

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FERULİK ASİT İÇEREN NİZOMLARIN İNSAN FİBROBLAST  
HÜCRELERİNDE ULTRAVİYOLE VE FOTOYAŞLANMA KORUYUCU  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Esmanur MEYDAN**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ**

**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**EKİM 2022**

**ANTALYA**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FERULİK ASİT İÇEREN NİOZOMLARIN İNSAN FİBROBLAST  
HÜCRELERİNDE ULTRAVİYOLE VE FOTOYAŞLANMA KORUYUCU  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Esmanur MEYDAN**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ  
ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**EKİM 2022**

**ANTALYA**

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FERULİK ASİT İÇEREN NİZOMLARIN İNSAN FİBROBLAST  
HÜCRELERİNDE ULTRAVİYOLE VE FOTOYAŞLANMA KORUYUCU  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Esmenur MEYDAN**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ**

**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Bu tez .../...../202.... tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ (Danışman)

Doç. Dr. Gül ÖZBEY

Dr. Öğr. Üyesi Ogun Mehmet SAKA

## ÖZET

# FERULİK ASİT İÇEREN NİOZOMLARIN İNSAN FİBROBLAST HÜCRELERİNDE ULTRAVİYOLE VE FOTOYAŞLANMA KORUYUCU ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

**Esmenur MEYDAN**

**Yüksek Lisans, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ**

**2. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Devrim DEMİR DORA**

**Ekim 2022; 42 sayfa**

Ferulik asit (FA) buğdayın kepek fraksiyonunda oldukça yüksek düzeylerde bulunan, ekonomik açıdan oldukça ucuz, kolay bulunabilen ve kimyasal yöntemlerle ekstrakte edilerek saflaştırılabilen bir bitkisel sekonder metabolittir. FA düşük toksisite düzeyi; antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel ve antikanser etkileri gibi birçok fizyolojik fonksiyonu nedeniyle son yıllarda ilaç endüstrisinde oldukça popüler bir hammadde haline gelmiştir. Gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Matriks Metallo Proteinaz (MMP) kullanılarak yapılan çalışmalarda fotoyaşlanma mekanizmasında aktif rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada ferulik asitin uygun niozom teknolojisi kullanılarak; Ultraviyole (UV) ve fotoyaşlanma koruyucu etkisi ile kullanım veriminin yükseltilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda Polisorbat 60 ve Tween 60 gibi sürfaktanlar kullanılarak ince film hidrasyon yöntemi (TFH) ile niozomların tasarlanması, karakterizasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi ve insan fibroblast Bj hücrelerinde; sitotoksisite, MMP-2 inhibisyonu ve UV koruyucu etkileri gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre; araştırma kapsamındaki tüm ferulik asit içeren niozomların boyut aralığının 100-200 nm arasında olduğu ve enkapsüle veriminin en çok %42,73'e kadar çıkabildiği belirlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda buğday kepeğinde yüksek düzeyde bulunan ferulik asitin uygun niozomlar içinde taşınması yoluyla ultraviyole ve fotoyaşlanma koruyucu özelliklere sahip etkili ve yenilikçi bir madde olduğu gösterilmiştir. Tez çalışması kapsamında son zamanlarda özellikle kozmesötik sektöründe popüler hale gelen niozom teknolojisi kullanılarak, düşük maliyetli hammaddelerin etkili ürünlere dönüştürülmesi çalışmalarına katkı sağlaması beklenmektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Ferulik asit, Fotoyaşlanma, Matriks Metallo Proteinaz (MMP), Niozom teknolojisi

**JÜRİ:** Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

Doç. Dr. Gül ÖZBEY

Dr. Öğr. Üyesi Ogun Mehmet SAKA



## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF ULTRAVIOLET AND PHOTOAGING PROTECTIVE EFFECTS OF FERULIC ACID CONTAINING NIOSOMES ON HUMAN FIBROBLAST CELLS**

**Esmanur MEYDAN**

**MSc Thesis in The Department of Agricultural Biotechnology**

**Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ**

**2nd Supervisor: Asst. Prof. Dr. Devrim DEMİR DORA**

**October 2022; 42 pages**

Ferulic acid (FA) is a secondary plant metabolite that is abundant in wheat bran, is readily available, inexpensive, and can be refined using chemical extraction. FA low level of toxicity; It has recently grown to be a very prominent raw material in the pharmaceutical sector due to its multiple physiological functions, including its anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial, and anticancer actions. The culinary, cosmetics, and pharmaceutical industries all use it extensively. In addition, research using Matrix Metallo Proteinase has demonstrated that it actively contributes to the photoaging mechanism (MMP). In this study, it is intended to boost the effectiveness of usage along with the ultraviolet (UV) and photoaging preventive impact by employing the proper niosome technology of ferulic acid. In order to do this, niosomes were designed utilizing the thin film hydration method (TFH), characterisation tests were carried out in human fibroblast Bj cells, and cytotoxicity, MMP-2 inhibition, and UV protection properties were shown. The results show that the size range of all ferulic acid-containing niosomes within the research's purview is between 100 and 200 nm, and the maximum encapsulation effectiveness is 42.73%. Through its transport in the appropriate niosomes, ferulic acid, which is abundant in wheat bran, has been demonstrated in these investigations to be an efficient and novel chemical with ultraviolet and photoaging protective characteristics. Within the parameters of the thesis, it is anticipated to contribute to the studies on the use of niosome technology, which has recently gained popularity, particularly in the cosmeceutical industry, to transform inexpensive raw materials into effective products.

**KEYWORDS:** Ferulic acid, Fotoaging, Matrix metalloproteinase (MMP), Niosome technology

**COMMITTEE:** Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

Assoc. Prof. Dr. Gül ÖZBEY

Asst. Prof. Dr. Ogun Mehmet SAKA



## ÖNSÖZ

Araştırmalarımın her basamağında bilimsel desteğini ve emeğini esirgemeyen Sayın tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Devrim DEMİR DORA'ya,

Bana lisans hayatım boyunca öncü olan Prof. Dr. Mesut KARAHAN başta olmak üzere bana emek veren tüm hocalarıma,

Formülasyon çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Yasemin Yüksel DURMAZ'a,

İn-vitro hücre kültürü çalışmalarında bilgi ve becerisini benimle paylaşan Sayın Adem KABA, Mariem BOUALI ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan desteğini bir an bile esirgemeyen akademiye başlama sebebim olan canım abim Uzm. Dr. Mehmet Yunus MEYDAN başta olmak üzere bugünlere gelmemde en büyük destekçim olan biricik aileme,

Çocukluk yıllarımdan itibaren birlikte aynı yolda yürüdüğüm ve desteğini her zaman hissettiğim canım arkadaşım Merve Betül YALÇIN'a,

Bana her konuda destek olarak tezi bitirme sürecimde beni motive eden canım arkadaşlarım Zeynep ARSLAN, Gözde İNAN, Elif Beyza KOÇ, Feyza ÜNVER, Tuğçe Sema YÜKSEK başta olmak üzere tüm arkadaşlarıma ve son olarak en stresli zamanlardaki manevi desteği için Fırat TARHAN'a çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
1.1.  Deri ve Kozmesötikler .....	1
1.1.1.  Epidermis .....	1
1.1.2.  Stratum Corneum'un bariyer işlevi.....	2
1.1.3.  Dermis .....	3
1.1.4.  Hipodermis .....	4
1.2.  Yaşlanma Mekanizması .....	4
1.2.1.  Fotoyaşlanma .....	4
1.2.2.  Güneşten koruyucular .....	5
1.2.3.  Güneşten koruyucuların etkileri .....	6
1.3.  Ferulik Asit.....	7
1.4.  İlaç Taşıyıcı Sistemler .....	8
1.4.1.  Formülasyonlarda kullanılan taşıyıcı sistemler.....	9
1.4.2.  Niozomlar .....	10
1.4.3.  Non iyonik sürfaktanların yapısı .....	10
1.4.4.  Niozomların yapısı .....	11
1.5.  Niozomların Hazırlama Yöntemleri.....	11
1.5.1.  Proniozom yöntemi ile niozom oluşumu .....	11
1.5.2.  Sonikasyon .....	12
1.5.3.  Mikro akışkanlaştırma yöntemi.....	12
1.5.4.  İnce film hidrasyon yöntemi .....	13
1.5.5.  Ters fazlı buharlaşma yöntemi .....	13
1.5.6.  Diğer niozom ilaç taşıma yöntemleri .....	14
2.. KAYNAK TARAMASI.....	15

3. MATERYAL VE METOT.....	18
3.1.    Kullanılan Kimyasallar ve Kullanım Amaçları.....	18
3.1.1.    Kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanması.....	19
3.2.    Ferulik Asit Analizleri.....	23
3.3.    Niozom İlaç Taşıma Sisteminin Hazırlanması.....	24
3.4.    İnsan Derisi Fibroblast Hücrelerinde Sitotoksik Testler.....	25
3.5.    Ferulik Asit ve Preparatlarının Fotoyaşlanma İnhibisyonu Etkisinin Belirlenmesi.....	26
3.6.    Seçilen Preperatların UVB Koruyucu Etkisinin Belirlenmesi.....	26
3.7.    Hazırlanan Niozomal Preparatın Karakterizasyonu.....	26
3.7.1.    Partikül boyutu ve yükünün belirlenmesi.....	27
3.7.2.    İlaç yükleme veriminin belirlenmesi.....	27
3.7.3.    pH ve görünüş değerlendirilmesi.....	27
3.7.4.    İstatistiksel çalışma.....	27
4.BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
4.1.    Ferulik Asit Etkin Maddesi Tanımlamasına Yönelik Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular.....	28
4.1.1.    Etkin madde Ferulik asit için UV spektrumunun incelenmesine ait bulgular.....	28
4.1.2.    Ferulik asit kromatografik analizleri.....	28
4.1.3.    Etkin madde Ferulik asit için miktar tayinine ait bulgular.....	29
4.1.4.    Etkin maddenin HPLC yöntemi ile standart doğrusunun çizilmesi.....	29
4.2.    Niozom İlaç Taşıma Sisteminin Hazırlanması.....	29
4.3.    Hazırlanan Niozomal Preparatların Karakterizasyonu.....	30
4.3.1.    Partikül boyutu ve zeta potansiyelinin belirlenmesi.....	30
4.3.2.    İlaç yükleme veriminin belirlenmesi.....	31
4.3.3.    Zamana bağlı pH ve görünüş değişimi.....	33
4.4.    İnsan Derisi Fibroblast Hücrelerinde Sitotoksik Testler.....	34
4.5.    Ferulik Asit ve Preparatlarının Fotoyaşlanma İnhibisyonu Etkisinin Belirlenmesi.....	35
4.6.    Hazırlanan preparatların UV Koruyucu Etkisinin Belirlenmesi.....	36
5. SONUÇLAR.....	37
6. KAYNAKLAR.....	38
ÖZGEÇMİŞ	

## AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Ferulik Asit İçeren Niozomların İnsan Fibroblast Hücrelerinde Ultraviyole ve Fotoyaşlanma Koruyucu Etkilerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

..../..../2022

Esmenur MEYDAN

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

$\mu\text{L}$  : mikrolitre

bp : baz çifti

dk : dakika

g : gram

M : molar

mg : miligram

ml : mililitre

mM : milimolar

ng : nanogram

nm : nanometre

$^{\circ}\text{C}$  : santigrat derece

rpm : dakikadaki devir sayısı

sn : saniye

V : volt

$\alpha$  : alfa

$\beta$  : beta

## **Kısaltmalar**

- APS : Amonyum per sülfat
- AP-1 : Aktivatör protein
- CCD : Merkezi kompozit tasarım
- DLS : Dinamik ışık saçılma
- EE : Enkapsülasyon verimi
- ECM : Ekstraselüler matriks
- FA : Ferulik asit
- HLB : Hidrofilik- lipofilik denge
- LUV : Büyük tek lamelli veziküller
- MLV : Çok lamelli veziküller
- MMP : Matriks metalloproteinaz
- Nio : Niozom
- PBS : Fosfat tamponlu tuzlu su
- REV : Ters fazlı buharlaşma
- SDS : Sodyum dodesil sülfat
- SPF : Güneş koruyucu faktörleri
- SUV : Küçük tek lamelli veziküller
- TFH : İnce film hidrasyonu
- TIMP : Doku inhibitörleri
- UV : Ultraviyole

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Derinin tabakalarının gösterimi (Baumann 2002) .....	1
Şekil 1.2. Epiderminin yapısı (Murphrey vd. 2018).....	2
Şekil 1.3. Fotoyaşlanma mekanizması (Pittayapruek vd. 2016) .....	5
Şekil 1.4. Nanopartiküllerin temel özellikleri .....	9
Şekil 1.5. Niozom ilaç taşıyıcı sistemlerin yapısı (Durak vd. 2020) .....	11
Şekil 1.6. İnce film hidrasyon yöntemi (Ge vd. 2019).....	13
Şekil 1.7. Ters fazlı buharlaşma hazırlanması (Ge vd. 2019).....	14
Şekil 4.1. Ferulik asite ait UV spektrumu .....	28
Şekil 4.2. Ferulik asidin HPLC analizi sonucunda elde edilen kromatogram .....	29
Şekil 4.3. Ferulik aside ait kalibrasyon grafiği .....	29
Şekil 4.4. Nio-1 ait Ferulik asit içeren niozomal preparata ait HPLC kromatogramı.....	30
Şekil 4.5. Nio-2 ait Ferulik asit içeren niozomal preparata ait HPLC kromatogramı.....	30
Şekil 4.6. Optimum niozom formülasyonuna ait partikül boyutu değerleri .....	31
Şekil 4.7. Optimum niozom formülasyonuna ait zeta potansiyel (ZP) değerleri.....	31
Şekil 4.8. a) Kolesterol içeriği ile Ferulik asit miktarı arasındaki etkileşimin % Enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisini gösteren kontur grafiği; b) Ferulik asit miktarı ile sürfaktan HLB değeri arasındaki etkileşimin % Enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisini gösteren kontur grafiği; c) Kolesterol içeriği ile sürfaktan HLB değeri arasındaki etkileşimin % Enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisini gösteren kontur grafiği .....	32
Şekil 4.9. Ferulik asit miktarı, HLB değeri ve kolesterol miktarının enkapsülasyon verimi üzerindeki ayrı ayrı etkisi.....	33
Şekil 4.10. Seçilen niozomal preparatların görünüşleri .....	34
Şekil 4.11. Ferulik asit ve seçilen niozomal preparatların sitotoksikite sonuçları .....	35
Şekil 4.12. Optimum niozomal preparata ait MMP-2 jelatin zimograf görüntüsü .....	35
Şekil 4.13. Ferulik asit ve niozomal preparatların UV koruyucu etkisinin belirlenmesi.....	36

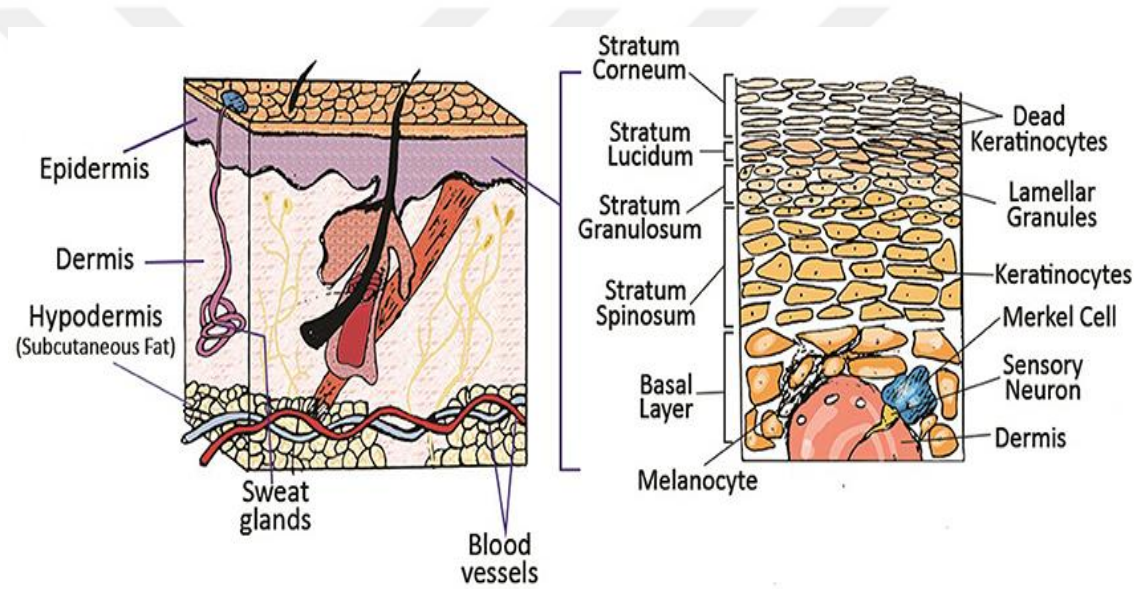
## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Ferulik asite ait temel fiziksel ve kimyasal özellikler (Pubchem 2004).....	8
Çizelge 1.2. Topikal formülasyonlarda kullanılan ilaç taşıyıcı sistemler .....	9
Çizelge 1.3. Non iyonik sürfaktanların HLB değerleri (Bnyan vd. 2018).....	10
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasallar ve kullanım amaçları .....	18
Çizelge 3.2. 5X non-reducing sample buffer (pH 6,8) bileşimi.....	21
Çizelge 3.3. Washing buffer (pH 7.5) bileşimi .....	22
Çizelge 3.4. İnkübation buffer (pH 7,5) bileşimi .....	22
Çizelge 3.5. Ferulik asit ekstraksiyon aşamaları.....	23
Çizelge 3.6. HPLC cihazı analitik koşulları.....	24
Çizelge 3.7. Hazırlanan niozom formülasyonları .....	25
Çizelge 4.1. Seçtiğimiz formülasyonların pH değerleri.....	34

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Deri ve Kozmesötikler

İntegumenter sistemin bir parçası olan deri, insan vücudunun en büyük organı olarak kabul edilir. Cilt üç ana tabakadan oluşur. Bunlar epidermis, dermis ve hipodermis olarak Şekil 1.1’de gösterilmektedir (Bennet vd. 2017). Derinin en yüzeysel tabakası olan Epidermis, vücudumuzun dış yüzeyinin örtüsü olarak bilinen, birkaç katmana ayrılan çok katlı epitel dokusudur. Cildin genel kozmetik görünümünü sağladığı için büyük bir önem taşımaktadır. Bu yapının en dış kısmında yer alan Stratum Corneum (SC), organelsiz keratinositlerle kaplıdır. Bu bariyer, su ve elektrolit kaybını önlemek için epidermal bir geçirgenlik bariyeri oluşturur (Baumann 2002).



Şekil 1.1. Derinin tabakalarının gösterimi (Baumann 2002)

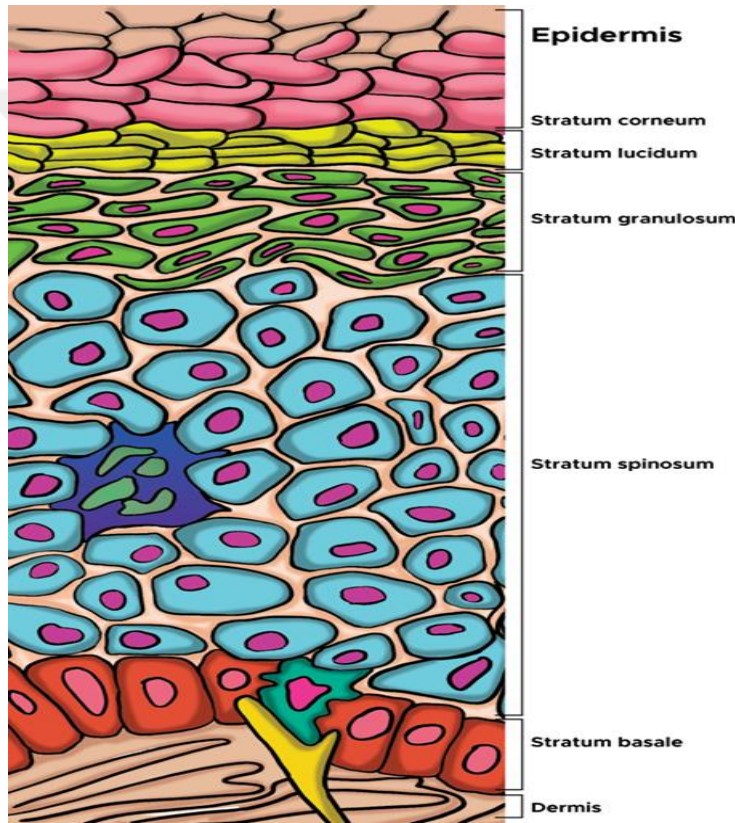
#### 1.1.1. Epidermis

Epidermis derinin en dış tabakasıdır ve ağırlıklı olarak birkaç tabaka halinde düzenlenmiş keratinositlerden oluşur. SC’u oluşturmak için terminal olarak farklılaşan keratinositlerin korneositlere dönüştürülmesi olan kornifikasyon veya keratinizasyonun bir sonucu olarak insan vücudu ile çevre arasında fiziksel ve işlevsel bir bariyer oluşturur.

Ek olarak, ağrının algılanması için bazı sinir uçları içermesine rağmen herhangi bir kan damarı veya lenf sistemi yoktur.

Epidermin kalınlığı 50 ila 150  $\mu\text{m}$  arasında değişir ve beş katmandan oluşur. Bunlar Şekil 1.2’de sunulmaktadır. Derinden yüzeyle doğru bu katmanlar;

1. Bazal tabaka (Stratum Germinativum)
2. Diken tabakası (Stratum Spinosum)
3. Granüler tabaka (Stratum Granulosum)
4. Stratum Lucidum
5. Stratum Corneum



Şekil 1.2. Epidermin yapısı (Murphrey vd. 2018)

### 1.1.2. Stratum Corneum'un bariyer işlevi

SC, bir lipid matrisi ve bu lipid matrisine gömülü 15-20 tabaka yassı ölü hücreden (korneositler) oluşur. “Tuğla ve harç” modeli olarak adlandırılan 10–20  $\mu\text{m}$  kalınlığındaki bu yapı, SC'un önemli bir bariyer fonksiyonunu oluşturmaktadır. Ayrıca, SC hidrasyonu, bariyer homeostazı ve deskuamasyon için gerekli olan hücre içi nemlendiriciler (doğal nemlendirici faktörler) korneositlerde lokalize olur.

SC'un yapılarının yanı sıra, Stratum Granulosum'daki keratinositlerin yan duvarlarına bağlanan sıkı bağlantılar deride ikincil bir fonksiyonel bariyer oluşturmuştur. Ayrıca kimyasal, mikrobiyal veya immünolojik engellerden etkilenen bu karmaşık hücre-hücre bağlantıları da SC bariyerini etkilemektedir (Kahraman vd. 2019).

### 1.1.3. Dermis

Dermis, cildin mezenkimal bileşenidir ve epidermisten bazal membran ile ayrılır. Dermis, papiller ve retiküler tabaka adı verilen yapısal olarak farklı iki tabakadan oluşur. Cilt yüzeyine daha yakın bulunan papiller tabaka, yaşa ve yere bağlı olarak 300-400 mikron genişliğe ulaşır. Üst kısımda, beslenme ve innervasyon için gerekli olan sinir uçları ve mikrovasküler damarlar içeren dermal papillalar adı verilen kordonlar halinde düzenlenir.

Dermis fiziksel ve fonksiyonel olarak iki katmandan oluşmaktadır. Bunlar;

- **Papiller tabaka:** Retikülerden daha yüksek hücre yoğunluğu, daha yüksek proteoglikan içeriği ve kollajen liflerinin daha zayıf bir hizalaması ile farklılık gösterir. Papiller dermis düzensiz bir polar yapıya sahiptir: yoğunluğu bazal membrandan retiküler dermise doğru azalır.
- **Retiküler tabaka:** Dermisin alt kısmını oluşturur ve hipodermise geçiş alanıdır. Retiküler dermisin hücre dışı matrisi (ECM) daha belirgin bir yapıya sahiptir. Kollajen demetleri, elastin iplikçikleri ile birlikte düzenli bir ağ oluşturan yoğun lifler halinde bulunur. Yaşlanma ile birlikte papiller dermisin hacmi azalır, incelir ve yavaş yavaş retiküler ile değiştirilir.

Fibroblastlar dermiste en bol bulunan hücrelerdir. Bu hücrelerin karakteristik bir özelliği, ECM'yi sentezleme ve yeniden şekillendirme yeteneğidir. Yeniden şekillendirme, yarık metalloproteinazların ve inhibitörlerinin sentezi ile desteklenir. Kollajen I sentezleme yeteneği, fibroblastların ana ve birleştirici tipik özelliğidir (Sorrell vd. 2009). Dermisin fibroblastları özgüllüğü esas olarak dermisin katmanlarına göre konumlarına göre belirlenen heterojen bir hücre popülasyonudur. Papiller tabakada, retiküler tabakaya kıyasla yüksek enzimatik aktiviteye sahip daha fazla fibroblast vardır. Hem organizmada hem de kültürde ECM'nin spesifik bileşenlerinin ekspresyonunda önemli farklılıklar gözlenmektedir (Rippa vd. 2019).

#### 1.1.4. Hipodermis

Dermisin altında yatan en derin cilt tabakası olan hipodermistir. Subkutan tabaka veya yüzeysel fasya olarak da bilinen hipodermis, deri, kas ve kemikler arasında bir bağlantı dokusu işlevi görür ve sonuç olarak bu tabaka proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar açısından zengindir. Ayrıca, hipodermiste bol miktarda yağ dokusu vücudu sıcak tutmak için ısı yalıtımını sağlar (Jacobsen vd. 1985).

#### 1.2. Yaşlanma Mekanizması

Derideki yaşlanma değişiklikleri iki grupta sınıflandırılabilir:

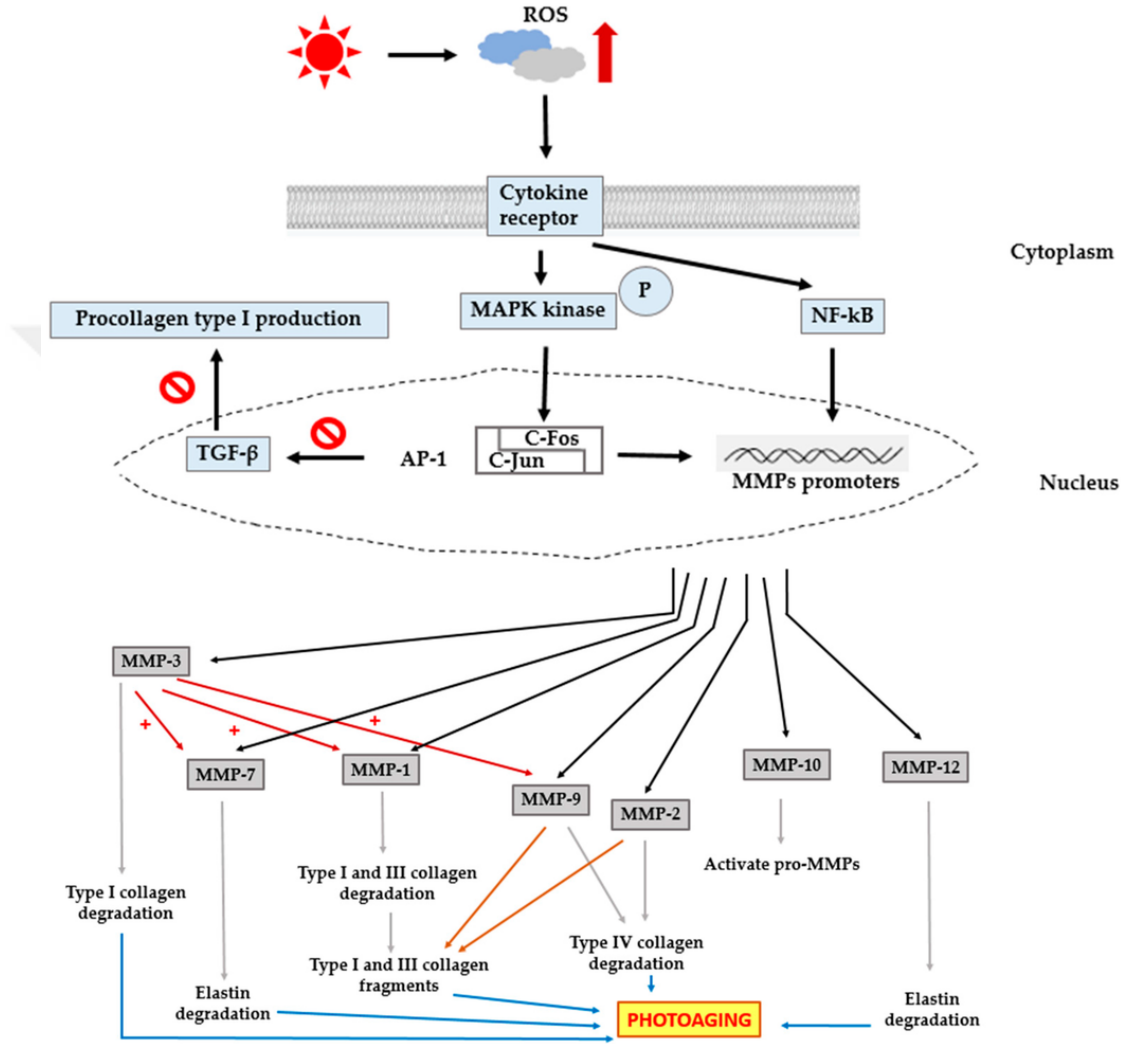
- İçsel yaşlanma: Azalan fizyolojik işlevler ve kapasiteler nedeniyle doğal bir dejeneratif süreçtir.
- Dışsal veya fotoyaşlanma: Çevresel faktörlerin neden olduğu belirgin bir bozulma sürecidir.

##### 1.2.1. Fotoyaşlanma

UV radyasyonu, fotoyaşlanmaya neden olan başlıca çevresel faktördür. UV kaynaklı cilt hasarı için etki spektrumu UVA (320–400 nm) ve UV-B (290–320 nm) olarak ayrılmıştır. UVA ışınları, Dünya yüzeyine ulaşan UV radyasyonunun %95'ini oluşturur ve ozon seviyelerinden çok az etkilenir. Dünya yüzeyine ulaşan UVB miktarı UVA'dan daha azdır ancak yoğunluğu fotoyaşlanma ve cilt kanserine neden olacak kadar yüksektir. Bununla birlikte hem UVA hem de UVB ışınlanması insan derisinde oksidatif stresi indükleyerek geçici ve kalıcı genetik bozulmaya, aktivatör protein (AP-1) aktivitesinin yukarı regülasyonu ve MMP ekspresyonunun artmasına neden olabilir.

Fotoyaşlanma, cilt dokusuna yapısal ve işlevsel destek sağlayan ECM bileşenlerinin birikmesi ve bozulması arasındaki dengedeki bir dengesizlikten kaynaklanır. Kümülatif güneşe maruz kalma, kollajen ve elastin gibi ECM proteinlerinin sürekli bozulmasına ve kollajenin sentez hızının azalmasına neden olur. Kollajen, ECM'deki ve bağ dokusundaki birincil çözünmeyen lifli proteindir. Tip I kolajen, cildin bağ dokusunda bulunan en bol kolajen alt tipidir ve bunu az miktarda tip III kolajen takip eder. Dermiste bulunan fibroblastlar, esas olarak cilde güç ve elastikiyet kazandıran kolajeni sentezler (Pittayapruek vd. 2016).

Kollajen yıkımı normal olarak MMP'ler ve bunların doğal inhibitörlerinin, metalloproteinazların doku inhibitörü (TIMP'ler) aktivitesi ile düzenlenir. Artan MMP aktivitesi, deride yaşa bağlı değişikliklerin gelişimini etkileyen önemli bir faktördür. Fotoyaşlanma mekanizması Şekil 1.3'te detaylı bir şekilde gösterilmektedir.



Şekil 1.3. Fotoyaşlanma mekanizması (Pittayapruek vd. 2016)

### 1.2.2. Güneşten koruyucular

Güneş ışığı, cilt üzerinde çok sayıda önemli biyolojik etki yaratır ve diğer patolojik değişikliklerin yanı sıra fotokarsinogeneze neden olur. Güneşten koruyucular, ultraviyole radyasyonun bu zararlı özelliklerine karşı koruma sağlamak üzere tasarlanmıştır ve kullanımlarını teşvik etmek için halk sağlığı kampanyaları uygulanmıştır. Buna rağmen, en zararlı cilt kanseri olan malign melanomun insidansı ve mortalitesinde sürekli bir artış olmuştur.

### 1.2.3. Güneşten koruyucuların etkileri

Güneş ışığı ve güneşten koruyucular konusu medyada büyük ilgi uyandırmaktadır. Güneş ışığı cilt üzerinde çok sayıda önemli biyolojik etkiyi uyarır; güneş yanığı, fotoyaşlanma, fotokarsinogenez ve immün baskılanmaya neden olur. Hem akademik hem de medya ilgisi, malign melanom insidansındaki sürekli hızlı yükselişe odaklanmakta olup bunun sebebi cilt kanseri türleri arasında en yüksek ölüm oranını taşıması ve daha genç demografiyi etkilemesidir (Skotarczak vd. 2015).

Epidemiyolojik çalışmalar başlangıçta güneş ışığının cilt kanseri için önemli bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur. İlk olarak melanom ekvatorlara yakın yaşayan insanlarda diğer bölgelerde yaşayanlara orantılı olarak daha yaygındır. İkincisi, ultraviyole (UV) ışığını emmek için daha az melanin pigmentine sahip olan cilt tipleri daha fazla risk altındadır. Üçüncüsü, melanom dışı cilt kanserleri ve lentigo maligna melanomu genellikle yüz gibi güneşe maruz kalan bölgelerde bulunur (Oliveria vd. 2006).

Dünyanın yüzeyine ulaşan güneş ışığı, kızılötesi ile gözle görülebilir ve UV ışığına kadar değişen elektromanyetik spektrumun farklı dalga boylarından oluşur. Spektrumun UV kısmı, özellikle UVB ve UVA (280 ila 400 nm arasında) cildimize en çok zarar veren ışınlardır.

UVA, ekvatora ulaşan UV enerjisinin %95'ini oluşturur. Uzun dalga boyu, UVA'nın neden cildin daha derin katmanlarına nüfuz edebileceğini, bazal epidermis hücrelerine daha fazla nüfuz etmeyi açıklamaktadır. Son çalışmalar, UVA'nın kanser patogenezinde anlamlı olmadığı konusundaki önceki inançlarla çelişmiştir, veriler UVA'nın melanomda rol oynadığını göstermektedir. UVA, UVB'nin kanserojen etkilerini güçlendirir ve ciltte kanserojen serbest radikal oluşumunu uyarır.

UVA'nın aksine, cildimize nüfuz eden az miktarda UV ışığı UVB spektrumundadır. Buna rağmen, UVB'nin spesifik özellikleri, melanom, bazal hücre ve skuamöz hücreli cilt kanserlerinin patogenezinde baskın rol oynamaktadır (Gruijl vd. 2001). Bu nedenle, güneş ışığına maruz kalma ve cilt kanseri arasında güçlü bir ilişki olduğu açıktır.

### 1.3. Ferulik Asit

Ferulik asit (FA), düşük toksisite değerleri ve antienflamatuvar (Yin vd. 2019), antioksidan (Graf 1992), antimikrobiyal, antikanser (Gao vd. 2018) ve antidiyabetik (Ohnishi vd. 2004) etki gibi birçok fizyolojik fonksiyonu açısından ilaç sanayinde son yıllarda kullanımı oldukça popüler hale gelen hammaddelerden birisidir. FA etkin madde olarak ilaç sektöründeki kullanım alanlarının yanında gıda ve kozmetik endüstrisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. FA bir buğday atık maddesi olarak atfedilen kepek kısmında yüksek olarak bulunan ve oldukça ucuz, kolay bulunabilen ve kimyasal yöntemlerle ekstrakte edilerek saflaştırılabilen bir bitkisel sekonder metabolittir. Buğdayın kepek fraksiyonundaki konsantrasyonu türe ve cinse bağlı olmak üzere yaklaşık 500-1500 mg/kg civarındadır. FA, ana deri yapıları için koruyucu bir role sahiptir. Bunun yanında melanogenezi inhibe eder, anjiyogenezi artırır ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etkilere sahip olduğu da bilinmektedir (Lin vd. 2010). Göstermiş olduğu tıbbi etkileri ve fizyolojik faydaları nedenleri ile tıbbi olarak kullanımı açısından önemli etkilere sahiptir. FA'in doğal olarak en çok bulunduğu bitkisel ürünler; tam tahıllar, ıspanak, maydanoz, üzüm, ravent ve tahıl tohumlarında bulunmaktadır. Özellikle fitokimyasallar arasında, FA, buğday kepeğinde en bol bulunan fenolik bileşiktir ve gıda endüstrisinde koruyucu madde, jel oluşturucu özellikler, aroma öncüsü, sağlık alanında antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar ve kozmetik sektöründe potansiyel ticari uygulamaları bulunmaktadır. Ayrıca foto koruyucu ajan olarak kullanılabilmeyle birlikte biyo- bazlı polimerlerin hazırlanmasında da kullanılmaktadır (Pazo-Cepeda vd. 2020). FA'in antioksidatif etkisiyle ilgili yapılan bir çalışmada FA'in tek başına kullanılmasında insan fibroblastları üzerinde ısı şok proteinlerini hidrojen peroksitin neden olduğu bozulmadan koruyan etkili bir madde olduğu bildirilerek FA uygulaması ile önemli ölçüde daha fazla hücre sağkalımı ve daha az ROS kaynaklı hasar meydana geldiği sonucuna varılmıştır (Zduńska vd. 2018). Çizelge 1.1'de FA'in temel fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir.

**Çizelge 1.1.** Ferulik asite ait temel fiziksel ve kimyasal özellikler (Pubchem 2004)

<b>Kimyasal Formülü</b>	C10H10O4
<b>IUPAC İsmi</b>	(E)-3-(4-hidroksi-3-metoksifenol) prop-2-enoik asit
<b>CAS Numarası</b>	537-98-4
<b>Molekül Ağırlığı</b>	194,2 g/mol
<b>Renk</b>	Açık sarı
<b>Erime Noktası</b>	168-171°C
<b>Kaynama Noktası</b>	372-373°C
<b>Buhar Basıncı</b>	0.00000269 [mmHg]
<b>Fiziksel Hali</b>	Toz
<b>pKa</b>	4,61

#### 1.4. İlaç Taşıyıcı Sistemler

Son yıllarda, geleneksel dağıtım sistemleri olarak bilinen solüsyonlar, emülsiyonlar, losyonlar, jeller ve aerosollere ek olarak birçok yeni kozmetik dağıtım sistemi piyasaya sürülmüştür. Çoklu emülsiyon sistemleri, veziküler ve partikül sistemleri en sık kullanılan yeni uygulama sistemleri arasındadır. Özellikle nanopartiküler sistemler en çok tercih edilen ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Nanopartiküller, ilaç hedefleme, verme ve salıverme konusunda büyük avantajlar sağlar, tanı ile tedaviyi birleştirmek için ek potansiyelleri ile nanotıpta en önemli araçlardan biri olarak ortaya çıkar. Temel özellikleri Şekil 1.4'te gösterilmektedir. Ana hedefler, biyolojik ortamdaki stabiliteyi geliştirmek, aktif bileşiklerin biyolojik dağılımına aracılık etmek, ilaç yüklemesini, hedeflemeyi, taşımayı, salımı ve biyolojik engellerle etkileşimi iyileştirmektir. Nanopartiküllerin veya bunların bozunma ürünlerinin sitotoksitesi büyük bir problem olmaya devam etmektedir ve biyoyumlulukta gelişmeler açıkça gelecekteki araştırmaların ana kaygısıdır (Tiwari vd. 2012).



**Şekil 1.4.** Nanopartiküllerin temel özellikleri

### 1.4.1. Formülasyonlarda kullanılan taşıyıcı sistemler

Klasik topikal formülasyonlar derinin nemlendirilmesi gibi yüzeysel problemlere çözüm olarak kullanılmaktadır. Ancak günümüzde topikal ürünlerden beklenen etkinin artması nedeniyle lipozom, niozom, mikro kapsül gibi yeni taşıyıcı sistemler ilgi çekmektedirler. Hazırlanan bitmiş ürünlerden beklenen etki etkin maddenin en verimli şekilde emilimidir. Topikal formülasyonlarda kullanılan taşıyıcı sistemler Çizelge 1.2’de verilmektedir.

**Çizelge 1.2.** Topikal formülasyonlarda kullanılan ilaç taşıyıcı sistemler

Emülsiyon Sistemler	Veziküler Sistemler	Partiküler Sistemler
Klasik Emülsiyonlar Çoklu Emülsiyonlar Mikro Emülsiyonlar Nano Emülsiyonlar	Lipozomlar Etazomlar Niozomlar Diğer sistemler	Mikrokapsüller Mikropartiküller Nanokapsüller Naylon Partiküller Katı lipit Nanopartiküller

- Lipozomlar biyolojik zarlara benzerler ve biyolojik olarak parçalanabilirler. Hazırlama yöntemi, kullanılan lipidler kadar lipozomların davranışını da etkilediğinden, hazırlama yöntemi ve lipozomların bileşimi dikkatle seçilmelidir.
- Niozomlar, iyonik olmayan yüzey aktif maddelerden ve kolesteroldan oluşur. Niozomların yapısı, sulu bir bölme çevreleyen eşmerkezli çift tabakaya sahip lipozomlara benzerdirler.

### 1.4.2. Niozomlar

İyonik olmayan amfifillerle belirli sulu çözeltilerde kendi kendine bir araya getirme teknolojisi ile formüle edilen iyonik olmayan yüzey aktif madde vezikülleri (Niozomlar) ilk olarak kozmetiklerin geliştirilmesinde kullanılmıştır. Son yıllarda, eczacılık alanında nanoteknolojilerin gelişmesiyle birlikte, giderek daha fazla çalışma, ilaç dağıtımı için nanotaşıyıcı olarak niozomlara odaklanmıştır. Niozomlar, stabilitelerini ve etkinliklerini arttırmak amacıyla farklı türdeki ilaçları kapsülleme yeteneklerinden dolayı lipozomlara ve polimerozomlara bir alternatif olabilir. Diğer nanopartiküllerin aksine, yapısal olarak lipozomlar, polimerozomlar ve niozomlar birçok benzerliğe sahiptir ve hepsine hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlar yüklenebilir. Bu nedenle, bir kesecik içinde hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçları birlikte verebilirler. Lipozomlarla karşılaştırıldığında, niozomların iyi stabilite, düşük maliyet, kolay formüle edilme ve ölçek büyütme gibi avantajları vardır. Niozomlar çok daha kararlıdır çünkü oluşturan malzemeleri, iyonik olmayan yüzey aktif maddeler hem fiziksel hem de kimyasal kararlılık açısından lipidlerinkinden daha kararlıdır (Durak vd. 2020).

### 1.4.3. Non iyonik sürfaktanların yapısı

Non-iyonik sürfaktarlarda; etilen oksit veya propilen oksit grupları bulunmaktadır. Non-iyonik yüzey aktif maddeler suda çözünen fakat iyonlarına ayrılmayan yüzey aktif maddelerdir. Çözünürlük etkisi etilen oksit ilavesi ile sağlanmaktadır. Sürfaktanların Hidrofil Lipofil Denge (HLB) değerleri Çizelge 1.3'te gösterilmiştir (Bnyan vd. 2018).

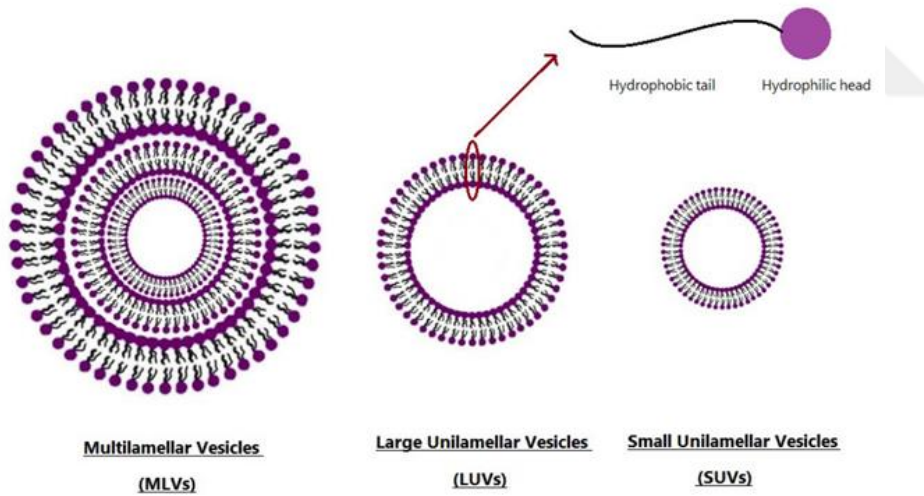
**Çizelge 1.3.** Non iyonik sürfaktanların HLB değerleri (Bnyan vd. 2018)

Sürfaktanlar	HLB Değerleri
Tween 20	16,7
Tween 40	15,6
Tween 60	14,9
Tween 80	15,0
Span 20	8,6
Span 40	6,7
Span 60	4,7
Span 80	4,3

#### 1.4.4. Niozomların yapısı

Niozomların temel yapısal birimlerini anlamak önemlidir, çünkü bu yapılar hangi maddelerin niozom oluşturabileceğini ve dağıtım için ilaçların yükleme mekanizmasını belirleyebilir. Lipozomlara benzer şekilde, niozomlar iki katmanlı yapıya sahip iyonik olmayan yüzey aktif madde vezikülleridir. Hidrofilik kafalar sulu çözeltilerin ve hidrofobik kafalar organik çözeltilerin karşısındadır. İki tabakalı veziküller tek lamelli ve çok lamelli veziküller olarak ikiye ayrılabilir.

Çok katmanlı veziküller, en az 2 çift katmanlı kesecik veya bir veya daha fazla küçük kesecik içeren büyük bir kesecik tarafından oluşturulan eşmerkezli dairelerdir. Bu nedenle, çok katmanlı veziküllerin partikül boyutu genellikle tek katmanlı veziküllerinkinden daha büyüktür. Genellikle, niozomlar mikron altı (kolloidal) boyut aralığında Şekil 1.5'te gösterilmektedir. Küçük tek lamelli veziküllerin (SUV) partikül boyutları yaklaşık 10-100 nm, büyük tek lamelli veziküller (LUV) 100-3000 nm ve çok lamelli veziküller (MLV) 5 µm'den büyüktür (Durak vd. 2020).



Şekil 1.5. Niozom ilaç taşıyıcı sistemlerin yapısı (Durak vd. 2020)

### 1.5. Niozomların Hazırlama Yöntemleri

#### 1.5.1. Proniozom yöntemi ile niozom oluşumu

Kuru niozomlar olarak da adlandırılan proniozomlar, hidrasyondan sonra kısa sürede niozomlara dönüştürülebilen iyonik olmayan yüzey aktif madde veziküllerinin kuru form formülasyonlarıdır ve iyi stabiliteyi nedeniyle artık niozomların

formülasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Proniozomlar, iyonik olmayan yüzey aktif maddelerle kaplanmış suda çözünür bir taşıyıcıdan oluşur ve kullanımdan önce kolayca niozomlara hidratlanır. Bu yöntem, uzun süreli depolama için iyi fiziksel ve kimyasal stabilite, nakliye kolaylığı ve ölçek büyütme kolaylığı gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Ve bu teknoloji, niozomların tabletler ve jel gibi farklı formlarda daha fazla formüle edilmesi için daha fazla seçenek sunabilir. Kapsamlı araştırmalar ayrıca proniozomların oral, parenteral, dermal, transdermal ve oküler gibi farklı yollardan ilaç verme uygulamasında başarılı bir şekilde kullanılabileceğini bildirmiştir. Bu, stabilitelerini geliştirmek için niozomlardaki su içeriğini en aza indirmenin en iyi yoludur ve uzun süreli depolama için bir çözüm sağlayabilir (Ge vd. 2019).

### **1.5.2. Sonikasyon**

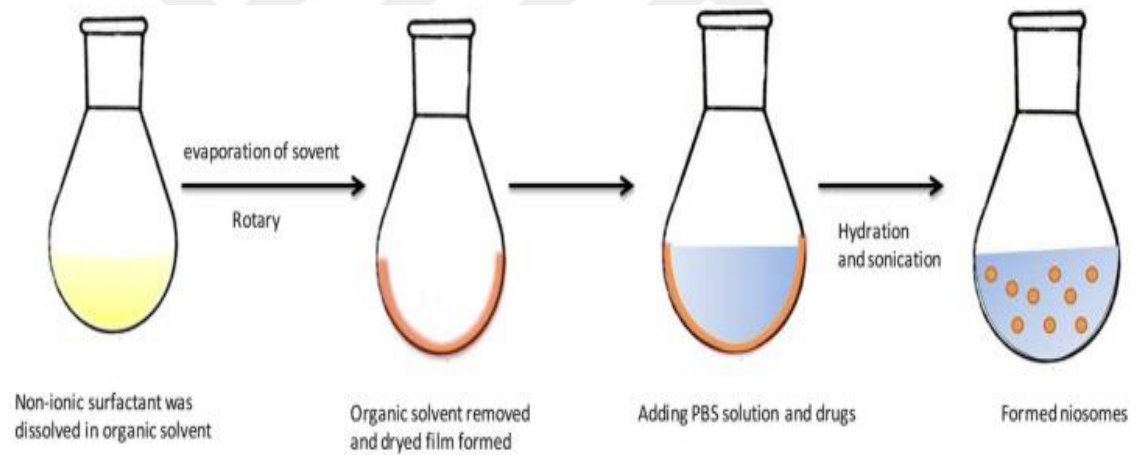
Sonikasyon, niozomların hazırlanması için geleneksel bir yöntemdir. Bu yöntemin çalıştırılması kolaydır. İlaç çözeltisi (tampon içinde), istenen niozomları elde etmek için iyonik olmayan yüzey aktif maddenin uygun karışımına optimize edilmiş oranda basitçe eklenmeli ve ardından belirlenen frekans, sıcaklık ve sürede sonikasyona tabi tutulmalıdır. Bu aynı zamanda niozomların parçacık boyutlarını kontrol etmenin de uygun bir yoludur. Sonikasyon yöntemi dar boyut dağılımı ile niozomların çaplarını azaltabilir. Ancak prob sonikasyonu, yüksek düzeyde enerji kullanımını içerir ve ani bir sıcaklık artışına ve titanyumun dökülmesine neden olabilir (Ge vd. 2019).

### **1.5.3. Mikro akışkanlaştırma yöntemi**

Mikro akışkanlaştırma, alkol ve su gibi iki tür akışkanın mikrokanallarda karıştırılmasıyla niozomların formülasyonu için yeni bir yöntemdir. Niozomlar, karıştırma koşulları, yüzey aktif maddeler ve diğer malzemeler gibi parametreler optimize edilerek istenen parçacık boyutları ve boyut dağılımı ile formüle edilebilir. Niozomların mikro-akışkanlaştırma yöntemiyle formülasyonu yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikro akışkanlaştırma yöntemlerinin daha küçük boyutlarda niozom oluşumu, daha iyi tekrarlanabilirlik ve formülasyon kolaylığı gibi avantajları nedeniyle son yıllarda niozom formülasyonunda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntem, niozomların endüstriyel gelişimi için umut verici bir yol olarak kabul edilir (Ge vd. 2019).

#### 1.5.4. İnce film hidrasyon yöntemi

İnce film hidrasyonu (TFH), lipozomların hazırlanmasında en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntem, niozomların formülasyonunda da kullanılabilir. Membran oluşturan malzemelerin bir balon içinde organik bir çözücü içinde çözülmesini içeren basit bir yöntemdir. Organik çözücü vakumla buharlaştırılarak uzaklaştırıldıktan sonra balonun içinde kuru bir ince film tabakası oluşur. İlaç, su veya tampon gibi sulu çözelti içinde çözülür ve ardından kuru filmi hidratlamak için ilave edilir. Niozomlar oluşturmak için bir su banyosunda yüzey aktif maddenin geçiş sıcaklığının üzerinde inkübe edilir. TFH yöntemiyle hazırlanan niozomlar çok katmanlı veziküllerdir (MLV). Bazen bu teknik, dar boyut dağılımına sahip niozomları elde etmek için sonikasyon ile kullanılır. Bu yöntem, insülin, doksorubisin ve diğer özler gibi ilaçlarla yüklü niozomları formüle etmek için yaygın olarak kullanılmakta olup ilgili yöntemin uygulanmasına yönelik bir görsel Şekil 1.6'da sunulmaktadır (Ge vd. 2019).

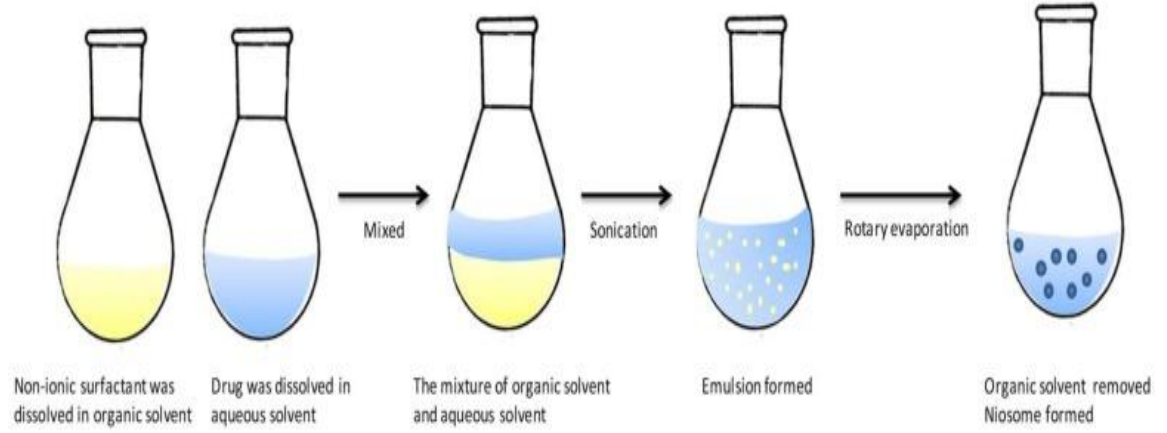


Şekil 1.6. İnce film hidrasyon yöntemi (Ge vd. 2019)

#### 1.5.5. Ters fazlı buharlaşma yöntemi

Ters fazlı buharlaştırma yöntemi, iyonik olmayan yüzey aktif maddenin ve diğer katkı maddelerinin organik bir çözücü içinde çözülmesini içerir. Yüklenen ilaç, su veya PBS gibi sulu bir çözelti içinde çözülür ve daha sonra sonikasyon altında bir emülsiyon oluşturmak için organik faza eklenir. Organik çözücü, niozomları oluşturmak için 40–60°C'de bir döner vakumlu buharlaştırıcı ile uzaklaştırılır. TFH yöntemi ile karşılaştırıldığında, REV yöntemi ile hazırlanan veziküller, tek lamelli veya oligo lamelli

yapılarda ve homojen boyutta nano parçacıklar verebilmekte olup ilgili yöntemin uygulanmasına yönelik bir görsel Şekil 1.7’de sunulmaktadır.



**Şekil 1.7.** Ters fazlı buharlaşma hazırlanması (Ge vd. 2019)

### 1.5.6. Diğer niozom ilaç taşıma yöntemleri

Niozomların hazırlanması için eter enjeksiyonu, misel solüsyonu, transmembran pH gradyanı ve ısıtma yöntemi gibi bazı diğer geleneksel yöntemler de kullanılır. Bu yöntemler, lipozomların formülasyon yöntemlerine benzerdir. Lipozomların formülasyonu ile karşılaştırıldığında, sürfaktanların lipidlere kıyasla iyi stabilitesi nedeniyle niozomların hazırlanması çok daha kolaydır. Ayrıca membran kontaktör yöntemi, ölçek büyütme için uygun bir yoldur (Ge vd. 2019).

## 2. KAYNAK TARAMASI

Cilt yaşlanma süreçlerinin engellenmesi, çağdaş kozmetik ve estetik tıpta temel konulardan biridir. Birçok araştırma FA'in cilt bariyeri korunması açısından önemli olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar FA'in özellikle keratinositler, fibroblastlar, kolajen ve elastin gibi ana deri yapıları için koruyucu bir role sahip olduğunu kanıtlamıştır. Ayrıca melanogenezi inhibe ettiğini, anjiyogenezi artırdığını ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etkilere sahip olduğu da yapılan çalışmalar sonucunda bilinmektedir. Göstermiş olduğu tıbbi etkileri ve fizyolojik faydaları nedenleri ile tıbbi olarak kullanımı açısından önemli etkilere sahip olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Özellikle buğday kepeği içerisinde en bol bulunan fenolik bileşiktir. Foto koruyucu ajan olarak kullanılabilirlikle birlikte biyobazlı polimerlerin hazırlanmasında da kullanılmaktadır. Zduńska ve arkadaşlarının FA'in antioksidatif etkisiyle ilgili yapmış olduğu çalışmada FA'in tek başına kullanılmasında insan fibroblastları üzerinde ısı şok proteinlerini hidrojen peroksitin neden olduğu bozulmadan koruyan etkili bir madde olduğu bildirilerek ferulik asit uygulaması ile önemli ölçüde daha fazla hücre sağkalımı ve daha az ROS kaynaklı hasar meydana geldiği sonucuna varılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar göstermektedir ki, FA sadece ek bir bileşik olarak değil, aynı zamanda antioksidatif özelliklere sahip bir aktif bileşen olarak da kullanılmaktadır (Yin vd. 2019; Ohnishi vd. 2004; Lin vd. 2010; Gao vd. 2018; Pazo-Cepeda vd. 2020; Zduńska vd. 2018; Oresajo vd. 2008).

Staniforth ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada FA'in tirozinaz aktivitesini (melanogeneze rol oynayan bir enzim) inhibe ettiği ve melanositik proliferasyonu inhibe ettiği için cilt rengini açan preparatlarda da kullanıldığı bildirilmektedir. Bezerra ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma da ise FA'in cilt bakımı formülasyonlarında ciltte ışıqla yaşlanma süreçlerinin geciktiricisi ve ışık koruyucu ajan olarak yaygın şekilde uygulandığı bildirilmektedir. Ayrıca topikal bir antioksidan olarak uygulanması, yüksek lokal konsantrasyon ve düşük kütanöz metabolizma nedeniyle önemli bir uygulama yolu haline gelmiştir. Dahası, lokal FA hem asidik hem de nötr pH'da, ayrılmış ve ayrılmamış formda deriye derinlemesine nüfuz eder. Ayrıca fenolik antioksidanlar üzerine yapılan araştırmalar, FA'in L-askorbik asit ve  $\alpha$ -tokoferol preparatlarının kimyasal stabilitesini iyileştirdiğini ve dolayısıyla ışık koruma özelliklerini artırdığını da göstermiştir. FA yüz maskelerinin yanı sıra antioksidan, koruyucu ve nemlendirici kremler/losyonların

üretiminde de kullanılmaktadır. Cilde iyi nüfuz etme, birçok kozmetik formülle uyumluluk ve diğer bileşenlerin stabilize etme özellikleri, FA'ı kozmetikte giderek daha fazla kullanılan bir bileşik haline getirir. Şimdiye kadar yapılan araştırmalar, FA'in, hücrel yapıları koruyucu rolü ve melanogenezin inhibisyonu ile doğrudan ilgili olan güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğunu açığa çıkarmaktadır (Staniforth vd 2012; Bezerra vd. 2017; Saija vd. 1999; Sadick, Karcher vd 2009; Huang vd. 2012).

Bu tez çalışmasında kozmetik açıdan yüksek etkileri olduğu bilinen FA'in uygun niozom formülasyonları denenerek etkisini yüksek derecede arttırması ve istenilen özelliklerde bir ürün elde edilmesi hedeflenmiştir. Bunun için başlangıçta cilt yaşlanma süreçlerinin iyi anlaşılması çok önemlidir. Cilt yaşlanması hem iç hem de dış faktörleri içeren karmaşık bir süreçtir. Dış faktörleri ele alırsak öncelikle ultraviyole (UV) radyasyona maruz kalmaktan kaynaklanırken, deride derin çizgiler ve kırışıklıklar ve hiperpigmentasyon ile kaba ve pürüzlü sonuçlar gösterir. Berton ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ışıkla yaşlanan cildin, kolajen liflerinin önemli ölçüde bozulmasıyla ilişkilendirilen matris metaloproteinaz enziminin (MMP'ler) aktivitelerini artırdığını gösterilmiştir. Bu nedenle, MMP-2 aktivitesinin engellenmesi, cilt kalitesindeki değişiklikler, cilt hidrasyonu, elastikiyet, kalınlık, pürüzlülük ve cilt pigmentasyonu gibi görünümle cilt yaşlanmasını değerlendirmek için önemli parametrelerdir (Berton vd. 2000; Fisher vd 1997).

Güneş kremleri, cildi bu zararlı etkilere karşı korumak için tasarlanmış topikal ürünlerdir ve kullanımı önem taşımaktadır. Peres ve arkadaşları güneş kremlerinde hidroksisinamik asitler sınıfından bir fenolik bileşik olan FA içeren antioksidanların eklenmesi, güneş koruyucu faktörlerini (SPF) iyileştirebilir ve enflamatuvar reaksiyonlarını önlenebilir olduğunu göstermiştir (Peres vd. 2018).

Birçok ülke son zamanlarda kozmetik ürünleri formüle etmek için birçok hammaddeyi ithal etmekte ve çok fazla bütçe harcamaktadır. Ekonomik açıdan da büyük bir pazar payına sahip olan kozmetik sektörü bu konularda yeterli araştırma ve argeye sahip olan ülkelere yıllardır büyük kazançlar kazandırmaktadır. Niozomlar ise bu sektörde son yıllarda araştırmaların odağında bir ilaç taşıma sistemi olarak popülerleşmiştir. Yeni bir teknoloji olmasından dolayı hala soru işaretlerine sahip bir sistem olsa da çok sayıda avantajı olduğu kanıtlanmıştır. Niozomlar yüksek stabilite diğer

sistemlere göre daha az maliyet ve yüksek verimliliği açısından önemli bir ilaç taşıma sistemi olduğu bilinmektedir. Rezaeirosan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada FA'in niozom taşıma sistemi içerisinde taşınabildiği kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda FA'in niozom taşıma sistemi ile taşınarak ciltte emilimini arttırmak için potansiyel bir yöntem olduğu tespit edilmiştir (Waddad vd 2013; Rezaeirosan vd. 2020).

Bu çalışmalar ele alındığında FA ve niozom kombinasyonunun istenilen amaçlara hizmet etmesi için uygun bir materyal olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışması kapsamında yaşlılığın moleküler boyutunun incelenmesinin yanında etkin bir fotoyaşlanma karşıtı doğal bir antioksidan ürünün de geliştirilmesi konusunda temel çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Kullanım Amaçları

Tez çalışmaları kapsamında kullanılan kimyasallar ve kullanım amaçları Çizelge 3.1’de sunulmaktadır.

**Çizelge 3.1.** Kullanılan kimyasallar ve kullanım amaçları

<b>Kimyasallar</b>	<b>Kullanım Amaçları</b>
<b>Span 60</b>	Niozom formülasyonunun hazırlanması için gerekli bir yüzey aktif madde olarak kullanılmıştır.
<b>Tween 60</b>	Niozom formülasyonunun hazırlanması için gerekli bir yüzey aktif madde olarak kullanılmıştır.
<b>Kolesterol</b>	Niozom formülasyonunun hazırlanması için gerekli bir madde olarak kullanılmıştır.
<b>Ferulik asit</b>	İlgili maddenin analitik standartlarının HPLC cihazında kalibrasyon tabloları oluşturulmasında, seçicilik, tespit sınırı, tayin sınırı ve geri kazanım çalışmalarında kullanılmıştır. Aynı zamanda ilgili analitik standart farklı derişimlerde hazırlanarak foto-yaşlanma önleyici etki değerlendirme çalışmaları sırasında kullanılmıştır.
<b>Sodyum dodesil sülfat</b>	Hazırladığımız preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde Poliakrilamid jel için kullanılmıştır.
<b>Bromofenol mavisi</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu Belirlemek için yapılan deneyde poliakrilamid jel için kullanılmıştır.
<b>Sodyum azid</b>	Hazırladığımız preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.
<b>Coomassie Brilliant blue</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonunu belirlemek için yapılan deneyde hücreleri boyamak için kullanılmıştır.
<b>TritonX -100</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.

Çizelge 3.1'in devamı

<b>MTT Formazan</b>	Hazırlanan preparatların UV koruyucu etkisini belirlemek için yapılan deneyde kültür çalışmalarında kullanılmıştır.
<b>Kalsiyum klorür</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.
<b>Dulbecco's Fosfat Buffer Salin (DPBS)</b>	Hazırlanan preparatların UV koruyucu etkisini belirlemek için yapılan deneyde kültür çalışmalarında kullanılmıştır.
<b>Jelatin</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.
<b>Akrilamid</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.
<b>Ammonium peroxodisulfate</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.
<b>TEMED</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.
<b>N, N'-(1,2-Dihydroxyethylene) bisakrilamid</b>	Hazırlanan preparatların MMP inhibisyonu belirlemek için yapılan deneyde kullanılmıştır.

### 3.1.1. Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltilerin Hazırlanması

#### ➤ Stok Ferulik Asit Hazırlanması

- 500 ml MeOH/Kloroform çözeltisi (1/1 v/v) hazırlanmıştır (Çözelti A).
- 200 mg FA tartılarak 100 ml cam şişeye konulmuştur.
- Üzerine 80 mL çözelti A konulmuştur (Stok FA).

#### ➤ Hücre Kültürü Ortamının Hazırlanması

500 ml olan DMEM High Glucose (4.5 g/L) with L-Glutamine şişesinden 70 mL alınmış ve şişede kalan 430 ml DMEM üzerine 50 ml Fetal Bovin Serum (FBS) eklenmiştir. Ardından şişeye 5 mL Sodyum pirüvat, 5 mL Non-Essential Amino Asit (100X), 5 mL Pen-Strep (100X) ve 5 mL Anti-Anti (100X) ilave edilmiştir. Şişe dikkatli bir şekilde karıştırılmış ve +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Kullanılacağı zaman şişeden tüpe 50 mL alınmış ve 37 °C de ısıtıldıktan sonra kullanılmıştır.

➤ **Hücre Dondurma Ortamı Hazırlanması**

%80 hücre kültürü ortamı ve geri kalan %20’ si Dimetil Sülfoksit (DMSO) olacak şekilde hazırlanmıştır. 0,22 µm’lik filtreden geçirilmiş ve -20°C’de muhafaza edilmiştir.

➤ **MTT Solüsyonunun Hazırlanması**

0,02 gram tartılan toz MTT 15 mL ışık geçirmeyen tüpün içerisine konulmuş ve üzerine 10 mL PBS eklenerek vorteks yardımıyla çözünmesi sağlanmıştır. Ardından karanlık bir ortamda 0,22µm filtereden geçirilmiştir. Işıktan korunacak şekilde +4 °C’de 2 hafta saklanabilmektedir.

➤ **1 M Tris-HCl Çözeltisinin Hazırlanması**

121,14 gram Tris 700 mL ddH<sub>2</sub>O içinde çözündürülmüştür. pH: 7,4'e ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlanmıştır.

➤ **1.5 M Tris-HCl Çözeltisinin Hazırlanması**

181,71 gram Tris 700 mL ddH<sub>2</sub>O içinde çözündürülmüştür. pH: 8,8'e ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlanmıştır .

➤ **0.5 M Tris-HCl Çözeltisinin Hazırlanması**

60,57 gram Tris 700 mL ddH<sub>2</sub>O içinde çözündürülmüştür. pH: 6,8' e ayarlanarak son hacim 1 L'ye tamamlanmıştır.

➤ **1 M CaCl<sub>2</sub> Çözeltisinin Hazırlanması**

147,02 gram tartılan CaCl<sub>2</sub> 800 mL ddH<sub>2</sub>O da çözündürülmüş ve son hacim 1 L'ye tamamlanmıştır.

➤ **%10 SDS Çözeltisinin Hazırlanması**

10 gram SDS 90 mL ddH<sub>2</sub>O içerisinde yavaşça karıştırılarak çözündürülmüş ve son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında saklanmıştır.

➤ **%10 APS Hazırlanması**

0,10 gram Amonyum persulfat 1 ml ddh<sub>2</sub>o da çözündürülmüştür. Her deney için taze hazırlanmıştır.

➤ **%30 Akrilamid / Bis Çözeltisinin Hazırlanması**

290 gram akrilamidi ve 10 gram bis akrilamid tartılarak 600 ml ddH<sub>2</sub>O içinde karıştırıcı yardımıyla çözündürülmüştür. Ardından hacim 1 L'ye tamamlanmıştır. Karanlık bir ortamda +4°C'de saklanmıştır.

➤ **Jelatin Çözeltisinin Hazırlanması**

0,1 gram tartılan jelatin 10 ml ddH<sub>2</sub>O içerisinde 60°C'de çözündürülmüştür. Kullanmadan önce soğuması beklenmiştir. Kullanmadan önce jelatin solüsyonunu oda sıcaklığına soğutulmuştur. Jelatin çözeltisi yapıldıktan hemen sonra kullanılmıştır.

➤ **5X İndirgeyici Olmayan Örnek Tamponu Hazırlanması**

5X İndirgeyici Olmayan Örnek Tamponu Çizelge 3.2'de belirtildiği şekliyle hazırlanmıştır. Dört birim protein örneği ve bir birim hazırlanan tampon ile karıştırılarak son konsantrasyon 1X olarak örnekler hazırlanmış ve jelle yüklenmiştir.

**Çizelge 3.2.** 5X non-reducing sample buffer (pH 6,8) bileşimi

<b>Final Konsantrasyon</b>	250 mL
<b>4% SDS</b>	10 g
<b>20% Gliserol</b>	100% içerisinde 50 ml
<b>0.01% Bromofenol mavisi</b>	0,025 g
<b>125 mM Tris-HCl</b>	4,91 g
<b>H<sub>2</sub>O</b>	200 mL

➤ **Yıkama Tamponu Hazırlanması (pH 7,5)**

Yıkama Tamponu Çizelge 3.3'teki şekilde hazırlanmıştır. Tampon proteinin yeniden katlanmasına izin vererek SDS'i jelden uzaklaştırma mantığıyla çalışır.

**Çizelge 3.3.** Washing buffer (pH 7.5) bileşimi

<b>Final Konsantrasyon</b>	250 mL
<b>2.5% Triton X-100</b>	100% içerisinden 6,25 mL
<b>50 mM Tris HCl</b>	1 M stoktan 12,5 mL
<b>5 mM CaCl<sub>2</sub></b>	2 M stoktan 625 µL
<b>1 µM ZnCl<sub>2</sub></b>	0,1 M stoktan 2,5 µL
<b>H<sub>2</sub>O</b>	228 mL + 2 mL 2% NaN <sub>3</sub>

➤ **İnkübasyon Tamponu Hazırlanması**

Yıkama Tamponu Çizelge 3.4'te gösterildiği şekilde hazırlanmıştır. Oda koşullarında saklanmıştır.

**Çizelge 3.4.** İnkübation buffer (pH 7,5) bileşimi

<b>Final Konsantrasyon</b>	250 mL
<b>1% Triton X-100</b>	100% içerisinden 2,5 mL
<b>50 mM Tris-HCl</b>	1 M stoktan 12,5 mL
<b>5 mM CaCl<sub>2</sub></b>	1 M stoktan 1250 ml CaCl <sub>2</sub>
<b>1 µM ZnCl<sub>2</sub></b>	0,1 M stoktan 2,5 µL
<b>H<sub>2</sub>O</b>	233 mL + 2 mL 2% NaN <sub>3</sub>

➤ **Boyama Çözeltisi Hazırlanması**

200 ml metanol (MeOH), 50 ml Asetik asit ve 250 ml ddH<sub>2</sub>O bir cam şişeye alınıp karıştırıcıya alınmıştır. Ardından üzerine 0,5 gr Commansie brillant mavisi eklenerek homojen bir karışım elde edene kadar karıştırıcıya bırakılmıştır. Oda koşullarında saklanmıştır.

### ➤ Destaining Çözeltisi Hazırlanması

200 ml Metanol, 50 ml Asetik asit ve 250 ml ddH<sub>2</sub>O homojen bir karışım elde edinceye kadar karıştırıcıya alınmıştır. Oda koşullarında saklanmıştır.

### 3.2. Ferulik Asit Analizleri

Fenolik asitlerin belirlenmesi kapsamında buğday örneklerinde fenolik asitlerin analizi (Cengiz vd. 2020) tarafından bildirilen bir HPLC yöntembazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiş olup, Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6’da ilgili yöntem ekstraksiyon aşamaları gösterilmektedir.

**Çizelge 3.5.** Ferulik asit ekstraksiyon aşamaları

<b>Ferulik asit ekstraksiyon aşamaları</b>	
<b>Homojenizasyon</b>	50-gram buğday örneği tartılıp, öğütülmüştür.
<b>Tartım</b>	Öğütülmüş örnekten 1-gram tartılmıştır.
<b>Hidrolizasyon</b>	30 mL 0.5 M NaOH eklenmiştir.
<b>Sonikasyon</b>	Sonikasyon 60°C’de 37 kHz’de 120W 23 dk boyunca uygulanmıştır.
<b>Nötralizasyon</b>	3N HCl ile pH=7’ye ayarlanmıştır.
<b>Ekstraksiyon</b>	30 mL Etanol eklenip manyetik karıştırıcıda 5 dakika bekletilmiştir.
<b>Filtrasyon</b>	Çözelti filtre kağıdından süzülerek, süzüntü 0,45 µm şırınga ucu filtreden geçirilmiştir.
<b>Dilüsyon</b>	HPLC viali içerisine 3 kat metanol ile dilüe edilerek analize hazır hale getirilmiştir.

- Elde edilen ekstrakt aşağıda metodik koşulları verilen HPLC cihazında analiz edilmiştir.

**Çizelge 3.6.** HPLC cihazı analitik koşulları

<b>HPLC cihazı analitik koşulları</b>	
<b>Cihaz</b>	Agilent 1200
<b>Dedektör</b>	Diode Array Dedector
<b>Kolon</b>	ODS3 Intersil column (250 mm x 4,6 mm x 5µm)
<b>Akış hızı</b>	1 mL min <sup>-1</sup>
<b>Kolon sıcaklığı</b>	30 °C
<b>Dalga boyu</b>	319 nm
<b>Elüsyon profili</b>	Izokritik A: %2,5 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> O- H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (aq) pH 3'e ayarlanmıştır
<b>Enjeksiyon hacmi</b>	10 µL

### 3.3. Niozom İlaç Taşıma Sisteminin Hazırlanması

Niozomal veziküller, Kassem ve arkadaşları (Kassem vd. 2017) tarafından bildirilen film hidrasyonu yönteminde bazı değişiklikler yapılarak üretilmiştir. Belirtilen yöntemde göre, farklı miktarlarda Span 60, kolesterol ve FA, 250 mL'lik yuvarlak tabanlı bir şişede 20 mL metanol ve kloroform (1:1, v/v) içerisinde çözündürülmüştür. Şişe FA'in bozulmasını önlemek için alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Organik faz, balonun içinde ince bir kuru film oluşturmak için 60°C'de ve 100 rpm'de bir döner buharlaştırıcı (Heidolph, Almanya) ile vakum altında buharlaştırılmıştır. Tween 60, 20 mL ılık suda (60°C) çözündürülerek filme eklenmiştir. Veziküllerin daha iyi oluşumunu sağlamak için şişede 15 adet cam boncuk kullanılmıştır. Yüzey aktif madde içeriği tüm formülasyonlarda aynı (300 mg) olacak şekilde ayarlanmıştır. Oluşan veziküller, niozom elde etmek için 45 dakika boyunca 70°C ve 250 rpm'de çalkalanmıştır. Niozomların hazırlanmasından sonra, dispersiyon oda sıcaklığında bırakılıp ardından 10 dakika (30 saniye açık- 30 saniye kapalı) prob sonikatöre tabi tutulmuştur. Niozomlar farklı HLB değerlerinde hazırlanmıştır. Hazırlanan niozom formülasyonları Çizelge 3.7'de verilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Hazırlanan niozom formülasyonları

Formülasyon Kodu	HLB	FA	Kolesterol
0	12	0,00	90,00
1	10,00	2,00	5,910
2	10,00	2,00	174,09
3	10,00	2,00	90,00
4	10,00	3,68	90,00
5	12,00	3,00	140,00
6	6,63	2,00	90,00
7	12,00	3,00	40,00
8	10,00	2,00	90,00
9	10,00	0,318	90,00
10	10,00	2,00	90,00
11	8,00	3,00	140,00
12	10,00	2,00	90,00
13	12,00	1,00	40,00
14	12,00	1,00	140,00
15	10,00	2,00	90,00
16	8,00	1,00	40,00
17	13,36	2,00	90,00
18	8,00	1,00	140,00
19	10,00	2,00	90,00
20	8,00	3,00	40,00

### 3.4. İnsan Derisi Fibroblast Hücrelerinde Sitotoksik Testler

Bu çalışmalar kapsamında deneme materyali olarak kullanılacak olan FA ve üretilen preparatların farklı konsantrasyonları hazırlanarak fibroblast (Bj) hücrelerinde sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. İlgili çalışmalar (Manosroi, Chutoprapat, Abe, Manosroi vd. 2012) tarafından bildirilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Kısaca,  $1 \times 10^4$  insan derisi fibroblastları (6. pasaj), 96 kuyucuklu plakadaki her bir kuyucuğa toplam 200  $\mu\text{L}$  hacimde eklendi ve %5'lik bir CO'da  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat boyunca plakaya hücrelerin tutunması için bırakılmıştır. Hücreler daha sonra ekstraktların beş seri konsantrasyonunun 20  $\mu\text{L}$ 'si (0,001-10 mg/mL) ile muamele edilmiş ve 24 saat boyunca aynı durumda tutulmuştur. İnkübasyon süresi dolan hücrelerin medyumunu dökülmüş 30  $\mu\text{L}$ /kuyucuk olacak şekilde çoklu pipet ile MTT konulmuştur. MTT çıkarıldıktan sonra, 100  $\mu\text{L}$ /kuyucuk DMSO' da 30 dk oda sıcaklığında bırakılmıştır. Absorbanslar, 540 nm'de bir

mikroplaka okuyucu tarafından okunmuştur. Ek olarak bu deneyde yöntemde değişiklik yapılarak SRB testi yerine MTT kullanılmıştır.

### **3.5. Ferulik Asit ve Preparatlarının Fotoyaşlanma İnhibisyonu Etkisinin Belirlenmesi**

Proje kapsamındaki etkisi araştırılacak preparatların fotoyaşlanma etkisini inhibe etme potansiyeli MMP aktivitesini ölçülmesi ile belirlenmiştir. MMP aktivitesi ışıkla yaşlanan cildin, kolajen liflerinin önemli ölçüde bozulmasıyla ilişkilendirilen matris metaloproteinaz enzimi olarak isimlendirilmekte olup, bu aktivitenin belirlenmesi fotoyaşlanmanın bir belirteci olarak öngörülmektedir (Berton vd 2000) İlgili aktivite testi (Manosroi vd. 2012) tarafından bildirilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Belirtilen yöntemle göre kültüre edilen fibroblast hücrelerine sitotoksikite çalışmalarında belirtildiği şekilde çalışılması seçilen preparatların farklı konsantrasyonları ilave edilerek ve toplamda 200 µL olan çözeltiliye 3 mL FBS içermeyen DMEM eklenmiştir. Plaka 24 saat inkübe edilerek üst faz alınacak ve MMP aktivitesi (Wu vd. 2008) tarafından bildirilen vertikal jel elektroforezi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.6. Seçilen Preparatların UVB Koruyucu Etkisinin Belirlenmesi**

Seçilen preparatların UVB koruyucu etkisini belirlenmesi Patwardhan ve arkadaşları (Patwardhan vd. 2015) tarafından bildirilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar kapsamında UVB lambalar kullanılmıştır. Lambalar kültüre edilen insan fibroblast hücreleri üzerine 30 cm mesafeden 1,12 saniye değerlerinde uygulanmış olup ve uygulama süreleri sonucunda MTT testi gerçekleştirilerek preparatların UV maruziyeti altındaki hücrelerde koruyucu etkileri değerlendirilmiştir. MTT testinin uygulanmasında  $5 \times 10^4$  sayıdaki hücreler 96 well plate içine ekimleri gerçekleştirilerek inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda hücreler DPBS ile yıkayıp UVB ışığına maruz bırakılmıştır. Maruziyet sonucunda hücreler MTT reaktifi kullanılarak yeniden inkübe edildi. Süre sonunda 570 nm dalga boyundaki eliza cihazında absorbans değerleri tespit edilmiştir.

### 3.7.1. Partikül boyutu ve yükünün belirlenmesi

Bu çalışmalar dinamik ışık saçılma (DLS) yöntemine göre bir Zetasizer (Nano ZS system, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.7.2. İlaç yükleme veriminin belirlenmesi

Bu çalışmalarda 1,5 ml hacminde hazırlanan niozom dispersiyonu soğutmalı ultrasantrifüj cihazı kullanılarak 17000 devir/dk'da +4°C de 90 dakika santrifüj edilecek ve süre sonunda üst faz tüpten alınarak FA yönünden analiz edilmiştir. Elde edilen sonuç aşağıdaki formüle göre değerlendirilerek yükleme verimi tespit edilmiştir.

$$\text{İlaç yükleme verimi} = \frac{\text{Toplam ferulik asit düzeyi} - \text{Üst fazda tespit edilem ferulik asit düzeyi}}{\text{Toplam ferulik asit düzeyi}} \times 100$$

### 3.7.3. pH ve görünüş değerlendirilmesi

İlaç yükleme verimine göre seçilen preparatların pH değerleri bir pH-metre cihazında  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$  de belirlenmiştir. Hazırlanan niozomlar  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$  de ve  $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$  de 6 ay boyunca saklanmış, preparatların zamana ve sıcaklığa bağlı pH değişimleri ile görünüşleri değerlendirilmiştir.

### 3.7.4. İstatistiksel çalışma

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analiz değerlendirmesi için Minitab 17 sürümü kullanılmıştır.

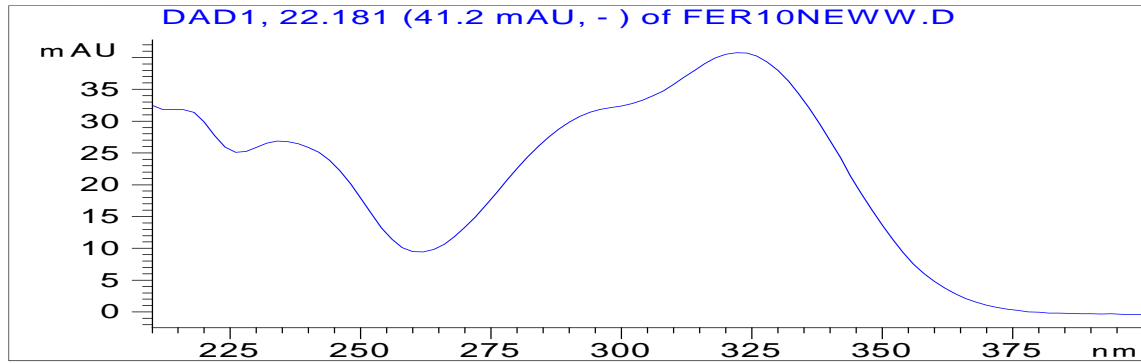
#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

FA bir buğday atık maddesi olarak atfedilen kepek kısmında yüksek olarak bulunan ve oldukça ucuz, kolay bulunabilen ve kimyasal yöntemlerle ekstrakte edilerek saflaştırılabilen bir bitkisel sekonder metabolittir. Buğdayın kepek fraksiyonundaki konsantrasyonu türe ve cinse bağlı olmak üzere yaklaşık 500-1500 mg/kg civarındadır. Bu proje kapsamında ferulik asidin standart formu kullanılarak uygun niozomlar içinde taşınması yoluyla ultraviyole ve fotoyaşlanma koruyucu özellikleri değerlendirilmiştir.

#### 4.1. Ferulik Asit Etkin Maddesi Tanımlamasına Yönelik Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

##### 4.1.1. Etkin madde Ferulik asit için UV spektrumunun incelenmesine ait bulgular

Etkin madde FA için etanol içerisinde çekilen UV spektrumlarında, en yüksek absorpsiyon değerinin 319-335 nm dalga boyu aralığında olduğu görülmüştür. Tespit edilen maksimum dalga boyu aralığı olan 319-335 nm'nin FA etken maddesi için Razboršek ve arkadaşlarının literatürde bildirdiği dalga boyuna uygun olduğu sonucuna varılmış olup elde edilen UV spektrumu Şekil 4.1'de gösterilmiştir (Razboršek vd. 2021).

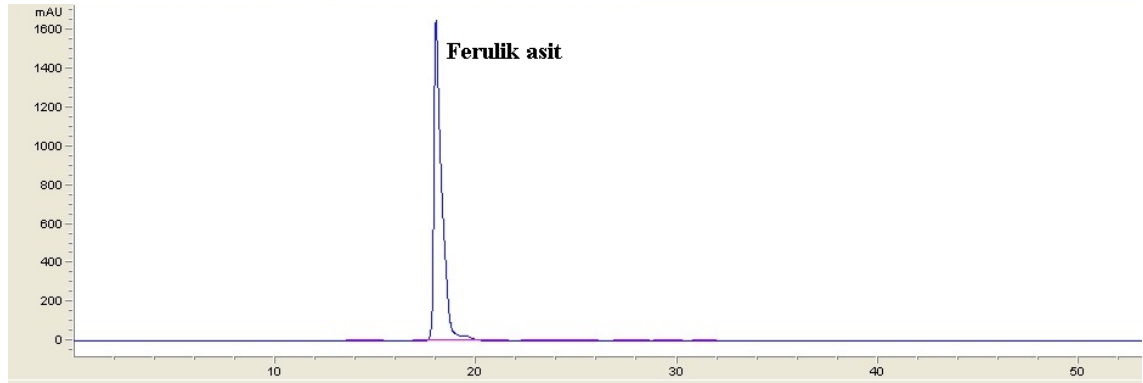


Şekil 4.1. Ferulik asite ait UV spektrumu

##### 4.1.2. Ferulik asit kromatografik analizleri

FA'nın analizi ve miktar tayini yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak Bölüm 3.2.'de bildirildiği şekilde tayin edilmiştir. Optimum sonuçlar için yapılan çalışmalarda farklı mobil faz oranları ve akış hızları denenmiştir. Optimum şartlar altında gerçekleştirilen numune analizlerinde Şekil 4.2'de belirtilen kromatogram elde edilmiştir.

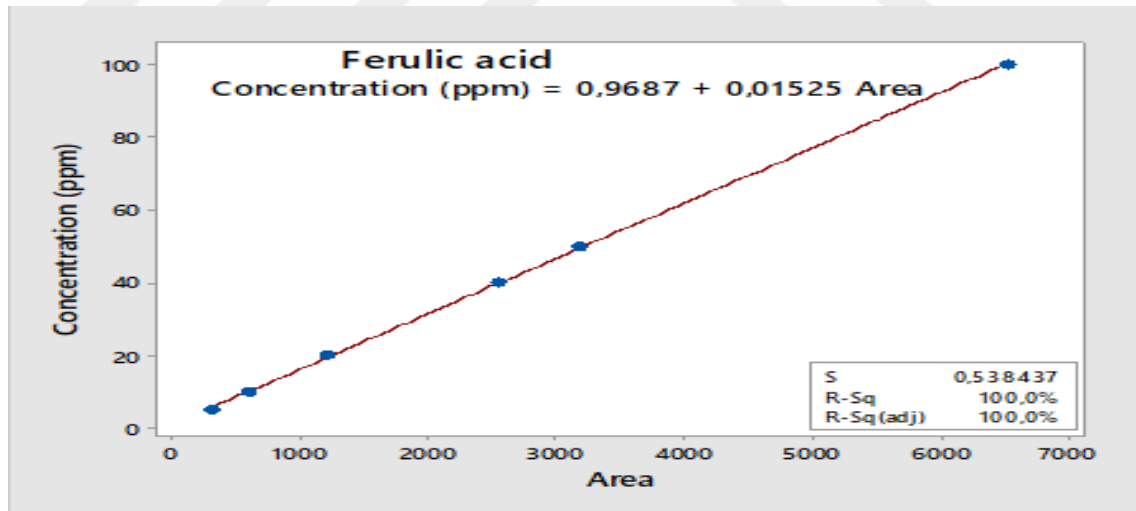
#### 4.1.3. Etkin madde ferulik asit için miktar tayinine ait bulgular



Şekil 4.2. Ferulik asidin HPLC analizi sonucunda elde edilen kromatogram

#### 4.1.4. Etkin maddenin HPLC yöntemi ile standart doğrusunun çizilmesi

Miktar tayini çalışmalarında kullanılmak üzere FA'in kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda hazırlanan FA belirtilen şartlar altında HPLC sistemine enjekte edilmiş ve uygulanan konsantrasyon değerine karşılık cihazın vermiş olduğu pik alanları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu çerçevede elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.3'te sunulmaktadır.

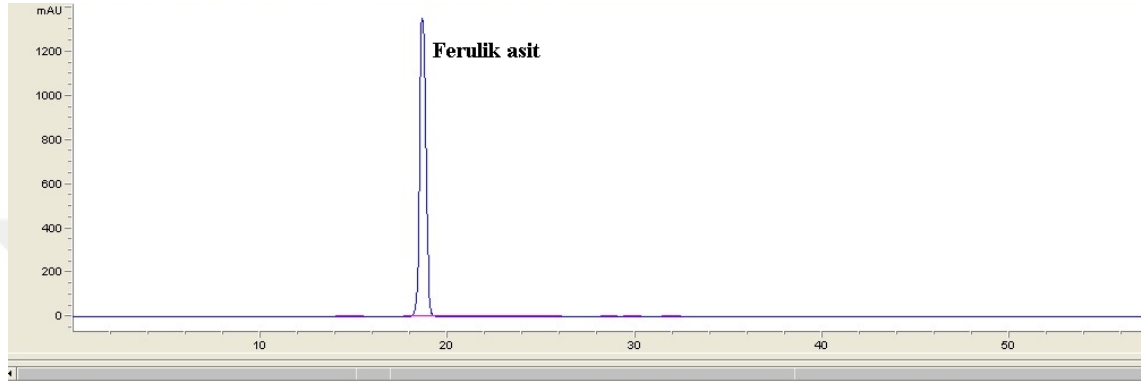


Şekil 4.3. Ferulik aside ait kalibrasyon grafiği

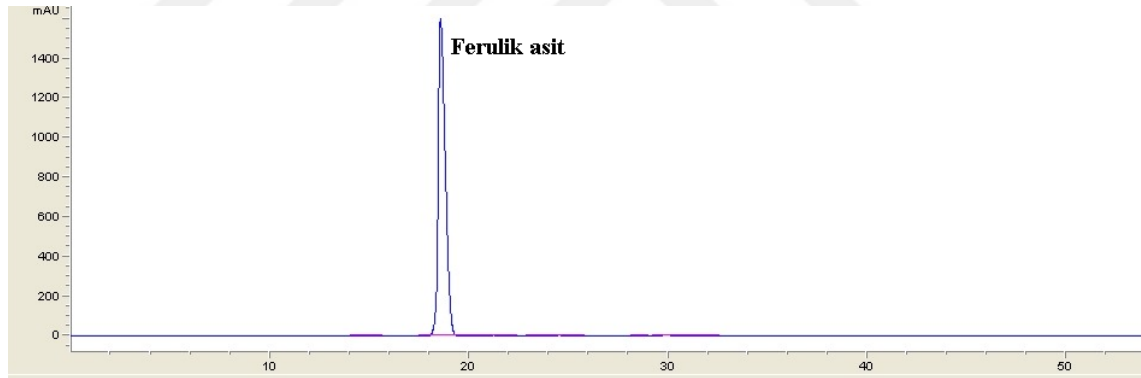
#### 4.2. Niozom ilaç taşıma sisteminin hazırlanması

Hazırlanan niozomlar 3.3.'te bildirilen yöntem kullanılarak hazırlanmıştır. Formülasyon geliştirme çalışmaları kapsamında, birden fazla formülasyon deneme çalışması yapılmıştır. Rezaeirosan ve arkadaşlarının yapmış olduğu formülasyonlar

temel alınıp geliştirilmekle birlikte biz ayrıca FA miktarlarını değiştirerek optimum formülasyonları enkapsülasyon verimine göre belirlenmiştir (Rezaeirosan vd. 2020). Formülasyon deneme çalışmaları detaylı olarak Çizelge 3.7’de sunulmaktadır. Yapılan formülasyon denemelerine HPLC metodu kullanılarak miktar tayini analizleri gerçekleştirilmiştir. Seçilen formülasyonlara ait kromatogram sonuçları Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’te sunulmaktadır.



**Şekil 4.4.** Nio-1 ait Ferulik asit ait içeren niozomal preparata ait HPLC kromatogramı



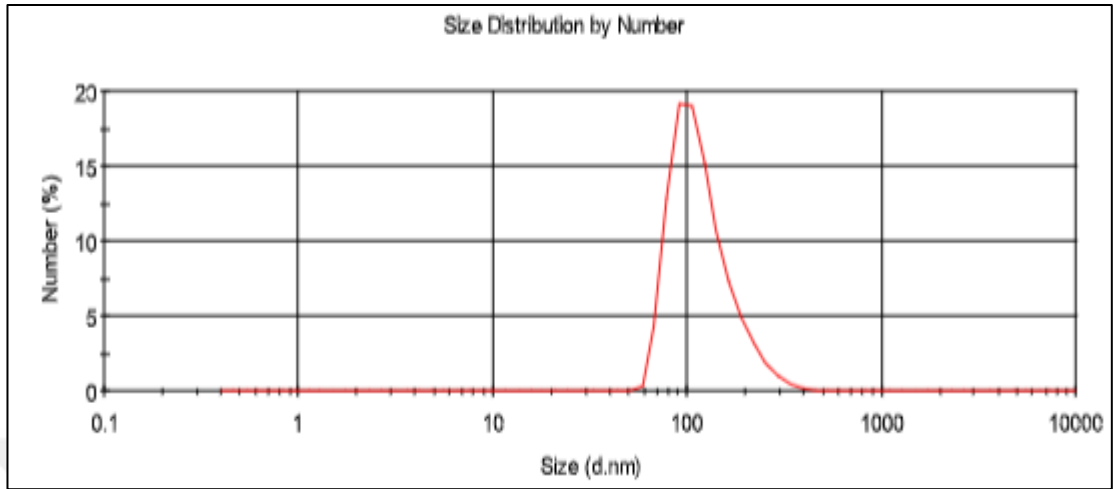
**Şekil 4.5.** Nio-2 ait Ferulik asit içeren niozomal preparata ait HPLC kromatogramı

### 4.3. Hazırlanan Niozomal Preparatların Karakterizasyonu

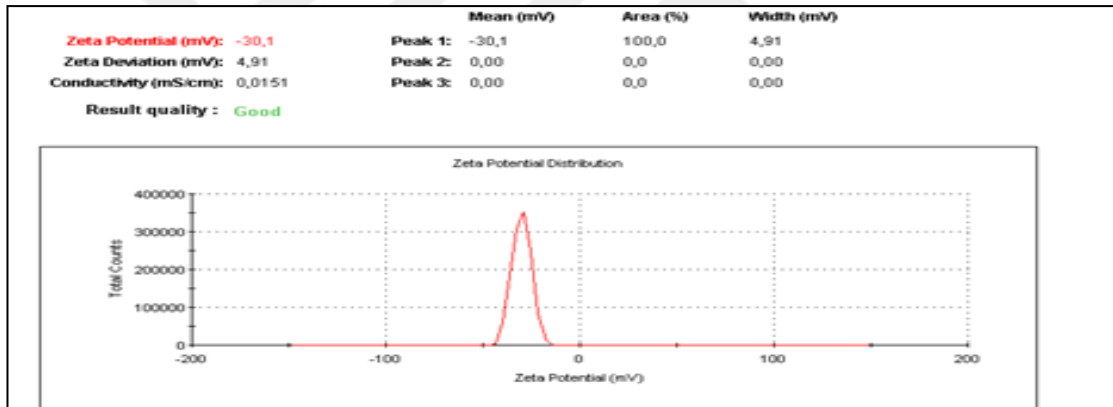
#### 4.3.1. Partikül boyutu ve zeta potansiyelinin belirlenmesi

Bu çalışmalar 3.7.’te belirtildiği şekliyle gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki grafiklerde yer almaktadır. Niozomal preparatların cilt bariyerlerinden geçebilecek boyut aralığında (100-200 nm) ve zeta potansiyelinin beklenen aralıkta olduğu Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de gösterilmektedir. Büyük negatif veya pozitif zeta potansiyel değerleri, veziküller arasında itici etkileşimi indükler ve böylece veziküllerin toplanmasını önler (Avadhani vd. 2017). Buna göre, bu çalışmada, tüm formülasyonların zeta potansiyelinin,

veziküllerin fiziksel stabilitesi için kabul edilebilir bir değer olarak kabul edilen -30 mV'den den az olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.6. Optimum niozom formülasyonuna ait partikül boyutu değerleri

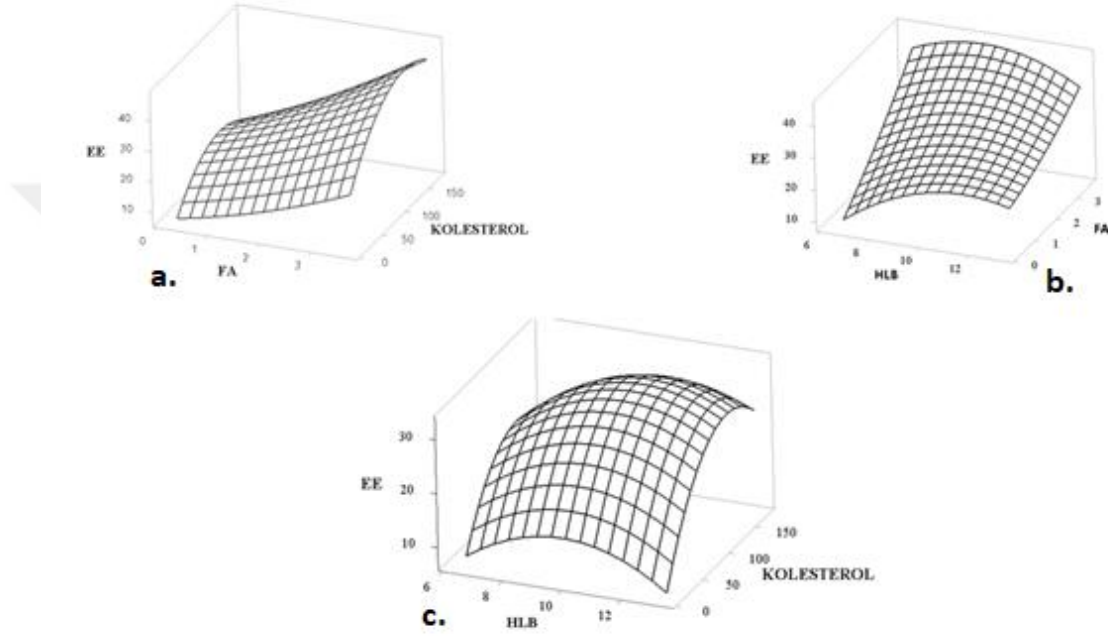


Şekil 4.7. Optimum niozom formülasyonuna ait zeta potansiyel (ZP) değerleri

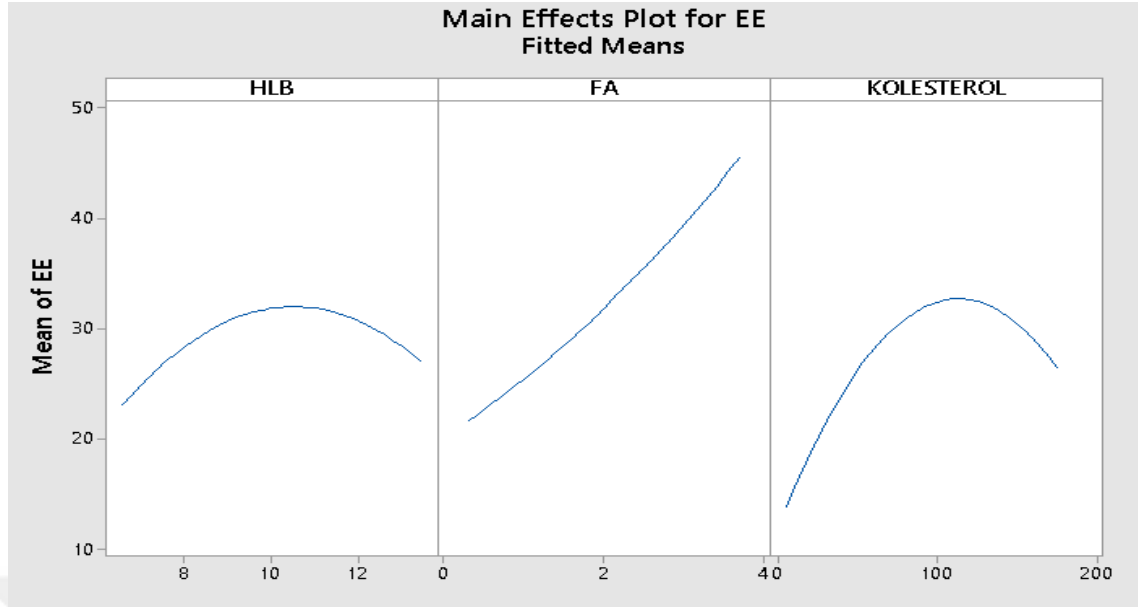
#### 4.3.2. İlaç yükleme veriminin belirlenmesi

Bu çalışmalar Bölüm 3.7.2.'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda optimum ilaç yükleme verimi %42,73 olarak bulunmuştur. Rezaeirosan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda optimum ilaç yükleme verimi %21.64 olarak bulunmuş olup, bu değer tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçların altında kalmıştır (Rezaeirosan vd. 2020). Literatürde benzer çalışma olmaması ve FA'in taşıma sistemi olmadan ciltten emilim oranının düşük olması nedeniyle geliştirilmiş olduğumuz niozom formülasyonu FA'in deriden geçişi için önem taşımaktadır. Enkapsülasyon veriminin kolesterol miktarı, FA miktarı ve HLB değerine etkisi Şekil 4.8'de Merkezi

Kompozit Tasarım (CCD) ait kontür grafikleri ile verilmiştir. Kontür grafikleri sonucunda FA miktarının formülasyona etki ettiği bunun yanında HLB değerinin 8-12 aralığında daha iyi enkapsülasyon verimi verdiği, kolesterol miktarının ise 100-140 aralığında daha iyi enkapsülasyon verimi verdiği gösterilmiştir. Şekil 4.9'da ise kolesterol miktarı, FA miktarı ve HLB değerinin ayrı ayrı enkapsülasyon verimi üzerine etkileri gösterilmiştir.



**Şekil 4.8.** a) Kolesterol içeriği ile Ferulik asit miktarı arasındaki etkileşimin % Enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisini gösteren kontür grafiği; b) Ferulik asit miktarı ile sürfaktan HLB değeri arasındaki etkileşimin % Enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisini gösteren kontür grafiği; c) Kolesterol içeriği ile sürfaktan HLB değeri arasındaki etkileşimin % Enkapsülasyon verimi üzerindeki etkisini gösteren kontür grafiği



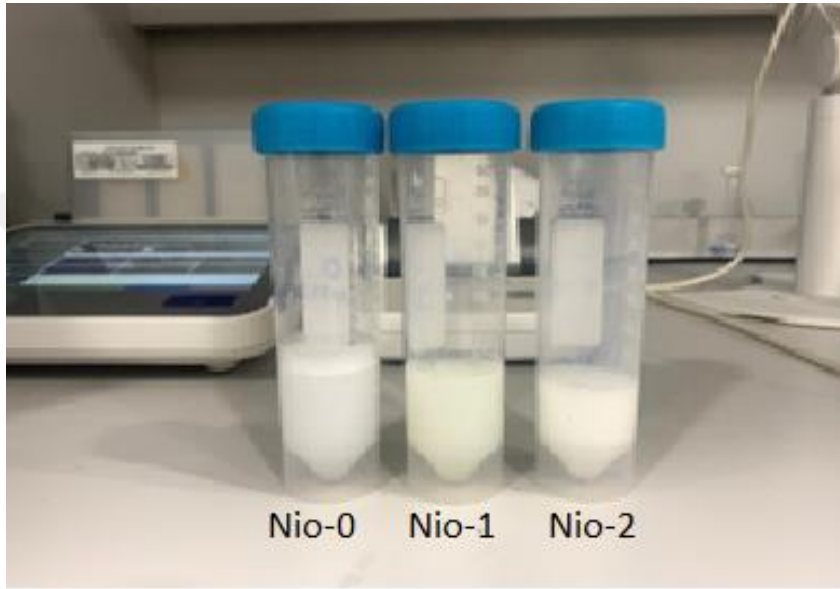
**Şekil 4.9.** Ferulik asit miktarı, HLB değeri ve kolesterol miktarının enkapsülasyon verimi üzerindeki ayrı ayrı etkisi

#### 4.3.3. Zamana bağlı pH ve görünüş değişimi

Cildin pH'ı normalde asidiktir, pH değerleri 4-6 arasında değişirken, vücudun iç ortamı nötre yakın bir pH'ı 7-9 arasında normaldir. Bu, SC ile alttaki epidermis ve dermis arasında 2-3 birimlik dik bir pH gradyanı oluşturur. Asidik bir cilt yüzeyinin fizyolojik rolü, tarihsel olarak istilacı organizmalara karşı bir savunma mekanizması olarak düşünülmüştür. Daha yakın zamanlarda, yetkin bir cilt bariyerinin sentezi ve bakımında yer alan birkaç anahtar enzimin pH'dan büyük ölçüde etkilendiği gösterilmiştir. Bu nedenle, cildin işlevi ve bütünlüğü ile ilgili olarak pH önemli bir parametredir (Ali vd. 2013). Hazırlamış olduğumuz preparatların cilde uygulanması için uygun pH aralığında olması gerekmektedir. Tespit edilen sonuçlar pH aralığının literatürde belirtilen pH aralığı ile uyum içinde olduğuna işaret etmektedir. Hazırlanan preparatlar arasındaki zamana bağlı pH değişimleri Çizelge 4.1'de sunulmaktadır. Seçilen preparatların görünüşleri ise Şekil 4.10'da sunulmaktadır.

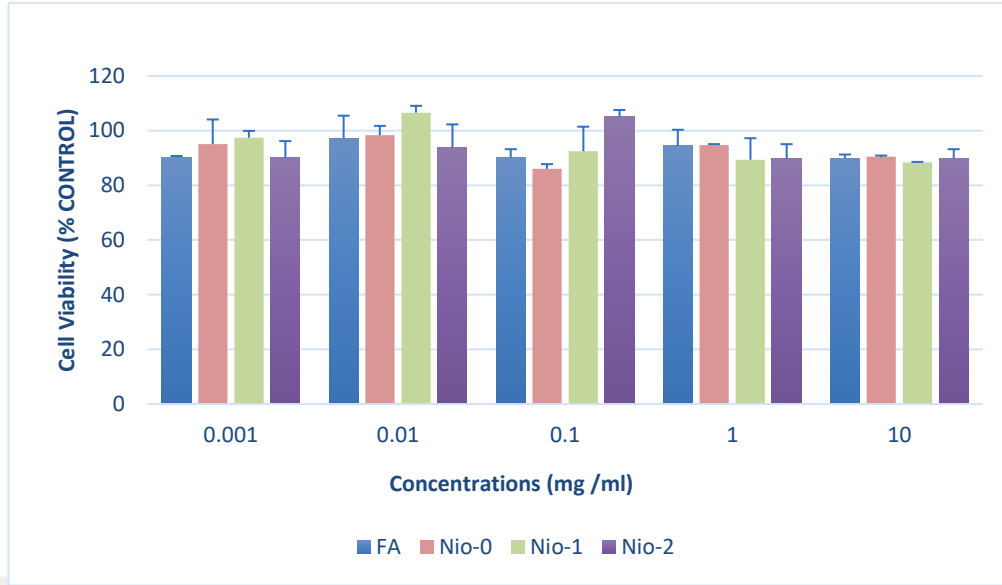
**Çizelge 4.1.** Seçtiğimiz formülasyonların pH değerleri

Numune Adı	pH t0	25 ± 0,5°C' de pH 6.ay	4 ± 0,5°C'de pH 6.ay
Nio-0	6,92	6,60	6,70
Nio-1	5,96	5,44	5,93
Nio-2	5,62	5,17	5,58

**Şekil 4.10.** Seçilen niozomal preparatların görünüşleri

#### 4.4. İnsan Derisi Fibroblast Hücrelerinde Sitotoksik Testler

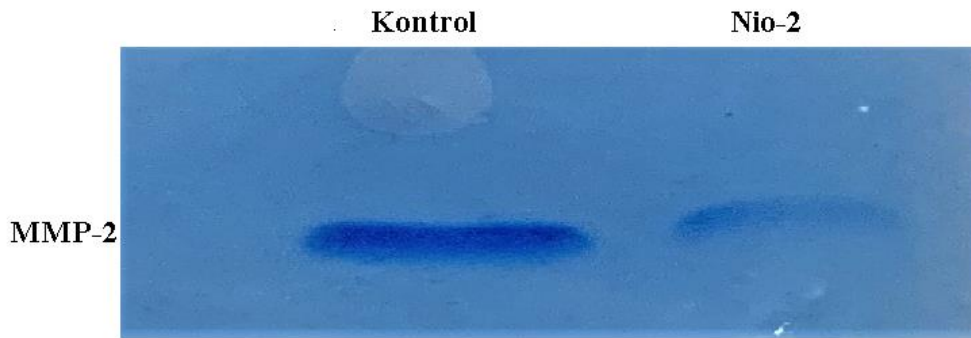
Sitotoksikite çalışmaları Bölüm 3.2.'de belirtildiği şekliyle gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada özetle ekstraktlar 5 seri konsantrasyon olacak şekilde (0.001-10 mg/mL) insan derisi fibroblast hücreleri üzerine uygulanmış ve uygulanan dozlar numunelerde toksik etki göstermemiştir. Deneyler sonucunda FA, Nio-0, Nio-1 ve Nio-2'nin insan derisi fibroblast hücreleri üzerinde MTT sonuçları Şekil 4.11'de sunulmaktadır. Tüm formülasyonlar için hücre canlılığı kontrolden daha düşük olmasına rağmen, test edilen numunelerin hiçbirinde sitotoksik seviyelere ulaşılmadığı sonucuna varılmıştır.



**Şekil 4.11.** Ferulik asit ve seçilen niozomal preparatların sitotoksosite sonuçları

#### 4.5. Ferulik Asit ve Preparatlarının Fotoyaşlanma İnhibisyonu Etkisinin Belirlenmesi

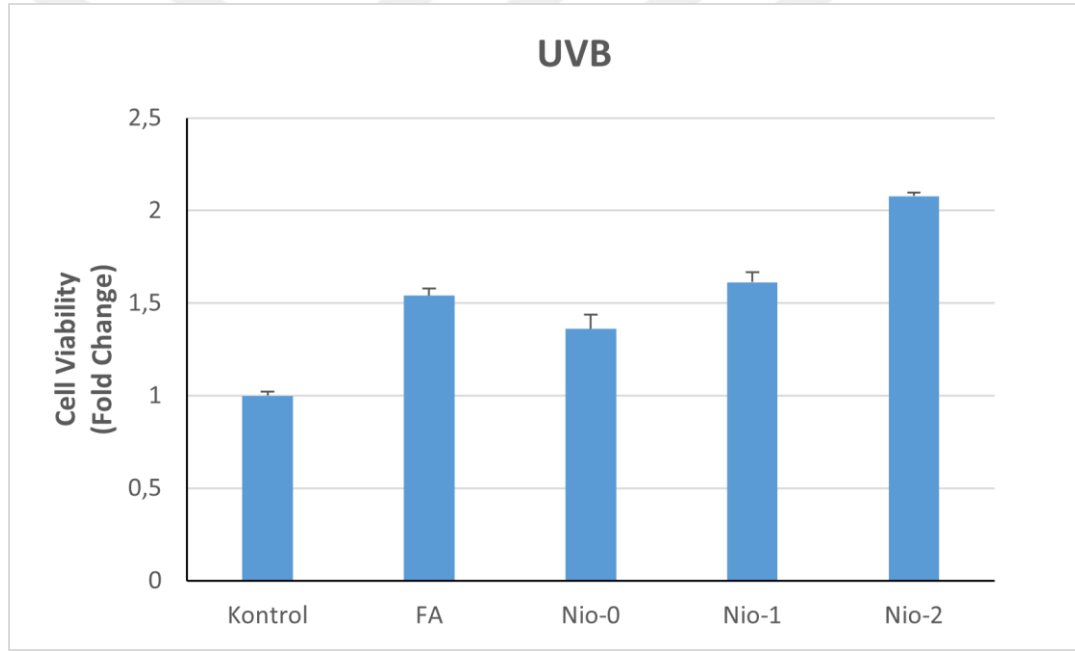
Bilindiği gibi, serbest radikaller cilt yaşlanmasının nedenlerinden biridir. Birçok antioksidan bu radikalleri temizleyebilir. Ek olarak, MMP-2 ciltte kollajeni bozabilen anahtar enzimlerden biridir. Bu nedenle, bu enzimi inhibe edebilen herhangi bir bileşik, cilt kolajeninin bozulmasını yavaşlatarak cilt yaşlanması sürecini inhibe edebilecektir. FA antioksidan özelliğinden dolayı cilt bakım ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Zduńska vd. 2018). Bu çalışmamızda FA içeren seçilmiş Nio-2 niozomal preparat insan derisi fibroblast hücreleri üzerinde kontrol grubuna göre Şekil 4.12’de görülen şekilde daha yüksek MMP-2 inhibisyonu belirlenmiştir.



**Şekil 4.12.** Optimum niozomal preparata ait MMP-2 jelatin zimograf görüntüsü

#### 4.6. Hazırlanan Preparatların UV Koruyucu Etkisinin Belirlenmesi

UVB ışınına maruz kalmanın cildin antioksidan savunma kapasitesini tükettiği bilinmektedir. FA'nın antioksidan özellikleri sayesinde UVB radyasyonuna bağlı fotokarsinogenezi önlediği tespit edilmiştir (Ambothi vd. 2015). Bu nedenle FA içeren niozomal preparatların UVB hasarını azaltması tezin ana amacı olan fotoyaşlanmayı önlemek için önem taşımaktadır. Şekil 4.13'te FA ve FA içeren niozomal preparatların insan derisi fibroblast hücreleri üzerinde UVB hasarı karşısında kontrol grubuna göre daha az etkilendiği görülmüştür. Grafikte gösterildiği gibi en yüksek enkapsülasyon verimine sahip Nio-2'nin kontrol grubuna göre hücre canlılığını 2 katına çıkardığı ve en yüksek hücre canlılığına sahip olduğu bulunmuştur. Bu sayede hazırlanmış olduğumuz FA içeren niozomal preparatların UVB hasarını önlediği kanıtlanmıştır.



Şekil 4.13. Ferulik asit ve niozomal preparatların UV koruyucu etkisinin belirlenmesi

## 5. SONUÇLAR

Güneş ışınlarının cildimize verdiği zararlar özellikle son yıllardaki araştırmalar sonucunda toplumda farkındalık bilinci kazanmıştır. Günümüzde bu zararlı ışınlardan korunmak için başta güneş kremleri olmak üzere pek çok ürün kullanılmaktadır. Ancak kozmetik olarak satılan pek çok güneş koruyucu ürünün cilt sağlığına yararının yanında pek çok zararı olduğu keşfedilmiştir. Ayrıca bu ürünlerin çoğunun cildin alt katmanları tarafından emilimi az olduğu için etkin bir fayda sağlanamamaktadır. Bu bilgiler ışığında tez çalışmamız kapsamında UV koruyucu etkisi literatürde geniş olarak bildirilen ferulik asidin niozom teknolojisi ile birleştirilerek emilimi yüksek ve toksisitesi olmayan etkin bir formülasyon geliştirilmiştir.

Sunulan tez çalışmaları çerçevesinde öncelikle FA'e uygun niozom formülasyonu belirlenmiş ve ardından yaşlanma karşıtı ve UV koruma üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, FA'in niozom ilaç taşıma sistemleri içerisinde taşınarak fotoyaşlanma ve güneş koruyucu olarak etkisinin olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, literatürde belirtilen çalışmaları destekler nitelikte tez çalışmaları neticesinde elde edilen verilerin FA'in yaşlanmayı geciktirici ve ultraviyole önleyici kozmesötik bir ürüne dönüştürülebileceğine işaret etmektedir. Böylelikle un endüstrisinin bir yan ürünü formunda ve ekonomik bir hammadde olan FA'in katma değeri yüksek bir ürün formuna dönüştürülebileceği gösterilmiş olup benzer birtakım materyallerden aynı şekilde gerek sağlık gerekse kozmetik sektöründe kullanabilecek hammaddeler için ürün formuna dönüştürülebilme imkanlarının ele alınmasına yönelik öncü bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen formülasyonların daha sonrasında jel krem formlarında kullanılmak üzere ticarileşmesi ve ekonomiye katkılar sağlaması ümit edilmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Ali, S. M., & Yosipovitch, G. (2013). Skin pH: from basic science to basic skin care. *Acta dermato-venereologica*, 93(3), 261-269.
- Ambothi, K., Prasad, N. R., & Balupillai, A. (2015). Ferulic acid inhibits UVB-radiation induced photocarcinogenesis through modulating inflammatory and apoptotic signaling in Swiss albino mice. *Food and Chemical Toxicology*, 82, 72-78.
- Avadhani, K. S., Manikkath, J., Tiwari, M., Chandrasekhar, M., Godavarthi, A., Vidya, S. M., & Mutalik, S. (2017). Skin delivery of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and hyaluronic acid loaded nano-transfersomes for antioxidant and anti-aging effects in UV radiation induced skin damage. *Drug delivery*, 24(1), 61-74.
- Baumann, L. (2008). Understanding and treating various skin types: the Baumann Skin Type Indicator. *Dermatologic clinics*, 26(3), 359-373.
- Bennet, D., Viswanath, B., Kim, S., & An, J. H. (2017). An ultra-sensitive biophysical risk assessment of light effect on skin cells. *Oncotarget*, 8(29), 47861.
- Berton, A., Godeau, G., Emonard, H., Baba, K., Bellon, P., Hornebeck, W., & Bellon, G. (2000). Analysis of the ex vivo specificity of human gelatinases A and B towards skin collagen and elastic fibers by computerized morphometry. *Matrix Biology*, 19(2), 139-148.
- Bezerra, G. S. N., Pereira, M. A. V., Ostrosky, E. A., Barbosa, E. G., de Moura, M. d. F. V., Ferrari, M., Aragão, C. F. S., & Gomes, A. P. B. (2017). Compatibility study between ferulic acid and excipients used in cosmetic formulations by TG/DTG, DSC and FTIR. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 127(2), 1683-1691.
- Bnyan, R., Khan, I., Ehtezazi, T., Saleem, I., Gordon, S., O'Neill, F., & Roberts, M. (2018). Surfactant effects on lipid-based vesicles properties. *Journal of pharmaceutical sciences*, 107(5), 1237-1246.
- Cengiz, M. F., Babacan, U., Akinci, E., Tuncer Kesci, S., & Kaba, A. (2020). Extraction of phenolic acids from ancient wheat bran samples by ultrasound application. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*.
- Durak, S., Esmaili Rad, M., Alp Yetisgin, A., Eda Sutova, H., Kutlu, O., Cetinel, S., & Zarrabi, A. (2020). Niosomal drug delivery systems for ocular disease recent advances and future prospects. *Nanomaterials*, 10(6), 1191.

- Fisher, G. J., Wang, Z. Q., Datta, S. C., Varani, J., Kang, S., & Voorhees, J. J. (1997). Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N Engl J Med*, 337(20), 1419-1428.
- Gao, J., Yu, H., Guo, W., Kong, Y., Gu, L., Li, Q., Yang, S., Zhang, Y., & Wang, Y. (2018). The anticancer effects of ferulic acid is associated with induction of cell cycle arrest and autophagy in cervical cancer cells. *Cancer cell international*, 18, 102-102.
- Graf, E. (1992). Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 435-448.
- de Gruijl, F. R., van Kranen, H. J., & Mullenders, L. H. (2001). UV-induced DNA damage, repair, mutations and oncogenic pathways in skin cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 63(1-3), 19-27.
- Huang, W. Y., Chao, X. J., Ouyang, Y., Liu, A. M., He, X. X., Chen, M. H., ... & Pi, R. B. (2012). Tacrine-6-Ferulic Acid, a Novel Multifunctional Dimer Against Alzheimer's Disease, Prevents Oxidative Stress-Induced Neuronal Death Through Activating Nrf2/ARE/HO-1 Pathway in HT22 Cells. *CNS neuroscience & therapeutics*, 18(11), 950.
- Jacobsen E, Billings JK, Frantz RA, et al. Agerelated changes in sebaceous wax ester secretion rates in men and women. *J Invest Dermatol* 1985; 85:483–5.
- Kahraman, E., Kaykın, M., Şahin Bektay, H., & Güngör, S. (2019). Recent advances on topical application of ceramides to restore barrier function of skin. *Cosmetics*, 6(3), 52.
- Kassem, M. A., El-Sawy, H. S., Abd-Allah, F. I., Abdelghany, T. M., & El-Say, K. M. (2017). Maximizing the Therapeutic Efficacy of Imatinib Mesylate–Loaded Niosomes on Human Colon Adenocarcinoma Using Box-Behnken Design. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106(1), 111-122.
- Lin, C.-M., Chiu, J.-H., Wu, I. H., Wang, B.-W., Pan, C.-M., & Chen, Y.-H. (2010). Ferulic acid augments angiogenesis via VEGF, PDGF and HIF-1 $\alpha$ . *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(7), 627-633.
- Manosroi, A., Chutoprapat, R., Abe, M., Manosroi, W., & Manosroi, J. (2012). Anti-aging efficacy of topical formulations containing niosomes entrapped with rice bran bioactive compounds. *Pharmaceutical Biology*, 50(2), 208-224.
- Murphrey, M. B., Miao, J. H., & Zito, P. M. (2018). *Histology*, stratum corneum.

- Ohnishi, M., Matuo, T., Tsuno, T., Hosoda, A., Nomura, E., Taniguchi, H., Sasaki, H., & Morishita, H. (2004). Antioxidant activity and hypoglycemic effect of ferulic acid in STZ-induced diabetic mice and KK-Ay mice. *Biofactors*, 21(1-4), 315-319.
- Oliveria, S. A., Saraiya, M., Geller, A. C., Heneghan, M. K., & Jorgensen, C. (2006). Sun exposure and risk of melanoma. *Archives of disease in childhood*, 91(2), 131-138.
- Oresajo, C., Stephens, T., Hino, P. D., Law, R. M., Yatskayer, M., Foltis, P., Pillai, S., & Pinnell, S. R. (2008). Protective effects of a topical antioxidant mixture containing vitamin C, ferulic acid, and phloretin against ultraviolet-induced photodamage in human skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 7(4), 290-297.
- Patwardhan, J., & Bhatt, P. (2015). Ultraviolet-B Protective Effect of Flavonoids from *Eugenia caryophyllata* on Human Dermal Fibroblast Cells. *Pharmacognosy magazine*, 11(Suppl 3), S397-S406.
- Pittayapruek, P., Meehansan, J., Prapapan, O., Komine, M., & Ohtsuki, M. (2016). Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 868.
- Pazo-Cepeda, V., Benito-Román, Ó., Navarrete, A., & Alonso, E. (2020). Valorization of Wheat Bran: Ferulic Acid Recovery Using Pressurized Aqueous Ethanol Solutions. *Waste and Biomass Valorization*, 11(9), 4701-4710.13
- Peres, D. D., Sarruf, F. D., de Oliveira, C. A., Velasco, M. V. R., & Baby, A. R. (2018). Ferulic acid photoprotective properties in association with UV filters: multifunctional sunscreen with improved SPF and UVA-PF. *J Photochem Photobiol B*, 185, 46-49.
- PubChem (2004). "National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Ferulic Acid, CID=445858." Ferulic acid | C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> - PubChem (nih.gov)" (accessed on October 2, 2022).
- Razboršek, M. I., Ivanović, M., & Kolar, M. (2021). Validated stability-indicating GC-MS method for characterization of forced degradation products of trans-caffeic acid and trans-ferulic acid. *Molecules*, 26(9), 2475.
- Rezaei-roshan, A., Saeedi, M., Morteza-Semnani, K., Akbari, J., Gahsemi, M., & Nokhodchi, A. (2020). development of trans-ferulic acid niosome: An optimization and an in-vivo study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 59, 101854.
- Rippa, A. L., Kalabusheva, E. P., & Vorotelyak, E. A. (2019). Regeneration of dermis: scarring and cells involved. *Cells*, 8(6), 607.

- Sadick, N. S., Karcher, C., & Palmisano, L. (2009). Cosmetic dermatology of the aging face. *Clinics in Dermatology*, 27(3, Supplement), S3-S12.
- Saija, A., Tomaino, A., Cascio, R. L., Trombetta, D., Proteggente, A., De Pasquale, A., Uccella, N., & Bonina, F. (1999). Ferulic and caffeic acids as potential protective agents against photooxidative skin damage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 476-480.
- Skotarczak, K., Osmola-Mankowska, A., Lodyga, M., Polanska, A., Mazur, M., & Adamski, Z. (2015). Photoprotection: facts and controversies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19(1), 98-112.
- Sorrell, J. M., & Caplan, A. I. (2009). Fibroblasts—a diverse population at the center of it all. *International review of cell and molecular biology*, 276, 161-214.
- Staniforth, V., Huang, W. C., Aravindaram, K., & Yang, N. S. (2012). Ferulic acid, a phenolic phytochemical, inhibits UVB-induced matrix metalloproteinases in mouse skin via posttranslational mechanisms. *J Nutr Biochem*, 23(5), 443-451.
- Tiwari, G., Tiwari, R., Bannerjee, S., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P. ve Sriwastawa, B. (2012). Drug delivery systems: An updated review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2(1), 2. doi:10.4103/2230-973x.96920
- Waddad, A. Y., Abbad, S., Yu, F., Munyendo, W. L. L., Wang, J., Lv, H., & Zhou, J. (2013). Formulation, characterization and pharmacokinetics of Morin hydrate niosomes prepared from various non-ionic surfactants. *International Journal of Pharmaceutics*, 456(2), 446-458.
- Wu, L., Zhang, F., Xie, H., Xu, X., Chen, Q., Yin, S., Liu, X., Zhou, L., Xu, X., Sun, Y., & Zheng, S. (2008). MMP2 promoter polymorphism (C-1306T) and risk of recurrence in patients with hepatocellular carcinoma after transplantation. *Clinical Genetics*, 73(3), 273-278.
- Ge, X., Wei, M., He, S., & Yuan, W. E. (2019). Advances of non-ionic surfactant vesicles (niosomes) and their application in drug delivery. *Pharmaceutics*, 11(2), 55.
- Yin, Z. N., Wu, W. J., Sun, C. Z., Liu, H. F., Chen, W. B., Zhan, Q. P., Lei, Z. G., Xin, X., Ma, J. J., Yao, K., Min, T., Zhang, M. M., & Wu, H. (2019). Antioxidant and Antiinflammatory Capacity of Ferulic Acid Released from Wheat Bran by Solid-state Fermentation of *Aspergillus niger*. *Biomedical and Environmental Sciences*, 32(1), 11- 21.

Zduńska, K., Dana, A., Kolodziejczak, A., & Rotsztejn, H. (2018). Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. *Skin Pharmacology and Physiology*, 31(6), 332-336.



## ÖZGEÇMİŞ

**Esmanur MEYDAN**

### ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2019 – 2022	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji ABD, Antalya
Lisans 2015 – 2019	Üsküdar Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul