, 2002).

Çözücü Emülsiyon Oluşturma/Buharlaştırma Yöntemi

Sjöström ve Bergenståhl (1992), nanopartikül dispersiyonları hazırlamak için, yağ/su emülsiyonlarında çöktürme yöntemiyle üretim tanımlamışlardır. Lipofilik madde, su ile karışmayan sikloheksan gibi organik çözücüde çözündürülür ve sulu faz ile emülsiyon oluşturulur. Nanopartikül dispersiyonu, çözücünün buharlaştırılması sırasında, sulu ortamda lipitin çökmesi ile oluşur. Kolesterol asetat ve YEM olarak lesitin/sodyum glikokolat karışımı kullanılıp elde edilen partiküllerin ortalama çapı 25 nm olarak bulunmuştur. Bu sonuçların terarlanabilirliği Siekmann ve Westesen (1996) tarafından doğrulanmıştır. Uygun ekipmanla, Sjöström'ün (Sjöström ve Bergenståhl, 1992) yöntemine göre hazırlanan kolesterol asetat nanopartiküllerinin ortalama parçacık büyüklükleri 29 nm olarak bulunmuştur. Siekmann ve Westesen (1996), trigliseriti kloroformda çözerek tripalmitin nanopartikülleri hazırlamıştır. Bu çözelti yüksek basınçlı homojenizasyon ile sulu fazla emülsiyon haline getirilmiş ve organik çözücü 40-60 mbar'lık düşük basınçta buharlaştırma ile emülsiyondan uzaklaştırılmıştır. Ortalama parçacık büyüklüğü, lesitin/Y.YEM karışımına bağlı olarak, 30-100 nm aralığında bulunmuştur (Müller ve ark., 2000).

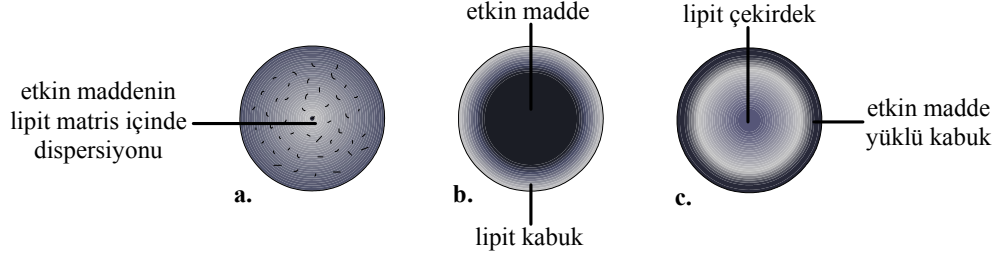
Bu kadar ufak parçacık büyüklük dağılımları, eriterek emülsiyon oluşturma yöntemi ile gerçekleştirilemez. Ortalama parçacık büyüklüğü, organik fazdaki lipitin konsantrasyonu ile ilgilidir. Çok ufak partiküller, sadece organik çözücü ile ilgili olarak % 5'lik düşük yağ yüklemesi ile elde edilebilir. Lipit miktarının artması ile homojenizasyonun etkinliği düşer. Bunun sebebi, disperse edilmiş fazın yüksek viskozitesidir. Bu yöntemin soğuk homojenizasyon yöntemine göre üstünlüğü, termal etki olmamasıdır; ancak, organik çözücü kullanılması da yöntemin olumsuz yönüdür (Mehnert ve Mäder, 2001).

Mikroemülsiyon Yöntemi

Gasco ve arkadaşları, mikroemülsiyonun seyreltilmesine dayanan SLN hazırlama tekniği geliştirmiştir (Müller ve ark., 2000). Hazırlama, optik olarak saydam emülsiyonun 65-70°C'ta karıştırılması ile gerçekleştirilir. Genellikle, düşük erime derecesine sahip stearik asit gibi yağlı asitler, YEM, Y.YEM ve su kullanılır. Sıcak mikroemülsiyon 2-3°C'taki soğuk suda karıştırılarak disperse edilir. Sıcak mikroemülsiyonun soğuk suya hacim olarak oranı, genellikle, 1:25 ve 1:50 arasındadır. Mikroemülsiyonun içinde damlacık yapısı oluştuğundan, submikron parçacık büyüklüğü elde etmek için enerji gerekmez. Benzer bir çalışma ile Fessi, polimer çözeticisini suda seyrelterek polimer partiküller elde etmiştir (De Labouret ve ark., 1995). Fessi'ye göre, parçacık büyüklüğü, dağılım aşamasının hızı sayesinde gerçekleşmiştir. Nanopartiküller, sadece, sulu fazda hızlı şekilde dağılan aseton gibi çözücülerle üretilmiştir. Asetonun polimer nanopartiküllerin oluşmasına yardımcı olması gibi, mikroemülsiyonun hidrofilik yardımcı çözücüleri de lipit nanopartiküllerin oluşmasında benzer rol oynar (Heydenreich ve ark., 2003). Mikroemülsiyonlarda, mikroemülsiyonun bileşimine ek olarak sıcaklık değişimi ve pH değeri ürün kalitesini etkiler. Yüksek sıcaklıklar, hızlı lipit kristalizasyonunu kolaylaştırır ve agregasyonu önler. Seyreltme aşamasına göre gerçekleştirilebilen lipit içeriği, yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği ile hazırlanan formülasyonlara göre daha düşüktür (Mehnert ve Mäder, 2001).

Etkin Madde Yüklmesi

Etkin maddeler, hazırlanan lipit matris içinde, katı çözelti halinde homojen olarak disperse edilebilir; lipit kabuk tarafından çevrelenerek çekirdekte yoğunlaşabilir ya da partikül yüzeyinin yakınında toplanabilir (**Şekil 6**). SLN'lere etkin madde yüklmesi kapasitesi, partikül ağırlığının yüzdesi olarak hesaplanır (Demirel ve Yazan, 2000; Müller ve ark., 2002).



Şekil 6. Katı lipit nanopartiküllere etkin madde yüklmesi
a. Etkin maddenin lipit matriste homojen dispersiyonu
b. Etkin maddenin çekirdekte yoğunlaşması
c. Etkin maddenin yüzeyde veya yakınında toplanması

SLN'lere etkin madde yükleme kapasitesine etki eden başlıca faktörler (Müller ve ark., 2000):

- Etkin maddenin lipofilik yapısı,
- Etkin maddenin erimiş lipitteki çözünürlüğü ve karışabilirliği,
- Katı lipit matrisin kimyasal ve fiziksel yapısı,
- Lipit maddesinin polimorfik durumu.

Uygun lipit matris maddesi bulmak için, lipitler etkin maddenin çözünme kapasitesine göre incelenirler. Erimiş lipitte etkin madde çözünürlüğünün, katı lipittekiye göre çok daha fazla olacağı unutulmamalıdır. Eğer, SLN dispersiyonundaki etkin madde konsantrasyonu katı lipitin doyma noktasından yüksek ise, sıcak homojenizasyondan sonra soğutma ve solidifikasyon aşamalarında etkin madde partiküllerden atılır ve SLN dispersiyonunda etkin madde kristalleri gözlenir (Mehnert ve Mäder, 2001).

Soğuk homojenizasyon aşamasında, mikropartiküller dağılır ve yeni yüzeyler oluşarak partiküllerin toplam yüzey alanında artış meydana gelir. Yüzeydeki hidrofilik etkin maddeler, dispersiyon ortamında çözünür. Bu da, hidrofilik etkin maddelerin hapsedilmesinde düşüşe neden olur. Bu durumu önlemek için, su olan dispersiyon ortamı, Miglyol®, polietilen glikol (PEG) 400 veya 600 gibi hidrofilik etkin maddeler için düşük çözünürlüğe sahip ortam ile değiştirilebilir (Müller ve Wissing, 2002).

SLN'lere yüklenen etkin madde oranı, genellikle, lipitin % 1-10'u arasında değişmektedir. Hidrofilik etkin maddelerde bu oran % 1'in altına düşer; ancak, etkinliği fazla olan maddeler için yeterli sayılabilir (Demirel ve Yazan, 2000). Kullanılan katı lipit miktarındaki azalma, kontrollü salım özelliğinin de kaybolmasına sebep olur. SLN'yi oluşturan lipitin kristal yapısı, çözünürlük ile ilgilidir. Kimyasal olarak mükemmel sıralı ve tekdüze lipitler, etkin maddeyi hapsedmeyecektir; çünkü etkin madde molekülleri, yağ asit zincirleri, lipit lameli ve şekilsiz kümeler ile birleşir (Müller ve Wissing, 2002).

Etkin Madde Salımı

SLN'lerin salım profilleri genellikle iki aşamalıdır. Baştaki hızlı salımın ardından, uzatılmış etkin madde salımı ile ikinci bir faz meydana gelmektedir. Bu iki aşamalı salımın süresi ve şekli, matrisin yapısına, hazırlama yöntemine, partikül büyüklüğüne, yüklenen etkin madde miktarına ve lipitin nanopartikül içindeki dağılımına bağlı olarak değişir. Etkin madde, lipitte moleküler düzeyde bile dağılır; dış kabukta ya da partikül içinde yoğunlaşması da mümkün olabilmektedir. Etkin madde dağılımına en çok etki eden parametreler de, ortalama homojenizasyon sıcaklığı, YEM'lerin konsantrasyonu ve kimyasal yapısıdır (Demirel ve Yazan, 2000).

Etkin madde yüklenmesi ve buna bağlı olarak farklı salım modelleri için üç farklı model (**Şekil 6**) verilebilir (Müller ve Wissing, 2002):

Model 1. Lipit çekirdek, etkin madde ile doyurulmuş kabuk

Model 2. Katı çözelti

Model 3. Etkin madde yüklenmiş çekirdek, lipit kabuk

Üretim parametrelerinin hassas şekilde ayarlanması ile, istenilen oranda etkin madde, partikülün dış kabuğuna yerleştirilebilir. Kabuktaki etkin maddenin bu parçası ilk doz olarak salınır. Dış kabukta oluşan etkin madde yüzdesini en çok, YEM konsantrasyonu ve üretim sıcaklığı etkiler. Üretim parametreleri değiştirilerek Model 1 ve Model 2 oluşturulabilir (Müller ve ark., 2000).

Model 1'de, etkin maddenin tamamen dış kabukta lokalizasyonu, birkaç dakika içinde patlama etkisi gibi hızlı bir salıma sebep olur (Müller ve Wissing, 2002). Etkin maddenin kabuk kısmında birikmesi, sıvı yağ damlasının soğuma işlemi sırasında faz ayrımına uğramasından dolayıdır ve lipitin daha önce çökmesinden dolayı etkin maddesiz lipit çekirdek oluşur. Donma sırasında, etkin maddeler sıvı lipitte lokalize olmaya başlar (Müller ve ark., 2002).

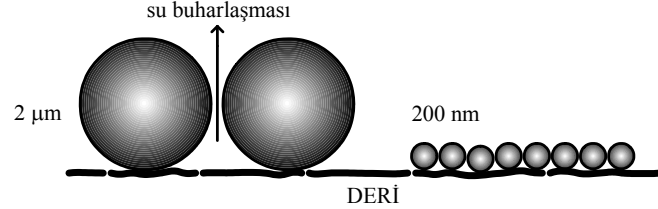
Model 2'de ise, etkin maddenin partikülün her yerinde katı çözelti halinde dağılımı bile kontrollü salım meydana getirir (Müller ve Wissing, 2002). Model 2'deki gibi homojen dağılmış yapı elde etmek için, ya soğuk homojenizasyon yöntemi ya da çok lipofilik özellikte etkin maddelerle sıcak homojenizasyon yöntemi kullanılır (Müller ve ark., 2002). Soğuk homojenizasyonda, mekanik olarak dağıtılmış lipitlerden, yüksek basınçlı homojenizasyon ile, homojen matrisler oluşur. Sıcak homojenizasyonda ise, soğutma işlemi sırasında sıcak nano-emülsiyonda faz ayrımı olmaması gereklidir (Mühlen ve Mehnert, 1998).

Model 3'teki gibi, etkin madde yüklenmiş çekirdek ve lipit kabuk elde etmek için, etkin maddenin, sıcak homojenizasyon yönteminden sonra soğutma aşamasında kristallenmesi gerekmektedir (Müller ve Wissing, 2002). Etkin madde lipitten daha önce çökmeye başlar ve kabuktaki etkin madde miktarı giderek azalır. Bu durumda, Fick'in difüzyon yasasına uygun olarak membran kontrollü salım gerçekleşir (Müller ve ark., 2002).

Hazırlanan SLN formülasyonunda, etkin madde yüklenmesi ve salımının her zaman bahsedilen üç ideal model şekline uyması beklenemez. Bu durumda, modellerin birbiri ile içiçe olduğu dördüncü bir model tasarlanabilir (Müller ve ark., 2002).

Topik Kullanım

SLN'ler, kolloidal taşıyıcı sistemler olarak parenteral, topik ve oral olmak üzere çok geniş kullanım alanına sahiptir (Radtke ve Müller, 2000). Ufak parçacık boyutları sayesinde cilt yüzeyinde ince bir tabaka oluşturur ve su bağlama kapasitesine bağlı olarak deri neminde belirgin bir artış sağlar (Şekil 7). Böylece, etkin madde penetrasyonu ve etkinliği de artmış olur (Müller ve Wissing, 2002).



Şekil 7. Parçacık büyüklüğüne bağlı ince tabaka oluşumu ve nem tutma özelliği

Sulu SLN dispersiyonlarının topik kullanımı için, genellikle, jel veya krem gibi taşıyıcı sistemler tercih edilir. Ancak, bu sistemlerde, düşük SLN yükleme kapasitesi ve geçimsizlikler söz konusudur. Ayrıca, lipit yapıda oluşan farklılıkların, SLN'lerin saklanması sırasında, etkin maddenin lipit matristen açığa çıkmasına neden olduğu bilinmektedir. Topik formülasyonlarda bu durum iki şekilde önlenebilir (Cengiz, 2003):

- SLN dispersiyonlarının krem formülasyonlarına eklenmesi,
- Katı ve sıvı lipitleri birarada kullanarak, kontrollü nano-yapıda lipit matris oluşturulması (Radtke ve Müller, 2002).

Sıvı lipit eklenmesi, kristal lipit yapının mükemmelliğini bozarak, etkin maddenin moleküler veya amorf şekilde bulunabileceği bölgeler oluşturmaya olanak sağlar (Radtke ve Müller, 2002). SLN'ler, yapıları sayesinde, kimyasal kararlılık problemi olan maddeler için çok uygun taşıyıcılardır. Bu durum, kozmetik endüstrisinde kullanılan hidrofilik veya hidrofobik birçok değerli ancak kararsız maddenin formüle edilebilmesi anlamına gelmektedir (Müller ve ark., 1998; Schütt ve ark., 1998).

Güneş ışınlarını süzücü maddelerin cilde penetre olarak yan etki oluşturmaya, yeni sistemlere olan gereksinimi bir kez daha kanıtlamıştır. Etkin madde yüklenmemiş SLN'lerin, beyaz renklerinden dolayı pigment etkisi yarattıkları bulunmuştur. Bu sayede, kozmetik ürünlerin görünümünü değiştirmek için de kullanılabilir. SLN'ler kristal yapılarından dolayı fiziksel güneş ışınlarını süzücü maddeler gibi davranır (Wissing ve Müller, 2003). Güneş ışınlarını yansıtıcı ve dağıtıcı etkilerinin saptanması ile, güneş preparatlarının formülasyonunda kullanılmaya başlanmıştır (Cengiz, 2003). Yapılan çalışmalarda da, parçacık yapıları sayesinde, diğer taşıyıcı sistemlerden daha etkili koruma sağladıkları belirlenmiştir (Müller ve Wissing, 2002). Ayrıca, SLN'ler ile formüle edilen güneş ışınlarını süzücü preparatların, UV ışınlarına karşı sinerjik koruma etkisi sağladıkları saptanmıştır (Liu ve ark., 2007). SLN'ler, yüksek konsantrasyonlarda iritan olan maddeler ve moleküler güneş ışınlarını süzücü maddeler için kontrollü salım sağlayan etkin taşıyıcı sistemler olarak da birçok üstünlük sunmaktadır. Bu sayede, ciddi yan etkilere sebep olabilen güneş ışınlarını süzücü maddelerin güneşten koruma faktörleri değiştirilmeden, konsantrasyonlarının azaltılması ile daha etkili ve daha güvenli formülasyonların hazırlanması mümkündür (Cengiz, 2003).

Mikroemülsiyonlar

Mikroemülsiyonlar, yağ, su, YEM ve Y.YEM karışımından oluşan, termodinamik olarak kararlı, optik olarak izotropik, tek faz görünümlü birbiri ile karışmayan iki sıvının oluşturduğu saydam dispers sistemlerdir (Heuschkel ve ark., 2005; Klier ve ark., 2000; Yazan, 2002a).

Mikroemülsiyonların tanımı ilk kez Schulman tarafından 1959'da yapılmıştır (Yazan, 2002a). Schulman (Hoar ve Schulman, 1943), çalışmasında, sabun, su ve hidrokarbon karışımına orta zincirli alkol ekleyerek, dört bileşenli sistemde yüzeylerarası negatif gerilim değerinin aşılması ile mikroemülsiyon oluşumu gerçekleşmiştir. Dolayısıyla, emülsiyon spontan olarak oluşmuştur (Kreilgaard, 2002). Rosano ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da, alkolün arayüzeyden difüze olarak su ve yağ fazlarında dağılması sonucu yüzeylerarası gerilimin sıfıra düştüğü veya yaklaştığı bulunmuştur (Yazan, 2002a). Bu durumun gerçekleşebilmesi için, birim yüzeye belirli miktar YEM'in kullanılması gereklidir ve bu miktar genellikle yüksektir (Bhargava ve ark., 1987).

Mikroemülsiyonlar her zaman dört bileşenli olmak zorunda değildir. Daha güncel bir kuramda, esnek arayüzey görüşü öne sürülmüştür. Bu görüşe göre, mikroemülsiyonlar, su/yağ/YEM üçlüsünün karıştırılması ile oluşan ağımsı büyük halkalara, sıvı kristallerin füzyonu sonucu ortaya çıkan karışık ve sıvı bir yapıya sahiptir. Ancak, füzyon, Y.YEM'in eklenmesiyle uyarılmaktadır (Yazan, 2002).

1960'larda, Adamson, Schulman'ın yüzeylerarası negatif etkileşme sonucu mikroemülsiyon oluşumu teorisini kabul etmemiş ve mikroemülsiyon terimi yerine miseller çözelti veya şişmiş miseller tanımını ortaya atmıştır (Bhargava ve ark., 1987; Yaşar, 2005). Bu görüşü, ikinci bir sistem varlığında non-kolloidal fazın dengeye ulaştığı yönündeki çalışmasıyla desteklemiş ve Schulman'ın çalışmalarından yola çıkarak, Y.YEM eklenmesiyle damlacık büyüklüğünün azaldığını göstermiştir. Adamson'a göre, sistem saydamdır, çünkü şişmiş misellerin büyüklüğü görünür ışığın dalga boyundan küçüktür (Atwood, 1992).

1970'lerde, Ekwall, Frieberg ve arkadaşları, mikroemülsiyonların normal veya ters misellerden oluştuğunu, yüzey geriliminin sıfır olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle de, gerçek bir emülsiyon sistemi gibi değerlendirilemeyeceğini göstermişlerdir (Rosano ve ark., 1988; Atwood, 1992).

Rosff da, bu görüşe benzer olarak, mikroemülsiyonların fazlararası denge veya yüzey etkileşimi ile açıklanamayacağını belirtmiştir (Bhargava ve ark., 1987). Rosff'a göre, bir emülsiyon sisteminin damlacık boyutu belirgin ölçüde düştüğünde, iç fazlar bilinen anlamını kaybetmektedir. Dolayısıyla, mikroemülsiyon sisteminin yapısı faz dengesi ya da yüzey etkileşimi ile açıklanamamaktadır (Bhargava ve ark., 1987; Yaşar, 2005).

1980'lerden sonra, mikroemülsiyonlar, birbirleriyle karışmayan veya çok sınırlı olarak karışarak, iki ayrı faz oluşturan iki sıvı ve bir YEM ya da YEM karışımları içeren; termodinamik olarak kararlı; tek fazlı, optik olarak izotropik; saydam veya yarı saydam, genellikle düşük viskoziteye sahip, akıcı sistemler olarak tanımlanmıştır (Deniz, 2001).

Bileşenler

Mikroemülsiyon sistemleri, su, yağ, noniyonik veya iyonik YEM ve kısa veya orta zincirli alkol, poliol veya organik asit gibi Y.YEM'den oluşmaktadır. Maddelerin birbirine oranı ve yapıları, sürekli fazın yağ veya su olması ile yakından ilgilidir (Atwood, 1992; Yazan, 2002a).

Mikroemülsiyonların sulu fazı, yalnızca sudan ibaret olmayabilir. Suda çözünen veya suyla karışabilen gliserin, sorbitol, glikol çözeltisi, tampon çözelti, koruyucu maddeler, elektrolitler, renk maddeleri ve polipeptitler bu fazda yer alabilir. İnorganik tuzların mikroemülsiyon sistemine eklenmesi dikkat edilmesi gereken bir konudur; çünkü elektrolitlerin eklenmesi, genellikle, Y/S emülsiyonunda suyun çözünürlük yeteneğini azaltarak yüzey alanının düşmesine yol açar. Uygun yağ, su, YEM ve gerekirse Y.YEM karışımı ile spontane olarak oluşurlar. Dışardan bir enerji verilmesi gerekmez. Ayrıca, formülasyondaki sulu fazın, yağlı hissi dengeleme özelliği vardır. Bu özellikler emülsiyonlara karşı mikroemülsiyonları üstün hale getirmiştir. (Trotta ve ark., 1990).

YEM'ler, noniyonik maddeler, iyonik maddeler veya iki grubun karışımlarından oluşabilir. Mikroemülsiyon formülasyonlarında, sulu ve yağlı fazın birarada bulunabilmesi için yüzey gerilimini düşüren maddelerdir. Mikroemülsiyonların bir sakıncası, yüksek oranda YEM (ortalama % 20) kullanılmasıdır. Kullanılacak YEM'lerin biyolojik uyumluluğu ve olası toksisitesi dikkat edilmesi gereken bir diğer konudur (Yazan, 2002a). Noniyonik YEM'ler, topik kullanım için çok uygundur; ancak, oral ve parenteral uygulamaları sınırlıdır (Atwood, 1992).

Kısa ve orta zincirli alkollerin, Y.YEM olarak kullanılmasında toksik ve iritan etkiye dikkat edilmelidir; ayrıca, alkolün uçması da kararlılığı olumsuz etkiler. Y.YEM kullanımı ile YEM oranı düşürülebilir (Atwood, 1992). Polioksietilen sorbitan ve esterleri, oksietilen yağ asitleri, poliglikol C8-C10 gliseritleri, şeker esterleri ve polietilen glikol eter veya esterlerinin YEM olarak kullanıldığı farmasötik mikroemülsiyon sistemlerinde, Y.YEM olarak da noniyonik YEM'ler, organik asitler, alkil aminler, benzil alkol, alifatik polioller, diglikol esterleri, gliserin, sorbitol, etilen glikol veya propilen glikol ve esterleri kullanılabilir. Y.YEM olarak kullanılan alkolün moleküler yapısı mikroemülsiyon oluşumunda önem taşır. YEM'in, Y.YEM'ye oranı 1:1 ve 1:9 arasında değişebilir (Bhargava ve ark., 1987; Yazan, 2002a). Bileşenlerin seçiminde dikkat edilecek nokta, birbirleri ile geçimli olması, toksisitenin engellenmesi, topik uygulamada iritan etkinin olmaması ve cilt duyarlılığının ortaya çıkmamasıdır (Diec ve ark., 2001).

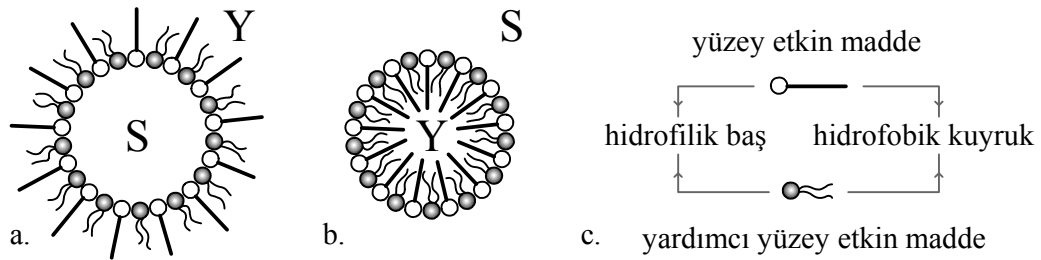
Yağlı fazın seçimi ise, kullanılacak YEM'in iyonik veya noniyonik olması açısından önem taşır. Doğal yağlar, hidrokarbonlar, esterler, veya trigliseritler yağlı faz olarak kullanılabilir (Yazan, 2002a). Bu fazda, su ile uyuşmayan non-polar bileşenler vardır.

Kozmetik uygulamalarda, yağlı faz pek çok üstünlük sağlar. Uygulama sonrasında emoliyan bir his bırakır; geride sulu film tabakası bıraktıkları için ciltte nemlendirici özellikleri vardır (Hüner, 2003).

Yapı ve Özellikleri

Mikroemülsiyonlarda en basit yapı, misel olarak adlandırılır. Ancak, mikroemülsiyon damlacıkları 10-100 nm arasında değişir ve normal miseller yapıdan daha büyüktür. Bu nedenle, şişkin miseller olarak da anılırlar. Mikroemülsiyon yapısının miseller yapıdan farkı, mikroemülsiyonların oluşması için belirli maddelere ve orana gereksinim olması ve mikroemülsiyonların çözündürme kapasitelerinin daha fazla olmasıdır (Yazan, 2002a).

Miseller, sudaki yağ damlacıkları (Y/S), ters miseller ise yağ içinde bulunan su damlacıkları (S/Y) olarak düşünülebilir. Mikroemülsiyon yapısının en basit açıklaması, mikroemülsiyon damlacık modelidir. Bu modelde, mikroemülsiyon damlacıkları, YEM ve Y.YEM moleküllerinden oluşan yüzeylerarası tabaka (Şekil 8) ile çevrilmiştir (Atwood, 1992).



Şekil 8. Mikroemülsiyonların yapısı
a. S/Y mikroemülsiyonu (ters miseller)
b. Y/S mikroemülsiyonu (miseller)
c. YEM ve Y.YEM

Damlacık büyüklüğünün ufak olması, mikroemülsiyonların kullanım üstünlüğünü arttırmaktadır. Yüzeysel gerilim, fark edilir oranda düşüktür. Mikroemülsiyonlar; makroemülsiyonlar ve daha pek çok ilaç taşıyıcı sisteme göre daha kararlıdır (Heuschkel ve ark., 2005).

Mikroemülsiyon sistemde yer alan etkin madde, lipofilik özelliğine bağlı olarak sulu ve yağlı faz arasında dağılır. Etkin maddenin dağılım katsayısı, salım hızı üzerine büyük oranda etki eder. Bunun yanı sıra, faz hacimlerinin oranı, dağılmış fazın damlacık boyutu, taşıyıcı sistem ile etkin maddenin etkileşmesi ve etkin maddenin sulu ve yağlı fazdaki difüzyonu da salım hızını etkiler (Yazan, 2002a).

Mikroemülsiyonlar optik olarak izotropiktir. Suda çözünürlüğü düşük olan maddelerin cilde geçişini arttırmırlar. İçerdikleri YEM'lerin yüksek konsantrasyonda olması nedeniyle emilim artırıcı etki göstermeleri açısından da çekicidir. Bu sayede maddelerin biyoyararlanımı da artar. Kendi kendine, yani dışardan, yüksek enerji vermeden oluşabilmeleri de üstünlükleri arasındadır. Ayrıca, mikroemülsiyonlar ile kontrollü salım sağlanabilmektedir (Atwood, 1992; Radomska ve Dobrucki, 2000). Dışarıdan enerji gereksinimleri olmadan spontan olarak oluşmalarına karşın, noniyonik tip YEM/Y.YEM karışımı ile hazırlanmaları sıcaklığa bağlıdır (Yazan, 2002a).

Mikroemülsiyonlar, etkin madde çözünürlüğünü artırma potansiyelleri, kararlılıklarının yüksek olması, saydam görünüşleri, süzme ile sterilize edilebilmeleri, hazırlama ve uygulama kolaylıklarından dolayı çok ilgi çekici taşıyıcı sistemlerdir (Bhargava ve ark., 1987).

Makroemülsiyonlar ve Mikroemülsiyonlar

Makroemülsiyonlar, bir sıvı içinde kendisiyle karışmayan en az bir başka sıvıyı damlacıklar halinde bulunduran heterojen sistemlerdir. Makroemülsiyonlar da mikroemülsiyonlar gibi diğer taşıyıcı sistemlere göre pek çok üstünlük taşır; ancak, damlacıklar daha büyük yapıdadır ve kararlılığı mikroemülsiyonlara göre daha düşüktür.

Dağılan fazın damlacık büyüklüğü, emülsiyonun fiziksel görünüşüne dayanarak, (**Çizelge 2**) yaklaşık olarak tahmin edilebilir (Yener, 2004).

Çizelge 2. Emülsiyonun görünüşü ve damlacık büyüklüğü arasındaki ilişki (Yener, 2004)

Emülsiyonun görünüşü	Damlacık büyüklüğü
Süt gibi beyaz	>1 μm
Mavimsi yeşil	1-0.1 μm
Yarı saydam	0.1-0.05 μm
Saydam	<0.05 μm

Mikroemülsiyonların makroemülsiyonlardan ayrılan diğer özellikleri **Çizelge 3**'te karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir (Yener, 2004).

Çizelge 3. Mikroemülsiyon ve makroemülsiyon sistemlerinin karşılaştırılması (Yener, 2004)

	Mikroemülsiyon	Makroemülsiyon
damlacık büyüklüğü	<0.2 μm	0.2-10 μm
yardımcı yüzey etkin madde oluşum	kullanılır	kullanılmaz
kararlılık	spontan oluşur	enerji vermek gerekir
	termodinamik olarak dayanıklı	termodinamik olarak dayanıksız

HLB Sistemi

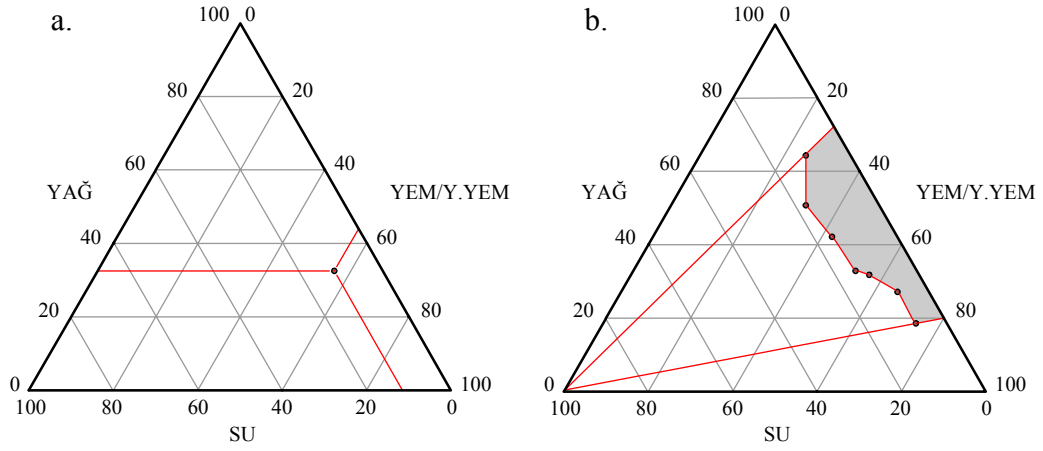
HLB sistemini kullanarak YEM'lerin belirlenmesine ilişkin yaklaşım, makroemülsiyonlardakinin aksine mikroemülsiyonlar için pek kullanışlı değildir ve dolayısıyla mikroemülsiyon formülasyonu ampirik bir işlemdir (Yazan, 2002a).

Yüzey gerilimi düşürerek kararlılığı arttıran YEM'ler, hidrofil ve lipofil gruplar taşır (**Şekil 8**). Bu grupların molekül içindeki denge oranları HLB sistemi olarak adlandırılır ve emülsiyon sistemine uygun YEM'in belirlenmesi için kullanılır. Başka bir ifadeyle, HLB, YEM'in hidrofilik ve lipofilik kısımlarını ifade eder ve YEM'lerin Y/S ya da S/Y emülsiyon oluşturmalarını kontrol eder (Schueller ve Romanowski, 1998).

Griffin, HLB sistemini 1 ile 20 arasında rakamlarla göstererek kolaylaştırmıştır (Yazan, 2002a). Bu sisteme göre, yüksek değerler hidrofilik grubu baskın olan YEM'leri ifade ederken, düşük değerler de lipofilik grubu baskın olan YEM'leri ifade eder. Genellikle, düşük HLB değerine sahip YEM'ler S/Y emülsiyonu oluşturur; yüksek HLB değerine sahip olanlar ise Y/S emülsiyonu oluşturur. Mikroemülsiyonun yapısına giren yağ ve yağimsı maddelerin de gereksinim duyduğu HLB değerleri vardır; bu da formülasyon sırasında ayrıca göz önünde bulundurulmalıdır (Constantinides ve Scalart, 1997). Bancroft'a göre, YEM, su ve yağlı faz arasında üçüncü bir faz oluşturarak yüzey gerilimini düşürür. YEM'in suda çözünür ve yağda çözünür kısımlarının birbirine oranı, HLB ile ifade edilir. Formülasyonun amacına göre, iki veya daha fazla YEM biraraya getirilerek istenilen HLB değerini elde etmek mümkündür (Atwood, 1992; Kennedy, 1998).

Üçgen Faz Diyagramı

Mikroemülsiyon ilaç taşıyıcı sistemlerin formülasyonunda en önemli işlem, üçgen faz diyagramlarının çizilmesidir. Çizilen diyagramda, mikroemülsiyon formülasyonundaki sulu faz, yağlı faz, YEM ve Y.YEM uygun şekilde karıştırılır ve en uygun mikroemülsiyon alanı belirlendikten sonra formülasyondaki bileşenler saptanabilir. Bileşenlerin çözünürlüğü ile yakından ilişkili olan faz diyagramlarının çizilmesi için en yaygın ve kolay yöntem titrasyondur. Çok sayıda karışımın kısa sürede incelenmesine olanak sağlayan titrasyon yönteminde, belli miktardaki YEM/Y.YEM karışımı yağla karıştırılarak, tek fazlı bir çözelti oluşturulur. Daha sonra, sabit sıcaklık ve karıştırma hızı kullanılarak su ile titrasyon yapılır ve her su eklenmesinde sistem saydamlık, akış özellikleri ve kararlılık açısından incelenir (Yazan, 2002a).



Şekil 9. Üçgen faz diyagramları

- a. % 33 yağ, % 11 su ve % 56 YEM/Y.YEM içeren mikroemülsiyonun işaretlenmesi
b. Mikroemülsiyon alanının belirlenmesi

Üçgen faz diyagramlarının çizimi için aşağıdaki basamaklar izlenir:

- Titrasyon ile uygun yağ, su, YEM ve Y.YEM oranları bulunarak, mikroemülsiyonlar hazırlanır.
- Eşkenar üçgen oluşturulur ve köşe noktalar % 100 olmak üzere bileşenler yerleştirilir.
- Kenarlardaki her nokta ikili bileşenleri ifade eder.
- Bir köşeden karşı kenara çizilen doğru üzerindeki her nokta için ikili bileşenlerin oranı sabittir.
- Bileşenlerin kullanım yüzdelere göre bulunan noktalar üçgen faz diyagramında işaretlenir.
- Farklı oranlarda yapılan çalışmalar için ayrı üçgen faz diyagramları çizilir.
- Mikroemülsiyon alanının hesabı için, değişken olan bileşenin köşesinden (% 100 su), mikroemülsiyon noktaları ile sınırlı olmak koşulu ile karşı kenara doğru çizilir; bu doğrular ve mikroemülsiyon noktalarının sınırladığı alan mikroemülsiyon alanını verir.
- Çizilen her farklı mikroemülsiyon alanına bakılarak, en geniş alan seçilir ve ağırlık merkezi hesabıyla en uygun formülasyon ya da formülasyonlar belirlenir (Attwood ve ark., 1992; Hüner, 2003).

Reolojik Özellikleri

Mikroemülsiyonlar topik olarak kullanıldığında, akıcılıklarından dolayı cilde uygulanmaları zordur. Mikroemülsiyonların viskoziteleri, genellikle psödoplastik akış gösteren makroemülsiyonların aksine, Newton akış modeline uyum gösterir (Yazan, 2002b, Heuschkel ve ark., 2005). Bir mikroemülsiyon formülasyonunun, özellikle topik uygulamada, belli reolojik özellikleri taşıması gerekmektedir. Jel formülasyonlar kolay uygulanabilirliklerinden dolayı, farmasötik ve kozmetik alanda mikroemülsiyonların tercih edildiği sistemlerdir. Jelleşme sağlayarak, mikroemülsiyonların viskozitesini modifiye etmek mümkündür. Y/S mikroemülsiyonunda, jelatin ve lesitinin yardımı ile kolloidal silisyum oksit kullanarak, S/Y mikroemülsiyonunda ise ksantan zmkı, karregenat ya da Carbopol® 934 kullanarak, jelleşme sağlanabilmiştir (Yazan, 2002a). Yapılan bir başka çalışmada da, jel formülasyonunun, plastik ve psödoplastik akışı bir arada taşıdığı gösterilmiştir (Ayannides ve Ktistis, 1999).

Karakterizasyon Yöntemleri

Mikroemülsiyonların karakterizasyon çalışmaları, sahip oldukları fiziksel özelliklere bağlı olarak gerçekleştirilmektedir. İncelenebilecek en belirgin parametreler şunlardır:

Optik Özellikler

Mikroemülsiyonlar, optik açıdan saydam olmalıdır. Damlacık boyutundaki değişimler, emülsiyonların fiziksel görünüşünü de değiştirir (**Çizelge 2**).

Reolojik Özellikler

Mikroemülsiyonlar, genellikle Newton akış modeline uygunluk gösterir. Jelleşme sağlayarak, viskoziteyi modifiye etmek mümkündür (Briceño, 2000).

Damlacık Büyüklük Dağılımı

Mikroemülsiyonlarda damlacık büyüklüğü dağılımı için kullanılan yöntemler:

- Elektron mikroskobu
- Işık saçılımı yöntemi
 - Küçük açılı X-ışını saçılımı (SAXS)
 - Küçük açılı nötron saçılımı (SANS)
 - Statik ışık saçılımı (SLS)
 - Dinamik ışık saçılımı (DLS) (Attwood, 1992)

Elektriksel İletkenlik

Mikroemülsiyonların sahip olduğu iletkenlik özelliği, sistemdeki sulu fazın hacminin fonksiyonudur. İletkenlik değeri, damlacık büyüklüğü ve konsantrasyonla ilişkilidir (Yaşar, 2005).

pH

Uygulanacak bölgenin özelliklerine göre, pH değiştirilebilir. Kararlılık çalışmaları kapsamında pH değişimleri incelenir (Attwood, 1992).

Faz Ayrımı

Faz ayrımı için, en çok santrifüj yöntemi kullanılır (Attwood, 1992).

Topik Kullanım

Stratum corneum'un topik uygulanan sistemler için temel engel olmasından dolayı, mikroemülsiyonlar etkin maddelerin emilimini artırıcı olarak kullanılır (Lehmann ve ark., 2001). Yapılan çalışmalar, noniyonik YEM kullanılarak hazırlanmış mikroemülsiyonların, yüksek kimyasal kararlılığa sahip olmalarının yanı sıra, ciltte penetrasyonu artırıcı etkisi olduğunu göstermiştir (Ho ve ark., 1996).

Sıvı karakterde olan mikroemülsiyonların cilde uygulanmasını kolaylaştırmak ve dağılılabirliğini arttırmak amacıyla, viskozite artırıcı çalışmalar da mevcuttur (Valenta ve Schultz, 2004).

Mikroemülsiyonlar, farmasötik amaçlarla olduğu kadar, kozmetik amaçlarla da kullanılmaktadır. Yağda çözünen vitaminlerin mikroemülsiyonları hazırlanarak, sulu ortamda formüle edilebilme üstünlüğü ortaya çıkmıştır. Alerjik durumlarda kullanılan hidrokortizonun çözünürlüğünün, mikroemülsiyon sistemi içinde artırılmasına çalışılmıştır. Mikroemülsiyonların deriden penetrasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, jel bazı ve Y/S mikroemülsiyon sistemi içindeki azeleik asitin tüysüz fare derisinde penetrasyonu incelendiğinde, mikroemülsiyonun daha iyi sonuç verdiği görülmüştür (Pattarino ve ark., 1994). Saç bakım ürünlerinin geliştirilmesi ile ilgili bir çalışmada, silikon yağı kullanılarak hazırlanan makro- ve mikroemülsiyonlar karşılaştırılmış, mikroemülsiyonun saç üzerinde daha düzgün bir film tabakası oluşturduğu ve saça şekil verici özelliğinin daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır (Yener, 2004).

Yapılan bir başka çalışmada, feledipin'in salımı ve cilde penetrasyonu incelenmiştir (Trotta ve ark., 1997). Buna göre, mikroemülsiyon formülasyonu ile feledipin'in çözünürlüğü arttırılmış ve cilde penetrasyonu, süspansiyonlara göre 10-50 kat yükselmiştir.

Bir başka çalışmada da, östradiolün oral uygulamadan sonra ilk geçiş etkisine uğrayıp biyoyararlanımının düşmesi nedeniyle, mikroemülsiyon formülasyonu transdermal yol ile verilmiş ve biyoyararlanımının arttığı gözlenmiştir. Benzer bir çalışmada da, şiddetli toksisiteye sahip olduğundan klinik kullanımı kısıtlı olan triptolit'in transdermal mikroemülsiyonu hazırlanmış ve uzatılmış etki sağlanmıştır (Chen ve ark., 2004).

Kozmetik amaçla uygulanan ürünlerde, ürünün ciltte bıraktığı his de çok önemlidir. Y/S mikroemülsiyonlar, dış fazın su olmasından dolayı yağimsı bir his bırakmazlar. Mikroemülsiyon şeklindeki tipik kozmetik ürünler, yüz ve vücut kremleri, losyonlar, *roll-on*'lar, bebek bakım sütleri, güneş ürünleri ve güneş kremleridir (Gestmann ve ark., 2002).

GEREÇLER

Kullanılan Maddeler

Asetonitril	: Merck KCaA, Darmstadt, Almanya
Çinko oksit	: Carlo Erba Reactifs SA, Fransa
Tripalmitin (Dynasan® 116)	: Condea, Witten, Almanya Fluka Chemie GmbH, Fransa
Etanol	: Carlo Erba, Rodano, İtalya Merck KCaA, Darmstadt, Almanya
Oktosrilen (Eusolex® OCR)	: Merck KgaA, Darmstadt, Almanya
Hidroklorik asit	: Carlo Erba, Milan, İtalya
İzopropil alkol	: Detsan, Eskişehir, Türkiye
Kaprilik/Kaprik trigliserit (Miglyol® 812 N)	: Sasol, Almanya
Kloroform D1 Dötero-kloroform	: Merck KgaA, Darmstadt, Almanya
Metanol	: Merck KCaA, Darmstadt, Almanya
Setil PEG (Abil® EM 90)	: Goldschmidt, Almanya
Siklosporin A	: Novartis, İstanbul, Türkiye
Polioksietilen sorbitan monooleat (Tween® 80)	: Merck Schuchardt, Hohenbrunn, Almanya

Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik No Frost, Türkiye
Derin Dondurucu	: Bosch, Türkiye
Diferansiyel Taramalı Kalorimetri	: Shimadzu DSC 60, Japonya
Distile Su Cihazı	: Human UP 900 Scholar-UV, Kore
Erime Derecesi Tayin Cihazı	: Electrothermal 9100, Amerika
Etüv	: Elektro-mag M 5040BD, Türkiye
Föriyer Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometresi	: Perkin Elmer FT-IR Spektrometresi Spektrum 2000, İngiltere
Hassas Terazı	: Ohaus, İsviçre
Işık Mikroskobu	: Nikon Eclipse E4000, Japonya

İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi	: Perkin Elmer Optima 4300DV, Amerika
Kararlılık kabini	: Aymes, Türkiye
Liyofilizatör	: Leybold-Heraeus Lyovac GT-2, Almanya
Manyetik Isıtıcı	: Yellow Line MSH Basic, Staufen, Almanya Heidolph MR 3001K, Almanya IKA® -Werke, Almanya
Mekanik Karıştırıcı	: Heidolph RZR2051 Electronic, Almanya
Nükleer Manyetik Rezonans Spektrofotometresi	: Ultra Shield CP MAS NMR Bruker, Almanya
Partikül Boyutu Analiz Cihazı	: Zetasizer Nano Series, İngiltere Malvern Mastersizer 2000, İngiltere Hydro 2000-S
pH Metre	: WTW Profi LAB pH 597 Weilheim, Almanya
Reometre	: Brookfield DV-III Middleboro, Amerika
Santrifüj	: Jouan B4, Almanya
Su banyosu	: Büchi B-490, İsviçre
Taramalı Elektron Mikroskobu	: FESEM SUPRATM 50 VP ZEISS, Almanya
Ultrasonik Banyo	: Elma T470/H, Singen, Almanya
Ultraturraks T25	: Janke& Kunkel IKA® Labortechnik, Staufen, Almanya
Ultraviyole Spektrofotometresi	: Shimadzu 160-A, Japonya
X Işını Kırınım Cihazı	: XRD-RIKAGU Rint 2000, Japonya
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	: Shimadzu SCL-10 AVP Shimadzu Degazer DGU-14 A Shimadzu Pompa LC-10 AT Shimadzu Sistem kontrol SCL-10 AD Shimadzu Otoenjektör SIL-10 AD Shimadzu DID SPD-MID A VP Shimadzu Fırın CTO-10 AC VP, Japonya
Zeta Potansiyel Analiz Cihazı	: Nano Zetasizer ZS Malvern Instruments, İngiltere

YÖNTEMLER

Bu bölümde, formülasyonlarda kullanılan maddelerle yapılan çalışmalar ile SLN, mikroemülsiyon ve krem formülasyonlarının geliştirilmesi, hazırlanışı ve *in vitro* değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler anlatılmıştır.

Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar

Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

ZnO'nun parçacık büyüklüğü ve dağılımı, lazer kırınım cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Termal Analiz

Dynasan[®] 116'nın termal analizi, DSC kullanılarak belirlenmiştir. Basınç yardımıyla sıkıca kapatılan alüminyum örnek kabında, 10⁻⁴ duyarlılıkla yaklaşık olarak 5 mg tartılan Dynasan[®] 116, boş referansa karşı 200 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 5 K.dk⁻¹ sıcaklık artışı ve yine 5 K.dk⁻¹ soğuma hızı ile 25-100°C aralığında incelenmiştir.

Reolojik Analiz

Miglyol[®] 812 N'nin reolojik analizi için Brookfield koni-plak reometresi kullanılmıştır. Ölçümler, çapı 1.2 cm ve eğimi 1.565° olan koni ile 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

Koni-plak viskozimetresinde, koni değişik hızlarda döndürüldükçe, dönen koni ile sabit plak arasındaki boşlukta bulunan örnek kaymaya uğrar. Değişik kayma hızlarına karşı, koni üzerinde oluşan kayma gerilimi ve viskozite ekrandan okunur.

X-Işını Kırınım Analizi

Dynasan[®] 116 ve ZnO'nin X-ışını kırınım analizleri, 4-40°C aralığında, 40 kV voltaj ve 20 mA akım şiddetinde jeneratör kullanılarak yapılmış ve karakteristik X-ışını kırınım pikleri incelenmiştir.

FT-IR Analizi

Dynasan[®] 116 ve OCR'nin FT-IR analizlerinde 400-4000 cm⁻¹ arasında spektrumlar alınmış ve karakteristik IR bantları incelenmiştir.

NMR Analizi

Dynasan[®] 116 ve OCR'nin NMR analizlerinde çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılmış ve spektrumları alınmıştır. Dynasan[®] 116 ve OCR'nin karakteristik NMR pikleri incelenmiştir.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi için Validasyon Çalışmaları

Analitik yöntem validasyonunun ana hedefi, yöntemin planlanan amaca uygun olduğunu göstermektir. Kullanılan test yönteminin doğruluk ve güvenilirliğinin verilerle kanıtlanmasıdır. Miktar tayini validasyonunda, doğrusalılık, doğruluk, kesinlik (gün-ici ve günler-arası), özgünlük ve duyarlılık gibi analitik parametreler esas alınmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada, Uluslararası Harmonizasyon Komitesi'nin Analitik İşlem Validasyon Yöntemi kullanılmıştır (ICH, 1996).

Doğrusallık (Linearity)

Analitik yöntemin, çalışılan aralık boyunca doğrusal ilişkisi olup olmadığının değerlendirilmesidir. Yöntemin doğrusallığı, verilen aralıkta analizi yapılan maddeyi değişik konsantrasyonlarda içeren örneklerin, elde edilen pik alanları ile doğru orantılı olmasıdır.

Validasyon işlemi sırasında uygulanan çalışma koşulları **Çizelge 4**'te verilmiştir.

Çizelge 4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi çalışma koşulları

Hareketli faz	Asetonitril:Su (75:25, h/h)
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Fırın sıcaklığı	50°C
Akış hızı	1.5 mL.dk ⁻¹
Kolon	4.6 x 250 mm, 5 µm C ₁₈ ACE kolon

İç Standart Madde Çözeltilisinin Hazırlanması

Yapılan ön-çalışmalarda iç standart madde (İS) olarak birçok madde denenmiş ve içlerinden Siklosporin A maddesinin kullanılmasına karar verilmiştir. 10.1 mg tam tartılan Siklosporin A, 50 mL'ye hareketli faz ile [0.202 mg.mL⁻¹ (**A**)] tamamlanmıştır. Her ölçüm için bu stok çözeltisinden 0.2 mL kullanılmış; değişen konsantrasyonlarda etkin madde çözeltisi ve hareketli faz ile 1 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan İS çözeltisinin molarite hesabı aşağıda verilmiştir:

$$0.202 \times 0.2 = 0.0404 \text{ mg (0.2 mL)}$$

$$0.0404 \text{ mg.mL}^{-1} = 0.0404 \text{ g.L}^{-1}$$

$$M = n \text{ (mol)} / V \text{ (L)} = 0.0404 / 1202.6 = 3.4 \times 10^{-5} \text{ M İS}$$

Etkin Madde Çözeltilisinin Hazırlanması

27.2 mg tam tartılan OCR, 50 mL'ye hareketli faz ile tamamlanmış ve 1:10 seyreltme [0.0544 mg.mL⁻¹ (**B**)] yapılmıştır. Uygun konsantrasyonlarda seri hazırlanması için, bu stok çözeltisinden 0.1-0.5 mL aralığında miktarlar alınmış, hareketli faz ve 0.2 mL İS çözeltisi ile 1 mL'ye tamamlanmıştır. B stok çözeltisinden 0.1 mL alınarak hazırlanan etkin madde çözeltisinin molarite hesabı aşağıda verilmiştir:

$$0.0544 \times 0.1 = 0.00544 \text{ mg (0.1 mL)}$$

$$0.00544 \text{ mg.mL}^{-1} = 0.00544 \text{ g.L}^{-1}$$

$$M = n \text{ (mol)} / V \text{ (L)} = 0.00544 / 361.5 = 1.5 \times 10^{-5} \text{ M OCR}$$

Serilerin Hazırlanması

İS ve OCR'nin hareketli faz içindeki stok çözeltileri **A** ve **B** kullanılarak, 5 farklı konsantrasyonda OCR içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Bütün çözeltilerde İS'nin konsantrasyonu 3.4×10^{-5} M olarak sabit tutulmuştur.

1.5×10^{-5} - 7.5×10^{-5} M aralığında OCR içeren serinin hazırlanışı aşağıda verilmiştir:

0.2 mL A + 0.1 mL B + 0.7 mL HF (**1.5×10^{-5} M OCR**)

0.2 mL A + 0.2 mL B + 0.6 mL HF (**3.0×10^{-5} M OCR**)

0.2 mL A + 0.3 mL B + 0.5 mL HF (**4.5×10^{-5} M OCR**)

0.2 mL A + 0.4 mL B + 0.4 mL HF (**6.0×10^{-5} M OCR**)

0.2 mL A + 0.5 mL B + 0.3 mL HF (**7.5×10^{-5} M OCR**)

Doğrusallık çalışması için aynı konsantrasyonlarda 3 seri hazırlanmıştır.

Doğrusallık Eşitliğinin Hesaplanması

Hazırlanan seriler HPLC'ye enjekte edilmiş ve elde edilen kromatogramlardaki alanlar ve alıkonma zamanları (R_t) kullanılarak, İS ve OCR için ayrı ayrı pik normalizasyonları (PN) hesaplanmıştır.

$$PN_{IS} = Alan_{IS} / R_{tIS}$$

$$PN_{OCR} = Alan_{OCR} / R_{tOCR}$$

$$PN \text{ oranı} = PN_{OCR} / PN_{IS}$$

Doğrusallık eşitliğinin hesaplanması için, OCR'nin konsantrasyon değerlerine karşı, üç serinin ortalama PN oranları kullanılmıştır.

Doğruluk (Accuracy)

Doğruluk, kullanılan analitik yöntem ile elde edilen deney sonuçlarının gerçek değerlere olan yakınlığıdır. En az 9 tayinle (3 konsantrasyon/3 tekrar) yapılmalı ve % geri kazanım olarak ifade edilmelidir.

Doğruluğun belirlenebilmesi için, 3 farklı konsantrasyonda OCR içeren örnekler hazırlanmış ve her bir konsantrasyon için 6 tekrar yapılmıştır. Hesaplanan miktarlar, gerçek miktarlarla karşılaştırılmış; sonuçlar, % geri kazanım, standart hata (SH) ve bağıl standart sapma (BSS) olarak verilmiştir.

Keskinlik (Precision)

Keskinlik, gün-içi tekrarlanabilirlik, günler-arası tekrarlanabilirlik ve tekrar eldeedilebilirlik olarak ölçülebilir.

Gün-içi tekrarlanabilirlik, aynı işlem koşullarında ve kısa zaman aralığındaki kesinliği ifade eder. Yöntemin tekrarlanabilirliği, aynı stok çözelti kullanılarak hazırlanan örneklerin ölçümünün birkaç kez tekrarlanması ile elde edilebilir. Bu işlem, çoklu örnek hazırlanması ($n=6$) ya da 3 farklı konsantrasyonda 3 tekrar ile yapılabilir.

Günler-arası tekrarlanabilirlikte, birbirinden bağımsız olayların analitik yöntemin kesinliğine olan etkisi bulunmalıdır. Bu değişkenler, günler, analistler, kullanılan malzeme ve araçlar olabilir. Tekrar eldeedilebilirlik ise, farklı laboratuvarlarda deneyin tekrarlanarak, aralarındaki kesinliğin gösterilmesidir. Yöntemin standardizasyonu için, genellikle, farklı birimlerle ortak çalışmalar yapılır. Bu, zorunlu olmayan bir validasyon parametresidir.

Yöntemin gün-içi tekrarlanabilirliğini göstermek için 3 farklı konsantrasyonda OCR içeren örnekler hazırlanmış ve her bir konsantrasyon için 6 tekrar yapılmıştır. Günler-arası tekrarlanabilirlik için de, aynı seriler farklı günlerde tekrar hazırlanmış; sonuçlar, SH, BSS ve % 95 güven aralıkları (CI) olarak verilmiştir.

Seçicilik (Specificity)

Analitik yöntemin, sadece amaçlanan bileşeni veya bileşenleri tayin edebilme yeteneğidir. Tek bir bileşen için yapılan ölçüm, ortamda bulunabilecek diğer bileşenlerden (yardımcı maddeler, biyolojik örnekteki endojen bileşikler, etkin maddenin bilinen metabolitleri, safsızlıklar, bilinen veya bilinmeyen degradasyon ürünleri) kaynaklanabilecek girişimden etkilenmemelidir. Seçicilik, karmaşık numune karışımının analizinde girişim derecesinin de ölçüsüdür.

Yöntemin seçiciliği plasebo analizlerle belirlenmiştir. Bu çalışma için, OCR hariç formülasyondaki diğer bütün bileşenleri içeren SLN, mikroemülsiyon ve krem sistemlerinin plaseboları hazırlanmıştır. Örnekler, miktar tayini çalışmasında kullanılan işlem basamaklarından geçirilmiştir. Elde edilen kromatogramlardan, formülasyondaki diğer bileşenlerin girişimlerinin, OCR'nin seçiciliğine etkisi çalışılmıştır.

Duyarlılık (Sensitivity)

Kullanılan analitik yöntemlerin düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneğidir. Saptama sınırı (LOD) ve miktar tayini sınırı (LOQ) hesaplanarak değerlendirilir.

LOD, standart madde sinyalinin geri plan gürültüsünden ayrılabilmesi için gerekli olan en düşük madde miktarıdır. Yöntemin aletli olup olmamasına bağlı olarak, LOD'yi belirlemenin birçok yöntemi vardır.

- Görsel değerlendirme
- Sinyal-Gürültü (Signal-Noise)
- Elde edilen cevabın ve eğimin standart sapması
 - Boş örneklerin standart sapması
 - Kalibrasyon eğrisinin kullanılması

LOQ, standart maddenin güvenilir şekilde doğru ölçümünün yapılabilmesi için gerekli olan en düşük madde miktardır. LOD'nin belirlenmesi için kullanılan yöntemler, LOQ için de geçerlidir.

LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanması için, regresyon doğrusunun eğimi ve y-kesişim değerlerinin standart sapması kullanılmıştır.

Sağlamlık/Tutarlılık (Robustness)

Tutarlılık, yöntem parametrelerinin çeşitliliği denenerek, yöntemin güvenilir olduğunun gösterilmesidir.

Tutarlılık çalışması için, hareketli faz, akış hızı, enjeksiyon hacmi, fırın sıcaklığı, kolon özellikleri ve İS gibi yöntem parametreleri değiştirilmiş; validasyon ve miktar tayininin güvenilirliği için en uygun şartlar belirlenmiştir.

Sistem Uygunluk Testi (System Suitability Testing)

Sistem uygunluk testi, birçok analitik işlemin gerekli parçasıdır. Testler, ekipman, elektronik ve analitik işlemleri kapsar.

Sistem uygunluk testi ekipman bilgileri için, HPLC cihazının parça, marka ve modelleri, kalibrasyonu ve çalışmanın nerede yapıldığı hakkında bilgiler verilmiştir. Yapılan analizlerden elde edilen kromatogramlardaki OCR ve İS'nin pik morfolojisi HPLC cihazının *software*'i kullanılarak hesaplanmıştır.

Pik Morfolojisi (Peak Morphology)

USP tarafından tanımlanan ve hesaplamaları yapılan sistem uygunluk testi parametreleri aşağıda verilmiştir:

- Teorik tabaka sayısı (N)
Kolonun en önemli parametresidir. Kolondan çıkan pikin sivri/dar olması ve piklerin birbirlerinden iyi ayrılması ile ilgilidir. N'nin sayısal değeri, analizi yapılan maddenin cinsine bağlı olduğu gibi deney koşullarına da bağlıdır. Önerilen değer $N > 2000$ 'dir.
 - Kuyruklanma (T) ve asimetri faktörleri (As)
Bu faktörler, pikin simetrik olması ile ilgilidir. Pik asimetri faktörü (As) taban yüksekliğinin % 10'u, kuyruklanma faktörü (t) de % 5'i civarında ölçülür. As'nin 0.95-1.2 arasında, T'nin de ≤ 2.0 olması istenir.
 - Kapasite Faktörü (k')
 - Seçicilik Faktörü (α)
 - Ayırım gücü (Rs)
 - Pik yüksekliği veya alanının % BSS'si
- Analizi yapılan maddelerin alıkonma zamanları veya alıkonma hacimleri yardımı ile hesaplanır. Kolonun performansı ve alıkonmanın uzun süreli tekrarlanabilirliği ile ilgilidir. Elde edilen k' değerinin genel çalışmalarda 2-8, eser madde miktar tayininde 1-3 ve kararlılık belirleyici çalışmalarda $k' > 4$ olması istenir.
- Bağıl alıkonmayı ifade eder. İki pikin, elde edildiği sistemlerde (ikili karışım veya etkin madde ve İS'nin kullanıldığı karışımlar için) kullanılır. Genel olarak $\alpha > 1$ olması istenir.
- Ayırım, kantitatif kromatografi çalışmalarının başlıca gerekliliğidir. Genellikle beş veya daha az madde içeren numunelerde $R_s > 1.5$ kolaylıkla sağlanabilir. $R_s > 1.5$, maksimum kesinliğin göstergesidir. R_s kolonun eskiliğini, günler-arası ayırım şartlarındaki değişiklikleri gösterir. Genel ayırımlarda $R_s > 2.0$, miktar tayini çalışmalarda $R_s > 1.5$, biyolojik sıvılarda yapılan çalışmalarda $R_s > 1.2$ değerleri kabul edilebilir değerlerdir.
- En az 6 defa tekrarlanan deneyler sonucu elde edilen pik alanı veya yüksekliklerinin % BSS'sinin hesaplanması ile elde edilir. Genel ayırımlarda % BSS < 1.5 , biyolojik sıvılarda yapılan çalışmalarda % BSS < 5.0 , eser madde miktar tayininde % BSS değeri 5.0-15.0 değerleri arasındadır; bu değerler kabul edilebilir değerlerdir.

Bu kriterlerden en az iki tanesinin gerekli şartları sağlaması yöntemin sistem uygunluğunu göstermektedir.

Optik Emisyon Spektroskopisi için Validasyon Çalışmaları

Günümüzde, en çok başvurulan atomlaştırma teknikleri plazma kaynaklıdır. Plazma kanyaklarının en önemlisi ise indüktif eşleşmiş plazmadır (ICP). Atomik emisyon ve atomik absorpsiyon spektrometri arasındaki en önemli fark, absorpsiyon analizlerindeki atomlaştırıcının görevi sadece atomlaştırma iken, emisyon analizlerindeki atomlaştırıcının hem atomlaştırma hem de uyarma işlevi görmesidir.

Plazma, nötr gaz, katyon ve elektron içeren iletken gaz karışımı olarak tanımlanabilir. Plazma gazı olarak argon (Ar) kullanıldığından, ICP’de Ar, iyonlaşmış Ar ve elektron bulunduğu söylenebilir. ICP, iç içe üç kuvarz borudan oluşan *torch* ile oluşturulur. Argon, en dış ve ara borudan helezonik şekilde geçerek borunun ucuna, indüksiyon bobininin sardığı bölüme ulaşır. Genellikle bakırdan yapılmış su soğutmalı indüksiyon bobini 27 veya 40 MHz frekansında ve 0.5-1.5 kW arasında güç sağlar. Bu güç sayesinde *torch*’un ucunda manyetik alan yaratılır. “Tesla bobini” adı verilen sistemle kıvılcım oluşturularak, argonun iyonlaşması sağlanır. Plazma artık hazırdır. Numune çözeltisi peristaltik pompa yardımıyla sisleştirciye gönderilir ve argon ile çarpıştırılarak, aerosol üretilir. Küçük çaplı damlacıklar, taşıyıcı argon ile en içteki ince borudan *torch*’a ulaşır ve atomlaşma/iyonlaşma gerçekleşir.

İndüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektroskopisi’nde (ICP-OES) ölçüm, dikey (*radial*) veya yatay (*axial*) plazma pozisyonlarında yapılabilir. Yatay plazma, dikey plazmaya göre daha duyarlı sonuçlar verir.

ICP-OES tekniğinin en belirgin avantajları:

- inert Ar atmosferinde etkin atomlaştırma yapması,
- çok sayıda elementin aynı anda veya çok kısa sürede ölçülmesi,
- doğrusal çalışma aralığının geniş olmasıdır.

Doğrusallık Eşitliğinin Hesaplanması

İlk önce, ICP-OES kullanılarak, formülasyonlardaki Zn miktarı bulunmuş ve daha sonra molekül ağırlıkları kullanılarak, ZnO miktarına geçiş yapılmıştır.

Zn miktar tayini çalışması için önceden kalibre edilmiş yöntem kullanılmıştır. Kalibrasyon standartlarının hazırlanması, NIST SRM⁽¹⁾ 3168’ün 1000 ppm’lik standart Zn çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. % 5’lik HCl çözeltisi kullanılarak 100 ppm’lik stok çözeltisi hazırlanmış; bu stok çözelti seyreltilerek 10, 20 ve 40 ppm’lik 3 farklı konsantrasyonda Zn standart çözeltisi ile kalibrasyon seti hazırlanmıştır.

206.200 nm’de ölçüm yapılarak, kalibrasyon setinin doğrusallık eşitliği ve grafiği çıkarılmıştır. Deney, 3 farklı konsantrasyonda 3 tekrar ile yapılmış, SH ve BSS değerleri hesaplanmıştır.

⁽¹⁾ National Institute of Standards and Technology Standard Reference Materials
Standartlar ve Teknoloji Ulusal Kurumu Standart Referans Maddeleri

Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması

Bileşenlerin Seçimi

Hazırlanan SLN formülasyonlarında, katı lipit olarak Dynasan® 116, YEM olarak Tween® 80 ve distile su kullanılmıştır.

Katı Lipitin Erime Deresi

Dynasan® 116'nın erime derecesi, kılcal tüp içerisinde, erime derecesi tayin cihazı ile saptanmıştır. Bu işlem üç kez tekrarlanmış ve erime derecesi 63°C olarak bulunmuştur.

Dynasan® 116'nın erime derecesi için ayrıca DSC kullanılmış, erime ve donma pikleri incelenmiştir. DSC sonuçlarına göre erime derecesi 62.74°C olarak bulunmuştur.

Ön-formülasyonlar

Etkin madde içermeyen formülasyonlar için, eritilmiş katı lipitin üzerine yine aynı sıcaklığa getirilmiş YEM çözeltisi eklenmiş ve yüksek hızlarda karıştırılarak, Y/S emülsiyonu hazırlanmıştır.

Karıştırma hızı, Ultraturaks ile 8000-13500 rpm arasında denenmiştir. Karıştırma işlemi küçük beherlerde yapılmış ve karıştırma süresi 3-5 dakika arasında tutulmuştur. Kaynak bilgisine göre, formülasyonun hazırlanma sıcaklığı, katı lipitin erime derecesinin $10\pm1^{\circ}\text{C}$ üzeri olarak belirlenmiştir. Formülasyon sıcaklığı, su banyosu içinde $73\pm1^{\circ}\text{C}$ 'ta karıştırma süresince sabit tutulmuştur. Hazırlanan formülasyonlar, beherin çevresine yalıtım yapılarak, oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Formülasyonlar 20-40 g olarak hazırlanmıştır. Parçacık büyüklüğü incelenirken bütün formülasyonlara ultrason uygulanmıştır. Etkin madde içermeyen önformülasyonlar ve kullanılan parametreler Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül ön-formülasyon çalışmaları I

	F1	F2	F3	F4	F5
Katı lipit % (a/a)	10	10	10	5	5
YEM % (a/a)	1	1	1	0.5	0.5
Etkin Madde	---	---	---	---	---
Su	35.60 g	17.80 g	17.80 g	18.90 g	18.90 g
Toplam	40.00 g	20.00 g	20.00 g	20.00 g	20.00 g
Karıştırıcı	Ultraturaks	Ultraturaks	Ultraturaks	Ultraturaks	Ultraturaks
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C	73°C	73°C
Rpm	8000	8000	8000	9500	8000
Zaman	3 dk	3 dk	3 dk	3 dk	3 dk
Ortalama Parçacık Büyüklüğü	---	---	163.082 μm	13.182 μm	12.342 μm
Homojenizatör	---	---	---	---	---

F1 ve F2 formülasyonları oda sıcaklığına kadar soğuduklarında, faz ayrışması görülmüştür. F3, F4 ve F5 formülasyonlarının da parçacık büyüklüğü dağılımları istenen değerlerden çok daha yüksek çıkmıştır.

Ön-formülasyon çalışmalarına, formülasyon parametreleri değiştirilerek devam edilmiştir (**Çizelge 6**). Yapılan ilk denemelerde % 10-20 arası değişen yüksek oranlarda katı lipit kullanılmış ve istenilen sonuçlar alınamamıştır. Katı lipitin formülasyondaki % oranı düşürüldüğünde, ortalama parçacık büyüklüğünün de 6-7 µm arasına düştüğü görülmüştür. Parçacık büyüklüğünü daha da azaltmak için, YEM oranı % 1-5 arasında aşamalı şekilde arttırılmıştır. En düşük ortalama parçacık büyüklüğü, 4.490 µm olarak F15 formülasyonunda bulunmuştur.

Çizelge 6. Etkin madde içermeyen katı lipit nanopartikül ön-formülasyon çalışmaları II

	F6	F7	F8	F9	F10
Katı lipit % (a/a)	10	10	15	15	20
YEM % (a/a)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Etkin Madde	---	---	---	---	---
Su	17.90 g	17.90 g	16.90 g	16.90 g	15.90 g
Toplam	20.00 g	20.00 g	20.00 g	20.00 g	20.00 g
Karıştırıcı	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C	73°C	73°C
Rpm	9500	8000	9500	8000	9500
Zaman	3 dk	3 dk	3 dk	3 dk	3 dk
Ortalama Parçacık Büyüklüğü	31.868 µm	20.022 µm	---	---	---
Homojenizatör	---	---	---	---	---
	F11	F12	F13	F14	F15
Katı lipit % (a/a)	20	5	5	5	6
YEM % (a/a)	0.5	1	2	3	4
Etkin Madde	---	---	---	---	---
Su	15.90 g	18.80 g	18.60 g	18.40 g	18.00 g
Toplam	20.00 g	20.00 g	20.00 g	20.00 g	20.00 g
Karıştırıcı	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C	73°C	73°C
Rpm	8000	9500	9500	9500	9500
Zaman	3 dk	3 dk	3 dk	3 dk	3 dk
Ortalama Parçacık Büyüklüğü		6.988 µm	6.103 µm	5.058 µm	4.490 µm
Homojenizatör	---	---	---	---	---

Bu aşamadan sonra yapılan çalışmalarda, kullanılan katı lipitin oranı % 6 olarak belirlenmiştir. Bu oranın altına inildiğinde formülasyonun ortalama parçacık büyüklüğünün tekrar artmaya başladığı görülmüştür. Karıştırma süresi 3-5 dakika arasında denenmiş ve formülasyonun 5 dakika karıştırıldığında daha homojen olduğu görülmüştür. Bu süre 10 dakikaya kadar arttırılmış; ancak, formülasyonda hiçbir değişiklik olmamıştır. 10 dakikadan daha uzun süre karıştırıldığında ise, formülasyonlarda faz ayrışması görülmüştür. 13500 rpm karıştırma hızında, en ideal formülasyon olan F19 elde edilmiştir (**Çizelge 7**). Bu formülasyona, etkin madde olarak OCR eklenmiş, ortalama parçacık büyüklüğü 0.197 µm olan F20 formülasyonu elde edilmiş ve etkin madde içeren SLN formülasyon çalışmalarına başlanmıştır.

Çizelge 7. Etkin madde içermeyen katı lipid nanopartikül ön-formülasyon çalışmaları III

	F16	F17	F18	F19	F20
Katı lipid % (a/a)	5	5	5	6	6
YEM % (a/a)	4	3	4	4	4
Etkin Madde	---	---	---	---	OCR
Su	18.20 g	18.40 g	18.20 g	18.00 g	26.82
Toplam	20.00 g	20.00 g	20.00 g	20.00 g	30.00 g
Karıştırıcı	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C	73°C	73°C
Rpm	9500	9500	9500	13500	13500
Zaman	3 dk	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk
Ortalama Parçacık Büyüklüğü	4.434 µm	2.308 µm	2.432 µm	0.212 µm	0.197 µm
Homojenizatör	---	---	---	---	---

Etkin Madde İçeren Katı Lipid Nanopartikül Formülasyonları

Etkin madde, 73±1°C sıcaklığa getirilmiş katı lipid içerisinde çözündürülmüş ve üzerine yine aynı sıcaklığa getirilmiş YEM çözeltisi eklenmiştir. Yüksek hızlarda karıştırılarak, Y/S emülsiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonlar, beherin çevresine yalıtım yapılarak, oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur.

Karıştırma hızı Ultraturraks ile 13500 rpm ve Heidolph Silent Crusher M (12 F/M ve 8 F/M parçalayıcı uç) ile 15000-25000 rpm aralığında denenmiştir. Karıştırma süresi 5 dakika olarak sabit tutulmuştur.

Çizelge 8. Etkin maddeli katı lipid nanopartikül formülasyon çalışmaları I

	F21	F22	F23	F24	F25
Katı lipid % (a/a)	6	6	6	6	6
YEM % (a/a)	4	4	4	4	4
Etkin Madde	OCR	OCR	OCR	OCR	ZnO
Su	26.82 g	26.82 g	26.82 g	26.82 g	26.82 g
Toplam	30.00 g	30.00 g	30.00 g	30.00 g	30.00 g
Karıştırıcı	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C	73°C	73°C
Rpm	13500	13500	13500	13500	13500
Zaman	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk
Ortalama Parçacık Büyüklüğü	0.195 µm	0.190 µm	0.183 µm	0.190 µm	0.194 µm
Homojenizatör	500 bar 1 devir	500 bar 2 devir	500 bar 3 devir	500 bar 3 devir	500 bar 3 devir

Etkin madde içeren ön-formülasyon çalışmalarında, F20 formülasyonu tekrar hazırlanmış ve homojenizatörden geçirilip, ortalama parçacık büyüklüğü dağılımı homojenize edilerek düşürülmeye çalışılmıştır (**Çizelge 8**). F24 formülasyonunda, F23, kontrol için birkez daha tekrar edilmiş ve parçacık büyüklüğü 0.190 µm olarak bulunmuştur. F25 formülasyonu ise aynı koşullarda tekrarlanan ve ZnO içeren formülasyondur.

Ultraturraks kullanılarak hazırlanmış etkin madde içeren formülasyonlardan F24 ve F25, homojen görünüm ve istenen partikül büyüklüğünde dağılım göstermiştir; ancak, daha yüksek karıştırma hızlarında (15000-25000 rpm) çalışmalara devam edilmiş ve formülasyonlar homojenizatörden geçirilmeden Heidolph Silent Crusher M (12 F/M ve 8 F/M parçalayıcı uç) kullanılarak da denenmiştir (**Çizelge 9**).

Elde edilen sonuçlarda görüldüğü gibi, Heidolph Silent Crusher M karıştırıcı ve kullanılan değişik parçalayıcı uçları, ultraturraks kadar etkili olamamıştır. Hazırlanan formülasyonların ortalama parçacık büyüklükleri, önceki denemelere göre çok daha büyük bulunmuştur.

Çizelge 9. Etkin maddeli katı lipid nanopartikül formülasyon çalışmaları II

	F26	F27	F28	F29	F30
Katı lipid % (a/a)	6	6	6	6	6
YEM % (a/a)	4	4	4	4	4
Etkin Madde	OCR	ZnO	OCR	OCR	OCR
Su	26.82 g	26.82 g	26.82 g	26.82 g	26.82
Toplam	30.00 g	30.00 g	30.00 g	30.00 g	30.00 g
Karıştırıcı	Heidolph 12 F/M	Heidolph 12 F/M	Heidolph 12 F/M	Heidolph 12 F/M	Heidolph 8 F/M
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C	73°C	73°C
Rpm	20000	20000	25000	15000	15000
Zaman	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk
Ortalama Parçacık Büyüklüğü	2.318 µm	1.492 µm	2.201 µm	21.073 µm	22.331 µm
Homojenizatör	---	---	---	---	---
	F31	F32	F33	F34	F35
Katı lipid % (a/a)	6	6	8	8	10
YEM % (a/a)	4	4	4	4	4
Etkin Madde	OCR	OCR	OCR	OCR	OCR
Su	26.82 g	26.82 g	26.16 g	26.16 g	25.50 g
Toplam	30.00 g	30.00 g	30.00 g	30.00 g	30.00 g
Karıştırıcı	Heidolph 8 F/M	Heidolph 8 F/M	Heidolph 8 F/M	Heidolph 8 F/M	Heidolph 8 F/M
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C	73°C	73°C
Rpm	20000	25000	25000	25000	25000
Zaman	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk
Ortalama Parçacık Büyüklüğü	12.905 µm	6.979 µm	---	---	---
Homojenizatör	---	---	---	---	---

Yapılan formülasyon çalışmalarının ardından, en iyi etkin maddesiz formülasyon F19 olarak bulunmuştur. Bu formülasyona, katı lipitin % 10'u oranında etkin madde yüklenmiş ve SLN formülasyonlarının sayısı ikiye indirilmiştir.

Formülasyonların hazırlanmasından sonra karakterizasyon ve kararlılık çalışmalarına başlanmıştır. Hazırlanan bu formülasyonlar, kullanılan bileşenlerin miktarları ve çalışma parametreleri ile **Çizelge 10**'da verilmiştir.

Çizelge 10. Katı lipid nanopartikül formülasyonları

	Etkin maddesiz formülasyon (FSB)	OCR içeren formülasyon (FSE)	ZnO içeren formülasyon (FSC)
Dynasan® 116	1.80 g (% 6)	1.80 g (% 6)	1.80 g (% 6)
Tween® 80	1.20 g (% 4)	1.20 g (% 4)	1.20 g (% 4)
Etkin madde	---	0.18 g	0.18 g
Distile su	27.00 g	26.82 g	26.82 g
Toplam	30.00 g	30.00 g	30.00 g
Karıştırıcı	Ultraturraks	Ultraturraks	Ultraturraks
Sıcaklık	73°C	73°C	73°C
Rpm	13500	13500	13500
Zaman	5 dk	5 dk	5 dk
Homojenizatör	500 bar 3 devir	500 bar 3 devir	500 bar 3 devir

Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları

Hazırlanan SLN sistemlerinin fiziksel özelliklerini incelemek için preparatlar 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlara konulmuştur. Formülasyonların kararlılık testleri önceden belirlenen periyotlarda (15., 30., 90., 180. ve 360. günler) gerçekleştirilmiştir.

Liyofilizasyon

Sulu çözelti ya da sulu süspansiyon halindeki katıların kurutulması için kullanılan yöntemdir. Bu yöntemde kurutma işlemi, dondurarak kurutma aleti olarak da adlandırılan, liyofilizatörlerde yapılır. SLN süspansiyonları, hazırlandıktan sonra liyofilize edilmiş, karakterizasyon ve kararlılık testleri için diğer formülasyonlarla beraber 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlara konulmuştur.

Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü ve dağılımı lazer kırınım cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Zeta potansiyel ve Elektriksel İletkenlik

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki zeta potansiyelleri ve elektriksel iletkenlikleri Malvern Zetasizer cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler, tek kullanımlık zeta hücrelerinde, 25°C oda sıcaklığında, distile su ile seyreltilerek yapılmıştır. Distile sudaki iletkenliğin neden olabileceği küçük değişimlerin ölçüm sonuçlarını etkilememesi için, kullanılan distile su, ölçümlerden önce NaCl ile 50 µS iletkenliğe ayarlanmıştır.

pH Ölçümü

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki pH değerleri, pH-metre cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Reolojik Analiz

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki reolojik analizleri için Brookfield koni-plak reometresi kullanılmıştır. Ölçümler, çapı 1.2 cm ve eğimi 1.565° olan koni ile 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

Koni-plak viskozimetresinde, koni değişik hızlarda döndürüldükçe, dönen koni ile sabit plak arasındaki boşlukta bulunan örnek kaymaya uğrar. Değişik kayma hızlarına karşı, koni üzerinde oluşan kayma gerilimi ve viskozite ekrandan okunur.

Sedimentasyon

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde çökme olup olmadığı santrifüj kullanılarak, 500 ve 1000 rpm’de belirlenmiştir.

Fiziksel Görünüş

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki fiziksel görünüşlerindeki değişimler, görsel olarak incelenmiştir.

Morfolojik İnceleme

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün morfolojik incelemelerinde, yüzey özellikleri ve şekilleri taramalı elektron mikroskobu ile belirlenmiştir. Formülasyonların analizinde liyofilize SLN kullanılmıştır.

Termal Analiz

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki termal analizleri, DSC kullanılarak belirlenmiştir. Basınç yardımıyla sıkıca kapatılan alüminyum örnek kabında, 10^{-4} duyarlılıkla yaklaşık olarak 5 mg tartılan örneklerin analizleri, boş referansa karşı 200 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 5 K.dk⁻¹ sıcaklık artış hızı ve yine 5 K.dk⁻¹ soğuma hızı ile 25-100°C aralığında gerçekleştirilmiştir. Formülasyonların analizleri için liyofilize SLN kullanılmıştır.

X-Işını Kırınım Analizi

0. zaman ve 360. gün X-ışını kırınım analizleri, 4-40°C aralığında, 40 kV voltaj ve 20 mA akım şiddetinde jeneratör kullanılarak yapılmıştır. Formülasyonların analizi için liyofilize SLN kullanılmıştır.

FT-IR Analizi

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinde, 400-4000 cm⁻¹ arasında spektrumlar alınmıştır. Formülasyonların analizi için liyofilize SLN kullanılmıştır.

NMR Analizi

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinde, çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılmış ve spektrumları alınmıştır. Formülasyonların analizi için liyofilize SLN kullanılmıştır.

Katı lipid Nanopartikül Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün etkin madde miktar tayinleri için iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bunun nedeni, formülasyonlarda organik ve inorganik iki farklı etkin maddenin olmasıdır.

Eusolex® OCR Miktar Tayini

Hazırlanan SLN formülasyonlarında OCR miktar tayini için HPLC kullanılmıştır. Yöntem validasyonu yapılmış, doğruluğu ve güvenilirliği kanıtlanmıştır. Uygulanan yöntemin seçicilik özelliği SLN sistemleri için ayrıca incelenmiş; etkin madde ve İS piklerine, formülasyondaki diğer bileşenlerin girişim etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Miktar tayini çalışmasında öncelikle İS için stok çözeltisi hazırlanmış ve her ölçümde bu stok çözeltisinden aynı miktar kullanılmıştır.

İç Standart Madde Çözeltisinin Hazırlanması

Yapılan ön-çalışmalarda, İS olarak Siklosporin A maddesinin kullanılmasına karar verilmiştir. 10.1 mg tam tartılan Siklosporin A, 50 mL'ye hareketli faz ile (0.202 mg.mL⁻¹) tamamlanmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

SLN süspansiyonunda serbest halde (suda) bulunan etkin madde miktarını hesaplamak için, yaklaşık 1 mL süspansiyon tam tartılmış ve dış faz 9 mL distile su ile seyreltilmiştir. Bu süspansiyondan 1 mL alınmış, 0.4 mL İS çözeltisi ve 0.6 mL hareketli faz ile 2 mL'ye tamamlanmıştır. Süspansiyonun sulu kısmını katı lipidlerden ayırmak için, 0.2 µm'lik poliamit enjektör filtresi ile süzme işlemi yapılmış ve 1 mL saydam süzüntü elde edilerek kolona uygulanmıştır.

SLN süspansiyonlarında yüzeye tutunmuş olan etkin madde miktarını hesaplamak için, yüzeyde ve serbest halde bulunan etkin madde miktarları bulunmuş ve serbest halde bulunan etkin madde miktarı bu değerden çıkarılmıştır. Yaklaşık 30 mg tam tartılmış SLN süspansiyonu 10 mL'ye etanol ile tamamlanmış, ultrasonik banyoda 5 dakika 25°C'ta bekletilmiş ve 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen saydam kısımdan 1 mL alınmış, 0.4 mL İS çözeltisi ve 0.6 mL hareketli faz ile 2 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti süzülerek, 1 mL'lik süzüntü elde edilmiş ve kolona uygulanmıştır.

SLN süspansiyonlarında katı lipitin içine hapsedilmiş etkin madde miktarını hesaplamak için, formülasyondaki toplam etkin madde miktarı bulunmuş, yüzeyde ve serbest halde bulunan etkin madde miktarı bu değerden çıkarılmıştır. Yaklaşık 30 mg tam tartılmış SLN süspansiyonu 10 mL'ye etanol ile tamamlanmış, ultrasonik banyoda 5 dakika 70°C'ta sıkıca kapatılarak bekletilmiş ve 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen saydam kısımdan 1 mL alınmış, 0.4 mL İS çözeltisi ve 0.6 mL hareketli faz ile 2 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti süzülerek, 1 mL'lik süzüntü elde edilmiş ve kolona uygulanmıştır.

Deneyler her örnek için 6 kere tekrarlanmış ve formülasyonlardaki etkin madde miktarları % geri kazanım olarak ifade edilmiştir. Sonuçlarla beraber SH, BSS ve % 95 CI değerleri de hesaplanmıştır.

Çinko Oksit Miktar Tayini

Hazırlanan SLN formülasyonlarında, ZnO miktar tayini için optik emisyon spektroskopisi kullanılmıştır. Formülasyonlarda bulunan tek inorganik madde olan ZnO, yüksek sıcaklıklara dayanıklı ve erime derecesi 1975°C olduğu için kül fırınında yakılmış; diğer bileşenlerden ayrılması sağlanmıştır. Seyreltik asitlerde çözündüğü için çözücü olarak seyreltik hidroklorik asit kullanılmıştır.

ICP-OES kullanılarak, önce formülasyonlardaki çinko miktarları bulunmuş ve sonra molekül ağırlıkları kullanılarak, ZnO miktarlarına geçiş yapılmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Krogede 1.0 g tam tartılan SLN süspansiyonunun, 500°C'ta 5 saat yakılarak, organik bileşenlerden ayrılması sağlanmıştır. 5 mL derişik hidroklorik asit 100 mL'ye distile su ile seyreltilmiş ve bu çözelti kullanılarak yakma işleminden kalan artık 25 mL'ye tamamlanmıştır. Çözünme işleminden sonra tekdüze dağılım için örnekler 25°C'ta 2 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. 25 mL olarak hazırlanmış örnekler optik emisyon spektroskopisi için çok derişik bulunmuş ve tekrar 1:10 seyreltilerek, ICP-OES cihazında ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Yöntem sırasında uygulanan çalışma koşulları, **Çizelge 11**'de verilmiştir.

Çizelge 11. Optik emisyon spektroskopisi çalışma koşulları

kaynak denkleştirme	15 sn
örnek akış hızı	1.5 mL.dk ⁻¹
güç	1450 W
ölçüm tekrarı	3
gecikme zamanı	10 sn
ölçüm pozisyonu	dikey
<i>torch</i> Ar gazı	<i>plazma</i> 16 L. dk ⁻¹
akış hızı	<i>yardımcı</i> 0.2 L. dk ⁻¹
	<i>nebulizer</i> 0.55 L. dk ⁻¹

Deneyler her bir örnek için 3 kere tekrarlanmış ve formülasyonlardaki etkin madde miktarları % geri kazanım olarak ifade edilmiştir. Sonuçlarla beraber SH, BSS ve % 95 CI değerleri de hesaplanmıştır.

Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar

Hazırlanan SLN formülasyonlarının güneş ışınlarını süzücü etkinlikleri, *in vitro* ortamda Transpore™ testi ile belirlenmiştir.

Transpore™ Test

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen SLN süspansiyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki UV absorbanlarının ölçümü için Transpore™ testi kullanılmıştır. Hazırlanan formülasyonlar, kuvarz UV kuvvetlerine yapıştırılan Transpore™ bantının üzerine, 2 mg.cm⁻² olacak şekilde parmak eldiven kullanılarak düzgün şekilde sürülmüştür. Uygulamadan sonra 15 dakika kurumaya bırakılan örneklerin, boş Transpore™ bantı yapıştırılmış referansa karşı, 280-400 nm aralığında UV spektrofotometresi kullanılarak spektrumları alınmıştır. Sonuçlar her formülasyon için karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Bileşenlerin Seçimi

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında, yağlı faz olarak Miglyol® 812 N, YEM olarak Abil® EM 90, Y.YEM olarak izopropil alkol ve sulu faz olarak distile su kullanılmıştır.

Ön-formülasyonlar

Mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanması için titrasyon yöntemi kullanılmış ve etkin madde içermeyen ön-formülasyonlar ile çalışmalara başlanmıştır. YEM ve Y.YEM oranı 1:1 olarak belirlenmiş ve toplam 10 g üzerinden 9 ayrı formülasyon hazırlanmıştır (**Çizelge 12**). Yağ, YEM ve Y.YEM karışımı su banyosunda 70°C'a ısıtılmış ve karıştırma sırasında, formülasyon su banyosu içinde bekletilerek sıcaklık sabit tutulmuştur. Mekanik karıştırıcı ile 300 rpm'de karıştırılırken büretten damla damla su ilave edilmiştir. Bu işleme, bulanıklık görülen noktaya kadar devam edilmiş ve karışımın bozulmadan iç faza alabildiği distile su miktarı, mL cinsinden kaydedilmiştir.

Çizelge 12. 70°C ve 300 rpm'de hazırlanan mikroemülsiyon ön-formülasyonları

Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (1:1)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	1.00	4.50 : 4.50	9.00	1.32
F2	2.00	4.00 : 4.00	8.00	1.44
F3	3.00	3.50 : 3.50	7.00	0.79
F4	4.00	3.00 : 3.00	6.00	1.16
F5	5.00	2.50 : 2.50	5.00	0.74
F6	6.00	2.00 : 2.00	4.00	0.48
F7	7.00	1.50 : 1.50	3.00	0.33
F8	8.00	1.00 : 1.00	2.00	0.51
F9	9.00	0.50 : 0.50	1.00	-

Formülasyonlarda Y.YEM olarak kullanılan izopropil alkolün 70°C karıştırma sıcaklığında uçtuğu ve hazırlanan ön-formülasyonlarda bileşenlerin oranlarının değiştiği gözlenmiştir. Bu nedenle, titrasyon sonucu bulunan su miktarları tutarlı çıkmamıştır. Formülasyonların hazırlanması için 70°C sıcaklıkta çalışılmasından vazgeçilmiş ve bunun yerine 25°C'lık oda sıcaklığında çalışılması daha uygun görülmüştür.

YEM ve Y.YEM oranları 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 ve 3:1 olarak belirlenmiş ve toplam 10 g üzerinden yeni formülasyonlar hazırlanmıştır. Karıştırma sırasında, formülasyon su banyosu içinde bekletilmiş ve sıcaklık 25°C'ta sabit tutulmuştur. 300, 500 ve 1000 rpm olacak şekilde farklı karıştırma hızları denenerek distile su ile titrasyon yapılmış ve harcanan su miktarları mL cinsinden kaydedilmiştir. Formülasyonlarda uygulanan karıştırma hızı arttıkça, köpük oluşumunun da arttığı gözlenmiştir. Bu durum, bulanıklık oluşumunun izlenmesini güçleştirmiş ve formülasyonların hazırlanmasında 300 rpm karıştırma hızının kullanılması uygun görülmüştür.

25°C oda sıcaklığı ve 300 rpm karıştırma hızında hazırlanan formülasyonlardan, su miktarları sorunsuz olarak bulunan ve faz ayrımı gözlenmeyenler **Çizelge 13**'te verilmiştir.

Çizelge 13. 25°C ve 300 rpm’de hazırlanan mikroemülsiyon ön-formülasyonları

Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (1:1)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	1.00	4.50 : 4.50	9.00	-
F2	2.00	4.00 : 4.00	8.00	0.77
F3	3.00	3.50 : 3.50	7.00	0.70
F4	4.00	3.00 : 3.00	6.00	0.54
F5	5.00	2.50 : 2.50	5.00	0.40
F6	6.00	2.00 : 2.00	4.00	0.22
F7	7.00	1.50 : 1.50	3.00	0.17
F8	8.00	1.00 : 1.00	2.00	0.11
F9	9.00	0.50 : 0.50	1.00	-
Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (1:2)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	1.00	3.00 : 6.00	9.00	-
F2	2.00	2.67 : 5.33	8.00	-
F3	3.00	2.33 : 4.67	7.00	0.78
F4	4.00	2.00 : 4.00	6.00	0.74
F5	5.00	1.67 : 3.33	5.00	0.50
F6	6.00	1.33 : 2.67	4.00	0.32
F7	7.00	1.00 : 2.00	3.00	0.20
F8	8.00	0.67 : 1.33	2.00	-
F9	9.00	0.33 : 0.67	1.00	-
Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (1:3)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	1.00	2.25 : 6.75	9.00	-
F2	2.00	2.00 : 6.00	8.00	-
F3	3.00	1.75 : 5.25	7.00	-
F4	4.00	1.50 : 4.50	6.00	-
F5	5.00	1.25 : 3.75	5.00	0.71
F6	6.00	1.00 : 3.00	4.00	0.42
F7	7.00	0.75 : 2.25	3.00	0.27
F8	8.00	0.50 : 1.50	2.00	-
F9	9.00	0.25 : 0.75	1.00	-
Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (2:1)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	1.00	6.00 : 3.00	9.00	0.97
F2	2.00	5.33 : 2.67	8.00	0.88
F3	3.00	4.67 : 2.33	7.00	0.49
F4	4.00	4.00 : 2.00	6.00	0.31
F5	5.00	3.33 : 1.67	5.00	0.19
F6	6.00	2.67 : 1.33	4.00	0.12
F7	7.00	2.00 : 1.00	3.00	0.06
F8	8.00	1.33 : 0.67	2.00	-
F9	9.00	0.67 : 0.33	1.00	-

Hazırlanan ön-formülasyonlardan sonra, üçgen faz diyagramına geçmek için çalışma aralığı daraltılmış ve toplam 10 g olmak üzere 7 adet formülasyon üzerinden çalışmalara devam edilmiştir. Formülasyonlar 300 rpm karıştırma hızında ve 25°C oda sıcaklığında hazırlanmıştır (**Çizelge 14**).

Çizelge 14. Üçgen faz diyagramı çiziminde kullanılmak üzere hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonları

Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (1:1)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	2.00	4.00 : 4.00	8.00	0.77
F2	3.00	3.50 : 3.50	7.00	0.70
F3	4.00	3.00 : 3.00	6.00	0.54
F4	5.00	2.50 : 2.50	5.00	0.40
F5	6.00	2.00 : 2.00	4.00	0.22
F6	7.00	1.50 : 1.50	3.00	0.17
F7	8.00	1.00 : 1.00	2.00	0.11

Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (1:2)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	4.00	2.00 : 4.00	6.00	0.74
F2	4.50	1.83 : 3.67	5.50	0.63
F3	5.00	1.67 : 3.33	5.00	0.50
F4	5.50	1.50 : 3.00	4.50	0.44
F5	6.00	1.33 : 2.67	4.00	0.32
F6	6.50	1.17 : 2.33	3.50	0.27
F7	7.00	1.00 : 2.00	3.00	0.20

Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (1:3)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	4.50	1.38 : 4.12	5.50	0.75
F2	5.00	1.25 : 3.75	5.00	0.71
F3	5.50	1.13 : 3.37	4.50	0.54
F4	6.00	1.00 : 3.00	4.00	0.42
F5	6.50	0.88 : 2.62	3.50	0.33
F6	7.00	0.75 : 2.25	3.00	0.27
F7	7.50	0.63 : 1.87	2.50	0.12

Formülasyon (g)	Yağ	YEM:Y.YEM (2:1)	YEM+Y.YEM	Distile Su
F1	1.00	6.00 : 3.00	9.00	0.97
F2	2.00	5.33 : 2.67	8.00	0.88
F3	3.00	4.67 : 2.33	7.00	0.49
F4	4.00	4.00 : 2.00	6.00	0.31
F5	5.00	3.33 : 1.67	5.00	0.19
F6	6.00	2.67 : 1.33	4.00	0.12
F7	7.00	2.00 : 1.00	3.00	0.06

Üçgen Faz Diyagramı

Üçgen faz diyagramının çizilmesi için hazırlanan formülasyonlardaki yağ, YEM, Y.YEM ve su miktarları % olarak hesaplanmış ve **Çizelge 15**'te gösterilmiştir. Bu değerler çizelgeye ve faz diyagramına geçirilirken, 10 g formülasyona su eklendikten sonra hesaplanan % değerleri dikkate alınmıştır. Bileşenlerin kullanım yüzdelere göre bulunan noktalar üçgen faz diyagramında işaretlenmiştir. Farklı oranlarda yapılan çalışmalar için, ayrı üçgen faz diyagramı çizilmiştir. Diyagramlarda en büyük mikroemülsiyon alanına sahip olanı seçilmiş, ağırlık merkezinden hesaplanan % değerlere göre yeniden etkin maddesiz mikroemülsiyon formülasyonu hazırlanmış ve kararlılığını incelemek için 2 hafta oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda, faz ayrımı gözlenmemiş ve etkin madde içeren formülasyonların hazırlanmasına başlanmıştır.

Çizelge 15. Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının % (a/a) değerleri

Formülasyon (%)	Yağ	YEM+Y.YEM (1:1)	Distile Su
F1	18.57	74.28	7.15
F2	28.04	65.42	6.54
F3	37.95	56.93	5.12
F4	48.08	48.08	3.85
F5	58.71	39.14	2.15
F6	68.83	29.50	1.67
F7	79.13	19.78	1.09
Formülasyon (%)	Yağ	YEM+Y.YEM (1:2)	Distile Su
F1	37.24	55.87	6.89
F2	42.33	51.74	5.93
F3	47.62	47.62	4.76
F4	52.68	43.10	4.21
F5	58.14	38.76	3.10
F6	63.29	34.08	2.63
F7	68.63	29.41	1.96
Formülasyon (%)	Yağ	YEM+Y.YEM (1:3)	Distile Su
F1	41.86	51.16	6.98
F2	46.69	46.69	6.63
F3	52.18	42.69	5.12
F4	57.58	38.39	4.03
F5	62.92	33.88	3.19
F6	68.16	29.21	2.63
F7	74.11	24.70	1.19
Formülasyon (%)	Yağ	YEM+Y.YEM (2:1)	Distile Su
F1	9.12	82.04	8.84
F2	18.38	73.53	8.09
F3	28.60	66.73	4.67
F4	38.80	58.20	3.01
F5	49.07	49.07	1.86
F6	59.29	39.53	1.19
F7	69.58	29.82	0.60

Etkin Madde İçeren Mikroemülsiyon Formülasyonları

Çizilen üçgen faz diyagramları içinde, 1:1 oranında YEM ve Y.YEM içeren formülasyonun, en büyük mikroemülsiyon alanına sahip olduğu bulunmuştur. Miglyol® 812 N, Abil® EM 90, izopropil alkol ve % 2 oranında OCR içeren karışım, 25°C'lık oda sıcaklığında mekanik karıştırıcı ile 300 rpm sabit hızda karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışıma hesaplanan miktarda su damla damla eklenerek, etkin madde içeren mikroemülsiyon formülasyonu hazırlanmış ve 1 hafta oda sıcaklığında bekletilerek, faz ayrımı oluşup oluşmadığı incelenmiştir.

OCR içeren formülasyon, ME, saydam mikroemülsiyon oluştururken, ZnO içeren formülasyon, MC, süspansiyon halinde kalmıştır. Hazırlanan etkin maddesiz ve etkin maddeli formülasyonlarının içinde bulunan bileşenlerin % değerleri **Çizelge 16'**da verilmiştir.

Çizelge 16. Etkin maddeli ve etkin maddesiz mikroemülsiyon formülasyonlarının % (a/a) değerleri

	Bileşenlerin % (a/a) değerleri		
	Etkin maddesiz formülasyon (MB)	OCR içeren formülasyon (ME)	ZnO içeren formülasyon (MC)
Etkin madde	-	2.00	2.00
Miglyol® 812 N	40.41	38.41	38.41
Abil® EM 90	28.57	28.57	28.57
İzopropil alkol	28.57	28.57	28.57
Distile su	2.44	2.44	2.44

Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları

Hazırlanan mikroemülsiyon sistemlerinin fiziksel özelliklerini incelemek için preparatlar 25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlara konulmuştur. Formülasyonların kararlılık testleri önceden belirlenen periyotlarda (15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde) gerçekleştirilmiştir.

Damlacık ve Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık ve parçacık büyüklüğü dağılımı lazer kırınım cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Zeta potansiyel ve Elektriksel İletkenlik

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki zeta potansiyelleri ve elektriksel iletkenlikleri Malvern Zetasizer cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler, tek kullanımlık zeta hücrelerinde, 25°C oda sıcaklığında, distile su ile seyreltilerek yapılmıştır.

Distile sudaki iletkenliğin neden olabileceği küçük değişimlerin ölçüm sonuçlarını etkilememesi için, kullanılan distile su, ölçümlerden önce NaCl ile 50 µS iletkenliğe ayarlanmıştır.

pH Ölçümü

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki pH değerleri, pH-metre cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Faz Ayrımı

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde faz ayrımı olup olmadığı, 500 ve 1000 rpm’de santrifüj kullanılarak belirlenmiştir.

Reolojik Analiz

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki reolojik analizi için Brookfield koni-plak reometresi kullanılmıştır. Ölçümler, çapı 1.2 cm ve eğimi 1.565° olan koni ile 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

Fiziksel Görünüş

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki fiziksel görünüşlerindeki değişimler görsel olarak incelenmiştir.

Morfolojik İnceleme

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün morfolojik özellikleri, Nikon Eclipse E4000 ışık mikroskobu ile belirlenmiştir.

Tip Tayini

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde dış fazları yağ ile seyreltilmiş, iç fazdaki su damlacıkları metilen mavisi ile boyanmış ve tip tayinleri yapılmıştır.

FT-IR Analizi

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinde 400-4000 cm⁻¹ arasında spektrumlar alınmıştır.

NMR Analizi

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinde çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılmış ve spektrumları alınmıştır.

Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen mikroemülsiyon formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün etkin madde miktar tayinleri için iki farklı yöntem kullanılmıştır.

Eusolex® OCR Miktar Tayini

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında, OCR miktar tayini için HPLC kullanılmıştır. Yöntem validasyonu yapılmış, doğruluğu ve güvenilirliği kanıtlanmıştır. Uygulanan yöntemin seçicilik özelliği, mikroemülsiyon sistemleri için ayrıca incelenmiş, etkin madde ve İS pikinin formülasyondaki diğer bileşenlerle girişim gerçekleştirmediği belirlenmiştir.

Miktar tayini çalışmasında öncelikle İS için stok çözeltisi hazırlanmış ve her ölçümde bu stok çözeltisinden aynı miktar kullanılmıştır.

İç Standart Madde Çözeltisinin Hazırlanması

Yapılan ön-çalışmalarda, İS olarak Siklosporin A maddesinin kullanılmasına karar verilmiştir. 10.1 mg tam tartılan Siklosporin A, 50 mL’ye hareketli faz ile (0.202 mg.mL⁻¹) tamamlanmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Yaklaşık 30 mg tam tartılmış mikroemülsiyon formülasyonu 10 mL’ye etanol ile tamamlanmış, ultrasonik banyoda 5 dakika 25°C’ta bekletilmiştir. Elde edilen karışımdan 1 mL alınmış, 0.4 mL İS çözeltisi ve 0.6 mL hareketli faz ile 2 mL’ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti 0.2 µm’lik enjektör filtresi ile süzülerek, 1 mL’lik süzüntü elde edilmiş ve kolona uygulanmıştır.

Deneyler herbir örnek için 6 kere tekrarlanmış ve formülasyonlardaki etkin madde miktarları % geri kazanım olarak ifade edilmiştir. Sonuçlarla beraber SH, BSS ve % 95 CI değerleri de hesaplanmıştır.

Çinko Oksit Miktar Tayini

ICP-OES kullanılarak, önce formülasyonlardaki çinko miktarları bulunmuş ve sonra molekül ağırlıkları kullanılarak, ZnO miktarlarına geçiş yapılmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Krozedde 0.5 g tam tartılan mikroemülsiyon formülasyonunun, 500°C'ta yakılarak organik bileşenlerden ayrılması sağlanmıştır. 5 mL derişik hidroklorik asit 100 mL'ye distile su ile seyreltilmiş ve bu çözelti kullanılarak yakma işleminden kalan artık 25 mL'ye tamamlanmıştır. Çözünme işleminden sonra tekdüze dağılım için örnekler 25°C'ta 2 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. 25 mL olarak hazırlanmış örnekler, optik emisyon spektroskopisi için çok derişik bulunmuş ve tekrar 1:10 seyreltilerek, ICP-OES cihazında ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Deneyler herbir örnek için 3 kere tekrarlanmış ve formülasyonlardaki etkin madde miktarları % geri kazanım olarak ifade edilmiştir. Sonuçlarla beraber SH, BSS ve % 95 CI değerleri de hesaplanmıştır.

Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan *In Vitro* Çalışmalar

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının güneş ışınlarını süzücü etkinlikleri, *in vitro* ortamda Transpore™ testi ile belirlenmiştir.

Transpore™ Test

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen mikroemülsiyon formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki UV absorbanslarının ölçümü için Transpore™ testi kullanılmıştır. Hazırlanan formülasyonlar, kuvarz UV kuvvetlerine yapıştırılan Transpore™ bantının üzerine, 2 mg.cm⁻² olacak şekilde parmak eldiven kullanılarak düzgün şekilde sürülmüştür. Uygulamadan sonra 15 dakika kurumaya bırakılan örneklerin, boş Transpore™ bantı yapıştırılmış referansa karşı, 280-400 nm aralığında UV spektrofotometresi kullanılarak, spektrumları alınmıştır. Sonuçlar her formülasyon için karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Krem Formülasyonlarının Hazırlanması

Hazırlanan mikroemülsiyonlar % 2 oranında etkin madde içerirken, SLN süspansiyonlarına % 0.6 oranında etkin madde yüklemesi yapılabilmektedir. Aynı miktarda etkin madde içeren formülasyonların karşılaştırılabilmesi için, yeni bir taşıyıcı sisteme ihtiyaç duyulmuştur. Hazırlanan mikroemülsiyon sistemi içinde liyofilize edilmiş SLN'ler kullanılarak, krem formülasyonları hazırlanmıştır.

Mikroemülsiyon ve Liyofilize Katı Lipit Nanopartiküllerin Formülasyonu

30 g üzerinden hazırlanan SLN süspansiyonun içindeki bileşenler ve miktarları **Çizelge 17**'de tekrar verilmiştir. Liyofilizasyon işleminden sonra formülasyonda bulunan 26.820 g su uzaklaştırılmış ve toplam 3.180 g liyofilize SLN elde edilmiştir. Bu miktarın 0.180 g'ı da (yaklaşık olarak % 5.66) etkin maddedir. Mikroemülsiyon formülasyonuna, etkin madde oranı % 2 olacak şekilde liyofilize SLN eklenmiş ve bu miktar yağlı fazdan düşülmüştür.

Formülasyonun tekdüze dağılımı için karıştırma işlemi, mekanik karıştırıcı ile su banyosunda 50°C’ta yapılmış ve krem şeklinde yeni bir formülasyon elde edilmiştir.

Çizelge 17. Katı lipit nanopartikül formülasyonundaki bileşenler

Dynasan® 116	1.800 g
Etkin Madde	0.180 g
Tween® 80	1.200 g
Distile Su	26.820 g

Hazırlanan etkin maddesiz ve etkin maddeli krem formülasyonlarının içinde bulunan bileşenlerin % değerleri **Çizelge 18**’de verilmiştir. Formülasyonlarda kullanılan 35.33 g liyofilize SLN içerisinde 2 g etkin madde bulunmaktadır.

Çizelge 18. Etkin maddeli ve etkin maddesiz krem formülasyonlarının % (a/a) değerleri

	Bileşenlerin % (a/a) değerleri		
	Etkin maddesiz formülasyon (KB)	OCR içeren formülasyon (KE)	ZnO içeren formülasyon (KC)
Liyofilize SLN	35.33	35.33	35.33
Miglyol® 812 N	5.09	5.09	5.09
Abil® EM 90	28.57	28.57	28.57
İzopropil alkol	28.57	28.57	28.57
Distile su	2.44	2.44	2.44
SLN içindeki etkin madde	-	2.00	2.00

Formülasyonların hazırlanmasından sonra karakterizasyon ve kararlılık çalışmalarına başlanmıştır.

Krem Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları

Hazırlanan krem formülasyonlarının fiziksel özelliklerini incelemek için preparatlar 25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlara konulmuştur. Formülasyonların kararlılık testleri önceden belirlenen periyotlarda (15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde) gerçekleştirilmiştir.

pH Ölçümü

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki pH değerleri, pH-metre cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Reolojik Analiz

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki reolojik analizleri için Brookfield koni-plak reometresi kullanılmıştır. Ölçümler, çapı 1.2 cm ve eğimi 1.565° olan koni ile 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

Fiziksel Görünüş

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki fiziksel görünüşlerindeki değişimler görsel olarak incelenmiştir.

Termal Analiz

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki termal analizleri, DSC kullanılarak belirlenmiştir.

Basınç yardımıyla sıkıca kapatılan alüminyum örnek kabında, 10^{-4} duyarlılıkla yaklaşık olarak 5 mg tartılan örneklerin analizleri, boş referansa karşı 200 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 5 K.dk⁻¹ sıcaklık artışı ve yine 5 K.dk⁻¹ soğuma hızı ile 25-100°C aralığında gerçekleştirilmiştir.

Faz Ayrımı

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarında, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde faz ayrımı olup olmadığı görsel olarak belirlenmiştir.

X-Işını Kırınım Analizi

Hazırlanan krem formülasyonlarının, 0. zaman ve 360. gün X-ışını kırınım analizleri, 4-40°C aralığında, 40 kV voltaj ve 20 mA akım şiddetinde jeneratör kullanılarak yapılmıştır.

FT-IR Analizi

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinde 400-4000 cm⁻¹ arasında spektrumlar alınmıştır.

NMR Analizi

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinde çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılmış ve spektrumları alınmıştır.

Krem Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün etkin madde miktar tayinleri için iki farklı yöntem kullanılmıştır.

Bunun nedeni, formülasyonlarda organik ve inorganik iki farklı etkin maddenin olmasıdır.

Eusolex® OCR Miktar Tayini

Hazırlanan krem formülasyonlarında, OCR miktar tayini için HPLC kullanılmıştır. Yöntem validasyonu yapılmış, doğruluğu ve güvenilirliği kanıtlanmıştır.

Uygulanan yöntemin seçicilik özelliği, krem sistemleri için ayrıca incelenmiş, etkin madde ve İS pikinin formülasyondaki diğer bileşenlerle girişim gerçekleştirmediği belirlenmiştir.

Miktar tayini çalışmasında öncelikle İS için stok çözeltisi hazırlanmış ve her ölçümde bu stok çözeltisinden aynı miktar kullanılmıştır.

İç Standart Madde Çözeltisinin Hazırlanması

Yapılan ön-çalışmalarda, İS olarak Siklosporin A maddesinin kullanılmasına karar verilmiştir. 10.1 mg tam tartılan Siklosporin A, 50 mL’ye hareketli faz ile (0.202 mg.mL⁻¹) tamamlanmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Yaklaşık 30 mg tam tartılmış krem formülasyonu 10 mL'ye etanol ile tamamlanmış, ultrasonik banyoda 5 dakika 70°C'ta bekletilmiştir.

Elde edilen karışımdan 1 mL alınmış, 0.4 mL İS çözeltisi ve 0.6 mL hareketli faz ile 2 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti 0.2 µm'lik enjektör filtresi ile süzülerek, 1 mL'lik süzüntü elde edilmiş ve kolona uygulanmıştır.

Deneyler herbir örnek için 6 kere tekrarlanmış ve formülasyonlardaki etkin madde miktarları % geri kazanım olarak ifade edilmiştir. Sonuçlarla beraber SH, BSS ve % 95 CI değerleri de hesaplanmıştır.

Çinko Oksit Miktar Tayini

ICP-OES kullanılarak, önce formülasyonlardaki çinko miktarları bulunmuş ve sonra molekül ağırlıkları kullanılarak, ZnO miktarlarına geçiş yapılmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Krogede 0.5 g tam tartılan krem formülasyonunun, 500°C'ta yakılarak organik bileşenlerden ayrılması sağlanmıştır. 5 mL derişik hidroklorik asit 100 mL'ye distile su ile seyreltilmiş ve bu çözelti kullanılarak yakma işleminden kalan artık 25 mL'ye tamamlanmıştır.

Çözünme işleminden sonra tekdüze dağılım için örnekler 25°C'ta 2 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. 25 mL olarak hazırlanmış örnekler, optik emisyon spektroskopisi için çok derişik bulunmuş ve tekrar 1:10 seyreltilerek, ICP-OES cihazında ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Deneyler herbir örnek için 3 kere tekrarlanmış ve formülasyonlardaki etkin madde miktarları % geri kazanım olarak ifade edilmiştir. Sonuçlarla beraber SH, BSS ve % 95 CI değerleri de hesaplanmıştır.

Krem Formülasyonlarında Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar

Hazırlanan krem formülasyonlarının güneş ışınlarını süzücü etkinlikleri, *in vitro* ortamda Transpore™ testi ile belirlenmiştir.

Transpore™ Test

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki UV absorbanlarının ölçümü için Transpore™ testi kullanılmıştır.

Hazırlanan formülasyonlar, kuvarz UV kuvvetlerine yapıştırılan Transpore™ bantının üzerine, 2 mg.cm⁻² olacak şekilde parmak eldiven kullanılarak düzgün şekilde sürülmüştür. Uygulamadan sonra 15 dakika kurumaya bırakılan örneklerin, boş Transpore™ bantı yapıştırılmış referansa karşı, 280-400 nm aralığında UV spektrofotometresi kullanılarak spektrumları alınmıştır. Sonuçlar her formülasyon için karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

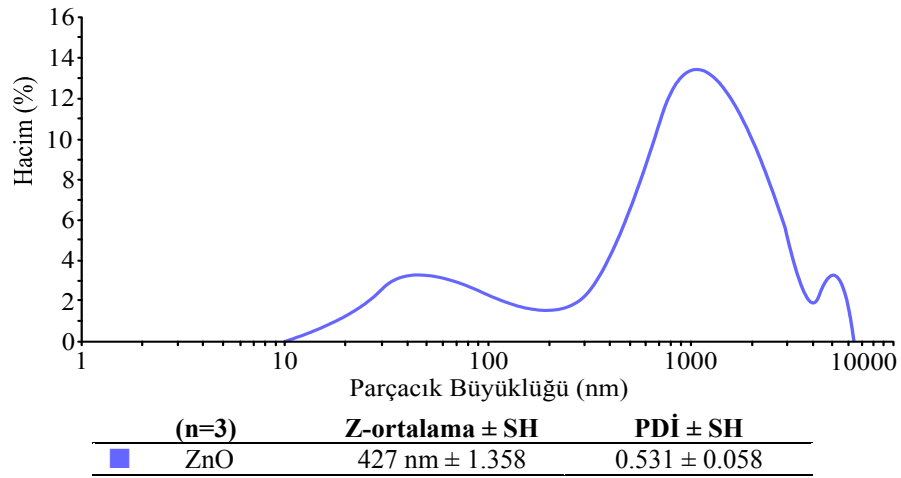
BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu bölümde, formülasyonlarda kullanılan etkin ve yardımcı maddelerin fizikokimyasal özelliklerine ait bulgular ile, hazırlanan SLN, mikroemülsiyon ve krem formülasyonlarından elde edilen *in vitro* çalışma verileri tartışılmıştır.

Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar

Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

Parçacık büyüklüğü ve dağılımı, önformülasyon ve formülasyon aşamalarında çok önemlidir (Takka ve ark., 2007). Nanopartikül ve mikroemülsiyon gibi sistemlerle formülasyon çalışmaları yapılacağı için, kullanılacak ZnO'nun parçacık büyüklüğü ve dağılımının bu sistemler için uygun olup olmadığının bilinmesi gereklidir (Kaş, 2004).



Şekil 10. Çinko oksitinin distile su içinde parçacık büyüklüğü dağılımı

Lazer kırınım cihazı kullanılarak, ZnO'nun ortalama patikül büyüklüğü 427 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 10). Bu büyüklük, nanopartiküller için fazla bulunmuş; ancak, hazırlanan formülasyonlar ultratürraks ile yüksek devirlerde karıştırılıp daha sonra bir de yüksek basınç uygulanarak homojenizatörden geçirildikten sonra parçacık büyüklüğünün düştüğü görülmüştür.

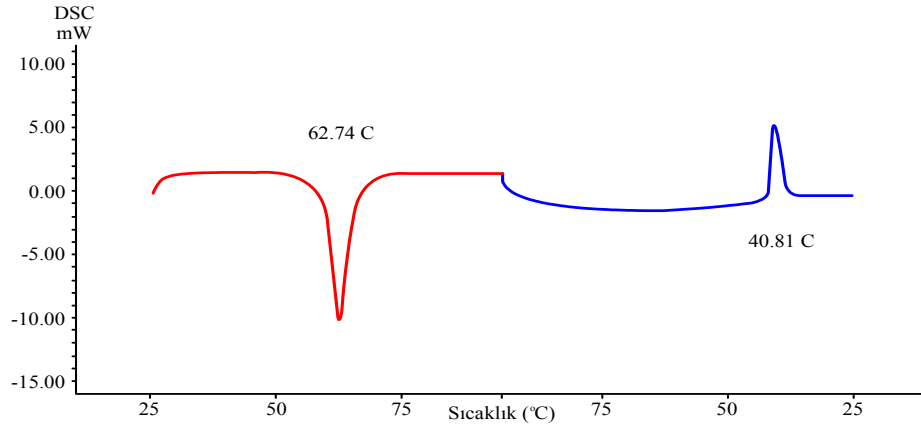
Termal Analiz

Dynasan® 116'nın erime derecesi ölçümü için, kılcal tüp içerisinde, erime derecesi tayin cihazı kullanılmıştır.

Deney üç kez tekrarlanmış ve erime derecesi, 63°C olarak hesaplanmıştır. Bulunan bu veri, literatür bilgileri ile paralellik göstermiştir (Olbrich ve ark., 2002).

Erime derecesi için ayrıca DSC kullanılmış, erime ve donma pikleri incelenmiştir (Şekil 11). DSC sonuçlarına göre, erime derecesi 62.74°C ve tekrar kristallenme derecesi 40.81°C olarak bulunmuştur.

Elde edilen sonuçların, madde spesifikasyonu ve literatür bilgileri ile uyumlu olduğu görülmüştür (http-3, Olbrich ve ark., 2002).



Şekil 11. Dynasan® 116'nın termal analizi

SLN formülasyonlarının hazırlanma sıcaklığı, katı lipitin erime derecesinin $10\pm 1^\circ\text{C}$ üzeri olarak belirlenmiştir (Müller ve ark., 1995). Formülasyon sıcaklığı, su banyosu içinde $73\pm 1^\circ\text{C}$ 'ta karıştırma süresince sabit tutulmuştur. Hazırlanan formülasyonların, kararlılık testleri sırasında termal analizleri de incelenmiş; dolayısıyla, katı lipit ikinci kez eritilip dondurulmuştur.

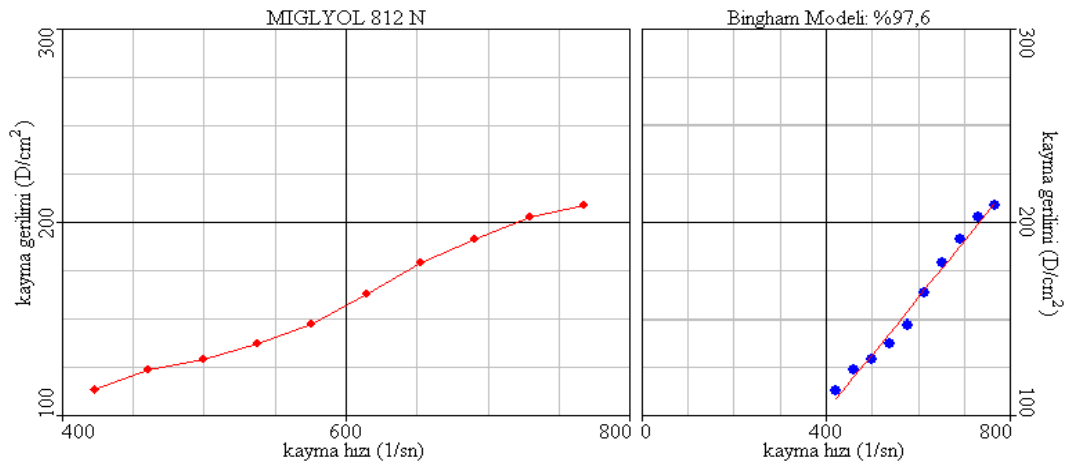
Dynasan® 116'nın $73\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıktan etkilenip etkilenmediğini incelemek için, katı lipit 73°C 'a kadar ısıtılmış ve oda sıcaklığına soğutularak tekrar kristallenmesi sağlanmıştır. Aynı örnek için ikinci kez termal analiz yapılmış ve pik şiddetleri, erime ve donma dereceleri incelenerek, maddenin 73°C sıcaklıktan etkilenmediği ve kararlı kaldığı bulunmuştur.

Dynasan® 116'nın ilk erime derecesi 62.74°C ve ikinci erime derecesi 62.38°C olarak belirlenmiş ve aralarında 0.36°C sıcaklık farkı gözlenmiştir. Yapılan çalışma 3 kez tekrar edilmiş ve sıcaklık farkının $\sim \pm 1^\circ\text{C}$ aralığında olduğu belirlenmiştir.

Reolojik Analiz

Miglyol® 812 N'nin reolojik analizi sonucunda elde edilen akış özelliği **Şekil 12'**de verilmiştir.

Kullanılan yağın, Bingham modeline % 97.6 uyum gösterdiği görülmüştür.

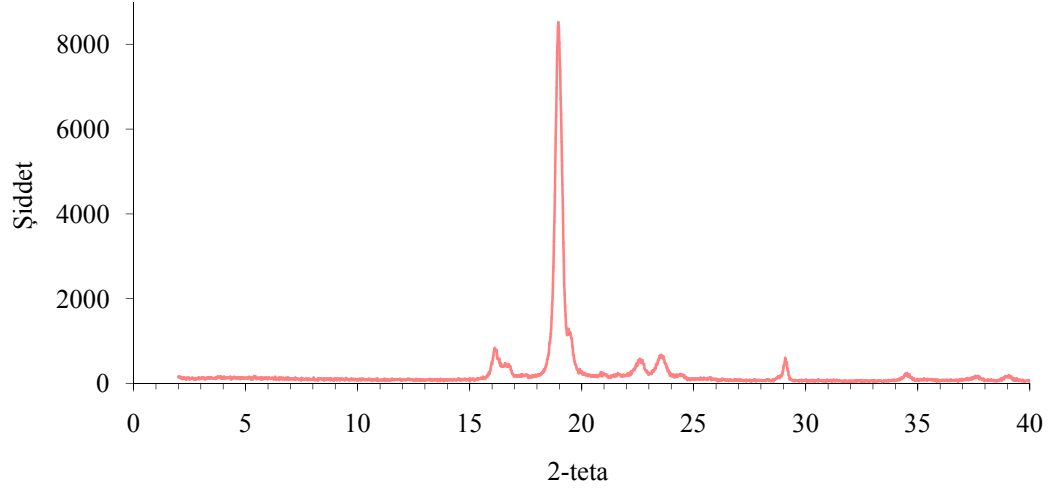


Şekil 12. Miglyol® 812 N'nin reogramı

X-Işını Kırınım Analizi

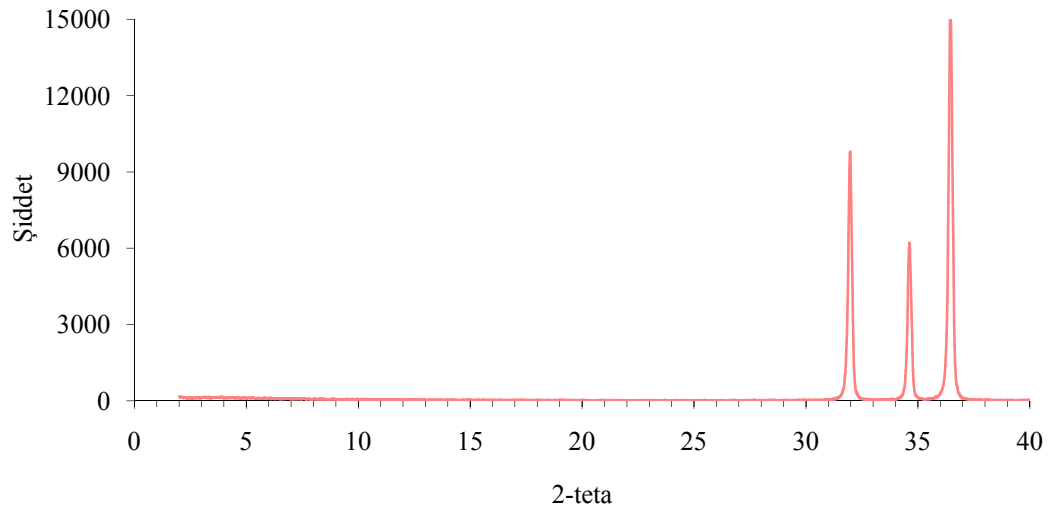
Dynasan[®] 116 ve ZnO'nun X-ışını kırınım analizleri sonucunda elde edilen X-ışını kırınım profilleri **Şekil 13** ve **Şekil 14**'te sunulmuştur.

Dynasan[®] 116'nın X-ışını kırınım analizinden elde edilen spektrumlarda karakteristik Dynasan[®] 116 pikleri gözlenmiştir. Hazırlanan formülasyonların kararlılık testleri sırasında da X-ışını kırınım analizleri gerçekleştirilmiş; elde edilen spektrumlar Dynasan[®] 116'nın spektrumu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 13. Dynasan[®] 116'nın X-ışını kırınım profili

Dynasan[®] 116'nın spektrumunda 16.12, 22.54, 23.56 ve 29.08 (2 θ) derecelerinde pikler görülürken, 18.95 (2 θ) derecesinde diğerlerine göre daha şiddetli ve karakteristik Dynasan[®] 116 piki görülmüştür (<http-4>).



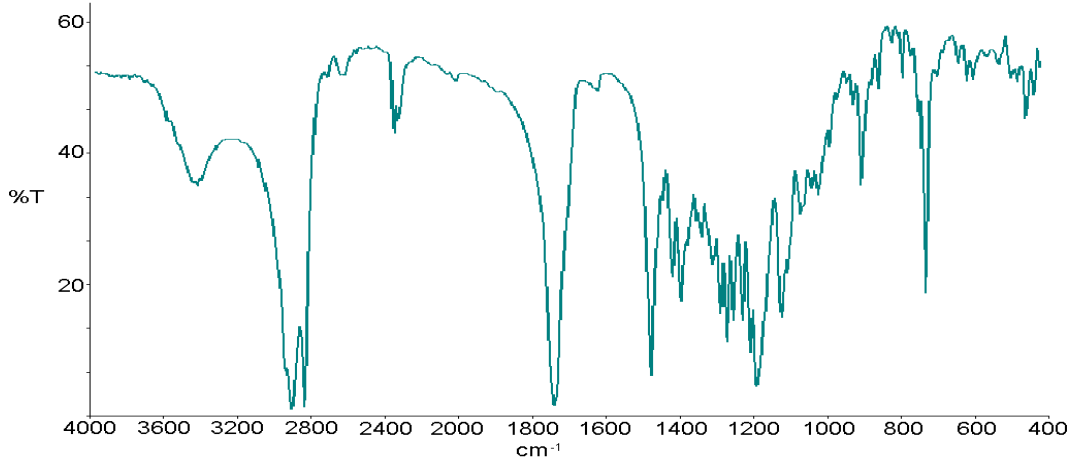
Şekil 14. Çinko oksitinin X-ışını kırınım profili

Elde edilen ZnO spektrumunda 31.96, 34.60 ve 36.44 (2 θ) derecelerinde şiddetli ve karakteristik üçlü ZnO pikleri görülmüştür.

Hazırlanan formülasyonların, kararlılık testleri sırasında x-ışını kırınım analizleri incelenmiş; ZnO'nun spektrumu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

FT-IR Analizi

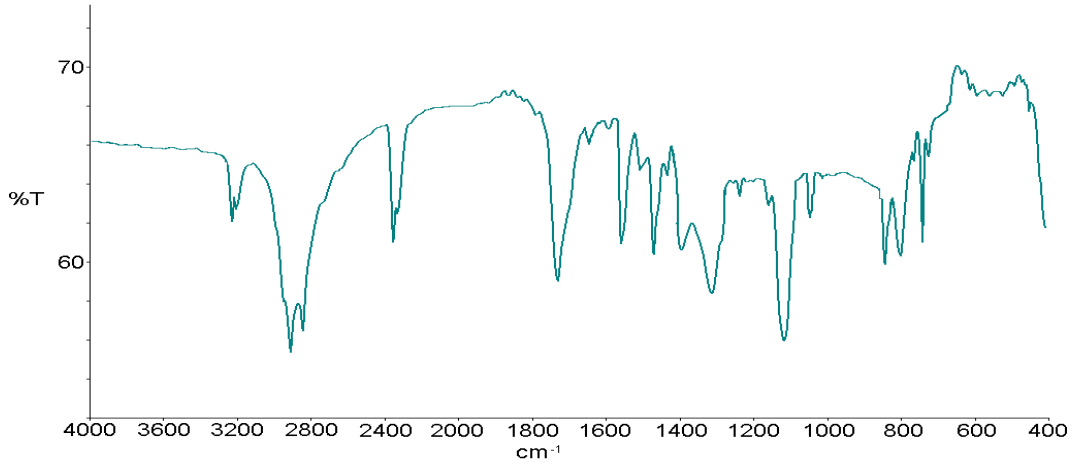
Dynasan[®] 116 ve OCR'nin FT-IR analizlerinde 400-4000 cm⁻¹ arasında spektrumlar alınmış ve elde edilen bulgular **Şekil 15** ve **Şekil 16**'da sunulmuştur.



Şekil 15. Dynasan[®] 116'nin FT-IR spektrumu

Dynasan[®] 116'nin FT-IR spektrumunda en karakteristik bant olan ester C=O bantı 1780 cm⁻¹'de, C-O bantı ise 1200 cm⁻¹'de görülmüştür. Dynasan[®] 116'nın yapısındaki alifatik C-H bantları 3000 cm⁻¹'in hemen altında, yaklaşık olarak 2800 cm⁻¹'de görülmüştür.

Hazırlanan formülasyonların, kararlılık testleri sırasında FT-IR analizleri incelenmiş; Dynasan[®] 116'nın spektrumu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.



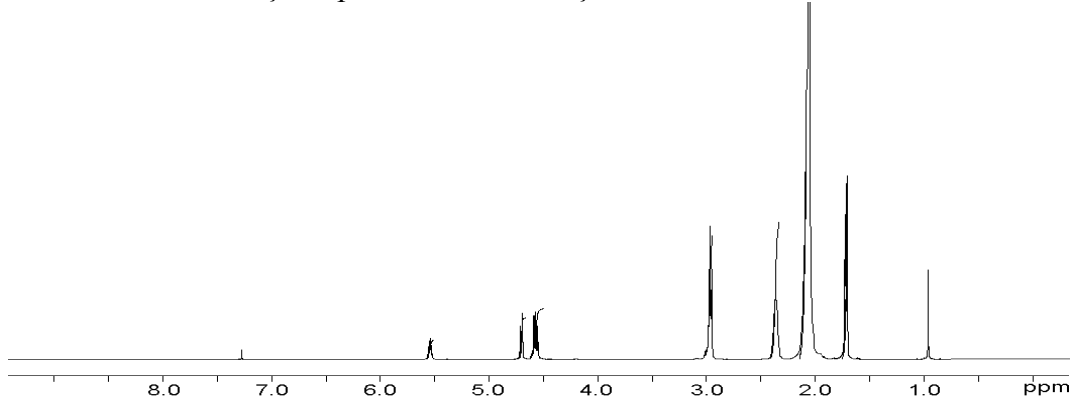
Şekil 16. Eusolex[®] OCR'nin FT-IR Spektrumu

Elde edilen OCR spektrumunda en karakteristik bant, C≡N yapısından dolayı 2300 cm⁻¹'de görülmüştür (Shaath ve ark., 1997). Esterin C=O bandı 1730 cm⁻¹ ve C-O bantı ise 1238 cm⁻¹'de gelmiştir. Alken C=C bandı 1588 cm⁻¹ ve aromatik C=C bandı 1563, 1490, 1465 ve 1450 cm⁻¹'de görülmüştür. Tek bağlı iki halka için aromatik hidrojen deformasyonları da 702, 750 ve 769 cm⁻¹'de gözlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen spektrumlarda karakteristik OCR pikleri gözlenmiştir (Shaath ve ark., 1997). Hazırlanan formülasyonların, kararlılık testleri sırasında FT-IR analizleri incelenmiş; OCR'nin spektrumu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

NMR Analizi

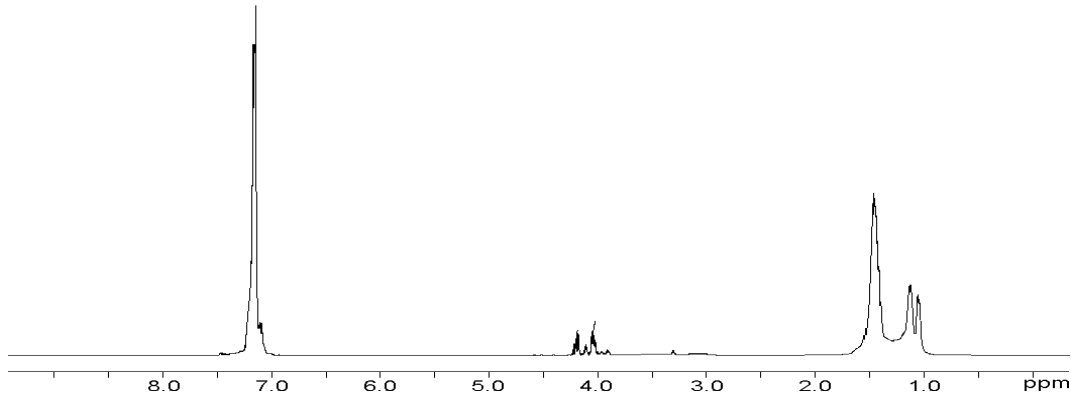
Dynasan® 116 ve OCR'nin NMR analizlerinde çözücü olarak, dötero-kloroform maddesi kullanılmış ve spektrumları alınmıştır.



Şekil 17. Dynasan® 116'nin NMR spektrumu

Dynasan® 116'nin yapısındaki 98 protondan dolayı, elde edilen NMR spektrumundaki yapıların yorumlanması zordur. Buna rağmen, genel olarak bakıldığında, O-CH grubuna ait pik, komşuluğundaki ester grubundan ötürü 5.5 ppm'e kaymıştır.

O-CH₂ yapısındaki protonlarda da bir kayma olması beklenmiş ve ikili pikler şeklinde 4.6 ppm'de gözlenmiştir. Dynasan® 116'nın yapısındaki C₁₅H₃₁ grupları ise 1-3 ppm arasında çoklu pikler şeklinde görülmüştür.



Şekil 18. Eusolex® OCR'nin NMR Spektrumu

OCR'nin NMR analizi için de çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılmış ve spektrumu alınmıştır. Yapılan analizler sonucunda elde edilen spektrumlarda karakteristik OCR pikleri gözlenmiştir (Shaath ve ark., 1997).

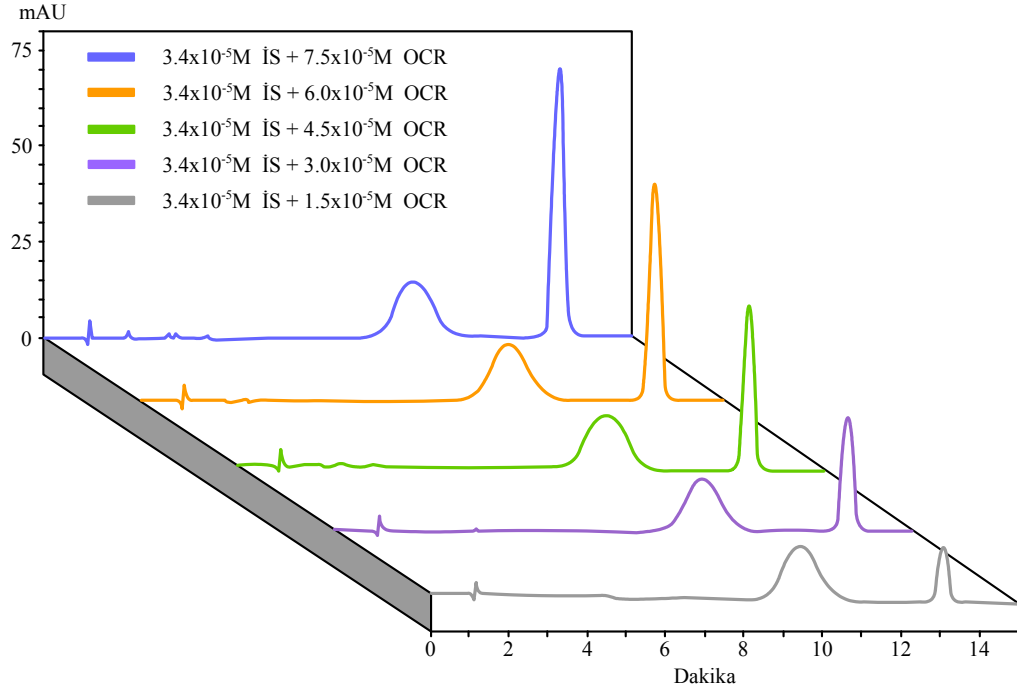
Hazırlanan formülasyonların, kararlılık testleri sırasında NMR analizleri de incelenmiş; OCR'nin spektrumu ile karşılaştırılarak, değerlendirilmiştir.

OCR'nin yapısındaki 27 protondan dolayı, karışık bir NMR spektrumu elde edilmiştir (Shaath ve ark., 1997). Buna rağmen, 10 aromatik proton 7.5 ppm'de çoklu bir pik şeklinde görülmüştür. O-CH₂ yapısındaki protonlarda bir kayma olması beklenmiş ve tek bir protona bağlandıkları için 4.1 ppm'de ikili bir pik şeklinde gözlenmiştir. Yapıdaki alifatik protonlar (15 H) ise 0.8 ppm'den 1.6 ppm'e kadar çoklu bir pik şeklinde görülmüştür.

Yüksek Basıncı Sıvı Kromatografisi için Validasyon Çalışmaları

Doğrusallık

İS ve OCR'nin hareketli faz içindeki stok çözeltileri **A** ve **B** kullanılarak, 5 farklı konsantrasyonda OCR içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Bütün çözeltilerde İS'nin konsantrasyonu 3.4×10^{-5} M olarak sabit tutulmuştur. 1.5×10^{-5} - 7.5×10^{-5} M OCR konsantrasyon aralığında hazırlanan kalibrasyon setinin kromatogramları **Şekil 19**'da verilmiştir.



Şekil 19. 1.5×10^{-5} - 7.5×10^{-5} M Eusolex® OCR konsantrasyon aralığında hazırlanan kalibrasyon setinin kromatogramları

Hazırlanan seriler HPLC'ye enjekte edilmiş ve elde edilen kromatogramlardaki alanlar ve alıkonma zamanları (R_t) kullanılarak, İS ve OCR için ayrı ayrı pik normalizasyonları (PN) hesaplanmıştır (**Çizelge 19**).

$$PN_{IS} = \text{Alan}_{IS} / R_{tIS}$$

$$PN_{OCR} = \text{Alan}_{OCR} / R_{tOCR}$$

$$PN \text{ oranı} = PN_{OCR} / PN_{IS}$$

Çizelge 19. Doğrusallık çalışması için hazırlanan seriler

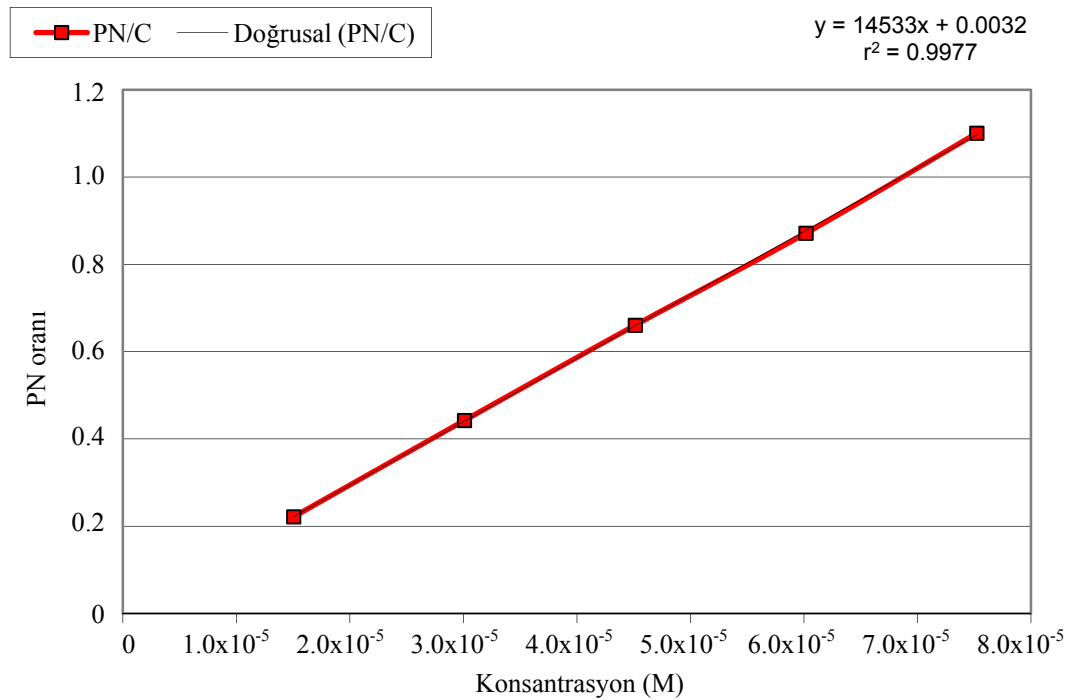
OCR (M)	1. Seri PN Oranı	2. Seri PN Oranı	3. Seri PN Oranı	Ortalama PN Oranı
1.5×10^{-5}	0.2146	0.2228	0.2273	0.2216
3.0×10^{-5}	0.4286	0.4408	0.4575	0.4423
4.5×10^{-5}	0.6413	0.6599	0.6805	0.6606
6.0×10^{-5}	0.8491	0.8701	0.8948	0.8713
7.5×10^{-5}	1.0802	1.0999	1.1217	1.0059

Doğrusallık çalışması için hazırlanan serilerde, gün-içi ve günler-arası lineer regresyon analizi yapılmış ve elde edilen sonuçlar **Çizelge 20**'de verilmiştir.

Çizelge 20. Gün-İçi ve günler-arası (pool-days) doğrusallık sonuçları

	Gün-İçi (n=5)			Günler-arası (n=15)
	1. Gün	2. Gün	3. Gün	Ortalama
Eğim	14298.21	14509.52	14792.67	14533.47
Eğim SS	142.3018	101.9899	96.3481	195.3594
y-kesişim	-0.0027	0.0037	0.0085	0.0032
y-kesişim SS	0.0071	0.0051	0.0048	0.0098
% 95 CI	±452.81	±324.54	±306.58	±421.98
r	0.9999	0.9999	0.9999	0.9988
r ²	0.9997	0.9999	0.9999	0.9977

Doğrusallık eşitliğinin hesaplanması için, OCR'nin konsantrasyon değerlerine karşı, üç serinin ortalama PN oranları kullanılmıştır (**Şekil 20**).



Şekil 20. Eusolex® OCR'nin doğrusallık eşitliği ve grafiği

Doğruluk

Doğruluk çalışması için, çalışma aralığı içinde üç farklı konsantrasyonda (yaklaşık 3x10⁻⁵, 4x10⁻⁵ ve 5x10⁻⁵ M) OCR içeren örnekler hazırlanmıştır. Yöntem iyi geri kazanım sonuçları göstermiştir (**Çizelge 21**).

Çizelge 21. Doğruluk çalışması için hazırlanan seriler ve % geri kazanım sonuçları (n=6)

OCR (M)	Ortalama PN Oranı	Geri Kazanım (M)	% Ortalama	SH	BSS
3.01x10 ⁻⁵	0.4415	3.02x10 ⁻⁵	100.21	0.30	0.74
4.06x10 ⁻⁵	0.5915	4.05x10 ⁻⁵	99.64	0.34	0.84
4.97x10 ⁻⁵	0.7247	4.96x10 ⁻⁵	99.97	0.23	0.55

Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği ile ilgili terarlanabilirlik ve tekrar eldeedilebilirlik ölçütlerinin değerlendirildiği üç farklı konsantrasyonda (düşük, orta ve yüksek) yapılan ölçümlerde, % varyans katsayıları % 2'nin altında ise kullanılan yöntemin kesinliği kanıtlanmış denebilir. Tekrarlanabilirlik ve tekrar eldeedilebilirlik test sonuçlarına göre, yöntemin kesinliği istenilen aralıklar içinde bulunmuştur (Çizelge 22-Çizelge24).

Çizelge 22. Gün-içi doğruluk ve kesinlik sonuçları (n=6)

OCR (M)	Ortalama PN Oranı	Geri Kazanım (M)	% Ortalama	SH	% VK
1.50×10^{-5}	0.2229	1.51×10^{-5}	100.47	0.25	0.60
4.51×10^{-5}	0.6562	4.49×10^{-5}	99.54	0.23	0.55
7.52×10^{-5}	1.0991	7.54×10^{-5}	100.22	0.26	0.65

Çizelge 23. Günler-arası doğruluk ve kesinlik sonuçları (n=6)

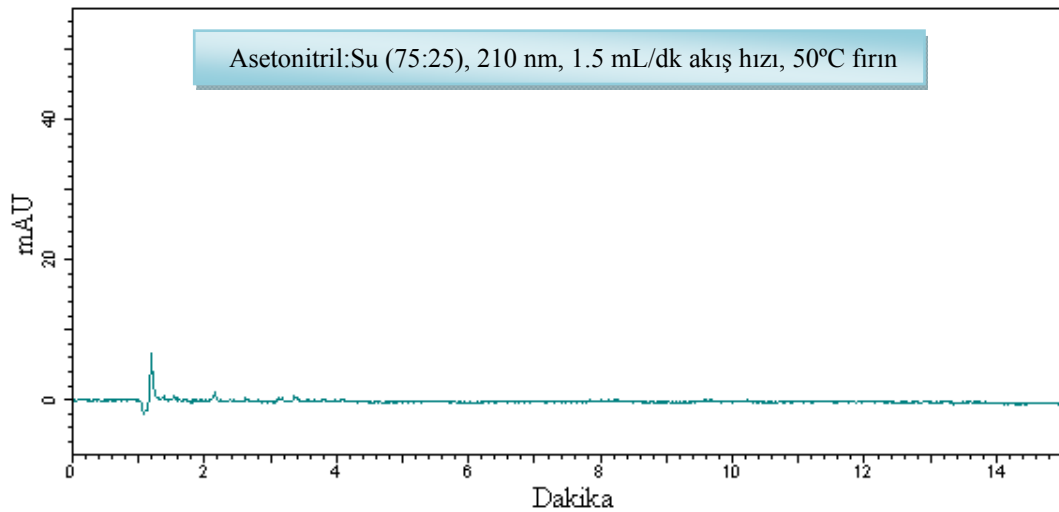
OCR (M)	Ortalama PN Oranı	Geri Kazanım (M)	% Ortalama	SH	% VK
1.50×10^{-5}	0.2212	1.50×10^{-5}	99.68	0.34	0.84
4.51×10^{-5}	0.6574	4.50×10^{-5}	99.71	0.33	0.81
7.52×10^{-5}	1.0972	7.53×10^{-5}	100.05	0.20	0.49

Çizelge 24. Tek konsantrasyonda gün-içi ve günler-arası (pool-days) kesinlik sonuçları

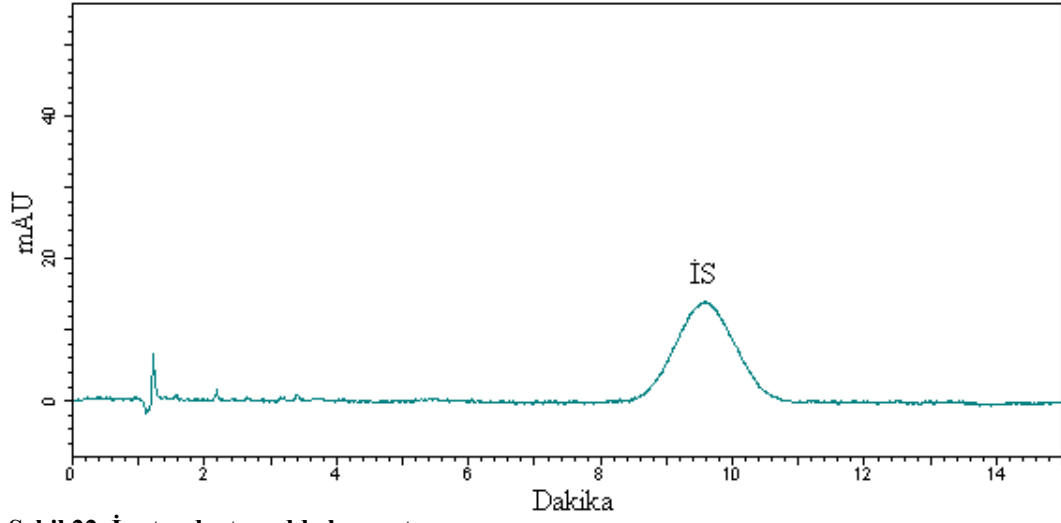
4×10^{-5} M	Gün-içi (n=6)			Günler-arası Ortalama (n=18)
	1. Gün	2. Gün	3. Gün	
Ortalama PN Oranı	0.6420	0.6668	0.6738	0.6608
BSS	0.5507	1.1331	1.0660	2.3108
SH	0.0014	0.0031	0.0029	0.0036
% 95 CI	± 0.0037	± 0.0079	± 0.0075	± 0.0076

Seçicilik

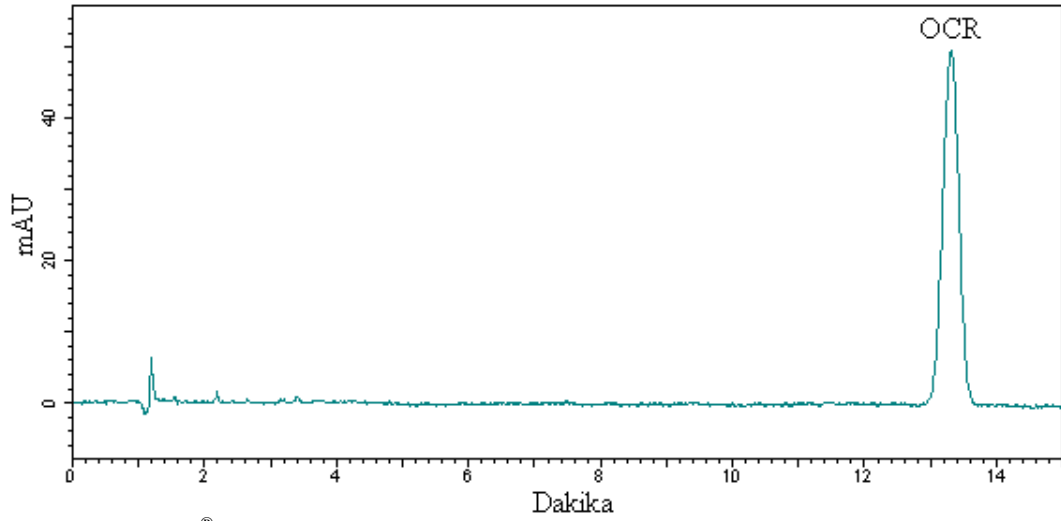
Seçicilik çalışması için hareketli faz, İS, OCR standartı ve formülasyonlardan elde edilen kromatogramlar Şekil 21-Şekil 25'te verilmiştir.



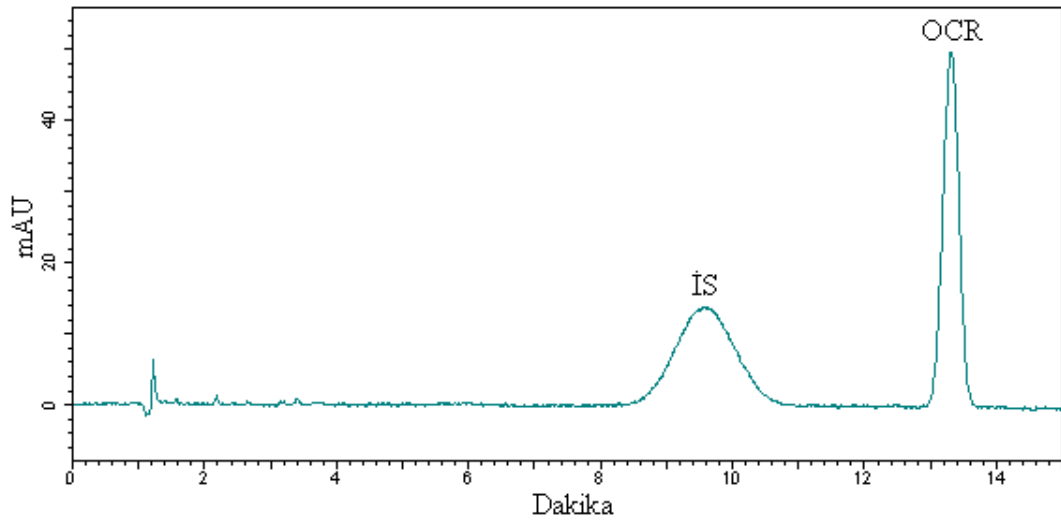
Şekil 21. Hareketli faz kromatogramı



Şekil 22. İç standart madde kromatogramı

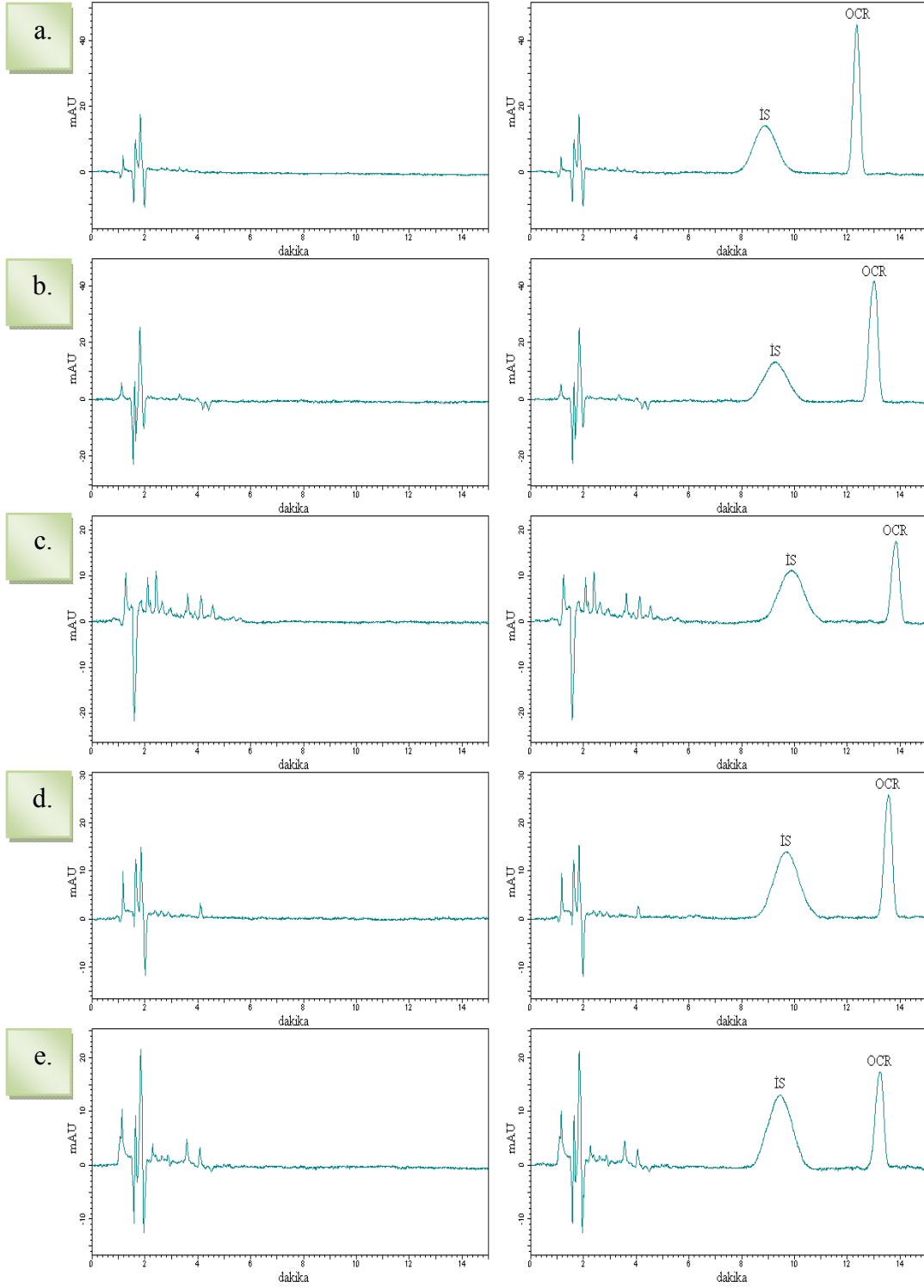


Şekil 23. Eusolex® OCR kromatogramı



Şekil 24. İç standart madde ve Eusolex® OCR kromatogramı

Elde edilen kromatogramlar, OCR ve İS piklerinin birbirlerinden iyi bir biçimde ayrıldığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre, yöntem seçicidir denilmiştir.



Şekil 25. Hazırlanan formülasyonlar için seçicilik çalışması

- a. Etkin maddesiz ve OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonu**
- b. Etkin maddesiz ve OCR içeren krem formülasyonu**
- c. Etkin maddesiz ve OCR içeren SLN formülasyonu (serbest OCR)**
- d. Etkin maddesiz ve OCR içeren SLN formülasyonu (serbest + tutunmuş OCR)**
- e. Etkin maddesiz ve OCR içeren SLN formülasyonu (serbest + tutunmuş + hapsedilmiş OCR)**

Duyarlılık

Kullanılan analitik yöntemlerin düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneği olan duyarlılık çalışmasında, LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır.

Saptama Sınırı

LOD, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$LOD = \frac{3.3\sigma}{S} \quad \text{(Eşitlik 2)}$$

σ = cevabın standart sapması

S = kalibrasyon eğrisinin eğimi

OCR ve İS içeren örneklerle kalibrasyon eğrisi çıkarılmıştır. σ (standart sapma) olarak, regresyon doğrusunun y-kesişim değerlerinin standart sapması kullanılmıştır.

$$LOD = \frac{3.3\sigma}{S} = \frac{3.3 \times 0.007102274}{14298.21} = 1.64 \times 10^{-6}M$$

Miktar Tayini Sınırı

LOQ, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır;

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S} \quad \text{(Eşitlik 3)}$$

σ = cevabın standart sapması

S = kalibrasyon eğrisinin eğimi

OCR) ve İS içeren örneklerle kalibrasyon eğrisi çıkarılmıştır. σ (standart sapma) olarak, regresyon doğrusunun y-kesişim değerlerinin standart sapması kullanılmıştır.

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S} = \frac{10 \times 0.007102274}{14298.21} = 4.97 \times 10^{-6}M$$

$1.64 \times 10^{-6} M$ ve $4.97 \times 10^{-6} M$ konsantrasyonlar, LOD ve LOQ değerleri için yüksektir. Bunun nedenleri:

- PDA dedektör kullanılması,
- Organik çözücü içeriğinin yüksek olması ve kısmi UV-*cutoff* etkisi,
- İS ve etkin maddeyi aynı anda yakalamak için λ_{maks} 'ta çalışılmamasıdır.

Yöntemin duyarlılığı için kabul edilebilir doğruluk ve kesinlikte ölçülebilen en düşük konsantrasyon $2.5 \times 10^{-5} M$ olarak belirlenmiştir. Hesaplanan LOD ve LOQ bu değerin çok altındadır ve yöntemin duyarlılığının uygunluğunu göstermektedir.

Çalışma Aralığı

Doğrusallık için, 1.5×10^{-5} - $7.5 \times 10^{-5} M$ konsantrasyon aralığında hazırlanan kalibrasyon setleri ile çalışılmış ve doğrusal eşitlik oluşturulmuştur. Yöntem için uygulanan çalışma konsantrasyonu, 2.5×10^{-5} - $5.5 \times 10^{-5} M$ aralığında tutulmuştur.

Bu yöntemde kullanılan çalışma aralığı, hazırlanan formülasyonlardaki etkin madde konsantrasyonlarının, yaklaşık olarak % 60-135'i kadardır.

Sağlamlık/Tutarlılık (Robustness)

Yöntem parametrelerinin çeşitliliği denenerek, yöntemin güvenilir olduğu gösterilmiştir.

Hareketli Faz

Hareketli faz olarak, metanol:asetonitril:su, metanol:asetonitril ve asetonitril:su değişik oranlarda denenmiştir. Etkin madde ve İS piklerinin birbirlerine yakınlıkları, ayrılmaları ve uygun alıkonma zamanları için hareketli fazda 75:25 asetonitril:su oranı kullanılmıştır.

Akış Hızı

Akış hızı, kolonun özelliklerine uygun olarak, 1-2 mL.dk⁻¹ aralığında denenmiştir. En uygun pik şekli ve alıkonma zamanı için 1.5 mL.dk⁻¹ akış hızında çalışılmasına karar verilmiştir.

Enjeksiyon Hacmi

Enjeksiyon hacmi, kolon koşullarına uygun olarak, 10-20 µL aralığında denenmiş ve yapılan bütün validasyon çalışmalarında akış hızı 20 µL olarak uygulanmıştır.

Çözücü *front*'u, yaklaşık 1.2 dakikada gelmiştir. Kolon hacmi, akış hızı ile çözücü *front*'unun çarpılmasıyla bulunmuştur.

$$\text{Kolon hacmi} = 1.5 \text{ mL.dk}^{-1} \times 1.2 \text{ dk} = 1.8 \text{ mL}$$

Enjeksiyon hacmi olarak, kolon hacminin % 1'i (18 µL) uygun görülmektedir.

Fırın Sıcaklığı

Fırın sıcaklığı, 25-60°C aralığında denenmiş ve İS olan Siklosporin A'nın pik simetrisinin, sıcaklık arttıkça düzeldiği gözlenmiştir. İS, oda sıcaklığında sisteme enjekte edildiğinde, pik tabanı çok genişlemiştir. Fırın sıcaklığı 60°C'a çıkarıldığında ise, OCR bozunma ürünleri vermeye başlamıştır. Ayrıca, sıcaklık artışından İS'nin alıkonma zamanı hiç etkilenmemiş ve hep aynı alıkonma zamanında pik vermiştir. OCR ise, sıcaklık artışı ile *start*'a yaklaşıp ve alıkonma zamanının azaldığı gözlenmiştir. Fırın için en uygun sıcaklık olarak 50°C belirlenmiş ve çalışmalar bu sıcaklıkta yapılmıştır.

Kolon

Kolon olarak, maddenin apolar yapısından dolayı, 4.6 x 250 mm, 5 µm C₁₈ ACE kolon tercih edilmiştir. Alıkonma zamanlarını azaltmak ve piklerin birbirinden ayrılmasını sağlamak için, ayrıca, kolon uzunluğu daha kısa ve daha az apolar olan 4.6 x 150 mm, 5 µm Zorbax Eclipse XDB- C₈ kolon ile de çalışmalar yapılmıştır. Sonuç olarak, 4.6 x 250 mm ACE kolon tercih edilerek, çalışmalarda bu kolon kullanılmıştır.

İç Standart Madde

İS olarak, siklosporin A, fenobarbital ve parasetamol gibi bazı maddeler denenmiştir. İS ile etkin maddenin piklerinin birbirlerine yakın olması, alıkonma zamanları ve ortak bir dalga boyunda ikisinin de pik vermesi incelenmiştir. Yapılan denemeler sonucunda, İS olarak, Siklosporin A'nın kullanılmasına karar verilmiştir.

Sistem Uygunluk Testi

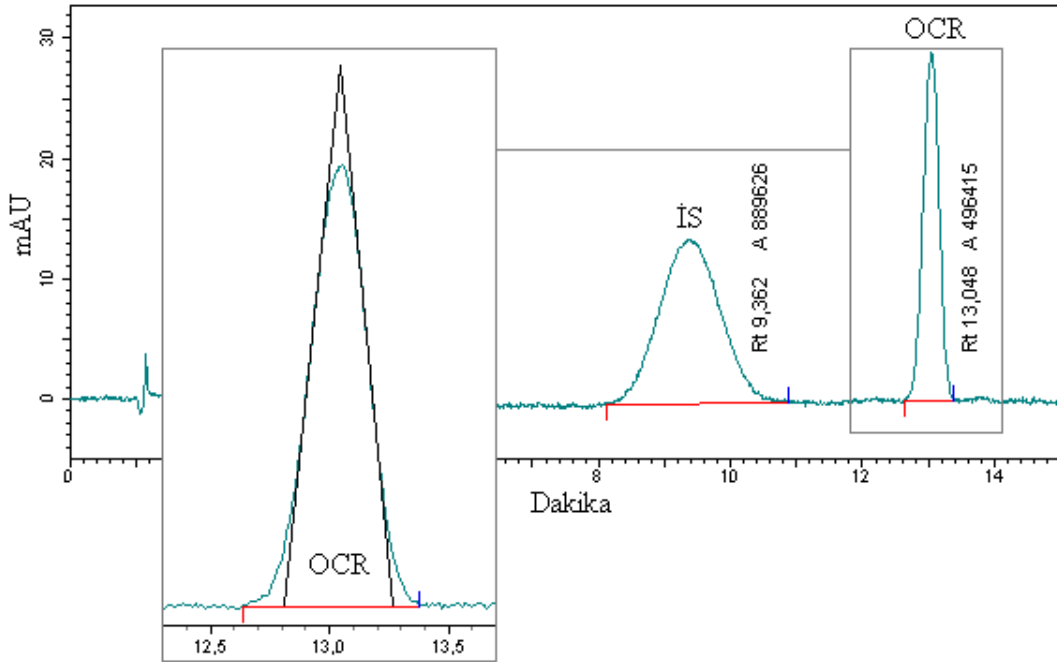
Sistem uygunluk testinin ekipman bilgileri için, HPLC cihazının parçaları, marka ve modelleri ile **Çizelge 25**'te verilmiştir. HPLC yöntem validasyonu ve miktar tayini işlemleri için, AÜBİBAM'da bulunan, Shimadzu marka cihaz kullanılmıştır. Cihaz kalibrasyonu en son, Ağustos 2005 tarihinde SEM firması tarafından yapılmıştır.

Çizelge 25. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazının parça, marka ve modelleri

Parçalar	Marka	Model
Degazer	Shimadzu	DGU-14 A
Pompa	Shimadzu	LC-10 AT VP
Sistem kontrol	Shimadzu	SCL-10 A VP
Otoenjeksiyon	Shimadzu	SIL-10 AD
Diode array dedektör	Shimadzu	SPD-MID A VP
Kolon fırını	Shimadzu	CTO-10 AC VP

Pik Morfolojisi

Yapılan analizlerden elde edilen kromatogramlardaki OCR ve İS'nin pik morfolojisi (**Şekil 26**), HPLC cihazının *software*'i kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 26. Eusolex® OCR içeren formülasyonun pik morfolojisi

USP tarafından tanımlanan ve hesaplamaları yapılan sistem uygunluk testi parametreleri **Çizelge 26**'da verilmiştir

Çizelge 26. Eusolex® OCR içeren formülasyonun pik morfolojisi sonuçları

Parametreler	İS	OCR
Asimetri Faktörü	1.05	0.96
Kapasite Faktörü	6.80	9.87
Pik alanının % BSS'sı	0.83	0.92
Teorik Tabaka Sayısı	12886.54	
Seçicilik Faktörü	1.440804	
Ayrım Gücü	16.03	

Optik Emisyon Spektroskopisi için Validasyon Çalışmaları

Zn miktar tayini çalışması için önceden kalibre edilmiş bir yöntem kullanılmıştır. Bu nedenle, validasyon çalışmasında sadece doğrusallık parametresi çalışılmış ve doğrusallık eşitliği hesaplanmıştır.

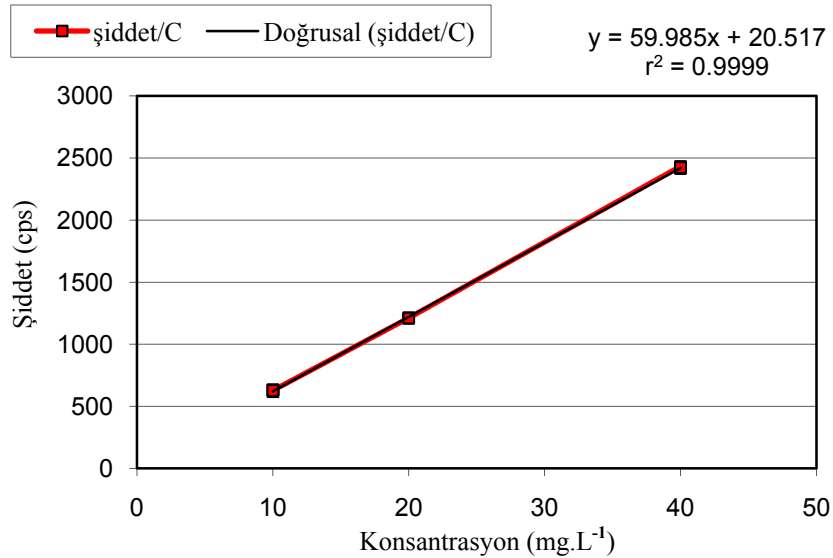
Doğrusallık

Kalibrasyon standartlarının hazırlanması, NIST SRM 3168'ün 1000 ppm'lik standart Zn çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. % 2'lik HCl çözeltisi kullanılarak 100 ppm'lik stok çözeltisi hazırlanmış; bu stok çözelti seyreltilerek 10, 20 ve 40 ppm'lik 3 farklı konsantrasyonda Zn standart çözeltisi ile kalibrasyon seti hazırlanmıştır (**Çizelge 27**).

Çizelge 27. Üç farklı konsantrasyonda çinko standart çözeltisi ile hazırlanan kalibrasyon seti

Zn (mg.L ⁻¹)	Ortalama Şiddet (n=3)	SH	BSS
10	627.0	5.3	1.5
20	1210.3	1.2	0.2
40	2423.2	5.3	0.4

206.200 nm'de ölçüm yapılarak, kalibrasyon setinin doğrusallık eşitliği ve grafiği çıkarılmıştır (**Şekil 27**). Deney, 3 farklı konsantrasyonda 3 tekrar ile yapılmıştır.



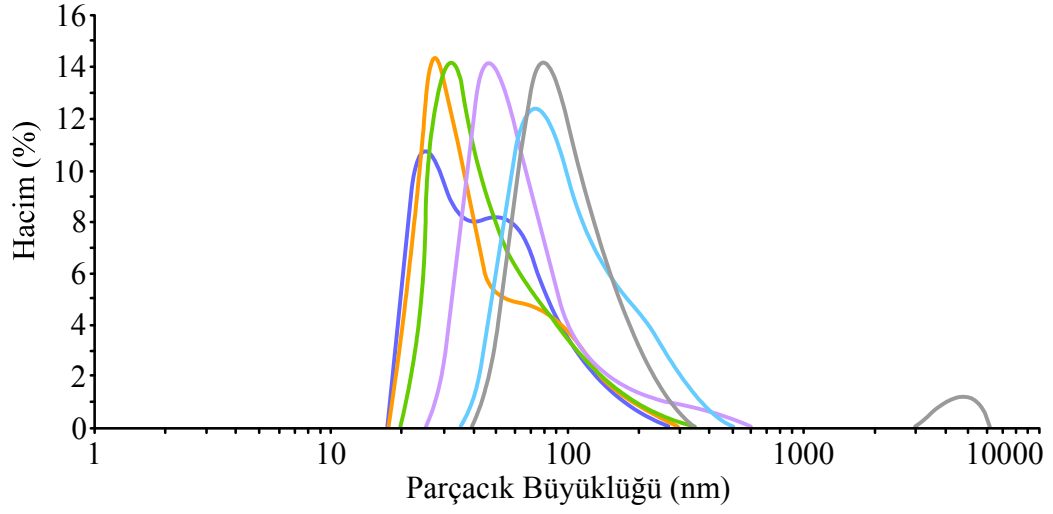
Şekil 27. Çinkonun doğrusallık eşitliği ve grafiği

Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları

Hazırlanan SLN sistemlerinin fiziksel özelliklerini incelemek için preparatlar 25°C, 4°C ve 40°C'lik ortamlara konulmuştur. Formülasyonların kararlılık testleri önceden belirlenen periyotlarda (15., 30., 90., 180. ve 360. günler) gerçekleştirilmiştir.

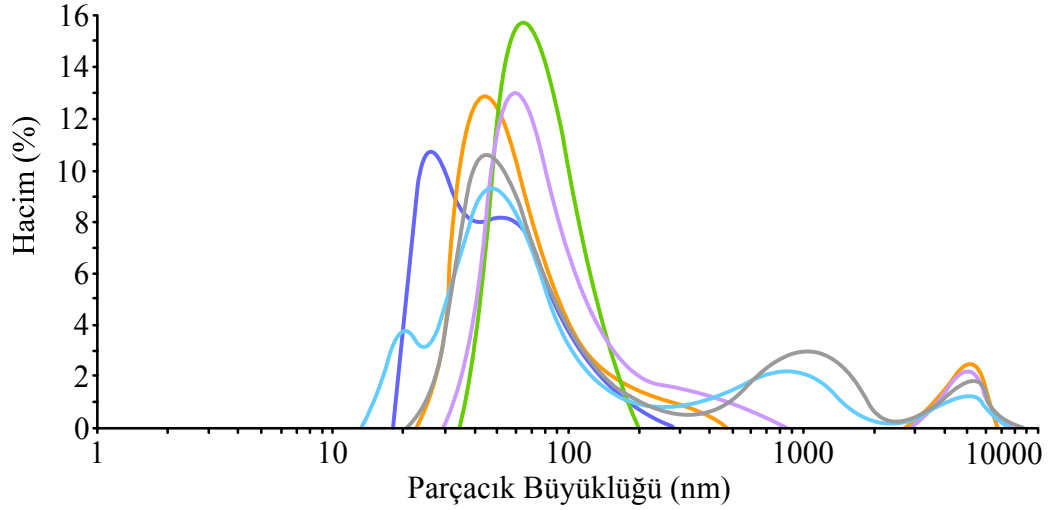
Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

25°C, 4°C ve 40°C'lik ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki ortalama parçacık büyüklüğü dağılımı ve polidisperslik indisi **Şekil 28-Şekil 33**'te sunulmuştur.



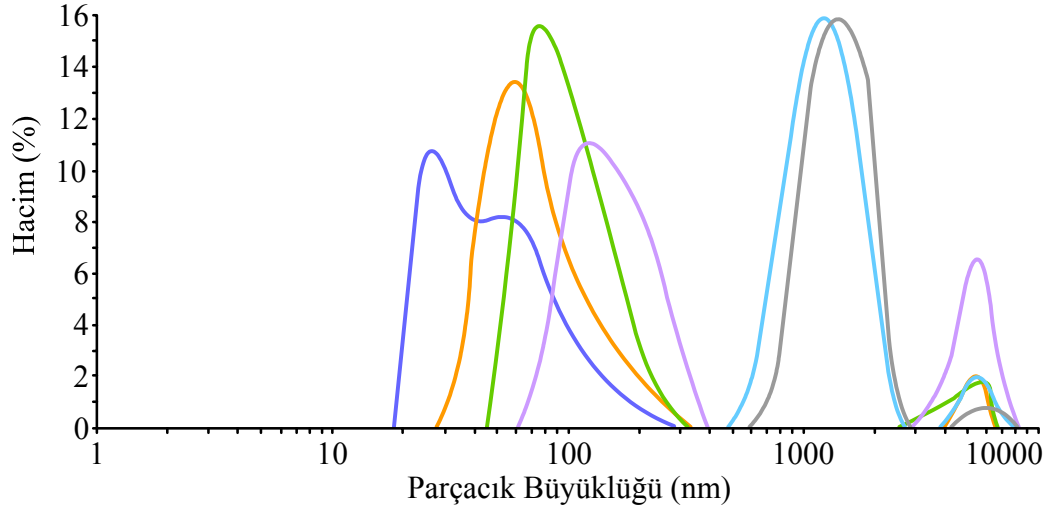
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
FSC25-T0	102 nm $\pm$ 1.410	0.366 $\pm$ 0.043
FSC25-T15	113 nm $\pm$ 1.020	0.415 $\pm$ 0.036
FSC25-T30	103 nm $\pm$ 1.262	0.310 $\pm$ 0.064
FSC25-T90	100 nm $\pm$ 0.956	0.232 $\pm$ 0.052
FSC25-T180	122 nm $\pm$ 1.197	0.157 $\pm$ 0.085
FSC25-T360	148 nm $\pm$ 1.119	0.149 $\pm$ 0.054

Şekil 28. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı



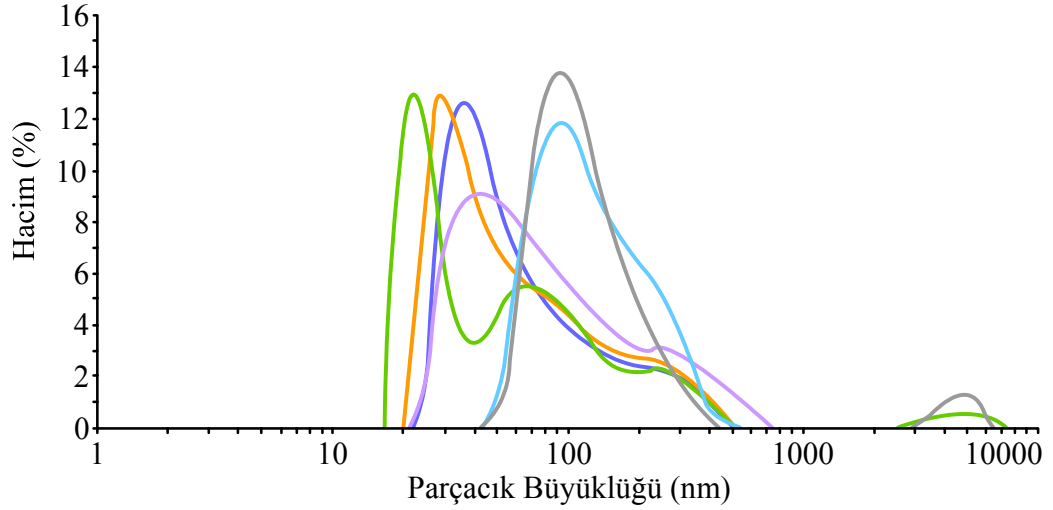
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
FSC4-T0	102 nm $\pm$ 1.410	0.366 $\pm$ 0.043
FSC4-T15	112 nm $\pm$ 1.404	0.342 $\pm$ 0.076
FSC4-T30	110 nm $\pm$ 0.970	0.350 $\pm$ 0.068
FSC4-T90	117 nm $\pm$ 1.118	0.442 $\pm$ 0.062
FSC4-T180	129 nm $\pm$ 0.999	0.421 $\pm$ 0.012
FSC4-T360	162 nm $\pm$ 1.045	0.529 $\pm$ 0.076

Şekil 29. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı



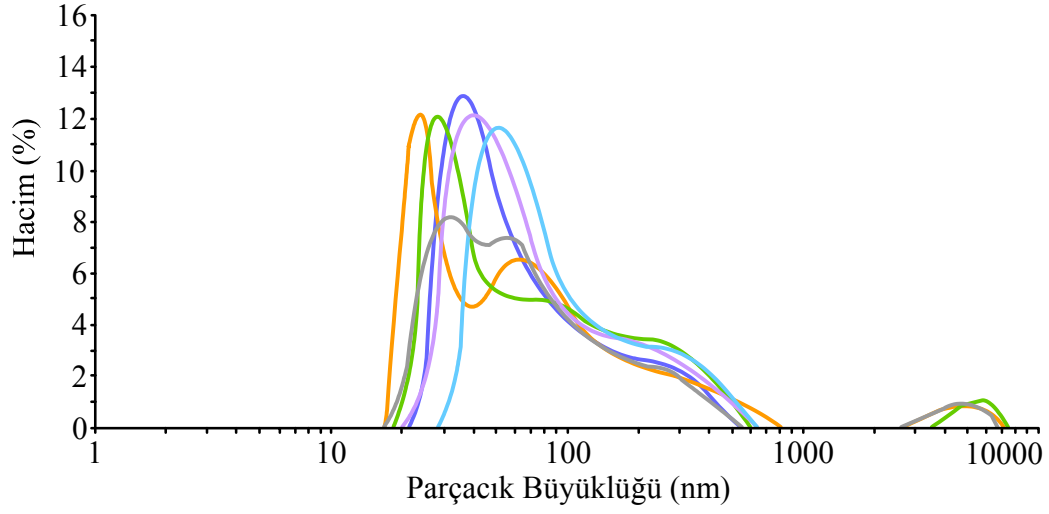
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
FSC40-T0	102 nm $\pm$ 1.410	0.366 $\pm$ 0.043
FSC40-T15	109 nm $\pm$ 1.064	0.279 $\pm$ 0.087
FSC40-T30	114 nm $\pm$ 1.355	0.202 $\pm$ 0.089
FSC40-T90	181 nm $\pm$ 1.118	0.339 $\pm$ 0.038
FSC40-T180	1370 nm $\pm$ 0.962	0.389 $\pm$ 0.076
FSC40-T360	1398 nm $\pm$ 1.014	0.985 $\pm$ 0.028

Şekil 30. Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı



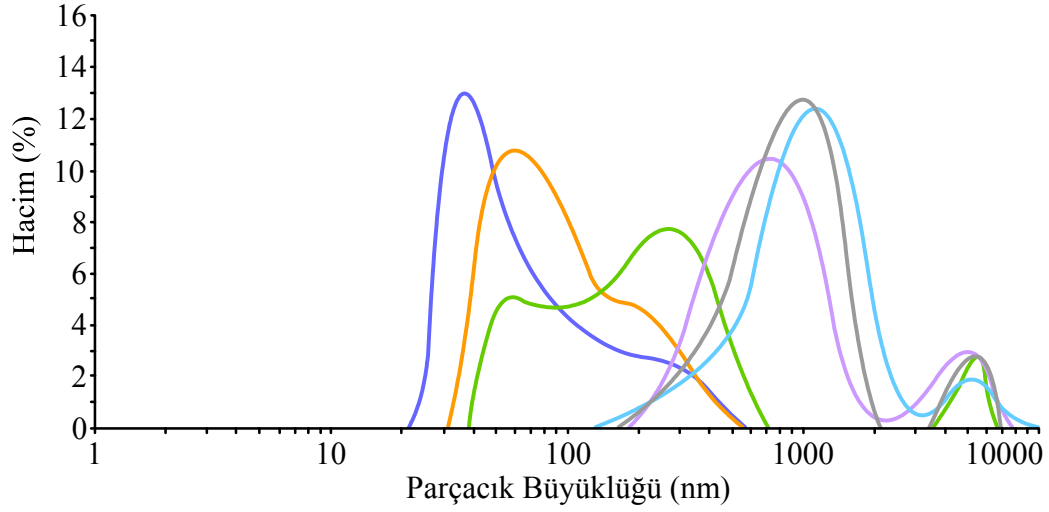
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
FSE25-T0	117 nm $\pm$ 1.469	0.243 $\pm$ 0.044
FSE25-T15	119 nm $\pm$ 1.191	0.241 $\pm$ 0.016
FSE25-T30	124 nm $\pm$ 0.848	0.248 $\pm$ 0.058
FSE25-T90	122 nm $\pm$ 1.254	0.224 $\pm$ 0.088
FSE25-T180	139 nm $\pm$ 0.860	0.145 $\pm$ 0.084
FSE25-T360	143 nm $\pm$ 1.404	0.168 $\pm$ 0.060

Şekil 31. Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı



(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
FSE4-T0	117 nm $\pm$ 1.469	0.243 $\pm$ 0.044
FSE4-T15	125 nm $\pm$ 1.153	0.257 $\pm$ 0.018
FSE4-T30	136 nm $\pm$ 1.415	0.305 $\pm$ 0.011
FSE4-T90	123 nm $\pm$ 1.099	0.251 $\pm$ 0.037
FSE4-T180	126 nm $\pm$ 1.062	0.264 $\pm$ 0.040
FSE4-T360	185 nm $\pm$ 0.816	0.279 $\pm$ 0.023

Şekil 32. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı



(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
FSE40-T0	117 nm $\pm$ 1.469	0.243 $\pm$ 0.044
FSE40-T15	127 nm $\pm$ 1.193	0.190 $\pm$ 0.017
FSE40-T30	194 nm $\pm$ 1.175	0.289 $\pm$ 0.032
FSE40-T90	517 nm $\pm$ 1.041	0.268 $\pm$ 0.013
FSE40-T180	681 nm $\pm$ 1.087	0.336 $\pm$ 0.078
FSE40-T360	698 nm $\pm$ 1.135	0.344 $\pm$ 0.059

Şekil 33. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı

Parçacık büyüklüğü ve büyüklük dağılımı, kolloidal taşıyıcı sistemlerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan en önemli verilerden birisidir. Özellikle süspansiyon ve emülsiyon gibi taşıyıcı sistemlerin, fiziksel kararlılık ve etkinlik açısından başarılı formülasyonu, ürünün partikül büyüklüğüne bağlıdır (Takka ve ark., 2007).

Saklama koşulları ve jelleşme arasındaki ilişkiyi incelemek için gerçekleştirilen bir çalışmada, sisteme yüksek sıcaklık, ışık veya kinetik enerji gibi herhangi bir enerji girişinin, jelleşme olasılığını arttırdığı saptanmıştır (Freitas ve ark., 1995).

OCR içeren SLN formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ortalama parçacık büyüklüğü 117 nm olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 143 nm, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 185 nm ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 698 nm'ye kadar artış göstermiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün parçacık büyüklüğü bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p \leq 0.01$), 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda da ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

ZnO içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ortalama parçacık büyüklüğü 102 nm olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 148 nm, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 162 nm ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 1398 nm'e kadar artış göstermiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün parçacık büyüklüğü bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p \leq 0.01$), 25°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda da ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının 360. Gün parçacık büyüklüğü bulgularının da istatistiksel karşılaştırılması yapılmış ve farklı ortamlar arasındaki parçacık büyüklüğü değişimlerinde de önemli fark olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

Hazırlanan formülasyonlarda parçacık büyüklüklerindeki artış, SLN'lerin 360. gün sonunda kararlılıklarının bozulması ve kararlılık ortamlarından etkilenecek farklı büyüklüklerde agregatların oluşması şeklinde yorumlanabilir.

Parçacık büyüklüğü dağılımı geniş olan sistemlerde, küçük parçacıkların yüzeyindeki serbest enerji, büyük parçacıklardan daha fazladır. Bu tür sistemlerde küçük parçacıklar kristallenerek, daha büyük parçacıklar oluşturur. Polimorfizm, kristal ve amorf yapının birlikte kullanılması, sıcaklık değişiklikleri, aşırı miktarda YEM kullanılması da kristal büyümenin nedenleri arasındadır (Takka ve ark., 2007).

Parçacık büyüklüğü dağılımını değerlendirmek için ayrıca 0-1 arasında değerler alan polidisperlik indisi verileri de kullanılmıştır (Schöler ve ark., 2001). Sıfıra yakın değerlerin homojen dağılımı gösterdiği polidisperlik indisi verileri değerlendirildiğinde, formülasyonların yaklaşık 0.300 gibi düşük değerler alarak homojen bir dağılıma sahip olduğu gösterilmiştir.

Zeta potansiyel

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki zeta potansiyelleri ve elektriksel iletkenlikleri **Çizelge 28** ve **Çizelge 29**'da sunulmuştur.

Çizelge 28. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlik değerleri

	Zeta Potansiyel (mV)			İletkenlik (mS.cm ⁻¹)		
	Ortalama (n=3)	BSS	SH	Ortalama (n=3)	BSS	SH
FSC25-T0	-21.23	0.27	0.03	0.05	7.06	0.00
FSC25-T15	-32.73	4.90	0.93	0.07	1.81	0.00
FSC25-T30	-29.23	2.40	0.41	0.09	3.45	0.00
FSC25-T90	-23.40	2.14	0.29	0.09	2.92	0.00
FSC25-T180	-18.43	1.37	0.15	0.07	4.28	0.00
FSC25-T360	-18.03	0.64	0.07	0.07	1.71	0.00
FSC4-T0	-21.23	0.27	0.03	0.05	7.06	0.00
FSC4-T15	-19.17	2.35	0.26	0.05	6.37	0.00
FSC4-T30	-26.67	2.81	0.43	0.07	2.83	0.00
FSC4-T90	-26.67	4.01	0.62	0.07	4.60	0.00
FSC4-T180	-23.13	1.09	0.15	0.07	0.76	0.00
FSC4-T360	-19.57	1.06	0.12	0.05	3.36	0.00
FSC40-T0	-21.23	0.27	0.03	0.05	7.06	0.00
FSC40-T15	-9.62	2.98	0.17	0.06	3.15	0.00
FSC40-T30	-23.33	3.22	0.43	0.06	5.20	0.00
FSC40-T90	-27.33	1.65	0.26	0.07	3.31	0.00
FSC40-T180	-19.40	2.58	0.29	0.07	5.82	0.00
FSC40-T360	-18.57	1.36	0.15	0.05	1.64	0.00

Çizelge 29. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlik değerleri

	Zeta Potansiyel (mV)			İletkenlik (mS.cm ⁻¹)		
	Ortalama (n=3)	BSS	SH	Ortalama (n=3)	BSS	SH
FSE25-T0	-7.50	3.25	0.14	0.06	6.69	0.00
FSE25-T15	-31.30	0.85	0.15	0.07	4.97	0.00
FSE25-T30	-21.50	9.50	1.18	0.06	6.25	0.00
FSE25-T90	-24.63	0.62	0.09	0.06	5.24	0.00
FSE25-T180	-23.93	3.40	0.47	0.06	3.25	0.00
FSE25-T360	-21.43	1.43	0.18	0.05	1.10	0.00
FSE4-T0	-7.50	3.25	0.14	0.06	6.69	0.00
FSE4-T15	-25.93	3.78	0.57	0.06	3.48	0.00
FSE4-T30	-29.70	8.27	1.42	0.07	5.50	0.00
FSE4-T90	-22.77	2.17	0.28	0.06	4.63	0.00
FSE4-T180	-19.90	4.38	0.50	0.05	2.28	0.00
FSE4-T360	-24.50	1.47	0.21	0.06	0.68	0.00
FSE40-T0	-7.50	3.25	0.14	0.06	6.69	0.00
FSE40-T15	-26.50	2.85	0.44	0.07	4.32	0.00
FSE40-T30	-23.23	4.14	0.55	0.07	4.25	0.00
FSE40-T90	-19.37	0.60	0.07	0.08	0.63	0.00
FSE40-T180	-12.73	0.91	0.07	0.12	1.68	0.00
FSE40-T360	-14.23	2.47	0.20	0.12	0.86	0.00

Kolloidal parçacıklar dispersiyon ortamında iyon absorbe ederler. Pozitif ve negatif olarak yüklenirler. Zeta potansiyel, parçacığın yüzeyi üzerindeki net etkili yükü gösterir (Çelebi, 2007).

SLN'lerin zeta potansiyelinin ölçümü, kolloidal dispersiyonlarda saklama dayanıklılığı hakkında bilgi vermektedir (Kaş, 2004). Genel olarak yüksek zeta potansiyeline sahip sistemlerde agregatların oluşması daha zordur (Müller ve ark., 2000).

Elektriksel iletkenlikleri, -31 ile -60 mV aralığındaki formülasyonlar orta dereceli, -61 ile -80 mV aralığındaki formülasyonlar iyi ve -81 ile -100 mV aralığındaki formülasyonlar da mükemmel elektrostatik kararlılığa sahip sistemler olarak tanımlanmaktadır (Müller ve Heinemann, 1993).

OCR içeren formülasyonların 0. zaman ölçümlerinde ortalama zeta potansiyel -7.70 mV olarak bulunmuştur. 360. gün sonunda bu değer 25°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -21 ile -31 mV, 4°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -20 ile -30 mV ve 40°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -13 ile -26 mV aralığında gözlenmiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün zeta potansiyel bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

OCR içeren formülasyonların iletkenlikleri incelendiğinde ise, 360. gün sonunda önemli bir değişim görülmemiştir ($p > 0.05$).

ZnO içeren formülasyonların 0. zaman ölçümlerinde ortalama zeta potansiyel -21 mV olarak bulunmuştur. 360. gün sonunda, bu değer, 25°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -18 ile -33 mV, 4°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -19 ile -27 mV ve 40°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için de -10 ile -27 mV aralığında gözlenmiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün zeta potansiyel bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda çok önemli fark ($p \leq 0.01$), 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda da ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

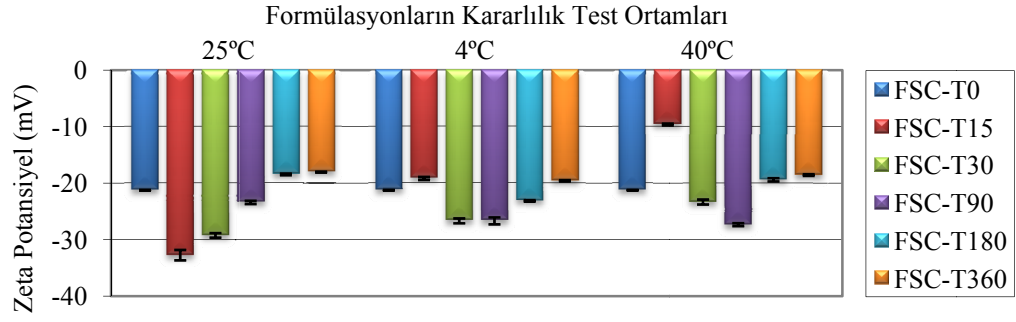
ZnO içeren formülasyonların iletkenlikleri incelendiğinde ise, 360. gün sonunda önemli bir değişim görülmemiştir ($p > 0.05$).

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının 360. gün zeta potansiyel bulgularının da istatistiksel karşılaştırılması yapılmış ve farklı ortamlar arasındaki zeta potansiyel değişimlerinde de önemli fark olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

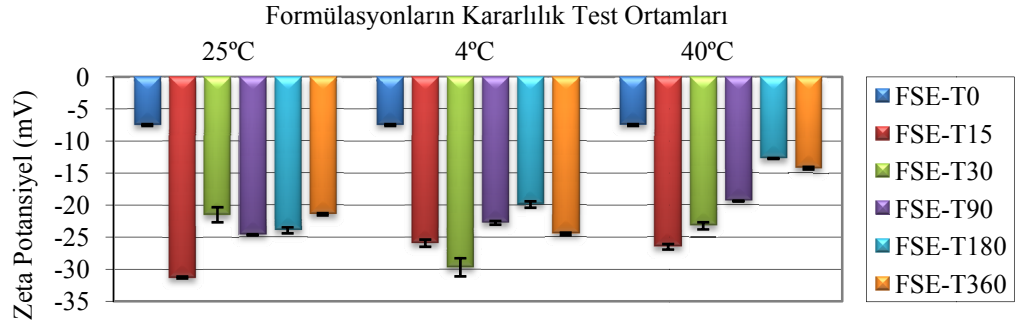
360. gün sonunda, sadece, ZnO içeren formülasyonlardan 25°C-40°C ve 4°C-40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların zeta potansiyelleri arasında fark görülmemiştir ($p > 0.05$).

Saklama süresi boyunca zeta potansiyel değerlerinde görülen değişikliklerden dolayı, formülasyonların 360. gün ölçümlerinde kararlı bir yapıda kaldığı söylenemez.

ZnO ve OCR içeren SLN formülasyonlarının zeta potansiyel değerleri, karşılaştırmalı olarak **Şekil 34-Şekil 37**'de gösterilmiştir.

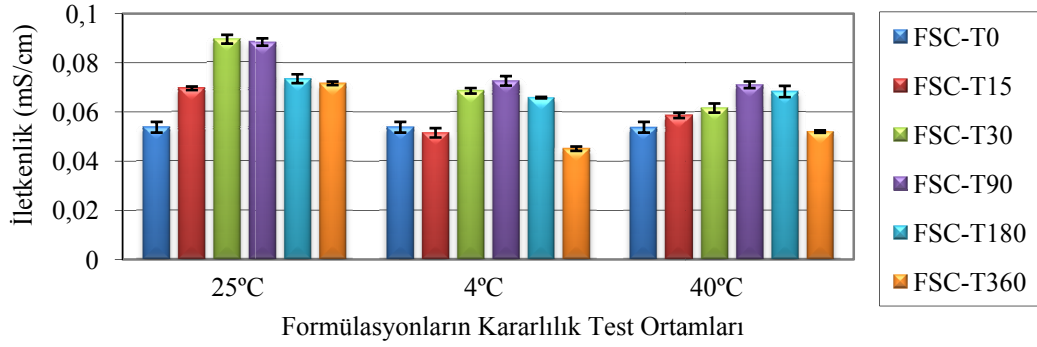


Şekil 34. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri

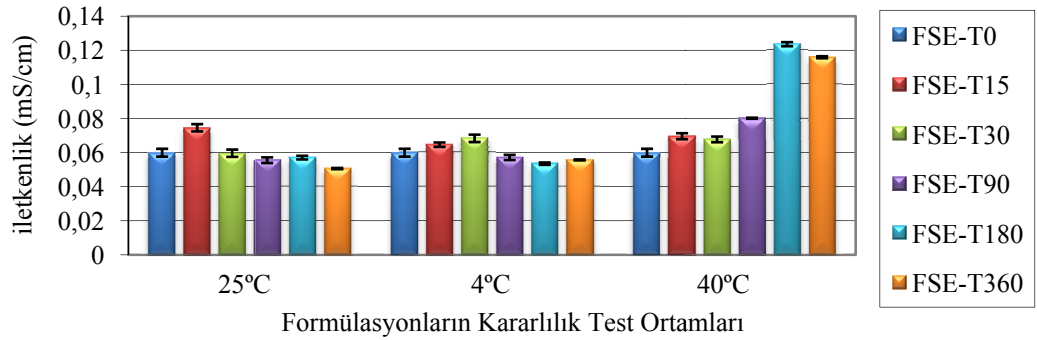


Şekil 35. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri

ZnO ve OCR içeren SLN formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri, karşılaştırmalı olarak Şekil 35 ve Şekil 36'da gösterilmiştir.



Şekil 36. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri



Şekil 37. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri

pH Ölçümü

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki pH değerleri **Çizelge 30** ve **Çizelge 31**'de sunulmuştur.

Çizelge 30. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının pH değerleri

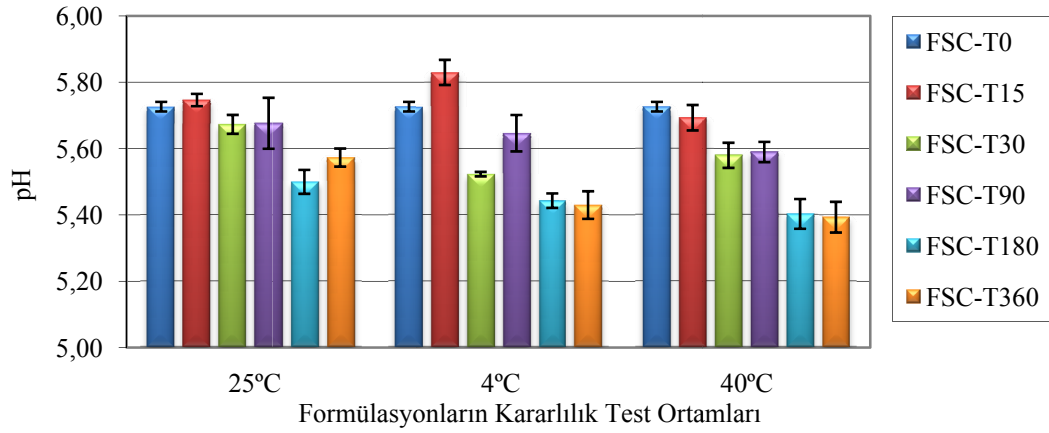
	Ortalama (n=3)	BSS	SH
FSC25-T0	5.73	0.44	0.01
FSC25-T15	5.75	0.56	0.02
FSC25-T30	5.67	0.87	0.03
FSC25-T90	5.68	0.13	0.08
FSC25-T180	5.50	2.35	0.04
FSC25-T360	5.57	0.85	0.03
FSC4-T0	5.73	0.44	0.01
FSC4-T15	5.83	1.13	0.04
FSC4-T30	5.52	0.21	0.01
FSC4-T90	5.65	1.68	0.05
FSC4-T180	5.44	0.70	0.02
FSC4-T360	5.43	1.33	0.04
FSC40-T0	5.73	0.44	0.01
FSC40-T15	5.69	1.17	0.04
FSC40-T30	5.58	1.18	0.04
FSC40-T90	5.59	0.95	0.03
FSC40-T180	5.40	1.44	0.04
FSC40-T360	5.39	1.49	0.05

Çizelge 31. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının pH değerleri

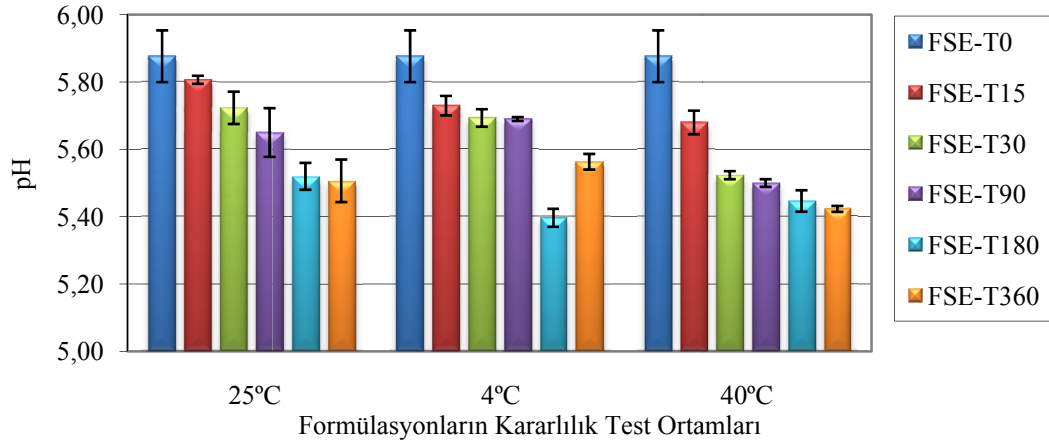
	Ortalama (n=3)	BSS	SH
FSE25-T0	5.88	2.27	0.08
FSE25-T15	5.81	0.36	0.01
FSE25-T30	5.72	1.46	0.05
FSE25-T90	5.65	2.22	0.07
FSE25-T180	5.52	1.26	0.04
FSE25-T360	5.51	1.99	0.06
FSE4-T0	5.88	2.27	0.08
FSE4-T15	5.73	0.87	0.03
FSE4-T30	5.69	0.79	0.03
FSE4-T90	5.69	0.18	0.01
FSE4-T180	5.40	0.86	0.03
FSE4-T360	5.56	0.73	0.02
FSE40-T0	5.88	2.27	0.08
FSE40-T15	5.68	1.07	0.04
FSE40-T30	5.52	0.38	0.01
FSE40-T90	5.50	0.36	0.01
FSE40-T180	5.45	1.01	0.03
FSE40-T360	5.42	0.28	0.01

Formülasyonlardaki pH değişikliğinin, tampon sisteminin yetersiz oluşu, parçacıkların yüzey yüklerinin değişmesi, etkin maddenin bozunması ve mikrobiyolojik üremeden kaynaklandığı düşünülebilir (Acartürk, 2007).

ZnO ve OCR içeren SLN formülasyonlarının pH değerlerindeki değişim, karşılaştırmalı olarak Şekil 38 ve Şekil 39’da gösterilmiştir.



Şekil 38. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama pH değerleri



Şekil 39. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının ortalama pH değerleri

OCR içeren formülasyonların 0. zaman ölçümlerinde, ortalama pH 5.9 olarak bulunmuş; 360. gün sonunda bu değer ortalama pH 5.4 seviyesine düşmüştür. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün pH ölçüm bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C ve 4°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda fark görülmemiş ($p>0.05$), 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonda da önemli fark ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

ZnO içeren formülasyonların 0. zaman ölçümlerinde ise, ortalama pH 5.7 olarak bulunmuş; 360. gün sonunda bu değer de ortalama pH 5.4 seviyesine düşmüştür. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün pH ölçüm bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda önemli fark ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının 360. gün pH ölçüm bulgularının da istatistiksel karşılaştırılması yapılmış ve farklı ortamlar arasındaki pH değişimlerinde fark olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). 360. gün sonunda, sadece, OCR içeren formülasyonlardan 4°C-40°C’lık ortamda bekletilen formülasyonun pH’sında önemli fark olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Saklama süresi boyunca pH değerlerinde büyük değişiklikler olmadığı saptanmış ve buna bağlı olarak elde edilen bulgular, formülasyonların kararlı oldukları şeklinde yorumlanmıştır.

Reolojik Analiz

Hazırlanan SLN süspansiyonları, homojenizasyon işleminden sonra su ile çok seyrelmiş ve akışkanlıkları artmıştır. Değişik kayma hızlarına karşı koni üzerinde oluşan kayma gerilimi ve viskozite incelenmiştir. Ölçümler 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiş, çapı 1.2 cm olan koninin açısı 1.565°'ye ayarlanmıştır.

SLN süspansiyonlarının reolojik analizleri, koni-plak viskozimetresi ile mantıklı sonuçlar vermemiş ve inceleme yapılamamıştır.

Sedimentasyon

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde çökme olup olmadığı santrifüj kullanılarak görsel olarak değerlendirilmiş ve hiçbir formülasyonda çökme görülmemiştir.

Fiziksel Görünüş

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki fiziksel görünüşleri görsel olarak incelenmiştir.

25°C ve 4°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda herhangi bir değişiklik gözlenmemiş; ancak, 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonların 360. gün ölçümünde jelleşme görülmüştür. Bu durum, ortam sıcaklığından dolayı formülasyonun kararlılığının bozulduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Morfolojik İnceleme

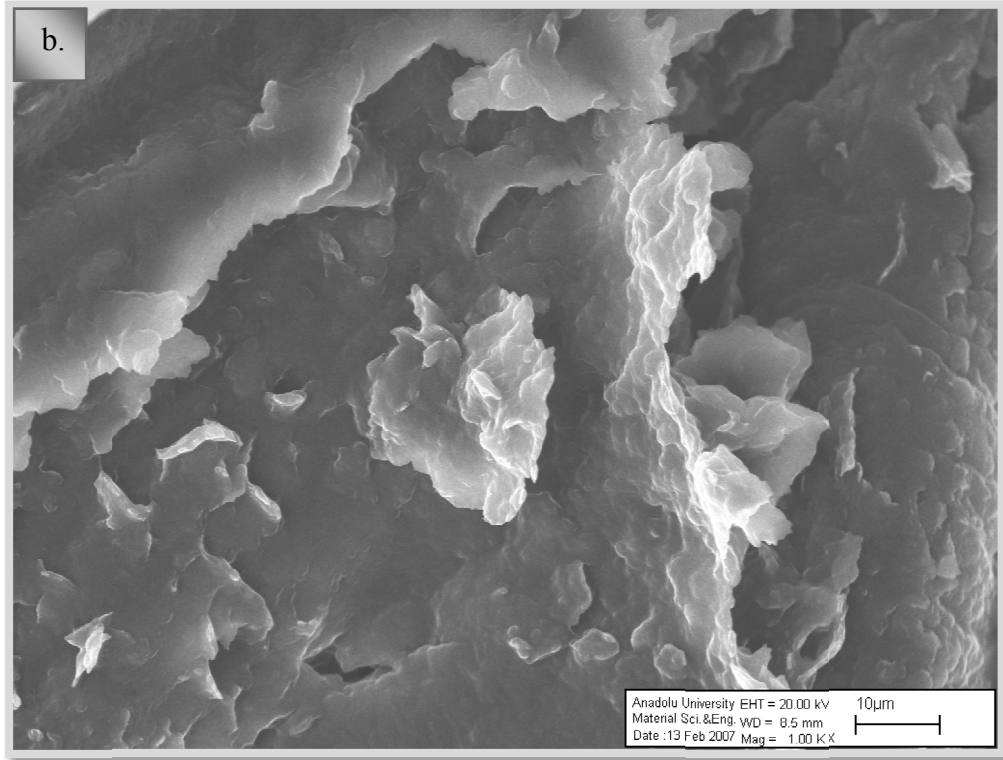
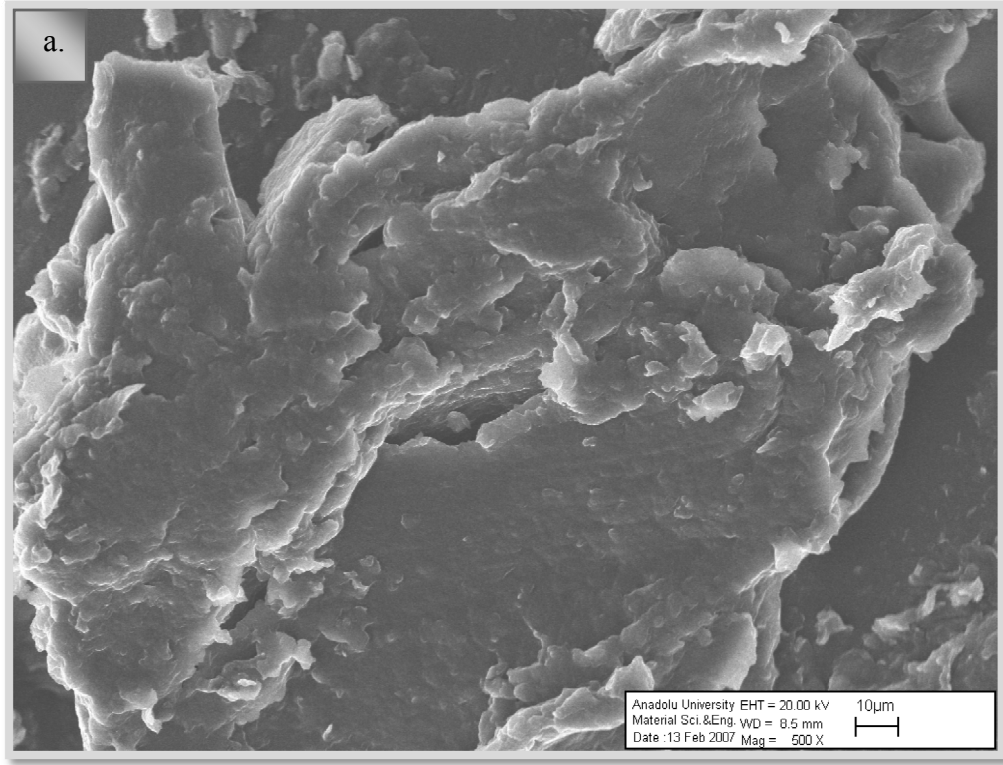
SLN süspansiyonlarının morfolojik incelemesi için Nikon Eclipse E4000 ışık mikroskobu ile ön çalışmalar yapılmış; görüntü elde edilemiş ve taramalı elektron mikroskobu kullanılmasına karar verilmiştir.

Hazırlanan SLN süspansiyonlarının morfolojik incelemesi 0. zaman ve 360. günlerde taramalı elektron mikroskobu ile yapılmış ve elde edilen görüntüler **Şekil 40-Şekil 44**'te sunulmuştur.

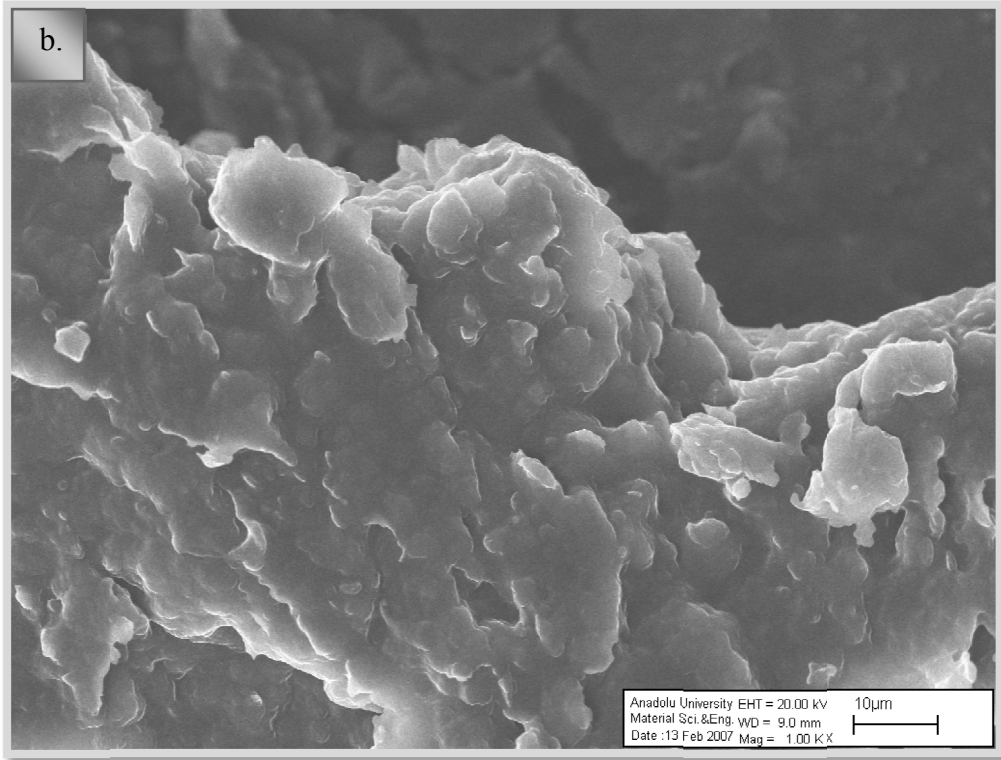
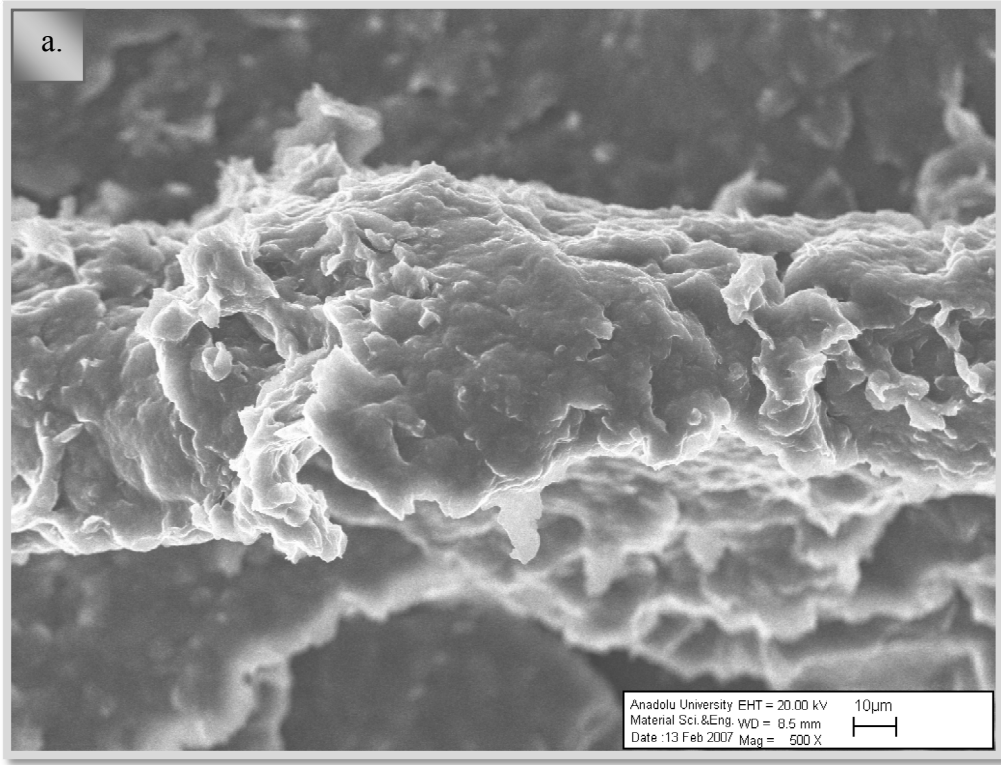
Uygulanan yöntemde iyi bir ayırma gücü için 20.00 kV voltajda çalışılmış, x500 ve x1000 büyütmelemlerde incelemeler yapılmıştır. Elektronlara uygulanan voltajdan dolayı, inceleme sırasında mikroskobun içinde sıcaklık artışı olmuştur. Bu durum nedeniyle, formülasyonlarda kullanılan katı lipitin inceleme sırasında eridiği görülmüş ve parçacık büyüklüğü dağılımı bulguları ile uyumlu görüntüler elde edilememiştir.

SLN'ler için, farklı literatürlerde, farklı parçacık şekilleri görülmüştür (Demirel ve ark., 2001; El-Gibaly ve Abdel-Ghaffar, 2005). Bazı literatürlerde oldukça küresel ve düzgün partiküller görülürken, bazılarında da çalışmamızda olduğu gibi düzensiz ve bozuk şekillere rastlanmaktadır (Wissing ve ark., 2004; Bodmeier ve ark., 1991). Literatürler incelendiğinde partikül şekline hazırlama yönteminin ve kullanılan taşıyıcı sistemin etkisi açıktır (Demirel ve ark., 2001).

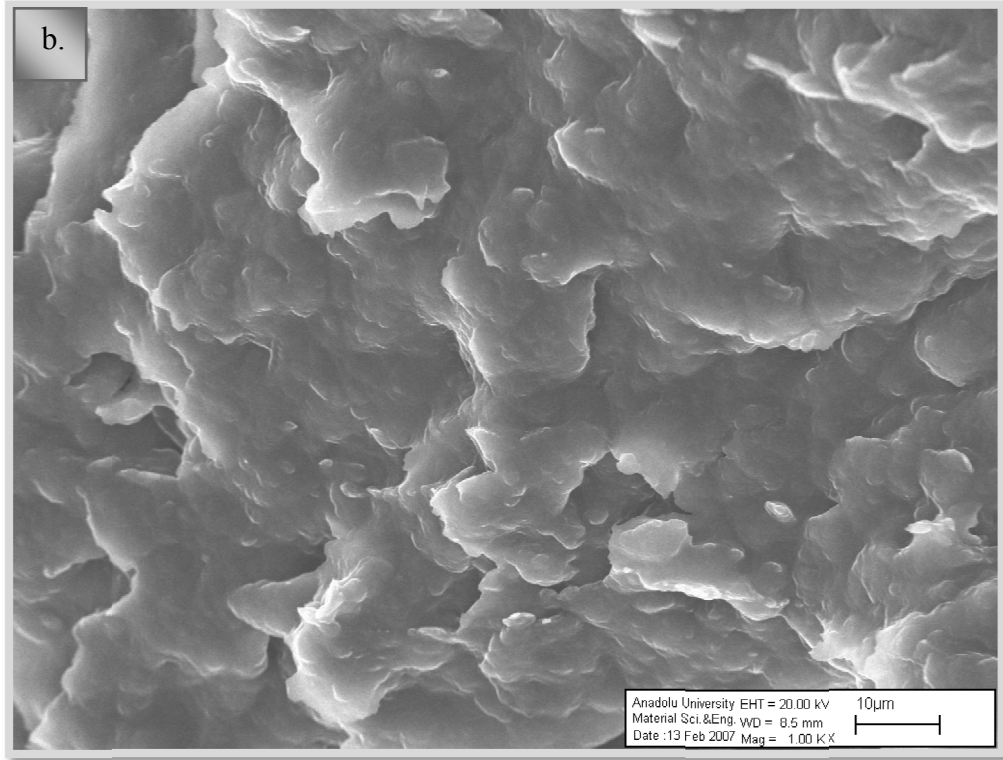
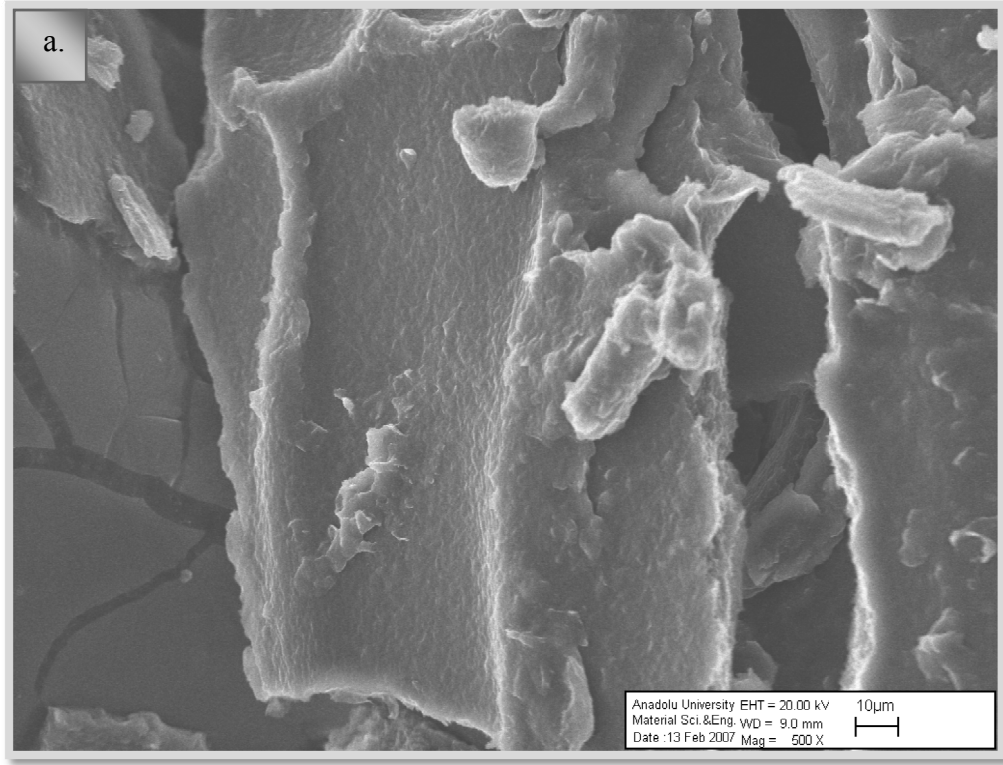
Tüm formülasyonlarda aynı katı lipid kullanıldığından taşıyıcı maddenin partikül şekli üzerine etkisi belirlenememiştir.



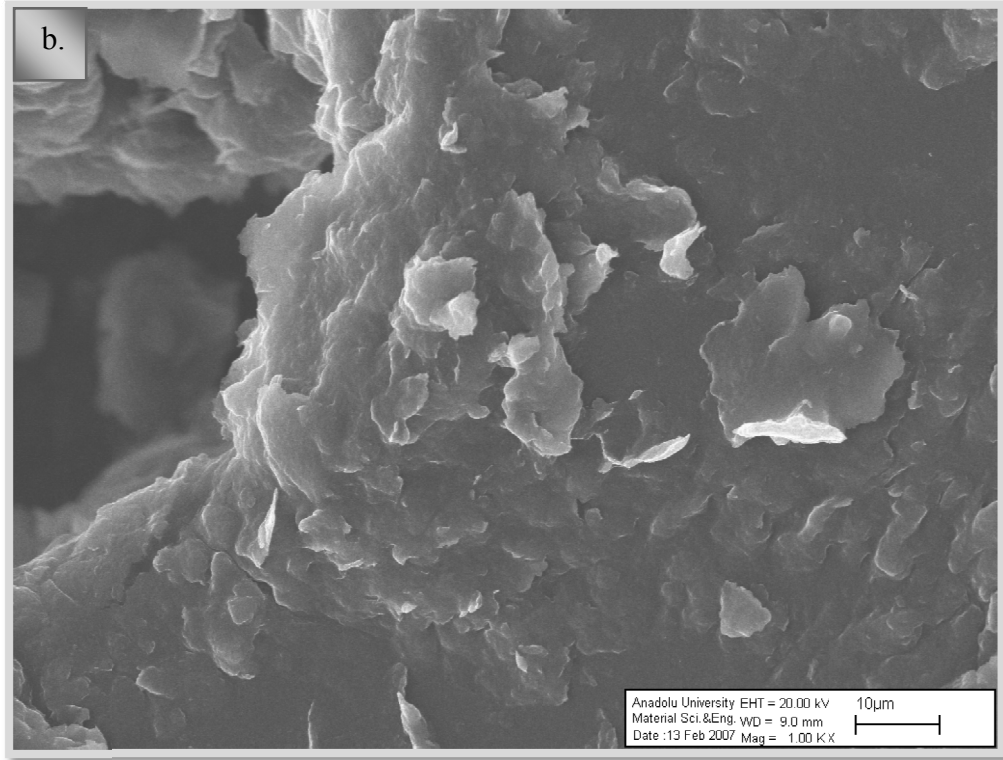
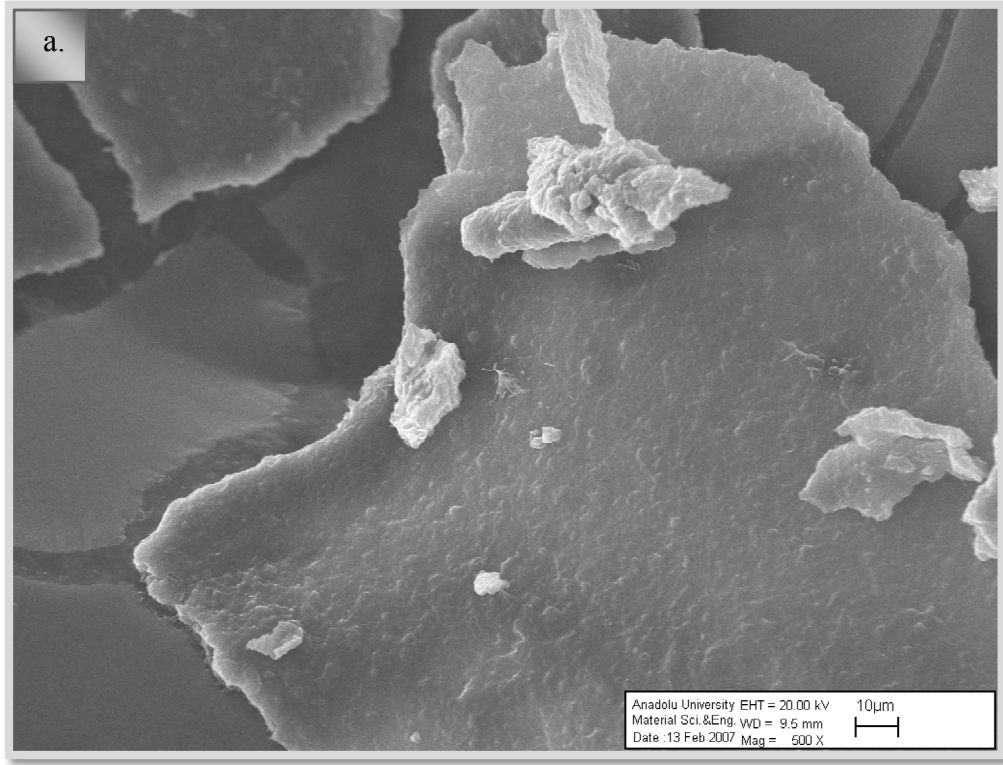
Şekil 40. Etkin madde içermeyen katı lipid nanopartikül formülasyonunun 0. zaman morfolojik incelemesi
a. 500x büyütme
b. 1000x büyütme



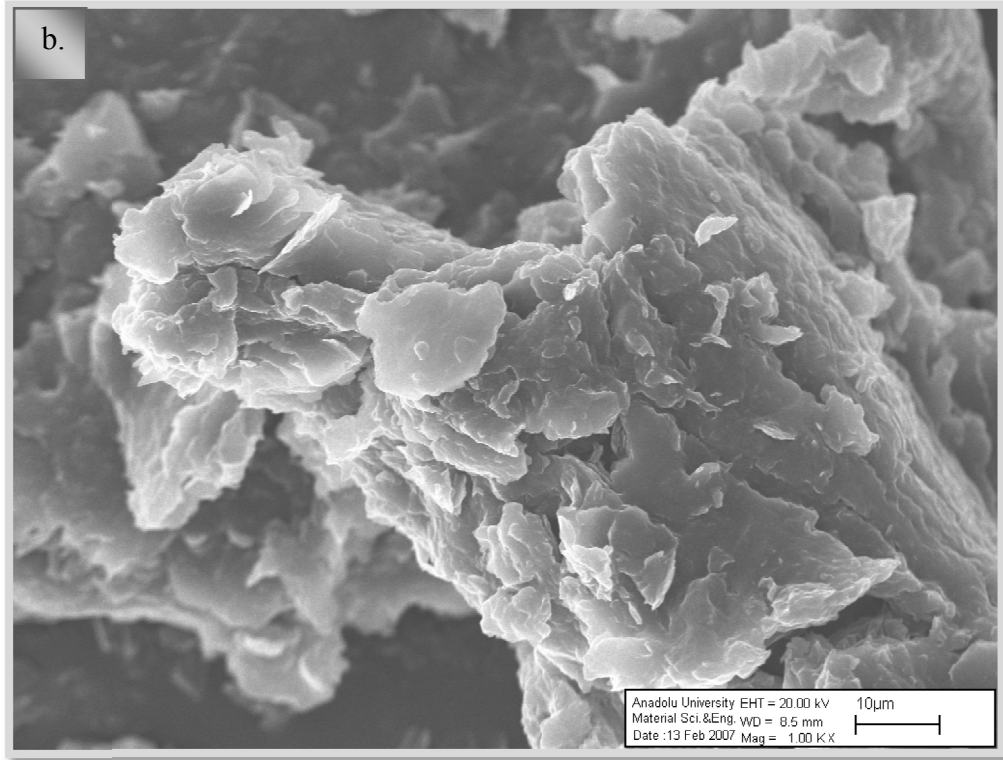
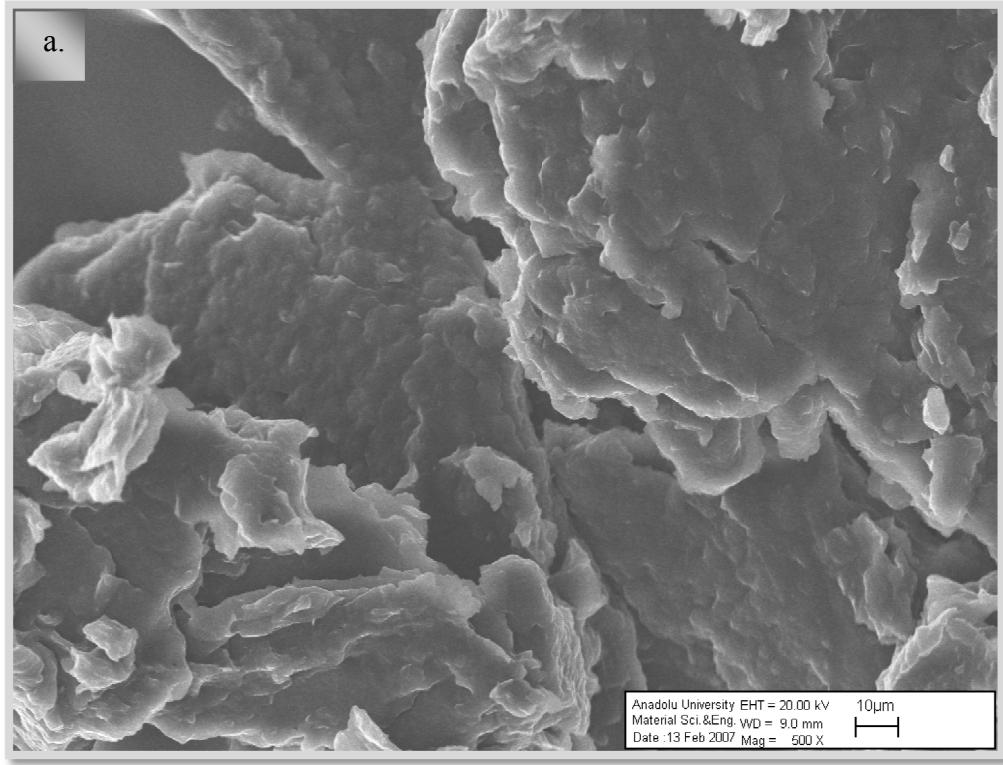
**Şekil 41. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonunun
0. zaman morfolojik incelemesi
a. 500x büyütme
b. 1000x büyütme**



Şekil 42. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonunun 0. zaman morfolojik incelemesi
a. 500x büyütme
b. 1000x büyütme



Şekil 43. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonunun 25°C sıcaklıkta 360. gün morfolojik incelemesi
a. 500x büyütme
b. 1000x büyütme



Şekil 44. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonunun 25°C sıcaklıkta 360. gün morfolojik incelemesi
a. 500x büyütme
b. 1000x büyütme

Termal Analiz

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki termal analizleri, DSC kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar **Çizelge 32** ve **Çizelge 33**'te sunulmuştur.

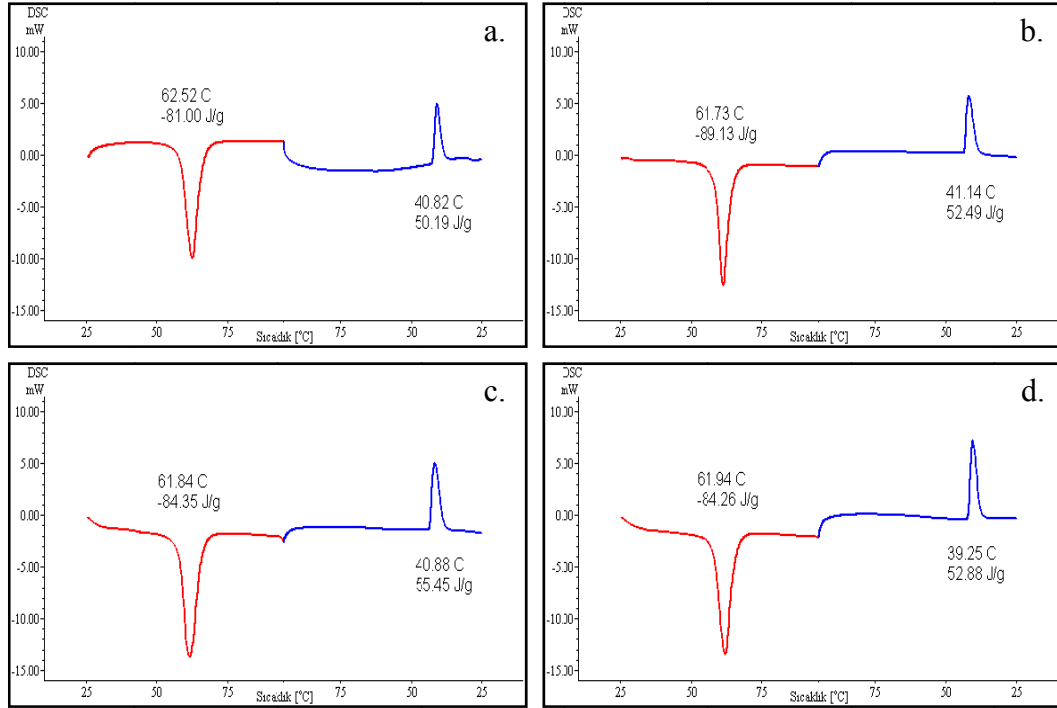
Çizelge 32. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının termal analizleri

	Erime		Donma	
	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)
FSC25-T0	62.52	-81.00	40.82	50.19
FSC25-T15	62.51	-76.32	40.83	47.00
FSC25-T30	62.76	-82.61	40.66	49.71
FSC25-T90	62.40	-81.56	40.68	50.28
FSC25-T180	61.85	-92.20	41.10	54.10
FSC25-T360	61.73	-89.13	41.14	52.49
FSC4-T0	62.52	-81.00	40.82	50.19
FSC4-T15	62.21	-82.40	40.98	49.92
FSC4-T30	61.82	-62.44	40.98	37.98
FSC4-T90	61.94	-80.97	40.94	47.56
FSC4-T180	62.35	-87.64	41.06	53.38
FSC4-T360	61.84	-84.35	40.88	55.45
FSC40-T0	62.52	-81.00	40.82	50.19
FSC40-T15	61.55	-83.74	39.65	52.64
FSC40-T30	61.77	-99.30	39.61	60.49
FSC40-T90	62.21	-89.10	39.39	54.01
FSC40-T180	61.85	-85.18	38.97	53.57
FSC40-T360	61.94	-84.26	39.25	52.88

Çizelge 33. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının termal analizleri

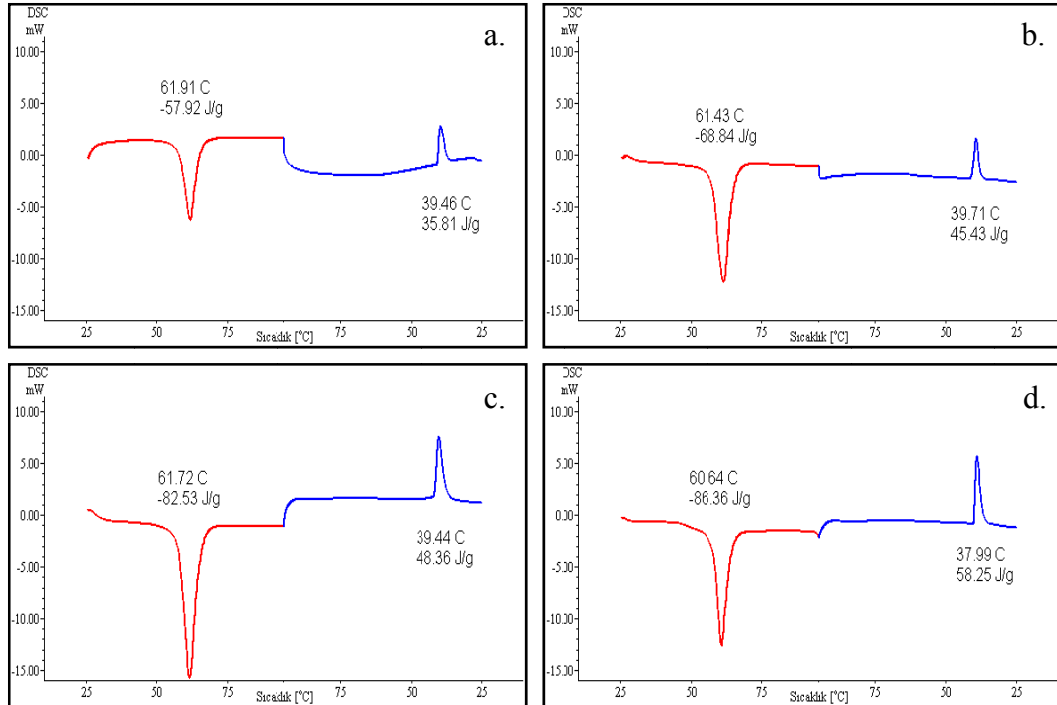
	Erime		Donma	
	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)
FSE25-T0	61.91	-57.92	39.46	35.81
FSE25-T15	60.94	-63.56	39.74	36.29
FSE25-T30	62.45	-75.78	39.09	46.72
FSE25-T90	61.42	-78.10	39.45	48.33
FSE25-T180	61.93	-75.82	39.35	46.97
FSE25-T360	61.43	-68.84	39.71	45.43
FSE4-T0	61.91	-57.92	39.46	35.81
FSE4-T15	61.87	-72.92	39.42	43.37
FSE4-T30	62.01	-88.68	39.47	51.55
FSE4-T90	61.42	-84.24	39.55	51.13
FSE4-T180	61.65	-81.74	39.76	46.31
FSE4-T360	61.72	-82.53	39.44	48.36
FSE40-T0	61.91	-57.92	39.46	35.81
FSE40-T15	60.62	-100.68	38.00	62.99
FSE40-T30	60.64	-87.91	38.09	57.28
FSE40-T90	61.06	-73.29	37.72	47.49
FSE40-T180	60.71	-82.27	38.05	51.55
FSE40-T360	60.64	-86.36	37.99	58.25

SLN formülasyonlarının termogramları ise karşılaştırmalı olarak **Şekil 45** ve **Şekil 46**'da gösterilmiştir.



Şekil 45. Çinko oksit içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının termal analizi

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 25°C
- c. 360. gün, 4°C
- d. 360. gün, 40°C



Şekil 46. Eusolex® OCR içeren katı lipit nanopartikül formülasyonlarının termal analizi

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 25°C
- c. 360. gün, 4°C
- d. 360. gün, 40°C

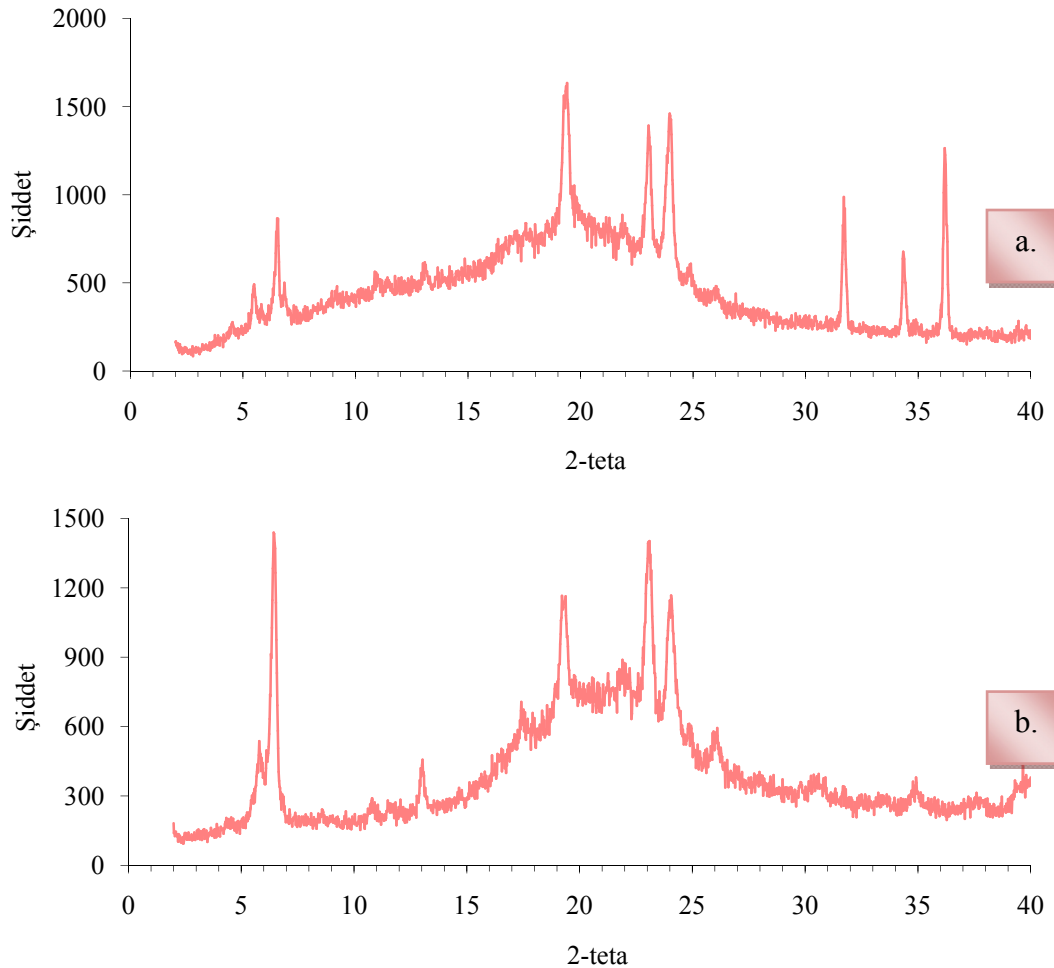
ZnO içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde erime derecesi 62.52°C olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 61.73°C, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 61.84°C ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 61.94°C olarak bulunmuştur.

OCR içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde erime derecesi 61.91°C olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 61.43°C, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 61.72°C ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 60.64°C olarak bulunmuştur.

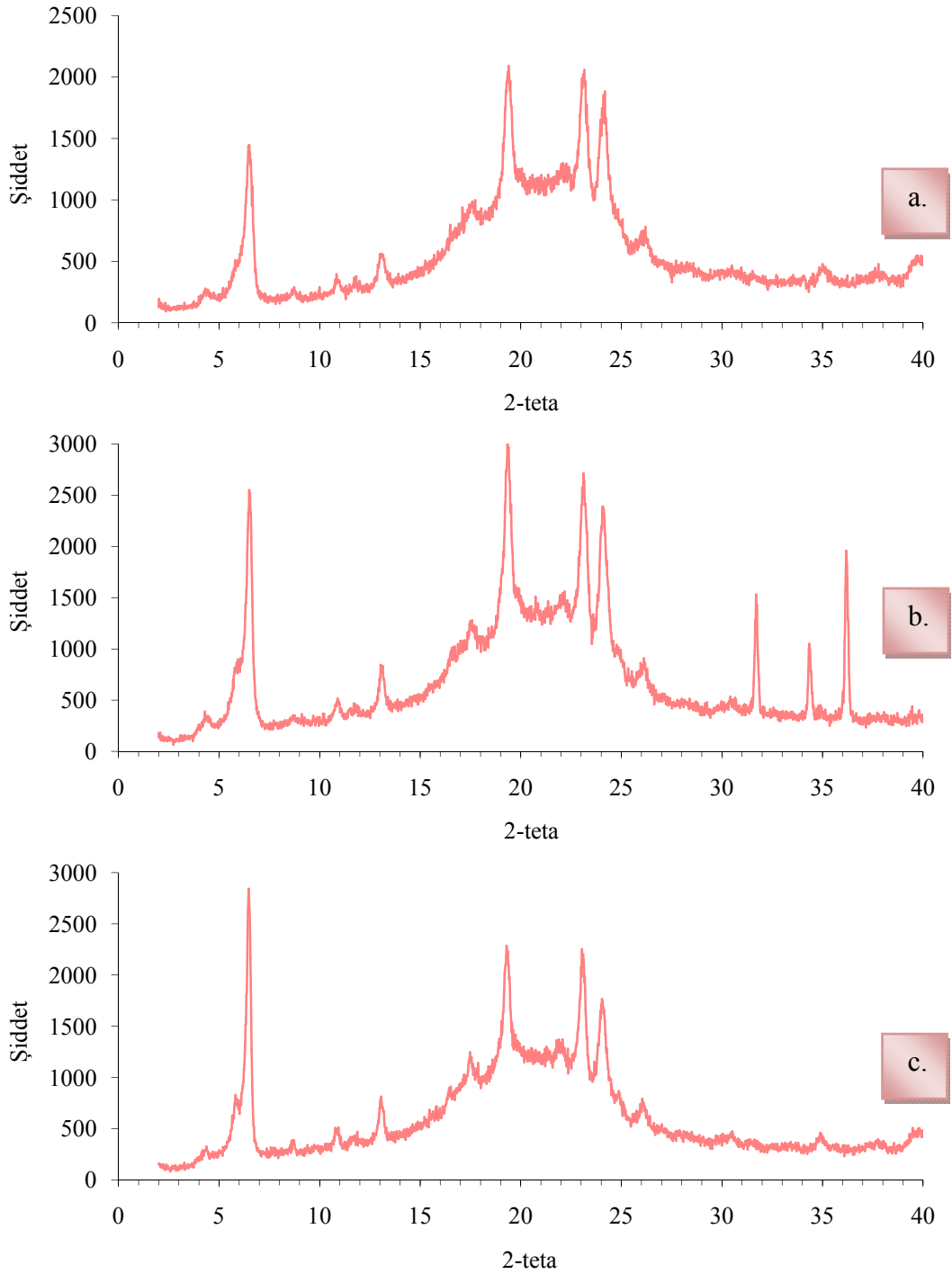
Formülasyonların termal analizlerinde tek ölçüm yapıldığı için, bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılamamış; ancak, erime ve donma pikleri incelendiğinde önemli bir değişimin olmadığı gözlenmiştir.

X-Işını Kırınım Analizi

Hazırlanan SLN süspansiyonlarının 0. zaman ve 360. gün X-ışını kırınım analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 47** ve **Şekil 48**'de sunulmuştur.



Şekil 47. 25°C sıcaklıktaki katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 360. gün X-ışını kırınım analizleri
a. ZnO içeren formülasyonu
b. OCR içeren formülasyonu



Şekil 48. Katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman X-ışını kırınım analizleri

a. Etkin madde içermeyen formülasyon

b. ZnO içeren formülasyon

c. OCR içeren formülasyon

OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Dynasan® 116'nın 18.95 (2θ) derecesinde karakteristik piki ve ZnO'nun 32, 34 ve 36 (2θ) derecelerinde üçlü pikleri bütün formülasyonlarda görülmüş, incelenen bantlarda bir kayma ya da bozunma gözlenmemiştir. OCR ise X-ışını kırınım analizinde sıvı yapısından dolayı pik vermemiştir. Hazırlanan formülasyonların 360.gün sonunda kararlı olduğu düşünülmüştür.

FT-IR Spektrumu

OCR içeren SLN formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinden elde edilen sonuçlar Şekil 49'da sunulmuştur.



Şekil 49. Eusolex® OCR'li katı lipid nanopartikül formülasyonlarının FT-IR spektrumları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

ZnO içeren SLN formülasyonların 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinden elde edilen sonuçlar Şekil 50’de sunulmuştur.



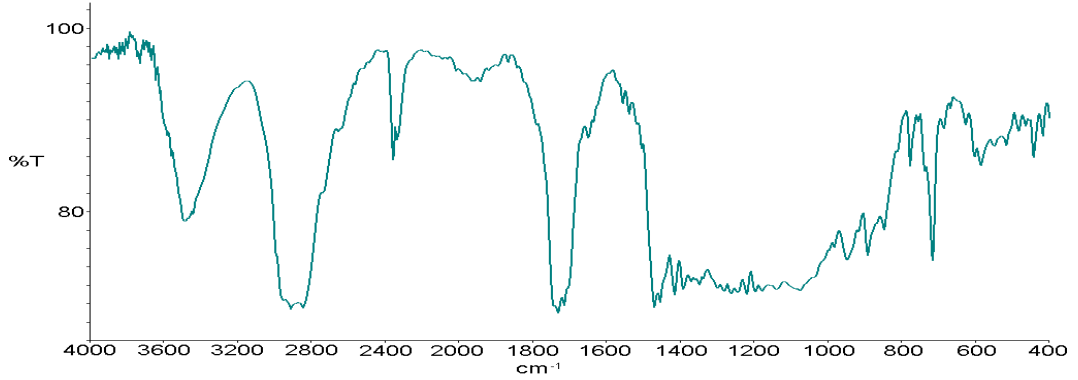
Şekil 50. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının FT-IR spektrumları

a. 0. zaman

b. 360. gün, 4°C

c. 360. gün, 25°C

d. 360. gün, 40°C



Şekil 51. Etkin madde içermeyen katı lipid nanopartikül formülasyonunun FT-IR spektrumu

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 360. gün FT-IR analizlerinde 400-4000 cm^{-1} arasında spektrumlar alınmış ve 0. zaman sonuçları, Dynasan® 116 ve OCR'nin spektrumları ile karşılaştırılmıştır.

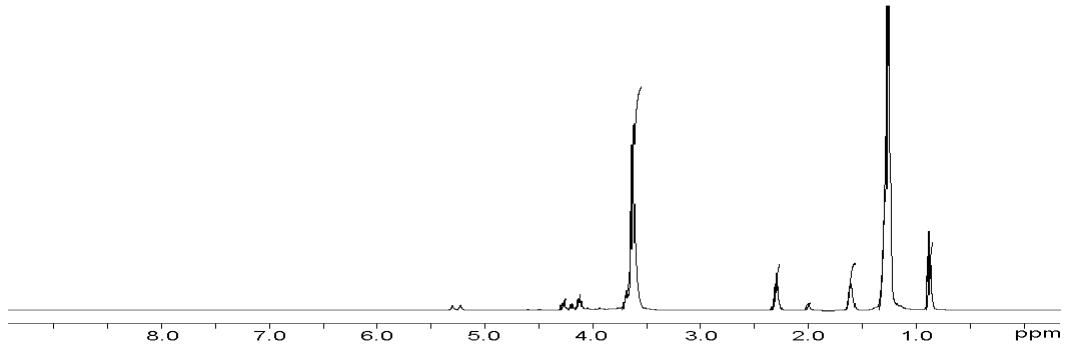
OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve incelenen bantlarda bir kayma ya da bozunma gözlenmemiştir.

Hazırlanan formülasyonların 360. gün sonunda kararlı olduğu bulunmuştur. Ancak, ZnO içeren SLN formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 360.gündeki FT-IR spektrumunda, kullanılan katı lipid için en karakteristik bant olan ve 1780 cm^{-1} 'de görülen esterin C=O bandının şiddeti, 0. zaman spektrumuna göre çok düşük bulunmuştur. Bu durum, Dynasan® 116'nin yapısındaki esterlin kopması sonucu asit karbonil gruplarının oluşması şeklinde yorumlanmıştır.

NMR Analizi

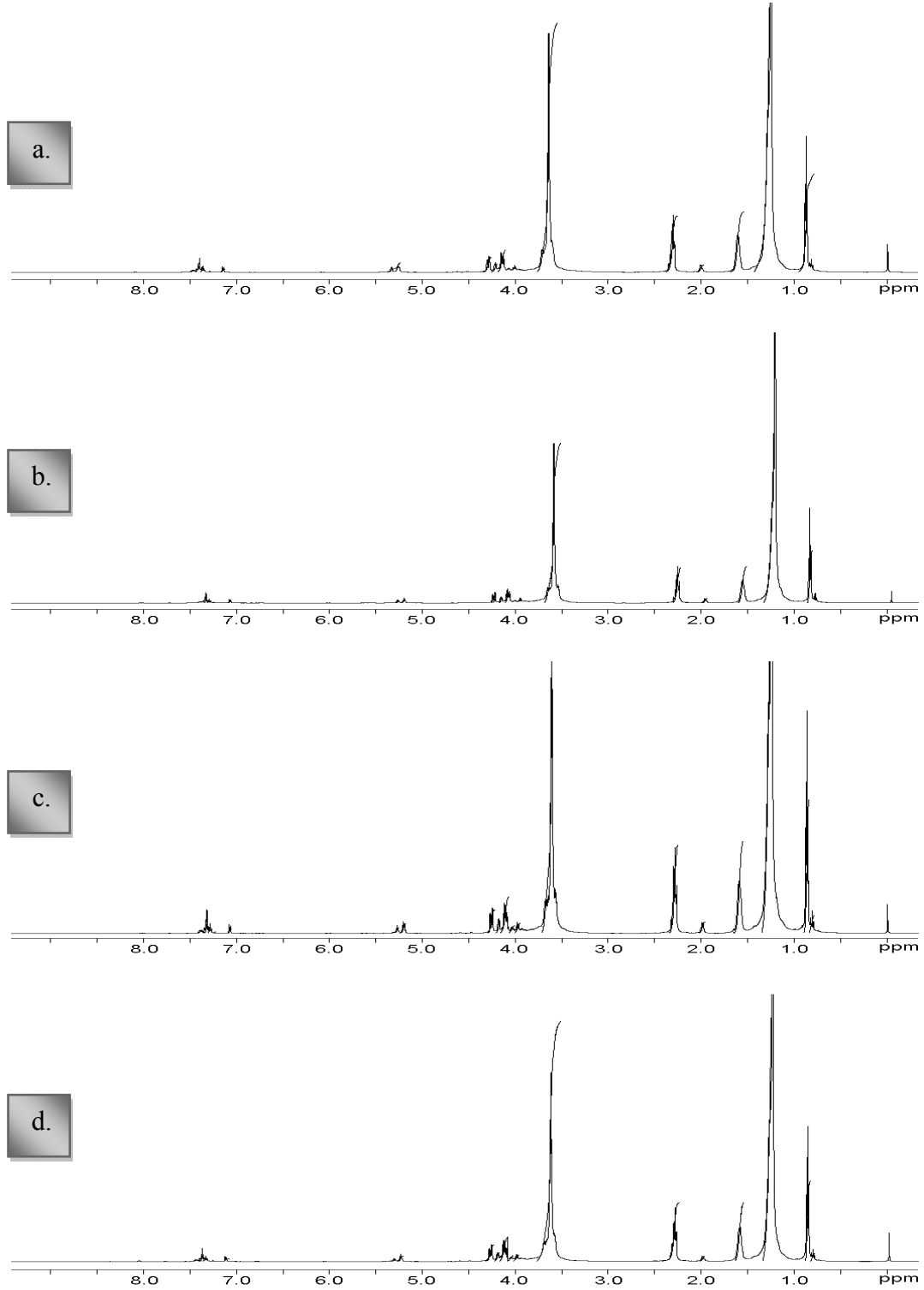
25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 360. gün NMR analizlerinde çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılarak spektrumları alınmış ve 0. zaman sonuçları, Dynasan® 116 ve OCR'nin spektrumları ile karşılaştırılmıştır. OCR'nin yapısındaki 10 aromatik proton karakteristik olarak yaklaşık 7 ppm'de çoklu pik şeklinde görülmüş, ZnO ise yapısından dolayı NMR analizinde incelenememiştir.

OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve incelenen bantlarda önemli bir kayma veya bozunma görülmemiştir. Elde edilen spektrumlar, formülasyonların 360. gün sonunda kararlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 52. Etkin madde içermeyen katı lipid nanopartikül formülasyonunun NMR spektrumu

OCR içeren SLN formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 53**'te sunulmuştur.



Şekil 53. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının NMR spektrumları

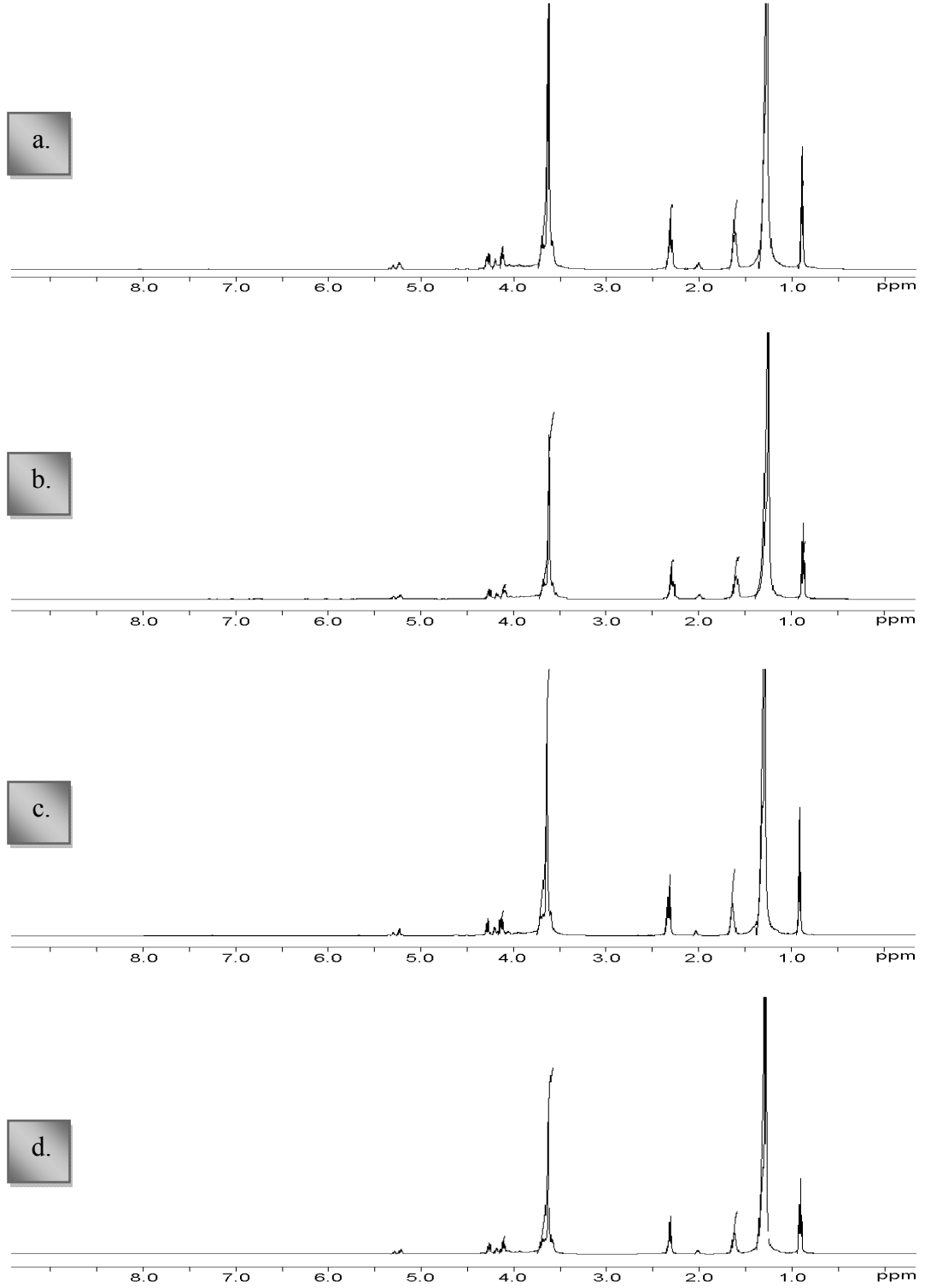
a. 0. zaman

b. 360. gün, 4°C

c. 360. gün, 25°C

d. 360. gün, 40°C

ZnO içeren SLN formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinden elde edilen sonuçlar Şekil 54'te sunulmuştur.



Şekil 54. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının NMR spektrumları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini

Eusolex® OCR Miktar Tayini

Hazırlanan SLN formülasyonlarında OCR miktar tayini için HPLC kullanılmıştır. SLN süspansiyonlarında, serbest, tutunmuş ve hapsedilmiş halde bulunan OCR miktarları ayrı ayrı hesaplanmıştır. Deneyler her bir örnek için 6 kere tekrarlanmış ve formülasyonlardaki etkin madde miktarları % geri kazanım olarak ifade edilmiştir. Sonuçlarla beraber SH, BSS ve % 95 CI hesaplanmış ve elde edilen bulgular % geri kazanım olarak **Çizelge 34**'te verilmiştir.

SLN formülasyonları hazırlanırken, toplam formülasyon miktarının % 6'sı kadar katı lipit kullanılmış ve katı lipitin % 10'u kadar da etkin madde sisteme yüklenebilmiştir. Böylece, 30 g formülasyona 0.18 g etkin madde konulmuştur. Miktar tayini sonunda elde edilen % geri kazanım oranları, etkin maddenin formülasyonda bulunan gerçek yüzde değerlerini göstermektedir.

0. zamanda, serbest halde % 2.47, tutunmuş halde % 87.15 ve hapsedilmiş halde % 9.36 oranında OCR bulunmuş ve toplam geri kazanım % 98.98 olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı, 0.18 g etkin maddenin % 98.98'i formülasyona yüklenebilmiştir. % 1.02'lik eksilmenin, formülasyonun hazırlanması sırasında, etkin maddenin kullanılan behere ya da karıştırıcıya yapışmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Serbest halde bulunan OCR miktarı, 0. zamanda % 2.47 olarak bulunmuştur. Bu miktar, 360. gün sonunda 25°C ve 4°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda sırasıyla, % 3.22 ve % 3.23'e yükselmiş, 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlarda ise daha da artarak % 7.37 olarak belirlenmiştir. Serbest halde bulunan OCR miktarındaki bu artışın, katı lipite tutunmuş halde bulunan etkin maddenin, yavaş yavaş sulu faza geçmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Katı lipite tutunmuş halde bulunan OCR miktarı, 0. zamanda % 87.15 olarak bulunmuştur. Bu miktar, 360. gün sonunda 25°C ve 4°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda sırasıyla, % 79.54 ve % 78.73'e düşmüş, 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlarda ise daha da azalarak % 72.15 olarak bulunmuştur. Tutunmuş halde bulunan OCR miktarındaki bu azalmanın, katı lipite tutunmuş halde bulunan etkin maddelerin yavaş yavaş sulu faza geçmesinden ya da etkin maddenin zaman içinde etkinliğini kaybetmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

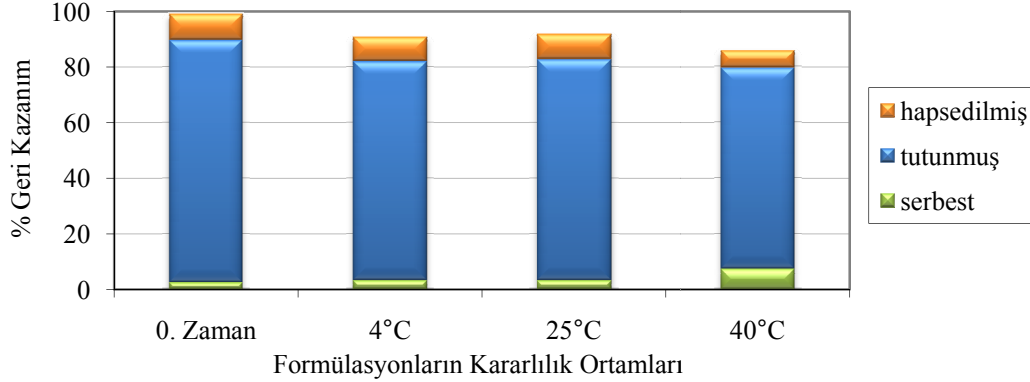
Katı lipite hapsedilmiş halde bulunan OCR miktarı, 0. zamanda % 9.36 olarak bulunmuştur. Bu miktar, 360. gün sonunda 25°C ve 4°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda % 9.06 ve % 8.74'e düşmüş, 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlarda ise daha da azalarak % 6.19 olarak bulunmuştur. Hapsedilmiş halde bulunan OCR miktarındaki bu azalmanın, katı lipite hapsedilmiş halde bulunan etkin maddelerin yavaş yavaş su fazına geçmesinden ya da etkin maddenin zaman içinde etkinliğini kaybetmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

SLN formülasyonlarındaki toplam etkin madde miktarları incelendiğinde % geri kazanım oranları, 0. zamanda % 98.98, 360. gün sonunda 25°C'lık ortamda % 91.82, 4°C'lık ortamda % 90.70 ve 40°C'lık ortamda % 85.71 olarak bulunmuştur. HPLC kromatogramlarında OCR'nin bozunma pikleri görülmemiş; bu azalmanın, etkin maddenin zaman içinde etkinliğini kaybetmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 34. Katı lipid nanopartikül formülasyonları içindeki Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları

Formülasyon		% Geri Kazanım (n=6)	SH	BSS	% 95 CI
Serbest	0. Zaman	2.47	0.01	1.15	±0.0292
	4°C, 360. Gün	3.23	0.01	0.60	±0.0210
	25°C, 360. Gün	3.22	0.02	1.19	±0.0391
	40°C, 360. Gün	7.37	0.02	0.77	±0.0614
Tutunmuş	0. Zaman	87.15	0.17	0.49	±0.4454
	4°C, 360. Gün	78.73	0.20	0.64	±0.5229
	25°C, 360. Gün	79.54	0.21	0.66	±0.5519
	40°C, 360. Gün	72.15	0.25	0.86	±0.6554
Hapsedilmiş	0. Zaman	9.36	0.24	6.23	±0.6108
	4°C, 360. Gün	8.74	0.35	9.95	±0.9118
	25°C, 360. Gün	9.06	0.32	8.74	±0.8307
	40°C, 360. Gün	6.19	0.35	13.77	±0.8934

0. zaman ve 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlardaki etkin madde miktarları karşılaştırmalı olarak **Şekil 55**'te verilmiştir.



Şekil 55. Katı lipid nanopartikül formülasyonlarında, katı lipite hapsedilmiş, tutunmuş ve serbest halde bulunan Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları

Çinko Oksit Miktar Tayini

Hazırlanan formülasyonlarda ZnO miktar tayini için optik emisyon spektroskopisi kullanılmış ve sonuçlar % geri kazanım olarak **Çizelge 35**'te verilmiştir.

SLN formülasyonları hazırlanırken sisteme, katı lipitin % 10'u kadar etkin madde yüklenmiştir. Böylece, 30 g formülasyona 0.18 g etkin madde konulmuştur. 0. zamanda, etkin maddenin geri kazanımı % 96.18 olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı, 0.18 g etkin maddenin % 96.18'i formülasyona yüklenebilmiştir. % 3.82'lik eksilmenin, formülasyonun hazırlanması sırasında, etkin maddenin kullanılan behere ya da karıştırıcıya yapışmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

SLN formülasyonlarındaki toplam etkin madde miktarları incelendiğinde % geri kazanım oranları, 0. zamanda % 96.18, 360. gün sonunda 25°C'lık ortamda % 87.45, 4°C'lık ortamda % 97.15 ve 40°C'lık ortamda % 87.61 olarak bulunmuştur.

ZnO çok kararlı bir bileşik olduğu için, 360 gün gibi bir zaman içinde etkinliğini kaybetmesi söz konusu değildir.

Çizelge 35. Katı lipid nanopartikül formülasyonları içindeki çinko oksit in % geri kazanım miktarları

	% Ortalama (n=3)	SH	BSS	% 95 CI
0. Zaman	96.18	0.24	0.43	±1.0325
4°C, 360. Gün	97.15	0.50	0.89	±2.1594
25°C, 360. Gün	87.45	0.65	1.29	±2.7995
40°C, 360. Gün	87.61	0.34	0.68	±1.4764

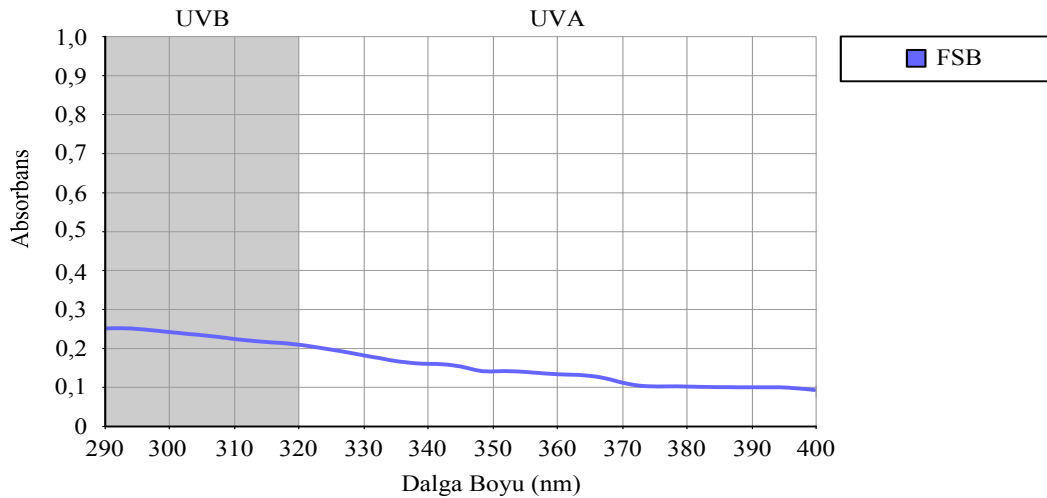
Etkin madde geri kazanım yüzdelerindeki farklılıkların, 25°C, 4°C ve 40°C'lık her ortam için 30 g'lık örneklerin birbirinden bağımsız olarak hazırlanmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Hazırlanan formülasyonlardaki ZnO miktarının bilinmesi, Transpore™ Testi gibi etkinlik testlerinin değerlendirilmesinde önem taşımaktadır.

Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan *In Vitro* Çalışmalar

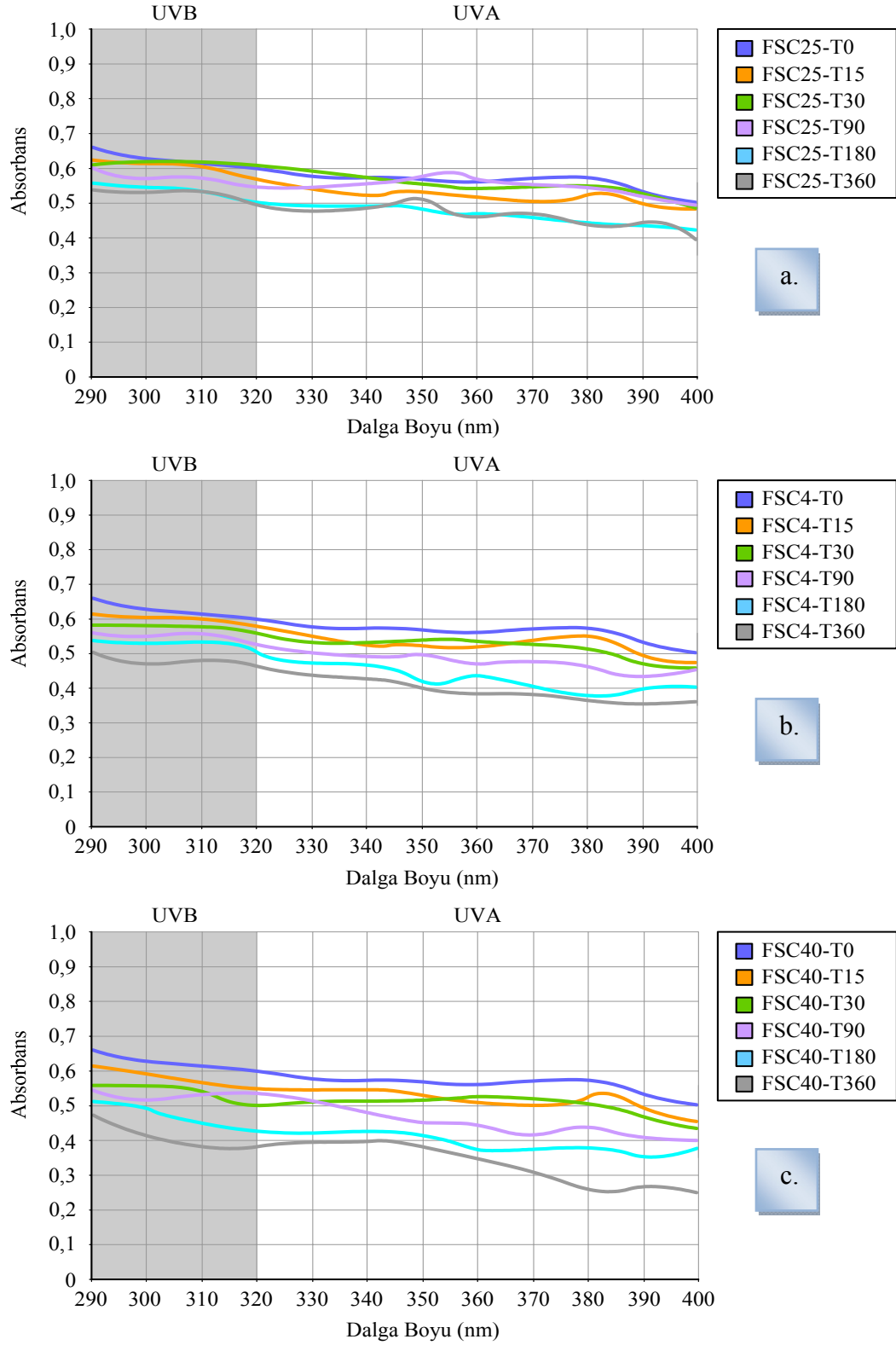
Transpore™ Test

SLN formülasyonlarının, UV absorbanslarının ölçümü için Transpore™ testi kullanılmış ve elde edilen sonuçlar Şekil 56-Şekil 58'de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

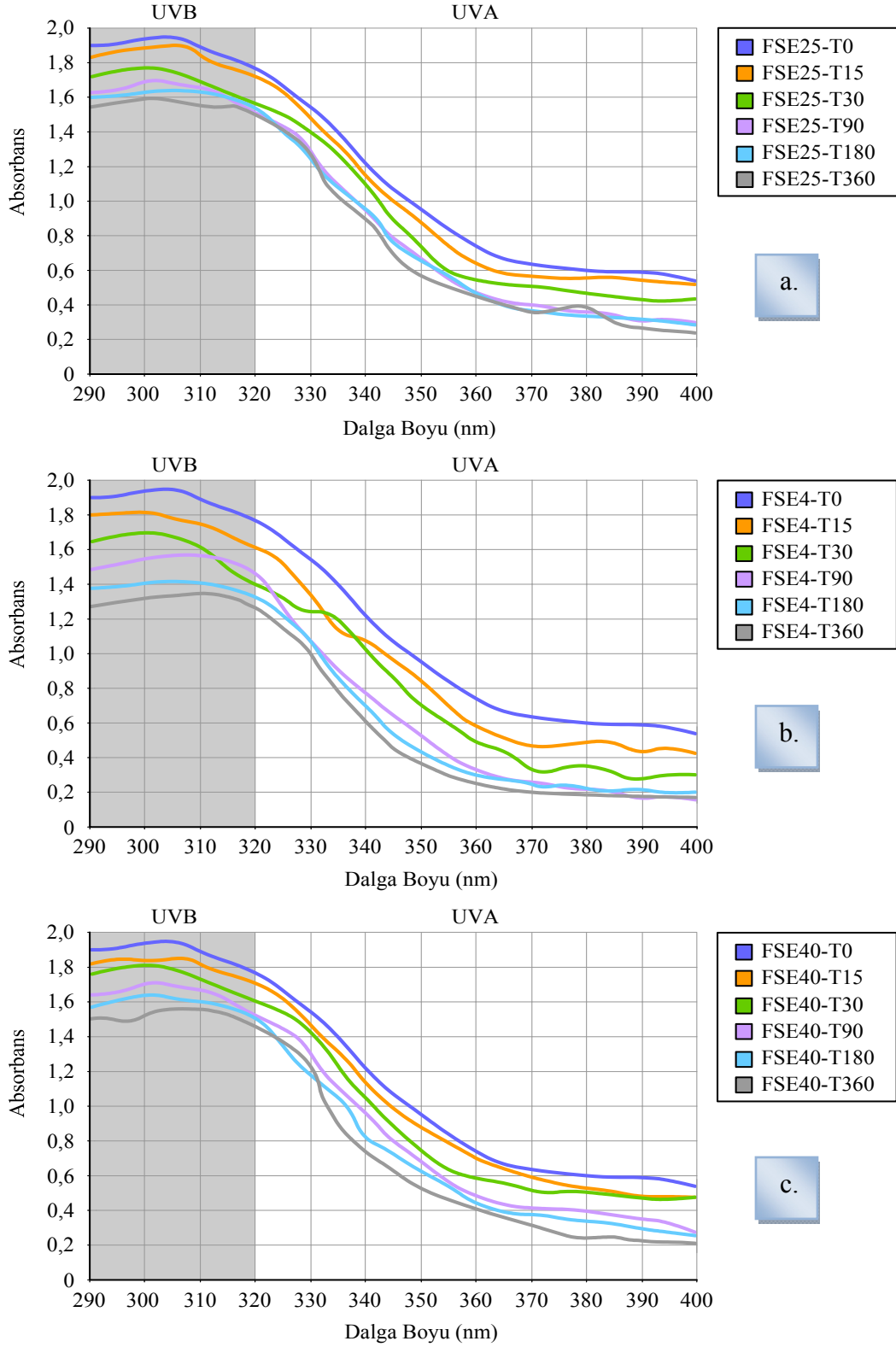


Şekil 56. Etkin madde içermeyen katı lipid nanopartikül formülasyonunun Transpore™ testi sonucu

Formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde ölçülen UV absorbansları az da olsa farklılıklar göstermiş; ancak OCR ve ZnO içeren formülasyonlar arasındaki fark daha önemli bulunmuştur. Yapılan Transpore™ testi sonucunda, aynı miktarda etkin madde içermesine rağmen, UV ışınlarını kimyasal olarak süzen OCR'nin koruyucu etkisinin, UV ışınlarını fiziksel olarak süzen ZnO'dan çok daha iyi olduğu görülmüştür. ZnO içeren SLN formülasyonlarının UV absorbansları 0.4-0.7 aralığında bulunmuş, OCR içeren formülasyonların UV absorbansları ise UVB bölgesinde 2.0 seviyesine kadar çıkmıştır (Merck, 2003). Formülasyonların 360-400 nm dalgaboyu aralığında koruyucu etkileri karşılaştırıldığında ise, ZnO içeren SLN formülasyonunun UVA ışınlarını daha çok süzdüğü görülmüştür (Kullavanijaya ve Lim, 2005).



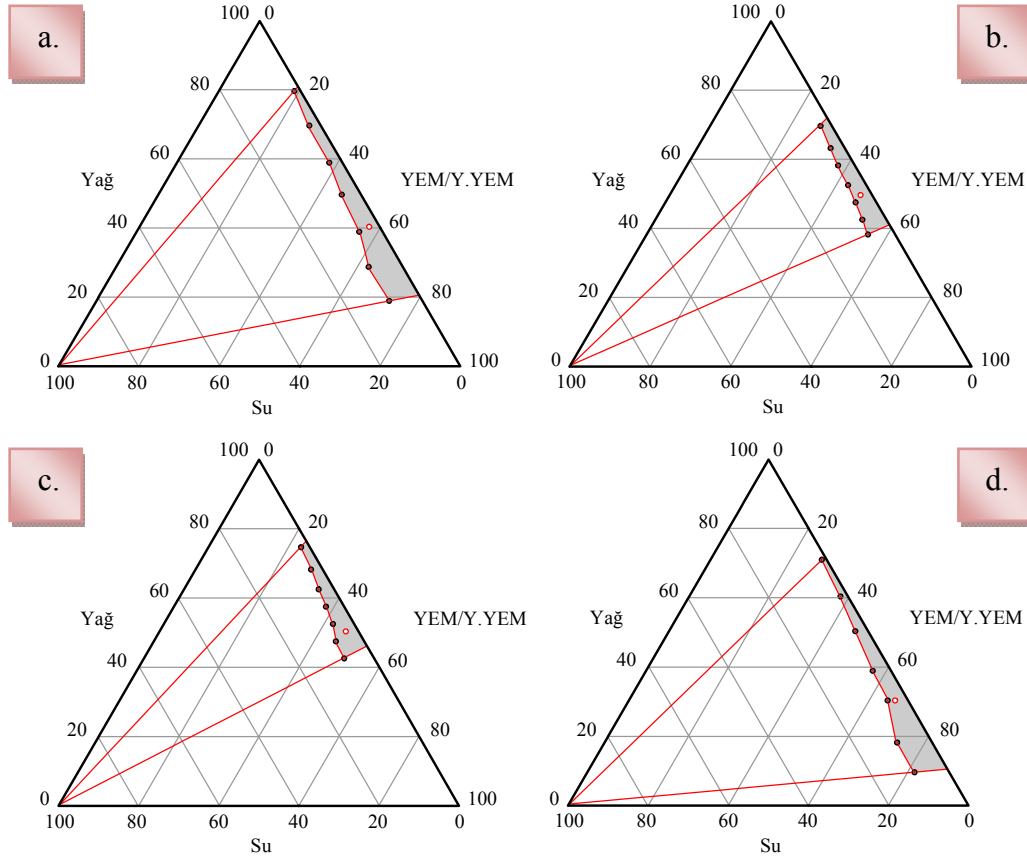
Şekil 57. Çinko oksit içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki *Transpore™* testi sonuçları
a. 25°C
b. 4°C
c. 40°C



Şekil 58. Eusolex® OCR içeren katı lipid nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki *Transpore*™ testi sonuçları
a. 25°C
b. 4°C
c. 40°C

Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Üçgen-faz diyagramlarından, 1:1 oranında YEM ve Y.YEM içeren formülasyonun, en büyük mikroemülsiyon alanına sahip olduğu bulunmuştur. Miglyol® 812 N, Abil® EM 90, izopropil alkol ve % 2 oranında etkin madde içeren karışım, 25°C'lık oda sıcaklığında, mekanik karıştırıcı ile 300 rpm sabit hızda karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışıma hesaplanan miktarda su damla damla eklenerek formülasyonlar hazırlanmış ve 1 hafta oda sıcaklığında bekletilerek faz ayrımı oluşup oluşmadığı incelenmiştir. OCR içeren formülasyon, ME, saydam mikroemülsiyon oluştururken, ZnO içeren formülasyon, MC, süspansiyon halinde kalmıştır.



Şekil 59. Mikroemülsiyon formülasyonlarının üçgen faz diyagramları

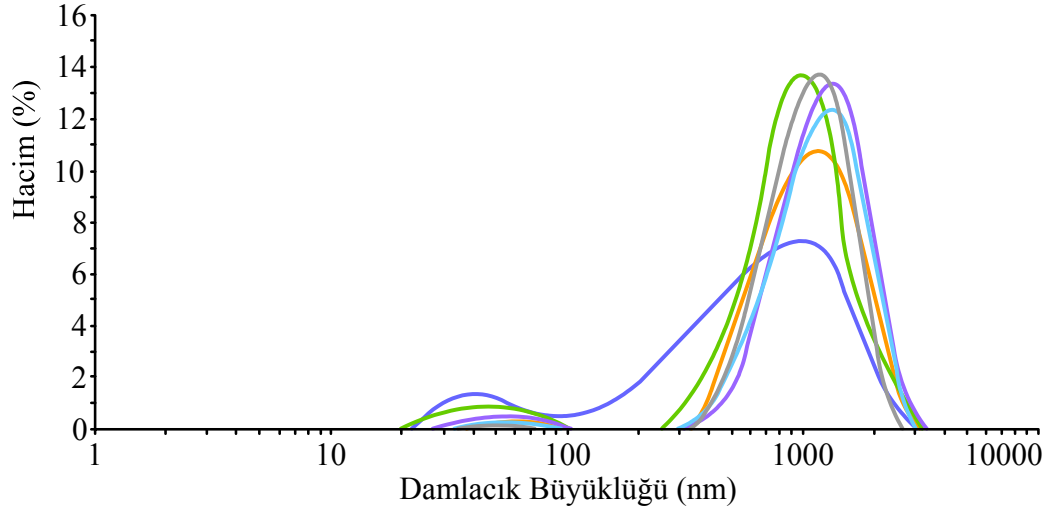
- a. 1:1 (Alan 198.13 br²) c. 1:3 (Alan 108.37 br²)
b. 1:2 (Alan 105.88 br²) d. 2:1 (Alan 198.11 br²)

Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları

Hazırlanan mikroemülsiyon sistemlerinin fiziksel özelliklerini incelemek için preparatlar 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlara konulmuştur ve kararlılık testleri önceden belirlenen periyotlarda gerçekleştirilmiştir.

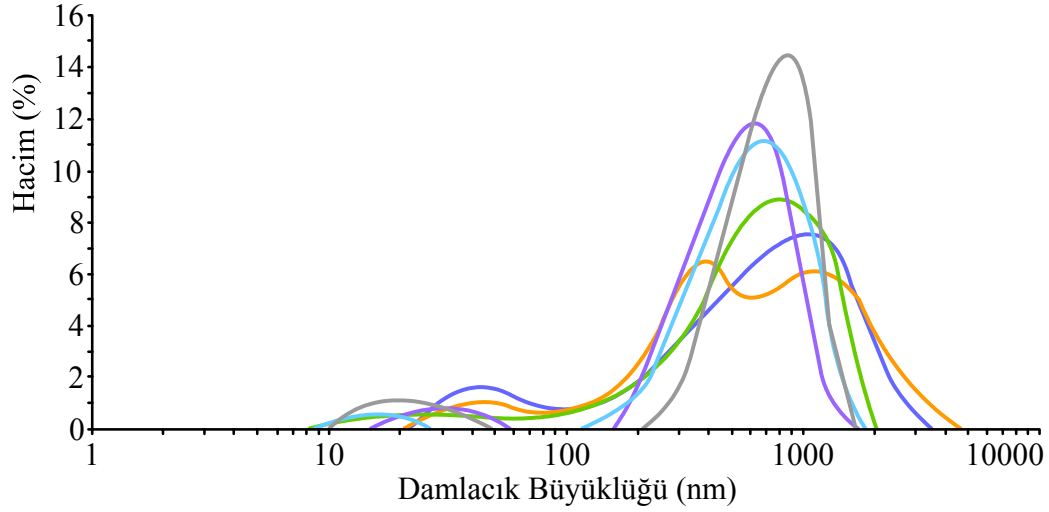
Damlacık ve Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

Mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık ve parçacık büyüklüğü dağılımı ve polidisperslik indisi Şekil 60-Şekil 65'te sunulmuştur.



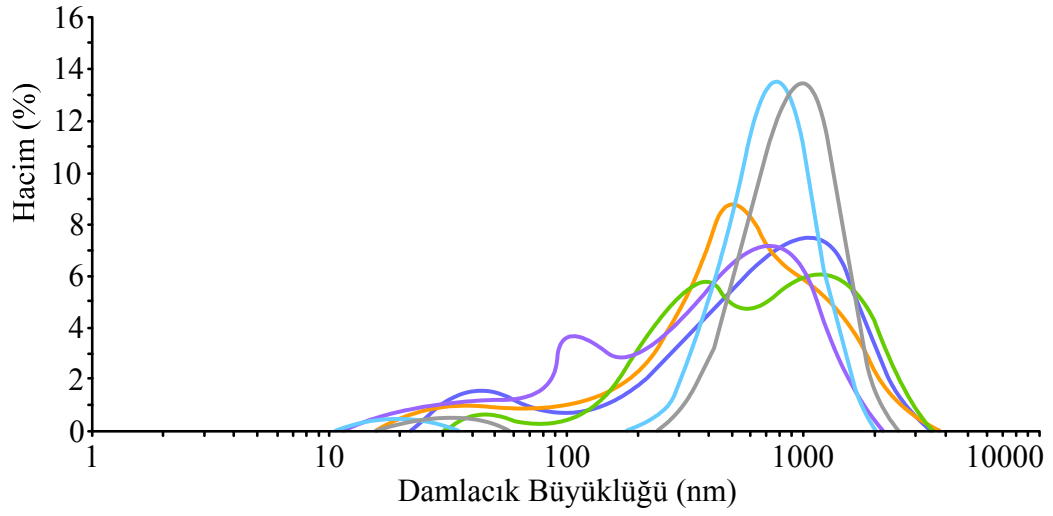
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
ME25-T0	234 nm $\pm$ 1.119	0.690 $\pm$ 0.084
ME25-T15	482 nm $\pm$ 1.485	0.731 $\pm$ 0.056
ME25-T30	458 nm $\pm$ 1.146	0.609 $\pm$ 0.024
ME25-T90	462 nm $\pm$ 1.168	0.630 $\pm$ 0.083
ME25-T180	484 nm $\pm$ 1.114	0.412 $\pm$ 0.076
ME25-T360	603 nm $\pm$ 1.490	0.174 $\pm$ 0.042

Şekil 60. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık büyüklüğü dağılımı



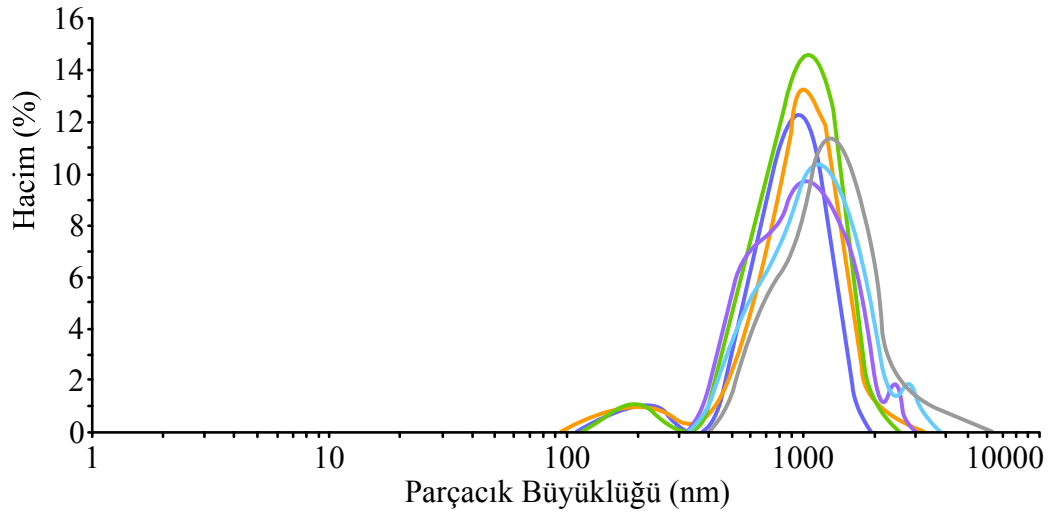
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
ME4-T0	234 nm $\pm$ 1.119	0.690 $\pm$ 0.084
ME4-T15	273 nm $\pm$ 1.312	0.835 $\pm$ 0.024
ME4-T30	345 nm $\pm$ 1.036	0.867 $\pm$ 0.063
ME4-T90	502 nm $\pm$ 0.986	0.648 $\pm$ 0.057
ME4-T180	613 nm $\pm$ 1.388	0.516 $\pm$ 0.063
ME4-T360	1110 nm $\pm$ 1.180	0.253 $\pm$ 0.086

Şekil 61. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık büyüklüğü dağılımı



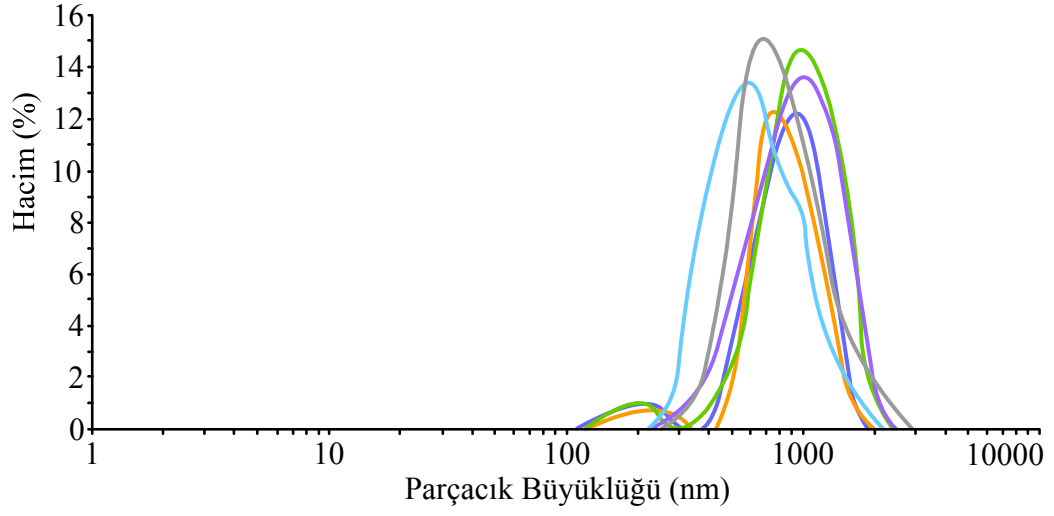
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
ME40-T0	234 nm $\pm$ 1.119	0.690 $\pm$ 0.084
ME40-T15	269 nm $\pm$ 0.895	0.592 $\pm$ 0.085
ME40-T30	296 nm $\pm$ 0.968	0.322 $\pm$ 0.032
ME40-T90	312 nm $\pm$ 1.406	0.198 $\pm$ 0.021
ME40-T180	453 nm $\pm$ 0.992	0.170 $\pm$ 0.080
ME40-T360	915 nm $\pm$ 1.205	0.174 $\pm$ 0.029

Şekil 62. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki damlacık büyüklüğü dağılımı



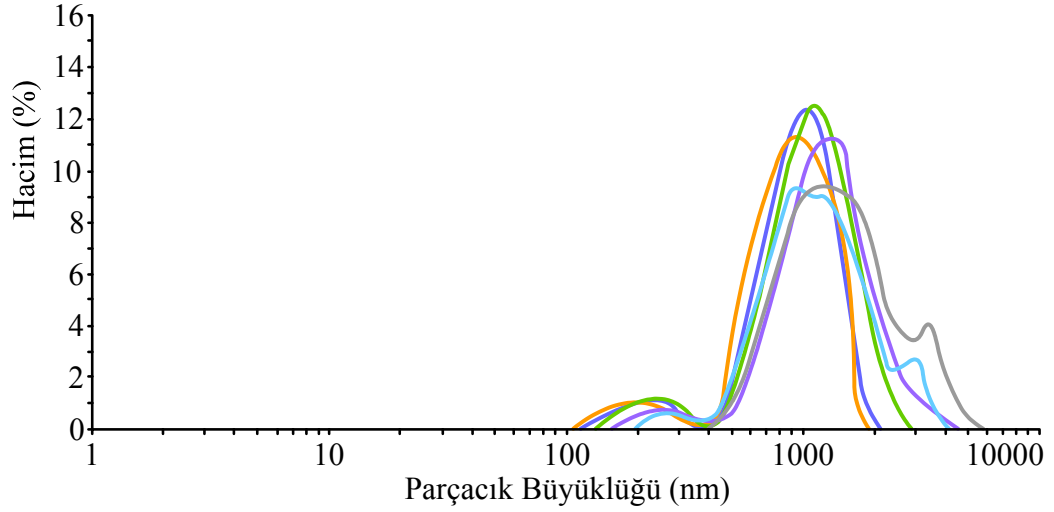
(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
MC25-T0	774 nm $\pm$ 1.151	0.112 $\pm$ 0.049
MC25-T15	815 nm $\pm$ 1.445	0.135 $\pm$ 0.015
MC25-T30	874 nm $\pm$ 0.980	0.168 $\pm$ 0.049
MC25-T90	827 nm $\pm$ 1.289	0.298 $\pm$ 0.042
MC25-T180	912 nm $\pm$ 1.116	0.221 $\pm$ 0.019
MC25-T360	1115 nm $\pm$ 1.296	0.463 $\pm$ 0.051

Şekil 63. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 25°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90. 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı



(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
MC4-T0	774 nm $\pm$ 1.151	0.112 $\pm$ 0.049
MC4-T15	778 nm $\pm$ 1.345	0.288 $\pm$ 0.011
MC4-T30	916 nm $\pm$ 0.874	0.276 $\pm$ 0.050
MC4-T90	907 nm $\pm$ 0.960	0.343 $\pm$ 0.037
MC4-T180	1142 nm $\pm$ 0.943	0.536 $\pm$ 0.085
MC4-T360	1138 nm $\pm$ 1.178	0.724 $\pm$ 0.051

Şekil 64. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 4°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı



(n=3)	Z-ortalama $\pm$ SH	PDI $\pm$ SH
MC40-T0	774 nm $\pm$ 1.151	0.112 $\pm$ 0.049
MC40-T15	822 nm $\pm$ 1.097	0.314 $\pm$ 0.015
MC40-T30	836 nm $\pm$ 1.313	0.295 $\pm$ 0.062
MC40-T90	998 nm $\pm$ 0.857	0.233 $\pm$ 0.090
MC40-T180	1086 nm $\pm$ 1.181	0.154 $\pm$ 0.024
MC40-T360	1253 nm $\pm$ 1.240	0.311 $\pm$ 0.078

Şekil 65. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki parçacık büyüklüğü dağılımı

Ortalama damlacık büyüklüğü ya da damlacıkların büyüklük dağılımlarının değişmesi emülsiyonların kararlılığının değerlendirilmesinde önemli bir parametredir. Dayanıklı iki emülsiyon sisteminde, damlacık büyüklüğünde başlangıçta hızlı bir artış ve bunu takiben yavaş bir değişme gözlenebilir. Damlacık büyüklüğü, damlacık yüzey alanı veya damlacık hacmi zamanla değişebilmektedir. Farklı sıcaklıklarda saklanan örneklerdeki damlacık büyüklüğünün artması kararlılığın bozulmasını gösterir (Rieger, 1986).

OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ortalama damlacık büyüklüğü 234 nm olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 603 nm, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 1110 nm ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 915 nm'e kadar artış göstermiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün damlacık büyüklüğü bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

ZnO içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ortalama parçacık büyüklüğü 774 nm olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 1115 nm, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 1138 nm ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 1253 nm'e kadar artış göstermiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün parçacık büyüklüğü bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının, 360. gün damlacık ve parçacık büyüklüğü bulgularının da istatistiksel karşılaştırılması yapılmış ve farklı ortamlar arasındaki büyüklük değişimlerinde ileri düzeyde önemli fark olduğu görülmüştür ($p \leq 0.001$). 360. Gün sonunda, sadece, OCR içeren formülasyonlardan 25°C-4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonun damlacık büyüklüğünde çok önemli fark olduğu görülmüştür ($p \leq 0.01$).

Büyüklük dağılımını değerlendirmek için, ayrıca, 0-1 arasında değerler alan polidisperlik indisi verileri de kullanılmıştır (Schöler ve ark., 2001). Sıfıra yakın değerlerin, homojen bir dağılımı gösterdiği polidisperlik indisi verileri değerlendirildiğinde, formülasyonların yaklaşık 0.30 gibi düşük değerler alarak homojen bir dağılıma sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak, damlacık ve parçacık büyüklüklerinde görülen değişikliklerden dolayı, formülasyonların 360. gün ölçümlerinde kararlı bir yapıda kaldığı söylenemez.

Hazırlanan formülasyonlarda damlacık ve parçacık büyüklüklerindeki artış, 360. gün sonunda sistemlerin kararlılıklarının bozulması şeklinde yorumlanabilir. Süspansiyon formülasyonlarında, kararlılık ortamlarından etkilenecek farklı büyüklüklerde agregatların oluşması, mikroemülsiyon formülasyonlarında da damlacıklarda birleşme ve flokülasyon oluşumu bu artışın nedeni olarak düşünülmüştür.

Zeta potansiyel

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki zeta potansiyelleri ve elektriksel iletkenlikleri **Çizelge 36** ve **Çizelge 37**’de sunulmuştur.

Çizelge 36. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlikleri

	Zeta Potansiyel (mV)			İletkenlik (mS.cm ⁻¹)		
	Ortalama (n=3)	BSS	SH	Ortalama (n=3)	BSS	SH
ME25-T0	-0.33	4.11	0.01	0.06	14.00	0.01
ME25-T15	-0.35	4.50	0.01	0.06	7.75	0.00
ME25-T30	-0.36	4.05	0.01	0.06	11.95	0.00
ME25-T90	-0.33	2.96	0.01	0.06	12.20	0.00
ME25-T180	-0.32	0.93	0.00	0.05	7.26	0.00
ME25-T360	-0.32	4.50	0.01	0.08	11.83	0.01
ME4-T0	-0.33	4.11	0.01	0.06	14.00	0.01
ME4-T15	-0.32	0.48	0.00	0.06	8.32	0.00
ME4-T30	-0.31	1.13	0.00	0.06	9.83	0.00
ME4-T90	-0.29	3.99	0.01	0.07	10.00	0.00
ME4-T180	-0.23	1.28	0.00	0.07	12.90	0.01
ME4-T360	-0.20	5.90	0.01	0.06	6.75	0.00
ME40-T0	-0.33	4.11	0.01	0.06	14.00	0.01
ME40-T15	-0.35	0.76	0.00	0.07	4.24	0.00
ME40-T30	-0.40	4.68	0.01	0.07	9.00	0.00
ME40-T90	-0.42	0.55	0.00	0.12	8.13	0.01
ME40-T180	-0.38	0.99	0.00	0.08	7.66	0.00
ME40-T360	-0.40	2.99	0.01	0.13	8.62	0.01

Çizelge 37. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının zeta potansiyel ve iletkenlikleri

	Zeta Potansiyel (mV)			İletkenlik (mS.cm ⁻¹)		
	Ortalama (n=3)	BSS	SH	Ortalama (n=3)	BSS	SH
MC25-T0	-0.18	4.72	0.00	0.06	14.74	0.00
MC25-T15	-0.17	7.15	0.01	0.08	10.70	0.00
MC25-T30	-0.18	6.27	0.01	0.08	7.34	0.00
MC25-T90	-0.17	7.15	0.01	0.07	9.59	0.00
MC25-T180	-0.16	6.31	0.01	0.09	10.42	0.01
MC25-T360	-0.11	7.94	0.01	0.09	10.35	0.01
MC4-T0	-0.18	4.72	0.00	0.06	14.74	0.00
MC4-T15	-0.11	5.86	0.00	0.05	13.10	0.00
MC4-T30	-0.13	7.71	0.01	0.05	8.10	0.00
MC4-T90	-0.11	15.90	0.01	0.08	11.75	0.01
MC4-T180	-0.21	5.21	0.01	0.07	7.39	0.00
MC4-T360	-0.38	11.45	0.02	0.07	9.80	0.00
MC40-T0	-0.18	4.72	0.00	0.06	14.74	0.00
MC40-T15	-0.34	3.11	0.01	0.06	8.95	0.00
MC40-T30	-0.37	6.10	0.01	0.06	12.74	0.00
MC40-T90	-0.43	3.31	0.01	0.07	13.57	0.01
MC40-T180	-0.51	4.89	0.01	0.07	5.93	0.00
MC40-T360	-0.40	5.54	0.01	0.05	9.57	0.00

Ölçümler tek kullanımlık zeta hücrelerinde, 25°C oda sıcaklığında, distile su ile seyreltilerek yapılmıştır. Distile sudaki iletkenliğin neden olabileceği küçük değişimlerin ölçüm sonuçlarını etkilememesi için, kullanılan distile su ölçümlerden önce NaCl ile 50 µS iletkenliğe ayarlanmıştır.

Emülsiyonların, hazırlandıktan hemen sonra zeta potansiyel ve elektriksel iletkenliklerinin ölçülmesi kararlılıklarının değerlendirilmesinde önemli bir kanıttır. Zeta potansiyel ne kadar yüksek olursa koloidal dağılımların kararlılığı da o kadar iyidir. Emülsiyonlarda genellikle +30-50 mV olması istenir (Çelebi, 2007). Y/S emülsiyon sistemlerinin elektriksel iletkenliği S/Y sistemlerine göre daha yüksektir (Müller ve Heinemann, 1993).

OCR içeren formülasyonların 0. zaman ölçümlerinde ortalama zeta potansiyel -0.323 mV olarak bulunmuştur. 360. gün sonunda bu değer 25°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -0.31 ile -0.34 mV, 4°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -0.21 ile -0.32 mV ve 40°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -0.23 ile -0.42 mV aralığında gözlenmiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün zeta potansiyel bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda fark bulunmamış ($p>0.05$); ancak, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda önemli fark ($p<0.05$) olduğu görülmüştür.

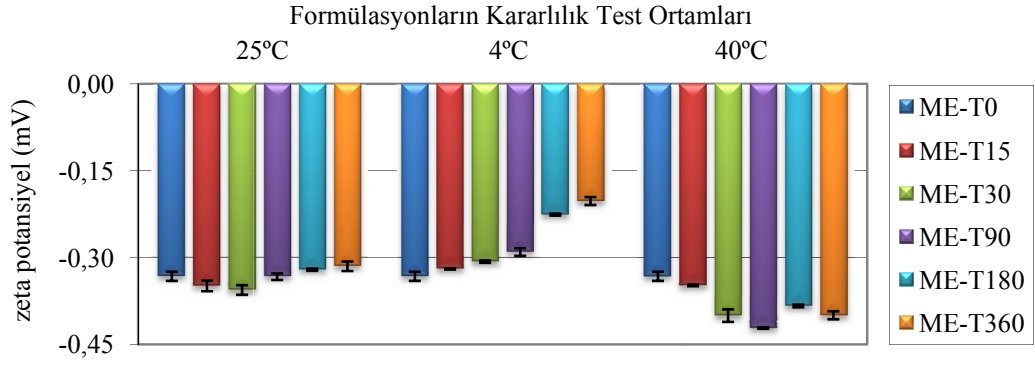
OCR içeren formülasyonların iletkenliği incelendiğinde, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda 360. gün sonunda, 0. zaman iletkenlik değerlerine göre önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0.05$); ancak, 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p\leq 0.01$) ve 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda da ileri düzeyde önemli fark ($p\leq 0.001$) gözlenmiştir.

ZnO içeren formülasyonların 0. zaman ölçümlerinde ortalama zeta potansiyel -0.182 mV olarak bulunmuştur. 360. gün sonunda bu değer 25°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -0.10 ile -0.18 mV, 4°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için -0.09 ile -0.42 mV ve 40°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlar için de -0.35 ile -0.54 mV aralığında gözlenmiştir. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün zeta potansiyel bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda önemli fark ($p<0.05$), 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p\leq 0.01$) ve 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda da ileri düzeyde önemli fark ($p\leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

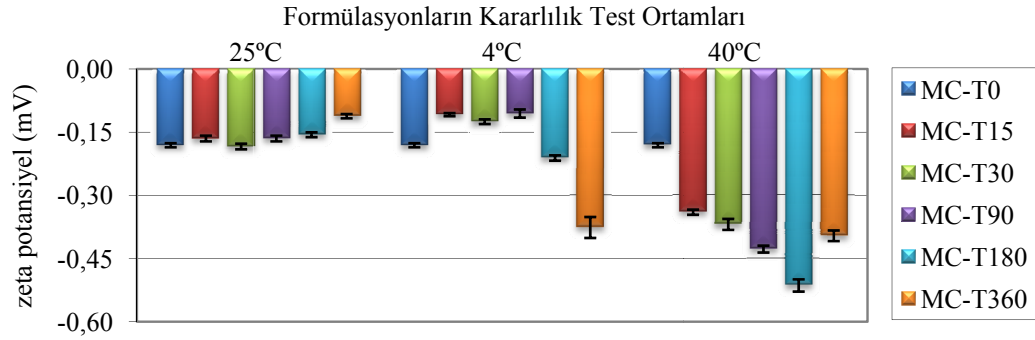
ZnO içeren formülasyonların iletkenliği incelendiğinde 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda 0. zaman iletkenlik değerlerine göre önemli bir değişiklik gözlenmemiş ($p>0.05$); ancak, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonda ileri düzeyde önemli fark olduğu ($p\leq 0.001$) gözlenmiştir.

Saklama süresi boyunca zeta potansiyel değerlerinde görülen değişikliklerden dolayı, formülasyonların 360. gün ölçümlerinde kararlı bir yapıda kaldığı söylenemez.

Hazırlanan mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının zeta potansiyel değerleri, karşılaştırmalı olarak **Şekil 66-Şekil 67**'de gösterilmiştir.

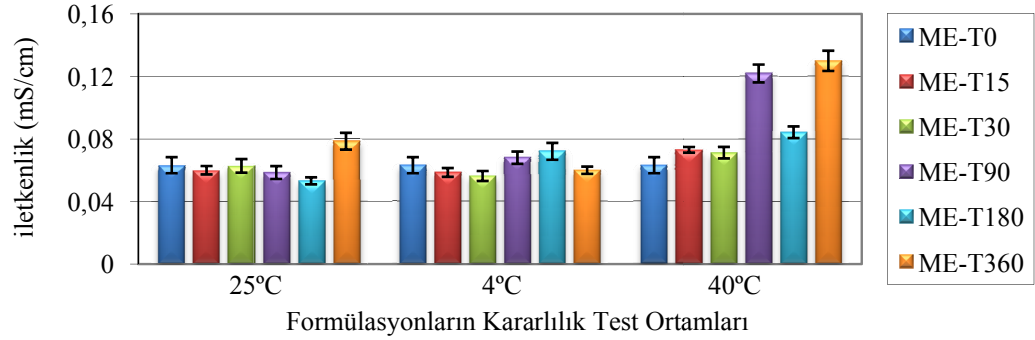


Şekil 66. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri

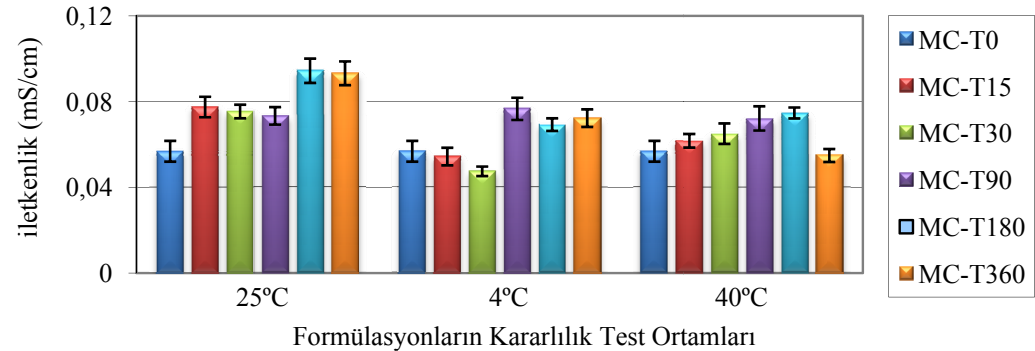


Şekil 67. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının ortalama zeta potansiyel değerleri

Hazırlanan mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri, karşılaştırmalı olarak Şekil 68 ve Şekil 69’da gösterilmiştir.



Şekil 68. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri



Şekil 69. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının ortalama iletkenlik değerleri

pH Ölçümü

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki pH değerleri, **Çizelge 38** ve **Çizelge 39**'da sunulmuştur.

Çizelge 38. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının pH değerleri

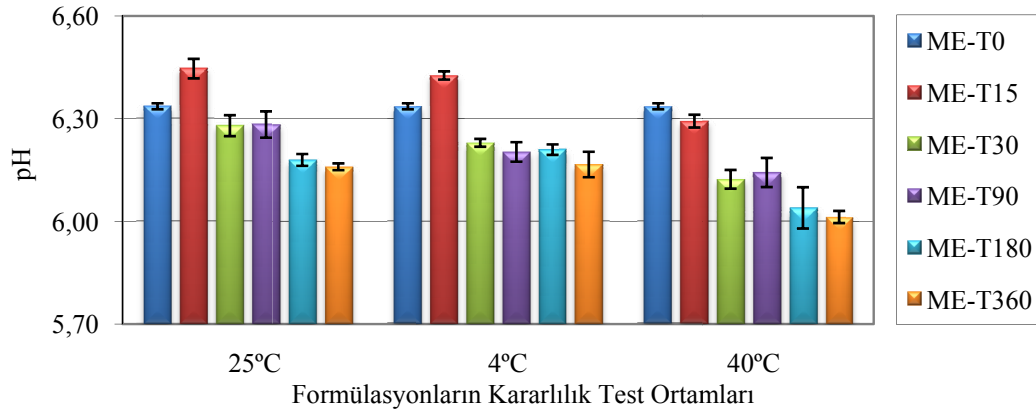
	Ortalama (n=3)	SS	SH
ME25-T0	6.34	0.02	0.01
ME25-T15	6.45	0.05	0.03
ME25-T30	6.28	0.05	0.03
ME25-T90	6.28	0.07	0.04
ME25-T180	6.18	0.03	0.02
ME25-T360	6.16	0.02	0.01
ME4-T0	6.34	0.02	0.01
ME4-T15	6.43	0.02	0.01
ME4-T30	6.23	0.02	0.01
ME4-T90	6.20	0.05	0.03
ME4-T180	6.21	0.03	0.02
ME4-T360	6.17	0.06	0.04
ME40-T0	6.34	0.02	0.01
ME40-T15	6.29	0.03	0.02
ME40-T30	6.12	0.05	0.03
ME40-T90	6.14	0.07	0.04
ME40-T180	6.04	0.10	0.06
ME40-T360	6.01	0.03	0.02

Çizelge 39. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının pH değerleri

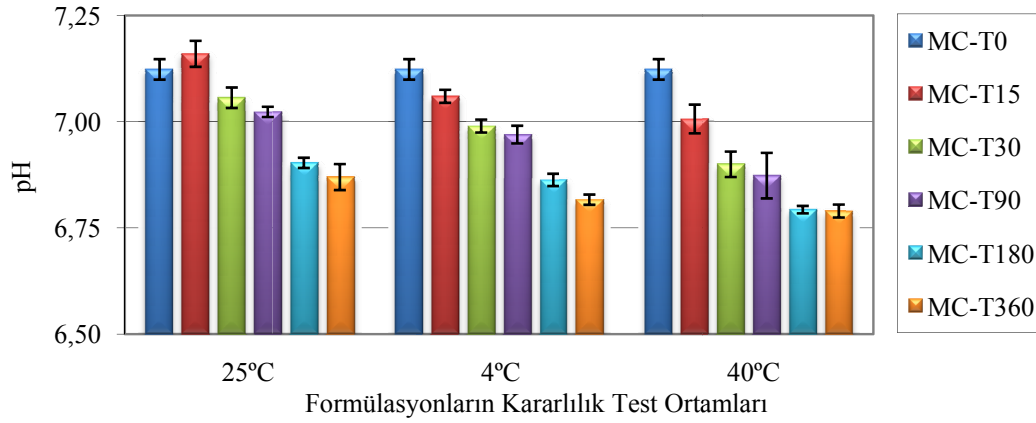
	Ortalama (n=3)	SS	SH
MC25-T0	7.12	0.04	0.02
MC25-T15	7.16	0.05	0.03
MC25-T30	7.06	0.04	0.02
MC25-T90	7.02	0.02	0.01
MC25-T180	6.90	0.02	0.01
MC25-T360	6.87	0.05	0.03
MC4-T0	7.12	0.04	0.02
MC4-T15	7.06	0.03	0.02
MC4-T30	6.99	0.03	0.02
MC4-T90	6.97	0.04	0.02
MC4-T180	6.86	0.03	0.01
MC4-T360	6.82	0.02	0.01
MC40-T0	7.12	0.04	0.02
MC40-T15	7.01	0.06	0.03
MC40-T30	6.90	0.05	0.03
MC40-T90	6.87	0.09	0.05
MC40-T180	6.79	0.02	0.01
MC40-T360	6.79	0.03	0.02

Formülasyonlardaki pH değişikliğinin, tampon sisteminin yetersiz oluşu, parçacıkların yüzey yüklerinin değişmesi, etkin maddenin bozunması ve mikrobiyolojik üremeden kaynaklandığı düşünülebilir (Acartürk, 2007).

ZnO ve OCR içeren formülasyonların pH değerlerindeki değişim, karşılaştırmalı olarak Şekil 70 ve Şekil 71’de gösterilmiştir.



Şekil 70. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının ortalama pH değerleri



Şekil 71. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının ortalama pH değerleri

OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ortalama pH 6.3 olarak bulunmuş, 360. gün sonunda bu değer ortalama pH 6.0 seviyesine düşmüştür. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün pH bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 4°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda önemli fark ($p < 0.05$), 40°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p \leq 0.01$) ve 25°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda da ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

ZnO içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ise ortalama pH 7.1 olarak bulunmuş, 360. gün sonunda bu değer ortalama pH 6.8 seviyesine düştüğü görülmüştür. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün pH bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 25°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$), 4°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p \leq 0.01$) ve 40°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda da önemli fark ($p < 0.05$) olduğu görülmüştür.

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının 360. gün pH ölçüm bulgularının da istatistiksel karşılaştırılması yapılmış ve farklı ortamlar arasındaki pH değişimlerinde fark olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$).

360. gün sonunda, sadece, OCR içeren formülasyonlardan 25°C-40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonun pH'sında önemli fark olduğu görülmüştür ($p < 0.05$).

Saklama süresi boyunca pH değerlerinde büyük değişiklikler olmadığı saptanmış ve buna bağlı olarak elde edilen bulgular, formülasyonların kararlı oldukları şeklinde yorumlanmıştır.

Faz Ayrımı

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda , 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde faz ayrımı olup olmadığı santrifüj kullanılarak belirlenmiştir. İncelenen formülasyonlar, görsel olarak değerlendirilmiş, kararlı yapıda olduğu bulunmuş ve hiçbir formülasyonda faz ayrımı görülmemiştir.

Fiziksel Görünüş

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen mikroemülsiyon formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki fiziksel görünüşleri, görsel olarak incelenmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda, hazırlanan formülasyonların kararlı bir yapıda olduğu bulunmuş, formülasyonlarda fiziksel görünüş açısından bir değişiklik görülmemiş ve hazırlandığı andan itibaren saydam ve tekdüze görünümünü korumuştur.

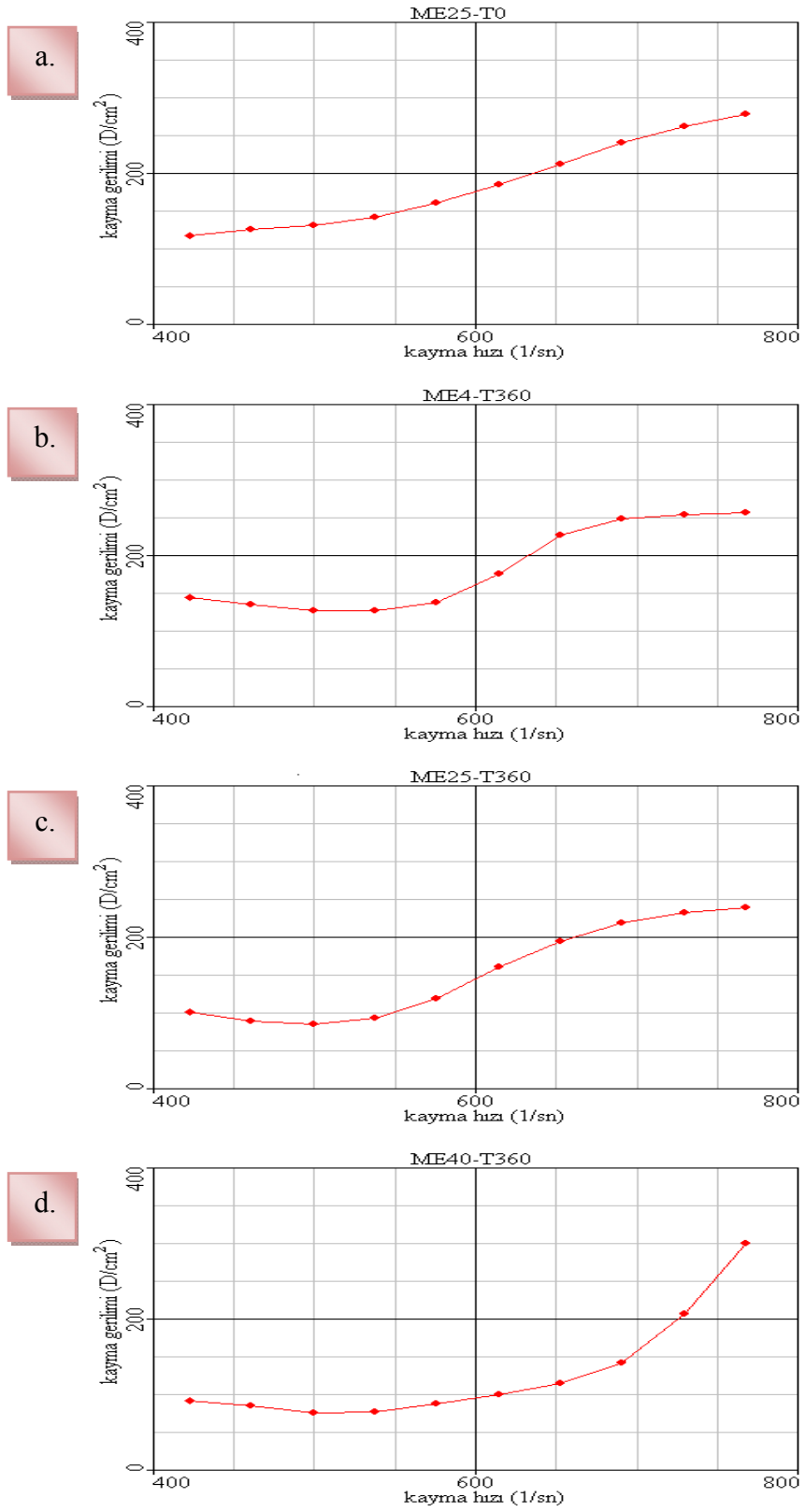
Reolojik Analiz

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların , 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki reolojik analizleri için koni-plak viskozimetresi kullanılmıştır. Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün bulguları karşılaştırmalı olarak **Şekil 72** ve **Şekil 73**'te sunulmuştur.

Kozmetik alanda geçerli olan birçok akış tipi vardır. Kayma hızındaki değişime bağlı olarak viskozitede değişim olmaz ise, bu akışa *Newton* akış adı verilir. Kayma hızındaki artış ile viskozite değişimi gösteren sistemler ise *Newton* olmayan akış olarak tanımlanır (Yazan, 2002b) . Su, çok seyreltik emülsiyonlar ve bazı yağlar *Newton* akış gösterir. *Newton* olmayan akış tipleri, kayma hızına, zamana ve kayma gerilimine bağlı olarak viskozitede değişimin görüldüğü akış tipleridir.

OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının *Newton* akış modeline uyum göstermesi beklenmiş; ancak, 0. zaman ölçümlerinden sonraki analizlerde *Newton* akış modelinden saptığı görülmüştür. Yapılan reolojik analizler sonucunda, hazırlanan formülasyonların 0. zamanda uyum gösterdikleri akış modellerinin, 360. gün sonunda değiştiği ve reolojik açıdan kararlılığın bozulduğu bulunmuştur.

Power Law modeli, viskozitenin artan kayma hızıyla azaldığı, ancak biçimsel değişimin sıfır noktasından başladığı akış tipidir. Akış indisi 1 olunca *Newton* akış gösterirler. Bu akış tipini gösteren maddeler, dururken bir ağ yapısı oluştururlar. Kayma kuvveti ile bu yapı parçalanır ve “kaymaya bağlı inceltme” görülür. Deneysel çalışmalarda bu profil genellikle log-log koordinatlarında gösterilir. ZnO içeren süspansiyon formülasyonlarının 400-800 sn^{-1} kayma hızındaki 0. zaman ölçümleri *Power Law* modeline % 88.6 uyum göstermiştir. 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların 360. gün ölçümlerinde bir düşüş gözlenmemiş; aksine % 95 seviyelerine kadar yükselme gerçekleşmiştir.



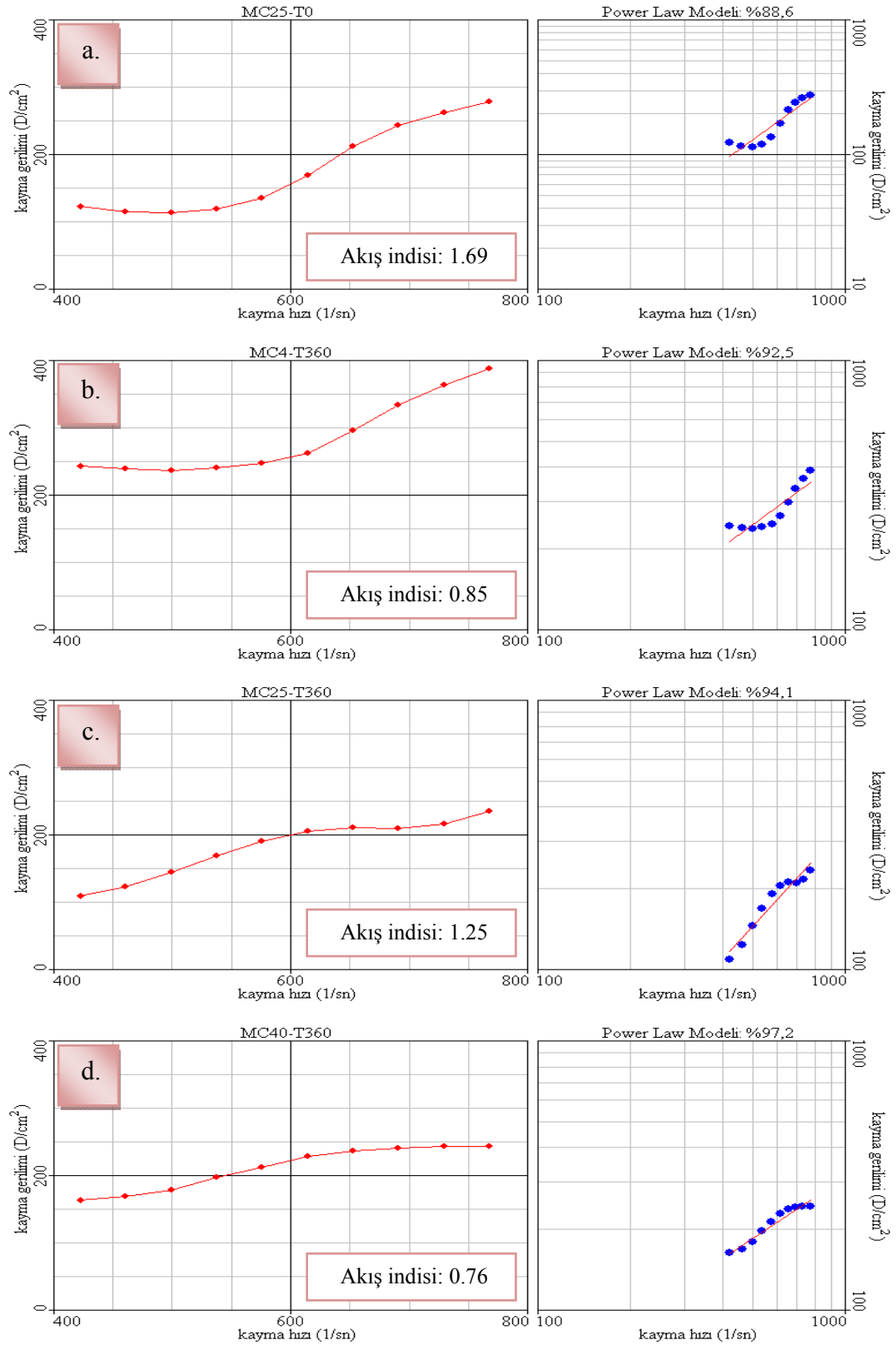
Şekil 72. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının reogramları

a. 0. zaman

b. 360. gün, 4°C

c. 360. gün, 25°C

d. 360. gün, 40°C

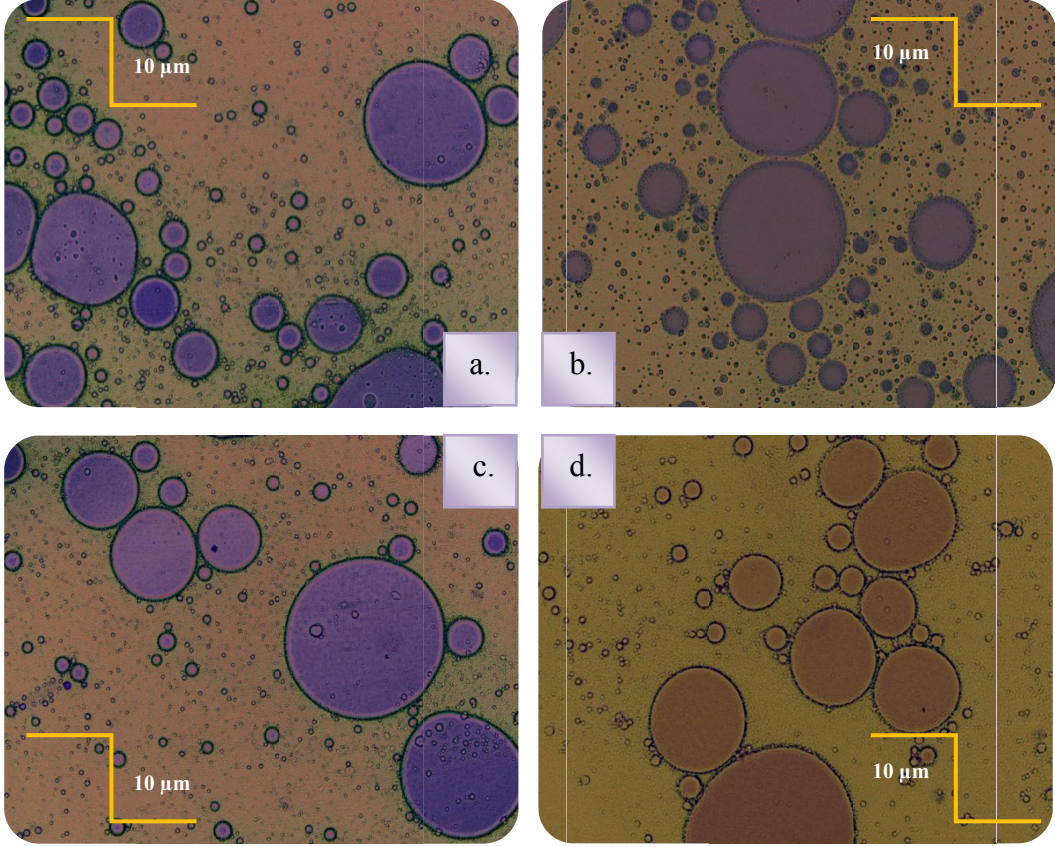


Şekil 73. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının reogramları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

Morfolojik İnceleme ve Tip Tayini

0. zaman ve 360. günlerde formülasyonların morfolojik incelemesi Nikon Eclipse E4000 ışık mikroskobu ile yapılmıştır (**Şekil 74**).



Şekil 74. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının morfolojik incelemesi

- a. 0. zaman**
- b. 360. gün, 4°C**
- c. 360. gün, 25°C**
- d. 360. gün, 40°C**

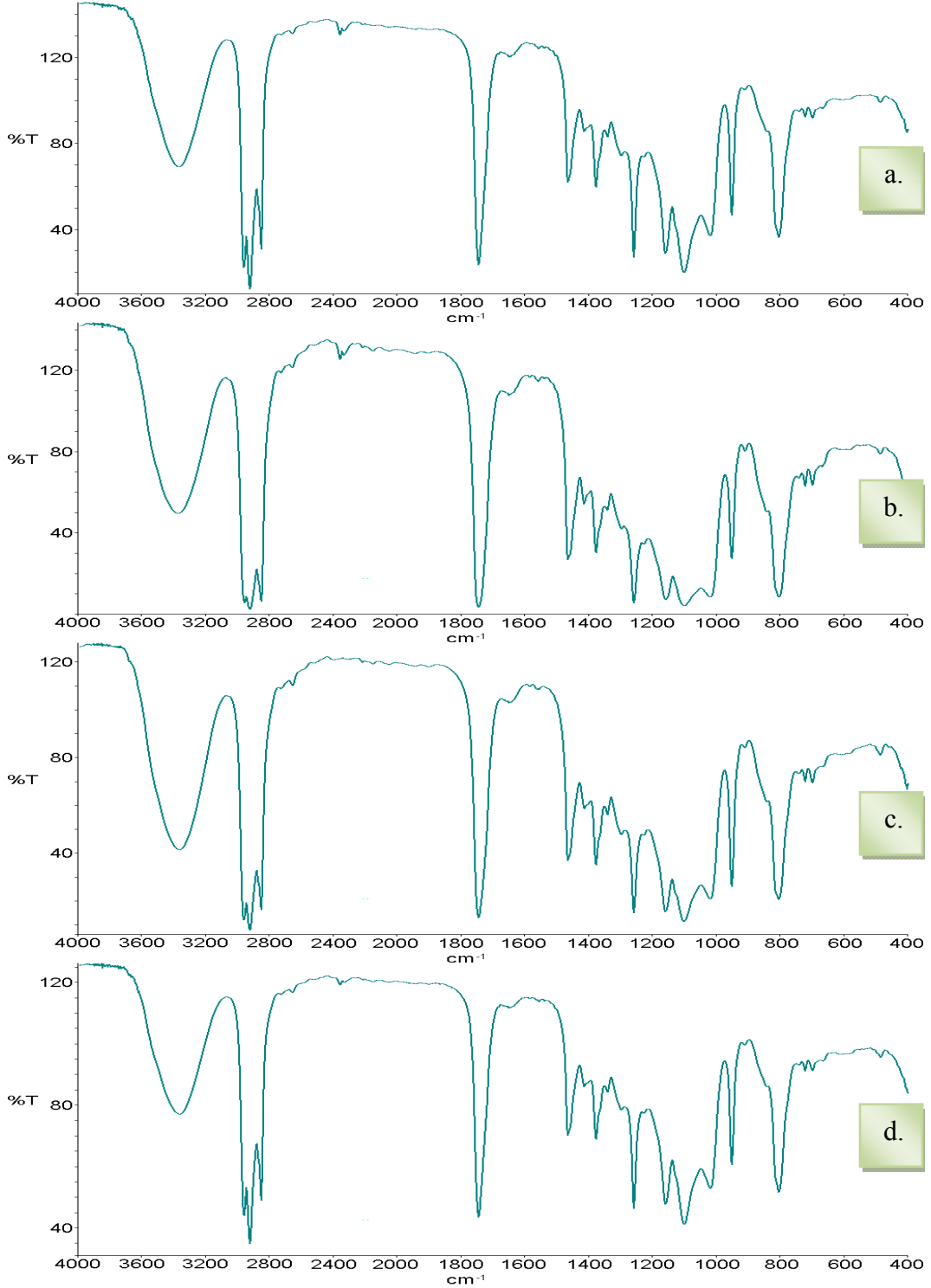
İç fazı boyamak için metilen mavisi kullanılmış, formülasyonlar x100 büyütmede incelenmiştir. Mikroemülsiyon formülasyonlarında iç faz olan su, metilen mavisi ile boyanmış ve emülsiyon tipinin S/Y olduğu görülmüştür. 360. gün sonunda yapılan incelemelerde emülsiyon tipinin değişmeden kaldığı bulunmuştur.

Mikroskoba bağlı fotoğraf makinesinden görüntüler alınmış ve damlacık büyüklüğü dağılımı bulguları ile karşılaştırılmıştır. Damlacık büyüklüğü dağılımında 0.2-0.9 µm arasında bulunan damlacıklar, morfolojik inceleme sonucunda elde edilen görüntülerde de görülmüş; ancak, formülasyonlarda az da olsa 10 µm gibi büyük damlacıkların olduğu da belirlenmiştir.

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen mikroemülsiyon formülasyonlarının 360. gün morfolojik incelemeleri karşılaştırıldığında, 10 µm gibi büyük damlacık sayısının, en az 4°C ve en fazla da 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlarda olduğu bulunmuştur. Bu durum, 25°C ve 4°C'lık ortamlardaki mikroemülsiyon formülasyonlarının, 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlardan çok daha kararlı yapıda kaldığını göstermiştir.

FT-IR Spektrumu

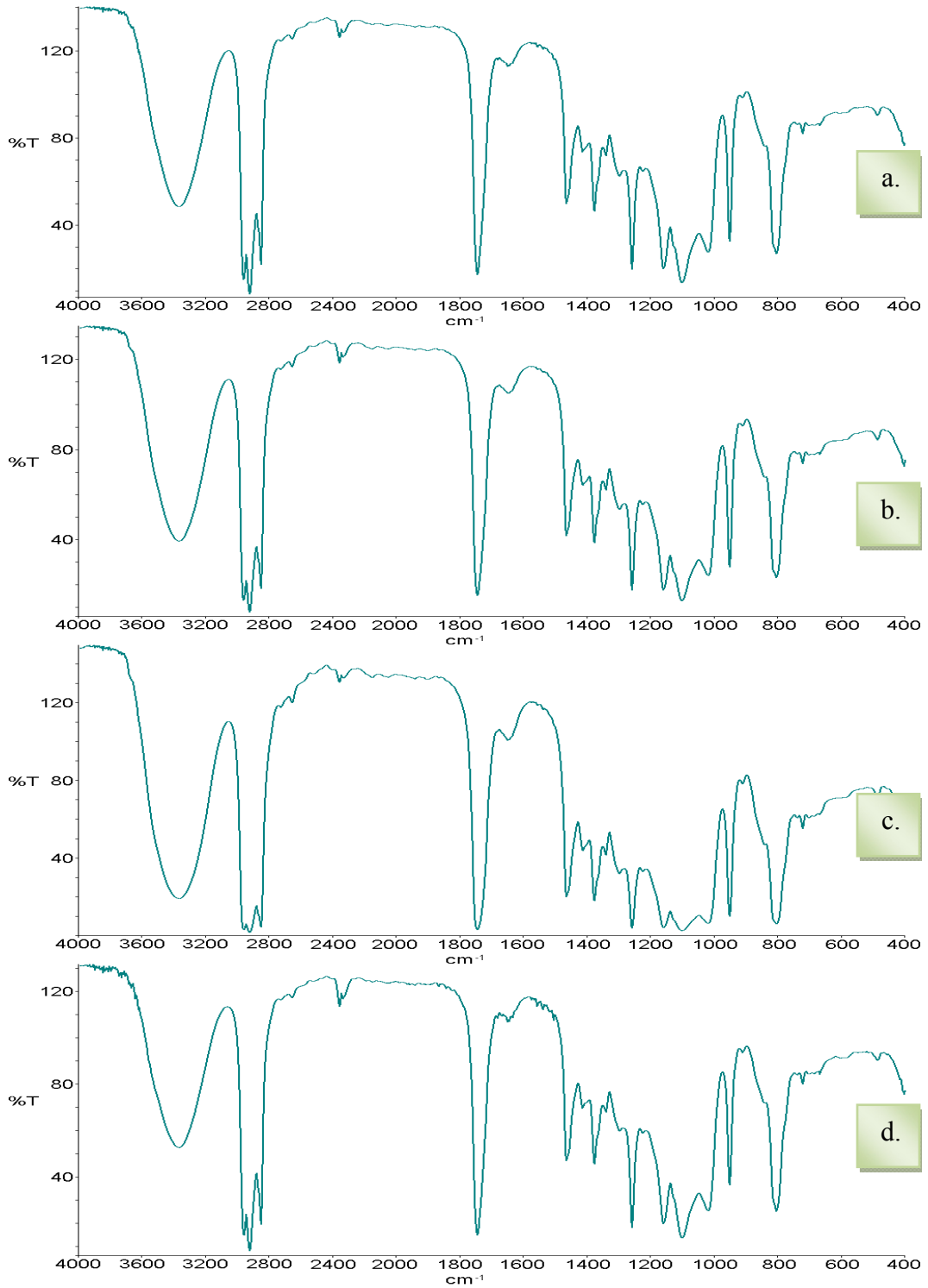
OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 75**'te sunulmuştur.



Şekil 75. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının FT-IR spektrumları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

ZnO içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 76**'da sunulmuştur.



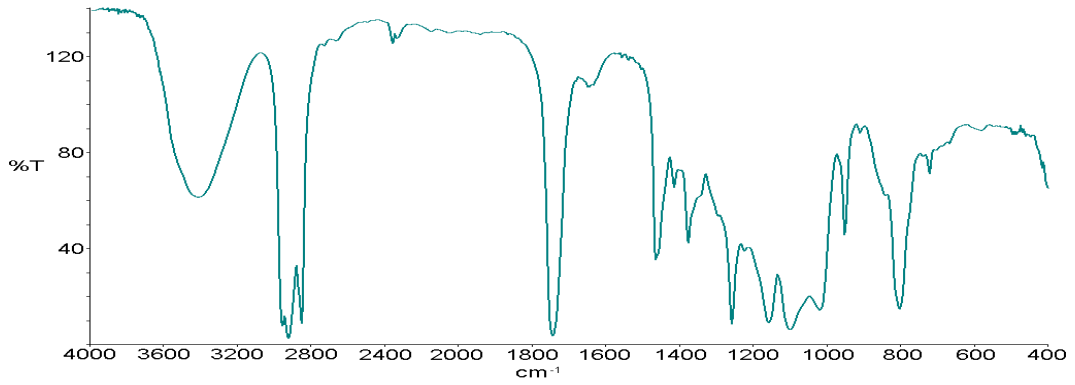
Şekil 76. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının FT-IR spektrumları

a. 0. zaman

b. 360. gün, 4°C

c. 360. gün, 25°C

d. 360. gün, 40°C



Şekil 77. Etkin madde içermeyen mikroemülsiyon formülasyonunun FT-IR spektrumu

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 360. gün FT-IR analizlerinde 400-4000 cm^{-1} arasında spektrumlar alınmış, 0. zaman sonuçları ve OCR'nin spektrumları ile karşılaştırılmıştır.

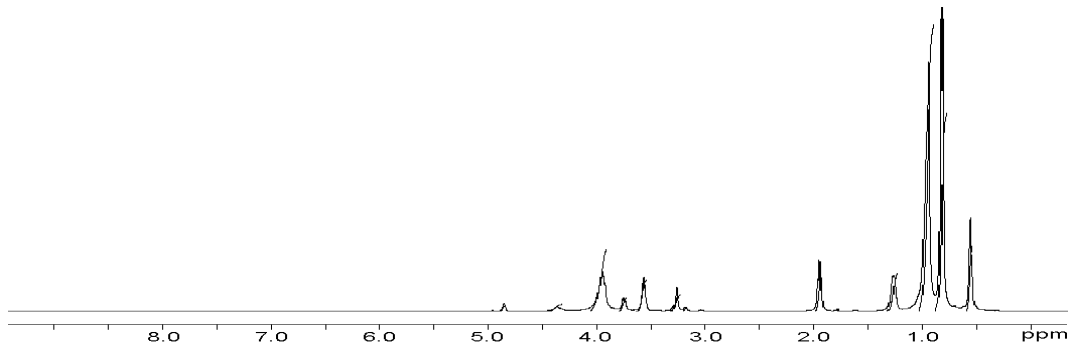
OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve incelenen bantlarda bir kayma ya da bozunma gözlenmemiştir. Ancak, formülasyonların yapısında bulunan sudan dolayı 3300-3700 cm^{-1} arasında geniş bir OH bandı görülmüştür.

Elde edilen spektrumlar, hazırlanan formülasyonların 360. gün sonunda kararlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

NMR Analizi

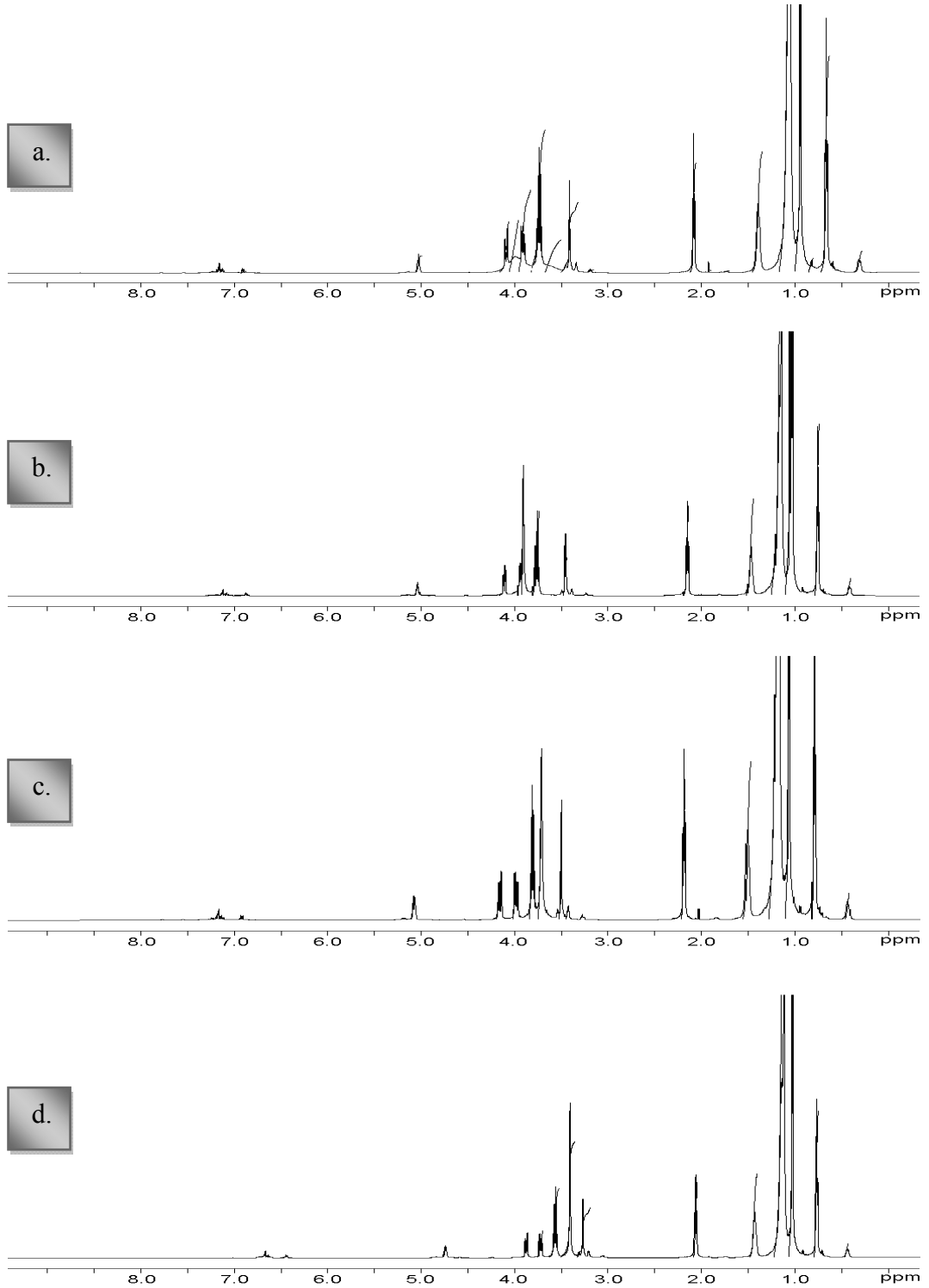
25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 360. gün NMR analizlerinde çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılarak spektrumları alınmış, 0. zaman sonuçları ve OCR'nin spektrumları ile karşılaştırılmıştır. OCR'nin yapısındaki 10 aromatik proton karakteristik olarak yaklaşık 7 ppm'de çoklu pik şeklinde görülmüş, ZnO ise yapısından dolayı NMR analizinde incelenememiştir.

OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 40°C sıcaklıkta 360. gün NMR spektrumunda, OCR'nin yapısındaki 10 aromatik protonun 6.5 ppm'e kaydığı görülmüştür. Bu kayma, formülasyonun ana yapısı için çok önemli görülmemiş ve ester yapısındaki değişikliklerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve incelenen bantlarda önemli bir kayma veya bozunma görülmemiştir. Elde edilen spektrumlar, formülasyonların 360. gün sonunda kararlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 78. Etkin madde içermeyen mikroemülsiyon formülasyonunun NMR spektrumu

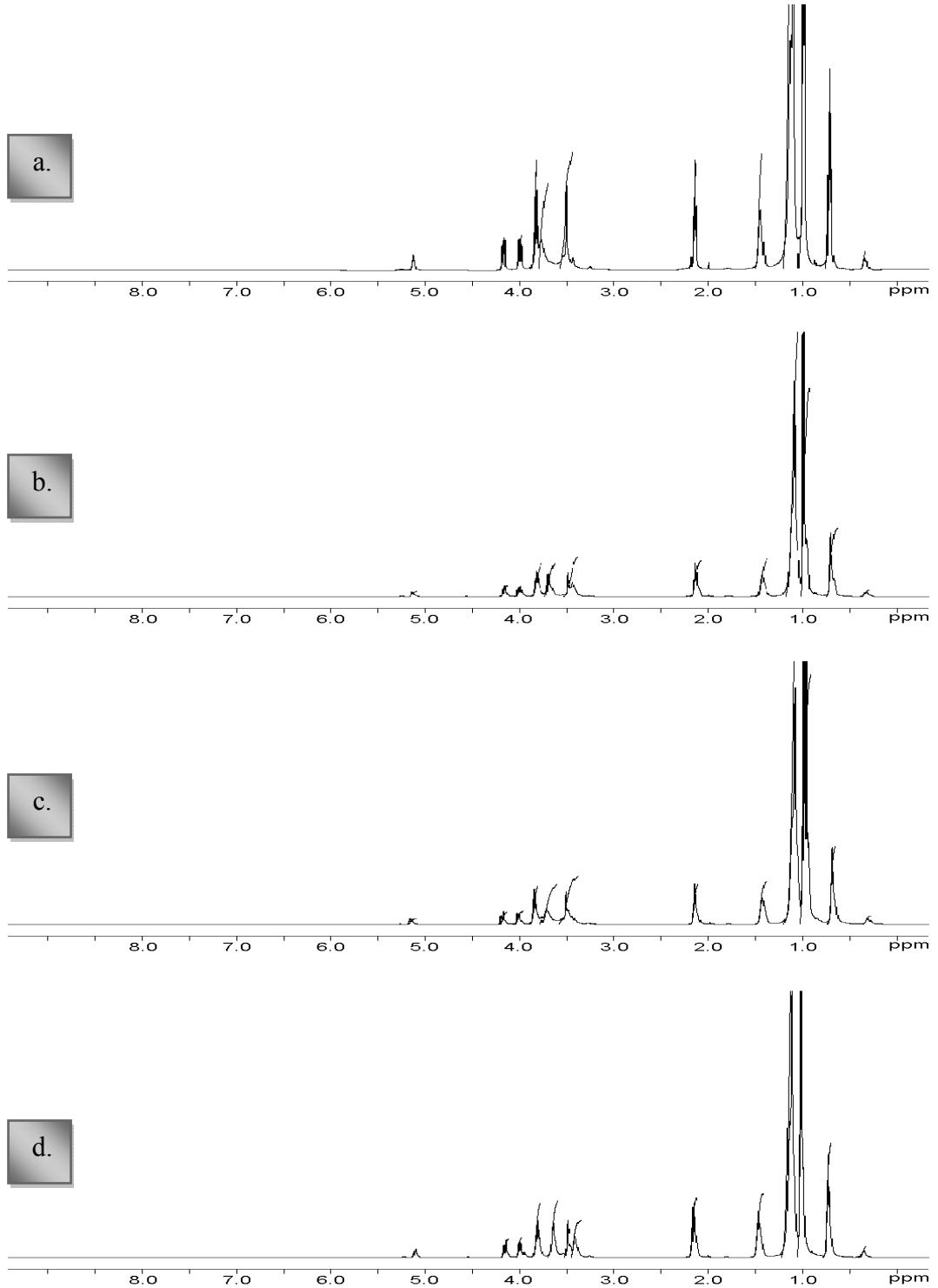
OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonların, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 79**'da sunulmuştur.



Şekil 79. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının NMR spektrumları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

ZnO içeren süspansiyon formülasyonlarının, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 80**'de sunulmuştur.



Şekil 80. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının NMR spektrumları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün etkin madde miktar tayinleri için, HPLC ve ICP-OES kullanılmıştır.

Eusolex® OCR Miktar Tayini

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında OCR miktar tayini için HPLC kullanılmış ve elde edilen sonuçlar % geri kazanım olarak **Çizelge 40**'ta verilmiştir.

Mikroemülsiyon formülasyonları hazırlanırken, toplam formülasyonun, % 2'si kadar etkin madde sisteme yüklenmiştir. Böylece, 30 g formülasyona 0.6 g etkin madde konulmuştur. Miktar tayini sonunda elde edilen % geri kazanım oranları, etkin maddenin formülasyonda bulunan gerçek yüzde değerlerini göstermektedir.

0. zamanda, etkin maddenin geri kazanımı % 99.68 olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı 0.6 g etkin maddenin % 99.68'i formülasyona yüklenebilmiştir. % 0.32'lik eksilmenin, formülasyonun hazırlanması sırasında, etkin maddenin kullanılan behere ya da karıştırıcıya yapışmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Mikroemülsiyon formülasyonlarındaki toplam etkin madde miktarları incelendiğinde, % geri kazanım oranları, 0. zamanda % 99.68, 360. gün sonunda 25°C'lık ortamda % 96.05, 4°C'lık ortamda % 89.61 ve 40°C'lık ortamda % 85.75 olarak bulunmuştur. HPLC kromatogramlarında OCR'nin bozunma pikleri görülmemiş; bu azalmanın, etkin maddenin zaman içinde etkinliğini kaybetmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 40. Mikroemülsiyon formülasyonları içindeki Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları

	% Ortalama (n=6)	SH	BSS	% 95 CI
0. Zaman	99.68	0,37	0,91	±0.9454
4°C, 360. Gün	89.61	0,31	0,84	±0.7948
25°C, 360. Gün	96.05	0,32	0,80	±0.8092
40°C, 360. Gün	85.75	0,25	0,72	±0.6468

Çinko Oksit Miktar Tayini

Hazırlanan süspansiyon formülasyonlarında ZnO miktar tayini için optik emisyon spektroskopisi kullanılmış ve sonuçlar % geri kazanım olarak **Çizelge 41**'de verilmiştir.

0. zamanda, etkin maddenin geri kazanımı % 88.18 olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı 0.6 g etkin maddenin % 88.18'i formülasyona yüklenebilmiştir. % 11.82'lik eksilmenin, formülasyonun hazırlanması sırasında, etkin maddenin kullanılan behere ya da karıştırıcıya yapışmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Süspansiyon formülasyonlarındaki toplam etkin madde miktarları incelendiğinde % geri kazanım oranları, 0. zamanda % 88.18, 360. gün sonunda 25°C'lık ortamda % 90.74, 4°C'lık ortamda % 88.90 ve 40°C'lık ortamda % 94.84 olarak bulunmuştur.

Çizelge 41. Süspansiyon formülasyonları içindeki çinko oksit in % geri kazanım miktarları

	% Ortalama (n=3)		SH	BSS	% 95 CI
0. Zaman	88.18		0.89	1.75	±3.8472
4°C, 360. Gün	88.90		0.22	0.43	±0.9641
25°C, 360. Gün	90.74		0.20	0.39	±0.8833
40°C, 360. Gün	89.42		0.15	0.28	±0.6465

ZnO çok kararlı bir bileşik olduğu için, 360 gün gibi bir zaman içinde etkinliğini kaybetmesi söz konusu değildir. Etkin madde geri kazanım yüzdelerindeki farklılıkların, 25°C, 4°C ve 40°C’lık her ortam için 30 g’lık örneklerin birbirinden bağımsız olarak hazırlanmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

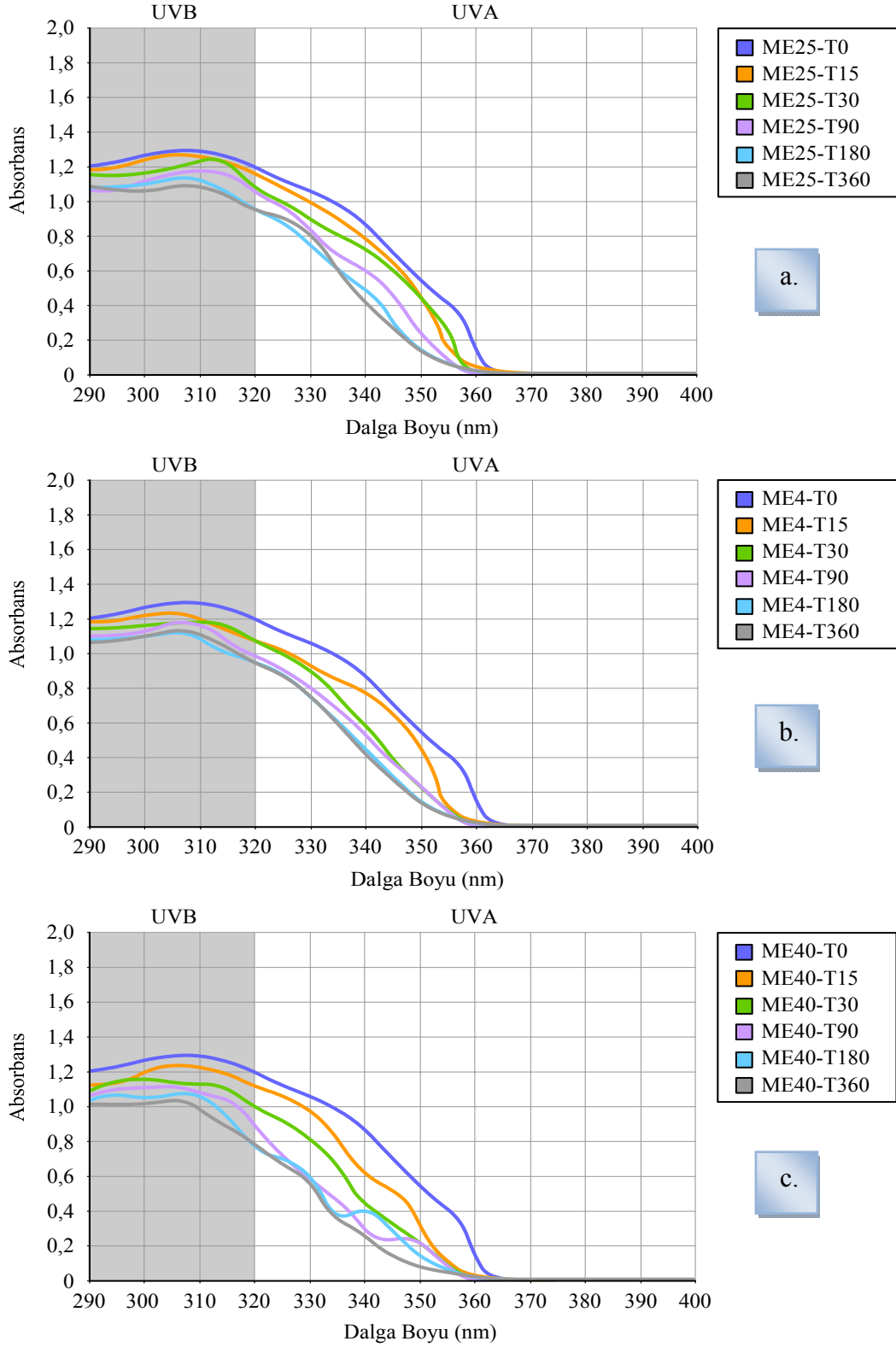
Hazırlanan formülasyonlardaki ZnO miktarının bilinmesi, Transpore™ Testi gibi etkinlik testlerinin değerlendirilmesinde önem taşımaktadır.

Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar

Transpore™ Test

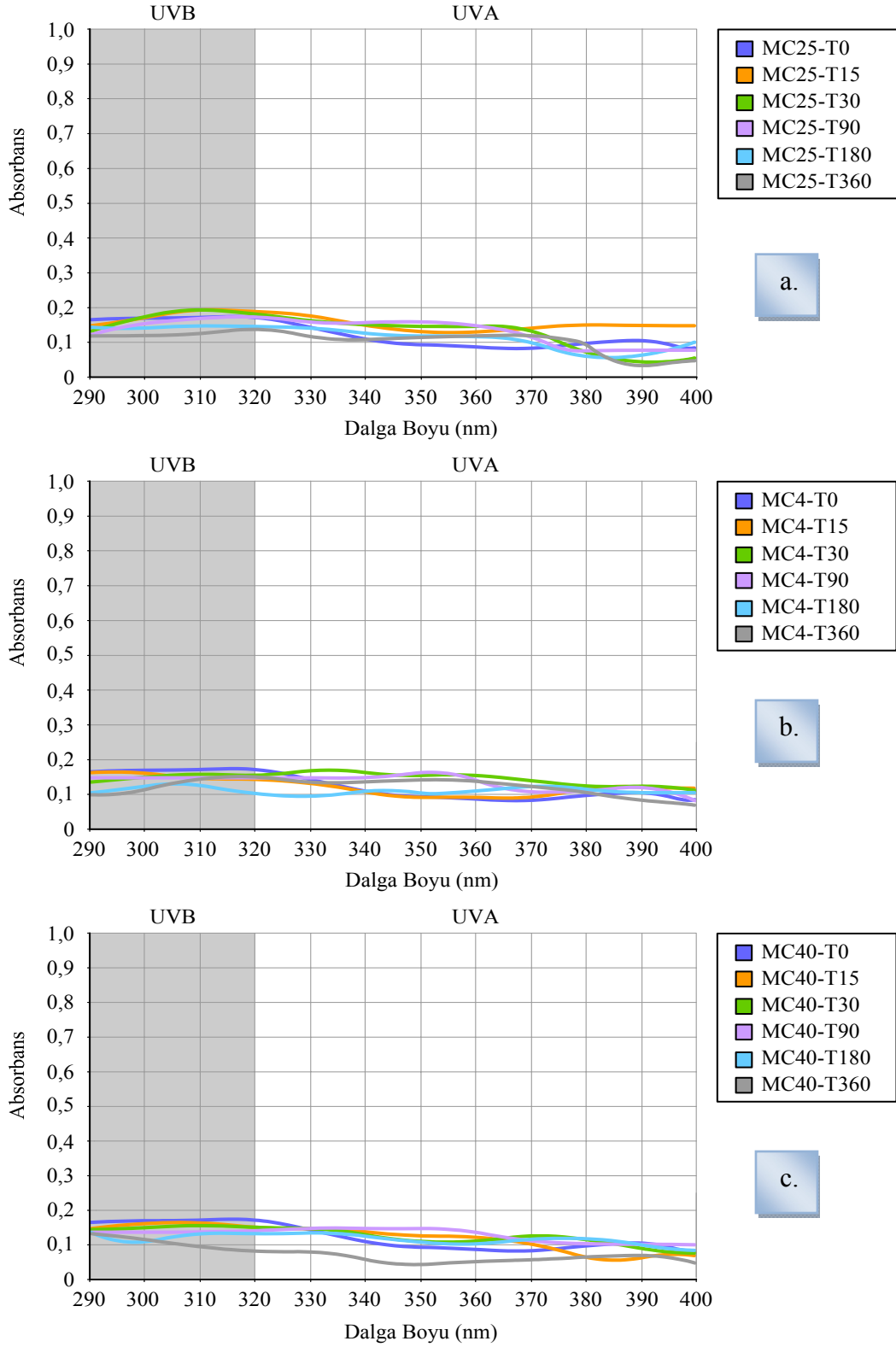
25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki UV absorbanslarının ölçümü için *Transpore™* testi kullanılmış ve elde edilen sonuçlar **Şekil 81** ve **Şekil 82**’de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

Formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde ölçülen UV absorbansları az da olsa farklılıklar göstermiş; ancak, OCR ve ZnO içeren formülasyonlar arasındaki fark daha önemli bulunmuştur. Yapılan *Transpore™* testi sonucunda, aynı miktarda etkin madde içermesine rağmen, UV ışınlarını kimyasal olarak süzen OCR’nin koruyucu etkisinin, UV ışınlarını fiziksel olarak süzen ZnO’dan çok daha iyi olduğu görülmüştür. ZnO içeren krem formülasyonlarının UV absorbansları 0.1-0.2 aralığında bulunmuş, OCR içeren formülasyonların UV absorbansları ise UVB bölgesinde 1.3 seviyesine kadar çıkmıştır.



Şekil 81. Eusolex® OCR içeren mikroemülsiyon formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki *Transpore™* testi sonuçları

a. 25°C
b. 4°C
c. 40°C



Şekil 82. Çinko oksit içeren süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki *Transpore*TM testi sonuçları
a. 25°C
b. 4°C
c. 40°C

Krem Formülasyonlarında Yapılan Karakterizasyon ve Kararlılık Çalışmaları

Hazırlanan krem sistemlerinin fiziksel özelliklerini incelemek için, preparatlar 25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlara konulmuştur. Formülasyonların kararlılık testleri önceden belirlenen periyotlarda gerçekleştirilmiştir.

pH Ölçümü

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, pH değerleri Çizelge 42 ve Çizelge 43'te sunulmuştur.

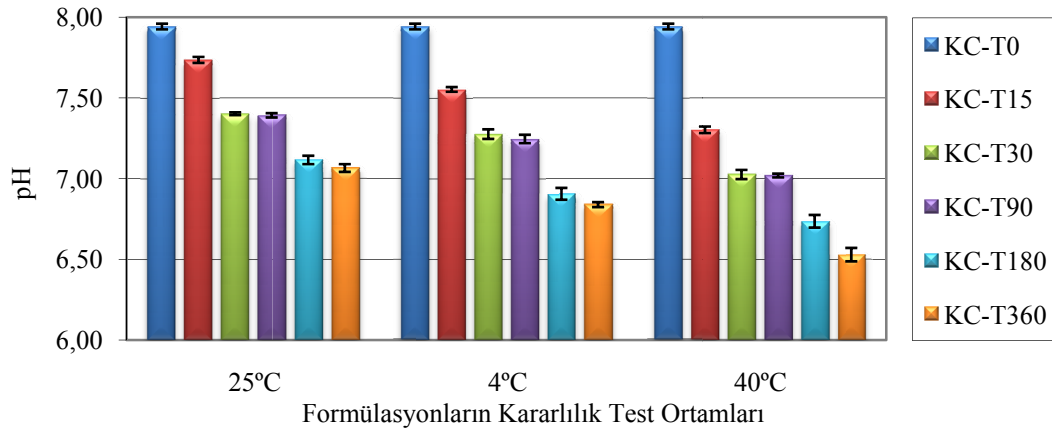
Çizelge 42. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının pH değerleri

	Ortalama (n=3)	SS	SH
KC25-T0	7.94	0.03	0.02
KC25-T15	7.74	0.03	0.02
KC25-T30	7.40	0.02	0.01
KC25-T90	7.39	0.02	0.01
KC25-T180	7.12	0.05	0.03
KC25-T360	7.07	0.04	0.02
KC4-T0	7.94	0.03	0.02
KC4-T15	7.55	0.03	0.01
KC4-T30	7.28	0.05	0.03
KC4-T90	7.25	0.05	0.03
KC4-T180	6.91	0.06	0.04
KC4-T360	6.84	0.03	0.02
KC40-T0	7.94	0.03	0.02
KC40-T15	7.30	0.04	0.02
KC40-T30	7.03	0.05	0.03
KC40-T90	7.02	0.02	0.01
KC40-T180	6.74	0.07	0.04
KC40-T360	6.53	0.07	0.04

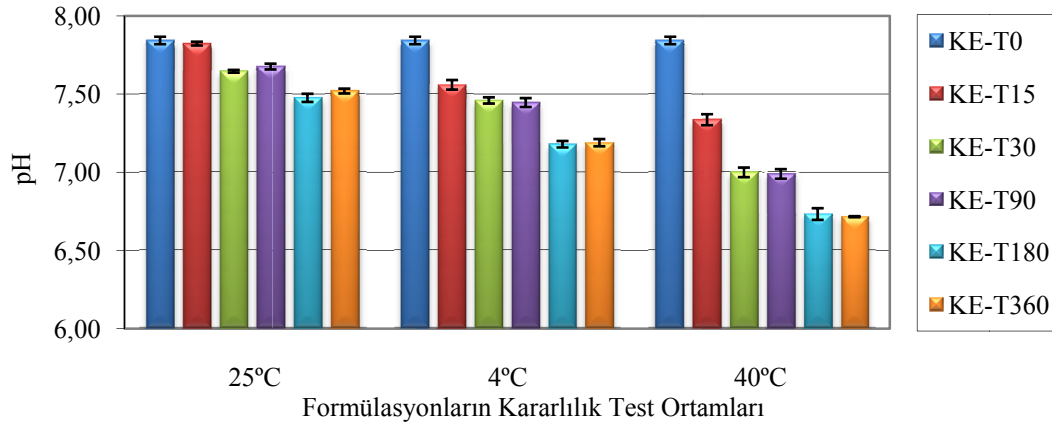
Çizelge 43. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının pH değerleri

	Ortalama (n=3)	SS	SH
KE25-T0	7.84	0.04	0.02
KE25-T15	7.82	0.02	0.01
KE25-T30	7.65	0.02	0.01
KE25-T90	7.68	0.03	0.02
KE25-T180	7.48	0.05	0.03
KE25-T360	7.52	0.03	0.02
KE4-T0	7.84	0.04	0.02
KE4-T15	7.56	0.05	0.03
KE4-T30	7.46	0.03	0.02
KE4-T90	7.45	0.05	0.03
KE4-T180	7.18	0.04	0.02
KE4-T360	7.19	0.04	0.02
KE40-T0	7.84	0.04	0.02
KE40-T15	7.34	0.06	0.04
KE40-T30	7.00	0.05	0.03
KE40-T90	6.99	0.05	0.03
KE40-T180	6.73	0.06	0.04
KE40-T360	6.72	0.01	0.00

ZnO ve OCR içeren krem formülasyonlarının pH değerlerindeki değişim, karşılaştırmalı olarak Şekil 83 ve Şekil 84’te gösterilmiştir.



Şekil 83. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının ortalama pH değerleri



Şekil 84. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının ortalama pH değerleri

OCR içeren krem formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ortalama pH 7.8 olarak bulunmuş, 360. gün sonunda bu değer ortalama pH 7.2 seviyesine düşmüştür.

Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün pH bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 40°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$), 4°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p \leq 0.01$) ve 25°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda da önemli fark ($p < 0.05$) olduğu görülmüştür.

ZnO içeren krem formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde ise ortalama pH 7.9 olarak bulunmuş, 360. gün sonunda bu değer de ortalama pH 6.7 seviyesine düştüğü görülmüştür.

Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün pH bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılmış; 4°C’lık ortamda bekletilen formülasyonda çok önemli fark ($p \leq 0.01$), 40°C ve 25°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda da ileri düzeyde önemli fark ($p \leq 0.001$) olduğu görülmüştür.

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen SLN formülasyonlarının 360. gün pH ölçüm bulgularının da istatistiksel karşılaştırılması yapılmış ve farklı ortamlar arasındaki pH değişimlerinde de önemli değişimler olduğu görülmüştür.

Saklama süresi boyunca görülen pH değişikliklerinden dolayı, formülasyonların 360. gün ölçümlerinde kararlı bir yapıda kaldığı söylenemez.

Formülasyonlardaki pH değişikliğinin, parçacıkların yüzey yüklerinin değişmesi, etkin maddenin bozunması veya mikrobiyolojik üremeden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Faz Ayrımı

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonlarda, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde faz ayrımı olup olmadığı görsel olarak belirlenmiş ve hiçbirinde faz ayrımı görülmemiştir.

Fiziksel Görünüş

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki fiziksel görünüşlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiş ve hazırlandığı andan itibaren tekdüze görünümünü korumuştur.

Reolojik Analiz

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların , 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki reolojik analizleri için koni-plak viskozimetresi kullanılmıştır.

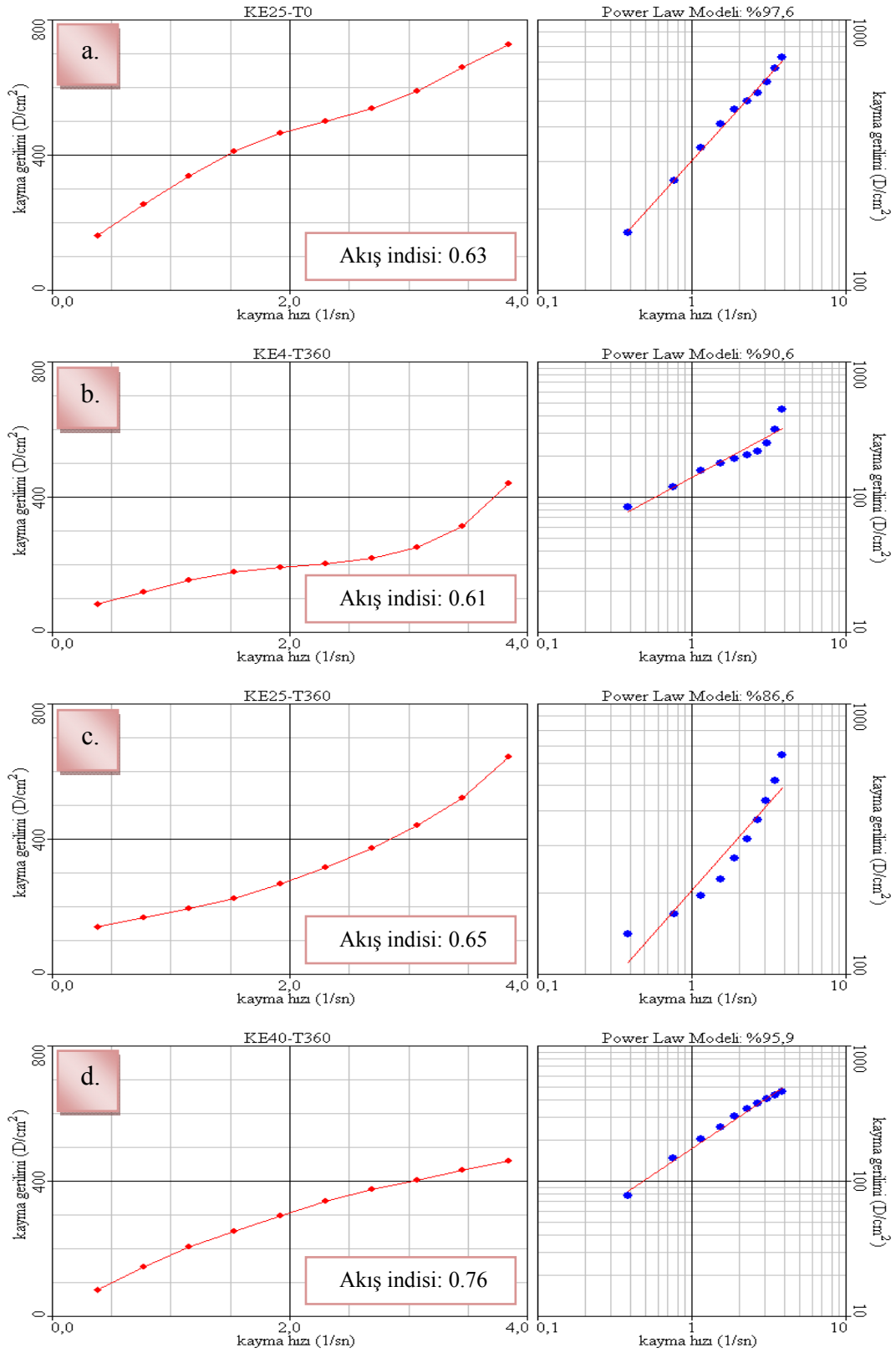
Formülasyonların 0. zaman ve 360. gün bulguları karşılaştırmalı olarak **Şekil 85** ve **Şekil 86**’da sunulmuştur.

OCR içeren krem formülasyonlarının 0-4 sn⁻¹ kayma hızındaki, 0. zaman ölçümleri *Power Law* modeline % 97.6 uyum göstermiştir. 25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların 360. gün ölçümlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.

ZnO içeren krem formülasyonlarının 0-4 sn⁻¹ kayma hızındaki, 0. zaman ölçümleri *Casson* modeline % 97.4 uyum göstermiştir. 25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların 360. gün ölçümlerinde de önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.

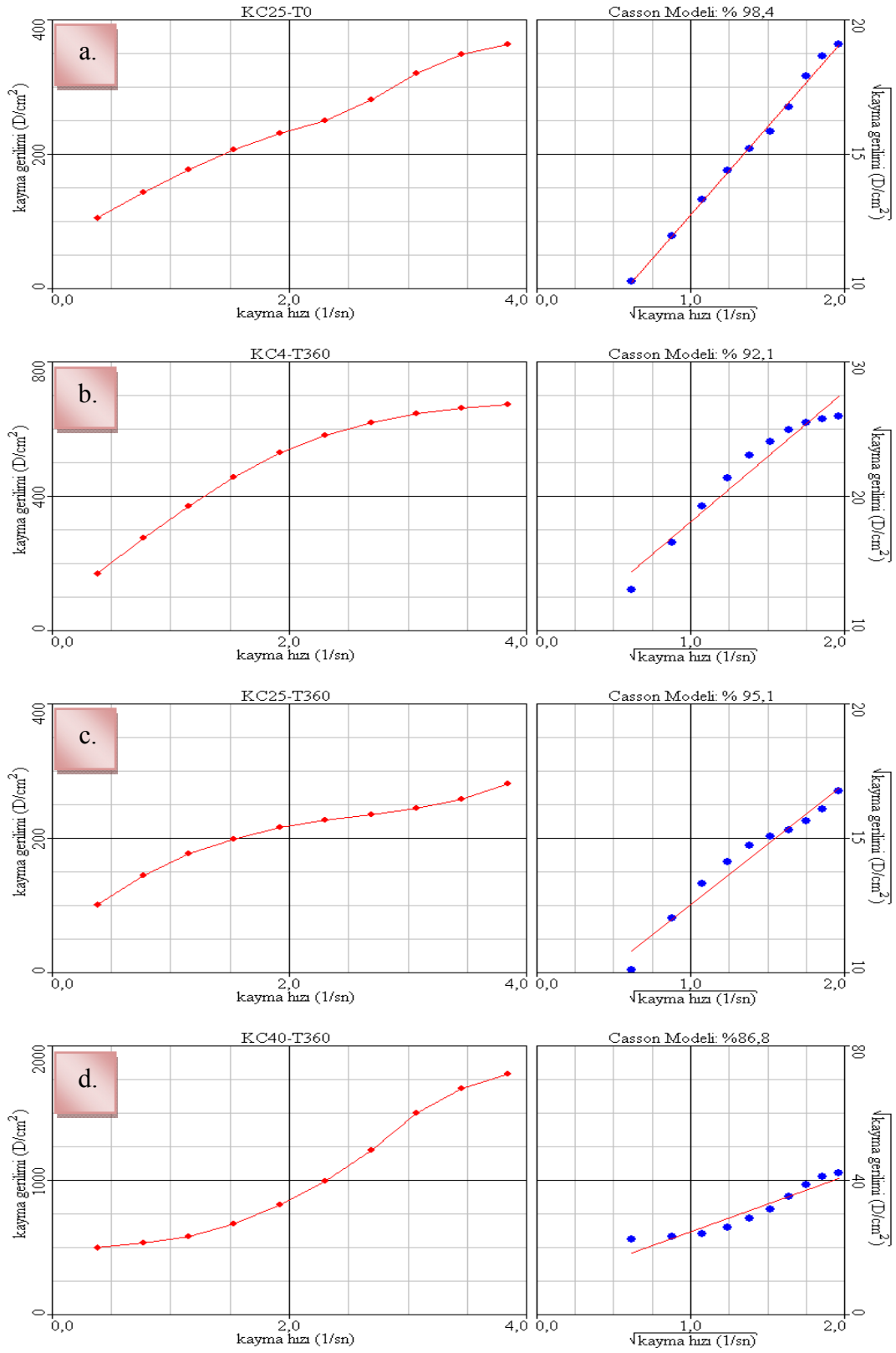
Casson modelinde akışın başlayabilmesi için bir eşik değeri vardır. Ancak eşik değeri aşıldıktan sonra *Newton* akış görülmez. İdeal olmayan bir plastik akış gösterir. Bütün plastik sistemlerde olduğu gibi kayma hızı arttıkça, viskozitede düşme görülür. Deneysel çalışmalarda bu profil genellikle kayma geriliminin karekökü-kayma hızının karekökü koordinatlarında gösterilir.

Yapılan reolojik analizler sonucunda, hazırlanan formülasyonların 0. zamanda uyum gösterdikleri akış modellerinin, 360. gün sonunda da değişmediği ve kararlı bir yapıda kaldığı bulunmuştur.



Şekil 85. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının reogramları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C



Şekil 86. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının reogramları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

Termal Analiz

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki termal analizleri, DSC kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar **Çizelge 44** ve **Çizelge 45**'te sunulmuştur.

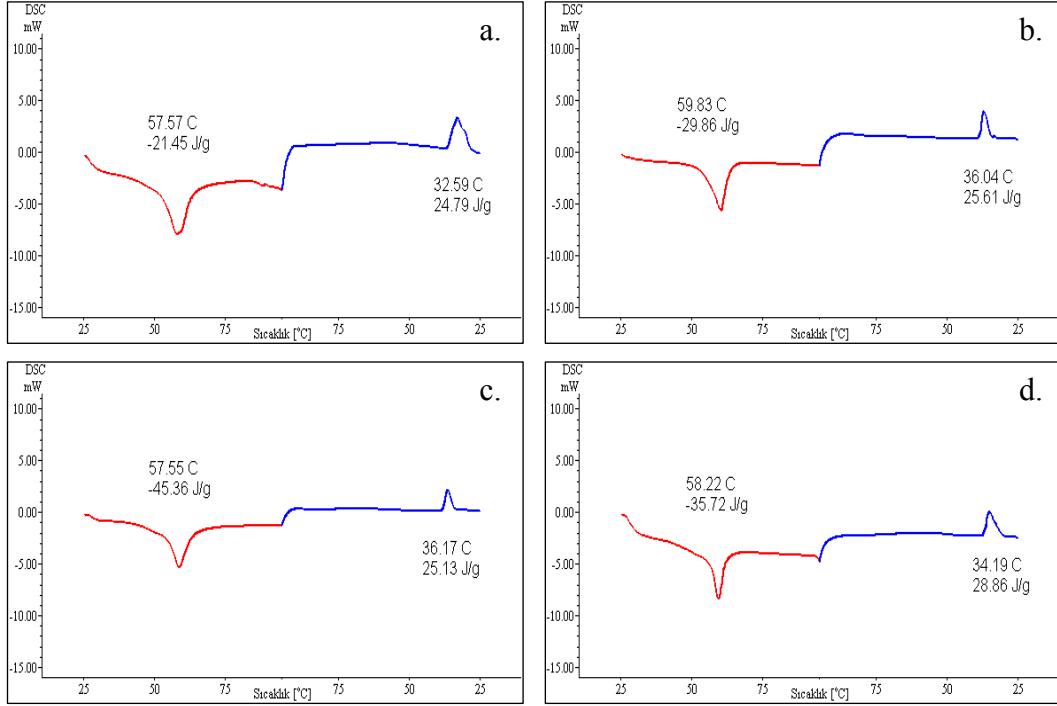
Çizelge 44. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının termal analizleri

	Erime		Donma	
	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)
KE25-T0	57.57	-21.45	32.59	24.79
KE25-T15	58.36	-31.75	33.94	31.50
KE25-T30	59.73	-31.16	35.36	21.81
KE25-T90	59.77	-31.62	35.39	31.79
KE25-T180	60.01	-32.97	35.79	23.42
KE25-T360	59.83	-29.86	36.04	25.61
KE4-T0	57.57	-21.45	32.59	24.79
KE4-T15	57.80	-32.17	34.16	27.62
KE4-T30	58.48	-30.01	32.55	25.48
KE4-T90	59.41	-47.68	35.71	26.66
KE4-T180	59.77	-43.26	35.94	26.45
KE4-T360	57.55	-45.36	36.17	25.13
KE40-T0	57.57	-21.45	32.59	24.79
KE40-T15	57.88	-34.56	34.11	31.50
KE40-T30	58.72	-33.35	34.04	33.46
KE40-T90	60.02	-42.70	36.12	32.61
KE40-T180	60.33	-37.28	36.27	24.02
KE40-T360	58.22	-35.72	34.19	28.86

Çizelge 45. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının termal analizleri

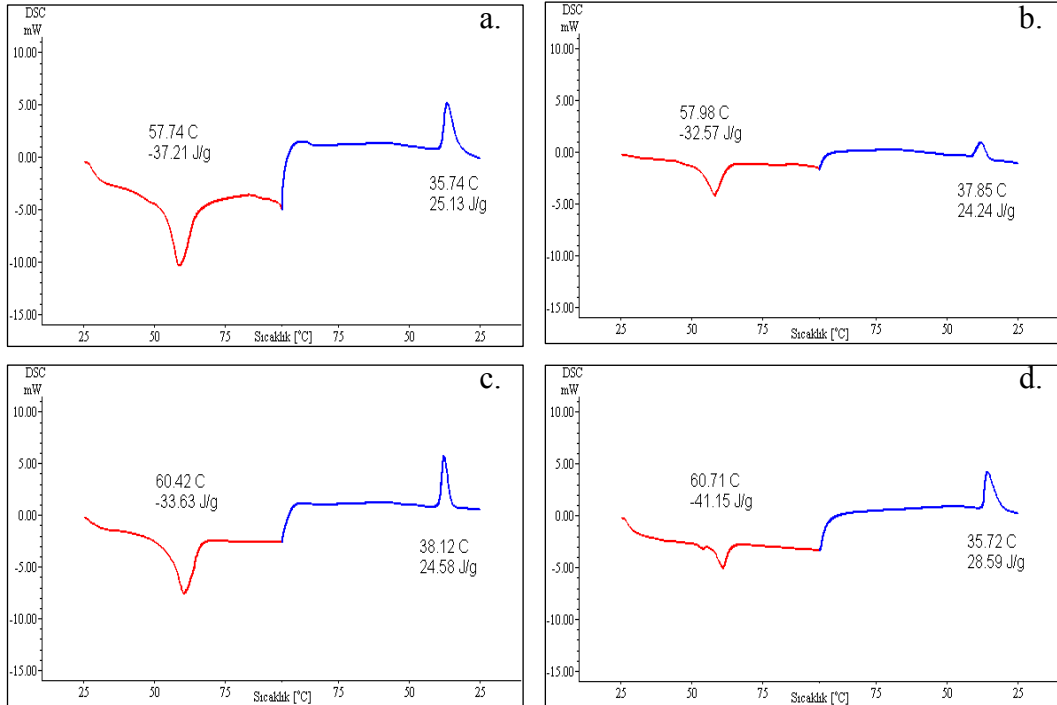
	Erime		Donma	
	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)	Sıcaklık (°C)	Isı (J.g ⁻¹)
KC25-T0	57.74	-37.21	35.74	25.13
KC25-T15	58.29	-33.34	35.67	26.14
KC25-T30	58.04	-26.28	37.20	18.56
KC25-T90	58.69	-39.84	37.81	23.86
KC25-T180	60.90	-27.24	38.80	18.51
KC25-T360	57.98	-32.57	37.85	24.24
KC4-T0	57.74	-37.21	35.74	25.13
KC4-T15	58.50	-27.33	38.40	20.97
KC4-T30	58.72	-23.96	38.66	19.59
KC4-T90	59.80	-31.94	38.24	23.71
KC4-T180	60.58	-36.90	38.41	26.34
KC4-T360	60.42	-33.63	38.12	24.58
KC40-T0	57.74	-37.21	35.74	25.13
KC40-T15	60.77	-42.72	37.47	31.82
KC40-T30	60.73	-38.13	37.70	29.70
KC40-T90	61.18	-39.59	37.06	33.40
KC40-T180	57.78	-38.27	35.89	32.64
KC40-T360	60.71	-41.15	35.72	28.59

Krem formülasyonlarının termogramları ise karşılaştırmalı olarak **Şekil 87** ve **Şekil 88**'de gösterilmiştir.



Şekil 87. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının termal analizi

- a. 0. Zaman**
b. 360. gün, 25°C
c. 360. gün, 4°C
d. 360. gün, 40°C



Şekil 88. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının termal analizi

- a. 0. zaman**
b. 360. gün, 25°C
c. 360. gün, 4°C
d. 360. gün, 40°C

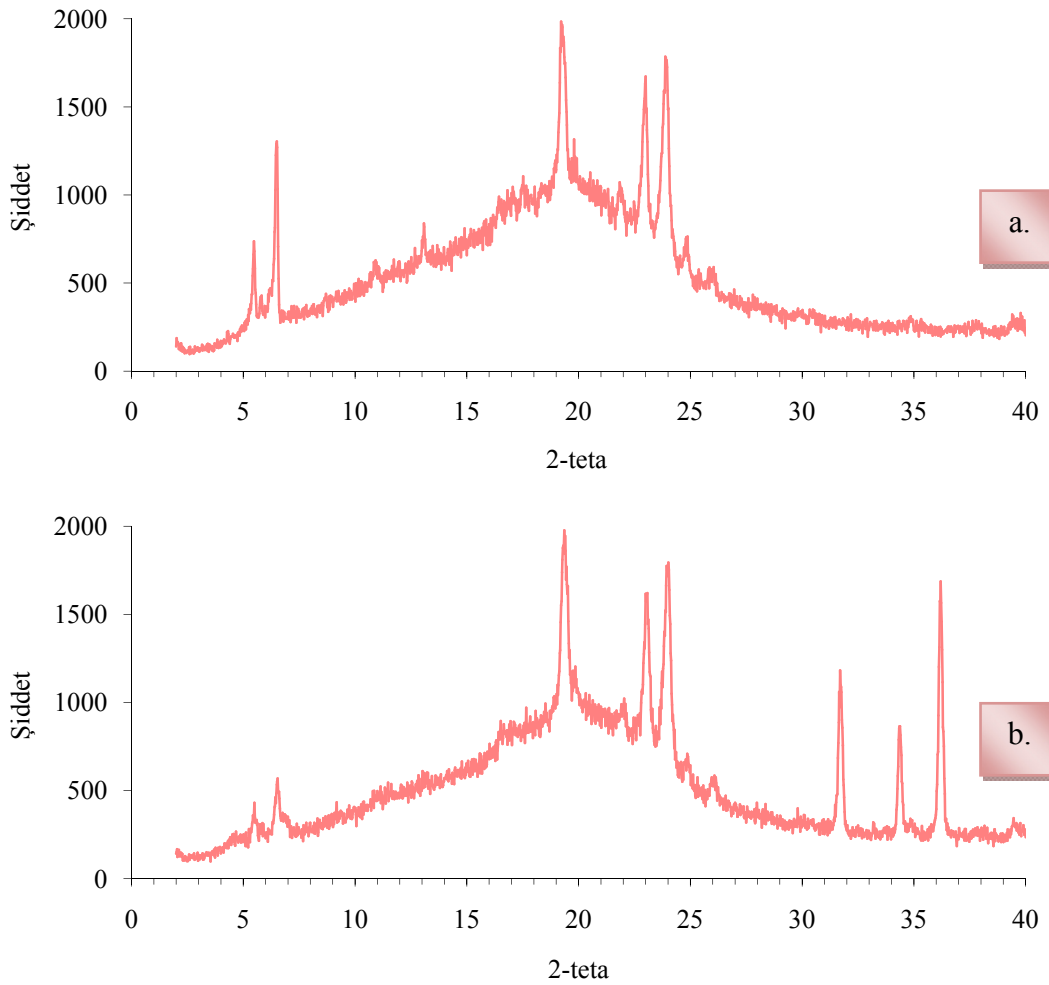
OCR içeren krem formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde erime derecesi 57.57°C olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 59.83°C, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 57.55°C ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 58.22°C olarak bulunmuştur.

ZnO içeren krem formülasyonlarının 0. zaman ölçümlerinde erime derecesi 57.74°C olarak bulunmuştur. 360. gün ölçümlerinde bu değer, 25°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 57.98°C, 4°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için 60.42°C ve 40°C'lık ortamda bekletilen formülasyonlar için de 60.71°C olarak bulunmuştur.

Formülasyonların termal analizlerinde tek ölçüm yapıldığı için, bulgularının istatistiksel karşılaştırılması yapılamamış; ancak, erime ve donma pikleri incelendiğinde önemli bir değişimin olmadığı gözlenmiştir.

X-Işını Kırınım Analizi

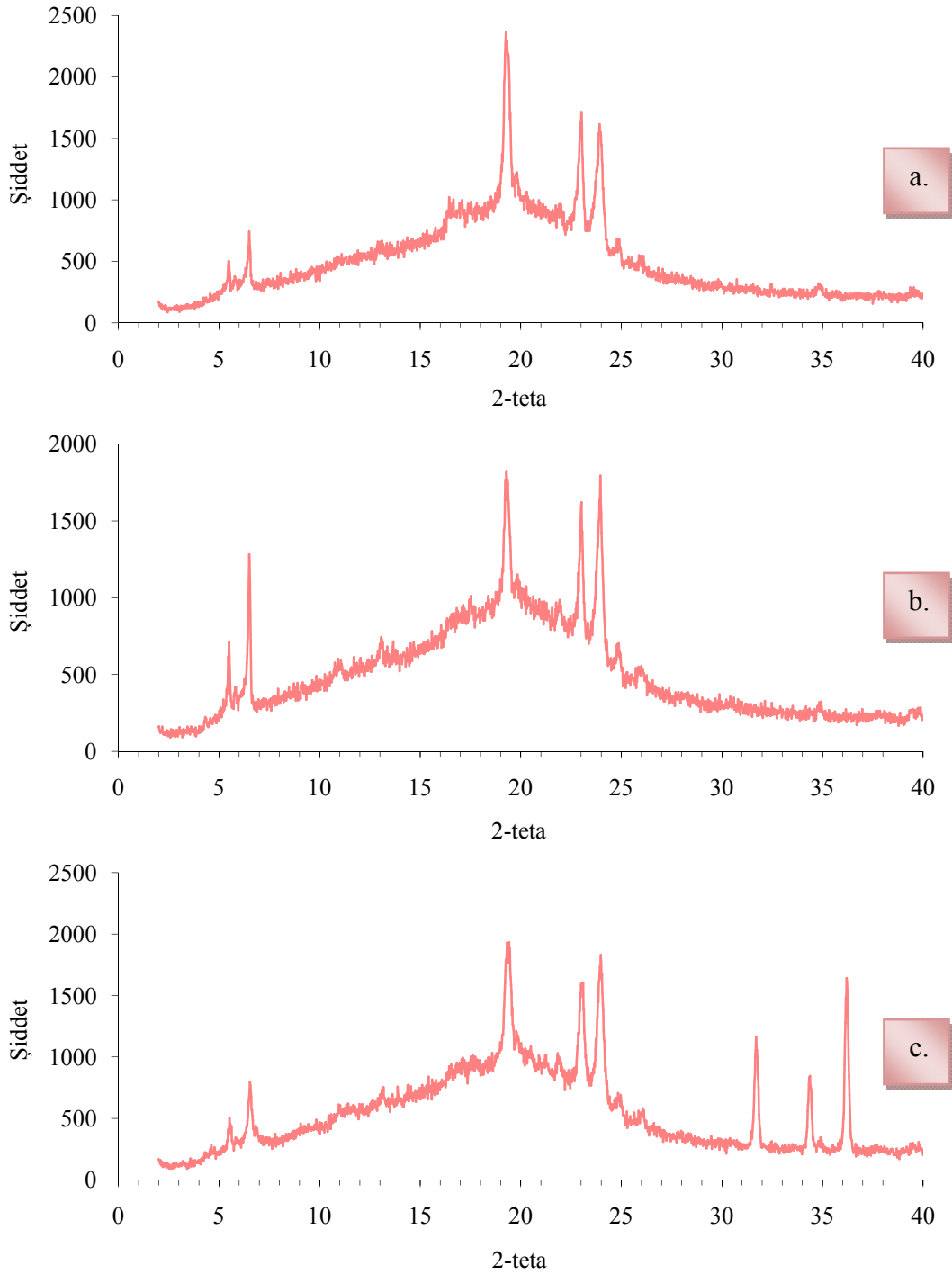
Hazırlanan SLN süspansiyonlarının 0. zaman ve 360. gün X-ışını kırınım analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 89** ve **Şekil 90**'da sunulmuştur.



Şekil 89. 25°C sıcaklıktaki krem formülasyonlarının 360. gün X-ışını kırınım analizi

a. OCR

b. ZnO



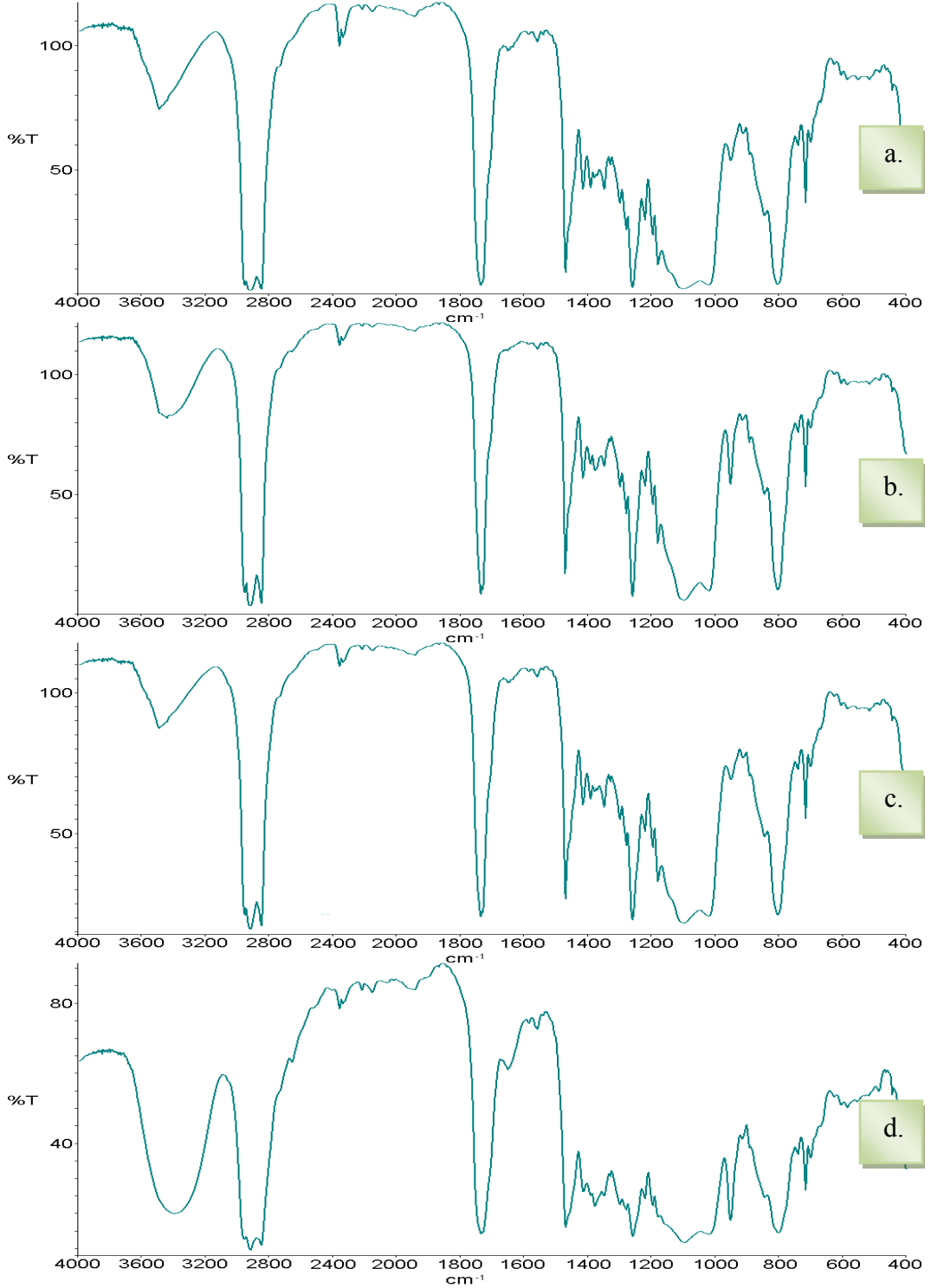
Şekil 90. Krem formülasyonlarının 0. zaman X-ışını kırınım analizleri

- a. Etkin madde içermeyen formülasyon**
- b. OCR içeren formülasyon**
- c. ZnO içeren formülasyon**

OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Dynasan® 116'nın 18.95 (2θ) derecesinde karakteristik piki ve ZnO'nun 32, 34 ve 36 (2θ) derecelerinde üçlü pikleri bütün formülasyonlarda görülmüş, incelenen bantlarda bir kayma ya da bozunma gözlenmemiştir. OCR ise X-ışını kırınım analizinde sıvı yapısından dolayı pik vermemiştir. Hazırlanan formülasyonların 360. gün sonunda kararlı olduğu bulunmuştur.

FT-IR Spektrumu

OCR içeren krem formülasyonların 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 91**'de sunulmuştur.



Şekil 91. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonları FT-IR spektrumları

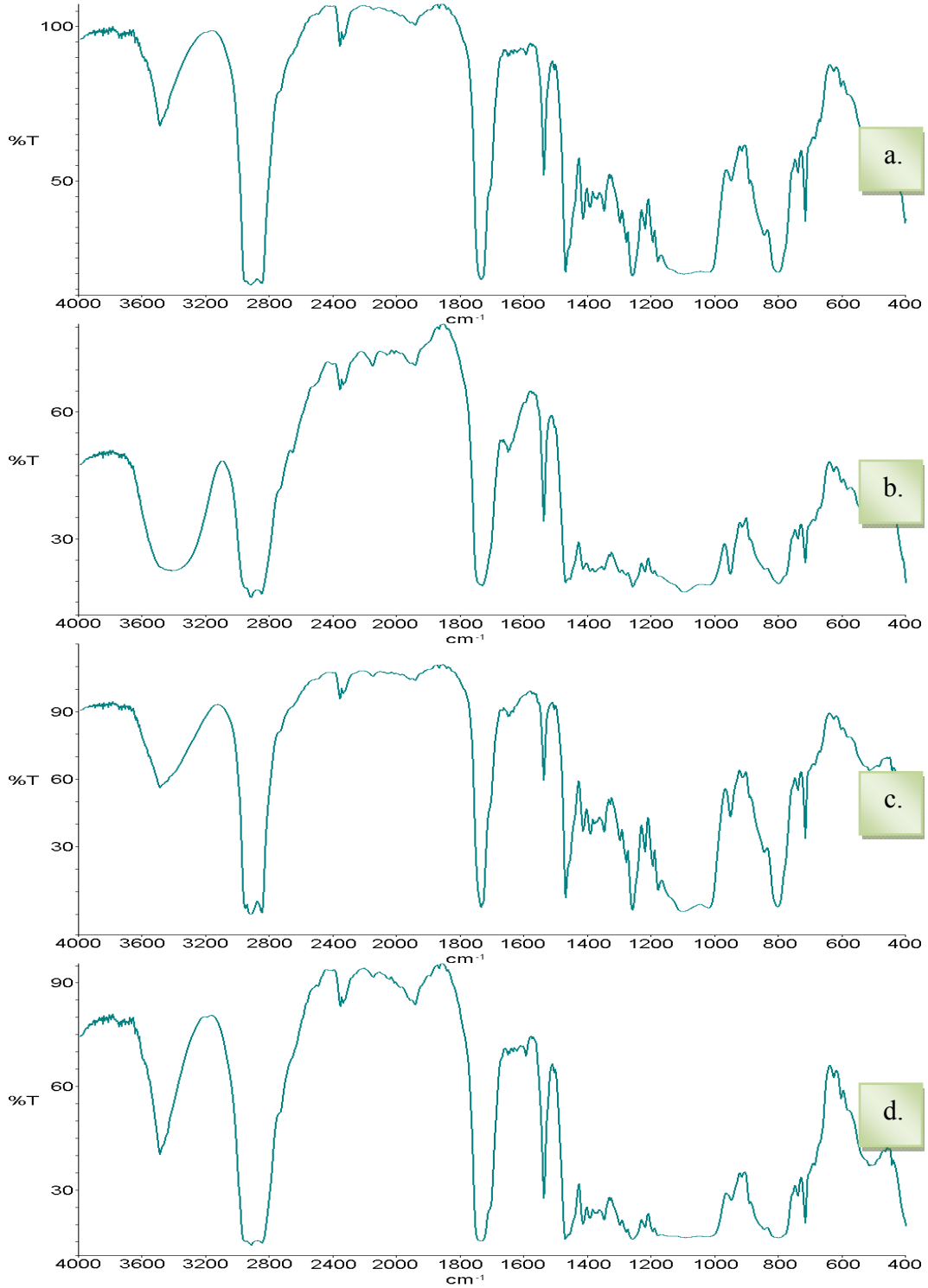
a. 0. zaman

b. 360. gün, 4°C

c. 360. gün, 25°C

d. 360. gün, 40°C

OCR içeren krem formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün FT-IR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 92**'de sunulmuştur.



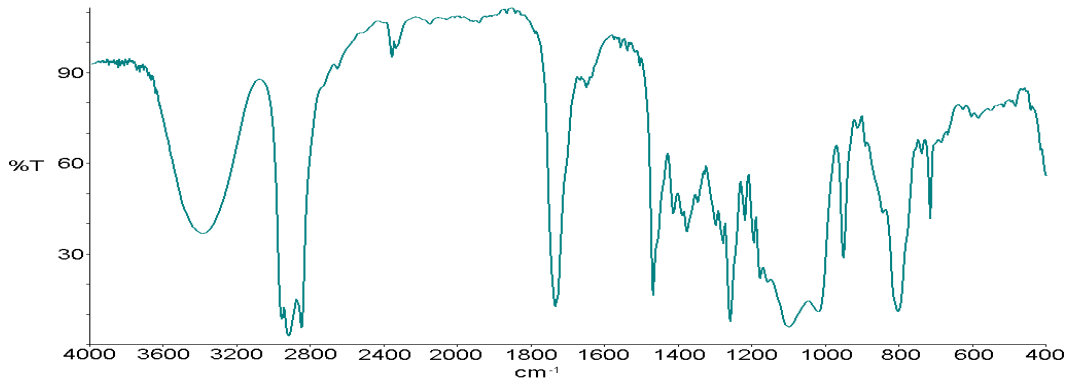
Şekil 92. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının FT-IR spektrumları

a. 0. zaman

b. 360. gün, 4°C

c. 360. gün, 25°C

d. 360. gün, 40°C



Şekil 93. Etkin madde içermeyen krem formülasyonunun FT-IR spektrumu

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 360. gün FT-IR analizlerinde 400-4000 cm⁻¹ arasında spektrumlar alınmış ve 0. zaman sonuçları, Dynasan® 116 ve OCR’nin spektrumları ile karşılaştırılmıştır.

OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve incelenen bantlarda bir kayma ya da bozunma gözlenmemiştir. Ancak, formülasyonların yapısında bulunan sudan dolayı 3300-3700 cm⁻¹ arasında geniş bir OH bandı görülmüştür.

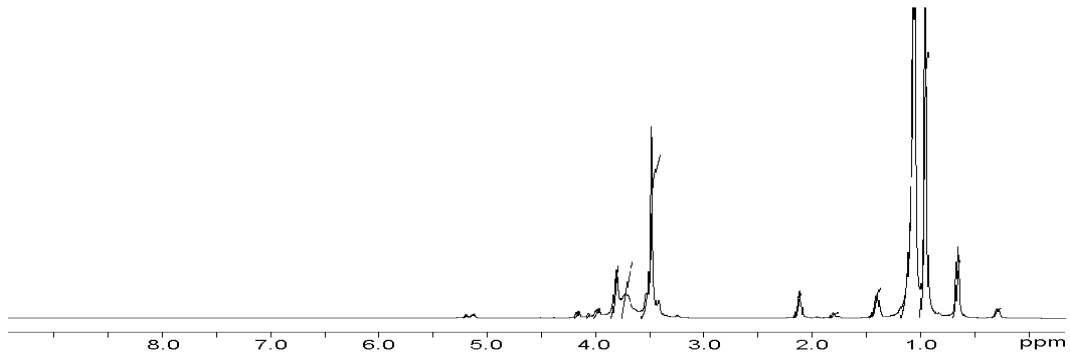
Elde edilen spektrumlar, hazırlanan formülasyonların 360. gün sonunda kararlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

NMR Analizi

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 360. gün NMR analizlerinde çözücü olarak dötero-kloroform maddesi kullanılarak spektrumları alınmış ve 0. zaman sonuçları, Dynasan® 116 ve OCR’nin spektrumları ile karşılaştırılmıştır.

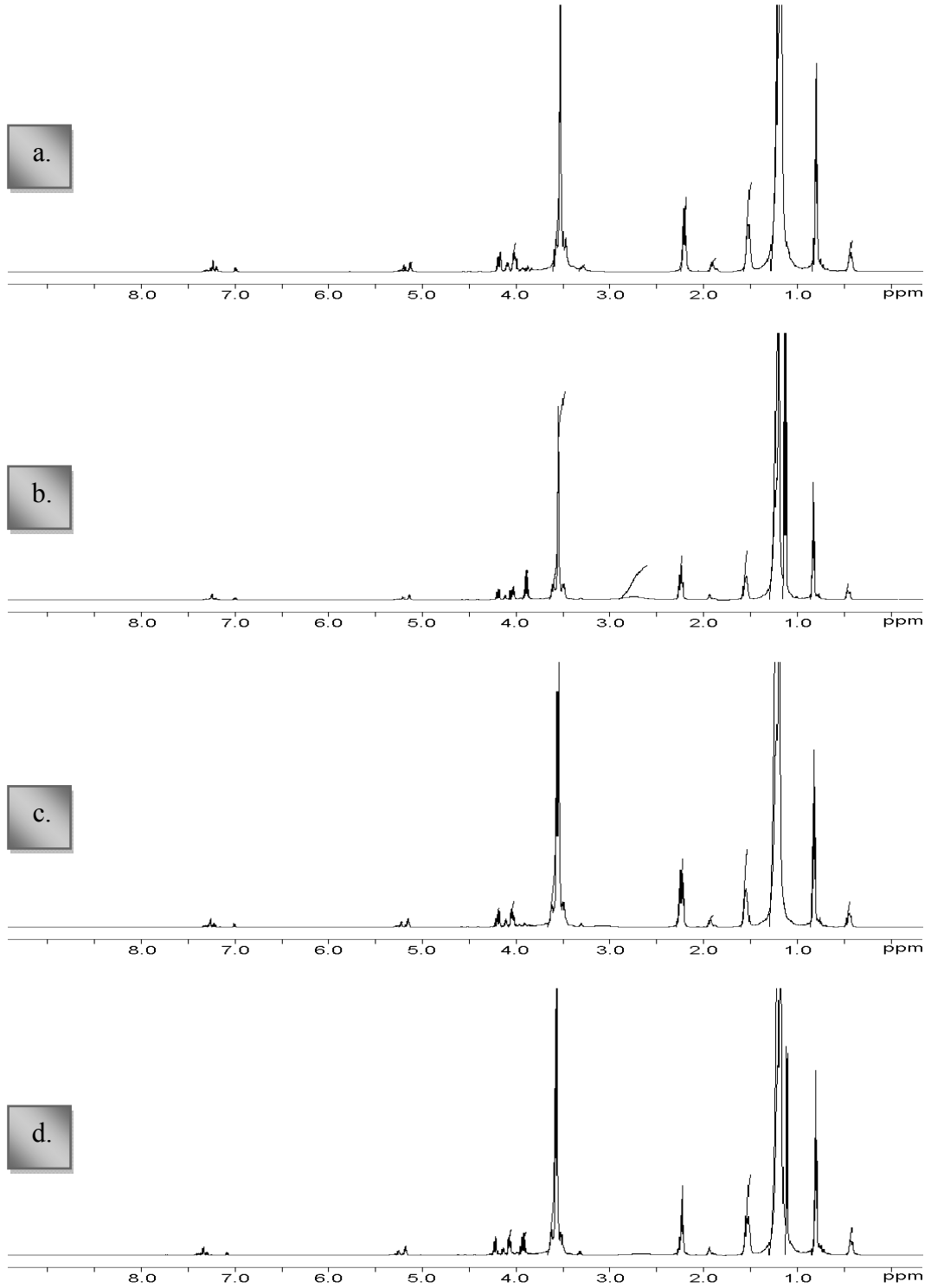
OCR’nin yapısındaki 10 aromatik proton karakteristik olarak yaklaşık 7 ppm’de çoklu pik şeklinde görülmüş, ZnO ise yapısından dolayı NMR analizinde incelenememiştir.

OCR ve ZnO içeren formülasyonlar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve incelenen bantlarda önemli bir kayma veya bozunma görülmemiştir. Elde edilen spektrumlar, formülasyonların 360. gün sonunda kararlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 94. Etkin madde içermeyen krem formülasyonunun NMR spektrumu

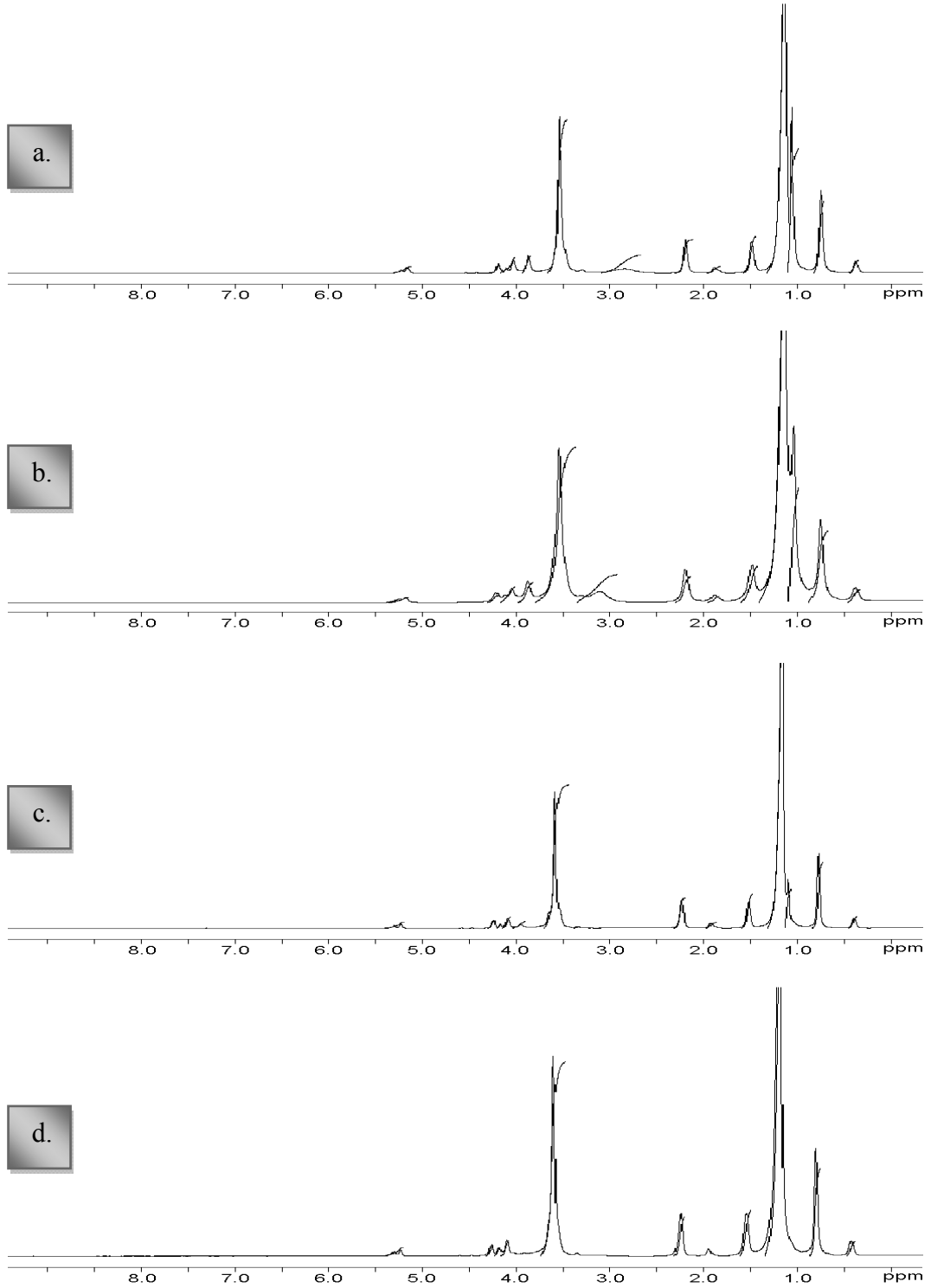
OCR içeren krem formülasyonlarının, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 95**'te sunulmuştur.



Şekil 95. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının NMR spektrumları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

ZnO içeren krem formülasyonlarının, 0. zaman ve 360. gün NMR analizlerinden elde edilen sonuçlar **Şekil 96**'da sunulmuştur.



Şekil 96. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının NMR spektrumları

- a. 0. zaman
- b. 360. gün, 4°C
- c. 360. gün, 25°C
- d. 360. gün, 40°C

Krem Formülasyonlarında Etkin Madde Miktar Tayini

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün etkin madde miktar tayinleri için, HPLC ve ICP-OES kullanılmıştır.

Eusolex® OCR Miktar Tayini

Hazırlanan krem formülasyonlarında OCR miktar tayini için HPLC kullanılmış ve elde edilen sonuçlar % geri kazanım olarak **Çizelge 46**'da verilmiştir.

0. zamanda, etkin maddenin geri kazanımı % 99.09 olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı, 0.6 g etkin maddenin % 99.09'u formülasyona yüklenebilmiştir. % 0.91'lik eksilmenin, formülasyonun hazırlanması sırasında, etkin maddenin kullanılan behere ya da karıştırıcıya yapışmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Krem formülasyonlarındaki toplam etkin madde miktarları incelendiğinde, % geri kazanım oranları, 0. zamanda % 99.09, 360. gün sonunda 25°C'lık ortamda % 93.91, 4°C'lık ortamda % 89.68 ve 40°C'lık ortamda % 85.82 olarak bulunmuştur. HPLC kromatogramlarında OCR'nin bozunma pikleri görülmemiş; bu azalmanın, etkin maddenin zaman içinde etkinliğini kaybetmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 46. Krem formülasyonları içindeki Eusolex® OCR'nin % geri kazanım miktarları

	% Ortalama (n=6)	SH	BSS	% 95 CI
0. Zaman	99.09	0.37	0.92	±0.9565
4°C, 360. Gün	89.68	0.34	0.93	±0.8751
25°C, 360. Gün	93.91	0.35	0.90	±0.8893
40°C, 360. Gün	85.82	0.27	0.77	±0.6977

Çinko Oksit Miktar Tayini

Hazırlanan krem formülasyonlarında ZnO miktar tayini için optik emisyon spektroskopisi kullanılmış ve sonuçlar % geri kazanım olarak **Çizelge 47**'de verilmiştir.

0. zamanda, etkin maddenin geri kazanımı % 94.45 olarak hesaplanmıştır. Bunun anlamı 0.6 g etkin maddenin % 94.45'i formülasyona yüklenebilmiştir. % 5.55'lik eksilmenin, formülasyonun hazırlanması sırasında, etkin maddenin kullanılan behere ya da karıştırıcıya yapışmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 47. Krem formülasyonları içindeki çinko oksitin % geri kazanım miktarları

	% Ortalama (n=3)	SH	BSS	% 95 CI
0. Zaman	94.45	0.14	0.25	±0.5891
4°C, 360. Gün	85.81	0.10	0.21	±0.4529
25°C, 360. Gün	93.07	0.93	1.73	±3.9952
40°C, 360. Gün	86.48	0.24	0.48	±1.0381

Krem formülasyonlarındaki toplam etkin madde miktarları incelendiğinde % geri kazanım oranları, 0. zamanda % 94.45, 360. gün sonunda 25°C'lık ortamda % 93.07, 4°C'lık ortamda % 85.81 ve 40°C'lık ortamda % 86.48 olarak bulunmuştur.

ZnO çok kararlı bir bileşik olduğu için, 360 gün gibi bir zaman içinde etkinliğini kaybetmesi söz konusu değildir. Etkin madde geri kazanım yüzdelerindeki farklılıkların, 25°C, 4°C ve 40°C'lık her ortam için 30 g'lık örneklerin birbirinden bağımsız olarak hazırlanmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

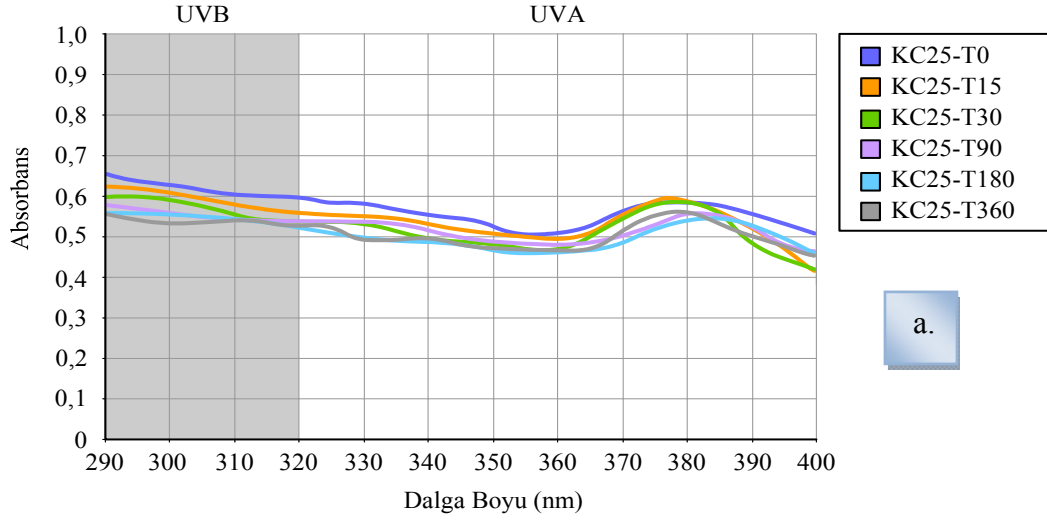
Hazırlanan formülasyonlardaki ZnO miktarının bilinmesi, Transpore™ Test gibi etkinlik testlerinin değerlendirilmesinde önem taşımaktadır.

Krem Formülasyonlarında Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar

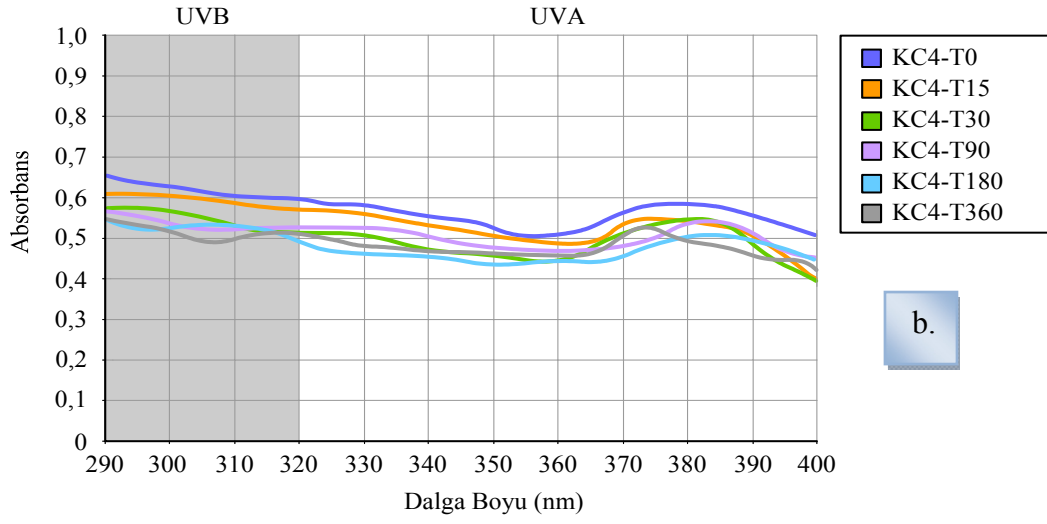
Transpore™ Test

25°C, 4°C ve 40°C'lık ortamlarda bekletilen krem formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki UV absorbanlarının ölçümü için *Transpore™* testi kullanılmış ve elde edilen sonuçlar **Şekil 97** ve **Şekil 98**'de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

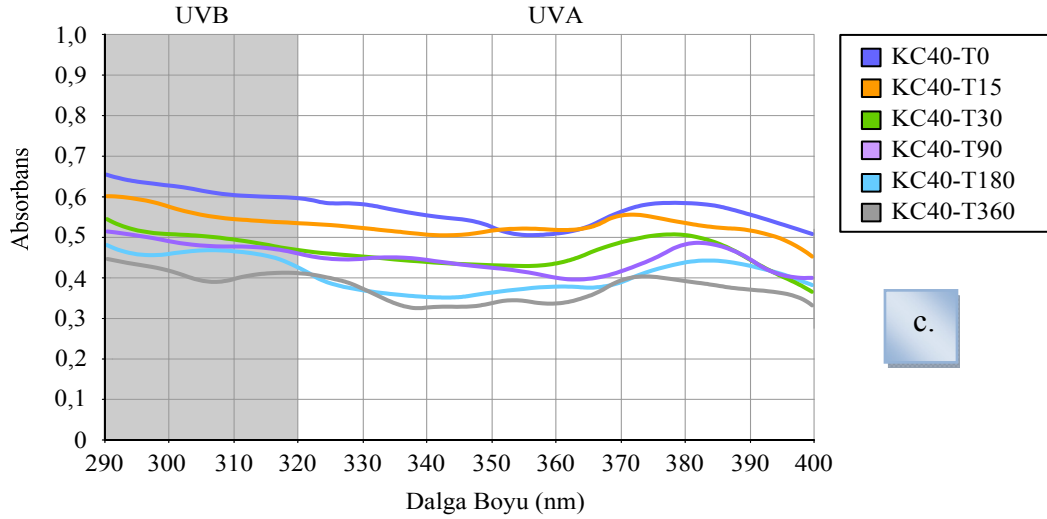
Formülasyonlarının, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerde ölçülen UV absorbanları az da olsa farklılıklar göstermiş; ancak, OCR ve ZnO içeren formülasyonlar arasındaki fark daha önemli bulunmuştur. Yapılan *Transpore™* testi sonucunda, aynı miktarda etkin madde içermesine rağmen, UV ışınlarını kimyasal olarak süzen OCR'nin koruyucu etkisinin, UV ışınlarını fiziksel olarak süzen ZnO'dan çok daha iyi olduğu görülmüştür. ZnO içeren krem formülasyonlarının UV absorbanları 0.3-0.6 aralığında bulunmuş, OCR içeren formülasyonların UV absorbanları ise UVB bölgesinde 1.8 seviyesine kadar çıkmıştır.



a.



b.



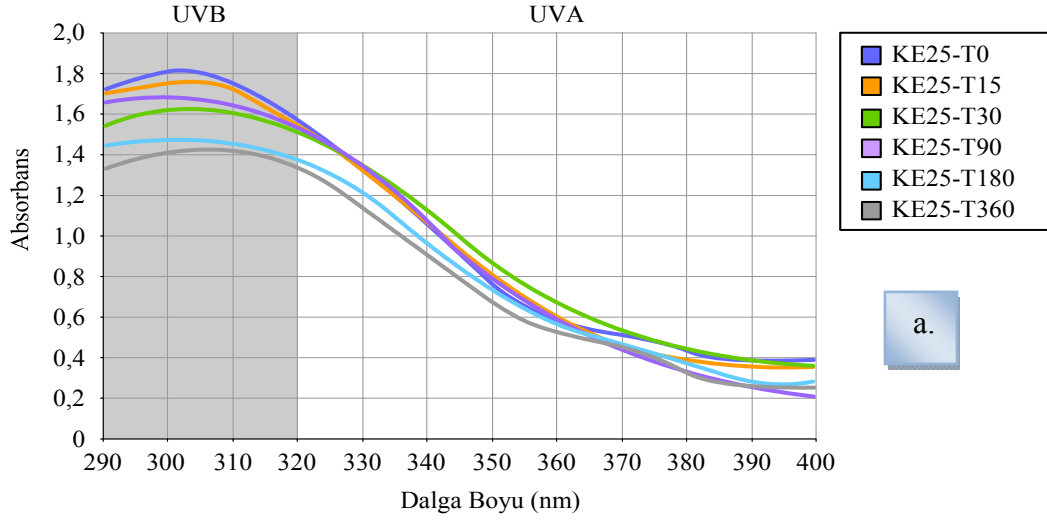
c.

Şekil 97. Çinko oksit içeren krem formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki *Transpore*TM testi sonuçları

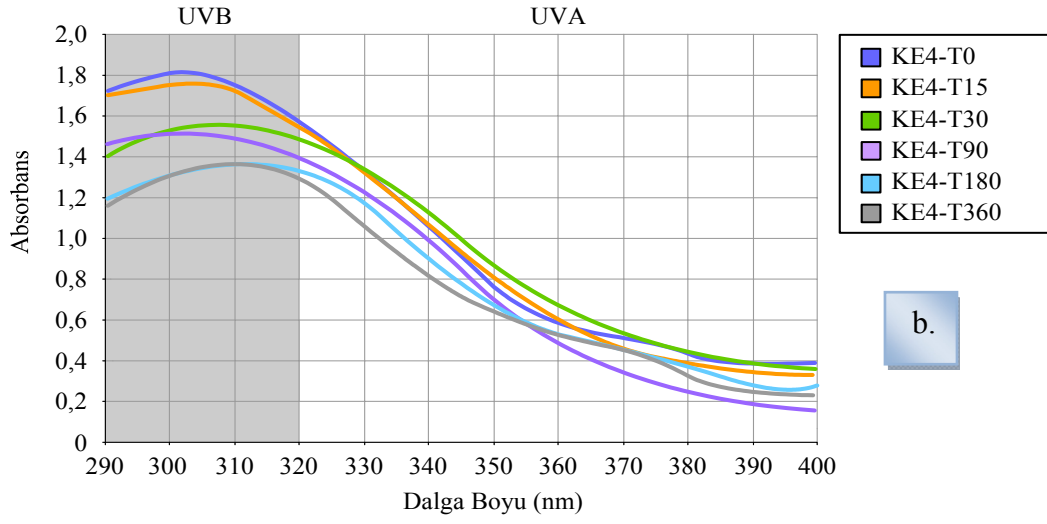
a. 25°C

b. 4°C

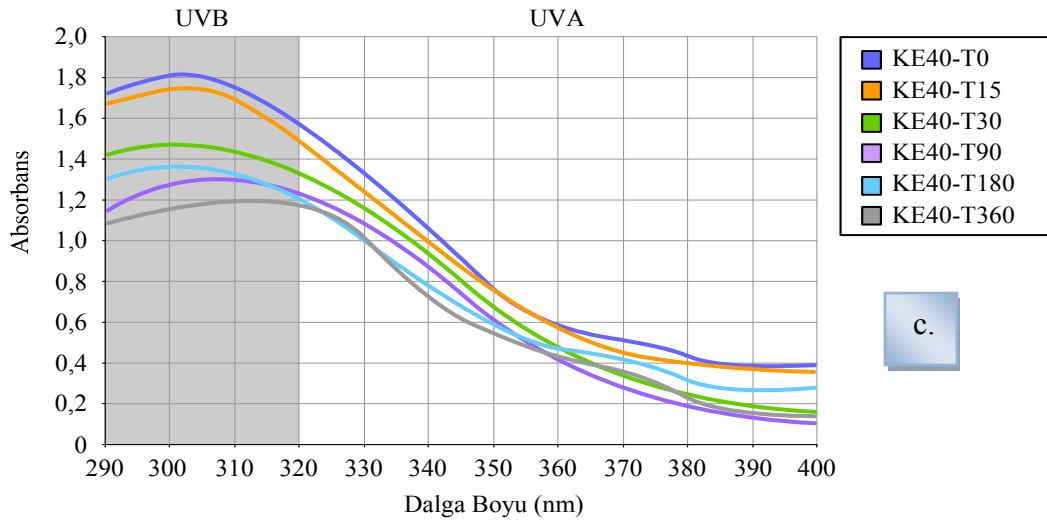
c. 40°C



a.



b.



c.

Şekil 98. Eusolex® OCR içeren krem formülasyonlarının 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki *Transpore*TM testi sonuçları

a. 25°C

b. 4°C

c. 40°C

Formülasyonların Karakterizasyon ve Kararlılık Bulgularının İstatistiksel Karşılaştırması

Formülasyonların karakterizasyon ve kararlılık bulgularının karşılaştırılması için SPSS 11.5 istatistik programı ile “Bağımsız T-Test ile Çift-Yönlü ANOVA” yöntemi kullanılmıştır.

Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarının Karakterizasyon ve Kararlılık Bulguları

SLN formülasyonlarından elde edilen, parçacık büyüklüğü, polidisperslik indisi, zeta potansiyel, iletkenlik ve pH değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Çizelge 48-Çizelge 49’da verilmiştir.

Çizelge 48. Aynı sıcaklıktaki katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün karakterizasyon ve kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması

Formülasyonlar	Zeta Potansiyel	İletkenlik	pH	Parçacık Büyüklüğü	Polidisperslik İndisi
FSE25-T0	p= 0.000	-	p= 0.118	p= 0.003	p= 0.024
FSE25-T360	p≤ 0.001	-	p> 0.05	p≤ 0.01	p< 0.05
FSE4-T0	p= 0.000	p= 0.423	p= 0.087	p= 0.000	p= 0.053
FSE4-T360	p≤ 0.001	p> 0.05	p> 0.05	p≤ 0.001	p> 0.05
FSE40-T0	p= 0.000	-	p= 0.025	p= 0.000	p= 0.013
FSE40-T360	p≤ 0.001	-	p< 0.05	p≤ 0.001	p< 0.05
FSC25-T0	p= 0.000	p= 0.054	p= 0.048	p= 0.000	p= 0.002
FSC25-T360	p≤ 0.001	p> 0.05	p< 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.01
FSC4-T0	p= 0.003	p= 0.184	p= 0.013	p= 0.003	p= 0.002
FSC4-T360	p≤ 0.01	p> 0.05	p< 0.05	p≤ 0.01	p≤ 0.01
FSC40-T0	p= 0.004	p= 0.184	p= 0.032	p= 0.000	p= 0.000
FSC40-T360	p≤ 0.01	p> 0.05	p< 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.001

Çizelge 49. Farklı sıcaklıklardaki katı lipit nanopartikül formülasyonlarının 360. gün kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması

Formülasyonlar	Zeta Potansiyel	İletkenlik	pH	Parçacık Büyüklüğü	Polidisperslik İndisi
FSE25-T360	p= 0.011	-	p= 0.321	p= 0.001	p= 0.003
FSE4-T360	p< 0.05	-	p> 0.05	p≤ 0.01	p≤ 0.01
FSE25-T360	p= 0.003	p= 0.000	p= 0.342	p= 0.000	p= 0.015
FSE40-T360	p≤ 0.01	p≤ 0.001	p> 0.05	p≤ 0.001	p< 0.05
FSE4-T360	p= 0.002	p= 0.000	p= 0.044	p= 0.000	p= 0.089
FSE40-T360	p≤ 0.01	p≤ 0.001	p< 0.05	p≤ 0.001	p> 0.05
FSC25-T360	p= 0.006	p= 0.013	p= 0.054	p= 0.049	p= 0.000
FSC4-T360	p≤ 0.01	p< 0.05	p> 0.05	p< 0.05	p≤ 0.001
FSC25-T360	p= 0.085	-	p= 0.070	p= 0.000	p= 0.000
FSC40-T360	p> 0.05	-	p> 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.001
FSC4-T360	p= 0.063	p= 0.095	p= 0.699	p= 0.000	p= 0.000
FSC40-T360	p> 0.05	p> 0.05	p> 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.001

- Tekrarlanan 3 ölçümün sonucu aynı olduğu için karşılaştırma yapılamamıştır.
p> 0.05 Fark yoktur.
p< 0.05 Önemli fark vardır.
p≤ 0.01 Çok önemli fark vardır.
p≤ 0.001 İleri düzeyde önemli fark vardır.

Mikroemülsiyon ve Süspansiyon Formülasyonlarının Karakterizasyon ve Kararlılık Bulguları

Mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarından elde edilen, damlacık ve parçacık büyüklüğü, polidisperslik indisi, zeta potansiyel, iletkenlik ve pH değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması **Çizelge 50-Çizelge 51**'de verilmiştir.

Çizelge 50. Aynı sıcaklıktaki mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün karakterizasyon ve kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması

Formülasyonlar	Zeta Potansiyel	İletkenlik	pH	Damlacık Büyüklüğü	Polidisperslik İndisi
ME25-T0	p= 0.349	p= 0.001	p= 0.000	p= 0.000	p= 0.001
ME25-T360	p> 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.001	p≤ 0.001	p≤ 0.001
ME4-T0	p= 0.013	p= 0.397	p= 0.040	p= 0.000	-
ME4-T360	p< 0.05	p> 0.05	p< 0.05	p≤ 0.001	-
ME40-T0	p= 0.124	p= 0.002	p= 0.003	p= 0.000	p= 0.000
ME40-T360	p> 0.05	p≤ 0.01	p≤ 0.01	p≤ 0.001	p≤ 0.001
MC25-T0	p= 0.001	p= 0.001	p= 0.001	p= 0.000	p= 0.001
MC25-T360	p≤ 0.001	p≤ 0.001	p≤ 0.001	p≤ 0.001	p≤ 0.001
MC4-T0	p= 0.016	p= 0.397	p= 0.008	p= 0.000	p= 0.000
MC4-T360	p< 0.05	p> 0.05	p≤ 0.01	p≤ 0.001	p≤ 0.001
MC40-T0	p= 0.006	p= 0.384	p= 0.014	p= 0.000	p= 0.000
MC40-T360	p≤ 0.01	p> 0.05	p< 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.001

- Tekrarlanan 3 ölçümün sonucu aynı olduğu için karşılaştırma yapılamamıştır.

p> 0.05 Fark Yoktur.

p< 0.05 *Önemli Fark Vardır.*

p≤ 0.01 Çok Önemli Fark Vardır.

p≤ 0.001 İleri Düzeyde Önemli Fark Vardır.

Çizelge 51. Farklı sıcaklıklardaki mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının 360. gün kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması

Formülasyonlar	Zeta Potansiyel	İletkenlik	pH	Parçacık Büyüklüğü	Polidisperslik İndisi
ME25-T360	p= 0.005	p= 0.028	p= 0.853	p= 0.008	p= 0.001
ME4-T360	p≤ 0.01	p< 0.05	p> 0.05	p≤ 0.01	p≤ 0.001
ME25-T360	p= 0.030	p= 0.004	p= 0.021	p= 0.001	p= 0.007
ME40-T360	p< 0.05	p≤ 0.01	p< 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.01
ME4-T360	p= 0.003	p= 0.005	p= 0.103	p= 0.000	p= 0.000
ME40-T360	p≤ 0.01	p≤ 0.01	p> 0.05	p≤ 0.001	p≤ 0.001
MC25-T360	p= 0.010	p= 0.038	p= 0.256	p= 0.000	p= 0.015
MC4-T360	p≤ 0.01	p< 0.05	p> 0.05	p≤ 0.001	p< 0.05
MC25-T360	p= 0.004	p= 0.008	p= 0.223	p= 0.000	p= 0.742
MC40-T360	p≤ 0.01	p≤ 0.01	p> 0.05	p≤ 0.001	p> 0.05
MC4-T360	p= 0.480	p= 0.005	p= 0.287	p= 0.000	p= 0.024
MC40-T360	p> 0.05	p≤ 0.01	p> 0.05	p≤ 0.001	p< 0.05

p> 0.05 Fark Yoktur.

p< 0.05 *Önemli Fark Vardır.*

p≤ 0.01 Çok Önemli Fark Vardır.

p≤ 0.001 İleri Düzeyde Önemli Fark Vardır.

Krem Formülasyonlarının Karakterizasyon ve Kararlılık Bulguları

Krem formülasyonlarından elde edilen pH değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması **Çizelge 52** ve **Çizelge 53**'te verilmiştir.

Çizelge 52. Aynı sıcaklıktaki krem formülasyonlarının 0. zaman ve 360. gün karakterizasyon ve kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması

Formülasyonlar	pH	
KE25-T0 KE25-T360	p= 0.011	$p < 0.05$
KE4-T0 KE4-T360	p= 0.002	$p \leq 0.01$
KE40-T0 KE40-T360	p= 0.001	$p \leq 0.001$
KC25-T0 KC25-T360	p= 0.002	$p \leq 0.01$
KC4-T0 KC4-T360	p= 0.000	$p \leq 0.001$
KC40-T0 KC40-T360	p= 0.001	$p \leq 0.001$

$p > 0.05$ Fark Yoktur.
 $p < 0.05$ Önemli Fark Vardır.
 $p \leq 0.01$ Çok Önemli Fark Vardır.
 $p \leq 0.001$ İleri Düzeyde Önemli Fark Vardır.

Çizelge 53. Farklı sıcaklıklardaki krem formülasyonlarının 360. gün kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması

Formülasyonlar	pH	
KE25-T360 KE4-T360	p= 0.002	$p \leq 0.01$
KE25-T360 KE40-T360	p= 0.000	$p \leq 0.001$
KE4-T360 KE40-T360	p= 0.002	$p \leq 0.01$
KC25-T360 KC4-T360	p= 0.026	$p < 0.05$
KC25-T360 KC40-T360	p= 0.002	$p \leq 0.01$
KC4-T360 KC40-T360	p= 0.025	$p < 0.05$

$p > 0.05$ Fark Yoktur.
 $p < 0.05$ Önemli Fark Vardır.
 $p \leq 0.01$ Çok Önemli Fark Vardır.
 $p \leq 0.001$ İleri Düzeyde Önemli Fark Vardır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Hazırlanan sistemlerin, hem kendi içinde 0. zaman ve 360. gün bulguları, hem de farklı sıcaklıklardaki 360. gün bulguları istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

SLN formülasyonlarının 360. gün sonunda, parçacık büyüklüğü, polidisperslik indisi, zeta potansiyel, iletkenlik ve pH değerleri incelenmiş; elde edilen bütün sonuçlarda önemli fark olduğu ($p < 0.05$) görülmüştür.

Mikroemülsiyon ve süspansiyon formülasyonlarının 360. gün sonunda, damlacık ve parçacık büyüklüğü, polidisperslik indisi, zeta potansiyel, iletkenlik ve pH değerleri incelenmiş; elde edilen bütün sonuçlarda önemli fark olduğu ($p < 0.05$) görülmüştür.

Krem formülasyonlarının da karakterizasyon ve kararlılık bulgularının istatistiksel karşılaştırması yapılmış ve 360. gün sonunda pH değerleri incelenmiş; elde edilen bütün sonuçlarda önemli fark olduğu ($p < 0.05$) görülmüştür.

Formülasyonların karakterizasyon ve kararlılık bulgularının karşılaştırılması için SPSS 11.5 istatistik programı ile “Bağımsız T-Test ile Çift-Yönlü ANOVA” yöntemi kullanılmıştır. İstatistiksel karşılaştırma sonucunda formülasyonların kararlılık sonuçlarında önemli fark bulunmuş; ancak, elde edilen sonuçlar istenilen aralıklar içinde bulunmuştur.

Bütün formülasyonların pH değerleri 5.4-7.9 arasında, derinin tamponlayabileceği aralıkta bulunmuş, FT-IR, NMR ve X-ışını kırınımı, ve termal analizler sonucunda formülasyonların kararlılığının bozulmadığı görülmüştür (Dureja ve ark., 2005).

25°C, 4°C ve 40°C’lık ortamlarda bekletilen formülasyonların, 0. zaman, 15., 30., 90., 180. ve 360. günlerdeki UV absorbanlarının ölçümü için *Transpore*TM testi kullanılmış ve elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

*Transpore*TM testi sonucunda, SLN, mikroemülsiyon ve krem sistemlerinin üçü karşılaştırıldığında içlerinden en etkilisi SLN’ler olarak bulunmuştur. Bunun nedeni, Katı Lipit Nanopartikül Formülasyonlarında Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar bölümünde (s. 99) belirtildiği gibi, etkin madde içermeyen SLN’lerin de güneş ışınlarını süzücü özelliğinin olmasıdır (Wissing ve Müller, 2003).

Güneşten koruyucu preparatlar için dünyaca kabul edilen *in vivo* test yöntemi, çok yakın bir tarihte reddedilerek yeni bir yöntem arayışına gidilmiştir. Kaynak bilgisinde de anlatıldığı gibi, 2005 yılında CTFA ortak bir uluslararası SPF yöntem isteğini COLIPA, JCIA ve CTFA-SA ile paylaşmıştır. Haziran 2005’te başlayan görüşmeler halen sonuçlanmamıştır (COLIPA, 2006). Bu nedenle, hazırlanan formülasyonların *in vivo* etkinlik özelliklerinin incelenmesi yapılamamış, yalnızca *in vitro* deneylerle yetinilmiştir.

KAYNAKLAR

Acartürk, F., Süspansiyonlar, Modern Farmasötik Teknoloji, Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, Fersa Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 301-316 (2007).

Ahlin, P., Kristl, J., Šmidt-Kobar, J., Optimization of procedure parameters and physical stability of solid lipid nanoparticles in dispersions, *Acta Pharm.*, 48, 257-267 (1998).

Albert, M. R., Ostheimer, K. G., The evolution of current medical and popular attitudes toward ultraviolet light exposure: Part 3, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 49(6), 1096-1106 (2003).

Anderson, M. W., Hewitt, J. P., Spruce, S. R., Broad-spectrum physical sunscreens: Titanium dioxide and zinc oxide, *Sunscreens: Development, evaluation and regulatory aspects*, N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Marcel Dekker, Inc., New York, 353-399 (1997).

Attwood, D., Mallon, C., Taylor, C.J., Phase studies on oil-in-water phospholipid microemulsions, *Int. J. Phar.*, 84, 5-8 (1992).

Attwood, D., *Microemulsions, Colloidal drug delivery systems*, J. Kreuter, Marcel Dekker, Inc., New York, 31-72 (1992).

Ayannides, C.A., Ktistis, G., A Rheological study on microemulsions gels of isopropyl myristate, polysorbate 80, glycerol and water, *J. Cosmet. Sci.* 50, 1-7 (1999).

Azevedo, J.S., Viana, N.S., Vianna Soares, C.D., UVA:UVB sunscreen determination by second-order derivative ultraviolet spectrophotometry, *Il Farmaco*, 54, 573-578 (1999).

Bhargava, H.N., Narurkar, A., Lieb, L.M., Using microemulsions for drug delivery, *Pharm. Technol.*, 11, 46-52 (1987).

Bodmeier, R., Chen, H., Tyle, P., Jarosz, P., Spontaneous formation of drug-containing acrylic nanoparticles, *J. Microencapsul.*, 8 (2), 161-170 (1991).

Bouillon, C., Recent advances in sun protection, *J. Dermatol. Sci.*, 23, 57-61 (2000).

Briceño, M.I., Rheology of Suspensions and emulsions, *Pharmaceutical emulsions and suspensions*, F. Nielloud, G. Marti-Mestres, Marcel Dekker, Inc., New York, 557-607 (2000).

Cengiz, E., Titanyum dioksit içeren katı lipit nanopartiküllerin hazırlanması ve in-vitro değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir (2003).

Cengiz, E., Wissing, S.A., Müller, R.H., Yazan, Y., Sunblocking efficiency of various TiO₂-loaded solid lipid nanoparticle formulations, *Int. J. Cosmetic. Sci.*, 28, 371-378 (2006).

Chen, H., Chang, X., Weng, T., Zhao, X., Gao, Z., Yang, Y., Xu, H., Yang, X., A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide, *J. Control. Release*, 98 (3), 427-436 (2004).

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 mobile phase modifier, *J. Chromatogr. A*, 921, 207–215 (2001).

COLIPA, The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association, international sun protection factor (SPF) Test Method, Standardisation mandate assigned to concerning methods for testing efficacy of sunscreen products (2006).

Constantinides, P.P., Scalart, J.P., Formulation and physical characterization of water in oil microemulsions containing long-versus medium-chain glycerides, *Int. J. Pharm.*, 158, 57-68 (1997).

Çelebi, N., Kolloidler, Modern Farmasötik Teknoloji, Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, Fersa Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 264-275 (2007).

De Labouret, A., Thioune, O., Fessi, H., Devissaguet, J. P., Puisieux, F., Application of an original process for obtaining colloidal dispersions of some coating polymers. Preparation, characterization, industrial scaling up, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 21, 229-241 (1995).

Demirel, M., Yazan, Y., Katı lipid nanopartiküller (SLN), FABAD J. Pharm. Sci., 25, 167-179 (2000).

Demirel, M., Yazan, Y., Müller, R. H., Kılıç, F., Bozan, B., Formulation and In Vitro-In Vivo Evaluation of Piribedil Solid Lipid Micro- and Nanoparticles, J. Microencaps., 18 (3), 359-371 (2001)

Deniz, U.B., Salisilik asit içeren kozmetik amaçlı mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanması ve klinik olarak değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi (2001).

Diec, K.H., Eitrich, A., Schmidh, T., Sokolowski, T., Schreiber, J., PIT Microemulsions with low surfactant content, Cosmetics & Toiletries, 116 (7), 61-66 (2001).

Diffey, B.L., Sources and measurement of ultraviolet radiation, Methods, 28, 4-13 (2002).

DMS Nutritional Products, Product Data Sheet, Parsol® 340, 1-3, 14.05.2004.

Dureja, H., Kaushik, D., Gupta, M., Kumar, V., Lather, V., Cosmeceuticals: An emerging concept, 37 (3), 155-159 (2005).

Eder, J. M., Freund, L., Untersuchungen von Lichtschutzsalben gegen Ultraviolett und damit Zusammenhängenden prinzipiellen Fragen, Strahlentherapie, 54, 560-597 (1935).

El-Gibaly, I., Abdel-Ghaffar S. K., Effect of hexacosanol on the characteristics of novel sustained-release allopurinol solid lipospheres (SLS): factorial design application and product evaluation, Int. J. Pharm., 294, 33-51 (2005).

Fairhurst, D., Mitchnick, M.A., Particulate sun blocks: General principles, Sunscreens: Development, evaluation and regulatory aspects, N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Marcel Dekker, Inc., New York, 313-352 (1997).

Federal Register, Sunscreen drug products for over-the-counter human use, Determination of SPF value, 352.73, vol.64, no:98, 27690-27691, 21 May 1999.

Ferguson, J., European guidelines (COLIPA) for evaluation of sun protection factor, *Sunscreens: Development, evaluation and regulatory aspects*, N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Marcel Dekker, Inc., New York, 513-525 (1997).

Fernandez, 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, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 24 (1), 155-165 (2000).

Freitas, C., Lucks, J. S., Müller, R. H., Effect of storage conditions on long-term stability of "solid lipid nanoparticles" (SLN) in aqueous dispersion, *Proc. 1st World Meeting APGI/APV*, Budapest, 9-11 May 1995

Gamer, A.O., Leibold, E., Ravenzwaay, B. The in vitro absorption of microfine zinc oxide and titanium dioxide through porcine skin, *Toxicology in Vitro*, 20, 301-307 (2006).

Gestmann, A., Bonnardel, V., Milliere, J., Testing a new platform for skin care emulsions, *Cosmetics & Toiletries*, 117(9), 75-82 (2002).

Griffin, M.E., Bourget, T.D., Lowe, N.J., Sun protection factor determination in the United States, *Sunscreens: Development, evaluation and regulatory aspects*, N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Marcel Dekker, Inc., New York, 499-512 (1997).

Guy, R.H., Hostynek, J.J., Hinz, R.S., Lorence, C.R., Metals and the skin: Topical effects and systemic absorption, *Zinc*, Marcel Dekker Inc., New York, 385-407 (1999).

Heinrich, U., Tronnier, H., Kockott, D., Kuckuk, R., Heise, H.M., Comparison of sun protection factors determined by in vivo and different in vitro methodologies: a study with 58 different commercially available sunscreen products, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 26, 79-89 (2004).

Heuschkel, S., Shukla, A., Neubert, R.H.H., Use of Microemulsions for topical drug delivery, Percutaneous absorption: Drugs-cosmetics-mechanism-methodology, R.L. Bronaugh, H.I. Maibach, Taylor&Francis Group, New York, 701-718 (2005).

Heydenreich, A.V., Westmeier, R., Pedersen, N., Poulsen, H.S., Kristensen, H.G., Preparation and purification of cationic solid lipid nanospheres - effects on particle size, physical stability and cell toxicity, *Int. J. Pharm.*, 254, 83-87 (2003).

Ho, H., Hsiao, C., Sheu, M.T., Preparation of microemulsions using polyglycerol fatty acid esters as surfactant for the delivery of protein drugs, *J. Pharm. Sci.*, 85 (2), 138-143 (1996).

Hoar, T. P., Schulman J. H., Transparent water in oil dispersions: Oleopathic hydromicelle, *Nature*, 152, 102-105 (1943).

http-1 Sunscreens 2000- What you need to Know, Barcon, D., (03.03.2006).
<http://www.solumedia.com/sunscreen1.htm>

http-2 Merck Active ingredients, Octocrylene (08.09.2005).
<http://www.merck.de/servlet/PB/menu/1254650/index.html>

http-3 Sigma-Aldrich, Glyceryl tripalmitate technical data (06.05.2006).
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/FLUKA/92903>

http-4 SLN and NLC for topical delivery of antifungals (09.01.2007).
<http://www.diss.fu-berlin.de/2005/341/index.html>

Hüner, E.D., Siklosporin A içeren mikroemülsiyon formülasyonunun hazırlanması ve in vitro değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir (2003).

ICH Topic Q2B, Validation of analytical procedures: Methodology, The European Agency for the evaluation of medicinal products, CPMP/ICH/281/95, Step 4, Consensus Guideline, 6 November 1996.

Kaş, H.S., İlaç Taşıyıcı Partiküler Sistemler: Katı lipid nanopartiküller, Kontrollü salım sistemleri, A.Z. Gürsoy, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, İstanbul, 88-94 (2002).

Kaş, H.S., Partikül büyüklüğü ve partikül büyüklük dağılımı, Farmasötik Teknoloji: Temel konular ve dozaj şekilleri, A.Z. Gürsoy, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, İstanbul, 69-84 (2004).

Kennedy, E.J., Emulsions, Pharmaceutical practice, A.J. Winfreid, R.M.E. Richards, 127-136 (1998).

Klein, K., Sunscreen products: formulating and regulatory considerations, Sunscreens: Development, evaluation and regulatory aspects, N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Marcel Dekker, Inc., New York, 285-313 (1997).

Klein, K., Formulating with sunscreens, Sun products, protection and tanning, Allured Publishing Corporation, Illinois, 5-10 (1998).

Klier, J., Tucker, C.J., Kalantar, T.H., Green, D.P., Properties and applications of microemulsions, Advanced Materials, 12 (23), 1751-1757 (2000).

Kozmetik Yönetmeliği, T.C. Resmi Gazete, 25823, 23 Mayıs 2005.

Kreilgaard, M., Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery, Adv. Drug Delivery Rev., 54(1), 77-98 (2002).

Kullavanijaya, P., Lim, H.W., Photoprotection, J. Am. Acad. Dermatol., 52 (6), 937-958 (2005).

Kumrulu, Z., Ultraviöle ve ultraviöleden korunma, Türkiye Klinikleri, Kozmetoloji, Güneşten korunma ve güneşten koruyucu ürünler özel sayısı, 1 (2), 75 (1998).

Lehmann, L., Keipert, S., Gloor, M., Effects of microemulsionson the stratum corneum and hydrocortisone penetration, Eur. J. Pharm. Biopharm., 52 (2), 129-136 (2001).

Levy, S. L., UV Filters, Handbook of cosmetic science and technology, A.O. Barel, M. Paye, H.I. Maibach, Marcel Dekker, Inc., New York, 451-462 (2001).

Lippacher, A., Müller, R.H., Mäder, K., Investigation on the viscoelastic properties of lipid based colloidal drug carriers, Int. J. Pharm., 196, 227-230 (2000).

Lippacher, A., Müller, R.H., Mäder, K., Semisolid SLN™ dispersions for topical application: influence of formulation and production parameters on viscoelastic properties, Eur. J. Pharm. Biopharm., 53, 155-160 (2002).

Liu, J., Hub, W., Chena, H., Ni, Q., Xua, H., Yang, X., Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery, *Int. J. Pharm.*, 328, 191-195 (2007).

Maier, T., Korting, H.C., Sunscreens – which and what for?, *Skin Pharmacol. Physiol.*, 18, 253-262 (2005).

Mehnert, W., Mäder, K., Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 47, 165-196 (2001).

Merck, Güvenlik Bilgi Formu, Eusolex® OCR, 1-5, 24.09.2003

Mitchnick M. A., Zinc Oxide, Sun products, protection and tanning, Allured Publishing Corporation, Illinois, 130-142 (1998).

Mitsui, T., New Cosmetic Science, Elsevier Science, Amsterdam, 446-478 (1997).

Mühlen, A., Mehnert, W., Drug release and release mechanism of prednisolone loaded Solid Lipid Nanoparticles, *Pharmazie*, 53, 552-555 (1998).

Mühlen, A., Schwarz, C., Mehnert, W., Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - Drug release and release mechanism, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 45, 149-155 (1998).

Müller, R. H., Heinemann, S., Fat emulsions for parenteral nutrition II: Characterisation and physical long-term stability of Lipofundin MCT/LCT, *Clinical Nutrition*, 12, 298-309 (1993).

Müller, R.H., Mehnert, W., Lucks, J.S., Schwarz, C., Mühlen, A., Weyhers, H., Freitas, C., Rühl, D., Solid lipid nanoparticles (SLN)— an alternative colloidal carrier system for controlled drug delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 41, 62-69 (1995).

Müller, R.H., Dingler, A., Hildebrand, G.E., Gohla, S., Development of cosmetic products (Lipopearls™) based on solid lipid nanoparticles (SLN), *Proceeding International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials*, 25, 238-239 (1998).

Müller, R.H., Mäder, K., Gohla, S., Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50, 161-177 (2000).

Müller, R. H., Wissing, S. A., SLN and lipopearls for topical delivery of active compounds and controlled release, *Modified Release Drug Delivery Technology*, M. Rathbone, Marcel Dekker Inc., New York, 571-585 (2002).

Müller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A., Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 54 (1), 131-155 (2002).

Nash, J. F., Human safety and efficacy of ultraviolet filters and sunscreen products, *Dermatologic Clinics*, 24(1), 35-51 (2005)..

Nash, J. F., Tanner, P. R., Matts, P. J., Ultraviolet A radiation: Testing and labeling for sunscreen products, *Dermatologic Clinics*, 24(1), 63-74 (2006).

Odio, M.R., Azri-Meehan, S., Robison, S.H., Kraus, A.L., Evaluation of subchronic (13 Week), reproductive, and in vitro genetic toxicity potential of 2-Ethylhexyl-2-cyano-3,3-diphenyl Acrylate (Octocrylene), *Toxicol. Sci.*, 22 (3), 355-368 (1994).

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, *Int. J. Pharm.*, 237, 119–128 (2002).

Özer, Ö, Vücut bakım ürünleri: Güneş ürünleri, *Kozmetik Bilimi*, Y. Yazan, Nobel Matbaacılık, İstanbul, 148-155 (2004).

Pattarino, F., Carlotti, M.E., Gasco, M.R., Topical delivery systems for azelaic acid: effect of the suspended drug in microemulsions, *Pharmazie*, 49, 72-73 (1994).

Perugini, P., Vettor, M., Tursitilli, R., Technological strategies to improve photostability of a sunscreen agent, *J. Appl. Cosmetol.*, 23 (2), 59-69 (2005).

Petrazzuoli, M., Advances in sunscreens, *Curr. Probl. Dermatol.*, 287-290 (2000).

Phillips, S. J., The role of federal programs in the transfer of biomedical technology, *Artif. Organs*, 25 (5), 432-436 (2004).

Pissavini, M., Ferrero, L., In vitro determination of sun protection factor, *Business briefing: Global Cosmetics Manufacturing*, 1-5 (2004).

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, 309-310 (2000).

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).

Radomska, A., Dobrucki, R., The Use of some Ingredients for Microemulsion Preparation Containing Retinol and its Esters, *Int. J. Pharm.*, 196, 131-134 (2000).

Rieger, M., Emulsions, Theory and practice of industrial pharmacy, L. Lachman, H. Lieberman, J. K. Kanig, Lea and Febiger, Philadelphia, 502-533 (1986).

Rosano, H.L., Cavallo, J.L., Chang, D.L., Whittam, H.J., Microemulsions: A comentary on their preparation, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 39, 201-209 (1988).

Salvador, A., Chisvert, A., Sunscreen analysis, A critical survey on UV filters determination, *Anal. Chim. Acta*, 537, 1-14 (2005).

Scalia, S., Tursilli, R., Bianchi, A., Lo Nostro, P., Bocci, E., Ridi, F., Baglioni, P., Incorporation of the sunscreen agent, octyl methoxycinnamate in a cellulosic fabric grafted with β -cyclodextrin, *Int. J. Pharm.*, 308, 155-159 (2006).

SCCNFP, The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food Products Intended for Consumers, Evaluation and opinion concerning zinc oxide, final, 0649/03, 24-25 June 2003.

Schaefer, H., Moyal, D., Fournanier, A., State of the art sunscreens for prevention of photodermatoses, *J. Dermatol. Sci.*, 23 (1), 62-74 (2000).

Schöler, N., Olbrich, C., Tabatt, K., Müller, R. H., Hahn, H., Liesenfeld, O., surfactant, but not the size of solid lipid nanoparticles (SLN) influences viability and cytokine production of macrophages, *Int. J. Pharm.*, 221, 57–67 (2001).

Schwarz, C., Mehnert, W., Lucks, J.S., Müller, R.H., Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery: Production, characterization and sterilization, *Journal of Controlled Release*, 30, 83-96 (1994).

Schueller, R., Romanowski, P., Understanding emulsions, *Cosmetics and Toiletries Magazine*, 113, 39-44 (1998).

Schulze, R., Einige Versuche und Bemerkungen zum Problem der handelsüblichen Lichtschutzmittel, *Parf u Kosm.*, 37, 310-315 (1956).

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).

Shaath, N. A., Evolution of modern sunscreen chemicals, *Sunscreens: Development, evaluation and regulatory aspects*, N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Marcel Dekker, Inc., New York, 3-33 (1997).

Shaath, N. A., Andemicael, G. I., Paloympis, L. E., Griffin, P. M., Interpretation and Evaluation: Spectroscopic data from sunscreens, *Sunscreens: Development, evaluation and regulatory aspects*, N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Marcel Dekker, Inc., New York, 3-33 (1997).

Siekman, B., Westesen, K., Melt-homogenized solid lipid nanoparticles stabilized by the non-ionic surfactant tyloxapol. I. Preparation and particle size determination, *Pharm Pharmacol Lett.*, 3, 194-197 (1994).

Siekman, B., Westesen, K., Investigations on solid lipid nanoparticles prepared by precipitation in o/w emulsions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 43, 104-109 (1996).

Simeoni, S., Tursilli, R., Bianchi, A., Scalia, S., Assay of common sunscreen agents in suncare products by high-performance liquid chromatography on a cyanopropyl-bonded silica column, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 38, 250-255 (2005).

Sikes, R. G., The history of suntanning: a love/hate affair, *J. Aesthetic Sci.*, 1(2), 6-7 (1998).

Sjöström, B., Bergenståhl, B., Preparation of submicron drug particles in lecithin-stabilized o/w emulsions. I: Model studies of the precipitation of cholesteryl acetate, *Int. J. Pharm.*, 88, 53-62 (1992).

Smyrniotakis, C.G., Archontaki, H.A., Development and validation of a non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of four chemical UV filters in suncare formulations, *J. Chromatogr. A*, 1031, 319-324 (2004).

Takka, S., Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., Önformülasyon, *Modern Farmasötik Teknoloji*, Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, Fersa Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 119-140 (2007).

Trotta, M., Gasco, M., Pattarino, F., Diffusion of hormones from o/w microemulsions: Influence of the cosurfactant, *Acta Pharm. Technol.*, 226-231 (1990).

Trotta, M., Morel, S., Gasco, M.R., Effects of oil phase composition on the skin permeation of felodipine from o/w microemulsions, *Pharmazie*, 52(1), 50-53, (1997).

Türk Kodeksi 1974, Zinci Oxidum, Milli Eğitim Basımevi, 704-705 (1974).

Türkoğlu, M., Güneşten koruyucu preparatların formül tasarımı ve kalite kontrolü, *T. Klin. J. Cosmetol.*, 1 (2), 108-112 (1998).

Urbach, F., The historical aspects of sunscreens, *J. Photochem. Photobiol. B.: Biol.*, 64, 99-104 (2001).

USP XXIV/ NF XIX, U.S. Pharmacopeia National Formulary, Mack Printing Company, Easton, 1213, (2000).

Valenta, C., Schultz, K., Influence of carrageenan on the rheology and the skin permeation of microemulsion formulations, *J. Control. Release*, 95 (2), 257-265 (2004).

Varvaresou, A., Percutaneous absorption of organic sunscreens, *J. Cosmet. Dermatol.*, 5, 53–57 (2006).

Villalobos-Hernandez, J.R., Müller-Goymann, C.C., In vitro erythemat UV-A protection factors of inorganic sunscreens distributed in aqueous media using carnauba wax–decyl oleate nanoparticles, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 65, 122–125 (2007).

Voss, W., Sun protection: Dermatological and cosmetical aspects, *SÖFW-j*, 126(7), 16-23 (2000).

Wiskemann, A., Heissen, H., Absorptiver Lichtschutz bei Photo-dermatosen, *Der Hautarzt*, 13, 87–89 (1962).

Wissing, S.A., Mader, K., Müller, R.H., Solid lipid nanoparticles (SLN)- A novel carrier for UV blockers, *Die Pharmazie*, 10, 783-786 (2001).

Wissing, S.A., Müller, R.H., A novel sunscreen system based on tocopherol acetate incorporated into solid lipid nanoparticles, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 23, 233-243 (2001).

Wissing, S.A., Müller, R.H., The development of an improved carrier system for sunscreen formulations based on crystalline lipid nanoparticles, *Int. J. Pharm.*, 242, 373–375 (2002).

Wissing, S.A., Müller, R.H., Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN), *Int. J. Pharm.*, 254, 65-68 (2003).

Wissing, S.A., Kayserb, O., Müller, R.H., Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery, *Adv. Drug Delivery Rev.*, 56, 1257-1272 (2004).

Wolf, R., Wolf, D., Morganti, P., Ruocco, V., Sunscreens, *Clin. Dermatol.*, 19, 452-459 (2001a).

Wolf, R., Tüzün, B., Tüzün, Y., Sunscreens, *Dermatologic Therapy*, 14, 208-214 (2001b).

Yaşar, İ., İbuprofen içeren oftalmik y/s mikroemülsiyon formülasyonu ve in vitro değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir (2005).

Yazan, Y., Emülsiyon sistemler, Kontrollü salım sistemleri, A.Z. Gürsoy, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, İstanbul, 133-150 (2002a).

Yazan, Y., Reoloji ve Kozmetolojideki Yeri, T. Klin. J. Cosmetol., 3, 115-127 (2002b)

Yener, G, Kozmetik taşıyıcı sistemler, Kozmetik Bilimi, Y. Yazan, Nobel Matbaacılık, İstanbul, 233-252 (2004).