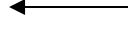


VİLDAN BAŞ



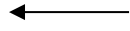
Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak.

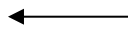


YÜKSEK LİSANS TEZİ



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2023



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖZALTI BÖLGESİNİN KOZMETİK PROBLEMLERİNE
YÖNELİK TOPİKAL FORMÜLASYONLARIN
GELİŞTİRİLMESİ

VİLDAN BAŞ

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ EBRU ALTUNTAŞ

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
KOZMETOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2023

İTHAF

Harika bir Cerrah, Akademisyen ve Eş olan Soysal Baş'a ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Kozmetoloji Yüksek Lisansı ve tez çalışmamın deney ve yazım süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, verdiği yoğun emekleriyle daha da motive olduğum Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ebru Altuntaş'a,

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

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

Deney çalışmalarım süresince katkılarından dolayı İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 4. Sınıf Öğrencisi ve geleceğin kıymetli Eczacısı Merve Yılmaz'a,

Çalışmamda kullanmış olduğum meyan kökü ve at kestanesi ekstraktları ile ilgili çalışmalarda yardımlarından dolayı İstanbul Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilimdalı Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Esra Karadağ'a,

“Bütün başarılar ekip işidir” mantığıyla bütün akademik süreçlerimde tek yürek olduğum biricik eşim ve aileme teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39251

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İTHAF.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Derinin Yapısı, Katmanları ve Özellikleri	3
2.1.1. Epidermis	3
Keratinositler.....	3
Korneositler.....	3
Stratum Bazale	6
Stratum Spinozum.....	6
Stratum Granulozum	6
Stratum Korneum (SK)	6
Melanosit Hücreleri	7
Merkel Hücreleri	7
Langerhans Hücreleri.....	7
2.1.2. Epidermal Bariyer ve Fonksiyonları	7
2.1.2.1. Epidermal Geçirgenlik Bariyeri	7
2.1.2.2. Mekanik Bariyer.....	8
2.1.2.3. Antimikrobiyal Bariyer	8
2.1.2.4. Doğal Nemlendirici Faktör (DNF).....	8
2.1.2.5. Çevresel Toksinlerden ve Topikal İlaç Penetrasyonundan Korunma	8
2.1.2.6. Deskuamasyon	8

2.1.2.7. Ultraviyole Bariyeri	8
2.1.2.8. Oksidatif Stres Bariyeri.....	9
2.1.2.9. Dermoepidermal Bileşke.....	9
2.1.3. Dermis.....	9
2.1.4. Hipodermis.....	10
2.2. Göz Çevresi Bölge Özellikleri	10
2.2.1. Göz Çevresi Deri Yapısı ve Fizyolojik Özellikleri.....	11
2.2.2. Göz Çevresi Bölgesinin Kozmetik Problemleri.....	12
2.2.2.1. Göz Çevresi Kırışıklıkları	12
2.2.2.2. Göz Çevresi Ödemi	12
2.2.2.3. Göz Çevresi Hiperpigmentasyonu	12
2.2.3. Göz Çevresi Hiperpigmentasyon Tedavileri.....	13
2.2.3.1. Melanin Sentezi Öncesi Uygulanan Tedaviler.....	16
2.2.3.2. Melanin Sentez Süresince Uygulanan Tedaviler	16
2.2.3.3. Melanin Sentezi Sonrası Uygulanan Tedaviler.....	19
2.2.4. Göz Çevresine Uygulanan Kombine Topikal Tedaviler.....	22
2.2.5. Göz Çevresi Bölgesinin Hiperpigmentasyon Tedavisi için Meyan Kökü Ekstresinin Kullanımı	24
2.2.6. Göz Çevresi Bölgesinin Kan Dolaşımı Bozukluğu Tedavisi için At Kestanesi Ekstresi Kullanımı	25
2.3. Nanoemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler.....	26
2.3.1. Nanoemülsiyon Tanımı.....	26
2.3.2. Nanoemülsiyonların Avantajları	27
2.3.2. Nanoemülsiyonların Bileşiminde Kullanılan Eksipiyonlar	27
2.3.3. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Metodları.....	28
2.3.3.1. Yüksek Enerjili Emülsifikasyon Yöntemleri	28
2.3.3.2. Düşük Enerjili Emülsifikasyon Yöntemleri	30
2.3.4. Nanoemülsiyonların Karakterizasyon Yöntemleri.....	30
2.4. Nanoemüljeller Hakkında Genel Bilgiler	31
2.4.1. Nanoemüljel Tanımı	31
2.4.2. Nanoemüljellerin Hazırlanmasında Kullanılan Eksipiyonlar	32
2.4.2.1. Su fazı	33
2.4.2.2. Yağ fazı	33

2.4.2.3. Surfaktan ve Kosurfaktanlar	34
2.4.2.4. Geçirgenlik Arttırıcılar	34
2.4.2.5. Jelleştirici Ajanlar (Polimerler).....	34
2.4.2.6. Koruyucular	35
2.4.2.7. Antioksidanlar	36
2.4.2.8. Nemlendiriciler	36
2.4.3. Nanoemülgellerin Hazırlanması	36
Jelleştirici Ajanın Hazırlanması ve Dahil Edilmesi	38
2.4.4. Nanoemülgellerin Dermokozmetikte Uygulama Alanları	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Gereçler.....	41
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	41
3.1.2. Kullanılan Aletler.....	41
3.2. Kullanılan Yöntemler.....	42
3.2.1. Standardize Edilmiş Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	42
3.2.1.1. Ekstraksiyon.....	42
3.2.1.2. <i>Glycyrrhiza Glabra</i> Ekstresinin YPSK Analizi	42
3.2.1.3. <i>Aesculus Hippocastanum</i> Ekstresinin YPSK Analizi	42
3.2.2. Formülasyon Çalışmaları	43
3.2.2.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerinin Seçimi	43
3.2.2.2. Y/S tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması	43
3.2.2.3. Y/S tipi Nanoemülgel Formülasyonlarının Hazırlanması.....	46
3.2.3. Hazırlanan Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Çalışmalar.....	46
3.2.3.1. Formülasyonların Karakterizasyonu (Organoleptik Kontroller, pH Ölçümü, İletkenlik Ölçümü, Viskozite Ölçümü, Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi Ölçümü-PDI ve Zeta Potansiyeli Ölçümü)	46
3.2.3.2. Hızlandırılmış Stabilitate Testleri (Santrifüj Testi, Termal Test).....	47
3.2.3.3. Fizikokimyasal Stabilitate Testleri.....	48
3.2.3.4. Doku Profil Analizi- TPA	48
3.2.3.5. 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPHH) ile Antioksidan Aktivite Tayini.....	49
3.2.3.6. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit (ABTS) ile Antioksidan Aktivite Tayini.....	49
3.2.3.7. Lipooksijenaz (LOX) Enzim İnhibisyonu ile Antienflamatuar Etki Tayini	49

3.2.3.8. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini	49
4. BULGULAR.....	51
4.1. Standardize Edilmiş Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	51
4.2. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	53
4.2.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Hızlandırılmış Stabilite Testleri (Santrifüj Testi, Termal Test)	53
4.2.2. Y/S Tipi Nanoemüljel Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Hızlandırılmış Stabilite Testleri (Santrifüj Testi, Termal Test)	55
4.2.3. Fizikokimyasal Stabilite Testleri	56
4.2.4. Doku Profil Analizi- TPA	68
4.2.5. Lipooksijenaz (LOX) Enzim İnhibisyonu ile Antienflamatuar Etki Tayini ve Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini	69
5. TARTIŞMA	71
KAYNAKLAR	79
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	89

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Periorbital hiperpigmentasyon tedavisindeki ajanların melanogenezisteki etki mekanizmaları (Sawant & Khan, 2020)	15
Tablo 2-2: Nanoemüljel formülasyonundaki komponentlere örnekler (Nazneen et al., 2022)	32
Tablo 2-3: Nanoemüljellerin dermokozmetik alandaki çalışmaları (Donthi et al., 2023)	38
Tablo 3-1: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak %12,5 Q-naturale ve kosurfaktan olarak %2,5 Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyonların bileşimleri.....	44
Tablo 3-2: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak %10 Q-naturale + %2,5 Kolliphor® P 188 kombinasyonu ve kosurfaktan olarak %2,5 Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyonların bileşimleri.....	45
Tablo 4-1: Nanoemülsiyon öndenemelerinin 1.güne ve santrifüj stabilite testi sonrasına ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri	53
Tablo 4-2: Nanoemülsiyon ön denemelerin 1.güne ve termal test sonrasına ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri.....	54
Tablo 4-3: Nanoemüljel formülasyonlarının 1.gün ve santrifüj testi sonrasına ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri	55
Tablo 4-4: Nanoemüljelin 1.güne ve termal test sonrasına ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri	56
Tablo 4-5: Nanoemüljelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay damlacık boyutu ölçümleri	57
Tablo 4-6: Nanoemüljelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay PDI ölçümleri.....	57
Tablo 4-7:Nanoemüljelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay zeta potansiyeli ölçümleri	58
Tablo 4-8: Nanoemüljelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay pH ölçümleri	58
Tablo 4-9: Nanoemüljelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay iletkenlik ölçümleri	59
Tablo 4-10: F3P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1.ay ve 2. ay viskozite ölçümleri.....	60
Tablo 4-11: F3P2 kodlu formülasyonun 1.gün, 1.ay ve 2. ay viskozite ölçümleri.....	61
Tablo 4-12: 2F1P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay vizkosite ölçümleri.....	62
Tablo 4-13: 2F1P2 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay vizkosite ölçümleri.....	63
Tablo 4-14: 2F2P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri.....	64
Tablo 4-15: 2F2P2 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri.....	65
Tablo 4-16: 2F3P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri.....	66
Tablo 4-17: 2F3P2 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri.....	67
Tablo 4-18: Nanoemüljel formülasyonlarının doku analizi ölçümleri	68
Tablo 4-19: DPPH ve ABTS aktivite sonuçları (IC50 µg/mL)	69
Tablo 4-20: LOX ve tirozinaz aktivite sonuçları (% inhibisyon-20 µg/mL için).....	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin katmanları (Ramadon et al., 2022).....	5
Şekil 2-2: Periorbital bölgenin anatomik yapısı (K. S. Tan et al., 2011).....	11
Şekil 2-3: Melanogenezis yolağı (Qian et al., 2020)	14
Şekil 2-4: Yüksek basınçlı homejenizasyon (Çomoğlu et al., 2020).....	28
Şekil 2-5: Mikroakışkanlaştırıcılar (Çomoğlu et al., 2020).....	29
Şekil 2-6: Ultrasonifikasyon (Çomoğlu et al., 2020).....	29
Şekil 2-7: Nanoemüljelin hazırlanma basamakları (Nazneen et al., 2022)	36
Şekil 4-1: Essinin YBSK kromatogramı (1. Essin A tR: 11.717; 2. Essin B tR: 13.368)	51
Şekil 4-2: <i>Aesculus hippocastanum</i> ekstresinin YBSK kromatogramı (1. Essin A tR: 11.665; 2. Essin B tR: 13.227).....	52
Şekil 4-3: Glabridinin YBSK kromatogramı (tR: 5.991)	52
Şekil 4-4: <i>Glycyrrhiza glabra</i> ekstresinin YBSK kromatogramı (1. Glabridin tR: 6.008)	53

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

SK:	Stratum Korneum
DNF:	Doğal Nemlendirici Faktör
UV:	Ultraviyole
SMAS:	Superfisyal Muskuloaponörotik Sistem
HA:	Hyaluronik Asit
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
MI:	Melanin İndeksi
MASI:	Melanin Alan Skor İndeksi
LAB:	Laktik Asit Bakterileri
POH:	Periorbital Hiperpigmentasyon
MMP-1:	Matriks Metaloproteinaz-1
SMA:	Smooth Muscle Actin (düz kas aktini)
PEG:	Polietilen glikol
TEM:	Transmisyon Elektron Mikroskobu
Y/S:	Su için yağ
PG:	Propilen Glikol
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
PDI:	Polidispersite İndeksi
ST:	Santrifüj testi
TST:	Termal stabilite testi
YPSK:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
DPHH:	2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABST:	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit
LOX:	Lipooksijenaz

ÖZET

Baş, Vildan. (2023). Gözaltı Bölgesinin Kozmetik Problemlerine Yönelik Topikal Formülasyonların Geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Kozmetoloji Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Günümüzde bireysel görünümün giderek önem taşımasıyla birlikte dermakozmetik ürün kullanımları ve estetik uygulamalar artış göstermektedir. Özellikle de yüz bölgesinin en dikkat çekici bölgesi olan göz çevresine ait herhangi bir kozmetik problem, bireylerin daha yaşlı ve yorgun görünmesine neden olabilmektedir. Göz çevresinin ince deri yapısı ve anatomik özelliklerine uygun bir değerlendirmeye nedene yönelik en uygun tedaviyi şekillendirmek gerekmektedir.

Göz çevresinin kozmetik problemleri pek çok faktörün etkisiyle ortaya çıkabildiği için kombine tedavilerin daha avantajlı olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda tirozinaz inhibisyonu yapan meyan kökü ekstraktı ve mikrovasküler venotonik etkisi olan at kestanesi ekstraktı formülasyon bileşiminde tercih edilmiştir.

Bu tez çalışmasında, cilt için güvenli kabul edilen ve yüz hiperpigmentasyon tedavisinde etkinliği gösterilmiş meyan kökü ekstraktı ile venöz patolojiler nedenli gelişen ödem tedavisinde kullanılmış olan at kestanesi ekstraktı kullanılarak nanoemüljel şeklinde bir formülasyon geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Formülasyonlar modern ilaç taşıyıcı sistemlerinden biri olan nanoemülsiyon formunda ultrasonifikasyon metodu ile hazırlandıktan sonra doğal bir polimer olan ksantan zámkı jeli ile 1:1 (a/a) oranında karıştırılarak nanoemüljel formuna dönüştürülmüştür. Nanoemüljel formu, formülasyonların uygulama alanı olan göz altı bölgesine daha kolay uygulanmasını ve uygulama ardından aktif bileşenlerin deriye daha iyi penetrasyonunun sağlanması amacı ile tercih edilmiştir.

Formülasyonlara çeşitli stabilite testleri uygulanmış ve sonuçta en uygun bulunan optimum formülasyonlarda yapılan radikal süpürme kapasitesi, antienflamatuar etkinlik ve tirozinaz inhibisyonu değerlendirilmiştir.

Bahsedilen bütün testler sonucunda en iyi formülasyon olarak %2'lik meyan kökü ve %2'lik at kestanesi ekstraktı ile surfaktan olarak %10 Q-naturale ve %2,5 Pluronik F68 kombinasyonunu ve kosurfaktan olarak %2,5 Transkutol HP'yi içeren formülasyonun göz çevresi kozmetik problemlerine yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Göz çevresi, Hiperpigmentasyon, At kestanesi ekstresi, Meyan kökü ekstresi, Nanoemülsiyon, Nanoemüljel, Topikal

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39251

ABSTRACT

Baş, Vildan. (2023). Development of Topical Formulations For Cosmetic Concerns in the Under-Eye Area. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Cosmetology Section, Master's Thesis, İstanbul.

In the contemporary context, with the growing significance of individual appearance, dermo-cosmetic products and aesthetic procedures have escalated. Notably, any cosmetic concern of the periorbital region, which stands out as the most conspicuous area of the face, can contribute to an impression of increased age and fatigue in individuals. Given the delicate nature of the skin around the eyes and its unique anatomical attributes, a meticulous assessment is imperative to tailor the most appropriate treatment strategy addressing the root cause.

The cosmetic challenges encountered in the periorbital region can arise from a confluence of multifactorial influences, thus advocating the merit of combined therapies. In light of this, formulation compositions have favoured the inclusion of licorice root extract, renowned for its tyrosinase inhibition activity, and horse chestnut extract, acknowledged for its microvascular venotonic effects.

The primary aim of this thesis is to develop a nanoemulsion formulation using licorice root extract, recognized as safe for dermal application, and horse chestnut extract, which has been applied in the management of edema resulting from venous pathologies. This formulation is intended to be applied as a nanoemulgel to the area around the eyes. Nanoemulgel has been chosen for its facilitation of application to the under-eye region, the targeted site of application, and its potential to enhance the penetration of active ingredients into the skin post-application.

Following the preparation of formulations through the ultrasonication technique, which constitutes a modern pharmaceutical carrier system in the form of nanoemulsion, the addition of xanthan gum gel, a natural polymer, in a 1:1 (w/w) ratio, has been employed to transform them into nanoemulgel. A battery of stability tests was conducted on these formulations. Subsequently, the most suitable formulations assessed the radical scavenging capacity, anti-inflammatory efficacy, and tyrosinase inhibition potential.

Based on the culmination of these tests, it has been deduced that a formulation comprising 2% licorice root extract and 2% horse chestnut extract, surfactant at 10% Q-natural and 2.5% Pluronic F68, and cosurfactant at 2.5% Transcutol HP, presents a compelling solution for addressing cosmetic concerns in the periorbital area. This composite formulation demonstrates the potential to offer supportive measures against periorbital cosmetic challenges.

Key Words: Horse chestnut, Licorice root, Nanoemulsion, Periorbital area, Topical formulation

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 39251

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde dermakozmetik ürünlerin ve estetik uygulamaların artmasıyla birlikte bireysel görünüm büyük önem taşır hale gelmiştir. Göz çevresi bölgesi ile ilgili herhangi bir kozmetik problemde ise bireyler daha yaşlı ve yorgun görünebilmektedir. Bu yüzden göz çevresinin hassas yapısı ayrıntılı şekilde değerlendirilmeli ve en uygun tedavi yöntemi probleme yönelik seçilmelidir (Kołodziejczak & Rotsztejn, 2022)

Göz çevresinin hiperpigmentasyonunda meyan kökü ekstresi tirozinaz inhibisyonu yaparak melanogenezis üzerine etki gösterir. İçeriğindeki pek çok madde sayesinde UV kaynaklı eritemde azalma ve antienflamatuar etki de sağlar. Hidrokinona göre çok daha güvenli ve etkili olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Costa et al., 2010).

At kestanesi ekstresi ise mikrovasküler venotonik etkisi sayesinde göz çevresindeki ödemin azalmasını sağlar. Antienflamatuar etkinliğinin yanı sıra yakın zamanda yapılmış çalışmalarda hiyalüridaz inhibisyonu yapabileceği de belirtilmiştir (Wilkinson & Brown, 1999).

Modern ilaç taşıyıcı sistemlerinden biri olan nanoemülsiyonlar biyolojik aktif maddelerin deriye penetre olarak kontrollü salımını sağlar (Phatale et al., 2022). Nano boyutlardan dolayı sedimentasyon, flokülasyon ve kremlaşma gibi stabilite problemleri görülmez. Su, yağ ve surfaktan/ko-surfaktan fazlarından oluşur ve düşük yüzey gerilimi sayesinde yayılma ve penetrasyonunda artma gözlemlenir (Mura, 2020).

Son zamanlarda kozmetik preparatlarında yarı katı formdaki ürünlerin jel formunda kullanımı artış göstermiştir. Doğal veya sentetik polimerler kullanılarak oluşturulan bu formülasyonlar daha fazla aktif bileşiğin çözülmesine olanak sağlar (Y. Singh et al., 2017).

Hazırlanan nanoemülsiyon polimerle karıştırılarak yarı katı formdaki nanoemüljel haline getirilir. Topikal olarak uygulandığında kolaylıkla sürtünme kuvvetiyle tekrardan solüsyon formuna dönüşerek deriye yayılır (Bhura et al., 2015).

Nanoemüljellerin dermakozmetik alanında özellikle akne vulgaris, androjenetik alopesi, onikomikoz, psoriasis, melanom, vajinal kandidiazis ve yaşlanma karşıtı amaçlı kullanımları vardır (Donthi et al., 2023).

Bu tez çalışmasının amacı, cilt için güvenli olduğu kabul edilen ve hiperpigmentasyon tedavisinde etkinliği gösterilmiş meyan kökü ekstresi ile ödem tedavisinde etkinliği gösterilmiş at kestanesi ekstresi kullanılarak topikal yolla uygulanabilecek ve içeriğinde doğal bir polimer olan ksantan zımkı ile jelleşmesi sağlanan yeni bir kozmetik nanoemülgel formülasyonunu geliştirmektir. Bu çalışma sonucunda kozmetik bilimi ışığında doğal kaynaklı hammaddeler olan meyan kökü ve at kestanesi ekstrelerinin sinerjistik etkisiyle göz çevresi hiperpigmentasyonu ve ödem gibi kozmetik sorunlara yönelik topikal bir nanoemülgel formülasyonu geliştirilmiş ve in vitro etkinliği gösterilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Derinin Yapısı, Katmanları ve Özellikleri

Deri, vücut ile çevre arasındaki arayüz olarak kabul edilebilir. Derinin üç temel bölümü epidermis, dermis ve hipodermis'tir. Bunların haricinde vücutta deri ekleri dediğimiz yağ bezleri, ter bezleri, tırnaklar ve saç da bulunmaktadır.

2.1.1. Epidermis

Dışarıya doğru yer alan yapıdır ve başlıca keratinositler ve dendritik hücreler olmak üzere melanositler, langerhans hücreleri ve merkel hücrelerinden oluşur. Çok katmanlı epitelyal bir doku olup birçok tabakaya ayrılmıştır. Bu tabakanın kalınlığı yaklaşık olarak 150-180 µm arasındadır fakat vücuttaki bölgelere göre değişim göstermektedir. Örneğin; göz kapağında (0,05-0,1 mm) en ince; palmoplantar bölgede (1,5 mm) en kalındır (S, 2019).

Keratinositler

Germinatif tabakadaki epidermal bazal membrana tutunan bazal hücrelerden bölünerek keratinositler oluşur ve stratum korneuma (SK) kadar proliferasyon ve diferansiasyon süreçleri ile keratinizasyonu yaparlar (Domonkos, 2018).

Çoğu dokuda olduğu gibi epidermis %70 su içerir, ancak SK'da sadece %15 su içerir. Su içeriğindeki bu değişikliğin yanı sıra, keratinosit çekirdekleri ve hemen hemen tüm hücre altı organeller granüler tabakada kaybolmaya başlar ve geride keratinler, diğer yapısal proteinler, serbest amino asitler ve amino asit türevleri ile melanin partiküllerini içeren proteinli bir çekirdek kalır. Stratum spinosumda daha oval şekilli olan keratinositler, stratum granulozumda daha düz bir şekil alarak gerçekleşen terminal farklılaşma sonucunda korneositleri oluşturur (Bolognia, 2018).

Korneositler

Kendi çevresinde, çapraz bağlı hücre iskeleti proteinlerinden oluşan, kornifiye hücre zarfı adı verilen, kimyasal olarak dirençli, sert bir protein bandı geliştirir. Bunlar kalsiyum bağlayıcı proteinler, antimikrobiyal ve immün fonksiyonel proteinlerdir.

Lipitlere ve dezmozomlara bağlanarak SK'ye yapısal bütünlük sağlar ve proteaz inhibitörleri gibi spesifik fonksiyonlara sahiptirler.

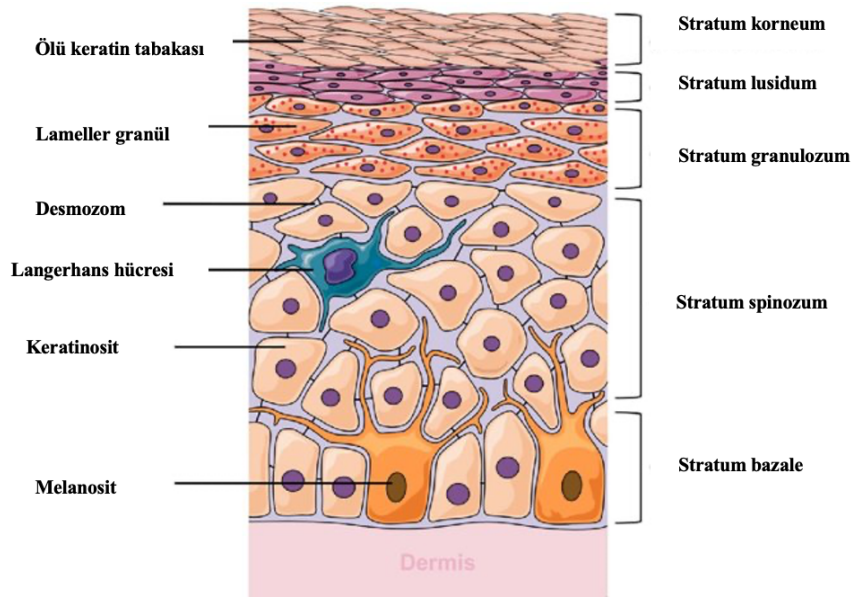
Suprabazal tabakadaki kerainositlerden veziküllerle taşınan ve korneositlerin arasında yer alan lameller granüller özel lipidlerdir. Bu lipidler, geçirgenlik bariyerinin temel yapısını oluşturur ve korneositlerin arasında “tuğla-harç modeli” denilen şekilde dağılırlar. Lameller granüllerin içeriğindeki lipaz, fosfolipaz, sfingomiyelinaz, glukozil seramidaz ve sterol sülfataz gibi spesifik enzimler lipitleri işleyerek polar lipidlerden (fosfolipid, glikozil seramid) polar olmayan ve epidermal geçirgenlik bariyerinin lipidleri olan fakat polar olmayan lipidleri (kolesterol, serbest yağ asitleri ve seramidi) oluştururlar. SK'nın su bariyer özelliğini, bu tabakadaki korneositler ve enzimatik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan lipidler oluşturur (Menon et al., 1992; Rawlings & Matts, 2005).

Granüler tabakadaki hücreler korneositlere olgunlaşırken keratohyalin granülleri proflagrinden filagrin oluşmasını sağlar. Filagrin ile birlikte keratin filamentleri birleşir. Ana yapısal protein olan keratinin demetlenmesine ek olarak filagrin, serbest aminoasitlere (pirolidon karboksilik asit-PCA ve ürokanik asit-UCA) parçalanarak “doğal nemlendirici faktörü” (DNF) oluşturur. DNF, SK hidrasyonu ve deskuamasyonu için gereklidir. Ayrıca DNF yapısında yer alan aminoasitler asidik deri pH'sından sorumludur. Asidik deri pH'sı sağlanarak deri florası oluşur ve patojen bakteri kolonizasyonu engellenir (Pillai et al., 2010).

Desmozomlar, hücre yüzeyi yapışma proteinleri ile hücre içi hücre iskeleti keratofilamentleri birbirine bağlayan kompleks bir proteindir. Desmozomlarda bulunan özelleşmiş proteinlerden bazıları kaderinler, kalsiyum bağlayıcı proteinler, desmogleinler ve desmokolinerdir. Korneodesmozomlar, korneositler arasındaki bağlanma bölgelerini ve SK'deki korneositler için kohezivliği sağlayan dezmozomal yapıların kalıntılarıdır. Korneodesmozomların, derinin deskuamasyon adı verilen bir süreçte dökülmesi için özel proteazlar ve glikozidazlar, özellikle serin proteazlar (SP) tarafından parçalanması gerekir (Domonkos, 2018; Harding et al., 2000).

Hücreler sürekli bölünerek çoğalırlar ve keratinositler bazal tabakadan yüzeye doğru 4 tabaka oluştururlar. Şekil 2.1’de epidermal tabakalar, dermis ve deri ekleri gösterilmiştir. Palmoplantar bölge ise SK ile S. granulozum arasında aselüler eozinofilik bir tabaka- stratum lusidum- oluşturabilir (S, 2019).

- Bazal – geminatif tabaka (stratum bazale)
- Skuamöz /spinal tabaka (stratum spinozum)
- Granüler tabaka (stratum granulozum)
- Boynuzsu tabaka (SK)



Şekil 2-1: Derinin katmanları (Ramadon et al., 2022)

Stratum Bazale

Kübik ya da kolumnar şekilli, büyük nukleoslu nispeten dar sitoplazmalı keratinositlerden oluşur ve keratinositler birbirlerine desmozomlar ve dermise ise hemidesmozomlar aracılığıyla bağlanır. Epidermisin en alt tabakası olan stratum bazale hücre yenilenmesi için kök hücre kaynağıdır. Stratum bazalede gerçekleşen biyokimyasal ve morfolojik değişimler sonucunda epidermisin en dış tabakasına nukleus içermeyen korneositler ulaşır. Bu geçiş en az 14 gün boyunca devam eder ve sonrasındaki 14 gün boyunca da SK'dan dökülmeler gerçekleşir. Ayrıca bu tabakada deriye rengini veren melanositler yer alır ve melanin pigmenti içerirler (Bolognia, 2018).

Stratum Spinozum

Poligonal şekilli ve geniş eozinofilik sitoplazmalı keratinositlerden oluşurlar. Suprabazal yerleşimli olan keratinositler daha polihedral olup çekirdekleri bulunurken, üst tabakaya doğru daha düzgünleşir ve lamelar granüller içerirler. Lamelar granüller, içerisinde lipaz, proteaz, asit fosfotaz ve glikolidaz gibi pek çok asit hidrolaz içeren membrana bağlı bir organeldir. Stratum granulozum ve korneum arasındaki hücrelerde aktif olabildiği gibi hücreler arası boşluğa stratum korneum lipidlerinin prekürörlerini de iletebilir ve bu şekilde permabilitede rol alır (S, 2019).

Stratum Granulozum

Epidermiste canlı hücrelerin bulunduğu en dış tabakasıdır. Keratinositlerin sitoplazmalarında keratohyalin granüllerini bulundururlar. Keratohyalin granülleri, keratin demetlerini ve doğal nemlendirici faktörün prekürör proteinlerinin oluşumunu sağlar (Bolognia, 2018).

Stratum Korneum (SK)

Epidermisin dış tabakasıdır ve çekirdeklerini kaybetmiş keratinositler, korneosit adını alırlar ve lipitten zengin bir matriks içine gömülerek tuğla-harç modeli şeklinde su ve elektrolit kaybını önleyen epidermal geçirgenlik bariyerini oluştururlar.

Epidermisin diğer koruyucu/bariyer rolleri arasında bağışıklık savunması, Ultraviyole (UV) koruması ve oksidatif hasardan korunma bulunur. Çevresel faktörler, yaşlanma veya diğer durumlar tarafından tetiklenen epidermal bariyerdeki değişiklikler,

derinin görünümünü ve işlevlerini değiştirebilir. SK'nin ve epidermal bariyerin yapısını ve işlevini anlamak, sağlıklı bir deri ve bu deriyle ilişkili sosyal sonuçlar için önemlidir (Pillai et al., 2010).

Melanosit Hücreleri

Epidermin bazal tabakasında yer alan, melanin pigmenti sentezleyen, dendritik uzantıları ile melanini melanozomlar içerisinde keratinositlere ulaştıran hücrelerdir. Melanin pigmenti derinin renginden sorumludur ve deriyi UV radyasyona bağlı gelişebilecek DNA hasarından koruyabilmektedir. Melanosit sayısı deride 500-2000 hücre/cm² arasında değişmektedir fakat derinin rengini melanosit sayısı belirlemez. Deri rengi, melanozomların toplam sayısı, büyüklüğü ve hücre içindeki dağılımına göre değişmektedir. İnsanlarda iki tip melanin pigmenti bulunur; eumelanin ve feomelanin. Eumelanin, oval melanozomların içerisinde tirozinaz enzimi ile sentezlenerek kahverengi, siyah deri ve saç renginden sorumludur. Feomelanin ise küre melanozomlarda üretilir ve daha açık renkli sarı-kızıl saç ve deri renginden sorumludur (Bologna, 2018).

Merkel Hücreleri

Bazal tabakada yer alan, az sayıda, küçük, yuvarlak, lobüle nükleuslu hücrelerdir. Dokunma duyusunu hissettiren mekanoreseptörlerdir (Domonkos, 2018).

Langerhans Hücreleri

Dendritik çıkıntıları olan ve kemikiliği kaynaklı derinin immunolojik reaksiyonlarında görev alan hücrelerdir. Antijen tanınması, işlenmesi ve T hücrelerine sunulmasını sağlarlar (Domonkos, 2018).

2.1.2. Epidermal Bariyer ve Fonksiyonları

2.1.2.1. Epidermal Geçirgenlik Bariyeri

SK'de su ve elektrolitlerin transkutanöz hareketlerini sınırlayarak suyun buharlaşmasını engelleyen bir bariyer oluşturur. Bunu yapısından bulunan başlıca lipidler, kısmen seramidler, kolesterol ve serbest yağ asitleri sayesinde yapar (Z. D. Draelos, 2022). Epidermal bariyerde ortaya çıkabilecek bir bozulma sonrasında keratinositlerin proliferasyonu ve diferansiyasyonu artar, korneosit üretimi tetiklenir. Lipid üretimi sağlanarak bariyer onarımı gerçekleştirilir (Elias, 2005).

2.1.2.2. Mekanik Bariyer

SK'de özelleşmiş protein preküsörleri ve bunlardan modifiye edilmiş aminoasitlerin çapraz bağlantılarıyla oluşturulan sitoplazmik keratin filamentleri ve kornifiye zarf yapısı epidermal bariyere sağlamlılık sağlar. Korneositler arasındaki korneodesmozomlar da bu yapıya katkıda bulunur (Z. D. Draelos, 2022).

2.1.2.3. Antimikrobiyal Bariyer

Sebum ve terin asidik pH yapısı derinin dış ortamdaki patojenlerden korunmasını sağlar. Epidermiste yer alan antimikrobiyal lipidler, peptidler, nükleik asitler, proteazlar ile birlikte kimyasal sinyallerden oluşan bir spektrum geliştirir ve immuniteye katkı sağlar (Borkowski & Gallo, 2011).

2.1.2.4. Doğal Nemlendirici Faktör (DNF)

Filagrinin hidrolizinden elde edilen ve suda çözünen bileşiklerden oluşan bir komplekstir. DNF sayesinde SK, hem su kaybını önleyebilir hem de derinin hidrasyonunu ve nemlenmesini sağlayabilir (Y. Kim & Lim, 2021).

2.1.2.5. Çevresel Toksinlerden ve Topikal İlaç Penetrasyonundan Korunma

SK, yapısında yer alan çevresi çapraz bağlı proteinlerle kaplı korneositler ve lipidden zengin hücrelerarası yapılar nedeniyle koruyucu bir örtü görevi görür. Bu tabakanın aşılması üzerine transdermal ilaç geliştiricileri çalışmaktadır (Z. D. Draelos, 2022).

2.1.2.6. Deskuamasyon

Epidermisin homeostazını koruyabilmek için SK'den belirli süreçlerde korneositlerin atılması gereklidir. Proteaz enzimleri aracılığı ile korneositlerdeki kohezyon bozulur ve dökülme gerçekleşir.

2.1.2.7. Ultraviyole Bariyeri

Melanositlerde üretilen melanin SK'ye keratinositlerin içinde gelir. SK, UV ışığı bir miktar emebilir fakat asıl koruyuculuğu korneositlerin içerisindeki melanin parçacıkları yapar. Azaltılan UV ile daha az DNA hasarı gerçekleşmiş olur (Yamaguchi et al., 2006).

2.1.2.8. Oksidatif Stres Bariyeri

UV, ışık, kirlleticiler, sigara dumanı gibi atmosferik oksidanların ana oksidasyon hedefi SK'dır. UVA, fibroblastların DNA yapısını bozarak ve epidermal bariyerdeki lipidlerin oksidasyonuna ve proteinlerin karboksilasyonuna neden olarak etki gösterir. SK, kendi yapısındaki antioksidanlar ile (alfa-tokoferol, C vitamini, glutatyon ve ürat) ile kendisini oksidatif stresten korumaya çalışır. Eğer antioksidan korunma yeterli olmazsa epidermal bariyerde bozulmalar başlar (Chaiprasongsuk & Panich, 2022; Pinnell, 2003).

2.1.2.9. Dermoepidermal Bileşke

Epidermis ve dermis arasında sıvı ve hücreler için yarı geçirgen bazal membran zonudur. Bazal membran boyunca olan keratinositlerdeki keratin filamentlerini yüzeyel dermisteki kolajen liflerine bağlayarak ağ yapısını oluşturur. Dört bölümden oluşmaktadır; bazal hücrelerin plazma membranı (hemidesmozom ve çapa filamentler içerir), lamina lusida, lamina densa ve lamina fibroretikülaris (Gürel, 2023). Bu tabakada keratinosit ve fibroblastların gelişimi ve apoptozisi, adezyon ve hareketlerinin düzenlenmesi de gerçekleşir (Domonkos, 2018).

2.1.3. Dermis

Kolajen, elastik lifler, glikoproteinler ve proteoglikanlardan oluşan ektrafibriller matriksle birlikte fibroblast, mast hücreleri, plazma hücreleri ve histiyositler gibi hücre birleşenlerinden oluşan epidermise destek bir tabakadır. Epidermisin canlılığı için gerekli vaskülarizasyonu sağlar (Gürel, 2023). Kan damarları dışında lenfatik kanallar ve serbest sinir uçları da bu tabakada bulunmaktadır. Dolaşım sistemi bu tabakada bulunduğu için ilaçların sistemik dolaşıma karışması dermisten gerçekleşir (Anissimov et al., 2013).

Dermis iki katmanlı bir yapıdır; papiller dermis ve retiküler dermis. Papiller dermis üstte yer alan ve epidermise bağlı bulunan tabakadır. Gevşek bağlarla bağlanmış kolajen ve elastin liflerini içerir. Oluşturduğu papillalar ile epidermisin vaskülarizasyonu için yüzey alanını genişletir. Retiküler dermis ise alt katmandır ve daha yoğun ve ağır kolajen lifleri ile daha kalın elastin lifleri içerir. Dermisin daha sağlam olmasını sağlar (Venus et al., 2010).

Kolajen ise dermisin ağırlığının yaklaşık %70'ni oluşturur. En fazla (%75) tip 1 kolajen görülürken tip 3 kolajen de %15 oranında bulunur. Bazal membranın lamina densasında olan kolajen tip 4, keratinositlerden üretilen kolajen ise tip 7 dir ve çapa fibrillerin de bir parçasıdır. Kolajenin ana bileşenlerinden biri de glisin, hidroksilizin ve hidroksiprolin gibi aminoasitlerdir. Derinin dayanıklılığını sağlayan fibröz bir yapıdır (Bologna, 2018). Derinin esnekliğini sağlayan ise elastik liflerdir ve yapısı kolajeneden daha farklıdır. Elastin ve protein filamentlerinin birleşimiyle oluşur. Hyalüronik asit, dermisin daha küçük bir parçasıdır fakat deride gerçekleşen herhangi bir deformasyonda ön plana çıkan majör bir mukopolisakkarittir (Domonkos, 2018).

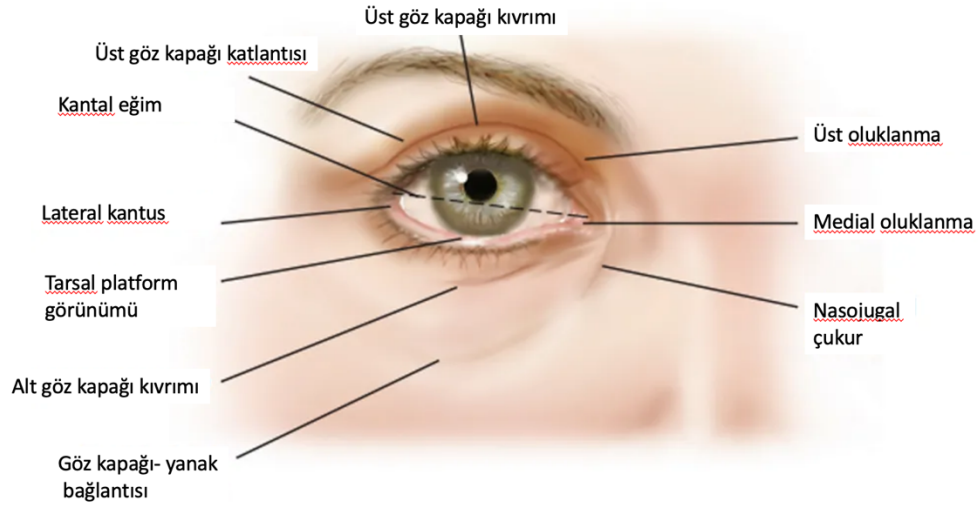
2.1.4. Hipodermis

Dermis tabakasının altında yer aldığı için subkutan yağ dokusu olarak adlandırılır. Subkutan yağ dokusunun hücreleri adipositlerdir. İdeal kilodaki bireylerde vücut total yağının yaklaşık %80'ni subkutan yağ dokusunda depolanmaktadır (Lai-Cheong & McGrath, 2009).

2.2. Göz Çevresi Bölge Özellikleri

Orbita, göz kürelerini, ekstra-oküler kasları, sinirleri, yağ yastıkçıklarını ve ve gözün beslenmesini sağlayan damarları içeren kemik boşluktur. Orbitanın ana kası, derinin hemen altında yer alan ve superfisiyal muskuloaponevrotik sistemin (SMAS) ayrılmaz bir bileşeni olarak orbitayı çepecevre sarar. Orbikularis okuli kasının palpebral kısımları alt ve üst göz kapaklarını oluşturur (Niekrash, 2021).

Suborbikularis okuli yağ yastıkçığı, orbitanın alt lateral yarısının kenarında yer alır ve zigomatik kemiğin gövdesinin alt parçasına tutunur. Aynı bölgede SMAS tabakası gözaltına doğru inerken orbitomalar ligameti oluşturur (orbiküler retaining ligament). Bu ligamentin yaşla birlikte gevşemesiyle gözaltı çukurları oluşur (O et al., 2018). Göz bölgesinin anatomik yapısı Şekil 2.2' de gösterilmiştir.



Şekil 2-2: Periorbital bölgenin anatomik yapısı (K. S. Tan et al., 2011)

Göz çevresi kanlanması çok fazla arterden olabilmektedir. Burun kökü derisinden gelen dorsal nazal arter medial palpebral kısımları besleyebilirken hem medial hem lateral kısımları infraorbital arter ve fasiyal arter anastomozları veya süperfisiyal temporal arter dalları aracılığıyla eksternal karotid arter de besleyebilir. Venöz drenajı da anguler vene, superior oftalmik vene ve fasiyal vene drene olur (Mohsen Bahmani Kashkouli et al., 2017).

2.2.1. Göz Çevresi Deri Yapısı ve Fizyolojik Özellikleri

Göz çevresi derisi, her türlü irritasyona veya alerjene karşı oldukça hassas olan ince bir yapıdır. Epidermis 0,04 mm iken toplam deri kalınlığı ise yaklaşık 0,5 mmdir ve vücutta en ince deri yapısıdır. Güneş maruziyetine, yaşa ve tahrişe neden olabilecek faktörlere bağlı olarak kolaylıkla deri yapısında değişiklikler görülebilir. Bunlar; göz çevresi egzemaları, konnektif doku hastalarının deri bulguları, sistemik hastalıkların deri bulguları, göz çevresi enfeksiyonlar ve göz çevresi kozmetik problemleri olarak karşımıza çıkar (Lin et al., 2023).

Göz çevresinde sebace ve ter bezleri çok az bulunur; bu yüzden derisi kurudur ve nemlendirilmeye ihtiyaç duyar. Göz çevresindeki derinin esnekliği göz kapaklarının

hareketlerinde kolaylık sağladığı gibi kırışma, sarkma ve ödem gelişimine neden olur (Z. K. Draelos, 1991).

2.2.2. Göz Çevresi Bölgesinin Kozmetik Problemleri

Göz çevresi, bireylerin görünümünde en önemli unsurlardan biridir. Bu nedenle de estetik dermatoloji ve kozmetoloji alanları için büyük önem taşımaktadır. Göz çevresinin hassas yapısından dolayı bu alanın kozmetik problemini iyi analiz etmeli ve uygun tedavi yöntemini seçerken en güvenli şekilde gerçekleştirilmelidir. Etkili bir tedavi göz çevresi problemi yaşayan bireylerin yaşam kalitelerini önemli ölçüde artırabilmektedir (Kołodziejczak & Rotsztein, 2022).

Göz çevresi deride oluşan incelmeler ve eşilk eden ince kırışıklıklar, gözaltı torbalanması, gözaltı morlukları, göz kenarlarında derin kırışıklıklar (kaz ayağı oluşumu), gözkapağı düşüklüğü gibi kozmetik problemler en sık gelişenlerdir (M. B. Kashkouli et al., 2017).

2.2.2.1. Göz Çevresi Kırışıklıkları

Göz çevresi, kronolojik yaşlanmanın ilk fark edildiği bölgedir. UV'ye maruziyetin yoğun olduğu bir bölge olan göz çevresi yüzdeki en erken kırışıklıkların olduğu bölgedir. Burada derinin ince ve kuru olması, çok fazla kasla çevrili olup kas hareketleri ile yüzün ifade ve duyguların gösterilmesinde etkili olması, destekleyici bir tabaka olan subkutan yağ dokusunun bu bölgede az olması ince kırışıklıkların göz çevresinde hızla gelişmesine neden olabilmektedir.

2.2.2.2. Göz Çevresi Ödemi

Göz çevresinde yoğun damarlanma ağının olması, göz çevresi derisinin ince ve laksitesinin fazla olmasından kaynaklı ödem gelişimi kolaylıkla görülebilir.

2.2.2.3. Göz Çevresi Hiperpigmentasyonu

Göz çevresi pigmentasyonu (periorbikular pigmentasyon, periorbital melanozis, koyu halkalar, gözaltı morlukları) global olarak değerlendirildiğinde insanların %78'sini etkilemektedir. Özellikle de 16-45 yaş aralığında ve kadınlarda daha sık gözlemlenir. Klinikte göz çevresinde tam bir daire ya da gözaltılarında yarım daire şeklinde olan homojen koyu kahverengi pigmentli maküller olarak gözlemlenir (Sarkar et al., 2016).

Huang ve arkadaşları tarafından 2014 yılında periorbital hiperpigmentasyon sınıflandırılması yapılmıştır (Huang et al., 2014).

Buna göre;

- Pigmente tip (kahverengi görünümde)
- Vasküler tip (mavi/ pembe/ mor renkte görünümde ve beraberinde göz çevresinde şişlik,ödem olabilir)
- Yapısal tip (koyu ten rengi görünümde)
- Mikst tip (pigmente- vasküler, pigmente-yapısal, vasküler-yapısal)

Göz çevresi pigmentasyonu pek çok nedene bağlı olarak ortaya çıkabilir (Freitag & Cestari, 2007). Bu nedenler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

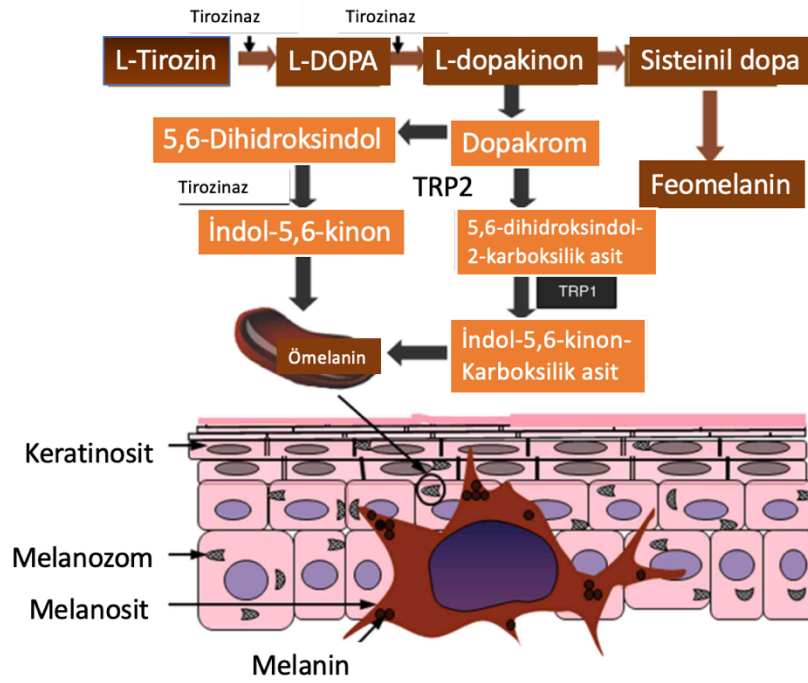
1. **Dermal melanositozis:** Dermiste melanosit yoğunluğunda artış olmasına bağlıdır. Daha gri ya da mavi-gri görünümündedir. Nevüsler doğumdan itibaren göz çevresinde dermal melanositozis neden olabileceği gibi gebelik, kronik atopik dermatit gibi durumlar da sonradan kazanılmış dermal melanositozis yapabilir.
2. **Postinflamatuvar hiperpigmentasyon:** Atopi, alerjik kontakt dermatiti gibi hastalıklara bağlı gelişen koyulaşmadır.
3. **Vasküler yapıların yüzeysel yerleşmesi:** İnce derili kişilerde damarlanmanın neden olduğu mavi-mor renklerde koyulaşmadır
4. **Tear trough deformitesi:** Subkutan yağ dokusunda gelişen çökmenin neden olduğu koyulaşmadır. Gözyaşı oluğunda gölge etkisiyle oluşan koyu kahverengi halkalar gözlemlenir.
5. **UV nin tetiklediği hasarlanma- koyulaşma**

2.2.3. Göz Çevresi Hiperpigmentasyon Tedavileri

Göz çevresi hiperpigmentasyon tedavisi ile ilgili yapılmış in vivo çalışmalar yeterli sayıda bulunmamaktadır. Mevcut tedavi seçenekleri arasında hidrokinon, kojik asit, azelaik asit, retinoik asit gibi topikal depigmente edici ajanlar yer almaktadır. Fakat literatürde periorbital bölge için kullanılmış bazı ajanlarla (α -arbutin, kojik asit) ilgili karşılaştırma çalışmalarından örnekler bulunmaktadır. Bu bölgedeki pigmentasyonlarda

çeşitli minimal invaziv estetik işlemleri, cerrahi düzeltmeler ve laser tedavileri de uygulanmaktadır.

Göz çevresinin hiperpigmentasyon tedavilerinde melanogenezis yolağındaki enzimlerin inhibisyonu topikal tedavilerin geliştirilmesinde başlıca hedeftir. Şekil 2.3'te melanogenezis yolağı gösterilmiştir. Tablo 2.1'de periorbital hiperpigmentasyon tedavisindeki ajanların melanogenezisteki etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması gösterilmiştir.



Şekil 2-3: Melanogenezis yolağı (Qian et al., 2020)

Tablo 2-1: Periorbital hiperpigmentasyon tedavisindeki ajanların melanogenezisteki etki mekanizmaları (Sawant & Khan, 2020)

Melanin sentez aşaması	Etki mekanizması	Aktif bileşik
Melanin sentezinden önce	Tirozinaz glikolizasyon inhibitörleri	Hyaluronik asit
Melanin sentezi süresince	Tirozinaz inhibitörleri	Kojik asit, α -arbutin, azelaik asit, D-glukuronik asit, dihidrokalkon, fukoksantin, genistein, ksimenik asit
	5-lipojenaz inhibitörleri	Boswellik asit
	Süperoksit süpürücü ajanlar	Siyanidin-3-glukozit
	Reaktif oksijen süpürücüler	Beta-karoten, kurkumin, likopen,
Melanin sentezi sonrası	Melanozom transfer inhibitörleri	Niasinamid
	Deri turnoverını arttıranlar	Laktik asit, retinoik asit, ferulik asit
	Kolajen sentez aktivatörleri	Vitamin C, asiaticoside, kafein, krisin, dipalmitoil-hidroksiprolen, b-glukogallin, salidrosid
	α -SMA (smooth muscle actin) aktivatörleri	Arabinoksilanlar
	Hyaluronik asit sentez aktivatörleri	Piknojenol

2.2.3.1. Melanin Sentezi Öncesi Uygulanan Tedaviler

Tirozin, melanin pigmentinin öncüsü olarak hizmet eder. Tirozinaz hidroksilaz, tirozinin DOPA'ya dönüşümünü katalize eder.

Tirozinaz glikolizasyon inhibitörleri: Tirozinazın olgunlaşmasını engelleyen ajanlardır. Tirozinaz enzimini down regüle ederek melanin üretimini inhibe ederler.

Hyaluronik asit (HA): Patates, havuç ve nilüfer köklerinden elde edilir. Kuru olan göz çevresinin nemini arttırmak ve göz çevresinin ince kırışıklıklarında anlık açılma sağlamak için kullanılabilir.

Raman spektrometrisi ile değerlendirilen bir çalışmada, topikal uygulanan düşük molekül ağırlıklı (20-300kDa) HA'nın, yüksek molekül ağırlıklı (1000-1400kDa) HA'nın aksine SK'dan geçtiği tespit edilmiştir (Essendoubi et al., 2016). Perioküler bölgede, farklı moleküler ağırlıklarda (sırasıyla 50, 130, 300, 800 ve 2000 kDa) %0,1 hyaluronan formülasyonlarının topikal uygulamasının etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada; 60 gün sonrasında 50 kDa HA ve 130 kDa HA gruplarında koyu halkalarda belirgin iyileşme gözlemlenmiştir (Pavicic et al., 2011).

HA'nın göz çevresi için kullanılması daha sıklıkla ince kırışıklıkların azaltılması amaçlı olmaktadır. HA yüklenen peptidler, transdermal taşıyıcılığı arttırmak için mikroigneleme yöntemleri ile periorbital bölgeye aktarılmaktadır. Yapılan çalışmalarda periorbital bölgede aydınlanma da saptanmıştır (Choi et al., 2017).

2.2.3.2. Melanin Sentez Süresince Uygulanan Tedaviler

Tirozinaz inhibitörleri: DOPA'nın dopakinona dönüşümünü engeller. Bu gruptaki maddelere aşağıdaki örnekler verilebilir.

Kojik asit: Aspergillus türleri ve Penicillium türleri tarafından üretilen doğal olarak oluşan bir mantar türevidir. Tirozinazı inhibe ederek etki eder ve %1 ile %4 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılır. Lim ve arkadaşlarının çalışmasında; %10 glikolik asit ve %2 hidrokinon içeren bir jelle kojik asit eklenmesinin melazmadaki pigmentasyonu daha da iyileştirdiği bulunmuştur (Lim, 1999).

α -Arbutin: Yabanmersini, kıızılcık gibi «berry» ailesinden elde edilir. Ertam ve arkadaşlarının çalışmasında, %3 α -arbutin jel topikal olarak ve göz çevresine, günde 1 kere sürülerek 1 ay boyunca kullanılmıştır. Meksametre ile değerlendirme yapıldığında

göz çevresindeki koyu halkalarda %43,5 oranında renk açılması ile göz çevresi bölgesinin kan akışında artış saptanmıştır (Ertam et al., 2008).

Azelaik asit: Arpa ve buğday çavdarından elde edilir. Kircik'in çift kör randomize çalışmasında, orta-şiddetli melasma olan 30 hasta alınmıştır. 15 hastaya %15 azelaik asit jel ve 15 hastaya ise %4 hidrokinon jel, günde iki defa lekelerin üzerine sürülecek şekilde 4 ay boyunca kullanılmıştır. Melasma aktivite skor indekslerin (MASI)'de %48,7 iyileşme sağlamışken %4 hidrokinonda ise %46,7 iyileşme olmuştur. Ayrıca kırmızı lekelerde, kızarıklıkta ve şişlikte azalma da beraberinde gözlemlenmiştir (Kircik, 2011).

D-glukuronik asit: Şekerin *Xanthomonas campestris* ile fermantasyonu ile üretilir. Periorbital bölgeye rahatlıkla kullanılan hiyaluronik asit dolgular, tekrarlayan d-glukuronik asitten oluşan glikozaminoglikan disakkarittir. Hashmi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 5-20 mM konsantrasyonlarda 0,5 ml D-glukuronik asit reaktif karışımına (0,35 ml pH 5,7 fosfat tamponu, 0,15 ml ham tirozinaz çözeltisi ve 0,5 ml 20mM L-tirozin) ilave edilerek çözelti oluşturulmuştur ve 65 °C' de 15 dakika inkübe edilmiştir (absorbans 475nm). Tirozinaz aktivitesini inhibe edebilmesi arbutinle karşılaştırılmıştır. D-glukuronik asit ile tirozinazın %26,38 inhibisyonu sağlanırken Arbutin ile tirozinazın %15,44 inhibisyonu gerçekleşmiştir (Sawant & Khan, 2020).

Dihidrokalgon: *Aspalathus linearis*'in fermantasyonu ile üretilir. Radhakrishnan ve arkadaşlarının çalışmasında, 10-50 mM konsantrasyonlarda 0,5 ml dihidrokalgon çözelti hazırlanmıştır (absorbans 482 nm). 50 mM dihidrokalgon, tirozinaz aktivitesini %74,6 inhibe edebilirken 50 mM kojik asitin %45, 2 inhibe ettiği saptanmıştır (Radhakrishnan et al., 2015).

Fukoksantin: *Laminaria japonica*'dan elde edilebilir. Shimoda ve arkadaşlarının çalışmasında, teofilin ile uyarılan B16 melanom hücreleri, reaktif karışımı (40 mM), DMSO (10-40 ul) içinde fukoksantin konsantrasyonları ile kültürlenmiştir. Fosfat tamponu pH 6, 8, 500 µl 0, 4 mg/ml L-DOPA ve 100 ml tirozinaz solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir (absorbans 492nm). 30 µl fukoksantin %24,67 tirozinaz aktivitesini inhibe ederken, 30 µl arbutinin %22,34 inhibe ettiği bulunmuştur (Shimoda et al., 2010).

Genistein: Soya fasulyesinden elde edilir. Zhou ve arkadaşlarının çalışmasında; UV-B ışınlanmış 8 kobay derisine %1 genistein solüsyonu, UV-B ışınlanmış 8 kobay

derisine %2 genistein solüsyonu ve UV-B ışınlanmış 8 kobay derisine de %4 genistein solüsyonu 30 gün boyunca günde tek sefer uygulanmıştır. Karşılaştırmak için UV-B ışınlanmış 8 kobay derisine de %2 arbutin solüsyonu 30 gün boyunca günde tek sefer uygulanmıştır. Histopatolojik değerlendirmede (fontana-masson boyama) %2 genistein solüsyonu tirozinaz aktivitesini %28,1 inhibe etmiş ve melanin içeriğini %15,5 azaltmıştır. %2 arbutin solüsyonu tirozinaz aktivitesini %33,4 inhibe etmiş ve melanin içeriğini %17,7 azaltmıştır (Zhou et al., 2017).

Ksimenik asit: *Santalum album* (sandal ağacı) dan elde edilir. Misra & Dey ve arkadaşlarının çalışmasında test çözeltisi - Tween 80'de 10-1000 µg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan 0,5 ml ksimenik asit reaktif karışımına (50mM pH 6,8, 0,15 fosfat tamponu) eklenmiştir. 25 °C'de 20 dk inkübe edilmiştir (absorbans 488 nm). 100µg/ml ksimenik asit ekstraktı tirozinaz aktivitesini %29,3 inhibe ederken, 100µg/ml kojik asit %73,2 oranında inhibe etmiştir. Etkinliği kojik asite göre daha düşük çıkmıştır (Misra & Dey, 2013).

5-lipojenaz inhibitörleri : 5, 6- dihidroksiindol oksidasyonu inhibe edilerek indol 5-6-kinon ve melanin siyah polimer oluşumu engellenir.

Boswellik asit: *Boswellia serrata*'dan elde edilir. Pedretti ve arkadaşlarının randomize, çift kör, split face yapılmış çalışmasında 31-68 yaş aralığındaki 15 kadına %0,5 boswellik asit krem, topikal olarak günde bir kere, 30 gün boyunca uygulanmıştır. İnce çizgileri (2,23 ile 1,69), benekli pigmentasyonu (0,92 ile 0,85), stabil kırışıklığı (1,92 ile 1,77) ve yüzdeki eritemi (0,46 ile 0,38) azalttığı gösterilmiştir (Pedretti et al., 2010).

Süperoksit süpürücü ajanlar: Süperoksit parçasını temizler ve 5,6-dihidroksiindolün indol 5-6-kinona dönüşmesini engeller. Böylece melanin üretimini önler.

Siyanidin-3-glukozit: Kara mürver, kara kurt üzümü ve duttan elde edilebilir. Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında; Teofilin ile indüklenen B16 melanom hücreleri, farklı konsantrasyonlarda (10 ila 30 µM) siyanidin-3-glukozite reaktif 100 nM α-MSH ve 100 m 1 N sodyumhidroksit eklenerek kültürlenmiş ve oda sıcaklığında 24 saat inkübe edilmiştir (absorbans 492nm- microplate spektrofotometre). Siyanidin-3-glukozitin, doza bağlı olarak melanin içeriğini önemli ölçüde azalttığı; 10 µM'de

melanin içeriği %87,61 iken 30 uM'de %31,67'ye düştüğü ve tirozinaz aktivitesinin 4 uM'de %74 azaldığı saptanmıştır (X. Zhang et al., 2009).

Reaktif oksijen süpürücüler: Reaktif oksijen türleri (ROS) 'u temizler (ONOO-, H₂O₂, O₃) ve 5,6-dihidroksiindolün indol 5-6-kinona dönüşümünü engeller, böylece melanin üretimini engeller.

Beta-karoten: Mango yağı, deniz yosunu, ayçiçeği tohumu, hindiba kökü ve havuçtan elde edilir. Kar ve arkadaşlarının çalışmasında orta ve şiddetli melasma olan 26 kadın ve 5 erkek hastada %2 beta-karoten losyon topikal olarak günde 2 defa sürülerek 8 hafta kullanılmıştır. 8 haftalık tedaviden sonra, derece I pigmentasyonu olan 1 hastanın tamamen iyileştiği, Derece II pigmentasyondan derece I'e dönüşen vakaların %77, Derece III pigmentasyondan derece II'ye dönüşen vakaların ise %83 oranında olduğu bulunmuştur. Pullanma azalması, esnekliğin geri dönmesi ve hasarlı cildin görünümünün iyileşmesinde etkili olduğu saptanmıştır (Kar, 2002).

Kurkumin: Zerdeçaldan elde edilir. Majeed ve arkadaşlarının randomize, plasebo kontrollü, çift kör çalışmasında; 25 hastaya %0,25 turmerik krem ve 25 hastaya %4 hidrokinon krem topikal olarak günde 2 defa, 4 hafta boyunca uygulanmıştır. Meksametre ile değerlendirilmiştir. MI'te 300'den 250'ye düşme turmerik kremde %16,7 iken MI'te 308'den 247'ye düşme hidrokinon kremde %19,8 oranında görülmüştür. Turmerik; kızarıklıkta ve kırmızı lekelerde azalma ve hasarlanmış cildin ince kırışıklıklarını iyileştirmede etkili bulunmuştur (Sawant & Khan, 2020).

Likopen: Domatesten elde edilir. Wanick ve arkadaşlarının çalışmasında; UV-B nedenli melasma olan 68 hastaya %5 likopen içinde kapsül günde 2 defa, 12 hafta kullanılmıştır. İki haftalık tedaviden sonra Taylor hiperpigmentasyon skalasında %19,5 ve MASI skorunda %8,5 azalma saptanmıştır. Likopenin cildin nem içeriğini, dokusunu ve elastikiyetini iyileştirdiği bulunmuştur (Wanick et al., 2012).

2.2.3.3. Melanin Sentezi Sonrası Uygulanan Tedaviler

Melanozom transfer inhibitörleri:

Niasinamid: Kabak ve yer fıstığından elde edilebilir. Hakozaiki ve arkadaşlarının çalışmasında 18 hastaya %5 niasinamid krem, topikal olarak 4 hafta boyunca kullanılmıştır. Dijital görüntüleme ile değerlendirildiğinde yüzdeki pigmentasyonu %11 oranında azalttığı saptanmıştır (Hakozaiki et al., 2002).

Deri turnoverını arttıranlar:

Laktik asit : Ayranın mezofilik laktik asit bakterileri (LAB) ile fermentasyonu ile üretilir. Singh ve arkadaşlarının randomize çalışmasında 20 melasma hastası, %82 laktik asit solüsyonunu, topikal olarak 2 haftada 1 defa olacak şekilde 12 hafta süresince kullanmıştır. 12 hafta sonunda, MASI skorunda %35,4 iyileşme gözlemlenmiştir (Singh et al., 2014).

Retinoik asit: Balık, et, yumurta, tam yağlı süt ve avokado yağından elde edilir. Ortonne ve arkadaşlarının çift kör, kontrollü çalışmasında postenflamatuvar hiperpigmentasyonu olan 19 hastaya %0,1 retinoik asit krem ve 19 hastaya plasebo krem uygulanmıştır. Dijital görüntüleme ile değerlendirildiğinde, retinoik asit pigment lezyonları %40 oranında (plasebo %18) azaltmıştır. Epidermal melanin yoğunluğu retinoik asit ile %23 oranında azalmıştır (plasebo %5,8) (Ortonne, 2006).

Ferulik asit: Yulaf, esmer pirinç, narenciyeden elde edilir. Antioksidan özelliktedir. Tirozinazı inhibe ederek etki gösterir. Özellikle konstitusyonel POH tedavisinde başarılıdır. Periorbital melanozisi olan 90 hasta 3 gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. 30 hasta %20 glikolik asit; 30 hasta %15 laktik asit; 30 hasta %12 ferulik asit, haftada 3 gün, 12 hafta boyunca uygulamıştır. Her üç peeling de etkili bulunmuş ama en iyi renk açılması %20 glikolik asit ile gözlemlenmiştir. Ferulik asidi her mevsim, değişken cilt tipleri ve ırklarla kullanılabilmesi sayesinde en hassas bölge olan periorbital bölge için daha uygun kılmaktadır (Dayal et al., 2020).

Kolajen sentez aktivatörleri : Kolajen üretimini uyaran ve böylece yeni cilt oluşumunu sağlayarak cildin elastikiyetini arttıran içeriklerdir.

Vitamin C: Narenciyeden elde edilir. Hem antioksidan hem de kolajen sentezini arttırıcı özelliği vardır. Kan stazını engeller. %10 sodyum askorbatın, göz kapağının dermisini kalınlaştırarak ve böylece alttaki damar sistemi için bir kapatıcı etki sağlayarak vasküler koyu halkaların görünümünü azalttığı gösterilmiştir (Ohshima et al., 2009).

Asiaticoside: *Centella asiatica*'dan elde edilir. Kwon ve arkadaşlarının çalışmasında, çeşitli konsantrasyonlarda (10, 25, 50 and 100 µg/ml) asiaticosid'e 100 nM forskolin ve 100 ml 1N sodyum hidroksit eklenmiş olan teofilinle uyarılan B16F10 melanom hücreleri kültüre edilmiştir (absorbans 405nm). 10µg/ml asiaticosid, melanin

içeriğini %98 azaltırken 100µg/ml Asiakosid melanin içeriğini %75 azaltmıştır (Kwon et al., 2014).

Kafein: Ginseng ve kahve çekirdeklerinden elde edilir. Ahmadraji & Shatalebi çalışmasında, göz çevresi kırışıklığı ve koyu halkaları olan 11 kadın %3 kafein içeren yağ bazlı emülsiyon pedleri topikal olarak günde bir kez olacak şekilde 4 hafta kullanmıştır. MC900 ile yapılan ölçümlerde kafeinli padler, deri elastiğini 55'ten 91,1'e, hidrasyonu 42,5'ten 81,6'ya çıkarırken pigmentasyonu 19,7'den 12,2'ye düşürmüştür. Periorbital bölgeye uygulanan kafein padlerinin, enflamasyonu ve şişkinliği azalttığı, cildi sıkılaştırdığı ve parlattığı saptanmıştır (Ahmadraji & Shatalebi, 2015).

Krisin: *Passiflora caerulea*'dan elde edilir. Kim ve arkadaşlarının çalışmasında; teofilin ile uyarılan B16 melanom hücreleri, farklı konsantrasyondaki (5-100 µM) krisin ile kültüre edilmiştir (absorbans 405nm). 10 µM krisin, melanin içeriğini %51,6 azaltırken, 100 µM krisin, melanin içeriğini %40,9 azaltmıştır (D. C. Kim et al., 2011).

Dipalmitoil-hidroksiprolen: Palmitik asidin (palmiye çekirdeği) hidroksiprolen parçası üzerine greftlenmesiyle üretilir. Sonti ve arkadaşlarının çalışmasında, 35-56 yaş arası, periorbital bölgede orta- şiddetli ince ve kaba kırışıklıkları olan 33 kadın hastaya dipalmitoil-hidroksiprolen serumu topikal olarak günde iki defa olacak şekilde 12 hafta boyunca kullanılmıştır. Dördüncü, sekizinci ve 12. haftalarda ince ve kaba kırışıklıklar, cilt sıkılığı, cilt tonu ve parlaklığındaki değişimler on noktalı skala sistemi ile derecelendirilerek değerlendirilmiştir. Oniki haftalık dipalmitoil-hidroksiprolen serum tedavisinin ince kırışıklıkları (%13,88), kaba kırışıklıkları (%31), cilt sıkılığını (%18,3), cilt tonunu (%12) ve parlaklığını (%19,1) iyileştirdiği saptanmıştır (Sonti et al., 2013).

b-Glukogallin: Dondurularak kurutulmuş amla ekstraktından elde edilebilir. Adil ve arkadaşlarının çalışmasında, UV-B ile indüklenen fotoyaşlanmış insan derisi fibroblastları, farklı (10-40µg/ml) konsantrasyonlarda b-glucogallin ile kültürlenmiştir. 40µg/ml b-glukogallin'in pro-kollajen-1 düzeylerini %72 oranında arttırdığı ve matriks metaloproteinaz-1 (MMP-1) düzeylerini %94 oranında azalttığı bulunmuştur (Adil et al., 2010).

Salidroside: *Rhodiola rosea*'dan elde edilir. Peng ve arkadaşlarının çalışmasında, çeşitli (10-100 uM) salidroside konsantrasyonları ile B16F10 melanom hücreleri

kültürlenmiştir (absorbans 488nm). 100 µM salidroside' in tirozinaz aktivitesini %26 azalttığı ve melanin sentezini %35,5 inhibe ettiği bulunmuştur (Peng et al., 2013).

α-SMA (smooth muscle actin) aktivatörleri : Fibroblastı aktive ederler ve yeni oluşturulan hücre dışı matrisi sentezleyip yeniden modelledikleri yara bölgesine göç ederler.

Arabinoksilanlar: *Secale* tahıl ve buğday kepeğinden elde edilir. Reynaud ve arkadaşlarının randomize çalışmasında, 18 yaşındaki 20 kadın hastaya %3 arabinoksilan krem topikal olarak günde iki defa olacak şekilde 28 gün boyunca kullanılmış ve 10 kadın hastaya ise %2 arbutin krem topikal olarak günde iki defa olacak şekilde 28 gün boyunca kullanılmıştır. Meksametre ile değerlendirilmiş ve arabinoksilan ile MI'te %2,28 azalma gözlemlenirken, arbutin ile MI'te %2,03 azalma bulunmuştur (Sawant & Khan, 2020).

Hyaluronik asit sentez aktivatörleri: Göz altındaki koyu halkalar cilt dehidrasyonundan kaynaklanır ve ciltte bulunan hyaluronik asit, suyu tutarak bağ dokularına kadar lubrikasyon ve hidrasyondan sorumludur.

Piknojenol: Deniz çamından elde edilir. Ni, Mu ve Gulati çalışmasında, melasma olan 30 kadın hastaya 25 mg piknogenol tableti oral olarak günde üç defa olacak şekilde 30 gün boyunca uygulamıştır. Visuel değerlendirme ile piknojenol tabletlerin melasma alanını (68,6 ila 42,8 mm²) ve pigment yoğunluğunu (2,10 ila 1,63 birim) azalttığı bulunmuştur (Ni et al., 2002).

2.2.4. Göz Çevresine Uygulanan Kombine Topikal Tedaviler

Gözaltının kozmetik problemleri pek çok faktörün etkisiyle ortaya çıkabilir. Bu yüzden tek bir ürünü kullanmak yerine kombine tedaviler daha başarılı olabilmektedir. Birbiriyle uyumlu ekstratler kullanılarak sinerjistik etki sonucu daha fazla etkinlik sağlanabilir ve pazarlama açısından daha avantajlı olabilir.

Düşük molekül ağırlıklı heparin + %2,5 *Tephrosia purpurea* tohumu ekstraktı + %3 *E. Crustaceum* plankton ekstraktı + %2 *Hieracium pilosella* + %2 *Bellis perennis* çiçek ekstraktı kombine tedavisi günde iki defa olacak şekilde 12 hafta boyunca değerlendirilmiştir. VISIA CR görüntüleme cihazı ile değerlendirildiğinde göz çevresindeki şişkinlikte %73, koyu halkalarda %92 azalma, kaba kırışıklıklarda iyileşme gözlemlenmiştir. Kremin aydınlatıcı etkilerinin, ekstratlerin içeriğindeki

stachyose, ciceritol, kaempferol-3-O-rutinosid, kuersetin-3-O-rutinosid ve patuletin-3-O-rutinosid sayesinde olduğu belirtilmiştir. Bu kremle, melanosit aktivasyonu engellenmiştir. Hiperpigmentasyon etkisinden sorumlu olan kortizol dengesizliği düzeltilmiştir. Heparin sülfat ile aktiflerin dermise derinlemesine ulaşması sağlanarak penetrasyon kabiliyeti arttırılmış ve su bağlama özelliği ile cildin hidrasyonu iyileştirilmiştir (Colvan et al., 2019).

%2 kurt üzümü ekstraktı, %2 zeytinyağı, %1 pirinç kepeği yağı, %1 lavanta ekstraktı, %2 kuşburnu ekstraktı ve %1,5 yabani iğde ekstraktı 21 hastaya topikal olarak günde bir kez olacak şekilde 60 gün boyunca kullanılmıştır. Meksametre ile değerlendirilmiştir ve melaninde %28,04 azalma, eritemde %15,47 azalma, şişlik, koyu halkalar ve ince kırışıklıklarda iyileşme gözlemlenmiştir. Gözaltı kan akışının düzelmesi ve kremin aydınlatıcı etkileri, ekstratların içeriğindeki betain, beta-karoten, zeaksantin, 2-o-β-D-glukopiranosil, L-askorbik asit, α-tokoferol, karnosik asit, linalol ve doymamış omega yağ asitleri sayesinde olmuştur (Sawant & Khan, 2020).

%3 salatalık ekstraktı, %2 kutsal fesleğen ekstraktı, %1 badem yağı, %1 jojoba yağı ve %3 *aloe vera* jel 14 hastaya topikal olarak günde bir kez olacak şekilde 4 hafta boyunca kullanılmıştır. Her hafta melanin, eritem, nem ölçümleri yapıldığında; melaninde %13 azalma, eritemde %11,9 azalma, deri neminde %5,1 azalma görülmüştür. Kremin aydınlatıcı etkileri, ekstratların içeriğindeki L-askorbik asit, α-tokoferol, öjenol, retinoik asit, aloesin ve beta-karoten sayesinde olmuştur (Sawant & Khan, 2020).

%5 *alev çiçeği*, *Ptychopetalum olacoides* ve L-ilişkili bileşik (PPLAC) 21 hastaya topikal olarak günde iki kez olacak şekilde 28 gün boyunca kullanılmıştır. Koyu halkaların görünümünde %24 azalma, pigmentasyon yoğunluğunda azalma %19,7 oranında görülmüştür. Kremin aydınlatıcı etkileri, ekstratların içeriğindeki pafik asid, pafossides A,B,C,D,E,F; allantoin, lupeol ve isorhamnetin rutinosid sayesinde olmuştur (Eberlin et al., 2009).

%50 hyaluronik asit, %12 demirhindi tohumu ekstraktı ve oligopeptide-34 (pentilen glikol ve su taşıyıcı sistemi) 10 hastaya topikal olarak günde iki defa olacak şekilde 12 hafta boyunca kullanılmıştır. Cilt tonunda %38 iyileşme, koyu lekelerde %24 iyileşme, cilt sıkılaşması ve elastikiyetinde artış ve ince kırışıklıklarda azalma

gözlemlenmiştir. Kremin aydınlatıcı etkileri, ekstratların içeriğindeki ksiloz, ksiloz-galaktoz, arabinoz ve hyaluronik asit sayesinde olmuştur (Sawant & Khan, 2020).

POH tedavisinde hidrokinon ve kojik asit altın standart olarak görülmektedir. Fakat hidrokinonun pek çok yan etkisi olduğu bilindiği gibi kojik asitin periorbital bölgede kullanımı ile ilgili bir çalışma dahi yoktur. Yüzdeki hiperpigmentasyon üzerine yapılan çalışmalarda, bitkisel içerikli topikal tedavilerle başarılı sonuçlar alınmıştır.

Hidrokinon, 1,4-diol veya kinol olarak bilinen ve $C_6H_4(OH)_2$ formülüne sahip bir benzen türevi olan bir tür fenol olan aromatik bir organik bileşiktir. %2 - %6 arasında oranlarda kullanılır ve etkinliğini üç ay sonra gösterir. Deride irritasyon, kaşıntı, postenflamatuvar hiperpigmentasyon ve geçici hiperkromi gibi akut yan etkileri olabileceği gibi üç aydan uzun kullanımlarda eksojenöz okronozise de neden olabilir. Kligman formülünde kullanılan bir ajandır. %4 hidrokinon, %0,05 tretinoin ve %0,01 fluosinolon kombinasyonu göz çevresine de kullanılabilir fakat topikal steroid nedeniyle uzun süreli kullanımı önerilmez (Sarkar et al., 2016).

Konvansiyonel topikal tedavilere kombine kullanılan Q-switch laser ve mikroiğneleme yöntemleriyle pigmentasyonda %35 - %62 oranında iyileşme olduğu da literatürde yer almaktadır. Fakat mevcut tedaviler periorbital pigmentasyonun tedavisinde yeterli değildir ve yeni içeriklerle kombinasyonlar yapılması gerekmektedir. Ayrıca; POH tedavisi için depigmente edici ajanlar kullanıldıktan sonra periorbital bölgenin UV maruziyetinden korunması çok önemlidir. Bu açıdan periorbital bölgeye adeziv bandajlarla ürünleri uygulamak da dikkat edilmesi gereken bir durumdur.

2.2.5. Göz Çevresi Bölgesinin Hiperpigmentasyon Tedavisi için Meyan Kökü Ekstresinin Kullanımı

Meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) ekstresinin içeriğindeki hidrofobik özellikteki ana komponent glisirizindir. Tirozinaz inhibisyonu yaparak melanogenezis üzerine kısmi inhibisyon etkisini flavonoid özellikteki bu komponent ile yapar (Yokota et al., 1998). Meyan kökünün bir diğer etken maddesi olan *liquiritin*, UV kaynaklı eritemi azaltır, antiinflamatuvar etkiye sahiptir ve melanozomlar üzerinde inhibitör etkisi de vardır (Zubair & Mujtaba, 2009).

Zubair ve arkadaşlarının çalışmasında, 90 hastaya %2 liquiritin, %4 liquiritin ve %4 hidrokinon topikal olarak sekiz hafta boyunca kullanılmıştır. Her iki orandaki

liquiritinlerin hidrokinondan daha etkili olduğu saptanmış ve %4 liquiritin ise en etkili form olarak gözlemlenmiştir (Zubair & Mujtaba, 2009). Amer ve arkadaşlarının çalışmasında ise 18 - 40 yaş aralığındaki, 20 hastanın yüzlerinin bir yarısına liquiritin krem ve bir yarısına da taşıyıcı krem dört hafta boyunca kullanılmıştır. Hem visuel skala ile hem de yüzdeki melasmaların milimetrik ölçümleri ile değerlendirmeler yapılmış ve dört hafta sonrasında hastaların %80'inde liquiritin kullanılan yüz yarısında mükemmel yanıt alındığı tespit edilmiştir (Amer & Metwalli, 2000).

Costa ve arkadaşlarının çalışmasında ise 18 - 60 yaş arasındaki, epidermal veya mikst melasma olan 56 kadın hasta 2 gruba ayrılarak bir gruba belides, emblica ve licorice kombine edilmiş krem ve diğer gruba %2 hidrokinon 60 gün boyunca kullanılmıştır. Hekim-hasta değerlendirmesi ve VISIA CR ile değerlendirme yapılmıştır. Melazmada benzer bir iyileşme her iki grupta da görülmüş (sırasıyla %88,9 ve %78,3) ve bu, başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < .001$). Fakat belides, emblica ve licorice kombinasyonunun hidrokinona göre güvenli ve etkili bir alternatif olduğu belirtilmiştir (Costa et al., 2010).

2.2.6. Göz Çevresi Bölgesinin Kan Dolaşımı Bozukluğu Tedavisi için At Kestanesi Ekstresi Kullanımı

At keşanesi (*Aesculus hippocastanum*) tohumundan ve triterpen saponinlerin karışık komponentlerinden izole edilen ana komponenti essin'dir. Tıpta sıklıkla kullanılan genç dalların tohumları ve kabuklarıdır. Essin, α ve β olmak üzere iki formda bulunur ve farmasötik formülasyonlarda yer alan aktif bileşen ise β -essin'dir (Sirtori, 2001). Başlıca kullanım alanı anti-enflamatuar etki üzerine olup zamanla kronik venöz yetmezlikte, hemoroidde ve post-operatif ödem tedavisinde de kullanılmıştır (Matsuda et al., 1997). Deri üzerindeki etkilerini ise Wilkinson ve Brown, hyaluronidaz inhibisyonu yaparak gösterebileceğini belirtse de güçlü mikrovasküler venotonik etkisi olan essinin bunu nasıl yaptığı açıklanamamıştır. Fakat *Aesculus hippocastanum* ekstrelerinde ise kolajenaz, elastaz ve β -glukuronidazı inhibisyon etkilerinin gösterildiği için tek başına essin yerine *Aesculus hippocastanum* ekstresinin daha etkili olduğu belirtilmiştir. *Aesculus hippocastanum* ekstresinin, E vitamininden daha güçlü antioksidan olduğu ve ayrıca, antioksidanların iyi bilinen yaşlanma karşıtı özellikleriyle bağlantılı olan güçlü hücre koruyucu etkileri de sergilediği belirtilmiştir.

Aesculus hippocastanum ekstresinin, E vitamininden daha güçlü antioksidan olduğu ve ayrıca, antioksidanların iyi bilinen yaşlanma karşıtı özellikleriyle bağlantılı olan güçlü hücre koruyucu etkilerini de sergilediği gösterilmiştir.

Ekstre ayrıca kan damarları üzerinde koruyucu etkileri olan kuersetin ve kaempferol türevleri flavanoidler açısından da zengindir (Wilkinson & Brown, 1999).

Tan ve arkadaşlarının çalışmasında, kronik venöz yetmezlik ve inflamatuvar yumuşak doku hastalıkları için *A. hippocastanum* ve *M. chamomilla* ekstraktı ile topikal jel formülasyonu hazırlanarak deriye penetrasyon kapasitesi ve stabilitesi değerlendirilmiş ve belirgin şekilde faydalı olduğu gösterilmiştir (E. E. Ö. Tan et al., 2023).

Belcaro ve arkadaşlarının çalışmasında, %0,2 essin, essin β -sitosterol, *Zanthoxylum bungeanum* meyve ekstraktı, etil ksimenynat ve ruskogeninler içeren multikomponent krem ve taşıyıcı krem gözaltı ödemi/şişliği olan 57 hastada günde iki defa olacak şekilde sekiz hafta boyunca kullanılmıştır. Elastografi, laser doppler flowmetri, termografi, transkutanöz kan gazı monitorizasyonu ile değerlendirilmiştir. Essin içerikli krem, 4 hafta sonrasında dahi gözaltı derisinin mikrosirkülasyonunda belirgin iyileşme, gözaltı şişliğinde belirgin azalma ve global yüz görünümünde belirgin iyileşme sağlamıştır. En belirgin etki essin, β -sitosterol, *Zanthoxylum bungeanum* meyve ekstraktı, etil ksimenynat ve ruskogeninler içeren multikomponent kremde sağlanmıştır (Gianni Belcaro 2016).

2.3. Nanoemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler

2.3.1. Nanoemülsiyon Tanımı

Yağ ve su fazının surfaktan veya ko-surfaktan ile birleşmesiyle oluşan kinetik açıdan kararlı ve termodinamik açıdan dayanıksız olan ilaç taşıyıcı sistemlere nanoemülsiyonlar denilmektedir. Nanoemülsiyonlar, kontrollü salım ve ilaç salımı için biyolojik olarak aktif maddelerin verilmesi için geliştirilmiş sistemlerdir. Nanoemülsiyonlar 5 - 200 nm arasında olmak üzere klasik emülsiyon ve mikroemülsiyon arasında bir damlacık boyutuna sahiptir (Phatale et al., 2022).

2.3.2. Nanoemülsiyonların Avantajları

Nanoemülsiyonlarda düşük yüzey gerilimi ve Y/S damlacıklarının düşük ara yüzey gerilimi sonucuyla ıslanabilirlik, yayılma ve penetrasyonun artması gözlemlenir ve küçük damlacık boyutu ise daha homojen olarak depolanma sağlar. Damlacık boyutunun küçüklüğü sayesinde kremalaşma ve flokülasyon oluşmaz ve bu durum sistemin dispers halde kalmasını sağlamaktadır. Elastik damlacık yapısı yüzeyel dalgalanmaları engeller ve koalesans gözlenmesini engeller. Deriden aktif maddelerin transportunda en etkili sistemler nanoemülsiyonlardır ve geniş yüzey alanı sağladıkları için deri ve mukoza membranlarına hızlı penetrasyonunu sağlar. Nanoemülsiyonlar krem, sıvı, sprey ve köpük gibi pek çok değişik formda hazırlanabilir. Sağlıklı birey ve hayvanlar üzerinde zararlı etkileri tespit edilmediği için terapötik amaçlı kullanılabilir. Topikal, oral ve intravenöz yolla uygulanabilmektedir. Nanoemülsiyonlar kimyasal açıdan stabil olmayan bileşenleri ışıktan ve oksidatif bozunmadan koruyarak daha stabil olmalarını mümkün kılar. Ayrıca pek çok tedavi edici aktif içeriğin bir araya gelmesine olanak sağlar (Mura, 2020).

2.3.3. Nanoemülsiyonların Dezavantajları

Nanoemülsiyonların damlacık boyutunu küçültmek için özel aletler ve işlemler gerekmektedir ve zor bir süreçtir. Mikrofluidizasyon ve ultrasonifikasyon için büyük finansal destek gerekmektedir. Stabil olarak kabul edilseler de Oswald olgunlaşması nanoemülsiyonlara hasar verebilir. Formülasyonların hazırlanmasının kullanımdan kısa süre önce olması tavsiye edilir. Nanoemülsiyonlar, pH ve sıcaklık gibi çevre koşullarından etkilenebilir ve stabiliteleri bozulabilir. Eriyebilirlikleri yüksek maddelerden oluşuyorlarsa kısıtlı çözünme kapasiteleri vardır (Salome A. Chime et al., 2014).

2.3.2. Nanoemülsiyonların Bileşiminde Kullanılan Eksipiyenler

Nanoemülsiyonlar temel olarak üç fazdan oluşurlar; su fazı, yağ fazı ve sürfaktan/ko-sürfaktan karışımı. Yağ fazı, doğal veya sentetik lipitler, orta- uzun zincirli trigliseritler ve yağ asitlerinden (Captex 355, Captex 200, Captex 8000, Witepsol, Myristol 318, izopropil miristat) oluşabilir. Doğal ve modifiye edilmiş lesitinleri polietilenoksit, gliseridler, artı yüklü lipitler ve PEG türevleri de kullanılabilen emülgatörlerdir. Transcutol HP, gliserin, etilen glikol, propilen glikol, etanol, propanol, PEG 400, Lauroglycol 90 kullanılan kosurfaktanlar iken Capryol 90, Gelucire 44/14,

50/13, Cremophor RH 40, İmwitor 191, 308(1), 380,742,780 K, 928, 988, Labrafil M, 1944 CS, M2125 Cs, Plurol Oleique CC 497, Poloxamer 124, 188, Softigen 701, 767, Tween 80, Pluronic F68 ise surfaktan olarak kullanılabilir. Antioksidanlar, pH ayarlayıcılar, koruyucular ve aktif içerikler de nanoemülsiyonlara eklenen diğer bileşenlerdir (Puglia et al., 2010). Nano boyutlarda oldukları için yerçekimine üstün gelebilirler ve dolayısıyla sedimentasyon, flokülasyon, kremalaşma gibi yollarla faz ayrışması olmaz. Uzun süreli fiziksel stabiliteleri vardır. Nanoemülsiyonun görünümü damlacık boyutuna göre değişiklik gösterebilir. 100 nm'den büyük boyutlarda olanlar daha beyaz görünürken, 70 nm'den daha küçük damlacık boyutunda olanlar daha saydam görünebilirler (Zülali et al., 2006).

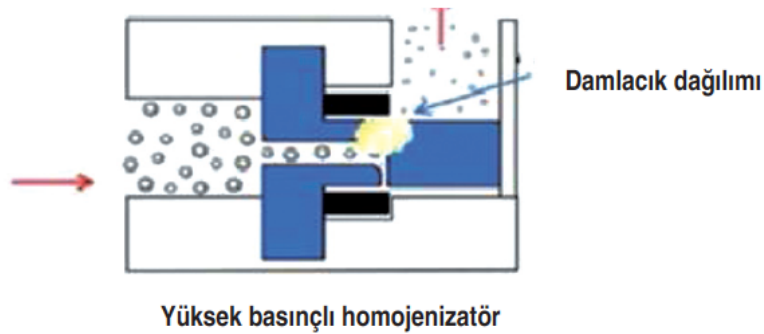
2.3.3. Nanoemülsiyonların Hazırlanma Metodları

Nanoemülsiyonlar yüksek ve düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleri olarak 2 farklı hazırlama yöntemi ile oluşturulabilir. Her iki yöntem sonucunda stabil nanoemülsiyonlar elde edilebilir (Yuvraj Singh et al., 2017).

2.3.3.1. Yüksek Enerjili Emülsifikasyon Yöntemleri

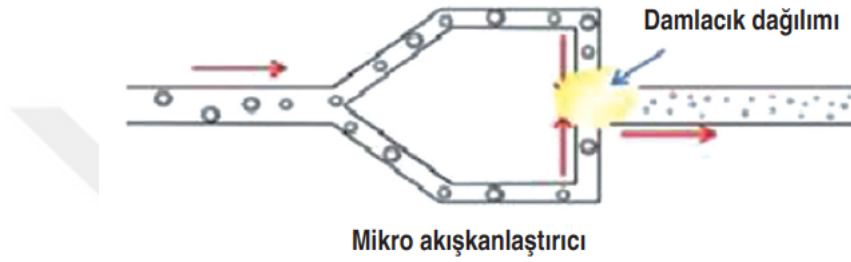
Nano boyutlarda damlacıklar üretebilmek için özel olarak tasarlanmış yüksek basınçlı homejenizasyon, mikroakışkanlaştırma ve ultrasonifikasyon cihazları kullanılır.

Yüksek basınçlı homejenizasyon ile yağ ve su fazı küçük bir giriş deliğinden geçirilerek güçlü türbülans ve hidrolik kesme kuvvetlerine maruz bırakılır. Bu sayede çok küçük boyutlu damlacıklar elde edilebilir (Çomoğlu et al., 2020) (Yousefpoor et al., 2023). Şekil 2-4'te yüksek basınçlı homejenizatörün çalışma mantığı şematik olarak gösterilmiştir.



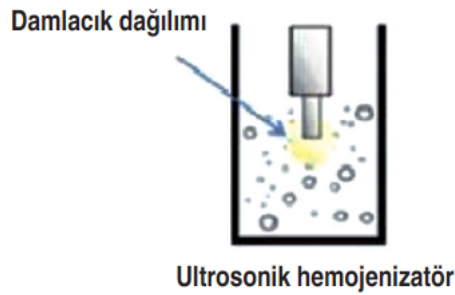
Şekil 2-4: Yüksek basınçlı homejenizasyon (Çomoğlu et al., 2020)

Mikroakışkanlaştırıcı olarak özel tasarlanmış cihazlar ile kaba bir emülsiyon formülasyonu hazırlandıktan sonra mikro kanallardan geçirilerek bir çarpışma alanı yaratılır. Çok küçük boyutlarda ve tez düze parçacıklar oluşturmak için daha sonrasında filtreleme yapılır (Solans & Solé, 2012). Şekil 2-5'te mikroakışkanlaştırıcıların çalışma mantığı şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2-5: Mikroakışkanlaştırıcılar (Çomoğlu et al., 2020)

Ultrasonifikasyon yönteminde ise ultrasonik dalgalar oluşturan probalar ile kavitasyon kuvveti kullanılarak makroemülsiyonlar nano boyutta partiküllere dönüştürülür. İşlem süresince zaman ve ultrasonik enerji girdisi üzerinden değişiklikler yapılabilir. Bu sayede istenilen özellikte nanoemülsiyonlar elde edilebilir. Diğer yöntemlere göre laboratuvar ortamlarında üretim yapmak için daha uygun cihazlardır (S. A. Chime et al., 2014). Şekil 2-6'da ultrasonifikasyon cihazlarının çalışma mantığı şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2-6: Ultrasonifikasyon (Çomoğlu et al., 2020)

2.3.3.2. Düşük Enerjili Emülsifikasyon Yöntemleri

Düşük enerjili emülsifikasyon için herhangi bir özel cihaz ya da ekipmana gerek yoktur. Sıcaklık gibi parametreler değiştirilerek ve daha basit karıştırma yöntemleri uygulanarak nanoemülsiyonlar elde edilir. Daha düşük maliyetli yöntemlerdir. Faz geçiş sıcaklığı yöntemi, membran emülsifikasyonu ve emülsiyon dönüşüm noktası düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleridir (Solans & Solé, 2012).

Faz geçişinin gerçekleştiği faz inversiyon sıcaklığı kullanılarak nano parçacıklar elde edilir. Düşük sıcaklık y/s emülsiyonlarına meyilli iken yüksek sıcaklık s/y emülsiyonlarından yanadır. Bu yöntem ise faz geçiş sıcaklığı yöntemi olarak adlandırılır (Rao & McClements, 2010).

50 nm boyutlarındaki membranlar kullanılarak dağınık bir faz elde edilmesiyle nanoemülsiyonların oluşturulduğu yöntem ise membran emülsifikasyon yöntemidir. Daha az surfaktan ve enerji gerektirmesi avantajlarındanadır. Fakat halen daha araştırmacılar arasında elde edilen nanoemülsiyonların damlacık boyutu hakkında fikir birliği yoktur (Joscelyne & Trägårdh, 2000).

Herhangi bir sıcaklık değişimi ya da organik çözücü kullanmadan oda sıcaklığında faz değişimine dayalı olarak nanoemülsiyon elde edilen yöntem ise emülsiyon dönüşüm noktası yöntemidir (Liu et al., 2006).

2.3.4. Nanoemülsiyonların Karakterizasyon Yöntemleri

Nanoemülsiyonların karakterizasyonu için morfolojik değerlendirme, damlacık boyutu, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli, refraktif index ölçümü, viskozite, pH değeri, iletkenlik ve termodinamik çalışmalar yapılır.

Nanoemülsiyonların morfolojisini değerlendirmek için transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılır. TEM ile damlacıkların hem yapısı hem de morfolojisi incelenebilir. Taramalı elektron mikroskobu kullanılarak dispers fazın yüksek çözünürlükteki görüntülenmesi ile damlacıkların şekli ve yüzey özellikleri incelenebilir (Jain & Thareja, 2019; Krishnaswami et al., 2022). Diğer kullanılan yöntemler ise X-ray veya nötron saçılımı, atomik güç mikroskopisi veya kriyo elektron mikroskoplarıdır.

Dispersiyon kalitesinin ve homojenitenin iyi olması için PDI'nın iyi çıkması istenir. Bunun için de foton korelasyon spektroskopisi esasına dayanan cihazlarla

nanoemülsiyonların damlacık boyutu, PDI değeri ve zeta potansiyelleri analiz edilir (Wang et al., 2023).

Viskozite, stabilite ve etkin ilaç salımı için önemli bir faktördür ve viskozimetre ile ölçümler gerçekleşir. Nanoemülsiyonlar sıklıkla Y/S tipi oldukları için salımı daha hızlı olmakta ve cilde uygulandıktan sonra kolaylıkla uzaklaştırılmaktadır. Nanoemülsiyonlarda su içeriğinin artması viskoziteyi azaltırken, sürfaktan/kosürfaktan miktarının azaltılması ise viskoziteyi arttırmaktadır (Krishnaswami et al., 2022).

Nanoemülsiyonların in vitro salım çalışmaları Franz difüzyon hücresi ile değerlendirilir ve yarı geçirgen membran kullanılır. Magnetik karıştırıcıda 100 rpm ve $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ de karıştırma yapılır. Belirli zaman aralıklarında reseptör ortamdan belirli miktarda örnekler alınarak ortamın eşdeğer miktarıyla değiştirilir. Bu örneklerin süzülmesi 0,22-50 μm 'lik filtrelerden yapılır ve en çok absorpsiyonun görüldüğü dalga boyunda yüksek performanslı sıvı kromatografi (YPSK) veya UV-Vis spektroskopide etken madde salımı ile ilgili bilgi edilir (Jain & Thareja, 2019).

Sıçanlarda formülasyonun uygulanıp belirli aralıklarla kan örneklerinin santrifüj edilmesiyle gerçekleştirilen çalışmalara in vivo biyoyararlanım çalışmaları denilmektedir. Proteinden arındırılan plazma YPSK 'de değerlendirilerek nanoemülsiyon formülasyonunun içeriği netleştirilir (Zhao et al., 2013).

2.4. Nanoemüljeller Hakkında Genel Bilgiler

2.4.1. Nanoemüljel Tanımı

Dermal ilaç dağıtım sistemleri, sıvıdan toza kadar çok çeşitli formlarda olabilir ve en sık kullanılanlar ise krem ve merhemlerdir. Son yıllarda yarı katı formdaki bu ürünlerin jel formunda kullanımı hem kozmetik hem de farmasötik preparatlarda önemli ölçüde artmıştır. Jel, doğal veya sentetik polimerler kullanılarak oluşturulabilen, kolloidal bir ağ yapısında, sulu veya hidroalkolik sıvının hapsedilmesiyle oluşturulan dozaj formlarıdır. Jellerde sulu bileşen içeriği yüksek olduğu için daha fazla aktif bileşen çözünmesi sağlanabilir ve ayrıca jellerin uygulama kolaylığının getirdiği yüksek hasta uyumu da bir avantajdır. Aktif hidrofobik maddelerin verilmesinde ise kısıtlılık vardır (Y. Singh et al., 2017).

Nanoemülgeller, nano boyutlu emülsiyon damlacıklarının uygun bir jelleştirme maddesi eklenerek jel forma getirilmesiyle oluşturulan emülsiyon bazlı topikal jel formülasyonlarıdır.

Nanoemülgelin nanoemülsiyon bileşeni, aktif maddeyi enzimatik bozunma ve hidroliz gibi reaksiyonlardan korur ve jel bazı, arayüzü ve yüzey gerilimini azaltarak sulu fazın viskozitesini artırarak emülsiyona termodinamik stabilite sağlar. Uygun penetrasyon arttırıcıların varlığında, nano formdaki damlacık boyutu, ilacın geçirgenliğini ve yayılabilirliğini iyileştirerek formülasyonun etkinliğini artırabilir (Tariq et al., 2023). Nanoemülgeller, geleneksel emülgellerin karşılaştığı destabilizasyon problemi, tozların karşılaştığı nem tutma problemi, süspansiyonların karşılaştığı kek oluşumu problemi, yağ küreciklerinin birleşmesi problemi gibi diğer formülasyon kararlılığı sınırlamalarından yoksundur (Gururaj C Aithal et al., 2020).

2.4.2. Nanoemülgellerin Hazırlanmasında Kullanılan Eksipiyanlar

Dermatolojik kullanıma yönelik emülgeller, tiksotropik, yağsız, kolay sürülebilir, kolay çıkarılabilir, yumuşatıcı, leke yapmayan, suda çözünür, daha uzun raf ömürlü, biyo-dostu, şeffaf ve hoş görünümlü gibi birçok olumlu özelliğe sahiptir.

Topikal kullanım için jel bazlı bir nanoemülsiyon formülasyonunda, yağ, surfaktan gibi maddelerden farklı olarak jelleştirici ajan, penetrasyon arttırıcılar, koruyucular, antioksidanlar yer alır.

Tablo 2.2’de nanoemülgellerin formülasyonunda kullanılan ana komponentlere çeşitli örnekler gösterilmiştir.

Tablo 2-2: Nanoemülgel formülasyonundaki komponentlere örnekler (Nazneen et al., 2022)

Nanoemülgel formülasyonundaki komponentler			
Yağ fazı			
Doğal yağlar	Kimyasal modifiye yağlar	Surfaktan- kosurfaktan	Jelleştirici ajanlar
• Çay ağacı	• Labrafac	• Tween 20	• Karbomer 934

yağı	• Kapriol 90	• Polisorbat 80	• Karbopol 940
• Öjenol	• Kapriol PGMC	• Kolliphor RH40	• Poloksamer
• Oleik asit	• Maisin 35	• PEG 400	• Poliakrilamid
• Emu yağı	• Kampul MCM	• Akrisol	• HPMC55
• Jojoba yağı	• Sefsol 218	• Cremophore RH40	
• Karanfil yağı	• Labrafil	• Lauroglukol FCC	
• Keten tohumu yağı		• Etanol	
		• Transkutol P	
		• Gliserol	

2.4.2.1. Su fazı

Nanoemüljel formülasyonu için en yaygın olarak damıtılmış su veya ultra saflaştırılmış su kullanılır ve bu faz, bir jelleştirici maddenin varlığında emülsiyon formunun emüljele dönüştürülmesinden sorumludur (Panwar et al., 2011).

2.4.2.2. Yağ fazı

Hazırlanan nanoemülsiyonun geçirgenliği, kararlılığı ve viskozitesi; seçilen lipit bileşeninin, yani yağ fazının tipine ve miktarına bağlıdır (Th F Vandamme, 2002). Mono/digliserit veya orta zincirli trigliseritler gibi kimyasal olarak modifiye edilmiş yağlar, nanoemüljel formülasyonunda bir yağ fazı olarak yaygın şekilde kullanılır (Azeem et al., 2009). Orta zincirli bir trigliserit olan Labrafac, butenafin nanoemüljel hazırlamak için kullanılmıştır Capryol 90 ise leflunomid ve paklitakselden oluşan nanoemülsiyon formülasyonunun daha iyi stabilitesini gösteren, nanoemülsiyonun hazırlanmasında bir yağ fazı olarak kullanılan başka bir örnektir (Pund et al., 2015). Ayrıca son zamanlarda doğal yağlar da nanoemüljellerde kullanılmaya başlamıştır. Çay ağacı yağının antimikrobiyal etkisi vajinal kandidiazise karşı sinerjistik etki için itrakonazol ile birleştirilmiştir (Mirza et al., 2013). Emu yağı ise analjezik, antipruritik, anestezi, antioksidan ve antienflamatuar etkisi nedeniyle kurkumin nanoemüljeline eklenmiştir (Jeengar et al., 2016).

2.4.2.3. Surfaktan ve Kosurfaktanlar

Nanoemüljel için uygun surfaktan seçimi, güvenlik, stabilite, yüksek ilaç yükleme kapasitesi ve iyi emülsifikasyon özelliklerine dayanmaktadır (Sapra et al., 2013). Surfaktanlar; katyonik, anyonik ve iyonik olmayan gibi farklı kimyasal yapılarda olabilir. İyonik olmayan surfaktanlar, toksisiteleri daha az olduğu için iyonik surfaktanlara göre daha fazla tercih edilir. İyonik olmayan nanoemüljellerin hazırlanmasında sıklıkla kullanılmakta olan sorbitan yağ asidi esterleri ve polioksietilen sorbitan yağ asidi esterleri (Tween 20, Tween 80 ve Span 80 vb.) yer alır. Çeşitli hint yağı türevleri (Cremophore EL ve Cremophore RH, Labrasol, Labrafac, Poloxamar 124 ve 188) de nanoemüljellerde surfaktan olarak kullanılabilir (Pund et al., 2015).

Kosurfaktanlar ise esas olarak surfaktanların konsantrasyonunu azaltmak ve nihai formülasyonun daha iyi termodinamik stabilitesi için kullanılır. Nanoemüljel formülasyonu için tercih edilen kosurfaktanlar arasında Transcutol HP, PEG'ler, gliserin, propilen glikol, karbitol ve etil alkol bulunur.

Çalışmalar, kosurfaktan konsantrasyonundaki artışla birlikte, faz diyagramındaki nanoemülsiyon alanının azaldığını göstermektedir (Shafiq et al., 2007).

2.4.2.4. Geçirgenlik Arttırıcılar

Nanoemüljeller, topikal ilaç verme sisteminin ana bileşenlerinden biridir ve deri ve ilgili katmanlar yoluyla taşınma oranını iyileştirmenin en iyi yollarındandır. Deri geçirgenliğinde geçici ve geridönüşümlü artışa neden olurlar. Nanoemüljel için kullanılan geçirgenlik arttırıcılar, izopropil miristat, linoleik asit, oleik asit, lesitin vb. içerir (Ita, 2015). Bu geçirgenlik arttırıcılar aslında ilacın terapötik konsantrasyona ulaşması için deriden geçerken deri bariyerine zarar da verebilirler (M. Z. Ahmad et al., 2022).

2.4.2.5. Jelleştirici Ajanlar (Polimerler)

Son yıllarda, yeni polimerlerin kullanımına büyük ilgi olmuştur. Polimerler, emülgatör ve kıvam arttırıcı olarak işlev görebilir, çünkü bu bileşiklerin jelleşme kapasitesi, yüzey ve arayüzey gerilimini azaltarak ve aynı zamanda su fazının viskozitesini arttırarak kararlı emülsiyonların ve kremlerin formülasyonuna izin verir (Samala & Sridevi, 2016). Uygun ortama kolloidal bir karışım olarak eklendikten sonra,

fiziksel veya kimyasal olarak nanoemüljele tutarlılık sağlayan yüksek derecede çapraz bağlanma ile zayıf bir şekilde kohezyonlu üç boyutlu yapısal bir ağ oluşturur (Ojha et al., 2022).

Jelleştirici maddeler olarak görev yapan çeşitli polimerler vardır.

- **Doğal polimerler:** Jelatin, kazein, kolajen, yumurta akı gibi proteinler, guar sakızı, akasya, kitre, böcek fasulyesi sakızı, pektin, nişasta, ksantan sakızı, dekstran, süksinoglukon vb. gibi polisakkaritlerdir. Mükemmel biyouyumluluk ve biyobozunurluk sağlamalarına rağmen, doğal jelleştirici ajanların en büyük sınırlaması mikrobiyal bozunmadır (Dubey et al., 2020).
- **Yarı sentetik polimerler:** Karboksimetil selüloz, etilselüloz, hidroksietil selüloz, hidroksipropil selüloz, magnezyum alüminyum silikat (Veegum®), metilselüloz, sodyum aljinat vb. gibi selüloz benzeri maddelerdir. Doğal polimerlerden daha karardır ve pH, sıcaklık gibi kimyasal, biyolojik ve çevresel değişikliklere daha duyarlıdır (Vlaia et al., 2016).
- **Sentetik polimerler:** Carbopols® (karbomerler olarak da bilinir), poloksamerler (Pluronics®), polivinil alkol yer alır. Sentetik jelleştirici ajanlar kimyasal sentezle hazırlanır. Karbomerler polimerize akrilik asitlerdir, poloksamerler ise merkezi bir hidrofobik polipropilen zincirine bağlı iki hidrofilik polioksietilen birimi içeren triblok ikon olmayan kopolimerlerdir (Hashemnejad et al., 2019). FDA onaylı sentetik ajanlar (karbomerler ve poloksamerler) toksik değildir ve polimerin moleküler ağırlığına bağlı olarak çok çeşitli reolojik özellikler sunar, bu nedenle çok çeşitli uygulamalar için uygundur (Perale et al., 2011).

2.4.2.6. Koruyucular

Genellikle propil ve metil paraben, benzalkonyum klorür, benzil likör, benzoik asındırıcı ve benzeri koruyucular kullanılır.

2.4.2.7. Antioksidanlar

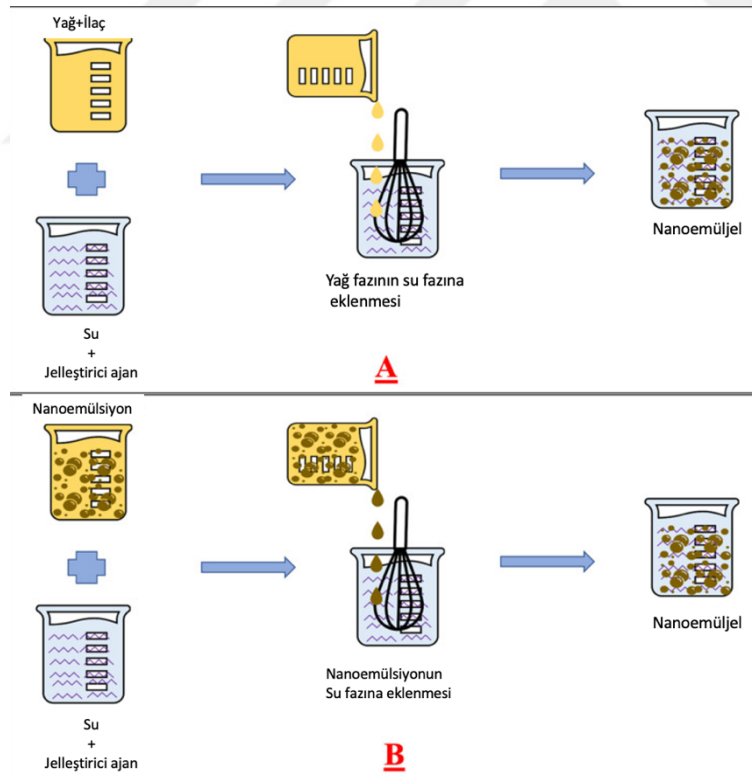
Bütillenmiş hidroksil anisol, bütillenmiş hidroksil toluen, askorbil palmitat ve benzerleri, formülasyonu oksidasyona maruz kalmaktan korumak için hücre takviyeleri olarak kullanılır.

2.4.2.8. Nemlendiriciler

Nemlendirici olarak gliserin, propilen glikol vb. kullanılabilir.

2.4.3. Nanoemülgellerin Hazırlanması

Nanoemülgel üretiminde iki adım yer alır. İlk adım, nanoemülsiyon formülasyonudur ve daha sonra ikinci adımda nanoemülgel oluşturmak için bir jelleştirme maddesine dahil edilir. Nanoemülgellerin hazırlanması Şekil 2.5'te şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2-7: Nanoemülgelin hazırlanma basamakları (Nazneen et al., 2022)

Nanoemülsiyon hazırlamak için kullanılan yöntemler, yüksek enerjili veya düşük enerjili emülsifikasyon yöntemleri olabilir.

Yüksek enerjili emülsifikasyon yöntemlerinde, sulu fazda nano boyutlu damlacıklar oluşturmak için yağ fazını parçalayan harici enerji uygulanır. Yüksek basınçlı homejenizatörler, ultrasonikatörler ve mikrofluidizerlar bu amaçla kullanılan cihazlardır. Oluşan damlacık boyutları, cihazın modeline, bileşenlerin içeriğine ve cihazın zaman sıcaklık gibi çalışma prensibine bağlıdır.

50-100 MPa basınçla çalışan ve homejenizasyon işlemi için yüksek basınç uygulayan homejenizatörler, yüksek basınçlı homojenizasyonda kullanılmaktadır. Nano boyutta damlacıkların elde edilebilmesi için cihazda kavitasyon, laminar akış ve yoğun türbülans uygulanır. Damlacık boyutu ve PDI istenilen değerlere gelenek dek işlem siklusları tekrarlanabilir.

Kavitasyon kuvveti kullanılarak makroemülsiyonlar parçalanıp nano boyuta getiriliyorsa bu yöntem ultrasonik emülsifikasyon denilir. Sıklıkla laboratuvar düzeyinde üretim amaçlı kullanılan bir yöntemdir. Ultrasonik dalga yayan probalar sayesinde işlem sırasında zaman ve enerji girdisi değişiklikleri yaparak istenilen özelliklerdeki nanoemülsiyonlara ulaşılabilir.

Yumuşak agregatların, sıcak eriyiklerin ve sıvıların akım indüklü kaymasıyla nano boyutlardaki dispersiyonların oluşturulduğu yöntem ise mikrofluidizasyondur.

Nanoemülsiyon üretiminde emülsiyon dönüşüm noktası, membran emülsifikasyonu ve faz geçiş sıcaklığı yöntemi düşük enerji gerektiren yöntemlerdir. Herhangi bir cihaza gerek yoktur ve maliyeti daha düşüktür.

Sürekli bir faz içerisinde, membran aracılığıyla dağınık bir faz oluşturmak membran emülsifikasyonudur. Daha az surfaktan kullanılır ve daha dar bir boyut dağılımı aralığı elde edilir. Damlacık boyutları hakkında net bir bilgi yoktur. Membranın gözenek boyutundan on kat daha büyük olabileceği gibi membran gözenek boyutlarından daha küçük de olabilir (Sanguansri & Augustin, 2006).

Faz geçiş sıcaklığı yöntemi ise halen daha araştırmacılar arasında görüş birliğine varılabilmemiş bir yöntem değildir. Nanoemülsiyon üretilmesinde geçerli olmayan bir yöntem olarak yorumlanmaktadır.

Jelleştirici Ajanın Hazırlanması ve Dahil Edilmesi

Fiziksel formu sıvıdan yarı katı hale getirmek bir nanoemüljel üretiminin ana amacıdır çünkü hasta uyumu sağlayabilmek için nanoemüljel büyük avantaj sağlamaktadır.

Polimerin arıtılmış suya eklenmesi ve bir cam çubuk veya başka herhangi bir uygun mekanik cihaz ile istenen doku elde edilene kadar sürekli karıştırılması ve ardından pH'ın ayarlanması yoluyla jel baz hazırlanabilir (Tariq et al., 2023).

Çeşitli deneysel çalışmalarda, jelleştirici maddenin hazırlanması, polimerin saf su içerisine soğuk bir yöntemle eklenmesiyle gerçekleştirilir. Soğuk yöntemde, bileşenler 20 °C'deki saf su içerisine eklenir, ardından jelleştirici polimer eklenir ve su 4 °C'ye kadar soğutulur (Pund et al., 2013).

Y/S veya S/Y şeklinde hazırlanmış bir nanoemülsiyon ve jel baz birleştirilerek daha kalın ve yarı katı formda nanoemüljel elde edilir. Jel form kolaylıkla sürtünme gibi bir kuvvetle dahi tekrar solüsyon formuna dönüşebilir (Bhura et al., 2015).

2.4.4. Nanoemüljellerin Dermokozmetikte Uygulama Alanları

Son yıllarda artan sayıda çalışmalar ile araştırmacılar nanoemüljel formülasyonlarının daha güçlü ve daha etkili bir ilaç transfer sistemi olabileceğini rapor etmişlerdir. Çalışmaların sonuçları nanoemüljellerin dermokozmetik alanda da umut verici olduğunu göstermektedir. Tablo 2.3'te dermokozmetik alanında yapılmış olan ve devam eden çalışmalardan bahsedilmiştir.

Tablo 2-3: Nanoemüljellerin dermokozmetik alandaki çalışmaları (Donthi et al., 2023)

Patent Numarası	API	Başlık	Endikasyon	Araştırmacılar	Yıl
EP3099301B1	Besifloksasin	Besifloxacin For The Treatment Of Resistant Acne	Akne Vulgaris	Vyome Therapeutics Ltd.	2019
WO2020121329A1	Minoksidil ve Hint Yağı	Minoxidil And Castor Oil Nanoemulgel For Alopecia	Androgenetik Alopesi	Sudha Suresh Dr. Rathodsoniya Ramesh	2020

				Devasani	
BR102019014044A2	Ketokonazol	Nanoemulgel Based On Ucúuba Fat (<i>Virola Surinamensis</i>) For Transungual Administration Of Antimicrotics	Onikomikoz	Rayanne Rocha Pereira Et Al.	2021
		Topikal Nano-Emulgel For Skin Disorders: Formulation Approach And Characterization(J. Ahmad et al., 2019)	Akne Vulgaris	Ahmad Ve Arkadaşları	2019
		Nanomiemgel--A Novel Drug Delivery System For Topical Application--In Vitro And In Vivo Evaluation(Somagoni et al., 2014).	Psoriasis	Samogoni Ve Arkadaşları	2014
		Transcutaneous Delivery Of Leflunomide Nanoemulgel: Mechanistic Investigation Into Physicomechanical Characteristics, In Vitro Anti-Psoriatic And Anti-Melanoma Activity(Pund et al., 2015)	Psoriasis ve Melanom	Pund Ve Arkadaşları	2015
		Development of a novel synergistic thermosensitive gel	Vajinal kandidiazis	Mirza ve arkadaşları	2013

		for vaginal candidiasis: an in vitro, in vivo evaluation(Mirza et al., 2013)			
		Enhanced permeability of ferulic acid loaded nanoemulsion based gel through skin against UVA mediated oxidative stress.	Kozmetik	Harwansh ve arkadaşları	2015

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Meyan kökü ekstresi (İstanbul Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)
 At kestanesi ekstresi (İstanbul Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi)
 DL-Alfa Tokoferol (Sigma aldrich)
 Kaprilik /Kaprik Trigliserid (Croda)
 Sensiva PA 30 (Schülke& Mayr GmbH)
 Kolliphor® P 188 (Sigma aldrich)
 Transcutol HP (Gattefossé)
 Quillaja saponin (Q-Naturale® 200 V, Ingredion)
 Ksantan zmkı (VANZAN® NF-C, Vanderbilt Minerals)

3.1.2. Kullanılan Aletler

Hassas terazi- AND GR-200 – Japonya
 Mikropipet- Ependorf- Almanya
 Mekanik karıştırıcı- Wise Stir HS-100D, DAIHAN Scientific Co.Ltd-Güney
 Kore
 Santrifüj cihazı- Nüve ve San. Malz. İm ve tic. A.Ş.- Türkiye
 Su banyosu- WiseBath. DAIHAN Scientific Co.Ltd- Güney Kore
 Buzdolabı- Indesit-İtalya
 Distile su cihazı- PureLAB UV/UF lonpure- ABD
 İklimleme kabini- Nüve ve San. Malz. İm ve tic. A.Ş.- Türkiye
 Damlacık büyüklüğü ölçüm aleti- ZetaSizer Nano ZS, Malvern Inst. -İngiltere
 pH Metre- HANNA (Hanna edge multiparametre) – ABD
 İletkenlik ölçüm cihazı- HANNA (Hanna edge multiparametre) – ABD
 Ultrasonikatör- Vibra-Cell, SONICS, Sonics&Materials, Inc.- ABD
 Viskozimetre- Brookfield DV3T- Brookfield Engeneering Lab.-ABD
 Doku analiz cihazı - CT3 Texture Analyzer - Brookfield Engeneering Lab.-ABD

3.2. Kullanılan Yöntemler

3.2.1. Standardize Edilmiş Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

3.2.1.1. Ekstraksiyon

Toz halde öğütülen droglar tartılarak ve %80'lik metanol ile 24 saat çalkamalı olarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. 24 saatin sonunda Whatman No:1 filtre kağıdından süzülerek ekstre rotary evaporatör yardımı ile metanolünden kurtarılmış ve -80° C'de doldurulmuştur. Ardından 2 gece liyofilizatör vasıtası ile tamamen kuru bir ekstre haline getirilmiştir.

3.2.1.2. *Glycyrrhiza Glabra* Ekstresinin YPSK Analizi

Glycyrrhiza glabra ekstresi 10 mg/mL konsantrasyonda çalışılmış olup metanolde çözüldükten sonra 0,45 mikron membran filtreden süzülerek analiz edilmiştir. Glabridin standart çözeltisi ise etanol 5 mg/mL olarak hazırlanmış ve seri dilüsyon ile 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 ve 0,5 konsantrasyonlarda analizleri gerçekleştirilmiştir. YBSK analizleri Agilent 1100 YBSK sistemine bağlı UV-DAD dedektörü ile gerçekleştirilmiştir. Sabit faz olarak C18 kolon (250 x 4.6mm, 5 µm) kullanılırken mobil faz olarak Asetonitril/%2 Asetik Asit içeren su (70/30, v/v) ile çalışılmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dk olarak ayarlanmış ve izokratik akış sağlanmıştır. Pikler 280 nm'de analiz edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL, kolon sıcaklığı 30 °C olarak ayarlanmıştır (Shanker et al., 2007).

3.2.1.3. *Aesculus Hippocastanum* Ekstresinin YPSK Analizi

Aesculus hippocastanum ekstresi 10 mg/mL konsantrasyonda çalışılmış olup metanolde çözüldükten sonra 0,45 mikron membran filtreden süzülerek analiz edilmiştir. Essin standardı da metanol ile 5 mg/mL konsantrasyonda çalışılmıştır. YBSK analizleri Agilent 1100 YBSK sistemine bağlı UV-DAD dedektörü ile gerçekleştirilmiştir. Sabit faz olarak C18 kolon (250 x 4.6mm, 5 µm) kullanılırken mobil faz olarak Asetonitril/ %0,1 Fosforik Asit içeren su (40/60, v/v) ile çalışılmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dk olarak ayarlanmış ve izokratik akış sağlanmıştır. Pikler 210 nm'de analiz edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL, kolon sıcaklığı 25° C olarak ayarlanmıştır (Durante et al., 2021).

3.2.2. Formülasyon Çalışmaları

3.2.2.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Bileşenlerinin Seçimi

Bu tez çalışmasında, göz çevresi kozmetik problemlerine etki göstermesi beklenen *Glycyrrhiza glabra* ve *Aesculus hippocastanum* ekstresi içeren su içinde yağ (Y/S) nanoemülsiyon formülasyonları hazırlanmıştır. Ön formülasyon çalışması aşamasında birçok formülasyon denemesi yapılmıştır. Çalışmalarda yağ fazının yüzey etken madde karışımına (S_{mix}) oranı 1:1, 1:2, 1:3 olan formülasyonlar denenmiştir.

Bu çalışmada gözçevresi kozmetik problemleri için kullanılan bitkisel ekstrelerin (*Glycyrrhiza glabra* ve *Aesculus hippocastanum* ekstresi) her ikisi de literatür çalışmaları incelenerek %2 oranında belirlenmiş ve bu oran formülasyon çalışmalarında kullanılmıştır. *Glycyrrhiza glabra* ve *Aesculus hippocastanum* ekstreleri çözücü olarak iyi bir çözünme ortamı olan distile su (%76, %73,5 ve %66 oranlarında) içerisinde çözündürülmüştür.

Ön formülasyon çalışmalarında ilk olarak surfaktan olarak Q-naturale ve kosurfaktan olarak Trancutol HP kullanılmıştır. Surfaktan (%12,5) / kosurfaktan (%2, 5) oranı 5:1 olarak belirlenmiştir ve formülasyondaki toplam yüzey etken madde oranı ise %15 olacak şekilde formülasyon örnekleri hazırlanmıştır. İkinci denemelerde ise surfaktan olarak Q-naturale %10 oranında ve Kolliphor® P 188 %2,5 oranında kombine edilerek kullanılmıştır. Kosurfaktan olarak ise yine aynı şekilde Transcutol HP %2,5 oranında kullanılmıştır.

Yağ fazı olarak, kaprilik/kaprik trigliserid, antioksidan madde olarak DL-alfa tokoferol asetat, koruyucu olarak ise Sensiva PA 30 kullanılmıştır. Formülasyonlarda kaprilik/kaprik trigliserid oranları değiştirilerek denemeler yapılmıştır. Yağ fazını oluşturan maddeler ile yüzey aktif maddeler arasında 1:1, 1:2, 1:3 oranları kullanılmıştır.

3.2.2.2. Y/S tipi Nanoemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması

Yağ fazında yer alan maddeler hassas terazide ayrı ayrı tartıldıktan sonra bir cam beher içerisinde karıştırılmıştır. Su fazı hazırlanırken önce hassas terazi üzerindeki cam beherde distile su tartılmış ve daha sonra Q-naturale tartılıp su içinde iyice çözündürülmüştür.

Glycyrrhiza glabra ve *Aesculus hippocastanum* ekstreleri çözünmüş olan karışımın üzerine eklenip cam baget yardımıyla iyice karıştırılmıştır. En son aşamada su fazı bileşenleri, yağ fazı bileşenlerinin üzerine yavaşça eklenerek cam bagetle karıştırılmıştır. Q-naturale + Kolliphor® P 188 surfaktan kombinasyonu da aynı aşamalarla hazırlanmıştır.

Üretim prosesinde ultrasonikatörün band genişliği %50 olarak belirlenmiştir. Ultrasonifikasyonun amplitüt ayarı fazla ısınmayı önlemek amaçlı 30 saniye çalışıp 30 saniye duracak şekilde ayarlanmıştır. Ultrasonikasyon süresi olarak formülasyonlara 5 dakika ve 10 dakika boyunca 20 kHz'lik ultrasonifikasyon uygulanmıştır.

12 adet karışım hazırlanıp 6 tanesine 5 dakika ultrasonifikasyon, diğer 6 tanesine 10 dakika ultrasonifikasyon uygulanmıştır. Ödenemelerdeki nanoemülsiyonlar 20 gram olarak hazırlanmıştır.

Tablo 3.1' de ilk aşamada hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlarının bileşimleri verilmiştir.

Tablo 3-1: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak %12,5 Q-naturale ve kosurfaktan olarak %2,5 Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyonların bileşimleri

(%a/a)	F1P1	F1P2	F2P1	F2P2	F3P1	F3P2
YAĞ FAZI						
DL-alfa tokoferol asetat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Kaprilik/kaprik trigliserid	2,8	2,8	5,3	5,3	12,8	12,8
Sensiva® PA 30	2	2	2	2	2	2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
SU FAZI						
Meyan kökü ekstresi	2	2	2	2	2	2
At Kestanesi ekstresi	2	2	2	2	2	2

Surfaktan (Q naturale)	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
Distile su	76	76	73,5	73,5	66	66
Ultrasonifikasyon uygulama süresi	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk

Tablo 3.2’de ikinci aşamada hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlarının bileşimleri verilmiştir.

Tablo 3-2: Önformülasyon aşamasında hazırlanan ve yüzey etken madde olarak %10 Q-naturale + %2,5 Kolliphor® P 188 kombinasyonu ve kosurfaktan olarak %2,5 Transcutol HP kullanılarak hazırlanan formülasyonların bileşimleri

(%a/a)	2F1P1	2F1P2	2F2P1	2F2P2	2F3P1	2F3P2
YAĞ FAZI						
DL-alfa tokoferol asetat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Kaprilik/kaprik trigliserid	2,8	2,8	5,3	5,3	12,8	12,8
Sensiva® PA 30	2	2	2	2	2	2
Kosurfaktan (Transcutol HP)	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
SU FAZI						
Meyan kökü ekstresi	2	2	2	2	2	2
At Kestanesi ekstresi	2	2	2	2	2	2
Surfaktan (Kolliphor® P 188)	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Surfaktan (Q naturale)	10	10	10	10	10	10
Distile su	76	76	73,5	73,5	66	66

Ultrasonifikasyon uygulama süresi	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk
--------------------------------------	------	-------	------	-------	------	-------

3.2.2.3. Y/S tipi Nanoemüljel Formülasyonlarının Hazırlanması

İlk aşamada %1, 5'luk ksantan zamk içeren jel hazırlaması için hassas terazide bir beher içerisinde distile su tartıldı. Hemen ardından ksantan zamk tartılıp distile su üzerine serpiştirildi. Hazırlanan beher içine manyetik balık eklenip üstü parafilm ile kapatıldı. Elde edilen karışım manyetik karıştırıcıda 400 rpm'de ve 80° C'de 30 dakika boyunca karıştırılarak jelleştirildi. Sıkışan havanın ortadan kaldırılması için 24 saat 25 C°'de manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edildi. 24 saat geçtikten sonra son aşamada ise elde edilen jel ultrasonifikasyondan çıkan nanoemülsiyon üzerine eklendi ve 1:1 (a/a) oranı elde edildi. Karışım tekrardan manyetik karıştırıcıda 400 rpm'de 30 dakika boyunca karıştırıldı. Polimerin emülsiyonda dağılıp şişmesi ve sıkışan havanın ortadan kaldırılması için 24 saat beklemeye bırakıldı.

Gerekli olan ölçümler 24 saat sonra yapılmaya başlandı. Damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümlerinden önce polimerin ölçümleri etkilememesi amacıyla hazırlanan numuneler 0,45 mikronluk filtrelerden geçirildikten sonra zetasizer cihazında ölçümler alındı.

3.2.3. Hazırlanan Formülasyonlar Üzerinde Yürütülen Çalışmalar

3.2.3.1. Formülasyonların Karakterizasyonu (Organoleptik Kontroller, pH Ölçümü, İletkenlik Ölçümü, Viskozite Ölçümü, Damlacık Boyutu ve Polidispersite İndeksi Ölçümü-PDI ve Zeta Potansiyeli Ölçümü)

Numelerin pH'ı $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de taşınabilir Hanana edge multiparametre cihazı ile doğrudan ölçüldü. Elektriksel iletkenlik ise aynı cihazda iletkenlik probu kullanılarak $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de belirlendi. İletkenlik testi, hazırlanmış olan formülasyonlarda faz değişimi olup olmadığını belirlemek için yürütüldü.

Hem pH hem de iletkenlik testlerinde, buzdolabı ve iklimlendirme kabini içinde bulunan formülasyonların ölçümleri formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

Farklı kesme hızlarında numunelerin viskozitesi, $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ 'de Brookfield koni ve plaka viskozimetresi kullanılarak incelendi. Hazırlanan formülasyonlarda %1,5'luk ksantan zamk kullanılarak akışkan bir kıvam oluşturulduğu için CP40 plakası

kullanıldı. Formülasyonların viskoziteleri 10 rpm, 20 rpm, 30 rpm, 40 rpm, 50 rpm, 60 rpm, 70 rpm, 80 rpm, 90 rpm ve 100 rpm kayma hızlarında ölçüldü. Reolojik özellikleri değerlendirmek için viskoziteye karşı kayma hızı arasında grafikler çizildi. Buzdolabı ve iklimlendirme kabini içinde bulunan formülasyonların ölçümleri formülasyonlar oda sıcaklığına getirildikten sonra alındı.

Üretilen numunelerin ortalama damlacık boyutu ve PDI değerleri, zamanın bir fonksiyonu olarak mikron altı parçacıkların Brownian hareketinin (rastgele yönde hareket) ölçümüne dayanan yarı elastik ışık saçılımı tekniği ile ölçüldü. Işık saçılması, Malvern Zetasizer Nano ZS ile oda sıcaklığında (25 °C) 90°'lik bir saçılma açısında izlendi. Çoklu saçılma etkisini azaltmak için analizden önce numuneler damıtılmış su (1:100 v/v) ile uygun şekilde seyreltilti. PDI 0,3'ten yüksek olduğunda numuneler polidispers olarak kabul edildi. Zeta potansiyeli de aynı cihaz kullanılarak ölçüldü. Numuneler damıtılmış su (1:100 v/v) ile uygun şekilde seyreltilti ve zeta potansiyeli değeri yağ damlacıklarının elektroforetik hareketliliğinden tahmin edildi.

3.2.3.2. Hızlandırılmış Stabilite Testleri (Santrifüj Testi, Termal Test)

Hazırlanan nanoemülsiyon formülasyonlarının her biri hızlandırılmış stabilite testlerinde kullanılmak üzere üç ayrı deney tüpüne bölündü. Önformülasyon aşamasındaki deney tüplerinden ilki santrifüj testine maruz bırakıldı. Oda sıcaklığında (25 ± 2°C) bulunan formülasyonlar, 3500 rpm hızda 30 dakika boyunca santrifüj edildi.

İkinci deney tüpündeki numunelere ise termal test uygulandı. 40 °C'lik WiseBath su banyosuna bırakılan formülasyonlar her yarım saatte bir sıcaklık 5 °C artırılarak maksimum 80 °C'ye kadar ısıtıldı. Çökme, faz ayrımı, çeperde birikme ve kremalaşma gibi stabilite problemleri göstermeyen formülasyonlar not edildi. Formülasyonların her birinden kalan üçüncü deney tüpündeki numunelere ise hiçbir test uygulanmadı.

Test uygulanan ve uygulanmayan formülasyonların damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli zeta sizer cihazında ölçüldü. Test uygulanmayan formülasyonlar ve test uygulanan formülasyonlar arasındaki damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli değişimleri incelendi.

Santrifüj ve termal testlerin tümü nanoemüljel formülasyonları için de gerçekleştirildi. Nanoemüljel formülasyonlarının test uygulanmış ve uygulanmamış

olanlarının damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyelleri karşılaştırıldı. Ek olarak nanoemülsiyon ile nanoemüljel formülasyonları arasındaki değişimler incelendi.

Bu çalışmalar sonucunda en iyi formülasyonlar seçildi ve fizikokimyasal stabilite çalışmalarına başlandı.

3.2.3.3. Fizikokimyasal Stabilite Testleri

Hazırlanan nanoemülsiyonların ve nanoemüljellerin ön kararlılığı, santrifüjleme ve termal stres testleri ile değerlendirildi. Uygun bulunan nanoemüljeller fizikokimyasal stabilite testleri için taze olarak yeniden hazırlandı. Uzun süreli stabilite çalışması için 3 ayrı koşulda oda ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ ve % 60 nem), iklimlendirme kabini ($40 \pm 2^\circ\text{C}$ ve % 75 nem) ve buzdolabında ($5 \pm 2^\circ\text{C}$) 2 ay boyunca bekletildi ve formülasyonların 1. gün, 1. ay ve 2. ay sonunda organoleptik kontrolleri yapıldı ve pH değeri, iletkenliği, viskozitesi, damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçüldü.

3.2.3.4. Doku Profil Analizi- TPA

Hazırlanan nanoemüljellerin sertlik, sıkıştırılabilirlik, adezyon ve kohezyon gibi mekanik parametreleri CT3 Texture Analyzer kullanılarak değerlendirildi. 12,7 cm çapında bir analitik prob, ilk sıkıştırmanın sonu ve ikincisinin başlangıcı arasında, tanımlanmış bir geri kazanım süresi (15 saniye) ile tanımlanmış bir derinliği (10 mm), tanımlanmış bir hızda (2mm/sn) her numuneye iki kez daldırıldı. 0,01 N'luk bir tetikleme kuvveti uygulandı. Her numunenin üç kez tekrarlanarak analizi gerçekleştirildi. Veri toplama ve hesaplama TexturePro CT V1.6 Build üzerinden yapıldı. Ortaya çıkan kuvvet-zaman grafiklerinden sertlik (belirli deformasyonu elde etmek için gereken kuvvet), sıkıştırılabilirlik (probun ilk geçiş sırasında ürünü deforme etmek için gereken iş), adezyon (numunenin yüzeyi ve probun yüzeyi arasındaki çekici kuvvetlerin üstesinden gelmek için gereken iş) ve kohezyon (ikinci sıkıştırma döngüsünde üretilen kuvvet-zaman eğrisinin altındaki alanın birinci sıkıştırma döngüsünde üretilene oranı) elde edildi. Adezyonun yüksek olması ürünün cilde daha iyi penetre olduğunun, kohezyonun yüksek olması ise stabilite sorunu yaşanabileceğinin sıkıştırılabilirlik özelliği ise seri üretimde nasıl bir ambalajla piyasaya sunulması gerektiğinin göstergesi olarak değerlendirildi. Bu ölçümler formülasyonların hazırlandığı gün yapıldı.

3.2.3.5. 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPHH) ile Antioksidan Aktivite Tayini

0,1 mL ekstre (0,16 - 2,5 mg/mL) veya standart olarak kullanılan kersetin (0,01 - 0,31 mg/mL)'e 3,9 mL DPPH'nin metanoldeki çözeltisi (6×10^{-5} M) ilave edildi. Karışım 30 dk karanlıkta bekletildi. Absorbanslar 517 nm'de spektrofotometrede metanole karşı okundu. Pozitif kontrolde ekstrenin yerine standart, negatif kontrolde ise çözücü (metanol) kullanıldı. Deney üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı.

3.2.3.6. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit (ABTS) ile Antioksidan Aktivite Tayini

Numunelerin toplam antioksidan aktivitesi ABST [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radikal katyonu giderim deneyi ile ölçüldü. ABST+, 7mM ABST sulu çözeltisinin, 2,45 mM potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) ile reaksiyona sokularak hazırlandı. Elde edilen karışım kullanılmadan önce 12-16 saat boyunca karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletildi. Elden edilen yoğun renkli ABST+ radikal katyonu 734nm'de $0,7000 \pm 0,02$ absorbans değeri vermesi için etanol ile (pH 7,4) dilüe edildi. Test bileşiği toplam hacmi 1mL olacak şekilde ABST+ çözeltisi ile (100x) seyreltilti. Karışım hazırlandıktan 6 dakika sonra absorbans spektrofotometrik olarak 734 nm'de ölçülerek inhibisyon yüzdesi hesaplandı.

3.2.3.7. Lipooksijenaz (LOX) Enzim İnhibisyonu ile Antienflamatuar Etki Tayini

Antienflamatuar etki için Baylac ve Racine tarafından geliştirilen modifiye spektrofotometrik metod uygulandı (Baylac & Racine, 2003). Potasyum fosfat tampon (1,97mL; 100mM; pH 9.0), 40 µl test maddesi solüsyonu ve 20 µl lipooksijenaz enzim solüsyonu hazırlanarak 25 °C' de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra reaksiyona 50 µl linoleik asit solüsyonu eklenerek 243 nm'deki 20 dakikadaki absorbans değişimi ölçüldü. Test maddeleri ve pozitif kontrol olarak kullanılan NDGA (Nordihidroguaiaretik asit) metanolde çözülerek kullanıldı.

3.2.3.8. Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini

Formülasyonların in vitro anti-tirozinaz aktivitesi Hearing ve Jimenez tarafından tasarlanan yöntemle göre yapıldı (Hearing & Jiménez, 1987). İlk olarak bileşiklerin difenolaz fonksiyonunun inhibisyonu değerlendirildi ve substrat olarak L-DOPA kullanıldı. Mantardan elde edilen tirozinaz (E.C. 1.14.18.1) (30U, 28nM), Na-fosfat

tamponu (pH=6.8, 50nM) içinde çözüldürüldü ve bileşikler 10 dakika boyunca oda sıcaklığında ön inkübasyon için çözeltiye ilave edildi. Enzimatik reaksiyon başlatmak için karışıma 0,5 mM L-DOPA ilave edildi ve absorbanstaki değişiklik 475nm’de 37 °C’de ölçüldü. Pozitif kontrol için kojik asit kullanıldı.

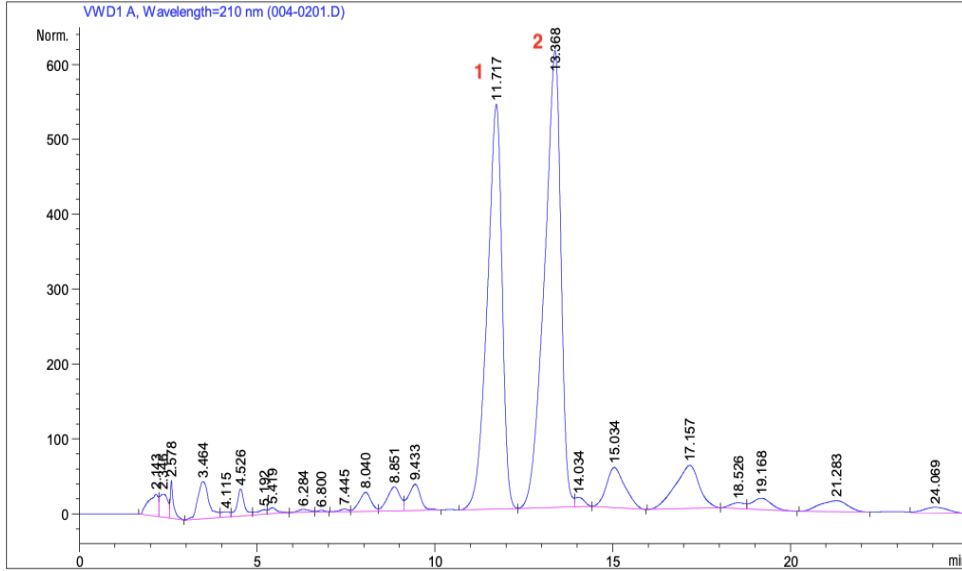


4. BULGULAR

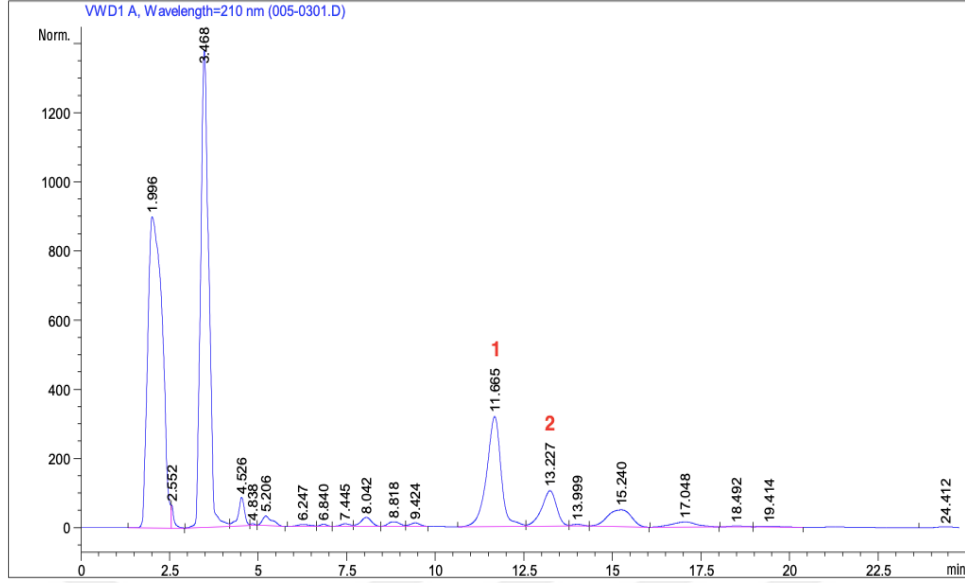
4.1. Standardize Edilmiş Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Bu tez çalışmasında kullanılan her iki bitki materyali de metanol ile ekstre edilmiştir. Yapılan YPSK analizlerinde *Aesculus hippocastanum* ekstresinin içerisinde bitkisel aktif bileşenler α - essin ve β -essin tespit edilmiştir. Ayrıca *Glycyrrhiza glabra* ekstresi de belirtilen metotla analiz edilmiş ve içeriğinde bitkisel aktif bileşen glabridin tespit edilmiştir.

Standard madde essinin ve *Aesculus hippocastanum* ekstresinin YBSK kromatogramları Şekil 4-1 ve Şekil 4-2’de gösterilmiştir.

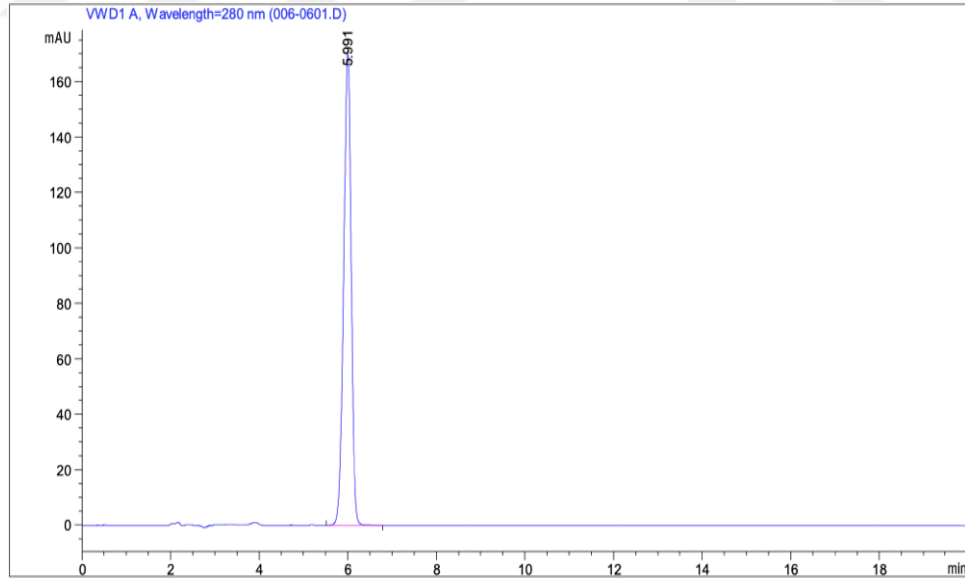


Şekil 4-1: Essinin YBSK kromatogramı (1. Essin A tR: 11.717; 2. Essin B tR: 13.368)

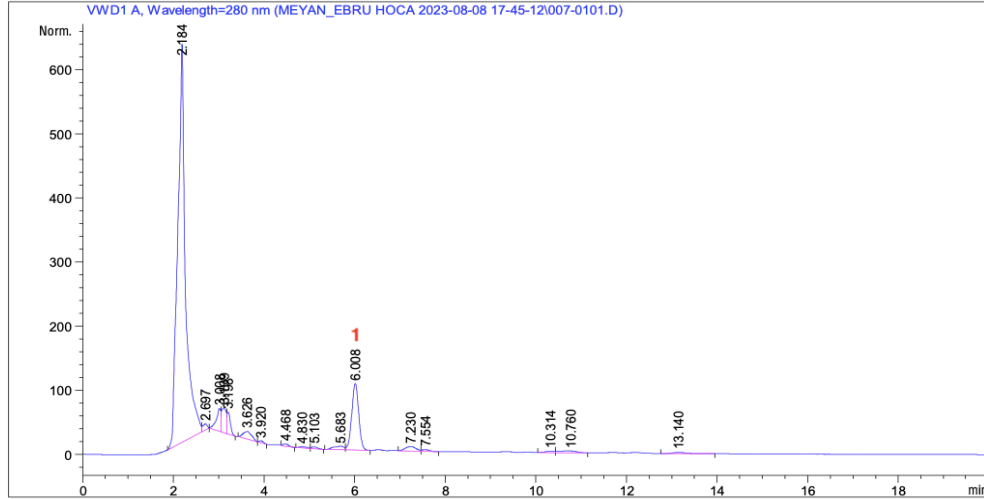


Şekil 4-2: *Aesculus hippocastanum* ekstresinin YBSK kromatogramı (1. Essin A tR: 11.665; 2. Essin B tR: 13.227)

Standard madde glabridin ve *Glycyrrhiza glabra* ekstresinin YBSK kromatogramları Şekil 4-3 ve Şekil 4-4’de gösterilmiştir.



Şekil 4-3: Glabridinin YBSK kromatogramı (tR: 5.991)



Şekil 4-4: *Glycyrrhiza glabra* ekstresinin YBSK kromatogramı (1. Glabridin tR: 6.008)

4.2. Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1. Y/S Tipi Nanoemülsiyon Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Hızlandırılmış Stabilite Testleri (Santrifüj Testi, Termal Test)

Nanoemülsiyon formülasyonları üzerinde uygulanan hızlandırılmış stabilite testleri sonucu formülasyonların ortalama damlacık çapı (nm), PDI ve zeta potansiyeli (mV) hakkında elde edilen veriler Tablo 4-1 ve Tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Nanoemülsiyon öndenemelerinin 1.güne ve santrifüj stabilite testi sonrasında ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	ST	1.gün	ST	1.gün	ST
F1P1	216,0	210,4	0,345	0,325	-64,00	-64,56
F1P2	174,0	194,9	0,206	0,269	-67,50	-60,63
F2P1	263,3	282,65	0,388	0,321	-66,76	-59,33
F2P2	202,8	238,8	0,278	0,337	-64,20	-61,20
F3P1	183,0	188,76	0,206	0,188	-65,00	-62,80
F3P2	145,1	147,76	0,203	0,155	-69,20	-62,00
2F1P1	148,45	154,3	0,136	0,110	-46,10	-46,18
2F1P2	177,7	176,91	0,179	0,121	-42,00	-44,00

2F2P1	145,9	152,1	0,144	0,118	-39,00	-42,15
2F2P2	135,6	141,3	0,123	0,090	-43,60	-41,70
2F3P1	144,8	151,85	0,117	0,106	-45,90	-42,95
2F3P2	137,56	143,16	0,098	0,080	-38,70	-41,15

ST: Santrifüj stabilite testi

Tablo 4-2: Nanoemülsiyon ön denemelerin 1.güne ve termal test sonrasına ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1	216,0	233,2	0,345	0,367	-64,0	-62,3
F1P2	174,0	187,8	0,206	0,233	-67,5	-59,5
F2P1	263,3	264,3	0,388	0,304	-66,76	-60,15
F2P2	202,8	241	0,278	0,288	-64,2	-58,5
F3P1	183,0	198,1	0,206	0,167	-65	- 62,7
F3P2	145,1	157,3	0,203	0,121	-69,2	-55,0
2F1P1	148,45	229,8	0,136	0,131	-46,1	-42,5
2F1P2	177,7	241,7	0,179	0,118	-42	-45,2
2F2P1	145,9	231,8	0,144	0,069	-39	-41,7
2F2P2	135,6	213,31	0,123	0,063	-43,6	-39,8
2F3P1	144,8	244,45	0,117	0,078	-45,9	-46,05
2F3P2	137,56	232,63	0,098	0,088	-38,7	-45,38

TST: Termal stabilite testi

4.2.2. Y/S Tipi Nanoemüljel Formülasyonları Üzerinde Yürütülen Hızlandırılmış Stabilite Testleri (Santrifüj Testi, Termal Test)

Nanoemüljel formülasyonları üzerinde uygulanan hızlandırılmış stabilite testleri sonucu formülasyonların ortalama damlacık çapı (nm), PDI ve zeta potansiyeli (mV) hakkında elde edilen veriler Tablo 4-3 ve Tablo 4-4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Nanoemüljel formülasyonlarının 1.gün ve santrifüj testi sonrasına ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	ST	1.gün	ST	1.gün	ST
F1P1	122,4	190,6	0,199	0,345	-49,23	-64,6
F1P2	185,6	188	0,343	0,343	-54,5	-70,43
F2P1	190,3	196,6	0,389	0,355	-68,7	-59,6
F2P2	220,4	203	0,371	0,292	-64,1	-70,3
F3P1	192,1	197	0,220	0,245	-65,7	-76,9
F3P2	142,7	149,7	0,184	0,238	-59	-70,3
2F1P1	155	149	0,250	0,229	-46,4	-54,6
2F1P2	138,1	142	0,260	0,221	-50,3	-54,2
2F2P1	152,8	156,4	0,235	0,245	-50,9	-52,6
2F2P2	139,8	138,5	0,263	0,217	-49,1	-52,7
2F3P1	146,6	152,8	0,123	0,222	-45,9	-50,95
2F3P2	136,48	135	0,102	0,197	-46,8	-56,48

ST: Santrifüj stabilite testi

Tablo 4-4: Nanoemüljin 1.güne ve termal test sonrasında ait damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli ölçümleri

Formülasyon Kodu	Ortalama Damlacık Çapı (nm)		PDI		Zeta Potansiyeli (mV)	
	1.gün	TST	1.gün	TST	1.gün	TST
F1P1	122,4	237,4	0,199	0,392	-49,23	-59,9
F1P2	185,6	197,8	0,343	0,320	-54,5	-62
F2P1	190,3	239	0,389	0,432	-68,7	-62,4
F2P2	220,4	216	0,371	0,279	-64,1	-61,6
F3P1	192,1	200,6	0,220	0,243	-65,7	-66,6
F3P2	142,7	162,5	0,184	0,226	-59	-45,5
2F1P1	155	170	0,250	0,143	-46,4	-46,65
2F1P2	138,1	133,6	0,260	0,144	-50,3	-50,35
2F2P1	152,8	192	0,235	0,190	-50,9	-51,9
2F2P2	139,8	218,4	0,263	0,310	-49,1	-62,1
2F3P1	146,6	200,4	0,123	0,189	-45,9	-55,2
2F3P2	136,48	184,8	0,102	0,156	-46,8	-48,1

TST: Termal stabilite testi

4.2.3. Fizikokimyasal Stabilite Testleri

Nanoemüljellerin fizikokimyasal stabilitelerini değerlendirmek amacıyla hızlandırılmış stabilite testleri sonucu seçilen formülasyonlar çeşitli yaşlandırma testlerine maruz bırakıldı. Taze olarak üretilen nanoemüljeller ağzı sıkıca kapatılmış şeffaf cam tüplerde, 2 ay boyunca, ortam koşullarında $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, %60 R.N.'de; hızlandırılmış koşullarda iklimlendirme kabininde $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, %75 R.N.'de ve buzdolabında $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bekletildi. 1. günde, 1. ay, ve 2. ayda numunelerin organoleptik kontrollerinin yapılmasının ardından ortalama damlacık boyutu, PDI değeri, zeta potansiyeli, pH, iletkenlik ve viskozite gibi özelliklerinde herhangi bir bozulma olup olmadığını saptamak amacıyla, ortalama damlacık boyutu (Tablo 4-5), PDI (Tablo 4-6), zeta potansiyeli (Tablo 4-7), pH (Tablo 4-8), iletkenlik (Tablo 4-9) ve viskozite (Tablo 4-10-4-17), ölçümleri alındı.

Sonuç olarak, formülasyonların organoleptik kontrol süreçleri (renk, koku, görünüm, akışkanlık, kremalaşma, faz ayrımı), önceden belirlenmiş koşullar ve belirli zaman aralıkları içinde gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu kontroller neticesinde, formülasyonların başlangıçtaki fiziksel özelliklerinde herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Böylece tüm formülasyonlar organoleptik açıdan stabil kabul edilmiştir. Formülasyonlar homojen bir yapı sergilemekte olup içerdikleri ekstratlar ile saponin türevi biyosurfaktanın (Q-naturale) renginden dolayı karakteristik bir sütü kahverengi görünüm kazanmışlardır.

Tablo 4-5: Nanoemüljin 1.gün, 1.ay ve 2. ay damlacık boyutu ölçümleri

Formül kodu	Ortalama damlacık çapı (nm)						
	5°C±2 (±SD)		25°C±2(±SD)			40°C±2 (%75 R.N) (±SD)	
	1.ay	2.ay	1.gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
F3P1	152,05±2,89	154,02±9,97	162,86±6,22	167,48±3,60	163,75±14,40	179,88±21,18	174,68±10,39
F3P2	138,55±0,63	132,62±11,76	138,33±11,21	132,10±1,55	131,77±15,32	146,17±7,68	148,85±13,31
2F1P1	142,82±4,68	140,73±12,96	146,53±5,27	139,57±5,74	143,32±13,74	165,36±10,04	172,62±0,11
2F1P2	136,50±0,98	138,93±10,13	138,37±0,61	141,48±20,21	141,62±0,63	167,27±9,14	169,10±16,21
2F2P1	158,70±3,11	153,75±2,19	152,45±21,00	156,32±13,73	155,95±5,11	176,05±16,05	179,37±19,65
2F2P2	139,40±0,42	130,83±0,74	137,00±0,37	134,25±11,05	141,10±11,07	165,45±7,94	167,88±11,29
2F3P1	151,85±7,99	151,45±22,13	159,32±0,02	160,10±10,27	150,23±1,73	172,81±10,11	179,90±1,27
2F3P2	132,90±5,65	138,33±1,66	134,67±2,49	136,63±7,45	137,22±6,76	165,30±4,85	163,15±21,94

Tablo 4-6: Nanoemüljin 1.gün, 1.ay ve 2. ay PDI ölçümleri

Formülasyon kodu	PDI						
	5°C±2 (±SD)		25°C±2(±SD)			40°C±2 (%75 R.N) (±SD)	
	1.ay	2.ay	1.gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
F3P1	0,169±0,004	0,139±0,038	0,231±0,011	0,175±0,004	0,140±0,007	0,165±0,015	0,134±0,017
F3P2	0,152±0,002	0,171±0,008	0,143±0,004	0,158±0,004	0,165±0,012	0,152±0,000	0,166±0,004
2F1P1	0,142±0,009	0,184±0,029	0,191±0,002	0,158±0,009	0,097±0,037	0,138±0,014	0,189±0,010
2F1P2	0,156±0,000	0,178±0,011	0,239±0,032	0,132±0,021	0,152±0,006	0,125±0,021	0,154±0,008
2F2P1	0,155±0,006	0,141±0,010	0,193±0,019	0,130±0,010	0,186±0,017	0,138±0,031	0,175±0,023
2F2P2	0,157±0,004	0,176±0,003	0,215±0,002	0,116±0,017	0,146±0,008	0,130±0,007	0,210±0,004
2F3P1	0,132±0,018	0,145±0,009	0,145±0,009	0,135±0,002	0,123±0,001	0,140±0,006	0,152±0,009
2F3P2	0,129±0,019	0,136±0,005	0,122±0,003	0,101±0,011	0,118±0,003	0,114±0,021	0,124±0,022

Tablo 4-7: Nanoemülgelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay zeta potansiyeli ölçümleri

Formülasyon kodu	Zeta Potansiyeli (mV)						
	5°C±2 (±SD)		25°C±2(±SD)			40°C±2 (%75 R.N) (±SD)	
	1.ay	2.ay	1.gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
F3P1	-51,65±0,63	-49,15±0,45	-51,45±0,15	-49,45±1,48	-51,15±0,15	-50,70±0,70	-46,60±0,10
F3P2	-56,50±0,42	-50,20±0,01	-42,15±0,15	-51,95±0,07	-49,60±0,60	-54,50±0,50	-46,50±0,10
2F1P1	-53,05±0,63	-44,65±1,05	-49,85±0,55	-48,80±1,13	-42,15±0,25	-42,50±0,30	-45,55±0,15
2F1P2	-50,50±0,00	-42,08±0,80	-50,55±0,05	-50,50±0,70	-44,57±0,90	-49,65±0,35	-41,85±0,55
2F2P1	-52,90±0,70	-43,20±0,10	-44,70±0,00	-50,65±0,21	-45,08±0,38	-49,80±0,20	-39,90±0,30
2F2P2	-51,65±0,63	-44,40±0,10	-48,45±0,05	-51,20±2,40	-42,05±0,05	-51,75±0,95	-43,20±0,30
2F3P1	-49,65±0,35	-46,95±0,25	-43,30±0,80	-39,65±0,21	-44,20±0,30	-49,55±0,15	-43,20±0,30
2F3P2	-48,70±0,70	-39,80±0,10	-42,80±0,30	-38,30±0,14	-43,30±0,10	-44,95±0,05	-42,40±0,10

Tablo 4-8: Nanoemülgelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay pH ölçümleri

Formülasyon kodu	pH						
	5°C±2 (±SD)		25°C±2(±SD)			40°C±2 (%75 R.N) (±SD)	
	1.ay	2.ay	1.gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
F3P1	5,59±0,00	5,60±0,00	5,58±0,01	5,59±0,00	5,58±0,00	5,57±0,00	5,51±0,01
F3P2	5,66±0,01	5,60±0,00	5,65±0,00	5,62±0,00	5,65±0,00	5,67±0,00	5,55±0,00
2F1P1	5,69±0,00	5,64±0,00	5,63±0,00	5,59±0,00	5,63±0,00	5,61±0,00	5,57±0,00
2F1P2	5,69±0,00	5,67±0,00	5,61±0,00	5,68±0,00	5,69±0,00	5,69±0,00	5,67±0,04
2F2P1	5,80±0,00	5,77±0,00	5,64±0,00	5,73±0,00	5,89±0,01	5,65±0,00	5,60±0,00
2F2P2	5,76±0,00	5,71±0,01	5,68±0,00	5,65±0,00	5,63±0,00	5,60±0,00	5,58±0,00
2F3P1	5,70±0,00	5,70±0,00	5,68±0,00	5,67±0,00	5,62±0,00	5,57±0,00	5,55±0,00
2F3P2	5,72±0,00	5,70±0,00	5,68±0,00	5,68±0,00	5,68±0,00	5,60±0,00	5,61±0,01

Tablo 4-9: Nanoemüljelin 1.gün, 1.ay ve 2. ay iletkenlik ölçümleri

Formülasyon kodu	İletkenlik (μS)						
	5°C±2 (±SD)		25°C±2(±SD)			40°C±2 (%75 R.N) (±SD)	
	1.ay	2.ay	1.gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
F3P1	1322,50±10,60	1299,00±1,41	1318,50±9,19	1344,50±6,36	1334,50±7,77	1315,00±22,62	1265,00±19,79
F3P2	1445,00±1,41	1333,50±30,40	1338,50±12,02	1443,00±11,31	1328,00±39,59	1430,00±11,31	1337,00±15,55
2F1P1	1441,50±3,53	1437,00±4,24	1355,50±0,70	1451,50±2,12	1431,00±12,72	1444,00±2,82	1466,50±4,94
2F1P2	1441,00±8,48	1442,00±4,24	1366,50±20,50	1375,00±7,07	1377,00±19,79	1360,00±13,4	1365,50, ±13,43
2F2P1	1362,50±3,53	1366,50±17,67	1362,50±10,60	1363,50±4,94	1355,50±6,36	1363,00±5,65	1371,00±1,41
2F2P2	1472,50±3,53	1471,50±12,02	1456,50±9,19	1483,00±4,24	1474,00±10,60	1452,00±7,07	1476,00±4,24
2F3P1	1398,00±2,82	1368,00±11,31	1341,00±4,24	1347,00±11,31	1366,50±10,60	1381,00±2,82	1373,50±2,12
2F3P2	1337,50±3,53	1368,50±13,43	1341,00±5,65	1341,50±2,12	1362,00±31,11	1370,00±0,70	1374,50±6,36

Tablo 4-10: F3P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1.ay ve 2. ay viskozite ölçümleri

Hız (rpm)	F3P1 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	262,25±10,17	259,58±3,71	252,63±3,69	253,09±9,27	257,73±21,73	255,87±9,57	256,01±1,85
20	154,83±4,39	155,62±5,81	154,86±2,77	150,09±5,69	150,44±11,33	151,48±2,94	158,02±1,15
30	111,94±1,08	115,65±1,42	115,62±2,31	113,65±1,00	112,24±7,70	113,26±3,82	114,39±0,92
40	91,23±2,77	84,69±0,90	85,345±1,84	89,92±1,56	81,66±6,82	81,85±2,86	85,86±1,84
50	76,91±0,91	72,07±1,60	72,33±1,85	75,34±1,58	69,45±6,28	69,54±2,21	64,81±0,46
60	67,52±0,38	64,09±2,49	63,76±1,68	66,85±1,92	61,14±5,23	60,56±1,85	57,17±1,31
70	59,65±1,52	59,39±5,24	56,52±2,24	59,82±1,30	54,89±4,15	54,25±1,82	51,47±1,32
80	54,89±0,17	51,50±1,06	51,17±2,08	53,41±0,36	49,74±3,41	49,43±1,94	47,04±0,40
90	49,59±0,98	47,16±0,81	47,12±1,59	50,04±0,91	45,49±2,98	45,39±1,77	43,20±0,87
100	47,09±0,46	44,34±1,42	45,02±1,25	46,34±0,18	42,31±2,86	42,33±1,63	40,12±0,78

Tablo 4-11: F3P2 kodlu formülasyonun 1.gün, 1.ay ve 2. ay viskozite ölçümleri

Hız (rpm)	F3P2 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	226,28±4,62	219,52±4,73	223,34±9,71	237,83±4,59	231,65±6,93	227,15±1,00	229,47±11,10
20	132,92±0,23	137,66±3,11	132,76±4,15	141,69±5,41	133,22±2,77	134,50±5,07	133,60±7,40
30	95,37±1,08	97,52±1,65	96,35±4,92	105,36±2,33	103,44±1,38	98,82±0,33	91,12±3,69
40	77,58±1,27	76,79±1,46	80,11±4,16	83,92±2,36	83,22±1,38	78,80±0,56	72,68±2,65
50	65,66±1,11	65,27±1,60	64,02±3,98	70,45±2,41	71,02±2,02	66,88±0,07	62,58±2,67
60	57,61±0,69	57,33±1,52	58,64±2,31	62,42±1,92	62,46±1,69	59,11±0,81	55,53±0,99
70	51,67±0,79	51,48±1,41	51,34±0,98	55,90±1,85	56,05±1,44	53,12±1,00	49,05±2,10
80	46,47±0,17	47,11±1,35	47,66±2,88	50,46±1,67	51,01±2,19	47,80±0,32	45,20±2,19
90	44,47±2,26	43,55±1,16	43,49±2,51	46,87±1,76	46,79±2,05	44,01±0,48	41,31±1,79
100	40,28±0,55	40,85±1,20	40,74±2,86	43,60±1,48	43,29±2,02	42,48±2,55	38,75±1,15

Tablo 4-12: 2F1P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay vizkosite ölçümleri

Hız (rpm)	2F1P1 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	240,99±2,31	238,71±4,57	244,86±33,29	242,90±8,34	239,69±1,38	239,80±3,71	238,02±6,47
20	140,28±0,00	139,51±4,76	143,29±14,57	146,19±6,57	144,29±42,54	140,82±3,58	151,89±2,54
30	101,58±0,61	105,95±0,99	108,89±8,17	107,94±0,22	104,34±16,48	106,24±0,70	109,87±2,15
40	81,01±0,12	84,36±1,56	86,73±6,35	93,74±0,09	89,92±11,09	84,63±1,20	86,81±1,61
50	68,15±0,18	71,85±0,76	74,16±6,10	78,56±0,60	68,47±2,31	71,63±0,96	73,44±1,76
60	59,51±0,15	62,60±0,76	63,98±4,78	68,85±0,31	62,78±2,62	62,74±0,54	63,49±1,30
70	53,02±0,07	56,02±0,45	56,94±4,29	61,60±0,29	59,09±6,40	56,12±0,29	56,57±1,25
80	48,02±0,40	50,95±0,23	51,54±4,22	55,42±0,58	52,40±3,69	50,76±0,29	51,42±1,38
90	44,29±0,46	46,67±0,30	47,52±3,91	51,01±0,14	49,85±5,65	46,70±0,27	46,87±1,23
100	41,14±0,18	43,49±0,23	44,21±3,51	47,26±0,37	42,54±1,06	43,40±0,38	43,36±1,10

Tablo 4-13: 2F1P2 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay vizkosite ölçümleri

Hız (rpm)	2F1P2 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	230,20±3,69	237,24±8,07	234,78±2,77	233,10±0,00	236,63±3,81	236,12±6,92	238,71±2,77
20	133,25±1,61	139,98±1,35	139,63±0,46	140,25±1,61	137,31±0,56	142,35±5,19	141,86±2,77
30	96,14±1,85	108,71±3,30	102,13±0,45	103,09±26,36	105,78±0,88	104,93±1,81	103,22±1,38
40	86,68±1,61	86,05±2,20	82,24±0,46	111,91±29,47	87,92±0,63	83,05±1,14	81,58±1,15
50	72,61±1,11	73,51±1,95	69,32±0,18	74,36±3,42	72,01±0,81	70,28±0,32	69,13±0,65
60	56,24±0,77	63,91±1,32	61,09±0,07	63,41±8,71	61,61±0,10	61,54±0,49	60,22±1,00
70	50,12±0,72	57,45±1,17	54,23±0,45	59,27±27,28	60,81±0,28	55,09±0,30	54,28±0,13
80	45,49±0,75	52,20±1,19	48,80±0,45	44,55±32,83	50,52±0,57	49,87±0,41	49,74±0,75
90	41,82±0,56	47,88±0,92	45,05±0,00	42,15±12,95	43,17±0,45	45,85±0,71	46,65±2,05
100	38,85±0,65	46,15±2,81	41,72±0,09	41,20±8,13	41,67±0,10	42,70±0,91	41,13±0,55

Tablo 4-14: 2F2P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri

Hız (rpm)	2F2P1 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	219,74±1,84	218,58±10,01	226,75±0,00	224,87±5,99	223,29±0,00	228,08±20,27	228,38±2,31
20	126,71±1,61	128,11±9,08	127,83±2,07	126,85±5,40	130,70±0,98	125,29±11,15	126,98±0,23
30	91,56±0,62	92,89±3,55	102,46±1,54	105,76±1,09	108,48±0,11	109,50±5,66	104,53±0,46
40	72,43±0,46	78,72±2,42	83,63±2,19	91,56±1,06	86,16±0,24	86,98±4,61	82,97±0,81
50	60,75±0,45	50,31±1,50	72,79±6,37	77,74±0,46	72,43±0,79	73,90±4,08	69,785±0,27
60	53,13±0,38	43,74±1,27	64,91±6,70	67,76±0,87	63,89±0,33	64,63±3,85	61,20±0,38
70	47,32±0,33	39,22±1,51	62,50±12,94	56,31±7,11	56,50±0,41	58,45±2,66	54,56±0,26
80	42,88±0,16	35,84±1,32	50,68±3,92	55,42±0,72	51,22±0,05	52,81±1,86	49,45±0,34
90	39,35±0,15	33,22±0,29	51,26±10,11	50,79±1,45	46,42±0,63	48,61±1,41	45,635±0,61
100	36,46±0,04	30,97±0,96	41,33±0,45	51,70±9,59	43,15±0,00	45,10±0,98	42,15±0,87

Tablo 4-15: 2F2P2 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri

Hız (rpm)	2F2P2 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	241,00±3,23	249,39±15,69	244,78±0,92	250,05±9,43	243,24±0,98	243,94±3,97	242,31±3,23
20	142,41±1,15	146,17±8,55	140,12±2,54	144,20±5,50	146,51±0,56	141,48±3,67	148,29±1,61
30	102,79±0,15	107,25±5,02	102,57±1,38	110,38±4,92	115,93±067	107,25±1,57	110,85±8,47
40	81,01±0,52	86,32±3,03	82,56±0,92	87,20±3,90	87,33±019	85,18±1,39	94,01±14,79
50	68,01±0,74	72,76±2,41	69,19±0,18	73,81±2,72	71,85±1,03	79,52±9,97	76,71±9,52
60	59,46±0,69	63,47±2,14	61,26±0,31	64,23±2,78	62,58±1,26	62,09±	67,47±8,47
70	52,74±0,46	56,77±2,02	54,75±0,12	57,49±2,47	61,67±0,93	57,27	59,09±6,14
80	47,74±0,34	51,69±1,86	49,54±0,80	52,26±1,83	51,33±0,56	50,74333	53,665±5,60
90	43,96±0,30	47,59±1,62	45,63±0,10	48,20±2,05	48,89±0,84	47,13667	48,47±3,39
100	41,00±0,27	44,06±1,41	42,48±0,14	44,78±1,89	43,32±0,60	45,08333	45,58±3,98

Tablo 4-16: 2F3P1 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri

Hız (rpm)	2F3P1 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	260,34±2,31	262,28±15,37	260,21±2,77	269,45±7,28	266,50±6,39	265,50±13,21	263,56±11,10
20	168,78±6,01	164,48±11,28	162,57±2,77	160,23±8,17	163,17±6,01	163,36±8,52	169,08±5,77
30	118,01±2,31	121,57±5,40	115,08±1,54	119,10±2,18	118,91±3,85	116,84±5,48	115,65±2,23
40	86,41±1,04	96,68±4,03	85,10±2,19	94,77±2,08	95,81±3,00	92,86±4,14	93,03±2,54
50	73,31±0,83	82,53±3,54	73,38±2,58	80,83±1,63	81,16±2,68	78,96±3,35	79,26±1,29
60	64,36±0,69	72,30±2,89	64,53±1,85	70,19±1,25	71,23±2,07	68,81±3,15	69,54±1,54
70	57,79±0,59	64,87±2,39	58,48±1,71	62,66±1,09	63,76±1,78	61,32±2,66	62,27±1,25
80	52,60±0,51	58,75±2,35	53,34±1,21	57,06±0,91	57,96±1,49	55,61±2,26	56,73±0,92
90	48,61±0,51	53,89±1,81	49,37±0,67	52,63±1,05	53,66±1,49	50,94±2,23	52,28±1,38
100	45,29±0,41	50,09±1,93	46,17±0,65	49,13±1,31	49,77±1,56	47,26±2,12	48,72±1,29

Tablo 4-17: 2F3P2 kodlu formülasyonun 1. gün, 1. ay ve 2. ay viskozite ölçümleri

Hız (rpm)	2F2P2 (cP)						
	25°C	5°C±2(±SD)		25°C±2 (%65 R.N.) (±SD)		40°C±2 (%75 R.N.) (±SD)	
	1. gün	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay	1.ay	2.ay
10	258,98±9,24	262,03±17,23	263,37±34,22	264,30±9,67	264,58±5,08	263,58±12,85	263,13±17,11
20	159,25±3,23	161,64±14,43	163,33±10,86	163,52±3,89	160,36±0,45	163,17±7,68	164,68±7,62
30	116,19±2,77	123,60±8,13	125,35±16,03	116,58±2,54	118,17±0,31	121,57±3,62	119,60±5,09
40	92,87±2,07	99,51±7,29	93,11±0,81	96,87±2,32	98,91±0,23	97,22±2,86	93,16±3,69
50	82,28±1,94	84,58±5,88	80,70±0,00	83,42±1,96	83,71±0,18	82,92±1,97	86,85±2,22
60	72,83±1,61	74,01±4,56	72,43±3,46	72,51±1,59	73,57±0,00	72,12±2,19	75,97±2,46
70	66,29±1,58	66,20±70,13	66,10±4,94	70,13±0,95	65,96±0,00	64,15±2,01	67,73±2,24
80	59,83±1,39	60,06±4,17	60,21±1,90	62,84±0,75	59,59±0,23	57,90±1,53	61,43±1,44
90	51,66±1,33	55,32±4,23	56,06±3,03	53,25±0,86	54,79±0,20	53,19±1,78	56,64±1,59
100	49,03±1,15	51,55±4,10	51,14±1,29	52,19±0,94	50,91±0,31	49,37±1,73	52,38±1,84

4.2.4. Doku Profil Analizi- TPA

Seçilen formülasyonların doku profil analizi ile saptanan mekanik özelliklerine ait bulgular Tablo 4-18’de gösterilmiştir.

Tablo 4-18: Nanoemüljel formülasyonlarının doku analizi ölçümleri

Doku analizi	Nanoemüljel formülasyonlar ($\pm$ SD)							
	F3P1	F3P2	2F1P1	2F1P2	2F2P1	2F2P2	2F3P1	2F3P2
Hardness Cycle1(N)	0,05 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,00	0,06 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,00	0,05 $\pm$ 0,00	0,06 $\pm$ 0,00
Deformation at Hardness (mm)	4,83 $\pm$ 0,01	4,56 $\pm$ 0,22	4,87 $\pm$ 0,01	4,57 $\pm$ 0,15	4,66 $\pm$ 0,36	4,83 $\pm$ 0,20	4,85 $\pm$ 0,05	4,90 $\pm$ 0,05
Adhesive Force (N)	0,04 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,00	0,04 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,00
Adhesiveness(mj)	0,25 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,04	0,20 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,04	0,24 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,01
Cohesiveness	0,76 $\pm$ 0,02	0,57 $\pm$ 0,31	1,05 $\pm$ 1,69	0,64 $\pm$ 0,14	1,35 $\pm$ 0,65	1,09 $\pm$ 0,24	1,87 $\pm$ 0,00	1,77 $\pm$ 0,00

Antioksidan Aktivite Tayini Sonuçları

Nihai olarak seçilen nanoemüljel formülasyonlarının (F3P2 ve 2F3P2) antioksidan aktivitelerinin, çalışılan bitki ekstralarının, plasebo formülasyonların ve pozitif kontrollerin antioksidan aktiviteleri ile kıyaslanmasına ait bulgular Tablo 4-19’da gösterilmiştir.

Tablo 4-19: DPPH ve ABTS aktivite sonuçları (IC₅₀ µg/mL)

	DPPH	ABTS
<i>G. glabra</i>	34,12±0,01	15,13±0,1
<i>A. hippocastanum</i>	44,79±0,05	14,94±0,14
PL1	61,6±0,06	23,5±0,11
PL2	65,3±0,02	30,41±0,2
F3P2	26,5±0,11	12,4±0,19
2F3P2	22,65±0,08	10,42±0,15
Askorbik asit	4,12±0,01	-
Trolox	-	3,21±0,01

PL1: plasebo 1

PL2: plasebo 2

4.2.5. Lipooksijenaz (LOX) Enzim İnhibisyonu ile Antienflamatuar Etki Tayini ve Tirozinaz Enzim İnhibisyonu Tayini

Nihai olarak seçilen nanoemüljel formülasyonlarının (F3P2 ve 2F3P2) LOX enzim inhibisyonu ile antienflamatuar aktivitelerinin ve tirozinaz enzim inhibisyonu aktivitelerinin, çalışılan bitki ekstralarının, plasebo formülasyonların ve pozitif kontrollerin aktiviteleri ile kıyaslanmasına ait bulgular Tablo 4-20’de gösterilmiştir.

Tablo 4-20: LOX ve tirozinaz aktivite sonuçları (% inhibisyon-20 µg/mL için)

	LOX	Tirozinaz
<i>G. glabra</i>	77,12	69,14
<i>A. hippocastanum</i>	81,2	78,5
PL1	23,1	16,1

PL2	21,83	12,98
F3P2	78,13	71,2
2F3P2	80,11	76,9
NDGA	99,9	-
Kojik asit	-	99,8

NDGA: Nordihidroguatik asit

PL1: plasebo 1

PL2: plasebo 2



5. TARTIŞMA

Göz çevresinin kozmetik problemleri gün geçtikçe artan bilgi birikimi ile daha etkili tedavilerle müdahale edilebilen bir durum haline gelmiştir. Etiyolojik faktörlere yönelik yapılan tedaviler (atopik dermatit varlığı, venöz staz, göz çevresi derisinin ince bir yapıda olması, yapısal koyuluğun gözlemlenmesi) başarılı sonuçlar vermiştir. Fakat göz çevresi problemleri tek bir etiyolojik faktörün sonucu değil de multifaktöriyel olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle de multimodalite tedavileri (aynı anda hem pigmentasyon hem de ödeme yönelik olan tedaviler gibi) daha etkili ve daha uzun süreli olmaktadır (Sarkar et al., 2016).

Göz çevresi problemleri için tedaviler çok çeşitlidir; mikrodermabrazyon, kimyasal peeling, lazerler, radyofrekans, dolgular, cerrahi, yağ transferi, hidrokinon, hidrokinon dışı renk açıcılar, retinoidler, askorbik asit, botanikler ve diğer kozmesötiklerdir (Sarkar, 2012).

Topikal tedaviler özellikle de melanin sentez basamaklarında yaptıkları inhibisyona bağlı olarak gruplandırılmaktadır (Gendler, 2005). Deri turnoverini hızlandıranlar (hidroksi asit, retinoik asit), premelanin sentezinde tirozinaz transkripsiyonunu engelleyenler (tretinoin), melanin sentezi süresince tirozinaz inhibisyonu yapanlar (hidrokinon, azelaik asit, arbutin, soya, peptidler), postmelanin sentezinde tirozinaz degradasyonu yapanlar (linoleik asit), melanozom transfer inhibisyonu yapanlar (soya, niasinamid), antioksidanlar (vitamin C) (Pillaiyar et al., 2017).

Glycyrrhiza glabra bitkisindeki flavanoidlerde bulunan α -keto grubu, tirozinaz inhibisyonu yaparak hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmaktadır. Aynı zamanda antioksidan ve antienflamatuar etkilerinin olması UV koruması yapabilmektedir ve bu durum yaşlanma karşıtı özellik sağlamaktadır (J. Zhang et al., 2023). Oksidatif stresten kaynaklanan hasarlara karşı koruyucu etkisi olması göz çevresi pigmentasyonunda da kullanımını sağlamaktadır (Pastorino et al., 2018). Castagnia ve arkadaşlarına göre glabridin ekstresi, serbest radikalleri %80'lik bir inhibisyonla temizleyebilir ve fibroblastları oksidatif strese karşı koruyabilir. Bu özelliği ile de göz çevresi derisinde zamanla gelişen laksisite artışına karşı da kullanılabilir olmaktadır (Castagnia et al., 2015). Cigonovic ve arkadaşları yukarıda bahsedilen özellikleriyle birlikte *Glycyrrhiza*

Glabra ekstresinin elastaz inhibitör ve Fe^{+} şelatör etkinliğini de göstermişlerdir (Ciganović et al., 2019). Bu özellikler, ekstrenin göz çevresi kozmetik problemlerinde kullanımında başarılı sonuçlar verebileceğini düşündürmektedir.

Aesculus hippocastanum, “essin” olarak bilinen hafif sabunlu bir his veren ve güçlü antienflamatuar ve antioksidan etkisi olan saponin grubu bir bileşen içerir (Masaki et al., 1995; Wilkinson & Brown, 1999). Ekstrenin venotonik etkileri artırması ve kapiller permabiliteyi azaltması sayesinde ödemi azalttığı belirtildiği gibi ekstre içeriğindeki essin ve onun aglikonu olan essinol’ün kılcal damarlar etrafındaki bağ dokusuna da etki ederek antiyaluronidaz aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Domanski et al., 2016; Facino et al., 1995; Gallelli, 2019). Bu etkileri sayesinde göz çevresinde dolaşım bozuklukları nedeniyle oluşan koyu halkaların ve ödemin tedavisinde bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Göz çevresinin ince bağ dokusu yaşla birlikte laksisite kaybı yaşadığı için antiyaluronidaz etkinlik dikkat çekici olmaktadır. *Aesculus hippocastanum* ekstraktının UV maruziyetiyle oluşabilen hücresel dejenerasyonu da önleyerek yaşlanma karşıtı etki göstermesi göz çevresi problemlerinde kullanımını pekiştirmektedir (Masaki et al., 1995). Fujimura ve arkadaşları 40 sağlıklı kadın gönüllü kullanılarak yaptıkları çalışmada, ekstraktın %3’ünü içeren bir jel formülasyonunu, dokuz hafta boyunca günde üç kez göz çevresindeki cilde topikal olarak uygulamış ve ekstraktın kırışıklıkları azaltma etkinliği, fotoğraf ölçeklerine dayalı görsel puanlama ile değerlendirilmiştir. Altı hafta sonra, göz köşelerinde veya alt göz kapağı derisindeki kırışıklık skorlarında kontrollere göre belirgin azalmalar gözlenmiştir. Dokuz hafta sonra da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada, ekstraktın, fibroblastlarda kasılma kuvvetleri oluşturabileceği ve güçlü bir yaşlanma karşıtı bileşen olduğunu belirtilmiştir (Fujimura et al., 2006).

Nanoemüljeller, son zamanlarda kozmetik alanında sıklıkla kullanılan ve fitofarmasötiklerin farmakokinetiğini ve farmakodinamiğini geliştirmek için umut verici olarak görülen bir ilaç dağıtım sistemidir (M. Taha et al., 2022).

Bu tez çalışmasında, *Glycyrrhiza glabra* ve *Aesculus hippocastanum* ekstreleri ile birlikte doğal polimerik jelle formüle edilmiş, göz çevresi için uygun bir nanoemüljel formülasyonu hazırlanması amaçlanmıştır. Nanoemüljel yüklü fitofarmasötikler, cilt bariyerleri boyunca geçirgenlik davranışını önemli ölçüde iyileştirebilir, ardından biyoaktif bileşiğin iletimini ve terapötik etkinliğini artırabilir (M. Taha et al., 2022).

Nanoemülgeller, yüksek enerji gerektiren ultrasonifikasyon yöntemi kullanılarak Y/S tipi nanoemülsiyon hazırlandıktan sonra jelleştirici ajan eklenmesiyle üretilmiştir. Diğer modern taşıyıcı sistemlerle karşılaştırıldığında düşük deri irritasyonu, artan transepidermal geçirgenlik ve topikal uygulamalarda yüksek ilaç yükleme kapasitesi ile daha avantajlı olabilmektedir (Tayel et al., 2013). Fakat literatürde, temel olarak nanoemülgel formülasyonlarının karakterizasyonuna ve penetrasyon özelliklerine odaklanan çok yeterli inceleme makalesi bulunmamaktadır.

Formüle edilen nanoemülgelin viskozitesi, geçirgenliği ve stabilitesine bağlı olarak nanoemülsiyon formu için uygun bir yağ fazı seçilmelidir. Çalışmamızda kullandığımız kaprilik/ kaprik trigliserit hindistancevizi yağı ve gliserin karışımı ile oluşan bir yağ fazı bileşinidir. Deri üzerinde pürüzsüzleştirici etkisi, antioksidan aktivitesi ve non-komedonejenik olduğu için yüz nemlendiricileri, yaşlanma karşıtı losyonlar, güneşten koruyucular ve göz kremleri dermakozmetiklerinde kullanıma uygundur (Traul et al., 2000). Doğal bir nanoemülgel formülasyonu için seçilebilecek en doğal orta zincirli trigliserid olarak değerlendirilebilir.

DL- alfa tokoferol asetat, vitamin E'nin türevlerindendir ve güçlü antioksidan ve aantienflamatuar etkinliği bulunmaktadır. Yüz nemlendiricileri, yaşlanma karşıtı ürünler ve pek çok renkli kozmetikte sıklıkla kullanılır. UV radyasyonuna karşı fotokoruyucu etkiyi arttırmaya yönelik bir yaklaşım ise alfa tokoferolün daha derin cilt katmanlarına ve hücre zarları boyunca iletilmesini hedeflemektir. Modern taşıyıcı sistemler sayesinde daha derin katmanlara ulaşmak hedeflenmektedir (Benita, 1999).

Doğal bir içerik olarak düzenlenen formülasyonumuzda Sensiva PA 30 ise yarısı doğal yarısı doğala özdeş olan ve kozmetik ürünlerde sıklıkla kullanılan bir koruyucudur. T.C. Sağlık Bakanlığı Kozmetik Yönetmeliği'ne göre, "göz çevresi kozmetik ürünlerin 1 g veya mL'sinde 100 mikroorganizma bulunabilir" diye belirtilmiştir. Kontamine olan göz çevresi ürünleri kronik göz enfeksiyonlarına neden olabileceği için bakanlığın belirttiği derecede güçlü antimikrobiyal stabilizatör olarak Sensiva PA 30 gözçevresi için iyi bir tercih olabilir.

Yüzey aktif maddeler, birbiriyle karışmayan iki sıvının termodinamik olarak kararsız karışımını aralarındaki arayüzey gerilimini azaltarak stabilize etmek ve dağılım entropisini değiştirmek için kullanılan nanoemülsiyon sisteminin ayrılmaz bir bileşenidir. İyi emülsifikasyon özelliklerinin yanı sıra güvenlik, kararlılık ve yüksek ilaç

yükleme kapasitesi, nanoemülsiyon geliştirmeye entegre edilmiş yüzey aktif maddeler için temel gereksinimlerdir (T. F. Vandamme, 2002). Nanoemülsiyon formülasyonunda kullanılan uygun bir sürfaktan, iki karışmayan fazın arayüzüne hızla adsorbe edilmelidir, bu da arayüz geriliminin önemli ölçüde azalmasına yol açar ve nano damlacıkların birleşmesini önler (Silva et al., 2015). Çalışmamızda Q-Naturale®, doğal surfaktan olarak tercih edilmiştir. Q-Naturale®, *Quillaja saponaria* Molina ağacının kabuğundan izole edilen, gıda sınıfı doğal ve saponin bazlı amfifilik bir yüzey aktif maddedir. Nanoemülsiyonlar ve heteroagregatlarda tercih edildiğinde yüzey gerilimini daha da azalttığı belirtilmektedir (Reichert et al., 2019; Yang et al., 2013).

Yağ fazının son bileşeni olan Transkutol HP, nanoemülsiyon ve nanoemüljel formülasyonlar için iyi bir kosurfaktan ve penetrasyon arttırıcıdır (Osborne & Musakhanian, 2018). Surfaktan veya kosurfaktan seçerken etkili olan faktör; geçirgenlik yüzdeleridir. Arora ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Tween 80, Labrasol, Labrafac, Transcutol P ve propilen glikol surfaktan ve kosurfaktan olarak değerlendirildiğinde Transcutol P, propilen glikol ve etanolden daha yüksek geçirgenlik yüzdesi ile sonuçlanmıştır ve formülasyon bileşimi için seçilmiştir (Arora et al., 2014).

Nanoemülsiyondan nanoemüljelle geçiş yapabilmek için jelleştirici bir ajan kullanılır. Formülasyonumuzda ksantan zımkı bu amaçla kullanılan ve fermantasyon işlemiyle üretilen yüksek moleküler ağırlıklı doğal bir polisakkarittir. Alternatif D-glikozil kalıntılara bağlı bir trisakkarit yan zincirine sahip 1,4-bağlı β -D-glikoz kalıntılarında oluşur (Badwaik et al., 2013).

Nanoemüljeller, ikili karakterlerinden, yani nano ölçekte bir emülsiyonun ve bir jel bazının tek bir formülasyon olarak bir araya gelmesinden dolayı ilaç salımı için uygun adaylardır. Nanoemüljelin nanoemülsiyon bileşeni, enzimatik bozulmayı ve hidroliz gibi belirli reaksiyonları önleyerek aktif kısma koruma sağlarken, jel bazı, arayüzey ve yüzey gerilimini azaltarak ve sulu fazın viskozitesini artırarak emülsiyona termodinamik stabilite atfeder (G. C. Aithal et al., 2020).

Dermakozmetik alanında ise son zamanlarda geliştirilen tüm ilaç dağıtım sistemleri arasında nanoemüljel, çok sayıda farmakolojik aktiviteye sahip topikal formülasyonlar için zengin ve gelecek vaat eden yeni dağıtım sistemlerinden biri olarak ortaya çıkmıştır. Literatürde akne vulgaris, androjenetik alopesi, onikomikoz, psoriasis, vajinal kandidazis ve yaşlanma karşıtı için çalışmalar mevcuttur; fakat çalışmamızdaki

gibi göz çevresi kozmetik problemlerine yönelik yapılmış herhangi bir nanoemüljel formülasyonuna rastlanmamıştır.

Son zamanlarda çevre dostu ve enerji tasarrufu sağlayan teknolojilere olan talebin artmasıyla birlikte ultrason teknolojisi farklı alanlarda daha fazla kullanılmaya başlanmıştır. Üstelik ultrasonik homojenizatörlerinin, yüksek basınçlı homojenizatörlere ve mikroakışkanlaştırıcılara göre enerji açısından daha verimli olduğu pek çok çalışma ile de gösterilmiştir (A. Taha et al., 2020). Bu doğrultuda, termal olmayan ve umut verici bir teknik olan ultrasonik homojenizasyon yöntemi çalışmamızda başarıyla uygulanmıştır. Literatürde, emülsiyonların parçalanma süresince; sıkıştırma ve inceltme döngülerinin daha kısa olması nedeniyle yüksek frekanslarda (MHz bölgesi) bir sıvıda kavitasyon oluşturma zor olduğu ve deemülsifikasyon için yüksek frekansların (MHz aralığı) kullanıldığı belirtilmektedir. Ayrıca düşük frekans aralığının, özellikle 20 kHz ultrasonun, kararlı emülsiyonlar oluşturmak için yararlı olduğu bulunmuştur (Ashokkumar, 2011). Bu nedenle, üretim süreci sırasında nanoemülsiyonları hazırlamak için düşük frekansta (20 kHz) ultrason uygulandı. Yüksek ultrasonik amplitüd ile damlacıklar arasındaki çarpışma hızının artmasına, birleşmelerine ve yoğun türbülans nedeniyle daha büyük damlacık boyutlarına yol açar. Damlacık boyutunun arttığı aşırı işleme fenomenini önleyebilmek için nanoemülsiyonların üretilmesi işlemi aynı zamanda %50 düşük bir amplitüdde gerçekleştirildi (Ozkan et al., 2022).

Sonikasyon süresi, yüzey aktif maddenin damlacıkların yüzeyindeki adsorpsiyon hızını ve yeni oluşan damlacıkların boyut dağılımını etkileyebilen işlem parametrelerinden biridir (Li & Chiang, 2012). Çalışmamızda sonikasyon süresinin ortalama damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli üzerindeki etkisini anlamak için iki farklı sonikasyon süresi (20 dk veya 30 dk) denenmiştir. Sonuç olarak sonikasyon süresinin 5 dakikadan 10 dakikaya çıkarılmasıyla damlacık boyutunda hafif bir azalma tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, ayçiçek yağı ve fesleğen yağı içeren diğer nanoemülsiyon formülasyon çalışmalarının sonuçlarıyla tutarlıdır; emülsifikasyon süresi arttıkça damlacık çapında bir azalma gözlemlenmiştir (Ghosh et al., 2013; Leong et al., 2009). Sonikasyon süresinin zeta potansiyeli üzerindeki etkisi incelendiğinde, sonikasyon süresinin zeta potansiyeli üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmada üretilen nanoemülsiyonların ve nanoemüljellerin damlacık boyutları 150 nm civarında olup cilt uygulamalarına uygun olduğu değerlendirilmiştir.

(Sabouri et al., 2018). PDI değerlerinin çoğunlukla 0,3' ün altında bulunması formülasyonların monodispers ve homojen olduğunu kanıtlamaktadır. Bu sonuç, PDI değeri 0,3 s' den küçükse nanoemülsiyonların tek dağılımlı bir sistem olarak kabul edildiği literatürle tam bir uyum içindedir (Pongsumpun et al., 2020). Zeta potansiyel değerleri, nanoemülsiyonların ve nanoemülgellerin stabilitesini tahmin etmek için ölçüldü. Sonuç olarak stabilite testleri sonrasında zeta potansiyelinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. 25 mV ila 30 mV aralığındaki bir zeta potansiyel değeri, damlacıklar arasında bir enerji bariyeri oluşturmak ve böylece birleşmeyi önlemek için yeterli olduğu öngörülmektedir (Shanmugam, 2014). Bu bağlamda, bu çalışmada hazırlanan nanoemülgellerin -40 mV'den yüksek olması nedeniyle yeterince stabil olduğu kabul edilmiştir.

Elektriksel iletkenlik değeri emülsiyonun dış fazının yağ mı yoksa su mu olduğunu anlamamızı sağlayan bir göstergedir. Hazırlanan tüm formülasyonların elektriksel iletkenlik değerleri literatürde belirtilen sınır değerden (iletkenlik değeri >10 mS/cm) yüksek bulunduğundan formülasyonların dış fazının istenildiği gibi su olduğu gösterilmiştir (Lawrence & Rees, 2000) (Hassan, 2015).

Bu çalışmada hazırlanan tüm formülasyonlar santrifüj ve termal stabilite testlerine tabi tutulmuş ve organoleptik analiz, damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyeli analizine dayanarak fiziksel stabiliteleri doğrulanmıştır. Hem santrifüj hem de termal stabilite testleri sonucunda tüm formülasyonların kalitesinde herhangi bir değişiklik yaşanmamıştır ve tamamen homojen bir emülsiyon görünümü ile fiziksel olarak stabil kalmıştır.

Tüm nanoemülgelerde organoleptik kontrol yapıldığında herhangi bir fiziksel stabilite sorunu olmaksızın dayanıklı oldukları belirlendi. Ancak, test süresi boyunca damlacık boyutu hala nano boyut aralığında olmasına rağmen, depolama sıcaklığı arttıkça daha yüksek artışlar gözlemlendi. Bu bulgular, stabilite süresi boyunca damlacık çaplarındaki artışla ilişkili nanoemülsiyon teknolojisini kullanan önceki çalışmaların sonuçlarıyla iyi bir uyum içindedir (Ozkan et al., 2022) .

Nanoemülgellerin PDI ve zeta potansiyel değerleri, üç farklı depolama koşulunda iki ay boyunca istatistiksel olarak değişmedi; bu, tekdüze damlacık boyutlarına (dar boyut dağılımları) ve damlacıkların yüzeyinde yeterli elektrik yüklerine işaret ederek sistemin üstün stabilitesini sağladı.

Formülasyon geliştirme çalışmaları sonucunda seçilen her iki formülasyonda da potansiyel antioksidan kapasitelerinin ölçümleri yapılmıştır. Stabil organik nitrojen radikali olan DPPH radikal süpürme kapasitesi analiz yöntemleri doğal ekstrelerin antioksidan kapasitesini askorbik asitle karşılaştırmalı ölçmede kullanılmaktadır (Ali et al., 2008). ABTS radikal katyonunun antioksidanlar tarafından absorbanasının engellenmesi ile temel spektrofotometrik olarak çeşitli maddelerin Troloks ile karşılaştırması ile toplam antioksidan aktivitesini ölçer (Moř et al., 2011).

Giner ve arkadaşlarının yaptığı yeni bir çalışmada doğal hidrokinon türevlerinde yapılan DPPH testine göre radikal yakalama etkileri 23-58 μM olarak saptanmıştır ve bu değerlerin yüksek radikal yakalama etkisi olduğu belirtilmiştir (Giner et al., 2022). Bizim çalışmamızda da optimize edilen iki formülasyonun (F3P2 ve 2F3P2) DPPH aktivite sonuçları benzer çıkmıştır ve antioksidan etkinliğinin yüksek olabileceği düşünülmüştür. Ekstrelerin antioksidan etkinlikleri ile ekstrelerin birlikte kullanıldıkları formülasyonların antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında, formülasyonların antioksidan kapasiteleri hem DPPH hem de ABTS aktivite değerlendirilmelerinde daha yüksek çıkmıştır. Formülasyonlarımızın yağ fazında kullanılan yüksek antioksidan etkili DL-tokoferolün formülasyonların antioksidan kapasitesinin yüksek çıkmasında büyük katkısı olabileceğini düşünmekteyiz.

Formülasyonların antienflamatuar etkinlikleri LOX inhibisyon testi ile ölçülmüştür ve Nordihidroguatik asit (NDGA) ile karşılaştırmalı olarak ölçülebilmektedir. Göz çevresinin pek çok kozmetik problemi enflamatuar deri hastalıkları nedeniyle de oluşabilmektedir. Bu yüzden antienflamatuar etkinliği olan bir formülasyonun etkinliği gereklidir (Mukhopadhyay et al., 2023).

Hadjipavlou-Litina ve arkadaşlarının çalışmasında kurkuminin LOX inhibisyonu değerlendirilmiş ve 37 μM olarak tespit edilmiştir (Katsori et al., 2011). Bizim çalışmamızdaki her iki formülasyonun da LOX inhibisyonu kurkuminden çok daha yüksek değerlerdedir. Bu yüksek antienflamatuar etkinlik göz çevresi kozmetik problemleri için önemlidir. Formülasyonlarımızdaki LOX inhibisyonu NDGA'ya göre daha düşük değerlerde görülmektedir. Fakat bu değerler 20 $\mu\text{g/mL}$ 'lık toplam nanoemülsiyon formülasyonu bileşiminde yer alan çok az miktardaki ekstrelerin verdiği sonuçlardır. Bu kadar az miktarda dahi formülasyonların LOX inhibisyon değerleri neredeyse saf NDGA'ya yaklaşık düzeydedir.

Tirozinaz melanogeneziste etkin olan ve sentezi fazla olduğunda hiperpigmentasyona; sentez eksikliğinde ise hipopigmentasyona neden olan bir enzimdir. Tirozinaz enzim inhibisyonu aktivitesi standart olarak kojik asit kullanılarak Masuda yöntemine göre belirlenmiştir (Masuda et al., 2009).

Çalışmamızdaki iki formülasyonun tirozinaz inhibisyon etkileri standart olarak kullanılan kojik asitten düşük görünmektedir. LOX inhibisyon değerlerinde bahsedildiği gibi bu değerler, 20 µg/mL'lık toplam nanoemüljel formülasyonu bileşiminde yer alan çok az miktardaki ekstrelerin verdiği sonuçlardır. Bu kadar az miktarda dahi formülasyonların tirozinaz inhibisyon değerleri neredeyse saf kojik asite yaklaşık düzeydedir.

Chaiyana ve arkadaşlarının çalışmasında 17 adet bitkisel ekstrenin tirozinaz inhibisyon değerleri karşılaştırılmıştır. *Gynostemma pentaphyllum*, *Rosa damascenave* *Stevia rebaudiana* sırasıyla %39, 9 ± %7, 5, %35, 6 ± %5, 9 ve %34, 3 ± 8, 5'lik tirozinaz inhibisyonu ile umut verici anti-tirozinaz aktiviteleri gösterdiğini belirtmişlerdir ve üstelik bu değerlerin kojik asitin tirozinaz inhibisyon etkinliğinden yaklaşık 10 kat daha fazla olduğu söylenmiştir (Chaiyana et al., 2021). Çalışmamızdaki *Glycyrrhiza glabra* ve *Aesculus hippocastanum* ekstrlerinin sırasıyla tirozinaz inhibisyonları %69,1 ve %78,5 olarak değerlendirilmiştir. Bu değerler formülasyonlarda (F3P2 ve 2F3P2) ise sırasıyla %71,2 ve %76,9 gelmiştir. Chaiyana ve arkadaşlarının çalışmasına göre yorumlandığında, geliştirilen formülasyonların yüksek tirozinaz inhibisyonu yapabileceği düşünülmektedir.

Bütün bu veriler ışığında, formülasyonlar üzerinde yürütülen karakterizasyon, stabilite, antioksidan kapasite, antienflamatuar etkinlik ve tirozinaz inhibisyon testleri sonucunda en iyi formülasyon olarak %2'lik meyan kökü ve %2'lik at kestanesi ekstreleri ile surfaktan olarak %10 Q-naturale ve %2,5 Pluronik F68 kombinasyonunu ve kosurfaktan olarak %2,5 Transkutol HP'yi içeren formülasyonun (2F3P2) göz çevresi kozmetik problemlerine yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Adil, M. D., Kaiser, P., Satti, N. K., Zargar, A. M., Vishwakarma, R. A., & Tasduq, S. A. (2010). Effect of *Embllica officinalis* (fruit) against UVB-induced photo-aging in human skin fibroblasts. *J Ethnopharmacol*, 132(1), 109-114.
- Ahmad, J., Gautam, A., Komath, S., Bano, M., Garg, A., & Jain, K. (2019). Topical Nano-emulgel for Skin Disorders: Formulation Approach and Characterization. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 14(1), 36-48.
- Ahmad, M. Z., Ahmad, J., Alasmary, M. Y., Akhter, S., Aslam, M., Pathak, K., et al. (2022). Nanoemulgel as an approach to improve the biopharmaceutical performance of lipophilic drugs: Contemporary research and application. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 72, 103420.
- Ahmadraji, F., & Shatalebi, M. A. (2015). Evaluation of the clinical efficacy and safety of an eye counter pad containing caffeine and vitamin K in emulsified Emu oil base. *Adv Biomed Res*, 4, 10.
- Aithal, G. C., Narayan, R., & Nayak, U. Y. (2020). Nanoemulgel: A promising phase in drug delivery. *Current pharmaceutical design*, 26(2), 279-291.
- Aithal, G. C., Narayan, R., & Nayak, U. Y. (2020). Nanoemulgel: A Promising Phase in Drug Delivery. *Curr Pharm Des*, 26(2), 279-291.
- Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., et al. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41(1), 1-15.
- Amer, M., & Metwalli, M. (2000). Topical liquiritin improves melasma. *Int J Dermatol*, 39(4), 299-301.
- Anissimov, Y. G., Jepps, O. G., Dancik, Y., & Roberts, M. S. (2013). Mathematical and pharmacokinetic modelling of epidermal and dermal transport processes. *Adv Drug Deliv Rev*, 65(2), 169-190.
- Arora, R., Aggarwal, G., Harikumar, S. L., & Kaur, K. (2014). Nanoemulsion Based Hydrogel for Enhanced Transdermal Delivery of Ketoprofen. *Advances in Pharmaceutics*, 2014, 468456.
- Ashokkumar, M. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles - an overview. *Ultrason Sonochem*, 18(4), 864-872.
- Azeem, A., Rizwan, M., Ahmad, F. J., Iqbal, Z., Khar, R. K., Aqil, M., et al. (2009). Nanoemulsion components screening and selection: a technical note. *AAPS PharmSciTech*, 10(1), 69-76.
- Badwaik, H. R., Giri, T. K., Nakhate, K. T., Kashyap, P., & Tripathi, D. K. (2013). Xanthan gum and its derivatives as a potential bio-polymeric carrier for drug delivery system. *Curr Drug Deliv*, 10(5), 587-600.
- Baylac, S., & Racine, P. (2003). Inhibition of 5-lipoxygenase by essential oils and other natural fragrant extracts. *International Journal of Aromatherapy*, 13(2-3), 138-142.
- Benita, S. (1999). Prevention of topical and ocular oxidative stress by positively charged submicron emulsion. *Biomed Pharmacother*, 53(4), 193-206.
- Bhura, M. R. G., Bhagat, K., Shah, S. K., & Patel, S. (2015). *Formulation and evaluation of topical nano emulgel of adapalene*.
- Bolognia, J. L. (Ed.). (2018). *Dermatology* (4 ed.): China: Elsevier.
- Borkowski, A. W., & Gallo, R. L. (2011). The coordinated response of the physical and antimicrobial peptide barriers of the skin. *J Invest Dermatol*, 131(2), 285-287.

- Castangia, I., Caddeo, C., Manca, M. L., Casu, L., Latorre, A. C., Díez-Sales, O., et al. (2015). Delivery of liquorice extract by liposomes and hyalurosomes to protect the skin against oxidative stress injuries. *Carbohydr Polym*, 134, 657-663.
- Chaiprasongsuk, A., & Panich, U. (2022). Role of Phytochemicals in Skin Photoprotection via Regulation of Nrf2. *Front Pharmacol*, 13, 823881.
- Chaiyana, W., Charoensup, W., Sriyab, S., Punyoyai, C., & Neimkhum, W. (2021). Herbal Extracts as Potential Antioxidant, Anti-Aging, Anti-Inflammatory, and Whitening Cosmeceutical Ingredients. *Chem Biodivers*, 18(7), e2100245.
- Chime, S. A., Kenekchukwu, F. C., & Attama, A. A. (2014). Nanoemulsions — Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery. In S. Ali Demir (Ed.), *Application of Nanotechnology in Drug Delivery* (pp. Ch. 3). Rijeka: IntechOpen.
- Chime, S. A., Kenekchukwu, F. C., & Attama, A. A. (2014). *Nanoemulsions — Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery*.
- Choi, S. Y., Kwon, H. J., Ahn, G. R., Ko, E. J., Yoo, K. H., Kim, B. J., et al. (2017). Hyaluronic acid microneedle patch for the improvement of crow's feet wrinkles. *Dermatol Ther*, 30(6).
- Ciganović, P., Jakimiuk, K., Tomczyk, M., & Zovko Končić, M. (2019). Glycerolic Licorice Extracts as Active Cosmeceutical Ingredients: Extraction Optimization, Chemical Characterization, and Biological Activity. *Antioxidants (Basel)*, 8(10).
- Colvan, L., Fleck, T., & Vega, V. L. (2019). Global periorbital skin rejuvenation by a topical eye cream containing low molecular weight heparan sulfate (LMW-HS) and a blend of naturally derived extracts. *J Cosmet Dermatol*, 18(2), 530-538.
- Costa, A., Moisés, T. A., Cordero, T., Alves, C. R., & Marmirori, J. (2010). Association of emblica, licorice and belides as an alternative to hydroquinone in the clinical treatment of melasma. *An Bras Dermatol*, 85(5), 613-620.
- Çomoğlu, T., Sayiner, Ö., & Özyılmaz, E. D. (2020). Mikro ve Nanoemülsiyonların Farmasötik Yönden Değerlendirilmesi. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 9(1), 65-76.
- Dayal, S., Sangal, B., & Sahu, P. (2020). Ferulic acid 12% peel: An innovative peel for constitutional type of periorbital melanosis-Comparing clinical efficacy and safety with 20% glycolic peel and 15% lactic peel. *J Cosmet Dermatol*, 19(9), 2342-2348.
- Domanski, D., Zegrocka-Stendel, O., Perzanowska, A., Dutkiewicz, M., Kowalewska, M., Grabowska, I., et al. (2016). Molecular Mechanism for Cellular Response to β -Escin and Its Therapeutic Implications. *PLoS One*, 11(10), e0164365.
- Domonkos, A. N. (Ed.). (2018). *Andrews' Diseases of the skin : clinical dermatology*. (13 ed.): Philadelphia :Saunders.
- Donthi, M. R., Munnangi, S. R., Krishna, K. V., Saha, R. N., Singhvi, G., & Dubey, S. K. (2023). Nanoemulgel: A Novel Nano Carrier as a Tool for Topical Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 15(1).
- Draelos, Z. D. (Ed.). (2022). *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures* (3 ed.): Wiley-Blackwell.
- Draelos, Z. K. (1991). Eye cosmetics. *Dermatol Clin*, 9(1), 1-7.
- Dubey, S. K., Alexander, A., Sivaram, M., Agrawal, M., Singhvi, G., Sharma, S., et al. (2020). Uncovering the diversification of tissue engineering on the emergent areas of stem cells, nanotechnology and biomaterials. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 15(3), 187-201.

- Durante, C., Cocchi, M., Lancellotti, L., Maletti, L., Marchetti, A., Roncaglia, F., et al. (2021). Analytical Concentrations of Some Elements in Seeds and Crude Extracts from *Aesculus hippocastanum*, by ICP-OES Technique. *Agronomy*, 11(1), 47.
- Eberlin, S., Del Carmen Velazquez Pereda, M., de Campos Dieamant, G., Nogueira, C., Werka, R. M., & de Souza Queiroz, M. L. (2009). Effects of a Brazilian herbal compound as a cosmetic eyecare for periorbital hyperchromia ("dark circles"). *J Cosmet Dermatol*, 8(2), 127-135.
- Elias, P. M. (2005). Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *J Invest Dermatol*, 125(2), 183-200.
- Ertam, I., Mutlu, B., Unal, I., Alper, S., Kivçak, B., & Ozer, O. (2008). Efficiency of ellagic acid and arbutin in melasma: a randomized, prospective, open-label study. *J Dermatol*, 35(9), 570-574.
- Essendoubi, M., Gobinet, C., Reynaud, R., Angiboust, J. F., Manfait, M., & Piot, O. (2016). Human skin penetration of hyaluronic acid of different molecular weights as probed by Raman spectroscopy. *Skin Res Technol*, 22(1), 55-62.
- Facino, R. M., Carini, M., Stefani, R., Aldini, G., & Saibene, L. (1995). Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Arch Pharm (Weinheim)*, 328(10), 720-724.
- Freitag, F. M., & Cestari, T. F. (2007). What causes dark circles under the eyes? *J Cosmet Dermatol*, 6(3), 211-215.
- Fujimura, T., Tsukahara, K., Moriwaki, S., Hotta, M., Kitahara, T., & Takema, Y. (2006). A horse chestnut extract, which induces contraction forces in fibroblasts, is a potent anti-aging ingredient. *J Cosmet Sci*, 57(5), 369-376.
- Gallelli, L. (2019). Escin: a review of its anti-edematous, anti-inflammatory, and venotonic properties. *Drug Des Devel Ther*, 13, 3425-3437.
- Gendler, E. C. (2005). Treatment of Periorbital Hyperpigmentation. *Aesthetic Surgery Journal*, 25(6), 618-624.
- Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2013). Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrason Sonochem*, 20(1), 338-344.
- Gianni Belcaro, M. D., Giada MARAMALDI, Stefano TOGNI, Luca GIACOMELLI (2016). Under-eye bags in healthy subjects: evaluation of the effects of a new escin-based cosmetic cream in an eight-week study. *Minerva Oftalmologica* 58(4), 70-74.
- Giner, R. M., Ríos, J. L., & Máñez, S. (2022). Antioxidant Activity of Natural Hydroquinones. *Antioxidants (Basel)*, 11(2).
- Gürel, M. S. (2023). *Temel Dermatoloji: İstanbul Tıp Kitabevleri*.
- Hakozaki, T., Minwalla, L., Zhuang, J., Chhoa, M., Matsubara, A., Miyamoto, K., et al. (2002). The effect of niacinamide on reducing cutaneous pigmentation and suppression of melanosome transfer. *Br J Dermatol*, 147(1), 20-31.
- Harding, Watkinson, Rawlings, & Scott. (2000). Dry skin, moisturization and corneodesmolysis. *International Journal of Cosmetic Science*, 22(1), 21-52.
- Hashemnejad, S. M., Badruddoza, A. Z. M., Zarket, B., Ricardo Castaneda, C., & Doyle, P. S. (2019). Thermoresponsive nanoemulsion-based gel synthesized through a low-energy process. *Nature communications*, 10(1), 2749.

- Hassan, A. K. (2015). Effective Surfactants Blend Concentration Determination for O/W Emulsion Stabilization by Two Nonionic Surfactants by Simple Linear Regression. *Indian J Pharm Sci*, 77(4), 461-469.
- Hearing, V. J., & Jiménez, M. (1987). Mammalian tyrosinase—the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *International Journal of Biochemistry*, 19(12), 1141-1147.
- Huang, Y. L., Chang, S. L., Ma, L., Lee, M. C., & Hu, S. (2014). Clinical analysis and classification of dark eye circle. *Int J Dermatol*, 53(2), 164-170.
- Ita, K. B. (2015). Chemical Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery - Success and Challenges. *Curr Drug Deliv*, 12(6), 645-651.
- Jain, A. K., & Thareja, S. (2019). In vitro and in vivo characterization of pharmaceutical nanocarriers used for drug delivery. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 47(1), 524-539.
- Jeengar, M. K., Rompicharla, S. V., Shrivastava, S., Chella, N., Shastri, N. R., Naidu, V. G., et al. (2016). Emu oil based nano-emulgel for topical delivery of curcumin. *Int J Pharm*, 506(1-2), 222-236.
- Joscellyne, S. M., & Trägårdh, G. (2000). Membrane emulsification — a literature review. *Journal of Membrane Science*, 169(1), 107-117.
- Kar, H. K. (2002). Efficacy of beta-carotene topical application in melasma: an open clinical trial. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 68(6), 320-322.
- Kashkouli, M. B., Abdolalizadeh, P., Abolfathzadeh, N., Sianati, H., Sharepour, M., & Hadi, Y. (2017). Periorbital facial rejuvenation; applied anatomy and pre-operative assessment. *Journal of Current Ophthalmology*, 29(3), 154-168.
- Kashkouli, M. B., Abdolalizadeh, P., Abolfathzadeh, N., Sianati, H., Sharepour, M., & Hadi, Y. (2017). Periorbital facial rejuvenation; applied anatomy and pre-operative assessment. *J Curr Ophthalmol*, 29(3), 154-168.
- Katsori, A. M., Chatzopoulou, M., Dimas, K., Kontogiorgis, C., Patsilnakos, A., Trangas, T., et al. (2011). Curcumin analogues as possible anti-proliferative & anti-inflammatory agents. *Eur J Med Chem*, 46(7), 2722-2735.
- Kim, D. C., Rho, S. H., Shin, J. C., Park, H. H., & Kim, D. (2011). Inhibition of melanogenesis by 5,7-dihydroxyflavone (chrysin) via blocking adenylyl cyclase activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 411(1), 121-125.
- Kim, Y., & Lim, K. M. (2021). Skin barrier dysfunction and filaggrin. *Arch Pharm Res*, 44(1), 36-48.
- Kircik, L. H. (2011). Efficacy and safety of azelaic acid (AzA) gel 15% in the treatment of post-inflammatory hyperpigmentation and acne: a 16-week, baseline-controlled study. *J Drugs Dermatol*, 10(6), 586-590.
- Kołodziejczak, A., & Rotsztein, H. (2022). The eye area as the most difficult area of activity for esthetic treatment. *J Dermatolog Treat*, 33(3), 1257-1264.
- Krishnaswami, V., Sugumaran, A., Perumal, V., Manavalan, M., Kondeti, D. P., Basha, S. K., et al. (2022). Nanoformulations - Insights Towards Characterization Techniques. *Curr Drug Targets*, 23(14), 1330-1344.
- Kwon, K. J., Bae, S., Kim, K., An, I. S., Ahn, K. J., An, S., et al. (2014). Asiaticoside, a component of *Centella asiatica*, inhibits melanogenesis in B16F10 mouse melanoma. *Mol Med Rep*, 10(1), 503-507.
- Lai-Cheong, J. E., & McGrath, J. A. (2009). Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*.
- Lawrence, M. J., & Rees, G. D. (2000). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev*, 45(1), 89-121.

- Leong, T. S., Wooster, T. J., Kentish, S. E., & Ashokkumar, M. (2009). Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrason Sonochem*, 16(6), 721-727.
- Li, P. H., & Chiang, B. H. (2012). Process optimization and stability of D-limonene-in-water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. *Ultrason Sonochem*, 19(1), 192-197.
- Lim, J. T. (1999). Treatment of melasma using kojic acid in a gel containing hydroquinone and glycolic acid. *Dermatol Surg*, 25(4), 282-284.
- Lin, Y. N., Wu, Y. C., Huang, S. H., Chou, C. K., Takahashi, H., & Lin, T. M. (2023). Periorbital Rejuvenation for Asians. *Clin Plast Surg*, 50(1), 91-100.
- Liu, W., Sun, D., Li, C., Liu, Q., & Xu, J. (2006). Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method. *Journal of Colloid and Interface Science*, 303(2), 557-563.
- Masaki, H., Sakaki, S., Atsumi, T., & Sakurai, H. (1995). Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. *Biol Pharm Bull*, 18(1), 162-166.
- Masuda, M., Murata, K., Fukuham, A., Naruto, S., Fujita, T., Uwaya, A., et al. (2009). Inhibitory effects of constituents of Morinda citrifolia seeds on elastase and tyrosinase. *J Nat Med*, 63(3), 267-273.
- Matsuda, H., Li, Y., Murakami, T., Ninomiya, K., Yamahara, J., & Yoshikawa, M. (1997). Effects of escins Ia, Ib, IIa, and IIb from horse chestnut, the seeds of *Aesculus hippocastanum* L., on acute inflammation in animals. *Biol Pharm Bull*, 20(10), 1092-1095.
- Menon, G. K., Feingold, K. R., & Elias, P. M. (1992). Lamellar body secretory response to barrier disruption. *J Invest Dermatol*, 98(3), 279-289.
- Mirza, M. A., Ahmad, S., Mallick, M. N., Manzoor, N., Talegaonkar, S., & Iqbal, Z. (2013). Development of a novel synergistic thermosensitive gel for vaginal candidiasis: an in vitro, in vivo evaluation. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 103, 275-282.
- Misra, B. B., & Dey, S. (2013). TLC-bioautographic evaluation of in vitro anti-tyrosinase and anti-cholinesterase potentials of sandalwood oil. *Nat Prod Commun*, 8(2), 253-256.
- Moț, A. C., Silaghi-Dumitrescu, R., & Sârbu, C. (2011). Rapid and effective evaluation of the antioxidant capacity of propolis extracts using DPPH bleaching kinetic profiles, FT-IR and UV-vis spectroscopic data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 516-522.
- Mukhopadhyay, N., Shukla, A., Makhil, P. N., & Kaki, V. R. (2023). Natural product-driven dual COX-LOX inhibitors: Overview of recent studies on the development of novel anti-inflammatory agents. *Heliyon*, 9(3), e14569.
- Mura, P. (2020). Advantages of the combined use of cyclodextrins and nanocarriers in drug delivery: A review. *Int J Pharm*, 579, 119181.
- Nazneen, S., Juber, A., Badruddeen, Mohammad Irfan, K., Usama, A., Muhammad, A., et al. (2022). Nanoemulgel: For Promising Topical and Systemic Delivery. In A. Juber, Badruddeen, A. Mohammad & K. Mohammad Irfan (Eds.), *Drug Development Life Cycle* (pp. Ch. 3). Rijeka: IntechOpen.
- Ni, Z., Mu, Y., & Gulati, O. (2002). Treatment of melasma with Pycnogenol. *Phytother Res*, 16(6), 567-571.
- Niekrash, C. E. (2021). Anatomy of the Periorbital Region. In E. M. Ferneini, M. T. Goupil, M. A. McNulty & C. E. Niekrash (Eds.), *Applied Head and Neck Anatomy for the Facial Cosmetic Surgeon* (pp. 73-78). Cham: Springer International Publishing.

- O, J., Kwon, H.-J., Choi, Y.-J., Cho, T.-H., & Yang, H.-M. (2018). Three-dimensional structure of the orbicularis retaining ligament: an anatomical study using micro-computed tomography. *Scientific Reports*, 8(1), 17042.
- Ohshima, H., Mizukoshi, K., Oyobikawa, M., Matsumoto, K., Takiwaki, H., Kanto, H., et al. (2009). Effects of vitamin C on dark circles of the lower eyelids: quantitative evaluation using image analysis and echogram. *Skin Res Technol*, 15(2), 214-217.
- Ojha, B., Jain, V. K., Gupta, S., Talegaonkar, S., & Jain, K. (2022). Nanoemulgel: A promising novel formulation for treatment of skin ailments. *Polymer Bulletin*, 79(7), 4441-4465.
- Ortonne, J. P. (2006). Retinoid therapy of pigmentary disorders. *Dermatol Ther*, 19(5), 280-288.
- Osborne, D. W., & Musakhanian, J. (2018). Skin Penetration and Permeation Properties of Transcutol®-Neat or Diluted Mixtures. *AAPS PharmSciTech*, 19(8), 3512-3533.
- Ozkan, B., Altuntas, E., Cakir Koc, R., & Budama-Kilinc, Y. (2022). Development of piperine nanoemulsions: an alternative topical application for hypopigmentation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 48(3), 117-127.
- Panwar, A. S., Upadhyay, N., Bairagi, M., Gujar, S., Darwhekar, G. N., & Jain, D. K. (2011). *EMULGEL: A REVIEW*.
- Pastorino, G., Cornara, L., Soares, S., Rodrigues, F., & Oliveira, M. (2018). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review. *Phytother Res*, 32(12), 2323-2339.
- Pavicic, T., Gauglitz, G. G., Lersch, P., Schwach-Abdellaoui, K., Malle, B., Korting, H. C., et al. (2011). Efficacy of cream-based novel formulations of hyaluronic acid of different molecular weights in anti-wrinkle treatment. *J Drugs Dermatol*, 10(9), 990-1000.
- Pedretti, A., Capezzer, R., Zane, C., Facchinetti, E., & Calzavara-Pinton, P. (2010). Effects of topical boswellic acid on photo and age-damaged skin: clinical, biophysical, and echographic evaluations in a double-blind, randomized, split-face study. *Planta Med*, 76(6), 555-560.
- Peng, L. H., Liu, S., Xu, S. Y., Chen, L., Shan, Y. H., Wei, W., et al. (2013). Inhibitory effects of salidroside and paeonol on tyrosinase activity and melanin synthesis in mouse B16F10 melanoma cells and ultraviolet B-induced pigmentation in guinea pig skin. *Phytomedicine*, 20(12), 1082-1087.
- Perale, G., Veglianesi, P., Rossi, F., Peviani, M., Santoro, M., Llupi, D., et al. (2011). In situ agar-carbomer hydrogel polycondensation: A chemical approach to regenerative medicine. *Materials letters*, 65(11), 1688-1692.
- Phatale, V., Vaiphei, K. K., Jha, S., Patil, D., Agrawal, M., & Alexander, A. (2022). Overcoming skin barriers through advanced transdermal drug delivery approaches. *J Control Release*, 351, 361-380.
- Pillai, S., Cornell, M., & Oresajo, C. (2010). Epidermal Barrier *Cosmetic Dermatology* (pp. 1-12).
- Pillaiyar, T., Manickam, M., & Namasivayam, V. (2017). Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 32(1), 403-425.
- Pinnell, S. R. (2003). Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol*, 48(1), 1-19; quiz 20-12.

- Pongsumpun, P., Iwamoto, S., & Siripatrawan, U. (2020). Response surface methodology for optimization of cinnamon essential oil nanoemulsion with improved stability and antifungal activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60, 104604.
- Puglia, C., Rizza, L., Drechsler, M., & Bonina, F. (2010). Nanoemulsions as vehicles for topical administration of glycyrrhetic acid: characterization and in vitro and in vivo evaluation. *Drug Deliv*, 17(3), 123-129.
- Pund, S., Pawar, S., Gangurde, S., & Divate, D. (2015). Transcutaneous delivery of leflunomide nanoemulgel: Mechanistic investigation into physicochemical characteristics, in vitro anti-psoriatic and anti-melanoma activity. *Int J Pharm*, 487(1-2), 148-156.
- Pund, S., Rasve, G., & Borade, G. (2013). Ex vivo permeation characteristics of venlafaxine through sheep nasal mucosa. *Eur J Pharm Sci*, 48(1-2), 195-201.
- Qian, W., Liu, W., Zhu, D., Cao, Y., Tang, A., Gong, G., et al. (2020). Natural skin-whitening compounds for the treatment of melanogenesis (Review). *Exp Ther Med*, 20(1), 173-185.
- Radhakrishnan, S., Shimmon, R., Conn, C., & Baker, A. (2015). Inhibitory kinetics of novel 2,3-dihydro-1H-inden-1-one chalcone-like derivatives on mushroom tyrosinase. *Bioorg Med Chem Lett*, 25(23), 5495-5499.
- Ramadan, D., McCrudden, M. T. C., Courtenay, A. J., & Donnelly, R. F. (2022). Enhancement strategies for transdermal drug delivery systems: current trends and applications. *Drug Delivery and Translational Research*, 12(4), 758-791.
- Rao, J., & McClements, D. J. (2010). Stabilization of Phase Inversion Temperature Nanoemulsions by Surfactant Displacement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 7059-7066.
- Rawlings, A. V., & Matts, P. J. (2005). Stratum corneum moisturization at the molecular level: an update in relation to the dry skin cycle. *J Invest Dermatol*, 124(6), 1099-1110.
- Reichert, C. L., Salminen, H., & Weiss, J. (2019). Quillaja Saponin Characteristics and Functional Properties. *Annu Rev Food Sci Technol*, 10, 43-73.
- S, K. (Ed.). (2019). *Fitzpatrick's Dermatology* (9 ed.): Cengage Publisher Services.
- Sabouri, M., Samadi, A., Ahmad Nasrollahi, S., Farboud, E. S., Mirrahi, B., Hassanzadeh, H., et al. (2018). Tretinoin Loaded Nanoemulsion for Acne Vulgaris: Fabrication, Physicochemical and Clinical Efficacy Assessments. *Skin Pharmacol Physiol*, 31(6), 316-323.
- Samala, M. L., & Sridevi, G. (2016). Role of Polymers as Gelling Agents in the Formulation of Emulgels. *Polymer science*, 2.
- Sanguansri, P., & Augustin, M. A. (2006). Nanoscale materials development – a food industry perspective. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 547-556.
- Sapra, B., Thatai, P., Bhandari, S., Sood, J., Jindal, M., & Tiwary, A. (2013). A critical appraisal of microemulsions for drug delivery: part I. *Ther Deliv*, 4(12), 1547-1564.
- Sarkar, R. (2012). Idiopathic cutaneous hyperchromia at the orbital region or periorbital hyperpigmentation. *J Cutan Aesthet Surg*, 5(3), 183-184.
- Sarkar, R., Ranjan, R., Garg, S., Garg, V. K., Sonthalia, S., & Bansal, S. (2016). Periorbital Hyperpigmentation: A Comprehensive Review. *J Clin Aesthet Dermatol*, 9(1), 49-55.

- Sawant, O., & Khan, T. (2020). Management of periorbital hyperpigmentation: An overview of nature-based agents and alternative approaches. *Dermatologic Therapy*, 33(4), e13717.
- Shafiq, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ahmad, F. J., Khar, R. K., & Ali, M. (2007). Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. *Eur J Pharm Biopharm*, 66(2), 227-243.
- Shanker, K., Fatima, A., Negi, A. S., Gupta, V. K., Darokar, M. P., Gupta, M. M., et al. (2007). RP-HPLC Method for the Quantitation of Glabridin in Yashti-madhu (*Glycyrrhiza glabra*). *Chromatographia*, 65(11), 771-774.
- Shanmugam, A. a. A., M. (2014). Ultrasonic Preparation of Stable Flax Seed Oil Emulsions in Dairy Systems—Physicochemical Characterization. *Food Hydrocolloids*, 39, 151-162.
- Shimoda, H., Tanaka, J., Shan, S. J., & Maoka, T. (2010). Anti-pigmentary activity of fucoxanthin and its influence on skin mRNA expression of melanogenic molecules. *J Pharm Pharmacol*, 62(9), 1137-1145.
- Silva, H. D., Cerqueira, M. A., & Vicente, A. A. (2015). Influence of surfactant and processing conditions in the stability of oil-in-water nanoemulsions. *Journal of Food Engineering*, 167, 89-98.
- Singh, R., Goyal, S., Ahmed, Q. R., Gupta, N., & Singh, S. (2014). Effect of 82% Lactic Acid in Treatment of Melasma. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 407142.
- Singh, Y., Meher, J. G., Raval, K., Khan, F. A., Chaurasia, M., Jain, N. K., et al. (2017). Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 252, 28-49.
- Singh, Y., Meher, J. G., Raval, K., Khan, F. A., Chaurasia, M., Jain, N. K., et al. (2017). Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *J Control Release*, 252, 28-49.
- Sirtori, C. R. (2001). Aescin: pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacol Res*, 44(3), 183-193.
- Solans, C., & Solé, I. (2012). Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17(5), 246-254.
- Somagoni, J., Boakye, C. H., Godugu, C., Patel, A. R., Mendonca Faria, H. A., Zucolotto, V., et al. (2014). Nanomiengel--a novel drug delivery system for topical application--in vitro and in vivo evaluation. *PLoS One*, 9(12), e115952.
- Sonti, S., Makino, E. T., Garruto, J. A., Gruber, J. V., Rao, S., & Mehta, R. C. (2013). Efficacy of a novel treatment serum in the improvement of photodamaged skin. *Int J Cosmet Sci*, 35(2), 156-162.
- Taha, A., Ahmed, E., Ismaiel, A., Ashokkumar, M., Xu, X., Pan, S., et al. (2020). Ultrasonic emulsification: An overview on the preparation of different emulsifiers-stabilized emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 363-377.
- Taha, M., Alhakamy, N. A., Md, S., Ahmad, M. Z., Rizwanullah, M., Fatima, S., et al. (2022). Nanogels as Potential Delivery Vehicles in Improving the Therapeutic Efficacy of Phytopharmaceuticals. *Polymers (Basel)*, 14(19).
- Tan, E. E. Ö., Burcu, M., Abdulsalam, P., & Nur. (2023). In vitro skin permeation of escin in the new gel formulation of Aesculus hippocastanum (Horse Chestnut). [Araştırma Makalesi]. 46.
- Tan, K. S., Oh, S.-R., Priel, A., Korn, B. S., & Kikkawa, D. O. (2011). Surgical Anatomy of the Forehead, Eyelids, and Midface for the Aesthetic Surgeon. In G.

- G. Massry, M. R. Murphy & B. Azizzadeh (Eds.), *Master Techniques in Blepharoplasty and Periorbital Rejuvenation* (pp. 11-24). New York, NY: Springer New York.
- Tariq, L., Arafah, A., Ali, S., Beigh, S., Dar, M. A., Dar, T. U. H., et al. (2023). Nanogel-based Transdermal Drug Delivery System: A Therapeutic Strategy with Under Discussed Potential. *Curr Top Med Chem*, 23(1), 44-61.
- Tayel, S. A., El-Nabarawi, M. A., Tadros, M. I., & Abd-Elsalam, W. H. (2013). Promising ion-sensitive in situ ocular nanoemulsion gels of terbinafine hydrochloride: design, in vitro characterization and in vivo estimation of the ocular irritation and drug pharmacokinetics in the aqueous humor of rabbits. *Int J Pharm*, 443(1-2), 293-305.
- Traul, K. A., Driedger, A., Ingle, D. L., & Nakhasi, D. (2000). Review of the toxicologic properties of medium-chain triglycerides. *Food Chem Toxicol*, 38(1), 79-98.
- Vandamme, T. F. (2002). Microemulsions as ocular drug delivery systems: recent developments and future challenges. *Progress in retinal and eye research*, 21(1), 15-34.
- Vandamme, T. F. (2002). Microemulsions as ocular drug delivery systems: recent developments and future challenges. *Prog Retin Eye Res*, 21(1), 15-34.
- Venus, M. R., Waterman, J., & McNab, I. S. H. (2010). Basic physiology of the skin. *Surgery (oxford)*, 28, 469-472.
- Vlaia, L., Coneac, G., Olariu, I., Vlaia, V., & Lupuleasa, D. (2016). Cellulose-derivatives-based hydrogels as vehicles for dermal and transdermal drug delivery. *Emerging concepts in analysis and applications of hydrogels*, 2, 64.
- Wang, X., Anton, H., Vandamme, T., & Anton, N. (2023). Updated insight into the characterization of nano-emulsions. *Expert Opin Drug Deliv*, 20(1), 93-114.
- Wanick, F. B. F., Zink, B. S., & Lopes, R. F. (2012). *Efficacy of lycopene , beta-carotene and Lactobacillus johnsonii in the maintenance treatment of melasma during the summer.*
- Wilkinson, J. A., & Brown, A. M. (1999). Horse Chestnut - Aesculus Hippocastanum: Potential Applications in Cosmetic Skin-care Products. *Int J Cosmet Sci*, 21(6), 437-447.
- Yamaguchi, Y., Takahashi, K., Zmudzka, B. Z., Kornhauser, A., Miller, S. A., Tadokoro, T., et al. (2006). Human skin responses to UV radiation: pigment in the upper epidermis protects against DNA damage in the lower epidermis and facilitates apoptosis. *Faseb j*, 20(9), 1486-1488.
- Yang, Y., Leser, M. E., Sher, A. A., & McClements, D. J. (2013). Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q-Naturale®). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 589-596.
- Yokota, T., Nishio, H., Kubota, Y., & Mizoguchi, M. (1998). The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. *Pigment Cell Res*, 11(6), 355-361.
- Yousefpoor, Y., Esnaashari, S. S., Baharifar, H., Mehrabi, M., & Amani, A. (2023). Current challenges ahead in preparation, characterization, and pharmaceutical applications of nanoemulsions. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, e1920.
- Zhang, J., Wu, X., Zhong, B., Liao, Q., Wang, X., Xie, Y., et al. (2023). Review on the Diverse Biological Effects of Glabridin. *Drug Des Devel Ther*, 17, 15-37.

- Zhang, X., Hu, X., Hou, A., & Wang, H. (2009). Inhibitory effect of 2,4,2',4'-tetrahydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-chalcone on tyrosinase activity and melanin biosynthesis. *Biol Pharm Bull*, 32(1), 86-90.
- Zhao, L., Wei, Y., Huang, Y., He, B., Zhou, Y., & Fu, J. (2013). Nanoemulsion improves the oral bioavailability of baicalin in rats: in vitro and in vivo evaluation. *Int J Nanomedicine*, 8, 3769-3779.
- Zhou, Q., Feng, C., & Ruan, Z. (2017). Inhibitory effect of a genistein derivative on pigmentation of guinea pig skin. [10.1039/C6RA27106E]. *RSC Advances*, 7(13), 7914-7919.
- Zubair, S., & Mujtaba, G. (2009). Comparison of efficacy of topical 2% liquiritin, topical 4% liquiritin and topical 4% hydroquinone in the management of melasma. *Journal of Pakistan Association of Dermatology*, 19, 158-163.
- Züllig, F., Belser, E., Schmid, D., Liechti, C., & Suter, F. (2006). *Preparation and Properties of Coenzyme Q10 Nanoemulsions*.



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

GÖZALTI BÖLGESİNİN KOZMETİK PROBLEMLERİNE YÖNELİK TOPİKAL FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ			
ORJİNAL RAPORU			
% 9	% 8	% 2	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
BİRİNCİL KAYNAKLAR			
1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı		% 3
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi		% 1
3	earsiv.anadolu.edu.tr İnternet Kaynağı		% 1
4	www.mdpi.com İnternet Kaynağı		<% 1
5	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı		<% 1
6	earsiv.batman.edu.tr İnternet Kaynağı		<% 1
7	Omkar Sawant, Tabassum Khan. "Management of periorbital hyperpigmentation- An overview of nature based agents and alternative approaches", Dermatologic Therapy, 2020 Yayın		<% 1

