



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



***PİNUS* TÜRLERİNİN KABUKLARINDAN
ELDE EDİLEN EKSTRE İLE
YARI KATI FORMÜLASYON GELİŞTİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Melis DEMİRÖZER

Farmasötik Teknoloji

İzmir

2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

***PİNUS* TÜRLERİNİN KABUKLARINDAN
ELDE EDİLEN EKSTRE İLE
YARI KATI FORMÜLASYON GELİŞTİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Melis DEMİRÖZER

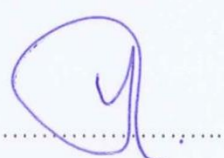
Danışman
Doç. Dr. Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL

Farmasötik Teknoloji
Biyofarmasötik ve Farmakokinetik

İzmir

2019

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

	Adı Soyadı	İmza
Başkan (Danışman)	: Prof. Dr. Emel Öykü GETİN UYANIKGİL	
Üye	: Prof. Dr. Yigit UYANIKGİL	
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Esra DEMİRTÜRK	

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 26/08/2019

Önsöz

Bu tez çalışmasında Türkiye’de yaygın olarak bulunan 3 çam türünün kabuklarından elde edilen ekstrakter kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda ise bu ekstrakterden biri ile yara tedavisinde topikal olarak kullanılmak üzere bir jel formülasyonu geliştirilmiştir.

Çalışma konusu belirlenirken topikal uygulamaya yönelik bir formülasyon tasarlanması amaçlanmış, bu amaçla da topikal formülasyonların en sık kullanıldığı alanlardan olan yara tedavisi seçilmiştir.

Çam bitkisinin seçilme nedeni, daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre ülkemizde yetişen bazı çam türü kabuklarında antiinflamatuvar ve antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin yüksek oranda saptanmasıdır. Bu biyolojik aktiviteler, bitki kabuklarının yara iyileştirici etki gösterebileceğine işaret etmektedir. Bu nedenle ülkemizde yaygın olarak bulunan 3 çam türü seçilerek yara iyileştirici aktiviteleri *in vitro* olarak incelenmiştir. Uygun dozu belirlenen çam kabuğu ekstresi, karbopol ile hazırlanan jel formülasyonlarında etkin madde olarak kullanılmıştır. Jel formülasyonlarının karakterizasyon çalışmaları ile *in vitro* salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu tez Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: 18-ECZ-004

İzmir, 2019

Melis DEMİRÖZER

Özet

***Pinus* Türlerinin Kabuklarından Elde Edilen Ekstre İle Yarı Katı Formülasyon Geliştirilmesi**

Yara, fiziksel bir hasar sonucu cilt veya mukozayı oluşturan dokuların tahrip olması ve yapısının bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise bu hasara yanıt olarak gelişen, hücresel ve biyokimyasal olaylar sonucu dokunun bütünlüğünün yeniden sağlanma sürecidir.

Bitkilerin yara iyileştirici özelliklerinden ilk çağlardan beri yararlanılmaktadır. Halk arasında yara iyileşmesi amacıyla bitkisel yöntemlere sıkça başvurulmaktadır. Yara iyileştirici bitkiler arasında *Pinus L.* (çam) türleri de görülmektedir. Bazı çam kabuğu ekstralarının yara iyileştirici aktivitesi olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı çam kabuğu ekstralarının yara iyileştirici aktivitelerini belirleyerek yarı katı formülasyon geliştirmektir. Bu amaçla Türkiye’de bulunan çam türlerinden *Pinus brutia*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* kabuklarının ekstraları kullanılmıştır. Çam kabuğu ekstralarının sitotoksik ve yara iyileştirici dozları hücre kültürü deneyleriyle belirlenmiştir. Ekstrelerden en iyi yara iyileştirici aktivite gösteren *Pinus brutia* ekstresiyle jel formülasyonları hazırlanmıştır. Formülasyonların fiziksel görünüşü, oda sıcaklığındaki homojenitesi ve renk özelliği incelenerek değerlendirilmiştir. Karakterizasyon çalışmalarıyla formülasyonların pH, viskozite ve akış özellikleri değerlendirilmiştir. *In vitro* salım çalışmaları diyaliz torbası yöntemi ile gerçekleştirilerek formülasyonların salım profilleri belirlenmiştir. Bitmiş formülasyonlar üzerinde farklı koşullarda (4°C, 25°C, 40°C) 3 aylık stabilite çalışması yürütülmüştür. Stabilite çalışmasında formülasyonlar başlangıç anında, 30. ve 90. günlerde fiziksel özellikler, pH, viskozite ve akış özellikleri açısından değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler; yara iyileşmesi; yarı katı; jel; çam

Abstract

Development Of A Semi Solid Formulation Using Extract Of Pine Barks

Wound is deterioration of tissues that make up skin or mucosa and disruption of normal skin structure as a result of physical or chemical damage. Wound healing is a process consists of biochemical and cellular events leading to repair of damaged tissues.

The wound healing properties of plants have been used since the first ages. In folk medicine, herbal treatments are often used for wound healing purposes. One of the species that have the wound healing property is *Pinus* (pine) sp. Many studies revealed that some pine barks extracts had wound healing activity.

This study aims to determine wound healing activity of pine bark extracts and formulate a semi solid dosage form by using them. For this purpose, extracts of *Pinus brutia*, *Pinus sylvestris* and *Pinus pinea* barks which are pine species grown in Turkey, were used. Cytotoxic and wound healing doses of pine bark extracts were determined by *in vitro* cell culture assays. As a semi solid dosage form, gel formulations designed and prepared with the *Pinus brutia* bark extract which had showed the highest wound healing activity. Physical appearance, homogeneity and color properties of the formulations were evaluated at room temperature. Viscosity and pH measurements and rheology analysis were conducted for characterization of the gel formulations. *In vitro* dissolution study of the formulations were performed by using dialysis bag method and drug release kinetics were calculated. In stability experiment, sample of the formulations were exposed to different storage conditions (4°C, 25°C, 40°C) during 3 months. Analyses were performed on 0., 30. and 90. days and formulations were evaluated in terms of viscosity, pH, rheological and organoleptic properties.

Keywords; wound healing; semi solid; gel; pine

İçindekiler

Önsöz	II
Özet.....	III
Abstract.....	IV
İçindekiler	V
Tablolar Dizini.....	X
Şekiller Dizini	XI
Grafikler Dizini	XIII
Kısaltma Listesi	XVII
1. Giriş.....	1
2. Genel Bilgiler.....	2
2.1 Deri	2
2.1.1 Derinin Yapısı ve Özellikleri	2
2.1.2 Derinin Bölümleri	2
2.1.2.1 Epidermis	2
2.1.2.2 Dermis.....	2
2.1.2.3 Hipodermis.....	3
2.1.3 Derinin Görevleri	3
2.1.4 İlaçların Deriden Geçışı.....	3
2.1.5 Deriden Geçışı Etkileyen Faktörler	4
2.2 Yara ve Yara İyileşmesi	4
2.2.1 Yara nedir?	4
2.2.2 Akut yara	4
2.2.3 Kronik yara	4
2.2.4 Yara İyileşmesi	5
2.2.5 Yara İyileşmesinin Evreleri.....	5
2.2.5.1 İnflamasyon Fazı	6

2.2.5.2	Proliferasyon Fazı.....	6
2.2.5.3	Yeniden Şekillenme (Remodelling) Fazı.....	6
2.2.6	Yara İyileşmesi Tipleri	7
2.2.6.1	Primer İyileşme.....	7
2.2.6.2	Sekonder İyileşme.....	8
2.2.6.3	Tersiyer İyileşme	8
2.2.7	Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	8
2.2.7.1	Oksijenizasyon ve Dolaşım	8
2.2.7.2	Enfeksiyon.....	8
2.2.7.3	Yaş.....	9
2.2.7.4	Beslenme.....	9
2.2.7.5	Steroid Kullanımı	9
2.2.7.6	Diyabet.....	9
2.3	<i>Pinus</i> Cinsi (Çamlar).....	10
2.3.1	<i>Pinus</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	10
2.3.2	<i>Pinus brutia</i> (Kızılçam)	10
2.3.3	<i>Pinus sylvestris</i> (Sarıçam)	11
2.3.4	<i>Pinus pinea</i> (Fıstık Çamı)	11
2.3.5	Çam Kabuğu Ekstreleri ve Biyolojik Aktiviteleri.....	12
2.4	Deriye Uygulanan Yarı Katı İlaç Şekilleri	14
2.4.1	Merhemler	14
2.4.2	Patlar	15
2.4.3	Kremler	15
2.4.4	Jeller	15
2.4.4.1	Jellerin Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler	16
2.4.4.2	Karbomerler	16
2.5	Reoloji.....	17

2.5.1	Akış Tipleri	18
2.5.1.1	Newtonian Akış.....	18
2.5.1.2	Non-Newtonian Akış	18
2.5.1.2.1	Plastik Akış.....	19
2.5.1.2.2	Psödoplastik Akış.....	20
2.5.1.2.3	Dilatant Akış.....	20
3.	Gereç ve Yöntem.....	22
3.1	Gereç	22
3.2	Yöntem	24
3.2.1	<i>Pinus</i> Kabuklarından Ekstre Hazırlanması	24
3.2.2	<i>In vitro</i> Hücre Kültürü Çalışmaları.....	24
3.2.2.1	Sitotoksosite Testi.....	24
3.2.2.2	Yara İyileşme Testi.....	24
3.2.2.3	Yara İyileşme Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	25
3.2.3	Ön Formülasyon Çalışmaları.....	26
3.2.3.1	Krem Formülasyon Denemeleri.....	26
3.2.3.2	Jel Formülasyon Denemeleri.....	27
3.2.3.3	Ön Formülasyon Denemelerinin Karakterizasyon Çalışmaları	28
3.2.3.3.1	pH Ölçümleri.....	28
3.2.3.3.2	Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesi.....	28
3.2.3.3.3	Viskozite Ölçümleri	28
3.2.4	Jel Formülasyonlarının Hazırlanması	28
3.2.4.1	Etkin Madde İçermeyen Jel Formülasyonlarının Hazırlanması	28
3.2.4.2	Etkin Madde İçeren Jel Formülasyonlarının Hazırlanması	29
3.2.5	Jel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları.....	30
3.2.5.1	pH Ölçümleri	30

3.2.5.2	Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesi	30
3.2.5.3	Reoloji Analizleri	30
3.2.5.4	Stabilite Çalışmaları.....	30
3.2.5.4.1	Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesi.....	31
3.2.5.4.2	pH Ölçümleri.....	31
3.2.5.4.3	Reoloji Analizleri	31
3.2.6	<i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları.....	31
3.2.6.1	Dissolüsyon Testi	31
3.2.6.2	Dissolüsyon Örneklerinin Analizi	31
3.2.6.3	<i>In vitro</i> Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi	32
4.	Bulgular	33
4.1	<i>Pinus</i> Kabuklarından Ekstre Hazırlanması.....	33
4.2	<i>In vitro</i> Hücre Kültürü Çalışmalarına Ait Bulgular	34
4.2.1	Sitotoksosite Testine Ait Bulgular	34
4.2.2	Yara İyileşme Testine Ait Bulgular	37
4.2.3	Yara İyileşme Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesine Ait Bulgular.....	43
4.2.3.1	<i>Pinus brutia</i> Ekstresine Ait Bulgular	43
4.2.3.2	<i>Pinus sylvestris</i> Ekstresine Ait Bulgular	45
4.2.3.3	<i>Pinus pinea</i> Ekstresine Ait Bulgular	47
4.3	Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	49
4.3.1	Krem Formülasyon Denemelerine Ait Bulgular	49
4.3.2	Ön Formülasyon Denemelerinin Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	49
4.3.2.1	pH Ölçümlerine Ait Bulgular	49
4.3.2.2	Fiziksel Özelliklerin Değerlendirmesine Ait Bulgular	49
4.3.2.3	Viskozite Ölçümlerine Ait Bulgular	50
4.4	Jel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	51

4.4.1.1	pH Ölçümlerine Ait Bulgular	51
4.4.1.2	Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesine Ait Bulgular	51
4.4.1.3	Reoloji Analizlerine Ait Bulgular	52
4.4.1.4	Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular	63
4.4.1.4.1	Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesine Ait Bulgular	63
4.4.1.4.2	pH Ölçümlerine Ait Bulgular	64
4.4.1.4.3	Reoloji Analizlerine Ait Bulgular	65
4.4.1.4.3.1	Akış Ölçümlerine Ait Bulgular	65
4.4.1.4.3.2	Viskozite Ölçümlerine Ait Bulgular	77
4.5	<i>In Vitro</i> Salım Çalışmalarına Ait Bulgular	89
4.5.1	Dissolüsyon Örneklerinin Analizine Ait Bulgular	89
4.5.2	<i>In vitro</i> Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesine Ait Bulgular	89
4.5.2.1	F7 Formülasyonuna Ait Kinetik Modelleme	90
4.5.2.2	F8 Formülasyonuna Ait Kinetik Modelleme	93
5.	Tartışma.....	96
6.	Sonuç ve Öneriler.....	107
7.	Kaynaklar	108
	Ekler	114
	Teşekkür	115
	Özgeçmiş	116

Tablolar Dizini

Tablo 1: Kullanılan cihaz ve malzemeler.....	22
Tablo 2: Kullanılan kimyasal maddeler.	23
Tablo 3: Krem formülasyon denemeleri.	27
Tablo 4: Jel formülasyon denemeleri.	28
Tablo 5: Hazırlanan jel formülasyonlarının içerikleri.....	29
Tablo 6: <i>Pinus brutia</i> ekstresine ait 0. ve 24. saatlerdeki ölçüm değerleri (μm) ve yara kapanma oranları.....	44
Tablo 7: <i>Pinus sylvestris</i> ekstresine ait 0. ve 24. saatlerdeki ölçüm değerleri (μm) ve yara kapanma oranları.....	45
Tablo 8: <i>Pinus pinea</i> ekstresine ait 0. ve 24. saatlerdeki ölçüm değerleri (μm) ve yara kapanma oranları.....	47
Tablo 9: F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarına ait pH değerleri.	49
Tablo 10: F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarına ait rpm, % tork ve viskozite değerleri.	50
Tablo 11: F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait pH değerleri.	51
Tablo 12: Kayma hızı-kayma gerilimi grafiklerine ve farklı akış tiplerine ait R^2 değerleri.....	55
Tablo 13: Kayma hızı-viskozite grafiklerine ve farklı akış tiplerine ait R^2 değerleri.	56
Tablo 14: 1. ve 3. ayların sonunda F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının fiziksel özellikleri.....	64
Tablo 15: 1. ve 3. ayların sonunda F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait pH değerleri.	64
Tablo 16: 1. ve 3. ayların sonunda elde edilen kayma hızı-kayma gerilimi grafiklerine ait R^2 değerleri.....	65
Tablo 17: 1. ve 3. ayların sonunda elde edilen kayma hızı-viskozite grafiklerine ait R^2 değerleri.....	77
Tablo 18: F7 formülasyonu için oluşturulan kinetik modellerin grafiklerine ait R^2 değerleri.....	90
Tablo 19: F8 formülasyonu için oluşturulan kinetik modellerin grafiklerine ait R^2 değerleri.....	93

Şekiller Dizini

Şekil 1: Yara iyileşmesinin fazları.....	5
Şekil 2: Primer, sekonder ve tersiyer iyileşme.	7
Şekil 3: Non-Newtonian akış tiplerinin sınıflandırılması.....	19
Şekil 4: Farklı akış tiplerine ait kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	21
Şekil 5: Sıvı <i>Pinus brutia</i> ekstresi.	33
Şekil 6: Sıvı <i>Pinus sylvestris</i> ekstresi.	33
Şekil 7: Sıvı <i>Pinus pinea</i> ekstresi.	33
Şekil 8: Toz <i>Pinus brutia</i> ekstresi.	34
Şekil 9: Toz <i>Pinus sylvestris</i> ekstresi.	34
Şekil 10: Toz <i>Pinus pinea</i> ekstresi.	34
Şekil 13: Kontrol grubu, t= 0. saat.	37
Şekil 14: Kontrol grubu, t= 24. saat.....	37
Şekil 15: <i>Pinus brutia</i> 1 µg/mL, t= 0. saat.	37
Şekil 16: <i>Pinus brutia</i> 1 µg/mL, t= 24. saat.	37
Şekil 17: <i>Pinus brutia</i> 5 µg/mL, t= 0. saat.	38
Şekil 18: <i>Pinus brutia</i> 5 µg/mL, t= 24. saat.	38
Şekil 19: <i>Pinus brutia</i> 10 µg/mL, t= 0. saat.	38
Şekil 20: <i>Pinus brutia</i> 10 µg/mL, t= 24. saat.	38
Şekil 21: <i>Pinus brutia</i> 20 µg/mL, t= 0. saat	38
Şekil 22: <i>Pinus brutia</i> 20 µg/mL, t= 24. saat.	38
Şekil 23: <i>Pinus brutia</i> 40 µg/mL, t= 0. saat	39
Şekil 24: <i>Pinus brutia</i> 40 µg/mL, t= 24. saat.	39
Şekil 25: <i>Pinus brutia</i> 80 µg/mL, t= 0. saat.	39
Şekil 26: <i>Pinus brutia</i> 80 µg/mL, t= 24. saat.	39
Şekil 27: <i>Pinus sylvestris</i> 1 µg/mL, t= 0. saat.	39
Şekil 28: <i>Pinus sylvestris</i> 1 µg/mL, t= 24. saat.	39
Şekil 29: <i>Pinus sylvestris</i> 5 µg/mL, t= 0. saat.	40
Şekil 30: <i>Pinus sylvestris</i> 5 µg/mL, t= 24. saat.	40
Şekil 31: <i>Pinus sylvestris</i> 10 µg/mL, t= 0. saat.	40
Şekil 32: <i>Pinus sylvestris</i> 10 µg/mL, t= 24. saat.....	40
Şekil 33: <i>Pinus sylvestris</i> 20 µg/mL, t= 0. saat.	40
Şekil 34: <i>Pinus sylvestris</i> 20 µg/mL, t= 24. saat.	40

Şekil 35: <i>Pinus sylvestris</i> 40 µg/mL, t= 0. saat.	41
Şekil 36: <i>Pinus sylvestris</i> 40 µg/mL, t= 24. saat.	41
Şekil 37: <i>Pinus sylvestris</i> 80 µg/mL, t= 0. saat.	41
Şekil 38: <i>Pinus sylvestris</i> 80 µg/mL, t= 24. saat.	41
Şekil 39: <i>Pinus pinea</i> 1 µg/mL, t= 0. saat.	41
Şekil 40: <i>Pinus pinea</i> 1 µg/mL, t= 24. saat.	41
Şekil 41: <i>Pinus pinea</i> 5 µg/mL, t= 0. saat.	42
Şekil 42: <i>Pinus pinea</i> 5 µg/mL, t= 24. saat.	42
Şekil 43: <i>Pinus pinea</i> 10 µg/mL, t= 0. saat.	42
Şekil 44: <i>Pinus pinea</i> 10 µg/mL, t= 24. saat.	42
Şekil 45: <i>Pinus pinea</i> 20 µg/mL, t= 0. saat.	42
Şekil 46: <i>Pinus pinea</i> 20 µg/mL, t= 24. saat.	42
Şekil 47: <i>Pinus pinea</i> 40 µg/mL, t= 0. saat.	43
Şekil 48: <i>Pinus pinea</i> 40 µg/mL, t= 24. saat.	43
Şekil 49: <i>Pinus pinea</i> 80 µg/mL, t= 0. saat.	43
Şekil 50: <i>Pinus pinea</i> 80 µg/mL, t= 24. saat.	43
Şekil 49: IBM SPSS Program çıktısı- <i>Pinus brutia</i> ekstresine ait log ₁₀ dönüşümü uygulanmış yara mesafeleri.....	44
Şekil 50: IBM SPSS Program çıktısı- <i>Pinus sylvestris</i> ekstresine ait log ₁₀ dönüşümü uygulanmış yara mesafeleri.....	46
Şekil 51: IBM SPSS Program çıktısı- <i>Pinus pinea</i> ekstresine ait log ₁₀ dönüşümü uygulanmış yara mesafeleri.....	48
Şekil 52: F5 formülasyonuna ait reoloji analizi.....	52
Şekil 53: F6 formülasyonuna ait reoloji analizi.....	53
Şekil 54: F7 formülasyonuna ait reoloji analizi.....	53
Şekil 55: F8 formülasyonuna ait reoloji analizi.....	54

Grafikler Dizini

Grafik 1: <i>Pinus brutia</i> ekstresinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılığı.....	35
Grafik 2: <i>Pinus sylvestris</i> ekstresinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılığı.....	35
Grafik 3: <i>Pinus pinea</i> ekstresinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılığı.....	36
Grafik 4: <i>Pinus brutia</i> , <i>Pinus sylvestris</i> ve <i>Pinus pinea</i> ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılıkları.....	36
Grafik 5: F5 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.....	57
Grafik 6: F6 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.....	57
Grafik 7: F7 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.....	58
Grafik 8: F8 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.....	58
Grafik 9: F5 ve F6 formülasyonlarına ait kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	59
Grafik 10: F7 ve F8 formülasyonlarına ait kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri. ..	59
Grafik 11: F5 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.....	60
Grafik 12: F6 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.....	61
Grafik 13: F7 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.....	61
Grafik 14: F8 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.....	62
Grafik 15: F5 ve F6 formülasyonlarına ait kayma hızı-viskozite grafikleri.	62
Grafik 16: F7 ve F8 formülasyonlarına ait kayma hızı-viskozite grafikleri.	63
Grafik 17: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	66
Grafik 18: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	66
Grafik 19: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	67
Grafik 20: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	67
Grafik 21: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	68
Grafik 22: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	69

Grafik 23: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	69
Grafik 24: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	70
Grafik 25: F5 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	71
Grafik 26: F5 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	71
Grafik 27: F5 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	72
Grafik 28: F6 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	72
Grafik 29: F6 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	73
Grafik 30: F6 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	73
Grafik 31: F7 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	74
Grafik 32: F7 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	74
Grafik 33: F7 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	75
Grafik 34: F8 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	75
Grafik 35: F8 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	76
Grafik 36: F8 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.	76
Grafik 37: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.	78
Grafik 38: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.	78
Grafik 39: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.	79

Grafik 40: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	79
Grafik 41: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	80
Grafik 42: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	81
Grafik 43: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	81
Grafik 44: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	82
Grafik 45: F5 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	83
Grafik 46: F5 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	83
Grafik 47: F5 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	84
Grafik 48: F6 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	84
Grafik 49: F6 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	85
Grafik 50: F6 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	85
Grafik 51: F7 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	86
Grafik 52: F7 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	86
Grafik 53: F7 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	87
Grafik 54: F8 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	87
Grafik 55: F8 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	88
Grafik 56: F8 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.....	88

Grafik 57: HPLC ile yapılan miktar tayini sonucu <i>Pinus brutia</i> ekstresindeki total flavonoid grupları için hesaplanan kromatogram pikleri.	89
Grafik 58: F7 formülasyonuna ait 1.derece kinetik grafiği.	91
Grafik 59: F7 formülasyonuna ait teorik salım ve pratik salım grafikleri.	92
Grafik 60: F8 formülasyonuna ait Higuchi kinetiği grafiği.	93
Grafik 61: F8 formülasyonuna ait teorik salım ve pratik salım grafikleri.	94
Grafik 62: F7 ve F8 formülasyonlarına ait % salım-zaman grafikleri.	95



Kısaltma Listesi

Σ	:	Toplam işareti
F	:	Formülasyon kodu
HPLC	:	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Log	:	Logaritma on tabanı
mPas		miliPascalsaniye
Pas	:	Pascalsaniye
PBS	:	Fosfat tamponu tuz çözeltisi
Rpm	:	Dakikada dönme sayısı
q.s.		Yeterli miktarda

1. Giriş

Çamlar (*Pinus*), Kuzey yarım kürede yaygın olarak yetişen ve 100'den fazla türle temsil edilen bir cinstir. Çam türlerinin kabukları çok eski zamanlardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde dahilen veya haricen kullanılmıştır. Özellikle *Pinus maritima* (Fransız sahil çamı) kabuklarından elde edilen ekstre üzerinde pek çok bilimsel çalışma yapılmış, insan sağlığı açısından faydalı biyolojik aktivitelere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Pycnogenol®, *Pinus maritima* kabuklarından elde edilen fenolik bileşikler açısından zengin içeriğe sahip bir ekstredir. Tüm dünyada gıda takviyesi ve fitoterapötik olarak oral yoldan kullanılan patentli bir üründür. Ayrıca Pycnogenol®'un haricen kullanıldığında yara iyileşmesini hızlandırdığı *in vivo* çalışmalarla gösterilmiştir (Becit, Aydın, & Başaran, 2017; Blazsó, Gábor, Schönla, & Rohdewald, 2004; Cetin ve ark., 2013; Kızılarıslan & Sevg, 2013).

Yapılan çalışmalarda ülkemizde bulunan bazı çam türlerinin kabuklarının fenolik bileşikler açısından zengin olduğu ve antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bu çam türlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde ve yara iyileşmesinde Pycnogenol®'e alternatif oluşturabileceği düşünülmektedir (Cetin ve ark., 2013; O. Yesil-Celiktas, Otto, & Parlar, 2009; Ozlem Yesil-Celiktas ve ark., 2009)

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda Türkiye'de doğal olarak yetişen 3 çam türü seçilmiş ve yara iyileştirici aktivitelerinin *in vitro* hücre kültürü çalışmalarıyla belirlenmesi amaçlanmıştır. Ekstrelerin *in vitro* yara iyileşme testinde kontrol grubuna göre daha iyi iyileşme göstermesi beklenmiştir.

Yara iyileşme testinde uygulanacak doz aralığı *in vitro* sitotoksosite testiyle belirlenmiştir. Çam kabuğu ekstrelerinin sitotoksosite testinde uygulanacak dozları, *Pinus maritima* türü için yapılmış çalışmalarda bulunan dozlar ile uyumlu olarak belirlenmiş, aynı konsantrasyonlarda benzer hücre canlılığı görülmesi beklenmiştir (Bito, Roy, Sen, & Packer, 2000; Cho, Yun, Packer, & Chunga, 2010; Figuero, Soory, Cerero, & Bascones, 2006).

Yara iyileştirici aktivitesi en yüksek ekstre ile jel formülasyonları geliştirilmiş ve bu formülasyonların 3 ay süreyle farklı koşullardaki stabiliteleri değerlendirilmiştir. Jel formülasyonlarında en sık kullanılan polimerlerden Carbopol® 940 farklı oranlarda kullanılmış ve akış, pH ve viskozite üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. Genel Bilgiler

2.1 Deri

2.1.1 Derinin Yapısı ve Özellikleri

Çeşitli hücre ve doku tiplerinden oluşan deri, insan vücudunun en geniş organıdır. Vücudun en üst katmanını oluşturur. 1,2-2 m² alana sahiptir. Vücut ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturur. Yaklaşık 0.5-3 mm kalınlığa sahiptir. Derinin pH'sı 4-6 arasında olup hafif asidiktir (Ali & Yosipovitch, 2013; Lai-cheong, 2013).

2.1.2 Derinin Bölümleri

Deri, yapı ve işlevlerine göre farklı katmanlara ayrılmıştır. Bu katmanlar birbiriyle uyum içinde çalışarak deriye esneklik ve güç kazandırır. Ayrıca pek çok fonksiyonun birden yerine getirilmesini sağlar. Memeli derisi epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere 3 tabakadan oluşmaktadır. Bu çok katmanlı yapı sayesinde deri, çevreye karşı bir bariyer görevi üstlenir (Monteiro-Riviere, 2006).

2.1.2.1 Epidermis

Derinin en dış tabakasıdır. Yassı epitel dokudan oluşur. Daha çok keratinositlerden oluşmaktadır. Melanositler, merkel hücreleri ve langerhans hücreleri, epidermiste bulunan diğer hücre çeşitleridir. Epidermiste kan damarları bulunmaz. Dıştan içe doğru; stratum corneum (boynuzsu tabaka), stratum lucidum, stratum granulosum (granüler tabaka), stratum spinosum (diken tabaka) ve stratum basale (bazal tabaka) olmak üzere 5 tabakası bulunmaktadır. Stratum corneum, derinin bariyer görevini gerçekleştirmesinde en önemli katmandır (Lai-cheong, 2013; Monteiro-Riviere, 2006).

2.1.2.2 Dermis

Kalınlığı 0,5-5 mm aralığında olup, kollajen ve elastin bakımından zengindir. Deriye dayanıklılığını ve esnekliğini sağlayan bu tabakadır. Alt katmanları mekanik hasarlardan korur. Dermiste bulunan kan damarları sayesinde epidermisin beslenmesi sağlanır. Dokunma ve basınç duyularını iletmekle görevli sinir hücrelerini barındırır. Bu tabakada ayrıca kıl folikülleri, yağ ve ter bezleri, fibroblast, makrofaj ve mast hücreleri bulunmaktadır (Benson & Watkinson, 2012; Monteiro-Riviere, 2006).

2.1.2.3 Hipodermis

Subkütan doku olarak da bilinir. Dermisin altında yer alır. Daha büyük kan damarları ve sinirleri barındırır. Yağ dokusu bakımından zengindir. Derindeki yapıları fiziksel hasardan ve ısı değişimlerinden korur (Benson & Watkinson, 2012)

2.1.3 Derinin Görevleri

Derinin temel görevlerinden biri vücudu dış ve iç etkenlere karşı korumaktır. İç organları fiziksel ve kimyasal dış etkenlere karşı korur. Vücut sıcaklığı düzenleyerek su ve elektrolit kaybını engeller. Terleme yoluyla boşaltım yapar. İmmun yanıtı düzenler ve vücudu enfeksiyonlardan korur. Deri, epidermis sayesinde çeşitli maddelerin emilimini gerçekleştirir. Derinin emilim özelliğinden daha çok tedavide yararlanılır. Derinin bir diğer görevi ise depolamadır. Derinin depoladığı maddelerin başında karbonhidratlar gelir. Aynı zamanda önemli bir yağ ve su deposudur. Deri sinir uçları bakımından zengin olduğundan duyu işlevine de sahiptir. Ayrıca ultraviyole ışınları etkisiyle D vitamini sentezlemektedir (Monteiro-Riviere, 2006).

2.1.4 İlaçların Deriden Geçiş

İlaçlar lokal veya sistemik etki elde edebilmek amacıyla deriye uygulanır. Etken maddenin veya ilaç taşıyıcı sistemin istenen etkiyi gösterebilmesi için deriden penetre olması gerekir. İlaçların deriden geçişindeki en önemli bariyer epidermin en üst tabakası olan stratum corneumdur (Benson & Watkinson, 2012; Değim, 2009).

Stratum corneumdan geçişi sağlayan 3 yol vardır:

Por ya da boşluklardan geçiş: Ter bezleri ve kıl folikülleri yoluyla düşük dirençli geçişin sağlandığı yoldur. Suda çözünürlüğü iyi olan polar maddelerin tercih ettiği bir geçiş yoludur. Bu yüzden polar yol da denmektedir.

Transselüler yol: Maddeler epidermiste bulunan keratinosit hücrelerinin içinden geçer. Bu yoldan daha çok non-polar maddeler geçebilmektedir.

İnterselüler yol: Deriden geçişin temel yoludur. Hücreler arası geçiş sağlanır. Maddenin lipit/su partiyon katsayısı ve molekül ağırlığına bakılarak stratum corneumdan geçişi belirlenebilir (Benson & Watkinson, 2012; Değim, 2009)

2.1.5 Deriden Geçişi Etkileyen Faktörler

Deriden emilim; derinin özelliklerine, etkin madde ve formülasyonun özelliklerine göre değişebilmektedir. Deriden emilime etki eden faktörler biyolojik ve fizikokimyasal olmak üzere iki grup olarak değerlendirilebilir.

Biyolojik Faktörler: Derinin özelliklerine bağlı faktörlerdir. Derinin yaşı, kalınlığı, hidrasyonu, sıcaklığı, bölgesel farklılıkları, deri metabolizması ilaçların deriden emilimini etkilemektedir.

Fizikokimyasal Faktörler: Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri deriden geçişe önemli ölçüde etki etmektedir. Bu özelliklere örnek olarak etken maddenin çözünürlüğü, moleküler özellikleri, partiyon katsayısı, pKa değeri, molekül ağırlığı verilebilir. Yardımcı maddelerin özellikleri, penetrasyon artırıcıların varlığı gibi faktörler de formülasyona ait fizikokimyasal faktörlerdendir (Almeida, Fradin, Grice, & Stephen, 2012; Benson & Watkinson, 2012).

2.2 Yara ve Yara İyileşmesi

2.2.1 Yara nedir?

Yara, fiziksel veya kimyasal bir hasar sonucu cilt veya mukozayı oluşturan dokuların tahrip olması ve bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanmaktadır (Altındaş, 2001).

2.2.2 Akut yara

Doku onarımının devamlı olduğu ve iyileşmenin istenen sürede gerçekleştiği yaralara akut yara denir. Genel olarak akut yaralar 3 hafta içinde iyileşme gösterirken kronik yaraların iyileşmesi 3 ayı geçebilmektedir. Cerrahi kesikler, termal yaralar, sıyrıklar ve derin kesikler akut yaralara örnek olarak verilebilir (Dreifke, Jayasuriya, & Jayasuriya, 2015).

2.2.3 Kronik yara

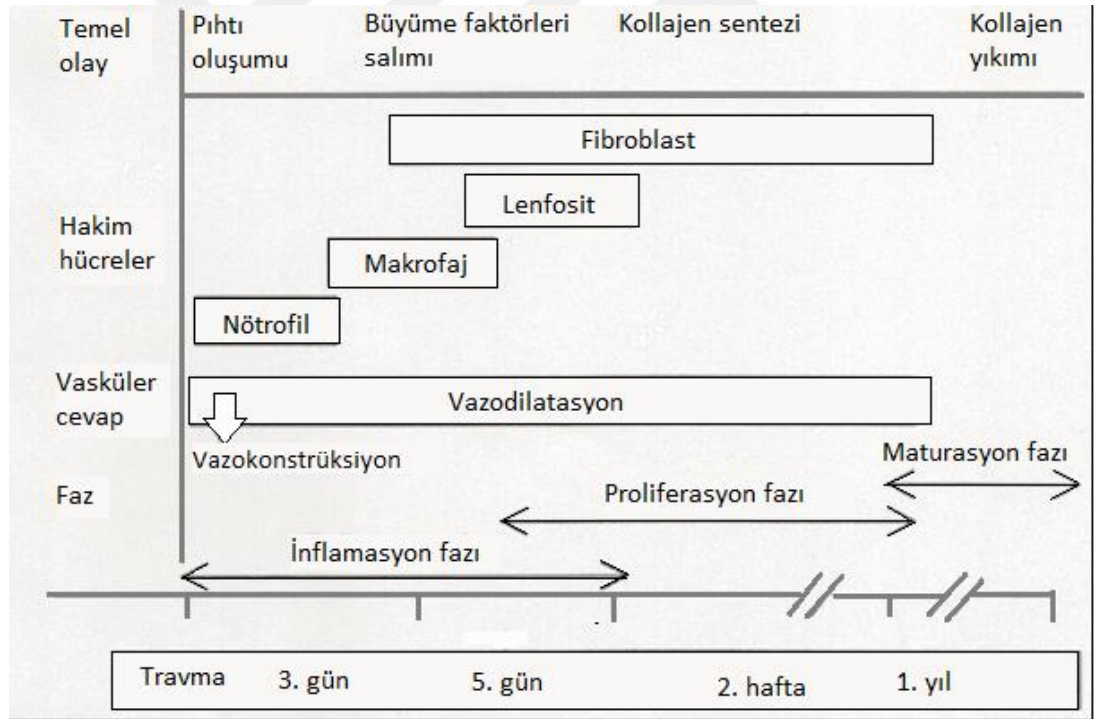
İyileşme süreci düzensiz ve yavaş olan veya hiç iyileşme göstermeyen yaralar kronik yaralardır. Kronik yaralarda epidermis, dermis ve altında bulunan tüm tabakalar zarar görebilir. Doku kaybı ve buna bağlı olarak fonksiyon kaybı görülebilir. Kronik yaraya örnek olarak diyabetik ülserler ve venöz bacak ülserleri verilebilir (Dreifke ve ark., 2015)

2.2.4 Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, hücre ve dokuların zedelenmesi sonucu doku bütünlüğünün yeniden sağlanması amacıyla gerçekleşen biyolojik süreçtir. Meydana gelen hasara yanıt olarak fizyolojik yara iyileşme mekanizması devreye girer ve bunu takip eden hücresel ve biyokimyasal olaylar sonucu yeni doku oluşumu sağlanır. Yara iyileşmesi, inflamatuvar hücrelerin, kan faktörlerinin ve diğer doku hücrelerinin etkileşimleriyle gerçekleşen karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Temel amacı, hasarlı dokunun düzgün ve yeterli bir biçimde oksijenlenmesini, beslenmesini ve nemlenmesini sağlayarak doku hasarını en aza indirmektir (Bentley & Nawaz, 2010; Robson, 2001).

2.2.5 Yara İyileşmesinin Evreleri

Yara iyileşme süreci 3 evreden oluşmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1: Yara iyileşmesinin fazları (Kılıçoğlu, Kılıçoğlu, & Eren, 2005).

2.2.5.1 İnflamasyon Fazı

Yara iyileşme sürecinin ilk evresidir. 2-4 gün sürer. Yaralanmanın hemen ardından homeostaz süreci başlar. Bu süreçte yara alanında dolaşım düzenlenir ve platelet agregasyonu ile pıhtı oluşumu sağlanır. Bunu takiben yara alanına nötrofil, makrofaj ve lenfositler gibi inflamasyon hücreleri göç eder. Bu hücreler iyileşmeyi hızlandıran temel faktörlerdir. İlk 24 saat içerisinde yara bölgesinde nötrofiller baskınken yaralanmanın 2-3. gününde makrofaj hakimiyeti başlar. Makrofajlar fagositik hücrelerdir ve nötrofillerle birlikte çeşitli doku yıkım ürünleri, yabancı madde ve bakterilerin yara bölgesinden uzaklaştırılmasında görev alırlar. Nötrofil ve makrofajlar çeşitli enzim ve protein yapıdaki birçok büyüme faktörünün salınımını gerçekleştirirler. Büyüme faktörleri, fibroblast, keratinosit ve endotel hücrelerini uyarak doku onarımını hızlandırırlar (Kılıçoğlu et al., 2005; Parsak, Sakman, & Çelik, 2007).

2.2.5.2 Proliferasyon Fazı

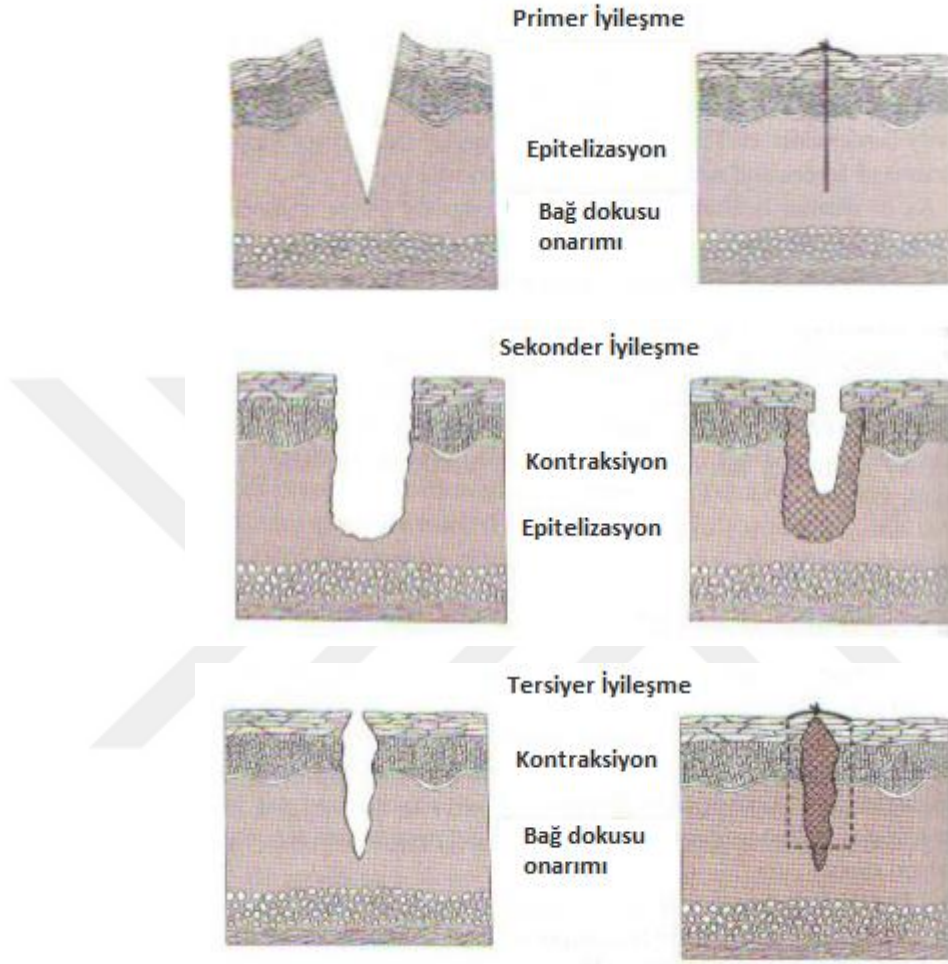
Yaralanmadan 3-5 gün sonra başlayan ve 3-6 hafta boyunca devam eden onarım dönemidir. Proliferasyon evresinde makrofajlar, lenfositler, fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleri görev alır. Bu faz, hücre artışı ve epitelizasyon ile karakterizedir. Yaradaki inflamasyon hücreleri azalır ve granülasyon dokusu yara bölgesini kaplar. Fibroblast, endotel ve keratinosit hücreleri büyüme faktörü salımına devam ederler. Sentezlenen büyüme faktörleri sayesinde bölgede kollajen ve kan damarları oluşmaya başlar (Kılıçoğlu ve ark., 2005; Parsak ve ark., 2007).

2.2.5.3 Yeniden Şekillenme (Remodelling) Fazı

Fonksiyonel bütünlüğün ve tam iyileşmenin sağlandığı fazdır. Yara iyileşme sürecinin en uzun evresidir. Yaralanmanın 2-3 hafta sonrasında başlar ve doku bütünlüğü sağlanana kadar devam eder. Bu evrede fibroblast ve makrofajlar kaybolur. Kollajen sentezi ve kollajen yıkımı beraber devam eder ve kollajen dengesi sağlanır. Damarlı granülasyon dokusunun yerini skar dokusu alır. Yaranın rengi soluklaşır ve kalınlığı azalır. Yara dokusunun kontraksiyonu ile birlikte epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanarak yara iyileşme süreci tamamlanmış olur (Kılıçoğlu ve ark., 2005; Parsak ve ark., 2007).

2.2.6 Yara İyileşmesi Tipleri

Yara iyileşmesi; primer iyileşme, sekonder iyileşme ve tersiyer iyileşme olmak üzere 3 tiptedir (Şekil 2).



Şekil 2: Primer, sekonder ve tersiyer iyileşme (Parsak ve ark., 2007).

2.2.6.1 Primer İyileşme

En az skar oluşumu ve doku kaybının gözlendiği yara iyileşme tipidir. Yara kenarlarının basit cerrahi yöntemlerle birbirine yaklaştırılması sonucu meydana gelen iyileşmedir. İyileşme sırasında granülasyon dokusu ve ödem oluşumu en az düzeydedir ve enfeksiyon görülmez. Kollajenin ve matris proteinlerinin oluşumu düzenli bir biçimde gerçekleşir. Yaralanma yalnızca epitel dokunun hasarına yol açar. İyileşme sonrası, yaralanmadan önceki dokunun %85-90'ı geri kazanılır (Altındaş, 2008; Bentley & Nawaz, 2010).

2.2.6.2 Sekonder İyileşme

Doku kaybının fazla olduğu yaralarda görülen iyileşme tipidir. Bu yaralara cerrahi işlem uygulanmaz, yara açık bırakılarak granülasyon dokusunun yara alanını doldurması beklenir. Bunu takiben yara kontraksiyonu ve ardından epitelizasyon görülür. İyileşme süresi yaranın açıklığına ve derinliğine göre değişkenlik gösterir. İnflamasyon fazı primer iyileşmeye göre daha uzun sürdüğünden epitelizasyon süreci 4-8 haftayı bulabilir. Sekonder iyileşmede her zaman skar oluşumu gözlenir ve yaralanan doku rejenerasyon ile tam olarak eski haline gelemmez (Altındaş, 2008; Bentley & Nawaz, 2010).

2.2.6.3 Tersiyer İyileşme

Gecikmiş primer iyileşme olarak da bilinir. Doku kaybının fazla olduğu yaralanmalarda yara, enfeksiyonu önlemek amacıyla birkaç gün açık bırakılır. Bu süreçte yaranın bakımı yapılarak sekonder iyileşmeye bırakılır. Kapatılmaya uygun hale geldiğinde primer iyileşmede olduğu gibi sütur ile kapatılır (Altındaş, 2008; Bentley & Nawaz, 2010).

2.2.7 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

2.2.7.1 Oksijenizasyon ve Dolaşım

Hasarlı doku oksijene sağlıklı dokudan çok daha fazla ihtiyaç duyar. Bu sebeple yaranın oksijenizasyonu, iyileşmeyi sağlayan en önemli faktördür. İyileşmede büyük rol oynayan kollajenin sentezi için oksijen gerekmektedir. Oksijen seviyesinin düşük olması, yarada enfeksiyon riskini de arttırmaktadır. Oksijenlenmenin düzgün bir şekilde sağlanabilmesi için hasarlı bölgede kan akımının yeterli düzeyde olması gerekir. Dolaşım bozukluklarında dokuya istenen düzeyde oksijen taşınamayacağından yara iyileşme süreci yavaşlar. Düzgün dolaşım, iyi damarlanma ve yeterli oksijenizasyonun sağlandığı yaralarda iyileşme hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir (Parsak ve ark., 2007).

2.2.7.2 Enfeksiyon

Yara iyileşme sürecini etkileyen önemli bir faktördür. İnflamasyon fazının uzamasına sebep olarak yaranın iyileşmesini yavaşlatır. Bakteriyel birikme sonucu epitelizasyon ve anjiyogenez olumsuz etkilenir (Altındaş, 2008).

2.2.7.3 Yaş

Bebekler, çocuklar ve genç yetişkinlerde yara iyileşme süreci oldukça hızlı ilerler. Yaşın ilerlemesiyle, özellikle 70 yaşın üzerinde, inflamasyon sürecindeki yavaşlama, ekstrasellüler matriks protein yapımının azalması, ek hastalıklar gibi faktörlere bağlı olarak yara iyileşmesi daha yavaş gerçekleşmektedir (Parsak ve ark., 2007).

2.2.7.4 Beslenme

Yara iyileşme sürecinin düzgün gerçekleşebilmesi için vücudun yeterli miktarda protein, yağ, karbonhidrat, vitamin ve minerale ihtiyacı vardır. Vücudun protein ve mineral bakımından yetersiz kalması inflamasyon sürecini uzatır ve kollajen sentezini azaltır, bu da yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler. Karbonhidratlar, yara iyileşme sürecinde hücrelere enerji sağlar, yağlar ise yeni hücre sentezinde görev alır. Yara iyileşmesi için özellikle A, C, D, E ve K vitaminlerine ihtiyaç duyulmaktadır. A vitamini epitelizasyon ve kollajen sentezinden sorumludur. K vitamini kan pıhtılaşmasında görev alırken, E vitamini antioksidan özelliğe sahiptir ve membran stabilizasyonunu sağlar. C vitamini, kollajen sentezinde görev aldığından eksikliği yara iyileşmesini ve kontraksiyonunu etkiler. Magnezyum, çinko, bakır, demir eksikliğinde ise yara epitelizasyonu düzgün gerçekleşmez (Mandal, 2006).

2.2.7.5 Steroid Kullanımı

Sistemik ya da topikal uygulanan bazı ilaçlar yara iyileşme prosesine etki ederek iyileşmeyi olumsuz yönde etkiler. Steroidler, iyileşmenin erken döneminde ödemi azaltmak amacıyla kullanılsa da yara iyileşmesinin ileriki fazlarında inflamatuvar yanıtı bozarak epitelizasyonu yavaşlatmaktadır (Parsak ve ark., 2007).

2.2.7.6 Diyabet

Diyabet hastalarında yara iyileşme süreci normal bireylere kıyasla daha yavaş gerçekleşmektedir. Buna sebep olan birçok faktör vardır. Örneğin; diyabette oluşan vasküler hasarlar yara bölgesindeki kan dolaşımı ve oksijenlenmeyi etkiler. Diyabette inflamasyon, anjiyogenez ve kollajen sentezi bozulur, hücresel bağışıklık zayıflar, enfeksiyon riski artar (Brem & Tomic-canic, 2007).

2.3 *Pinus* Cinsi (Çamlar)

2.3.1 *Pinus* Cinsinin Genel Özellikleri

Pinus, Pinaceae familyasına ait olup Kuzey yarım kürenin birçok bölgesinde yaygın olarak yetişen bir cinstir. Dünyada *Pinus* cinsine ait yaklaşık 115 tür bulunmaktadır (Erasmus, 2007).

Çam türleri yeryüzünde geniş ormanlar meydana getirmeleri, kereste, odun, reçine ve kağıt hamuru gibi ürünler vermeleri sebebiyle ekolojik ve ekonomik açıdan büyük değere sahiptir. Çam türlerinden terebentin, çam ve terebentin esansı, çam katranı gibi önemli ürünler elde edilmekte, aynı zamanda odun ve kağıt sanayisinde kullanılmaktadır (Kızıllarslan & Sevg, 2013; Tanker, Koyuncu, & Coşkun, 2007).

Türkiye’de çam ormanları kapladıkları 11.536.036 hektarlık alanla toplam orman alanının yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Çamlar, Türkiye’nin hemen her bölgesinde yetişmektedir. *Pinus* cinsinin Türkiye’de doğal olarak yetişen 5 türü bulunmaktadır: *Pinus brutia* (Kızılçam), *Pinus sylvestris* (Sarıçam), *Pinus nigra* (Karaçam), *Pinus pinea* (Fıstık çamı), *Pinus halapensis* (Halep çamı) (Kızıllarslan & Sevg, 2013; Türkiye Orman Varlığı, 2015).

2.3.2 *Pinus brutia* (Kızılçam)

Kızılçam dünyada özellikle Akdeniz ikliminin etkili olduğu alanlarda yayılış gösteren, boyu 20-25 metreye kadar uzayabilen bir çam türüdür. Ülkemizde en yaygın Akdeniz, Marmara ve Ege Bölgeleri’nde bulunmaktadır. Asıl geniş yayılışını Doğu Akdeniz’de gösterir. Dünyada en fazla yayılışı Türkiye’de görüldüğünden literatüre “Turkish red pine” olarak geçmiştir. 2015 yılı verilerine göre Türkiye’deki orman alanlarının %25.11’ini (5.610.215 hektar) oluşturarak tüm ağaç türleri arasında 2. sırada yer almaktadır. Ekonomik ve ekolojik değeri yüksek ağaç türlerimizdendir (Boydak, 2004; Türkiye Orman Varlığı, 2015).

Pinus brutia gövdelerine açılan yarıklardan terebentin (çam sakızı), terebentinin distilasyonu ile de terebentin esansı (oleum terebinthinae) ve kolofan adı verilen reçine elde edilmektedir. Terebentin esansı eczacılıkta merhem yapımında ve haricen romatizma ağrılarında; veteriner hekimlikte ağrı kesici, solunum ve idrar yolu hastalıklarında antiseptik olarak kullanılmıştır. *Pinus brutia*’nın gövde ve dallarının düşük ısıda yakılması ile Pix Pini (çam katranı) elde edilir. Siyah renge ve koyu

kıvama sahip bu ürün eczacılıkta solunum yolu, idrar yolu ve deri hastalıklarında kullanılmaktadır (Tanker ve ark., 2007).

2.3.3 *Pinus sylvestris* (Sarıçam)

Sarıçam dalları ve gövdesi sarımsı renkte olan, boyu 30-35 m uzunluğa ulaşabilen bir çam türüdür. Sarıçamlar düşük sıcaklıklara dayanıklıdır. Farklı iklim koşullarına iyi uyum sağlayabildiğinden Kafkasya'dan Kuzey Avrupa'ya kadar uzanan geniş bir yayılışa sahiptir. Ülkemizdeki dağılışına bakıldığında daha çok kuzey Anadolu'nun dağlık kesimlerinde (1300-2400 m) ormanlar meydana getirdiği görülmektedir. 1.518.929 hektarlık yayılış alanıyla Türkiye'deki orman alanlarının %6.8'ini oluşturmaktadır (Şevik & Topaçoğlu, 2015; Tanker ve ark., 2007; *Türkiye Orman Varlığı*, 2015).

Gövde odunları pek çok alanda kullanıldığından ve tercih edildiğinden ekonomik değeri olan bir ağaç türüdür. Sarıçam tomurcuklarının (Turio Pini) içerdiği reçineli bileşikler ve uçucu yağ diüretik ve ekspektoran etkiye sahiptir. Dallarının kuru distilasyonu ile Pix Pini (çam katranı) elde edilir ve haricen deri hastalıklarında kullanılır. Gövde ve dal kabukları yüksek miktarda tanen içermektedir (Fisher, 2002; Tanker ve ark., 2007).

2.3.4 *Pinus pinea* (Fıstık Çamı)

Boyu 15-30 m'ye ulaşabilen, üst gövdesindeki dallanma nedeniyle tepesi şemsiye şeklinde görünen bir çam türüdür. Şeklinden dolayı diğer çamlardan rahatlıkla ayırt edilebilir. Fıstık çamı, Portekiz'den Anadolu'ya kadar tüm Akdeniz kıyı kesimlerinde doğal yayılış göstermektedir. Ülkemizde en çok Ege Bölgesi'nde yetişmektedir. Türkiye'de 161.971 hektarlık alanda yayılış göstererek toplam orman alanlarının yalnızca %0.72'sini oluşturur (Tanker ve ark., 2007; *Türkiye Orman Varlığı*, 2015).

Fıstık çamının tohumlarından, odunundan ve reçinesinden yararlanılmaktadır. Çam fıstığı adı verilen yağ bakımından zengin tohumları, yemeklerde ve tatlılarda lezzet verici olarak kullanılır. Çam fıstığı önemli bir ihraç ürünü olduğundan ekonomik açıdan değerlidir (Tanker ve ark., 2007).

2.3.5 Çam Kabuğu Ekstreleri ve Biyolojik Aktiviteleri

Çam kabukları fenolik bileşikler açısından zengin bir içeriğe sahiptir. Fenolik bileşikler bitkilerde sekonder metabolit olarak bulunan, aromatik yapıdaki organik bileşiklerdir. Fenolik asitler (hidroksisinnamik, hidroksibenzoik asit ve türevleri) ve flavonoidler (antosiyantinler, flavonlar, flavonoller, kateşinler ve proantosiyanidinler) olarak iki gruba ayrılırlar. Fenolik bileşikler bir ya da daha fazla hidroksil grubu (-OH) içerdiklerinden serbest radikallerin meydana getirdiği oksidan etkiyi inhibe ederler (Narayana, Reddy, Chaluvadi, & Krishna, 2001).

Çam kabuğu ekstrelerinden ticari olarak en yaygın bulunanı Fransız sahil çamı (*Pinus maritima*) kabuklarından elde edilen piknogenoldür. Aynı zamanda piknogenol, üzerinde en çok çalışma yapılmış çam kabuğu ekstresidir. Bu ekstre esas olarak proantosiyanidinlerden oluşan, flavonoid/polifenol yapısında bir komplekstir. Proantosiyanidinler, kateşin ve epikateşinin kondenzasyonu ile oluşmuş flavonoid grubu bileşiklerdir. Bunların yanında kateşin, epikateşin, taksifolin monomerleri ile gallik asit, kafeik asit, ferulik asit gibi fenolik asitler de piknogenolün içeriğinde bulunmaktadır (D'Andrea, 2010; Packer, Rimbach, & Virgili, 1999).

Piknogenolde bulunan proantosiyanidinler ve diğer fenolik bileşiklerin insan sağlığı açısından faydalı pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir. Piknogenolün en belirgin özelliği güçlü antioksidan aktiviteye sahip olmasıdır. Aynı zamanda antimikrobiyal, antiviral, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, immunmodölatör, vazodilatör, antidiyabetik ve yara iyileştirici aktivitelere sahip olduğunu kanıtlayan çalışmalar mevcuttur (Maimoona, Naeem, Saddiqe, & Jameel, 2011; Packer ve ark., 1999; Tümen, Akkol, Taştan, Süntar, & Kurtca, 2018).

Günümüzde piknogenol, hem gıda takviyesi olarak hem de diyabet, kanser, inflamatuvar hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem hastalıkları gibi pek çok rahatsızlığa karşı etkili bulunduğu için fitoterapötik olarak tüm dünyada kullanılmaktadır. Piknogenolün ticari preparatı “Pycnogenol® (Horphag Research Ltd, UK, Geneva, İsviçre)” adı ile patentlidir (Becit, Aydın, & Başaran, 2017; D'Andrea, 2010; Packer ve ark., 1999).

Piknogenolün lokal olarak uygulandığında yara iyileşme sürecini hızlandığı *in vivo* hayvan deneyleriyle gösterilmiştir. İçerdiği fenolik bileşikler sayesinde yara iyileşme sürecinde okside olmuş askorbata bağlanarak geri dönüşümünü sağlamaktadır. Ayrıca kollajen ve elastine yüksek afinite gösterdiğinden enzimatik hidrolizlerini engelleyerek yenilenmeyi hızlandırdığı düşünülmektedir (Blazsó ve ark., 2004).

Çam kabukları eski zamanlardan beri halk arasında kullanılmaktadır. Türkiye’de ve dünyanın çeşitli bölgelerinde yapılmış etnobotanik çalışmalara bakıldığında çeşitli çam türü kabuklarının inflamatuvar deri hastalıklarında, yara tedavisinde, kanamaları durdurmada ve diş ağrılarının tedavisinde haricen kullanıldığı görülmektedir (Agelet & Vallès, 2003; Becit ve ark., 2017). Çam kabuklarının antik çağlarda deri ülseri, egzema ve yaraları iyileştirmek amacıyla ezilerek lapa şeklinde kullanıldığı bilinmektedir (Drehse, 2007). Türkiye’de *Pinus* cinsi üzerine yapılmış etnobotanik bir araştırmada *Pinus brutia* kabuklarının dekoksasyon şeklinde veya ezilerek haricen inflamasyonlu deri ve mukoza hastalıklarında kullanıldığı belirtilmiştir (Kızıllarslan & Sevgi, 2013).

O. Yesil-Celiktas ve ark., 2009 çalışmasında, Türkiye’den toplanan *P. pinea*, *P. sylvestris*, *P. nigra* ve Almanya’da toplanan *P. parviflora*, *P. ponderosa*, *P. sylvestris*, *P. nigra* kabuklarından elde edilen ekstraktların içeriğindeki aktif bileşenler ve total fenolik madde miktarları analiz edilmiş, radikal süpürücü aktiviteleri değerlendirilmiştir. En yüksek total flavan-3-ol ve total fenolik madde miktarının Aydın bölgesinden toplanan *P. pinea* ekstresinde bulunduğu saptanmıştır (O. Yesil-Celiktas ve ark., 2009).

Ozlem Yesil-Celiktas ve ark., 2009 çalışmasında, Türkiye’de bulunan çam türlerinden *P. brutia*, *P. sylvestris*, *P. nigra* ve *P. pinea* kabuklarının ekstraktları hazırlanmış ve bu ekstraktlar içerdikleri antioksidan bileşikler olan kateşin ve taksifolin miktarları açısından değerlendirilmiştir. *P. brutia* ve *P. nigra*’da fenolik madde miktarı *P. sylvestris*, ve *P. pinea*’ya göre daha yüksek bulunmuştur. Özellikle *P. brutia*’nın, diğer çam türleri ile yapılmış benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında taksifolin içeriği açısından zengin bir kaynak olabileceği belirlenmiştir (Ozlem Yesil-Celiktas ve ark., 2009).

Cetin ve ark., 2013 çalışmasında, *Pinus brutia* ekstresi ve Pycnogenol®’ün *in vivo* yara iyileştirici aktivitelerini karşılaştırmak amacıyla %2 oranında Pycnogenol® ve *Pinus brutia* kabuğu ekstresi içeren Y/S krem formülasyonları hazırlanmış ve sıçanlarda

oluşturulan insizyon yara modellerine 9 gün boyunca uygulanmıştır. Çalışma sonucunda epidermal kalınlık Pycnogenol® grubunda, plasebo ve *P. brutia* grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. *P. brutia* grubundaki vaskülarizasyon oranı ise diğer gruplara göre daha yüksektir. Pycnogenol® ve *P. brutia* uygulaması antioksidan SOD enziminin yükselmesine yol açmıştır. *P. brutia* ekstresi uygulanan grupta kontrol grubuna göre MDA seviyesinde düşüş gözlenmiştir. Bu bulgular *P. brutia* ekstresinin yara iyileşme sürecinde antioksidan etki gösterdiğini desteklemektedir. *Pinus brutia* ekstresi, kontrol ve Pycnogenol® grubuna göre daha hızlı iyileşme göstermiştir. Bu da *P. brutia* ekstresinin yara iyileşme tedavisinde kullanılabileceğine işaret etmektedir (Cetin ve ark., 2013).

Okur ve ark., 2019 çalışmasında, poloksamer kullanılarak %5 oranında Pycnogenol® içeren in situ jel formülasyonları hazırlanmış ve jellerin yara iyileştirici aktivitesi *in vivo* yara modeli ile farelerde 10 gün boyunca test edilmiştir. Pycnogenol® içeren jel formülasyonları 10. günde yara alanında %86.91 küçülme göstererek kontrol grubuna kıyasla belirgin derecede daha iyi yara iyileşmesi göstermiştir. Ayrıca epidermal ve dermal rejenerasyon, anjiyogenez ve granülasyon dokusunun kalınlığı üzerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde etki gösterdiği belirlenmiştir (Okur ve ark., 2019).

2.4 Deriye Uygulanan Yarı Katı İlaç Şekilleri

Yarı katı ilaç şekilleri lokal veya sistemik etki elde etmek amacıyla deri yüzeyine uygulanan homojen görünümlü, yumuşak kıvamlı, üç boyutlu yapıya sahip preparatlardır. Topikal preparatlar olarak da adlandırılırlar. Bir veya birden fazla etkin maddenin çeşitli taşıyıcı sıvıların içerisinde dağıtılması veya çözündürülmesi ile hazırlanırlar. Genel olarak merhemler, patlar, kremler ve jeller şeklinde sınıflandırılabilirler (Garg, Rath, & Goyal, 2014; Özer ve ark., 2015).

2.4.1 Merhemler

Deriye haricen uygulanmak üzere tasarlanmış, yumuşak kıvamlı, sürülebilir yarı katı preparatlardır. Merhemler deride hasarlı bölgeyi koruyarak yenilenmeyi hızlandırır, deriyi yumuşatır, topikal aktivite gösterirler ve hidrasyonu sağlarlar. Genellikle terapötik amaçla kullanıldıklarından etkin madde içerirler. Etkin madde, taşıyıcı sıvı içinde çözünmüş olarak veya süspansiyon halinde bulunabilir.

Merhemlerin taşıyıcı kısmı genellikle tek fazdan oluşan yağlı sıvağlar olmakla beraber S/Y tipi emülsiyon formunda da olabilmektedir. Kullanılan sıvağ çeşidine göre absorpsiyon merhemleri, hidrofilik merhemler ve hidrofobik merhemler olarak sınıflandırılabilirler (Değim, 2009; Garg et al., 2014)

2.4.2 Patlar

Patlar yapı olarak merhemlere benzeyen ancak içeriğinde çok daha yüksek oranda katı madde bulunduran yarı katı preparatlardır. Patlarda %50-70 oranında katı madde yağlı sıvağ içerisinde süspande halde bulunur. Genellikle hidrokarbon sıvağlarıyla hazırlanırlar. Deri yüzeyinde koruyucu tabaka oluşturan koyu kıvamlı ürünlerdir (Değim, 2009; Özer, Ertan, ve ark., 2015).

2.4.3 Kremler

Kremler genellikle emülsiyon formunda hazırlanmış çok fazlı, kolay uygulanabilen yarı katı preparatlardır. Hem kozmetik hem terapötik amaçlı olarak yaygın şekilde kullanılırlar. Daha çok su içinde yağ (Y/S) emülsiyonu şeklinde hazırlanırlar. Yağ içinde su (S/Y) emülsiyonu şeklinde hazırlananlarda yağ oranı merhemlere göre düşüktür. İki fazın birbirine karışması, fazlar arasındaki yüzey gerilimini düşüren emülgatörler aracılığıyla sağlanır. Emülgatör seçimi yapılırken kremin içeriğinde bulunan sıvağların Hidrofilik-Lipofilik Balans (HLB) değerleri dikkate alınmalıdır. Emülgatör çeşidi ve oranının HLB değerine uygun olarak belirlenmesi emülsiyonun stabil kalması ve faz ayrışması görülmemesi açısından önemlidir (Garg et al., 2014; Scott, Duncan, Sumner, & Waterman, 2003).

2.4.4 Jeller

Jeller inorganik veya organik katı bileşiklerin sıvı fazda dağılarak veya çözünerek meydana getirdiği, opak veya transparan görünümde, homojen özellikte yarı katı preparatlardır. Jeller hem kozmetik hem terapötik alanda sıklıkla tercih edilen formülasyon şekillerindendir. Tipik bir jel formülasyonunun bileşiminde etkin madde, su, jel yapıcı ajan, yardımcı çözücü, antimikrobiyal koruyucu ve stabilize edici ajan bulunur. Jeller genellikle tek fazlı ve çift fazlı sistemler olarak sınıflandırılırlar. Tek fazlı sistemler organik bileşiklerin sıvı fazda çözünmesiyle oluşan sistemlerdir. Çift fazlı sistemlerde ise inorganik bileşikler sıvı faz içinde dağılarak ağ yapısı oluşturmuştur. Tek fazlı sistemlerde sıvı faz genellikle sudur. Sürekli fazı su olan

jellere hidrojel, sürekli fazı alkol, mineral yağ gibi organik sıvılar olan jellere organojel adı verilmektedir (Akyar, 2016; Garg et al., 2014; Garg, Singh, & Goyal, 2013).

2.4.4.1 Jellerin Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler

Jellerin hazırlanmasında kullanılan polimerler genel olarak doğal polimerler, yarı sentetik polimerler ve sentetik polimerler olarak 3 grupta incelenebilir (Sowmya, Gowda, & Srivastava, 2015).

Doğal polimerlere örnek olarak protein yapıdaki jelatin ve kollajen ile polisakkarit yapıdaki kitosan, pektin, agar, karragen, aljinatlar, kitre zımkı, arap zımkı ve ksantan zımkı verilebilir (Akyar, 2016).

Yarı sentetik polimerler selülozdan elde edilen metil selüloz (MC), karboksi metil selüloz (CMC), sodyum karboksi metil selüloz (Na-CMC), hidroksi propil metil selüloz (HPMC) gibi selüloz türevleridir. Jellerin hazırlanmasında sıklıkla kullanılırlar (Sowmya ve ark., 2015).

Sentetik polimerler polivinil alkol (PVA), poliakrilamidler, polioksietilen-polioksipropilen kopolimeri olan poloksamerler ve akrilik asit polimeri olan karbomerlerdir (Değim, 2009).

Bunların dışında inorganik maddeler (Bentonit) ile çeşitli surfaktanlar (Tween, Brij) da jellerin hazırlanmasında kullanılabilmektedir (Sowmya ve ark., 2015).

2.4.4.2 Karbomerler

Karbomerler, yüksek molekül ağırlıklı çapraz bağlı akrilik asit polimerleridir. Beyaz, hafif karakteristik kokulu, asidik yapıda higroskopik toz formundadırlar. Su, alkol ve gliserinde çözünürler. Süspansiyonlar, emülsiyonlar ve yarı katılar gibi farmasötik formülasyonların akış özelliklerini düzenlemek amacıyla, inceltici ve viskozite ajanı olarak sıklıkla kullanılan polimerlerdir. Birçok etkin madde ile geçimli stabil taşıyıcılardır. Çapraz bağlanma ve polimerizasyon şekillerine göre farklı türevleri elde edilir. Yaygın olarak bilinen ticari isimleri Carbopol®'dur. Özellikle Carbopol® 934 ve Carbopol® 940 çok yaygın kullanılır. Jellerin hazırlanmasında %0.5-2 oranında kullanılırlar. Karbopoller suda disperse edildiğinde yüksek miktarda su absorbe ederek hacimlerinin 1000 katına kadar şişebilme özelliğine sahiplerdir (Akyar, 2016; Bonacucina, Martelli, & Palmieri, 2004).

Su içinde disperse olmuş karbomerin yapısında bulunan karboksilik asit grupları düşük pH'da non-iyonize formdadır. Jelleşmenin sağlanması trietanolamin,

dietanolamin, potasyum hidroksit, sodyum hidroksit, sodyum bikarbonat, boraks gibi amin grubu içeren nötralizasyon ajanları ilave edilmelidir. Nötralizasyon ile iyonize tuz formuna geçen karboksilat grupları birbirinden uzaklaşır, dispersiyonun pH değeri ve viskozitesi artarak yarı katı jel formuna dönüşür. Nötralize edici ajan eklendikçe jelin pH değeri, viskozitesi ve berraklığı artar. Nötralizasyonun fazla yapılması viskozitenin azalmasına ve çökmeye neden olabilir. pH değeri 4.5-5.0 aralığına ulaştığında jelin viskozitesi berraklığı kabul edilebilir düzeydedir. Optimum berraklık ve viskozite pH 7’de gözlemlenir (Bonacucina ve ark., 2004; Pena, 2013).

Karbopoller ile hazırlanan jeller optimum reolojik özelliklere sahiptir ve plastik akış gösterirler. Bir çalışmada %0,2; %0,5; %1; %1,5; %2; %3 oranında Carbopol® 934 kullanılarak jel formülasyonları hazırlanmış ve kayma hızına karşı ölçülen viskoziteleri değerlerinin karbopol oranı arttıkça arttığı görülmüştür (Pena, 2013; Shin, Kim, & Oh, 2000).

2.5 Reoloji

Reoloji maddelerin şekil değişikliğini inceleyen bilim dalıdır. Şekil değişikliği katılar için deformasyon, sıvılar için ise akış olarak tanımlanmaktadır. Farmasötik ürünlerin reolojik özellikleri formülasyon geliştirme, üretim, kalite kontrol gibi pek çok aşamada önem taşımaktadır. Akış özellikleri ürünün biyoyararlanımına, stabilitesine ve hasta uyuncuna doğrudan etki etmektedir. Katı dozaj şekillerinde tozların akış özellikleri, tablet basımı, kapsüllerin doldurulması, karıştırma gibi işlemleri etkilemektedir. Parenteral formülasyonların enjektör iğnesinden geçişi, emülsiyon ve süspansiyonlarda şişeden akış, yeniden dağılılabirlik özellikleri, yarı katı ilaç şekillerinde ise ürünün tüpten boşaltılabilmesi ve yayılabilirliği reolojik özelliklerle ilgilidir. Farmasötik alanda reoloji; etkin ve yardımcı maddelerin standardizasyonunda, karıştırma, kazandan aktarma, borudan akma gibi işlemlerde üretim prosesinin optimize edilmesinde, formülasyonların ambalajlanmasında, biyoyararlanım, kalite kontrol ve stabilite çalışmalarında kullanılmaktadır (Çelebi, 2009; Yazan, 2002).

Sıvılar uygulanan kuvvet karşısında akış özelliği gösterirler. Bu akışa karşı gösterilen direnç viskozite olarak tanımlanmaktadır. Sıvıların akış özelliklerini belirlemede önemli bir parametredir. Akmaya karşı gösterilen direnç ne kadar fazlaysa maddenin viskozitesi o kadar yüksektir. Bu direnç sıvı moleküllerinin birbirine sürtünmesiyle

oluşur. Viskozite birimi olarak Poise (p), centiPoise (cP), Pascalsaniye (Pas) ve miliPascalsaniye (mPas) kullanılmaktadır (Çelebi, 2009; Özer, Ertan, ve ark., 2016).

2.5.1 Akış Tipleri

Sıvılar akış özelliklerine göre Newtonian ve Non-Newtonian sistemler olmak üzere 2 grupta incelenmektedir (Özer, Ertan, ve ark., 2016).

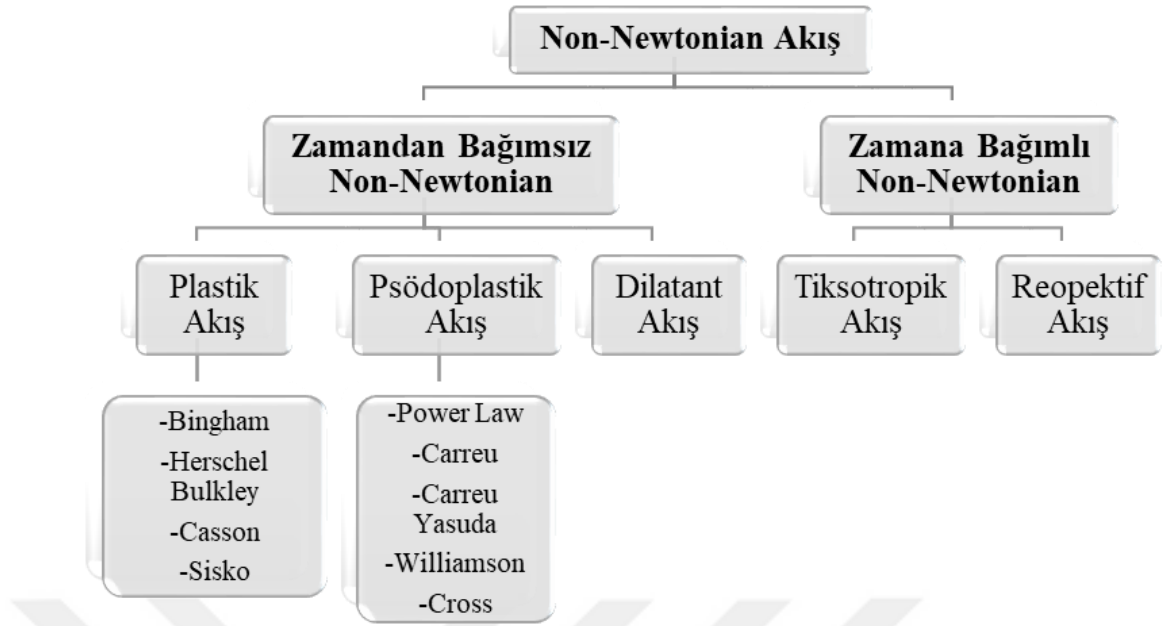
2.5.1.1 Newtonian Akış

Newtonian akış özelliği gösteren sistemlerde kayma hızı (shear rate) ve kayma gerilimi (shear stress) birbiriyle doğru orantılı olarak artış göstermektedir. Akış eğrisi doğru şeklindedir ve başlangıç noktasından geçer. Viskozite değeri sabittir. Su, etanol, benzen, gliserin, mineral yağ, eter, çok seyreltik çözeltiler ve seyreltik çift fazlı sistemler örnek olarak verilebilir (Çelebi, 2009; Lee, Moturi, & Lee, 2009).

2.5.1.2 Non-Newtonian Akış

Newtonian olmayan sistemlerde kayma hızı (shear rate) ile kayma gerilimi (shear stress) arasındaki ilişki doğrusal değildir. Çoğu sıvı Newtonian olmayan özellik gösterir. Akış eğrileri doğrusal değildir ve başlangıç noktasından geçmez. Kayma hızı veya zamana bağlı olarak viskozitede değişim görülebilmektedir. Emülsiyonlar, süspansiyonlar, kolloidal dağılımlar, merhemler, patlar gibi farmasötik formülasyonlar Newtonian olmayan akış özelliği gösterirler (Lee et al., 2009).

Non-Newtonian akışlar zamana bağımlı ve zamandan bağımsız olarak 2'ye ayrılır (Şekil 3). Zamandan bağımsız non-Newtonian akışlar plastik akış, psödoplastik akış (kayma incelmesi, shear-thinning) ve dilatant akış (kayma kalınlaşması, shear-thickening) olarak 3 temel grupta incelenmektedir. Bu akış tiplerinde viskozite, kayma hızı ve kayma gerilimine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Zamana bağımlı non-Newtonian akış tipleri ise tiksotropik akış ve reopektif akıştır (Şekil 3). (Özer ve ark., 2015; Yeğiner, 2014; Zengin, 2014).



Şekil 3: Non-Newtonian akış tiplerinin sınıflandırılması (Zengin, 2014).

2.5.1.2.1 Plastik Akış

Plastik akış özelliğine sahip sıvılarda akışı başlatabilmek için belirli bir kayma gerilimi uygulanması gerekir. Uygulanması gereken bu minimum kayma gerilimine eşik değeri denir. Bu değerin altında bir kuvvet uygulandığında sıvılar katı madde gibi davranır ve akış göstermezler. Eşik değeri aşıldıktan sonra ise kayma gerilimi kayma hızına bağlı olarak artış gösterir. Plastik akış eğrileri başlangıç noktasından geçmez. Plastik akış gösteren maddeler akışa geçtikten sonra akış eğrisi doğrusal ilerliyorsa Bingham-plastik akış özelliği görülmektedir. Eşik değerini aştıktan sonra doğrusal akış eğrisi göstermeyen plastik akış tiplerini tanımlamak için Herschel-Bulkley ve Casson matematiksel modelleri geliştirilmiştir. Sisko ve Ellis modelleri ise plastik akış tipinde viskozite eğrilerini tanımlamaktadır. Tüm plastik akış tiplerinde kayma hızı arttıkça viskozitede düşüş görülmektedir. Süspansiyonlar ve floküle sistemler plastik akış özelliği gösterirler. Bu sistemlerde bulunan katı partiküller aralarındaki etkileşimlerden dolayı kümeleşerek çökme eğilimindedir. Floküle süspansiyonlarda, hızlı çöken partiküller gevşek kümeler oluşturduğundan yeniden dağılılabirliği kolaydır. Defloküle süspansiyonlarda ise çökme yavaştır ve çöken partiküller arasında sıkı bağlantılar olduğundan yeniden dağılması zordur. Süspansiyonlarda çalkalama ile oluşan kayma gerilimi flokülasyon kuvvetini aştığında akış görülür. Kontrollü flokülasyonun sağlanması için yüzey aktif maddeler, polimerik maddeler ve elektrolit

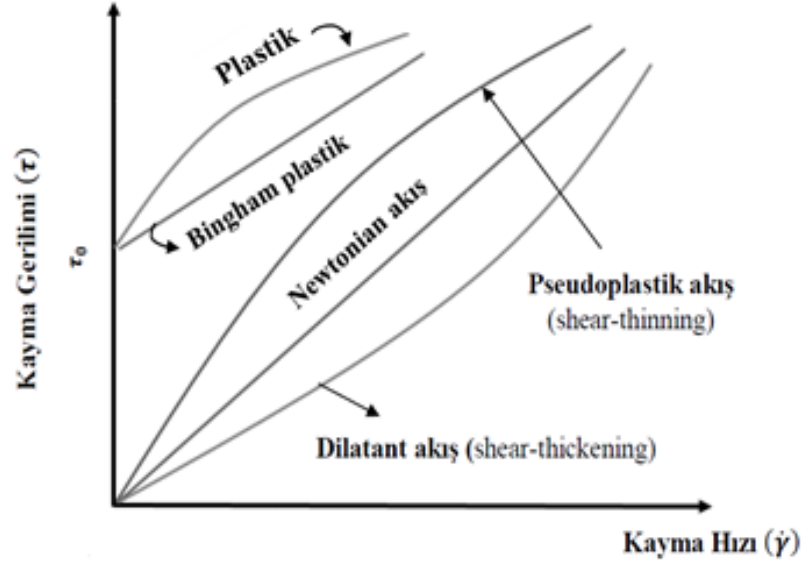
ajanlar kullanılır. Kremler, patlar, diş macunları, merhemler ve jeller çoğunlukla plastik akış özelliği gösterir (Şekil 4) (Lee ve ark., 2009; Özer ve ark., 2015; Yeğiner, 2014; Zengin, 2014).

2.5.1.2.2 Psödoplastik Akış

Zamana bağlı olmayan non-Newtonian akış tiplerindendir. Akış eğrisi başlangıç noktasından geçer. Akışın başlaması için eşik değerine ihtiyaç yoktur. Kayma gerilimi ve kayma hızı arttıkça viskozitede azalma görülür. Yüksek kayma hızlarında yapıda incelme görülür, akış kolaylaşır ve akış eğrisi ideal akış özelliğine yaklaşır. Bu sistemler karıştırıldıkça veya çalkalandıkça cıvıklaşır. Non-Newtonian sıvıların çoğu psödoplastik akış özelliği gösterir. En tipik örneği kolloidal sistemlerdir. Lifli ve miselli solüsyonlar, zamklar, müsilaclar, selüloz türevleri, polimer çözeltileri, polimerik yapıdaki yarı katı sistemler, bazı süspansiyon ve emülsiyonlar psödoplastik akışa örnek olarak gösterilebilir. Power law, Carreau, Carreau-Yasuda, Cross ve Ellis modelleri psödoplastik akış altında geliştirilen matematiksel modellerdir. Power Law modeli akış eğrilerini, Carreau, Carreau-Yasuda, Cross ve Ellis modelleri ise viskozite eğrilerini tanımlamaktadır (Şekil 4) (Çelebi, 2009; Kumara, Prakash, Lokesh, & Manral, 2015; Yeğiner, 2014; Zengin, 2014).

2.5.1.2.3 Dilatant Akış

Dilatant akış özelliğine sahip sistemler psödoplastik akışa benzer olarak herhangi bir eşik kuvvetine ihtiyaç duymaz ve akış eğrisi başlangıç noktasından geçer. Psödoplastik akış tipinin tersi özellik gösterir. Kayma hızı ve kayma gerilimi arttıkça viskozite artmaktadır. Uygulanan kayma gerilimiyle birlikte yapısal hacim artar ve kayma kalınlaşması gözlenir. Yani karıştırma ile ortam yoğunlaşır. Süspansiyonlarda disperse halde bulunan katı partiküller birbirine çok yakın olduğunda, kayma hızı artışıyla partiküllerin arasında minimum olan boşluk hacmi artar. Süspansiyonun sıvı fazı bu boşlukları doldurmaya yeterli değilse partiküller sıvı ajan ile tamamen ıslanamaz ve sistem sert katı bir hal almaya başlar. Karıştırma veya çalkalamayla akışa karşı direncin arttığı bu tarz yoğun süspansiyonlar dilatant akışa örnek olarak verilebilir. (Şekil 4) (Çelebi, 2009; Yazan, 2002; Yeğiner, 2014).



Şekil 4: Farklı akış tiplerine ait kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri (Zengin, 2014).

3. Gereç ve Yöntem

3.1 Gereç

Tablo 1: Kullanılan cihaz ve malzemeler.

Hassas terazi	Mettler Toledo AB 104
Öğütücü	GRT-16BL Öğütücü Değirmen
Rotary Evaporatör	Heidolph Hei-VAP Value
Manyetik karıştırıcı	IKA Werke RT 15 Power, Almanya
Vorteks	Vwr International
pH Metre	Thermo Scientific-Orion 5 Star pH-Ise-Cond-Do-Benchtop Multiparameter
Reometre	TA Instruments Discovery HR-1 Hybrid
Viskozimetre	Brookfield DV-E Viscometer
Inverted Mikroskop	Olympus IX-71
Liyofilizatör	Labconco
Çalkalayıcılı inkübatör	Thermo Scientific MaxQ 6000
Derin dondurucu (-86 °C)	Nuaire-Glacier-86 ° C Ultraflow Temperature Freezer
Ultrasonik banyo	Elma, Transsonic 460/H
Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Thermo Scientific-Dionex Ultimate 3000 Pump
Su Banyosu	Memmert
Soxhlet ekstraksiyon aparatı	Sigma, Almanya
Diyaliz membranı MWCO:500-1000 Da	Spectra/Por dialysis membrane, ABD
C18 Kolon (HPLC)	Symmetry, Waters Corporation, ABD

Tablo 2: Kullanılan kimyasal maddeler.

Carbopol® 940	HiMedia, Hindistan
Propilen glikol	Sigma Aldrich, ABD
Gliserin %99,5 Farma Kalite	Tekkim, Türkiye
Stearik asit	Sigma Aldrich, Malezya
Stearil Alkol (1-Octadecaol, %97)	Alfa Aesar, Almanya
Sıvı parafin	Merck, Almanya
Polysorbate 80	Merck, Almanya
Span 80	Merck, Almanya
Metil paraben	Sigma Aldrich, ABD
EDTA disodyum	Merck, Almanya
Ethanol absolute	Merck, Almanya
Methanol for HPLC	Merck, Almanya
Trietanolamin	Merck, Almanya
Fosfat tamponu çözeltisi (PBS 7.4 buffer tablet)	Honeywell, Fluka, Almanya
MEM Earle's besi ortamı	Merck, Almanya
Fetal Bovine Serum (FBS)	Cegrogen Biotech, Almanya
Penisilin/Streptomisin	Biochrom, Almanya
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma Aldrich, USA
Asetonitril (HPLC)	Carlo Erba, Fransa

3.2 Yöntem

3.2.1 *Pinus* Kabuklarından Ekstre Hazırlanması

Pinus brutia, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* ağaçlarının kabukları Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Botanik Bahçesi ve Herbaryum Merkezi'nden tedarik edildi. Suda çözünmüş formda elde edilen çam kabuğu ekstraktlarına liyofilizasyon işlemi uygulandı. Liyofilizasyon işlemi sonrası elde edilen kuru ekstre miktarları; 4.2013 g (*Pinus brutia*), 4.3985 g (*Pinus sylvestris*), 3.9853 g (*Pinus pinea*) olarak belirlendi.

3.2.2 *In vitro* Hücre Kültürü Çalışmaları

In vitro hücre kültürü çalışmaları, Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (EGE-MATAL) gerçekleştirildi.

3.2.2.1 Sitotoksikite Testi

Sitotoksikite testinde kullanılan hücrelerin tipi BJ, kaynağı Human Foreskin Fibroblast (Monolayer)'dır. Kullanılan hücrelerin pasaj numarası 5'tir.

Çam kabuğu ekstraktlarının sterilizasyonunda etilen oksit kullanıldı. Test materyalleri 800 µg/mL konsantrasyonda olacak şekilde serum içermeyen MEM Earle's besi ortamı içerisinde 37°C ± 0.1'de 24 saat süre ile ekstrakte edildi.

96 kuyucuklu mikrotipler üzerine 1x10⁵ hücre/mL konsantrasyonda ekilen hücreler üzerine her bir çam kabuğu ekstresi 6 farklı konsantrasyonda (25 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 400 µg/mL, ve 800 µg/mL) eklendi. 48 saatin sonundaki (37°C'de %5 CO₂ ve %95 nemli ortamda) sitotoksik etkileri MTT testi ile spektrofotometrede (570 nm) absorbansları okunarak değerlendirildi.

Spektrofotometre ile yapılan ölçümler sonucunda belirlenen değerlerle hesaplamalar yapıldı ve çam kabuğu ekstraktları için hücrelerin canlılığının etkilenmesine yönelik olan sitotoksikite değerleri hesaplandı.

3.2.2.2 Yara İyileşme Testi

Yara iyileşme testinde kullanılan hücrelerin tipi BJ, kaynağı Human Foreskin Fibroblast (Monolayer)'dır. Kullanılan hücrelerin pasaj numarası 5-8 aralığındadır.

Çam kabuğu ekstralarının sterilizasyonunda etilen oksit kullanıldı. Test materyalleri 800 µg/mL konsantrasyonda olacak şekilde serum içermeyen MEM Earle's besi ortamı içerisinde 37°C ± 0.1'de 24 saat süre ile ekstrakte edildi.

24 kuyucuklu mikropalakalar üzerine 1x10⁵ hücre/mL konsantrasyonda ekilen hücreler konfluent oluncaya kadar 37°C'de %5 CO₂ ve %95 nemli ortamda inkübe edildi. Konfluent olan hücreler 10-100 µL'lik pipet uçları yardımı ile belirli bir mesafede çizildi ve yara modeli oluşturuldu. Oluşturulan yaraların üzerine her bir çam kabuğu ekstresi 6 farklı konsantrasyonda (1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL ve 80 µg/mL) eklendi ve 24 saat süresince 37°C'de %5 CO₂ ve %95 nemli ortamda inkübasyona devam edildi. Hiçbir test materyali uygulanmayan hücreler çalışmada kontrol grubu olarak kullanıldı.

Yara iyileşme testinin görüntülenmesinde Olympus IX-71 inverted mikroskop ve Olympus DP 72 kamera kullanıldı. Hücrelerin inverted mikroskop altında x4 büyütmede 0. ve 24. saatlerde dijital fotoğrafları çekildi. Görüntüler üzerinde Image Pro Express programı kullanılarak ölçümler yapıldı.

3.2.2.3 Yara İyileşme Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Yara modellerinin 0. ve 24. saatlerde çekilen dijital fotoğrafları üzerinde Image Pro Express programı kullanılarak yara kenarları arasındaki uzaklıklar µm cinsinden hesaplandı. Her görüntü üzerinde 5 farklı noktadan alınan ölçümlerle ortalama uzaklık değerleri elde edildi.

Her bir ekstre ve kontrol grubu için oluşturulan yara modellerinin 0. ve 24. saatlerdeki durumları ölçülen mesafeler açısından değerlendirildi ve yara kapanma yüzdeleri hesaplandı.

Her gruba ait veriler Microsoft Office Excel 2010 versiyonu üzerine yazılarak, IBM SPSS Statistics ver. 25.00 (Statistical Package for Social Sciences) programında oluşturulan veri tabanına aktarılıp istatistiksel analizleri yapıldı.

Mesafe değerlerine analiz öncesi logaritmik (Log₁₀) dönüşüm uygulandı. Doz-zaman etkileşiminin mesafeler üzerindeki istatistiksel önemi 7x2 Faktöriyel Varyans Analizi ile incelendi. Bazal değerler, dozlar arası tek yönlü varyans analizi ile değerlendirildi. 24 saatlik analizler ise kovaryans analizi kullanılarak yapıldı.

Varyans analizi sonrasında Post Hoc yöntem olarak Tukey HSD kullanıldı ve son olarak her bir dozun kendi içinde 0-24 saat farklılığı için eşleştirilmiş iki örnek t-Testi kullanıldı. Tüm hipotez testleri 0.05 önem seviyesinde gerçekleştirildi.

3.2.3 Ön Formülasyon Çalışmaları

3.2.3.1 Krem Formülasyon Denemeleri

Krem formülasyonlarının yağ fazında taşıyıcı sıvı olarak sıvı parafin, emülsifiyan olarak stearik asit, stabilize edici ajan olarak setil alkol veya stearil alkol kullanıldı. Su fazında yumuşatıcı ve taşıyıcı ajan olarak gliserin veya propilen glikol, antimikrobiyal madde olarak metil paraben kullanıldı. Stearik asit, sıvı parafin, setil alkol, stearil alkol, propilen glikol ve gliserin formülasyonlarda farklı oranlarda kullanılarak uygun krem formülasyonunun belirlenmesi amaçlandı (Tablo 3).

Formülasyonun yağ fazına ait bileşenleri belirlenen oranlara uygun miktarlarda tartılarak bir behere alındı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık yavaş yavaş arttırılarak 70°C'ye getirildi. Böylece yağ fazında bulunan maddelerin eriyerek birbirine homojen karışması sağlandı. Su fazında bulunan gliserin/propilen glikol ve metil paraben belirlenen oranlara uygun miktarlarda tartılarak distile suya eklendi. Su fazı da ısıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde ısıtılarak sıcaklığın 70°C'ye ulaşması sağlandı. Isıtma işlemi tamamlandıktan sonra su fazı aynı sıcaklıktaki yağ fazı üzerine yavaş yavaş ilave edildi. Ekleme sırasında ve ekleme işlemi bittikten sonra 10 dakika boyunca 70°C'de karıştırmaya devam edildi. Ardından krem formülasyonunun sıcaklığı kontrollü olarak düşürüldü ve oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı.

Tablo 3: Krem formülasyon denemeleri.

Formülasyon	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	K11
Yağ Fazı											
Sıvı parafin (%)	10	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Stearik asit (%)	10	15	15	20	15	15	15	15	15	15	15
Setil alkol (%)	3	3	3	3	5	-	-	5	5	5	5
Stearil alkol (%)	-	-	-	-	-	3	5	-	-	-	-
Su Fazı											
Gliserin (%)	5	5	5	5	5	5	5	5	3	-	-
Propilen glikol (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3
Metil paraben (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Distile su (q.s.)	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g	10 g

3.2.3.2 Jel Formülasyon Denemeleri

Jel oluşturuıcı ajan olarak Carbopol® 940 kullanıldı. Yardımcı çözücü olarak propilen glikol, antimikrobiyal madde olarak metil paraben, stabilize edici ajan olarak ise EDTA disodyum kullanıldı. %0.5, %1, %1.5 ve %2 oranında Carbopol® 940 kullanılarak 4 farklı etkin madde içermeyen formülasyon hazırlandı (Tablo 4).

Belirlenen miktarda karbopol tartılarak distile suya eklendi. Manyetik karıştırıcıda 2 saat karıştırıldıktan sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilerek karbopolün şişmesi sağlandı. Belirlenen miktarlarda propilen glikol, EDTA disodyum ve metil paraben tartılarak distile suda çözündürüldü ve ardından karbopol çözeltisine manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ilave edildi. Nötralize edici ajan olarak çözeltiliye trietanolamin eklenerek jel oluşumu sağlandı.

Tablo 4: Jel formülasyon denemeleri.

	Carbopol 940 (%)	Propilen glükol (%)	Metil paraben (%)	EDTA disodyum (%)	Trietanolamin (µl)	Distile su (q.s.)
F1	0.5	10	0.1	0.01	200	50 g
F2	1	10	0.1	0.01	450	50 g
F3	1.5	10	0.1	0.01	600	50 g
F4	2	10	0.1	0.01	700	50 g

3.2.3.3 Ön Formülasyon Denemelerinin Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.3.3.1 pH Ölçümleri

Ön formülasyon denemeleri için hazırlanan F1, F2, F3 ve F4 jellerinin pH değerleri oda sıcaklığında pH metre (Thermo Scientific-Orion 5 Star pH Meter) kullanılarak belirlendi. Formülasyonların pH değeri aralığı 5.2-5.6 olacak şekilde damla damla trietanolamin ilave edildi.

3.2.3.3.2 Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesi

F1, F2, F3 ve F4 formülasyonları görünüş, renk ve homojenite açısından değerlendirildi.

3.2.3.3.3 Viskozite Ölçümleri

F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarının viskoziteleri oda sıcaklığında Brookfield DV-E Viskozimetre kullanılarak ölçüldü. Ölçümlerde jel formülasyonlarının viskozite ve % tork değerine uygun olarak 64 numaralı spindle kullanıldı.

3.2.4 Jel Formülasyonlarının Hazırlanması

3.2.4.1 Etkin Madde İçermeyen Jel Formülasyonlarının Hazırlanması

Ön formülasyon çalışmaları ile belirlenen %0.5 ve %1 oranlarında Carbopol® 940 kullanılarak etkin madde içermeyen formülasyonlar hazırlandı. Belirlenen miktarlarda karbopol tartılarak distile suya eklendi. Manyetik karıştırıcıda 2 saat karıştırıldıktan

sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilerek karbopolün şişmesi sağlandı. Propilen glikol, EDTA disodyum ve metil paraben tartılarak distile suda çözündürüldü ve ardından karbopol çözeltisine manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ilave edildi. Nötralize edici ajan olarak çözeltiye trietanolamin eklenerek jel oluşumu sağlandı (Tablo 5).

3.2.4.2 Etkin Madde İçeren Jel Formülasyonlarının Hazırlanması

Ön formülasyon çalışmaları ile belirlenen %0.5 ve %1 oranlarında Carbopol® 940 kullanılarak etkin madde içeren formülasyonlar hazırlandı. Belirlenen miktarlarda karbopol tartılarak distile suya eklendi. Manyetik karıştırıcıda 2 saat karıştırıldıktan sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilerek karbopolün şişmesi sağlandı. *Pinus brutia* kabuk ekstresi, propilen glikol, EDTA disodyum ve metil paraben tartılarak distile suda çözündürüldü ve karbopol çözeltisine manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ilave edildi. Nötralize edici ajan olarak çözeltiye trietanolamin eklenerek jel oluşumu sağlandı (Tablo 5).

Tablo 5: Hazırlanan jel formülasyonlarının içerikleri.

	Carbopol 940 (%)	Propilen glikol (%)	Metil paraben (%)	EDTA disodyum (%)	<i>Pinus brutia</i> ekstresi (µg/mL)	Trietanol- amin (µl)	Distile su (q.s.)
F5	0.5	10	0.1	0.01	-	200	50 g
F6	1	10	0.1	0.01	-	300	50 g
F7	0.5	10	0.1	0.01	20	250	50 g
F8	1	10	0.1	0.01	20	400	50 g

3.2.5 Jel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.5.1 pH Ölçümleri

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının pH değerleri oda sıcaklığında pH metre (Thermo Scientific-Orion 5 Star pH Meter) kullanılarak belirlendi. Formülasyonlara pH değeri aralığı 5.2-5.6 olacak şekilde damla damla trietanolamin ilave edildi.

3.2.5.2 Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesi

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonları görünüş, renk ve homojenite açısından değerlendirildi.

3.2.5.3 Reoloji Analizleri

Reoloji ölçümlerinde TA Instruments Discovery HR-1 Hybrid Reometre ile çalışıldı. F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının reoloji analizleri, jellerin hazırlanmasından 24 saat sonra üç tekrar halinde gerçekleştirildi. Ölçümlerde 40 mm çapında paralel plaka kullanıldı. Her ölçüm için Soak Time: 60 saniye, Ölçüm süresi: 60 saniye, Kayma hızı (Shear rate) aralığı: 0-1000 1/s (linear) olarak belirlendi. Sistemin sıcaklığı ölçüm boyunca $25 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutuldu.

Ölçüm verilerinin elde edilmesinde reometreye ait Trios yazılım programı kullanıldı. Analizlerin sonucunda her bir formülasyon için değişen kayma hızı (shear rate) değerine karşı, kayma gerilimi (shear stress) ve viskozite (viscosity) değerleri elde edildi. Kayma hızı-kayma gerilimi ve kayma hızı-viskozite grafikleri oluşturularak bu grafiklere ait R^2 değerleri hesaplandı. Grafiklere göre formülasyonların akış özellikleri değerlendirildi.

3.2.5.4 Stabilité Çalışmaları

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının hızlandırılmış stabilite çalışmaları buzdolabında $+4^{\circ}\text{C}$ 'de, stabilite kabininde (Nüve TK 252) $+25^{\circ}\text{C}$ sıcaklık-%60 relatif nem, $+40^{\circ}\text{C}$ sıcaklık-%73 relatif nem koşullarında 3 ay süreyle gerçekleştirildi. Formülasyonlar 1. ve 3. ayların sonunda fiziksel özellikler, pH ve reoloji açısından değerlendirildi.

3.2.5.4.1 Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesi

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonları 1. ve 3. ayların sonunda görünüş, renk ve homojenite açısından değerlendirildi.

3.2.5.4.2 pH Ölçümleri

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının pH değerleri 1. ve 3. ayların sonunda oda sıcaklığında pH metre kullanılarak belirlendi. Ölçüm sonuçları başlangıç anında ölçülen pH değerleriyle karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.2.5.4.3 Reoloji Analizleri

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının 1. ve 3. ayların sonundaki reoloji analizleri 3.2.5.4 başlığında anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları başlangıç anında yapılan analizle karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.2.6 In Vitro Salım Çalışmaları

3.2.6.1 Dissolüsyon Testi

In vitro salım çalışmaları 100 rpm hızda ve 37° C sabit sıcaklıkta çalışan inkübatör içerisindeki yatay çalkalayıcıda gerçekleştirildi. Molekül ağırlığı 500-1000 Da olan diyaliz membranlar 15 dakika distile suda bekletildi. Diyaliz membranlara etkin madde içeren jel formülasyonlarından 1'er gram koyularak iki tarafı kapatıldı. Salım çalışması 3 paralel halinde yapıldı. 100 mL pH 7.4 fosfat tamponu içeren salım ortamında 24 saat boyunca dissolüsyon deneyi gerçekleştirildi. 5, 15, 30, 45, 90, 120, 180, 240, 300, 360 ve 420. dakikalarda salım ortamından 1 mL örnek alınarak yerine aynı miktarda tampon çözeltisi eklendi.

3.2.6.2 Dissolüsyon Örneklerinin Analizi

Dissolüsyon örneklerinin miktar tayini analizleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography-HPLC) yöntemi ile yapıldı. Örneklerin analizi, *Pinus brutia* ekstresinde bulunan total flavonoid miktarı tayin edilerek gerçekleştirildi. Ölçümde gradyan elüsyon koşulları kullanıldı. Ayırma işlemi, 250×4.6 mm i.d. Symmetry-C18 5 µm kolonu kullanılarak yapıldı. Mobil faz olarak metanol:asetonitril (90:10, v/v) kullanıldı. Akış hızı oda sıcaklığında

1 mL/dakika (gradyan program) olarak belirlendi. Her dedeksiyon için enjeksiyon hacmi 10 µL olacak şekilde ayarlandı.

3.2.6.3 *In vitro* Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi

Salım sonuçlarının kinetik değerlendirmesinde, HPLC analizinden alınan verilere göre oluşturulan salım profilleri 0. derece, 1. derece, Hixon-Crowell ve Higuchi kinetik modellerine göre incelendi. Her bir kinetik model için determinasyon katsayısı (R^2) değeri hesaplandı. En yüksek R^2 değerine sahip kinetik model seçilerek her bir formülasyon için % salım denklemi oluşturuldu. Bu denklemlere göre formülasyonların teorik salım oranları hesaplandı. Teorik salım ve pratik salım oranlarının karşılaştırılması amacıyla benzerlik testi formülü (f_2) uygulandı.

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \times \sum (R_1 - T_1)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

n : t anına kadar alınmış örnek sayısı

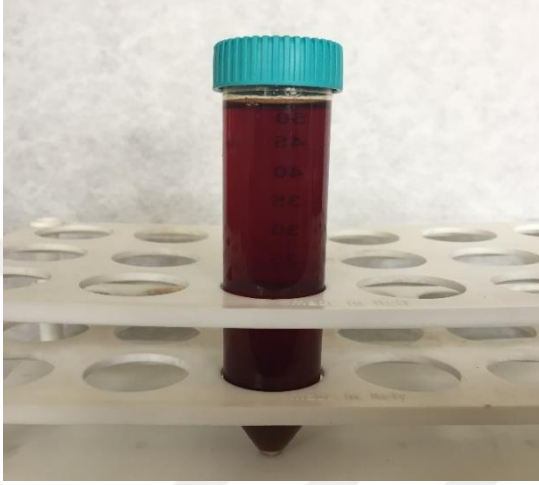
R_1 : t anında ilacın teorik % çözünme miktarı

T_1 : t anında ilacın pratik % çözünme miktarı

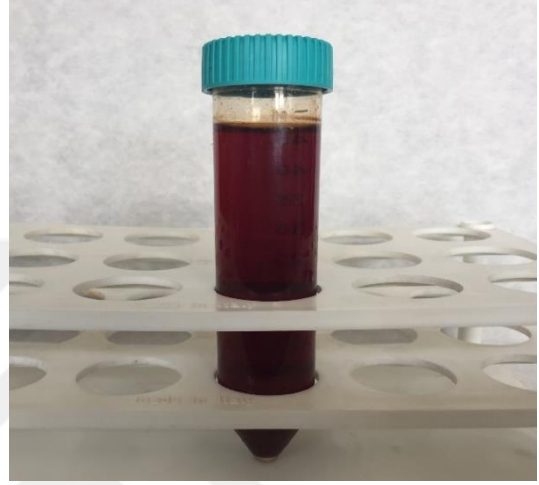
4. Bulgular

4.1 *Pinus* Kabuklarından Ekstre Hazırlanması

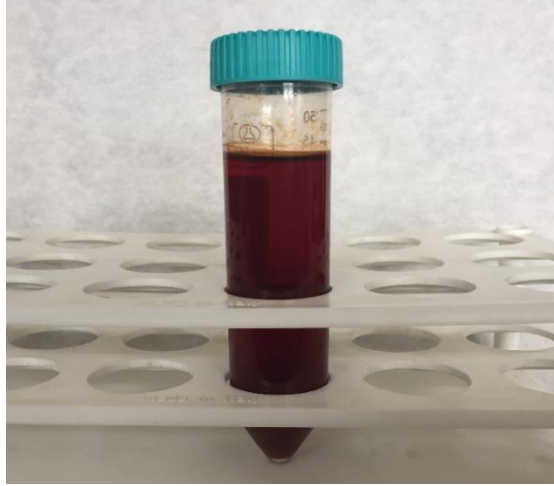
Pinus brutia, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* ekstrelerinin sıvı formları Şekil 5, Şekil 6 ve 7’de, toz formları Şekil 8, Şekil 9 ve Şekil 10’da gösterilmiştir.



Şekil 5: Sıvı *Pinus brutia* ekstresi.



Şekil 6: Sıvı *Pinus sylvestris* ekstresi.



Şekil 7: Sıvı *Pinus pinea* ekstresi.



Şekil 8: Toz *Pinus brutia* ekstresi.



Şekil 9: Toz *Pinus sylvestris* ekstresi.

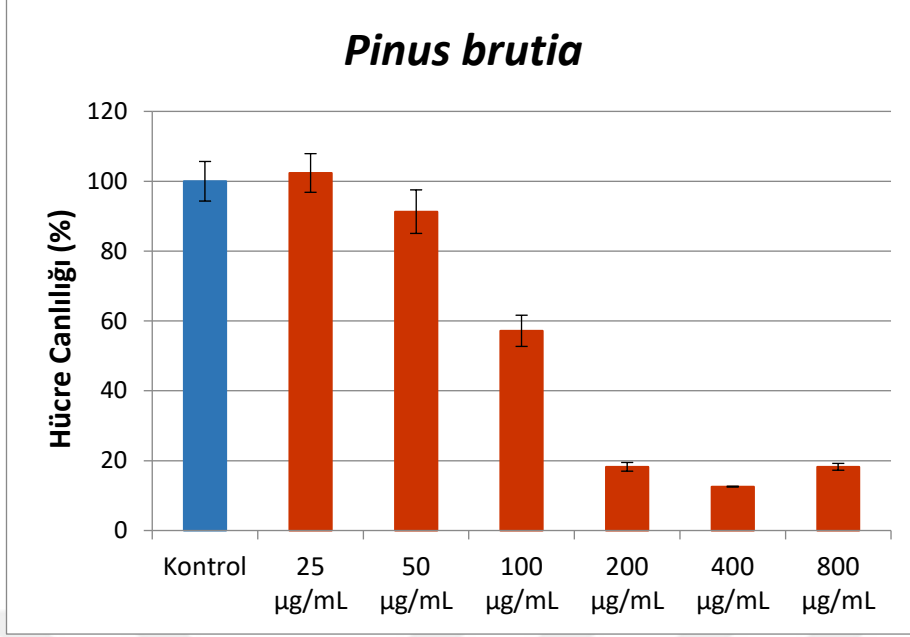


Şekil 10: Toz *Pinus pinea* ekstresi.

4.2 In vitro Hücre Kültürü Çalışmalarına Ait Bulgular

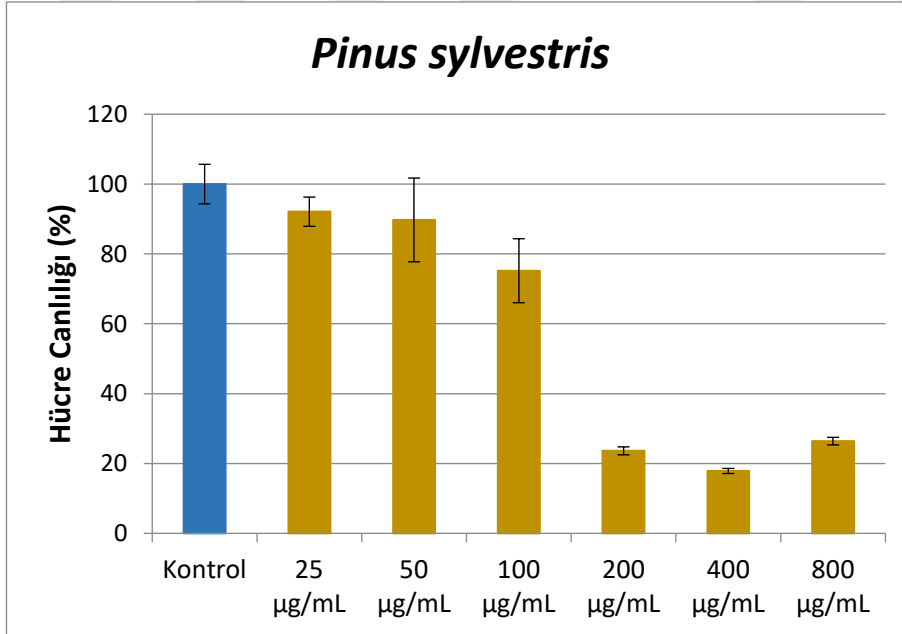
4.2.1 Sitotoksite Testine Ait Bulgular

Pinus brutia, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* ekstreleri ve kontrol grubunun sitotoksite deneyi sonucu MTT testi ile spektrofotometrede 570 nm’de absorbans değerleri elde edilmiştir. Absorbans değerlerinin ortalamaları kullanılarak konsantrasyona karşı hücre canlılığı grafikleri oluşturulmuştur. Grafik 1**Grafik 3-** Grafik 4’te verilmiştir.



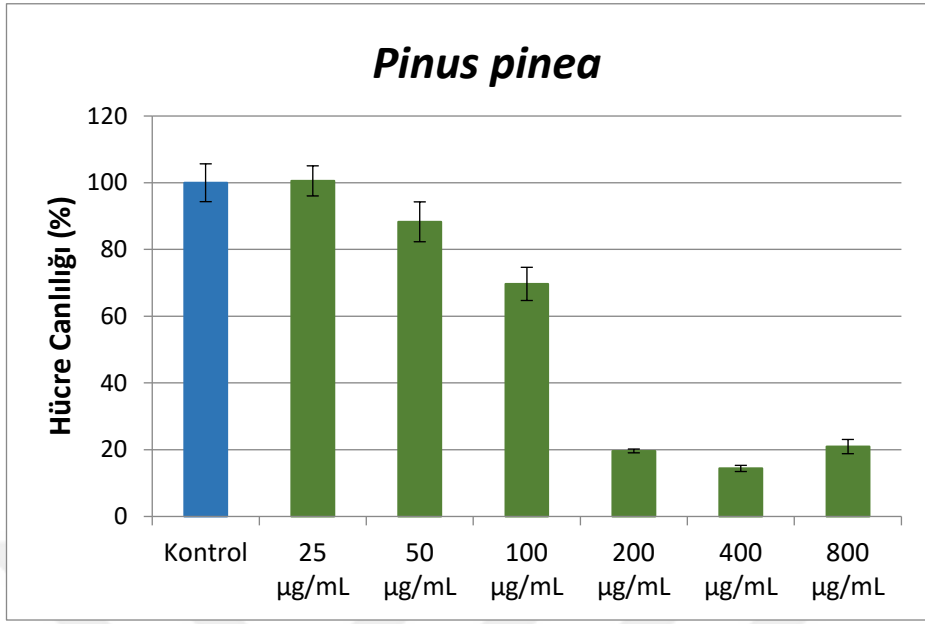
Grafik 1: *Pinus brutia* ekstresinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılığı.

MTT testi sonuçlarına göre *Pinus brutia* ekstresinin 25 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında %70'in üzerinde hücre canlılığı elde edilmiştir.



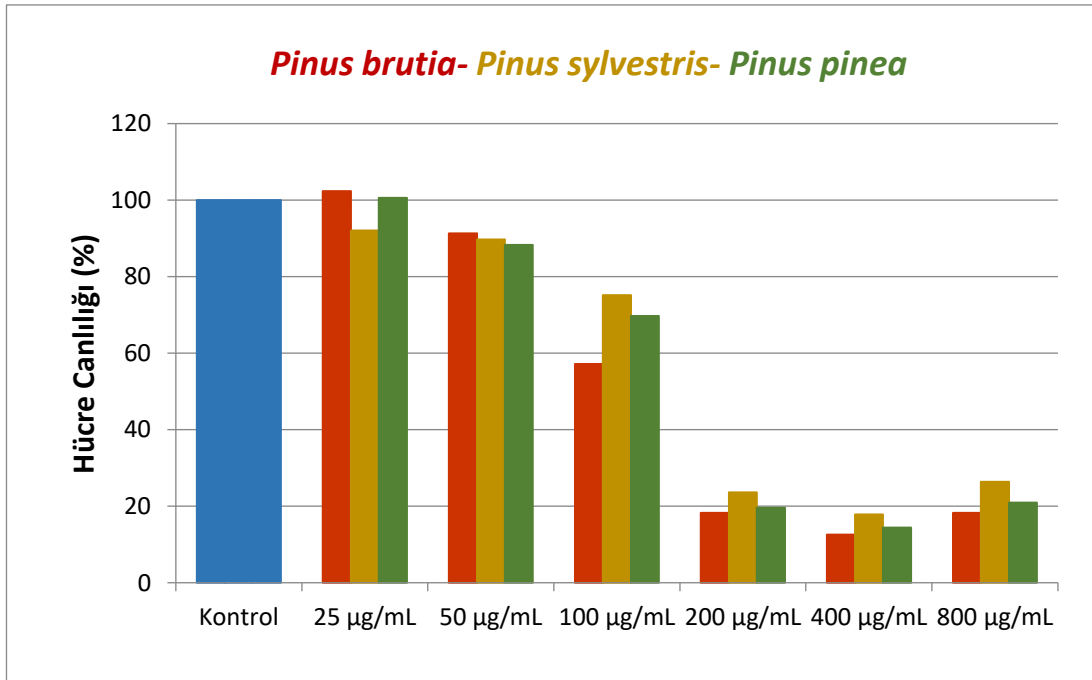
Grafik 2: *Pinus sylvestris* ekstresinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılığı.

MTT testi sonuçlarına göre *Pinus sylvestris* ekstresinin 25 µg/mL, 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında %70'in üzerinde hücre canlılığı elde edilmiştir.



Grafik 3: *Pinus pinea* ekstresinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılığı.

MTT testi sonuçlarına göre *Pinus pinea* ekstresinin 25 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında %70'in üzerinde hücre canlılığı elde edilmiştir.

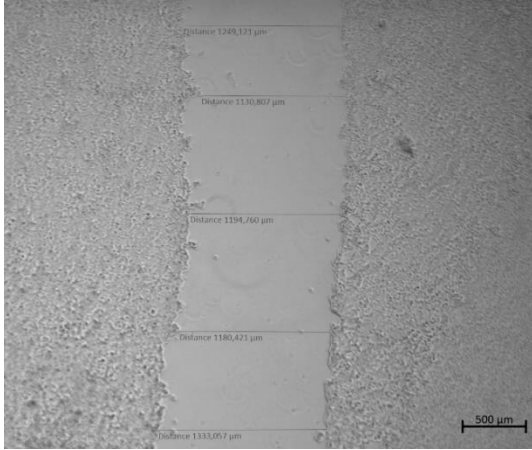


Grafik 4: *Pinus brutia*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarına karşı elde edilen hücre canlılıkları.

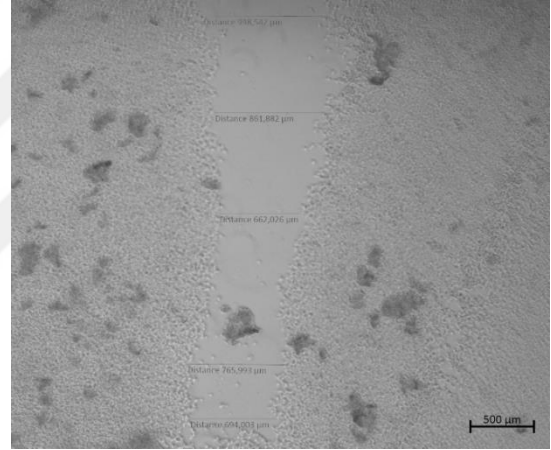
Sitotoksosite testinden elde edilen veriler doğrultusunda eskreler için sitotoksik olmayan doz aralıkları belirlenmiş, yara iyileşme testinde her bir çam ekstresi için 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL ve 80 µg/mL olmak üzere 6 farklı konsantrasyonun uygulanmasına karar verilmiştir.

4.2.2 Yara İyileşme Testine Ait Bulgular

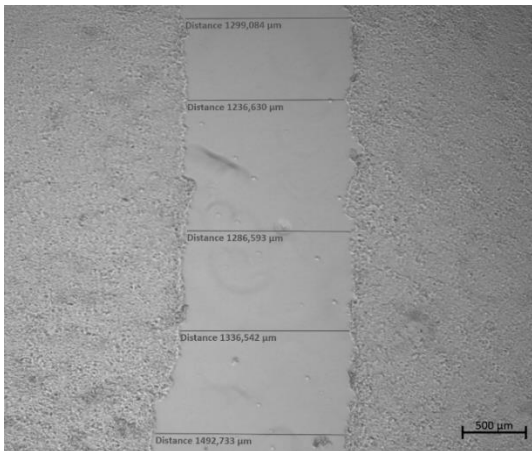
Yara iyileşme testinde hücrelerin Olympus IX-71 inverted mikroskop altında x4 büyütmede 0. ve 24. saatlerde Olympus DP 72 kamera ile çekilen görüntüleri Şekil 13-Şekil 50’de gösterilmiştir.



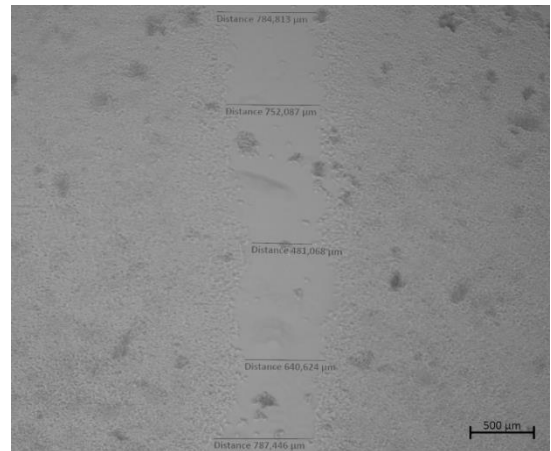
Şekil 11: Kontrol grubu, t= 0. saat.



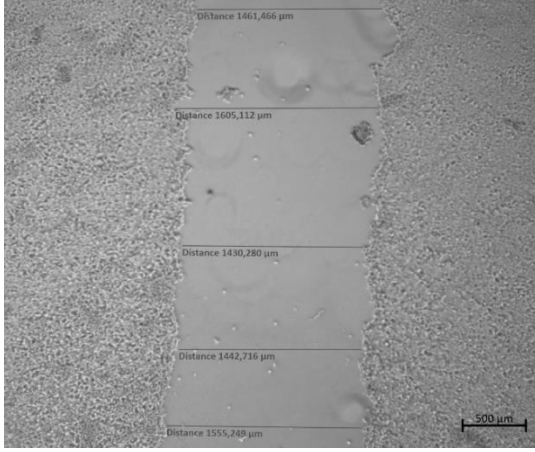
Şekil 12: Kontrol grubu, t= 24. saat.



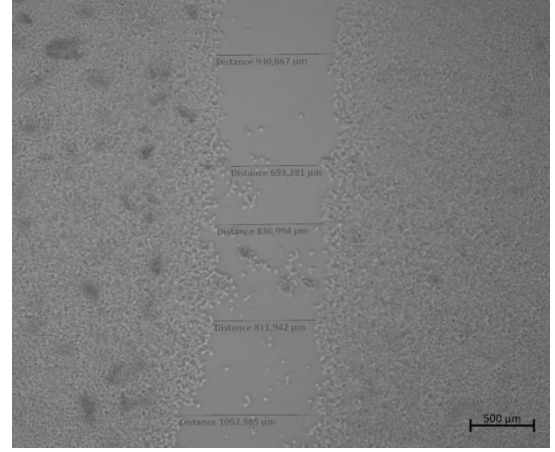
Şekil 13: *Pinus brutia* 1 µg/mL, t= 0. saat.



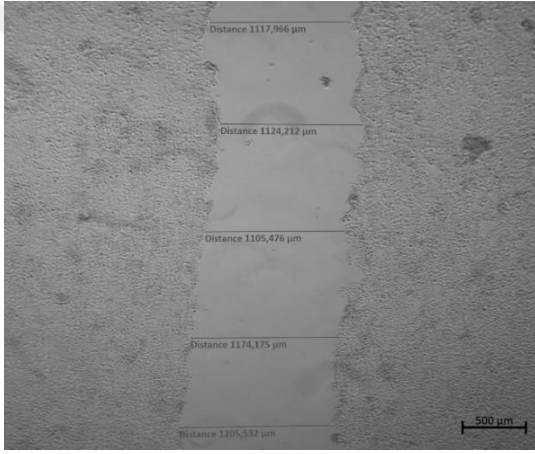
Şekil 14: *Pinus brutia* 1 µg/mL, t= 24. saat.



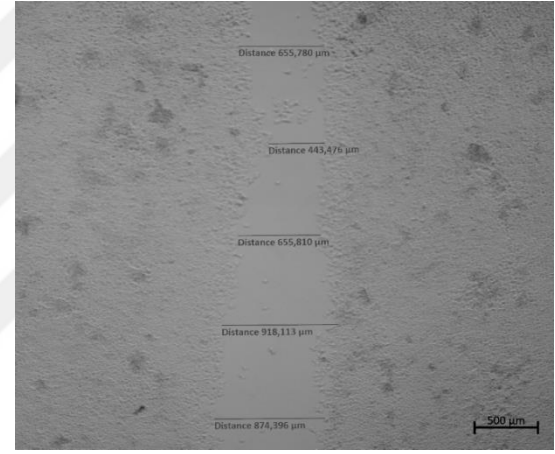
Şekil 15: *Pinus brutia* 5 µg/mL, t= 0. saat.



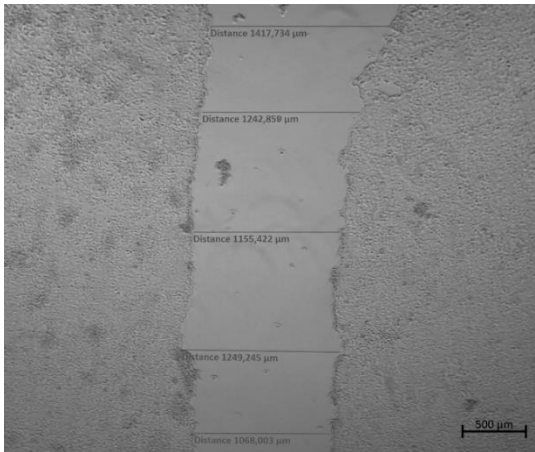
Şekil 16: *Pinus brutia* 5 µg/mL, t= 24. saat.



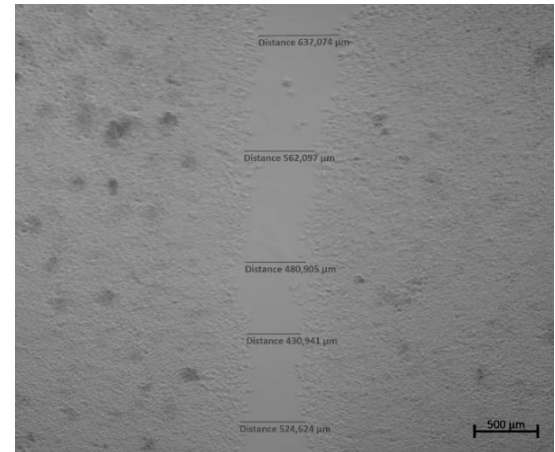
Şekil 17: *Pinus brutia* 10 µg/mL, t= 0. saat.



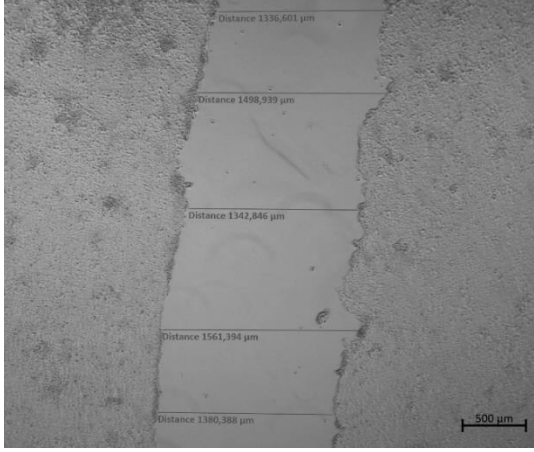
Şekil 18: *Pinus brutia* 10 µg/mL, t= 24. saat.



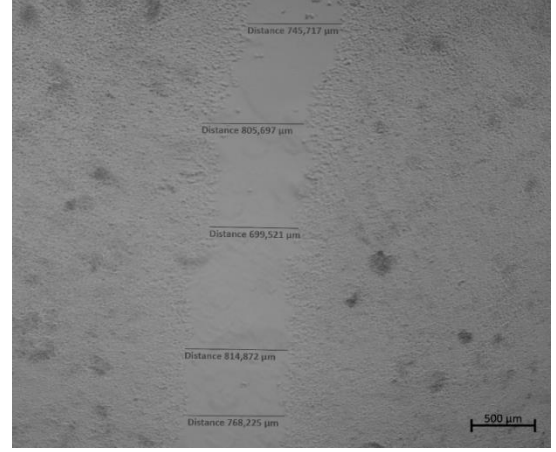
Şekil 19: *Pinus brutia* 20 µg/mL, t= 0. saat.



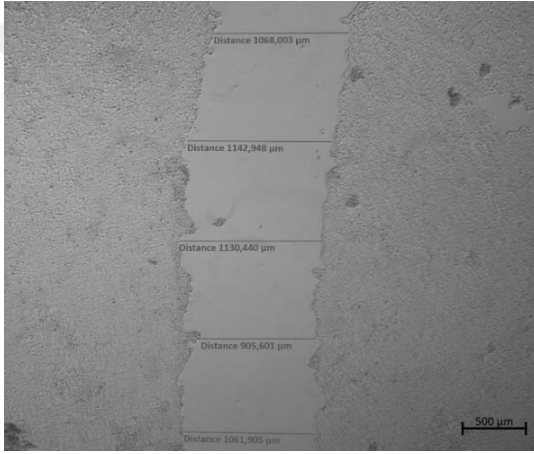
Şekil 20: *Pinus brutia* 20 µg/mL, t= 24. saat.



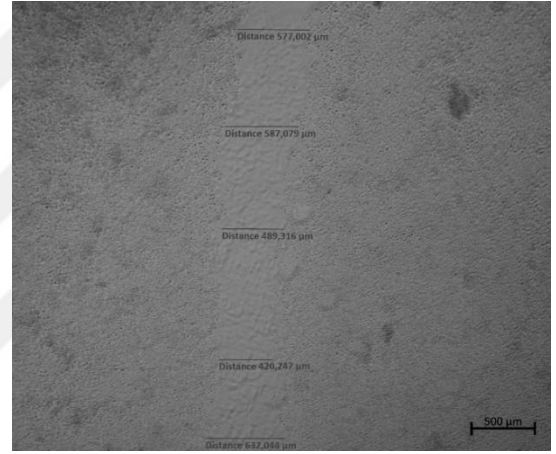
Şekil 21: *Pinus brutia* 40 µg/mL, t= 0. saat.



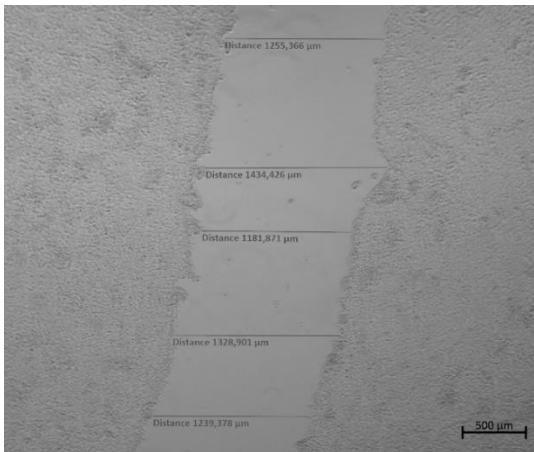
Şekil 22: *Pinus brutia* 40 µg/mL, t= 24. saat.



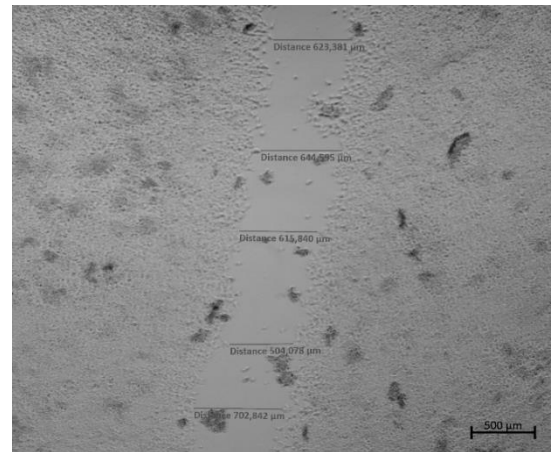
Şekil 23: *Pinus brutia* 80 µg/mL, t= 0. saat.



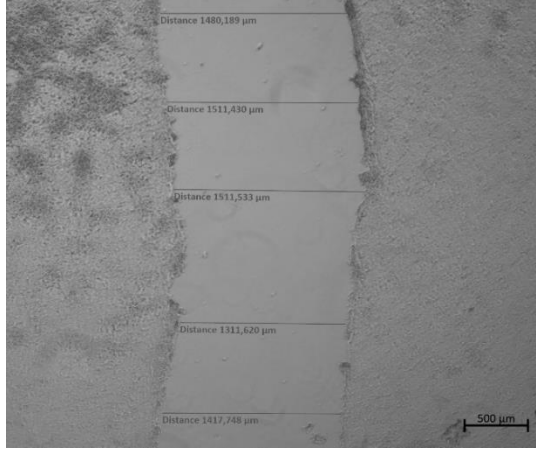
Şekil 24: *Pinus brutia* 80 µg/mL, t= 24. saat.



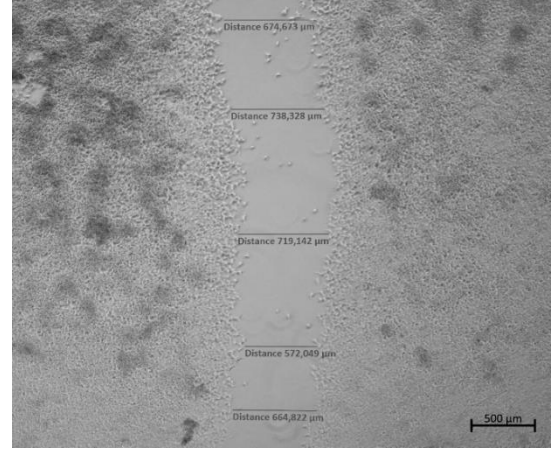
Şekil 25: *Pinus sylvestris* 1 µg/mL, t= 0. saat.



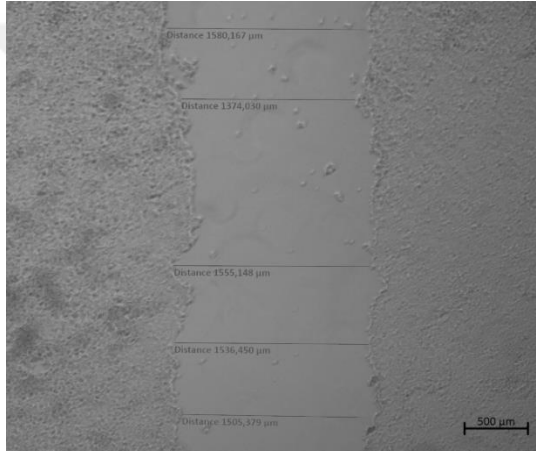
Şekil 26: *Pinus sylvestris* 1 µg/mL, t= 24. saat.



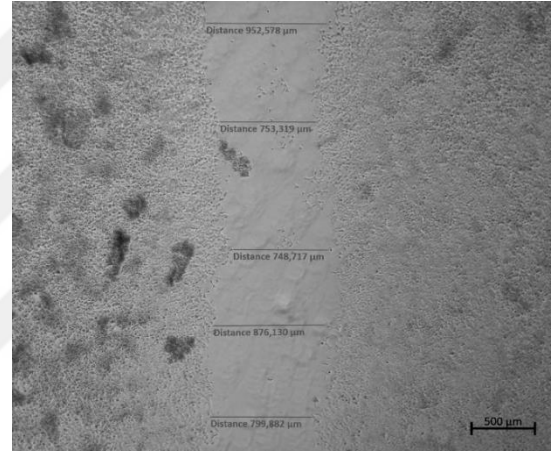
Şekil 27: *Pinus sylvestris* 5 µg/mL, t= 0. saat.



Şekil 28: *Pinus sylvestris* 5 µg/mL, t= 24. saat.



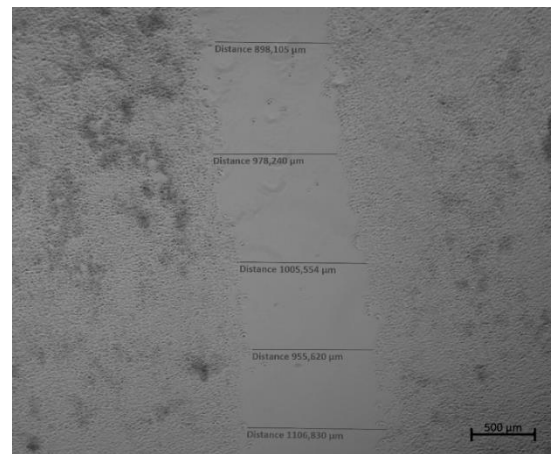
Şekil 29: *Pinus sylvestris* 10 µg/mL, t= 0. saat.



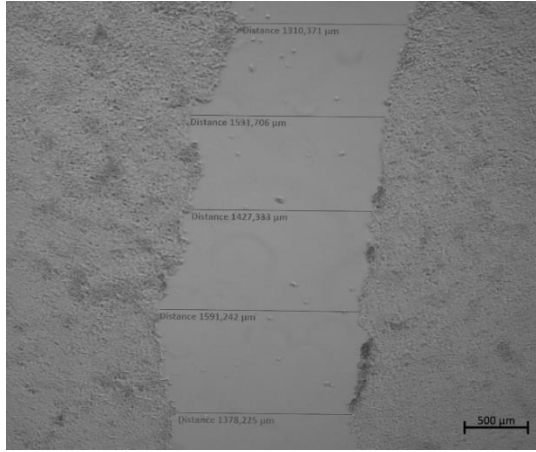
Şekil 30: *Pinus sylvestris* 10 µg/mL, t= 24. saat.



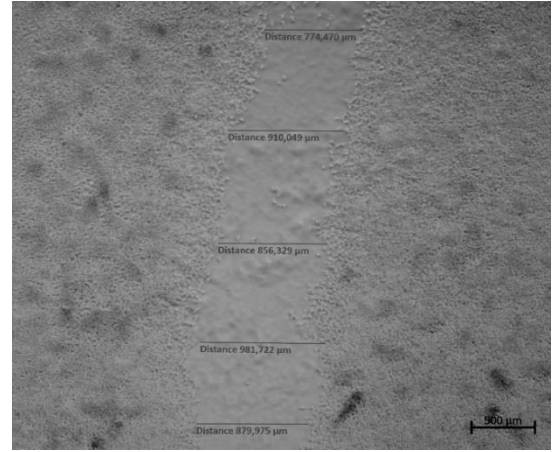
Şekil 31: *Pinus sylvestris* 20 µg/mL, t= 0. saat.



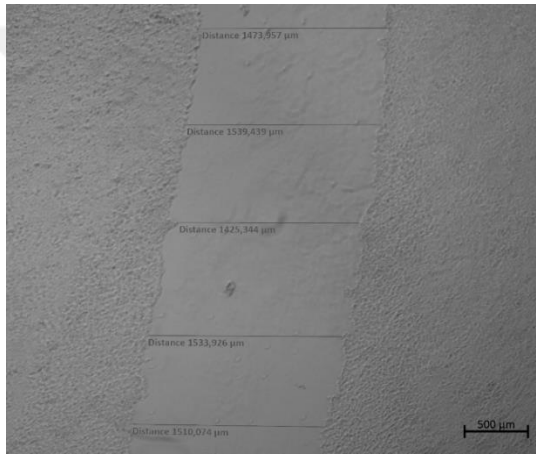
Şekil 32: *Pinus sylvestris* 20 µg/mL, t= 24. saat.



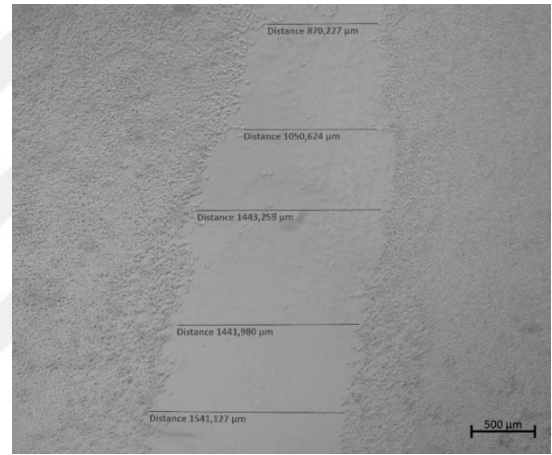
Şekil 33: *Pinus sylvestris* 40 µg/mL, t= 0. saat.



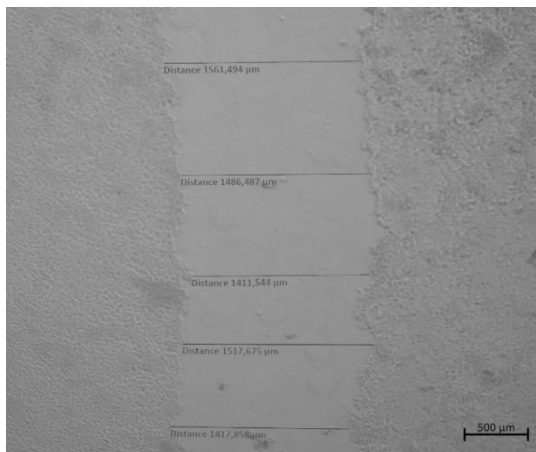
Şekil 34: *Pinus sylvestris* 40 µg/mL, t= 24. saat.



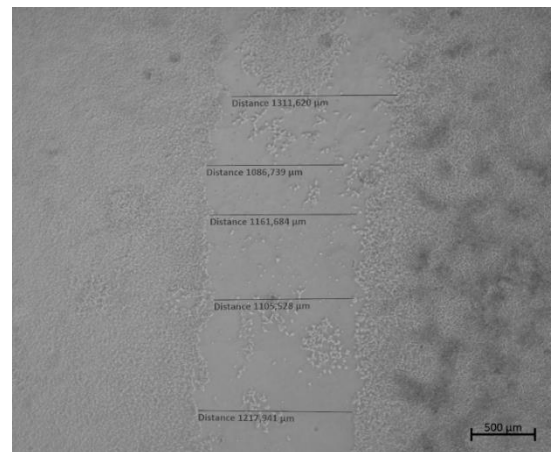
Şekil 35: *Pinus sylvestris* 80 µg/mL, t= 0. saat.



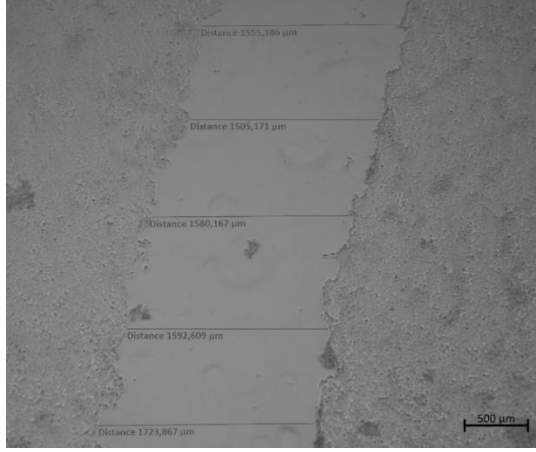
Şekil 36: *Pinus sylvestris* 80 µg/mL, t= 24. saat.



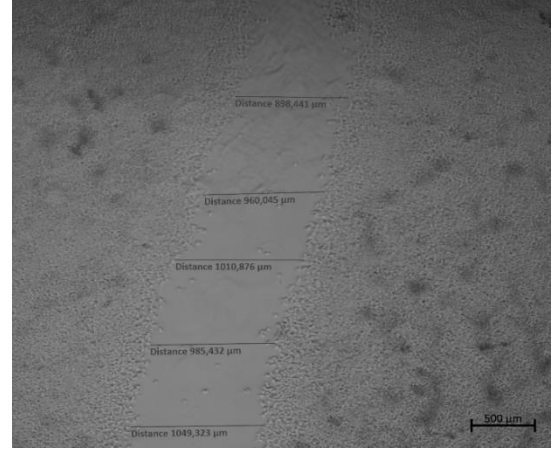
Şekil 37: *Pinus pinea* 1 µg/mL, t= 0. saat.



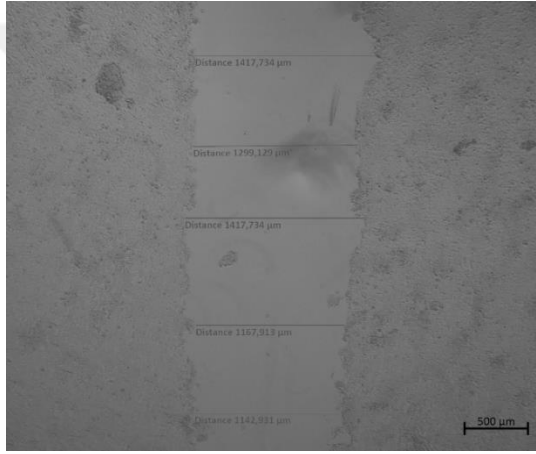
Şekil 38: *Pinus pinea* 1 µg/mL, t= 24. saat.



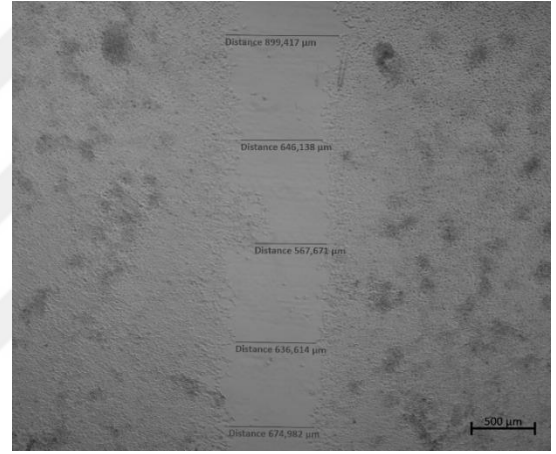
Şekil 39: *Pinus pinea* 5 µg/mL, t= 0. saat.



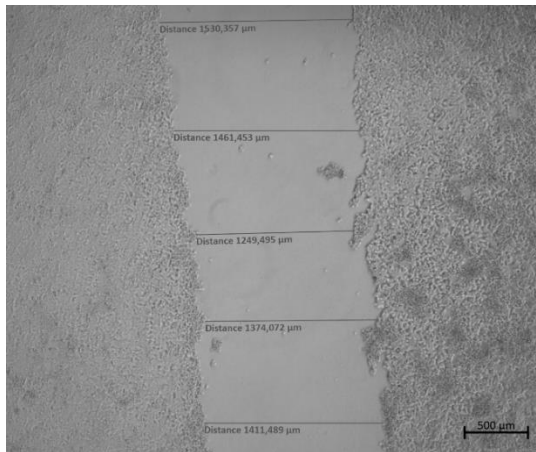
Şekil 40: *Pinus pinea* 5 µg/mL, t= 24. saat.



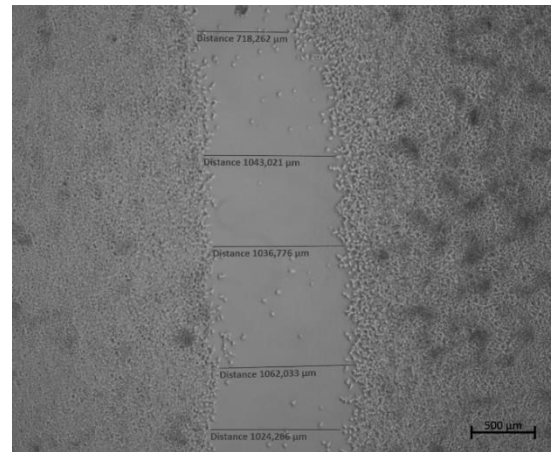
Şekil 41: *Pinus pinea* 10 µg/mL, t= 0. saat.



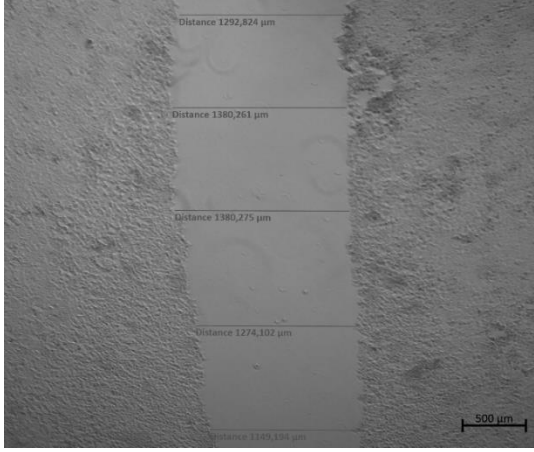
Şekil 42: *Pinus pinea* 10 µg/mL, t= 24. saat.



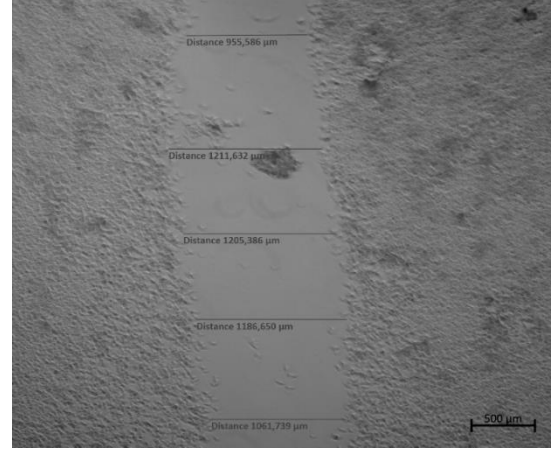
Şekil 43: *Pinus pinea* 20 µg/mL, t= 0. saat.



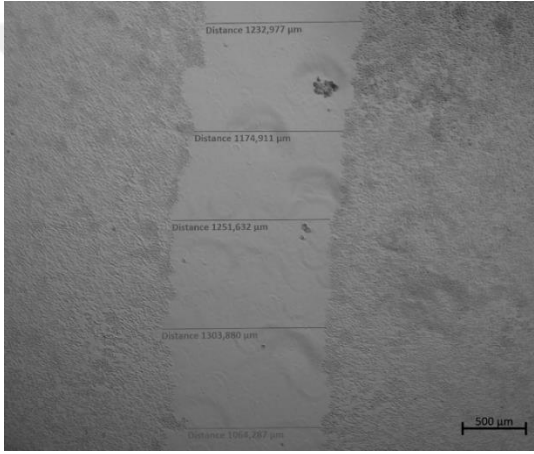
Şekil 44: *Pinus pinea* 20 µg/mL, t= 24. saat.



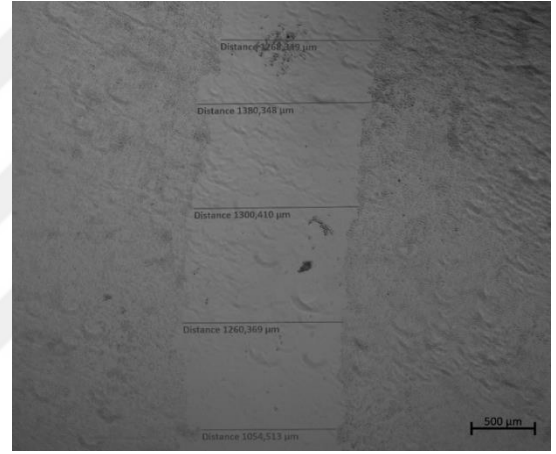
Şekil 45: *Pinus pinea* 40 µg/mL, t= 0. saat.



Şekil 46: *Pinus pinea* 40 µg/mL, t= 24. saat.



Şekil 47: *Pinus pinea* 80 µg/mL, t= 0. saat.



Şekil 48: *Pinus pinea* 80 µg/mL, t= 24. saat.

4.2.3 Yara İyileşme Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesine Ait Bulgular

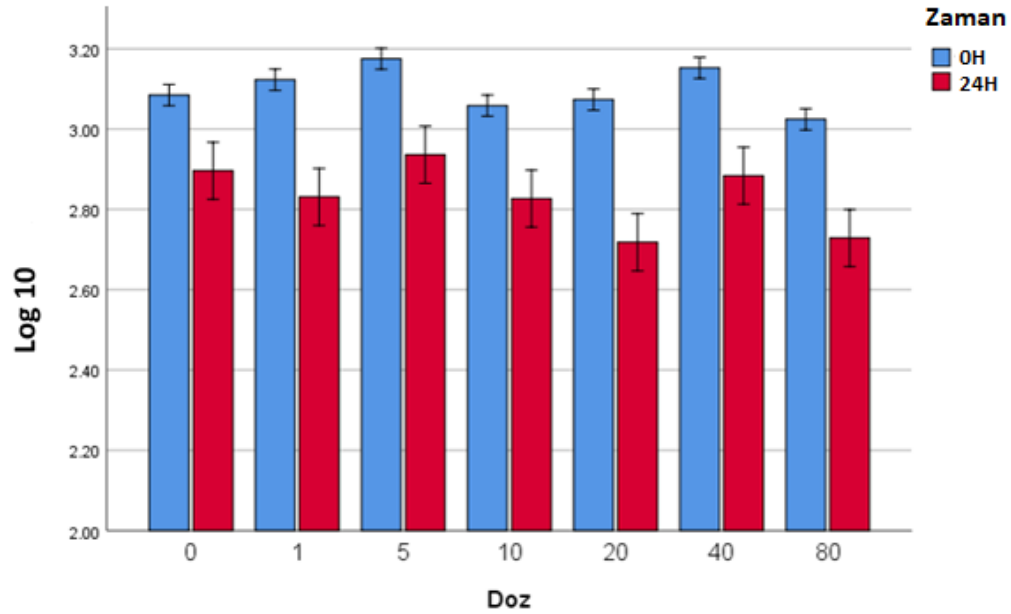
4.2.3.1 *Pinus brutia* Ekstresine Ait Bulgular

Pinus brutia ekstresine ait ölçüm değerleri ve yara kapanma oranları Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: *Pinus brutia* ekstresine ait 0. ve 24. saatlerdeki ölçüm değerleri (μm) ve yara kapanma oranları

<i>Pinus brutia</i>			
Doz ($\mu\text{g/mL}$)	0. saat (μm)	24. saat (μm)	Yara Kapanma (%)
Kontrol	1217.633	796.496	34.587
1	1330.316	689.2076	48.192
5	1498.965	873.1738	41.748
10	1145.472	709.515	38.059
20	1330.316	689.2076	57.027
40	1498.965	873.1738	46.153
80	1145.472	709.515	49.035

IBM SPSS Statistics ver. 25.00 programında yapılan istatistiksel analizlerde, ekstrelerin her bir dozuna ait 0 ve 24. saatlerde ölçülen yara mesafelerine $\log_{10}$ dönüşümü uygulanmıştır. *Pinus brutia* ekstresine ait analiz sonuçları program çıktısı olarak Şekil 49’da verilmiştir.



Şekil 49: IBM SPSS Program çıktısı-*Pinus brutia* ekstresine ait $\log_{10}$ dönüşümü uygulanmış yara mesafeleri.

2x7 faktöriyel varyans analizinde doz-zaman etkileşiminde $p<0.001$ olarak saptanmıştır.

Dozlar arasında başlangıçta anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$).

24. saatte dozlar arası kovaryans analizinde $p=0.045$ olarak saptanmıştır.

Dozların ikili analizinde kontrol grubu ve 20 $\mu\text{g/mL}$ dozu arasında $p=0.034$ olarak saptanmıştır.

Kontrol grubu ve 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$ dozları arasındaki analizlerde $p=1,000$, kontrol grubu ve 80 $\mu\text{g/mL}$ dozu arasında ise $p=0,792$ olarak bulunmuştur.

Kontrol grubu ve her bir dozun 0. ve 24. saat değerleri kendi içinde değerlendirildiğinde kontrol grubu için $p=0,007$, 1 $\mu\text{g/mL}$ dozu için $p=0,003$, 10 $\mu\text{g/mL}$ dozu için $p=0,008$, 40 $\mu\text{g/mL}$ ve 80 $\mu\text{g/mL}$ dozları için ise $p<0,001$ olarak bulunmuştur.

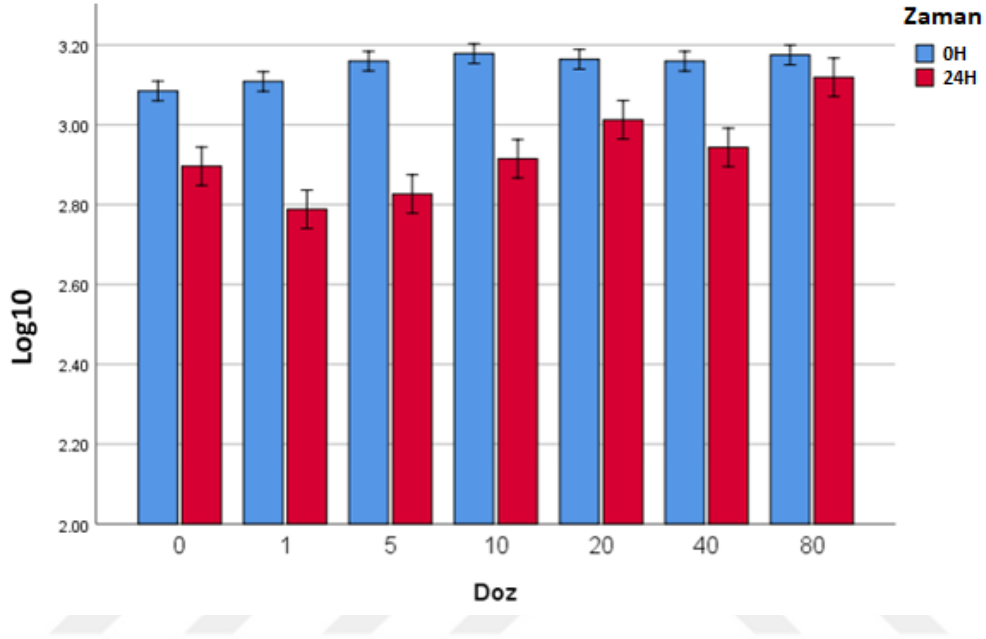
4.2.3.2 *Pinus sylvestris* Ekstresine Ait Bulgular

Pinus sylvestris ekstresine ait ölçüm değerleri ve yara kapanma oranları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: *Pinus sylvestris* ekstresine ait 0. ve 24. saatlerdeki ölçüm değerleri (μm) ve yara kapanma oranları

<i>Pinus sylvestris</i>			
Doz ($\mu\text{g/mL}$)	0. saat (μm)	24. saat (μm)	Yara Kapanma (%)
Kontrol	1217.633	796.496	34.587
1	1287.788	618.147	53.418
5	1446.504	673.8028	51.999
10	1510.234	826.125	45.298
20	1462.1158	988.8698	32.367
40	1447.7754	880.509	39.182
80	1497.748	1269.4534	15.226

IBM SPSS Statistics ver. 25.00 programında yapılan istatistiksel analizlerde, ekstrelerin her bir dozuna ait 0 ve 24. saatlerde ölçülen yara mesafelerine $\log_{10}$ dönüşümü uygulanmıştır. *Pinus sylvestris* ekstresine ait analiz sonuçları program çıktısı olarak Şekil 50’de verilmiştir.



Şekil 50: IBM SPSS Program çıktısı-*Pinus sylvestris* ekstresine ait $\log_{10}$ dönüşümü uygulanmış yara mesafeleri

2x7 faktöriyel varyans analizinde doz-zaman etkileşiminde $p=0.001$ olarak saptanmıştır.

Dozlar arasında başlangıçta anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$).

24. saatte dozlar arası kovaryans analizinde $p<0.001$ olarak saptanmıştır.

Dozların ikili analizinde kontrol grubu ve 1 $\mu\text{g/mL}$ dozu arasında $p=0.0495$ olarak saptanmıştır.

Kontrol grubu ve 10 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$ dozları arasında $p=1.00$, kontrol grubu ve 5 $\mu\text{g/mL}$ dozu arasında ise $p=0.794$ olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubu ve 80 $\mu\text{g/mL}$ dozu arasında $p=0.008$ bulunmuştur.

Kontrol grubu ve her bir dozun 0. ve 24. saat değerleri kendi içinde değerlendirildiğinde kontrol grubu için $p=0.007$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ dozları için $p<0.001$, 20 $\mu\text{g/mL}$ dozu için $p=0.002$, 40 $\mu\text{g/mL}$ dozu için $p<0.001$ olarak bulunmuştur.

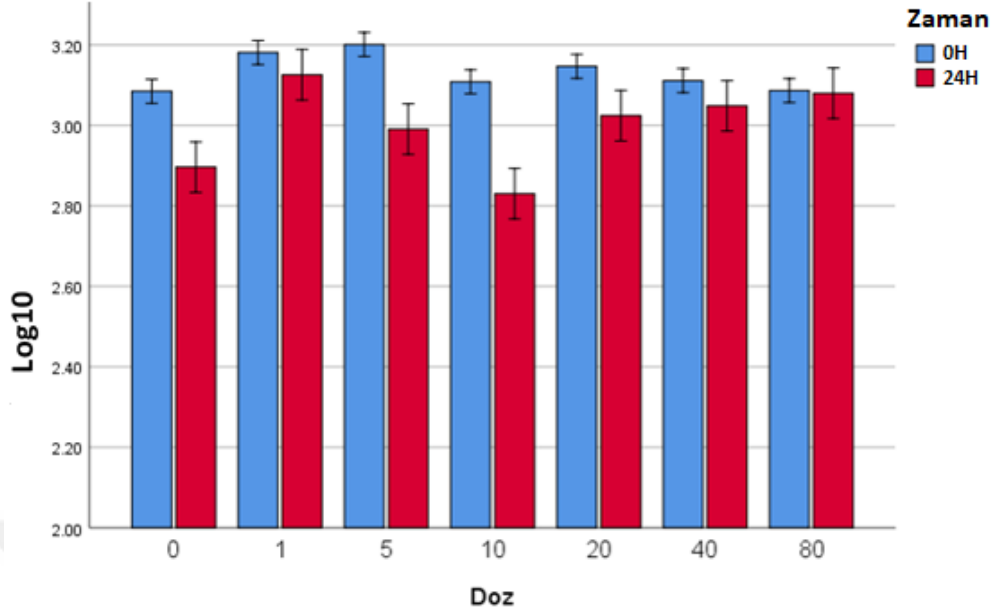
4.2.3.3 *Pinus pinea* Ekstresine Ait Bulgular

Pinus pinea ekstresine ait ölçüm değerleri ve yara kapanma oranları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: *Pinus pinea* ekstresine ait 0. ve 24. saatlerdeki ölçüm değerleri (μm) ve yara kapanma oranları

<i>Pinus pinea</i>			
Doz ($\mu\text{g/mL}$)	0. saat (μm)	24. saat (μm)	Yara Kapanma (%)
Kontrol	1217.633	796.496	34.587
1	1287.788	618.147	41.719
5	1591.4	980.823	38.367
10	1289.088	684.964	46.864
20	1405.373	1096.872	21.952
40	1295.3312	1124.199	13.211
80	1205.537	1248.798	-3.589

IBM SPSS Statistics ver. 25.00 programında yapılan istatistiksel analizlerde, ekstrelerin her bir dozuna ait 0 ve 24. saatlerde ölçülen yara mesafelerine $\log_{10}$ dönüştürümü uygulanmıştır. *Pinus pinea* ekstresine ait analiz sonuçları program çıktısı olarak Şekil 51’de verilmiştir.



Şekil 51: IBM SPSS Program çıktısı-*Pinus pinea* ekstresine ait $\log_{10}$ dönüşümü uygulanmış yara mesafeleri

2x7 faktöriyel varyans analizinde doz-zaman etkileşiminde $p < 0.001$ olarak saptanmıştır.

Dozlar arasında başlangıçta anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$).

24. saatte dozlar arası kovaryans analizinde $p < 0.001$ olarak saptanmıştır.

Dozların ikili analizinde kontrol grubu ve 1 $\mu\text{g/mL}$ dozu arasında $p = 0.013$ olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ve 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ dozları arasında $p = 1.00$ bulunmuştur. Kontrol grubu ve 20 $\mu\text{g/mL}$ dozu arasında $p = 0.387$ bulunmuştur. 40 $\mu\text{g/mL}$ dozu için $p = 0.045$, 80 $\mu\text{g/mL}$ dozu için ise $p = 0.006$ olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubu ve her bir dozun 0. ve 24. saat değerleri kendi içinde değerlendirildiğinde kontrol grubu, 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ ve 40 $\mu\text{g/mL}$ dozlarının p değerleri sırasıyla 0.007, 0.005, 0.000, 0.001 ve 0.026 olarak bulunmuştur.

20 $\mu\text{g/mL}$ dozu için $p = 0.137$, 80 $\mu\text{g/mL}$ dozu için ise $p = 0.803$ olarak belirlenmiştir.

4.3 Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.1 Krem Formülasyon Denemelerine Ait Bulgular

Ön formülasyon çalışmalarında hazırlanan krem formülasyonları oda sıcaklığında soğumaya bırakıldığında faz ayrışması gözlemlendiği için çalışmaya jel formülasyonları ile devam edilmiştir.

4.3.2 Ön Formülasyon Denemelerinin Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.3.2.1 pH Ölçümlerine Ait Bulgular

F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarının ölçülen ilk ve son pH değerleri ve eklenen trietanolamin miktarları Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarına ait pH değerleri.

Formülasyon	İlk pH	Eklenen Trietanolamin (µl)	Son pH
F1	2.90	250	5.47
F2	2.61	450	5.48
F3	2.45	600	5.41
F4	2.38	700	5.42

4.3.2.2 Fiziksel Özelliklerin Değerlendirmesine Ait Bulgular

Ön formülasyon çalışmaları için hazırlanan F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarının Fiziksel özellikleri incelendiğinde, yumuşak ve yayılabilir yarı katı formda oldukları gözlenmiştir. Jeller renksiz, saydam görünümündedir. Berrak ve homojen yapıya sahiptir. Formülasyonlarda karbopol oranı arttıkça sertliğin arttığı ve yayılabilirliğin zorlaştığı gözlenmiştir.

4.3.2.3 Viskozite Ölçümlerine Ait Bulgular

F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarının 3 tekrarlı viskozite ölçümleri sonucu elde edilen ortalama değerler Tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10: F1, F2, F3 ve F4 formülasyonlarına ait rpm, % tork ve viskozite değerleri.

Rpm	% Tork	Viskozite (mPas)
F1		
1	52	255000
5	58	58900
10	67	22200
20	71	14800
F2		
1	55	348100
5	59	72500
10	67	32200
20	77	18400
F3		
1	51	456000
5	61	108900
10	68	51400
20	74	30700
F4		
1	52	535200
5	50	136300
10	64	62400
20	70	40800

4.4 Jel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.4.1.1 pH Ölçümlerine Ait Bulgular

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının ölçülen ilk ve son pH değerleri ve eklenen trietanolamin miktarları Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11: F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait pH değerleri.

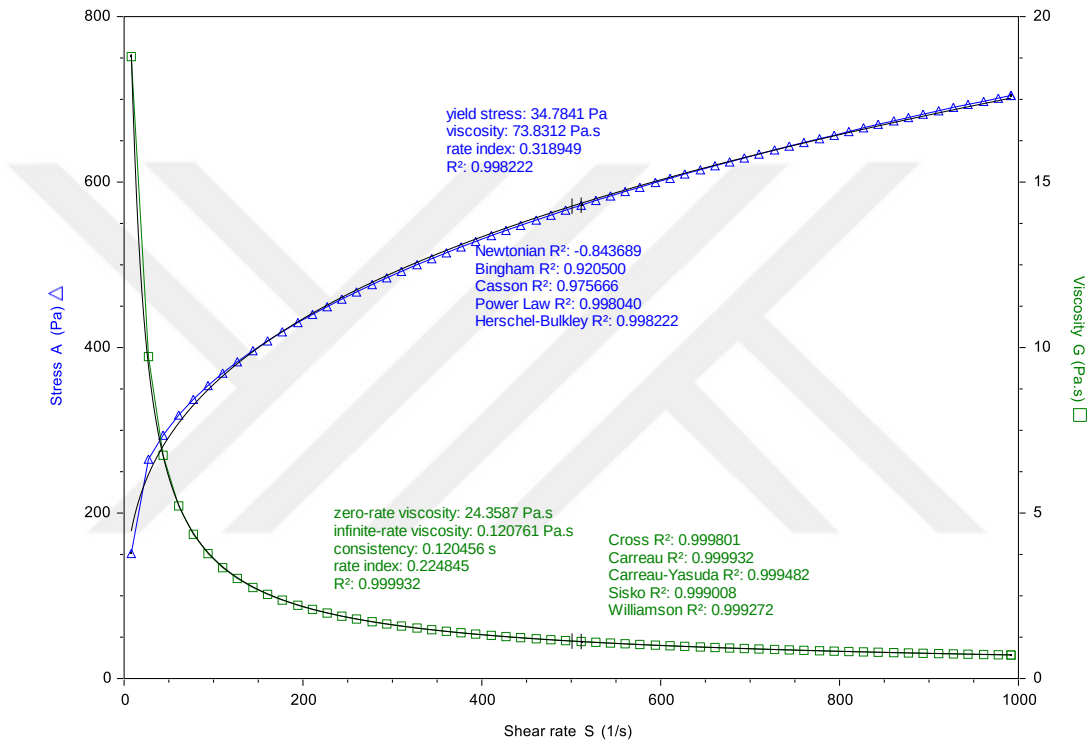
Formülasyon	İlk pH	Eklenen Trietanolamin (µl)	Son pH
F5	3.02	200	5.42
F6	2.73	400	5.52
F7	2.67	300	5.40
F8	2.41	450	5.49

4.4.1.2 Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesine Ait Bulgular

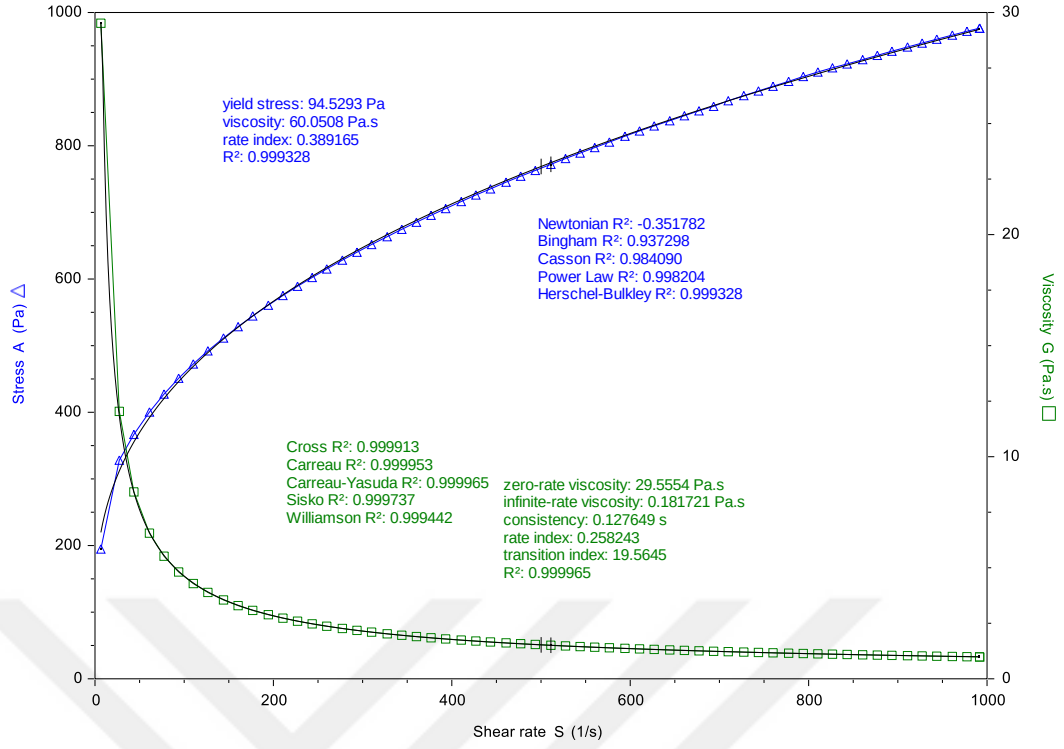
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının fiziksel özellikleri incelendiğinde, yumuşak ve yayılabilir yarı katı formda oldukları gözlenmiştir. Etkin madde içermeyen F5 ve F6 formülasyonları renksiz-saydam görünüme sahipken; etkin madde içeren F7 ve F8 formülasyonları *Pinus brutia* ekstresinin renginden dolayı hafif turuncu renkte, saydam görünümündedir. Jeller berrak ve homojen yapıya sahiptir. *Pinus brutia* ekstresi ilave edilen jellerin yapısında berraklık ve homojenite açısından bir değişiklik gözlenmemiştir. F5 ve F7 formülasyonları (%0.5 karbopol), F6 ve F8 (%1 karbopol) formülasyonları ile karşılaştırıldığında karbopol oranı arttıkça jellerin sertleştiği ve yayılabilirliklerinin zorlaştığı gözlenmiştir. Aynı karbopol oranına sahip etkin madde içeren ve içermeyen formülasyonlar karşılaştırıldığında ise (F5-F7, F6-F8); jellerde renk dışında doku, homojenite, berraklık, ve yayılabilirlik özellikleri açısından bir farklılık görülmemiştir.

4.4.1.3 Reoloji Analizlerine Ait Bulgular

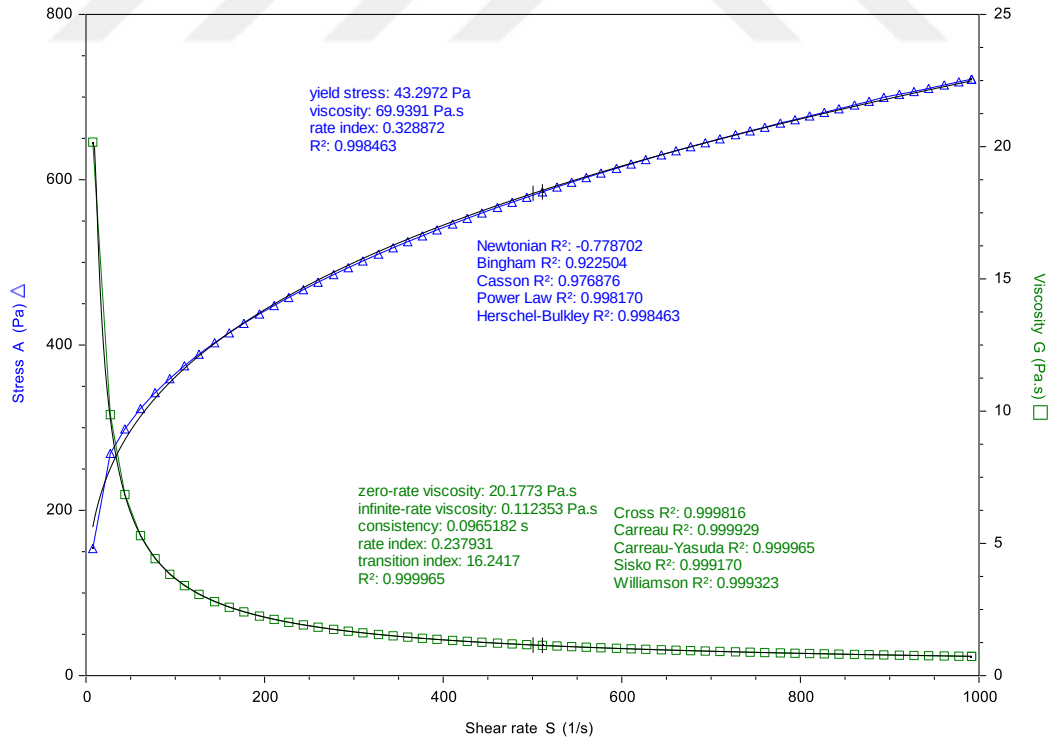
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının reoloji analizleri sonucu Trios yazılım programında oluşturulan grafikler program çıktısı olarak verilmiştir. Kayma hızı-kayma gerilimi ve kayma hızı-viskozite grafikleri oluşturulmuş, grafiklerin R^2 değerleri belirlenmiştir. Her formülasyona ait 3 grafikten birer tanesi seçilerek Şekil 52-Şekil 55'te gösterilmiştir.



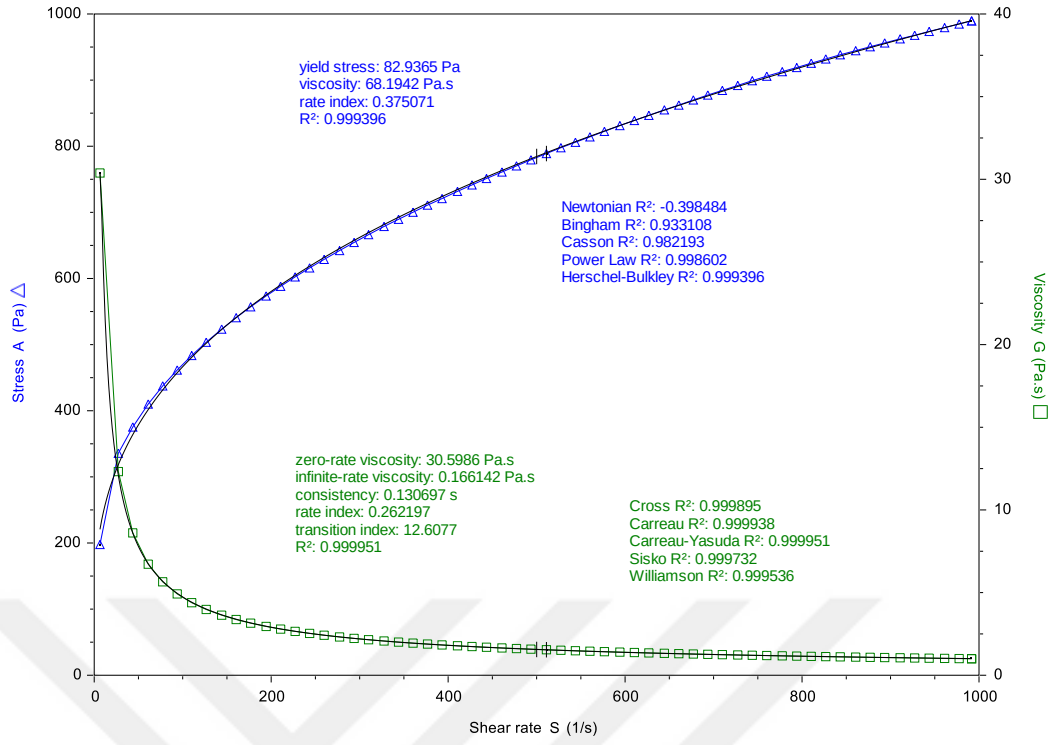
Şekil 52: F5 formülasyonuna ait reoloji analizi.



Şekil 53: F6 formülasyonuna ait reoloji analizi.



Şekil 54: F7 formülasyonuna ait reoloji analizi.



Şekil 55: F8 formülasyonuna ait reoloji analizi.

Grafiklere ve farklı akış tiplerine ait R^2 değerleri Tablo 12 ve Tablo 13'te verilmiştir.

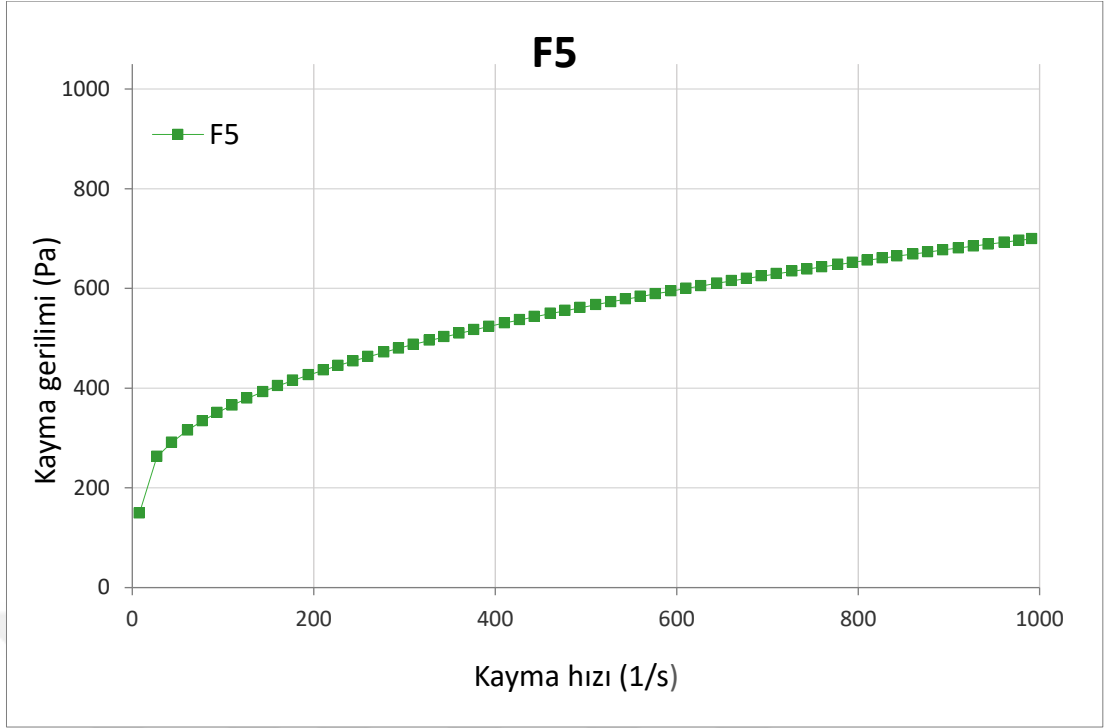
Tablo 12: Kayma hızı-kayma gerilimi grafiklerine ve farklı akış tiplerine ait R^2 değerleri.

Akış tipleri	R^2 (1)	R^2 (2)	R^2 (3)	ort.
F5				
Newtonian	-0.843689	-0.817629	-0.817708	
Bingham	0.920500	0.921780	0.921157	
Casson	0.975666	0.976345	0.976072	
Power Law	0.998040	0.997970	0.998031	
Herschel-Bulkley	0.999222	0.998270	0.9982361	0.998576
F6				
Newtonian	-0.6333615	-0.469949	-0.454502	
Bingham	0.928362	0.935602	0.936072	
Casson	0.979095	0.983417	0.983473	
Power Law	0.997697	0.997940	0.997884	
Herschel-Bulkley	0.998073	0.999088	0.998983	0.998715
F7				
Newtonian	-1.121156	-0.778702	-0.746717	
Bingham	0.917870	0.922504	0.924171	
Casson	0.975165	0.976876	0.977322	
Power Law	0.998608	0.998170	0.997875	
Herschel-Bulkley	0.999803	0.998463	0.998155	0.998807
F8				
Newtonian	-0.584351	-0.398484	-0.351782	
Bingham	0.922264	0.933108	0.937298	
Casson	0.975965	0.982193	0.984080	
Power Law	0.998776	0.998602	0.998204	
Herschel-Bulkley	0.998812	0.999396	0.999328	0.999179

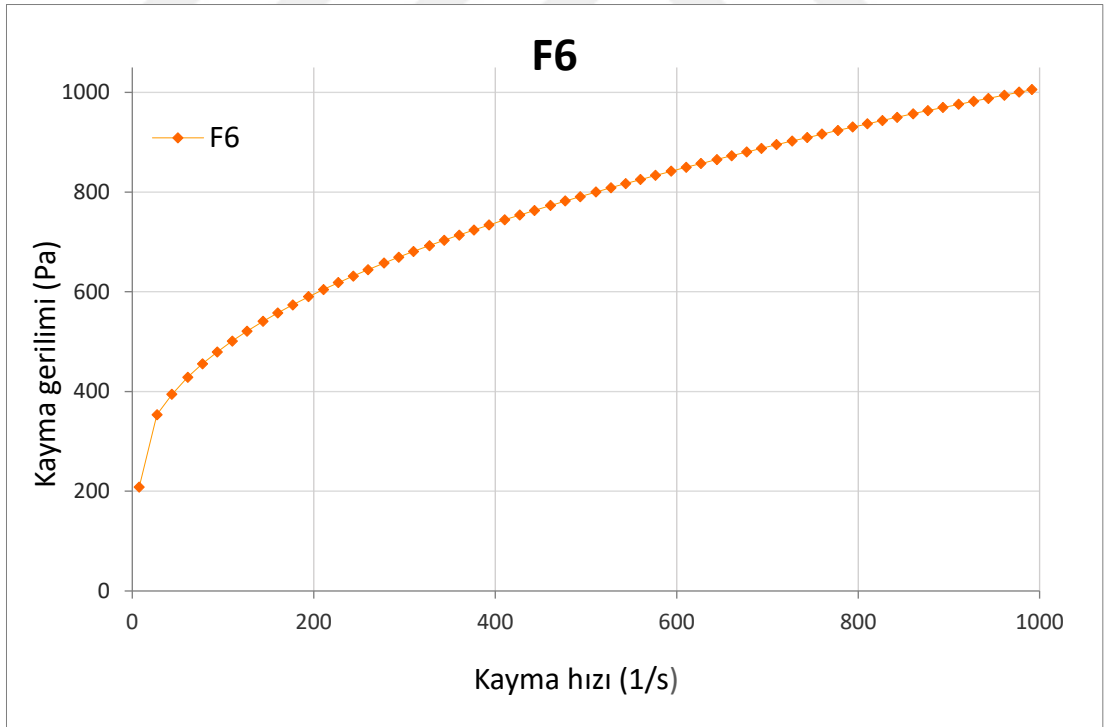
Tablo 13: Kayma hızı-viskozite grafiklerine ve farklı akış tiplerine ait R^2 değerleri.

Akış tipleri	R^2 (1)	R^2 (2)	R^2 (3)	ort.
F5				
Cross	0.999801	0.999817	0.999820	
Carreu	0.999932	0.999938	0.999938	0.999948
Carreu-Yasuda	0.999482	0.999734	0.999975	
Sisko	0.999008	0.999040	0.999058	
Williamson	0.999272	0.999270	0.999290	
F6				
Cross	0.999815	0.999897	0.999885	
Carreu	0.999947	0.999950	0.999948	0.999963
Carreu-Yasuda	0.999991	0.999847	0.999827	
Sisko	0.999914	0.999634	0.999556	
Williamson	0.999136	0.999405	0.999360	
F7				
Cross	0.999819	0.999816	0.999775	
Carreu	0.999917	0.999929	0.999920	0.999951
Carreu-Yasuda	0.999464	0.999964	0.999972	
Sisko	0.999461	0.999170	0.998930	
Williamson	0.999527	0.999323	0.999168	
F8				
Cross	0.999800	0.999895	0.999913	
Carreu	0.999935	0.999938	0.999953	0.999950
Carreu-Yasuda	0.999533	0.999951	0.999965	
Sisko	0.999041	0.999732	0.999737	
Williamson	0.999369	0.999536	0.999442	

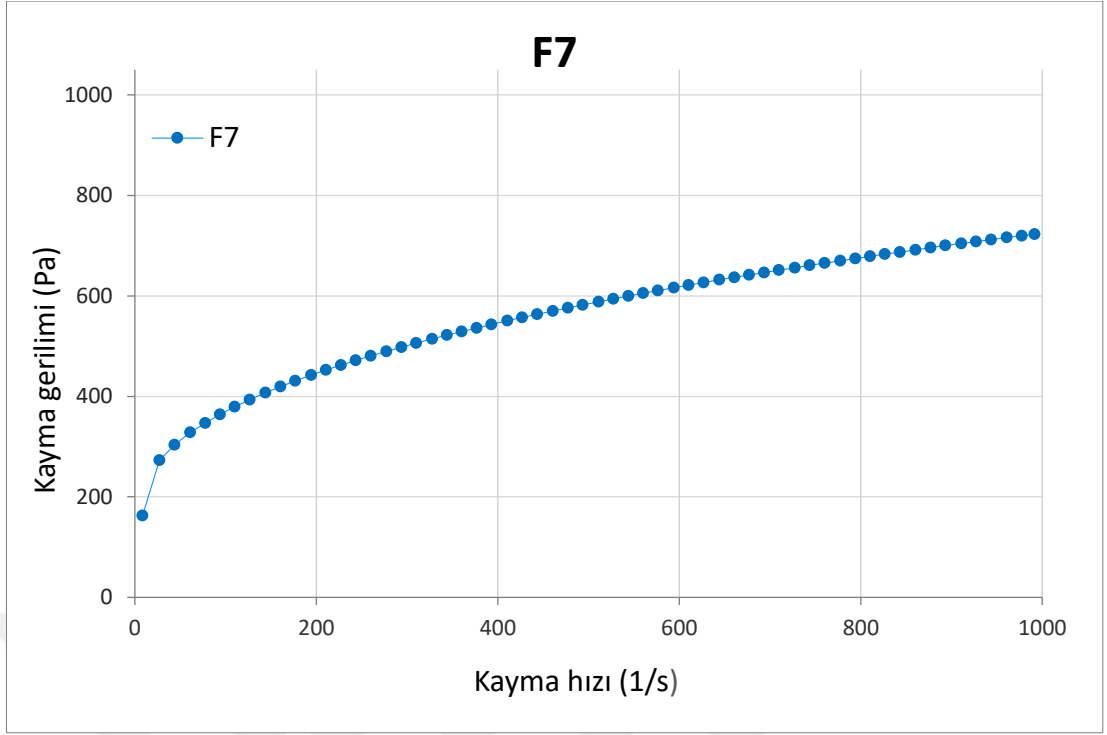
Formülasyonların 3 tekrarlı reoloji ölçümleri sonucu için elde edilen kayma hızı ve kayma değerlerinin ortalamaları alınarak kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri oluşturulmuştur. F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait grafikler Grafik 5-Grafik 10'da verilmiştir.



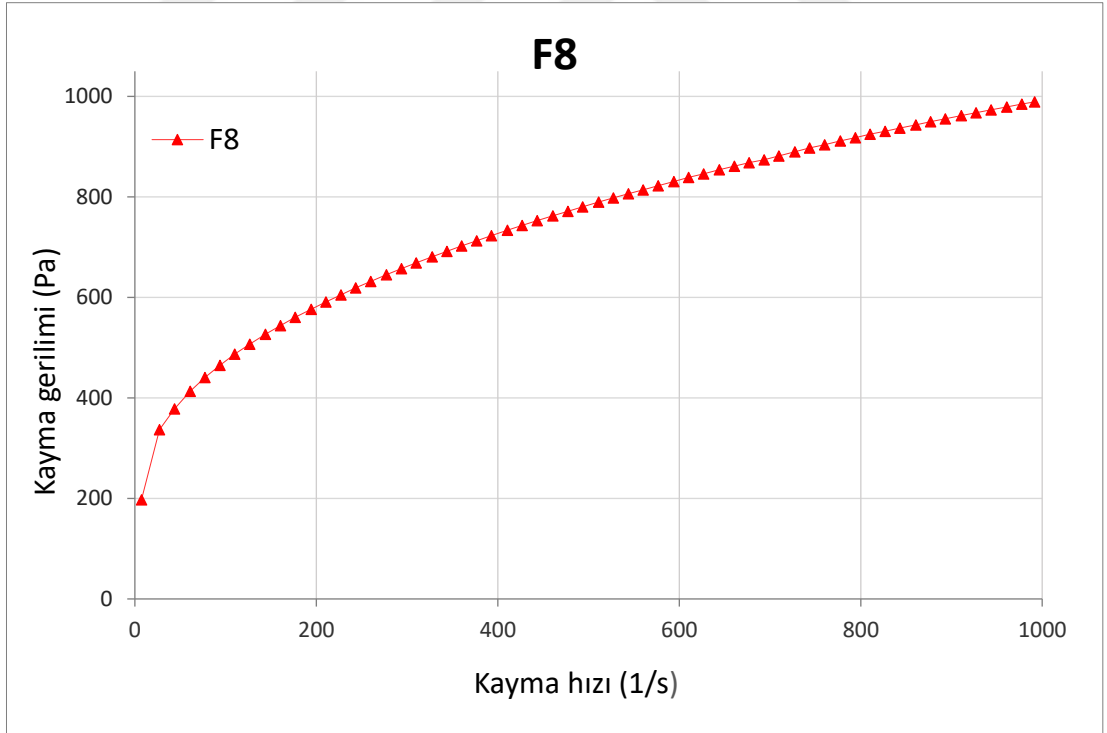
Grafik 5: F5 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.



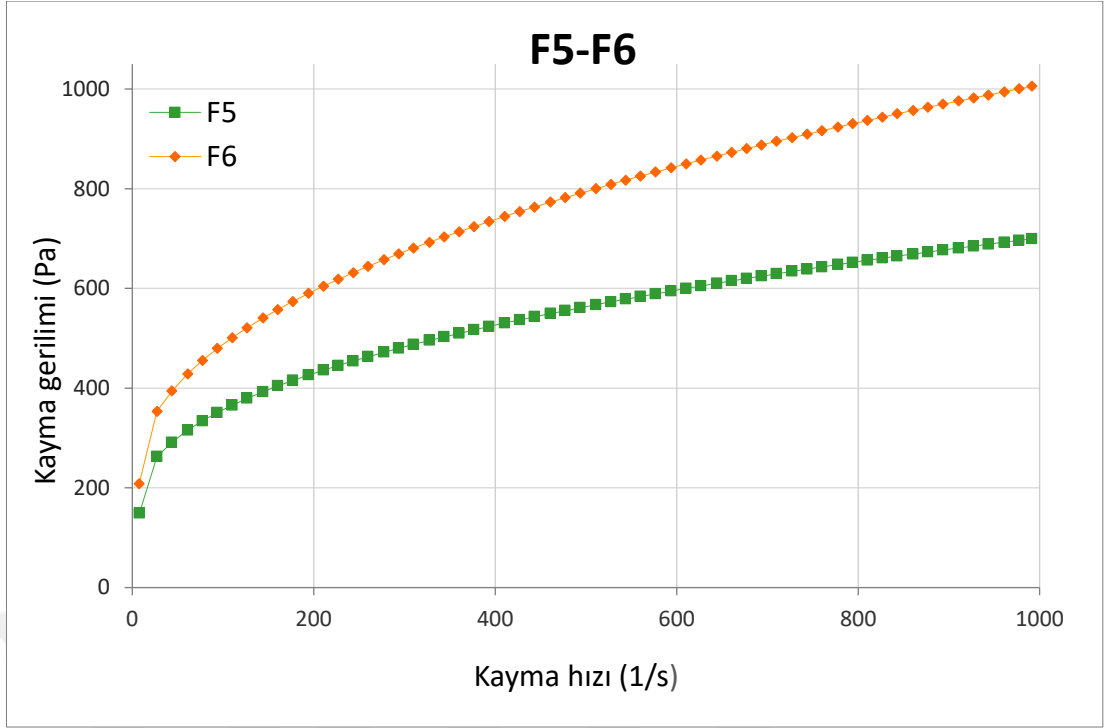
Grafik 6: F6 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.



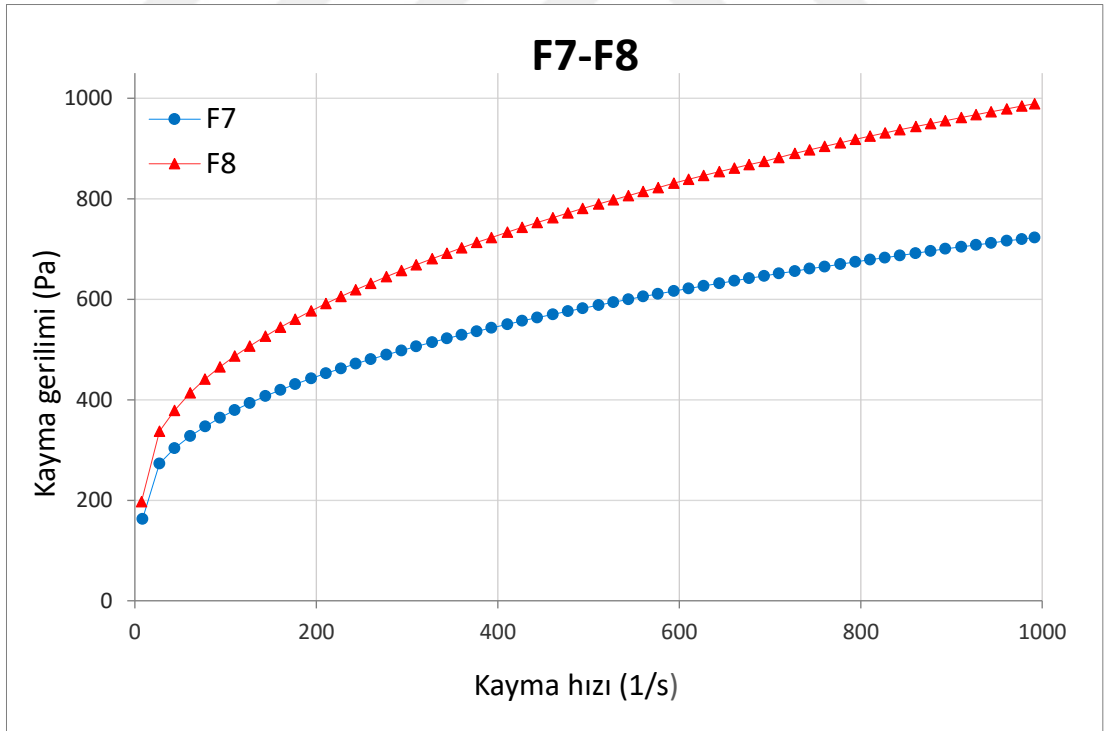
Grafik 7: F7 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.



Grafik 8: F8 formülasyonuna ait kayma hızı-kayma gerilimi grafiği.

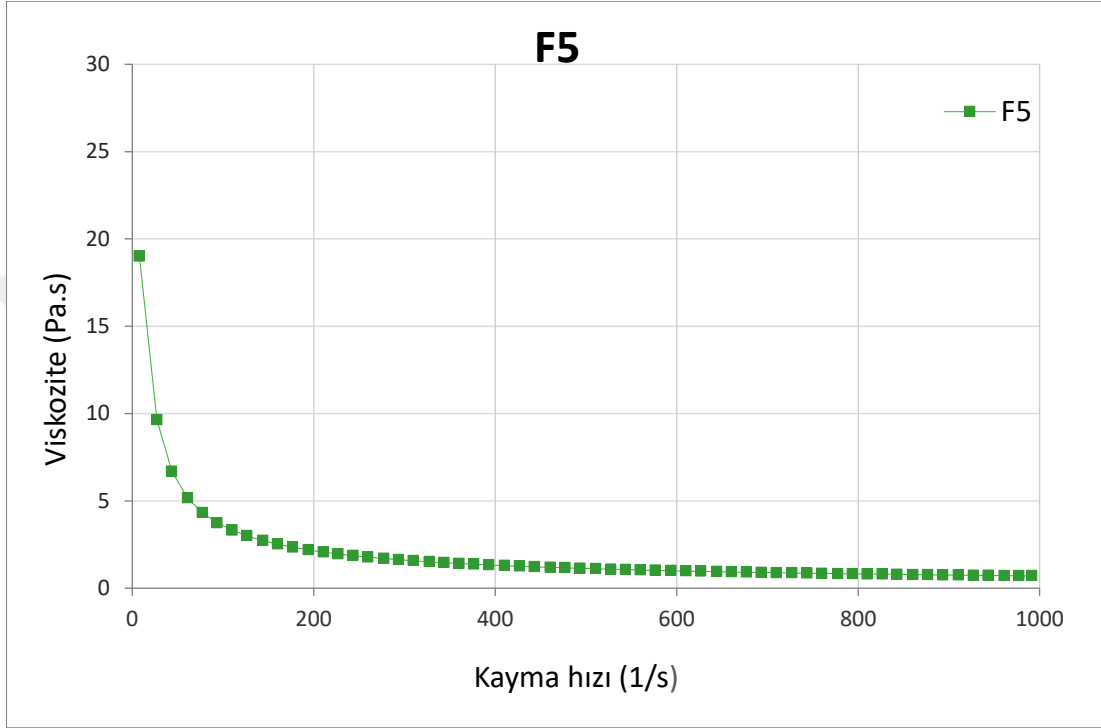


Grafik 9: F5 ve F6 formülasyonlarına ait kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

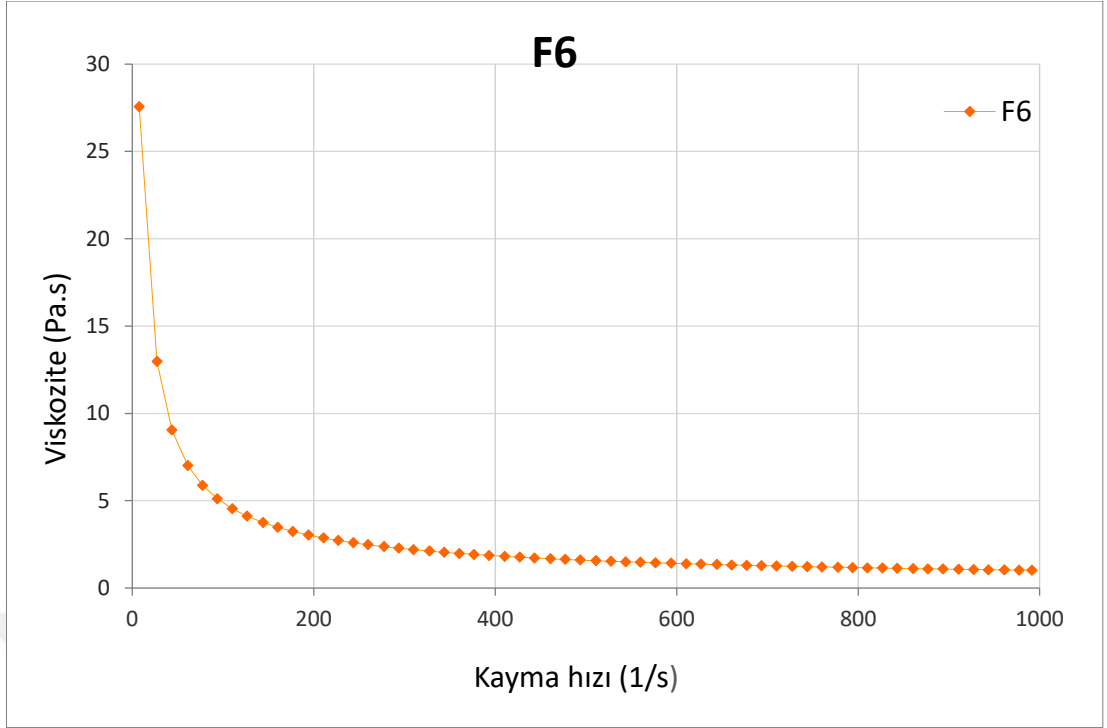


Grafik 10: F7 ve F8 formülasyonlarına ait kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

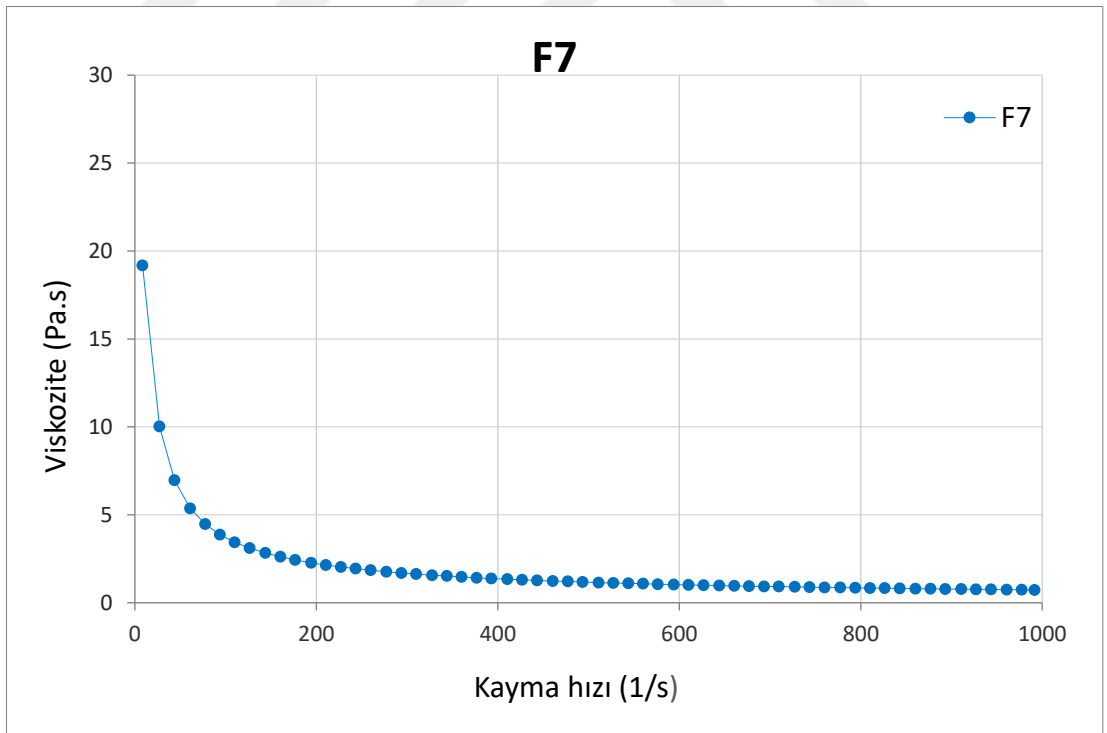
Formülasyonların 3 tekrarlı reoloji ölçümleri sonucu için elde edilen kayma hızı ve viskozite değerlerinin ortalamaları alınarak kayma hızı-viskozite grafikleri oluşturulmuştur. F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait grafikler Grafik 11-Grafik 16’da verilmiştir



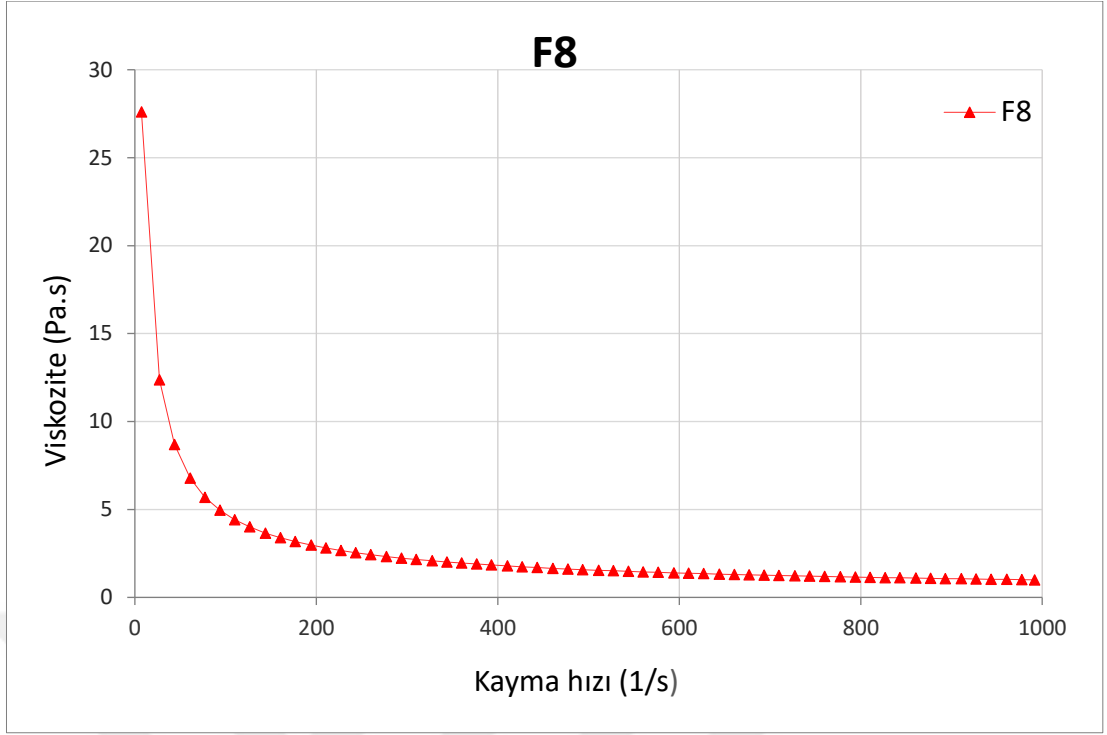
Grafik 11: F5 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.



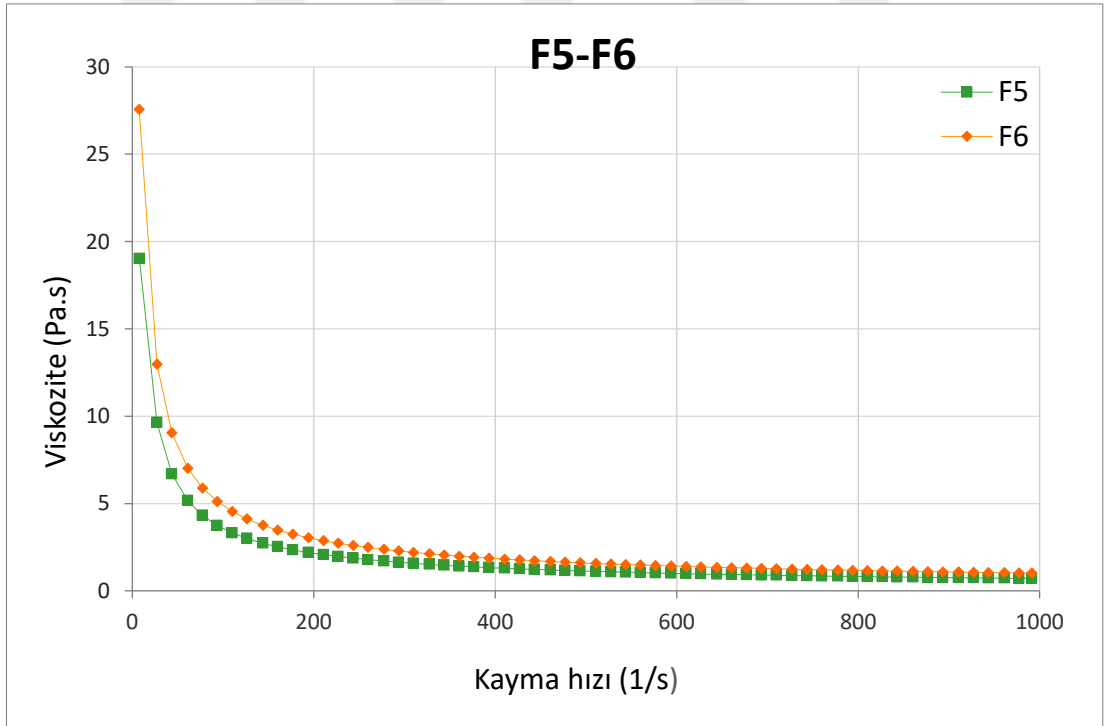
Grafik 12: F6 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.



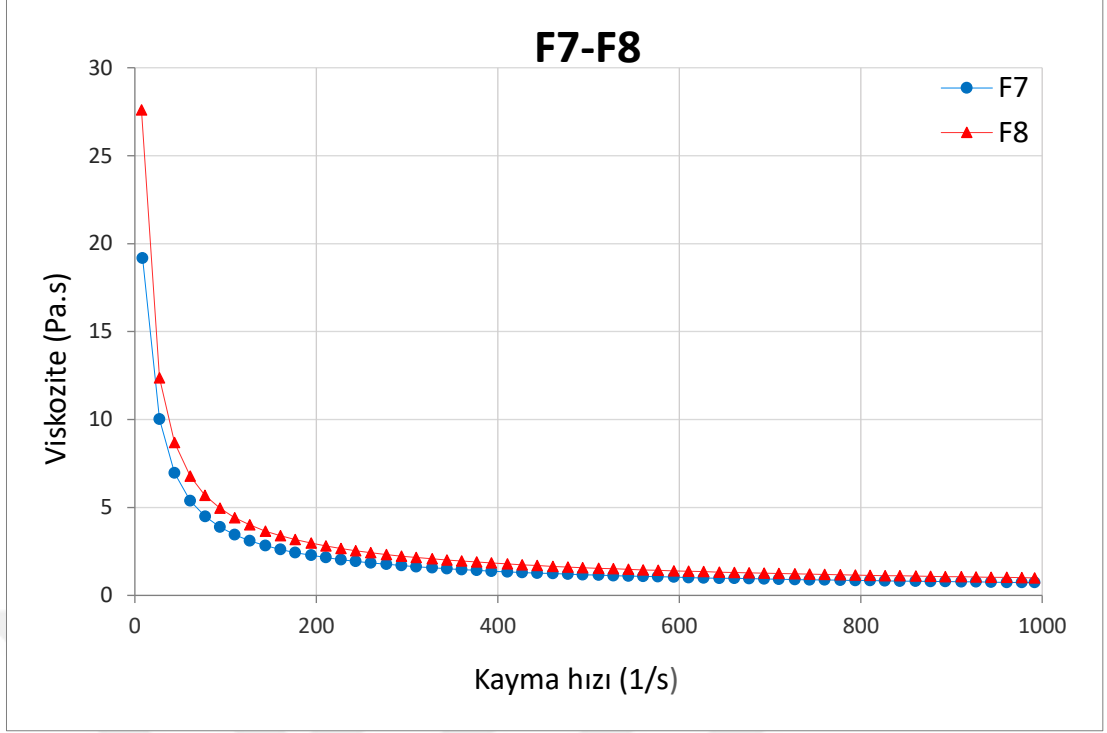
Grafik 13: F7 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.



Grafik 14: F8 formülasyonuna ait kayma hızı-viskozite grafiği.



Grafik 15: F5 ve F6 formülasyonlarına ait kayma hızı-viskozite grafikleri.



Grafik 16: F7 ve F8 formülasyonlarına ait kayma hızı-viskozite grafikleri.

4.4.1.4 Stabilité Çalışmalarına Ait Bulgular

4.4.1.4.1 Fiziksel Özelliklerin Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Stabilite kabinlerinde bulunan F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının fiziksel özellikleri 1. ve 3. ayların sonunda değerlendirilerek Tablo 14’te verilmiştir.

Tablo 14: 1. ve 3. ayların sonunda F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının fiziksel özellikleri.

Fiziksel Özellikler							
	0. An	1. ay			3. ay		
		+4°C	+25°C	+40°C	+4°C	+25°C	+40°C
F5	Yarı katı Renksiz, Saydam Berrak, Homojen	-	-	-	-	-	-
F6	Yarı katı Renksiz, Saydam Berrak, Homojen	-	-	-	-	-	-
F7	Yarı katı Turuncumsu Saydam Berrak, Homojen	-	-	-	-	-	-
F8	Yarı katı Turuncumsu Saydam Berrak, Homojen	-	-	-	-	-	-

- : Değişiklik gözlenmedi

4.4.1.4.2 pH Ölçümlerine Ait Bulgular

Stabilite kabinlerinde bulunan F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının pH değerleri 1. ve 3. ayların sonunda ölçülerek Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15: 1. ve 3. ayların sonunda F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait pH değerleri.

	pH						
	0. An	1. Ay			3. Ay		
		+4°C	+25°C	+40°C	+4°C	+25°C	+40°C
F5	5.42	5.43	5.40	5.38	5.34	5.35	5.35
F6	5.52	5.52	5.50	5.47	5.48	5.44	5.43
F7	5.40	5.39	5.40	5.35	5.30	5.22	5.21
F8	5.49	5.50	5.48	5.44	5.35	5.30	5.31

4.4.1.4.3 Reoloji Analizlerine Ait Bulgular

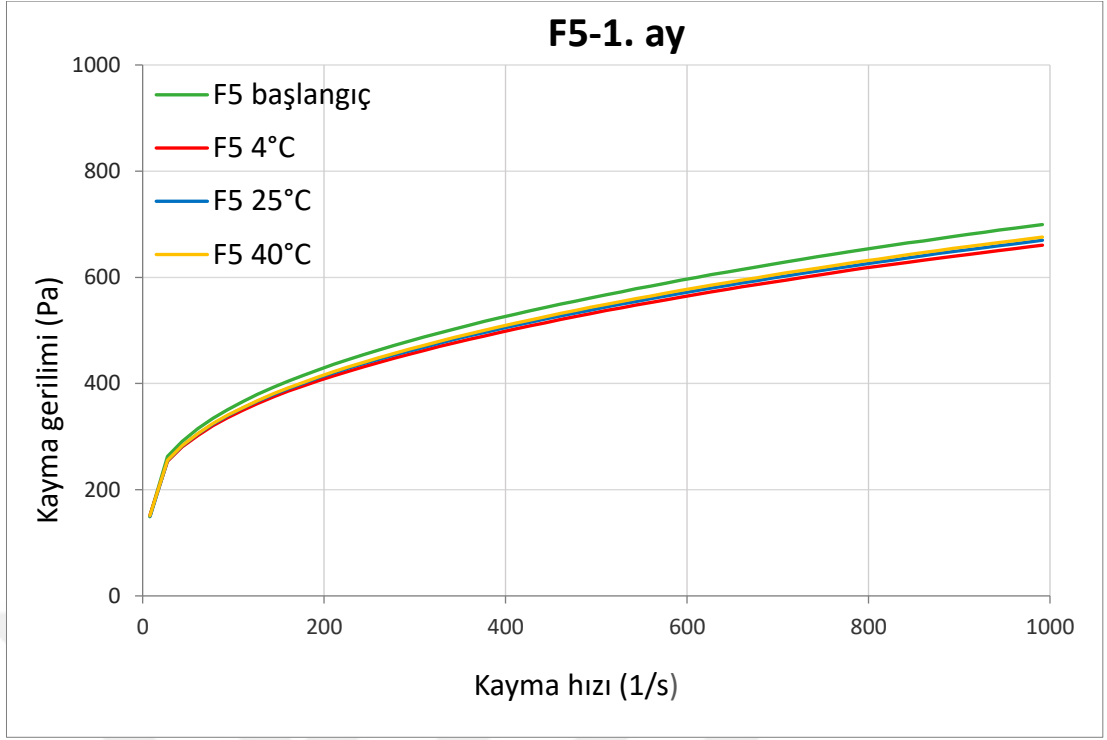
4.4.1.4.3.1 Akış Ölçümlerine Ait Bulgular

Stabilite çalışmalarında F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının reoloji ölçümlerinden elde edilen kayma hızı-kayma gerilimi grafiklerine ait R^2 değerleri Tablo 16’da verilmiştir.

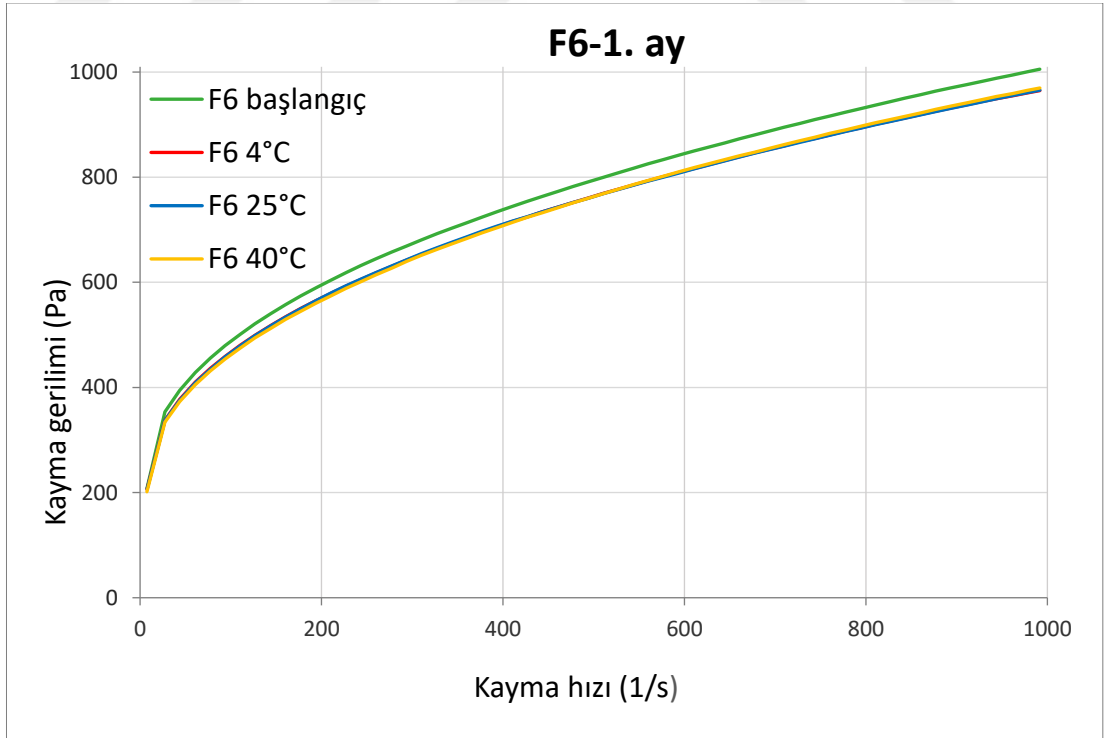
Tablo 16: 1. ve 3. ayların sonunda elde edilen kayma hızı-kayma gerilimi grafiklerine ait R^2 değerleri.

	Kayma hızı-Kayma gerilimi R^2						
	0. An	1. Ay			3. Ay		
		+4°C	+25°C	+40°C	+4°C	+25°C	+40°C
F5	0.998576	0.998316	0.998213	0.998469	0.998708	0.99826	0.998437
F6	0.998715	0.999054	0.999139	0.999037	0.998756	0.998818	0.999020
F7	0.998807	0.998708	0.998178	0.99863	0.998575	0.998364	0.998735
F8	0.999178	0.998979	0.999151	0.999137	0.999748	0.998943	0.999229

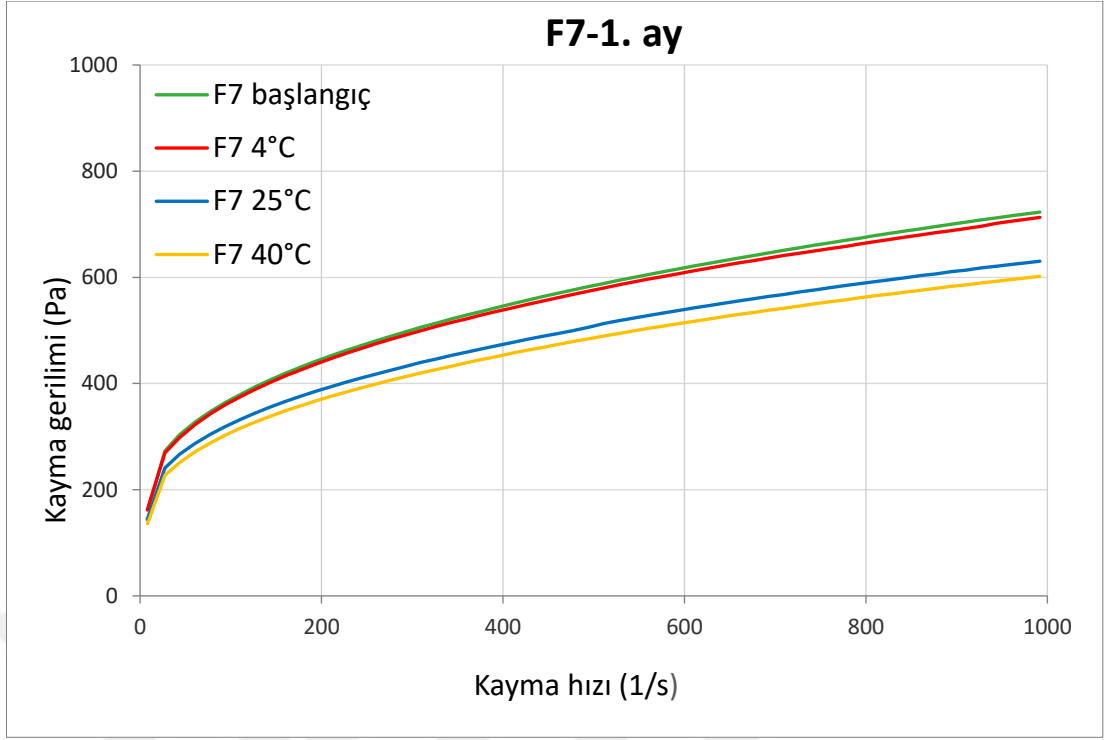
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait başlangıç anında ve 1. ayın sonunda 3 farklı stabilite koşulunda elde edilen hızı-kayma gerilimi grafikleri Grafik 17-Grafik 20’de verilmiştir.



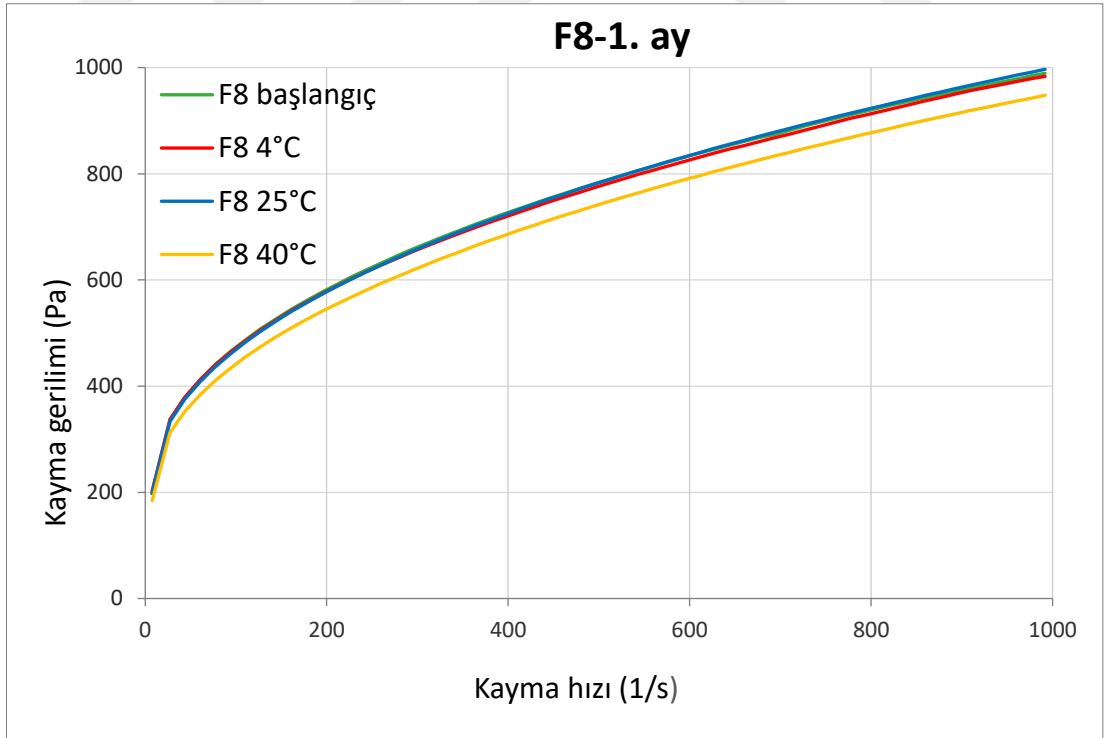
Grafik 17: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



Grafik 18: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

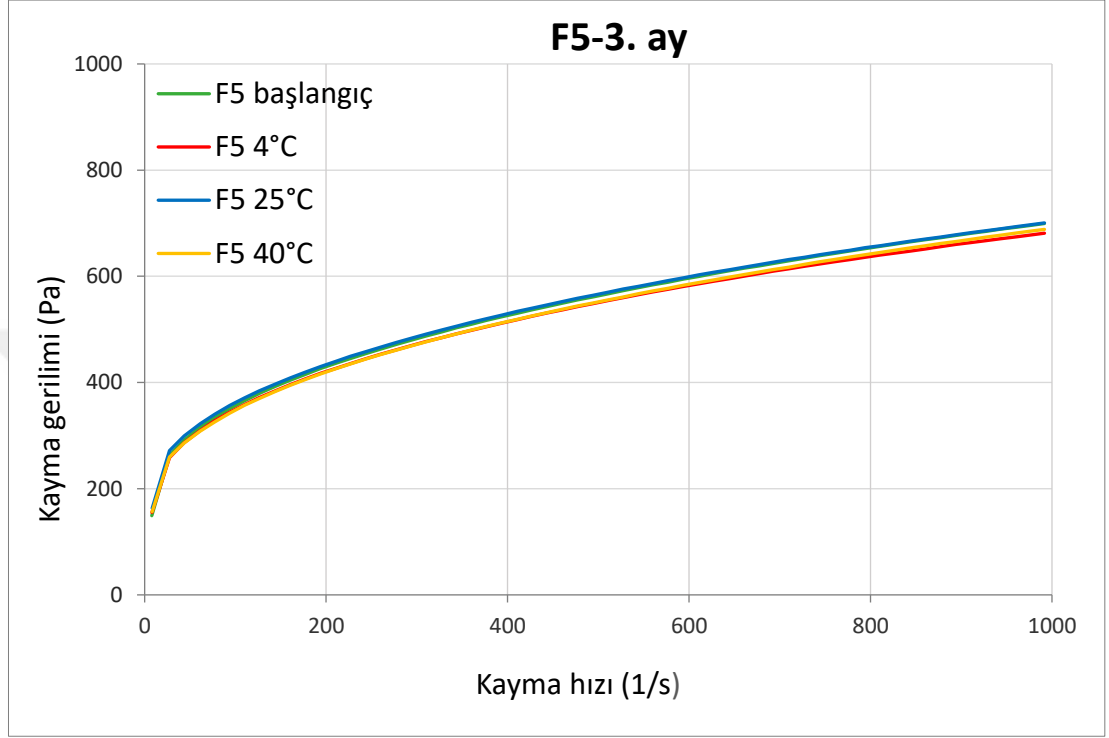


Grafik 19: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

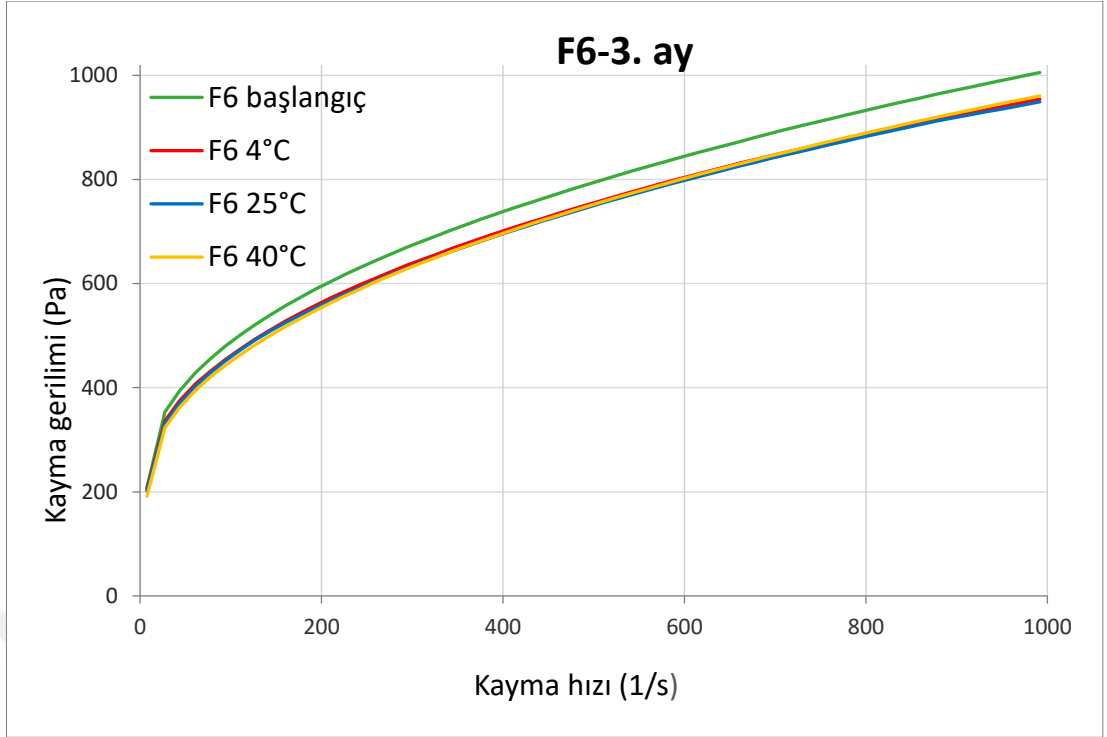


Grafik 20: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

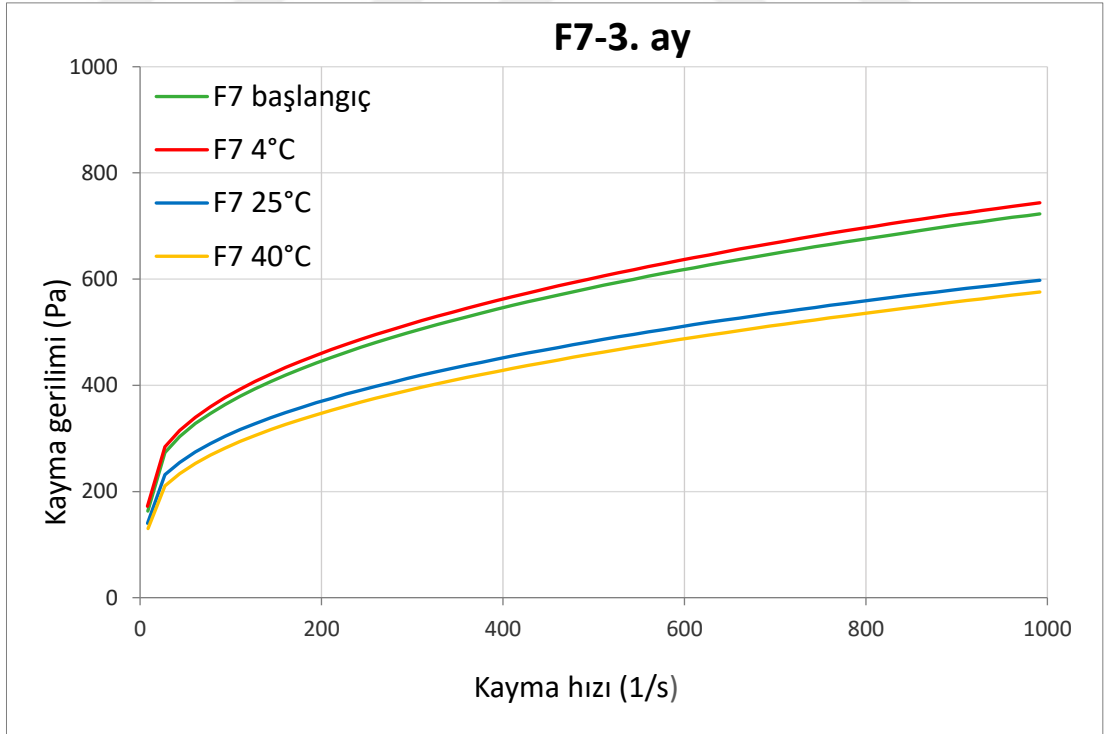
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait başlangıç anında ve 3. ayın sonunda 3 farklı stabilite koşulunda elde edilen hızı-kayma gerilimi grafikleri Grafik 21-Grafik 24’de verilmiştir.



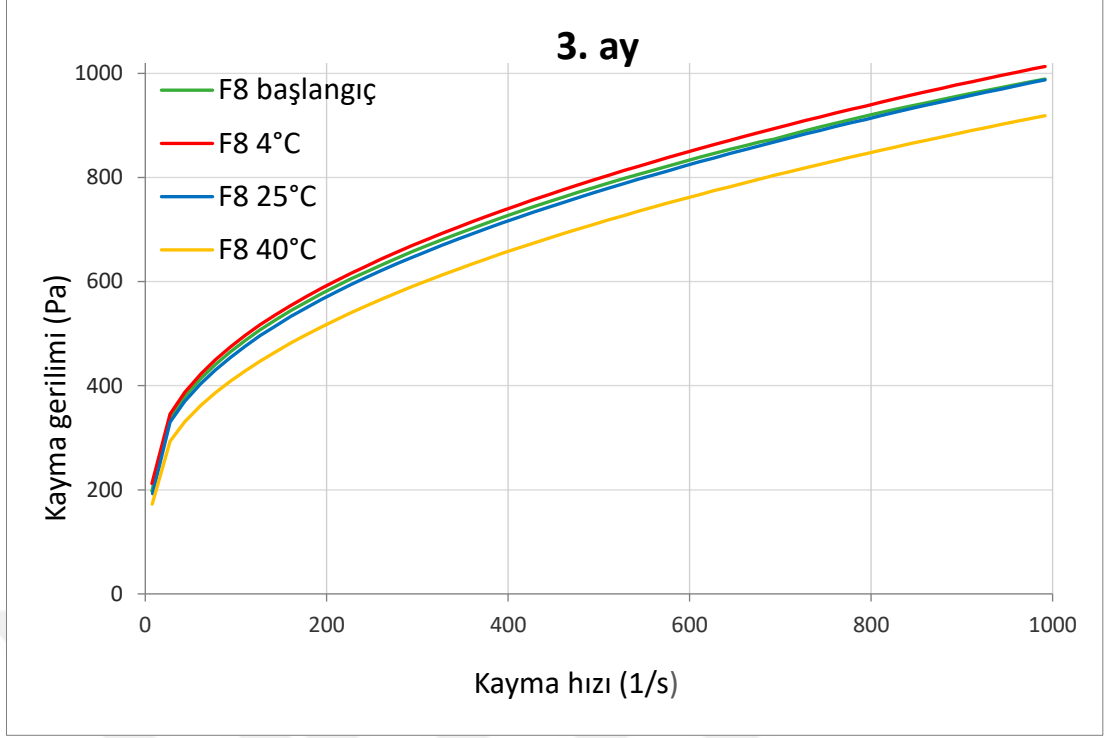
Grafik 21: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



Grafik 22: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

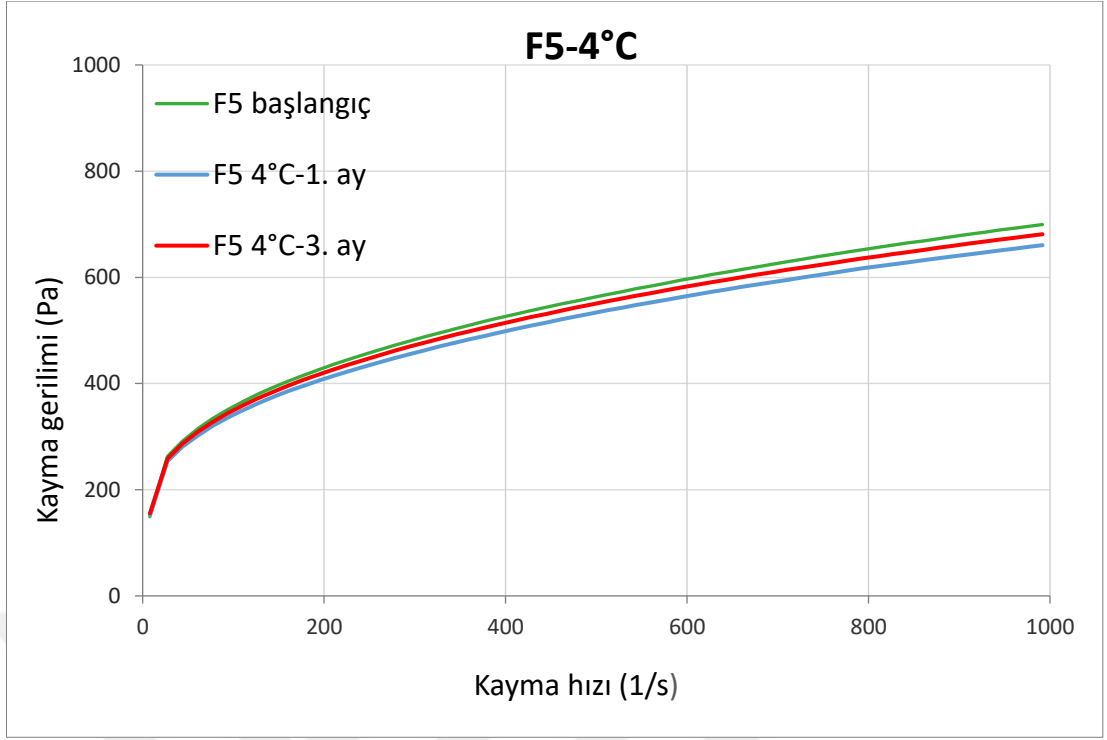


Grafik 23: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

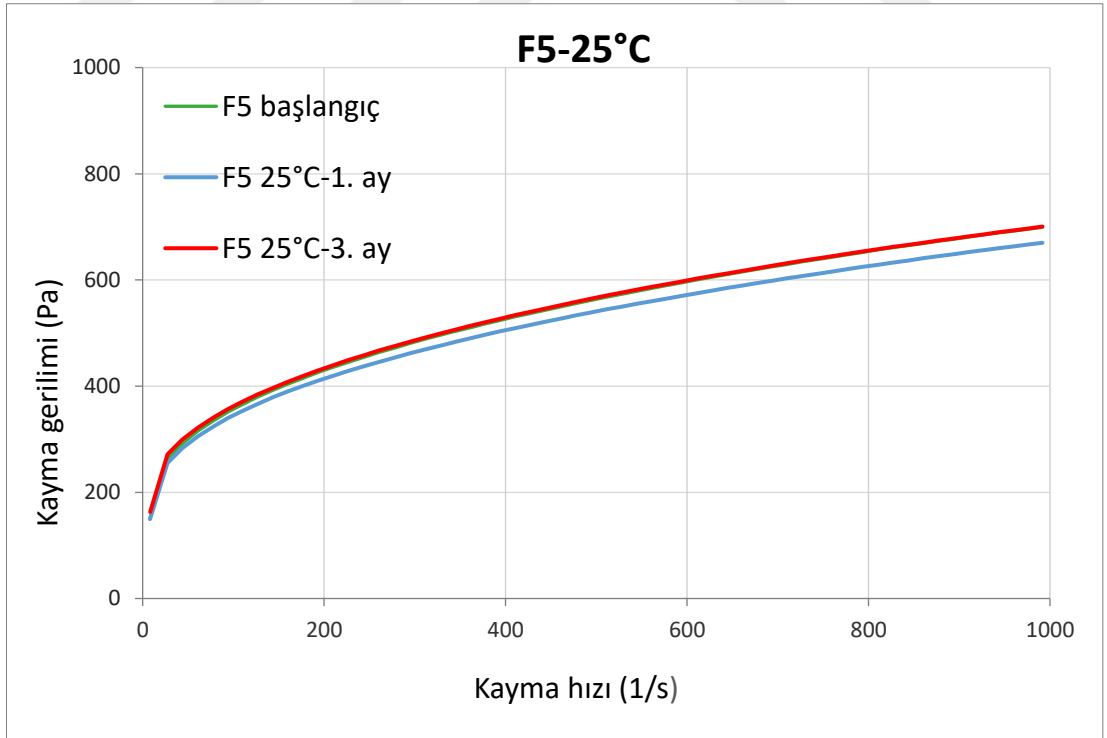


Grafik 24: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

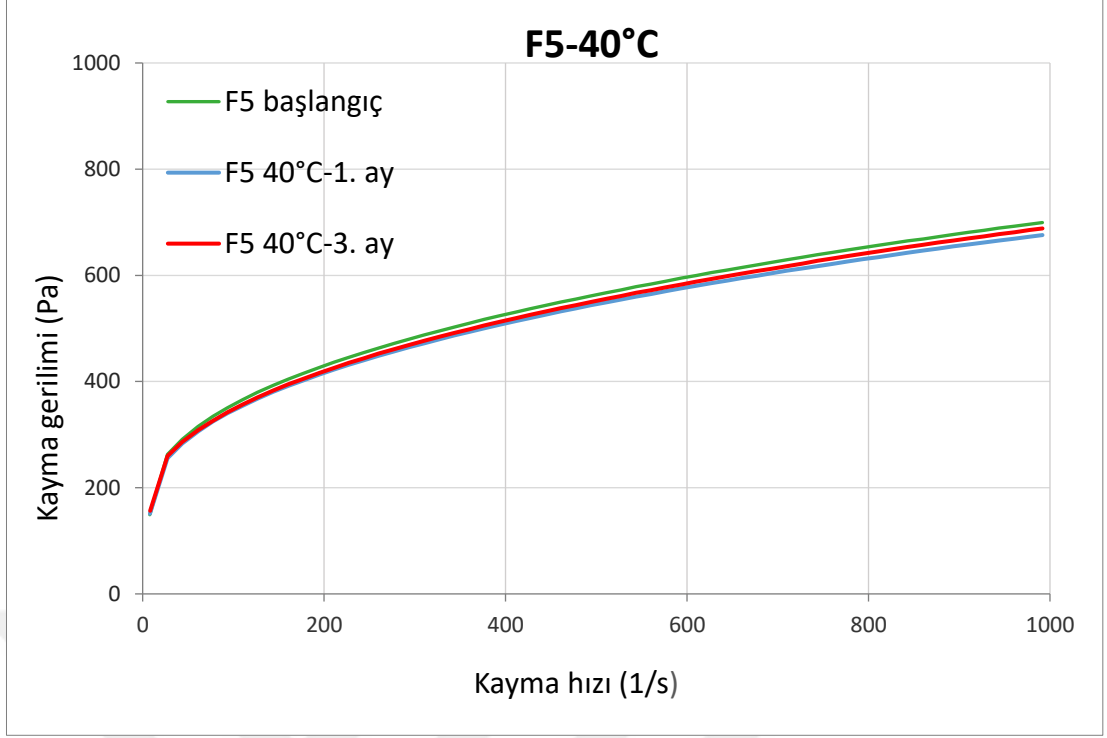
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait başlangıç anında ve 1., 3. ayların sonunda elde edilen kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri 3 farklı stabilite koşuluna göre karşılaştırmalı olarak Grafik 25-Grafik 36’de verilmiştir.



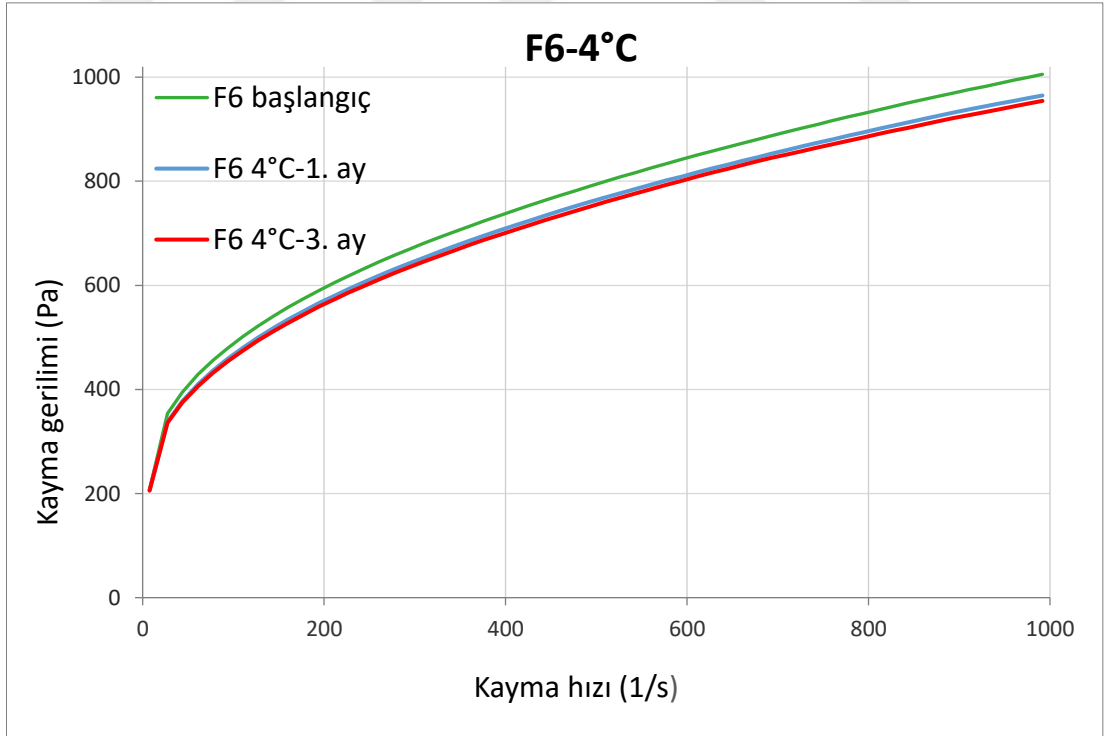
Grafik 25: F5 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



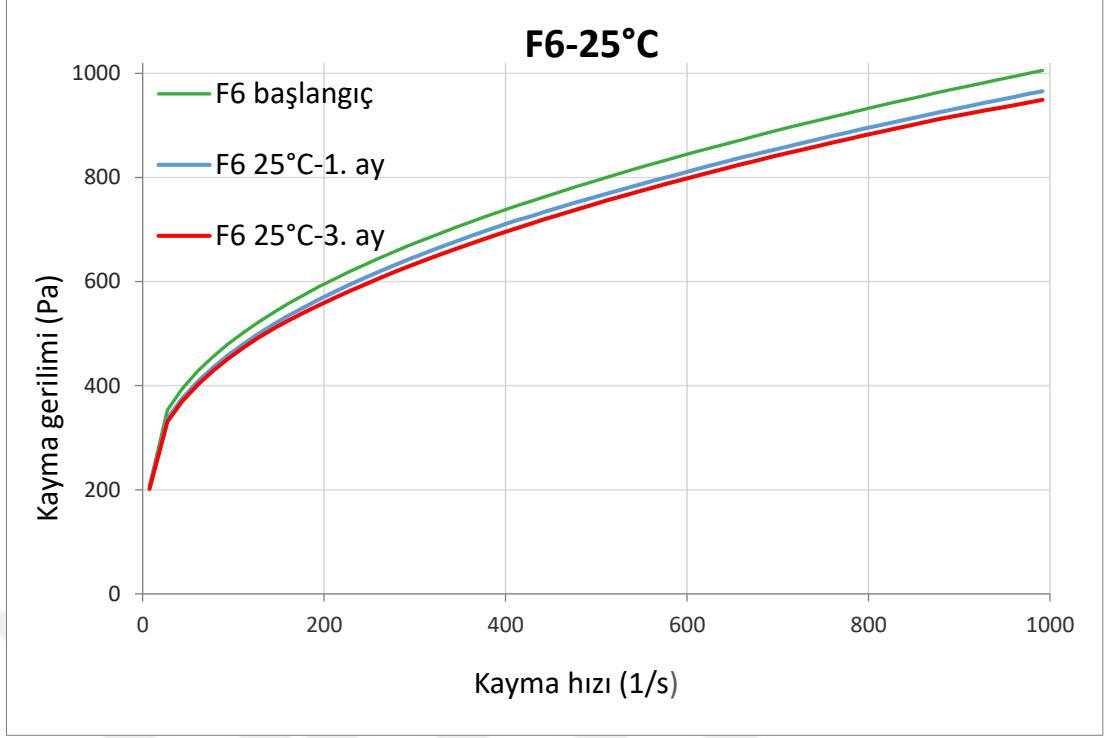
Grafik 26: F5 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



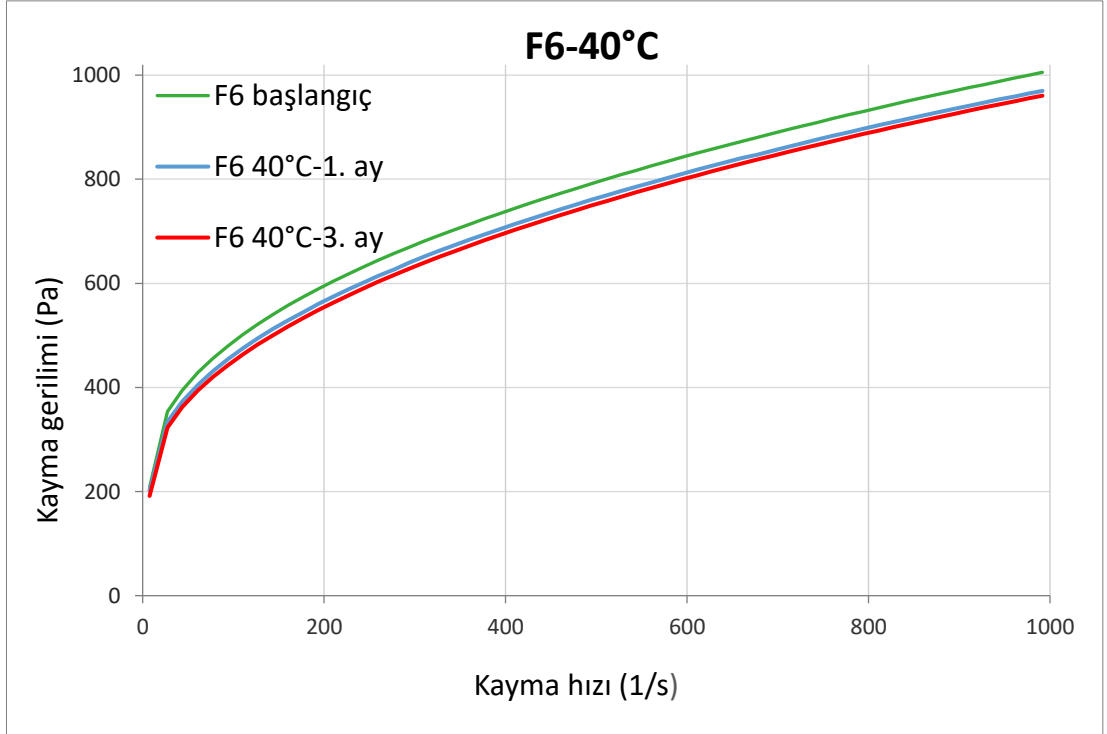
Grafik 27: F5 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



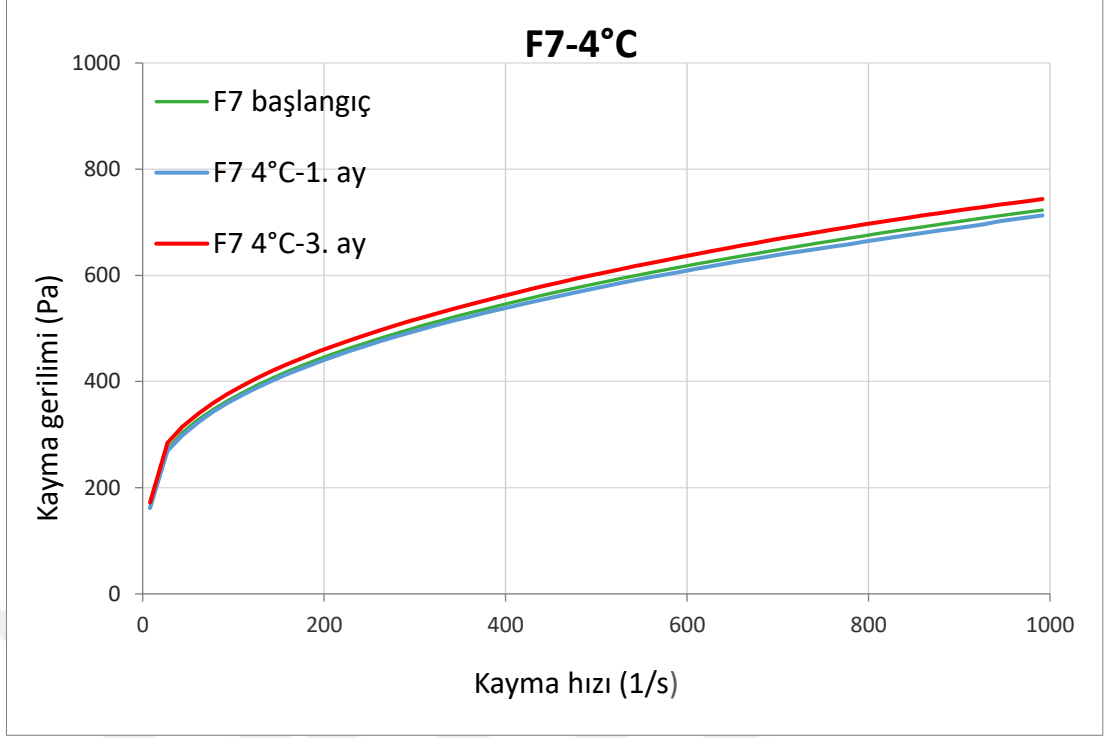
Grafik 28: F6 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



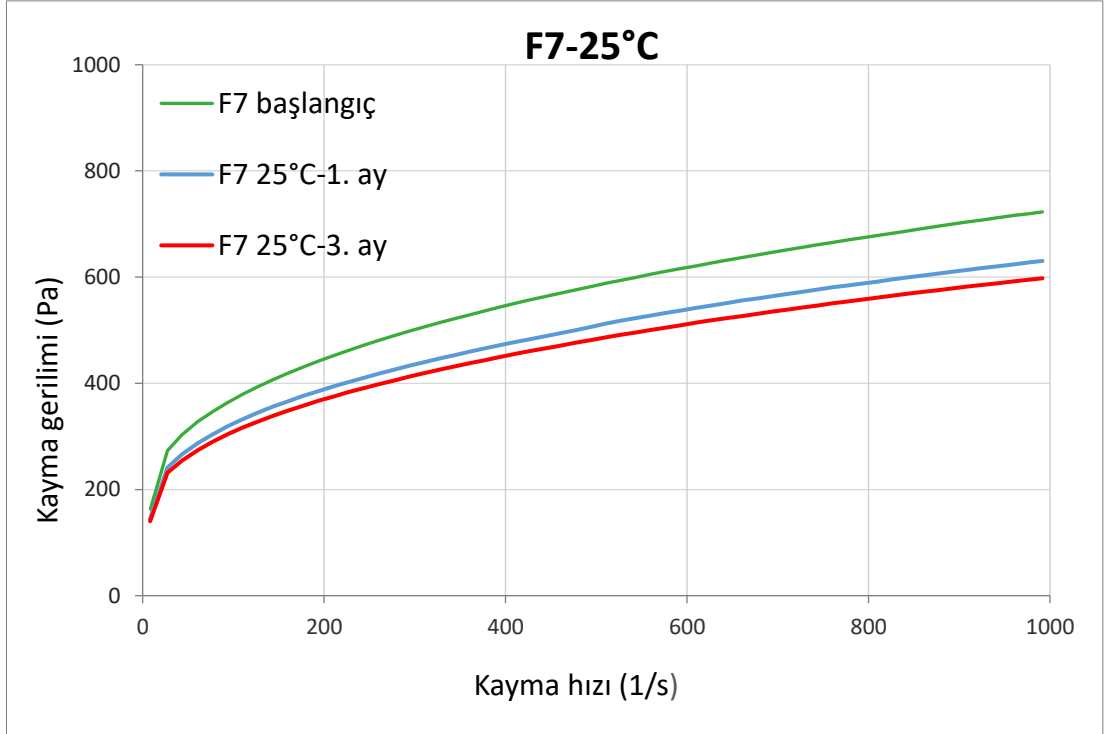
Grafik 29: F6 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



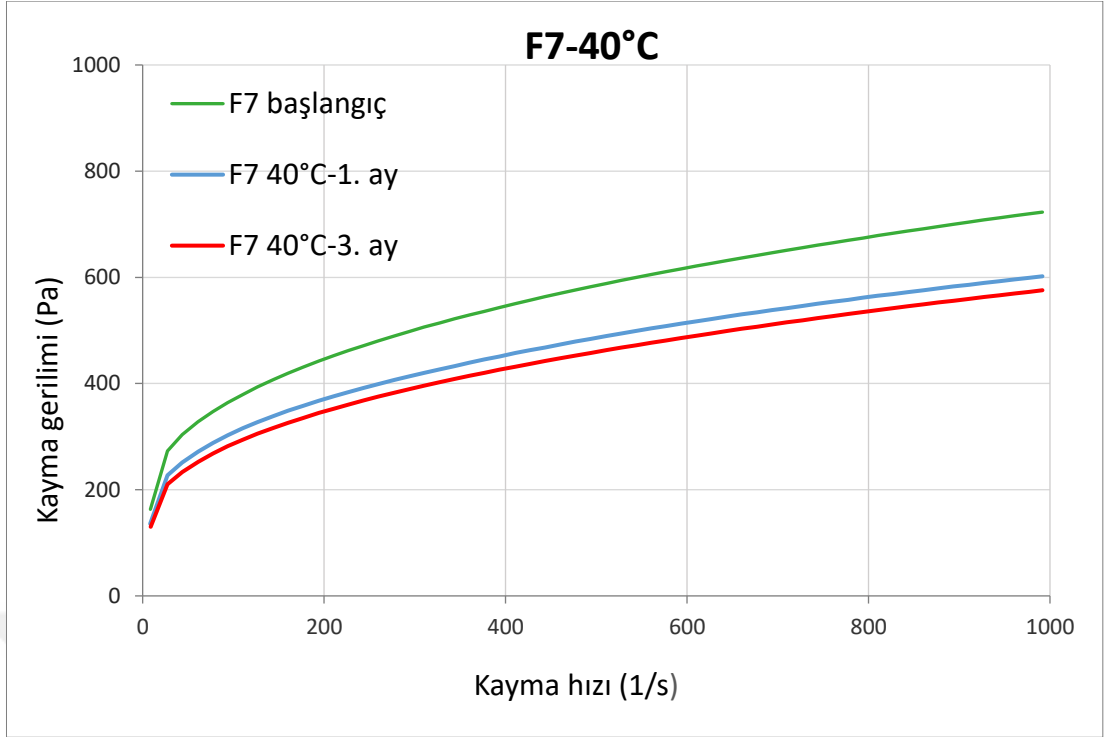
Grafik 30: F6 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



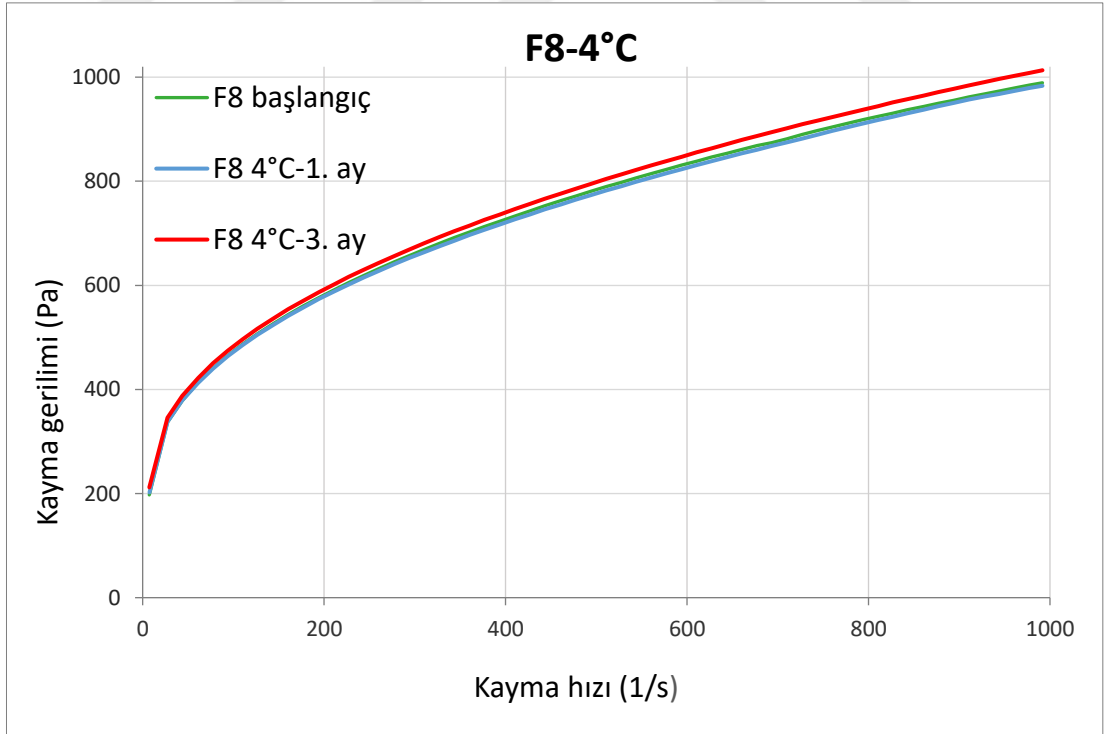
Grafik 31: F7 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



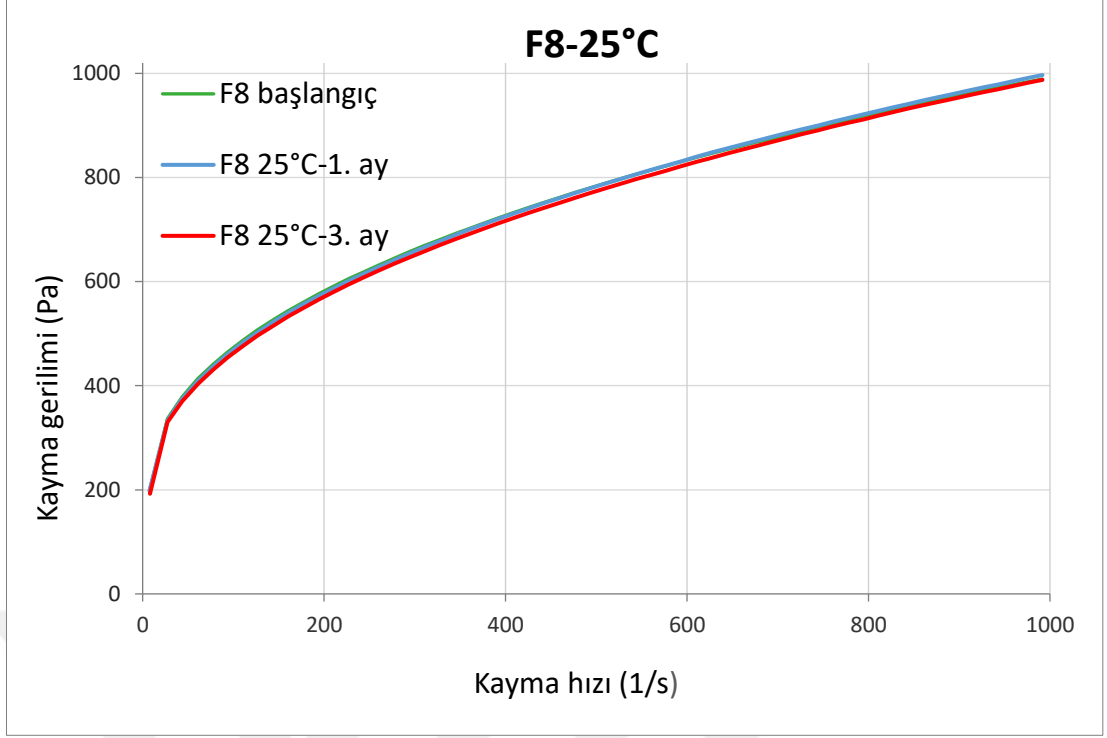
Grafik 32: F7 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



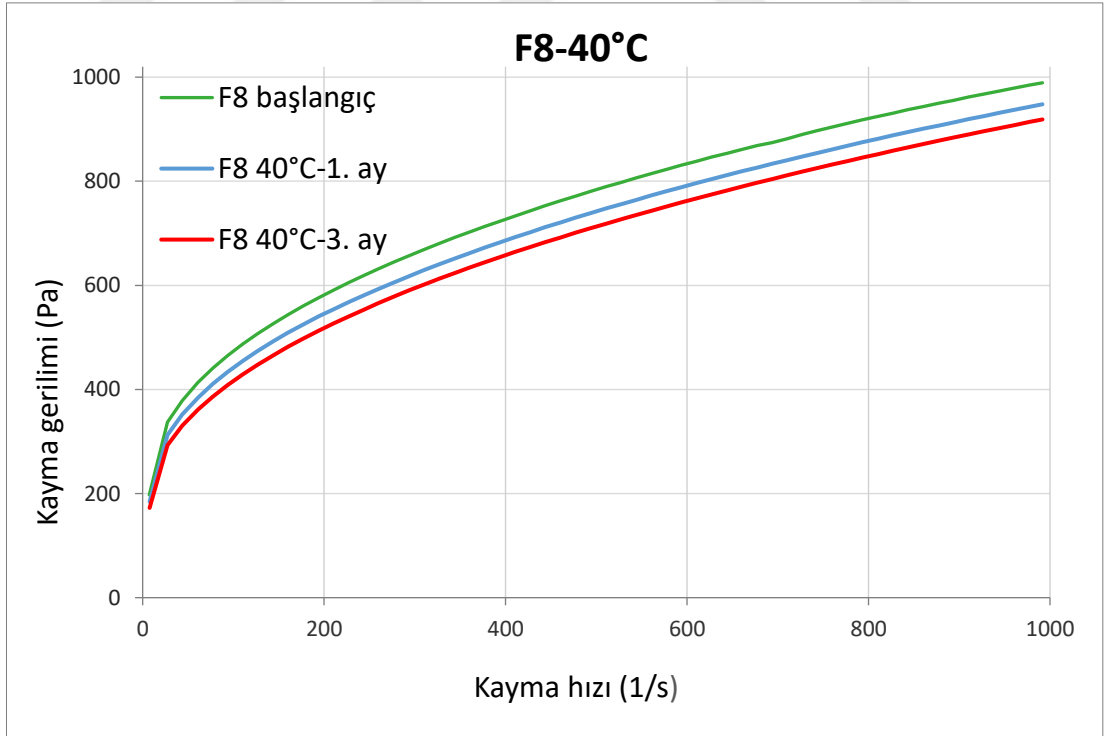
Grafik 33: F7 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



Grafik 34: F8 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



Grafik 35: F8 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.



Grafik 36: F8 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri.

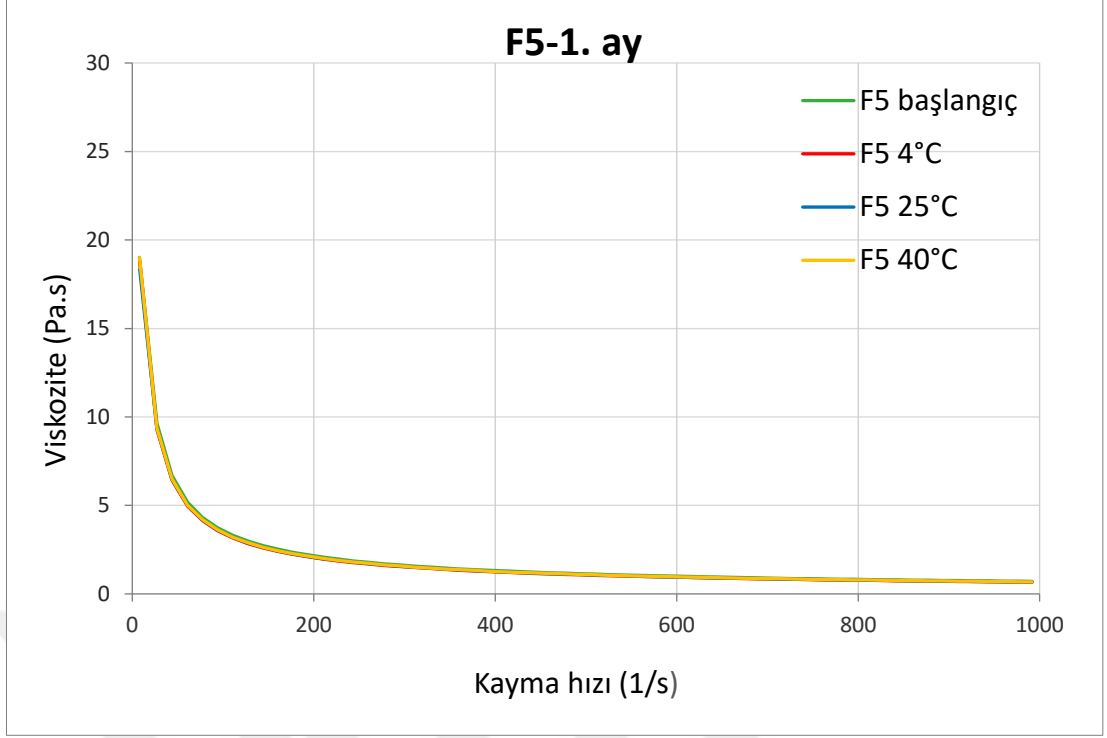
4.4.1.4.3.2 Viskozite Ölçümlerine Ait Bulgular

Stabilite çalışmalarında F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının reoloji ölçümlerinden elde edilen kayma hızı-viskozite grafiklerine ait R^2 değerleri Tablo 17’de verilmiştir.

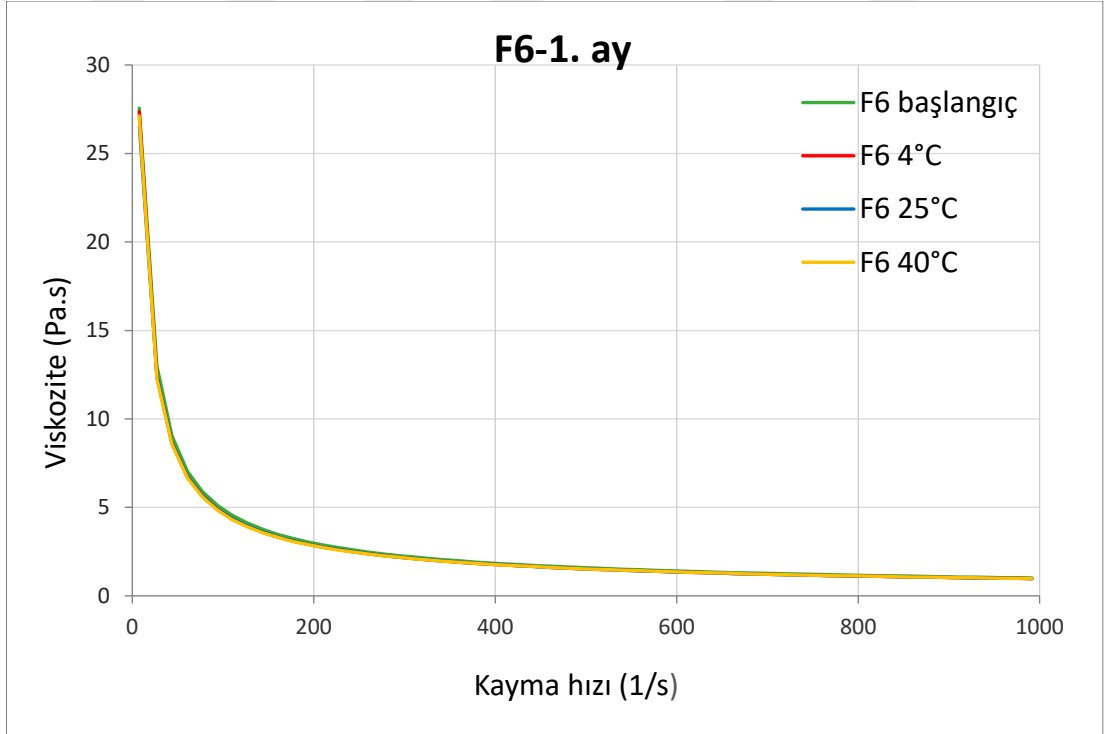
Tablo 17: 1. ve 3. ayların sonunda elde edilen kayma hızı-viskozite grafiklerine ait R^2 değerleri.

	Kayma hızı-Viskozite R^2						
	0. An	1. Ay			3. Ay		
		+4°C	+25°C	+40°C	+4°C	+25°C	+40°C
F5	0.999948	0.999960	0.999892	0.999945	0.999964	0.999949	0.999948
F6	0.999963	0.999948	0.99983	0.999952	0.999959	0.999964	0.999948
F7	0.999951	0.999956	0.999965	0.999931	0.999948	0.999949	0.999928
F8	0.999950	0.999957	0.999958	0.999957	0.999958	0.999939	0.999919

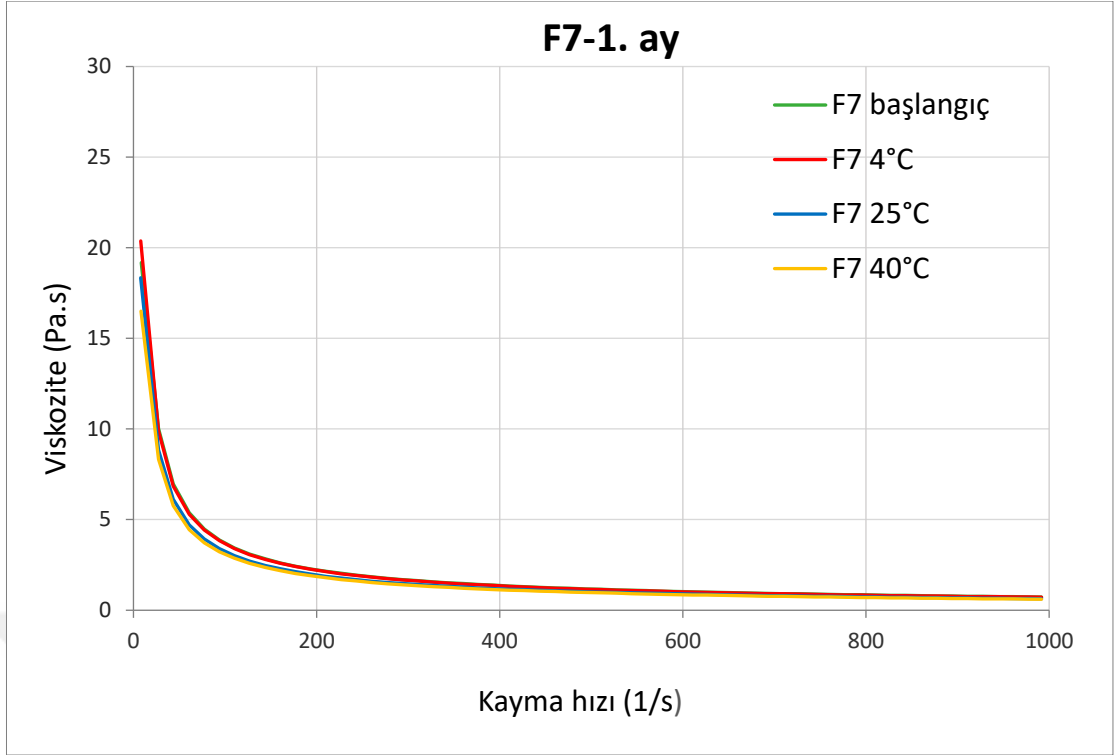
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait başlangıç anında ve 1. ayın sonunda 3 farklı stabilite koşulunda elde edilen kayma hızı-viskozite grafikleri Grafik 37-Grafik 40’da verilmiştir.



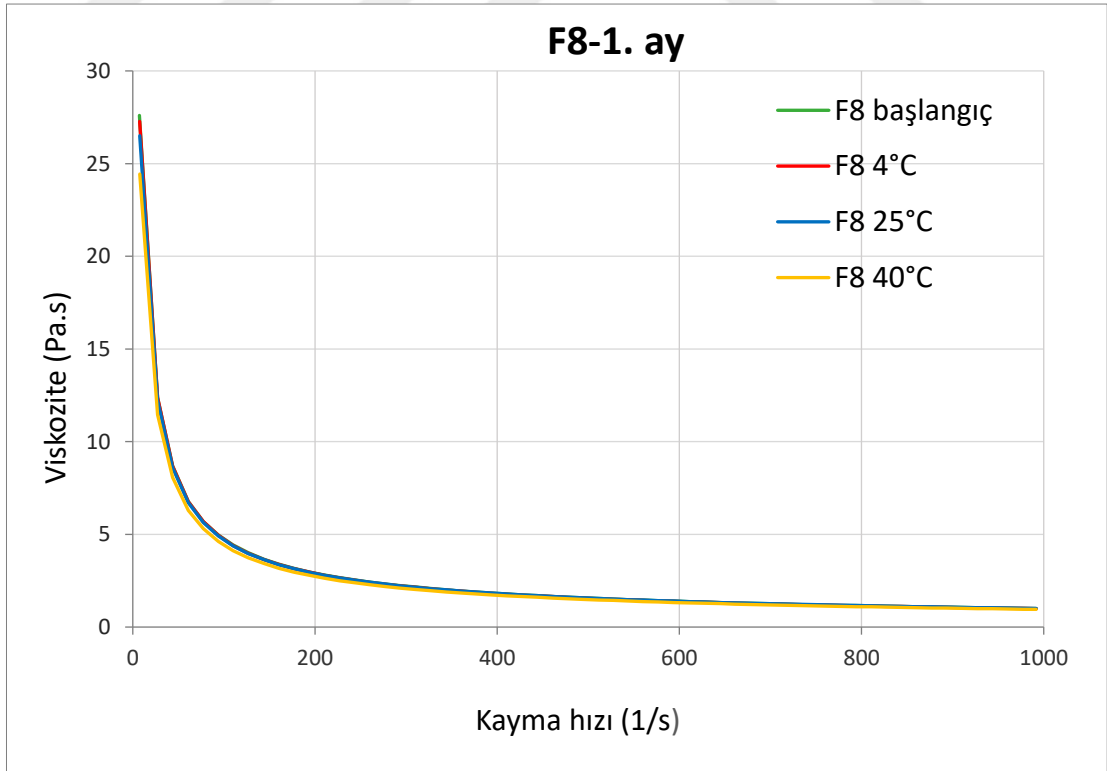
Grafik 37: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



Grafik 38: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

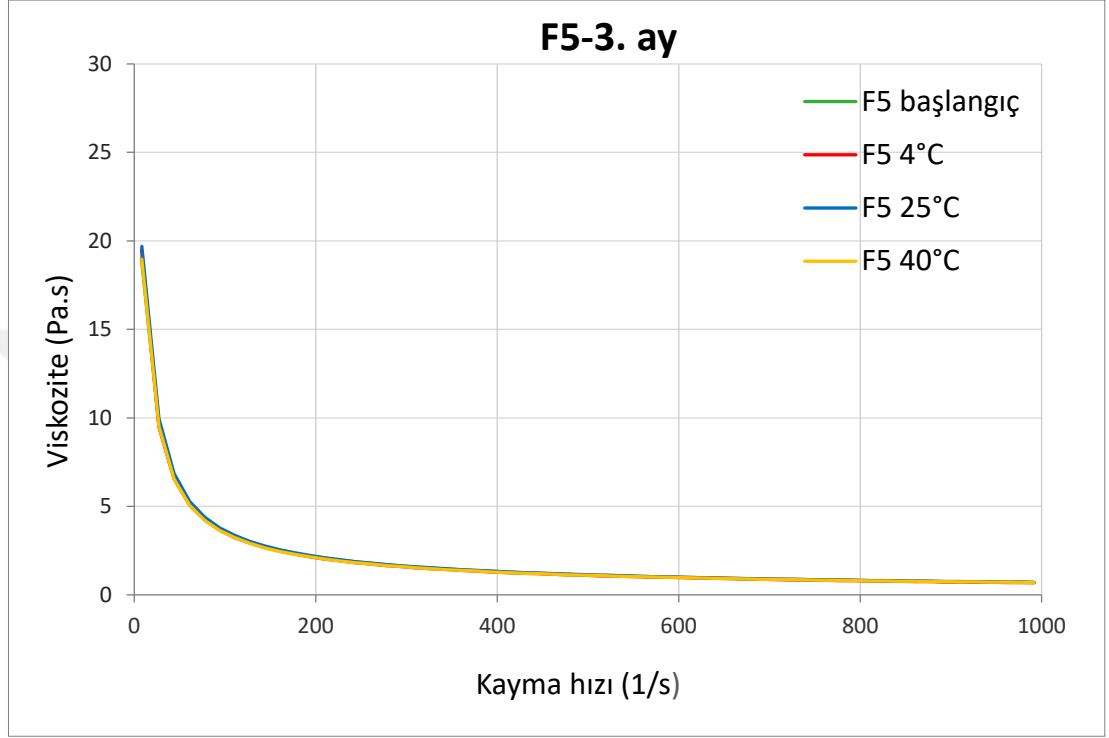


Grafik 39: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

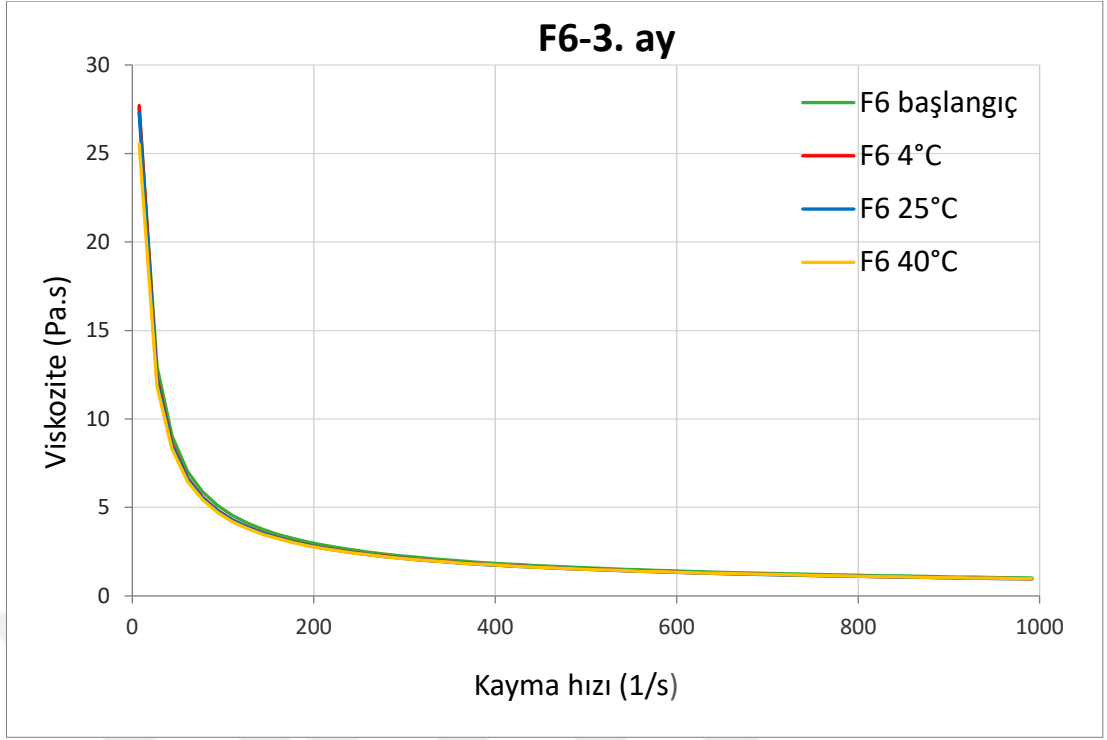


Grafik 40: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 1. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

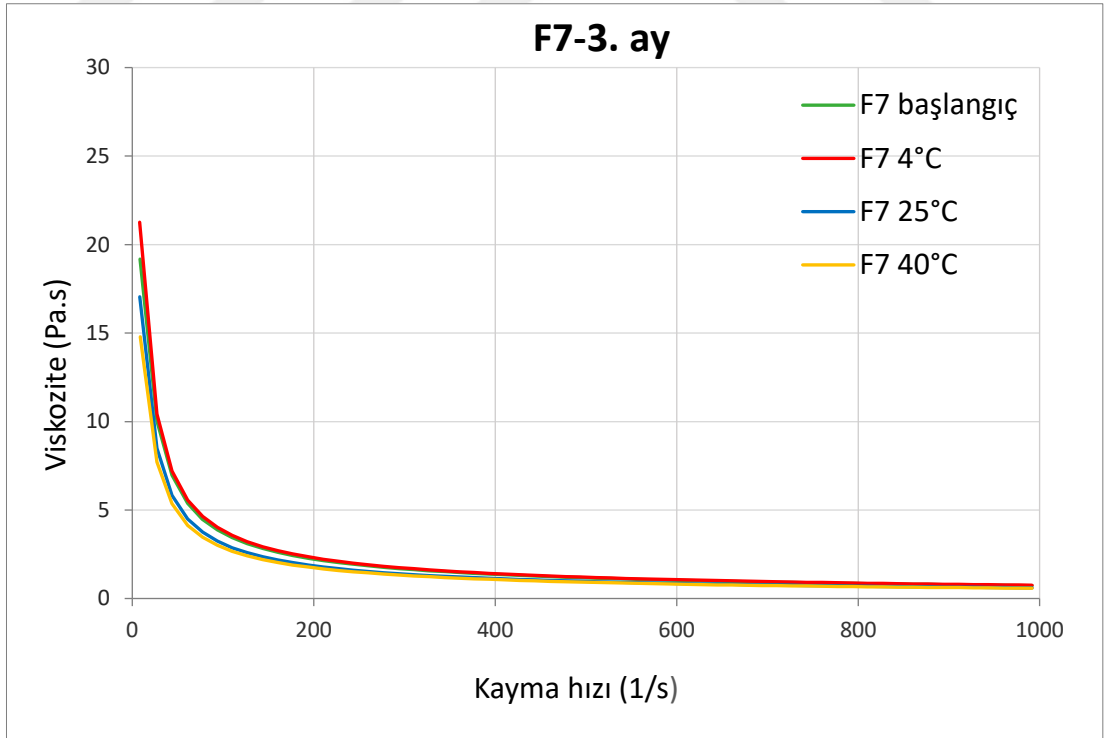
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait başlangıç anında ve 3. ayın sonunda 3 farklı stabilite koşulunda elde edilen kayma hızı-viskozite grafikleri Grafik 41-Grafik 44'te verilmiştir.



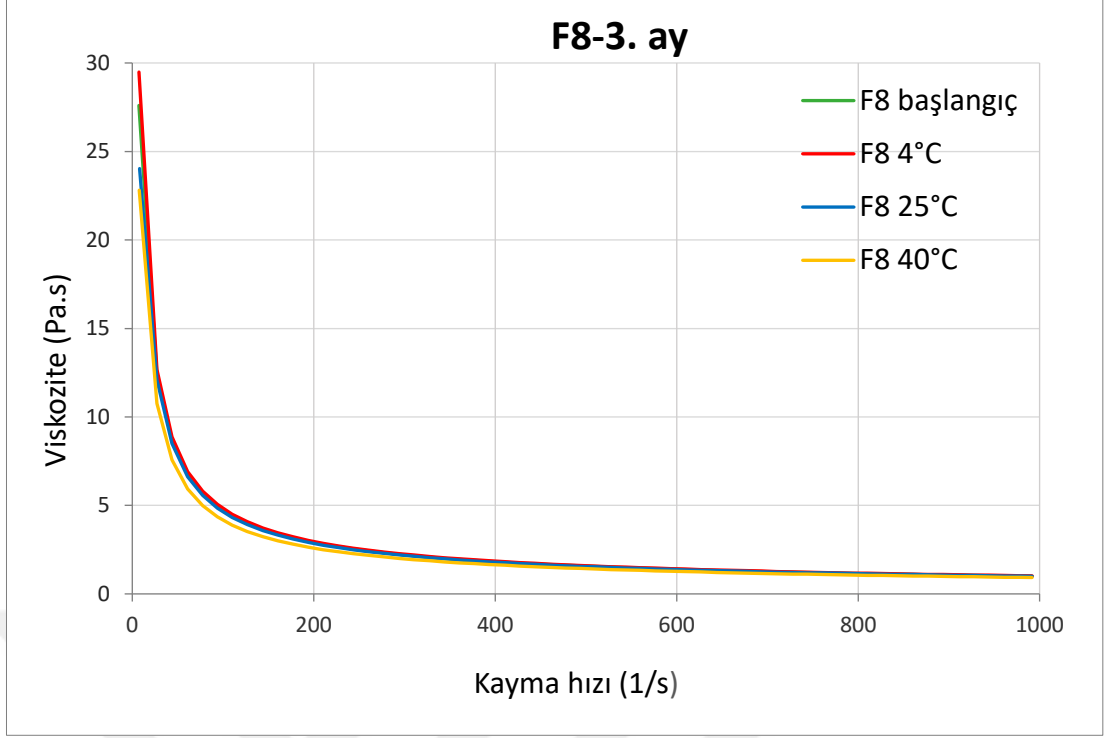
Grafik 41: F5 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



Grafik 42: F6 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

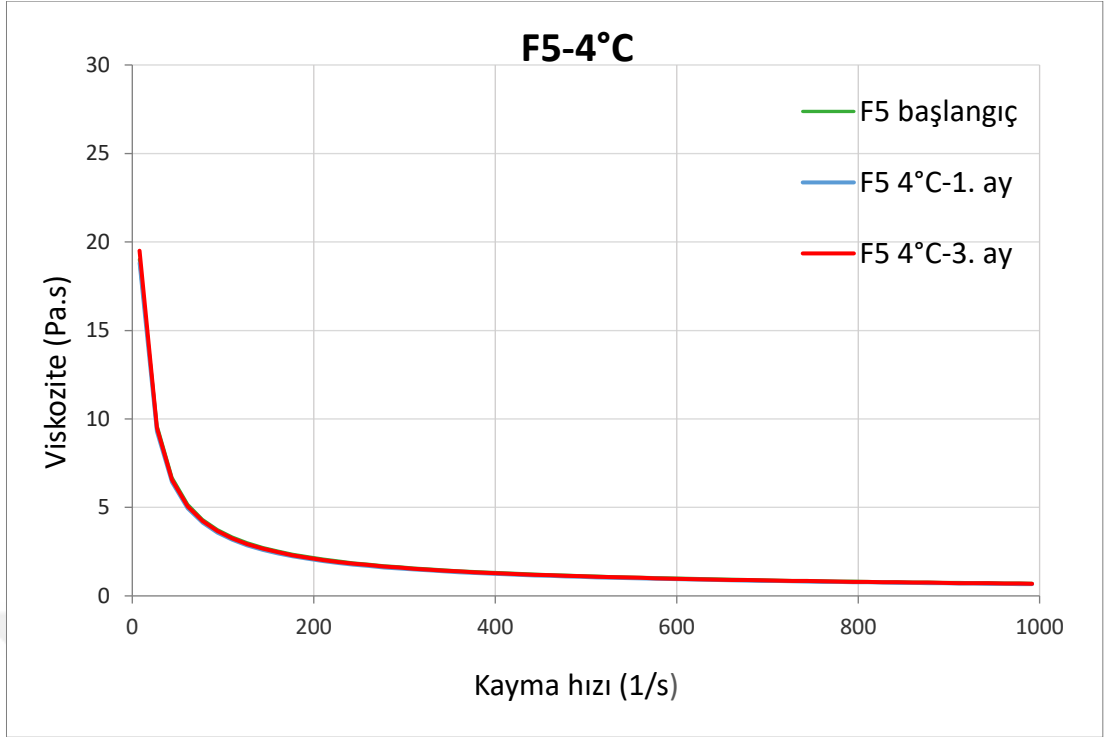


Grafik 43: F7 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

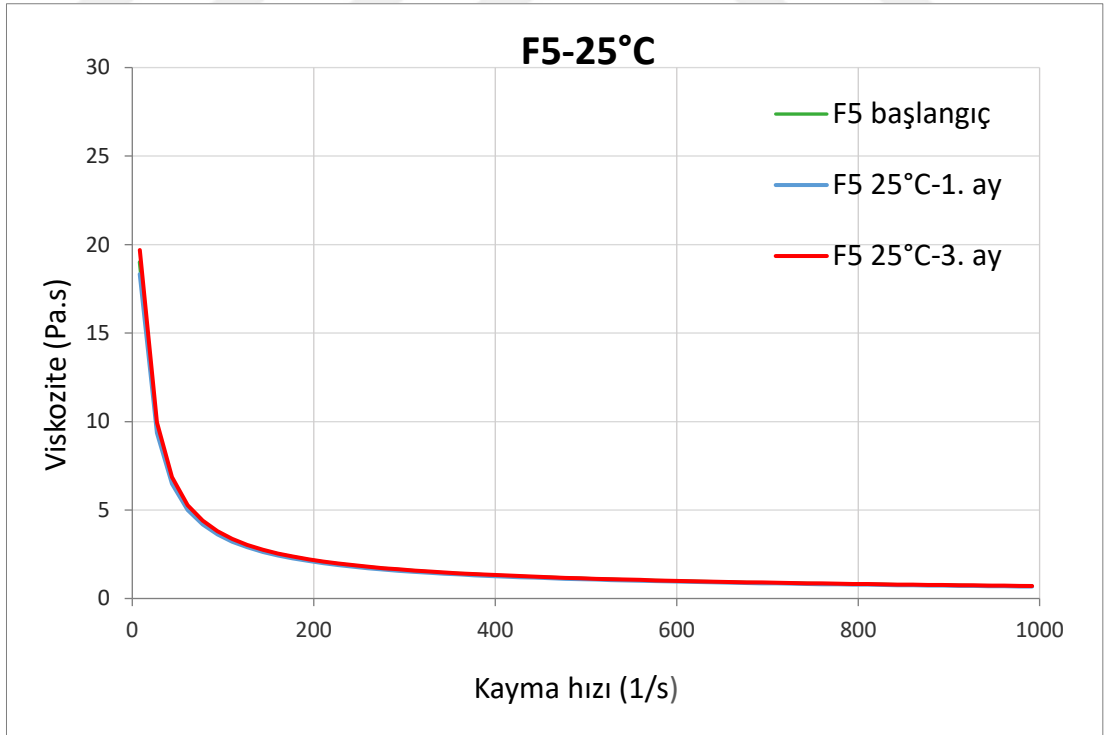


Grafik 44: F8 formülasyonuna ait başlangıç anı ve 3. aydaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

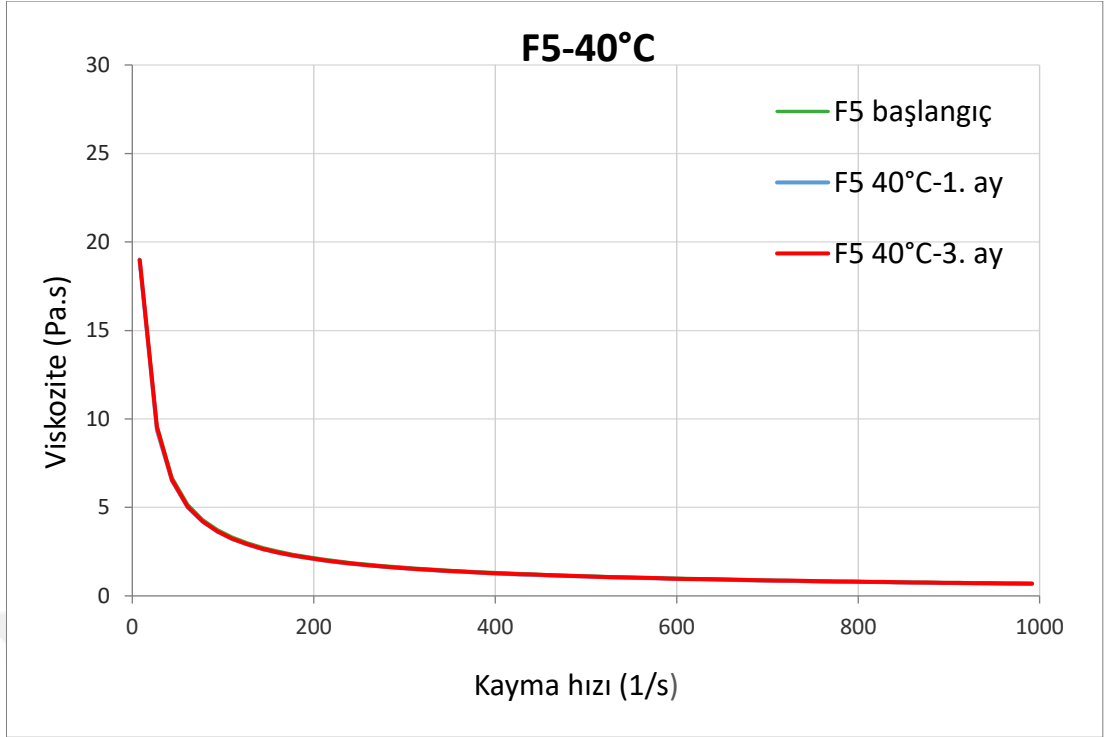
F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait başlangıç anında ve 1., 3. ayların sonunda elde edilen kayma hızı-viskozite grafikleri 3 farklı stabilite koşuluna göre karşılaştırmalı olarak Grafik 45-Grafik 56'da verilmiştir.



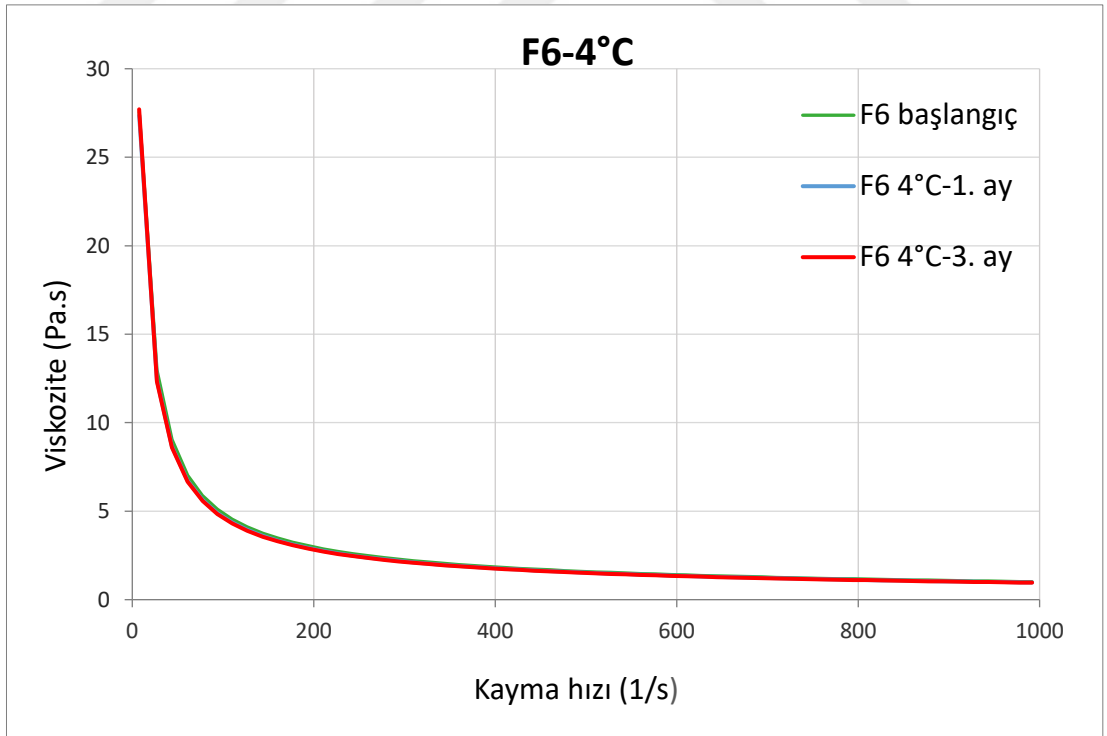
Grafik 45: F5 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



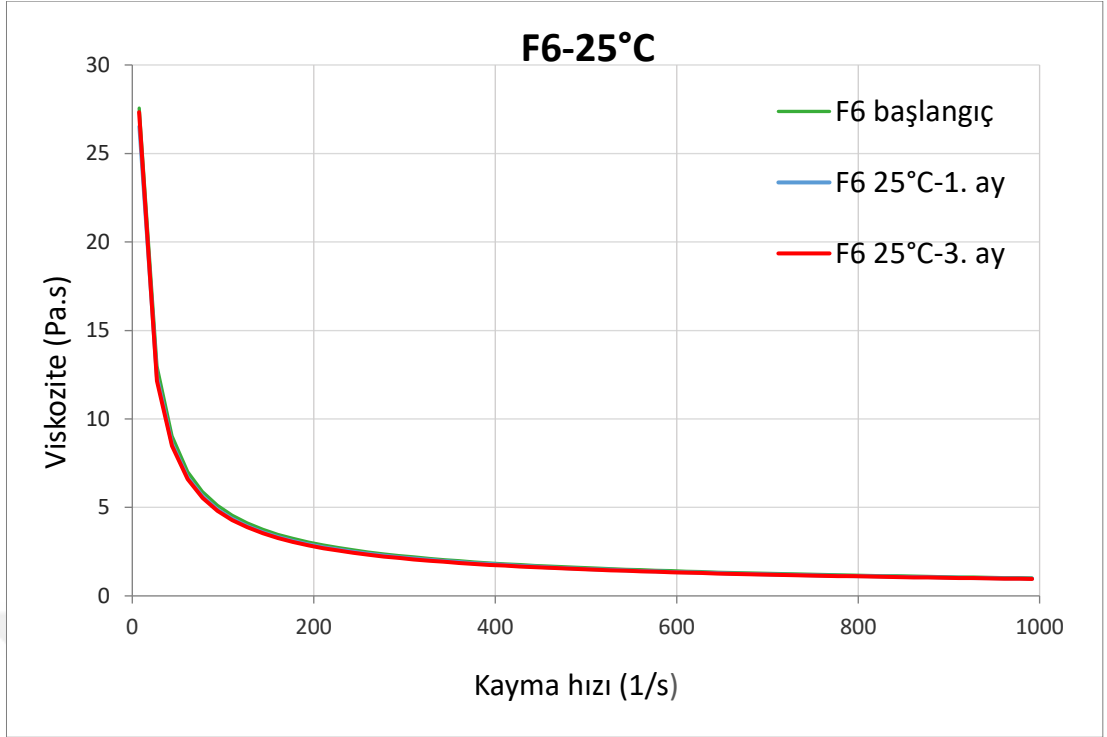
Grafik 46: F5 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



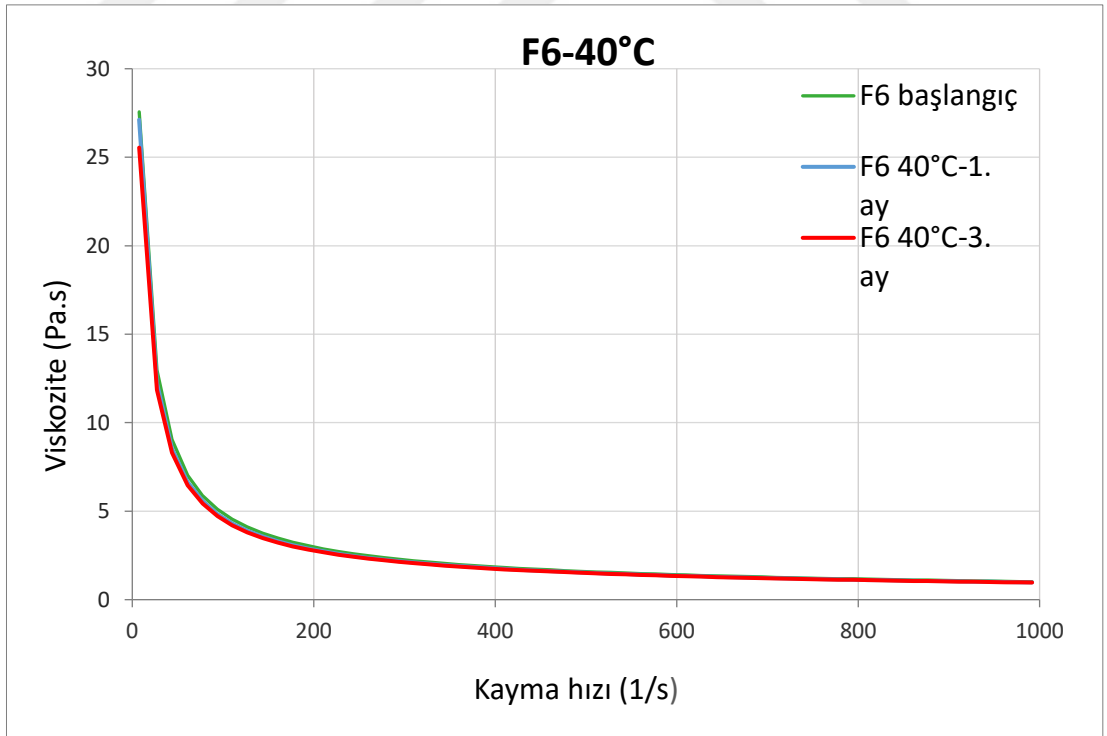
Grafik 47: F5 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



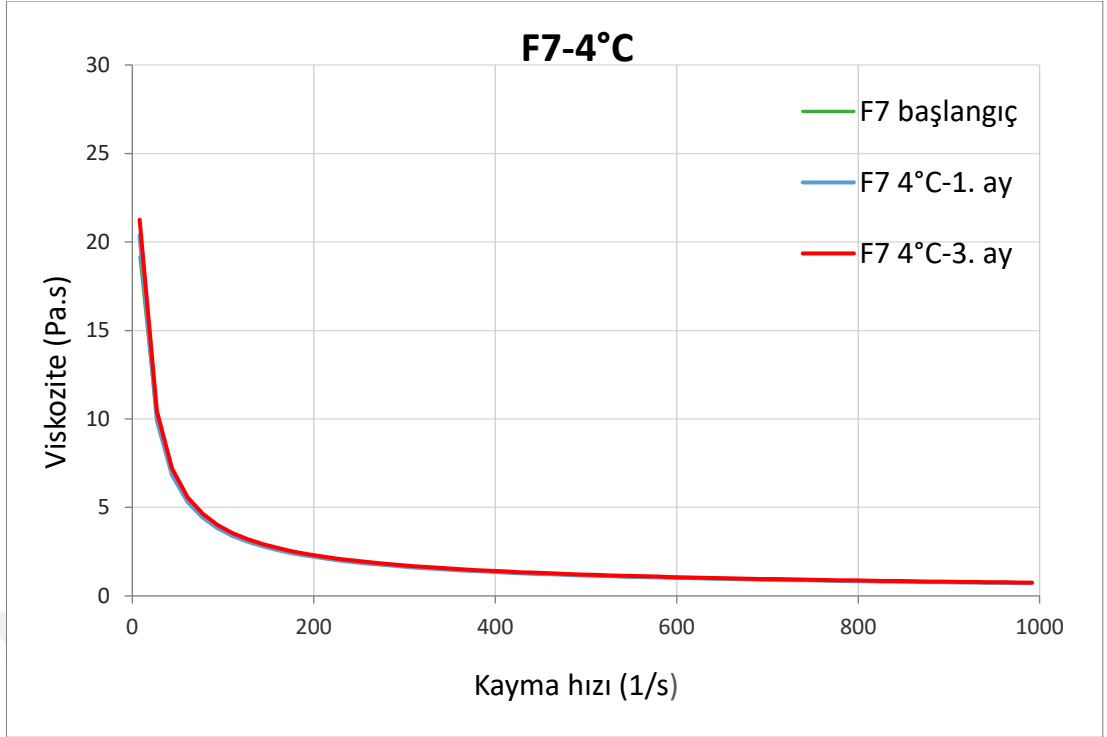
Grafik 48: F6 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



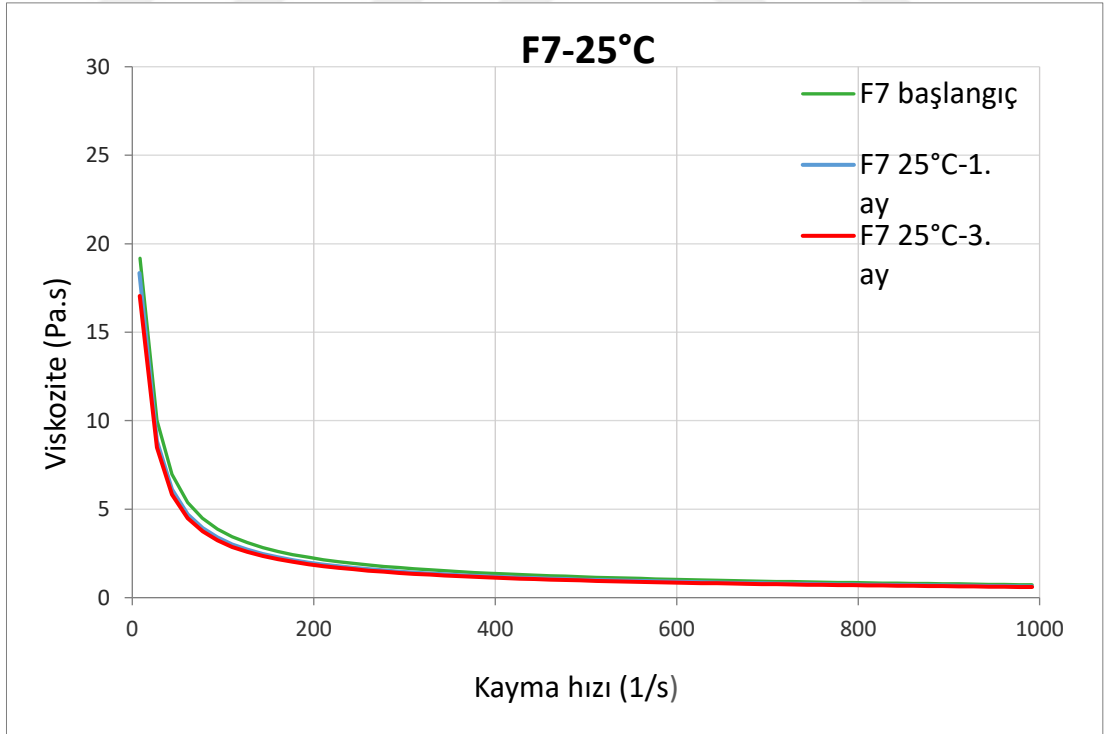
Grafik 49: F6 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



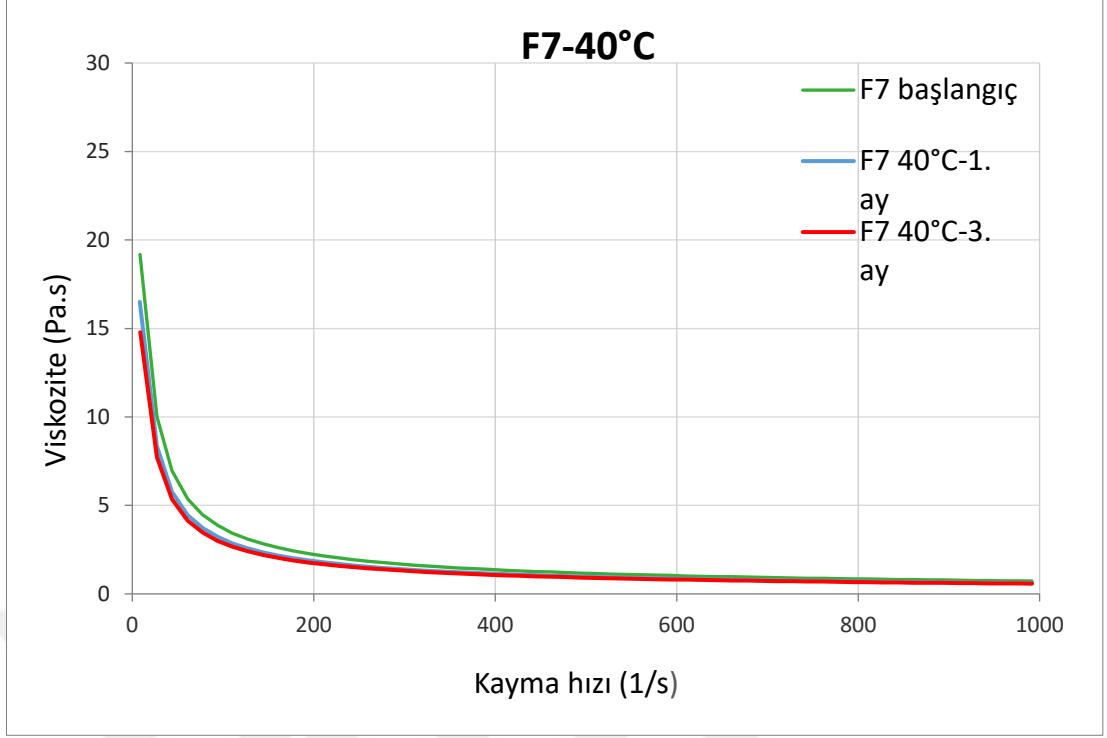
Grafik 50: F6 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



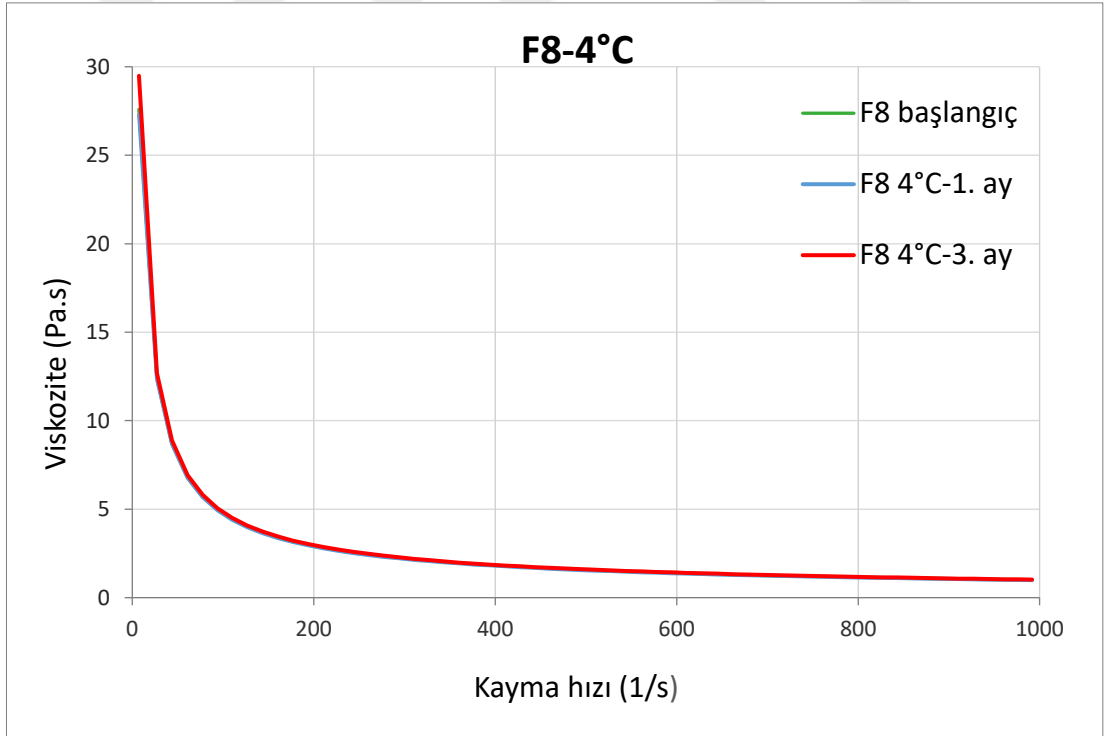
Grafik 51: F7 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



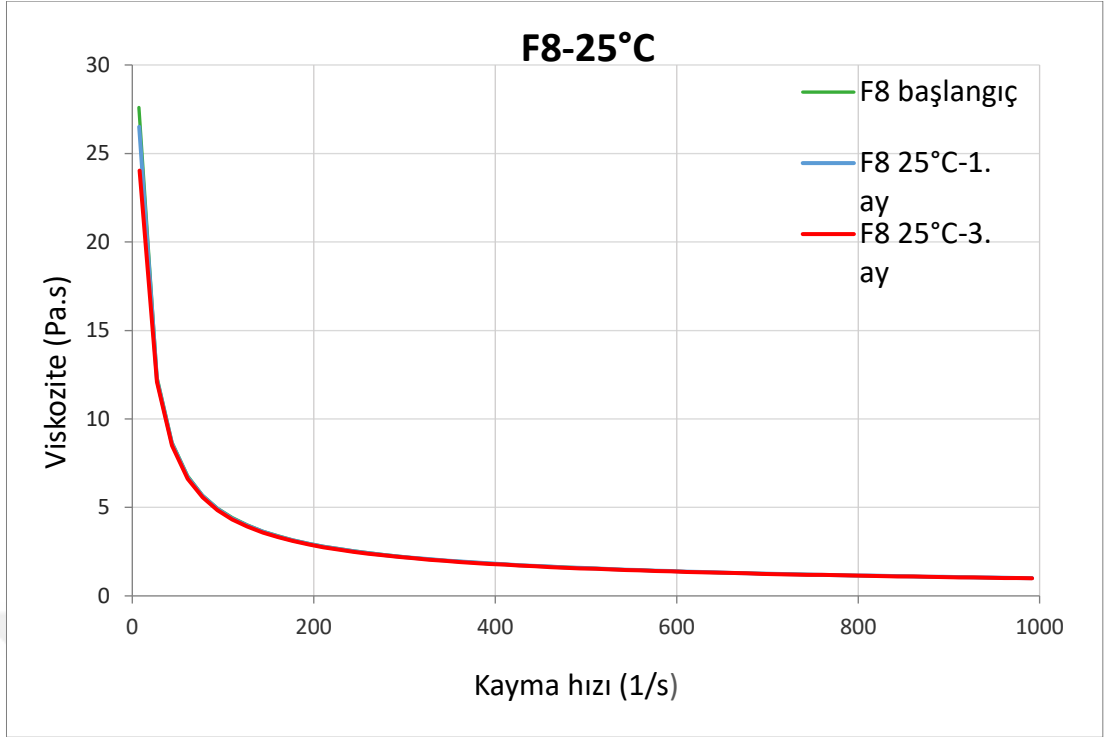
Grafik 52: F7 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



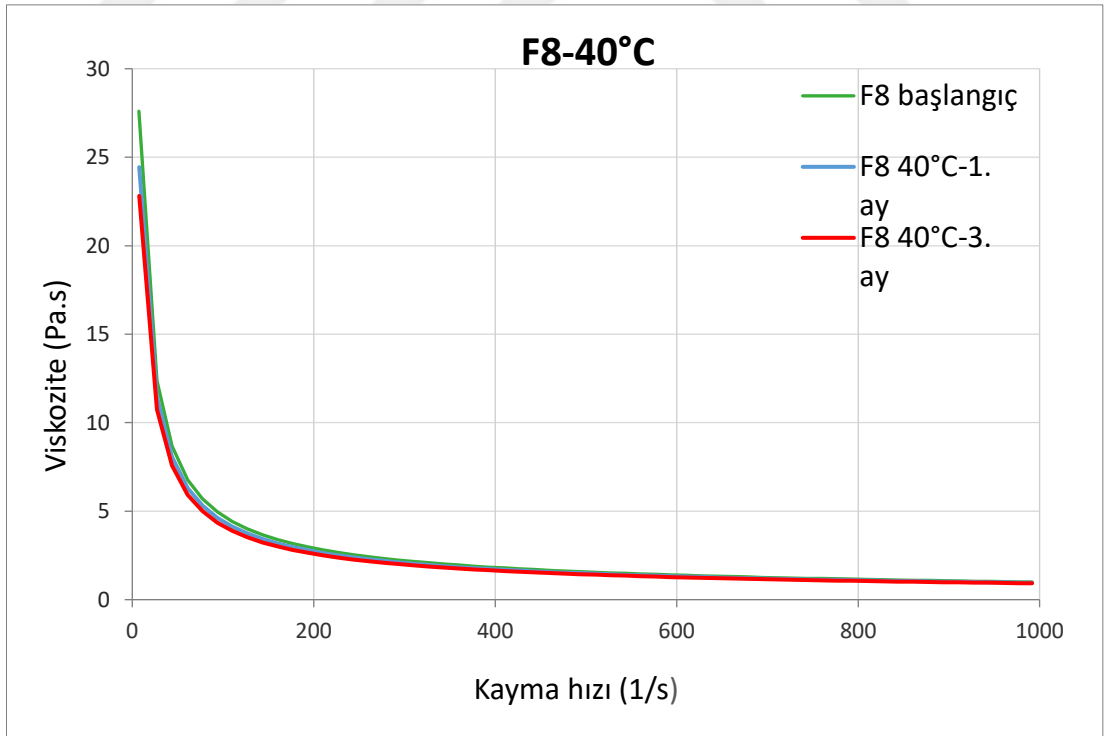
Grafik 53: F7 formülasyonuna ait +40°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



Grafik 54: F8 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.



Grafik 55: F8 formülasyonuna ait +25°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

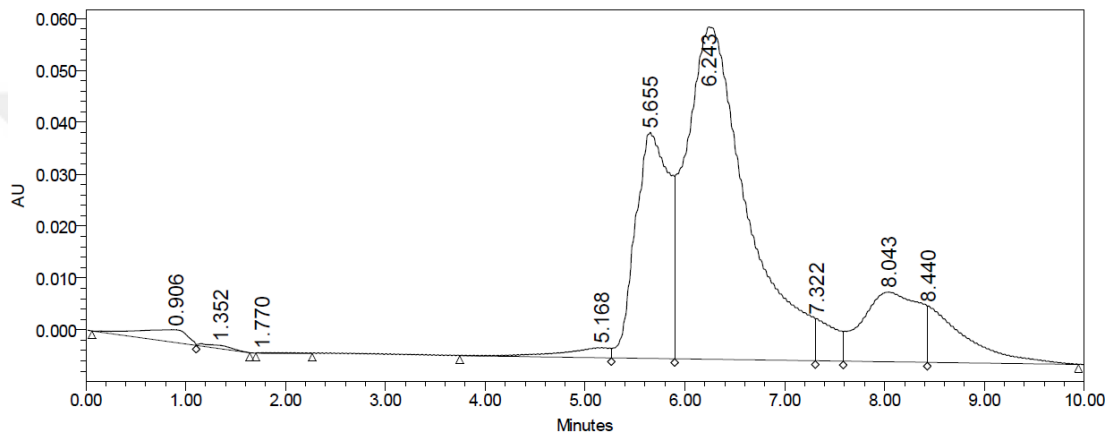


Grafik 56: F8 formülasyonuna ait +4°C’de başlangıç anı ve 1., 3. aylardaki kayma hızı-viskozite grafikleri.

4.5 *In Vitro* Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

4.5.1 Dissolüsyon Örneklerinin Analizine Ait Bulgular

Dissolüsyon örneklerinin analizi HPLC metodu ile 3.2.6.2’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Örneklerin miktar tayini *Pinus brutia* ekstresinde bulunan total flavonoid miktarı üzerinden yapılmıştır. Analize ait kromatogramlardan biri örnek olarak Grafik 57’de verilmiştir.



Grafik 57: HPLC ile yapılan miktar tayini sonucu *Pinus brutia* ekstresindeki total flavonoid grupları için hesaplanan kromatogram pikleri.

4.5.2 *In vitro* Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesine Ait Bulgular

HPLC analizi ile belirlenen salım miktarlarına göre 0. derece, 1. derece, Hixon-Crowell ve Higuchi kinetik modelleri oluşturulmuş ve her bir kinetik model için R^2 değeri hesaplanmıştır. Kinetik modellerden en yüksek R^2 değerine sahip model, o formülasyona uygun kinetik model olarak belirlenmiştir. Seçilen modelin eğim denklemi kullanılarak % salım denklemleri oluşturulmuştur. Bu denklemlere göre formülasyonların teorik salım oranları hesaplanmıştır. Teorik salım ve pratik salım oranları benzerlik testi formülü (f_2) kullanılarak karşılaştırılmıştır.

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \times \sum (R_1 - T_1)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

n : t anına kadar alınmış örnek sayısı

R₁ : t anında ilacın teorik % çözünme miktarı

T₁ : t anında ilacın pratik % çözünme miktarı

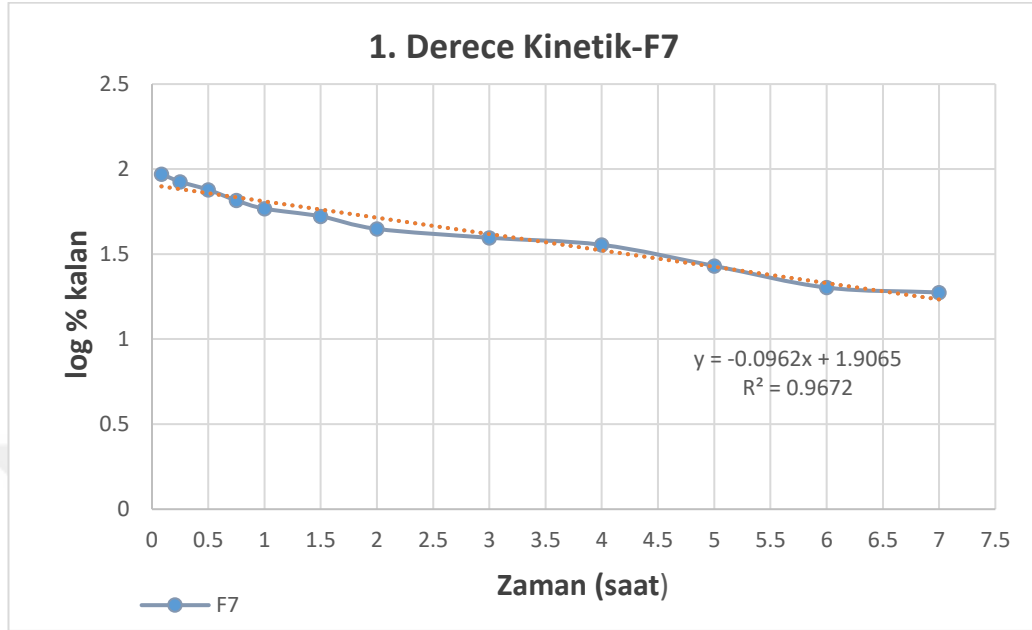
4.5.2.1 F7 Formülasyonuna Ait Kinetik Modelleme

F8 formülasyonu için oluşturulan 0. derece, 1. derece, Hixon-Crowell ve Higuchi kinetik modellerinin grafiklerine ait R² değerleri Tablo 18’de verilmiştir.

Tablo 18: F7 formülasyonu için oluşturulan kinetik modellerin grafiklerine ait R² değerleri

Kinetik modeller	F7-R ² değerleri
0. derece kinetik	0.8610
1. derece kinetik	0.9672
Higuchi kinetiği	0.9657
Hixon-Crowell	0.9420

F7 formülasyonu için oluşturulan 1. derece kinetik modeli Grafik 58’de verilmiştir.



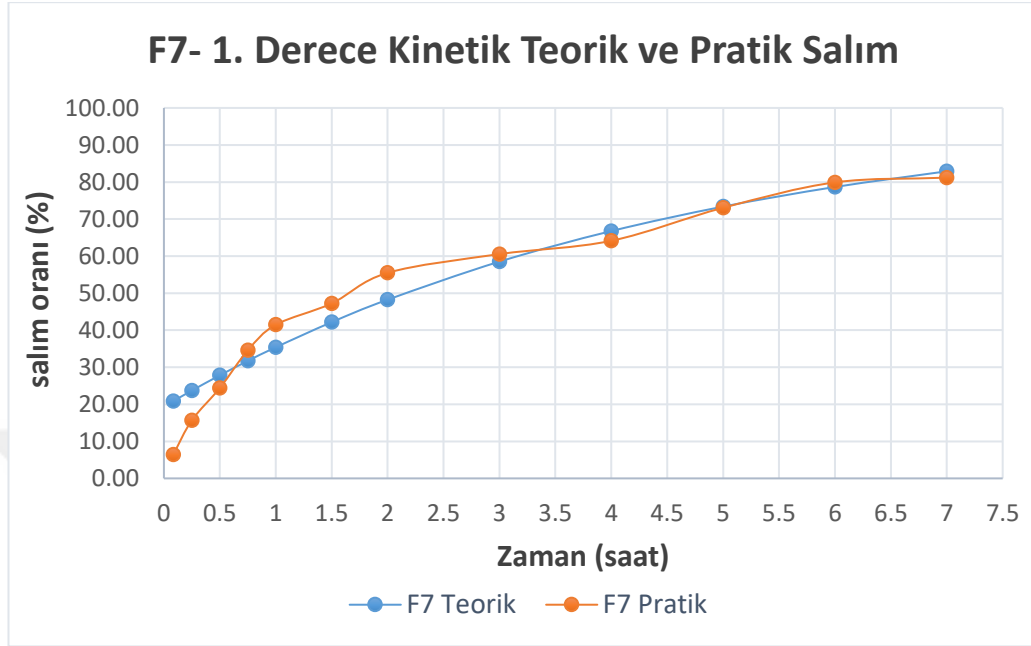
Grafik 58: F7 formülasyonuna ait 1.derece kinetik grafiği.

F7 formülasyonunun salım profili için **1. derece salım kinetiği**, uygun kinetik model olarak belirlenmiştir. Bu modele ait eğim denklemine göre belirlenen % salım formülü aşağıda verilmiştir.

$$\log \% \text{ çözünmeden kalan etkin madde} = -0.0962 * \text{Zaman (saat)} + 1.9065$$

$$\% \text{ Salım} = 100 - 10^{(-0.0962 \times t + 1.9065)}$$

% salım formülüne göre oluşturulan teorik salım ve pratik salım grafikleri Grafik 59’da verilmiştir.



Grafik 59: F7 formülasyonuna ait teorik salım ve pratik salım grafikleri.

F7 formülasyonuna ait teorik salım ve pratik salım oranları için benzerlik testi formülü (f_2) uygulanmıştır:

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \times \sum (R_1 - T_1)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{12} \times 422.9733 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

$$f_2 = 61.018$$

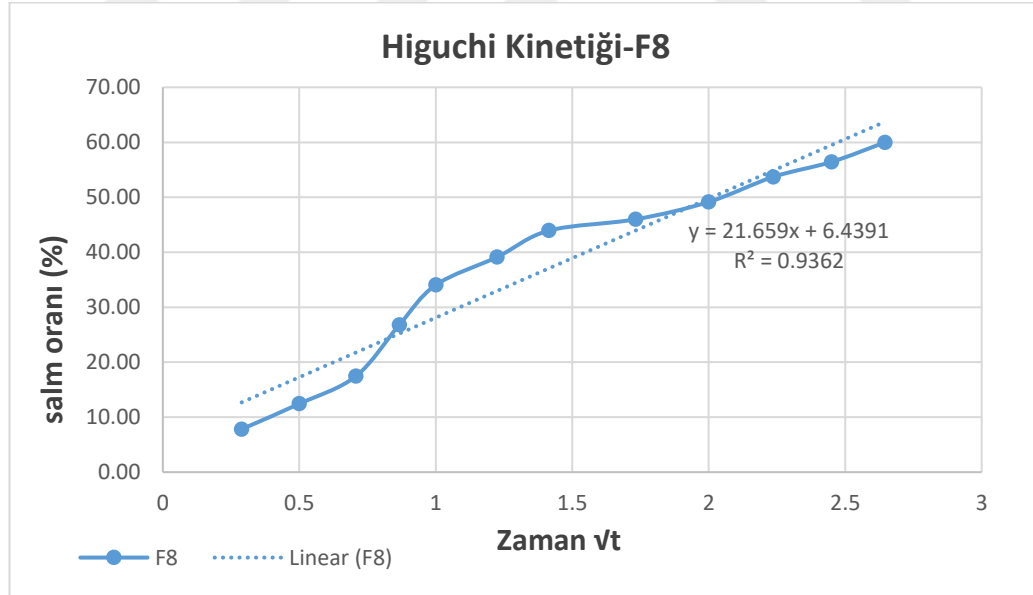
4.5.2.2 F8 Formülasyonuna Ait Kinetik Modelleme

F8 formülasyonu için oluşturulan 0. derece, 1. derece, Hixon-Crowell ve Higuchi kinetik modellerinin grafiklerine ait R^2 değerleri Tablo 19’da verilmiştir.

Tablo 19: F8 formülasyonu için oluşturulan kinetik modellerin grafiklerine ait R^2 değerleri

Kinetik modeller	F8- R^2 değerleri
0. derece kinetik	0.8141
1. derece kinetik	0.8905
Higuchi kinetiği	0.9362
Hixon-Crowell	0.8666

F8 formülasyonu için oluşturulan Higuchi kinetik modeli Grafik 60’ta verilmiştir.

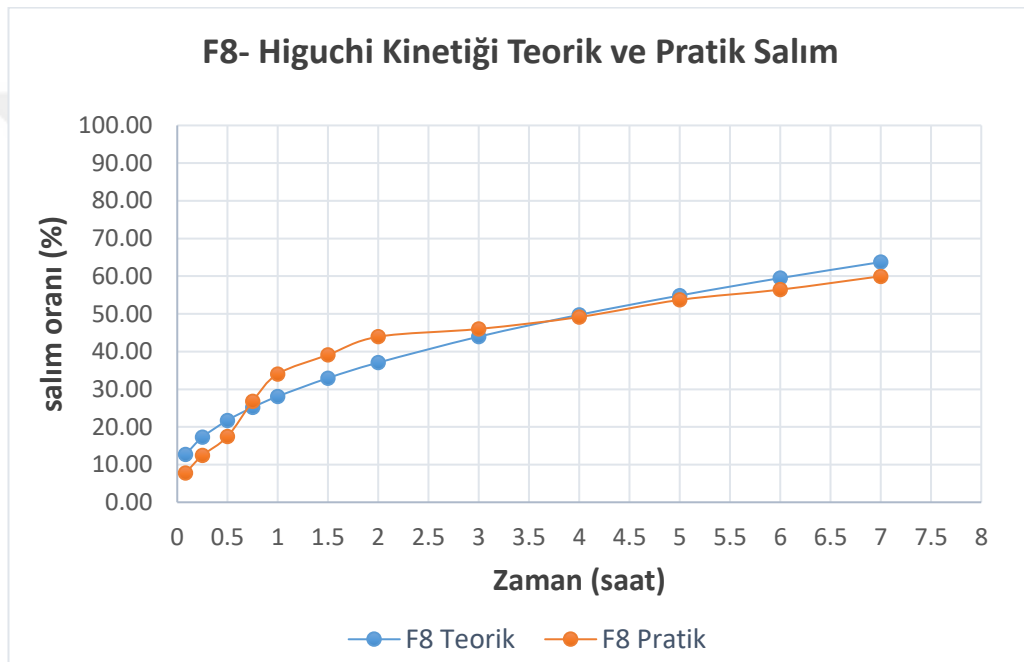


Grafik 60: F8 formülasyonuna ait Higuchi kinetiği grafiği.

F8 formülasyonunun salım profili için **Higuchi salım kinetiği**, uygun kinetik model olarak belirlenmiştir. Bu modele ait eğim denklemine göre belirlenen % salım formülü aşağıda verilmiştir.

$$\% \text{ Salım} = 21.659 * \sqrt{t} + 6.4391$$

% salım formülüne göre oluşturulan teorik salım ve pratik salım grafikleri Grafik 61’de verilmiştir.



Grafik 61: F8 formülasyonuna ait teorik salım ve pratik salım grafikleri.

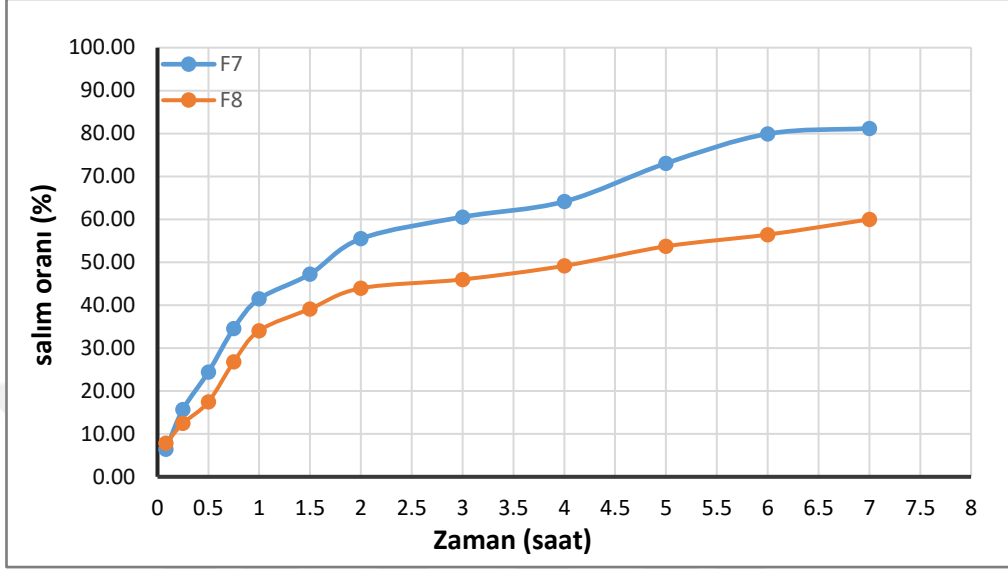
F8 formülasyonuna ait teorik salım ve pratik salım oranları için benzerlik testi formülü (f_2) uygulanmıştır:

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \times \sum (R_1 - T_1)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{12} \times 218.1411 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

$$f_2 = 67.9297$$

F7 ve F8 formülasyonlarına ait % salım-zaman grafikleri karşılaştırmalı olarak Grafik 62’de verilmiştir.



Grafik 62: F7 ve F8 formülasyonlarına ait % salım-zaman grafikleri.

5. Tartışma

Bitkiler, ilk çağlardan beri geleneksel olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Kolay ulaşılabilmesi nedeniyle tıbbi bitkiler halk arasında sıklıkla tercih edilmektedir. Bitkilerin tedavi amaçlı kullanımlarında çiçek, meyve, gövde, yaprak, tohum gibi kısımları veya bu kısımlardan elde edilen sekonder ürünler (reçine, sakız vb.) direkt olarak uygulanabildiği gibi lapa, merhem, jel, infüzyon, dekoksiyon şeklinde hazırlanarak da kullanılabilir.

Günümüzde tedavide ve sağlığın desteklenmesinde doğal ürünlere olan ilgi artmıştır. Doğal ürünlerin en önemli kaynağını oluşturan bitkilerin ilaç ham maddesi olarak kullanımı git gide yaygınlaşmaktadır. Eski çağlardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerin etkiden sorumlu bileşiklerinin tespit edilmesine ve tedavi veya korunma amaçlı farmasötik dozaj şekillerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalar önem kazanmıştır.

Yara, fiziksel veya kimyasal bir hasar sonucu cilt veya mukozayı oluşturan dokuların tahrip olması ve bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi doku bütünlüğünün yeniden sağlanması amacıyla kendiliğinden gerçekleşen biyolojik bir süreçtir. Ancak yarada enfeksiyon veya komplikasyon gelişme riski bulunduğu ve diyabetik ayak yaraları gibi bazı kronik durumlarda iyileşme süreci yavaş gerçekleştiğinden iyileşmeyi hızlandıracak ve etkin bir tedavi sağlayacak maddelere gereksinim duyulmaktadır. Bu amaçla sentetik veya doğal kaynaklı ürünler kullanılabilir (Altındaş, 2001; Bentley & Nawaz, 2010).

Eski çağlardan bu yana, halk arasında pek çok bitkinin yara iyileştirici özelliğinden yararlanıldığı bilinmektedir. Günümüzde içeriğinde etkin madde olarak bitkisel ekstre bulunduran ve yara tedavisinde endike olan pek çok yarı katı topikal formülasyon mevcuttur.

Pinus (çam) türleri kabuklarının eski zamanlardan beri halk arasında inflamatuvar deri ve mukoza hastalıklarında, deri ülserlerinde, egzemada ve yaraları iyileştirmede kullanıldığı bilinmektedir (Drehse, 2007; Kızılarıslan & Sevgi, 2013). Yapılan araştırmalarla çam kabuklarının fenolik bileşiklerce zengin içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. Özellikle Fransız sahil çamı (*Pinus maritima*) kabuklarından elde edilen piknogenol ekstresi, yüksek oranda proantosiyanidin içermekte ve pek çok biyolojik aktivite göstermektedir (D'Andrea, 2010). Pycnogenol®'ün haricen uygulandığında

yara iyileşme sürecini hızlandırdığını gösteren *in vivo* hayvan çalışmaları mevcuttur (Blazsó ve ark., 2004; Okur ve ark., 2019).

Cetin ve ark., 2013 çalışmasında, *Pinus brutia* kabuklarından elde edilen ekstrenin ve Pycnogenol®'ün yara iyileştirici aktiviteleri sıçanlarda oluşturulan yara modellerinde değerlendirilmiş, *Pinus brutia* ekstresinin kontrol ve Pycnogenol® grubuna göre daha hızlı yara iyileşmesi gösterdiği belirlenmiştir (Cetin ve ark., 2013).

Ozlem Yesil-Celiktas ve ark., 2009 çalışmasında, Türkiye'de bulunan *P. brutia*, *P. sylvestris*, *P. nigra* ve *P. pinea* türlerinin kabuklarından ekstrater hazırlanmıştır. Bu ekstraterin radikal süpürücü aktiviteleri ve içeriğindeki total fenolik madde, taksifolin, kateşin miktarları Pycnogenol® ile birlikte analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda çam ekstraterinin Pycnogenol® ile karşılaştırılabilir düzeyde fenolik içeriğe ve aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Özellikle *Pinus brutia* ekstresinin diğer ekstrater ve Pycnogenol®'e göre oldukça yüksek miktarda taksifolin içerdiği saptanmıştır. (Ozlem Yesil-Celiktas ve ark., 2009).

Yapılan çalışmalar *Pinus maritima* dışındaki *Pinus* türlerinin içerikleri ve gösterdikleri aktiviteler bakımından Pycnogenol®'e alternatif oluşturabileceğini göstermektedir. Polifenolik bileşikler açısından zengin çam türleri kabuklarının yaralarda ve çeşitli deri hastalıklarında alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada; *Pinus brutia*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* kabuklarından elde edilmiş ekstraterin yara iyileştirici aktiviteleri belirlenmiş ve jel formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılmıştır. Yara iyileştirici aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla ekstraterlere *in vitro* sitotoksosite ve *in vitro* yara iyileşme deneyi uygulanmıştır. Sitotoksitenin belirlenmesinde kullanılan MTT testi ile her bir ekstre için sitotoksik dozlar ve uygun hücre canlılığını sağlayan dozlar belirlenmiştir. Belirlenen doz aralıklarında gerçekleştirilen *in vitro* yara iyileşme deneyi ile ekstraterin yara iyileştirici aktiviteleri incelenmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda belirlenen dozda *Pinus brutia* ekstresi ile jel formülasyonları hazırlanmıştır. Jel formülasyonlarının hazırlanmasında karbopol polimeri iki farklı oranda kullanılmıştır. Etkin madde içermeyen ve içeren jel formülasyonlarının fiziksel özellikleri değerlendirilmiş, pH, viskozite ve akış ölçümleri yapılmıştır. Etkin madde içeren jel formülasyonlarında *in vitro* salım çalışması gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan formülasyonlarda 3 aylık hızlandırılmış stabilite çalışması yürütülmüştür. Stabilite çalışmasında 1. ve 3. ayların sonunda jellerin pH, viskozite ve akış ölçümleri yapılmış, başlangıçta elde edilen ölçüm sonuçları ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Sitotoksosite testinde uygulanacak dozlar belirlenirken Pycnogenol® ile daha önceden yapılmış hücre kültürü çalışmaları incelenmiştir. Bito ve ark., 2000 çalışmasında keratinosit hücrelerine 5-50 µg/mL konsantrasyonda uygulanan Pycnogenol®'ün antiinflamatuvar aktivite gösterdiği saptanmıştır. Figuero ve ark., 2006 çalışmasında, 50, 100, 150, 200 ve 300 µg/mL konsantrasyonlarda Pycnogenol® insan periostal fibroblast ve osteoblast hücrelerine uygulanmış ve en iyi antioksidan aktivitenin 150 ve 200 µg/mL dozlarında görüldüğü belirlenmiştir. Cho ve ark., 2010 çalışmasında, 20-50 µg/mL konsantrasyonda uygulanan Pycnogenol®'ün insan T lenfosit ve makrofajlardan IL-1 ve IL-2 sitokinlerinin salgınmasını inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu çalışmalarda belirlenen dozlar göz önünde bulundurularak sitotoksosite çalışmalarında çam kabuğu ekstraktlarının 0-800 µg/mL doz aralığında (25, 50, 100, 200, 400, 800 µg/mL) uygulanmasına karar verilmiştir (Bito ve ark., 2000; Cho ve ark., 2010; Figuero ve ark., 2006).

Sitotoksitenin belirlenmesi amacıyla yapılan MTT testi sonuçlarına göre *Pinus brutia* ve *Pinus pinea* ekstraktlarının 25 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında %70'in üzerinde hücre canlılığı elde edilmiştir. Ekstrelerin 100 µg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. *Pinus sylvestris* ekstresinin 25 µg/mL, 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında %70'in üzerinde hücre canlılığı elde edilmiştir. Ekstrenin, 200 µg/mL ve üzerindeki konsantrasyonlarda sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Sitotoksosite testinden elde edilen veriler doğrultusunda ekstraktlar için sitotoksik olmayan doz aralıkları belirlenmiş, yara iyileşme testinde her bir çam ekstresi için 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL ve 80 µg/mL olmak üzere 6 farklı konsantrasyonun uygulanmasına karar verilmiştir.

Yara iyileşme tesinde *Pinus brutia* ekstresinin uygulandığı fibroblast hücrelerinin 24. saatteki yara kapanma oranları incelendiğinde, 20 µg/mL dozunun en yüksek orana sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubu hücreleri 24. saatte %34.587 yara kapanma yüzdesine sahipken, 20 µg/mL konsantrasyonda uygulanan *Pinus brutia* ekstresinde bu oran %57.027 olarak belirlenmiştir.

Pinus brutia ekstresine ait yara iyileşme testi bulgularının istatistiksel değerlendirmesinde:

- 2x7 faktöriyel varyans analizinde doz-zaman etkileşimi anlamlı olarak saptanmıştır (p<0.001).

- Dozlar arasında başlangıçta anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$).
- 24. saatte dozlar arası kovaryans analizinde $p=0.045$ olarak saptanmıştır. Dozlar arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir.
- Dozların ikili analizinde kontrol grubu ve 20 µg/mL dozu arasında $p=0.034$ olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. 20 µg/mL dozunun kontrol grubuna göre daha iyi iyileşme gösterdiği belirlenmiştir.
- Kontrol grubu ve 1 µg/mL, 5µg/mL, 10 µg/mL, 40 µg/mL dozları arasındaki analizlerde $p=1.000$, kontrol grubu ve 80 µg/mL dozu arasında ise $p=0.792$ olarak bulunmuştur. Bu değerler istatistiksel olarak anlamsızdır. *Pinus brutia* ekstresinin 20 µg/mL dışındaki dozları kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı derecede farklılık olmadığı saptanmıştır.
- Kontrol grubu ve her bir dozun 0. ve 24. saat değerleri kendi içinde değerlendirildiğinde kontrol grubu için $p=0.007$, 1 µg/mL dozu için $p=0.003$, 10 µg/mL dozu için $p=0.008$, 40 µg/mL ve 80 µg/mL dozları için ise $p<0.001$ olarak bulunmuştur. Her grup kendi içinde istatistiksel olarak anlamlıdır. Bütün deney gruplarında 0. ve 24. saat değerleri karşılaştırıldığında anlamlı derecede iyileşme görüldüğü belirlenmiştir.

Pinus sylvestris ekstresinin uygulandığı hücrelerin 24. saatteki yara kapanma oranları incelendiğinde 1 µg/mL dozunun en yüksek orana sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubu hücreleri 24. saatte %34.587 yara kapanma yüzdesine sahipken, 1 µg/mL konsantrasyonda uygulanan *Pinus sylvestris* ekstresinde bu oran %53.418 olarak belirlenmiştir.

Pinus sylvestris ekstresine ait yara iyileşme testi bulgularının istatistiksel değerlendirmesinde:

- 2x7 faktöriyel varyans analizinde doz-zaman etkileşimi anlamlı olarak saptanmıştır ($p=0.001$).
- Dozlar arasında başlangıçta anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$).
- 24. saatte dozlar arası kovaryans analizinde $p<0.001$ olarak saptanmıştır. Dozlar arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir.

- Dozların ikili analizinde kontrol grubu ve 1 µg/mL dozu arasında $p=0.0495$ olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. 1 µg/mL dozunun kontrol grubuna göre daha iyi iyileşme gösterdiği belirlenmiştir.

- Kontrol grubu ve 10 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL dozları arasında $p=1.00$, kontrol grubu ve 5 µg/mL dozu arasında ise $p=0.794$ olarak belirlenmiş, en az kontrol grubu kadar etkili oldukları bulunmuştur.

- Kontrol grubu ve 80 µg/mL dozu arasında $p=0.008$ bulunmuştur. 80 µg/mL dozunun proliferasyon üzerine olumsuz etki gösterdiği saptanmıştır.

- *Pinus sylvestris* ekstresinin 1 µg/mL dışındaki dozları kontrol grubuyla kıyaslandığında aynı oranda iyileşme veya iyileşme üzerine olumsuz etki gösterdiği belirlenmiştir.

- Kontrol grubu ve her bir dozun 0. ve 24. saat değerleri kendi içinde değerlendirildiğinde kontrol grubu için $p=0.007$, 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL dozları için $p<0.001$, 20 µg/mL dozu için $p=0.002$, 40 µg/mL dozu için $p<0.001$ olarak bulunmuştur. Değerler 40 µg/mL dozuna kadar anlamlı iken 80 µg/mL dozu için $p=0.171$ olarak bulunmuştur. Bu değer istatistiksel olarak anlamsızdır. *Pinus sylvestris* ekstresinin 80 µg/mL dışındaki dozları kendi içinde değerlendirildiğinde anlamlı derecede iyileşme görüldüğü belirlenmiştir.

Pinus pinea ekstresinin uygulandığı hücrelerin 24. saatteki yara kapanma oranları incelendiğinde 10 µg/mL dozunun en yüksek orana sahip olduğu görülmüştür. Kontrol grubu hücreleri 24. saatte %34.587 yara kapanma yüzdesine sahipken, 10 µg/mL konsantrasyonda uygulanan *Pinus pinea* ekstresinde bu oran %46.864 olarak belirlenmiştir.

Pinus pinea ekstresine ait yara iyileşme testi bulgularının istatistiksel değerlendirmesinde:

- 2x7 faktöriyel varyans analizinde doz-zaman etkileşimi anlamlı olarak saptanmıştır ($p<0.001$).

- Dozlar arasında başlangıçta anlamlı fark olduğu belirlenmiştir. ($p<0.001$).

- 24. saatte dozlar arası kovaryans analizinde $p<0.001$ olarak saptanmıştır. Dozlar arasında anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir.

- Dozların ikili analizinde kontrol grubu ve 1 µg/mL dozu arasında $p=0.013$ olarak saptanmıştır. 1 µg/mL dozu kontrole göre daha az iyileşme göstermiştir.
- Kontrol grubu ve 5 µg/mL, 10 µg/mL dozları arasında $p=1.00$ bulunmuştur. 5 µg/mL ve 10 µg/mL dozlarının en az kontrol grubu kadar etkili sonuç verdiği belirlenmiştir.
- Kontrol grubu ve 20 µg/mL dozu arasında $p=0.387$ bulunmuştur. 20 µg/mL dozu kontrol grubu kadar etki gösterememiştir.
- 40 µg/mL dozu için $p=0.045$, 80 µg/mL dozu için ise $p=0.006$ olarak belirlenmiştir. 40 µg/mL ve 80 µg/mL dozları kontrol grubuna göre anlamlı derecede kötü sonuç vermiştir.
- Kontrol grubu ve her bir dozun 0. ve 24. saat değerleri kendi içinde değerlendirildiğinde kontrol grubu, 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL ve 40 µg/mL dozlarının p değerleri sırasıyla 0.007, 0.005, 0.000, 0.001 ve 0.026 olarak bulunmuştur. Bu dozlarda yara mesafelerinde anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir. 24. saat değerleri başlangıçla kıyaslandığında daha iyi durumdadır.
- 20 µg/mL dozu için $p=0.137$, 80 µg/mL dozu için ise $p=0.803$ olarak belirlenmiştir. Bu dozlarda 0. ve 24. saat değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Yara iyileşme testinden elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde tüm gruplar içinde kontrol grubuna kıyasla en anlamlı farklılık *Pinus brutia* 20 µg/mL dozunda görülmüştür. Jel formülasyonlarının hazırlanması ve sonraki aşamalarda 20 µg/mL konsantrasyonda *Pinus brutia* ekstresinin kullanılmasına karar verilmiştir.

Ön formülasyon çalışmalarında hazırlanan krem formülasyonları oda sıcaklığında bekletildiğinde faz ayrışması problemi gözlenmiş, bu nedenle çalışmalara jel formülasyonları ile devam edilmiştir.

Ön formülasyon çalışmalarında %0.5, %1, %1.5 ve %2 oranlarında Carbopol® 940 ile hazırlanan polimer çözeltilerinin pH değerleri 2.38-2.90 aralığında ölçülmüştür. Nötralize edici ajan eklenmeyen karbopol çözeltilerinin pH değeri 2.5-3.5 aralığında olup asidik özellik göstermektedir (Curran, Hayes, Afacan, Williams, & Tanguy, 2002) Ön formülasyon çalışmalarında ölçülen pH değerleri literatür ile örtüşmektedir. *Pinus brutia* içeren karbopol çözeltilerinin pH değerleri, ekstre bulundurmeyen polimer çözeltilerine göre bir miktar daha düşük bulunmuştur. Bu da ekstrenin sulu

çözeltisinin asidik özellikte olabileceğini göstermektedir (Curran et al., 2002; Islam, Rodríguez-Hornedo, Ciotti, & Ackermann, 2004).

Ön formülasyon çalışmalarında hazırlanan formülasyonların fiziksel özellikleri değerlendirildiğinde, karbopol oranı arttıkça jellerin sertliğinin arttığı ve yayılabilirliğin zorlaştığı gözlenmiştir (Barry & Meyer, 1979; Curran ve ark., 2002).

Ön formülasyon çalışmalarında Brookfield viskozimetre ile 1, 5, 10 ve 20 rpm dönüş hızlarında yapılan viskozite ölçümlerine göre Carbopol® 940 oranı arttıkça viskozitede düzensiz bir artış olduğu görülmüştür. Dakikadaki dönüş sayısı (rpm) arttığında ise viskozitenin azaldığı görülmüştür. Kayma hızı artışına bağlı olarak viskozitenin değişmesi, jellerin Newtonian olmayan bir akış tipi sergilediğini göstermektedir. Aiyalu, Govindarjan, & Ramasamy, 2016, Dantas ve ark., 2016, Kaur, Raina, & Singh, 2014, Sareen, Kumar, & Gupta, 2011 çalışmalarında, %0.5, %1 ve %1.5 oranlarında Carbopol® 940 kullanılarak jel formülasyonları hazırlanmış ve viskozimetre ile farklı rpm değerlerinde ölçümleri yapılmıştır. Çalışmalarda belirlenen viskozite değerleri karşılaştırıldığında, %0.5 ve %1 oranlarında Carbopol® 940 içeren F1 ve F2 formülasyonları için ölçülen viskozite değerlerinin, literatürde bulunan viskozite değerleri ile daha uyumlu olduğu görülmüştür. %1.5 ve %2 oranlarında Carbopol® 940 içeren F3 ve F4 formülasyonlarının, yapılan çalışmalarla kıyaslandığında aynı rpm değerlerine karşılık daha yüksek viskozite aralığında bulunduğu belirlenmiştir. Bu yüzden çalışmanın sonraki aşamalarında %0.5 ve %1 konsantrasyonlarında Carbopol® 940 kullanılmasına karar verilmiştir (Aiyalu ve ark., 2016; Dantas ve ark., 2016; Kaur ve ark., 2014; Kumara ve ark., 2015; Sareen ve ark., 2011).

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının reoloji analizleri sonucu elde edilen kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri değerlendirildiğinde akış eğrisinin başlangıç noktasından geçmediği ve belirli bir eşik kayma gerilimi değerinden sonra akışın başladığı görülmektedir. Bu tipteki akış eğrisi jellerin Newtonian olmayan akışlardan plastik akış özelliği sergilediğini göstermektedir. Eşik kayma gerilimi değeri aşıldıktan sonra ise kayma incelmesi akış eğrisine uygun şekilde devam etmektedir. Bu da formülasyonların plastik akışlardan viskoplastik akış davranışı sergilediğini göstermektedir. Kayma hızı-kayma gerilimi akış grafikleri için elde edilen matematiksel modellemelerde, tüm jel formülasyonlarının plastik akış modellerinden Herschel Bulkley modeline uygun olduğu belirlenmiştir. Literatürde karbopoller

üzerine yapılan reoloji çalışmaları incelendiğinde, polimer çözeltilerinin kayma incelenmesi davranışı sergilediği ve genellikle Herschel-Bulkley akış modeline uyum gösterdiği belirlenmiştir. Akış grafikleri, akış tipleri ve akış modellerinin farklı karbopoller ile yapılan çalışmalarla örtüştüğü saptanmıştır. (Kim, Song, Lee, & Park, 2003; Özer ve ark., 2015; Piau, 2007; Yeğiner, 2014).

Curran ve ark., 2002 çalışmasında, %1.48 Carbopol® 940 içeren jel formülasyonlarının pH:2.8-12.7 aralığında akış ve viskozite özellikleri değerlendirilmiş, kayma hızı-kayma gerilimi grafiklerinin tüm pH değerlerinde Herschel-Bulkey modeline uygun olduğu belirlenmiştir. pH değeri 4.51 olarak belirlenen jel formülasyonunun $8-195s^{-1}$ kayma hızı aralığında ölçülen kayma gerilimi aralığı 300-580 Pa, viskozite aralığı ise ortalama 40-3 Pa.s olarak belirlenmiştir. Çalışmaların verileri karşılaştırıldığında, F5 (%0.5) ve F6 (%1) formülasyonları için aynı kayma hızı aralığında elde edilen kayma gerilimi ve viskozite aralıkları sırasıyla 150-430 Pa, 20-2 Pa.s ve 208-600 Pa, 28-3 Pa.s olarak belirlenmiştir. Akış tipleri ve reogramların uyumlu olduğu, elde edilen kayma gerilimi ve viskozite değerlerinin ise birbirine yakın olduğu saptanmıştır (Curran et al., 2002).

Formülasyonlara ait kayma hızı-viskozite grafiklerinde kayma hızı arttıkça viskozitede azalma olduğu görülmektedir. Kayma hızına bağlı viskozite değişimi, jellerin Newtonian olmayan akış özelliği sergilediğini göstermektedir. F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarına ait kayma hızı-viskozite eğrilerinin viskozite temelli matematiksel modellerden Carreau ve Carreau-Yasuda modellerine uygun olduğu saptanmıştır. Carreau ve Carreau-Yasuda akış modelleri düşük kayma hızlarında polimer çözeltilerinin akış davranışlarını temsil eden, psödoplastik akış altında incelenen ve viskozite ifade etmek için kullanılan matematiksel modellerdir. Literatürde karbopoller ile hazırlanan jel formülasyonlarının viskozite eğrileri incelendiğinde, kayma hızı artışına bağlı olarak viskozitenin düzensiz azaldığı ve kayma hızı-viskozite grafiklerinin uyumlu olduğu belirlenmiştir (Barry & Meyer, 1979; Kim ve ark., 2003; Kumara ve ark., 2015; Shin ve ark., 2000; Yeğiner, 2014).

%0.5 ve %1 karbopol içeren formülasyonların kayma hızı-kayma gerilimi grafikleri karşılaştırıldığında aynı kayma hızı değerlerine karşılık %1 karbopol içeren formülasyonların (F6, F8) kayma gerilimlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu da %1 karbopol içeren jellerin viskozitesinin %0.5 karbopol içeren jellere göre daha

yüksek olduğunu göstermektedir. %0.5 ve %1 karbopol içeren formülasyonların kayma hızı-viskozite grafikleri karşılaştırıldığında ise düşük kayma hızı değerlerinde %1 karbopol içeren formülasyonların (F6, F8), %0.5 karbopol içerenlere (F5, F7) göre daha yüksek viskozite değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Formülasyonlarda kullanılan Carbopol® 940 oranı arttıkça viskozitenin de arttığı literatür ile uyumlu olarak belirlenmiştir (Barry & Meyer, 1979; Curran, Hayes, Afacan, Williams, & Tanguy, 2002; Kim, Song, Lee, & Park, 2003).

Stabilite çalışmalarında F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının fiziksel özellikleri 1. ve 3. ayların sonunda değerlendirildiğinde formülasyonların fiziksel görünüşlerinde, renk, koku ve homojenitelerinde değişiklik gözlenmemiş, gözle görünür mikrobiyal üreme saptanmamış ve faz ayrışmasına rastlanmamıştır. Bu da formülasyonların +4° C' sıcaklık, +25°C sıcaklık-%60 relatif nem, +40°C sıcaklık-%73 relatif nem koşullarında 3 ay boyunca fiziksel olarak stabil kaldığını göstermektedir.

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının başlangıç anındaki ve 1., 3. ayların sonundaki pH ölçümlerinde pH değerleri F5 formülasyonu için 5.42-5.35; F6 formülasyonu için 5.52-5.43; F7 formülasyonu için 5.40-5.21; F8 formülasyonu için 5.49-5.31 aralığında ölçülmüştür. Her formülasyon için pH değerlerindeki değişim %5'in altındadır. Bu da pH değişiminin ihmal edilebilir düzeyde olduğunu ve formülasyonların belirlenen stabilite koşullarında 3 aylık sürede pH açısından stabil kaldığını göstermektedir.

F5, F6, F7 ve F8 formülasyonlarının 1. ve 3. ayların sonundaki kayma hızı-kayma gerilimi ve kayma hızı-viskozite grafikleri incelendiğinde başlangıç anında yapılan akış grafiklerine benzer özellikler gösterdiği görülmektedir. Her iki ölçümde de tüm formülasyonlar başlangıç ölçümünde olduğu gibi kayma gerilimi temelli plastik akış modellerinden Herschel Bulkley modeline ve viskozite temelli psödoplastik akış modellerinden Carreau ve Carreau-Yasuda modellerine uygun akış sergilemiştir. Başlangıç anı, 1. ay ve 3. ayda elde edilen kayma hızı-kayma gerilimi ve kayma hızı-viskozite akış eğrilerinin R^2 değerleri karşılaştırılmış, R^2 değerleri arasındaki farkın %0.1'den az olduğu belirlenmiştir. Grafiklerin R^2 değerlerindeki değişim ihmal edilebilecek düzeydedir. Formülasyonların belirlenen stabilite koşullarında 3 aylık sürede akış özelliklerinde bir değişiklik görülmediğini ve reolojik açıdan stabil olduğunu söylemek mümkündür.

In vitro salım deneyi sonucu F7 ve F8 formülasyonlarının HPLC analizi ile belirlenen salım profilleri 0. derece, 1. derece, Higuchi ve Hixon-Crowell kinetik modellerine göre incelenmiştir. F7 formülasyonu için 1. derece kinetik modeli, F8 formülasyonu için Higuchi kinetik modeli, formülasyonlara en uygun kinetik modeller olarak belirlenmiştir. Bu modellere ait pratik salım ve teorik salım profilleri benzerlik testi formülü (f_2) ile karşılaştırıldığında, F7 formülasyonu için %61.018, F8 formülasyonu için %67.9297 oranında benzerlik saptanmıştır. Kinetik modellemelerde benzerlik oranının %50'nin üzerinde olması, seçilen kinetik modelin formülasyonun salım profiline uygun olduğunu göstermektedir. Bu doğrultuda F7 formülasyonunun için 1. derece kinetik modeli, F8 formülasyonu için Higuchi kinetik modeli uygun bulunmuştur. Formülasyonların % salım-zaman grafikleri incelendiğinde, %0.5 oranında karbopol içeren F7 formülasyonunun 7. saatin sonunda içeriğindeki ekstrenin %81.178'ini ortama bıraktığı görülmektedir. %1 oranında karbopol içeren F8 formülasyonu için 7. saatin sonundaki salım oranı %59.984 olarak belirlenmiştir. F7 formülasyonunun 2 katı karbopol konsantrasyonuna sahip olan F8 formülasyonunda etkin madde salımı daha az oranda gerçekleşmiştir. Çapraz bağlı yapıya sahip olan karbopoller suda nötralleştirici ajan ile jelleşerek 3 boyutlu polimerik ağ yapısı oluşturmakta ve jelin içine hapsedilen etkin maddelerin salımını zorlaştırmaktadır. F7 (%0.5) formülasyonunun salım oranının F8 (%1)' e göre yüksek olması karbopol konsantrasyonunun daha düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Jel formülasyonlarında kullanılan karbopol oranı ile salım profili arasındaki ilişki, bu konuda yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (Arellano, Santoyo, Martín, & Ygartua, 1999; Barry & Meyer, 1979; Bonacucina ve ark., 2004).

Formülasyonların salım profilleri ve seçilen kinetik modellerin literatür ile karşılaştırılması amacıyla konu ile alakalı çalışmalar incelenmiştir. Aiyalu ve ark., 2016 çalışmasında, %1.5 oranında Carbopol® 940 ve Carbopol® 934 ile bitkisel ekstreler içeren jeller hazırlanmış, yardımcı madde olarak propilen glikol (%5), EDTA disodyum (%0.005) ve trietanolamin (%1.5) kullanılmıştır. *In vitro* salım çalışmaları sonucunda, jellerin içerdikleri ekstre oranlarına göre 0. derece, 1. derece veya Higuchi salım kinetiklerine uyum gösterdiği ve 5. saatin sonunda %100'e yakın salım yaptığı belirlenmiştir. Chalke, Sharma, Nagare, & Jirge, 2016 çalışmasında, %1.5 Carbopol 940® ile nar kabuğu ekstresi içeren jel formülasyonu hazırlanmış, yardımcı madde olarak gliserin (%20), trietanolamin ve metil paraben kullanılmıştır. *In vitro*

salım çalışmalarında 5. saatin sonunda formülasyonun içeriğindeki ekstrenin tamamını ortama saldığı görülmüştür. Sareen ve ark., 2011 çalışmasında, %1 Carbopol® 940, %20 propilen glikol ve %0.5 trietanolamin ile hazırlanan jellerde meloksikam etkin maddesinin *in vitro* salım özellikleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda jellerin 0. derece salım kinetiğine uyum gösterdiği ve 8. saatin sonunda içeriğindeki etkin maddenin %55.66'sını ortama bıraktığı belirlenmiştir. Literatürde Carbopol® 940 içeren jellerle yapılmış salım çalışmaları değerlendirildiğinde; salım kinetiklerinin etkin maddenin özellikleri, kullanılan yardımcı maddelerin çeşidi ve oranlarına göre değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Çalışmalarda Carbopol® 940 jeller için elde edilen salım grafiklerinin F7 ve F8 formülasyonlarının salım grafikleriyle büyük lde örtüştüğü belirlenmiştir. Yapılan alışmalar incelendiğinde, karbopol jellerde genel olarak 5-6. saatlerin sonunda salımın tamamlandığı görülmektedir. F7 ve F8 formülasyonlarında 7 saatlik salım deneyi sonucunda sırasıyla %81.178 ve %59.984 oranlarında salım gerçekleşmiştir. Özellikle F8 formülasyonunun literatür çalışmaları ile karşılaştırıldığında daha yavaş salım yaptığı ve içeriğindeki etkin maddeyi daha uzun sürede ortama verdiği görülmüştür. Bu açıdan %0.5 Carbopol® 940 içeren F7 formülasyonu, salım özellikleri açısından literatür ile daha uyumlu bulunmuştur (Aiyalu ve ark., 2016; Aslani, Zolfaghari, & Davoodvandi, 2016; Baviskar, Biranwar, Bare, & Venkatesh, 2013; Chalke ve ark., 2016).

6. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada çam kabuklarının flavonoidlerce zengin içeriği ve daha önce yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak *Pinus brutia*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* kabuklarından elde edilen ekstrelerin yara iyileştirici aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla insan fibroblast hücreleri kullanılarak *in vitro* sitotoksosite ve yara iyileşme testleri gerçekleştirilmiştir. *In vitro* yara iyileşme testi bulguları istatistiksel olarak incelendiğinde, *Pinus brutia* ekstresinin yara iyileştirici aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* ekstreleri ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede iyileşme göstermediğinden beklenen aktivitenin altında sonuç vermiştir. Farklı ekstraksiyon metotları veya farklı hücre grupları üzerinde çalışılarak daha yüksek yara iyileştirici aktivite elde edilebileceği düşünülmektedir. Bu sonuçlara göre *Pinus brutia* kabukları yara iyileşme tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilebilecek potansiyel aktif içeriğe sahip doğal bir ürün olarak değerlendirilebilir.

Yara iyileştirici aktiviteye sahip *Pinus brutia* ekstresi ile farmasötik bir jel formülasyonu geliştirilmiştir. Farmasötik jel formülasyonlarında en sık kullanılan polimerlerden Carbopol® 940 farklı oranlarda kullanılarak formülasyonların akış özellikleri ve salım profillerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, karbopol ile hazırlanan jel formülasyonlarına ait akış eğrilerinin literatür ile uyumlu olarak plastik akış şekli gösterdiği ve jellerin viskozitesinin, içeriğinde bulunan Carbopol® 940 oranı ile doğru orantılı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. *In vitro* salım çalışmalarında, formülasyonlardaki Carbopol® 940 konsantrasyonu arttıkça etkin maddenin salım oranının azaldığı sonucuna varılmıştır.

7. Kaynaklar

- Agelet, A., & Vallès, J. (2003). Studies on pharmaceutical ethnobotany in the region of Pallars (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). Part III. Medicinal uses of non-vascular plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 84(2–3), 229–234.
- Aiyalu, R., Govindarjan, A., & Ramasamy, A. (2016). Formulation and evaluation of topical herbal gel for the treatment of arthritis in animal model. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(3), 493–507.
- Akyar, B. (2016). *Euphorbia all. ssp. glareosa (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. lasiocarpa Boiss ekstresini içeren yarı katı dozaj şeklinin geliştirilmesi*. (Yüksek lisans tezi). Ege Üniversitesi, İzmir.
- Ali, S. M., & Yosipovitch, G. (2013). Skin pH : From Basic Science to Basic Skin Care. *Acta Derm Venereol*, 93, 261–267. <https://doi.org/10.2340/00015555-1531>
- Almeida, M. De, Fradin, A., Grice, J. E., & Stephen, M. (2012). Delivery of drugs applied topically to the skin. *Expert Review of Dermatology*, 7(4), 383–398.
- Altındaş, M. (2001). Yara-Açık yara. In *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No:27* (pp. 81–88).
- Altındaş, M. (2008). Kronik Yara Tedavisi ve Bakımında Tıbbi Sorunlar. In *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No:67* (pp. 237–247).
- Arellano, A., Santoyo, S., Martín, C., & Ygartua, P. (1999). Influence of propylene glycol and isopropyl myristate on the in vitro percutaneous penetration of diclofenac sodium from carbopol gels. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(2), 129–135. [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(98\)00010-4](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(98)00010-4)
- Aslani, A., Zolfaghari, B., & Davoodvandi, F. (2016). Design , Formulation and Evaluation of an Oral Gel from Punica Granatum Flower Extract for the Treatment of Recurrent Aphthous Stomatitis. *Tabriz University of Medical Sciences*, 6(3), 391–398. <https://doi.org/10.15171/apb.2016.051>
- Barry, B. W., & Meyer, M. C. (1979). The rheological properties of carbopol gels I. Continuous shear and creep properties of carbopol gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 2(1), 1–25. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(79\)90025-5](https://doi.org/10.1016/0378-5173(79)90025-5)
- Baviskar, D. T., Biranwar, Y. A., Bare, K. R., & Venkatesh, B. (2013). In Vitro and In Vivo Evaluation of Diclofenac Sodium Gel Prepared with Cellulose Ether and Carbopol 934P, 12(August), 489–494.

- Becit, M., Aydın, S., & Başaran, N. (2017). Pycnogenol in Human Health: An Overview. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 42(2), 125–138.
- Benson, H. A. E., & Watkinson, A. C. (2012). Skin Structure, Function, and Permeation. In H. A. E. Benson & A. C. Watkinson (Eds.), *Transdermal and Topical Drug Delivery Principles and Practice* (pp. 3–22).
- Bentley, G., & Nawaz, Z. (2010). Surgical incisions and principles of wound healing. *Surgery*, 29(2), 59–62. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2010.11.011>
- Bito, T., Roy, S., Sen, C. K., & Packer, L. (2000). Adhesion of T Cells To Human Keratinocytes By Inhibiting Inducible Icam-1 Expression. *Science*, 28(2), 219–227.
- Blazsó, G., Gábor, M., Schönla, F., & Rohdewald, P. (2004). Pycnogenol® accelerates wound healing and reduces scar formation. *Phytotherapy Research*, 18(7), 579–581. <https://doi.org/10.1002/ptr.1477>
- Bonacucina, G., Martelli, S., & Palmieri, G. F. (2004). Rheological, mucoadhesive and release properties of Carbopol gels in hydrophilic cosolvents. *International Journal of Pharmaceutics*, 282(1–2), 115–130. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.06.012>
- Boydak, M. (2004). Silvicultural characteristics and natural regeneration of *Pinus brutia* Ten. - A review. *Plant Ecology*, 171(1–2), 153–163. <https://doi.org/10.1023/B:VEGE.0000029373.54545.d2>
- Brem, H., & Tomic-canic, M. (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes, 117(5), 1219–1222. <https://doi.org/10.1172/JCI32169>.Despite
- Çelebi, N. (2009). Reoloji. In *Modern Farmasötik Teknoloji* (pp. 391–405). TEB Eczacılık Akademisi.
- Cetin, E. O., Yesil-Celiktas, O., Cavusoglu, T., Demirel-Sezer, E., Akdemir, O., & Uyanikgil, Y. (2013). Incision wound healing activity of pine bark extract containing topical formulations: A study with histopathological and biochemical analyses in albino rats. *Pharmazie*, 68(1), 75–80. <https://doi.org/10.1691/ph.2013.2089>
- Chalke, T., Sharma, K., Nagare, S. K., & Jirge, S. S. (2016). Formualtion and Evaluation of Punica Topical Gel for its Content of Gallic Acid and Anti-Microbial Study, 6(3), 75–78.
- Cho, K.-J., Yun, C.-H., Packer, L., & Chunga, A.-S. (2010). Inhibition Mechanisms of Bioflavonoids Extracted from the Bark of *Pinus maritima* on the Expression of

- Proinflammatory Cytokines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928(1), 141–156. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb05644.x>
- Curran, S. J., Hayes, R. E., Afacan, A., Williams, M. C., & Tanguy, P. A. (2002). Properties of Carbopol Solutions as Models for Yield Stress Fluids. *Journal of Food Science*, 67(1), 176–180. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2014.11.006>
- D’Andrea, G. (2010). Pycnogenol: A blend of procyanidins with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*, 81(7), 724–736. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.06.011>
- Dantas, M. G. B., Reis, S. A. G. B., Damasceno, C. M. D., Rolim, L. A., Rolim-Neto, P. J., Carvalho, F. O., ... Da Silva Almeida, J. R. G. (2016). Development and Evaluation of Stability of a Gel Formulation Containing the Monoterpene Borneol. *Scientific World Journal*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7394685>
- Değim, T. (2009). Deriden Emilim ve Deriye Uygulanan Yarı Katı Preparatlar. In *Modern Farmasötik Teknoloji* (pp. 337–364). TEB Eczacılık Akademisi.
- Drehse, G. (2007). From Ancient Pine Bark Uses to Pycnogenol. *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, 311–322. <https://doi.org/10.1016/b978-012543590-1/50021-4>
- Dreifke, M. B., Jayasuriya, A. A., & Jayasuriya, A. C. (2015). Current wound healing procedures and potential care. *Materials Science and Engineering C*, 48, 651–662. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.068>
- Erasmus, E. (2007). Composition of the essential oils from the leaves of nine Pinus species and the cones of three of Pinus species. *Flavour and Fragrance Journal*, 22, 10–20. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Figuera, E., Soory, M., Cerero, R., & Bascones, A. (2006). Oxidant/antioxidant interactions of nicotine, Coenzyme Q10, Pycnogenol and phytoestrogens in oral periosteal fibroblasts and MG63 osteoblasts. *Steroids*, 71(13–14), 1062–1072. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2006.09.003>
- Fisher, R. F. (2002). Ecology and Biogeography of Pinus. *Forest Ecology and Management*, 152(1–3), 339–340. [https://doi.org/10.1016/s0378-1127\(00\)00598-3](https://doi.org/10.1016/s0378-1127(00)00598-3)
- Garg, T., Rath, G., & Goyal, A. K. (2014). Comprehensive review on additives of topical dosage forms for drug delivery, 7544, 1–19. <https://doi.org/10.3109/10717544.2013.879355>

- Garg, T., Singh, S., & Goyal, A. K. (2013). Stimuli-Sensitive Hydrogels : An Excellent Carrier for Drug and Cell Delivery, *30*(5), 369–409.
- Islam, M. T., Rodríguez-Hornedo, N., Ciotti, S., & Ackermann, C. (2004). Rheological characterization of topical carbomer gels neutralized to different pH. *Pharmaceutical Research*, *21*(7), 1192–1199. <https://doi.org/10.1023/B:PHAM.0000033006.11619.07>
- Kaur, D., Raina, A., & Singh, N. (2014). Formulation And Evaluation Of Carbopol 940 Based Glibenclamide Transdermal Gel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *6*(8), 434–440.
- Kim, J. Y., Song, J. Y., Lee, E. J., & Park, S. K. (2003). Rheological properties and microstructures of Carbopol gel network system. *Colloid and Polymer Science*, *281*(7), 614–623. <https://doi.org/10.1007/s00396-002-0808-7>
- Kılıçoğlu, B., Kılıçoğlu, S. S., & Eren, V. Ç. (2005). Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi. *S.D.Ü Tıp Fak. Derg*, *12*(1), 67–76.
- Kızılarıslan, Ç., & Sevg, E. (2013). Ethnobotanical uses of genus Pinus L. (Pinaceae) in Turkey. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, *12*(2), 209–220.
- Kumara, P., Prakash, N. K. S., Lokesh, P., & Manral, K. (2015). Viscoelastic Properties And Rheological Characterization Of Carbomers. *International Journal of Latest Research in Engineering and Technology*, *1*(6), 17–30.
- Lai-cheong, J. E. (2013). Structure and function of skin , hair and nails. *Medicine*, *41*(6), 317–320. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2013.04.017>
- Lee, C. H., Moturi, V., & Lee, Y. (2009). Thixotropic property in pharmaceutical formulations. *Journal of Controlled Release*, *136*(2), 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.02.013>
- Maimoona, A., Naeem, I., Saddiqe, Z., & Jameel, K. (2011). A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. *Journal of Ethnopharmacology*, *133*(2), 261–277. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.041>
- Mandal, A. (2006). Do malnutrition and nutritional supplementation have an effect on the wound healing process? *Journal Of Wound Care*, *15*(6), 254–257.
- Monteiro-Riviere, N. A. (2006). Structure and Function of Skin. In J. E. Riviere (Ed.), *Dermal Absorption Models In Toxicology And Pharmacology* (pp. 1–19).
- Narayana, K., Reddy, S., Chaluvadi, M., & Krishna, D. (2001). Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential.

Indian Journal of Pharmacology, 33, 2–16.

- Okur, M. E., Ayla, Ş., Batur, Ş., Yoltaş, A., Genç, E., Pertek, S., & Üstündağ Okur, N. (2019). Evaluation of In Situ Gel Containing Pycnogenol for Cutaneous Wound Healing. *Medeniyet Medical Journal*, 34(1), 67–75. <https://doi.org/10.5222/mmj.2019.29053>
- Özer, Ö., Ertan, G., Kırılmaz, L., Baloğlu, E., Karasulu, Y., Sevgi, F., ... Azizoğlu, G. A. (2015a). *Farmasötik Teknoloji I.* (Ö. Özer & I. Özgüney, Eds.). İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları Eczacılık Fakültesi Yayın No:5.
- Özer, Ö., Ertan, G., Kırılmaz, L., Baloğlu, E., Karasulu, Y., Sevgi, F., ... Azizoğlu, G. A. (2015b). *Farmasötik Teknoloji II.* (Ö. Özer, Ed.). İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları Eczacılık Fakültesi Yayın No:2.
- Packer, L., Rimbach, G., & Virgili, F. (1999). Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, Pycnogenol. *Free Radical Biology & Medicine*, 27(5), 704–724.
- Parsak, C. K., Sakman, G., & Çelik, Ü. (2007). Yara iyileşmesi, Yara Bakımı ve Komplikasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(2), 145–159. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/aktd/issue/2228/29463>
- Pena, L. E. (2013). Gel Dosage Forms: Theory, Formulation, and Processing. In D. W. Osborne & A. H. Amann (Eds.), *Topical Drug Delivery Formulations* (pp. 381–388).
- Piau, J. M. (2007). Carbopol gels: Elastoviscoplastic and slippery glasses made of individual swollen sponges. Meso- and macroscopic properties, constitutive equations and scaling laws. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 144(1), 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.jnnfm.2007.02.011>
- Robson, M. C. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximum healing trajectories. *Curr Prob Surg* 2001:38; 61-148. *Current Problems in Surgery*, 38(2), 72–141. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2008.10.004>
- Sareen, R., Kumar, S., & Gupta, G. D. (2011). Meloxicam Carbopol-Based Gels : Characterization and Evaluation, 934, 407–415.
- Scott, L. L., Duncan, S. E., Sumner, S. S., & Waterman, K. M. (2003). Physical Properties of Cream Reformulated with Fractionated Milk Fat and Milk-Derived Components. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3395–3404. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73943-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73943-5)
- Şevik, H., & Topaçoğlu, O. (2015). Variation and inheritance pattern in cone and seed

- characteristics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L) for evaluation of genetic diversity. *Journal of Environmental Biology*, 36(5), 1125–1130.
- Shin, S. C., Kim, J. Y., & Oh, I. J. (2000). Mucoadhesive and physicochemical characterization of Carbopol-poloxamer gels containing triamcinolone acetonide. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26(3), 307–312. <https://doi.org/10.1081/DDC-100100358>
- Sowmya, J., Gowda, D. V., & Srivastava, A. (2015). Topical Gels: A Recent Approach for Novel Drug Delivery. *International Journal of Health Sciences and Research*, 5(10), 302–312.
- Tanker, N., Koyuncu, M., & Coşkun, M. (2007). *Farmasötik Botanik*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:93. https://doi.org/10.1007/978-3-319-00867-7_14
- Tümen, İ., Akkol, E. K., Taştan, H., Süntar, I., & Kurtca, M. (2018). Research on the antioxidant, wound healing, and anti-inflammatory activities and the phytochemical composition of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). *Journal of Ethnopharmacology*, 211, 235–246. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.09.009>
- Türkiye Orman Varlığı. (2015). T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü.
- Yazan, Y. (2002). Reoloji ve Kozmetolojideki Yeri. *Türkiye Klinikleri Kozmeteoloji*, 3(2), 115–128.
- Yeğiner, Y. (2014). *Yerçekimi Etkili Newtonyen Olmayan Düşen Film Akışı*. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Yesil-Celiktas, O., Otto, F., & Parlar, H. (2009). A comparative study of flavonoid contents and antioxidant activities of supercritical CO₂ extracted pine barks grown in different regions of Turkey and Germany. *European Food Research and Technology*, 229(4), 671–677. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1101-5>
- Yesil-Celiktas, Ozlem, Ganzera, M., Akgun, I., Sevimli, C., Korkmaza, K. S., & Bedira, E. (2009). Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different *Pinus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(8), 1339–1345. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3591>
- Zengin, K. (2014). *Karbonhidrat Üreten Alifatik Yapıdaki Poliüretanların Hazırlanması ve Reolojik Davranışlarının İncelenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). İnönü Üniversitesi, Malatya.

Ekler



T.C.EGE ÜNİVERSİTESİ
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

PROJE ÖZET RAPORU

Proje Yürütücüsü	Doç.Dr. EMEL ÖYKÜ ÇETİN UYANIKGİL		
Proje Kodu	18-ECZ-004		
Proje Başlığı	PİNUS TÜRLERİNİN KABUKLARINDAN ELDE EDİLEN EKSTRE İLE YARI KATI FORMÜLASYON GELİŞTİRİLMESİ		
Proje Türü	Tez Projesi, Yüksek Lisans		
Proje Grubu	Tıp Sağlık		
Süresi (Ay)	12		
Proje Durumu	Yürüyen Proje		
Başvuru Tarihi	27.2.2018	Muhtemel Bitiş Tarihi	27.02.2019
Başlangıç Tarihi	27.2.2018	Bitiş Tarihi	
Ek Süre 1 (Ay)	6	Ek Süre 2 (Ay)	
Onaylanan Bütçesi	7.500,00 ₺		
Ek Ödenek 1	1.117,30 ₺		
Ek Ödenek 2	0,00 ₺		
Ek Ödenek 3	0,00 ₺		
Toplam Bütçe	8.617,30 ₺	Gerçekleşen Harcama	8.617,30 ₺

Proje Ekibi

Öğrenci MELİS DEMİRÖZER

Araştırma Alanları

Rapor Takvimi (Projenin onaylanan rapor planı)

Sıra	Başlık	Beklenen Tarih	Ekleme Tarihi	Onay Tarihi
1	Ara Rapor	27.08.2018	20.09.2018	18.10.2018
2	Ara Rapor	27.02.2019	27.02.2019	13.03.2019
3	Sonuç Raporu	27.08.2019		

Proje Bütçesi

Bütçe Türü	Tanımı / Adı	Miktar	K.Miktar	Birimi	Birim Fiyatı	KDV	Tutar (KDV'li)	Durumu
Tüketim Malzemesi (Genel)	Glycerol (şişe)	3	0	Litre	550,00 ₺	18	1.947,00 ₺	Eklenen

Teşekkür

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bana yol gösteren, her zaman desteğini gördüğüm sevgili danışmanım Sayın Doç. Dr. Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL'e,

Salım çalışmaları ile ilgili bilgi ve birikimini benimle paylaşan çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Levent KIRILMAZ'a

Hücre kültürü çalışmaları konusunda yardım ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL'e

Tezimin ekstraksiyon ve HPLC basamaklarında birlikte çalıştığım Uzm. Biyolog Fatih KARABEY'e

İstatistiksel analiz ve değerlendirmeler için Doç. Dr. Timur KÖSE'ye

Hücre kültürü çalışmalarını beraber yürüttüğüm MATAL'a,

Tezimin birçok basamağında destek aldığım FABAL'a,

Projemi destekledikleri için Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Öğrenim hayatım boyunca sevgi ve anlayışlarıyla hep yanımda olan, desteklerini benden esirgemeyen aileme,

Tez çalışmalarımda bana destek olan ve ihtiyacım olan her an yardımına koşan Özgür ARICAN, Sibel AKAR ve Duygu ÖNCEL'e,

teşekkürlerimi sunarım.

İzmir, 2019

Melis DEMİRÖZER

Özgeçmiş

2011-2016 yılları arasında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde lisans eğitimimi tamamladım. 2016 yılında Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik programında yüksek lisans eğitimime başladım. 2017-2018 yılları arasında Aliye Üster Vakfı tarafından desteklenen “Propolis Ekstresi İçeren Niozom Formülasyonlarının Geliştirilmesi Ve Prostat Kanseri Üzerine Etkisinin Hücre Kültürü Yöntemiyle İncelenmesi” isimli bilimsel projede görev aldım.

melisdemirozer@gmail.com