ABDULAZİZ KAŞİF

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

AMARANTH YAĞI İÇEREN TOPİKAL UYGULAMAYA YÖNELİK KOZMESÖTİK ETKİLİ FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ

ABDULAZİZ KAŞİF

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ EBRU ALTUNTAŞ

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2023

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST. YÜKSEK LİSANS TEZİ İSTANBUL-2023

TEZ ONAYI

BEYAN

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın başarılı bir şekilde ilerleyebilmesi için tüm imkanlarını sunan ve tezin sonuçlandırılması, değerlendirilmesi hususunda sonsuz desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ebru ALTUNTAŞ'a,

Tezimin hazırlanması sırasında yardımlarını ve katkılarını her daim gösteren Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yıldız ERGİNER'e.

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesine imkan sunan Kozmetoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülgün YENER'e.

Tez çalışmamdaki in vitro etkinlik testlerinin yürütülmesinde emeği geçen Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Esra Karadağ'a.

Çalışmamda ve deneylerimde bana sağladıkları destekten dolayı Pharmix Bitkisel İlaç ve Kozmetik Sanayi ve Ticaret A.Ş.'ye.

Tez çalışmasını Destekleme Programı kapsamında destekleyen Reyhanlı Devlet Hastanesi'ne.

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

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: (39130)

ABDULAZİZ KAŞİF

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... **II**
BEYAN ..... **III**
İTHAF ..... **IV**
TEŞEKKÜR ..... **V**
İÇİNDEKİLER ..... **VI**
TABLOLAR LİSTESİ ..... **X**
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **XII**
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... **XIII**
ÖZET ..... **XIV**
ABSTRACT ..... **XVI**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **31**
2. GENEL BİLGİLER **32**
2.1. Derinin Anatomik Yapısı 32
2.1.1. Epidermis (Üst Deri) 33
2.1.1.1. Stratum Basale 34
2.1.1.2. Stratum Spinosum 34
2.1.1.3. Stratum Granulosum 34
2.1.1.4. Stratum Corneum 35
2.1.2. Dermis 35
2.1.3. Hipodermis (subkütanöz doku) 36
2.2. Derinin Fonksiyonları 37
2.3. Yara Hakkında Genel Bilgiler 37
2.3.1. Yara Çeşitleri 37
2.3.2. Yara İyileşmesi 38
2.3.3. Yara İyileşme Süreci 39
2.3.3.1. Hemostaz ve İnflamasyon 39
2.3.3.2. Migrasyon (Göç) 40
2.3.3.3. Proliferasyon 40
2.3.3.4. Olgunlaşma (Yeniden Biçimlendirme) 40
2.3.4. Yara İyileşmesinde Kullanılan Malzemeler 41

2.3.5. Deri Greftleri....42
2.3.6. Yara İyileşmesinde Kullanılan Aktif Bileşenler....43
2.3.6.1. Büyüme Faktörleri....43
2.3.6.2. Vitamin ve Mineral Destekleri....43
2.3.6.3. Antimikrobiyaller....44
2.3.7. Yara İyileşmesinde Bitkilerin Kullanımı....46
2.4. Amaranth Yağı Hakkında Genel Bilgiler....46
2.4.1. *Amaranthus* Cinsinin Özellikleri....46
2.4.2. *Amaranthus lividus* L.....47
2.4.3. Amaranth Yağının Yara İyileşmesindeki Etkinliği....49
2.4.4. Yara İyileşmesinde Kullanılan Diğer Yağlar....50
2.5. Nanoemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler....51
2.5.1. Nanoemülsiyonların Avantajları....53
2.5.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları....55
2.5.3. Nanoemülsiyonların Bileşimi....55
2.5.4. Faz Değişimi....57
2.5.5. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Metodları....57
2.5.6. Yüksek Enerji Gerektiren Metodlar....58
2.5.6.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon....58
2.5.6.2. Mikrofluidizasyon (Kolloid Mil)....58
2.5.6.3. Ultrasonik Emülsifikasyon....59
2.5.7. Düşük Enerji Gerektiren Yöntemler....60
2.5.8. Faz Değişim Sıcaklığı Metodu....61
2.5.9. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu....61
2.5.9.1. Morfoloji....61
2.5.9.2. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli....62
2.5.9.3. Viskozite....62
2.6. Nanoemüljeller....63
2.6.1. Tanımı ve Genel Özellikleri....63
2.6.2. İn vitro salım....64
2.6.3. İn vivo biyoyarlanım çalışmaları....64
3. GEREÇ VE YÖNTEM....65
3.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler....65

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler 66
3.3. Kullanılan Yöntemler.....66
3.3.1. Bitkisel Materyalin Standardizasyonu 66
3.3.2. Formülasyon Çalışmaları 67
3.3.2.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerinin Seçimi 69
3.3.2.2. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması.....69
3.3.2.3. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar.....69
3.3.2.4. Y/S Tipi Nanoemüljel Formülasyonlarının Hazırlanması 71
3.3.2.5. Nanoemüljel Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar.....73
3.3.2.6. Antimikrobiyal Aktivite 74
3.3.2.7. Yara İyi Edici Etki (Scratch Assay) 75
4. BULGULAR.....76
4.1. Bitkisel Materyalin Standardizasyonu 76
4.2. Nanoemülsiyonların Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular.....76
4.2.1. Nanoemülsiyonların Damlacık Boyutu, PDI ve Zeta Potansiyeline Ait Bulgular 76
4.2.2. Santrifüj Testi.....77
4.2.3. Termal Stres Testi 77
4.3. Nanoemüljellerin Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular 78
4.3.1. Nanoemüljel (%0,5 Ksantan zamkı) Önformülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular.....78
4.3.2. Nanoemüljel (%0,5 Ksantan zamkı) Santifüj Testi 79
4.3.3. Nanoemüljel (%0,5 Ksantan zamkı) Termal Stabilite Testi 79
4.3.4. Nanoemüljel (%1 Ksantan zamkı) Önformülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular 80
4.3.5. Nanoemüljel (%1 Ksantan zamkı) Santifüj Testi 80
4.3.6. Nanoemüljel (%1 Ksantan zamkı) Termal Stabilite Testi 81
4.3.7. Nanoemüljel (%1,5 Ksantan zamkı) Önformülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular.....81
4.3.8. Nanoemüljel (%1,5 Ksantan zamkı) Santifüj Testi 82
4.3.9. Nanoemüljel (%1,5 Ksantan zamkı) Termal Stabilite Testi 82
4.4. Nihai Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Fizikokimyasal Stabilite Testlerine Ait Bulgular.....83

4.4.1. Fizikokimyasal Stabilite Testinde Damlacık Boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli Ölçümlerine Ait Bulgular....83
4.4.2. Viskozite Tayinine Ait Bulgular....85
4.4.3. pH ve İletkenlik Ölçümü....92
4.5. Antimikrobiyal Aktivite Deneylerine Ait Bulgular....93
4.6. Yara İyi Edici Etkiye (Scratch Assay) Ait Bulgular....93
5. TARTIŞMA....96
KAYNAKLAR....102
Kişisel Bilgiler....Error! Bookmark not defined.
Öğrenim Bilgileri....Error! Bookmark not defined.
Mesleki Bilgiler....Error! Bookmark not defined.
İş Tecrübesi....Error! Bookmark not defined.
Bilgisayar Bilgisi....Error! Bookmark not defined.
Yabancı Diller....Error! Bookmark not defined.
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI....114

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Bitkisel bitkisel aktif bileşenler ve antimikrobiyal özelliklerini belirlendiği çalışmalar (523784 (dergipark.org.tr) 44
Tablo 2-2: Nanoemülsiyonların hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve özellikleri (Altuntaş ve ark. 2023) 56
Tablo 3-1: Kullanılan Kimyasal Maddeler 66
Tablo 3-2: Önformülasyon çalışmaları kapsamında hazırlanan nanoemülsiyonların içerikleri 68
Tablo 4-1: Amaranth yağının yağ asidi profili 76
Tablo 4-2: Nanoemülsiyon formülasyon çalışmalarına ait karakterizasyon verileri 76
Tablo 4-3: Santrifüj testi sonucu elde edilen organoleptik değerlendirme 77
Tablo 4-4: Nanoemülsiyonların santrifüj testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulgular 77
Tablo 4-5: Termal stres testi sonucu elde edilen organoleptik değerlendirme 78
Tablo 4-6: Nanoemülsiyonların termal stabilite testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulgular 78
Tablo 4-7: %0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları 79
Tablo 4-8: %0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi ölçüm sonuçları 79
Tablo 4-9: %0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi ölçüm sonuçları 80
Tablo 4-10: %1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları 80
Tablo 4-11: %1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi ölçüm sonuçları 81
Tablo 4-12: %1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi ölçüm sonuçları 81
Tablo 4-13: %1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları 82
Tablo 4-14: %1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi ölçüm sonuçları 82

Tablo 4-15: %1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi ölçüm sonuçları 83
Tablo 4-16: Nanoemüljellerin üç aylık ortalama damlacık çapı (nm) bulguları (n=3) .. 84
Tablo 4-17: Nanoemüljellerin üç aylık PDI değerleri bulguları (n=3) 84
Tablo 4-18: Nanoemüljellerin üç aylık zeta potansiyeli (mV) bulguları (n=3) 85
Tablo 4-19: F1P1 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular 86
Tablo 4-20: F1P2 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular 87
Tablo 4-21: F2P1 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular 88
Tablo 4-22: F2P2 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular 89
Tablo 4-23: F3P1 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular 90
Tablo 4-24: F3P2 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular 91
Tablo 4-25: pH-metre cihazı ile elde edilen pH ölçüm sonuçları 92
Tablo 4-26: Formülasyonların iletkenlik ölçüm sonuçları 92
Tablo 4-27: Antimikrobiyal aktivite sonuçları 93

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1:Derinin yapısı ve katmanları (Skin layers - Deri - Vikipedi (wikipedia.org)) 33
Şekil 2-2: Dermisin yapısı ve tabakalar (HİSTOLOJİ 14 DERİ HİSTOLOJİSİ Flashcards - Cram.com) 35
Şekil 2-3: Yara iyileşme fazları (Kawasumi ve ark., 2012) 41
Şekil 2-4: Amaranth bitkisi ve yağı (https://create.vista.com/tr/photos/amaranthus/) .. 47
Şekil 2-5: Nanoemüljel hazırlamanın şematik diyagramı 57
Şekil 3-1: Soğuk pres yağ eldesi işleminde kullanılan makine 67
Şekil 3-2: Malvern Zetasizer Nano Cihazı 71
Şekil 3-3: Nanoemüljel hazırlamanın şematik diyagramı 72
Şekil 3-4: Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ksantan zamkı jellerinin görünümü ... 72
Şekil 4-1: 0, 8 ve 24. saatlerde hücre yenilenme ve yara kapanma oranlarına ait görüntüler 95

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ATCC: American Type Culture Collectio

DAD: Diyot array dedektör

DMEM: Dulbecco Modified Eagle's Medium

EGF: Epidermal büyüme faktörü

FBS: Fetal Bovine Serum

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

GM-CSF: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör

GRAS: Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan

hGH: İnsan büyüme hormonu

IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü

KS: Mass Spectrometer

MHB: Müller Hinton Buyyon

MTT Test: In Vitro Sitotoksisite Testleri

PBS: Phosphate Buffered Saline

PDGF: Platelet türevli büyüme faktörü

PDI: Polidispersite İndeks

PEG: Polietilen glikol

S/Y: Yağ İçinde Su

Smix: Yüzey etkin madde karışımı

Y/S: Su İçinde Yağ

ÖZET

Kaşif, A. (2023). Amaranth Yağı İçeren Topikal Uygulamaya Yönelik Kozmesötik Etkili Formülasyonların Geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD, Kozmetoloji BD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bitkisel yağlar, birçok biyolojik aktiviteye sahip oldukları için kozmetik endüstrisindeki faydalı etkileri ile tanınmaktadır.

Amaranth yağı (*Amaranthus cruentus* yağı), yüksek skualen içeriği (önemli bir antioksidan ve antimikrobiyal ajan) yaygın olarak tanınan bir bitkisel yağdır.

Amaranth yağı, özellikle linoleik ve oleik asitler gibi bol miktarda Ω-yağ asitleri fitosteroller ve tokoferoller olmak üzere zengin kimyasal bileşime sahip biyoaktif doğal bir yağ olarak kabul edilmektedir. Ω-6 ve 9 yağ asitlerindeki üstün içerik, cilt üzerinde yararlı bir gençleştirici etki, yumuşatıcı ve yenileyici bir cilt etkisi (yara iyileştirici etki) ve artan hidrasyon etkisi sağlamaktadır.

Amaranth yağından gelen skualen, ciltte serbest radikal oksidatif hasarını önemli ölçüde azaltır. Ayrıca, amaranth yağı fraksiyonlarındaki fitosterollerin, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal etkiler sahip oldukları bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında, cilt yarası ve skar görünümünün iyileştirilmesine destek olacak, amaranth yağı içeren etkinliği ve güvenliliği ispatlanmış kozmetik bir nanoemüljel formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, öncelikle amaranth sabit yağının türevlendirme işlemlerinin ardından yağ asit kompozisyonu açısından standardize edilmiş ve bu standardizasyon Gaz Kromatografisi yöntemiyle birlikte farklı dedektörler kullanılarak (Diyot array dedektör (DAD), Kütle Spektrometresi (KS) vb.) detaylı olarak ortaya konmuştur.

Ardından, standardize edilmiş amaranth yağı içeren dermatolojik nanoemüljel formülasyonları, ultrasonik emülsifikasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonlara hızlandırılmış stabilite testleri olan santrifüj ve termal testler uygulanarak, kinetik ve termodinamik stabilite açısından ön bir değerlendirme yapılmıştır. Bu testler neticesinde stabil kalan nanoemüljeller seçilmiştir ve 3 ay boyunca fizikokimyasal stabiliteleri değerlendirilmiştir.

Son olarak, stabilite testlerinin ardından en uygun bulunan ve optimize edilmiş nanoemüljel formülasyonunun in vitro sitotoksisite (MTT Testi) ve in vitro etkinlik testleri (antimikrobiyal aktivite ve yara iyi edici etki (scratch assay)) yürütülerek, geliştirilen nanoteknolojik formülasyonun hasarlı ciltte kullanımının potansiyel etkilerinin ispatlanması sağlanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Amaranth yağı, Nanoemüljel, Skar, Cilt yarası, Topikal.

ABSTRACT

Kaşif, A. (2023). Development of Formulations Containing Amaranth Oil with Cosmeceutical Effect for Topical Application. Istanbul University Institute of Health Sciences, Department of Pharmaceutical Technology, Department of Cosmetology. Master Thesis. Istanbul.

Vegetable oils are known for their beneficial effects in the cosmetic industry as they have many biological activities.

Amaranth oil (*Amaranthus cruentus* oil) is a vegetable oil widely recognized for its health properties with its high squalene content (an important antioxidant and antimicrobial agent).

Amaranth oil is recognized as a bioactive natural product with abundant chemical composition in Ω-fatty acids, especially linoleic and oleic acids, phytosterols and tocopherols . The superior content in Ω-6 and 9 fatty acids leads to a beneficial rejuvenating effect on the skin, a softening and regenerating skin effect (wound healing effect) and increased hydration effect.

Squalene from amaranth oil significantly reduces free radical oxidative damage to the skin. Furthermore, phytosterols in amaranth oil fractions have been reported to anti-inflammatory and antimicrobial effects .

In this thesis, it is aimed to develop a cosmetic nanoemulgel formulation containing amaranth oil with proven efficacy and safety, which will support the improvement of skin wound and scar appearance. For this purpose, firstly, amaranth fixed oil was standardized in terms of fatty acid composition after derivatization processes and this standardization was demonstrated in detail by using Gas Chromatography method with different detectors (Diode array detector (DAD), Mass Spectrometer (KS) etc.).

Then, dermatological nanoemulgel formulations containing standardized Amaranth oil were prepared using the ultrasonic emulsification method. A preliminary evaluation was made in terms of kinetic and thermodynamic stability by applying accelerated stability tests, centrifuge and thermal tests to the prepared formulations. As a result of these tests, stable nanoemulgels were selected and their physicochemical

stability was evaluated for 3 months. Finally, after stability tests, it was provided to demonstrated the potential effects of the use of the developed nanotechnological formulation on damaged skin by conducting in vitro cytotoxicity (MTT Test) and in vitro efficacy tests (antimicrobial activity and wound healing effect (scratch assay)) of the most suitable and optimized nanoemulgel formulation.

KEY WORDS: Amaranth oil, Nanoemulgel, Scar, Skin wound, Topical.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gözle görülür bir iz bırakmadan hızlı yara iyileşmesi kozmetik dermatolojinin önemli bir yönüdür. Dermal yaralar, cerrahi prosedürlerin bir sonucu olarak veya cilt yaralanmasından kazara meydana gelir. Her iki durumda da hem doktor hem de hasta, minimum yara oluşumu ile optimal yara iyileşmesini görmek ister. Buna göre, skar görünümünü iyileştirebilecek bilimsel olarak sağlam herhangi bir farmakolojik veya fiziksel müdahale önemli değerdedir (Draelos ve ark. 2012).

Bu tez çalışmasında cilt yarası ve skar tedavisinde amaranth yağı içeren kozmetik bir nanoemüljel formülasyonuun geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla öncelikle amaranth sabit yağının türevlendirme işlemlerinin ardından yağ asit kompozisyonu açısından standardize edilmiş ve bu standardizasyon Gaz Kromatografisi yöntemiyle birlikte farklı dedektörler kullanılarak (Diyot array dedektör (DAD), Kütle Spektrometresi (KS) vb.) detaylı olarak ortaya konumuştur.

Ardından, standardize edilmiş amaranth yağı içeren dermatolojik nanoemüljel formülasyonları, ultrasonik emülsifikasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonlar hazırlandıktan sonra ve hızlandırılmış stabilite testleri olan santrifüj ve termal testlerden sonra damlacık boyutu, poli dispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli açısından karakterize edilmiş ve ardından stabil bulunan nanoemüljel formülasyonlarının 3 ay boyunca fizikokimyasal stabiliteleri değerlendirilmiştir.

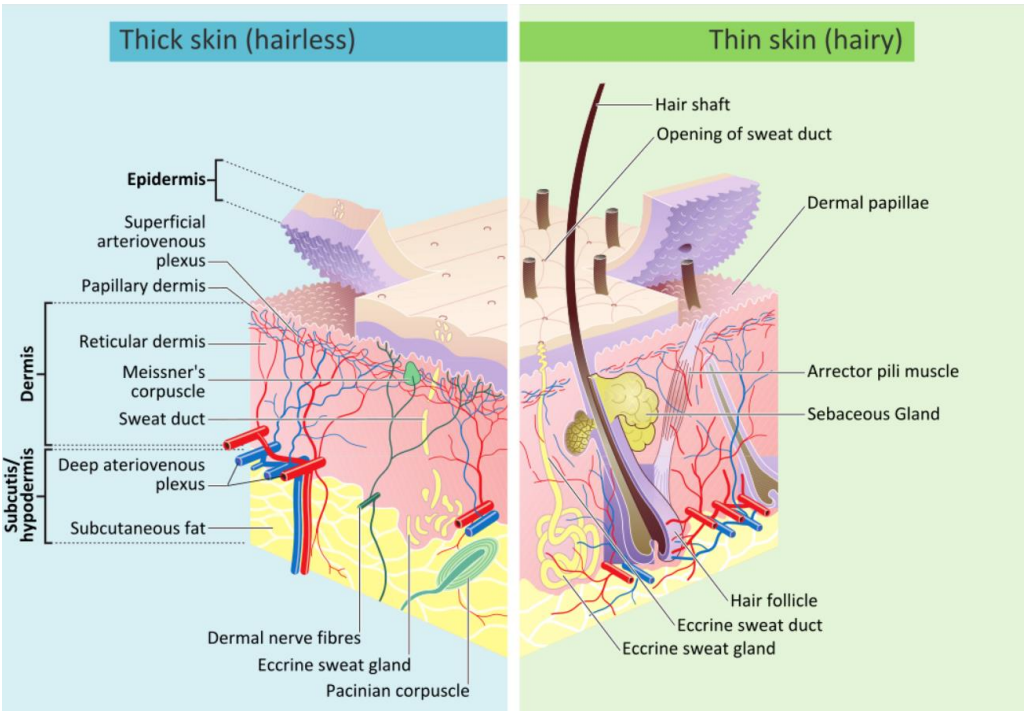
Son olarak, stabilite testlerinin ardından en uygun bulunan ve optimize edilmiş nanoemüljel formülasyonunun in vitro sitotoksisite (MTT Testi) ve in vitro etkinlik testleri (antimikrobiyal aktivite ve yara iyi edici etki (scratch assay)) yürütülerek, geliştirilen nanoteknolojik formülasyonun hasarlı ciltte kullanımının potansiyel etkilerinin ispatlanması sağlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Deri, vücudun dış yüzeyini kaplayan, birçok yaşamsal işlevi olan, çevre ile organizma arasındaki iletişimi sağlayan, son derece organize ve katmanlı bir organdır. Vücudun fizyolojisini etkileyebilecek mekanik, kimyasal ve mikroorganizma kaynaklı faktörlere karşı bariyer oluşturur. Çeşitli faktörler sonucunda derinin normal anatomik yapısının ve cilt fonksiyonlarının bozulmasıyla birlikte farklı tipte yaralar ortaya çıkabilmektedir (Boateng ve ark. 2007). Temelde akut ve kronik olmak üzere iki tip yara vardır. Akut yaralar travma nedeniyle oluşur ve genellikle 8-12 haftada iyileşir. Yanık yaraları akut yaralar olarak kabul edilir ve ısı, elektrik çarpması, aşındırıcı kimyasallara maruz kalma vb. nedenlerden kaynaklanabilir. Bu yaraların bakımı yaranın ciddiyetine bağlıdır (Zahedi ve diğerleri, 2010; Boateng ve diğerleri, 2007). Kronik yaralar ise şeker hastalığı, tümörler gibi bazı hastalıkların ve fizyolojik kontaminasyonların neden olduğu yaralanmalardır. Bu yaraların iyileşmesi 12 haftadan uzun sürebilir. Kronik yaraların tekrarlama olasılığı da bulunmaktadır (Zahedi ve ark., 2010). Oluşan yaralar kısa sürede etkili bir şekilde iyileşme eğilimindedir (Zahedi ve ark. 2010). Bu eğilimle birlikte iyileşme süreci başlar ve yaralanmayla kaybedilen yapılar yeniden inşa edilir (Zahedi ve ark. 2010). Yara iyileşmesi karmaşık, iç içe geçmiş biyolojik ve fizyolojik süreçlerden (hemostaz-iltihap, migrasyon, proliferasyon, olgunlaşma) oluşur (Zahedi ve ark., 2010).

2.1. Derinin Anatomik Yapısı

Deri 3 katmandan oluşur: epidermis, dermis ve deri altı doku-pannikulus. Vücudumuzdaki anatomik bölgelere göre deri ve bu 3 deri tabakasının kalınlığı farklılık göstermektedir. Örneğin epidermisin en ince kısmı 0,1 mm ile göz kapaklarımızdır. En kalın alanlar 1,5 mm ile avuç içi ve ayak tabanlarıdır. Dermis arka deride en kalındır. Derinin yapısı ve katmanları, Şekil 2-1'de gösterilmiştir.



Şekil 2-1:Derinin yapısı ve katmanları (Skin layers - Deri - Vikipedi (wikipedia.org))

2.1.1. Epidermis (Üst Deri)

Epidermis, cildi oluşturan üç tabakanın en dışta olanıdır. İç katmanlar dermis ve hipodermistir. Epidermis tabakası çevresel patojenlerden kaynaklanan enfeksiyonlara karşı bir bariyer sağlar. Ayrıca transepidermal sıvı kaybı yoluyla vücuttan atmosfere salınan su miktarını da düzenler. Epidermis, bir taban katmanının üstünde bir dizi hücre katmanından oluşur (Gül, 2012).

Bu tabakaların en dışındaki olan korun tabakası ölü ve yassı hücrelerden oluşur. Bunlar kepek ve tırnak oluşumunda etkilidir. Korun tabakasını oluşturan hücrelerin içerisinde sert ve lifli proteinler (keratin) birikmiştir. Keratinli hücreler deriyi vurma, çarpma gibi mekanik etkilerden ve mikroorganizmalardan korur (Hendriks, 2001; Mutlu, 2014). Korun altında canlı ve çok katlı yassı epitel hücrelerden oluşan malpighi tabakası bulunur.

Bu tabakanın hücreleri melanosit pigmenti içerir ve cilde rengini verir. Malpighi katmanındaki canlı hücreler bölünüp yeni hücreler ürettikçe korteks sürekli olarak yenilenir. Vücudu sıcaktan ve soğuktan korur (Mutlu, 2014).

Epidermis 4 alt tabakadan oluşmaktadı;

1)Stratum basale

2)Stratum spinosum

3)Stratum granulosum

4)Stratum corneum

2.1.1.1. Stratum Basale

En alt katman olarak tanımlanır. Dermisin hemen üstünde bulunur. Bu tabaka derinin üst keratinositlerini ürettiği için verimli anlamına gelen stratum germinativum olarak da adlandırılır. Bazal tabaka tek sıra bazal hücreler (deri kök hücreleri gibi davranan), sinir hücrelerinden köken alan Merkel hücreleri (derinin dokunma duyusunu sinirlere taşıyan nöroendokrin hücreler) ve bunların arasında melanositlerden oluşmaktadır (Çakal, 2004).

2.1.1.2. Stratum Spinosum

Bunlar düzensiz kenarları olan keratinositlerden oluşur. Hücresel bölünme kapasiteleri sınırlıdır. Arada kemik iliğinden türetilen bağışıklık sistemi hücreleri olan Langerhans hücreleri bulunur. Bunlar cildin ve vücudun savunma sistemleridir. Langerhans hücreleri ayrıca alerji ve egzama gelişiminden de sorumludur (Çakal, 2004).

2.1.1.3. Stratum Granulosum

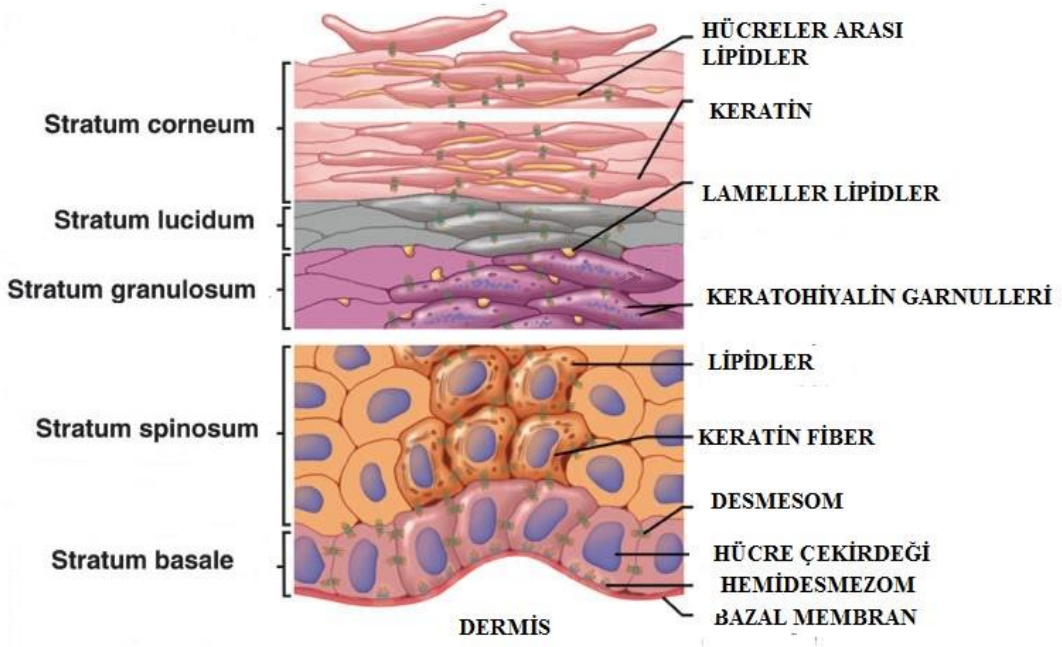
Bölünemeyen düzleştirilmiş keratinositlerdir. Keratohyalin parçacıkları içerir. Bu granüllerin artmasıyla birlikte ilerleyici hücre dejenerasyonu ve hücre ölümü meydana gelir. Zamanla bu hücreler düzleşerek alttaki hücrelerin çoğalma süreçleriyle derinin üst katmanlarına atılırlar (Çakal, 2004).

2.1.1.4. Stratum Corneum

Bu tabakanın hücreleri ölü fakat biyokimyasal olarak aktif hücrelerdir ve korneosit olarak tanımlanırlar. Cildimizi ve vücudumuzu dış ortamdan korurken, deriden su kaybını da kontrol eder (Çakal, 2004).

2.1.2. Dermis

Epidermal tabakanın altında derinin ikinci tabakası bulunur. Dermisin kalınlığı vücut bölgesine göre değişmekle birlikte 2-4 mm kalınlığındadır. Dermiste hücreler arası destek dokusu ve fibroblast hücrelerinin yanı sıra sinir, damar, lenfatik yapılar, ter ve yağ bezleri, tırnak ve saç kökleri de bulunmaktadır. Epidermis ile karşılaştırıldığında yapısında çok daha az hücre ve çok daha fazla lif bulunmaktadır (Hendriks, 2001; Çakal, 2004). Dermisin yapısı ve tabakaları, Şekil 2-2'de gösterilmiştir.



Şekil 2-2: Dermisin yapısı ve tabakalar (HİSTOLOJİ 14 DERİ HİSTOLOJİSİ Flashcards - Cram.com**)**

Dermisteki ana hücreler fibroblastlardır ve dermisin hücre dışı destek matriks dokusunu oluştururlar. Bu matriks yapısı kolajen, elastin ve retiküler liflerden oluşur. Dermis ayrıca vücut savunma sisteminin bir parçası olan makrofajlar ve mast hücreleri gibi diğer hücrelere de ev sahipliği yapmaktadır (Çakal, 2004).

Dermiste Merkel ve Meissner cisimcikleri (çoğunlukla avuç içi ve ayak tabanlarında bulunan dokunma duyusu), Pacini cisimcikleri (basınç duyusu, vücudun ağırlık taşıyan anatomik bölgeleri ve genital bölge daha yoğun olarak) ve Ruffini cisimcikleri (mekanik duyu) gibi duyu sinirleri bulunur. Ayrıca reseptörler de bulunmaktadır (Çakal, 2004).

Dermiste bulunan kolajen cildin gerginliğini sağlar. Elastin cilde elastikiyetini verir. Bu ikisi dermisin fibriler destek dokusudur. Fibrillerin dışında proteoglikanlar, glikoproteinler, glikozaminoglikanlar ve su da diğer destek yapılmaktadır (Çakal, 2004).

Bunlardan en öne çıkanları glikozaminoglikanlardır. Bunlar proteoglikanlara bağlı protein formlarıdır. Proteinler; kondrotin sülfat, dermatan sülfat, keratin sülfat, heparan sülfat ve heparin. En önemli proteoglikanlar versikan (cilt gerginliğini sağlar) ve perlekandır (epidermis ile dermis arasındaki bazal tabakada bulunur). glikoproteinler; laminin, matrilin, fibronektin, tenascin gibi. Bunlar hücrelerin birbirine bağlanmasını, hücrelerin yer değiştirmesini ve hücreler arasındaki ilişkiyi düzenlemektedir (Hendriks, 2001; Mutlu, 2014).

2.1.3. Hipodermis (subkütanöz doku)

Dermisin altında bulunur, gevşek bir yağ dokusundan oluşur. Liposit adı verilen yağ hücrelerini, bağ dokusunu ve kan damarlarını içerir. Bu tabakanın kalınlığı beslenme durumuna bağlıdır. Yani kilo alan kişiler bu tabakadan yağ almaya başlar. Altındaki kemiklere ve tendonlara yapışan bu bölge sayesinde onu kaplayan deri kolaylıkla kayganlaşır. Göz kapakları, klitoris ve peniste hipodermis bulunmadığından ne kadar kilo alırsanız alın bu bölgeler yağlanmayacaktır. Lipödem hastalarında buradaki damar dolaşımı bozulur ve bu bölgede yağ birikimi artar. Bu bölge aynı zamanda hormon kaynaklı kilo alımı görevi görür ve aynı zamanda vücudun enerji deposu olarak yağ depolar. Kadınlarda bu bölge daha geniştir ve erkek şişmanladıkça bu

bölgede erkeklik hormonu kadınlık hormonuna dönmeye başlar. Bu bölgede lipositler tarafından leptin hormonu da salgılanır. Leptin hormonu vücudun kilo durumunu düzenleyici etkiye sahiptir (Costin ve Hearing, 2007; Çakal, 2004).

2.2. Derinin Fonksiyonları

Deri; birçok hayati işlevi yerine getiren en büyük organdır. Mekanik darbelere karşı diğer organların zarar görmesini engelleyici etkisi vardır. Bariyer fonksiyonunun yanı sıra yağda çözünen bileşikler için de rezervuar görevi görür. Özellikle dermis tabakasında bulunan kan damarlarının vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon mekanizmaları ile ısı regülasyonunu sağlar ve ısı kaybını önler. Derinin belirli bir geçirgenliği vardır ve vücuda zararlı olabilecek yabancı maddelerin geçişini engeller. Bu geçirgenlik sayesinde ortamdan gelen uyarılara bağlı olarak çeşitli maddeler salgılanır. Ayrıca cilt bu sayede vücudun sıvı ve termal dengesine de katkıda bulunur. Deri, pH değeri (pH: 5,6) nedeniyle mikroorganizmaların geçişine izin vermez ve mikroorganizmaların yaşaması için uygun ortam oluşturmaz. Deri, çevreden gelen sıcaklık, basınç gibi uyarıları duyu sinirleri ve reseptörler aracılığıyla algılayarak beyne iletir (Ölçer ve Gönül, 2002; Çakal, 2004). Tüm bu fonksiyonların yanı sıra ciltte bulunan melanositler melanin pigmentinin üretimini sağlar. Melanin pigmenti ultraviyole radyasyona karşı koruyucudur (Costin ve Hearing, 2007; Çakal, 2004). Son olarak cilt, çeşitli ilaç ve/veya kimyasalların cilt yüzeyinden emilmesini ve kan dolaşımına karışmasını sağlar (Mutlu, 2014).

2.3. Yara Hakkında Genel Bilgiler

Yara, Fiziksel, kimyasal, mekanik ve/veya termal hasar ve cilt yüzeyinde hasar veya açılma olarak tanımlanabilir. Bir diğer tanımla derinin normal anatomik yapısının ve cilt fonksiyonlarının bozulması, cilt ve doku bütünlüğünün kaybolmasıdır. Yaralanmaya neden olan faktörün neden olduğu hasarın türü ve derecesi farklılık göstermektedir. Yaranın türü ve derecesi de yaranın iyileşme sürecini değiştirmektedir (Zahedi ve ark., 2010).

2.3.1. Yara Çeşitleri

Temelde akut ve kronik olmak üzere iki tip yara vardır. Akut yaralar; mekanik hasar, kesi, yüksek ısı, elektrik çarpması, korozif kimyasallara maruz kalma gibi

travmalardan kaynaklanır. Herhangi bir komplikasyonun olmadığı durumlarda genellikle normal süreçte 8-12 haftada iyileşebilen yaralardır (Zahedi ve ark., 2010).

Kronik yaralar ise şeker hastalığı, tümörler ve fizyolojik kontaminasyonlar gibi bazı hastalıkların sonucudur; Yatak ve bası yaraları, venöz/iskemik kökenli bacak ülserlerini de içeren yaralanmalardır. Bu tür hastalıklar sonucu gelişen kronik yaraların yanı sıra birinci ve ikinci derece yanık yaraları da kronik yara olarak değerlendirilmektedir. Bu yaraların iyileşmesi 12 haftadan uzun sürebilir. Bu yaraların tekrarlama ihtimali de bulunmaktadır (Wölfle ve ark. 2013).

Yaraların sınıflandırılması da yaralanmadan etkilenen cilt bölgesi ve katmanlarına göre yapılır. Yalnızca epidermal yüzeyi etkileyen yaralanmalarla yüzeysel; epidermis ile birlikte derin dermisi (kan damarları, ter bezleri ve saç foliküllerini içeren) etkileyen yaralanmalarla kısmi kalınlık; Tam kat yaralar epidermis ve dermişin yanı sıra deri altı yağ tabakasını ve/veya daha derin dokuları içeren yaralanmalarla ortaya çıkar (Zahedi ve ark., 2010; Altay ve Başal, 2010).

2.3.2. Yara İyileşmesi

Cilt yaralanmalarının onarımı ve yenilenmesi, rutin doku homeostazisi ve hücresel saldırıları içeren hastalık patolojilerinin tedavisi için önemlidir. Biyolojik sistemlerde bu iyileşme süreci karmaşık, dinamik ve fizyolojiktir. Cildin katmanlı mimari yapısının hızlı restorasyonu, kronolojik olarak koordine edilmiş birkaç adımda gerçekleşir ve yaranın kapanmasını sağlar. Yara çevresinde optimal düzeyde nemlendirilmiş bir ortam, dehidrasyonu önler ve bu süreci kolaylaştırır. Yaranın nemlendirilmesi iyileşmeyi hızlandırır ve yara oluşumunu en aza indirir. Nemli yaralar epidermal kalınlığı ve hücreler arası boşlukların genişlemesini düzenler. Hidrasyon ayrıca stratum korneumun esnekliğini de korur, böylece proinflamatuar sitokinlerin, yani IL-1a ve IL-6'nın seviyelerini korur (Zahedi ve ark., 2010).

Yara iyileşmesi ve doku yenilenmesi fizyolojik parametrelere bağlı biyolojik bir süreçtir. Bu süreç, hasarlı doku bütünlüğünü yeniden sağlamak için çeşitli hücresel ve matriks bileşenleriyle birbirine bağlı ve sürekli aşamalardan geçer. Yara iyileşme sürecindeki biyolojik ve fizyolojik aşamalar; Hemostaz, inflamasyon, migrasyon, proliferasyon ve olgunlaşma gibi ardışık ve kısmen iç içe geçmiş süreçler olarak ifade

edilebilir (Zahedi ve ark. 2009; Boateng ve ark. 2007). Yara iyileşme sürecinde yara yüzeyinin uygun bir yara örtüsü ile kapatılması, yaranın nemli tutulması ve dokuyu dış etkenlerden koruması gerekmektedir (Geronemus ve Robins, 1982). Yaralardan (kronik veya akut) veya fistüllerden iyileşme sürecinde üretilen, kırmızı kan hücreleri ve trombosit içermeyen sıvıya eksüda adı verilir (Boateng ve ark. 2007). Eksüda, yara yatağındaki nemin dengede tutulması ve ideal ortam koşullarının sağlanması için en önemli bileşenlerden biridir. Eksüda ayrıca yara yüzeyinde mikroorganizma kontrolünü sağlayan lökositleri içeren bir yara ortamı sağlar (Boateng ve ark., 2007; Geronemus ve Robins, 1982). Eksüda ayrıca yaraya besin sağlar ve epitel hücrelerinin göçü için uygun bir ortam yaratır. Bazı durumlarda kronik yaralarda aşırı miktarda eksüda meydana gelir. Aşırı miktarda eksüda; Enflamasyonun neden olduğu ödem, hücresel hareketin azalması, venöz ve lenfatik yetmezlik nedeniyle oluşur (Boateng ve ark., 2007).

2.3.3. Yara İyileşme Süreci

2.3.3.1. Hemostaz ve İnflamasyon

Kanama genellikle hasar meydana geldikten hemen sonra meydana gelir. Bunun amacı mikroorganizmaların ve yabancı maddelerin yaradan uzaklaştırılmasıdır. Kanamanın gerçekleşmesi ile pıhtılaşma mekanizması devreye girerek hemostaz başlatılır. İlk aşamada kanamayı durdurmak için vazokonstriksiyon aktive edilir, daha sonra yara bölgesine hücre göçünü başlatmak için vazodilatasyon mekanizmaları aktive edilir (Zahedi ve ark., 2009; Boateng ve ark., 2007).

Yara bölgesindeki kan kaybı trombosit agregasyonunu uyarır ve trombositlerden çeşitli uyarıların (epinefrin, norepinefrin, serotonin, trombosit aktivasyon faktörü vb.) salınması pıhtılaşma sürecini başlatır. Eksudadaki fibrinojenin fibrine dönüşmesi sonucu oluşan fibrin ağı ile pıhtı oluşumu meydana gelir. Oluşan pıhtı ile hem kanama durdurulur hem de yara kenarları birbirine yaklaştırılır. Pıhtının kuruması ile birlikte yaralanan dokuyu destekleyecek bir kabuk oluşumu gerçekleşir. Sonuç olarak hemostaz sadece yara iyileşmesini desteklemekle kalmaz, aynı zamanda iyileşme sürecinde yarayı da korur (Zahedi ve ark., 2009; Boateng ve ark., 2007; Altay ve Başal, 2010).

Hem hücresel hem de vasküler yanıtların meydana geldiği inflamatuar faz, hemostazla hemen hemen aynı anda başlar ve 24 saatten uzun sürer. Yara yüzeyine

salınan eksüda protein açısından zengin olup içeriğindeki histamin ve serotonin vazodilatasyona neden olur. Bu, nötrofillerin ve makrofajların yaraya göç etmesine ve nekrotik hücreleri sindirmesine olanak tanır. Daha sonra fibroblastlar yara yatağına göç ederek kollajen sentezini gerçekleştirir. Kollajen tarafından aktive edilen trombositlerin toplanması meydana gelir (Zahedi ve ark., 2009; Boateng ve ark., 2007) Ayrıca iltihaplanma aşamasıyla birlikte mikroorganizmalar, yabancı cisimler ve enfeksiyona neden olan maddeler yara bölgesinden uzaklaştırılmış olur.

2.3.3.2. Migrasyon (Göç)

Migrasyon aşamasında, yeni, canlı epitelyal ve fibroblast hücreler, yaralanma nedeniyle kaybedilen dokuların yerini alır. Bu hücreler pıhtı altında büyür ve epitel kalınlaşması meydana gelir. Fibroblastlar göç ettikten sonra yara yatağında kolajen sentezlerler. (Boateng ve ark., 2007).

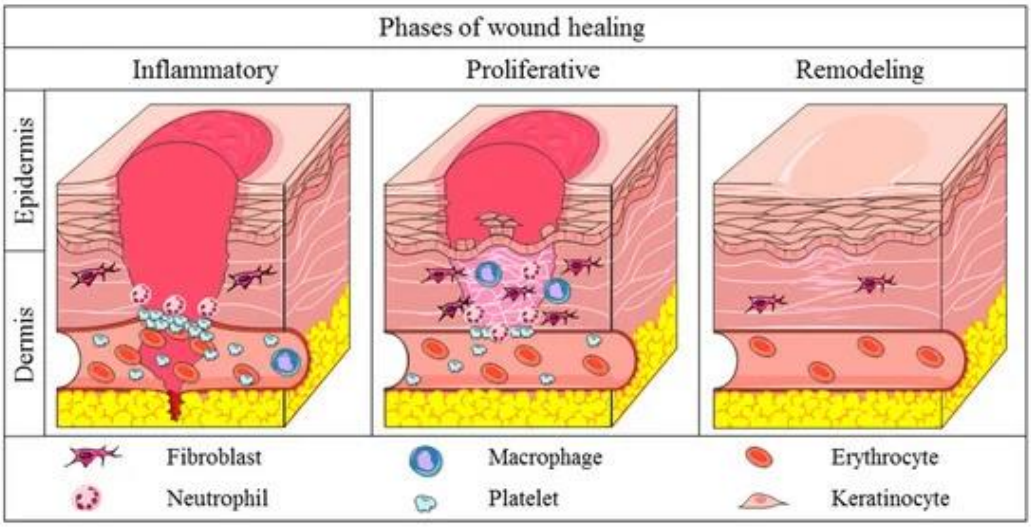
2.3.3.3. Proliferasyon

Proliferasyon, göçle eş zamanlı olarak veya göçten hemen sonra gerçekleşir. Bazal hücre çoğalması ve yaranın epitelle kaplanması sonucu ortaya çıkar. Fibroblastların çoğalması ve anjiyogenezi içeren iki aşamada gerçekleşir. Bu aşamada fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi hücrelerin yanı sıra lökositler, mast hücreleri, plazma hücreleri de devreye girer. Granülasyon dokusu, fibroblastların yaraya hareketi ve kılcal damarların ve lenfatik damarların büyümesiyle oluşur. Beş günlük süre içerisinde büyük oranda kan damarları ve granülasyon dokusu oluşumu meydana gelir. Fibroblastların ürettiği kollajen ve glikozaminoglikanlar ile doku güçlendirilir ve kollajen yarayı kapatana kadar epitel kalınlaşması devam eder. Ayrıca endotel hücreleri yeni kan damarlarının oluşmasını sağlar. Kolajen sentezi kan damarları ve doku ödemi azalana kadar devam eder, bu da yaklaşık 2 hafta sürer. (Zahedi ve ark., 2009; Mutlu, 2014; Doğan, 2012).

2.3.3.4. Olgunlaşma (Yeniden Biçimlendirme)

Olgunlaşma aşaması, yara iyileşme sürecinin son aşamasıdır ve hücresel bağ dokusunun oluşumunu ve epitelyumun güçlenerek dokunun yeniden şekillenmesini içerir. Bu aşama yaralanmadan sonraki ikinci ve üçüncü hafta arasında başlar ve birkaç aydan yaklaşık 1 yıla kadar devam eder. Yara iyileşmesinin ilk aşamalarında üretilen,

rastgele düzenlenmiş kolajen lifleri arasındaki kovalent bağlar artar. Bu aşamada hem kolajen yıkımı hem de yapımı devam ettiği için toplam kolajen miktarında ciddi bir değişiklik meydana gelmez. Bu onarım aşamasında kollajen üretimi devam ederken hücre dışı matriks moleküllerinin üretimi ve doku sıvısı miktarı normal seviyelere düşer. Yara bölgesinde hücre yoğunluğu ve vaskülarite azalır. Kolajen lifleri yaranın mekanik gücünü artıracak şekilde düzenlenir ve yarada stabilizasyon sağlanır. Doku onarımının son aşaması olan skar dokusu bu aşamada yaralanmanın derecesine göre oluşur (Zahedi ve ark., 2009; Boateng ve ark., 2007). Yara iyileşme fazları Şekil 2-3'te gösterilmiştir.



Şekil 2-3: Yara iyileşme fazları (Kawasumi ve ark., 2012)

2.3.4. Yara İyileşmesinde Kullanılan Malzemeler

Yara tedavisinde ilk adım yara bakımı ve temizliği, ardından yaranın tipine, büyüklüğüne, özelliklerine ve iyileşme sürecindeki ihtiyaçlara göre tedavi yöntemi ve uygun ürünün seçimidir. Yarayı temiz tutan, optimum koşulları sağlayarak yara iyileşme sürecine katkı sağlayan, implantsız bir yöntem ve/veya ürün seçilir (Zahedi ve ark., 2010).

Yanık tedavisinde kullanılacak malzemelerin sahip olması gereken özelliklerden bazıları şunlardır: Yarayı nemli tutarken aynı zamanda yaranın kurumasına izin vermeden fazla eksüdayı tutmalı, doğal fizyolojik koşulları sağlamalıdır. Yara yüzeyinin oksijen geçirgen olmasını sağlayın ancak yarayı dış etkenlerden mikroorganizmaların ve yabancı maddelerin geçişine izin vermeyecek şekilde koruyun. Pansuman değiştirirken yapışma sorunu yaşamamalı, yara iyileşmesini desteklemeli ve hızlandırmalı, toksik olmamalı, antimikrobiyal aktiviteye sahip olmalı, elde edilmesi ve uygulanması kolay olmalı ve aynı zamanda ekonomik olmalıdır (Çetinkale, 2008).

Tüm bu özellikleri sağlayan her yara tipi için ideal bir tedavi yöntemi ve ürün değildir ancak üretilen yara malzemeleriyle ideale yaklaşılmaya çalışılmaktadır. Modern yanık tedavisinde yara yüzeyini kaplamak için ince film tabakaları kullanılır. Film kaplamaların pek çok farklı türü olmasına rağmen bu kaplamalar genellikle doğal, sentetik ve/veya bunların karışımları ile ilaç veya biyoaktif moleküllerle yüklü polimerler içerir. Kolajen, jelatin, selüloz, ipek, kitosan ve hyaluronik asit gibi doğal polimerler; Yanık yarası film pansumanlarının üretiminde poli (kaprolakton), poli (laktat), poli (etilen glikol), poli (vinil alkol) gibi sentetik polimerler ve çeşitli kopolimerler kullanılmaktadır (Zahedi ve ark., 2010).

2.3.5. Deri Greftleri

Ağlıklı pansuman malzemeleri yara iyileşmesinde faydalıdır ancak yaralanmalar nedeniyle kaybedilen dokunun yeniden yapılandırılması sürecinde derinin yerine konması konusunda yetersizdir. Hücre çoğalmasına izin veren bu ürünler iki tip matristen oluşturulabilir: hücresel olmayan matris veya hücre içeren matrisler (Boateng ve ark., 2007). Farklı tasarımlara sahip ticari iki katmanlı doku mühendisliğiyle üretilmiş deri greftleri mevcuttur. Örneğin IntegraTM, ince bir silikon tabakasıyla kaplanmış kollajen ve kondroitin-6-sülfat matrisinden oluşan hücresel olmayan bir dermal matristir. BiobraneTM, kolajenle kaplanmış naylon ağ yapısının silikon membran ile birleştirilmesiyle elde edilen bir yapıdır. Dermagraft, hücre içeren deri greftlerinin bir örneğidir. Bu ürün, biyolojik olarak parçalanabilen bir poliglaktin (poliglikolik asit/polilaktik asit) ağ yapısı üzerinde büyüyen insan fibroblast hücrelerini içerir (Zhong ark., 2010). En sık kullanılan doku greftleri; allograft, amniyotik membranlar, ksenograftlar (Kurtoğlu ve Karataş, 2009). Genellikle kronik yaralarda ve

ileri derece yanık yaralarında kullanılır. Enfeksiyon ve hastalık riskleri ve ekonomik olmamalarından dolayı kullanımları sınırlıdır (Boateng ve ark., 2007).

2.3.6. Yara İyileşmesinde Kullanılan Aktif Bileşenler

2.3.6.1. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri hücre bölünmesi, göçü, farklılaşması; Protein ve enzim üretiminde görev alırken aynı zamanda anjiyogenezi (vaskülarizasyon) uyararak yara iyileşmesinde de önemli rol oynar. Epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), insan büyüme hormonu (hGH), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF-β1) insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) vb. Yara iyileşmesinde aktif rol oynadığı bilinen bir grup büyüme faktörüdür. Bu büyüme faktörlerinin çoğu rekombinant proteinlerdir. Büyüme faktörlerinin yara bölgesine salınması ve etkinliği açısından doğru pansuman malzemesinin seçilmesi çok önemlidir (Zahedi ve ark., 2009; Boateng ve ark., 2007).

2.3.6.2. Vitamin ve Mineral Destekleri

Yara iyileşmesinde A, C ve E vitaminleri; Çinko ve bakır gibi mineraller çok önemli aktif maddelerdir. Yara pansumanlarında kullanılan çok fazla vitamin ve mineral takviyesi yoktur. Bu bileşenleri içeren ürünler genellikle merhemler, kremler ve solüsyonlardır. Vitaminler sistemik dolaşıma katılmak ve vücutta dağıtmak amacıyla ağızdan takviye olarak kullanılır (Zahedi ve ark., 2010).

A vitamini epitel hücre farklılaşmasında ve kollajen sentezinde önemlidir. C vitamininin kollajen sentezi üzerinde de etkisi vardır. C vitamini aynı zamanda derinin ve diğer bağ dokularının hücre dışı matrisinin oluşumunda da etkili bir bileşendir. Ayrıca E vitamini ile birlikte iyileşme sürecini hızlandırır. E vitamini antioksidan ve antiinflamatuar aktiviteye sahiptir; anjiyogenezi destekler. Ayrıca skar dokusu oluşumunu da azaltıcı etkiye sahiptir (Boateng ve ark., 2007).

2.3.6.3. Antimikrobiyaller

Diyabetik ayak ülserlerinde, cerrahi müdahale uygulanmış yaralarda, vücut direncinin azalması nedeniyle enfeksiyon riski taşıyan yaraların tedavisinde genellikle antimikrobiyal aktiviteye sahip ajan ve antibiyotikler kullanılmaktadır. Antimikrobiyal ajanların ve antibiyotiklerin kullanımı yara bölgesinin mikrobiyal kontaminasyondan korunması ve yara iyileşmesinin hızlandırılması açısından avantajlıdır. Bazı antibiyotikler (gentamisin, ofloksasin vb.) yara pansumanları emdirilerek uygulanır. Antibiyotiklerin sistemik dolaşıma girerek verilmesi yerine lokal olarak düşük dozlarda yara bölgesine uygulanması sistemik toksisite riskini azaltır. Povidon-iyot ve bazı iyonik gümüş bileşikleri (gümüş nitrat, gümüş sülfadiazin vb.) antimikrobiyal ajan olarak yara pansuman malzemelerine dahil edilmiş ve kullanılmıştır (Kurtoğlu ve Karataş, 2009). Aynı zamanda literatürde çeşitli bitkisel bileşenlerin (esansiyel yağlar, flavonoidler, alkaloidler vb.) hem antimikrobiyal aktivite gösterdiği hem de iyileşme sürecinde pıhtılaşma, iltihaplanma, kollajen üretimi ve epitelizasyon gibi aşamaları desteklediği belirtilmektedir (Özkorkmaz ve Özay, 2009). Bitkisel bitkisel aktif bileşenler ve antimikrobiyal özelliklerini belirlendiği çalışmalar Tablo 2-1'de gösterilmiştir.

Tablo 2-1: Bitkisel bitkisel aktif bileşenler ve antimikrobiyal özelliklerini belirlendiği çalışmalar (523784 (dergipark.org.tr)

Bitki	Yöntem	Mikroorganizma	Sonuç	Kaynak
Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) Anadolu adaçayı (*Salvia triloba* L.)	Sıvı dilüsyon	*Escherichia coli* *Proteus mirabilis* *Salmonella* Typhimurium *Aeromonas hydrophila* *Aeromonas sobria* *Klebsiella oxytoca* *Citrobacter* sp. *Serratia marcescens* *Bacillus megatherium* *Bacillus cereus Bacillus subtilis Pseudomonas aeruginosa Pseudomonas fluorescens Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis*	5-10 mg/mL 5-10 mg/mL 1-10 mg/mL 0.3-0.5 mg/mL 0.1-0.5 mg/mL 0.1 mg/mL 5-10 mg/mL 5-10 mg/mL 0.05-0.5 mg/mL 0.05-0.3 mg/mL 0.1-0.4 mg/mL 5-10 mg/mL 3-5 mg/mL 0.2-10 mg/mL 1-10 mg/mL	[64]
Karanfil	Disk	*Staphylococcus aureus*	10-14 mm	[65]

(*Syzygium aromaticum* L.)	difüzyon	*Listeria monocytogenes* *Salmonella* Enteritidis *Serratia marcescens* *Escherichia coli*	8-16 mm 10-17 mm 8-12 mm 6-17 mm	
Kekik (*Tymus vulgaris* L.), Kekik (*Origanum vulgare* L.)	Sıvı dilüsyon	*Salmonella* Enteritidis *Salmonella* Typhimurium *Staphylococcus aureus* Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* *Bacillus cereus*	320 µg/mL 160-320 µg/mL 640 µg/mL 320 µg/mL 320 µg/mL 160-320 µg/mL	[66]
Rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.)	Disk difüzyon Sıvı dilüsyon	*Staphylococcus aureus* *Staphylococcus albus* *Bacillus subtilis* *Salmonella* Typhimurium *Pseudomonas aeruginosa* *Shigella dysenteriae*	11.5 mm/>10 mg/mL 17.4 mm/0.25 mg/mL 15.8 mm/0.25 mg/mL 20.2 mm/0.25 mg/mL 12.3 mm/>10 mg/mL 17.8 mm/0.125 mg/mL	[67]
Rezene (*Foeniculum vulgare* L.) Papatya çiçeği (*Matricaria chamomilla*	Disk difüzyon Sıvı dilüsyon	*Escherichia coli* *Salmonella* Typhimurium *Bacillus cereus* *Staphylococcus aureus* *Candida albicans* *Aspergillus flavus*	7-19 mm/12.5-17.5 6-20 mm/12.5-17.5 7-21 mm/10-15 µg/mL 6-23 mm/10-15 µg/mL 8-23 mm/10-15 µg/mL 6-22 mm/10-17.5 µg/mL	[39]
Üzüm çekirdeği (*Vitis vinifera* L.)	Agar difüzyon	*Aeromonas hydrophila* *Bacillus cereus* *Enterobacter aerogenes* *Enterococcus faecalis* *Escherichia coli* *Escherichia coli* O157:H7 *Klebsiella pneumoniae* *Mycobacterium smegmatis Proteus vulgaris Pseudomonas aeruginosa Pseudomonas fluorescens Salmonella* Enteritidis *Salmonella* Typhimurium *Staphylococcus aureus* *Yersinia enterocolitica*	6.67-30.67 mm 8-25 mm 8.67-26 mm 7-22.67 mm 8-27.67 mm 9-25.67 mm 7-26.67 mm 8.67-27 mm 6.67-24.33 mm 8-27 mm 8-25.67 mm 7.67-24 mm 5.67-27.67 mm 7.67-25.67 mm 5.67-25 mm	[68]

2.3.7. Yara İyileşmesinde Bitkilerin Kullanımı

Yara iyileşme süreci, hasar görmüş dokuların onarımını içeren birbiriyle ilişkili süreçleri içerir ve bunların süresi, hasarın ciddiyetine göre değişir. Bitkisel kaynaklara dayalı geleneksel tedaviler yara iyileşmesinde önemlidir. Geleneksel bitkisel tedavi yöntemleri hem güvenli hem de ekonomiktir. Geliştirilen bitkisel ilaçlar birden fazla mekanizma aracılığıyla hasarlı dokunun iyileşmesine katkıda bulunmaktadır. Literatürde çeşitli bitkilerin antimikrobiyal, antiinflamatuar ve yara iyileştirici aktivitelerine ilişkin pek çok çalışma bulunmaktadır. Bitkilerin iyileştirici özellikleri ve tıbbi değerleri, insan vücudunda fizyolojik olarak etki eden biyoaktif bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşenler uçucu yağlar, flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, saponinler, tanenler ve fenolik bileşiklerdir. (Thakur ve ark., 2011).

2.4. Amaranth Yağı Hakkında Genel Bilgiler

Amaranthus bitkileri dünya çapında besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Amaranth'ın benzersiz beslenme özellikleri onu değerli bir besin kaynağı haline getirir. %6-18 protein içeriğine sahiptir ve esansiyel amino asit içeriği açısından zengindir. Buğday, mısır ve pirinçte yalnızca düşük seviyelerde bulunan amino asit lizinin amaranth proteininin yüksek olduğu biliniyor. Lizin amino asidi *Amaranthus* türlerinde buğdaydan iki kat, mısırdan ise üç kat daha fazla bulunmaktadır (Tübitak, 2023). *Amaranthus* yaprakları serbest radikal temizleyici olarak görev yapan antioksidan bileşikler açısından zengindir. Antioksidan bileşiklerin yanı sıra protein, karotenoidler, C vitamini, diyet lifi, kalsiyum, demir, çinko ve magnezyum gibi bileşenleri de içerir. Bitki dokularında bulunan amaranth yağı, yüksek düzeyde doymamış yağ (yaklaşık %70 oleik asit) içerir ve zengin bir skualen ve tokotrienol kaynağıdır (Tikekar, 2008 ve Shukla, 2006).

2.4.1. *Amaranthus* Cinsinin Özellikleri

Amaranthus cinsine ait türler genellikle geniş yapraklı, morumsu-yeşilimsi bitkilerdir. Olgunlaştığında parlak mor, turuncu, kırmızı veya altın renkli çiçekleri ve tek bir büyük tohum başlığı vardır. Amaranth tohumları oldukça küçük olmasına rağmen sayılarının fazla olması, tohum başının bir kilograma kadar ağırlaşmasına neden olur. Amaranth tohumlarının küçük boyutu, kuraklığa tolerans gösterme ve yeni

ortamlara kolayca uyum sağlama yeteneği sağlar. Amaranthın bir diğer değerli özelliği ise özellikle parlak güneş ışığı, yüksek sıcaklık ve kuru toprak koşullarında çok hızlı büyüyebilmesidir. Bu özellik, C4 karbon sabitleme yolu olarak bilinen yolu takip eden Amaranth fotosentezinden kaynaklanmaktadır. Amaranth türleri, fotosentez devam ederken yaprak gözeneklerini veya stomalarını kısmen kapatarak su tasarrufu sağlayabilir, böylece terlemeden kaynaklanan su kaybını en aza indirebilir. Ayrıca ozmotik ayarlamalar yaparak su eksikliğini solmadan veya kurumadan tolere etme yeteneğine de sahiptirler. Amaranth türleri bu özellikleriyle yarı kurak ortamları mısır ve buğdaya göre daha iyi tolere edebilmektedir. Literatürde bazı Amaranth türlerinin yüksek tuzluluk, asitlik veya alkalilik gibi olumsuz toprak koşullarını tolere edebildiği bildirilmektedir (López, 2014 ve Shukla, 2010). Amaranth bitkisi ve yağı, Şekil 2-4'te gösterilmiştir.



Şekil 2-4: Amaranth bitkisi ve yağı (https://create.vista.com/tr/photos/amaranthus/)

2.4.2. *Amaranthus lividus* L.

Amaranthus lividus L., Carl Linnaeus tarafından tarif edilmiştir. *A. lividus, Amaranthaceae* familyasına ve Amaranthus cinsine ait bir bitkidir. Dünyada Amaranth cinsine ait birçok tür bulunmasına rağmen Türkiye'de *A. patulus, A. lividus, A. blitoides,*

A. albus, A. chlorstachys, A. deflexus, A. graecizans, A. retroflexus ve A. viridis. türlerinin bulunduğu belirtilmektedir (Tübitak, 2023). *A. lividus*'un iki eşanlamlısı vardır: *Amaranthus blitum* L. (1753), *Amaranthus oleraceus* L. (1763). *A. lividus* dünyanın çeşitli yerlerinde bulunur ve yabani Amaranth, yaban otu ve mor Amaranth gibi isimlere sahiptir. Çeşitli topraklara ve tarımsal iklim koşullarına dayanıklı olan A. lividus'un üretim maliyeti düşüktür. Düşük maliyetle ve yüksek oranda üretilebilen *A. lividus,* özellikle gelişmekte olan ülkelerde karotenoid, C vitamini, diyet lifi ve besin kaynağı olabilecek sebze ve tahıl ürünü olarak kullanılmaktadır (Shukla, 2010, Han, 2014).

A. lividus birçok hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır. Nijerya'da akciğer rahatsızlıklarına karşı ilaç olarak kullanılmaktadır. *A. lividus* sıvı ekstraktının ağız ve boğaz ülserleri, ishal, dizanteri, ülserler ve bağırsak kanamalarının tedavisinde de kullanıldığı bildirilmektedir (Chaudhary ve ark. 2016). *A. lividus* ayrıca öksürüğü ve soğuk algınlığını gidermek ve aşırı safra salgısını kontrol etmek için de kullanılır. Ayrıca *A. lividus* kökü suyunun mide sorunlarına, menorajiye, çıbanlara, yanıklara ve mide bulantısına karşı kullanıldığı da bilinmektedir. Literatürde ateş düşürücü, iştah açıcı ve idrar söktürücü özellikleriyle bilinen *A. lividus'un* halüsinasyonlar, cüzzam ve egzama tedavisinde de kullanıldığı rapor edilmiştir (Nehal ve ark., 2016).

A. lividus'un çeşitli hastalıklara karşı koruyucu ve tedavi edici özelliği, yapısındaki aktif bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Protein içeriği %17,28, yağ içeriği %0,69, karbonhidrat içeriği %4,13 ve lif içeriği %8,35 olan A. lividus'un kolon kanserine karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu ve kolesterol dengesini düzenlediği bildirildi. Besleyici özelliklerinin yanı sıra. *A. lividus'un* terapötik ve farmakolojik etkileri, alkaloitlerin ve saponinlerin yüksek içeriği ile ilişkilidir. Saponinler antispazmodik, antidiyabetik ve antikanser aktivite sergiler ve çeşitli tıbbi alanlarda kullanılır (Yuan ve ark, 2010; Nayak ve diğerleri, 2013). β-sitosterol, fitol ve eikosametil-siklodekasiloksan gibi biyoaktif bileşenleriyle çeşitli biyolojik aktiviteler sergileyen *A. lividus*, aynı zamanda içerdiği tetradekan gibi bileşiklerle de antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Krishnamoorthy ve ark., 2014). Yapısındaki fitol antikanser, antioksidan, antiinflamatuar, antitümör, antimikrobiyal, diüretik, kemopreventif özelliklere sahipken, sitosterol in vivo olarak antihiperlipoproteinemik,

antibakteriyel, antimikotik ve antitümör aktiviteler sergiler (Rajabudeen ve ark., 2015; Azap E ve ark., 2017).

Karadeniz ve Giresun'da *A. lividus* olarak tüketilmektedir. Literatürde bitkisel örneklerle yapılan çalışmalar çoğunlukla fitokimyasal analizleri kapsamaktadır. Birçok çalışmada bitkisel ekstraktlarla biyolojik aktivite analizleri yapılmıştır (Han ve ark., 2014).

Fitokimyasal içerik ile biyolojik ve farmakolojik etkilerin bir arada araştırıldığı çalışmalar oldukça anlamlıdır. Bu tür çalışmalarda bitki materyalindeki etken madde ortaya çıkarılarak biyolojik aktivite bu etken maddenin fonksiyonu ile ilişkilendirilebilmektedir.

2.4.3. Amaranth Yağının Yara İyileşmesindeki Etkinliği

Ham amarant (*Amaranthaceae; Amaranthus* türleri) yağının antiinflamatuar etkisi ve yara iyileştirici etkisi literatürde anlatılmaktadır. Amaranth yağında bulunan ana ikincil bileşiklerden biri, cilt hasarını önleyen ve antiinflamatuar özelliklere sahip olan skualendir. Enflamasyonu baskılar, yara iyileşme sürecine katılır ve makrofajların yardımıyla tüm süreci kontrol eder. Makrofajlar, doku onarımını uyarmada ve iltihabı azaltmada hayati bir rol oynayan doğuştan gelen hücrelerdir. Bu nedenle literatürde, yaralanma sonrasında harekete geçen ilk hücreler olan proinflamatuar makrofajların immün regülasyonunda skualenin rolünün açıklanması gerekmektedir. Literatür çalışmasında proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinleri analiz etmek için deneysel bir hücre modeli kullanıldı. Skualenin proinflamatuar makrofajlarda antiinflamatuar sitokinlerin sentezini arttırdığı bulunmuştur. Ek olarak skualen, fagositozdan sorumlu eozinofillerin ve nötrofillerin yeniden şekillenme ve onarım sinyalini ve iyileşme sinyalini iyileştirir. Sonuçlara göre skualenin 0,1 ila 0,4 mg/ml konsantrasyon aralığında HEK293 hücre hattı üzerinde toksik etkisinin olmadığı gözlendi. Bu, skualenin biyomedikal, farmasötik ve beslenme amaçlı olarak güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. Skualenin antimikrobiyal aktivitesi de incelenmiştir. Sonuçlar, skualenin iltihaplanma sırasında bir makrofaj tepkisini tetikleyerek yara iyileşmesini destekleyebileceğini gösterdi. Bu nedenle skualenin antimikrobiyal ve antiinflamatuar etkileriyle yara iyileşmesinin iyileşme aşamasında faydalı olabileceği sonucuna varıldı (Katiyar ve ark., 2000).

Deri yaralanmalarında iyileşme süreci, organize yara bölgesi bileşenlerine, sistemik mediatörlere ve yaralanma tipine bağlı olarak hücresel ve moleküler olayları (iltihap, proliferasyon, epitelizasyon, yeniden şekillenme gibi) içerir. Yetersiz tedavi ile doku onarımı başarısız olur ve yara kronikleşebilir. Örneğin enfeksiyonla birlikte yaranın boyutu ilerleyebilir. Optimum yara iyileşmesi, doku hasarının en aza indirilmesi, dokunun beslenmesi ve oksijenlenmesi, fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesi ve anatomik devamlılık esasına dayanır. Bitkilerin iyileştirici etkilerini doğrulayan çalışmalar sonucunda birçok bitkisel ilaç ve tedavi yöntemi geliştirilmiştir (Ozsoy ve ark., 2009).

Amaranth ekstraktlarının yara iyileştirici etkisi, fibroblast hücrelerinin aktivasyonunun arttırılması ve kollajen üretiminin uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Böylece hasarlı bölgenin kapatılmasında ve iyileşmesinde önemli rol oynar (Saddiqe ve ark., 2010). Literatürde amaranth yağı da dahil olmak üzere bazı bitkisel yağlarla bir merhem oluşturulmuş ve bu merhemin yara iyileşmesine olumlu etkisi olduğu belirtilmiştir (Süntar ve ark. 2011). Amaranth ile hazırlanan merhemin uygulandığı başka bir çalışmada klinik ve histopatolojik sonuçlar, uygulanan merhemin yaranın küçülme hızı ve epitelizasyon süresi üzerindeki yara iyileştirici etkisini göstermiştir (Saddiqe ve ark. 2010). Amarantın skar dokusu oluşumu üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışmada, amaranthın sezaryen sonrası kadınlarda hipertrofik skar oluşumunu azaltmak ve yara iyileşmesini kolaylaştırmak için güvenle kullanılabileceği belirtildi. Ayrıca bu çalışmada amarantın yara bölgesindeki ağrı ve kaşıntıyı azaltıcı etkisinin olduğu belirtildi (Samadi ve ark., 2010).

2.4.4. Yara İyileşmesinde Kullanılan Diğer Yağlar

Literatürde yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarında aktif olan amaranth gibi pek çok tıbbi bitki ve bu bitkilerle yapılan çalışmalar mevcuttur. Literatürde sarı kantaron yağı ve zeytinyağı ile birlikte kullanılan adaçayı ve kekik esansiyel yağlarından bir merhem oluşturulduğu belirtilmektedir. Çalışmada, merhem bileşenlerinin etkileşimlerini belirlemek amacıyla her bir malzemenin yara iyileştirme potansiyeli incelenmiştir. Her bir yağ epitelizasyon ve yeniden şekillenmede etkili olsa da bu iyileştirici aktivitenin sırasıyla sarı kantaron yağı, adaçayı yağı, kekik yağı ve zeytinyağı formunda olduğu gösterilmiştir (Süntar ve ark., 2011).

Sıcak ve nemli bir iklim bitkisi olan *Aloe vera'*nın yara ve yanık tedavisinde topikal kullanımının iyileşme sürecini kısalttığı, damarlanmayı sağladığı ve epitelizasyonu hızlandırdığı belirtildi. Aloe veranın iyileştirici etkisi, antiinflamatuar ve antimikrobiyal aktivitesinin yanı sıra yara bölgesini nemlendirici etkisinden kaynaklanmaktadır (Özkorkmaz ve Özay, 2009).

Kekik (*Thymus vulgaris*) yağı, zeytinyağı ve gümüş sülfadiazin'in yara ve yanık iyileşmesi üzerindeki etkileri sıçanlar üzerinde 21 günlük bir süre boyunca incelendi ve karşılaştırıldı. Histolojik bulgular sonucunda tüm gruplarda yara kapanması ve iyileşme gözlenmiş olup, en iyi sonuçların kekik yağı uygulanmasıyla elde edildiği belirtilmiştir (Dursun ve ark. 2003). Başka bir çalışmada kekik yağı kitosan filmleriyle birlikte kullanılmış ve bazı yara iyileştirici özellikleri incelenmiştir. Ortaya çıkan filmlerin yara iyileştirici, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir (Altıok ve ark., 2010).

Yanık yaralarının tedavisinde kullanılan bir diğer bitki türü ise emzik otudur *(Onosma).* Yapılan bir çalışmada Onosma hispidum kökü ekstreleri ile hazırlanan merhemin normal ve diyabetik sıçanlarda yara iyileşmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Merhemin diyabetik sıçanlar üzerindeki iyileştirici etkisi araştırıldı ve yara kapanması sonrasında yara gücünde önemli bir artış olduğu belirtilmiştir (Kumar ve Gupta, 2010).

Adaçayı (*Salvia sclarea* L.) yağının, yara enfeksiyonunda etkili olduğu bilinen ve enfekte hastalardan izole edilen Staphylococcus suşları (*S. aureus, S. epidermidis, S. xylosus*) üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, in vitro test sonuçları; Adaçayı yağı aktif bir doğal antimikrobiyal maddedir olduğunu göstermiştir (Sienkiewicz ve ark., 2015).

2.5. Nanoemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler

Nanoteknolojideki son gelişmeler, zayıf çözünür, zayıf emilen ve kararsız bitki özleri ve fitokimyasalların kozmetikte potansiyel kullanımı için umut vericidir. Modern bir bakış açısı, bir kozmetik ürünün hem estetiğini hem de etkinliğini iyileştirebilir. Yeni tekniklerin uygulanması, insan vücudu üzerindeki kalıcı etkilerine ilişkin olarak bitkilerin etkinliğini de artırabilir (Altuntaş ve ark. 2019).

Yenilikçi ürünler sağlayacak kilit teknolojilerden biri Nanoemülsiyondir. Nanoemülsiyonlar, mikron altı aralığında damlacık oluşumu nedeniyle ultra ince emülsiyonlar, miniemülsiyonlar ve mikron altı emülsiyonlar olarak da adlandırılabilir. Nanoemülsiyon'lerin ortalama damlacık boyutu 20 ila 500 nm arasında değişebilir (Guglielmini ve ark. 2008). Damlacıkların küçük boyutu, aktif bileşenlerin cilde etkili bir şekilde iletilmesini sağlarken, kremleşme, tortulaşma ve agregasyona karşı doğal bir stabilite sağlar[11]. Nanoemülsiyon'ler, kozmetiklerin kontrollü dağıtımı ve aktif bileşenlerin belirli cilt katmanlarında optimize edilmiş dağılımı için potansiyel araçlar olarak kişisel bakım ürünlerinde uygulama için son yıllarda büyük ilgi gördü (Guglielmini ve ark. 2008). Nanoemülsiyon üretiminin basitliği, geleneksel dağıtım sistemlerine kıyasla bitkisel ilaçların artan yüklemesi, iyileştirilmiş terapötik etkinliği ve stabilitesine yönelik ilgiyi de çekmiştir (Harwansh ve ark. 2019). Topikal ilaç dağıtımı için ortaya çıkan bir teknik olan nano-emulgel, şu anda egzama, Herpes simpleks, akne vb. dahil olmak üzere viral, bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarından kaynaklanan çeşitli cilt bozukluklarının tedavisi araştırılmaktadır (Ajazuddin ve ark. 2013). Bu nano-emüljel yaklaşımı, nanoemülsiyon sisteminin bir hidrojel matrisine dahil edilmesiyle hazırlanan nanoemülsiyon bazlı hidrojelin geliştirilmesine dayanır (Eid AM ve ark. 2014). Nanoemulgel sistemi, hidrojelin mukoadeziv özelliğine atfedilen kontrollü salım ve ilaç partiküllerinin çoklu katmanlardan salımının faydalarını sağlayabilir. Ayrıca, hidrojelin muko-yapışkan özellikleri, ilacın cilt üzerinde temas süresini uzatarak etki süresinin uzamasına neden olur (Ajazuddin ve ark. 2013). Nano emüljel sisteminin yüksek çözünürlük ve daha iyi yapışma özellikleri, cilt boyunca daha büyük konsantrasyon gradyanına yol açarak daha iyi cilt penetrasyonu sağlar (Gannu R ve ark. 2010). Nano emüljel sisteminin daha da geliştirilmiş tiksotropik özellikleri, yağsız, leke bırakmayan, yumuşatıcı, iyi yayılabilirlik, çıkarılması kolay ve hoş görünümü, kabul edilebilirliğini desteklemektedir (Eid AM ve ark. 2014).

Nano boyutlu emülsiyon damlacıklarının kullanıldığı emülsiyon bazlı topikal jel formülasyonlarıdır. Uygun bir jelleştirme maddesi eklenerek jelleştirilir. Çünkü nanoemüljeller hem nanoemülsiyon hem de jel içerir. Taban, ilaç taşıyıcı sistemler olarak uygun seçenekler arasındadır. Nanoemülsiyon bileşeni nanoemulgel, aktif maddeyi enzimatik bozunma ve hidroliz gibi reaksiyonlardan korur ve jel bazı, emülsiyonun viskozitesini artırarak emülsiyona termodinamik stabilite sağlar.

Bu çalışmada cilt yarası ve skar tedavisinde Amaranth yağı içeren kozmetik bir nanoemüljel formülasyonu geliştirmeyi hedefliyoruz. Bu amaçla öncelikle Amaranth sabit yağları türevlendirme işlemlerinin ardından yağ asit kompozisyonu açısından standardize edilecek ve bu standardizasyon Gaz Kromatografisi yöntemiyle birlikte farklı dedektörler kullanılarak (Diyot array dedektör (DAD), Kütle Spektrometresi (KS) vb.) detaylı olarak ortaya konulamıştır.

Ardından, Standartlaştırılmış Amaranth yağı içeren dermatolojik nanoemüljel formülasyonları, ultrasonik emülsifikasyon yöntemi kullanılarak hazırlanamıştır. Hazırlanan formülasyonlar karakterize edilecek ve 3 ay boyunca fizikokimyasal stabiliteleri değerlendirilemiştir.

Son olarak, stabilite testlerinin ardından en uygun bulunan ve optimize edilmiş nanoemuljel formülasyonunun *in vitro* sitotoksisite (MTT Testi) ve *in vitro* etkinlik testleri (antimikrobiyal aktivite ve yara iyi edici etki (scratch assay)) yürütülerek, geliştirilen nanoteknolojik formülasyonun hasarlı ciltte kullanımının potansiyel etkilerinin ispatlanması amaçlanmaktadır.

2.5.1. Nanoemülsiyonların Avantajları

-Nanoemülsiyonlar kozmetik ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ve tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemin seçilmesinin nedenleri şunlardır:

-Damlacık boyutunun küçük olması yüzeylere homojen bir şekilde yayılmasını sağlar. Tüm sistemin düşük yüzey gerilimi ve Y/S damlacıklarının düşük ara geriliminin bir sonucu olarak ıslanabilirliğin, yayılmanın ve nüfuz etmenin arttırılması mümkündür (Dalo, 2017).

-Çok küçük damlacık boyutu, yer çekimi kuvvetinde önemli bir azalmaya neden olur ve Braun hareketleri yer çekimini önlemek için yeterli olabilir. Bu, depolama sırasında kremalaşma veya topaklanmanın oluşmayacağı anlamına gelir.

-Çok küçük damlacık boyutu aynı zamanda topaklanmayı da önler. Zayıf topaklanmanın önlenmesi, sistemin ayrışma olmadan dağılmış kalmasını sağlar.

-Elastik damlacıklar yüzey dalgalanmalarını önler ve sistemde birleşme olmaz.

-Nanoemülsiyonlar aktif maddelerin deriden etkin şekilde taşınmasına uygun sistemlerdir. Emülsiyon sistemlerinin geniş yüzey alanları aktif bileşenlerin hızlı bir şekilde nüfuz etmesini sağlar. Toksik ve tahriş edici olmadığından cilt ve mukozalara rahatlıkla uygulanabilir (Xin ve ark.2012).

-Sistemin şeffaf olması, akıcı olması (uygun yağ konsantrasyonunda) ve koyulaştırıcı içermemesi hoş bir estetik karakter ve cilt hissi sağlar.

-Mikroemülsiyonlardan farklı olarak (genellikle %20 veya daha fazla yüzey aktif madde konsantrasyonu gereklidir), nanoemülsiyonlar makul miktarda yüzey aktif madde kullanılarak hazırlanabilir. %20 Y/S nanoemülsiyonlarında %5 yüzey aktif madde yeterlidir. Nanoemülsiyonlar genellikle insan tüketimi için onaylanmış ve enterik olarak uygulanabilen GRAS (Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan) yüzey aktif maddelerle hazırlanır (Abamaali ve ark. 2011).

- Lipozom ve vezikül gibi stabilitesi düşük sistemler yerine nanoemülsiyon uygulanarak nanoemülsiyon damlacıklarının etrafında katmanlı bir sıvı kristal faz oluşturulabilir. (Dalo, 2017).

- Krem, sıvı, sprey ve köpüklerden nanoemülsiyon formu hazırlanabilir.

- Kişisel bakım ürünlerine eklenebilen parfümlerde taşıyıcı sistem olarak nanoemülsiyonlar kullanılmaktadır. Bu sayede alkolsüz parfümler hazırlanabilir.

- Nanoemülsiyonlar sağlıklı birey ve hayvan hücrelerine zarar vermediğinden tedavi amaçlı kullanıma uygun formülasyonlardır (Dalo, 2017).

- Emilim oranı biyoyararlanımı arttırır ve emilim farklılıklarını ortadan kaldırır.

- Lipofilik ilaçların çözünmesine yardımcı olur ve bazı ilaçların hoş olmayan tadını maskeler.

- Ürün topikal, oral ve intravenöz olarak uygulanabilir.

- Hücre kültüründe yağda çözünen maddelerin alımı artar. Hücre kültürünün canlılığını ve gelişimini artırır. Yağda çözünen ilaçların hücre kültüründe toksisite çalışmalarına olanak sağlar.

- Nanoemülsiyonlar, kimyasal olarak kararsız bileşenleri oksidatif ve ışık bozulmasından koruyarak stabilitesini artırabilir (Xin ve ark.2012).

-Nanoemülsiyonlar koku maskeleme amacıyla kullanılabilir.

Kremler, sıvılar, spreyler ve köpüklerden nanoemülsiyon formu hazırlanabilir.

-Nanoemülsiyonlar aktif maddelerin deriden etkili bir şekilde taşınmasına uygun sistemlerdir.

-Kozmetik ürünlerde cildin nemlenmesini sağlar.

-Kozmetik ürünlerde iyi yayılır ve iyi duyusal özelliklere sahiptir (Abamaali ve ark. 2011).

2.5.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları

-Nano damlacıkların stabilizasyonu için yüksek konsantrasyonda surfaktanlar ve kosurfaktanlar kullanılabilir.
-Damlacık boyutu küçültülmesinin çok zor olması ve özel aletler ve işlemler gerektirmesi nanoemülsiyon formülasyonunu pahalı bir proses haline getirmektedir. Nanoemülsiyonların hazırlanabilmesi için yüksek basınçlı homojenizatör gibi pahalı cihazlara gereksinim duyulabilir.
-Nanoemülsiyonlarla ilgili bir diğer problem ise stabilitedir. Her ne kadar genelde bu sistemlerin yıllarca stabil kaldığı kabul edilse de çok küçük damlacık boyutundan dolayı Ostwald olgunlaşmasının nanoemülsiyonlara hasar vererek uygulanmalarını kısıtladığı rapor edilmiştir (Xin ve ark.2012).
Eriyebilirlikleri yüksek maddeler içim kısıtlı çözünme kapasitesi mevcuttur.
Nanoemülsiyon stabilitesi, pH ve sıcaklık gibi çevre koşullarından etkilenebilir.
-Submikron damlacıkların üretim mekanizmalarının ve sürfaktan ve kosürfaktan rolünün açıklanmasında eksiklikler vardır.
-Nanoemülsiyon üretimine dahil ara yüzey kimyasının açıklanmasında eksiklikler görülmektedir (Chime ve ark. 2014).

2.5.3. Nanoemülsiyonların Bileşimi

Nanoemülsiyonların hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve özellikleri Tablo 2-2'de gösterilmiştir.

Tablo 2-2: Nanoemülsiyonların hazırlanmasında kullanılan malzemeler ve özellikleri (Altuntaş ve ark. 2023)

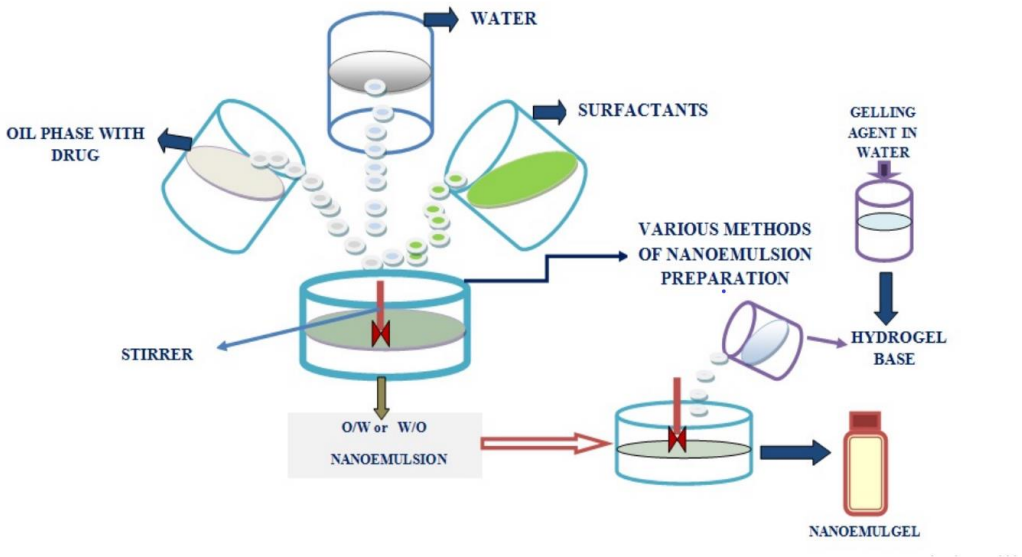
Kullanılan malzeme	Özellikler	Örnekler
Yağ/lipitler	Doğal, sentitik ve yarı sentetik maddelerinin fizyolojik kaybını önlemeye yardımcı olan neme karşı iyi bariyer özelliklerine sahiptir.	Bitkisel yağlar , organik yağ asitleri (linoleik asit, oleik asit) , Captex 355, Captex 200, Captex 8000, Witepsol, Caprilik/kaprik trigliserid (Myritol 318), Isopropil miristat, karnauba mumu, parafin yağı , mumlar (balmumu), kandelilla mumu, , asetogliseritler ve reçineler
Proteinler	Proteinler su ve yağ ara yüzeyinde adsorbe edilir ve emülsiyon damlacıklarının fiziksel bozulmasını, özellikle birleşmesini önleyen viskoelastik bir kaplama oluşturur.	Buğday gluteni, kazein, peynir altı suyu proteini, kollajen, jelatin, keratin, pirinç kepeği proteini, soya proteini, yer fıstığı proteini, mısır-zein, pamuk tohumu proteini ve bezelye proteini .
Surfaktan ve Ko-surfaktanlar	Ara yüzey gerilimini azaltır, damlacık toplanmasını önler ve nanoemülsiyonları stabilize eder.	Q naturale , Transcutol HP, Capryol 90 , Pluronic F68 , Gliserin, Etilen Glikol, Propilen Glikol, PEG 400, Lauroglycol 90 , Etil alkol Çeşitli hint yağı türevleri (Cremophore EL ve Cremophore RH, Labrasol, Labrafac, Poloxamar 124 ve 188) Fosfolipidler (süt ürünleri, soya veya yumurta lesitini), küçük moleküllü yüzey aktif maddeler (Spans, Tweens), amfifilik polisakkaritler (modifiye nişasta, Arap zamkı) .
Jelleştirici Ajanlar (Polimerler)	Sulu fazı jelleştiren veya viskoziteyi artıran bileşikler. Bunlar aynı zamanda istenen dokusal özellikleri sunmak veya yerçekimsel ayrılmayı önlemek için de kullanılabilir.	Polioller (sorbitol, gliserol), şekerler (HFCS, sakaroz), proteinler (WPI, jelatin, SPI) ve polisakkaritler (karragenan, ksantan, aljinat, pektin) , guar sakızı, nişasta karboksimetil selüloz(CMC) . magnezyum alüminyum silikat (Veegum®), Gmoist® HA Carbopols® (artık karbomerler olarak bilinir), poloksamerler (Pluronics®) .
Nemlendiriciler	neme karşı iyi bariyer özelliklerine sahiptir.	Gliserin, propilen glikol , PEG 400 **,** Hyaluronic acid Gmoist® HA .

2.5.4. Faz Değişimi

Emülsiyon eğer bir fazdan diğer bir faza geçerse yani maddenin hali değişirse buna faz değişimi denir. Faz değişimine emülsiyondaki yüzey aktif maddenin oranı veya kullanılan diğer maddelerin oranı etki edebilmektedir (Xin ve ark.2012).

2.5.5. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Metodları

Nanoemülsiyon hazırlama yöntemlerine baktığımızda temel olarak iki yöntem karşımıza çıkmaktadır. Birincisi yüksek enerji yöntemi, diğeri ise düşük enerji yöntemidir. Yüksek enerji gerektiren yöntemde amaç, kullanılan yüksek enerji yardımıyla damlacıkların boyutunun küçültülmesidir. Bu amaçla yüksek hızlı karıştırıcılar, yüksek basınçlı homojenizatörler ve ultrasonik jeneratörler kullanılmaktadır. Düşük enerji gerektiren diğer bir yöntem ise "faz dönüşüm sıcaklığı (PIT)" ve "emülsiyon dönüşüm noktası (EIP)" dir. Bu nanoemülsiyon üretim yöntemlerinde sistemdeki maddelerin kimyasal enerjisi ve sistemin fizikokimyasal özellikleri dikkate alınır. (Solans ve ark. 2005). Nanoemüljel hazırlamanın şematik diyagramı Şekil 2-5'te gösterilmiştir.



Şekil 2-5: Nanoemüljel hazırlamanın şematik diyagramı

2.5.6. Yüksek Enerji Gerektiren Metodlar

Nanoemülsiyon yapıların oluşturulması için sisteme yüksek enerji vermek amacıyla yüksek hızlı karıştırıcılar, yüksek basınçlı homojenizatörler ve ultrasonik sistemler kullanılmaktadır.

2.5.6.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon

Nanoemülsiyonların hazırlanmasında yüksek basınçlı homojenizasyon işlemi için yüksek basınçlı homojenizatörler kullanılmaktadır. Bu homojenizatörler 50-100 MPa basınçla çalışırlar. Yüksek basınçlı homojenizasyon yönteminde sıvı ürün yüksek kayma gerilimine maruz bırakılır ve çok küçük emülsiyon damlacıkları elde edilir.

Bu yöntemde yağ fazı, su fazı ve yüzey aktif madde+kosürfaktan fazının bulunduğu sisteme yüksek basınç uygulanır. Homojenizatör yardımıyla basınç uygulanır. Homojenizatörlerin kullanımında aşırı ısınma sonucu bileşenlerin bozulması veya verimin düşük olması gibi sorunlarla karşılaşılabilir. Bu yöntem yalnızca %20'den az yağ fazı içeren su içinde yağ sıvı nanoemülsiyonları için geçerlidir. Yüksek viskoziteli krem nanoemülsiyonlarında veya damlacık boyutunu 200 nm'nin altına düşürmenin zor olduğu yapılarda uygulanmamalıdır (Haritha, ve ark 2017).

(Yuan, ve ark. 2008) β-karoten ile yaptıkları çalışmada su içinde yağ nanoemülsiyonunu hazırlarken yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemini kullanmışlardır. Zetasizer ve Turbinscan ile hazırlanan nanoemülsiyonda emülgatör tipi ve konsantrasyonu, uygulanan homojenizasyonun basıncı ve sıcaklığı ve döngü sayısı 10 gibi parametreleri incelediler. Tween 20 ile hazırlanan nanoemülsiyonlarda daha küçük damlacık boyutu elde edildi. Aynı zamanda Uygulanan homojenizasyonun basınç, sıcaklık ve döngü sayısının artmasıyla nanoemülsiyonun damlacık boyutu küçülmüştür (Dalo, 2017).

2.5.6.2. Mikrofluidizasyon (Kolloid Mil)

Mikroakışkanlaştırma işlemleri, sıvıların, sıcak eriyiklerin ve diğer yumuşak agregatların akım kaynaklı kaymasını kullanır. Yüksek basınçlı pompa kullanılır.

Bu işlenmiş malzemelerin nano boyutlu bir dispersiyonu elde edilir (Acoste, 2009). Önceden karıştırılmış emülsiyon hızla sert, paslanmaz çelik mikrokanallara

zorlanır (Mason HG, ve ark. 2006). Ürün birleşmeye karşı stabilize edilmelidir. Ürünü topaklaşmaya karşı korumak için hızlı soğutma, püskürterek kurutma, solventin buharlaştırılması ve stabilizasyon maddeleri olarak hidrokolloid kaplamaların, sıvı kristallerin ve yüzey aktif maddelerin kullanılması gibi birçok alternatif kullanılabilir (Acoste, 2009).

Goh ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada mikroakışkanlaştırma yöntemini kullanarak palm bazlı tokotrienol açısından zengin bir nanoemülsiyon formülasyonu hazırlamışlardır.

Hazırladıkları nanoemülsiyon formülasyonunda Tween serisini kullandılar. 25000 psi basınç ve 10 döngü uygulanarak hazırlanan nanoemülsiyonun damlacık boyutu 100 nm'nin altındadır (Dalo, 2017).

2.5.6.3. Ultrasonik Emülsifikasyon

Ultrasonik, insan kulağının duyamayacağı kadar yüksek (>18 kHz) frekansa sahip ses dalgalarıdır. Ultrasonik emülsifikasyon, birbiriyle karışmayan iki sıvı yüzey aktif maddenin, bir ultrasonik enerji alanının varlığında bir ultrasonik enerji alanına getirilmesiyle meydana gelir. Ultrasonik yöntemlerde, titreşen bir katı yüzey, ön karışım emülsiyonunu yüksek bir güçte, genellikle 20 kHz veya daha yüksek bir ultrasonik frekansta karıştırır. Böylece parçacıkların parçalanması için aşırı kesme ve kavitasyon sağlanır (Mason HG, ve ark. 2006). Ultrasonik emülsifikasyon damlacık boyutunun azaltılmasında etkilidir. Ancak yalnızca küçük partiler için uygundur (Solans ve ark. 2005).

Ultrasonik emülsifikasyon 2 mekanizmadan oluşur. Birincisi, kararsız ara yüzey dalgalar oluşturarak yağ fazının su fazına geçmesine izin verir. İkincisi ise hafif ses dalgalarının basınçlarıyla mikro damlacıklar elde etmektir. Her damlacık basınç altında patladığından yüksek oranda türbülans yaratır. Bu türbülansta damlacıkları daha da parçalayarak yağların suda hapsolmasını sağlar (Kentish, ve ark. 2007). Ultrasonik emülsifikasyon, yüksek basınç kullanılarak homojenizasyona alternatif bir yöntemdir. Nanoemülsiyon için yoğun bir kesme kuvveti gereklidir, bu da damlacıklara yoğun ve asimetrik bir şekilde vakum gönderen ve damlacıkları nanometre ölçeğine kadar parçalayan bir ultrasonik homojenleştirici ile sağlanır (Haritha, ve ark.). Li ve Chiang

(2012) D-Limonen ile yaptıkları çalışmada ultrasonik emülsifikasyon yöntemini kullanarak nanoemülsiyon formülasyonu hazırlamışlardır. Yüzey aktif maddeler olarak sorbitantrioleat ve polioksietilen 20 oleil eter kullandılar. 18 W güçte ve 120 saniyede ultrasonik emülsifikasyon uygulanarak damlacık boyutu 100 nm'nin altında nanoemülsiyonlar elde edilmiştir. Mikroakışkanlaştırma ve ultrasonik emülsifikasyon yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada D-Limonenin Y/S nanoemülsiyonu hazırlandı.

Hazırlamada her iki yöntem de kullanılmış ve 150-700 nm aralığında nanoemülsiyonlar elde edilmiştir. Ancak her iki yöntem karşılaştırıldığında ultrasonik emülsifikasyonun uygulama kolaylığı ve cihazın temizliği açısından daha çok tercih edildiği belirtilmiştir (Jafari, ve ark.2006).

2.5.7. Düşük Enerji Gerektiren Yöntemler

Adından da anlaşılacağı gibi bu teknik, nanoemülsiyon oluşumu için düşük bir enerji seviyesi gerektirir. Bu yöntemde nano boyutlu damlacıkların elde edilmesi, yüzey aktif maddenin, yardımcı yüzey aktif maddenin ve yağın fizikokimyasal özelliklerinin ve arayüzey olaylarının/faz değişiminin modülasyonuna dayanmaktadır. Yoğunlaştırma yöntemi olarak da bilinen bu yöntem, emülsifikasyon sırasında fazların değişmesine bağlı olarak gerçekleşir. Böyle bir faz değişikliği, yüzey aktif maddenin kendiliğinden eğimindeki bir değişikliğin sonucudur ve iki şekilde meydana gelebilir:

* Faz değişim sıcaklığı olarak bilinen sabit bileşimde, iyonik olmayan yüzey aktif maddelerin kendiliğinden gradyanını sıcaklıkla değiştirerek.

* Sistem bileşenlerini emülsiyon dönüşüm noktası olarak bilinen sabit bir sıcaklıkta değiştirerek.

Yani düşük enerjili emülsifikasyon yöntemi, çok küçük damlacıkların oluşumunu destekleyecek şekilde bileşenlerin faz davranışlarına ve özelliklerine göre geliştirildi. Küçük damlacıkların meydana gelmesi için sistemin depo enerjisinden Bu yöntem çok ilginç. Parametrelerin değiştirilmesiyle elde edilen bu emülsiyon, sıcaklık ve formülasyon bileşenleri gibi sistemin hidrofilik ve lipofilik dengesini etkileyebilmektedir (Chime ve ark. 2014).

2.5.8. Faz Değişim Sıcaklığı Metodu

Bu yöntem, polietoksilenmiş yüzey aktif maddeler gibi iyonik olmayan yüzey aktif maddelerin sıcaklığın bir fonksiyonu olan su ve yağa olan afinitesini değiştirmek için sıcaklıkta değişen çözünürlükten yararlanır. Polioksietilen gruplarının artan sıcaklıkla dehidrasyonuna bağlı olarak polioksietillenmiş yüzey aktif maddelerde lipofilite eğilimi gözlendi. Bu olgu, faz değişim sıcaklığı yöntemi kullanılarak nanoemülsiyon hazırlamanın temelini oluşturmaktadır.

Faz değişim sıcaklığı yönteminde yağ, su ve iyonik olmayan yüzey aktif maddeler oda sıcaklığında karıştırılır. Bu karışım fazla yağ içeren Y/S mikroemülsiyonu içerir ve tek katmanlı yüzey aktif madde pozitif eğim sergiler. Bu mikroemülsiyon yavaşça ısıtıldığında, polietoksilenmiş yüzey aktif madde yüksek sıcaklıkta lipofilik hale gelir, yüzey aktif madde yağ fazında tamamen çözünür ve başlangıçtaki Y/S emülsiyonu, bir W/Y (yağda su) emülsiyonu haline gelmek üzere bir faz değişikliğine uğrar.Tek katmanlı yüzey aktif maddenin negatif eğimi bu aşamada gözlemlenmektedir.

Hidrofilik lipofilik denge sıcaklığı olarak da bilinen ara sıcaklıkta, iyonik olmayan yüzey aktif madde, yağ ve su fazına aynı afiniteyi gösterdiğinden, bu üçlü sistemin çoklu dönüşüm noktası yöntemiyle Y/S nanoemülsiyonunu hazırladılar. 6. ayın sonunda partikül boyutunda hafif bir değişiklik olması hedeflenen stabiliteye ulaşıldığını gösterir. Ayrıca hazırlanan nanoemülsiyon allil izotiyosiyanatın bozunmasını önlemiştir. İlk kez hazırlanan alil izotiyosiyanat nanoemülsiyonu ile istenilen kimyasal stabilite ulaşılmıştır.

2.5.9. Nanoemülsiyonların Karakterizasyonu

Nanoemülsiyonların değerlemesinde birçok parametre kullanılmaktadır. Nanoemülsiyonların karakterizasyonunda pH değeri, iletkenlik, viskozite, morfoloji, damlacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyeli, kırılma indeksi ölçümü, morfolojik değerlendirme, in vitro/in vivo ve termodinamik çalışmalar yer almaktadır (Mishra, ve ark. 2014).

2.5.9.1. Morfoloji

Nanoemülsiyonların morfolojisi transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve taramalı elektron mikroskobu ile belirlenir. Damlacıkların morfolojisi ve yapısı

transmisyon elektron mikroskobu ile incelenir. Artan büyüme açısındaki parlak alan görüntülemenin kırınım modlarıyla kombinasyonu, nanoemülsiyon damlacıklarının şeklini ve boyutunu belirlemek için kullanılır (Mishra, ve ark. 2014).

Taramalı elektron mikroskobunda dispers fazın yüksek çözünürlüklü görüntüleri elde edilir. Damlacıkların şekli ve yüzey özellikleri hakkında bilgi verir. Bu tip mikroskoplar düşük maliyetlidir ve kısa sürede geniş alanların incelenmesine olanak sağlar (Hatziantonioua, ve ark. 2007).

Nanoemülsiyonların yapısı ve davranışı, X-ışını veya nötron saçılması, atomik güç mikroskobu veya kriyo elektron mikroskobu gibi daha karmaşık yöntemlerle değerlendirilebilir (Chime, ve ark. 2014).

2.5.9.2. Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli

Nanoemülsiyonların damlacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli, bir damlacık boyutu analizörü kullanılarak foton korelasyon spektroskopisi ile değerlendirilebilir. Bu cihaz aynı zamanda dinamik ışın saçılımının kümülatif analizinden elde edilen boyut dağılımının genişliğinin bir ölçüsü olan çoklu dağılım indeksini de belirleyebilir. Çoklu dağılım indeksi dağılım kalitesinin veya homojenliğin bir göstergesidir.

Foton korelasyon spektroskopisi z ortalama damlacık çapını verir. Lazer kırınımı damlacık ölçümü için kullanılan başka bir yöntemdir (Lovelyn ve Attama 2011).

2.5.9.3. Viskozite

Ölçüm viskozimetre ile yapılır. Nanoemülsiyon viskozitesi yüzey aktif maddenin, yağ ve su fazı bileşiminin ve bunların konsantrasyonlarının bir fonksiyonudur. Su içeriğinin arttırılması viskoziteyi azaltırken, yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde miktarının azaltılması su ile yağ arasındaki arayüzey gerilimini arttırır, dolayısıyla viskozite de artar. Viskozite stabilite ve etkili ilaç salımı için çok önemli bir faktördür. Nanoemülsiyonlar, Y/S tipi olmaları ve S/Y nanoemülsiyonlarına göre daha az yağlılık içermeleri nedeniyle genel olarak düşük viskozite değerlerine sahiptirler. Bu nedenle Y/S nanoemülsiyonlarının cilde uygulandıktan sonra daha hızlı salınması ve kolayca uzaklaştırılması bekleniyor.

Viskozite değişikliklerinin gözlemlenmesi, nanoemülsiyonlar da dahil olmak üzere sıvı ve yarı katı formülasyonları değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir (Lovelyn ve Attama 2011).

2.6. Nanoemüljeller

2.6.1. Tanımı ve Genel Özellikleri

-Merhem ve kremlerle karşılaştırıldığında hidrojel formülasyonları genellikle daha hızlı ilaç salınımı sağlar. Emüljeller, hidrojeller ve emülsiyonların kombinasyonlarıdır. Emülsiyon formülasyonunda hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlar hazırlanabilir (Dalo, 2017).

-Emüljellerin Avantajları: Hidrofobik ilaçların kullanımı: Hidrofobik ilaçlar, suda çözünürlüklerinin olmaması ve ilacın düzgün salınımının olmaması nedeniyle jel bazına doğrudan eklenemez. Emüljeller, bu tür hidrofobik ilaçların yağ fazına dahil edilmesine izin verir, böylece yağ küreciklerini sulu fazda dağıtarak bir Yağ/Su emülsiyonu oluşturulur.

-Daha iyi yükleme kapasitesi: Emüljeller diğer yeni taşıyıcı sistemlere göre daha yüksek yükleme kapasitesine sahiptir.

-Daha iyi stabilite: topikal olarak uygulanan preparatların çoğunluğu, örneğin; Tozların higroskopik yapısı, kremlerin faz değişimi ve merhemlerin yağ bazından dolayı bozulması nedeniyle emüljellerden daha az stabildir.

-Üretim yapılabilirliği ve düşük hazırlama maliyeti: Emüljellerin hazırlanması, üretimin yapılabilirliğini artıran basit ve kısa adımlardan oluşur.

-Emüljel üretimi için özel ekipmanlara gerek yoktur. Üretimde kullanılan malzemelerin bulunması, kullanılması daha kolay ve daha ucuzdur. Bu, emülgatörlerin üretim maliyetini azaltır.

-Kontrollü salım: Emüljeller, yarı ömrü kısa ve terapötik aralığı dar olan ilaçların uygulanmasında kullanılabilir.

Ayrıca ilk geçiş metabolizmasından etkilenmemesi, gastrointestinal uyumsuzluğu önlemesi, belirli bir bölgeye seçici olması, kolay ve rahat uygulanabilmesi, kendi kendine tedaviye uygun olması, gerektiğinde kesilebilmesi ve tedaviyi iyileştirebilmesi de önemlidir. hasta uyumu. (Lovelyn ve Attama 2011).

2.6.2. İn vitro salım

Transdermal uygulama için hazırlanan nanoemülsiyonların salım profili Franz difüzyon hücresi ile incelenmektedir. Serbest bırakılan içeriğin cilde nüfuzunun genişliği veya derinliği, eş odaklı bir taramalı lazer mikroskobu ile görselleştirilir. İn vitro ilaç salınımı, hazırlanan formülasyonun bir kısmının Franz hücresinin membran bariyerini içeren donör bölmesine dağıtılması, reseptör kısmında kapsüllenmiş ilacın görünümünün gözlemlenmesi ve manyetik bir karıştırıcıda 100 rpm'de karıştırılmasıyla tespit edilebilir. 37±1°C. Belirli zaman aralıklarında reseptör ortamından 1 ml dispersiyon numunesi alınır ve eşdeğer miktarda ortamla değiştirilir. Alınan numuneler 0,22-50 μm filtrelerden süzülerek ilacın en çok emildiği dalga boyunda HPLC veya UV-Vis spektroskopisi ile ilaç salınımı incelenir.

Difüzyon hücrelerinin kullanımı, ex vivo salım çalışmasının alternatif ve popüler bir yöntemidir. Kulak veya karın bölgesinden deri kesilerek alttaki kıkırdak ve yağlar dikkatlice çıkarılır. Deri uygun boyutta kesilir ve önceden reseptör çözeltisiyle doldurulmuş bir difüzyon hücresine yerleştirilir. Daha sonra veziküler formülasyon numuneleri derinin sırt bölgesine yerleştirilir ve cihaz etkinleştirilir. 24 saate kadar aralıklarla reseptör ortamından örnekler alınır, eşdeğer miktarda ortamla değiştirilir ve alınan örneklerden HPLC veya UV-Vis spektroskopisi ile ilaç geçirgenliği incelenir.

Rejenere selüloz gibi yarı geçirgen membranlar, in vitro salım çalışmaları için cilt bölgelerinde kullanılabilir (Lovelyn ve Attama 2011).

2.6.3. İn vivo biyoyarlanım çalışmaları

İn vivo salım çalışmaları, formülasyonun canlı hayvanlara uygulanmasıyla gerçekleştirilir. Çalışmalarda genellikle fareler kullanılıyor. Belirli zaman aralıklarında alınan kan örnekleri santrifüj edildikten sonra protein içermeyen plazmada HPLC ile ilaç içeriği analiz edilerek etkin maddenin biyoyararlılığı belirlenir (Zhao ve ark. 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler

Tez çalışmalarında Kullanılan alet ve malzemeler:

1.Tekli ısıtıcılı manyetik karıştırıcı–MSH-20A model Wisestir, Wisd Laboratory instruments

2.Çalkalamalı su banyosu –WSB-30 model WiseBath, Wisd Laboratory instruments

3.Mekanik karıştırıcı – HS100D Wisestir, Wisd Laboratory instruments

4.İklimlendirme kabini - Nüve test cabinet TC120

5.Kurutma Etüvü - WiseVen, Wisd Laboratory instruments

6.pH-metre - HANNA (Hanna edge multiparametre)

7.Hassas terazi - AND GR-200

8.Isıtıcılı çoklu manyetik karıştırıcı – MS-MP8 model Wisestir, Wisd Laboratory instruments

9.Ultrasonikasyon cihazı – Sonics, Sonics&Materials, Inc.

10.Santrifüj cihazı- Nüve ve San. Malz. İm ve tic. A.Ş.

11.Reometre - Brookfield HA DV3T model

12.Isıtıcı tabla - Stuart heat SB 160 model

13.Ultrasonik banyo – D06H Wiseclean, Wisd Laboratory instruments

14.Isıtıcılı su banyosu- WiseBath. Daihan Scientific Co.Ltd.

15. Malvern Zetasizer Nano ZS partikül boyutu ve zeta potansiyeli ölçüm cihazı

16. Ultra saf su cihazı - PureLAB UV/UF lonpure-

17. Mikroterazi - AND GR-200

18. Doku analiz cihazı – Brookfield CT3 Texture Analyser

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasallar Tablo 3-1'de gösterilmiştir.

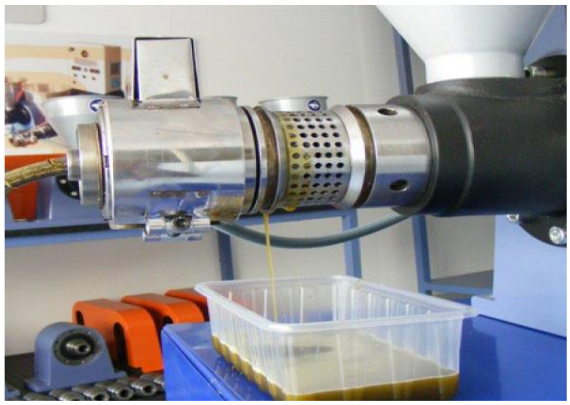
Tablo 3-1: Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bileşen Adı	Alındığı Firma	Menşei
Amaranth Yağı	Pharmix Bitkisel İlaç ve Kozmetik Şirketi	Türkiye
Kaprilik/kaprik trigliserid	Kale Kimya	Türkiye
DL-alfa tokoferol asetat	TCI	Japonya
Sensiva® PA 30	Ashland	Almanya
Kosurfaktan (Transcutol HP)	Gattefose	Fransa
Surfaktan (Poloxamer 188)	Sigma-Aldrich	Amerika
Surfaktan (Q naturale)	İngredion	Almanya
Hyaluronik asit (Gmoist® HA, 500K-1800Kda)	Jaka	Çin
Ksantan Zamkı	Vanderbilt	Avusturya

3.3. Kullanılan Yöntemler

3.3.1. Bitkisel Materyalin Standardizasyonu

Amaranth sabit yağı, soğuk sıkım yağ ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilmiştir. Bu yönteme göre, Koçmaksan (KMS10) model soğuk pres yağ makinasına konulan tohumlar için 20 rpm sıkma hızı ve maksimum 40 °C çıkış sıcaklığı sabit parametreler olarak uygulanmıştır. 500 gr amaranth tohumu makineye yerleştirildi ve presleme sonucunda 25 gr amaranth yağı elde edildi. Soğuk pres yağ eldesi işleminde kullanılan makine Şekil 3-1'de gösterilmiştir.



Şekil 3-1: Soğuk pres yağ eldesi işleminde kullanılan makine

Amaranth sabit yağı üretiminin ardından, türevlendirme işlemleri gerçekleştirilmiş ve yağ asiti kompozisyonu açısından standardize edilmiştir. Bu standardizasyon Gaz Kromatografisi yöntemiyle birlikte farklı dedektörler kullanılarak (Diyot array dedektör (DAD), Kütle Spektrometresi (KS) vb.) yöntemleri ile ortaya konmuştur. Yağların analizi GK ve GK/KS sistemlerinin eş zamanlı analizleri ile aydınlatılmıştır. GK analizi Agilent 6890N GK sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Analizde Innowax FSC kolon (60 m x 0,25 mm, film kalınlığı 0,25 µm) ve taşıyıcı gaz olarak Helyum (0.8 mL/dak) kullanılmıştır. GK fırın sıcaklığı 10 dakika 60 °C'de 4 °C/dk artışla 220 °C'ye arttırılıp 10 dakika tutulmuş ve sonra 1 °C/dk artışla 240 °C'ye çıkarılmıştır. AID dedektör sıcaklığı ise 300 °C olarak ayarlanmıştır. Bileşiklerin rölatif oranları AID kromatogramdan bilgisayar yardımıyla hesaplanmıştır.

3.3.2. Formülasyon Çalışmaları

Bu tez çalışmasında öncelikle önformülasyon çalışmaları kapsamında, amaranth yağı içeren su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır. Ön formülasyon çalışması sırasında 6 farklı formülasyon denemesi yapılmıştır. Yağ fazının yüzey aktif madde karışımına oranı 1:1, 1:1,5, 1:2 olacak şekilde seçilmiştir. Formülasyonlar hazırlanırken ultrasonik homojenizatörün uygulanma süresi (5 dk ve 10 dk) de dikkate alınarak farklı denemeler yapılmış ve uygun damlacık büyüklüğü, PDI değeri ve zeta potansiyeli değerine sahip formüllerle çalışılmaya devam edilmiştir. Nanoemülsiyonların nanoemüljele dönüştürülmesi aşamasında, literatür çalışmalarına dayanarak %0,5, %1, %1,5 gibi farklı ksantan zamkı oranları kullanılarak

formülasyonlar hazırlanmış ve bunlar çeşitli stabilite testlerine tabi tutulmuştur. Bu çalışmaların neticesinde en uygun bulunan ve stabil kalan nanoemüljel formülasyonuna karar verilmiştir.

Önformülasyon çalışmaları kapsamında hazırlanan nanoemülsiyonların içerikleri Tablo 3-2'de gösterilmiştir.

Tablo 3-2: Önformülasyon çalışmaları kapsamında hazırlanan nanoemülsiyonların içerikleri

(%a/a)	F1P1	F1P2		F2P1	F2P2		F3P1	F3P2	
YAĞ FAZI			**20 g için miktar**			**20 g için miktar**			**20 g için miktar**
Amarant yağı	2	2	0.4	2	2	0.4	2	2	0.4
Kaprilik/kaprik trigliserid	5,8	5,8	1,16	5,8	5,8	1,16	5,8	5,8	1,16
DL-alfa tokoferol asetat	0,2	0,2	0,04	0,2	0,2	0,04	0,2	0,2	0,04
Sensiva® PA 30	2	2	0,4	2	2	0,4	2	2	0,4
Kosurfaktan (Transcutol HP)	2,50	2,50	0,5	2,50	2,50	0,5	5,00	5,00	1
SU FAZI									
Surfaktan (Poloksamer 188)	5	5	1	10	10	2	10	10	2
Surfaktan (Q naturale)	2,50	2,50	0,5	2,50	2,50	0,5	5,00	5,00	1
Gmoist® HA, 500K-1800Kda	0,20	0,20	0,04	0,20	0,20	0,04	0,20	0,20	0,04
Distile su	79,8	79,8	15,96	74,8	74,8	14,96	69,8	69,8	13,96

Formülasyonlar
F1 Serisi
Surfaktan: %5
Kosurfaktan: %5
Yağ fazı: %10
Yağ fazı:Smix : (1:1)
Surfaktan: Poloksamer 188, Q naturale
Kosurfaktan: Transcutol HP Bant genişliği : %50
Pulse on:off 30 sn:30sn
Sonikasyon süresi:
1. Formül: 5 dak.
2. Formül: 10 dak

Formülasyonlar
F2 Serisi
Surfaktan: %10
Kosurfaktan: %5
Yağ fazı: %10
Yağ fazı:Smix : (1:1,5)
Surfaktan: Poloksamer 188, Q naturale
Kosurfaktan: Transcutol HP
Bant genişliği : %50
Pulse on:off 30 sn:30sn
Sonikasyon süresi:
1. Formül: 5 dak.
2. Formül: 10 dak

Formülasyonlar
F3 Serisi
Surfaktan: %10
Kosurfaktan: %10
Yağ fazı: %10
Yağ fazı:Smix : (1:2)
Surfaktan: Poloksamer 188, Q naturale
Kosurfaktan: Transcutol HP
Bant genişliği : %50
Pulse on:off 30 sn:30sn
Sonikasyon süresi:
1. Formül: 5 dak.
2. Formül: 10 dak

3.3.2.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerinin Seçimi

Etkin Madde Oranının Belirlenmesi: Bu çalışmada, yara iyileşmesini sağlama amacıyla amaranth yağı kullanılmıştır, Amaranth yağı oranı literature göre %2 olarak belirlenerek formülasyon çalışması yapılmıştır (https://www.mdpi.com/2297-8739/9/7/181).

Yüzey Etkin Maddelerin Tür ve Oranlarının Belirlenmesi: Çalışmalarda yüzey etken madde olarak Poloksamer 188 + Q naturale kombinasyonları ve Transcutol® HP yardımcı yüzey aktif maddesi kullanılmıştır.

Diğer Hammadelerin Belirlenmesi: Yağ fazı olarak kaprilik/kaprik trigliserid antioksidan olarak, Vitamin E (DL-alfa tokoferol asetat), nemlendirici olarak hyaluronik asit ve koruyucu olarak Sensiva® PA 30 kullanılmıştır.

3.3.2.2. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Bu tez çalışmasında, %2 Amaranth yağı konsantrasyonu içeren nanoemülsiyonlar, ultrasonik emülsifikasyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Kararlı bir nanoemülsiyon formülasyonu bulmak için farklı yüzey aktif madde (surfaktan) ve yardımcı yüzey aktif madde (kosurfaktan) oranlarına (Poloxamer 188/Q naturale/Transcutol® HP: %10, %15 ve %20) sahip karışımlar değerlendirilmiştir.

F1, F2 ve F3 olmak üzere 3 farklı formülasyon serisi tasarlanmıştır.

Her formülasyon serisinden 2 adet örnek hazırlanmış ve her örneğe aşağıdaki üretim işlemlerinden biri uygulanmıştır:

1. örnek için sonikasyon süresi 5 dak.

2. örnek için sonikasyon süresi 10 dak.

Nanoemülsiyonların üretiminde yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanılmıştır. Ultrasonifikatörün band genişliği %50 olarak belirlenmiştir. Fazla ısınmayı önlemek için ultrasonikasyonun amplitüt ayarı 30 saniye çalışacak ve 30 saniye duracak şekilde ayarlanmıştır.

3.3.2.3. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

Nanoemülsiyon bazlı formülasyonların fiziksel stabilitesini değerlendirmek için termodinamik stabilite çalışmaları gereklidir. Bu testler, fizikokimyasal stabilite testleri yapılmadan önce kısa sürede stabil kalan nanoemülsiyonları tahmin etmek için yapılır.

Bu çalışmada, hazırlanan formülasyonlar hızlandırılmış stabilite testlerinden santrifüj testi ve termal stabilite testine tabii tutuldu. Bu testlerin uygulandığı ve herhangi bir teste tabii tutulmayan formülasyonların damlacık boyutları, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli ölçümleri alınarak testler sonrası değişimler incelendi.

3.3.2.3.1.Santrifüj Testi

Önformülasyon aşamasında hazırlanan tüm Y/S tipi nanoemülsiyonlara ilk olarak hızlandırılmış stabilite testlerinden santrifüj testi uygulandı. Hazırlanan nanoemülsiyonlar öncelikle Nüve santrifüj cihazında 3500 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlendi. Süre sonunda formülasyonlarda faz ayrımı, koalesans, çökme olup olmadığı yorumlanarak muhtemel stabilite sorunları açısından değerlendirildi. Santrifüj testinin ardından tüm formülasyonların damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri alındı.

3.3.2.3.2.Termal Stabilite Testi

Santrifüj testinin ardında tüm nanoemülsiyonlara termal stres testi uygulandı. 10 g numune içeren cam tüpler, termostatik bir su banyosu (Witeg WSB-30, Almanya) kullanılarak her bir sıcaklık noktasında 30 dakika boyunca çeşitli sıcaklıklara (40 ila 80 °C, 5°C aralıklarla artan) tabi tutuldu (Altuntaş ve Yener, 2015). Süre sonunda formülasyonlarda faz ayrımı, koalesans, çökme olup olmadığı yorumlanarak muhtemel stabilite sorunları açısından değerlendirildi. Termal stres testinin ardından tüm formülasyonların damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri alındı.

3.3.2.3.3.Nanoemülsiyonların Damlacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve Polidispersite İndeksi Ölçümleri

Çalışılan nanoemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyel ölçümleri ışık saçılımı prensibine göre çalışan Malvern Zetasizer Nano ile gerçekleştirilmiştir. Ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. 3 ölçümün ortalaması alınmıştır. Formülasyonlar ölçümler öncesinde 1/100 oranında seyreltilmiştir (He ve ark., 2013; Rebolleda ve ark., 2015). Ölçümlerde kullanılan Malvern Zetasizer Nano Cihazı Şekil 3-2'de gösterilmiştir.

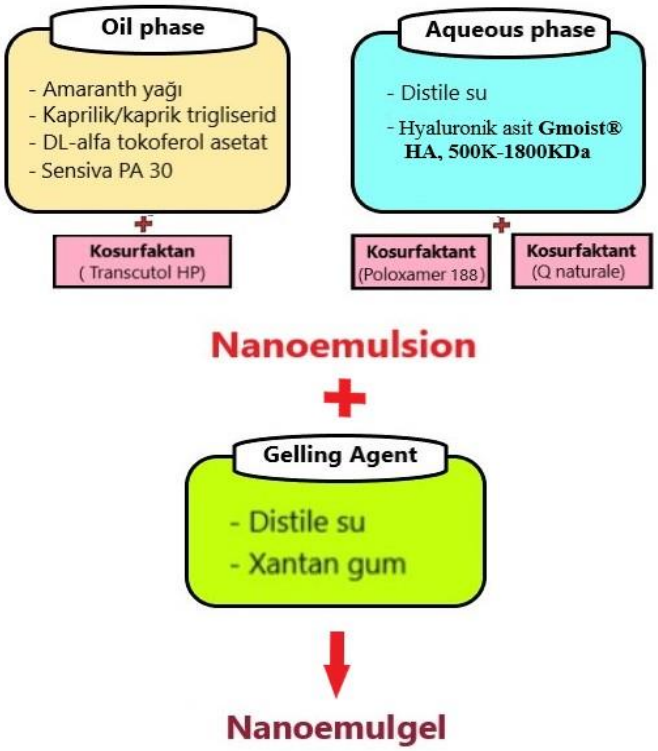


Şekil 3-2: Malvern Zetasizer Nano Cihazı

3.3.2.4. Y/S Tipi Nanoemüljel Formülasyonlarının Hazırlanması

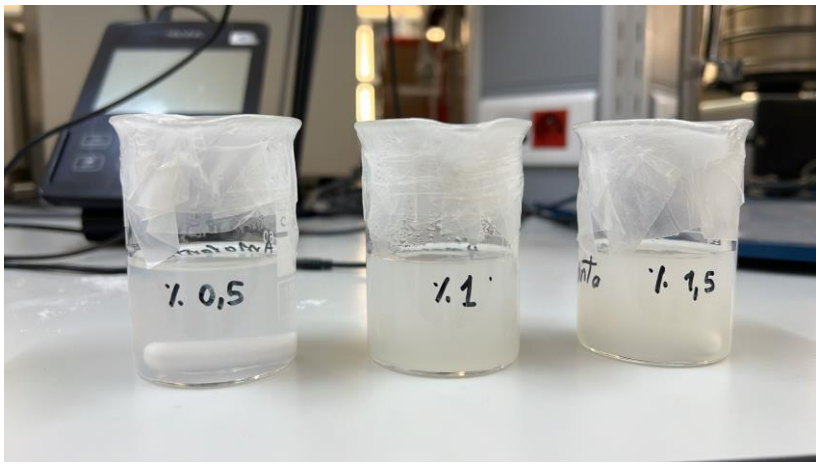
Nanoemüljelleri formüle etmek için stabil optimize edilmiş amaranth yağı yüklü nanoemülsiyon formülasyonları seçildi. Seçilen optimize edilmiş nanoemülsiyonlar, farklı polimer konsantrasyonlarına (%0,5 %1 ve %1,5 ksantan zamkı) sahip polimerik jel bazlar içerisinde dağıtıldı. Amaranth yağı yüklü nanoemülsiyon ve jel bazı, manyetik bir karıştırıcı kullanılarak 1:1 oranında 500 rpm'de 10 dakika karıştırıldı. Sıkışmış havanın ortadan kaldırılması için jeller 24 saat bekletildi (Gokhale ve ark., 2019).

24 saat sonunda gerekli ölçümler yapılmaya başlandı. Damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri yapılırken polimerin ölçümleri etkilememesi amacıyla hazırlanan numuneler 0,45 mikronluk membran filtrelerden geçirilerek ölçümler alındı. Nanoemüljel üretim basamaklarının şematik diyagramı Şekil 3-3'te gösterilmiştir.



Şekil 3-3: Nanoemüljel hazırlamanın şematik diyagramı

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ksantan zamkı jellerinin görünümü Şekil 3-4'te gösterilmiştir.



Şekil 3-4: Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ksantan zamkı jellerinin görünümü

3.3.2.5. Nanoemüljel Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

Hazırlanan nanoemüljeller, nanoemülsiyonlar üzerinde yürütülen çalışmalar kısmında metodolojisi verilen hızlandırılmış stabilite testleri olan santrifüj testine ve termal stabilite testine tabii tutuldu. Bu testlere maruz bırakılan ve bırakılmayan formülasyon numunelerinin damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri alındı ve bu parametrelerin hızlandırılmış stabilite testleri sonrasındaki değişimleri incelendi. Stabilite açısından uygun bulunan nanoemüljeller üç aylık fizikokimyasal stabilite testlerini yürütmek için taze olarak yeniden üretildi.

3.3.2.5.1.Fizikokimyasal Stabilite Testleri

Fizikokimyasal stabilite testlerini yürütümek üzere seçilen nanoemüljel formülasyonları üç ayrı saklama koşulunda (oda sıcaklığı (25 ± 2 °C ve %60 nem), iklimlendirme kabini (40 ± 2 °C ve %75 nem) ve buzdolabında (5 ± 3 °C) üç ay boyunca bekletildi ve formülasyonların 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ay sonunda organoleptik kontrolleri yapıldı. Ardından formülasyonların pH ve iletkenlik değerleri, viskoziteleri, damlacık boyutları, PDI değerleri ve zeta potansiyelleri ölçüldü. Tüm deneyler üç defa tekrarlandı.

3.3.2.5.2.Nanoemüljel Damlacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve Polidispersite İndeksi Ölçümleri

Seçilen nanoemüljel formülasyonlarının damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyel ölçümleri için ışık saçılımı prensibine göre çalışan Malvern Zetasizer Nano ZS kullanılmıştır. Ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. 3 ölçümün ortalaması alınmıştır. Formülasyonlar damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyel ölçümleri için 1/100 oranında seyreltilmiştir. Testler, 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda aynı metodla ölçülerek kaydedildi.

3.3.2.5.3.Nanoemüljel pH Ölçümü

Hazırlanan nanoemüljellerin pH değerleri, Hanna edge multiparametre cihazı ile seyreltme yapılmadan ölçüldü. Farklı ortam koşullarında bekletilen numunelerin pH ölçümleri, 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda numuneler oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

3.3.2.5.4.Nanoemüljel İletkenlik Ölçümü

İletkenlik ölçümü, emülsiyonlarda zamanla faz değişikliğinin olup olmadığını gösteren bir stabilite testidir. Hazırlanan nanoemüljellerin pH değerleri, Hanna edge multiparametre cihazı ile seyreltme yapılmadan ölçüldü. Farklı ortam koşullarında bekletilen numunelerin iletkenlik ölçümleri, 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda numuneler oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

3.3.2.5.5.Nanoemüljel Vizkozite Ölçümü

Farklı ortam koşullarında bekletilen numunelerin viskozite ölçümleri, farklı kayma hızlarında (10 rpm, 20 rpm, 30 rpm, 40 rpm, 50 rpm, 60 rpm, 70 rpm, 80 rpm, 90 rpm ve 100 rpm), Brookfield koni ve plaka viskozimetresi kullanılarak 25 ± 0,5 °C'de incelendi. Ölçümlerde CP40 plakası kullanıldı. Reolojik özellikleri değerlendirmek için viskoziteye karşı kayma hızı arasında grafikler çizildi. Farklı ortam koşullarında bekletilen numunelerin viskozite ölçümleri, 1. gün, 1. ay, 2. ay ve 3. ayda numuneler oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

3.3.2.6. Antimikrobiyal Aktivite

Optimize edilmiş nanoemüljel formülasyonunun *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeroginosa, Staphylococcus epidermidis* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri belirlenmiştir. Amoksisilin, klaritromisin, tetrasiklin ve ketokenazol standart antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmıştır. Bu amaçla steril 96 kuyulu plakalar kullanılmıştır. Plakanın ilk sütunu formülasyon için kullanılmış ve bir sütun ortam kontrolü, diğer sütun ise büyüme kontrolü olarak ayrılanmıştır. Kullanılan bu kuyucukların her birine 100 µL Mueller Hinton Broth (MHB) ortamı eklenemiştir. İlk kuyucuğa, amaranth yağın başlangıç konsantrasyonunu içeren çözeltinin 100 µL'si eklenmiştir. Test edilecek maddenin en yüksek konsantrasyonunun eklendiği ilk kuyucuktan 100 µL alınarak maddenin çift seri seyreltmeleri yapılamıştır. Test edilecek bakteri kolonilerinden McFarland No: 0,5'in türbidometrik olarak eşit olmasını sağlamış şekilde bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyon tekrar MHB ile 1/10 oranında seyreltilmiş ve büyüme kontrol kuyucuğu da dahil olmak üzere her kuyucuğa 5 µL eklenmiş, böylece nihai bakteriyel inokulum konsantrasyonu $5x10^5$ CFU/mL olmuştur. Daha sonra plaklar steril kapaklarla kapatılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübasyonun ardından MİK değerleri görsel olarak değerlendirilmiş ve üzerinde

çalışılan mikroorganizmanın üreme olmayan en düşük konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir. Daha sonra büyüme kontrol reaktifi olarak hazırlanan %0,01 resazurin reaktifi her kuyucuğa 20 µL pipetlenerek, plak kapatılmış ve 35 ± 2 °C'de iki saat daha inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra plakalar yeniden değerlendirilmiş, gösterge olarak büyüme olan kuyucuklar pembe renkte, büyüme olmayan kuyucuklar ise mavi renkte gözlemlenmiştir. Mavi renkte gözlemlenen en düşük konsantrasyon, test edilen mikroorganizma için söz konusu antimikrobiyal numunenin MİK değeri olarak belirlenmiştir (Karakaş, ve ark 2019).

3.3.2.7. Yara İyi Edici Etki (Scratch Assay)

Hücreler, kuyucuk başına 1,5 x 10^5 hücre ve 0,4 mL ortam olacak şekilde 24 oyuklu plakalara ekilmiş ve 24 saatlik kültürden sonra %100 birleşme noktasına kadar büyütülmüştür. Ekimden önce, farklı zamanlarda aynı noktadaki çizik yaranın fotoğraflarını çekmek için kullanılmış her biri için üç yatay çizgi çizilmiştir. Hücreler daha sonra iki kez fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkanamış ve %10 FBS içeren 0,5 mL yüksek glikozlu DMEM ile değiştirilmiştir. Çizik şeklindeki yaranın fotoğrafları, 0-8-24. saatlerde bir mikroskop (AxioCam, Almanya) kullanılarak 10x büyütmede çekilmiştir. Görüntüler, yara kapanmasını hesaplamak için farklı zaman aralıklarında (0, 8 ve 24 saat) çizik alanının genişliği izlenmiş ve bir görüntü analiz yazılımı (Image J.2.0 yazılımı, ABD) ile analiz edilemiştir (Okur, ve ark 2021).

4. BULGULAR

4.1. Bitkisel Materyalin Standardizasyonu

Amaranth yağı türevledirildikten sonra GC-MS ile analiz edildiğinde majör yağ asidi olarak %43 oranında linoleik asit tespit edilmiştir. Bunu sırası ile %31,6 oleik asit ve %21 palmitik asit takip etmiştir. Amaranth yağının yağ asidi kompozisyonu Tablo 4-1'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Amaranth yağının yağ asidi profili

Yağ aside	%
Miristik asit	0,38
Palmitik asit	21,0
Palmitoleik asit	0,2
Stearik asit	5,4
Oleik asit	31,6
Linoleik asit	43,0
Araşidik asit	1,1
Linolenik asit	0,8
Gondoik asit	0,2
Behenik asit	0,2

4.2. Nanoemülsiyonların Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Nanoemülsiyonların Damlacık Boyutu, PDI ve Zeta Potansiyeline Ait Bulgular

Hızlandırılmış stabilite testleri öncesi nanoemülsiyonların damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-2'de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: Nanoemülsiyon formülasyon çalışmalarına ait karakterizasyon verileri

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	131,05	0,183	-44,35
F1P2	155,65	0,179	-41,70
F2P1	107,45	0,200	-38,85
F2P2	104,28	0,249	-37,25
F3P1	104,45	0,168	-34,35
F3P2	99,79	0,230	-32,95

4.2.2. Santrifüj Testi

10 g'lık numunelere, 25 ± 1 ^{o}C'de 3500 rpm hızda 30 dakika boyunca santrifügasyon uygulandı. Herhangi bir faz ayrımı veya bulanıklaşma görülmeyen formülasyonlar saptandı. Uygulanan hızlandırılmış santrifüj testi sonucu formülasyonların görünümü hakkında elde edilen veriler Tablo 4-3'te gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Santrifüj testi sonucu elde edilen organoleptik değerlendirme

Formülasyon Kodu	Gözlemlenen özellikler
F1P1	Stabil ve homojen
F1P2	Stabil ve homojen
F2P1	Stabil ve homojen
F2P2	Stabil ve homojen
F3P1	Stabil ve homojen
F3P2	Stabil ve homojen

Uygulanan santrifüj testi sonucu formülasyonların damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-4: **Nanoemülsiyonların santrifüj testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulgular**

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	133,90	0,201	-44,00
F1P2	151,80	0,219	-40,90
F2P1	136,30	0,281	-38,75
F2P2	102,35	0,190	-38,75
F3P1	98,95	0,202	-37,00
F3P2	90,73	0,196	-37,60

4.2.3. Termal Stres Testi

10 g'lık numuneler termostatik su banyosunda farklı sıcaklıklara (40 ^{o}C'den 80 ^{o}C'ye kadar, 5^{o}C'lik sıcaklık aralıklarında) maruz bırakıldı. Test sonrası numunelerde

organoleptik değerlendirilmesi yapıldı ve herhangi bir faz ayrımı veya bulanıklaşma görülmeyen formülasyonlar saptandı. Uygulanan termal stres testi sonucu formülasyonların görünümü hakkında elde edilen veriler Tablo 4-5'te gösterilmiştir.

Tablo 4-5: Termal stres testi sonucu elde edilen organoleptik değerlendirme

Formülasyon Kodu	Gözlemlenen özellikler
F1P1	Stabil ve homojen
F1P2	Stabil ve homojen
F2P1	Stabil ve homojen
F2P2	Stabil ve homojen
F3P1	Stabil ve homojen
F3P2	Stabil ve homojen

Uygulanan termal stabilite testi sonucu formülasyonların damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

Tablo 4-6: Nanoemülsiyonların termal stabilite testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulgular

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	144,40	0,222	-46,20
F1P2	167,90	0,251	-42,25
F2P1	134,65	0,242	-46,70
F2P2	96,10	0,210	-39,50
F3P1	97,47	0,205	-42,30
F3P2	113,55	0,214	-39,75

4.3. Nanoemüljellerin Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1. Nanoemüljel (%0,5 Ksantan zamkı) Önformülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

%0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin hızlandırılmış stabilite testleri öncesi damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-7'de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: %0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	132,60	0,232	-45,20
F1P2	147,60	0,200	-44,10
F2P1	114,40	0,243	-45,10
F2P2	96,12	0,228	-45,10
F3P1	105,10	0,222	-44,30
F3P2	97,70	0,201	-42,70

4.3.2. Nanoemüljel (%0,5 Ksantan zamkı) Santifüj Testi

%0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-8'de gösterilmiştir.

Tablo 4-8: %0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	132,90	0,235	-44,00
F1P2	146,80	0,218	-40,90
F2P1	132,20	0,277	-38,75
F2P2	95,50	0,197	-38,75
F3P1	97,60	0,297	-40,10
F3P2	97,33	0,197	-46,20

4.3.3. Nanoemüljel (%0,5 Ksantan zamkı) Termal Stabilite Testi

%0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-9: %0,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	129,10	0,157	-43,00
F1P2	104,00	0,138	-40,20
F2P1	104,50	0,170	-42,50
F2P2	89,02	0,133	-41,73
F3P1	78,64	0,143	-35,20
F3P2	89,95	0,147	-35,90

4.3.4. Nanoemüljel (%1 Ksantan zamkı) Önformülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

%1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin hızlandırılmış stabilite testleri öncesi damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-10'da gösterilmiştir.

Tablo 4-10: %1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	157,80	0,463	-47,90
F1P2	173,60	0,313	-54,10
F2P1	127,40	0,468	-45,90
F2P2	97,23	0,393	-41,60
F3P1	107,50	0,288	-46,90
F3P2	116,80	0,428	-42,00

4.3.5. Nanoemüljel (%1 Ksantan zamkı) Santifüj Testi

%1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-11'de gösterilmiştir.

Tablo 4-11: %1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	155,10	0,435	-46,90
F1P2	167,40	0,318	-52,20
F2P1	136,50	0,452	-48,65
F2P2	96,80	0,397	-41,70
F3P1	97,20	0,293	-45,40
F3P2	94,20	0,297	-41,20

4.3.6. Nanoemüljel (%1 Ksantan zamkı) Termal Stabilite Testi

%1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-12'de gösterilmiştir.

Tablo 4-12: %1 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	124,60	0,180	-41,30
F1P2	144,60	0,230	-57,70
F2P1	108,20	0,209	-38,40
F2P2	95,08	0,177	-41,90
F3P1	94,96	0,204	-46,90
F3P2	91,60	0,210	-51,50

4.3.7. Nanoemüljel (%1,5 Ksantan zamkı) Önformülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

%1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin hızlandırılmış stabilite testleri öncesi damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-13'te gösterilmiştir.

Tablo 4-13: %1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	115,60	0,332	-52,40
F1P2	150,10	0,221	-59,10
F2P1	107,90	0,252	-57,00
F2P2	94,80	0,243	-59,10
F3P1	99,70	0,251	- 57,50
F3P2	125,30	0,266	-59,30

4.3.8. Nanoemüljel (%1,5 Ksantan zamkı) Santifüj Testi

%1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-14'te gösterilmiştir.

Tablo 4-14: %1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin santrifüj testi ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	113,10	0,331	-52,90
F1P2	147,40	0,220	-58,20
F2P1	106,50	0,252	-56,30
F2P2	94,80	0,243	-58,70
F3P1	99,20	0,250	-56,40
F3P2	125,20	0,265	-59,20

4.3.9. Nanoemüljel (%1,5 Ksantan zamkı) Termal Stabilite Testi

%1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi sonrası damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeline ait bulguları Tablo 4-15'te gösterilmiştir.

Tablo 4-15: %1,5 ksantan zamkı ile hazırlanan nanoemüljellerin termal stabilite testi ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	91,66	0,210	-51,60
F1P2	164,10	0,290	-62,20
F2P1	115,40	0,284	-55,40
F2P2	95,08	0,245	-41,90
F3P1	133,40	0,496	-42,40
F3P2	145,80	0,350	-44,30

Farklı ksantan zamkı oranları (0,5 %1 ve %1,5 a/a) ile hazırlanan nanoemüljel formülasyonları üzerinde yürütülen hızlandırılmış stabilite testlerinin sonuçları karşılaştırıldığında en iyi stabiliteye sahip olan formülasyonların en düşük ksantan zamkı oranı (%0,5) ile hazırlananlar olduğu bulunmuştur. Bu doğrultuda, üç aylık fizikokimyasal stabilite testlerine %0,5 ksantan zamkı:nanoemülsiyon (1:1 a/a) olan formülasyonlarla devam edilmesine karar verilmiştir.

4.4. Nihai Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Fizikokimyasal Stabilite Testlerine Ait Bulgular

4.4.1. Fizikokimyasal Stabilite Testinde Damlacık Boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli Ölçümlerine Ait Bulgular

Fizikokimyasal stabilite testleri kapsamında, %0,5 ksantan zamkı ile taze olarak hazırlanan nanoemüljellerin üç ay boyunca alınan damlacık boyutu ölçüm sonuçlarına ait bulgular Tablo 4.16'da, PDI değerlerine ait bulgular Tablo 4-17'de ve zeta potansiyeli değerlerine ait bulgular Tablo 4-18'de gösterilmiştir.

Tablo 4-16: Nanoemüljellerin üç aylık ortalama damlacık çapı (nm) bulguları (n=3)

Formülasyon	Ortalama Damlacık Çapı (nm)									
Kod	5 ºC ± 2			25 ºC ± 2				40 ºC ± 2 (%75 R.N.)		
	1.ay	2.ay	3.ay	1.gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F1P1	136,64	139,40	139,00	134,70	136,10	146,98	148,74	141,6	148,07	169,38
F1P2	159,90	153,46	157,00	150,40	153,47	153,10	164,91	152,85	163,07	189,30
F2P1	103,35	109,66	106,90	113,50	111,43	105,03	111,97	113,19	116,33	137,26
F2P2	83,68	92,63	85,12	93,00	91,54	93,55	99,80	94,47	98,48	108,61
F3P1	92,88	96,57	102,00	94,90	98,63	97,64	102,27	96,84	99,11	109,30
F3P2	108,00	104,02	109,28	113,00	107,49	108,18	119,40	107,00	108,22	113,16

Tablo 4-17: Nanoemüljellerin üç aylık PDI değerleri bulguları (n=3)

Formülasyon	PDI									
Kod	5 ºC ± 2			25 ºC ± 2				40 ºC ± 2 (%75 R.N.)		
	1.ay	2.ay	3.ay	1.gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F1P1	0,198	0,224	0,213	0,235	0,227	0,243	0,231	0,309	0,299	0,302
F1P2	0,233	0,226	0,229	0,220	0,231	0,236	0,225	0,271	0,279	0,273
F2P1	0,227	0,204	0,231	0,240	0,218	0,224	0,212	0,239	0,234	0,245
F2P2	0,166	0,184	0,203	0,217	0,211	0,199	0,198	0,208	0,228	0,212
F3P1	0,204	0,219	0,207	0,214	0,217	0,205	0,201	0,229	0,234	0,227
F3P2	0,218	0,237	0,216	0,200	0,225	0,227	0,219	0,214	0,238	0,234

Tablo 4-18: Nanoemüljellerin üç aylık zeta potansiyeli (mV) bulguları (n=3)

Formülasyon	Zeta Potansiyeli (mV)									
Kod	5 ºC ± 2			25 ºC ± 2				40 ºC ± 2 (%75 R.N.)		
	1.ay	2.ay	3.ay	1.gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F1P1	-47,7	-48,9	-49,9	-47,8	-44,4	-45,2	-41,15	-47,7	-44,9	-39,8
F1P2	-41,4	-47,6	-46,5	-42,0	-49,7	-42,9	-40,2	-48,4	-43,6	-47,0
F2P1	-41,0	-43,0	-47,8	-42,5	-46,0	-43,5	-48,0	-48,4	-44,8	-39,3
F2P2	-46,6	-45,9	-55,9	-44,8	-44,9	-48,9	-46,1	-44,0	-44,3	-43,8
F3P1	-50,4	-44,4	-47,0	-42,9	-43,8	-45,6	-42,2	-42,5	-43,6	-40,9
F3P2	-44,6	-44,6	-44,9	-49,1	-41,2	-43,2	-49,7	-41,9	-46,7	-45,9

4.4.2. Viskozite Tayinine Ait Bulgular

Viskozite, stres koşullarının nanoemülsiyon stabilitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan önemli parametrelerden biridir. Ayrıca ürünün ambalaj malzemesine doldurulması, kullanım kolaylığı, fiziksel görünümü, kıvamı ve cilde uygulanması gibi kalite özellikleriyle de ilgilidir.

Bu kapsamda formülasyonların viskozite ölçümleri üç ay boyunca takip edildi. Ölçümler oda sıcaklığında koni plakalı viskozimetre (Brookfield HA DV3T, mil no: CP-40) kullanılarak belirli zaman aralıklarında yapıldı. Formülasyonların viskozite bulgularına ilişkin veriler aşağıdaki Tablo 4-19 - 4-24'te verilmiştir. Elde edilen viskozite verilerine göre formülasyonların viskozite değerleri tüm stabilite koşullarında kabul edilebilir sınırlar içerisinde kalmıştır. Hazırlanan nanoemüljel formülasyonlarında Non-Newtonian tipi psödoplastik akış davranışı gözlenmiştir ve bu, topikal preparatlarda cilt üzerine uygulandığında penetrasyon için avantajlıdır.

Tablo 4-19: F1P1 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular

Hız (rpm)	F1P1									
	25°C	5ºC±2			25ºC±2 (%65 R.N.)			40ºC±2 (%75 R.N.)		
	1. gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
10	67,36	66,15	66,26	68,61	66,66	67,53	68,90	66,58	65,88	63,38
20	40,55	38,87	41,48	41,61	41,09	40,38	42,84	39,08	37,45	36,37
30	29,43	29,56	29,48	30,62	30,72	29,29	30,30	28,77	27,47	23,38
40	23,54	22,93	22,03	23,60	23,35	23,54	23,22	23,82	21,50	20,36
50	19,49	18,60	19,67	20,60	19,29	19,62	18,18	19,56	17,19	15,32
60	16,68	16,23	16,67	16,63	16,97	17,98	17,84	16,32	15,00	13,32
70	15,42	15,60	15,12	15,64	15,13	15,61	15,52	15,67	14,86	11,31
80	13,98	13,99	13,84	14,64	13,29	13,79	13,28	13,42	11,34	10,33
90	13,73	12,95	13,59	13,65	12,99	12,68	12,81	12,82	10,82	9,36
100	13,01	12,85	13,08	13,61	12,86	12,01	12,44	12,48	10,75	9,34

Tablo 4-20: F1P2 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular

Hız (rpm)	F1P2									
	25°C	5ºC±2			25ºC±2 (%65 R.N.)			40ºC±2 (%75 R.N.)		
	1. gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
10	64,09	66,47	64,21	63,89	63,10	65,14	66,56	66,69	63,88	60,61
20	41,20	41,45	43,42	42,88	41,26	41,27	41,58	41,23	40,18	38,63
30	31,83	30,05	31,57	31,89	32,24	33,58	31,54	32,62	30,23	28,62
40	26,98	26,19	26,68	26,87	26,59	25,58	25,54	24,63	23,43	20,61
50	23,81	22,01	23,66	22,88	22,06	22,78	21,54	22,09	21,61	19,62
60	21,36	20,79	20,77	20,84	20,50	20,71	20,58	21,31	20,86	17,63
70	19,81	18,48	19,13	18,86	18,28	18,77	17,54	17,37	15,93	15,60
80	18,72	17,17	17,58	16,86	16,54	17,38	16,58	16,83	13,48	12,61
90	17,51	16,82	17,45	15,85	16,00	16,20	15,54	15,19	12,55	11,61
100	16,68	15,74	16,09	15,83	15,03	15,04	16,54	15,08	11,48	10,61

Tablo 4-21: F2P1 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular

Hız (rpm)	F2P1									
	25°C	5ºC±2			25ºC±2 (%65 R.N.)			40ºC±2 (%75 R.N.)		
	1. gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
10	93,52	95,70	93,06	94,47	94,26	94,32	95,34	92,24	91,71	90,19
20	59,19	61,17	58,86	59,45	59,65	57,53	56,36	53,13	52,90	53,21
30	45,34	45,87	46,12	46,44	48,18	44,18	44,32	43,28	44,95	43,21
40	37,93	36,88	36,60	37,46	36,46	34,57	36,32	32,57	31,00	32,20
50	33,35	34,00	33,27	34,48	32,35	31,43	32,37	31,29	29,43	30,19
60	30,74	31,34	31,28	31,44	29,94	29,65	29,36	30,85	28,51	28,16
70	28,50	28,01	29,07	27,46	28,98	27,81	27,34	28,14	26,11	26,17
80	26,49	27,52	27,16	26,46	27,76	25,67	24,34	24,89	24,73	23,16
90	24,92	24,85	25,08	24,45	24,97	23,89	22,35	22,27	21,05	20,11
100	23,67	23,50	23,35	21,44	22,53	22,41	22,34	20,98	19,58	20,14

Tablo 4-22: F2P2 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular

Hız (rpm)	F2P2									
	25°C	5ºC±2			25ºC±2 (%65 R.N.)			40ºC±2 (%75 R.N.)		
	1. gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
10	90,37	93,54	92,89	91,82	91,65	90,11	90,90	91,66	90,16	89,82
20	56,24	56,91	58,49	58,79	56,65	54,04	55,92	54,51	53,62	55,83
30	45,78	44,17	43,23	45,82	46,26	46,95	45,90	44,83	41,83	43,81
40	38,26	37,00	36,63	35,80	38,40	37,42	38,76	38,35	37,55	35,82
50	34,27	35,09	36,40	35,81	34,55	36,29	36,26	35,96	36,16	33,80
60	31,17	32,15	30,02	29,83	29,21	31,66	31,08	30,86	28,08	28,79
70	29,06	30,58	28,61	28,80	29,49	28,11	30,36	29,97	27,95	26,79
80	26,98	27,65	27,22	26,79	27,61	25,53	28,82	27,06	25,72	25,80
90	25,80	24,60	25,18	25,78	26,38	24,01	25,00	25,61	23,53	24,82
100	24,26	23,23	24,56	22,79	24,94	24,26	24,35	25,86	23,32	22,80

Tablo 4-23: F3P1 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular

Hız (rpm)	F3P1									
	25°C	5ºC±2			25ºC±2			40ºC±2 (%75 R.N)		
	1. gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
10	91,75	92,51	92,82	90,75	90,89	92,29	91,78	90,75	89,58	88,59
20	57,65	58,71	58,76	56,74	56,05	58,19	57,77	54,42	53,59	53,57
30	44,24	44,32	45,58	43,78	43,60	41,42	41,75	44,45	40,60	39,57
40	39,06	37,32	39,16	39,78	37,90	38,39	37,74	36,18	35,60	36,59
50	35,21	36,31	34,00	35,76	34,20	35,38	36,78	32,88	33,59	34,60
60	32,20	31,18	32,66	31,75	31,25	32,13	32,78	32,05	31,60	30,61
70	30,24	29,82	28,20	28,75	28,78	29,34	29,76	28,37	27,59	25,62
80	27,44	26,36	26,52	25,78	27,09	27,33	26,36	25,43	26,58	24,60
90	25,26	24,99	25,06	24,74	25,55	26,91	26,75	25,52	24,58	23,60
100	24,38	22,63	22,16	21,75	22,39	21,78	24,76	22,25	21,57	21,61

Tablo 4-24: F3P2 kodlu formülasyonun 3 aylık viskozite ölçümlerine ait bulgular

Hız (rpm)	F3P2									
	25°C	5ºC±2			25ºC±2 (%65 R.N.)			40ºC±2 (%75 R.N.)		
	1. gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
10	107,26	105,61	103,46	105,96	108,50	108,58	107,00	108,79	102,06	103,76
20	77,31	75,66	76,58	76,99	76,32	78,48	78,01	78,92	77,61	76,77
30	48,83	47,75	49,71	47,01	51,13	50,14	51,00	49,25	49,03	49,75
40	44,14	43,17	44,80	43,03	40,22	39,89	39,98	38,10	38,10	38,74
50	38,06	39,21	38,94	37,00	35,66	33,88	32,96	33,45	32,93	33,76
60	33,68	34,50	33,37	31,01	30,42	29,54	30,99	29,36	28,36	27,74
70	31,02	29,98	30,91	30,98	28,74	27,44	28,98	25,68	25,96	26,74
80	29,02	27,34	28,99	28,98	26,25	24,12	24,98	24,25	24,33	23,70
90	27,47	25,44	26,73	26,98	25,85	23,38	22,99	22,10	22,03	21,72
100	25,16	23,72	24,98	24,98	23,22	21,86	20,97	20,91	20,71	19,73

4.4.3. pH ve İletkenlik Ölçümü

Formülasyonların pH ve iletkenlik değerlerine ilişkin bulgular sırasıyla Tablo 4-25 ve Tablo 4-26'da gösterilmiştir.

Tablo 4-25: pH-metre cihazı ile elde edilen pH ölçüm sonuçları

Formülasyon	pH									
Kod	5 ºC ± 3			25 ºC ± 2 (%65 R.N.)				40 ºC ± 2 (%75 R.N.)		
	1.ay	2.ay	3.ay	1.gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F1P1	5,35	5,34	5,33	5,37	5,30	5,28	5,22	5,35	5,33	5,29
F1P2	5,49	5,52	5,57	5,47	5,52	5,48	5,49	5,49	5,52	5,48
F2P1	5,53	5,55	5,52	5,56	5,54	5,49	5,55	5,55	5,54	5,47
F2P2	5,53	5,50	5,67	5,50	5,50	5,50	5,50	5,53	5,50	5,49
F3P1	5,42	5,40	5,42	5,40	5,40	5,40	5,40	5,42	5,38	5,40
F3P2	5,43	5,44	5,41	5,42	5,42	5,41	5,40	5,43	5,44	5,43

Tablo 4-26: Formülasyonların iletkenlik ölçüm sonuçları

Formülasyon	İletkenlik (µs/cm)									
Kod	5 ºC ± 3			25 ºC ± 2 (%65 R.N.)				40 ºC ± 2 (%75 R.N.)		
	1.ay	2.ay	3.ay	1.gün	1.ay	2.ay	3.ay	1.ay	2.ay	3.ay
F1P1	212	212	212	215	215	218	212	219	211	219
F1P2	213	214	216	216	214	212	218	215	218	214
F2P1	222	225	226	229	218	225	222	222	228	220
F2P2	220	214	213	211	216	210	212	215	220	221

F3P1	216	213	215	212	218	216	215	215	212	215
F3P2	215	210	212	215	216	210	214	208	206	212

4.5. Antimikrobiyal Aktivite Deneylerine Ait Bulgular

Numunelerin (mg/mL) ve antimikrobiyallerin (µg/mL) mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 4-27'de gösterilmiştir.

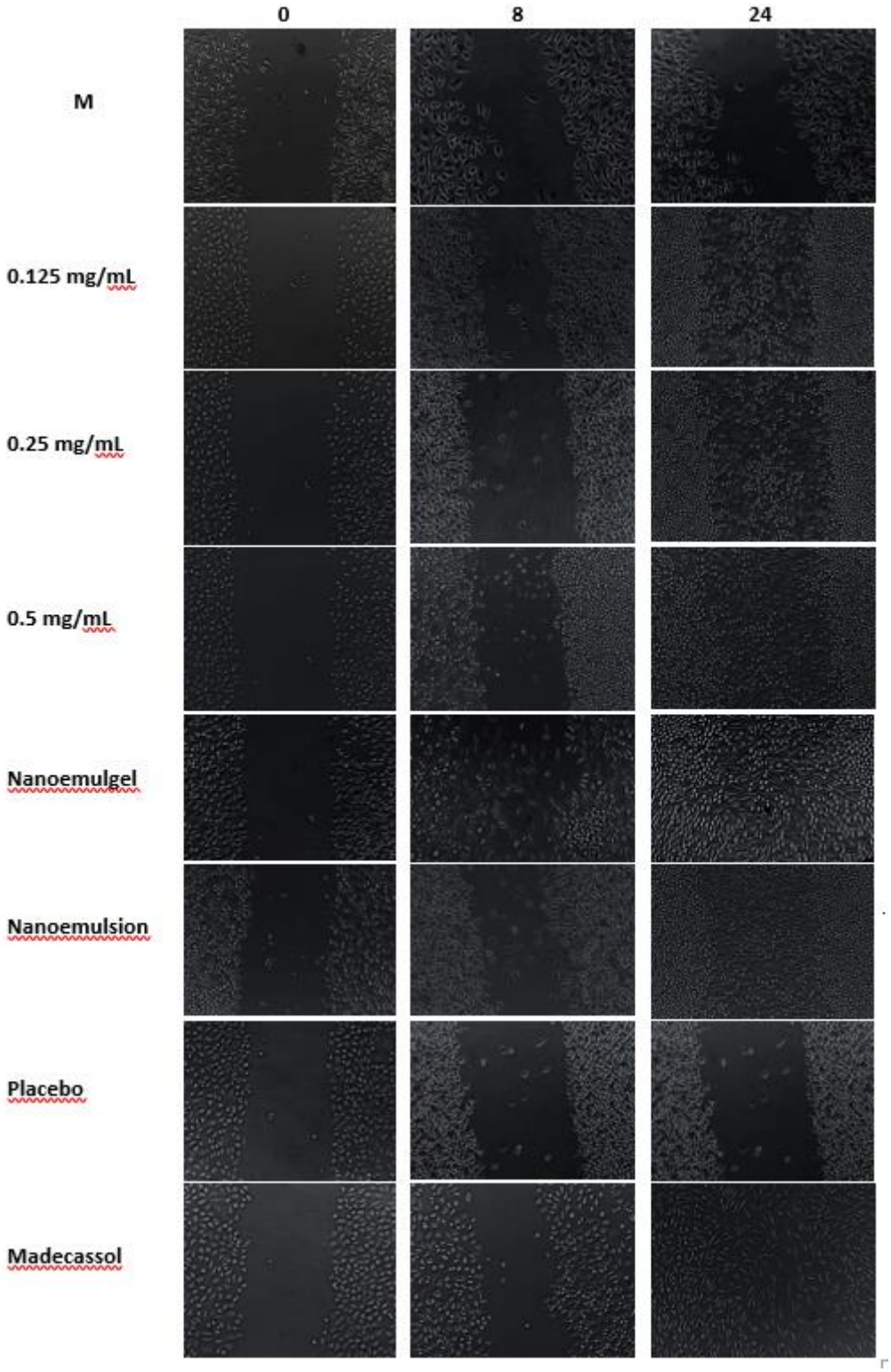
Tablo 4-27: Antimikrobiyal aktivite sonuçları

	***Staphylococcus aureus* ATCC 6538**	***S. epidermidis* ATCC 14990**	***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145**	***Candida albicans* ATCC 90028**
Amaranth yağı	5	>10	10	10
Nanoemüljel (F2P2)	5	>10	10	2,5
Nanoemulsiyon (F2P2)	10	>10	10	10
Plasebo	>10	>10	>10	>10
Amoksisilin	≤0,125	4	>16	
Klaritromisin	0,25	≤0,125	>16	
Tetrasiklin	0,25	>16	>16	
Ketokenazol				0,25

4.6. Yara İyi Edici Etkiye (Scratch Assay) Ait Bulgular

Hücre kültüründe yapılan çalışmada M (boş medium) ile 0,125-0,25 ve 0,5 mg/mL amaranth yağı hücre kültüründe fibroblastlarda oluşturulmuş çizik üzerinde 0, 8 ve 24. saatlerde hücre yenilenme ve yara kapanma oranları denenmiş ve görüntüler çekilmiştir. Elde edilen görüntülerde 0,5 mg/mL amarant yağının 24. saatte 0,125 ve 0,25 mg/mL yağ uygulanan mediumlara göre hücre yenilenmesini ve dolayısıyla yara kapanma hızını arttırdığı görülmüştür. Ancak yağın kendi başına etkisi nanoemüljel ve nanoemülsiyon halindeki etkisine kıyasla daha düşük olarak tespit edilmiştir. Deney

sonuçlarına göre amaranth yağı nanoemüljel ve nanoemülsiyon olarak formüle edildiğinde yara iyi edici etkisinin in vitro koşullarda oldukça etkili olduğu düşünülmektedir. Öte yandan plasebonun ise yara iyileşmesi ve hücre yenilenmesinde etkili olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum yüklü formülasyonların etkisinin boş formülasyondan gelmediğini de doğrulamıştır. Yüklü iki formülasyon olan nanoemüljel ve nanoemülsiyondan ise nanoemüljelin daha etkili olduğu, 24. Saatte yara açıklığını pozitif kontrol olan Madecassol kreme kıyasla oldukça iyi bir şekilde kapattığı gözlemlenmiştir. 0, 8 ve 24. saatlerde hücre yenilenme ve yara kapanma oranlarına ait görüntüler, Şekil 4-1'de gösterilmiştir.



Şekil 4-1: 0, 8 ve 24. saatlerde hücre yenilenme ve yara kapanma oranlarına ait görüntüler

5. TARTIŞMA

Günümüzde doğal bitkisel ürünlerle yara iyileştirme girişimleri geniş bir araştırma konusudur (Sánchez-Quesada ve ark., 2018). Doğal bitkisel ürünlerin, yan etkilerinin ve toksik etkilerinin olmaması ya da çok düşük olması nedeniyle bilim insanları tarafından tercih edilmekte, hatta geleneksel kimyasal ilaçlara uygulanan bazı tedavilere kıyasla etkinliği daha da üstün hale gelmektedir. (S. Millam, B. Obert, A. Pret'ova ve ark., 2005).

Amaranth yağı tüketimi birçok Avrupa ülkesinde, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Karadeniz Havzası ülkelerinde yaygındır. Amaranth yağı skualen açısından zengindir (%8'e kadar). Cilt hasarını önleyen ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olan skualendir. Skualen, proinflamatuar makrofajlarda antiinflamatuar sitokinlerin sentezini artırır. Enflamasyonu baskılar, yara iyileşme sürecine katılır ve makrofajlar yardımıyla tüm süreci kontrol eder. Hücre hattı üzerinde toksik etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu, skualenin biyomedikal, farmasötik ve beslenme amaçlı olarak güvenle kullanılabileceğini göstermektedir. (Sánchez-Quesada ve Rathod,KJ., 2018). Ulrikh ve Smolovskaya, skualenin doku onarım potansiyeli hakkında rapor vermişlerdir (Ulrikh ve Smolovskaya., 2022). Ayrıca literatürde skualenin tam kat yanık iyileşmesindeki potansiyeli de bildirilmiştir (Shanmugarajan ve ark., 2021).

Nanoteknolojinin kullanımı başta tıp, eczacılık, kozmetik sektöründe gün geçtikçe artmaktadır ve pek çok bilimsel çalışma içerdikleri yenilikler ve avantajlardan dolayı bu alana yönelmiştir. Nanoemülsiyon taşıyıcı sistemler de nanoteknolojik uygulamalar arasında yer almaktadır. Nanoemülsiyonlar, damlacık boyutu 50-1000 nm arasında değişen, yağ fazı, sürfaktan/kosürfaktan ve su fazından oluşan emülsiyon tipi yeni taşıyıcı sistemlerdir. Genellikle ortalama damlacık boyutu 100-500 nm arasındadır, yağ içinde su veya su içinde yağ emülsiyonun su veya yağdan oluşan çekirdeği bulunmaktadır (Lovelyn ve Attama., 2011).

Bu tez çalışmasında, amaranth yağının cilde daha iyi nüfuz etmesini sağlamak amacıyla jelleştirilmiş nanoemülsiyon sistemi, diğer adıyla nanoemüljel sistemi geliştirilmiştir.

Nanoemüljel sistemleri aynı zamanda formülasyonun stabilitesini de arttırır. Sistemin viskozitesi nanoemülsiyon sistemine göre daha yüksek olduğundan, nanoemüljel kullanılarak hidrofobik ilaçların verilmesinin çok etkili olduğu düşünülmektedir. Geliştirilmiş çözünme verimliliği nedeniyle geliştirilmiş biyoyararlanım ve ilaç salınımını kontrol etme yeteneği sayesinde birçok hastalığın tedavisinde etkili bir alternatif dağıtım tekniğidir.

Yapılan literatür incelemesinde yara iyileşmesine yardımcı olmaya yönelik amaranth yağı içerikli nanoemüljel formülasyonları ile ilgili herhangi bir bilimsel çalışmaya rastlanmamıştır.

Literatüre göre Amaranth yağının topikal uygulamaya yönelik formülasyonda kullanımı için en uygun konsantrasyonunun %2 olduğu tespit edilmiştir. (Bouchra Sayed-Ahmad, ve ark., 2022).

%2 Amaranth yağı konsantrasyonu içeren nanoemülsiyonlar, yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemiyle hazırlanmıştır. F1, F2 ve F3 olmak üzere 3 farklı formülasyon serisi tasarlanmıştır. Kararlı bir nanoemülsiyon formülasyonu bulmak için farklı yüzey aktif madde (surfaktan) ve yardımcı yüzey aktif madde (kosurfaktan) oranlarına (%10, %15 ve %20 a/a) sahip karışımlar Poloxamer 188/Q naturale/Transcutol® HP değerlendirilmiştir.

Amaranth yağı içeren su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır. Ön formülasyon çalışması sırasında birçok formülasyon denemesi yapılmıştır. Yağ fazının, yüzey aktif madde karışımına oranı 1:1, 1:1,5, 1:2 olacak şekilde denemeler yapılmıştır.

1.F1 Serisi Formülasyonlar

Yağ fazı olarak amaranth yağı, kaprilik/kaprik trigliserid, DL-alfa tokoferol asetat ve Sensiva® PA 30 toplamda %10, surfaktan (Poloksamer 188 + Q naturale) ve kosurfaktan (Transcutol® HP) karışımı %10 konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Yağ fazının, Smix'e oranı 1:1'dir.

2.F2 Serisi Formülasyonlar

Yağ fazı olarak amaranth yağı, kaprilik/kaprik trigliserid, DL-alfa tokoferol asetat ve Sensiva® PA 30 toplamda %10, surfaktan (Poloksamer 188 + Q naturale) ve kosurfaktan (Transcutol® HP) karışımı %15 konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Yağ fazının, Smix'e oranı 1:1,5'dir.

3.F3 Serisi Formülasyonlar

Yağ fazı olarak amaranth yağı, kaprilik/kaprik trigliserid, DL-alfa tokoferol asetat ve Sensiva® PA 30 toplamda %10, surfaktan (Poloksamer 188 + Q naturale) ve kosurfaktan (Transcutol® HP) karışımı %20 konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Yağ fazının, Smix'e oranı 1:2'dir.

Her formülasyon serisi için 2 adet aynı formülasyondan hazırlanmış ve formülasyon örneklerinden birine 5 dak., diğerine ise 10 dak. sonikasyon süresi uygulanmıştır.

Ultrasonifikatörün band genişliği %50 olarak belirlenmiştir. Fazla ısınmayı önlemek için ultrasonikasyonun amplitüt ayarı 30 saniye çalışıp, 30 saniye duracak şekilde ayarlanmıştır.

Formülasyonlar hazırlanırken ultrasonik homojenizatörün uygulanma süresi (5 dk ve 10 dk) de dikkate alınarak farklı denemeler yapılmış ve uygun damlacık büyüklüğü, PDI değeri ve zeta potansiyeli değerine sahip formüllerle çalışılmaya devam edilmiştir. Nanoemülsiyonların nanoemüljele dönüştürülmesi aşamasında, literatür çalışmalarına dayanarak %0,5, %1, %1,5 gibi farklı ksantan zamkı oranları kullanılarak formülasyonlar hazırlanmış ve bunlar çeşitli stabilite testlerine tabi tutulmuştur. Bu çalışmaların neticesinde en uygun bulunan ve stabil kalan nanoemüljel formülasyonuna karar verilmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan tüm formülasyonlar (nanoemülsiyonlar ve nanoemüljeller) santrifüj ve termal stabilite testlerine tabi tutulmuş ve organoleptik analiz, damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli analizlerine dayanarak fiziksel stabiliteleri doğrulanmıştır. Hem santrifüj hem de termal stabilite testleri sonucunda hiçbir formülasyonların görünümünde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır ve homojen bir formülasyon görünümü ile fiziksel olarak stabil kaldıkları sonucuna varılmıştır.

Stabil bir nanoemülsiyonu formüle etmek ve optimize etmek için damlacık boyutu ve dağılımının yanı sıra zeta potansiyeli değerleri, bir nanoemülsiyonun stabilitesini etkileyebilecek önemli özelliklerdir (Gokhale ve ark. 2019).

İdeal olarak, eğer damlacık boyutu 200 nm'den az ve PDI <1 ise, formülasyonun topikal uygulama için örnek teşkil ettiği söylenmektedir. Bunun nedeni, yüklü ilacı cilt bariyeri boyunca aktarmak için geniş yüzey alanı sağlanması yoluyla hızlı gözenek taşınması desteklenir (Gokhale ve ark. 2019).

Sonuçlarımıza göre, hazırlanan nanoemülsiyonların tümünün ortalama damlacık boyutunun 200 nm'den az olduğu bulunmuştur. Formülasyonlar bileşimlerinde benzer yağ yüzdesi içermekte olup, farklı surfaktan ve kosurfaktan karışımı (Smix) oranlarına sahiptir ve birbirlerinden yalnızca bu açıdan farklılık göstermektedir. Bu çalışmada hazırlanan üç formülasyon serisi karşılaştırıldığında, F2 ve F3 serisi arasında anlamlı bir fark görülmemekle birlikte, azalan Smix konsantrasyonuyla birlikte damlacık boyutunun da istikrarlı bir şekilde arttığı görülmektedir. Bu durum literatürdeki bulgularla uyumludur. Burada emülsiyon bileşimlerindeki Smix içeriğinin azalmasıyla spesifik yüzey alanındaki azalmanın ardından damlacık boyutlarının büyüdüğü bildirilmiştir (Gorain ve ark., 2014; Choudhury ve ark., 2014, 2019).

PDI, nanoemülsiyonlardaki damlacıkların boyut dağılımlarını gösterir. Burada daha küçük değer, formülasyonun daha iyi boyut dağılımını ve stabilitesini yansıtır (Gaba ve ark., 2019). Bu çalışmada, tüm hazırlanan nanoemülsiyonların PDI'sının 0,3'ten düşük olduğu ve buna göre homojen bir damlacık boyutu dağılımına sahip oldukları bulunmuştur.

Zeta potansiyel genellikle damlacıkların dispersiyon ortamındaki yüzey yükünü tahmin etmek için veya emülsiyon stabilitesinin bir göstergesi olarak kullanılır. Bu mevcut deneyde, nanoemülsiyon formülasyonlarının zeta potansiyeli –44,35 mV ila 32,95 mV arasında değişmiştir. +30 mV ila –30 mV aralığı dışındaki bir zeta potansiyel değerinin, damlacıklar arasında bir enerji bariyeri oluşturmak ve böylece birleşmeyi önlemek için yeterli olduğu öngörülmektedir (Shanmugam, 2014). Bu bağlamda, bu çalışmada hazırlanan nanoemülsiyonların zeta potansiyeli değerlerinin -30 mV'dan daha düşük olması nedeniyle yeterince stabil olduğu öngörülmektedir.

Farklı ksantan zamkı oranları (0,5 %1 ve %1,5 a/a) ile hazırlanan nanoemüljel formülasyonları üzerinde yürütülen hızlandırılmış stabilite testlerinin sonuçları karşılaştırıldığında ise en iyi stabiliteye sahip olan formülasyonların en düşük ksantan zamkı oranı (%0,5) ile hazırlananlar olduğu bulunmuştur. Bu doğrultuda, üç aylık fizikokimyasal stabilite testlerine %0,5 ksantan zamkı:nanoemülsiyon (1:1 a/a) olan formülasyonlarla devam edilmesine karar verilmiştir.

Oganoleptik kontrolde üç ay boyunca bekletilen nanoemüljeller renk, koku ve görünüm açısından değerlendirilmiştir. Bu süre boyunca formülasyonlarda gözle görülür bir değişimin olmadığı ve homojen kaldıkları görülmüştür.

Test edilen nanoemüljellerin tümü, topikal uygulama için uygun olan bir pH'a değerine sahip olup, üç ay boyunca yapılan ölçümler sonucunda hiçbir formülasyonun pH değeri anlamlı bir değişime uğramamıştır.

İletkenlik ölçümleri suyun iyi bir elektrik iletkeni olduğu prensibine dayanmaktadır. Bu yöntem, bir bileşiğin sahip olduğu emülsiyon tipini belirlemek için nitel bir yöntem olarak kabul edilir. Emülsiyonun sürekli fazı sulu ise, bunun bir Y/S tipi emülsiyon olduğunu gösteren bir iletkenlik değeri olacaktır (Gokhale ve ark., 2019). Bu çalışmadaki sonuçlara göre tüm nanoemüljellerin Y/S tipi nanoemülsiyonlarından oluştuğu söylenebilir. 3 ay boyunca yürütülen stabilite çalışmalarında yapılan ölçümler sonucunda hiçbir formülasyonda anlamlı bir iletkenlik değişimine rastlanmamıştır.

Formülasyonların stabilite değerlendirilmesinde diğer parametre viskozite ölçümüdür. 3 ay boyunca yapılan ölçümler sonucunda hiçbir formülasyonda önemli bir viskozite değişimine rastlanmamıştır.

Hücre kültüründe yapılan çalışmada M (boş medium) ile 0.125-0.25 ve 0.5 mg/mL amaranth yağı hücre kültüründe fibroblastlarda oluşturulmuş çizik üzerinde 0, 8 ve 24. saatlerde hücre yenilenme ve yara kapanma oranları denenmiş ve görüntüler çekilmiştir. Elde edilen görüntülerde 0.5 mg/mL amarant yağının 24. saatte 0.125 ve 0.25 mg/mL yağ uygulanan mediumlara göre hücre yenilenmesini ve dolayısıyla yara kapanma hızını arttırdığı görülmüştür. Ancak yağın kendi başına etkisi nanoemuljel ve nanoemülsiyon halindeki etkisine kıyasla daha düşük olarak tespit edilmiştir. Deney sonuçlarından anlaşıldığına göre amarant yağı nanoemuljel ve nanoemülsiyon olarak formüle edildiğinde yara iyi edici etkisinin in vitro koşullarda oldukça etkili olduğu

görülmüştür. Öte yandan boş plasebonun ise yara iyileşmesi ve hücre yenilenmesinde etkili olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum yüklü formülasyonların etkisinin boş formülasyondan gelmediğini de doğrulamıştır. Yüklü iki formülasyon olan nanoemuljel ve nanoemülsiyondan ise nanoemuljelin daha etkili olduğu, 24. Saatte yara açıklığını pozitif kontrol olan Madecassole kıyasla oldukça iyi bir şekilde kapattığı gözlemlenmiştir.

Bütün bu veriler ışığında, formülasyonlar üzerinde yürütülen karakterizasyon, stabilite, yara kapanma sonuçları, antienflamatuar ve antimikrobiyal etkinlik ve testleri sonucunda en iyi formülasyon olarak %2'lik Amaranth yağı ile surfaktan olarak %2.5 Q-naturale ve %10 Poloksamer 188 kombinasyonunu ve kosurfaktan olarak %2.5 Transkutol HP'yi içeren formülasyonun (F2P2) Yağ fazı: Smix: (1:1.5) Yara iyileşmesini tedavi yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

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

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

Aderibigbe, OR, Ezekiel, O0, Owolade, SO, Korese, JK, Sturm, B. ve Hensel, O. (2020). Gida ve beslenme güvenliğ i için değ er zinciri boyunca yeterince kullanılmayan tahıl amarantının (Amaranthus spp.) potansiyellerini keşfetmek : Bir inceleme. Gida Bilimi ve Beslenme Alanında Elestirel i ncelemeler. 1-14.

Ahmadi, Z., Hassanshahi, G., Khorramdelazad, H., Zainodini, N. ve Koochakzadeh, L. (2016). Eotaksin ağ inin gida patofizyolojisinde oynadig i rollere ve ozelliklere genel bir bakiş

Ajazuddin, Alexander A, Khichariya A, Gupta S, Patel RJ, Giri TK, et al. Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel J Control Rel 2013; 171(2): 122-32.

Altiok, D., Altiok, E., Tihminlioğlu, F., 2010. Physical, Antibacterial and Antioxidant Properties of Chitosan Films İncorporated with Thyme Oil for Potential Wound Healing Applications. Journal of Material Science, 21, 2227–2236.

Altuntaş, E., & Yener, G. (2015). Anti-aging potential of a cream containing herbal oils and honey: Formulation and in vivo evaluation of effectiveness using non-invasive biophysical techniques. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 10(6), 51-60.

Altuntaş, E., & Yener, G. (2017). Formulation and evaluation of thermoreversible in situ nasal gels containing mometasone furoate for allergic rhinitis. AAPS PharmSciTech, 18, 2673-2682.

Altuntaş, E., Yener, G., & Özkan, B. (2019). Nanocarriers Systems and Their Application for the Delivery of Different Phytoconstituents. In Novel Drug Delivery Systems for Phytoconstituents (pp. 9-44): CRC Press

Anonymous., TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı. http://biow.tubitak.gov.tr/present/taxonForm1.jsp?taxon=2486. [Erişim: Ocak 2020].

Araştırma ve Sağlik Bilimleri. 7(1): 170-181.Yazarlu, O., Iranshahi, M., Kashani, HRK, Reshadat, S. Habtemariam, S., Iranshahy, M. ve Hasanpour, M. (2021) Tibbi bitkilerin ve doğ al ürünlerin yara iyileşmesinde uygulanmasina bakış açısı: Mekanistik bir inceleme.Farmakolojik Araştırma. 174: 105841.

Azap E., Yalçın E., Çavuşoğlu K., Smilax excelsa L. ekstraktlarının Ames/salmonella/mi krozom test Si stemi ile anti mutajeni k etki si ni n araştırılması. Düzce Üniversitesi Bil. Tek. Derg., 5, 622-631, 2017.

Boateng, J.S., Matthews K.H., Stevens H.N.E., Eccleston G.M., 2007. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. Journal of Pharmaceutıcal Scıences. 97, 2892–2923.

Boateng, J.S., Matthews K.H., Stevens H.N.E., Eccleston G.M., 2007. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. Journal of Pharmaceutıcal Scıences. 97, 2892–2923

Bouchra Sayed-Ahmad, Martine Urrutigoïty, Akram Hijazi, Zeinab Saad, Muriel Cerny, Philippe Evon, Thierry Talou, Othmane Merah Amaranth Oilseed Composition and Cosmetic Applications Separations, July 2022 10.3390/separations 9070181

Chaudhary M.A., Imran I., Bashir S., Mehmood M.H., Rehman N., Gilani N.H., Evaluation of gut modulatory and bronchodilator activities of Amaranthus spinosus Linn. BMC Comple Altern. Med., 12, 166, 2012.

Chime, S.A., Kenechukwu, F.C. ve Attama, A.A. (2014). Nanoemulsions Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery. İçindeSezer, A.D. (Ed.), *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*. 77-126. Erişim: 25.07.2014, http://www.intechopen.com/books/application-of-nanotechnology-in-drug-

delivery/nanoemulsions-advances-in-formulation-characterization-and-applications-in-drug-delivery

Chime, S.A., Kenechukwu, F.C. ve Attama, A.A. (2014). Nanoemulsions — Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery. İçinde Sezer, A.D. (Ed.), Application of Nanotechnology in Drug Delivery. 77-126. Erişim: 25.07.2014.

Choudhury, H., Gorain, B., Karmakar, S., Biswas, E., Dey, G., Barik, R., Mandal, M., Pal, T.K., 2014. Improvement of cellular uptake, in vitro antitumor activity and sustained release profile with increased bioavailability from a nanoemulsion platform. Int. J. Pharm. 460, 131–143.

Choudhury, H., Zakaria, N.F.B., Tilang, P.A.B., Tzeyung, A.S., Pandey, M., Chatterjee, B., Alhakamy, N., Bhattamishra, S.K., Kesharwani, P., Gorain, B., Md, S., 2019. Formulation development and evaluation of rotigotine mucoadhesive nanoemulsion for intranasal delivery. J. Drug Deliv. Sci. Technol. 54, 101301

Costin, G.E., Hearing, V.J., 2007. Human Skin Pigmentation: Melanocytes Modulate Skin Color in Response to Stress. The FASEB Journal, 21, 976-994.

Çakal, C., 2004. PHEMA Bazlı Yara/Yanık Örtü Materyalleri. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Ankara.

Çetinkale, O., 2008. Yara Bakımı ve Tedavisi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 67, 107-117.

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

Design Expert Assisted Formulation of Topical Bioadhesive Gel of Sertaconazole Nitrate

Draelos, Z. D., Baumann, L., Fleischer, A. B., Plaum, S., Avakian, E. V., & Hardas, B. (2012). A new proprietary onion extract gel improves the appearance of new scars: a randomized, controlled, blinded-investigator study. The Journal of clinical and aesthetic dermatology, 5(6), 18.).

Eid AM, El-Enshasy HA, Aziz R, Elmarzugi NA. Preparation, characterization and anti-inflammatory activity of swietenia macrophylla nanoemulgel. J Nanomed Nanotechnol 2014; 5: 190.

Fang, J.-Y., Hong, C.-T., Chiu, W.-T., & Wang, Y.-Y. (2001). Effect of liposomes and niosomes on skin permeation of enoxacin. International journal of pharmaceutics, 219(1-2), 61-72.

Gaba, B., Khan, T., Haider, M.F., Alam, T., Baboota, S., Parvez, S., Ali, J., 2019. Vitamin E loaded naringenin nanoemulsion via intranasal delivery for the management of oxidative stress in a 6-OHDA Parkinson's disease model. BioMed Res. Int. 2019, 2382563.

Gannu R, Palem CR, Yamsani VV, Yamsani SK, Yamsani MR. Enhanced bioavailability of lacidipine via microemulsion based transdermal gels: Formulation optimization, ex vivo and in vivo characterization. Int J Pharm 2010; 388: 231-41.

Geronemus R.G., Robins P., 1982. The Effect of Two New Dressing on Epidermal Wound Healing. Journal of Dermatologic Surgery, 8, 850-852.

Goh, P.S., Ng, M.H., Choo, Y.M., Amru, N.B. ve Chuah, C.H. (2015).

Gokhale, J. P., Mahajan, H. S., & Surana, S. J. (2019). Quercetin loaded nanoemulsion-based gel for rheumatoid arthritis: In vivo and in vitro studies. Biomedicine & Pharmacotherapy, 112, 108622.

Gorain, B., Choudhury, H., Kundu, A., Sarkar, L., Karmakar, S., Jaisankar, P., Pal, T.K., 2014. Nanoemulsion strategy for olmesartan medoxomil improves oral absorption and extended antihypertensive activity in hypertensive rats. Colloids Surf. B Biointerfaces 115, 286–294.

Gref, R., Deloménie, C., Maksimenko, A., Gouadon, E., Percoco, G., Lati, E. ve Couvreur, P.(2020). C vitamini - skualen biyokonjugati, insan derisinde, epidermal kalinlaşmayı ve kollajen üretimini destekler. Bilimsel Raporlar. 10(1): 1-12.

Guglielmini, G. (2008). Nanostructured novel carrier for topical application. Clinics in dermatology, 26(4), 341-346.

Gupta, B., Arora, A., Saxena, S., Alam, M.S., 2008. Preparation of Chitosan Polyethylene Glycol Coated Cotton Membranes for Wound Dressings: Preparation and Characterization. Polymer Advavced Technologies, 20, 58–65.

Gupta, B., Saxena, S., 2011. Chitosan-Polyethylene Glycol Coated Cotton Membranes for Wound Dressing. Indian Journal of Fibre & Textile Research, 36, 272-280.

Gutierrez, 2016 P. Gutierrez Review of Cucurbita pepo (Pumpkin) its phytochemistry and pharmacology

Gül, Ü., Deri yaşlanmasını etkileyen çevresel faktörler. Turkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics 2012;5(4):1-6.

Han S., Xu B., Bioactive components of leafy vegetable edible Amaranthus (Amaranthus mangostanus L.) as affected by home cooking manners. Am. J. Food Sci. Technol., 2, 122-127, 2014.

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

Harwansh, R. K., Deshmukh, R., & Rahman, M. A. (2019). Nanoemulsion: Promising nanocarrier system for delivery of herbal bioactives. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 51, 224-233.

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.

He, W., Tan, Y., Tian, Z., Chen, L., Hu, F., & Wu, W. (2011). Food protein-stabilized nanoemulsions as potential delivery systems for poorly rats. International journal of nanomedicine, 6, 521.

Hendriks, F.M., 2001. Mechanical Behaviour of Human Skin in vivo. Nat.Lab. Unclassified Report.

Huang et al., 2009 Z.-R. Huang, Y.-K. Lin, J.-Y. Fang, Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology.

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.

K. Ousey, K.F. Cutting, A.A. Rogers, M.G. Rippon the importance of hydration in wound healing: Reinvigorating the clinical perspective J. Wound Care, 25 (2016), pp. 122-130

Kanitakis, J. (2002). Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. European Journal of Dermatology, 12(4), 390–399.

Karakaş, N., Okur, M. E., Öztunç, N., Karadağ, A. E., Kültür, Ş., & Demirci, B.(2019).Tilia tomentosa moench çiçeklerinin uçucu bileşenlerinin ve çeşitli in vitro biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 12(2), 220-229.

Katiyar R.S., Shukla S., Rai S., Varietal performance of grain Amaranthus (A. hypochondriacus) on sodic soil. Proc. Nat. Acad. Sci. India, 70, 185-187, 2000.

Korac and Khambholja, 2011 R.R. Korac, K.M. Khambholja Potential of herbs in skin protection from ultravioletradiation

Krishnamoorthy K., Subramaniam P., Phytochemical profiling of leaf, stem and tuber parts of Solena amplexicaulis (Lam.) Gandhi, Using GC-MS. Int. Sch. Res. Notices, 2014, 1-13, 2014.

Kumar, N., Gupta, A.K., 2009. Wound-Healing Activity of Onosma hispidum (Ratanjot) in Normal and Diabetic Rats. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 15, 342–351.

Kurtoğlu, A.H., Karataş, A., 2009. Yara Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar: Modern Yara Örtüleri. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 38 (3), 211-232.

Li,Y., Teng, Z., Chen, P., Song, Y., Luo, Y. ve Wang, Q. (2015). Enhancement of aqueous stability of allyl isothiocyanate using nanoemulsions prepared by an emulsion inversion point method. J Colloid Interface Sci., 438, 130-137.

Linseed Oil Nanoemulsions for Treatment of Atopic Dermatitis Disease: Formulation, Characterization, In Vitro and In Silico Evaluations aİlke KILDACI, bYasemin BUDAMA-KILINC*, cSerda KECEL-GUNDUZ, dEbru ALTUNTAS

López O.A., López M.A., Palou E., Antioxidant capacity of extracts from amaranth seeds or leaves. Ind. Crops Prod., 53, 55-59, 2014.

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

Marcone et al., 2004 M.F. Marcone, Y. Kakuda, R.Y. Yada Amaranth as a rich dietary source of b-sitosterol and other phytosterols Plant Foods Hum. Nutr., 58 (2004), pp. 207-211

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

Mutlu, G., 2014. Doku Rejenerasyonunda Kullanılmak Üzere Etken Madde Yüklü Nanofibriler Yapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Ana Bilim Dalı, Ankara

Nathan, C. (2002). Enflamasyonda kontrol noktalari. Doğ a.420(6917): 846-852.

Nayak S., Jena A.K., Mittal D.K., Joshi D., GC-MS analysis of phytoconstituents of some wild Zingiberaceae plants methanolic rhizome extracts. Res. Plant Sci., 2, 1-5, 2013.

Nehal N., Mann S., Gupta R.K., Nutritional and phytochemical evaluation of A. lividus L. syn. Amaranthus blitum subsp. oleraceus (L.). IJTK., 15(4), 2016.

New cosmetic formulations with broad photoprotective and antioxidative activities designed by amaranth and pumpkin seed oils nanocarriers.

Okur, M. E., Karadağ, A. E., Özhan, Y., Sipahi, H., Ayla, Ş., Daylan, B., ... & Demirci, F. (2021). Antiinflammatory, analgesic and in vivo-in vitro wound healing potential of the Phlomis rigida Labill. extract. Journal of Ethnopharmacology, 266, 113408.

Ozsoy N., Yilmaz T., Kurt O., Can A., Yanardag R., In vitro antioxidant activity of Amaranthus lividus L. Food Chem., 116(4), 867-872, 2009.

Ölçer, A., Gönül, N., 2002. Perkütan Absorpsiyon ve Perkütan Absorpsiyonu Etkileyen Faktörler. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 31 (1), 33-49.

Özkorkmaz, E, Özay, Y., 2009. Yara İyileşmesi ve Yara İyileşmesinde Kullanılan Bazı Bitkiler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2 (2); 63-67.

Petras and Paulius, 2013 R.V. Petras, K. Paulius Nutritional Components of Amaranth Seeds and Vegetables: A Review on Composition, Properties, and Uses

Production of Nanoemulsions from Palm-Based Tocotrienol Rich Fraction by Microfluidization. Molecules, 20 (11), 19936-19946.

Rajabudeen E., Ganthi A.S., Subramanian M.P.S., Natarajan K., GC-MS analysis of the methanol extract of Indigofera aspalathoides Vahl ex DC. J. Adv. Chem. Sci., 1, 6-8, 2015.

Rathod, KJ, Jadeja, BA, Jadav, JK ve Golakiya, BA (2017) Hindistan'in tahil amaranthus cesitlerinin tohum yağ larının fiziko-kimyasal karakterizasyonu ve yağ asidi

profili-beslenme perspektifi.Uluslararasi Saf ve Uyqulamali Biyobilim Dergisi. 5:1424-32.

Rebolleda, S., Sanz, M. T., Benito, J. M., Beltrán, S., Escudero, I., & San-José, M. L. G. (2015). Formulation and characterisation of wheat bran oil-in-water nanoemulsions. Food chemistry, 167, 16-23.

S. Millam, B. Obert, A. Pret'ova, ´ Plant cell and biotechnology studies in Linum

Sáanchez-Quesada, C., López-Biedma, A., Toledo, E. ve Gaforio, (2018). Skualen, yara iyileşmesini ve doku onariminı desteklemek için önemli bir doğ uştan gelen bağ ışiklik hücresini uyarır. Kanıta Dayalı Tamamlayicı ve Alternatif Tip. 2018.

Sánchez Quesada, C., López-Biedma, A. ve Gaforio, I (2015). Maslinik Asit, makrofajlarin toplanması ve bunlarin m1 durumuna farklilaşmasi için sinyalleri geliştirir, Kanita Dayali. Tamamlayıci ve alternatif ilaç. 2015.

Shakeel, F., Ramadan, W., & Ahmed, M. A. (2009). Investigation of true nanoemulsions for transdermal potential of indomethacin: characterization, rheological characteristics, and ex vivo skin permeation studies. Journal of drug targeting, 17(6), 435-441.

Shanmugam, A. a. A., M. (2014). Ultrasonic Preparation of Stable Flax Seed Oil Emulsions in Dairy Systems—Physicochemical Characterization. Food Hydrocolloids, 39, 151-162.

Shanmugarajan, TS, Selvan, NK ve Uppuluri, VNVA (2021). Skualen yüklü topikal agar bazli emüljel iskelenin geliştirilmesi ve karakterizasyonu: tam kat yanık modelinde yara iyileşme potansiyeli. Uluslararasi Dergi Alt Ekstremite Yaraları. 20(4): 364-373.

Shukla S., Bhargava A., Chatterjee A., Pandey A.C., Mishra B.K., Diversityin phenotypic and nutritional traits in vegetable Amaranthus (Amaranthus tricolor), a nutritionally underutilized crop. J. Sci. Food Agric., 90, 139-144, 2010.

Shukla S., Bhargava A., Chatterjee A., Srivastava J., Singh N., Singh S.P., Mineral profile and variability in vegetable amaranth (Amaranthus tricolor). Plant Foods Hum. Nutr., 61, 23-28, 2006.

Sienkiewicz, M., Głowacka, A., Kurowska, K.P., Kaszuba, A., Urbaniak, A., 2015. The Effect of Clary Sage Oil on Staphylococci Responsible for Wound İnfections. Advances in Dermatology and Allergology, 32 (1), 21–26.

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

Süntar, İ., Akkol, E., Keleş, H., Oktem, A., Başer, K.H.C., Yeşilada E., 2011. A Novel Wound Healing Ointment: A Formulation of Hypericum perforatum Oil and Sage and Oregano Essential Oils Based on Traditional Turkish Knowledge. Journal of Ethnopharmacology, 134; 89-96

Thakur, R., Jain, N., Pathak, R., Sandhu, S.S., 2011. Practices in Wound Healing Studies of Plants. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011; 1-17. doi:10.1155/2011/438056.

Tikekar R.V., Ludescher R.D., Karwe M.V., Processing stability of squalenein amaranth and antioxidant potential of amaranth extract. J. Agric. Food Chem., 56, 10675-10678, 2008.
usitatissimum–a review, Plant Cell Tissue Organ Cult. 82 (1) (2005) 93–103.

Venskutonis and Kraujalis, 2013 P.R. Venskutonis, P. Kraujalis Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: a review on composition, properties, and uses

Wölfle, U., Seelinger, G., Schempp, C.M., 2013. Topical Application of St. John's Wort (Hypericum perforatum). Planta Medica, 80; 109-120.

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

Yuan C.S., Wang C.Z., Wicks S.M., Qi L.W., Chemical and pharmacological studies of saponins with a focus on American ginseng, J. Ginseng Res., 34, 160-67, 2010.57

Yuan, R. ve Lin, Y. (2000). Traditional Chinese medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. *Pharmacology & Therapeutics*, 86(2), 191–198.

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.

Zahedi, P., Rezaeian, I., Siadat, S.O., Jafari, S.H., Supaphol, P., 2010. A Review on Wound Dressings with An Emphasis on Electrospun Nanofibrous Polymeric Bandages. Polymers Advanced Technologies, 21,77–95.

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. Int J Nanomedicine, 8, 3769-3779.

Zhong, S.P., Zhang, Y.Z., Lim, C.T., 2010. Tissue Scaffolds for Skin Wound Healing and Dermal Reconstruction. WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology, 2, 510-525.

Zhou, H., Yue, Y., Liu, G., Li, Y., Zhang, J., Gong, Q. ve ark. (2009). Preparation and characterization of a lecithin nanoemulsion as a topical delivery system. Nanoscale Res. Lett., 5(1), 224–230.

ÖZGEÇMİŞ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

AMARANTH YAĞI İÇEREN TOPİKAL UYGULAMAYA YÖNELİK KOZMESÖTİK ETKİLİ FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ

ORİJİNALLİK RAPORU

%8	%8	%2	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%4
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%3
3	sure.su.ac.th İnternet Kaynağı	<%1
4	arxiv.org İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Higher Education Commission Pakistan Öğrenci Ödevi	<%1
6	repository.unsri.ac.id İnternet Kaynağı	<%1
7	polen.itu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	www.nature.com İnternet Kaynağı	<%1
9	McLennan, H.. "Cholinoceptive receptors of crayfish stretch receptor neurons", Comparative Biochemistry And Physiology, 196601 Yayın	<%1
10	earsiv.anadolu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1

Alıntıları çıkart üzerinde
Bibliyografyayı Çıkart üzerinde
Eşleşmeleri çıkar < 5 words