ESIN AKAR

← Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

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

↓

YÜKSEK LİSANS TEZİ

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

İSTANBUL-2018

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

SİLİMARİNİN NANOEMÜLSİYON FORMÜLASYONUNUN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

ESİN AKAR

DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA GÜLGÜN YENER

FARMASOTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2018

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Kozmetoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Esin AKAR tarafından Prof. Dr. Fatma Gülgün YENER'in danışmanlığında hazırlanan "Silimarinin Nanoemülsiyon Formülasyonunun Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Etkinliğinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 29 /01/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Fatma Gülgün YENER
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri
Doç. Dr. Ümit GÖNÜLLÜ
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri
Doç. Dr. Oya KERİMOĞLU
Marmara Üniversitesi - Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Esin AKAR



ITHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

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

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesine imkan sunan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet ARAMAN'a,

Tezimin hazırlanması sırasında yardımlarını ve katkılarını her daim gösteren Sayın Prof. Dr. Melike ÜNER'e ve Sayın Doç. Dr. Ümit GÖNÜLLÜ'ye,

Tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve yardımcı olan Sayın Dr. Ecz. Ebru ALTUNTAŞ ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı araştırma görevlileri ve lisanüstü öğrencilerine,

UV Spektrofotometre ölçümlerime yardımcı olan Analitik Kimya Anabilim Dalı araştırma görevlisi Sayın Dr. Ece Merve Yılmaz'a,

Etkinlik çalışmasının gerçekleştirilmesinde yardımcı olan ve her zaman ilgi gösteren Sayın Uzm. Dr. Gülden KÖKÜMER'e,

Son olarak tüm yaşamım boyunca olduğu gibi her zaman yanımda olan benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 53854

IÇINDEKILER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... İX
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİ
ÖZET ..... Xİİİ
ABSTRACT ..... XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Nanoemülsiyonlar 3
2.1.1. Nanoemülsiyonların Avantajları 4
2.1.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları 5
2.1.3. Nanoemülsiyonların Bileşimi 5
2.2. Nanoemülsiyonların Fiziksel ve Kimyasal Yapısı 7
2.2.1. Fiziksel Yapı ve Kararlılık 7
2.3. Nanoemülsiyonun Elde Edilmesi 8
2.3.1. Yüksek Enerji Gerektiren Yöntemler 9
2.3.1.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon 9
2.3.1.2. Mikrofluidizasyon (Kolloid Mil) 10
2.3.1.3. Ultrasonik Emülsifikasyon 10
2.3.2. Düşük Enerji Gerektiren Yöntemler 12
2.3.2.1. Membran Emülsifikasyonu 12
2.3.2.2. Faz Geçiş Sıcaklığı (PIT) Yöntemi 13
2.3.2.3. Emülsiyon Dönüşüm Noktası Yöntemi (EIP) 13
2.4. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu 14
2.5. Nanoemülsiyon Uygulamaları 15
2.6. Silimarin ve Silimarinin Kozmetikte Kullanımı 16

3. GEREÇ VE YÖNTEM 19
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Aletler 19
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 19
3.1.2. Kullanılan Aletler 19
3.2. Kullanılan Yöntemler 20
3.2.1. Formülasyon Çalışmaları 20
3.2.1.1. Formülasyon Bileşenlerinin Seçimi 21
3.2.1.2. Y/S Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması 22
3.2.1.3. Nanoemülsiyon Üzerinde Yapılan İncelemeler 28
3.2.2. Silimarin'in Spektrofotometrik Miktar Tayini ve Validasyon Çalışması 30
3.2.2.1. Silimarin'in Spektrofotometrik Miktar Tayini 30
3.2.2.2. Kalibrasyon Doğrusu 30
3.2.2.3. Analitik Validasyon Çalışması 30
3.2.3. İn Vivo Etkinlik ve Güvenlik Testleri 31
3.2.3.1. Test Ortamının Hazırlanması 31
3.2.3.2. Gönüllülerin Seçimi 32
3.2.3.3. Derinin Nem Tutma Kapasitesinin Ölçülmesi 32
3.2.3.4. Derinin pH'ının Ölçülmesi 32
3.2.3.5. Derinin Sebum Değerinin Ölçülmesi 33
3.2.3.6. Eritem Oluşumunun ve Lekenin Giderilmesinin Saptanması 33
3.2.3.7. Kırışıklığın Giderilmesinin Saptanması 33
3.2.3.8. Dermatolojik Test: 33
3.2.3.9. Anket Testi ile Sübjektif Değerlendirme 34
3.2.3.10. İstatistiksel Değerlendirme: 34
4. BULGULAR 35
4.1. Santrifüj Test Sonuçları 35
4.2. Karıştırma Süresinin Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi 36
4.3. Ortam Sıcaklığının Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi 39
4.4. Isıtma-Soğutma Testinin Damlacık Boyutuna Etkisi 42
4.5. UV Spektrofotometre ile Silimarin İçerik Tayini 43
4.6. Kalibrasyon Doğrusu 47
4.6.1. Analitik Validasyon Çalışması 47
4.7. pH Değerleri 50

4.8. İletkenlik Değerleri 51
4.9. Organoleptik Kontroller 52
4.10. Viskozite Değerleri 55
4.11. Silimarinin Nanoemülsiyonunun Etkinlik Testleri Sonuçları 64
4.11.1. Deri nemlendirme kapasitesi 65
4.11.2. Deri pH değeri 66
4.11.3. Deri Sebum Değeri 67
4.11.4. Deri Melanin ve Kızarıklık Seviyelerinin Ölçülmesi 68
4.11.5. Kırışıklık Değerleri 69
4.11.6. Anket Testi Sonuçları 70
4.12. İstatiksel Değerlendirme 70
5. TARTIŞMA 72
KAYNAKLAR 75
HAM VERİLER 78
FORMLAR 79
ETİK KURUL KARARI 93
PATENT HAKKI İZNİ 94
TELİF HAKKI İZNİ 95
İNTİHAL RAPOR FORMU 96
ÖZGEÇMİŞ 97

TABLOLAR LISTESI

Tablo 2. 1: Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Surfaktanlar 5
Tablo 2. 2: Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Kosurfaktanlar 6
Tablo 2. 3: Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Yağlar 6

Tablo 3. 1 : Etanol ve Tween 20 ile yapılan çalışmalar 22
Tablo 3. 2: Transcutol P ve Tween 20 ile Yapılan Çalışmalar 23
Tablo 3. 3: Transcutol P, Pluronic F68 ve Cremephor A25 ile yapılan çalışmalar (I) ... 23
Tablo 3. 4: Transcutol P, Pluronic F68, Sefsol 218 ve Cremephor A 25 ile yapılan çalışmalar 24
Tablo 3. 5: Transcutol P, Pluronic F68 ve Cremephor A25 ile yapılan çalışmalar (II).. 25
Tablo 3. 6: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (I) 25
Tablo 3. 7: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (II) 26
Tablo 3. 8: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (III) 27
Tablo 3. 9: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (IV) 27
Tablo 3. 10: Transcutol P ve Tween 80 ile yapılan çalışmalar 28

Tablo 4. 1 : Santrifüj Testi Sonucuna Göre Stabil Formülasyonlar……...35

Tablo 4. 2: 1:8 oranında stabilite testine alınan çalışmaların başlangıç damlacık boyutu değerleri 37
Tablo 4. 3: 1:10 oranında stabilite testine alınan çalışmaların başlangıç damlacık boyutu değerleri 38
Tablo 4. 4: Seçilen numuneler 39
Tablo 4. 5: Nanoemülsiyonların 40^0C %75 nem ortamındaki değişimleri 40
Tablo 4. 6: Nanoemülsiyonların 25^0C oda koşulundaki değişimleri 41
Tablo 4. 7: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki değişimleri 41
Tablo 4. 8:Isıtma-soğutma testinin damlacık boyutuna etkisi 42
Tablo 4. 9: Nanoemülsiyonların 2.ay sonundaki silimarin içeriği 45
Tablo 4. 10: Nanoemülsiyonların 3.ay sonundaki silimarin içeriği 46
Tablo 4. 11: UV Spektorofotometre'de absorbans değerleri 47
Tablo 4. 12: Seçilen konsantrasyondaki %RSD oranı 48

Tablo 4. 13: % Konsantrasyon değerlerine göre geri kazanım oranı..... 48
Tablo 4. 14: Kesinlik Sonuçları 48

ŞEKILLER LISTESI

Şekil 2. 1: Emülsiyon, nanoemülsiyon ve mikroemülsiyon görünümleri..... 3
Şekil 2. 2: Nanoemülsiyon yapısının bozulması..... 8
Şekil 2. 3: Nanoemülsiyon oluşumunda kullanılan yöntemlerin kullanım yaygınlığı 9
Şekil 2. 4: 2000-2010 yılları arasında ultrasonik emülsifikasyon yönteminin kullanım sayısı 11
Şekil 2. 5: Ultrasonik emülsifikasyon..... 12
Şekil 2. 6: 2000-2010 yılları arasındaki nanoemülsiyon uygulamaları 15
Şekil 2. 7: Silimarinin kimyasal yapısı 17
Şekil 4. 1: Silimarin'in Etanol:pH 7.4 fosfat tamponu (30:70) çözücü sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemleri…….. 47

SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESI

EPI: Emülsiyon Dönüşüm Noktası Yöntemi

H: Homojen

K: Karakterisitik

K: Koalesans

KFA: Kısmi Faz Ayrımı

OS: Opak-Sarı

PDI: Polidispersite İndeksi

PIT: Faz Geçiş Sıcaklığı Yöntemi

RSD: Relatif Standart Sapma

S: Sedimentasyon

S: Saydam

SE: Kendiliğinden Oluşan Emülsiyon

Smix: Yüzey etkin madde karışımı

TFA: Tam Faz Ayrımı

YF: Yağ Fazı

YS: Yarı Saydam

ÖZET

Akar, E. (2017). Silimarinin Nanoemülsiyon Formülasyonunun Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Etkinliğinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Kozmetoloji BD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Deve dikeni tohumlarından elde edilen silimarin etken maddesi kuvvetli bir antioksidandır. Cilt kuruluğu, kırışıklık, leke vb. gibi birçok cilt sorununu giderici özelliğe sahiptir. Deve dikeni tohumları Türkiye'de yaygınca bulunmaktadır.

Nanoemülsiyonlar 100-500 nm aralığında damlacık boyutuna sahip cilt ürünlerinde etken maddenin etkinliğini arttırmak amacıyla cildin alt tabakalarına nüfuz ederek uzun etki gösteren ve stabiliteyi arttıran taşıyıcı sistemlerdir.

Bu tez çalışmasının temel amacı cildin nemlendirilmesi, sebum dengesinin sağlanması, kırışıklık ve leke giderilmesi konusunda etkili topikal yolla kullanılacak, doğal antioksidan olan silimarini içeren kozmetik bir nanoemülsiyon formülasyonu oluşturmaktır.

Ultrasonikasyon yöntemi ile etken madde olan silimarin ve yüzey aktif maddeler farklı konsantrasyonlarda kullanılarak nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır.

Formülasyonlara ilk olarak santrifüj ve termal test uygulanmıştır. Herhangi bir bozunma göstermeyen formülasyonların pH değeri, viskozitesi, damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ölçülmüştür.Koku, görünüm gibi organoleptik değerlendirilmesi yapılmıştır.Stabil kalan formülasyonlara ısıtma soğutma testi uygulanmıştır.3 ay boyunca oda koşulu, etüv ve buzdolabında saklanmıştır. Başlangıçta, 1.ay, 2.ay ve 3.ay sonunda pH değeri, iletkenliği, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüştür ve organoleptik değerlendirilmesi yapılmıştır.

Yukarıda bahsedilen tüm testler sonucunda stabilite ve diğer değerlendirme kriterlerine göre stabil olan ve en uygun sonucu veren F41-2 kodlu formülasyon üzerinde gönüllü deneklerde etkinlik testleri yürütülmüştür.

%1 silimarin içeren F41-2 kodlu nanoemülsiyonun cildin nemlendirilmesi, kırışıklık ve lekenin giderilmesinde etkin olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Silimarin, nanoemülsiyon, deve dikeni tohumu, ultrasonikasyon, antioksidan

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 53854

ABSTRACT

Akar, E. (2017). Development, Characterization and Efficacy Assessment of Cosmetic Nanoemulsions of Slymarin. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Cosmetology Section, Master's Thesis, İstanbul.

Slymarin is a strong antioxidant that obtained from milk thistle. It removes skin problems like that dry skin, wrinkle, spot. Milk thistle commonly grows in Turkey.

Nanoemulsions are carrier systems that exhibit long-lasting effects and enhance stability in skin products with a droplet size range of 100-500 nm by penetrating into the skin's lower layers in order to enhance the effectiveness of the active substance.

In this thesis study, it is aimed to form a cosmetic nanoemulsion formulation containing silimarin which is the natural antioxidant to be used in an effective topical way to moisturize the skin, stabilize the sebum, and to treat wrinkles and skin spots.

Nanoemulsions with slymarin were prepared different concentrations with sonicaton method. At the beginning centrifuge and thermal test were applied. pH value, viscosity, droplet size and polydispersity index of formulations remaining stable were measured and organoleptic assessment was conducted. Each formulation that passed centrifuge and thermal test was kept in room condition, climate cabinet and refrigerator for three months. Measurement of pH value, conductivity, viscosity, droplet size, polydispersity index and zeta potential and organoleptic assessment were conducted at certain period of time. Heating and cooling test was applied to each formulation.

Efficacy tests were conducted on volunteer subjects on the F41-2-coded formulation, which is stable as a result of all of the above-mentioned tests, and which is stable according to the stability criteria and other evaluation criteria.

F41-2 containing 1% slymarin has been found to be effective in moisturising skin, removing wrinkles and blemishes.

Key words: Slymarin, Nanoemulsion, Milk Thistle , Ultrasonication, Antioxidant

This project was supported by Istanbul University Scientific Research Project Unit. Project No: 53854

1. GIRIŞ VE AMAÇ

Nanoemülsiyonlar son yıllarda hem kozmetik hem de farmasötik amaçlı kullanılabilen emülsiyon sistemleridir (Davarcı D . 2013; Tandros T. 2004;108-109:303). İç faz damlacık boyutları 100-500 nm. ebatında değişebilir ve şeffaf ya da yarı şeffaf görülen emülsiyonlardır. Nanoemülsiyonlar su/yağ ve yağ/su tiplerinde olabilir. Kinetik olarak kararlı termodinamik olarak dayanıksızdırlar (Fernandez P. 2004; 251: 53; Sznitowska M. . 2001; 12: 175). Nano boyuttaki damlacık boyutu yerçekimine üstün gelir böylece çökelme, flokülasyon, kremalaşma gibi yollarla stabilizasyonları bozulmaz faz ayrışması gözlenmez. Çünkü damlacıklar çok iyi dağılım gösterirler.

Nanoemülsiyon olarak hazırlanan preparatlar nano boyuttaki damlacıkları sayesinde deriden kolayca penetre olabilirler. Bu şekilde hedefteki etkin maddenin deriye nüfuzu daha etkili olarak sağlanmış olur. Köpük, krem, losyon, spray olarak formüle edilebilirler (Davarcı D . 2013; Tandros T. 2004;108-109:303).

Su/Yağ yada Yağ/Su emülsiyonları kozmetik ve farmasötiklerde, bu alanlardaki formülasyonlarda önemli role sahiptir. Günümüzde hem mikro hem de nanoemülsiyonlar kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılmakta ve bu alandaki çalışmalar her geçen gün ilerlemektedir (Davarcı D . 2013). Nanoemülsiyonların cilt tarafından kolayca absorbe edilmesi , oldukça yüksek konsantrasyondaki aktif maddeleri bile emülsiyon yolu ile salınabilir hale getirmesi onları kozmetik ve farmasötiklerde tercih edilebilir kılar (Holmberg K. 1994; 51: 137).

Deve dikeni tohumunda bulunan silimarinin antioksidan, antiinflamatuar özelliklerine sahip olmasından dolayı, topikal yolla uygulanması büyük önem kazanmıştır (Panapisal, V. ve ark. (2012) 13(2): 389-399). Bu etkileri sayesinde fotoyaşlanma, cilt kızarıklığı, kontakt dermatit, radyodermatit, cilt yaraları ve hiperpigmentasyon gibi problemlerin iyileştirilebileceği düşünülmektedir (Fehér, P. ve ark. (2011) 14(2):5-8). Fareler üzerinde yapılan çalışmalar bir diğer deve dikeni etkin maddesi olan silibinin oral yolla alındığında deri dokusundaki dağılımının çok düşük olduğunu göstermiştir (Hung, C. ve ark. (2010) 31: 118–126). Bu nedenle çalışmamızda silimarinin cilt üzerindeki etkilerinden yeterince faydalanabilmek için topikal uygulamaya yönelik en uygun formülasyonun belirlenmesi ve etkinliğinin gösterilmesi

amaçlanmaktadır. Kozmetik endüstrisinde özellikle yaşlanma karşıtı, cilt beyazlatıcı, nemlendirici ürünlerde kullanılma potansiyeli olan bu madde ile y/s tipi nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır. Silimarin içeren formülasyonların fiziksel stabilitelerini değerlendirmek amacıyla dondurma-çözme testi (freeze and thaw test) uygulanmıştır. Bu testin yanı sıra santrifüj testi ile fiziksel stabilite değerlendirilmiştir. Ayrıca, oda sıcaklığında , buzdolabında ve etüv sıcaklığında bekletilen formülasyonlardan belirli zaman aralıkları ile alınan numunelerde organoleptik kontroller, pH, viskozite ve silimarin içerik tayini yapılarak, fizikokimyasal stabilite araştırılmıştır . İn vitro salım çalışmalarının ardından en uygun sonucu veren formülasyon, etik kurul onayı alındıktan sonra birlikte gönüllüler üzerinde test edilmiştir. Dermatolojik testle ürünün ciltte iritasyon, yanma, kızarıklık, kaşıntı gibi yan etkileri olup olmadığı tespit edilmiştir. Ürünün cildi nemlendirme etkisi Corneometer® CM 825, ciltteki pigmentasyon düzeyi Mexameter MX 16, kırışıklık düzeyi Aroma TS ve cilt pH'ı SKIN-pHMETER 900® cihazları ile saptanmıştır. Uygulamanın ardından gönüllüler üzerinde, ürün ile ilgili çeşitli sorular içeren subjektif testte (anket) yapılmıştır. Sonuçta elde edilen yanıtlar ile çalışma istatistiksel yöntemlerle değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, ülkemizde doğal olarak yetişen devedikeninin kozmetik endüstrisinde kullanımına yönelik etkinliği ve güvenilirliği kanıtlanmış özgün bir ürün elde edilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BILGILER

2.1. Nanoemülsiyonlar

Emülsiyonlar birbiri ile karışmayan en az iki sıvının birbiri içerisinde damlacıklar halinde dağıldığı heterojen sistemlerdir. Nanoemülsiyonlar yağ ve su fazının bir surfaktan ile kombinasyonu sonucu oluşan termodinamik veya kinetik olarak stabil formda olan ve düşük damlacık boyutuna sabit olan sıvı dispersiyonlardır(Haritha ve ark.). Genel olarak nanoemülsiyonların damlacık boyutu 100-500 nm arasındadır(Sharma ve Sarangdevat 2012). Damlacık boyutu mikroemülsiyon ve normal emülsiyon arasındadır(Xin ve ark. 2011). Damlacık boyutu 100 nm'den küçük olan emülsiyon sistemleri mikroemülsiyon olarak sınıflandırılır. Mikroemülsiyon ve nanoemülsiyonların isimlendirilmelerinde mikrometre metrenin 10-6 katını ifade ederken, nanometre metrenin 10-9 katını ifade eder.



Şekil 2. 1: Emülsiyon, nanoemülsiyon ve mikroemülsiyon görünümleri

Nanoemülsiyonlar transparan bir görünüme sahiptir ve sedimantasyon, kremalaşma gibi problemlerin oluşmasına izin vermez. Bu yüzden nanoemülsiyonlar kimyasal, farmasötik , kozmetik gibi alanlarda çokça kullanılır.

Yağ içinde su ve su içinde yağ formunda çalışılabilir(Solans ve ark. 2005). Nanoemülsiyonlar yağ fazı, surfaktanlar veya emülgatörler, aktif içerikler ve diğer katılan içeriklerden oluşur. Yağ fazı temel olarak doğal ve sentetik lipitler, yağ asitleri, orta ve uzun zincirli trigliseritlerden oluşur. Çoğunlukla kullanılan emülgatör ve yardımcı emülgatörler ise doğal ve modifiye edilmiş lesitinler, polietilenoksit, gliseritler

ve artı yüklü lipitler, PEG türevleridir. Antioksidanlar, pH ayarlayıcılar, koruyucularda ek olarak eklenen bileşenlerdir(Abamaali ve ark. 2011). Nanoemülsiyonlar küçük damlacık boyutuna rağmen uzun süreli fiziksel stabiliteye sahiptir(Xin ve ark.2012). Nanoemülsiyonlardaki yapıların görünür dalga boylarından daha küçük olmasına bağlı olarak nanoemülsiyonlar optik olarak transparan görünürler (Mason ve ark. 2006). Koenzim Q10 içeren nanoemülsiyonlarla ilgili yapılan bir çalışmada, 100 nm'den daha büyük damlacıklar içeren nanoemülsiyonlar beyaz görünürken, 70-100 nm civarı damlacıklar içeren dispersiyonların opak göründüğü, bunun altındakilerin ise saydam olduğu fark edilmiştir (Zuelli ve ark. 2006).

2.1.1. Nanoemülsiyonların Avantajları

Nanoemülsiyonlar kozmetik&ilaç sektöründe kullanımı yaygın olan ve tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemin tercih edilme sebepleri aşağıdaki gibidir:

-Nanoemülsiyonlar aktif maddenin absorpsiyon oranını arttırır (Xin ve ark.2012).

-Absorpsiyon değişkenliğini, çeşitliliğini elimine eder (Xin ve ark.2012).

-Lipofilik ilaçların çözünmesine yardımcı olur (Xin ve ark.2012).

-Lipofilik ilaçların uzatılmış salımını sağlar (Abamaali ve ark. 2011).

-Kontrollü damlacık büyüklüğü sağlar(Abamaali ve ark. 2011).

-Biyoyararlanımı arttırır (Xin ve ark.2012).

-Topikal, oral veya damariçi uygulamalarda kullanılabilir (Xin ve ark.2012).

-Nanoemülsiyonlar koku maskelemede kullanılabilir. (Dalo 2017).

-Krem, sıvı, sprey ve köpüklerin nanoemülsiyon formu hazırlanabilmektedir (Dalo 2017).

-Nanoemülsiyonlar deriden aktif maddelerin etkin taşınmalarında uygun sistemlerdir. (Dalo 2017).

-Kozmetik ürünlerde cilt hidrasyonu sağlar (Abamaali ve ark. 2011).

-Kozmetik ürünlerde iyi yayılım gösterir ve iyi duyumsal özelliklere sahiptir (Abamaali ve ark. 2011).

2.1.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları

-Nano damlacıkların stabilizasyonu için yüksek konsantrasyonda surfaktanlar ve kosurfaktanlar kullanılabilir.

-Damlacık boyutu küçültülmesinin çok zor olması ve özel aletler ve işlemler gerektirmesi nanoemülsiyon formülasyonunu pahalı bir proses haline getirmektedir. Nanoemülsiyonların hazırlanabilmesi için yüksek basınçlı homojenizatör gibi pahalı cihazlara gereksinim duyulabilir.

-Nanoemülsiyonlarla ilgili bir diğer problem ise stabilitedir. Her ne kadar genelde bu sistemlerin yıllarca stabil kaldığı kabul edilse de çok küçük damlacık boyutundan dolayı Ostwald olgunlaşmasının nanoemülsiyonlara hasar vererek uygulanmalarını kısıtladığı rapor edilmiştir(Xin ve ark.2012).

- Eriyebilirlikleri yüksek maddeler içim kısıtlı çözünme kapasitesi mevcuttur.

- Nanoemülsiyon stabilitesi, pH ve sıcaklık gibi çevre koşullarından etkilenebilir.

-Submikron damlacıkların üretim mekanizmalarının ve sürfaktan ve kosürfaktan rolünün açıklanmasında eksiklikler vardır.

-Nanoemülsiyon üretimine dahil ara yüzey kimyasının açıklanmasında eksiklikler görülmektedir (Chime ve ark. 2014 pp. 89-90).

2.1.3. Nanoemülsiyonların Bileşimi

Nanoemülsiyonlar 3 temel bileşenden oluşur:

-Su

-Yağ

-Surfaktan / Kosurfaktan

Tablo 2. 1: Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Surfaktanlar

Numara	Surfaktanlar
1	Capryol 90
2	Gelucire 44/14, 50/13
3	Cremopher RH 40
4	Imwitor 191, 308 (1) ,380, 742, 780 K, 928, 988

5	Labrafil M, 1944 CS, M 2125 CS
6	Lauroglycol 90
7	PlurolOleique CC 497
8	Poloxamer124 , 188
9	Softigen 701,767
10	Tween 80
11	PEG MW>4000

Tablo 2. 2: Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Kosurfaktanlar

Numara	**Kosurfaktan**
1	Transcutol IP
2	Gliserin, Etilen Glikol
3	Propilen Glikol
4	Etanol
5	Propanol

Tablo 2. 3: Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Yağlar

Numara	**Yağlar**
1	Captex 355
2	Captex 200
3	Captex 8000
4	Witepsol
5	Myritol 318

6	Isopropil miristat

2.2. Nanoemülsiyonların Fiziksel ve Kimyasal Yapısı

2.2.1. Fiziksel Yapı ve Kararlılık

Nanoemülsiyonlar, termodinamik olarak kararsız sistemlerdir.Bu yüzden emülsiyonların kararlılığı farklı şekillerde bozulabilinmektedir. Bunlar Ostwald damlacık büyümesi, koalesans, flokülasyon,sedimentasyon (çökme),kremalaşma ve faz değişimidir(Erdal 2009).

- **Ostwald Damlacık Büyümesi:** Emülsiyon içerisinde dağılmış halde bulunan ufak damlacıkların zaman içerisinde çözünerek emülsiyon damlacık çapının büyük bir hal almasıdır.(Erdal 2009)
- **Koalesans:** Sürekli fazda yer alan filmlerin parçalanması ve iki damlacığın bir araya gelerek büyük tek bir damlacığa dönüşmesidir. (Erdal 2009, Mason ve ark. 2006).
- **Kremalaşma / sedimentasyon:** Çökme (sedimentasyon), iç fazda yer alan damlacıklarının emülsiyon içerisinde aşağıya doğru hareket etmesi olarak tanımlanırken, kremalaşma bu durumun tersine iç fazda yer alan damlacıklarının yukarıya doğru hareket etmesidir.(Erdal 2009). Seyreltik sistemler için, kremalaşma/ sedimentasyon hızları Stokes eşitliği ile verilmektedir:

$v = 2r2 (\rho - \rho 0) g / 9\eta$,

r damlacık/ damlacık yarı- çapı,

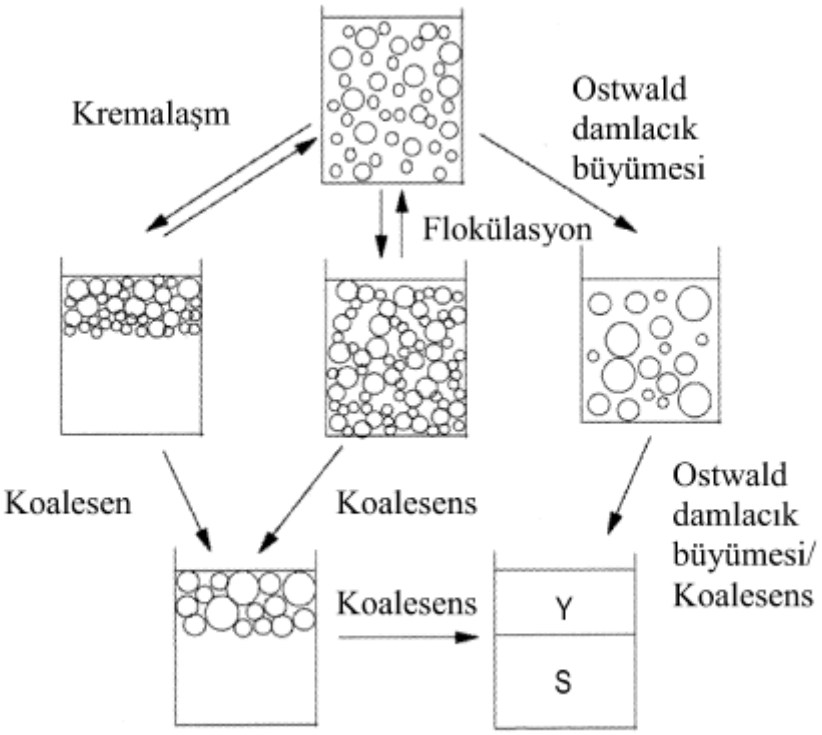
η dış fazın viskozitesi,

ρ iç faz damlacıklarının yoğunluğu,

$\rho 0$ dış faz damlacıklarının yoğunluğu,

g yer çekimi ivmesidir (9.8 m/s2)(Velikov ve ark. 2008).

- **Flokülasyon:** Emülsiyon içerisinde dağılmış halde bulunan damlacıkların birleşmesidir (Erdal 2009).
- **Faz Değişimi:** Emülsiyonda faz değişimi probleminin gözlemlenmesidir. Faz oranı, kullanılan yüzey aktif maddeler, kullanılan konsantrasyonlar faz değişimi problemine sebebiyet verebilir (Erdal 2009).



Şekil 2. 2: Nanoemülsiyon yapısının bozulması

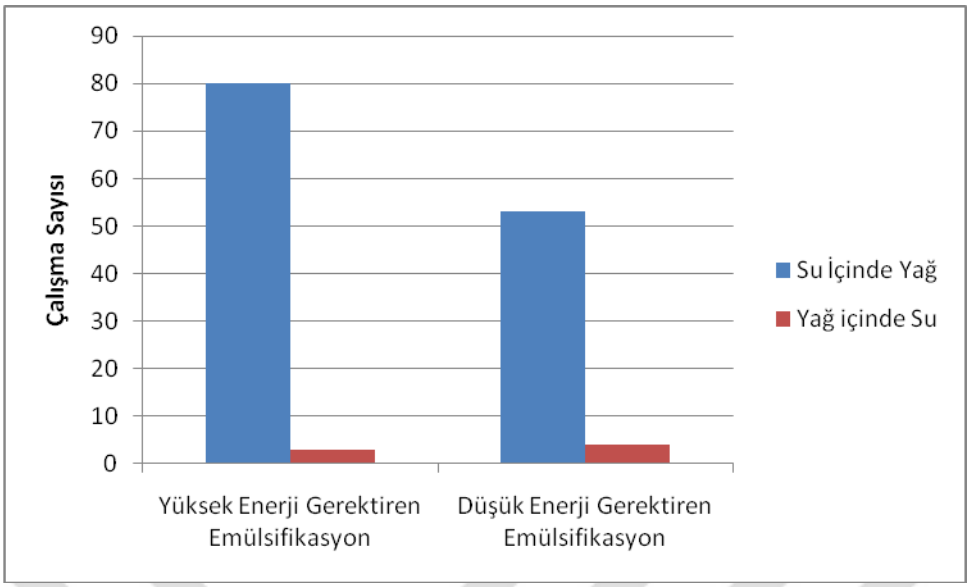
2.3. Nanoemülsiyonun Elde Edilmesi

Nanoemülsiyonun oluşturulmasında 2 temel yaklaşım vardır:

Bunlar yüksek enerji gerektiren yöntemler ve düşük enerji gerektiren yöntemlerdir.

Yüksek enerji gerektiren yöntemlerde yüksek hızlı karıştırıcılar, yüksek basınçlı homojenizatörler ve ultrasonik jeneratörler kullanılır.Bu yöntemde amaç yüksek mekanik enerji kullanarak damlacıkların küçülmesini sağlar.yöntemleri kapsar.Başka bir kaynakta yukarıdan aşağıya yaklaşımı olarakta ifade edilir (Solans ve ark. 2005).

Düşük enerji gerektiren yöntemler; “faz dönüşüm sıcaklığı (PIT)” ve “emülsiyon dönüşüm noktası (EIP) yöntemleridir (Ayata 2010). Bu yöntemlerde sistemde yer alan bileşenlerin kimyasal enerjisi ve sistemin fizikokimyasal özellikleri kullanılır. Başka bir kaynakta ise aşağıdan yukarıya yaklaşımı olarak geçer (Solans ve ark. 2005).



Şekil 2. 3: Nanoemülsiyon oluşumunda kullanılan yöntemlerin kullanım yaygınlığı

2.3.1. Yüksek Enerji Gerektiren Yöntemler

Nanoemülsiyon yapılarının oluşması için sisteme yüksek enerji vermek adına yüksek hızlı karıştırıcılar, yüksek basınçlı homojenizatörler ve ultrasonik sistemler kullanılır.

2.3.1.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon

Nanoemülsiyonların hazırlanmasında yüksek basınçlı homojenizasyon işlemi için yüksek basınç homojenizatörler kullanılır.Bu homojenizatörler 50-100 MPa basınçla çalışırlar.Yüksek basınçlı homojenizasyon yönteminde sıvı ürün, yüksek kayma gerilimine maruz bırakılarak çok ufak emülsiyon damlacıkları elde edilir.

Bu metotta yağ fazı, su fazı ve surfaktan+kosurfaktan fazına sahip sistem üzerine yüksek basınç uygulanır. Basınç, homojenizatör yardımı ile uygulanır. Homojenizatör kullanımında da fazla ısınma sonucunda bileşenlerin bozulması veya verimliliğin az olması gibi problemlerle karşılaşılabilir. Bu metod sadece %20 den az yağ fazı içeren su içinde yağ sıvı nanoemülsiyonlarda uygulabilir. Yüksek viskoziteli krem nanoemülsiyonlarda veya damlacık boyutunu 200 nm altına indirmenin zor olduğu yapılarda uygulanmayabilir (Haritha ve ark.).

Yuan ve ark.(2008) β-carotene ile yaptıkları çalışmada su içerisinde yağ nanoemülsiyonunu hazırlarken yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemini kullanmışlardır. Zetasizer ve Turbinscan ile hazırlanan nanoemülsiyondaki emülgatör çeşidi ve konsantrasyonu, uygulanan homojenizasyonun basıncı, sıcaklığı ve siklüs

sayısı gibi parametreleri incelemişlerdir.Tween 20 ile hazırlanan nanoemülsiyonlarda daha küçük damlacık boyutu elde edilmiştir.Aynı zamanda uygulanan homojenizasyonun basınç, sıcaklık ve siklus sayılarının artmasıyla nanoemülsiyonun damlacık boyutu küçülmüştür (Dalo 2017).

2.3.1.2. Mikrofluidizasyon (Kolloid Mil)

Mikrofluidizasyon işlemleri sıvıların, sıcak eriyiklerin ve diğer yumuşak agregatların akım indüklü kaymasını kullanmaktadır.Yüksek basınç pompası kullanılır.Böylece işlenmiş bu maddelerin nano boyutta dispersiyonu elde edilmektedir(Acoste 2009).Önceden karıştırılmış olan emülsiyon hızlı bir şekilde sert, paslanmaz çelik mikro kanallara doğru zorlanmaktadır (Mason HG ve ark. 2006). Ürün koalesansa karşı stabilize edilmelidir. Hızlı soğutma, püskürtmeli kurutma, solvent evaporasyonu ve stabilize edici ajan olarak hidrokolloid kaplamaların, sıvı kristallerin ve surfaktanların kullanılması gibi birçok alternatif, ürünü agregasyona karşı korumak için kullanılabilinmektedir (Acoste 2009).

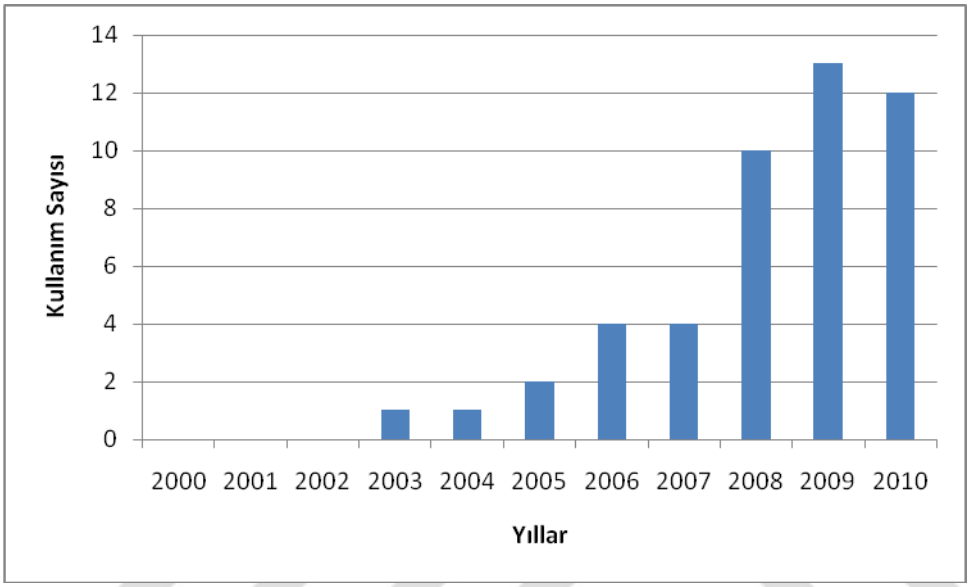
Goh ve ark.(2015) yaptıkları çalışmada mikrofluidizasyon yöntemini kullanarak palmiye bazlı tokotrienolce zengin nanoemülsiyon formülasyonu hazırlamışlardır. Hazırladıkları nanoemülsiyon formülasyonda Tween serisini kullanmışlardır. 25000 psi basınç ve 10 siklüs uygulayarak hazırlanan nanoemülsiyonun damlacık boyutu 100 nm'nin altındadır (Dalo 2017).

2.3.1.3. Ultrasonik Emülsifikasyon

Ultrasonik, insan kulağının duyamayacağı kadar yüksek frekanstaki ses dalgalarıdır(>18 kHz). Ultrasonik emülsifikasyon birbiri ile karışmayan iki sıvı surfaktan varlığında ultrasonik bir enerji alanına getirildiklerinde oluşmaktadır.Ultrasonik metotlarda titreyen katı bir yüzey, premiks emülsiyonunu genellikle 20 kHz veya daha fazla ultrasonik frekansta ve yüksek güçte karıştırmaktadır.Böylece taneciklerin parçalanmasını sağlayacak ekstrem kayma ve kavitasyon sağlanmaktadır (Mason HG ve ark. 2006). Ultrasonik emülsifikasyon damlacık boyutlarının küçültülmesinde etkilidir.Fakat sadece küçük partiler için uygundur (Solans ve ark. 2005).

Ultrasonik emülsifikasyon 2 mekanizmadan oluşur. Birincisi, stabil olmayan ara yüzey dalgalar oluşturarak yağ fazının su fazı içersine geçmesini sağlar. İkincisi ise hafif ses dalgalarının basınçlarıyla mikro damlacıklar elde etmektir. Herbir damlacık basınçla patlarken yüksek oranda türbülans oluşturur.Bu türbülansta damlacıkları daha da

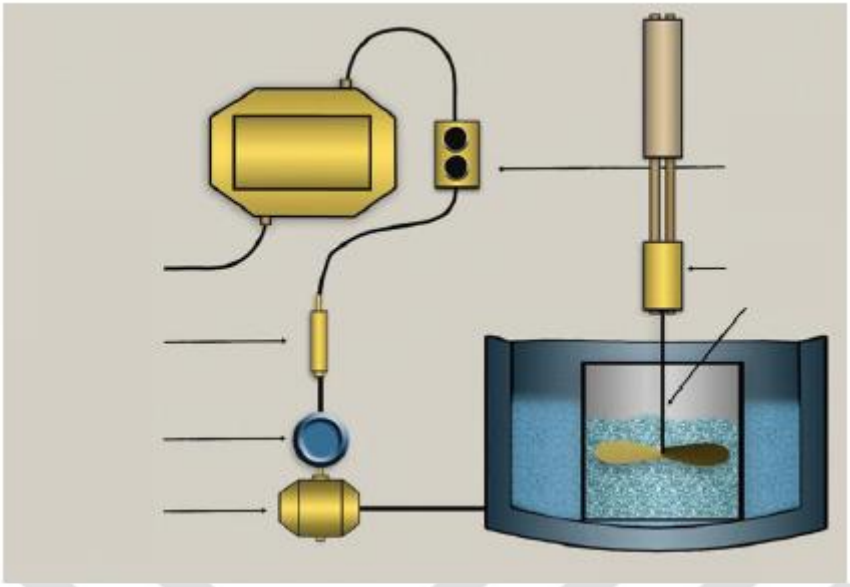
parçalayarak yağların su içerisine hapsolmasını sağlar (Kentish ve ark.2007). Ultrasonik emülsifikasyon, yüksek basınç kullanılarak yapılan homojenizasyon işlemine alternatif bir metoddur. Nanoemülsiyon için yoğun bir kesme kuvvetine ihtiyaç duyulur bu da şiddetli ve asimetrik olarak damlacıklara vakum gönderen, damlacıkları nanometre skalasına kadar parçalayan ultrasonik homojenizatör ile sağlanır (Haritha ve ark.).



Şekil 2. 4: 2000-2010 yılları arasında ultrasonik emülsifikasyon yönteminin kullanım sayısı

Li ve Chiang (2012) D-Limonen ile gerçekleştirdikleri çalışmada ultrasonik emülsifikasyon yöntemi kullanarak nanoemülsiyon formülasyonu hazırlamışlardır.Yüzey aktif madde olarak sorbitantrioleat ve polioksietilen 20 oleil eter kullanmışlardır.18 W güçte ve 120 saniye ultrasonik emülsifikasyon işlemi uygulanarak 100 nm'nin altında damlacık boyutuna sahip olan nanoemülsiyonlar elde edilmiştir.

Mikrofluidizasyon ve ultrasonic emülsifikasyon yöntemlerinin kıyaslandığı bir çalışmada yine D- Limonen'in Y/S nanoemülsiyonu hazırlanmıştır.Nanoemülsiyon hazırlanırken her iki yöntemde kullanılmıştır ve 150-700 nm aralığında nanoemülsiyonlar elde edilmiştir.Fakat her iki yöntemi kıyaslandığında ultrasonik emülsifikasyonun uygulama kolaylığı ve cihazın temizlenmesi açısından daha tercih edilebilir olduğu belirtilmiştir (Jafari ve ark.2006).



Şekil 2. 5: Ultrasonik emülsifikasyon

2.3.2. Düşük Enerji Gerektiren Yöntemler

Nanoemülsiyon oluşumunda kullanılan düşük enerji yönteminde herhangi özel bir ekipmana ihtiyaç duyulmaz. Surfaktan, yağ ve sudan oluşan sistemde sıcaklık gibi parametreler değiştirilerek basit karıştırma prosedürleri kullanılarak nanoemülsiyonlar elde edilir. Düşük enerji metodu düşük maliyetli olduğundan dolayı tercih edilebilir.

Nanoemülsiyon hazırlarken düşük enerji yöntemler gerektiren membran emülsifikasyonu, faz geçiş sıcaklığı yöntemi (PIT) ve emülsiyon dönüşüm noktası yöntemidir.

2.3.2.1. Membran Emülsifikasyonu

Membran emülsifikasyon, sürekli bir faz içerisinde (örneğin su veya yağ), membran aracılığı ile dağınık bir fazın (mesela yağ veya su) oluşmasıdır. Geleneksel türbülans yöntemlerine göre, daha az surfaktana gerek duyan az enerjili bir işlemdir ve boyut dağılım aralığı dardır .Bu uygulama için en küçük membran gözenek boyutu 50 nm civarındadır.Bazı araştırmacılar, son emülsiyonun damlacık boyutunun genelde membranın gözenek boyutunun 2-10 katı olduğunu, bazı araştırmacılar ise membranın gözenek boyutundan daha küçük boyutta damlacıklar elde etmenin mümkün olduğunu ileri sürmektedirler (Augustin 2006).

2.3.2.2. Faz Geçiş Sıcaklığı (PIT) Yöntemi

Bu yöntem kimi araştırmacılar tarafından nanoemülsiyon eldesinde geçerli olmayan bir yöntem iken kimi araştırmacılar ise bu yöntemi benimsemiştir.Yöntem, polioksietilen tipi iyonik olmayan surfaktanların sıcaklık ile çözünürlüklerindeki değişimlere bağlıdır.Bu tarz surfaktanlar, sıcaklığın artması ile beraber polioksietilen zincirlerinin dehidrasyonu sonucu lipofilik olurlar (Solans ve ark. 2005). PIT emülsifikasyon yöntemi, HLB sıcaklıklarında sağlanan düşük ara yüzey geriliminden faydalanır. Fakat koalesans hızı oldukça büyüktür.HLB sıcaklıklarında hazırlanan emülsiyonlar hızlı ısıtma ve soğutma ile oldukça küçük boyutta damlacıklara ve dar bir aralıkta boyut dağılımına sahip stabil emülsiyonlara dönüşmektedir (Solans ve ark. 2005).

PIT yöntemi ile emülsiyon hazırlamak istersek, sistemi faz dönüşüm sıcaklığının yaklaşık 2-4 ^{0}C altına ısıtmamız gerekir. Isıtmayla birlikte sistemin yüzey gerilimi düşer ve sistem hızlı bir şekilde soğutularak bozulma engellenir.Böylece küçük damlacıklar elde edilir (Ayata 2010).

Puglia ve ark.(2010) yapmış oldukları çalışmada PIT yöntemi ile gliserritik asit içeren Y/S nanoemülsiyon formülasyonu hazırlamışlardır.Hazırladıkları nanoemülsiyonun damlacık boyutu ve stabilitesi incelenip, in vivo ve in vitro çalışmaları yapılmıştır. Faz Elde edilen nanoemülsiyonlar 210 nm damlacık boyutuna sahip olup, 5 hafta boyunca oda sıcaklığında stabil kalmıştır. İn vitro ve in vivo çalışma sonuçlarında ise nanoemülsiyon normal emülsiyonla kıyaslanmış olup, nanoemülsiyonun transdermal geçişi arttırdığını gözlemlenmiştir

2.3.2.3. Emülsiyon Dönüşüm Noktası Yöntemi (EIP)

Nanoemülsiyon oluşumu için herhangi bir sıcaklık değişimine gerek olmadan elde edilen yöntemlerdir. Bu yöntemler SE olarak bilinen kendiliğinden oluşan emülsiyon ve EIP olarak bilinen emülsiyon faz değişim sıcaklığıdır.

Nanoemülsiyonun SE metodla elde edilmesinde 3 yöntem kullanılır. Bunlar;

-Yağ ve suyu karıştırarak ve su ve çözücüyü birlikte karıştırarak

-Yağ, hidrofiliksurfaktan ve su+çözücüyü sulu fazla karıştırmak

-Yağın hidrofiliksurkatana eklenmesi ve sulu faza ilave edilip karıştırılması

Nanoemülsiyonun EIP metodu ile elde edilmesinde sulu fazı yağ ve hidrofilik surfaktan içeren organik fazın damla damla eklenmesidir. Bu yöntem ilk olarak yağ içinde su

sonra yağ içinde su içinde yağ ve su içinde yağ metodları için kullanılır(Xin ve ark. 2012).

Bu metod ile herhangi bir sıcaklık ya da organik çözücünün kullanılmasına gerek duyulmaz ve oda sıcaklığında nanoemülsiyon oluşturulabilir.

2.4. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu

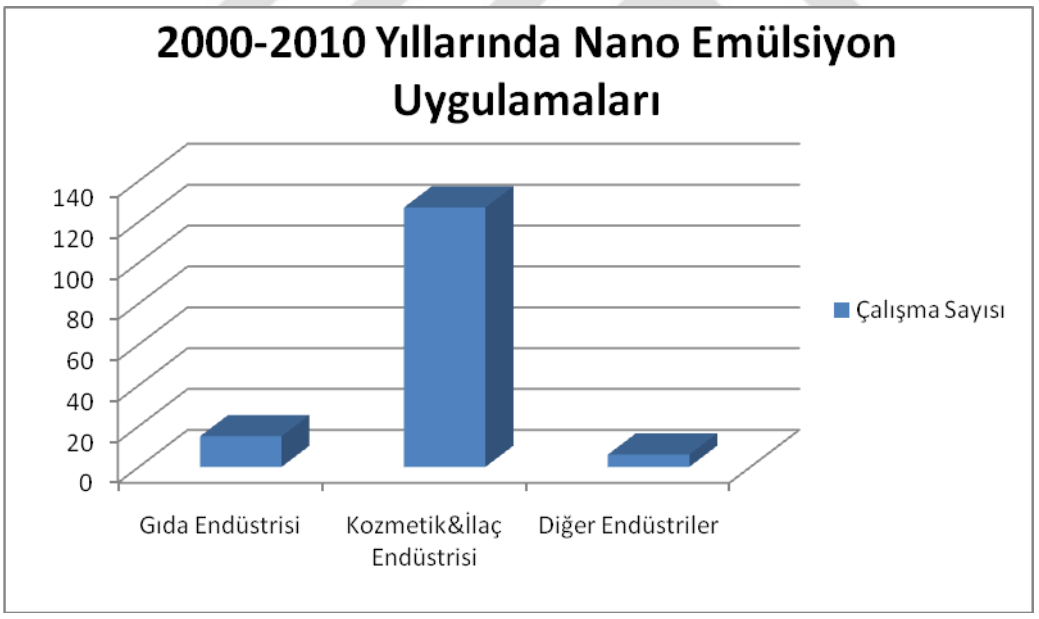
Nanoemülsiyonların karakterizasyonu incelenirken pH değeri, viskozitesi, iletkenlik değeri, damlacık boyutu, zeta potansiyeli, polidisperiste indeksi üzerinde değerlendirmeler yapılır. (Mishra ve ark. 2014).

- **Morfoloji:**Nanoemülsiyonların morfolojisi ve yapısını incelemek için transmisyon elektron mikroskobu kullanılır. (Mishra ve ark. 2014).Taramalı elektron mikroskobu kullanılarakta nanoemülsiyonun damlacıklarının şekli ve yüzey özellikleri hakkında bilgi edilinebilinir.Uygun maliyetli olan bu mikroskoplarla nanoemülsiyonların morfolojisi incelenebilir. (Hatziantonioua ve ark. 2007).Aynı zamanda X-ray ve atomik güç mikroskopisi gibi yöntemlerlede nanoemülsiyonların yapıları incelenebilir.
- **Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve ZetaPotansiyeli:**Bu parametreleri analiz etmek içim foton korelasyon spektroskopisi kullanılır. Bu cihazlaaynı zamanda dispersiyonun kalitesini belirten polidispersite indeksi hakkında da bilgi edinebiliriz. (Lovelyn ve Attama 2011).
- **Viskozite:**Viskozite değeri viskozimetre ölçümü ile belirlenir.Nanoemülsiyonun viskozitesi kullanılan yüzey aktif madde oranı, yağ-su fazlarının bileşim oranlarıyla belirlenir. Nanoemülsiyonlar genellikle düşük viskozite değerlerine sahiptirler.(Lovelyn ve Attama 2011).
- **İn vitro deriden salımı:**Nanoemülsiyonların salımı Franz difüzyon hücresi ile gözlemlenir ve yarı geçirgen membranlar kullanılır. Franz difüzyon hücresinin donör bölümüne formülasyon koyularak, reseptör fazına geçişi incelenir. Hücreler magnetik karıştırıcıda 100 rpm hızda, 37±1°C'de karıştırılır. Belirlenen zamanlarda reseptör ortamdan 1 ml'lik örnekler alınır ve ortamın eşdeğer miktarıyla değiştirilir. Alınnan örnekler 0,22-50 μm'lik filtrelerden süzülür ve en fazla absopsiyonu gösterdiği dalga boyunda HPLC veya UV-Vis spektroskopide örnekler okutularak etken maddenin salımı hakkında bilgi edilinir. In vitro salımlarda yarı geçirgen membranlar kullanılır. (Lovelyn ve Attama 2011).

İn vivo biyoyarlanım çalışmaları: İn vivo salım çalışmaları canlı hayvanlar üzerine formülasyonun uygulanmasıyla gerçekleşir ve genellikle canlı haycan olarak sıçanlar kullanılır.Sıçanlardan belli zaman aralıklarında kan örnekleri alınarak santrifüj edilir. Proteinlerden arındırılan plazma HPLC'de okutularak formülasyonun içeriği belirlenir (Zhao ve ark. 2013).

2.5. Nanoemülsiyon Uygulamaları

Nanoemülsiyon formülasyonları sahip olduğu kontrollü bir şekilde etkin maddeyi taşıma, düşük yüzey aktif madde kullanımı gibi başlıca özellikleri sayesindekozmetik & ilaç endüstrisinde daha çok kullanılıyor olup, gıda ve diğer endüstrilerde kullanılmasına rağmen kozmetik & ilaç sektöründeki yaygınlığı henüz yakalayamamıştır. Nanoemülsiyonların düşük yüzey etkin madde kullanılarak oldukça küçük damlacık boyutuna sahip olmaları ve sergiledikleri yüksek stabilitede tercih edilme sebepleri arasındadır.



Şekil 2. 6: 2000-2010 yılları arasındaki nanoemülsiyon uygulamaları

Nanoemülsiyonlar kozmetiklerin kontrollü taşınmasını sağlamaktadır ve belirli cilt katmanlarına aktif maddelerin dağılımını optimize etmektedir. Nanoemülsiyonlar, lipozomlara benzer şekilde aktif maddelerin cilt penetrasyonunu destekledikleri için ciltteki konsantrasyonlarını arttırırmaktadır. Diğer avantajları arasında cilde aktif maddelerin etkin transportuna izin veren geniş yüzey alanlı küçük damlacık boyutuna

ve biyoaktif etkilere sahip olması ve transepidermal su kaybını azaltabilmesi gibi özellikler yer almaktadır. Bu etkiler sayesinde nanoemülsiyonlara gün geçtikçe artan bir ilgi mevcuttur.

Hu ve ark.(2012) yaptıkları çalışmada silikon, Tween 80 ve Span 80 kullanarak saç için Y/S nanoemülsiyon formülasyonu oluşturmuşlardır. Nanoemülsiyon formülasyonlar klasik emülsiyon formülasyonu kıyaslandığında nanoemülsiyonun silikonu saçta daha fazla depoladığı gözlemlenmiştir.

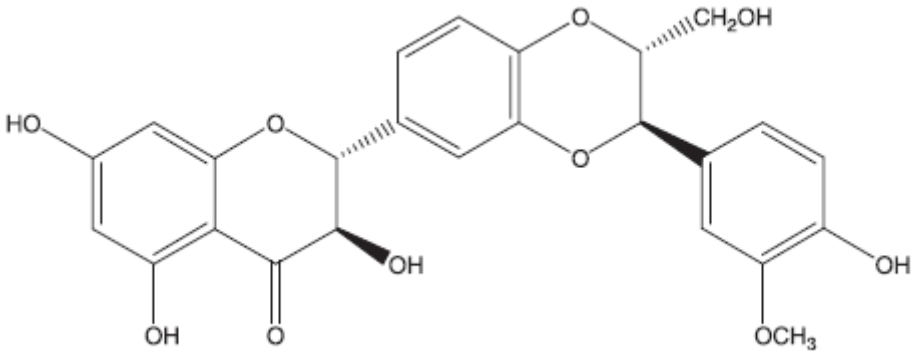
Yılmaz ve Borchert'in 2005 ve 2006 yıllarında yapmış olduğu çalışmada formülasyonun lipit içeriğinin ve hazırlanan nanoemülsiyonun yükünün cilt hidrasyonu, esnekliği ve kızarıklığı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Hazırlanan formüller 14 kadın denek üzerinde değerlendirilerek kıyaslama yapılmıştır. Formüller hazırlanırken yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi kullanılmıştır. Lipit içeren formülasyonlar lipit içermeyen formülasyona kıyasla daha düşük cilt nemi ve esnekliği değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Zhou ve ark.(2009) ise yapmış oldukları çalışmada sentetik surfaktan içermeyen nanoemülsiyon formülasyonu geliştirmişlerdir. Etken madde olarak lesitini kullanmışlardır. Y/S olarak hazırlanan bir kreme lesitinin nanoemülsiyonu ilave edildiğinde cildin nem değeri yüksek miktarda artmıştır. Sıçanlar derisi üzerinde yapılan çalışmanın sonuçlarında da olumlu veriler elde edilmiştir.

2.6. Silimarin ve Silimarinin Kozmetikte Kullanımı

Silimarin deve dikeninden elde edilen aktif bir bitki ekstresidir (Tırnaksız, F. 2006). Deve dikeni ekstreleri %70–80 silimarin içerir. Flavonoid yapısına sahiptir. Flavonoidlerin en iyi bilinen bileşiğidir. Silimarin başlıca silibinin yanı sıra silidiyanin ve silikristin gibi diğer stereoizomerleri içermektedir (Datner A.). Silimarin bileşenlerinin yapısı 1960'larda aydınlatılmıştır

Yaklaşık 2000 senedir karaciğer ve safra kesesi hastalıklarını tedavi etmek ve toksinlerin zararlarından karaciğeri korumak amacıyla geleneksel bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Tırnaksız 2006, Fraschini ve ark. 2002).



Şekil 2. 7: Silimarinin kimyasal yapısı

Etki mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak, literatürdeki veriler silimarinin dört farklı şekilde etkisi olduğunu göstermektedir:

(i) antioksidanlar, hücre içi glutatyon içeriğini temizleyiciler ve düzenleyiciler olarak,

(ii) hepatotoksik ajanların hücreye girmesini önleyerek, hücre zarı stabilizatörleri ve geçirgenliği düzenleyiciler olarak,

(iii) rRNA sentezini harekete geçirip karaciğer rejenerasyonunu uyarıcı olarak,

(iv) hepatositlere koruyucu etkiyi sağlayan kilit mekanizma, serbest radikal süpürücü olarak etki etmektedir (Fraschini, F. 2002)

Silimarin dejeneratif nekroz ve işlevsel bozulma ile karakterize olan pek çok karaciğer bozukluklarının tedavisi için kullanılır. Amanita phalloides türü mantar zehirlenmesine karşı karaciğer hücrelerini koruyucu etki sağlar. Tiyoasetamid, halotan ve karbon tetraklorür, bileşik iskemi, radyasyon, aşırı demir yükü ve viral hepatit nedeniyle oluşan hepatosit hasarına karşı koruyucu etkisi vardır (Fraschini, F. 2002). E vitamini, Silimarin olioresin tabanı ile ek antioksidan içeren bir krem formülasyonunun, rosacea ile ilişkili kızarıklığı azaltmak için tasarlandığı kayıtlıdır (Datner A.).

Silimarin, antipuritik etki için de kullanılır. Bu amaç için topikal silimarin preparatı konusunda bir patent bulunmaktadır. Silimarinin aynı zamanda mast hücre degranülasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir, kısmen bu antipruritik etkisine sebep olmuştur (Datner A.).

Silimarin ayrıca kan temizleyici özelliğe sahip olup; sedef hastalığı için kullanılır. Karaciğerin temel görevlerinden olan infilitrasyon özelliğinden dolayı sedef hastalığı tedavisinde etkindir. Silimarinin bir dizi in vitro ve hayvan sistemlerinde anti-tümör etkileri olduğu gösterilmiştir, karsinogenez önlemede potansiyel yararları olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, silimarinin kimyasallarlaindüklenen, fare deri tümör

modelinde, tümör promosyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Datner A.). Silimarin güçlü bir antioksidandır. Dermatolojide metotreksat toksisitesi ve hepatik porfirilerde kullanılabilir. Farelerde topikal silimarinin kimyasal karsinojenlerin neden olduğu deri kanserlerini önlediği gösterilmiştir (Datner A. ; Eberlein-König 38:45-48 ,1998).

Bitkisel kaynaklı kozmesötiklerin çoğu güçlü bir antioksidan özelliği gösterir. Son zamanlarda, silimarinin antioksidan, antiinflamatuar ve immün sistemi düzenleyici etkilerinden ötürü, topikal yolla uygulanması büyük önem kazanmıştır (Datner A.). Bu etkileri sayesinde fotoyaşlanma, cilt kızarıklığı, kontakt dermatit, radyodermatit, cilt yaraları ve hiperpigmentasyon gibi problemlerin iyileştirilebileceği düşünülmektedir (Katiyar 2005). Deve dikeninden elde edilen bitkisel bu bileşenin UVA ve UVB ışınlarının cildimizde sebebiyet verdiği birçok cilt sorununa yönelik bitkisel bir çözüm olabileceği yapılan bilimsel çalışmalarla destekler niteliktedir. Özellikle UV ışınına maruziyet sonucu ortaya çıkan cilt kırışıklıklarının giderilmesinde önemli rol oynar ve güneş kremleri ya da cilt losyonlarının silimarin ile kombinasyonu sonucunda cildi zararlı etkenlere karşı korur. Silimarin ekstraktı içeren yağ içinde su emülsiyon yapılı cilt kremi, cildi nemlendirme etkisine sahip olup cildin içerdiği nem düzeyini arttırır (Fischer ve ark. 1997). Ayrıca transepidermal su kaybınıda önlediği gözlemlenmiştir. Yine silimarin ekstrakti içeren yağ içinde su emülsiyon yapılı cilt kreminin ciltteki melanin seviyesini düşürdüğü saptanmış olup, kızarıklık eritem gibi antiinflamatuar etkileri düşürdüğü saptanmıştır.(Rasulet.ve ark.,2012) Fareler üzerinde yapılan çalışmalar silibinin oral yolla alındığında deri dokusundaki dağılımının çok düşük olduğunu göstermiştir (Fraschini ve ark. 2002).

Silimarin emülsiyonunun kadın denekler üzerinde yapılan bir çalışmada, deri esnekliğini artırdığı ve kırışıkların derinliğinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Tırnaksız F., 2006). Silimarinin kozmetik preparatlarda anti-aging ve güneş koruyucu kremlerde kullanımı incelenmektedir.

Yaşlanma karşıtı ve göz çevresi için kremler, vücut losyonları gibi cilt bakım ürünlerinde ve kozmetik amaçlı tabletlerde yer almaya başlamıştır. Bu kozmetiklerin uygulanmasıyla cilt hücrelerinin sağlıklı yaşam sürelerinin uzaması sağlanabilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Aletler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Transcutol HP-Gattefose

Silymarinflavonolignans – SigmaAldrich

IsopropylMyristate- Merck

CaprylicCapricTriglyceride-Croda

Sensiva PA 30 – SchülkeInc.

DL-Alpha Tocopherol- BASF

DUB VCI 10- StearineriesDubois

Pluronic F68- SigmaAldrich

Mono Propylene Glikol –Tekkim

3.1.2. Kullanılan Aletler

Tekli ısıtıcılı manyetik karıştırıcı - Wisestir, WisdLaboratoryinstruments

Çalkalamalı su banyosu - WiseBath, WisdLaboratoryinstruments

Mekanik karıştırıcı - Wisestir, WisdLaboratoryinstruments

İklimlendirme kabini - Nüve test cabinet TC120

Ultra saf su cihazı - Elga, PureLabflex

Ultrasonik su banyosu - Wiseclean, WisdLaboratoryinstruments

Franz difüzyon hücresi - Çalışkan cam

0,45 mikron selüloz membran

Terazi - Mettler PM2000

Hassas terazi - AND GR-200

pH-metre - WTW inolabpH 720

UV Spektrofotometre - Shimadzu UV 1601

Santrifüj cihazı - Sartorius ve Beckman

Ultrasantrifüj cihazı -ThermoScientific

Homojenizatör - IKA

Orbital Çalkalayıcı - ThermoScientific

Malvern Zetasizer Nano ZS

Corneometer CM 825 - Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln/ Germany

Skin pH-Meter 900 - Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln/ Germany

Sebumeter SM 815 - Courage + Khazaka electronic GmbH,Köln/ Germany

Mexameter MX 16 -Courage-Khazaka electronic GmbH,Köln/ Germany

Aroma TS- Courage-Khazaka electronic GmbH,Köln/ Germany

3.2. Kullanılan Yöntemler

3.2.1. Formülasyon Çalışmaları

Bu tez çalışmasında silimarin etkin maddesi kullanılarak su içerisinde yağ formülasyonları hazırlandı. Yağ Fazı: Yüzey etkin madde karışım oranı (YF:Smix) 1:1; 1:2; 1:3; 1:4; 1:5; 1:6; 1:7; 1:8; 1:9; 1:10 olarak çalışmalar yapıldı. Bu formülasyonlar hazırlanırken ön karıştırma süresi ve ultrasonik homojenizatör uygulama süresi göz önüne alınarak farklı denemeler yapılmış olup istenilen damlacık boyutuna sahip olan formüllerle çalışmalar devam edildi. Bu formüllerin etkin madde içerik tayini, ve yaşlandırma testleri de yapılarak en uygun formülasyon seçildi.

3.2.1.1. Formülasyon Bileşenlerinin Seçimi

- **Etken Madde Oranının Belirlenmesi**

Silimarin oranı %0,2, %0,5 ve %1 olmak üzere çalışmalar yapıldı. Formülasyonda farklı yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etkin madde karışımları kullanılarak silimarin ile stabilliğini koruyan formülasyon belirlendi.

- **Yüzey Etkin Madde Karışım ve Oranlarının Belirlenmesi**

Çalışmalarda silimarin için iyi bir çözücü olan Etanol ile çalışmalara başlanıldı. Yüzey etkin madde olarak Etanol, Tween 20, Pluronic® F 68, Transcutol® P, Tween 80 ve Sefsol 218'ün farklı kombinasyonları denendi. Karışımlarından Pluronic® F 68 + Transcutol® P en stabil formu gösterdiğinden dolayı çalışma bu iki yüzey aktif madde karışımı ile sürdürüldü. Tween 80, Tween 20, Sefsol 218 ve Etanol içeren formülasyonların stabil olmadığı saptandı.

- **Diğer Hammaddelerin Belirlenmesi**

Yağ fazı olarak Caprylic Capric Triglyceride, Isopropyl Myristate, DUB VCI 10 (IsodecylNeopentanoate), Vitamin E kullanıldı. Koruyucu olarak Sensiva PA 30 (Propanediol, Phenethyl Alcohol, Undecyl Alcohol ve Tocopherol) seçildi. Yağ fazı:Yüzey etkin madde oranı: 1; 1:2; 1:3; 1:4; 1:5; 1:6; 1:7; 1:8; 1:9; 1:10 olarak çalışmalar yapıldı. 1:8 ve 1:10 oranındaki çalışmalar şeçildi.

- **Karıştırma Hızı ve Süresinin Belirlenmesi**

Çalışmalarda yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanıldı. Ön karıştırma işleminde mekanik karıştırıcı ve ultrasonikatör kullanıldı. Formülasyonlarda iki yöntem belirlendi. Birinci olarak formülasyonlara sadece %50 bant genişliğine sahip ultrasonikasyon yöntemi uygulanırken ikinci yöntem olarak 8100 rpm hızda ön karıştırma yapıldıktan sonra ultrasonikasyon yöntemi uygulandı. Bu yöntemlerde 5 dakika ve 10 dakika mekanik karıştırıcı ile ön karıştırma işleminden sonra 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika, 30 dakika, 40 dakika, 50 dakika süreleri boyunca ultrasonikatör uygulandı. Fakat ön karıştırmanın formülasyonun stabilliği üzerinde olumsuz etkileri belirlendikten sonra formülasyona sadece 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika ve 30 dakika ultrasonikatör uygulanarak formülasyonlar stabiliteye alındı.

3.2.1.2. Y/S Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Tablo 3. 1 : Etanol ve Tween 20 ile yapılan çalışmalar

Kullanılan Hammaddeler (g)	FORMÜLASYONLAR			
YAĞ FAZI	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**
Isopropyl Myristate	5	5	2,5	2,5
Capric Caprylic Triglyceride	5	5	2,5	2,5
Sensiva PA 30 (Propanediol, PhenethylAlcohol, UndecylAlcohol ve Tocopherol)	2	2	2	2
Tocopherol Acetate	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10 (Isodecyl Neopentanoate)	2	2	2	2
SU FAZI				
Distile Su	54,8	54,8	59,8	59,8
MonopropyleneGlycol	5	5	5	5
Silimarin	1	1	1	1
Tween 20	15	15	15	15
Etanol	10	10	10	10
Ön karıştırma Süresi	-	5 dk	-	5 dk
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk

Tablo 3. 2: Transcutol P ve Tween 20 ile Yapılan Çalışmalar

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**			
YAĞ FAZI	**F5**	**F6**	**F7**	**F8**
Isopropyl Myristate	5	5	2,5	2,5
Capric Caprylic Triglyceride	5	5	2,5	2,5
Sensiva PA 30 (Propanediol, PhenethylAlcohol, UndecylAlcohol ve Tocopherol)	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10 (IsodecylNeopentanoate)	2	2	2	2
SU FAZI				
Distile Su	54,8	54,8	59,8	59,8
MonopropyleneGlycol	5	5	5	5
Silimarin	1	1	1	1
Tween 20	15	15	15	15
Trascutol P	10	10	10	10
Ön karıştırma Süresi	-	5 dk	-	5 dk
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk

Tablo 3. 3: Transcutol P, Pluronic F68 ve Cremephor A25 ile yapılan çalışmalar (I)

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**											
YAĞ FAZI	**F9**	**F10**	**F11**	**F12**	**F13**	**F14**	**F15**	**F16**	**F17**	**F18**	**F19**	**F20**
Isopropyl Myristate	2,5	2,5	5	5	5	5	10	10	10	10	10	10
Capric Caprylic Triglyceride	2,5	2,5	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SU FAZI												
Distile Su	54,8	54,8	59,8	59,8	54,8	54,8	49,8	49,8	59,,8	59,8	59,8	59,8
MonopropyleneGlycol	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Pluronic F68	20	20	20	20	10	10	-	-	10	10	-	-
Cremopher A25	-	-	-	-	10	10	10	10	-	-	10	10
Transcutol P	10	10	10	10	10	10	20	20	10	10	10	10
Silimarin	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Ön karıştırma Süresi	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk

Tablo 3. 4: Transcutol P, Pluronic F68, Sefsol 218 ve Cremephor A 25 ile yapılan çalışmalar

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**											
YAĞ FAZI	**F21**	**F22**	**F23**	**F24**	**F25**	**F26**	**F27**	**F28**	**F28-1**	**F28-2**	**F28-3**	**F28-4**
IsopropylMyristate	2,5	2,5	2,5	5	1	10	10	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
CapricCaprylicTriglyceride	2,5	2,5	2,5	1	1	10	10	10	10	10	10	10
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SU FAZI												
Distile Su	62,8	49,8	44,8	43,8	62,8	29,8	39,8	44,3	44,8	44,3	44,8	44,8
MonopropyleneGlycol	2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Pluronic F68	-		20	20	-	-	25	15	15	15	15	15
Cremopher A25	10	10	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-
Transcutol P	10	20	20	20	25	20	5	20	20	20	20	20
Sefsol 218	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Silimarin	1	1	1	1	1	1	1	1	0,5	1	0,5	0,5
Ön karıştırma Süresi	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk	-	5 dk	5 dk	10 dk	-	-	-	5dk
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	20 dk	30 dk	30 dk	30 dk	20 dk	20 dk

Tablo 3. 5: Transcutol P, Pluronic F68 ve Cremephor A25 ile yapılan çalışmalar (II)

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**									
YAĞ FAZI	**F29**	**F30**	**F31**	**F32**	**F33**	**F34**	**F35**	**F36**	**F37**	**F38**
IsopropylMyristate	10	5	5	5	5	5	5	10	0,5	0,5
CapricCaprylicTriglyceride	-	10	10	10	-	-	-	10	10	10
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SU FAZI										
Distile Su	54,8	37,3	37,3	37,3	64,8	49,8	49,8	34,8	44,3	44,3
MonopropyleneGlycol	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Pluronic F68	15	17,5	17,5	17,5	5	12	-	-	15	15
Cremopher A25	-	-	-	-	5	12	-	15	-	-
Transcutol P	10	20	20	20	10	11	35	20	20	20
Silimarin	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ön karıştırma Süresi	15 dk	15 dk	15 dk	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk	5 dk
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	40 dk	40 dk	50 dk	50 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk	30 dk

Tablo 3. 6: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (I)

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**								
YAĞ FAZI	**F39**	**F39-1**	**F39-2**	**F40**	**F40-1**	**F41**	**F39-2**	**F40**	**F40 -1**
Capric Caprylic Triglyceride	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Isopropyl Myristate	-	-	-	-	-	5	-	-	-
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Tocopherol Acetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	1,8	1,8	1,8	0,8	0,8	0,3	1,8	0,8	0,8
Silimarin	1	0,5	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5
Transcutol P	20	20	20	20	20	20	20	20	20

SU FAZI									
Distile Su	45	45,5	45,5	45	45,5	45	45,5	45	45,5
Monopropylene Glycol	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Pluronic F68	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Ön karıştırma Süresi	5 dk	5 dk	-	5dk	-	5dk	-	5dk	-
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	30 dk	20 dk	20 dk	20 dk

Tablo 3. 7: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (II)

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**							
YAĞ FAZI	**F41**	**F41-1**	**F41-2**	**F41-3**	**F42**	**F42-1**	**F42-2**	**F42-3**
CapricCaprylicTriglyceride	1	1	1	1	1	1	1	1
IsopropylMyristate	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	0,8	0,8	0,8
Silimarin	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
Transcutol P	20	20	20	20	20	20	20	20
SU FAZI								
Distile Su	55	55	55	55	54,5	54,5	54,5	54,5
MonopropyleneGlycol	5	5	5	5	5	5	5	5
Pluronic F68	15	15	15	15	15	15	15	15
Ön karıştırma Süresi	-	-	-	-	-	-	-	-
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	10 dk	15 dk	20 dk	30 dk	10 dk	15 dk	20 dk	30 dk

Tablo 3. 8: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (III)

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**							
YAĞ FAZI	**F43**	**F43-1**	**F43-2**	**F43-3**	**F44**	**F44-1**	**F44-2**	**F44-3**
CapricCaprylicTriglyceride	0,5	0,5	0,5	0,5	0,8	0,8	0,8	0,8
IsopropylMyristate	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,5	0,5	0,5
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	-	-	-	-	-	-	-	-
Silimarin	1	1	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5
Transcutol P	20	20	20	20	20	20	20	20
SU FAZI								
Distile Su	56	56	56	56	56	56	56	56
MonopropyleneGlycol	5	5	5	5	5	5	5	5
Pluronic F68	15	15	15	15	15	15	15	15
Ön karıştırma Süresi	-	-	-	-	-	-	-	-
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	10 dk	15 dk	20 dk	30 dk	10 dk	15 dk	20 dk	30 dk

Tablo 3. 9: Transcutol P, Pluronic F68 ile yapılan çalışmalar (IV)

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**							
YAĞ FAZI	**F45**	**F45-1**	**F45-2**	**F45-3**	**F46**	**F46-1**	**F46-2**	**F46-3**
CapricCaprylicTriglyceride	1	1	1	1	0,8	0,8	0,8	0,8
IsopropylMyristate	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	0,3	0,3	0,3	0,3	-	-	-	-
Silimarin	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Transcutol P	20	20	20	20	20	20	20	20
SU FAZI								
Distile Su	55,5	55,5	55,5	55,5	55,7	55,7	55,7	55,7

MonopropyleneGlycol	5	5	5	5	5	5	5	5
Pluronic F68	15	15	15	15	15	15	15	15
Ön karıştırma Süresi	-	-	-	-	-	-	-	-
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	10 dk	15 dk	20 dk	30 dk	10 dk	15 dk	20 dk	30 dk

Tablo 3. 10: Transcutol P ve Tween 80 ile yapılan çalışmalar

Kullanılan Hammaddeler (g)	**FORMÜLASYONLAR**								
YAĞ FAZI	**F47**	**F47-1**	**F47-2**	**F47-3**	**F47-4**	**F47-5**	**F47-6**	**F47-7**	**F047-8**
CapricCaprylicTriglyceride	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
IsopropylMyristate	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Sensiva PA 30	2	2	2	2	2	2	2	2	2
TocopherolAcetate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DUB VCI 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Silimarin	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Transcutol P	2	4	6	8	10	12,5	15	17,5	20
SU FAZI									
Distile Su	90,5	86	80	75	70	65	60	55	50
MonopropyleneGlycol	0,5	1	3	4	4	4	4	5	5
Tween 80	2	4	6	8	10	12,5	15	17,5	20
Ön karıştırma Süresi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ultrasonik Homojenizatör Uygulama Süresi	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk

3.2.1.3. Nanoemülsiyon Üzerinde Yapılan İncelemeler

Hazırlanan formülasyonlar ön stabilite olarak ilk santrifüj testine tabii tutuldu. Santrifüj testini geçen formülasyonlara termal test uygulandı. Bu testide geçen formülasyonların damlacık boyutları, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli ölçümleri alındı. Ayrıca pH değeri, viskozitesi, görünüm ve kokusuna da bakılarak uygun değerlere sahip olanların büyük ölçekli çalışması yapılarak hızlandırılmış stabilitesine başlanıldı.

4 koşul için numuneler hazılandı. 3 ay boyunca oda (25°C±2°C, %60 nem), etüv (40°C ± 2°C, %75 nem) ve buzdolabında (5°C ± 2°C) bekletildi. Ayrıca her formülasyon ısıtma soğutma testine de tabii tutuldu.

- **Santrifüj Testi**

Hazırlanan nanoemülsiyonlar "Nüve"santrifüj cihazında 3500 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlendi. 30 dakika sonrasında formüllerde herhangi bir faz ayrımı, çökme olup olmadığı yorumlanarak bozulan yapıya sahip olan formüller elendi.

- **Termal Test**

Termal testte 40°C'lik WiseBath® su banyosuna kullanıldı. Her yarım saatte bir sıcaklık 5°C arttırılarak su banyosu 80°C'ye kadar ısıtıldı. Çökme, faz ayrımı, renk değişimi gibi stabilite sorunları olan formüller elendi.

- **Viskozite Ölçümü**

Hazırlanan nanoemülsiyonformülasyonların viskozite ölçümleri Brookfield DV 3T viskozimetre cihazı ile CP40 plağı kullanılarak 25 ^{0}C'de 70 rpm, 75 rpm, 80 rpm, 85 rpm, 90 rpm, 95 rpm, 100 rpm, 105 rpm, 110 rpm ve 115 rpm'de ölçüldü.

- **pH tayini**

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonların pH değeri Inolab WTW 82362 pH metre kullanılarak ölçüldü.

- **İletkenlik Ölçümü**

İletkenlik ölçümü emülsiyonlarda faz değişiminin gerçekleşip gerçekleşmediğini saptamak adına yapılan bir stabilite testidir. Hazırlanan nanoemülsiyonformülasyonların iletkenlikleri HANNA iletkenlik ölçüm cihazı ile ölçüldü.

- **Damlacık Büyüklüğü ve Zeta Potansiyeli Ölçümü**

Çalışılan nanoemülsiyonformülasyonların damlacık büyüklüğü, polidispersite endeksi, zeta potansiyeli ölçümleri ışık saçılımı prensibine göre ölçümlerini gerçekleştiren Malvern Zetasizer Nano ZS ile gerçekleştirildi. Ölçümler 3 tekrarlı olarak 25^{0}C'de yapıldı. Zeta potansiyeli ölçümü içinde zeta hücreleri kullanıldı ve formülasyonlar 1/100 oranında seyreltildi.

- **Organoleptik Kontroller**

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonların görünüşü, rengi ve kokusu gibi özelliklerinde değişim olup olmadığı kontrol edildi.

3.2.2. Silimarin'in Spektrofotometrik Miktar Tayini ve Validasyon Çalışması

3.2.2.1. Silimarin'in Spektrofotometrik Miktar Tayini

Numuneler Etanol:pH 7,4 Fosfat tamponunda (30:70) ile 10 mL'ye seyreltildi ve UV Spektrofotometre cihazında 287 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okunuldu. Elde edilen absorbans değerleri kalibrasyon doğrusunun denkleminde yerine konarak konsantrasyonlar hesaplandı ve silimarinin miktar tayini yapıldı.

3.2.2.2. Kalibrasyon Doğrusu

Silimarin'in Etanol: pH 7.4 fosfat tamponu (30:70) çözücü sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemleri aşağıda belirtildiği gibidir. Elde edilen kalibrasyon doğrusu denkleminden yararlanılarak silimarinin spektrofotometrik olarak tayini yapıldı.

3.2.2.3. Analitik Validasyon Çalışması

Analitik yöntem validasyonu, analizi yapılacak etken madde için seçilen analitik yöntemin güvenilirliğini göstermek amacıyla yapıldı. Bu amaçla incelenen parametreler aşağıdaki gibidir:

- Doğrusallık
- Doğruluk
- Kesinlik

-Tekrar edilebilirlik

-Tekrar elde edilebilirlik

- Özgünlük
- Stabilite
- Doğruluk

Kullanılan yöntemin doğruluğunun değerlendirilmesi adına kalibrasyon doğrusunu oluşturmak için 6 µg/ml, 8 µg/ml, 10 µg/ml, 12 µg/ml, 14 µg/ml, 16 µg/ml konsantrasyonları seçildi. 1mg/ml ana stoktan hareketle 6 adet numune hazırlandı. Donör ve reseptör faz arasına Etanol:pH 7,4 Fosfat tamponunda (30:70) 24 saat boyunca ıslatılan membranlar koyularak metal tutaçlar ile sabitlendi. Her bir numunenin salımı 6 tekrar ile yapıldı. t_0, $t_{0,5}$, t_1, t_2, t_3, t_4,t_5,t_6, t_7, t_8 saat olarak belirtilen zamanlarda reseptör bölmenin yan tarafında bulunan örnek alma kolundan 0,3 mL numuneler alındı.

Numuneler Etanol:pH 7,4 Fosfat tamponunda (30:70) ile 10 mL'ye seyreltildi ve UV Spektrofotometre cihazında 287 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okundu ve kalibrasyon doğrusu çizildi.

- **Doğruluk**

Doğruluğu ispat edebilmek adına 3 kere belirlenen konsantrasyonlardaki numunelerden örnekler alınarak konsantrasyon ve %RSD oranları belirlendi.

- **Kesinlik**

Bir yöntemin birbirini takip eden ölçümleri arasındaki yakınlığın derecesini ifade etmektedir. Kesinlik analitik yöntemin tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik derecesinin bir ölçüsüdür.

- **Özgünlük**

Özgünlük bir analitik yöntemin amaçlanan maddeyi spesifik olarak tayin edilebilmesidir. Bu amaçla pH 7.4 fosfat tamponunda yapılan kalibrasyon doğrusunun ve validasyonunun Silimarin'e özgün olduğunun gösterilebilmesi için, etkin madde içeren ve içermeyen formülasyonların Silimarin'in in vitro salım çalışmaları yapıldı. Numunelerden alınan salım örneklerinin spektrumları çekildi.

3.2.3. İn Vivo Etkinlik ve Güvenlik Testleri

Yapılan çalışmalar sonucunda en stabil bulunan Silimarin içeren nanoemülsiyonformülasyonun etkinliği etik kurul onayı ("T.C. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı, Karar Tarihi: 27.01.2015, Karar Sayısı: 25455336-903.99/25636") alındıktan sonra gönüllüler üzerinde değerlendirildi. Sabit nem ve sıcaklığa sahip bir ortamda gönüllüler üzerinde girişimsel olmayan ölçümler alındı. Uygulama öncesi, test edilecek ürünün cilt üzerinde kızarıklık, yanma, kaşıntı gibi herhangi bir reaksiyona sebep olup olmadığını tespit etmek için gönüllülerin önkol bölgesine dermatolojik test (yama testi) yapıldı. Çalışmaya hiçbir alerjik reaksiyon göstermeyen gönüllülerle devam edildi. Gönüllüler formülasyonu ön kol ve lekelerinin, kırışıklıklarının bulunduğu bölgelere 2 ay boyunca sabah ve akşam olmak üzere günde 2 kez ince bir tabaka halinde uyguladılar.

3.2.3.1. Test Ortamının Hazırlanması

Cilt parametrelerinin tüm ölçümlerinde sabit çevre koşullarının sağlanması önemlidir. Optimal oda sıcaklığı 20°C, bağıl nem ise %40-60 arasında olmalıdır. Ayrıca ısı

radyasyonu ölçümlerde yanlış sonuçlara neden olabilmektedir. Ölçüm esnasında bu koşulların sağlanmasına dikkat edildi ve gönüllüler 10-20 dakika dinlendikten sonra ölçümler alındı.

3.2.3.2. Gönüllülerin Seçimi

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki gibidir:

• Kişiler 25-65 yaşları arasında sağlıklı kadın-erkek gönüllüler olmalıdır.

• Kişilerin cildinde hastalık bulunmamalıdır.

• Ölçümlerinden en az üç gün önceden başka ürün kullanılmamasını onaylamalıdır.

• Kişiler yazılı bildirme formunu imzalamayı kabul etmelidir.

• Çalışma süresinde ölçüm zamanlarında mevcut olunmalıdır.

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilmeme kriterleri aşağıdaki gibidir:

• Kadınlarda gebelik ve süt verme durumundaki kişiler,

• Aynı süre içinde herhangi bir nedenle uygulama bölgesinde topikal ilaç kullanan kişiler,

• Formülasyon içeriğine daha önceden aşırı duyarlılığı bilinen kişiler,

• Majör karaciğer ve böbrek yetmezliği olan kişiler,

• Diğer klinik çalışmalarda yer alan kişiler,

• Çalışmaya uyum gösteremeyen kişiler,

• Seçilen bölgede aşırı hassasiyeti olan kişiler çalışmaya dahil olamazlar.

Denekler herhangi bir sebeple istedikleri takdirde çalışmadan ayrılabilirler.

3.2.3.3. Derinin Nem Tutma Kapasitesinin Ölçülmesi

Ürünün derinin nem tutma kapasitesi üzerine etkisini saptayabilmek adına Corneometer® CM 825 (Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln/ Germany) cihazı kullanılır. Cihaz kapasitans prensibine göre çalışır. Alette yer alan birbirine pararlel iki metal levha arasında dielektrik ortam oluşur ve ölçülen değer derinin nem değerine göre kapasitanstaki değişikliği ifade eder. Ölçüm alınırken probun başı yaklaşık 3 saniye cilt üzerinde tutularak elde edilen sonuç kaydedilir. Ölçüm 5 kez tekrarlanır ve ortalaması alınır.

3.2.3.4. Derinin pH'ının Ölçülmesi

Ürünün derinin pH değeri üzerine etkisini saptayabilmek adına SKIN-pH-METER 900® (Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln/ Germany) cihazı kullanılır. Ölçüme

başlamadan önce cihaz distile su ile temizlenir. Ölçüm alınırken probun başı yaklaşık 3 saniye cilt üzerinde tutularak elde edilen sonuç kaydedilir. Ölçüm 5 kez tekrarlanır ve ortalaması alınır.

3.2.3.5. Derinin Sebum Değerinin Ölçülmesi

Deriye uygulanan topikal formülasyonun sebum üzerine etkisini incelemek amacıyla Sebumeter® SM 815 (Courage + Khazaka electronic GmbH,Köln/ Germany) kullanılarak ölçümler yapılacaktır. Yüzey lipitlerinin miktarını değerlendirmek için kullanılan sebumetrede opak bir plastik şerit yüzey lipitleriyle temas ettiği zaman, bu lipitlerle kaplanması sonucunda yarı şeffaf hale geçmektedir. Bu yarı şeffaflığın derecesi, spektrofotometre ile ölçülerek lipit miktarı µg/ cm2 olarak ifade edilir.

Sebumetre, kartuşu 0,1 mm kalınlığında sentetik bir bant içermektedir. Kartuşun ölçüm başlığı 64 mm^2 olan bir ölçüm bandı sunmaktadır. Bir sonraki ölçüm için yeni ölçüm bandı kartuşun kenar kısmındaki tetikten ileri sarılarak kullanılır. Kullanılan kısım kartuş içinde geri sarılır. Ekrandaki ölçüm süresi geri sayıma başlayıncaya kadar kartuş ölçüm cihazında hafif basılı tutulur. Geri sayıma başlanıldığında kartuş cihazdan çıkartılıp ölçüme başlanır. 30 saniyelik zaman boyunca kartuş ciltteki ölçüm alanında düz tutulur. Süre sonunda kartuş cihaza yeniden takılır ve ekranda ölçüm değeri görülür. Gönüllülerden üç ölçüm alınır ve ortalaması hesaplanır. Ölçümler ürünün uygulanmasından önce ve uygulandıktan sonra alındı.

3.2.3.6. Eritem Oluşumunun ve Lekenin Giderilmesinin Saptanması

Test ürününün ciltteki kızarıklık üzerindeki etkisi Mexameter® MX 18 ile ölçülerek belirlendi. Mexameter® MX 18 probu uygulama bölgesinde düz tutularak ciltteki eritem değerleri okunur. Aynı işlem 3 kez tekrarlanır ve bu 3 değerin ortalaması alınır.

3.2.3.7. Kırışıklığın Giderilmesinin Saptanması

Kırışıklık derinliğinin Aroma TS cihazı ile ölçülecektir. Özel x10 lens ile kırışıklık büyüklüğünü otomatik olarak belirler.

3.2.3.8. Dermatolojik Test:

0,2 gram test ürünü, yama test materyaline yerleştirilerek (IQ chamber) ön kol bölgesine yapıştırılır. Gönüllüye 48 saat boyunca sudan ve direk güneş ışığındanuzak kalması bildirilir. 48 saatlik süre bittikten sonra yama test materyali kaldırılarak ciltte herhangi

bir eritem, kızarıklık gibi durumların olup olmadığı kontrol edilir. Yama testi sonucunda ürüne herhangi bir duyarlılık göstermeyen gönüllüler ile çalışmaya devam edilir.

3.2.3.9. Anket Testi ile Sübjektif Değerlendirme

Gönüllülerin 2 ay boyunca günde iki kez kullandıkları test ürünü hakkındaki düşünce ve memnuniyetlerini belirtmeleri ve sübjektif değerlendirmenin gerçekleşmesi için anket testi yapılmıştır. 8 sorudan oluşan bu testte puanlama sisteminde 0 hiç, 1 çok az, 2 az, 3 orta, 4 fazla, 5 çok fazla anlamına karşılık gelmektedir. Anket testi aşağıdaki sorulardan oluşmaktadır:

1- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizdeki nem kaybını azalttı mı?

2- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizin parlaklığında ve canlılığında artış sağladı mı?

3- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cilt elastikiyetinde bir artış sağladı mı?

4- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildiniz tarafından kolay emiliyor mu?

5- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon kırışıklıkların görünümünde azalma sağladı mı?

6- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinize yumuşaklık hissi verdi mi?

7- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizde kızarıklık, kaşıntı gibi herhangi bir alerjik reaksiyona neden oldu mu?

8- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizde bulunan lekelerde bir azalma sağladı mı?

3.2.3.10. İstatistiksel Değerlendirme:

Yapılacak tüm çalışmalar istatistiksel olarak değerlendirilecek ve bu amaçla Dunnett’s Multiple Comparison Testi kullanılacaktır. Grafikler Microsoft Excel programı kullanılarak çizilecektir.

4. BULGULAR

4.1. Santrifüj Test Sonuçları

Seçilen formülasyonlar 3500 rpm hızda 30 dk süresince teste tabii tutuldu. Ön karıştırma işlemine tabii tutulanlar stabil bir performans gösteremedi. Santrifüj testi sonucunda stabil olan formülasyonlar aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Tablo 4. 1 : Santrifüj Testi Sonucuna Göre Stabil Formülasyonlar

Formülasyon Numarası	YF/S_{MIX}	Silimarin oranı	Ultrasonik Karıştırma süresi(dk)	Santrifüj test sonucu
F41	1:8	1	10	Stabil
F41-1	1:8	1	15	Stabil
F41-2	1:8	1	20	Stabil
F41-3	1:8	1	30	Stabil
F42	1:8	0,5	10	Stabil
F42-1	1:8	0,5	15	Stabil
F42-2	1:8	0,5	20	Stabil
F42-3	1:8	0,5	30	Stabil
F45	1:8	0,2	10	Stabil
F45-1	1:8	0,2	15	Stabil
F45-2	1:8	0,2	20	Stabil
F45-3	1:8	0,2	30	Stabil

F43	1:10	1	10	Stabil
F43-1	1:10	1	15	Stabil
F43-2	1:10	1	20	Stabil
F43-3	1:10	1	30	Stabil
F44	1:10	0,5	10	Stabil
F44-1	1:10	0,5	15	Stabil
F44-2	1:10	0,5	20	Stabil
F44-3	1:10	0,5	30	Stabil
F46	1:10	0,2	10	Stabil
F46-1	1:10	0,2	15	Stabil
F46-2	1:10	0,2	20	Stabil
F46-3	1:10	0,2	30	Stabil

4.2. Karıştırma Süresinin Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlara 5 dakika ve 10 dakika ön karıştırma yapılarak sonrasında 5 dk, 10 dk, 20 dk, 30 dk olarak ayrı ayrı ultrasonik homojenizatörde daha stabil formüller elde etmek isterken yapılan santrifüj testinde ürünlerin hepsinde çökme, ayrışma vb. gözlemlendi. Ürünlerin damlacık boyutları ölçüldüğünde partükül boyutlarının istenilen aralıkta olmadığı ve homojen bir karışım elde edilemediği saptanarak ön karıştırma işlemi yapılmadan sadece ultrasonik homojenizatör ile çalışmalara devam edildi.

Tablo 4. 2: 1:8 oranında stabilite testine alınan çalışmaların başlangıç damlacık boyutu değerleri

Formülasyon Numarası	YF/S_{MIX}	Silimarin oranı	Ultrasonik Karıştırma süresi(dk)	Damlacık Boyutu	PDI
F41	1:8	1	10	269,2	0,287
F41-1	1:8	1	15	384,4	0,456
F41-2	1:8	1	20	287,6	0,257
F41-2	1:8	1	30	341,2	0,386
F42	1:8	0,5	10	424,3	0,366
F42-1	1:8	0,5	15	332	0,380
F42-2	1:8	0,5	20	378,7	0,461
F42-3	1:8	0,5	30	367,1	0,465
F45	1:8	0,2	10	529,3	0,366
F45-1	1:8	0,2	15	436,5	0,301
F45-2	1:8	0,2	20	484,4	0,290
F45-3	1:8	0,2	30	488	0,422

Tablo 4. 3: 1:10 oranında stabilite testine alınan çalışmaların başlangıç damlacık boyutu değerleri

Formülasyon Numarası	YF/SMİX	Silimarin oranı	Ultrasonik Karıştırma süresi(dk)	Damlacık Boyutu	PDI
F43	1:10	1	10	190,9	0,156
F43-1	1:10	1	15	237,9	0,328
F43-2	1:10	1	20	354,8	0,176
F43-3	1:10	1	30	405,2	0,256
F44	1:10	0,5	10	387,9	0,477
F44-1	1:10	0,5	15	277,0	0,281
F44-2	1:10	0,5	20	691,9	0,360
F44-3	1:10	0,5	30	463,9	0,486
F46	1:10	0,2	10	385,1	0,156
F46-1	1:10	0,2	15	487,1	0,470
F46-2	1:10	0,2	20	394,6	0,291
F46-3	1:10	0,2	30	565,5	0,496

Yukarıdaki sonuçlar neticesinde en iyi 10 formül belirlendi ve hızlandırılmış stabilite testine tabii tutuldu.

Tablo 4. 4: Seçilen numuneler

Formülasyon Numarası	YF/$S_{MİX}$	Silimarin oranı	Ultrasonik Karıştırma süresi(dk)	Damlacık Boyutu	PDI
F41	1:8	1	10	269,2	0,287
F41-2	1:8	1	20	287,6	0,257
F41-3	1:8	1	30	341,2	0,386
F42-1	1:8	0,5	15	332	0,380
F43	1:10	1	10	190,9	0,156
F43-1	1:10	1	15	237,9	0,328
F43-2	1:10	1	20	354,8	0,176
F44-1	1:10	0,5	15	277,0	0,281
F46	1:10	0,2	10	385,1	0,156
F46-2	1:10	0,2	20	394,6	0,291

4.3. Ortam Sıcaklığının Nanoemülsiyonun Damlacık Boyutuna Etkisi

Seçilen formülasyonlar 3 ortam koşulunda 3 ay boyunca tutularak formülasyonların damlacık boyutu değişimleri gözlemlendi.

Tablo 4. 5: Nanoemülsiyonların 40^0C %75 nem ortamındaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.gün Damlacık Boyutu	1.gün PDI	1.ay Damlacık Boyutu	1.ay PDI	2.ay Damlacık Boyutu	2.ay PDI	3.ay Damlacık Boyutu	3.ay PDI
F41	269,2	0,287	432,3	0,266	315,2	0,265	415,8	0,261
F41-2	287,6	0,257	428,3	0,275	354,8	0,321	432,8	0,417
F41-3	272,9	0,241	450,8	0,452	719,0	0,386	-	-
F42-1	332	0,380	489,2	0,514	656,2	0,439	-	-
F43	190,9	0,156	434,7	0,211	481,3	0,367	489,9	0,459
F43-1	237,9	0,328	618,5	0,347	-	-	-	-
F43-2	354,8	0,176	361,3	0,188	370,2	0,191	371,3	0,209
F44-1	277,0	0,281	805,6	0,492	-	-	-	-
F46	385,1	0,156	373,8	0,825	521,8	0,854	-	-
F46-2	394,6	0,291	374,7	1	560,8	0,921	-	-

Tablo 4. 6: Nanoemülsiyonların 25^0C oda koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.gün Damlacık Boyutu	1.gün PDI	1.ay Damlacık Boyutu	1.ay PDI	2.ay Damlacık Boyutu	2.ay PDI	3.ay Damlacık Boyutu	3.ay PDI
F41	269,2	0,287	357,5	0,23	361,8	0,25	373,4	0,320
F41-2	287,6	0,257	326,5	0,213	351,2	0,289	393,7	0,363
F41-3	272,9	0,241	325,5	0,225	401,7	0,278	-	-
F42-1	332	0,380	458,4	0,646	461,2	0,424	-	-
F43	190,9	0,156	294,3	0,353	346,2	0,302	369,7	0,435
F43-1	237,9	0,328	350,7	0,365	500,5	0,561	-	-
F43-2	354,8	0,176	329,0	0,208	320,8	0,221	301,9	0,225
F44-1	277,0	0,281	454,9	0,440	-	-	-	-
F46	385,1	0,156	517,8	0,486	465,8	0,772	-	-
F46-2	394,6	0,291	874,1	0,631	-	-	-	-

Tablo 4. 7: Nanoemülsiyonların buzdolabı koşulundaki değişimleri

Formülasyon Numarası	1.gün Damlacık Boyutu	1.gün PDI	1.ay Damlacık Boyutu	1.ay PDI	2.ay Damlacık Boyutu	2.ay PDI	3.ay Damlacık Boyutu	3.ay PDI
F41	269,2	0,287	278,2	0,214	285,8	0,251	293,9	0,261
F41-2	287,6	0,257	317,7	0,305	325,5	0,326	332,7	0,393
F41-3	272,9	0,241	299,1	0,236	350,8	0,365	-	-
F42-1	332	0,380	575,3	0,466	610,8	0,555	-	-

F43	190,9	0,156	250,6	0,213	259,8	0,198	266,5	0,214
F43-1	237,9	0,328	256,0	0,228	321,8	0,381	-	-
F43-2	354,8	0,176	279,7	0,247	298,7	0,294	304,4	0,385
F44-1	277,0	0,281	387,7	0,517	411,2	0,589	-	-
F46	385,1	0,156	450,6	0,612	489,2	0,657	-	-
F46-2	394,6	0,291	665,1	0,274	719,8	0,356	-	-

40^0C %70 nem ortamında bulunan çalışmaların damlacık boyutlarında oda koşulu ve buzdolabında tutulan numunelere kıyasla damlacık boyutlarının daha yüksek olduğu saptandı.

4.4. Isıtma-Soğutma Testinin Damlacık Boyutuna Etkisi

Seçilen nanoemülsiyon formülasyonları 48 saat etüv, 48 saat buzdolabında 6 döngüde tutularak test yapıdı. Daha sonrasında damlacık boyutları ölçüldü.

Tablo 4. 8:Isıtma-soğutma testinin damlacık boyutuna etkisi

Formülasyon Numarası	**YF/SMİX**	**Silimarin oranı**	**Ultrasonik Karıştırma süresi(dk)**	**1.gün Damlacık Boyutu**	**1.gün PDI**	**Isıtma-Soğutma Sonrası Damlacık Boyutu**	**Isıtma-Soğutma Sonrası PDI**
F41	1:8	1	10	269,2	0,287	467,9	0,234
F41-2	1:8	1	20	287,6	0,257	391,6	0,290
F41-3	1:8	1	30	272,9	0,241	477,8	0,266
F42-1	1:8	0,5	15	332	0,380	1162	0,367
F43	1:10	1	10	190,9	0,156	753,5	0,320

F43-1	1:10	1	15	237,9	0,328	568,4	0,387
F43-2	1:10	1	20	354,8	0,176	441,9	0,237
F44-1	1:10	0,5	15	277,0	0,281	1032	0,410
F46	1:10	0,2	10	385,1	0,156	851,5	0,452
F46-2	1:10	0,2	20	394,6	0,291	759,7	0,760

4.5. UV Spektrofotometre ile Silimarin İçerik Tayini

Stabilite testine tabii tutulan örneklerin UV spektrofotometrede 287 nm'de silimarin miktarları tayin edildi.Spektrofotometrede elde edilen absorbans değerleri kalibrasyon doğrusunun denkleminde yerine koyularak konsantrasyonlar hesaplandı.

Silimarinin 3 ay boyunca etkinliğinin stabil olup olmadığını göstermek adına hazırlanan çözeltiler 287 nm de ölçüldü. Bulunan sonuçlar kalibrasyon doğrusundaki denklemde yerine koyularak % silimarin içerik miktarları hesaplandı.

Tablo 4.9: Nanoemülsiyonların 1.ay sonundaki silimarin içeriği

Formülasyon Numarası	Koşul	Absorbans Değeri	KONSANTRASYON (10 µg/mL Hedef)	%Silimarin içerik miktarı
F41	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,312	9,78	%97,8
F41	Oda 25 ^{0}C	0,316	9,9	%99
F41	Etüv 40^{0}C	0,320	10	%100
F41-2	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,316	9,9	%99
F41-2	Oda 25 ^{0}C	0,313	9,81	%98,1
F41-2	Etüv 40^{0}C	0,291	9,15	%91,5
F43-2	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,217	6,9	%69
F43-2	Oda 25 ^{0}C	0,222	7,06	%70,6
F43-2	Etüv 40^{0}C	0,196	6,27	%62,7

Tablo 4. 9: Nanoemülsiyonların 2.ay sonundaki silimarin içeriği

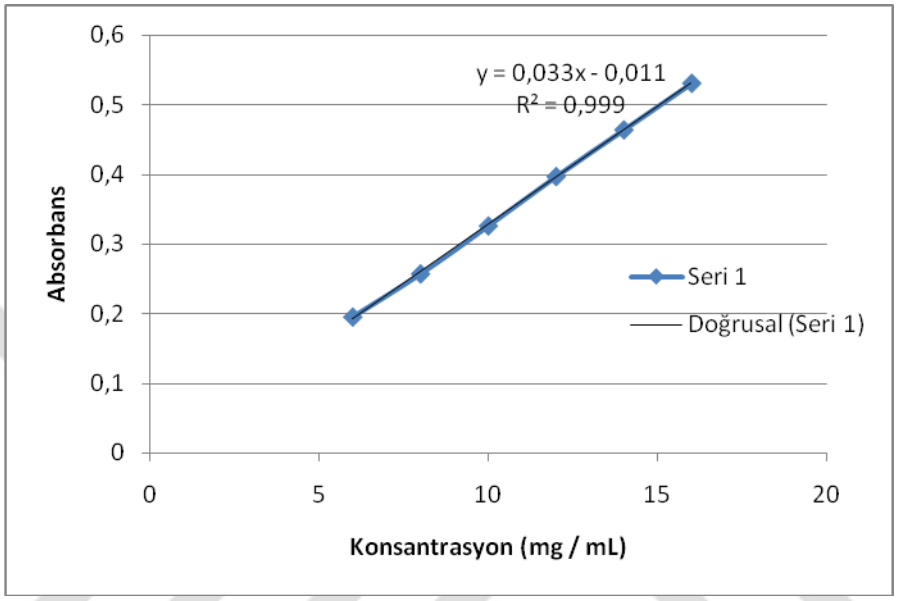
Formülasyon Numarası	Koşul	Absorbans Değeri	KONSANTRASYON (10 µg/mL Hedef)	% Silimarin içerik miktarı
F41	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,289	9,09	%90,9
F41	Oda 25 ^{0}C	0,280	8,81	%88,1
F41	Etüv 40^{0}C	0,261	8,24	%82,4
F41-2	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,286	9	%90
F41-2	Oda 25 ^{0}C	0,285	8,96	%89,6
F41-2	Etüv 40^{0}C	0,276	8,69	%86,9
F43-2	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,283	8,9	%89
F43-2	Oda 25 ^{0}C	0,198	6,33	%63,3
F43-2	Etüv 40^{0}C	0,191	6,12	%61,2

Tablo 4. 10: Nanoemülsiyonların 3.ay sonundaki silimarin içeriği

Formülasyon Numarası	Koşul	Absorbans Değeri	KONSANTRASYON (10 µg/mL Hedef)	% Silimarin içerik miktarı
F41	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,183	5,87	%58,7
F41	Oda 25 ^{0}C	0,201	6,42	%64,2
F41	Etüv 40^{0}C	0,119	3,93	%39,3
F41-2	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,186	5,96	%59,6
F41-2	Oda 25 ^{0}C	0,165	5,33	%53,3
F41-2	Etüv 40^{0}C	0,138	4,51	%45,1
F43-2	Buzdolabı 4 ^{0}C	0,173	5,57	%55,7
F43-2	Oda 25 ^{0}C	0,096	3,24	%32,4
F43-2	Etüv 40^{0}C	0,076	2,63	%26,3

Yukarıda yapılan testler neticesinde 1:8 %1 oranında silimarin içeren formülasyonların içerinden 20 dk ultrasonik homojenizatör uygulanan F41-2 numaralı formül seçilerek, çalışmaya bu doğrultuda devam edildi.

4.6. Kalibrasyon Doğrusu



Şekil 4. 1: Silimarin'in Etanol:pH 7.4 fosfat tamponu (30:70) çözücü sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemleri

4.6.1. Analitik Validasyon Çalışması

Tablo 4. 11: UV Spektorofotometre'de absorbans değerleri

Konsantrasyon (µg/ml)	Ortalama absorbans
6 (60 µl)	0,195
8 (80 µl)	0,257
10 (100 µl)	0,326
12 (120 µl)	0,397
14 (140 µl)	0,464
16 (160 µl)	0,531

Doğruluğu ispat edebilmek adına 3 kere belirlenen konsantrasyonlardaki numunelerden örnekler alınarak konsantrasyon ve %RSD belirlendi.

Tablo 4. 12: Seçilen konsantrasyondaki %RSD oranı

Seçilen Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans Değeri	Hesaplanan Konsantrasyon (µg/ml)	%Elde Edilen Miktar	% Ortalama	Mutlak Sapma Değeri	% RSD
5	0,152	4,94	98,8	99,4	0,60	0,60
5	0,154	5	100			
5	0,153	4,97	99,4			
10	0,314	9,85	98,5	98,7	0,35	0,35
10	0,316	9,91	99,1			
10	0,314	9,85	98,5			
15	0,478	14,82	98,8	99,8	0,87	0,87
15	0,486	15,06	100,4			
15	0,485	15,03	100,2			

Tablo 4. 13: % Konsantrasyon değerlerine göre geri kazanım oranı

% Konsantrasyon	Eklenen miktar	Bulunan miktar	%Geri kazanım
50	5µg/ml	4,97 µg/ml	99,4
100	10µg/ml	9,87 µg/ml	98,7
150	15µg/ml	14,96 µg/ml	99,8

Tablo 4. 14: Kesinlik Sonuçları

Örnek no	**%100 test konsantrasyonu**
	Absorbans
1	**0,324**
2	**0,324**
3	**0,324**
4	**0,322**

5	**0,325**
6	**0,325**
ORT	**0,324**
SD	**0,0011**
% RSD	**%0,34**

4.7. pH Değerleri

Stabiliteye alınan formülasyonların buzdolabı, oda ve etüv koşulundaki pH değerleri aşağıdaki gibidir.

Tablo 4. 15: pH değeri sonuçları

		pH								
Formülasyon Numarası	**Başlangıç Değeri**	**5ºC±2°C**			**25ºC±2°C (%60 R.N.)**			**40ºC±2°C (%75 R.N)**		
		1.ay	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**
F41	5,56	5,61	5,63	5,68	5,63	5,68	5,72	5,65	5,78	5,85
F41-2	5,63	5,68	5,69	5,75	5,7	5,75	5,81	5,81	5,89	5,92
F41-3	5,48	5,55	5,58	5,63	5,53	5,58	5,65	5,61	5,75	5,85
F42-1	5,63	5,69	5,71	5,78	5,68	5,72	5,85	5,7	5,92	6,32
F43	5,25	5,41	5,45	5,55	5,45	5,48	5,59	5,55	5,85	6,28
F43-1	5,32	5,38	5,41	5,48	5,39	5,45	5,55	5,45	5,55	5,95
F43-2	5,25	5,42	5,44	5,55	5,35	5,41	5,49	5,38	5,45	5,87
F44-1	5,52	5,67	5,71	5,73	5,69	5,71	5,81	5,72	5,87	6,37
F46	5,93	5,98	5,99	6,02	6,01	6,03	6,08	6,03	6,08	6,41
F46-2	5,9	5,92	5,96	5,98	5,98	6,01	6,06	6,05	6,1	6,48

4.8. İletkenlik Değerleri

Tablo 4. 16: Nanoemülsiyonların İletkenlik Değerleri

		İletkenlik(µs/cm)								
Formülasyon Numarası	**Başlangıç Değeri**	**5ºC±2°C**			**25ºC±2°C (%60 R.N.)**			**40ºC±2°C (%75 R.N)**		
		1.ay	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**
F41	58,8	52	55,2	58,3	59,3	61,3	65,8	66,2	68,2	70,5
F41-2	50,5	50,6	49,7	50,3	51,0	52,9	55,3	58,9	59,2	59,8
F41-3	35	35,4	39,5	39,8	39,7	41,8	43,6	46,3	51,5	50,8
F42-1	47,3	46,3	51,7	52,5	49,8	53,8	54,2	53,2	55,9	60,7
F43	40,3	41,4	44,5	46,8	40,7	43,5	46,7	44	49,5	55,3
F43-1	35,8	36,7	40,7	41,3	38,4	39,7	40,8	46,4	48,6	51,3
F43-2	52,8	49,1	52,5	55,2	53,5	54,7	55,8	60,3	62,8	64,9
F44-1	48,6	44,2	51,9	52,8	49,0	52,3	55,9	55,1	59,3	65,8
F46	35,6	34,2	36,7	39,5	46,3	49,1	54,5	53,2	58,9	60,5
F46-2	33,4	31,8	35,3	37,8	35,9	39,3	40,1	50,8	55,3	57,8

4.9. Organoleptik Kontroller

Görünüm değerlendirme: Homojen (H), Koalesans (K), Kısmi Faz ayrımı (KFA), Tam Faz ayrımı (TFA), Sedimentasyon (S).

Renk: Saydam (S), Yarı saydam (YS), Süt rengi (SR), Opak-sarı (OS).

Koku Değerlendirme: Karakteristik (K).

Tablo 4.17: Organoleptik Kontrol Sonuçları

		Görünüm								
Formülasyon Numarası	**Başlangıç Değeri**	**5ºC±2°C**			**25ºC±2°C (%60 R.N.)**			**40ºC±2°C (%75 R.N)**		
		1.ay	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**
F41	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F41-2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F41-3	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F42-1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F43	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F43-1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F43-2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F44-1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F46	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F46-2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H

Tablo 4. 18:Koku değerlendirmesine ait bulgular

		Koku								
Formülasyon Numarası	**Başlangıç Değeri**	**5ºC±2°C**			**25ºC±2°C (%60 R.N.)**			**40ºC±2°C (%75 R.N)**		
		1.ay	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**
F41	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F41-2	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F41-3	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F42-1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F43	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F43-1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F43-2	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F44-1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F46	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
F46-2	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K

Tablo 4. 19: Renk değerlendirmesine ait bulgular

Formülasyon Numarası	Renk									
	Başlangıç Değeri	5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F41	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F41-2	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F41-3	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F42-1	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F43	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F43-1	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F43-2	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F44-1	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F46	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS
F46-2	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS	OS

4.10. Viskozite Değerleri

Tablo 4.20:F41 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	F41 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
		5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	52,79	49,14	49,71	49,84	51,85	51,91	52,01	41,67	41,55	40,58
75	52,41	49,70	50,01	50,15	50,84	50,88	50,75	41,51	41,58	40,61
80	51,42	50,03	50,08	50,35	50,77	50,65	50,71	40,22	40,13	39,18
85	51,32	50,70	50,81	51,01	50,32	50,44	50,48	40,24	39,25	39,68
90	51,16	50,58	50,58	50,78	50,07	50,21	50,35	39,75	39,58	39,71
95	51,29	48,74	49,05	49,54	49,84	49,81	49,78	39,79	39,65	39,18
100	51,27	47,68	48,13	48,21	50,03	50,21	50,12	39,17	39,12	39,08
105	50,95	48,46	48,56	48,65	49,77	49,75	49,81	38,62	38,57	38,25
110	50,66	47,33	47,81	47,93	49,53	49,59	49,65	38,53	38,45	38,18
115	50,78	46,69	46,55	46,71	49,53	49,61	49,75	38,33	38,21	38,09

Tablo 4.21:F41-2 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	F41-2 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
		5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	51,95	39,33	38,99	38,12	50,26	48,22	48,12	38,21	37,89	36,88
75	51,54	38,89	38,81	38,15	49,27	48,23	47,58	37,93	37,56	36,51
80	51,67	38,99	38,77	37,23	48,80	48,17	47,24	37,93	37,53	36,44
85	51,40	38,93	38,91	37,21	48,47	48,13	48,19	37,78	37,36	36,44
90	51,30	38,80	38,65	37,65	48,18	48,15	48,09	37,79	37,28	36,89
95	51,15	38,69	38,61	37,58	47,91	47,11	47,89	37,79	37,29	36,76
100	51,01	39,17	39,08	38,01	48,00	47,55	47,16	37,47	37,28	36,17
105	51,26	38,93	38,81	37,87	48,02	47,58	47,11	37,50	37,14	36,19
110	50,95	39,00	38,57	37,81	47,80	46,51	46,11	37,52	37,09	36,11
115	50,96	39,13	38,89	37,25	47,77	46,55	46,25	37,42	37,09	36,18

Tablo 4. 22:F41-3 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	F41-3 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
		5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	45,31	45,22	44,14	43,18	48,49	47,59	45,23	47,65	45,68	43,23
75	45,26	45,18	44,12	43,25	48,13	47,25	45,28	46,48	45,38	43,25
80	45,86	45,18	44,25	43,13	47,01	47,11	45,81	46,52	45,62	43,61
85	45,16	45,16	44,88	43,11	46,86	46,25	45,33	46,01	45,18	43,61
90	44,62	44,11	44,01	43,11	46,58	46,12	45,21	45,78	45,02	42,28
95	44,33	43,22	43,18	42,59	46,47	46,38	45,31	45,71	45,21	42,36
100	44,01	43,38	43,11	42,09	46,89	46,18	45,28	45,58	44,28	42,31
105	44,16	43,41	43,09	42,81	46,78	46,97	44,55	45,72	44,28	42,11
110	43,94	43,12	43,05	42,81	46,55	46,51	44,58	45,60	43,09	42,08
115	43,33	43,08	43,01	42,25	46,63	46,01	44,35	45,84	43,09	42,17

Tablo 4.23: F42-1 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	F42-1 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
	Başlangıç Viskozite Değeri	5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)	
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	50,45	39,05	37,81	35,78	55,59	47,71	46,78	44,57	39,82	37,55
75	49,18	38,54	37,65	35,12	57,12	50,68	47,89	44,12	39,87	36,98
80	48,89	38,01	37,12	35,34	55,02	53,55	47,23	43,74	38,65	36,45
85	48,93	37,93	37,08	34,78	53,70	54,89	46,58	43,78	38,43	36,21
90	48,47	38,37	36,88	34,89	53,05	54,65	46,12	43,53	38,11	36,28
95	48,33	38,28	33,67	33,21	53,83	53,45	46,19	43,37	38,17	35,87
100	48,66	37,93	33,45	33,45	52,52	53,67	46,54	43,36	38,92	35,65
105	48,02	37,93	36,78	32,11	52,57	52,09	46,81	43,10	38,43	35,76
110	48,28	38,05	36,23	32,19	51,13	52,69	46,91	42,99	37,56	35,11
115	48,23	37,82	37,13	32,19	50,27	51,02	46,79	43,16	37,14	35,09

Tablo 4. 24: F43 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	F43 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
		5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	50,17	49,86	47,55	46,18	52,97	50,98	49,91	51,11	50,88	48,78
75	49,36	49,44	47,14	46,71	54,06	50,76	49,76	50,40	50,12	48,65
80	49,13	49,55	47,65	46,19	51,18	51,43	48,91	50,11	50,25	48,22
85	48,78	49,40	47,61	46,34	51,55	51,32	48,76	48,86	50,21	48,29
90	48,32	48,79	47,61	45,66	51,23	51,32	48,65	48,25	48,91	48,65
95	48,19	48,34	47,12	45,89	50,81	50,12	48,91	47,78	47,65	48,29
100	48,00	48,12	46,67	45,89	51,93	50,55	48,16	46,83	47,61	47,43
105	47,96	49,36	46,87	45,65	50,14	48,98	48,19	46,59	46,58	47,25
110	47,74	48,15	46,51	45,12	52,44	49,13	48,26	45,66	46,59	47,22
115	47,49	48,19	46,11	44,31	51,24	49,18	48,65	45,33	46,71	47,19

Tablo 4.25: F43-1 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	F43-1 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
	Başlangıç Viskozite Değeri	5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)	
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	47,27	61,01	51,45	48,43	47,37	45,68	42,71	47,18	45,67	41,45
75	46,65	63,31	51,34	48,76	46,83	44,71	42,35	46,30	45,61	41,23
80	46,60	61,39	51,56	48,71	45,86	44,72	42,78	46,03	45,41	41,34
85	46,01	58,48	51,69	48,51	45,86	43,78	42,89	45,78	45,11	41,28
90	45,78	56,39	48,88	48,91	45,78	43,13	41,89	45,42	45,15	40,61
95	45,64	56,31	50,31	48,92	45,71	43,18	41,36	45,16	45,19	40,24
100	45,58	53,37	50,34	46,57	45,58	42,78	41,27	45,32	43,18	40,21
105	45,90	52,82	50,55	46,89	45,41	42,91	41,76	45,41	43,15	40,31
110	45,60	50,83	49,81	46,81	45,36	42,45	41,23	45,30	43,18	40,51
115	45,67	50,84	49,82	46,82	45,21	42,67	41,11	45,38	43,22	40,13

Tablo 4. 26:F43-2 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	F43-2 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)									
	Başlangıç Viskozite Değeri	5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	47,27	43,26	41,22	39,87	47,65	45,48	43,54	43,35	39,24	37,45
75	46,65	43,16	40,89	39,54	47,00	45,67	42,54	42,73	39,87	37,89
80	46,60	43,98	40,87	39,11	46,43	48,33	42,37	42,51	39,81	37,91
85	46,01	46,40	40,15	38,76	46,16	48,73	42,45	42,47	38,21	36,43
90	45,78	47,09	41,56	40,91	46,14	47,43	41,67	42,15	38,34	36,41
95	45,64	43,85	42,78	40,55	46,74	47,75	41,67	42,13	38,11	36,32
100	45,58	42,77	42,36	39,84	46,04	47,13	41,38	42,12	38,19	36,18
105	45,90	42,17	43,67	39,87	45,78	43,22	41,65	42,11	37,11	37,91
110	45,60	44,06	42,91	38,12	45,36	43,21	40,98	41,97	37,21	37,56
115	45,67	42,77	42,87	38,15	45,33	43,56	40,95	41,97	36,19	37,65

Tablo 4. 27: F44-1 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	F44-1 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)									
	Başlangıç Viskozite Değeri	5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	47,93	38,68	38,11	37,45	53,44	51,35	47,15	50,54	47,28	43,68
75	47,09	38,28	37,83	37,29	55,98	51,22	46,38	51,97	46,39	42,78
80	46,60	37,60	37,91	37,41	53,06	51,37	46,63	50,28	45,93	43,11
85	46,40	37,86	37,78	36,46	51,47	51,19	45,71	48,24	45,28	42,97
90	46,14	37,71	37,89	36,49	50,36	48,98	45,72	48,47	45,52	41,19
95	45,99	37,73	37,81	36,22	51,70	50,11	45,18	50,12	45,89	41,34
100	46,04	37,80	37,77	36,45	49,90	50,54	45,62	49,70	45,22	41,12
105	45,72	37,37	37,55	37,65	49,77	50,55	45,11	48,77	44,41	41,12
110	45,84	37,52	37,42	37,51	48,40	49,89	45,22	48,40	44,51	41,88
115	45,55	37,70	37,42	37,28	49,08	49,72	45,18	48,05	45,58	41,65

Tablo 4.28:F46 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	F46 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
	Başlangıç Viskozite Değeri	5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)	
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	45,31	41,33	40,91	38,71	44,78	43,89	41,48	42,89	40,23	37,91
75	44,82	41,29	40,51	38,44	43,56	45,89	41,39	42,87	40,23	37,34
80	44,55	41,29	40,65	38,42	43,76	45,12	41,56	42,45	40,12	37,81
85	44,32	40,71	40,91	38,98	43,16	43,67	41,28	42,39	39,89	37,98
90	44,11	40,22	40,94	38,91	43,27	43,91	41,38	42,31	39,81	37,22
95	43,92	39,87	40,91	37,15	43,29	43,17	40,92	42,38	39,12	36,65
100	43,95	37,87	40,91	37,61	43,89	42,98	40,94	42,31	38,91	36,76
105	43,72	36,15	40,34	37,81	42,78	42,76	40,32	41,56	38,32	36,22
110	43,76	36,19	39,17	37,83	42,79	42,55	40,61	41,89	38,21	36,98
115	43,56	36,77	39,18	37,81	42,38	42,56	40,61	41,88	38,78	36,11

Tablo 4.28:F46-2 için viskozite bulguları

Hız (rpm)	Başlangıç Viskozite Değeri	F46-2 VİSKOZİTE DEĞERLERİ(cP)								
		5ºC±2°C			25ºC±2°C (%60 R.N.)			40ºC±2°C (%75 R.N)		
		1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
70	43,91	47,74	44,58	43,25	44,85	43,87	40,98	41,48	39,87	36,56
75	43,86	43,43	44,72	41,39	44,38	43,56	40,56	41,16	39,65	36,51
80	44,55	43,65	44,79	41,35	43,82	43,98	40,55	40,63	39,61	36,54
85	44,09	46,47	43,21	41,91	43,39	42,87	40,61	40,62	39,71	36,78
90	43,82	44,47	42,18	40,78	43,09	42,76	40,71	40,18	38,14	36,12
95	42,96	43,71	41,18	40,73	42,96	42,54	40,79	40,00	37,56	36,17
100	42,84	43,03	41,58	40,51	43,29	42,89	40,12	40,42	38,76	35,41
105	43,10	42,67	41,91	40,12	42,60	42,18	39,78	40,05	38,91	35,46
110	43,34	40,61	41,55	40,11	42,45	41,87	39,66	39,89	37,65	35,71
115	42,94	41,40	41,37	40,09	42,48	41,87	39,81	39,75	37,81	35,62

4.11. Silimarinin Nanoemülsiyonunun Etkinlik Testleri Sonuçları

1:8 oranında 20 dk ultrasonik homojenizatör uygulanmış formülasyonun fiziksel ve kimyasal stabilite değerleri etüv, oda ve buzdolabı koşulunda stabil bulunmuş olup etkinliğinin gönüllüler üzerinde denenmesi için 15 denek üzerinde çalışma gerçekleştirildi.Gönüllülerin 8 tanesi 25-35 yaş arasında, 7 tanesi ise 35-55 yaş arasındadır. Gönüllülerin bir tanesi erkek diğerleri ise bayandır.

Gönüllüler sabah ve akşam olmak üzere günde 2 kere, 8 hafta boyunca ön kol bölgesine ürünü uyguladı. Sağ ön kol bölgesine silimarin içeren nanoemülsiyon formülasyonu, sol ön kol bölgesine ise plasebo ürün uygulandır ve kıyaslandı.
5 bayanın alın bölgesindeki kırışık bir noktası belirlenip, kırışıklık derinliğide kıyaslandı.

4.11.1. Deri nemlendirme kapasitesi

15 denek ile yapılan çalışma sonucunda plasebo ürün ve etken madde içeren formül ilk değerlerle kıyaslandığında her iki numunede Corneometre cihazıyla yapılan ölçümlerde cilt nem oranları ilk ölçümlerine kıyasla artmıştır. Plasebo ürüne kıyasla etkin maddeli ürünün uygulandığı nem tutma kapasitesinin daha yüksek olduğu gözlemlendi.

Tablo 4. 29:F41-2 Formülasyon ve plasebonun deri nemlendirmesinin ölçülmesine ait bulgular

	F41-2			PLASEBO		
GÖNÜLLÜLER	**İLK ÖLÇÜM**	**1. AY**	**2.AY**	**İLK ÖLÇÜM**	**1. AY**	**2.AY**
EA	52±3,08	69,4±1,94	76,6±2,5	53±4	66,2±4,08	70,2±5,71
GŞ	47,4±2,7	64,8±3,27	75,2±2,94	49,2±2,77	46,4±3,2	49±2,44
FD	63,8±3,96	73,8±3,89	84±4,18	59,4±6,22	64,8±2,86	74,4±3,84
DŞ	50,6±4,27	65±6,36	78,2±2,55	49,4±6,34	51,8±4,32	46,6±3,57
SÖ	65±4,06	70,8±4,65	77,6±3,2	64,2±5,58	65,4±3,5	62±2,34
BÇ	63,2±7,49	57,4±4,15	73,6±5,41	70,2±4,6	54,8±2,48	49±3,74
HA	51,4±4,03	64±3,87	76,4±4,21	54,4±2,88	47,6±2,7	48,8±3,11
SÖ	73,6±2,5	86,6±2,07	89±5,52	74,8±5,26	78,8±0,83	72,4±4,15
BM	53±2,23	64,2±4,65	69,2±0,83	49±1,87	50,2±2,58	54,2±2,77
EÇ	73,8±8,04	76±15,28	78,8±1,30	72,4±5,07	62,2±2,16	63,4±1,51

HT	61,4±8,47	64,2±5,11	73,6±3,04	51,8±10,49	47±4,41	54,4±2,88
ŞD	60,6±8,08	74,6±4,56	79±5,09	60,6±5,68	57,8±2,16	57,4±6,8
EK	46,2±1,92	61,6±4,09	72,6±4,82	48,6±2,07	56,4±2,07	54,8±2,58
HA	43,8±5,21	62,6±1,51	71±4,18	42,8±4,08	50,2±5,35	56,8±1,09
GY	67±1,87	62,8±8,22	76,2±2,77	65±3,53	58±4,12	56,6±6,1
ORTALAMA	58,1±4,5	67,8±4,9	76,7±3,5	57,6±4,6	57,1±3,12	58±3,5

Silimarinli ürün Dunnett's Multiple Comparison Testine göre p‹0,05 olarak anlamlı bulundu.

Silimarin içermeyen plasebo ürün Dunnett's Multiple Comparison Testine göre p‹0,05 olarak anlamlı bulunmadı.

4.11.2. Deri pH değeri

Yapılan ölçümler neticesinde ürün kullanıldıktan sonra cilt pH değerleri 5-6,5 arasına sabitlenmiştir. İlk ölçümlerde düşük pH değerine sahip olanlar (4 civarı) ürünü kullandıktan sonra pH seviyelerinde yükselme gözlemlendi.

Tablo 4.30:F41-2 Formülasyonu ve plasebonun deri pH'sı üzerine etkisinin ölçülmesine ait bulgular

	F41-2			PLASEBO		
GÖNÜLLÜLER	**İLK ÖLÇÜM**	**1. AY**	**2.AY**	**İLK ÖLÇÜM**	**1. AY**	**2.AY**
EA	4,3±0,1	5,16±0,3	5,66±0,15	4,23±0,15	4,73±0,11	4,93±0,15
GŞ	4,66±0,05	5,83±0,05	5,86±0,21	4,93±0,41	5,26±0,15	5,46±0,15
FD	4,13±0,05	5,26±0,05	5,6±0,17	4,1±0	4,6±0,17	4,86±0,05
DŞ	5,06±0,05	5,9±0,43	5,93±0,15	4,83±0,11	5,23±0,05	5,13±0,05
SÖ	4,2±0	4,96±0,15	5,16±0,05	4,23±0,05	4,63±0,15	4,6±0,17
BÇ	5,1±0	5,86±0,11	6,23±0,11	4,76±0,21	5,2±0,1	5,2±0
HA	4,86±0,4	4,86±0,3	5,6±0,1	4,83±0,11	5±0,08	5,03±0,04
SÖ	4,36±0,09	5,23±0,23	5,43±0,11	4,3±0	4,33±0,15	4,5±0
BM	4,36±0,11	5,4±0,17	6±0,17	4,43±0,05	4,56±0,15	4,76±0,05

EÇ	4,43±0,15	5,66±0,05	5,6±0,34	4,6±0	4,7±0,1	5±0,17
HT	4,83±0,05	6,06±0,2	6,06±0,05	4,83±0,05	5,1±0	5,23±0,11
ŞD	4,73±0,05	5,06±0,05	5,26±0,05	4,66±0,05	4,8±0,1	4,93±0,05
EK	5,03±0,404	5,63±0,05	5,66±0,15	4,8±0,17	4,96±0,11	4,86±0,05
HA	4,13±0,05	5±0,2	5,36±0,05	3,93±0,05	4,06±0,05	4,33±0,15
GY	5,06±0,11	5,66±0,37	5,73±0,05	4,86±0,05	5,16±0,05	5,4±0,1
ORTALAMA	4,61±0,11	5,43±0,18	5,676±0,12	4,55±0,09	4,82±0,1	4,94±0,08

Silimarinli ve plasebo ürün kullanımı sonucu pH değeri ölçüm sonuçları Dunnett's Multiple Comparison Testine göre p‹0,05 olarak anlamlı bulundu.

4.11.3. Deri Sebum Değeri

Tablo 4.31:F41-2 Formülasyonu ve plasebonun deri sebumu üzerine etkisinin ölçülmesine ait bulgular

	SİLİMARİNLİ ÜRÜN			PLASEBO		
GÖNÜLLÜLER	**İLK ÖLÇÜM**	**1. AY**	**2.AY**	**İLK ÖLÇÜM**	**1. AY**	**2.AY**
EA	0,5±0,7	0±0	0,5±0,7	2±2,82	1,5±0,7	1±0
GŞ	1,5±0,7	1±0	0±0	1±0	0±0	0±0
FD	3±4,24	1,5±2,12	1±0	3,5±3,53	1±1,41	2,5±0,7
DŞ	0,5±0,7	0,5±0,7	0,5±0,7	0±0	0±0	0±0
SÖ	0±0	0,5±0,7	0,5±0,7	0,5±0,7	0±0	0±0
BÇ	0±0	0±0	0,5±0,7	0±0	0±0	0±0
HA	0±0	1±1,41	0,5±0,7	0±0	0,5±0,7	0±0
SÖ	0,5±0,7	0,5±0,7	0,5±0,7	0,5±0,7	0±0	0±0
BM	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
EÇ	0,5±0,7	0±0	0,5±0,7	0±0	0±0	0±0
HT	0,5±0,7	0±0	0,5±0,7	0,5±0,7	0±0	0±0
ŞD	4,5±3,53	4,5±2,12	3,5±2,12	4,5±2,12	4±1,41	4±1,41
EK	0±0	0±0	0±0	0±0	05±0,7	0±0
HA	0,5±0,7	0,5±0,7	0,5±0,7	0±0	0±0	0±0
GY	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
ORTALAMA	0,8±0,8	0,6±0,5	0,6±0,5	0,8±0,7	0,8±0,3	0,5±0,1

Silimarinli ve plasebo ürün kullanımı sonucu Dunnett's Multiple Comparison Testine göre de p‹0,05 olarak anlamlı bulunmadı.

4.11.4. Deri Melanin ve Kızarıklık Seviyelerinin Ölçülmesi

Tablo 4.32:Sol Kol (Plasebo Ürün) Ölçüm Sonuçları

GÖNÜLLÜLER	BAŞLANGIÇ DEĞERİ		1.AY PLASEBO		2.AY PLASEBO	
EA	470,3±3,2	550,6±3,8	473,6±4,6	555,6±4,5	470,4±5,4	548,6±6,8
GŞ	476,1±4,5	569,3±5,7	476,2±5,3	566,4±3,2	473,5±5,8	561,2±2,4
FD	471,3±4,3	573,6±3,6	468,3±5,8	571,8±3,8	470,4±6,7	571,9±4,8
DŞ	472,5±6,8	573,6±4,7	468,3±1,9	571,8±4,7	470,8±3,7	562,9±3,4
SÖ	472,5±3,1	569,1±4,6	485,3±6,5	567,6±1,2	488,6±5,6	550,6±4,5
BÇ	472,3±2,9	569,1±4,4	474,4±3,8	568,3±6,9	488,6±2,8	550,6±2,9
HA	497,3±8,1	566,5±7,3	496,5±5,1	563,8±7,8	496,4±1,9	563,6±8,1
SÖ	496,3±8,7	574,6±2,5	487,3±4,9	566,5±8,1	491,5±1,8	574,2±8,7
BM	462,2±2,1	537,3±2,3	467,6±2,8	534,1±3,1	473,3±2,5	569,3±3,5
EÇ	523,8±1,8	596,3±8,4	522,4±3,4	593,8±2,9	521,9±2,8	592,8±1,2
HT	466,6±2,9	543,6±8,7	458,6±4,6	550,6±1,7	458,3±1,9	545,6±3,5
ŞD	469,6±3,4	545,3±8,8	478,3±2,6	561,3±1,8	474,6±7,5	561,3±2,1
EK	465,2±3,5	563,8±1,2	463,4±1,3	562,8±3,4	467,3±8,9	560,2±2,8
HA	451,3±1,9	528,3±3,1	449,5±1,9	524,3±2,9	449,2±2,8	522,4±9,8
GY	472,3±2,5	511,2±1,7	468,2±2,9	523,4±2,1	469,6±4,9	510,4±2,3
ORTALAMA	476±3,98	557,5±4,72	476,1±3,82	558,3±3,87	476,8±4,33	557,12±4,45

Plasebo ürün kullanımı sonucu ciltteki melanin oranındaki değişiklik Dunnett's Multiple Comparison Testine göre $p<0,05$ olarak anlamlı bulunmadı.

Plasebo ürün kullanımı sonucu ciltteki kızarıklık oranındaki değişiklik Dunnett's Multiple Comparison Testine göre $p<0,05$ olarak anlamlı bulunmadı.

Silimarin içeren ürün kullanımı sonucu sonucu ciltteki melanin oranındaki değişiklik Dunnett's Multiple Comparison Testine göre $p<0,05$ olarak anlamlı bulundu.

Silimarin içeren ürün kullanımı sonucu sonucu ciltteki kızarıklık oranındaki değişiklik Dunnett's Multiple Comparison Testine göre $p<0,05$ olarak anlamlı bulundu.

Tablo 4. 33: Sağ Kol (Silimarin İçeren Ürün) Ölçüm Sonuçları

GÖNÜLLÜLER	BAŞLANGIÇ DEĞERLERİ		1.AY F41-2		2.AY F41-2	
EA	473,3±2,1	552,3±5,1	470±3,4	535,3±5,3	467,6±5,8	548,3±3,6
GŞ	478,8±5,6	574,3±3,2	468,3±2,6	561,2±2,8	452,8±11,2	541,1±3,4
FD	473,2±7,8	572,3±3,1	465,2±3,7	561,2±2,4	451,9±4,5	555,5±2,6
DŞ	476,1±2,3	574,3±2,7	469,1±4,3	548,2±7,9	451,8±6,7	529,7±6,9
SÖ	492,6±1,9	563,3±4,8	491,8±2,7	563,4±10,1	484,6±8,9	542,3±6,2
BÇ	480,6±3,7	569,9±3,5	475,1±2,8	557,4±6,5	462,7±1,6	542,3±8,2
HA	501,3±9,8	573,3±2,7	496,7±5,7	565,4±1,9	481,3±4,5	561,9±8,4
SÖ	496,1±5,6	566,6±3,7	484,4±5,9	550,8±1,6	486,3±4,6	555,2±1,9
BM	465,6±2,7	541,3±2,6	468,3±6,1	545,3±4,5	466,6±3,2	543,6±1,3
EÇ	522,6±4,5	594,8±2,1	516,7±1,9	584,8±6,7	510,5±2,1	571,8±1,3
HT	463,2±3,6	550,3±7,9	461,3±1,5	532,3±9,2	456,6±1,9	525,3±4,6
ŞD	466,6±2,3	547,8±6,7	467,6±1,8	540,6±6,1	451,3±1,2	537,8±2,7
EK	478,9±1,2	543,2±6,9	465,3±9,1	532,8±4,2	456,3±3,2	528,8±3,8
HA	465,1±1,9	523,7±8,7	457,2±4,2	511,7±1,3	443,8±2,7	503,6±5,2
GY	489,2±4,8	532,4±8,1	481,3±4,5	531,7±1,4	481,2±4,9	528,3±5,1
ORTALAMA	481,5±3,98	557,68±4,78	475,8±4,01	548,14±4,79	467,02±4,46	541,04±4,34

4.11.5. Kırışıklık Değerleri

Tablo 4.34: Gönüllülerin Kırışıklık Değerlerinin Ölçüm Sonuçları

GÖNÜLLÜLER	1.GÜN	1.AY	2.AY
D.Ş.	44±4.58	36±3,51	15±5,3
D.Ş.	40±3,4	33±3,6	16,6±10,8
B.Ç.	40±8,5	30,5±6,1	27±8,9
E.Ç.	41±7,3	35,25±6,1	25±4,5
E.Ç.	44±6,5	32±7,5	27±5,6
ORTALAMA	41,8±6,056	33,5±5,362	22,12±7,02

Kırışıklık oranındaki değişiklik Dunnett's Multiple Comparison Testine göre $p<0,05$ olarak anlamlı bulundu.

4.11.6. Anket Testi Sonuçları

1- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizdeki nem kaybını azalttı mı?

2- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizin parlaklığında ve canlılığında artış sağladı mı?

3- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cilt elastikiyetinde bir artış sağladı mı?

4- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildiniz tarafından kolay emiliyor mu?

5- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon kırışıklıkların görünümünde azalma sağladı mı?

6- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinize yumuşaklık hissi verdi mi?

7- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizde kızarıklık, kaşıntı gibi herhangi bir alerjik reaksiyona neden oldu mu?

8- Kullandığınız nanoemülsiyon losyon cildinizde bulunan lekelerde bir azalma sağladı mı?

Tablo 4. 35:Anket testi sonuçları

	1.Soru	2.Soru	3.Soru	4.Soru	5.Soru	6.Soru	7.Soru	8.Soru
ORTALAMA PUANLAR	3,8	4	3	3,75	3,9	3,6	0,2	3,5
YÜZDE DEĞERLER	76	80	60	75	78	72	4	70

4.12. İstatiksel Değerlendirme

Dunnett's Multiple Comparison Testine göre yapılan istatiksel değerlendirmeler aşağıdaki tabloda belirtildiği gibidir:

Tablo 4. 36: Dennut's Multiple Comparison Testine göre İstatiksel Sonuçlar

Numune İsmi	**Alınan Ölçüm**	**p<0,05**
Plasebo	Cilt nem tayini	Anlamlı değil
F41-2	Cilt nem tayini	Anlamlı
Plasebo	Cilt pH değeri	Anlamlı
F41-2	Cilt pH değeri	Anlamlı
Plasebo	Cilt Sebum Değeri	Anlamlı Değil
F41-2	Cilt Sebum Değeri	Anlamlı Değil
Plasebo	Melanin/Kızarıklık Değeri	Anlamlı Değil
F41-2	Melanin/Kızarıklık Değeri	Anlamlı
F41-2	Kırışıklık Değeri	Anlamlı

5. TARTIŞMA

Derimiz vücudumuzu saran koruyucu bir tabakadır. Fakat zamanla birlikte cildimiz yaşlanır ve fonksiyonlarında değişiklik gösterebilir.

Günümüzde antioksidanlar kozmetik bakım ürünlerinde çokça kullanılan ve ilgi odağı olan içeriklerdir. Antioksidanların cilt bakım ürünlerinde yaygınca kullanımasının başlıca sebepleri yaşlılık belirtilerinin oluşumunu geciktirmek, oluşmuş olan belirtilerinin de hafiflemesini sağlamaktır. 100- 500 nm arasında değişen damlacık boyutuna sahip olan nanoemülsiyonlar etkin maddelerin hapsedilmesi ve deri içerisinde kontrollü bir salınım göstermesi sebebiyle yaşlılık belirtilerinin ortadan kaldırılması için etkin olarak kullanılmaya başlanılmıştır.

Tez çalışmasında; ciltte oluşan yaşlılık belirtilerini giderebilmek ve cilde ihtiyaç duyduğu bileşenleri geri kazandırabilmek amacıyla doğal bir antioksidan olan deve dikeni tohumu olarakta bilinen silimarin etkin maddesini kullanarak nanoemülsiyon formunda formülasyonları hazırlanmıştır.

Silimarin içeren stabil bir nanoemülsiyon hazırlanmasında 100-500 nm damlacık boyutuna sahip ve stabil bir formülasyon elde edebilmek için çeşitli denemeler yapılmıştır. Formülasyonlar ilk olarak 3500 rpm 30 dk da santrifüj testine tabii tutularak çökme, koalesans, faz ayrışması gibi stabil olmama durumu gösterenler elenmiştir. 24 adet formülasyon santrifüj sonucu stabil bulunmuştur. İçlerinden en uygun boyuta sahip ve stabil 10 tanesi belirlenerek hızlandırılmış stabilite testine alınmıştır. 3 ay sonunda en iyi 3 formül belirlenerek silimarin içerikleri tayin edilmiştir. Bu üç formülasyondan da en iyisi olan F41-2 tez çalışmasının ikinci aşamasını gerçekleştirmek üzere seçilmiştir.

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlarda genellikle karıştırma süresi arttıkça damlacık boyutunun azaldığı gözlemlenmiştir. Fakat oda, etüv ve buzdolabı test koşullarında damlacık boyutlarında artışlar oluşmuştur. Buzdolabı ve oda koşulundaki numunelerin damlacık boyutlarında fazla büyüme gözlemlenmezken, etüv koşulunda tutulan numunelerin damlacık boyutlarında daha fazla miktarda bir büyüme gözlemlenmiştir.

Aynı şekilde silimarin miktar tayininde buzdolabı ve oda koşulunda tutulan numunelerdeki silimarin içerik miktarı, etüvde tutulan numuneye kıyasla daha

yüksektir. Bu durumda hazırlanan ve seçilen F41-2 kodlu formülasyonun etkinliğini daha yüksek oranda göstermesi için oda ve buzdolabında saklanması önerilebilir.

F41-2 formülasyonu ile yürütülen in vivo etkinlik testlerinde 15 gönüllünün cilt nem değerleri, melanin oranları, kızarıklık oranları, kırışıklık ve cilt pH değerleri ölçülerek 2 ay boyunca ürünü her gün 2 defa kullanması istenerek her ay aynı parametrelerde ölçümler alınmıştır. Gönüllüler sağ kollarına silimarin etkin madddesini içeren nanoemülsiyon formülasyonunu kullanmıştır. Sol kollarına ise silimarin etkin maddesini içermeyen plasebo ürünü kullanmışlardır. Ayrıca 5 gönüllüde yüzlerinde belirlenen kırışıklık bulunan bölgelere ürünü uygulayarak kırışıklık parametresinin yorumlanmasını sağlamıştır.

Cilt nem değeri Corneometre ile ölçülmüş olup plasebo ürün anlamlı bulunmamışken, silimarin içeren ürün sonuçları anlamlı bulunmuştur. Bu sonucu silimarinin cildin nem değeri üzerinde etkili olduğu şeklinde yorumlayabiliriz. Cildin pH değeri her iki ürün sonucuna bakıldığında da anlamlı bulunmuş olup, ürün pH değeriyle eşdeğer bir cilt pH'ına gönüllülerin sahip olmasını sağlamıştır. Yani pH değeri 4 civarında olan bir cilt, pH değeri 5'in üzerinde olan nanoemülsiyon formülasyonu kullandığında cildinin pH değerinin 5'in üzerlerine çıktığı saptanmıştır. Melanin ve kızarıklık değerleri açısında silimarin içeren ürün anlamlı bulunmuş olup nanoemülsiyon formülasyonun cildin melanin seviyesini azaltıp, UV ışınlarına karşı koruma parametrelerini de iyileştirdiği düşünülebilir.

Silimarin içeren nanoemülsiyon ve plasebo ürün cildin sebum değeri üzerinde herhangi bir değişiklik yapmamıştır. 5 gönüllüde belirlenen kırışıklık çizgisinde yapılan ölçümler kırışıklığı azalatma açısından anlamlı bulunduğundan silimarinin kırışıklık üzerine olumlu bir etkisi olduğu söylenebilir.

Rasul A. ve ark. ı 2011 yılında yapmış oldukları çalışmada %4 silimarin içeren bir cilt kremi formülasyonu çalışmış olup, cilt nemi ve transepidermal su kaybı değerlerinde olumlu bir etki gözlemlerken, kırışıklık üzerinde de çalışılan kremin etkin olduğunu saptamışlardır. Krem 3 ay boyunca gönüllüler tarafından kullanılmıştır. Deve dikeninden elde edilen bitkisel bu bileşenin UVA ve UVB ışınlarının ciltte sebebiyet verdiği birçok cilt sorununa yönelik bitkisel bir çözüm olabileceği yapılan bilimsel çalışmalarla desteklenir niteliktedir. Özellikle UV ışınına maruziyet sonucu ortaya çıkan cilt kırışıklıklarının giderilmesinde önemli rol oynar ve güneş kremleri ya da cilt

losyonlarının silimarin ile kombinasyonu sonucunda cildi zararlı etkenlere karşı korur. Silimarin ekstraktı içeren s/y emülsiyon yapılı cilt kremi, cildi nemlendirme etkisine sahip olup cildin içerdiği nem düzeyini arttırdığı bildirilmiştir.(Fischer ve ark. 1997). Ayrıca transepidermal su kaybınıda önlediği gözlemlenmiştir. Yine silimarin ekstrakti içeren s/y emülsiyon cilt kreminin ciltteki melanin seviyesini azalttığı saptanmış olup, kızarıklık eritem gibi antiinflamatuar etkileri de düşürdüğü sonucuna varılmıştır.

Silimarin emülsiyonunun kadın denekler üzerinde yapılan bir çalışmada, deri esnekliğini artırdığı ve kırışıkların derinliğinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Tırnaksız F., 2006).

Yukarıdaki benzer çalışmalarda olduğu gibi, yapılan tez çalışmasında ülkemizde yetişen deve dikeninden elde edilen doğal bir antioksidan olan silimarin etkin maddesini içeren nanoemülsiyonun, yapılan testler ve ölçümler sonucunda cilt üzerinde birçok faydalı etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Gelecekte kozmetik cilt ürünlerinde kullanımının yaygınlaşacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abolmaalia, S.S., Tamaddona, A. M., Farvadia, F. S., Daneshamuza, S. ve Moghim, H. Pharmaceutical Nanoemulsions and Their Potential Topical and Transdermal Applications. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences. (2011) 7(3): 139-150.

Acosta E. 2009. Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery, Curr Opin Colloid Interface Sci, 14, 3-15.

Ayata E. R., Alpha-Lipoik Asit içeren Topikal nanoemülsiyon formülasyonlarının tasarımı ve değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,

Augustin MA, Sanguansri P. 2006. Nanoscale materials development - a food industry perspective. Trends Food Sci Technol, 17, 547-556.

Dalo, F. (2017), Seboreik Dermatitli Hastalara Yönelik Kozmetik Nanoemülsiyonların Geliştirilmesi, Karakterizasyonu ve Etkinliğinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Kozmetoloji BD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Davarcı D., Akdemir S., Personel Care Europa, 2013; April Issue.

Erdal MS. Emülsiyonlar, www.meslekiyeterlilik.com/ saglikecza/eczacilik/5.Emulsiyonlar.pdf

Fehér, P., Vecsernyés, M., Fenyvesi, F., Váradi, J., Kiss, T. ve ark. Topical Application of Silybum Marianum Extract. Jurnal Medical Aradean (Arad Medical Journal) (2011) 14(2):5-8.

Fernandez P et al. Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects, 2004; 251: 53.

Garcia MJ et al. Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects, 2004; 250: 415.

Guangsheng L et al. Reactive&Functional Polymers, 2005; 65: 249.

Guglielmini G. Nanostructured novel carrier for topical application. Clin Dermatol 2008, 26, 341-6.

Haritha*, Syed Peer Basha, Koteswara Rao P, A Brief Introductıon to Methods of Preparation, Applications and Characterization of Nanoemulsion Drug Delivery Systems, Chakravarthi Vedantham Nimra College of Pharmacy, Vijayawada, India

Holmberg K et al. Adv. Colloid Interface Sci., 1994; 51: 137.

İlyasoğlu H., El S.N., Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, Yapıları ve Kollodial Salınım Sistemleri Olarak Gıda Sektöründe Kullanım Alanları. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, GIDA (2010) 35 (2): 143-150

Hung, C., Lin, Y., Zhang, L., Chang, C. ve Fang, J. Topical delivery of silymarin constituents via the skin route. Acta Pharmacologica Sinica (2010) 31: 118–126.

Jurgen M, Nanotechnology, Nanoemulsions for PEG-free Cosmetics, Personal Care, July 2008, 56-57.

Kabri T et al. J. Nanobiotechnology, 2011; 9: 41.

Křena, V., Walterová, D. Silybin and Silymarin–New Effects and Applications. Biomed. Papers (2005) 149(1): 29–41.

Meyer J et al. SOFW Journal 2008; 134: 6.

Mason HG, Wilking JN, Meleson K, Chang CB, Graves SM. 2006. Nanoemülsions: formation, structure and physical properties. J of Phys: Condens Matter, 18, 635- 666.

Panapisal, V., Charoensri, S. ve Tantituvanont, A. Formulation of Microemulsion Systems for Dermal Delivery of Silymarin. AAPS PharmSciTech (2012) 13(2): 389-399.

Rasul, A. ve Akhtar, N. Anti-aging potential of a cream containing milk thistle extract: Formulation and in vivo evaluation. African Journal of Biotechnology (2012) 11(6):1509-1515.

Roco MC. 2007. National Nanotechnology Initiative- Past, Present, Future. In: Handbook of Nanoscience, Engineering and Technology, Goddard III WA, Brenner DW, Lyshe.

S. Kentish, T.J. Wooster, M. Ashokkumar, S. Balachandran, R. Mawson, L. Simons, The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. Innovative Food Science and Emerging Technologies 9 (2008) 170–175.

Sajid, A., Sarfaraz, A., Faisal, I ve Siddiqui, M. R. Topical nanoemulsion of turmeric oil for psoriasis: characterization, ex vivo and in vivo assessment. International Journal of Drug Delivery 4 (2012) 184-197.

Salager J-L et al. Nanoemulsions: where are they going to? Colloidi Tpoint 2003; 2: 12

Sharma and Sarangdevot, IJARPB, 2012; Vol.2 (3):408-415

Shah P et al. Review Pharma, 2010; 1: Issue 1, January-June.

Shah P, Bhalodia D, Shelat P, Nanoemulsion : A Pharmaceutical Review, Sys Rev Pharm, 2010, volume 1(1), 24-32.

Solans C., Izquierdo P., Nolla J., Garcia-Celma M.J., Nano-emulsions. Current Opinion in Colloid & Interface Science Volume 10, Issues 3–4, October 2005, Pages 102-110.

Sonneville-Aubrun O et al. Adv. Colloid Interface Sci., 2004; 108-109: 145.

Sznitowska M et al. Eur. J. Pharm Sci. 2001; 12: 175

Tandros T et al. Formation and stability of nano-amulsions. Adv. Colloid Interface Sci. 2004;108-109:303.

Tırnaksız, F. (2006) Kozmetik Ürünlerde Kozmesötik olarak Antioksidanların, Peptid ve Proteinlerin Kullanımı ve Önemi. Türkiye Klinikleri Kozmetik Dermatoloji, 2 (17), 6-18

Velikov K.P,Pelan E. 2008. Colloidal delivery systems for micronutrients and nutraceuticals. Soft Matter, 4, 1964-1980.

Xin X., Zhang H., Xu G., Tan Y. Influence of CTAB and SDS on the properties of oil-in-water nano-emulsion with paraffin and span 20/Tween 20, 2013

Zuelli F, Belser, E, Schmid D, Liechti C, Suter F. 2006. Preparation and Properties of Coenzyme Q10 Nanoemulsions. Cosmetic Sci Technol, 40 – 46.

HAM VERILER

FORMLAR

KOZMETİK HAMMADDE VEYA ÜRÜNLERİ DAHİL İNSANLARDA DENENMESİ SÖZ KONUSU OLABİLECEK DİĞER TÜM MADDE VE ÜRÜNLERLE YAPILACAK KLİNİK ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	NİSAN 2013

A. ARAŞTIRMA

A.1	**Araştırmanın açık adı:** Silimarinin nanoemülsiyon formülasyonunun hazırlanması, karakterizasyonu ve etkinliğinin araştırılması		
A.2	**Varsa protokol kod numarası:**		
A.3	**Araştırma başvurusunun yapıldığı başka ülkeler var mı?**	Evet ☐	Hayır☒
A.3.1	A.3 e cevabınız evet ise ülkeleri belirtiniz:		
A.4	**Araştırmanın onaylandığı başka ülkeler var mı?**	Evet ☐	Hayır☒
A.4.1	A.4 e cevabınız evet ise ülkeleri belirtiniz:		
A.5	**Pediyatrik popülasyon üzerinde yürütülecek bir araştırma mı?**	Evet ☐	Hayır☒
A.5.1	A.5 e cevabınız evet ise ve varsa pediyatrik araştırma planına ait EMA/FDA kararının bir örneğini lütfen başvuru dosyasına ekleyiniz.		

B. BAŞVURUDAN SORUMLU DESTEKLEYİCİ

B.1	**Destekleyici**	☐
B.1.1	Kurum/Kuruluşun adı:	
B.1.2	Temasa geçilecek kişinin adı soyadı:	
B.1.3	Açık Adresi:	
B.1.4	Telefon numarası:	
B.1.5	Faks numarası:	
B.1.6	E-posta adresi:	

B.2	**Destekleyicinin Yasal Temsilcisi**	☐
B.2.1	Kurum/Kuruluşun adı:	
B.2.2	Temasa geçilecek kişinin adı soyadı:	
B.2.3	Açık Adresi:	
B.2.4	Telefon numarası:	
B.2.5	Faks numarası:	
B.2.6	E-posta adresi:	

B.3	**Destekleyicinin Statüsü**	
B.3.1	Ticari	☐
B.3.2	Ticari değil	☐

C. ARAŞTIRMA ÜRÜNÜNE İLİŞKİN BİLGİLER

Araştırmanın birden çok ürün içermesi halinde ek sayfalar kullanarak belirtilmelidir. Ürünün kombinasyon ürünü olması halinde her bir etken madde için ayrı bilgi verilmelidir.

C.1	**Araştırma Ürünü[1] (AÜ)**
C.1.2	Test edilen araştırma ürününü belirtiniz: Silimarin içeren yeni bir yaşlanma karşıtı kozmetik ürün
C.1.3	Karşılaştırma amacıyla kullanılan araştırma ürününü belirtiniz: Plasebo ürün

[1] Bu bölümde ürün adı veya ürün kodu veya ürünün ticari ismi yazılmalıdır. AÜ1, AÜ2... gibi ifadeler kullanılmamalıdır..

C.2	**Araştırma Ürününün Durumu:**		
C.2.1	Ticari ismi: -		
C.2.1.1.2	Ürün sahibinin adı:-		
C.2.2.1	Üründe kullanılan madde/maddelerin adını belirtiniz: Silimarin, non-iyonik yüzey aktif madde (Tween 20, Lauroglycol 90, Labrafil M 1944 CS, Labrafil M2125 CS), kosurfaktan madde (Transcutol IP, Propilen Glikol, Gliserin, Etanol), jelleştirici ajan (Karbomer), yağ fazı (Likit Parafin, Kaprik Kaprilik Trigliserit, İzopropilmiristat), koruyucu(Microcare BDP (Phenoxyethanol, Benzoic acid, Dehydroacetic acid), Euxyl K90), esans		
C.2.3	Ürün Bilgi Dosyası (ÜBD) mevcut mu?	Evet ☐	Hayır ☒
C.2.3.1	C.2.3'e cevabınız evet ise, lütfen başvuru dosyasına ekleyiniz.		
C.2.4	Kullanma Talimatı (KT) mevcut mu?	Evet ☐	Hayır ☒
C.2.4.1	C.2.4.1'e cevabınız evet ise, lütfen başvuru dosyasına ekleyiniz.		
C.2.5	Kullanılan AÜ, daha önce destekleyicinin ülkemizde, Avrupa Birliği (AB) üye ülkelerinde veya Amerika Birleşik Devletleri (ABD) içinde gerçekleştirdiği bir klinik araştırmada kullanılması için piyasaya arzı olmuş mu?	Evet ☐	Hayır ☒
C.2.5.1	C.2.5'e cevabınız evet ise, ülkeleri belirtiniz:		
C.2.6	Bu klinik araştırma için AÜ ile ilgili bilimsel bir tavsiye oldu mu?	Evet ☐	Hayır ☒
C.2.6.1	C.2.7'ye cevabınız evet ise, tavsiyeyi vereni belirtiniz ve tavsiyenin bir örneğini lütfen başvuru dosyasına ekleyiniz.		

C.3	**Araştırma Ürününün Tanımı**		
C.3.1	Ürün adı[2]: Silimarin içeren yeni bir yaşlanma karşıtı kozmetik ürün		
C.3.2	Ürün kodu[3]:		
C.3.3	Ürünün formunu belirtiniz (*lütfen standart ifadeler kullanınız*): Topikal yolla uygulanan kozmetik nanoemülsiyon		
C.3.3.1	Bu spesifik bir pediyatrik formülasyon mu?	Evet ☐	Hayır ☒
C.3.4	Protokole göre, gönüllülere uygulanabilen maksimum kullanım süresini belirtiniz: 2 ay		
C.3.5	İzin verilen maksimum uygulama miktarı (günlük veya toplam uygulama miktarı; birim ve uygulama yolu olarak) belirtiniz: Sabah akşam olmak üzere 0,3 gr ön kol bölgesine 2 ay boyunca topikal yol ile uygulanılacaktır.		
C.3.5.1	İnsanlarda ilk kez yapılan klinik araştırma için ilk uygulama miktarı (günlük veya toplam uygulama miktarı; birim ve uygulama yolu olarak) belirtiniz: Sabah akşam olmak üzere 0,3 gr ön kol bölgesine 2 ay boyunca topikal yol ile uygulanılacaktır.		
C.3.6	Uygulama yolunu belirtiniz (*lütfen standart ifadeler kullanınız*):Topikal yol ile uygulanılacaktır.		
C.3.7	AÜ aşağıdaki etken maddelerden hangisini (hangilerini) içeriyorsa uygun kutucuğu		

[2] Yalnızca ticari isim bulunmadığı zaman belirtilecektir. Bu, normalde, klinik araştırma belgelerinde (protokol, araştırma broşürü gibi) AÜ'ün tanımlanabilmesi için destekleyici tarafından kullanılan isimdir.
[3] Yalnızca ticari isim bulunmadığı zaman belirtilecektir. Bu, normalde, klinik araştırma belgelerinde (protokol, araştırma broşürü gibi) ürünün tanımlanabilmesi için destekleyici tarafından verilen ismi temsil eden, bir koddur.

	işaretleyiniz.		
C.3.7.1	Kimyasal kökenli mi?	Evet ☐	Hayır ☒
C.3.7.2	Biyolojik/biyoteknolojik kökenli mi?	Evet ☐	Hayır ☒
C.3.7.3	Bitkisel tıbbi ürün mü?	Evet ☐	Hayır ☒
C.3.7.4	Diğer ise lütfen belirtiniz: Bitkisel içerikli kozmetik ürün		
C.3.8	AÜ ilk kez insanlarda uygulanan bir klinik araştırmada mı kullanılacak?	Evet ☒	Hayır ☐
C.3.8.1	C.3.8.1'e cevabınız evet ise, belirlenen risk faktörleri var mı?	Evet ☐	Hayır ☐
C.3.8.1.1	C.3.8.1.1'e cevabınız evet ise, belirlenen risk faktörlerini belirtiniz: Ciltte kızarıklık, kaşıntı, iritasyon gibi alerjik reaksiyonlar		
C.3.9	Etki mekanizmasını belirtiniz (*serbest metin olarak belirtiniz*): Silimarinin antioksidan, antiinflamatuar ve immün sistemi düzenleyici etkilerinden ötürü, topikal yolla uygulanması büyük önem kazanmıştır. Bu etkileri sayesinde fotoyaşlanma, cilt kızarıklığı, kontakt dermatit, radyodermatit, cilt yaraları ve hiperpigmentasyon gibi problemlerin iyileştirilebileceği düşünülmektedir.		

C.4	**Plaseboya İlişkin Bilgiler** (*mevcutsa, gerektiği kadar tekrarlayınız*)		
C.4.1	Plasebo kullanılıyor mu?	Evet ☒	Hayır ☐
C.4.1.1	C.4.1 e cevabınız evet ise, farmasötik formunu belirtiniz: Topikal yolla uygulanan kozmetik nanoemülsiyon		
C.4.1.2	C.4.1 e cevabınız evet ise, uygulama yolunu belirtiniz:Topikal yol ile uygulanılacaktır.		

D. ARAŞTIRMAYA İLİŞKİN GENEL BİLGİLER

Bu bölüm, araştırmanın amacı, kapsamı, tasarımı ve sonlanımına ilişkin bilgilerin sağlanması için kullanılmalıdır.

D.1	**Araştırılan Durum**
D.1.1	Araştırılan durum/durumları belirtiniz (*serbest metin olarak belirtiniz*): -Transepidermal Su Kaybı:Epidermis yoluyla su kaybının (TEWL) incelenmesi, uygulanan ürünün TEWL üzerindeki etkilerinin açıklaması amacıyla yürütülecektir. Bu amaçla Tewametre(Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln/ Germany)kullanılacaktır. Ölçüm prensibi, deri yüzeyi ile deri yüzeyinin hemen üzerinde, sabit yükseklikte oluşan buhar basıncı farkının saptanması esasına dayanır. TEWL değeri g/ m2/ s olarak ifade edilir. -Deri elastikiyeti:Kullanılan ürünün etkisiyle oluşan değişiklikler, Kütometre (Aroma Skin Diagnosis System, South Korea) ile ölçülecektir. Kütometre ile deri yüzeyine dikey bir vakum uygulayarak, bu vakum sonucunda deride oluşan deformasyon test edilecektir. -Nem tutma kapasitesi:Kullanılan ürünün etkisiyle derinin nem tutma kapasitesinde meydana gelen değişiklikler, Korneometre(Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln/ Germany) kullanılarak ölçülecektir. Bu alet kapasitans esasına göre çalışır. Aletin probunda iki adet birbirine paralel metal levha vardır. Derinin nemi bu levhalar arasında dielektrik ortam oluşturur ve ölçülen değer derinin nem içeriğine göre kapasitansdaki değişikliği gösterir. - Derinin pH'ı: Kullanılan ürünün, derinin doğal asidik pH'sı ile uyumlu olup olmadığı

	test edilecektir. Bu amaçla deri pHmetre'si(Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln/ Germany) ile, deri yüzeyindeki suda çözünür maddelerin varlığında, derinin pH değerleri ölçülecektir. -Deri sebumu: Deriye uygulanan topikal formülasyonun sebum üzerine etkisini incelemek amacıyla Sebumetre(Courage + Khazaka electronic GmbH,Köln/ Germany) kullanılarak ölçümler yapılacaktır. Yüzey lipitlerinin miktarını değerlendirmek için kullanılan sebumetrede opak bir plastik şerit yüzey lipitleriyle temas ettiği zaman, bu lipitlerle kaplanması sonucunda yarı şeffaf hale geçmektedir. Bu yarı şeffaflığın derecesi, spektrofotometre ile ölçülerek lipit miktarı µg/ cm2 olarak ifade edilir. -Eritem Oluşumunun ve Leke Gideriminin Saptanması : Mexameter (Courage-Khazaka), dar bantlı reflektans spektrofotometredir. Ciltteki melanin pigmentasyonu ve eritem yoğunluğunu ölçmek amacıyla tasarlanmıştır. Mexameter MX 16 ile ciltteki eritem düzeyini saptamak amacıyla uygulama bölgesinden 5 farklı ölçüm alıncaktır (n=5). Böylelikle, ürünün plaseboya kıyasla ciltte herhangi bir kızarıklığa neden olup olmadığı tespit edilecektir. Ayrıca cilt lekelerinin giderilip giderilmediği de Mexametre yardımı ile melanin düzeyi ölçülerek saptanacaktır. -Dermatolojik Test: 0,2 gram test ürünü, yama test materyaline yerleştirilerek (IQ chamber) ön kol bölgesine temas ettirilecek şekilde yapıştırılacaktır. Gönüllünün 48 saatlik gözlem periyodu süresince su ile temastan ve direk güneş ışığından kaçınması gerektiği bildirilecektir. 48 saatlik süre sonunda yama materyali kaldırılarak, eritem ve ödem gibi bir reaksiyon olup olmadığı kaydedilecektir. Test sonucu ürüne iritasyon, kızarıklık, kaşıntı ve ödem gibi herhangi bir alerjik duyarlılık göstermeyen gönüllülerde çalışma yürütülecektir. -Anket Testi: Ürünün ciltte sağladığı nemlendirme etkisi, elastikiyet artışı ve diğer ürün parametreleri, 2 aylık ürün uygulamasını takiben subjektif bir yöntem olan anket testi ile değerlendirilecektir.

D.2	**Araştırmanın Amacı**		
D.2.1	Temel amaç:Nemlendirici		
D.2.2	İkincil amaçlar:Kırışıklık önleyici, leke giderici,elastikiyet arttırıcı		
D.2.3	Alt çalışma var mı?	Evet ☐	Hayır ☒
D.2.3.1	D.2.3'e cevabınız evet ise alt çalışmaların tam başlığını, tarihini, versiyonunu ve ilgili amaçlarını belirtiniz:		

D.3	**Gönüllülerin Araştırmaya Dahil Edilme Kriterlerini Belirtiniz** *(Maddeler Halinde Sıralayınız):* (1) Kişiler 25-65 yaşları arasında sağlıklı kadın-erkek gönüllüler olmalıdır. (2) Kişilerin cildinde hastalık bulunmamalıdır. (3) Ölçümlerden en az üç gün önceden başka ürün kullanılmaması onaylanmalıdır. (4) Kişiler yazılı bildirme formunu imzalamayı kabul etmelidir. (5) Çalışma üresince ölçüm zamanlarında mevcut olunmalıdr.

D.4	**Gönüllülerin Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterlerini Belirtiniz** *(Maddeler Halinde Sıralayınız):* (1) Kadınlarda gebelik ve süt verme durumundaki kişiler,

	(2) Aynı süre içinde herhangi bir deri hastalığı için topikal ilaç kullanan kişiler, (3) Formülasyon içeriğine daha önceden aşırı duyarlılığı bilinen kişiler, (4) Majör karaciğer ve böbrek yetmezliği olan kişiler, (5) Diğer klinik çalışmalarda yer alan kişiler, (6) Çalışmaya uyum gösteremeyen kişiler, (7) Seçilen bölgede aşırı hassasiyet olan kişiler çalışmaya dahil olamazlar. (8) Denekler herhangi bir sebeple istedikleri taktirde çalışmadan ayrılabilirler.

D.5	**Araştırmanın Sonlanım Noktası**	
D.5.1	Primer sonlanım noktasını belirtiniz (*gerektiğinde tekrar ediniz*):[4]01.10.2016	
D.5.2	Sekonder sonlanım noktası belirtiniz (*gerektiğinde tekrar ediniz*):01.10.2016	

D.6	**Araştırmanın Kapsamı** (*Lütfen uygun olan kutu/kutuları işaretleyiniz*)	
D.6.1	Güvenlilik	☒
D.6.2	Etkililik	☒
D.6.3	Diğer ise, lütfen belirtiniz: Subjektif anket testi	

D.7	**Araştırmanın Tasarımı**		
D.7.1	Kontrollü	Evet ☒	Hayır ☐
D.7.1.1	Kontrollü ise, lütfen karşılaştırma ürününü belirtiniz: Plasebo ürün		
D.7.1.1.1	Diğer tıbbi ürünler	Evet ☐	Hayır ☒
D.7.1.1.2	Plasebo	Evet ☒	Hayır ☐
D.7.1.1.3	Diğer ise lütfen belirtiniz:		
D.7.2	Randomize	Evet ☒	Hayır ☐
D.7.3	Körlük		
D.7.3.1	Açık	Evet ☐	Hayır ☐
D.7.3.2	Tek kör	Evet ☒	Hayır ☐
D.7.3.3	Çift kör	Evet ☐	Hayır ☐
D.7.3.4	Çift Sağır (double-dummy)	Evet ☐	Hayır ☐
D.7.4	Paralel grup	Evet ☐	Hayır ☐
D.7.5	Çapraz (cross-over)	Evet ☐	Hayır ☐
D.7.6	Diğer ise lütfen belirtiniz:		

D.7.7	**Araştırma Merkezleri**		
D.7.7.1	Tek bir merkez var	Evet ☒	Hayır ☐
D.7.7.2	Birden çok merkez var	Evet ☐	Hayır ☒
D.7.7.3	Ülkemizde öngörülen merkez sayısını belirtiniz: Tek		
D.7.8	Bu araştırma başka ülkelerde de yürütülüyor mu?	Evet ☐	Hayır ☒
D.7.8.1	D.7.8'e cevabınız evet ise başka ülkelerde öngörülen merkez sayısını belirtiniz:		
D.7.9	Bu araştırmada ABD ve AB'ye üye ülkeler dışındaki ülkeler de yer alıyor mu?	Evet ☐	Hayır ☒
D.7.9.1	D.7.9'a cevabınız evet ise lütfen bu ülkeleri belirtiniz:		

[4] Protokol genellikle tek bir primer sonlanım noktasını belirleyecektir. Ancak bazı durumlarda bir ko-primer sonlanım noktası ve/veya bir dizi sekonder sonlanım noktaları olabilir.

D.7.10	Bu araştırmada bağımsız bir veri izleme komitesi var mı?	Evet ☐	Hayır ☒	
D.7.10.1	D.7.10'e cevabınız evet ise komitenin yapısına ve iletişim bilgilerine ait bilgileri belirtiniz:			
D.7.11	Araştırmanın ne zaman sonlandırılacağı, araştırmaya katılan en son gönüllüye ait en son ziyaret yapılmamış ise gerekçelerini belirtiniz:[5]01.10.2016			
D.7.12	Araştırmanın tahminen ne kadar süreceği [6] (gün, ay ve yıl olarak): 2 ay			
D.7.12.1	Araştırmanın tahminen ülkemizde ne kadar süreceğini belirtiniz:	2	ay	
D.7.12.2	Araştırmada yer alan bütün ülkelerde araştırmanın tahminen ne kadar süreceğini belirtiniz:			
D.7.13	Araştırmaya gönüllü almaya başlamak için önerilen tarih (gün, ay ve yıl olarak):01.07.2016			
D.7.13.1	Ülkemizdeki tarihi belirtiniz.:	01	07	2016
D.7.13.2	Diğer ülkelerdeki tarihi belirtiniz.:			

E.ARAŞTIRMADAKİ GÖNÜLLÜ POPÜLASYONU

E.1	**Yaş Aralığı** (*Araştırmanın tamamı için her yaş aralığında planlanan tahmini gönüllü sayısını belirtiniz*[7])		
E.1.1	18 yaş altı	Evet ☐	Hayır ☒
E.1.1.1	E.1.1 için cevabınız evet ise lütfen yaş aralığını ve gönüllü sayısını belirtiniz:		
E.1.2	18 yaş üstü:	Evet ☒	Hayır ☐
E.1.2.1	E.1.2 için cevabınız evet ise lütfen yaş aralığını ve gönüllü sayısını belirtiniz:25-65 yaş		

[5] Protokolde yer almadığı durumlarda.
[6] Araştırmaya ilk gönüllünün katılımından son gönüllüye yapılan son ziyarete kadar.
[7] Bu rakamlar başlangıçtaki tahminler olacaktır. Başvuru sahiplerinin bu bilgileri güncellemeleri gerekmeyecek ve söz konusu rakamlar bu sayıdaki hastayı araştırmaya dahil etmede bir izin veya kısıtlama niteliğinde olmayacaktır. Dahil edilmesine izin verilen gönüllü sayısı, protokolün onaylı versiyonunda veya daha sonraki onaylı değişikliklerinde belirtilenlerdir.

E.2	**Cinsiyet**	
E.2.1	Kadın	☒
E.2.2	Erkek	☒

E.3	**Araştırmadaki Gönüllü Grubu**		
E.3.1	Sağlıklı gönüllüler	Evet ☒	Hayır ☐
E.3.3	Özel hassas popülasyonlar	Evet ☐	Hayır ☒
E.3.3.1	Doğum kontrol yöntemi kullanmayan ve çocuk doğurma potansiyeli olan kadınlar	Evet ☒	Hayır ☐
E.3.3.2	Doğum kontrol yöntemi kullanan ve çocuk doğurma potansiyeli olan kadınlar	Evet ☒	Hayır ☐
E.3.3.3	Gebe kadınlar	Evet ☐	Hayır ☒
E.3.3.4	Emziren kadınlar	Evet ☐	Hayır ☒
E.3.3.5	Acil vakalar	Evet ☐	Hayır ☒
E.3.3.6	Şahsen olur veremeyecek gönüllüler	Evet ☐	Hayır ☒
E.3.3.6.1	E.3.3.6 için cevabınız evet ise lütfen belirtiniz:		
E.3.3.7	Diğer ise, lütfen belirtiniz:		

E.4	**Araştırmaya Dahil Edilmesi Planlanan Gönüllü Sayısı:**
E.4.1	Ülkemizdeki gönüllü sayısını belirtiniz:25
E.4.2	Çok uluslu araştırma ise; lütfen uygun olan bölümü doldurunuz.
E.4.2.1	AB'ye üye ülkelerdeki gönüllü sayısını ülkeleri ile birlikte belirtiniz:
E.4.2.2	ABD'deki gönüllü sayısını belirtiniz:
E.4.2.3	Diğer ülkelerdeki gönüllü sayısını ülkeleri ile birlikte belirtiniz:
E.4.2.4	Klinik araştırmanın tamamındaki gönüllü sayısını belirtiniz:25

E.5	**Gönüllünün araştırmaya katılımı sona erdikten sonra verilmesi planlanan tedavi veya bakımını[8] lütfen belirtiniz** (*serbest metin olarak belirtiniz*):Herhangi bir tedavi veya bakım verilmeyecektir.

F. BAŞVURUDA YER ALAN KLİNİK ARAŞTIRMA MERKEZLERİ/ARAŞTIRMACILAR

F.1	**Koordinatör** (*Çok merkezli araştırmalar için*) **ve Sorumlu Araştırmacı** (*Tek merkezli araştırmalar için*)
F.1.1	Adı Soyadı:
F.1.2	Unvan (Dr., …):
F.1.3	Uzmanlık alanı
F.1.4	İş adresi:
F.1.5	E-posta adresi:
F.1.6	Telefon numarası:

[8] Protokolde yer almadığı durumlarda.

F.2	**Sorumlu Araştırmacı** (*Çok merkezli araştırmalar için gerektiğinde bu bölümü tekrar ediniz*)
F.2.1	Adı Soyadı: Gülgün YENER
F.2.2	Unvan (Dr., …): Prof. Dr.
F.2.3	Uzmanlık alanı:Eczacılık- Farmasötik Teknoloji
F.2.4	İş adresi: İ.Ü Eczacılık Fak. Farmasötik Teknoloji ABD. 34116 Beyazıt/ İstanbul
F.2.5	E-posta adresi: gulyen@superonline.com
F.2.6	Telefon numarası: 0532 283 50 80

F.3	**Yardımcı Araştırmacı** (*Gerektiğinde bu bölümü tekrar ediniz*)
F.3.1	Adı Soyadı: Esin AKAR
F.3.2	Unvan (Dr., …): -
F.3.3	Uzmanlık alanı:Kimya Mühendisi
F.3.4	İş adresi: Sancaktepe Mah. Sahilboyu Sok. No: 252 Çanta / Silivri / İstanbul
F.3.5	E-posta adresi: es.ogu88@hotmail.com
F.3.6	Telefon numarası: 0536 593 21 59
F.3	**Yardımcı Araştırmacı** (*Gerektiğinde bu bölümü tekrar ediniz*)
F.3.1	Adı Soyadı: Ebru ALTUNTAŞ
F.3.2	Unvan (Dr., …): Araştırma Görevlisi
F.3.3	Uzmanlık alanı: Uzman Eczacı
F.3.4	İş adresi: İ.Ü Eczacılık Fak. Farmasötik Teknoloji ABD. 34116 Beyazıt/ İstanbul
F.3.5	E-posta adresi: altuntas_ebru@hotmail.com
F.3.6	Telefon numarası: 0535 834 00 92
F.3	**Yardımcı Araştırmacı** (*Gerektiğinde bu bölümü tekrar ediniz*)
F.3.1	Adı Soyadı: Gülden Kökümer
F.3.2	Unvan (Dr., …): Uzman
F.3.3	Uzmanlık alanı: Dermatoloji Uzmanı
F.3.4	İş adresi: Posta Kutusu 34920 Fatih Bulvarı No:75 Sultanbeyli / ISTANBUL
F.3.5	E-posta adresi: guldend25@mynet.com
F.3.6	Telefon numarası: 0542 216 47 39

F.4	**Araştırma Eczacısı** (*Gerektiğinde bu bölümü tekrar ediniz*)
F.4.1	Adı Soyadı:
F.4.2	Unvan :
F.4.3	İş adresi:
F.4.4	E-posta adresi:
F.4.5	Telefon numarası:

F.5	**Destekleyicinin Araştırmaya Ait Görev ve İşlerini Devrettiği Kurum/Kuruluşlar** (*Birden çok kurum/kuruluş olması halinde bu bölümü tekrar ediniz*)		
F.5.1	Destekleyici, araştırmaya ait temel görev veya işlerinden herhangi birini başka bir kurum/kuruluşa veya üçüncü taraflara devretmiş mi?	Evet ☐	Hayır ☒

F.5.1.1	F.5.1'e cevabınız evet ise Kurum/Kuruluşun adı:		
F.5.1.2	Temasa geçilecek kişinin adı soyadı:		
F.5.1.3	Açık Adresi:		
F.5.1.4	Telefon numarası:		
F.5.1.5	Destekleyiciye ait bütün görevler	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.6	İzleme	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.7	Düzenleme (örneğin başvuruların hazırlanması)	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.8	Araştırmacıların alınması	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.9	IVRS[9] – kullanım randomizasyonu	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.10	Veri yönetimi	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.11	E-veri yakalama	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.12	SUSAR raporlaması	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.13	Kalite güvence sistemleri ve yoklamalar	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.14	İstatistiksel analizler	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.15	Dışarıya devredilen diğer görevler	Evet ☐	Hayır ☐
F.5.1.15.1	F.5.1.15 e cevabınız evet ise, lütfen belirtiniz:		

F.6	Araştırmanın gerçekleştirilmesinde kullanılacak olan merkezi teknik tesisler, temel değerlendirme kriterlerinin ölçümünün veya değerlendirilmesinin yapıldığı merkezi laboratuar veya diğer teknik tesisleri belirtiniz (*birden çok organizasyon olması halinde gerektiği gibi tekrarlayınız*) (*Bu amaçla ek sayfalar kullanabilirsiniz*):
F.6.1	Organizasyon:İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ABD
F.6.2	Temasa geçilecek kişinin adı:Prof. Dr. Fatma Gülgün YENER
F.6.3	Adresi: İ.Ü Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı B blok Kat:2 34116 Beyazıt/İstanbul
F.6.4	Telefon numarası: 0212 44000 00 / 13497
F.6.5	Dışarıya verilen görevler:

F.7	**Varsa İzleyici (Monitör) Bilgileri** (*Birden çok kişi olması halinde bu bölümü tekrar ediniz*)
F.7.1	İzleyicinin Adı Soyadı:
F.7.2	Bağlı bulunduğu Kurum/Kuruluşun adı:
F.7.3	Telefon numarası:
F.7.4	E-posta adresi:

G. İLGİLİ BELGELER

Bu bölümde belirtilen belgeler sırası ile başvuru dosyasına eklenmelidir.

G.1	**İLGİLİ ETİK KURUL KARARI**[*,**] [*]Etik kurul kararının aslı veya aslı gibidir onaylı örneği sunulmalıdır. [**]Varsa daha önce red edilen etik kurul kararının aslı veya aslı gibidir onaylı örneği sunulmalıdır.

[9] Interactive Voice Response System (İnteraktif Sesli Yanıt Sistemi): Tedavi randomizasyonu ve ürün stoğunun sevkiyatını kontrol etmek için yaygın şekilde kullanılan sistem.

G.2	**ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ** Versiyon numarası: Tarihi:26.01.2015
G.3	**TÜRKÇE PROTOKOL ÖZETİ**
G.4	**ARAŞTIRMA AKIŞ ŞEMASI**
G.5	**BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)*** Versiyon numarası: Tarihi:26.01.2015 *BGOF'nin hem Türkçe hem İngilizce örneğinin başvuru dosyasına eklenmesi gerekmektedir. İngilizce dışındaki dillerde olan BGOF lerin orjinali ve yeminli tercüman tarafından onaylı tercümesinin ilave edilmesi gerekmektedir.
G.6	**VARSA OLGU RAPOR FORMU (ORF)** Versiyon numarası : Tarihi:26.01.2015
G.8.	**VARSA ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ (AB)** Versiyon numarası : Tarihi:26.01.2015
G.9	**ÜRÜN BİLGİ DOSYASI (ÜBD)** Versiyon numarası: Tarihi:
G.10	**ARAŞTIRMA ÜRÜNÜNE AİT TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ*** * İlgili kılavuz dikkate alınarak hazırlanmalıdır.
G.11	**SİGORTA*** * İlgili kılavuz dikkate alınarak hazırlanmalıdır.
G.12	**ARAŞTIRMA BÜTÇESİ*** *Bakanlığın yayımladığı güncel formatta ve ıslak imzalı olmalıdır.
G.13	**DESTEKLEYİCİ İMZA SİRKÜLERİ**
G.14	**KOORDİNATÖR, VARSA DİĞER MERKEZLERDEKİ SORUMLU/YARDIMCI ARAŞTIRMACILARIN VE MONİTÖR'ÜN ÖZGEÇMİŞLERİ*** *Bakanlığın yayımladığı güncel formatta, adı soyadı ve ünvanı el yazısı ile yazılmış, tarihli ve ıslak imzalı olmalıdır.
G.15	**GEREKLİ İSE, BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU ÖRNEĞİ (BMTF)* :** *Bakanlığın yayımladığı formatta ve ıslak imzalı olmalıdır.
G.16	**VAR İSE YETKİLENDİRME BELGELERİ**
G.17	**VAR İSE GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME METİNLERİ**
G.18	**VAR İSE İLANLAR**
G.19	**VAR İSE KULLANICI KARTI/GÜNLÜĞÜ** Versiyon numarası : Tarihi:
G.20	**İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü internet sitesinde yayımlanan başvuru ücretinin yatırılarak karşılığında alınan dekontun aslı ve bir örneği**

H. BAŞVURU SAHİBİNİN İMZASI*

*Başvuru sahibi ile sorumlu araştırmacı veya koordinatörün farklı olması halinde H ve I bölümlerinin eksiksiz olarak doldurulması gerekmektedir.

H.1	**İşbu başvuru formuyla, şahsım/başvuru sahibi adına** (*lütfen geçerli olmayan ifadelerin üzerini yanına tarih ve paraf atarak çiziniz*):
	• Başvuruda sağlanan bilgilerin doğru olduğunu,

	• Araştırmanın protokole, ilgili mevzuata, güncel Helsinki Bildirgesi ve İyi Klinik Uygulamaları ilkelerine uygun olarak gerçekleştirileceğini, • Araştırma ürününün İyi İmalat Uygulamaları kurallarına uygun olarak üretildiğini, • Araştırma ekibini (laborutuvar ekibi, araştırma hemşiresi gibi dahil) araştırma hakkında bilgilendirdiğimi, • Önerilen klinik araştırmanın gerçekleştirilebilir nitelikte olduğunu, • Şüphe edilen ciddi advers etkilere ilişkin raporları ve güvenililik raporlarını sunacağımı, • Araştırma bütün ülkelerde/ülkemizde sona erdikten sonra, 1 (bir) yıllık azami süre içerisinde nihai raporun bir kopyasını sunacağımı taahhüt ederim.
H.2	**Başvuru Sahibi*** *Başvuru sahibinin yetkili imza sahibi olması gerekmektedir.
H.2.1	El yazısıyla adı soyadı: Prof. Dr. Gülşen Yener
H.2.2	Tarih(gün/ay/yıl olarak): 26.01.2015
H.2.3	İmza:

I. KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ İMZASI*,**

*Çok merkezli çalışmalarda Koordinatör, tek merkezli çalışmalarda Sorumlu Araştırmacının imzası.
**Başvuru sahibi ile sorumlu araştırmacı veya koordinatörün farklı olması halinde H ve I bölümlerinin eksiksiz olarak doldurulması gerekmektedir.

I.1	**İşbu başvuru formuyla, şahsım / başvuru sahibi adına** (*lütfen geçerli olmayan ifadelerin üzerini yanına tarih ve paraf atarak çiziniz*):
	• Başvuruda sağlanan bilgilerin doğru olduğunu, • Araştırmanın protokole, ilgili mevzuata, güncel Helsinki Bildirgesi ve İyi Klinik Uygulamaları ilkelerine uygun olarak gerçekleştirileceğini, • Araştırma ürününün İyi İmalat Uygulamaları kurallarına uygun olarak üretildiğini, • Araştırma ekibini (laborutuvar ekibi, araştırma hemşiresi gibi dahil) araştırma hakkında bilgilendirdiğimi, • Önerilen klinik araştırmanın gerçekleştirilebilir nitelikte olduğunu, • Şüphe edilen ciddi advers etkilere ilişkin raporları ve güvenililik raporlarını sunacağımı, • Araştırma bütün ülkelerde/ülkemizde sona erdikten sonra, 1 (bir) yıllık azami süre içerisinde nihai raporun bir kopyasını ilgili Bakanlık birimine sunacağımı taahhüt ederim.
I.2	**Çok merkezli araştırmalarda Koordinatör, tek merkezli çalışmalarda Sorumlu Araştırmacı:**
I.2.1	El yazısıyla adı soyadı:
I.2.2	Tarih(gün/ay/yıl olarak):
I.2.3	İmza:

Kullanıcı Adı:
Tarih:

Gönüllü Anket Formu

Aşağıda kullandığınız yaşlanma-karşıtı etkili nanoemülsiyon kremle ilgili olarak bazı sorular bulunmaktadır. Bu sorulara 0-5 arası puan vererek cevaplandırınız.

0-hiç 1-çok az 2-az 3-orta 4-fazla 5-çok fazla

1- Kullandığınız nanoemülsiyon krem cildinizin nem kaybını azalttı mı? .....

2- Kullandığınız nanoemülsiyon krem cildinizin parlaklığında ve canlılığında artış sağladı mı? .....

3- Kullandığınız nanoemülsiyon krem cilt elastikiyetinde bir artış sağladı mı? .....

4- Kullandığınız nanoemülsiyon krem cildiniz tarafından kolay emiliyor mu? .....

5- Kullandığınız nanoemülsiyon krem kırışıkların görünümünde azalma sağladı mı? .....

6- Kullandığınız nanoemülsiyon krem cildinize yumuşaklık hissi verdi mi? .....

7- Kullandığınız nanoemülsiyon krem cildinizde kızarıklık, kaşıntı gibi herhangi bir alerjik reaksiyona neden oldu mu? .....

8- Kullandığınız nanoemülsiyon krem cildinizde bulunan lekelerde bir azalma sağladı mı? .....

ETIK KURUL KARARI

T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

Sayı : 83045809/604.01/02- 40851
Konu:

İstanbul ..../..../.....
09 Şubat 2015

İ.Ü. Eczacılık Fakültesi
Dekanlığına

İlgi: 27.01.2015 tarih, 25455336-903.99/25636 sayılı yazınıza:

Fakülteniz Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi **Prof.Dr.Fatma Gülgün YENER'in** sorumluluğunda **Yüksek Lisans Öğr.Kimya Mühendisi Esin AKAR** yürütücülüğünde **Araş.Gör.Ebru ALTUNTAŞ** ve **Uzm.Dr.Gülden KÖKÜMER'in** yardımcılıklarında **"Silimarinin Nanoemülsiyon Formülasyonunun Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Etkinliğinin Araştırılması"** başlıklı **(Yüksek Lisans Tezi)** hakkında ilgi yazınız ve ekleri **03 Şubat 2015** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.
Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim

Prof.Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Klinik Araştırmalar Etik
Kurulu Başkanı

Eki:
1 dosya

Not: Yanıtlarımızda yazımızın gün ve sayısının belirtilmesi rica olunur.
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34098 Cerrahpaşa / İSTANBUL
Telefon 0 (212) 414 32 52 Dahili :22300 Faks: 0(212) 632 00 40 e-posta:ctfetik@istanbul.edu.tr

PATENT HAKKI IZNI

TELIF HAKKI IZNI

İNTİHAL RAPOR FORMU

SİLİMARİNİN NANOEMÜLSİYON FORMÜLASYONUNUN HAZIRLANMASI KARAKTERİZASYONU VE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%13	%7	%5	%9
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%7
2	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	%2
3	stadt-aulendorf.de İnternet Kaynağı	%1
4	www.aktuelkimya.com İnternet Kaynağı	%1
5	www.yf.com.tr İnternet Kaynağı	%1
6	calhoun.nps.edu İnternet Kaynağı	%1
7	www.worldbearing.nl İnternet Kaynağı	<%1
8	KORKMAZ, Gülten, ÖZENSOY, Aynur, AYAZOĞLU, Tülin Akarsu, GEYİK, F. Doğu and	<%1