



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MELAZMA TEDAVİSİ İÇİN ÇEŞİTLİ DERMAL
FORMÜLASYONLARIN TASARLANMASI**

AHMET NEZİHİ PEKCAN

KLİNİK ECZACILIK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. NESLİHAN ÜSTÜNDAĞ

İSTANBUL- 2018



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MELAZMA TEDAVİSİ İÇİN ÇEŞİTLİ DERMAL
FORMÜLASYONLARIN TASARLANMASI**

AHMET NEZİHİ PEKCAN

KLİNİK ECZACILIK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç.Dr. NESLİHAN ÜSTÜNDAĞ

İSTANBUL- 2018

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) , Doktora ()
Anabilim Dalı : Klinik Eczacılık
Tez Sahibi : Ahmet Nezihi PEKCAN
Tez Başlığı : Melazma Tedavisi İçin Çeşitli Dermal Formülasyonların
Tasarlanması
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Kavacık Yerleşkesi
Sınav Tarihi : 23.03.2018

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Kurumu

İmza

Doç.Dr.Neslihan ÜSTÜNDAĞ OKUR İstanbul Medipol Üniversitesi

Sınav Jüri Üyeleri

Doç.Dr.Barkın BERK

İstanbul Medipol Üniversitesi

Yrd.Doç.Dr.Nilay AKSOY

Altınbaş Üniversitesi

Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 29/03/2018 tarih ve 2018/13 - 01 sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



BEYAN

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

Ahmet Nezihi PEKCAN



TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında, iki yıl boyunca değerli bilgilerini benimle payőalaőan, bilgi, birikim ve tecrübeleri ile destek olan değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Neslihan ÜSTÜNDAĞ OKUR'a, ilgisini ve önerilerini göstermekten kaçınmayan Doç. Dr. Barkın BERK'e, laboratuvar çalışmalarında bir an olsun yardımlarını esirgemeyen Arő. Gör. Emre őefik ÇAĞLAR'a, *in vivo* ve histopatoloji çalıőmalarındaki desteklerinden dolayı Yard. Doç. Dr. őule AYLA ve Dr. Ecz. Mehmet Evren OKUR'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI FORMU	i
BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
TABLolar LİSTESİ	xi
1. ÖZET	12
2. ABSTRACT	13
3. GİRİŞ VE AMAÇ	14
4. GENEL BİLGİLER	15
4.1. Deri	15
4.1.1. Deri yapısı ve görevleri	16
4.1.1.1. Epidermis (Üst deri).....	16
4.1.1.2. Dermis (Alt deri)	18
4.1.1.3. Hipodermis (Deri altı dokusu)	18
4.1.1.4. Derinin görevleri	19
4.1.2. Derinin sınıflandırması	21
4.1.2.1. Renk	21
4.1.2.2. Cinsiyet	22
4.1.2.3. Hidrolipid tabaka (Yüzeyel deri örtüsü)	22
4.1.3. Deri toleransı	23
4.2. Melazma	24
4.2.1. Melazmadaki hiperpigmentasyon oluşumu.....	25
4.2.2. Melazma oluşum nedenleri	26
4.2.3. Melazma klinik ve histopatoloji.....	26
4.2.4. Melazma prognozu.....	27
4.2.5. Melazma tedavisi	27

4.2.6. Tedavide kullanılan ilaçlar	27
4.3. Mikroemülsiyonlar	30
4.3.1. Mikroemülsiyonların avantajları	31
4.3.2. Mikroemülsiyonlarda kullanılan maddeler	32
4.3.2.1. Yağ fazı	33
4.3.2.2. Sulu faz	33
4.3.2.3. Yüzey etkin madde (YEM)	33
4.3.2.4. Yardımcı yüzey etkin maddeler (YYEM).....	34
4.3.3. Mikroemülsiyonların yapısı	34
4.3.4. Mikroemülsiyonlarda faz oluşumu	34
4.3.5. Mikroemülsiyonların karakteristik özellikleri.....	35
4.3.6. Mikroemülsiyonların veriliş yolları	36
5. MATERYAL VE METOD.....	39
5.1. Gereç.....	39
5.1.1. Kullanılan kimyasal madde, araç ve gereçler	39
5.1.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler.....	39
5.1.2. Kullanılan cihazlar, araç ve gereçler	40
5.2. Yöntem	41
5.2.1. Etkin maddenin infrared (IR) analizi	41
5.2.2. Etkin madde ultraviyole (UV) analizi	41
5.2.3. Etkin maddenin ergime noktası tayini	41
5.2.4. Etkin maddenin UV ile miktar tayini için standart eğrisi çizimi	41
5.2.5. Analitik yöntem validasyonu	42
5.2.5.1. Doğrusallık.....	42
5.2.5.2. Kesinlik	42
5.2.5.2.1. Tekrarlanabilirlik	42
5.2.5.2.2. Tekrar elde edilebilirlik.....	42
5.2.5.3. Doğruluk ve geri elde edilebilirlik	43
5.2.5.4. Seçicilik.....	43
5.2.5.5. Günler arası geçerlilik.....	43
5.3. Formülasyon Çalışmaları	43
5.3.1. Mikroemülsiyon formülasyon çalışmaları	43

5.3.1.1. Formülasyonda kullanılacak maddelerin seçimi.....	43
5.3.1.2. Mikroemülsiyon formülasyonlarını belirlemek için yapılan çalışmalar	44
5.3.1.3. Üçgen faz diyagramının çizimi	44
5.3.1.4. Etkin madde ile formülasyon çalışmaları.....	44
5.3.2. Mikroemülsiyon formülasyonlarının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi	44
5.3.2.1. Mikroemülsiyonların fiziksel görünüşü	45
5.3.2.2. Mikroemülsiyonların tipi	45
5.3.2.3. Mikroemülsiyonların santrifüj edilmesi	45
5.3.2.4. Mikroemülsiyonların pH ölçümleri	45
5.3.2.5. Mikroemülsiyonların elektrik iletkenliği ölçümleri	45
5.3.2.6. Mikroemülsiyonların refraktif indisi ölçümleri	45
5.3.2.7. Mikroemülsiyonların viskozitesinin ölçümleri	45
5.3.2.8. Mikroemülsiyonların damlacık büyüklüğünün saptanması ve polidispersite indeksi (PDI) ölçümleri	46
5.3.2.9. Mikroemülsiyonların zeta potansiyellerinin ölçümleri	46
5.3.2.10. Mikroemülsiyonların stabilite çalışmaları	46
5.3.2.11. Mikroemülsiyon formülasyonlarının <i>in vitro</i> salım çalışması	46
5.3.2.12. Formülasyonlarının <i>in vivo</i> ortamda İncelenmesi	47
5.3.3. Hayvanlar ve Deney Grupları	47
5.3.4. Histokimya	48
6. BULGULAR	49
6.1. Etkin Maddenin Özellikleri.....	49
6.1.1. Etkin maddenin infrared (IR) analizi sonuçları.....	49
6.1.2. Etkin madde ultraviyole (UV) analizi sonuçları	50
6.1.3. Etkin maddenin ergime noktası tayini sonuçları.....	50
6.1.4. Etkin maddenin UV ile miktar tayini için standart eğrisi çizimi	50
6.1.5. Analitik yöntem validasyonu sonuçları.....	51
6.1.5.1. Doğrusallık sonuçları	51
6.1.5.2. Kesinlik sonuçları.....	51
6.1.5.2.1. Tekrarlanabilirlik sonuçları	51
6.1.5.2.2. Tekrar elde edilebilirlik sonuçları	52

6.1.5.3. Doğruluk ve geri elde edilebilirlik sonuçları	53
6.1.5.4. Seçicilik sonuçları	53
6.1.5.5. Günler arası geçerlilik sonuçları	53
6.2. Formülasyon Çalışma Sonuçları.....	54
6.2.1. Mikroemülsiyon formülasyon çalışmaları sonuçları.....	54
6.2.2. Mikroemülsiyon formülasyonlarını belirlemek için yapılan çalışma sonuçları	55
6.2.2.1. Mikroemülsiyoların fiziksel görünüşü sonuçları	55
6.2.2.2. Mikroemülsiyoların karakterizasyon sonuçları.....	55
6.3. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının ve Krem Formülasyonun Membrandan Geçiş Çalışmaları.....	57
Mikroemülsiyon formülasyonlarının ve krem formülasyonun membrandan geçiş çalışmalarının sonuçları..	57
6.4. Formülasyonlarının <i>in vivo</i> Ortamda İncelenmesi	59
7. TARTIŞMA	61
8. SONUÇ.....	79
9. KAYNAKLAR	80
10. ETİK KURUL ONAYI.....	88
11. ÖZGEÇMİŞ	90

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
a/a	Ağırlık/Ağırlık
a/h	Ağırlık/Hacim
cP	Centipoise (Viskosite)
dev/dk	Dakikadaki Dönüş Sayısı
dk	Dakika
°C	Santigrat Derece
Cr EL	Cremophor EL
GRAS	Güvenli Yardımcı Maddeler
HQ	Hidrokinon
IR	Kızılötesi (Infraret)
İPM	İzopropil Miristat
LD	Lazer Dağılım
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
Mm	Milimetre
OA	Oleik Asit
PBS	İzotonik Fosfat Tamponu
PEG	Polietilen Glikol
PDI	Polidispersite İndeksi
% RSD	Yüzde Geri Kazanım Ortalaması
rpm	Revolutions Per Minute (dk/devir)
SS	Standart Sapma
S/Y	Su/Yağ
Tw 80	Tween®80
UV	Mor-Ötesi (Ultraviyole)

VK

Varyasyon Katsayısı

Vol

Hacim

wt/vol

Ağırlık/Hacim

YEM

Yüzey Etkin Madde

YYEM

Yardımcı Yüzey Etkin Madde



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1.1. Derinin temel yapısı.....	15
Şekil 4.1.1.1. Derinin tabakaları (epidermis, dermis, hipodermis)	16
Şekil 4.1.1.4.1. UVA ve UVB nin deriden geçişi	20
Şekil 4.1.1.4.2. UVA ve UVB nin deriden geçişi ve deriden geçmeden yansımaları	21
Şekil 4.2.1. Hiperpigmentasyon oluşumu	25
Şekil 6.1.1. Hidrokinon IR spektrumu	49
Şekil 6.1.2. Hidrokinon'un UV spektrumu	50
Şekil 6.1.4. UV'de çizilen kalibrasyon eğrisi	51
Şekil 6.2.1. Mikroemülsiyon formülasyonlarının (M1, M2) üçgen faz diyagramları...	54
Şekil 6.2.2.2.1. M1 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği.....	56
Şekil 6.2.2.2.2. Hidrokinon yüklü M1 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği ..	56
Şekil 6.2.2.2.3. M2 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği.....	56
Şekil 6.2.2.2.4. Hidrokinon yüklü M2 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği ..	57
Şekil 6.3.1. M1 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım grafiği (%).....	57
Şekil 6.3.2. M2 formülasyonu <i>in vitro</i> salım grafiği (%).....	58
Şekil 6.3.3. M3 formülasyonunun <i>in vitro</i> salım grafiği (%).....	58
Şekil 6.4. M1 _{HKN} , M2 _{HKN} , KREM _{HKN} , ÇÖZELTİ _{HKN} , SF uygulanmış fare sırt derilerinin mikroskopik görüntüleri.	60

TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1.2.2. Derideki cinsiyete bağlı farklılıklar.....	22
Tablo 4.1.3. Fototipler: Fitzpatrick tarafından yapılmış sınıflandırma (Sachdeva S (16)).....	23
Tablo 4.3. Topikal olarak uygulanan kaba emülsiyon ve mikroemülsiyonların farkları	31
Tablo 6.1.4. Çizilen kalibrasyon eğrisine ait doğru denklemi	51
Tablo 6.1.5.2.1. Spektrofotometre ile çizilen kalibrasyon eğrisine ait tekrar edilebilirlik bulguları.....	52
Tablo 6.1.5.2.2. Spektrofotometre ile çizilen kalibrasyon eğrisine ait tekrar elde edilebilirlik bulguları.....	52
Tablo 6.1.5.3. Spektrofotometre ile çizilen kalibrasyon eğrisine ait doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları	53
Tablo 6.2.1. İdeal mikroemülsiyon formülasyonlarının (M1, M2) bileşenleri ve yüzde miktarları	54
Tablo 6.2.2.2.1. Mikroemülsiyon formülasyonların elektrik iletkenliği, vizkozite, pH, refraktif indisi ölçümüne ait veriler.....	55
Tablo 6.2.2.2.2. M1 ve M2 formülasyonlarının polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyel ve damlacık büyüklüğü değerleri.....	55
Tablo 6.4.1. Epidermal tabakaların bozulma derecesi	59
Tablo 6.4.2. Dermal tabakaların enflamasyon dereceleri	59

1. ÖZET

MELAZMA TEDAVİSİ İÇİN ÇEŞİTLİ DERMAL FORMÜLASYONLARIN TASARLANMASI

Çalışmamızdaki amacımız, melazma tedavisinde kullanılan hidrokinon maddesinin mikroemülsiyon taşıyıcı sistemlerle alternatif yeni taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi ve bu formülasyonların *in vitro* olarak değerlendirilmesidir. Hidrokinon yüklü mikroemülsiyonlar hazırlanırken yağ fazı olarak izopropil miristat, yüzey etkin madde olarak Cremophor EL, Span 20, Span 80, Tween 20, yardımcı yüzey etkin madde olarak ise etanol, su fazı olarak distile su kullanılmıştır. Hazırlanan formülasyonların elektrik iletkenliği, vizkozitesi, pH'sı, refraktif indeksleri, zeta potansiyelleri, polidispersite indeksleri (PDI) ve damlacık boyutları ölçülmüştür. *İn vitro* ilaç salım deneyleri yapılmıştır. Yapılan çalışma neticesinde formülasyonların elektrik iletkenliği $16,667 \pm 5,774$ ile $43,333 \pm 5,774$ arasında, vizkoziteleri $8,97 \pm 0,082$ ile $45,67 \pm 2,259$ arasında, pH değerleri $3,3 \pm 0,436$ ile $5,7 \pm 0,2$ arasında refraktif indeksleri $1,4032 \pm 0,0002$ ile $1,4299 \pm 0,0002$ arasında bulunmuştur. Formülasyonların zeta potansiyelleri $-0,461 \pm 0,009$ ile $0,359 \pm 0,223$ arasında, PDI $0,08 \pm 0,02$ ile $0,196 \pm 0,067$ arasında ve damlacık boyutunun ise $24,27 \pm 3,559$ ile $324,9 \pm 16,8$ arasında olduğu ölçülmüştür. *İn vitro* salım çalışmalarında ise M2 formülasyonu 24. saatin sonunda ilacın %87,405'ini salmıştır. Histopatolojik incelemeler neticesinde formülasyonlar kullanıma uygun bulunmuştur. Yapılan çalışmalar neticesinde hidrokinon yüklü mikroemülsiyon formülasyonları melazma tedavisinde umut vadeden bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Anahtar kelimeler: Hidrokinon, Melazma, Mikroemülsiyon, Topikal

2. ABSTRACT

DEVELOPMENT OF VARIOUS DERMAL FORMULATIONS FOR THE TREATMENT OF MELASMA

The aim of the study is to evaluate the strengthening of penetration of the epidermis through the formulas containing hydroquinone in melasma treatment and development of alternative new carrier systems. During preparation of hydroquinone loaded microemulsions, isopropyl myristate as oil phase, Cremophor EL, Span 20, Span 80 and Tween 20 as surfactant, ethanol as co-surfactant, distilled water as aqueous phase were used. Furthermore, *in vitro* drug release studies were performed. As results of the study, it was measured that conductivity between 16.667 ± 5.774 and 43.333 ± 5.774 , viscosity between 8.97 ± 0.082 and 45.67 ± 2.259 , pH between 3.3 ± 0.436 and 5.7 ± 0.2 and refractive index between 1.4032 ± 0.0002 and 1.4299 ± 0.0002 . Formulations showed that zeta potential between $-0,461 \pm 0,009$ and $0,359 \pm 0,223$, PDI between $0,08 \pm 0,02$ and $0,196 \pm 0,067$, and droplet size between $24,27 \pm 3,559$ and $324,9 \pm 16,8$ nm. Furthermore, *in vitro* drug release studies showed that formulation M2 released 87.405 % of the drug at the end of the 24h. According to results of histopathological analysis, formulations were found convenient for the usage. According to results of our study, hydroquinone loaded microemulsions can be seen as a promising alternative for the treatment of melasma disease.

Key Words: Hydroquinone, Melasma, Microemulsion, Topical

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Çalışmamızdaki amacımız, melazma tedavisinde kullanılan hidrokinon etkin maddesinin mikroemülsiyon taşıyıcı sistemlerle alternatif yeni taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi ve *in vitro* olarak değerlendirilmesidir. Bu nedenle hidrokinon içeren titrasyon yöntemi ile hazırlanan S/Y tipinde mikroemülsiyon formülasyonunun geliştirilmesi ve bu formülasyonların deriye uygulanılabilme özelliklerinin araştırılması için karakterizasyon çalışmalarının yapılması ve *in vitro* salım özelliklerinin araştırılması planlanmıştır.

Melazma tedavisinde halen kullanılmakta olan birçok renk açıcı krem/ilaç topikal olarak uygulama sonucu melanositleri hasara uğratmak yerine melanositlerin pigment üretimini azaltarak etkili olmaktadır. Bu ilaçların içerisinde en çok tercih edilen ise hidrokinon'dur (1-3). Bu çalışmamızda hidrokinon formülasyonları için, taşıyıcı sistem olarak mikroemülsiyon dozaj şekli seçilmiştir.

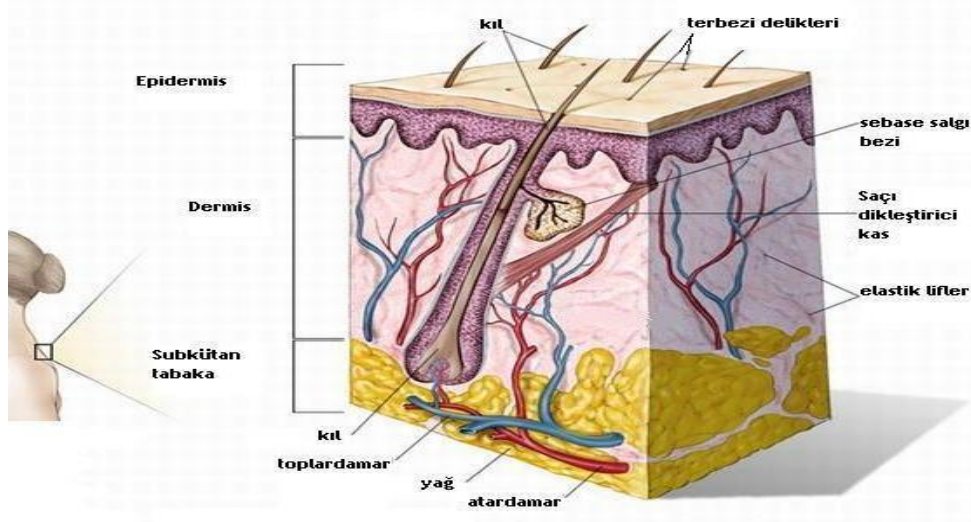
Günümüzde, mevcut bir ilaç molekülün etkinliğinin artırılmasının yeni bir ilaç molekülü keşfine göre daha ekonomik hale gelmesi göz önüne alınarak; yeni geliştireceğimiz formülasyonlar ile hidrokinon klasik taşıyıcı formlarına göre daha etkin olabilecek alternatif bir taşıyıcı sistem planlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Deri

Deri, yetişkinlerde total vücut ağırlığının neredeyse %15'ini oluşturan ve yaklaşık olarak 1.8-2 m² yüzey alanına sahip vücudun en büyük organıdır. Deri oluşumunun, gebeliğin ilk 20-30 gününde başladığı ve yaklaşık olarak ikinci ayında vücut derisinin tamamlandığı görülür. İlk üç ayın sonunda, erişkin tipte deri paterni gelişmiş olup epidermis tabakalarına ayrılır, dermis ise gelişimine devam etmesiyle kesin yapısına gebeliğin ikinci çeyreğinde kavuşur. Doğumdan sonra, dermal hacim artar ve bağ dokusu olgunlaşır (4-5).

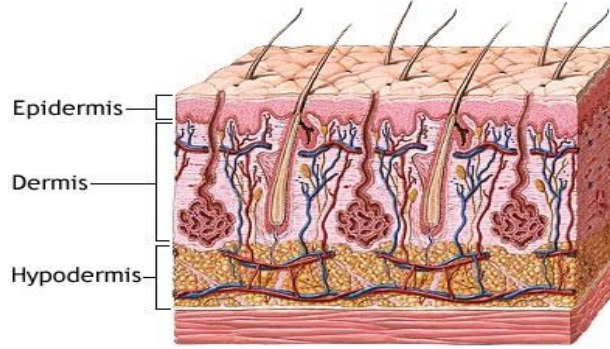
Karmaşık ve heterojen bir yapıya sahip olan deri; fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik dış etkenlere karşı vücudu koruyucu bir bariyer oluşturmaktadır. Bunun yanında UV ışığı altında 7-dehidrokolesterol'un D vitaminine dönüşümüne aracılık etmektedir. Ayrıca deriye rengini veren melanin pigmenti üreten melanositleri içermesinin yanında vücut sıcaklığının düzenlenmesindeki rolü ve su kaybının önlenmesi gibi birçok hayati fonksiyonu sağlamaktadır (Şekil 4.1.1) (6-10).



Şekil 4.1.1. Derinin temel yapısı

4.1.1. Deri yapısı ve görevleri

Deri; epidermis (üst deri), dermis (alt deri) ve hipodermis (deri altı) olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır (Şekil 4.1.1.1) (4,8-10).



Şekil 4.1.1.1. Derinin tabakaları (epidermis, dermis, hipodermis)

4.1.1.1. Epidermis (Üst deri)

Fiziksel ve kimyasal etkilere karşı vücudu koruyan deri koruyucusu olan en dış tabakadır (0.2-0.4 mm). Deri yenilenmesinin (rejenerasyon) gerçekleştiği, kan damarlarının bulunmadığı bakterilere karşı temel koruyucu özellik gösteren en dıştaki epidermis tabakası; *stratum granulosum*, *stratum corneum*, *stratum basale* ve *stratum spinosum* olmak üzere dört tabakadan oluşmaktadır (8-11).

Bunlar;

- Keratinositler (*Stratum granulosum* da yer alan keratinizasyonun başladığı tabaka)
- Melanositler (*Stratum basale* de derinin rengini veren melanositler yer alır)
- Langerhans hücreleri (*Stratum spinosum* da bakterileri fagosite eden langerhans hücreleri bulunur)
- Merkel hücreleri

Bir yere çarpma sonucu hasar oluşması, kimyasal irritasyon ve duyarlılık gibi durumlarda epidermis tabakası etkilenmektedir. Mezodermden; langerhans hücreleri,

makrofajlar, mast hücreleri, fibrositler, kan ve lenf damarları, yağ dokusu köken alır, melanositler ve merkel hücreleri ise nöroektodermden köken almaktadır. Avuç içi ve ayak tabanlarında epidermisin kalınlığı 1 mm kadardır. Vücudun bazı bölgelerinde 0.1 mm'ye kadar incelmektedir. Alın, şakaklar ve göz çevresinde daha da incedir. Epidermisin kalınlığı cinsiyet, genetik yapı ve iklim koşullarına göre değişiklik gösterir (11).

Stratum granulosum; keratinizasyonda önemli bir rol oynar. *Stratum corneum* hücreleri keratin içeren yaşlı, çekirdeksiz ve ölü hücrelerdir. Keratin suda, seyreltik asit ve bazlarda çözünmeyen, kimyasal reaksiyonlara karşı dayanıklı bir proteindir. Keratin; deri ve altındaki doku hasarlarına, mikroorganizmalara, sıcaklığa ve kimyasallara karşı koruma özelliği vardır. Epidermisin en alt tabakasında üretilir, yeni hücreler üredikçe üst tabakalara doğru ilerler ve canlılığını yitirir, zamanla derinin üst kısımları tabakalar halinde dökülerek vücudumuzdan uzaklaşır. Bu uzaklaşma *stratum basale*'yi stimule ederek hücrelerin mitoz bölünmesini hızlandırır. Ayrıca; cildi ince bir tabaka halinde kaplayarak vücudun nem kaybetmesini önleyen sebum "cilt yağı" granülleri; *stratum corneum*'daki yağ bezleri tarafından salgılanır. *Stratum corneum*'un pH 4.5–6.5 arasında değişir. Erkeklerde kadınlardan daha asidiktir. Koltuk altı ve parmak aralarında pH 7'ye kadar yükselir. *Stratum lucidum*; elektrolitlerin geçmesini engellediği deneysel olarak kanıtlanmış ince bir zar görünümünde *stratum corneum*'un hemen altındaki tabakadır.

Stratum basale; epidermisin yenilenmesini sağlayan en iç tabakasıdır. Dikey sıralanmış prizmatik epitel hücrelerden meydana gelmiştir. *Stratum basale* hücreleri devamlı olarak bölünmeye uğrar ve 3–4 hafta içinde *stratum corneum*'da yer alarak vücuttan atılırlar. Derinin rengini veren melanin pigmenti bu tabakada yer alır. Melanositler; epidermal hücrelerinin %8'ini oluşturur. Melanin pigmentini sentezler. Melanin; sarı-kırmızı veya kahverengi-siyah pigmenttir, deriye rengini verir. Melanosit hücreleri, melanini keratin hücrelerine transfer eder ve böylece deriyi ultraviyole ışınlarından korur.

Stratum spinosum; epidermisin, kolon, küp ya da iğ şeklinde uzadığı hücrelerdir. Hücreler alt kısımlarda polihedraldir, üstlere doğru çıktıkça yassılaşırlar.

Bunlara mozaik hücreler de denir. Langerhans hücreleri epidermal hücrelerin %1-4'ünü oluşturur. Kemik iliğinde üretilir ve deriye transfer edilir. İntraepidermal makrofaj hücreleri olarak da bilinirler, deriye giren mikroorganizmalara karşı immün yanıtı başlatırlar.

Merkel hücreleri; epiderminin en alt tabakasında bulunan epidermal hücrelerdir. Dermisteki sinir hücreleriyle bağlantı sağlar, dokunma duyusu için duyu reseptörü görevindedir.

4.1.1.2. Dermis (Alt deri)

Dermis (1-4mm); epiderminin altında bulunan kalın bağ dokusudur. Derinin sağlamlığında etkili olan tabakadır. Mezodermal kökenli bağ dokusu ağından meydana gelmiştir. Kıl folikülleri, ter bezleri, yağ bezleri bu bölümde bulunur. Çoğunlukla fibroblast, makrofaj ve yağ hücreleri olmak üzere ter bezleri, kıl folikülleri, kan damarları ve sinir uçları yer alır.

Cilt bezleri, yağ lopları, kıl bezleri ve yağ lopçukları bu bölgede bulunur. Bezler salgılarını kanallar aracılığı ile cilt yüzeyine verirler. Birçok adipaz hücresinin bulunduğu gevşek bir fibröz doku yapısındadır. İç organları koruyucu ve yağ deposu olarak fonksiyon göstermektedir. Kanalların cilt yüzeyine (*stratum corneum*) açılan ağızları kolay absorbe edilemeyen yağlar ve katı maddelerle tıkanacak olursa, sebum; deride görülen siyah noktaları meydana getirir veya bu yerlerde akne, şişme ve kızarma görülür (4, 8-10).

4.1.1.3. Hipodermis (Deri altı dokusu)

Dermisin altındaki gevşek, fibröz bağ dokusudur. Deri altı yağ dokusundan oluşan iç tabaka deriye enerji sağlar ve yalıtımdan sorumludur. Kan damarları ve sinirden zengindir. Bu tabaka adipoz dokuyu meydana getirdiği için ve iç organları koruyucu ve yağ deposu olarak fonksiyon gösterdiğinden bazı yazarlar hipodermisi kendi içinde bir deri tabakası olarak değerlendirmemektedir (4, 9-10).

4.1.1.4. Derinin görevleri:

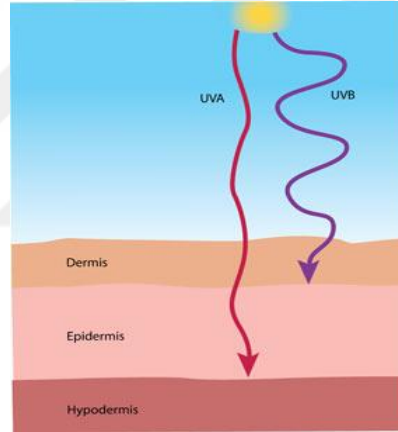
Derinin; ısı, su ve elektrolit kaybını önlemede bariyer, UV'ye, kimyasal maddelere karşı koruyucu, patojen mikroorganizmalara ve minor travmalara karşı koruma görevi olmak üzere çeşitli işlevleri vardır. Bunlara ek olarak duyu (sıcak, soğuk, dokunma, ağrı), termoregülasyon (terleme, vazodilatasyon, vazokonstrüksiyon), immunolojik defans (langerhans hücreleri ile), vitamin D sentezi, yara iyileşmesi (reepitilizasyon, dermal tamir), detoksifikasyon (terleme), ruhsal durum ifadesi, genel sağlık yansıması gibi fonksiyonları da vardır. Cildin suyu geçirme özelliği sınırsız olduğu için su geçirgenliğini kontrol eden "Rein engeli" olarak adlandırılan mekanizması vardır. Rein engeli; sadece suyun geçişine izin verirken su buharını geçirmez ve *stratum corneum*'un hemen altında işlev görür. Rein engelinin üzerindeki tabakalarda nem oranı %10'larda, altındaki tabakalarda ise %70-80'lerdedir. *Stratum corneum*'un esnekliği tuttuğu nem miktarına bağlıdır ve kurumasa durumunda cilt sertleşir (4, 8-10, 12).

Bağışıklık; epidermisteki belirli hücreler vücudun bağışıklık sisteminin bir parçasını oluşturur. Isı regülasyonu; derinin sıcaklığı kütanöz damar ağındaki damarların dilatasyonu/konstriksiyonu (genişlemesi/büzüşmesi) aracılığıyla artırılır veya düşürülür. Ter salgılanması da gerektiğinde derinin yüzeyini "canlandırır".

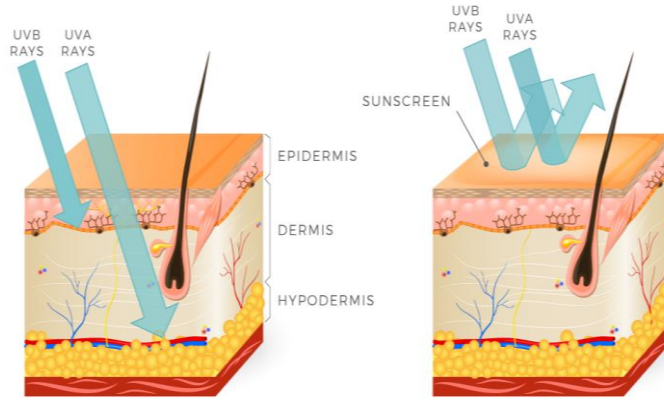
Sensoriyel; dokunma, basınç, sıcaklık ve ağrı sensoriyel (duyusal) reseptörler tarafından alınıp dorsal medüller yolaklar aracılığıyla merkezi sinir sistemine iletilen mekanik, ısıyla ilgili ve sensoriyel uyaranlardır.

Metabolik; D vitamini sentezi UV ışınlarının derideki bir prekürsör (öncü) molekülü aktive etmesi ile başlar ve aynı zamanda besleyici öğeler için bir depo görevi de görür. Sekresyon; özellikle ekrin, apokrin ve holokrin bezlerden maddelerin salınımını sağlar. Ekskresyon (Atılım); çok az sayıda madde deri yoluyla vücuttan atılmaktadır ancak patolojik durumlarda önemli miktarda iyon, sülfür ve protein bu yolla atılabilmektedir.

Dış mekanik darbelerin etkisine karşı yastık görevi görerek fiziksel (UV dağıtılır, farklı yapılar ve hücre elemanları tarafından absorbe edilir) ve kimyasal (sıkı bir hücresel epitel ve hidrolipid tabaka zararlı kimyasal maddelerin penetrasyonunu durdurur) koruma sağlar. UV-A (320-400nm) camdan (araç camları, ofis camları, pencere) geçerken; UV-B (280-320nm) pencere camından geçememektedir. Cildin güneş ışınlarını absorpsiyonu sözkonusudur. UV-A dermise penetre olur ve %19-50 oranında melanositlere ulaşırken, UV-B %9-14 oranında melanositlere ulaşabilmektedir. Çoğunlukla epidermis ve üst dermise absorbe olan UV-B, ciltte güneş yanığı reaksiyonlarından sorumludur ve UV-A gibi melanin üretimini stimüle eder. UV-B'nin bilinen tek yararı epidermiste vitamin D sentezidir. D vitamini ise; bağırsaktan kalsiyumu emilimini gerçekleştirerek kemiklerin mineralizasyonunu sağlamaktadır (Şekil 4.1.1.4.1 Şekil 4.1.1.4.2), (13-15).



Şekil 4.1.1.4.1. UVA ve UVB nin deriden geçişi



Şekil 4.1.1.4.2. UVA ve UVB nin deriden geçişi ve deriden geçmeden yansınması

4.1.2. Derinin sınıflandırması

Deri, farklı kriterlere göre sınıflandırılabilir. Burada deri; renk, cinsiyet, hidrolipid tabaka, fototipler ve tolerans kriterleri dikkate alınarak sınıflandırılmıştır (Tablo 4.1.2.2, Tablo 4.1.3) (16-20).

4.1.2.1. Renk

Deri rengi; fenotipik ve genetiğe bağlı olarak değişmekle birlikte derinin kalınlığı, ışığı absorpsiyon yeteneği, kan damarları, hemoglobin, oksihemoglobin karoten içeriği gibi deri rengini etkileyen birçok faktör olmakla birlikte temel olarak ultraviyole (UV) güneş ışınlarına karşı koruyucu olarak melanositler (deriye rengini veren hücreler) tarafından üretilen melanin adlı bir protein pigmentinin üretim oranına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Beyaz deri rengi; güneş ışınlarını (UVB; 280–320 nm, UVA 320–400 nm) absorbe etmesi ve gelişen biyokimyasal reaksiyonlar sonucu koyulaşması, güneş ışınlarının vereceği hasara karşı derinin adapte olmasıdır. Bu durumda epidermiste genetik kontrol altında olan melanositlerce derinin en önemli pigmenti olan melanin (pheomelanin; sarı/kırmızı, eumelanin; kahverengi/siyah) üretimi, tirozin aminoasitinin tirozinaz enzimi ile oksidasyonu sonucu oluşmakta ve ışınların subdermal dokuya penetrasyonu azaltan koruyucu bir filtre görevi görmektedir (6-7, 11, 13-14).

Melanin bulunmayan amelanotik deri; kalıtsal tirozinaz enzim eksikliği söz konusudur, çok açık renkli, albino deridir. Açık pigmentasyonlu kişilerde derinin

bağdokusu da derinin beyazlığına katkıda bulunabilir. Hemoglobin; deriye pembe-kırmızı renk verir. Soluk deri; damarların büzüşmesine veya hemoglobinin azalmasına bağlı görülürken, siyanotik deri ise; 5g/dL veya daha fazla indirgenmiş hemoglobinin varlığı nedeniyle mavi renkte görülür. Sarı deri; likopenler veya karotenlerden zengin yiyeceklerin fazla alınmasına bağlı olarak görülmektedir. Kırmızı deri; kapiller perfüzyon ve arteryel akım yüksek olduğunda ve görünür oksihemoglobin yaygın olarak bulunduğu bölgelerde (avuçlarda, ayak tabanlarında, boyunda) kırmızı olarak gözükür (15, 21).

4.1.2.2. Cinsiyet

Derideki cinsiyete bağlı olarak kollajen miktarında, *stratum corneum* dokusunda, kırışıklıkların görülmesinde, yağ bezlerinin oranında, terleme oranı, yağ dokusunun birikimi gibi birçok farklılık görülmektedir (Tablo 4.1.2.2) (17).

Tablo 4.1.2.2. Derideki cinsiyete bağlı farklılıklar.

	Erkek	Kadın
Dermis-Epidermis sınırı	Daha kalın	Daha ince
Kollajen	Daha fazla miktardadır	Daha az miktarda
Stratum korneum	Daha kalın ve daha düzensiz	Daha ince ve yumuşak deri
Kırışıklıklar	40-45 yaşlarında görülür, 50 yaşında derinleşir	30-35 yaşlarında ilerleyici kırışıklıklar görülür
Yağ bezleri (Sebase glandlar)	Daha çok sayıdadır, daha büyük ve aktiftir, daha fazla yağ sekresyonu mevcuttur	Daha az sayıda, daha küçük. Menopoza kadar androjenik stimülasyon
Ter	Daha yüksek miktarda	Daha düşük miktarda
Renk	Daha koyu renkli	Daha açık renk
Adipoz doku (Yağ dokusu)	Göğüs ve karın bölgesinde birikmeye daha fazla yatkınlık	Kalça ve baldırlarda birikmeye daha fazla yatkınlık

4.1.2.3. Hidrolipid tabaka (Yüzeyel deri örtüsü)

Hidrolipid tabaka, keratinizasyondan ve lipidlerden ayrıca su ve mineral tuzları gibi yağlı ve terletici salgılardan gelen maddelerin bir emülsiyon oluşturduğu yüzeysel bir deri örtüsüdür. Oluşan emülsiyona göre deri; normal deri, kuru deri, yağlı deri şeklinde sınıflandırılabilir (18).

Normal deri; yeterli miktarda ter ve yağ salgılanmasıyla stratum korneumun yeterli su içeriği ve hidrolipid emülsiyonu nedeniyle iyi koruyucu kalitesi ile karakterizedir. Kuru deri; lipid içeriği zayıftır, kırılğan ve hassas olup ince ve korunmasız bir dokuya sahiptir ve bu nedenle de zarar görmeye oldukça açıktır. Su kaybı vardır; bu nedenle dehidrate deri olarak da bilinir. Yağlı deri; normal ile seboreik arası yağlı deri aşırı yağlıdır, çevre kirliliğine bağlı olarak kirlenir ve siyah noktaların oluşumuna yatkınlık söz konusudur.

4.1.3. Deri toleransı

UV radyasyon, soğuk, rüzgar, ısı, nem gibi çevresel etkenlere karşı derinin verdiği tepkiler farklı olmaktadır. Hassas deri; normalden daha düşük bir tolerans eşiği, ısı, gerginlik, kızarıklık veya kaşıntı gibi rahatsızlıklar ve yetersiz deri korunması, aşırı duyarlılık ve mikrodolaşım sorunları ile karakterizedir. *Stratum corneumun* bariyer işlevinde önemli kayıplarla birlikte esneklik kaybına yol açan bir dizi değişiklikler saptanır (lipidlerin-çözünen maddelerin elimine edilmesi, proteinlerin denatürasyonu, *stratum corneum* pullanması; kalınlaşması (19-20).

Tablo 4.1.3. Fototipler: Fitzpatrick tarafından yapılmış sınıflandırma (16)

Deri Tipi	Güneşle ilişkili davranış	Örnek
Fototip I	Deride yoğun güneş yanığı görülür, bronzlaşma olmaz (pigmente değildir)	Albinolar, mavi gözler (çok açık renkli deri)
Fototip II	Deride kolay güneş yanığı görülür, çok az bronzlaşma olur (hafif pigmentedir)	Sarışınlar, kızılılar, mavi gözler, ela gözler (deri güneşe maruz kalmadan beyazdır)
Fototip III	Deri orta derecede güneş yanığı görülür, bronzlaşma olur	Beyaz ırk (deri güneşe maruz kalmadan beyazdır)
Fototip IV	Deri hafif yanar ve kolayca bronzlaşır (kahve renk)	Akdenizli, Moğol, Doğulu
Fototip V	Deri nadiren yanar ve kolayca ve yoğun bir biçimde bronzlaşır (koyu kahve renk)	Koyu kahve saç ve koyu renkli gözler. Amerikan yerlisi, Hintli, (deri güneşe maruz kalmadan kahve renktedir)
Fototip VI	Deri hiçbir zaman yanmaz ve yoğun derecede pigmentedir (siyah)	Siyah ırk (deri güneşe maruz kalmadan siyahtır)

4.2. Melazma

Melazma; daha çok kadınlarda %90 (gebelerde; gebelik maskesi %50-70) (erkeklerde; %10) olmak üzere özellikle koyu tenli kişilerde ve sıklıkla 30-55 yaş aralığında görülen yüzle sınırlı (nadiren ön kollarda) olarak gelişen bir maküler hiperpigmentasyon hastalığıdır (Resim 1). Yapısal (genetik yatkınlık) ve oluşumsal (UVA, UVB; maruziyeti) etkenlerin neden olduğu melazma asemptomatik bir hastalıktır (22-27).

Bazı hastalarda ise melazma oluşumunda etken olarak; ilaçlar (ör; fenitoin), hormonal faktörler (kadınlarda östrojen düzeyinin yüksekliği, erkeklerde testosteron düzeyinin düşüklüğü), östojen-progesteron tedavileri, ırk, kozmetik, hepatik ve tiroit disfonksiyonları rapor edilmiştir. Kozmetik açıdan önem taşıyan melazma; belirgin sınırlı, açık koyu kahverengi lezyonlar şeklinde simetrik olarak yüzde alın, yanak, üst dudak, burun, çene gibi güneşe maruz bölgelerde görülür. Yüksek miktarda radyasyona maruz kalan coğrafyalarda sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Epidermal hiperpigmentasyonlar arasında yer alan melazma klinik olarak yüzdeki yerleşimine göre; sentrofasyal (alın, yanaklar, burun, üst dudak, çene; %63), malar (yanak, burun; %21) ve mandibular (%16 mandibula ramus üzerinde), histopatolojik olarak ise pigment depolama bölgesine göre; epidermal (kahverengi), dermal (mavi-gri), ve miks-indetermine (kahverengi gri) tipte olmak üzere üçlü katgoride sınıflandırılır (3, 28-34).

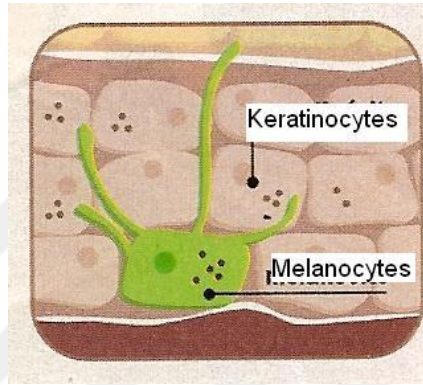


Resim 4.2. Melazma görüntüsü

4.2.1. Melazmadaki hiperpigmentasyon oluşumu

Melazmadaki hiperpigmentasyon 3 nedenle oluşmaktadır:

1. Melanozom üretiminin artışı
2. Bazal/suprabazal keratinositlere; melanozom transferinin artışı
3. Melanosit dendritlerinde arborizasyon ve melanosit proliferasyonu (Şekil 4.2.1).



Şekil 4.2.1. Hiperpigmentasyon oluşumu

Derinin hiperpigmentasyonu melanositlerden fazla miktarda melanin üretilmesi sonucunda cilt koyulaşması ile karakterizedir. Melanositlerden melanin sentezinde ve deri pigmentasyonunda rolü olan tirozinaz enziminde, bakır (Cu) bulunur. Cu; enzimlerde ko-faktör olarak rol oynar. Tirozin amino asitinin, tirozinaz enzimi ile dihidroksifenilalanin (DOPA)'e dönüşümü ile melanin sentezlenir.

Melazma; tüm ırklarda ve etnik gruplarda görülmektedir. Gerçek prevalansı bilinmemekle birlikte hastalığa özellikle Asyalılarda daha sık rastlanmaktadır. Özellikle koyu tenli ve doğurganlık çağındaki kadınlarda görüldüğü rapor edilmiştir. Bununla birlikte, oral kontraseptifler, psikotrop ilaçlardan fenotiyazinler, imipramin ve desimipramin gibi trisiklik antidepresanlar ile antikonvülsan ilaçlar da yüzde hiperpigmentasyona neden olabilen etkenler arasındadır (3, 30-35).

4.2.2. Melazma oluşum nedenleri

Melazma etiolojisinde birçok faktör yer almaktadır. Etiyolojide en önemli iki faktör genetik yatkınlık ve ultraviyole (UV) maruziyetidir. Hem UVA, hem UVB, hem de görünen ışık ile melazma oluşabilmektedir. Güneşin yalnızca melazma oluşumunda değil aynı zamanda oluşmuş melazma bölgeleri üzerinde doğrudan etkisi ile melazmanın alevlenmesinde de önemli rolü vardır. Gebelikte melazma oluşumu gözlenen kişilerde oral kontraseptiflerin kullanımı ile melazma oluşumu ya da bunun tersi sık görülmektedir. Bazı idyopatik melazma olgularında hafif dereceli over disfonksiyonuna ait bulgular (artmış LH, artmış FSH, azalmış E2) bulunabilmektedir. Benzer şekilde hormon salgılayan over tümörleri de melazmaya neden olabilmektedir (3, 30-34).

Melazmalı hastalarda tiroid disfonksiyonuna, normal kişilerden 4 kat daha sık rastlanmaktadır. Ön kollardaki melazmanın östrojen replasman tedavisi alan postmenopozal hastalarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Oral kontraseptifler dışında melazma ile en sık ilişkilendirilen ilaç fenitoidir. Isotretinoin ve spironolakton tedavileri ile gelişen ve tedavi bırakıldığında gerileyen melazma olguları da bildirilmiştir (3, 30-34).

4.2.3. Melazma klinik ve histopatoloji

Melazma lezyonları polisiklik veya arsiiform sınırlı pigmente yamalardan oluşur. Pigmentasyon bazen lineer, guttat, konfeti benzeri, veya geniş dairesel yamalar şeklinde olabilir. Melazma güneş gören bölgelere sınırlıdır. Beyazlarda santrofasyal, siyahlarda malar patern daha sık görülmektedir.

Wood ışığı ile renginde belirginleşme saptanır ve histopatolojik olarak bazal/suprabazal bölgelerde pigment depolanması ve papiller dermiste az sayıda melanofaj bulunur. Dermal histopatolojik tipteki lezyonlar klinik olarak mavi veya kül grisi renklidir ve siyahlarda daha sık görülmektedir. Wood ışığı ile sınırları belirsizdir ve renginde belirginleşme yoktur. Histolojik olarak bazal tabakada vaküoler dejenerasyon, süperfisyel ve derin dermiste dermal melanofajlar gözlenir; epidermal pigmentasyon hafiftir. Miks histopatolojik tipteki lezyonlar klinik olarak genelde açık kahverengidir. Wood ışığı ile bazı bölgelerde belirginleşme gözlenir. Pigment

depolanması hem dermiste hem de epidermiste bulunur ve histolojik görünüm epidermal ve dermal tipin kombinasyonudur. İndetermine melazma deri tipi VI olanlarda tanımlanmıştır. Bu tip melazma klinik olarak kategorize edilemez ve Wood ışığı ile inceleme faydasızdır (3,30-34).

4.2.4. Melazma prognozu

Tedavi edilmeyen melazma kalıcıdır ve kendiliğinden iyileşmez. Özellikle beyaz ırklarda kozmetik açıdan sıkıntı yaratır ve kozmetik kamuflajla kapatılması zordur. Hastalık zaman içinde yavaş ilerler. Komple remisyona nadirdir ve tedavi sonrası rekürans sıktır. Nadir olgular güneşe maruziyetin kesilmesi ile spontan remisyona gösterebilir. Oral kontraseptifler kullanımına bağlı ikincil olgularda oral kontraseptifler kullanımı bırakılsa dahi bazı olgularda melazma düzelmemektedir. Gebeliğe ikincil olgularda ise doğum sonrası 1 yıl içinde solabilmekle birlikte genelde melazma devam etmektedir (3, 30-34).

4.2.5. Melazma tedavisi

Tedavideki hedefler; melanosit aktivitesini inhibe etmek, melanin sentezini inhibe etmek, melanini kaldırmak ve melanozomlar içinde bulunan melanin granüllerini bozmaktır. Ayrıca başarılı bir tedavi için, hastalar melazma ve melazma yönetimi konusunda eğitilmeli ve yeterliliğin korunması gibi koruyucu stratejileri benimsemeye teşvik edilmelidir.

4.2.6. Tedavide kullanılan ilaçlar

Hiperpigmentasyona neden olan etkenin anlaşılması ve histolojik olarak derideki pigment düzeyini saptamak tedavi seçiminde yol göstericidir. Daha sık karşılaşılan kahverengi renk tutulumu şeklinde görülen epidermal düzeyde pigmentasyonun tedaviye daha iyi yanıt verdiği rapor edilmiştir.

Melazma tedavisinde birçok ajan kullanılmaktadır. Tedavide başlıca hidrokinonlar, topikal retinoik asit, topikal azelaik asit, topikal kortikosteroidler, kimyasal soyucular ve lazer yöntemi kullanılmaktadır. Geniş spektrumlu güneşten koruyucuların da etkili olduğu bilinmektedir (3, 34).

Hidrokinon (OHQ; HK); hidroksifenolik kimyasal bileşimidir. FDA tarafından melazma tedavisinde onaylı olan HK halen en sık kullanılan ve en etkili ajanlardan biridir. HK ilk kez 1975'te melazma tedavisinde Kligman formülü hidroalkol baz krem veya baz merhem içerisinde (HK %5 + tretinoin %0.05-0.1+ deksametazon veya betametazon %0.1) kullanılmıştır (3).

Kombinasyon tedavileri; Hidroalkol baz krem veya baz merhem içerisinde %2 HK+ %0,05-0,1 tretinoin (Pathak formülü) ve merhem baz içerisinde %2 HK+ %0.1 triamsinolon asetonid+ %4.7 N- asetilsistein'dir (Westerhof formülü).

Ağartıcı ajan olan HK sıklıkla %2-10 konsantrasyonda (2/gün) kullanılmaktadır. İlacın konsantrasyonu artırıldıkça etkinliğinin yanı sıra iritasyon yapıcı özelliğinin de arttığı rapor edilmiştir. HK'nun uzun süre ve yüksek konsantrasyonda (\geq %3) kullanım sonucu "ekzojen okronozis" olarak adlandırılan geri dönüşsüz kutanöz hasar oluşumu söz konusudur. Klinik olarak okronozis siyah renkli retiküler maküller ile karakterizedir. Tedavinin sonlandırılması ekzojen okronozisi engelleyebilir. İdame tedavi amacı ile ya da yaz aylarında en fazla %2'lik konsantrasyonda HK kullanımı önerilmektedir (3, 36-39).

HK'un depigmentasyon etkisi tretinoin ve topikal steroidlerden daha yüksektir. HK'un, vitamin C gibi antioksidanlar, retinoidler ve alfa hidroksiasitler ile kombine kullanımının penetrasyonu ve etkinliği arttırdığı bildirilmiştir. Tretinoin, HK'un oksidasyonunu inhibe ederek epidermal penetrasyonunu artırır ve sinerjistik etki gösterir. Kombinasyon için en etkili konsantrasyonlar HK için %2 ve tretinoin için % 0.05-0.1 aralığında rapor edilmiştir (36-37).

HK; lazerle, kimyasal peeling ile (Jessner solüsyonu, salisilik asit ve glikolik asit) kombine edilerek de kullanılabilir. %10 Glikolik asit ve %2 HK içeren kremlerin (Neo-Strata® AHA age spot and skin lightening gel) etkili olduğu gösterilmiştir. Deri tipi V ve VI olan hastalarda 2 haftalık %4 HK krem tedavisi

sonrası 5 ardışık salisilik asit peelinginin ikişer hafta ara ile uygulanması ile melazmada %66 oranında başarı gösterdiği bildirilmiştir (40).

HK'un yan etkileri arasında lokal irritasyon, düzensiz hipo/depigmentasyon, tırnak diskolorasyonu, allerjik kontakt dermatit, postinflamatuar hiperpigmentasyon ve okronozis yer almaktadır. Geri dönüşümsüz depigmentasyona neden olabilirler. Uygulama alanına uzak bölgelerde de sistemik emilim yolu ile depigmentasyon oluşabilmektedir (27, 34).

HK; tirozinazı inhibe ederek melanin sentezini engeller ve böylece DOPA'nın melanin'e dönüşmesini engellemiş olur. Derideki melanositlerin içeriğini azaltarak etki gösterir ve derideki hiperpigmentasyon olgularında etkilenen bölgenin renginin geçici olarak açılmasını sağlar. Tedavide; genellikle kullanılan kremlerinin etkisinin görülebilmesi için haftalarca düzenli olarak kullanılma gereği bulunmaktadır. Etkisi tedavi kesildikten 2-6 ay sonra kaybolmaktadır. Preparatın uygulandığı bölgenin güneş ışığından korunması gerektiğinden bu preparatlarda genellikle güneşten koruyucu bir diğer ajanla kombine halde bulunmaktadır. Güneş ışınlarına karşı koruyucu içermeyen preparatlarını kullanan hastaların, ayrıca güneş ışınlarından koruyan bir preparat kullanmaları gerekmektedir. Gözde tahriş yapabileceğinden göze temas ettirilmemelidir. Sistemik toksisiteye neden olabileceği için deride geniş alanlar uygulanmasından kaçınılmalıdır. Yan etkilerinin; tahriş ve allerjik deri iltihabı olduğu bildirilmiştir (41-48).

Gebelik kategorisi göz önüne alındığında; tüm gebelik süresince HK için FDA gebelik kategorisi C'dir. Gebelikteki kullanımının etkinlik ve güvenilirliği henüz kanıtlanmamıştır. Diğer yönü ile uyarılar dikkate alındığında; HK'un emziren annede topikal olarak uygulandığı durumda absorbe olup olmadığı veya HK molekül ağırlığının anne sütüne geçişine olanak verecek kadar küçük olması nedeniyle anne sütüne geçip geçmediğinin (sistemik absorpsiyonun henüz araştırılmamış olmasından dolayı) bilinmemesi nedeniyle emziren anne tarafından kullanımında; yarar/zarar durumuna göre karar verilmesi gerekliliği bildirilmektedir (41-48).

4.3. Mikroemülsiyonlar

Mikroemülsiyonlar; yağ, su, YEM (yüzey etkin madde: sürfaktan) ve YYEM (yardımcı yüzey etkin madde: ko-sürfaktan) olmak üzere dört bileşenden oluşan, termodinamik olarak kararlı (dayanıklı), optik olarak izotropik sistemlerdir. Başka bir deyişle; küçük damlacık büyüklüğüne sahip (iç faz damlacık çapı; 10-200 nm;), tek faz görünümlü, bileşenlerin yeterli oranlarda karışmaları sonucu kendiliğinden oluşan, birbiri ile karışmayan iki sıvının oluşturduğu saydam dispers sistemlerdir. Hoar ve Schulman 1943'te mikroemülsiyonları su ve yağ fazlarında büyük oranda sürfaktan ve kosürfaktan içeren şeffaf, izotropik sistemler olarak tanımlamıştır (49-57).

Mikroemülsiyonların oluşabilmesi için üç önemli koşul vardır (58).

Bunlar;

- Yağ ve suyun birbiri içinde kendiliğinden karışarak emülsifiye olabilmesi için yağ-su ara yüzeyindeki gerilimi çok düşük olmalıdır (10-3 mN/m'den küçük).
- Sürfaktanın konsantrasyonu optimum olmalıdır.
- Mikroemülsiyonun dayanıklılığını artırmak için ara yüzey akıcı ve esnek olmalıdır (50-500 A°).

Kaba emülsiyonlar halen topikal ilaçlarda yağ/su veya su/yağ kremler olarak kullanılmaktadır. Topikal formülasyonların başlıca büyük dezavantajları yağlılık, zayıf sürülebilirlik ve düşük ilaç taşıma gücüdür. Topikal olarak uygulanan kaba ve mikroemülsiyonların farkları Tablo 4.3'de verilmiştir: (57).

Tablo 4.3. Topikal olarak uygulanan kaba emülsiyon ve mikroemülsiyonların farkları

	Mikroemülsiyon	Kaba Emülsiyon
Fiziksel		
Damlacık boyutu	nm	µm
Viskozite	Az	Çok
Yüzeylerarası gerilim	Az	-
İlaç çözünürlüğü	Az	Çok
Yüzey aktivitesi	Çok	Az
Zeta potansiyel	Negatif	-
Bileşim		
Sümfaktan (%)	25-75	2-10
Kosümfaktan (%)	5-20	Gerek yok
Yağ fazı (%)	0-30	Büyük
Jel bazı	Gerekli	Gerek yok
Hazırlama metodu		
Spontan oluşum	Evet	Hayır
Mekanik karıştırma	Hayır	Evet
Faz diyagramı	Gerekli	Gerek yok
Mikroemülsiyon bölgesi seçimi	Gerekli	Gerek yok
Transport		
Akış	Çok iyi	Az
Enhancement ratio	Çok	Az
Difüzyon sabiti	Az	Çok
Lag süresi	Çok az	Çok
Permeasyon mekanizması	Cilt fonksiyonu, difüzyon, yüzey aktivitesi	Başlıca difüzyon
Permeasyon artırıcı	Gerek yok	Gerekli
Stabilite		
Erit-dondur	Stabil	İnstabil
Yüksek sıcaklık	Stabil	İnstabil
Mekanik stabilite	Stabil	İnstabil
İlaç stabilizasyonu	Artmış	Yok
Estetik		
Görünüş	Saydam	Opak beyaz
Organoleptik	Çekici	Donuk
Kıvam	Akıcı	Kremsi

4.3.2. Mikroemülsiyonların avantajları

Mikroemülsiyonların diğer formülasyonlara göre bazı üstünlükleri bulunmaktadır (50-52, 59-64).

Bunlar;

- İlaç yükleme kapasiteleri yüksektir,
- Sürfaktan ve ko-sürfaktanların etkisiyle hücre permeabilitesini artırır dolayısıyla emilimi kolaylaştırır,
- Diğer formülasyon şekillerine göre hazırlama yöntemleri kolaydır,
- İlaç dağılımının yavaş olması ile birlikte kontrol edilebilirliği ve daha da önemlisi ilaç hedeflenebilmesi yapılabilmektedir,
- Damlacık büyüklüğü küçüktür,
- Penetrasyon artırıcı özelliğine sahiptir,
- Etkin maddelerin fizyolojik koşullardan etkilenmesini azaltır,
- Çocuklar ve yetişkinler için yutulması güç olan katı ilaç şekillerine göre kullanımı daha kolaydır,
- Filtrasyonla sterilize edilebilir,
- Etkin madde için yüksek çözünürlük kapasitesine sahiptir,
- İlacın mide bağırsak sıvılarına karşı korunması nedeniyle kararlılıkları yüksektir,
- Yapısında YEM bulunduğu için membran akışkanlığı daha kolaydır,
- Akış tipi Newton akış tipine uyarak, düşük viskozite gösterirler,
- Mikroemülsiyonlar yapısında hem su hem de yağ içermelerinden dolayı hem yağda hem de suda çözünebilen etkin maddelerin bu sistemlere yüklenmesini sağlamaktadırlar,
- Mikroemülsiyonlar stabil sistemlerdir,
- Nanometrik boyutlarda olduklarından kutanöz uygulamada ilaçların transdermal difüzyonu geliştirilebilmektedir.

4.3.3. Mikroemülsiyonlarda kullanılan maddeler

Mikroemülsiyonlar genellikle, organik faz (genellikle yağ), sulu faz, YEM ve YYEM'den oluşur. Mikroemülsiyon bileşenleri belirlenirken biyolojik olarak uyumlu, toksik olmayan, klinik olarak kabul edilebilir maddeler seçmeli ve uygun konsantrasyon aralığında kullanılmalıdır. Bu sebeple, genel olarak güvenli-zararsız kabul edilen (GRAS) yardımcı maddeler tercih edilmelidir. Fosfolipidler biyolojik olarak uyumlu olmaları nedeniyle çok kullanılan sürfaktanlardır. Özellikle lesitin membran lipidlerinin başlıca bileşeni olması nedeniyle çokca tercih edilmektedir.

İritan özelliklerinin düşük olup kimyasal stabilitelerinin yüksek olması nedeniyle, noniyonik sürfaktanların, özellikle de polioksietilen türevlerinin mikroemülsiyonlarda kullanımı oldukça yaygındır. Ancak bazı noniyonik sürfaktanlar ve ko-sürfaktana gerek olmadan da mikroemülsiyonlar hazırlanabilmektedir (65).

4.3.3.1. Yağ fazı

Yağ fazı sadece lipofilik ilacı çözündürmekle kalmamaktadır, aynı zamanda lipofilik ilacın hedeflenen bölgeden emilmesini de arttırdığı için çeşitli avantajlara sahiptir. Doymuş (örneğin laurik, miristik ve kaprik asit) ve doymamış yağ asitleri (örneğin, oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit) penetrasyon artırıcı özelliğinin dolaylı olarak uzun zamandır mikroemülsiyon çalışmalarında yağ fazı olarak kullanılmaktadır. Etil oleat, izopropil miristat (İPM) ve izopropil palmitat gibi yağlı asit esterleri de yağ fazı olarak kullanılmıştır (66).

4.3.3.2. Sulu faz

Su, mikroemülsiyon oluşumunda temel bileşendir. Y/S tipi mikroemülsiyonlarda, sürekli faz olarak işlev görür ve yağla olan karışmazlığının aksine YEM ve YYEM'le hidrojen bağı yapmasıyla yağ damlacıklarının oluşumu gerçekleşir ve su içinde yağ tipi mikroemülsiyon oluşturulur. Mikroemülsiyonların formülasyonunda sulu faz olarak distile su, çeşitli işlemlerden geçirilmiş su veya çeşitli tampon çözeltileri kullanılmaktadır (65-66).

4.3.3.3. Yüzey etkin madde (YEM)

Mikroemülsiyonların oluşumu için kullanılan YEM'ler genellikle hidrofobik bir kuyruk ve hidrofilik bir baş grubundan oluşan küçük moleküllerdir (65-66).

Mikroemülsiyonları stabilize etmek için kullanılan YEM'ler;

- Noniyonik
- Zwitteriyonik (pozitif, negatif yük taşıyan)
- Katyonik
- Anyonik olmak üzere 4 çeşittir.

Mikroemülsiyon formülasyonlarında Cremophor EL (Cre EL), Cremophor RH 40, Tween 20, Tween 80, Span 80, Labrafil M-1944CS, Labrasol, Propilen Glikol, PEG 400 vb. maddeler YEM olarak kullanılmaktadır (67-68).

4.3.3.4. Yardımcı yüzey etkin maddeler (YYEM)

YYEM'ler (örn., Propilen glikol (PG) veya etanol) mikroemülsiyonların oluşumunda su fazı ve yağ fazı arasındaki yüzeylerarası gerilimi sıfıra indirgeyerek etki gösterirler (65-66).

4.3.4. Mikroemülsiyonların yapısı

Mikroemülsiyonlar yağ/su (Y/S), su/yağ (S/Y) ve geçişli (biconuous) olmak üzere üç tipte olabilirler. S/Y veya Y/S tipindeki mikroemülsiyonlarda, damlacıklar ko-sürfaktan ve surfaktan moleküllerinden oluşan bir film ile çevrilmiştir. Yağ ve su fazları arasında çok düşük yüzeyler arası gerilimin bulunması, sürfaktan ve ko-sürfaktan ilavesi ile sağlanmaktadır.

Dış fazın su olduğu Y/S mikroemülsiyon sisteminde, amfifil moleküllerin hidrofobik kısımları yağ damlacığının içine yönelmiş, hidrofilik kısımları ise dış faza yönelmiş halde bulunmaktadır. S/Y mikroemülsiyon sisteminde ise, amfifilik molekülün hidrofobik kısmı dış faza, hidrofilik kısmı ise su damlacığının içine yönelmiş durumdadır. Bu tip mikroemülsiyonlar ters miseller veya L2 faz (likit faz) olarak da bilinmektedir. Su ve yağ oranının yüksek olduğu durumlarda ise farklı bir yapı, geçişli modelde mikroemülsiyonlar oluşmaktadır. Bu model, çok köşeli poligonları içermekte olup, yağ ve su fazları amfifilce zengin bir tabaka ile ayrılmış durumdadır (55).

4.3.5. Mikroemülsiyonlarda faz oluşumu

Bir mikroemülsiyonun hazırlanmasında en önemli basamak üçgen faz diyagramının çizilmesi ve buradan hareketle en uygun mikroemülsiyon alanının, dolayısıyla formülasyondaki bileşenlerin miktarının saptanmasıdır. Üçgen faz

diyagramları, su, yağ, sürfaktan/ko-sürfaktan fazlarının değişik oranlarda karıştırılması ile elde edilmektedir. Üçgen faz diyagramı, S/Y emülsiyonu, lameller veya hegzagonal sıvı kristaller, S/Y mikroemülsiyonu, Y/S emülsiyonu ve Y/S mikroemülsiyonunun dengesinde oluşmaktadır.

Üçgen faz diyagramları, mikroemülsiyonu oluşturan bileşenlerin karışımının su veya kosürfaktan ile titre edilmesi ile elde edilir. Her iki yöntemde de mikroemülsiyonun dayanıklı ve berrak kaldığı bölge esas alınır. Sisteme su ilave edildiği zaman S/Y mikroemülsiyonları oluşur. Su damlacıkları sürfaktan ko-sürfaktan karışımının yüzeylerarası tabakası tarafından çevrelenir ve dayanıklı hale gelir. Sisteme su ilave etmeye devam edilirse sıvı kristaller meydana gelir. Su molekülleri sürfaktanın çifte tabakası arasında kalır. Su miktarı artırıldığında tabakalı lameller yapı kırılır ve sürfaktan ko-sürfaktan arayüzey filmi tarafından sarılan yağ damlacıklarını içeren bicontinuous (çift geçişli) yapı meydana gelir. Faz diyagramı içeren mikroemülsiyonların oluşum alanı ve büyüklüğüne sıcaklık, çözücüler, sürfaktanın yapısı ve sulu fazdaki tuzun etkisi bulunmaktadır (55).

4.3.6. Mikroemülsiyonların karakteristik özellikleri

Mikroemülsiyonların yapısı değişik yöntemlerle incelenebilir. Özellikle damlacık büyüklüklerinin tayin yöntemlerinde ve miseller yapılarının incelenmesinde küçük açılı x-ışını saçılımı (small angle x-ray scattering-SAXS), küçük açılı nötron saçılımı (small angle neutron scattering-SANS), statik ışık saçılımı (static light scattering), kuasielastik ışık saçılımı (static light scattering-QELS), geçici elektron mikroskop (transmission elektron microscopy-TEM), gibi yöntemler kullanılır. Böyle sistemlerde, dağılmış fazın damlacıkları ışığı kırmaz; böylece dağılmış fazın globülleri çıplak gözle görünmez. Globül boyutu 200 nm'nin altında olduğundan bu sistemler şeffaftır (55).

Mikroemülsiyonların viskozite, bulanıklık (türbidite) ve elektriksel iletkenlik, pH, dansite, faz ayrışması gibi fiziksel özelliklerinin incelenmesi stabiliteyi açısından çok önemlidir. Viskozite sürfaktan filmin kalınlığı, damlacık büyüklüğü

ve şekli, kondüktivite emülsiyonun dış fazı ve faz dönüşümü, dielektrik ölçümü ise sistemin yapısı ve dinamik özeleri hakkında bilgi verir (69).

4.3.7. Mikroemülsiyonların verilış yolları

Mikroemülsiyonlar oral, paranteral, oküler, pulmoner, rektal, topikal olarak kullanılmaktadırlar. Oral yol en çok tercih edilen yoldur. Emilimin artırılması, ilaçların klinik potenslerinin artırılması ve ilacın toksisitesinin azaltılması avantajlarından dolayı hormonlar, steroidler, diüretikler, antibiyotikler ve çözünürlüğü düşük olan etkin maddeler için ideal ilaç şekilleridir. Özellikle, peptit/protein gibi gastrointestinal kanalda enzimatik parçalanmaya uğrayan maddeler için uygun ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Peptitlerin mikroemülsiyon formülasyonlarına en başarılı örnek siklosporindir. Sandimmune®, Neoral® ticari adları ile pazarlanan ilaçlar, karaciğer, böbrek gibi organ nakillerinden sonra rutin olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, siklosporin S/Y tipi mikroemülsiyon formülasyonu içinde oral yolla uygulandığında biyoyararlanımının arttığı görülmüştür. S/Y tipi mikroemülsiyon formülasyonu ile uygulanan insulin, vasopressin ve siklosporinin oral biyoyararlanımının çözelti formülasyonundan fazla olduğu saptanmıştır. Labrafil, lesitin ve etanol kullanılarak hazırlanan S/Y tipi mikroemülsiyon formülasyonu içinde oral yoldan uygulanan insülinin, sıçanlarda sübkütan uygulamaya benzer şekilde kan glukoz düzeylerinde düşüş sağladığı görülmüştür. Peptit yapısında olan epidermal Büyüme Faktörü (EGF) ve Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF) nin mikroemülsiyon formülasyonu Labrafil M 1944 CS, Arlacel 186, Brij 35 ve etanol kullanılarak hazırlanmıştır. Stres ve asetik asit ile mide ülseri oluşturulan sıçanlara oral olarak uygulanmıştır. Her iki büyüme faktörünün de yara iyileştirme etkisi, biyokimyasal ve histolojik bulgular esas alınarak değerlendirildiğinde mikroemülsiyon çözelti formülasyonlarına göre daha etkili bulunmuştur. Topikal uygulama, mikroemülsiyonların kolay uygulanmaları açısından topikal uygulanmaları tercih edilmektedir. Topikal uygulanan mikroemülsiyon formülasyonlarının klasik emülsiyon ve jellere göre daha etkili oldukları saptanmıştır. Topikal yolla, hidrofilik bir ilaç olan difenhidraminhidroklorürün, izopropilmiristatla S/Y mikroemülsiyonu insan derisine

uygulanmıştır. Bu formülasyona kolesterol ilave edildiğinde emilimin arttığı saptanmıştır (58).

Badawi AA ve arkadaşları, mikroemülsiyonlar berrak ve termodinamik olarak kararlı sistemler olduğunu, ilaçların çözünürlüğünü arttırmak ve topikal ilaç biyoyararlanımını geliştirmek için kullanılmakta olduğunu belirttikleri çalışmalarında topikal ürünlerde keratolitik olarak kullanılan antimikrobiyal özelliklere sahip bir ajan olan salisilik asitin (SA) mikroemülsiyon sistemlerini hazırlayarak değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Farklı salisilik asitin konsantrasyonları, izopropil miristat, su ve 15:1 Tween 80: propilen glikoldan oluşan mikroemülsiyon bazına dahil edilmiş; % 2, % 5 ve % 10 salisilik asitin içeren üç mikroemülsiyon sistemi hazırlanmıştır. Çapraz polarize mikroskop altında inceleme, yüzde transmitans, pH ve spesifik gravite ölçümleri, reolojik özelliklerin incelenmesi ve hızlandırılmış stabilite çalışmaları ile değerlendirmeler yapılmıştır. Elde edilen verilere göre SA eklenmesiyle bazın fiziksel özellikleri belirgin ölçüde değiştiği bildirilmiştir. Hızlandırılmış stabilite testlerinden bütün sistemler etkilenmemiştir. Oda koşullarında salisilik asitin (%10) ile 6 ay süreyle yapılan stabilite çalışmasında, 1 aylık sürenin sonunda gözlenen viskozite düşüşü dışında belirgin bir değişiklik kaydedilmemiştir. Sonuçlara göre mikroemülsiyonların, farklı salisilik asitin konsantrasyonlarının topikal uygulaması için uygun bir taşıyıcı olduğu kanısına varıldığı rapor edilmiştir (71).

Sripriya R ve arkadaşları araştırmalarında; hidrokinon, askorbik asit, nitrobenzen ve benzil klorürün birbiriyle aynı deneysel koşullarda cam karbon elektrot üstünde sulu, miseller, mikroemülsiyon ve protik ortamlarda voltametrik davranışı karşılaştırılmıştır. $i_{p(misel)} > i_{p(sulu)} > i_{p(DMF)} > i_{p(mikroemülsiyon)}$ sırasıyla azalan trende sahip pik akımlar gözlendiği rapor edilmiştir. Tek istisna miseller ortamda biraz daha az akım gösteren hidrokinon olduğu bildirilmiştir. Bileşenlerin her biri için pik potansiyelleri $E_{P(DMF)} > E_{P(mikroemülsiyon)} > E_{P(sulu)} > E_{P(misel)}$ şeklinde olduğu; iki oksidasyon, iki de redüksiyon prosesi (redüksiyonda negatif EP) göz önünde bulundurulmuştur. Katyonik sürfaktanların katalitik etki gösterdiği, sulu fazın baskın olduğu miseller sistemlerde daha düşük pik potansiyelleri ve daha yüksek akım elde

edildiği rapor edilmiştir. Aprotik ortama kıyasla mikroemülsiyonda pik potansiyel ve pik akım daha düşük olduğu araştırmada sistematik varyasyonlar ve analitik çıktılarının sebepleri tartışılmıştır (70).



5. MATERYAL VE METOT

5.1. Gereç

5.1.1. Kullanılan kimyasal madde, araç ve gereçler

5.1.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Kullanılan Tampon Çözeltiler

pH 7.4 Fosfat Tamponu Hazırlanması

3.025 g sodyum hidrojen fosfat

0.190 g potasyum dihidrojen fosfat

8.0145 g sodyum klorür

Distile su k.m. 1000 mL

pH 7.4 PBS hazırlanması için; 0.017 M sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), 0.0014 M potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), 0.137 M sodyum klorür (NaCl) ile hazırlanmıştır. Bunun için önce 0.190 g KH_2PO_4 , 3.025 g Na_2HPO_4 ve 8.0145 g NaCl tartılıp 1000 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan tamponun pH'ı 7.4 olarak tespit edilmiştir.

İPM	ZAG-Almanya
Hidrokinon.....	Doğa İlaç- Türkiye
Span 80.....	Merck-Almanya
Span 20.....	Merck-Almanya
Tween 80.....	Merck-Almanya
Tween 20.....	Merck-Almanya
Cre EL	Sigma-Almanya
Etanol	Merck-Almanya

5.1.2. Kullanılan cihazlar, araç ve gereçler

Termometre	Hanna instruments-98501-Mauritius
Diyaliz membranı.....	Spectra/Por-Amerika
Elektrik iletkenlik ölçüm cihazı	İnolab WTW Series-Almanya
Erime derecesi tayini aleti	Stuart-Birleşik Krallık
Etüv	Ecocell-Almanya
IR spektrometre	Perkinelmer-Türkiye
Hassas Terazı	Ohaus Almanya
Manyetik ısıtıcı karıştırıcı	Heidoph-Almanya
Mikro enjektör	Hamilton-İsviçre
Partikül boyutu ölçüm cihazı	Malvern, Nano ZS-İngiltere
pH metre	İnolab WTW Series-Almanya
Refraktometre	Kruss-DR301-95-Almanya
Su Banyosu	Buchi 461-Türkiye
Ultrasonik banyo	Bandelin-Sonorex-Almanya
UV-spektrometre	Schmadzu 160-A-Japonya
Viskozimetre	AND Vibro ViscometerSV10-Japonya

5.2. Yöntem

5.2.1. Etkin maddenin infrared (IR) analizi

Etkin madde %1 oranında potasyum bromür ile karıştırarak, kuvarz havan içinde homojenize edildi. Çok ince şeffaf tabletleri basıldı. IR spektrofometrede 4000-0 cm^{-1} arasında taranıp pik verdiği dalga boyları tespit edildi.

5.2.2. Etkin madde ultraviyole (UV) analizi

10 mg etkin madde, 10 mL etanolde (% 96) çözündürüldükten sonra bu stok çözeltisinden Hamilton enjektörü ile 50 μL alınarak pH 7.4 fosfat tamponuyla 10 mL'ye tamamlanıp 200-400 nm dalga boyları arasında taramalı UV spektrofometrede maksimum absorbands verdiği dalga boyu saptandı.

5.2.3. Etkin maddenin ergime noktası tayini

Etkin maddenin ergime noktası tayini için bir miktar madde bir ucu kapalı kılcal boruya dolduruldu ve kılcal borunun diğer ucu alevle kapatıldı. Daha sonra kılcal boru erime derecesi apareyine yerleştirildi ve sıcaklık artışı ile etkin maddenin eridiği an tespit edildi.

5.2.4. Etkin maddenin UV ile miktar tayini için standart eğrisi çizimi

Etkin maddenin kalibrasyon eğrisi pH 7.4 fosfat tamponunda çizildi. pH 7.4 fosfat tamponu hazırlamak için 27.38 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) tartılıp 1L'ye distile su ile tamamlandı. 8 g sodyum hidroksit (NaOH) tartılıp 1L'ye distile su ile tamamlandı. Birinci çözeltiden 250 mL, ikinci çözeltiden 195.5 mL alıp karıştırıp 1L'ye distile su ile tamamlandı.

Standart eğrinin çizimi için 50 mg etkin madde 3 mL alkolde çözündürüldü, tamponla 10 mL'ye tamamlandı. Stok çözeltiden 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.03, 0.035, 0.04, 0.045, 0.05, 0.055, 0.06, 0.065 mg/mL konsantrasyonlarda olacak şekilde bir seri çözelti hazırlandı. Aynı şartlarda hazırlanan kör kullanılarak, UV spektrofometrede 263 nm'de bu konsantrasyonlara karşı gelen absorbands değerleri okundu. Elde edilen absorbands değerleri derişime

karşı grafiğe konularak, en küçük kareler yöntemi ile regresyon analizine uygulandı. Buradan absorbans (x) ile derişim (y) arasındaki ilişkiyi veren kalibrasyon eğrileri oluşturuldu.

5.2.5. Analitik yöntem validasyonu

5.2.5.1. Doğrusallık

Etkin maddenin pH: 7.4 fosfat tamponunda 50 mg/10 mL stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltilerden 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.03, 0.035, 0.04, 0.045, 0.05, 0.055, 0.06, 0.065 mg/mL konsantrasyonunda üç paralel çözelti hazırlandı. Her bir konsantrasyon basamağında elde edilen UV absorbans değerleri yardımıyla standart doğrunun denklemi hesaplandı. r^2 , eğim ve kesim noktaları hesaplandı.

5.2.5.2. Kesinlik

5.2.5.2.1. Tekrarlanabilirlik

Kesinlik kriteri için çalışma şartlarında analizlerde elde edilen sonuçların birbirleri ile uyumunu ve kullanılan alette okunan değerlerin tekrarlanabilirliğini test etmek amacıyla 0.05 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan örneğin verdiği absorbans değerleri ardarda on kere okundu. Absorbansa karşılık gelen konsantrasyonların ortalaması, standart sapması, varyasyon katsayısı ve % RSD'si (yüzde geri kazanım ortalaması) hesaplandı. Varyasyon katsayısının % 2'den az olması yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermektedir.

5.2.5.2.2. Tekrar elde edilebilirlik

Kesinlik kriterinin diğer bir kavramı olan tekrar elde edilebilirlik için aynı stoktan hareket edilerek seyreltme ile hazırlanan altı adet aynı konsantrasyonunda (0.05 mg/mL) ve birbirinden bağımsız çözeltilerin absorbans değerleri uygun dalga boyunda ölçülerek ve bulunan değerler kalibrasyon denkleminde yerine konularak ortalama, standart sapma, % RSD'si ve varyasyon katsayısı hesaplandı. Bulunan varyasyon katsayısının % 2'den küçük olması gerekir.

5.2.5.3. Doğruluk ve geri elde edilebilirlik

Elde edilen deneysel değerlerin gerçek değere ne kadar yakın olduğunu tespit etmek amacıyla yapılmaktadır. Yöntemin doğruluğu geri alma yüzdesine bağlıdır. Üç farklı konsantrasyonda (0.02, 0.04, 0.06 mg/mL) altı paralel örneğin verdiği absorbans değerleri ölçüldü. Bu absorbans değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarları bulundu. Bu değerlerden ortalama ve yüzde geri kazanım hesaplandı.

5.2.5.4. Seçicilik

Formülasyonda yer alan diğer maddelerle hazırlanan plasebo test çözeltisi analiz edildi. Etkin maddenin aynı dalga boyunda maksimum absorbans gösterip göstermediği incelendi. Elde edilen sonuçlar uygulanan metodun seçiciliğini göstermektedir.

5.2.5.5. Günler arası geçerlilik

Hazırlanan kalibrasyon eğrisinin günler arası geçerliliğinin test edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Çalışma günü kalibrasyon eğrisinin düşük (0.02 mg/mL), orta (0.04 mg/mL) ve yüksek (0.06 mg/mL) derişimlerine karşılık gelecek şekilde hazırlanan çözeltilerin spektrofotometrede uygun dalga boyunda çözücüye karşı okunması ile elde edilen absorpsiyon değerinin aynı gün kalibrasyon eğrisinden hesaplanarak gerçek değerle karşılaştırması yapıldı.

5.6. Formülasyon Çalışmaları

5.6.1. Mikroemülsiyon formülasyon çalışmaları

5.6.1.1. Formülasyonda kullanılacak maddelerin seçimi

Formülasyon çalışmaları sırasında değişik YEM ve YYEM'ler kullanıldı. Mikroemülsiyon formülasyonlarında yağ fazı olarak İzopropil miristat (İPM); YEM olarak; Labrafil M 1944, Labrasol, Span 80, Cremophor EL (Cr EL), YYEM olarak etanol ve izopropil alkol (İPA); su fazı olarak distile su kullanıldı.

5.6.1.2. Mikroemülsiyon formülasyonlarını belirlemek için yapılan çalışmalar

Formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında, YEM'lerle, YYEM'ler belli oranda karıştırıldı. YEM:YYEM (a/a) oranları 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9 oranında çalışıldı. Yağ, YEM ve YYEM karışımı bir beher içerisinde manyetik karıştırıcıda 150 devir/dk dönme hızıyla karıştırılırken, formülasyonlar bulanma noktalarına kadar su ile titre edildi ve bulanma noktaları tespit edildi. Tüm formülasyon çalışmaları $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında yapıldı.

5.6.1.3. Üçgen faz diyagramının çizimi

Formülasyon çalışması sırasında elde edilen veriler kullanılarak, bilgisayar programı yardımıyla her bir YEM/YYEM oranı için üçgen faz diyagramları çizildi ve en yüksek mikroemülsiyon alanını veren YEM/YYEM oranı ideal olarak kabul edildi. Faz diyagramında belirlenen mikroemülsiyon oluşum bölgesinin ağırlık merkezi kullanılarak optimum mikroemülsiyon formülasyonları hesaplanarak geliştirildi.

5.6.1.4. Etkin madde ile formülasyon çalışmaları

Üçgen faz diyagramından en büyük alanı veren ve alanın ağırlık merkezinden hesaplanan optimum formülasyonlar belirlendikten sonra, % 10 oranında etkin madde bu formülasyonlara eklendi. Toz haldeki etkin madde mikroemülsiyonun tamamında çözülerek formülasyonlar oluşturuldu. Etkin maddenin mikroemülsiyonda çözünmesini sağlamak amacıyla (berrak bir sistem elde edilene kadar) manyetik karıştırıcı ile 150 rpm'de etkin madde tamamen çözünene dek karıştırıldı. Hazırlanan formülasyonlardaki etkin madde miktar tayini spektrofotometrik olarak tayin edildi.

5.6.2. Mikroemülsiyon formülasyonlarının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

Mikroemülsiyonun fiziksel görüntüsü, mikroemülsiyon tipi, santrifüj özellikleri, pH'sı, elektrik iletkenliği, refraktif indisi, damlacık boyutu dağılımı belirlenmiştir. Tüm parametreler için üç paralel ölçüm yapılmıştır.

5.6.2.1. Mikroemülsiyoların fiziksel görünüşü

Taze hazırlanmış mikroemülsiyon formülasyonlarının oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) fiziksel görünüşleri incelenerek değerlendirildi.

5.6.2.2. Mikroemülsiyonların tipi

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının tipinin tayin edilmesi amacıyla elektrik iletkenliği cihazı kullanıldı.

5.6.2.3. Mikroemülsiyonların santrifüj edilmesi

Optimum mikroemülsiyon sistemleri literatürde verildiği gibi 13.000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda mikroemülsiyonlarda herhangi bir faz ayrışması olup olmadığı incelendi.

5.6.2.4. Mikroemülsiyonların pH ölçümleri

Optimum mikroemülsiyonların pH'sı oda sıcaklığında pH metre ile ölçüldü.

5.6.2.5. Mikroemülsiyonların elektrik iletkenliği ölçümleri

Optimum mikroemülsiyonların elektrik iletkenliği, iletkenlik ölçer aleti ile belirlendi.

5.6.2.6. Mikroemülsiyonların refraktif indisi ölçümleri

Mikroemülsiyon sisteminin refraktif indisi ölçümü refraktometre ile yapıldı. Damlacık büyüklüğü tayininde bu değerlerden yararlandı.

5.6.2.7. Mikroemülsiyonların viskozitesinin ölçümleri

Mikroemülsiyonun viskozitesi 37 ± 1 °C de viskozimetre kullanılarak ölçüldü. Bu değerler damlacık büyüklüğü ölçümünde de kullanıldı.

5.6.2.8. Mikroemülsiyonların damlacık büyüklüğünün saptanması ve polidispersite indeksi (PDI) ölçümleri

Mikroemülsiyon formülasyonlarının damlacık büyüklükleri ve PDI oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) malvern zeta sizer Nano ZS aleti kullanarak ölçüldü.

5.6.2.9. Mikroemülsiyonların zeta potansiyellerinin ölçümleri

Mikroemülsiyon formülasyonlarının zeta potansiyellerinin ölçümü oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) malvern zeta sizer Nano ZS cihazı kullanarak yapıldı.

5.6.2.10. Mikroemülsiyonların stabilite çalışmaları

Mikroemülsiyonun stabilitesinin incelenmesi amacıyla, hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonları, 5 ± 3 °C, 25 ± 2 °C ve 40 ± 2 °C’de altı ay boyunca saklandı. Formülasyonların fiziksel görünüm, pH, iletkenlik, bulanıklık, faz ayrışması ve damlacık büyüklüğü gibi özellikleri başlangıçta (t=0 anında), üçüncü ve altıncı aylarda incelendi.

5.6.2.11. Mikroemülsiyon formülasyonlarının *in vitro* salım çalışması

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının salımlarını krem formülasyonu ile karşılaştırmak amacıyla *in vitro* salım çalışması yapılmıştır. Hidrokinon içeren mikroemülsiyonlardan ve krem formülasyonlarından hidrokinon’nin *in vitro* salım çalışması diyaliz membrane (Spectra/por Dialysis Membrane, Spectra/ por 4, çap 16 mm, moleküler ağırlığı 12–14 kDa) kullanılarak Franz hücresi ile yapıldı. Sentetik membrane difüzyon hücresinin ağzına yerleştirildi. Reseptör kompartman (10mL) etanolün ve PBS pH 7,4’ün sink koşulun sağlanması için belirli bir oranda (35:65) karıştırılması ile elde edilen çözeltilerden oluşturuldu. Eşit miktarda etkin madde ihtiva edecek şekilde tartılan formülasyonlar membrane üzerine uygulandı. Donör hücre, buharlaşmanın engellenmesi için parafilm ile kaplı bir şekilde oda sıcaklığında bırakıldı. Reseptör kompartmanın sıcaklığı 37°C’ye ayarlandı. Tampon çözelti 600 rpm’de manyetik balık ile sürekli karıştırıldı. Örnekler (1 mL) salım ortamından belirli saat aralıklarında (0, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 24) alındı. Alınan örnekler 289 nm’de UV-Visible spektrofotometre (UV-1800,

Shimadzu, Japan) aracılığı ile analiz edildikten sonra reseptör kompartmandaki tampon çözelti yenisi ile değiştirildi. Hesaplamalar kümülatif olarak gerçekleştirildi.

Krem formülasyonunun hazırlanışı

40 g formül için örnek;

Hidrokinon	2,00 g
Retinoik asit	0,02 g
Deksametazon asetat	0,02 g
Askorbik asit	0,10 g
Etanol 90 veya 95 % v/v	5,00 g
Hint yağı	5,00 g
Distile su	13,00 g
Hidrofil merhem	15,00 g

Krem hazırlanışı: Hidrokinon, retinoik asit ve deksametazon asetat, etanol ile karıştırıldı. Su banyosunda hafifçe ısıldı. Manyetik bir karıştırıcı ile karıştırılarak hint yağı 65 °C altında ısıtılarak ilave edildi. Bu aşamada hidrofil merhem ilave edilip, karıştırıcı ile hava kabarcığı oluşmasına izin verilmeden yavaş yavaş karıştırıldı. Askorbik asitin içerisinde çözülmüş olduğu su eklendi. Mükemmel bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılarak parlak sarı bir krem elde edildi.

5.6.2.12. Formülasyonlarının *In vivo* Ortamda İncelenmesi

Hayvanlar ve Deney Grupları

Grup 1: Krem Formülasyonu

Grup 2: Hidrokinon Çözeltisi

Grup 3: Serum Fizyolojik

Grup 4: M1 Formülasyonu

Grup 5: M2 Formülasyonu

Her grupta bulunan örnekler BALB-c farelerin sırt kısmına uygulanmıştır.

Histokimya

Uygulamadan 24 saat sonra, hayvanlar karbondioksit gazı kullanılarak sakrifiye edildi. Transdermal formülasyon çıkarıldıktan sonra farelerin dorsal deri bölümü disseke edildi, çıkarılan dokular, ışık mikroskobu incelemeleri için % 10'luk formol çözeltisi içerisine konuldu. %10'luk formol solüsyonu içerisinde 24-48 saat süresince bekletilen dokulara rutin parafin takibi yapıldı. Dokular çeşme suyunda yıkandı ve artan etanol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi, daha sonra toluenden geçirilen dokular parafine gömüldü. Mikrotom yardımı ile ((Mikrotom (Thermo Microm HM 340E) 5 µm'lik kesitlere Hematoksilen-Eozin (HE) boyaları uygulandı ve Nikon Eclipse Ni araştırma mikroskobu ile görüntülenme yapıldı.

İritasyon ve enflamasyon dereceleri; +: zayıf, ++: orta, +++: güçlü olarak ifade edilmiştir.

HEMATOKSİLEN-EOSİN Boyama Protokolü

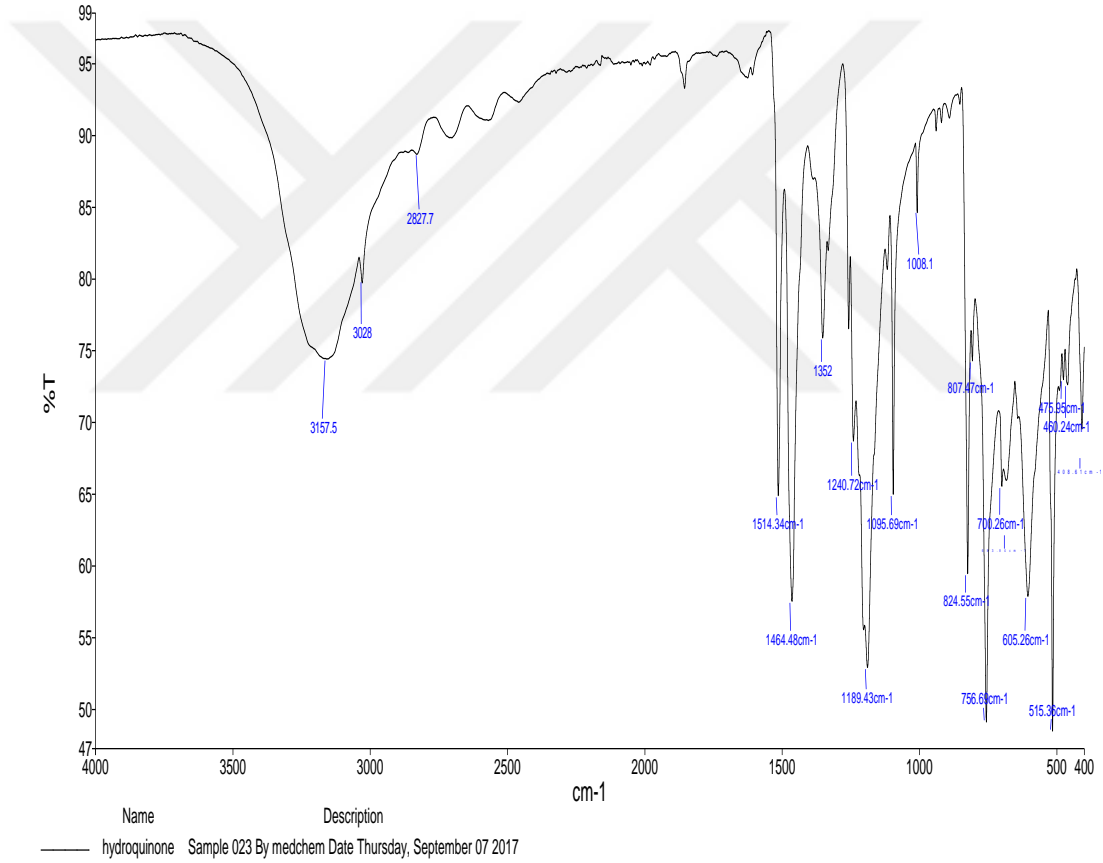
- 1.Preparatlar 1 saat 60°C'de etüvde bekletilir (Deparafinizasyon işlemi).
- 2.Etüvden çıkarılan preparatlar 30 dk. Ksilen /tolüen içerisinde bekletilir.
- 3.Preparatlar sırasıyla %100,%96,%70'lik alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilir.
- 4.Preparatlar 1 kez distile sudan geçirilir.
- 5.Hematoksilen içerisinde 15 dk. bekletilir.
- 6.Mordanlama için akan çeşme suyu altında 10 dk. bekletilir.
- 7.Eosin boyası içerisinde 1,5 dk. bekletilir.
- 8.Distile su içerisinde boyanın rengi şeffaf olana kadar yıkanır.
- 9.Preparatlar sırasıyla %70,%96,%100 alkollerden geçirilir.
- 10.Ksilen/Toluen içinde 10 dk. preparatlar parlaklaştırılır.
- 11.Preparatlar bio mount solüsyonu damlatılarak lamel ile kapatılır.

6. BULGULAR

6.1. Etkin Maddenin Özellikleri

6.1.1. Etkin maddenin infrared (IR) analizi sonuçları

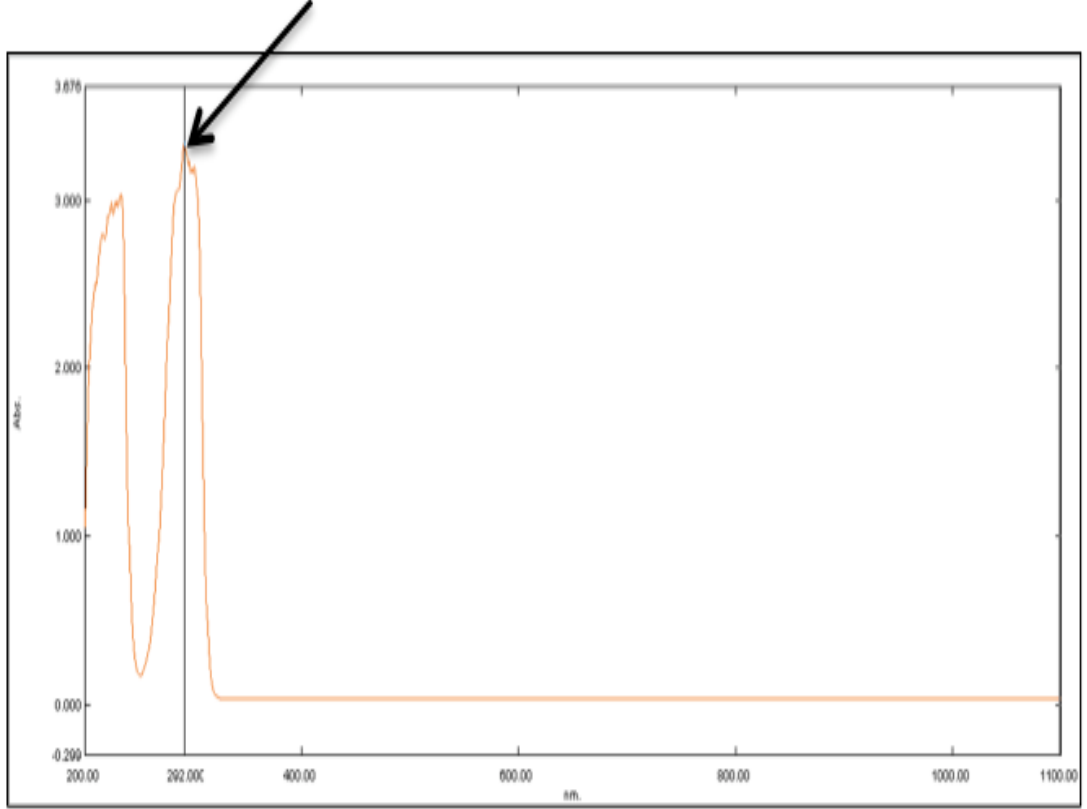
Hidrokinon'un yöntemde belirtildiği gibi çalışılarak elde edilen IR spektrumunun Şekil 6.1.1.'de görülmektedir.



Şekil 6.1.1. Hidrokinon IR spektrumu.

6.1.2. Etkin madde ultraviyole (UV) analizi sonuçları

Hidrokinon'un UV spektrumu deneysel yöntemde belirtildiği gibi çalışılarak maksimum absorptans verdiği dalga boyu (λ_{max}) 289 nm olarak bulundu. Şekil 6.1.2.'de Hidrokinon'un elde edilen UV spektrumu görülmektedir.



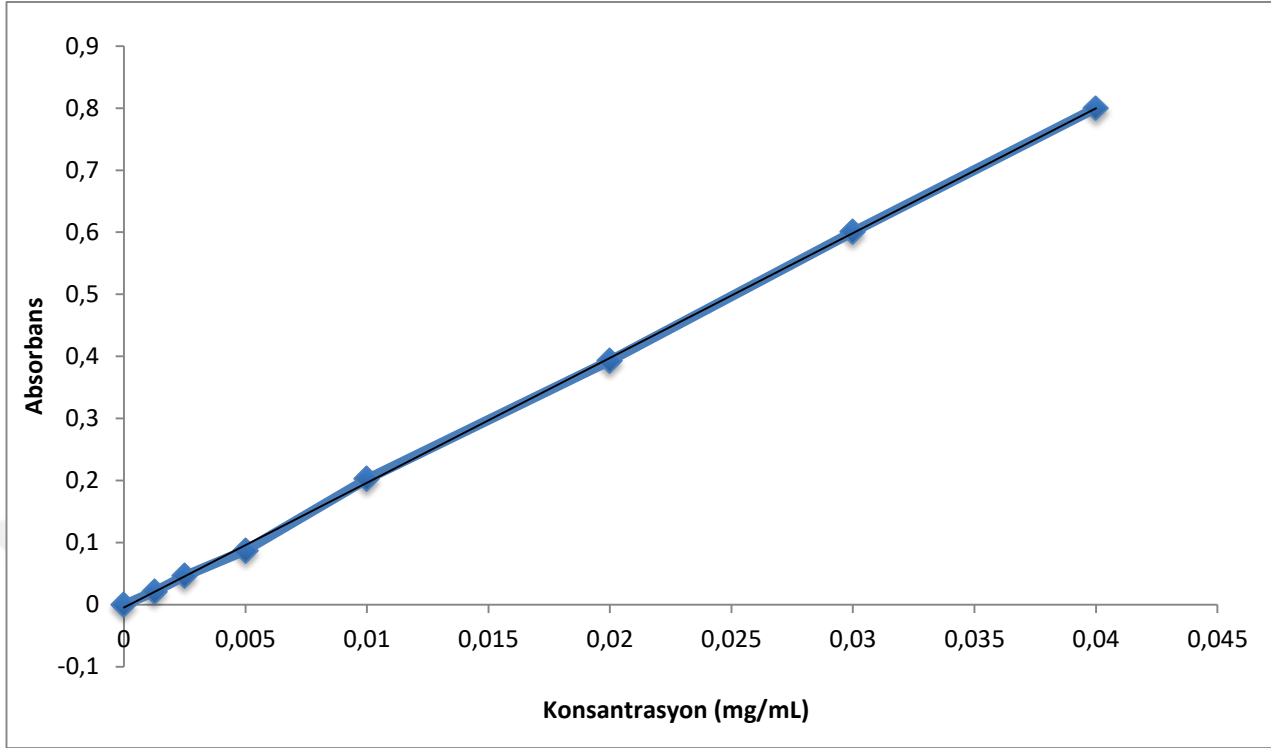
Şekil 6.1.2. Hidrokinon'un UV spektrumu.

6.1.3. Etkin maddenin ergime noktası tayini sonuçları

Hidrokinon'un ergime derecesi 172 ± 1 °C bulundu.

6.1.4. Etkin maddenin UV ile miktar tayini için standart eğrisi çizimi

Etkin maddenin *in vitro* geçiş çalışmalarında kullanılmak üzere hazırlanan kalibrasyon eğrisi deneysel bölümde anlatıldığı gibi çalışılarak çizildi. Kalibrasyon eğrisi grafiği Şekil 6.1.4.'de gösterilmiştir. Grafiğe ait denklem Tablo 6.1.4.'de verilmiştir.



Şekil 6.1.4. UV’de çizilen kalibrasyon eğrisi.

Tablo 6.1.4. Çizilen kalibrasyon eğrisine ait doğru denklemi

Kullanılan çözelti	Doğru denklemi	Determinasyon katsayısı
pH 7.4 Fosfat Tamponu	$y = 20,1x - 0,0044$	$(r^2) = 0,99975$

Y: Konsantrasyon (mg/mL) X: Absorbans

6.1.5. Analitik yöntem validasyonu sonuçları

6.1.5.1. Doğrusallık sonuçları

Sonuçlara göre çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 6.1.4.’de gösterilmiştir. r^2 değeri 0,99975 olarak bulunmuştur.

6.1.5.2. Kesinlik sonuçları

6.1.5.2.1. Tekrarlanabilirlik sonuçları

10 kez art arda absorbans ölçümü sonucu elde edilen değerler Tablo 6.1.5.2.1.’de gösterildi. Varyasyon katsayısı % 2’den az bulundu.

Tablo 6.1.5.2.1. Spektrofotometre ile çizilen kalibrasyon eğrisine ait tekrar edilebilirlik bulguları.

Örnek No	Absorbans
1	0,631
2	0,632
3	0,632
4	0,631
5	0,631
6	0,631
7	0,631
8	0,631
9	0,631
10	0,631
ORT	0,6312
SP	0,000421637
% VK	0,066799

6.1.5.2.2. Tekrar elde edilebilirlik sonuçları

Aynı konsantrasyonda altı farklı örneğin ölçüm sonucu elde edilen absorbans değerleri Tablo 6.1.5.2.2.'de gösterilmiştir. Varyasyon katsayısı % 2'den az bulunmuştur.

Tablo 6.1.5.2.2. Spektrofotometre ile çizilen kalibrasyon eğrisine ait tekrar elde edilebilirlik bulguları.

Örnek No	Absorbans
1	0,631
2	0,6933
3	0,635
4	0,662
5	0,625
6	0,686
ORT	0,6602
SP	0,0302
%VK	0,198472103

6.1.5.3. Doğruluk ve geri elde edilebilirlik sonuçları

3 farklı konsantrasyonda çalışılan sonuçlar Tablo 6.1.5.3.'de gösterilmiştir. Ortalama yüzde geri kazanım farkı \pm % 10 aralığına girmektedir.

Tablo 6.1.5.3. Spektrofotometre ile çizilen kalibrasyon eğrisine ait doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları.

Konsantrasyon	Absorbans	Elde edilen C (mg/mL)	Geri Elde (%)
0,02	0,466	0,023	115
	0,466	0,023	115
	0,466	0,023	115
		ORT	0,023
		SP	0
		VK	0
0,03	0,631	0,032	106,66
	0,631	0,032	106,66
	0,631	0,032	106,66
		ORT	0,032
		SP	0
		VK	0
0,04	0,840	0,042	105
	0,840	0,042	105
	0,841	0,042	105
		ORT	0,042
		SP	0
		VK	0

6.1.5.4. Seçicilik sonuçları

Formülasyonda yer alan diğer maddelerle hazırlanan plasebo test çözeltisi analiz edildi. Etkin madde içermeyen formülasyon aynı dalga boyunda maksimum absorbans göstermediği tespit edildi.

6.1.5.5. Günler arası geçicilik sonuçları

Çalışma günü kalibrasyon eğrisinin düşük, orta ve yüksek derişimlerine karşılık gelecek şekilde hazırlanan çözeltilerin spektrofotometrede uygun dalga boyunda çözücüye karşı okundu. Elde edilen absorbsiyon değerleri gerçek değerle aynı bulunmuştur.

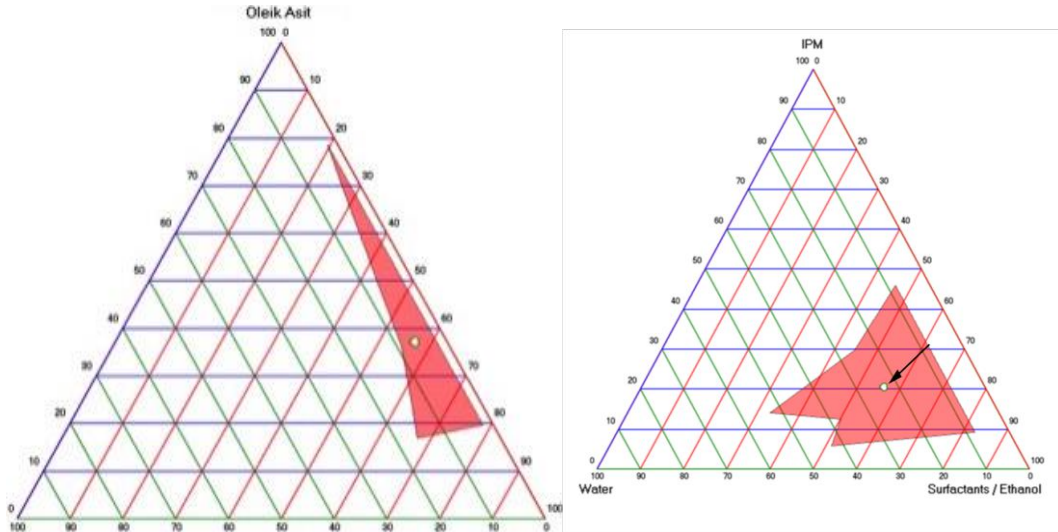
6.2. Formülasyon Çalışma Sonuçları

6.2.1. Mikroemülsiyon formülasyon çalışmaları sonuçları

Etkin madde yüklenmemiş ideal formülasyonların bileşenleri ve yüzde miktarları Tablo 6.2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 6.2.1. İdeal mikroemülsiyon formülasyonlarının (M1, M2) bileşenleri ve yüzde miktarları.

Bileşenler (%)	M1	M2
IPM	36,32	18,73
Cre EL	4,32	-
Span 20	-	25,17
Span 80	10,80	-
Tween 20	-	13,98
EtOH	45,40	19,52
Su	3,16	22,60
Surf/Kosurf Oranı	3:1	2:1



Şekil 6.2.1. Mikroemülsiyon formülasyonlarının (M1, M2) üçgen faz diyagramları.

6.2.2. Mikroemülsiyon formülasyonlarını belirlemek için yapılan çalışma sonuçları

6.2.2.1. Mikroemülsiyoların fiziksel görünüşü sonuçları

Önformülasyon çalışmaları sonucu ideal olarak belirlenen mikroemülsiyon formülasyonları hazırlandı ve ideal mikroemülsiyonların transparan oldukları tespit edilmiştir.

6.2.2.2. Mikroemülsiyonların karakterizasyon sonuçları

Etkin madde yüklenmemiş ve yüklenmiş formülasyonların pH, vizkozite, elektrik iletkenliği ve refraktif indisi ölçümü sonuçları Tablo 6.2.2.2.'de gösterilmiştir. Şekil 6.2.2.2.1, Şekil 6.2.2.2.2, Şekil 6.2.2.2.3, Şekil 6.2.2.2.4 formülasyonların sahip olduğu damlacık boyutlarının grafiklerini göstermektedir.

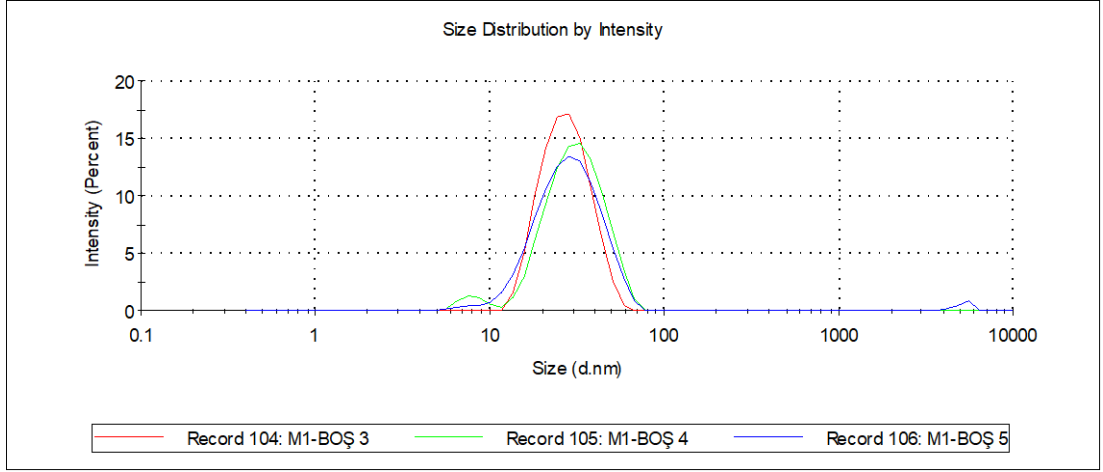
Tablo 6.2.2.2.1. Mikroemülsiyon formülasyonların elektrik iletkenliği, vizkozite, pH, refraktif indisi ölçümüne ait veriler

Mikroemülsiyon Kodu	Elektrik iletkenliği	Vizkozite (cP)	pH	Refraktif indisi
M1	16,667 ± 5,774	8,97 ± 0,082	5,7 ± 0,058	1,4032 ± 0,0002
M1 _{HKN}	43,333 ± 5,774	11,36 ± 3,758	5,7 ± 0,2	1,4049 ± 0,0005
M2	20 ± 0	45,67 ± 2,259	3,3 ± 0,436	1,4181 ± 0,0003
M2 _{HKN}	20 ± 0	18,83 ± 18,83	3,6 ± 0,1	1,4299 ± 0,0002

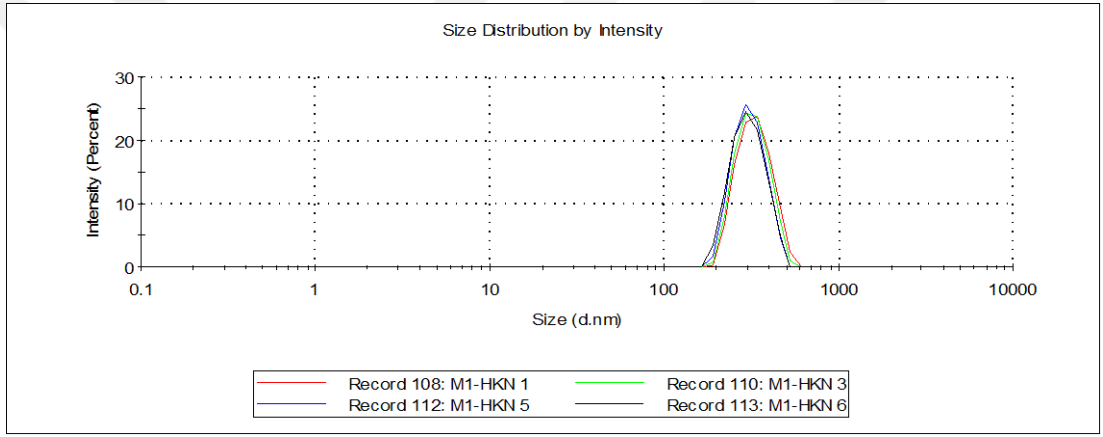
M1 ve M2 formülasyonlarının polidispersite indeksi, zeta potansiyel ve damlacık büyüklüğü değerleri Tablo 6.2.2.2. 'de gösterilmiştir.

Tablo 6.2.2.2.2. M1 ve M2 formülasyonlarının polidispersite indeksi (PDI), zeta potansiyel ve damlacık büyüklüğü değerleri.

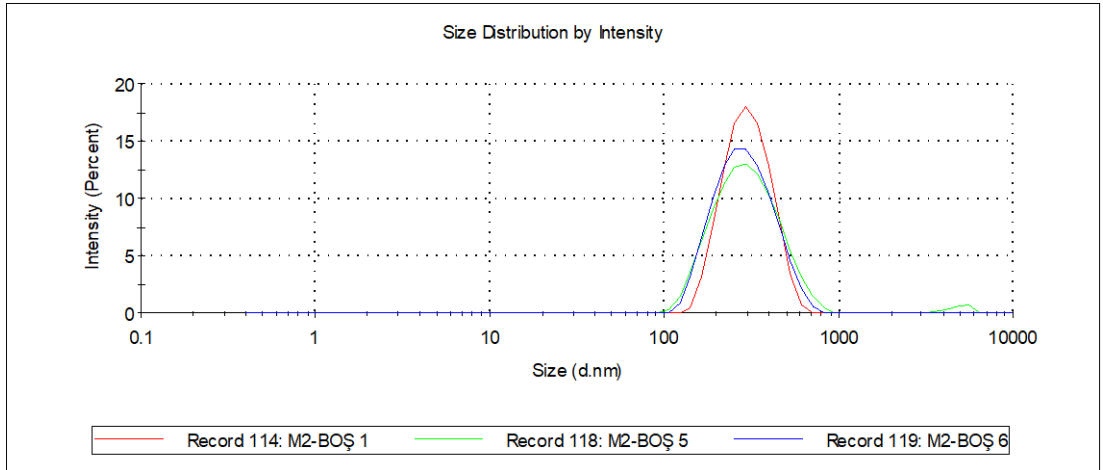
Mikroemülsiyon Kodu	Sıcaklık	Zeta potansiyel (mV)	PDI	Ortalama Damlacık Büyüklüğü (nm)
M1	25 °C	-0,402±0,03	0,196±0,067	24,27±3,559
M2	25 °C	0,160±0,013	0,111±0,070	272,8±5,9
M1 _{HKN}	25 °C	-0,461±0,009	0,08±0,02	324,9±16,8
M2 _{HKN}	25 °C	0,359±0,223	0,195±0,062	358,0±14,62



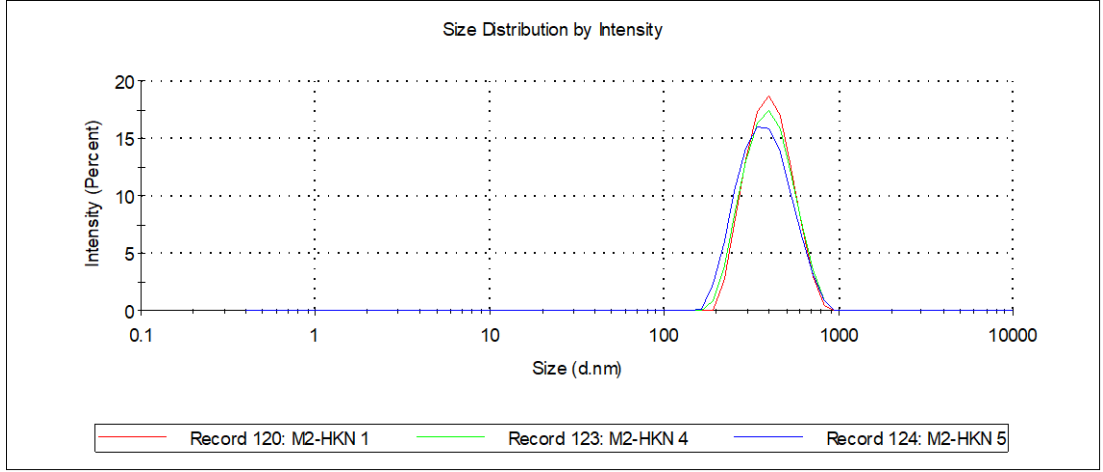
Şekil 6.2.2.2.1. M1 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği.



Şekil 6.2.2.2.2. Hidrokinon yüklü M1 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği.



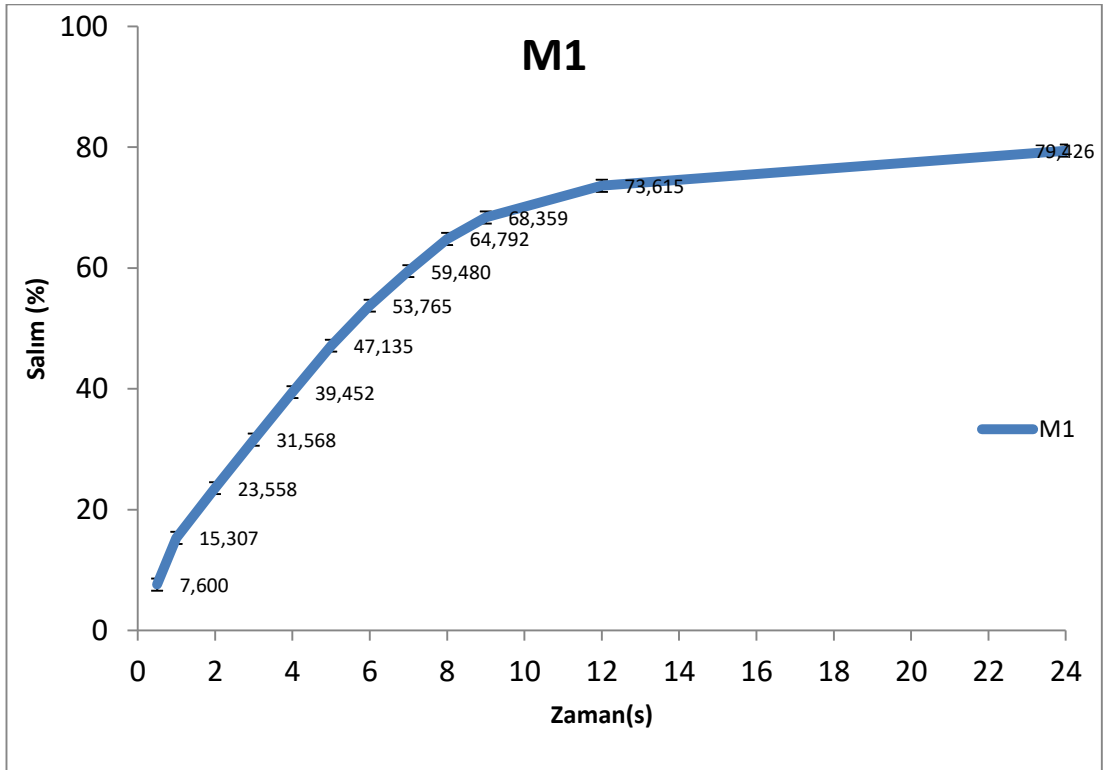
Şekil 6.2.2.2.3. M2 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği.



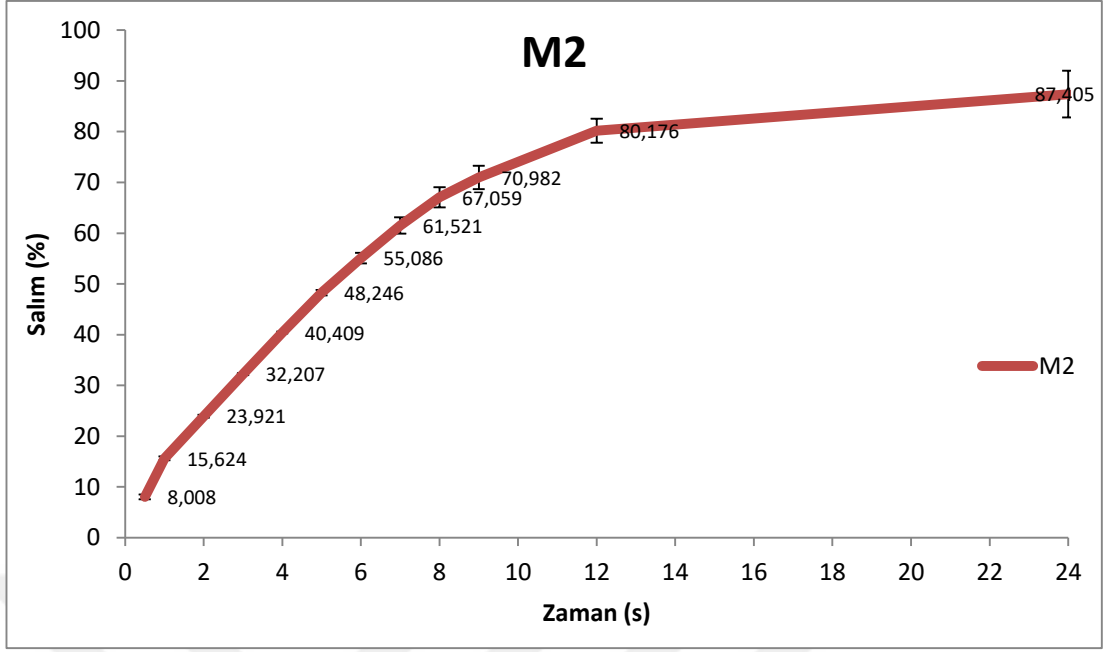
Şekil 6.2.2.2.4. Hidrokinon yüklü M2 formülasyonuna ait damlacık boyutu grafiği.

6.3. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının ve Krem Formülasyonun Membrandan Geçiş Çalışmaları

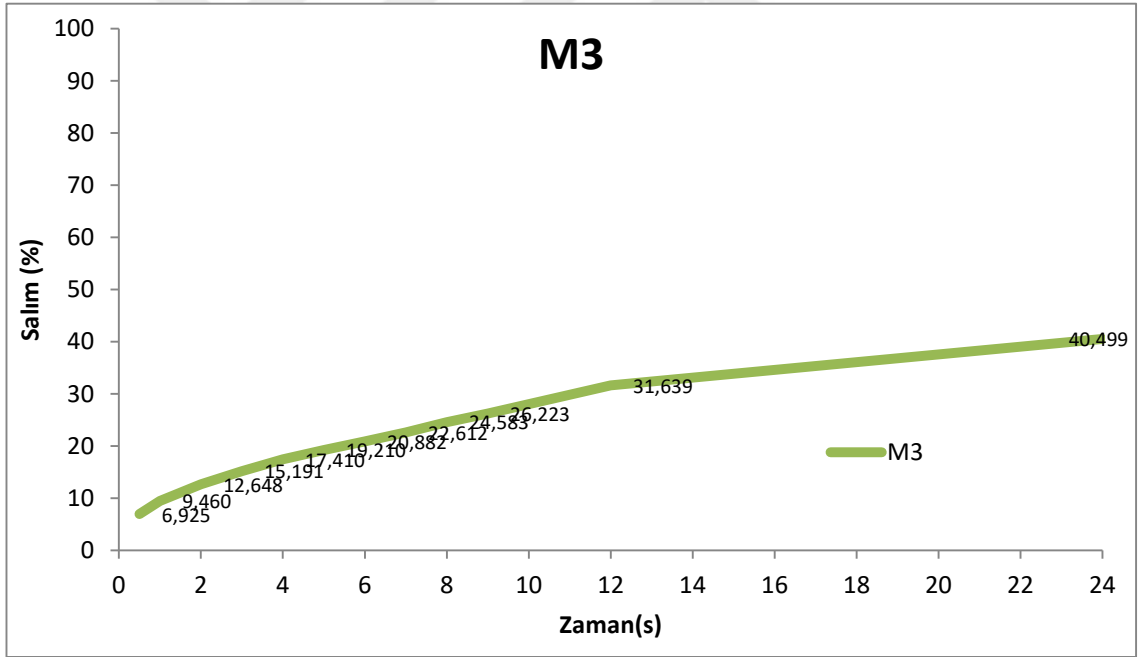
Mikroemülsiyon formülasyonlarının ve krem formülasyonun membrandan geçiş çalışmalarının sonuçları Şekil 6.3, 6.4 ve 6.5’de gösterilmiştir.



Şekil 6.3.1. M1 formülasyonunun *in vitro* salım grafiği (%).



Şekil 6.3.2. M2 formülasyonu *in vitro* salım grafiği (%).



Şekil 6.3.3. M3 formülasyonunun *in vitro* salım grafiği (%).

6.4. Formülasyonlarının *In vivo* Ortamda İncelenmesi

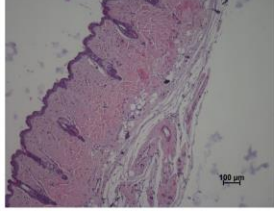
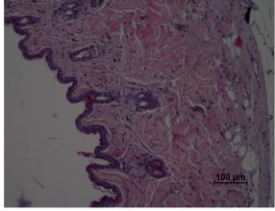
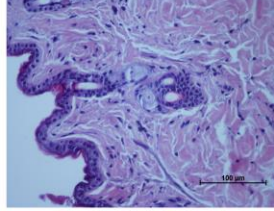
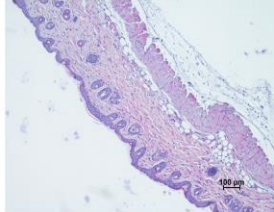
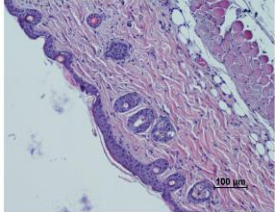
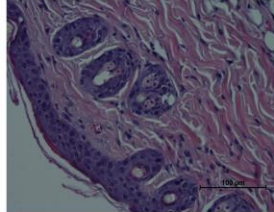
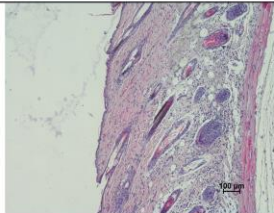
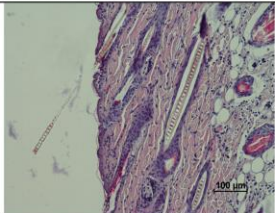
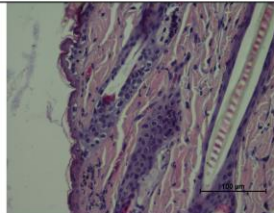
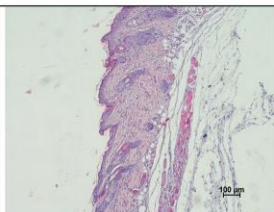
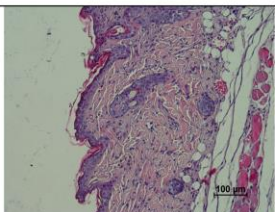
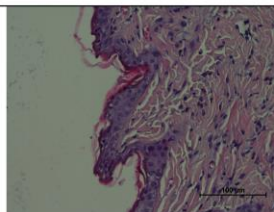
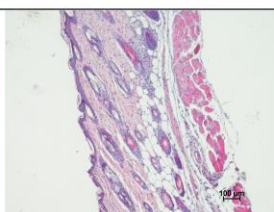
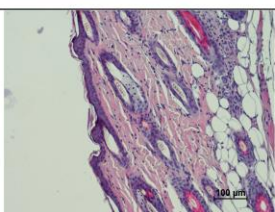
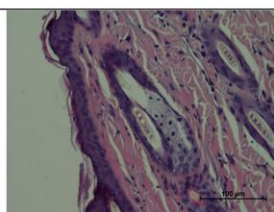
Formülasyonların deri iritasyonu üzerine etkilerinin araştırılması için, formülasyonların uygulanmasından sonra farelerin sırt derileri incelenmiştir. Formülasyon uygulanmış ($M1_{HKN}$, $M2_{HKN}$, $KREM_{HKN}$, ÇÖZELTİ_{HKN} , SF) fare sırt derilerinin mikroskopik görüntüleri Şekil 6.4'te verilmiştir. Epidermal tabakaların bozulma dereceleri ve dermal tabakalardaki enflamasyon dereceleri sırası ile Tablo 6.4 ve Tablo 6.4.1'de gösterilmiştir. İritasyon ve enflamasyon dereceleri; +: zayıf, ++: orta, +++: güçlü olarak ifade edilmiştir.

Tablo 6.4.1. Epidermal tabakaların bozulma derecesi.

Epidermal Tabakaların Bozulma Derecesi					
Formülasyon/Epidermal Tabaka	SC	SL	SG	SS	SB
SF	-	-	-	-	-
$M1_{HKN}$	+++	+	-	-	-
$M2_{HKN}$	+++	+	-	-	-
$KREM_{HKN}$	+++	-	-	-	-
ÇÖZELTİ_{HKN}	+++	-	-	-	-

Tablo 6.4.2. Dermal tabakaların enflamasyon dereceleri.

Dermal Tabakaların Enflamasyon Derecesi		
Formülasyon/Dermal Tabaka	S.papillare	S.reticulare
SF	-	-
$M1_{HKN}$	+	-
$M2_{HKN}$	+	-
$KREM_{HKN}$	++	-
ÇÖZELTİ_{HKN}	++	-

Formülasyonların Histopatoloji Görüntüleri			
Formülasyon/ Mikroskopik Büyütme	10X	20X	40X
SF			
M1 _{HKN}			
M2 _{HKN}			
KREM _{HKN}			
ÇÖZELTİ _{HKN}			

Şekil 6.4. M1_{HKN}, M2_{HKN}, KREM_{HKN}, ÇÖZELTİ_{HKN}, SF uygulanmış fare sırt derilerinin mikroskopik görüntüleri.

7. TARTIŞMA

Melazma; koyu tenli kişilerde sık görülen, açık-koyu kahverengi belirgin sınırlı lezyonlar şeklinde simetrik olarak yüzde, alın, yanak, üst dudak, burun, çene gibi güneşe maruz bölgeleri ve boyunu tutan asemptomatik maküler hiperpigmentasyon hastalığıdır (22-27). Çoğunlukla kadınlarda, özellikle gebelerde ve daha az oranla (%10) erkeklerde görülen melazma, güneş gören bölgelerde ağırlıklı olarak yüzde düzensiz maküler hiperpigmentasyon ile karakterize normal melanositlerden aşırı melanin üretilmesi (hypermelanonosis) sonucu genellikle üst yanak, burun ve dudak kenarlarında yama şeklinde zamanla genişleyen kahve renkli lekelenmeler şeklinde görülen edinsel bir hastalıktır (28-29, 72).

Melazma tedavisinde uygulanan ilk seçenek topikal ilaç tedavisidir. Deriye lokal veya sistemik etki için uygulanan etkin maddelerin dermal yoldan uygulanmasının bazı üstünlükler ve kolaylıkları bulunmaktadır. Deriye ilaç uygulamasının uygulama işleminin basit, kişinin kendi uygulaması ve tedavide herhangi bir istenmeyen etki görülmesi durumunda ise dozaj formunun deriden basitçe uzaklaştırılması ile sonlandırılabilir olması gibi üstünlükleri varken, deriye ilaç uygulanması sonrası olası yerel (lokal) alerjik veya iritan reaksiyonlar en önemli dezavantajlardır (55).

Disperse sistemler emülsiyon, jel ve losyon formunda halihazırda perkütan ilaç taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Mikroemülsiyonlar, krem ve jel gibi geleneksel cilt uygulamalarına göre daha etkili bir topikal taşıyıcı sistemlerdir. Şeffaf ve termodinamik olarak dengeli bir sistem olan mikroemülsiyonlar, kolay üretim imkânı ile spontan olarak oluşurlar. Böyle bir sistemin ölçeklenebilirliği daha iyi olup, endüstriyel olarak da uygun sistemlerdir. Bu nano-yapılı ilaç taşıyıcı sistemleri, geleneksel (konvansiyonel) formülasyonlar ile karşılaştırıldığında cilt üzerine uygulandığında; ilacın daha iyi çözünürlüğü ve ilacın cilde daha fazla nüfuz ettiği tespit edilmiştir. Mikroemülsiyonların çok düşük (bazen negatif) yüzeylerarası gerilim taşıdığı ve sürfaktan/ kosürfaktan karışımının büyük bir kısmını yüzeyler arasında bulundurduğundan termodinamik olarak stabil oldukları gösterilmiştir.

Cilde uygulamak için geliştirilen mikroemülsiyon bazlı formülasyonlar çözünürlük arttırma, ilaç permeabilitesini değiştirme ve ilacın cilde hızlı penetrasyonunu sağlama gibi özelliklerinden dolayı oldukça vaat edici sonuçlar ortaya koymaktadır (57).

Mikroemülsiyon sistemlerinin belirli oranlarda yağ, su, sürfaktan/ko-sürfaktan olmak üzere bu dört bileşene belirli oranlarda sahip olması gerekir. Farmasötik mikroemülsiyon için seçilen her bileşenin doğası ve miktarının bilinmesi; ilaç yapımındaki fizibilitenin belirlenmesinde aynı zamanda stabilitesinin ve ilaç veriminin tahmin edilmesinde gereklidir. Bu mikroemülsiyon bileşenlerinin kesin oranlarını belirlemek için, üçgen faz diyagramlarının oluşturulması gerekmektedir.

Tez çalışmalarına başlarken öncelikle Hidrokinon'un fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Hidrokinon etkin maddesinin IR analizi yapılmıştır. IR analizi sonucu görülen piklerin (Şekil 6.1.1.) Hidrokinon'a ait olduğu görülmüştür. UV analizi sonucu (Şekil 6.1.2.) Hidrokinon'un λ_{max} değerleri 289 nm olarak bulunmuş ve literatürlerde belirtilen dalga boylarına uygun olduğu görülmüştür (73). Hidrokinon'un erime noktası 172 ± 1 °C olarak bulunmuştur ve yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür (ILO-ICSC(74)).

Hidrokinon'un miktar tayini çalışmaları için UV spektrofotometre cihazında analitik yöntem geliştirilmiş ve geliştirilen yöntemin güvenilirliği için validasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Yöntem validasyonunda doğrusallık, kesinlik, tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik, doğruluk ve geri elde edilebilirlik, tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik, özgünlük ve seçicilik validasyon çalışmaları yapılmıştır.

Validasyon için yapılan doğrusallık çalışmaları 0.00125, 0.0025, 0.005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.03, 0.035, 0.04, 0.045, 0.05, 0.055, 0.06, 0.065 mg/mL konsantrasyonlarıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucu UV spektrofotometrede tespit edilen değerler ile çalışılan konsantrasyon değerlerinin ilişkisinin doğrusal olduğu görülmüştür (Şekil 6.1.4.). Sonuçlara uygun olarak çizilen kalibrasyon

eğrisinin determinasyon katsayısı (R^2) 0,99975 olarak, kalibrasyon denklemi de $y = 20,1x - 0,0044$ olarak bulunmuştur.

Kesinlik çalışması için kalibrasyon eğrisi çiziminde kullanılan konsantrasyonlardan 0.05 mg/mL ile gerçekleştirilmiştir. VK değeri 2'den küçük bulunmuştur. Kesinlik çalışması dahilinde tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmaları sonuçlarının VK değerleri 2'den küçük bulunmuştur. VK'nın 2 den küçük olması yöntemin uygunluğunu göstermektedir.

Yapılan doğruluk ve geri elde edilebilirlik çalışması 0.02, 0.04, 0.06 mg/mL konsantrasyonlarıyla gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen doğruluk ve geri elde edilebilirlik çalışmaları sonucu elde edilen değerlerle (Tablo 6.1.5.3.) hesaplanan % geri elde edilebilirlik değerlerinin ortalaması, SS ve VK değerleri geliştirilen analitik yöntemin doğruluğunu göstermektedir.

Yapılan özgünlük, seçicilik çalışmasında etkin madde yüklenmemiş ve yüklenmiş mikroemülsiyonların UV spektrofotometrede ölçümleri yapılmıştır. Etkin madde yüklenmemiş mikroemülsiyonların ölçüm sonuçlarında herhangi bir değer görülmemiştir, fakat hidrokinon yüklenmiş mikroemülsiyonların ölçüm sonuçlarında Hidrokinon maddesine ait değer görülmüştür ve bu sayede geliştirilen metotun Hidrokinon'a özgün olduğu görülmüştür.

Mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılacak maddelere karar verilmesinde, mikroemülsiyon formülasyonunun deriye uygulanacak olması dikkate alınmıştır. Deriye uygulanacak sistemlerde kullanılacak olan maddelere karar verirken bu maddelerin GRAS olarak sınıflandırılmış olmalarına dikkat edilmiştir. Çalışmada kullandığımız tüm maddeler GRAS özellikli olarak seçilmiştir.

Mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanmasında öncelikle önformülasyon çalışması yapılmıştır. Yapılan önformülasyon çalışmaları ile elde edilen veriler doğrultusunda ideal mikroemülsiyon formülasyonları seçilmiştir. İdeal

mikroemülsiyonların belirlenmesinde bilgisayar programı kullanılmıştır (75). Bilgisayar programı yardımıyla mikroemülsiyon oluşumu gözlenen her YEM/YYEM oranı için üçgen faz diyagramları çizilmiştir (Şekil 6.2.1.) ve çizilen bu faz diyagramlarından elde edilen alan değerleri incelenmiştir. Üçgen faz diyagramları çiziminden elde edilen alan değerlerinden, büyük alan değerine sahip ve kısa sürede faz ayrışması görülmeyen formülasyonlar ideal formülasyon olarak kabul edilmiştir (Tablo 6.2.1.). İdeal olarak hazırlanan mikroemülsiyonlara hidrokinon yüklenme işlemi, etkin maddenin doğrudan formülasyona dahil edilmesiyle gerçekleştirilmiştir.

İdeal mikroemülsiyon formülasyonlarının deriye uygulanabilir formülasyonlar olduklarının değerlendirilmesi amacıyla fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmiştir. Bu amaçla fiziksel görünüşü, pH değerleri, elektrik iletkenliği, refraktif indisleri, viskoziteleri, damlacık büyüklükleri, zeta potansiyelleri ve PDI parametreleri değerlendirilmiştir.

Mikroemülsiyon formülasyonlarının fiziksel görünüşü incelenmiştir ve mikroemülsiyonların transparan görünüme sahip oldukları görülmüştür. Yapılan çalışma neticesinde formülasyonların elektrik iletkenliği $16,667 \pm 5,774$ ile $43,333 \pm 5,774$ arasında, vizkoziteleri $8,97 \pm 0,082$ ile $45,67 \pm 2,259$ arasında, pH değerleri $3,3 \pm 0,436$ ile $5,7 \pm 0,2$ arasında refraktif indeksleri $1,4032 \pm 0,0002$ ile $1,4299 \pm 0,0002$ arasında bulunmuştur. Formülasyonların zeta potansiyelleri $-0,461 \pm 0,009$ ile $0,359 \pm 0,223$ arasında, PDI $0,08 \pm 0,02$ ile $0,196 \pm 0,067$ arasında ve damlacık boyutunun ise $24,27 \pm 3,559$ ile $324,9 \pm 16,8$ arasında olduğu ölçülmüştür.

Hidrokinon yüklü dermal mikroemülsiyoların diyaliz membran kullanılarak *in vitro* salım çalışması gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.3.). *In vitro* salım çalışmalarında ise M2 formülasyonu 24. saatin sonunda ilacın %87,405'ini salmıştır. Elde edilen sonuçlara göre geliştirilen mikroemülsiyon formülasyonlarıyla kontrollü salım sağlanabilmektedir.

Farelerin sırt derilerine formülasyonlar uygulandıktan sonra elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, SF uygulamasının farelerin sırt derilerinin epidermal ve dermal

tabakalarında herhangi bir değişikliğe ve enflamasyona sebebiyet vermediği görölmüştür. Bunun yanı sıra formölasyonların içerdikleri yardımcı maddelerden dolayı derinin mikro yapısı değişmiş ve bu bağlamda SC yapısında değişiklik gözlenmiştir. Epiderminin alt katmanlarında ise bir bozulma görölmemiştir. Aynı şekilde dermiş tabakasında da M1 ve M2 formölasyonları zayıf enflamatuvar yanıt gösterirken hidrokinon yüklü krem ve çözeltili formölasyonları orta derecede enflamatuvar yanıt göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlar çerçevesinde geliştirilen formölasyonlar kullanıma uygun olarak değerlendirilmektedir.

Hunga CF ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada; UV ışınlarına maruz kalmış genç ve yaşlı ciltlerde ilaç/güneş koruyucu krem permeasyonunun sistematik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla hem genç hem de yaşlı tüysüz fareler bağışıklık sistemi baskılanmış fareler; timus bezi etkisiz hale getirilmiş T-hücreleri devre dışı kalmış fareler) UVA (10 J/cm²) ve/veya UVB (175 mJ/cm²) radyasyonuna maruz bırakılmışlardır. Bu yaşlandırılmış ciltlerin incelenmesinde fizyolojik parametreler, immünohistoloji ve immunoblotting kullanılmıştır. Hidrokinon ve güneş koruyucu geçirgenliği *in vitro* Franz hücresi ile belirlenmiştir. *In vivo* deri emiliminin belirlenmesinde permean olarak hidrofilik boya olan rhodamine kullanılmıştır. UVA maruziyetinin; siklooksijenaz (COX)-2'yi indüklediği belirlenmiştir. Epidermal sıkı bağlantı (tight junction; TJ) UVA ile bozulmuştur. UVB'nin ise; transepidermal su kaybını (TEWL) 13'ten 24g/m²/saate çıkardığı belirlenmiştir. Aynı zamanda; UVB ile muamele edilen ciltte/deride hiperplazi ve inflamasyon görülürken sıkı bağlantının (TJ'nin) kaybedilmediği gözlenmiştir. UVA+UVB ve UVA ışınlarına maruz kalmış cilt, histolojik ve biyolojik belirteçlerde benzer değişiklikler göstermiştir. UVA+UVB veya UVA maruziyetinin hidrokinon akışını beş kat arttırdığı gözlemlenmiştir. UVB maruziyeti ile hidrokinon geçirgenliğinde ihmal edilebilir bir değişiklik gözlenmekle birlikte hidrokinonun yaşlı deriye genç deriden daha düşük penetrasyon sergilediği görölmüştür. Hem UVA, hem de UVB oksibenzonun deriden alımını ve akışını arttırmıştır; ancak bu artış hidrokinonunkine göre daha azdır. Dermatoheliosis, avobenzon ve çinko oksit gibi yüksek lipofilisiteli güneş koruyucularının ciltten emilimini arttırmamıştır. UVA maruziyeti bu permeanların foliküle girişini genellikle arttırmış, maruz bırakılmayan

gruba göre iki ila üç kat daha büyük foliküler alımı gözlenmiştir. Dermatoheliosis'in daha lipofilik permeanlarla ilaç/güneş koruyucu emilimine etkisi daha zayıf olmuştur. Ne intrinsik, ne de ekstrinsik yaşlanmaya maruz bırakılan ciltte perkütan emilim artmamıştır (76).

Smiles ve ark.'ları hiperpigmentasyon tedavisinde sıklıkla %4 lük hidrokinonun kullanıldığını belirttikleri çalışmalarında; kararsızlık ve irritasyonun hasta uyuncunu engellediği bildirilmiştir. Kararlılık için antioksidan ve cilt sakinleştirici bir bitkisel ekstraktın biomimetik ile yeni bir hidrokinon kremi hazırlanması amaçlanmıştır. Ayrıca hazırlanan yeni kremi aktivitesi, kararlılığı ve irritansı ticari olarak bulunan hidrokinon krem ile kıyaslanarak araştırılmıştır.

Yeni geliştirilen hidrokinon kremi ile piyasada bulunan %4 hidrokinon kremi stabilitesi sıcaklığa bağlı stress testleri ve iritan etkisi insanlarda yapılan tekrarlanan insülin yama testi ve renk açıcı etkisi MelanoDerm™ B modeli ile kıyaslanmıştır. Sonuçta; ticari 3 hidrokinon (%4) ürününe oranla yeni hidrokinon kremi koyu ciltlere daha dirençli ve daha az iritan olduğu görülmüştür. Tretinoin (% 0.05) ve fluosinolon asetonid (% 0.01) içeren hidrokinon (%4) ürünü ile karşılaştırılabilir ve daha hızlı başlangıçlı beyazlatıcı etkinin tespit edildiği de rapor edilmiştir (77).

Macedo FS ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada; melazmanın başlıca güneşe maruziyetin fazla olduğu yerlerde yaşayan kadınlarda görülen bir pigmentasyon bozukluğu olduğunu, lekeleri hafifletmek için güneş koruyucular ve hidrokinon gibi depigmentasyon ajanlarının kullanıldığını belirtmekle birlikte; melazma tedavisinde kimyasal "peeling" ajanlarının kullanımıyla ilgili tartışmaların mevcudiyetine dikkat çekmişlerdir. Bu nedenle melazma tedavisinde depigmentasyon kremi ve güneş koruyucu kombinasyonuna %70 glikolik asit peeling ilavesinin tedaviye etkisinin karşılaştırmalı sonuçlarının incelenmesi planlanmıştır. Yüze uygulanan iki farklı ürünün denendiği ve yedi ay süren bu çalışmada sekiz kadın hasta katılmıştır. İlk ay boyunca yüzün her iki kısmına güneş koruyucuyla birlikte; yalnızca %10 glikolik asit ve %4 hidrokinon içeren bir krem

uygulanmıştır. Ardından yüzün bir kısmına %70 glikolik asit içeren peeling ajanı uygulanırken diğer tarafında yalnızca taşıyıcının kullanıldığı 4 peeling uygulaması yapılmış; otuz günün sonrasında ise aynı uygulama plasebo ve glikolik asidin uygulandığı taraf değiştirilerek devam etmiştir. Tedavi, çekilen klinik fotoğrafları inceleyen üç bağımsız dermatolog tarafından değerlendirilmiştir. Melazma tedavisinin %10 glikolik asit ve %4 hidrokinon kombinasyonunun yeterli güneş koruyucuyla birlikte kullanıldığında çoğu hastada olumlu sonuçlar verdiği rapor edilmiştir. %70 glikolik asit peeling uygulamalarının ise melazmanın açılmasında daha fazla artırıcı bir etkisinin olmadığı ise yüzün her iki tarafına yapılan uygulamaların değiştirilmesiyle kanıtlanmıştır (78).

Haddad AL ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada; yüzün bir yanına hidrokinon veya cilt beyazlatıcı kompleks, diğer yanına plasebo uygulamasının otuz melazma hastasında hiperpigmentasyonun klinik iyileşmesi üzerine etkilerinin çift kör prospektif bir çalışma ile incelemiştir. Çalışma Kasım 2000–Mart 2001 arasında Federal São Paulo Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde gerçekleştirilmiştir. Otuz hastanın iki gruba ayrıldığı ve her bir hastaya üçer tüp krem verilen çalışmada; birinci grup günlük kullanım için 25 SPF (güneş koruyucu faktör) güneş koruyucu kremin yanı sıra yüzün farklı yanlarına uygulamak üzere %4 hidrokinon ve plasebo içeren krem almış; ikinci grup ise güneş koruyucuyla birlikte aynı şekilde uygulamak üzere %5 cilt beyazlatıcı ve plasebo içeren kremler almıştır. Bütün tüplerin görünüşü ve kremlerin karakteristiği aynı olduğu belirtilmiştir. Üç ay süren tedavi süresince; öncesi ve sonrası profesyonel bir fotoğrafçı tarafından fotoğraflanan bu araştırmada; hasta yüzünün hangi tarafında ne uygulandığını bilen tek kişi eczacıdır. Klinik değerlendirme iki bağımsız gözlemci ve hastaların kendisi tarafından yapılan araştırmada istatistiksel değerlendirme ki-kare ve kappa testleri ile yapılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde; çalışmayı bitiren yirmi beş hastada, plaseboya kıyasla ortalama %72 iyileşme gözlemlenmiş; Grup 1 (hidrokinon + plasebo) %25 yan etkiyle birlikte %76,9 iyileşme gösterirken; Grup 2 (cilt beyazlatıcı kompleksi + plasebo) %0 yan etkiyle %66,7 iyileşme gösterdiği rapor edilmiştir. Sonuçta iki depigmentasyon ajanının da melazma tedavisinde kullanılabilirliği görülmüştür. Hidrokinon grubunda, cilt beyazlatıcı kompleksi grubuna göre daha fazla

beklenmeyen etki görülmüştür. Hastalarda Fitzpatrick tip IV ve V ciltler görüldüğü ve çalışmanın yaz aylarında yürütüldüğü göz önüne alınırsa, cilt beyazlatıcı kompleksinin melazma tedavisi için ideal bir seçenek olduğu sonucuna varılmıştır (79).

Bir başka çalışmada ise farklı derecelerde başarı elde edilen melazma tedavisinin bir dizi topikal depigmentasyon ajanı ve fiziksel sağaltım (terapi) gerektirdiği belirtilerek; Pigment Bozuklukları Akademisi (PDA-The Pigmentary Disorders Academy)'nin melazmanın farklı tedavilerinde klinik etkinliği değerlendirerek ortak bir protokol oluşturmak için çalışma başlattığı bildirilmiştir. Son 20 yılın klinik yayınları; MEDLINE aramaları ve metodoloji ile tanımlanıp çıktıkları Preventive Services Task Force (USPSTF)'a göre uyarlanan kılavuzlar yardımıyla değerlendirilmiştir.

Grubun ortak fikri, melazma tedavisinin ilk basamağının başlıca sabit üçlü kombinasyonlar olmak üzere etkili topikal tedavilerden oluşması gerektiği olmuştur. Hastaların herhangi bir bileşenine hassasiyet gösterdiği veya üçlü kombinasyon tedavinin uygun olmadığı durumlarda ise ikili bileşen (hidrokinon ve glikolik asit) veya tek bileşen (%4 hidrokinon, %0,1 retinoik asit veya %20 azelaik asit) içeren ürünlerin de alternatif olarak kullanılabilirliğini bildirmişlerdir. Tedaviye yanıt vermeyen hastalarda ikinci basamak tedavide; tek başına ya da topikaller ile kombinasyon halinde “peeling” uygulaması içerdiği rapor edilmiştir. Bazı hastalarda remisyon (gerileme) durumunun korunması istenebileceği, bu durumda topikal tedavilerin bir kombinasyonun düşünülmesi gerektiği vurgulanmıştır. Melazma tedavisinde cilt tipi göz önünde bulundurulmak koşulu ile çok nadiren de lazer kullanımının olabileceği belirtilmiştir (80).

Fleming J ve arkadaşları melazma ve enflamatuar sonrası hiperpigmentasyonun özellikle Fitzpatrick tip III-VI ciltlerde olmak üzere ciddi bir psikososyal morbiditeye (hasta olma hali/ belirli bölgede hastalığın sıklığı) yol açtığını ve Avrupa'da bu şikâyetlerin tedavisine yönelik özel olarak üretilen, Kligman'ın formülüne benzer ancak daha uzun raf ömürlü bir ürünün piyasaya

sürüldüğünü rapor etmişlerdir. Bu preparatı hasta memnuniyeti açısından değerlendirmişlerdir. Hastaların bu ürün tarafından yaşam kalitelerinin ve hiperpigmentasyon belirtilerinin etkilenip etkilenmediği yönündeki geri bildirimlerine dayalı yürütülen çalışmada; 12 ay süresince 15 gramlık tüpler reçete edilerek geceleri bolca kullanmak üzere 3 ay (90 gün) lık tedavi sonrası; yaşam kaliteleri ve semptomlarındaki iyileşmeleri değerlendirmeleri istenmiştir. Bütün hastaların ayrıca Dermatoloji Yaşam Kalitesi Endeksi (DLQI- Dermatology Life Quality Index) puanları ile değerlendirilmiştir. Sonuçta; 22'sinde melazma ve 7'sinde akne sonrası hiperpigmentasyon olan 29 hastadan; 21'inde yaşam kalitelerinde belirgin bir iyileşme olduğu, 23'ünde ise semptomlarında iyileşme olduğu bildirilmiştir. Hastaların; hem hiperpigmentasyon, hem de yaşam kalitesi üzerine bildirdikleri olumlu sonuçlar ürünün tedavideki yüksek başarının göstergesi olarak değerlendirilmiştir (81).

Charlín R ve arkadaşları ise melazma tedavisinde ilk seçenek olan hidrokinonun Brezilya'da hekimler tarafından yaygın olarak reçete edildiğini ve hastalar tarafından da reçetesiz olarak sıklıkla kullanımı bulunduğunu bildirmişlerdir. Hidrokinonun sürekli /kronik kullanımının başlıca yan etkilerinden olan “okronoz”u klinik olarak; gri-kahverengi veya mavi-siyah hiperpigmentasyonlu ve havyara benzeyen küçük papüller olarak tanımlamışlardır. Histopatolojik incelemede ise okronoz; alt deri (dermis) de kıvrımlı koyu sarı yapılar ve muz şekilli liflerin oluşumu ile belirlendiği belirtilmiştir. Çalışmada; hidrokinon tarafından indüklenmiş dört okronoz vakasından ikisinde okronozlu bölgelerde dermoskopi ile inceleme sonucu melazma bulgularına ek olarak, foliküler açıklıkları bulunan yoğun pigmente olmuş alanların gözlenmiş olduğu rapor edilmiştir. Dermatologların okronozu melazmadan ayırabilmelerinin önemi vurgulanmış ve bu durumda önlenebilir dermatoz olduğundan derhal hidrokinon tedavisinin kesilmesinin gerekliliği vurgulanmıştır (82).

Ebrahimi B ve arkadaşları, Traneksamik asitin (TA) başta melazma olmak üzere ultraviyole ile indüklenmiş hiperpigmentasyonlarda beyazlatıcı etkisini incelenmişlerdir. Araştırmada; TA'in topikal solüsyonlarının etkinlik ve

güvenilirliğini değerlendirmek ve İranlı kadınlarda altın standart olarak kullanılan hidrokinon+deksametazon kombinasyonu ile kıyaslanması amaçlanmıştır. Çift kör “split-face” (yüzün belirli bölgelerine) yapılan çalışma 12 hafta süresince İran İsfahan’da gerçekleştirilmiştir. İranlı elli melazma hastası günde iki kere yüzlerinin bir yarısına %3 TA, diğer yarısına %3 hidrokinon + %0,01 deksametazon içeren topikal solüsyonlar uygulamıştır. Melazma alanı ve şiddet indeksi (MASI; Melasma Area and Severity Index) skorlandırılarak yan etkiler ile birlikte temelde değerlendirilmiştir. Buna ek olarak 4 hafta boyunca bir dermatolog tarafından değerlendirilmesi için fotoğraflar çekilmiştir. 12. haftanın sonunda ise hasta tatmini raporlandırılmıştır. Sonuç olarak; tedavi öncesi ve sonrasında Melazma alanı ve şiddet indeksi (MASI) skorlarındaki değişikliklerin değerlendirilmesi amacıyla tekrarlı ölçüm analizi yapılmıştır. İki grubun da MASI skorlarında belirgin bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). İki grup arasında (traneksamik asit, hidrokinon+deksametazon) melazma tedavisinin etkinliğinin hasta ve araştırmacılara göre bir farkı olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ancak hidrokinon-deksametazon kombinasyonunun yan etkilerinin traneksamikasite kıyasla daha belirgin olduğu rapor edilmiştir ($p=0,01$). Bu çalışma sonucunda melazma tedavisinde topikal traneksamikasitin uygulamasının etkili ve güvenli bir alternatif olduğu sonucuna varıldığı bildirilmiştir (83).

Katsambas AD ve arkadaşları ise, hidrokinonun 1961’de cilt beyazlatıcı olarak piyasa sürülmesinden itibaren beyazlatıcı özelliği olan birçok ürünün pigment bozukluklarının tedavisinde kullanıldığını belirterek bu ajanların en önemli tıbbi endikasyonlarının melazma ve postinflamatuvar hiperpigmentasyon, çil, solar lentigo, nevüs ve lentigo maligna tedavilerinde de alternatif olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Avrupa’da %2’lik hidrokinon formülasyonunun güvenli ve etkili kullanımı bulunduğu belirtilen makalede; hidrokinon formülasyonu için bir dizi farklı yöntemin kullanılabileceği belirtilerek klinik çalışmalarla hidroalkollerin örneğin propilen glikol ve etanol’den daha uygun olduğunun ortaya konulduğu yine başka araştırmalarla askorbik asit veya sodyum bisülfat gibi antioksidanların ilavesinin tüp veya şişe içerisinde kolayca oksitlenebilen hidrokinonun stabilitesini arttırdığının gösterildiği bildirilmiştir. Öncelikle güneş ışınlarından korunmanın öneminin

vurgulandığı makalede aynı zamanda tedavi sonrası lekelerin kaybolduğu dönemde de güneş koruma faktörü (SPF; Sun Protection Factor)'nün en az 15 ila 30 olan güçlü bir koruyucunun kullanımını önermişlerdir. Genel olarak değerlendirildiğinde, postenflamatuvar hiperpigmentasyonlu hastalarda, topikal steroidlerin altta yatan inflamatuvar reaksiyonu tedavi etmek için kullanıldığı ve terapötik rejimin önemli yardımcıları temsil edenlerden; hidrokortizon, triamsinolon asetonid veya betametazon valerat, tek başına veya kombinasyonlu ağartma formülüyle reçete edilebilen en yaygın kullanılan kortikosteroidler olarak rapor edilmiştir. Uzun tedavi süresince geri döndürülmesi güç olan ve etkili bir tedavisi bulunmayan okronozis riski nedeniyle, herhangi bir ağartma ürününün 2 yıldan fazla kullanılmaması gerekliliği belirtilmiştir. Araştırmada 6 aylık uygulamadan sonra düzelme görülmediği durumlarda ağartma maddelerinin kullanımının durdurulması gerekliliği ve alternatif yöntemlerin araştırılmasına gidilmesi önerilmiştir. Sonuç olarak hiperpigmentasyon bozukluklarının tedavisinde mevcut bulunan ağartıcı maddelerin çoğunun hasta için yararlı olmasına rağmen yine bu ilaçların kalıcı olarak pigmentasyonu ortadan kaldırmadığı vurgulanmıştır. Her hastanın ayrı ayrı değerlendirilmesi gerekliliği ve her tedavi yaklaşımı için bir risk/fayda oranı oluşturulmasının zorunluluğu rapor edilmiştir (84).

Shariati A ve arkadaşları genellikle 30-35 yaşları arasındaki kadınlarda görülen melazmanın tedavisinin zamanında gerçekleşmemesi durumunda birçok kozmetik problemin baş gösterebileceğini belirten araştırmacılar; kojik asit ve %2 hidrokinon kremlerinin melazma tedavisindeki etkilerini karşılaştırmışlardır. Bu amaçla İran Meşhed'deki 22 Bahman Hastanesi'ne sevk edilen melazma hastası 100 kadın hastaya yüzerinin bir yarısına kojik asit, diğer yarısına da %2 hidrokinon kremi reçete edilmiş ve sonuçlar üç aylık süreç içerisinde değerlendirmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde tedavinin ilk ayını takiben kojik asit tedavisinde %7, hidrokinon tedavisinde ise %10 olumlu yanıt alındığı rapor edilmiştir. İkinci ayın ardından ise kojik asitte %24, hidrokinonda %22 olumlu yanıt gözlenmiştir. İstatistiksel olarak; ilk iki ayda iki grup arasında belirgin bir fark gözlenmezken; üçüncü ayın ardından anlamlı bir fark ortaya çıktığını ve kojik asit için %58, hidrokinon için %30 olumlu

yanıt alındığı sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar melazma tedavi protokolünde kojik asitin de göz önünde bulundurulması gerektiğini bildirmişlerdir (85).

Shaikh ZI ve arkadaşları, melazmanın çeşitli konvansiyonel tedavi yöntemlerinin sıklıkla tatmin edici olmadığını belirttikleri araştırmalarında ayrıca lazer ve ışık kaynakları ile pigment lezyonların tedavisinde; Asyalıların yüksek oranda melanin içeren ciltlerinde zorlayıcı olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmalarında melazma tedavisinde topikal %5 magnezyum askorbil fosfat (MAP) ve flüoresan darbeli ışık (FPL: fluorescent pulsed light) kombinasyonunun etkinliğini değerlendirmişlerdir. Tip III-V ciltlere sahip melazmalı hastalarda (65 yetişkin) 12 haftaya boyunca %5 topikal magnezyum askorbil fosfat (MAP) ve 3, 6 ve 9. haftalarda 570-950 nm fluoresan darbeli ışık (FPL;12–14 J/cm², 15 ms darbe aralığı ve 3 cm² alan) uygulanmıştır. Tedavinin faydalarının sürekliliğinin değerlendirilmesi için, hastalar tedavi bittikten sonra 12 hafta daha izlenmiştir. Her vizitte hastaların dijital fotoğrafları çekildiği araştırmada; tedavinin etkinliği, ortalama melazma alanı ve MASI (melasma area and severity index) skorlarının 0, 6, 12 ve 24. haftalarda hesaplanmasıyla değerlendirilmiştir. Öznel değerlendirmeler bağımsız bir araştırmacıya fotoğrafların incelenmesiyle ve hastaların dört puanlık (1: çok kötü, 2: kötü, 3: iyi, 4: çok iyi) yorumları ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçta; başlangıçta 14,80 olan MASI skor ortalaması; 12. Hafta sonra (tedavinin sonu) 4,53 değerinde ve 24. haftada (izlemin sonu) 6,35 olarak hesaplanmıştır. Bu tarihlerde melazmanın toplam gerilemesi %69,3 ve %57 olarak gerçekleşmiştir. ($p<0,01$). 12. haftada bağımsız araştırmacının ve katılımcıların değerlendirmeleri sırasıyla vakaların %52,3 ve %44,6'sında iyi veya çok iyi (3 veya 4 puan) sonuçlar getirmiştir. Tedavide belirgin bir yan etkinin gözlenmediği araştırmada fluoresan darbeli ışık (FPL) ile magnezyum askorbil fosfat (%5 MAP) kombinasyonunun Asyalı melazma hastaların tedavisinde etkili, iyi tolere edilebilir ve güvenli bir seçenek olduğu ancak iyileşmenin tutarlılığı için tedaviye aralıklarla devam edilmesi gerekebileceği sonucuna varılmıştır ((86).

Tehrani S ve arkadaşları yüzdeki simetrik kahverengi ya da grimsi kahverengi hpierpigmentasyonlar olarak tanımladıkları melazmanın tedavisinde bir dizi ilaç mevcut olduğunu ve daha iyi sonuçlar için kombinasyon tedavilerin önerildiğini

vurguladıkları çalışmalarında %20 azelaik asit-%5 hidrokinon kombinasyonu ve tek başına %5 hidrokinon uygulamalarının etkinliğini değerlendirmişlerdir. Çift kör randomize klinik çalışmada 64 hastaya dört ay boyunca günlük hidrokinon veya hidokinin-azelaik asit kombinasyonu reçete edilmiştir. Tedavinin birinci, ikinci ve dördüncü aylarının ardından klinik etkinlik (MASI skoru ile) ve yan etkiler değerlendirilmiştir. Sonuçta MASI (melazma alanı ve şiddet indeksi) skorları ortalaması; kombinasyon tedavide 9,35'ten 2,9'a, yalnız hidrokinon tedavisinde ise 9,58'den 4,02'ye düştüğü rapor edilmiştir. Yanma (en sık), kaşıntı, batma hissi, kuruluk ve eritem gibi yan etkiler kombinasyon tedavisi grubunda %50'sinde görülürken yalnız hidrokinon grubunda ise %35 oranında görülmekle birlikte hastaların çoğunda tolere edilebilmiştir. Sonuç olarak her iki tedavi rejiminin de melazma tedavisinde iyi bir etkinlik göstermiş olduğu, azelaik asit – hidrokinon kombinasyonu ile ise hem terapötik etkinin daha hızlı başlamış olması hem de etkinliğinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (87).

Zamanian A ve arkadaşları melazma tedavisinde farklı lazer tiplerinin kullanımının halen tartışmalı olduğunu bildirdikleri çalışmalarında; 17 hastada yüzün bir yarısına hidrokinon ile Q anahtarlı neodimiyum-itrיום alüminyum laltası lazeri (Q-switched neodymium-doped yttrium aluminium garnet) yüzün diğer yarısına ise hidrokinon ile ikinci tip lazer (CO₂ fraksiyonlu lazer) 3 tedavi seansı uygulanmıştır. Hastalar 12 hafta boyunca melazma alanı ve şiddet indeksi (MASI) ile değerlendirilmiştir. Sonuçta; 6 haftalık tedavi sonrasında melazma alanı ve şiddet indeksi (MASI) dikkate alındığında hidrokinon ile CO₂ fraksiyonlu lazer tedavisiyle ciddi düşüş olduğu görülmüştür (88).

Levitt J ve arkadaşları, hidrokinonun Amerika'da (Birleşik Devletlerde) hiperpigmentasyon tedavisinde altın standart olarak kabul edildiğini belirttiği derlemesinde; hidrokinon'un kullanıldığı klinik çalışmalar göz önüne alındığında 50 yıldan fazla sürede ve 10.000 den fazla klinik gözlemde sadece 22 okranoz vakasının görüldüğünü belirtmiştir. Gıda ve ilaç kuruluşunun (FDA; Food and Drug Administration) 3 Eylül 1982'de bir nihai monografda OTC (over-the-counter; tezgah üstü) hidrokinonun % 1,5 ila % 2'sinin genel olarak güvenli ve etkin olarak

kabul edilmiş olduğunu da vurgulamıştır. Makale tarihsel olarak düşük risk / fayda oranına sahip olan hidrokinonun tartışmasız etkinliğini desteklediğini göstermektedir. Hidrokinon'un (%2) dermal absorpsiyonunun ratlarda %10,5-%11,5 oranında görüldüğünü, bunun insanlarda (*in vivo*) ise %26 ila %66 oranında olduğunun araştırmalarla ortaya konulduğu bildirilmiştir. Sağlıklı gönüllülerde (6 yetişkin) yapılmış bir *in vivo* emilim çalışmasının sonuçlarına göre %71'lik etanol vasıtasıyla %2'lik hidrokinon'un topikal uygulamasının 24 saatlik tek kullanımdan sonra absorpsiyonun %57 oranında olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan; bir güneş koruyucu eklendiğinde, emilimin %26'ya düştüğünün görüldüğü rapor edilmiştir. Güneş kremi içeren hidrokinon müstahzarlarının bulunduğu dikkat çekilen makalede; hidrokinon'un alkollü bir taşıyıcıyla yüksek absorpsiyon sağlarken güneş kremi ilavesiyle absorpsiyonunun azaldığına dikkat çekmiştir (89).

Khoshneviszadeh R ve arkadaşları, hidrokinon'un lipozomal formülasyonunu tanımlamada en önemli parametrelerden birinin enkapsülasyon etkinliği olduğunu belirttikleri çalışmalarında lipozomal yapının içinde hapsolmuş hidrokinon'un etkinliğinin değerlendirilmesinde, ilk önce lipozomun kendini çevreleyen matristen ayrılması gerektiğini rapor etmişlerdir. Ayırma için çeşitli tekniklerin bulunduğunu belirttikleri araştırmalarında; yıkama ve diyaliz işlemlerini içeren ve içermeyen üç santrifüj tekniği kullanılmışlardır. Laboratuvar teknikleri arasında en uygun yöntemin, yüksek tekrarlanabilir sonuçlar üreten olduğunu belirmişlerdir. Diyalizle ve yıkamasız santrifüjlemeyle sırasıyla 6,1 ve 8,7'lik standart sapmalarla en yüksek dağılım elde edilmiş olup, yıkama ve santrifüjlemeyle standart sapmanın 5,2 bulunan çalışmada istatistiksel hesaplamalara göre bu tekniklerle ayırma sonucu direkt yöntemle enkapsülasyon etkinliği en yüksek dağılımı gösterdiği rapor edilmiştir. Santrifüj ve santrifüj filtrasyon kullanılarak sırasıyla 2,8 ve 2,1 standart sapma değerleriyle, indirekt bir yöntemle hidrokinon enkapsülasyon etkinliğinin en yüksek tekrarlanabilirliği gösterdiği bildirilmiştir. Sonuçlara göre hidrokinon formülasyonunun seyreltilmesine yönlendiren tedavilerin hidrokinon sızmasına ve enkapsülasyon etkinliğinin düşmesine yol açacağı vurgulanmıştır. Çalışmada hidrokinon enkapsülasyon etkinliğinin indirekt bir yöntemle ölçülmesi daha iyi bir

seçenek olduğu belirtilerek bu sebeple belirtilen etkinliğin saptanması için 45000 ref ve 30 dakika santrifüj uygulandığı rapor edilmiştir (90).

Gladstone HB ve arkadaşları salisilik asit, hidrokinon ve glikolik asitin güneşten hasar görmüş ciltlerin tedavisinde etkinliği kanıtladığını, boyun ve üst göğüste güneş hasarının tedavisi ile ilgili ise az sayıda rapor bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarında boyun ve üst göğüste %4 hidrokinon ve %4 glikolik asit içeren kremin (LUSTRA) tek başına ve salisilik asit peeling ile kombinasyon halinde etkinliğini değerlendirmişlerdir. Boyun ve üst göğüs bölgelerinde orta ve ileri düzey güneş hasarı bulunan 19 kadın hasar görmüş bölgeye 12 hafta boyunca günde iki kere %4 hidrokinon ve %4 glikolik asit içeren krem uygulamışlardır, bu katılımcıların 9'u ise her üç haftada bir salisilik asit peeling uygulamıştır. Sonuçlar; melanin ile eritem düzeylerini ölçen Mexameter ile değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre her iki grupta da güneş hasarı, hiperpigmentasyon, doku, ince çizgiler, kuruluk, ton ve parlaklık gibi kriterlerde %33-71 arası iyileşme oranları gözlemlendiği belirtilmiştir. İki tedavi arasında belirgin bir fark gözlenmediği ve %4 hidrokinon ve %4 glikolik asit içeren krem boyun ve üst göğüste güneş hasarının tedavisinde tek başına veya salisilik asit peeling ile kombinasyon halinde güvenli ve etkili olduğu rapor edilmiştir (91).

Wu PS ve arkadaşları araştırmalarında; nano yapılı lipit taşıyıcı (Nanostructured lipid carrier: NLC) homojenizasyon emülsifikasyon yöntemi ile hazırlamışlar ve modifiye sürfaktanlarla geliştirmişlerdir. Nanopartiküllerin özellikleri model ilaç olarak hidrokinon (HQ) için NLC sistemi kullanılarak ve hidrokinonun ışık stabilitesi artırılarak incelenmiştir. Optimize NLC koşulları ise karıştırmada 1200 rpm, homojenizasyonda 8000 rpm, katı yağ: sıvı yağ oranı 3:7 ve lesitin: sürfaktan oranı 3:1 şeklinde olduğu bildirilmiştir. Partikül boyu $393,30 \pm 28,23$ nm ve enkapsülasyon etkinliği $22,13 \pm 2,66$ 'dır. HQ-NLC'nin zeta potansiyelinin -30 mV'dan daha iyi olduğu belirtilmiştir. Termogravimetrik analiz (TGA) çalışmalarında HQ-NLC için plantacare 2000 UP eklenmesi, tek başına HQ-NLC'den daha iyi ısı direnci gösterdiği rapor edilmiştir. HQ-NLC'ye plantacare 2000 eklenmesiyle köre göre daha iyi permeabilite ($125,10$) gözlemlendiği

bildirilmiştir. Stabilité çalışmalarında UV-A/UV-B radyasyonundan sonra HQ-NLC köre göre daha iyi (%34,25) inhibisyon gösterdiği gözlemlenmiştir. Mevcut çalışmada NLC sistemi etkin maddenin ışık stabilitesi ve cilt permeabilitesini başarılı bir şekilde iyileştirildiği rapor edilmiştir. Bu sayede, gelecekte transdermal ürünler için NLC potansiyel bir taşıyıcı olabileceği sonucuna varılmıştır (92).

Tsaib ve arkadaşları ise çalışmalarında, antiinflamatuvar, antioksidan ve UV koruyucu etkileri olan flavonoidlerden hesperitin ile çalışılmıştır. Topikal salım sistemlerinde geçirgenliğin (permeasyon) bazen sorunlu olabildiğini belirttikleri araştırmalarında; mikroemülsiyonların transdermal uygulama sistemi için potansiyel taşıyıcı olduğunu belirterek *in vitro* permeasyon çalışmaları ile optimal bir mikroemülsiyon formülasyonu tasarlamışlardır. Geliştirilen mikroemülsiyon formülasyonunun ışıktan koruyucu ve cilt iritasyonu etkisi ise *in vivo* çalışmalarla incelenmiştir. Çalışma sonucunda, hesperitin yüklü mikroemülsiyonun, hesperitin sulu çözeltisi ve hesperitin izopropil miristatlı süspansiyon dozaj formuna kıyasla artırılmış *in vitro* permeasyon gösterdiği bildirilmiştir. Benzer şekilde ko-sürfaktanın ilacın permeasyonu kapasitesi üzerindeki etkisi araştırıldığında propilen glikolün en fazla permeasyon oranını gösterdiği onu ethanol, gliserol ve polietilen glikol'ün (PEG 400) de onu izlediği görülmüştür. Güneş koruyucu ajan ve transdermal penetrasyon artırıcı olan palmitat O'nun hesperitin'in permeasyon oranını arttırabileceği bildirilmiştir. *İn vivo* çalışmaların sonuçlarına göre, hesperitin yüklü mikroemülsiyonlarla tedavi edilen grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde cilt beyazlaştırıcı etki oluştuğu ve cilt iritasyonunun azaldığı görülmüştür. Hesperitin mikroemülsiyonun etkili bir beyazlatma ajanı olarak kullanılabileceğini gösterdiği rapor edilmiştir (93).

Hu Z-M ve arkadaşları hidrokinon'un ve türevlerinin cilt beyazlaştırıcı ajan olarak biyogüvenliliğinin halen tartışılmalı olduğunu bildirdikleri çalışmada; hidrokinon, arbutin ve deoksiarbutinin melanogenesis üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Aynı çalışmada, UV-A kaynaklı oksidatif stres varlığında ve yokluğunda cilt beyazlaştırıcı etki araştırılmıştır. Tirosinaz aktivitesi, (14) C-tirosin katılımıyla ölçümlenirken; hücre içi reaktif oksijen türü (ROS) seviyesi ise;

H₂DCFDA floresan işaretlemesi ile ölçümlenmiştir. Hücre canlılığı ise metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı hücre proliferasyon testlerinde yaygın olarak kullanılan MTT (Metiltiazol difenil tetrazolyum) testi ile belirlenmiştir. Sonuçta, UV-A (3 J/cm²) her üç bileşik için toksik olmayan dozlarda kontrol (tedavi edilmeyen) ile kıyaslandığında tirozinaz aktivitesinde doz bağımlı benzer inhibitör etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Deoksiarbutinin ise daha az hücre toksisitesi, antioksidan potansiyeli ve potent tirozinaz protein ekspresyonundaki azalmaya olan etkisinden dolayı hidrokinonlar için etkin ve güvenilir bir alternatif olabileceği bildirilmiştir (Hu Z-M et al (94)).

Chen H ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise, mikroemülsiyon bazlı hidrojel formülasyonları ibuprofenin topikal salımı için hazırlanmıştır. İbuprofen için mükemmel deri permeasyonu sağlamak amacıyla iyi çözünürlük kapasitesinden dolayı etil oleate mikroemülsiyonun yağ fazı olarak kullanılmıştır. Mikroemülsiyon üçlü faz diyagramında etil oleat yağ, tween 80 sürfaktan ve propilen glikol ise kosürfaktan kullanılarak oluşturulmuştur. Çeşitli mikroemülsiyon formülasyonları hazırlanıp, ibuprofen salımı domuz derisi Franz difüzyon hücrelerinde *in vitro* denenmiştir. *In vitro* permeasyon verilerine göre mikroemülsiyonun ibuprofen'in permeasyon oranını doymuş çözeltiye göre 5,72 ve 30 kez arttırdığı rapor edilmiştir. Optimum formülasyon; %3 ibuprofen, %6 etil oleat, %30 tween 80/propilen glikol (2:1) ve sudan olduğu belirtilmiştir. Mikroemülsiyonun hidrojel matriksini oluşturulmak ve viskozitesini arttırmak için %1,5 oranında ksantan zankı kullanılmıştır. Geliştirilen mikroemülsiyon bazlı hidrojinin iyi stabilite gösterdiği ve ibuprofen'in topikal salımı için umut verici bir taşıyıcı sistem olacağı rapor edilmiştir (95).

Surabhia K ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada akne tedavisi, fotoaging, skoamöz hücre karsinomasında ve psöriasis tedavisinde yaygın olarak kullanılan tretinoinin daha uygun alternatif bir taşıyıcı sistem ile uygulanması için lektinize mikroemülsiyon formülasyonları hazırlanmış ve incelenmiştir. Bu sistem çalışmada; pH: 5.5 fosfat tamponu, isopropil miristat, tween 80 ve ethanol kullanılarak hazırlanmıştır. Mikroemülsiyonlar; TEM (transmission elektron mikroskobu)

kullanılarak karakterize edilmiştir. *İn vitro* salım çalışmaları Laca farelerinin derisinde yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda hazırlanan yeni mikroemülsiyon formülasyonunun ve mikro emülsiyon haline getirilmiş jel tretioninin deriden penetrasyonunu (piyasada bulunan ürüne göre, solüsyon/ jel içinde bulunmasına göre) arttığının görüldüğü rapor edilmiştir. İncelenen mikroemülsiyonun tretinoinin için uygun bir topikal sistem olabileceği rapor edilmiştir (96).



8. SONUÇ

Çalışma kapsamında geliştirilen mikroemülsiyon formülasyonlarının ileride daha detaylı çalışmalar yapılarak piyasaya kazandırılması söz konusudur. Sonuç olarak bu tez çalışmasında titrasyon yöntemi ile üçgen faz diyagramı kullanılarak hazırlanan hidrokinon içeren bu dermal mikroemülsiyonların melazma hastalığının tedavisi için umut verici olduğunu düşünmekteyiz. Özellikle piyasada kullanılan ürünlere alternatif olarak kontrollü bir şekilde salım yaparak daha az dozlama yapılarak hasta uyuncunun arttıracağı düşünülmektedir.



9. KAYNAKLAR

- 1- Chan R, Park KC, Lee MH, Lee E-S, Chang SE, Leow YH, et al. A randomized controlled trial of the efficacy and safety of a fixed triple combination (fluocinolone acetonide 0.01%, hydroquinone 4%, tretinoin 0.05%) compared with hydroquinone 4% cream in Asian patients with moderate to severe melasma. *Br J Dermatol.* 159: 697–703, 2008.
- 2- Lynde CB, Kraft JN, Lynde CW. Topical treatments for melasma and postinflammatory hyperpigmentation. *Skin Therapy Lett.* 11(9);1-6. 2006.
- 3- Kormaz S, Erturan İ. Hiperpigmentasyon tedavisi ve yeni yaklaşımlar. *Türkiye Klinikleri J Dermatol.* 20(1); 14-22, 2010.
- 4- Kolarsick PAJ, Kolarsick MA, Goodwin C. Anatomy and physiology of the skin. *J Dermatol Nurses Assoc.* 4(3); 203-13, 2011.
- 5- Değim T. Deriden emilim ve deriye uygulanan yarı katı preparatlar p.337-64 *İçinde: Modern Farmasötik Teknoloji, Fersa Matbaacılık, Ankara, 2007.*
- 6- Barsh GS. What controls variation in human skin color? *PLoS Biol.* 1(1); 3: 445-7, 2003.
- 7- Steindal AH. The evolution of different skin colours p.114-22 In: Espen Bjertness, Moan J, editor. *Solar Radiation and Human Health. The Norwegian Academy of Science and Letters. Oslo-Norway, Drammensveien, 2008.*
- 8- Baroni A, Buommino E, Gregorio VD, Ruocco E, Ruocco V, Wolf R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in Dermatol.* 30: 257-62, 2012.
- 9- Menon GK. Skin basics; structure and function p.9-18 In: Pappas A, editor. *Lipids and Skin Health Switzerland. Route Bidge water, USA, 2015.*
- 10- Chuong CM, Nickoloff BJ, Maderson PA, Sundberg JP, Tagami H, Plonka PM. The ‘true’ function of skin. *Exp Dermatol.* 11:159-187, 2002.
- 11- Sturm RA, Box NF, Ramsay M. Human pigmentation genetics: the difference is only skin deep. *BioEssays.* 20: 712-21, 1998.
- 12- Haake A, Scott GA, Holbrook KA Structure and fuction of the skin: overwiev of the epidermis and dermis p.19-45 In: Freinkel RK, Woodley DT, editors. *The biology of the skin. New York, Parthenon, 2001.*

- 13- Costin GE, Hearing VJ. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *FASEB J.* 21: 976-994, 2007.
- 14- Jablonski NG. Human skin pigmentation as an example of adaptive evolution. *Proc Am Phil Soc.* 156(1); 45-57, 2012.
- 15- Kalla AK. Human skin colour, its genetics, variation and adaptation p.209-14 In: Bhasin V, Bhasin MK editors. *Anthropology Today: Trends, Scope and Applications.* India, Kamla-Raj Enterprises, 2007.
- 16- Sachdeva S. Fitzpatrick skin typing: applications in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 1(75); 93-6, 2009.
- 17- Graham MR, Davies B, Grace FM, Evans PJ, Baker JS, Graham J. Exercise, science and designer doping: traditional and emerging trends. *J Steroids Hormon Sci.* 2(3); 2-10, 2011.
- 18- Derler S, Gerhardt LC. Tribology of skin: review and analysis of experimental results for the friction coefficient of human skin. *Tribol Lett.* 45: 1-27, 2012.
- 19- Schwarz T. Ultraviolet radiation-induced tolerance. *Allergy.* 54: 1252-61. 1999.
- 20- Jablonski NG and Chaplin G. The evolution of human skin coloration. *J Hum Evol.* 39: 57-106, 2000.
- 21- Carnelli WA, Defries MG, Leonard F. Color realism in the cosmetic glove. artificial limb. 2: 57-65, 1955.
- 22- Sarkar R, Bhalla M, Kanwar AJ. A comparative study of 20% azelaic acid cream monotherapy versus a sequential therapy in the treatment of melasma in dark-skinned patients. *Dermatology.* 205: 249-54, 2002.
- 23- Verallo-Rowell VM, Verallo V, Graupe K, Lopez-Villafuerte L, Garcia-Lopez M. Double-blind comparison of azelaic acid and hydroquinone in the treatment of melasma. *Acta Derm Venereol.* 143: 58-61, 1989.
- 24- Kauh YC, Zachian TF. Melasma. *Adv Exp Med Biol.* 455: 491-9, 1999.
- 25- Kimbrough-Green CK, Griffiths CE, Finkel LJ, Hamilton TA, Bulengo-Ransby SM, Ellis CN, Voorhees JJ. Topical retinoic acid (tretinoin) for melasma in black patients. A vehicle-controlled clinical trial. *Arch Dermatol.* 130(6); 727-33, 1994.
- 26- Griffiths CE, Finkel LJ, Ditre CM, Hamilton TA, Ellis CN, Voorhees JJ. Topical tretinoin (retinoic acid) improves melasma. A vehicle controlled, clinical trial. *Br J Dermatol.* 129: 415-21, 1993.

- 27- Pathak MA, Fitzpatrick TB, Kraus EW. Usefulness of retinoic acid in the treatment of melasma. *J Am Acad Dermatol.* 15: 894-9, 1986.
- 28- Akyol M, Özçelik S, Marufihah M. Melanoderma. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi.* 23(2); 115-19, 2001.
- 29- Sofen B, Prado G, Emer J. Melasma and post inflammatory hyperpigmentation: Management update and expert opinion. *Skin Therapy Lett.* 1(21); 1-12, 2016.
- 30- Özdemir S, Özdemir M. Gebelikte melazma. *Türkderm.* 40: 98-100, 2006.
- 31- Saraçoğlu ZN. Melazma tedavisi. *T Klin J Dermatol.* 7: 131-33, 1997.
- 32- Kılınç F, Metin A. Yüzün Hiperpigmentasyon Hastalıkları. *Dermatoz.* 2(1); 245-53, 2011.
- 33- Ertam İ, Sezgin AÖ, Ünal İ. Melazmada glikolik asit ve glikolik asit/topikal leke açıcı tedavi sonuçları: Retrospektif bir değerlendirme. *Ege Tıp Dergisi/Ege J Medicine.* 52(2);100-103, 2013.
- 34- Erkek E, Birol A. Melazma 2003: Klinik özellikleri, patofizyolojisi ve tedavisi *Dermatose.* 2(4); 214-22, 2003.
- 35- Özçelik S. Balneoterapi. p. 292-293 İçinde: *Fotodermatoloji.* Elçin G, Ayşe Karadağ SA, Yılmaz E, editors. *Türk Dermatoloji Derneği Yayınları.* İstanbul, Galenos Yayınevi, 2015.
- 36- Halder RM, Nandedkar MA, Neal KW. Pigmentary disorders in ethnic skin. *Dermatol Clin.* 21(4); 617-28, 2003.
- 37- Rendon M, Berneburg M, Arellano I, Picardo M. Treatment of melasma. *J Am Acad Dermatol.* 54(2); 272-81, 2006.
- 38- Lynde CB, Kraft JN, Lynde CW. Topical treatments for melasma and postinflammatory hyperpigmentation. *Skin Therapy Lett.* 11(9);1-6, 2006.
- 39- Rigopoulos D, Gregoriou S, Katsambas A. Hyperpigmentation and melasma. *J Cos met Dermatol.* 6(3); 195-202, 2007.
- 40- Grimes PE. The safety and efficacy of salicylic acid chemical peels in darker racial-ethnic groups. *Dermatol Surg.* 25: 18-22, 1999.
- 41- Cahiers du préparateur en pharmacie/Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments/Jean-Marie Fonteneau, Philippe Klusiewicz. Wolters Kluwer France, 2008

- 42- Hardwick N. Exogenous ochronosis: an epidemiological study. *Br J Dermatol.* 120: 229-38, 1989.
- 43- Levin CY, Maibach H. Exogenous ochronosis: an update on clinical features, causative agents and treatment options. *Am J Clin Dermatol.* 2: 213-17, 2001.
- 44- Mann RJ, Harman RRM. Nail staining due to hydroquinone skin-lightening creams. *Br J Dermatol.* 108: 363-5, 1983.
- 45- Ozluer SM, Muir J. Nail staining from hydroquinone cream. *Australas J Dermatol.* 41: 255-6, 2000.
- 46- Parlak AH. Discolouration of the fingernails from using hydroquinone skin-lightening cream. *J Cosmet Dermatol.* 2: 199-201, 2003.
- 47- Kooyers TJ, Westerhof W. Toxicology and health risks of hydroquinone in skin lightening formulations. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 20: 777-80, 2006.
- 48- FDA. Skin bleaching drug products for over-the-counter human use: proposed rule. *Fed Regist.* 71: 51146-55, 2006.
- 49- Attwood D. Microemulsions p. 31-71 In: Kreuter J, editör. *Colloidal Drug Delivery Systems.* New York, Marcel Dekker, 1994.
- 50- Çelebi N. Emülsiyonlar p. 277-99 İçinde: *Modern Farmasötik Teknoloji.* Fersa matbaacılık, Ankara 2007.
- 51- Çilek A, Türkyılmaz A, Çelebi N. Mikroemülsiyonlar: genel özellikleri ve farmasötik amaçla kullanımları, *Fabad J Pharm Sci.* 27: 27-41, 2002.
- 52- Çomoğlu T, Gönül N. Mikroemülsiyonlar. *Ankara Ecz Fak Derg.* 26(2); 95-108, 1997.
- 53- Karasulu HY. Microemulsions as novel drug carriers; the formulation, stability, applications and toxicity. *Expert Opin Drug Deliv.* 5(1); 119-35, 2008.
- 54- Tuncay S, Özer Ö. Investigation of different emulsion systems for dermal delivery of nictinamide. *Pharm Dev Technol.* 18 (6); 1417-23, 2013.
- 55- Üstündağ N. Naproksen İçeren Farklı Transdermal Mikroemülsiyon Formülasyonlarının İn Vitro–İn Vivo Değerlendirilmesi Üzerine Çalışmalar. E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2009.
- 56- Üstündağ Okur N, Apaydın Ş, Karabay Yavaşoğlu NÜ, Yavaşoğlu A, Karasulu, HY. Evaluation of skin permeation and antiinflammatory and analgesic effects of new naproxen microemulsion formulations. *Int J Pharm.* 416: 136-44, 2011.

- 57- Anoop K, Vibha K, Sharma PK. Pharmaceutical microemulsion: formulation, characterization and drug deliveries across skin. *Int Drug Dev & Res.* 6 (1); 1-21, 2014.
- 58- Bagwe RP, Kanicky JR, Palla BJ, Patanjali PK, Shah DO. Improved drug delivery using microemulsions: rationale, recent progress, and new horizons. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 18(1); 77-140, 2001.
- 59- Chen H, Mou D, Du D, Chang X, Zhu D, Liu J, et al. Hydrogel-thickened microemulsion for topical administration of drug molecule at an extremely low concentration. *Int J Pharm.* 341: 78-84, 2007.
- 60- Chen H, Chang X, Du D, Li J, Xu H, Yang X. Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery. *Int J Pharm.* 315: 52-58, 2006.
- 61- Chen H, Chang X, Weng T, Zhao X, Gao Z, Yang Y, Xu H, Yang X. A Study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. *J Cont Rel.* 98: 427-36, 2004.
- 62- Polizelli MA, Telis VRN, Amaral LQ, Feitosa E. Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions. *Colloid Surface A.* 281: 230-236, 2006.
- 63- Yazan Y. Kontrollü salım sistemleri p. 133-50 İçinde: Emülsiyon sistemler. Gürsoy AZ, editor. *Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, İstanbul, 2002.*
- 64- Yazan Y. Temel konular ve dozaj şekilleri p. 273-86 İçinde: Emülsiyon sistemler. Gürsoy AZ, editor. *Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını. İstanbul, 2004.*
- 65- Rousseau D, Rafanan RR, Yada R. Microemulsions as nanoscale delivery systems p. 675-82 In: Murray MY, editor. *Comprehensive Biotechnology.* Burlington, 2011.
- 66- Talegaonkar S, Azeem A, Ahmad FJ, Khar RK, Pathan SA, Khan ZI, Microemulsions: A novel approach to enhanced drug delivery. *Recent Pat Drug Deliv.* 2: 238-57, 2008.
- 67- Sharma PK, Bhatia SR. Effect of Anti-inflammatories on Pluronic F127: Micellar Assembly, Gelation and Partitioning, *International Journal of Pharmaceutics,* 2004 Jul 8;278(2):361-77.

- 68- Hegde RR, Verma A, Ghosh A. Microemulsion: new insights into the ocular drug delivery. *ISRN Pharm.* 2013 Jun 27;2013:826798
- 69- Üstündağ Okur N, Yavaşoğlu A, Karasulu HY. Preparation and evaluation of microemulsion formulations of naproxen for dermal delivery. *Chem Pharm Bull.* 62(2); 135–43(b), 2014.
- 70- Sripriya R, Chandrasekaran M, Noel M. Voltammetric analysis of hydroquinone, ascorbic acid, nitrobenzene and benzyl chloride in aqueous, non-aqueous, micellar and microemulsion media. *Colloid Polym Sci.* 285: 39-48, 2006.
- 71- Badawi AA, Nour SA, Sakran WS, El-Mancy SMS. Preparation and evaluation of microemulsion systems containing salicylic acid. *AAPS Pharm Sci Tech.* 10 (4); 1081-84, 2009.
- 72- Attia EAS, Samahy MHE, Mahmoud SA. Cryotherapy versus phenol chemical peeling for solar Lentigines: a clinical, histologic, immunohistochemical and ultrastructural study. *J Egypt Women Dermatol Soc.* 2(7); 87-96, 2010.
- 73- Moldovan Z, Popa DE, David JG, Buleandra M, Badea IA, A Derivative Spectrometric Method for Hydroquinone Determination in the Presence of Kojic Acid, Glycolic Acid, and Ascorbic Acid, *Journal of Spectroscopy*, 2017:1-9, 2017.
- 74- ILO-ICSC, http://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_card_id=0166.
- 75- Ege MA, Karasulu HY, Güneri T, Triangle Phase Diagram Analysis Software, The 4 th International Postgraduate Research Symposium on Pharmaceutics Eylül 20-22, Abstact Book, İstanbul, 2004.
- 76- Hung CF, Chen WY, Aljuffali IA, Shih HC, Fang FY. The risk of hydroquinone and sunscreen over-absorption via photodamaged skin is not greater in senescent skin as compared to young skin: Nude mouse as an animal model. *Int J of Pharm.* 471 (1-2); 135-45, 2014.
- 77- Smiles KA, Dong KK, Canning MT, Grimson R, Walfield AM, Yarosh DB. A hydroquinone formulation with increased stability and decreased potential for irritation. *J Cosmet Dermatol.* 6: 83-8, 2007.
- 78- Macedo FS, Kaminsky SK, Bagatin E, Hassun KM, Sergio Talarico S. Melasma: A comparative study of the combination of glycolic acid and hydroquinone in

- association with glycolic acid peelings. *Med Cutan Iber Lat Am.* 34(1); 11-6, 2006.
- 79- Haddad AL, Matos LF, Brunstein F, Ferreira LM, Ademir Silva A, Costa D. A clinical, prospective, randomized, double-blind trial comparing skin whitening complex with hydroquinone vs. placebo in the treatment of melasma. *Int J Dermatol.* 42, 153-56, 2003.
- 80- Rendon M, Berneburg M, Arellano I, Picardo M. Treatment of melasma. *J Am Acad Dermatol.* 54 (5); 272-81, 2006.
- 81- Feming J, Saqib Bashir S. Combination (5% hydroquinone, 0.1% tretinoin and 1% hydrocortisone) cream in treating facial hyperpigmentation: A retrospective patient satisfaction survey. *J Cosmetics, Dermatol Sci App.* 4: 329-31, 2004.
- 82- Charlín R, Barcaui CB, Kac BK, Soares DB, Rabello-Fonseca R, Azulay-Abulafia L. Exogenous ochronosis and dermoscopy. *Int J Dermatol.* 47: 19-23, 2008.
- 83- Ebrahimi B, Naeini FF. Topical tranexamic acid as a promising treatment for melasma. *J Res Med Sci.* 19: 753-57, 2014.
- 84- Katsambas AD, Stratigos AJ. Depigmenting and bleaching agents: coping with hyperpigmentation. *Clin Dermatol.* 219: 483-48, 2001.
- 85- Shariati A, Espahbodi N, Abbasi A, Teimoorian M, Fizi R, Kalavi K. A Comparative study of kojic acid and hydroquinone 2% creams for the treatment of melasma. *IJRHS.* 3(1); 36-38, 2013.
- 86- Shaikh ZI, Mashood AA. Treatment of refractory melasma with combination of topical 5% magnesium ascorbyl phosphate and fluorescent pulsed light in Asian patients. *Int J Dermatol.* 53(1); 93-4, 2014.
- 87- Tehrani S, Tehrani S, Esmaili-Azad M, Vaezi M, Nazi Saljoughi N. Efficacy and safety of azelaic acid 20% plus hydroquinone 5% in the management of melasma. *Iran J Dermatol.* 15: 11-4, 2012.
- 88- Zamanian A, Behrangi E, Ghafarpour GH, Mehran G, Espahbodi R, Hoseinzade Fakhim T, et al. Effect of hydroquinone plus neodymium-doped yttrium aluminium garnet laser with and without CO₂ fractional laser on resistant dermal melasma. *J Skin Stem Cell.* 2(2); 11-5, 2015.

- 89- Levitt J. The safety of hydroquinone: A dermatologist's response to the 2006 Federal Register. *Jam Acad Dermatol.* 57 (5); 854-72, 2007.
- 90- Khoshneviszadeh R, Bazzaz BSF, Housaindokht MR, Ebrahim-Habibi A, Rajabi O. A comparison of explanation methods of encapsulation efficacy of hydroquinone in a liposomal system. *J Paramed Sci.* 7(2); 23-8, 2016.
- 91- Gladstone HB, Nguyen SL, Williams R, Ottomeyer T, Wortzman M, Jeffers M, Moy RL. Efficacy of hydroquinone cream (USP 4%) used alone or in combination with salicylic acid peels in improving photodamage on the neck and upper chest. *Dermatol Surg.* 26(4); 333-7, 2000.
- 92- Wu PS, Lin CH, Kuo YC, Lin CC. Formulation and characterization of hydroquinone nanostructured lipid carriers by homogenization emulsification method. *J Nanomater.* 2017 (<https://doi.org/10.1155/2017/3282693>).
- 93- Tsai YH, Lee K-F, Huang Y-B, Huang C-T, Pao-Chu Wu PC. In vitro permeation and in vivo whitening effect of topical hesperetin microemulsion delivery system. *Int J Pharm.* 388: 257-62, 2010.
- 94- Hu Z-M, Zhou Q, Lei T-C, Ding S-F, Xu S-Z. Effects of hydroquinone and its glucoside derivatives on melanogenesis and antioxidation: Biosafety as skin whitening agents. *J Dermatol Sci.* 55: 179-84, 2009.
- 95- Chen H, Chang X, Du D, Li J, Xu H, Yang X. Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery. *Int J Pharm.* 315, 52-58, 2006.
- 96- Surabhia K, Katare OP, Sushmac D. Lecithinised microemulsions for topical delivery of tretinoin. *Int J Drug Devel & Res.* 2 (4); 711-19, 2010.

10. ETİK KURUL BELGESİ



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-604.01.01-E.42870
Konu : Etik Kurulu Kararı

13/11/2017

Sayın Doç. Dr. Neslihan ÜSTÜNDAĞ OKUR

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapmış olduğunuz “Melazma Tedavisi İçin Çeşitli Dermal Formülasyonların Tasarlanması” isimli başvurunuz incelenmiş olup etik kurulu kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

EK:
-Karar Formu (1 sayfa)

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 13.11.2017 tarihinde e-İmzalanmıştır. Evrağımızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden 9198SEFBX9 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacık Mah. Ekinciler Cad.No:19 Kavacık Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44
İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İmü-Hadyek) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
10/11/2017	69		Doç. Dr. Neslihan Üstündağ Okur

“Melazma Tedavisi İçin Çeşitli Dermal Formülasyonların Tasarlanması” başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna “Oybirliği” ile karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 24 ay

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK	
Üye	Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Turan DEMİRCAN	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Sultan Sibel ERDEM	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Mehmet OZANSOY	
Üye	Öğr. Gör. Dr. Taha KELEŞTEMUR	
Üye	Uzm.Vet. Hek. Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	Özge Şeyda DURGUT	
Üye	Fahriye ŞENBAHÇE	

11. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ahmet Nezihi	Soyadı	PEKCAN
Doğum Yeri	Ankara	Doğum Tarihi	22.07.1961
Uyruğu	T.C	TC Kimlik No	
E-mail	pekcanecz@gmail.com	Tel	05323128555

Eğitim

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	1981

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre
Eczacı	Pekcan Eczanesi	36
Eczacı		

Yabancı Dilleri

	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	orta	orta
İspanyolca	orta		

Yabancı Dil Sınav Notu

YDS	75
------------	-----------

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	61	60	59

(Diğer) Puanı			
----------------------	--	--	--

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Office Programları	İyi

Uluslararası ve Ulusal Yayınları/Bildirileri/Sertifikaları/Ödülleri/Diğer

Uluslararası Yayınları

Bildirileri

-

Sertifikaları

-

Kitap Yazarlığı

Majistral Makaleler, 1. Basım, İrdesel Yayıncılık, ISBN 978-605-65338-0-8, Sf. 1-375, Aralık-2014.

101 Majistral Formül 1. Basım ISBN 978-605-245-132, Sf. 1-148 Mart-2018.

Diğer

-Köşe Yazarlığı Eczacının sesi e-gazetesi majistral formül

-Katıldığı Kurslar Yeditepe Üniversitesi Homeopati Eğitimi 2013