

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YARI KATI LİPİT NANOPARTİKÜL
DİSPERSİYONLARININ KOZMETİK
KULLANIMLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Kerem ÇAKIR

KOZMETOLOJİ BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. F. Ulya BADILLI

ANKARA
2022

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Yarı katı Lipit Nanopartikül Dispersiyonlarının Kozmetik Kullanımlarının Değerlendirilmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Kerem ÇAKIR

01.02.2022

İmza:

KABUL ve ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Kozmetoloji Bilim Dalında Kerem ÇAKIR tarafından hazırlanan
“Yarı katı Lipit Nanopartikül Dispersiyonlarının Kozmetik Kullanımlarının
Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS
TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01.02.2022

Prof.Dr. Miyase Nilüfer TARIMCI
Başkent Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı
Jüri Başkanı

Doç.Dr.Fahriye Ulya BADILLI
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı
Üye

Dr.Öğr.Üyesi Özge İNAL
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı
Üye

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

Prof.Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	ii
KABUL ve ONAY	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÖNSÖZ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
ÇİZELGELER	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Deri	3
1.1.1. Epidermis	4
1.1.2. Dermis	5
1.1.3. Subkütan Tabaka	6
1.2. Derinin Görevleri	6
1.3. Deriden Geçiş	6
1.3.1. Deriden Geçiş Etkileyen Faktörler	8
1.3.1.1. Derinin Durumu	8
1.3.1.2. Partisyon Katsayısı	8
1.3.1.3. Nem ve Sıcaklık Etkisi	8
1.3.1.4. Etkin Maddenin Çözünürlüğü ve Molekül Büyüklüğü	9
1.3.1.5. Çözücülerin Etkisi	9
1.3.1.6. Kullanılan Yardımcı Maddeler	9
1.3.2. Deriden Geçiş Yolları	9
1.3.2.1. Transappendeal Geçiş (Porlardan Geçiş)	10
1.3.2.2. Transselüler Yol	10
1.3.2.3. Interselüler Yol	10
1.4. Deri Yaşlanması	11
1.4.1. İntrensek Yaşlanma (Genetik Teori)	11
1.4.1.1. Etnik Köken	11
1.4.1.2. Anatomik Varyasyonlar	12
1.4.1.3. Hormonal Değişiklikler	13
1.4.2. Ekstresek Yaşlanma	14

1.4.2.1. Yaşam Tarzı	14
1.4.2.2. Sigara Kullanımı	15
1.4.2.3. UV Maruziyeti (Fotoyaşlanma)	15
1.4.2.4. Yer Çekimi	18
1.4.3. Deri Yaşlanmasıyla İlgili Teoriler	19
1.4.3.1. Hücre Siklus Teorisi	19
1.4.3.2. Oksidatif Stres-Serbest Radikal Teorisi	20
1.4.3.3. Mutasyon Teorisi	20
1.4.3.4. İmmunolojik Teori	21
1.5. Kozmetikler	21
1.6. Kozmesötik Kavramı	23
1.7. Kozmetik Taşıyıcı Sistemler	26
1.7.1. Kozmetik Taşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması	26
1.7.1.1. Emülsiyon Sistemleri	26
1.7.1.2. Veziküler Sistemler	28
1.7.1.3. Moleküler Taşıyıcı Sistemler	30
1.7.1.4. Partiküler Sistemler	31
1.8. Lipit Nanopartiküller	32
1.8.1. Katı Lipit Nanopartiküller	32
1.8.1.1. Katı Lipit Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri	33
1.8.2. Nanoyapılı Lipit Taşıyıcılar (NLC)	34
1.8.2.1. Nanoyapılı Lipit Taşıyıcıların Üretim Yöntemleri	36
1.8.3. Çalışmadaki Formülasyonların Üretiminde Kullanılan Katı Yağlar	37
1.8.3.1. Compritol® 888 ATO	37
1.8.3.2. Gliseril Palmitostearat (Precitol ATO®5)	37
1.8.4. Çalışmadaki Formülasyonların Üretiminde Kullanılan Sıvı Yağlar	38
1.8.4.1. Nar Çekirdeği Yağı	38
1.8.4.2. Argan yağı	39
1.8.4.3. Üzüm Çekirdeği Yağı	39
1.8.4.4. Hindistan Cevizi Yağı	40
1.8.5. Lipit Nanopartiküllerin Kozmetikte Kullanımları	41
1.9. Yarı Katı Lipit Nanopartikül Sistemleri	43
1.10. Nanopartiküler Sistemlerin Güvenirlikleri	46
1.11. Cevap Yüzey Metodolojisi	48
2. GEREÇ ve YÖNTEM	50
2.1. Kullanılan Alet ve Maddeler	50

2.1.1. Kullanılan Aletler	50
2.1.2. Kimyasal Malzemeler	50
2.2. Yarı Katı NLC Formülasyonlarının Hazırlanması	51
2.3. Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	52
2.3.1. Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyel Ölçümleri	52
2.3.2. pH Tayini	53
2.3.3. Viskozite Ölçümü	53
2.3.4. Mekanik Özelliklerin Tayini	53
2.3.5. İn Vitro Oklüzyon Testi	54
2.4. Formülasyon Optimizasyonu ile Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonlarının Belirlenmesi	54
2.5. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonlarının Hazırlanması	55
2.6. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	56
2.6.1. Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyel Ölçümleri	56
2.6.2. pH Tayini	56
2.6.3. Viskozite Ölçümü	56
2.6.4. Mekanik Özelliklerin Tayini	57
2.6.5. İn Vitro Oklüzyon Testi	57
2.6.6. Reolojik Özelliklerin Tayini	58
2.6.7. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM) Analizi	58
2.6.8. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) analizi	58
2.6.9. Stabilité Çalışmaları	59
3. BULGULAR	60
3.1. Yarı Katı NLC Formülasyonlarına Ait Bulgular	60
3.1.1. Partikül Büyüklüğü, PDI ve Zeta Potansiyeli Tayinine ait Bulgular	60
3.1.2. pH Tayinine ait Bulgular	61
3.1.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulgular	62
3.1.4. Mekanik Özelliklerin Tayinine ait Bulgular	63
3.1.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulgular	63
3.2. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonlarına Ait Bulgular	64
3.2.1. Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyel Tayinine ait Bulgular	64
3.2.2. pH Tayinine ait Bulgular	65
3.2.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulgular	65
3.2.4. Mekanik Özelliklerin Tayinine ait Bulgular	66
3.2.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulgular	67

3.2.6. Reolojik Özelliklerinin Tayinine ait Bulgular	68
3.2.7. TEM analizine ait Bulgular	69
3.2.8. DSC Analizine ait Bulgular	71
3.2.9. Stabilité çalışmalarına ait Bulgular	73
4. TARTIŞMA	75
4.1. Yarı Katı NLC Formülasyonlarının Hazırlanmasına ait Çalışma Bulgularının Değerlendirilmesi	75
4.2. Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Analizlere ait Bulguların Değerlendirilmesi	76
4.2.1. Partikül Büyüklüğü, PDI ve Zeta Potansiyel Bulgularının Değerlendirilmesi	76
4.2.2. pH Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi	77
4.2.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulguların Değerlendirilmesi	78
4.2.4. Mekanik Özelliklerin Tayinine ait Bulguların Değerlendirilmesi	79
4.2.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulguların Değerlendirilmesi	83
4.3. Formülasyon Optimizasyonu Çalışmalarına ait Bulguların Değerlendirilmesi	83
4.4. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Analizlere ait Bulguların Değerlendirilmesi	85
4.4.1. Partikül Büyüklüğü, PDI ve Zeta Potansiyel Bulgularının Değerlendirilmesi	85
4.4.2. pH Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi	86
4.4.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulguların Değerlendirilmesi	86
4.4.4. Mekanik Özelliklerin Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi	87
4.4.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulguların Değerlendirilmesi	88
4.4.6. Reolojik Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi	89
4.4.7. TEM Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi	90
4.4.8. DSC Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi	90
4.4.9. Stabilité Çalışmalarına ait Bulguların Değerlendirilmesi	91
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	93
ÖZET	95
SUMMARY	96
KAYNAKLAR	97
ÖZGEÇMİŞ	104

ÖNSÖZ

Cildimizin sağlıklı olması, genç ve güzel görünmesi eski çağlardan beri yaşantımızda önemli bir yer tutmaktadır. Cildin güzel görünmesinin sosyal avantajları olduğu gibi psikolojik olarak da bir gereksinim olduğu ortadadır. Ancak günümüzde cildimizin özellikle UV radyasyon, hava kirliliği ve stres gibi zararlı etkenlere artan sıklıkta maruz kalması cildin kurumasına, sarkmasına ve erken yaşlanmasına sebep olabilmektedir. Geçmişte yaşlanma etkilerini baskılamak ve bu etkilerin görünürliğini azaltmak için kısıtlı imkanlar varken, teknolojinin gelişmesiyle bu imkanlar genişlemiş ve cilt yaşlanmasına karşı etkin ürünler geliştirilmiştir.

Bitkisel ürünler geleneksel olarak kullanım yaygınlığından dolayı halk arasında yüksek kabul edilebilirliğe sahip olan ürünlerdir. Kozmetik etkinliği olan bitkisel hammaddelerin nanoteknolojik formülasyonlarla cilde verilmesiyle istenilen etkinin daha fazla, hızlı ve güvenli bir şekilde ortaya çıkması sağlanabilmektedir. Nanoyapılı lipit taşıyıcılar (NLC), vücutta metabolize olabilen ve biyoyumlu lipitlerle hazırlandıkları için güvenilir taşıyıcı sistemlerdir. Bu sistemlerin kozmetik / kozmesötik amaçlarla kullanılan bitkisel yağlarla üretilmeleri hedeflenen kozmetik / kozmesötik etkinliğin artırılmasına olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada, cilt yaşlanmasına karşı etkin olan nar çekirdeği yağı, argan yağı, üzüm çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı gibi bitkisel yağlar ile yarı katı NLC formülasyonlarının hazırlanması ve matematiksel modelleme programı kullanılarak gerçekleştirilecek formülasyon optimizasyonu ile kullanıcıya sunulabilecek optimum formülasyona ulaşılması amaçlanmıştır. Bu çalışma Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Başta tezimin deneylerinden fikirlerine kadar her aşamasında çok büyük katkısı olan değerli danışmanım Doç. Dr. Ulya BADILLI'ya,

Neredeyse her deneyimde ve problemlerle karşılaştığımda bilgisinden ve yardımından faydalandığım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Özge İNAL'a,

Tecrübe ve bilgi birikimleriyle bana her konuda yardımcı olan Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma,

Emekli olsa da her konuda kendisinin engin bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Prof. Dr. Nilüfer TARIMCI ve Dr. Öğr. Üyesi Tangül ŞEN hocama,

Formülasyon optimizasyon çalışmalarında emek ve katkıları olan değerli hocalarım Prof.Dr.Neşe Buket AKSU ve Arş.Gör.Gizem YEĞEN'e

Sabırla, tezimin her aşamasında manevi destek sağlayan başta eşim olmak üzere tüm aile fertlerime teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AHA	Alfa Hidroksi Asitler
ANN	Artificial Neural Network
°C	Santigrat Derece
COQ 10	Koenzim Q10
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
G'	Elastik Modül
G''	Viskoz Modül
kg	Kilogram
kV	Kilovat
µm	Mikrometre
η*	Kompleks Viskozite
Mm	Milimetre
MMP-1	Matriks Metalopeptidaz 1
mtDNA	Mitokondriyel Deoksiribonükleik Asit
NLC	Nanoyapılı Lipit Taşıyıcılar
Nm	Nanometre
NMF	Doğal Nemlendirici Faktör
PDI	Polidispersite İndeksi
QbD	Tasarımla Kalite
r ²	MODDE® Programı Modelleme Uygunluk Katsayısı
Rad/Sn	Radyan Bölü Saniye
ROS	Reaktif oksijen türleri
RSM	Cevap Yüzey Metodolojisi
RPM	Rotation Per Minute/ Dakikadaki Devir Sayısı
SEDDS	Self emülsifiye ilaç taşıyıcı sistemler
SIR-2	Silent Information Regulator-2/ Sessiz Bilgi Regülatörü
SLN	Katı Lipit Nanopartiküller
SS	Standart Sapma

TEM	Geçirimli Elektron Mikroskopisi
TPA	Tekstür Profil Analizi
UV	Ultraviyole
Y/S	Su İçinde Yağ Emülsiyonu



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Deri ve katmanları	4
Şekil 1.2. Epidermisten difüzyon profili	7
Şekil 1.3. Deriden geçiş yolları	10
Şekil 1.4. SLN ve NLC partiküllerinin yapısal karşılaştırılması	35
Şekil 1.5. Keck ve Müller'in önerdiği nanotoksikolojik sınıflandırma sistemi	47
Şekil 3.1. Opt A kodlu formülasyonun tekstür profil analizi eğrisi	66
Şekil 3.2. Opt B kodlu formülasyonun tekstür profil analizi eğrisi	67
Şekil 3.3. Opt C kodlu formülasyonun tekstür profil analizi eğrisi	67
Şekil 3.4. Opt A kodlu formülasyonun osilasyon frekans tarama testi sonucu	68
Şekil 3.5. Opt B kodlu formülasyonun osilasyon frekans tarama testi sonucu	68
Şekil 3.6. Opt C kodlu formülasyonun osilasyon frekans tarama testi sonucu	69
Şekil 3.7. Opt A kodlu formülasyonun TEM görüntüsü	70
Şekil 3.8. Opt B kodlu formülasyonun TEM görüntüsü	70
Şekil 3.9. Opt C kodlu formülasyonun TEM görüntüsü	71
Şekil 3.10. Compritol® ATO 888'e ait DSC termogramı	71
Şekil 3.11. Opt A kodlu formülasyona ait DSC termogramı	72
Şekil 3.12. Opt B kodlu formülasyona ait DSC termogramı	72
Şekil 3.13. Opt C kodlu formülasyona ait DSC termogramı	73
Şekil 4.1. Tekstür analiz profili	80

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Etnik Özelliklere bağlı dermatolojik etkilerin değerlendirilmesi (Vashi ve ark., 2016)	12
Çizelge 1.2. UV ışınlarının tipleri ve özellikleri (Soehngeve ark., 1997)	16
Çizelge 1.3. Fotoyaşlanmanın intrinsek yaşlanma ile karşılaştırılması (Farage ve ark., 2008)	18
Çizelge 1.4. Kozmetiklerin sınıflandırılması (Önder ve Öztaş, 2004)	22
Çizelge 1.5. NLC’lerde kullanılan bileşenler (Beloqui ve ark., 2016)	36
Çizelge 1.6. SLN ve NLC’lerin kozmetikte kullanımına ilişkin yapılmış çalışma örnekleri	42
Çizelge 1.7. Lipit nanopartikül içeren kozmetik ürün örnekleri (Ferraris ve ark., 2021)	43
Çizelge 2.1. Yarı katı NLC formülasyonlarının kodları ve bileşimleri	52
Çizelge 2.2. MODDE® programı tarafından önerilen optimum yarı katı NLC formülasyonlarının kodları ve bileşimleri	55
Çizelge 3.1. Yarı katı NLC formülasyonlarının partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyeli değerleri	60
Çizelge 3.2. Yarı katı NLC formülasyonlarının pH değerleri	61
Çizelge 3.3. Yarı katı NLC formülasyonlarının ortalama viskozluk değerleri	62
Çizelge 3.4. Yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özellikleri	63
Çizelge 3.5. Yarı katı NLC formülasyonlarının 24. ve 48. saatteki oklüzyon faktörü (F) değerleri	64
Çizelge 3.6. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli ve polidispersite indeksleri	65
Çizelge 3.7. Optimum yarı katı NLC formülasyonların pH değerleri	65
Çizelge 3.8. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının viskozluk değerleri	66
Çizelge 3.9. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özellikleri	66
Çizelge 3.10. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının oklüzyon faktörü (F) değerleri	67
Çizelge 3.11. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının 25°C’de stabilite sonuçları	73
Çizelge 3.12. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının 4°C’de stabilite sonuçları	74
Çizelge 4.1. Tekstür Analiz Parametreleri	79

1. GİRİŞ

Günümüzde çevresel kirliliğin artması, insanların daha stresli ortamlarda yaşıyor olmaları, sigara, alkol gibi bağımlılıkların artması ve insanların genetik olarak yatkın olabilmeleri sonucunda yaşlanmanın etkileri insan cildinde daha erken yaşlarda ortaya çıkmaya başlamıştır. Yaşlanmanın etkileri; ciltte özellikle nem kaybı ve kuruluk, cildin elastiklik ve geçirgenlik özelliğinin azalması, hatta ciltte lekelerin de oluşmasıyla gözle görünebilir hale gelebilmektedir. Çevresel faktörlerden özellikle cildin UV radyasyon maruziyetiyle; ciltte irritasyon ve ödemler oluşabilmekte sonrasında ise foto yaşlanma sürecinin hızlanmasıyla sonuçlanmaktadır. Fizyolojik bir süreç olan cilt yaşlanmasına karşı alınacak en önemli tedbirlerin başında, yaşlanmayı sağlayan bu çevresel faktörlerden olabildiğince korunmak gelirken, sonraki aşamada ise yaşlanma karşıtı ürünlerin kullanımıyla cilt sağlığını korumak ve cildin daha güzel görünümünü sağlamak gelmektedir.

Yaşlanma karşıtı ürünler tasarlanırken öncelikle çevresel faktörlere karşı cildi koruyan ve ciltte oluşan hasarı gideren yaklaşımlar öne çıkmaktadır. Geçmişten günümüze gelen yaşlanma karşıtı formüllerde; stratum korneum tabakasına bariyer oluşturularak (okluzif etki) cildin nem kaybını önlemek ve doğal nem tutucu maddelerin (NMF) cilde verilip ciltteki kaybolan nemin yerine konulması amaçlanmıştır. Etkileri örneklenen bu kozmesötik hammaddeler cilde verilirken krem, losyon, balsam ve jel gibi formülasyonlar içinde verilerek bu maddelerin hedeflenen cilt bölgesine gitmesi sağlanmaktadır. Ancak geleneksel formülasyonlarla tedavinin öne çıkan dezavantajlarının başında stratum korneum tabakasının madde geçişine kısıtlı olarak izin vermesi dolayısıyla dermal yararlanımın düşük değerlerde kalması gelmektedir. NMF olarak kullanılan ve cildin gereksinim duyduğu çoğu proteik yapı, büyük molekül ağırlıklarından dolayı zaten deriden geçememektedir. Bunlara ilave olarak kozmesötiklerin formülasyon içindeki geçimliliği ve stabilitesi de geleneksel kozmetiklerde yaygın olarak karşılaşılan problemlerdendir.

1991 yılında ortaya çıkarak geleneksel kozmetiklerdeki yaygın problemlerin üstesinden gelmeyi amaçlayan lipit nanopartiküller günümüzde yapılan çalışmalarla daha fazla oranlarda kozmetik formülasyonlara girebilmektedir. Vücutta metabolize olan yağlardan meydana gelebilmeleri, dermal yararlanımı artırmaları, yükleme kapasitelerinin fazla olması lipit nanopartiküllerin öne çıkan avantajlarından olmaktadır.

İlk jenerasyon olarak tanıtılan katı lipit nanopartiküller (SLN) kusursuz kafes yapılarıyla kısıtlı yükleme kapasitesi sunarken, katı ve sıvı yağların karışımlarıyla hazırlanan ve ikinci jenerasyon olan nanoyapılı lipit taşıyıcılarda (NLC) daha fazla yükleme kapasitesi elde edilmiştir. Kozmetik etkin maddelerin bu şekilde kolloidal nanopartiküllerle cilde uygulanması için yine de uygun bir sıvıya ve çeşitli hammaddelerle formüle edilmesi gerekmektedir. Lippacher ve arkadaşları tarafından 2001 yılında sunulan yarı katı lipit nanopartiküllerle de bu formülasyon aşaması aşılabilmekte böylelikle zamandan ve maliyetten kazançla yarı katı nanopartiküler sistemler elde edilebilmektedir. (Lippacher ve ark., 2001)

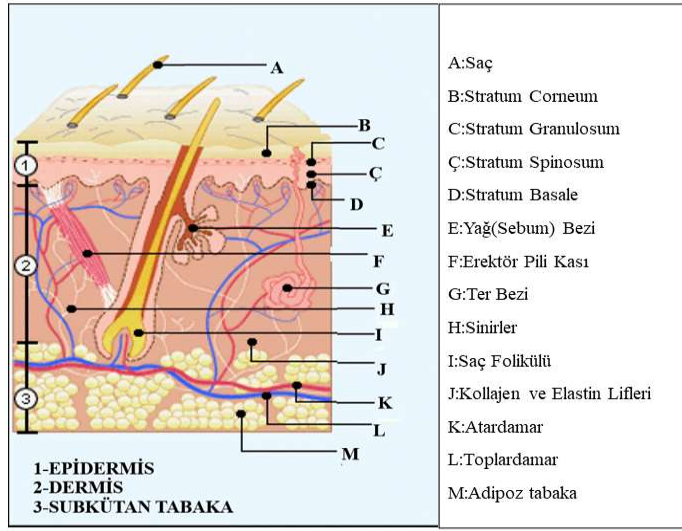
Bu çalışmanın amacı, yaşlanma karşıtı etkileri nedeniyle kozmesötik ürünlerin bileşiminde sıklıkla kullanılan sıvı yağlar olan nar çekirdeği yağı, argan yağı, üzüm çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı gibi farklı sıvı lipitleri kullanılarak, farklı total lipit yüzdesine sahip yarı katı NLC dispersiyonlarının hazırlanması ve fizikokimyasal karakterizasyonlarının yapılmasıdır. Bilgisayar temelli matematiksel modelleme programı kullanılarak formülasyon optimizasyonunun yapılmasıyla optimum yarı katı NLC formülasyonuna ulaşılması ve optimum formülasyon üzerinde in vitro karakterizasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir.

1.1. Deri

Deri, insan vücudunun en dışında bulunan, en geniş organıdır. Ağırlık olarak vücudun yaklaşık yüzde 10'u iken, yüzey alanı 1,5-2m² ve ortalama kalınlığı da 1-2 mm arasındır. En ince deri göz kapaklarında (0,5mm) en kalın deri ise sırtta bulunmaktadır (5mm) (Bennett ve Barry, 1983). Derinin temel görevi; kas, kemik ve bağ dokusunu ve hatta iç organları korumaktır. Dışarıdan gelen zararlı kimyasallar, UV ışınları ve mikroorganizmalar vücutta ilk önce deri engeliyle karşılaşır. Bununla beraber ateşin düzenlenmesi ve dokunma hissinin algılanması da derideki reseptörler tarafından yapılmaktadır. Deri, vücudun en dışında olduğu için insan sağlığıyla ilgili çıplak gözle gözlem yapabildiğimiz bir organdır (Değim, 2009).

İnsan derisinin kıl içeren ve içermeyen olmak üzere iki tipi vardır. El içi ve ayak tabanı gibi kıl folikülü ve sebum bezleri içermeyen deri glabrous tipi deridir. Glabrous deride dermatoglyphics adı verilen kişiye özel parmak izleri ve kapsüllü ve kapsülsüz duyu organelleri bulunmaktadır. Non-glabrous deri ise saç folikülleri ve sebum bezleri içerirken, kapsüllü duyu organelleri içermez (Değim, 2009).

İnsan derisi temel olarak 3 tabakadan meydana gelmiş olup bu tabakalar ve deri yapıları Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Deri ve katmanları (Önder ve Öztaş, 2004).

1.1.1. Epidermis

Derinin en üstündeki keratinize epitel hücrelerden oluşan çok katmanlı yapıdır. Deride mekanik, ısı, basınç ve mikroorganizma gibi etmenlere direnç gösteren temel yapı epidermistir. Epidermiste kan damarları bulunmaz ancak epidermisin hücreleri havadan ve dermisten difüze olan oksijenle beslenmektedir. Avuç içi ve ayak tabanında epidermis tabakası en kalındır. Epidermisteki tabakaları şu şekilde sıralanabilir:

Stratum corneum: 6-15µm kalınlığında olan epidermisin en dış tabakasıdır. Canlı keratinositlerin programlı hücre ölümüyle boynuzsulaşarak oluşturduğu örgü şeklindeki korneositleri içerir. En önemli işlevleri; bariyer olarak görev yapması ve derideki hidrasyonu artırmasıdır (Haftak ve ark., 2011). Cildin bariyer fonksiyonunda ana etkenler lipidlerdir. Bu lipidler seramit, sifingolipit, kolesterol, serbest zincirli yağ asitleri olarak nitelendirilebilmektedir. Stratum corneumun bariyer özelliğini sağlayan da bu lipidler ve lipidlerin çevreledikleri keratin bakımından zengin düzenli sıralanmış korneosit hücreleridir. Bu tabakadaki lipid miktarı ve cinsi bulunduğu vücut

bölgesine göre değişir. Genel olarak deriden geçişin stratum corneumdaki lipitlere göre belirlendiği düşünülmektedir.

Stratum lucidum: Mikroskop altında incelediğinde zor saptanan, düzenli dizilime sahip ölü hücrelerden oluşan ince tabakaya verilen isimdir.

Stratum granulosum: Bölünme yeteneğini kaybetmiş keratinositlerden oluşan mikroskop altında baklava dilimine benzeyen hücrelerden oluşan tabakadır.

Stratum spinosum: Dikenimsi görünümde ve kısmen bölünebilme özelliği taşıyan keratinositlerden oluşan tabakadır. En önemli özelliği Langerhans hücrelerini içeren tabaka olmasıdır. Langerhans hücreleri antijen sunucu olarak görev yaparlar yani vücudun alerjik tepkilerinden sorumlu hücrelerdir.

Stratum basale: Dış etmenlerle gerektiğinde farklılaşarak epidermisin diğer tabakalarına dönüşebilen tabakadır. Melanosit hücrelerini içerdiğinden dolayı deriye rengini vermektedir.

1.1.2. Dermis

Epidermal tabakanın altında bulunan tabakadır. Kan damarları ve sinir ağlarıyla donatılmıştır. Epidermal tabakaya göre daha az hücre içerirken lif açısından daha zengindir. Temel hücreleri fibroblastlardır. Bunlar deriye elastiklik kazandıran ve gergin görünümünü sağlayan kollajenleri oluşturan hücrelerdir. Dermis ayrıca ter ve yağ bezlerine, kıl foliküllerine ve duyu sinirleri olan reseptörlere taşıyıcılık yapmaktadır.

1.1.3. Subkütan Tabaka

Hipodermis olarak da adlandırılan bu tabaka, dermisin hemen altında bulunur. Bu tabakada yağ üreten ve depolayan hücreler bulunmaktadır; dolayısıyla iç organları ısı değişimine karşı korumaktadır. Hipodermis ayrıca içerdiği kollajen yapılarla deriye esneklik verir.

1.2. Derinin Görevleri

Derinin görevleri şu şekilde sıralanabilir (Değim, 2009);

- Çevresel faktörlere karşı deriyi ve altındaki organları korur.
- Duyu organı olarak basınç, ısı, titreşim gibi faktörlerin algılanmasını sağlar.
- Su kaybını engeller.
- Ter bezleri ile zararlı atıkların atılımını sağlar.
- Sıcaklık düzenlenmesini sağlar.
- Adipoz doku altındaki organları ısı değişimlerinden korur ve enerji stoğu olarak görev alır.
- Güneş ışınlarıyla D vitamini sentezi yapar.
- Sağlık durumunu yansıtır.
- Suyun, oksijenin ve bazı moleküllerin emilimini sağlar.

1.3. Deriden Geçiş

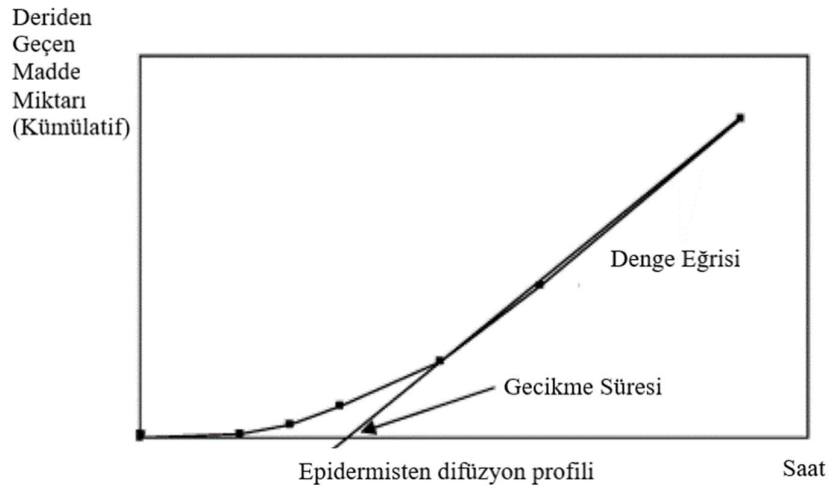
Deriden geçebilen etkin maddeler geçiş derecelerine göre lokal veya sistemik etki yaratabilirler. Deriden ilaç uygulamanın non-invasif ve kolay bir yöntem olmasına ek olarak, herhangi bir yan etki görülmesi durumunda ciltten hemen uzaklaştırılabilmesi ve ilk geçiş etkisinin görülmemesi gibi üstünlükleri de vardır.

Deriden uygulamanın başlıca dezavantajı ise ciltte görülebilen alerjik reaksiyonlar, irritasyonlar ve geçişin zor olması nedeniyle etkin maddenin yüksek konsantrasyonda kullanılması gerekliliğidir.

Deriden geçişte ilk ve temel engel, stratum corneum tabakasıdır. Bu tabaka hidrofobik bir membran gibi davranarak maddelerin tutulumunu sağlar. Yapılan bir çalışmada yapışkan bir bant kullanarak derinin bu tabakasının soyulması maddelerin deriden geçişte karşılaştığı en büyük engelin stratum corneum tabakası olduğunu göstermiştir (Eckert, 1992). Deriden emilim, pasif difüzyon ile gerçekleşmektedir ve deriden emilimin matematiksel profili Şekil 1.2.'de verilmiştir. Denge durumunda emilim ise Fick Yasası ile açıklanabilmektedir. (Ağabeyoğlu ve Ulusoy, 1985)

$$J = K_p \Delta C = \frac{D \times K_1}{e} \Delta C$$

- J : Emilen İlacın Geçen Miktarı
Kp : Geçirgenlik Değişmezi
 ΔC : İç ve dış derişimler arası fark
D : Stratum corneumdaki ilacın geçiş değışmezi
K1 : İlacın stratum corneum sıvağ dağılım katsayısı
E : Stratum corneum kalınlığı



Şekil 1.2. Epidermisten difüzyon profili (Ağabeyoğlu ve Ulusoy, 1985).

1.3.1. Deriden Geçişi Etkileyen Faktörler

1.3.1.1. Derinin Durumu

Stratum corneumun hasar aldığı durumlarda moleküllerin deriden geçişi artmaktadır. Stratum corneumun kalınlığı arttıkça geçiş zorlaşmaktadır. İnsanlar yaşlandıkça bu tabaka kalınlaşmakta ve deriden geçiş güçleşmektedir. Vücudun farklı kısımlarında da deri kalınlığı farklıdır. Derinin temizlenmesi ve ovulması emilimi artıran bir faktördür. Deriyi geçirgen olmayan bir madde ile kaplamak ve hidrasyonunu artırmak da emilimi artırmaktadır (Gönül, 2002).

1.3.1.2. Partisyon Katsayısı

Yapılan çalışmalara göre partisyon katsayısı 1'den büyük olan moleküllerin deriden geçişi daha kolay olmaktadır. Buna göre stratum corneum / sıvağ arasındaki dağılım katsayısı deriden geçişi modellemektedir. Etkin maddenin sıvağda az çözünüp deride daha fazla çözünmesi, ayrıca doygunluğa yakın derişimde olması geçişi artırmaktadır (Gönül, 2002).

1.3.1.3. Nem ve Sıcaklık Etkisi

Hidrofilik maddeler için ortam nemi arttıkça geçiş zorlaşmaktadır. Sıcaklık da çoğu etkin madde için geçişi artırıcı bir faktör olarak görülmektedir. Örneğin asetilsalisilik asidin sıcaklık arttıkça deriden geçişi 10 kata kadar artmaktadır (Idson ve Lazarus, 1976).

1.3.1.4. Etkin Maddenin Çözünürlüğü ve Molekül Büyüklüğü

Maddelerin yüksek hidrofilik özellikte veya yüksek lipofilik özellikte olması da deriden emilimi kısıtlamaktadır. Optimal penetrasyon için yağda ve suda bir kısım çözünürlük istenilmektedir (McDougal ve Boeniger, 2002). Formülasyon tasarlarken bu en önemli faktörlerden biridir. Molekül büyüklüğü fazla olan maddelerin geçişi de zordur. Deriden geçiş için molekül büyüklüğünün 1000 Dalton'un altında olması gereklidir.

1.3.1.5. Çözücülerin Etkisi

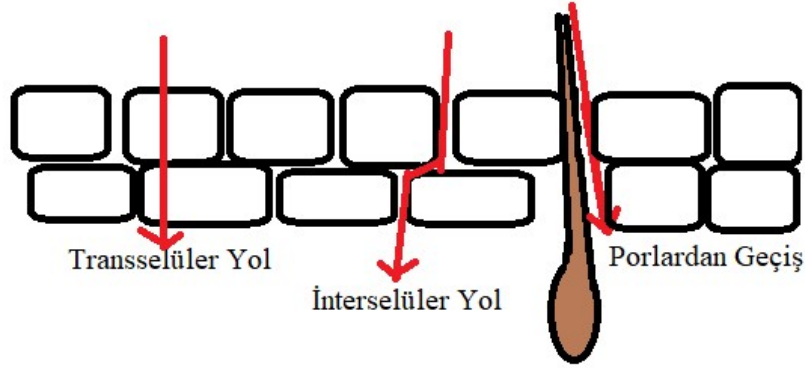
Yapılan çalışmalara göre deri yağlarını çözerek stratum corneumun yapısını bozan tipte bir çözücü etkin maddenin geçişini artırmaktadır (Rothman ve Lorincz., 1963). Polar çözücülerde ise geçiş daha çok etkin maddenin çözücü ile olan ilişkisiyle alakalı olmaktadır (Rothman ve Lorincz., 1963).

1.3.1.6. Kullanılan Yardımcı Maddeler

Yüzey etkin maddeler gibi yardımcı maddeler etkin maddelerin deriden geçişini artırabilen özellikte maddelerdir.

1.3.2. Deriden Geçiş Yolları

Aktif ajanların deriden geçişini gösteren 3 farklı yol Şekil 1.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Deriden geçiş yolları (Zsiko ve ark, 2019)

1.3.2.1. Transappendegeal Geçiş (Porlardan Geçiş)

Burada ilaç molekülü, kıl folikülünü veya ter bezini kullanarak ana bariyeri geçmektedir. Bu yolağı daha çok hidrofilik ve polar maddeler kullanabilmektedir.

1.3.2.2. Transselüler Yol

Daha çok lipofilik maddelerin kullandığı bu yolda etkin madde korneositlerin içinden geçerek emilmektedir.

1.3.2.3. İnterselüler Yol

Etkin madde ciltteki protein ve lipidlerle etkileşerek bariyer tabakadan geçmektedir. Stratum corneumdaki lipid bileşenlerin bu yolla geçişte önemli bir parametre olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Pugh ve ark., 2000).

1.4. Deri Yaşlanması

Cildimiz, vücudumuzu saran ve bizi dış etmenlerden korurken bu faktörlere doğrudan maruz kalan organımızdır. Deri yaşlanması, intrinsek ve ekstrinsek faktörlerle gelişen, derinin farklı tabakalarını etkileyen fizyolojik bir süreçtir. Bu değişikliklerin belirginleşmesinin 20 yaşından itibaren ortaya çıktığı gözlenmiştir (Bulur, 2016). İntrinsek yaşlanma, zamanın ilerlemesiyle ve insanın genetik yapısının programladığı şekilde oluşan ciltteki fizyolojik değişimlerdir. Ekstrinsek yaşlanmada ise özellikle ultraviyole (UV) ışınlarının başı çektiği çevresel faktörler rol oynamaktadır.

1.4.1. İntrinsek Yaşlanma (Genetik Teori)

İntrinsek yaşlanmada rol oynayan faktörler şu şekilde özetlenebilir;

1.4.1.1. Etnik Köken

Etnik kökenin yaşlanma üzerine etkisi, cildin pigmentasyonu ile alakalıdır. Yüksek pigmentasyon, fotoyaşlanmanın kümülatif etkilerine karşı koruma sağlamaktadır. Etnik Özelliklere bağlı dermatolojik etkilerin değerlendirilmesi Çizelge 1.1.'de yapılmıştır.

Çizelge 1.1. Etnik Özelliklere bağlı dermatolojik etkilerin değerlendirilmesi (Vashi ve ark., 2016).

ETNİK ÖZELLİK	SONUÇ
Artmış tirozinaz aktivitesine bağlı melanin artışı	Daha fazla foto koruma, daha düşük cilt kanseri insidansı, daha az belirgin foto yaşlanma, diskromiler (Ciltte renk düzensizliği)
Daha büyük ve agregre olmamış melanozomlar	Daha fazla foto koruma, daha düşük cilt kanseri insidansı, daha az belirgin foto yaşlanma, diskromiler
Daha yavaş melanin yıkımı	Diskromi
İnce dermis	Deri elastikiyetinde artış, daha fazla foto korunma etkisi
Daha fazla sayıda, daha büyük ve çoklu nükleus içeren fibroblastlar	Hipertrofik skar oluşma olasılığında artış

1.4.1.2. Anatomik Varyasyonlar

Vücudun değişik bölgelerinde derinin kalınlığı çeşitlilik göstermektedir. İnce bir derinin daha az lipit içermesi nedeniyle daha az bariyer özellik göstermesi ve daha çok nem kaybetmesi sonucunda daha hızlı yaşlanacağı gösterilmiştir (Elsner ve ark., 1991).

İnsanlarda stratum corneumun lipit içeriği vücutta bölgesel farklılıklar göstermektedir. Derideki lipit ağırlık yüzdesi arttıkça, deriden geçirgenlik azalmaktadır. Yaşlandıkça deride lipit üretimi azalmakta, bu da epidermiste yüzeysel bozukluklara, sarkmalara ve donuk görünüme neden olmaktadır. Derinin bariyer özelliği de azaldığı için, deriden nem kaybı fazla olmakta, bu da ciltte kuruluk olarak sonuçlanmaktadır.

Kollajenler, bağ dokuda bulunan ve kolon görevi görerek deriyi destekleyen protein yapılarıdır. Esas olarak amino asitlerden oluşurlar ve çoğunlukla tendonlarda, kaslarda, kemiklerde, deride bağ dokuda ve lifli dokularda bulunurlar. Mineralizasyon seviyesine bağlı olarak kemik, tendon ve kıkırdak oluşumunu desteklerler. İlâveten derinin yenilenmesinde ve ölü hücrelerin yeni hücrelerle değişmesinde de rol almaktadırlar (Yang ve Xu, 2011). Yaşlanmaya bağlı olarak vücut kollajen içeriğini

kaybetmektedir. Buna bağlı olarak epidermisin kalınlığı azalmakta, deri elastikiyetini kaybetmekte ve kırışıklıklarda artış yaşanmaktadır.

1.4.1.3. Hormonal Değişiklikler

Hormonal değişikliklerle olan deri yaşılanmasında ana etken olarak östrojen hormonu rol almaktadır. Derideki hücrelerde östrojen reseptörleri bulunmaktadır. Özellikle menapoz sonrası östrojen düzeylerindeki azalmalar sonucu dermisteki hücre metabolizmalarında yavaşlama, glikoaminoglikanların konsantrasyonlarında ve kollajen yapıda azalma ve ciltte nem kaybı oluşabilmektedir (Roberts, 2006).

Glikozaminoglikanlar, tekrarlayan disakkarid ünitelerden oluşmuş ve dallanmamış polisakkarit zincirleridir. Vücutta; bağ dokusu, kıkırdak, dermis, vücut sıvıları gibi pek çok yerde işlevleri vardır. Dermiste bir glikozaminoglikan çeşidi olan hyalüronik asit bulunur. Hyalüronik asit, su tutarak cildi nemlendirir ve cildi pürüzsüz ve esnek tutar. Yaş ilerledikçe derideki hyalüronik asit miktarının azalmasına bağlı olarak kırışıklıklar başlar. Hyalüronik asit azaldıkça kollajen üretimi de azalır. Elastikiyetin azalması, kırışıklıkların çoğalması demektir. Bu özelliklerinden dolayı, yaşılanma karşıtı çoğu topikal ürün, hyalüronik asit içermektedir.

Östrojen, glikozaminoglikanların miktarını artırarak dermisteki tutulan su miktarının artmasını sağlamaktadır. Dermis tabakasında bulunan elastik liflerin östrojen tedavisine bağlı olarak kalınlaştığı ve sayısal olarak arttığı yani topikal ve sistemik östrojen tedavisi ile kırışıklıkların önlenebileceği bildirilmiştir (Hall ve Phillips, 2005). Postmenapozal kadınlarda kılcak kan akış hızı da önemli ölçüde azalır. Menapoz sonrası dermal papillada derin vazodilatasyon sonucu kızarıklıklar oluşabilmektedir. Hormonal değişimler sonucu saç dökülmesi de menapoz sonrası artmaktadır.

1.4.2. Ekstresek Yaşlanma

İntrensek deri yaşlanmasıyla beraber görülen elastikiyette azalma, kırışıklıkların artması, hiperpigmentasyon, atrofi ve kuruluk gibi problemler, çevresel faktörlerin etkisiyle hızlanarak oluşmaktadır ve buna ekstresek yaşlanma denmektedir (Tsatsou ve ark., 2012).

Ekstresek deri yaşlanmasına neden olan faktörler şu şekilde sıralanabilir;

1.4.2.1. Yaşam Tarzı

Deri vücudun en dışında bulunan organ olduğu için, nem ve sıcaklık gibi faktörlerden direkt deride oluşan nem kaybını iki katına çıkarmaktadır. Düşük sıcaklıkta ise cilt sıkılaştığından nem kaybının azaldığı gözlenmiştir (McCallion ve Po, 1993). Yatış pozisyonu ve yatma alışkanlıklarının da derideki yaşlanma belirtileriyle ilişkisi olduğu bulunmuştur. Buna göre, sürekli aynı yanak üzerinde uyumanın epidermis üzerinde uyku kırışıklıklarına yol açtığı ve zamanla bunların da kalıcı hale gelmesinin mümkün olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Kotlus, 2013). Ayrıca 60 sağlıklı Kafkas kadını ile yapılan deneylerde, düzensiz ve az uyku uyuyanların epidermal bariyer fonksiyonlarının düzenli uyuyanlara göre % 30 daha az olduğu ve dolayısıyla nem kaybının daha fazla olduğu gösterilmiştir (Oyetakin ve ark., 2015). Kişilerin rutinde kullandığı ilaçların da deri yaşlanması üzerine etkileri olabilmektedir. Örneğin kortikosteroidler derideki kollajen ve elastini azaltabilir, derinin incelmesine ve kan damarlarının daha kolay yırtılma eğilimi göstermesiyle kırık kılcal damarlarına neden olabilir. Bazı antibiyotikler, ACE inhibitörleri ve diüretikler, fotosensiviteye neden olarak deride güneş hasarına neden olabilmektedir. Bazı kolesterol ilaçlarının da, deri de pul pul dökülmeye neden olabileceği çalışmalarda gösterilmiştir (Jackson ve ark., 1993).

1.4.2.2. Sigara Kullanımı

Sigara kullanımı, öncelikle dermal kan akışını azaltarak kutanoz dokularda oksijen ve besin eksikliğine neden olur ve derideki deformasyonu artırır. Sigara kullanan kişilerin dermiş tabakasında kollajen ve elastin liflerin daha az olduğu ve bu yüzden deri elastikliğinin azaldığı gösterilmiştir. Sigara içmek; keratinosit displazisine neden olarak cilt kırışıklığını artırmaktadır (Kennedy ve ark., 2003). Bunlara ilave olarak, sigara kullanımının serbest radikal artışı sonucunda skuamoz hücreli deri kanserine neden olabileceği düşünülmektedir (Leow ve Maibach, 1998).

1.4.2.3. UV Maruziyeti (Fotoyaşlanma)

UV ışınları, histopatolojik ve klinik dejeneratif değişikliklerle moleküler ve hücrel hasara neden olarak fotosensitivite, foto yaşlanma ve cilt kanserine yol açmaktadır. Vücudumuzda bazı doğal UV savunmaları olsa da, güneşten kaçınma, fiziksel korunma ve güneş koruyucu kullanımı dahil olmak üzere ekstra güneşten korunma önlemleri gereklidir. Güneşten kaçınma stratejileri; en yüksek UV ışını zamanlarında (saat 10.00-16.00 arası) maruziyeti sınırlamayı, kum, kar ve su gibi UV yansıtıcı yüzeylerden kaçınmayı ve güneşe çıkılacağına ışığa duyarlılığı artıran ilaçları kullanmamayı içerir. Fiziksel korunma ise, geniş kenarlı bir şapka ve uzun kollu giysiler giymeyi ve pencerelerde UV engelleyici filmlerin kullanımını içerir. Avobenzon, titanyum dioksit, çinko oksit vb filtreleri içeren güneşten koruyucu ürünlerin günlük olarak kullanılması ve uygun sıklıkta uygulanması da önemlidir. (Farage ve ark., 2008).

Günümüzde, güneşten koruyucu ürünlerin doğru bir şekilde kullanılması durumunda, dünyaya ulaşan elektromanyetik spektrum içerisindeki UVA ve UVB ışınlarına karşı etkin koruma sağlanmaktadır. Ancak, yakın gelecekte ciddi sorun oluşturabilecek asıl tehlike UVC radyasyonudur. UVA ve UVB'ye göre çok daha yüksek enerjili olan UVC (200-280 nm) ışınları yeryüzüne ulaşmadan atmosferde

bulunan moleküler oksijen ve ozon tabakası tarafından tutulmaktadır. Ancak, dünyadaki yaşam için büyük öneme sahip olan ozon tabakasının incilmesi ve tabakada oluşan delikler, yakın gelecekte doğal koruyucu olan bu süzgeci yetersiz hale getirecek ve piyasada UVC güneşten koruyucu madde ve ürünler de görülmeye başlanacaktır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, ozon tabakasındaki incelmenin %1 artmasının, dünyaya gelen zararlı UV radyasyonun %2 oranında artmasına neden olduğunu göstermiştir (Yenilmez ve Berkman, 2017).

Çizelge 1.2. UV ışınlarının tipleri ve özellikleri (Soehnge ve ark., 1997).

Dalga Boyu	Fiziksel ve Biyolojik Özellikleri	Deneklerdeki Etkisi
UVC (200-280nm)	Ozon tabakası tarafından elimine edilir. Yüksek enerjili partikülleri DNA nükleik asitleri tarafından kolayca absorbe olmaktadır.	-
UVB (280-315nm)	Biyosfere ulaşır. Nükleik asitler dahil biyolojik moleküller tarafından absorbe edilir. Sadece epidermise penetre olabilmektedir.	Akut veya kronik olarak gözlere ve cilde zarar verir. Akut maruziyet insanlarda cilt yanıklarına neden olabilir. Kronik maruziyet cilt kanserine neden olabilir.
UVA (315-400nm)	UVB'den daha düşük enerjilidir. Daha yoğun olarak güneş ışığında bulunur. Fotoreseptörler de dahil olmak üzere birçok protein tarafından absorbe edilir.	İnsanlarda cilt kanserlerinin insidansını arttıran önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir.

Güneş ışığı çeşitli fizyolojik süreçlerle cilde zarar vermekte olup güneş ışığının farklı etkileri Çizelge 1.2.'de incelenmiştir. UV radyasyonu dermiste zincirleme moleküler reaksiyonlara neden olarak metaloproteinaz upregülasyonuna yol açmaktadır. Böylelikle elastin ve kollajen yapılar yıkıma uğramaktadır. Tekrarlayan maruziyet ise dermal matrikste onarım mekanizmalarını bozan uyarılara neden olmaktadır. Bir diğer mekanizma ise, UV radyasyonun genetik materyale hasar vermesidir. UVB ışınları, pirimidin dimerleri oluşturarak DNA replikasyonu sırasında hatalara neden olmaktadır. UVA ışınları ise reaktif oksijen bileşikleri (ROS) veya serbest radikal oluşumunu sağlayarak hücrel hasara yol açmaktadır.

UV ışınları cilde sadece bu şekilde dolaylı mekanizmalarla değil direkt olarak da hasar verebilmektedir. Bunu, DNA hasarını tamir eden enzimlerle etkileşerek veya T hücreleri ve Langerhans hücreleri gibi, karsinom hücrelerinin çoğalmasını

engelleyen bağıklık sisteminin elemanlarıyla etkileşerek gerçekleştirmektedir (Gilchrest,1996). Yapılan çeşitli çalışmalarda, UV ışınlarına maruz kalan hücrelerin apoptozis sürecinin ışınlar ile engellenmesiyle tümör gelişiminin gerçekleştiği kanıtlanmıştır (Guzman ve ark., 2003).

UV ışınlarına maruziyetin verdiği hasar akut ya da kronik olabilmektedir. Akut etkiler yanıklar ve eritemlerken, kronik etkiler deri yaşlanması ve tümör oluşumudur. Fotoyaşlanmanın klinik bulguları; derinin doğal rengini kaybetmesi (diskromi), hiperpigmentasyon, kızarıklıklar, saydamlığın yok olması, purpura (deri döküntüleri) olarak sayılabilirken, dokusal düzeyde de cildin sertleşmesi, pürüzlerin artması ve kırışıklıkların oluşarak daha derinleşmesi şeklinde belirtiler ortaya çıkmaktadır.

UVA ışığı deride daha derin tabakalara nüfuz edebilmektedir. Akut olarak eritem oluşturma ihtimali daha az olsa da, UVB ışığına göre dermise daha fazla hasar vermektedir. Dermise verdiği hasarlar başlıca; kollajen yapıların dejenarasyonu, DNA replikasyonu ile anormal elastin materyalinin oluşması ve bunların sonucu olarak artan kırışıklıklarla sararmış bir cilt olarak görülmektedir. Artan UV hasarı ile dermis dejenere olmuş elastik fibrillerin deposu haline gelmektedir. Hasar görmüş dermis tabakası deriye daha az destek sağladığından damarlar genişleyerek yüzeyden görülebilir hale gelmektedir ve hasarlı dokulardaki kan dolaşımı da bozulmaktadır (McCallion ve Po, 1993). Ayrıca yapılan başka bir çalışmaya göre de UVA ışınlarının trans-ürokanik asit oluşumunu uyarak fotoyaşlanmayı hızlandırdığı gösterilmiştir (Reed ve ark., 1997).

Çizelge 1.3.'de Fotoyaşlanmanın intrensek yaşlanma ile karşılaştırılması verilmiştir.

1.4.2.4. Yer Çekimi

Yaşlandıkça kollajen üretiminin ve ciltteki lipitlerin azalması, yerçekiminin cildi aşağı doğru sürüklemesine, cildin sarkmasına ve kırışıklıkların şiddetlenmesine neden olmaktadır. Yapılan çalışmalara göre yer çekiminin tek başına deriyi yaşlandırıcı etkisi olmadığı ancak yukarıda vurgulanan yaşlanmayla gelen değişiklikleri yer çekiminin hızlandırdığı belirtilmiştir (Donath ve ark., 2007).

Çizelge 1.3. Fotoyaşlanmanın intrinsek yaşlanma ile karşılaştırılması (Farage ve ark., 2008).

Karakteristik	FotoYaşlanma	İntrinsik Yaşlanma
Genel Metabolizma	Belirgin Artış	Azalma
Klinik Görünüm	Nodüller,lekelenmeler ve pürüzlü doku	Elastikliğin azalması, daha düzgün kırışıklıklar, pürüzsüz doku
Cilt Rengi	Düzensiz pigmentasyon	Solgunluk
Yüzey Dokusu	Belirgin ve sayıca daha fazla çizgiler	Daha düzenli geometrik desenler
Başlangıcı	Gençliğe kadar inebilir	Genellikle 50 ve 60'lar
Şiddet	Pigmentasyon derecesi ile çok ilişkilidir	Pigmentasyon derecesi ile daha az ilişkilidir
Epidermis Kalınlık	Erken safhada kalınlaşırken ileri safhada incelir	Yaşla beraber incelme
Proliferasyon Oranı	Normalden Fazla	Normalden az
Keratinositler	Atopik ve polarite kaybı, fazla diskeratoz	Orta seviyeli hücresel düzensizlik
Dermo-Epidermal Bağlantı	Tabaka yoğunluğu misliyle artmıştır	Tabaka yoğunluğu daha az artmıştır
Vitamin A seviyesi	Güneş maruziyeti ile yok olmuştur	Retinolün plazma seviyesi artmıştır
Dermis Elastin	Elastogenezis ardından masif dejenarasyon sonucu hasarlı liflerin yığılması	Elastogenezis sonucu oluşan hasarlı liflerin yıkılımı
Elastin Matriksi	Kollajence yoğun dermal matriksin yerini elastin fibrillerinin alması	Dermal matriks üretiminde azalma,retiküler dermiste elasin fibril kalınlıklarının artması
Elastin Fibrillerdeki Lizozom Depoları	Artmış	Normal
Kollajen Üretimi	Kollajen miktarı azalmış	Degradasyonu daha stabil
Sınır Bölgesi	Belirgin	Silik
Mikrodamarlanma	Membran benzeri maddenin çok artması	Normal
Mikrosirkülasyon	Genişleyen ve düzensiz damarlar	Mikrodamarların azalması diğerlerinin stabil kalması
İnflamasyon	Belirgin	Yok

1.4.3. Deri Yaşlanmasıyla İlgili Teoriler

Deri yaşlanmasıyla ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar, yaşlanmanın hem hücresele seviyede hem de moleküler seviyede mekanizmalarını açığa çıkarmıştır (Dunn ve Koo, 2013). Yaşlanmanın mekanizmalarıyla ilgili en önemli çalışmalardan biri Leonard P. Guarente tarafından 1991 yılında Massachusetts Institute of Technology’de yapılmıştır. Çalışmanın kolay ve ucuz olması için ekmele mayası seçilmiştir. Ekmele mayalarının 2 haftalık yaşam süresi boyunca 20 kere bölündükleri gözlenmiştir. Ancak mayaların bazılarının 25 ya da 30 kez bölündüğü çalışmacıların dikkatini çekmiştir. Detaylı ve 8 yıl süren araştırmaların sonucunda ortalamadan uzun yaşayan maya hücrelerinin bu özelliğinin “sirtuinler” adı verilen bir grup genden kaynaklandığı keşfedilmiştir. Özellikle bu gruptaki genlerden biri olan SIR-2 (Silent Information Regulator-2) geninin yaşlanmayı geciktirici özelliğı olduğı, bu genin dejenere edilmesiyle maya hücresinin ömrünün yüzde 50 uzadığı araştırmacılar tarafından ispat edilmiştir (Guarente ve Kenyon, 2000).

Deri yaşlanmasıyla ilgili kabul gören teoriler aşağıda kısaca özetlenmiştir:

1.4.3.1. Hücre Siklus Teorisi

Yaşlandıkça insan hücrelerinin bölünebilme yeteneklerinde azalma gerçekleşmekte, dokuların onarım seviyesi düşmekte ve hücresele hasar birikerek artmaktadır. Hücre bölünmesinin her evresinde telomer (ökaryotik kromozomların terminal kısımları) uzunluğu kısalmaktadır, bu azalma belirli bir seviyeye geldiğinde ise programlı hücre ölümü (apoptozis) gerçekleşmektedir (Aydemir, 2013). Telomerazlar ise hücre bölünmesi esnasında telomerlere tekrarlayan ekler yaparak bu kısalmadan koruyarak hücre ömrünü uzatmaktadır. UV radyasyonunun ROS birikimini artırarak telomer mutasyonlarına neden olduğı belirtilmiştir (Buckingham ve Klingelhutz, 2011).

1.4.3.2. Oksidatif Stres-Serbest Radikal Teorisi

İnsan hücrelerinde oksijenli enerji üretimi yapıldığından, reaktif oksijen ve nitrojen türleri oluşmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller lipidlerde, proteinlerde ve nükleik asitlerde yapısal değişiklikler oluşturabilmektedir (Ganceviciene ve ark., 2012). Oksidatif stresin deri yaşlanması sürecinde önemli bir rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Kohen, 1999; Thiele ve ark., 2002). Serbest radikal üretimi yaşlanma sürecine katkıda bulunan tek faktör olmasa da, yaşla birlikte gözlenen dejeneratif değişikliklerde oksidatif hasarın da sorumlu olduğuna dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır (Cross ve ark., 1987). E vitamini, glutatyon ve koenzim Q10 (CoQ 10) gibi antioksidan bileşiklerin yaşla birlikte deride önemli ölçüde azalmasının sonucu olarak epidermin antioksidan kapasitesi de düşmektedir (Passi ve ark., 2002).

1.4.3.3. Mutasyon Teorisi

Bu teoriye göre, hücredeki nükleik asitlerin hasar görmesi sonucu homeostaz bozulmakta ve nükleik asitlerin yapı ve işlevlerindeki bu değişiklikler sonucunda yaşlanma hızlanmaktadır. Bir başka görüşe göre de, genlerde meydana gelen mutasyonlarla hasar kontrol sistemindeki önleme, tespit, onarım ve yerine koyma mekanizmalarının kontrolü bozulmakta ve böylece yaşlanma artmaktadır (Aydemir, 2013).

Nükleer DNA hasarı ya dolaylı olarak (apoptozu veya hücresel yaşlanmayı arttırarak) ya da doğrudan (hücre fonksiyon bozukluğunu artırarak) yaşlanmaya katkıda bulunabilmektedir (Best, 2009). Mitokondriyal DNA'daki (mtDNA) mutasyonlar da yaşlanmaya katkıda bulunmaktadır. Bu tip DNA yoğun derecede gen içermekte olup, oksidatif fosforilasyon için kritik olan birçok faktörü kodlamaktadır. Bu nedenle, mtDNA'daki mutasyonlar da yaşlanma ile ilişkilendirilmektedir (Jeppesen ve ark., 2011).

1.4.3.4. İmmunolojik Teori

İnsan yaşlanması hem fiziksel hem de fizyolojik zayıflık ile karakterizedir. İlerleyen yaşla birlikte, bağışıklık sistemi temelde değişmektedir. Yaşlanma, adaptif ve doğuştan gelen bağışıklıktaki azalma ile ilişkilidir (Fuentes ve ark., 2017). Yaşlanmayla birlikte antijen sunan hücrelerin, antijen spesifik B ve T hücrelerinin, lenfosit ve sitokin salgılarının aktivitesi azalır. Sitokinlerin azalmasıyla inflamasyona yanıt azalmaktadır (Aydemir, 2013).

1.5. Kozmetikler

İnsanların doğumdan itibaren temizlenmesi, güzel görünmesi, güzel kokması ve bunları belirli bir düzeyde koruması bir ihtiyaçtır. Bu ihtiyacı karşılamak üzere kullanılan ürünler kozmetiklerdir. Kozmetikler; deri ve deri eklerine, dış genital organlara, dişlere ve ağız içi mukozasına temizleme, koruma, koku verme, görünümü değiştirme ve vücut kokularını giderme amacıyla uygulanan madde veya ürünler olarak tanımlanmaktadır (Kozmetik Yönetmeliği, 2005). Her geçen yıl bu ürünlere talep küresel düzeyde artarak devam etmektedir. Klasik kozmetikler uygulandığı bölgenin yapı ve fonksiyonlarını değiştirmeden sadece derinin boynuzsu tabakasında işlev gösterirler. Dolayısıyla kozmetiklerin herhangi bir terapötik etki gösterdiklerine yönelik bir iddiaları yoktur. Ancak yapılan bazı çalışmalarda cilde nem temasının bile deride fizyolojik değişimlere neden olabileceği gösterilmiştir (Kligman, 2000).

Kozmetiklerin kullanımının ilk insanlara kadar dayandığı düşünülmektedir. Mağaralarda bulunan çizimlere ve kazılarda bulunan kanıtlara göre avlanmada, dinsel ayinlerde ve savaşlarda yüze sürülebilen boyalar kullanılmaktaydı (Butler, 2000).

Mısırlılardan sonra kozmetik kullanımı artarak yayılmıştır. Mezopotamya'daki kadınlar kınayı saçlarına ve avuçlarına sürmüştür. Babil'in asma bahçelerinde parfüm üretimi amacıyla güzel kokulu bitkiler yetiştirilmiştir. Eski Yunan'da kadınlar güzel

kokulu merhemler kullanmışlardır. Antik Roma döneminde yüzü boyamak için tebeşir tozu kullanılmış, gözleri boyamak için Mısır'dan sürme getirtilmiş ve dişleri beyazlatmak için süngertaşı kullanılmıştır. Roma İmparatorluğu'nun yıkılmasından sonra Avrupa'da kilise baskısı nedeniyle kozmetik kullanımı azalırken, Arap ülkelerinde parfüm kullanımı artmıştır. Haçlı seferleriyle kozmetikler Avrupa'da tekrar yaygınlaşmaya başlamıştır. 1880'lere doğru sanayileşmenin sonucu olarak ve reklamların da etkisiyle kozmetikler için yeni bir dönem başlamıştır. İlk deodorant 1888'de üretilmiştir. 1907'de ilk sentetik saç boyası Eugène Schueller tarafından bulunmuştur. 1936'da ise aynı kişi ilk güneş kremi çıkarmıştır. 1990'lı yıllardan sonra ise teknolojinin de daha da gelişmesiyle yaşlanma karşıtı ürünlerin ve çok yönlü kozmetiklerin üretimi başlamıştır. (Çomoğlu, 2012)

Çizelge 1.4. Kozmetiklerin sınıflandırılması (Önder ve Öztaş, 2004)

Kozmetik ürün tipi	Örnekler
Cilt Preparatları	Nemlendirici Kremler, Yaşlanma karşıtı ürünler, Temizleyici losyonlar, Leke kremleri, Günlük kremler, Yüz Maskeleri, Vücut ve el kremleri
Saç Preparatları	Şampuanlar, Saç boyaları, Saç besleyici Preparatlar, Saç Maskeleri, Saç Düzleştirici Preparatlar, Saç Şekillendiriciler
Renkli Kozmetikler	Allıklar, Pudralar, Ojeler, Rujlar, Göz kalemleri
Hoş Kokular	Parfümler, Uçucu yağlar, Esanslar
Hijyen Ürünleri	Banyo Ürünleri, Tıraş ürünleri, Ayak bakım ürünleri, Ağız ve diş ürünleri
Diğerleri	Bebek ürünleri

Tek bir uygulama ile birden fazla yararlı etki elde edilebilen kozmetikler çok yönlü kozmetikler olarak adlandırılmaktadır. Çok yönlü kozmetiklerin kullanımıyla tüketici birden fazla ürün kullanma zahmetinden kurtulmaktadır. Bu ürünlere ilk örnek 1970'lerde Procter&Gamble firmasının çıkardığı saç hem temizleyip hem de bakımını yapan “ikisi bir arada” şampandır. Firmalar arası rekabetin sonucu olarak L'Oreal 1972'de permalı saçların hasarını onarmaya yönelik şampuanını çıkarmıştır. Tüketicilerin bu tarz ürünleri sevmesi ve firmaların rekabeti sonucu bu ürünlerin kullanımında patlama yaşanmıştır. 2024 yılında kozmetik endüstrisinin cirosunun 390 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (marketresearchengine.com 2022).

1.6. Kozmesötik Kavramı

Bir hastalığın tedavisi, önlenmesi veya hafifletilmesi amacıyla kullanılan ürünler terapötiklerdir. Kozmetiklerin terapötiklerden ayrıldığı iki nokta formülasyonları ve iddialarıdır. Kozmesötikler ise kozmetik endüstrisi tarafından ilaç benzeri kozmetiklere atıfta bulunmak için kullanılmıştır (Cosmetics+Pharmaceuticals). Kozmetikler ve ilaçlar arasında köprü görevi gören ve fonksiyonel kozmetikler olarak da isimlendirilebilen kozmesötikler; deriye ve derinin saç, tırnak, kıl gibi yapılarına uygulanarak uygulandığı bölgenin yapısını belirli bir noktaya kadar değiştirebilen ve formülasyonlarında belirli bir limitin altında belirgin ilaç aktivitesi göstermeyen aktif madde içeren ürünlerdir. Günümüzde, kozmetiklerden daha işlevsel ve daha derin etkiler beklenilmektedir ve kozmesötiklere duyulan ihtiyaç artmıştır. Cilt lekelerini giderici kremler, selülit kremleri, güneşten koruyucu ürünler, anti-aging (yaşlanma karşıtı) serumlar ve kremler kozmesötiklere örnek olarak verilebilir. Bu ürünlerde fizyolojik etki sağlayan maddelerse vitaminler, alfa hidroksi asitler, bitkisel ekstraktlar, biyolojik ajanlar ve antioksidanlar olabilmektedir (Tarımcı, 2006).

Yasal açıdan bakacak olursak, ülkemizde ilaçlar ve kozmetikler başka ülkelerde olduğu gibi farklı yasalarla tanımlanmıştır. Ama yasalarda kozmesötikler olarak tanımlanan bir sınıf yoktur. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'ne (FDA) göre bir ürün kozmetik olarak tanımlanmış ancak fizyolojik etki iddiasında bulunuyorsa o ürün hem kozmetik hem de ilaç yasalarına göre incelenmelidir. Bunun haricinde iddiası olmayan ürünler için de firmaların kendi izlediği güvenlik politikaları vardır. Zaten çıkarılan ürünlerin büyük bir çoğunluğu bilinen güvenli maddelerle üretilmektedir. Bunun dışındakiler içinse gerekli güvenlik testleri yapılmaktadır. Ülkemizde ise yasalarda Amerika'daki gibi bir yaklaşım yoktur. Türkiye'de kozmetik olarak çıkarılacak her ürün Sağlık Bakanlığı'na bildirilmek zorundadır ve bunların denetim ve kontrolü de yine Sağlık Bakanlığı tarafından yapılmaktadır (5324 sayılı Kozmetik Kanunu 24.03.2005) Kozmesötik ürünler bizim yasalarımızda da tanınmamaktadır. Ancak piyasadaki artan talep doğrultusunda her geçen gün genişleyen ürün yelpazesi, kozmesötiklere yönelik bir düzenlemeyi gerekli kılmaktadır.

Kozmesötiklerde kullanılan başlıca kozmetik aktif ajanlardan bazıları şu şekilde sıralanabilir (Hekimoğlu, 1998);

Vitaminler

Uygun miktarda ve stabil şekilde formüle edildiklerinde saç, tırnak ve deri üzerinde koruyucu ve yenileyici özellikleri bulunan maddelerdir. A vitamini, Provitamin B5, C vitamini ve türevleri, E vitamini ve türevleri kozmetiklerde en çok kullanılan vitaminlerdir.

Alfa hidroksi asitler (AHA'lar)

AHA'lar, meyve asitleri olarak bilinen glikolik asit, laktik asit, sitrik asit, malik asit, maddelik asit ve tartarik asittir. Hafif iritan özellik gösterirler ve nem çekici etkileri vardır. Bunların yanı sıra ciltte fibroblastları uyarmaları ve korneosit kohezyonunu azaltmaları nedeniyle, özellikle kırışıklık giderici formülasyonların yapısına girmektedirler.

Bitkisel Kaynaklı Maddeler

Bitkilerin çeşitli kısımlarından elde edilen ekstrakter sıklıkla kullanılmaktadır. Bu gruba; bitki ekstrakteri, bazı antosiyanidinler, flavonoidler ve bitkisel proteinler örnek olarak verilebilir.

Biyofaktörler

Canlı dokulardan izole edilen ve hücresel olaylar üzerinde etkili olan maddelerdir. Hücre yenilenmesini, çoğalmasını ve hareketliliğini artırır. Dokularda onarıcı etki gösterirler ve hücrelere oksijen girişini artırır. Böylece derinin daha genç ve sağlıklı görünmesini sağlarlar. Kollajen ve hyaluronik asit örnek olarak verilebilir (Tarımcı, 2006).

UV filtreleri

Güneş ışınlarının zararlı etkilerinden korunmak için fiziksel ve kimyasal UV filtreleri kullanılmaktadır.

Antioksidanlar

UV radyasyonu gibi etkenlerden dolayı ciltte oluşan süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen bileşikleri eritem ve inflamasyona neden olabildikleri gibi derinin proteinik yapıdaki bileşenlerini de geri dönüşümsüz olarak hasara uğratabilmektedir. Deri, bu reaktif oksijen yapılarına karşı enzimatik (glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz) ve non-enzimatik (glutatyon, E vitamini, C vitamini, beta-karoten, CoQ10) yapılardan oluşan antioksidan savunma mekanizmasına sahiptir. Cildin bu doğal savunma mekanizmasına destek olmak için formülasyonlara kozmetik aktif ajan olarak E vitamini, C vitamini, alfa lipoik asit, ubikinol gibi antioksidanlar eklenmektedir (Tırnaksız, 2006).

Kozmesötik maddelerin formülasyondaki etkinliğini ve stabilitesini artırmak ve bu maddelerden daha çok fayda sağlamak için taşıyıcı sistemler kullanılmaktadır.

1.7. Kozmetik Taşıyıcı Sistemler

Kozmetik ürünün etkinliği temel olarak iki noktada incelenebilir. Birincisi ürünün içerdiği aktif ajanın intrinsik etkinliği, ikincisi ise aktif ajanın etki bölgesine ulaşım ulaşamamasıdır. Güneşten koruyucu bir ürünün deriden emilmemesi istenirken, deriyi nemlendirici olarak kullanılan bir aktif ajanın da epidermiste kalmayıp dermise kadar inmesi istenir. Hem tüketiciyi memnun edebilmek hem de aktif ajanın beklenen etkisini etkin bir şekilde görebilmek için uygun bir formülasyon tasarımı önemlidir (Tarımcı, 2004). Kozmetik taşıyıcı sistemlerin kozmetik ürünlerdeki kullanım amacı, kozmetik aktif ajanların salım hızını kontrol edebilmek, etkinliğini ve stabilitesini artırabilmek ve deri tabakalarına hedeflendirmeyi sağlamaktır (Tarımcı, 2004).

1.7.1. Kozmetik Taşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması

Kozmetiklerde kullanılan taşıyıcı sistemler şu şekilde sınıflandırılabilir;

- Emülsiyon Sistemleri
- Veziküler Sistemler
- Moleküler Sistemler
- Partiküler Sistemler

1.7.1.1. Emülsiyon Sistemleri

Klasik Emülsiyonlar

Birbiri içerisinde çözünmeyen iki sıvıdan birinin diğeri içerisinde sürfaktan yardımıyla dağılarak oluşturduğu homojen görünümlü heterojen iki fazlı sistemlerdir. Deriden kolay geçebilen ve çözünürlük sorunu olmayan maddelerin deriye kolaylıkla

verilmesini sağladığından en sık kullanılan kozmetik taşıyıcı sistemlerdir. Hazırlanan ürünün amacına göre emülsiyonun tipi ve reolojik özellikleri belirlenmektedir. Bitmiş ürünle ilgili en sık karşılaşılan sorun ise stabilite problemleri olduğundan, bitmiş ürünün raf ömrü boyunca fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kararlılığını koruması gerekmektedir (Soytürk ve Tarımcı, 2000).

Çoklu emülsiyonlar

Emülsiyonun emülsiyonu olarak da adlandırılan ve sürfaktanlarla stabilize edilen dispers sistemlerdir. Dispers fazın içinde, en dış faz ile aynı özellikteki damlacıkların disperse edildiği emülsiyon tipi sistemlerdir. Çoklu emülsiyonlar deriye uygulandıktan sonra iç fazdaki aktif ajanın kontrollü salımını sağlarlarken, ortam koşullarından etkilenmesini engelleyerek de stabil bir formülasyon sağlamış olurlar. Ayrıca klasik emülsiyonlar gibi deriye direkt ve kolay olarak uygulanabilirler (Soytürk ve Tarımcı, 2000).

Mikroemülsiyonlar

Mikroemülsiyonlar, 5-140 nm arasında damlacık büyüklüğüne sahip olan, emülsiyonlara nazaran daha kararlı, düşük viskoziteli, saydam ve kendiliğinden oluşan sistemlerdir. Konvansiyonel emülsiyonlar gibi su içinde yağ veya yağ içinde su tipinde olabilirler. Yüzey etkin madde, kosurfaktan, yağ ve su fazlarından oluşurlar. Kosurfaktan kullanımı olmadan oluşabilirler; bunlar da kendiliğinden emülsifiye olan dispers sistemler (SEDDS) olarak adlandırılmaktadır (Çelebi, 2002). Mikroemülsiyonların başlıca özellikleri arasında düşük viskoziteli olmaları ve Newtonian akış tipinde olmaları gösterilebilir. Üretimleri esnasında karmaşık yöntemlere ve pahalı aletlere gereksinim duyulmadan kendiliğinden oluşabilmektedirler (Rosano ve ark., 1988).

1.7.1.2. Veziküler Sistemler

Lipozomlar

Bir ya da birden fazla fosfolipit çift tabaka içeren, orta kısımda ve tabakalar arasında sulu bir faza sahip olan, küresel kapalı veziküllerdir (Bangham, 1965). Lipozomun yapısal olarak canlı hücre membranlarına benzemesi nedeniyle, ciltle iyi ilişkide olduğu kabul edilmektedir. Lipozomlar; lipit bileşimi, yüzey yükü, boyutu ve hazırlama yöntemine göre birbirlerine göre farklılık göstermektedirler (Akbarzadeh ve ark., 2013). Formülasyonlarda lipozomal taşıyıcı sistemin kullanılmasıyla aktif ajanın etkinliği ve stabilitesi artırılabilir, istenmeyen etkileri azaltılabilir (Himanshu ve ark., 2011). Lipozomların ilk piyasa ürünü Christian Dior tarafından üretilen Capture isimli yaşlanma karşıtı üründür (Tarımcı, 2004).

Niozomlar

Lipozomların, yapılarında bulunan fosfolipitlerin hidrolize yatkınlığı nedeniyle, düşük stabiliteye sahip olmaları araştırmacıları daha kararlı yapılar bulmaya yönlendirmiştir. Lipozomların keşfedilmesinden yaklaşık 10 yıl sonra non iyonik sürfaktanların yağ asitleriyle birlikte vezikül oluşturabileceği fikri düşünülmüş ve niozomlar ortaya çıkmıştır (Mazda ve Özer,1993; Kazı ve ark., 2010). Niozomların taşıyıcı sistem olarak ilk kullanımı kozmetik amaçlı olmuştur. L'Oreal laboratuvarlarında üretilen "Niosome Anti-Aging System", tek tabakalı niozom sistemi içeren yaşlanma karşıtı bir üründür. Bu ürünlerden sonra boş veya yüklü olarak onlarca veziküler sistem piyasaya çıkmıştır (Tarımcı, 2004).

Transferzomlar

Transferzomlar, ilk kez 1990'ların başında tanıtılan, elastik veya deforme olabilen bir vezikül şeklindedir. Elastiklik, lipid çift katmanlı yapıya bir kenar aktivatörünün (sodyum kolat, Tween 80 gibi) eklenmesiyle elde edilir. Transferzomlar deri yüzeyi ile derinin iç kısmındaki osmotik basınç farkı sonucu deriye interselüler yolla penetre olabilmektedir (Benson, 2006).

Katezomlar

Kuartern aminlerin yağ asidi ve tuzlarından oluşan bu sistemler ilk olarak Collaborative Laboratories tarafından üretilmiştir. Diğer veziküler sistemlerin aksine deriden penetre olmayıp deri üzerinde dayanıklı bir film tabakası oluşturmaktadırlar. Böylece pek çok kozmetik maddenin deri yüzeyinde sürekli etkili kalışı sağlanmaktadır (Tarımcı, 2004).

Ultrazomlar

Micrococcus luteus'tan ekstrakte edilen ana yapıları lesitin olan ve bir endonükleaz enzimi içeren özelleşmiş lipozomlardır. Enzim ciltteki güneş hasarını tanımakta ve hasarlı DNA'nın uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (Patravale ve Mandawgade, 2008).

Fotozomlar

Fotozomlar, bir deniz bitkisinden (*Anacystis nidulans*) elde edilen, foto-aktifleştirici bir enzim salarak güneşe maruz kalan cildi koruma özelliğine sahip lipozomlardır. Fotozomlar, hücre DNA hasarını tersine çevirirler (Patravale ve Mandawgade, 2008).

Etozomlar

Etozomlar esas olarak fosfolipit, nispeten yüksek konsantrasyonda etanol ve sudan oluşan yumuşak veziküllerdir. Bozunmadan yüksek deforme olabilme özellikleri nedeniyle deride çok derinlere nüfuz edebilmektedirler. Hidrofilik ve lipofilik maddeleri taşıyabilmektedirler (Maurya ve ark., 2010).

Fitozomlar

Polar yapıdaki bitkisel özlerin fosfolipitlerle muamele edilmesi sonucu elde edilen taşıyıcı sistemlerdir. Ginkgo biloba, üzüm çekirdeği, kuşburnu, yeşil çay ve ginseng ekstraktları fitozomlarda kullanılan popüler maddelerdir (Barzaghi ve ark., 1990).

1.7.1.3. Moleküler Taşıyıcı Sistemler

Siklodekstrinler

Siklodekstrinler, nişastanın siklodekstrin glikoziltransferaz enzimiyle parçalanması sonucu elde edilen ve α -1,4 glikozil bağlarıyla bağlanmış en az 6 glukopiranoz biriminden oluşan, hidrofobik bir iç boşluğa ve hidrofilik bir dış yüzeye

sahip oligosakkaritlerdir (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006b). Siklodekstrinler, misafir bir molekülü iç boşluğu içinde hapsederek inklüzyon kompleksleri oluşturmaktadır (Jambhekar ve Breen, 2016).

Siklodekstrinler, kozmetik formülasyonlarda hem boş olarak hem de misafir molekül ile inklüzyon kompleksi formunda kullanılabilirler. Boş siklodekstrinler istenmeyen vücut kokularını absorbe edip maskeleyebilmekte, ciltteki fazla sebum salgısını tutarak cilt ve saç için temizleyici bakım ürünü olarak kullanılabilir. Inklüzyon kompleksi oluşumuyla da misafir molekülün çözünürlüğü ve stabilitesi artırılabilir, istenmeyen kokular önlenmektedir (Tarımcı, 2004).

1.7.1.4. Partiküler Sistemler

Mikrokapsüller

Kozmesötik etkili maddelerin 1–1000 µm çapında mikro parçacıklar halinde partiküler olarak kaplanmasıyla elde edilen sistemlerdir (Tarımcı, 2004). Kozmetik maddelerin mikrokapsülasyonu ile fiziksel özelliklerinin değiştirilerek istenmeyen özelliklerin maskelenmesi, çevresel faktörlerden korunması, geçimsiz maddelerin aynı formüle hazırlanabilmesi sağlanabilmektedir (Tarımcı, 2004).

Mikroküreler

Mikroküreler UV filtreleri, esanslar, askorbik asit, vitaminler ve benzeri pek çok kozmesötik için taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir. Örneklendirilecek olursa dihidroksi aseton mikroküre içinde enkapsüle edilerek güneşsiz bronzlaştırıcı olarak formüle edilmiş ve kullanıma sunulmuştur (Parison, 1993).

Mikrosüngerler

Mikrosüngerler; uçucu yağlar ve güneşten koruyucular gibi çok çeşitli aktif bileşeni taşıyabilen gözenekli mikrokürelerden oluşan patentli polimerik sistemlerdir. Gerçek bir sünger gibi, her bir mikroküre, geniş bir gözenekli yüzeye sahip, katlanamayan bir yapı içinde birbiriyle bağlantılı sayısız boşluktan oluşur. Mikrosüngerler cilt salgılarını emebilen, bu nedenle cildin yağlılığını ve parlaklığını kontrol edebilen mikroskobik küreler olarak da kozmetik ürünlerde yer alabilmektedir (Kaity ve ark., 2010).

Nanokapsüller

Nanokapsüller, sulu veya yağlı bir çekirdekle çevrili polimerik nanoboyutlu kapsüllerdir. Nanokapsüller, hassas aktifleri korumak, istenmeyen kokuları azaltmak ve formülasyon bileşenleri arasındaki uyumsuzluğu gidermek için kozmetikte kullanılırlar. Piyasaya çıkan ilk nanokapsül içeren ürünlerinden biri, aktif maddeleri zaman içinde salan A vitamini nanokapsülleri ile formüle edilmiş kırışıklık karşıtı bir losyondur (Zielińska ve Novak, 2016; Nafisi ve Maibach, 2017).

1.8. Lipit Nanopartiküller

1.8.1. Katı Lipit Nanopartiküller

Katı lipit nanopartiküller (SLN) 1990'ların başında emülsiyonlara, lipozomlara ve polimerik taşıyıcılara alternatif olarak geliştirilen, oda ve vücut sıcaklığında katı haldeki lipit matris ile karakterize bir taşıyıcı sistemdir. SLN, y/s emülsiyonundaki sıvı yağın katı bir lipit veya lipitlerin karışımı ile değiştirilmesi şeklinde üretilmektedir (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006a).

SLN oluşturmak için kullanılan yağlar genellikle biyouyumlu ve farmasötik - kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılan yağlardır (Müller, 2000). Katı lipit olarak trigliseritler (tristearin vb.), yağ asitleri (stearik asit vb.), steroidler (kolesterol vb.), mumlar (setil palmitat vb.) gibi fizyolojik olarak uyumlu lipitler kullanılmaktadır (Mehnert ve Mader, 2012). SLN'lerin diğer taşıyıcı sistemlerin sağladığı avantajlara ek olarak kendilerine has bir takım üstünlükleri bulunmaktadır. SLN'ler deriye uygulandıklarında okluzif bir film tabakası oluşturarak cilt nemini artırır ve hidrasyon artışına bağlı olarak aktif ajanların deriden penetrasyonuna katkıda bulunur. SLN, UV engelleme potansiyeli gösterir, yani kendi başlarına fiziksel güneş kremleri görevi görürler ve gelişmiş foto koruma sağlamak için moleküler güneş kremleri ile kombine edilebilirler. Organik çözücü kullanılmadan ve endüstriyel boyutta üretilmeleri mümkündür (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006a).

Tüm bu avantajlarına rağmen katı lipit nanopartiküllerin formülasyona getirebileceği dezavantajlar da bulunabilmektedir. Aktif madde yükleme kapasiteleri nispeten düşüktür ve aktif bileşenin zamanla taşıyıcıdan sızma ihtimali vardır (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006a).

1.8.1.1. Katı Lipit Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri

SLN'lerin üretiminde en yaygın kullanılan yöntemlerin başında yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği yer almaktadır ve diğer yöntemlere kıyasla kolay ölçeklendirme, organik çözücülerden kaçınma ve kısa üretim süresi gibi birçok avantajı vardır. Yüksek basınçlı homojenizasyon; sıcak ve soğuk yöntem olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirilebilir. Her iki teknik için de aktif bileşen; erime noktasının yaklaşık 5-10 °C üstünde eritilen lipit içinde çözündürülür. Sıcak homojenizasyon tekniği için, erimiş lipit aynı sıcaklıktaki sıcak sulu bir yüzey aktif çözeltisi içinde karıştırılarak dağıtılır. Daha sonra elde edilen ön emülsiyon, bir yüksek basınç homojenizatörle sıcak y/s nanoemülsiyonuna dönüştürülüp oda sıcaklığına

kadar soğutulur, lipit yeniden kristalleşir ve SLN içeren formülasyon elde edilmiş olur. Soğuk homojenizasyon tekniğinde de, aktif bileşen içeren lipit eriyik soğutulur, 50-100 µm boyutundaki mikropartiküllere öğütülür ve bir ön süspansiyon verecek şekilde soğuk bir yüzey aktif madde çözeltisi içinde dağıtılır. Daha sonra bu ön süspansiyon, oda sıcaklığında yüksek basınçlı homojenizasyonda nanosüspansiyon haline getirilir (Muller ve ark., 2000).

SLN'lerin üretiminde en çok kullanılan bir diğer yöntem de yüksek hızda homojenizasyon ve ultrasonikasyon yöntemidir. Bu yöntemde yüksek hızlı homojenizatör ile hazırlanan ön emülsiyon bir ultrasonikatöre aktararak sonike edilir ve nanemülsiyon haline getirilir.

Bu yöntemler dışında mikroemülsiyon yöntemi, çözücü emülsifikasyon - buharlaştırma yöntemi, çözücü emülsifikasyon - difüzyon yöntemi, çözücü enjeksiyon yöntemi ve süper kritik akış yöntemi gibi yöntemler de SLN üretiminde kullanılmaktadır.

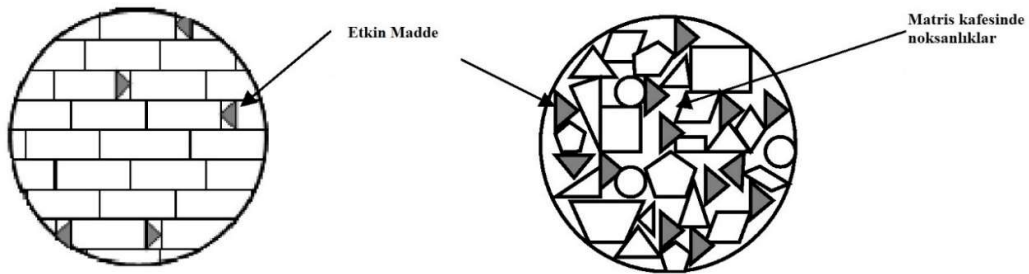
Formülasyonda kullanılacak lipitlerin erime noktaları arttıkça oluşan partiküllerin büyüklükleri de genellikle artmaktadır. Bu, daha yüksek erime noktası olan lipitler kullanıldığında, dispers fazın daha viskoz olması ve dolayısıyla aynı enerji girdisi ile daha büyük partiküllerin elde edilmesiyle açıklanabilmektedir. Örneğin yapılan bir çalışmada hidrojene coco-gliserit SLN'lerin ($117.0 \pm 1.8 \text{ nm}$) tristearin SLN'lerine ($175.1 \pm 3.5 \text{ nm}$) göre daha küçük olduğu bulunmuştur (Ahlin ve ark., 1998). Buna ilave olarak lipitin kristalizasyon hızı ve kristal şeklinin de SLN karakteristiğini etkileyen faktörlerden olduğu düşünülmektedir (Wiechers, 2013).

1.8.2. Nanoyapılı Lipit Taşıyıcılar (NLC)

Katı lipit nanopartiküllerin bazı dezavantajlarının olması araştırmacıları yeni bir arayışa sürüklemiştir. Lipit nanopartikül teknolojisinin ikinci neslinde, partiküller katı

lipit ve sıvı lipit karışımları kullanılarak üretilmektedir. Formülasyonda kullanılan katı lipit yapısına sıvı lipit(ler) eklenerek lipit matris yapısında noksanlıklar oluşturularak NLC'ler elde edilmektedir. (Müller ve ark., 2000) SLN ve NLC'lerin yapısal karşılaştırılması Şekil 1.4'te gösterilmiştir.

İkinci nesil teknolojinin avantajı, SLN'ye kıyasla artmış aktif madde yükleme kapasitesi ve raf ömrü boyunca aktif maddenin partikül matrisi içine daha iyi korunmasıdır. SLN partikülleri katı bir lipitten, özellikle yüksek derecede saflaştırılmış katı lipitlerden hazırlandığından, lipit matris aktif maddeyi barındırmak için sınırlı alan bırakarak nispeten mükemmel bir kristal kafes oluşturma eğilimindedir. Bu durum yükleme kapasitesini sınırlamakta ve depolama sırasında aktif maddenin lipit matrinden sızmasına yol açabilmektedir. Bunun aksine, çok farklı özelliklerdeki lipitlerin karışımının kullanılması, mükemmel bir kristal oluşumunu bozmakta ve lipit matris, aktif maddenin moleküler formda veya amorf kümeler halinde barındırılması için alan sağlayan birçok kusur içermektedir. NLC sisteminin “kusursuzluğunun” kristal yapısındaki “kusurluluğu” olduğu söylenebilir (Müller ve ark., 2007).



Şekil 1.4. SLN ve NLC partiküllerinin yapısal karşılaştırılması (Pardeike ve ark., 2009).

NLC'ler katı lipitlere ilave edilen sıvı lipitler ve emülgatörden oluşan bir yapıya sahiptirler. Genel olarak, katı lipitler sıvı lipitlerle 70:30 ile 99,9:0,1 arasında değiştirilen oranlarda karıştırılırken, yüzey aktif madde içeriği % 1,5-% 5 (a / h) arasında değişmektedir. Literatürde, farklı lipit kombinasyonları ile sürfaktanlar

kullanılmıştır. Çalışmalarda sıklıkla kullanılan katı ve sıvı lipitler ve sürfaktanlar Çizelge 1.5’de özetlenmiştir.

Çizelge 1.5. NLC’lerde kullanılan bileşenler (Beloqui ve ark., 2016).

Bileşen	Kimyasal Adı	Ticari İsmi
Katı Lipit	Gliseril Palmitostearat	Precitol ATO®5
	Gliseril dibehenat	Compritol®888 ATO
	Setil Palmitat	Crodamol™ CP
	Stearik Asit	-
	Tripalmitin	-
Sıvı Lipit	Kaprilik/Kaprik asit trigliseritleri (C ₈ /C ₁₀)	Miglyol®812
	Vitamin E ve türev.	-
	Lauril Poloksigliseritleri	Gelucire®44/14
	Monoağılgliceroller	Myverol 18-99 K
	Soya Lesitini	Epikuron™200
	Skualen	-
Sürfaktanlar	Polysorbatlar	Tween®20, Tween®80
	Poloksamerler (188,407)	Lutrol®F68, Lutrol®F127
	Makrogol-15-hidroksistearat	Solutol®HS 15, Kolliphor®HS 15
	Polioksietilenstearat	Myrj 52
	Polioksi hint yağı	Cremophor EL

1.8.2.1. Nanoyapılı Lipit Taşıyıcıların Üretim Yöntemleri

NLC’lerin üretiminde, SLN üretiminde kullanılan yöntemlerin tümü kullanılabilmektedir (Muller ve ark.,2000).

1.8.3. Çalışmadaki Formülasyonların Üretiminde Kullanılan Katı Yağlar

NLC formülasyonlarının üretiminde katı lipit olarak trigliseritler, yağ asitleri ve mumlar kullanılmaktadır. Çalışmamızda NLC formülasyonlarının üretiminde kullanılan katı yağlar aşağıda özetlenmiştir.

1.8.3.1. Compritol® 888 ATO

Compritol® 888 ATO (Gattefossé) kozmetik endüstrisinde genellikle sürfaktan, emülsifiye edici ajan ve emülsiyonlarda veya kremlerde viskozite artırıcı ajan olarak kullanılan bir lipit eksipiyandır. Kimyasal bileşimine dayanarak, Compritol 888 ATO farklı behenik asit esterlerinin gliserol ile bir karışımıdır (Aburahma ve Badr-Eldin, 2014).

Gliseril dibehenat yapısında reaktif grup bulunmamasından, lipit yapıda olup %1'den az su içermesinden ve yüksek saflıkta olmasından dolayı inert kabul edilmekte ve formülasyondaki diğer maddelerle geçimli olduğu düşünülmektedir (Gattefossé PDS).

1.8.3.2. Gliseril Palmitostearat (Precitol ATO®5)

Gliseril palmitostearat, uzun zincirli yağ asiti olup, palmitik ve stearik asidin esterlerinden oluşmaktadır. Gliseril palmitostearat zayıf asidik bir bileşiktir. Erime derecesi 54°C olup rekristalize olma sıcaklığı 51°C'dir (Gattefossé PDS). Compritol'e göre kristal yapısında daha az noksanlık vardır. Ancak stearik aside göre de daha fazla kusur içerdiğinden etkin maddeyi kristal yapısında tutabilme özelliği nispeten daha fazladır (Chawla ve Saraf, 2011).

1.8.4. Çalışmadaki Formülasyonların Üretiminde Kullanılan Sıvı Yağlar

Literatürde NLC formülasyonlarının üretiminde kaprilik kaprik trigliseritler, oleik asit ve lesitin gibi sıvı lipitler sıklıkla kullanılırken, çalışmamızda yaşlanma karşıtı etkileri nedeniyle kozmesötik ürünlerin bileşiminde sıklıkla kullanılan sıvı yağlar seçilerek NLC formülasyonları hazırlanmıştır. Çalışmamızda NLC formülasyonlarının üretiminde kullanılan sıvı lipitlerin özellikleri aşağıda açıklanmıştır.

1.8.4.1. Nar Çekirdeği Yağı

Nar (*Punica granatum*), Punicacea familyasında bulunan ve medisinale kullanımı da oldukça yaygın olan, Akdeniz ikliminde yetişen bir bitkidir. Toplam tohum ağırlığının %12-20'sinden nar çekirdeği yağı elde edilmektedir. Yağ içeriğinin yaklaşık %80 kadarı da başlıca punikik asit olmak üzere oktadetrionik yağ asitleridir. Bunun haricinde iklim koşulları, ekim alanı ve hasat zamanı gibi faktörlere bağlı olarak konjuge linoleik asitlerden katalpik asit ve diğer yağ asitleri içerikte bulunmaktadır (Boroushaki ve ark., 2016).

Nar çekirdeği yağında bulunan polifenolik bileşikler antioksidan aktiviteye sahiptir ve siklooksijenazlar ve lipooksijenazlar da dahil olmak üzere proenflamatuvar enzimleri inhibe eder (Schubert ve ark., 1999). Yapılan bir çalışmada, nar çekirdeği yağının keratinositlerin farklılaşmasını ve çoğalmasını teşvik ederek epidermin rejenerasyonunu hızlandırdığı bulunmuştur (Rahimi ve ark., 2012). Narın soyularak suyla elde edilen ekstresinin de MMP-1 enzimlerini inhibe ederek yaşlanmış ciltte kollajen yıkımının önüne geçtiği rapor edilmiştir (Brennan ve ark., 2003; Aslam ve ark., 2006).

1.8.4.2. Argan yağı

Argan ağacı (*Argania spinosa*), Sapotaceae familyasında yer alan ve güneybatı Fas'ta yaygın olarak bulunan bir bitkidir. Tohumları %50'den fazla yağ içerebilmektedir. Ancak 1-2 litre yağ elde edebilmek için yaklaşık 100 kg tohum kullanılması gerekmektedir. Yağ trigliseritlerden (%35) oluşmakta olup, çoğunlukla doymamış yağ asitleri (%30 linoleik asit) içermektedir. Sabunlaşmayan kısım karotenleri (%37), E vitaminini (%8), triterpenik asitleri (%20), steroller (%20), benzoik, hidroksibenzoik, fenilasetik ve kafeik asitleri içerirken, buna ilave olarak bileşimde oleuropein, flavonoidler ve glikozitler de mevcuttur (Charrouf ve Guillaume, 2008).

Argan yağı nemlendirme özelliği ve erken yaşlanma belirtilerini önleme kapasitesi nedeniyle serum veya krem formundaki kozmetik ürünlere eklenmektedir. Argan yağı içeren preparatların cildi nemlendirdiği, serbest radikalleri nötralize ettiği, akne lekelerini iyileştirdiği, yara izlerini azalttığı ve cildin elastikiyetini artırdığı düşünülmektedir. Yapısında bulunan antioksidan içeriği ile, argan yağının cildin elastikiyetini artırdığı ve kırışıklıkları engellediği yapılan çalışmayla gösterilmiştir (Campa ve Baron, 2018). Ayrıca argan yağının sebum salgısını kontrol edebildiği de yapılan çalışmalarda bulunmuştur (Dobrev, 2007).

1.8.4.3. Üzüm Çekirdeği Yağı

Vitis familyasından *Vitis vinifera* bitkisinin meyvelerinin çekirdeklerinden elde edilen yağdır. Üzüm çekirdekleri yaklaşık % 14-20 oranında yağ içermektedir. Üzüm çekirdeği yağı linoleik asit (% 65-72) ve oleik asit (% 12-23) bakımından zengindir, buna ilave olarak içeriğinde palmitik asit (% 4-11) ve stearik asit (% 8,5-15) bulunmaktadır. Üzüm çekirdeği yağında bulunan linoleik asit, vücutta sentezlenemediği için besin olarak önemli bir değere sahiptir. Ayrıca yapıda zengince

bulunan alfa-tokoferol ve oleik asit oksidatif bozunmaya karşı yağın stabilitesini artıran bir rol oynamaktadır (Sotiropoulou ve ark., 2012).

Yağın topikal uygulanması sonrası yağ kolaylıkla ciltten emilebilmektedir. Yapıdaki fenolik bileşikler ve linoleik asit, hücre membranlarını güçlendirmekte, antioksidan savunma sistemine destek olmakta ve cildin genel sağlığını olumlu yönde etkilemektedir. Üzüm çekirdeği yağının bazı fenolik bileşikleri antikanser aktivitelerine sahiptir ve hücre döngüsü modülasyonunda etki etmektedir. Yapıdaki proantosiyanidinler, kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etkisi olan flavan-3-ol polimerleridir (Garavaglia, 2016).

1.8.4.4. Hindistan Cevizi Yağı

20-40 m boylarına ulaşabilen, Arecacea familyasına ait Hindistan cevizi ağacı (*Cocos nucifera* L.) meyvelerinden elde edilmektedir. Tüm tropik sahil kesimlerinde yetişir. On altıncı yüzyılda Portekiz ve İspanyol denizciler tarafından keşfedilmiş ve Orta ve Güney Amerika'ya tanıtılmıştır. Günümüzde bitkinin yerli olduğu ülkelerde yoğun şekilde kültürü yapılmaktadır, buralarda hammaddeler ve besin ürünleri için başlıca kaynaktır.

Tohum pulpasından düşük seviyede doymamış yağ asitleri içeren bir yağ elde edilir ve 25°C'ın altında fildişi beyazı renkte, aromatik, katı bir kütle oluşturur. Çeşitli gliseritlerin bir karışımı olan (en fazla laurik asit bulunmaktadır, yaklaşık %50) bir maddedir. Diğer yağ asitleri olarak miristik, palmitik, kaprilik, kaproik, stearik, oleik ve linoleik asitleri içermektedir (Kappally ve ark., 2015).

Hindistan cevizi yağı, yüksek laurik asit içeriğine bağlı olarak kozmetiklerde ve sabunlarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yapısındaki polifenoller ve E vitamini sayesinde lipit peroksidasyonunu engellediği ve yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Hindistan cevizi yağının uygulanmasıyla ciltte epitelizasyon süresinin

azaldığı ve pepsinde çözünür kollajen miktarının artarak yara iyileşmesinin hızlandığı bulunmuştur. Buna ilave olarak, tedavi edilen yaralarda lipit peroksit düzeylerinin daha düşük olduğu da gösterilmiştir (Nevin ve Rajamohan, 2010).

1.8.5. Lipit Nanopartiküllerin Kozmetikte Kullanımları

Konvansiyonel kozmetik formülasyonları kullanıldığında, kozmetik aktif ajanların deriden zayıf penetrasyonu veya çeşitli istenmeyen etkilerin ortaya çıkması gibi problemler yaşanabilmektedir. Bu problemler, kozmetik aktif bileşenlerin lipit nanopartiküller içinde enkapsülasyonu ile aşılabilmektedir (Wiechers, 2013).

SLN ve NLC'ler aktif bileşenlerin kontrollü salımını sağlayan ve bununla beraber birçok avantaj sunan kolloidal sistemlerdir. Bu sistemler ayrıca vücutta metabolize olabilen lipitlerden üretildiği için biyolojik olarak tolere edilebilen sistemlerdir. Nano boyutları sayesinde stratum corneum ile yakın temas sağlayıp, artan yüzey alanının bir sonucu olarak cilde nüfuz eden aktif madde miktarını artırır. Ayrıca bu sistemler sayesinde hassas kozmetik aktif ajanların ışıkla, oksitlenmeyle veya hidrolizle bozunmamaları da sağlanabilmektedir (Pardaike ve ark., 2009).

Sağlık bir stratum corneum tabakasının nem içeriği %20 civarındadır. Lipit nanopartiküllerin deride okluzif film tabakası oluşturarak cildin nem içeriğini artırdığı ve bunun da deriden geçişi dolaylı olarak artırdığı gözlenmiştir (Cevc, 2004).

Kozmetik ürünler için kozmetik aktif maddenin sistemik dolaşıma katılmaması önemlidir. Ancak kozmetik bir etki elde etmek için cilde belirli bir penetrasyon gerekir. Genellikle lipit nanopartiküller boynuzsu tabakadan geçemezler, bunun yerine kıl foliküllerini kullanarak geçiş yaptıkları gözlenmiştir (Nohynek ve ark., 2007).

Kozmetik aktif maddelerin lipit nanopartikül içinde yerleşimi de kozmetik etki açısından önem göstermektedir. SLN ve NLC'lerde kontrollü salım veya patlama etkisi, aktif bileşenin lipit nanopartikül matrisi içindeki lokasyonuna bağlı olarak

ortaya çıkmaktadır. Dermal uygulama için her iki özellik de önemlidir. Patlama etkisi, aktif bileşiklerin penetrasyonunu artırabilir. Sürekli salım ise, yüksek konsantrasyonlarda iritan olan aktif bileşenler söz konusu olduğunda veya deriyi uzun bir süre boyunca aktif ajan ile beslemek için önemli hale gelmektedir (Muller ve ark., 2000).

Çizelge 1.6'da SLN ve NLC'lerin kozmetikte kullanımına ilişkin çalışma örnekleri verilmişken Çizelge 1.7'de lipit nanopartikül içeren kozmetik formülasyon örnekleri gösterilmiştir.

Çizelge 1.6. SLN ve NLC'lerin kozmetikte kullanımına ilişkin yapılmış çalışma örnekleri

Kozmetik Etki	Yapılan Çalışma
Retinol yüklü nanopartiküler sistemlerin geleneksel emülsiyonun aksine kontrollü salım yaptığı ve derinin üst katmanına daha lokalize etki yaptığı gösterilmiştir.	Jenning ve ark., 2000
Koenzim Q10 yüklü SLN ve NLC'lerin karşılaştırılmasında okluzif etkinin ve nanosistemin cildin hangi katmanına etkiyeceği formülasyondaki lipit içeriğine bağlı olduğu bulunmuştur.	Teeranachaideekul ve ark., 2008
Bir parfümün geleneksel emülsiyon ve SLN olarak iki formülasyonun karşılaştırılmasında 6 saat sonunda emülsiyonun %100'ünün salındığı gözlenmişken SLN sisteminde %75'in salındığı gözlenmiştir.	Wissing ve ark., 2001
SLN'lerin boş formülasyonlarında bile ciltte film oluşturarak UV filtresi etkisi gösterdiği ve hidroksi 4-metoksi benzenfenon gibi bir UV filtresi ile formüle edildiğinde de kimyasal filtrenin miktarının azaltılarak kullanılabileceği belirtilmiştir.	Wissing ve ark., 2001
Heptapeptid yüklenmiş SLN'lerin; derideki hemooksijenaz-1 ve peroredoksin-1 gibi koruyucu enzimleri uyarak UV kaynaklı radyasyona karşı %20 oranında koruma sağladığı yapılan çalışma ile gösterilmiştir.	Suter ve ark., 2016
SLN ve NLC'lerin okluzif etkileri ve kozmetik aktif maddelerin cilde penetrasyonları üzerine yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada nanosistemlerin okluzif etki olarak ciddi farklılık göstermediği (6 saatte 35.9 ile 38,9 oklüzyon faktörü) ancak nil kırmızı ile yapılan penetrasyon testinde NLC sistemleriyle etkin maddenin cilde daha iyi penetre olabildiği ispatlanmıştır.	López-García ve ark., 2015
Akne ve atopik dermatit hastalığına karşı azeleik asit, ak söğüt ağacı kabuğu ekstresi ve pantenol etkin maddeleri, engerek otu yağı ile üretilmiş NLC sistemlerine %90 üzeri enkapsülasyon kapasitesiyle yüklenerek kontrollü salım sağlanmış ve ayrıca geleneksel ilaçların gösterdiği iritasyon vb yan etkilerin pasifize edilmesi başarıyla sağlanmıştır.	Arsenie ve ark., 2020
Doğal bir karotenoid olup ısıya karşı dayanıksız olan bu yüzden kozmetik endüstrisinde kullanımı sınırlı olan fukoksantin maddesini SLN sistemlerine %2 oranında yükleyerek yüksek koruma faktörlü ve stabil bir güneş koruyucu sistem üretimi sağlanmıştır.	Lee ve ark., 2020

Çizelge 1.7. Lipit nanopartikül içeren kozmetik ürün örnekleri (Ferraris ve ark., 2021).

Taşıyıcı Sistem	Kullanım Amacı	Ürün Adı
SLN	PARFÜM	Chanel Allure Eau Parfum Spray
SLN	ANTI AGİNG/ONARICI	Soosion Facial Lifting Cream
SLN	NEMLENDİRİCİ	Chanel Allure Body Cream
SLN	NEMLENDİRİCİ	Yamanouchi Nanobase
NLC	ANTI AGİNG	Scholl Regenerations Cream Intensive Ampoules
NLC	ANTI AGİNG	Amore Pacific Iope Supervital Extra Moist Eye Cream
NLC	ANTI AGİNG	Beate Johnen NLC Deep Effect: Eye Serum
NLC	ANTI AGİNG	Dr Richter Nanolipit Basic /Q10/Repair/Restore
NLC	ANTI AGİNG/ONARICI	Dr Rimpler Cutanova Cream /Nanorepair Q10/ Serum
NLC	CİLT BAKIMI	Dr Theiss Olivenol Antifalten/Pflegekontrat/Augenpflegebalsam
NLC	CİLT BAKIMI	Sirech Emas Phyto NLC Active Cell Repair
NLC	CİLT BAKIMI	Amore Pacific Iope Supervital Extra Moist Softener
NLC	NEMLENDİRİCİ/ONARICI	Isabelle Lancray Surmer: Creme Contour Des Yeux
NLC	NEMLENDİRİCİ/ONARICI	Nano-Remodelante/Creme Legere NanoProtection
NLC	NEMLENDİRİCİ/ONARICI	Nano-Restructante/Elixir du beaute/NanoVitalisant
NLC	NEMLENDİRİCİ/ONARICI	Masque/Creme Nano-Hydratant
NLC	ONARICI	La Prairie Swiss Cellular White Illuminating Eye Essence

1.9. Yarı Katı Lipit Nanopartikül Sistemleri

Lipit nanopartiküler sistemler biyoyumlu olmaları, uygun maliyetlerinin olması ve kontrollü salım gibi avantajları nedeniyle farmasötik ve kozmetik endüstrisinde artan bir ilgiyle kullanılmaktadırlar. Hazırlanan SLN ve NLC partikülleri topikal kullanım için genellikle yarı katı bir sistemde formüle edilip kullanılmaktadır. Üretim sırasında bu basamak zaman kaybına ve daha fazla mali yüke neden olabilmektedir. Buna ilave olarak lipit nanopartiküler sistemdeki maddelerle taşıyıcı yarı katı sistemin maddeleri arasında geçimsizlik sorunları oluşabilmektedir. Bu gibi sorunların önüne geçebilmek için, Lippacher ve arkadaşları 2001 yılında yarı katı SLN dispersiyonlarını sunmuşlardır. Yüksek basınçlı homojenizasyon tekniği kullanarak tek adımlık bir üretimle yarı katı SLN formülasyonu hazırlanmıştır. Yapılan bu üretim sonucu kolloidal partikül büyüklüğünün, yüksek lipit içeriğinden

ve formülasyonun viskozitesinden etkilenmeden aynı boyutlarda kalabildiği de rapor edilmiştir (Lippacher ve ark., 2001).

Yapılan detaylı geniş frekans aralığındaki reolojik deneylerle, hazırlanan yarı katı SLN dispersiyonlarının standart dermal preparatlara benzer viskoelastik özellikler gösterdiği belirtilmiştir. Reolojik özellikler; üretim esnasında karıştırma, doldurma ve aktarma gibi basamakları etkilediği için ayrıca yarı katı formülasyondan çıkışa etki ettiği için çok önemli bir parametredir. Partikül büyüklüğü ve dağılımı açısından ve ayrıca jel yapının kararlılığını koruması açısından da hazırlanan sistemlerinin stabilitesinin yeterince iyi olduğu gözlenmiştir. Özetle yarı katı lipit nanopartikül dispersiyon sistemlerinin geleneksel lipit nanopartikül formülasyonlarına nazaran avantajları şu şekildedir (Lippacher ve ark., 2004):

- Daha yüksek yükleme kapasitesi
- Zamandan kazandırdan tek aşamalı basit üretim
- Formülasyon için daha az madde kullanılması
- Olası geçimsizlik ihtimalinin daha aza indirgenmesi
- Daha kolay ölçek büyütme çalışması yapabilme olanağı

Partikül büyüklüğü ve dağılımının, ve disperse olan lipit fazın fiziksel durumunun yarı katı jel yapısının oluşumuna büyük etkisi vardır. Viskoelastik ölçümler kullanılarak yapılan deneylerde, katı partikül matrisinin nano boyuttaki limitler dahilinde olmasının kanıtlanması tutarlı bir topikal formülasyon geliştirmek için bir önkoşul niteliğindedir. Ayrıca, emülgatör konsantrasyonunun da, bu yarı katı dispersiyonların jel yapısı üzerinde bir etkisi olduğu ve viskoelastik parametrelerin, sistemin stabilitesini değerlendirmek için hassas bir araç olduğu kanıtlanmıştır (Lippacher ve ark., 2004)

Yarı katı lipit nanopartikül sistemleri yeni bir yaklaşım olup, bu konuda yapılmış çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Etofenamat ile yapılan bir çalışmada Compritol 888

ve Precirol'le çeşitli yarı katı SLN formülasyonları hazırlanmış, bunların anti inflamatuvar etkinlikleri ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bulgulara göre, hazırlanan yarı katı formülasyonların reolojik özellikleri incelendiğinde jel benzeri viskoelastik yapıda oldukları gözlenmiştir. Anti inflamatuvar etkinlik bakımından incelendiklerinde ise, etofenamat'ın saf halinde %55 civarında etkisi varken Compritol 888 ATO ile hazırlanan yarı katı SLN formülasyonunda bu etkinin %71'lere kadar ulaştığı gözlenmiştir (Badıllı ve ark., 2015).

Askorbil Palmitat'la yapılan bir çalışmada, bu maddeyle hazırlanan SLN ve NLC formülasyonlarının taşıyıcı sistemdeki lipit fazın fiziksel durumundan etkilenecek kadar hassas olduğu gözlenmiş ve değişik reolojik özellikler taşıyan formülasyonlar hazırlanarak karşılaştırma yapılmıştır. Deney sonunda, tek aşamada yüksek basınçlı homojenizasyonla üretim yapılan yarı katı NLC sistemlerinin reolojik özelliklerinin uygun olduğu ve daha fazla elastiklik sergiledikleri gözlenmiştir (Teeranachaideekul ve ark., 2008).

Başka bir çalışmada, topikal bir kortikosteroid olan diflukortolon valerat'ın ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak yarı katı NLC sistemleri hazırlanmıştır. Deney sonunda, hazırlanan yarı katı NLC'lerin depo görevi görerek sürekli salım yaptığı, stratum corneum'a hedeflendirme yaparak sistemik dolaşıma geçişi engellediği ve yan etkileri en aza indirilerek terapötik etki sağladığı rapor edilmiştir (Abdel-Salam ve ark., 2017).

Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak yapılan bir çalışmada, ışığa duyarlı bir madde olan tretinoin'in yarı katı NLC jelleri hazırlanmıştır. Deney sonucunda etkin maddenin yarı katı NLC sistemlere yüklenmesiyle ışığa karşı 2 kat daha fazla dayanıklılık kazandığı, formülasyonun titanyum dioksit'e nazaran artmış reflektif özellikleri ile cildi güneşe karşı etkili olarak koruduğu ve all-trans retinoik asidin cilde yeterli oranlarda geçerek terapötik etkinin sağlandığı gözlenmiştir (Asfour ve ark., 2019).

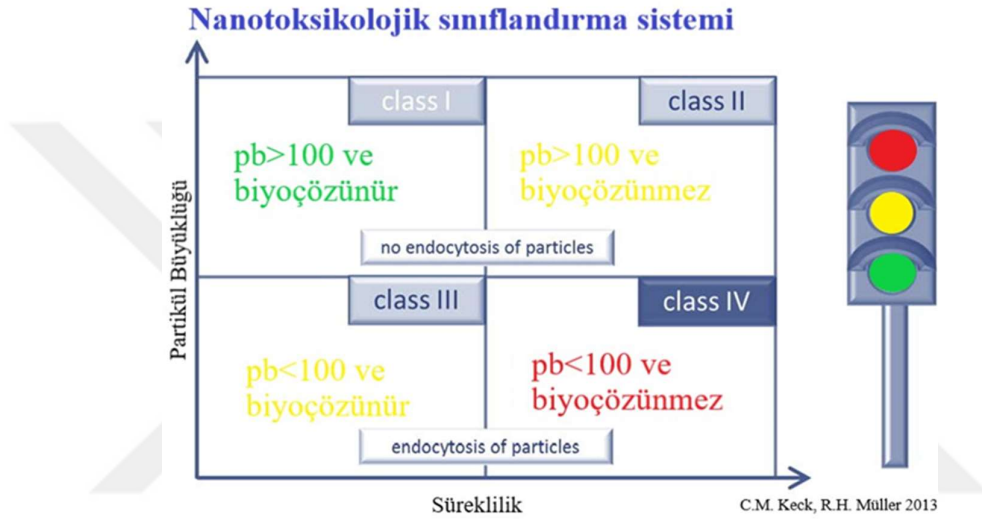
Yapılan bir diğer çalışmada da, UV hasarına karşı antioksidatif özelliklerine ilave olarak anti inflamatuvar ve anti-tümör özellikleri nedeniyle topikal olarak uygulanan bir polifenolik bileşen olan rutin kullanılarak, okluzif özellikleri olan ve çözünürlüğü düşük olan etkin maddeyi deriden yeterince geçirebilecek bir NLC sistemi hazırlanması amaçlanmıştır. Ultrasonikasyon yöntemiyle tek aşamada uygun maliyetle hazırlanan yarı katı NLC formülasyonun, ciltte okluzif film oluşturarak UV hasarından yeterli koruma sağladığı ayrıca çözünürlüğü ve raf ömrü az olan rutin maddesinin stabilitesini artırarak yeterli dermal yararlanım sağladığı gözlenmiştir (Kamel ve Mostafa., 2015).

Yarı katı lipit nanopartikül dispersiyonlarının kozmetik amaçlı kullanımlarına yönelik yapılan bir çalışmada ise, anti-selülit etkinlik amacıyla kafein içeren yarı katı NLC formülasyonları tasarımıyla kalite (QbD) yaklaşımıyla hazırlanmış ve yapay sinir ağı (ANN) programı kullanılarak formülasyon optimizasyonu yapılmıştır. Hazırlanan formülasyonun in vitro ve ex vivo karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir (Amasya ve ark., 2021).

1.10. Nanopartiküler Sistemlerin Güvenirlikleri

Nanopartiküler sistemlerin sağladığı pek çok avantaj güvenilirlik konusunun ilk başlarda göz ardı edilmesine neden olmuşken, daha sonraları yapılan araştırmalar ve kullanıcı farkındalığının oluşmasıyla nanopartiküllerin toksisitesi giderek önem kazanmıştır. Geliştirilen nanotoksikolojik sınıflandırma sisteminin değerlendirdiği başlıca parametreler, nanotaşıyıcıların hücre ile etkileşimi ve eliminasyonunda önemli rol oynayan partikül boyutu ve biyoparçalanabilirliktir (Rachmawati ve ark., 2013). Partikül boyutu için 100 nm yasal otoriteler tarafından sınır olarak seçilmiştir. 100 nm altındaki partiküller endositoza uğrayabilmektedir ve vücutta daha kolaylıkla yayılabilmektedir. Ancak farklı literatürlerde endositoz için partikül boyutu limiti 150 nm'lere kadar çıkabilmektedir (Rachmawati ve ark., 2013). Biyolojik olarak parçalanamayan malzemeler daha yüksek bir toksisite riski taşımaktadır. Çünkü,

biyolojik olarak parçalanamayan malzemeler vücutta sonsuza kadar kalmaktadır. Makrofajlar bu parçacıkları elimine edememektedir (Rachmawati ve ark., 2013). Özetle, nanotoksikolojik sınıflandırma sistemine göre, 100 nm’den büyük ve biyoparçalanabilir materyaller ile hazırlanan nanopartiküller toksikolojik açıdan güvenli olarak kabul edilmektedir.

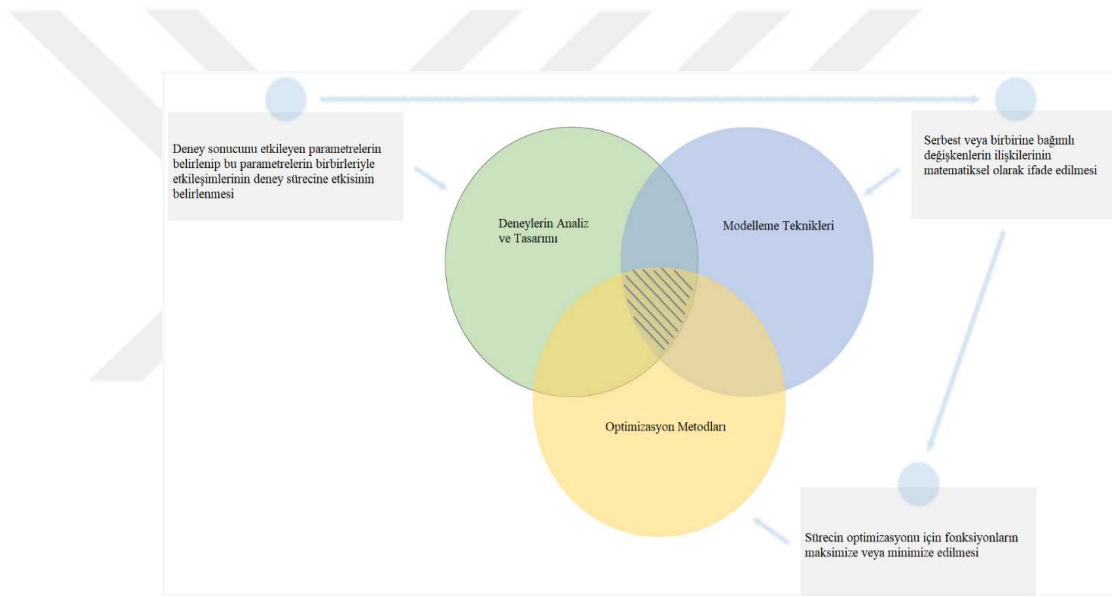


Şekil 1.5. Keck ve Müller’in önerdiği nanotoksikolojik sınıflandırma sistemi (Keck ve Müller, 2013).

Class I’de partikül büyüklüğünün 100 nm’den büyük olduğu ve nanopartikül üretiminde kullanılan materyallerin biyoparçalanabilir olduğu güvenli bölge yeşil olarak gösterilmiştir. Class IV’de ise partikül boyutunun 100 nm’den küçük olduğu ve nanopartikül üretiminde kullanılan materyallerin biyoparçalanamaz olduğu tehlikeli bölge kırmızı olarak gösterilmiştir. Bu bölgelerin arasında kalan Class II ve Class III sarı bölgeleri ise toksisite açısından dikkat edilmesi gereken bölgeler şeklinde tanımlanmıştır.

1.11. Cevap Yüzey Metodolojisi

Cevap yüzey metodolojisi (RSM), bilimsel deneylerdeki parametreleri kullanarak deney süreçlerini ve çıktılarını optimize etmek amacıyla 1950’li yıllarda George Box ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. RSM’de matematiksel modelleme ve optimizasyonun yapılması amacıyla deneysel dizayn ve istatistiksel analiz kullanılmaktadır (Alvarez ve ark., 2009). Şekil 1.6.’da RSM’i meydana getiren prosedürlerin şematik gösterimi yapılmıştır.



Şekil 1.6. RSM’i meydana getiren prosedürlerin şematik gösterimi (De Oliveira ve ark., 2019).

Myers ve Montgomery’e (2004) göre RSM; deney süreçlerini geliştirmek ve optimize etmek amacıyla kullanılan matematiksel yöntemlerin bir koleksiyonu şeklinde tanımlanabilmektedir. RSM’in ilk adımında deney süreçlerini etkileyen parametrelerin belirlenmesi bulunmaktadır. Bunun için uygulanan en geleneksel yaklaşım, deneyler yoluyla faktörlerin keşfedilmesidir. İkinci adımda ise keşfedilen bu faktörlerin deney sürecine etkisinin incelenmesidir. Bu da genellikle ANOVA gibi istatistiksel yöntemlerle yapılabilmektedir. İlk adımda anlatılan kontrol parametrelerinin tanımlanmasından ve ikinci adımda yapılan istatistiksel analizden sonra üçüncü adımda deney dizaynına göre, örneğin Box Behnken dizaynı gibi bir yöntemle veri koleksiyonu yapılması gerekmektedir. Böylelikle dördüncü adımda değişkenlerin

cevabı analiz edilebilmektedir. Yapılan analize göre sonraki adımlarda deneysel alanın eğri olup olmadığına karar verilip, eğri elde edildiyse eğriye yeni noktalar eklenmesi ve bir model oluşturulup optimizasyonun sonuçlandırılmasıyla tamamlanmaktadır (De Oliveira ve ark., 2019).

Çalışmamızda RSM metodolojisi ile çalışan MODDE® (Umetrics) programı ile formülasyon optimizasyonu yapılmıştır. MODDE® kullanım alanlarına örnek olarak, endüstriyel eczacılıkta etkin maddenin çözünürlüğü, dağılma hızı ve sertliği gibi parametreler göz önüne alınarak optimal tablet formülasyonu tasarımı yapılabilmesi verilebilir. Bu şekilde optimizasyonla, endüstriyel üretimde verimlilik ve kalite odaklı üretim sağlanabilmektedir. 2017 yılında yapılan bir çalışmada, hamilelik çatlaklarına karşı geliştirilen, nar çekirdeği yağı ve ejder kanı ağacı resin ekstresi içeren kozmetik bir krem formülasyonu geliştirilmiş ve MODDE® ile optimizasyon yapılmıştır. Optimizasyon aşamasında, kremin cilde sürülebilirliği ve stabilitesi maksimize edilmiş, sertlik ve adheziflik minimize edilmiş ve kremin kıvamı orta bir değerde tutularak oluşturulan değerler yazılıma veri olarak girilmiştir. Deney sonucunda optimal formülasyon için, tahmin edilen model ile deneysel değerler arasında iyi bir korelasyon ortaya çıkmış ve böylece önerilen modelin geçerliliği ortaya çıkmıştır.

Bu çalışma yönteminin amacı, yarı katı NLC dispersiyonlarının kozmetik kullanımlarını değerlendirmek için, sıvı lipid olarak yaşılanma karşıtı etkileri bulunan bitkisel yağlar olan nar çekirdeği yağı, argan yağı, üzüm çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağının kullanıldığı yarı katı NLC formülasyonlarının hazırlanmasıdır. RSM metodolojisi ile çalışan bilgisayar temelli matematiksel modelleme programı (MODDE®) kullanılarak formülasyon optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen optimum formülasyonların in vitro karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Kullanılan Alet ve Maddeler

2.1.1. Kullanılan Aletler

Yüksek Hızlı Homojenizatör	: UltraTurraks T25 IKA, Almanya
Ultrasonik Homojenizatör	: Bandelin Sonoplus HD 2070, Almanya
Partikül Büyüklüğü Tayin Cihazı	: Malvern Zetasizer Nano ZS, İngiltere
DSC Analiz Cihazı	: TA Instruments DSC250, ABD
TA-XT Plus Tekstür Analiz Cihazı	: Stable Microsystems, İngiltere
Viskozimetre	: Brookfield DV-II, ABD
Reometre	: ARES, TA Instruments, ABD
Hassas terazi	: Sartorius BL 210 S, Almanya
pH Metre	: Mettler Toledo S-20K, İsviçre
Manyetik Karıştırıcı	: Stuart SB 162-3, İngiltere
Ultra saf su cihazı	: Millipore Milli-Q Gradient A10, ABD
Mikropipet	: Eppendorf, Almanya
TEM Cihazı	: FEI Tecnai G2 Spirit BioTwin, ABD
İnkübatörlü Çalkalayıcı	: Jeio Tech, Kore
Liyofilizatör	: Christ Alpha 1-2 LD Plus, Almanya

2.1.2. Kimyasal Malzemeler

Nar Çekirdeği Yağı	: Zadevital, Türkiye
Argan Yağı	: Mecitefendi, Türkiye
Üzüm Çekirdeği Yağı	: Zadevital, Türkiye
Hindistan Cevizi Yağı	: Talya, Türkiye

Poloksamer 188	: Sigma Aldrich, ABD
Precirol ATO 5	: Gattefosse, Fransa
Compritol 888 ATO	: Gattefosse, Fransa
Etanol	: Sigma Aldrich, ABD
Filtre Kağıdı	: Whatman No:42, İngiltere
Partikül Boyutu Ölçüm Küveti	: Malvern, İngiltere
Zeta Potansiyel Ölçüm Küveti	: Malvern, İngiltere

2.2. Yarı Katı NLC Formülasyonlarının Hazırlanması

Yarı katı NLC formülasyonlarının üretilmesinde yüksek hızlı homojenizasyon ve ultrasonikasyon yöntemi kullanılmıştır. Yağ fazlarının hazırlanması için katı yağ olarak Compritol 888 ATO veya Precirol ATO 5, sıvı yağ olarak da nar çekirdeği yağı, üzüm çekirdeği yağı, argan yağı ve hindistan cevizi yağından biri 80:20 oranında kullanılmıştır. Su fazı içinse 15 mL ultra saf su ve 0,375 g Poloxamer 188 kullanılmıştır. 25mL'lik beherde önce seçilen sıvı yağın tartımı yapılmış olup sonra bu yağın üstüne belirli miktarda katı yağ ilave edilmiştir. Su fazı içinse 15 mL distile su 50 mL'lik bir behere ilave edilmiş ve Poloksamer 188® bu beherde çözündürülerek su fazı hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda su ve yağ fazları 350 rpm'de karışırken 70 °C'ye kadar ısıtılmıştır. Su fazı yağ fazına ilave edilerek, yüksek hızlı homojenizatörde 8000 rpm'de 5 dakika karıştırma işlemi yapılmış ve emülsifikasyon gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan sıcak emülsiyon ultrasonikatörde 5 dakika boyunca 70 watt güç ile sonike edilerek nano boyutta damlacıklar içeren yarı katı NLC dispersiyonları elde edilmiş ve soğutularak lipid matrisin katılaşması sağlanmıştır. Üretilen formülasyonların içerikleri ve kodları Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Formülasyonlardaki total lipid yüzdesi ve katı:sıvı lipid oranları yapılan önformülasyon çalışmalarında, yarı katı kıvam elde edilip edilememesine göre belirlenmiş olup, formülasyonların kodları içerikteki yağların baş harfi ve total lipid yüzdesi olacak şekilde oluşturulmuştur.

Çizelge 2.1. Yarı katı NLC formülasyonlarının kodları ve bileşimleri

Kod	Total Lipit (%)	Precirol® (g)	Compritol® (g)	Nar Yağı (g)	Argan Yağı (g)	Üzüm Çekirdeği Yağı (g)	Hindistan Cevizi Yağı (g)
CA 15	15	0	1,8	0	0,45	0	0
CA 20	20	0	2,4	0	0,6	0	0
CH 15	15	0	1,8	0	0	0	0,45
CH 20	20	0	2,4	0	0	0	0,6
CN 15	15	0	1,8	0,45	0	0	0
CN 20	20	0	2,4	0,6	0	0	0
CÜ 15	15	0	1,8	0	0	0,45	0
CÜ 20	20	0	2,4	0	0	0,6	0
PA 15	15	1,8	0	0	0,45	0	0
PA 20	20	2,4	0	0	0,6	0	0
PH 15	15	1,8	0	0	0	0	0,45
PH 20	20	2,4	0	0	0	0	0,6
PN 15	15	1,8	0	0,45	0	0	0
PN 20	20	2,4	0	0,6	0	0	0
PÜ 15	15	1,8	0	0	0	0,45	0
PÜ 20	20	2,4	0	0	0	0,6	0

2.3. Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.3.1. Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyel Ölçümleri

Hazırlanan yarı katı NLC formülasyonları ultra saf su içerisinde disperse edilmiş ve bu dispersiyonların partikül boyutları, polidispersite indeksleri (PDI) ve zeta potansiyelleri Malvern Zeta Sizer cihazıyla tayin edilmiştir (n=5).

2.3.2. pH Tayini

Yarı katı NLC formülasyonlarının su içerisindeki % 10'luk dispersiyonları hazırlanmış ve pH-metre kullanılarak pH değerleri ölçülmüştür. pH ölçümleri 3'er paralel olarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları (SS) hesaplanmıştır (n=3)

2.3.3. Viskozite Ölçümü

Yarı katı NLC formülasyonlarının viskoziteleri, Brookfield tipi viskozimetre ve TF 96 numaralı spindle kullanılarak 5, 10, 20, 50 ve 100 rpm'de ve oda sıcaklığında ölçülmüştür. Ölçümler 3 paralel olarak yapılmış olup elde edilen değerlerin ortalamaları ve SS'leri hesaplanmıştır (n=3).

2.3.4. Mekanik Özelliklerin Tayini

Yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özelliklerinin tayini için TA-XT plus marka Tekstür Profil Analiz (TPA) cihazı kompresyon modunda kullanılmıştır. Çalışma ortamı oda sıcaklığına ayarlanmıştır. Ölçümler, 25 mL'lik ve 3 cm çaplı cam beherler içinde yapılmıştır. Analizde 10 mm çapında persbex prob kullanılmış olup analiz esnasında prob numune içine 8 mm kadar batırılıp geri çekilmiş, 15 saniye bekleme moduna geçilip tekrardan numune içine batırılarak analiz verileri elde edilmiştir. Deneyler 3 paralel olarak yapılmıştır. Yapılan testler sonucu bulunan verilere dayanarak numunelerin sertlik, sıkıştırılabilirlik, elastikiyet, adezyon ve kohezyon değerleri hesaplanmıştır (n=3).

2.3.5. İn Vitro Oklüzyon Testi

Lipit nanopartikül dispersiyonlarının okluzif özelliğinin in vitro tayini için 50 mL'lik beherlere 30 ml distile su konmuş ve beherlerin üstü Whatman No:42 filtre kağıdı ile sıkıca kapatılmıştır. Filtre kağıdının üstüne hazırlanan yarı katı NLC formülasyonlarından 500'er mg sürülerek homojen bir şekilde yayılmıştır. Kontrol grubu olarak sadece distile su içeren ve formülasyonun uygulanmadığı beherler hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm beherler 32 °C sıcaklıktaki inkübatöre konarak başlangıçtaki, 24 ve 48. saatlerdeki ağırlıkları hassas terazi ile tayin edilmiştir. Formülasyonlar ve kontrol grubu için 3 paralel deney yapılarak oklüzyon faktörü F aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (n=3) (De Vringer, 1992).

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

A: Kontrol grubundaki nem kaybı

B: Numunenin nem kaybı

F değeri arttıkça formülasyonun okluzif etkisi artmaktadır.

2.4. Formülasyon Optimizasyonu ile Optimum Yarı Katı NLC

Formülasyonlarının Belirlenmesi

Deri yoluyla uygulanmak üzere kozmetik ya da farmasötik amaçla geliştirilen nanotaşıyıcıların en önemli özelliklerinden biri partikül büyüklüğüdür. Partikül büyüklüğü, gerek etkin maddelerin veya kozmetik aktif ajanların deri tabakalarına etkin bir şekilde hedeflendirilebilmesi için gerekse nanotoksikolojik risk açısından büyük öneme sahip kritik bir parametredir. Bu nedenle, hazırlanan yarı katı NLC formülasyonlarının hem partikül büyüklüğü değerleri hem de bu partikül büyüklüğünün dağılımı hakkında bilgi veren PDI değerleri, formülasyon optimizasyonu aşaması için kritik kalite özelliği olarak belirlenmiştir. Formülasyon optimizasyonu için formülasyon değişkenleri olarak, farklı katı lipit ve sıvı lipit tipleri ve farklı total lipit yüzdeleri değerlendirilmiştir. Bu kapsamda yarı katı NLC

formülasyonları hazırlanmış ve partikül büyüklüğü ile PDI değerleri belirlenmiştir. Yarı katı NLC formülasyonlarına ait formülasyon değişkenleri girdi olarak, elde edilen partikül büyüklüğü ve PDI verileri ise çıktı olarak RSM ile modelleme yapan MODDE® programına girilmiştir. Optimizasyon aşaması sonunda program, üç adet optimum formülasyon önermiştir. Programın önerdiği optimum yarı katı NLC formülasyonlarına ait formülasyon parametreleri Çizelge 2.2’de görülmektedir.

Çizelge 2.2. MODDE® programı tarafından önerilen optimum yarı katı NLC formülasyonlarının kodları ve bileşimleri

Kod	Compritol® ATO 888 (g)	Nar Çekirdeği Yağı (g)	Argan Yağı (g)	Üzüm Çekirdeği Yağı (g)	Hindistan Cevizi Yağı (g)
OPT A	0,8403	-	0,5457	-	-
OPT B	0,8624	-	0,5615	-	0,4414
OPT C	0,8383	-	0,5468	0,0028	-

2.5. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonlarının Hazırlanması

Optimum yarı katı NLC formülasyonları, programın önerdiği lipit tipleri ve miktarları kullanılarak Bölüm 2.2’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Bunun için katı lipit olarak Compritol 888 ATO ve sıvı yağ olarak da ya sadece argan yağı ya da argan yağı ile beraber üzüm çekirdeği yağı veya hindistan cevizi yağı kullanılmıştır. Su fazı, 15 mL ultra saf su ve 0,375 g Poloxamer 188 kullanılarak hazırlanmıştır. Her iki faz 70°C’e ısıtıldıktan sonra, su fazı yağ fazına ilave edilmiş ve yüksek hızlı homojenizatörde 8000 rpm’de 5 dakika süreyle emülsifikasyon gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan sıcak emülsiyon ultrasonikatörde 5 dakika boyunca 70 watt güç ile sonike edilerek nano boyutta damlacıklar içeren optimum yarı katı NLC dispersiyonları elde edilmiş ve soğutularak lipit matrisin katılaşması sağlanmıştır.

2.6. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.6.1. Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyel Ölçümleri

Hazırlanan optimum yarı katı NLC formülasyonları ultra saf su içerisinde disperse edilmiş ve bu dispersiyonların partikül boyutları, polidispersite indeksleri (PDI) ve zeta potansiyelleri Malvern Zeta Sizer cihazıyla tayin edilmiştir (n=5).

2.6.2. pH Tayini

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının su içerisindeki % 10'luk dispersiyonları hazırlanmış ve pH-metre kullanılarak pH değerleri ölçülmüştür. pH ölçümleri 3'er paralel olarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları (SS) hesaplanmıştır (n=3).

2.6.3. Viskozite Ölçümü

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının viskozlukları, Brookfield tipi viskozimetre ve TF 96 numaralı spindle kullanılarak 5, 10, 20, 50 ve 100 rpm'de ve oda sıcaklığında ölçülmüştür. Ölçümler 3 paralel olarak yapılmış olup elde edilen değerlerin ortalamaları ve SS'leri hesaplanmıştır (n=3).

2.6.4. Mekanik Özelliklerin Tayini

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özelliklerinin tayini için TA-XT plus marka Tekstür Profil Analiz (TPA) cihazı kompresyon modunda kullanılmıştır. Çalışma ortamı oda sıcaklığına ayarlanmıştır. Ölçümler, 25 mL'lik ve 3 cm çaplı cam beherler içinde yapılmıştır. Analizde 10 mm çapında persbex prob kullanılmış olup analiz esnasında prob numune içine 8 mm kadar batırılıp geri çekilmiş, 15 saniye bekleme moduna geçilip tekrardan numune içine batırılarak analiz verileri elde edilmiştir. Deneyler 3 paralel olarak yapılmıştır. Yapılan testler sonucu bulunan verilere dayanarak numunelerin sertlik, sıkıştırılabilirlik, elastikiyet, adezyon ve kohezyon değerleri hesaplanmıştır (n=3).

2.6.5. İn Vitro Oklüzyon Testi

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının okluzif özelliğinin in vitro tayini için, 50 mL'lik beherlere 30 ml distile su konmuş ve beherlerin üstü Whatman No:42 filtre kağıdı ile sıkıca kapatılmıştır. Filtre kağıdının üstüne hazırlanan yarı katı NLC formülasyonlarından 500'er mg sürülerek homojen bir şekilde yayılmıştır. Kontrol grubu olarak sadece distile su içeren ve formülasyonun uygulanmadığı beherler hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm beherler 32 °C sıcaklıktaki inkübatöre konarak başlangıçtaki, 24 ve 48. saatlerdeki ağırlıkları hassas terazi ile tayin edilmiştir. Formülasyonlar ve kontrol grubu için 3 paralel deney yapılarak oklüzyon faktörü F aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (n=3) (De Vringer, 1992).

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

A: Kontrol grubundaki nem kaybı

B: Numunenin nem kaybı

F değeri arttıkça formülasyonun okluzif etkisi artmaktadır.

2.6.6. Reolojik Özelliklerin Tayini

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının reolojik özelliklerinin tayini, osilasyon frekans tarama testi ile ve paralel plaka geometrisine sahip ARES reometre (TA Instruments, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma koşulları; paralel plaka çapı 40 mm, plakalar arası aralık 1 mm ve ortam sıcaklığı oda sıcaklığı (25 °C) olarak belirlenmiştir. Osilasyon frekans tarama testi 0,1 – 100 rad/sn frekans aralığında ve sabit gerinim değerinde (%1) gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda optimum yarı katı NLC formülasyonları için elastik modül (G'), viskoz modül (G'') ve kompleks viskozite (η^*) değerleri elde edilmiştir.

2.6.7. Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM) Analizi

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının TEM analizi, FEI Tecnai G2 Spirit BioTwin cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Yarı katı numuneler 1:10 oranında saf suyla disperse edilmiş ve 5-10 dakika ultrasonik banyo içerisinde bekletildikten sonra karbon film kaplı bakır gridlere 10 μ l örnek damlatıp oda sıcaklığında kurutulmuştur. TEM analizi 120 kV voltaj altında gerçekleştirilmiştir.

2.6.8. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) analizi

Lipit nanopartiküllerde lipitin yapısal özelliklerini araştırmak için DSC analizi yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda, optimum yarı katı NLC formülasyonlarının ve Compritol 888 ATO'nun DSC analizi gerçekleştirilmiştir. Optimum yarı katı NLC formülasyonları DSC analizinden önce liyofilize edilmiştir. Örnekler pan içine konarak ağızları kapatılmıştır ve 25-300°C sıcaklık aralığında, azot gazı altında ve 5°C/dk ısıtma hızında ısıtılarak DSC termogramları elde edilmiştir.

2.6.9. Stabilit e  alışmaları

Hazırlanan optimum yarı katı NLC formülasyonlarının stabilitesinin incelenmesi amacıyla, 1 ay boyunca 4 C ve 25 C’de ağız kapalı cam kavanozlar içinde saklanan formülasyonların başlangıçtaki ve 1.aydaki partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyel değerleri ölçülmüştür.



3. BULGULAR

3.1. Yarı Katı NLC Formülasyonlarına Ait Bulgular

3.1.1. Partikül Büyüklüğü, PDI ve Zeta Potansiyeli Tayinine ait Bulgular

Yarı katı NLC formülasyonlarının partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli ölçümleri Bölüm 2.3.1’de tarif edildiği üzere 5 paralel olarak yapılmış olup elde edilen sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Yarı katı NLC formülasyonlarının partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyeli değerleri

Kod	Partikül Büyüklüğü (nm) (ort $\pm$ SS)	PDI (ort $\pm$ SS)	Zeta potansiyeli (mV) (ort $\pm$ SS)
CA 15	227,5 $\pm$ 4,17	0,233 $\pm$ 0,011	-29,4 $\pm$ 0,40
CA 20	259,9 $\pm$ 6,70	0,267 $\pm$ 0,004	-30,7 $\pm$ 0,23
CH 15	288,2 $\pm$ 5,34	0,298 $\pm$ 0,026	-30,7 $\pm$ 0,44
CH 20	304,6 $\pm$ 7,93	0,239 $\pm$ 0,011	-28,7 $\pm$ 0,63
CN 15	322,9 $\pm$ 4,52	0,267 $\pm$ 0,017	-29,4 $\pm$ 0,66
CN 20	330,1 $\pm$ 3,79	0,273 $\pm$ 0,038	-33,1 $\pm$ 0,70
CÜ 15	303,2 $\pm$ 6,32	0,332 $\pm$ 0,031	-29,7 $\pm$ 0,52
CÜ 20	419,7 $\pm$ 7,97	0,343 $\pm$ 0,020	-29,7 $\pm$ 0,62
PA 15	331,9 $\pm$ 6,98	0,348 $\pm$ 0,027	-29,8 $\pm$ 0,61
PA 20	355,8 $\pm$ 4,71	0,289 $\pm$ 0,024	-25,7 $\pm$ 0,32
PH 15	265,2 $\pm$ 3,51	0,293 $\pm$ 0,028	-31,6 $\pm$ 0,69
PH 20	301,8 $\pm$ 5,08	0,309 $\pm$ 0,026	-25,4 $\pm$ 0,54
PN 15	287,0 $\pm$ 6,17	0,331 $\pm$ 0,011	-29,4 $\pm$ 1,02
PN 20	506,5 $\pm$ 21,90	0,394 $\pm$ 0,014	-30,1 $\pm$ 0,20
PÜ 15	287,8 $\pm$ 2,31	0,314 $\pm$ 0,022	-29,9 $\pm$ 0,34
PÜ 20	325,0 $\pm$ 5,85	0,342 $\pm$ 0,038	-36,0 $\pm$ 0,54

3.1.2. pH Tayinine ait Bulgular

Yarı katı NLC formülasyonlarının pH değerlerinin tespiti Bölüm 2.3.2’de anlatıldığı şekilde 3 paralel olarak yapılmış olup, elde edilen değerler Tablo 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Yarı katı NLC formülasyonlarının pH değerleri

Kod	pH (ort ± SS)
CA15	5,65±0,03
CA20	5,82±0,04
CH15	5,59±0,01
CH20	5,17±0,03
CN15	5,30±0,04
CN20	5,72±0,04
CÜ15	5,91±0,07
CÜ20	5,73±0,01
PA15	5,62±0,06
PA20	5,21±0,03
PH15	5,20±0,01
PH20	5,39±0,01
PN15	4,97±0,09
PN20	5,15±0,03
PÜ15	5,18±0,02
PÜ20	5,26±0,02

3.1.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulgular

Yarı katı NLC formülasyonlarının viskozite değerleri oda sıcaklığında ve Bölüm 2.3.3 kısmında anlatıldığı üzere 3 paralel olarak tayin edilmiş olup elde edilen bulgular Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Yarı katı NLC formülasyonlarının ortalama viskozite değerleri

Kod	Viskozite (Pa.s) (ort ± SS) 5 rpm	Viskozite (Pa.s) (ort ± SS) 10 rpm	Viskozite (Pa.s) (ort ± SS) 20 rpm	Viskozite (Pa.s) (ort ± SS) 50 rpm	Viskozite (Pa.s) (ort ± SS) 100 rpm
CA 15	63,5±8,17	28,9±2,01	13,9±0,56	5,1±0,21	2,3±1,01
CA 20	174,7±14,22	59,9±2,25	39,0±1,16	17,5±0,65	7,5±1,21
CH 15	80,9±5,99	54,7±7,11	28,6±1,22	12,4±0,33	6,9±1,36
CH 20	186,9±9,96	82,5±2,36	44,3±2,14	18,7±0,25	8,2±1,56
CN 15	69,7±8,15	37,3±2,25	21,9±0,89	5,8±0,45	0,9±1,10
CN 20	180,5±11,77	75,3±3,15	37,4±1,14	18,1±0,33	9,5±1,22
CÜ 15	67,1±5,22	34,7±1,16	18,7±0,46	8,2±0,23	4,8±0,88
CÜ 20	177,2±13,36	75,6±5,56	43,6±2,21	19,2±0,14	10,8±1,23
PA 15	62,0±5,56	32,1±1,12	13,3±0,86	4,6±0,57	2,0±0,54
PA 20	138,5±9,24	67,9±4,32	31,6±1,12	16,6±0,86	9,6±1,12
PH 15	53,6±2,24	24,3±1,01	13,5±1,12	3,2±0,26	1,6±0,10
PH 20	125,4±7,778	64,2±3,33	30,8±1,56	15,2±0,12	5,3±0,07
PN 15	79,7±8,785	35,1±1,65	15,1±0,66	5,5±0,45	2,5±0,88
PN 20	132,4±8,231	62,3±3,65	35,2±0,99	17,1±1,46	10,2±0,75
PÜ 15	57,8±3,332	23,4±2,22	8,9±0,12	3,9±0,11	1,7±0,06
PÜ 20	137,3±6,678	46,6±1,13	24,1±4,45	8,4±0,44	4,2±0,23

3.1.4. Mekanik Özelliklerin Tayinine ait Bulgular

Yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özellikleri Bölüm 2.3.4'te anlatıldığı üzere tayin edilmiş olup elde edilen sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik, koheziflik ve elastikiyet değerleri Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özellikleri

Kod	Sertlik (N) (ort $\pm$ SS)	Sıkıştırılabilirlik (ort $\pm$ SS)	Adeziflik (ort $\pm$ SS)	Koheziflik (ort $\pm$ SS)	Elastikiyet (ort $\pm$ SS)
CA 15	61,31 $\pm$ 7,75	116,01 $\pm$ 17,43	54,74 $\pm$ 8,35	0,558 $\pm$ 0,155	0,976 $\pm$ 0,022
CA 20	147,28 $\pm$ 13,41	313,17 $\pm$ 10,06	136,31 $\pm$ 7,29	0,601 $\pm$ 0,123	0,990 $\pm$ 0,017
CH 15	77,72 $\pm$ 2,28	139,13 $\pm$ 10,80	85,78 $\pm$ 2,76	0,683 $\pm$ 0,059	1,000 $\pm$ 0,000
CH 20	142,39 $\pm$ 6,87	251,68 $\pm$ 6,78	75,82 $\pm$ 4,86	0,392 $\pm$ 0,131	0,990 $\pm$ 0,052
CN 15	21,98 $\pm$ 2,33	54,24 $\pm$ 7,54	29,47 $\pm$ 3,08	0,616 $\pm$ 0,018	0,993 $\pm$ 0,011
CN 20	50,07 $\pm$ 1,66	114,66 $\pm$ 3,51	59,83 $\pm$ 5,01	0,665 $\pm$ 0,047	0,976 $\pm$ 0,040
CÜ 15	64,87 $\pm$ 2,05	134,99 $\pm$ 8,13	71,16 $\pm$ 6,17	0,490 $\pm$ 0,074	0,995 $\pm$ 0,004
CÜ 20	128,32 $\pm$ 5,89	256,75 $\pm$ 9,65	87,03 $\pm$ 5,31	0,557 $\pm$ 0,136	0,996 $\pm$ 0,080
PA 15	22,06 $\pm$ 11,64	42,12 $\pm$ 4,95	20,51 $\pm$ 3,81	0,716 $\pm$ 0,064	0,995 $\pm$ 0,006
PA 20	75,73 $\pm$ 10,80	157,88 $\pm$ 11,43	67,35 $\pm$ 9,74	0,617 $\pm$ 0,065	1,003 $\pm$ 0,006
PH 15	40,57 $\pm$ 8,33	90,33 $\pm$ 8,68	43,64 $\pm$ 11,03	0,613 $\pm$ 0,101	0,999 $\pm$ 0,011
PH 20	62,60 $\pm$ 3,49	105,60 $\pm$ 8,67	54,87 $\pm$ 10,48	0,631 $\pm$ 0,123	1,009 $\pm$ 0,018
PN 15	23,28 $\pm$ 4,11	51,17 $\pm$ 0,90	29,20 $\pm$ 1,90	0,640 $\pm$ 0,070	0,985 $\pm$ 0,004
PN 20	37,57 $\pm$ 6,87	80,77 $\pm$ 9,69	43,54 $\pm$ 3,50	0,725 $\pm$ 0,048	0,975 $\pm$ 0,019
PÜ 15	32,52 $\pm$ 4,67	73,68 $\pm$ 14,64	39,01 $\pm$ 6,00	0,636 $\pm$ 0,084	0,989 $\pm$ 0,005
PÜ 20	67,90 $\pm$ 1,63	121,24 $\pm$ 8,26	66,08 $\pm$ 5,78	0,731 $\pm$ 0,133	0,991 $\pm$ 0,014

3.1.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulgular

Yarı katı NLC formülasyonlarının in vitro oklüzyon testi Bölüm 2.3.5'de anlatıldığı şekilde 3 paralel olarak yapılmış olup, formülasyonların 24. ve 48. saatteki ortalama oklüzyon faktörü (F) değerleri ve standart sapmaları Tablo 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Yarı katı NLC formülasyonlarının 24. ve 48. saatteki oklüzyon faktörü (F) değerleri

Kod	F 24. saat (Ort ± SS)	F 48. saat (Ort ± SS)
CA 15	30,30 ± 6,53	34,65 ± 5,99
CA 20	54,20 ± 3,90	59,42 ± 4,53
CH 15	48,00 ± 4,76	50,73 ± 2,93
CH 20	43,04 ± 5,07	47,46 ± 3,52
CN 15	34,13 ± 5,04	40,04 ± 4,74
CN 20	36,90 ± 5,03	40,36 ± 1,66
CÜ 15	27,59 ± 8,75	32,06 ± 8,71
CÜ 20	43,70 ± 19,95	54,65 ± 8,84
PA 15	33,59 ± 7,04	34,47 ± 6,46
PA 20	42,24 ± 4,43	46,90 ± 3,54
PH 15	44,91 ± 4,04	49,12 ± 4,59
PH 20	34,48 ± 5,23	38,12 ± 1,60
PN 15	55,41 ± 3,22	62,00 ± 2,04
PN 20	37,99 ± 6,93	42,42 ± 6,79
PÜ 15	42,74 ± 0,92	45,62 ± 1,65
PÜ 20	55,48 ± 8,42	61,13 ± 7,68

3.2. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonlarına Ait Bulgular

3.2.1. Partikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyel Tayinine ait Bulgular

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının partikül büyüklüğü, polidispersite indeksi ve zeta potansiyelinin ölçümleri Bölüm 2.6.1’de tarif edildiği üzere 5 paralel olarak yapılmış olup elde edilen sonuçlar Çizelge 3.6’de verilmiştir.

Çizelge 3.6. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli ve polidispersite indeksleri

Kod	Partikül Büyüklüğü (nm) (ort ± SS)	PDI (ort ± SS)	Zeta Potansiyeli (mV) (ort ± SS)
OPT A	188,6±3,58	0,217±0,040	-28,1±0,61
OPT B	184,5±5,35	0,228±0,008	-33,0±0,48
OPT C	197,6±3,17	0,153±0,009	-29,8±0,82

3.2.2. pH Tayinine ait Bulgular

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının pH değerlerinin tayini oda sıcaklığında ve Bölüm 2.6.2’de anlatıldığı şekilde 3 paralel olarak yapılmış olup, elde edilen pH değerleri Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Optimum yarı katı NLC formülasyonların pH değerleri

Kod	pH (ort ± SS)
OPT A	6,23±0,12
OPT B	6,84±0,04
OPT C	6,65±0,09

3.2.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulgular

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının viskozite değerleri oda sıcaklığında ve Bölüm 2.6.3’de anlatıldığı üzere 3 paralel olarak yapılmış olup elde edilen bulgular Çizelge 3.8’de verilmiştir.

Çizelge 3.8. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının viskozluk değerleri

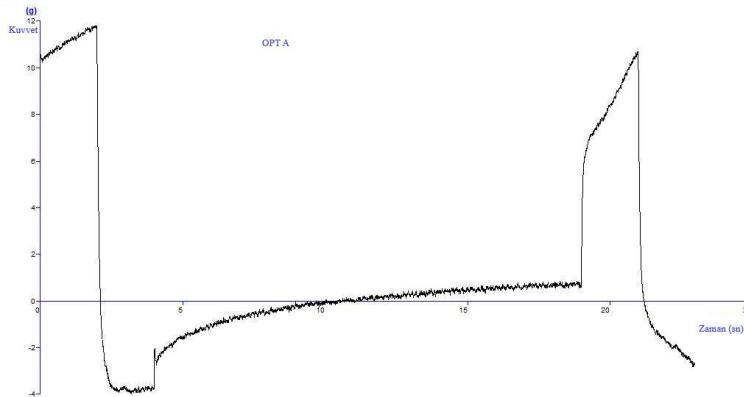
Kod	Viskozluk (Pa.s) (ort ± SS) 5rpm	Viskozluk (Pa.s) (ort ± SS) 10rpm	Viskozluk (Pa.s) (ort ± SS) 20rpm	Viskozluk (Pa.s) (ort ± SS) 50rpm	Viskozluk (Pa.s) (ort ± SS) 100rpm
OPT A	44,0±3,12	21,0±2,13	9,5±1,15	3,5±0,51	1,9±0,32
OPT B	66,0±7,01	29,0±3,25	9,9±1,99	3,6±1,62	2,3±0,92
OPT C	40,0±4,12	17,0±1,46	8,6±0,84	3,2±0,22	1,8±0,11

3.2.4. Mekanik Özelliklerin Tayinine ait Bulgular

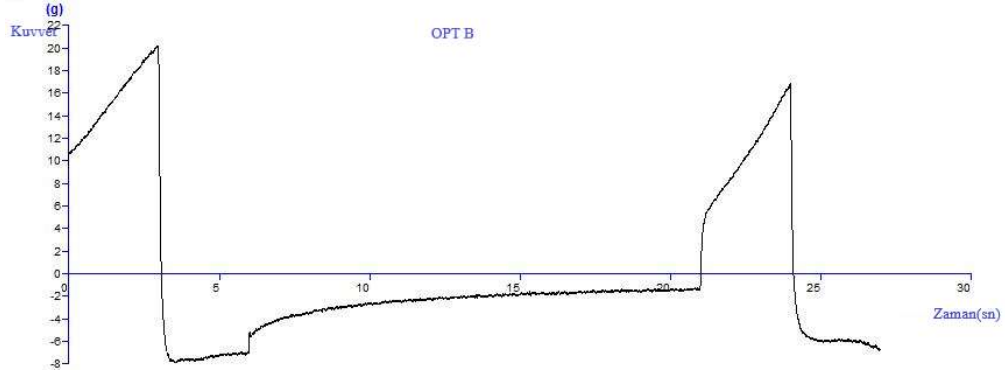
Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özellikleri Bölüm 2.6.4'te anlatıldığı gibi 3 paralel olarak yapılmış olup elde edilen sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik, koheziflik ve elastikiyet değerleri Çizelge 3.9'da verilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen eğriler Şekil 3.1 – Şekil 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.9. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının mekanik özellikleri

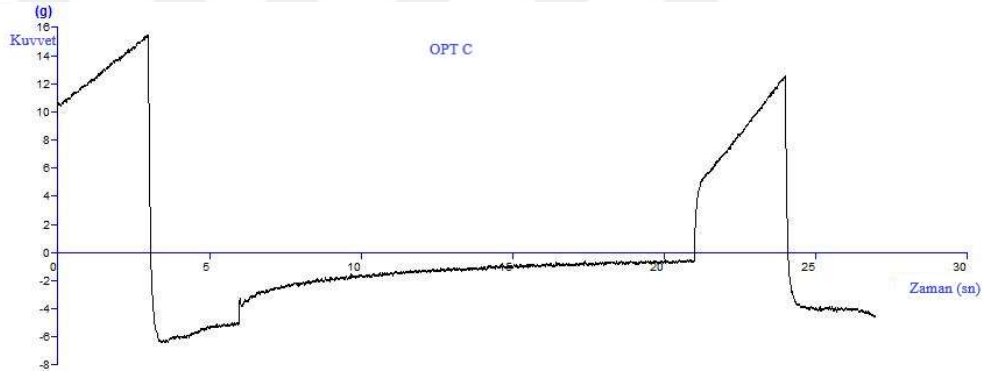
Kod	Sertlik (N) (ort ± SS)	Sıkıştırılabilirlik (ort ± SS)	Adeziflik (ort ± SS)	Koheziflik (ort ± SS)	Elastiklik (ort ± SS)
OPT A	13,28±0,60	36,13±1,32	8,55±0,78	0,957±0,039	0,971±0,019
OPT B	19,78±0,47	48,01±0,66	22,49±2,26	0,650±0,036	0,961±0,013
OPT C	16,01±1,40	40,37±2,06	14,71±1,10	0,716±0,101	0,972±0,010



Şekil 3.1. Opt A kodlu formülasyonun tekstür profil analizi eğrisi



Şekil 3.2. Opt B kodlu formülasyonun tekstür profil analizi eğrisi



Şekil 3.3. Opt C kodlu formülasyonun tekstür profil analizi eğrisi

3.2.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulgular

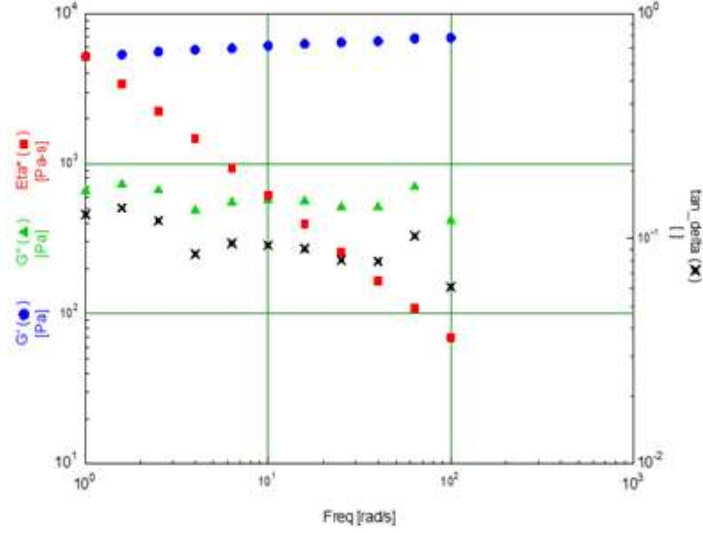
Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının in vitro oklüzyon testi Bölüm 2.6.5’de anlatıldığı şekilde 3 paralel olarak yapılmış olup, formülasyonların 24. ve 48. saatteki oklüzyon faktörü (F) değerleri Çizelge 3.10’da verilmiştir.

Çizelge 3.10. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının oklüzyon faktörü (F) değerleri

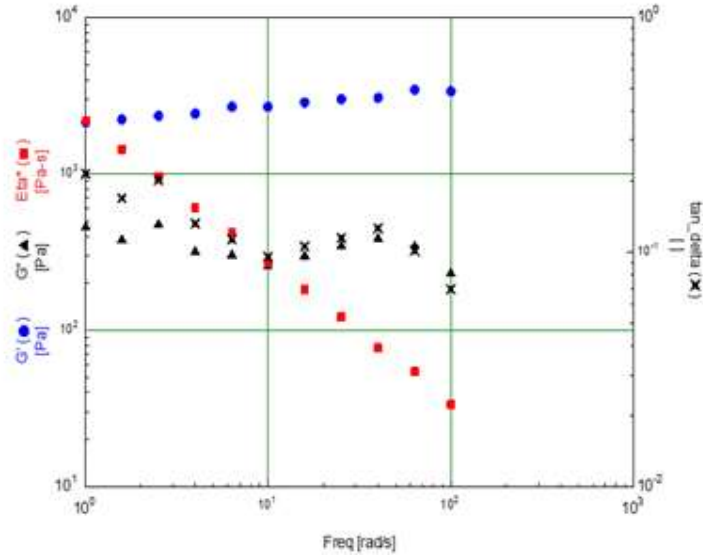
Kod	F 24.saat (Ort ± SS)	F 48.saat (Ort ± SS)
OPT A	40,24 ± 5,76	46,29 ± 2,51
OPT B	43,60 ± 1,33	49,55 ± 1,09
OPT C	56,21 ± 1,06	61,55 ± 0,90

3.2.6. Reolojik Özelliklerinin Tayinine ait Bulgular

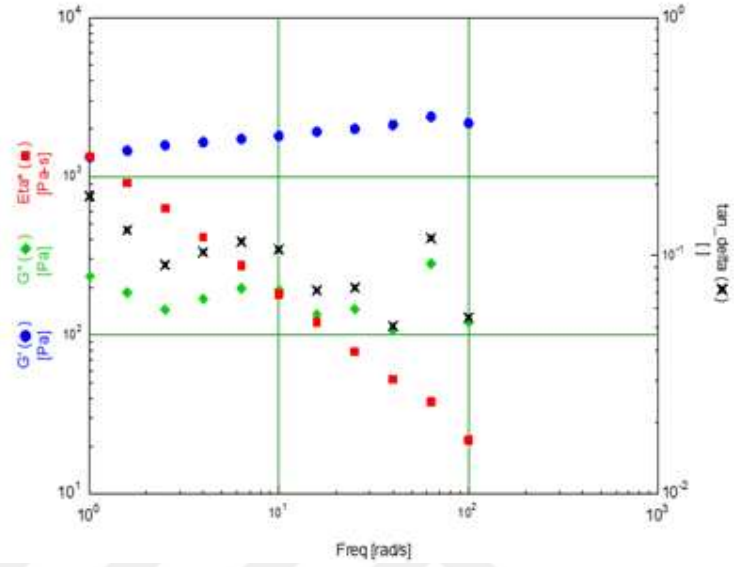
Optimum yarı katı NLC formülasyonları üzerinde gerçekleştirilen osilasyon frekans tarama testi sonucunda elde edilen bulgular Şekil 3.4- Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.4. Opt A kodlu formülasyonun osilasyon frekans tarama testi sonucu



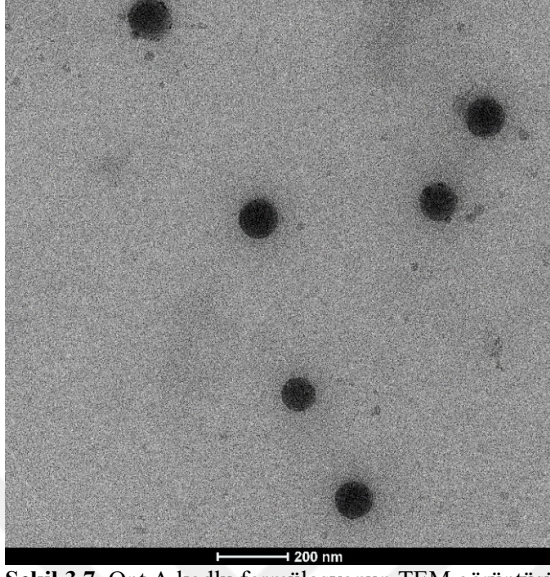
Şekil 3.5. Opt B kodlu formülasyonun osilasyon frekans tarama testi sonucu



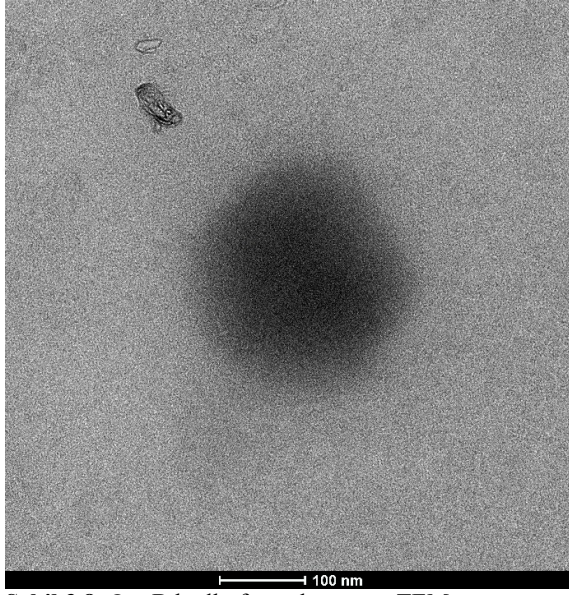
Şekil 3.6. Opt C kodlu formülasyonun osilasyon frekans tarama testi sonucu

3.2.7. TEM analizine ait Bulgular

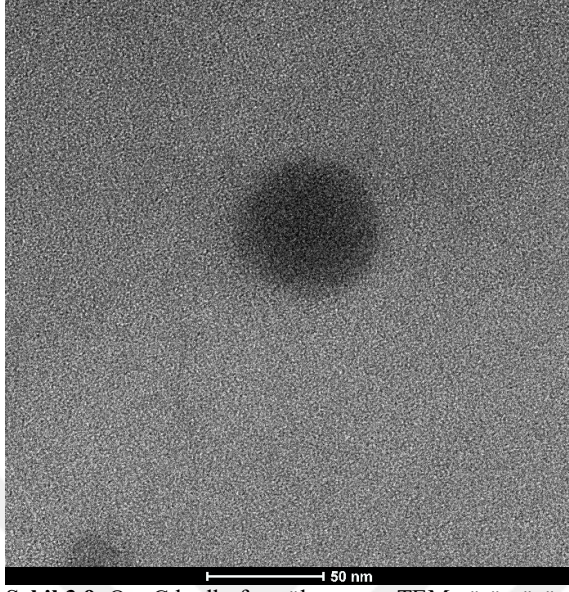
Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının TEM analizi bölüm 2.6.7.'de anlatıldığı şekilde yapılmış olup, analiz sonucunda elde edilen TEM mikrografları Şekil 3.7 – Şekil 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.7. Opt A kodlu formülasyonun TEM görüntüsü



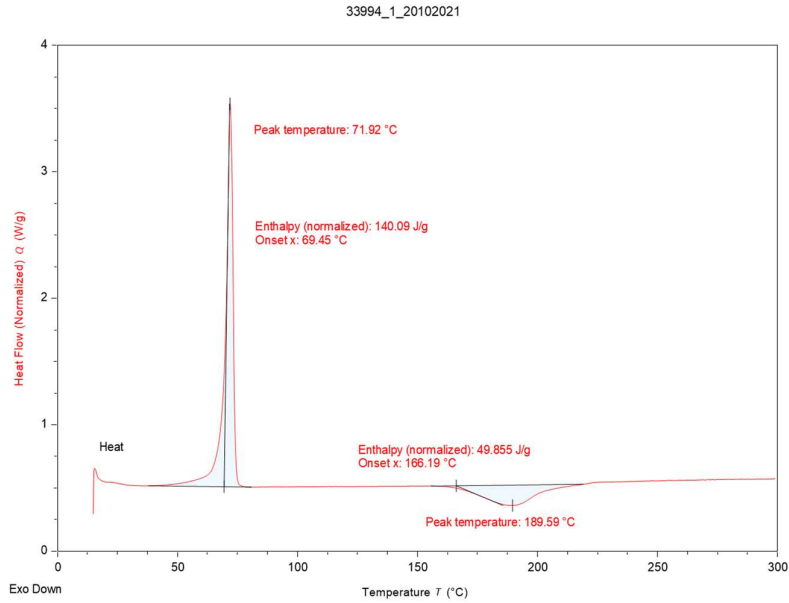
Şekil 3.8. Opt B kodlu formülasyonun TEM görüntüsü



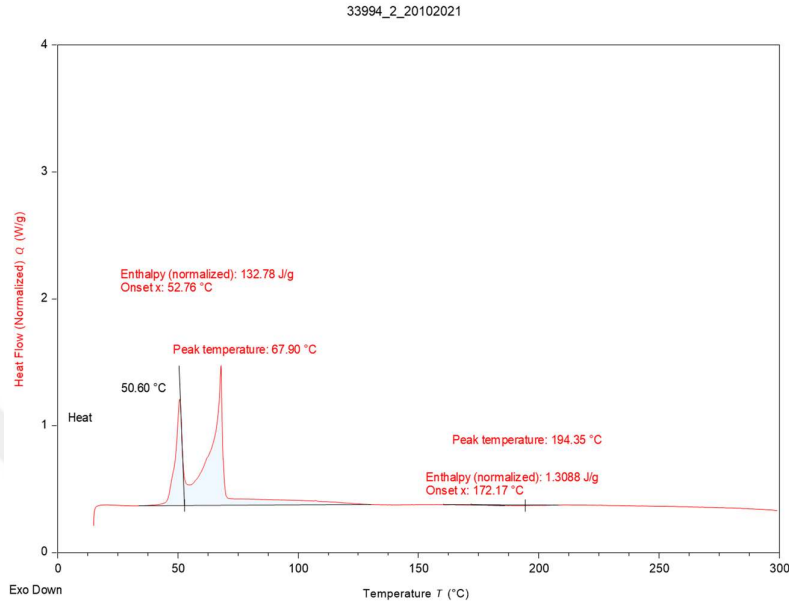
Şekil 3.9. Opt C kodlu formülasyonun TEM görüntüsü

3.2.8. DSC Analizine ait Bulgular

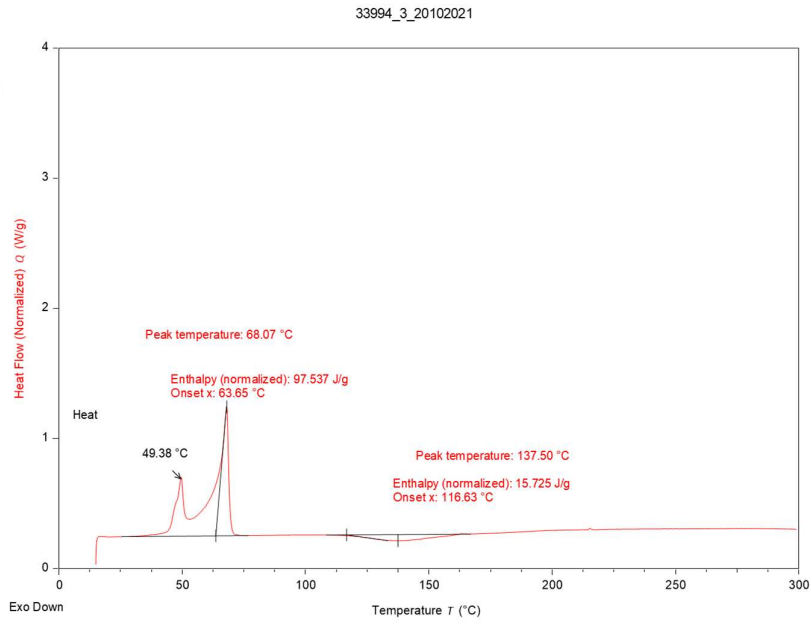
Optimum formülasyonların DSC analizleri Bölüm 2.6.8’de anlatıldığı şekilde yapılmış olup elde edilen termogramlar Şekil 3.4 – Şekil 3.7’de verilmiştir.



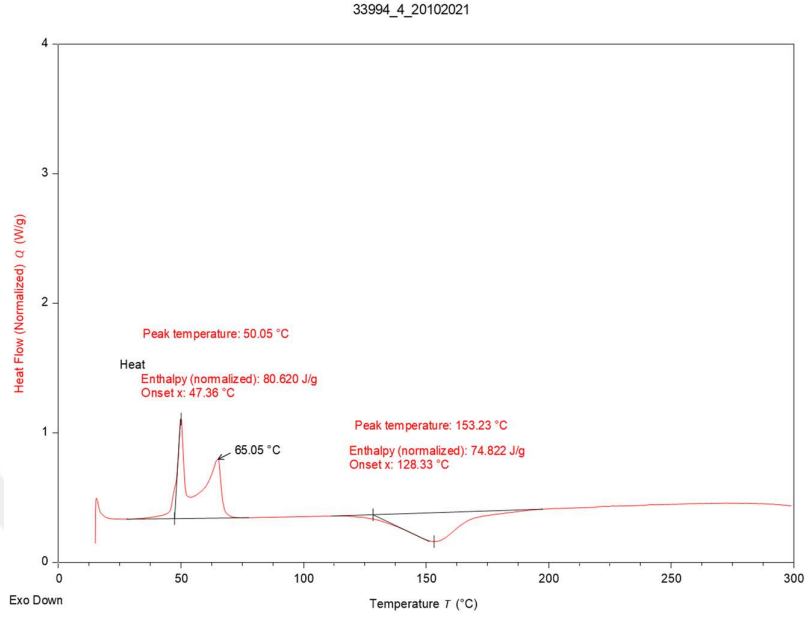
Şekil 3.10. Compritol® ATO 888’e ait DSC termogramı



Şekil 3.11. Opt A kodlu formülasyona ait DSC termogramı



Şekil 3.12. Opt B kodlu formülasyona ait DSC termogramı



Şekil 3.13. Opt C kodlu formülasyona ait DSC termogramı

3.2.9. Stabilité çalışmalarına ait Bulgular

Optimum yarı katı NLC formülasyonların stabilite çalışmaları Bölüm 2.6.9’da anlatıldığı gibi yapılmış olup, 4°C ve 25°C’de 1 ay boyunca ağzı kapalı kavanozlar içinde saklanan formüllerin partikül boyutu, PDI değeri ve zeta potansiyeli 5’er paralel olarak ölçülmüştür. Elde edilen bulgular Çizelge 3.11’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının 25°C’de stabilite sonuçları

Kod	Başlangıç			1.Ay +25°C		
	P.B. (nm)	PDI	Z.P. (mV)	P.B. (nm)	PDI	Z.P. (mV)
OPT A	188,6±3,58	0,217±0,040	-28,1± 0,61	350,3± 11,01	0,332±0,021	-35,3±1,10
OPT B	184,5±5,35	0,228±0,008	-33± 0,48	320,6±3,45	0,403±0,033	-29,8±1,18
OPT C	197,6±3,17	0,153±0,009	-29,8± 0,82	272,6±1,50	0,241±0,014	-29,4±0,17

Çizelge 3.12. Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının 4°C’de stabilite sonuçları

Kod	Başlangıç			1.Ay +4°C		
	P.B. (nm)	PDI	Z.P. (mV)	P.B. (nm)	PDI	Z.P. (mV)
OPT A	188,6±3,58	0,217±0,040	-28,1± 0,61	247,2± 3,65	0,234± 0,045	-33,9±0,49
OPT B	184,5±5,35	0,228±0,008	-33± 0,48	223,2± 7,38	0,259± 0,008	-28,8±0,39
OPT C	197,6±3,17	0,153±0,009	-29,8± 0,82	236,6± 2,50	0,195± 0,012	-29,1±0,66

4. TARTIŞMA

4.1. Yarı Katı NLC Formülasyonlarının Hazırlanmasına ait Çalışma Bulgularının Değerlendirilmesi

Yarı katı NLC formülasyonlarının üretiminde kullanılan temel bileşenler katı lipitler, sıvı lipitler ve sürfaktanlardır. Çalışmamızda, yarı katı NLC formülasyonlarının hazırlanması için katı lipit olarak Compritol 888 ATO® veya Precirol ATO 5® kullanılmıştır. Yarı katı NLC formülasyonlarının sıvı lipit bileşeni olarak ise, özellikle yüksek antioksidan özellikleri nedeniyle yaşlanma karşıtı etkinliğe sahip olan ve kozmesötik ürünlerin bileşiminde sıklıkla kullanılan sıvı yağlar olan nar çekirdeği yağı, argan yağı, üzüm çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı seçilmiş ve kullanılmıştır. Formülasyonların hazırlanması için sürfaktan olarak Poloxamer 188 seçilmiş ve % 2,5 konsantrasyonda kullanılmıştır.

% 15'in altındaki total lipit konsantrasyonları ile yapılan denemelerde, formülasyonların yarı katı formda elde edilmeleri mümkün olmamıştır. Bu nedenle total lipit konsantrasyonun % 15 ve % 20 olarak seçilmesine karar verilmiştir.

Yapılan ön denemelerde, Compritol 888 ATO® ile hazırlanan ve katı lipit : sıvı lipit oranının 80:20 olduğu yarı katı NLC formülasyonlarının kıvamlarının, 60:40 oranının kullanıldığı formülasyonlara göre daha uygun olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan, Precirol ATO 5® ile hazırlanan, total lipit oranının % 15 ve katı lipit : sıvı lipit oranının 60:40 olduğu formülasyonlarda yarı katı kıvam elde edilememiştir. Tüm bu bulgular göz önüne alındığında, çalışmanın devamında yarı katı NLC formülasyonlarının üretiminde katı lipit : sıvı lipit oranı olarak 80:20 oranı kullanılmıştır.

4.2. Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Analizlere ait Bulguların Değerlendirilmesi

4.2.1. Partikül Büyüklüğü, PDI ve Zeta Potansiyel Bulgularının Değerlendirilmesi

Hazırlanan yarı katı NLC formülasyonlarının partikül büyüklükleri Bölüm 2.3.1’de tarif edildiği üzere tayin edilmiştir. Formülasyonlardaki total lipit oranının partikül boyutu üzerinde etkisi incelendiğinde, lipit miktarı arttıkça partikül boyutunun tüm formülasyonlarda arttığı gözlenmiştir. Bu durum yarı katı NLC formülasyonlarının üretimi sırasında lipit konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak dispers fazın viskozitesinin artmasına ve bu nedenle emülsiyon damlacıklarını küçültmek için daha fazla enerjiye ihtiyaç duymasıyla açıklanabilmektedir (Shah ve ark., 2007). Çizelge 3.1 incelendiğinde %15 total lipit içeren formülasyonların, aynı lipit kombinasyonu ile hazırlanan ve %20 total lipit içeren formülasyonlara kıyasla daha küçük partikül boyutuna sahip olduğu gözlenmiştir. Compritol ile hazırlanan formülasyonların partikül büyüklüğüne sıvı lipit tipinin etkisi incelendiğinde, argan yağı ile %15 total lipit konsantrasyonunda hazırlanan CA15 kodlu formülasyonun partikül boyutunun en küçük ($227,5 \pm 4,167$ nm), üzüm çekirdeği yağı ile %20 total lipit konsantrasyonunda hazırlanan CÜ20 kodlu formülasyonun partikül boyutunun ise en büyük ($419,7 \pm 7,969$ nm) olduğu belirlenmiştir. Precirol ile hazırlanan formülasyonların partikül büyüklüğüne sıvı lipit tipinin etkisi incelendiğinde ise, hindistan cevizi yağı ile ve %15 total lipit konsantrasyonunda hazırlanan PH15 kodlu formülasyonun partikül boyutunun en küçük ($265,2 \pm 3,509$ nm), nar çekirdeği yağı ile %20 total lipit konsantrasyonunda hazırlanan PN20 kodlu formülasyonun partikül boyutunun ise en büyük olduğu ($506,5 \pm 21,90$ nm) tespit edilmiştir.

Nanopartiküler sistemlerin kalite özelliklerini değerlendirirken partikül büyüklüğüyle birlikte kullanılan en önemli parametrelerden biri de polidispersite indeksidir (PDI). PDI, nanopartiküler dispersiyonların ortalama tekdüzeliğini tahmin

etmek için kullanılır ve daha büyük PDI değerleri, daha geniş bir partikül büyüklüğü dağılımına karşılık gelir. PDI değeri ayrıca nanopartikül agregasyonu hakkında da bilgi verebilmektedir (Danaei ve ark., 2018). Çizelge 3.1 incelendiğinde, partikül büyüklüğü dağılımı en dar olan formülasyonun (PDI: $0,233\pm0,011$), partikül boyutu da en küçük olan ($227,5\pm4,167$ nm) CA15 kodlu formülasyon olduğu görülmüştür. Diğer taraftan hazırlanan tüm yarı katı NLC formülasyonlarının da PDI değeri 0,5'in altında olduğundan, tüm formülasyonların partikül büyüklüğü dağılımının kabul edilebilir değerlerde olduğu sonucuna varılmıştır.

Nanopartiküllerin yüzey yükünü tanımlayan zeta potansiyel değeri arttıkça, partiküller arası itme kuvveti artacağından, partikül büyümesi riski aynı oranda azalmaktadır. Bir başka deyişle, zeta potansiyel değeri sistemin stabilitesi ile ilgili bilgi vermektedir. Nanopartiküler sistemlerde -20 mV ve üzeri zeta potansiyel değerleri bu sistemlerin kabul edilebilir stabilizeye sahip olduğunu ifade etmekte olup, çalışmamızdaki tüm yarı katı NLC formülasyonlarının zeta potansiyel değerleri -25,4 $\pm$ 0,537 mV ile -36,0 $\pm$ 0,536 mV arasında dağılım göstermiştir (Pan ve ark., 2012).

4.2.2. pH Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Deri asidik özelliktedir ve pH'sı 4.1 ile 5.8 arasında değişmektedir (Lukic ve ark., 2021). Derinin asidik pH'a sahip olması, stratum korneum'un bariyer fonksiyonu ve homeostazisi için önemli bir etkidir. Yarı katı NLC formülasyonlarının pH değerleri Bölüm 2.3.2'de anlatıldığı gibi tayin edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2'de verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde, yarı katı NLC formülasyonlarının pH değerlerinin 4.97 ile 5.91 arasında değiştiği gözlenmiştir. Tüm formülasyonların pH değerlerinin, derinin pH'sı ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

4.2.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Yarı katı NLC formülasyonlarının viskozlukları, Brookfield tipi viskozimetre kullanılarak Bölüm 2.3.3’de anlatıldığı şekilde ölçülmüştür. Elde edilen bulgular Çizelge 3.3’de verilmiştir. Tüm yarı katı NLC formülasyonları için kayma hızı arttıkça viskozite değerlerinin azaldığı gözlenmiş ve formülasyonların plastik / pseudoplastik akış gösterdiği ve kayma ile incelen sistemler oldukları belirlenmiştir.

Formülasyonların viskozluk değerlerinin birbiriyle kıyaslanmasında, orta şiddetteki kayma hızı değerleri olan 10 ve 20 rpm’de yapılan ölçümlerde elde edilen veriler kullanılmıştır.

Aynı katı lipid ve sıvı lipid kullanılarak farklı total lipid konsantrasyonlarında hazırlanan yarı katı NLC formülasyonlarının viskozite değerleri incelendiğinde, beklendiği üzere, total lipid konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak formülasyonun viskozitesinin de arttığı gözlenmiştir.

Katı lipid olarak Compritol’ün kullanıldığı ve % 15 total lipid konsantrasyonu ile hazırlanan formülasyonlarda sıvı lipid tipinin viskozite üzerine etkisi incelendiğinde, hindistan cevizi yağı ile hazırlanan formülasyonun (CH15) viskozitesinin en yüksek olduğu belirlenmiştir. Katı lipid olarak Compritol’ün kullanıldığı ve % 20 total lipid konsantrasyonu ile hazırlanan formülasyonlar için de benzer sonuç elde edilmiş ve en yüksek viskozitenin CH20 kodlu formülasyona ait olduğu görülmüştür. Katı lipid olarak Precirol’ün kullanıldığı ve % 15 total lipid konsantrasyonu ile hazırlanan formülasyonlarda ise, sıvı lipid olarak nar yağı kullanıldığında (PN15) viskozitenin en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Precirol kullanılarak % 20 total lipid konsantrasyonu ile hazırlanan formülasyonlar için 20 rpm kayma hızında yapılan ölçümlerde, sıvı lipid olarak nar yağının kullanıldığı PN20 kodlu formülün viskozitesinin en yüksek olduğu bulunmuş ancak, 10 rpm’de yapılan ölçümlerde elde edilen viskozite sonuçları arasında anlamlı bir fark elde edilmemiştir.

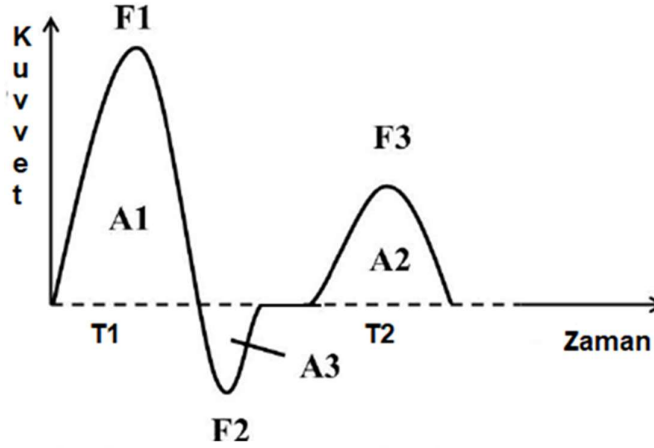
Tüm yarı katı NLC formülasyonları arasında en yüksek viskozite değerine sahip formülasyonun CH20 kodlu formülasyon olduğu tespit edilmiştir.

4.2.4. Mekanik Özelliklerin Tayinine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Tekstür analiz cihazları, ürünlerin mekanik ve yapısal özelliklerinin, ürüne çeşitli itme ve çekme kuvvetleri uygulanarak hesaplanmasına imkan veren cihazlardır. Tekstür analizi ilk defa 1963 yılında General Foods Corporation Technical Centre tarafından gıdalar üzerine uygulanmıştır (Trinh ve Glasgow 2012). Tüketici kabul edilebilirliğini belirleyen tekstür analizi parametreleri şu şekilde tanımlanır (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1):

Çizelge 4.1. Tekstür analizi parametreleri

Parametre	Tanım	
1.Sertlik	Ürünü deforme edebilmek için uygulanması gereken kuvvettir.	F noktasındaki kuvvet.
2.Sıkıştırılabilirlik	Ürünün deforme edilmesi esnasında uygulanan iş olup ilk eğri altındaki alan ile tanımlanır.	A1
3.Adeziflik	Numune ile probun arasındaki çekme kuvvetlerinin üstesinden gelmek için gereken iş miktarıdır.	A3
4.Koheziflik	Numunenin iç bağlarının bir ölçüsü olup birimi yoktur.	A2/ A1
5.Elastikiyet	Ürünün ilk sıkışma kuvveti sonrası oluşan deformasyonunun, kuvvet geri çekilmesi sonucu eski haline gelebilmesinin ölçüsüdür.	T2 / T1



Şekil 4.1. Tekstür analiz profili

Sertlik

Sertlik, yarı katı ürünün deforme edilebilmesi için uygulanması gereken kuvvet olarak tanımlanır. Tekstür analizinin ilk kuvvet uygulanması periyodunda (T1) ulaşılan maksimum kuvvettir ve birimi Newton (N)'dur. Kozmetikte bu parametre yarı katı ürünün cilde uygulanabilirliğini ifade etmektedir. Deriye uygulama kolaylığı bakımından, ürünün sertlik değerinin küçük olması tercih edilmektedir (Toksoy ve ark., 2013).

Çizelge 3.4 incelendiğinde, aynı bileşime sahip olan ve iki farklı total lipit konsantrasyonu ile hazırlanan formülasyonlarda, total lipit yüzdesi arttıkça ürünün sertliğinin arttığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, nar yağı ile hazırlanan CN15 ve PN15 kodlu formülasyonlar hariç, Compritol ile hazırlanan yarı katı NLC formülasyonlarının, katı lipit olarak Precirol'ün kullanıldığı formülasyonlara kıyasla daha yüksek sertliğe sahip olduğu gözlenmiştir. CN15 ve PN15 kodlu formülasyonların sertlik değerleri ise birbirine benzer bulunmuştur.

Sıkıştırılabilirlik

Sıkıştırılabilirlik, tekstür analizinin ilk kuvvet uygulanması esnasında ürünün deforme edilebilmesi için T1 periyodu boyunca yapılması gereken iş olarak tanımlanmaktadır. Bu parametre ilk eğri altında kalan alan (A1) ile hesaplanmaktadır ve birimi N.mm'dir (Mcmullen ve ark., 2016). Yarı katı ürünün ambalajdan rahatlıkla alınabilmesi için ve cilde rahatlıkla yayılabilmesi için sertlikle beraber değerlendirilir ve istenen bu özellikleri sağlaması için yeterince düşük bir değerde olması beklenir (Şenyiğit ve ark., 2011).

Çalışmamızda formülasyonlara ait sıkıştırılabilirlik değerlerinin sertlik değerleri ile paralel olarak değişim gösterdiği gözlenmiştir.

Adeziflik

Adeziflik, tekstür analiz cihazının prob yüzeyi ile numunenin yüzeyi arasındaki çekim kuvvetlerini yenmek için yapılması gereken iş miktarı olarak tanımlanmıştır (Mcmullen ve ark., 2016). İlk kuvvet uygulanmasının bitip probun geri çekilme aşamasında uyguladığı kuvvetle (F2) elde edilen eğrinin altında kalan alan ile hesaplanmaktadır (A3) ve birimi N.mm'dir. Kozmetik ürünün cilt üzerinde ne kadar tutunabildiğinin bir ölçüsüdür.

Çalışmamızda elde edilen adezyon sonuçlarına göre, katı lipit olarak Compritol'un kullanıldığı formülasyonların adezifliğinin, Precirol ile hazırlanan formülasyonlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sadece CN15 ve PN15 kodlu formülasyonların adeziflik değerleri birbirine benzer bulunmuştur.

Koheziflik

Koheziflik, ikinci kez sıkıştırma kuvveti uygulanan periyoddaki eğri altında kalan alanın (A2), ilk eğri altında kalan alana oranlanmasıyla elde edilen veridir (Mcmullen ve ark., 2016). Dolayısıyla birimi yoktur. Koheziflik, ürünün uygulamadan sonra yeniden yapılanmasıyla alakalı bir ölçüdür, yani ürünün cilde uygulandıktan sonra ne kadar süre yapısını koruyabildiğiyle ilişkilidir.

Çalışmamızda elde edilen koheziflik verileri incelendiğinde, CH15 ve PH15 kodlu fomülasyonlar dışında kalan tüm fomülasyonlar için, Compritol'le hazırlanan formülasyonların kohezifliğinin Precirol ile hazırlanan formülasyonlardan daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Elastikiyet

Elastikiyet, ikinci sıkıştırma sürecinin maksimum yapısal deformasyonu için gereken zamanın, ilk sıkıştırma sürecinin maksimum yapısal deformasyonu için gereken zamana oranı şeklinde tanımlanmaktadır ($T2 / T1$) ve birimi yoktur (Mcmullen, 2016). Elastikiyetin sayısal olarak düşük değerlere sahip olması, ürünün deforme olmadan önceki haline ne kadar hızlı bir şekilde dönebildiğinin yani ne kadar elastik olduğunun bir göstergesidir.

Cilde uygulanan yarı katı kozmetiklerde elastikiyet değerinin 1'e yakın olması, ürünlerin yüksek elastikiyete sahip olduğunu göstermekte ve tercih edilmektedir. Elde edilen elastikiyet sonuçları incelendiğinde, formülasyonların elastikiyet değerinin 1 veya 1'e çok yakın olduğu ve yeterli elastikiyet özelliğine sahip olduğu gözlenmiştir (Badıllı ve ark., 2017).

4.2.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Epidermal su kaybına karşı cildi fiziksel olarak örterek derinin nemli kalmasını sağlayan maddelere oklüzif maddeler denmektedir. Lipit nanopartikül dispersiyonları, deriye uygulandıklarında stratum korneum üzerinde adeziv bir film tabakası oluşturup oklüzif etki göstererek ciltten nem kaybını önlerler (Numanoğlu ve Tarımcı, 2006a).

Hazırlanan yarı katı NLC sistemlerinin in vitro oklüzif etkisini belirleyebilmek için Bölüm 2.3.5’de anlatıldığı şekilde in vitro oklüzyon testi yapılmış ve oklüzyon faktörü (F değeri) hesaplanmıştır. Çizelge 3.5’te formülasyonların F değerleri verilmiştir. CH15, CH20, PH15, PH20, PN15 ve PN20 kodlu yarı katı NLC formülasyonları dışındaki tüm formülasyonların F değerinin, total lipit yüzdesinin artmasına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.

4.3. Formülasyon Optimizasyonu Çalışmalarına ait Bulguların Değerlendirilmesi

Nanopartiküllerin farmasötik ya da kozmetik amaçla deriye uygulanmasında partikül büyüklüğü çok kritik bir parametredir. Nanopartiküllerin deri tabakalarına penetrasyonunda ve taşıdıkları kozmetik aktif ajanı hedef deri tabakasına ulaştırabilmelerinde partikül büyüklüğünün etkisi çok büyüktür. Bu nedenle çalışmamızda hazırlanan yarı katı NLC dispersiyonlarının partikül büyüklüğü, formülasyon optimizasyonundaki kritik kalite özelliği olarak belirlenmiştir. Nanopartiküllerin partikül büyüklüğü 300 nm ve altında olduğunda, başlıca kıl folikülleri aracılığıyla deri tabakalarına penetrasyon gerçekleşmektedir (Lademann ve ark, 2006). Ancak, nanotoksikolojik risklerin önlenmesi ya da azaltılabilmesi için de partikül büyüklüğünün 100 nm’den küçük olmaması gerekmektedir (Keck ve Müller, 2013). Bu hususlar göz önüne alınarak, optimum formülasyonun partikül büyüklüğünün 100 – 300 nm arasında ve ortalama 200 nm civarında olması hedeflenmiştir.

Partikül büyüklüğü kadar önemli bir diğer parametre de partikül büyüklüğü dağılımının ne kadar dar ya da geniş olduğu hakkında bilgi veren PDI değeridir. Formülasyonun PDI değerinin büyük olması, partikül büyüklüğü dağılımının geniş olduğunu ifade etmektedir. Literatürde PDI için farklı sınır değerler verilmekle beraber, bu değer 0,5'in altında olmasının dar bir partikül büyüklüğü dağılımına işaret ettiği söylenebilir (Bhaskar ve ark., 2009; Homayouni ve ark., 2019). Çalışmamızda formülasyon optimizasyonu için ikinci kritik kalite özelliği olarak PDI değeri belirlenmiş ve dar bir büyüklük dağılımını garanti altına alabilmek için bu değerin 0,25'in altında olması hedeflenmiştir.

Formülasyon optimizasyonu için RSM prensibi ile çalışan MODDE® programı kullanılmıştır. Programın önerdiği üç adet optimum formülasyonun bileşimi Çizelge 2.2'de verilmiştir. Program tarafından önerilen modellerin r^2 değerlerinin 0,5 ve üzerinde olması modelin uygunluğunu göstermekte olup çalışmamızda programın önerdiği 3 model için de r^2 değerleri 0,5'ten büyük bulunmuş ve modellerin güvenilir olduğu değerlendirilmiştir. Optimum yarı katı NLC formülasyonları, programın önerdiği lipit tipleri ve miktarları kullanılarak Bölüm 2.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Bunun için katı lipit olarak Compritol 888 ATO ve sıvı yağ olarak ya sadece argan yağı ya da argan yağı ile beraber üzüm çekirdeği yağı veya hindistan cevizi yağı kullanılmıştır.

4.4. Optimum Yarı Katı NLC Formülasyonları Üzerinde Yapılan Analizlere ait Bulguların Değerlendirilmesi

4.4.1. Partikül Büyüklüğü, PDI ve Zeta Potansiyel Bulgularının Değerlendirilmesi

Optimum formülasyonların partikül büyüklüğü, PDI ve zeta potansiyeli değerleri Bölüm 2.6.1’de anlatıldığı şekilde tayin edilmiştir. OPT A, OPT B, OPT C kodlu optimum formülasyonların partikül büyüklükleri sırasıyla $188,6\pm3,58$; $184,5\pm5,35$ ve $197,6\pm3,17$ nm olarak bulunmuştur. OPT A ve OPT B kodlu formülasyonların partikül büyüklükleri arasındaki fark anlamlı değilken ($p>0,05$), OPT C kodlu formülasyonun partikül büyüklüğü diğer iki formülasyondan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer taraftan, daha önce hazırlanmış olan yarı katı NLC formülasyonları içerisinde en küçük partikül boyutuna sahip formülasyonun partikül büyüklüğü 227,5 nm iken, optimum NLC formülasyonlarının partikül büyüklüklerinin 200 nm’den küçük ve hedeflenen aralık içerisinde olduğu belirlenmiştir.

OPT A, OPT B, OPT C kodlu optimum formülasyonların PDI değerlerinin sırasıyla $0,217\pm0,040$; $0,228\pm0,008$ ve $0,153\pm0,009$ olduğu belirlenmiştir. OPT C Kodlu formülasyonun PDI değerinin diğer optimum formülasyonlara kıyasla önemli ölçüde küçük olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Her üç optimum formülasyon için elde edilen PDI değerlerinin 0,25’den küçük olduğu ve hedeflenen değerlere ulaşılabilirdiği sonucuna ulaşılmıştır.

OPT A kodlu formülasyon sadece Compritol ve argan yağından oluşmakta iken, OPT B kodlu formülasyonun bileşiminde bunların yanı sıra hindistan cevizi yağı, OPT C kodlu formülasyonun bileşiminde ise hindistan cevizi yağı yerine üzüm çekirdeği yağı yer almaktadır. Formülasyonda argan yağı ile beraber hindistan cevizi yağı

kullanılmasının partikül büyüklüğünü azalttığı ve PDI değerini artırdığı gözlenirken, hindistan cevizi yağı yerine üzüm çekirdeği yağı eklenmesinin partikül büyüklüğünü artırdığı ve PDI değerini önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir.

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının zeta potansiyel değerlerinin -28,1 mV ile -33,0 mV arasında değiştiği tespit edilmiştir. Formülasyonların zeta potansiyel değerleri -20 mV'tan büyük olduğundan formülasyonlarının stabil oldukları sonucuna varılmıştır.

Elde edilen tüm bu veriler incelendiğinde, optimum formülasyonların 100-300 nm aralığında ve ortalama 200 nm civarında üretilmesinin başarıldığı sonucuna ulaşılmıştır. Buna ek olarak PDI değerlerinin de azaltılması sağlanmış ve daha tekdüze partikül büyüklüğüne sahip formülasyonlar elde edilebilmiştir.

4.4.2. pH Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının pH değerlerinin tayini oda sıcaklığında ve Bölüm 2.6.2'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Optimum formülasyonların pH değerleri birbirine yakın ve $6,23 \pm 0,115$ ile $6,84 \pm 0,035$ arasında bulunmuş olup, elde edilen bu değerlerin deri pH'sı ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.

4.4.3. Viskozite Ölçümlerine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının viskozite ölçümleri Bölüm 2.6.3'de anlatıldığı gibi yapılmış olup sonuç olarak elde edilen bulgular Çizelge 3.8'de verilmiştir.

Optimum formülasyonların viskozitesinin artan kayma hızları ile azaldığı ve plastik / pseudoplastik akış gösterdikleri belirlenmiştir. Tüm kayma hızları için

Compritol, argan yağı ve hindistan cevizi yağı ile hazırlanan OPT B kodlu optimum formülasyonun viskozitesinin diğerlerinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 5 ve 10 rpm kayma hızlarında yapılan ölçümlerde elde edilen viskozluk verileri değerlendirildiğinde, OPT A ve OPT C formülasyonlarının viskoziteleri arasında anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$); ancak, OPT B kodlu formülasyonun viskozitesinin diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı seviyede büyük olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Daha yüksek kayma hızlarında ise, üç optimum formülasyonun viskoziteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p>0,05$). Her üç optimum formülasyondaki Compritol ve argan yağı miktarlarının birbirine yakın olduğu göz önüne alındığında, hindistan cevizi yağının varlığının OPT B'nin diğer formülasyonlardan daha yüksek bir viskoziteye sahip olmasına katkıda bulunduğu düşünülmüştür.

4.4.4. Mekanik Özelliklerin Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının tekstür profil analizleri Bölüm 2.6.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Çizelge 3.9'da görüldüğü üzere, Compritol, argan yağı ve hindistan cevizi yağı ile hazırlanan OPT B kodlu formülasyonun sertlik, sıkıştırılabilirlik ve adeziflik değerlerinin, diğer iki optimum yarı katı NLC formülasyonuna ait değerlerden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, Compritol, argan yağı ve üzüm çekirdeği yağı ile hazırlanan OPT C kodlu formülasyona ait sertlik, sıkıştırılabilirlik ve adeziflik değerlerinin de sadece Compritol ve argan yağı ile hazırlanan OPT A kodlu formülasyondan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Yarı katı ürünün ambalajdan rahat alınabilmesi, deriye kolay uygulanıp yayılabilmesi için sıkıştırılabilirlik ve sertlik değerlerinin yeterince küçük olması beklenmektedir. Her üç optimum formülasyonun sertlik ve sıkıştırılabilirlik değerleri, ambalajdan alınabilme ve deriye kolay uygulanabilme kriterleri açısından uygun olmakla beraber, OPT A kodlu formülasyonun en düşük sertlik ve sıkıştırılabilirlik değerlerine sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Adeziflik değeri ise, kozmetik preparatın cilde uygulandıktan sonra ciltte kalabilme yeteneğinin bir göstergesi olduğundan, bu değerin büyük olması tercih edilmektedir. Her üç optimum formülasyonun adeziflik değerleri, ürünün ciltte kalabilme kriteri bakımından yeterli olmakla beraber, OPT B kodlu formülasyonun adeziflik değerlerinin, diğer iki optimum yarı katı NLC formülasyonundan daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve adeziflik özelliği bakımından diğer iki optimum formülasyondan daha uygun olabileceği yorumu yapılmıştır.

Koheziflik, kozmetik ürünü cilde uyguladıktan sonra ne kadar süre yapısal formunu koruduğunun bir göstergesi olup, elde edilen optimum formülasyonların koheziflik değerlerinin 0,957 ile 0,650 arasında değiştiği ve ürün performansı açısından uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Elastikiyet değeri ise, cilde uygulanan kozmetik ürünün yapısal deformasyon sonrası ne kadar sürede eski haline dönebildiğinin bir ölçütüdür ve elastikiyet değerinin sayısal olarak küçük olması ürünün ne kadar elastik olduğunu göstermektedir. Hazırlanan optimum yarı katı NLC formülasyonlarının tümünün elastikiyet değerinin 1'e yakın olduğu belirlenmiş ve dermal uygulama için istenen yüksek elastikiyet özelliğine sahip olduğu yorumu yapılmıştır (Toksoy ve ark., 2013; Badıllı ve ark., 2017).

4.4.5. İn Vitro Oklüzyon Testine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının in vitro oklüzyon testi Bölüm 2.6.5'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş, 24. ve 48. saatteki F değerleri Çizelge 3.6'da verilmiştir. Compritol ve argan yağı ile hazırlanan OPT A kodlu formülasyon ile Compritol, argan yağı ve hindistan cevizi yağı ile hazırlanan OPT B kodlu formülasyonun F değerleri birbirine yakın olmakla beraber, OPT B kodlu formülasyonun F değerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Compritol, argan yağı ve üzüm çekirdeği yağı ile hazırlanan OPT C kodlu optimum formülasyonun F

değerinin ise diğer iki optimum formülasyondan önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Bu sonuçlar, formülasyona eklenen sıvı yağ cinsi ve miktarının okluzif özellik üzerinde etkisi olduğunu göstermiştir.

4.4.6. Reolojik Analiz Bulgularının Değerlendirilmesi

Maddeye uygulanan kuvvetle maddenin nasıl akış göstereceğini veya deforme olacağını inceleyen bilim dalına “reoloji” denmektedir. Reoloji, kozmetik ürünlerde ürünün ambalajdan rahat alınabilirliği, cilde kolay uygulanabilirliği ve stabilitesi ile ilgili konuları kapsadığı için müşteri memnuniyeti açısından önemli bir özellik olarak öne çıkmaktadır.

Emülsiyon yapısındaki formülasyonların reolojik özellikleri incelenirken damlacıkların birbirleriyle etkileşimleri önem kazanmaktadır. Bir emülsiyona kuvvet uygulandığında damlacıklar 3 boyutlu etkileşime girerek ve bir ağ yapısı özelliği göstererek enerjiyi depolama eğilimi gösterirler. Buna ilave olarak, uygulanan kuvvete direnç göstererek enerjinin bir kısmı emilir, dolayısıyla akmaya karşı bir dirençte vardır. Emülsiyon tipi sistemlerin bu şekildeki davranışları viskoelastik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. İdeal viskoz bir madde kendisine verilen tüm enerjiyi emer ve kaybederken, ideal elastik bir madde kendisine uygulanan enerjinin tümünü depolama ve geri verme eğilimi göstermektedir.

Viskoelastik davranış gösteren ürünlerin bu özelliklerini tayin etmek için osilasyon testleri kullanılmaktadır. Osilasyon testlerinde yukarıda açıklanan elastiklik davranışı storage modül (G') , viskozluk davranışı da loss modül (G'') parametreleriyle açıklamaktadır. G'/G'' oranı da ürünün elastiklik davranışını açıklamaktadır. Elastik davranışın daha fazla olması emülsiyonun daha kararlı olduğunu göstermektedir (Yazan, 2002).

OPT A, OPT B, OPT C formülasyonlarının reolojik analizleri Bölüm 2.6.6’da açıklandığı şekilde yapılmış ve elde edilen grafikler Şekil 3.8 –Şekil 3.10’da verilmiştir. Tüm frekans aralığı boyunca, storage modül (G') değerinin loss modül (G'') değerinden oldukça yüksek olduğu üç formülasyon için de gözlenmiştir. Bu sonuçlar, her üç optimum formülasyonun da belirtilen frekans aralığında viskoz özellikten daha çok elastik özellik gösterdiğini ve jel benzeri bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, frekans artışı ile storage modül (G')’de belirgin olmayan bir artış ve loss modül (G'') değerinde belirgin olmayan bir azalma yani her iki parametrenin de uygulanan frekansa zayıf bağımlılık gösterdiği tespit edilmiştir. Kompleks viskozite (η^*) değerlerinin de frekans arttıkça azaldığı gözlenmiştir. Elde edilen bu bulguların viskoelastik sistemler için spesifik olduğu söylenebilir (Lippacher ve ark., 2001; Lippacher ve ark., 2004).

4.4.7. TEM Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi

Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının TEM analizi Bölüm 2.6.7’de anlatıldığı şekilde yapılmış ve TEM mikrografları Şekil 3.11 – Şekil 3.13’de verilmiştir. Elde edilen TEM mikrografları OPT A, OPT B, OPT C kodlu formülasyonlarının küresel şekle sahip lipid nanopartiküller içerdiğini ortaya koymuştur.

4.4.8. DSC Analizine ait Bulguların Değerlendirilmesi

DSC, numunedeki fiziksel veya kimyasal değişimler sonucu oluşan termal geçişleri inceleyen bir cihazdır. Çalışma prensibi, test edilecek numune ile referansın aynı sıcaklıkta tutulması için verilmesi gereken enerjiyi ölçme esasına dayanmaktadır. Ölçüm sonuçlarını etkileyen parametreler arasında; ısıtma hızı, maddenin yapısı,

partikül büyüklüğü ve dağılımı ve konsantrasyon sayılabilmektedir (Takka ve ark., 2006).

Lipit nanopartiküllerde lipitin yapısal özelliklerini araştırmak için DSC analizi yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda, optimum yarı katı NLC formülasyonlarının ve Compritol 888 ATO'nun DSC analizi Bölüm 2.6.8'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş ve elde edilen termogramlar Şekil 3.10 – Şekil 3.13'de verilmiştir.

Compritol'e ait DSC termogramı incelendiğinde Compritol'ün 71.92°C'de endotermik erime piki verdiği görülmüştür. Elde edilen bu bulgunun literatür verileriyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Hamdani ve ark., 2003). Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının DSC termogramları incelendiğinde ise, Compritol'e ait endotermik erime pikinin daha düşük sıcaklık değerlerine doğru kayarak, yaklaşık 50 °C ve 68 °C'de iki pik verecek şekilde ikiye bölündüğü belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgular ışığında, formülasyon yapısına giren sıvı lipitlerin ve formülasyonun üretimi sırasındaki işlem basamaklarının katı lipitin erime sıcaklığında kaymaya neden olduğu sonucuna varılmıştır.

4.4.9. Stabilité Çalışmalarına ait Bulguların Değerlendirilmesi

Herhangi bir koruyucu madde eklenmeden üretilen optimum formülasyonların stabilite çalışmaları Bölüm 2.6.9'da anlatıldığı gibi yapılmış olup elde edilen bulgular Bölüm 3.2.9'da verilmiştir. 1 ay boyunca 4°C ve 25°C'de ağzı kapalı cam kavanozlar içinde saklanan formülasyonların başlangıçtaki ve 1.aydaki partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyel değerleri ölçülmüştür.

4 °C'de saklanan örneklerin partikül büyüklükleri tayin edildiğinde, 1. ay sonunda üç optimum formülasyonun da partikül büyüklüklerinin arttığı; OPT A kodlu formülasyonun partikül boyutunun 188,6 nm'den 247,2 nm'e, OPT B kodlu

formülasyonun partikül boyutunun 184,5 nm'den 223,2 nm'e ve OPT C kodlu formülasyonun partikül boyutunun da 197,6 nm'den 236,6 nm'e çıktığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, 1 ay sonundaki partikül büyüklüklerinin 300 nm'den küçük ve hedeflenen aralık içinde olduğu tespit edilmiştir.

25 °C'de saklanan formülasyonların partikül boyutu ve PDI değerlerinde ise, 1 ay sonunda çok daha büyük artışlar meydana geldiği gözlenmiştir. OPT A kodlu formülasyonun partikül boyutunun 188,6 nm'den 350,3 nm'e, OPT B kodlu formülasyonun partikül boyutunun 184,5 nm'den 320,6 nm'e ve OPT C kodlu formülasyonun partikül boyutunun da 197,6 nm'den 272,6 nm'e çıktığı belirlenmiştir. OPT A ve OPT B kodlu formülasyonların PDI değerlerinin de sırasıyla 0.217'den 0,332'ye ve 0,228'den 0,403'e çıktığı tespit edilmiştir. OPT C kodlu formülasyonun PDI değerinde de bir artış olmuş ve 0,153'den 0,241'e yükselmiştir ancak, hedeflenen 0,25 değerinin altında kalmıştır.

Bu bulgular ışığında, formülasyonların 4°C'de saklanması uygun olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, OPT C kodlu formülasyonun 25 °C'de 1 ay süreyle saklanması sonucunda elde edilen partikül büyüklüğü ve PDI değerleri, diğer iki optimum formülasyondan farklı olarak, hedeflenen limitler içinde kalmıştır. Tüm bulgular birlikte değerlendirildiğinde, OPT C kodlu formülasyonun stabilitesinin diğer iki optimum formülasyondan daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yarı katı lipit nanopartikül dispersiyonlarının kozmetik alanda kullanımlarının değerlendirilmesinin amaçlandığı bu tez çalışmasında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

- Antioksidan özellikleri nedeniyle önemli yaşlanma karşıtı etkinlikleri olan sıvı lipitler ile ve yüksek hızda homojenizasyon ve ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak yarı katı NLC formülasyonları başarıyla hazırlanmıştır. Hazırlanan yarı katı NLC dispersiyonları, tüketicinin kullanımına sunulacak ürünün tek adımlı bir proses sonunda, daha kısa zamanda ve daha düşük maliyet ile hazırlanmasına olanak tanıyan avantajlı sistemlerdir.
- Kritik kalite özelliği olarak partikül büyüklüğü ve PDI değeri belirlenmiş, RSM metodolojisi ile çalışan MODDE® programı kullanılarak formülasyon optimizasyonu çalışmaları başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon aşaması sonunda programın önerdiği formülasyon parametreleri kullanılarak OPT A, OPT B, OPT C kodlu optimum yarı katı NLC formülasyonları hazırlanmıştır.
- Elde edilen optimum formülasyonların partikül büyüklüklerinin ve PDI değerlerinin, başta hazırlanan yarı katı NLC formülasyonlarından daha küçük ve hedeflenen aralıkta olduğu belirlenmiştir.
- Optimum yarı katı NLC formülasyonlarının in vitro karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiş ve 1 aylık stabiliteleri incelenmiştir.
- Optimum formülasyonların duyuşal değerlendirmeleri ile elde edilen sonuçlar ve okluzif, reolojik ve mekanik özellik bulguları bir arada değerlendirildiğinde, üç optimum formülasyonun kozmetik kriterler ve tüketici memnuniyeti açısından uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Diğer taraftan, OPT C kodlu formülasyonun stabilitesinin ve okluzif özelliğinin diğer iki optimum formülasyondan daha iyi olduğu belirlenmiştir.
- OPT C kodlu formülasyona yaşlanma karşıtı etkinliği bulunan kozmetik aktif ajan eklenerek geliştirilen formülasyonun in vitro karakterizasyonun yapılması ve yaşlanma karşıtı etkinliğinin in vivo olarak gösterilmesi gelecekte planlanan çalışmalar içerisinde yer almaktadır.

Elde edilen bütün bulgular birlikte değerlendirildiğinde, diğerlerinden daha stabil olan OPT C kodlu formülasyonun amaca en uygun formülasyon olduğu sonucuna varılmıştır.



ÖZET

Yarı katı Lipit Nanopartikül Dispersiyonlarının Kozmetik Kullanımlarının Değerlendirilmesi

Global kozmetik marketinde yaşlanma karşıtı ürünlere olan talep gün geçtikçe artarak devam etmektedir. Yaşlanma karşıtı etkinlikleri olan bitkisel kaynaklı hammaddeleri içeren kozmesötik / dermokozmetik ürünler piyasada önemli bir yer tutmaktadır. Klasik kozmetik formülasyonları içinde kozmetik aktif ajanların formüle edilmeleri stabilite, geçimsizlik ve dermal yararlanım problemlerinden dolayı sınırlıdır. Kozmetik taşıyıcı sistemler, kozmetik aktif ajanların stabilite problemlerinin ortadan kaldırılması ve etkinliğin artırılması için çok önemli bir yere sahiptir.

Çalışmamızda antioksidan özellikleri nedeniyle yaşlanma karşıtı etkinlik gösteren nar çekirdeği yağı, argan yağı, üzüm çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı seçilmiş ve bu sıvı lipitler ile yarı katı NLC dispersiyonları hazırlanmıştır. Lipit nanopartiküllerin biyouyumlu taşıyıcı sistemler olmaları ve organik çözücü kullanılmadan endüstriyel ölçekte üretilebilmeleri, kozmetik / kozmesötik ürün tasarımı için çok tercih edilen taşıyıcı sistemler olmaları sonucunu doğurmuştur. Yarı katı lipit nanopartikül dispersiyonları ise, tek adımlı bir proses ile tüketicinin kullanımına sunulabilecek ürünü elde etme avantajını sağlayan yeni nesil lipit nanopartikül sistemleridir.

Çalışmanın ilk aşamasında %15 ve %20 total lipit oranına sahip 16 adet yarı katı NLC formülasyonu üretilip partikül büyüklüğü, PDI ve zeta potansiyel analizi, mekanik özellik ve viskozite tayini, pH analizi, in vitro oklüzyon testi gibi in vitro karakterizasyon testleri yapılmıştır. RSM metodolojisi ile çalışan MODDE® programıyla formülasyon optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve üç adet optimum formülasyon elde edilmiştir. Programın önerdiği optimum formülasyonlar üzerinde yukarıda sayılan in vitro karakterizasyon çalışmalarına ek olarak DSC analizi, TEM analizi ve reolojik özelliklerin tayini yapılmış ve nanopartiküler sistemlerin karakterizasyonu detaylandırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre optimum yarı katı NLC dispersiyonlarının hedeflenen partikül büyüklüğü ve PDI aralığında olduğu, küresel partiküllerden oluştuğu, tüketiciye sunulabilecek kalitede mekanik özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Bitkisel yağlar, Lipit nanopartikül, Yarı katı NLC dispersiyonu, Yaşlanma karşıtı kozmetikler

SUMMARY

Evaluation of Cosmetic Usage of Semi Solid Lipid Nanoparticle Dispersions

The demand for anti-aging products in the global cosmetics market continues to increase day by day. Cosmeceutical / dermocosmetic products containing plant-derived raw materials with anti-aging activities occupy an important place in the market. The formulation of cosmetic active agents in conventional cosmetic formulations is limited due to stability, incompatibility and dermal availability problems. Cosmetic carrier systems have a very important place in eliminating the stability problems of cosmetic active agents and increasing the effectiveness.

In our study, pomegranate seed oil, argan oil, grape seed oil and coconut oil, which show anti-aging activity due to their antioxidant properties, were selected and semi-solid NLC dispersions were prepared with these liquid lipids. The fact that lipid nanoparticles are biocompatible carrier systems and can be produced on an industrial scale without the use of organic solvents has resulted in them being the most preferred carrier systems in cosmetic / cosmeceutical product design. Semi-solid lipid nanoparticle dispersions are new generation lipid nanoparticle systems that provide the advantage of obtaining the product that can be offered to the consumer with a one-step process.

In the first stage of the study, 16 semi-solid NLC formulations with 15% and 20% total lipid ratios were produced and in vitro characterization tests such as particle size, PDI and zeta potential analysis, mechanical property and viscosity determination, pH analysis, in vitro occlusion test were performed. Formulation optimization was carried out with MODDE® program working with RSM methodology and three optimum formulations were obtained. In addition to the above-mentioned in vitro characterization studies on the optimum formulations suggested by the program, DSC analysis, TEM analysis and rheological properties were determined and the characterization of nanoparticulate systems was detailed. According to the results obtained, it was concluded that the optimum semi-solid NLC dispersions are in the targeted particle size and PDI range, consist of spherical particles, and have mechanical properties that can be offered to the consumer.

Key Words: Anti-aging cosmetics, Herbal oils, Lipid nanoparticles, Semi solid NLC dispersions

KAYNAKLAR

- ABDEL-SALAM, F. S., MAHMOUD, A. A., AMMAR, H. O., & ELKHESHEN, S. A. (2017). Nanostructured lipid carriers as semisolid topical delivery formulations for diflucortolone valerate. *Journal of Liposome Research*, **27**(1), 41-55.
- ABURAHMA, M. H., & BADR-ELDIN, S. M. (2014). Compritol 888 ATO: a multifunctional lipid excipient in drug delivery systems and nanopharmaceuticals. *Expert Opinion on Drug Delivery*, **11**(12), 1865-1883.
- AĞABEYOĞLU, İ., ULUSOY, A. (1985). "Deriden Emilim." *FABAD J. Pharm. Sci* **10**.2 82-94
- AHLIN, P., KRISTL, J., & SMID-KORBAR, J. (1998). Optimization of procedure parameters and physical stability of solid lipid nanoparticles in dispersions. *Acta Pharmaceutica* (Zagreb), **48**(4), 259-267.
- AKBARZADEH, A., REZAEI-SADABADY, R., DAVARAN, S., JOO, S. W., ZARGHAMI, N., HANIFEHPOUR, Y., ... & NEJATI-KOSHKI, K. (2013). Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters*, **8**(1), 1-9.
- ALVAREZ, M. J., ILZARBE, L., VÍLES, E., & TANCO, M. (2009). The use of genetic algorithms in response surface methodology. *Quality Technology & Quantitative Management*, **6**(3), 295-307.
- AMASYA, G., OZTURK, C., AKSU, B., & TARİMCİ, N. (2021). QbD based formulation optimization of semi-solid lipid nanoparticles as nano-cosmeceuticals. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **66**(12), 102737.
- ARSENIE, L. V., LACATUSU, I., OPREA, O., BORDEI, N., BACALUM, M., & BADEA, N. (2020). Azelaic acid-willow bark extract-panthenol-Loaded lipid nanocarriers improve the hydration effect and antioxidant action of cosmetic formulations. *Industrial Crops and Products*, **154**, 112658.
- ASFOUR, M. H., KASSEM, A. A., & SALAMA, A. (2019). Topical nanostructured lipid carriers/inorganic sunscreen combination for alleviation of all-trans retinoic acid-induced photosensitivity: Box-Behnken design optimization, in vitro and in vivo evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **134**, 219-232.
- ASLAM, M. N., LANSKY, E. P., & VARANI, J. (2006). Pomegranate as a cosmeceutical source: pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *Journal of Ethnopharmacology*, **103**(3), 311-318.
- AYDEMİR, E. H. (2013). Deri yaşlanması. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, **29**(2), 89-93.
- BADILLI, U., TUBA SENGEL-TURK, C., ONAY-BESİKCI, A., & TARİMCİ, N. (2015). Development of etofenamate-loaded semisolid SLN dispersions and evaluation of anti-inflammatory activity for topical application. *Current Drug Delivery*, **12**(2), 200-209.
- BADILLI, U., TUBA SENGEL-TURK, C., AMASYA, G., & TARİMCİ, N. (2017). Novel drug delivery system for dermal uptake of etofenamate: Semisolid SLN dispersion. *Current Drug Delivery*, **14**(3), 386-393.
- BANGHAM, A. D., STANDISH, M. M., & WATKINS, J. C. (1965). Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of Molecular Biology*, **13**(1), 238-IN27.
- BARZAGHI, N., CREMA, F., GATTI, G., PIFFERI, G., & PERUCCA, E. (1990). Pharmacokinetic studies on IdB 1016, a silybin-phosphatidylcholine complex, in healthy human subjects. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **15**(4), 333-338.
- BELOQUI, A., SOLÍNÍS, M. Á., RODRÍGUEZ-GASCÓN, A., ALMEIDA, A. J., & PRÉAT, V. (2016). Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **12**(1), 143-161.

- BENNETT, S.L., BARRY, B.W. (1983). A comparison of the permeability of abdominal and male pattern baldness scalp skin. *J. Pharm. Pharmacol.* **35**, 32P.
- BENSON, H. A. (2006). Transfersomes for transdermal drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, **3**(6), 727-737.
- BEST, B. P. (2009). Nuclear DNA damage as a direct cause of aging. *Rejuvenation Research*, **12**(3), 199-208.
- BHASKAR K, ANBU J, RAVICHANDIRAN V, VENKATESWARLU V, RAO YM (2009). Lipit nanoparticles for transdermal delivery of flurbiprofen: formulation, in vitro, ex vivo and in vivo studies. *Lipids Health Dis*, **8**: 6. doi:10.1186/1476-511X-8-6
- BOROUSHAHI, M. T., MOLLAZADEH, H., & AFSHARI, A. R. (2016). Pomegranate seed oil: A comprehensive review on its therapeutic effects. *Int J Pharm Sci Res*, **7**(2), 430.
- BRENNAN, M., BHATTI, H., NERUSU, K. C., BHAGAVATHULA, N., KANG, S., FISHER, G. J., ... & VOORHEES, J. J. (2003). Matrix metalloproteinase-1 is the major collagenolytic enzyme responsible for collagen damage in UV-irradiated human skin. *Photochemistry and Photobiology*, **78**(1), 43-48.
- BUCKINGHAM, E. M., & KLINGELHUTZ, A. J. (2011). The role of telomeres in the ageing of human skin. *Experimental Dermatology*, **20**(4), 297-302.
- BULUR, I. (2016). Yaşlanma ve Deri/Aging and Skin. *Osmangazi Tıp Dergisi*, **38**(1).
- BUTLER, H. (2000). Cosmetics through the ages. In: Poucher's perfumes, cosmetics and soaps (pp. 13-63). Springer, Dordrecht.
- CAMPA, M., & BARON, E. (2018). Anti-aging effects of select botanicals: scientific evidence and current trends. *Cosmetics*, **5**(3), 54.
- CEVC, G. (2004). Lipit vesicles and other colloids as drug carriers on the skin. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**(5), 675-711.
- CHARROUF, Z., GUILLAUME, D. (2008). Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *European Journal of Lipit Science and Technology*, **110**(7), 632-636.
- CHAWLA, V., SARAF, S. A. (2011). Glyceryl behenate and its suitability for production of aceclofenac solid lipit nanoparticles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **88**(1), 119-126.
- Cosmetics Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast 2018 – 2024 / <https://www.marketresearchengine.com/reportdetails/cosmetics-market/> / Erişim Tarihi : 01.01.2022
- CROSS, C. E., HALLIWELL, B., BORISH, E. T., & PRYOR, W. A. (1987). Arnes BN, Saul RL, McCord JM, Harman D.-Oxygen radicals and human disease (clinical conference). *Ann Intern Med*, **107**(4), 526-545.
- ÇELEBİ N. (2002). Mikroemülsiyonlar: Genel Özellikleri ve Farmasötik Amaçla Kullanımları *FABAD J. Pharm. Sci* **27**. 27-41
- ÇOMOĞLU T. (2012) Kozmetikler. *Marmara Pharmaceutical Journal* **1**(16):1-8
- DANAEI, M., DEGHANKHOLD, M., ATAIEI, S., HASANZADEH DAVARANI, F., JAVANMARD, R., DOKHANI, A., ... & MOZAFARI, M. R. (2018). Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipitic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, **10**(2), 57.
- DE OLIVEIRA, L. G., DE PAIVA, A. P., BALESTRASSI, P. P., FERREIRA, J. R., DA COSTA, S. C., & DA SILVA CAMPOS, P. H. (2019). Response surface methodology for advanced manufacturing technology optimization: theoretical fundamentals, practical guidelines, and survey literature review. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, **104**(5), 1785-1837.
- DE VRINGER, T. (1997). U.S. Patent No. 5,667,800. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

- DEĞİM, T. 2009. Deriden Emilim ve Deriye Uygulanan Yarı Katı Preparatlar, In: Modern Farmasötik Teknoloji. Acartürk, F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., Doğanay, T., Takka, S., Tırnaksız, F., 338-343. http://www.e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/tebakademi/modern_farmasotk/20.pdf
- DOBREV, H. (2007). Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. *Journal of Cosmetic Dermatology*, **6**(2), 113-118.
- DONATH, A. S., GLASGOLD, R. A., & GLASGOLD, M. J. (2007). Volume loss versus gravity: new concepts in facial aging. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery*, **15**(4), 238-243.
- DUNN, J. H., & KOO, J. (2013). Psychological Stress and skin aging: a review of possible mechanisms and potential therapies. *Dermatology Online Journal*, **19**(6).
- ECKERT, R. L. (1992). The structure and function of skin. In: *Pharmacology of the Skin*. CRC Press, Boca Raton, 3-12.
- ELSNER, P., WILHELM, D., & MAIBACH, H. I. (1991). Effect of low-concentration sodium lauryl sulfate on human vulvar and forearm skin. Age-related differences. *The Journal of Reproductive Medicine*, **36**(1), 77-81
- FARAGE, M. A., MILLER, K. W., ELSNER, P., & MAIBACH, H. I. (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, **30**(2), 87-95.
- FERRARIS, C., RIMICCI, C., GARELLI, S., UGAZIO, E., & BATTAGLIA, L. (2021). Nanosystems in Cosmetic Products: A Brief Overview of Functional, Market, Regulatory and Safety Concerns. *Pharmaceutics*, **13**(9), 1408.
- FUENTES, E., FUENTES, M., ALARCON, M., & PALOMO, I. (2017). Immune system dysfunction in the elderly. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **89**(1), 285-299.
- GANCEVICIENE, R., LIAKOU, A. I., THEODORIDIS, A., MAKRANTONAKI, E., & ZOUBOULIS, C. C. (2012). Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology*, **4**(3), 308-319.
- GARAVAGLIA, J., MARKOSKI, M. M., OLIVEIRA, A., & MARCARENTI, A. (2016). Grape seed oil compounds: Biological and chemical actions for health. *Nutrition and Metabolic Insights*, **9**, NMI-S32910.
- GILCHREST, B. A. (1996). A review of skin ageing and its medical therapy. *British Journal of Dermatology*, **135**(6), 867-875.
- GÖNÜL, A. B. Ö. N. (2002). Perkütan absorpsiyon ve perkütan absorpsiyonu etkileyen faktörler. *J. Fac. Pharm.*, **31**(1), 33-49.
- GUARENTE, L., & KENYON, C. (2000). Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*, **408**(6809), 255-262.
- GUZMAN, E., LANGOWSKI, J. L., & OWEN-SCHAUB, L. (2003). Mad dogs, Englishmen and apoptosis: the role of cell death in UV-induced skin cancer. *Apoptosis*, **8**(4), 315-325.
- HAFTEK, M., CALLEJON, S., SANDJEU, Y., PADOIS, K., FALSON, F., PIROT, F., ... & JANNIN, V. (2011). Compartmentalization of the human stratum corneum by persistent tight junction-like structures. *Experimental Dermatology*, **20**(8), 617-621.
- HALL, G., & PHILLIPS, T. J. (2005). Estrogen and skin: the effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **53**(4), 555-568.
- HAMDANI, J., MOËS, A. J., & AMIGHI, K. (2003). Physical and thermal characterisation of Precirol® and Compritol® as lipophilic glycerides used for the preparation of controlled-release matrix pellets. *International Journal of Pharmaceutics*, **260**(1), 47-57.
- HEKIMOĞLU S. (1998). Deri Yaşlanmasına Karşı 21. Yüzyılın Gerçeği: Kozmesötikler *Türkiye Klinikleri Kozmetoloji Dergisi* **1**(1),37-42.

- HIMANSHU, A., SITASHARAN, P., & SINGHAI, A. K. (2011). Liposomes as drug carriers. *IJPLS*, **2**(7), 945-951
- HOMAYOUNI A, AMINI M, SOHRABI M, VARSHOSAZ J, NOKHODCHI A (2019). Curcumin nanoparticles containing poloxamer or soluplus tailored by high pressure homogenization using antisolvent crystallization. *Int J Pharm*, **562**: 124-134. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.03.038.
<https://www.gattefosse.com/pharmaceuticals-products/compritol-888-ato>. / Erişim Tarihi : 01.01.2022
https://www.jmp.com/en_ph/statistics-knowledge-portal/what-is-design-of-experiments/types-of-design-of-experiments.html. /Erişim Tarihi : 01.01.2022
- IDSON.B., LAZARUS. J.(1976). In: The Theory and Practice of Industrial Pharmacy 215
- JACKSON, S. M., WILLIAMS, M. L., FEINGOLD, K. R., & ELIAS, P. M. (1993). Pathobiology of the stratum corneum. *Western Journal of Medicine*, **158**(3), 279.
- JAMBHEKAR, S. S., & BREEN, P. (2016). Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex. *Drug Discovery Today*, **21**(2), 356-362.
- JENNING, V., SCHÄFER-KORTING, M., & GOHLA, S. (2000). Vitamin A-loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. *Journal of Controlled Release*, **66**(2-3), 115-126.
- JEPPESEN, D. K., BOHR, V. A., & STEVNSNER, T. (2011). DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Progress in Neurobiology*, **94**(2), 166-200.
- KAITY, S., MAITI, S., GHOSH, A. K., PAL, D., GHOSH, A., & BANERJEE, S. (2010). Microsponges: A novel strategy for drug delivery system. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, **1**(3), 283.
- KAMEL, R., & MOSTAFA, D. M. (2015). Rutin nanostructured lipid cosmeceutical preparation with sun protective potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **153**, 59-66.
- KAPPALLY, S., SHIRWAIKAR, A., & SHIRWAIKAR, A. (2015). Coconut oil—a review of potential applications. *Hygeia Journal of Drugs and Medicine*, **7**(2), 34-41.
- KAZI, K. M., MANDAL, A. S., BISWAS, N., GUHA, A., CHATTERJEE, S., BEHERA, M., & KUOTSU, K. (2010). Niosome: a future of targeted drug delivery systems. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, **1**(4), 374.
- KENNEDY, C., BASTIAENS, M. T., WILLEMZE, R., BAVINCK, J. N. B., BAJDIK, C. D., & WESTENDORP, R. G. (2003). Effect of smoking and sun on the aging skin. *Journal of Investigative Dermatology*, **120**(4), 548-554.
- KLIGMAN, AM (2000) “Cosmeceuticals: Do We Need a New Category”, In: Elsner P and Maibach HI (ed.by), Cosmeceuticals, New York, Marcel Dekker, Inc.
- KOHEN, R. (1999). Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress—new approaches for their evaluation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **53**(4), 181-192.
- KOTLUS, B. S. (2013). Effect of sleep position on perceived facial aging. *Dermatologic Surgery*, **39**(9), 1360-1362.
- LADEMANN J, RICHTER H, SCHAEFER UF, BLUME-PEYTAVI U, TEICHMANN A, OTBERG N, STERRY W (2006). Hair Follicles – A Long-Term Reservoir for Drug Delivery. *Skin Pharmacology and Physiology*, **19**(4): 232-236. doi:10.1159/000093119.
- LEE, Y. J., & NAM, G. W. (2020). Sunscreen boosting effect by solid lipid nanoparticles-loaded fucoxanthin formulation. *Cosmetics*, **7**(1), 14.

- LEOW, Y. H., & MAIBACH, H. I. (1998). Cigarette smoking, cutaneous vasculature, and tissue oxygen. *Clinics in Dermatology*, **16**(5), 579-584.
- LIPPACHER, A., MÜLLER, R. H., & MÄDER, K. (2001). Preparation of semisolid drug carriers for topical application based on solid lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, **214**(1-2), 9-12.
- LIPPACHER, A., MÜLLER, R. H., & MÄDER, K. (2004). Liquid and semisolid SLN™ dispersions for topical application: rheological characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **58**(3), 561-567
- LÓPEZ-GARCÍA, R., & GANEM-RONDERO, A. (2015). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): occlusive effect and penetration enhancement ability. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, **5**(02), 62.
- LUKIĆ, M., PANTELIC, I., & SAVIĆ, S. D. (2021). Towards optimal pH of the skin and topical formulations: From the current state of the art to tailored products. *Cosmetics*, **8**(3), 69.
- MAURYA, S. D., AGGARWAL, S., TILAK, V. K., DHAKAR, R. C., SINGH, A. (2010). Enhanced Transdermal delivery of indinavir sulfate via transfersomes. *Pharmacie Globale (IJCP)*, **1**(06).
- MAZDA, F., & ÖZER, A. Y. (1993). Kozmetoloji ve Dermatolojide Lipozom ve Niozomlar. *FABAD J. Pharm. Sci.*, **19**, 121-128
- MCCALLION, R., & PO, A. L. W. (1993). Dry and photo-aged skin: and manifestations management. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, **18**(1), 15-32.
- MCDUGAL, J. N., & BOENIGER, M. F. (2002). Methods for assessing risks of dermal exposures in the workplace. *Critical Reviews in Toxicology*, **32**(4), 291-327.
- MCMULLEN, R. L., GORCEA, M., & CHEN, S. (2016). Emulsions and their characterization by texture profile analysis. In: *Handbook of Formulating Dermal Applications*, 131.
- MEHNERT, W., & MÄDER, K. (2012). Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**, 83-101.
- MÜLLER, R. H., MÄDER, K., & GOHLA, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **50**(1), 161-177.
- MÜLLER, R. H., PETERSEN, R. D., HOMMOSS, A., & PARDEIKE, J. (2007). Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **59**(6), 522-530.
- MYERS, R. H., MONTGOMERY, D. C., VINING, G. G., BORROR, C. M., & KOWALSKI, S. M. (2004). Response surface methodology: a retrospective and literature survey. *Journal of quality technology*, **36**(1), 53-77
- NAFISI, S., & MAIBACH, H. I. (2017). Nanotechnology in cosmetics. *Cosmetic science and technology: theoretical principles and applications*, **337**.
- NEVIN, K. G., & RAJAMOHAN, T. (2010). Effect of topical application of virgin coconut oil on skin components and antioxidant status during dermal wound healing in young rats. *Skin Pharmacology and Physiology*, **23**(6), 290-297.
- NOHYNEK, G. J., LADEMANN, J., RIBAUD, C., & ROBERTS, M. S. (2007). Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. *Critical Reviews in Toxicology*, **37**(3), 251-2
- NUMANOĞLU, U., TARIMCI, N. (2006a). Katı lipid nanopartiküllerin (SLNTM) özellikleri, farmasötik ve kozmetik alandaki uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **35**(3): 211-235.
- NUMANOĞLU, U., TARIMCI, N. (2006b). Siklodekstrinler ve kozmetiklerdeki kullanımları. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, **2**(17): 40-46.

- OYETAKIN-WHITE, P., SUGGS, A., KOO, B., MATSUI, M. S., YAROSH, D., COOPER, K. D., & BARON, E. D. (2015). Does poor sleep quality affect skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology*, **40**(1), 17-22.
- ÖNDER M., ÖZTAŞ M.O. (2004). Kozmetoloji ve Deri. In: Kozmetik Bilimi S.13-20
- PAN H, MARSH JN, CHRISTENSON ET, SOMAN NR, IVASHYNA O, LANZA GM, SCHLESINGER PH, WICKLINE SA (2012). Postformulation peptide drug loading of nanostructures. *Methods Enzymol*, **508**: 17-39. doi:10.1016/B978-0-12-391860-4.00002-1
- PARDEIKE, J., HOMMOSS, A., & MÜLLER, R. H. (2009). Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics*, **366**(1-2), 170-184.
- PARISON, V. (1993). Active delivery from nylon particles. *Cosmetics and Toiletries*, **108**(12), 97-100.
- PASSI, S., DE PITÀ, O., PUDDU, P., & LITTARRU, G. P. (2002). Lipophilic antioxidants in human sebum and aging. *Free Radical Research*, **36**(4), 471-477.
- PATRAVALE, V. B., & MANDAWGADE, S. D. (2008). Novel cosmetic delivery systems: an application update. *International Journal of Cosmetic Science*, **30**(1), 19-33..
- PUGH, W. J., DEGIM, I. T., & HADGRAFT, J. (2000). Epidermal permeability-penetrant structure relationships: 4, QSAR of permeant diffusion across human stratum corneum in terms of molecular weight, H-bonding and electronic charge. *International Journal of Pharmaceutics*, **197**(1-2), 203-211.
- RACHMAWATI, H., AL SHAAL, L., MÜLLER, R. H., & KECK, C. M. (2013). Development of curcumin nanocrystal: physical aspects. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **102**(1), 204-214.
- RAHIMI, H. R., ARASTOO, M., & OSTAD, S. N. (2012). A comprehensive review of Punica granatum (pomegranate) properties in toxicological, pharmacological, cellular and molecular biology researches. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, **11**(2), 385.
- REED, J. T., ELIAS, P. M., & GHADIALLY, R. (1997). Integrity and permeability barrier function of photoaged human epidermis. *Archives of Dermatology*, **133**(3), 395-396.
- ROBERTS, W. E. (2006). Dermatologic problems of older women. *Dermatologic Clinics*, **24**(2), 271-280.
- ROSANO, H. L., CAVALLO, J. L., CHANG, D. L., & WHITTAM, J. H. (1988). Microemulsions: a commentary on their preparation. *J Soc Cosmet Chem*, **39**(June), 201-209.
- ROTHMAN, S., & LORINCZ, A. L. (1963). Defense mechanisms of the skin. *Annual Review of Medicine*, **14**(1), 215-242.
- SCHUBERT, S. Y., LANSKY, E. P., & NEEMAN, I. (1999). Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, **66**(1), 11-17.
- SHAH, N. B., HASTINGS, D. E., & RHODES, D. H. (2007). Systems of systems and emergent system context. In 5th Conference on Systems Engineering Research.
- SOEHNGE, H., OUHTIT, A., & ANANTHASWAMY, O. N. (1997). Mechanisms of induction of skin cancer by UV radiation. *Front Biosci*, **2**, D538-D551.
- SOTIROPOULOU, E. I., VARELAS, V., LIOUNI, M., & NERANTZIS, E. T. (2012). Grape seed oil: From a winery waste to a value added cosmetic product-a review. *Edible Med. Non-Med. Plants*, **2**, 867-878.
- SUTER, F., SCHMID, D., WANDREY, F., & ZÜLLI, F. (2016). Heptapeptide-loaded solid lipid nanoparticles for cosmetic anti-aging applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **108**, 304-309.
- SOYTÜRK, E. B., & TARIMCI, N. (2000). Çoklu Emülsiyonlar ve Kozmetiklerde Kullanımı. *FABAD J. Pharm. Sci* **25**. 11-20

ŞENYİĞİT, T., TEKMEK, İ., SÖNMEZ, Ü., SANTİ, P., & ÖZER, Ö. (2011). Deoxycholate hydrogels of betamethasone-17-valerate intended for topical use: in vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, **403**(1-2), 123-129.

T.C. RESMİ GAZETE 24/3/2005 tarihli ve 5324 sayılı Kozmetik Kanunu
<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2005/03/20050330-1.htm>

TAKKA S., ACARTÜRK, F., AĞABEYOĞLU, İ., ÇELEBİ, N., DEĞİM, T., DEĞİM, Z. (2006) .
Önformülasyon. In: Modern farmasötik Teknoloji, Bölüm 2, 277-299.

TARIMCI N. (2004) . Modern Kozmetik Taşıyıcı Sistemler. In: Y.Yazan editors, Kozmetik Bilimi, 253-274.

TARIMCI N. (2006) Kozmetik Ürün Formülasyonlarında Yeni Alternatifler: Kozmesötik Maddeler. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences* **2**(17),1-5.

TEERANACHAIDEKUL, V., BOONME, P., SOUTO, E. B., MÜLLER, R. H., & JUNYAPRASERT, V. B. (2008). Influence of oil content on physicochemical properties and skin distribution of Nile red-loaded NLC. *Journal of Controlled Release*, **128**(2), 134-141.

THIELE, J. J., DREHER, F., & PACKER, L. (2002). Antioxidant defense systems in skin. *Journal of Toxicology: Cutaneous and Ocular Toxicology*, **21**(1-2), 119-160.

TIRNAKSIZ F. (2006). Kozmetik Ürünlerde Kozmesötik Olarak Antioksidanların, Peptit Ve Proteinlerin Kullanımı Ve Önemi. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences* **2**(17), 6-18.

TOKSOY, M. O., TUGCU-DEMİRÖZ, F., & TIRNAKSİZ, F. (2013). Evaluation of rheological and textural properties of toothpastes. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, **38**(3), 135.

TRINH, K. T., & GLASGOW, S. (2012, September). On the texture profile analysis test. In Proceedings of the Chemeca (pp. 23-26)

TSATSOU, F., TRAKATELLI, M., PATSATSI, A., KALOKASIDIS, K., & SOTIRIADIS, D. (2012). Extrinsic aging: UV-mediated skin carcinogenesis. *Dermato-Endocrinology*, **4**(3), 285-297.

VASHI, N. A., MAYMONE, M. B. D. C., & KUNDU, R. V. (2016). Aging differences in ethnic skin. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, **9**(1), 31.

WIECHERS J.W. (2013) Delivering actives via solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers
Cosmetics & Toiletries Ekim 2013 <https://www.cosmeticsandtoiletries.com/cosmetic-ingredients/blog/21837613/delivering-actives-via-solid-lipid-nanoparticles-and-nanostructured-lipid-carriers-part-i>

WISSING S, LIPPACHER A, MÜLLER R. (2001) Investigations on the occlusive properties of solid lipid nanoparticles (SLN). *J Cosmet Sci* **52**(5):313-24

YANG, X., & XU, T. (2011). Molecular mechanism of size control in development and human diseases. *Cell Research*, **21**(5), 715-729.

YAZAN, Y. (2002). Reoloji ve kozmetolojideki yeri. *Türkiye Klinikleri Kozmetoloji Dergisi*, **3**(2):115-28

YENİLMEZ, E., BERKMAN, M.S. (2017). Yaşlanma karşıtı ürünlerin geleceği. *Türkiye Klinikleri Cosmetic Dermatology*, **10**(1),58-64.

ZIELIŃSKA, A., NOWAK, I. (2016). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers as novel carriers for cosmetic ingredients. In Nanobiomaterials in galenic formulations and cosmetics (pp. 231-255).

ZSIKÓ, S., CSÁNYI, E., KOVÁCS, A., BUDAI-SZÜCS, M., GÁCSI, A., & BERKÓ, S. (2019). Methods to evaluate skin penetration in vitro. *Scientia Pharmaceutica*, **87**(3), 19.