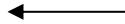
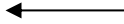




Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .





T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

UÇUK TEDAVİSİNE YÖNELİK TOPIKAL
FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YASEMİN UYMAZ

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ EBRU ALTUNTAŞ

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2025

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Kozmetoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Yasemin Uymaz tarafından Dr. Öğr. Üyesi Ebru Altuntaş'ın danışmanlığında hazırlanan "Uçuk Tedavisine Yönelik Topikal Formülasyonların Geliştirilmesi ve İn Vitro Etkinliğinin Değerlendirilmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 26/03/2025 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Meryem Sedef ERDAL
İstanbul Üniversitesi- Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri-Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ebru Altuntaş
İstanbul Üniversitesi- Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi İmren Esentürk
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Hamidiye Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

BEYAN

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

Yasemin Uymaz

AÇIKLAMA:

Kişisel Verileri Koruma Kurulu'nun 24/09/2020 tarihli ve 2020/722 sayılı toplantısında "Açık Erişim Sisteminde ıslak imzalı evrakların yayımlanması uygulamasının ilgili kişilere ait ıslak imzalı belgeleri içermeyecek şekilde güncellenmesi" Kararı üzerine tezlerde kişisel verilerin olmadan yüklenmesi uygulamasına başlanmıştır.

İTHAF

Rahmetli anneannem ve dedeme ithafen.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında akademik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, ilgi ve desteğini esirgemeyen sevgili danışman hocam Dr. Öğ. Üyesi Ebru ALTUNTAŞ'a,

Tez çalışmamın gerçekleşmesine imkan sunan ve hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e,

Kozmetoloji Yüksek Lisans eğitimimde bilgi ve tecrübeleriyle desteğini her zaman hissettiğim hocalarım Sayın Prof. Dr. Gülgün Yener'e ve Prof. Dr. Ümit Gönüllü'ye,

Etkinlik testleri çalışmalarında desteklerinde dolayı Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD ve Tıbbi Viroloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa Altındış'e, Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Viroloji A.B.D'dan Prof. Dr. Sibel Yavru'ya ve Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Viroloji A.B.D'dan Dr. Hasan Sercan Palancı'ya,

Bu çalışmanın her aşamasında yanımda olan, desteğini ve anlayışını esirgemeyen, yoğun iş temposu içinde tez çalışmam için bana sağladıkları esneklik ve gösterdikleri sabır için Pastel Kozmetik aileme ve teşvik edici sözleri ile bu süreci daha kolay ve anlamlı hale getiren değerli iş arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan ve sevgileriyle bana güç veren sevgili aileme ve bu süreçte anlayışı, sabrı ve sevgisiyle yanımda duran, moralimi yüksek tutarak beni cesaretlendiren sevgili Emre Özcan'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2023-39719

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLOLAR LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Derinin Yapısı ve Özellikleri.....	4
2.2. Herpes simpleks virüs (HSV).....	10
2.2.1. Klasik Tedavi Yöntemleri.....	12
2.2.2. HSV üzerine Etkili Uçucu Yağlar.....	13
2.2.2.1. Biberiye Uçucu Yağı.....	15
2.3. Nanoemülsiyonlar.....	17
2.3.1. Nanoemülsiyonların Avantajları.....	20
2.3.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları ve Sınırlılıkları.....	21
2.3.3. Nanoemülsiyon Bileşimi.....	21
2.3.4. Nanoemülsiyonlarda Saponin Uygulamaları.....	23
2.3.4.1. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Saponinler.....	24
2.3.5. Nanoemülsiyonları Hazırlama Yöntemleri.....	25
2.3.5.1. Yüksek Basınçlı Homojenizasyon.....	25

2.3.5.2. Spontan Emülsifikasyon.....	26
2.3.5.3. Ultrasonikasyon.....	26
2.3.5.4. Faz İncisyon.....	26
2.3.5.5. Çözücü Yer Değiştirme.....	26
2.3.5.6. Mikro Akışkanlaştırma.....	27
2.3.6. Nanoemülsiyon Stabilesini Etkileyen Faktörler.....	27
2.3.6.1. Damlacık Boyutu.....	27
2.3.6.2. Yüzeş Aktif Maddeler ve HLB Değeri.....	27
2.3.6.3. Sıcaklık ve pH.....	27
2.3.6.4. Elektrostatik ve Sterik Stabilesasyon.....	28
2.3.6.5. Yardımcı Yüzeş Aktif Maddeler.....	28
2.3.6.6. Elektrokinetik Özellikler.....	28
2.3.7. Nanoemülsiyonların Karakterizasyon Yöntemleri.....	28
2.3.7.1. Damlacık Boyutu.....	28
2.3.7.2. Zeta Potansiyeli.....	28
2.3.7.3. Viskozite Ölçümü.....	29
2.3.7.4. İlaç İçeriği.....	29
2.3.7.5. Kırılma İndeksi.....	29
2.3.7.6. Faz Davranışı Çalışması.....	29
2.3.8. Nanoemülsiyonların Kozmetikte Uygulama Alanları.....	29
2.4. Nanoemüljeller.....	30
2.4.1 Nanoemüljellerin Avantajları.....	31
2.4.2 Nanoemüljellerin Sınırlılıkları.....	31
2.4.3.Nanoemüljellerin Hazırlanması.....	32
2.4.4. Nanoemüljellerin Karakterizasyonu.....	32
2.4.4.1. Görsel Kontrol.....	32

2.4.4.2. pH Ölçümü.....	32
2.4.4.3. Viskozite Belirleme.....	33
2.4.4.4. Yayılabilirlik Ölçümü.....	33
2.4.4.5. Damla Boyutu Ölçümü ve Polidispersite İndeksi (PDI).....	33
2.4.4.6. Zeta Potansiyeli.....	33
2.4.4.7. İlaç İçeriği.....	33
2.4.4.8. Hızlandırılmış Stabilite Çalışması.....	33
2.4.5. Nanoemülsiyonların Kozmetikte Uygulama Alanları.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Gereç.....	35
3.1.1 Kullanılan Alet ve Malzemeler.....	35
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	36
3.2. Yöntemler.....	36
3.2.1 Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Tasarlanması	36
3.2.1.1 Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerinin Seçimi.....	36
3.2.1.2 Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması.....	37
3.2.2. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar	38
3.2.2.1. Nanoemülsiyon Santrifüj Testi.....	38
3.2.2.2. Nanoemülsiyon Termal Stabilite Testi	38
3.2.2.3. Nanoemülsiyon Damlacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve Polidispersite İndeksi Ölçümleri.....	38
3.2.3. Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması.....	39
3.2.4. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar	39
3.2.4.1. Nanoemülsiyon Santrifüj Test.....	39
3.2.4.2. Nanoemülsiyon Termal Stabilite Testi.....	39
3.2.4.3. Nanoemülsiyonların Fizikokimyasal Stabilite Çalışmaları.....	39

2.2.4.3.1. Nanoemüljel Damlacık Boyutu, Zeta Potansiyeli ve Polidispersite İndeksi Ölçümleri.....	40
2.2.4.3.2. Nanoemüljellerin pH ve İletkenlik Ölçümleri.....	40
2.2.4.3.3. Nanoemüljellerin Vizkozite Ölçümleri.....	40
3.3. In Vitro Hücre Kültürü Çalışmaları.....	40
3.3.1.Vero Hücre Kültürü ve HSV-1.....	40
3.3.2.Çalışılan Numuneler	41
3.3.3.Y ve P Kodlu Nanoemüljellerin Vero Hücre Kültürü Üzerine Etkilerinin Mikroskop Altında Değerlendirilmesi ve Hücre Canlılığı Üzerine Etki Eden Dozun Yorumlanması.....	41
3.3.4.CCK-8 Reaktifini Kullanılarak Vero Hücre Kültürü Üzerinde Gerçekleşen Toksik Etkilerin Tespit Edilmesi.....	42
3.3.5. Antiviral Aktivite Çalışmaları.....	43
3.3.6. Formülasyonların HSV-1 Üzerindeki Antiviral Aktivitesi.....	43
4. BULGULAR	46
4.1. Nanoemülsiyon Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular.....	46
4.1.1. Nanoemülsiyon Santifüj Testine Ait Bulgular.....	46
4.1.2. Nanoemülsiyon Termal Stabilite Test Sonuçları.....	47
4.2. F1P1 ve F2P1 Kodlu Nanoemüljellerin Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular...48	
4.2.1.Farklı Nanoemülsiyon ve Jel Karıştırma Oranlarına Sahip F1P1 ve F2P1 Kodlu Nanoemüljellerin Nanoemüljelin Santifüj Testine Ait Bulgular.....	48
4.2.2. F1P1 ve F2P1 Kodlu Nanoemüljellerin Termal Stabilite Testine Ait Bulgular.....	49
4.2.3. Nanoemüljellerin pH ve İletkenlik Ölçümlerine Ait Bulgular.....	50
4.2.4. 1:1 Oranında Nanoemülsiyon ve Jel Karıştırma Oranlarına Sahip F1P1 ve F2P1 Kodlu Nanoemüljellerin Vizkozite Ölçümlerine Ait Bulgular.....	50

4.3. Fizikokimyasal Stabilite Testinde Damlacık Boyutu, PDI, Zeta Potansiyeli Ölçümlerine Ait Bulgular.....	52
4.3.1. Nanoemüljel Ortalama Damlacık Boyutu 1 Aylık Ölçüm Sonuçları.....	52
4.3.2. Nanoemüljellerin 1 Aylık Polidispersite İndeksleri (PDI) Bulguları.....	52
4.3.3. Nanoemüljellerin 1 Aylık Zeta Potansiyeli (mV) Bulguları.....	53
4.4. In Vitro Hücre Kültürüne Ait Bulgular.....	53
4.4.1. Y ve P Bileşenlerinin Vero Hücre Kültürü Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesine Ait Bulgular.....	53
4.4.2. CCK Test Verilerine Ait Bulgular.....	55
4.4.3. Formülasyonların HSV-1 Üzerindeki Antiviral Aktivitesine Ait Bulgular.....	57
5. TARTIŞMA.....	60
KAYNAKLAR	66
ÖZGEÇMİŞ.....	75
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	76

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Kullanılan Alet ve Malzemeler.....	35
Tablo 3-2: Kullanılan Kimyasallar.....	35
Tablo 3-3: Ön formülasyon denemelerinde hazırlanan nanoemülsiyonların bileşimi ve ultrasonikasyon süreleri.....	37
Tablo 4-1: Nanoemülsiyon formülasyon çalışmalarına ait karakterizasyon verileri	46
Tablo 4-2: Nanoemülsiyon santrifüj testi ölçüm sonuçları.....	46
Tablo 4-3: Nanoemülsiyon termal stabilite testi ölçüm sonuçları.....	47
Tablo 4-4: Uzun süreli stabilite çalışmaları için seçilen formülasyon bileşenlerine ait tablo.....	48
Tablo 4-5: F1P1 ve F2P1 kodlu nanoemüljellere ait karakterizasyon verileri.....	48
Tablo 4-6: F1P1 ve F2P1 kodlu nanoemüljellerin santifüj testine ait ölçüm sonuçları.....	49
Tablo 4-7: F1P1 ve F2P1 kodlu nanoemüljellerin termal stabilite testine ait ölçüm sonuçları.....	49
Tablo 4-8: Nanoemüljellerin pH ve iletkenlik ölçümlerine ait bulgular	50
Tablo 4-9: F1P1(1:1)%1 formülasyonunun viskozite ölçümlerine ait bulgular.....	50
Tablo 4-10: F2P1(1:1)%1 formülasyonunun viskozite ölçümlerine ait bulgular.....	51
Tablo 4-11: F2P1(1:1)%2 formülasyonunun viskozite ölçümlerine ait bulgular.....	51
Tablo 4-12: Nanoemüljellerin 1. gün damlacık boyutu, PDI, zeta potansiyeli ölçümlerine ait bulgular (n=3).....	52
Tablo 4-13: Nanoemüljellerin 1 aylık Ortalama Damlacık Çapı (nm) bulguları (n=3).....	52
Tablo 4-14: Nanoemüljellerin 1 aylık PDI bulguları (n=3).....	53
Tablo 4-15: Nanoemüljellerin 1 aylık Zeta Potansiyeli (mV) bulguları (n=3).....	53
Tablo 4-16: CCK-8 Test verileri ve inhibisyon konsantrasyon (IC) oranları	56
Tablo 4-17: Antiviral çalışma için gerçekleştirilen virus titrasyon test sonuçları ve hesaplanan Doku infektif doz 50 (DKID₅₀) değerleri.....	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Deri Sisteminin Bileşenleri.....	4
Şekil 2-2: Epidermisin Katmanları.....	5
Şekil 2-3: Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	15
Şekil 3-1: Pleyt çalışma planı örneği.....	43
Şekil 3-2: 96 kuyucuklu hücre kültür pleyti çalışma planı.....	45
Şekil 4-1: Y formülasyonu. Farklı dilüsyonların Vero hücre hattı üzerindeki etkilerinin 48saat mikroskop görüntüleri	54
Şekil 4-2: Plasebo (P). Farklı dilüsyonların Vero hücre hattı üzerindeki etkilerinin 48. Saat mikroskop görüntüleri	55
Şekil 4-3: Y formülasyonu için veriler girildikten sonra Curve expert professional 2.7.3 uygulamasının önerdiği regresyon eğrileri içerisinde seçilen sitotoksite davranışının “Power regression” modeli	56
Şekil 4-4: P bileşeni için veriler girildikten sonra Curve expert professional 2.7.3 uygulamasının önerdiği regresyon eğrileri içerisinde seçilen sitotoksite davranışın “Power regression” modeli	56
Şekil 4-5: Formülasyonların herhangi bir bileşen ile muamele edilmeyen HSV-1 grubu ile kıyaslamalı antiviral aktivitesi.....	58
Şekil 4-6: Y 10 ⁻⁴ son sulandırma gözünde görülen plak ve CPE alanları(x160).....	58
Şekil 4-7: Bileşen ile muamele edilmeyen HSV-1’in titrasyon testinde CPE gösteren son sulandırma katsayısı görüntüsü (x160).....	59

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- HSV:** Herpes simpleks virüs
Y/S: Su İçinde Yağ
S/Y: Yağ İçinde Su
PDI: Polidispersite İndeks
Smix: Yüzey etkin madde karışımı
NE : Nanoemülsiyon
 \bar{x} : 1: Değerlerin ortalaması
 σ : Standart sapma
CPE: Sitopatik etki
DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium
HÜV: Hücre üretme vasatı
OD: Optik yoğunluk
IC: İnhibisyon konsantrasyonu
DKID50: Doku kültürü enfektif dozu 50
IC50: İnhibitör konsantrasyon 50
CC50: Sitotoksik konsantrasyon 50
IS: Selective index

ÖZET

Herpes simpleks virüsü (HSV) enfeksiyonları, dünya genelinde en yaygın enfeksiyonlardan biri olarak kabul edilmekte ve önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. HSV enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan en yaygın yöntem, topikal antiviral ilaçların uygulanmasıdır. Bunların başında, viral DNA polimeraz enzimlerini inhibe ederek viral replikasyonu durduran asiklovir ve türevleri gelmektedir.

Araştırmalar, doğal bitki özlerinin, özellikle fenolik bileşenlerin ve flavonoidlerin, HSV'ye karşı antiviral aktivite gösterebileceğini ortaya koymuştur. Bu tür doğal bileşenlerin, hem mevcut antiviral ilaçlara karşı direnç gelişimini engelleyebileceği hem de daha geniş spektrumlu antiviral etkiler sunabileceği düşünülmektedir.

Nanoemülsiyonlar, ilaç moleküllerinin taşınmasında kullanılan, mikron altı boyut aralığında bulunan kolloidal sistemlerdir. Nanoemülsiyonlar, küçük damlacık boyutları sayesinde yüksek yüzey alanı sunar, bu da ilacın çözünürlüğünü ve emilimini artırabilir. Nanoemüljel, nanoemülsiyon ve jel kombinasyonudur. Nanoemüljeller, ilaçların cilt üzerinden kontrollü ve hedeflenmiş bir şekilde iletilmesini sağlamak için kullanılır.

Bu tez çalışmasının temel amacı, HSV virüsü (uçuk) üzerinde etkili olabilecek antiviral aktiviteleriyle bilinen çeşitli bileşenler içeren biberiye yağı ile topikal nanoemüljel formülasyonlarının geliştirilmesidir. Bu formülasyonların geliştirilmesiyle, HSV enfeksiyonlarının tedavisinde doğal ve etkili bir alternatif sağlanması hedeflenmektedir.

Formülasyonlar ilk olarak ultrasonikasyon yöntemi kullanılarak nanoemülsiyon formda hazırlanmıştır. İkinci aşamada doğal bir polimer olan ksantan zamkı (1:1 a/a) ile karıştırılarak nanoemüljel forma dönüştürülmüş ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Çalışmada test edilen madde dilüsyonlarının (Y ve P) hücreler üzerinde öldürücü [Letal doz (LD)] olduğu görülen aralık değerleri hepsinde $1/500 \geq LD(n) > 1/1500$ olarak belirlenmiştir. Yapılan analiz hesaplamaları ve mikroskop altındaki değerlendirmeler sonucunda antiviral çalışma konsantrasyonunun $1/2000$ dilüsyonunda olmasına karar verilmiştir. Yapılan çalışmada antiviral etkinliği gösteren miktar $1/2000$ dir ve IC_{50} değerinden daha fazla antiviral etkinlik sergilemektedir.

Anahtar Kelimeler: HSV-1, nanoemülsiyon, nanoemüljel, biberiye (*Rosmarinus officinalis*) uçucu yağı, antiviral aktivite



ABSTRACT

Herpes simplex virus (HSV) infections are considered among the most common infections worldwide and pose a significant health issue. The most common method used in the treatment of HSV infections is the topical application of antiviral drugs. Foremost among these are acyclovir and its derivatives, which inhibit viral DNA polymerase enzymes and halt viral replication.

Research has shown that natural plant extracts, particularly phenolic compounds and flavonoids, can exhibit antiviral activity against HSV. These natural compounds are thought to prevent the development of resistance to existing antiviral drugs and offer broader-spectrum antiviral effects.

Nanoemulsions are colloidal systems in the submicron size range used for drug delivery. Due to their small droplet size, nanoemulsions offer a high surface area, which can enhance drug solubility and absorption. A nanoemulgel is a combination of a nanoemulsion and a gel. Nanoemulgels are used to deliver drugs through the skin in a controlled and targeted manner.

The primary aim of this thesis is to develop topical nanoemulgel formulations containing rosemary oil, which is known for its antiviral activity against HSV (cold sores). By developing these formulations, the goal is to provide a natural and effective alternative for the treatment of HSV infections.

In the first stage, the formulations were prepared in the form of nanoemulsions using the ultrasonication method. In the second stage, the nanoemulsions were converted into nanoemulgels by mixing with the natural polymer xanthan gum (at ratios of 1:1, w/w), and characterization studies were conducted.

In the study, the lethal dose (LD) ranges of the tested substance dilutions (Y and P) on cells were determined to be between $1/500 \geq LD(n) > 1/1500$. Based on analytical calculations and microscopic evaluations, the concentration for antiviral studies was determined to be at a 1/2000 dilution. The amount that demonstrated antiviral activity in the study is 1/2000 and exhibits greater antiviral efficacy than the IC50 value.

Keywords: HSV-1, nanoemulsion, nanoemulgel, rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil, antiviral activity

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Herpes simpleks virüsü (HSV), insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilen herpesviridae ailesinin bir üyesidir. Bu virüsün iki türü daha yaygındır: HSV-1, genellikle yüz, dudaklar, ağız boşluğu ve belin üstündeki cilt bölgelerinde enfeksiyona neden olur; HSV-2 ise genital bölge ve bel altındaki cilt bölgelerini etkiler. Herpes simpleksin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde, asiklovir, valasiklovir, famsiklovir, pensiklovir ve sidofovir gibi birçok farklı fiziksel yöntem ve ilaç kullanılmaktadır. Bu ilaçların antiherpetik mekanizması, viral DNA polimeraz enzimini inaktive etmektir. Asiklovir, bu viral enfeksiyonun rutin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaç, viral timidinkinaz aracılığıyla aktif hale gelir ve viral DNA polimerazı inhibe eder. Günümüzde, özellikle bağışıklık yetmezliği olan kişilerde, viral mutasyonlar ve toleranslı enzimlerin üretimindeki artış nedeniyle tedavi zorlukları artmaktadır. Bitkisel ilaçlar, düşük yan etkileri ve üretim maliyetlerinin düşüklüğü nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bitkisel ilaçlar, çeşitli insan hastalıklarının tedavisinde kullanılmakta olup, antiviral etkileri belgelenmiştir. Araştırmacılar, fenoller, flavonoidler, alkaloidler ve terpenler gibi doğal bileşiklerin antiherpetik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Gavanji, 2015).

Herpes simplex virüsü (HSV), yüzeysel orofasiyal mukozalarda (HSV-1) ve genital mukozalarda (HSV-2) enfeksiyonlara yol açan yaygın bir insan patojenidir. Üretken enfeksiyon, mukozal epitelde veziküler lezyonların oluşumuna yol açar; ardından virüs, duyuşal nöronlara yayılır ve ömür boyu sürebilecek bir latent enfeksiyon oluşturur. Uyuyan virüsün yeniden aktif hale gelmesi, ilk enfeksiyon bölgesinde veya çevresinde tekrarlayan hastalıklara yol açar. HSV-1'in neden olduğu uçuklar ve HSV-2'nin neden olduğu genital herpes lezyonları hayati tehlike oluşturmaz; ancak kornea enfeksiyonları (keratit) veya merkezi sinir sistemi enfeksiyonları (ensefalit) ciddi patolojilere yol açabilir. Yenidoğanlar veya bağışıklığı zayıf bireylerde enfeksiyon, ağır yaygın hastalıklara neden olabilir (R. J. Whitley, 2001).

HSV-1, insan popülasyonunun %70'inden fazlasını enfekte ederek periferik sinir sisteminde latent olarak adlandırılan ömür boyu süren bir enfeksiyon oluşturur (Knipe & Howley, 2013). Latent virüsün tekrarlayan reaktivasyonu, bulaşmayı sağlamakla birlikte bazı bireylerde ağırlı oral lezyonlar, post-herpetik nevralji, yanıcı ağız sendromu, Bell felci ve körlük gibi hastalıklara da yol açabilir (Nagel, Choe, Traktinskiy, & Gilden, 2015). Yeniden aktif hale gelen virüsün merkezi sinir sistemine yayılması durumunda

doğum kusurları, miyelit ve ölümcül viral ensefalit gibi daha ciddi hastalık sonuçları ortaya çıkabilir (Aldo Pourchet, 2017).

İnsan herpes virüsleri HSV-1 ve HSV-2 (HSV'ler), simplex virus ailesinde önemli insan patojenleridir. Her iki virüs de her yaştan insanı enfekte edebilir; HSV-1, HSV-2'den daha yaygındır ve ikincisinin seroprevalansı farklı popülasyonlarda yaşla birlikte artış gösterme eğilimindedir. İlk enfeksiyon gerçekleştiğinde, bu virüsler yerel gangliyonlara çekilir ve burada belirsiz bir süre boyunca latent kalır. Ancak, konak yaşamının çeşitli dönemlerinde, bu virüslerin latent genomları yeniden aktif hale gelerek cilt lezyonları, genital yaralar, keratit, herpetik parmak enfeksiyonu veya diğer mukokutan patolojiler gibi klinik belirtilere ve semptomlara yol açabilecek üretken, litik enfeksiyonlara neden olabilir. En uç vakalarda, HSV'ler ölümcül sistemik enfeksiyonlar veya ensefalite yol açabilir; bu sorunlar genellikle bağışıklık sistemi gelişmemiş veya bağışıklığı baskılanmış hastalarda görülmektedir. Bu nedenle, bu virüslerden en ciddi şekilde etkilenen bireyler için antiviral müdahale sağlanması gereklidir (Lauren A. Sadowski, 2021).

HSV kaynaklı enfeksiyonlar, en yaygın viral enfeksiyonlar arasında yer almaktadır. Asiklovir, HSV ve zona virüsü (HZV) enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilk spesifik antiviral ilaç olmuştur. Ancak oral asiklovirin en önemli sınırlamalarından biri, kısa yarı ömrü ve düşük oral biyoyararlanımı nedeniyle günde 5 kez uygulanması gerekmesidir. Bu durum, kullanım zorluğuna yol açarak hastaların tedaviye uyumunu olumsuz etkileyebilir (Ritika Kondel N. S., 2019).

Günümüzde HSV enfeksiyonlarının yönetiminde standart tedavi, nükleozid analogları olan asiklovir, pensiklovir ve bunların türevlerini içeren viral DNA polimerazının inhibisyonuna dayanmaktadır. Asiklovire karşı HSV direnç gelişimi, özellikle uzun süreli tedavi gören bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda önemli bir klinik sorun haline gelmiştir. Antiviral ilaçlar, ilaç direnci nedeniyle birçok durumda mükemmel bir seçenek olmayabilir. Bu nedenle, geniş bir virüs yelpazesine karşı etkili olabilecek yeni antiviral ajanların geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Wafa A. AL-Megrin N. A.-T.-K.-H., 2020).

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*, L.), genellikle gıda işleme sırasında baharat ve aroma verici olarak kullanılan bir bitkidir. Yaprakları, önemli ölçüde in vitro antioksidan aktivitelere sahip olan karnosol, karnosik asit, rosmanol, 7-metil-epi-rosmanol,

isorosmanol, rosmadial ve kafeik asit gibi bileşikler açısından oldukça zengindir. Ayrıca, biberiyenin antibakteriyel etkileri de bildirilmiş ve bu etkiler polifenolik bileşimleriyle ilişkilendirilmiştir. Bunun yanı sıra, biberiye yağı ilaç direncine sahip enfeksiyonlarda kullanılabilir (Wafa A. AL-Megrin N. A.-T.-K.-H., 2020).

Biberiye yaprakları, anti-kanser ve anti-enflamatuvar etkiler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Geleneksel ilaçlar, HSV enfeksiyonlarını önlemek veya tedavi etmek için uzun yıllardır kullanılmaktadır. Günümüzde, etkili ve ciddi istenmeyen yan etkileri olmayan yeni antiviral ajanlar üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Wafa A. AL-Megrin N. A.-T.-K.-H., 2020).

Nanoemülsiyonlar (NE'ler), son zamanlarda kozmetiklerin kontrollü taşınması ve aktif bileşenlerin belirli cilt katmanlarına optimize edilmiş bir şekilde dağıtılması için potansiyel taşıyıcılar olarak giderek daha önemli hale gelmiştir. Lipofilik iç yapıları sayesinde, NE'ler lipofilik bileşiklerin taşınmasında liposomlara göre daha uygundur. Lipozomlara benzer şekilde, aktif bileşenlerin cilde nüfuz etmesini destekler ve bu bileşenlerin ciltteki konsantrasyonunu artırır (Sharma S., 2012).

NE'lerin bir diğer avantajı, küçük damlacık boyutları ve yüksek yüzey alanı sayesinde aktif bileşenlerin cilde etkili bir şekilde taşınmasını sağlamasıdır. Ayrıca, NE'ler kendi biyolojik aktif etkileri nedeniyle de artan bir ilgi görmektedir (Sharma S., 2012). Pek çok çalışma, NE'lerin aktif bileşenlerin cilde nüfuzunu artırmada ve transepidermal su kaybını azaltmada uygun olduğunu göstermiştir. Bu durum, NE'lerin cilt bariyer fonksiyonunu desteklediğini doğrulamaktadır (Nielloud, 2003)

NE'ler, makroemülsiyonlarda görülen doğal krema oluşumu, çökelme, floklaşma veya birleşme gibi olguları sergilemedikleri için kozmetiklerde kullanılmaktadır (Sharma S., 2012).

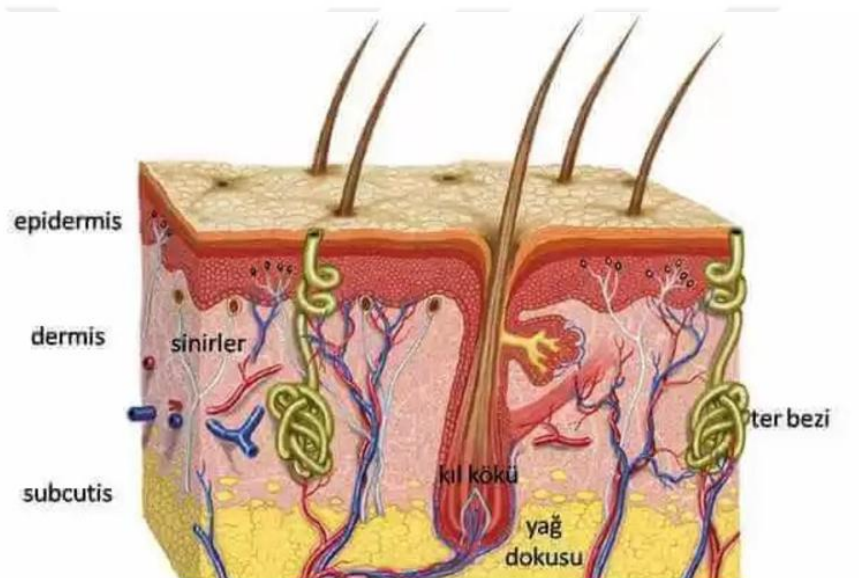
Yukarıdaki bilgiler doğrultusunda, bu tez çalışmasında, HSV-1 üzerinde topikal uygulamaya yönelik biberiye (*Rosmarinus officinalis*, L) uçucu yağlarını içeren nanoemüljel formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Derinin Yapısı ve Özellikleri

Deri, vücudun en büyük organ sistemidir. İnsanlarda bu biyolojik sistem, toplam vücut ağırlığının yaklaşık %12 ila %15'ini oluşturur ve 1,5 - 2 metrekarelik bir alan kaplar. Derinin temel amacı, vücudu ultraviyole (UV) ışınlarından, hasarlardan, mikrobiyal saldırılardan ve dehidrasyondan korumaktır (Lawton, 2019).

Deri; epidermis, dermis ve hipodermis (deri altı doku) olmak üzere üç ana katmandan oluşur (Lawton, 2019) (Şekil 2.1).



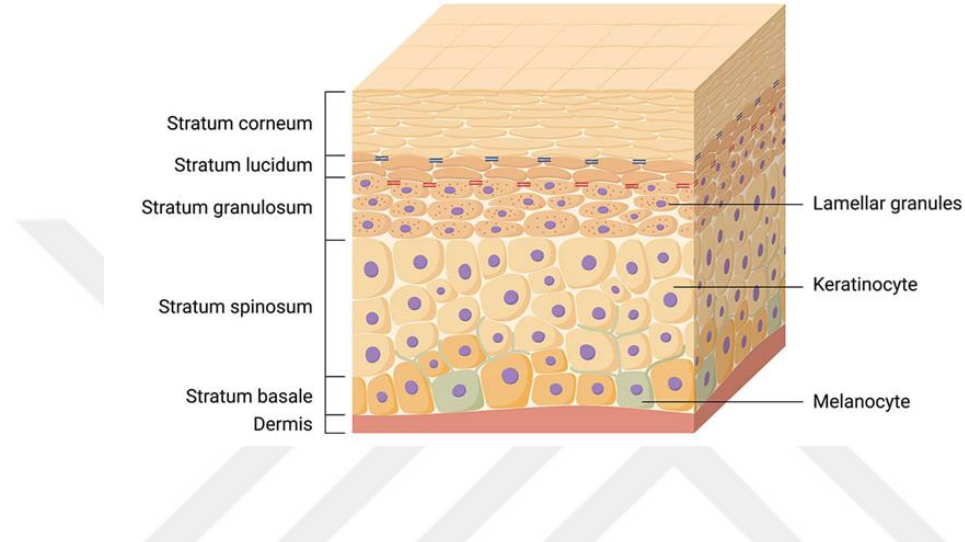
Şekil 2-1: Deri sisteminin bileşenleri <https://cilt Hastaliklari.com/2023/05/08/derinin-yapisi-ve-gorevleri/>

Epidermis (Üst Katman) : Epidermis, yaklaşık 0,1 - 0,3 mm kalınlığında olup büyük oranda (%95) keratinositlerden oluşur ve dışarıdan görünen tabakadır (Lawton, 2019).

Epidermis; cilt nemini koruma, yeni cilt hücrelerinin üretimi, cildi koruma ve cilt rengine katkı sağlama gibi birçok işlev üstlenir (Lawton, 2019).

Epiderminin en dış tabakası olan stratum corneum, suyu tutarak cildi nemli ve sağlıklı tutar. Ayrıca UV radyasyonu, patojenler (bakteriler, virüsler, mantarlar ve

parazitler) ve kimyasallar gibi birçok zarara karşı koruma sağlayan bir zırh gibi davranır. Yeni cilt hücreleri, epidermin alt katmanında (stratum bazale) üretilir ve yüzeye doğru ilerler. Epidermiste melanin pigmentini üreten melanosit hücreleri bulunur. Epidermis, dıştan içe doğru şu beş tabakadan oluşur (Jean L. Bologna, 2012) (Şekil 2.2).



Şekil 2-2: Epidermin katmanları (<https://www.lybrate.com/topic/epidermis-image>)

Stratum Corneum (Boynuzsu Tabaka): Epidermin en dış tabakası olan stratum korneum, vücudun çevresel hasarlara, toksinlere, mikroorganizmalara ve yabancı maddelerin girişine karşı ilk savunma hattıdır. Bu tabaka, cilt sağlığında kritik bir rol oynar. Ölü keratinositler (korneositler) tarafından oluşturulur. Bu hücreler, protein zarfı ve lipidlerle çevrili 15-20 kat düzleşmiş ölü hücrelerden oluşur. Stratum korneum, cilt geçirimsizliğini sağlayan korneodesmozomlar ile birbirine bağlanır. Bu bağlar bozulduğunda hücreler pul pul dökülür ve cilt yenilenir (Lawton, 2019).

Stratum Lucidum: Bu tabaka yalnızca avuç içi ve ayak tabanı gibi kalın derilerde bulunur. Cilde sürtünme etkilerine karşı dayanıklılık sağlar ve su geçirmezlik özelliğini artırır. Stratum granulosum ile birlikte çalışarak cildi daha dirençli hale getirir (Lawton, 2019).

Stratum Granulosum: Stratum granulosum, epidermin beş katmanından ortada yer alan ince bir tabakadır. Sadece 3-5 hücre tabakası kalınlığındadır ve

epidermisin bariyer işlevinde önemli bir role sahiptir. Bu katmanda bulunan hücreler, çekirdeklerini ve organellerini kaybederek ölürlür. Hücreler, cildin bariyer işlevine katkıda bulunan "lipid zarfı" adı verilen koruyucu bir yapı oluşturur (Lawton, 2019).

Stratum granulosum'a ulaşan keratinositler, "granüler hücreler" olarak adlandırılmaya başlar. Bu hücreler, keratohyalin granülleri adı verilen protein yapıları içerir ve keratinin çapraz bağlanmasını desteklerken hücrelerin hidrasyonunu sağlar (Lawton, 2019).

Bu katmandaki hücreler, cildin nemini korumasına ve dış tabakanın yapısal bütünlüğünü sağlamasına yardımcı olan filagrin proteini üretir. Filagrin, nemi tutarak ciltte esneklik ve dayanıklılık sağlar (Lawton, 2019).

Stratum granulosum hücreleri, epidermisin geçirimsizlik bariyerini oluşturan lipid tabakasını sentezler. Bu lipidler, su kaybını önler ve cildi dış etkenlere karşı korur (Lawton, 2019).

Stratum granulosum, cildin korunmasında, nem dengesinin sağlanmasında ve epidermisin yenilenme sürecinde kritik bir role sahiptir. Bu katman, stratum corneum'un temelini oluşturan ölü hücrelere dönüşmeden önce hücrelerin son canlı durak noktasıdır (Lawton, 2019).

Stratum Spinosum (Malpighi): Stratum spinosum, epidermisin stratum granulosum ve stratum basale arasında yer alan katmandır. Yaklaşık 8-10 hücre tabakasından oluşur ve cildin esnekliği ile dayanıklılığında önemli bir rol oynar (Lawton, 2019).

Keratinositlerin yoğun olarak bulunduğu bir katmandır. Hücreler, çokgen veya düzensiz şekillidir ve aralarında güçlü bağlantılar bulunur. Bu bağlantılar, dezmozomlar adı verilen protein yapılarından oluşur (Lawton, 2019).

Dezmozomlar, hücreler arası güçlü bir yapışmayı sağlar ve cildin yapısal bütünlüğünü korur. Hücreler arasında yer alan dezmozomlar, mikroskop altında hücrelerin "dikenli" bir görünüme sahip olmasına neden olur. Bu nedenle bu katman, "dikenli tabaka" olarak da adlandırılır (Lawton, 2019).

Keratinositler, stratum spinosum'daki ana hücre türüdür. Bu hücreler keratin üretmeye başlar ve epidermisin üst katmanlarına doğru ilerler. Burada bulunan

keratinositler, epidermisin su kaybını önlemesine yardımcı olan lipit bariyerini oluşturur (Lawton, 2019).

Langerhans hücreleri, stratum spinosum'da bol miktarda bulunur. Bağışıklık sisteminin bir parçası olan bu hücreler, ciltteki patojenleri ve hasarlı hücreleri tanıyarak savunma mekanizmalarını aktive eder (Lawton, 2019).

Stratum spinosum, cilt bariyerinin oluşumu ve bağışıklık savunmasının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Bu katman, epidermisin hem yapısal sağlamlığını hem de dış tehditlere karşı koruma yeteneğini sağlar. Ayrıca cildin esnekliğini destekler, nem seviyesini düzenler ve cildin sağlıklı kalmasına katkıda bulunur (Lawton, 2019).

Stratum Bazale (Germinatif Bazal Tabaka): Stratum bazale, epidermisin en alt tabakasıdır ve "stratum germinativum" olarak da bilinir. Bu katman, yeni cilt hücrelerinin üretildiği ve cildin yenilenmesinde kritik rol oynadığı yerdir (Lawton, 2019).

Epidermisin en alt kısmında yer alır ve dermisle doğrudan temas halindedir. Dermisin üst kısmında bulunan bazal membran adı verilen ince bir zara dayanır (Lawton, 2019).

Hücre Türleri:

- **Keratinositler:** Stratum bazalede keratin proteini üreten kök hücreler bulunur. Bu hücreler sürekli bölünerek yeni keratinositler oluşturur.
- **Melanositler:** Cilt rengini belirleyen melanin pigmentini üreten hücrelerdir. Melanin, UV ışınlarına karşı koruma sağlar.
- **Merkel Hücreleri:** Dokunma hissini algılayan mekanoreseptör hücrelerdir.
- **Langerhans Hücreleri:** Bağışıklık savunmasında yer alan hücrelerdir (daha az yaygındır) (Lawton, 2019).

Stratum bazale, cilt hücrelerinin bölünerek yenilendiği bir tabakadır. Burada üretilen yeni hücreler üst katmanlara doğru itilir ve zamanla farklılaşarak keratinize olur (Lawton, 2019).

Epidermisin kan damarları olmadığından, bu tabakadaki hücreler dermisten gelen difüzyon yoluyla beslenir. Hücreler üst katmanlara itildikçe besin kaynaklarından uzaklaşır ve ölür (Lawton, 2019).

Epidermisin tamamı yaklaşık 28 gün içinde yenilenir. Stratum bazale'de oluşan hücreler, üst katmanlara doğru ilerleyerek stratum corneuma ulaşır ve en sonunda dökülür (deskuamasyon) (Lawton, 2019).

Stratum bazale, dermiste bulunan damarlar ve sinirlerle yakın bir ilişki içindedir. Bu bağlantı, epidermis ile dermis arasındaki madde alışverişini sağlar (Lawton, 2019).

Stratum bazale, epidermisin temelini oluşturan bir tabakadır. Yeni hücrelerin oluşumu, cilt bariyerinin güçlendirilmesi, cilt renginin korunması ve çevresel tehditlere karşı savunmanın sağlanması gibi hayati işlevler üstlenir. Bu tabaka olmadan, epidermis yenilenemez ve cilt sağlığı korunamaz (Lawton, 2019).

Dermis

Dermis, cildin en derin katmanını oluşturan, epidermis ile hipodermis (deri altı tabaka) arasında yer alan ana cilt tabakasıdır. Dermis, vücudun farklı bölgelerinde kalınlığı değişiklik gösterebilir ancak epidermisten çok daha kalındır. Yapısal olarak lifli ve elastik özelliklere sahip bir tabakadır ve derinin pek çok önemli fonksiyonunu yerine getirir (Lawton, 2019).

Dermis, epidermisin hemen altında yer alır ve hipodermis ile de doğrudan bağlantılıdır. Derinin destek yapısını sağlar ve epidermis ile besin alışverişi yapar (Lawton, 2019).

Hücre Türleri (Lawton, 2019):

- **Fibroblastlar:** Dermisin ana hücreleri olup, özellikle kolajen ve elastin üretirler. Kolajen, ciltteki esnekliği ve güçlülüğü sağlarken, elastin cildin esnekliğini sağlar.
- **Makrofajlar ve Lökositler:** Bağışıklık savunmasında rol oynayan hücrelerdir ve patojenlere karşı koruma sağlarlar.
- **Mast Hücreleri:** İltihap tepkilerini yönetir ve alerjik reaksiyonlarda önemli rol oynar.
- **Endotelial Hücreler:** Kan damarlarını oluşturan hücrelerdir.

Dermisin içerdiği kolajen ve elastin lifleri, cildin elastikiyetini ve dayanıklılığını sağlar. Bu da cildin gerilmelere, kesilmelere ve yaşlanmaya karşı korunmasına yardımcı olur (Lawton, 2019).

Dermisteki kan damarları, epidermisin oksijen ve besin ihtiyaçlarını karşılar. Ayrıca, vücut sıcaklığının düzenlenmesine yardımcı olur (Lawton, 2019).

Fibroblastlar, dermisteki yara iyileşmesi süreçlerinde kritik rol oynar. Kolajen üretimi, yara bölgesinde yeni hücrelerin oluşumunu destekler ve iyileşmeyi hızlandırır (Lawton, 2019).

Dermis, ter bezleri ve kan damarları aracılığıyla vücut ısısını düzenler. Soğuk havalarda damarlar daralır, sıcak havalarda ise genişler (Lawton, 2019).

Dermis, sıcaklık, ağrı, dokunma ve basınç gibi duyuları algılayan sinir uçları içerir ve cildin çevreyle etkileşimde bulunarak vücudun dış ortamlarla uyum sağlamasını sağlar (Lawton, 2019).

Dermis, epidermisin beslenmesini sağlamakla kalmaz, aynı zamanda derinin esnekliğini, dayanıklılığını ve duyuşal özelliklerini destekler. Ayrıca, vücut ısısını düzenler, bağışıklık savunmasını güçlendirir ve cilt yaralarının iyileşmesini hızlandırır. Bu tabaka, cildin sağlıklı bir şekilde işlev görmesini sağlayan tüm önemli yapıları barındırır (Lawton, 2019).

Hipodermis

Hipodermis, cildin en derin tabakası olup dermis ile vücuttaki kaslar ve kemikler arasında yer alır. Ayrıca "subkutan" olarak da bilinir. Hipodermis, genellikle yağ dokusundan (adipositler) oluşur ve bu tabaka cildin vücuda olan bağlanmasını sağlayan destekleyici bir yapı görevi görür. Aynı zamanda vücut ısısını düzenler ve enerji depolar (Lawton, 2019).

Hipodermis aynı zamanda kolajen ve elastin lifleri içerir. Bu lifler, dermisi kaslar ve kemiklere bağlayan bağ dokusu ağını oluşturur (Lawton, 2019).

Hipodermis, dermisteki kan damarları ve sinirler ile devam eder. Bu damarlar vücuda oksijen ve besin taşırken, sinirler ise vücutta hissedilen sıcaklık, ağrı gibi duyuşal bilgileri iletir (Lawton, 2019).

Hipodermis, deri ve vücut arasında önemli bir geçiş alanı sağlar. Yağ depolama, vücut ısısını düzenleme ve darbelere karşı koruma gibi işlevleri ile hem fizyolojik hem de koruyucu açıdan kritik bir öneme sahiptir. Bu tabaka, cildin sağlıklı işleyişi için gerekli olan besinleri sağlayarak, vücudun çevresel faktörlere karşı dayanıklılığını artırır (Lawton, 2019).

2.2. Herpes simpleks virüs (HSV)

Viral hastalıklar, dünya genelinde insan enfeksiyon hastalıkları arasında birincil ölüm nedenidir. Herpesviridae, çeşitli derecelerde insan enfeksiyonlarına yol açan, DNA içeren virüslerden oluşan büyük bir ailedir. Bu aile, biyolojik ve genomik benzerliklere göre üç alt aileye (α , β ve γ) ayrılabilen sekiz üyeden oluşur (Yu-Chen Jiang, 2016).

İnsan α -herpes virüsleri, herpes simpleks virüsleri (HSV-1, HSV-2) ve varicella zoster virüsünü (VZV) içerir. HSV enfeksiyonları, en yaygın insan hastalıkları arasındadır ve dünya nüfusunun %60–95'i bu virüslerden en az biriyle enfekte olmuştur. HSV-1 genellikle oral ve perioral enfeksiyonlarla ilişkilendirilirken, HSV-2 daha çok genital enfeksiyonlara neden olur. HSV, uçuk, keratit, korneal körlük ve ensefalit gibi hafif durumlar ile ciddi enfeksiyonlar arasında değişen hastalıklara yol açar (Yu-Chen Jiang, 2016).

HSV enfeksiyonları, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu geliştirme riskini artırır ve HIV salgınına katkıda bulunur. HSV, latent hale geçebilir ve duygusal stres, ateş ve immünosupresyon gibi belirli durumlarda yeniden aktive olabilir (Yu-Chen Jiang, 2016).

VZV, suçiçeği ve zona hastalıklarının etken ajanıdır. İnsan β -herpes virüsleri, sitomegalovirüs, HHV-6 ve HHV-7'yi içerir. γ -herpes virüsleri ise Epstein–Barr virüsü (EBV) ve Kaposi sarkomu ile ilişkili herpes virüsünü içerir (Yu-Chen Jiang, 2016).

Herpes simplex virüs tip 1 (HSV-1), esas olarak mukoepitelyal hücreleri enfekte eden, doğrusal çift sarmallı DNA yapısına sahip ve nörotropik bir virüstür (Mehdi Shabani, 2019).

HSV-1, stomatit, ensefalit ve keratit gibi geniş bir hastalık yelpazesine neden olur. Virüsün merkezi sinir sistemine yayılma yeteneği ve bunun sonucunda ensefalite yol açması, HSV-1 enfeksiyonunun en ciddi komplikasyonudur (Mehdi Shabani, 2019).

HSV-1, insan popülasyonunun %70'inden fazlasını enfekte ederek periferik sinir sisteminde (PNS) ömür boyu süren bir enfeksiyon, yani latent enfeksiyon oluşturur. Latent virüsün tekrarlayan reaktivasyonu, bulaşmayı sağlamakla birlikte, bazı kişilerde ağrılı oral lezyonlar, post-herpetik nevralji, ağız yanması sendromu, Bell paralizi ve körlük gibi hastalıklara da neden olabilir. Reaktif olmuş virüsün merkezi sinir sistemine

(CNS) yayılması, doğum kusurları, miyelit ve ölümcül viral ensefalit gibi daha ciddi hastalık sonuçlarına yol açabilir (Pouchet A, 2017).

HSV-1'in daha nadir görülen bir hastalık belirtisi olan herpes whitlow, genellikle sağlık çalışanlarını, oral herpesli çocukları ve genital HSV taşıyan yetişkinleri etkileyen, distal falanksın kendiliğinden iyileşen bir deri enfeksiyonudur. Herpes whitlow, ilgili parmağa doğrudan virüs bulaşması sonucu oluşur; çocuklarda bu durum genellikle parmak veya başparmak emme ile, sağlık çalışanlarında ise baskın elin parmağının hastaların lezyonlarına maruz kalmasıyla meydana gelir. Klinik semptomlar arasında şişlik, eritem, veziküller ve şiddetli lokal ağrı bulunur, ancak enfeksiyonlar genellikle 4 hafta içinde iyileşir (Arduino PG, 2008).

HSV-1'in genital enfeksiyonlarla ilişkilendirilmesi giderek artmaktadır. Semptomlar, orofasiyal bölgede görülenlere oldukça benzerdir, ancak genital HSV-2 enfeksiyonlarına kıyasla daha seyrek tekrarlamalar görülür ve nüks oranı daha düşüktür (Arduino PG, 2008).

Hepatit, HSV hastalığının nadir ancak hayatı tehdit eden bir komplikasyonudur ve genellikle akut karaciğer yetmezliğine ve dolayısıyla ölüme yol açar. Teşhis, genellikle belirgin klinik semptomların olmaması nedeniyle karmaşıktır, ancak HSV-1 hepatiti olan hastalarda plazmadaki HSV-1 DNA seviyelerinin karaciğer fonksiyonu ve hastalık şiddetiyle ilişkili olduğu bilinmektedir (Arduino PG, 2008).

Herpes simpleks ensefaliti, merkezi sinir sisteminin, genellikle yetişkinlerde frontal ve temporal loblara lokalize olan ciddi bir enfeksiyonudur. Belirtiler arasında baş ağrısı, ateş, nöbetler, bilişsel bozukluk ve diğer nörolojik işaretler bulunur. Nadir görülmesine rağmen, zamanında tedavi edilmezse yüksek morbidite ve mortalite oranına sahiptir (Arduino PG, 2008).

Oküler HSV-1 enfeksiyonları, göz kapağı, konjonktiva, kornea, uvea ve retina gibi yapıları etkiler. Tekrarlayan oküler hastalığın baskın formu olan herpetik keratit, dünya genelinde kornea körlüğünün önde gelen nedenlerinden biridir. Bu bölümde, oküler HSV enfeksiyonlarının patogenezi ve bağışıklığı ayrıntılı olarak ele alınacaktır (Arduino PG, 2008).

HSV yayılımı, virüsün popülasyon genelinde bulaşmasında önemli bir rol oynar. Virüs yayılımı genellikle asemptomatiktir ve duyarlı bireylere bulaşması yakın kişisel

temasla gerçekleşir. Asemptomatik yayılım, lezyon bulunmamasına rağmen HSV'nin tespit edilmesi olarak tanımlanır. HSV yayılımının sıklığı üzerine yapılan hesaplamalar, seropozitif bireylerin en az 30 günde bir gözyaşı veya tükürükte HSV DNA'sı yaydığını göstermiştir. Oral yayılım, immünokompetan konak tarafından hızla kontrol altına alınan epizodlar halinde gerçekleşir (Arduino PG, 2008).

2.2.1. Klasik Tedavi Yöntemleri

Asiklovir (ACV) ve ilgili ilaçlar, HSV enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde büyük bir başarı sağlamıştır. Ancak bu anti-herpes ilaçları, uzun süreli kullanım sonrasında ilaç dirençli suşların seçilmesine yol açmıştır. Bu nedenle, ilaç dirençli HSV'ye karşı yeni stratejiler geliştirilmesine acil bir ihtiyaç bulunmaktadır (Yu-Chen Jiang, 2016).

HSV enfeksiyonlarının tedavisi için onaylanmış üç ilaç sınıfı bulunmaktadır ve bu ilaçların tümü viral DNA replikasyonunu hedef alır. Bunlar, asiklik guanozin analogları, asiklik nükleotid analogları ve pirofosfat analoglarıdır. Bu üç kategoriden tipik ilaçlar arasında valasiklovir (VCV), sidofovir ve foskarnet yer alır (Yu-Chen Jiang, 2016).

ACV (9-(2-hidroksietoksimetil) guanin), 1980'lerde piyasaya sürülmesinden bu yana HSV enfeksiyonlarının profilaksisi ve tedavisi için altın standart haline gelmiştir. Araştırmacılar, HSV enfeksiyonlarının birinci basamak tedavisinde kullanılan VCV, famciklovir ve gansiklovir gibi bir dizi anti-HSV nükleozid ilacı geliştirmiştir (Yu-Chen Jiang, 2016).

Nükleozid analoglarının benzer bir anti-HSV mekanizması vardır. ACV gibi nükleozid analogları, enfekte hücrelerde virüs tarafından kodlanan timidin kinaz (TK) tarafından seçici olarak monofosfat türevine fosforile edilir. ACV'nin HSV-TK'ya olan afinitesi, insan TK'ya göre yaklaşık 200 kat daha fazladır ve bu durum ACV'yi HSV'ye karşı son derece güvenli hale getirir (Yu-Chen Jiang, 2016).

ACV, HSV ve HZV enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilk spesifik antiviral ilaç olmuştur. Ancak oral ACV'nin en büyük sınırlamalarından biri, kısa yarı ömrü ve düşük oral biyoyararlanımı nedeniyle günde 5 kez uygulanması gerekmesidir. Bu durum kullanım açısından elverişsizdir ve hasta uyumunun düşük olmasına yol açabilir (Ritika Kondel N. S., 2019).

2.2.2. HSV üzerine Etkili Uçucu Yağlar

Son birkaç yılda, antibiyotiklerin yanlış kullanımı ve bağışıklık yetmezliği ile ilişkili hastalıkların artan insidansı nedeniyle, mikrobiyal ilaç direncinin gelişimi giderek daha acil bir sorun haline gelmiştir. Son dönemde, antimikrobiyal potansiyele sahip fitokimyasallar, olası tıbbi uygulamalara yönelik bileşenleri belirlemek için kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Wei Wang, 2012).

Uçucu yağlar veya bazı bileşenleri parfümler ve makyaj ürünlerinde, hijyen ürünlerinde, diş hekimliğinde, tarımda, gıda koruyucuları ve katkı maddeleri olarak ve doğal tedavilerde kullanılmaktadır. Son yıllarda, doğal ürünlere olan yeni ilgi nedeniyle, bitkisel uçucu yağlar fitoterapide daha fazla ilgi görmeye başlamıştır. Temel araştırma uygulamalarında, özellikle uçucu yağların antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ile potansiyel antikanser aktivitelerini daha iyi anlamak önemlidir (Wei Wang, 2012).

Bitkilerin gövde, yaprak, tomurcuk, meyve, çiçek ve tohum gibi farklı kısımlarından elde edilen uçucu yağlar ve su ya da alkol ile hazırlanan özütler, birçok mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etki gösterir. Bitkilerde saponinler, kumarinler, terpenoitler, alkaloidler, flavonoidler, tiyosülfatlar, fenolikler ve organik asitler gibi çeşitli antimikrobiyal bileşikler bulunur. Bu bileşiklerin antimikrobiyal etkinliği, başta kimyasal yapıları ve konsantrasyonları olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak farklılık gösterir (İlkin Yücel Şengül, 2018).

Çeşitli uçucu yağlar, solunum yolu enfeksiyonları, astım, atopik dermatit, alerjik rinit, menopoz sonrası sendrom, dismenore, gebelik ve doğum sorunları, psikozyomatik hastalıklar, depresyon, panik bozukluğu, jet lag ve gastrointestinal hastalıklar gibi çeşitli insan hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. Uçucu yağların yalnızca antibakteriyel ve antifungal aktiviteler değil, aynı zamanda antiviral aktivite de gösterdiği bildirilmiştir. Çay ağacı ve okaliptüs yağlarının HSV-1 ve -2'ye karşı antiviral aktivitesi in vitro olarak gösterilmiştir. Sandal ağacı yağı, *Santalum album* L. bitkisinin uçucu yağının HSV-1 ve -2'ye karşı antiviral aktivitesi de in vitro olarak gösterilmiştir. *Santolina insularis* uçucu yağının, HSV-1 ve -2 partiküllerini doğrudan inaktive ederek, viryonların konak hücrelere adsorblanmasını engellediği ve hücreden hücreye virüs yayılmasını inhibe ettiği bildirilmiştir. Ancak, uçucu yağların anti-herpetik etkisi hakkında çok az bilgi bulunmaktadır (Masato Minami, 2003).

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*, L.) yemek işleme sırasında baharat ve lezzet artırıcı olarak yaygın şekilde kullanılan bir bitkidir. Yaprakları, *in vitro* antioksidan aktiviteleri yüksek olan karnosol, karnozik asit, rosmanol, 7-metil-epirosmanol, isorosmanol, rosmadial ve kafeik asit gibi bileşiklerin çok iyi bir kaynağıdır. Biberiyenin antibakteriyel etkileri de bildirilmiştir ve bu etkilerin polifenolik bileşimleriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, biberiye yağı, ilaç dirençli enfeksiyonlarda da kullanılabilir. Biberiye yaprakları, anti-kanser ve anti-inflamatuar etkiler de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir.

Geleneksel ilaçlar, yıllardır HSV enfeksiyonlarını önlemek veya tedavi etmek için kullanılmıştır. Şu anda, etkinliği yüksek ve ciddi istenmeyen etkileri olmayan yeni antiviral ajanlar üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Önceki çalışmalar, bazı uçucu yağların HSV-1'e karşı etkili olduğunu önermektedir (Wafa A. AL-Megrin N. A.-T.-K., 2020).

Antiviral ve antimikrobiyal ilaçlar, mikropların direnç geliştirmesi nedeniyle dünya çapında artan bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu nedenle, güçlü yeni antibiyotiklerin keşfi için kapsamlı araştırmalar yapılması zorunludur. Birçok uçucu yağın güçlü antimikrobiyal etkiler gösterdiği bildirilmiş olduğundan, *Umbelliferae* ve *Labiatae* familyalarından elde edilen çeşitli uçucu yağların antiviral, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir (İlkay Erdoğan Orhan, 2012).

Anethum graveolens L., *Foeniculum vulgare* Mill. (tam olgunlaşmış ve çiçeklenme döneminde toplanmış), *Mentha piperita* L., *M. spicata* L., *Lavandula officinalis* Chaix ex Villars, *Ocimum basilicum* L. (yeşil ve mor yapraklı çeşitler), *Origanum onites* L., *O. vulgare* L., *O. munitiflorum* Hausskn., *O. majorana* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L., ve *Satureja cuneifolia* Ten., ayrıca yaygın olarak bulunan uçucu yağ bileşenleri γ -terpinene, 4-allylanisole, (-)-carvone, dihidrocarvone, D-limonene, (-)-phencone, cuminyl alkol, cuminyl aldehit, cuminol, trans-anethol, camphene, isoborneol, (-)-borneol, L-bornyl asetat, 2-dekanol, 2-heptanol, metilheptan, farnesol, nerol, isopulegol, sitral, citronellal, citronellol, geraniol, geranyl ester, linalool, linalyl oxide, linalyl ester, α -pinene, β -pinene, piperitone, (-)-menthol, isomenthone, carvacrol, thymol, vanillin ve eugenol. Antiviral aktivite, DNA virüsü Herpes simplex tip-1 (HSV-1) ve RNA virüsü parainfluenza tip-3 (PI3) karşı test edilmiştir (İlkay Erdoğan Orhan, 2012).

M. piperita'nın uçucu yağı, diğer adıyla nane yağı, HSV tip-1 ve tip-2'ye karşı test edildiğinde güçlü virüs öldürücü etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Masato Minami, 2003).

Melissa officinalis uçucu yağının HSV tip-1 ve tip-2'yi güçlü şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir ve yağdaki ana bileşenler citral ve citronellal olarak tespit edilmiştir.

Çay ağacı yağının güçlü antibakteriyel, antiviral ve antifungal aktivitelere sahip olduğu iyi bilinmektedir. Çay ağacı yağının HSV-1 ve HSV-2'ye karşı antiviral aktivitesi bildirilmiştir (Masato Minami, 2003).

2.2.2.1. Biberiye Uçucu Yağı

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*), *Lamiaceae* familyasına ait bir çiçekli bitki olup, Akdeniz ülkelerinde, Güney Avrupa'da ve Küçük Asya bölgelerindeki kıyı kesimlerinde doğal olarak yetişir (Şekil 2.3).



Şekil 2-3: Biberiye (*Rosmarinus officinalis*) (<https://www.drhenri.com.tr/biberiye-rosmarinus-officinalis-bitki12>)

Rosmarinus officinalis'in uçucu yağlarının kimyasal bileşimi üzerine dünya çapında farklı bölgelerden birçok çalışma yapılmıştır. *Rosmarinus officinalis*'in uçucu yağı, birçok çalışmada yer almış ve bu çalışmalar, yağın antioksidan aktivitesi, antibakteriyel etkisi, toksisite ve insektisit etkisi, anti-inflamatuar ve antinoksefif etkileri, antifungal etkisi gibi çeşitli alanlarda yapılmıştır (E. Derwich, 2011).

Geleneksel tıpta, biberiye farklı hastalıkların tedavisinde kullanılır; bunlar arasında depresyon, uykusuzluk ve romatizmal ağrılar yer almaktadır. Ayrıca bitkilerden elde edilen uçucu bileşiklerin bilinen antimikrobiyal, antifungal ve insektisit aktiviteleri bulunmaktadır. Uçucu yağlar birçok terapötik etkinliğe sahiptir ve ilaçların ve antiseptiklerin dağılımını kolaylaştırmaktadır (E. Derwich, 2011).

Biberiye yaprakları, genellikle yiyecekleri lezzetlendirmek amacıyla bir baharat olarak kullanılır, ancak bu bitki aynı zamanda farklı tıbbi amaçlar için yaygın olarak kullanılmıştır. Geleneksel tıpta, biberiye bir uyarıcı ve hafif ağrı kesici olarak kullanılmış ve baş ağrıları, zayıf dolaşım, iltihaplı hastalıklar ve fiziksel ve zihinsel yorgunluk gibi durumların tedavisinde en etkili bitkilerden biri olarak kabul edilmiştir (Aleksandar Rašković, 2014).

Biberiyenin çoğu farmakolojik etkisi, ana kimyasal bileşenlerinin yüksek antioksidan aktivitesinin sonucudur; bunlar arasında karnosol, karnosik asit, ursolik asit, rosmarinik asit ve kafeik asit bulunmaktadır. Rozmarinin güçlü antioksidan özellikleri, çoğunlukla ana diterpenleri olan karnosol ve karnosik asite ve uçucu yağ bileşenlerine bağlanmaktadır (Aleksandar Rašković, 2014).

Son zamanlarda, uçucu yağlar ve bunların aktif bileşenleri, farmakolojik özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Uçucu yağlar, çeşitli bitki organlarında sentezlenen ve güçlü bir kokuya sahip olan, uçucu bileşiklerin karmaşık karışımlarıdır ve çeşitli ekolojik işlevler gösterirler. Biyolojik aktiviteleri nedeniyle, uçucu yağların gıda koruma, parfüm endüstrisi ve aromaterapi gibi alanlarda yararlı olduğu bildirilmiştir. Biberiye uçucu yağı, renksiz veya soluk sarı renkte bir sıvıdır ve bitkinin karakteristik kokusuna sahiptir; çoğunlukla 1,8-sineol, kamfor ve α -pinene gibi monoterpenlerden oluşur. Antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olan biberiye uçucu yağı, gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatabilmekte ve saklama sırasında kaliteyi koruyabilmektedir. Bu nedenle, gıda endüstrisinde biyoprezervatif olarak kullanılmaktadır (Aleksandar Rašković, 2014).

Antioksidan ajan olarak görev yapmanın yanı sıra, biberiyeden izole edilen uçucu yağ, çeşitli sağlık yararları ve terapötik etkiler göstermektedir. Avrupa İlaç Ajansı'nın (EMA) 2010 tarihli önerisine göre, biberiye uçucu yağı, dispepsi ve gastrointestinal traktusun hafif spazmodik bozukluklarının tedavisinde, ayrıca hafif kas ve eklem ağrılarının hafifletilmesinde ve periferel dolaşım bozukluklarının tedavisinde yardımcı olarak kullanılabilir. Ayrıca, biberiye uçucu yağı ile yapılan deneyler, anti-inflamatuar ve antinosiseptif etkiler, antidepresan etkiler, bilişsel gelişim artırıcı etkiler, DNA koruyucu etkiler ve kanser karşıtı etkiler gibi birçok önemli farmakolojik etkiyi göstermiştir (Aleksandar Rašković, 2014).

2.3. Nanoemülsiyonlar

Nanomalzemelerin kozmetik alanındaki umut verici bir uygulaması, cilt bakım ürünlerinde NE'lerin kullanılmasıdır. NE sistemlerinin aktif bileşenlerin hedeflenen cilt katmanlarına kontrollü bir şekilde iletilmesi ve optimize dağılımı potansiyeli nedeniyle bu kullanım giderek daha önemli hale gelmiştir (Özgün, 2013).

Son yıllarda, cilt sağlığını destekleyen ve hastalıkların önlenmesine yardımcı olan dermatolojik olarak besleyici ürünlere yönelik tüketici bilincinin artmasıyla birlikte kozmesötik ürünler pazarı önemli ölçüde büyümüştür (Royer M, 2013). Gelişmiş ürün etkinliğine yönelik artan talepler, kozmetiklerle topikal farmasötik ürünler arasındaki sınırın giderek daha belirsiz hale gelmesine yol açmıştır. "Kozmesötikler," kozmetik ve farmasötikler arasındaki gri alanda yer aldıkları için tüketicilerden büyük ilgi görmektedir (Katz LM, 2015).

Kozmesötiklerin uygulama alanları artık cilt koruması, beyazlatma, bronzlaşma, yaşlanma karşıtı ve kırışıklık karşıtı uygulamaların yanı sıra, deodorantlar ve tırnak ile saç bakımı gibi diğer ilginç kullanımları da içermektedir. Cilt bakımında kozmesötik NE'lere olan talebin artması, aktif bileşenlerin kontrollü bir şekilde iletilmesi ve istenilen cilt katmanlarına optimize dağılımı sağlama yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Nano parçacıklar formundaki aktif bileşenler, yüksek yüzey-hacim oranına sahiptir; bu durum, emülsiyon içindeki yayılabilirliği artırır ve çok işlevli kullanım için daha uygun hale getirir (Singh R, 2009). Azalan yerçekimi kuvveti ve Brown hareketi sayesinde, bu emülsiyon sisteminin erken kararsızlaşması önlenir; dolayısıyla depolama sırasında çökelme meydana gelmez. Bir diğer kararsızlaştırıcı faktör olan flokülasyon (topaklanma) da nanoemülsiyonların çok küçük boyutları sayesinde engellenir, bu da ürünlerin raf ömrünü uzatır (Tadros T, 2004).

NE'ler morfolojilerine göre sınıflandırılabilir. "Su bazlı" veya su içinde yağ (Y/S) emülsiyonunda su sürekli fazı, yağ ise dağılmış fazdır (Mason TG, 2006). Bunun tersi durum ise "yağ bazlı" veya yağ içinde su (S/Y) emülsiyonudur. NE'lerin küçük damlacık boyutu, aktif bileşenlerin cilt yüzeyi boyunca eşit şekilde dağılımını ve nüfuz etmesini sağlar (O.Sonnevilleaubrun, 2004). NE'ler, geniş yüzey alanı ve düşük yüzey gerilimi nedeniyle bileşenlerin daha iyi penetrasyon etkinliği gösterir; bu nedenle hazırlık sırasında sadece %3-10 oranında yüzey aktif madde kullanımı gerektirir.

Mikroemülsiyonlar ise %20 veya daha yüksek yüzey aktif madde konsantrasyonu gerektirir (Nur Haziqah Che Marzuki, 2019).

Bunun sonucu olarak, NE'ler (düşük yağ konsantrasyonlarında) daha akışkan bir yapıya sahiptir ve koyulaştırıcıların kullanılmaması veya çok az kullanılması durumunda bile istenen fiziksel özellikleri ve cilt hissiyatını sergilerler. Kremleşme, çökme, flokülasyon ve koalesans gibi emülsiyonları etkileyen kararsızlık olayları da önlenir (Maruno M, 2009); bu durum, alt mikrometre boyutlu damlacıklar arasındaki önemli sterik stabilizasyondan kaynaklanır (Nur Haziqah Che Marzuki, 2019).

Günümüzde NE'ler, düşük enerjili veya yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemleri veya her ikisinin kombinasyonu ile hazırlanmaktadır. Yüksek enerjili yöntemler, yağ ve su fazlarını kırarak yağ damlacıklarını oluşturan yoğun yıkıcı kuvvetler yaratan mekanik cihazlar kullanır (Ngan CL, 2014). Bu teknikler arasında yüksek basınçlı homojenizatörler, mikroakışkanlaştırıcılar ve sonikasyon yöntemleri yer alır (Al-Sabagh AM, 2011). Buna karşılık, düşük enerjili teknikler, sistemin iç kimyasal enerjisini kullanarak emülsifikasyon gerçekleştirir (Saber AH, 2013). Bu, formülasyondaki yüzey aktif maddelerin, yardımcı yüzey aktif maddelerin ve yardımcı maddelerin içsel fizikokimyasal özelliklerinden yararlanarak sağlanır (Anton N B. J.-P., 2008).

Bir emülsiyon, iki karışmayan faz içeren bir sistem olarak tanımlanır; bu sistem, damlacıklar şeklinde bir dağılmış fazdan (iç faz) ve bir sürekli fazdan (dış faz) oluşur (P.Becher, 1965). Tarihsel olarak, "mikroemülsiyon" terimi ilk kez 1959 yılında Schulman ve arkadaşları tarafından, su, yağ, yüzey aktif madde ve alkol içeren çok fazlı bir sistemin şeffaf bir çözeltisini tanımlamak için kullanılmıştır (Schulman JH, 1959).

Mikroemülsiyonlar üzerine yapılan araştırmalar, 1943 yılında Hoar ve Schulman'ın bir çalışması yayımlanana kadar bilim camiasında nispeten bilinmezliğini korumuştur (Hoar T, 1943). Bu çalışmada, güçlü bir yüzey aktif maddenin eklenmesiyle su ve yağın kendiliğinden bir emülsiyon oluşturduğu tanımlanmıştır. Bu sistem, termodinamik olarak kararsız ancak kinetik olarak kararlı bir sistem olarak tanımlanmıştır (J.Eastoe, 2003).

Kozmesötik, aktif bir bileşen içeren ve bu sayede inert bir kozmetiğe kıyasla artan farmakolojik etkilerle yararlı fizyolojik sonuçlar sağlayan bir kozmetik üründür. Nanoteknolojinin kozmesötik uygulamalardaki başlıca faydaları arasında,

nanopartiküller içinde kapsüllenmiş doymamış yağ asitleri, vitaminler veya antioksidanlar gibi çeşitli kozmetik bileşenlerin artırılmış stabilitesi, belirli bileşenlerin (örneğin vitaminler ve diğer antioksidanlar) geliştirilmiş nüfuz etme oranı, ürün estetiğinin iyileştirilmesi ve cilt yüzeyinde UV filtrelerinin performansı ile toleransının artırılması yer alır (Nur Haziqah Che Marzuki, 2019).

Örneğin, Mayer ve arkadaşları, yağda çözünen bir vitamin (E vitamini) başarıyla kapsülleyerek NE'yi taşıyıcı sistem olarak kullanmıştır (Mayer S, 2013). Dermatoloji alanında, S/Y emülsiyonlarının, yağda çözünen aktif bileşenlerin cilt üzerinde bir lipid film oluşturarak daha elverişli hale geldiği gösterilmiştir (Costa R, 2017).

NE'lerin geliştirilmiş cilt penetrasyonunu açıklayan mekanizmalar, nano boyut aralığı ve bileşimi ile ilişkilendirilmiştir (Boonme P, 2009). Formülasyonda yer alan yüzey aktif madde, stratum corneum'un (cildin en dış tabakası) difüzyon bariyerini azaltabilir ve bu da kozmesötiklerin yüksek penetrasyonuna yol açar. Formülasyondaki su içeriği de önemli bir işlevsel role sahiptir. Su içeriği yeterince yüksek olduğunda, stratum corneum'un nemlenme etkisi nedeniyle kozmesötiklerin perkütan (ciltten) emilimi artar. NE'nin sürekli fazına dağılmış nano boyutlu damlacıklar, artık stratum corneum boyunca kolayca hareket edebilir ve aktif bileşeni cilt bariyeri yoluyla difüze edebilir (Nur Haziqah Che Marzuki, 2019).

Kong ve arkadaşları, hyaluronan (hyaluronik asit, HA)-gliserol α -monostearat (GMS) bazlı NE'lerin, cilt bakımı ve kozmetik ürünlerde kullanılabilecek ilginç bir koloidal transdermal taşıyıcı oluşturduğunu bildirmiştir (Kong M, 2011)

NE'ler, kendiliğinden oluşmayan çok fazlı koloidal dispersiyonların geniş bir sınıfının parçasıdır (Mason T.G., 2006). Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC), NE'leri, su, yağ ve yüzey aktif madde(ler) içeren, izotropik ve termodinamik olarak kararlı bir sistem olarak tanımlar. Bu sistem, nano ölçekli partikülleri oluşturmak için mekanik kuvvetler yoluyla üretilir (Kale SN, 2016). Dolayısıyla, bu küçük emülsiyon sistemini oluşturmak için daha büyük damlacıkları daha küçük parçalara ayırmak için harici kesme kuvvetleri gereklidir. Bu da yüzey gerilimi etkilerini aşmak ve nano ölçekli damlacıklar üretmek için ultra yüksek hızlı karıştırıcı cihazların kullanılmasını gerektirir (Mason T.G., 2006).

Buna karşılık, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), NE'leri farklı bir şekilde tanımlar. FDA'ya göre, bu sistem en az bir dış boyuta, bir iç yapıya veya yüzey yapısına nanoskalada (yaklaşık 1–100 nm) sahip olacak şekilde tasarlanmış bir malzeme veya nihai üründür; ayrıca, bu boyutlardan kaynaklanan fiziksel veya kimyasal özellikleri ya da biyolojik etkileri olan ve bu boyutlar nanoskaladan (1000 nm'ye kadar) daha büyük olsa bile bu özellikleri sergileyecek şekilde tasarlanmış bir malzeme veya nihai üründür (Nur Haziqah Che Marzuki, 2019).

Bir emülsiyon, bir sıvının, kendisiyle karışmayan bir başka sıvı içinde dağılmış olduğu bir sistemdir (Devarajan V., 2011). İki sıvı fazın molekülleri arasındaki çekim etkileşimlerindeki farklılıklar nedeniyle, bu sıvıların temas ettiği yerde bir ara yüzey gerilimi oluşur. Herhangi bir yüzey aktif madde veya başka bir safsızlık bulunmadığında, sistem her zaman termodinamik denge durumundaki en düşük enerji konfigürasyonuna geri döner. Hatta liyotrofik fazın kaydırılmasıyla dengesiz yapılar oluşturulsa bile, bu geçici yapılar birleşerek sonunda kaybolur. Haftalar ya da yıllar boyunca birleşmeden kalabilen uzun ömürlü bir damlacık emülsiyonu oluşturmak için, genellikle sürekli sıvı fazda çözünebilen ancak dağılmış fazda yüksek çözünürlüğe sahip olmayan bir yüzey aktif madde eklemek gerekir. Bu çözünürlük özelliği istisnasız bir kural olmasa da genellikle doğrudur. Yüzey aktif maddelerin polar veya apolar sıvılarda dağılma eğilimini sınıflandıran bir sistem, hidrofil-lipofil dengesi (HLB) olarak adlandırılır ve yüzey aktif maddelerin sulu ve yağlı sıvı fazlardaki göreceli çözünürlüğüne göre sınıflandırıldığı sayısal bir HLB düzeni mevcuttur (Mason T.G., 2006).

2.1.1.1. Nanoemülsiyonların Avantajları (Ashutosh M. Najan, 2022), (Özgün, 2013)

- Aktif maddenin emilim oranını artırır.
- Lipofilik ilaçların çözünmesini destekler.
- Suda çözünmeyen ilaçlar için sulu dozaj formları sağlar.
- Eğer formülasyon biyoyumlu yüzey aktif maddeler içeriyorsa, oral yolla alınabilir.
- Madde, topikal, oral ve intravenöz dahil olmak üzere çeşitli yöntemlerle uygulanabilir.

- NE'lerin termodinamik olarak kararlı sistemlerdir ve bu kararlılık sistemin kendiliğinden emülsifiye olmasına olanak tanır.
- Tahriş edici ve toksik değildir.
- Hücre kültürü teknolojisinde yağda çözünen besin maddelerinin alımını iyileştirir.
- Doğal olarak oluşan krema oluşumu, flokülasyon, koalesans ve çökelme sorunlarını göstermezler.
- Bir maddenin tadını maskeleyerek gerektiğinde harika bir araçtır.
- NE, şeffaf ve akışkan bir özelliğe sahiptir; bu özellik formülasyonun hasta uyumunu artırır ve herhangi bir kalınlaştırıcı ajan veya kolloidal partikül içermediği için güvenli bir uygulama sağlar.
- NE formülasyonları, mikroemülsiyonlara kıyasla daha az yüzey aktif madde gerektirir. Örneğin, mikroemülsiyon hazırlanmasında yaklaşık %20-25 oranında yüzey aktif madde gerekirken, nanoemülsiyon için %5-10 oranında yüzey aktif madde yeterlidir.

2.3.2. Nanoemülsiyonların Dezavantajları ve Sınırlılıkları (Nor Azrini Nadiha Azmi, 2019), (Vishali Mathialagan, 2020)

NE'lerin üretimi, yüksek basınçlı homojenizatörler veya ultrasonik cihazlar gibi özel ekipmanlar gerektirir ve bu da yüksek üretim maliyetlerine yol açmaktadır. Yüksek enerjili emülsifikasyon teknikleri fazla enerji tüketebilirken ısı üretebilir, bu da ısıya duyarlı bileşenleri bozabilir.

NE'ler, termodinamik olarak stabil olmalarına rağmen, doğru formüle edilmezlerse faz ayrımı oluşabilir ve uzun süreli depolama stabilitesi sorun yaratabilir. Uygun yağ, yüzey aktif madde ve çözücü seçimi kritik olup tüm aktif bileşenler NE sistemleriyle uyumlu olmayabilir. Yanlış yüzey aktif madde seçimi veya aşırı kullanımı sitotoksikiteye veya yan etkilere yol açabilir. Stabil ve etkili bir NE geliştirmek, karışım sırası, yüzey aktif madde konsantrasyonu ve damlacık boyutu gibi parametrelerin hassas kontrolünü gerektirdiğinden, mikroemülsiyonlara göre daha karmaşık bir formülasyon sürecine sahiptir.

2.3.3. Nanoemülsiyon Bileşimi

Yağ Fazı:

NE'nin stabilitesi, oluşumu ve özellikleri, yağ fazının fizikokimyasal parametreleri tarafından belirlenir. Viskozite, polarite, yoğunluk, su içinde çözünürlük, arayüzey gerilimi, kırılma indisi, faz davranışı ve kimyasal stabilite yağ fazının başlıca fizikokimyasal özelliklerindedir. Yağ fazında yaygın olarak kullanılan non-polar bileşenler arasında monoasilgliserol, triçilgliseroller, serbest yağ asitleri, diasilgliseroller, esansiyel yağlar, aroma yağları, mineral yağlar, mumlar ve yağ yerine kullanılan maddeler bulunur (Nishi T, 2012).

Sulu Faz:

NE formülasyonlarında sulu faz olarak yaygın şekilde su kullanılır. Proteinler, karbonhidratlar, mineraller, yardımcı çözücüler, asitler ve bazlar gibi polar moleküller örnek olarak verilebilir. Sulu fazın iyonik gücü, pH'ı, polaritesi, reolojisi, yoğunluğu, kırılma indisi, arayüzey gerilimi ve faz davranışı, bu bileşenlerin türüne ve konsantrasyonuna bağlıdır ve bu özellikler NE'nin oluşumu, fizikokimyasal özellikleri ve stabilitesi üzerinde doğrudan etkilidir (Nishi T, 2012).

Yüzey Aktif Madde (Sümfaktan):

Yüzey aktif maddenin, tüm bileşenlerin dağılmasını kolaylaştırmak için arayüzey gerilimini sıfıra yakın bir seviyeye düşürebilmesi gerekir. S/Y NE'leri oluşturmak için HLB değeri 3-6 olan yüzey aktif maddeler, Y/S NE'leri oluşturmak için ise HLB değeri 8-18 olan yüzey aktif maddeler uygundur (Özgün, 2013).

Yardımcı Yüzey Aktif Madde:

Yağ ve su arasındaki arayüzey gerilimini, NE'nin kendiliğinden oluşmasına izin verecek seviyeye düşürmek için yüksek konsantrasyonlarda tek zincirli yüzey aktif maddeler gereklidir. Yardımcı yüzey aktif madde, doymamış bağlar gibi sıvılaştırıcı grupların varlığı sayesinde arayüzeyin akışkanlığını artırır, sıvı kristal veya jel yapısını bozar ve HLB değerini değiştirerek nanoemülsiyonun kendiliğinden oluşmasını sağlar (Özgün, 2013).

Katkı Maddeleri:

NE'lerin ömrünü uzatmak için kullanılan bileşenlerdir (Bhatt P, 2011).

2.3.4. Nanoemülsiyonlarda Saponin Uygulamaları

Sürdürülebilirlik farkındalığı, NE'leri formüle ederken sentetik emülgatörlerin doğal alternatiflerle yer değiştirilmesine odaklanmıştır. Bu bağlamda, NE'leri oluşturmak ve stabilize etmek için kullanılan farklı saponin türlerinin en yaygın doğal kaynakları ve biyosentetik yolları araştırmalara sunulmuştur. Bunların ekstraksiyonu ve saflaştırılması için gerekli süreçler, karakterizasyonları için son gelişmelerle birlikte tamamen gözden geçirilmektedir (Schreiner, 2022).

Riquelme ve diğ. (2019) doğal emülgatörleri sentetik olanlarla karşılaştırdığı araştırmada Tween 80 ve Quillaja saponin (QS) karşılaştırılmıştır. Araştırma neticesinde QS'in arayüzey gerilimini hızla azalttığı ve NE'lerin elektronegatifliğini arttırdığı sonucuna varılmıştır. Bu da bu alternatifin çok çeşitli koşullarda fiziksel olarak kararlı bir sistem oluşturabileceğini göstermektedir. Tween 80 kullanılarak arayüzey gerilimi azaltımı 3,6 mN / m'ye yakınken, QS için 1,2 mN/m civarındadır (Riquelme, 2019). Endüstriyel düzeyde kullanılan bazı sentetik emülgatörlerin yanı sıra farklı kaynaklardan saponin içeren sistemlerin arayüzey ve yüzey gerilimleri literatürde yer almaktadır. Saponinlerin değerlerinin, emülsiyon sistemleri oluşturma ve stabilize etme potansiyellerini gösteren sentetik emülgatörlerle karşılaştırılabilir olduğu açıktır (Schreiner, 2022).

Aslında saponinler, biyolojik aktiviteleri (antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, hipokolesterolemik) ve fizikokimyasal özellikleri (amfifilik doğası ve yüksek yüzey aktivitesi) dolayısıyla ilaç, gıda ve kozmetik endüstrilerinde geniş kullanımlara sahip olabilen ve doğal olarak oluşan emülgatörlerin en belirgin gruplarından biridir. Genel olarak saponin özleri, düşük yüzey aktif madde emülgatörleri olarak tanımlanır, anyonik tip olarak sınıflandırılır ve yağ damlacıklarını elektrostatik itme kuvveti ile stabilize eder. Doğadaki saponinlerin bolluğu, çok çeşitli doğal matrislerden elde edilmelerini kolaylaştırır (Ralla T. S., 2018); (Ralla T. S., 2019). Quillaja kabuğu en çok kullanılanlar arasındadır (Reichert, 2019). Ayrıca maliyeti ve sürdürülebilirliği nedeniyle gelecek vaat eden seçenekler olan atık ürünlerde de saponinler bulunmaktadır (Zhu ZhenBao, 2019).

Doğal emülgatörlerin ve saponinlerin dünya çapında artan önemi, araştırmacıları bu alanda ayrıntılı incelemeler yapmaya teşvik etmektedir. McClements ve Gumus (2016) tarafından yapılan bir araştırma da emülsiyonların üretimi ve stabilizasyonu için

çeşitli doğal emülgatörleri ele alınmış ve saponinler, fizikokimyasal özellikleri (arayüzey gerilimi, kritik misel konsantrasyonu -CMC- ve arayüzey reolojisi) ve uygulamalarına uygun çevresel koşullar aralığı açısından kısaca tanımlanmıştır (McClements, 2016).

2.3.4.1. Nanoemülsiyonlarda Kullanılan Saponinler

- **Quillaja Saponinleri**

Çevresel streslerin *Quillaja saponaria* üzerine etkisinin Yang ve diğ. (2013) tarafından değerlendirildiği bir araştırmanın sonucunda ise 30° C ile 90° C sıcaklık aralıklarında, 300 mM NaCl'nin altındaki tuz konsantrasyonlarında ve pH'ın 3 ile 8 arasında olduğu koşullarda kararlı sistemlerle oluşmaktadır. Bu stabilite, saponinin damlacıklarının birleşecek kadar yaklaşmasını önleyen güçlü bir kısa menzilli sterik itme kuvveti kabiliyetine bağlanabilir. Bununla birlikte, düşük pH ve yüksek tuz konsantrasyonlarında, oldukça negatif yüklü damlacıklar arasında oluşan Quillaja'nın stabilite mekanizması olan elektrostatik itmenin azalması nedeniyle dengesizleşme gözlenmiştir (Yang, 2013)

Piyasada emülgatör olarak kullanılan birkaç saponin seçeneği bulunmaktadır ve bu seçenekler neredeyse yalnızca Quillaja'dan türetilmiştir (Reichert, 2019). Q-Naturale (Ingredion, Bridge water, Nj'den) gıda endüstrisindeki uygulamalar için önde gelen örneklerdendir. Ürün, sulu bir çözelti içinde toz haline getirilmiş veya çözülmüş iki formda sunulmaktadır (McClements, 2016).

- **Yucca Saponinleri**

Ralla ve diğ. (2018) araştırmaları neticesinde Yucca saponinlerinin arayüzey ve emülsifiye edici özellikleri ile gıda endüstrisindeki uygulanabilirliklerinin yanı sıra, nanoemülsiyonlar üretiminde de kullanılabildiğini gösterilmiştir. Yucca saponinin bildirilen CMC'si ağırlıkça % 0,01 ile 0,1 arasındadır (Ralla T. S., 2018).

Ayrıca, bu ekstraktlar, anti-enflamatuar aktivite, antiplatelet, antioksidan ve antibakteriyel etkiler ve farklı mayalara karşı büyümeyi önleyici aktivite gibi güçlü biyolojik etkiler sağlayan saponinler ve polifenollerin (örneğin resveratrol, yuccaol ve yuccaone) bir kombinasyonunu sunmaktadır (Ralla T. S., 2018).

- **Ginseng Saponinleri**

NE'lerin üretiminde, ginsenglere morfolojik benzerlik ve saponinlerdeki zenginlik nedeniyle eklenen *Panax ginseng* L. (Ralla T. H., 2017) bitkisinin yaprak ve gövdesinden elde edilen ginseng özleri (Shu, 2018) üzerine çalışmalar yapılmıştır. Tüm kaynaklar, emülgatör olarak potansiyel performanslarını kanıtlayarak yüksek yüzey aktivitesine ve iyi stabiliteye sahip olduklarını göstermektedir. Piyasada ginseng, kişisel bakım endüstrisinde şartlandırıcı bir madde olarak ve sağlık yararları nedeniyle enerji içeceklerinde bir bileşen olarak sunulmaktadır (Oleszek W. &., 2010); (Tamamoto, 2010).

- **Diğer Saponin Kaynakları**

Yukarıda bahsedilen kaynaklar, ekstraksiyon yoluyla doğrudan doğadan elde edildikleri için saponin alanında emülgatör olarak en çok kullanılanlardır. Bu sınıfın diğer örnekleri arasında Demir Diken (*Tribulus terrestris*), Çemen Otu (*Trigonella foenum graecum*) ve Tavşanmemesi (*Ruscus aculeatus*) bulunur (Schreiner, 2022).

Bununla birlikte yazarlar tarımsal endüstriyel atıklardan veya yan ürünlerden elde edilen saponinlerle de çalışmışlardır. Ralla ve diğ. (2019) tarafından kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.), ve yulaf kepeği'nin (*Avena sativa* L.), (2018) kullanımını incelendiğinde, elde edilen her iki saponinin de doğal emülgatör olarak kullanılmak üzere gerekli performansı gösterdiği sonucuna varılmıştır (Schreiner, 2022).

Son olarak, genellikle atık olarak bertaraf edilen *Camellia* tohumu yağı zengin bir çay saponin kaynağıdır. Daha sürdürülebilir ve ekonomik olarak uygulanabilir bir doğal emülgatör kaynağı oluşturmaktadır (Zhu ZhenBao, 2019).

2.3.5. Nanoemülsiyonları Hazırlama Yöntemleri

2.3.5.1. Yüksek Basıncılı Homojenizasyon

Bu yöntem, yağ fazı, sulu faz ve yüzey aktif madde veya yardımcı yüzey aktif madde içeren bir çözeltiye yüksek basınç uygulanmasını içerir. Basınç, özel bir cihaz olan homojenizatör kullanılarak uygulanır. Ancak bu yöntemin bazı dezavantajları vardır: düşük verimlilik, toplu üretimde bileşenlerin bozulması ve fazla miktarda ısı oluşumu. Bu yöntemle yalnızca %20'den az yağ fazı içeren su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyonları üretilebilir ve 200 nm'den küçük damlacık çapına sahip krem nanoemülsiyonlar bu yöntemle yapılamaz. Bununla birlikte, en yaygın kullanılan yöntemdir (Gadhve, 2014).

2.3.5.2. Spontan Emülsifikasyon

Yağ fazı içeren ve su ile karışabilen bir çözücünde az miktarda yağ bulunan bir çözelti, yüzey aktif madde olmadan suya döküldüğünde spontan emülsifikasyon oluşur. Yağ damlacıklarının çapı, fazla yağ ile suya karışabilen çözücü oranına bağlıdır. Ultrasonik ve yüksek kesme yöntemlerine alternatif olarak kullanılabilir. Ancak sınırlı miktarda yağ dağıtılabilir ve çözücünün her miktarda suyla çözünür olması gerekir. Ayrıca, çözücünün uzaklaştırılması zor bir işlemdir (Nishi T, 2012).

2.3.5.3. Ultrasonikasyon

NE hazırlamak için en etkili yöntemlerden biridir. Ultrasonikasyon tekniği ile tipik bir emülsiyon veya mikroemülsiyonun damlacık boyutu küçültülür. Ancak bu yöntemin dezavantajı, yalnızca küçük ölçekli üretimler için uygun olmasıdır. Sneh Priya ve arkadaşları, en iyi NE formülasyonu için yardımcı maddelerin seçimini sağlayan bir tarama yöntemi geliştirmiştir. Model ilaç olarak ketiapin fumarat kullanılmıştır. Ultrasonikasyon yöntemi, prob sonikatör kullanılarak gerçekleştirilir. Yağ, yüzey aktif maddeler ve yardımcı yüzey aktif maddelerin seviyeleri ayarlanarak istenilen özellikler elde edilebilir (Özgün, 2013).

2.3.5.4. Faz İncersiyon

Emülsifikasyon yöntemi sırasında faz geçişlerinden kimyasal enerji elde edilir ve ince dağılım oluşur. Sabit sıcaklıkta bileşim değişiklikleri veya sabit bileşimde sıcaklık değişiklikleri uygun faz geçişlerini sağlar. Faz İncersiyon Sıcaklığı (PIT) yöntemi, sıcaklığa bağlı olarak polietilen oksit tipi yüzey aktif maddelerin çözünürlüğündeki değişikliklere dayanır. Polimer zincirinin dehidrasyonu, sıcaklık yükseldikçe bu yüzey aktif maddenin lipofilik hale gelmesine neden olur. Düşük sıcaklıklarda, yüzey aktif madde tek tabakası büyük pozitif kendiliğinden eğrilik gösterir ve yağla şişmiş misel çözeltisi fazı oluşturur (Chaudhari PM, 2018).

2.3.5.5. Çözücü Yer Değiştirme

Oda sıcaklığında NE'ler, yağın asetona veya etanole benzer bir çözücünde çözüldüğü organik fazın, yüzey aktif madde içeren sulu faza dökülmesiyle hazırlanabilir. Küçük damlacıklar oluşturmak için yüksek çözücü-yağ oranı gereklidir. Bu işlemle çözücünün uzaklaştırılması zahmetli olabilir (Bhatt P, 2011).

2.3.5.6. Mikro Akışkanlaştırma

Yüksek basınçlı pozitif deplasmanlı pompa kullanılarak, önceden karıştırılmış emülsiyon (damlacık boyutu 10 μm 'ye kadar küçültülmüş) paslanmaz çelik mikro kanallardan (100 μm) geçirilir ve güçlü bir üç boyutlu akış (500-20.000 psi) oluşturulur. Bu işlemle alt-mikron aralığında çok küçük damlacıklar elde edilir. Önceden karıştırılmış emülsiyon, istenilen damlacık boyutuna ulaşana kadar mikro akışkanlaştırıcıda sürekli olarak dolaştırılır (Chaudhari PM, 2018).

2.3.6. Nanoemülsiyon Stabilitesini Etkileyen Faktörler

NE stabilitesini etkileyen birkaç önemli faktör bulunmaktadır. Bu faktörler, emülsiyonların uzun vadeli etkinliğini ve performansını belirler.

2.3.6.1. Damlacık Boyutu

NE'lerin stabilitesi, damlacık boyutunun küçüklüğüyle doğrudan ilişkilidir. Daha küçük damlacık boyutları, yüksek yüzey alanı sağlar, bu da aktif bileşenlerin daha iyi dağılmasına ve emilim hızının artmasına yardımcı olur. Ancak, çok küçük damlacıklar zamanla birleşme eğiliminde olabilir (koalesans), bu da stabiliteyi olumsuz etkiler (Kong, 2018).

2.3.6.2. Yüzey Aktif Maddeler ve HLB Değeri

Yüzey aktif maddelerin tipi ve konsantrasyonu, emülsiyonun stabilitesini belirleyen önemli bir faktördür. Yüksek HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) değeri, suyun içinde yağ emülsiyonlarının stabilitesini artırırken, düşük HLB değeri yağ içinde su emülsiyonlarında etkilidir. Yüksek HLB değeri, emülsiyonların flokülasyon (topaklanma) ve koalesans gibi sorunlarla karşılaşmasını engelleyebilir (McClements, 2011; Lemke et al., 2021).

2.3.6.3. Sıcaklık ve pH

NE'ler, sıcaklık ve pH değişikliklerine karşı hassas olabilir. Sıcaklık artışı, bileşenlerin çözünürlüklerini etkileyerek emülsiyonun bozulmasına yol açabilir. Ayrıca pH değişiklikleri, yüzey aktif maddelerin özelliklerini değiştirebilir ve bu da stabiliteyi bozabilir (Ray et al., 2020).

2.3.6.4. Elektrostatik ve Sterik Stabilizasyon

NE'lerin stabilitesinde elektrostatik ve sterik stabilizasyon mekanizmaları önemlidir. Elektrostatik stabilizasyon, partiküller arasındaki itme kuvveti ile sağlanırken, sterik stabilizasyon, yüzey aktif maddelerin oluşturduğu bir kaplama ile sağlanır. Bu mekanizmalar, damlacıkların birleşmesini ve çökmesini engelleyebilir (Cai et al., 2020).

2.3.6.5. Yardımcı Yüzey Aktif Maddeler

Emülsiyonun stabilitesini artıran ve fazlar arasındaki gerilimi düşüren maddelerdir. Bu maddeler, emülsiyon sistemlerinin daha uzun süre stabil kalmasına yardımcı olabilir (Kong et al., 2018).

2.3.6.6. Elektrokinetik Özellikler

NE'lerin stabilitesi, bileşenlerin elektrokinetik özellikleriyle de ilişkilidir. Zeta potansiyeli, emülsiyon damlacıklarının birbirine yaklaşma veya çökme eğilimlerini belirler. Yüksek zeta potansiyeli, damlacıklar arasında kuvvetli itme kuvveti oluşturur ve bu da stabiliteyi artırır (McClements, 2011).

2.3.7. Nanoemülsiyonların Karakterizasyon Yöntemleri

2.3.7.1. Damlacık Boyutu

NE vesiküllerinin damlacık boyutu dağılımı, ışık saçılımı veya elektron mikroskobu kullanılarak belirlenebilir. Ancak, bu yöntem NE'lerin stabilitesini tahmin etmekte en iyi yöntem olarak kabul edilir (Özgün, 2013).

2.3.7.2. Zeta Potansiyeli

Zeta potansiyeli, partiküllerin sıvıya batırıldığında yüzey yüklerini belirlemek için kullanılır. Zeta potansiyeli, bir ilacın, polimerin veya taşıyıcının fiziko-kimyasal bir özelliğidir ve dağılma stabilitesini tahmin etmek için kullanılır. Değeri, elektrolitlerin varlığı ve onların adsorpsiyonuna bağlı olarak belirlenir. Malvern Zetasizer cihazı bu ölçüm için kullanılır. NE, zeta potansiyelini belirlemek için seyreltildiğinde, bu değer, yağ damlacıklarının elektroforetik hareketliliğine dayanarak hesaplanır. NE'nin fiziksel stabilitesini sağlamak için 30 mV'luk bir zeta potansiyelinin yeterli olduğu düşünülmektedir (Gurpreet K, 2018).

2.3.7.3. Viskozite Ölçümü

Formülasyonların viskozitesi, reolojik özelliklerini belirlemek için incelenir. Bu işlem, 30°C'de 100 rpm hızla dönen CPE 61 spindle kullanılarak Brookfield Rheometer viskometresiyle yapılır. Sonuçlar üç kez alındığında ortalama hesaplanır (Kotta S, 2015).

2.3.7.4. İlaç İçeriği

Önceden tartılmış NE, uygun bir çözücüyle çözülerek çıkarılır ve bu ekstrakt, bir ilaç standardı çözeltisi ile karşılaştırılır. Karşılaştırma, spektrofotometre veya HPLC kullanılarak yapılır (Bhatt P, 2011).

2.3.7.5. Kırılma İndeksi

Kırılma indeksi, NE'nin izotropik doğasını açıklamak için kullanılabilen bir optik özelliktir ve özellikle ilaç ile eksipiyanlar arasındaki kimyasal etkileşimi belirler. Farklı üretim yöntemleri ile oluşturulan formülasyonların kırılma indeksleri arasında önemli bir fark yoktur ($p > 0.05$). Tüm NE formülasyonlarının kırılma indeksi, suyun kırılma indeksine yakın 1.42'dir. Bu, homojen NE yapısını gösterir (Sharma N, 2010).

2.3.7.6. Faz Davranışı Çalışması

Bu araştırmanın amacı, bileşenleri (yüzey aktif madde, yağ fazı ve su fazı) karakterize etmek ve optimize etmektir. NE fazını ve dağılımını belirlemek için faz dönüşümü sıcaklığı (PIT) yöntemi ve kendiliğinden emülsifikasyon yöntemiyle yapılan çalışmalar gereklidir. Deney, farklı NE bileşenlerini cam ampollere yerleştirip belirli bir sıcaklıkta belirli bir süre homogenize ederek dengeye ulaşana kadar yapılır. Polarize ışık, anisotropik fazı gösterebilir (Chellapa P, 2015).

2.3.8. Nanoemülsyonların Kozmetikte Uygulama Alanları

NE'lerin düşük viskozitesi ve şeffaflığı, onları kozmetik endüstrisinde kullanılmak için cazip kılan estetik özelliklerden biridir. Bunun yanı sıra, 200 nm'nin altındaki küçük boyutlardaki damlacıkları ile NE'ler, aktif bileşenlerin cilde daha iyi iletilmesini sağlayan yüksek yüzey alanına sahip olup, bu özellik kozmetikte oldukça talep görmektedir. NE'ler, makroemülsiyonlara kıyasla kozmesötik endüstrisinde oldukça pratik olup, doğal olarak oluşan krema, çökelme, flokülasyon veya birleşme sorunlarını ortadan kaldırır. Üretim sürecinde yüksek enerjili ekipmanlar kullanarak,

potansiyel olarak tahriş edici yüzey aktif maddelerin kullanımını azaltılabilir veya tamamen önenebilir. Nano-jel teknolojisi, yağda-su konsantresinden mini-emülsiyonlar oluşturmak için önerilmiş ve bu, trans-epidermal su kaybını en aza indirmeye, cilt korumasını artırmaya ve aktif bileşenlerin geçişini sağlamaya uygundur (Mansour, Rhee, & Wu, 2009). Bu, güneş bakımı ürünleri, nemlendiriciler ve anti-aging kremleri için faydalı olacaktır, çünkü cilt bakım formülasyonlarına iyi bir cilt hissi kazandırır.

Emülsiyonlar kozmetiklerde yaygın olarak kullanılmaktadır. İlaç merhemleri cilde derinlemesine nüfuz edebilse de, kozmetik ürünler yalnızca cildin yüzeyine (epidermis) uygulanmak üzere tasarlanmıştır. Kozmetikte en yaygın kullanılan emülsiyon türleri yağ içinde su (S/Y) veya su içinde yağ (Y/S) emülsiyonlarıdır. NE'ler, damlacıkların küçük boyutu ve ciltten su kaybını azaltma yetenekleri nedeniyle, aktif bileşenlerin kolayca emilmesini sağlayarak etkili bir etki sağladıkları için kozmetik endüstrisinde krem, nemlendirici ve losyonlar şeklinde yaygın olarak kullanılır. NE'lerin kozmetikte kullanımının avantajı, küçük damlacık boyutu ve krema ve flokülasyonun olmaması, bunlar antijen sunan hücreler tarafından alım kolaylığı sağlar ve bu da ürünü daha rafine hale getirir (Chellapa, Ariffin, & Issa, 2016).

NE'ler, kozmetiklerde etkili bir taşıyıcı aracı olarak kullanılmaktadır. NE'ler, trans-epidermal su kaybını azaltacaktır. Kemira nano jel-NE bazlı taşıyıcı sistemi, kozmetik amaçlar için patentli bir sistemdir; bu sistem, cilt hücre üretimini ve aktif farmasötik bileşenlerin (API) geçişini iyileştirecek ve iyi bir cilt hissi sağlayacaktır (Guglielmini, 2008). Topikal uygulama, kendi başına birçok avantaj sunar ve NE'lerle birleştirildiğinde, bu formülasyon ilaç taşıma sistemini geliştirebilir. Bu, ilaçların karaciğer ilk geçiş metabolizmasını atlayabilir ve ilişkili toksisite etkilerini önleyebilir. Bir karşılaştırmalı çalışma, 1 saat sonra, NE'lerin nemlendirme gücünün vücut sütü ve vücut suyuna göre daha yüksek olduğunu göstermiştir; 24 saat sonra, sonuçlar, NE'lerin diğer iki ürüne kıyasla uzun süreli etkisini göstermiştir (Chellapa, Ariffin, & Issa, 2016).

2.4. Nanoemüljeller

Birçok faydasına rağmen, NE'nin düşük viskozitesi nedeniyle yayılabilirlik ve ciltte tutunma sorunları bulunmaktadır (Khurana S, 2013). Bu dezavantajlar, NE platformlarının topikal uygulamalar için terapötik kullanımını sınırlamaktadır. Bu soruna çözüm olarak, bir jel sistemi entegrasyonu önerilmiştir. Jeller, bir polimer ile büyük miktarda su veya hidroalkolik bazın birleştirilmesiyle yapılır. Bu ağda daha fazla su

içeriği olduğundan, krem veya merhemlere kıyasla daha hızlı bir ilaç çözünmesi ve salınımı sağlar. Hidrojelin bir dezavantajı, hidrofobik molekülleri yapısına entegre edememesidir. NE ve jel çerçevesinin karıştırılmasıyla, nanoemüljel formülasyonu, hem nanoemülsiyonun hem de hidrojelin dezavantajlarını çözmektedir. Hidrofobik bileşikler önce NE'nin yağ fazına eklenebilir ve ardından jel bazına ilave edilebilir. Topikal nanoemüljel formülasyonları, yağı olmayan, tahriş etmeyen ve iyileştirilmiş ilaç salınım özellikleri ile hasta uyumunu artırabilir. Hidrojel matrisinin homojen davranışı ve kıvamı nedeniyle, nanoemüljeler son yıllarda popülerlik kazanmaktadır (Alaa R. Azeez, 2021).

2.4.1. Nanoemüljelerin Avantajları

Nanoemüljeller, nano boyutlu emülsiyon damlacıklarının uygun bir jelleştirici ajan eklenerek jelleştirildiği emülsiyon bazlı topikal jel formülasyonlarıdır. Nanoemüljeller hem NE hem de jel bazı içerdiklerinden ilaç taşıma sistemleri için uygun seçenekler arasında yer alır. Nanoemüljelin NE bileşeni, aktif maddeyi enzimatik bozunma ve hidroliz gibi reaksiyonlardan korur. Jel bazı ise su fazının viskozitesini artırarak yüzey ve ara yüzey gerilimini azaltır, böylece emülsiyona termodinamik stabilite kazandırır.

Uygun geçirgenlik artırıcılar kullanıldığında, nano boyutlu damlacıklar ilacın cilt geçirgenliğini ve yayılabilirliğini artırarak formülasyonun etkinliğini yükseltebilir. Bu kombinasyon, nanoemüljelleri hem stabil hem de etkili bir ilaç taşıma sistemi yapar (Özakar, 2022).

2.4.2. Nanoemüljelerin Sınırlılıkları

Nanoemüljeller, birçok avantaja sahip olmasına rağmen, bazı sınırlılıkları ve zorlukları da barındırır. Zamanla, NE damlacıkları birleşerek koalesans veya faz ayrışmasına neden olabilir. Bu durum, nanoemüljelin raf ömrünü ve etkinliğini azaltabilir. Yüksek sıcaklık veya pH değişimleri gibi çevresel koşullar stabiliteyi etkileyebilir (Özakar, 2022).

Nanoemüljellerin hazırlanması için yüksek enerjili ultrasonikasyon veya yüksek basınçlı homojenizasyon gibi özel cihazlar gereklidir. Bu yöntemler maliyetli ve karmaşıktır. Optimum formülasyon parametrelerinin bulunması, zaman alıcı ve deneysel çalışmalara dayanır. Uygun jelleştirici ajan ve yüzey aktif madde oranlarının belirlenmesi zor olabilir. Yanlış oranlar, jel yapısının bozulmasına veya ilaç salımında tutarsızlıklara yol açabilir (Hülya İlyasoğlu, 2010).

Bazı aktif bileşenlerin molekül yapısı veya lipofilik özellikleri nedeniyle, nanoemüljellerin cilt geçirgenliği sınırlı kalabilir. Derinin farklı bölgelerindeki geçirgenlik farkları, formülasyonun etkinliğini etkileyebilir (Özakar, 2022).

Kullanılan bazı yüzey aktif maddeler veya penetrasyon artırıcılar, uzun süreli kullanımda ciltte irritasyona veya toksisiteye neden olabilir (Hülya İlyasoğlu, 2010).

Jel yapısındaki sertlik veya viskozite, sürülme kolaylığını ve hasta uyumunu etkileyebilir (Özakar, 2022).

Nanoemüljellerin uzun süre stabil kalması için uygun depolama koşulları gereklidir. Yanlış depolama, formülasyonun fiziksel özelliklerini bozabilir (Hülya İlyasoğlu, 2010).

Nanoemüljeller, ilaç taşıma sistemleri açısından yenilikçi çözümler sunsa da stabilite, üretim maliyeti, formülasyon optimizasyonu ve potansiyel toksisite gibi sınırlılıklara sahiptir (Özakar, 2022; Hülya İlyasoğlu, 2010).

2.4.3. Nanoemüljellerin Hazırlanması

Nanoemüljel geliştirilmesi, oluşturulmuş bir NE'nin uygun bir jel bazıyla birleştirildiği çok adımlı bir süreçtir.

Jel bazını hazırlamak için, polimer saf suya serpilir ve bir mekanik karıştırıcı ile sürekli olarak karıştırılır (de Oca-Ávalos JMM, 2017). Jelleştirici ajan hazırlandıktan sonra, NE ve jel belirli oranlarda birleştirilir ve sürekli karıştırılarak bir nanoemüljel formüle edilir. Su içinde yağ (Y/S) veya yağ içinde su (S/Y) NE'si, farklı polimerik jelleştirici ajanların yardımıyla kıvamlı ve yarı katı nanoemüljellere dönüştürülür (Sengupta P, 2017).

2.4.4. Nanoemüljellerin Karakterizasyonu

2.4.4.1. Görsel Kontrol

Hazırlanan nanoemüljel, rengi, görünümü ve homojenliği tespit etmek için görsel olarak kontrol edilebilir (Soliman WE, 2021).

2.4.4.2. pH Ölçümü

Nanoemüljelin pH'ı, kullanım alanına göre değişir; örneğin, insan cildinin pH'ı 4.5 ile 6 arasında olduğu bilinmektedir (Upadhyay DK, 2020).

2.4.4.3. Viskozite Belirleme

Jelin viskozitesi, etkin bir şekilde cilde uygulanabilmesi için önemlidir. Viskozite, sıvının akışa karşı gösterdiği direnci tanımlar ve yüksek viskozite, daha fazla akışa karşı direnç anlamına gelir. Sıvılar genellikle Newtonian ve non-Newtonian sistemler olarak sınıflandırılır. Newtonian akışta, daha yüksek viskoziteye sahip sıvılar, belirli bir kesme hızı oluşturmak için daha fazla kuvvet gerektirir. Non-Newtonian akışta ise viskozite, farklı kesme hızlarına göre değişir (Yang L, 2019).

2.4.4.4. Yayılabilirlik Ölçümü

Geliştirilen formülasyonun terapötik etkinliği, topikal preparatın yayılabilirliği ile belirlenecektir. Jelin, uygulama alanına cilt üzerinde kolayca yayılması ve etkilenen bölgeyi kaplaması, yayılabilirlik olarak adlandırılır. Nanoemuljelin 'Kayma' ve 'Sürtünme' özellikleri, yayılabilirliklerini belirlemek için kullanılır (Bhura R, 2015).

2.4.4.5. Damla Boyutu Ölçümü ve Polidispersite İndeksi (PDI)

Damla boyutu genellikle dinamik ışık saçılma (DLS) yöntemi ile belirlenir. Polidispersite indeksi (PDI) ölçümü, hazırlanan NE içindeki damla boyutunun homojenliğini gösterir (Anand K, 2019).

2.4.4.6. Zeta Potansiyeli

Nanoemuljel, nanoemülsiyon ve bir jelleştirici ajandan oluştuğu için, formülasyon, farklı yüzey aktif bileşenlerin varlığı nedeniyle elektriksel yük alabilir (Anand K, 2019).

2.4.4.7. İlaç İçeriği

İlaç içeriği, hazırlanan formülasyondaki toplam ilaç miktarını belirleyen çok önemli bir parametredir ve yüksek ilaç içeriği, üretim sırasında ilaç kaybının az olduğunu gösterir (Upadhyay DK, 2020).

2.4.4.8. Hızlandırılmış Stabilitate Çalışması

Hızlandırılmış stabilite çalışması, Uluslararası Uyumluluk Konseyi (ICH) yönetmeliklerine göre yapılmalıdır. Formülasyonlar, $37\pm 2^\circ\text{C}$, $45\pm 2^\circ\text{C}$ ve $60\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıklarında 3 ay boyunca bekletilmelidir. Örnekler, ilaç içeriğini belirlemek için uygun bir analitik prosedür kullanılarak her iki haftada bir test edilmelidir. Jelin pH'ındaki değişim veya ilaç bozulması, stabiliteyi ölçmek için kullanılır (Malay NJ, 2018).

2.4.5. Nanoemüljellerin Kozmetikte Uygulama Alanları

Nanoemüljeller, kozmetik endüstrisinde giderek daha fazla uygulama alanı bulmaktadır. Nano boyutlu damlacıklar sayesinde bu sistemler, cilt ve saç bakımında etkili taşıyıcılar olarak öne çıkar.

Nanoemüljeller, cilt yaşlanmasını geciktiren retinol, vitamin C ve E gibi aktif bileşenlerin cilt altına etkili şekilde taşınmasını sağlar. Daha iyi penetrasyon, ince çizgi ve kırışıklıkların görünümünü azaltabilir (Vaibhav Gupta, 2022).

Nanoemüljeller, nemlendirici bileşenlerin derinin alt tabakalarına kadar ulaşmasını kolaylaştırarak uzun süreli nemlendirme sağlar (Vaibhav Gupta, 2022).

Nanoemüljeller, UV filtrelerinin homojen dağılmasını sağlar ve cilt üzerinde beyaz kalıntı bırakmadan daha etkili koruma sunar. Ayrıca, suya dayanıklı formülasyonlar için idealdir. Güneş koruyucularda kullanılan aktif bileşenler, nanoemüljel yapısında oksidasyona karşı daha stabil hale gelir (Nitulescu, 2023).

Salisilik asit veya benzoil peroksit gibi aktif maddeler nanoemüljellerle formüle edildiğinde ciltte daha hızlı ve kontrollü bir şekilde salınır. Nanoemüljeller, kurkumin gibi doğal anti-enflamatuar ajanların etkinliğini artırabilir ve akne nedeniyle oluşan kızarıklık ve şişliği azaltabilir (Vaibhav Gupta, 2022).

Nanoemüljeller, saç köklerine derinlemesine nüfuz eden ve saç büyümesini destekleyen aktif bileşenleri taşımak için kullanılır. Antifungal veya anti-enflamatuar bileşenler içeren nanoemüljeller, saç derisi sağlığını iyileştirir ve kepek sorunlarını azaltır (Hamed, 2024).

Nanoemüljeller, pigmentlerin ve nemlendirici bileşenlerin cilde daha eşit dağılmasını sağlar, böylece uzun süreli kalıcılık ve pürüzsüz bir görünüm elde edilir. Dudak nemlendiricileri ve renklendiricilerde kullanılan nanoemüljeller, besleyici yağların ve vitaminlerin etkinliğini artırır (Hamed, 2024).

Nanoemüljeller, koku moleküllerinin kontrollü salınımını sağlayarak parfümün daha uzun süre kalıcı olmasını sağlarken, nanoemüljel formundaki deodorantlar, hassas ciltler için uygun ve tahriş riskini azaltan formülasyonlar sunar (Hamed, 2024).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler

Kullanılan alet ve malzemeler Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: Kullanılan alet ve malzemeler

Kullanılan Kimyasal Maddeler
Hassas terazi- AND GR-200 – Japonya
Mikropipet- Ependorf- Almanya
Mekanik karıştırıcı- Wise Stir HS-100D, DAIHAN Scientific Co.Ltd-Güney Kore
Santrifüj cihazı- Nüve ve San. Malz. İm ve tic. A.Ş.- Türkiye
Buzdolabı- Indesit-İtalya
Distile su cihazı- PureLAB UV/UF Ionpure- ABD
İklimleme kabini- Nüve ve San. Malz. İm ve tic. A.Ş.- Türkiye
Damlacık büyüklüğü ölçüm aleti- ZetaSizer Nano ZS, Malvern Inst. -İngiltere
pH Metre- HANNA (Hanna edge multiparametre) – ABD
İletkenlik ölçüm cihazı- HANNA (Hanna edge multiparametre) – ABD
Ultrasonikatör- Vibra-Cell, SONICS, Sonics&Materials, Inc.- ABD
Viskozimetre- Brookfield DV3T- Brookfield Engineering Lab.-ABD

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasallar Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3-2: Kullanılan kimyasallar

Kullanılan Kimyasal Maddeler
Transcutol HP- Gattefossé
Biberiye (<i>Rosmarinus Officinalis</i>) uçucu yağı –Nu-Ka marka

Kaprilik /Kaprik Triglisericid - Croda
Sensiva PA 30– Schülke Inc.
DL-alfa tokoferol asetat- Sigma Aldrich
Quillaja Saponaria Wood Extract (ANDEAN QDP Ultra Organic, Desert King)
Ksantan zankı (VANZAN [®] NF-C, Vanderbilt Minerals)

3.2.Yöntemler

3.2.1. Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Tasarlanması

Çalışmamızda ilk olarak biberiye uçucu yağı kullanılarak Y/S tipi NE formülasyonları hazırlandı. Yağ Fazı:Yüzey etkin madde karışım oranı (YF:S_{mix}); 1:1; 1:1,5; 1:2 oranları olacak şekilde denemeler yapıldı. Formülasyonlar hazırlanırken ultrasonik homojenizatör uygulama süresi (10 dak. ve 20 dak.) göz önüne alınmış olup yapılan farklı denemeler sonucu istenilen damlacık boyutuna sahip olan formüllerle çalışmaya devam edildi.

3.2.1.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerinin Seçimi

Etken Madde Oranının Belirlenmesi: Biberiye uçucu yağı için konsantrasyonu için % 4,5 olmak üzere çalışmalar yapıldı.

Yüzey etken madde ve yardımcı diğer etken maddelerin türü ve miktarının belirlenmesi: Çalışmalarda ve ANDEAN QDP Ultra Organic (sürfaktan) ve Transcutol[®] HP (kosürfaktan) karışımı (S_{mix}) kullanıldı. Yağ fazı olarak, biberiye uçucu yağının yanı sıra kaprilik/kaprik triglisericid, antioksidan madde olarak DL-alfa tokoferol asetat, koruyucu olarak ise Sensiva[™] PA30 kullanıldı.

Karıştırma Hızı ve Süresinin Belirlenmesi: Çalışmalarda yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemi kullanıldı. F1, F2 ve F3 olmak üzere 3 farklı formülasyon serisi denendi. Ultrasonikatörün band genişliği %50 olarak belirlendi. Ultrasonikasyonun amplitüt ayarı fazla ısınmayı önlemek amaçlı 30 saniye çalışıp 30 saniye duracak şekilde ayarlandı. Bu yöntemle NE'lerin en iyi karıştırma süresinin belirlenmesi için proses olarak 10 dakika (P1) ve 20 dakika (P2) süreleri boyunca ultrasonikasyon uygulandı.

3.2.1.2. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Y/S tipi NE'ler aşağıda belirtilen şekilde hazırlanmıştır:

- Hazırlanacak ürün kozmetik bir nanoemüljel olacağından dolayı bitkisel ve doğal içerikli maddelerin uygun konsantrasyonlarda formülasyon bileşiminde kullanılmasına dikkat edildi.
- Yağ fazını oluşturan biberiye uçucu yağı, DL-alfa tokoferol asetat, kaprilik/kaprik trigliserid, Sensiva™ PA30, kosurfaktan (Transcutol HP) ve su fazını oluşturan sürfaktan (ANDEAN QDP Ultra Organic) ve distile su ayrı beherlerde hassas terazide tartıldı.
- Su fazında yer alan ANDEAN QDP Ultra Organic iyice karıştırıldıktan sonra sonra su fazı yağ fazına yavaş yavaş ilave edildi ve formülasyon cam bagetle karıştırıldı.
- Her formülasyon serisi için aynı formülasyon bileşiminden 3 kez hazırlandı ve her örneğe aşağıdaki işlemlerden biri uygulandı:
 1. proses için sonikasyon süresi 10 dak.
 2. proses için sonikasyon süresi 20 dak.

Tablo 3.3'te ön formülasyon denemelerinde hazırlanan formülasyonların bileşimlerini içeren bilgiler yer almaktadır.

Tablo 3-3: : Ön formülasyon denemelerinde hazırlanan nanoemülsiyonların bileşimi ve ultrasonikasyon süreleri

(%a/a)	F1P1	F1P2	F2P1	F2P2	F3P1	F3P2
YAĞ FAZI						
Biberiye yağı	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
DL-alfa tokoferol asetat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Kaprilik/kaprik trigliserid	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Sensiva® PA 30	2	2	2	2	2	2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
SU FAZI						

Süfaktan (Quillaja Saponaria Wood Extract (ANDEAN QDP Ultra Organic))	1	1	2,00	2,00	3,00	3,00
Distile su	89	89	88	88	87	87
Ultrasonikasyon süresi	10 dk	20 dk	10 dk	20 dk	10 dk	20 dk

3.2.2. Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

Hazırlanan formülasyonlar, hızlandırılmış stabilite testlerinden santrifüj testi ve termal stabilite tabi tutuldu. Testler öncesinde ve sonrasında, formülasyonların damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri yapıldı. Bu parametrelerdeki değişiklikler, testlerin öncesi ve sonrasındaki verilerle karşılaştırılarak incelendi.

3.2.2.1. Nanoemülsiyon Santrifüj Testi

Hazırlanan NE'ler ilk olarak santrifüj cihazında 3500 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlendi. Süre sonunda formülasyonlarda faz ayrımı, koalesans, sedimentasyon ve kremalaşma olup olmadığı organoleptik olarak kontrol edildi ve muhtemel stabilite problemleri açısından değerlendirildi. Formülasyonların ayrıca damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri alındı. Stabil olmayan formülasyonlar elendi.

3.2.2.2. Nanoemülsiyon Termal Stabilite Testi

Termal test için WiseBath[®] su banyosu kullanılarak teste başlandı. Formülasyonlar sırasıyla 30 dakika boyunca farklı sıcaklıklarda (45, 65, 85 °C) bekletildi (J. Xu, 2018). Testin sonunda, formülasyonlar organoleptik gözlemlerle faz ayrımı, koalesans, sedimentasyon ve kremalaşma açısından kontrol edildi ve potansiyel stabilite sorunları değerlendirildi. Ayrıca, formülasyonların damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçülerek stabilite sorunları gösteren formülasyonlar elendi.

3.2.2.3. Nanoemülsiyon Damlacık Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli Ölçümleri

Çalışılan NE formülasyonlarının damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyel ölçümleri, ışık saçılımı prensibine dayanan Malvern Zetasizer Nano ZS cihazı kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler üç kez tekrarlanmış ve elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır. Formülasyonlar, damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri için 1/100 oranında distile su ile seyreltilerek analiz edilmiştir.

3.2.3. Nanoemüljel Formülasyonlarının Hazırlanması

Biberiye yağı yüklü NE formülasyonları, nanoemüljel formüle etmek için seçildi. Seçilen NE formülasyonları ve %1 ve %2 ksantan zatkı polimer konsantrasyonuna sahip polimerik jel bazı 1:1 oranında manyetik karıştırıcı kullanılarak 500 rpm'de 30 dakika boyunca karıştırıldı. Sıkışan havanın ortadan kaldırılması için formülasyonlar 24 saat bekletildi.

3.2.4 Nanoemüljel Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

Hazırlanan formülasyonlar, hızlandırılmış stabilite testlerinden santrifüj testi ve termal stabilite testine tabi tutuldu. Bu testler öncesinde ve sonrasında formülasyonların damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri alındı ve bu parametrelerdeki değişiklikler değerlendirildi.

3.2.4.1. Nanoemüljel Santrifüj Testi

Hazırlanan nanoemüljeller ilk olarak santrifüj cihazında 3500 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlendi. Süre sonunda formülasyonlarda faz ayrımı, koalesans, sedimentasyon ve kremalaşma olup olmadığı organoleptik olarak kontrol edildi ve muhtemel stabilite problemleri açısından değerlendirildi. Formülasyonların ayrıca damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri alındı.

3.2.4.2. Nanoemüljel Termal Stabilite Testi

Termal test için WiseBath[®] su banyosu kullanılarak teste başlandı. Formülasyonlar sırasıyla 30 dakika boyunca farklı sıcaklıklarda (45, 65, 85 °C) bekletildi (J. Xu, 2018). Testin sonunda, formülasyonlar organoleptik gözlemlerle faz ayrımı, koalesans, sedimentasyon ve kremalaşma açısından kontrol edildi ve potansiyel stabilite sorunları değerlendirildi. Ayrıca, formülasyonların damlacık boyutları, PDI ve zeta potansiyeli ölçülerek stabilite sorunları gösteren formülasyonlar elendi.

3.2.4.3. Nanoemüljellerin Fizikokimyasal Stabilite Çalışmaları

Fizikokimyasal stabilite testleri için belirlenen nanoemüljel formülasyonları, üç farklı saklama koşulunda (oda sıcaklığı: 25 ± 2 °C ve %60 nem, iklimlendirme kabini: 40 ± 2 °C ve %75 nem, buzdolabı: 5 ± 2 °C) 1 ay boyunca muhafaza edilerek incelenmiştir. 1. gün ve 1. ay sonunda formülasyonların organoleptik özellikleri değerlendirilmiş; ardından pH, iletkenlik, viskozite, ortalama damlacık çapı, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli analizleri gerçekleştirilmiştir.

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

Çalışılan nanoemüljel formülasyonlarının damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyel ölçümleri, ışık saçılımı prensibine dayalı olarak çalışan Malvern Zetasizer Nano ZS cihazı ile yapılmıştır. Ölçümler, üç kez tekrarlanmış ve elde edilen verilerin ortalaması alınmıştır. Formülasyonlar, damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli analizleri için 1/100 oranında seyreltilerek incelenmiş olup, 1. gün ve 1. ay sonunda aynı metod ile ölçüm alınarak kaydedildi.

3.2.4.3.2. Nanoemüljellerin pH ve İletkenlik Ölçümleri

Nanoemüljellerin pH değerleri, 25 ± 2 °C'de taşınabilir Hanna Edge multiparametre cihazı ile, seyreltilmeden doğrudan ölçüldü. Elektriksel iletkenlik ise aynı cihazda, iletkenlik probu kullanılarak 25 ± 2 °C'de analiz edildi. İletkenlik testi, nanoemüljellerin farklı ortam koşullarına ve zaman faktörüne bağlı olarak faz değişimi olup olmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirildi.

3.2.4.3.3. Nanoemüljellerin Viskozite Ölçümleri

Hazırlanan nanoemüljel formülasyonlarının viskozite ölçümleri Brookfield DV 3T viskozimetre cihazı ile CP40 mili kullanılarak 25 °C'de 10 rpm, 20 rpm, 30 rpm, 40 rpm, 50 rpm, 60 rpm, 70 rpm, 80 rpm, 90 rpm ve 100 rpm kayma hızlarında gerçekleştirildi.

3.3. In Vitro Hücre Kültürü Çalışmaları

Bu çalışmada planlanan in-vitro sitotoksosite ve antiviral etkinlik testleri, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında, virüs çoğaltma, konsantrasyon doz çalışmaları ve enfeksiyözite güç tayini gibi in-vitro laboratuvar analizleri için Yeşil Maymun hücre kültürü (Vero) ve Herpes Simplex-1 (HSV-1) Kos suşu, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı hücre kültürü ve virüs koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.3.1. Vero Hücre Kültürü ve HSV-1

Vero hücrelerinin üretimi ve virüs çoğaltma işlemleri, F12 Ham/Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ortamında, 37 °C sıcaklıkta ve %5 CO₂ içeren

inkübatörde yapılmıştır. Hücre kültürlerinin hazırlanmasında, %10 fetal bovine serum (FBS), %1 antibiyotik ve %1 L-glutamin içeren hücre üretim ortamı (HÜV) kullanılmıştır. HSV-1 virüsünün çoğaltılması için ise %2 FBS, %1 antibiyotik ve %1 L-glutamin içeren virüs çoğaltma ortamı (VÇV) tercih edilmiştir.

3.3.2. Çalışılan Numuneler

Antiviral çalışmalar ve sitotoksite araştırmalarında kullanılacak olan biberiye uçucu yağı Nu-Ka adlı bir firmadan temin edilmiştir. Biberiye uçucu yağı içeren nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmış olup yapılan testler sonucunda stabilitesi açısından en uygun bulunan formülasyon antiviral etkinlik testi için seçilmiştir. Antiviral etkinlik testi için % 4.5 oranında uçucu yağ içeren formülasyon için belirlenen kod Y olarak, karşılaştırma amacıyla kullanılan kontrol numunesi olan biberiye uçucu yağı içermeyen plasebo nanoemülsiyon içinse kod P olarak belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan formülasyonların hücre kültürü üzerindeki etkileri hem mikroskop altında yapılan görsel değerlendirmeler hem de CCK-8 hücre proliferasyon ve sitotoksite kiti aracılığı ile iki farklı metot ile belirlenmiştir.

3.3.3. Y ve P Kodlu Nanoemülsiyonların Vero Hücre Kültürü Üzerine Etkilerinin Mikroskop Altında Değerlendirilmesi ve Hücre Canlılığı Üzerine Etki Eden Dozun Yorumlanması

Bu çalışma kapsamında, her bir nanoemülsiyon için 12 kuyucuktan oluşan bir hücre kültürü pleyti kullanılmıştır. Pleyte, önceden subkültür edilmiş Vero hücre hatlarından, her kuyucuk için $4,5 \times 10^5$ hücre/ml yoğunluğunda 500 µl hücre süspansiyonu eklenmiştir. Hücrelerin eksponansiyel üreme fazına geçmesi için pleytler 24 saat boyunca 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde bekletilmiştir. Hücreler monolayer şeklinde yaklaşık %80 oranında yüzeyi kapladığında, hücre üretme ortamı (HÜV) uzaklaştırılmıştır. İncelenen maddeler (Y ve P), %2 FBS içeren hücre idame ortamında sırasıyla 1/500, 1/750, 1/1000, 1/1500 ve 1/2000 oranlarında seyreltikten sonra her bir sulandırma oranından 500 µl, pleytteki kuyucuklara 2 kopya olacak şekilde eklenmiştir. Kalan 2 kuyucuk ise hücre kontrol grubu olarak bırakılmış ve yalnızca %2 FBS içeren 500 µl hücre idame ortamı eklenmiştir. Pleytler, işlem sonunda 48 saat boyunca 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde bekletilmiştir.

Günlük mikroskopik incelemelerle, nanoemülsiyonların farklı sulandırma oranlarının hücreler üzerindeki etkileri gözlemlenmiştir.

Şekil 3-1: Pleyt çalışma planı örneği. 1/500 – 1/1500 dilüsyonlardaki maddelerin 1. Tekrar absorbance değerleri. H.K: Hücre kontrol grubu.

3.3.5. Antiviral Aktivite Çalışmaları

Y ve P formülasyonlarının HSV-1 üzerindeki antiviral etkinliği, HSV-1'in %50 uç nokta titresi kullanılarak doku kültürü enfektif dozu (DKID50) Frey ve Liess'in belirlediği yöntemle göre hesaplanmıştır. Bu yöntem, virüsün infeksiyöz gücünü belirlemek için kullanılan standart bir tekniktir ve formülasyonların virüs üzerinde ne kadar etkili olduğunu değerlendirmede kullanılmıştır (Frey HR., 1971).

3.3.6. Formülasyonların HSV-1 Üzerindeki Antiviral Aktivitesi

























































Formülasyonların antiviral aktiviteleri 96'lık pleytlerde ayrı ayrı çalışıldı. Bu amaç doğrultusunda daha önceden subkültürleri yapılan Vero hücre kültürlerinden 8.0×10^5 hücre/ml olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlandı. 96 kuyucuklu pleytler için hazırlanan bu süspansiyondan 100µl olacak şekilde gözlere dağıtıldı ve hücrelerin eksponansiyon üreme fazına geçmesi için 1 gece 37°C %5 CO_2 'li inkübatörde bekletildi. Hücreler kuyucuk yüzeyinin yaklaşık %90 oranında monolayer olarak kapladığında hücre üretme vasatı kuyucuklardan uzaklaştırıldı. Yukarıdan aşağı olacak şekilde 10'a kadar numaralandırılan Pleyt içerisindeki 8 oyuk antiviral madde ihtiva eden ve etmeyen kuyucuklar olacak şekilde 2'ye ayrıldı. Pleyt yüzeyindeki son 2 sıra kuyucuk hücre ve virus kontrol grubu olarak kullanıldı.

















Formülasyon ihtiva eden bölümlere 1/2000 dilüsyon oranında çalışılacak madde içeren hücre vasatından 100'er µl 4 sıra kuyucuk olacak şekilde 10. numaraya kadar konuldu. Aynı şekilde pleytin diğer yarısında ki gözlere antiviral ihtiva etmeyen hücre üretme vasatından 100'er µl ilave edildi. Formülasyonların HSV-1'e karşı olası hücre için bir etkinlik (Virusun replikasyon basamaklarına yönelik herhangi bir blokaj) gösterebilme ihtimalleri göz önüne alınarak hücrelerin maddeleri metabolize etmeleri sağlandı. Bu sebep ile pleytler 4 saat boyunca 37°C %5'lik CO_2 'li inkübatörde bekletildi.

Çalışmada kullanılacak olan formülasyonun hücre dışı etkinlik göstererek virusun zarf yapısı ve adsorbsiyonunda rol oynayan glikoprotein yapılarını deformasyona uğratabilme ihtimaline karşı ayrıca inkübasyon süresinin bitmesinden önce HSV-1 süspansiyonlarına ek bir daha manipülasyon yapıldı. Formülasyonlu göze aktarılacak olan HSV-1 süspansiyonları ayrı ayrı Y ve P bileşenlerinin 1/2000 dilüsyon değerlerine

sahip hücre üretme vasatı ile Log10 tabanında 10^{-1} 'den 10^{-10} ' a kadar ependorf tüpleri içerisinde seri olarak sulandırıldı. Pleytin herhangi bir madde ile baskı altında olmayan diğer bölümüne aktarılabacak olan HSV-1 ise aynı yöntem ile sadece hücre üretme vasatı kullanılarak sulandırması gerçekleştirildi. Seri sulandırılan virus süspansiyonları aynı anda 30 dakika boyunca 37°C %5'lik CO_2 'li inkübatörde bekletildi.

İnkübasyon işlemlerinin sonunda pleyt kuyucuklarındaki madde ile vasat içeriği uzaklaştırıldı. İşlem sonunda Y ve P ile muamele edilmiş 4 kuyucuk ile herhangi bir madde ile muamele edilmemiş 4 kuyucuğun 10. sulandırma basamağına kadar her bir kuyucukta 100 μl olacak şekilde önceden sulandırılmış olan virus süspansiyonları aktarıldı. Madde ve vasat aktarım işlemleri tamamlandıktan sonra pleytler 37°C %5'lik CO_2 'li inkübatöre kaldırıldı. Y ve P ile muamele edilen gözlerdeki HSV-1 inokulasyonunun hücreler üzerinde gerçekleştirdiği sitopatik davranışlar ve herhangi bir madde ile baskı altına alınmayan, sadece HSV-1 dilüsyonları inokule edilen hücreler üzerinde oluşan sitopatik etkiler (CPE) her gün doku kültürü mikroskobu ile kontrol edildi. Test 72 saat sonunda sonlandırıldı. Testin sonlandırılmasıyla Y ve P ihtiva eden ve etmeyen kuyucuklarda ki HSV-1'in enfektif dozlarının tespiti için virusun %50 uç nokta titresi Frey ve Liess yöntemine göre hesaplandı (Frey ve Liess., 1971). Pleyt çalışma planı Şekil 3.2'de gösterildi.

Sulandırma katsayısı	Bileşenler ile muamele edilen HSV-1 sulandırmaları				Herhangi bir madde ile baskı altında olmayan HSV-1 sulandırmaları			
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								

8								
9								
10								
TestKontrol grupları								

Şekil 3-2: 96 kuyucuklu hücre kültür pleyti çalışma planı. HSV-1 üzerinde kullanılan bileşenlerin antiviral aktivitesi aynı virüs türünün herhangi bir antiviral etkinlik sergilemeyen grupta ki $DKID_{50}$. Yukarıda gösterilen çalışma planı Y ve P maddeleri için geçerlidir.



4.BULGULAR

4.1. Nanoemülsiyon Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

Bu tez çalışmasında hazırlanan nanoemülsiyonların ön formülasyon bulgularına ait veriler Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Nanoemülsiyon formülasyon çalışmalarına ait karakterizasyon verileri

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1	140,7	0,089	-34,7
F1P2	89,4	0,146	-41,7
F2P1	53,0	0,251	-28,2
F2P2	109,4	0,105	-35,2
F3P1	154,1	0,046	-32,0
F3P2	118,6	0,049	-33,4

4.1.1. Nanoemülsiyon Santifüj Testine Ait Bulgular

Nanoemülsiyonların santrifüj testine ait ölçüm sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4-2: Nanoemülsiyon santrifüj testi ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	ST	1.gün	ST	1.gün	ST
F1P1	140,7	263,4	0,089	0,217	-34,7	-42,63
F1P2	89,4	264,2	0,146	0,219	-41,7	-44,17
F2P1	53,0	63,9	0,251	0,279	-28,2	-21,10
F2P2	109,4	310,8	0,105	0,391	-35,2	-36,70
F3P1	154,1	302,7	0,046	0,349	-32,0	-40,70
F3P2	118,6	491,7	0,049	0,548	-33,4	-42,03

4.1.2. Nanoemülsiyon Termal Stabilite Test Sonuçları

Nanoemülsiyonların termal stabilite testine ait ölçüm sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4-3: Nanoemülsiyon termal stabilite testi ölçüm sonuçları

45°C

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1	140,7	390,2	0,089	0,198	-34,7	-39,7
F1P2	89,4	431,5	0,146	0,180	-41,7	-41,8
F2P1	53,0	64,9	0,251	0,167	-28,2	-37,0
F2P2	109,4	587,3	0,105	0,081	-35,2	-44,1
F3P1	154,1	400,4	0,046	0,226	-32,0	-42,3
F3P2	118,6	325,0	0,049	0,227	-33,4	-42,2

65°C

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1	140,7	376,1	0,089	0,179	-34,7	-38,9
F1P2	89,4	476,8	0,146	0,170	-41,7	-40,9
F2P1	53,0	72,2	0,251	0,159	-28,2	-36,7
F2P2	109,4	603,5	0,105	0,154	-35,2	-43,5
F3P1	154,1	368,5	0,046	0,285	-32,0	-42,2
F3P2	118,6	350,8	0,049	0,284	-33,4	-39,8

85°C

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1	140,7	398,6	0,089	0,154	-34,7	-40,2
F1P2	89,4	469,7	0,146	0,115	-41,7	-41,8
F2P1	53,0	98,5	0,251	0,055	-28,2	-38,2
F2P2	109,4	531,5	0,105	0,349	-35,2	-44,7
F3P1	154,1	299,4	0,046	0,396	-32,0	-39,9
F3P2	118,6	574,1	0,049	0,736	-33,4	-39,4

Tablo 4-4: Uzun süreli stabilite çalışmaları için seçilen formülasyon bileşenlerine ait tablo

(%a/a)	F1P1	F2P1
YAĞ FAZI		
Biberiye yağı	4,5	4,5
DL-alfa tokoferol asetat	0,2	0,2
Kaprılık/kaprik trigliserid	0,8	0,8
Sensiva® PA 30	2	2
Kosüfaktan (Transcutol HP)	2,50	2,50
SU FAZI		
Süfaktan (Quillaja Saponaria Wood Extract (ANDEAN QDP Ultra Organic))	1	2,00
Distile su	89	88

4.2. F1P1 ve F2P1 kodlu Nanoemüljellerin Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

F2P2 kodlu nanoemüljel için formülasyon bulguları Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4-5: F1P1 ve F2P1 kodlu nanoemüljellere ait karakterizasyon verileri

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)	PDI	Zeta Potansiyeli (mV)
F1P1(1:1)%1	120,1	0,245	-42,2
F1P1(1:1)%2	140,2	0,455	-57,7
F2P1(1:1)%1	134,9	0,199	-49,3
F2P1(1:1)%2	148,0	0,229	-58,7

4.2.1. Farklı Nanoemülsiyon ve Jel Konsantrasyonlarına Sahip F1P1 ve F2P1 Kodlu Nanoemüljellerin Santifüj Testine Ait Bulgular

Nanoemüljel F1P1 ve F2P1 için santifüj testine ait bulgular Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4-6: F1P1 ve F2P1 kodlu nanoemülgellerin santifüj testine ait ölçüm sonuçları

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	ST	1.gün	ST	1.gün	ST
F1P1(1:1)%1	120,1	123,2	0,245	0,234	-42,2	-51,20
F1P1(1:1)%2	140,2	144,2	0,455	0,434	-57,7	-64,83
F2P1(1:1)%1	134,9	118,8	0,199	0,235	-49,3	-64,07
F2P1(1:1)%2	148,0	145,2	0,229	0,221	-58,7	-60,93

4.2.2. F1P1 ve F2P1 Kodlu Nanoemülgellerin Termal Stabilite Testine Ait Bulgular

Nanoemülgel F1P1 ve F2P1 için termal stabilite testine ait bulgular Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: F1P1 ve F2P1 kodlu nanoemülgellerin termal stabilite testine ait ölçüm sonuçları

45°C

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1(1:1)%1	120,1	123,8	0,245	0,231	-42,2	-53,0
F1P1(1:1)%2	140,2	132,5	0,455	0,462	-57,7	-67,2
F2P1(1:1)%1	134,9	128,0	0,199	0,184	-49,3	-47,9
F2P1(1:1)%2	148,0	140,0	0,229	0,206	-58,7	-55,0

65°C

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1(1:1)%1	120,1	127,0	0,245	0,226	-42,2	-49,6
F1P1(1:1)%2	140,2	133,7	0,455	0,491	-57,7	-65,3
F2P1(1:1)%1	134,9	129,2	0,199	0,226	-49,3	-57,0
F2P1(1:1)%2	148,0	146,1	0,229	0,220	-58,7	-60,9

85°C

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1(1:1)%1	120,1	147,7	0,245	0,281	-42,2	-50,7
F1P1(1:1)%2	140,2	180,4	0,455	0,440	-57,7	-61,1
F2P1(1:1)%1	134,9	151,4	0,199	0,243	-49,3	-48,7
F2P1(1:1)%2	148,0	191,2	0,229	0,240	-58,7	-53,1

4.2.3. Nanoemüljelerin pH ve İletkenlik Ölçümlerine Ait Bulgular

Nanoemüljelerin pH ve iletkenlik ölçümlerine ait sonuçlar Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4-8: Nanoemüljelerin pH ve iletkenlik ölçümlerine ait bulgular

Formülasyon Kod	pH				İletkenlik (μS)			
	1. gün	1. ay			1. gün	1. ay		
		5°C±2	25°C±2	40°C±2		5°C±2	25°C±2	40°C±2
F1P1(1:1)%1	4,66	4,88	4,85	4,81	699	636	766	703
F2P1(1:1)%1	4,63	4,77	4,72	4,71	864	828	825	890
F2P1(1:1)%2	4,79	4,87	4,81	4,70	937	1060	1150	1410

4.2.4. 1:1 Oranında Nanoemülsiyon ve Jel Karıştırma Oranlarına Sahip F1P1 ve F2P1 Kodlu Nanoemüljelerin Vizkozite Ölçümlerine Ait Bulgular

Karakterizasyon testleri kapsamında, seçilen nanoemüljelerin vizkozite ölçüm sonuçları Tablo 4.9-4.11’de verilmiştir.

Tablo 4-9: F1P1(1:1)%1 formülasyonunun viskozite ölçümlerine ait bulgular

HIZ (rpm)	1.gün		1. ay					
			4°C		25°C		40°C	
	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ
10	114,78	0,46	81,43	28,21	102,35	13,41	68,35	18,04
20	67,69	0,00	51,67	16,19	60,005	5,78	41,04	7,17
30	50,25	0,47	37,50	8,01	42,18	3,24	29,43	6,17
40	40,96	0,81	29,76	5,78	32,78	4,04	23,14	5,44
50	34,40	0,92	24,79	4,53	26,295	3,51	19,10	4,81
60	30,25	0,85	21,64	4,39	23,595	3,01	16,73	4,40
70	27,05	0,99	19,20	4,16	20,51	2,97	14,72	3,50
80	24,32	0,75	17,58	4,16	18,885	2,43	13,17	2,89
90	22,38	0,72	15,85	3,70	17,33	2,42	11,45	1,90
100	20,96	0,69	14,79	3,51	16,22	2,22	10,47	1,48

\bar{x} : 3 ölçümün ortalaması

σ : \bar{x} : 3 ölçümün standart sapması

Tablo 4-10: F2P1(1:1)%1 formülasyonunun viskozite ölçümlerine ait bulgular

HIZ (rpm)	1.gün		1. ay					
			4°C		25°C		40°C	
	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ
10	116,41	30,52	112,16	12,49	142,25	2,31	135,05	4,16
20	64,42	10,17	65,40	3,24	81,75	4,16	75,54	6,94
30	48,51	5,71	47,63	2,93	58,32	2,93	55,05	8,79
40	38,67	5,43	37,44	1,85	45,37	1,50	43,49	7,17
50	31,79	5,00	31,33	1,58	38,26	1,20	35,84	5,73
60	27,90	4,62	26,98	1,31	33,03	1,08	31,34	5,01
70	24,67	4,36	23,69	1,12	28,73	1,65	27,56	4,36
80	21,99	4,16	21,26	1,15	25,51	1,39	25,43	4,28
90	20,28	3,91	19,37	1,08	23,36	0,98	23,11	3,80
100	18,84	3,70	17,89	1,15	22,27	0,04	20,87	2,68

\bar{x} : 3 ölçümün ortalaması σ : \bar{x} : 3 ölçümün standart sapması

Tablo 4-11: F2P1(1:1)%2 formülasyonunun viskozite ölçümlerine ait bulgular

HIZ (rpm)	1.gün		1. ay					
			4°C		25°C		40°C	
	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ	\bar{x}	σ
10	298,88	24,05	285,72	25,90	324,71	8,78	300,84	44,39
20	167,43	9,71	146,99	12,25	178,87	4,16	176,09	9,94
30	122,19	2,93	104,97	7,86	126,99	3,23	125,25	6,94
40	98,26	0,69	82,57	5,08	99,49	2,19	99,33	5,90
50	81,69	2,50	68,54	3,71	83,00	1,94	82,27	4,99
60	70,36	2,08	59,19	3,08	71,40	1,85	70,47	4,70
70	61,85	1,71	52,23	2,91	62,79	1,72	61,34	4,16
80	55,18	1,39	46,52	2,66	56,45	1,44	55,47	4,33
90	50,25	1,29	42,15	2,47	51,52	1,54	50,22	3,60
100	46,47	1,34	38,85	2,22	47,84	1,53	46,47	3,47

\bar{x} : 3 ölçümün ortalaması σ : \bar{x} : 3 ölçümün standart sapması

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

Fizikokimyasal stabilite testleri kapsamında, F1P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%2 kodlu nanoemülgellerin 1. gün alınan damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçlarına ait bulgular Tablo 4.12’de gösterilmiştir.

Tablo 4-12: Nanoemülgellerin 1. gün damlacık boyutu, PDI, zeta potansiyeli ölçümlerine ait bulgular (n=3)

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı	PDI	Zeta Potansiyeli
F1P1(1:1)%1	120,1	0,245	-42,2
F2P1(1:1)%1	134,9	0,199	-49,3
F2P1(1:1)%2	148,0	0,229	-58,7

4.3.1. Nanoemülgel Ortalama Damlacık Boyutu 1 Aylık Ölçüm Sonuçları

Fizikokimyasal stabilite testleri kapsamında, F1P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%2 kodlu nanoemülgellerin 1 ay boyunca alınan damlacık boyutu ölçüm sonuçlarına ait bulgular Tablo 4.13’te gösterilmiştir.

Tablo 4-13: Nanoemülgellerin 1 aylık Ortalama Damlacık Çapı (nm) bulguları (n=3)

Formülasyon	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		
	1. ay		
	5°C±2	25°C±2	40°C±2
F1P1(1:1)%1	174,6	205,4	278,0
F2P1(1:1)%1	154,9	238,3	226,2
F2P1(1:1)%2	185,3	204,8	266,2

4.3.2. Nanoemülgellerin 1 Aylık Polidispersite İndeksleri (PDI) Bulguları

Fizikokimyasal stabilite testleri kapsamında, F1P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%2 kodlu nanoemülgellerin 1 ay boyunca alınan PDI ölçüm sonuçlarına ait bulgular Tablo 4.14’te gösterilmiştir.

Tablo 4-14: Nanoemülgellerin 1 aylık PDI bulguları (n=3)

Formülasyon	Polidispersite İndeksleri (PDI)		
	1. ay		
	5°C±2	25°C±2	40°C±2
F1P1(1:1)%1	0,193	0,273	0,432
F2P1(1:1)%1	0,201	0,229	0,208
F2P1(1:1)%2	0,360	0,432	0,483

4.3.3. Nanoemülgellerin 1 Aylık Zeta Potansiyeli (mV) Bulguları

Fizikokimyasal stabilite testleri kapsamında, F1P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%1, F2P1(1:1)%2 kodlu nanoemülgellerin 1 ay boyunca alınan zeta potansiyeli ölçüm sonuçlarına ait bulgular Tablo 4.15'te gösterilmiştir.

Tablo 4-15: Nanoemülgellerin 1 aylık Zeta Potansiyeli (mV) bulguları (n=3)

Formülasyon	Zeta Potansiyeli (mV)		
	1. ay		
	5°C±2	25°C±2	40°C±2
F1P1(1:1)%1	-53,8	-57,3	-56,9
F2P1(1:1)%1	-60,9	-58,2	-52,6
F2P1(1:1)%2	-57,4	-56,3	-51,5

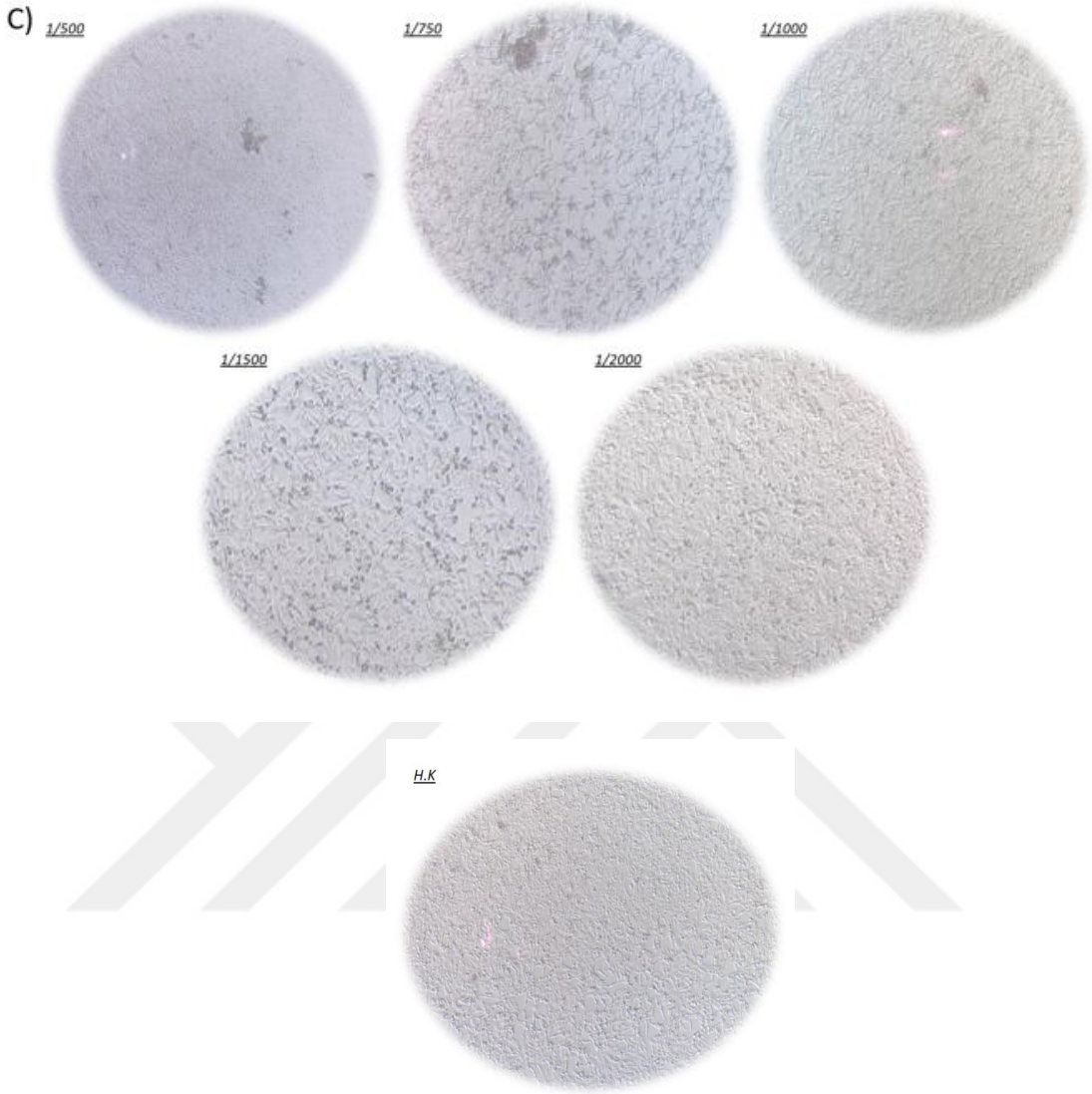
4.4. In Vitro Hücre Kültürüne Ait Bulgular

4.4.1. Y ve P Bileşenlerinin Vero Hücre Kültürü Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Mikroskop altında yapılan günlük incelemeler ile araştırılan maddelerin, sulandırma oranlarının hücre üzerine etkileri değerlendirmesi sonucunda çalışmada test edilen madde dilüsyonlarının (Y, biberiye yağı içeren F2P1 kodlu %1 ksantan jel içeren nanoemülgel ve P, biberiye yağı içermeyen plasebo nanoemülgel) hücreler üzerinde öldürücü [Letal doz (LD)] olduğu görülen aralık değerleri hepsinde $1/500 \geq LD_{(n)} > 1/1500$ olarak belirlendi. 1/1500 ve yüksek sulandırmalarda herhangi bir öldürücü etki görülmedi. Görseller Şekil 4.1 ve 4.2'de paylaşıldı.



Şekil 4-1: Y formülasyonu. Farklı dilüsyonların Vero hücre hattı üzerindeki etkilerinin 48saat mikroskop görüntüleri (Olympus IX71). 1/1500 ve 1/2000 dilüsyonlarında hücrelerde madde kaynaklı herhangi bir sitopatik etki (CPE) ve ortamda ölü hücre görülmemektedir.



Şekil 4-2: Plasebo (P). Farklı dilüsyonların Vero hücre hattı üzerindeki etkilerinin 48. Saat mikroskop görüntüleri (Olympus IX71). 1/1500 ve 1/2000 dilüsyonlarında hücrelerde madde kaynaklı herhangi bir sitopatik etki (CPE) ve ortamda ölü hücre görülmemektedir. H.K: Madde ihtiva etmeyen pleyt kuyucuğu.

4.4.2. CCK Test Verilerine Ait Bulgular

CCK-8 Test verileri ve inhibisyon konsantrasyon (IC) oranlarını gösteren sonuçlar Tablo 4.16'da sitotoksite eğrileri ise Şekil 4.3-4.4'te paylaşıldı.

regression” modeli (r: 0,985506). Y eksenini IC oranını, X eksenini ise P dilüsyon katsayısı ifade etmektedir. 1/2000 dilüsyon oranı formülasyonda IC_{54,37} şeklinde bulundu.

Yapılan analiz hesaplamaları ve mikroskop altındaki değerlendirmeler sonucunda antiviral çalışma konsantrasyonunun 1/2000 dilüsyonunda olmasına karar verildi.

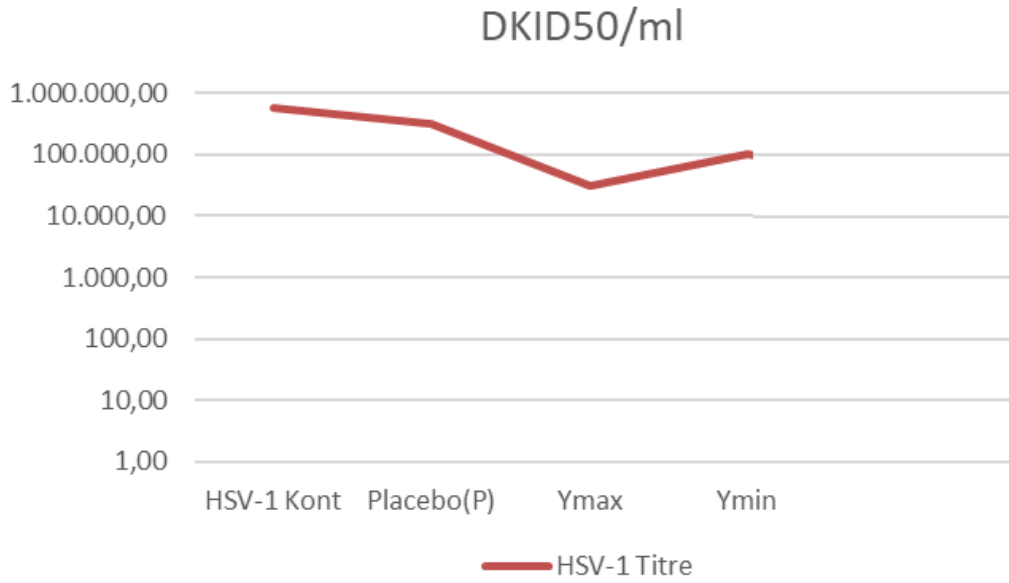
4.4.3. Formülasyonların HSV-1 Üzerindeki Antiviral Aktivitesine Ait Bulgular

Antiviral çalışma için gerçekleştirilen virus titrasyon test sonuçları ve hesaplanan Doku infektif doz 50 (DKID₅₀) değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.17’de gösterilmiştir. Bileşenlerin antiviral aktiviteleri değerlendirildi ve mikroskop görüntüleri Şekil 4.6 ve 4.7’de gösterildi. Formülasyonların herhangi bir bileşen ile muamele edilmeyen HSV-1 grubu ile kıyaslamalı antiviral aktivitesine ait logaritmik ölçek grafiği (Log 10) Şekil 4.5’te gösterildi.

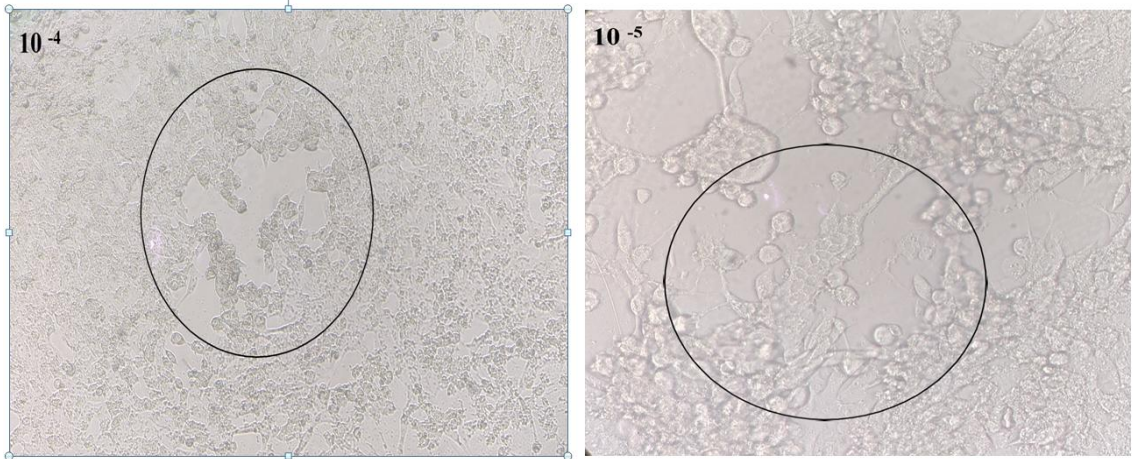
Tablo 4-17: Antiviral çalışma için gerçekleştirilen virus titrasyon test sonuçları ve hesaplanan Doku infektif doz 50 (DKID₅₀) değerleri

Çalışmada Kullanılan Bileşikler ve HSV-1 Kontrol Grubu	Son CPE Sulandırması	Viral Yük (DKID ₅₀ / ml)
Y + HSV-1	4.sulandırma = 4/4	1x10 ^{4,5}
Plasebo (P) + HSV-1	5.sulandırma = 3/4 6.sulandırma = 1/4	1x10 ^{5,5}
Madde Baskısı Altında Olmayan HSV-1	5.sulandırma = 4/4 6.sulandırma = 1/4	1x10 ^{5,75}

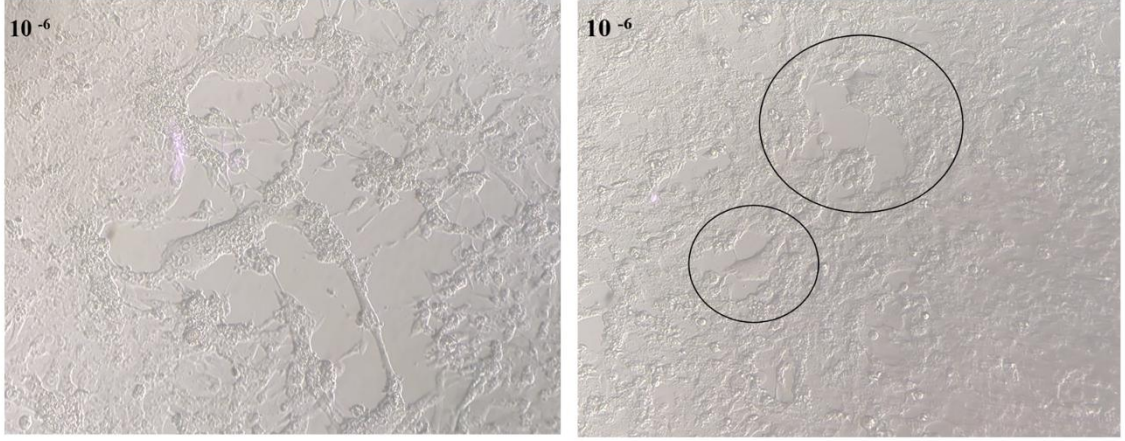
Tablo 4.10’deki verilere göre herhangi bir bileşen ile muamele edilmeyen HSV-1’in viral yüküne kıyasla 1/2000 dilüsyonla Y’nin 17,78 kat oranlarında virus titresinde azalma sağladığı hesaplandı.



Şekil 4-5: Formülasyonların herhangi bir bileşen ile muamele edilmeyen HSV-1 grubu ile kıyaslamalı antiviral aktivitesi. Grafik logaritmik ölçek (Log 10) kullanımı ile çizilmiştir.



Şekil 4-6: Y 10^{-4} son sulandırma gözünde görülen plak ve CPE alanları(x160). Ymin 10^{-5} son sulandırma gözünde görülen plak alanları ve çember içerisinde gösterilen sinsityal hücre formu(x160).



Şekil 4-7: Soldaki resim bileşen ile muamele edilmeyen HSV-1'in titrasyon testinde CPE gösteren son sulandırma katsayısı görüntüsü (x160). Sinsityal hücre formları net bir şekilde görülmektedir. Sağdaki resim Placebo(P) kullanılan HSV-1'in titrasyon testinde CPE gösteren son sulandırma katsayısı görüntüsü. Çember içerisinde gösterilen alanlarda sinsityal hücre formu ve plak oluşumları görülmektedir(x100).

5. TARTIŞMA

Herpes simpleks virüsü (HSV) insan sağlığı üzerinde önemli bir tehdit oluşturan bir patojendir. HSV-1, genellikle yüzeysel enfeksiyonlara yol açarken, HSV-2 genital enfeksiyonlara neden olur ve her iki virüs de, vücuttaki latent dönemi sırasında tekrarlayan enfeksiyonlara yol açarak hastalık yönetimini zorlaştırmaktadır. HSV'nin tedavisinde günümüzde en yaygın kullanılan ilaçlar, viral DNA polimerazı inhibe ederek virüsün çoğalmasını engelleyen asiklovir gibi nükleozid analoglarıdır. Bununla birlikte, bu ilaçların bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda etkinliği sınırlıdır ve tedaviye karşı gelişen direnç, özellikle uzun süreli tedavi gereksinimlerinde büyük bir sorun teşkil etmektedir. Bu durum, yeni antiviral ajanların keşfini ve geliştirilmesini kaçınılmaz kılmaktadır (Whitley, 2001)

Bitkisel ilaçlar, geleneksel tedavilerin yetersiz kaldığı durumlarda alternatif bir seçenek sunmaktadır. Özellikle, biberiye (*Rosmarinus officinalis*) uçucu yağları, antiviral etkileri ile dikkat çekmektedir. Biberiye, polifenolik bileşenleri sayesinde hem antioksidan hem de antibakteriyel özellikler sergilerken, son yıllarda yapılan çalışmalarda HSV'ye karşı da etkinliği gösterilmiştir. Biberiyenin içerdiği aktif bileşenlerin, virüslerin çoğalmasını inhibe ederek, tedavi sürecini hızlandırabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca, biberiye yağının düşük yan etkileri, bu bitkisel bileşenlerin antiviral tedavilerde güvenli bir seçenek olarak kullanılabilmesini göstermektedir (Shahneh, 2013).

Günümüzde, biberiye uçucu yağlarının etkinliğini artırmak ve tedavi edici özelliklerini optimize etmek için modern formülasyon teknolojileri kullanılmaktadır. Nanoemülsiyonlar (NE'ler), aktif bileşenlerin cilt üzerine daha etkin bir şekilde taşınmasını sağlamak ve biyoyararlanımını artırmak için potansiyel taşıyıcılar olarak öne çıkmaktadır. NE'lerin yüksek yüzey alanı, aktif bileşenlerin cilt katmanlarına derinlemesine nüfuz etmesini sağlayarak, tedavi edici etkilerin maksimuma çıkmasını mümkün kılmaktadır. Ayrıca, NE'lerin cilt bariyer fonksiyonunu destekleyerek transepidermal su kaybını azaltmaları, cilt sağlığını artıran ve tedavi sürecini hızlandıran bir avantaj sunmaktadır (Jaiswal, 2015).

Son yıllarda sürdürülebilirlik anlayışının artan önemi, farmasötik ve kozmetik endüstrilerinde kullanılan bileşenlerin doğal ve çevre dostu kaynaklardan elde edilmesi yönünde büyük bir dönüşüm yaratmıştır. Özellikle NE'lerin formülasyonunda kullanılan sentetik emülgatörlerin, doğal emülgatörlerle değiştirilmesi konusunda önemli bir eğilim

ortaya çıkmıştır. Bu değişim, çevresel etkiyi azaltma ve insan sağlığına zarar verme potansiyelini minimuma indirme amacı taşımaktadır (Sharma, 2018).

Saponinler bitkilerde yaygın olarak bulunan geniş bir glikozit grubudur. Genellikle triterpenoid ve steroid saponinler olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadırlar (Abe, 1993). Bir veya daha fazla monosakkarit parçasıyla birleştirilmiş polar olmayan aglikonlardan oluşurlar (Oleszek W. A., 2002). Moleküllerindeki polar ve polar olmayan yapısal elementlerin bu kombinasyonu, sulu çözeltilerdeki sabun benzeri davranışlarını açıklamaktadır (Jean-Paul, 2007). Saponin bakımından zengin türlerin birçoğunun adı bu özelliklerinden türetilmiştir. Örnek olarak sabunotu (*Saponaria officinalis*), sabunkökü (*Chlorogalum pomeridianum*), sabun kabuğu (*Quillaja saponaria*), sabun meyvesi (*Sapindus saponaria*) veya sabun fıstığı (*Sapindus mukurossi*) verilebilir (Hostettmann, 1995).

Saponinler yüksek yüzey aktivitesine sahiptir ve yağ/su arayüzünün arayüzey gerilimini etkili bir şekilde azaltabilmektedirler. Saponinlerin bu özelliği emülsiyonların hazırlanmasında kullanılabilir ve stabilizasyonlarına yardımcı olur. Bazı saponinler (Aescin, GA, Glisirizik saponin özü, Camellia saponinleri ve QS) potansiyel olarak etkili emülsiyon stabilizatörleridir (Hajimohammadi, 2017; Jarzëbski, 2019).

Saponinlerin çözündürülmesindeki, biyoyararlanımın iyileştirilmesindeki ve toksisitenin azaltılmasındaki rolü, saponinlerin çeşitliliği ve bunların diğer yüzey aktif maddelerle birlikte kullanımı ile birleştiğinde, onları birçok alan için potansiyel olarak önemli kılmaktadır. Bu nedenle, saponinlerin ilaç taşıyıcıları olarak sonsuz olasılıkları vardır ve saponinlerin yüzey aktif maddelerinin işlevleri ve uygulamaları İTS geliştirmek için daha fazla araştırılabilir (Liao, 2021).

Biberiye uçucu yağlarının nanoemüljel formülasyonlarındaki potansiyel kullanımı, HSV-1 tedavisinde önemli bir yenilik olabilir. Yapılan çalışmalar, NE'lerin, biberiye yağının etkinliğini artırarak, viral enfeksiyonların tedavisinde yeni bir yol açabileceğini göstermektedir. Ayrıca, NE'ler ciltteki emilim oranını artırarak, antiviral bileşenlerin cilt yüzeyine etkili bir şekilde dağılmasını sağlar ve tedavi sürecini hızlandırır. Bu formülasyonların, özellikle topikal uygulamalarda, hastaların tedaviye uyumunu artıracak ve daha hızlı sonuçlar elde edilecek şekilde geliştirilmesi mümkündür.

Biberiye uçucu yağları içeren nanoemüljel formülasyonlarının geliştirilmesi, HSV-1 tedavisinde potansiyel bir alternatifi sunmakla kalmayıp, aynı zamanda bitkisel ilaçlar ile modern farmasötik teknolojilerin birleşimini simgelemektedir. Bununla birlikte, bu tür formülasyonların etkinliği, uzun dönemli klinik çalışmalarda doğrulanmalı ve optimal dozaj, uygulama sıklığı gibi faktörlerin belirlenmesi gereklidir.

Sonuç olarak, HSV-1 tedavisinde biberiye uçucu yağları içeren nanoemüljel formülasyonlarının geliştirilmesi, daha etkili, düşük yan etkili ve hasta uyumunu artıran bir tedavi seçeneği sunabilir. Bununla birlikte, bu potansiyelin tam anlamıyla gerçekleştirilmesi için kapsamlı araştırmaların ve klinik çalışmalara dayalı verilerin ortaya konması büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında, HSV-1 üzerinde topikal uygulamaya yönelik biberiye (*Rosmarinus Officinalis*) uçucu yağını içeren nanoemüljel formülasyonları geliştirilmiş, karakterizasyon çalışmaları yürütülmüş ve nihai formülasyonların etkinliği araştırılmıştır.

Çalışmamızda formülasyonun yağ fazı biberiye uçucu yağı, DL-alfa tokoferol asetat, kaprilik/kaprik trigliserid, Sensiva PA 30 ve kosurfaktan (Transcutol HP), su fazı ise sürfaktan (ANDEAN QDP Ultra Organic) ve distile sudan oluşmaktadır.

DL-alfa tokoferol asetat, vitamin E'nin en stabil türevi olup, kozmetik ve farmasötik formülasyonlarda sıkça kullanılmaktadır (Keen, 2016). Sensiva PA 30 ise kozmetik ürünlerde etkinliği ile bilinen bir koruyucudur. Transcutol HP, nanoemülsiyon ve nanoemüljel formülasyonlarda kullanılan etkili bir kosurfaktan ve penetrasyon artırıcı madde olarak öne çıkar.

Çalışmada kullanılan ANDEAN QDP Ultra Organic yüzey aktif maddesi, NE'lerin stabilizasyonunda kritik rol oynar. Bu doğal ekstrakt, yüksek saponin içeriği sayesinde güçlü yüzey aktif özelliklere sahiptir ve bu nedenle NE formülasyonlarında emülgatör ve stabilizatör olarak kullanılmaktadır. Saponinler, hem hidrofilik hem de lipofilik özelliklere sahip olduklarından, yağ ve su fazlarını stabilize ederek küçük damlacık boyutlarının korunmasına yardımcı olur. Ayrıca, Quillaja Saponaria ekstraktı, ciltle uyumlu doğal bir bileşen olup, kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde güvenle kullanılabilir. Bu özellikleri sayesinde ANDEAN QDP Ultra Organic, kozmetik, dermokozmetik ve farmasötik NE sistemlerinde doğal ve etkili bir stabilizatör/emülgatör olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, Transcutol® HP yardımcı yüzey etken maddesi de, cilt penetrasyonunu artıran ve formülasyonun etkinliğini destekleyen bir bileşen olarak

kullanılmıştır. Bu yardımcı yüzey etken maddesi, taşıyıcı bileşiklerin cilt tarafından daha iyi emilmesini sağlar.

Çalışmamızda kullanılan NE hazırlama yöntemi olan ultrasonikasyon, yüksek enerji gerektiren ve etkili bir teknik olarak bilinir. Bu yöntem, özellikle NE'lerin stabilitesini ve etkinliğini artırmak için sıklıkla tercih edilmektedir. Ultrasonikasyon süresi, NE'lerin fiziksel özelliklerini doğrudan etkileyebilir. Sonikasyon süresi ve uygulama süreleri, damlacık boyutu, dağılımı ve zeta potansiyeli gibi parametrelerle ilişkilidir (Özgün, 2013). Çalışmamıza NE hazırlama yöntemi olarak yüksek enerji gerektiren ultrasonikasyon yöntemiyle başlanmıştır. Sonikasyon süresi, yüzey aktif maddelerin damlacık yüzeyine adsorpsiyon hızını ve yeni oluşan damlacıkların boyut dağılımını etkileyebilen önemli bir parametre olduğundan bu çalışmada, sonikasyon süresinin ortalama damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla iki farklı sonikasyon süresi (10 dakika ve 20 dakika) kullanılmıştır.

NE'lerin jelleştirilmesi için kullanılan ksantan zankı, doğal bir polisakkarit olan ve yüksek moleküler ağırlığa sahip bir bileşiktir. NE'lerin topikal uygulamalara uygun hale getirilmesinde, ksantan zankı önemli bir rol oynar. NE'lerin jelleştirilmesi, formülasyonun viskozitesini artırarak uygulama sırasında akışkanlığını kontrol eder ve ciltte daha uzun süre kalmasını sağlar. Bu, aktif bileşenlerin hedef bölgeye daha etkili bir şekilde iletilmesine yardımcı olur. Ayrıca, ksantan zankı, emülsifiye edici ve reolojik özellikleri sayesinde formülasyonun stabilitesini artırır. Ksantan zankının doğal yapısı ve biyouyumluluğu, onu topikal formülasyonlarda güvenilir bir bileşen haline getirir (Chemsino, 2024). Bu özellikleri sayesinde, ksantan zankı içeren nanoemüljeller, ciltle uyumlu, stabil ve etkili topikal ürünlerin geliştirilmesine katkıda bulunur.

Santrifüj testi, formülasyonların fiziksel stabilitelerini değerlendirmenin en yaygın yollarından biridir. NE'leri santrifüjleme, formülasyonların olası ayrışma veya bozunma durumlarının önceden belirlenmesine yardımcı olabilir. Santrifüj testi, formülasyonların yoğunluk farklarına dayalı olarak ayrılmasını veya fazlara bölünmesini değerlendirir. Bu test, formülasyonların fiziksel stabilitelerini test eder ve formülasyondaki faz ayrılmalarını gözlemlemeye yardımcı olur. Santrifüj testini başarıyla geçen stabil formülasyonların pH, iletkenlik, ortalama damlacık boyutu, Polidispersite İndeksi (PDI), zeta potansiyeli ve viskozite ölçümleri yapılarak karakterizasyonu yapılmıştır.

Stabilite açısından uygun bulunan formülasyonlar seçilerek fizikokimyasal stabilite testlerine tabi tutulmuştur. 1 ay süresince farklı saklama koşullarında; oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, %65 bağıl nem), buzdolabında ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$) ve iklimlendirme kabininde ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$, %75 bağıl nem) muhafaza edilen formülasyonlar belirli zaman aralıklarında (1. gün, 1. ay) değerlendirilmiştir. Bu süreçte, formülasyonların pH, iletkenlik, viskozite, ortalama damlacık çapı, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli gibi fizikokimyasal parametreleri analiz edilmiştir.

pH analizi, formülasyonun stabilitesini değerlendirmede kritik bir parametredir. Nanoemüljelerde meydana gelebilecek pH değişimleri, kimyasal reaksiyonların gerçekleştiğini ve ürün kalitesinin azaldığını gösterebilir. Çalışmamız kapsamında, oda sıcaklığı, buzdolabı koşulları ve iklimlendirme kabininde 1 ay boyunca bekletilen formülasyonların pH değerlerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir, bu da formülasyonların kimyasal stabilitesinin korunduğunu göstermektedir.

İlk gün yapılan analizlerde, formülasyonların nanometrik boyutta olduğu ve uygun PDI değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. 1. ay itibarıyla gerçekleştirilen stabilite testlerinde, formülasyonların farklı ortam koşullarında ortalama damlacık çapında belirli artışlar gözlenirse de nanoemülsiyon sistemlerinin genel stabilitesinin korunduğu görülmüştür.

Hızlandırılmış stabilite testleri sonucunda, formülasyonlarda faz ayrımı, koalesans ve kremalaşma gibi kararsızlık belirtilerine rastlanmamıştır. Ayrıca, pH analizleri formülasyonların kimyasal stabilitesinin korunduğunu göstermiştir. Nanoemüljel sistemlerin uzun süreli stabilite açısından uygun olduğu, özellikle oda sıcaklığı ve düşük sıcaklık koşullarında daha kararlı bir yapı sergilediği belirlenmiştir. Yüksek sıcaklıkta bazı formülasyonlarda partikül boyutunda artış ve PDI değerlerinde yükselme gözlenirse de, bu değişikliklerin büyük ölçüde kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu sonucuna varılmıştır.

Hızlandırılmış stabilite testleri sonucunda, hazırlanan formülasyonlarda kolloidal sistemlerde yaygın olarak karşılaşılan koalesans, kremalaşma ve faz ayrımı gibi herhangi bir stabilite problemi gözlemlenmemiştir. Bu bulgular, formülasyonların zorlu koşullarda bile fizikokimyasal stabilitesini koruyabildiğini ve hızlandırılmış stabilite testlerine dayanıklı olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmada, in-vitro sitotoksosite ve antiviral etkinlik testleri için Herpes Simplex-1 (HSV-1) Kos suşu ile Vero hücre kültürü kullanılmıştır. Çalışma kapsamında, test

edilen maddelerin hücre kültürü üzerindeki etkileri mikroskopik gözlemler ve CCK-8 hücre proliferasyon ve sitotoksinite kiti kullanılarak iki farklı yöntemle değerlendirilmiştir. Sonuçlar, inhibisyon konsantrasyonu (IC) olarak belirlenmiştir.

Madde dilüsyonlarının hücreler üzerinde öldürücü etkisini belirlemek amacıyla yapılan doz çalışmalarında, her bir madde için letal doz (LD) aralıkları $1/500 \geq LD(n) > 1/1500$ olarak saptanmıştır. $1/1500$ ve daha düşük sulandırmalarda, hücrelerde herhangi bir öldürücü etki gözlemlenmemiştir. Y ve P formülasyonları, $1/1500$ ve $1/2000$ dilüsyonlarında hücrelerde sitopatik etki (CPE) ya da ölü hücre gözlemi yapılmamıştır. Bu nedenle, antiviral test için uygun konsantrasyon olarak $1/2000$ dilüsyonu seçilmiştir.

Antiviral etkinlik değerlendirilmesinde, IC50 değeri, viral yükü %50 oranında baskılayan madde miktarını ifade ederken, CC50 değeri ise hücre proliferasyonunu %50 oranında inhibe eden madde miktarını belirtir. Ayrıca, selektif indeks (IS), CC50/IC50 oranı ile hesaplanır ve ideal bir ilaçta bu değer 100 ve üzeri olması beklenir. Bu oran kanser araştırmalarında 3 ve üzeri değerlerde dikkate alınabilir, ancak IS değeri 1'den küçük olmamalıdır.

Antiviral etkinlik oranları, virüs inhibisyonu formülü ile hesaplanmıştır: % inhibisyon = $[(V_0 - V_t) / V_0] \times 100$. $1/2000$ dilüsyonunda, Y formülasyonu %94,37 oranında bir azalma göstererek viral yükü 17,78 kat düşürmüştür. Bu sonuçlar, virüsün enfektifite gücünde, belirlenen dilüsyon oranlarında anlamlı bir azalma olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada, antiviral etkinliği gösteren optimal konsantrasyon $1/2000$ dilüsyon olarak belirlenmiş olup, bu değer IC50'den daha yüksek antiviral etkinlik göstermektedir. Y formülasyonumuz için IC50 değeri %94,37 olarak tespit edilmiştir ve bu bulgu, literatürdeki birçok çalışmayla uyumlu kabul edilebilir.

Bununla birlikte, çalışmada kullanılan formülasyonlar HSV-1 enfekte olmuş dokulara topikal uygulama için tasarlanmıştır. Topikal uygulama ile kullanılan bileşenlerin genellikle daha yüksek konsantrasyonlarda etkili olabilmesi muhtemeldir.

$1/2000$ dilüsyonundaki antiviral etkinlik, in-vivo çalışmalarda daha yüksek konsantrasyonlarla daha fazla aktivite gösterebilir. Konsantrasyon arttıkça antiviral etkinliğin de artması beklenmektedir.

Bu araştırma sonucunda, incelenen uçucu yağ formülasyonunun HSV-1 üzerinde inhibitör bir etkisi olduğu ve bu nedenle anti-HSV-1 tedavisinde kullanılabilecek bir potansiyele sahip olduğu sonucuna varılabilir.

KAYNAKLAR

- Abe, I. R. (1993). Enzymatic cyclization of squalene and oxidosqualene to sterols and triterpenes. *Chemical reviews*, 93(6), 2189-2206.
- Alaa R. Azeez, M. A. (2021). NANOEMULGEL AS A RECENT DRUG DELIVERY SYSTEM. *Mil. Med. Sci. Lett. (Voj. Zdrav. Listy)*, 90, 1-12.
- Aldo Pourchet, A. S. (2017). Modeling HSV-1 Latency in Human Embryonic Stem Cell-Derived Neurons. *Pathogens* (Cilt 6(2), 24). içinde
- Aleksandar Rašković, I. M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *14:225*.
- Al-Sabagh AM, E. M.-D. (2011). Formation of water-in-diesel oil nano-emulsions using high energy method and studying some of their surface active properties. *Egypt J Pet*, 20: 17–23.
- Anand K, R. S. (2019). Nano-emulgel: Emerging as a Smarter Topical Lipidic Emulsion-based Nanocarrier for Skin Healthcare Applications. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* , 14(1):16–35.
- Anton N, B. J.-P. (2008). Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates – a review. *J Control Release*, 128:185–199.
- Anton N, V. T. (2011). Nano-emulsions and microemulsions: clarifications of the critical differences. *Pharm Res*, 28:978–985.
- Arduino PG, P. S. (2008). Herpes Simplex Virus Type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. *37(2):107-21*.
- Ashutosh M. Najan, D. N. (2022). Nanoemulsion: Formulation Techniques, Evaluation, Characterization And Application. *Journal of Survey in Fish*, 9(1) 207-213.
- Bhatt P, M. S. (2011). Detailed Review on Nanoemulsion Drug Delivery System. *Int J Pharm Sci Res.* , 2(10):2482.
- Bhura R, B. K. (2015). Formulation and evaluation of topical nano emulgel of adapalene. *. World J Pharm Pharm Sci.* , 3:1013–24.
- Boonme P, J. V. (2009). Microemulsions and nanoemulsions: novel vehicles for whitening cosmeceuticals. *J Biomed Nanotechnol.*, 5:373–383.
- Bourgeois, A. L. (2017). Immunomodulatory and anti-inflammatory properties of saponins. *31(5)*, 648-657.
- Capon, R. J. (2010). Bioactive saponins from the genus *Alkanna*. *73(8)*, 1327-1333.

- Chaudhari PM, K. M. (2018). Development And Evaluation of Nanoemulsion as Carrier for Topical Delivery System by Box-Behnken Design. . *Asian J Pharm Clin Res.*, 11:286–93. .
- Chellapa P, M. A. (2015). Nanoemulsion and Nanoemulgel as A Topical Formulation. *IOSR J Pharm.* , 5(10):43–7.
- Chellapa, P., Ariffin, F., & Issa, Y. (2016). Nanoemulsion for cosmetic application Biomedical European of AND Pharmaceutical sciences. *Eur. J. Biomed. Pharm. Sci.*, 3, 8–11.
- Chemsino.* (2024). [https://tr.cnadditives.com/info/xanthan-gum-e415-is-this-food-additive-health-98319705.html?utm_source=adresinden alındı](https://tr.cnadditives.com/info/xanthan-gum-e415-is-this-food-additive-health-98319705.html?utm_source=adresinden%20alındı)
- Costa R, S. L. (2017). Delivery systems for cosmetics – from manufacturing to the skin of natural antioxidants. *Powder Technol.*, 322:402–416.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents . *12(4)*, 564-582.
- de Oca-Ávalos JMM, C. R. (2017). Nanoemulsions: Stability and physical properties. *Curr Opin Food Sci.* , 16:1–6.
- Devarajan V., R. V. (2011).
- E. Derwich, Z. B. (2011). AROMATIC AND MEDICINAL PLANTS OF MOROCCO: CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS OF *Rosmarinus officinalis* AND *Juniperus Phoenicea*. 2.
- Frey HR., L. B. (1971). Vermehrungskinetik und verwendbarkeit eines stark zytostatogenen VDMD-Virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode. *Zbl. Vet. Med.*, 18, 61.
- Gadhawe, A. (2014). Nanoemulsions: Formation, Stability and Applications. *Int J Res Sci Adv Technol*, 3(2):38–43.
- Gavanji, S. (2015). Antiviral activity of some plant oils against herpes simplex virus type 1 in Vero cell culture. *Journal of Acute Medicine* 5, 62-68.
- Guglielmini, G. (2008). Nanostructured novel carrier for topical application. *Clin. Dermatol.*, 26, 341–346.
- Gurpreet K, S. S. (2018). Review of Nanoemulsion Formulation and Characterization Techniques. *Indian J Pharm Sci.*, 80(5):781–9.
- Hajimohammadi, R. H. (2017). Experimental design procedure for optimization of saponin extraction from *Glycyrrhiza glabra*: a biosurfactant for emulsification of heavy crude oil. *Tenside Surfactants Detergents*, 54(4).

- Hamed, R. (2024). Recent Advances in Microneedling-Assisted Cosmetic Applications. *MDPI*, 11(2), 51.
- Han, Y. e. (2013). Saponins as potential cholesterol-lowering agents. *61(18)*, 4244-4252.
- Hoar T, S. J. (1943). Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle. *Nature*, 152:102.
- Hostettmann, K. &. (1995). Chemistry and pharmacology of natural products . *Cambridge: Cambridge University Press.*, (Vol. 548, pp. 326-327).
- <https://my.clevelandclinic.org/health/body/10978-skin>. (tarih yok).
- Hussain, S. e. (2017). Anti-inflammatory effects of saponins: A review. *16(5)*, 869-880.
- Hülya İlyasoğlu, S. N. (2010). Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, Yapıları ve Kollodial Salınım Sistemleri Olarak Gıda Sektöründe Kullanım Alanları. *Dergipark*, Cilt: 35 Sayı: 2, 143 - 150.
- İlkay Erdoğan Orhan, B. Ö. (2012). Antimicrobial and antiviral effects of essential oils from selected Umbelliferae and Labiatae plants and individual essential oil components. *239-246*.
- İlkin Yücel Şengül, B. Ö. (2018). BİTKİSEL KAYNAKLI BAZI DOĞAL ANTİMİKROBİYALLER. *7*, 256 - 276.
- J. Xu, D. M. (2018). Physicochemical properties and storage stability of soybean protein nanoemulsions prepared by ultra-high pressure homogenization. *Food Chemistry*, 240 (2018), pp. 1005-1013.
- J.Eastoe. (2003). Surfactant chemistry. *Bristol (UK): University of Bristol; Available from: http://www.chm.bris.ac.uk/eastoe/Surf_Chem/Surfactant.htm*, Chapter 3, Microemulsions.
- Jaiswal, M. D. (2015). Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech*, 5(2), 123–127.
- Jarzębski, M. S.-C. (2019). Aesculus hippocastanum L. extract as a potential emulsion stabilizer. *Food hydrocolloids*, 97, 105237.
- Jasmina H, D. O. (2017). Preparation of nanoemulsions by high-energy and lowenergy emulsification. *J Pharm Sci.*, 106(7):1736-51.
- Jasmina H, D. O. (2017). Preparation of nanoemulsions by high-energy and lowenergy emulsification methods. . *In: CMBEBIH. Springer 2017*, p. 317–22.
- Jean L. Bologna, J. L. (2012). Dermatology. *Elsevier Health Sciences*.

- Jean-Paul, V. L. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68.
- Kale SN, D. S. (2016). Emulsion micro emulsion and nano emulsion: a review. *Syst Rev Pharm.*, 8: 39–47.
- Katz LM, D. K. (2015). Nanotechnology in cosmetics. . *Food Chem Toxicol.*, 85:127–137.
- Keen, M. A. (2016). Vitamin E in dermatology. *Indian dermatology online journal*, 7(4), 311.
- Khurana S, J. N. (2013). Nanoemulsion based gel for transdermal delivery of meloxicam: physicochemical, mechanistic investigation. *Life Sci.*, 92(6–7):383–92.
- Knipe, D., & Howley, P. (2013). Fields Virology. ; *Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia* (Cilt 6th ed.); içinde
- Kong M, C. X. (2011). Investigations on skin permeation of hyaluronic acid based nanoemulsion as transdermal carrier. *Carbohydr Polym.* , 86:837–843.
- Kong, R. Z. (2018). Atorvastatin calcium inclusion complexation with polysaccharide arabinogalactan and saponin disodium glycyrrhizate for increasing of solubility and bioavailability. *Drug Delivery and Translational Research*, 8; 1200-1213.
- Kotta S, K. A. (2015). Formulation of Nanoemulsion: A Comparison Between Phase Inversion Composition Method and High-Pressure Homogenization Method. *Drug Deliv.* , 22(4):455–66.
- Kumar M, B. R. (2019). Techniques for formulation of nanoemulsion drug delivery system: a review. . *Prev Nutr food Sci.*, 24(3):225.
- Lauren A. Sadowski, R. U. (2021). Current Drugs to Treat Infections with Herpes Simplex Viruses-1 and -2. *Viruses* (Cilt 13, 1228). içinde
- Lawton, S. (2019). Skin 1: the structure and functions of the skin. *Nursing Times [online]*, 115, 12, 30-33.
- Leong TSH, W. T. (2009). Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrason Sonochem.* , 16(6):721–7.
- Liao, Y. L. (2021). Saponin surfactants used in drug delivery systems: A new application for natural medicine components. *International journal of pharmaceutics*, 603, 120709.
- Malay NJ, C. P. (2018). Nanoemulgel innovative approach for topical gel based formulation. *Nanoemulgel Innov approach Top gel based Formul.*

- Mansour, H., Rhee, Y.-S., & Wu, X. (2009). Nanomedicine in pulmonary delivery. *Int. J. Nanomedicine*, 4, 299–319.
- Maruno M, R.-F. P. (2009). O/W Nanoemulsion after 15 years of preparation: a suitable vehicle for pharmaceutical and cosmetic applications. *J Dispers Sci Technol.*, 31:17–22.
- Masato Minami, M. K. (2003). The Inhibitory Effect of Essential Oils on Herpes Simplex Virus Type-1 Replication In Vitro. *47(9)*, 681–684.
- Mason T.G., W. J.-6. (2006).
- Mason TG, W. J. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *J Phys: Condens Matter*, 18: R635–R666.
- Mayer S, W. J. (2013). Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: factors influencing droplet size and stability. *J Colloid Interface Sci.*, 402:122–130.
- McClements, D. J. (2016). Natural emulsifiers—Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and interface Science*, 234, 3-26.
- Mehdi Shabani, B. N. (2019). Inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by novel hsa-miR-7704 in vitro. *14(2)*: 167-174.
- Nagel, M., Choe, A., Traktinskiy, I., & Gilden, D. (2015). Burning mouth syndrome due to herpes simplex virus. *BMJ Case Rep.* içinde
- Ngan CL, B. M. (2014). Comparison of Box–Behnken and central composite designs in optimization of fullerene loaded palm-based nano-emulsions for cosmeceutical application. *Ind Crops Prod*, 59:309–317.
- Nielloud, F. (2003). Current Galenical Research Challenges In Human Dermatology: Application for The Development of Products for Sensitive and Atopic Skin, Virbac Symposium.
- Nishi T, G. G. (2012). Nanoemulsions: A Review on Various Pharmaceutical Applications. *Glob J Pharmacol*, 6(3):222–5.
- Nitulescu, G. (2023). Ultraviolet Filters for Cosmetic Applications. *MDPI*, 10(4), 101.
- Nor Azrini Nadiha Azmi, A. A. (2019). Nanoemulsions: Factory for Food, Pharmaceutical and Cosmetics. *Processes*, 7(9), 617.

- Nur Haziqah Che Marzuki, R. A. (2019). An overview of nanoemulsion: concepts of development and cosmeceutical applications. *BIOTECHNOLOGY & BIOTECHNOLOGICAL EQUIPMENT*, VOL. 33, NO. 1, 779–797.
- O.Sonnevilleaubrun. (2004). Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Adv Colloid Interface Sci.*, 108-109:145–149.
- Oleszek, W. &. (2010). Saponin-based surfactants. *Surfactants from renewable resources*, 239-249.
- Oleszek, W. A. (2002). Chromatographic determination of plant saponins. *Journal of chromatography A*, 967(1), 147-162.
- Özakar, S. (2022). Preparation and Characterization of Combined Salicylic Acid and Povidone-Iodine Containing Nanoemulgels: A Preliminary Study. *J. Fac. Pharm. Ankara / Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 46(3): 764-780.
- Özgün, S. (2013). Nanoemulsions in Cosmetics. *Researchgate*.
- P.Becher. (1965). Emulsions: theory and practice. *New York (NY): Reinhold*.
- Peng J, D. W. (2015). Effect of high-pressure homogenization preparation on mean globule size and large-diameter tail of oil-in-water injectable emulsions. *J food drug Anal.*, (4):828-35.
- Pourchet A, M. A. (2017). Modeling HSV-1 latency in human embryonic stem cell-derived neurons. *6(2):E24*.
- R. J. Whitley, B. R. (2001). Herpes simplex virus infections. *1513-8, 1513-1518*.
- Ralla, T. H. (2017). Emulsifying Properties of Natural Extracts from Panax ginseng L. . *Food biophysics*, 12, 479-490.
- Ralla, T. S. (2018). Formation and stability of emulsions stabilised by Yucca saponin extract. *International journal of food science & technology*, 53(6), 1381-1388.
- Ralla, T. S. (2019). Value addition of red beet (*Beta vulgaris* L.) by-products: Emulsion formation and stability. *International journal of food science & technology*, 54(3), 619-6.
- Reichert, C. L. (2019). Quillaja saponin characteristics and functional properties. *Annual review of food science and technology*, 10, 43-73.
- Reichert, C. L. (2019). Quillaja saponin characteristics and functional properties. *Annual review of food science and technology*, 10, 43-73.
- Riquelme, N. Z. (2019). Physical stability of nanoemulsions with emulsifier mixtures: Replacement of tween 80 with quillaja saponin. *Lwt*, 111, 760-766.

- Ritika Kondel, N. S. (2019). Effect of Acyclovir Solid Lipid Nanoparticles for the Treatment of Herpes Simplex Virus (HSV) Infection in an Animal Model of HSV-1 Infection. *7*, 389-403.
- Ritika Kondel, N. S. (2019). Effect of Acyclovir Solid Lipid Nanoparticles for the Treatment of HSV-1 Infection. *Pharmaceutical Nanotechnology* (Cilt 7, 389-403). içinde Bentham Science Publishers.
- Royer M, P. M.-P. (2013). Study of nutraceutical, nutricosmetics and cosmeceutical potentials of polyphenolic bark extracts from Canadian forest species. *PharmaNutrition* (Cilt 158–167). içinde
- Saberi AH, F. Y. (2013). Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *J Colloid Interface Sci.* , 391:95–102.
- Safaya M, R. Y. (2020). Nanoemulsions: A review on low energy formulation methods, characterization, applications and optimization technique. *Mater Today Proc.* , 27:454–9.
- Schreiner, T. B. (2022). Saponins as natural emulsifiers for nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(22), 6573-6590.
- Schulman JH, S. W. (1959). Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. *J Phys Chem*, 63: 1677–1680.
- Sengupta P, C. B. (2017). Potential and future scope of nanoemulgel formulation for topical delivery of lipophilic drugs. *Vol. 526, International Journal of Pharmaceutics*, p. 353–65.
- Shahneh, F. Z. (2013). In vitro cytotoxicity and anti-viral activity of Rosmarinus officinalis essential oil. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 25-30.
- Sharma N, B. M. (2010). Nanoemulsion: A New Concept of Delivery System. *Chronicles Young Sci.*, 1(2):2–6.
- Sharma S., S. K. (2012). Nanoemulsions for Cosmetics, *IJARPB* , 1(3), 408-415.
- Sharma, R. &. (2018). Natural emulsifiers: Potential green alternatives in food and pharmaceutical formulations. . *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(5), 1776-1786.
- Shu, G. K. (2018). Formulation and characterization of astaxanthin-enriched nanoemulsions stabilized using ginseng saponins as natural emulsifiers. *Food Chemistry*, 255, 67-74.

- Singh R, L. J. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. . *Exp Mol Pathol.*, 86:215–223.
- Soliman WE, S. T. (2021). Enhancement of Curcumin Anti-Inflammatory Effect via Formulation into Myrrh Oil-Based Nanoemulgel. *Polymers (Basel)*, 13(4):577.
- Tadros T, I. P. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Adv Colloid Interface Sci.* , 108–109:303–318.
- Tamamoto, L. C. (2010). Sensory properties of ginseng solutions modified by masking agents. *Journal of food science*, 75(7), S341-S347.
- Uluata S, D. E. (2016). Optimization of nanoemulsion fabrication using microfluidization: role of surfactant concentration on formation and stability. . *Food Biophys.* , 11(1):52–9.
- Upadhyay DK, S. A. (2020). Nanoemulgel for Efficient Topical Delivery of Finasteride Against Androgenic Alopecia. *J Pharm Innov.*, 1–12.
- Vaibhav Gupta, S. M. (2022). Nanotechnology in Cosmetics and Cosmeceuticals—A Review of Latest Advancements. *MDPI*, 8(3), 173.
- van der Schaaf US, K. H. (2018). Fabrication of nanoemulsions by rotor-stator emulsification. . *In: Nanoemulsions. Elsevier*, p. 141–74.
- Vishali Mathialagan, A. S. (2020). Nanoemulsion: Importance in Pharmaceutical Nanotechnology. *RJPT*, 13;4.
- Wafa A. AL-Megrin, N. A.-T.-K. (2020). Potential antiviral agents of *Rosmarinus officinalis* extract against herpes viruses 1 and 2.
- Wafa A. AL-Megrin, N. A.-T.-K.-H. (2020). Potential antiviral agents of *Rosmarinus officinalis* extract against herpes viruses 1 and 2.
- Wei Wang, N. L. (2012). Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Compared to That of Its Main Components. *17*, 2704-2713.
- Whitley, R. J. (2001). Herpes simplex virus infections. *The Lancet*, 357(9267), 1513-1518.
- Yang L, D. K. (2019). A comprehensive review on the natural, forced, and mixed convection of non-Newtonian fluids (nanofluids) inside different cavities. *J Therm Anal Calorim*, 1–22.
- Yang, Y. L. (2013). Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q-Naturale®). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 589-596.

- Yu, X.; Seitz, S.; Pointon, T.; Bowlin, J.L.; Cohrs, R.J.; Jonjic, S.; Haas, J.; Wellish, M.; Gildea, D.H. *Varicella* (2018).
- Yu-Chen Jiang, H. F.-C.-R. (2016). *New strategies against drug resistance to herpes simplex virus* (Cilt 8, 1–6). *International Journal of Oral Science*.
- Zhao, Y. e. (2012). Anticancer potential of saponins from medicinal plants: A review. *11(4)*, 535-545. .
- Zhu ZhenBao, Z. Z. (2019). Comparison of natural and synthetic surfactants at forming and stabilizing nanoemulsions: tea saponin, quillaja saponin, and Tween 80.





İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

UÇUK TEDAVİSİNE YÖNELİK TOPIKAL FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 10 BENZERLİK ENDEKSİ	% 8 İNTERNET KAYNAKLARI	% 4 YAYINLAR	% 4 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	-----------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 4
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 2
3	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
4	Narlıoğlu, Engin. "Biberiyenin Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Bazı Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi", Balıkesir University (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
5	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
6	Submitted to Higher Education Commission Pakistan Öğrenci Ödevi	<% 1
7	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1