



**SAÇ DÖKÜLMESİNE YÖNELİK OLARAK MİNOKSİDİLİN
NANOEMÜLSİYON FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ**

Can AYDIN

**YÜKSEK LİSANS
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2015

Ecz. Can AYDIN tarafından hazırlanan “Saç Dökülmesine Yönelik Olarak Minoksidilin Nanoemülsiyon Formülasyonunun Geliştirilmesi” çalışması Gazi Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Kozmetoloji Programında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Figen TIRNAKSIZ

Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji

Gazi Üniv. Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/

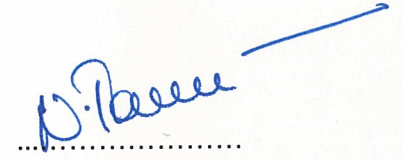


Başkan : Prof.Dr. Nilüfer TARIMCI

Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji,

Ankara Üniv. Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/

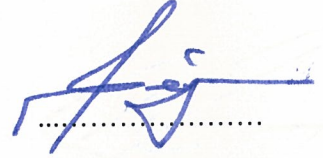


Üye : Prof.Dr. Tuncer DEĞİM

Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji,

Gazi Üniv. Eczacılık Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/



Tez Savunma Tarihi: 22/01/2015

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

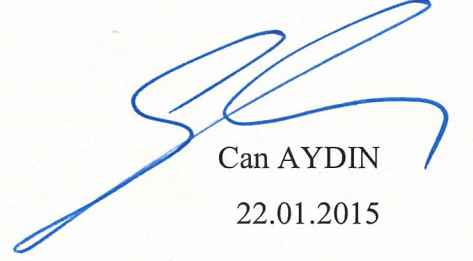
.....
Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Can AYDIN
22.01.2015

SAÇ DÖKÜLMESİNE YÖNELİK OLARAK MINOKSİDİLİN NANOEMÜLSİYON FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Can AYDIN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ocak 2015

ÖZET

Nanoemülsiyonlar, cilt bakım ürünleri için en çok kullanılan taşıyıcı sistemlerdir ve farklı tekniklerle hazırlanabilirler. Nanoemülsiyonları hazırlamak için yüksek sıcaklık, yüksek enerji veya organik solvan kullanımı gerekebilir. Ancak yüksek sıcaklık, aktif maddelerin kimyasal yapısını bozabilir. Bu nedenle bu çalışmada yüksek sıcaklık ve yüksek enerji gerektirmeyen nanoemülsiyonlar üzerinde çalışıldı. Aslında antihipertansif bir ajan olan minoksidil, erkek tipi saç dökülmesini azaltıcı güçlü bir maddedir. Bu çalışmanın amacı, minoksidili canlı epidermis tabakasına ulaştıracak nanoemülsiyon formülasyonu geliştirmektir. Damlacık boyutunun bu amaca uygun olmasının sağlanabilmesi için organik solvan içermeyen yağ/su tipi nanoemülsiyonlar geliştirildi. Saç derisi üzerine uygulanabilirliğin sağlanması için, sistemler su ile seyreltildi. Formülasyonlardaki damlacık büyüklüğü nanometre boyutunda oluştu. Hazırlanan formülasyonlarda minoksidil salımının sıfırıncı derece kinetik modeline uygun olduğu, non-Newtonian akış özelliği gösterdikleri tespit edildi.

Bilim Kodu	:	1020.1.176
Anahtar Kelimeler	:	Nanoemülsiyonlar, Minoksidil
Sayfa Adedi	:	109
Danışman	:	Prof. Dr. F. Figen TIRNAKSIZ

DEVELOPMENT NANOEMULSION FORMULATION OF MINOXIDIL FOR
TREATMENT OF HAIR LOSS

(M. Sc. Thesis)

Can AYDIN

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

January 2015

ABSTRACT

Nanoemulsions can easily pass the skin layers and may be presented to the consumer as formulations such as creamy foam and spray and can be prepared by different techniques. Nanoemulsions preparation may require the use of high temperature, energy or organic solvent. However, higher temperatures can impair the chemical structure of the active ingredients. Therefore, this study was performed with nanoemulsion that does not require high temperature and energy. Minoxidil is actually an antihypertensive drug effect, but later hair re-growing and establishing effects were found. The purpose of this study is to improve the nanoemulsions minoxidil formulation to reach the hair follicles. In order to ensure that the droplet size suitable for this purpose, organic solvent-free oil / water type nanoemulsion was developed. To ensure applicability to hair, the nanoemulsion formulation was diluted with water. The droplet sizes in the formulations were found in the targeted nanometer size. The minoxidil release in the prepared formulations were found in accordance with zero-order kinetic model and showing Newtonian flow characteristics.

Science Code : 1020.1.176
Key Words : Nanoemulsions, Minoxidil
Page Number : 109
Supervisor : Prof. Dr. F. Figen TIRNAKSIZ

TEŞEKKÜR

Bana hayatımın her anında destek olan annem Zeliha AYDIN, babam İsmail AYDIN, kardeşim Berk AYDIN'a ve yüksek lisansım boyunca eczane yükümü hafifleten eczane personelim Gürkan TÜREYEN, Meryem KALYON ve Duygu H. ÖKSÜZ'e ve de tez aşamasında desteklerini esirgemeyen Arş. Grv. Dr. Şeyda AKKUŞ ARSLAN, Arş. Grv. Dr. Sibel İLBASMIŞ TAMER, Arş. Grv. Serdar TORT ve Arş. Grv. Tahir Emre YALÇIN'a; yüksek lisansım boyunca her an yanımda olan, bana her açıdan büyük destek veren, kıymetli hocam Prof. Dr. F. Figen TIRNAKSIZ'a teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Saçın Genel Yapısı, Saç Dökülmesi ve Kullanılan Maddeler.....	5
2.2. Minoksidil	9
2.3. Nanoemülsiyon Sistemler.....	15
2.3.1. Nanoemülsiyonlar	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1. Gereç	21
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	21
3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler	21
3.2. Yöntem	22
3.2.1. Minoksidil ile yapılan çalışmalar.....	22
3.2.2. Formülasyon çalışmaları.....	26
3.2.3. Nanoemülsiyonlarda yapılan kontroller.....	35
3.2.4. Nanoemülsiyonlardan etken madde salımlarının incelenmesi.....	36
3.2.5. Nanoemülsiyonlardan deri geçişlerinin incelenmesi	37

Sayfa

3.2.6. Nanoemülsiyonların stabilitelerinin incelenmesi.....	37
4. BULGULAR	39
4.1. Minoksidille Yapılan Çalışmalar.....	39
4.1.1. Minoksidilin UV spektrumu ve standart eğrisinin çıkarılması	39
4.1.2. Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonu	44
4.1.3. Minoksidilin çözünürlüğüne ait bulgular.....	55
4.1.4. Minoksidilin Miglyol/Propilen glikol ve miglyol/su arası partisyon katsayısına ait bulgular	55
4.2. Oluşturulan Formülasyonlara Ait Bulgular	55
4.2.1. Nanoemülsiyonların üçgen faz diyagramlarının çıkarılması	55
4.2.2. Tek surfaktanlı nanoemülsiyonlar ve özellikleri.....	59
4.2.3. Surfaktan ve surfaktan yardımcısı içeren nanoemülsiyonlar ve özellikleri.....	61
5. TARTIŞMA	81
5.1. Minoksidil ile Yapılan Çalışmalar	81
5.1.1. Minoksidilin su ve pH 5,2 tamponda UV spekturumunun alınması ve standart eğrisinin çıkarılması	81
5.1.2. Analitik validasyon çalışması.....	82
5.1.3. Minoksidilin pH 5,2 Tampondaki ve Propilen Glikoldeki Çözünürlüğü.....	84
5.1.4. Minoksidilin Partisyon Katsayısı	84
5.2. Formülasyon Çalışmaları	84
5.2.1. Tek surfaktanlı nanoemülsiyonlar.....	86
5.2.2. Surfaktan ve surfaktan yardımcılı nanoemülsiyonlar	87
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	95
KAYNAKLAR	97
ÖZGEÇMİŞ	109

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Minoksidilin değişik ortamlarda çözünürlük değerleri.....	11
Çizelge 3.1. pH 5,2 tampon formülü [79].....	22
Çizelge 3.2. Miglyol ve balık yağı ön formülasyon çalışmaları	28
Çizelge 3.3. XM1 ve XB1 nanoemülsiyonların oranları	29
Çizelge 3.4. Propilen glikol içeren nanoemülsiyon oranları.....	31
Çizelge 3.5. Laktik asit derişiminin damlacık boyutlarına etkisi.....	32
Çizelge 3.6. Nanoemülsiyon formülasyon oranı.....	33
Çizelge 4.1. Minoksidilin suda verdiği absorbans değerleri (n=3).....	41
Çizelge 4.2. Minoksidilin pH 5,2’de verdiği absorbans değerleri (n=3)	42
Çizelge 4.3. Minoksidilin sudaki kalibrasyon denkleminde ait parametreler.....	43
Çizelge 4.4. Minoksidilin pH 5,2 deki kalibrasyon denkleminde ait parametreler	44
Çizelge 4.5. Suda her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile ($y-\hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları	45
Çizelge 4.6. pH 5,2 de her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile ($y-\hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları	46
Çizelge 4.7. Minoksidilin sudaki analizine ait doğruluk sonuçları.....	47
Çizelge 4.8. Minoksidilin pH 5,2 deki analizine ait doğruluk sonuçları	48
Çizelge 4.9. Minoksidilin sudaki kesinlik sonuçları	49
Çizelge 4.10. Minoksidilin pH 5,2 deki kesinlik sonuçları.....	49
Çizelge 4.11. Suda saptama sınırı değerleri.....	50
Çizelge 4.12. pH 5.2’de Saptama sınırı değerleri	50
Çizelge 4.13. Propilen glikol ve pH 5,2’deki minoksidil çözünürlüğü	55
Çizelge 4.14. Miglyol ile propilen glikol ve su arasındaki partiyon	55
Çizelge 4.15. Miglyol ile cremofor ve suyun karışma oranları	56
Çizelge 4.16. Balık yağı ile cremofor ve suyun karışma oranları.....	58
Çizelge 4.17. M1, M2, M3 ve B1 nanoemülsiyonlarının seyreltmeyle damlacık boyu değişimleri	60
Çizelge 4.18. Miglyol ile hazırlanmış Cremophor RH40 ve Solutol HS15 nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri	62

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.19. Balık yağı ile hazırlanmış Cremophor RH40 ve Solutol HS15 nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri	63
Çizelge 4.20. Minoksidil içermeyen propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri.....	64
Çizelge 4.21. 2g minoksidil ve propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri	65
Çizelge 4.22. Minoksidil içermeyen propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri	66
Çizelge 4.23. Minoksidil içeren propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri	66
Çizelge 4.24. Minoksidil içeren propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların miktarları.....	66
Çizelge 4.25. Propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların pH ve noniyonize yüzdeleri.....	67
Çizelge 4.26. Propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri	67
Çizelge 4.27. NE-1:3 nanoemülsiyonunun viskozite değerleri	68
Çizelge 4.28. NE-1:5 nanoemülsiyonunun viskozite değerleri	68
Çizelge 4.29. Ostwald de Waele eşitliği sonucu.....	69
Çizelge 4.30. Selofan Membrandan % Salımlar	70
Çizelge 4.31. Selofan memranlı franz hücresinden salınan minoksidil nanoemülsiyonları salım kinetiklerine ait veriler	72
Çizelge 4.32. Deriden geçiş % emilen	72
Çizelge 4.33. Deri takılı franz hücresinden emilen minoksidil nanoemülsiyonları salım kinetiklerine ait veriler.	73
Çizelge 4.34. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen damlacık boyutları	74
Çizelge 4.35. Nanoemülsiyonların 25°C'de 5gün boyunca izlenen damlacık boyutları (Oswalt ripening).....	76
Çizelge 4.36. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen zeta potansiyelleri	76
Çizelge 4.37. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen miktarları.....	77
Çizelge 4.38. Nanoemülsiyonların 25°C de üç ay boyunca izlenen viskoziteleri.....	78
Çizelge 4.39. Nanoemülsiyonların üç ay süresince izlenen pH değerleri.....	79

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.1. Değişik surfaktanlarla oluşturulmuş minoksidil niozomların ve NE'lerin salım değerleri	91
Çizelge 5.2. pH'ın minoksidil noniyonize yüzdesi üzerine etkisi	93

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Saçı ve saç kökünü oluşturan dokuların şematik gösterimi [43]	5
Şekil 2.2. Saç teli/yağ bezi birimi [44]	6
Şekil 2.3. Saç telinin enine kesitinin şematik gösterimi [45].....	6
Şekil 2.4. Minoksidilin Kimyasal Yapısı [82]	9
Şekil 2.5. Minoksidil asit pH'da 230-281nm arasında; alkali pH'da 262-288nm arasında absorbans vermektedir [64]	10
Şekil 2.6. Yağ fazının su fazı ile teması sonucu hemen kendiliğinden nanometre boyutundaki damlaların oluşumu	18
Şekil 2.7. Ostwald olgunlaşmasının şematik gösterimi	19
Şekil 4.1. Minoksidilin suda UV spektrumu ve $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri. (Derişim= 10 μ g/mL)	40
Şekil 4.2. Minoksidilin pH 5,2 de UV spektrumu ve $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri. (Derişim= 10 μ g/mL)	40
Şekil 4.3. Minoksidilin sudaki kalibrasyon doğrusu.....	42
Şekil 4.4. Minoksidilin pH 5,2 de kalibrasyon doğrusu	43
Şekil 4.5. Su için her bir derişim (y) ile artık değerler (y- $\hat{y}$) arasındaki ilişki	46
Şekil 4.6. PH 5,2 için her bir derişim (y) ile artık değerler (y- $\hat{y}$) arasındaki ilişki	47
Şekil 4.7. Propilen glikolölün sudaki çözeltisi için UV spektrumu	51
Şekil 4.8. Cremophor RH40'ın sudaki çözeltisi için UV spektrumu.....	51
Şekil 4.9. Laktik asitin sudaki çözeltisi için UV spektrumu.....	52
Şekil 4.10. Propilen glikolün pH 5,2'deki çözeltisi için UV spektrumu	52
Şekil 4.11. Cremophor RH40'ın pH 5,2'deki çözeltisi için UV spektrumu	53
Şekil 4.12. Laktik asitin pH 5,2'deki çözeltisi için UV spektrumu	53
Şekil 4.13. Minoksidilin 32°C'de suda 7 saat boyunca izlenen stabilitesi.....	54

Şekil	Sayfa
Şekil 4.14. Minoksidilin salım deneyinin yapıldığı koşullarda (32°C pH 5,2) 7 saat boyunca izlenen stabilitesi	54
Şekil 4.15. Miglyolün kullanıldığı nanoemülsiyonlara ait faz diyagramları	57
Şekil 4.16. Balık yağının kullanıldığı nanoemülsiyonlara ait faz diyagramları	58
Şekil 4.17. Miglyol ve balık yağı ile hazırlanmış nanoemülsiyonların seyreltmeyle değişen damlacık büyüklükleri	61
Şekil 4.18. Miglyol ve balık yağı ile hazırlanmış surfaktan ve surfaktan yardımcısı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri.....	63
Şekil 4.19.Minoksidil içermeyen propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri	64
Şekil 4.20. 2g minoksidil içeren propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri	65
Şekil 4.21. NE-1:3 nanoemülsiyonunun akış eğrisi.....	69
Şekil 4.22. NE-1:5 nanoemülsiyonunun akış eğrisi.....	69
Şekil 4.23. Selofan membranlı franz hücresinden salınan minoksidil nanoemülsiyonlarına ait salım grafikleri	71
Şekil 4.24. Deri takılı franz hücresinden geçen minoksidil nanoemülsiyonlarına ait salım grafikleri.....	73
Şekil 4.25. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen damlacık boyutları	74
Şekil 4.26. Ostwald olgunlaşması damlacık boyutu	75
Şekil 4.27. Ostwald olgunlaşması damlacık yarıçapları	75
Şekil 4.28. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen zeta potansiyelleri	77
Şekil 4.29. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen miktarları	78
Şekil 4.30. Nanoemülsiyonların 25°C de üç ay boyunca izlenen viskoziteleri.....	79
Şekil 4.31. Nanoemülsiyonların üç ay süresince izlenen pH değerleri.....	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

K_m

X

Z

$\lambda_{maksimum}$

Açıklamalar

Surfaktan/surfaktan yardımcısı oranı

Değerlerin ortalaması

Damlacık boyutları

Maksimum absorbands veren dalga boyu

Kisaltmalar

ASD

Cremophor

DHT

FDA

LA

Miglyol

NE

PDI

PG

SH ve SE

SNEDDS

Solutol

SS

UV

% BS

Açıklamalar

Androgenetik saç dökülmesi

Cremophor RH40

Dihidrotestesteron

U.S. Food And Drug Administration

Laktik Asit

Miglyol 818

Nanoemülsiyon

Polidispersite indeksi

Propilen Glikol

Standart hata

Self-nanoemulsifying drug delivery systems

Solutol HS15

Standart sapma

Ultraviole

Yüzde bağlı sapma

1. GİRİŞ

Saç dökülmesi (alopecia), hemen hemen her yaştaki kişinin belli dönemlerde yaşayabileceği bir sıkıntıdır. Hem erkeklerde hem de kadınlarda görülebilen bu durumun oluşumunda temel olarak hormonların ve genetik özelliklerin etkili olduğu bilinmektedir [1]. Saç dökülmesi ifadesi jenerik bir ifadedir ve temel olarak androjenetik saç dökülmesi (ASD), telogen effluvium, kemoterapi ile oluşan saç dökülmesi ve alopecia areata olarak dört ayrı başlık altında incelenir [2]. Bildirilen bu saç dökülmesi çeşitleri arasında ASD olarak bilinen durum toplum içinde en sık görülen saç dökülmesi çeşididir [3]. Kadında ve erkekte farklı şekilde seyreden ASD, ilaç kullanımı veya cerrahi uygulama ile tedavi edilmeye çalışılır [4,5]. Saç dökülmesinde FDA, sadece topikal minoksidil ve oral finasterit kullanımına izin vermiştir [6,7]. Ancak bu moleküllerin dışında saç dökülmesinde faydalı olduğu düşünülen/varsayılan/gözlenen çok sayıdaki madde veya bitkisel karışım bu amaçla kullanılmaktadır [8-10].

Yüksek tansiyonun oral tedavisinde 1979 yılından itibaren kullanılmaya başlanan ve sonra bir yan etki olarak kıl uzatıcı etkisi saptanan minoksidil, 1988 yılından beri topikal saç çıkarıcı bir madde olarak kullanılmaktadır [11]. Türkiye ilaç pazarında propilen glikol, alkol ve su ile hazırlanmış, reçetesiz ilaç olarak pazarlanan % 2 ve % 5'lik çözeltisi bulunmaktadır. Türkiye ilaç pazarındaki ticari ürün jenerik bir üründür (Minoxil™, % 2 ve % 5, DG Farma İlaç San. Tic. Ltd. Şti.). Köpük formülasyonu ülkemizde olmamakla beraber yurt dışında orjinal ürün olarak pazarlanmaktadır (Rogaine ® Foam, Pfizer). Minoksidilin çözelti tipi ticari ürünleri, yüksek oranda etanol ve propilen glikol içermeleri nedeniyle kafa derisinde irritasyona bağlı bazı yan etkilere neden olmaktadır [12,13]. Bunun yanı sıra çözeltinin kafa derisine uygulanması sonrası etanolün uçması ile minoksidilin kafa derisi yüzeyinde kristallendiği ve buna bağlı olarak deriden geçişinde azalma olduğu bilinmektedir [14,15]. Bu nedenle kafa derisine uygulandıktan sonra çözücünün buharlaşma hızını azaltmak için bazı formülasyon çalışmaları yapılmıştır [16]. Üründe çözünmüş haldeki minoksidilin kafa derisinde kristallenmesi ve formülasyonda kullanılan etanol ile PG'ün oluşturduğu yan etkiler nedeniyle, minoksidili çözelti formunda tutacak ve pH'sı asite ayarlanmış etanol ve PG'ü hiç veya çok düşük oranda içeren formülasyonların hazırlanması düşünülmüştür [17,18]. Ancak asit pH'da pKa'sı nedeniyle minoksidilin noniyonik yüzdesinin düşük olmasının, hidrofobik özellikteki stratum

korneumdan geçişini zorlaştıracak ortadadır. Organik çözücü içermeyen, kafa derisinde ve saçlarda yapışkan his oluşturmeyen, safra asiti ve tuzları kullanılarak minoksidil çözeltisinin hazırlanması üzerinde de patent çalışması mevcuttur [19]. Minoksidilin çözelti formülasyonunun hazırlanması üzerine yapılan çalışmaların yanısıra formülasyondan kaynaklanan irritasyonun oluşumunu engellemek ve minoksidilin stratum korneumdan geçişini kolaylaştırmak için organik çözücü içermeyen, minoksidili nm boyutundaki tanecikler (lipit nanotanecik), damlalar (çoklu emülsiyon, mikroemülsiyon) veya keseler (nizom, lipozom, etozom) içinde taşıyan nanosistemlerin hazırlanması yönünde formülasyon çalışmaları da yapılmaktadır [13, 20-31]. Ancak makale taraması sırasında minoksidili yağ/su tipi bir nanoemülsiyon içinde taşıyan sistem üzerinde hiçbir çalışmanın olmadığı saptanmıştır. Bu alanda bir açık olduğu tespit edilerek çalışmamızda nanoemülsiyon formülasyonu üzerinde yoğunlaşmaya karar verilmiştir. Nanoemülsiyonlar hem farmasötik amaçla hem de kozmetik amaçla kullanılabilen taşıyıcı sistemlerdir. Emülsiyon yapısını oluşturan damlaların boyutunun 20-1000 nm arasında olabileceği bildirilmektedir. Özellikle 200 nm'nin altındaki sistemler berrak veya çok hafif bulanıktır. Nanoemülsiyonların dermal taşıyıcı sistem olarak kozmetik ürünlerde kullanımının sağladığı çok sayıda avantaj vardır. Öncelikle büyük yüzey alanına sahip olmaları, etkili molekülün stratum korneuma penetrasyonunu artırır. İç fazlarında etkili maddeyi çözünür durumda tutarlar. Düşük viskozite ve yüzey gerilimine sahip olmaları, cilt yüzeyine kolaylıkla yayılmalarını sağlar. Kaba emülsiyonlara göre cildi çok daha iyi nemlendirirler. Bu sistemlerin yüksek enerji gerektiren veya çok düşük enerji gerektiren yöntemlerle hazırlanmaları mümkündür. Düşük enerji ile bu sistemlerin oluşturulmasında faz dönüşüm yöntemleri veya kendiliğinden emülsiyonun oluşumunu sağlayacak formülasyonlar kullanılmaktadır. Suda çözünmeyen etkili maddeyi nm boyutundaki yağ damlaları içinde çözünmüş durumda bulunduran yağ/su tipi nanoemülsiyonların, etkili maddenin deriden geçişini artırdığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır [33-41].

Bu tez çalışmasında,

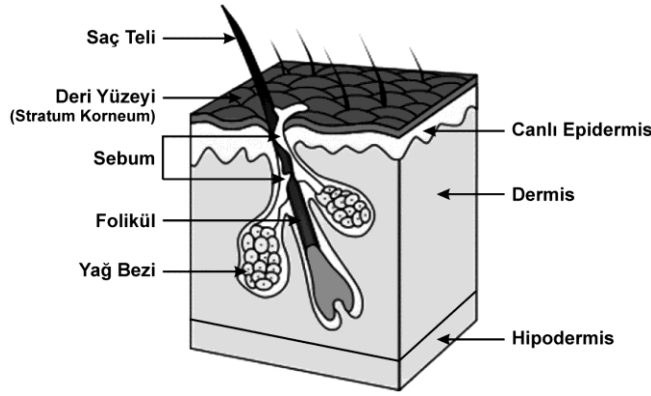
- a. Minoksidilin sudaki düşük çözünürlük özelliği,
- b. Minoksidilin ASD'de etkili olabilmesi için stratum korneumdan en yüksek seviyede geçme zorunluluğu ve

- c. Hazırlanan formülasyonun kafa derisinde herhangi bir irritasyona neden olmaması gerekliliği

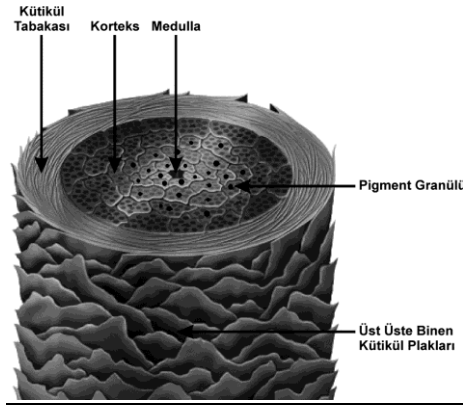
dikkate alınarak iç yağ fazında minoksidili çözünmüş durumda taşıyan, etanol gibi organik çözücü içermeyen yağ/su tipi bir nanoemülsiyon formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda planlanan çalışma,

- ✓ minoksidili % 2 oranında iç yağ fazında içeren ve su ile karıştırıldığında hemen kendi kendine oluşan bir nanoemülsiyon formülasyonunun geliştirilmesi,
- ✓ geliştirilen nanoemülsiyonun ticari ürünle, minoksidilin in-vitro deriden geçişi açısından kıyaslanması

olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır.



Şekil 2.2. Saç teli/yağ bezi birimi [44]



Şekil 2.3. Saç telinin enine kesitinin şematik gösterimi [45]

Kafa derisinde bulunan kıllar terminal saç teli olarak adlandırılır. Herbir terminal saç teli yağ bezine sahiptir (Şekil 2.1). Lanugo kıl ve vellus kıl olarak bilinen yapılar ise terminal saç telinden farklıdır. Lanugo kıl, doğmamış bebekte gelişen ve çoğu daha doğmadan dökülen kıl çeşididir. Halk arasında ayva tüyü olarak da bilinen vellus kıl ise yağ bezi bulundurmeyen 1 – 2 cm uzunluğunda, çok az veya hiç pigment içermeyen kıldır [46].

Saç kökü hücre çoğalması/ölümü, hücre farklılaşması, hücre göçü, diğer hücrelerle etkileşim ve hormonal cevap gibi fizyolojik işlemleri kendi kendine yapabilen, kendi kendini yenileyebilen bir organdır [47]. Her saç teli döngüsel bir yaşam sürecine sahiptir [48]. Bunun nedeni, her bir saç kökünün hormonlar, enzimler vb. gibi çok sayıda ve değişik sinyaller sayesinde bu süreci sürdürüyor olmasıdır [49]. Saç döngüsü anagen, katagen ve telogen fazdan oluşur. Saç telinin sürekli uzadığı anagen faz 2 - 6 yıl sürer. Uzamanın durduğu katagen faz ise 2 - 3 hafta kadar sürer. Foliküller bu fazda yeni saç teli

oluşturmaya başlar. Telogen faz ise 2 - 3 ay süren son aşamadır [50]. Bu fazda saç kökünde oluşan yeni saç teli uzayarak eski saç telini iter ve kafa derisini terketmesini sağlar. Her folikül ortalama bir insan ömrü boyunca yaklaşık yirmi kez saç teli oluşturur. Günde 100 saç telinin dökülmesi normal kabul edilir. Saçın dökülmesinde birçok etmen söz konusudur. Bunlardan bazıları aşağıda belirtilmiştir [3,49,51];

- ✓ Genel sağlıkta bozulma, yeterli seviyede beslenmeme, açlık, ani kilo kaybı (6-10 haftada tüm saç dökülebilir) [51]
- ✓ Bazı minerallerin ve vitaminlerin eksikliği (çinko, panthenol)
- ✓ Alkolizm
- ✓ Tiroid hormonu artışı (anagen fazın hızlanması)
- ✓ Steroid kullanımı (saç uzamasında yavaşlama)
- ✓ Androjenik ve östrojenik hormonlar
- ✓ Genetik faktörler

Saç dökülmesinin, androjenetik saç dökülmesi (ASD) olarak adlandırılan şekli [4, 60], erkeklerde ve kadınlarda farklı yaşlarda, farklı sıklıkta ve şekilde gerçekleşen; ergenlik döneminden sonra ortaya çıkan ve tıbbi yaklaşım gerektiren bir durumdur [108, 60]. ASD'nin oluşumunda temel olarak saç teli kökünün yaşam döngüsü değişir ve saç kökü küçülür [3, 109]. Sonuçta, terminal saç telleri vellus kıllara dönüşerek inceler ve uzama hızları azalır. Süre açısından en fazla 6 yıl süren anagen faz, ASD'de birkaç aya veya haftaya kadar iner; buna karşılık telogen fazın süresi ya aynı kalır ya da uzar. Sağlıklı kafa derisi için geçerli olan telogen fazdaki saç teli oranı (%5-10), %15-20'ye kadar çıkarak daha fazla saç teli dökülmeye başlar [1]. Erkek tipi saç dökülmesinin androjenik hormonlarla ilgili olduğu ispatlanmıştır [110]. Kanda serbest şekilde bulunan testosteron derideki hücrelerin içine girip 5-alfa redüktaz enzimi ile dihidrotestosteron'a (DHT) döner. DHT daha sonra androjenik reseptörlere bağlanıp hücre çekirdeğine giriş yapar ve saç kökünü inaktif duruma getirecek ve küçülmesine sebep olacak olan özel proteinlerin sentezine neden olur. Anti-androjen özellikli sistemik veya topikal etkili etkin maddelerin büyük bir çoğunluğu, ya 5-alfa redüktaz enzimini inhibe eder ya da DHT'nin reseptöre bağlanmasını engeller. Kadın tipi saç dökülmesinin nedeninin ise sadece androjenik hormonlar olmadığı artık bilinmektedir [1]. Herhangi bir fizyolojik veya patolojik bir

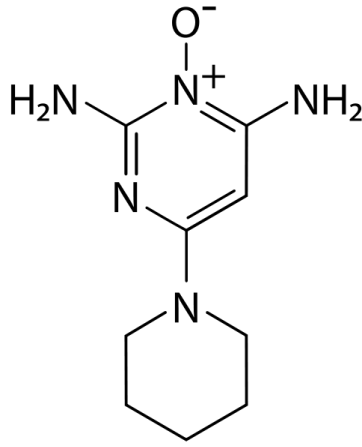
sıkıntı yok ise kadın tipi saç dökülmesinin sebebinin, genellikle genetik özelliklerden ve çevresel etkilere kaynaklandığı bildirilmektedir [111]. FDA, ASD için sadece topikal minoksidilin ve oral finasteridin kullanımına izin vermiştir. Erkek tipi saç dökülmesinde minoksidilin % 5'lik derişimi; kadın tipi saç dökülmesinde ise minoksidilin % 2'lik derişimi kullanılmaktadır [110]. Dutasterit, siproteron asetat, spironolakton, flutamid, progesteron, latanoprost ve simetidin'in tedavi amaçlı kullanım nedenleri farklı olmasına rağmen, bu maddeler de hekimler tarafından ASD için önerilen/kullandırılan veya ASD'de etkili olup olmadığı incelenen maddelerdir [83, 8, 10, 112, 52]. Antifungal etkili ketokonazolün (% 2) de ASD'de etkili olabileceği değişik çalışmalarda gösterilmiştir [53-57]. Bunların dışında bir anti-androjen olan fluridil dermal yoldan ASD için kullanılmaktadır [58]. FDA tarafından ASD'de kullanımı için henüz onay almamış bir molekül olmasına rağmen, fluridil'in Avrupa Birliği ülkelerinde Eucapil® isimli ticari ürünü bu amaçla pazarlanmaktadır [113]. Saç köklerinde ATP üretimini artırdığı bildirilen gliseril monopentadekanoat ile saç telinin telogen aşamasından anagen aşamasına geçişini hızlandıran ve DNA sentezini uyaran 6-(benzilamino) pürin, saç dökülmesine karşı Japonya Kozmetik Yönetmeliği'ne göre yarı ilaç olarak değerlendirilmiş iki moleküldür. Moleküllerin Japonya kozmetik pazarında ticari ürünlerinin bulunduğu bildirilmiştir [114].

Yukarıda belirtilen moleküllerin yanısıra klinik etkinliği ve/veya güvenliği tam kanıtlanmamış bitkisel karışımlar/ekstreler (saw palmetto ekstresi vb.), biotin, folik asit, amino asitler (arginin, sistein), peptitler (timosin, bakır peptitler), prosiyanidin, çinko tuzları (çinko asetat ve çinko sülfat), ve 2,4 diamino-pirimidinoksid (Aminexil®) de saç dökülmesini azaltmada tedavi desteği olarak değişik saç bakım ürünleri içinde kullanılmaktadır. Ticari ismi Toppik® olan ve küçük ince keratin iplikçiklerinden oluşan toz ürün de saç dökülmesine bağlı kafa derisinin açılan kısımlarını kapatmak amacıyla açık olan bölgelere serpilerek kullanılmak üzere pazarlanmaktadır [115-117, 8, 9, 59-61].

Belirtilen bu yapıların yanısıra, lazer ışını veren ve fırça şeklinde tasarlanan bir cihaz da FDA'den ASD'de kullanılmak üzere onay almıştır. HairMax® ticari ismi ile pazarlanmakta olan bu cihazın haftada 3 kez 15 dakikalık seanslar halinde uygulanması ile kafa derisindeki kan akış hızını artırarak ve saç kökündeki epidermal kök hücrelerini uyarak saç kökünün büyümesini sağladığı ve saç dökülmesini azalttığı belirtilmektedir [113, 118, 119].

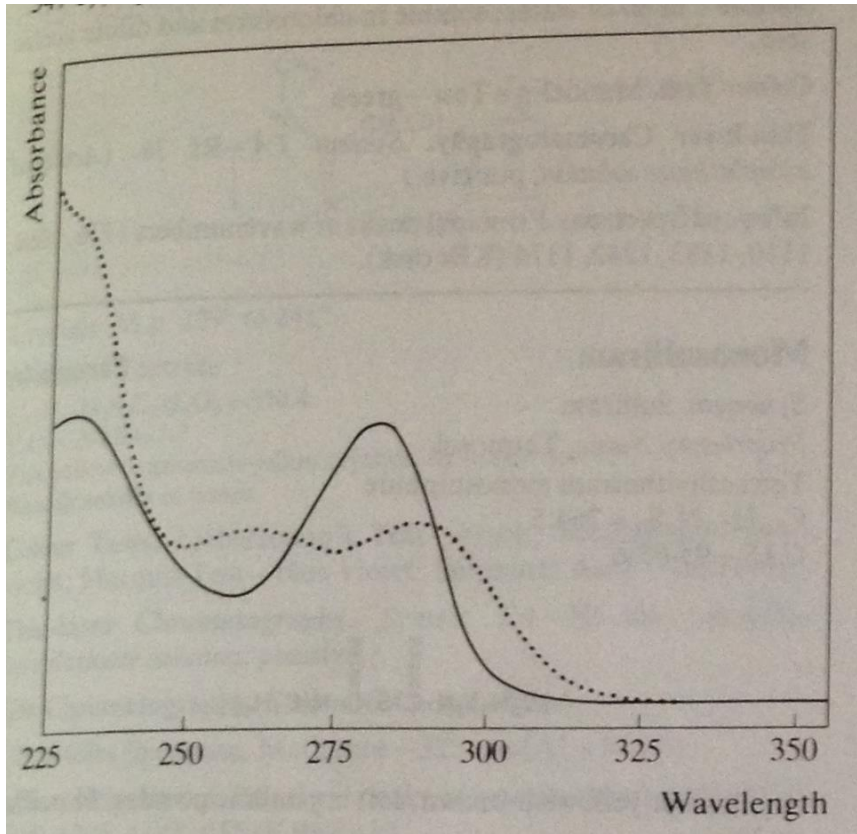
Faydalı olacağı düşünülen çok sayıdaki kimyasal maddeyi içeren bir karışımın enjeksiyon yolu ile dermise veya hipodermise uygulanması demek olan mezoterapi, saç dökülmesinde denenen diğer bir yöntemdir [120]. Oldukça ilgi çeken bir uygulama olmasına rağmen FDA bu yönteme, amacı ne olursa olsun onay vermemiştir. Mezoterapinin saç dökülmesinde kullanımı için bilimsel arama motorlarında yapılan taramalarda çok az sayıda çalışma olduğu saptanmıştır [122-124]. Bu çalışmaların önemli bir kısmı da uygulamanın sakıncalarını ve yan etkilerini bildirmektedir [123, 124].

2.2. Minoksidil



Şekil 2.4. Minoksidilin Kimyasal Yapısı [82]

Kimyasal yapısı Şekil 2.4’de görülen ve molekül ağırlığı 209,3 g/mol olan minoksidil ($C_9H_{15}N_5O$) beyaz veya beyazımsı renkte kristal toz halindedir [82]. pKa değeri 4,61’dir [62]. Oktanol/su partisyon katsayısı 15,85 [26] olarak belirtilmiştir. Sıcaklık arttıkça organik çözücülerde ve suda çözünürlüğü artmaktadır [63]. Değişik ortamlardaki çözünürlük değerleri Çizelge 2.1 verilmiştir. Minoksidil ışıktan korunması gereken bir maddedir [82]. 200°C üzeri sıcaklıklarda oksijenini kaybedip desoksiminoxidile dönüşür [62]. Ticari topikal çözeltilerin 15-30°C’de ışık almayan kaplarda saklanması gerektiği bildirilmektedir [106, 107]. Yapılan çalışmalar pH 5,0 minoksidil çözeltisinin stabil olduğunu göstermiştir [82]. 20°C’de pH 7,0 fosfat tamponunda 1^o kinetik modele göre parçalandığı ve bozulma yarı ömrünün 73,2 gün olduğu bildirilmiştir [62].



Şekil 2.5. Minoksidil asit pH'da 230-281nm arasında; alkali pH'da 262-288nm arasında absorbans vermektedir [64]

Dalga boyu, bir dalga örüntüsünün tekrarlanan birimleri arasındaki mesafedir. Spektrofotometri (X-ışını, UV, GB, IR), NMR, ESR, Fotoakustik spektroskopisi gibi aletli enstrümental analiz yöntemleri ile ışın absorpsiyonu ölçülebilmektedir.

Çizelge 2.1 Minoksidilin değişik ortamlarda çözünürlük değerleri

Çözünme ortamı	Çözünürlük değeri (mg/ml)
Su	2,2 mg / ml [64,62,18]
Etanol (%95)	29,0 [62], 18,8 [18], ~15 [15]
Gliserin	47,3 [18]
Propilen glikol	86,9 [18], ~90 [15], 75 [62]
Propilen glikol/su/etanol (20:63.2:16.8)	~22 [15]
pH'in etkisi	
7.0	1,9 [26]
6.0	2,5 [18]
5.0	4,1 [18]
4.6	11,3 [18]
3.6	22 [18]
3.0	87,6 [18], 82,6 [26]
2.6	220 [18]
2.0	876 [18]

Minoksidil Upjohn firması tarafından geliştirilmiş bir antihipertansif ilaçtır. FDA bu amaçla 1979 yılında oral kullanımı için bu moleküle onay vermiştir [11]. Daha sonra saç çıkarıcı ve büyütücü etkisi saptanmış [85-87] ve 1988 yılında %2'lik çözeltisinin erkeklerde ASD'e karşı kullanımı için FDA'dan onay alınmıştır [88, 89]. Aynı konsantrasyonun kadınlar için kullanılabileceği 1992 yılında FDA tarafından kabul edilmiştir. %2'lik çözeltinin FDA tarafından OTC olarak onay alması ise 1996 yılında gerçekleşmiştir. Daha sonra %5'lik çözeltisi ve köpüğünün yine OTC olarak kullanımı 1997 ve 2006 yıllarında kabul edilmiştir.

Orijinal ürün (Rogaine®) %2 ve %5 minoksidil içeren çözelti tipi bir üründür. Daha sonra aynı isimle köpük formülasyonu da hazırlanarak tüketici kullanımına sunulmuştur (Rogaine® 5% Foam, Pfizer Consumer Healthcare, NJ, USA). Minoksidili %5 oranında çözelti içinde bulunduran orijinal ürün, % 30 etanol ve % 50 propilen glikol içermektedir. % 5 minoksidil içeren köpük ise yardımcı madde olarak etanol, butil hidroksi toluen, su, laktik asit, gliserin, sitrik asit, setil alkol, stearil alkol, polysorbat 60 ve itici gaz içermektedir.

Minoksidilin çözelti tipi ticari ürünlerle görülen en yaygın yan etki kafa derisinde kaşınma, kuruma ve kepeklenmedir. Bazı kişilerde minoksidil ya da propilen glikole karşı dermatit gelişebilmektedir [12]. Minoksidil kullanımının birçok olguda saçta önce hafif dökülme ardından daha çok büyümeye ve güçlenmeye neden olduğu görülmüştür. Uzun süre kullanım sonrası aniden bırakmaya bağlı olarak saç kaybı yeniden başlamaktadır (rebound etki) [44]. Sürekli kullanımda, vücudun başka bölgelerinde de kılınma olabileceği değişik çalışmalarda gösterilmiştir [5, 11].

Minoksidilin saç dökülmesini azaltıcı ve saç çıkartıcı etkisinin değişik olası nedenleri aşağıda açıklanmıştır [11, 6, 10];

- a. Potasyum kanallarını açıcı etki [65]
- b. Vazodilatör etki, deride kan akış hızını artırıcı etki [66]
- c. Vasküler endotelial büyüme faktörünü artırıcı etki (saç köklerinde damarlanmanın artması) [67]
- d. Hücre proliferasyonunu ve DNA sentezini artırma etkisi
- e. Antiandrojen etki
- f. Kollojen sentezini baskılayıcı etki
- g. Dermal papilla hücrelerinin çoğalmasını artırıcı ve yaşam sürelerini uzatıcı etki [68]
- h. İmmünoşüpresif etki
- i. PGE₂ sentezini artırıcı etki

Topikal kullanımda günde iki kez %1 veya %5'lik çözeltilerinin kafa derisine uygulanması ile sistemik doza karşılık gelen minoksidil miktarının 2,4 mg ve 5,4 mg olacağı belirtilmiştir [11]. Değişik çalışmalarda ise ürün kullanımı ile kandaki derişiminin nadiren 5 µg/litre'nin üstüne çıktığı saptanmıştır [11]. Kafa derisine uygulama sonrası yarılanma ömrünün 3-4 saat kadar olduğu bulunmuştur [11].

Fare derisinin kullanıldığı bir in-vitro permeasyon çalışmasında (% 2,2 cm², 12,5-50 µL/cm², 32°C, pH:7,4, franz difüzyon hücresi, 12 saat) su içermeyen, etanol ve PG'den oluşan çözücünde etanol miktarı arttıkça akı değeri de artmış; ancak çözücündeki etanol miktarının %90'dan fazla olmasının akı değerini azalttığı saptanmıştır. Çözücü olarak sadece etanolün kullanılması durumunda akı değerinin etanol+PG (90:10) karışımının

neredeyse yarısı kadar olduğu bulunmuştur. Bunun nedeni, etanolün buharlaşması sonucu deri yüzeyinde minoksidilin kristallenmesi ile deriden emilimin çok azalması olarak açıklanmıştır [69].

Fare derisinin kullanıldığı başka bir çalışmada ise (62,5 µl, 1,77 cm², 35 µl/cm², 250°C), %0,02 minoksidil içeren ile %2 minoksidil içeren ve etanol, propilen glikol ve suyun 60:20:20 oranında kullanıldığı bir çözücü sistemi ile deriden geçiş çalışması yapılmıştır. %0,02 minoksidil içeren sistem ile epidermisdeki minoksidil miktarının 24 saat boyunca %2 minoksidil içeren sistemden yaklaşık 2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde deriden geçen miktar açısından da aynı bulguya ulaşılmış ve %0,02 ile deriden geçen minoksidil miktarının yaklaşık 5 kat fazla olduğu saptanmıştır. İn-vitro kütle denge çalışması yapılarak bunun nedeni, %2 minoksidil içeren çözeltinin deri yüzeyine uygulanması sonrasında 30 dakika içinde etanolün uçmasına bağlı olarak deri yüzeyinde kalan çözücünün minoksidili çözemeyecek bir içeriğe dönmesi, kısaca minoksidilin kullanılan çözücü sistemi için doygunluk derişimine ulaşması ve deri yüzeyinde kristallenmesi; %2 minoksidil içeren çözeltinin ilk başlarda sahip olduğu termodinamik aktivite yüksekliğinden kaynaklanan avantajının 30 dakikadan sonra ortadan kalkması olarak açıklanmıştır [14].

İnsan kadavra derisi kullanılarak yapılan benzer bir çalışmada (franz difüzyon hücresi, 0,78 cm², pH 7,2 , 37 °C, 30 µl) minoksidil farklı yüzdelerde (% 0,5-5 arası) içeren etanol, propilen glikol ve sudan (16,8:20:63,2) oluşan bir çözelti kullanılarak permeasyon çalışması yapılmıştır. Deri akı değerinin %3-4 minoksidil derişimine kadar arttığı ancak %5 minoksidil derişiminde akı değerinin önemli seviyede azaldığı saptanmıştır. Bunun nedeni araştırılırken uygulanan çözeltide çözücünün zamanla buharlaşması ve buna bağlı olarak minoksidilin kristallenme durumu incelenmiş ve oda sıcaklığında cama uygulanan çözeltinin ilk 30 dakika içinde ağırlığının yaklaşık %65'i kaybettiği saptanmıştır. %5 minoksidil içeren çözeltide ise ilk 6. dakikada minoksidil kristallerinin olduğu gözlenmiştir. %5 minoksidil içeren çözelti ile elde edilen düşük akı değerinin, uygulama sonrası çözücü buharlaşmasına bağlı olarak minoksidilin kristallenmesine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır [15].

İnsan derisinin kullanıldığı benzer bir in-vitro permeasyon çalışmasında (%2, 1,33 cm², 5µL/cm², 35°C, pH:7,4, Franz difüzyon hücresi, 28 saat) minoksidilin deriden geçişinin ve

stratum korneumda birikişinin çözücüdeki etanol, propilen glikol ve su miktarına bağlı olduğu tespit edilmiştir. Deriden geçişin incelenmesi sonucu akı değerinin etanol, PG, suyun sırasıyla 60:20:20 oranında içeren çözücü kullanıldığında en yüksek olduğu görülmüştür. Sistemin sadece etanol ve PG içermesi veya sadece PG ve su içermesi deriden geçişin az olmasına neden olmuştur. Stratum korneumda tutulan minoksidil miktarının da, çözücü içinde etanolün bulunması ile arttığı saptanmıştır [70].

İnsan denekle yapılan ilk çalışmalarla %2 minoksidil içeren ürünün kullanımı ile kadınlarda saç büyümesinde 8 ayda %15-33 oranında artış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda sıvağın saç büyümesine etkisi ise %9-14 olarak tespit edilmiştir [5]. %2 ve %5 minoksidil içeren orijinal çözelti tipi ürünlerin erkekte görülen ASD üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada [71] (393 erkek denek, günde 2 kez uygulama, 48 hafta) saç sayımına bağlı olarak yapılan inceleme sonucunda %5'lik ürünün %2'liğe göre %45 daha fazla saç çıkartıcı etkiye sahip olduğu ve klinik cevabın yüksek derişimle çok daha hızlı alındığı gösterilmiştir. Klinik cevabın maksimum düzeye erişme süresinin 12-16 hafta arasında olduğu ve daha sonra cevabın azaldığı saptanmıştır [6]. Kadın denekler üzerinde yapılan benzer bir çalışmada [72] da (381 kadın denek, günde 2 kez uygulama, 48 hafta) aynı sonuca varılmıştır.

Minoksidilin ticari köpük preparatı (Rogaine® 5% Foam) ile yapılan bir çalışmada ise [73] (7 erkek gönüllü, 25 cm² saçlı deriye 0,007 g köpük uygulanmış) minoksidilin temel olarak saç folikülünden emildiği, emilim bölgesinde sadece foliküllerin açık olduğu uygulamada köpüğün kafa derisine uygulanmasından sonraki 5. dakikada kanda minoksidilin tespit edildiği; emilim bölgesinde foliküllerin kapalı olduğu uygulamada ise bu sürenin 30 dakikaya çıktığı tespit edilmiştir.

Minoksidilin deriden geçişini artırmak için tretioninin kullanıldığı bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesinde [74], tretinoinin (%0,05), %2 minoksidil çözeltisinden minoksidilin emilimini 3 kat artırdığı; tretinoin sayesinde günde bir kez uygulanan %2'lik minoksidil sonrası idrarla atılan minoksidil miktarının %2 minoksidilin günde iki kez kullanımından çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise minoksidilin %0,5 tretinoinin %0,025 oranında çözöldüğü %95 alkol + %5 propilen glikol çözeltisi günde 2 kez kafa derisine uygulanmış ve anagen fazdaki saç yüzdesinin anlamlı ölçüde fazlalaştığı belirlenmiştir. Daha sonra yapılan bir çalışmada ise 18 hafta boyunca 31

erkek denekte %5 minoksidilin %0,01 tretinoinle beraber günde bir kez kullanımı ile %5 minoksidilin tek başına günde iki kez kullanımı arasında ASD'nin klinik belirtilerini düzeltme açısından anlamlı bir farklılık oluşmadığı bulunmuştur [76]. Farelerde yapılan bir çalışmada da buna benzer bir sonuç bulunmuştur. Kıl büyüme hızı ve kıl çapı gibi parametreler açısından %5 minoksidil ve %0,1 tretinoin içeren çözeltinin, %5 minoksidil içeren çözeltiliye göre bir üstünlük sağlamadığı; %5 minoksidil içeren çözeltinin çok daha etkili olduğu saptanmıştır [53].

2.3. Nanoemülsiyon Sistemler

2.3.1. Nanoemülsiyonlar

Nanoemülsiyonlar birbiriyle karışmayan iki sıvıdan birinin diğer bir sıvı içerisinde nano boyutta dağıldığı sistemlerdir [90, 91]. Damlacık boyutları 1000 nm'nin altındadır. Çoğunlukla 20-200nm arası damlacık boyutları nanoemülsiyon için kabul edilen sınırlardır [124].

Nanoemülsiyonlar nano boyuttaki dağılımları ve fiziksel özellikleri ile ilginç yapılardır. Yüksek oranda damlacık içeren bu sistemler optik olarak şeffaf veya hafif bulanık görünümlüdürler. Nanoemülsiyonlar kinetik olarak stabil olmalarına rağmen termodinamik açıdan stabil değildirler. Nanoemülsiyon damlacıkları sıcaklık, pH değişimine ve seyreltmeye karşı bütünlüklerini korurlar [124].

Nanoemülsiyonların, makroemülsiyonlara göre bazı üstünlükleri bulunmaktadır. Bunlar aşağıda sıralanmıştır [77];

- a) Boyutlarının çok küçük olması sebebiyle damlacıklar sistem içinde asılı durumda kalır. Dolayısıyla kremalaşma ve folükülasyon engellenir. Sonuçta faz ayrışmasının önüne geçilmiş olunur.
- b) Düşük yüzey gerilimi nedeniyle deriden emilimleri fazladır.
- c) Düşük oranda surfaktanla hazırlanabilirler.
- d) Deri tabakalarını daha kolay geçebilirler.
- e) Estetik görünüme sahiptirler.
- f) Krem, köpük veya sprey halinde tüketiciye sunulmaları mümkündür.
- g) Uçucu maddelerin hazırlanmasına uygun sistemlerdir.

- h) Sudaki çözünürlüğü az olan maddelerin suda çözünür hale geçmesine yardımcı olurlar.

Nanoemülsiyonlar, hazırlama yöntemleri, fiziksel özellikleri

Nanoemülsiyonların hazırlanmaları için değişik surfaktanların, surfaktan ile beraber ko-surfaktanların veya bunlarla beraber mekanik aletlerin kullanımı gereklidir. Nanoemülsiyonlar surfaktan yardımcısı içerecek veya içermeyecek şekilde hazırlanabilirler. Hazırlama sırasında damlalar esneyip uzayarak kopar. Damlaların oluşumu sırasında ortamda bulunan surfaktan molekülleri oluşan damlaların yüzeyine adsorbe olur ve oluşan nanometre boyutundaki damlalar; iç fazın toplam yüzey alanında önemli bir artışa neden olur [124].

Nanoemülsiyon hazırlama yöntemleri

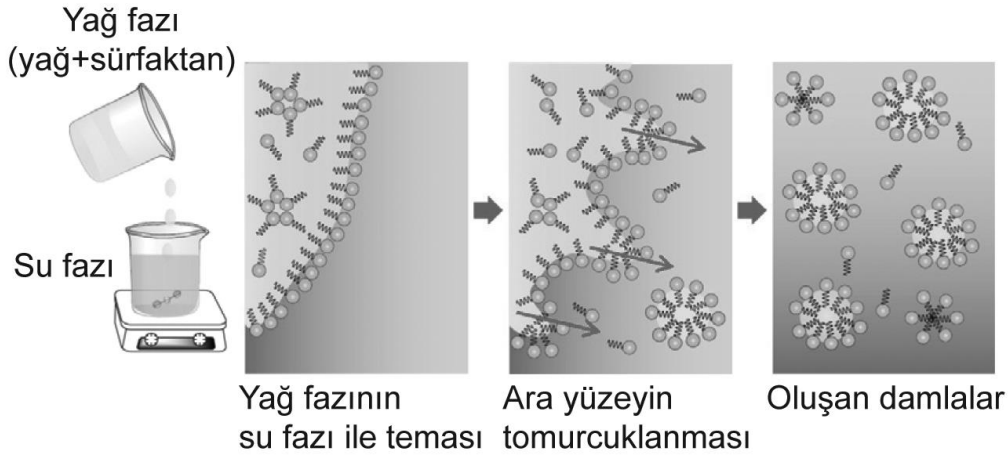
Yüksek enerjinin kullanıldığı nanoemülsiyon hazırlama yöntemlerinde, yüksek basınçlı homojenizatör, mikrofluidizer veya ultrasonik enerji kaynağı, damlaların nanoemülsiyon boyutuna indirilmesi için gerekli enerjinin sağlandığı aletlerdir. Yüksek basınçlı homojenizasyon yönteminin temeli daha önce oluşturulan kaba emülsiyonun yüksek basınç altında çalışan homojenizatörün içinden geçilmesi esasına dayanır [125]. Mikrofluidizasyon yönteminde ise basınç oluşturan bir pompa ve çok sayıda mikrokanaalın bulunduğu bir etkileşim odasından oluşan mikrofluidizer denen sistemler kullanılır. Ultrasonik enerjinin kullanıldığı yöntemde enerji kaynağı olarak ultrasonik dalga veren sondalar kullanılır. Membran emülsifikasyon yöntemi ise enerjinin basınç ile oluşturulduğu bir yöntemdir. Bu yöntemde belli gözenek boyutuna sahip bir zardan iç faz dış fazın içine itilir.

Düşük düzeyde enerjinin kullanıldığı yöntemlerde nanoemülsiyon damlalarının oluşumu için karışıma dışarıdan enerji verilmesine gerek yoktur. Bu amaçla faz dönüşümünden, çözücünün buharlaştırılmasından veya damlaların kendiliğinden oluşumunu sağlayacak maddelerin kullanımından yararlanılır.

Faz dönüşümü ile nanoemülsiyonun oluşabilmesi için gerekli olan enerji, faz dönüşümü sırasında ortaya çıkan kimyasal enerjiden sağlanır. Faz dönüşümü; hazırlama sıcaklığının

değişimi, pH'nın değişimi, tuz ilavesi, iç ve dış faz oranlarının değiştirilmesi ile sağlanabilir [126, 127]. Çözücü buharlaştırma yöntemi genellikle yağ/su tipi nanoemülsiyon hazırlamak için kullanılır. Bu yöntemde su ile karışabilen bir organik çözücü (aseton, etanol gibi) önce yağ fazı ve lipofilik surfaktanla karıştırılır. Bu çözelti daha sonra, hidrofilik surfaktan içeren su fazına ilave edilir. Yağ fazındaki organik çözücünün hızla su fazına difüzyonu ile nm boyutunda yağ damlaları oluşur [128]. Oda sıcaklığında basit karıştırma ile hazırlanan bu nanoemülsiyondan daha sonra su fazına geçen organik çözücü vakum uygulanarak uzaklaştırılır [129].

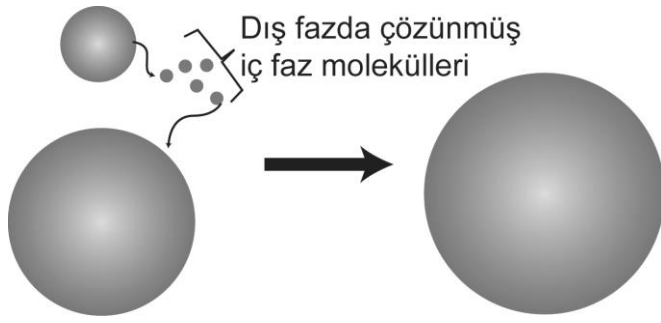
Nanometre boyutundaki damlaların kendiliğinden oluşması bahsedilen diğer yöntemlerden daha farklıdır. Çalışmamızda da bu yöntem kullanılmıştır. Yağ, surfaktan veya surfaktan/yardımcı surfaktandan oluşan yağ fazının su fazı ile teması sonucu anında oluşan nanoemülsiyonlar, kendi kendine nanoemülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistemler (self-nanoemulsifying drug delivery systems, SNEDDS) olarak bilinir. Bu nanoemülsiyonların hazırlanması için yağ fazı ve surfaktan seçimi ayrı bir özellik gerektirmektedir [32]. Seçilecek surfaktanların hem yağ fazında hem de su fazında çözünmesi şarttır. Bu koşullar sağlandığında, yağ fazının su fazı ile teması sonucu yağ fazında çözünmüş olan surfaktan molekülleri, su fazına geçmek üzere harekete geçer. Bu olay sonucu arayüzey bir anda Şekil 2.6'da görüldüğü gibi tomurcuklanır. Ara yüzeyin genişlemesi yüzeyde moleküler türbülansın oluşması anlamına gelir (Şekil 2.6) [130-132]. Sonuçta iç faz ana kütleden koparak damlaları oluşturur. Oluşan nanoemülsiyonun ortalama damla boyutu ve damla boyutu dağılımı, fazlar arası yüzey gerilimine, ara yüzeyin viskozitesine, yağ fazının viskozitesine, kullanılan surfaktan veya surfaktanların yapısı ve miktarına ayrıca formülasyona ilave edilen etken madde gibi diğer maddelere bağlıdır.



Şekil 2.6. Yağ fazının su fazı ile teması sonucu hemen kendiliğinden nanometre boyutundaki damlaların oluşumu

Nanoemülsiyonların Fiziksel Özellikleri

Nanoemülsiyonların kaba emülsiyonlardan en önemli farkı damla boyutu ve damla boyutu nedeniyle ışığı kırma özelliğinin değişmiş olmasıdır. Damla boyutu 50-200 nm arasında olan nanoemülsiyonlar berrak, damla boyutu 200-500 nm arasında olanlar ise hafif bulanık-sütümsü görünümündedir [133]. Boyutları nedeniyle, damlalarının sistem içinde hareket ederek bir araya gelmesi ve sistemin, kremalaşması hemen hemen imkansızdır. Nanoemülsiyon sistemler hem büyük hem de küçük damlalardan oluşur. Büyük ve küçük damlalar arasında kimyasal potansiyel farkının olması nedeniyle, iç faz molekülleri küçük damlaları terkedip dış fazda çözünür ve difüzlenererek daha büyük damlalara katılır. Büyük damlalar daha da büyüyerek nanoemülsiyonun ortalama damlacık boyutu artar. Bu olay Şekil 2.7’de Ostwald olgunlaşması şematik olarak görülmektedir. Sonuçta sistem içindeki damlaların ortalamasının büyümesi ile faz ayrışması meydana gelebilir. İç fazın dış fazda çözünmeyen maddelerden oluşması ara yüzeye yüksek oranda adsorbe olan surfaktanların kullanımı ve dış faz viskozitesinin arttırılması Ostwald olgunlaşmasının hızını yavaşlatabilir.



Şekil 2.7. Ostwald olgunlaşmasının şematik gösterimi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Minoksidil.....	Hangzhou Union Biotechnology CO LTD, Çin
Polyoxyl 40 Hydrogenated Castor Oil.....	BasF (Cremophor RH40)
Polyethylene glycol (15)-hydroxystearate.....	Sigma (Solutol HS15)
Balık Yağı.....	Botafarma, Samsun, Türkiye
Kaprilik/Kaprik/Linoleik Trigliserit.....	Hänseler, Almanya (Miglyol 818)
Laktik Asit.....	Carlo Erba Reagent, İtalya
1,2- Propilen Glikol.....	Aklar Kimya, Türkiye

Not: Kimyasal maddelerin ticari isimlerinin uzun olması nedeniyle bundan sonraki metin içinde ilgili maddelerin ticari isimleri kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

Damlacık büyüklüğü ölçüm aleti.....	ZetaSizer Nano ZS, Malvern Inst., İngiltere
pH-metre.....	pH Meter CG 840, Almanya
Santrifüj	Selecta Mixtasel, İspanya
UV spektrofotometresi	Shimadzu UV 1700, Kolombiya
Polarize ataşmanlı mikroskop.....	LEICA DMEP, Almanya
Diyaliz membran.....	D-0405, Sigma, Almanya (cut-off: 15000 Dalton)
Rotasyonel viskozimetre.....	Brookfield RV III + Rheometer, Amerika
Termostatlı ısıtıcı	DT Hetotherm, Danimarka

Manyetik karıştırıcı.....1. Kottermann, Almanya
 2. Wisestir, Almanya
 3. Labinco 521, Hollanda
 Franz difüzyon hücreleri.....Çalışkan Cam, Ankara-Türkiye
 Hassas Terazî.....Shimadzu AW320, Kolombiya
 İklim Dolabı.....Sanyo, Japonya

3.2. Yöntem

3.2.1. Minoksidil ile yapılan çalışmalar

Minoksidilin UV Spektrumu ve Standart Eğrisinin Çıkarılması

Bu çalışmada çözücü olarak su ve pH 5,2 tampon kullanıldı (Çizelge 3.1). Çözücü olarak pH 5,2 tampon kullanıldı. Çünkü salım deneyleri sırasında deri pH'sının taklit edilmesi istendi. Minoksidilin suda ve pH 5,2 tamponda 10 µg/mL derişiminde çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin 200-400 nm dalga boyları arasında maksimum absorbans verdiği dalga boyu ($\lambda_{\max}$) saptandı. Saptanan dalga boyunda minoksidilin 1µg/mL-16µg/mL arasında değişen derişimlerde sudaki ve pH 5,2 tampondaki çözeltilerinin absorbansları okundu ve bu verileri tanımlayan standart doğru denklemi çıkarılıp kalibrasyon grafiği çizildi.

Çizelge 3.1. pH 5,2 tampon formülü [79]

KH ₂ PO ₄	0,892 g
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,0189 g
Su	ym 100 mL

Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonu

Analitik yöntemin validasyonu, analizi yapılacak etkin bileşenin miktar tayinine yönelik olarak kullanılan yöntemin güvenilirliğini göstermek için yapılması gereken deneyler ve bu deneylerin sonuçlardan oluşur.

Yöntemin geçerliliğinin ispatlanması için hesaplanacak parametreler aşağıda verildi. Bu parametreler minoksidilin sudaki ve pH 5,2 deki çözeltileri kullanılarak yapılan analizler için saptandı.

- a. Doğrusallık (linearity)
- b. Doğruluk (trueness)
- c. Kesinlik (precision)
- d. Saptama sınırı (limit of detection, LOD)
- e. Özgünlük (specificity) ve seçicilik (selectivity)
- f. Dayanıklılık (Etkin bileşenin teşhis ve tayin aşamasında)

a. Doğrusallık (linearity)

Kalibrasyon verilerinin doğrusallığı; deney bulgularının doğrudan veya dolaylı olarak örnek içindeki madde derişimi veya miktarı ile doğru orantılı olması demektir. Bu çalışmada yöntemin doğrusallığını göstermek için minoksidilin suda 200 µg/ml'lik stok çözeltisinden hareketle en düşük 1 µg/ml ve en yüksek 16 µg/ml olacak şekilde 13 değişik derişimde ve pH 5,2 tamponda 200 µg/ml'lik stok çözeltisinden hareketle en düşük 1 µg/ml ve en yüksek 12 µg/ml olacak şekilde 12 değişik derişimde minoksidil çözeltisi hazırlandı. Her bir derişim için 3 paralel seri hazırlanarak ölçümler yapıldı. Elde edilen çözeltilerin absorbansları sulu çözeltiler için $\lambda_{\max} = 287$ nm'de pH 5,2 ile hazırlanan çözeltiler için $\lambda_{\max} = 283$ nm'de okundu. Verilere doğrusal regresyon uygulanarak kalibrasyon denklemi elde edildi. İlgili istatistiksel parametreler saptandı.

b. Doğruluk (trueness)

Kullanılan analiz yönteminin doğruluğu; herhangi bir numune içindeki gerçek değeri ölçebilme kabiliyeti demektir ve geri elde ile hesaplanır [93]. Bu amaçla kalibrasyon denklemi ve doğrusu çıkarılırken kullanılmış, üç paralel seri şeklinde çalışılmış düşük (2 µg/ml), orta (5 µg/ml) ve yüksek (10 µg/ml) derişimde olan minoksidil çözeltilerinin absorbansları esas alındı. Bu absorbanslara karşılık gelen pratik derişim değerleri hesaplanarak bunların ortalaması ($\bar{X}$), standart sapmaları (SS) ve %bağıl sapmaları (%BS) hesaplandı. Her bir derişim için hesaplanan %BS değerinin %2'den az olup olmadığına bakıldı.

c. Kesinlik (precision)

Kesinlik, bir yöntemin birbirini takip eden ölçümlerinin birbirleriyle olan tutarlılığının ölçüsüdür. Bu çalışmada kesinlik değeri, deneylerin aynı laboratuarda bir tek araştırmacı tarafından yapılması nedeniyle sadece "inter-run" veya "repeatability" olarak isimlendirilen kesinlik değeri hesaplanarak saptandı. Bunun için kalibrasyon denklemi ve doğrusu çıkarılırken kullanılmış derişim değerleri esas alındı. Düşük (2 µg/ml), orta (5 µg/ml) ve yüksek (10 µg/ml) olmak üzere 3 derişim seçildi. Her bir derişim için üç paralel çalışılarak absorbanslar okundu. Okunan absorbansların ortalaması ($\bar{X}$), standart sapması (SS) ve %bağıl sapması hesaplandı (%BS) [80]. Hesaplanan %BS değerlerinin %2'den az olup olmadığına bakıldı.

d. Saptama Sınırı (limit of detection, LOD)

Bir analiz yönteminin saptama sınırı, bir numune içindeki etkin bileşenin uygun incelik ve hassasiyetle saptanabilen en düşük miktarıdır [79]. Saptama sınırının belirlenmesi amacıyla, kalibrasyon doğrusunun çıkarılmasında kullanılan en küçük derişimin standart sapması 3,3 ile çarpılıp, doğrunun eğimine bölündü [81]. Ayrıca yine kalibrasyon eşitliği kullanılarak ortamda hiç minoksidil olmaması durumunda ne kadarlık absorbans okunacağı da hesapla bulundu.

e. Özgünlük ve Seçicilik (specificity-selectivity)

Özgünlük ve seçicilik, yöntemin sadece analiz edilmek istenen maddeye özgün olması ya da numune içerisindeki safsızlıklar olduğunda formülasyonda, yardımcı maddeler ya da bozunma ürünlerinin varlığında analiz edilmek istenen maddenin doğru bir şekilde saptanmasıdır. Bu saptama, bu çalışma için özellikle salım deneyleri sonuçlarının doğru olduğundan emin olunması açısından önemlidir.

Bu amaçla formülasyonda kullanılan ve suda çözünebilen her bir maddenin (propilen glikol, Cremophor RH 40, laktik asit) sudaki ve pH 5,2 deki çözeltilerindeki spektrumları alındı. Bu spektrumlar minoksidilin UV spektrumu ile karşılaştırıldı. Böylece yöntemin özgünlük ve seçiciliği değerlendirildi. Formülasyonda bulunan ancak suda çözünmeyen Miglyol 818 için bu çalışma yapılamadı.

f. Dayanıklılık (Stabilite)

Bu çalışmada minoksidilin ışıktan korunması gerektiği bildirildiği için tüm çalışma UV korumalı laboratuvarında yapıldı [82] . Minoksidilin 12 µg/ml derişiminde hazırlanan suda ve pH 5,2 tampondaki çözeltisi kullanılarak bileşenin kimyasal dayanıklılığı takip edildi. Minoksidilin sudaki çözeltisi ve pH 5,2 tampondaki çözeltisi ise deri sıcaklığı olan 32°C'de 7 saat boyunca bekletildi. Belirli zamanlarda örnekler alınarak analiz yapıldı. Bu çalışma salım deneyleri, çözünürlük ve partiyon deneyleri süresince minoksidilin dayanıklı olup olamayacağını anlaşılmaması amacıyla gerçekleştirildi.

Minoksidilin Suda, pH 5,2'de ve Propilen Glikoldeki Çözünürlüğünün Saptanması

Minoksidilin sudaki çözünürlüğü değişik kaynaklarda belirtildiği için (2,2 mg/ml). Bu çalışmada minoksidilin sudaki çözünürlüğü incelenmedi [64, 62, 18].

Minoksidilin 25°C'de pH 5,2 tamponda çözünürlüğünün saptanabilmesi için minoksidil pH 5,2'lik tampon çözeltide süspande edildi. Bu karışım 25±0,5°C'de manyetik karıştırıcı yardımıyla 24 saat karıştırıldı. 24 saat sonra por çapı 0,45 µm olan membran filtre kullanılarak örnekler süzüldü. Örneklerde uygun seyreltmeler yapılarak bekletmeden spektrofotometrede absorbanları okundu, derişimler saptandı ve çözünürlük değerleri hesaplandı. Çalışma üç paralel olacak şekilde yürütüldü.

Minoksidilin 25°C'de propilen glikoldeki çözünürlüğünün saptanabilmesi için minoksidil propilen glikolde süspande edildi. Bu karışımlar 25±0,5°C'de manyetik karıştırıcı yardımıyla 24 saat karıştırıldı. 24 saat sonra por çapı 0,45 µm olan membran filtre kullanılarak örnekler süzüldü. Örneklerde uygun seyreltmeler yapılarak bekletmeden spektrofotometrede absorbanları okundu, derişimler saptandı ve çözünürlük değerleri hesaplandı. Çalışma üç paralel olacak şekilde yürütüldü.

Minoksidilin Miglyol 818/Su ve Miglyol 818/Propilen Glikol arası partiyon katsayısının saptanması

Bu amaçla eşit hacimde Miglyol 818 ve su ile Miglyol 818 ve propilen glikol 25°C'de manyetik karıştırıcı ile 24 saat süresince karıştırıldı. Böylece fazların birbiri ile doyması

sağlandı. Ayırma hunisinde fazlar ayrıştırıldı ve sonra fazlar santrifüje konarak ayrışmanın tam olması sağlandı. Bu işlem sonucu elde edilen su fazında 25°C'de minoksidilin 2mg/mL derişimindeki; propilen glikol fazında 25°C'de minoksidilin 50mg/ml doygun çözeltisi hazırlandı. Bu derişim değeri, minoksidilin 25°C'de sudaki ve propilen glikoldeki çözünürlük değeri kadardı. Minoksidili çözünürlük değerinde içeren propilen glikol ve su fazı, aynı hacimde propilen glikol ile doyurulmuş miglyol ve su ile doyurulmuş miglyol ile manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırıldı. 24 saat sonra karışımlar alınıp önce ayırma hunisinde fazlar ayrıştırıldı sonra santrifüje konarak ayrışmanın tam olması sağlandı. Daha sonra su fazı ve propilen glikol fazları alınarak spektrofotometrede okundu, derişimlerden hareketle partision katsayısı hesabı yapıldı. Hesap Eşitlik 3.1 kullanılarak yapıldı. Çalışma üç paralel olacak şekilde yürütüldü.

Partision Katsayısı= Miglyoldeki minoksidil derişimi/ PG'deki minoksidil derişimi (3.1)

Partision Katsayısı= Miglyoldeki minoksidil derişimi/ Su fazındaki minoksidil derişimi

Nanoemülsiyonların Miktar Tayini

Nanoemülsiyonlarda minoksidil miktar tayini Shimadzu UV 1700 spektrofotometresi kullanılarak yapıldı. Saptanan dalga boylarında, minoksidilin hazırlanan nanoemülsiyon örneklerinden alınarak su ve pH 5,2 tampon çözeltisindeki absorbsansları okundu. Okunan bu absorbsanslar suda 287nm, pH 5,2 tampon çözeltisinde 283nm olarak belirlendi ve kalibrasyon denklemlerine yerleştirilerek miktar tayini yapıldı.

3.2.2. Formülasyon çalışmaları

Bu çalışmada minoksidil içeren, etanol gibi cildi irrite edebilecek bir organik çözücü kullanmadan, herhangi bir mekanik karıştırma uygulanmadan ve kendi kendine oluşabilen nanoemülsiyon sistemleri (self nanoemulsifying delivery systems, SNEDS) geliştirilmeye çalışıldı.

Yağ fazı olarak iki değişik yağ (Balık yağı ve Miglyol 818), surfaktan olarak Cremophor RH40, su fazı olarak distile su kullanıldı.

Amaç, dış fazı su olan, iç yağ fazı damlacıkları nm büyüklüğünde olan ve minoksidili iç yağ fazı damlacıkları içinde taşıyan bir nanoemülsiyon formülasyonu geliştirmektir.

Bu amaçla çalışma iki aşamada yürütüldü:

a) Tek surfaktan kullanılarak kendiliğinden nanoemülsiyon formülasyonunun (SNEDS) geliştirilmesi

b) Surfaktan ve yardımcı surfaktan kullanılarak SNEDS formülasyonunun geliştirilmesi

Üçgen faz diyagramlarının çıkarılması

Tek surfaktan içeren SNEDS hazırlamak için aşağıdaki aşamalar takip edildi:

1. Adım (Yağ fazının hazırlanması): Belirli yüzdelerde yağ ve cremophordan oluşan karışımlar hazırlandı. Bu amaçla yağ ve cremophor belirli oranlarda 30°C'de sabit hızda manyetik karıştırıcıda karıştırılarak sistem homojen duruma getirildi. Yaptığımız ön çalışmalarda surfaktan ve miglyolün veya balık yağının karışabildiği oranlar tespit edildi.

2. Adım (Yağ ve su fazlarının karıştırılması): Cremophor RH40 ve miglyolden oluşan berrak ve balık yağından oluşan sarı renkli kütlenin karıştırılması devam ederken, kütleye damla damla distile su ilave edildi. Sistemin bulanıklaştığı anda harcanmış olan su miktarı tespit edildi. Miglyol ve balık yağı kullanılarak yapılan çalışma sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.16'da verildi.

Bulanmanın tespit edildiği anda sistem içinde “cremophor+yağ” ve belli oranda su vardı. Bu oranlar esas alınarak faz diyagramlarındaki berrak bölge sınırları tespit edildi.

Çıkarılan faz diyagramlarında nanoemülsiyon oluşumunun gerçekleştiği bölge içinde, sistemlerin değişik özelliklerini karşılaştırabilmek için su oranı (dış faz) sabit tutularak (%10) iç faz oranı %10, %20, %30 olacak şekilde nanoemülsiyon noktaları (6 adet) belirlendi ve Çizelge 3.2'de görülen nanoemülsiyon sistemler hazırlandı.

Çizelge 3.2 Miglyol ve balık yağı ön formülasyon çalışmaları

	Miglyol 818	Cremophor RH40	Su
M1	10	80	10
M2	20	70	10
M3	30	60	10
	Balık Yağı	Cremophor RH40	Su
B1	10	80	10
B2	20	70	10
B3	30	60	10

Bu nanoemülsiyonların sıvı kristal yapıda olup olmadığını görmek amacıyla polarize ışık altında mikroskop görüntülerine bakıldı. Balık yağı ile hazırlanan formülasyonlardan iki tanesinde (B2 ve B3) bir gün içinde faz ayrışması görüldü. Bu nedenle bu iki formül çalışmadan çıkarıldı.

Üzerinde çalışacağımız dört nanoemülsiyon (M1, M2, M3, B1) hazırlandıktan hemen sonra pik sayısı tekli pik oluncaya kadar seyreltme yapılarak damlacık boyutu ve polidispersite indeksleri (PDI) ölçüldü. Bunun sebebi damlacık boyutunun ve dağılımının doğru ölçülebilmesiydi. Bu ölçümler için üçer paralel çalışma yapıldı ve bu çalışmalara ait istatistik değerlendirme gerçekleştirildi (Bkz. Çizelge 4.17).

Seyreltme sonrası en küçük damlacık boyutuna sahip olmaları nedeni ile ve her iki yağın da sistemin özellikleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla miglyol ile hazırlanan nanoemülsiyonlar içinden M1 formülasyonu ve balık yağı ile hazırlanan B1 formülasyonlarıyla çalışmaya devam edilmesine karar verildi. Daha sonra bu formülasyonlarda (M1, B1) yardımcı surfaktan kullanımının damlacık boyutu üzerinde etkili olup olmadığını, damlacık boyutunu daha da küçültüp küçültemeyeceğini incelemek için formülasyonlarda solutolun yardımcı surfaktan olarak kullanılması düşünüldü.

Solutolun kullanılacağı formülasyonlarda surfaktan/yardımcı surfaktan oranına karar verirken daha önce aynı konuda anabilim dalında yapılan bir tez çalışması esas alınarak 8:1

oranının kullanılmasına karar verildi [84]. Bu formülasyonların hazırlanmasında önce surfaktan ile yardımcı surfaktan karışımı hazırlandı. Sonra bu karışıma yağ fazı ilave edildi. Sistem sürekli karıştırılarak homojen duruma getirildi. Surfaktan/yardımcı surfaktan/yağdan oluşan berrak ve sarı renkli kütlenin karıştırılması devam ederken, kütleye damla damla su fazı ilave edilerek Çizelge 3.3'deki nanoemülsiyon oluşumu sağlandı. Oluşan nanoemülsiyonların damla boyutları tespit edildi (Bkz. Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19). Sıvı kristal yapıda olup olmadığını görmek amacıyla her bir sistem polarize ışık altında mikroskopta incelendi ve sıvı kristal yapıya rastlanmadı. Daha sonra bu nanoemülsiyonlar (XM1, XB1) M1 ve B1 kodlu nanoemülsiyonlar gibi 1:5, 1:10 ve 1:15 oranlarında su ile seyreltilti. Bu sistemlerin damlacık boyutları (Z, nm) ve polidispersite indeksleri (PDI) ölçüldü. Bu ölçümler için üçer paralel çalışma yapıldı ve bu çalışmalara ait istatistik değerlendirme gerçekleştirildi (Bkz. Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21).

Çizelge 3.3. XM1 ve XB1 nanoemülsiyonların oranları

	Miglyol 818	Cremophor RH40	Solutol HS15	Su
XM1	10	71,11	8,89	10
	Balık Yağı	Cremophor RH40	Solutol HS15	Su
XB1	10	71,11	8,89	10

Surfaktan ve yardımcı surfaktan içeren formülasyon (XM1, XB1) ile tek surfaktan içeren formülasyonların (M1, B1) damlacık boyutları ve polidispersite indeksleri karşılaştırıldı. XM1 ile M1; XB1 ile B1 formülasyonları arasındaki kıyaslanan parametreler açısından anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü. Her iki formülasyon da 1:10 ve 1:15 seyreltme oranlarında tek pik oluşturdu.

Kozmetik amaçla kullanılması planlanan bir formülasyonda, surfaktanların cildi irite edebilme etkileri de düşünülerek, damlacık boyutundaki değişimin çok büyük oranda olmaması sebebiyle bundan sonraki çalışmalarda tek surfaktanlı sistemlerin kullanılmasına karar verildi.

Çalışmanın bundan sonrasında, minoksidili iç yağ fazında taşıyacak nanoemülsiyon formülasyonlarına (M1, B1) karar verildikten sonra, bu formülasyonlar %2 minoksidil içerecek şekilde hazırlanmak üzere ilgili çalışmalara başlandı. Amacımız, derideki gözeneklerin 50nm^2 'nin altında olması nedeniyle, damlacık boyutu 50nm 'nin altında olan ve minoksidili ticari üründe olduğu gibi %2 oranında içeren bir nanoemülsiyon formülasyonu geliştirmektir.

Öncelikle 100g M1 formülasyonunu oluşturacak yağ+surfaktan karışımında 2g minoksidilin çözülemediği belirlendi. Bunun üzerine ticari üründe de kullanılmış olan, değişik patent çalışmalarında ve araştırma makalelerinde belirtilen, minoksidilin yüksek oranda çözünmediği propilen glikolün [15,18,62] M1 formülasyonu içinde kullanılmasına karar verildi. Önce, oda sıcaklığında minoksidilin propilen glikoldeki çözünürlüğü deneysel çalışma sonunda $64,5\text{ mg/ml}$ olarak saptandı. Bu değer M1 formülasyonu içinde olması istenen 2 g minoksidilin çözünmesi için 31 ml propilen glikolün kullanılması gerektiğini gösterdi. Formülasyonda kullanılan surfaktan ve yağın, minoksidili belli bir miktar çözme gücüne sahip olduğu göz önüne alınarak, formülasyon içinde çıkış noktası olarak % 25 oranında propilen glikol kullanılmasına karar verildi. M1 formülasyonuna (%10 Miglyol+ %10 Su+ %80 Cremophor RH40) eklenen 25g'lık propilen glikol kütlesi, surfaktan miktarında azaltma yapılarak dengelendi (Çizelge 3.4). Bu içerikteki nanoemülsiyon (M1+PG) hazırlandı ve değişik oranlarda seyreltilerek elde edilen sistemlerin damlacık boyutları, damlacık boyutu dağılımları tespit edildi ve gerekli istatistiksel inceleme yapıldı (Bkz. Çizelge 4.20). Çizelge 4.20'de görüldüğü gibi, bu formülasyonun ancak 1:5 oranındanda seyreltilmesinden sonra damlaların tek bir pik oluşturabildiği belirlendi. M1+PG nanoemülsiyonunun, seyreltmeler sonrası damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı ve oluşan pik sayısı açısından üzerinde çalışılacak bir formülasyon olduğuna karar verildi. Öncelikle M1+PG formülasyonu % 2 minoksidil içerecek şekilde hazırlandı ve 1:5 seyreltme oranı ile seyreltilti. Formülasyona ilave edilen ve minoksidilden kaynaklanan 2 g'lık fazla ağırlık propilen glikol miktarından indirilerek dengelendi (Çizelge 3.4).

Sistemin hazırlanması için öncelikle minoksidilin propilen glikol içinde mekanik karıştırıcı kullanılarak çözülmesi sağlandı. Çözme sırasında 30°C 'de çalışıldı. Daha sonra bu çözeltiye cremophor ilave edildi ve sürekli karıştırmaya devam edildi. Homojen bir karışım elde edildikten sonra miglyol ilave edildi. Tüm sistem iyice karıştıktan sonra en son su

ilavesi ile nanoemülsiyon oluşturuldu. %2 minoksidil içeren bu nanoemülsiyon daha sonra belli oranlarda seyreltildi ve oluşan nanoemülsiyon sistemlerinin damlacık boyutları tespit edildi, polidispersite indeksleri belirlendi ve gerekli istatistiksel değerlendirmeler yapıldı (Bkz. Çizelge 4.23).

Çizelge 3.4. Propilen glikol içeren nanoemülsiyon oranları

	Miglyol 818 (%)	Cremophor RH40 (%)	Propilen Glikol (%)	Su (%)
M1+PG	10	55	25	10
M1+PG+2M	10	55	PG=23 Minoksidil=2	10

M1+PG+2M nanoemülsiyonunun, seyreltmeler sonrası damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı ve oluşan pik sayısı açısından üzerinde çalışılacak bir formülasyon olduğu görüldü. Ancak 1:5 seyreltme ile elde edilen nanoemülsiyon içindeki minoksidil konsantrasyonu doğal olarak %2 den %0,33'e düştü. Doğal olarak 1:5 seyreltme sonrası elde edilen nanoemülsiyonun içinde %2 minoksidil olabilmesi için, M1+PG kodlu nanoemülsiyonunun %12 oranında minoksidil içermesi gerekmekteydi. Ancak minoksidilin propilen glikoldeki çözünürlüğü (64,5 mg/ml) göz önüne alındığında, 12 g minoksidili çözmek için yaklaşık 774 ml propilen glikolün kullanılması gerektiği ortaya çıktı. Doğal olarak bu miktarda propilen glikolün formülasyonda kullanılması imkansızdı. Bunun üzerine minoksidilin sistem içinde çözünürlüğünü arttırmak için, pKa değeri düşünülerek, sistemin asit pH'da hazırlanması gerektiği sonucuna varıldı. Bu aşamada patent çalışması incelendi [18]. Bu çalışmada da asit pH'dan yararlanıldığı görüldü. Bu noktada formülasyonda, deriyle uyumlu olan ve zaten derinin yapısında var olan laktik asitin kullanılmasına karar verildi.

Bu amaçla Çizelge 3.4'de belirtilmiş olan M1+PG kodlu nanoemülsiyonun oluşumunda ve yapısında, laktik asitin etkili olup olmayacağını incelemek için, bu formülasyon %1, %2, %3, %3,5 ve %4 laktik asit içerecek şekilde hazırlandı. Laktik asit sıvı olması nedeniyle propilen glikol ile karıştırılarak sisteme ilave edildi. Laktik asiti %4 oranında içeren sistemden nanoemülsiyonun oluşmadığı saptandı. Laktik asiti %1 ile %3,5 arasındaki derişimlerde içerecek şekilde hazırlanan sistemlerin nanoemülsiyon oluşturduğu ve bu

sistemlerin laboratuvar koşullarında bekleme ile ilk aşamada görüntülerinde bulanma, faz ayrışması gibi bir değişiklik olmadığı saptandı.

Daha sonra laktik asit ilave edilmiş nanoemülsiyonların damlacık boyutları saptandı.

Çizelge 3.5. Laktik asit derişiminin damlacık boyutlarına etkisi

	Seyreltme Oranı	Ort. damlacık boyutu (nm) ($\pm$ SH)	Ort PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
1 LA	1:5	11,3 ($\pm$ 0,071)	0,157 ($\pm$ 0,011)	TEK
2 LA	1:5	11,2 ($\pm$ 0,096)	0,170 ($\pm$ 0,002)	TEK
3 LA	1:5	10,2 ($\pm$ 0,05)	0,124 ($\pm$ 0,002)	TEK
3,5 LA	1:5	9,33 ($\pm$ 0,048)	0,147 ($\pm$ 0,004)	TEK

Bilindiği gibi, minoksidil pKa'sı 4,61 [92] olması nedeniyle asit ortamda çözünürlüğü yüksek olan bir maddedir ve pH değeri düştükçe çözünürlüğü artar (Çizelge 3.5). Burada dikkat edilmesi gereken iki husus bulunmaktadır;

- Çalışmamızda hazırlanacak nanoemülsiyonun pH'sının, deride hasar oluşturmazacak düzeyde olması gerekir. Bilindiği gibi deri yüzeyinin pH'sı yaklaşık 5,2 civarındadır. Bu aşamada ticari ürünün pH'sının da 5 olduğu ölçülerek saptandı.
- Sistemin pH'sının asite kaydırılması, minoksidilin sistem içindeki noniyonize yüzdesinin azalması anlamına gelmektedir. Bu da, iç yağ fazına hapsedilmeye çalışılan minoksidilin, nanoemülsiyonun hazırlanması sırasında yağ fazında tutulmasını zorlaştıracak ve dış su fazına kaçışına neden olacaktır.

Yukarıda belirtilen iki husus dikkate alınarak kullanılan minoksidil miktarının çözünebileceği bir laktik asit yüzdesine karar verilmeye çalışıldı. Sonuç olarak nanoemülsiyonun pH'sını 4'den aşağıya indirmeyecek ve minoksidili çözebilecek bir pH'yı oluşturan % 3,5 laktik asitin kullanılması uygun görüldü. Formülasyona ilave edilen % 3,5 laktik asit miktarının oluşturduğu fazlalık, propilen glikol miktarında yapılan azaltma ile dengelendi. Öncelikle Çizelge 3.4'de belirtilmiş minoksidil içermeyen ana formülasyondaki (M1+PG) propilen glikol (25g), bu formülasyonda olmasına karar verdiğimiz 3,5 g laktik asit ile karıştırıldı {21,5 g Propilen glikol (%86) + 3,5 g laktik asit

(%14)=25g}. Daha sonra bu karışımda, 30°C’de çözünebilen maksimum minoksidil miktarı, çözünürlük çalışması yapılamadan saptanmaya çalışıldı. Bunun nedeni elimizdeki minoksidil miktarının çok az olmasıydı. İçeriği yukarıda belirtilen propilen glikol+laktik asit karışımında çözünebilecek minoksidil miktarı, 1:5 seyreltme öncesi sistemde bulunması gereken minoksidil oranı olan %12’den başlamak üzere geriye doğru giderek denenip saptandı. Sonuç olarak oda sıcaklığında 8g minoksidilin 13,5g propilen glikol+3,5g laktik asit çözeltisinde rahatlıkla çözünebildiği bulundu. Bu koşullarda sistemde, minoksidilin % 8 oranında bulunması, bu sistemin 1:3 oranında seyreltildiğinde oluşan nanoemülsiyonun ticari üründe olduğu gibi %2 oranında minoksidil içereceğini gösteriyordu. Bu bilgi ışığında Çizelge 3.6’da belirtilen içerikte nanoemülsiyon hazırlandı ve öncelikle 1:3 oranında seyreltildi. Oluşan nanoemülsiyon sistemin damlacık dağılımı açısından birden fazla pik vermesi nedeniyle seyreltme 1:5 oranına çıkarıldı ve damlacık boyutu analizi yapıldı (Bkz. Çizelge 4.26). Sonuç olarak Çizelge 4.26’de verilen iki formülasyonun, deriden geçiş çalışmalarında kullanılmasına karar verildi.

Çizelge 3.6. Nanoemülsiyon formülasyon oranı

Miglyol 818 (%)	Cremophor RH40 (%)	Propilen Glikol (%)	Laktik Asit (%)	Minoksidil (%)	Su (%)
10	55	13,5	3,5	8	10

Bu formülasyonların aşağıda belirtilen özellikleri, hazırlanmalarından hemen sonra incelendi.

İncelenen özellikler:

- ✓ Genel fiziksel görünüş
- ✓ pH değeri
- ✓ Damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı, ostwald olgunlaşması, pik sayısı, sıvı kristal yapının oluşup oluşmadığı
- ✓ Viskozite ve akış özellikleri
- ✓ Salım özelliği (hazırlamadan hemen sonra)

Salım özelliği dışındaki tüm özellikler ve incelemeler, hazırlanan NE-1:3 ve NE-1:5 formülasyonlarının stabilite çalışmaları boyunca da yapıldı.

NE-1:3 ve NE-1:5 formülasyonlarının belirlenmesinden sonra bu nanoemülsiyonlarda Ostwald olgunlaşması olayının incelenmesine karar verildi. Bu amaçla aşağıda belirtilen Eşitlik 3.2 kullanılarak her iki nanoemülsiyon içinde Ostwald olgunlaşması değeri tespit edildi.

$$\langle R \rangle^3 - \langle R \rangle_0^3 = \frac{8\gamma c_\infty v^2 D}{9R_g T} t \quad (3.2)$$

$\langle R \rangle$ = Bütün damlacıkların ortalama çapı

γ = Damlacıkların yüzey gerilimi

c_∞ = Çözünürlük

v = Damlacıkların molaritesi

D = Damlacıkların diffüzyonu

R_g = İdeal gaz konsantrasyonu

T = Buharlaşma sıcaklığı

t = Zaman

Ostwald de Waele eşitliği (ostwalt olgunlaşma hızı) (3.3)

$$W = \frac{8\gamma c_\infty v^2 D}{9R_g T}$$

3.2.3. Nanoemülsiyonlarda yapılan kontroller

Nanoemülsiyonların dış faz tespiti ve fiziksel görünüşlerinin incelenmesi

Nanoemülsiyonların fiziksel görünüşlerinin incelenmesi amacıyla formülasyonlarda renk değişimi ve faz ayrışması olup olmadığı gözlemlendi. Dış faz testi için boyama yöntemi kullanıldı. Emülsiyonlar metilen mavisi ve sudan III boya ile karıştırıldı. Boyaların emülsiyonda çözünürlüğüne göre dış faza karar verildi.

Nanoemülsiyonların damlacık boyutlarının, zeta potansiyellerinin ölçülmesi ve nanoemülsiyonlarda sıvı kristal faz oluşup oluşmadığının polarize ataşmanlı mikroskop ile kontrolü

Nanoemülsiyonların damlacık büyüklüğü ve dağılımı, dinamik ışık saçılımı prensibine göre çalışan Malvern ZetaSizer Nano ZS ile ölçüldü. Yine aynı aletle tanecikler arasındaki itme veya çekme değeri ölçümü olan zeta potansiyeli ölçüldü. Sistemde sıvı kristal faz oluşumu olup olmadığı Leica DMEP polarize ataşmanlı mikroskop ile incelendi.

Nanoemülsiyonların viskozite ve akış özelliklerinin incelenmesi

Nanoemülsiyonların viskoziteleri, sıcaklığı $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış Brookfield viskozimetresi (spindle no: 40) kullanılarak ölçüldü ($n=3$). Çalışma 10-200 rpm arasında gerçekleştirildi.

Bu çalışmada her bir ölçüm % torque değeri 10- 100 arasında olacak şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan viskozimetrenin yazılım programı (Rheocalc V2.4)'nın verdiği kayma hızı ve kayma geriliminden hareketle aşağıda belirtilen grafikler çizildi ve ilgili regresyon hesapları yapıldı. (Bkz. Şekil 4.21 ve Şekil 4.22)

- a) x eksen: Kayma hızı ($1/\text{sn}$)
- y eksen: Viskozite (mPa.s)

Bu grafik viskozitenin kayma hızının artışına bağlı olarak nasıl değiştiğini göstermekteydi. Sistemin karıştırdıkça viskozitesinin azalıp azalmadığı bu grafikte anlaşıldı.

b) x eksen: ln kayma hızı (1/sn)

y eksen: ln viskozite (mPa.s)

Bu grafik ‘‘Ostwald de Waele ‘‘ eşitliği veya ‘‘Power Law’’ eşitliğinin (Eş. 3.4) çıkarılacağı grafikdir. Bu çalışmada, incelenen emülsiyonların viskozite değeri olarak bu eşitlikten elde edilen akış yoğunluğu indeksinin (K) kullanılmasına karar verildi.

$$\ln \eta = \ln K + (n-1) \cdot \ln \dot{\gamma} \quad (3.4)$$

$\dot{\gamma}$: Kayma hızı

η : Viskozite (mPa.s)

n : Akış davranışı indeksi (power law index)

K : Akış yoğunluğu indeksi (consistency index) (mPa.s)

$n - 1$: eğim (‘’-’’ işaretli)

$0 < n < 1$ ise sistem karıştırıldıkça viskozitesi azalan bir sistemdir (shear thinning özellik).

Nanoemülsiyonların pH değerlerinin incelenmesi

Nanoemülsiyonların pH değerlerinin incelenmesi; nanoemülsiyonların 1:3 ve 1:5 seyreltmeleri yapıldıktan sonra pH metre ile pH’ları ölçüldü.

3.2.4. Nanoemülsiyonlardan etken madde salımlarının incelenmesi

Nanoemülsiyonların salım özellikleri, alıcı oda hacmi 16 ml ve salım alanı 4,16 cm² olan Franz difüzyon hücresi kullanılarak incelendi. Örnek hacmi 3 ml olarak alındı. Salım deneyi için 3 ml formülasyon (Çizelge 3.6) kullanıldı. Zar olarak molekül ağırlığı 15000 g/mol'den küçük olan moleküllerin geçişine izin veren diyaliz zar seçildi. Deney 32°C'de gerçekleştirildi. Salım ortamı olarak pH 5,2 tampon kullanıldı. Hücrelerin alıcı odacıkları

deney boyunca sabit hızda karıştırıldı. Minoksidilin salım ortamında sink koşulu sağlayabilmesi için sırasıyla her bir numune alma zamanında alıcı odacıktaki 5ml sıvı çekilip taze tampon yeniden ilave edildi. Numuneler 5., 15., 30., 45., 60., 90., 120., 180., 240., 300. ve 360. dakikalarda alındı. Numuneler bekletilmeden $\lambda_{\text{maksimum}}$ 'da spektrofotometrede okundu. Deneye 6 saat devam edildi.

3.2.5. Nanoemülsiyonlardan deri geçişlerinin incelenmesi

Nanoemülsiyonların salım özellikleri daha küçük boyutta olan, alıcı odanın hacmi 2,4 ml ve geçiş alanı 0,785 cm² olan Franz difüzyon hücresi kullanılarak ölçüldü. Örnek hacmi 1 ml geçiş deneyi için 1 ml formülasyon (Çizelge 3.6) kullanıldı. Deriden geçiş çalışması için insan karın derisi kullanıldı. Deney 32°C'de gerçekleştirildi. Salım ortamı olarak pH 5,2 tampon kullanıldı. Kadavradan taze olarak alınan deri yağlarından uzaklaştırıldı. Deriden geçiş deneyinde kullanılmaya başlanıncaya kadar -20°C'de dondurularak saklandı. Deneyden hemen önce düz bir zemin üzerinde oda sıcaklığında çözüldü. Sonra Franz hücresinin çevresinin ölçüsünde kesildi ve Franz hücresine yerleştirildi. Hücrelerin alıcı odacıkları deney boyunca sabit hızda karıştırıldı. Minoksidilin salım ortamındaki çözünürlüğünün tespitinde her bir numune aralığında alıcı odacıktaki 2,4 ml sıvı boşaltılıp taze tamponla yeniden dolduruldu. Numuneler 30., 45., 60., 90. dakikalarda ve 2., 3., 4., 5., 6., 12. ve 24. saatlerde alındı. Numuneler bekletilmeden $\lambda_{\text{maksimum}}$ 'da spektrofotometrede okundu. Deneye 24 saat devam edildi.

3.2.6. Nanoemülsiyonların stabilitelerinin incelenmesi

Çizelge 3.6'da belirtilen nanoemülsiyonlar 25°C stabilite takipleri yapılmak üzere iklim dolabına konuldu. Stabilite ölçümleri süresince minoksidil miktar tayini, nanoemülsiyonların damlacık boyutları, viskoziteleri, pH değerleri, fiziksel görünüşleri takip edildi ve emülsiyonlarda sıvı kristal faz oluşumu olup olmadığının kontrolü yapıldı.

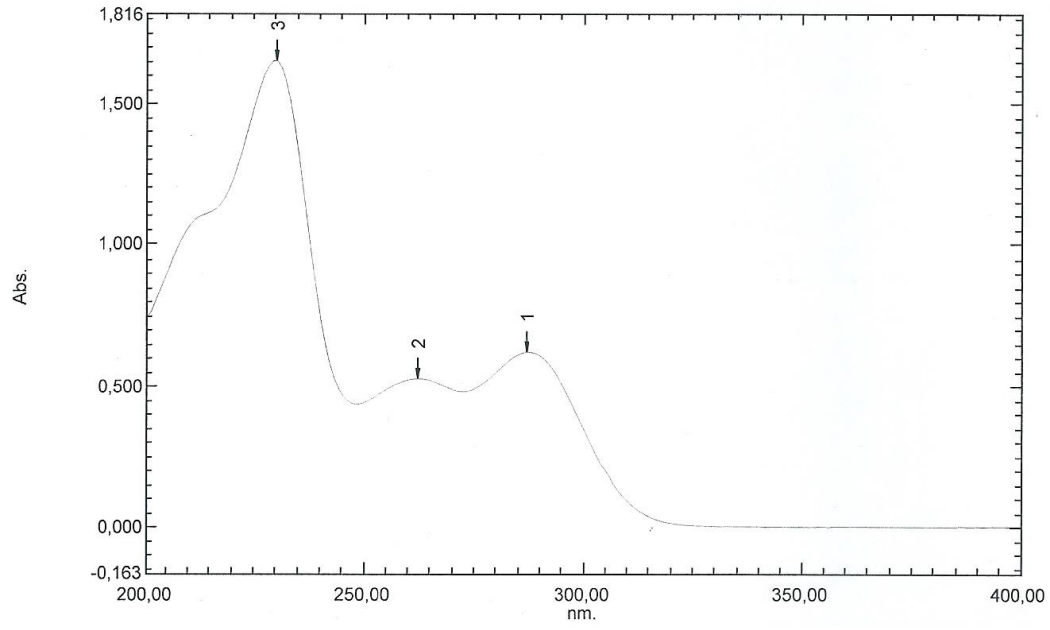
4. BULGULAR

Çalışmada elde edilen bulgular üç ana başlıkta toplandı. Birinci bölümde minoksidile ait bulgular verildi. İkinci bölümde ise formülasyon ve stabilite çalışmalarının sonuçları verildi. Üçüncü bölümde ise deriden geçiş çalışmalarının sonuçları verildi.

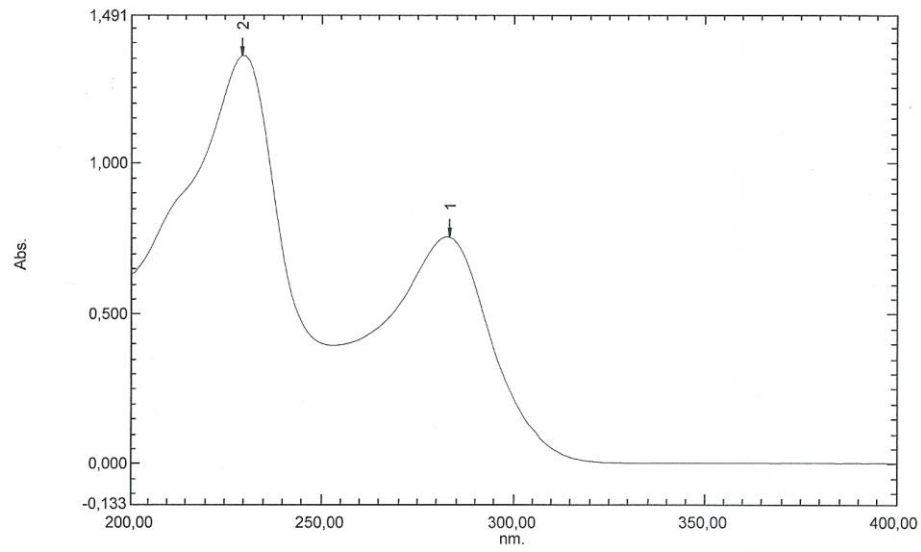
4.1. Minoksidille Yapılan Çalışmalar

4.1.1. Minoksidilin UV spektrumu ve standart eğrisinin çıkarılması

Minoksidilin UV spektrumu ve standart eğrisinin çıkarılması işlemi Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Minoksidilin suda ve pH 5,2'de 10 µg/mL derişimindeki çözeltilerinin 200-400 nm dalga boyları arasında maksimum absorbands verdiği dalga boyları ($\lambda_{\text{maksimum}}$) belirlendi (Şekil 4-5). Su için $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri 287 nm, pH 5,2 için $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri 283 nm olarak saptandı. Saptanan dalga boylarında, minoksidilin belli derişimlerde hazırlanan su ve pH5,2'deki çözeltilerinin absorbandsları okunarak (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2) bu verileri tanımlayan standart doğru denklemleri çıkarıldı ve kalibrasyon grafikleri çizildi (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4). Kalibrasyon denklemlerine ait parametreler hesaplandı (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).



Şekil 4.1. Minoksidilin suda UV spektrumu ve $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri. (Derişim= 10 μ g/mL)



Şekil 4.2. Minoksidilin pH 5,2 de UV spektrumu ve $\lambda_{\text{maksimum}}$ değeri. (Derişim= 10 μ g/mL)

Çizelge 4.1. Minoksidilin suda verdiği absorbans değerleri (n=3)

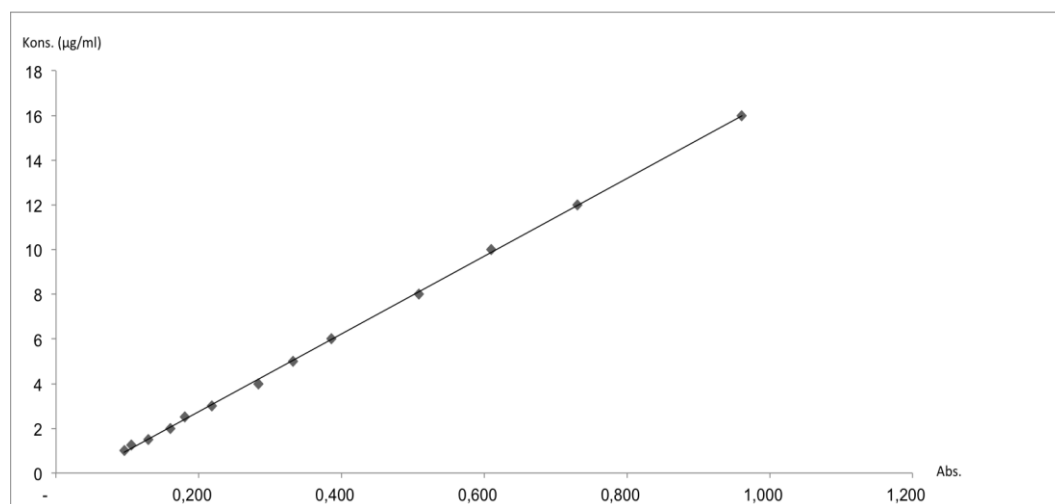
Kons. µg/ml	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Ort. Abs	SH	SS	%BS
1	0,097	0,088	0,101	0,095	0,004	0,007	6,98
1,25	0,101	0,108	0,107	0,105	0,002	0,004	3,59
1,5	0,121	0,136	0,130	0,129	0,004	0,008	5,85
2	0,162	0,158	0,160	0,160	0,001	0,002	1,25
2,5	0,175	0,182	0,185	0,181	0,003	0,005	2,84
3	0,201	0,232	0,222	0,218	0,009	0,016	7,25
4	0,277	0,272	0,302	0,284	0,009	0,016	5,67
5	0,331	0,327	0,337	0,332	0,003	0,005	1,52
6	0,370	0,392	0,396	0,386	0,008	0,014	3,63
8	0,497	0,505	0,524	0,509	0,008	0,014	2,73
10	0,605	0,615	0,610	0,610	0,003	0,005	0,82
12	0,708	0,752	0,732	0,731	0,013	0,022	3,02
16	0,934	0,987	0,962	0,961	0,015	0,027	2,76

SS:Standart sapma, SH: Standart hata, %BS=%Bağıl sapma

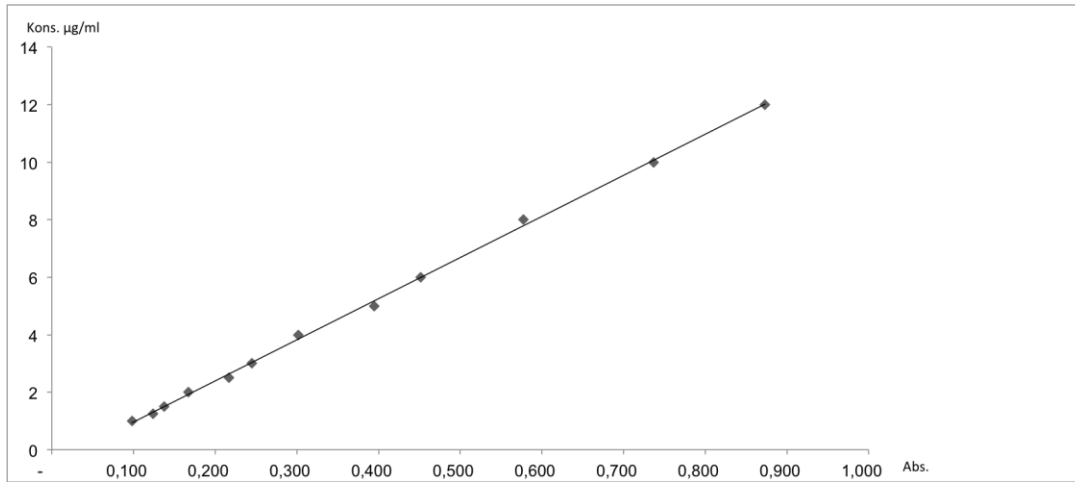
Çizelge 4.2. Minoksidilin pH 5,2’de verdiği absorbans değerleri (n=3)

Kons. µg/ml	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Ort. Abs	SH	SS	%BS
1	0,094	0,105	0,095	0,098	0,004	0,006	6,21
1,25	0,131	0,122	0,119	0,124	0,004	0,006	5,04
1,5	0,135	0,129	0,150	0,138	0,006	0,011	7,84
2	0,165	0,169	0,167	0,167	0,001	0,002	1,20
2,5	0,226	0,214	0,211	0,217	0,005	0,008	3,66
3	0,234	0,239	0,262	0,245	0,009	0,015	6,10
4	0,301	0,305	0,300	0,302	0,002	0,003	0,88
5	0,400	0,396	0,389	0,395	0,003	0,006	1,41
6	0,451	0,455	0,450	0,452	0,002	0,003	0,58
8	0,582	0,578	0,571	0,577	0,003	0,006	0,96
10	0,743	0,732	0,736	0,737	0,003	0,006	0,76
12	0,887	0,858	0,874	0,873	0,008	0,015	1,66

SS:Standart sapma, SH: Standart hata, %BS=%Bağıl sapma



Şekil 4.3. Minoksidilin sudaki kalibrasyon doğrusu



Şekil 4.4.Minoksidilin pH 5,2 de kalibrasyon doğrusu

Çizelge 4.3.Minoksidilin sudaki kalibrasyon denkleminde ait parametreler

Değişim (µg/mL) = 17,39.Absorbans-0,7301	
r^2 (determinasyon katsayısı) = 0,999	
Regresyonun standart hatası = 0,1	
Eğim	= 17,39
Standart hata	= 0,1
Alt sınır	= 17,1499
Üst sınır	= 17,6310
Kesişim	= -0,73
Standart hata	= 0,0049
Alt sınır	= -0,8370
Üst sınır	= -0,6231

Çizelge 4.4. Minoksidilin pH 5,2 deki kalibrasyon denklemine ait parametreler

Derişim ($\mu\text{g/mL}$) = $14,303 \cdot \text{Absorbans} - 0,4676$	
r^2 (determinasyon katsayısı)	= 0,999
Regresyonun standart hatası	= 0,1
Eğim	= 14,303
Standart hata	= 0,1
Alt sınır	= 13,9896
Üst sınır	= 14,6168
Kesişim	= -0,47
Standart hata	= 0,0612
Alt sınır	= -0,6040
Üst sınır	= -0,3312

4.1.2. Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonu

Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı gibi minoksidilin analizi için analitik yöntem validasyonu yapıldı ve miktar tayini yöntemi doğrusallık, doğruluk, kesinlik, saptama sınırı, özgünlük-seçicilik, dayanıklılık açısından incelendi.

a. Doğrusallık (linearity)

Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı gibi etkin bileşenin sudaki ve pH 5,2'deki kalibrasyon eşitliği, derişimlere karşı okunan absorbans değerleri ile hesaplandı. Verilere lineer regresyon uygulandıktan sonra elde edilen parametreler Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'de, grafikler ise Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'da verilmiştir. Ayrıca kalibrasyon denklemleri kullanılarak her bir derişim (y) için derişim şapka ($\hat{y}$) ve artık derişim ($y - \hat{y}$) değerleri hesaplanıp (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6), y değerlerine karşılık ($y - \hat{y}$) değerleri grafiğe geçirildi [93] (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6). Grafiklerden de anlaşılacağı gibi bütün noktalar doğru çevresinde rasgele dağılmış durumdaydı. Bu noktaların "+" veya "-" yönde bir eğilim gösterip göstermediğinin anlaşılabilmesi için y ve ($y - \hat{y}$) değerleri arasında lineer regresyon uygulandı.

Regresyon sonucunda bulunan eğim, eğimin standart hatasına bölündü. Bu değer n-2 serbestlik derecesi için St_t tablosundan bulunan değer ile karşılaştırıldı. Hesapla bulunan t

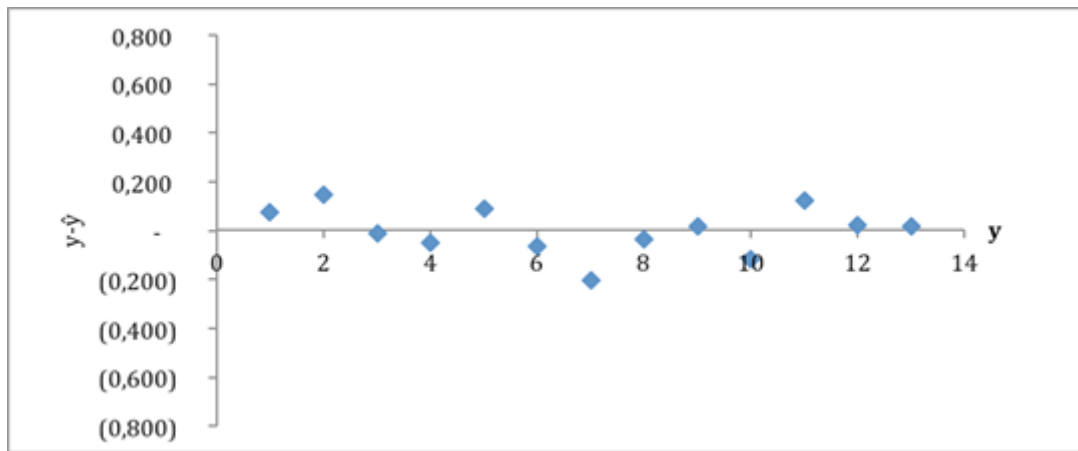
değerlerinin ikisi de tablodan okunan t değerlerinden küçük olduğu için, bu doğruların eğiminin %95 olasılıkla "0" kabul edilebileceğine karar verildi. Kısaca y ile (y- $\hat{y}$) değerleri arasında herhangi bir korelasyon olmadığı saptanmış oldu. Bu bize her iki regresyonun doğrusal olduğunu gösterdi [94].

Çizelge 4.5. Suda her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile (y- $\hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları

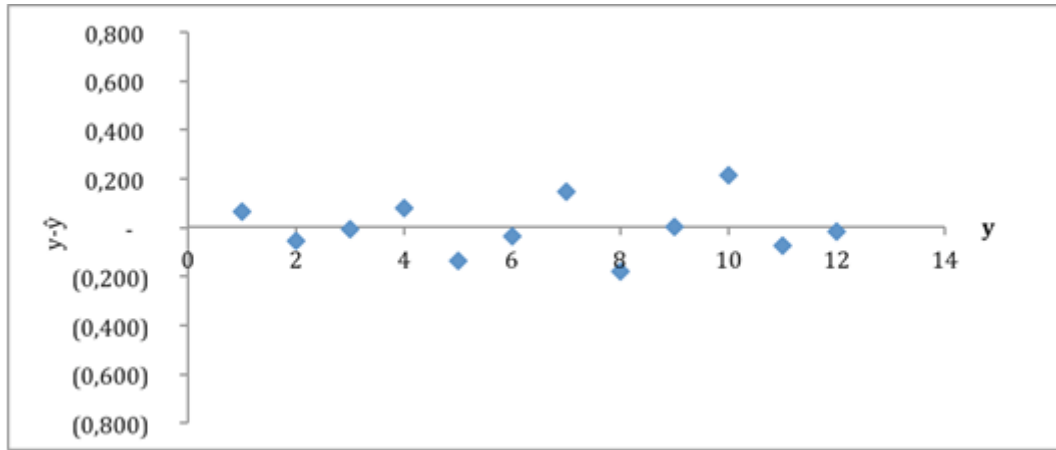
Suda		
y	$\hat{y}$	y- $\hat{y}$
1	0,928	0,072
1,25	1,102	0,148
1,5	1,513	(0,013)
2	2,052	(0,052)
2,5	2,412	0,088
3	3,067	(0,067)
4	4,203	(0,203)
5	5,038	(0,038)
6	5,982	0,018
8	8,116	(0,116)
10	9,878	0,122
12	11,976	0,024
16	15,982	0,018
Eğim=	0,000	
SH=	0,027	
t _{hesap} =	0,007	
t _{tablo} =	0,074	
Serbestlik Derecesi=	11	

Çizelge 4.6. pH 5,2 de her bir derişim (y) için hesaplanan şapka ($\hat{y}$) değerleri, y ile ($y - \hat{y}$) arasındaki regresyon sonuçları

pH 5,2		
y	$\hat{y}$	$y - \hat{y}$
1	0,934	0,066
1,25	1,306	(0,056)
1,5	1,506	(0,006)
2	1,921	0,079
2,5	2,636	(0,136)
3	3,037	(0,037)
4	3,852	0,148
5	5,182	(0,182)
6	5,997	0,003
8	7,785	0,215
10	10,074	(0,074)
12	12,019	(0,019)
Eğim=	0,001	
SH=	0,033	
$t_{\text{hesap}} =$	0,002	
$t_{\text{tablo}} =$	0,010	
Serbestlik Derecesi=	10	



Şekil 4.5. Su için her bir derişim (y) ile artık değerler ($y - \hat{y}$) arasındaki ilişki



Şekil 4.6. PH 5,2 için her bir derişim (y) ile artık değerler ($y-\hat{y}$) arasındaki ilişki

b. Doğruluk (trueness)

Analitik yöntemin doğruluğu ve geri kazanıma ait sonuçlar Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8’de gösterildi.

Çizelge 4.7. Minoksidilin sudaki analizine ait doğruluk sonuçları

Teorik Derişimler								
Abs.	2 µg/ml Pratik Derişim (µg/ml)	%Geri Elde	Abs.	5 µg/ml Pratik Derişim (µg/ml)	%Geri Elde	Abs.	10 µg/ml Pratik Derişim (µg/ml)	%Geri Elde
0,162	2,09	209	0,331	5,03	126	0,605	9,79	61,2
0,158	2,09	202	0,327	4,96	124	0,615	9,96	62,3
0,160	2,05	205	0,337	5,13	128	0,610	9,88	61,7
Ortalama derişim(µg/ ml)	2,05	205	Ortalama derişim(µg/ ml)	5,04	126	Ortalama derişim(µg/ ml)	9,88	61,7

SS = 0,035

Rölatif
SS = 0,017

%BS = 1,69

SS = 0,088

Rölatif
SS = 0,017

%BS = 1,74

SS = 0,087

Rölatif
SS = 0,009

%BS = 0,88

Çizelge 4.8. Minoksidilin pH 5,2 deki analizine ait doğruluk sonuçları

Teorik Derişimler								
Abs.	2 µg/ml Pratik Derişim (µg/ml)	%Geri Elde	Abs.	5 µg/ml Pratik Derişim (µg/ml)	%Geri Elde	Abs.	10 µg/ml Pratik Derişim (µg/ml)	%Geri Elde
0,165	1,89	189	0,400	5,25	131	0,743	10,2	63,5
0,169	1,95	195	0,396	5,20	130	0,732	10,0	62,5
0,167	1,92	192	0,389	5,10	127	0,736	10,0	62,9
Ortalama	1,92	192	Ortalama	5,18	130	Ortalama	10,1	63,0
derişim(µg/ ml)			derişim(µg/ ml)			derişim(µg/ ml)		
SS=	0,029		SS=	0,080		SS=	0,080	
Rölatif			Rölatif			Rölatif		
SS=	0,015		SS=	0,015		SS=	0,008	
%BS=	1,49		%BS=	1,54		%BS=	0,79	

c. Kesinlik (precision)

Etkin bileşene ait kesinlik çalışmalarında elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10'da gösterildi.

Çizelge 4.9. Minoksidilin sudaki kesinlik sonuçları

Derişim (µg/ml)	2 (µg/ml)	5 (µg/ml)	10 (µg/ml)
Absorbans	0,162	0,331	0,605
	0,158	0,327	0,615
	0,160	0,337	0,610
Ortalama Absorbans	0,160	0,332	0,610
SS	0,002	0,005	0,005
Rölatif SS	0,013	0,015	0,008
%BS	1,25	1,52	0,82

Çizelge 4.10. Minoksidilin pH 5,2 deki kesinlik sonuçları

Derişim (µg/ml)	2 (µg/ml)	5 (µg/ml)	10 (µg/ml)
Absorbans	0,165	0,400	0,743
	0,169	0,396	0,732
	0,167	0,389	0,736
Ortalama Absorbans	0,167	0,395	0,737
SS	0,002	0,006	0,006
Rölatif SS	0,012	0,014	0,008
%BS	1,20	1,41	0,76

d. Saptama Sınırı (limit of detection, LOD)

Analitik yöntemin saptama sınırının belirlenmesi için Bölüm 3.2.1.' de anlatılan yöntem uygulandı. Saptama sınırı suda 0,00133 µg/ml, pH 5,2 de ise 0,00138 µg/ml bulundu.

Çizelge 4.11. Suda saptama sınırı değerleri

	Suda
	$\mu\text{g/ml}=17,39.\text{Abs}-0,7301$
Ortamda minoksidil yokken teorik okunacak absorbans	Derişim= 0 $\mu\text{g/ml}$ ise Abs = 0,042
Saptama sınırı ($\mu\text{g/ml}$)	0,00133

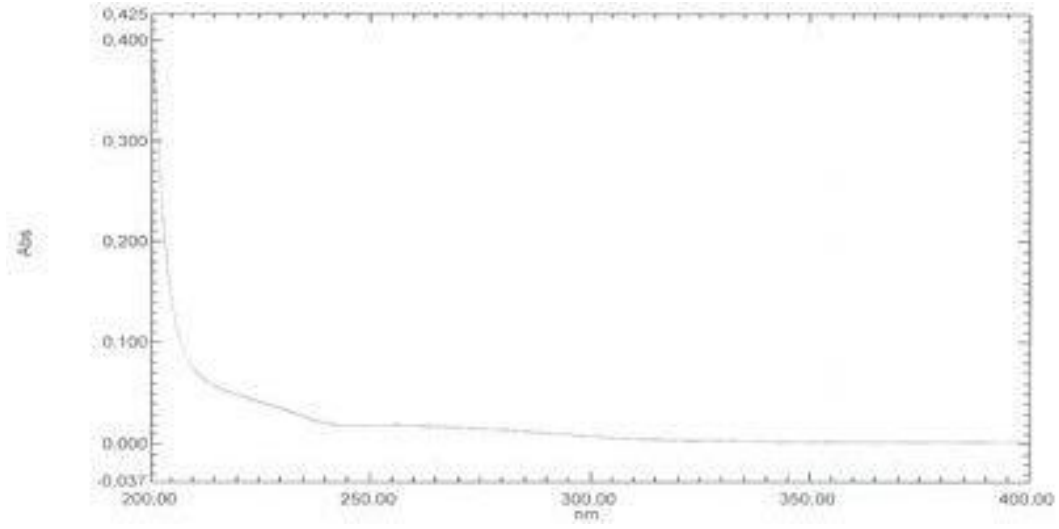
Çizelge 4.12. pH 5.2’de Saptama sınırı değerleri

	Suda
	$\mu\text{g/ml}=14,303.\text{Abs}-0,4676$
Ortamda minoksidil yokken teorik okunacak absorbans	Derişim= 0 $\mu\text{g/ml}$ ise Abs = 0,033
Saptama sınırı ($\mu\text{g/ml}$)	0,00138

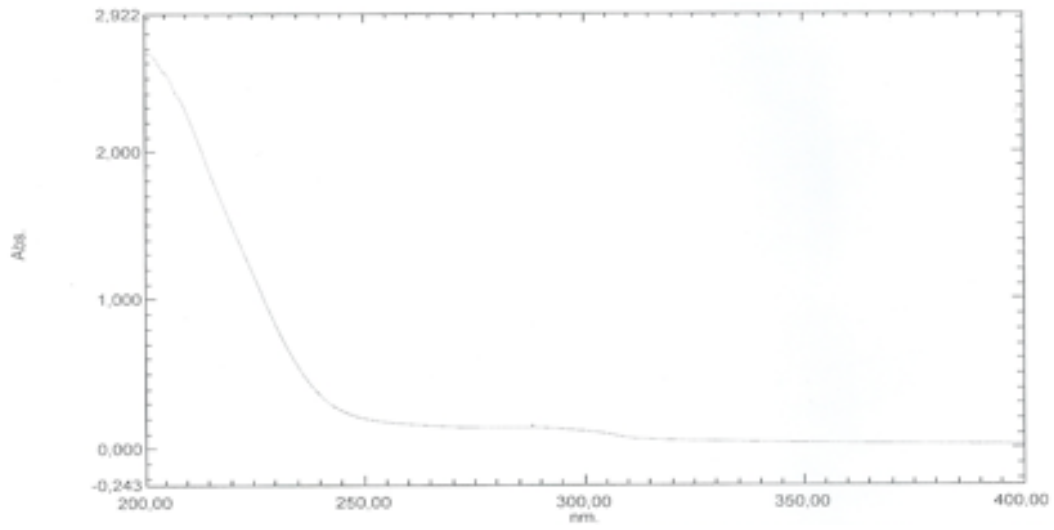
e.Özgünlük-Seçicilik (specificity-selectivity)

Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin, sadece analiz edilmesi istenen yapıyı saptayabilmesi için propilen glükolün, cremophorun ve laktik asitin spektrumları incelendi.

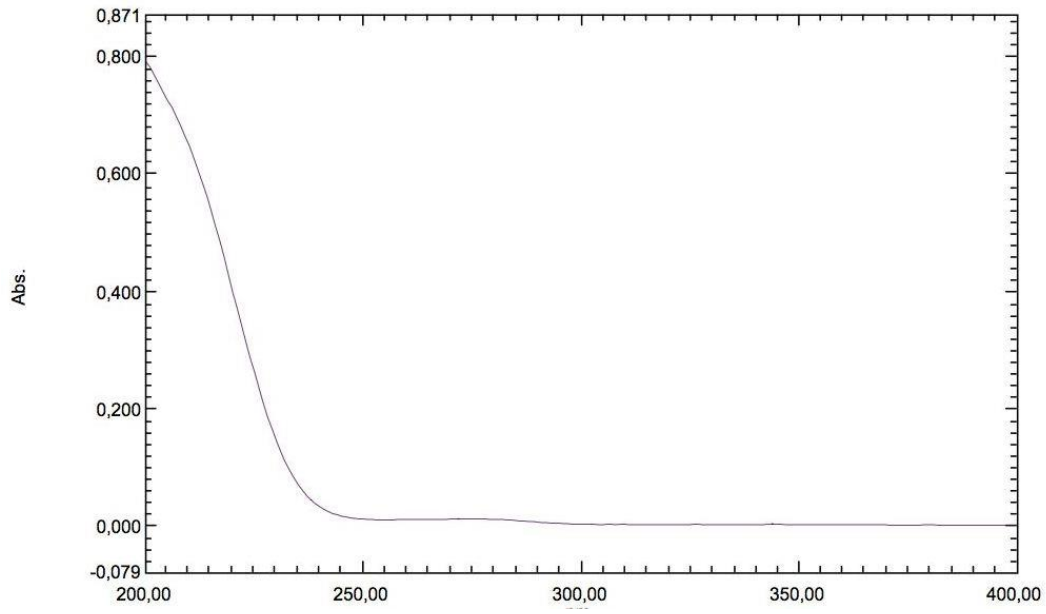
Bu yardımcı maddelerin minoksidilin maksimum dalga boyunda herhangi bir pik vermediği ve yöntemin sadece etkin bileşene özgü olduğu bulundu (Şekil 4.7–4.12).



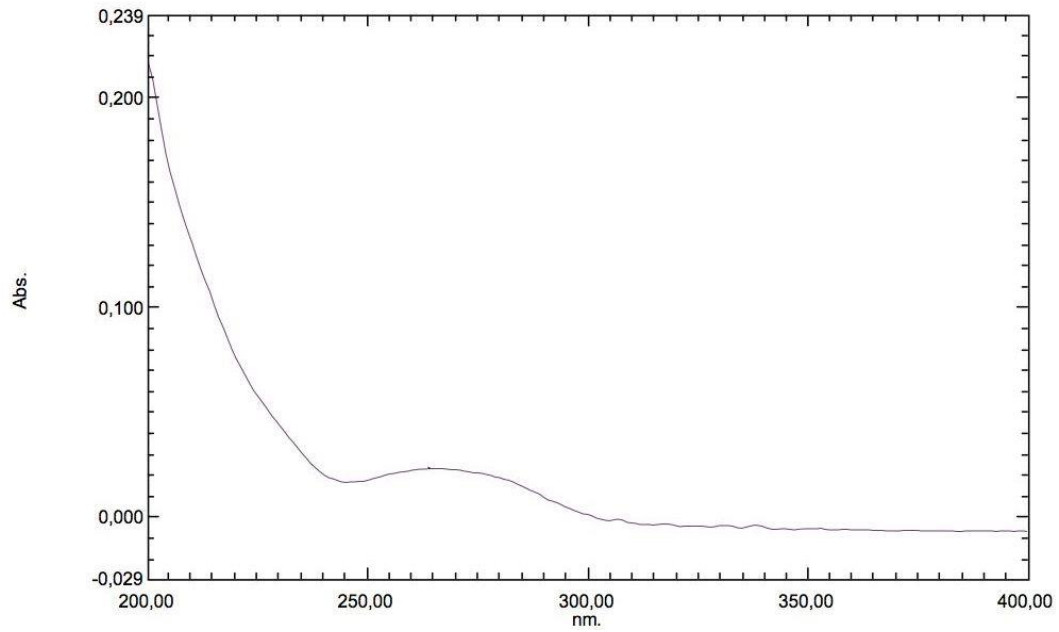
Şekil 4.7. Propilen glikolölün sudaki çözeltisi için UV spektrumu



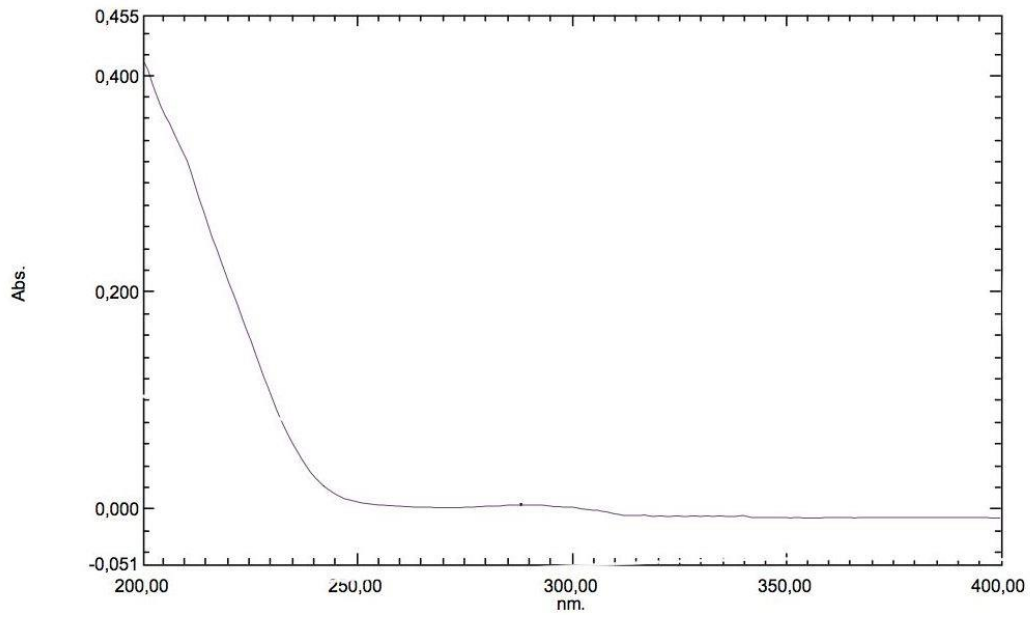
Şekil 4.8. Cremophor RH40'ın sudaki çözeltisi için UV spektrumu



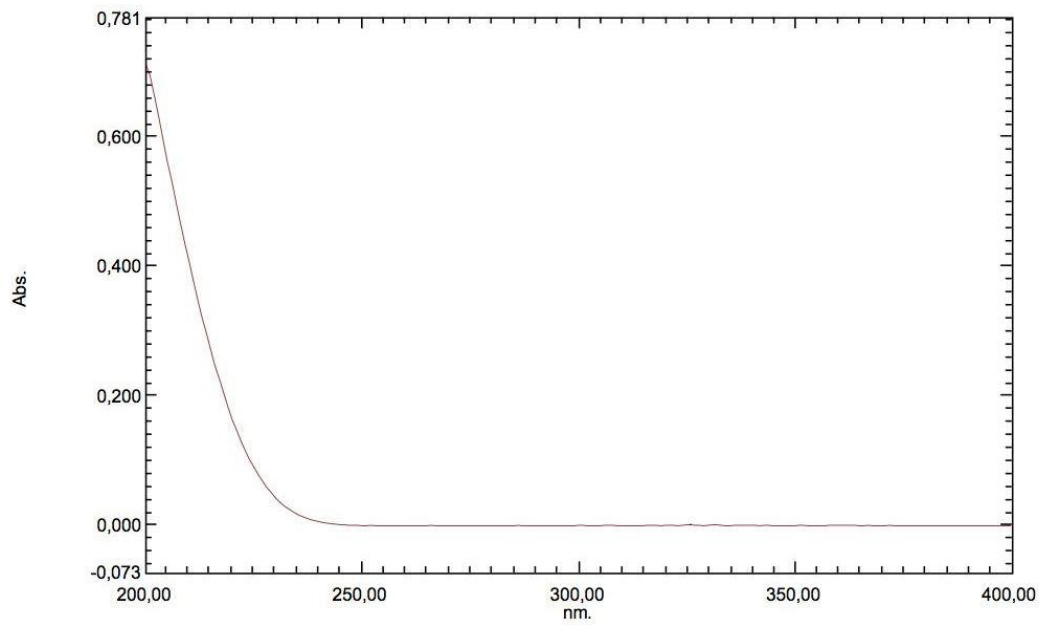
Şekil 4.9. Laktik asitin sudaki çözeltisi için UV spektrumu



Şekil 4.10. Propilen glikolün pH 5,2'deki çözeltisi için UV spektrumu



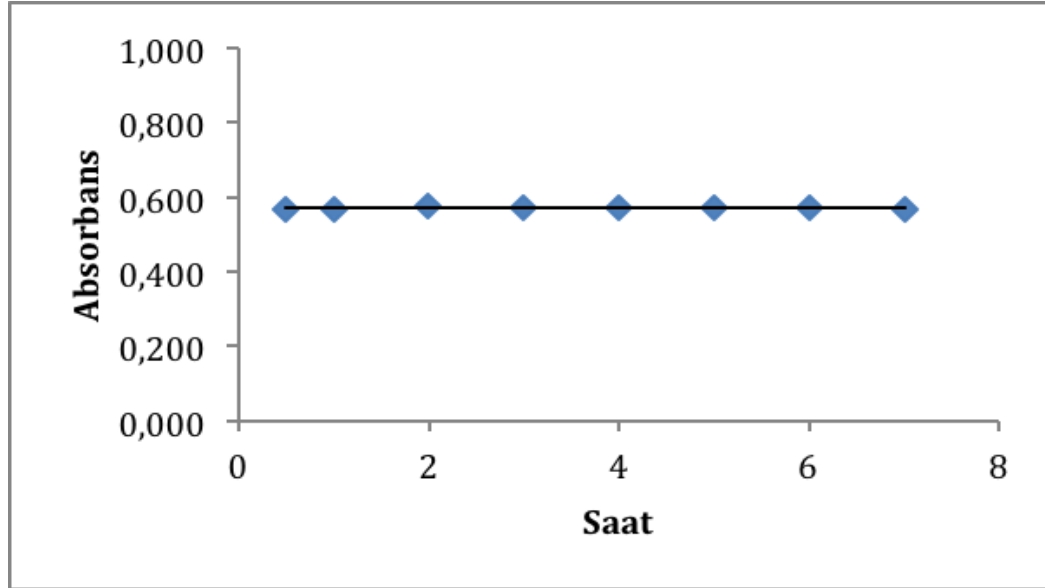
Şekil 4.11. Cremophor RH40'ın pH 5,2'deki çözeltisi için UV spektrumu



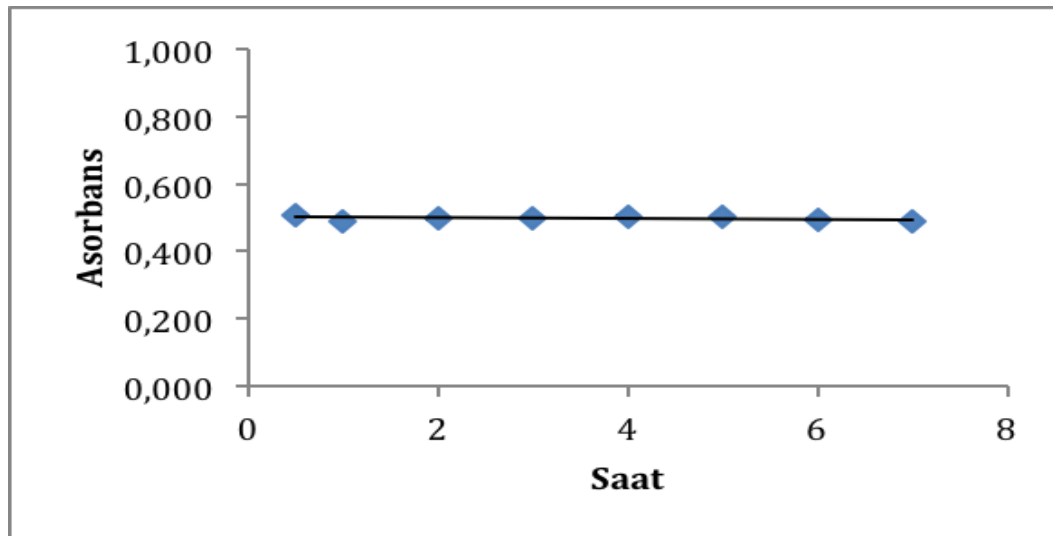
Şekil 4.12. Laktik asitin pH 5,2'deki çözeltisi için UV spektrumu

f. Dayanıklılık:

Minoksidilin stabilitesini incelemek amacı ile Bölüm 3.2.1.'de anlatılan yöntem uygulandı. Zamana karşılık absorbans değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14).



Şekil 4.13. Minoksidilin 32°C'de suda 7 saat boyunca izlenen stabilitesi



Şekil 4.14. Minoksidilin salım deneyinin yapıldığı koşullarda (32°C pH 5,2) 7 saat boyunca izlenen stabilitesi

4.1.3. Minoksidilin çözünürlüğüne ait bulgular

Minoksidilin propilen glikolde ve tampondaki çözünürlüğü Bölüm 3.2.1.'te anlatıldığı gibi yapıldı. Sonuçlar Çizelge 4.13'de verildi.

Çizelge 4.13. Propilen glikol ve pH 5,2'deki minoksidil çözünürlüğü

Ortam	Çözünürlük (mg/ml)
Propilen Glikol	64,5 ($\pm 1,76$)
pH 5,2	3,38 ($\pm 0,11$)

4.1.4. Minoksidilin Miglyol/Propilen glikol ve miglyol/su arası partisyona ait bulgular

Miglyolün propilen glikolde ve sudaki partisyona katsayısı Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı gibi yapıldı.

Çizelge 4.14. Miglyol ile propilen glikol ve su arasındaki partisyona

Fazlar	Partisyon Katsayısı
Miglyol 818/Su	0,0466 ($=1/21,5$)
Miglyol 818/Propilen Glikol	0,0231 ($=1/43,3$)

4.2. Oluşturulan Formülasyonlara Ait Bulgular

4.2.1. Nanoemülsiyonların üçgen faz diyagramlarının çıkarılması

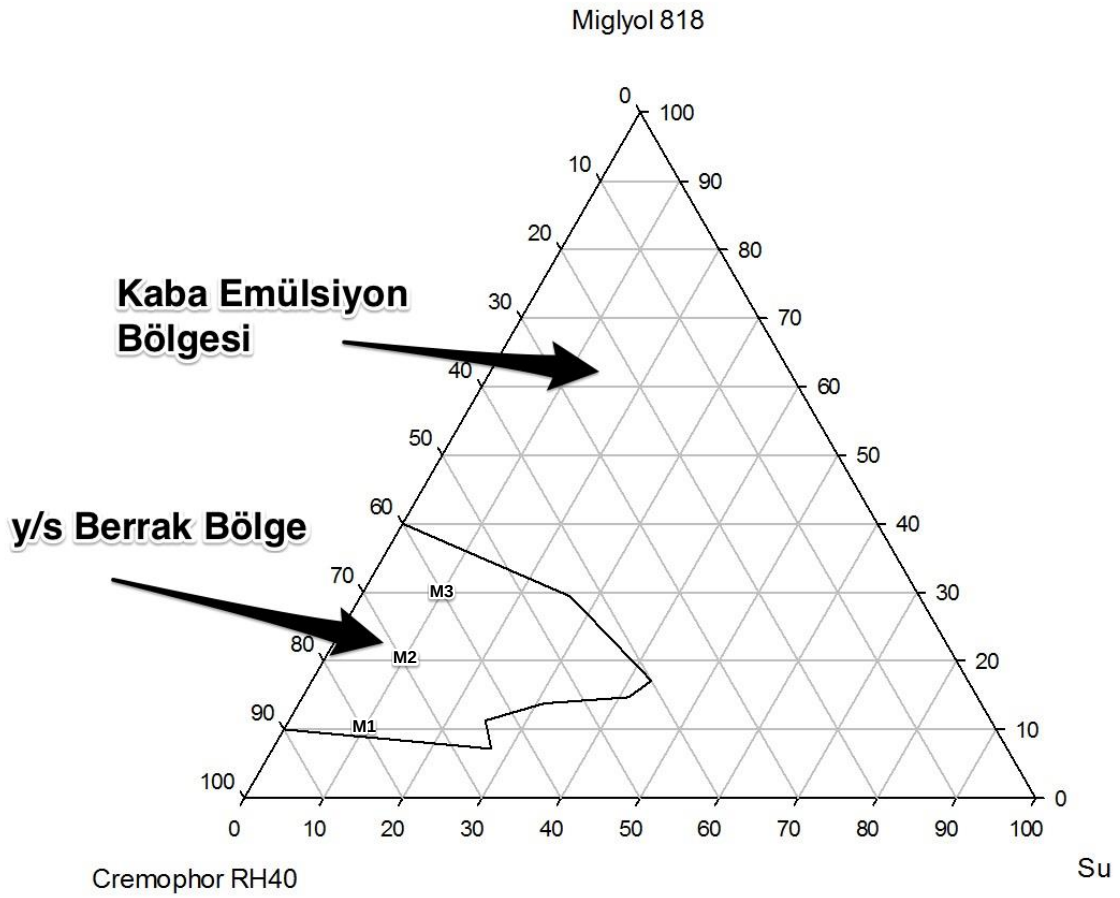
Nanoemülsiyonlara ait faz diyagramları Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı gibi, yağ fazı olarak miglyol ve balık yağı kullanılarak çıkarıldı.

Miglyol ile Hazırlanmış Nanoemülsiyonların Üçgen Faz Diyagramları

Bu çalışmada berrak bölge yağ/su emülsiyon sisteminden oluştu. Miglyol 818 kullanılarak faz diyagramlarının çıkarılması için kullanılan oranlar aşağıda verildi.

Çizelge 4.15. Miglyol ile cremofor ve suyun karışma oranları

%Miglyol	%Cremophor Rh40	%Su
29,4	44,1	26,5
17,1	40	42,9
14,7	44,1	41,1
13,8	55,2	31
11,3	63,9	24,8
7,2	65,2	27,5



Şekil 4.15. Miglyolün kullanıldığı nanoemülsiyonlara ait faz diyagramları

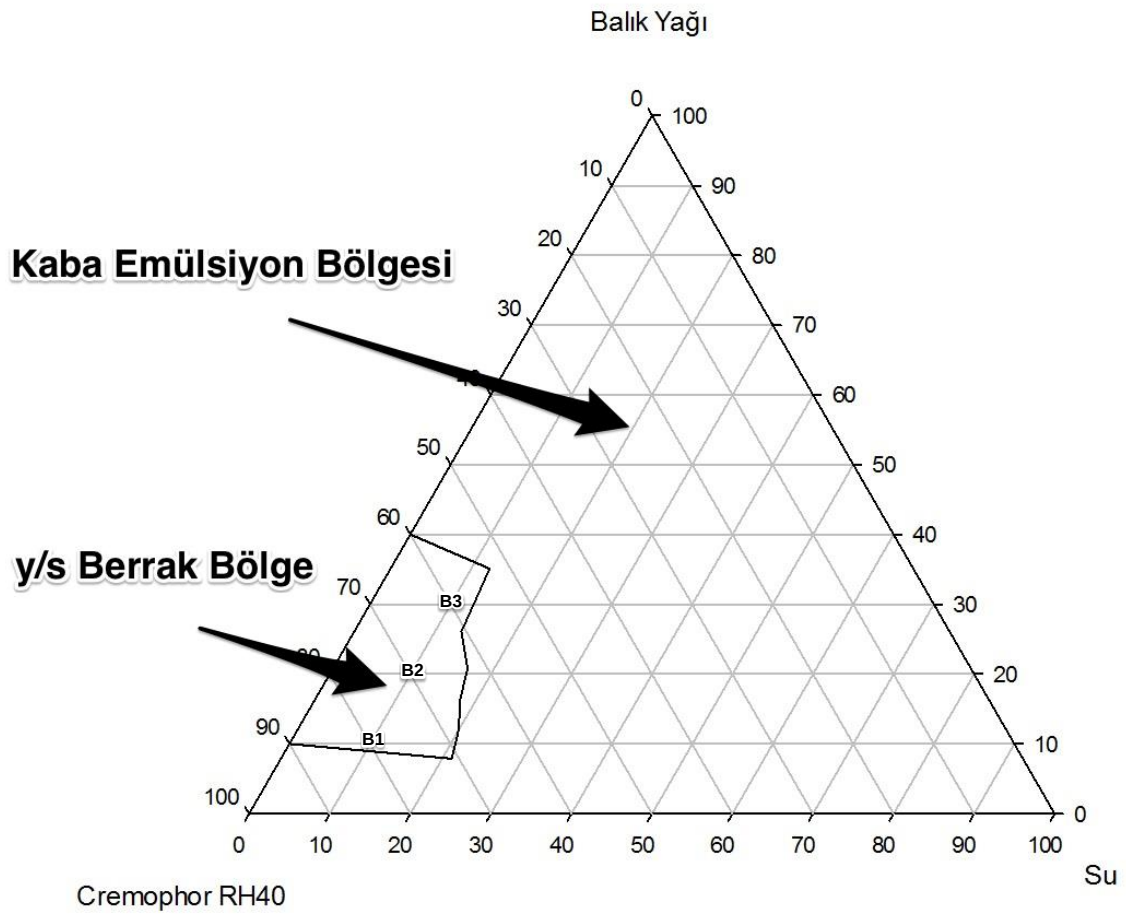
Balık yağı ile hazırlanmış nanoemülsiyonların üçgen faz diyagramları

Bu çalışmada berrak bölge yağ/su nanoemülsiyon sisteminden oluştu.

Balık yağı kullanılarak faz diyagramlarının çıkarılması için kullanılan oranlar aşağıda verildi.

Çizelge 4.16. Balık yağı ile cremofor ve suyun karışma oranları

% Balık Yağı	% Cremophor RH40	% Su
35,1	52,6	12,3
26,1	60,9	13
20,8	62,5	16,7
16,4	65,6	18
12	68	20
7,9	70,9	21,2



Şekil 4.16. Balık yağının kullanıldığı nanoemülsiyonlara ait faz diyagramları

4.2.2. Tek surfaktanlı nanoemülsiyonlar ve özellikleri

Miglyol ile hazırlanmış tek surfaktanlı nanoemülsiyonların belirlenmesi

Çalışılacak nanoemülsiyonların belirlenebilmesi için öncelikle faz diyagramlarındaki berrak bölgelerin yağ/su sisteminden oluşan kısımlarından üçer formülasyon tespit edildi. Formülasyonlarda su oranları sabit tutuldu.

Bu nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüş, miktar tayini, pH değeri, damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı, ostwald olgunlaşması, pik sayısı, sıvı kristal yapının oluşup oluşmadığı, viskozite ve akış özellikleri, salım özelliği hazırlanmalarından hemen sonra Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı şekilde incelendi

Miglyol ile hazırlanmış nanoemülsiyonların özellikleri

Damlacık büyüklüğü

Nanoemülsiyonların damlacık büyüklüklerinin saptanması Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Sonuçlar Çizelge 4.17'de verildi.

Genel fiziksel görünüş ve dış faz

Nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüşlerinin incelenmesi ve dış faz tespiti Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Akışkan olan formülasyonların tümünün çok hafif mavimtrak, berrak olduğu ve amaca uygun olarak yağ/su tipinde olduğu gözlemlendi.

Balık yağı ile hazırlanmış tek surfaktanlı nanoemülsiyonların belirlenmesi

Çalışılacak nanoemülsiyonların belirlenebilmesi için öncelikle faz diyagramlarındaki berrak bölgelerin yağ/su sisteminden oluşan kısımlarından üçer formülasyon tespit edildi. Formülasyonlarda su oranları sabit tutuldu. Ancak su oranları sabit tutulup yağ oranları arttıkça formülasyonlarda faz ayrışması görüldü.

Bu nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüş, miktar tayini, pH değeri, damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı, ostwald olgunlaşması, pik sayısı, sıvı kristal yapının oluşup

oluşmadığı, viskozite ve akış özellikleri, salım özelliği hazırlanmalarından hemen sonra Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı şekilde incelendi. Sonuçlar Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Balık yağı ile hazırlanmış nanoemülsiyonların özellikleri

Damlacık büyüklüğü

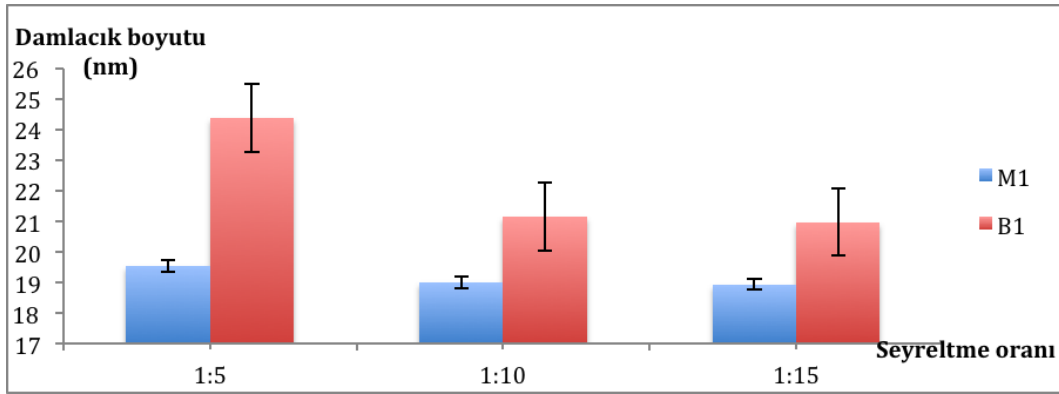
Nanoemülsiyonlarının damlacık büyüklüklerinin saptanması ve incelenmesi Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı.

Genel fiziksel görünüş ve dış faz

Nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüşlerinin incelenmesi ve dış faz tespiti Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Akışkan olan formülasyonların tümünün çok hafif mavimsi, berrak olduğu ve amaca uygun olarak yağ/su tipinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 4.17. M1, M2, M3 ve B1 nanoemülsiyonlarının seyreltmeyle damlacık boyu değişimleri

	Seyreltme Oranı	Ort. damlacık boyutu (nm) ($\pm$ SH)	Ort PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
M1	-	3480 ($\pm$ 225)	0,672 ($\pm$ 0,043)	ÇOKLU
	1:1	1108 ($\pm$ 62,642)	1	ÇOKLU
	1:2	111 ($\pm$ 5,783)	0,832 ($\pm$ 0,02)	ÇOKLU
	1:5	19,5 ($\pm$ 0,088)	0,192 ($\pm$ 0,002)	ÇOKLU
	1:10	19 ($\pm$ 0,1)	0,132 ($\pm$ 0,005)	TEK
	1:15	18,9 ($\pm$ 0,448)	0,099 ($\pm$ 0,003)	TEK
M2	-	1503 ($\pm$ 189,766)	0,971 ($\pm$ 0,029)	ÇOKLU
	1:5	32,5 ($\pm$ 0,033)	0,165 ($\pm$ 0,005)	ÇOKLU
	1:10	29,3 ($\pm$ 0,176)	0,115 ($\pm$ 0,004)	TEK
	1:15	28,5 ($\pm$ 0,264)	0,088 ($\pm$ 0,001)	TEK
M3	-	849 ($\pm$ 128,442)	0,646 ($\pm$ 0,04)	ÇOKLU
	1:5	46,4 ($\pm$ 0,088)	0,187 ($\pm$ 0,003)	ÇOKLU
	1:10	41,2 ($\pm$ 0,405)	0,133 ($\pm$ 0,007)	TEK
	1:15	39,4 ($\pm$ 0,088)	0,099 ($\pm$ 0,005)	TEK
B1	1:5	24,4 ($\pm$ 0,517)	0,2 ($\pm$ 0,002)	ÇOKLU
	1:10	21,1 ($\pm$ 0,033)	0,132	TEK
	1:15	21 ($\pm$ 0,033)	0,11 ($\pm$ 0,004)	TEK



Şekil 4.17. Miglyol ve balık yağı ile hazırlanmış nanoemülsiyonların seyreltmeyle değişen damlacık büyüklükleri

4.2.3. Surfaktan ve surfaktan yardımcısı içeren nanoemülsiyonlar ve özellikleri

Miglyol ile hazırlanmış Cremophor RH40 ve Solutol HS15 içeren nanoemülsiyonların belirlenmesi

Çalışılacak nanoemülsiyonların belirlenebilmesi için öncelikle faz diyagramlarındaki berrak bölgelerin yağ/su sisteminden oluşan kısımlarından üçer formülasyon tespit edildi. Formülasyonlarda su oranları sabit tutuldu.

Bu nanoemülsiyonların bazı özellikleri, hazırlanmalarından hemen sonra Bölüm 3.2.2. 'de anlatıldığı şekilde incelendi.

Miglyol ile hazırlanmış nanoemülsiyonların özellikleri

Damlacık büyüklüğü

Nanoemülsiyonlarının damlacık büyüklüklerinin saptanması incelenmesi Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı.

Çizelge 4.18. Miglyol ile hazırlanmış Cremophor RH40 ve Solutol HS15 nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri

	Seyreltme Oranı	Ort. damlacık boyutu (nm) ($\pm$ SH)	Ort PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
XM1	-	945 ($\pm$ 42,526)	0,861 ($\pm$ 0,074)	ÇOKLU
	1:5	20,6 ($\pm$ 0,36)	0,22 ($\pm$ 0,003)	ÇOKLU
	1:10	19 ($\pm$ 0,328)	0,117 ($\pm$ 0,005)	TEK
	1:15	18,1 ($\pm$ 0,153)	0,1 ($\pm$ 0,004)	TEK

Genel fiziksel görünüş ve dış faz

Nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüşlerinin incelenmesi ve dış faz tespiti Bölüm 3.2.3.'te anlatıldığı gibi yapıldı. Akışkan olan formülasyonların tümünün çok hafif mavimsiye olduğu ve amaca uygun olarak yağ/su tipinde olduğu gözlemlendi.

Balık yağı ile hazırlanmış Cremophor RH40 ve Solutol HS15 içeren nanoemülsiyonların belirlenmesi

Çalışılacak nanoemülsiyonların belirlenebilmesi için öncelikle faz diyagramlarındaki berrak bölgelerin yağ/su sisteminden oluşan kısımlarından üçer formülasyon tespit edildi. Formülasyonlarda su oranları sabit tutuldu. Ancak su oranları sabit tutulup yağ oranları arttıkça formülasyonlarda faz ayrışması görüldü.

Bu nanoemülsiyonların bazı özellikleri, hazırlanmalarından hemen sonra Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı şekilde incelendi.

Balık yağı ile hazırlanmış nanoemülsiyonların özellikleri

Damlacık büyüklüğü

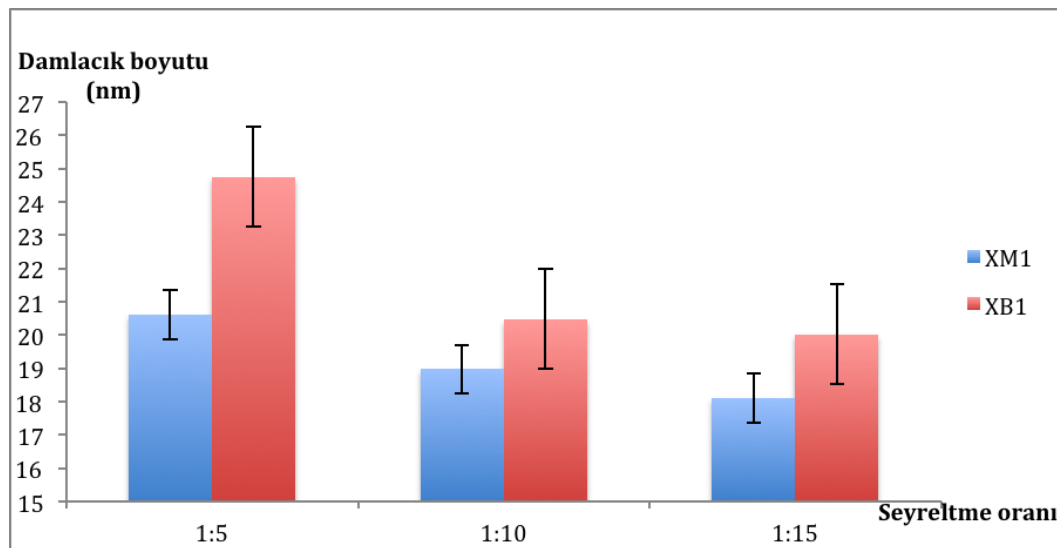
Nanoemülsiyonlarının damlacık büyüklüklerinin saptanması incelenmesi Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı.

Çizelge 4.19. Balık yağı ile hazırlanmış Cremophor RH40 ve Solutol HS15 nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri

	Seyreltme Oranı	Ort. damlacık boyutu (nm) ($\pm$ SH)	Ort PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
XB1	-	1107 ($\pm$ 54,874)	0,504 ($\pm$ 0,056)	ÇOKLU
	1:5	24,7 ($\pm$ 0,338)	0,273 ($\pm$ 0,01)	ÇOKLU
	1:10	20,5 ($\pm$ 0,371)	0,146 ($\pm$ 0,002)	TEK
	1:15	20 ($\pm$ 0,503)	0,111 ($\pm$ 0,005)	TEK

Genel fiziksel görünüş ve dış faz

Nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüşlerinin incelenmesi ve dış faz tespiti Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Akışkan olan formülasyonların tümünün renksiz, berrak olduğu ve amaca uygun olarak yağ/su tipinde olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.18. Miglyol ve balık yağı ile hazırlanmış surfaktan ve surfaktan yardımcısı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri

Miglyol ile hazırlanmış çözücü olarak propilen glikol kullanılan nanoemülsiyonların özellikleri

M1 nanoemülsiyonlarının miglyolde yeterli miktarda çözilememesi nedeniyle propilen glikol kullanılması karar verildi. Bu amaçla hazırlanan formülasyonlara %25 oranında

propilen glikol karıştırıldı. Oluşan nanoemülsiyonlarda incelemeler yapılarak sistemin özellikleri tespit edildi.

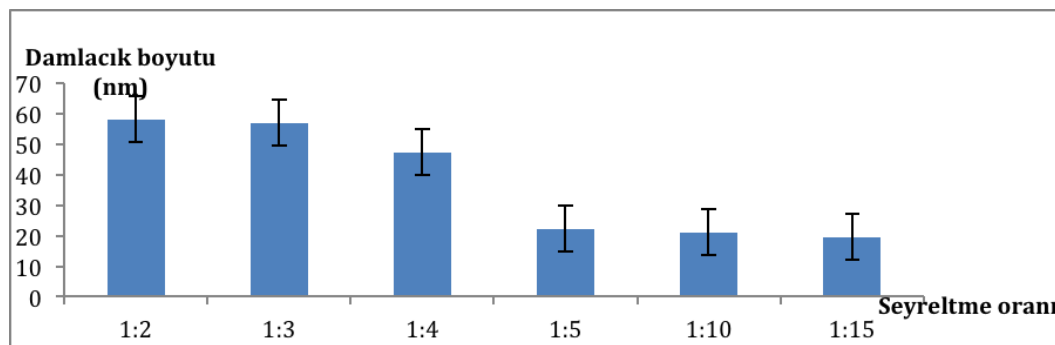
Balık yağı ile yapılan denemelerde faz ayrışması gözlemlendiği için bundan sonraki çalışmalarda balık yağının kullanılmamasına karar verildi.

Damlacık büyüklüğü

Propilen glikol içeren nanoemülsiyonlarının damlacık boyutlarının saptanması Bölüm 3.2.3.' de anlatıldığı gibi yapıldı.

Çizelge 4.20. Minoksidil içermeyen propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri

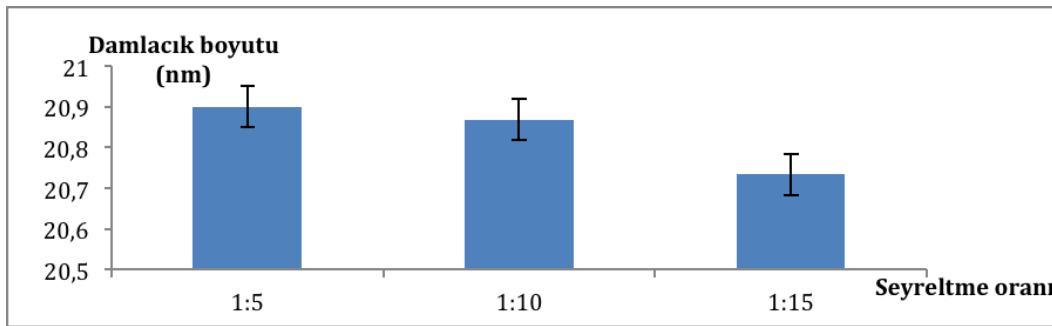
	Seyreltme Oranı	Ort. damlacık boyutu (nm) ($\pm$ SH)	Ort PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
M1+PG	-	507 ($\pm$ 31,061)	0,579 ($\pm$ 0,021)	ÇOKLU
	1:2	58,1 ($\pm$ 0,309)	0,595 ($\pm$ 0,054)	ÇOKLU
	1:3	57 ($\pm$ 8,897)	0,47 ($\pm$ 0,053)	ÇOKLU
	1:4	47,2 ($\pm$ 2,567)	0,468 ($\pm$ 0,017)	ÇOKLU
	1:5	22,2 ($\pm$ 0,651)	0,129 ($\pm$ 0,002)	TEK
	1:10	21,2 ($\pm$ 0,567)	0,144 ($\pm$ 0,032)	TEK
	1:15	19,6	0,083 ($\pm$ 0,006)	TEK



Şekil 4.19. Minoksidil içermeyen propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri

Çizelge 4.21. 2g minoksidil ve propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri

	Seyreltme Oranı	Ort. damlacık boyutu (nm)($\pm$ SH)	Ort PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
M1+PG +2M	-	552 ($\pm$ 72,59)	0,721 ($\pm$ 0,048)	ÇOKLU
	1:5	20,9 ($\pm$ 0,058)	0,121 ($\pm$ 0,006)	TEK
	1:10	20,9 ($\pm$ 0,433)	0,096 ($\pm$ 0,007)	TEK
	1:15	20,7 ($\pm$ 0,353)	0,09 ($\pm$ 0,007)	TEK



Şekil 4.20. 2g minoksidil içeren propilen glikol içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve viskoziteleri

Genel fiziksel görünüş ve dış faz

Nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüşlerinin incelenmesi ve dış faz tespiti Bölüm 3.2.3.'te anlatıldığı gibi yapıldı. Nanoemülsiyonların tümünün çok hafif mavimsi, berrak ve amaca uygun olarak yağ/su tipinde olduğu gözlemlendi.

Miglyol ile hazırlanmış çözücü olarak propilen glikol ve laktik asit karışımının kullanıldığı nanoemülsiyonların özellikleri

M1 nanoemülsiyonlarının miglyol ile hazırlanmış propilen glikol içeren nanoemülsiyonlarda minoksili ticari ürünle karşılaştırılabilecek kadar yeterli miktarda çözülmemesi nedeniyle propilen glikol ve laktik asit karışımının kullanılmasına karar verildi. Bu amaçla hazırlanan formülasyonlara %25 oranında propilen glikol ve laktik asit karışımı karıştırıldı. Oluşan nanoemülsiyonlarda incelemeler yapılarak sistemin özellikleri tespit edildi.

Damlacık büyüklüğü

Propilen glikol laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonlarının damlacık boyutlarının saptanması Bölüm 3.2.3.' de anlatıldığı gibi yapıldı. Sonuçlar Çizelge 4.23'de verildi.

Çizelge 4.22. Minoksidil içermeyen propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri

	Seyreltme Oranı	Ort. damla boyutu (nm)(±SH)	Ort PDI (± SH)	Pik Sayısı
NE (M-)	1:3	13,3 (± 0,043)	0,224 (± 0,005)	ÇOKLU
	1:5	9,33 (± 0,048)	0,147 (± 0,004)	TEK

Çizelge 4.23. Minoksidil içeren propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri

	Seyreltme Oranı	Ort. damla boyutu (nm)(±SH)	Ort PDI (± SH)	Pik Sayısı
NE	1:3	14,6 (± 0,487)	0,447 (± 0,04)	ÇOKLU
	1:5	9,43 (± 0,055)	0,143 (± 0,006)	TEK

Miktar Tayini

Propilen glikol laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonlarının miktarlarının saptanması Bölüm 3.2.1.' de anlatıldığı gibi yapıldı. Sonuçlar Çizelge 4.24'da verildi.

Çizelge 4.24. Minoksidil içeren propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların miktarları

	% Miktar
NE-1:3	2,00±0,014
NE-1:5	1,33±0,013

pH değeri

Nanoemülsiyonların pH ölçümü hazırlandıktan hemen sonra Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Sonuçlar Çizelge 4.25'de verildi.

Çizelge 4.25. Propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların pH ve noniyonize yüzdeleri

	pH	Noniyonize Yüzdesi
NE-1:3	4,6	%49,4
NE-1:5	4,3	%32,9

Çizelge 4.26. Propilen glikol, laktik asit karışımı içeren nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri

	Seyreltme oranı	Seyreltme sonrası % minoksidil miktarı	Ort.damla boyutu (nm) ($\pm$ SH)	Ort.PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
NE-1:3	1:3	2	14,6 ($\pm$ 0,487)	0,447 ($\pm$ 0,04)	ÇOKLU
NE-1:5	1:5	1,33	9,43 ($\pm$ 0,055)	0,143 ($\pm$ 0,006)	TEK

Akış özellikleri ve viskozite

Nanoemülsiyonlarının akış özelliklerinin incelenmesi Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Formülasyonların akış reogramları Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de, viskozite değerleri de Çizelge 4.27 ve Çizelge 4.28'de verilmiştir.

Çizelge 4.27. NE-1:3 nanoemülsiyonunun viskozite değerleri

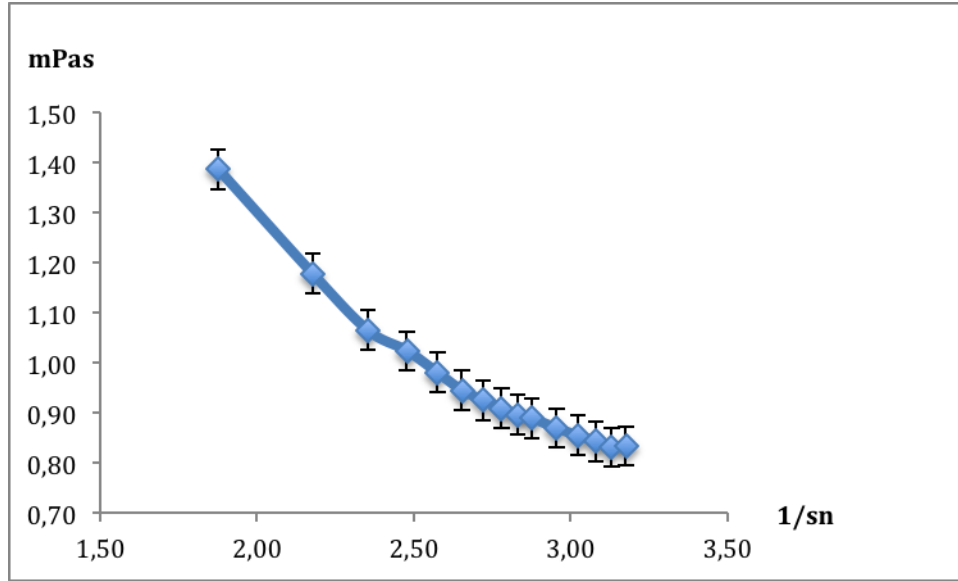
Viskozite (mPaS)	Kayma Gerilimi (D/cm ²)	Kayma Hızı (1/sn)
24,4	18,3	75
15,1	22,6	150
11,6	26,2	225
10,6	31,7	300
9,57	35,9	375
8,81	39,6	450
8,43	44,2	525
8,12	48,7	600
7,87	53,1	675
7,75	58,1	750
7,40	66,6	900
7,16	75,0	1050
6,97	83,6	1200
6,78	91,6	1350
6,82	103	1500

Çizelge 4.28. NE-1:5 nanoemülsiyonunun viskozite değerleri

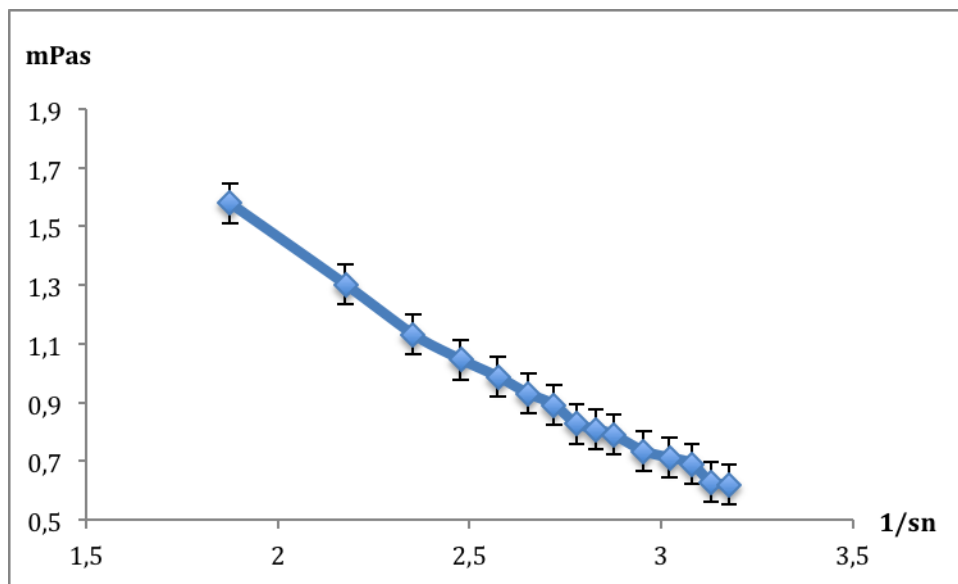
Viskozite (mPaS)	Kayma Gerilimi (D/cm ²)	Kayma Hızı (1/sn)
37,9	28,4	75
20,1	30,1	150
13,6	30,5	225
11,1	33,4	300
9,71	36,4	375
8,51	38,3	450
7,80	41,0	525
6,73	40,3	600
6,43	43,4	675
6,17	46,2	750
5,42	48,8	900
5,14	54,0	1050
4,91	58,9	1200
4,25	63,8	1350
4,17	62,5	1500

Çizelge 4.29. Ostwald de Waele eşitliği sonucu

NE	K (mPa.s)
1:3	110
1:5	700



Şekil 4.21. NE-1:3 nanoemülsiyonunun akış eğrisi



Şekil 4.22. NE-1:5 nanoemülsiyonunun akış eğrisi

Genel fiziksel görünüş ve dış faz

Nanoemülsiyonların genel fiziksel görünüşlerinin incelenmesi ve dış faz tespiti Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Nanoemülsiyonların tümünün mavimsi, berrak ve amaca uygun olarak yağ/su tipinde olduğu gözlemlendi.

Salım özellikleri

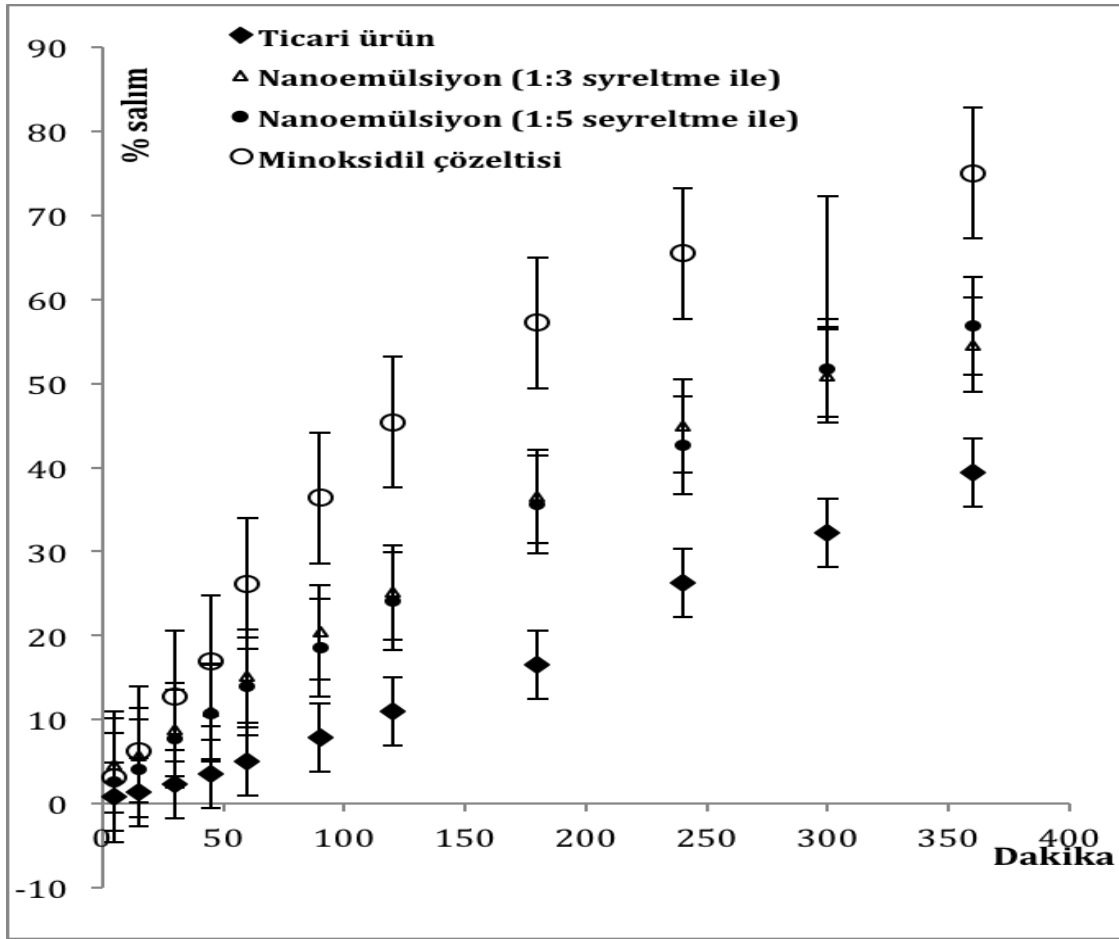
Nanoemülsiyonların salım özelliklerinin incelenmesi Bölüm 3.2.4.'de anlatıldığı gibi yapıldı. Salım grafikleri Şekil 4.23'de ve bu grafiklerden hareketle bulunan, saatteki %salınan/cm² değerleri Çizelge 4.30'da verilmiştir.

Çizelge 4.30. Selofan Membrandan % Salımlar

dk	Ticari Ürün	NE 1:3	NE 1:5	Minoksidil Çözeltisi
5	0,771 (± 0,038)	4,50 (± 0,007)	2,50 (± 0,011)	3,14 (± 0,049)
15	1,26 (± 0,032)	5,70 (± 0,097)	4,07 (± 0,055)	6,15 (± 0,078)
30	2,21 (± 0,065)	8,75 (± 0,063)	7,66 (± 0,163)	12,7 (± 0,013)
45	3,52 (± 0,096)	10,9 (± 0,718)	10,7 (± 0,059)	16,9 (± 0,107)
60	4,94 (± 0,142)	15,1 (± 0,039)	13,9 (± 0,007)	26,1 (± 0,269)
90	7,77 (± 0,309)	20,3 (± 0,04)	18,5 (± 0,074)	36,3 (± 0,307)
120	11,0 (± 0,364)	25,1 (± 0,072)	24,0 (± 0,158)	45,4 (± 0,173)
180	16,5 (± 0,13)	36,5 (± 0,1)	35,6 (± 0,175)	57,2 (± 0,189)
240	26,2 (± 0,192)	44,9 (± 0,212)	42,6 (± 0,215)	65,4 (± 0,267)
300	32,2 (± 0,235)	50,8 (± 0,067)	51,7 (± 0,318)	64,4 (± 0,068)
360	39,3 (± 0,232)	54,6 (± 0,091)	56,8 (± 0,207)	75,0 (± 0,08)

Minoksidil çözeltisi: 2g minoxidil+3,5ml LA+13,5ml PG+81ml Su

Ticari Ürün(Minoxil™ %2)



Şekil 4.23. Selofan membranlı franz hücresinden salınan minoksidil nanoemülsiyonlarına ait salım grafikleri

Çizelge 4.31. Selofan membranlı Franz hücresinden salınan minoksidil nanoemülsiyonları salım kinetiklerine ait veriler

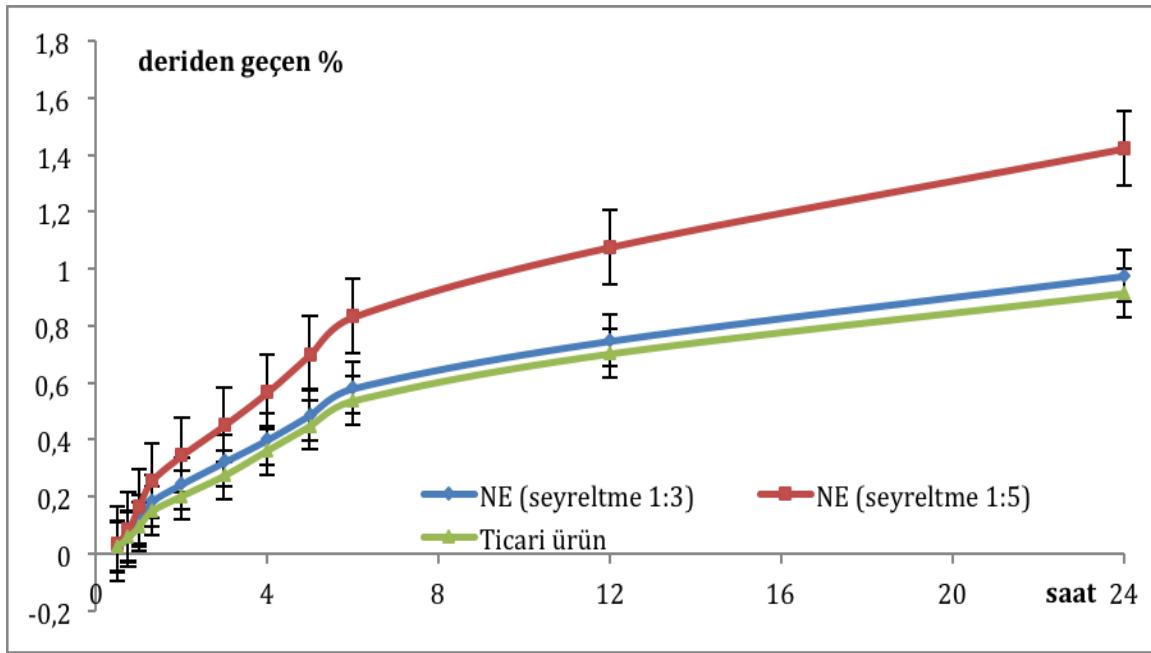
	Ticari Ürün	NE- 1:3	NE- 1:5	Minoksidil Çözeltisi
Eğim (mg/cm ² /dk)	0,0159	0,0267	0,0152	0,0547
Kesişim (mg/cm ²)	-0,186	0,472	0,347	0,175
r ²	0,994	0,98	0,99	0,993
Regresyonun SH	0,16	0,0749	0,199	0,202
Eğim (%salınan/cm ² /dk)	0,0226	0,0362	0,038	0,0513
Kesişim (%salınan/cm ²)	-0,311	1,3	0,869	2,41
r ²	0,994	0,98	0,99	0,911
SH	0,267	0,658	0,498	1,95
6. saatte % salınan	39,2	54,6	56,8	75

(Minoksidil çözeltisi: 2g minoxidil+3,5ml LA+13,5ml PG+81ml Su)

Deriden Geçiş Çalışmaları

Çizelge 4.32. Deriden geçiş % emilen

Saat	NE-1:3 (± SH)	NE-1:5 (± SH)	Ticari Ürün (± SH)
0,5	0,027 (± 0,016)	0,037 (± 0,016)	0,025 (± 0,015)
0,75	0,060 (± 0,035)	0,086 (± 0,035)	0,059 (± 0,034)
1	0,116 (± 0,067)	0,168 (± 0,067)	0,096 (± 0,056)
1,3	0,185 (± 0,107)	0,257 (± 0,107)	0,151 (± 0,087)
2	0,247 (± 0,143)	0,347 (± 0,143)	0,204 (± 0,118)
3	0,325 (± 0,188)	0,453 (± 0,188)	0,276 (± 0,159)
4	0,403 (± 0,233)	0,569 (± 0,233)	0,364 (± 0,21)
5	0,490 (± 0,283)	0,701 (± 0,283)	0,451 (± 0,26)
6	0,583 (± 0,337)	0,833 (± 0,337)	0,538 (± 0,311)
12	0,749 (± 0,433)	1,08 (± 0,433)	0,703 (± 0,406)
24	0,977 (± 0,564)	1,42 (± 0,564)	0,915 (± 0,528)



Şekil 4.24. Deri takılı Franz hücresinden geçen minoksidil nanoemülsiyonlarına ait salım grafikleri

Çizelge 4.33. Deri takılı Franz hücresinden emilen minoksidil nanoemülsiyonları salım kinetiklerine ait veriler.

	Ticari Ürün	NE-1:3	NE-1:5
Doz	20mg	20mg	13,3mg
Eğim (mg/cm ² /saat)	0,0228	0,0245	0,00114
Kesişim (mg/cm ²)	0,0014	0,00476	0,0228
r ²	0,992	0,979	0,992
SH	0,0043	0,00752	0,0066
6. saatte % deriden emilen	0,914	0,977	1,42

Fiziksel stabilite

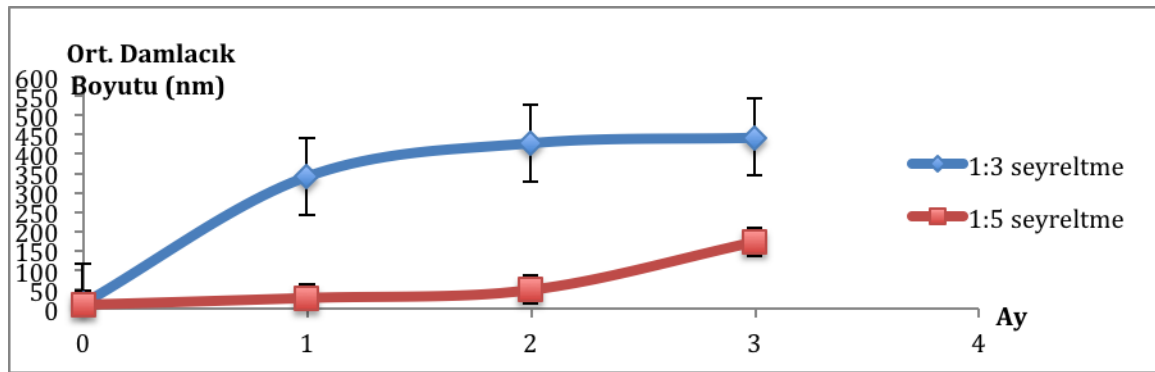
Nanoemülsiyonlarının stabiliteleri Bölüm 3.2.6.'da anlatıldığı şekilde incelendi.

Damlacık büyüklüğü

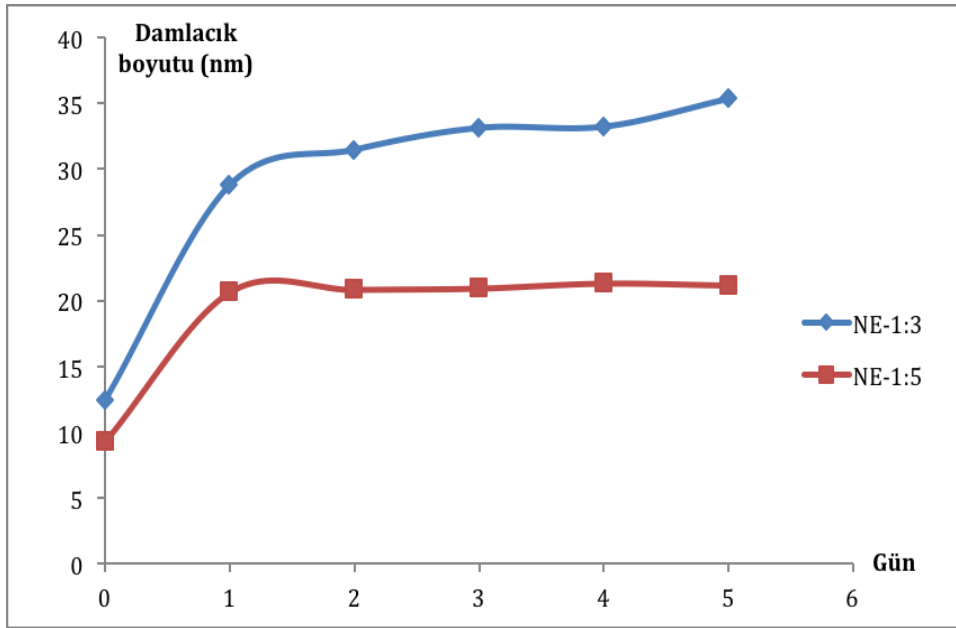
Nanoemülsiyonların Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı şekilde 3 ay süresince damlacık büyüklüğü ölçümleri yapıldı ve ölçülen değerler, zamana karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.25). Nanoemülsiyonların 0., 1., 2., 3. aylar için damlacık boyutları incelendi (Şekil 4.25).

Çizelge 4.34. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen damlacık boyutları

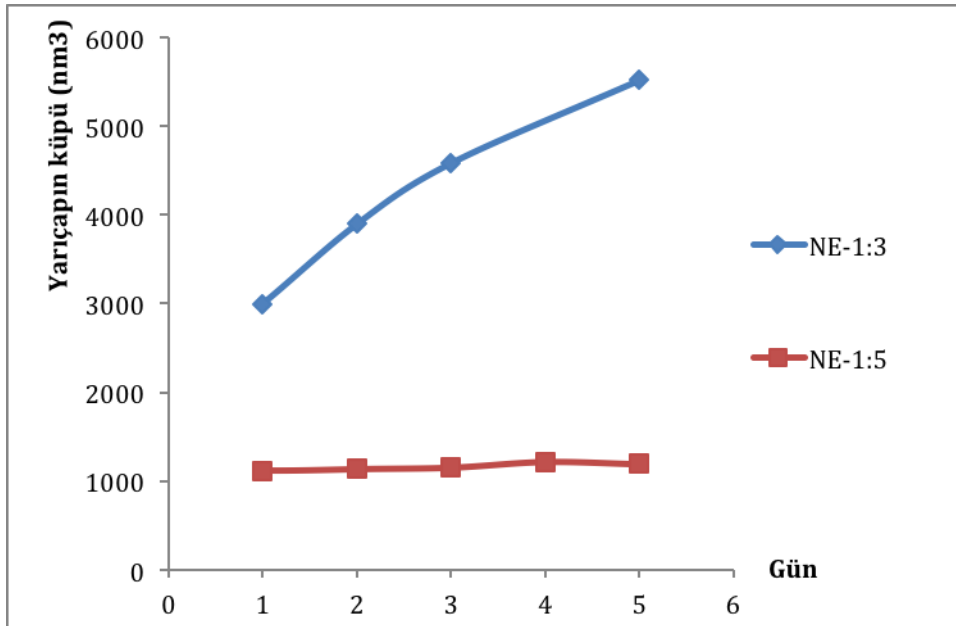
NE	Seyreltme Oranı	Ort.damlacık boyutu (nm) ($\pm$ SH)	Ort.PDI ($\pm$ SH)	Pik Sayısı
0.ay	1:3	14,6 ($\pm$ 0,487)	0,447 ($\pm$ 0,04)	ÇOKLU
1.ay		342($\pm$ 9,258)	0,354 ($\pm$ 0,025)	ÇOKLU
2.ay		428($\pm$ 6,39)	0,019 ($\pm$ 0,005)	ÇOKLU
3.ay		442($\pm$ 7,729)	0,171 ($\pm$ 0,004)	ÇOKLU
0.ay	1:5	9,43 ($\pm$ 0,055)	0,143 ($\pm$ 0,143)	TEK
1.ay		27,2 ($\pm$ 1,236)	0,288 ($\pm$ 0,05)	ÇOKLU
2.ay		48,1 ($\pm$ 2,489)	0,526 ($\pm$ 0,017)	ÇOKLU
3.ay		172 ($\pm$ 3,801)	0,333 ($\pm$ 0,013)	ÇOKLU



Şekil 4.25. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen damlacık boyutları



Şekil 4.26. Ostwald olgunlaşması damlacık boyutu



Şekil 4.27. Ostwald olgunlaşması damlacık yarıçapları

Ostwald olgunlaşma hızı NE 1:5 için hesaplanmadı. Bunun nedeni Şekil 4.27’de görüldüğü gibi bu nanoemülsiyon için verilerin x eksenine paralel olmasıydı. NE 1:3 için bu değer hesaplandığında $617,6 \text{ nm}^3/\text{gün}$ bulundu.

Çizelge 4.35. Nanoemülsiyonların 25°C'de 5gün boyunca izlenen damlacık boyutları (Oswalt ripening)

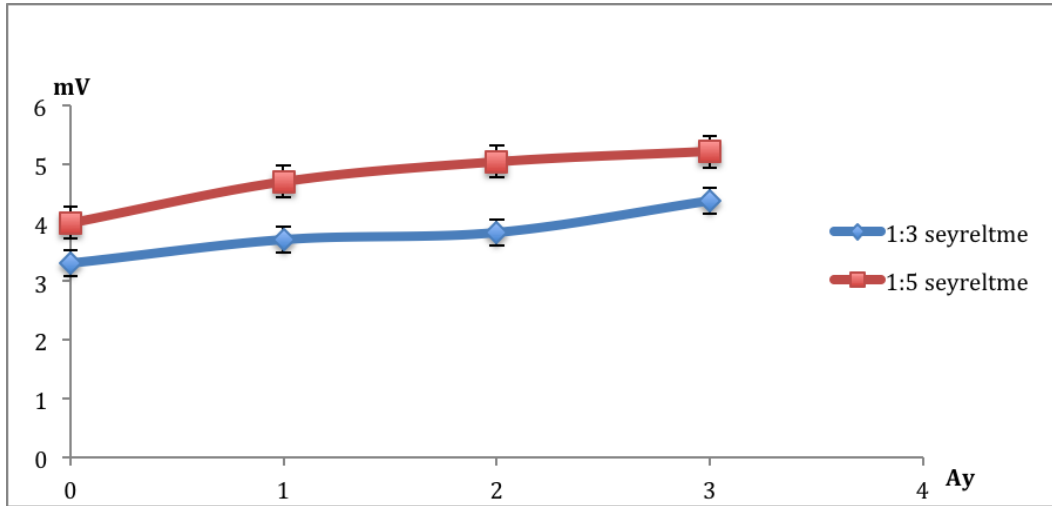
Gün	Ortalama Çapı		Ortalama Yarıçap Küpü	
	NE-1:3 (nm)	NE-1:5 (nm)	NE-1:3 (nm ³)	NE-1:5 (nm ³)
0	12,5	9,33	243	102
1	28,8	20,7	2988	1108
2	31,5	20,9	3896	1137
3	33,1	21,0	4541	1153
4	33,2	21,4	4581	1217
5	35,3	21,2	5516	1192

Zeta potansiyeli

Nanoemülsiyonların Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı şekilde 3 ay süresince zeta potansiyel ölçümleri yapıldı ve ölçülen değerler, zamana karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.28). Nanoemülsiyonların zeta potansiyelleri 0., 1., 2., 3. aylar için incelendi (Çizelge 4.36).

Çizelge 4.36. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen zeta potansiyelleri

NE	Seyreltme Oranı	Ort.zeta potansiyeli (mV)(±SH)	Ort.Zeta SD(± SH)	Ort. Pik
0.ay	1:3	3,31 (± 0,07)	3,84 (± 0,319)	3,31
1.ay		3,72 (± 0,103)	3,80 (± 0,229)	3,72
2.ay		3,85 (± 0,139)	4,07 (± 0,233)	3,85
3.ay		4,39 (± 0,182)	4,28 (± 0,318)	4,39
0.ay	1:5	4,00 (± 0,166)	3,31 (± 0,014)	4,00
1.ay		4,70 (± 0,163)	3,60 (± 0,186)	4,70
2.ay		5,04 (± 0,184)	4,51 (± 0,12)	5,04
3.ay		5,22 (± 0,193)	4,71 (± 0,108)	5,22



Şekil 4.28. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen zeta potansiyelleri

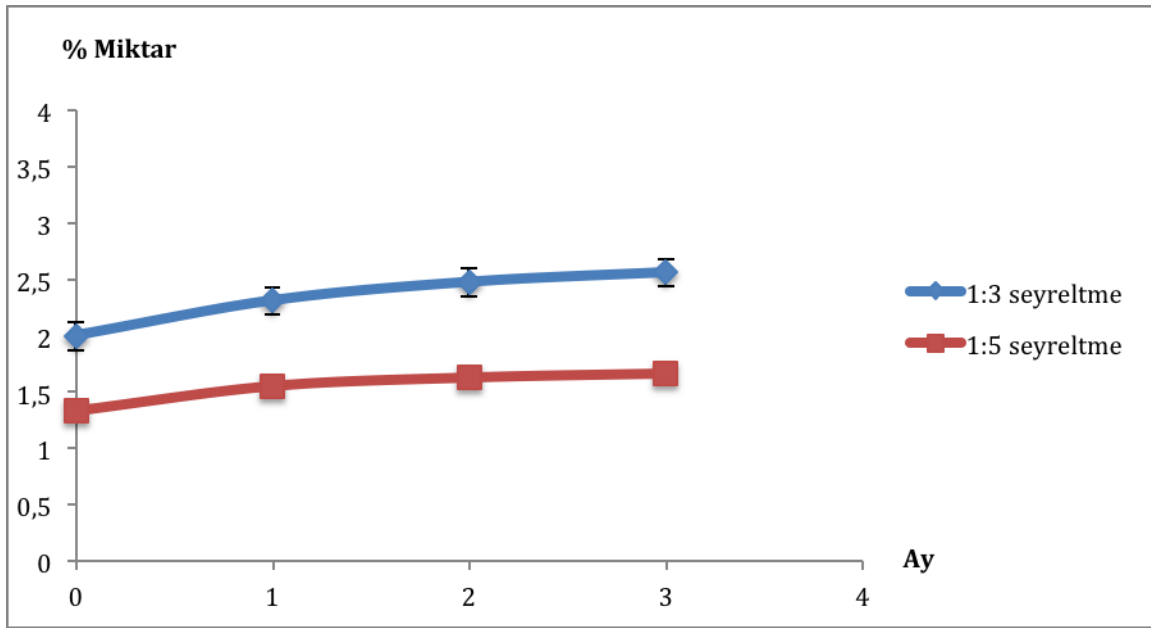
Miktar tayini

Nanoemülsiyonların Bölüm 3.2.1.'de anlatıldığı şekilde 3 ay süresince minoksidil miktar tayinleri yapıldı ve ölçülen değerler, zamana karşı grafiğe geçirildi(Şekil 4.29).

Nanoemülsiyonların miktar dağılımları 0., 1., 2., 3. aylar için incelendi (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.37. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen miktarları

NE	Seyreltme Oranı	Miktar (%) ($\pm$ SH)
0.ay	1:3	2,00 ($\pm$ 0,014)
1.ay		2,31 ($\pm$ 0,164)
2.ay		2,48 ($\pm$ 0,052)
3.ay		2,56 ($\pm$ 0,032)
0.ay	1:5	1,33 ($\pm$ 0,013)
1.ay		1,55 ($\pm$ 0,065)
2.ay		1,63 ($\pm$ 0,05)
3.ay		1,66 ($\pm$ 0,015)



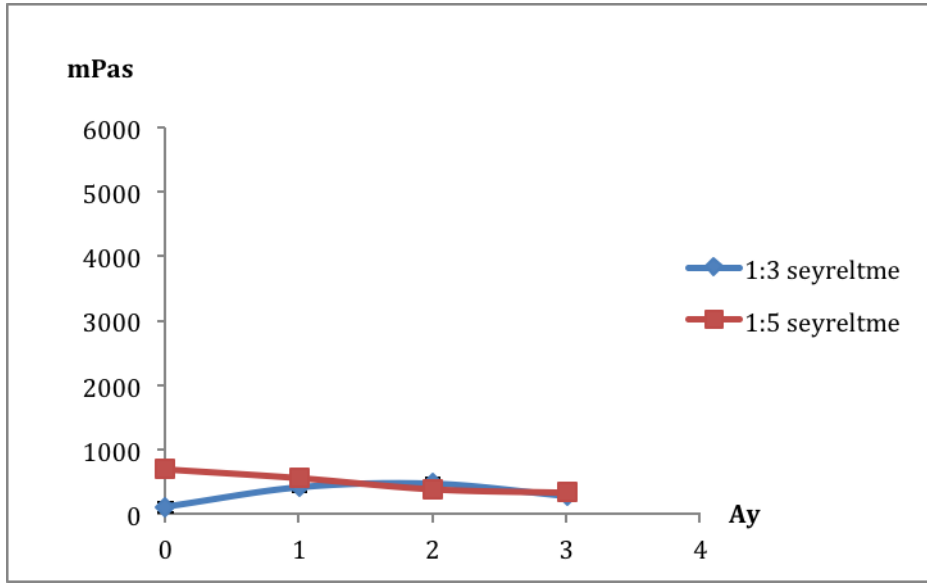
Şekil 4.29. Nanoemülsiyonların 25°C'de üç ay boyunca izlenen miktarları

Akış özellikleri ve viskozite

Nanoemülsiyonlarının viskoziteleri Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı şekilde ölçüldü. Formülasyonların üç ay süresince viskoziteleri izlendi (Şekil 4.30).

Çizelge 4.38. Nanoemülsiyonların 25°C de üç ay boyunca izlenen viskoziteleri

NE	Seyreltme Oranı	K (mPa.s) (±SH)	n (±SH)
0.ay	1:3	110	0,603
1.ay		417 (± 52,956)	0,416 (± 0,019)
2.ay		472 (± 187,693)	0,388 (± 0,081)
3.ay		281 (± 35,456)	0,493 (± 0,022)
0.ay	1:5	700	0,287
1.ay		564 (± 45,763)	0,31 (± 0,015)
2.ay		390 (± 116,304)	0,392 (± 0,048)
3.ay		337 (± 62,451)	0,401 (± 0,026)



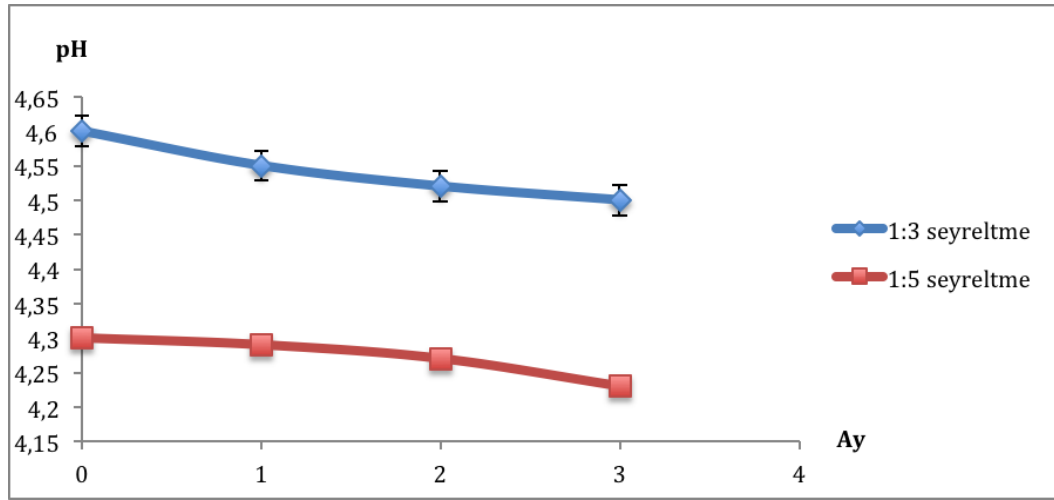
Şekil 4.30. Nanoemülsiyonların 25°C de üç ay boyunca izlenen viskoziteleri

pH değeri

Nanoemülsiyonların pH değerlerinin ölçümü, Bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı şekilde yapıldı. Nanoemülsiyonların üç ay süresince pH değerlerindeki değişim izlendi (Çizelge 4.39).

Çizelge 4.39. Nanoemülsiyonların üç ay süresince izlenen pH değerleri

NE	Seyreltme Oranı	pH ($\pm$ SH)
0.ay	1:3	4,6
1.ay		4,55 ($\pm$ 0,046)
2.ay		4,52 ($\pm$ 0,059)
3.ay		4,5 ($\pm$ 0,061)
0.ay	1:5	4,3
1.ay		4,29 ($\pm$ 0,01)
2.ay		4,27 ($\pm$ 0,006)
3.ay		4,23 ($\pm$ 0,029)



Şekil 4.31. Nanoemülsiyonların üç ay süresince izlenen pH değerleri

5. TARTIŞMA

Temelde antihipertansif olan minoksidil 1968 yılından itibaren kullanılmaya başlanmış bir ilaçtır. Daha sonra saç çıkarıcı ve büyütücü etkisi saptanmış [85-87] ve minoksidil erkek tipi kelliğe karşı kullanılmaya başlanmıştır[88,89]. Propilen glikolde ve etanolde yüksek oranda çözünebilen, suda ve yağda çok az miktarda çözündüğü belirtilen minoksidilin kozmetik pazarında çözelti ve köpük formu bulunmaktadır.

Literatür araştırması sonucunda minoksidilin nanoemülsiyon formülasyonu ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmadı Bu nedenle bu çalışmada minoksidil için iyi bir taşıyıcının geliştirilmesi planlanmış, damlacık boyutu "nm" düzeyinde olan bir emülsiyon sisteminin hem kozmetik etki açısından hem de minoksidilin deriden geçişini arttırması açısından uygun olacağı düşünüldü. Bu amaçla tek surfaktanlı ve surfaktan ile surfaktan yardımcılı iki sistem üzerinden çalışmalar yapıldı [64].

5.1. Minoksidil ile Yapılan Çalışmalar

5.1.1. Minoksidilin su ve pH 5,2 tamponda UV spektrumunun alınması ve standart eğrisinin çıkarılması

Bu çalışma sırasında her iki ortam için de ayrı ayrı standart eğriler çıkarılmıştır.

Minoksidil suda 287 nm, tamponda 283 nm dalga boyunda pik verdi. Çözücünün su veya tampon olması pikin şeklini etkilememiştir. Elde edilen pikin şekli ve $\lambda_{maksimum}$ değeri literatür bilgisi ile benzerdir [62].

pH 5,2 tamponda regresyon eşitliğinin çıkarılması

Regresyon eşitliğine ait standart hatalar düşük değerlerdir. Bunun yanısıra paralel deneyler arasındaki %BS değerlerinin normal düzeylerde olduğu arasında çok fark olmadığı gözlemlendi. Bu nedenle spektrofotometrenin güvenilir sonuç vereceğini göstermektedir (Bkz. Çizelge 4.1).

Suda regresyon eşitliğinin çıkarılması

Regresyon eşitliğine ait standart hatalar düşük değerlerdir. Bunun yanısıra paralel deneyler arasındaki %BS değerlerinin normal düzeylerde olduğu arasında çok fark olmadığı gözlemlendi. Bu spektrofotometrenin güvenilir sonuç vereceğini göstermektedir.

5.1.2. Analitik validasyon çalışması

Bu çalışma her iki ortam için yapıldı.

Doğrusallık

Elde edilen deneysel verilerin doğrusallıklarının saptanması lineer regresyon eşitlikleri çıkarılarak yapıldı (Bkz. Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6). Bulunan r^2 değerleri ve regresyonun standart hatası, verilerin doğrusal olduğunu göstermektedir. Bunun yanısıra ilgili regresyon eşitliği kullanılarak, her üç veri takımı için derişim değerlerine (y) karşılık, hesapla bulunan artık değerler ($y-\hat{y}$) grafiğe geçirildi (Bkz. Şekil 4.5 ve Şekil 4.6). Bölüm 4.1.2.'de belirtildiği gibi ilgili istatistik inceleme sonucunda her üç doğrunun da doğrusal olduğu bu şekilde de gösterildi [93].

Doğruluk

Kullanılan analitik yöntemin doğruluğu, geri kazanım değerleri hesaplanarak bulunmuştur. Spektrofotometre kullanılarak elde edilen verilerde düşük, orta ve yüksek derişimdeki değerlerin % BS değerlerinin % 2'den az olduğu saptandı. (Bkz. Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8).

Kesinlik

Yöntemin kesinliği düşük, orta ve yüksek derişimlerdeki çözeltiler kullanılarak saptandı. Spektrofotometre kullanılarak elde edilen verilerde düşük, orta ve yüksek derişimdeki değerlerin %BS değerlerinin % 2'den az olduğu bulundu (Bkz. Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10).

Saptama sınırı

Bu çalışmada bu değer, kullanılan spektrofotometre ile minoksidilin okunabilecek en düşük derişim değerini göstermektedir. Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de verilen değerler incelendiğinde minoksidilin tampondaki çözeltisinin spektrofotometrik analizinde en düşük minoksidil derişimi 0,00138 µg/mL, sudaki çözeltisinde 0,00133 µg/mL olarak tespit edildi.

Özgünlük ve seçicilik

Bu çalışma özellikle salım deneyleri süresince salım ortamına salınabilecek herhangi bir formülasyon maddesinin, minoksidilin UV sahadaki spektrofotometrik analizini bozup bozmayacağını tespit etmek açısından önem arzetmektedir. Salım çalışmaları boyunca salım ortamına sadece suda çözünebilen formülasyon maddeleri geçebilir. Bunlar da propilen glikol, cremophor ve laktik asittir. Bu yardımcı maddelerin UV sahada, özellikle minoksidilin maksimum dalga boyunda, herhangi bir pik vermediği ve okunan absorbansların sadece minoksidile ait olduğu bulundu.

Dayanıklılık

Dayanıklılık çalışmaları, minoksidilin çalışılan ortamlarda ve sıcaklıklarda en azından çalışma süresi boyunca bozulmadan kaldığını ispatlamak için yapıldı. Minoksidilin stabilitesi hem suda hem de pH 5,2 tamponda salım deneyleri 32°C’de yapıldığı için bu ortamlarda incelenmiş ve Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de görüldüğü gibi minoksidilin ilgili çözücülerdeki çözeltisinin absorbans değerlerinin değişmediği saptandı. Bu çalışma sırasında her okuma esnasında ayrıca UV sahada pik taraması da yapılmış ve sonuçta $\lambda_{\text{maksimum}}$ değerinde bir değişim olmadığı, pik şeklinin korunduğu bulunmuştur. Esasında bu bulgular literatür bilgisi ile örtüştü [62,64]. Sonuç olarak minoksidil dayanıklı bir maddedir ve bu, bizim tarafımızdan yapılan bu çalışma koşulları için de geçerlidir.

5.1.3. Minoksidilin pH 5,2 Tampondaki ve Propilen Glikoldeki Çözünürlüğü

Bu çalışmada minoksidilin tamponda ve propilen glikolde 25°C çözünürlük değerleri saptandı. Suda 25°C'deki çözünürlük değerleri yaklaşık 2,2 mg/mL [64], pH 5,2'de 3,38 mg/mL ve propilen glikolde ise 64,5 mg/mL olarak bulundu.

Bizim çalışmamızda minoksidilin pH 5,2 tamponda 25°C'deki çözünürlük değeri sudaki çözünürlük değerinden büyük olduğu görüldü. Ortam asitleştikçe çözünürlüğün arttığı görüldü.

Minoksidilin tampondaki çözünürlük değeri, özellikle salım deneyleri ve deriden geçiş deneyleri sırasında sink ortamda çalışılması için gerekli ortam hacminin hesaplanmasına olanak vermesi açısından önemlidir. Bu değer, minoksidilin salım ve geçiş çalışmaları sırasında ortamda herhangi bir zaman aralığında 3,38 mg/mL'den daha fazla derişimde olmaması gerektiğini gösterir. Bu koşulu sağlamak için, deneyler süresince numune alma aralıkları mümkün olduğunca sık tutulmuş; her bir numune alma aralığında salım odasındaki çözelti tümüyle çekilmiş ve yerine taze tampon konuldu.

5.1.4. Minoksidilin Partisyon Katsayısı

Minoksidilin partisyon katsayısı 25°C'de yağ fazı olarak Miglyol 818 kullanılarak yapıldı. Miglyol/su ve miglyol/propilen glikol partisyon katsayısı değeri minoksidilin su/yağ nanoemülsiyon formülasyonundan salımında önemli bir gösterge olması açısından önemlidir. Bu çalışmada $P_{\text{miglyol/su}}$ değeri yaklaşık 0,0466 ve $P_{\text{miglyol / propilen glikol}}$ değeri yaklaşık 0,0231 olarak saptandı.

Bu değerler, formülasyonlardaki minoksidilin oda sıcaklığında su ve yağ fazlarında yaklaşık hangi oranlarda bulunabileceğini gösteren değerlerdir.

5.2. Formülasyon Çalışmaları

Formülasyon çalışmalarına başlarken esas hedeflenen,

- ✓ İç faz damlacıkları 50nm'nin altında olan,
- ✓ Yağ/su tipi,

- ✓ Alkol içermeyen,
- ✓ Deri ile uyumlu olan ve çok uzun senelerden beri kullanılmakta olan Cremophor RH40 ve Solutol HS15 taşıyan [95,134],
- ✓ Yağ fazı olarak da balık yağının ve miglyolün kullanıldığı bir emülsiyon sistemi geliştirmekti.

Bu çalışma planlanırken,

- ✓ Bu tip bir nanoemülsiyon sisteminin alkol içermemesi nedeniyle cilt üzerine rahatlıkla uygulanabilecek bir taşıyıcı olacağı,
- ✓ Yağ fazı olarak balık yağının kullanılmasının cilt bakımı için uygun olacağı,
- ✓ Böyle bir sistemi yağ/su tipinde hazırlamanın kozmetik amaçlı uygulama açısından daha uygun olacağı,
- ✓ Eğer iç faz damlacıklarının 50nm'nin altında oluşması sağlanabilirse iç faz damlacıkları içindeki minoksidilin deriye kolaylıkla penetre olabileceği düşünüldü.

Çalışma süresince bu düşünülen hususların birçoğu gerçekleştirilebildi. Sonuçta elde edilen sistemler hedeflenen sistemlere oldukça yakındı. Çalışmada temel olarak iki değişik hazırlama yöntemi kullanılarak belirtilen hedeflere ulaşılmaya çalışıldı. Sonuç olarak alkol içermeyen nanoemülsiyon sistemleri hazırlandı.

Bu çalışmada yağ fazı olarak balık yağı ve miglyol olmak üzere iki değişik yağın kullanılmasına karar verildi.

Bulunan kadarıyla, miglyolün yağ fazı olarak kullanıldığı çalışma sayısı, diğer yağların kullanıldığı çalışmalardan çok daha azdır [96-103]. Bu çalışmalarda Miglyol 818 (caprylic/capric/linoleic triglyceride) ile beraber, surfaktan olarak Cremophor RH40 (Polyoxyl 40 Hydrogenated Castor Oil) kullanıldı. Bu çalışmada ko-surfaktan olarak da Solutol HS15 (Polyethylene glycol (15)-hydroxystearate) ve çözücü olarak propilen glikol ve laktik asit karışımı kullanıldı.

Çalışmamızda kullandığımız Miglyol 818 (caprylic/capric/linoleic triglyceride) nötr ve renksiz bir yağdır. Yaklaşık % 4 oranında linoleik asit içerdiği için yapısına antioksidan ilave edildiği bildirilmiştir[104]. Isıya dayanıklıdır. Deri yüzeyine çok iyi yayıldığı, derinin hava ile temasını kesmediği, çok iyi yumuşatıcı ve pürüzsüzleştirici olduğu için kozmetik amaçlı kullanıma çok uygundur. Bu sebeplerden dolayı bu yağın formülasyonlarda kullanılmasına karar verildi.

Formülasyonda kullandığımız ikinci yağ ise balık yağıdır. Balık yağı ile yapılan çok az sayıda çalışma bulundu [32,75]. Kullanılan balık yağı Bota Farma'dan alındı. Bu çalışmada da surfaktan olarak Cremophor RH40 (Polyoxyl 40 Hydrogenated Castor Oil) kullanıldı. Bu çalışmada ko-surfaktan olarak da Solutol HS15 (Polyethylene glycol (15)-hydroxystearate) kullanıldı.

Bu çalışmada, üzerinde çok fazla çalışılmadığı için balık yağının nm boyutunda damlacık içeren nanoemülsiyon sistemi içinde kullanımının uygun olup olmayacağı araştırıldı.

Çalışmada, surfaktan olarak kullanılan cremophor, nm boyutunda damlacık içeren nanoemülsiyon sistemlerin hazırlanması amacıyla değişik çalışmalarda kullanıldı. Solutol HS15 nanoemülsiyon oluşturmada üzerine çok sayıda temel çalışma bulunmaktadır. Kullanılan propilen glikol [15,18,62] ve laktik asit [78] etken maddeyi çözmek amaçlıdır.

5.2.1. Tek surfaktanlı nanoemülsiyonlar

Bu nanoemülsiyonlar, hazırlama aşamasında tek surfaktanın kullanıldığı sistemlerdir. Hazırlama yönteminin temeli, konu ile ilgili daha önce yapılmış çalışmalara dayanmaktadır. Esasında bu yöntem, nm boyutunda damlacık oluşturabilmek için oldukça basit bir yöntemdir. Çözelti durumundaki yağ fazı (lipofilik surfaktan+yağ) ile su fazı (hidrofilik surfaktan çözeltisi) belirli bir ısı altında karıştırıldı. Bu konuda yapılan çalışmalar incelendiğinde uygun formülasyona karar verilirken üçgen faz diyagramının nasıl kullanılacağı hakkında bir bilgi yoktu. Bu nedenle Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı şekilde bir hazırlama yolu takip edildi.

Balık Yağının Kullanıldığı Nanoemülsiyonlar

Balık yağını kullanarak, cremophor RH40 ile 40:60, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90 alınıp su ile titre edilerek faz diyagramı çıkartıldı. Su oranı sabit tutulup yağ oranı %10, %20 ve %30 olan 3 formülasyon seçildi. Bunlar 1:1, 1:2, 1:5, 1:10 ve 1:15 oranında su ile seyreltme yapıldı ve damlacık boyutları ölçüldü. 1:5 oranına kadar tek pik elde edilemedi. Dış fazı su olan nanoemülsiyon sistemlerinde %10 yağ içeren formülasyonlar dışındaki formülasyonlarda bir gün içinde faz ayrışması gözlemlendi. Bu nedenle yağ oranı %10'u geçmeyen formülasyonlarla çalışmaya devam edilmemesine karar verildi. Çalışmanın bundan sonraki aşamasında balık yağı yerine miglyol kullanarak faz ayrışmasının yağdan kaynaklanıp kaynaklanmadığının, bu stabilite sorununun çözülüp çözülmemeyeceğinin öğrenilmesi istendi.

Miglyolün Kullanıldığı Nanomülsiyonlar

Miglyol kullanarak, cremophor ile 40:60, 30:70, 25:75, 20:80, 15:85, 10:90 alınıp su ile titre edilerek faz diyagramı çıkartıldı. Su oranı sabit tutulup yağ oranı %10, %20 ve %30 olan 3 formülasyon seçildi. Bunlar 1:1, 1:2, 1:5, 1:10 ve 1:15 oranında su ile seyreltme yapıldı ve damlacık boyutları ölçüldü. 1:5 oranına kadar tek pik elde edilemedi. Yağın sabit tutulup değişik oranlarda alınan formülasyonlarda balık yağındaki gibi stabilite problemlerine rastlanmadı. Ancak bundan sonraki çalışmalarda balık yağı ile karşılaştırmak amacıyla su ve yağ oranı %10 olan formülasyonlarla çalışmaya devam edilmesine karar verildi.

5.2.2. Surfaktan ve surfaktan yardımcı nanoemülsiyonlar

Bu nanoemülsiyonlar, hazırlama aşamasında surfaktanın ve surfaktan yardımcısının beraber kullanıldığı sistemlerdir. Hazırlama yönteminin temeli, konu ile ilgili daha önce yapılmış çalışmalara dayanmaktadır. Esasında bu yöntem, nm boyutunda damlacık oluşturabilmek için oldukça basit bir yöntemdir. Çözelti durumundaki yağ fazı (lipofilik surfaktan+surfaktan yardımcısı+yağ) ile su fazı (distile su) belirli bir sıcaklıkta karıştırıldı. Kullanılan surfaktan + surfaktan yardımcı oranını belirlemek için değişik makaleler incelendi ve Solutolun kullanılacağı formülasyonlarda cremophor/solutol oranına karar

verirken daha önce aynı konuda anabilim dalında yapılan bir tez çalışması esas alınarak 8:1 oranının kullanılmasına karar verildi [84].

Balık yağının kullanıldığı nanoemülsiyonlar

Balık yağını kullanarak, cremophor + solutol (Km 8:1) karışıma %10 yağ fazı ilave edildi. Sistem sürekli karıştırılarak homojen duruma getirildi. Dış fazı su olan nanoemülsiyon sistemlerinde su %10 oranında eklenerek nanoemülsiyon oluşumu sağlandı.

Miglyolün kullanıldığı nanoemülsiyonlar

Miglyol 818 kullanarak, cremophor + solutol (Km 8:1) karışıma %10 yağ fazı ilave edildi. Sistem sürekli karıştırılarak homojen duruma getirildi. Dış fazı su olan nanoemülsiyon sistemlerinde su %10 oranında eklenerek nanoemülsiyon oluşumu sağlandı.

Surfaktan ve surfaktan yardımcısı içeren ile tek surfaktan içeren formülasyonların damlacık boyutları karşılaştırıldı. XM1 ile M1; XB1 ile B1 formülasyonları arasındaki damlacık boyutları arasındaki değişimin çok anlamlı olmadığı gözlemlendi. Birden çok surfaktan kullanmayıp surfaktanın cildi iritan etkisinden daha az karşılaşmak ve damlacık boyutundaki değişimin çok büyük oranda olmaması sebebiyle formülasyonun tek surfaktanlı sistemle geliştirmeye karar verildi.

Miglyol 818 ve balık yağında minoksidilin ticari üründeki kadar çözilememesi nedeniyle ticari ürün ve makaleler incelenerek formülasyonumuza propilen glikol eklenmesine karar verildi.

Balık yağı kullanarak, propilen glikol ile cremophor sabit tuttuğumuz %10 su ve yağ oranında propilen glikol eklendiğinde karışmadı ve faz ayrışması gözlemlendi. Bu nedenle bu çalışmaya balık yağı ile devam edilmemesine karar verildi. Çalışmanın bundan sonraki aşamasında balık yağı yerine miglyol kullanılarak faz ayrışmasının yağdan kaynaklanıp

kaynaklanmadığının, bu stabilite sorununun çözülüp çözilemeyeceğinin öğrenilmesi istendi.

Miglyol kullanarak, karışabildiği cremophor/propilen glikol oranını belirleyebilmek için önce, oda sıcaklığında minoksidilin propilen glikoldeki çözünürlüğü deneysel çalışma sonunda 64,5 mg/ml olarak saptandı. Bu değer M1 formülasyonu içinde olması istenen 2 g minoksidilin çözünmesi için 31 ml propilen glikolün kullanılması gerektiğini gösterdi. Formülasyonda kullanılan surfaktan ve yağın, minoksidili belli bir miktar çözme gücüne sahip olduğu göz önüne alınarak, formülasyon içinde çıkış noktası olarak % 25 oranında propilen glikol kullanılmasına karar verildi. M1 formülasyonuna (%10 Miglyol+ %10 Su+ %80 Cremophor RH40) eklenen 25g'lık propilen glikol kütlesi, surfaktan miktarında azaltma yapılarak dengelendi (Bkz. Çizelge 3.4). Bu içerikteki nanoemülsiyon (M1+PG) hazırlandı. Balık yağında yaşanan stabilite problemi miglyolde görülmedi.

Formülasyonumuzu %2 Minoxidil, %10 Miglyol 818, %55 Cremophor RH40, %23 propilen glikol ve %10 su olarak belirledik. Ancak damlacık boyutunu ölçüldüğünde 552 nm olan damlacık boyutunun hedeflediğimizden büyük olduğunu görüldü. 1:2 1:3 1:4 1:5 1:10 1:15 oranında su ile seyreltme yapıldı ve damlacık boyutları ölçüldü. 1:5 oranında seyreltmeye kadar tek pik elde edilemedi. 1:5 oranından itibaren tek pik sağlandı ve hedeflenenin de altında 20,9 nm civarındaki damlacık boyutuna ulaşıldı. Ancak formülasyonumuzdaki minoksidil oranı %2 minoksidil içeren ticari ürünle karşılaştırılamayacak kadar azaldı. Bunun üzerine minoksidilin incelenen değişik makalelerden asit ortamda çözünürlüğünün arttığı öğrenildi [18,26]. Bunun üzerine güvenilirliği ve deriyle uyumu olan laktik asitin formülasyona katılmasına karar verildi.

Formülasyonların hazırlanmasında yağ fazı olarak miglyol, surfaktan olarak cremophor RH40, çözücü olarak da propilen glikol laktik asit karışımı kullanıldı. 8g minoksidil karışımında çözüldü. Laktik asit oranını belirlemek amacıyla çeşitli denemeler yapıldı. %1, %2, %3 ,%3,5 ve %4 oranında laktik asit formülasyona ayrı ayrı eklendi. %4 laktik asit sistemde faz ayrışmasına sebep olduğu için %3 ile %4 arasında denemeler yapıldı. Dengenin bozulmadığı son nokta olarak %3,5 laktik asit oranına karar verildi.

Miglyolün kullanıldığı nanoemülsiyonların salımı

Salım açısından formülasyonlar arası kıyaslamaların daha rahat yapılabilmesi ve salım hızı biriminin daha anlaşılır olması nedeniyle sıfırıncı derece kinetik modelin eğim değeri esas alındı. Damlacık boyutu büyük olan formülasyonun salım hızlarının arttığı görüldü. Bunun nedeni minoksidilin bulunduğu iç faz damlacıklarının toplam yüzey alanının artmış olmasıdır. Ancak burada damlacık boyutunun artmasına bağlı olarak beklenen viskozite artışı gerçekleşmedi.

Formülasyonların salım hızının saptanabilmesi için salım verilerine sıfırıncı derece kinetikler uygulandı. Minoksidilin iç yağ faz damlacıklarından çıkıp salım ortamına kadar ulaşabilmesi için öncelikle yağ ortamından (Miglyol 818) dış sulu faza partisyona uğraması, daha sonra su fazında difüzlenmesi ve en sonunda diyaliz zardan geçerek salım ortamına geçmesi gerekmektedir. Dolayısıyla molekülün, katetmesi gereken mesafeyle orantılı olarak salım ortamına geçişi ilk başlarda hızlı, daha sonra biraz yavaşlayacaktı. Bu durum salım profilinin kısmen iki aşamadan meydana gelmesine neden oldu.

Formülasyonlardan 6. saatte $4,155 \text{ cm}^2$ salım alanına sahip Franz hücresinden salınan miktarlar % 54,56 ile % 56,80 arasında değişmekteydi. Kısaca minoksidilin iç yağ damlacıkları içinde olmasının salımın geciktirilmesine neden olduğu söylenebilir.

Burada bahsedilen nanoemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu, belirtilen 50 nm'nin altında olma hedefimizi tutmaktadır.

Miglyolün kullanıldığı nanoemülsiyonların deriden geçişi

Deriden geçiş çalışmasında sıfırıncı derece kinetik modelin eğim değeri esas alındı. Damlacık boyutu büyük olan formülasyonun deriden geçiş hızlarının arttığı görüldü. Bunun nedeni minoksidilin bulunduğu iç faz damlacıklarının toplam yüzey alanının artmış olmasıdır. Ancak burada damlacık boyutunun artmasına bağlı olarak beklenen viskozite artışı gerçekleşmedi.

Formülasyonlardan 6. saatte $0,785 \text{ cm}^2$ salım alanına sahip Franz hücresinden salınan miktarlar % 0,583 ile % 0,833 arasında değişmekteydi. Kısaca minoksidilin iç yağ damlacıkları içinde olmasının deriden geçişi arttırdığı söylenebilir.

Burada bahsedilen nanoemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu, belirtilen 50 nm'nin altında olma hedefimizi tutmaktadır.

Chiag C. M. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 80 ve 66 yaşlarındaki kadın kadavra karın derileri kullanılmış. Değişik oranlarda minoksidil, propilen glikol, su ve etanol içeren çözeltiler $200\mu\text{m}$ inceliğinde -20°C da saklanmış deri üzerine $0,78\text{cm}^2$ çapındaki franz hücresinde izotonik tampon (pH 7,2) uygulanmış 37°C 'de deneye başlanılmış. 0,6ml alınan örneklerle miktar tayini yapılmış 24 saat süren çalışma sonunda propilen glikol %2 minoksidil içeren glikol/su/etanol (20,0:63,2:16,8 v/v) çözelti 6. saat sonunda 80 yaşındaki kadavra derisinden $1,13 \cdot 10^{-4} \text{ mg/cm}^2/\text{saat}$ çıkarken, 66 yaşındaki kadının kadavra derisinden $1,36 \cdot 10^{-4} \text{ mg/cm}^2/\text{saat}$ minoksidil salınmış. Oluşturulmuş nanoemülsiyon formüllerimizin NE-1:3 $0,0295 \text{ mg/cm}^2/\text{saat}$, NE-1:5 ise $0,0285 \text{ mg/cm}^2/\text{saat}$ salım verileriyle daha önce yapılmış bu çalışmadan daha etkili olduğu görülmektedir [135].

Balakrishan P. ve arkadaşları ince film hidrasyon metoduyla oluşturulmuş surfaktan olarak Brij veya Span ve yağ olarak kolesterol ve minoksidil içeren niozom formülasyonu üzerine çalışmışlardır. Difüzyon alanı $1,64 \text{ cm}^2$ olan franz hücresi ile 24 saatlik çalışma sonucunda fare derisi üzerinde yapılan in vitro çalışmada, 24 saat sonunda Çizelge 5.1'de değişik surfaktanlarla oluşturulmuş minoksidil niozomların, oluşturduğumuz nanoemülsiyonlara göre deriden geçişinin zayıf olduğunu görülmektedir [136].

Çizelge 5.1. Değişik surfaktanlarla oluşturulmuş minoksidil niozomların ve NE'lerin salım değerleri

Deriden geçen miktar	
Brij 52	$32,1 \mu\text{g/cm}^2$
Span 20	$59,4 \mu\text{g/cm}^2$
Span 40	$48,5 \mu\text{g/cm}^2$
Span 60	$3,07 \mu\text{g/cm}^2$
NE-1:3	$0,249 \text{ mg/cm}^2$
NE-1:5	$0,242 \text{ mg/cm}^2$

Grice J.E. ve arkadaşlarının yaptığı in vitro insan derisinden geçiş çalışmasında insan karın derisi cerrahi işlemle çıkarılmış ve 60°C da suyla 1 dakika muamele edilerek derinin epidermal kısmı alınmış. Bu deri parçası -20°C da kullanılıncaya kadar saklanmış. 1,33 cm² çapındaki franz hücresinde pH 7,4 fosfat tamponuyla 35°C'da çalışılmış. %2 Minoksidil içeren etanol/propilen glikol/su 60:20:20; 80:20:20; 0:80:20 (v/v) karışımlarında salım deneyleri yapılmış ve 24 saatte aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı. Burada etanollü çözeltinin stratum korneum bariyerine takıldığını, nanoemülsiyon formülümüzün daha etkin olduğu görüldü [137].

Miglyolün kullanıldığı nanoemülsiyonların stabilitesi

Hazırlanan sistemlerin damlacık boyutlarının beklenenden daha küçük olması ve sistemin su ile seyreltilmesi nedeniyle yağ damlacıklarının zamanla birleşerek Ostwald olgunlaşması olayının gerçekleşmesi ihtimali fiziksel stabilitesinin uzun sürmeyeceği endişesini ortaya çıkarıldı. Bu sistemlerin fiziksel stabiliteleri de takip edildi.

Şekilde görüldüğü üzere NE-1:5'in 5 gün boyunca damlacıklarının ortalama yarıçap küpünün değişiminin düşük olması nedeniyle ürünün stabilitesinin bir hafta boyunca bozulmadan kullanılabileceğine karar verildi.

Sonneville-Aubrun O. ve arkadaşlarının 100nm'den küçük damlacık boyutuna sahip y/s nanoemülsiyon formülasyonları üzerine yaptıkları çalışmada düşük molekül ağırlıklı yağların, yüksek molekül ağırlıklı yağlara oranla stabilitelerinin daha bozuk olduğunu gözlemlemişler. 2 ayda 45°C'de yağ damlalarının birleşerek nanoemülsiyon formülünü bozduğunu tespit etmişler. Yağ oranını arttırarak jel formunda ürün üretmenin veya dış faza jelleştirici ajan eklemenin stabiliteyi arttırdığı ve Ostwald olgunlaşması olayından koruduğu tespit edildi [138].

Aynı şekilde oluşturduğumuz nanoemülsiyon formülasyonlarına Oswalt olgunlaşması olayından korumak ve stabilitesini arttırmak için yapılabilecekler;

- ✓ Dış faza jelleştirici ajan eklenmesi.
- ✓ Uygun bir ambalaj içerisinde su-yağ fazı ayrı muhafaza edilerek, kullanılacağı zaman karıştırılarak kullanılması şeklinde önerilebilir.

Nanoemülsiyonların damlacık boyutları ve pH'ları

Hazırlanan 1:3 nanoemülsiyonların damlacık boyutlarının, 1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyonlarinkine (Bkz. Çizelge 4.26) çok yakın olduğu saptanmıştır. Zamanla 1:3 seyreltilmiş nanoemülsiyonların 1:5 seyreltilmiş olanlara göre damlacık boyutlarının daha çok büyüdüğü gözlemlendi. Başta 1:3 seyreltilmiş nanoemülsiyonların pH'ı 4,6 ; 1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyonların pH'ı 4,3 olarak bulunmuş ve zamanla pH değerlerinin 4,4 - 3,6' ya kadar düştüğü gözlemlendi (Bkz. Çizelge 4.39).

Çizelge 5.2. pH'ın minoksidil noniyonize yüzdesi üzerine etkisi

pH	Noniyonize Yüzdesi	
5,2	%79	Ticari ürün
4,6	%49,4	1:3 seyreltilmiş nanoemülsiyon
4,3	%32,9	1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyon

Nanoemülsiyonların viskozitesi

Viskozite değeri 1:3 seyreltilmiş nanoemülsiyonlarda 110 mPa.s, 1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyonlarda ise 700 mPa.s olarak saptandı.

Nanoemülsiyonların salım özellikleri

Minoksidil salımı incelenirken, önce %2 minoksidil çözeltisi salımı incelendi. Şekil 4.23'de de görüldüğü gibi salım profili %2 minoksidil çözeltisinde çok daha yüksek bulundu. Bu, minoksidilin nanoemülsiyonunun iç yağ fazı damlacıkları içinde olmasının depo etkisi oluşturduğunu göstermektedir. Sonuçta nanoemülsiyon sistem, salımı azaltmaktadır.

1:3 seyreltilmiş nanoemülsiyonlar, 1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyonlar ve ticari arasında salım açısından bir farklılığın olup oluşmadığını anlamak için Şekil 4.23'deki grafikler oluşturuldu. Görüldüğü gibi, nanoemülsiyonların seyreltilmesi salım profilini anlamlı derecede değiştirmedir. Aynı zamanda bu iki nanoemülsiyon formülü arasında noniyonize

form oranı da birbirine yakındır. Ancak çözelti ve iki formülasyon arasında önemli bir farklılık vardır; aynı zamanda ticari ürünlerdeki minoksidilin noniyonize formu çok yüksek olması nedeniyle minoksidili daha yavaş salmaktadır. Bu durum aynı zamanda ticari ürünlerdeki minoksidilin alkolün buharlaşmasıyla kristallendiğini ve geçişin azalmasına neden olduğunu da göstermektedir.

Nanoemülsiyonların fiziksel dayanıklılıkları

Bu sistemlerde 3 ay boyunca 25°C’de damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı, miktar, viskozite ve pH değeri takip edildi. Nanoemülsiyonlar birinci ayda bozulduğu saptandı. Bozulma, rengin opaklaşması, damlacık boyutunun büyümesi, pH’ın azalması şeklindeydi. Sistemlerin, dayanıklı oldukları sürece viskozite değerlerinin üç ay boyunca çok değişmediği saptandı. Seyreltilmiş nanoemülsiyon sistemlerin su seyreltme suyunun viskozlaştırılması dayanıklı olmaları için yeterli olacağı sonucuna varıldı.

1:3 Seyreltilmiş nanoemülsiyon ile 1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyonların ve ticari ürünlerin kıyaslanması

Her iki seyreltilmiş nanoemülsiyon stabilite açısından kıyaslandığında viskoz olmayan seyreltme suyu ile beraber dayanıklı bir nanoemülsiyon sistem oluşturmadığı görüldü.

1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyonunun konsantrasyonu düşük fakat buna karşın etkinliğinin yüksek olduğu saptandı.

Formülasyonlar içerikleri açısından kıyaslandığında ise nanoemülsiyon sistemlerin etanol içermemesi nedeniyle tercih edilebilecek sistemler olduğu sonucuna varıldı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada yağ olarak balık yağı veya miglyol, lipofilik surfaktan olarak cremophor ve surfaktan yardımcısı (ko-surfaktan) olarak solutol kullanıldığı, minoksidil içeren nanoemülsiyonların formülasyonu üzerinde çalışıldı. Bu nanoemülsiyon formülasyonları ile ilgili aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı:

Nanoemülsiyonlarda;

- Basit karıştırma yöntemi ile hazırlanan miglyol içeren emülsiyon formülasyonlarının deriye kolayca uygulanabilecekleri
- Non-newtonian akış özelliğine uyduğu
- Miglyolün su içinde çözünürlüğünün formülasyonda kullanılan cremophor miktarı ile ilişkili olduğu,
- Sistemin iç faz damlacık boyutunun, seyreltme oranı arttıkça azaldığı
- Sistemin seyreltilmesiyle salım profilinde anlamlı değişim görülmediği, 6. saatte dozun %54,56 - % 56,80' inin salındığı,
- Sadece y/s tipi emülsiyon elde edildiği,
- Her iki nanoemülsiyon için cremophor oranı arttıkça sistemde çözünebilen su miktarının arttığı,
- Balık yağı ile çalışılırken üçgen faz diyagramında berrak alanın çok dar olduğu,
- Her iki nanoemülsiyonda da, hazırlanan sistemlerin dış fazlarının su olmasına bağlı olarak pH değerlerinin birbirine çok yakın çıktığı (pH: 4,3 – 4,6),
- Balık yağı ile hazırlananların üç gün içinde faz ayrışmasına uğradığı ve stabilite çalışmalarının yapılamadığı,
- Miglyollü formülasyonlardan ise saatte NE-1:3 nanoemülsiyonundan %0,116 ve NE-1:5 nanoemülsiyonundan %0,168 oranında deriden geçtiği,
- Balık yağı ile hazırlanan nanoemülsiyonların damlacık boyutlarının tutarsız olduğu, Miglyol ile hazırlanan nanoemülsiyonlarınkinin NE-1:3 nanoemülsiyonunda 14,6nm ve NE-1:5 nanoemülsiyonunda 9,43nm olduğu ve zamanla bu değer büyüdükçe sonucuna varıldı.

- ✓ Yağ fazı olarak balık yağının kullanılması ile stabil bir nanoemülsiyon elde edilemediği,
- ✓ Yağ fazı olarak miglyolün kullanımının daha avantajlı olduğu,
- ✓ Alkol içermeyen nanoemülsiyon sistemlerin, ticari ürüne göre daha avantajlı olduğu,
- ✓ 1:5 seyreltilmiş nanoemülsiyonun minoksidil miktarının ticari ürüne göre daha az olmasına rağmen deriden geçişin ticari ürüne kıyasla daha yüksek oluşu nedeniyle daha avantajlı olduğu,

Nanoemülsiyon sistemlerin minoksidil için iyi bir taşıyıcı sistem olabileceği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Yip, L., Rufaut, N., Sinclair, R., (2011). Role of genetics and sex steroid hormones in male androgenetic alopecia and female pattern hair loss: And update of what we now know. *Australasian Journal of Dermatology*, 52, 81-88.
2. Millar, S. E., (2001). Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends in Molecular Medicine*, 7(7), 293-301.
3. Sinclair, R. D., Dawber, R. R., (2001). Androgenetic alopecia in men and women. *Clinics in Dermatology*, 19, 167-178.
4. Shapiro, J., Wiseman, M., Lui, H., (2000). Practical management of hair loss. *Canadian Family Physician*, 46, 1469-1477.
5. Birch, M. P., Lalla, S. C., Messenger, A. G., (2002). Female pattern hair loss. *Clinical Dermatology*, 27, 387-392.
6. Messenger, A. G., Rundegren J. (2004). Minoxidil: mechanism of action on hair growth. *British Journal of Dermatology*, 15, 186-194.
7. Haber, R. S., (2004). Pharmacologic management of pattern hair loss. *Facial Plastic surgery Clinics of North America*, 12, 181-189.
8. Sawaya, M. E., Shapiro, J., (2000). Alopecia: Unapproved treatments or indications. *Clinics in Dermatology*, 18, 177-186.
9. Sawaya, E. M., (1998). Novel agents for the treatment of alopecia. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 17(4), 276-283.
10. Ellis, J. A., Sinclair, R. D., (2008). Male pattern baldness: current treatments, future prospects. *Drug Discovery Today*, 13(17/189), 791-797.
11. Rogers, N. E., Avram, M. R., (2008). Medical treatment for male and female pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 59, 547-566.
12. Friedman, E. S., Friedman, P. M., Cohen, D. E., Washenik, K. (2002). Allergic contact dermatitis to topical minoxidil solution: Etiology and treatment. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 46, 309-312.
13. Balakrishnan, P., Shanmugam, S., Lee, W. S., Lee, W. M., Kim, J. O., Oh, D. H., Kim, D. D., Kim, J. S., Yoo, B. K., Choi, H. G., Woo, J. W., Yong, C. S. (2009). *International Journal of Pharmaceutics*, 377, 1-8.

14. Tsai, J. C., Flynn, G. L., Weiner, N., Ferry, J. J. (1993). Effect of minoxidil concentration on the deposition of drug and vehicle into the skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 96, 111-117.
15. Chiang, C. M., Flynn, G. L., Weiner, N. D., Szpunar, G. j. (1989). Bioavailability assesment of topical delivery systems: Effect of vheicle evopration upon in vitro delivery of minoxidil from solution formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 55,229-236.
16. Malek, S. (February 21, 2012). Topical administration carrier composition and therapeutic formulations comprising same. *United States Patent*. Patent No: US 8,119,111 B2.
17. Liu, Y. C., Wu, P. L. (May 12, 2011). Novel hair growth composition. *United States Patent*. Patent No: US 2011/0112125 A1.
18. So, T. W. C., Deo, P. P., Tait, R. J. (September 20, 2005) Pharmaceutical composition. *United States Patent*. Patent No: US 6,946,120 B2.
19. Morita, R., Kanazawa, K. (September 4,2012). Minoxidil aqueous composition containing bile acid. *United States Patent*, Patent No: US 8,258,146 B2.
20. Mura, S., Manconi, M., Sinico, C., Valenti, D., Fadda, A. M. (2009). Penetration enhancer-containing vesicles (PEVs) as carriers for cutaneous delivery of minoxidil. *International Journal of Pharmaceutics*, 380,72-79.
21. Mura, S., Pirot, F., Manconi, M., Falson, F. and Fadda, A.M. (2007). Liposomes and niosomes as potential for dermal delivery of minoxidil. *Journal of Drug Targeting*, 15(2), 101-108
22. Mali, N., Darandale, S., Vavia, P. (2012). Niosomes as a vesicular carrier for topical administration of minoxidil: formulation and in vitro assessment. *Drug Delivery and Translational Research*, 3(6), 587-592.
23. Shim, J., Kang, H. S., Park, W. S., Han, S. H., Kim, J., Chang, I. S. (2004). *Journal of Controlled Release*, 97, 477-484.
24. Gomes, M. J., Martins, S., Ferreira, D., Segundo, M. A., Reis, S. (2014). Lipid nanoparticles for topical and transdermal aplication for alopecia treatment: development, physicochemical characterization, and in vitro release and penetration studies. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 1231-1242.
25. Kim, J. C., Lee, M. H., Rang, M. J. (2003). Minoxidil-containing dosage forms: Skin retention and after- Rinsing hair- Growth promotion. (2003). *Drug Delivery*, 10, 119-123.
26. Zhao, Y., Brown, M. B., Jones, S. A. (2010). The effects of particle properties on nanoparticle drug retention and releade in dynamic minoxidil foams. *International Journal of Pharmaceutics*, 383, 277-284.

27. Mura, S., Manconi, M., Valenti, D., Sinoco, C., Vila, A. O. and Fadda, A. M. (2011). *Journal of Drug Targeting*, 19(3), 189-196.
28. Sakr, F. M., Gado, A. M., Mohammed, H. R., Adam, A. N. I. (2013). Preparation and evaluation of a multimodal minoxidil microemulsion versus minoxidil alone in the treatment of androgenic alopecia of mixed etiology: a pilot study. *Drug Design, Development and Therapy*, 7, 413-423.
29. Kwon, T. K., Kim, J. C. (2010). In vitro skin permeation of monoolein nanoparticles containing hydroxypropyl β -cyclodextrin/minoxidil complex. *International Journal of Pharmaceutics*, 392, 268-273.
30. Touitou, E., Dayan, N., Bergelson, L., Godin, B., Eliaz, M. (2000). Ethosomes- novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. *Journal of Controlled Release* 65, 403-418.
31. Padois, K., Cantieni, C., Bertholle, V., Bardel, C., Pirot, F., Falson, F. (2011). Solid lipid nanoparticles suspension versus commercial solutions for dermal delivery of minoxidil. *International Journal of Pharmaceutics*, 416, 300-304.
32. Saberi, M., Hashemiravan, M., Farhadyar, N., Farhadyar, A., Pasdar, N., (2012). Influence of Casein and Inulin on the Properties of Fish Oil Nano-emulsion. *International Journal of Bio-Inorganic Hybrid Nanomaterials*. 1(3), 169-173.
33. Junyaprasert, V. B., Teeranachaideekul, V., Souto, E. B., Boonme, P., Müller, R. H. (2009). Q₁₀ – loaded NLC versus nanoemulsions: Stability, rheology and in vitro skin permeation. *International Journal of Pharmaceutics*, 377, 207-214.
34. Piemi, M. P. Y., Korner, D., Benita, S., Marty, J. P. (1999). Positively and negatively charged submicron emulsions for enhanced topical delivery of antifungal drugs. *Journal of Controlled Release*, 58, 177-187.
35. Puglia, C., Damiani, E., Offerta, A., Rizza, L., Tirendi, G. G., Tarico, M. S., Curreri, S., Bonina, F., Perrotta, R. E. (2014). Evaluation of nanostructured lipid carriers (NLC) and nanoemulsions as carriers for UV-filters: Characterization, in vitro penetration and photostability studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51, 211-217
36. Severino, P., Figueiro, J. F., Ferreira, S. V., Basso, R., Chaud, M. V., Santana, M. H. A., Rosmaninho, A., Souto, E. B. (2013). Nanoemulsions and nanoparticles for non-melanoma skin cancer: effect of lipid materials. *Clinical and Translational Oncology*, 15, 417-424.
37. Puglia, C., Rizza, L., Drechsler M. and Bonina, F. (2010). Nanoemulsions as vehicles for topical administration of glycolic acid: Characterization and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Delivery* 17(3), 123-129

38. Wu, H., Ramachandran, C., Weiner, N. D., Roessler B. J. (2001). Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 220, 63-67.
39. Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Aqil, M. and Shafiq, S. (2007). Nanoemulsions as vehicle for transdermal delivery of aceclofenac. *AAPS PharmSciTech*, 8(4), Article 104.
40. Borges, V. R. A., Simon, A., Sena, A. R. C., Cabral, L. M., Sousa, V. P. (2013). Nanoemulsion containing dapsone for topical administration: a study of in vitro release and epidermal permeation. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 535-544.
41. Shakeel, F., Ramadan, W. (2010). Transdermal delivery of anticancer drug caffeine from water-in-oil nanoemulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75, 356-362.
42. Bragulla, H. H., Homberger, D. G., (2009). Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia. *Journal of Anatomy*, 214, 516- 559.
43. İnternet:URL:<http://www.worldhairresearch.com>.
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.worldhairresearch.com&date=2014-12-04>. Son Erişim Tarihi: 04.12.2014
44. İnternet:URL:http://en.wikipedia.org/wiki/Hair_follicle.
http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fen.wikipedia.org%2Fwiki%2FHair_follicle&date=2014-12-04. Son Erişim Tarihi: 04.12.2014
45. İnternet:URL:<http://www.rockyourcurlsnaturally.ca/category/news/>.
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.rockyourcurlsnaturally.ca%2Fcategory%2Fnews%2F&date=2014-12-04>. Son Erişim Tarihi: 04.12.2014
46. Robbins, C.R. “Morphological and Macromolecular Structure”, s:1-62, içinde: Chemical and Physical Behavior of Human Hair, Edt: C:R.Robbins, Springer-Verlag, FL, USA, 2002.
47. Paus, R., Müller-Röver, S., Botchkarev, V. A., (1999). Chronobiology of the hair follicle: Hunting the ‘hair cycle’ clock. *The Society for Investigative Dermatology*, 4(3), 338-341.
48. Stenn, K. S., Paus, R., (2001). Controls of hair follicle cycling. *The American Physiological Society*, 81(1), 449-456.
49. Epstein, F. H., (1999). The biology of hair follicles. *The New England Journal of Medicine*, 341(7), 491-497.
50. Wood, A. J. J., (1999). Treatment of hair loss. *The New England Journal of Medicine*, 341(13), 964-973.

51. Rushton, D.H., (2002). Nutritional factors and hair loss. *Clinical and Experimental Dermatology*, 27, 400-408.
52. Dinh, Q. Q., Sinclair, R., (2007). Female pattern hair loss: Current treatment concepts. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 189-199.
53. Aldhalimi, M. A., Hadi, N. R., Ghafil, F. A. (2014). Promotive effect of topical ketoconazole, minoksidil and minoxidil with tretinoin on hair growth in male mice. *International Scholarly Research Network*, Article ID 575423, 5 pages.
54. Jiang, J., Tsuboi, R., Kojima, Y., Ogawa, H., (2005). Topical application of ketokonazole stimulates hair growth in C3H/HeN mice. *The Journal of Dermatology*, 32, 243-247.
55. Pierard-Franchimont, C., De Doncker, P., Cauwenbergh, G., Pierard, G. E., (1998). Ketoconazole shampoo: Effect of long-term use in androgenetic alopecia. *Dermatology*, 196, 474-477.
56. Perez, H., (2004). Ketocazole as an adjunct to finasteride in the treatment of androgenetic alopecia in men. *Medical Hypotheses*, 62, 112-115.
57. Inui, S., Itami, S., (2007). Reversal of androgenetic alopecia by topical ketoconazole: Relevance of antiandrogenic activity. *Journal of Dermatological Science*, 45, 66-68.
58. Sovak, M., Seligson A. L., Kucerova, R., Bienova, M., Hajdich, M., Bucek, M., (2002). Fluridil, a rationally designed topical agent for androgenetic alopecia: First clinical experience. *Journal of dermatologic surgery and oncology*, 28(8), 675-685.
59. Westgate, G. E., Harper, D., Ramaprasad, K., Kaplan, P. D., (2007). Approaches to and characterization of hair growth. *Cosmetics and Toiletries*, 122(5), 113-120.
60. Paus, R., (2006). Therapeutic strategies for treating hair loss. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 3(1), 101-110.
61. Dhubbad, U. R., Khachane, V. S., Bhamre, N. B., Pal, S. K., (August 20, 2009). Topical pharmaceutical combination comprising minoxidil and aminexil. *Patent Cooperation Treaty*, Patent no: WO 2009101497 A2.
62. Gorecki, D. K. J., (1988). *Minoxidil*, Analytical Profiles of Drug Substances Volume 17, Academic Press, College of Pharmacy, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, 185-219.
63. Yan, H., Li, R., Li, Q., Wang, J., Gong, J. (2011). Solubility of minoksidil in methanol, ethanol, 1-propanol, 2-propanol, 1- butanol, and water from (278.15 to 333.15) K. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 56, 2720-2722.
64. O'Neil, M. J., (2013). *The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 786-787

65. Shorter, K., Farjo, N. P., Picksley, S. M., and Randall, V. A. (2008). Human hair follicles contain two forms of ATP-sensitive potassium channels, only one of which is sensitive to minoxidil. *The FASEB Journal*, 22, 1725-1736.
66. Wester, R. C., Maibach, H. I., Guy, R. H., Novak, E. (1984). Minoxidil stimulates cutaneous blood flow in human balding scalps: Pharmacodynamics measured by laser doppler velocimetry and photopulse plethysmography. *Journal of Investigative Dermatology*, 82, 515-517.
67. Lachgar, S., Charveron, M., Gall, Y., Bonafe, J.L. (1998). Minoxidil upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in human hair dermal papilla cells. *British Journal of Dermatology*, 138, 407-411.
68. Han, J. H., Kwon O. S., Chung, J. H., Cho, K. H., Eun, H. C., Kim, K. H. (2004). Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. *Journal of Dermatology Science*, 34, 91-98.
69. Tata, S., Flynn, G. L., Weiner, N. D. (1995). Penetration of minoxidil from ethanol/propylene glycol solutions: Effect of application volume and occlusion. *International Journal of Pharmaceutics*, 84, 688-691.
70. Grice J. E., Ciotti, S., Weiner, N., Lockwood, P., Cross, S. E., Roberts M. S. (2010). Relative uptake of minoxidil into appendages and stratum corneum and parmatation through human skin in vitro. *International Journal of Pharmaceutics*, 99, 712-718.
71. Olsen, E. A., Dunlap, F. E., Funicella, T., Koperski, J. A., Swinehart, J. M., Tschen, E. H., Trancik, R. J. (2002). A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 47(3), 377-385.
72. Lucky, A. W., Piacquadio, D. J., Ditre, C. M., Dunlap, F., Kantor, I., Pandya, A. G., Savin, R. C., Tharp, M. D. (2004). A randomized, placebo-controlled trial of 5% and 2% topical minoxidil solutions in treatment of female pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 50(4), 541-553.
73. Blume-Paytavi, U., Massoudy, L., Patzelt, A., Lademann, J., Dietz, E., Rasulev, U., Bartels, N. G. (2010). Follicular and percutaneous penetration pathways of topically applied minoxidil foam. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 76, 450-453.
74. Ferry, J. J., Forbes, K. K., Vanderlugt, J. T., Szpunar, G.J. (1990). Influence of tretinoin on the percutaneous absorption of minoxidil from an aqueous topical solution. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 47, 439-446.
75. Gulotta, A., Saberi, A. H., Nicoli, M. C., McClements, D.J., (2014). Nanoemulsion-based delivery systems for polyunsaturated (ω -3) oils: formation using a spontaneous emulsification method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(7), 1720-1725.

76. Shin, H. S., Won, C. H., Lee, S. H., Kwon, O. H., Kim, K. H., Eun, H. C. (2007). Efficacy of 5% minoxidil versus combined 5% minoxidil and 0.01% tretinoin for male pattern. *Journal of the American Clinical Dermatology*, 8(5), 285-290.
77. Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K. C., Chang, B., Graves, S. M., (2006). *Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties*, Bristol, GB: Journal of Physics: Condensed Matter, Institute of Physics, r635-r666.
78. Shatalebi, M. A. and Rafiei, Y., (2014). Preparation and evaluation of minoxidil foamable emu oil emulsion. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 123-133.
79. Cornelius, C.L., (1984). Geigy Scientific Tables. *Physical Chemistry*, 3, 59–60.
80. Peters, F.T., Drummer, O.H., Musshoff, F., (2007). Validation of new methods. *Forensic Science International*, 165, 216–224.
81. Validation of analytical procedures: text and methodology. (1996). *ICH Harmonised Tripartite Guideline*.
82. Cartwright, A. C., (2009). *British Pharmacopoeia Volume I & II. Monographs: Medicinal and Pharmaceutical Substances. Minoxidil*, Farnham, Surrey, UK: Ashgate
83. Schweiger, E. S., Boychenko, O., Bernstein, R. M., (2010). Update on the pathogenesis, genetics and medical treatment of patterned hair loss. *Journal Drugs in Dermatology*, 9(11), 1412-1419.
84. Akkuş Arslan, Ş., (2013). *Kendiliğinden nanoemülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemler*, Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
85. Dargie, H. J., Dollery, C. T. and Daniel, J., (1977). Minoxidil in resistant hypertension. *Lancet*. 2(8037), 515–518.
86. Burton, J. L., Marshall, A., (1979). Hypertrichosis due to minoxidil. *British Journal of Dermatology*, 101(5), 593-595.
87. Farhark, R.N., Ball, J. and Nuss, D.D., (1977). Minoxidil-induced hypertrichosis: treatment with calcium thioglycolate depilatory. *Southern Medical Journal*, 70(4), 442-443.
88. Zappacosta A.R., (1980). Reversal of baldness in a patient receiving minoxidil for hypertension. *The New England Journal of Medicine*, 303, 1480-1481
89. Seidman, M., Westfriend, M., Maxey, R., Rao, T.K. and Friedman E.A., (1981). Reversal of male pattern baldness by minoxidil. A case report. *Cutis*, 28(5), 551-553.
90. Meleson, K., Graves, S. and Mason, T. G., (2004). Formation of concentrated nanoemulsions by extreme shear. *Soft Materials*. 2(2-3), 109-123.

91. Landfester K., Tiarks F., Hentze H. and Antonietti M., (2000). Polyaddition in miniemulsions: a new route to polymer dispersions. *Macromolecular chemistry and physics*. 201,1-5
92. O'Neil, M.J. (Editor). (2001). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 13th Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Company, Incorporated, 1107
93. Taverniers, I., Loose, M.D., Bockstaele, E.V., (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends of Analytical Chemistry*, 23 (8), 535–551.
94. Krzaczkowska, J., Gierszewski, J., Ślósarek, G, (2004). Solubility of adenine and kinetin in water-ethanol solutions. *Journal of solution chemistry*, 33 (4), 395-406.
95. Ngawhirunpat, T., Worachun, N., Opanasopit, P., Rojanarata, T., Panomsuk, S., (2013). Cremophor RH40-PEG 400 microemulsions as transdermal drug delivery carrier for ketoprofen. *Pharmaceutical development and technology*, 18(4), 798-803.
96. Kreilgaard, M., (2002). Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 1, S77–S98.
97. Spiclin, P., Homar, M., Zupančič, V. A., Gašperlin, M., (2003). Sodium ascorbyl phosphate in topical microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 256, 65–73.
98. Valenta, C., Schultz, K., (2004). Influence of carrageenan on the rheology and skin permeation of microemulsion formulations. *Journal of Controlled Release*, 95, 257–265.
99. Jurkovič, P., Šentjerc, M., Gašperlin, M., Kristl, J., Pečar, S., (2003). Skin protection against ultraviolet induced free radicals with ascorbyl palmitate in microemulsions. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 56, 59–66.
100. Špiclin, P., Gašperlin, M., Kmetec, V., (2001). Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 222, 271–279.
101. Paolino, D., Ventura, C. A., Nisticò, S., Puglisi, G., Fresta, M., (2002). Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: Percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability. *International Journal of Pharmaceutics*, 244, 21–31.
102. Neubert, R. H. H., Schmalfuß, U., Wolf, R., Wohlrab, W. A., (2005). Microemulsions as colloidal vehicle systems for dermal drug delivery. Part V: Microemulsions without and with glycolipid as penetration enhancer. *Journal of pharmaceutical sciences*, 94, 821–827.

103. Warisnoichharoen, W., Lansley, A. B., Lawrence, M. J., (2000) Nonionic oil-in-water microemulsions: the effect of oil type on phase behaviour. *International Journal of Pharmaceutics*, 198, 7–27.
104. Product Information, Miglyol 818, Condea, 26.13.035e.
105. Kim, K.S., Yakhak Hoechi, 30,228 (1986). CA: 106, 162516g (1987)
106. Loniten (Minoxidil) Product Monograph, The Upjohn company
107. Rogaine (Minoxidil) Product Monograph, The Upjohn company
108. Olsen, E. A., Messenger, A. G., Shapiro J., Bergfeld W. F., Hordinsky M. K., Roberts J. L., Stough, D., Washenik, K., Whiting, D. A., (2005). Evaluation and treatment of male and female pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 52(2), 301-311.
109. Cotsarelis, G., Millar, S. E., (2001). Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends in molecular medicine*, 7(7),293-301.
110. Haber, R. S., (2004). Pharmacologic management of pattern hair loss. *Facial Plastic surgery Clinics of North America*, 12, 181-189.
111. Camacho-Martinez, F. M., (2009). Hair loss in women. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*. 28(1),19-32.
112. van Zuuren, E.J., Fedorowicz, Z., Carter, B., (2012). Evidence-based treatments for female pattern hair loss: a summary of a Cochrane systematic review. *The British Journal of Dermatology*, 167(5), 995-1010.
113. Schweiger, E. S., Boychenko, O., Bernstein, R. M., (2010). Update on the pathogenesis, genetics and medical treatment of patterned hair loss. *Journal Drugs in Dermatology*, 9(11), 1412-1419.
114. Suzuki, M., (2008). Hair loss mechanism and treatment materials: a review. *Cosmetics and toiletries*, 123(9), 51-58.
115. Rogers, N.E., Avram, M. R., (2008), Medical treatments for male and female pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 59(4),547-66
116. Lourith, N., Kanlayavattanakul, M., (2013). Hair loss and herbs for treatment. *Journal of Cosmetic dermatology*, 12(3), 210-22.
117. Roosen, G.F., Westgate, G. E., Philpott, M, Berretty, P. J., Nuijs, T., Bjerring, P., (2008).Temporary hair removal by low fluence photoepilation: histological study on biopsies and cultured human hair follicles. *Lasers in surgery and medicine*, 40(8), 520-8.

118. Ghanaat, M., (2010). Types of hair loss and treatment options, including the novel low-level light therapy and its proposed mechanism. *Southern Medical Journal*, 103(9), 917-921.
119. Avci, P., Gupta, G. K., Clark, J., Wikonkal, N., Hamblin, M. R., (2014). Low-level laser (light) therapy (LLLT) for treatment of hair loss. *Lasers in Surgery and Medicine*, 46(2),144-151.
120. Konda, D., Thappa, D. M., (2013). Mesotherapy: What is new? *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 79(1),127-134.
121. Moftah, N., Moftah, N., Abd-Elaziz, G., Ahmed, N., Hamed, Y., Ghannam, B., Ibrahim, M., (2013). Mesotherapy using dutasteride-containing preparation in treatment of female pattern hair loss: photographic, morphometric and ultrastuctural evaluation. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 27(6),686-693.
122. Mysore, V., (2010). Mesotherapy in Management of Hairloss - Is it of Any Use? *International Journal of Trichology*, 2(1),45-46.
123. Duque-Estrada, B., Vincenzi, C., Misciali, C., Tosti, A., (2009). Alopecia secondary to mesotherapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 61(4),707-709.
124. Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., Solans, C., (2004). *Advances in Colloid and Interface Science*, 20,108-109;303-318.
125. Koroleva, M. Y., Yurtov, E. V., (2012). Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications, *Russian Chemical Reviews*, 81(1), 21–43.
126. Solè, I., Solans, C., Maestro, A., González, C., Gutiérrez, J. M., (2012). *Journal of Colloid and Interface Science*, 376(1),133-139.
127. Anton, N., Vandamme, T. F., (2009). The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*, 377(1-2),142-147.
128. Lovelyn, C., Attama, A. A., (2011). Current state of nanoemulsions in drug delivery. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2, 626-639.
129. Tırnaksız, F., Akkuş, Ş., Çelebi, N., (2010). *Colloids in Drug Delivery*. Nanoemulsions as Drug Delivery Systems Amerika Birleşik Devletleri. CRC Press, Taylor Francis Group
130. Miller, C.A., (1988). Spontaneous emulsification produced by diffusion: a review. *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects*, 29, 89–102.

131. Bouchemal, K., Briançon, S., Perrier, E., Fessi, H., (2004). Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *International Journal of Pharmaceutics*, 280, 241–251.
132. McClements, D. J., Rao, J., (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 285-330.
133. Capek, I., (2004). Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 110(1-2), 49-74.
134. Solutol HS 15, Safety data sheet. Basf.
135. Chiang, C. M., Flynn, G. L., Weiner, N. D., Szpunar, G. J., (1989). Bioavailability assessment of topical delivery systems: Effect of vehicle evaporation upon in vitro delivery of minoxidil from solution formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 55, 229-236.
136. Balakrishnan, P., Shanmugam, S., Lee, W. S., Lee, W. M., Kim, J. O., Oh, D. O., Kim, D. D., Kim, J. S., Yoo, B. K., Choi, H. G., Woo, J. S., Yong, C. S., (2009). Formulation and in vitro assessment of minoxidil niosomes for enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 377, 1–8.
137. Grice, J. E., Ciotti, S., Weiner, N., Lockwood, P., Cross, S. E., Roberts, M. S., (2010). Relative uptake of minoxidil into appendages and stratum corneum and permeation through human skin in vitro. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99, 2.
138. Sonnevile-Aubrun, O., Simonnet, J. T., L'Alloret, F., (2004). Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108–109, 145–149.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı,adı : AYDIN, Can
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 19/07/1983 Beyoğlu
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (366) 866 20 01
 Faks : 0 (366) 866 26 01
 e-posta : canaydin37@hotmail.com



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/Kozmetoloji Programı	Devam ediyor
Lisans	Marmara Üniversitesi/Eczacılık Fakültesi	2005
Lise	Vefa Anadolu Lisesi	2001

İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2007-devam ediyor	Can Eczanesi	Eczacı

Yabancı Dili

İngilizce, Almanca

Hobiler

Türk sanat müziği koro solistliği, borsa, bilgisayar ve teknoloji alanındaki gelişmelerin takibi, model gemicilik, yelken



GAZİ GELECEKTİR...