ROJDA ANIK

Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise 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-2023

Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
ISTANBUL ÜNIVERSITESI
SAĞLIK BILIMLERI ENSTITÜSÜ

(YÜKSEK LISANS TEZI)

HİPERPİGMENTASYON TEDAVİSİNDE TOPİKAL YOLDAN KULLANILABİLECEK BİTKİSEL EKSTRELERİN NANOEMÜLSİYON FORMLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE STABİLİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ROJDA ANIK

DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA GÜLGÜN YENER

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2023

İTHAF

Anneme ve babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

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

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesine imkan sunan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yıldız Özsoy ERGİNER'e,

Tez çalışmam boyunca katkılarını ve yardımlarını gösteren Sayın Prof. Dr. Melike ÜNER'e ve Sayın Prof. Dr. Ümit GÖNÜLLÜ'ye,

Tez çalışmamın bütün aşamalarında bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve yardımcı olan Sayın Dr. Ecz. Ebru ALTUNTAŞ'a

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı araştırma görevlileri ve lisansüstü öğrencilerine,

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

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

(Proje desteği almadıysanız ilgili paragrafı siliniz, başka bir yerden destek aldıysanız belirtiniz. Bu paragrafı "TEŞEKKÜR"ün yazımından sonra siliniz)

İÇİNDEKİLER

BEYAN....İİ
İTHAF....İİİ
TEŞEKKÜR....İV
İÇİNDEKİLER....V
TABLOLAR LİSTESİ....Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ....X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ....Xİ
ÖZET....Xİİ
ABSTRACT....Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ....1
2. GENEL BİLGİLER....5
2.1. Deri....5
2.1.1. Derinin Yapısı ve Bölümleri....5
2.1.1.1. Epidermis....6
2.1.1.2. Dermis....9
2.1.1.3. Hipodermis....10
2.1.2. Derinin Fonksiyonları....11
2.2. Derinin Pigmentasyonu ve Hiperpigmentasyon....12
2.2.1. Hiperpigmentasyonun Etiyolojisi....13
2.2.1.1. Hiperpigmentasyon İle İlgili Genel Bilgiler....13
2.2.1.2. Hiperpigmentasyona Yol Açan Durumlar ve Hiperpigmentasyon Çeşitleri16
2.2.2. Hiperpigmentasyon Tanı ve Tedavi Yöntemleri....22
2.2.3. Doğal Depigmentasyon Ajanları Gilaburu (Viburnum opulus L.), Ayı üzümü (Arctostaphylos uva-ursi L.), Aloe Vera (Aloe barbadensis) ve Sarı Kantaron (Hypericum perforatum)....30
2.2.3.1. Viburnum opulus L. (gilaburu)....31
2.2.3.2. Arctostaphylosuva-ursi L (ayı üzümü)....32
2.2.3.3. Aloe barbadensis (aloe vera)....33
2.2.3.4. Hypericum perforatum (sarıkantaron)....34
2.3. Nanoemülsiyonlar....35

2.3.1. Nanoemülsiyonların Avantajları 36
2.3.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları 38
2.3.3. Nanoemülsiyon Bileşenleri 40
2.3.3.1. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Yağlar 41
2.3.3.2. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Sürfaktanlar 41
2.3.3.3. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Kosürfaktanlar 42
2.3.4. Nanoemülsiyonlarda Fiziksel Yapı ve Kararlılık 43
2.3.5. Nanoemülsiyonların Oluşturulma Yöntemleri 45
2.3.5.1. Yüksek Enerji Gerektiren Nanoemülsiyon Oluşturma Yöntemi 46
2.3.5.2. Düşük Enerji Gerektiren Nanoemülsiyon Oluşturma Yöntemi 48
2.3.6. Nanoemülsiyonlarda Karakterizasyon 50
2.3.6.1. Nanoemülsiyonlarda Morfolojik Karakterizasyon 50
2.3.6.2. Nanoemülsiyonlarda Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli Karakterizasyonu 51
2.3.6.3. Nanoemülsiyonlarda Viskozite Karakterizasyonu 52
2.3.6.4. Nanoemülsiyonlarda İn Vitro Deriden Salım Çalışmaları 53
2.3.6.5. Nanoemülsiyonlarda İn Vivo Biyoyararlanım Çalışmaları 53
2.3.7. Nanoemülsiyonların Kullanıldığı Alanlar 54
3. GEREÇ VE YÖNTEM 56
3.1. Malzemeler 56
3.1.1. Kullanılan Aletler 56
3.1.2. Etken Madde ve Yardımcı Maddeler 57
3.2. Metodlar 57
3.2.1. Formülasyon Çalışmaları 57
3.2.1.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerin Seçimi 58
3.2.2. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yapılan Stabilite Çalışmaları 77
3.2.2.1. Santrifüj Testi 78
3.2.2.2. Termal Test 78
3.2.2.3. pH Ölçümü 78
3.2.2.4. İletkenlik Ölçümü 78
3.2.2.5. Viskozite Ölçümleri 79
3.2.2.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite Indeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli Ölçümü 79

3.2.2.7. Organoleptik Kontroller 79
4. BULGULAR 81
4.1. Nanoemülsiyonların Stabilite Sonuçları 81
4.1.1. Santrifüj Testi 81
4.1.2. Termal Test 81
4.1.3. Formülasyon ÜzerindeKaprilik/Kaprik Trigliserid, Yağ Miktarı ve Ön Karıştırmanın Etkisi 81
4.1.4. pH Ölçümleri Sonuçları 85
4.1.5. İletkenlik Ölçüm Sonuçları 86
4.1.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli Ölçüm Sonuçları 87
4.1.7. Viskozite Ölçüm Sonuçları 90
4.1.8. Organoleptik İncelemelere Ait Sonuçlar 95
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER 99
KAYNAKLAR 106
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 115

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Nanoemülsiyonlarda kullanılan etken madde ve yardımcı maddeler ve firma bilgileri. 57
Tablo 3-2: Ön formülasyon aşamasındaki %6.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo 61
Tablo 3-3: Ön formülasyon aşamasındaki %3.45 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo 63
Tablo 3-4: Ön formülasyon aşamasındaki %1.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo 65
Tablo 3-5: Ön formülasyon aşamasındaki %0.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo 67
Tablo 3-6: Ön formülasyon aşamasındaki %6.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içerenformülasyon bileşenlerine ait tablo 69
Tablo 3-7: Ön formülasyon aşamasındaki %3.45 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo 71
Tablo 3-8: Ön formülasyon aşamasındaki %1.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo 73
Tablo 3-9: Ön formülasyon aşamasındaki %0.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo 75
Tablo 3-10: Formülasyon proseslerine ait tablo 77
Tablo 4-1: Ön Stabilite Testlerinde Pluronic İçeren Formülasyonların Partikül Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI) 83
Tablo 4-2: Uzun süreli stabilite çalışması için seçilen formülasyonlar 84

Tablo 4-3: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait pH ölçümleri sonuçları 85
Tablo 4-4: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait iletlenlik ölçüm sonuçları 86
Tablo 4-5: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait damlacık boyutu ölçüm sonuçları..... 87
Tablo 4-6: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait polidispersite indeksi (PDI) ölçüm sonuçları..... 88
Tablo 4-7: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait zeta potansiyeli ölçüm sonuçları 89
Tablo 4-8: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %6,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F1P1 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları..... 90
Tablo 4-9: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %6,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F1P2 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları..... 91
Tablo 4-10: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %3,45 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F2P1 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları..... 92
Tablo 4-11: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %3,45 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F2P2 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları..... 93
Tablo 4-12: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %1,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F3P1 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları..... 94
Tablo 4-13: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %1,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F3P2 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları..... 95
Tablo 4-14: Uzun süreli stabilite çalışmalarındaki görünüm sonuçları..... 96
Tablo 4-15: Uzun süreli stabilite çalışmalarındaki renk sonuçları 97
Tablo 4-16: Uzun süreli stabilite çalışmalarındaki koku sonuçları 98

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin katmanları 5
Şekil 2-2: Melanosom ve melanositlerin yerleşimleri ve melanin sentezi 14
Şekil 2-3: Riehl Melanozu 18
Şekil 2-4: Maküler Amiloidozis 21
Şekil 2-5: Emülsiyon, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyonların şematik görseli 35
Şekil 2-6: Nanoemülsiyon üretim yöntemlerinin şematik görseli 45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

DLS: Dinamik Işık Saçılması

EDP: Eritema diskromikum perstans

EPI: Emülsiyon Dönüşüm Noktası Yöntemi

H: Homojen

IEMP: İdiopatik eritropoetik maküler pigmentasyon

K: Karakterisitik

K: Koalesans

KFA: Kısmi Faz Ayrımı

KH: Kısmen Homojen

OS: Opak-Sarı

PDI: Polidispersite İndeksi

PIT: Faz Geçiş Sıcaklığı Yöntemi

SR: Süt Renginde

S: Saydam

S: Sedimentasyon

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

Smix: Yüzey etkin madde karışımı

S/Y: Yağ içinde su

TEM: Transmisyon Elektron Mikroskobu

TFA: Tam faz ayrımı

YF: Yağ Fazı

YS: Yarı Saydaam

Y/S: Su içinde yağ

ÖZET

Anık, R, (2023). Hiperpigmentasyon Tedavisinde Topikal Yoldan Kullanılabilecek Bitkisel Ekstrelerin Nanoemülsiyon Formlarının Geliştirilmesi ve Stabilitelerinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Kozmetoloji BD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Cilt lekeleri (hiperpigmentasyon) cilt tonunun koyulaşması, cilt tonunu belirleyen melanin pigmentinin birikmesi sonucu görülen ve çok sık rastlanan cilt problemlerindendir. Hiperpigmentasyon, ilerleyen yaşlarda cilt dokusunun yenilenme ve onarım kapasitesinin düşmesiyle ortaya çıkan yaşlılık lekeleri, güneş ışınlarına aşırı maruziyetle ortaya çıkan lekeler ve akne gibi inflamasyonlu durumlar sonrası oluşan lekeler şeklinde görülebilir. Hiperpigmentasyon tedavisinde çok yaygın kullanılan leke açıcı ajanlar bazı yan etkiler de barındırmaktadır. Bu nedenle pigmentasyon tedavisinde arbutin gibi bitkisel bileşenlerin kullanımı güvenli ve etkili yeni ürün geliştirmede alternatifler sunmaktadır. Bu veriler ışığında tez çalışmasında, literatürde etkinlikleri kanıtlanmış Viburnum opulus L.(gilaburu), Arctostaphylos uva-ursi L (ayı üzümü), Aloe barbadensis (aloe vera) ve Hypericum perforatum (sarıkantaron) bitkilerinden elde edilen ekstreleri uygun konsantrasyonlarda içeren nanoemülsiyon formunda bir topikal formülasyon hazırlanması amaçlanmaktadır.

Çalışma kapsamında formülasyonlar ultrasonikasyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonları öncelikli olarak hızlandırılmış stabilite testleri olan santrifüj testi ve termal teste tabii tutulmuştur. Bu testlere maruziyet sonrası bozunma göstermeyen ürün formülasyonlarının; pH değerleri, viskoziteleri, damlacık boyutları, polidispersite indeksleri ve zeta potansiyellerine ait ölçümler alınmış ve eş zamanlı olarak organoleptik değerlendirmeleri yapılmıştır. Bu testler, ölçümler ve değerlendirmelerin sonuçlarına göre stabil kalmış olan formülasyonlar seçilmiş ve bu formülasyonlar ile uzun süreli stabilite testleri çalışmalarına başlanmıştır. Bu formülasyonlar 3 ay boyunca oda koşulunda (25°C ± 2°C, %60 nem), buzdolabında (5°C ± 2°C) ve 45°C'de, %75 relatif nem ortamındaki iklimlendirme kabininde saklanmıştır. Formülasyonların 1. gün, 1.ay, 2.ay ve 3.ay sonunda ölçüm değerleri alınmış ve eş zamanlı olarak organoleptik değerlendirmeleri yapılmıştır. Sonuç olarak yapılan stabilite testleri ve bütün değerlendirme kriterleri göz önünde bulundurularak hiperpigmentasyon tedavisinde etkinlik gösterebilecek en stabil formülasyonun %5 gilaburu ekstresi, %4 ayı üzümü ektresi ve %2 aleo vera ekstresi; %10 Pluronik içeren PL68-F1P1 kodlu formülasyon olabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Hiperpigmentasyon, gilaburu, ayı üzümü, aloe vera, nanoemülsiyon, ultrasonikasyon, leke açıcı bitkisel ekstreler

ABSTRACT

Anık, R, (2023). Development of Nanoemulsion Formulations of Herbal Extracts for Topical Use in the Treatment of Hyperpigmentation and Evaluation of Their Stability. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Cosmetology Section, Master's Thesis, İstanbul.

Skin discoloration (hyperpigmentation) is a common and frequently encountered skin problem that results from the darkening of the skin tone due to the accumulation of melanin pigment, which determines skin color. Hyperpigmentation can manifest as age spots that occur due to the reduced renewal and repair capacity of skin tissue as one ages, as well as spots resulting from excessive exposure to sunlight and those that develop after inflammatory conditions such as acne. Although various depigmenting agents used for the treatment of hyperpigmentation are commonly used, they also have some potential side effects. Therefore, the use of plant-based compounds such as arbutin in pigmentation therapy offers alternative options for the development of safe and effective new products. İn this thesis study, the aim is to prepare a topical formulation containing extracts from Viburnum opulus L. (gilaburu), Arctostaphylos uva-ursi L (bearberry), Aloe barbadensis (aloe vera), and Hypericum perforatum (St. John's wort) in appropriate concentrations in a nanoemulsion form, whose efficacy has been proven in the literature for the treatment of hyperpigmentation.

The formulations within the scope of the study were prepared by the ultrasonication method.The nanoemulsion formulations prepared at different concentrations were primarily subjected to accelerated stability tests, such as centrifugation test and thermal test.After exposure to these tests, product formulations that did not show any deterioration were subjected to measurements of their pH values, viscosities, droplet sizes, polydispersity indices, and zeta potentials, and organoleptic evaluations were carried out simultaneously.Based on the results of these tests, measurements, and evaluations, the formulations that remained stable were selected, and long-term stability testing studies were initiated using these formulations.These formulations were stored for 3 months under room conditions (25°C ± 2°C, 60% humidity), in a refrigerator (5°C ± 2°C), and in a climatic chamber at 45°C with 75% relative humidity for long-term stability testing. Measurements of the formulations were taken on the 1st day, 1st month, 2nd month, and 3rd month, and simultaneous organoleptic evaluations were conducted. As a result, considering all the stability tests and evaluation criteria, it has been observed that the most stable formulation that can be effective in the treatment of hyperpigmentation is the formulation coded PL68-F1P1, which contains 5% gilaburu extract, 4% bearberry extract, 2% aloe vera extract, and 10% Pluronic.

Keywords: Hyperpigmentation, gilaburu, bearberry, aloe vera, nanoemulsion, ultrasonication, skin-lightening herbal extracts.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hiperpigmentasyon, cildin normal pigmentasyon dengesinin bozulması sonucu oluşan leke veya renk değişikliğidir (Grimes, 2002). Bu değişiklikler, genetik, hormonal veya çevresel faktörlerle ilişkili olabilir (Grimes, 2002; Gupta, 2008). Hiperpigmentasyon, cildin herhangi bir bölgesinde oluşabilir ve özellikle yüz, boyun ve dekolte bölgelerinde daha yaygındır (Grimes, 2002; Oresajo, 2007). Hiperpigmentasyon, çeşitli sebeplerden dolayı oluşabilir (Grimes, 2002; Traikovich, 1997). En yaygın olarak karşılaşılan hiperpigmentasyon türleri arasında melasma, post-inflamatuvarhiperpigmentasyon, fotodamage ve senilhiperpigmentasyon sayılabilir (Grimes, 2002; Yarosh, 2006; Oresajo, 2007). Melasma, genellikle güneş ışığına maruz kalan cildin üst tabakasında oluşur ve çoğunlukla yüz, boyun ve dekolte bölgelerinde görülür (Grimes, 2002; Oresajo, 2007). Post-inflamatuvarhiperpigmentasyon, cildin inflamasyon sonrası oluşan lekeleridir ve genellikle yaralanma, akne veya cerrahi sonrası oluşur (Grimes, 2002; Oresajo, 2007). Fotodamage, cildin güneş ışığına maruz kalması sonucu oluşur ve genellikle yüz, boyun, dekolte ve kollar gibi güneş ışığına maruz kalan bölgelerde görülür (Grimes, 2002; Oresajo, 2007). Senilhiperpigmentasyon, cildin yaşlanması sonucu oluşan lekelerdir ve genellikle yüz, boyun ve ellerde görülür (Grimes, 2002; Oresajo, 2007). Hiperpigmentasyon, cildin estetik görünümünü bozan bir durumdur ve çok sayıda insanın cildi ile ilgili endişelerini oluşturur (Grimes, 2002; Oresajo, 2007).

Günümüzde hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılan medikal işlemler arasında kimyasal peeling, lazer tedavileri ve topikal kremler bulunur. Kimyasal peelingler, cildin üst tabakasını çıkarmak suretiyle hiperpigmentasyon lekelerini azaltır. Hydroquinone (Grimes, 2002), kojik asit (Traikovich, 1997), azelaik asit (Oresajo, 2007) ve alpha-arbutin (Yarosh, 2006) gibi leke açıcı ajanlar genellikle kullanılır. Lazer tedavileri ise hiperpigmentasyon lekelerini azaltmak için enerji kullanır (Gupta, 2008). Topikal kremler ise cildin üst tabakasına uygulanarak hiperpigmentasyon lekelerini azaltmaya yöneliktir. Bu medikal işlemlerin uygulanması genellikle uzman bir doktor tarafından yapılır ve cildin toleransına göre belirlenir.

Ancak bu medikal işlemlerin uygulanması zor olabilir ve yan etkileri olabileceği gibi ciltte tolerans oluşmasına da neden olabilir. Ayrıca, bu tedavilerin etkisi sadece geçici olabilir ve tekrar tedaviye ihtiyaç duyulmasına neden olabilir. Bu yüzden,

hiperpigmentasyon tedavisinde etkili, güvenli ve uzun vadeli bir çözüm aranmaktadır (Kim, 2010).

Mevcut tedavilerin potansiyel yan etkileri önlemek için daha çok doğal özler içeren güvenli ve etkili formülasyonların geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Kang ve ark. 2015). Bu kapsamda literatürde etkinlikleri kanıtlanmış Viburnumopulus L. (gilaburu), Arctostaphylosuva-ursi L (ayı üzümü), Aloebarbadensis (aloevera) ve Hypericumperforatum (sarıkantaron) bitkileri hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle Viburnumopulus L. ve Arctostaphylosuva-ursi L. in vitro ve in vivo olarak hiperpigmentasyonun azaltılmasında etkilidir (Park ve ark. 2010; Kim ve ark. 2013; Kim ve ark. 2014). Aloebarbadensis ve Hypericumperforatum bitkileri de hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmaktadır ancak bu bitkilerin hiperpigmentasyon tedavisindeki etkinliği daha az kanıtlanmıştır (Kim ve ark. 2013; Kim ve ark. 2014).

Viburnumopulus L. (Gilaburu): Gilaburu meyvesinde yer alan flavonoidler, taninler ve organik asitler hiperpigmentasyon tedavisinde etkili olabilecek bileşenler olarak bilinir. Flavonoidler cildin melanin üretimini azaltmak için tirozinaz inhibitörleri olarak kullanılabilir (Kang ve ark. 2015). Taninler ise cildin güneşe maruz kalması sonucu oluşan hasara karşı koruma sağlamak için anti-oksidan özellikleri ile bilinir (Sofowora, 1993).

Arctostaphylosuva-ursi L (Ayı üzümü): Ayı üzümünün içeriğinde yer alan arbutinhiperpigmentasyon tedavisinde etkili bir bileşen olarak bilinir. Bu bileşen cildin melanin üretimini azaltmak için tirozinaz inhibitörü olarak kullanılabilir (Kameyama ve ark. 2003).

Aloebarbadensis (Aloevera): Aloevera içeriğinde yer alan aloin bileşeni hiperpigmentasyon tedavisinde etkili olarak bilinir. Bu bileşen cildin melanin üretimini azaltmak için tyrosinaz inhibitörü olarak kullanılabilir (Nadkarni, 1976).

Hypericumperforatum (Sarıkantaron): Sarıkantaron içeriğinde yer alan hypericin ve hyperforinflavonoidlerihiperpigmentasyon tedavisinde etkili bileşenler olarak bilinir. Bu bileşenler cildin melanin üretimini azaltmak için tyrosinaz inhibitörleri olarak kullanılabilir (Sánchez ve ark. 2002).

Nanoemülsiyon, küçük boyutlu emülsiyonlar olarak tanımlanır. Nanoemülsiyonlar, yüzey aktif maddeler veya surfaktanlar kullanılarak oluşturulan, iç ve dış fazların homojen bir şekilde dağıtıldığı, mikroskopik boyutlu emülsiyonlardır.

Nanoemülsiyonlarda, genellikle damlacık boyutu 100-500 nm arasında değişkenlik gösterir (Sharma ve ark. 2012).

Nanoemülsiyonlar, iki çeşit olarak sınıflandırılır: Y/S (su içinde yağ) ve S/Y (yağ içinde su). Y/S nanoemülsiyonlarında, yağ fazı suda dağıtılırken; S/Ynanoemülsiyonlarında su fazı yağda dağıtılır (Solans ve ark. 2005). Nanoemülsiyonlar, bir emülgatör kullanılarak hazırlanır. Emülgatörler, yüzey aktif maddelerdir ve emülsiyonların oluşmasını sağlarlar. Emülgatörler, genellikle polimerler, proteinler, lipitler veya sürfaktanlar olarak sınıflandırılabilirler. Sürfaktanlar, emülsiyonların oluşması için gerekli olan yüzey aktif maddelerdir ve nanoemülsiyonların hazırlanmasında önemli bir rol oynarlar.

Hiperpigmentasyon tedavisinde nanoemülsiyonlar, cildin içine daha iyi nüfuz edebilme özelliği sayesinde etkili olabilir. Ayrıca, nanoemülsiyonlar, cildin içine daha hızlı ve daha etkili bir şekilde nüfuz edebilir ve böylece daha hızlı bir tedavi sonucu elde edilebilir. Nanoemülsiyonlar, ayrıca, cildin içine daha az miktarda aktif madde ile nüfuz edebilme özelliği sayesinde, potansiyel yan etkileri azaltabilir.

Nanoemülsiyonlarhiperpigmentasyontedavisinde, cildin stratumkorneum tabakası ile daha yakın temas sağlayarak daha iyi nüfuz edebilme özelliği göstermekte, daha hızlı tedavi sonucu elde edilmesini sağlamakta ve potansiyel yan etkileri azaltabilme üstünlüğü nedeni ile tercih edilmektedir (Hosseini ve ark. 2015).

Bu tez çalışmasının amacı cilt için güvenli olduğu kabul edilen ve hiperpigmentasyon probleminin tedavisinde başarılı olduğu bilinen sarı kantaron yağı, gilaburu ekstresi, ayı üzümü ekstresi ve aloevera ekstresini belirlenmiş oranlarda içeren topikal yolla kullanılabilecek yeni bir kozmetik nanoemülsiyon geliştirmektir. Bu çalışma ile ilk defa biyoteknoloji ve kozmetik bilimleri kullanılarak bahsedilençeşitli doğal bitkisel ekstreleryardımı ile hiperpigmentasyonda etkilitopikal bir nanoemülsiyon üretilmiştir. Bu tez çalışmasında yöntem olarak yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak farklı konsantrasyonlardananoemülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan bu formülasyonlar, ilk önce hızlandırılmış stabilite testleri olan santrifüj ve termal testlere tabi tutulmuştur. Bu testler sonucunda bozulma göstermeyen formülasyonlarınpH değeri, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüş ve formülasyonlar organoleptik açıdan değerlendirilerek karakterizasyonları yapılmıştır. Bu testler ve ölçümler sonucunda stabil kalan ve organoleptik açıdan herhangi bir problem göstermeyen formülasyonlarla

uzun süreli stabilite takibine başlanmıştır. Uzun süreli stabilite takibinde formülasyonlar 3 ay boyunca oda koşulu (25°C ± 2°C, %60 nem), buzdolabı (5°C ± 2°C') ve iklimlendirme kabininde (40°C ± 2°C, %75 nem) bekletilmiştir. Formülasyonların 1. gün, 1.ay, 2.ay ve 3.ay sonunda, pH değeri, iletkenliği, viskozitesi, damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçülmüş ve organoleptik açıdan değerlendirmesi yapılmıştır. Yukarıda bahsedilen bütün çalışmalar, testler ve ölçümler sonucunda stabilite ve diğer değerlendirme kriterlerine göre en iyi formülasyon olarak çalışma verileri değerlendirildiğinde %10 Pluronik %10 Transcutol HP içeren yağ fazı oranı %5 olan PL68-F1P1 formülasyonun hiperpigmentasyon gözlenen hastaların tedavisine yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri

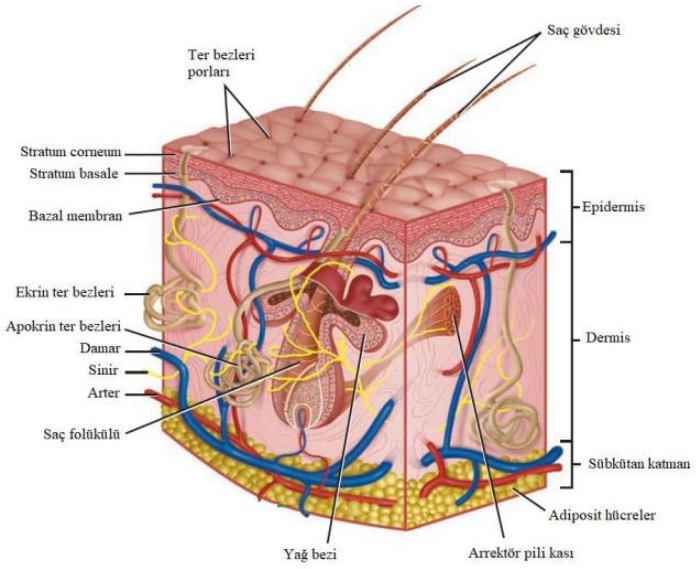
Deri, insan vücudunun en büyük organıdır ve vücudun en önemli bariyer mekanizmalarından biridir. Yetişkin bir insan vücudunun ağırlığının yaklaşık %15'ini deri oluşturur. Bu oran kişi, yaş ve cinsiyet gibi faktörlere göre değişkenlik gösterse de vücudun yaklaşık olarak 1.5-2 m²'lik bir alanını kaplar (Lai-Cheong ve ark. 2013).

Deri, vücudun dış etkenlere karşı korunmasını sağlar ve vücudun içinde bulunan organları korur. Aynı zamanda, deri vücudun su kaybını önler, termoregülasyon yapar ve vücudun metabolizması için gerekli olan vitamin ihtiyaçlarını karşılar. Cildin sağlıklı ve güzel görünmesi, insanlar arasındaki iletişimi ve kişisel özgüveni etkiler. Bu nedenle, derinin sağlıklı bir şekilde korunması ve bakımı gün geçtikçe bireyler için daha da önem kazanmaktadır.

2.1.1. Derinin Yapısı ve Bölümleri

Deri, yukarıdan aşağı aşağıda belirtilen üç tabakadan oluşmaktadır:

1. Epidermis
2. Dermis
3. Hipodermis (yağ tabakası, subkütan katman)



Şekil 2-1: Derinin katmanları (Eroschenko, 2008)

Ayrıca bir de vücutta yer alan yağ bezleri, ter bezleri, tırnaklar ve saçlar deri ekleri dediğimiz yapıları oluşturur.

2.1.1.1. Epidermis

- Epidermis, sürekli kendini yenileyen, insan derisinin en üst tabakasıdır. Yaklaşık olarak 150-180 μm kalınlığında olan epidermis tabakası ağrının hissedilmesini sağlayan sinir uçlarını barındırır (Değim ve ark. 2007). Ancak bunun yanında epidermis tabakasında kan damarları ve lenfatik sistem yer almaz. Epidermis, keratinosit ve dendritik hücrelerin bir kombinasyonundan oluşur. Keratinosit hücreleri, cildin en üst tabakasında bulunan bariyer görevi gören hücrelerdir. Dentritik hücrelerden farklı olarak bol miktarda sitoplazma ve intraselüler köprüler içerir (Kolarsick ve ark. 2011). Bu hücreler, aynı zamanda, cildin görünümünü de etkileyen, cildin yumuşak ve nemli görünümünü sağlayan su tutulumu sağlayan hücrelerdir. Melanosit hücreleri, Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri de epidermis tabakasında yer alır (James ve ark. 2016 p. 1).

Keratinositler: Epidermisin en önemli hücrelerinden biridir ve epidermisin %80'ini oluşturur. Cildin dayanıklılığını sağlamak için keratin adı verilen bir proteini üretirler ve bu sayede cildin dayanıklı ve su kaybını önleyen bir bariyer görevi oluşturmasını sağlar. Bununla birlikte, cildin hasar görmesi durumunda keratinositler hızlı bir şekilde yenilenir ve cildin onarılmasını sağlar. Ayrıca, cildin UV ışığından korunmasını ve cildin nem düzeyinin korunarak sağlıklı görünmesini destekler (Smith ve Smith, 2016).

Cildin hasar görmesi durumunda keratinositlerin yenilenme sürecini başlatması keratinizasyon olarak adlandırılır. Keratinizasyon, deri hücrelerinin (keratinositlerin) keratin proteinlerini üretmeleri ve yenilenmeleri sonucu oluşan bir süreçtir. Bu süreç, sentetik ve degradatif fazlardan oluşur. Sentetik fazda, keratinositler çok sayıda keratin proteinini üretir ve büyürler. Bu faz, hücrelerin duvarının güçlenmesi ve kalınlaşmasını sağlar. Degradatif fazda, hücrelerin organelleri kaybolur ve hücre içerikleri bütünleşir. Sonuç olarak, hücrelerin ölmesi ile bu olgunlaşma süreci tamamlanır ve keratin proteinleri sayesinde cilt yapısı güç ve dayanıklılık kazanır (Jablonska ve Szpaderska, 2006).

Melanosit hücreler: Dendritik hücreler olup derinin melanin adı verilen pigment üreten hücreleridir. Bazal tabakada yer alır ve melanin sentezinden sorumludur. Melanin sentezi, melanosit hücrelerinde oluşan tirozin adı verilen aminoasitten başlar. Tirozin, enzimatik olarak dopakinon adı verilen bir pigmente dönüşür ve sonunda melanin oluşur. Melanin pigmenti, melanozom adı verilen organellerde depolanır ve daha sonra keratinosit hücrelere taşınır. Melanosit hücrelerinin işlevi güneş ışığından kaynaklanan zararlı UV ışınlarından cildi korumaktır. Ancak, güneş ışığının fazla miktarda alınması melanosit hücrelerinin aktivitesini arttırarak cildin lekelenmesine neden olabilir (Jablonska ve Szpaderska, 2006).

Langerhans hücreleri: Langerhans hücreleri, cildin immunolojik savunmasının önemli bir bileşeni olarak kabul edilir. Bu hücreler, cildin içine yerleşerek tümör hücreleri, virüsler ve diğer patojenleri tanımlar ve T hücrelerinin aktivasyonunu tetikler. Langerhans hücrelerinin aktivasyonu, cildin bir enfeksiyon veya hastalık durumunda güçlü bir immunolojik cevabı başlatmasına yardımcı olur. Bu nedenle, Langerhans hücreleri, cildin sağlıklı ve güçlü kalması için kritik öneme sahiptir (Jablonska& ve Szpaderska, 2006). Langerhans hücreleri, epidermis tabakasında bulunan dendritik hücrelerdir ve skuamöz tabaka, granüler ve bazal tabakada yer alır. Bunun dışında vajina, özofagus, ağız boşluğu gibi diğer yassı epitel dokularda, lenfoid organlarda ve dermiste de bulunur (Kolarsick ve ark. 2011).

Merkel hücreleri: Merkel hücreleri, mukozada ve dermis tabakasındaki tüy follikülleri çevresinde bulunan endokrin hücrelerdir. Merkel hücreleri, deri altındaki sinir ağı ile iletişim kurar, duyusal uyarıları işleyerek cildin dokularına basıldığında ortaya çıkan fiziksel değişiklikleri algıladığı taktil duyularını sağlar, bu duyuların sinyalini beyine gönderir ve cildin hareketli objelere tepkilerini kontrol eder (Jablonska ve Szpaderska, 2006). Ayrıca merkel hücreleri melanin içerir ve desmosomlar aracılığı ile keratonisitlere bağlanır (Irmak, 2010).

Epidermis; bazal tabaka, spinöz tabaka, granüler tabaka, lusidum tabaka ve korneum tabakası olarak adlandırılmak üzere 5 tabakadan oluşmaktadır (James ve ark. 2016 p. 1).

- Bazal Tabaka (Stratum Basale)

Bazal tabaka epidermisin en alt tabakası olup ayrıca Stratumgerminativum olarak da isimlendirilir. Bazal hücreler desmozombağlarları aracılığı ile birbirlerine ve

skuamöz hücrelere, kolon biçimindeki keratinositler ile de dermise bağlanırlar (Kolarsick ve ark. 2011).Bazal tabaka, cildin yenilenme, onarım ve güncelleme süreçlerinin başlangıç noktasıdır. Yaralanma gibi onarım gerektiren durumlarda kök hücrelerin bölünmesini uyararak epidermiste döngü halinde bulunan hücrelerin sayısını arttırır. En az 14 gün boyunca bazal tabakadan boynuzsu tabakaya ve boynuzsu tabakadan en dış tabakaya da yine 14 gün süren bir geçiş gerçekleşir.

- Spinöz Tabaka (Straum Spinosum)

Spinöz tabaka, bazal tabakanın üzerinde yer alan 5-10 hücre kalınlığında bir tabakadır. Stratumspinosum tabakasında yapı ve şekil olarak birbirinden farklı pek çok hücre bulunur. Langerhans hücreleri bunlardan biridir. Bu tabakada yer alanLangerhanshücreleri, cildin immunolojik savunma sistemini yönetir ve patojenlere karşı cildi korur. Spinöz tabakanın suprabazal kısmında yer alan hücreler polihedral şekillidir ve çekirdekleri bulunmaktadır. Üst tabakada ise daha büyük hücreler yer alır ve bunlar lamelar granüller içerirler. Lamelar granüllerin pek çok hidrolitik enzim içeriyor olması onların bir tür lizozom olduğuna işaret etmektedir. Lamelargranüller, hücreler arası boşluğa stratumkorneum lipitlerin prekürsörlerini ileterek üst spinöz tabakada da faaliyet gösterirler (Kolarsick ve ark. 2011).

- Granüler Tabaka (StratumGranulosum)

Granüler Tabaka (StratumGranulosum), epidermisin en dış tabakası olup spinöz tabakadan sonra yer alan ve canlı hücreler içeren bir tabakadır.Granüler tabakanın kalınlığı, cildin farklı bölgelerinde değişebilir. Genellikle, granüler tabakanın en kalın olduğu bölgeler ayak tabanı ve avuçiçidir.Granüler tabakada yer alan ve sitoplazmalarında bol miktarda keratohiyalin granülleri içeren düzleşmiş hücreler, keratinizasyon sürecinde rol alan proteinlerin modifikasyonu ve ileri sentezinden sorumludur. Bu tabakada, bazal tabakadan gelen hücreler, keratin proteini üreterek dış mekan koşullarına dayanıklı hale gelir ve sonuçta korneuma dönüşürler. Bu süreçte, granüler tabakadaki hücrelerin üst kısımlarında oluşan keratinfilamentleri, birbirleri arasında birikir ve bu tabakada bulunan lipidler sayesinde, cildin nem oranını koruyan bir bariyer oluşur.Bazal ve spinöz tabakaya göre granüler tabakada lizozomal enzimler yüksek miktarda bulunur. Granüler tabaka epidermisin keratojen alanıdır ve burada

lizozomal enzimler cildin keratin hücrelerinin sentezi ve yenilenmesi sürecini hızlandırır (Kolarsick ve ark. 2011).

- Lusidum Tabaka (Stratum Lucidum)

Lusidum Tabaka, ölü hücrelerden ve ince keratinositlerden oluşur. Bu tabaka, cildin daha yoğun korunması gereken, örneğin; ayak tabanı, avuç içi, parmak ucu ve dizler gibi bölgelerinde yer alır (Kolarsick ve ark. 2011).

- Korneum Tabaka (StratumCorneum)

Yassı, keratenize (boynuzsu), çekirdeksiz hücre hücre tabakalarından oluşmuş epidermisin en dış tabakasıdır. Bu tabaka çok sayıda korneosit içerir. Derinin en üst tabakası olan Korneum tabakası (StratumCorneum) cildin en önemli bariyer fonksiyonunu yerine getirir.Korneum tabakası, cildin nemini koruyarak, su kaybını ve enfeksiyon riskini azaltır. Korneum tabakasında yer alan lipit içeriği açısından oldukça zengin olan estraselüler membranlarcildin hidratasyon özelliklerini koruyarak nem kaybı ve ısıya karşı direncini artırır, cilt yüzeyinde bir bariyer oluşturarak cildin içeriğini korurlar (Kolarsick ve ark. 2011). Cilde uygulanan nemlendirici, saf su gibi cilt hidratasyonunu değiştiren nem veya sıcaklık gibi faktörler bu tabakanın mekanik özelliklerinde değişikliğe yol açabilmektedir (Geerligs 2010). Korneum tabakasında, bütünüyle keratenize olan hücreler düzenli aralıklarla dökülerek yerlerini yeni hücrelere bırakırlar. Bu yenilenme süresi yaklaşık olarak 15 günde birdir (Değim 2007 p. 340).

2.1.1.2. Dermis

Dermis, epidermis ve hipodermis tabakası arasında yer alan yüzeysel ince bir tabakadır. Kan ve lenf damarları, sinir ve sinir uçları, bezler ve saç folikülleri (kıl kökleri ve saçlı deriyi içermeyen vücut bölgeleri dışında) bu tabakada yer alır (Lai-Cheong ve McGrath 2009).Dermis tabakası, esnek kollajenliflerlerden sık örülmüş bir ağın amorf yapılı esas madde içinde yerleşmesinden oluşmuştur. Dermis ve epidermis tabakası arasında bağlantı bölgeleri yer almaktadır. Bu iki tabaka bahsedilen Dermal-Epidermal bağlantı sayesinde yaraların iyileşmesi ve derinin yenilenmesi olaylarında birlikte görev alırlar. Dermis tabakası esneklik ve cilde mekanik kuvvet sağlayarak yaralanmalara karşı vücudu korur. Dermis tabakasında yer alan kan damarları, cildin

beslenmesini ve oksijen sağlamasını sağlar. Ayrıca, cildin doku hasarına karşı yapısını koruyacak olan immün hücrelerin cildin dermis tabakasına ulaşmasını, lenfatik sistem ve kan damarları aracılığı ile de dışardan alınan ilaç vb maddelerin derin tabakalara ve sistemik dolaşıma geçmesini sağlamaktadır (Annisimov ve ark. 2013).Dermiste yer alan sinir uçları, cildin duyarlılığını ve hissetme duyularını kontrol eder. Bu sayede, cildin uyaranlara tepki vermesi ve sıcaklık, ağrı gibi hislere karşı tepki vermesi mümkündür. Dermisin ana bileşenlerinden biri olan kolajenfibröz protein ailesinden gelmekte; cilt, kemikler, tendonlar ve kıkırdak dahil olmak üzere vücudun bağ dokularının da önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Fibröz bir protein olan kolajen, içinde bulunduğu dokulara güç ve destek sağlayan uzun, ince lifler oluşturur. İnsan vücudunda, her biri kendine özgü bir yapıya ve işleve sahip en az 15 farklı kollajen türü vardır.Kolajen, dermis hacminin yüzde %30'unu oluştururken, dermis kuru ağırlığının ise %70'ini oluşturur. Vücuttaki en yaygın kollajen türleri, farklı dokularda çeşitli oranlarda bulunan tip I, II ve III'tür. Tip I kolajen oranı tüm kolajenler içinde %75'tir. Tip III kolajen oranı ise %15'tir. Kolajeninkalitatif ve kantitatif özellikleri yaşa bağlı olarak farklılık göstermektedir (Venus ve ark. 2010; James ve ark. 2016 p. 9).

Papilerdermis ve retikülerdermis, dermis tabakasının iki farklı bölgesidir. Epidermise bağlı olan papilerdermis, dermisin ince ve üst katmanıdır. Papiler tabakanın yüzeyi dermalpapil olarak isimlendirilir ve dermis-epidermis arasındaki yüzey alanını genişleterek bu iki tabakanın güçlü bağlarla bağlanmasını sağlar. Retikülerdermis, papilerdermisin altındaki daha kalın tabakadır, burada daha büyük ve ağır kolajen demetleri ve daha kalın elastin demetleri yer alır vecildin hidrasyonunu ve nem seviyesini koruyan hyalüronik asit depolarını içerir (Davenport 2006; Venus ve ark. 2010).

2.1.1.3. Hipodermis

Dermis tabakasının altında yer alan hipodermis tabakası vücudun yağ tabakası olarak da bilinir. İç organları koruyan ve enerji depolayan bir yapıya sahiptir. Hipodermis, yağ dokunun üçte birini oluşturanadiposit adı verilen yağ hücrelerinden meydana gelmektedir. Adipositler, enerji depolama için kullanılan yağ hücreleridir ve vücudun alt katmanında toplanırlar. Hipodermisin kalan kısmını ise fibroblastlar, preadipsitler, kan damarları ve sinir uçları oluşturur (Avram ve ark. 2005).

Adipoz doku; beyaz adipoz doku ve kahverengi adipoz doku olarak ikiye ayrılır. Beyaz adipoz doku, vücutta enerji depolanması için kullanılan en önemli tipidir. Beyaz yağ hücreleri, enerji stoklarını glikojen veya trigliserit olarak depolayabilir ve daha sonra bedenin ihtiyacı olduğunda beyaz adipoz doku yapısında bulunan serbest yağ asitlerini dışarı salarak, adipokinez denilen olayı başlatır ve glikoz ve lipit dengesinin yeniden düzenlenmesine yardımcı olur. Kahverengi adipoz doku ise enerji üretmek için kullanılan adipoz doku tipidir. Kahverengi yağ hücreleri, vücudun ısısını ayarlama görevini üstlenir ve aynı zamanda beyaz yağ hücrelerinin aksine, enerji harcama için de aktif haldedir. Kahverengi yağ hücreleri, aynı zamanda kolajen üretimi için gerekli olan hormonların salgılanmasına da katkıda bulunabilir (Feng ve ark. 2013).

2.1.2. Derinin Fonksiyonları

Derinin vücutta birçok fonksiyonu bulunmaktadır. Bunlardan ilki derinin, stratumcorneum adını verdiğimiz en dışta yer alan yapısı ile fiziksel bariyer oluşturarak dış etkenlere karşı koruma sağlamasıdır. Ayrıca yağ dokusu sayesinde salgıladığı maddelerle ulaştığı düşük pH (asidik) değeri ile vücudu dışarıdan gelebilecek birçok virüs, bakteri ve patojen mikroorganizmaya karşı korur (Venus ve ark. 2010). Epidermiste bulunan langerhans hücreleri, dermiste yer alan dentritik hücreler ve bunun dışında ayrıca makrofaj hücreleri ve mast hücreleri de oluşturdukları immünolojik cevap ile vücudun var olan dengesini bozabilecek dışarıdan bir saldırıya karşı cildin kendini korumaya almasını sağlar (Kabashima ve ark. 2019). Ozon tabakasının gün geçtikçe incelmesi, derinin de gün geçtikçe zararlı UV ışınlarına maruziyetini arttırmaktadır. Deri, stratumkorneum tabakası sayesinde zararlı UV ışınlarından gelen radyasyonu yansıtmakta ve zararlı UV ışınlarına maruziyet sonrası melanosit sayı ve fonksiyonundaki artış ile UV radyasyonunun absorbsiyonunu azaltmaktadır (Venus ve ark. 2010).

Deri, cildin hücre yenilenmesi ve onarımını sağlar. Deri bunu, stratumbasale katmanındaki hücrelerin çoğalması ve yukarıya doğru ilerleyerek cildin üst katmanlarında bulunan hücrelerin zamanla yok edilmesiyle gerçekleştirir. Bu süreçte stratumbasale katmanındaki hücreler keratinosit olarak adlandırılan cildin yapı hücrelerine dönüşür ve yukarı doğru ilerlerler (Ehrlich ve ark. 2010).

Deri, cildin nefes almasını sağlamak için su ve gaz alışverişini sağlar ve bu sayede cildin nem oranını kontrol eder. Bu işlev, cildin taban hücreleri arasındaki

koruyucu bariyer maddeler veya lipitler ile sağlanır. Bu bariyer maddeler cildin su ve gaz geçişini kontrol etmeye yardımcı olur, cildin nem oranını korur ve bu durum da cildi estetik görünüm yoluyla cazibe ve iletişim araçlarından biri haline getirir (Fartasch ve ark. 2004). Deri, vücut tarafından depolanan vitamin ve minerallerini koruyarak, bunların uygun şekilde dağıtılmasına yardımcı olur. Bu nedenle, derinin cildin vitamin ve minerallerinin depolanmasını ve sinirsel ve duyusal fonksiyonlarını sağlaması gibi önemli fonksiyonlarını yerine getirmesi için uygun bir şekilde bakım gerekir (Lane, 2018). Deride yer alan serbest sinir uçları, meissner ve paciniankorpüsküller sayesinde dokunma, basınç, ağrı, sıcaklık gibi sinirsel ve duyusal hisleri deneyimlenebilmektedir.

Deri, insan vücudunun önemli fonksiyonlarından biri olan ısı dengesini sağlamak için de bir bariyer oluşturur. Deride bulunan ter bezleri, vücut sıcaklığını dengelemek ve vücudun serin kalmasını sağlamak için ter üretirler. Aynı zamanda, cildin üst tabakasındaki yağ bezleri de vücut sıcaklığını dengelemek için insan vücudunun termal izolasyonunu sağlar (Baron, 2013).

2.2. Derinin Pigmentasyonu ve Hiperpigmentasyon

Normal deri rengimizin belirlenmesinde birçok faktör rol oynar. Bunlar arasında genetik faktörler, melanin üretimi, yaş, güneş maruziyeti, hormonlar, beslenme, sağlık durumu ve ilaçlar yer alır. Genetik faktörler, deri rengimizin en önemli belirleyicilerinden biridir. Damar yapısı, karotenoid gibi eksojen pigmentlerin varlığı, epidermis tabakasının en dış katmanı olan stratum korneum kalınlığı, melanin ve keratinosit üretim miktarı ve tipi, kişinin genetik yapısına göre farklılık gösterir. Yaş arttıkça melanin üretimi azalır ve deri daha solgun hale gelir. Güneş ışınları, deri rengimizi de değiştirebilir. UV ışınları, melanin üretimini artırarak derinin daha koyu renk almasına neden olabilir. Aşırı güneş maruziyeti, deride kırışıklıkların, lekelerin veya kanser riskinin artmasına neden olabilir. Hormonlar ve beslenme, deri rengimizin de belirlenmesinde etkilidir. Hormon düzeylerindeki değişiklikler, deri renginin de değişmesine neden olabilir. Aynı şekilde, beslenmedeki eksiklikler veya fazlalıklar, sağlık durumu, ilaçlar ve diğer nedenler, deri renginin değişmesine neden olabilir. Deride sarılık, anemi, bazı hastalıklar, ilaçlar veya tıbbi tedaviler deri rengini etkileyebilir (Perez-Bernal ve ark. 2000; Miot ve ark. 2009).

Deriye renk veren diğer maddelerin birikimi ve bunlardan özellikle melanositlerin sayı ve fonksiyonlarında artış yönünde bir eğilim meydana geldiğinde

cilt rengi normale göre daha koyu bir renk alabilir. Cildin anormal bir şekilde pigment (melanin) üretmesi sonucu oluşan renk farklılığı hiperpigmentasyon olarak isimlendirilir.

Hiperpigmentasyon, vücudun birçok bölgesinde ortaya çıkabilir. Güneş ışığı, hormonal değişiklikler, bazı ilaçlar, kronik yara, açık tümörler veya enfeksiyonlar, kirlilik ve çevresel faktörler hiperpigmentasyonun nedenleri arasındadır. Dış çevre ve güneşe maruziyetten dolayı daha çok yüz, boyun, kollar ve eller gibi derinin daha çok açıkta olan bölgelerinde daha yaygın olarak görülür (Plensdorf ve ark. 2009).

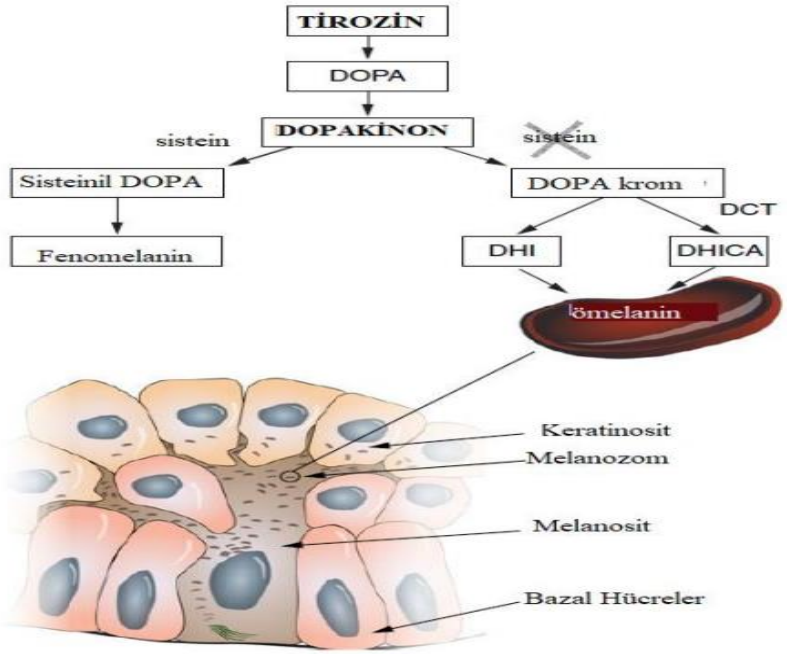
Hiperpigmentasyonun tedavi istencinin nedenleri arasında, özellikle yüz bölgesinde görüldüğü durumlarda kişiyi kozmetik ve psikososyal açıdan rahatsız etmesi, kişisel ve sosyal anlamda görüntü konforunu bozması ve bunlara bağlı olarak da yaşam kalitesini etkilemesi yer almaktadır. Elbette ki hiperpigmentasyonun görüntüdeki değişikliklerin yanı sıra insanların sağlık ve güvenliğine de etkisi vardır. Kişinin estetik beklentilerinin yanı sıra cildin güneşe veya diğer çevresel faktörlere karşı daha hassas hale gelmesi, enfeksiyon riskini artırması gibi nedenler tedavinin gerekli hale gelmesine sebep olabilir (Stulberg ve ark. 2003).

2.2.1. Hiperpigmentasyonun Etiyolojisi

2.2.1.1. Hiperpigmentasyon İle İlgili Genel Bilgiler

Hiperpigmentasyon etiyolojisini detaylandırmak için melanosit, melanozom kavramlarını ve melanin pigmenti ve üretimini incelemek faydalı olacaktır.

Melanositler, melanoblastlardan orijin alan, genel olarak epidermiste bazen de dermiste konumlanmış deriye rengini veren hücrelerdir. Bu hücreler, cilde rengini veren melanin adlı pigmenti üretir ve dağıtır. Melanin, güneş ışığına karşı cildi koruyan bir güneş filtresi görevi görür ve cildin renk değişikliğine neden olur. Melanostiler, melanosom adı verilen bir yapıda toplanır ve düzenli olarak cildin içine pigmenti dağıtırlar. Bu hücreler, cildin çeşitli bölgelerine farklı oranlarda dağılım gösterir ve cildin rengini etkiler. Keranositlerle bağlantı halinde bulunan melanositler ürettikleri melanin pigmentini bu bağlantı aracılığı ile derinin üst tabakalarına iletirler. Saç ve cilt rengimizin belirlenmesinde etkili olan melanositler, vücudun farklı bölgelerinde farklı oranlarda bulunmaktadır. Kafa derisi ve önkolda milimetrekare başına denk gelen melanosit sayısı vücudun geri kalan kısmına göre yaklaşık iki kat daha fazladır (Miot ve ark. 2009).



Şekil 2-2: Melanosom ve melanositlerin yerleşimleri ve melanin sentezi (Desmedt ve ark., 2016)

Melanozomlar, melanositler tarafından üretilen ve melanin pigmentini depolayan organellerdir.Melanozomlar, melanosit hücrelerinde üretilir ve cildin dermal tabakasına ulaşırlar, burada melanini dağıtırlar. Melanozom oluşumu aşamalı bir süreçtir ve bu süreç şu şekilde ilerlemektedir: İlk olarak, melanositlerde melanin üretimi için melanozomların öncülleri olan epitelyal plakların oluşumu gerçekleşir. Bu aşamada melanozomlar henüz melanin içermeyen küresel kompartmanlar gibidir. Daha sonra tirozin aktivitesi yükselir ve paralel ve uzunlamasına filamanlar içeren ve oval bir şekil alan melanozomların içinde melanin birikmeye başlar. Yani bu aşamada melanosit hücreleri melanin pigmentini üretir ve epitelyal plakların içine depolar. Daha sonra, melanozomlar pigment deposu olarak olgunlaşır. Oval bir organele sahip oldukları bu aşamada pigment üretimi artar ve tirozinaz aktivitesi ve melanin birikmi yüksek bir seviyede gerçekleşir. Son evre diyebileceğimiz aşamada ise melanin birikimi maksimum seviyeye ulaşırken, tirozinaz aktivitesi minimum düzeydedir. Böylece melanosomlar cildin dermal tabakasına ulaşır ve melanin pigmentini dağıtır (Larocca ve ark. 2014).

Deriye rengini veren esas madde olan melanin pigmenti birer aminoasit olan L-tirozin ya da L-fenilalaninin metabolize olması sonucunda açığa çıkmaktadır. Melanosit sentezinden sorumlu bir multienzim kompleksi, melanogenezi koordine eder. Melanogenez melanin üretimi sürecinin tamamına verilen isimdir. Melanin sentezindeki kritik adım, tirozinin tirozinaz enzimi tarafından oksidasyonudur. Tirozin, melanozomlar içindeki tirozinaz enzimi tarafından hidroksile edilerek dopa adı verilen bir ürüne dönüşür. Dopa, dopa oksidaz enzimi tarafından dopakinon adı verilen bir başka ürüne dönüştürülür ve son olarak, dopakinon, melanin pigmentini oluşturan monomerik birleşimlere ayrılır. Tirozin, eumelanin ve feomelanin olmak üzere iki tip melanine metabolize olmaktadır. Eumelanin ve feomelanin, melanin pigmentinin iki türüdür.Eumelanin, siyah veya kahverengi renkte bir pigmenttir ve güneş ışığından kaynaklanan zararlı UV ışınlarını önlemeye yardımcı olarak cildi korur. Feomelanin ise turuncu veya sarı bir pigmenttir.Her insanda melanin tipinin oranı farklıdır ve bu durum cildin rengini belirleyen faktörler arasında rol oynar. Örneğin eumelanin, pigment oranı yüksek olan kişilerde feomelanin oranına göre daha yüksektir (Larocca ve ark. 2014).

Melanin miktarının değişmesine bağlı olarak meydana gelen başlıca lekelenme tipi hiperpigmentasyondur. Bu durum cildin görünen renginde koyulaşma oluşması ile sonuçlanır. Tek bir noktada, tek bir nedenle ortaya çıkan, daha koyu renkli lekeler soliter lekeler olarak adlandırılır. Difüz lekeler ise cildin çok geniş bir alanını etkileyen, düzensiz şekilli, aynı renkte olan lekelerdir (Pandya, 2006).

Melanin miktarı, güneş ışığı veya UV ışınlarına maruz kalma sıklığı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Bu durumda oranı artan melanin pigmenti doğal bir güneş koruyucu gibi davranır. Fakat güneş ışınlarına aşırı maruz kalma sonucunda melanosit sayısında artış olur vecilt üzerinde solar lentigo da denilen geniş ve koyu renkli yaşlılık lekeleri oluşur. Hiperpigmentasyona bağlı lekelenmeler her zaman melanosit sayısındaki artışa bağlı olarak gerçekleşmez. Bazen de melanin pigmentinin aşırı veya düzensiz üretimine bağlı olarak el ve yüz gibi güneşe maruz kalma oranı vücudun diğer bölgelerine göre fazla olan bölgelerinde lekelenmeler oluşur. Güneş maruziyeti sonrası yüz bölgesinde görülen güneş lekeleri melazma olarak isimlendirilir. Hormon dalgalanmalarına neden olan hamilelik, progesteron ve/veya östrojen takviyesi ve oral kontraseptiflerin kullanımı da melanin üretiminde artışa neden olmakta ve kloazma olarak isimlendirilen hamilelik lekelenmelerine yol açmaktadır. Bu lekeler de solar lentigo benzeridir ve fakat bazen daha geniş bir yüzeyi kaplar, çoğu zaman da

inatçı lekelenmeler olduğu söylenebilir. Akne, operasyon veya travma gibi bazı olaylar hiperpigmentasyon oluşumunun bir başka nedenidir. Akne, cildin enflamatuvar bir hastalığıdır ve sivilce oluşumu ile sonuçlanır. Sivilce sonrası oluşan skarlar iyileşme sonrası, leke oluşmasına neden olabilir. Operasyon ve cildin mekanik olarak zarar gördüğü travma sonrası da hiperpigmentasyon oluşabilir. Bu durumların hepsi cildin melanin üretimini artırarak hiperpigmentasyon oluşmasına neden olur. Ancak, bahsedilen bu durumlar için cildin normal rengine dönmesi ve hiperpigmentasyon tedavisi mümkündür (Cardinali ve ark. 2012).

2.2.1.2. Hiperpigmentasyona Yol Açan Durumlar ve Hiperpigmentasyon Çeşitleri

Hiperpigmentasyonun genetik, fizyolojik ve çevresel faktörler gibi birden fazla nedeni olabilir. UV maruziyeti, gebelik, kullanılan ilaçlar, hormonal tedaviler,yanlış yapılan epilasyon işlemleri, bilinçsiz kullanılan kozmetik ürünler, lazer ve güneş yanıkları da hiperpigmentasyon nedenleri arasında yer alır. Hiperpigmentasyona neden olabilen ilaçlara minosiklin, trimetoprim gibi antibiyotikler, ibuprofen, salisilik asit, naproksen gibi steroid olmayan antienflamatuar ilaçlar, amiadaron, hidroksiüre gibi ilaçlar, ağır metaller ve pisokotrop ilaçlar örnek olarak verilebilir.

Hiperpigmentasyon tüm vücudu etkileyebilirken bazen de vücudun sadece belirli bir bölgesinde meydana gelebilir:

Vücudun belli bir bölgesinde lokalize olan pigmentasyonlar:

- Lentigolar: Lentigoların iki temel tipi vardır. Solar lentigo ve lentigo simpleks. Solar lentigo, UV ışınlarına uzun süre maruz kalmanın bir sonucu olarak ortaya çıkar ve güneş lekesi olarak da bilinir. Lentigo simpleks ise genellikle yaşlanmanın bir sonucu olarak ortaya çıkar ve yaşlılık lekesi olarak da adlandırılır.Klinikte 2-3 cm çaplarında, iyi sınırlarla çevre deriden ayrılan, yuvarlak, oval yada düzensiz şekillerde, rengi bronzdan koyu kahverengine değişebilen yamalar olarak karşımıza çıkarlar. Güneş maruziyeti yoğun olan akral bölgelerde, özellikle ellerin dorsal kısımlarında, yüzde, dekolte bölgesinde ve sırtın üst kısımlarında gözlenirler (Cardinali ve ark. 2012).
- Efelidler (çiller): Güneş maruziyeti veya genetik faktörlerden kaynaklanan küçük kahverengi lekeler olup, oluşumu, melanin üretimini etkileyen genetik faktörler ve güneş ışığına maruz kalma gibi çevresel faktörlere bağlıdır.

Genellikle yüz, kollar ve sırt gibi güneş ışınlarının sık maruz kaldığı alanlarda görülen zararsız lekelerdir (Jannot ve Kammoun, 2014).

- Post inflamatuar hiperpigmentasyon: Post-inflamatuar hiperpigmentasyon (PIH), cildin bir bölgesinde meydana gelen inflamasyon ya da hasar sonrası oluşan koyu renkli lekelerdir. Bu durum özellikle sivilce, dermatit, yanık, dermabrazyon ve lazer tedavisi sonrası sık görülmektedir. Inflamasyon sonrası melanositlerin aktivitesi artar ve ciltte fazla melanin birikmesine neden olur, bu da koyu renkli lekelerin ortaya çıkmasına sebep olur. PIH, herhangi bir cilt tipinde ortaya çıkabilir ve özellikle koyu cilt tonlarındaki insanlarda daha belirgin hale gelir (Davis ve Callender 2010).
- Melazma-Kloazma: Melasma veya Kloazma, ciltte özellikle yüz bölgesinde lokalize olan hiperpigmentasyon nedeniyle oluşan bir dermatolojik durumdur. Genellikle kadınları etkiler ve gebelik, hormonal tedaviler, doğum kontrol hapları ve aşırı güneşe maruz kalma gibi faktörlere bağlıdır. Bu faktörler, melanositlerin melanin üretimini artırarak ciltte daha fazla pigment birikmesine neden olabilir. Melasma, yüzde, yanaklarda, alında ve üst dudakta simetrik lekeler olarak ortaya çıkabilir. Bu lekeler kahverengi veya gri-kahverengi renkte olabilir. Bu durumun tam olarak neden olduğu bilinmemektedir, ancak bazı araştırmalar UV radyasyonunun melanositlerin aktivitesini artırarak melazma gelişimine neden olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, hormonlardaki değişiklikler de bu durumun nedenleri arasındadır.Mevcut leke tedavilerine karşı direnç gösteren melasma tedavisinde genel amaç melanogenesize neden olan enzimi inhibe ederek melanin sentezini baskılamaktır (Sarkar ve ark. 2013).
- Café-au-lait makülleri: Ciltte kahverengi renkte düzgün sınırlı lekelerdir. Genellikle doğumda var olan pigmentasyon bozukluğudur ve çoğu zaman ailesel geçiş gösterir. Bu lekeler, bazı genetik hastalıklarla da ilişkilendirilir.
- Peutz-legher sendromu: Otozomal dominant geçiş gösteren, mukokutanöz pigmentasyon ve gastrointestinal poliplerin görüldüğü bir hastalıktır. Yuvarlak, oval, düzgün olmayan, 1-5 mm çapındaki kahverengi pigmentasyonlar oral mukoza, diş eti, damak ve dudaklarda yerleşim gösterir.
- Melanositik nevüsler: Cildin melanosit adı verilen hücrelerinden kaynaklanan iyi huylu lezyonlardır. Genellikle kahverengi veya siyah renkte olurlar ve

yaygın olarak ben olarak bilinirler. Bazı durumlarda malign melanom riski taşıyabildikleri için takip edilmeleri önemlidir.

- Akantozis nigricans: Genellikle boyun, koltuk altı ve kasık gibi kıvrım yerlerinde ortaya çıkan koyu renkli, kadifemsi, hiperpigmente, hiperkeratotik plaklarla seyreden intertriginöz bölgeleri tutan bir cilt hastalığıdır. Bu lezyonlar genellikle insülin direnci ve obezite ile ilişkilidir, ancak daha nadir durumlarda kanser gibi diğer sağlık sorunlarının belirtisi olabilirler. İlaç tedavisi, diyet ve yaşam tarzı değişiklikleri gibi faktörlere bağlı olarak tedavi edilebilirler.
- Pitriazis versicolor: Deride normalde yaşayan bir mantar türünün, çeşitli nedenler ile artması ilecildin üst tabakasında beyaz, kahverengi veya pembemsi lekeler oluşturması ile karakterize derinin bir mantar enfeksiyonudur. Mantar, yağlı bölgelerde daha sık görülür ve aşırı terleme, sıcak hava ve bağışıklık sistemi zayıflığı gibi faktörlerle ilişkilidir.
- Riehl Melanozu: Yüz, boyun ve üst gövdede asimetrik, mavi-yeşil veya gri-kahverengi lekelerle karakterize bir hipermelanotik durumdur. Özellikle kozmetiklere maruziyet öyküsü olan erişkin kadınlarda görülür. Kozmetikte kullanılan katran türevlerinden ve ışığa reaksiyon gösteren maddelerden şüphelenilmektedir.
- Melazma, postinflamatuar hiperpigmentasyon ve freckle gibi diğer hipermelanotik durumlardan ayırt edici özellikleri vardır. Belirtileri güneşe maruz kalmayla artabilir ve kadınlarda daha yaygın olarak görülebilir.



Şekil 2-3: Riehl Melanozu (Costescu ve ark. 2017)

- Civatte’nin Poikiloderması: 1923'te Fransız dermatolog Achille Civatte tarafından tanımlanan genellikle yüz, boyun, boyun yanlarında enseye doğru olan bölgede ve dekolte bölgesinde görülen ve ciltte kızartılı kahverengi lekeler ve hafif beyaz lekeler oluşması ile karakterize bir hiperpigmentasyon çeşididir. Tedavisi genellikle güneş koruyucular, topikal kortikosteroidler ve lazer tedavisi gibi yöntemlerle yapılır.
- Eritromelanozis Follikularıs Fasiei: Yüz bölgesinde görülen nadir bir hiperpigmentasyon çeşididir. Küçük, kahverengi veya siyah noktalarla karakterizedir ve saç foliküllerinin etrafında yoğunlaşır. Etiyolojisi bilinmeyen ancak güneş ışığına maruziyet, genetik faktörler ve hormonlar gibi çeşitli faktörlerin rol oynayabileceği düşünülen, yüzde renk değişikliğine yol açması nedeniyle hastalara rahatsızlık veren selim bir dermatoz olup sıklıkla hayatın ikinci on yılında başlar, sarı ırkta ve erkeklerde daha sık görülür.
- Brocg’un Peribukkal Pigmentasyonu: Yanak iç yüzünde simetrik olarak yer alan, mavi veya gri renkte hiperpigmente bu lekeler genellikle melanositlerin birikmesi veya inflamasyon nedeniyle oluşurlar. Nadir görülen bir durumdur ve genellikle herhangi bir tedavi gerektirmez.
- Eksojen okronozis: Kozmetik ürünlerde bulunan ve uzun süreli kullanım sonucu cildin derin katmanlarına nüfuz eden organik bir bileşik olan okratoksin A'nın neden olduğu bir pigmentasyon bozukluğudur. Genellikle ciltte gri-mavi veya sarı-kahverengi lekeler şeklinde kendini gösterir ve özellikle yüz, boyun ve ellerde görülür. Uzun süreli güneş ışığı maruziyeti, yaşlanma ve genetik faktörler de bu durumun oluşumunda etkili olabilir.
- Ailesel Periorbital Hiperpigmentasyon: Göz çevresinde kalıtsal olarak meydana gelen hiperpigmentasyondur. Genellikle derinin altındaki kılcal damarların genişlemesiyle ilişkilidir. Bu durum, yaşla birlikte kötüleşebilir ve çevresel faktörler tarafından da tetiklenebilir. Tedavisi için kozmetik prosedürler, lazer tedavileri ve depigmentasyon ajanları kullanılabilir.
- Travmatik Tutuaj: Uzun süreli tekrarlayan cilt sürtünmesi veya basıncı nedeniyle ciltte oluşan hiperpigmentasyonlu bir durumdur. Genellikle sürtünme ve basınç alan bölgelerde, özellikle el ve ayaklarda meydana gelir. Tedavi edilmezse, ciltte kalıcı hiperpigmentasyon ve hatta yara oluşumu görülebilir.

- Akkiz dermal melanositoz: Ciltte kahverengi veya siyah lekelerin görüldüğü bilateral bir pigmentasyon bozukluğudur. Genellikle doğumdan sonra ortaya çıkar ve yaşam boyu devam eder. Melanositlerin dermise yerleşmesi ile oluşur ve nadir görülen bir durumdur.Asya popülasyonunda sık görülür. Genellikle malar bölge tutulmasına rağmen, şakaklar, burun kanatları, göz kapakları, alın etkilenebilirken mukozalar tutulmaz. Melazma ile birlikteliği sıktır. Tedavide Q anahtarlı lazerler tercih edilir.

Tüm vücudu genel olarak etkileyen hiperpigmentasyonlar:

Bu hiperpigmentasyona daha önce de bahsedildiği gibi güneşin ultraviyole ışınları sonucu olan doğal bronzlaşma veya yapay bronzlaşma; gebelik, östrojen kullanımı, addison hastalığı, nelson sendromu gibi hormonal sebepler; hemokromatozis, hipertiroidi, malabsorpsiyon gibi metabolik sebepler; minoksisiklin gibi akne ilaçları, fenotiyazin, amiodaron gibi bazı ilaçların kullanımı yol açabilmektedir. Ayrıca tüm vücudu genel olarak etkileyebilen bazı hiperpigmentasyon çeşitlerinden aşağıda kısaca bahsedilmektedir:

- Karotenemi: Beta-karoten veya diğer karotenoidlerin fazla miktarda tüketilmesinden kaynaklanan bir durumdur. Özellikle yeşil yapraklı sebzeler, turuncu meyveler ve sebzeler gibi sağlıklı gıdalarda bulunurlar ve çok yüksek seviyelerde alındıklarında cildin ve bazı diğer dokuların turuncu-sarı renkte görünmesine sebep olmaktadırlar. Bu durum ciddi bir sağlık sorunu olarak kabul edilmez, karotenemi genellikle tedavi gerektirmez ve diyetle ilgili düzenlemelerle hızla geri dönebilir.
- Eritema diskromikum perstans (EDP): Ciltte asimetrik, yuvarlak veya oval şekilli; yüz, boyun, gövde ve ekstremitelerin proksimalinde, simetrik yerleşimli, kül renginde maküller ile seyirli,hiperpigmente ve hipopigmente alanlardan oluşan kronik bir cilt hastalığıdır. Hastalık, melanin üretimindeki anormallikler sonucu ortaya çıkan bir pigment bozukluğu nedeniyle oluşur. Her yaş grubunda görülebilmesine karşın, genellikle 40 yaşından önce başlarve belirsiz nedenlerle oluşur. Tedavisi için çeşitli topikal ve sistemik tedaviler mevcuttur, ancak hastalığın nedeni tam olarak bilinmediğinden tedavi zorlu olabilir. EDP, kozmetik bir endişe oluşturmasa da, psikolojik rahatsızlık ve özgüven kaybına neden olabilir.

- Aktinik Pigmente Liken Planus: Nedeni tam olarak bilinmese de güneş maruziyeti, stres, bağışıklık sistemi bozuklukları ve genetik faktörlerin rol oynayabileceği ve bunun sonucunda, ciltte küçük, kahverengi, düz veya kabarık lekelerin ortaya çıktığı bir pigmentasyon bozukluğudur. Bu lekeler, çoğunlukla güneşin etkilediği yüz, ense, göğüs ve sırt bölgesinde görülür. Ayrıca, hastalığa bağlı olarak kaşıntı, yanma ve ağrı gibi belirtiler de görülebilir.
- Makuler Amiloidozis: Ciltteki belirli bölgelerde amiloid protein birikmesiyle karakterize bir cilt hastalığıdır. Genellikle gövde, boyun ve kol bölgelerinde görülen bu hastalık daha çok ileri yaşlarda görülür ve genellikle diğer cilt rahatsızlıklarından ayırt edilmesi zordur. Maküler amiloidozis genellikle belirtiler olmadan kendiliğinden kaybolur, ancak nadir durumlarda kaşıntı, ağrı veya yanma hissi gibi semptomlar da görülebilir. Tedavi seçenekleri arasında topikal kortikosteroidler, fototerapi, oral antihistaminikler ve kriyoterapi yer alabilir.



Şekil 2-4: Maküler Amiloidozis (Bhat ve ark. 2012)

- İdiopatik eritropoetik maküler pigmentasyon (IEMP): Bilinmeyen nedenlere bağlı olarak gelişen, genellikle genç kadınlarda daha sık görülen ve çoğunlukla yüz bölgesindeki yanaklar, burun ve çene üzerinde yerleşim gösteren bir deri hastalığıdır. Hastalığın karakteristik özelliği, kahverengi veya gri hiperpigmente plakların yanı sıra küçük, dağınık veya bölgesel maküler lekelerdir. Sıkça görülen semptomlar arasında kaşıntı, yanma, hassasiyet ve ağrı yer alır. IEMP'nin kesin nedeni

henüz bilinmemekle birlikte, stres, hormonal değişiklikler, ultraviyole radyasyon, viral enfeksiyonlar ve bağışıklık sistemiyle ilgili faktörlerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Tedavi seçenekleri arasında topikal kortikosteroidler, immünomodülatörler ve fototerapi yer almaktadır.

- Dowling-Degos hastalığı: Otozomal dominant yolla aktarılan bir cilt hastalığıdır. Hastalık, sebase bezlerin bulunduğu bölgelerde melanin birikmesi sonucu oluşan koyu renkli lekelerle karakterizedir. Lekeler genellikle boyundan aşağıya doğru sırt, boyun, koltuk altı, kasık, el ve ayak tabanları gibi vücudun kıvrımlı bölgelerinde görülür. Bazı vakalarda, ciltte kabarcıklar veya siyah noktalar da görülebilir. Hastalık genellikle ergenlik veya erken yetişkinlik döneminde başlar ve ilerleyici bir seyir gösterir. Tedavisi semptomatiktir ve lekelerin görünümünü hafifletmek için topikal tedaviler ve lazer tedavisi gibi yöntemler kullanılabilir.
- Prurigo Pigmentosa: Klinik olarak kaşıntılı eritemli papül ve papüloveziküller ile karakterize, akne benzeri papüllerin ve nodüllerin ortaya çıkmasına neden olan nadir bir inflamatuar cilt hastalığıdır. Genellikle genç kadınlarda görülür ve özellikle üst sırtta, boyunda, göğüs bölgesinde ve omuzlarda ortaya çıkar. Erken evrelerde kaşıntı ve kızarıklık gözlenirken, daha ileri evrelerde pigmentasyon artar ve renkli lekeler şeklinde görünür. Tedavi edilmezse kronik hale gelebilir ve hiperpigmentasyon izleri kalabilir. Prurigo pigmentosa'nın patogenezi tam olarak anlaşılmamıştır, ancak keton diyeti ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.
- Konfluent ve retiküle papillomatozis: Persistan papüllerin perifere doğru yayılması ile retiküler bir görünüm oluşturan lezyonlarla karakterize genellikle yüz, boyun ve gövdede nadir görülen bir dermatozdur.Bu hastalık, hiperkeratoz, papillomatoz ve pigmentasyon değişiklikleri ile kendini gösterir. Lezyonlar, birleşerek büyük, düzensiz şekilli plaklar oluşturabilir ve yüzeyleri sert ve kabuklu olabilir. Hastalığın nedeni tam olarak bilinmemektedir, ancak kalıtsal bir yatkınlık olduğu düşünülmektedir. Teşhis genellikle klinik görünüm ve biyopsi sonuçlarına dayanır. Tedavi, lazer cerrahisi, elektrokoterizasyon ve kriyoterapi gibi yöntemleri içerebilir (Perez-Bernal ve ark. 2000; Larocca ve ark. 2014).

2.2.2. Hiperpigmentasyon Tanı ve Tedavi Yöntemleri

Birçok hastalıkta olduğu gibi hiperpigmentasyon tedavisi için öncelikli adım doğru tanıyı koyabilmektir. Hiperpigmentasyonu oluşturan altta yatan nedeni tespit

etmek doğru tedavi yaklaşımını oluşturmayı sağlar. Hiperpigmentasyon tiplerinin tanısı ve yönetimi, dermatologlar ve diğer sağlık uzmanları tarafından, kişisel klinik gözlemler, histopatolojik muayeneler, konfokal lazer tarama mikroskopisi, dermatoskopik incelemeler, spektrofotometri, fotograflar ve diğer tanısal araçlar kullanılarak yapılır.

Konfokal lazer tarama mikroskopisi, cilt hiperpigmentasyonlarının teşhisinde kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir. Bu yöntem, derinin farklı tabakalarına ulaşarak, hiperpigmentasyonun nedenini belirlemeye yardımcı olur. Ayrıca, bu yöntemle hiperpigmentasyonun tedavisi için kullanılan ilaçların ve kozmetik ürünlerin etkinliği de değerlendirilebilir.

Dermatoskopik inceleme, cilt hiperpigmentasyonlarının klinik değerlendirmesi için kullanılan bir diğer yöntemdir. Bu yöntem, hiperpigmentasyonun rengi, kenarları ve kalınlığı hakkında ayrıntılı bilgi sağlar. Ayrıca, dermatoskopik inceleme, hiperpigmentasyonun beningn mi yoksa malign mi olduğunu belirlemeye yardımcı olabilir.

Histopatolojik inceleme, cilt hiperpigmentasyonlarının kesin tanısını yapmak için kullanılan bir diğer önemli yöntemdir. Bu yöntem, cilt dokusunun bir kısmının alınarak mikroskop altında incelenmesiyle yapılır. Histopatolojik inceleme, hiperpigmentasyonun malign veya benign olduğunu belirlemeye yardımcı olur ve tedavi planlaması için önemlidir.

Spektrofotometri, hiperpigmentasyonun renginin objektif olarak ölçülmesi için kullanılan bir diğer yöntemdir. Bu yöntem, hiperpigmentasyonun rengini sayısal olarak ifade eden bir değer sağlar. Ayrıca, bu yöntem, hiperpigmentasyonun tedavisi için kullanılan ilaçların etkinliğinin takibinde de kullanılabilir.

Fotograflar, hiperpigmentasyonların izlenmesi için kullanılan diğer bir yöntemdir. Bu yöntem, hiperpigmentasyonun boyutu, rengi ve şekli gibi değişimlerin objektif olarak belirlenmesine yardımcı olur.

Daha önce bahsedilen tanı yöntemlerinin yanı sıra, son yıllarda geliştirilen bazı yeni teknolojiler de hiperpigmentasyonun tanısında kullanılmaktadır. Bunlardan biri, multispektral görüntüleme yöntemidir. Bu yöntem, farklı dalga boylarındaki ışık kullanarak derinin altındaki pigmentasyonu görüntüleyebilir. Bu nedenle, multispektral görüntüleme, hiperpigmentasyonun daha erken tanınmasına ve daha doğru teşhis edilmesine yardımcı olabilir.

Bunun yanı sıra, bazı genetik testler de hiperpigmentasyonun altta yatan nedenlerini belirlemeye yardımcı olabilir. Örneğin, Peutz-Jeghers sendromu veya neurofibromatozis gibi genetik hastalıkların neden olduğu hiperpigmentasyonlar, genetik testlerle teşhis edilebilir.

Sonuç olarak, hiperpigmentasyonun tanısı, tıbbi öykü, fizik muayene ve bazı laboratuvar testlerinin yanı sıra, klinik fotoğraf ve multispektral görüntüleme gibi görüntüleme tekniklerinden yararlanarak konulabilir. Hiperpigmentasyonun doğru tanımlanması, uygun tedavinin seçilmesinde ve hastaların yaşam kalitesinin artırılmasında önemlidir (Lee ve ark. 2017; Sarkar ve ark. 2013; Taylor ve ark. 2014; Li ve Li2015).

Hiperpigmentasyonda doğru bir tanı yöntemi ile doğru tedavi yaklaşımını oluşturmak mümkündür. Tedavi mekanizması genel olarak melanin sentezinde rol alan en önemli enzim olan tirozinaz ile ilişkilidir. Pigmentasyonun kontrol altına alınması için tirozinaz enziminin aktivitesi inhibe edilir. Tedavide yer alan pek çok depigmentasyon ajanı da bu mekanizma ile işler. Tirozinaz aktivitesi melanin sentezi öncesinde, melanin sentezi sırasında veya melanin sentezi sonrasında inhibe edilebilir. Örneğin hidrokinon vb ajanlar vasıtası ile melanin sentezinden önce tirozinaz aktivitesini inhibe edilebilir. Yada melanin sentezi sırasında tirozinaz inhibisyonu, peroksidaz inhibisyonu veya oluşacak ürünlerin azaltılması bir diğer seçenektir. Son olarak da melanin sentezi sonrasında tirozinazın yıkımı ve melonozom transferinin inhibisyonu ile tirozinaz aktivitesi inhibe edilebilir (Park ve ark. 2010).

Melanin pigmentasyonunun temel enzimi olan tirozinaz birçok hiperpigmentasyon vakasında artmış bir aktivite gösterir. Dolayısı ile tirozinaz aktivitesini inhibe etmek için farklı mekanizmalar ele alınabilir:

- Reaktif Oksijen İçeren Türevlerin İnhibisyonu: Reaktif oksijen içeren türevler, tirozinaz enzimini inhibe eden etkili bileşiklerdir. Bu bileşikler, tirozinazın metal iyonları ile etkileşerek enzimin aktivitesini inhibe eder. Örneğin, askorbik asit, tirozinaz aktivitesini azaltan bir antioksidandır.

- Fenolik Bileşiklerin İnhibisyonu: Fenolik bileşikler, tirozinaz enzimini inhibe eden etkili bir mekanizmadır. Bu bileşikler, tirozinazın katalitik aktif

bölgesindeki tirozinin yerini alarak enzimin aktivitesini azaltır. Bu nedenle, fenolik bileşikler, tirozinaz aktivitesini inhibe eden potansiyel ajanlar olarak kullanılabilir.

- İnhibisyon Membran Permeabilitesi: Tirozinaz aktivitesi, membran bütünlüğü ile ilişkilidir ve membranın permeabilitesindeki değişiklikler tirozinaz aktivitesini etkileyebilir. Bu nedenle, membran permeabilitesinin inhibe edilmesi, tirozinaz aktivitesinin azalmasına neden olabilir. Örneğin, retinoidler tirozinaz aktivitesini inhibe edebilir ve aynı zamanda membran bütünlüğünü koruyarak hiperpigmentasyonun tedavisinde potansiyel bir ajan olarak kullanılabilir.

- Bakır İyonlarının Şelasyonu: Bakır iyonları, tirozinaz aktivitesinde önemli bir rol oynarlar ve tirozinaz aktivitesini inhibe eden potansiyel ajanlar arasında bakır iyonlarının şelasyonu da bulunur. Bu mekanizma, bakır iyonlarının katalitik aktif bölgedeki yerini alarak tirozinaz aktivitesini azaltır.

- Epigenetik Değişiklikler: Epigenetik modifikasyonlar, hiperpigmentasyonun patogenezinde önemli bir rol oynayabilir. Özellikle, DNA metilasyonu, tirozinaz geninin ekspresyonunu inhibe ederek tirozinaz aktivitesini azaltabilir.

Bir diğer etki mekanizması ise tirozinaz aktivitesindeki artışın inhibisyonudur. Tirozinaz aktivitesi, hücre içi serbest radikaller, oksidatif stres ve UV maruziyeti gibi çeşitli faktörler tarafından artırılabilir. Bu durum, hiperpigmentasyonun oluşumuna katkıda bulunur. Dolayısıyla, bu aktivitenin inhibisyonu da hiperpigmentasyonun önlenmesine yardımcı olabilir. Bu amaçla, bazı bitki özleri (örneğin, Arctium lappa L., Rheum officinale Baill.) ve antioksidan bileşikler (örneğin, resveratrol) tirozinaz aktivitesini inhibe etmektedir. Bunun yanı sıra, melanin sentezindeki ara ürünler de tirozinaz enziminin inhibitörü olarak görev yapabilir. Bu ara ürünler, melanin sentezinin son aşamasında tirozinaz tarafından oksidasyona uğratılan dopa, dopa kinon ve dopakrom gibi maddelerdir. Bu ara ürünler, tirozinaz enziminin aktivitesini inhibe ederek, hiperpigmentasyonun önlenmesine yardımcı olabilirler. Örneğin, N-acetil-kistikin (NAK), dopa kinaz aktivitesini inhibe ederek, tirozinaz enziminin aktivitesini

düşürmektedir. Ayrıca, dopa kinonun, tirozinaz inhibisyonu için etkili bir ajan olduğu da gösterilmiştir.

Sonuç olarak, hiperpigmentasyonun tedavisinde tirozinaz enzimi aktivitesini inhibe etmek, etkili bir strateji olarak kabul edilmektedir. Tirozinaz enzim aktivitesinin inhibisyonu; tirozinaz enziminin doğrudan inhibisyonu, tirozinaz enziminin sentezinin inhibisyonu, tirozinaz enziminin aktivitesindeki artışın inhibisyonu, melanin sentezindeki ara ürünlerin tirozinaz enzimi inhibisyonu yoluyla gerçekleştirilebilir. Bu amaçla, tirozinaz inhibisyonu için birçok doğal ve sentetik bileşik araştırılmaktadır (Solano ve ark. 2006; Liu ve ark. 2017; D'Mello ve ark. 2016).

Hiperpigmentasyon tedavisinde yer alan bu mekanizmalarla leke açıcı olarak bazı kimyasal/bitkisel ajanlar ve medikal işlemler kullanılmaktadır. Bu ajanlar veya medikal işlemler, cildin soyularak cilt renginin açılması veya hücrelerde melanin üretiminin baskılanarak, yani tirozinaz enziminin inhibe edilerek cilt renginin açılması şeklinde iki mekanizma ile işlemektedir (Perez-Bernal ve ark. 2000). Tedavi seçenekleri şu şekildedir:

- Dermabrasyon: Dermabrasyon, cilt yüzeyinin zımparalanarak üst tabakasının çıkarılması işlemidir ve genellikle cilt tonu düzensizliklerinin, yüzeyel akne izlerinin, ciltteki ince kırışıklıkların ve güneş hasarının tedavisinde kullanılır. Bu tedavi, ciltte yeni ve daha sağlıklı hücrelerin oluşmasına yardımcı olur ve daha pürüzsüz ve genç görünümlü bir cilt elde etmeye yardımcı olabilir. Dermabrasyon işlemi sırasında, lokal anestezi veya sedasyon altında cilt yüzeyi, cildin duyusunu geçici olarak azaltmak ve ağrı ve rahatsızlık hissiyatını azaltmak için dondurulur ve bu şekilde daha rahat bir tedavi süreci sunar. Ardından, cilt yüzeyi, özel bir cihaz kullanılarak zımparalanarak üst tabakası çıkarılır. Bu işlem, cilt yüzeyindeki hasarlı hücrelerin ve pigmentasyonun uzaklaştırılmasına yardımcı olur. Dermabrasyon, tedavi sonrasında ciltte hafif kızarıklık ve kabuklanma gibi yan etkiler oluşturabilir. İşlem sonrası ciltte bu yan etkilerin azaltılması için özel bir bakım gerektirir. İyileşme süreci, cilt tipine, işlemin şiddetine ve uygulama alanına göre değişebilir. Tedavi sonrası dönemde ciltteki kabukların düşmesi sonrası daha canlı bir görünüm elde edilir. Dermabrasyon işlemi, tıbbi bir prosedür olup, herhangi bir kişi tarafından yapılmaması gereken bir tedavidir. Bu nedenle, işlem, deneyimli bir dermatolog veya plastik cerrah tarafından gerçekleştirilmelidir. Ayrıca, hastaların tedavi öncesinde doktorlarına danışarak, işlemin

kendileri için uygun olup olmadığını öğrenmeleri gerekmektedir. Dermabrasyon, diğer cilt yenileme yöntemleriyle kıyaslandığında daha uzun süren bir iyileşme süreci gerektirir. Ancak, ciltteki belirgin düzelmeler ve lekelerin ortadan kaldırılması, uzun vadeli sonuçlar sağlaması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir. Ayrıca, dermatologlar tarafından ciltteki lekelerin, izlerin ve diğer cilt sorunlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Ablon 2018).

- Likit nitrojen kriyoterapi (Dondurma tedavisi): Bu yöntem, dondurma işlemi ile lezyonlardaki melanosit hücrelerinin tahrip edilmesi yoluyla çalışır. Dondurucu madde olarak kullanılan sıvı nitrojen, yüksek derecede soğuk (-196 °C) olduğu için, hızlı bir şekilde hedeflenen bölgeyi dondurur ve ciltteki hiperpigmente lezyonları ortadan kaldırır. Likit nitrojen kriyoterapinin avantajları arasında, cerrahi müdahale gerektirmemesi, minimal invaziv olması, lokal anesteziye genellikle ihtiyaç duyulmaması, kısa iyileşme süresi ve geniş bir yüzey alanını tedavi edebilme kapasitesi yer alır. Ayrıca, sadece bir seansta bile tatmin edici sonuçlar elde edilebilir. Ancak, likit nitrojen kriyoterapinin bazı dezavantajları da vardır. Örneğin, işlemin yeterince etkili olabilmesi için, lezyonların doğru şekilde tanımlanması ve yerlerinin belirlenmesi önemlidir. Ayrıca, işlem sonrası ciltte kabuklanma, ağrı, şişlik, geçici beyazlama ve hatta kalıcı hiper veya hipopigmentasyon gibi yan etkiler ortaya çıkabilir. Bu nedenle, likit nitrojen kriyoterapinin uygulanması öncesinde, risk ve fayda oranı dikkatlice değerlendirilmelidir (Sobanko ve Alster 2011; Trivedi ve ark. 2017).

- Lazer operasyonu: Lazer operasyonunda lazer ışınları, ciltteki hiperpigmente lekelerin konsantre bir şekilde hedeflenmesiyle cilt hücrelerindeki pigment üretimini inhibe ederek, hiperpigmente alanların renginin açılmasına ve ciltteki renk eşitsizliğinin düzelmesine yardımcı olur.Lazer tedavisi, lokal anestezi ile uygulanır ve birkaç dakika ile birkaç saat arasında sürebilir. Lazerle tedavi edilen hiperpigmente alanlar, tedavi sonrası birkaç gün içinde kabuk bağlar ve dökülür. Sonuçlar, tedavi edilen bölgenin büyüklüğüne, cildin tipine ve hiperpigmentasyonun şiddetine bağlı olarak değişebilir. Birçok hasta, tek bir lazer tedavisi sonrasında bile ciltlerindeki hiperpigmentasyonda belirgin bir azalma fark ederler.Özellikle Q-switched Nd:YAG lazer, Alexandrite lazer ve Ruby lazer gibi bazı özel lazerlerin kullanımı hiperpigmentasyon tedavisinde oldukça başarılı sonuçlar vermektedir. Lazer tedavisi,

ciltte minimal travma nedeniyle hızlı bir iyileşme süreci sunar ve diğer tedavi yöntemlerine kıyasla daha az ağrılıdır. Ayrıca, lazer tedavisinin işlem sırası ve sonrasındaenfeksiyon riskinin düşük olması ve tedavi sonrası iz bırakma riskinin az olması gibi avantajları vardır. Ancak, pahalı olması ve birden fazla seans gerektirmesi ve ayrıca, bazı hastalarda lazer tedavisi sonrası ciltte kızarıklık, kabuklanma, ağrı ve şişlik oluşması, medikal bir uzman tarafından uygulanma gerekliliği gibi bazı dezavanjatlara sahiptir (Wenzel ve Lupo 2016).

- Diğer ışın tedavileri: Hipergimentasyon tedavisinde kullanılan diğer bir ışın tedavisi de fototerapidir. Fototerapi, UV ışınlarının farklı dalga boylarının kullanıldığı bir tedavi yöntemidir. UVB ışınları, 311 nm dalga boyuyla en sık kullanılan dalga boyudur ve melanozomlardaki melanin pigmentasyonunun azaltılmasına yardımcı olur. Ayrıca, bazı vakalarda UVA ışınları da kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemi, kronik hiperpigmentasyon, melasma, postenflamatuar hiperpigmentasyon ve lentigo gibi deri lezyonlarının tedavisinde etkili olmuştur. Fototerapi ayrıca, özellikle aktinik keratoz gibi hiperpigmentasyonun neden olduğu erken cilt hasarlarının tedavisinde de kullanılmaktadır.Fototerapinin avantajları arasında, non-invaziv bir tedavi yöntemi olması, lokal anesteziye ihtiyaç duyulmaması ve kısa süreli yan etkileri bulunması yer almaktadır. Ancak,uzun süreli kullanımda cilt kanseri riskini arttırması, koyu tenli hastalarda etkinliğinin sınırlı olması ve tedavi maliyeti yüksek olması gibi bazı dezavantajları vardır (Halder ve ark. 2016).

- Depigmentasyon ajanları: Fenolik bileşikler (hidrokinon, rezorsinol, katekol), azelaik asit, kojik asit, askorbik asit (C vitamini), retinoid (retinoik asit, tretionin), meyankökü ekstresi, arbutin ve dioksiarbutin, soya ekstresi, ayva ektresi, α-lipoik asit, doymamış yağ asitleri başlıca depigmentasyon ajanları arasında sıralanabilir. Depigmentasyon ajanları, melanin üretimini azaltarak ve mevcut melanin pigmentasyonunu azaltarak hiperpigmentasyonun tedavisinde kullanılmaktadır. Hidrokinon, en etkili depigmentasyon ajanlarından biridir ve pigmentasyonun hemen hemen tüm tiplerinde etkilidir. Bununla birlikte, yan etkileri nedeniyle uzun süreli kullanımı önerilmemektedir. Rezorsinol, hidrokinon ile birlikte kullanıldığında daha etkili olabilir, ancak aşındırıcı özellikleri nedeniyle cildi tahriş edebilir. Kojik asit, melanin pigmentasyonunu azaltabilir, ancak etkinliği sınırlıdır. Azelaik asit, antioksidan

özellikleri nedeniyle melanositlerin aktivitesini azaltarak hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılabilir. Retinoidler, cildin üst tabakasındaki hücrelerin yenilenmesini hızlandırarak pigmentasyonun azaltılmasına yardımcı olabilir. Ancak, retinoidlerin kullanımı, cildin hassasiyetine neden olabilir ve cildi güneş ışığına karşı daha duyarlı hale getirebilir. Meyankökü ekstresi, antioksidan özellikleri nedeniyle hiperpigmentasyonun tedavisinde etkili olabilir. Arbutin ve dioksiarbutin, melanin üretimini azaltarak hiperpigmentasyonun tedavisinde kullanılabilir. Ancak, arbutin ve dioksiarbutin'in kullanımı, cildin hassasiyetine neden olabilir. Soya ekstresi, melanin pigmentasyonunu azaltarak hiperpigmentasyon tedavisinde etkili olabilir. Ayva ekstresi, antioksidan özellikleri nedeniyle hiperpigmentasyonun tedavisinde etkilidir. α-lipoik asit, melanin pigmentasyonunu azaltır ve antioksidan özellikleri nedeniyle cildi korur. Doymamış yağ asitleri, melanin üretimini inhibe ederek hiperpigmentasyon tedavisinde etkili olabilir. Bu depigmentasyon ajanlarının kullanımları cilt tonunu eşitleyerek cildin görünümünü iyileştirmesi açısından avantaj sağlar. Ancak, dezavantajları da vardır. Bazıları cildi hassaslaştırabilir ve yan etkileri nedeniyle uzun süreli kullanımları önerilmemektedir. Bu ajanların kullanımı öncesi, cilt tipi ve hassasiyeti göz önünde bulundurulmalıdır (Grimes 2018; Davis ve Callender 2010).

- Kimyasal peeling ve enzim peeling: Hiperpigmentasyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan kozmetik prosedürlerdir. Kimyasal peeling, özellikle yüzeysel ve orta derecede pigmentasyon sorunlarını tedavi etmek için kullanılır. Kimyasal peeling işlemi, cildin üst tabakasının asidik bir çözelti ile soyulmasıdır. Bu çözelti, genellikle glikolik asit, salisilik asit, laktik asit ve trikloroasetik asit içerir. Enzim peeling ise, cildin üst tabakasını doğal enzimlerle soyarak hiperpigmentasyonu azaltır. Cosmelan krem ve maske gibi enzim peeling ürünleri, içerdikleri kojik asit, azelaik asit, fitik asit gibi bileşenlerle etki gösterirler. Kimyasal peelingin avantajları arasında, ciltteki hiperpigmentasyonun hızlı bir şekilde azalması, ciltteki pürüzlülük ve kırışıklıkların azalması ve genel olarak daha taze bir cilt görünümü elde edilmesi sayılabilir. Dezavantajları arasında ise, uygulamanın yan etkileri (örneğin, cilt tahrişi, hassasiyet, kızarıklık, kabuklanma gibi) ve uygulamanın özellikle derin kimyasal peeling için birkaç hafta veya birkaç ay boyunca tam iyileşme için zaman gerektirmesi yer alır. Enzim peelingin avantajları arasında, kimyasal peelingin aksine yan etkilerinin daha az olması, daha az tahrişe neden olması ve genellikle daha kısa iyileşme süreleri

sayılabilir. Dezavantajları arasında ise, kimyasal peeling kadar etkili olmayabilecekleri ve cildin alt tabakalarında derin etki gösteremeyebilecekleri yer alır (Kontochristopoulos ve Kouris 2018; Caccialanza ve ark. 2016).

Yukarıda bahsedilen tüm bilgilere birlikte son yıllarda hiperpigmentasyon problemlerinde dermokozmetik olarak da isimlendirilen kozmesötik ürünlerin tercihi gün geçtikçe artış göstermektetedir. Bu kozmesötik ürünler, ilaç kategorisinde olmamakla birlikte, ilaç gibi etki eden aktif bir içeriğe sahiptirler ve cilt içine hedeflenmesi için çeşitli yardımcı maddeler ile birlikte formülize edilirler. Hiperpigmentasyonda kullanılan bu gibi kozmesötik ürünler daha çok topikal uygulanır niteliktedir ve genellikle uzun süreli tedavi prosesine sahiptirler. Bu uzun süreli tedavi, topikal uygulama dahi olsa sistemik dolaşıma katılması sebebi ile vücuda zarar verebilme riski taşımaktadır. Bu nedenle hiperpigmentasyon tedavisi için kullanılan kozmesötik ürünlerde kimyasal madde içeriği minimum düzeyde olacak şekilde formülasyonlar geliştirilmekte ve hatta bitkisel kaynaklı maddelerin yer aldığı formülasyonların geliştirilmesi için çalışmalar yürütülmektedir. Konvansiyonel topikal hiperpigmentasyon tedavilerinde görülen eksojen okronozis, kontakt dermatit ve cilt iritasyonu gibi yan etkilere karşın bitkisel ekstrelerin kullanıldığı ürünlerde melanositlerde sitotoksisite veya mutajenite meydana getirmeden melanin oluşumunu inhibe ederek yan etki riski oluşturmadan etki gösteriyor olması meyan kökü, ayı üzümü, aloe vera, sarı kantaron, zerdeçal, arbutin, soya ekstresi gibi bazı aktif maddelerin kozmesötiklerde çokça ve güvenle tercih edilmesine yol açmaktadır (Thornfeldt 2005).

2.2.3. Doğal Depigmentasyon Ajanları Gilaburu (Viburnum opulus L.), Ayı üzümü (Arctostaphylos uva-ursi L.), Aloe Vera (Aloe barbadensis) ve Sarı Kantaron (Hypericum perforatum)

Yaşlanma, içsel ve dışsal faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösteren, genetik ve çevresel faktörlerin rol aldığı, dinamik bir süreçtir. Genetik, metabolik ve endokrin faktörler iç etmenlere bağlı yaşlanmaya sebep olan süreçleri barındırırken; hava kirliliği, radyasyon, kimyasal maddeler, UV ışınlara maruziyet, sigara içme, sağlıksız beslenme, yetersiz uyku, stres gibi yaşam tarzı gibi nedenler ise dışsal faktörler arasında yer alır. Çevresel faktörlerin cilt üzerinde yaşlandırıcı etki hususundaen fazla hasar vereni güneş ışınlarıdır. Ciltteki değişikliklerin %90'ına güneşin UV ışınlarına maruziyeti sebep olur.

Yaşla berbaber ciltte kırışıklık, incelme, sarkma, lekelenmeler, kuruluk görülür. Hücre yenilenmesi azalır, cilt matlaşır ve elastikiyet kaybı meydana gelir. Günümüz dünyasında artık kişiler özellikle de son yıllarda artan bir ivme ile yaşlanma karşıtı ürünlere yönelmiş ve özellikle de doğal içeriklerin tercih edilmesinde yıllar içinde artış meydana gelmiştir. ABD'de yapılmış bir araştırma sonucu yaşlanma karşıtı ürünlerin satış hacminin 2005 yılında, 2001 yılına göre %33 arttığını ortaya koymuştur (Maize ve Saunder 2005). Gilaburu (Viburnum opulus L.) da depigmentasyon ajanı olarak bu amaç doğrultusunda tercih edilen aktif bir doğal kaynaktır. Bunun yanındaayı üzümü (Arctostaphylos uva-ursi L.), aloe vera (Aloe barbadensis) ve sarı kantaron (Hypericum perforatum) da depigmentasyonda etkin olmaları sebebi ile formülasyon bileşimlerinde yer almaktadırlar.

2.2.3.1. Viburnum opulus L. (gilaburu)

Viburnum opulus L. (gilaburu) meyvesi, içerdiği fenolik bileşikler, flavonoidler ve antosiyaninler nedeniyle hiperpigmentasyonun tedavisinde potansiyel bir doğal kaynak olarak görülmektedir. Gilaburu meyvesi, antosiyaninlerin yanı sıra, hidroksibenzoik asitler, hidroksisinnamik asitler, flavonol glikozitler ve diğer polifenoller gibi çeşitli fenolik bileşikler içerir (Çetin ve ark. 2004). Viburnum opulus L. (gilaburu) meyvesi %1.76-3.35 oranında flavonoid, %1.06-1.42 oranında tanin ve %0.56-0.96 arasında değişen oranlarda organik asit içerir. Bu bileşiklerin antioksidan, antiinflamatuar ve depigmentasyon özellikleri nedeniyle hiperpigmentasyonun tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Kang ve ark. 2015).

Flavonoidler, bitkilerde doğal olarak bulunan renkli bir bileşik sınıfıdır ve sağlık açısından pekçok faydaya sahiptirler. Yapılan araştırtmalarda Viburnum opulus L. (gilaburu) meyvesinde bulunan flavonoidlerin melanin üretimini azaltmak için tirozinaz inhibitörleri olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir. Flavonoidlerin tirozinaz inhibisyon etkileri, melanogenezdeki ara aşamaları hedef alarak gerçekleşir. Yapılan bir çalışmada Viburnum opulus L. meyvesinden elde edilen etanol ekstraktında 20 farklı flavonoid tespit edilmiştir. Bu flavonoidler arasında en yüksek konsantrasyonda yer alan flavonoidler kuersetin, kempferol, myricetin ve izoramnetindir. İzoramnetin, diğer flavonoidler gibi melanin üretimini inhibe etmesine rağmen, ayrıca antioksidan özelliklere de sahiptir. Genel olarak flavonoidler tirozinaz inhibisyonunun yanı sıra antioksidan özellik de gösterir. Flavonoidlerin antioksidan etkisi, serbest radikallerin

neden olduğu cilt hasarını önlemeye yardımcı olur. Ayrıca, flavonoidlerin anti-inflamatuar etkisi de cildin sağlığını korumaya yardımcı olur.Doğal kaynaklı olmaları nedeniyle, çoğu insan için güvenlidirler. Ancak, bazı insanlarda alerjik reaksiyonlara neden olabilirler. Ayrıca, bazı flavonoidlerin cilt tarafından emilimi düşük olabilir, bu nedenle etkileri sınırlı kalabilir (Kangve ark. 2015).

Ayrıca Viburnum opulus L. içerğinde yer alan bir glikolizasyon bileşiği olan arbutin antioksidan özellikleri ve melanin oluşumunu azaltma özelliği nedeniyle hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmaktadır. Arbutin, tirozinaz enzimini inhibe ederek melanin üretimini azaltır. Tirozinaz enzimi, ciltte melanin sentezinde kritik rol oynayan bir enzimdir. Arbutin, tirozinazın katalitik aktivitesini engelleyerek melanin oluşumunu önler. Ayrıca, arbutin antioksidan özelliklere sahip olduğu için, ciltteki serbest radikalleri nötralize ederek cildin genç kalmasına yardımcı olur (Kraujalyte ve ark. 2013).

Gilaburu meyvesi içeriğindeki taninler, bitkilerin savunma mekanizması olarak görev yapan polifenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler, çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle farmakolojik olarak önemlidirler. Hiperpigmentasyonun önlenmesinde ve tedavisinde, taninlerin cilt hücrelerindeki melanin üretimini inhibe etme özellikleri önemlidir. Taninler, tirozinaz enziminin aktivitesini azaltarak melanin üretimini engellerler. Taninler, tirozinaz enzimiyle bağlanarak, enzimin aktif bölgesinde yer alarak enzim aktivitesini inhibe ederler. Ayrıca, gilaburu meyvesi ekstresinin cilt hücrelerindeki antioksidan savunma sistemini artırdığı ve cilt hasarını azalttığı da belirtilmiştir (Sofowora 1993). Özellikle, Viburnum opulus L. meyvesinde bulunan taninlerin(galik asit, kafeik asit, klorojenik asit ve epikateşin), tirozinaz enzimini doğrudan inhibe ederek veya serbest radikallerin oluşumunu azaltarak melanin sentezini azalttığı düşünülmektedir (Kang ve ark. 2015).

2.2.3.2. Arctostaphylosuva-ursi L (ayı üzümü)

Arctostaphylosuva-ursi L (ayı üzümü),özellikle yapraklarında arbutin denilen bir bileşen taşır. Arbutin, fenolik bir glikozittir ve bitkilerde yaygın olarak bulunur. Arbutin, glikoz ve hidrokinonun birleşiminden oluşur. Arbutin, melanin pigmentasyonunu azaltan bir etkiye sahip bir tür hidrokinondur. Arbutin, melanin sentezinde kilit bir rol oynayan tirozinaz enzimini inhibe ederek melanin üretimini engeller. Bu etki, hiperpigmentasyon tedavisinde oldukça yararlıdır. Ayrıca, arbutin,

antioksidan özelliklere de sahiptir. Antioksidanlar, ciltteki serbest radikalleri nötralize ederek cilt hasarını önlemeye yardımcı olur. Arbutin, Ayı Üzümü bitkisinin yapraklarında doğal olarak bulunur ve kozmetik endüstrisinde cilt beyazlatıcı ürünlerde sıklıkla kullanılır. Arbutinin bazı farklı bitkisel kaynaklı doğal bileşenler ile sinerjistik olarak etki gösterdiği de görülmüştür. Bu bileşenler içinde kojik asit ve gilaburu da yer almaktadır.

Tirozinaz enzimi, l-tyrosine amino asidini okside ederek dopa kinonu ve dopa kromojenini oluşturur. Bu reaksiyon, melanin sentezinin anahtarıdır. Arbutin ve kojik asit kombinasyonunun, tirozinaz enzim aktivitesini iki farklı şekilde inhibe ettiği gözlemlenmiştir. İlk olarak, arbutin ve kojik asit kombinasyonunun tirozinazın katalitik bölgelerine bağlanarak, enzim aktivitesini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Böylece, tirozinaz enziminin l-tyrosine oksidasyonu engellenerek, melanin sentezi önlenmiştir. İkinci olarak, arbutin ve kojik asit kombinasyonunun tirozinaz enziminin transkripsiyonunu ve translasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu mekanizmada, arbutin ve kojik asit, tirozinaz enziminin gen ekspresyonunu engelleyerek, enzimin protein seviyesini azaltmışlardır. Böylece, tirozinaz enziminin aktivitesi azalmıştır ve melanin sentezi engellenmiştir.Bu bulgular, arbutin ve kojik asit kombinasyonunun hiperpigmentasyon tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir (Lee ve ark. 2010).

2.2.3.3. Aloe barbadensis (aloe vera)

Aloe barbadensis (aloevera), cilt üzerinde birçok olumlu etkiye sahip olduğu bilinen bir bitkidir. Aloe vera bitkisinde bulunan aloin bileşiği hiperpigmentasyon tedavisinde etkilidir. Aloin de, tirozinaz enzimini inhibe ederek, melanin üretimini azaltır ve bu şekilde hiperpigmentasyonu önlemeye yardımcı olur. Aloe vera bitkisi de antiinflamatuar, antioksidan, nemlendirici ve cilt yenileyici özelliklere sahiptir. Aloe vera bitkisinde aloin, aloesin ve barbaloind gibi bileşenler bulunur. Aloin, antioksidan özelliklere sahip aloe vera bitkisinin yapraklarının dış kısmında bulunan sarı renkli bir bileşendir ve özellikle cilt beyazlatıcı ürünlerde kullanılması ile dikkat çekmektedir. Ancak, aloin içeren ürünlerin kullanımı bazı yan etkilere neden olabilir ve aşırı kullanımı ciltte tahrişe neden olabilir (Nadkarni 1976).

Aloesin, aloevera bitkisinde doğal olarak bulunan bir bileşiklerden biridir ve melanin sentezini engelleyerek hiperpigmentasyonun tedavisinde kullanılmaktadır.

Yapılan araştırmalarda aloesinin melanin üretimini inhibe ettiğini ve bu nedenle tirozinaz enziminin aktivitesini baskıladığını göstermiştir. Tirozinaz, melanin pigmentinin üretimi için gerekli olan enzim olup ve aloesin, bu enzimin etkinliğini azaltarak melanin sentezini engeller.

Aloesin, tirozinaz enziminin doğal substratı olan tirozin amino asitine benzer bir kimyasal yapıya sahiptir. Bu nedenle, tirozinazın aloesin ile rekabet etmesi sonucu tirozinaz aktivitesi azalır ve melanin sentezi engellenir. Aloesin, melanin üretimini engellediği için, hiperpigmentasyon tedavisi için kullanılan birçok kozmetik ürünün aktif bileşenlerinden biridir. Aloesin, hiperpigmentasyonun yanı sıra cilt lekeleri, güneş yanığı ve diğer cilt problemlerinin tedavisinde de kullanılabilecek potansiyele sahiptir (Jones ve ark. 2002).

2.2.3.4. Hypericum perforatum (sarıkantaron)

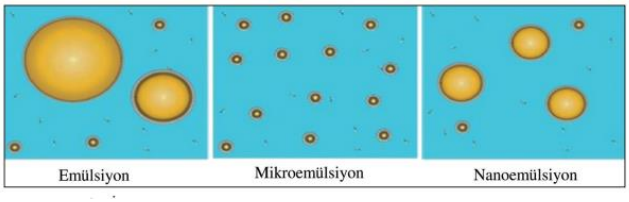
Hypericum perforatum (sarıkantaron), yaygın olarak bilinen adıyla sarıkantaron, birçok farklı sağlık sorununun tedavisinde kullanılan bir bitkidir. Bunlar arasında depresyon, anksiyete, yaralar, cilt rahatsızlıkları ve hiperpigmentasyon gibi cilt sorunları yer alır. Bu bitki, yüksek seviyelerde flavonoidler, naftodiantronlar, kantinonlar ve tanenler gibi bileşenler içerir.

Hiperpigmentasyon tedavisinde etkili olan bileşenler arasında, sarıkantaronun hiperisin ve psödohiperisin içerdiği bilinmektedir. Sarıkantaron bitkisinin içeriği ve bileşenlerinin oranları bitkinin yetiştiği bölge, yetişme koşulları ve hasat zamanına göre değişebilir. Hiperisin ve psödohiperisin gibi bileşenler, yaprak ve çiçeklerde en yüksek seviyede bulunurken, flavonoidler genellikle bitkinin yapraklarında daha yüksek seviyede bulunur. Bu bileşenler, melanin üretimini engelleyerek cildin renk tonunu düzenleyen tirozinaz enzimini inhibe eder. Ayrıca, sarıkantaronun flavonoid bileşenleri, cilt hücrelerini koruyarak melanin oluşumunu azaltır ve cildi güneş ışığına karşı koruyarak hiperpigmentasyonun oluşumunu önler. Bu bileşenlerin tirozinaz ve TRP-1 olarak bilinen melanogenezis proteini ekspresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Sarıkantaron bitkisi antioksidan ve antienflamatuar etkilerinin yanı sıra, yara iyileştirici ve antibakteriyel özellikler de gösterir. Ayrıca, cilt hücrelerindeki kollajen üretimini artırarak, cildin daha genç görünmesine ve cilt hücrelerinin yenilenmesine yardımcı olabilir (Sánchez ve ark. 2002).

Hiperpigmentasyon oluşumu pek çok nedenden kaynaklanmakta ve günümüzde de pek çok tedavi yöntemi geliştirilmektedir. Ancak şunu belirtmek gerekir ki, hiperpigmentasyondan korunmak, en az hiperpigmentasyon tedavisi kadar önem arz etmektedir. Özellikle güneş hassasiyeti olan ve/veya melasmaya eğilimli kişilerin hiperpigmentasyondan korunma konusunda çok daha fazla dikkatli olmaları gerekmektedir. Tedavi aşamasında yüksek faktörlü (50+ SPF'li) güneş koruyucuların kullanılması tedavi sürecini hızlandıracak ve hiperpigmentasyonun artmasını engelleyici rol alacaktır. Hiperpigmentasyon tedavi sürecinde güneş koruyucuların sadece güneşe çıkarken değil; bilgisayar, telefon, ortamdaki aydınlatıcı lambalar gibi ışığı yansıtarak pigmentasyon oluşumununtetiklendiği ev ve iş yeri gibi ortamlarda da kullanılması önem taşımaktadır. Tüm bu bilgilerin özeti olarak hiperpigmentasyon tedavi sürecinde güneş koruyucu kremlerin kullanılması, hiperpigmentasyon tedavisinin önemli bir tamamlayıcısı olduğu sonucuna varılmaktadır.

2.3. Nanoemülsiyonlar

Nanoemülsiyon, klasik emülsiyonlara benzer bir yapıya sahip olan, ancak daha küçük boyutlu parçacıklara sahip bir emülsiyondur. Emülsiyonlar, su ve yağ bileşenlerinin stabil bir şekilde karıştırılmasıyla elde edilirler. Daha detaylı bir ifade ile birbiri ile karışmayan bu iki farklı fazdaki sıvı birbiri içerisinde heterojen bir şekilde damlacıklar halinde dağılır. Emülsiyonların boyutu genellikle mikron düzeyindedir ve diğer dispers sistemlerde olduğu gibi iç fazda serbest enerji yüksektir ve bu nedenle de termodinamik olarak stabil değillerdir(Abolmaalia ve ark. 2011). Nanoemülsiyonlar ise, nanometre boyutunda parçacıklara sahip olduklarından, daha homojen ve stabil bir yapıya sahiptirler (Haritha ve ark.).



Şekil 2-5: Emülsiyon, mikroemülsiyon ve nanoemülsiyonların şematik görseli - (Özyılmaz ve ark. 2019)

Nanoemülsiyonların damlacık boyutu 100-500 nm arasında değişkenlik gösterir ve bu da klasik emülsiyon ve mikroemülsiyon arasında yer alan bir damlacık boyutu düzeyi olarak bilinir(Sharma ve Sarangdevat 2012; Xin ve ark. 2013). Nanoemülsiyonlarda yağ ve su fazı bir surfaktan/kosurfaktan aracılığı ile bir araya gelir. Nanoemülsiyonlar, üç ana bileşenden oluşur: yağ fazı, suda çözünen bir çözücü (genellikle etanol veya gliserol) ve suda çözünmeyen bir çözücü (genellikle güvenli olarak kabul edilen farmasötik sürfaktanlar veya emülgatörler). Bu bileşenler, nano boyutlu parçacıkların oluşumunu sağlayacak şekilde karıştırılır. Nanoemülsiyonlar S/Y (yağ içinde su) ve Y/S (su içinde yağ) olmak üzere iki farklı formda üretilebilmektedir (Solans ve ark. 2005). Sürfaktanlar, su ve yağ fazları arasındaki arayüzey gerilimini azaltarak, iki fazın birbirine daha homojen şekilde karışmasını sağlarlar. Bu sayede, su ve yağın iki ayrı faz olarak kalması engellenir ve dispers bir sistem oluşur (Rosen 2004). Kullanılan emülgatörler veya yardımcı emülgatörler ise genel olarak doğal ve modifiye edilmiş lesitinler, PEG türevleri, polietilenoksit, gliseritler ve artı yüklü lipitlerdir(Abomaalia ve ark. 2011). Yarı opak bir görünüme sahip olan nanoemülsiyon sistemlerinde çökme ve/veya kremalaşma gibi problemler görülmez (Solans ve ark. 2005). Bu nedenle ilaç taşıyıcısı, kozmetik ürünler, gıda takviyeleri, pestisitler, parfümler ve diğer kimyasal maddelerin taşıyıcı sistemleri olarak tercih edilmektedirler.

2.3.1. Nanoemülsiyonların Avantajları

Nanoemülsiyonların gün geçtikçe çok daha yaygın olarak birçok farklı alanda kullanılması söz konusu olmaktadır. Özellikle ilaç ve kozmetik alanında, deri ve mukozal membran tarafından iyi tolere ediliyor olması ve aktif bileşenlerin oral veya topikal hedeflendirilmesinde sağladığı üstünlükler nedeni ile tercih sebebidir. Nanoemülsiyon formlarının sahip olduğu avantajlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

-Nanoemülsiyonlar, sahip oldukları küçük damlacık boyutu sayesinde substratlarda homojen olarak depolanır.

-Nanoemülsiyonlardaki çok küçük damlacık boyutu ve elastik damlacık yapısı kremalaşma veya flokülasyon ve koalesans gibi bazı bozulmaların meydana gelme olasılığını azaltır.

-Nanoemülsiyonlar, geniş yüzey alanı ile yüksek stabiliteye sahip oldukları için tercih edilir.

-Nanoemülsiyonlar, daha yüksek çözünürlük ve biyoyararlanım ile hızlı ve tam emilim sağlayarak ilaçların etkinliğini ve vücuttaki dağılımını artırır.

-Nanoemülsiyonlar, üretim sürecinde kolayca hazırlanabilir ve büyük miktarlarda üretilebilir.

-Nanoemülsiyonlarda kullanılan sürfaktan miktarları mikroemülsiyonlara göre yaklaşık dört kat daha azdır. Kullanılan sürfaktanlar güvenli kullanım onay izni almış GRAS (Generally Recognised As Safe) sürfaktanlardır ve bu da daha güvenilir bir son ürün seçeneği sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, çözünürlük problemlerini ortadan kaldırır, kimyasal açıdan stabil olmayan bileşenleri oksidasyon ve ışık degradasyonundan koruyarak stabilitelerini arttırır.

-Nanoemülsiyonlar, ilaçların biyoyararlanımını ve emilimini artırarak ve absorbsiyondaki farklılıkları ortadan kaldırarak daha düşük dozlarla tedavi olanağı sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, lipofilik bileşenlerin çözünmesine, hem hidrofilik hem de lipofilik bileşenlerin birleştirilmesineizin verir ve hoş olmayan tat ve kokunun maskelenmesinde başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlar.Bu tip moleküller için uzatılmış salım sistemleri geliştirilmesine olanak tanır.

-Nanoemülsiyonlar, büyük moleküllerin taşınmasını kolaylaştırarak ilaçların hedefe daha hızlı ve etkili bir şekilde ulaşmasını sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, daha az yan etki ve toksisite riski taşıyan formülasyonların geliştirilmesine izin verir.

-Nanoemülsiyonlar, bazı enfeksiyon hastalıkları ve kanser gibi zorlu tedaviler için daha etkili bir taşıma sistemi sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, kozmetik ve gıda endüstrisindeki ürünlerin daha iyi bir şekilde karıştırılmasına ve stabilitesini artırmasına yardımcı olur.

-Nanoemülsiyonlar, ilaçların mukozal membranlardan geçmesine izin vererek, burun, ağız veya vajina yoluyla uygulanan ilaçların etkisini artırır.

-Nanoemülsiyonlar, ilaçların depolanmasını kolaylaştırarak daha uzun raf ömrüne sahip olmalarını sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, daha az atık ürettiği için çevre dostu bir seçenek olarak kabul edilir.

-Nanoemülsiyonlar, ilaçların çözünürlüğünü artırarak, daha düşük dozlarla tedavi olanağı sağlarken sağlıklı birey ve hayvan hücrelerine zarar vermedikleri için toksik etkilere maruz kalma riskini azaltır.

-Nanoemülsiyonlar, hedef dokulara daha spesifik bir şekilde transfer sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, mikrobiyal kontaminasyon riskini azaltarak ilaçların daha güvenli hale gelmesini sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, ilaçların oral yoldan verilmesi durumunda gastrointestinal sistemdeki enzimlerin neden olduğu parçalanmayı azaltarak daha iyi bir etkinlik sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, kozmetik ürünlerde cilt hidrasyonu sağlar.

-Nanoemülsiyonlar, kozmetik ürünlerde de iyi bir dağılım sağlar ve bu sistemlerin transparan olması, akışkanlığı ve kıvam verici içermemesi hoş bir esetetik karekter katarak iyi bir deri hissiyatının oluşmasını destekler.

-Nanoemülsiyonlar, kişisel bakım ürünlerine eklenen parfümler için taşıyıcı sistem olarak kullanılarak alkol içermeyen parfüm sistemlerinin oluşturulmasına olanak sağlamaktadır.

-Nanoemülsiyonlar, topikal, oral ve intravenöz yolla uygulanabilir sistemler olup krem, sıvı, sprey ve köpükler nanoemülsiyon formunda hazırlanabilirler (Abolmaalia ve ark. 2011; Chime ve ark. 2014 pp. 88-89; Xin ve ark. 2013).

2.3.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları

Nanoemülsiyonlar, son yıllarda farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrilerinde oldukça popüler hale gelmiştir. Ancak, bazı dezavantajları da vardır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir:

-Nanoemülsiyonların hazırlanması sırasında gerekli bazı işlemler üretim maliyetinin artmasına neden olmaktadır. Damlacık boyutunun küçültülmesi gerekliliği, bazı özel işlemler ve özel aletlerin kullanımı için ihtiyaç oluşturmaktadır. Homojenizatör ayarlanması, mikrofluidizasyon ve ultrasonikasyongibi işlemler yüksek finansal desteği gerekli kılmaktadır.

-Nanoemülsiyonların stabilitesi, mikroemülsiyonlara kıyasla daha düşüktür. Bu nedenle, ürünlerin raf ömrü kısa olabilir. Nanoemülsiyonlarda, küçük damlacıklar su veya yağ fazında homojen olarak dağılmış bir halde bulunur. Bu damlacıkların stabilitesi yüzey gerilim farkından kaynaklanmaktadır. Ancak, zamanla, büyük damlacıklar, yüzey alanı açısından daha az enerjiye ihtiyaç duyan daha kararlı bir

yapıya sahip olduğundan, daha küçük damlacıklardan daha hızlı büyümeye başlarlar. Ve bu da bir çözeltideki küçük parçacıkların, daha büyük parçacıklar oluşturmak için bir araya gelmesi süreci olan Ostwald olgunlaşması olarak isimlendirilen ve nanoemülsiyonların kararlılığı ile ilgili sorun oluşturabilen sürecin başlamasına sebep olur. Ostwald olgunlaşması, sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu ve zaman gibi faktörlere bağlıdır. Bu nedenle, nanoemülsiyonların stabilitesini artırmak için, üreticiler bu faktörleri dikkate alarak üretim sürecinde uygun koşulları sağlamalıdır.

-Nanoemülsiyonların üretimi için kullanılan bileşenlerin seçimi, ürünün stabilitesi ve biyoyararlılığı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, doğru bileşenlerin seçimi önemlidir.

-Nanoemülsiyonların oluşumunda ve stabilizasyonunda sürfaktan ve kosürfaktan maddeler önemli bir rol oynarlar. Bu maddeler, nanoemülsiyonların su ve yağ fazları arasındaki yüzey gerilimi farklılıklarını azaltarak, küçük damlacıkların birleşmesini önler ve nanoemülsiyonların daha uzun süre stabil kalmasını sağlarlar. Sürfaktanlar, yağ fazındaki moleküllerin hidrofobik kısımlarını kaplayan hidrofilik gruplar ve su fazındaki moleküllerin hidrofilik kısımlarını kaplayan hidrofobik gruplardan oluşurlar. Bu sayede, yağ fazındaki damlacıkların su fazı ile temas etmesi engellenir ve sistem daha uzun süre stabil kalır. Kosürfaktan maddeler ise, sürfaktanların etkinliğini artırarak, nanoemülsiyonların daha uzun süre stabil kalmasını sağlarlar. Kosürfaktanlar, sürfaktanların yüzey gerilimini azaltma kapasitesini ve yağ fazındaki etkinliğini artıran maddelerdir. Ancak, tüm bu açıklamalara rağmen nanoemülsiyon sistemlerinde sürfaktan ve kosürfaktanların rolü henüz yeterli bir açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu nedenle de, nanoemülsiyon sistemlerinde sürfaktan ve kosürfaktan maddelerinin etkisi ve rolü hala aktif bir araştırma konusudur.

-Nanoemülsiyonlar, bazı bileşenlerin yüksek konsantrasyonlarda kullanımı nedeniyle toksik olabilir. Aynı zamanda nano boyutlu malzemelerin toksisite ve biyolojik etkileri üzerine yapılan araştırmalar, bu malzemelerin çevre için de potansiyel olarak tehlikeli olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, üreticilerin toksik bileşenlerin kullanımından kaçınması ve çevresel etkileri azaltmak için gerekli önlemleri almaları gerekmektedir.

-Nanoemülsiyonlar, uygun koşullarda saklanmadığı takdirde kolayca bozulabilir. Ph ve sıcaklık gibi faktörler nanoemülsiyoların stabilitesini etkilemektedir.

Bu nedenle, üreticilerin ürünlerin doğru şekilde depolanması ve taşınması için uygun yöntemleri uygulaması önemlidir.

-Nanoemülsiyonların üretiminde kullanılan yöntemler, ürünün kalitesi ve stabilitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Üretim aşamasındaki ara yüzey kimyası henüz tam olarak açıklığa kavuşturulabilmiş değildir. Bu konu daha çok araştırmayı gerekli kılmakta ve üreticilerin de doğru üretim yöntemlerini kullanması önem kazanmaktadır.

-Nanoemülsiyonların üretim süreci, standartlaştırılmış yöntemlerle yapılmadığı takdirde, ürünlerin kalitesi ve stabilitesi üzerinde olumsuz etkileri olabilir. Bu nedenle, üreticilerin üretim sürecini standardize etmeleri ve kalite kontrol yöntemleri uygulamaları önemlidir.

Özet olarak, nanoemülsiyonlar birçok avantajı ile birlikte bazı dezavantajları da barındırmaktadır. Üreticilerin yukarıda bahsedilen dezavantajları göz önünde bulundurarak ürünlerini geliştirmeleri ve optimize etmeleri önemlidir. Ayrıca, nanoemülsiyonların biyoyararlılığı, toksisitesi, çevresel etkileri ve regülasyon süreçleri gibi konular üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Chime ve ark. 2014 pp. 89-90; Xin ve ark.2013).

2.3.3. Nanoemülsiyon Bileşenleri

Nanoemülsiyonlar; yağ fazı, su fazı ve sürfaktan/kosürfaktan maddelerin bileşiminden oluşur. Yağ fazı, genellikle trigliseritler, fosfolipidler, gliseritler, mono/digliseritler, yağ asitleri veya aromatik yağlar gibi hidrofobik bileşiklerden oluşur. Su fazı ise, genellikle saf su, sulu çözeltiler veya hidrofilik bileşikler içeren çözeltilerden oluşur. Sürfaktan maddeler, su ve yağ fazları arasındaki yüzey gerilimini azaltarak, küçük damlacıkların daha uzun süre stabil kalmasını sağlarlar. Kosürfaktan maddeler ise, sürfaktanların etkinliğini artırarak, nanoemülsiyonların daha uzun süre stabil kalmasını sağlarlar. Bunun yanı sıra, bazı nanoemülsiyonlarda çözeltiye görsel bir şeffaflık kazandırmak için opaklaştırıcılar, aroma ve tat vericileri, koruyucular veya diğer faydalı maddeler gibi diğer bileşenler de kullanılabilir. Nanoemülsiyonların bileşimi, amaçlanan uygulamaya ve özellikle ilgili gereksinimlere bağlı olarak değişebilir.

2.3.3.1. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Yağlar

Nanoemülsiyonlarda kullanılan yağlar genellikle hidrofobik veya lipofiliktir ve sürfaktanlarla birlikte su fazıyla uyumlu hale getirilerek nano boyutlarda dağılmaları sağlanır. Aşağıda bazı örnekler sırlanmıştır:

-Captex 355

-Captex 200

-Captex 8000

-Witepsol

-Myritol 318

-Isopropil miristat

2.3.3.2. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Sürfaktanlar

Nanoemülsiyonlarda kullanılan sürfaktanlar, genellikle noniyonik, aniyonik, katyonik veya amfoterik olarak sınıflandırılabilen farklı tipte yüzey aktif maddelerdir.Anyonik sürfaktanlar negatif yük taşırlar, katyonik sürfaktanlar pozitif yük taşırlar, noniyonik sürfaktanlar yüksüz veya nötrdür ve amfoterik sürfaktanlar hem pozitif hem de negatif yük taşırlar. Bazı örnekler şunları içerebilir:

- Noniyonik sürfaktanlar:

-Capryol 90: Gliseridlerin bir karışımı olan trigliserid bazlı bir sürfaktandır.

-Gelucire 44/14, 50/13: Lipofilik (yağda çözünen) ve hidrofilik (suda çözünen) bileşenler içeren bir karışım olan gliserid-PEG sürfaktanlarıdır.

-Cremophor RH 40: Polisorbat 40 olarak da bilinen bir noniyonik sürfaktandır.

-Imwitor 191, 308 (1), 380, 742, 780 K, 928, 988: Diğer adıyla mono ve digliseritlerdir. İşlevleri, yüzey gerilimini azaltmak ve emülsiyonların stabilitesini artırmaktır.

-Labrafil M, 1944 CS, M 2125 CS: Yağ alkolü ve PEG esterlerinden oluşan sürfaktan/kosürfaktan karışımlarıdır.

-Plurol Oleique CC 497: Yağ alkolü ve PEG esterlerinden oluşan bir sürfaktan/kosürfaktan karışımıdır.

-Poloxamer 124, 188: Tri-bloklar olarak da bilinen noniyonik sürfaktanlar ve kosürfaktanlardır.

-Softigen 701, 767: Propilen glikol mono ve diasetatlarından oluşan bir sürfaktan/kosürfaktan karışımıdır.

-Tween 80: Polisorbat 80 olarak da bilinen bir noniyonik sürfaktandır.

-Pluronic F68: Polietilen glikol-polipropilen glikol-polietilen glikol olarak da bilinen bir tri-blok noniyonik sürfaktandır.

- Aniyonik sürfaktanlar: Sodyum lauril sülfat (SLS), sodyum lauril eter sülfat (SLES), sodyum stearil laktoil lakta, sodyum oleil izetionat
- Katyonik sürfaktanlar: Benzalkonyum klorür (BAK), stearil trimetilamonyum bromür (STAB), sodyum lauril sülfosüksinat (SLSA)
- Amfoterik sürfaktanlar: Betain, sodyum laurilkarboksilat, sodyum lauroamfodiacetat.

Bu sadece birkaç örnek olup, kullanılan sürfaktanlar uygulamaya ve amaçlanan nanoemülsiyon özelliklerine bağlı olarak farklılık gösterebilir.

2.3.3.3. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Kosürfaktanlar

Nanoemülsiyonlar, sürfaktanların yanı sıra, bir yağ fazı ve bir su fazı arasında arayüzey oluşturarak nano boyutlarda dağılmalarını sağlayan diğer bileşenler olan kosürfaktanları da içerir. Kosürfaktanlar, sürfaktanlar gibi yüzey gerilimini azaltarak yağ ve su arasında bir arayüzey oluştururlar. Bazı yaygın kosürfaktanlar şunlardır:

-Polietilen glikol (PEG 400)

-Glikol

-Gliserol

-Propilen glikol

-Sorbitan esterleri

-Etilen glikol

-Yağ asitleri

-Lesitini

-Pluronikler

-Tweenler

-Lauroglycol 90

-Transcutol HP

2.3.4. Nanoemülsiyonlarda Fiziksel Yapı ve Kararlılık

Nanoemülsiyonlar, içerdikleri aktif bileşenlerin fiziksel ve kimyasal satbilitesini arttıran taşıyıcı sistemler olmalarına rağmen bu aktif maddelerin stabilitelerini sürdürmeleri konusunda sorunlar devam etmektedir. Bu stabilite sorunları bazı hususlara dikkat edilerek daha az bir hale indirgenebilir. Damlacıkların stabilizasyonunu arttırmak için yeterli oranda sürfaktan kullanılması, üretim aşamasında yüzey gerilimini azaltmak için sürfaktanların buna dikkat edilerek seçilmesi birkaç örnek olarak verilebilir (İlyasoğlu ve El 2010).

Tüm bunlara rağmen nanoemülsiyonlarda zaman içinde bazı bozunmalar görülebilmektedir. Isı ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerden çabuk etkilenen, termodinamik açıdan kararsız olan nanoemülsiyon sistemlerinde görülebilen değişiklikler aşağıda sıralanmıştır:

- Ostwald olgunlaşması
- Koalesans
- Kremalaşma / sedimentasyon
- Flokülasyon
- Faz değişimi

1. Ostwald Olgunlaşması: Ostwald olgunlaşması, bir çözeltideki daha büyük taneciklerin küçük taneciklere doğru büyümesidir. Bu fenomen, sıvı-sıvı emülsiyonlarda da gözlemlenir ve nanoemülsiyonlar da bu kapsamdadır. Ostwald olgunlaşması, taneciklerin konsantrasyonundaki farklılıklar nedeniyle gerçekleşir. Bu farklılıklar, Gibbs-Thomson etkisi olarak adlandırılan termodinamik bir etkiyle ortaya çıkar. Bu etki, küçük taneciklerin yüzey alanının büyük taneciklere göre daha fazla olması ve bu nedenle daha yüksek bir çözelti doygunluğu ile sonuçlanmasıdır.

Nanoemülsiyonlar, küçük taneciklerin homojen olarak dağıldığı bir sıvı-sıvı emülsiyon tipidir. Bu nedenle, Ostwald olgunlaşması, nanoemülsiyonlarda da bir sorun olarak ortaya çıkabilir. Özellikle, uzun raf ömrü gerektiren ürünlerde, tanecikler arasındaki boyut farklılıkları zamanla artabilir ve sonunda büyük taneciklerin

oluşmasına neden olabilir. Bu nedenle, nanoemülsiyonların üretiminde, Ostwald olgunlaşmasını önlemek için çeşitli stratejiler kullanılır. Bunlar arasında, uygun sürfaktan ve kosürfaktan seçimi, uygun sıcaklık ve pH koşulları, ve hatta bazı durumlarda, nanoemülsiyonların dondurulması ve liyofilizasyonu gibi işlemler yer alır. Ayrıca, son ürünün stabilitesini artırmak için nanoemülsiyonların ambalajlama malzemeleri ve saklama koşulları da önemlidir (Chime ve ark. 2014).

2. Koalesans: Nanoemülsiyonlarda koalesans, fazlar arasındaki filmlerin paraçalanması sonucu iki yağ damlacığının birleşerek daha büyük damlacıklar oluşturması, çeşitli faktörlere bağlı olarak ortaya çıkabilir. Bu faktörler arasında sıcaklık, pH, elektrolit konsantrasyonu, surfaktan ve kosurfaktan konsantrasyonları, agitasyon hızı ve süresi, damlacık boyutu ve yüzey alanı, yağ fazının polaritesi ve viskozitesi gibi faktörler yer alır. Bu faktörlerin etkisiyle, yağ damlacıkları bir araya gelerek daha büyük damlacıklar oluşturabilir ve bu durum nanoemülsiyonun kararlılığını bozar (Chime ve ark. 2014).

3. Kremalaşma/Sedimantasyon: Nanoemülsiyonlarda kremalaşma ve sedimantasyon, üretilen nanoemülsiyonların fiziksel kararlılığı ile ilgilidir. Kremalaşma, nanoemülsiyonlardaki yağ damlacıklarının birleşerek daha büyük damlacıklar oluşturması ve yüzeye doğru hareket ederek burada bir film tabakası meydana getirmesidir. Sedimantasyon ise, iç fazda daha yoğun olan yağ damlacıklarının aşağı doğru hareket ederek sistem içinde çökmesidir. Bu olgular nanoemülsiyonların stabilitesini azaltır ve istenmeyen ürün özellikleri ile sonuçlanır.Kremalaşma ve sedimantasyon, nanoemülsiyonların üretimi sırasında kullanılan sürfaktan ve kosürfaktan oranları, yağ fazının viskozitesi ve nanoemülsiyonun depolandığı sıcaklık gibi faktörlere bağlıdır. Bu faktörlerin dengelenmesi, nanoemülsiyonların fiziksel kararlılığının arttırılmasına yardımcı olabilir.

Nanoemülsiyonlarda kremalaşma ve sedimentasyon hızlarını hesaplamak için Stokes eşitliği formülü kullanılır. Formül şöyledir:

$$v = 2r2\ (\rho - \rho0\ )g\ /\ 9\eta$$

Burada, v, damlacığın hızı; r, damlacığın yarıçapı; ρ iç faz damlacıklarının yoğunluğu; ρ0 dış faz damlacıklarının yoğunluğu; g, yerçekimi ivmesi; ve η, dış fazın viskozitesidir (Velikov ve ark. 2008).

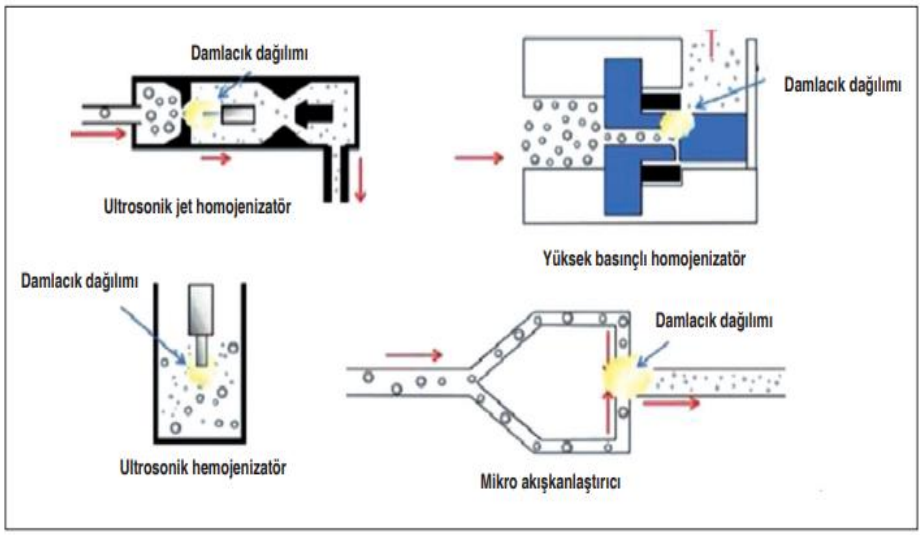
4. Flokülasyon: Nanoemülsiyonlar için bir başka istenmeyen fenomen flokülasyondur. Bu, nanoparçacıkların birbirine yaklaşması ve birleşerek daha büyük

parçacıklar veya floklar oluşturmasıdır. Flokülasyonun nedenleri arasında pH değişiklikleri, iyonik güç değişiklikleri, sıcaklık değişiklikleri, sürfaktan konsantrasyonu gibi etkenler yer alır. Flokülasyon sonucunda, nanoemülsiyonun homojenliği bozulabilir ve parçacık boyutu da artabilir.

5. Faz Değişimi: Nanoemülsiyonlar, termodinamik olarak kararsız bir yapıya sahiptirler ve oluşumları sırasında faz değişimi olayları gerçekleşebilir. Bu faz değişimi olayları genellikle yağ fazının su fazına veya su fazının yağ fazına geçişidir. Faz değişimi olayı, uygun sürfaktanların kullanımı ile düzenlenir ve bu da nanoemülsiyon stabilitesini sağlayan ana faktörlerden biridir (İlyasoğlu ve El 2010).

2.3.5. Nanoemülsiyonların Oluşturulma Yöntemleri

Nanoemülsiyonlar oluşturulurken karşımıza iki temel yöntem çıkmaktadır; yüksek enerji gerektiren yöntemler ve düşük enerji gerektiren yöntemler. Yüksek enerji gerektiren yöntemde yüksek basınçlı homojenizatörler, ultrasonik jenaratörler ve yüksek hızlı karıştırıcılar kullanılarak oluşturulan yüksek enerji yardımı ile damlacıkların boyutunun küçültülmesi hedeflenmektedir. Düşük enerji gerektiren yöntemler ise emülsiyon dönüşüm noktası ve faz değişim sıcaklığı ile temsil edilmektedir (Solans ve ark. 2005).



Şekil 2-6: Nanoemülsiyon üretim yöntemlerinin şematik görseli - (Özyılmaz ve ark. 2019)

2.3.5.1. Yüksek Enerji Gerektiren Nanoemülsiyon Oluşturma Yöntemi

Yüksek enerji gerektiren nanoemülsiyon oluşturma yönteminde ultrasonikatörler, yüksek basınçlı homojenizatörler ve mikrofluidizerler gibi yüksek mekanik enerji yaratan cihazlar kullanılarak yüksek mekanik enerjiye sahip nanoemülsiyonların oluşturulması hedeflenmektedir.

- Yüksek Basınçlı Homojenizasyon: Nanoemülsiyonların homojen bir hale gelmesi için hazırlanmaları esnasında yüksek basınç uygulayan homojenizatörler kullanılmaktadır. 50-100 MPa basınçla çalışan bu homojenizatörlerin çalışması ile nano boyutta damlacık elde edilmesi için homojenizasyon işlem süresi boyunca cihazda kavitasyon, laminar akış ve yoğun türbülans uygulanır. Nanoemülsiyon için istenen damlacık boyutu ve polidispersite indeksi sağlanana kadar kavitasyon, laminar akış ve yoğun türbülans işlem siklusu birden çok kez tekrarlanabilir (Chime ve ark. 2014 p. 94). Bu homojenizasyon yönteminde yüksek kayma gerilimine maruz bırakılan sıvı üründen çok ufak boyutlu emülsiyon damlacıkları elde edilir. Yuan ve ark. (2008) yüksek basınçlı homojenizatör yardımı ile β-carotene yüklü Y/S nanoemülsiyonu hazırlamışlar ve nanoemülsiyonun özellikleri ile stabilitesi hakkında bazı araştırmalar yapmışlardır. Zetasizer ve Turbiscan 27 Lab cihazları yardımı ile emülgatör çeşidi, emülgatör konsantrasyonu, sıcaklık, homojenizatör basıncı ve siklus sayısı gibi faktörlerin etkisi incelenmiştir. Homojenizasyon işlemi sırasında uygulanan basınç, sıcaklık ve siklus sayısı gibi faktörlerin nanoemülsiyon damlacık boyutu ile ters orantılı olarak gittiği görülmüştür. Sıcaklığın artması ile fiziksel stabilitenin azaldığı görülmüş bunun üzerine basınç 100 MPa'ya, siklus sayısı ise 3'e çıkartılarak fiziksel stabilite arttırılmıştır.
- Mikrofluidizasyon: Nanoemülsiyon hazırlama yöntemlerinden biri olan mikrofludizasyon yüksek basınçlı homojenizasyon gibi mekanik kuvvetlerin kullanıldığı bir işlemdir. Bu işlemde basıncı 20.000psi'ye kadar yükselebilen basınçlı pompa kullanılır. Mikrofluidizasyonda, yüksek hızlı akışkanların özel geometrili bir mikrokanaldan akışı sonucu meydana gelen kesintisiz kesme ve kavurma kuvvetleri kullanılır. Bu süreçte, sıvı örnek mikrokanaldan geçirilirken, nano boyutlu damlacıklar oluşur (Mason ve ark. 2006). Bu yöntem, yüksek basınçlı homojenizasyon gibi yüksek enerji girdisi gerektirmeyen bir işlem olduğu için, bazı durumlarda nanoemülsiyonlarda daha iyi bir stabilite elde edilmesini sağlar. Ancak, mikrofluidizasyon işlemi, yüksek

basınçlı homojenizasyona göre daha pahalı bir işlemdir ve özellikle endüstriyel ölçekte üretim için daha az kullanışlıdır.

Goh ve ark. (2015), mikrofluidik homojenizasyon yöntemi kullanarak, palmiye bazlı tokotrienolün nanoemülsiyon formunu geliştirmiştir. Çalışmada, çeşitli emülsifiyer konsantrasyonları, mikrofluidizasyon basıncı ve işlem tekrarları kullanılarak nanoemülsiyonun karakteristikleri optimize edilmiştir. En iyi nanoemülsiyon örneklerinin, 25-75 nm arasında değişen damlacık boyutlarına sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, nanoemülsiyonların kararlılığı ve toplam tokotrienol miktarı da çalışılmış ve kararlılık sağlanarak yüksek tokotrienol miktarları elde edilmiştir. Bu çalışma, mikrofluidik homojenizasyon yönteminin, yüksek kaliteli tokotrienol nanoemülsiyonlarının hazırlanmasında etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir.

- Ultrasonik Emülsifikasyon: Ultrasonik emülsifikasyon, bir sıvıda çözünmeyen bir maddeyi (örneğin yağ) küçük damlacıklara ayırmak için yüksek frekanslı ultrasonik dalgaların kullanılmasıdır. Makroemülsiyonlar, ultrasonik dalgalar yayan problar kullanılarak nano boyuta getirilmektedir. Bu yöntem, genellikle yüksek enerji gerektiren diğer yöntemlerden daha az enerji tüketir ve ancak laboratuvar ölçekli üretim için daha uygundur. Ultrasonik emülsifikasyon işlemi, bir emülsiyon hazırlama cihazı kullanılarak gerçekleştirilir. Bu cihaz, bir ultrasonik transdüseri ve bir emülsiyon haznesini içerir. Yağ fazı, su fazı ve emülsifiyer birlikte emülsiyon haznesine konulur. Ultrasonik transdüser, yüksek frekanslı ultrasonik dalgaları emülsiyon haznesine gönderir. Bu dalgalar, yağ fazındaki büyük damlacıkları küçük damlacıklara ayırmak için etkili bir şekilde kullanılır. Ultrasonik emülsifikasyon işlemi, emülsiyonun özelliklerini etkileyen birçok parametre içerir. Bu parametreler arasında ultrasonik frekans, emülsifiyer konsantrasyonu, işlem süresi ve sıcaklık yer alır. Bu parametreler, emülsiyonun istenen özelliklerini elde etmek için optimize edilmelidir. Sonuç olarak, ultrasonik emülsifikasyon, enerji verimliliği açısından avantajlı bir nanoemülsiyon hazırlama yöntemidir. Bu yöntem, diğer yöntemlere kıyasla daha az enerji tüketirken, yüksek kaliteli ve homojen nanoemülsiyonlar üretmek için kullanılabilir.

Li ve Chiang (2012) yaptıkları çalışmada, d-limonenin sulu ortamda nanoemülsiyonunu ultrasonik emülsifikasyon yöntemi ile hazırlamışlardır. Çalışmalarında, farklı ultrasonik güçler ve işlem süreleri kullanarak nanoemülsiyonların hazırlanabilirliğini ve karakteristik özelliklerini belirlemişlerdir. Çalışmada, ultrasonik gücün artmasıyla birlikte, d-limonen damlacık boyutlarının azaldığı gözlemlenmiştir.

Ayrıca, ultrasonik işlem süresinin artması da nanoemülsiyonların damlacık boyutları üzerinde etkili olmuştur. En düşük ultrasonik güçte hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık boyutları 300-400 nm iken, en yüksek güçte hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık boyutları 70-80 nm olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, Li ve Chiang (2012) çalışmalarında ultrasonik emülsifikasyon yöntemi ile d-limonen nanoemülsiyonlarının başarılı bir şekilde hazırlanabileceği ve nanoemülsiyon özelliklerinin ultrasonik güç ve işlem süresi gibi faktörlere bağlı olarak ayarlanabileceği göstermiştir.

2.3.5.2. Düşük Enerji Gerektiren Nanoemülsiyon Oluşturma Yöntemi

Nanoemülsiyon hazırlanmasında kullanılan düşük enerjili yöntemler, yüksek basınçlı homojenizasyon veya mikrofluidizasyon gibi yüksek enerjili yöntemlere göre daha düşük bir enerji tüketimiyle nanoemülsiyon üretimine olanak sağlarlar. Bu yöntemler genellikle bir çözelti içindeki yağ fazını, emülsifiyerler yardımıyla su fazına dağıtarak nano boyutlu damlacıklar oluştururlar. Herhangi özel bir cihaz yada ekipman ihytiyacı duyulmaksızın yağ, su ve sürfaktandan oluşan sisteme ait sıcaklık ve benzeri parametreler değiştirilerek daha basit karıştırma prosedürleri uygulanır ve nanoemülsiyonlar hazırlanır. Bu nanoemülsiyon hazırlama metodu daha düşük maliyetli olmasından dolayı tercih edilebilir bir metoddur. Temel olarak üç tip düşük enerji gerektiren nanoemülsiyon oluştuma yöntemi mevcuttur; membran emülsifikasyon, faz geçiş sıcaklığı yöntemi ve emülsiyon dönüşüm noktası yöntemi.

- Membran emülsifikasyon: Membran emülsifikasyonu yönteminde, iki fazlı sistem bir mikrofiltrasyon veya ultrafiltrasyon membranı aracılığıyla ayrılır. Bu membran, birincil emülsiyonun hazırlandığı sıvı fazı, membran yüzeyindeki deliklerden geçerken ikincil emülsiyonun hazırlandığı sıvı fazın içine dağılır. Yani membran aracılığı ile su veya yağ gibi sürekli bir fazın içerisinde yağ veya su gibi dağınık bir faz oluşur. Bu yöntem, yüksek basınçlı homojenizasyon veya ultrasonik emülsifikasyon gibi diğer yöntemlere göre daha düşük enerji gerektirir, çevre dostudur ve daha az sürfaktan kullanımı gerektirir. Ayrıca, ürün stabilitesi için gerekli olan yüksek sıcaklık ve basınç koşullarından kaçınır. Bu yöntemde kullanılan en küçük membran gözenek boyutu 50nm iken bu yöntemle üretilen nanoemülsiyonların gözenek boyutu hakkında ise çeşitli görüşler bulunmaktadır. Membran emülsifikasyonu ile elde edilen nanoemülsiyonların gözenek boyutu, kullanılan membranın gözenek boyutuna ve

nanoemülsiyonun hedeflenen özelliklerine göre değişebilir. Genellikle, bu yöntemle elde edilen nanoemülsiyonların gözenek boyutu, 20-200 nm arasında değişebilir. Membran gözenek boyutunun küçülmesi, nanoemülsiyon gözenek boyutunu da küçültür. Bazı araştırmacılar bu yöntem ile oluşan nanoemülsiyonun damlacık boyutunun membran gözenek boyutundan küçük olabileceğini söylerken, bazı araştırmacılar ise damlacık boyutunun membran gözenek boyutunun 2 ile 10 katı kadar bir aralıkta değişkenlik gösterebileceğini ifade etmektedirler (Augustin ve Sanguansri 2006).

- Faz Geçiş Sıcaklığı Yöntemi (PIT): Bu yöntemde polioksietilen gibi noniyonik sürfaktanların sıcaklık karşısında çözünme miktarlarında değişiklikler meydana gelir. Sıcaklık artışı ile birlikte bu noniyonik sürfaktanın polioksietilen zincirlerinde dehidrasyon meydana gelir ve lipofilik bir karaktere kavuşur. Faz Geçiş Sıcaklığı Yöntemi (PIT), düşük enerji kullanarak nanoemülsiyon oluşturmak için kullanılan bir yöntemdir. PIT, emülsiyonun oluşmasını sağlamak için, su ve yağın bir karışımının belirli bir sıcaklıkta (faz geçiş sıcaklığı) karıştırılması ve ardından soğutulması işlemine dayanır. Bu yöntemde, emülsiyon oluşumu sıcaklıkla ilgili bir faz geçişi ile tetiklenir. Belirli bir sıcaklıkta, su ve yağın hidrofilik ve hidrofobik özellikleri birbirine yakınlaşır ve birbirleriyle karışabilir hale gelir. Bu noktada, karışım homojen bir şekilde karıştırılarak emülsiyon oluşumu sağlanır. PIT yöntemi, yüksek basınçlı homojenizasyon veya mikrofluidizasyon gibi diğer nanoemülsiyon hazırlama yöntemlerine kıyasla daha az enerji tüketen bir yöntemdir. Ayrıca, üretim sırasında kullanılan ısı ve işlem süresi de diğer yöntemlere göre daha azdır. Bu nedenle, PIT yöntemi, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde nanoemülsiyon hazırlamak için tercih edilen bir yöntemdir (Solans ve ark. 2005). PIT yöntemi ile yapılmış bir çalışmada gliserritik asit içeren Y/S nanoemülsiyon formülasyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan nanoemülsiyonlarda stabilite çalışması yapılmış ve damlacık boyutu incelenmiştir. Hazırlanan nanoemülsiyondaki damlacık boyutu 210nm olarak saptanırken, stabilite çalışmaları sonucunda da ürünün 5 hafta oda sıcaklığında bozunmadan kaldığı tespit edilmiştir. Yapılan in vivo, in vitro çalışmaların sonucunda ise normal emülsiyonlara göre yapılan karşılaştırmalarda transdermal geçişin daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır (Puglia ve ark. 2010). Yine de PIH yöntemi araştırmacılar arasında henüz bir tartışma konusudur. Bazı araştırmacılar bu yöntemi nanoemülsiyon üretimi için

geçersiz bulurken bazı araştırmacılar ise bu yöntemi etkili bulmakta ve benimsemektedirler.

- Emülsiyon Dönüşüm Noktası Yöntemi (EIP): EIP yöntemi, farklı yüzey aktif madde kombinasyonlarının ve yoğunluklarının nanoemülsiyon oluşumuna etkisini incelemek için kullanılan bir araştırma aracıdır. Herhangi bir sıcaklık değişimine gerek duyulmadan ve herhangi bir organik çözücü kullanılmaksızın oda sıcaklığında spontan bir nanoemülsiyon hazırlama yöntemidir. Bu yöntem, yüzey gerilimi, yoğunluk ve polarite gibi faktörlerin nanoemülsiyon oluşumuna etkisini belirlemek için kullanılır. Chime ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, EIP yöntemi kullanılarak yağda çözünen bir antibiyotik olan rifampisinin nanoemülsiyonu hazırlanmıştır. Sonuçlar, nanoemülsiyonların dönüşüm noktasının yüzey aktif madde konsantrasyonuna ve yoğunluğuna bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Li ve Li (2015) ise EIP yöntemini kullanarak β-karoten nanoemülsiyonları hazırlamışlardır. Yüzey aktif madde konsantrasyonu arttıkça nanoemülsiyonların dönüşüm noktasının da arttığı gözlenmiştir. EIP yöntemi, nanoemülsiyonların hazırlanmasında etkili bir yöntemdir. Ancak, yöntemde kullanılan sıcaklık ve yüzey aktif madde konsantrasyonu gibi parametrelerin dikkatli bir şekilde ayarlanması gerekmektedir.

2.3.6. Nanoemülsiyonlarda Karakterizasyon

Nanoemülsiyonlar, emülsiyonların sıvı parçacıkları boyutunda oldukça küçük damlacıklardan oluşan bir türüdür. Bu nano boyuttaki damlacıklar, birçok uygulama için avantajlıdır. Ancak, bu nano özelliklerinin korunabilmesi için nanoemülsiyonların karakterizasyonu büyük önem taşır.Nanoemülsiyonlarda karakterizasyon incelemesi yapılırken pH değeri, damlacık boyutu, iletkenlik, vizkozite, morfoloji, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, in vivo/in vitro çalışmalar, termodinamik özellikler değerlendirmeye alınır (Mishra ve ark. 2014).

2.3.6.1. Nanoemülsiyonlarda Morfolojik Karakterizasyon

Nanoemülsiyonlarda morfolojik karakterizasyon için bazı teknikler kullanılmaktadır. Bu teknikler arasında transmisyon elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve dinamik ışık saçılması (DLS) bulunmaktadır (Mishra ve ark. 2014).

TEM, nano boyutlu örneklerin görselleştirilmesi için sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde, örneklerden ultra ince kesitler hazırlanır ve daha sonra elektron ışınları tarafından görüntülenerek morfolojik yapı açığa kavuşturulur. TEM, nanoemülsiyonların boyutunu ve dağılımını belirlemek için kullanılabilir.

SEM, yüzey morfolojisinin karakterizasyonu için kullanılan, maliyeti düşük ve kısa bir süre içerisinde geniş alanların incelenebilmesine olanak sağlayan bir diğer tekniktir. Bu yöntemde, örnek yüzeyi elektron ışınları tarafından taranarak dispers faza ait yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilir. Nanoemülsiyon bileşkesindeki damlacıkların yüzey ve şekil özelliklerinin belirlenmesinde SEM kullanılabilir.

DLS ise nano boyutlu parçacıkların boyut dağılımının belirlenmesi için kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem, nanoemülsiyonların boyutunu ve dağılımını ölçmek için sıklıkla kullanılır (Hatziantonioua ve ark. 2007).

Nanoemülsiyonların morfolojik karakterizasyonu için ayrıca floresan mikroskopi ve konfokal mikroskopi gibi optik görüntüleme teknikleri ve bunların yanı sıra X-ray ve kriyo elektron mikroskopisi de kullanılmaktadır (Hatziantonioua ve ark. 2007; Chime ve ark. 2014 p. 96).

2.3.6.2. Nanoemülsiyonlarda Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli Karakterizasyonu

Damlacık boyutu, nanoemülsiyonların en önemli karakteristik özelliklerinden biridir. Nanoemülsiyonların istenilen özelliklerinin elde edilmesi için uygun bir damlacık boyutu seçilmelidir. Damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli foton korelasyon spektroskopisi ile değerlendirilebilir.Damlacık boyutu, genellikle dinamik ışık saçılımı (DLS) kullanılarak ölçülür. DLS, damlacık boyutu dağılımını ve polidispersite indeksi (PDI) gibi diğer özellikleri de ölçebilir. PDI, damlacıkların boyut dağılımının homojenliği veya heterojenliği hakkında bilgi verir. Düşük bir PDI değeri, damlacıkların boyutlarının birbirine yakın olduğunu ve daha homojen bir dağılım olduğunu gösterir. Bu nedenle, PDI değeri, nanoemülsiyonların kalitesi için önemli bir parametredir.

Zeta potansiyeli, nanoemülsiyonların stabilitesi için bir diğer önemli parametredir. Zeta potansiyeli, damlacıkların yüzey yükünü ölçer ve elektrokinetik stabilite hakkında bilgi verir. Yüksek bir zeta potansiyeli, damlacıkların birbirlerinden itildiğini ve daha istikrarlı olduklarını gösterir (Lovelyn ve Attama 2011).

2.3.6.3. Nanoemülsiyonlarda Viskozite Karakterizasyonu

Viskozite, sıvının akış direncini ölçen bir özelliktir. Nanoemülsiyonların viskozitesi, içerdikleri malzemelere ve hazırlama yöntemine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Nanoemülsiyonlarda viskozite, nanoemülsiyonda kullanılan yağ fazı bileşenlerinin konsantrasyonu ve sıvının sıcaklığı gibi faktörlere bağlıdır. Yağ fazı bileşenlerinin konsantrasyonu arttıkça, viskozite de artar. Bunun nedeni, yağ fazı bileşenlerinin sıvı içindeki yoğunluğunun artması ve daha yoğun bir yapı oluşturmasıdır. Yine aynı şekilde nanoemülsiyondaki su miktarının artmasına bağlı olarak viskozite azalmaktadır. Nanoemülsiyonlarda sürfakan, kosürfaktan miktarı su ile yağ arasındaki ara yüzey gerilimi ile doğru orantılı olup, bunların artması ile viskozite de artmaktadır. Ayrıca, nanoemülsiyonların viskozitesi sıcaklığa bağlı olarak da değişkenlik gösterir. Nanoemülsiyonlarda sıcaklık arttıkça viskozite azalmaktadır. Bu durum, yağ fazı bileşenlerinin sıcaklığın artmasıyla daha az yoğun hale gelmesi ve sıvının daha düşük viskoziteye sahip olması ile alakalıdır.

Nanoemülsiyonların viskozitesi, hazırlama yöntemleriyle de değişkenlik gösterir. Nanoemülsiyonların hazırlanmasında kullanılan yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemi, emülsifikasyon yöntemlerine kıyasla daha yüksek viskoziteye sahip nanoemülsiyonlar elde etmek için kullanılabilir.

Viskozitenin ölçümü, nanoemülsiyonların stabilitesi, formülasyonu ve üretim sürecinin kontrolü için önemlidir. Nanoemülsiyonların viskozitesi, sıvıların hareket direncini ölçen bir özellik olan viskozimetre kullanılarak ölçülebilir. Çok çeşitli viskozimetre türleri mevcuttur, ancak en yaygın olanları kapalı ve açık tüp viskozimetreleridir. Kapalı tüp viskozimetrelerinde, sıvı örnek, tüpün içinden akarken ölçülür. Açık tüp viskozimetrelerinde ise, sıvı örnek bir huni ile ölçüm haznesine konur ve daha sonra sızdırarak akar.

Nanoemülsiyonların viskozitesi polidispersite indeksi (PDI) ve damlacık boyutu ile ilişkilidir. PDI, nanoemülsiyonun homojenliğinin bir ölçüsüdür ve daha yüksek bir PDI değeri, daha geniş bir boyut dağılımı ve daha az homojen bir nanoemülsiyon anlamına gelir. Daha geniş bir boyut dağılımı, viskozitenin artmasına neden olabilir (Lovelyn ve Attama 2011).

2.3.6.4. Nanoemülsiyonlarda İn Vitro Deriden Salım Çalışmaları

Nanoemülsiyonların deriden salınım özelliklerinin araştırılması, ilaçların etkili bir şekilde deriye nüfuz etmesini sağlamak için önemlidir. In vitro deriden salım çalışmaları, bu özellikleri değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmalar yarı geçirgen membranlar kullanılarak Franz difüzyon hücreleri aracılığı ile gerçekleştirilir. Formülasyon, Franz difüzyon hücresine ait donör bölümüne yerleştirilir ve reseptör faza geçişi incelenir. Hücreler; 37±1°C sıcaklıkta, 100 rpm hız ile magnetik karıştırıcıda karıştırılır. Belirli zaman aralıkları ile reseptör ortamından alınan 1ml'lik örnekler ortam eşdeğer miktarı ile değiştirilir. Daha sonra bu numuneler 0,22-50 μm boyutuna sahip filtrelerden süzülür ve absorbsiyonun en yüksek olduğu dalga boyunda HPLC veya UV-Vis spektroskopide okutularak etkin madde salım miktarı ile alakalı bilgi edinilebilir. Yapılan bir çalışmada deriye uygulanmak üzere hazırlanan ketokonazol içeren nanoemülsiyonların in vitro deriden salınım özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada, salım hızının ketokonazol konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı bulunmuştur. Ayrıca, nanoemülsiyonların salım hızlarının, emülsiyonun yapısına ve bileşenlerine bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin, saf su yerine % 1 Tween 80 içeren nanoemülsiyonların, saf su içeren nanoemülsiyonlardan daha yüksek bir salım hızına sahip olduğu tespit edilmiştir (Lovelyn ve Attama 2011).

2.3.6.5. Nanoemülsiyonlarda İn Vivo Biyoyararlanım Çalışmaları

İn vivo biyoyararlanım çalışmalarında canlı denek olarak kullanılan başlıca hayvan grubu sıçanlardır. Çalışma için kullanılan sıçanların kanlarından belli aralıklarla örnekler alınır ve santrifüj edilir. Santrifüj sonucunda, kan örneklerinde kan proteinleri ve plazma ayrışması gerçekleşir. Ayrışan plazma HPLC cihazında okutulur ve formülasyon içeriği belirlenir.

Nanoemülsiyonların in vivo biyoyararlanımı hakkında yapılan bir çalışmada iki farklı nanoemülsiyon formülasyonu (N1 ve N2) kullanılarak, rassal modelde oral yolla verilen atorvastatin kalsiyum tuzunun biyoyararlanımı incelenmiştir. Çalışma sonuçları, nanoemülsiyonların, serbest atorvastatin kalsiyum tuzuna göre daha yüksek bir biyoyararlanım oranına sahip olduğunu göstermiştir.

N1 ve N2 nanoemülsiyon formülasyonlarının farklı bileşenler içerdiği ve farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklar, in vivo

biyoyararlanım sonuçlarında da kendini göstermiştir. N1 formülasyonunda kullanılan lipitlerin, atorvastatinin emilimini artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, N1 nanoemülsiyon formülasyonu, N2 formülasyonuna göre daha yüksek bir Maksimum Plazma Konsantrasyonu (Cmax) ve Alan Altı Eğri (AUC) değerine sahip olduğu belirlenmiştir (Zhao ve ark. 2013).

2.3.7. Nanoemülsiyonların Kullanıldığı Alanlar

Nanoemülsiyonlar, formülasyon içeriğinde yer alan etkin maddeyi kontrollü bir şekilde taşıması, yüzey aktif maddenin düşük seviyede olması, damlacık boyutlarının küçük olması ve yüksek stabilite göstermeleri gibi sayılabilecek pek çok avantajından dolayı başta kozmetik ve ilaç sektörü gibi pek çok alanda tercih edilir duruma gelmiştir. Nanoemülsiyonların kullanıldığı başlıca alanları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Kozmetik sektörü nanoemülsiyonların gün geçtikçe daha çok tercih edildiği alanlardan biri haline gelmektedir. Günümüzün modern taşıyıcı sistemlerinden biri olan nanoemülsiyonlar nano boyutundaki partikül büyüklüğü sayesinde aktif içeriğin etkin bir biçimde alt katmanlara taşınmasını sağlamaktadır. Bu şekilde aktif madde içeriğinin optimal şekilde etkinlik göstermesi ve emilmesi hedeflenir. Özellikle Y/S formundaki nanoemülsiyonlar cildin hidrasyonunu arttırarak cildin nemlenmesini ve iyileşmesini sağlar, cildin transepidermal su kaybını önler. Nanoemülsiyonlarda yer alan lipit içeriği ve nanoemülsiyon yükü cilt kızarıklığı, nemlenmesi ve cildin esnekliği ile alakalı olumlu etkiler sağlamaktadır (Yılmaz ve Borchert 2006). Nanoemülsiyonların ilaç ve kozmetik sektöründe tercih ediliyor olmasının bir başka nedeni daha kremalaşma, sedimantasyon ve koalesans gibi diğer sistemlerde görülen bir takım sorunların yaşanmıyor olmasıdır. Nanoemülsiyon hazırlanırken kullanılan yüksek enerjili sistemler sayesinde kullanılan sürfaktan miktarları oldukça azdır. Bu da cilt için daha az iritan özellik görülmesini sağlayarak nanoemülsiyon tercih sebeplerine bir artı daha eklemektedir. Düşük miktarda da olsa bu sürfaktanlar bakteriyel ajanlara karşı koruma sağlar. Sistemik antibiyotiklerle sağlanmaya çalışılan antibakteriyel koruma şimdi artık nanoemülsiyonlar aracılığı ile topikal ürün formülasyonları ile de sağlanabilmektedir. (Debnath ve ark. 2011).
- Sağlık sektöründe son dönem çalışmaları ile aşı araştırma ve geliştirme çalışmalarında da nanoemülsiyon formlarının kullanılabileceği görülmüştür. Yağ bazlı

nanoemülsiyonlar aracılığı ile mukozal membranlara uygulanabilecek HIV ve influenza aşı çalışmaları devam etmekte olup bu aşılar ile immün sistemin anlamlı düzeyde yükseleceği düşünülmektedir.

- Parenteral ilaç uygulamaları, nanoemülsiyon formlarının tercih edildiği bir diğer alandır. Stabilite sorunlarının az yaşanması, kontrollü salım teknolojisi tercih edilme nedenleri arasında yer almaktadır. Nanoemülsiyon formu özellikle terapötik indeksi dar ilaçlarda düşük doz kullanımı ile terapötik etkinliğe ulaşılmasına ve biyoyararlanımı düşük etken maddelerde istenen biyoyararlanım düzeylerine erişilmesine olanak sağlar.
- Nanoemülsiyonların son yıllarda kanser tedavilerinde geliştirilen akıllı ilaç uygulamalarında da tercih edilmesi için çalışmalar yürütülmektedir. İyi bir koloidal taşıyıcı sistem olan nanoemülsiyonlar submikron boyutunda oldukları için istenilen bölgeye hedeflendirme yapılabilmekte ve istenmeyen bölgelerin etkilenmesine olanak tanımadan tedavinin gerçekleşmesini sağlayabilmektedir (Chime ve ark. 2014).

Nanoemülsiyonların gün geçtikçe kullanım alanları artmaktadır. Fitoaktif içeren formların üretilmesinden, hücre kültürü çalışmalarına, çözünürlüğü düşük oral formdaki ilaçların çözünürlüğünü iyileştirmeden gıda, tarım, tekstil ve petrol endüstrisine kadar kullanımı yaygın hale gelmektedir. Gıda endüstrisinde nanoemülsiyonlar, gıda bileşenlerinin stabilizasyonu, çözünürlüğün artırılması, lezzet ve aroma iyileştirme gibi konularda büyük bir potansiyele sahiptirler. Ayrıca, nanoemülsiyonlar tarım, tekstil, petrol endüstrisi ve çevre mühendisliği gibi birçok alanda da kullanılmaktadır. Tarım endüstrisinde, nanoemülsiyonlar bitki koruyucu ürünlerin daha etkili bir şekilde uygulanmasını sağlayabilirken, petrol endüstrisinde nanoemülsiyonlar petrol geri kazanımı ve depolanması konularında önemli bir potansiyele sahiptirler.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Malzemeler

3.1.1. Kullanılan Aletler

Buzdolabı - Indesit – İtalya

Cam malzemeler - Lamtek - İtalya

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

Distile su cihazı - PureLab UV/UF lonpure – ABD

Hassas terazi - AND GR-200 – Japonya

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

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

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

Mikropipet - Ependorf – Almanya

Parafilm - American Can Co - ABD

pH Metre- HANNA (Hanna edge multiparametre)- ABD

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

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

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

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

Viskozimetre - Brookfield DV3T - Brookfield Engineering Lab.- ABD

3.1.2. Etken Madde ve Yardımcı Maddeler

Tablo 3-1: Nanoemülsiyonlarda kullanılan etken madde ve yardımcı maddeler ve firma bilgileri.

Kimyasal Maddeler ve Bitkisel Ekstreler	Firma Bilgileri
Alfa tokoferol asetat	Asuka Kimya San. Tic. A. Ş. Türkiye
Cremophor A 25	Sigma Aldrich Chemistry İsviçre
Pluronic® F 68	Sigma Aldrich Chemistry İsviçre
Transcutol® HP	Gattefosse Fransa
LabrafacTM CC	Gattefosse Fransa
Sensiva® PA 30	Schülke Almanya
DUB VCI 10 (İzodesil neopentanoat)	Stearinerie Dubois Fransa
Sarı kantaron ekstresi	Surya Kimya San. Tic. Ltd. Şti. TÜRKİYE
Gilaburu ekstresi	Surya Kimya San. Tic. Ltd. Şti. TÜRKİYE
Ayı üzümü ekstresi	Surya Kimya San. Tic. Ltd. Şti. TÜRKİYE
Aloe vera ekstresi	Surya Kimya San. Tic. Ltd. Şti. TÜRKİYE

3.2. Metodlar

3.2.1. Formülasyon Çalışmaları

Bu tez çalışmasında hiperpigmentasyonda etkili olması beklenen Aloe vera ekstresi, gilaburu ekstresi, ayı üzümü ekstresi ve sarı kantaron ekstresini içeren Y/S tipi nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır.

3.2.1.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerin Seçimi

- Etkin Madde Oranının Belirlenmesi:

Bu çalışmada hiperpigmentasyon problemleri için fayda sağlayacağı düşünülen bitkisel ekstreler kullanılmıştır. Sırası ile Gilaburu ektresi %5, Ayı üzümü ektresi %4 ve Aloe vera ekstresi %2 oranları ile formülasyon bileşiminde yer almıştır. Bu üç bitkisel ekstre için çözücü olarak da en iyi çözünme ortamı olan distile su kullanılmıştır.

- Yağ fazı ve miktarının belirlenmesi:

Hazırlanan formülasyonun yağ fazında bitkisel ekstrelerden sarı kantaron yağı kullanıldı ve yağ fazı oranı %4, %5, %6.6 ve %10 olacak şekilde dört farklı oranda belirlendi ve çalışmalar yapıldı.

- Yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etken maddelerin türü ve miktarının belirlenmesi:

Çalışmalarda Pluronic® F 68 + Transcutol® HP ve Cremophor A 25 + Transcutol® HP yüzey etken madde ve yardımcı yüzey etken madde karışımları 1:1 oranında kullanıldı ve yürütülen stabilite çalışmaları sonucunda Pluronic® F 68 + Transcutol® HP kombinasyonunun 1:1 oranında kullanımının uygun olduğuna karar verildi.

- Diğer hammaddelerin belirlenmesi:

Yağ fazında bitkisel ekstrelerden sadece sarı kantaron yağı kullanıldı. Ayrıca DL-alfa tokoferol asetat (Vitamin E), DUB VCI 10 (Isodecyl Neopentanoate), Caprylic Capric Triglyceride ve koruyucu olarak da Sensiva PA 30 kullanıldı. Formülasyonlar denenirken Caprylic Capric Triglyceride oranları düşürülerek çalışmalar yapıldı. Ancak Caprylic Capric Triglyceride oranının yüksek olduğu formülasyonlar daha başarılı bulundu.

- Nanoemülsiyonları Hazırlama Yöntemi, Karıştırma Hızı ve Süresi ve Karıştırıcı Türünün Belirlenmesi:

Bu tez çalışması için yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanıldı. Formülasyonların bir grubu için mekanik karıştırıcı kullanılarak ön

karıştırma yapıldı. Ön karıştırma sonrası ise ultrasonikatör kullanılarak karıştırma işlemi tamamlandı. Ultrasonikatör bant genişliği %50 olarak belirlendi. Karıştırma işlemi süresince formülasyonun ısınmasını önlemek amacı ile ultrasonikatörün amplitüt ayarı 30 saniye çalışıp 30 saniye duracak şekilde ayarlandı. Formülasyonların karıştırılması konusunda 4 farklı yöntem belirlendi. İlk olarak formülasyonların yarısına sadece %50 bant genişliğine sahip ultrasonikasyon yöntemi uygulandı. Burda da ultrasonikasyon süresi 15 dakika ve 30 dakika olacak şekilde iki ayrı alt yöntem oluşturuldu. İkinci yöntemde ise 8100 rpm hızda 5 dakikalık bir ön karıştırma işleminden sonra yine 15 dakika ve 30 dakika olacak şekilde ultrasonikasyon işlemi uygulandı. Ön karıştırma işlemi için mekanik karıştırıcılar kullanıldı. Yapılan çalışmalarda mekanik karıştırıcı ile gerçekleştirilen ön karıştırma işleminin stabilite üzerinde olumsuz etkileri gözlendiği için çalışmalara ön karıştırmasız 15 dakika ve 30 dakika ultrasonikatör uygulanan formülasyonlar ile devam edildi.

- Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması:

Y/S tipi olan nanoemülsiyonların hazırlanma şekli aşağıda anlatılmıştır;

Yağ fazı bileşenleri olan Sarı kantaron ekstresi, DL-alfa tokoferol asetat, İzodesil neopentanoat, Sensiva® PA 30, Kosurfaktan (Transcutol HP), Kaprilik/kaprik trigliserid hassas terazide ayrı ayrı ölçüldükten sonra bir cam beherde karıştırıldı. Daha sonra su fazı oluşturuldu. Bunun için önce distile su hassas terazide tartıldı ve peşi sıra sürfaktan olarak kullanılan Pluronic F68tartılarak distile su içerisinde çözündürüldü. Karıştırma işlemi iyice tamamlandıktan sonra diğer su fazı bileşenleri olan Gilaburu ekstresi, Ayı üzümü ekstresi, Aloe vera ekstresi ve son olarak da pH ayarlayıcı tartılarak distile su ve sürfaktan karışımına eklenerek cam baget yardımı ile iyice karıştırıldı. En son aşamada da su fazı yağ fazına eklendi ve yine cam baget yardımı ile iyice karıştırıldı.

Bu karışımdan 4 adet hazırlandı ve sırası ile aşağıdaki işlemler uygulandı:

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

10 gram olarak hazırlanan formülasyonlarsantrifüjtestine maruz bırakıldı. Santrifüj testini geçen formülasyonlara sıcak su banyosu testi uygulandı. Santrifüj testi ve termal test sonucunda sedimantasyon, faz ayrımı, çeperde birikme ve kremalaşma gibi problemler göstermeyen formülasyonlar ile çalışmalara devam edildi.

Tüm bu çalışmaları geçen 6 adet formülasyonun 100 gramlık miktarları hazırlandı ve 4 cam tüpe eşit şekilde bölüştürülerek karakterizasyon testleri ve uzun süreli stabilite testleri yapıldı.

Stres testlerini geçen formülasyonlara ilk olarak karakterizasyon testleri yapıldı. Bu karakterizasyon testleri pH değeri, viskozitesi, damlacık büyüklüğü, zeta potansiyeli ve PDI değerlerinin ölüçümü ve organoleptik incelemeler (renk, koku, görünüş) olarak gerçekleştirildi.

Daha sonra hazırlanan her bir formülasyon 2 ay boyunca oda sıcaklığı koşulunda (25°C ± 2°C, %60 nem), iklimlendirme kabinininde (40°C ± 2°C, %75 nem) ve buzdolabında (5°C ± 2°C) bekletildi.

Uzun süreli stabilite testleri için testlerin başlangıç günü olan birinci günde her bir formülasyonun damlacık boyutu, viskozite, zeta potansiyeli, pH, iletkenlik ve organoleptik özellikleri değerlendirildi. 3 farklı koşula maruz bırakılan formülasyonların 1. ve 2. ay sonunda tekrar damlacık boyutu, viskozite, zeta potansiyelleri, pH değerleri, iletkenlikleri ve organoleptik özelliklerine bakıldı.

Tablo 3-2: Ön formülasyon aşamasındaki %6.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	CRA25-F1P1	CRA25-F1P2	CRA25-F1P3	CRA25-F1P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.679	0.679	0.679	0.679
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Cremophor A25)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**5.9**	**5.9**	**5.9**	**5.9**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

CRA25-F1P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %10

Yağ fazı: Smix 10:20 (1:2)

Surfaktan: Cremphor A25

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-3: Ön formülasyon aşamasındaki %3.45 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	CRA25-F2P1	CRA25-F2P2	CRA25-F2P3	CRA25-F2P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.345	0.345	0.345	0.345
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Cremophor A25)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**6.234**	**6.234**	**6.234**	**6.234**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

CRA25-F2P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %6.66

Yağ fazı: Smix 6.66:20 (1:3)

Surfaktan: Cremphor A25

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-4: Ön formülasyon aşamasındaki %1.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	CRA25-F3P1	CRA25-F3P2	CRA25-F3P3	CRA25-F3P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.179	0.179	0.179	0.179
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Cremophor A25)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**6.4**	**6.4**	**6.4**	**6.4**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

CRA25-F3P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %5

Yağ fazı: Smix 5:20 (1:4)

Surfaktan: Cremphor A25

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-5: Ön formülasyon aşamasındaki %0.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Cremophor A25 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	CRA25-F4P1	CRA25-F4P2	CRA25-F4P3	CRA25-F4P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.079	0.079	0.079	0.079
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Cremophor A25)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**6.5**	**6.5**	**6.5**	**6.5**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

CRA25-F4P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %4

Yağ fazı: Smix 4:20 (1:5)

Surfaktan: Cremphor A25

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-6: Ön formülasyon aşamasındaki %6.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içerenformülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	PL68-F1P1	PL68-F1P2	PL68-F1P3	PL68-F1P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.679	0.679	0.679	0.679
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Pluronic F68)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**5.9**	**5.9**	**5.9**	**5.9**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

PL68-F1P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %10

Yağ fazı: Smix 10:20 (1:2)

Surfaktan: Pluronic 68

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-7: Ön formülasyon aşamasındaki %3.45 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	PL68-F2P1	PL68-F2P2	PL68-F2P3	PL68-F2P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.345	0.345	0.345	0.345
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Pluronic F68)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**6.234**	**6.234**	**6.234**	**6.234**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

PL68-F2P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %6.66

Yağ fazı: Smix 6.66:20 (1:3)

Surfaktan: Pluronic 68

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-8: Ön formülasyon aşamasındaki %1.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	PL68-F3P1	PL68-F3P2	PL68-F3P3	PL68-F3P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.179	0.179	0.179	0.179
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Pluronic F68)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**6.4**	**6.4**	**6.4**	**6.4**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

PL68-F3P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %5

Yağ fazı: Smix 5:20 (1:4)

Surfaktan: Pluronic 68

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-9: Ön formülasyon aşamasındaki %0.79 Kaprilik/kaprik trigliserid oranlı, yüzey etken madde olarak Pluronic F68 ve kosurfaktan olarak Transcutol HP içeren formülasyon bileşenlerine ait tablo

BİLEŞENLER	FORMÜLASYONLAR			
a/a	PL68-F4P1	PL68-F4P2	PL68-F4P3	PL68-F4P4
YAĞ FAZI				
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.079	0.079	0.079	0.079
SU FAZI				
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera ekstresi	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Pluronic F68)	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.

Distile su	**6.5**	**6.5**	**6.5**	**6.5**
Ön karıştırma süresi	**YOK**	**YOK**	**8100rpm 5dk**	**8100rpm 5dk**
Ultrasonikasyon süresi	**15dk**	**30dk**	**15dk**	**30dk**

Formülasyonlar:

PL68-F4P 1-4

Surfaktan: %10

Kosurfaktan: %10

Yağ fazı: %4

Yağ fazı: Smix 4:20 (1:5)

Surfaktan: Pluronic 68

Kosurfaktan: Transcutol HP

Bant genişliği : %50

Pulse on:off 30 sn:30sn

Tablo 3-10: Formülasyon proseslerine ait tablo

P1	**Ön karıştırma olmaksızın 15 dakika ultrasonikasyon**
P2	**Ön karıştırma olmaksızın 30 dakika ultrasonikasyon**
P3	**5 dakika ön karıştırma sonrasında 15 dakika ultrasonikasyon**
P4	**5 dakika ön karıştırma sonrasında 30 dakika ultrasonikasyon**

3.2.2. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yapılan Stabilite Çalışmaları

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonları için öncelikli olarak ön stabilite testleri uygulamaya geçirildi. Bu kapsamda ön nanoemülsiyon formülasyonlarına ilk önce santrifüj testi uygulandı. Santrifüj testini geçen formülasyonlara akabinde termal stabilite testi yapıldı. Termal stabilite testini geçen formülasyonların organoleptik kontrolleri yapıldı. Organoleptik test için renk, koku ve görünümleri değerlendirildi. Sonrasında formülasyonların pH, viskozite, damlacık boyutu, zeta potansiyeli, damlacık boyutu ve polidispersite indekslerine bakıldı. Tüm bu testleri geçen formülasyonlarda uzun süreli stabilite çalışmalarını yürütebilmek için her bir ön formülasyon 100'er gram olarak daha büyük ölçekli olarak üretildi. Uzun süreli stabilite çalışmaları kapsamında formülasyonlar oda sıcaklığı, iklimlendirme kabini ve buzdolabı olmak üzere 3 farklı koşulda 2 ay süresince bekletildi (Oda koşulu 25°C±2°C, %60 nem; iklimlendirme kabini 40°C ±2°C, %75 nem; buzdolabında 5°C ± 2°C). 1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda formülasyonların pH, viskozite, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, damlacık boyutu, iletkenliklerine bakıldı ve yine organoleptik (koku,renk, görünüm) değerlendirmeleri yapıldı.

3.2.2.1. Santrifüj Testi

Stres testlerinden biri olan santrifüj testi, ön formülasyonlar hazırlandıktan sonra stabilite değerlendirmesi için yapılan öncelikli testlerden biridir. 25°C±2°C Oda sıcaklığındaki nanoemülsiyon formülasyonları santrifüj tüpleri içerisinde Nüve santrifüj cihazına yerleştirildi. 30 dakika süresince 3500rpm hızında santrifüj cihazında santrifüj edildi. 30 dakikalık santrifüj süresinin sonunda makroskobik olarak incelenen ön formülasyonlarda herhangi bir kremalaşma, faz ayrımı ve/veya sedimantasyon gibi stabilite sorunlarının gözlemlenip gözlemlenmediği değerlendirildi. Değerlendirme sonunda bahsi geçen stabilite problemlerinin görüldüğü formülasyonlar elendi.

3.2.2.2. Termal Test

Bir önceki aşamada yapılan santrifüj testini geçen formülasyonlara ikinci bir stres testi olan termal test uygulandı. Termal test için 40°C'lik WiseBath® su banyosu ile çalışıldı. Su banyosu içine yerleştirilen formülasyonlara her yarım saate bir 5°C artış gösteren bir sıcaklık uygulandı. Bu şekilde su banyosu 80°C'ye kadar ısıtıldı. Maksimum sıcaklığa ulaşana kadar geçen sürenin sonunda formülasyonlar tekrar makroskobik olarak incelendi. İnceleme sonunda kremalaşma, faz ayrımı ve sedimantasyon görülen formülasyonlar stabilite çalışmalarından elendi.

3.2.2.3. pH Ölçümü

Nanoemülsiyonlarda pH ölçümü için Hanna edge multiparametre cihazı kullanıldı. 100 gr olarak hazırlanmış nanoemülsiyonların pH değerlerine 3 ayrı koşulda bakıldı. Oda koşulu (25°C±2°C, %60 nem), iklimlendirme kabini (40°C ±2°C, %75 nem) ve buzdolabında (5°C ± 2°C) bekletilmiş olan formülasyonların 1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda pH değerleri alındı. Ölçümler alınırken buzdolabı ve iklimlendirme kabininde bekletilen numuneler oda sıcaklığına gelene kadar beklendi.

3.2.2.4. İletkenlik Ölçümü

Formülasyonlarda faz değişimi olup olmadığını tayin etmek için kullanılan stabilite testi iletkenlik testidir. İletkenlik testi için Hanna edge multiparametre cihazının iletkenlik probu kullanıldı ve formülasyonların iletkenlik değerleri ölçüldü. Uzun süreli stabilite testleri için hazırlanmış olan 100’er gramlık büyük ölçekli formülasyonlar

iletkenlik değerlerinin kontrolü için kullanıldı. İletkenlik değerlerine yine 3 ayrı koşulda bakıldı. Bu koşullar oda koşulu (25°C±2°C, %60 nem), iklimlendirme kabini (40°C ±2°C, %75 nem) ve buzdolabı (5°C ± 2°C) olup 1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda iletkenlik değerleri ölçüldü. Ölçümler alınırken buzdolabı ve iklimlendirme kabininde bekletilen numuneler oda sıcaklığına gelene kadar beklendi.

3.2.2.5. Viskozite Ölçümleri

Hazırlanan nanoemülsiyonların viskozite ölçümleri için Brookfield DV 3T viskozimetre cihazı kullanıldı. CP 40 plağı ile formülasyon viskoziteleri sırası ile 70 rpm, 75 rpm, 80 rpm, 85 rpm, 90 rpm, 95 rpm, 100 rpm, 105 rpm, 110 rpm ve 115 rpm'de ölçüldü. Büyük ölçekli miktarları hazırlanmış olan formülasyonlar oda koşulu (25°C±2°C, %60 nem), iklimlendirme kabini (40°C ±2°C, %75 nem) ve buzdolabında (5°C ± 2°C) bekletildi ve 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda viskozite değerleri ölçüldü. Ölçümler alınırken buzdolabı ve iklimlendirme kabininde bekletilen numuneler oda sıcaklığına gelene kadar beklendi.

3.2.2.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite Indeksi (PDI) ve Zeta Potansiyeli Ölçümü

Nanoemülsiyon formülasyonlarında damlacık boyutu, zeta potansiyeli ve PDI ölçümleri ışık saçılım prensibi ile çalışan Malvern Zeta Sizer Nano SZ cihazı ile yapıldı. Ölçüm yapılması için her bir nanoemülsiyon formülasyonundan otomatik pipet kullanılarak numune alındı ve bu numune nanoemülsiyon 10ml'lik balon jojeye konuldu. 1:100 oranında seyreltildikten sonra numuneler zeta küvetine alındı ve ölçümler yapıldı. Uzun süreli stabilite testleri için hazırlanmış olan büyük ölçekli formülasyonların oda koşulu (25°C±2°C, %60 nem), iklimlendirme kabini (40°C ±2°C, %75 nem) ve buzdolabı (5°C ± 2°C) olacak şekilde 3 farklı ortamdaki damlacık boyutu, zeta potansiyeli ve PDI değerleri 3 ayrı sürenin sonunda (1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda) ölçüldü. Ölçümler alınırken buzdolabı ve iklimlendirme kabininde bekletilen numuneler oda sıcaklığına gelene kadar beklendi

3.2.2.7. Organoleptik Kontroller

Hazırlanan nanoemülsiyonların renk, koku ve görünüm gibi organoleptik özellikleri ön formülasyonun hazırlandığı ve stres testlerine maruz bırakıldığı ilk günden uzun süreli stabilite testleri için hazırlanan büyük ölçekli formülasyonların

stabilite testlerinin sona erdiği son güne kadar kontrol edildi. Uzun süreli stabilite testleri için oda koşulu (25°C, %60 nem), etüv (40°C ±2°C, %75 76 nem) ve buzdolabında (5°C ± 2°C) bekletilen numunelerin 1. gün, 1. ay, 2. ay sonunda renk, koku ve görüntü değerlendirmeleri yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Nanoemülsiyonların Stabilite Sonuçları

4.1.1. Santrifüj Testi

Yapılan ön formülasyon çalışmalarında tablo 3-2, tablo 3-3, tablo 3-4, ve tablo 3-5'te görülen formülasyonlar ön stabilite çalışmaları için santrifüj testine tabi tutulmuş ve santrifüj süresinin sonunda bu formülasyonlarda sedimantasyon oluşumu ile karakterize stabilite sorunu gözlenmiştir. Santrifüj testi sonucu stabilitesi bozulmuş olan bu formülasyonlar ile çalışmalara devam edilmemiştir. Tablo 3-5, tablo 3-6, tablo 3-7 ve tablo 3-8'de yer alan formülasyonlarda ise santrifüj testine maruziyet sonucunda herhangi bir stabilite problemi gözlenmemiştir. Bu nedenle de uzun süreli stabilite testleri için çalışmalara bu formülasyonlar ile devam edilmiştir.

4.1.2. Termal Test

Yapılan ön formülasyon çalışmalarından tablo 3-2, tablo 3-3, tablo 3-4, ve tablo 3-5'te yer alan formülasyonlarda, stres testlerinden termal test uygulaması sonrası bazı stabilite problemleri gözlenmiştir. Bu formülasyonlarda kremalaşma ve faz ayrımı oluşumu gibi stabilite problemleri gözlenmiştir ve bu nedenle uzun süreli stabilite çalışmalarına devam öncesinde bu aşamada elenmişlerdir. Tablo 3-6, tablo 3-7, tablo 3-8 ve tablo 3-9'de çalışılan ön formülasyonlar ise termal test sonucu stabil kalmış; herhangi bir faz ayrımı, kremalaşma ve sedimantasyon oluşumu gözlenmediği için uzun süreli stabilite çalışmalarına bu tabloda yer alan formülasyonlar ile devam edilmiştir.

4.1.3. Formülasyon ÜzerindeKaprilik/Kaprik Trigliserid, Yağ Miktarı ve Ön Karıştırmanın Etkisi

Ön formülasyon denemeleri yağ fazındaki bileşenlerin dağılımını ve homojenitesini arttırmak için kullanılanKaprilik/kaprik trigliseridin farklı konsantrasyonları ile yapılmıştır. Kaprilik/kaprik trigliseridin tüm formülasyon içeriğine göre %6,79; %3,45; %1,79; %0,79olacak şekildeki dört farklı konsantrasyonu denenmiştir. Bu konsantrasyon denemelerinde yağ fazının yüzey etken maddeye göre oranı sırası ile 1:2, 1:3, 1:4 ve 1:5 olmuştur. Kaprilik/kaprik trigliserid oranı ile orantılı olarak yağ fazı oranının azaldığı formülasyonlarda stres testleri sonrasında stabilitenin

negatif yönde ilerlediği, oda koşulunda (25°C, %60 nem) bekletilen formülasyonlarda kısmi faz ayrımı, homojenitede bozulma ve hafif derecede koalesans gibi bazı stabilite problemlerigörülmüştür. Bu nedenle uzun süreli stabilite testlerine yağ fazının yüzey etken maddeye göre oranının 1:2, 1:3 ve 1:4 kaprilik/kaprik trigliserid oranının %6,79;%3,45; %1,79 olduğu formülasyonlar ile devam edilmiştir.

Ayrıca ön formülasyon çalışmalarında bir kısım formülasyonlara ön karıştırma işlemi uygulanırken bir kısmına ön karıştırma işlemi uygulanmadı. Ön karıştırma işlemi uygulanan formülasyonlarda uzun süreli stabilite testlerinden organoleptik değerlendirmelerde oda koşulunda (25°C, %60 nem) stabilite problemleri gözlendiği ve ön karıştırmanın PDI ve partikül boyutu üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı için çalışmalara ön karıştırmasız formülasyonlar ile devam edilmiştir.

Tablo 4-1: Ön Stabilite Testlerinde Pluronic İçeren Formülasyonların Partikül Boyutu ve Polidispersite İndeksi (PDI)

Formülasyon Kodu	Ortalama Partikül Çapı (nm)	Polidispersite İndeksi (PDI)
PL68-F1P1	**91.92**	**0.108**
PL68-F1P2	**99.81**	**0.098**
PL68-F1P3	**115.8**	**0.034**
PL68-F1P4	**102.8**	**0.137**
PL68-F2P1	**78.95**	**0.042**
PL68-F2P2	**88.51**	**0.048**
PL68-F2P3	**86.59**	**0.067**
PL68-F2P4	**93.82**	**0.050**
PL68-F3P1	**196.8**	**0.044**
PL68-F3P2	**179.6**	**0.107**
PL68-F3P3	**209.1**	**0.014**
PL68-F3P4	**105.7**	**0.089**
PL68-F4P1	**109.3**	**0.034**
PL68-F4P1	**104.5**	**0.079**
PL68-F4P1	**105.9**	**0.055**
PL68-F4P1	**125.5**	**0.072**

Tablo 4-2: Uzun süreli stabilite çalışması için seçilen formülasyonlar

FORMÜLASYONLAR	PL68-F1P1	PL68-F1P2	PL68-F2P1	PL68-F2P2	PL68-F3P1	PL68-F3P2
BİLEŞENLER						
YAĞ FAZI						
Sarı kantaron ekstresi	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
DL-alfa tokoferol asetat	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
İzodesil neopentanoat	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Sensiva® PA 30	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	1	1	1	1	1	1
Kaprilik/kaprik trigliserid	0.679	0.679	0.345	0.345	0.179	0.179
SU FAZI						
Gilaburu ekstresi	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Ayı üzümü ekstresi	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Aloe vera esktresi	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Surfaktan (Pluronic F68)	1	1	1	1	1	1
Ph ayarlayıcı (%10'luk TEA ya da %10'luk Sitrik Asit çözeltisi)	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.	k.m.
Distile su	5.9	5.9	6.234	6.234	6.4	6.4
Ön karıştırma süresi	YOK	YOK	YOK	YOK	YOK	YOK
Ultrasonikasyon süresi	15dk	30dk	15dk	30dk	15dk	30dk

4.1.4. pH Ölçümleri Sonuçları

Uzun süreli stabilite testleri çalışmalarında belirli aralıklarla nanoemülsiyon formülasyonlarının pH değerlerine bakılmış ve sonuçlarına aşağıda yer alan tabloda (Tablo 4-3) yer verilmiştir.

Tablo 4-3: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait pH ölçümleri sonuçları

Formül	**pH**										
Kod		**5ºC±2**			**25ºC±2**			**40ºC±2 (%75 R.N)**			
	Başlangıç değeri	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**I-S**
PL68-F1P1	5.20	5	5.08	5.05	5.40	5.39	5.36	4.91	4.86	4.91	5.24
PL68-F1P2	5.30	5.15	4.94	5.13	5.09	4.91	4.96	4.98	5.08	5.12	4.61
PL68-F2P1	4.3	5.72	6.38	6.45	4.63	5.13	5.09	5.91	-	-	5.5
PL68-F2P2	5.18	5.29	5.29	5.39	6.45	6.36	6.36	4.26	-	-	4.80
PL68-F3P1	5.36	5.40	5.33	5.33	5.28	5.50	5.34	4.73	4.48	4.12	5.05
PL68-F3P2	5.48	5.45	5.21	5.18	5.42	5.26	5.17	4.27	3.96	3.60	5.20

4.1.5. İletkenlik Ölçüm Sonuçları

Uzun süreli stabilite testleri çalışmalarında belirli aralıklarla nanoemülsiyon formülasyonlarının iletkenlik değerlerine bakılmış ve sonuçlarına aşağıda yer alan tabloda (Tablo 4-4) yer verilmiştir.

Tablo 4-4: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait iletlenlik ölçüm sonuçları

Formül	**İletkenlik**									
Kod		**5ºC±2**			**25ºC±2**			**40ºC±2 (%75 R.N)**			
	Başlangıç değeri	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**I-S**
PL68-F1P1	40.1	34.7	38.7	37.6	38.7	38.7	38.2	47.9	48.6	50,2	42.8
PL68-F1P2	35.6	35.2	38.5	36.4	34.5	37.8	36.5	52.2	50.6	53,8	41.5
PL68-F2P1	48	40.1	50.1	58.7	47.6	68.5	65.1	57.3	-	-	62.4
PL68-F2P2	36.5	38.1	38.9	46.8	57.5	66.6	67.8	46.4	-	-	40.9
PL68-F3P1	37.0	37.3	39	41.5	38.4	42.2	43.5	41.4	45.8	52,5	40.3
PL68-F3P2	37.9	36.9	37.2	40.8	38.6	41.2	42.5	47.0	55.1	76,5	46.6

4.1.6. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli Ölçüm Sonuçları

Uzun süreli stabilite testleri çalışmalarında belirli aralıklarla nanoemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerlerine bakılmış ve sonuçlarına aşağıda yer alan tablo 4-5, 4-6 ve 4-7'da yer verilmiştir.

Tablo 4-5: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait damlacık boyutu ölçüm sonuçları

Formül	**Partikül Boyutu (nm)**									
Kod		**5ºC±2**			**25ºC±2**			**40ºC±2 (%75 R.N)**			
	Başlangıç değeri	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**I-S**
PL68-F1P1	191.2	216.9	247.2	246.4	248.8	418.1	426.2	544.7	466.2	478.8	429.2
PL68-F1P2	196.4	244.5	248.3	252.4	276.8	310.4	320.6	506.1	460.8	559.1	615.3
PL68-F2P1	205.2	211.7	278.3	263.4	272.6	290.8	287.9	524.8	-	-	513.2
PL68-F2P2	338.3	288.6	268.8	268.5	257.9	357.2	330.2	667.8	-	-	443.6
PL68-F3P1	194	204.7	266.5	263.9	243.3	286.4	347.7	477.4	-	-	437.8
PL68-F3P2	200.9	223.0	272.8	311.7	266.4	303	307	467.7	-	-	445.4

Tablo 4-6: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait polidispersite indeksi (PDI) ölçüm sonuçları

Formül	Polidispersite İndeksi (PDI)									
Kod		5ºC±2			25ºC±2			40ºC±2 (%75 R.N)			
	Başlangıç değeri	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	I-S
PL68-F1P1	0.087	0.051	0.076	0.073	0.031	0.125	0.107	0.142	0.104	0.196	0.105
PL68-F1P2	0.177	0.177	0.051	0.068	0.129	0.148	0.119	0.178	0.149	0.394	0.266
PL68-F2P1	0.104	0.052	0.061	0.062	0.187	0.057	0.080	0.206	-	-	0.207
PL68-F2P2	0.382	0.264	0.133	0.106	0.166	0.285	0.164	0.310	-	-	0.142
PL68-F3P1	0.112	0.058	0.084	0.090	0.065	0.054	0.228	0.031	-	-	0.070
PL68-F3P2	0.068	0.030	0.162	0.203	0.156	0.100	0.211	0.173	-	-	0.086

Tablo 4-7: Uzun süreli stabilite çalışmalarına ait zeta potansiyeli ölçüm sonuçları

Formül	**Zeta Potansiyeli**									
Kod		**5ºC±2**			**25ºC±2**			**40ºC±2 (%75 R.N)**			
	Başlangıç değeri	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**1.ay**	**2.ay**	**3.ay**	**I-S**
PL68-F1P1	-12.1	-12.5	-12.5	-13.4	-16.9	-17.8	-16.5	-14.2	-16.8	17.3	-16
PL68-F1P2	-15.9	-13.6	-15.7	-14.8	-19.3	-17.9	-16.2	-15.8	-16.5	-16.8	-16.9
PL68-F2P1	-11	-14.8	-16.7	-25.2	-21.7	-19.9	-17.1	-20.7	-	-	-17.8
PL68-F2P2	-26.8	-19.4	-24.3	-24.4	-29.4	-33	-33.9	-18.4	-	-	-16.9
PL68-F3P1	-18.7	-18.2	-22.3	-22.1	-19.9	-20.8	-19.7	-22.6	-	-	-16.9
PL68-F3P2	-17.7	-16.2	-19.6	-23.6	-18.7	-16.9	-22.1	-20.2	-	-	-20

4.1.7. Viskozite Ölçüm Sonuçları

Uzun süreli stabilite testleri çalışmalarında belirli aralıklarla nanoemülsiyon formülasyonlarının viskozite değerlerine bakılmış ve sonuçlarına aşağıda yer alan tablo 4-8, 4-9, 4-10, 4-11, 4-12 ve 4-13'de yer verilmiştir.

Tablo 4-8: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %6,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F1P1 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları

Hız (rpm)	**PL68-F1P1**										
	1.GÜN	1.AY			2.AY			3.AY			I-S
	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	I-S
70	6.35	6.85	7.19	7.01	7.47	10.84	7.38	7.75	7.01	7.08	7.57
75	7.32	7.32	7.67	7.06	8.11	10.90	7.25	7.85	7.67	7.16	8.28
80	7.19	7.03	7.28	6.79	7.52	10.79	7.24	7.52	7.52	7.15	7.77
85	7.16	6.92	7.31	6.77	7.62	10.69	7.22	7.54	7.46	7.13	7.85
90	6.98	6.90	7.19	6.69	7.56	10.46	7.26	7.34	7.27	7.08	7.78
95	6.88	6.88	7.09	6.68	7.50	10.40	7.30	7.37	7.30	7.15	7.85
100	6.87	6.80	7.06	6.61	7.39	10.33	7.39	7.39	7.32	7.16	7.72
105	6.91	6.79	7.04	6.79	7.29	10.15	7.31	7.35	7.16	7.14	7.54
110	6.78	6.78	7.08	6.60	7.31	10.11	7.36	7.25	7.13	7.09	7.55
115	6.71	6.77	7.05	6.60	7.11	9.95	7.24	7.11	7.17	7.10	7.51

Tablo 4-9: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %6,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F1P2 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları

Hız (rpm)	PL68-F1P2										
	1.GÜN	1.AY			2.AY			3.AY			I-S
	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	I-S
70	7.47	7.66	9.3	5.79	8.69	8.78	8.38	8.22	7.66	7.95	7.66
75	7.85	8.37	8.63	5.93	8.89	8.81	8.42	8.37	7.67	7.94	8.55
80	7.68	8.09	8.58	5.80	8.42	8.67	7.44	8.18	7.60	7.90	8.50
85	7.31	7.92	8.54	5.62	8.39	8.46	8.34	8	7.54	7.88	8
90	7.34	7.92	8.36	5.45	8.36	8.43	8.36	7.92	7.63	7.91	7.92
95	7.23	7.92	8.33	5.44	8.33	8.26	8.41	7.92	7.50	7.90	7.78
100	7.19	7.91	8.31	5.49	8.18	8.24	8.39	7.98	7.39	7.93	7.72
105	7.10	7.97	8.35	5.48	8.10	8.16	8.36	7.91	7.29	7.94	7.60
110	7.13	7.97	8.26	5.29	8.15	8.15	8.39	7.85	7.19	7.92	7.67
115	6.99	7.96	8.30	5.46	8.02	7.96	8.39	7.85	7.28	7.89	7.56

Tablo 4-10: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %3,45 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F2P1 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları

Hız (rpm)	PL68-F2P1										
	1.GÜN	1.AY			2.AY			3.AY			I-S
	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	I-S
70	5.79	6.35	7.75	6.26	4.67	6.63	6.42	6.63	6.63	6.58	6.17
75	6.98	6.63	9.16	6.80	4.80	6.80	6.48	6.71	6.54	6.60	6.89
80	6.87	6.38	8.99	6.54	4.90	6.87	6.52	6.54	6.38	6.58	6.38
85	6.77	6.39	7.16	6.39	4.69	6.54	6.50	6.54	6.31	6.58	6.54
90	6.47	6.39	8.65	6.25	4.87	6.83	6.49	6.47	6.32	6.60	6.47
95	6.54	6.33	9.36	6.33	5.03	6.88	6.48	6.47	6.26	6.61	6.26
100	6.47	6.28	10.66	6.41	5.04	6.74	6.51	6.44	6.28	6.60	6.21
105	6.48	6.23	8.03	6.42	5.17	6.85	6.51	6.48	6.29	6.58	6.10
110	6.18	6.30	9.81	6.18	5.11	7.13	6.50	6.30	6.18	6.58	6.12
115	6.20	6.26	9.84	6.31	5.23	6.82	6.53	6.37	6.14	6.60	6.03

Tablo 4-11: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %3,45 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F2P2 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları

Hız (rpm)	PL68-F2P2										
	1.GÜN	1.AY			2.AY			3.AY			I-S
	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	I-S
70	5.70	6.45	6.54	6.54	4.58	5.05	6.30	6.54	6.63	6.48	6.45
75	7.24	6.45	7.15	6.71	4.97	4.97	6.28	6.37	6.28	6.44	6.89
80	7.03	6.29	6.87	6.70	5.15	5.15	6.25	6.21	6.79	6.49	6.62
85	6.92	6.31	7.54	6.54	4.85	5.08	6.31	6.23	6.16	6.48	6.62
90	6.76	6.18	7.48	6.47	4.94	5.16	6.28	6.18	6.18	6.49	6.47
95	6.61	6.20	7.57	6.54	5.03	5.09	6.33	6.13	6.26	6.48	6.40
100	6.54	6.21	7.06	6.61	5.04	5.10	6.29	6.15	6.34	6.51	6.34
105	6.48	6.23	7.47	6.48	5.11	5.17	6.30	6.42	6.10	6.50	6.35
110	6.30	6.18	7.73	6.42	5.23	5.23	6.31	6.12	6.06	6.49	6.36
115	6.31	6.20	7.51	6.43	5.23	5.23	6.31	6.03	6.03	6.48	6.37

Tablo 4-12: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %1,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F3P1 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları

Hız (rpm)	PL68-F3P1										
	1.GÜN	1.AY			2.AY			3.AY			I-S
	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	I-S
70	5.51	5.79	5.79	5.79	4.67	4.11	4.11	6.35	6.73	5.70	5.14
75	5.67	6.10	6.37	5.76	4.88	4.80	4.27	6.19	6.45	5.67	5.93
80	5.40	5.97	5.89	5.64	4.90	4.58	4.33	6.21	6.62	5.64	5.56
85	5.46	5.77	5.85	5.69	4.92	4.77	4.39	6.08	6.46	5.62	5.62
90	5.30	5.74	5.81	5.67	5.16	4.65	4.58	5.89	6.39	5.60	5.74
95	5.23	5.78	5.78	5.65	5.23	4.75	4.68	5.92	6.33	5.58	5.44
100	5.62	5.69	5.69	5.56	5.23	4.90	4.64	6.08	6.28	5.60	5.43
105	5.48	5.73	5.67	5.54	5.29	5.05	4.86	5.98	6.29	5.54	5.23
110	5.53	5.77	5.77	5.53	5.29	4.99	4.93	5.83	6.18	5.47	5.29
115	5.57	5.74	5.74	5.52	5.29	5.06	4.83	5.86	6.15	5.40	5.29

Tablo 4-13: Uzun süreli stabilite çalışmalarında %1,79 Kaprilik/kaprik trigliserid içeren PL68-F3P2 formülasyonu viskozite ölçüm sonuçları

Hız (rpm)	PL68-F3P2										
	1.GÜN	1.AY			2.AY			3.AY			I-S
	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	5°C ±2°C	25°C ±2°C (%60 R.N.)	40°C ±2°C (%75 R.N.)	I-S
70	5.33	5.23	5.70	5.33	3.83	5.05	4.11	6.17	5.79	5.61	5.98
75	5.93	6.02	5.93	5.67	4.53	5.49	4.36	5.93	5.67	5.58	5.93
80	5.56	5.48	5.72	5.48	4.25	5.40	4.17	5.89	5.72	5.48	6.05
85	5.62	5.62	5.62	5.31	4.46	5.46	4.69	5.77	5.62	5.46	5.85
90	5.60	5.60	5.60	5.45	4.58	5.38	4.51	5.74	5.52	5.30	5.89
95	5.65	5.58	5.65	5.37	4.68	5.44	4.68	5.58	5.51	5.23	5.78
100	5.43	5.43	5.69	5.23	4.64	5.56	4.90	5.62	5.36	5.30	5.82
105	5.48	5.42	5.61	5.11	4.67	5.67	4.92	5.61	5.54	5.23	5.98
110	5.35	5.41	5.65	5.11	4.76	5.77	5.35	5.59	6.30	5.23	5.95
115	5.35	5.35	5.69	5	4.83	5.69	5.23	5.63	5.18	5.18	5.91

4.1.8. Organoleptik İncelemelere Ait Sonuçlar

Uzun süreli stabilite testleri çalışmalarında belirli aralıklarla nanoemülsiyon formülasyonlarının organoleptik incelemeleri yapılmıştır. Bu doğrultuda formülasyonlara ait görüntü, renk ve koku gibi özellikleri kontrol edilmiş ve değerlendirilmiştir. 5°C ±2°C (buzdolabı) ve 40°C ±2°C (iklimlendirme kabini) sıcaklıklarında bekletilen formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra organoleptik değerlendirmeleri yapıldı. İnceleme sonuçlarını belirtmek için aşağıdaki

kısaltmalar kullanıldı. Sonuçlara aşağıda yer alan tablo 4-14, tablo 4-15 ve tablo 4-16'da yer verildi.

Görünüm değerlendirme: Homojen (H), Kısmen Homojen (KH), Kısmi Faz Ayrımı (KFA), Tam Faz Ayrımı (TFA), Sedimentasyon (S).

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

Koku Değerlendirme: Karakteristik (K).

Tablo 4-14: Uzun süreli stabilite çalışmalarındaki görünüm sonuçları

Formül	**Görünüm**									
Kod	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C			25°C ±2°C (%60 R.N.)			40°C ±2°C (%75 R.N.)		
	1. GÜN	1. AY	2. AY	3. AY	1. AY	2. AY	3. AY	1. AY	2. AY	3. AY
PL68-F1P1	H	H	H	H	KH	KH	KH	KH	KH	KH
PL68-F1P2	H	H	H	H	KH	KH	KH	KH	KH	KH
PL68-F2P1	H	H	H	H	KH	KH	KH	KH	KH	KH
PL68-F2P2	H	H	H	H	KH	KH	KH	KH	KH	KH
PL68-F3P1	H	H	H	H	KH	KH	KH	KH	KH	KH
PL68-F3P2	H	H	H	H	KH	KH	KH	KH	KH	KH

Tablo 4-15: Uzun süreli stabilite çalışmalarındaki renk sonuçları

Formül	**Renk**									
Kod	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C			25°C ±2°C (%60 R.N.)			40°C ±2°C (%75 R.N.)		
	1. GÜN	1. AY	2. AY	3. AY	1. AY	2. AY	3. AY	1. AY	2. AY	3. AY
PL68-F1P1	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
PL68-F1P2	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
PL68-F2P1	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
PL68-F2P2	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
PL68-F3P1	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
PL68-F3P2	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR

Tablo 4-16: Uzun süreli stabilite çalışmalarındaki koku sonuçları

Formül	**Koku**									
Kod	25°C ±2°C (%60 R.N.)	5°C ±2°C			25°C ±2°C (%60 R.N.)			40°C ±2°C (%75 R.N.)		
	1. GÜN	1. AY	2. AY	3. AY	1. AY	2. AY	3. AY	1. AY	2. AY	3. AY
PL68-F1P1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
PL68-F1P2	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
PL68-F2P1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
PL68-F2P2	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
PL68-F3P1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
PL68-F3P2	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Cilt renginde anormal bir koyulaşma olarak kendini gösteren hiperpigmentasyon vücudun farklı bölgelerinde, güneşe maruz kalma, yaşlanma, hormonal değişiklikler ve bazı ilaçların kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Hiperpigmentasyon problemi, cilde asıl tonunu veren melanositlerin fonksiyonları ve sayıları ile alakalı artış ve derinin rengini oluşturan diğer maddelerin birikmesi ve buna bağlı olarak cilt renginde ortaya çıkan koyulaşma ile karakterizedir. Hiperpigmentasyon, cilt rengindeki koyulaşmanın farklı seviyelerinde görülebilir. Bazı durumlarda, lekeler küçük ve belirsiz olabilirken, diğer durumlarda daha belirgin olabilirler. Pigment bozuklukları da, cildin normal pigmentasyonunun bozulması olarak tanımlanabilir ve genellikle genetik nedenler, cilt hastalıkları veya enfeksiyonlar, yanıklar ve diğer yaralanmalar gibi faktörlerle ilişkilidir ve toplum içinde dermatolojik şikayetler arasında 3. sırada yer alır (Plensdorf ve Martinez 2009).

Güneşe maruz kalmak, birçok kişinin en yaygın hiperpigmentasyon nedenidir. Uzun süreli güneş maruziyeti, cilt hücrelerindeki melanin üretimini artırır ve ciltte koyu lekelerin oluşmasına neden olur. Güneş ışığına maruz kalmak, cildin yaşlanmasını da hızlandırabilir ve güneş ışınlarının zararlı UV ışınları kansere yol açabilir. Hormonal değişiklikler de hiperpigmentasyona neden olabilir. Gebelik, doğum kontrol hapları veya hormon replasman tedavisi gibi durumlarda, hormonlar melanin üretimini artırabilir ve ciltte koyu lekelerin oluşmasına neden olabilir. Pigment bozuklukları, cildin normal pigmentasyonunun bozulmasıdır. Genellikle, bu tür bozukluklar, melanin üretimindeki anormalliklerden kaynaklanır. Albinizm gibi genetik pigment bozuklukları, vücudun pigment üretme yeteneğini tamamen kaybetmesine neden olabilir. Diğer pigment bozuklukları, cilt hastalıkları, enfeksiyonlar, yanıklar ve diğer yaralanmalarla ilişkili olabilir (Plensdorf ve Martinez 2009).

Günümüzde hiperpigmentasyon ve pigment bozuklukları tedavi edilebilir. Tedavi seçenekleri, lezyonların şiddeti ve cilt tipine göre değişebilir. Güneşe maruz kalmadan kaçınmak, güneş koruyucu kullanmak ve cildi nemli tutmak gibi önlemler, hiperpigmentasyonun oluşumunu önlemeye yardımcı olabilmektedir. Tedavi yöntemleri, hiperpigmentasyonun nedenine, tipine ve cildin hassasiyetine göre değişkenlik göstermekle birlikte bunlar arasında en yaygın olanlarından biri, topikal ajanların kullanımıdır. Bu ajanlar, hiperpigmentasyonun nedenini ortadan kaldırmak

için melanin üretimini engelleyen veya cildin üst tabakasını soyarak pigmentasyonun azalmasını sağlayan maddeler içerebilir. Topikal tedaviler arasında hidrokinon, azelik asit, retinoidler, kojik asit, arbutin, C vitamini ve niyasinamid gibi bileşikler yer alır. Kimi zaman, hiperpigmentasyonun nedeni güneş ışınlarına maruziyet olduğunda, fotokimyasal yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemlerde, ciltteki kahverengi lekeleri yok etmek için lazer veya yoğun ışık kullanır. Bu yöntemler, yüksek maliyetli olabilmekte ve fakat etkili sonuçlar sağlayabilmektedirler. Hiperpigmentasyonun tedavisi için diğer bir seçenek de kimyasal peelingdir. Bu yöntemde, ciltteki üst tabaka kimyasal bir ajan ile soyulur ve pigmentasyonun azaltılmasına yardımcı olur. Kimyasal peeling ayrıca, ciltteki kırışıklıkların ve akne izlerinin azaltılmasına da yardımcı olabilir. Son olarak, bazı durumlarda, hiperpigmentasyonun tedavisi için dermabrazyon veya mikrodermabrazyon gibi prosedürler kullanılabilir. Bu prosedürler, cildin üst tabakasını soyarak pigmentasyonun azalmasına yardımcı olur (Perez-Bernal ve ark. 2000).

Ancak, yukarıda bahsedilen yöntemler yüksek maliyet, ciltte kalıcı hasar bırakma, iritasyon, kızarlıklık, karsinogenez ve okronozis gibi bir takım yan etki ve güvenlik problemleri barındırmaktadır. Bu nedenle bazı doğal özler içeren geliştirilmiş formülasyonlar aracılığı ile mevcuttaki yan etki ve güvenlik problemlerini en aza indirgemeyi amaçlayan çalışmalar yapılmaktadır. Bu kapsamda literatürde etkinlikleri kanıtlanmış Viburnumopulus L. (gilaburu), Arctostaphylosuva-ursi L (ayı üzümü), Aloebarbadensis (aloevera) ve Hypericumperforatum (sarıkantaron) bitkileri hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmaktadır.

Yapılan araştırmalarda antioksidan özellikleri ile bilinen Viburnum opulus L. (gilaburu) bitkisinin hiperpigmentasyon tedavisinde önemli bir rol oynadığı görülmüştür. Gilaburu bitkisinde bulunan flavonoidlerin melanin sentezini engellediği gözlemlenmiş ve ayrıca meyve içerdiğinde yer alandiğer fenolik bileşikler ve antosiyaninlerin hiperpigmentasyonun tedavisinde potansiyel bir doğal kaynak olarak görülmesine neden olmuştur (Kang ve ark. 2015). Hiperpigmentasyonda, flavonoidlerin tirozinaz inhibisyonun yanı sıra, antioksidan özelliklerinden de bahsedilmektedir. Bu antioksidan etki, serbest radikallerin neden olduğu cilt hasarını önlemeye yardımcı olur. Ayrıca, anti-inflamatuar etkinlik sağlayarak cilt sağlığını korur. Doğal bir kaynak olması nedeniyle, çoğu insan için güvenlidirler ve fakat yine de bazı insanlarda alerjik reaksiyonlara neden olabilirler. Bunun yanı sıra, bazı flavonoidlerin cilt tarafından emilimi düşük olması nedeniyle etkileri sınırlı kalabilmektedir (Kang ve ark. 2015).

Ayrıca Viburnum opulus L. içerğinde bir glikolizasyon bileşiği olan arbutin deyer almaktadır. Arbutin, antioksidan özellikleri ve melanin oluşumunu azaltma özelliği nedeniyle hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmaktadır. Arbutin, ciltte melanin sentezinde kritik bir rol oynayan bir enzim olantirozinaz enziminin katalitik aktivitesini inhibe ederek melanin üretimini azaltır (Kraujalyte ve ark. 2013).

Arctostaphylos uva-ursi L (ayı üzümü) de özellikle yapraklarında arbutin bileşenini taşır. Arbutin, Ayı Üzümü bitkisinin yapraklarında doğal olarak bulunan bir bileşen olup kozmetik endüstrisinde cilt beyazlatıcı ürünlerde sıklıkla kullanılır. Arbutinin, kojik asit ve gilaburu gibi bazı farklı bitkisel kaynaklı doğal bileşenler ile sinerjistik etki gösterdiği de görülmüştür. Arbutin ve kojik asit kombinasyonu, tirozinaz enzim aktivitesini iki farklı şekilde inhibe etmektedir. Bu ikili kombinasyon, tirozinazın katalitik bölgelerine bağlanarak, enzim aktivitesini inhibe etmekte ve ayrıca tirozinaz enziminin gen ekspresyonunu engelleyerek, enzimin protein seviyesini ve buna bağlı olarakenzim aktivitesinide azaltarak melanin sentezi engellenmiştir (Lee ve ark. 2010).

Cilt üzerinde birçok olumlu etkiye sahip olduğu bilinen Aloe barbadensis (aloevera), içeriğinde yer alan aloin bileşiği ile hiperpigmentasyon tedavisinde etkinlik sağlamaktadır. Aloin de, tirozinaz enzimini inhibe ederek melanin üretimini azaltır ve bu şekilde hiperpigmentasyonda etki gösterir. Aloe vera bitkisi, içeriğindeayrıca yer alan, tirozinaz enziminin doğal substratı olan tirozin amino asidine benzer bir kimyasal yapıya sahip olan aloesin ve ayrıca barbaloind gibi bileşenler ile hiperpigmentasyon tedavisindeki etkinliğe ek olarak anti-inflamatuar, antioksidan, nemlendirici ve cilt yenileyici özellikler de sağlar. Ancak, aloin içeren ürünlerin aşırı kullanımı ciltte tahrişe neden olabilmektedir (Nadkarni 1976).

Hypericum perforatum (sarıkantaron), yaygın olarak bilinen adıyla sarıkantaron, hiperpigmentasyon tedavisinde etkili olan bileşenler arasında, hiperisin ve psödohiperisin içermektedir. Hiperisin ve psödohiperisin gibi bileşenler, yaprak ve çiçeklerde daha yüksek seviyelerde bulunurken, bitki içeriğinde ayrıca yer alan flavonoidler ise bitkinin yaprak kısımlarında daha yüksek düzeylerde yer alır. Bu bileşenler, tirozinaz ve TRP-1 olarak bilinen melanogenezis protein ekspresyonunu inhibe eder veayrıca, ciltte kollajen üretimini artırarak, hücrelerinin yenilenmesine ve cildin daha genç görünmesine katkı sağlar (Sánchez ve ark. 2002).

Damlacık boyutu ortalama olarak 100-500 nm arasında değişkenlik gösteren dispers nanoemülsiyon sistemlerinin S/Y (yağ içinde su) ve Y/S (su içinde yağ) şeklinde

formları üretilebilmektedir (Lovelyn ve Attama 2011). Nano boyuttaki damlacıklar nanoemülsiyon sistemleri içerisinde çok iyi dağılım göstermekte ve üretim sonrası çökme, koalesans, kremalaşma gibi stabilite problemleri oluşturmadıkları için de kimya, ilaç ve kozmetik sanayinde gün geçtikçe daha sık tercih edilir olmuşlardır (Chime ve ark. 2014 pp. 88-89).

Nanoemülsiyonlar, hidrofilik baş ile su fazına, lipofilik kuyruk ile de yağ fazına bağlanarak ara yüzey basıncını azaltan ve farmasötik olarak da güvenli kabul edilen sürfaktanlar kullanılarak hazırlanmaktadırlar. Bu sayede uzun süre stabil kalabilen homojen yapılara sahip formülasyonların üretimi gerçekleştirilebilmektedir (Ganta ve ark. 2014).

Nanoemülsiyonlar pek çok anlamda avantajlar barındırmaktadır. Nano boyuttaki damlacıklar ile deriden anlamlı bir emilim gerçekleşmekte ve ürün içeriğinde yer alan etken madde bozunmaya uğramadan etkili ve güvenli bir şekilde istenilen katmana hedeflenebilmektedir. Topikal kullanım niteliğine sahip krem, losyon, sprey, köpük gibi birçok farmasötik form nanoemülsiyon şeklinde üretilebilmektedir (Sharma ve Sarangdevot 2012).

Yapılan tez çalışmasında, hiperpigmentasyon problemi yaşayan kişiler için literatürde etkinlikleri kanıtlanmış olan Viburnum opulus L. (gilaburu), Arctostaphylosuva-ursi L (ayı üzümü), Aloebarbadensis (aloevera) ve Hypericumperforatum (sarıkantaron) bitki ekstreleri ile hazırlanan topikal kullanıma uygun nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmış, stabil bir formülasyon elde edebilmek için çeşitli denemeler yapılmıştır.

Tez çalışması kapsamında hazırlanan Y/S (su içinde yağ) nanoemülsiyonları için yöntem olarak yüksek enerji gerektiren ultrasonikatörler kullanılmıştır. Yapılan literatür araştırmalarında, ultrasonikasyon yöntemi ile nanoemülsiyon hazırlama proseslerinde ön karıştırma prosedürü uygulandığı görülmüş ve farklı zaman aralıklarında yapılan çalışmalar incelenmiştir (Ghosh ve ark. 2013; Hosseini ve ark. 2015).

Yapılan bu tez çalışmasında, ultrasonikatör bant genişliği %50 olarak ayarlanmış, ultrasonikasyon amplitüt ayarı ise 30 saniye açık 30 saniye kapalı olarak uygulanmıştır. Nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanırken dört farklı prosedür ile çalışılmıştır. İlk olarak 8100 rpm hız ile mekanik karıştırıcıda 5 dakika ön karıştırma, sonra 15 dakika ultrasonikasyon; ikincil olarak 8100 rpm hız ile mekanik karıştırıcıda 5

dakika ön karıştırma, sonra 30 dakika ultrasonikasyon; üçüncül olarak sadece 15 dakika ultrasoniksasyon ve son olarak sadece 30 dakika ultrasonikasyon uygulanmıştır.

Nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanırken hiperpigmentasyon tedavisi ile alakalı etkinllik göstermesi beklenen bitkisel ekstrelerden gilaburu ekstresi %5, ayı üzümü ektresi %4 ve aleo vera ekstresi %2 oranlarında kullanılmıştır. Çözünme ortamı için bütün bu bitkisel ekstreler için iyi bir çözücü olan su kullanılmıştır.

Formülasyonlar için yüzey etken madde olarak literatür çalışmalarından yola çıkılarak Cremophor A25 ve Pluronic® F 68 kullanılmış ve farklı formülasyon denemeleri yapılmıştır. Kosurfaktan olarak Transcutol HP ile çalışılmıştır (Kildaci ve ark. 2021). Surfaktan/kosurfakton oranı 1:1 olarak belirlenmiştir. Formülasyon içeriğinde yer alan toplam yüzey etken madde oranı ise %20 olarak belirlenmiştir. Yüzey etken madde olarak Pluronic® F 68 kullanılarak yürütülen çalışmaların daha başarılı olduğu görülmüş ve bu nedenle çalışmalara Pluronic® F 68 kullanılarak hazırlanan formülasyonlar ile devam edilmiştir. Yağ fazı olarak sarı kantaron ekstresi, Caprylic Capric Triglyceride, DUB VCI 10 (Isodecyl Neopentanoate), Vitamin E (DL-alfa tokoferol asetat) ve koruyucu olarak Sensiva PA 30 kullanılmıştır. Önformülasyon denemelerinin bir kısmı kaprilik/kaprik trigliserid oranı düşürülerek çalışılmıştır. Yağ fazının yüzey etken maddeye oranının 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 olduğu formülasyonlar denenmiştir.

Formülasyonlar hazırlandıktan sonraki ilk aşamada tüm formülasyonlara öncelikle santrifüj testi, daha sonra da termal dayanıklılık testi uygulanmıştır. Öncelikli olarak yapılan santifüj testini geçen formülasyonlara termal test uygulanmıştır. Yapılan bu her iki testi geçen formülasyonların pH değeri, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, viskoziteleri ölçülmüş ve organoleptik incelemeleri yapılmıştır.

Başlangıç aşamasında yapılan stres testleri sonuçlarında Pluronic® F 68 içeren formülasyonların Cremophor A 25'e kıyasla daha stabil nanoemülsiyonlar oldukları görülmüştür. Sürfaktan olarak seçilmiş olan Cremophor A 25'in formülasyon içeriğinde yer alan bir etkin madde veya yardımcı madde ile geçimsiz olabileceği düşünülmüş ve bu nedenle sonraki çalışmalara Pluronic® F 68 içeren nanoemülsiyon formülasyonları ile devam edilmiştir.

Ön formülasyon çalışmalarında yağ fazındaki bileşenlerin dağılımını ve homojenitesini arttırmak için kullanılanKaprilik/kaprik trigliseridin tüm formülasyon içeriğine göre %6,79; %3,45; %1,79; %0,79 olacak şekildeki dört farklı konsantrasyonu

denenmiştir. Bu konsantrasyon denemelerinde yağ fazının yüzey etken maddeye göre oranı sırası ile 1:2, 1:3, 1:4 ve 1:5 olmuştur. Kaprilik/kaprik trigliserid oranı ile orantılı olarak yağ fazı oranının azaldığı formülasyonlarda stres testleri sonrasında stabilitenin negatif yönde ilerlediği, oda koşulunda (25°C, %60 nem) bekletilen formülasyonlarda kısmi faz ayrımı, homojenitede bozulma ve hafif derecede koalesans gibi bazı stabilite problemlerigörüldüğü sonucuna varılmış, uzun süreli stabilite testlerine yağ fazının yüzey etken maddeye göre oranının 1:2, 1:3 ve 1:4 kaprilik/kaprik trigliserid oranının %6,79; %3,45; %1,79 olduğu formülasyonları ile devam edilmesi kararı verilmiştir.

Ayrıca ön formülasyon çalışmalarında, ön karıştırma işlemi uygulanan formülasyonların uzun süreli stabilite testlerinden organoleptik değerlendirmelerinde, oda koşulunda (25°C, %60 nem) stabilite problemleri gözlendiği ve ön karıştırmanın PDI ve partikül boyutu üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür ve ön karıştırma prosesi formülasyon oluşturma işlemleri aşamasından kaldırılmıştır.

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlarının pH değerleri üç farklı koşulda muhafaza edilerek ölçülmüş, 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda bakılan pH değerlerinde genel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Stabilite testleri içinde bir diğer önemli parametre viskozite ölçüm sonuçlarıdır. Hazırlanan formülasyonların 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda viskozite değerlerine bakılmıştır. Sıvı sistemler olan bu nanoemülsiyon formülasyonlarının düşük viskozite değerlerine sahip oldukları görülmüştür. 3. Ayın sonunda önemli bir viskozite değişimine rastlanmamıştır.

Nanoemülsiyon dış fazının belirlenmesi ve stabilite değerlendirmesi için yapılan bir diğer stabilite testi iletkenlik ölçümüdür. Hazırlanan formülasyonlar Y/S tipinde dış fazın su olduğu sistemler olması sebebi ile yüksek iletkenliğe sahiptirler.

Nanoemülsiyonlar ortalama olarak 100-500 nm arasında damlacık boyutuna sahip sistemlerdir. Hazırlanan formülasyonların 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda partikül boyutlarına bakılmış ve ölçülen değerlerin sonuç olarak bu aralığın dışına çıkmadığı görülmüştür. Nanoemülsiyon dispers sistemlerinde homojenite, polidipersite indeksi ölçüm sonuçları ile değerlendirilmektedir. Polidispersite indeksi 0-1 değer aralığına sahip olup, bu değerin 0,3'ün altında olması sistemin homojen olduğu sonucuna götürmektedir (He ve ark. 2011). PL68-F2P2 kodlu formülasyonda başlangıç değeri 0,382; PL68-F1P2 kodlu formülasyonun iklimlendirme kabininde (40^{o}C±2 ^{o}C (%75 R.N)) 3. aydaki değeri ise 0,394 olarak ölçülmüş; uzun süreli stabilite testleri için

seçilen Tablo 4-2'de yer alan geri kalan formülasyonlarda polidispersite indeksi değerlerinin 0,3'ün altında kaldığı görülmüştür. Bununla birlikte damlacık boyutu ve PDI'nın iklimlendirme kabini (40°C ± 2°C, %75 nem) koşullarında artış eğilimi gösterdiği ve nanoemülsiyon karakteri ile alakalı bozulmalar meydana geldiği gözlenmiştir. Zeta potansiyeli partiküllerin yüzey yükü değerlerinin ve koalesans görülmesini önleyen itme kuvvetini gösteren bir değer olup stabilite testleri arasında önemli bir yere sahiptir (Teo ve ark. 2015). Tablo 4-2'de yer alan formülasyonlarda zeta potansiyel değerleri ise -11 ile -29,4 arasında bulunmuştur. En iyi formülasyon olduğu düşünülen %10 Pluronik içeren PL68-F1P1 kodlu formülasyonun 3. ay sonunda buzdolabı koşulundaki damlacık boyutu 246,4ve PDI değeri ise 0,073 olarak ölçülmüştür.

Uzun süreli stabilite takibinde 3 farklı koşulda bulunan formülasyonlar 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ay sonunda organoleptik açıdan değerlendirilmiştir. İlk gün oda koşulunda bütün formülasyonlar homojen bir görünüm göstermiştir. 1. ay, 2. ay ve 3. ay sonunda buzdolabı koşulundaki bütün formülasyonlar homojen kalmaya devam ederken, oda sıcaklığı ve etüv koşulunda bulunan formülasyonlarda homojenitede bozulmalar meydana gelmiş; kısmen homojen bir görünüm ortaya çıkmıştır. 1. gün, 1.ay, 2. ay ve 3. ay sonundaki koku ve renk değerlendirmelerinde oda sıcaklığı, buz dolabı ve iklimlendirme kabininde yer alan bütün formülasyonlarda koku karekteristik; renk ise süt rengi olarak görülmüş ve bu şekilde stabil kalmıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında hazırlanan nanoemülsiyonların uzun süreli stabilite takibinde yapılan çalışmalar sonucunda formülasyonlarda oda koşulunda (25°C ± 2°C, %60 nem) ve iklimlendirme kabininde (40°C ± 2°C, %75 nem) stabilite açısından homojenitede bazı bozulmalar olduğu, buzdolabı (5°C ± 2°C) koşulunda ise homojen kaldığı görülmüştür.

Bütün bu veriler değerlendirildiğinde, %5 gilaburu ekstresi, %4 ayı üzümü ektresi ve %2 aleo vera ekstresi içeren; yağ fazının yüzey etken maddeye göre oranının 1:2; kaprilik/kaprik trigliserid oranının %6,79 olduğu; %10 Pluronik %10 Transcutol HP içeren yağ fazı oranı %5 olan PL68-F1P1 kodlu formülasyonun buzdolabı koşulunda stabil kalan en iyi formülasyon olduğu ve hiperpigmentasyon probleminin tedavisi için geliştirilecek ürünler konusunda yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ablon, G. (2018). Dermabrasion and Microdermabrasion. *Aesthetic Surgery Journal, 38(2),* 195–205. https://doi.org/10.1093/asj/sjx218

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

3. Annisimov, Y.G., Jeeps, O.G., Dancik, Y. ve Roberts, M.S. (2013). Mathematical and pharmacokinetic modelling of epidermal and dermal transport process. *Adv. Drug Del.Rev,* 65(2), 169-190.

4. Avram, A.S., Avram, M.M. ve James, W.D. (2005). Subcutaneous fat in normal and diseased states: 2. Anatomy and physiology of white and brown adipose tissue. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53(4), 671-683.

5. Augustin M.A. ve Sanguansri P. (2006). Nanoscale materials development - a food industry perspective. *Trends in Food Science & Technology*, *17(10),* 547-556.

6. Baron, R. (2013). *Medical Physiology* (2nd ed.). ElsevierHealthSciences.

7. Bhat Y., Manzoor S., Rohi Wani (2012). Macular Amyloidosis in Kashmiri Females. *Basic Research Journal of Medicine and Clinical Sciences ISSN 2315-6864 Vol. 1(3),* pp. 43-46.

8. Buzoğlu, H. (2020). *Deri ve Derinin Yapısı.* Erişim tarihi: 28.05.2020, https://www.hakanbuzoglu.com/deri-ve-derinin-yapisi

9. Caccialanza, M., Percivalle, S., Piccinno, R., Brambilla, L. Ve Venturini, M. (2016). *Cosmelan for facial hyperpigmentation: a retrospective analysis. Journal of cosmetic dermatology, 15(2),* 166-173. https://doi.org/10.1111/jocd.12194

10. Cardinali, G., Kovacs, D., & Picardo, M. (2012). Mechanisms underlying post-inflammatory hyperpigmentation: lessons from solar lentigo. *In Annales de dermatologie et de venereologie Vol. 139*, pp. S148-S152. Elsevier Masson.

11. Chime, S. A., Kenechukwu, F. C. ve Attama, A. A. (2014). *Nanoemulsions - advances in formulation, characterization and applications in drug delivery* (Vol. 3, pp. 77-126). chapter.

12. Costescu, M., Ghiorghiscan, R., Miulescu, R., Grigore, M., Coman, O.A., Georgescu, S.R. (2017). Riehl melanosis triggered by cleaning agents.*DermatoVenerol. (Buc.), 62*, 25-33

13. Çetin, B., Şahin-Nadeem, H., ve Topçu, G. (2004). Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of Viburnum opulus L. fruit from Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis, 17(1),* 99-106.

14. Davenport, S. G. (2006). İntegumentary System. *Anatomy and Physiology Text and Laboratory Workbook.*

15. Davis E.C. ve Callender V.D. (2010). Postinflammatory Hyperpigmentation: A Review of the Epidemiology, Clinical Features, and Treatment Options in Skin of Color. *J Clin Aesthet Dermatol. 3(7),* 20-31. PMID: 20725543.

16. Debnath, S., Satayanarayana, J. ve Vijay Kumar, G. (2011). Nanoemulsion-a method to improve the solubility of lipophilic drugs. *Pharmanest- Int. J. Adv. Pharm. Sci., 2(2-3),* 72-83.

17. Değim, T. (2007). Deriden Emilim ve Deriye Uygulanan Yarı Katı Preparatlar. İçinde Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., Doğanay, T., Takka, S. ve Tırnaksız, F. *Modern Farmasötik Teknoloji.* (2.nci baskı). Ankara: Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 337-364.

18. Desmedt, B., Courselle, P., De Beer, J. O., Rogiers, V., Grosber, M., Deconinck, E., & De Paepe, K. (2016). Overview of skin whitening agents with an insight into the illegal cosmetic market in Europe. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 30(6),* 943-950.

19. D'Mello, S. A.,Finlay, G. J., Baguley, B. C. ve Askarian-Amiri, M. E. (2016). Signaling pathways in melanogenesis. *International Journol of Molecular Sciences, 15;17(7):1144.*

20. Ehrlich, H. P., Elpern, D. M., Rullan, L. J., & Gropper, R. J. (2010). Integumentary system. In J. A. Banks, R. A. Prior, & K. C. Sullins (Eds.), *Anesthesia for Veterinary Technicians* (pp. 95-105). Ames, IA: Wiley-Blackwell.

21. Eroschenko, V. P. (2008). DiFiore's atlas of histology with functional correlations. *Lippincott Williams & Wilkins.*

22. Fartasch, M.,Diepgen, T. L., &Seckmeyer, G. (2004). Skin barrier: stratumcorneumlipids. *International journal of cosmetic science,* 26(2), 87-98.

23. Feng, B., Zhang, T. ve Xu, H. (2013). Human adipose dynamics and metabolic health. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1281(1), 160-177.

24. Ganta, S., Talekar, M., Singh, A., Coleman, T.P. ve Amiji, M.M. (2014). Nanoemulsions in Translational Research—Opportunities and Challenges in Targeted Cancer Therapy. *AAPS PharmSciTech., 15(3),* 694–708.

25. Geerligs, M. (2010). Skin layer mechanics. Eindhoven: Technische Universiteit Eindhoven DOI: 10.6100/IR657803.

26. Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjee, A. ve Chandrasekaran, N. (2013). Cinnamon oil nanoemulsion formulation by ultrasonic emulsification: investigation of its bactericidal activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 13(1),* 114-122.

27. Goh, P.S., Ng, M.H., Choo, Y.M., Amru, N.B. ve Chuah, C.H. (2015). Production of Nanoemulsions from Palm-Based Tocotrienol Rich Fraction by Microfluidization. *Molecules, 20(11),* 19936-19946.

28. Grimes, K.A. (2002). Hyperpigmentation: etiologicandtherapeutic considerations. *AmericanJournal of ClinicalDermatology, vol. 3, no. 1,* pp. 7-19.

29. Grimes, P. E. (2018). Management of hyperpigmentation in darker racial ethnic groups. *Seminars in cutaneous medicine and surgery, 37(2),* 87-93.

30. Gupta, A. K. (2008). "Lasertreatment of hyperpigmentation," *Indian Journal of Dermatology, vol. 53, no. 3,* pp. 163-170.

31. Gupta, M.A. (2008). Hyperpigmentation: a review of thecurrentunderstanding of itspathogenesisandtreatment. *Journal of CutaneousandAestheticSurgery, vol. 1, no. 1,* pp. 2-8.

32. Halder, R. M., Grimes, P., McLaurin, C., Kress, D. W., Lee, H., Maloney, M., ... & Taylor, S. C. (2016). Lasers, light sources, and photodynamic therapy in the treatment of hyperpigmentation. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 35(4),* 204-208.

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

34. Hatziantonioua, S., Deli, G., Nikas, Y., Demetzos, C. ve Papaioannoua, G.T. (2007). Scanning electron microscopy study on nanoemulsions and solid lipid nanoparticles containing high amounts of ceramides. *Microscopy in Nanobiotechnology, 38(8),* 819-823

35. He, W., Tan, Y., Tian, Z., Chen, L., Hu, F. ve Wu, W. (2011). Food proteinstabilized nanoemulsions as potential delivery systems for poorly water-soluble

drugs: preparation, in vitro characterization, and pharmacokinetics in rats. *Int J Nanomedicine, 6,* 521–533.

36. Hosseini, S., Tarzi, B. G., Gharachorloo, M., Ghavami, M. ve Bakhoda, H. (2015). Optimization on the stability of linseed oil-in-water nanoemulsions generated by ultrasonic emulsification using response surface methodology (RSM). *Orient. J. Chem, 31(2),* 1223-1230

37. Irmak, M.K. (2010). Multifunctional Merkel cells: their roles in electromagnetic reception, finger-print formation, Reiki, epigenetic inheritance and hair form. *Med Hypotheses,* (75)2, 162-168.

38. İlyasoğlu, H. ve El, S. N. (2010). Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, yapıları ve kollodial salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. *Gıda, 35(2),* 143-150

39. Jablonska, S.,ve Szpaderska, A. (2006). Keratinizationdisorders. *Journal of the American Academy of Dermatology, 54(6),* 951-962.

40. James, W.D., Berger, T.G., Elston, D.M. ve Neuhaus I.M. (2016). *Andrews' diseases of the skin: Clinical dermatology.* (12th ed.). China: Elsevier, Inc.

41. Jannot A.S., Kammoun M.R. (2014 Mar). Non-invasive evaluation of facial lentigines: dermoscopy, digital dermatoscopy, and confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol;28(3)*:275-81. doi: 10.1111/jdv.12107. Epub 2013 Apr 22. PMID: 23600880.

42. J. F. E. Harper, "Treatment of Melasma and Other Hyperpigmented Lesions," American Journal of Clinical Dermatology, vol. 14, no. 5, pp. 341–347, 2013.

43. Jones K., Hughes J., Hong M., Jia Q. ve Orndorff S. (2002). Modulation of melanogenesis by aloesin: a competitive inhibitor of tyrosinase. *Pigment Cell Research 15:*335–40.

44. Kabashima K., Honda T., Ginhoux F., Egawa G. (2019). The immunological anatomy of the skin. *Nature Reviews Immunology*, 19(1), 19-30. doi:10.1038/s41577-018-0084-5

45. Kameyama, K. Sakai, C., & Funayama, S. (2003). Arbutin: Mechanism of itsdepigmentingaction in humanmelanocyteculture. *International Journal of MolecularMedicine*, 12(2), 231-235.

46. Kang, S. H., Kim, H. S., Kim, J. H. ve Kim, Y. C. (2015). Inhibitory effect of flavonoids isolated from Viburnum opulus on melanin synthesis. *Phytotherapy Research, 29(11),* 1719-1724.

47. Kaya, A. (2019). *Deri Nedir? Derinin Yapısı, Fonksiyonları ve Katmanları Nelerdir?* Erişim tarihi: 28.05.2020, https://www.tech-worm.com/deri-nedir-derinin-yapisi-fonksiyonlari-ve-katmanlari-nelerdir/

48. Kildaci, L., Budama-Kilinc, Y., Kecel-Gunduz, S. ve Altuntas, E. (2021). Linseed Oil Nanoemulsions for Treatment of Atopic Dermatitis Disease: Formulation, Characterization, In Vitro and In Silico Evaluations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 102652.

49. Kim, J. H., Park, J. H., Kim, Y. H., Park, M. K., Nam, T. G., Lim, D. S., Lee, D. H. (2013). "The anti-melanogeniceffect of Glycyrrhizaglabrarootextract," *Journal of Dermatological Science, vol. 69, no. 1*, pp. 33-39.

50. Kim, J. H., Moon, J. H., Kim, S. Y., Cho, S. K., Kim, Y. H., & Cho, K. H. (2014). The inhibitory effect of Arctostaphylos uva-ursi leaf extract on melanogenesis. *Journal of Ethnopharmacology, 151(1),* 813-819.

51. Kim, J. K. (2010). "Nanoemulsion: a novelapproachfor skin delivery," *Journal of Controlled Release, vol. 141, no. 3*, pp. 260-268.

Kolarsick, P. Kolarsick, M. ve Carolyn, G. (2011). AnatomyandPhysiology of the Skin. *Journal of theDermatology Nurses' Association, 3(4),* 203-213.

52. Kontochristopoulos, G. ve Kouris, A. (2018). Chemical Peels in Melasma and Postinflammatory Hyperpigmentation. *Dermatologic clinics, 36(4),* 399-406. https://doi.org/10.1016/j.det.2018.05.005

53. Kraujalyte V, Venskutonis PR, Pukalskas A, Cesoniene L. ve Daubaras R. Antioxidant properties and polyphenolic compositions of fruits from different European cranberrybush (Viburnum opulus L.) genotypes. Food Chemistry. 2013; 141: 3695–3702.

54. Lai-Cheong, J. E.&McGrath, J. A. (2013). Structureandfunction of skin, hairandnails. *Medicine, 41(6),* 317-320.

55. Lane, N. (2018). The skin barrier. *Scientific American*, 318(3), 36-41.

56. Larocca, C. A., Kundu, R. V., & Vashi, N. A. (2014). Physiologic pigmentation: Molecular mechanisms and clinical diversity. *Pigment International*, 1(2), 44.

57. Lee, A. Y.,& Kim, N. H. (2017). Diagnosis and treatment of melasma: a review. Journal of the American Academy of Dermatology, 77(4), 1-14.

58. Lee, J. H., Park, J. G., Kim, S. J. ve Choi, H. Y. (2010). Kojic acid and arbutin synergistically inhibit the melanogenesis and tyrosinase activity of B16F10 melanoma cells. *Biomolecules and Therapeutics, 18(2),* 204-207.

59. Li, P.H. ve Chiang, B.H. (2012). Process optimization and stability of d-limonene-in-water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. *Ultrason Sonochem, 19(1),* 192-197.

60. Li, X. ve Li, Y. (2015). Progress of genetic diagnosis of hereditary pigmented diseases. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 29(1),* 7-11

61. Liu, Y., Hong, Z., Tan, G., Dong, X., & Peng, D. (2017). Recent advances in tyrosinase inhibitors for melanin reduction and their pharmaceutical perspectives. RSC Advances, 7(1), 11-38.

62. Lovelyn, Ch. ve Attama, A.A. (2011). Current state of nanoemulsions in drug delivery. J. Biomat. Nanobiotech., 2, 626-639.

63. Lovelyn, Ch. ve Attama, A.A. (2011). Current state of nanoemulsions in drug delivery. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology, 2(5),* 626-639.

64. Maize, J. C. ve Saunder, T. (2005). The US Anti-Aging Market: Perspectives on Product Development and Consumer Demand. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants, 15(5),* 533-549.

65. Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B. ve Graves, S. M. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: condensed matter, 18(41),* R635.

66. Miot, L. D. B., Miot, H. A., Silva, M. G. D., & Marques, M. E. A. (2009). Physiopathology of melasma. *Anais brasileiros de dermatologia*, 84, 623-635.

67. Mishra, R.K., Soni, G.C. ve Mishra R.P. (2014). A review article on nanoemulsion. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(9),* 258- 274.

68. Nadkarni, K. M. (1976). *Indian Materia Medica*. Mumbai: Popular Prakashan.

69. Oresajo, A. S., "Efficacyandsafety of azelaicacid (15%) gel as a new treatment for postinflammatory hyperpigmentation in black patients," Journal of the American Academy of Dermatology, vol. 57, no. 5, pp. 789-797, 2007.

70. Oresajo, C., "Azelaic acid: new perspectives in thetreatment of hyperpigmentation and acne," *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology, vol. 1, no. 1*, pp. 20-25, 2007.

71. Özyılmaz E.D., Sayıner Ö., Çomoğlu T. (2019). Evaluation of Micro and Nanoemulsions in Pharmaceutical Aspect. *Journal of Literature Pharmacy Sciences, 9(1),* 65-76

72. Pandya A.G., Guevara I.L. (2006). Pigmentary Disorders.*American Family Physician*. *1*;73(5):841-8.

73. Park, E. J., et al. (2010). "The inhibitöry effects of Viburnum opulus L. on melanogenesis," *International Journal of Dermatology, vol. 49, no. 12*, pp. 1480-1488.

74. Park, K. C., Huh, S. Y., Choi, H. R. ve Kim, D. S. (2010). Biology of melanogenesis and the search for hypopigmenting agents. *Dermatologica Sinica, 28(2),* 53-58.

75. Perez-Bernal, A., Munoz-Perez, M. A. ve Camacho, F. (2000). Management of facial hyperpigmentation. *American journal of clinical dermatology, 1(5),* 261- 268

76. Plensdorf, S. ve Martinez, J. (2009). Common pigmentation disorders. *American family physician, 79(2),* 109-116.

77. Puglia, C., Rizza, L., Drechsler M. ve Bonina F. (2010). Nanoemulsions as vehicles for topical administration of glycyrrhetic acid: Characterization and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Delivery., 17(3),* 123-129.

78. Rosen, M. J. (2004). *Surfactants and İnterfacial Phenomena (3rd ed.).* New York: John Wiley and Sons, Inc

79. Sánchez, B., García, P., Ropero, S. ve Sánchez-Campos, S. (2002). Inhibitory effect of hypericin and hyperforin on the expression of the melanogenic proteins tyrosinase and TRP-1 in normal melanocytes. *Pigment Cell Research, 15(5),* 519-525.

80. Sarkar, R., Garg, S. ve Bansal, S. (2013). Melasma diagnosis and treatment: a comprehensive review of the literature. *Dermatology research and practice.*

81. 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.

82. Sharma, S. ve Sarangdevot, K. (2012). Nanoemulsions for cosmetics. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical and Bio Sciences, 1(4),* 408-416

83. Smith, C. ve Smith, J. (2016). The role of keratinocytes in skin barrierfunction. *Journal of Dermatology& Skin Science, 4(2),* 1-5.

84. Sobanko J.F., Alster T.S. (2011). Management of hyperpigmentation: a review of lasers, light sources, and chemical peels. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 30(2):*71-82.

85. Sofowora, A. (1993). *Medicinal plants and traditional medicine in Africa.* New York: John Wiley and Sons, Inc.

86. Solano, F., Briganti, S. ve Picardo, M. (2006). Gaining insights into the pathogenesis of vitiligo and melanoma by studying the regulation of melanogenesis and melanosome function. *Pigment cell research, 19(3),* 226-233.

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

88. Stulberg, D. L., Clark, N., & Tovey, D. (2003). Common hyperpigmentation disorders in adults: Part I. Diagnostic approach, cafe au lait macules, diffuse hyperpigmentation, sun exposure, and phototoxic reactions. *American family physician*, 68(10), 1955-1960. Stulberg DL, Clark N, Tovey

89. Taylor, S. C., Grimes, P. E., Lim, J. ve Im, S. (2014). Multispectral imaging in dermatology: practical applications and future directions. *Journal of the American Academy of Dermatology, 70(5),* 979-e1.

90. Teo, S. Y., Lee, S. Y., Ong, H. L., Ong, C. L., Gan, S. N., Rathbone, M. J. ve ark. (2015). Evaluation of Biosourced Alkyd Nanoemulsions as Drug Carriers. *Journal of Nanomaterials, 1-8.*

91. Thornfeldt, C. (2005). Cosmeceuticals containing herbs: fact, fiction, and future. *Dermatologic Surgery, 31,* 873-881.

92. Traikovich, S. F.,"Use of hydroquinone in dermatology," *Journal of the American Academy of Dermatology, vol. 37, no. 2,* pp. 191-202, 1997.

93. Trivedi M.K., Yang F.C., Cho B.K. (2017). A review of laser and light therapy in melasma. *International Journal of Women's Dermatology, 3(1 Suppl):*S57-S66.

Velikov, K. P. ve Pelan, E. (2008). Colloidal delivery systems for micronutrients and nutraceuticals. *Soft Matter, 4(10),* 1964-1980.

94. Venus, M., Waterman, J. ve McNab, I. (2010). Basic physiology of the skin. *Surgery,* 28 (10), 469-472.

95. Xin X., Zhang H., Xu G. ve Tan Y. (2013). Influence of CTAB and SDS on the properties of oil-in-water nano-emulsion with paraffin and span 20/Tween 20. *Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects, 418(8),* 60–67.

96. Wenzel, S.M., Lupo, S.H. (2016). Management of hyperpigmentation. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 35(4),* Frontline Medical.

97. Yarosh, D. B.,"Alpha-arbutin: a newagentforthetreatment of hyperpigmentation," *Journal of Drugs in Dermatology, vol. 5, no. 3*, pp. 348-351, 2006.

98. Yilmaz, E. ve Borchert, H. H. (2006). Effect of lipid-containing, positively charged nanoemulsions on skin hydration, elasticity and erythema—an in vivo study. *International Journal of Pharmaceutics, 307(2),* 232-238.

99. Yuan, Y., Gao, Y., Zhao, J. ve Mao, L. (2008). Characterization and stability evaluation of β-carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Research International, 41(1),* 61-68.

100. Zhao, L., Wei, Y., Huang, Y., He, B., Zhao, Y. ve Fu, J. (2013). Nanoemulsion improves the oral bioavailability of baicalin in rats: in vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Nanomedicine, 8,* 3769-3779.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI