



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



LİPİT NANOPARTİKÜL TAŞIYICI SİSTEM İÇEREN JEL GÜNEŞ ÜRÜNÜ HAZIRLANMASI VE IN-VITRO KONTROLLERİ

Şadiye KARA

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Özge İNAL**

ANKARA

2022

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİPİT NANOPARTİKÜL TAŞIYICI SİSTEM İÇEREN JEL
GÜNEŞ ÜRÜNÜ HAZIRLANMASI VE IN-VITRO
KONTROLLERİ**

Şadiye KARA

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Özge İNAL**

ANKARA

2022

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Lipit Nanopartikül Taşıyıcı Sistem İçeren Jel Güneş Ürünü Hazırlanması ve In Vitro Kontrolleri” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Şadiye Kara

14.11.2022

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında ŞADIYE KARA tarafından hazırlanan
“Lipit Nanopartikül Taşıyıcı Sistem İçeren Jel Güneş Ürünü Hazırlanması ve In
Vitro Kontrolleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS
TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14.11.2022

Prof. Dr. M. Nilüfer TARIMCI
Başkent Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı

Doç. Dr. F. Ulya BADILLI
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Özge İnal
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler Dizini	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Derinin Yapısı ve Özellikleri	2
1.1.1. Epidermis	3
1.1.2. Dermis	4
1.1.3. Hipodermis	4
1.2. Deri Yaşlanması	5
1.2.1. Güneşe Bağlı Yaşlanma	5
1.2.2. UV Işınları ve Deri Üzerindeki Etkileri	6
1.2.3. UV Işınlara Karşı Doğal Koruma	7
1.3. Güneş Filtreleri ve Güneşten Koruyucu Ürünler	7
1.3.1. Güneş filtreleri	8
1.3.2. Güneş Koruyucu Ürünlerde Kullanılan Kozmetik Taşıyıcı Sistemler	11
1.3.3. Güneşten Koruyucu Ürünler Üzerinde Yapılan Etkinlik Testleri	13
1.3.3.1. In Vitro GKF Değerinin Saptanması	13
1.3.3.2. Güneşten Koruma Etkinliği Ölçümünde In Vivo Yöntemler	14
1.4. Lipit Nanopartiküller	15
1.4.1. Tanımı	15
1.4.2. Avantajları ve Dezavantajları	16
1.4.3. Üretiminde Kullanılan Hammaddeler	17
1.4.4. Üretim Yöntemleri	19
1.4.4.1. Yüksek Basıncılı Homojenizasyon Yöntemi	19
1.4.4.2. Yüksek Hızlı Homojenizasyon ve Ultrasonikasyon Yöntemi	20
1.4.5. Lipit Taşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyonu	21
1.4.6. Lipit Taşıyıcı Sistemler ve Kozmetik Kullanımı	21
1.4.7. Nanopartiküllerin Toksisitesi	23
1.5. Hidrojeller	23
1.5.1. Poloksomerler	24
1.5.2. Hidroksipropil Metil Selüloz (HPMC)	25
1.5.3. Hidrojellerin Karakterizasyonu	26
1.6. Dekspantenol	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1. Gereçler	28
2.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler	28
2.1.2. Deneylerde Kullanılan Alet ve Cihazlar	29
2.1.3. Deneylerde Kullanılan Tampon Çözeltiler	29

2.2. Üretim Yöntemi	30
2.2.1. Lipit Yapılı Partiküllerin Üretim Yöntemi	30
2.2.2. Hidrojel Üretim Yöntemi	31
2.2.3. Lipit Yapılı Nanopartikül veya Mikropartikül İçeren Formülasyonların Üretimi	32
2.3. Formülasyonlarda Karakterizasyon Çalışmaları	34
2.3.1. SLN Üzerinde Yapılan Çalışmalar	34
2.3.1.1. Partikül Boyut ve Dağılımının İncelenmesi	34
2.3.1.2. Zeta Potansiyel Değerinin İncelenmesi	34
2.3.1.3. SLN ve SLM yapısal özelliklerinin mikroskopik teknikler ile incelenmesi	35
2.3.2. Hidrojeller Üzerinde Yapılan Çalışmalar	35
2.3.2.1. pH Değerinin Tayini	35
2.3.2.2. Viskozite Değerinin Tayini	35
2.3.3. Lipit Taşıyıcı Sistem İçeren Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	36
2.3.3.1. pH Değerinin Tayini	36
2.3.3.2. Reolojik Analizler	36
2.3.3.3. Adezif Özelliklerin Tayini	37
2.3.3.4. In Vitro Yayılabilirlik Tayini	37
2.3.3.5. In Vitro Oklüzyon Tayini	38
2.3.3.6. In Vitro GKF Tayini	39
3. BULGULAR	41
3.1. Lipit Partiküller Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	41
3.1.1. Partikül Özelliklerine Ait Bulgular	41
3.2. Hidrojeller Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	43
3.2.1. pH Değerlerine Ait Bulgular	43
3.2.2. Viskozluk Değerlerine Ait Bulgular	43
3.3. Lipit Taşıyıcı Sistem Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	44
3.3.1. pH Değerlerine Ait Bulgular	44
3.3.2. Reolojik Özelliklere Ait Bulgular	45
3.3.3. Adezif Özelliklere Ait Bulgular	47
3.3.4. Yayılabilirlik Testine Ait Bulgular	48
3.3.5. Oklüzyon Değerlerine Ait Bulgular	49
3.3.6. GKF Değerlerine Ait Bulgular	50
4. TARTIŞMA	53
4.1. Lipit Taşıyıcı Sistemlerin Özelliklerinin Değerlendirilmesi	53
4.2. Hidrojel Özelliklerinin Değerlendirilmesi	55
4.3. Lipit Taşıyıcı Sistem İçeren Formülasyonların Değerlendirilmesi	57
4.3.1. Üretim Yönteminin Değerlendirilmesi	57
4.3.2. pH Analizine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	59
4.3.3. Reolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi	59
4.3.4. Adezif Özelliklerin Değerlendirilmesi	61
4.3.5. Yayılabilirlik Özelliklerinin İncelenmesi	62
4.3.6. Oklüzyon Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	64
4.3.7. GKF Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
ÖZET	70

SUMMARY	71
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	79

71
72
79



ÖNSÖZ

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Tez çalışmam boyunca her zaman bilgi ve tecrübelerinden yardım aldığım danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Özge İnal'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca gösterdikleri ilgi ve yardımlarından dolayı başta Doç. Dr. F. Ulya BADILLI ve Doç. Dr. Gülin AMASYA ÇELİKTEN olmak üzere Farmasötik

Teknoloji kürsüsünde görevli olan tüm saygı değer hocalarım ve araştırma görevlilerine,

Yüksek lisans eğitimimde ve tezimin her aşamasında bana destek olan, beni motive eden sevgili eşim başta olmak üzere aileme ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada lipit yapılı nanotaşıyıcı sistemlerin UV filtre etkinliklerinin kozmetik kriterlere uygun bir jel sıvağı içerisinde kimyasal blokaj ajanı olarak kullanılan benzofenon ve fiziksel UV blokaj ajanı olarak kullanılan titanyum dioksit'e karşı değerlendirilmesi planlanmıştır. Bu amaçla hazırlanacak jelin güneşin yarattığı cilt kuruluğına karşı nemlendirici ve cilde kolay yayılabilir özellikte olması hedeflenmiştir. Taşıyıcı sistemin ise nanometre ve mikrometre partikül boyut aralığında farklı boyutlarda hazırlanıp, oklüzif/örtücü ve güneşten koruyucu özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

SİMGELER VE KISALTMALAR

BP-3	Benzofenon 3
BP-4	Benzofenon 4
cP	Centipoise
G'	Elastik modül
G''	Viskoz modül
GKF	Güneşten Koruma Faktörü
HPH	Yüksek basınçlı homojenizasyon
HPMC	Hidroksipropil metil selüloz
N	Newton
NLC	Nanoyapılı lipit taşıyıcılar
nm	Nanometre
ROS	Reaktif oksijen türleri
RPM	Devir/dakika
SC	Stratum Corneum
SLM	Katı Lipit Mikropartikül
SLN	Katı Lipit Nanopartikül
SPF	Sun Protection Factor (GKF)
TEM	Geçirimli elektron mikroskopisi
TiO ₂	Titanyum Dioksit
UT	Ultratoraks
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Deri yapısı (Mescher, 2018)	3
Şekil 1.2.	Yaşlanma tipleri (Önder, 1998).	5
Şekil 3.1.	SLM4 ve SLM8 dispersiyonu partikül boyut ve dağılımı	42
Şekil 3.2.	SLN4 ve SLN8 dispersiyonu partikül boyut ve dağılımı	42
Şekil 3.3.	a. SLN4 TEM görüntüsü, b. SLM8 optik mikroskop görüntüsü (x40 büyütme)	43
Şekil 3.4.	Jellerin oda sıcaklığında 20 rpm’de ölçülen viskozite değerleri	44
Şekil 3.5.	Lipit taşıyıcı sistem içeren formüllerin 20 rpm’de ölçülen viskozite değerleri	45
Şekil 3.6.	S6 formülasyonuna ait a) Genlik taraması, b) Frekans taraması analiz sonucu	46
Şekil 3.7.	S9 formülasyonuna ait a) Genlik taraması, b) Frekans taraması analiz sonucu	47
Şekil 3.8.	Oklüzyon faktörlerine ait sonuçlar	50
Şekil 3.9.	Formülasyonların GKF değerleri	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. UV ışınları ve özellikleri	6
Çizelge 1.2. Kozmetik yönetmeliğine göre kullanım izni olan güneş filtreleri	9
Çizelge 1.3. SLN üretiminde kullanılan hammaddeler	18
Çizelge 1.4. Hidrojellerde kullanılan polimerler	24
Çizelge 2.1. SLN ve SLM hazırlanmasında kullanılan formülasyon içerikleri	30
Çizelge 2.2. Pluronik içeren jellerin formülasyon içerikleri	31
Çizelge 2.3. HMPC içeren jellerin formülasyon içerikleri	32
Çizelge 2.4. Liyofilize edilen SLN4'ler ile hazırlanan formülasyonlar	32
Çizelge 2.5. Lipit Yapılı Nanopartikül veya Mikropartikül İçeren Formülasyonlar	33
Çizelge 2.6. Mansur Metodunda GKF hesabı için kullanılan $EE \times I$ değerleri	40
Çizelge 3.1. SLN/SLM'lerin partikül büyüklüğü ve dağılımı değerleri	41
Çizelge 3.2. Jellerin oda sıcaklığında ölçülen pH değerleri.	43
Çizelge 3.3. Lipit taşıyıcı sistem içeren formüllerin pH değerleri	44
Çizelge 3.4. Formülasyonların adeziv özellikleri	48
Çizelge 3.5. In vitro yayılabilirlik testinde ölçülen çaplar	48
Çizelge 3.6. Kimyasal ve fiziksel blokaj ajanı varlığında hazırlanan formüllerin yayılabilirlik sonuçları	48
Çizelge 3.7. Liyofilize nanopartikül içeren formüllere ait oklüzyon testi sonuçları	49
Çizelge 3.8. SLN8 ve SLM8 Taşıyıcı Sistem İçeren Formülasyonların oklüzyon testi sonuçları	49
Çizelge 3.9. Formülasyonların oklüzyon faktörü (F) değerleri	49
Çizelge 3.10. GKF ölçümü için hesaplanan absorbanlar	50
Çizelge 3.11. Mansur metodu ile hesaplanan GKF değerleri	51

1. GİRİŞ

Deride fotoyaşlanmanın temel sebebi olan ultraviyole (UV) ışınlarından korunmak için düzenli olarak güneş koruyucu ürün kullanımı önem taşımaktadır. Son yıllarda güneş koruyucu kullanım bilincinin de artması ile piyasada antiaging, antioksidan, nemlendirici özellik taşıyan ürünlerden renkli kozmetik özelliği taşıyan ürünlere kadar birçok nitelikte güneş kremi yer almaktadır. Bununla beraber formülasyonlarda güneşten koruma faktörünün iyileştirilmesi ve tüketiciye kullanım kolaylığı sağlaması açısından son yıllarda nanopartiküler sistemler içeren güneşten koruyucu ürünler yer almaktadır.

Güneşten yayılan UV radyasyon çevresel etkenlere bağlı yaşlanmanın en önemli nedenidir. Fotoyaşlanma olarak da bilinen bu yaşlanma tipinde hem UVA hem de UVB ışınları deride serbest radikal üretimini artırır ve antioksidan savunma kapasitesinin azalmasına neden olur. UVC ışınları ise dokular üzerinde karsinojeniktir ancak yeryüzüne ulaşmadan atmosferde bulunan moleküler oksijen ve ozon tabakası tarafından tutulmaktadır. İntrensek yaşlanma olarak da bilinen gerçek yaşlanmada ciltteki enzimatik olarak aktif melanosit sayısındaki azalma sonucu derinin UV ışınlarına karşı koruyucu engeli zayıflar. Bu nedenlerden dolayı güneş filtresi kullanımı yaşlanma karşıtı bakımında uzun vadeli bir çözüm olarak görülmektedir.

Güneş ürünlerinde kullanılan kimyasal koruyucular UV radyasyonunu emerek daha düşük ısı enerjisine çevirirler. Kimyasal koruyucuların çoğu güneş ışınlarına ve oksidasyona duyarlı maddelerdir. Fiziksel UV filtreleri ise deri üzerinde örtücü bir tabaka oluşturup yüksek enerjili UV ışınlarının deriden geri yansımaya hizmet ederler. Titanyum dioksit ve çinko oksit başta olmak üzere fiziksel güneş filtresi olarak kullanılan pigmentlerin avantajları hem UVA hem de UVB radyasyonu üzerindeki etkileri, alerji riskinin göreceli olarak az oluşu ve suya dirençli olmalarıdır. Ayrıca bu hammaddeler pigmentli ürünlerin (fondöten, BB krem, likit dekoratif kozmetikler gibi) içeriğinde de yer almaktadır. Ancak bu hammaddelerin

opak olmalarının yanı sıra özellikle nano boyutlu olarak hazırlandıklarında emilerek alt deri katmanlarına ulaşma riski vardır.

Günümüzde kozmesötik hammaddelerin derinin alt katmanlarına hedeflendirilmesinde kullanılan çeşitli taşıyıcı sistemlerin (lipozom, niozom, siklodekstrin, lipit taşıyıcı sistemler gibi) sağladıkları oklüzyon etkisine bağlı olarak güneş filtresi olarak kullanımları da araştırılmaktadır (Rodrigues ve Jose, 2020; Abbas ve ark., 2018).

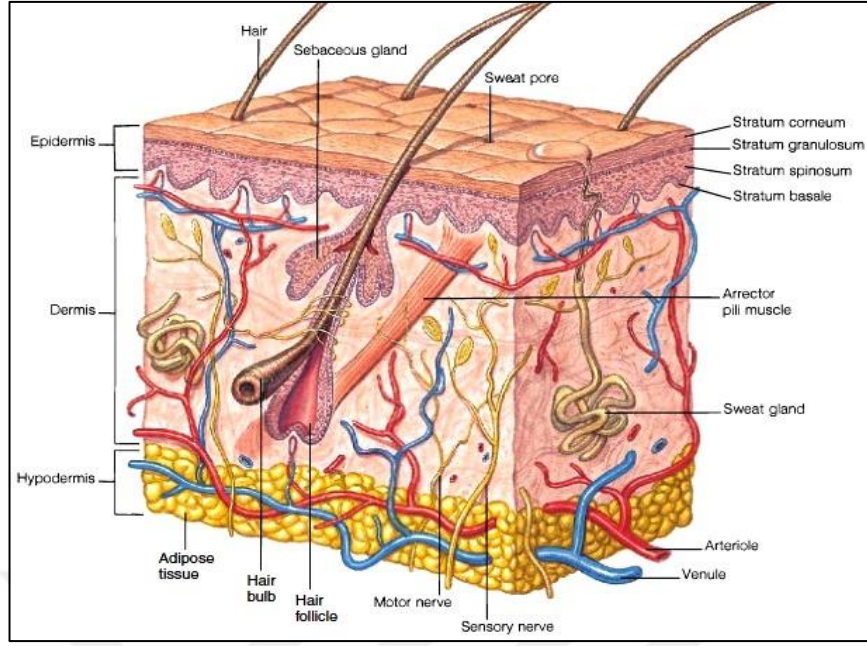
Çalışmamızda kozmetik lipit taşıyıcı sistemlerin güneşten koruma faktörü üzerine etkisi jel sıvağı içerisinde kimyasal ve fiziksel blokaj ajanlarına karşı kıyaslanmıştır.

1.1. Derinin Yapısı ve Özellikleri

Deri yüzey alanı ve kütle olarak vücudun en büyük organıdır ve insan vücudunun dış kısmını örter. Deri, altında bulunan kas ve organları ve ayrıca vücudu sıcaklık, nem ve basınç gibi faktörlere karşı korur, patojenlerin vücuda girişini engeller. Deri ayrıca bağışıklık sistemini destekler, biyokimyasal ve metabolisme üzerinde de etkilidir.

Savunma sistemi hücreleri, Langerhans hücreleri, melanositler, tırnak, ter ve yağ bezleri ile kıl folikülleri gibi deri ekleri ve kan damarları da deri yapısında yer alır. Deri pH'sı 5-6 arasındadır. Derinin hafif asidik yapısı, yağ bezleri, yağ asitleri, laktik asit ve amfoterik aminoasitlerden kaynaklanmaktadır. İnsan derisi embriyo döneminde ektoderm ve mezodermden köken alır ve epidermis, dermis ve hipodermis tabakalarından oluşur.

Derinin yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Deri yapısı (Mescher, 2018).

1.1.1. Epidermis

Derinin çok katlı ve damarsız en dış bölgesidir. Kalınlığı vücutta farklılık gösterir ve ortalama 0,1 mm'dir. Örneğin avuçlarda ve ayak tabanlarında bulunan tüysüz deride epidermis ekstra bir tabaka daha, stratum lucidum, içermesi nedeniyle bu bölgelerde daha kalındır (yaklaşık 1,6 mm). Epidermis dökülerek kendini yeniler ve temizler. Temel olarak keratinositler, melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri olmak üzere 4 hücre tipinden oluşur. Keratinositler ise bu hücrelerin yaklaşık % 95'ini oluşturur.

Epidermisi oluşturan kısımlar dışta içe doğru aşağıda kısaca tanımlanmıştır;

Stratum corneum (SC)

Şekil olarak örülmüş bir duvara benzeyen SC tamamen keratinize olmuş ölü hücrelerin üst üste yığılması ile meydana gelmiştir. Canlı keratinositler hücre ölümü sonucu korneositlere dönüşerek bu tabakadan atılır. SC'un su tutucu özelliği bulunmaktadır ve yeterli su içerdiğinde bu tabaka yumuşak ve esnek yapıdadır. SC

içerdiği kolesterol, seramit, sfingolipitler gibi lipitler sayesinde deriye bariyer özelliği kazandırır.

Stratum lucidum

Ölü hücrelerden oluşmuş ince bir tabakadır. Kıl kökleri içermez. Avuç içi ve ayak tabanlarında yer alır.

Stratum granulosum

Kalınlığı bölgesel farklılıklar gösterir. Bölünme özelliğini kaybetmiş keratinositlerden oluşmaktadır.

Stratum spinosum

Dikenimsi görünümündedir ve en önemli özelliği vücutta alerjik tepkilerden sorumlu olan Langerhans hücrelerini içermesidir.

Stratum basale

Farklılaşarak epidermin diğer tabakalarına dönüşebilen en alt tabakasıdır. Deriye rengini veren melanosit hücrelerini içermektedir.

1.1.2. Dermis

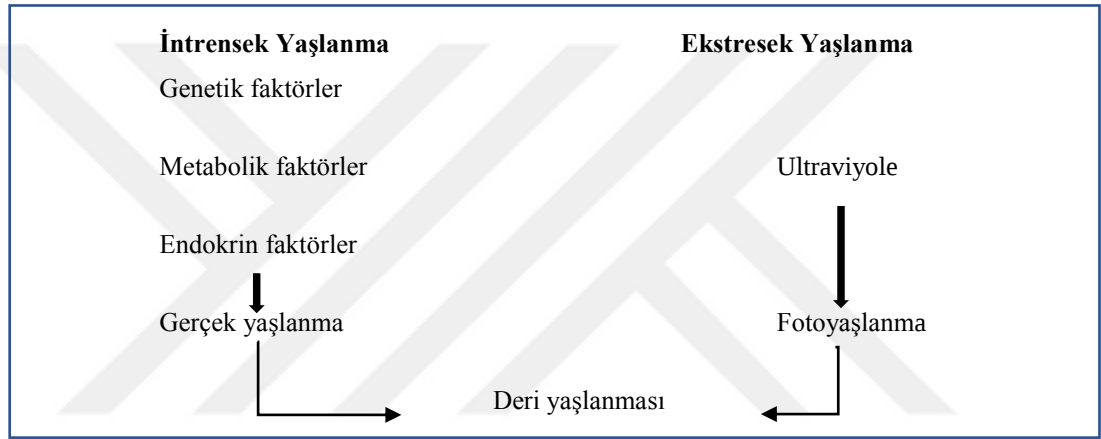
Deriye dayanıklılığını ve esnekliğini veren tabakadır. Deri duyularına ait kısımlar, kıl folikülleri, ter ve yağ bezleri bu tabakada bulunur. Bu tabakanın temel hücreleri; deriye esneklik kazandıran kolajenleri oluşturan fibroblastlardır.

1.1.3. Hipodermis

Subkutan yağlar mekanik bir yastık gibi davranarak çarpma ve vurmalara karşı deriyi korur. Termal bir bariyer oluşturarak iç organları da korumaktadır.

1.2. Deri Yaşlanması

İlerleyen yaşla beraber deride bazı karakteristik değişimler meydana gelir. Deride yaşa bağlı meydana gelen değişikliklerin başında kuruluk, kırışıklık, gevşeklik ve cilt lekeleri gelmektedir. İç faktörler ile zamanla gelişen yaşlanma intrinsek yaşlanma (kronolojik yaşlanma), dış ve çevresel faktörler ile gelişen yaşlanma ise ekstrinsek yaşlanma (fotoyaşlanma) olarak ifade edilmektedir (Şekil 1.2.) (Allı, 1998).



Şekil 1.2. Yaşlanma tipleri (Önder, 1998).

1.2.1. Güneşe Bağlı Yaşlanma

İntrensek deri yaşlanmasıyla birlikte ciltte oluşan problemler yaşam şekli ve sigara kullanımı gibi çevresel faktörlerin etkisi ile artar. Güneşten yayılan UV radyasyon ise ekstrinsek yaşlanmanın en önemli nedenidir. Fotoyaşlanma olarak da bilinen bu yaşlanma tipinde hem UVA hem de UVB ışınları deride serbest radikal üretimini artırır ve antioksidan savunma kapasitesinin azalmasına neden olur. Bunun yanı sıra intrinsek yaşlanma olarak da bilinen gerçek yaşlanmada ciltteki enzimatik olarak aktif melanosit sayısındaki azalma sonucu derinin UV ışınlarına karşı koruyucu engeli zayıflar.

1.2.2. UV Işınları ve Deri Üzerindeki Etkileri

Güneşten yayılan UV ışınları dalga boylarına bağlı olarak 3 farklı gruba ayrılmaktadır. Bunlardan en yüksek enerjili UV-radyasyonu olan UVC 200-280 nm dalga boyu aralığındadır ve dokular üzerinde karsinojeniktir, ancak yeryüzüne ulaşmadan atmosferde bulunan moleküler oksijen ve ozon tabakası tarafından tutulmaktadır.

UVB ve UVA ise sırasıyla 280-315 nm ve 315-400 nm dalga boyu aralığında, ozon tabakasını geçerek atmosfere ulaşabilen türlerdir (Çizelge 1.1).

Bunlar arasında UVA en düşük enerjili ve dolayısıyla daha az tehlikeli UV bölgesi olmasına rağmen yüksek dozlarda maruziyet oluştuğunda yaşlanma belirtileri ve kanser oluşumuna yol açmaktadır. UVB ise canlılar için en zararlı olan UV radyasyonudur ve sebep olduğu eritem reaksiyonları 12-24 saat gibi sürelerle en yüksek düzeye ulaşabilir. Uzun süre maruziyette fotoyaşlanmadan kansere kadar pek çok hasara yol açar (Abid ve ark., 2017).

Çizelge 1.1. UV ışınları ve özellikleri (Soehnge ve ark, 1994).

Dalga boyu (nm)	Özellikleri
200-280, UVC	Atmosferde ozon tabakası tarafından emilir. Göz için zararlı dalga boyu aralığıdır. Sterilizasyon ve temiz alan oluşturma gibi amaçlarla kullanılır.
280-320, UVB	Dünyaya ulaşan UV ışınların % 95-98'ini oluşturur. Epidermise ulaşır. Camdan geçiş özelliğine sahip olmayan bölgedir. Saat 10:00-16:00 da en etkilidir.
320- 400, UVA	Güneş yanığı ve cilt kanserine sebep olur. Dünyaya ulaşan UV ışınların % 2-5'ini oluşturur. Camdan geçme özelliğine sahiptirler. Epidermis ve dermise ulaşır. Genelde fotoalerjik reaksiyonlardan ve fotoyaşlanmadan sorumludur.

1.2.3. UV Işınlara Karşı Doğal Koruma

Deri, UV radyasyonuna maruziyet sonucu doğal koruma mekanizmasını devreye sokar. Derinin üst tabakası olan SC kalınlaşır ve melanositler melanin pigmenti sentezler. Melanin ve vücutta bulunan farklı kromofor gruplar atmosferik UV ışınlarını absorbe ederek reaktif oksijen türleri (ROS) ile etkileşime girer. SC’de bulunan ürokanik asit, A, C, E vitaminleri, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi maddeler de immün sistemi baskılayarak antioksidan özellik gösterir ve UV radyasyonun istenmeyen etkilerinden vücudu korur (Pouillot ve ark., 2011).

1.3. Güneş Filtreleri ve Güneşten Koruyucu Ürünler

Güneşten koruyucu maddeler, UV radyasyonuna ve UV’nin istenmeyen etkilerine karşı koruma sağlar. UV ışınlarının; deri yaşlanması, güneş yanığı oluşumu, prekanserojen ve kanserojen lezyon oluşumu gibi etkileri bulunmaktadır. Güneşten koruyucu ürünler yaşlanma belirtilerini, güneş alerjisi, güneş yanığı ve deri kanseri riskini azaltır.

Cilt yaşlanmasında uzun vadeli çözüm sunan güneş filtrelerinin kullanımında; farklı mekanizma ile koruma sağlayan, geniş bir UV spektrumunda etkili ve birden fazla güneşten koruyucu maddenin bir arada yer aldığı ürünlerin kullanımı önemlidir. Bu ürünlerin etkinliği “Güneşten Koruma Faktörü (GKF; SPF)” terimi ile ifade edilir. GKF, güneş koruyucu uygulandıktan sonra deride eritem görülmesi için güneşe maruz kalınan en kısa sürede vücuda alınan UV radyasyonu dozunun “Minimal Eritemal Doz (MED)”, aynı şartlarda güneş koruyucu uygulanmamış derideki MED miktarına oranı ile hesaplanır. MED, UV lamba ile deride eritem oluşması için gerekli doz üzerinden deneysel olarak bulunmaktadır. Güneşten koruyucu madde UV radyasyonunun neden olduğu MED değerini 25 kat düşürebilmeli ve 28 dakika güneş ışınına maruz kalan derideki eritem oluşumunu 8 saate kadar geciktirebilmelidir (Young ve ark., 2017).

1.3.1. Güneş filtreleri

Güneşten koruyucu bileşikler eskiden fiziksel ve kimyasal filtreler olarak sınıflandırılırken günümüzde organik ve inorganik maddeler olarak gruplandırılmaktadır (Çizelge 1.2) (Yağın Uzuner, 1998; Sambandan ve Ratner, 2011).

Güneş ürünlerinde kullanılan fiziksel koruyucular, deri üzerinde örtücü bir tabaka oluşturup yüksek enerjili UV ışınlarını deriden geri yansıtırlar.

Titanyum dioksit ve çinko oksit in yer aldığı bu fiziksel UV blokaj ajanlarının avantajları; hem UVA hem de UVB'ye karşı etki göstermeleri, alerji riskinin kimyasal filtrelerle göre kısmen daha az oluşu ve suya dirençli olmalarıdır. Ayrıca bu maddelerin SC'yi geçerek sistemik dolaşıma girme olasılıklarının bulunmadığı bildirilmiştir. Bu nedenle nontoksik kabul edilirler (Nash, 2006).

Güneşten koruyucu kimyasal filtreler ise UV radyasyonunu emerek daha düşük ısı enerjisine çevirirler. Bu filtreler genellikle UVB'ye karşı etkinlik gösterirler. Ancak 1990'lerden sonra UVA için de etkinlik gösteren filtreler kullanıma girmiştir (Yağın Uzuner, 1998).

Kimyasal koruyucuların çoğu güneş ışınlarına ve oksidasyona duyarlı maddelerdir.

Derinin güneşten korunmasında kullanılan formülasyonlarda güneşten zarar gören deriyi onarmak formülasyon yaklaşımı için önem taşımaktadır. Bu amaçla karotenoidler, omega yağ asitleri, antioksidanlar, vitaminler ve polifenol içeren bitki ekstraktları gibi pek çok aktif, deride güneşe bağlı kütanöz hasarı onarmada kullanılabilir.

Çizelge 1.2. Kozmetik yönetmeliğine göre kullanım izni olan güneş filtreleri (www.echa.europa.eu).

	Güneş filtresi	Maks. Kons. (%)
Organik filtreler	Benzofenon 3	6
	Benzofenon 4	10
	Avobenzon	5
	Bemotrizinol	10
	Bisoktrizol	10
	Ensulizol	8
	Iscotrizinol	10
	Oktokrilen	10
	Oksinoksat	10
	Amiloksat	10
	Oktisalat	5
	Homosalat	10
	Padimate	8
	Ecamsule	10
	Enzacamene	4
İnorganik filtreler	Titanyum dioksit	25
	Çinko oksit	25

Kozmetik bir üründe kullanılan UV filtreleri, deriden emilerek sistemik dolaşıma katılmamalı, hem UVA hem de UVB'ye karşı etki göstermeli ve aynı zamanda stabil ve dermatolojik açıdan zararsız olmalıdır. Başlangıçta hesaplanan GKF değerinin ürün suya dayanıklı ise, su içinde kalınan sürede 40 dakika, ürün su geçirmez ise 80 dakika değişmemiş olması gerekmektedir (Yağan Uzuner, 1998). Formülasyon tercihi krem, losyon, jel, sprey gibi çeşitlilik gösterebilir.

Çalışmamızda, hazırlanan jel formundaki içerdiği katı lipit nanopartikül (SLN) veya katı lipit mikropartikül (SLM) taşıyıcı sistemlerin ürünün güneşten koruma faktörü üzerine etkisi tek başına ve kimyasal filtre olarak seçilen benzofenon ve fiziksel UV blokaj ajanı olarak seçilen titanyum dioksit (TiO₂) varlığında incelenmiştir.

Benzofenon Türevleri

Benzofenon türevleri, hem UVA (320-400 nm) hem de UVB (290-320 nm) aralıklarında güneş ışını absorbe eden ve UV radyasyonun zararlı etkilerini en aza indirmeye yardımcı olmak için güneş kremlerinde ve kişisel bakım ürünlerinde kullanılan geniş bantlı kimyasal filtrelerdir.

Benzofenon 1'den benzofenon 12'ye kadar tanımlanan 12 benzofenon türevi bulunmaktadır. Bunlardan sadece oksibenzon (benzofenon-3, BP-3) ve sulisobenzon (benzofenon-4, BP-4)) güneş kremlerinde FDA tarafından güvenli ve etkili ajanlar olarak onaylanmıştır. Oksibenzon (benzofenon-3, 2-hidroksi 4-metoksi benzofenon) lipofilik, sulisobenzon (benzofenon-4, 2-hidroksi 4-metoksibenzofenon 5-sülfonik asit) ise hidrofilik yapıdadır (Kurul ve Hekimoğlu, 2001; www.echa.europa.eu)

Son yıllarda benzofenon türevlerinin toksisitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda özellikle BP-3 ve metabolitlerinin insan idrarında, plasenta dokusunda, amniyotik sıvıda ve anne sütünde bulunduğu, hatta nehirlerde, göllerde, ev tozlarında ve hatta içme sularında tespit edildiği bildirilmiştir. BP-3'ün çevrede yaygın olarak bulunması, potansiyel endokrin bozucu etkilerine ilişkin artan endişelere yol açmıştır. Ayrıca BP-3 ile temas ve fotokontakt alerji reaksiyonları rapor edilmiştir (Dinardo ve Craig, 2018).

Hem hayvanlarda hem de insanlarda yapılan birkaç çalışmada östrojene duyarlı bazı meme kanseri hücrelerinin oksibenzona maruziyeti sonucu hücre proliferasyonunda artış bildirilmiştir. 2014 yılında benzofenonlar grubu, bu bileşenleri içeren ürünlere karşı klinik olarak bildirilen alerjik reaksiyonların yüksek prevalansı nedeniyle “yılın kontakt alerjisi” olarak adlandırılmıştır (Mcclatchey, 2018).

Titanyum Dioksit

Hem UVA hem de UVB'ye karşı koruma sağlayan inorganik UV blokaj ajanlarının (ZnO_2 ve TiO_2) nanopartikülleri günümüzde güneş koruyucu ürünlerde yer almaktadır. Bu nano boyuttaki maddeler hidrofilik ve hidrofobik özelliklere

sahiptirler ve formül hazırlama aşamasında yüksek yoğunlukları ile çökme olmaksızın özelliklerinin korunmasını, UV'yi etkin olarak absorplamayı ve dağıtmayı sağlamaktadır.

Bu fiziksel blokaj ajanlarından biri olan titanyum dioksit, inorganik olması, ciltte alerjik etki göstermemesi ve iyi stabil özellikleri nedeniyle güneş koruyucu ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır.

1.3.2. Güneş Koruyucu Ürünlerde Kullanılan Kozmetik Taşıyıcı Sistemler

Günümüzde biyoaktif maddelerin koloidal yapılı taşıyıcı sistemlere enkapsülasyonu ve topikal uygulamaları yaygın olarak çalışılmaktadır. Güneş koruyucu ürünlerde kozmetik taşıyıcı sistemlerin kullanım amacı, aktif bileşenin salım hızının kontrollü olmasını sağlamak, etkinlik, stabilite ve oklüzif etkiyi artırmak ve alerji riskini azaltmaktır (Jain, S.K. ve Jain, N.K., 2010; Souto ve ark., 2022).

Güneş koruyucu ürünlerde yaygın olarak kullanılan taşıyıcı sistemler şunlardır (Souto ve ark., 2022):

Siklodekstrinler: Hidrofobik bir iç kısma sahip kesik koni şeklindeki siklik oligosakkaritlerdir. Sulu çözeltilerde çok çeşitli substratlarla inklüzyon kompleksleri oluşturma yeteneğine sahiptirler. Bu özellik sayesinde uygun boyutta lipofilik bileşikler hidrofobik boşluklara girerek kovalent olmayan inklüzyon kompleksleri oluşturur (Mansoori, 2005). Siklodekstrinler, güneşten koruyucu ürünlerin, UV ışınlarına bağlı bozunmalarını önlemek için uygun bir taşıyıcı sistem olarak ifade edilmektedir (Doktorovova ve ark., 2009). Yuan ve ark., avobenzon-siklodestrin inklüzyon kompleksi oluşturarak yaptıkları çalışmada avobenzonun çözünürlük özelliklerini ve fotostabilitesini artırdıklarını bildirmişlerdir (Yuan ve ark., 2019).

Lipozomlar: Bir fosfolipitin sulu çözeltide dağılmasıyla oluşturulan, çift tabaka lipit katmanlarından oluşan küresel, kendiliğinden oluşan veziküllerdir. Hidrofilik ve hidrofobik özelliklerinden dolayı güneşten koruyucu moleküller de dahil olmak üzere çok çeşitli partiküller için taşıyıcılar olarak kullanılabilirler (Mansoori, 2005). Severino ve ark., benzofenon-3'ü lipozom içine yükleyerek yaptıkları çalışmada güneşten koruma faktörünün bu formülasyon ile arttığını bildirmişlerdir (Severino ve ark., 2011).

Mikroküreler: Mikroküreler, kozmetik bileşenlerin polimer matrisi boyunca çözöldüğü veya dağıldığı homojen parçacıklardır (Jain, S.K. ve Jain, N.K., 2010). Yapılan bir çalışmada, güneşten koruyucu etkinliklerini artırmak için oksibenzon jelatin mikroküreleri ve etilheksil metoksisinamatın polimetilmetakrilat mikroküreleri oluşturulmuştur (Patel ve ark., 2006; Gogna ve ark., 2007). Patel ve ark. (2006), oksibenzonun jelatin mikrokürelerini emülsifikasyon yöntemi kullanarak hazırlamıştır. Oksibenzon suda çözünmediği için krem bazına ilavesi zordur ancak mikroküreler içinde herhangi bir kristalleşme sorunu olmaksızın krem bazına kolayca dahil edilmiştir. Shruti ve ark., benzofenon-3 mikroküreleri içeren güneşten koruyucu krem formülasyonu hazırlayarak etkinliğini değerlendirmişlerdir. Mikroküre içerisindeki benzofenon-3 kremi ile benzofenon-3'ün stabilitesini ve salım özelliklerini iyileştirdiklerini bildirmişlerdir (Shruti ve ark., 2021).

Mikrosüngerler: Gözenekli mikrokürelerden oluşan polimerik sistemlerdir. Her bir mikroküre geniş gözenekli yüzeye sahip katlanamayan bir yapı içinde bağlantılı boşluklardan oluşur (Embil ve ark., 1996). Patil ve ark., Avobenzon mikrosüngerlerinin hidrojel içine dağıtılması ile stabil ve etkin güneşten koruyucu formülasyon elde etmişlerdir (Patil ve ark., 2022).

Lipit Nanopartiküller: Lipit yapılı nanotaşıyıcı sistemler; katı lipitlerden elde edilen (SLN) veya katı ve sıvı lipitlerin karışımından elde edilen (NLC) katı matris yapılarıdır.

Lipit nanopartiküller Bölüm 1.4'te detaylı olarak açıklanmaktadır.

1.3.3. Güneşten Koruyucu Ürünler Üzerinde Yapılan Etkinlik Testleri

Güneşten korunmak için kullanılan ürünlerde güneşten korunma faktörünün ölçümünde farklı test yaklaşımları bulunmaktadır. Bunlar in vivo ve in vitro yöntemler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Wawrzynczak ve Nowak, 2011).

1.3.3.1. In Vitro GKF Değerinin Saptanması

GKF değeri, ürünün UVB radyasyonunu engelleme yüzdesini göstermektedir ve hem in vivo hem de in vitro olarak hesaplanabilir. In vitro yöntemler kolay ve maliyetsiz olması nedeniyle tercih edilmektedir (Kurumlu, 1998; Stanfield ve ark., 2010).

In vitro yöntemlerde en sık kullanılan yöntem, Uluslararası Güneş Koruma Test Yöntemi (International Sun Protection Test Method, 2006)'dir. Bu test iki şekilde yapılmaktadır.

- A. Mansur metodu: Bu yöntemde spektrofotometrik ölçüm sonucu farklı dalga boylarında bulunan absorbans değerlerinden yararlanılır. Bu amaçla formüller uygun bir çözücünde (örneğin etanol, distile su veya fosfat tamponu gibi) çözülüp birkaç kez dilüe edildikten sonra UVA-UVB ışının absorbans aralığında 5'er nm aralıkla absorbans değerleri okunarak aşağıdaki matematiksel eşitliğe uygulanır ve GKF hesaplanır (Mansur ve ark, 1986).

$$GKF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

CF: Düzeltme faktörü (10)

EE: Eritelmal etki spektrumu

EE x I değeri ilgili dalga boyuna ait sabit değerdir.

- B. Substrat metodu: Uygun bir substrat üzerine püskürtülerek kurutulan ve ince bir film tabakası haline getirilen ürünün absorbanı farklı dalga boylarında okunur.

Bu yöntemde, derinin pürüzlü yapısını taklit edecek şekilde 6-16 µm pürüzlülükteki substratlar kullanılır. Sıklıkla kullanılan substratlar aşağıda yer almaktadır:

- 3M TransportTM
- Vitro SkinTM
- Polimetil metakrilat plaka
- Polivinil klorür film (Pelizzo ve ark., 2012).

Substrat üzerine genellikle 2 mg/cm² ürün uygulanır ve absorbanı değeri ölçülerek Mansur yönteminde kullanılan yukarıdaki eşitlik kullanılarak SPF hesaplanır (Stanfield ve ark., 2010).

1.3.3.2. Güneşten Koruma Etkinliği Ölçümünde In Vivo Yöntemler

Cilt tiplerine uygun gönüllüler seçilerek, sırt bölgelerine eşit kalınlıkta ürün tabaka şeklinde deri üzerine yayılır. Bölge 15 dk sonra UVB ışınına maruz bırakılır ve bu ışın dozu 5 farklı seviyede uygulanır. Oluşan eritem 24 saat sonra görsel ve kolorimetrik ölçümlerle belirlenir. Deney sonucunda hesaplanan GKF değeri, minimal eritem oluşturmak için gerekli olan enerji miktarı ve korumasız deri üzerinde minimal eritem oluşturmak için gerekli olan enerjiye arasındaki oranındır.

1.4. Lipit Nanopartiküller

1.4.1. Tanımı

Lipit yapılı nanopartiküler sistemler; katı lipitlerden elde edilen (SLN) veya katı ve sıvı lipitlerin karışımından elde edilen (NLC) katı matris yapılarıdır. Genel olarak lipit, yüzey etken madde ve su kullanılarak hazırlanırlar. Lipit nanopartiküller yağ/su nanoemülsiyonun hazırlanmasında kullanılan sıvı lipit ile katı lipitin yerdeğiştirmesi yoluyla elde edilir. Katı lipit karışımları da kullanılabilir. Elde edilen lipit matris, oda sıcaklığında ve vücut sıcaklığında katı halde bulunur (Müller ve ark., 2002).

SLN'ler ilk kez 1990'ların başında Müller ve ekibi tarafından tanımlanmıştır. SLN'ler, partikül büyüklüğü 50-1000 nm arasında, oda sıcaklığında ve vücut sıcaklığında katı halde bulunan lipit ve/veya lipit karışımlarının yüzey etkin maddeler ile stabilize edildiği kolloidal sistemlerdir (Wissing ve ark., 2014; Müller ve ark., 2002; Geszke-Moritz and Moritz, 2016).

Üretim aşamasında sıvı lipitlerin de yer aldığı, ikinci jenerasyon lipit nanopartiküller olarak tanımlanan NLC'ler yüksek etkin maddeler yükleme kapasitesi ve etkin maddenin raf ömrü boyunca lipit matristen dışarı sızmaması nedeni ile stabilitesinin yüksek olması gibi avantajlara sahiptir (Müller ve ark., 2007; Uchechi ve ark., 2014).

Lipit nanopartiküler sistemler dermal yolla uygulanan birçok etkin maddenin enkapsüle edilebildiği sistemlerdir. Örneğin Sanna ve ark (2007), ekonazol nitrat SC penetrasyonunu artırmak üzere hidrojele yüklenmiş SLN dispersiyonlarını hazırlamışlardır. Hidrojel içerisinde formüle edilen SLN çalışma örnekleri arasında pensiklovir içeren SLN formülasyonları (Lv ve ark., 2009), tretinoin yüklenmiş SLN formülasyonları (Shah ve ark., 2007) gösterilebilir. Han ve ark. (2012) ise flurbiprofen yükledikleri NLC taşıyıcı sistemlerini Carbopol jel içerisinde formüle

etmişlerdir. Ex vivo çalışmalar sonucunda NLC içeren jelden deriye penetre olan etkin madde miktarı konvansiyonel jel formülasyonu ile karşılaştırıldığında 2 kat artış olduğu görülmüştür. Badilli ve ark., ise etofenamat yükledikleri yarı katı SLN taşıyıcı sistemini jel içerisinde formüle ederek jelin oklüzif, mekanik özelliklerini değerlendirmişlerdir ve ex vivo penetrasyon çalışmaları yapmıştır (Badilli ve ark., 2017). Badilli ve ark., etofenamat yüklü yarı katı SLN'leri jel içerisinde formüle ederek jelin oklüzif, mekanik özelliklerini değerlendirmiş ve ex vivo penetrasyon çalışmaları yapmıştır (Badilli ve ark., 2017). Amasya, farklı bitkisel yağlar ile dermal yolla uygulanmak üzere hazırladıkları NLC'lerin hidrasyon ve oklüzif etkilerini değerlendirmiştir (Amasya, 2021).

1.4.2. Avantajları ve Dezavantajları

Lipit yapılı nanotaşıyıcıların başlıca avantajları arasında;

- Etkin maddelerin stabilitesini artırma,
- Kontrollü salım sağlama,
- Cilt üzerinde oklüzif bir film tabakası oluşturma,
- Organik çözücü kullanmadan hazırlanabilme,
- Büyük ölçekli üretime uygunluk,
- Biyouyumlu ve biyoparçalanabilir olma,
- Sterilize edilebilme sayılabilir (Müller ve ark., 2002).

Dezavantajları ise;

- Düşük etkin madde yükleme kapasitesi,
- Saklama sırasında meydana gelen polimorfik değişimler sonucu etkin maddenin taşıyıcıdan dışarı sızabilmesi,
- Yüksek oranda (%70-99,9) su içermeleri sonucu oluşan stabilite sorunlarıdır (Cavalli ve ark., 1997; Müller ve ark., 2002; Mehnert ve Mäder, 2012; Weber ve ark., 2014).

1.4.3. Üretiminde Kullanılan Hammaddeler

SLN üretiminde kullanılan başlıca hammadde grupları lipitler ve yüzey aktif maddelerdir.

Lipitler

SLN'lerde matris yapıyı sağlamak amacıyla vücut sıcaklığında katı olan lipitler kullanılır. Stearik asit ve palmitik asit gibi yağ asitleri; tristearin ve tripalmitin gibi trigliseritler; gliseril behenat ve gliseril palmitostearat gibi kısmi gliseritler; setil palmitat gibi mumlar ve kolesterol gibi steroidler SLN yapısına giren katı lipitlere örnek olarak verilebilir. Bu lipitler, Genel Olarak Güvenli (GRAS) kategorisinde sınıflandırılır (Badıllı, 2018; Dhiman ve ark., 2021).

Lipit seçimi, aktif bileşenin lipit içindeki çözünürlüğüne, partiyon katsayısına ve katı lipitlerin kristal formlarına bağlıdır ve yükleme kapasitesi, stabilite ve salım davranışı gibi formülasyon parametrelerini etkiler (Shah ve ark., 2015).

Sürfaktanlar

Sürfaktanlar, üretim sırasında erimiş lipitlerin sulu fazda dağılmasa yardımcı olur ve soğutma sonrası elektrostatik stabiliteyi artırarak nanodispersiyon stabilizasyonunu sağlar (Badıllı, 2018; Shah ve ark., 2015). Bununla birlikte SLN'lerin katı-lipit çekirdeğindeki hidrofobik moleküllerin çözünürlüğü, uygun yüzey aktif maddelerin varlığında artar.

İki hidrofilik polietilen oksit zinciri ile çevrili hidrofobik polipropilen oksit zincirinden oluşan triblok kopolimerleri olan poloksomerler ve iyonik olmayan polisorbat esterleri (Tween® türleri) sıklıkla kullanılan sürfaktanlardır. Bunların dışında, lesitinler, polivinil alkol ve safra tuzları, lipit nanodispersiyonun stabilizasyonunu sağlamak ve aglomerasyonu önlemek için kullanılan diğer yüzey aktif maddelerdir (Gastaldi ve diğerleri, 2014).

İyonik olmayan sürfaktanlar, düşük toksisiteleri, düşük tahriş potansiyelleri ve in vivo lipit matrisi bozunmasındaki etkinlikleri nedeniyle tercih edilir.

SLN üretiminde kullanılan hammaddeler Çizelge 1.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 1.3. SLN üretiminde kullanılan hammaddeler (Shah ve ark., 2015).

LİPİDLER	SÜRFAKTANLAR
Trigliseritler	İyonik Yüzey Aktif Maddeler
Tristearin (Gliseril tristearat)	Sodyum kolat
Tripalmitin (Gliseril tripalmitat)	Sodyum glikolat
Trilaurin (Gliseril trilaurat)	Sodyum taurokolat
Trimyristin (Gliseril trimitistat)	Sodyum taurodeoksikolat
Tribehenin (Gliseril kabilehenat)	Sodyum oleat
Trikaprilin (Gliseril trikaprilat/kaprat)	Sodyum dodesil sülfat
Digliseritler	Amfoterik Yüzey Aktif Maddeler
Gliseril palmitostearat	Fosfatidilkolinler
Gliseril dibehenat	Hidrojene fosfatidilkolinler
Monogliseritler	Fosfolipitler (yumurta/soya)
Gliseril oleat	İmidazolin türevleri
Gliseril monostearat	Noniyonik Yüzey Aktif Maddeler
Gliseril behenate	Polisorbat türleri (20/80)
Yağ asitleri	Sorbitan monooleat/monostearat/tristearat
Stearik asit	Poloksamer 188/407
Palmitik asit	Poloksamin 908
Miristik asit	Polioksietilen
Mumlar	Poligliseril-3 Metil glikoz distearat
Setil ester mumları / Setil palmitat	PEG-15 hidroksi stearate
Karnauba	Yardımcı yüzey aktif maddeler
Balmumu	Tiloksapol
Ceresin	Sodyum dodesil sülfat
	Sodyum oleat
	Taurokolat sodyum tuzu
	Sodyum glikolat
	Bütanol

1.4.4. Üretim Yöntemleri

SLN ve NLC üretiminde sıklıkla kullanılan yöntemler yüksek basınçlı homojenizasyon (HPH), yüksek hızlı homojenizasyon ve ultrasonikasyon, mikroemülsiyon, çoklu emülsiyon, çözücü emülsifikasyon/buharlaştırma, çözücü emülsifikasyon/difüzyon, çözücü enjeksiyon, elektropüskürtme ve süperkritik sıvı (SCF) yöntemleridir (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006).

Bu yöntemler arasında en yaygın kullanılanları yüksek basınçlı homojenizasyon ve yüksek hızlı homojenizasyon ve/veya ultrasonikasyon yönteminin beraber kullanımınıdır. Örneğin, Teeranachaideekul ve ark. (2008), HPH yöntemi ile hazırladıkları askorbil palmitat yüklü yarı katı NLC formülasyonları üzerinde yaptıkları viskoelastik analizler sonucunda NLC'lerin jel benzeri özellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar NLC'lerin mekanik özelliklerini ise tekstür profil analizi ile incelemişlerdir. Abdel-Salam ve ark. (2017) ise yüksek hızlı homojenizasyon – ultrasonikasyon yöntemi diflukortolon valerat yarı katı NLC dispersiyonu hazırlayarak sağlıklı gönüllülerden elde edilen deri örnekleri üzerinde yapılan etkin maddenin miktar tayini ile NLC formülasyonu ile etkin maddenin derin deri tabakalarına penetrasyonun piyasadaki üründen daha az olduğunu göstermişlerdir.

1.4.4.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Yöntemi

Yüksek basınçlı homojenizasyon (HPH) yöntemi sıcak ve soğuk homojenizasyon olarak ikiye ayrılır.

Yöntemde, lipit ve etkin madde, kullanılan lipitin erime derecesinden 5-10 °C daha yüksek sıcaklıkta eritilir. Sıcak homojenizasyonda, yüzey etkin maddenin sulu çözeltisi eritilmiş lipitte dağıtılır ve oluşan emülsiyon yüksek basınçlı homojenizatörlerden geçirilir. Sıvının birkaç mikron genişliğindeki delikten, yüksek bir basınçla (100-2000 bar) itilmesi sonucu sıvı kısa bir zamanda çok yüksek bir hıza

(1000 km/saat üzeri) ulaşır. Ortaya çıkan yüksek kayma stresi ve kavitasyon kuvvetleri, sıvı partikülleri mikron altı nano boyutlara parçalar. Oluşan nanoemülsiyon oda sıcaklığında soğutularak işlem tamamlanmış olur.

Sıcaklığa duyarlı bileşikler için uygulanan soğuk homojenizasyon yönteminde, etkin madde içeren eritilmiş lipit soğutulduktan sonra, 50-100 mikrometre boyutunda mikropartiküller oluşturacak şekilde öğütülür. Bu partiküller soğuk yüzey etkin madde çözeltisinde dağıtılarak oda sıcaklığı altında homojenize edilir (Amasya ve ark., 2021; Badıllı ve ark., 2018).

Yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi avantajları arasında hem sıcak, hem de soğuk homojenizasyonun % 40'a kadar lipit içeren formülasyonlar için uygunluğu, partikül büyüklüğü dağılımının dar olması ve ölçek büyütme imkanı nedeniyle endüstriyel boyutta üretime uygun olması sayılabilir (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006; Badıllı ve ark., 2018).

1.4.4.2. Yüksek Hızlı Homojenizasyon ve Ultrasonikasyon Yöntemi

Yüksek hızlı / yüksek devirli homojenizasyon yöntemi tek başına veya genellikle ultrasonikasyon ile beraber yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

Yöntemde lipit ve etkin madde, lipitin erime derecesinden 5-10 °C daha yüksek sıcaklıkta eritilen ve aynı sıcaklığa getirilen yüzey etkin maddenin sulu çözeltisi ile homojenizatörde yüksek devirde (20000-24000 rpm) karıştırılır ve oluşan sıcak yağ/su emülsiyonu ultrasonikasyona tabi tutulur. Elde edilen sıcak nanoemülsiyon, oda sıcaklığında soğutularak lipit nanopartiküller elde edilir (Hou ve ark., 2003; Abdelbary ve Fahmy, 2009; Badıllı ve ark., 2018).

1.4.5. Lipit Taşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyonu

Partikül Büyüklüğü ve Zeta Potansiyelin Ölçülmesi

Partikül büyüklüğü ve dağılımı nanopartiküler sistemler için en önemli fizikokimyasal özelliktir.

Hazırlama yöntemlerindeki parametreler partikül büyüklüğünü etkileyen başlıca faktörlerdir. Bunlardan HPH yöntemindeki basıncın ve devir sayısının artması ile partikül boyutunda küçülme olduğu gözlenmiştir.

Partikül boyutunun ölçümü için kullanılan yöntemlerin başlıcaları; foton korelasyon spektroskopisi ve lazer kırınımı yöntemidir.

Yüksek zeta potansiyeli, iyi elektriksel itme nedeniyle partikül agregasyonu oluşma riskini azaltmaktadır (Mehnert ve Mader, 2001).

1.4.6. Lipit Taşıyıcı Sistemler ve Kozmetik Kullanımı

Lipit yapılı taşıyıcı sistemler konvansiyonel kozmetiklere doğrudan ilave edildiklerinde emilim veya stabilite problemi gösteren pek çok kozmesötik aktif maddenin enkapsülasyonu için kullanılabilir. SLN'ler kontrollü salım sağlayan, vücutta metabolize olduğu için GRAS kategorisinde sayılan lipitler ile üretilen kolloidal yapılardır. Nanoyapılı olmaları nedeniyle stratum corneumdan geçiş artırabilirler ve lipit içerikleri deride oklüzif bir film tabakası oluşturarak cilt nemliliğini artırır (Pardeike 2009; Cevc, 2004). Yarı katı lipit taşıyıcılar oklüzif özellikleri nedeni ile deriyi nemlendirmekte ve deri üzerinde örtücü bir film tabakası oluşturmaktadır. Amasya ve ark., selülitte karşı etki göstermek üzere kafein içeren NLC formülasyonlarını QbD yaklaşımı ile hazırlamışlardır. Argan yağı içeren bu NLC formülasyonlarının %50 üzerinde oklüzif etkisi nedeniyle selülitin lokal tedavisinde kullanıma uygun olduğunu bildirmişlerdir (Amasya ve ark.,2021).

Lipit nanopartiküllerin oklüzif etkileri nedeni ile tek başına UV bloklama özelliklerinin olduğu ve UV blokaj ajanları ile kombinasyonları sonucunda güneş koruyucu ürünlerin etkilerini artırdıkları da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Wissing and Müller, 2001).

Oksibenzon yüklü lipit nanotaşıyıcı sistemler ile ilgili bir çalışmada %5 oksibenzon içeren SLN ve NLC formülasyonlarının, %5 oksibenzon solüsyonuna kıyasla daha az geçirgenlik gösterdiği ve dolayısıyla daha iyi güneşten koruma faktörü sağladığı bildirilmiştir (Gulbake ve ark, 2012).

Yapılan bir başka çalışmada TiO_2 , hem klasik emülsiyon formülasyonlarına, hem de SLN formülasyonlarına dahil edilmiştir. Klasik emülsiyon formülasyonu, SLN formülasyonu ve hibrit SLN formülasyonları karşılaştırıldığında hibrit formülasyonlar ve SLN formülasyonları benzer üstünlükler göstermiştir. UV koruması dikkate alındığında tüm SLN formülasyonları klasik emülsiyon formülasyonlarına kıyasla daha iyi sonuç vermiştir. TiO_2 'in SLN ile formüle edilmesi sonucu daha az miktar ilavesi ile yüksek UV korumasına sahip stabil ve güvenli formülasyonlar üretilmiştir (Cengiz ve ark., 2006).

Bir diğer çalışmada üretilen NLC'lere farklı konsantrasyonlarda TiO_2 eklenmiş ve klasik TiO_2 formülü ile kıyaslanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde in vitro antioksidan etki, standart antioksidan formülünün iki katından fazla olarak hesaplanmıştır (Kamel ve Mostafa, 2015).

TiO_2 ve ZnO 'nun nanopartiküllere dönüştürülmesi ile cilde uygulandıklarında opak bir görünüm yerine ince ve şeffaf bir tabaka oluşturdıkları için tüketici açısından kullanım kolaylığı sağlamaktadır (Schneider ve Lim, 2018).

1.4.7. Nanopartiküllerin Toksisitesi

Nano ölçekte üretilen ürünler, aynı hacimli muadilleriyle karşılaştırıldığında farklı kimyasal, fiziksel ve biyolojik özellikler sergileyebilir; örneğin, kararlı bileşikler oldukça reaktif hale gelebilir veya nispeten zararsız maddeler daha toksik hale gelebilir. Ayrıca dermal yolla uygulamada partiküllerin emilerek alt deri katmanlarına ulaşma riski vardır (Wawrzynczak ve ark, 2016). Lipit nanopartiküllerin stratum corneum yerine kıl foliküllerini kullanarak geçiş yaptıkları bildirilmiştir (Nohnyek ve ark, 2007).

Nanopartiküllerin toksisitesini değerlendirmede başlıca parametreler partikül boyutu ve biyoparçalanabilirliktir. Partikül boyutu olarak 100 nm altındaki partiküllerin endositoz ile vücutta yayılabildiği belirtilmektedir. Aynı zamanda biyoparçalanabilir olmayan partiküller de toksisite açısından risk oluşturmaktadır (Rachmawati, 2013).

TiO₂ ve ZnO'nun nano boyutunun 100 nm den büyük olmasının sağlanması ve lipit nanopartiküllere enkapsüle edilmesi ile kan dolaşımına karışma riski azaltılabilmektedir (Smijls ve Pavel, 2015).

Yapılan bir çalışma, nanopartikül TiO₂'nin daha derin dokuya nüfuzunun cilt bariyerinin bozulması durumunda görüldüğünü ortaya koymaktadır (Gontier ve ark., 2008).

1.5. Hidrojeller

Hidrojeller üç boyutlu çapraz bağlı polimer zincir ağları olan hidrofilik jeller olarak da adlandırılır. Bu jeller, dispersiyon ortamı olarak su içeren kolloidal jellerdir. Hidrojeller yumuşak, esnek ve biyouyumlu yapıları nedeniyle canlı doku ile uyumludur. Hidrojeller, suya çapraz bağlı polimerler eklenmesi ve karışımın şişmesi sonucunda elde edilir.

Hidroksil, karboksilik asit, imid, sülfonik asit ve amid gibi hidrofilik grup içeren polimerler ile hazırlanırlar. Hidrojeller doğal, sentetik veya yarı-sentetik polimerlerden hazırlanabilir (Çizelge 1.4).

Aljinat, ksantan, dekstran, pullulan, hyaluronik asit, guar zımkı, ksiloglukan, pektin ve skleroglukan hidrojel oluşturabilen doğal polimer örneklerinden bazılarıdır.

Sentetik polimerik jelleştiricilere örnek olarak polivinilalkol), polimetakrilik asit, poliakrilik asit, poli-N-vinil pirolidon, polietilen glikol diakrilat/dimetakrilat, polietilen glikol akrilat/metakrilat ve polistiren verilebilir.

Yarı-sentetik polimerlerden karboksimetil selüloz, karboksietil selüloz, hidroksikarboksimetil selüloz sıklıkla hidrojellerin yapısında yer alan polimerlerdendir. Sentetik hidrojeller, daha büyük su emme kapasitesi, stabilite ve hidrofobik doğası nedeniyle çoğu uygulamada doğal hidrojinin yerini almıştır.

Çizelge 1.4. Hidrojellerde kullanılan polimerler (Ghasemiyeh ve Mohammadi-Samani, 2019).

Doğal polimerler	Proteinler; Jelatin, Kolajen Polisakkaritler; Pektin, aljinik asit, agar, ksantin
Yarı-sentetik polimerler	Selüloz türevleri; Metil selüloz, Hidroksimetil selüloz, Hidroksietil selüloz, Hidroksipropil metil selüloz, Karboksimetil selüloz
Sentetik polimerler	Karbomerler, poloksomer, polivinil alkol, polietilen oksit

1.5.1. Poloksomerler

Poloksamerler veya Pluronikler, polar (polietilen oksit) ve polar olmayan (polipropilen oksit) yapılardan oluşan suda çözünür noniyonik kopolimerlerin bir sınıfıdır.

Poloksamerler, iyi ıslatma, köpük önleme ve iyi çözündürme özelliklerine sahiptir. Ayrıca cilt tarafından iyi tolere edilirler, ciltte nadiren iritasyon etki oluşturular ancak zayıf mekanik dayanıklılık göstermeleri ve hızlı erozyona uğramaları dezavantajları arasında yer almaktadır.

Poloksamerlerin en önemli özelliği, % 20 (a/a) üzerindeki konsantrasyonlarda ters termal jelleşme davranışı göstermeleridir. Yüksek konsantrasyonlu kopolimer çözeltileri, kritik misel sıcaklığının (CMT) altında çözelti formunda iken, bu sıcaklığın üzerinde jel biçimindedir. Böylece bu polimerik çözeltiler buzdolabı sıcaklığında (4-5°C) kolaylıkla hazırlanabilmekte ve ters termal jelasyon ve iyi salım özellikleri nedeni ile topikal uygulamada sıklıkla tercih edilmektedirler.

Transdermal taşıyıcı sistemlerde de kullanılan poloksamerler, iyi ıslanabilme, etkin ve yardımcı maddeleri çözme kapasitesi ve stabiliteyi artırma özellikleri nedeniyle formülasyonlarda avantaj sağlamaktadır (Yapar ve İnal, 2013).

Göppert ve Müller yaptıkları çalışmada kullandıkları iki farklı poloksomer ile üretilen SLN'lerin formülasyon içinde stabil olduğunu göstermişlerdir (Göppert ve Müller, 2005).

1.5.2. Hidroksipropil Metil Selüloz (HPMC)

Doğada zengin olarak bulunan doğal polimerlerden selüloz türevi olan HPMC, suda iyi çözünen, biyoparçalanabilir ve stabil yapıya sahip bir moleküldür.

HPMC, tersinir bir termal jelleşme özelliğine sahiptir (düşük sıcaklıkta suda çözünür ve yüksek sıcaklıkta donar). Yüksek viskozite ve düşük viskozite özelliği gösteren iki türü bulunmaktadır. Jel formülasyonlarında % 2-5 (a/a) oranında kullanılır.

Farklı polimer hidrojel­leri içerisinde hazırlanan SLN formülasyonları ile yapılan bir çalışmada HPMC içindeki SLN formüllerinin daha iyi adeziv özellikte olduğu ve ciltte iyi tutulma özelliği gösterdiği belirtilmiştir (Amasya ve ark., 2020).

1.5.3. Hidrojellerin Karakterizasyonu

Hidrojeller reolojik, tekstür ve sürülebilirlik özellikleri açısından karakterize edilmelidir.

Reolojik analizler sıvı ve yarı katıların akış özellikleri ve kıvamları hakkında bilgi verir. Jellerin hem üretim aşamasında hem de bitmiş ürün kontrollerinde önemli bir parametredir. Reolojik özelliklere göre 2 ana akış tipi bulunmaktadır:

- Newtonian akış
- Non-Newtonian akış (Plastik-psödoplastik, dilatant akış)

Reolojik zelliklerin incelenmesinde ve viskozite ölçümlerinde sıklıkla rotasyon tipi viskozimetreler kullanılmaktadır. Bu viskozimetrelerde farklı hızlara dönüş yapabilen millerin dönmesi ile oluşan kayma gerilimi sonucu viskozite değeri cihazdan okunabilir (Powell, 1998).

Tekstür analizleri ise ürünlerin sertlik, sıkıştırılabilirlik, adezivlik, kohezivlik ve elastikiyet özelliklerinin belirlenmesinde ve ürünlerin yayılabilirliğinin analizinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Tekstür analiz cihazları ile Tekstür Profil Analiz çalışmalarında kuvvet zaman eğrisi değerlendirilerek ürünlerin ambalajdan alım, deriye uygulama kolaylığı ve mekanik direnci gibi parametreler incelenebilmektedir. Bu çalışmalarda sertlik jelin uygulama kolaylığı hakkında bilgi verirken, sıkıştırılabilirlik değerinin düşük olması jelin bulunduğu kap içerisinden kolay alınmasını sağlar. Hidrojellerde polimer konsantrasyonu arttıkça bu değerlerin yüksek olması beklenir.

Jellerin reolojik ve tekstür özellikleri sürülebilirliklerini de etkilemektedir. Sürülebilirlik deriye kolay uygulanma ve jelin kaptan alınması hakkında bilgi sunan bir parametredir (Singh ve ark., 2014).

1.6. Dekspantenol

Dekspantenol, epitel fonksiyonu için gerekli olan ve karbonhidratların, yağ asitlerinin, proteinlerin, sterollerin ve steroid hormonlarının metabolizmasında önemli çeşitli reaksiyonlar için bir kofaktör görevi yapan koenzim A'nın bir bileşenidir. Pantotenik asidin stabil alkollü analogu olan deksantenolün yağ içinde su emülsiyonları gibi topikal formları ile deri penetrasyonu ve lokal deksantenol konsantrasyonu artırılabilir. Topikal deksantenol, bir nemlendirici gibi davranır, SC hidrasyonunu artırır, transepidermal su kaybını azaltır ve cildin yumuşaklık ve elastikiyetini korur. Güneş yanığı iyileşmesinde önemli olan fibroblast proliferasyonunun aktivasyonu, deksantenol ile hem in vitro hem de in vivo olarak gözlenmiştir (Ebner ve ark., 2002).

Bu çalışmada lipit yapılı nanotaşıyıcı sistemlerin UV filtre etkinlikleri kozmetik kriterlere uygun bir jel sıvağı içerisinde kimyasal filtre olarak kullanılan benzofenon-4 ve fiziksel UV blokaj ajanı olarak kullanılan titanyum dioksit'e karşı değerlendirilmiştir. Bu amaçla noniyonik polimerler arasında yer alan poloksamerler ve hidroksipropil metil selüloz kullanılarak hazırlanan jellerin güneşin yarattığı cilt kuruluşuna karşı nemlendirici ve cilde kolay yayılabilir özellikte olması hedeflendiğinden jellere %1 oranında deksantenol ilave edilmiştir. Taşıyıcı sistem olarak lipit partiküler taşıyıcı sistem farklı lipit yüzdesi ile, nanometre ve mikrometre partikül boyutlarında hazırlanarak jellere disperse edilmiştir. Hazırlanan ürünlerin pH, reolojik, oklüzif/örtücü ve güneşten koruyucu özellikleri değerlendirilerek seçilen formüllerin güneşten koruma özellikleri BP-4 ve TiO₂ içeren jeller ile kıyaslanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler

- Pluronik F167 (Dow Corning)
- Pluronik F68 (Dow Corning)
- HPMC H-9262 (100 cP) (Sigma)
- HPMC H-8384 (40 cP) (Sigma)
- Dekspantenol (BASF)
- Titanyum dioksit ($> 5 \mu\text{m}$, Aldrich)
- Benzofenon-4 (Merck)
- Kolajen hidrolizatı (Collasel, SEL sanayi)
- Allantoin (Aldrich)
- 2-fenoksi etanol (Verstatil; Kale Kimya)
- Sodyum levulonat (Dermosoft; Kale Kimya)
- Hipegel Aqua (Alchemy)
- Tristearin (Sigma)
- Tween 80 (Sigma)
- Müsin (Sigma)
- Potasyum dihidrojen fosfat (Merck)
- Dipotasyum hidrojen fosfat (Merck)
- Sodyum klorür (Merck)
- Trianolamin (Sigma)
- Alkol
- Distile su
- Spektrofotometre küveti
- Whatman 42 filtre kağıdı

2.1.2. Deneylerde Kullanılan Alet ve Cihazlar

- Yüksek Hızlı Homojenizatör (IKA Ultra-Turrax T-25)
- Ultrasonik Homojenizatör (Bandelin)
- Viskozimetre (Brookfield DV-I Prime)
- Reometre (Anton Paar MCR 301)
- Partikül Büyüklüğü Tayin Cihazı (Malvern Zetasizer)
- Partikül Büyüklüğü Tayin Cihazı (Malvern Mastersizer)
- İnkübatör (Thermo Scientific MaxQ 4450)
- Liyofilizatör (Zirbus Technology)
- TA-XT Plus Tekstür Analizi Cihazı (Stable Microsystems, UK)
- TEM (LEO 906 E)
- Optik mikroskop (Leica)
- UV Spektrofotometre (Shimadzu mini 1204)
- Stirpak Karıştırıcı (Cole Parmer, Chicago)
- Vortex (IKA Vortex 4 basic)
- Hassas Terazî (Sartorius Entris)
- pH Metre (Mettler Toledo)
- Mikropipet (Eppendorf)
- Manyetik Karıştırıcı

2.1.3. Deneylerde Kullanılan Tampon Çözeltiler

<u>Müsin Çözeltisi:</u>	KH ₂ PO ₄	1 g
	K ₂ HPO ₄	2 g
	NaCl	8,5 g
	Distile su y.m.	1 L

Yukarıda formülü verilen pH 6,75 fosfat tamponunun 10 mL 'si içerisinde 1 g müsin çözülerek %10 a/h müsin tamponu hazırlanmıştır.

2.2. Üretim Yöntemi

2.2.1. Lipit Yapılı Partiküllerin Üretim Yöntemi

Lipit yapılı partiküllerin üretiminde yüksek hızlı homojenizatör (ultra-turraks, UT) ve/veya yüksek basınçlı homojenizatör (HPH) kullanılmıştır. Bu cihazlara ait üretim parametreleri; UT karıştırma hızı 20000 rpm, HPH basıncı 1000 bar ve HPH döngü sayısı 6 olarak belirlenmiştir.

Yukarıda parametreleri verilen üretim yöntemleri ile elde edilen SLN dispersiyonları ilk denemelerde 17500 rpm’de hazırlanmış ve -20°C’de 2 gün dondurularak 48 saat süre ile liyofilize edildikten sonra geri disperse edilerek kullanılmıştır. Ancak redisperse edilen partiküllerde boyutun büyümesi ve verim kaybı nedeni ile hazırlanan lipit taşıyıcı sistemler üretimlerinden sonra hemen jel fazı ile karıştırılarak kullanılmıştır.

Her iki lipit yapılı partikül (SLN/SLM), lipit yüzdesi ve üretimde kullanılan cihaz parametresi değiştirilerek hazırlanmıştır. Bu formülasyon ve değişkenler aşağıda verilmiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. SLN ve SLM hazırlanmasında kullanılan formülasyon içerikleri.

İçerik	SLN4	SLM4	SLN8	SLM8
Tristearin (%)	4	4	8	8
Tween 80 (%)	1	1	1	1
Distile su	40 mL	40 mL	40 mL	40 mL
Üretim parametreleri	UT+ HPH	UT	UT+ HPH	UT

Üretimde önce su fazı olarak 100 mL %1 Tween 80 ve yağ fazı olarak tristearin (%4 veya %8) 4 cm çaplı 100 mL hacimli cam şişeler içerisinde 70 °C’ye kadar ısıtılmıştır. Daha sonra su fazından enjektör ile alınan sıcak 40 mL %1 Tween 80 çözeltisi sıcak yağ fazına yüksek hızlı homojenizatörde eklenerek 5 dk karıştırma işlemi yapılmıştır. Bu aşamada oluşan dispersiyon mikropartiküler yapıdadır ve SLM

olarak tanımlanmıştır. Oluşan emülsiyon yüksek basınçlı homojenizatörden geçirildikten sonra nanopartiküler yapıdaki SLN'ler elde edilmiştir. HPH den elde edilen emülsiyon oda sıcaklığına gelene kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır ve buzdolabında 2 saat bekletilmiştir.

2.2.2. Hidrojel Üretim Yöntemi

Jel formülasyonları suda çözünen ve noniyonik özellikteki farklı polimerlerin değişik yüzde oranları kullanılarak hazırlanmıştır. İlk grupta yer alan poloksamerler iki farklı poloksamer türevi kullanılarak denenmiştir. İkinci grupta yer alan jellerde ise iki farklı molekül ağırlığında HPMC kullanılmıştır. Poloksamer jellerin hazırlanmasında soğukta (4°C) çözme yöntemi kullanılmıştır. HPMC jeller ise suya serpilerek Stir-Pak mekanik karıştırıcı ile yüksek devirde (800 rpm, 10 dk) karıştırıldıktan sonra 4°C de 1 gece bekletilmiştir.

Hazırlanan jeller içerisine kozmetik kullanımlarına uygun yüzde oranlarında hümektan (dekspantenol, kolajen) ve koruyucu (fenoksietanol, sodyum levulinat) ilavesi denenmiştir. Hazırlanan Pluronik içerikli jellerin formülasyonları Çizelge 2.3 ve HPMC içerikli jellerin formülasyonları Çizelge 2.4 ile verilmiştir.

Çizelge 2.2. Pluronik içeren jellerin formülasyon içerikleri.

Kod	Pluronik miktarı	F127:F68	Dekspantenol	Kolajen	2-fenoksi etanol
P1	%20	1:1	%1	-	-
P2	%20	2:1	%1	-	-
P3	%26	4:1	%1	-	-
P4	%25	5:1	%1	-	-
P5	%30	3:1	%1	-	-
P6	%30	3:1	%1	%1	-
P7	%30	3:1	%1	%2	-
P8*	%25	5:1			%1
P9*	%30	3:1			%1

*Hazırlanan formüllerde bulanıklık olduğu için bu formüllerle çalışmaya devam edilmemiştir.

Çizelge 2.3. HPMC içeren jellerin formülasyon içerikleri.

Kod	HPMC miktarı	HPMC tipi	Dekspantenol	Kolajen	Sodyum levulonat
H1	%3	40 cP	%1		
H2	%3	100 cP	%1		
H3	%3	100 cP	%1	%1	
H4	%3	100 cP	%1	%2	
H5	%6	100 cP	%1		
H6	%6	100 cP	%1	%2	
H7	%2	100 cP	%1		%1

2.2.3. Lipit Yapılı Nanopartikül veya Mikropartikül İçeren Formülasyonların Üretimi

Hazırlanan SLN dispersiyonlarının jel fazı ile bir araya getirilmesinde iki farklı yaklaşım denenmiştir. Bunlardan ilki oluşan lipit yapılı taşıyıcı sistemin -20°C de iki gün süreyle bekletilerek dondurulmasını takiben liyofilize edilmesi ve elde edilen liyofilize haldeki lipit nanopartiküllerin tartılarak gerekli miktarın jel içerisinde disperse edilmesidir.

Çizelge 2.1’de SLN4 kodu ile gösterilen dispersiyon liyofilize edilmiştir. Liyofilize edilen nanopartikül dispersiyonu teorikte 1,6 gram nanopartikül içermektedir, ancak liyofilizasyon sonrası olarak 0,75 gram verim elde edilmiştir. Bu şekilde elde edilen partiküller çok az su ile resdisperse edildikten sonra seçilen jellere (P5 ve H5) %5 SLN4, %2,5 SLN4 - %2,5 TiO₂ veya %5 TiO₂ ilavesi denenmiştir. Bu grup formülasyonlara ait içerikler Çizelge 2.4 ile verilmiştir.

Çizelge 2.4. Liyofilize edilen SLN4’ler ile hazırlanan formülasyonlar.

Kod	Polimer	SLN4	TiO ₂
P5-1	P5		%5
P5-2	P5	%5	
P5-3	P5	%2,5	%2,5
H5-1	H5		%5
H5-2	H5	%5	
H5-3	H5	%2,5	%2,5

Liyofilize edilerek kullanılan SLN’lerde verimin çok düşük olması ve liyofilizasyon sonrası nanopartiküllerin redisperse edilme zorluğu nedeniyle ikinci bir üretim yöntemi olarak taze hazırlanan SLN ve SLM sistemleri %50 taşıyıcı sistem ve %50 jel olacak şekilde P5 (Pluronic) ve H5 (HPMC) jeller içerisinde dağıtılmıştır (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Lipit yapıları nanopartikül veya mikropartikül içeren formülasyonlar.

Kod	Jel kodu	Jel yüzdesi	SLN4	SLM4	SLN8	SLM8	TW80	HİPE	BP4
S1	P5	50	50	-	-	-	-	-	-
S2	P5	50	-	50	-	-	-	-	-
S3	P5	50	-	-	50	-	-	-	-
S4	P5	50	-	-	-	50	-	-	-
S5	H5	50	50	-	-	-	-	-	-
S6	H5	50	50	-	-	-	1,25	-	-
S7	H5	50	50	-	-	-	-	1,25	-
S8	H5	50	-	50	-	-	-	-	-
S9	H5	50	-	-	50	-	-	-	-
S10	H5	50	-	-	-	50	-	-	-
S11	P5	95							5
S12	P5	47,5	-	-	47,5	-	-	-	5
S13	P5	47,5	-	-	-	47,5	-	-	5
S14	H5	95							5
S15	H5	47,5	-	-	47,5	-	-	-	5
S16	H5	47,5	-	-	-	47,5	-	-	5
*G1	P5:H5 (1:1 a/a)	47,5	-	-	47,5	-	-	-	5

*Bu formülasyon G1’e %5 TiO₂ ilavesi ile tekrar hazırlanmıştır. (G2)

Bu üretim sırasında nano ve mikropartiküler sistem hazırlanmasında iki farklı lipit yüzdesi (%4 ve %8) denenmiştir. Düşük lipit içerikli formülasyonların jel fazı ile bir araya getirilmesi sırasında faz ayrışmasını önlemek üzere HPMC içeren formülasyonlara %1,25 oranında yüzey aktif madde (Tween 80 veya Sorbitan seskioleat/poligliseril-3-oleat karışımı; HİPEGEL AQUA C[®]) ilavesi denenmiştir. SLN/SLM fazı Stir-Pak mekanik karıştırıcı ile 800 rpm de karıştırılan jel fazı üzerine eklenmiş ve 5 dk boyunca karıştırılmıştır. Bu grup formülasyonlardan SLN8 ve

SLM8 (%8 lipit içerenler) daha sonra %1 dekspantenol ve kimyasal blokaj ajanı olarak kullanılan %5 BP-4 içerecek şekilde yeniden hazırlanmıştır. BP-4 içeren formüller arasında en iyi yayılabilirlik sonucunu veren ve stabilitesi iyi olan G1 kodlu formüle güneş filtrelerinde kullanıma uygun olarak (%5) TiO₂ eklenmiştir (Çizelge 2.5).

2.3. Formülasyonlarda Karakterizasyon Çalışmaları

2.3.1. SLN Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Farklı yöntemlerle hazırlanan SLN'lerin jel formülasyonda etkinliğinin değerlendirilebilmesi için aşağıdaki parametreler incelenmiştir.

2.3.1.1. Partikül Boyut ve Dağılımının İncelenmesi

Çalışmada hazırlanan SLN taşıyıcı sistemin partikül büyüklüğü ve dağılımı (Zetasizer Nano ZS, Malvern Inst.) oda sıcaklığında ölçülmüştür. Analiz öncesi ultrasaf su ile dilüe edilerek hazırlanan örnekler 3'er kez analiz edilmiştir.

SLM partikül boyut analizi ise Malvern Mastersizer 3000 kullanılarak yapılmıştır. Analiz sırasında 50 µL numune cihaza ultrasaf su ile seyreltilerek verilmiş ve partikül boyutu ile boyut dağılımı incelenmiştir.

2.3.1.2. Zeta Potansiyel Değerinin İncelenmesi

SLN zeta potansiyel değerleri ışık kırınımı tekniği ile ölçüm yapan Zetasizer cihazı (Zetasizer Nano ZS, Malvern Inst.) kullanılarak ölçülmüştür. SLN'lerin jel içindeki formülleri ultrasaf su ile seyreltilerek 3'er kez ölçüm alınmıştır.

Liyofilizasyonun etkisini anlamak üzere liyofilize haldeki SLN4 örnekleri 2 mL saf su içerisinde ultrasonik banyoda dağıtılarak tekrar partikül boyut ve zeta potansiyeli değerleri incelenmiştir.

2.3.1.3. SLN ve SLM yapısal özelliklerinin mikroskopik teknikler ile incelenmesi

SLN içeren dispersiyonlar 1:10 ultrasaf su ile seyreltilerek TEM (Transmission Electron Microscopy) yöntemi ile, SLM içeren dispersiyonlar ise optik mikroskop (Leica 4000) ile görüntülenmiştir.

2.3.2. Hidrojeller Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Pluronik ve HPMC kullanılarak hazırlanan jeller üzerinde aşağıdaki testler yapılmıştır.

2.3.2.1. pH Değerinin Tayini

Jel formülasyonlarının pH değerleri pH-metre kullanılarak oda sıcaklığında 3'er paralel olarak ölçülmüştür. Sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

2.3.2.2. Viskozite Değerinin Tayini

Ürünlerin 20 rpm hızdaki viskozluk değerleri rotasyon tipi viskozimetre (Brookfield DV1) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler, 32°C sıcaklıkta ve S63 kodlu döner disk kullanılarak 10 mL'lik beherlerde yapılmıştır.

2.3.3. Lipit Taşıyıcı Sistem İçeren Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

İlk grupta hidrojeller üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda seçilen iki farklı jel içerisine liyofilize edilmiş SLN4, titanyum dioksit veya bunların 1:1 karışımları ilave edilmiş ve karakterize edilmiştir.

İkinci grupta taze hazırlanan SLN4, SLN8 ve SLM4, SLM8 sistemleri %50 taşıyıcı sistem ve %50 jel olacak şekilde seçilen Pluronik ve HPMC jeller içerisinde dağıtılarak karakterize edilmiştir. Yapılan testler aşağıda yer almaktadır.

2.3.3.1. pH Değerinin Tayini

Final formülasyonlarının pH değerleri pH-metre kullanılarak oda sıcaklığında 3'er paralel olarak ölçülmüştür. Sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

2.3.3.2. Reolojik Analizler

Ürünlerin viskozluk değerleri Brookfield DVI rotasyon tipi viskozimetre kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler, 32°C sıcaklıkta ve S63 kodlu döner disk kullanılarak 10 mL'lik beherlerde yapılmıştır.

SLN4 ve SLN8 içeren S12, S13, S15, S16, G1 ve G2 kodlu formüller üzerinde viskoelastisite testleri Anton Paar MCR 301 reometresi kullanılarak aşağıdaki deney şartlarında incelenmiştir.

Paralel plaka boyutu 25 mm, plakalar arası boşluk 1 mm, açısal amplitüt (genlik) aralığı % 0,0001-% 1,0 ve sabit amplitüt değeri % 0,1 iken açısal frekans aralığı 0,1-600 rad/sn, kullanılarak 0,6 mL örnek üzerinde osilasyon çalışmaları

gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda elde edilen G' (elastik modül) ve G'' (viskoz modül) değerleri y- ekseninde logaritmik skalaya yerleştirilerek lipid taşıyıcı sistemlerin viskoelastik özellik üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

2.3.3.3. Adeziv Özelliklerin Tayini

TA-XT plus tekstür analiz cihazı kullanılarak elde edilen güç-zaman eğrileri formülasyonların adeziv özelliklerinin tayini için kullanılmıştır. Bu amaçla 0,05 mL mûsin tampon ilave edilen Whatman 42 kağıt mukoadesyon aparatının tabanına yerleştirilmiş ve mukoadesyon probu (P/10) üzerine 0,1 mL ürün sür÷lm÷ştür. Ürün sür÷len prob tabana 30 sn süreyle bastırılıp geri çekilerek formülasyonun yüzeyden kopmasını sağlayan kuvvet (kopma kuvveti) ve eğri altında kalan alan (adesyon işi) değerlendirilmiştir.

2.3.3.4. In Vitro Yayılabilirlik Tayini

a. Formülasyonların yayılabilirlik özelliklerinin tayini için her biri 0,3 mL olarak alınan ürünler, milimetrik kağıt üzerine 1 cm²'lik alan içine sür÷lm÷ştür. Üzerlerine şeffaf film yerleştirildikten sonra 500 g'lık ağırlık altında 5 dk bekletilmiştir. Süre sonunda ağırlık kaldırılarak, oluşan dairesel alandan 4 farklı çap ölçüsü alınarak yayılabilirlik başlangıçtaki ve süre sonundaki çap farklarından hesaplanmıştır.

b. Kimyasal ve fiziksel blokaj ajanı varlığında %8 lipid içeren formülasyonların yayılabilirlik özellikleri ise tekstür analiz cihazı (TA.XT) ile yayılabilirlik probu kullanılarak incelenmiştir.

Yayılabilirlik testinde, alt sabit ve üst hareketli olmak üzere ikili konik prob seti kullanılmıştır. (Resim 3.4). Analiz öncesi üst prob 23 mm yüksekliğe getirilerek kalibre edilmiştir. Formülasyonlar malzemenin alt konik probu içine hava kabarcığı

oluşmamasına dikkat edilerek doldurulmuştur. Formülasyonlar, test sırasında konik prob yüzeyleri arasında sıkıştırılarak alt probdan dışa doğru akmaya zorlanmış ve test sonucunda yayılabilirliği gösteren sıkıştırma kuvvet piki elde edilmiştir. Üst konik probun numuneden geri çekilmesi sırasında elde edilen maksimum negatif tepe noktası (geri çekme kuvvet piki) formülün adezifliğinin, formülün diskten ayrılma direncinin bir göstergesidir. Formülün viskozluğu arttıkça probun yukarı doğru hareket etmesi için gereken kuvvet artar ve bu durum daha büyük bir negatif alan oluşturur. Her jel için 3 ayrı ölçüm yapılmış ve elde edilen veriler, cihazın Texture Exponent 2.0.6.0. yazılım programı kullanılarak hesaplanmıştır. Ölçüm sonucunda sıkılık (Firmness, g, N) ve formülün yayılabilirliği için gerekli olan iş (Work of shear, g.sec, N.mm) verileri elde edilmiştir.

2.3.3.5. In Vitro Oklüzyon Tayini

Lipit nanopartiküllerin uygulandıkları cilt yüzeyinde oluşturdukları film tabakası oklüzif etki sağlamaktadır (De Vringer, 1992). Oklüzyon testi için 25 mL'lik cam kavanozlara 15'er mL su eklenmiş bu kavanozların üzeri Whatman 42 filtre kaplanmış ve yanlardan parafilm ile sıkıca kapatılıp bantlanmıştır. Her bir formül 0,5 g tartılarak filtre üzerine tamamen sürülerek dağıtılmıştır. Çalışmanın kontrol grubu olarak üzerine ürün uygulanmamış filtre kağıtları kullanılmıştır. Başlangıç zamanında (t_0) tüm kavanozlar tartılmış ve inkübatöre (33 °C) konulmuştur (n=3). 1, 6, 10, 24 ve 48 saatlerde kavanoz ağırlıkları hassas terazide ölçülmüştür. Oklüzyon faktörü (F) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (De Vringer, 1992):

$$F = [(A-B) / A] \times 100$$

A: Kontrol grubu için nem kaybı

B: Formülasyon için nem kaybı

F: Oklüzyon faktörü (F değeri oklüzif etki ile doğrusal ilişkilidir).

2.3.3.6. In Vitro GKF Tayini

GKF değerinin in vitro tayininde uluslararası bir yöntem olarak kabul gören Mansur Metodu kullanılmıştır. Bu yöntemde spektrofotometrik ölçüm sonucu farklı dalga boylarında bulunan absorbans değerlerinden yararlanılır.

GKF değeri hesaplanacak jellerden, 5'er mL alınarak distile su ile 100 mL'ye tamamlanır. Tekrar 5 ml alınarak 50 mL'ye ve son dilüe çözeltiden yine 5 mL alınarak 25 mL'ye tamamlanır. Bu formüle karşı boş jel için de aynı işlemler yapılarak kör hazırlanmış olur. Formüllerin 290-320 nm aralığında 5'er nm aralıkla 3 paralel absorbans değeri okunur.

Çizelge 2.6'de gösterilen her dalga boyuna göre değişen EE x I değeri ile bu dalga boyunda okunan ortalama absorbans değeri çarpılarak toplanır ve GKF değeri hesaplanmış olur (Mansur ve ark, 1986).

$$GKF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

CF: Düzeltme faktörü (10)

EE: Eritemal etki spektrumu

EE x I değeri ilgili dalga boyuna ait sabit değerdir (Çizelge 2.7.).

Çizelge 2.6. Mansur Metodunda GKF hesabı için kullanılan EE $\times$ I değerleri (Mansur ve ark, 1986).

Dalga Boyu (nm)	EE $\times$ I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,0180

3. BULGULAR

3.1. Lipit Partiküller Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

Elde edilen lipit partiküllerin karakterizasyonu için elde edilen bulgular aşağıdaki gibidir.

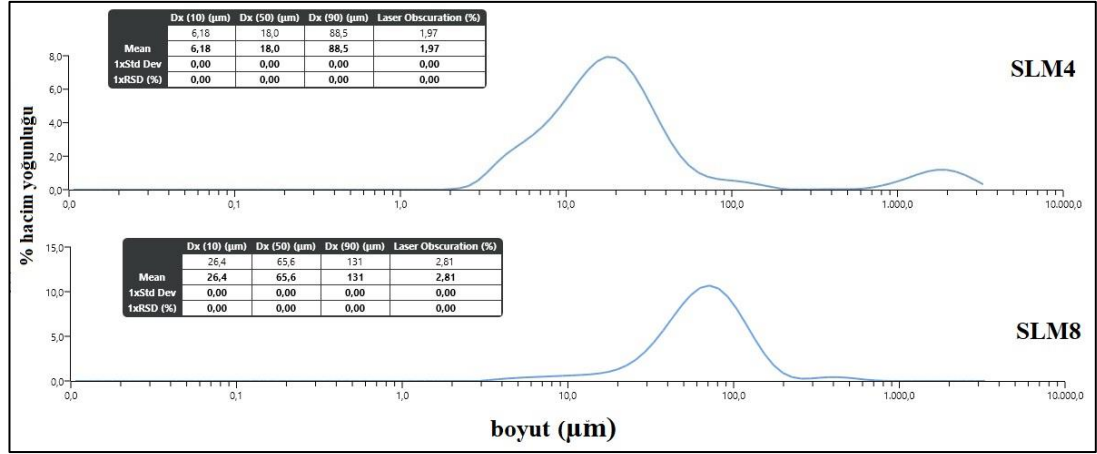
3.1.1. Partikül Özelliklerine Ait Bulgular

Hazırlanan katı lipit nanopartikül ve mikropartiküllerin Bölüm 2.3.1.1. ve 2.3.1.2.'de anlatıldığı şekilde yapılan partikül boyut ve dağılımları ile zeta potansiyeli ölçüm sonuçları aşağıda Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1 ve 3.2 ile verilmiştir.

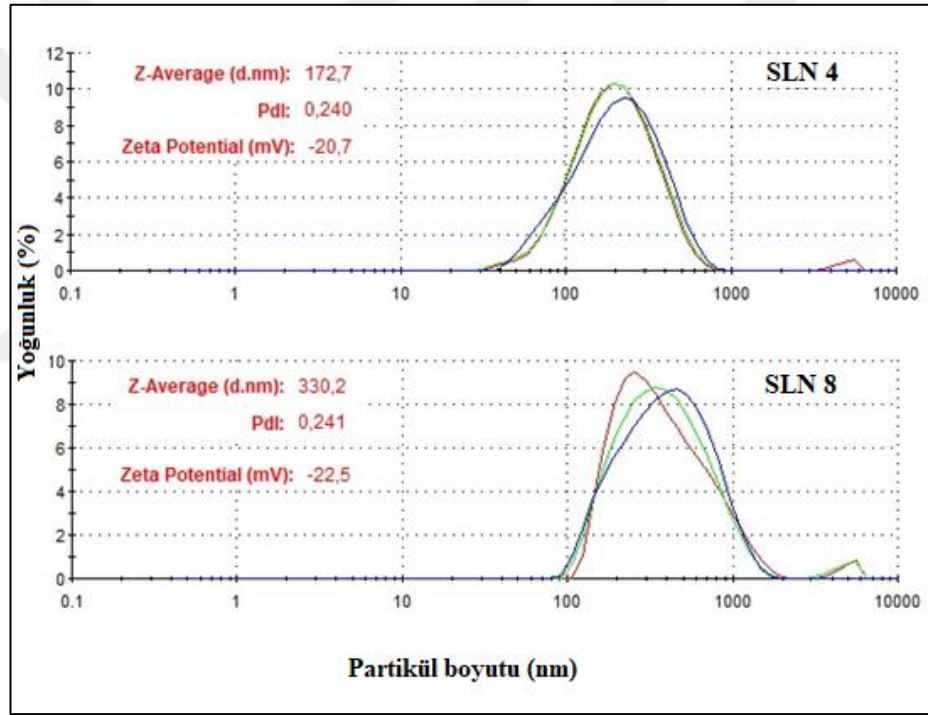
Çizelge 3.1. SLN/SLM'lerin partikül büyüklüğü ve dağılımı değerleri.

Kod	Liyofilizasyon	Partikül büyüklüğü (nm)	PDI	Zeta mV
SLN4*	-	214	0,219	-30,3
SLN4*	+	466	0,490	-29,9
SLN4	-	173 nm	0,240	-20,7
SLM4	-	88,5 µm	-	-
SLN8	-	330 nm	0,241	- 22,5
SLM8	-	131 µm	-	-

* 17500 rpm'de hazırlanmıştır.

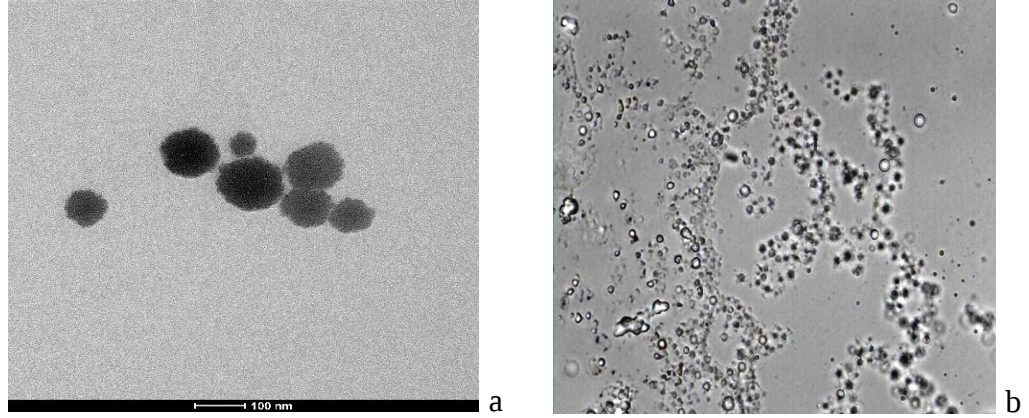


Şekil 3.1. SLM4 ve SLM8 dispersiyonu partikül boyut ve dağılımı.



Şekil 3.2. SLN4 ve SLN8 dispersiyonu partikül boyut ve dağılımı.

Hazırlanan katı lipid nanopartikül ve mikropartiküllerin Bölüm 2.3.1.3. de anlatıldığı şekilde yapılan mikroskobik analiz sonuçları ise Şekil 3.3 ile verilmiştir.



Şekil 3.3. a. SLN4 TEM görüntüsü, b. SLM8 optik mikroskop görüntüsü (x40 büyütme) .

3.2. Hidrojeller Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

3.2.1. pH Değerlerine Ait Bulgular

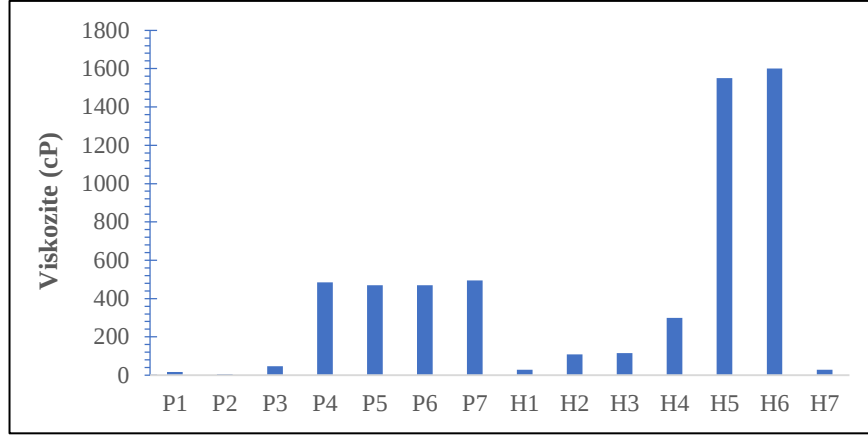
Oda sıcaklığında Bölüm 2.3.2.2.'de anlatıldığı gibi pH ölçümü yapılan jellerin sonuçları aşağıda Çizelge 3.2 ile verilmiştir.

Çizelge 3.2. Jellerin oda sıcaklığında ölçülen pH değerleri.

Formül	pH
P1	6,44
P2	6,30
P3	6,24
P4	6,32
P5	6,28
H5	7,26

3.2.2. Viskozluk Değerlerine Ait Bulgular

Oda sıcaklığında S63 numaralı spindle kullanılarak Bölüm 2.3.2.2'de anlatıldığı gibi pH ölçümü yapılan jellerin viskozite değerleri aşağıda Şekil 3.4 ile verilmiştir.



Şekil 3.4. Jellerin oda sıcaklığında 20 rpm’de ölçülen viskozite değerleri.

3.3. Lipit Taşıyıcı Sistem Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

Lipit taşıyıcı sistem içeren formülasyonlar üzerinde yapılan çalışmalara ait bulgular aşağıdaki gibidir.

3.3.1. pH Değerlerine Ait Bulgular

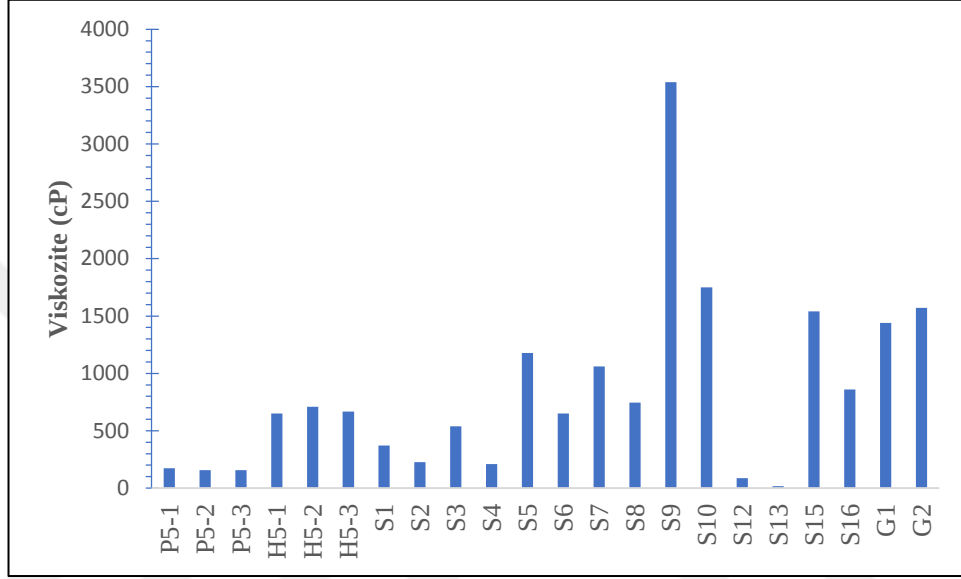
Oda sıcaklığında Bölüm 2.3.3.1’de anlatıldığı gibi pH ölçümü yapılan lipit yapılı taşıyıcı sistem içeren formüllerin sonuçları aşağıda Çizelge 3.3 ile verilmiştir.

Çizelge 3.3. Lipit taşıyıcı sistem içeren formüllerin pH değerleri.

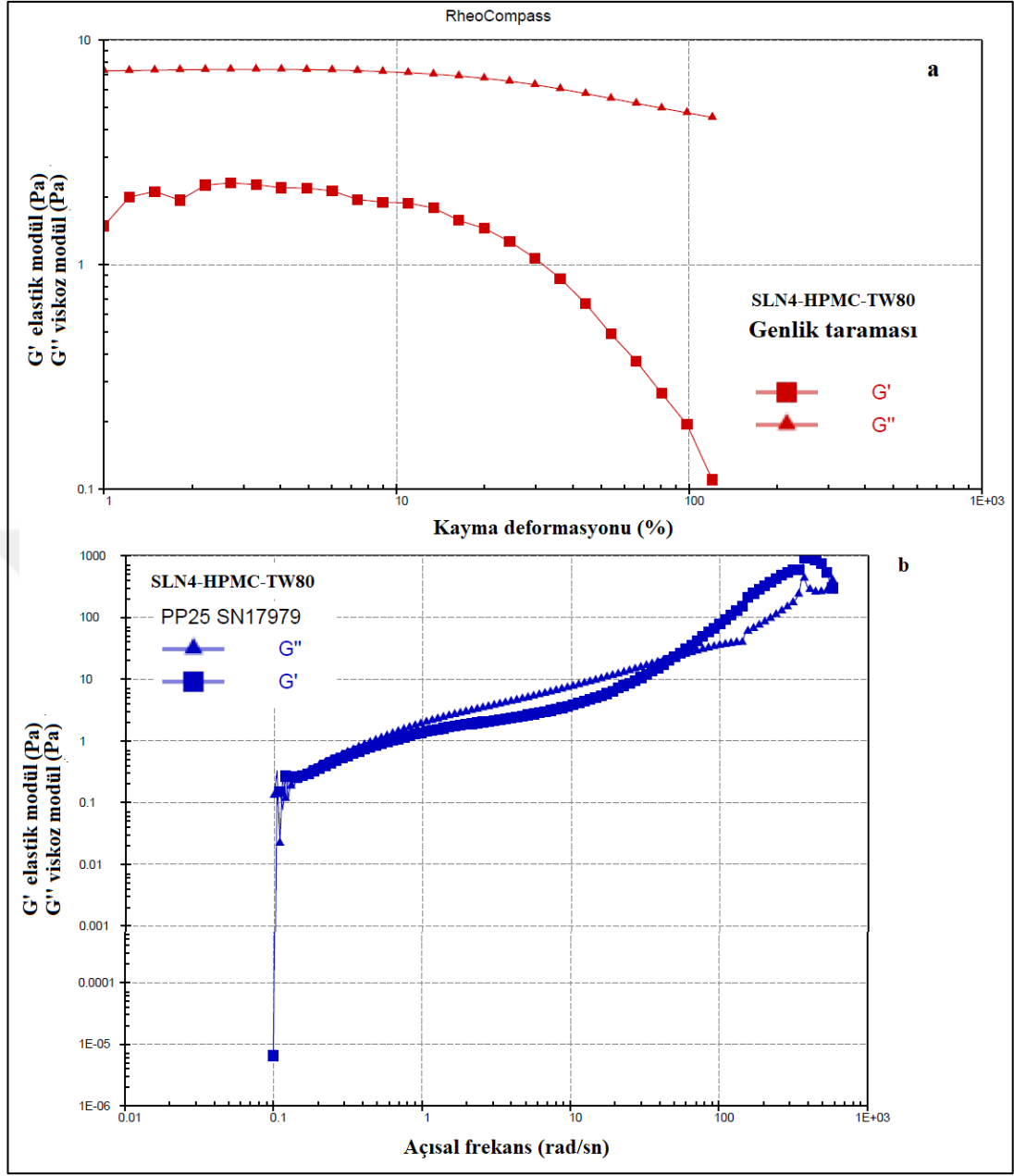
Formülasyon	pH
H5-1	7,55
H5-2	7,45
H5-3	7,47
P5-1	7,22
P5-2	7,16
P5-3	7,19
S1	6,69
S3	7,10
S4	6,20
S7	7,04

3.3.2. Reolojik Özelliklere Ait Bulgular

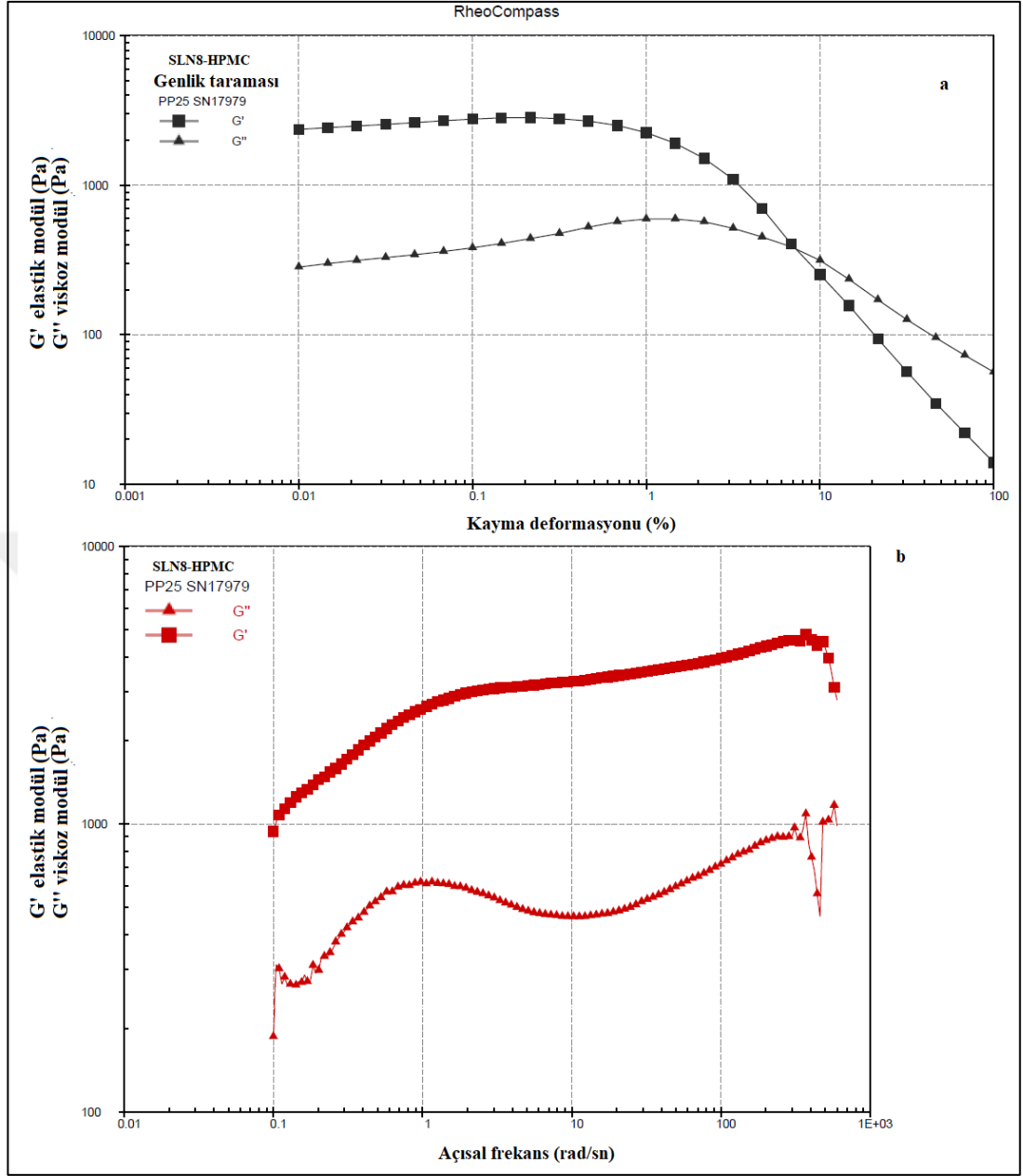
Oda sıcaklığında S63 numaralı spindle kullanılarak Bölüm 2.3.3.2’de anlatıldığı gibi ölçümü yapılan formüllerin 20 rpm’de ölçülen viskozite değerleri aşağıda Çizelge 3.4 ile verilmiştir.



Şekil 3.5. Lipit taşıyıcı sistem içeren formüllerin 20 rpm’de ölçülen viskozite değerleri.



Şekil 3.6. S6 formülasyonuna ait a) Genlik taraması, b) Frekans taraması analiz sonucu.



Şekil 3.7. S9 formülasyonuna ait a) Genlik taraması, b) Frekans taraması analiz sonucu.

3.3.3. Adezif Özelliklere Ait Bulgular

Tekstür analiz cihazının mukoadezyon test probu kullanılarak mäsine karşı yapılan adezyon test sonuçları Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Formülasyonların adeziv özellikleri.

Kod	Adezyon Kuvveti (N)	Adezyon işi (N.sn)
P5-1	1,920	0,222
P5-2	1,754	0,186
P5-3	1,368	0,153
H5-1	2,526	0,241
H5-2	1,040	0,148
H5-3	1,795	0,290

3.3.4. Yayılabilirlik Testine Ait Bulgular

Bölüm 2.3.3.4’te a şıkında anlatıldığı gibi uygulanan yayılabilirlik testi sonuçları Çizelge 3.5 ve 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.5. In vitro yayılabilirlik testinde ölçülen çaplar.

Kod	Hacim (ml)	Ağırlık (g)	Ort. Çap (cm)	SS
P5-1	0,3	0,4	5,7	0,10
P5-2	0,3	0,4	5,6	0,06
P5-3	0,3	0,4	5,6	0,08
H5-1	0,3	0,4	5,1	0,28
H5-2	0,3	0,4	5,0	0,29
H5-3	0,3	0,4	5,2	0,31

Çizelge 3.6. Kimyasal ve fiziksel blokaj ajanı varlığında hazırlanan formüllerin yayılabilirlik sonuçları.

Kod	Sıklık (g)	Yayılabilirlik işi (g.sn)	Adezyon (g.sn)
S12	7,103±0,062	7,436±0,138	0,605±0,026
S13	6,391±0,076	7,568±0,802	0,038±0,003
S15	41,913±0,850	30,250±3,079	14,993±0,898
S16	16,720±0,377	14,019±0,964	6,200±0,199
G1	12,427± 0,426	11,205±0,803	4,027±0,183
G2	13,559±0,325	11,875±1,530	3,971±0,103

3.3.5. Oklüzyon Değerlerine Ait Bulgular

Bölüm 2.3.3.5'te anlatıldığı şekilde yapılan in vitro oklüzyon testinden elde edilen zamana bağlı ağırlık kayıplarını gösteren bulgular Çizelge 3.7- 3.9 ile oklüzyon faktörleri (F) Şekil 3.8 ile verilmiştir.

Çizelge 3.7. Liyofilize nanopartikül içeren formüllere ait oklüzyon testi sonuçları.

Kod	t=0	t=1	t=6	t=10	t=24	t=48
Kontrol-ort (g)	84,6458	84,5020	83,8745	83,4478	81,5906	78,2111
P5-1ort (g)	86,9329	86,7590	85,8361	86,3234	85,5343	84,3182
P5-2ort (g)	86,1621	85,9647	85,7221	85,8965	84,8346	83,7448
P5-3ort (g)	87,1091	86,9325	86,6931	86,5320	85,8222	84,6817
Kontrol-ort (g)	86,2000	86,0859	85,5345	85,1483	83,4292	80,6040
H5-2ort (g)	86,8330	86,4760	86,1264	85,8866	84,2786	83,0553
H5-1ort (g)	86,1963	85,8222	85,4937	85,2845	84,3619	82,7568
H5-3ort (g)	86,5471	86,2004	85,8480	85,5986	84,5580	82,7261

Çizelge 3.8. SLN8 ve SLM8 Taşıyıcı Sistem İçeren Formülasyonların oklüzyon testi sonuçları.

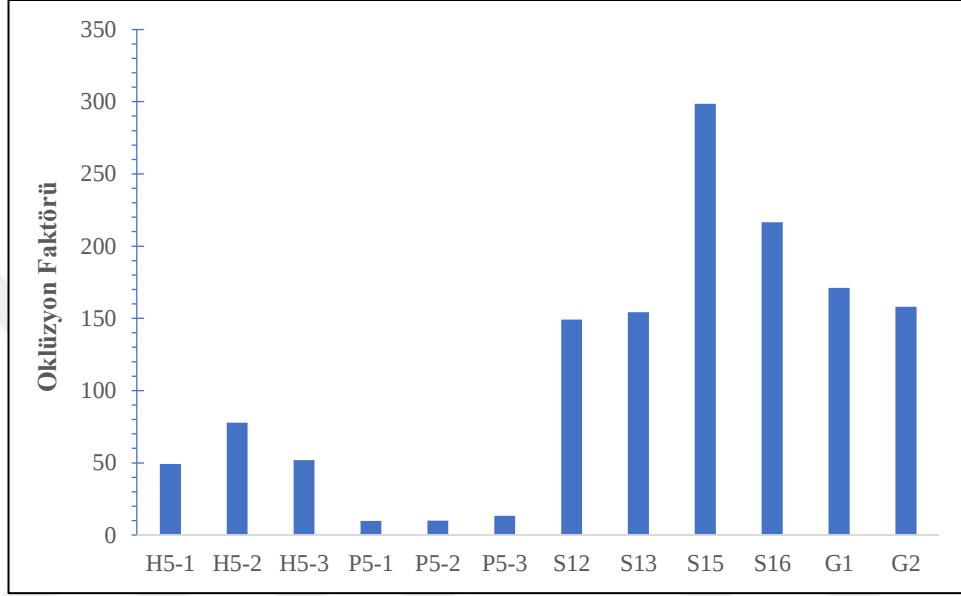
Kod	t=0	t=1	t=2	t=6
Kontrol-ort (g)	86,2787	85,9772	85,8253	85,3212
S12ort (g)	88,1742	87,7974	87,7430	87,5767
S15ort (g)	87,6370	87,0771	86,9761	86,6484
S13ort (g)	87,0197	86,6211	86,5649	86,3875
S16ort (g)	88,0531	87,5560	87,4713	87,2002
G1ort (g)	87,4219	86,9709	86,8983	86,6889
G2ort (g)	86,1506	85,7042	85,6502	85,4652

Çizelge 3.9. Formülasyonların oklüzyon faktörü (F) değerleri.

Kod	F 1. Saat	F 6. Saat	F 10. Saat	F 24. Saat
H5-1	-20,90	49,12	54,22	59,37
H5-2	-37,22	77,83	56,55	62,43
H5-3	-22,78	51,82	57,88	62,28
P5-1	-227,80	9,82	33,80	38,54
P5-2	-212,82	10,01	7,81	32,49
P5-3	-203,77	13,3	28,21	31,72
S12	-400,133	149,2376	-	-
S13	-310,665	154,2853	-	-

Çizelge 3.9. Devam. Formülasyonların oklüzyon faktörü (F) değerleri.

Kod	F 1. Saat	F 6. Saat	F 10. Saat	F 24. Saat
S15	-800,265	298,4752	-	-
S16	-154,181	216,4234	-	-
G1	-201,605	171,0674	-	-
G2	-208,075	157,9599	-	-



Şekil 3.8. Oklüzyon faktörlerine ait sonuçlar

3.3.6. GKF Değerlerine Ait Bulgular

Deneyisel kısımda, Bölüm 2.3.3.6. de anlatıldığı gibi istenen aralıklarda ölçülen absorbands değerleri Çizelge 3.13'te gösterilmiştir. Mansur yöntemine dayanarak hesaplanan GKF değerleri Çizelge 3.3'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.10. GKF ölçümü için hesaplanan absorbandslar.

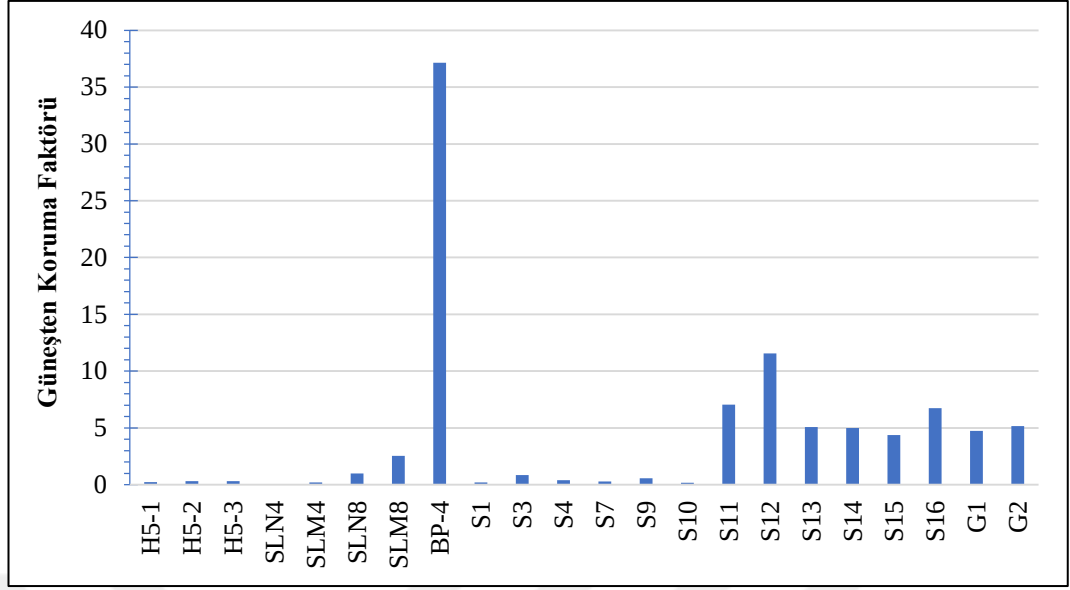
	290 nm	295 nm	300 nm	305 nm	310 nm	315 nm	320 nm
BP-4_{ORT}	3,4362	3,5952	3,5952	3,6123	3,9999	3,9999	3,9999
SLN4_{ORT}	0,0056	0,0053	0,0059	0,0065	0,0061	0,0057	0,0061
SLM4_{ORT}	0,0210	0,0209	0,0211	0,0204	0,0188	0,0191	0,0201
SLN8_{ORT}	0,1078	0,1068	0,1019	0,0989	0,0938	0,0905	0,0872
SLM8_{ORT}	0,2609	0,2653	0,2570	0,2520	0,2473	0,2444	0,2371
S9ORT	0,0629	0,0605	0,0579	0,0552	0,0534	0,0509	0,0492

Çizelge 3.10. Devam. GKF ölçümü için hesaplanan absorbanslar.

	290 nm	295 nm	300 nm	305 nm	310 nm	315 nm	320 nm
S10_{ORT}	0,0259	0,0222	0,0198	0,0181	0,0175	0,0172	0,0175
S11_{ORT}	0,9941	0,871833	0,7422	0,6673	0,6453	0,6482	0,6485
S12_{ORT}	1,5441	1,4023	1,2494	1,1175	1,0397	0,9834	0,9722
S14_{ORT}	0,7117	0,6276	0,5347	0,4582	0,4666	0,4649	0,4669
S15_{ORT}	0,5957	0,5293	0,4609	0,4181	0,4059	0,4020	0,4040
S16_{ORT}	0,7085	0,6252	0,5366	0,4817	0,4647	0,4658	0,4661
G1_{ORT}	0,5642	0,5404	0,4925	0,4674	0,4582	0,4218	0,3631
G2_{ORT}	0,6100	0,5779	0,5327	0,5074	0,4943	0,4844	0,4285

Çizelge 3.11. Mansur metodu ile hesaplanan GKF değerleri.

Kod	GKF değeri
H5-1	0,24
H5-2	0,32
H5-3	0,31
SLN4	0,06
SLM4	0,20
SLN8	0,99
SLM8	2,53
BP-4	37,15
S1	0,20
S3	0,85
S4	0,39
S7	0,30
S9	0,56
S10	0,19
S11	7,04
S12	11,57
S13	5,08
S14	5,00
S15	4,38
S16	6,75
G1	4,75
G2	5,16



Şekil 3.9. Formülasyonların GKF değerleri.

4. TARTIŞMA

4.1. Lipit Taşıyıcı Sistemlerin Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada katı lipit olarak tristearin ve yüzey etken madde olarak Tween 80 içeren lipit taşıyıcı sistemler, üretim parametrelerindeki değişikliklerden yola çıkılarak nano ve mikro boyutta üretilmiştir. Üretimlerinde sadece yüksek hızda homojenizasyon kullanılarak hazırlanan partiküller katı lipit mikropartikül (SLM), devamında yüksek basınçlı homojenizasyondan geçirilerek boyutu değiştirilen partiküller ise katı lipit nanopartikül (SLN) olarak değerlendirilmiştir. Taşıyıcı sistem formülasyonunun partikül boyutuna ve ürünlerin kıvamı üzerine etkisini anlamak için kullanılan lipit yüzdesi %4 ve %8 olarak seçilirken yüzey aktif madde sabit tutulmuştur.

Hazırlanan SLN ve SLM'ler partikül boyutu ve dağılımı ile zeta potansiyel değerleri incelenerek karakterize edilmiştir. SLN4 olarak kodlanan %4 lipit içeren taşıyıcı sistem ayrıca liyofilize edilerek liyofilizasyondan sonra tekrar karakterize edilmiştir. Shah ve ark, lipit partiküllerin karakterizasyonunda partikül boyutu ve dağılımının üretim metodu ve taşıyıcı sistem kompozisyonu ile ilişkili olup stabilite açısından da önemli olduğunu bildirmiştir (Shah ve ark., 2014).

Çalışmamızda, SLN/SLM üretiminde artan lipit (tristearin) yüzdesine karşı kullanılan yüzey etkin madde (Tween 80) miktarı sabit tutulduğunda partikül boyutu yaklaşık iki katına çıkmıştır (Çizelge 3.1). Shah ve ark., yaptıkları bir çalışmada benzer şekilde SLN üretiminde kullandıkları yüzey etkin madde yüzdesini sabit tutarak lipitin yüzdesini artırmış ve oluşan partikül boyutlarının büyüdüğünü bildirmişlerdir. Araştırmacılar bunun nedenlerini lipit yüzdesine karşılık yüzey etkin madde yüzdesinin artırılmadığı durumlarda yüzey etkin maddenin partikül yüzeyini tam kaplamaması ve artan lipit oranının ortam viskozitesini artırması olarak açıklamışlardır (Shah ve ark., 2014).

Çalışmada üretim parametrelerinden biri olan UT devir hızı 20000 rpm olarak seçilmiştir. Bu seçim ön denemeler ile belirlenmiştir. Üretimlerinde UT devir hızı 17500 rpm değerinden az olan SLM'lerde daha hızlı agregasyon eğilimi gözlenmiştir. Bu nedenle SLM üretiminde homojenizasyon devir hızı 20000 rpm değerine yükseltilmiş ve üretim parametrelerini kıyaslamak amacıyla SLN4 ve SLN8 kodlu taşıyıcı sistemler de bu hızda karıştırılarak hazırlanmıştır (Çizelge 2.1).

SLN'lerin üretiminde kullanılan HPH yöntemi ile 50-400 nm aralığına sahip partiküllerin dar partikül boyut dağılımı ile elde edilebildiği bildirilmiştir (Shah ve ark, 2015). Çalışmamızda hazırlanan SLN'ler için 20000 rpm, 5 dk yüksek devirde homojenizasyon sonrası uygulanan HPH yönteminin parametreleri 1000 bar basınç ve 6 döngü olarak belirlenmiş ve bu taşıyıcı sistemlerde 200-300 nm ve PDI değerlerinin 0,241-0,219 arasında olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.1; Şekil 3.2). Partikül morfolojik özelliklerinin SLN4 üzerinde TEM analizi ile görüntülendiğinde düzgün yüzeyli, küresel oldukları ve partikül boyutlarının birbirine yakın olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.3.a).

Liyofilizasyonun etkisi ise SLN4 kodlu ve 17500 rpm de karıştırılarak üretilen taşıyıcı sistem üzerinde bir kryoprotektan kullanılmadan incelenmiştir. Başlangıçta 214 nm olan partikül boyutunun 466 nm olduğu ancak zeta değerinin değişmediği görülmüştür. Lim ve Kim, retinoik asit yüklü SLN'ler ile liyofilizasyon sonrası SLN partikül boyut ve dağılımlarında benzer şekilde artış olduğu bildirmiştir (Lim ve Kim, 2002).

Pozitif veya negatif olabilen zeta potansiyeli, partikül yüzeyindeki yükün mevcudiyeti ile oluşan bir elektrik potansiyelidir. Negatif zeta potansiyeli, formülasyonda yüklü parçacıklar arasında meydana gelen itme derecesinin bir göstergesidir. Bu itici kuvvetler, partikül agregasyonunu önler. Zeta potansiyeli bu nedenle bir formülasyonun olası fiziksel stabilitesinin göstergesidir (Shah ve ark., 2014). Çizelge 3.1'e bakıldığında tüm SLN formülasyonlarının -20 mV ve üzeri zeta potansiyeli değerine sahip olduğu görülmektedir.

SLM formülasyonlarının partikül boyut analizi Malvern Mastersizer 3000 kullanılarak yapılmış ancak zeta potansiyeli değeri okunamamıştır. Lipit yüzdesindeki artışa bağlı olarak SLM4 ve SLM8 arasında iki kat partikül boyut artışı ve optik mikroskop analizlerinde geniş bir boyut dağılımı gözlenmiştir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.3.b).

Liyofilize edilen taşıyıcı sistemin bir diğer dezavantajı üretim verimindeki azalma olmuştur. Çalışmamızda toplamda 1,6 g lipit kullanılarak üretilen SLN dispersiyonundan liyofilizasyon sonrası %50 verim ile 0,75 g SLN elde edilebilmiştir. Bu nedenle liyofilize haldeki SLN'ler jellere maksimum %5 oranında ilave edilebilmiştir (Çizelge 2.4). Buna karşılık lipit ve jel fazının 1:1 oranında karıştırıldığı SLN, SLM formülasyonlarında (Çizelge 2.5) taşıyıcı sistem %100 verimle kullanıldığı ve taşıyıcı sistemin redisperse edilmesi gerekmediğinden daha homojen formüller elde edilmiştir. Partikül boyut dağılımının artması, üretim veriminin düşük olması ve redisperse etme zorluğu nedeniyle SLN ve SLM'lerin üretim sonrası liyofilize edilmeden doğrudan kullanılmasına karar verilmiştir. Bunlar arasından, ürettiğimiz güneş koruyucu formülasyonda kullanılmak üzere yarı katı SLN8 partiküller tercih edilmiştir. Bunun nedeni deriden penetre olarak kan dolaşımına katılmaması için nanopartikül boyutunun 300 nm civarında olmasıdır. Lademann ve ark., yaptıkları bir çalışmada 300 nm üzeri boyutta nanopartiküllerin derideki kıl foliküllerinden geçerek kan dolaşımına katılmadığını bildirmişlerdir (Lademann ve ark., 2006).

4.2. Hidrojel Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Lee ve ark, SLN'leri poloksamer hidrojeller içerisinde disperse ederek kullanmışlardır. Bu çalışmada Pluronik F127 ve F68 karışımı, oda sıcaklığında jelleşmenin başlaması, poloksamer türevlerinin düşük toksisite özellikleri ve formülasyonlarda iyi stabil etki göstermeleri nedeniyle tercih edilmiştir (Lee ve ark., 2017). Çalışmamızda hazırlanan SLN ve SLM taşıyıcı sistemler de uygun bir jel sıvağı içerisinde disperse edilerek kullanılmıştır. Bu jel fazının üretiminde kayma ile

incelenen reolojik özellikler (plastik/psödoplastik akış tipi) gösterdiği de bilinen Poloksamer türevlerinin yanı sıra HPMC denenmiştir (Algın Yapar ve ark., 2014).

Çalışmada seçilen Poloksamer polimerler Pluronik F127 ve Pluronik F68 karışımlarıdır. Bu iki polimer oda sıcaklığında jelleşmenin başladığı oranlar seçilerek %20-%30 konsantrasyon aralığında çeşitli oranlarda denenmiştir (Çizelge 2.2). Bu oranlar arasından %25 F127:F68 5:1 ve %30 F127:F68 3:1 jeller (P4 ve P5) oda sıcaklığında Brookfield DVI rotasyon viskozimetresi ve S63 döner disk ile yapılan ölçümlerde en yüksek viskozite değerini vermiştir. Tüm Pluronik jellerin pH'ları deri üzerinde kullanıma uygun bulunmuştur (Çizelge 3.2 ve Şekil 3.4). Ancak P5 kodlu jel formülasyonu en yüksek polimer konsantrasyonuna sahip olduğu ve daha sonra SLN veya SLM ile 1:1 oranda karıştırılacağı göz önüne alınarak tercih edilmiştir.

HPMC jeller %3 ve %6 konsantrasyonda ve iki farklı viskozite aralığında polimer kullanılarak (%2'lik çözeltisi 100 cP ve 40 cP viskozite sağlayan) hazırlanmıştır (Çizelge 2.3). HPMC jeller arasında en yüksek viskoziteyi veren H5 formülasyonu olmuştur. H5 jelinin pH değeri nötr bulunmuştur (Çizelge 3.2 ve Şekil 3.4).

Jellerin içerisine jel özelliklerini modifiye üzere hümektan olarak dekspantenol %1 oranında kullanılmıştır. Dekspantenol güneş sonrası ürünlerde nemlendirici ve doku iyileştirici etkileri nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır.

Seçilen jel formülasyonlarına kolajen peptitleri %1 ve %2 ilave edilerek denenmiştir (P6, P7 H3, H4, H6). Ancak kolajenin çözünürlük sorunu ve kolajen varlığının kolajensiz formülasyonlara bir üstünlüğünün gözlenmemesi nedeniyle madde formülasyonlardan çıkarılmıştır.

Koruyucu olarak kullanılan sodyum levulonat ve 2-fenoksi etanol jel fazı üzerinde denenmiştir. Bu amaçla her iki jelden alınan 5 ml jeller üzerine koruyucular

ayrı ayrı ilave edilmiş ve buzdolabında 15 gün boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda HPMC içerisinde 2-fenoksi etanol formülasyonun berraklığını bozduğundan HPMC ve sodyum levulonat içeren ve pluronik ile de 2-fenoksi etanol içeren birer formül denenmesine karar verilmiştir. Ancak bu iki koruyucu da P8, P9 ve H7 kodlu formüllerde hafif bulanıklık yaratarak jelin görünümünü değiştirdiği için kullanımlarından vazgeçilmiştir.

4.3. Lipit Taşıyıcı Sistem İçeren Formülasyonların Değerlendirilmesi

4.3.1. Üretim Yönteminin Değerlendirilmesi

Lipit taşıyıcı sistemler jeller içerisinde iki farklı şekilde disperse edilmiştir. İlk denemelerde taşıyıcı sistem önceden üretilip 2 gün boyunca -20°C de dondurulduktan sonra liyofilize edilmiştir. Liyofilize SLN4 kullanılacağı zaman 1mL su ile disperse edilerek jele katılmıştır (Çizelge 2.4). Bu grup formülasyonlarda SLN4 jel içerisinde % 5 oranında tek başına, 1:1 SLN:TiO₂ karışımı şeklinde ilave edilmiştir. Ayrıca jel içerisinde %5 TiO₂ içeren formüller de hazırlanmıştır.

Liyofilize partiküllerin geri disperse edilmesinin zorluğu, partikül boyut aralığının büyümüş olması ve verimin düşük olması nedeniyle istenen sonuçlar elde edilememiştir. Bu nedenle ikinci grupta yer alan (Çizelge 2.5) formülasyonlar hazırlanmıştır. Bu formülasyonlarda lipit dispersiyonu liyofilize edilmeden hazırlandıktan hemen sonra P5 ve H5 jellerine 1: 1 oranında ilave edilmiştir. Bu grup formülasyonlar arasında %4 lipit ve HPMC içeren S5 formülasyonuna oluşan emülsiyonun stabilitesini artırmak üzere yüzey aktif madde ilave edilmiştir. Butani ve ark, HPMC içeren emuljellere %1,3 Tween 80 ilave etmişlerdir (Butani ve ark, 2016). Benzer şekilde %1,25 Tween 80 ilavesi ile S6 kodlu formülasyon faz ayırışmadan stabil kalmıştır. S7 kodlu formülasyonda ise HIPEGel® Aqua C kullanılarak emülsiyon oluşturulmuştur. HIPEGel® Koko-kaprilat/kaprat, Ayçiçek yağı, s/y emülgatörler olarak sorbitan seskioleat ve poligliseril-3 oleat karışımı içeren

ticari bir üründür (www.alfa-chemicals.co.uk). Su fazının %90 oranında olduğu emülsiyonlarda ek bir kalınlaştırıcı kullanılmadan daha stabil ve viskoz bir sistem elde etmede kullanılmaktadır. Bu ticari üründen formülasyona dahil olan lipitler ve s/y emülgatörler nedeni ile S7 kodlu formülasyon kıvam kazanmış ve stabil kalmıştır.

Pluronic ve %4 lipit içeren formülasyonlarda bu polimerin yüzey aktif madde özelliği nedeniyle ek bir yüzey aktif madde kullanımına ihtiyaç duyulmamıştır. Ancak seçilen P5 jelinin lipit fazı ile 1:1 oranında kullanılması sonucu jeldeki polimer konsantrasyonu %15'e düşmüştür. Poloksamerler genellikle %20 ve üzerinde jelleşen, bu konsantrasyonun altında iken viskoz çözelti oluşturan polimerlerdir (Algın Yapar ve İnal, 2012). Konsantrasyonun bu değerin altına inmesi sonucu formülasyonlarda jelleşme azalmış, polimerin noniyonik yüzey aktif madde özelliği nedeniyle stabil kalan ancak kıvamsız ürünler (S1 ve S2) elde edilmiştir. P5 ve H5 kodlu jeller 1:1 karıştırıldıktan sonra içerisinde %4 SLN dispersiyonu dağıtılarak organoleptik olarak incelenmiş ve tek başına HPMC ile hazırlanan S5 formülasyonuna göre daha stabil olduğu gözlenmiştir. (Bu karışım üzerinde ek bir çalışma yapılmadığından tez içerisinde kodlanmamıştır. Ancak daha sonra aynı oranlarda jel ve BP-4 içeren formül hazırlanarak (G1) karakterize edilmiştir).

Bu verilerden yola çıkılarak formülasyonlarda lipit yüzdesinin artırılması ile kıvamın artırılarak faz ayrışmasının önlenebileceği düşünülmüş ve SLN8-SLM8 kodlu, %8 lipit ile hazırlanan taşıyıcı sistemler kullanılmıştır. Bu grup formülasyonlarda ek bir yüzey aktif maddeye ihtiyaç duyulmadan stabil emülsiyonlar elde edilebildiği için kimyasal blokaj ajanı olarak benzofenon-4 ve fiziksel güneş filtresi olarak titanyum dioksit içeren son formüller SLN8/SLM8 dispersiyonu içermektedir (S11-S16 kodlu formüller). BP-4 formülasyonlara izin verilen kullanım yüzdesi olan %5 oranında ilave edilmiş ve ürünlerin karakterizasyonları sonucu seçilen G1 kodlu formülasyon (P5, H5 jellerin 1:1 karışımı içerisinde %50 SLN8 dispersiyonu ve %5 BP-4 içeren) içerisinde %5 TiO₂ ilavesiyle (G2) yeniden hazırlanmıştır.

Tüm bu formüllerin karakterizasyon çalışmaları aşağıdaki konu başlıkları altında tartışılmıştır.

4.3.2. pH Analizine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Çizelge 2.4’de verilen formülasyonların pH değerleri 7,55-7,19 ve Çizelge 2.5 ile verilen formülasyonların pH değerleri 7,04-6,69 arasında bulunmuştur (Çizelge 3.3) . Bu değerler nötr pH değerine yakın olduğu için deri ile uyumlu pH aralığında formüller elde edildiğine karar verilmiştir. Çizelge 2.5’de yer alan S11-S16 kodlu formüller %5 benzofenon-4 içermektedir. Benzofenon-4 sülfonik asit yapısında ve çözeltisinin pH'sı 1,2-2,2 aralığında olan bir kimyasal blokaj ajanıdır. Bu maddenin ilave edildiği formüllerin pH değeri ayarlanmadan önce 1,6-1,7 aralığında ölçülmüştür. Bu nedenle nötrale edici ajan olarak %1 trietanol amin veya %1 1M NaOH ilavesi karışımın pH değerini pH 6,5 olarak ayarlamak üzere denenmiştir. Bu iki nötrale edici ajan arasından %1 1M NaOH ile hazırlanan formül daha stabil kaldığından S11-S16 kodlu formüllerin pH değeri %1 1M NaOH ile deri pH'ına uygun olacak şekilde pH 6,5 olarak ayarlanmıştır.

4.3.3. Reolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi

Formülasyonların jel fazının hazırlanmasında kullanılan HPMC ve Poloksamer polimerler Bölüm 4.1. de tartışıldığı üzere plastik/pseudoplastik akış tipi sağlayan polimerlerdir. Bu akış tipini gösteren jellerin kullanıldığı formülasyonlarda karıştırma hızının artırılmasıyla formülasyonun viskozluğu azalmakta ve ambalajdan alım, deri üzerine uygulama kolaylaşmaktadır (Kelman ve ark., 2018).

Formülasyonların rotasyon viskozimetresi ile ölçülen viskozluk değerleri incelendiğinde HPMC ile hazırlanan formülasyonların viskozitesi Pluronic ile hazırlananlardan yüksek bulunmuştur (Şekil 3.5). SLN4 içeren formülasyonlar arasında HIPEGel içeren S7 kodlu formül yağ yüzdesindeki artış nedeni ile Tween

80 içeren S6 kodlu formülden daha viskozdur. En yüksek viskozite değeri ise S9 ile kodlanan HPMC-SLN8 formülasyonu (3539 cP) ile elde edilmiştir. Bunun nedeni üretimde kullanılan H5 jelin viskozluğunun da yüksek oluşudur (20 rpm hızda S63 döner disk kullanıldığında 1550 cP). Ayrıca SLN8 yarı katı formundadır ve ürüne kıvam kazandırmıştır.

Pluronic ile hazırlanan formülasyonlarda ise viskozluk belirgin şekilde düşük bulunmuştur. Pluronic polimerler %20'nin üstünde konsantrasyonda jelleşme özelliği olan polimerlerdir. Formülasyonda kullanılan P5 %30 konsantrasyonda viskozite değeri 450 cP olan zayıf bir jel iken S1-S4 ile kodlanan formülasyonlarda bu konsantrasyon %15'e düşmüş ve viskozluk değerleri 210-539 cP arasındadır (SLN8 içeren S3 kodlu formülasyon 539 cP ölçülmüştür). Formülasyonların pluronic içeren dış fazı %15 polimer konsantrasyonunda iken jelden ziyade viskoz bir sıvıdır (Algin-Yapar ve İnal, 2012). Bu nedenle S1-S4 formülasyonlarına asıl kıvam kazandıran SLN ilavesidir.

Katı lipit taşıyıcı sistemin (SLN4 veya SLN8) formülasyonların viskozite değerleri üzerindeki etkileri incelendiğinde SLN4-SLN8 ile hazırlanan formülasyonların SLM4-SLM8 ile hazırlananlara kıyasla daha viskoz olduğu ve lipit yüzdesindeki artışın viskoziteyi artırdığı görülmüştür. Bu nedenle nanolipit yapıları taşıyıcıların ürünlerin reolojik özelliklerine katkısını incelemek üzere S6 ve S9 kodlu SLN4 ve SLN8 içeren iki formül viskoelastik özellikleri açısından osilasyon yöntemi ile incelenmiştir.

Viskoelastisite testi iki aşamalı bir testtir. İlk aşamada deformasyonun geri dönüşümlü olduğu genlik değerini bulmak üzere artan genlik değerlerine karşı deformasyon incelenmektedir. Bu test ile elde edilen grafiğin doğrusal kısmı teste tabi tutulan yapının bütünlüğünün korunduğu amplitüt değerini vermektedir (Şekil 3.6.a ve Şekil 3.7.a). Bu genlik değeri sabit tutularak frekansın artırıldığı frekans taraması testinde ise yapının elastik ya da viskoz özelliklerine bağlı olarak ya elastik modül (depolama modülü, G') ya da viskoz modül (kayıp modül, G'') daha yüksek değer vermektedir.

SLN4 içeren formülasyonda (S6, Şekil 3.6.b) G' ve G'' değerleri birbirine çok yakındır ve viskoelastik özellik net olarak gözlenememiştir. SLN8 içeren formülde ise (S9, Şekil 3.7.b) G' değeri G'' değerinden büyük bulunmuş ve sistem viskoelastik olarak yorumlanmıştır. Amasya ve ark., yarı katı SLN içeren hidrojel ile yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmiştir. Yarıkatı SLN içeren formüllerin viskoelastik özellik göstermesi nedeniyle raf ömrü boyunca faz ayrışmasının zor olduğu ve daha stabil bir formülasyon elde edilebildiği bildirilmiştir (Amasya ve ark., 2020).

4.3.4. Adezif Özelliklerin Değerlendirilmesi

Deriye sürülen formülasyonlarda adezif özellik ürünün cilde uygulandıktan sonra deride kalabilmesi hakkında bilgi sunmaktadır. Çalışmamızda bu özellik iki farklı şekilde incelenmiştir. Liyofilize SLN4 ile çalışılan formülasyonların adezif özellikleri tekstür analiz cihazının mukoadesyon düzeneği kullanılarak, üstteki hareketli proba ürün ve alttaki sabit düzeneğe üzerine müsin ilave edilmiş Whatman 42 yerleştirilerek incelenmiş ve adezyon kuvveti ve adezyon işi verileri değerlendirilmiştir (Çizelge 3.4). Lee ve ark., yaptıkları bir çalışmada pluronik ve ksantan içeren hidrojel içerisnde SLN dispersiyonu hazırlayarak benzer bir yöntem ile adezif özelliklerini kıyaslamışlardır (Lee ve ark., 2018).

Liyofilize SLN4 ile çalışılan formülasyonlar arasında en yüksek adezyon kuvveti H5-1 ve P5-1 ile elde edilmiştir. Her iki formül de tek başına %5 titanyum dioksit içeren jel formülasyonudur. Çizelge 3.4.'deki diğer formülasyonlar adezyon işi değerleri açısından incelendiğinde en yüksek adezyon işinin H5-3 ile (0,290 N.sn) elde edildiği ve tek başına SLN4 içeren formüllerin adezyon işi değerlerinin SLN4-TiO₂ karışımı içerenlerden yüksek olduğu görülmektedir.

Formülasyonlarda kullanılan titanyum dioksit dar boyut dağılımı gösteren, 5 mikrometre boyutlu ve tetragonal kristal yapılıdır. TiO₂ hidrofob özellikte olduğundan ortama ilave edilen müsin ile doğrudan jelin temas ettiği ve bu nedenle bu iki formülde adezif kuvvet değerlerinin yüksek çıktığı düşünülmektedir. Bu

düşüncemizi güçlendiren bir neden SLN-TiO₂ içeren ürünlerde adezyon değerlerinin daha düşük olması, diğer bir neden de yayılabilirlik testi sırasında elde edilen adezyon değerleri incelendiğinde (Çizelge 3.6) G2 kodlu TiO₂ içeren formülün G1 kodlu formülden daha az adezif bulunmasıdır.

H5-3 kodlu formülasyon ile en yüksek adezyon iş değerinin elde edilmesi HPMC ile hazırlanmasına bağlanmıştır. Aynı şekilde Çizelge 3.6'da verilen adezyon değerleri incelendiğinde S15 ve S16 kodlu HPMC-SLN8 ve HPMC-SLM8 formülasyonlarının daha adezif olduğu ve en yüksek adezyon değerinin (14,99 g.sn) HPMC-SLN8 ile elde edildiği görülmektedir. Pluronik kullanılarak hazırlanan jellerin zayıf adezif özelliklerini modifiye etmek üzere iyi adezif özellik gösteren hyalüronik asit, HPMC, kitozan gibi polimerlerin pluronik hidrojellere ilave edilmesi önerilmektedir (Lee ve ark., 2018). Çalışmamızda benzer şekilde, optimum olarak seçilen G1 formülü, iyi adezif özellik gösteren S15 ve zayıf adezif özellik gösteren ancak iyi yayılabilir bulduğumuz S12 (PLU-SLN8) karışımı ile hazırlanmıştır. Bu şekilde formülasyona SLN ve TiO₂ katılmasıyla zayıflayan adezif özelliğin de modifiye edilmesi sağlanmıştır.

4.3.5. Yayılabilirlik Özelliklerinin İncelenmesi

Yayılabilirlik, bir ürünün dışarıdan uygulanan kuvvete karşı dayanıklılığı/direnci ile ilişkili bir özelliktir. Dayanıklılık, ürünün yüzeyini deforme etmek için uygulanan kuvvetle ölçülür, yayılabilirlik ise dış bir kuvvet nedeniyle tüm yapının deformasyonu ile ifade edilir (Jaiswal ve ark., 2016). Yayılabilirlik parametresi, deriye uygulanan formülasyonların hem kolay sürülebilmesi hem de deride yayılarak etki gösterebilmesi açısından önem taşır.

Çizelge 2.4 ile verilen liyofilize SLN içeren formülasyonların yayılma testi ağırlık uygulaması ile ürünün yayılan çapındaki artışa dayanan bir yöntem ile incelenmiştir. Bu yöntemde bir asetat veya cam plaka üzerinde işaretli 1 cm² alana eklenen ürün önceden belirlenen ağırlık ve süre uygulandıktan sonra oluşan çap

değişimi incelenmektedir. Süre sonunda ölçülen son çaplar değerlendirildiğinde yayılma çap değişiminin 4 kat ve üzeri olması durumunda formülün iyi yayılabilirlik özelliği gösterdiği belirtilmektedir (Tripathi ve ark., 2018).

Çalışmamızda benzer yöntemle yapılan yayılabilirlik testinde 1 cm çap üzerine 0,5 gram ürün uygulandıktan sonra 500 g ağırlık altında 5 dk bekletilmiştir. Başlangıçtaki çaplara oranla 5 kat artış gözlenmesi nedeni ile formüllerin iyi yayılabilirlik özelliği gösterdiğine karar verilmiştir (Çizelge 3.5). Çap artışı pluronik içeren formüllerde HPMC içeren formüllere göre daha yüksek bulunmuştur, ancak ürünlerdeki SLN ve/veya titanyum dioksit varlığında bir fark gözlenmemiştir.

Jaiswal ve ark., hazırladıkları nanoemülsiyonları karbopol jele yükleyerek formülasyonların yayılabilirlik özelliklerini in vitro olarak değerlendirmiştir. Jel içinde kullandıkları polimerin (karbopol) konsantrasyonun artması ile jellerin sıklığının ve viskozitesinin arttığını buna karşın yayılabilirliğinin ve sürülebilirlik özelliklerinin azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmadan elde edilen sıklık değerleri formülasyonun viskozitesi ile ilgilidir, sıklık değeri arttıkça viskozite artar. Yayılabilirlik için uygulanması gereken kuvvet ve iş ne kadar büyükse yayılabilirlik o derece azdır (Jaiswal ve ark., 2016).

Benzer şekilde çalışmamızda Çizelge 2.5'te yer alan ve benzofenon varlığında hazırlanan final formülasyonlarda (S12, S13, S15, S16, G1 ve G2) yayılabilirlik, Texture Analiz Cihazı yayılabilirlik probu kullanılarak incelenmiştir.

Çizelge 3.6'daki sıklık ve yayılma işi değerleri formüllerin viskozitesi ile birlikte değerlendirildiğinde, viskozluğu daha az olan pluronik jel ile hazırlanan S12-S13 formüllerde daha düşük sıklık ve yayılabilirlik işi elde edildiği, ancak viskoz HPMC jel ile hazırlanan S15-S16 formüllerde bu değerlerin en yüksek olduğu görülmüştür. Yayılabilirlik için gereken iş veya kuvvet ne kadar az ise ürün o kadar iyi yayılır. Bu nedenle S12 ve S13'ün yayılabilirliği HPMC ile hazırlanmış olan S15 ve S16'dan iyi bulunmuştur. S12 ve S13 adeziv özelliğe sahip olmadığı ancak iyi yayıldığı için sıvağı pluronik ve HPMC karışımından oluşan G1 ve G2 kodlu final

ürünler üretilerek yayılabilirlik özellikleri incelenmiştir. Bu iki formül arasından titanyum dioksit içeren G2 ve içermeyen G1 arasında yayılabilirlik ve adeziv özellikler açısından fark gözlenmemiştir. Formülasyonlarda SLN8 yerine SLM8 kullanılması ise HPMC ile formüle edilen ürünlerde hem yayılabilirlik hem de adeziv özellikleri etkilemiştir. SLM8 taşıyıcı sistemin kendi kıvamının SLN8 e kıyasla düşük olması sonucu S16 daha az adeziv ancak daha yayılabilir bulunmuştur.

4.3.6. Oklüzyon Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Lipit nanopartiküller cilt üzerine uygulandıklarında yüzeyde yapışkan bir lipit film tabakası oluşturur ve lipit film tabakası sayesinde oklüzif etkide artış sağlanır. Böylece, SC tabakasında su içeriği artar, transepidermal su kaybı azalır ve azalır ve cilt hidrasyonunda artış sağlanabilir (Amasya, 2021). Günümüzde lipit nanopartiküllerin deri üzerindeki örtücü etkilerine bağlı olarak içine dahil edildikleri ürünlerde güneşten koruma faktörü etkinliğini artırması da araştırılmaktadır.

Çalışmamızda oklüzyon testi, her biri 15 mL su içeren kavanozların üzeri Whatman 42 filtre kâğıdı ile kapatıldıktan sonra üst yüzeye 0,5 g ürün sürülerek yapılmıştır. Test süresi boyunca kavanozlar 33°C sıcaklıkta tutulmuştur ve önceden belirlenen zaman aralıklarında buharlaşmaya bağlı ağırlık kayıpları ölçülmüştür (Çizelge 3.7, Çizelge 3.8). Bu çizelgelerdeki kontrol grupları formülasyona özgü olacak şekilde her bir formülasyon sırasında eş zamanlı olarak üzerine ürün sürülmemiş ancak filtre kâğıdı ile kapatılmış kavanozlar kullanılmıştır. Farklı zaman aralıklarında elde edilen oklüzyon faktörü değerleri (F) değerleri Çizelge 3.9'da verilmiş ve altıncı saate ait F değerleri Şekil 3.8 ile karşılaştırılmıştır. Şekil 3.8'de F değerlerinin kıyaslanmasında 24 saat zaman aralığının tercih edilmeme nedeni güneş koruyucu içeren ürünlerde her 3 saatte bir ürün yenileme gereği olacağının düşünülmesidir.

Şekil 3.8 incelendiğinde 6 saat sonunda liyofilize partikül içeren grupta en yüksek oklüzyonun %5 SLN içeren H5-2 formülasyonu ile elde edildiği görülmüştür.

Bu grup formülasyonlarda H5 jel ile hazırlanan formüller P5 jel ile hazırlananlardan yüksek bulunmuştur. Çalışılan konsantrasyonda HPMC ile elde edilen daha yüksek viskozluk değeri ile daha yüksek oklüzyon sağlanması uyumlu bulunmuştur.

Abbas ve ark., hazırladıkları lipit nanopartiküllerin oklüzif özelliğini değerlendirdiklerinde partikül boyutunda azalmanın oklüzyonu artırdığını bildirmişlerdir. Bunun nedeni küçük partiküllerin daha sıkı bir yerleşim göstermesi ve cilt üzerinde nem kaybını azaltıcı bir film tabakası oluşturmasıdır (Abbas ve ark., 2018; Lopez-Garcia ve Ganem-Rondero, 2015). Aynı şekilde Wissing ve Müller, ürettikleri 400 nm'den küçük lipit nanopartiküllerin yüksek oklüzyon değeri (F; 50-60) gösterdiğini ancak lipit mikropartiküller ile yaklaşık 15 civarında oklüzyon değeri elde edilebildiğini bildirmişlerdir (Wissing ve Müller, 2003). Şekil 3.8.'deki S kodlu formüller incelendiğinde, en yüksek değer S15 kodlu SLN8 içeren formülasyon ile elde edildiği görülmektedir. Aynı konsantrasyonda SLM8 içeren formülasyon ise (S16) daha büyük partikül boyutuna sahip taşıyıcı içermesi nedeni ile daha düşük oklüzyon değeri vermiştir. Bu grup formülasyonlarda da HPMC jel ile hazırlanan ürünler, jelin kıvamı nedeni ile Pluronik jel ile hazırlananlardan daha oklüzif bulunmuştur.

Her iki jelin 1:1 karıştırıldığı G1 ve G2 kodlu ürünlerin oklüzyon verileri incelendiğinde titanyum dioksit varlığında F değerinde azalma olduğu görülmüştür. Benzer şekilde H5 ve P5 kodlu formül grubunda da SLN4 tek başına kullanıldığında daha yüksek değerler elde edilmiştir. Genel olarak lipit nanopartiküllerin oklüzif etki sağladığı görülmüştür.

4.3.7. GKF Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Formülasyonların güneşten koruma faktörleri in vitro Mansur Yöntemi ile incelenmiştir. Rodrigues ve Jose, lipit nanopartikül içeren formülasyonların mansur yöntemi ile GKF değerlerinin incelenmesinde ortam olarak su kullanılmasını önermişlerdir (Rodrigues ve Jose, 2020). Benzer şekilde çalışmamızda ortam olarak

su kullanılarak formülasyonlar seyreltilmiş ve UVB absorbans aralığı olan 320-290 nm aralığında her 5 nm’de bir absorbanslar ölçülmüştür.

Liyofilize SLN4 içeren H5-1, H5-2 ve H5-3 formüllerin GKF değerleri Mansur yöntemi ile incelendiğinde, absorbans ve GKF değerleri çok düşük bulunmuştur (Çizelge 3.10, 3.11 ve Şekil 3.9). Bunun nedenlerinden biri SLN4’ün jel içerisinde tekrar disperse edilirken homojen dağıtılmasının zorluğudur. Bu grup formülasyonlarda kullanılan lipit oranının %5 olması da elde edilen düşük GKF değerlerinin diğer nedenidir. Bu grupta yer alan P5 jel içeren formüllerde GKF değeri çalışılamamıştır.

Çizelge 3.11. incelendiğinde H5-1 kodlu sadece TiO₂ içeren formülasyonun GKF değeri 0,24 iken H5-2 kodlu SLN formülasyonda bu değer 0,32 olarak hesaplanmıştır. TiO₂ ve SLN 1:1 karışımını içeren formülün GKF değeri ise H5-2’den farklı bulunmamıştır. Bu sonuçlara göre fiziksel blokaj ajanı olan titanyum dioksitin GKF’ye katkısının Mansur yöntemi kullanılarak incelenmesi anlamlı bulunmamıştır.

SLN4, SLM4, SLN8 ve SLM8 taşıyıcı sistem dispersiyonlarının GKF değerleri tek başına değerlendirildiğinde aralarındaki ilişki SLN4 <SLM4 <SLN8 <SLM8 şeklinde bulunmuştur. Genel olarak bakıldığında formülasyonlarda nanopartikül hazırlanmasında kullanılan lipit yüzdesi ve jele dağıtılan SLN/SLM yüzdesindeki artışa bağlı olarak GKF değerinin de arttığı görülmektedir (Şekil 3.9).

Literatür bilgileri incelendiğinde, çalışmada Şekil 3.8 ile verilen bulgulara görüldüğü üzere, lipit nanopartikül boyutundaki azalma oklüzyonda artış ile sonuçlanmaktadır (Abbas ve ark., 2018). Bu nedenle daha oklüzif olan SLN8 ile daha yüksek bir GKF değeri beklenmiş, ancak SLM8 ile daha iyi sonuç elde edilmiştir. Bu verilerden yola çıkılarak, taşıyıcı sistem üretiminde %4 yerine %8 oranında lipit kullanılması ve lipit taşıyıcı sistemin jel içindeki miktarının artırılmasının GKF üzerinde etkili olduğuna karar verilmiştir.

SLN ve SLM ile jellerin 1:1 oranında karıştırıldığı formülasyonlar (S1-S10) arasından S3 ve S9 kodlu formülasyonlar en yüksek bulunmuştur. Her iki formülde jel içerisinde SLN8 içermektedir. Ayrıca bu grup formüller incelendiğinde hem pluronik hem de HPMC ile SLN4 içeren ürünlerin (S1, S7) GKF değerlerinin SLN8 içerenlerden (S3, S9) ve yine SLM8 içeren ürünlerin (S4, S10) GKF değerlerinin SLN8 içerenlerden düşük olduğu görülmektedir.

Formüllere benzofenon %5 oranında katılarak yapılan GKF değeri tayininde referans olarak hem Benzofenon-4 çözeltisi, hem de %5 BP-4 içeren jeller (S11 ve S14) aynı yöntemle referans olarak incelenmiştir. BP-4 tek başına iken GKF değeri 37 olarak hesaplanmıştır ancak jel içerisine dağıtıldığında bu değerler düşmüştür. S11 kodlu pluronik jelin GKF değeri 7 ve S14 kodlu HPMC ile hazırlanan benzofenonlu jelin GKF değeri 5 olarak hesaplanmıştır. S11 için bu değerin S14'ten yüksek çıkmasının nedeninin pluroniklerin yüzey aktif madde özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. HPMC içerisinde benzofenon-4 incelendiğinde kristal kalıntıları (tezde verisi bulunmamaktadır) olduğu görülmüştür. Bu grup formüller arasında içinde en yüksek GKF değeri (11,5) Pluronic ve SLN8 karışımı içeren S12 ile elde edilmiştir. Bu formül pluronik içeriği nedeni ile iyi yayılan ancak adeziv özelliği zayıf bir formüldür. Final ürünün daha kıvamlı, daha adeziv ve örtücü olması istendiğinden HPMC içeren S15 ile 1:1 karışımının hazırlanmasına karar verilmiştir.

S12 ve S15 kodlu formüllerin hazırlanmasında kullanılan jel fazları 1:1 karıştırılarak elde edilen G1 formülünde yayılma, oklüzyon ve kıvam özelliklerinin modifiye edilmesi amacıyla HPMC ilave edilmesi sonucunda GKF değeri düşmüş ve Mansur yöntemi ile GKF 4,75 bulunmuştur. Bu formüle ilave edilen %5 titanyum dioksit ilavesi ile bu değer 5,16'ya yükselmiştir. Mansur yönteminin ampirik olması ve sadece UVB üzerinden ölçüm yapılıyor olması nedeni ile bu sonuçlar umut verici bulunmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Katı lipid nanopartiküllerin güneş koruyucu ürünlerde kullanılmasının, UV ışınlarını yansıtma özellikleri nedeniyle güneşten koruma etkisine katkı sağlayabildiği bildirilmiştir (Cengiz ve ark. 2006). Bu şekilde kimyasal blokaj ajanlarının kullanım oranının azaltılması ve bu grup kimyasalların yan etkilerinin de azaltılması mümkün olabilmektedir.

Bu tez çalışmasında iki farklı partikül boyutuna (SLN ve SLM) ve iki farklı lipid yüzdesine (%4 ve %8) sahip lipid taşıyıcı sistemler jel fazı (Pluronik ve HPMC) içerisine dağıtılarak güneş filtresi etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak SLN ve SLM taşıyıcılar arasından nanoboyutlu olan SLN grubu ve %8 lipid ile hazırlanan taşıyıcılar güneş filtresi içeren ürünlerde oklüzif, adezif ve kıvam özellikleri nedeniyle uygun bulunmuştur.

SLN8 ve SLM8 ile hazırlanan formülasyonlar arasından pluronik ve SLN8 içeren S12 formülasyonu ile en yüksek güneş koruma faktörü elde edilmiştir. Bu formülasyon aynı zamanda iyi yayılabilirlik özellikleri göstermektedir ve Pluronik polimerlerin noniyonik yüzey etkin madde olarak kullanımı nedeniyle partikülün ürün içindeki stabilitesini de artırma özelliği vardır. Ancak bu formülasyonun kıvamsız olması nedeniyle oklüzif ve adezif özellikleri iyi bulunmamıştır. HPMC-SLN8 formülasyonu (S15) ise daha düşük GKF faktörü sağlamıştır. Ancak bu formül ile yüksek viskozite, oklüzyon ve adezyon değerleri elde edilmiş olması nedeniyle S12 ve S15 formülünün hazırlanmasında kullanılan P5 ve H5 jelleri 1 :1 karıştırılmış, içerisine jel karışımı ile aynı oranda SLN8 ve %5 BP-4 eklenerek G1 kodlu ürün elde edilmiştir. G1 kodlu ürüne %5 TiO₂ katılarak hazırlanan G2 kodlu final ürün optimum adezif özellik gösteren, iyi yayılan ve GKF değer 5 olan bir formülasyondur. Bu formülasyonun sağladığı avantajlar, kullanılan SLN8'in partikül büyüklüğünün kıl folikülleri yoluyla deriden geçerek kana karışacak kadar küçük partikül boyutu içermemesi (330 nm), SLN8 taşıyıcı sistemin yarıkatı kıvamı nedeniyle ürüne viskoelastik özellik kazandırması ve bu nedenle raf ömrü boyunca

faz ayrışmasının beklenmemesidir. Final ürünlerin stabilite çalışması bu tez konusu içerisinde değerlendirilmemiş olmakla birlikte bu konuda tez dışı çalışmalar devam etmektedir

Kozmetik formülasyonlarda viskozite ve oklüzif özellikler, yayılabilirlik ve adezyon beraber değerlendirilen parametrelerdir. Formülasyonların ambalajdan alım, deriye sürülebilme ve deride kalabilme özellikleri açısından uygun kıvamda olması ve iyi yayılabilirlik göstermesi gerekir. Elde edilen final formülasyon bu açılardan uygun bulunmuştur.

Tez çalışmasının sonunda ulaşılan G1 ve G2 kodlu (titanyum dioksit içermeyen ve içeren) formüllerin GKF değeri 5 civarındadır. Kozmetik yönetmeliğine göre bir güneş koruyucu ürünün minimum 6 değerinde GKF göstermesi gerekmektedir. Çalışmamızda GKF ölçümünde kullanılan Mansur yöntemi kullanılan substrattan ve formülasyondaki hammaddelerin analiz ortamındaki çözünme durumundan etkilenen bir yöntemdir. Bu nedenle deneyden ileri gelebilecek hatalar da göz önüne alınmalıdır. Ayrıca Mansur Yöntemi UVB ölçümünde kullanılan bir yöntemdir. İleri çalışmalarda substrat üzerine ürün yayılıp kurutularak yapılan ölçüm metotlarının uygulanması ile daha gerçekçi sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir.

Elde edilen veriler SLN8 varlığının GKF değeri üzerine az da olsa etkisi olduğunu göstermiştir. Tez sonrası çalışmalarda bu çalışmada kullanılan kimyasal filtre grubunun (benzofenonlar) ortamda çözülerek doğrudan kullanılması yerine lipit taşıyıcı sisteme yüklenmesinin, SLN fazının lipit oranının ya da formüldeki miktarının artırılmasının, HPMC ve pluronik karışımlarının 1 :1 yerine farklı oranlarda denenmesinin ya da karbopol gibi farklı polimerin denenmesinin elde edilecek ürünlerin fiziksel özelliklerine ve GKF değerine olumlu etkileri olacağı düşünülmektedir.

ÖZET

Lipit Nanopartikül Taşıyıcı Sistem İçeren Jel Güneş Ürünü Hazırlanması ve In Vitro Kontrolleri

Deride fotoyaşlanmanın temel sebebi olarak bilinen UV ışınlarından korunmak için düzenli güneş koruyucu ürün kullanımı önemlidir. Güneşten koruma etkinliğinin iyileştirilmesi ve tüketiciye kullanım kolaylığı sağlaması amacıyla son yıllarda güneş koruyucu ürün formülasyonlarında nanopartikül sistemler yer almaktadır.

Çalışmamızda pluronik veya hidroksipropil metil selüloz kullanılarak hazırlanan jeller içerisinde nano veya mikro partikül boyutuna sahip lipit taşıyıcı sistemler disperse edilmiş ve lipit taşıyıcıların kimyasal ve fiziksel UV blokaj ajanlarının GKF etkinliğine katkısı araştırılmıştır.

Hazırlanan jellere üzerinde güneşin oluşturduğu hasara karşı etkileri ve cilt üzerinde nemlendirici etkiyi artırmaları nedeni ile dekspantenol ilave edilmiş ve jellerin pH, viskozluk özellikleri incelenmiştir.

Lipit taşıyıcı sistemler ise partikül boyut ve dağılımı ile zeta potansiyelleri incelenerek karakterize edilmiştir. Final formülasyonlar üzerinde pH, viskozluk ve tekstür cihazı kullanılarak adezif özellikler, yayılabilirlik ile oklüzif özellikler incelenmiştir. Nano boyutlu SLN veya mikro boyutlu SLM içeren formülasyonların güneşten koruyucu etkiye katkı sağlayıp sağlamadığı Mansur Metodu kullanılarak in vitro Güneşten Koruma Faktörü (GKF) değerlerinin ölçülmesiyle incelenmiştir. Çalışmada genel olarak GKF 5 ile 11 arasında olan formülasyonlar elde edilmiştir.

Sonuç olarak SLN ve SLM taşıyıcı sistem hazırlanmasında kullanılan lipit yüzdesinin artırılması ve partikül boyutunun küçültülmesi ile daha oklüzif bir lipit taşıyıcı sistem olan SLN8 elde edilmiştir. SLN8 ile üretilen formülasyonlar arasından yayılabilirliği iyi olan pluronik jel ile daha kıvamlı ve adezif özelliği bulunan HPMC jel fazı birleştirilerek elde edilen final ürünler GKF 5 olarak elde edilmiştir.

İleri çalışmalarda farklı polimerlerden hazırlanan jeller içerisindeki nanolipit yapılı taşıyıcı miktarının artırılması ya da taşıyıcı sistem içerisine kimyasal blokaj ajanı yüklenmesi ile daha yüksek GKF değeri sağlanacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler : Hidrojel, Katı lipit nanopartikül, Katı lipit mikropartikül, Güneş koruyucu ürünler, Güneş filtresi.

SUMMARY

Preparation Of Gel Sunscreen Products with Lipit Nanoparticle Carrier System and Their In Vitro Controls

It is important to use regular sunscreen products to protect from UV lights, which are known as the main cause of photoaging in the skin. In recent years, nanoparticle systems have been included in sunscreen product formulations in order to improve the effectiveness of sun protection and provide ease of use to the consumer.

In our study, lipit carrier systems with nano or micro particle size were dispersed in gels prepared using pluronic or hydroxypropyl methyl cellulose, and the contribution of lipit carriers to the effectiveness of chemical and physical UV blocking agents was investigated.

Dexpanthenol was added to the prepared gels due to its effects against sun damage and increasing the moisturizing effect on the skin. pH and viscosity properties of these gels were examined.

Lipit carrier systems, on the other hand, were characterized by examining particle size and distribution and zeta potentials. Adhesive properties, spreadability and occlusive properties were investigated by using pH, viscosity and texture device on the final formulations. Whether formulations containing SLN or SLM contribute to the sunscreen effect was investigated by measuring in vitro Sun Protection Factor (SPF) values using the Mansur Method. In this study, formulations with SPF values between 5 and 11 were obtained.

As a result, SLN8, which is a more occlusive lipid carrier system, was obtained by increasing the lipid percentage used in the preparation of SLN and SLM carrier system and reducing the particle size. Among the formulations produced with SLN8, the final products obtained by combining the pluronic gel with good spreadability and the HPMC gel phase, which has a more viscous and adhesive feature, were obtained with SPF 5 value.

In further studies, it is thought that higher SPF value will be achieved by increasing the amount of nanolipid carrier in gels prepared from different polymers or by loading a chemical blocking agent into the carrier system.

Keywords: Hydrogel, Solid lipit nanoparticle, Solid lipit microparticle, Sunscreen products, Sunscreen filter.

KAYNAKLAR

- Abbas, H., Kamel, R., El-Sayed, N. (2018). Dermal anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-aging effects of Compritol ATO-based Resveratrol colloidal carriers prepared using mixed surfactants. *International Journal of Pharmaceutics*, **541**(1-2), 37-47.
- Abdel-Salam, F.S., Mahmoud, A.A., Ammar, H.O., Elkheshen, S.A. (2017). Nanostructured lipid carriers as semisolid topical delivery formulations for diflucortolone valerate. *Journal of Liposome Research*, **27**(1), 41-55.
- Abdelbary, G., Fahmy, R.H. (2009). Diazepam-loaded solid lipid nanoparticles: design and characterization. *AAPS PharmSciTech*, **10**(1), 211-219.
- Abid, A.R., Marciniak B., Pedzinski, T., Shahid, M. (2017). Photo-stability and photosensitizing characterization of selected sunscreens' ingredients. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **332**, 241-250.
- Algin, Yapar, E., Inal, Ö. (2012). Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Based Copolymers for Transdermal Drug Delivery: An Overview. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **11**(5), 855-866.
- Algin, Yapar, E., Inal, Ö., Tuncay, Tanriverdi, S., Karavana, S.Y. (2014). Transdermal Delivery of Meloxicam Proniosomes from Hydrogels. *Latin American Journal of Pharmacy*, **33**(3), 476-82.
- Amasya, G., Inal, Ö., Sengel, C.T. (2020). SLN enriched hydrogels for dermal application: Full factorial design study to estimate the relationship between composition and mechanical properties. *Chemistry and Physics of Lipids*, **228**, 104889.
- Amasya, G. (2021). A novel formulation strategy for skin occlusion: Semi-solid lipid nanoparticles. *Journal of Research in Pharmacy*, **25**(4), 388-397.
- Badıllı, U., Sengel-Turk, C.T., Onay-Besikci, A., Tarımcı, N. (2015). Development of etofenamate loaded semisolid SLN dispersions and evaluation of anti-inflammatory activity for topical application", *Current Drug Delivery*, **12**(2), 200-209.
- Badıllı, U., Sengel-Turk, C.T., Amasya, G., Tarımcı, N. (2017). Novel Drug Delivery System for Dermal Uptake of Etofenamate: Semisolid SLN Dispersion. *Current Drug Delivery*, **14**(3), 386-393.
- Badıllı, U., Gümüştaş, M., Uslu, B., Özkan, S.A. (2018). Lipid-based nanoparticles for dermal drug delivery, *Organic Materials as Smart Nanocarriers for Drug Delivery*, 369-413.

- Butani, D., Yewale, C., Misra, A. (2016). Topical Amphotericin B solid lipid nanoparticles: Design and development. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **139**, 17-24.
- Cavalli, R., Caputo, O., Carlotti, M.E., Trotta, M., Scarnecchia, C., Gasco, M.R. (1997). Sterilization and freeze drying of drug free and drug loaded solid lipid nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, **148**, 47-54.
- Cengiz, E., Wissing, S.A., Müller, R.H., Yazan, Y. (2006). Sunblocking efficiency of various TiO₂-loaded solid lipid nanoparticle formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, **28**(5), 371-8.
- Dhiman, N., Awasthi, R., Sharma, B., Kharkwal, H., Kulkarni, G.T. (2021). Organic Materials as Smart Nanocarriers for Drug Delivery. *Frontiers in Chemistry*.
- Dinardo, J.C., Craig, M.S. (2018). Dermatological and environmental toxicological impact of the sunscreen ingredient oxybenzone/benzophenone-3. *Journal of Cosmetic Dermatology*, **17** (1), 15-19.
- Doktorovova, S., Marques, C., Barbosa, C., Lopes, C.M., Souto, E.B. (2009). Novel carriers for sunscreen formulations. *Focus on Sun care*, **3**, 18-20.
- Ebner, F., Heller, A., Rippke, F. ve Tausch, I. (2002). Topical Use of Dexpanthenol in Skin Disorders. *American Journal of Clinical Dermatology*, **3**, 427-433.
- Embil, K. and Nacht, S. (1996). The Microsponge Delivery System (MDS): a topical delivery system with reduced irritancy incorporating multiple triggering mechanisms for the release of actives. *J. Microencapsul.*, **13**, 575-588.
- Jaiswal, M., Kumar, A., Sharma, S. (2016). Nanoemulsions loaded Carbopol® 934 based gel for intranasal delivery of neuroprotective Centella asiatica extract: in-vitro and ex-vivo permeation study. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, **46**, 79-89.
- Gastaldi, L., Battaglia, L., Peira, R. ve diğ. (2014). Solid lipid nanoparticles as vehicles of drugs to the brain: Current state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **87**(3), 433-444.
- Geszke-Moritz, M., Moritz, M. (2016). Solid lipid nanoparticles as attractive drug vehicles: Composition, properties and therapeutic strategies. *Materials Science and Engineering: C*, **68**, 982-994
- Ghasemiyeh, P., Mohammadi-Samani, S. (2019). Hydrogels as Drug Delivery Systems; Pros and Cons. *Trends in Pharmaceutical Science*, **5**(1), 7-24.
- Gogna, D., Jain, S.K., Yadav, A.K. and Agrawal, G.P. (2007). Microsphere based improved sunscreen formulation of ethylhexyl methoxycinnamate. *Current Drug Delivery*, **4**, 153-159.

- Gontier, E., Ynsa, M-D., Biro, T., Hunyadi, J., Kiss, B. ve diğ. (2008). Is there penetration of titania nanoparticles in sunscreens through skin? A comparative electron and ion microscopy study. *Nanotoxicology*, **2**(4), 218-231.
- Göppert, T.M., Müller, R.H. (2005). Protein adsorption patterns on poloxamer- and poloxamine-stabilized solid lipid nanoparticles (SLN). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **60**(3), 361-372.
- Gulbake, A., Jain, A., Jain, S. (2012). Development of Nanostructured Lipid Carrier as Potential Sun Protectant. *Nanoscience and Nanotechnology - Asia*, **2**(2).
- Han, F., Yin, R., Che, X., Yuan, J., Cui, Y., Yin, H., Li, S. (2012). Nanostructured lipid carriers (NLC) based topical gel of flurbiprofen: Design, characterization and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, **439** (1-2), 349-357.
- Hou, D.Z., Xie, C.S., Huang, K., Zhu, C.H. (2003). The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). *Biomaterials*, **24**(10), 1781-1785.
- <https://www.alfa-chemicals.co.uk/assets/uploads/files/Alchemy-Hipegel-Aqua-and-Hipegel-Aqua-C.pdf>, 20.11.2022 tarihli erişim.
- <https://echa.europa.eu/cosmetics-uv-filters>, 20.11.2022 tarihli erişim.
- Kamel, R., Mostafa, D.M (2015). Rutin nanostructured lipid cosmeceutical preparation with sun protective potential, *Journal of photochemistry and photobiology*, **153**, 59-66.
- Kelmann, R.G., Colombo, M., Nunes, R.J., Simoes, C.M.O., Koester, L.S. (2018). Nanoemulsion-Loaded Hydrogels for Topical Administration of Pentyl Gallate. *AAPS PharmSciTech*, **19**, 2672-78.
- Kurul, E., Hekimoğlu, S. (2001). Skin permeation of two different benzophenone derivatives from various vehicles. *International Journal of Cosmetic Science*, **23**, 211-218.
- Kurumlu, Z. (1998). Ultraviole ve Ultravioleden Korunma. *Türkiye Klinikleri Journal of Cosmetology*, **1**, 75-82.
- Lademann, J., Richter, H., Schaefer, U.F., Blume-Peytavi, U., Teichmann, A., Otberg, N., Sterry, W. (2006). Hair follicles-a long-term reservoir for drug delivery. *Skin pharmacology and physiology*. **19**(4), 232-6.
- Lee, M.H., Shin, G. H., Park, H.J. (2018). Solid lipid nanoparticles loaded thermoresponsive pluronic-xanthan gum hydrogel as a transdermal delivery system. *Journal of Applied Polymer Science*, **135**(11), 46004.
- Lim, S.J. ve Kim, J.K. (2002). Formulation parameters determining the physicochemical characteristics of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, **243**, 135-146.

- Lippacher, A., Müller, R.H., Mader, K. (2001). Preparation of semisolid drug carriers for topical application based on solid lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, **214**, 9-12.
- Lopez-Garcia, R., Ganem-Rondero, A. (2015). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC): Occlusive Effect and Penetration Enhancement Ability, *Journal of Cosmetics. Dermatological Sciences and Applications*, **5**(2), 62-72.
- Lv, Q., Yu, A., Xi, Y., Li, H., Song, Z., Cui, J., Cao, F. (2009). Development and evaluation of penciclovir-loaded solid lipid nanoparticles for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **372**(1-2), 191-198.
- Manjunath, K., Venkateswarlu, V. (2005). Pharmacokinetics, tissue distribution and bioavailability of clozapine solid lipid nanoparticles after intravenous and intraduodenal administration. *J. Control. Release*, **107**, 215-228.
- Mansoori, G. A. (2005). *Principles of nanotechnology: molecular-based study of condensed matter in small system*. London: World Scientific Publishing Company.
- Mansur, J.S., Breder, M.N.R., Mansur, M.C.A., Azulay, R.D. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, **61**, 121-124.
- Mehnert, W., Mäder, K. Solid lipid nanoparticles - production, characterization and applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2012; **64**: 83-101.
- Mescher, A.L., (2018), 'Chapter 18: Skin', Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, (15), McGraw Hill Education.
- Mcclatchey, T. (2018). In-Vivo and In-Vitro Endocrine Activity and Toxicity of Oxybenzone (Benzophenone-3) in Humans and Animals: A Systematic Review. *Texas Medical Center Dissertations*, 1-82.
- Müller, R.H., Radtke, M., Wissing, S.A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2002; **54** (Suppl. 1): S131–S155.
- Müller, R.H., Petersen, R.D., Hommoss, A., Pardeike, J. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2007; **59**: 522–530.
- Nash, J.F. (2006). Human safety and efficacy of ultraviolet filters and sunscreen products. *Dermatologic Clinics*, **24**(1), 35-51.
- Nohynek, G.J., Lademann, J., Ribaud, C., Roberts, M.S. (2007). Grey Goo on the Skin? Nanotechnology, Cosmetic and Sunscreen Safety. *Critical Reviews in Toxicology*, **37**(3), 251-277.

- Numanoğlu U., Tarimci N. (2006). Katı lipid nanopartiküllerin özellikleri, farmasötik ve kozmetik alandaki uygulamaları. *Ankara Ecz. Fak. Dergisi*, **35**(3), 211 – 235.
- Önder, M. (1998). Deri yaşlanmasına etki eden faktörler. *T Kin J Kozmetoloji*, **1**, 17-20.
- Patel, M., Jain, S.K., Yadav, A. and Agrawal, G.P. (2006). Preparation and characterization of oxybenzone loaded gelatin microspheres for enhancement of sunscreens efficacy. *Drug Delivery*, **13**, 323–330.
- Patil, A., Masareddy, R.S., Patil, A.S., Dwivedi, P.S.R. (2022). Microsponge Gel Approach to Increase the Stability and Efficacy of Avobenzone as a Sun-Protective Agent. *Journal of Pharmaceutical Innovation*.
- Pelizzo, M., Zattra, E., Nicolosi, P., Peserico, A., Garoli, D., Alaibac, M. (2012). In Vitro Evaluation of Sunscreens: An Update for the Clinicians. *International Scholarly Research Network ISRN Dermatology*, 1-4.
- Powell, R.L. 1998. Rotational viscometry, in *Rheological Measurement*, A.A. Collyer and D.W. Clegg, Eds., pp 247–296. London: Elsevier Applied Science.
- Pouillot A, Polla LL, Tacchini P, Neequaye A, Polla A, and Polla B. Natural Antioxidants and Their Effects on the Skin. In: Dayan N and Kromidas L (Eds). *Formulating, Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Products*. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2011; p. 239-257.
- Rachmawati, H. (2013). Curcumin nanoforms promise better therapeutic values, *Journal of Research in Pharmacy*, **4**(2), 211-220.
- Rodrigues, L.R., Jose, J. (2020). Exploring the photo protective potential of solid lipid nanoparticle-based sunscreen cream containing Aloe vera. *Environmental science and pollution research international*, **27**(17), 20876-20888.
- Sambandan, D.R., Ratner, D. (2011). Sunscreens: an overview and update. *Journal of the American Academy of Dermatology*. **64**(4), 748-58.
- Sanna, V., Gavini, E., Cossu, M., Rassu, G., Giunchedi, P. (2007). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) as Carriers for the Topical Delivery of Econazole Nitrate: In Vitro Characterization, Ex Vivo and In Vivo Studies. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **59**, 1057-1064.
- Schneider, S.L., Lim, H.W. (2018). A review of inorganic UV filters zinc oxide and titanium dioxide. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, **35**(6), 442-446.
- Severino, P., Moraes, L.F., Zanchetta, B., Souto, E.B., Santana, M.H. (2011). Elastic liposomes containing benzophenone-3 for sun protection factor enhancement. *Pharmaceutical Development and Technology*, **17**(6), 661-665.

- Shah, K.A., Date, A.A., Joshi, M.D., Patravale, V.B. (2007). Solid lipid nanoparticles (SLN) of tretinoin: Potential in topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **345**(1-2), 163-171.
- Shah, R., Eldridge, D., Palombo, E., Harding, I. (2014). Optimisation and Stability Assessment of Solid Lipid Nanoparticles using Particle Size and Zeta Potential. *Journal of Physical Science*, **25**(1), 59–75.
- Shah, R., Eldridge, D., Palombo, E., Harding, I. (2015). *Lipid Nanoparticles: Production, Characterization and Stability*. Springer.
- Shruti, R., Ram, A., Lall, D., Agrawal, B., Naim, P.M.J. (2021). Development and Evaluation of Sunscreen Cream Containing Benzophenone-3 Microspheres for Enhancing Sunscreen Activity. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, **14**(11), 6078-6084.
- Smijs, T., Pavel, S. A Case Study: Nano-sized Titanium Dioxide in Sunscreens. (2015). *Nanoengineering-Global Approaches to Health and Safety Issues*, 375-423.
- Souto, E.B., Jager, E., Jager, A., Stepanek, P., Cano, A. ve ark. (2022). Lipid Nanomaterials for Targeted Delivery of Dermocosmetic Ingredients: Advances in Photoprotection and Skin Anti-Aging. *Nanomaterials*, **12**(3), 377.
- Stanfield, J., Osterwalder, U., Heerzog, B. (2010). *In vitro measurements of sunscreen protection*. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **9**(4), 489-94.
- Teeranachaideekul, V., Souto, E.B., Müller, R.H., Junyaprasert, V.B. (2008). Physicochemical characterization and in vitro release studies of ascorbyl palmitate-loaded semi-solid nanostructured lipid carriers (NLC gels). *Journal of Microencapsulation*, **25**(2), 111-120.
- Uchechi, O., Ogbonna, J.D.N., Attama, A.A. Nanoparticles for dermal and transdermal drug delivery. In: Application of Nanotechnology in Drug Delivery, Ed: A.D. Sezer, IntechOpen, Chapter 6, 193-235, 2014.
- Wawrzynczak, A., Nowak, I. (2011). Spectrophotometric determination of UV protection provided by cosmetic products with sunscreen properties. *CHEMIK International Edition*, **65**(7), 655-660.
- Weber, S., Zimmer, A., Pardeike, J. (2014). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for pulmonary application: a review of the state of the art. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **86**, 7–22.
- Wissing, S.A., Müller, R.H. (2001). Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal of Controlled Release.*, **81**(3), 225-233.

- Wissing, S.A., Müller, R.H. (2003). Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, **54**(1), 65-68.
- Wissing, S.A., Kayser, O., Müller, R.H. (2014). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **56**, 1257-1272.
- Yağın, Uzuner, Y. (1998). Güneşin Zararlı Etkilerine Karşı Koruyucu Ürünlerde Yapılan Etkinlik Testleri. *Türkiye Klinikleri J Cosmetol.* **1**(2), 100-7.
- Yapar, E.A., İnal, Ö. (2013). Poly(ethylene oxide)–Poly(propylene oxide)-Based Copolymers for Transdermal Drug Delivery: An Overview. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **11**(5).
- Young, A.R., Clavaeu, J. Beatris Rossi, A. (2017). Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **76**(3), 100-109.
- Yuan, L., Li, S., Huo, D., Zhou, W., Wang, X., Bai, D., Hu, J. (2019). Studies on the preparation and photostability of avobenzone and (2-hydroxy) propyl- β -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **369**, 174-180.