

# tez duzeltme

*Yazar* Burcu Akyar

---

DOSYA	11.12.2016_BURCU_AKYAR-TEZ_BURCU1_EOCU_12.12.16.DOCX (1.94M)		
GÖNDERİLDİĞİ ZAMAN	12-ARA-2016 04:21PM	KELİME SAYISI	15422
GÖNDERİM NUMARASI	751866812	KARAKTER SAYISI	106273

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *Glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var.  
*lasiocarpa* Boiss EKSTRESİNİ İÇEREN YARI KATI DOZAJ ŞEKLİNİN  
GELİŞTİRİLMESİ

BİYOFARMASÖTİK VE FARMAKOKİNETİK BİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu AKYAR

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL

İZMİR  
(2016)

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *Glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var.  
*lasiocarpa* Boiss EKSTRESİNİ İÇEREN YARI KATI DOZAJ ŞEKLİNİN  
GELİŞTİRİLMESİ

BİYO FARMASÖTİK VE FARMAKOKİNETİK BİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu AKYAR

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Emel Öykü ÇETİN UYANIKGİL

İZMİR  
(2016)

## DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

**(Adı Soyadı)**

**(İmza)**

**Başkan:** Doç. Dr. Emel Öykü

.....

ÇETİN UYANIKGİL

**(Danışman)**

**Üye:** Doç. Dr. Yiğit UYANIKGİL

.....

**Üye:** Prof. Dr. İ. İrem ÇANKAYA

.....

## ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım süresince bilimsel bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her zaman yanımda olan, sabırla öğrenmem için uğraşan, her basamakta yol gösteren ve desteğini esirgemeyen, manevi olarak bir hocadan daha da fazlası olan Sayın Doç.Dr. Emel Öykü Çetin Uyanıkgil'e,

Yardımlarından dolayı Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Bilim Dalı Başkanı, Sayın Prof. Dr. Levent Kırılmaz'a

Tezimin <sup>1</sup>H NMR sonuçlarının değerlendirilmesinde bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Erdal Bedir'e,

Tez çalışmamda, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi FABAL'da Reometrenin kullanılmasında yardımcı olan Prof.Dr. Esra Baloğlu, Doç. Dr. Sinem Karavana, Araş. Gör. Dr. Zeynep Şenyiğit ve Araş. Gör. Dr. Seda Rençber ve Uzman Çiğdem Yengin'e,

Tezimin fitokimyasal analiz aşamasında tecrübe ve bilimsel desteğini benden esirgemeyen, her konuda yardımını gördüğüm değerli hocam Uzman Biyolog Fatih Karabey'e,

Tez çalışmamın fitokimyasal analizlerinin yapımı sırasında desteğini ve bilgilerini benden esirgemeyen değerli hocam Uzman Biyolog Kadir Bülbül'e,

Çalışmamın jel formülasyonu hazırlanması aşamasındaki yardımlarından ve samimiyetinden dolayı değerli hocam Sercan Erkan'a,

Bitki tayini ve bitki toplama konusunda bana yardımcı olan, her zaman sorularıma bıkmadan usanmadan cevap veren arkadaşım Uzman Biyolog Volkan Eroğlu'na

Tezimin sitotoksiste testi yapım aşamasında yardımlarından dolayı Uzman Biyolog Burak Gökçe ve Uzman Biyolog Gürkan Yiğittürk'e,

Tezimin düzenlenmesi aşamasında yardımlarından dolayı Teknisyen Tolga Başaran'a

Yüksek lisans hayatım boyunca bana destek olan tüm arkadaşlarıma *Euphorbiaceae* familyası hakkında bilgi alış verişi yaptığım arkadaşım Uzman Biyolog Ebru Kavruk, geç de olsa tanıştığım, bana yardım eden ve her bunaldığımda, sıkıldığımda yanımda olan arkadaşım Araş. Gör. Gökay Albayrak'a,

Tüm hayatım boyunca sevgi ve anlayışlarıyla hep yanımda olan, çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen canım annem Melek Akyar, canım babam Haldun Akyar ve biricik kardeşim Alper Can Akyar'a

Lisans ve Yüksek lisans eğitim dönemlerimde her zaman yanımda olan, sevgisini ve anlayışını esirgemeyen, desteğini her zaman hissettiğim ve sonsuza dek seveceğim hayat arkadaşım Buğra Bahçeci'ye,

sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (Proje No: 14/ECZ/033) ve Aliye Üster Vakfı tarafından desteklenmiştir, projemi desteklenmelerinden dolayı teşekkür ederim.

İzmir, 2016

Burcu AKYAR

## ÖZET

Çalışmamızda seçilen bitki türü olan Euphorbiaceae familyasına ait olan *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *Glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss'in ekstresi ilk defa bir jel formülasyonu için kullanılmıştır. Türün ait olduğu familya çeşitli tıbbi tedavilerde ve antiinflamatuvar olarak kullanılmaktadır. Jel formülasyonu hazırlanmadan önce izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışma verilerinin ışığında izole edilen saf molekül üzerinden UV spektrum için absorbans değerleri ve nm'ler bulunmuştur. Absorbans değerlerine uygun kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. %0.6'lık bitki ekstresi içeren jel formülasyonları hazırlandıktan sonra toksik değer ölçümü için, sitotoksiste testi uygulanmış ve EC<sub>50</sub> değeri hesaplanmıştır. *In-vitro* salım deneyleri yapılan jel formülasyonun yüzde kaçının serbest kaldığı belirlenmiştir. Hazırlanan jel formülasyonun stabilite testleri yapılarak 0., 1., 3. ve 6. Aylarda alınan örnekleride fiziksel kontroller ve reolojik ölçümler yapılmıştır

Anahtar Kelimeler: *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *Glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss, Yara İyileşmesi, Jel,

## ABSTRACT

Our search is about *Euphorbia nicaeensis* all. ssp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. SMITH *lasiocarpa* Boiss which is among *Euphorbiaceae* plant familia. The extract has been first used in gel formulation. The familia belonging this plant is being used for many treatment and being used as anti-inflamatuar. Isolation process has been made before preparation of gel formulation. Through the light of this search, abrorbance level for UV spectrum and nm was found by isolated pure molecule. The absorbance values are plotted according to the calibration curve. After preparation of gel formulation consisting of %0.6 plant extract, cytotoxicity tes was applied and EC<sub>50</sub> degree was calculated. *In-vitro* experimnts has observed how much percent of gel formulation was omitted. Pysical and reologic measurement have been done in examples of prepared gel formulation stabilised tests through 1, 3 and 6 month.

Key Words: *Euphorbia nicaeensis* all. ssp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. SMITH *lasiocarpa* Boiss, Wound Healing, Gel



## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	III
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
İÇİNDEKİLER	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLOLAR DİZİNİ	XIII
KISALTMALAR	XIV
GİRİŞ	1
1 GENEL BİLGİLER	2
1.1 İnsan Derisi ile İlgili Bilgiler	2
1.1.1 İnsan Derisi	2
1.1.2 Derinin Bölümleri	2
1.1.2.1 Epidermis	3
1.1.2.2 Dermis	4
1.1.2.3 Hipodermis	5
1.1.3 Derinin Fizyolojisi	5
1.1.3.1 Derinin Geçirgenliği	5
1.1.3.2 Derinin pH'ı	5
1.1.3.3 Derideki Suyun Rolü	5
1.1.3.4 Derinin Görevleri	6
1.1.4 İlaçların Deriden Geçiş Yolları	7
1.1.4.1 Porlardan ya da boşluklardan geçiş	7
1.1.4.2 Transselüler Yol (Hücreleriçi Geçiş)	8
1.1.4.3 İnterselüler Yol (Hücrelerarası Geçiş)	8
1.1.5 Deriden Geçiş Etkileyen Faktörler	8
1.2 Yara	8
1.2.1 Yara Tanımı	8
1.2.2 Yara Çeşitleri	9
1.2.3 Yara Nedenleri	9
1.2.4 Yara İyileşmesi İle İlgili Tanımlar	9
1.2.5 Yara İyileşmesi Tipleri	10
1.2.6 Yara İyileşmesi Evreleri	11

1.2.7 Yara iyileşmesinin histopatolojisi	13
1.2.8 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	14
1.2.9 Yara Tedavisi	15
1.3 Yarı Katı Sistemler	16
1.3.1 Krem	16
1.3.2 Losyon	16
1.3.3 Sera	16
1.3.4 Pat	16
1.3.5 Merhem	17
1.3.6 Jeller	17
1.3.6.1 Jellerin Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler	18
1.3.6.2 Lipofilik jeller	21
1.3.6.3 Hidrofilik jeller	21
1.4 Ecogel™	22
1.4.1 Ksantan zamkı	23
1.4.2 Sklerotium zamkı	24
1.4.3 Pullulan	25
1.4.4 Lizolesitin	26
1.5 Reoloji	26
1.5.1 Reolojik Özellikleri (Akış özellikleri)	27
1.5.1.1 Newton Akışı	27
1.5.1.2 Newton Olmayan Akış Tipleri	27
1.5.2 Tikotropi	30
1.5.3 Dinamik Özellikler	30
1.5.3.1 Viskoelastisite	30
1.6 <i>Euphorbia nicaeensis</i> all. ssp. <i>glareosa</i> (Pall. Ex Bieb) A.R. SMITH var. <i>lasiocarpa</i> Boiss. Bitkisi ve Özellikleri	31
2 GEREÇ VE YÖNTEM	34
2.1 GEREÇ	34
2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	34
2.1.2 Kullanılan Aletler	34
2.2 YÖNTEM	35
2.2.1 Bitki Materyalinden Ekstre ve Saf Molekül Elde Edilmesi	35
2.2.1.1 Ekstraksiyon ve İzolasyon Sırasında Kullanılan Materyal ve Yöntemler	35

2.2.1.1.1 Ekstraksiyon ve Yoğunlaştırma İşlemi	35
2.2.1.1.2 Kromatografik Yöntemler	36
2.2.2 Miktar Tayin Yönteminin Validasyonu	38
2.2.2.1 pH 7.4 Fosfat Tamponu Hazırlanması	38
2.2.2.2 Kalibrasyon doğrusunun çizimi	38
2.2.2.3 UV Spektrofotometrik Miktar Tayin Yönteminin Validasyonu	38
2.2.2.3.1 Doğrusallık (Linearity)	39
2.2.2.3.2 Doğruluk (Accuracy)	39
2.2.2.3.3 Kesinlik (Precision)	39
2.2.2.3.4 Özgünlük (Specificity)	40
2.2.3 Sitotoksisite Testi	40
2.3 Jel formülasyonunun hazırlanması	41
2.3.1 Plasebo jel formülasyonunun hazırlanması	41
2.3.2 <i>Euphorbia nicaeensis</i> all. Ssp. <i>glareosa</i> (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. <i>lasiocarpa</i> Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun hazırlanması	41
2.3.3 Dissolüsyon Testi	41
2.3.4 <i>In vitro</i> Salınım Sonuçlarının Değerlendirilmesi	42
2.3.5 Stabilite Testi	43
2.3.6 Reolojik Testler	43
3 BULGULAR	44
3.1 <i>Euphorbia nicaeensis</i> all. subsp. <i>glareosa</i> (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. <i>lasiocarpa</i> Boiss Türünde İzolasyon Çalışmaları	44
3.2 <i>Euphorbia nicaeensis</i> all. subsp. <i>glareosa</i> (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. <i>lasiocarpa</i> Boiss Türünden İzole Edilen Flavanoid	46
3.3 Etkin madde üzerine yapılan fizikokimyasal incelemelere ait bulgular	48
3.3.1 Etkin maddenin UV spektrumuna ait bulgular	48
3.4 Spektrofotometrik miktar tayininde kullanılmak üzere standart eğrinin hazırlanmasına ait bulgular	48
3.4.1 Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid spektrofotometrik miktar tayininde kullanılmak üzere pH 7.4 fosfat tamponundaki kalibrasyon doğrusunun çizilmesine ait bulgular	48
3.5 Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonuna ait bulgular	49
3.5.1 Doğrusallık	49
3.5.2 Doğruluk	49

3.5.3 Kesinlik	50
<i>Tekrar edilebilirlik</i>	50
<i>Tekrar elde edilebilirlik</i>	51
3.5.4 Özgünlük	51
3.6 Sitotoksosite Testi	51
3.6.1 Jel formülasyonunun hazırlanmasına ait bulgular	51
3.6.2 <i>Euphorbia nicaeensis</i> all. subsp. <i>glareosa</i> (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. <i>lasiocarpa</i> Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun hazırlanmasına ait bulgular	52
3.7 <i>In vitro</i> salın sonuçlarının değerlendirilmesine ait bulgular	52
3.8 Stabilite testine ait bulgular	52
3.9 Reolojik testlere ait bulgular	53
3.9.1 Akış testine ait bulguları	53
3.9.2 Vizkozite ölçümleri bulguları	56
4 TARTIŞMA	59
5 SONUÇ	63
6 KAYNAKLAR	64
7 ÖZGEÇMİŞ	74

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Derinin tabakaları (3).	3
Şekil 2. Etkin maddenin deriden geçiş yolları (13).	7
Şekil 3. Yara iyileşmesi tipleri (24).	11
Şekil 4. Yara iyileşmesi aşamaları (19)	13
Şekil 5. Ksantan kimyasal formülü (74).	23
Şekil 6. Skleroglukan kimyasal formülü (75).	24
Şekil 7. Pullulan kimyasal açık formülü (78).	25
Şekil 8. Plastik akış eğrileri (86).	28
Şekil 9. Psödoplastik akış eğrileri (86).	29
Şekil 10. Dilatant akış eğrileri (86).	29
Şekil 11. Herbarium örneği	35
Şekil 12. 'B' Ana kolon.	37
Şekil 13. Diyaliz torbası metodu.	42
Şekil 14. B kolonu İ.T.K profili 90: 10 (CHCl <sub>3</sub> :MeOH).	44
Şekil 15. A 93- 97 saf molekül İTK.	45
Şekil 16. A 93- 97 366 nm saf molekül İTK.	45
Şekil 17. Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid kimyasal formülü.	46
Şekil 18. A1 molekülü (Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid) <sup>1</sup> H-NMR spekturumu.	47
Şekil 19. UV spekturumu.	48
Şekil 20. Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid 270 nm dalga boyunda pH 7.4 fosfat tamponundaki standart eğrisi.	49
Şekil 21. Hazırlanan Euphorbia nicaeensis all. Ssp. glareosa (Pall. Ex Bieb) A.R. SMITH var. lasiocarpa Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun ait <i>in vitro</i> salım grafiği.	52
Şekil 22. 0.-1.-3.-6. aylar 25°C plasebo jel akış grafiği.	53
Şekil 23. 0.-1.-3.-6. aylar 40°C plasebo jel akış grafiği.	54
Şekil 24. 0-1-3-6. aylar 25°C ve 40°C plasebo jel akış karşılaştırma grafiği.	54
Şekil 25. 1-3-6. aylar 25°C etkin madde jel akış grafiği.	54
Şekil 26. 1-3-6. aylar 40°C etkin madde jel akış grafiği.	55
Şekil 27. 1-3-6. aylar 25°C ve 40°C etkin madde jel akış karşılaştırma grafiği.	55
Şekil 28. 1-3-6. aylar 25°C ve 40°C etkin madde ve plasebo jel akış karşılaştırma grafiği.	55

Şekil 29. 0.-1.-3.-6. aylar 25°C plasebo jel viskozite grafiği.	56
Şekil 30. 0.-1.-3.-6. aylar 40°C plasebo jel viskozite grafiği.	56
Şekil 31. 0-1-3-6. aylar 25°C ve 40°C plasebo jel viskozite karşılaştırma grafiği.	57
Şekil 32. 1-3-6. aylar 25°C etkin madde jel viskozite grafiği.	57
Şekil 33. 1-3-6. aylar 40°C etkin madde jel viskozite grafiği.	57
Şekil 34. 1-3-6. aylar 25°C ve 40°C etkin madde jel viskozite karşılaştırma grafiği.	58
Şekil 35. 0.-1.-3.-6. aylar 25°C- 40°C etkin ve plasebo jel viskozite karşılaştırma grafiği.	58

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: pH 7.4 fosfat tamponunda yapılan doğruluk ve geri elde edilebilirlik testine ait veriler.	50
Tablo 2. pH 7.4 fosfat tamponundaki tekrar edilebilirlik çalışmasına ait absorban değerleri.	50
Tablo 3. pH 7.4 fosfat tamponundaki tekrar elde edilebilirlik çalışmasına ait absorban değerleri.	51

## KISALTMALAR

Potasyum dihidrojen fosfat	$\text{KH}_2\text{PO}_4$
Sodyum hidroksit	NaOH
Metanol	MeOH
İnce Tabaka Kromatografisi	İTK
Stratum corneum	SC
Ultraviöle	UV
Amerikan Farmakope	USP
İngiliz Farmakopesi	BP
$\text{EC}_{50}$	Etkili Konsantrasyon



## GİRİŞ

Yara canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi travma ile başlatılan sistematik, hücresel ve biyokimyasal olayların yeni doku oluşumu ile sonuçlanmasıdır. Yara iyileşmesinin temel prensibi doku hasarını en aza indirmek, yeterli doku perfüzyon ve oksijenlenmesini, bunun yanı sıra dokunun düzgün beslenmesini ve nemlenmesini sağlamaktır. Yara kısmi ve tam kalınlıkta yaralar olarak sınıflandırıldığı gibi akut ve kronik yara, açık ve kapalı yara olarak da ayrılmaktadır. Yara açık ise deri altı dokular da açıkta kalır ve atmosferle temas halindedir. Bu durumdan doku ve hücreler olumsuz etkilenirler. Kısa sürede deri ile kapatılmazsa enfeksiyon, doku kuruluğu, eritrosit, lökosit, protein v.s. kaybı gibi bazı olumsuz faktörler yara iyileşmesini etkiler. Yara iyileşmesi çok fonksiyonlu fizyolojik bir olaydır. Hücresel ve biyokimyasal komponentlerin dışında çeşitli enzimatik yollar da iyileşmeye yardımcı olmaktadır. Doğal ve sentetik jel tipi formülasyonlar, film/ membranlar, kompozitler, mikro/nanopartiküler sistemler yara iyileşmesi için geliştirilmiştir ve klinikte kullanılmaktadır.

İnsanoğlu ilk çağlarda, hastalıkları iyileştirebilmek için tabiata ve hayvanlara özellikle de bitkilere yönelmiştir. Sınama yanılma yöntemi ile bazen etkili ilaçlar bulup onlardan istifade etmiştir. Bu bitkisel kaynakların kullanılmasındaki amaç kolay bulunabilmesi ve ucuz olmasıdır. Yara iyileştirici olarak kullanılan bitkiler arasına *Euphorbia* cinsi de yer almaktadır. Ayrıca *Euphorbia* cinsinin yapılan araştırmalar sayesinde önemli tıbbi ve ekonomik değerinin olduğu bilinmektedir. Tedavi amaçlı kullanımları arasında bronşit, astım ve romatizmaya karşı, anti-kanser, anti-tümör, analjezik olarak ve siğillerin tedavisinde kullanıldığı yapılan bu çalışmalar ile görülmüştür. Ayrıca bu cinsin biyolojik olarak aktif diterpen grupları içerdiği bilinmektedir. Yara iyileştirici olarak kullanılan *Euphorbia* türlerine örnek olarak *Euphorbia heterophylla* ve *Euphorbia hirta* verilebilmektedir. Bu türlerin yara iyileştirici özelliklerinden hareketle *Euphorbia* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

# **1 GENEL BİLGİLER**

## **1.1 İnsan Derisi ile İlgili Bilgiler**

### **1.1.1 İnsan Derisi**

Etkin maddelerin sistemik (transdermal) ya da lokal (dermal) etki için deri yoluyla uygulamalarında geçişi sınırlandıran en önemli etkeni derinin kendine özgü yapısıdır. Bu nedenle etkin madde içersin ya da içermesin formülasyonlar geliştirilirken derinin yapısının ve özelliklerinin iyi bilinmesi gereklidir.

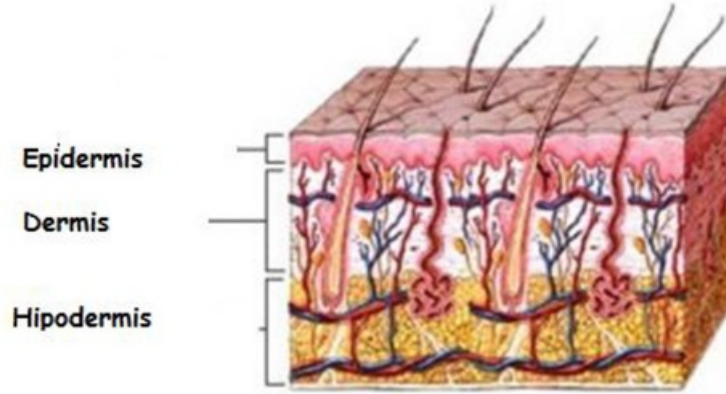
Deri yaklaşık 1.8- 2 m<sup>2</sup> yüzey alanı ve 9 kg ağırlığı ile (yaklaşık vücut ağırlığının %16'sı) vücudun en büyük organıdır. Yaklaşık 0.5- 3 mm kalınlığındadır. Uyarıları algılayabilecek derecede ince ve hareket etmeye imkan verecek kadar esnek bir yapısı vardır. Vücut sıcaklığının korunmasında bir termostat işlevi görmektedir ve kan basıncını denetlemede de görevlidir. Ayrıca UV ışınlarına karşı koruma sağlamaktadır. Derinin yüzeyi bir asit mantosu ile kaplıdır ve pH'ı 5.2- 5.6 arasındadır. Yaklaşık olarak 1 mg / g doku oranında yüksek miktarda kalsiyum iyonu içerir (1).

İnsan derisi ektoderm ve mezoderm embriyolojik tabakalarından köken almıştır. İnsan derisi 3 ana tabakadan oluşmaktadır: Epidermis, Dermis ve Hipodermis. Bazı bilim adamları, yağ bezleri ve bunlardan salgılanan yağlar ve yağların oluşturduğu lipofilik tabakanın dördüncü yani en dış tabakayı oluşturduğunu bildirmektedir (2)

### **1.1.2 Derinin Bölümleri**

Derinin tabakaları (Şekil 1) genel olarak 3 tabakadan oluşmaktadır (3).

- \* Epidermis
- \* Dermis
- \* Hipodermis



**Şekil 1.** Derinin tabakaları (3).

#### 1.1.2.1 Epidermis

Epidermis sürekli kendini yenileyebilme özelliğine sahip hücrelerden oluşmuş derinin en üst tabakasıdır ve 5 tabakadan oluşur. Bu tabakalar dıştan içe doğru,

- Stratum corneum (SC)
- Stratum lucidum (SL)
- Stratum granulosum (SG)
- Stratum spinosum (SS)
- Stratum basale = Stratum germinativum (4).

Epidermisin en üst tabakası olan SC, 10- 20 µm kalınlıkta, yassı, ölü, çekirdeksiz ve protein bakımından zengin korneosit hücrelerden oluşmaktadır. Korneosit 0.5 µm kalınlığında ve 30- 40 µm genişliğindedir. Korneositlerin %80'i keratin, %15'i seramitler, serbest steroller, serbest yağ asitleri ve trigliseritler gibi nötral lipidlerden, bunun dışında fosfolipidler, glikofosfolipidler ve kolestrol sülfat gibi lipid grupları içeren lipit tabakasından ve %5'i tanımlanamayan maddelerden oluşmaktadır. Keranositler, korneositlere dönüşür ve korneositlerin dökülmesi ile SC yaklaşık her iki haftada bir yenilenmektedir. SC tabakası hidrofilik ve lipofilik tabakalarından oluşan heterojen yapıya sahiptir (5).

Stratum lucidum, kalın deride daha belirgin olup, yassı eozinofilik hücrelerin oluşturduğu yarı geçirgen ince bir tabakadır. Hücreler çekirdeklerini ve organlarını stratum lucidum tabakasında kaybetmeye başladıklarından bu tabakada organeller ve nukleuslar artık belirgin değildir.

Stratum granulosum, pırlanta şeklinde olan hücrelerden oluşur. Bu hücrelerin sitoplazmaları kalın granüller şeklinde görülmektedir. Bu tabaka ismini granüler yapısından dolayı alır. Keratin maddesinin büyük bir bölümü ve yapısal proteinlerin üretiminin büyük bir kısmı bu tabakada yapılmaktadır.

Stratum spinosum, tek sıralı hücrelerden oluşmuştur. Fosfolipidler, gliserol ve serbest yağ asitlerine, glikosilseramidler de seramidlere bu tabakada parçalanır (7).

En alt tabakada stratum basale, prizmatik hücreler ve buna komşu olan poligonal olan hücrelerden oluşmaktadır. Bu tabakadaki hücreler metabolik olarak aktiftir ve mitoz bölünme geçirerek varolan hücreleri üst tabakalara itmekteler (8).

Epidermiste 3 tip özel hücre bulunur. Bunlar;

- Melanositler, melanin pigmentinin üretimini sağlar. Melaninler UV radyasyonu absorplar ve serbest radikal yakalama özelliğine sahiptir. Deriyi UV ışınlarına karşı korumakta görevlidir.
- Langerhans adacıkları, deride immün sistem ile savunmada görev almaktadır.
- Merkel hücrelerinin görevi ise nöroektodermal kökenli dokunma hücreleridir (9).

### **1.1.2.2 Dermis**

Bu tabaka 2- 3 mm kalınlığında, yapısında elastik, kollajen lifleri ve retiküler lifler barındıran ağ yapısında, su, iyonlar ve mukopolisakkaritler içeren yarı jel matriks sistemidir. Bu matriksin varoluşu ile oksijen ve besinler epidermis tabakasına difüze olmaktadır ve dermis toksinlerin atımında da görevi vardır. Geniş kan damarları ve sinir ağları, kıl folikülleri, ter ve yağ bezleri içerir. Yağ bezleri, kıl foliküllerinin altında bulunur ve sebum oluşmasını sağlar. Sebum içeriğinde, trigliseritler, yağ asitleri ve mumlar bulunur. Bu yüzden sebum deriyi kayganlaştırır ve deri pH'nın 5 dolaylarında olmasını sağlamaktadır (6, 10, 11).

### **1.1.2.3 Hipodermis**

Bu tabakadaki hücreler çok miktarda yağ içermektedir. Yağ hücreleri arasında bulunan tip III kollajen (retiküler), derinin alt tabakaları ile epidermis ve dermis tabakaları arasındaki bağlantıyı sağlamaktadır. Hipodermiste, sinirler ve daha büyük kan damarları bulunmaktadır. Adipositlerin görevi ise enerji depolamaktır ve vücut sıcaklığının düzenlenmesinde rol alırlar (12).

### **1.1.3 Derinin Fizyolojisi**

#### **1.1.3.1 Derinin Geçirgenliği**

Etken maddenin deriden iç kısımlara geçme hızı; küçük molekül ve çözünürlükte, tuzdan çok serbest halde olması, pH'sının yüksek olması ile artış göstermektedir.

Derideki proteinler ve lipidlerin fazlalığı derinin geçirgenliğini azaltmaktadır ve iyonlar sadece elektrik akımı varlığında deriden geçebilmektedir. Elektrolit olmayan maddelerin geçişi ise partiyon katsayısına bağlıdır. Deride maddelerin geçişini, difüzyonunu kontrol eden sistem epidermis tabakasında bulunur. Derideki su geçişini kontrol eden sistem, Rein engelidir ve SC'un altında bulunmaktadır.

#### **1.1.3.2 Derinin pH'ı**

Genellikle asidik özelliğe sahip olup, pH 4- 6 arasında değişir. pH değişiminin nedeni oksijensiz solunum sonucu oluşan laktik asitin terleme yoluyla deriden atılmasıdır. Bir başka sebep de mikroorganizmaların deri üzerindeki faaliyetleridir. Deri üzerindeki asitler asit manto oluşturur ve deriyi dış etkenlere karşı korur. Derinin bakteri ve mantar üremesini engelleyen tamponlayıcı kapasitesine 'acidemanthe' denir.

#### **1.1.3.3 Derideki Suyun Rolü**

Stratum corneum'un (SC) esnekliği; lipidlerin, suda çözünen maddelerin ve suyun doğru dengesine bağlıdır. En içteki tabakalar yüksek oranda su içermekteyken, en dışta bulunan tabakaların ortamdaki rölatif neme bağlı bir su düzeyine sahip oldukları düşünülmektedir.

Derinin nem kaybı, havanın nem ve ısısına bağlıdır. Ancak; deri, en kuru havada bile sebum ve mumsu maddeleri tarafından korunduğu için tamamen kurumaz.

#### **1.1.3.4 Derinin Görevleri**

##### *A. İç Etkenlere Karşı Koruma*

Deri ter bezleri aracılığı ile organizmayı toksinlerden temizler. Vücut ısısını düzenler.

##### *B. Dış Etkenlere Karşı Koruma*

Epidermis sürekli mitoz bölünmelerle yenilenir ve canlılığını kaybeden hücreler yüzeyden dökülür. Böylece deri yüzeyinde bulunan mikroorganizmalar döküntülerle birlikte vücuttan atılmış olur. Işık, UV, travma elektrik ve nem gibi fiziksel etkenlere karşı vücudu korumak derinin görevlerindedir. Epidermisin yüzeyinde bulunan keratin ve lipidler, kimyasal etkenlere karşı deriyi korumakta görevlidir.

##### *C. Emilim*

Epidermis tabakası vücudun farklı bölgelerinde değişik geçirgenlik özelliğine sahiptir. Deri maddelerin emilimine direnç göstermektedir. Sadece bazı maddelerin geçişine izin vermektedir. Bu özelliği tedavide yarar sağlamaktadır.

##### *D. Depolama*

Deri altında bulunun yağ tabakası, doğal yağ deposudur. Vücuttaki suyun önemli bir kısmı da deride bulunmaktadır ki önemli bir su deposu olarak işlev görür. Derinin tabakalarında bulunan kan damar ağı sayesinde büyük bir kan deposu konumundadır.

##### *E. Hissetme*

Serbest sinir uçlarına sahip olması deriyi önemli bir duyu organı yapmaktadır.

##### *F. Diğer görevler*

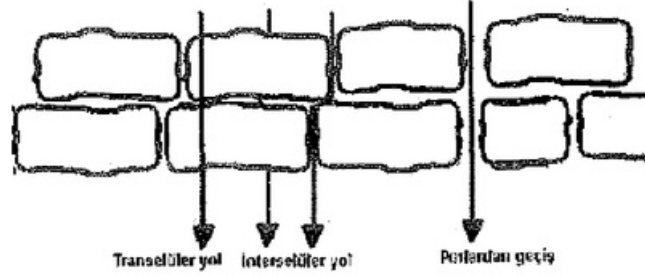
D vitamini sentezi derinin en önemli görevlerindedir. Ayrıca statik elektriğin boşaltılması, kozmetik olarak dış dünya ile iletişimin sağlanması da önemli işlevleri arasındadır (13).

#### 1.1.4 İlaçların Deriden Geçiş Yolları

Deriden ilaçların geçişinde etkin madde ve yardımcı madde özellikleri, hazırlanan formülasyon ve formülasyon hazırlanırken kullanılan aletlerin önemi vardır. İlk aşama SC'nin dış tabakasından ilaç partisionudur. İkinci aşama epidermisten pasif difüzyonla geçmesi, üçüncü aşama ise ilaçların dermise penetrasyondur. Sonuçta ilaçlar deri altındaki damarlar tarafından emildikten sonra sistemik dolaşıma katılmaktadır (14, 15).

Etkin maddelerin deriden geçişi için 3 değişik yol bulunmaktadır.

- 1) Porlardan ya da boşluklardan geçiş
- 2) Transselüler yol (hücreleriçi geçiş)
- 3) İnterselüler yol (hücrelerarası geçiş)



Şekil 2. Etkin maddenin deriden geçiş yolları (13).

##### 1.1.4.1 Porlardan ya da boşluklardan geçiş

Polar yol olarak bilinen bu yol (transsappendagel pathway), kıl folikülü ve ter bezi yoluyla ana bariyeri geçen molekül için düşük dirençli kısa yan geçittir (shunt). Bu yol su dolu ter kanallarına girebilen, yüksek derecede suda çözünebilen ve polar maddeler (elektrolitler gibi) için önemli bir geçiş yoludur. Bu yolun ilaçların elektrik akımıyla (iyontoforez) geçişi için önemli olduğu bulunmuştur (13).

#### **1.1.4.2 Transselüler Yol (Hücreleriçi Geçiş)**

Bu geçiş yolunda madde bariyer hücrelerin içerisinden geçmektedir. Hücreler büyük ölçüde korneositlerden oluşmuştur. Keratin ve keratohiyalin bu hücrelerin hemen hemen geçirmez özellikte olmasını sağlamaktadır. Bu yoldan polar olmayan maddeler daha iyi geçebilmektedir (16).

#### **1.1.4.3 İnterselüler Yol (Hücrelerarası Geçiş)**

SC'ü transselüler yolla geçmek için madde membrandaki lipit ve protein moleküller ile etkileşmektedir. Eğer interselüler yol baskın ise, madde ile korneositler arasında lipit tabakaların içinden bile geçebilir. Oktanel/ su dağılım katsayısına bağlı olarak çalışmalar interselüler yolun penetrasyonu ana yolu olduğunu desteklemektedir (16).

#### **1.1.5 Deriden Geçiş Etkileyen Faktörler**

Deriden ilaç absorpsiyon hızını etkileyen faktörler biyolojik ve fizikokimyasal olarak iki grup altında toplanabilir. Biyolojik faktörlere derinin yaşı, metabolizması, durumu, bölgesel farklılıkları, kan dolaşımının etkisi ve canlı türü farklılıkları bulunmaktadır. Fizikokimyasal faktörler; etkin maddenin çözünürlüğü ve moleküler özellikleri, etkin madde- deri etkileşimi, iyonizasyon derecesi farkı ve etkin madde konsantrasyon etkisi sayılmaktadır (17, 18).

### **1.2 Yara**

#### **1.2.1 Yara Tanımı**

Yara; doku devamlılığının bozulması, dokuların tahrip olması ya da kesintiye uğraması olarak tanımlanmaktadır. Açık yaralarda derinin eksilmesinden bahsedilmektedir. Yara açılana kadar deri örtüsü altında yaşamaya devam eden dokular açıkta kalırlar ve daha sonra atmosferle temas halindedir (19).



### 1.2.2 Yara Çeşitleri

Yaralar; açık ve kapalı olmak üzere iki büyük sınıfa ayrılmaktadır. Açık yaralar; kesik (insizyon) yaralar, ısırık ve sokmalar, batıcı yaralar, lasere ve ezik yaralar, yanıklar olmak üzere belirtilmektedir. Kapalı yaralar ise; ezilme (kontüzyon), sıyrık, burkulma ve hematom olarak örneklendirilebilmektedir (20).

### 1.2.3 Yara Nedenleri

Derinin bütünlüğünü bozan olaylar ekzojen ve endojen olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen nedenlerle oluşan durumlarda genellikle sorumlu yapı periferik sistem, damar sistemi ya da derinin yapısında herhangi bir değişiklik oluşturan durumlardır. Ekzojen olaylar ise dışarıdan gelen olaylardır ve bu sebepler nedeni ile doku bütünlüğünün bozulmasıdır. Bunlar mekanik, fiziksel ya da kimyasal etkenlerle oluşmaktadır (20).

### 1.2.4 Yara İyileşmesi İle İlgili Tanımlar

Canlıların, yaraları tamir edebilme yetenekleri vardır ve birbirlerinden farklıdır. Yara iyileşmesi, belli bir düzen ve süre içinde biyolojik olayların gerçekleşmesiyle oluşmaktadır. Yaralanma tipi ne olursa olsun temel amaç, yaralanan dokunun en kısa sürede komplikasyon oluşmadan iyileştirilmesidir (21).

Rejenerasyon; zedelenen dokunun yine aynı hücrelerle iyileşmesidir. Reparasyon ise bağ doku hücreleri ile iyileşmedir. Kan hücreleri ve epidermis gibi hücrelerin belirli aralıklarla kendini yenilemesi olayına da fizyolojik rejenerasyon denmektedir (22).

Yara kontraksiyonu (büzüşme); çevre dokuların yara merkezine doğru ilerlemesi ve yarayı kaplaması olarak tanımlanmaktadır. Bu süreci tanımlayan hücreler miyofibroblast hücreleridir. Yaraya yakın bazal hücrelerin proliferasyonu ve göçü ile yaranın epitelyum hücreleri ile örtülmesi sağlanmaktadır Bu olaylar yara iyileşmesinde doğal bir süreçtir (23).

Yara direnci, yara dudaklarının birbirinden uzaklaşmasına neden olan açılma direnci ve yara bölgesinin her milimetrekaresine uygulanan kilogram yüke karşı koyabilen direnç kapasitesi olarak tanımlanmaktadır. Travmanın yaygınlığı, beslenme bozuklukları ve enfeksiyon varlığı gibi yara iyileşmesini etkileyen bir çok etken yara direncini de etkilemektedir. Yüksek yoğunlukta antiseptik kullanımı proteinleri koagüle ettiği için yara direncini olumsuz yönde etkilemektedir (24).

Skar dokusu, normal iyileşen yarada oluşan skar fizyolojik skardır. Anaromak skar da patolojik skardır. Kontrolsüz iyileşen patolojik skar iki türlü olur. İkinci ve üçüncü derece yanıklarda gözlenen, kollajen içeriği fazla olan ve yara sınırları normal dokulara taşmayan 'hipertrofik skarlar' ve sık gözlenmeyen normal dokuya taşıp, oluşan yaradan daha büyük bir skar meydana gelmesi ile karakterize olan 'keloidler' dir (19)

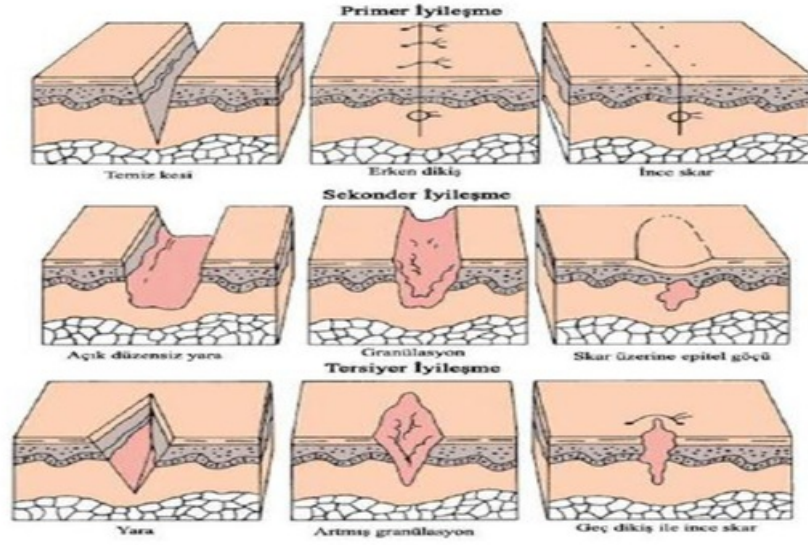
### **1.2.5 Yara İyileşmesi Tipleri**

Yara iyileşmesi primer, sekonder ve tersiyer olarak üç şekilde gerçekleşmektedir (21).

Primer iyileşme; kesinin temiz aletlerle ya da ameliyatlarda yapılan kesilerin sütüre edilmesiyle oluşan yaranın, az skar oluşturarak iyileşmesi olarak tanımlanır. Bu tip iyileşmelerde doku kaybı olmamaktadır. En az miktarda ödemle, çok ince bir skarla enfeksiyon olmadan yara dudakları birbirine yaklaştırılarak birleşme sağlanır.

Sekonder iyileşme; sütür konulmadan iyileşmeye bırakılan yaralar ile sütürlerin açılmış ve kenarları birbirinden ayrılmış ameliyat yaralarının iyileşmesi olarak tanımlanmaktadır. Granülasyon dokusu önemli rol almaktadır. Bu doku, yara dudak hizasına gelinceye kadar yara boşluğunu doldurur. Yaranın kenarlarının birbirinden uzaklığına ve derinliğine bağlı olarak iyileşme süresi de değişmektedir. Sekonder iyileşmede primere göre, daha fazla granülasyon dokusu oluşur, inflamatuvar faz daha uzun sürer, daha fazla kontraksiyon olur ve iyileşme daha yavaş şekilde ilerler.

Tersiyer iyileşme; gecikmiş primer iyileşme olarak da tanımlanmaktadır. Sekonder iyileşmeye bırakılan yaranın kapatılmaya engel hali ortadan kalktıktan sonra primer iyileşmede olduğu gibi sütüre edilerek kapatılmasıdır (22).



Şekil 3. Yara iyileşmesi tipleri (25).

### 1.2.6 Yara İyileşmesi Evreleri

Yara iyileşmesi üç önemli evrede gerçekleşir. Bunlar; inflamatuvar evre, proliferatif evre ve matürasyon evresidir. Yaralanmadan hemen sonra başlayan homeostazda trombositler görev alırken, yaralanmanın 1- 4. günleri arasındaki inflamasyon evresinde nötrofiller- makrofajlar, yaralanmanın 4- 21. günleri arasında proliferasyon evresinde makrofajlar, lenfositler ve fibroblastlar, matürasyon (remodelizasyon) evresinde ise fibroblastlar görev almaktadır.

Doğal iyileşme sürecinde; yara kenarlarından salgılanan maddeler, damar ve hücrelerarası değişimler başlamaktadır. Kanamayı kontrol altına alarak enfeksiyonu engellemektedir. İyileşme işleminin etkili ve verimli olması, yaralanan bölgeye, yaranın büyüklüğüne ve ciddiyetine göre farklılık gösterse de iyileşme sürecindeki olayların sırası değişmemektedir. (20).

### A. Hemostaz ve İnflamasyon

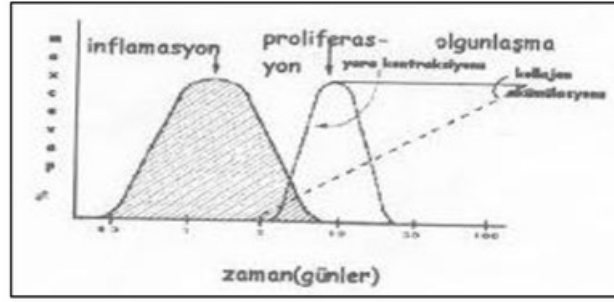
Yaralanma sonucu oluşan doku hasarı damar duvarını etkileyerek vazokonstrüksiyona neden olmaktadır. Trombositler doku hasarı olan bölgeye giderek yara yüzeyine yapışır ve burada pıhtı oluşturur. Protrombin aktivatörü protrombinin trombine dönüşümünü, daha sonraki aşamada ise fibrinojenin fibrine dönüşünü hızlandırır. Fibrin, plazma, trombosit ve kan hücreleriyle karışarak pıhtı oluşturur. Başlangıçta görülen vazokonstrüksiyon daha sonra oluşan vazodilatasyon kapiller geçirgenliğini artırır ve sıvı doku içersine geçer. Hemostaz sırasında oluşan fibrin lenf sisteminde depolanarak lenfatik blokaja yol açar ve sonuçta yarada kızarıklık, ödem ve ateş gibi inflamasyonun lokal belirtileri görülmektedir (20).

### B. Proliferasyon

Yaralanmadan birkaç saat sonra başlar ve haftalarca devam edebilmektedir. Bu fazda, yara bölgesinde toplanan sıvı yeni doku ile replase edilir ve hücre büyümesi olur. Yarada nekrotik doku ya da yabancı maddenin varlığı hücre yenilenme süresini uzatmaktadır. Yara bölgesinde epitelyum hücreler yeniden oluşmaya başlar ve yaranın üzerini örterek onu çevreden gelebilecek etkilerden korurken; elektrolit, sıvı kaybını ve bakterilerin girişini engeller ve daha sonra yeni dokunun sağlamlığını sağlayan kollajen oluşumu başlatmaktadır. Yeni damarlanma ya da kapiller büyüme, yara boşluğunu dolduracak granülasyon dokusunun oluşmasını sağlamaktadır. Yeni oluşan dokunun kapillerinin ince olması, onu zedelenmelere karşı duyarlı duruma getirir ve korunması çok önemlidir. Yaralanan dokuda, yeni dokunun büyümesi için oksijen ve besin sağlayan damarların sayısındaki artış nedeni ile granülasyon dokusunun rengi koyu pembe olur. Proliferasyon fazının sonunda, yara kenarları kasılarak nedbe oluşturmak üzere birbirlerine yaklaşır (20).

### C. Remedelling

Yaranın eski halini almasıdır. Yaralanmanın ciddiyetine, iyileşme sürecinde bazı olumsuzlukların varlığına ve beslenmeye göre farklılıklar göstermektedir. Nedbelerin rengi, büyüklüğü ve sertliği damarlanma azaldıkça değişerek zamanla yeni doku oluşur ve kollajen üretimi ile bağ dokusu oluşur. Nedbenin kırmızı ya da pembe olan rengi açılarak, kapladığı alan daralır. Nedbenin sağlamlığı yeniden şekillenme fazında artmasına karşılık hiçbir zaman yaralanma öncesi eski gücüne ulaşamamaktadır (20).



Şekil 4. Yara iyileşmesi aşamaları (19)

### 1.2.7 Yara iyileşmesinin histopatolojisi

Yaralanma sonrası ortaya çıkan yara boşluğu fibrin, eritrosit ve lökosit içeren kan pıhtısı ile dolarken iyileşme erken dönemde inflamasyon ile başlamaktadır. Makrofajlar mikroorganizmaları ve yaralanmadan dolayı oluşan ölü parankim hücreleri ortadan kaldırır. Genellikle 3.- 5. güne kadar bazende 24 saat gibi kısa bir süre içinde fibroblastlar ve damar endotel hücrelere proliferasyon olarak yara iyileşmesinin temel özelliğini gösteren özel bir tip dokuyu olan “granülasyon dokusunu” meydana getirirler. Yara dokusunda oluşan granüllerin her biri yeni bir kapiller vasküler yumağını temsil etmektedir. Tomurcuklanma olayı sayesinde ise eski damarlardan yeni damarlar oluşur (26). Oluşan bu damarlar geçirdir. Protein ve eritrositler yani kan hücrelerinin hücreler arası boşluğa çıkmasına izin verirler (27). İyileşmeye başlayan bu dokularda akut inflamasyon olduğu halde görünen ödemin sebebi ise geçirgenlikten kaynaklanmaktadır. Granülasyon dokusunda fazla miktarda granüler endoplazmik retikulum bulunmaktadır (28). Granülasyon dokusunda hemen her zaman makrofajlara ek olarak mast hücreleri, nötrofiller, eozinofiller ve lenfositler de görülür. İyileşme durumu ilerledikçe kollajen miktarında artma gerçekleşir. Fibroblast ve damar sayısında azalma görülür. Oluşan yeni damarların büyük bir kısmında dejenerasyon ve trombozis gelişir. Sonuçta granülasyon dokusu inaktif görünümünde içi şeklinde fibroblastlar, yoğun kollajen demetleri, elastik doku parçalarına, ekstrasellüler matriks ve az sayıda damardan oluşan skar dokusuna dönüşmektedir.

## 1.2.8 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesi; yaş, enfeksiyonlar, hormonal faktörler, protein, diyabet, vitamin, iz element eksiklikleri, kronik veya akut hastalık tedavisinde kullanılan ilaçlar ve sistemik hastalıklar gibi çok fazla etmene bağlı olabilmektedir (29).

Çocuklar ve genç erişkinlerde yara iyileşmesi oldukça hızlıdır ve skar gelişimi görülmektedir. Embriyonik dönemde immün sistemin az gelişmesi sonucu inflamatuvar yanıtın ve büyüme faktörü miktarlarının az olması sebebi ile skar dokusu oluşmaz veya en az miktarda gözlemlenebilir. Yaşlanmaya bağlı olarak yara iyileşme hızı yavaşlamaktadır (30).

Hormon denge ve düzeylerini değişimine bağlı olarak yara iyileşmesi hızında ve aynı zamanda skar gelişime durumlarında farklılıklar vardır. Cinsiyet farklılığından kaynaklanan östrojen miktarının da yara iyileşmesine etkisi bulunmaktadır. Menapoz öncesi ve sonrası dönemde de bu hormonun etkisi büyüktür. Östrojen hormonu iyileşme hızını azaltırken, testosteron ve de özellikle dihidrotestosteron iyileşme hızını azaltmaktadır (29, 31).

Yara yerinde enfeksiyon oluşumu yara iyileşmesi sürecinin uzamasına sebep olmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda, enfeksiyonun belli düzeye kadar iyileşmeyi arttırmasının yara iyileşmesi hızına olumlu düzeyde katkıda bulunduğunu belirtmişse de bunun tam aksine uzun süren enfeksiyonların iyileşme hızını azalttığı belirtilmiştir (32).

Diyabetik hastalarda yara iyileşmesinin geç oluşu bilimsel olarak kanıtlanmış bir durumdur. Bu tip hastalarda yaraların geç iyileşmesine etki eden birçok etken vardır. Bunlar; mikrovasküler hasarların varlığı, kan viskozitesinde artış, humoral ve hücrel immünite zafiyeti ve enfeksiyon risklerindeki artış örnek olarak sayılabilir (33).

Birçok hastalık yara iyileşmesi sürecinde gecikmelere yol açmaktadır. Bu hastalıklara örnek olarak; Cushing sendromu, kanama bozuklukları ile seyreden hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer ve böbrek yetmezlikleri, otoimmün hastalıklar, Ehler- Danlos Sendromu verilebilir (34). Yine aynı şekilde protein eksiklikleri yara iyileşmesinde gerekli olan aminoasit desteğinin eksik kalmasına neden olmakta, bu da epitelizasyon ve inflamasyon sürecine olumsuz olarak yansımaktadır (35).

İnsan vücudunda yapıcı ve onarıcı görev alan vitaminlerin eksikliği de yara iyileşmesi basamaklarında önemli yer tutmaktadır. C vitamini eksikliğinde kollajen sentezinde ve inflamasyon sürecinde aksaklıklar oluşmaktadır. A vitamini epitelizasyon ve kollajen sentezinden sorumlu olduğu için eksikliğinde epitelizasyon gecikmektedir. K vitamini pıhtılaşma faktörleri için kofaktör olduğundan, bu vitamin eksikliği olan bireylerde kanamanın durması ve pıhtılaşma mekanizması bozulurken, kişi enfeksiyona açık bir hale gelmektedir (36).

Biyolojik olarak mikroelementlerden olan çinko ve demir eksikliklerinde de yara iyileşmesinde gecikmeler görülmektedir. Aşırı miktardaki çinko eksikliğinde yara iyileşmesinde gecikme ve enfeksiyonlara yatkınlık gibi durumlar söz konusu olabilmektedir. Yine aynı şekilde demir eksikliğinden kaynaklanan anemi sonucunda dokuda hipoksi gelişmekte ve bu durum da yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir (36).

Bazı ilaçların sistemik ve lokal uygulanması, radyoterapi gibi etkenler sonucunda yara iyileşmesi olumsuz etkilenebilmekte ve süreç uzamaktadır. Bu duruma sebep olan ajanlar arasında tetrasiklin, penisilin, penisilamin, gentamisin, kloramfenikol gibi antibiyotikler, nikotin, non-steroid antiinflamatuvarlar, kolşisin, bazı topikal hemostatik ajanlar ve steroidler, immünsupresif, kemoteropatik ajanlar sayılabilmektedir (34, 35, 37 ).

### 1.2.9 Yara Tedavisi

Tedavi yaklaşımı, yara oluşumuna göre olmalıdır. Kronik yara oluşu ya da kişinin özellikleri (yaş, cinsiyet, meslek ve diğer medikal problemler) değerlendirilmeli, bunun yanında da yaranın gelişim öyküsü dikkate alınmalıdır. Yara tedavisinde şu aşamalar yer almaktadır;

- yaraya yol açan nedenin düzeltilmesi,
- olumsuz etki eden faktörlerin uzaklaştırılması, iyileşmeyi destekleyici girişimlerin yapılması,
- doğrudan yaraya yönelik yapılan girişim ve işlemler.

Elektrik akımı, lazer, ultrason, ozon tedavisi, larvalarla tedavi, vakumla tedavi, yara kapatıcı fermuar, kollajen sünger uygulaması, flep ile kalıcı yara kapatma da yara tedavisinde kullanılabilir (20).

### **1.3 Yarı Katı Sistemler**

Bir ya da daha fazla etkin maddenin, tek başına veya karışım olarak, sıvağlarda çözüldürülmesi ya da dağıtılmasıyla hazırlanan, sistemik veya lokal etki için kullanılabilen, homojen görünüşlü, katı olmalarını sağlayan kuvvet uygulanmasıyla kolayca bozulan 3 boyutlu yapıya sahip topikal ürünlerdir (38, 39).

Yarı katı preparatlar; genel bir şekli olmayan (jeller, kremler, merhemler, patlar) ve belirli şekilleri olanlar (suppozituarlar, vajinal suppozituarlar) olmak üzere sınıflandırılabilir. Avrupa Farmakopesi'ne göre ise; merhemler, jeller, kremler, patlar, yakılar ve ilaçlı plasterler olarak ayrılmıştır (39).

#### **1.3.1 Krem**

Kremler haricen uygulanmak üzere hazırlanmış emülsiyon şeklinde preparatlardır; ancak süspansiyon şeklinde olup da etkin madde içerenleri de vardır. Yağ/su ve su/yağ tipleri vardır (40, 41).

#### **1.3.2 Losyon**

Akışkan ve hidrofilik özelliği olan Y/S tipi emülsiyonlardır. Yağimsı ve yapışkan olduğu halde deride tutunma özelliğine sahip olan preparatlardır. Deri üzerinde film tabakası gözle görülmez, deriden salgıların çıkmasını engellemez ve kolayca yıkanabilmektedir (40, 41).

#### **1.3.3 Sera**

Yüksek oranda mum içeriğine sahip olan preparatlardır. Aynı merhemler gibi deriye sürülmek üzere hazırlanırlar. İhtiva ettikleri fazla orandaki mum sebebi ile deri üzerinde erimezler, bu nedenle de koruyucu amaçla doğrudan veya bir bez üzerine sürülmüş olarak uygulanırlar (40, 41).

#### **1.3.4 Pat**

Bileşiminde %50-70 oranında çözünmemiş katı madde içeren, koyu kıvamlı merhemlerdir. İçerdikleri toz maddeler dolaylı hafif kurutucu etkileri vardır (40, 41).



### 1.3.5 Merhem

Deri üzerine sürülen veya haricen kullanılan, yarı katı preparatlardır. S/Y emülsiyon olanları da mevcuttur. Sürülebilir ve yumuşaktır, uygulandıkları zaman erimeleri gerekmez. Terapötik etkili merhemlerin deriyi koruyucu ve yumuşatıcı özellikleri vardır, Bu merhemler terapötik etkiye sahip etkin maddeler içermektedir (40, 41, 42).

### 1.3.6 Jeller

Jel oluşturan bir madde veya yüksek oranda çözücü içeren, şeffaf ya da opak görünümlü yarı katı preparatlardır. USP'de jeller organik büyük moleküllerin sıvı fazda tamamen çözündüğü veya inorganik küçük molekülleri süspande halde bulunduğu yarı katı preparatlar olarak tanımlanmaktadır. Bunun yanında BP' de homojen, deriye veya bazı mukoz membranlara uygulanan preparatlar olarak da tanımlanmaktadır (43, 44).

Jel hazırlanırken doğal, sentetik ve yarı sentetik polimerler kullanılmaktadır. Zamklar, protein yapılı maddeler ve doğal kökenli olan hidrate yapılı tuzlar da jel oluşturabilme özelliğine sahiptir (43).

Jeller genellikle tek veya iki fazlı sistemler olarak sınıflandırılmaktadır. Tek fazlı sistemler, sıvı fazda tamamiyle çözülmüş organik moleküllerle hazırlanan sistemlerdir. Tek fazlı sistemlere, sentetik makromoleküller (karbomerler gibi) veya doğal zamklar (kitre zamkı gibi) içeren jeller örnek verilebilir. Müsilaj ise doğal zamklar ile hazırlanan tek fazlı jellere denmektedir. Jeller uygulama, kullanım ve temizleme kolaylığı nedeni ile ilaç ve kozmetikte çok fazla kullanılmaktadırlar (45).

Tek fazlı sistemlerde çözücü olarak çoğunlukla su kullanılmaktadır. Ancak; alkol ve mineral yağlar da bu sistemlerde tercih edilen çözücüler arasında yer almaktadır. Su kullanılarak hazırlanan jellere hidrojel, alkol ya da mineral yağ içerenlere ise organojel denmektedir (45).

İki fazlı sistemler ise inorganik küçük moleküllerin sıvı bir faz içinde üç boyutlu dayanıksız bir ağ yapısı oluşturduğu sistemlerdir. İnorganik moleküller çözünmedikleri için sıvı içersinde dağılmış şekilde bulunmaktadırlar. Alüminyum hidroksit jeli iki fazlı sistemlere örnek olarak verilebilir (46).

### 1.3.6.1 Jellerin Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler

Jelleşmeyi sağlayan polimerler; uygun bir solvan içinde disperse olduğu zaman, birbirlerine bağlanarak üç boyutlu koloidal ağ yapısı oluşturmaktadırlar. Oluşan bu ağ; sıvı akışını azaltır, jelin dayanıklılığını, deformasyonunu ve vizkozitelerini etkiler (47).

#### A. Doğal Polimerler

En sık kullanılan polimerler arasında karragen, kitre zamkı, pektin, kitosan, aljinatlar ve ksantan zamkı bulunmaktadır (48)

- *Aljinatlar*

Deniz ürünlerinin seyreltik asit muamelesi sonucu elde edilmektedirler. Üronik asit, mannuronik asit ve türevlerini içerirler (46).

- *Karragen*

Kırmızı alglerden elde edilen karragenin yapısında galaktoz ve 3, 6-anhidrogalaktoz sodyum, amonyum, kalsiyum ve magnezyum sülfat esterlerini bulunmaktadır (46).

- *Agar*

Anyonik bir polisakkarit olan agar deniz ürünlerinden elde edilmektedir. Yapısında agaroz ve agaropektin bulunmaktadır. Düşük konsantrasyonlarında (%0.1) bile kıvamlı jel oluşturabilmektedir (48).

- *Kitre Zamkı*

Astragalus türlerinden elde edilmektedir. Yapısında bassorin ve tragakantin bulunmaktadır. Hazırlanan formülasyonlarında genellikle %0.5- 3 oranında kullanılmaktadır (46, 49).

- *Pektin*

Karbonhidrat yapısında olan ve narenciye meyvelerinin kabuklarından veya elma posasının dilüe asitlerle ekstraksiyonundan elde edilen polimerdir. Müsilaj tadında, sarımsı beyaz renkte ve neredeyse kokusuz olan bir tozdur (45, 50).

- *Gellan*

Fermantasyon ile üretilen polisakkarit yapısında olan bir zamktır. Çok düşük konsantrasyonlarda (%0.05) bile jelleşme özelliği bulunmaktadır (46).

- *Kitosan*

Mantar ve bakterilerin hücre çeperleri, yengeç ve böceklerin dış iskeletlerinde doğal olarak bulunan polisakkarit yapısındaki kitinin kısmen diasetillenmiş halidir (53). Vücut ile uyumlu doğal kaynaklı bir polimerdir (55).

- *Glisirizin*

Meyan kökünden elde edilen ve glisirizik asit içeren bir polimer olup, %2 konsantrasyonunda jel oluşturabilme özelliğine sahiptir (48).

### **B. Selüloz Türevleri**

Yarı sentetik olarak selülozdan elde edilen polimerlerdir. Sodyum karboksimetilselüloz, hidroksietil selüloz, hidroksipropilmetil selüloz, hidroksipropil selüloz ve metil selüloz gibi yarı sentetik selüloz türevleri de jellerin hazırlanmasında sıkça kullanılmaktadır (46).

- *Sodyum karboksimetilselüloz (Na-CMC)*

Selülozun polikarboksimetil eterin sodyum tuzudur. Alkali selülozun monoklor asetik asit sodyum tuzu ile muamele edilmesi sonucunda elde edilmektedir. Beyaz ya da hafif sarı renkli higroskopik tozudur. Suda çözünürken organik çözücülerde çözünmemektedir. Süspande edici, bağlayıcı, vizkozite artırıcı ve dağıtıcı madde olarak kullanılmaktadır (56)

- *Hidroksietil Selüloz*

Alkali selülozun etilen oksit ile yüksek sıcaklık ve basınçta reaksiyona girmesi sonucunda elde edilen, tatsız, kokusuz, krem veya beyaz renkli tozudur. Suda çözünen fakat organik çözücülerde çözünmeyen ve formülasyonlarda yaygın olarak kullanılan noniyonik özelliğe sahip bir polimerdir. Farklı molekül ağırlıklarına sahiptir ve bu durma bağlı olarak farklı vizkozitede jeller oluşturabilmektedir. Jeller, kremler ve losyonlarda vizkozite artırıcı, süspande edici, stabilize edici olarak kullanılırken aynı zamanda tablet hazırlanmasında bağlayıcı ve film oluşturucu olarak kullanılmaktadır.

- *Hidroksipropil Selüloz*

Hidroksipropil selüloz, metil selülozun propilen glikol eteridir (57, 58). Farmasötik formülasyonlarda farklı tipleri film kaplamada, tabletlerde bağlayıcı olarak, oftalmik preparatlarda, süspansiyon ajanı olarak ve uzatılmış etkili matriks tipi tabletlerin hazırlanmasında ve jel yapıcı ajan olarak vizkozluğuna bağlı olarak farklı oranlarda kullanılmaktadır (59, 60). Jellerde kullanımı ise vizkozite artırıcı, süspande edici, emülsifiye edici ve stabilize edicidir (61).

- *Metil Selüloz*

Pamuk veya odun selülozuna sodyum hidroksit çözeltisinin ilave edilmesi ile oluşan alkali selülozun metil klorür ile yüksek sıcaklık ve basınçta reaksiyonu sonucu elde edilmektedir. Tatsız, kokusuz ve beyaz renkli bir tozdur ve soğuk suda şişmektedir. Çözeltileri ısıtıldığı zamanda ise viskoziteleri artmaktadır. Jel formülasyonlarında %1- 5 oranında kullanılmaktadır ve vizkozite artırıcı, süspande edici, emülsifiye edici bağlayıcı ve dağıtıcı ajan olarak kullanımı yaygındır (48, 56, 57, 58).

- *Hidroksipropilmetil Selüloz*

Anyonik, suda çözünebilir selülozdan elde edilen bir selüloz eteridir (62).

### **C. Poloksamerler**

Poloksamerler bir seri polioksietilen- polioksipropilen kopolimerleridir. Yapılarındaki polioksietilen hidrofilik, polioksipropilen kısmı ise hidrofobik özelliğe sahiptir. Sıvı ve katı formları vardır. Su ve alkolde kolayca çözünebilmektedir. Sulu çözeltileri asit, alkali ve metal iyonları varlığında stabildir ve fenoller ile geçirimsiz oldukları bildirilmiştir (63).

Değişik tipteki farmasötik preparatlarda farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Bunlara örnek olarak; intravenöz olarak kullanılan su/ yağ emülsiyonlarında emülsifiyan olarak eliksir ve şuruplarda berraklığın sağlanabilmesi amacıyla çözünürlük artırıcı ve stabilizan olarak; merhem, supozituar sıvağlar ve jellerde ıslatıcı ajan olarak yer almaktadır (63).

#### **D. Kolloidal Maddeler**

Bentonit ve veegum gibi anorganik polimerler alüminyum silikat yapısındadırlar. Yüksek konsantrasyonlarda su ile jel oluştururlar ve bu polimerler ile hazırlanan jeller tiksotropi göstermektedir. Kolloidal yapıdaki mikrokristal selüloz ve mikrokristal silika da jel formülasyonlarında vizkozite arttırıcı olarak kullanılmaktadır (46, 48, 64).

#### **E. Yüzey Etkin Maddeler**

Mineral yağ, su ve yüksek konsantrasyonda bazı noniyonik yüzey etkin maddelerin genellikle %20- 40 oranında kullanılması ile oluşan şeffaf görünüşlü jellerdir (46).

#### **F. Karbomerler (Akrilik Asit Polimerleri)**

Karbomerler farmasötik ve kozmetik endüstrisinde sıkça kullanılan, sentetik büyük molekül ağırlıklı, beyaz, az çok karakteristik kokulu, higroskopik ve asidik yapıda bir tozudur. Su, alkol ve gliserinde çözünmektedir (45). Karbomerler çeşitli lokal, rektal ve oftalmik farmasötik formülasyonların hazırlanmasında süspansiyon ajanı ve vizkozite arttırıcı olarak kullanılmaktadır. %0.5- 2.0 konsantrasyonlarda jelleri hazırlanmaktadır (56).

#### **1.3.6.2 Lipofilik jeller**

Lipofilik jeller genellikle kolloidal silika, polietilenglikollü sıvı parafin, alüminyum çinko sabunlarıyla jelleştirilmiş yağlardan oluşan preparatlardır (65).

#### **1.3.6.3 Hidrofilik jeller**

Hidrofilik jeller (hidrojeller); hidrofilik polimer zincirlerinden olup, suda çözünmeden şişebilen, katı ile sıvı arasında davranış gösteren, çapraz bağlı üç boyutlu ağ yapısı gösteren preparatlardır. Hidrofilik jellerin bazı türleri kendi ağırlığının 1000 katı kadar suyu absorbe edebilmektedir (66).

Hidrojellerin hazırlanmasında doğal ya da sentetik polimerler kullanılmaktadır. Doğal polimerlerden kitosan, dekstran ve nişasta; sentetik polimerlere ise poliakrilamid, polietilenoksit ve polivinilalkol örnek olarak verilebilir. Poloksamerler, nişasta, selüloz türevleri, karbomerler ve magnezyum- alüminyum silikatlar gibi jelleştirme ajanlarının su, gliserin veya propilen glikol içerisinde disperse edilmesiyle hazırlanmaktadır (65).

Hidrojeller; pH, iyonik kuvvet değişim, sıcaklık gibi çevresel uyarılara hacimsel değişimle cevap vermektedir. Bu özelliklerinden dolayı akıllı jeller olarak da adlandırılmaktadır (67).

Hidrojeller diğer biyomateryaller ile kıyaslandığı zaman canlı dokulara büyük oranda benzerlik göstermeleri, biyoyumlu olmaları, yüksek oranda su içermeleri, yumuşak ve elastik olmaları açısından farklılık gösterirler. Organizmada pH, sıcaklık, metabolitlere cevap vererek ilaç salımı gerçekleştirmektedirler. İlaç salımı çözücünün polimer matriks içine geçmesi ve polimerin şişmesi ile meydana gelmektedir. Etkin madde şişen polimerden difüze olur. Jelden ilaç salımı difüzyon ve jel yüzeyinin aşınması sonucu olabilmektedir (67- 71).

#### 1.4 Ecogel™

Ecogel™ LucasMeyer Kozmetik firmasının doğal kökenli maddelerin optimize kombinasyonu ile elde edilen patentli bir üründür. Ekoyumlu bir süreçle elde edilen Ecogel™ içeriğinde 4 farklı maddenin optimize kombinasyonunu bulundurmaktadır. Bu maddeler; lizolesitin, ksantan zamkı, skleretium zamkı ve pullulandır. Sinerjetik polisakkaritler olan ksantan zamkı ve sklerotium zamkı sayesinde kalınlaşma özelliğini göstermektedir. Karışıma emülsifiye özelliğini katan madde ise lizolesitindir (72).

Ecogel™'in test aşamalarında bazı özellikleri dikkat çekmektedir. Bunlar;

- Geniş bir pH aralığı (3-10) içinde stabildir.
- Yüksek elektrolit miktarı (% 2 kadar) destekler.
- Yüzey aktif uyumludur.
- Viskoziteyi artırır.

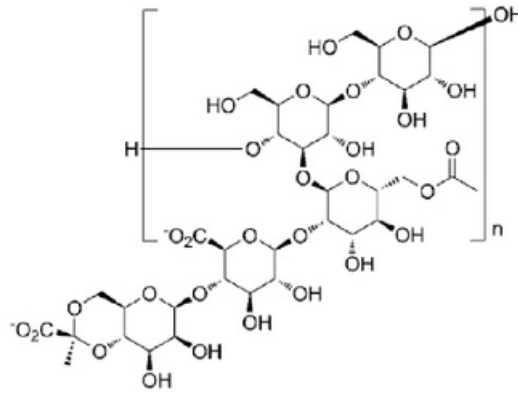
#### 1.4.1 Ksantan zımkı

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından 30 yılı aşkın süre önce kullanıma kabul edilmiş bir zımkı türevidir. *Xanthomonas campestris* bakterisinin fermantasyon olayı ile üretilen anyonik ekzaselüler bir ekzopolisakkarit türevidir (73).

Ksantan zımkı çözeltileri yüksek psödoplastik akış göstermektedir. Kayma gerilimi arttıkça vizkozitesi giderek düşüş göstermektedir. Bu davranışın sebebi, hidrojen bağları ve polimer karışımı vasıtasıyla karmaşık kümeler oluşturan ağır molekül kütle moleküllerinden kaynaklanmaktadır.

Ksantan zımkı kullanılan oral salım sistemlerinde, mide sıvısında şişebilen ilaç etrafında ince bir tabaka oluşturan yardımcı bir maddedir. Ksantan zımkı kullanılarak matris sistemlerini sıkıştırma veya granülasyon ile üretmek mümkündür (74).

Genellikle pratik olarak sulu bir ortamda, düşük konsantrasyonlarda ve yüksek vizkoziteli ortamlarda kullanılabilir (75). Ksantan zımkının kullanım alanları çok geniştir. Gıda endüstrisinde, salata sosları, et suyu, tatlılar, süt ürünleri, düşük kalorili gıdalar olmak üzere sıralanabilir. Bunun yanında temizleyiciler, kaplamalar, diş macunları ve kozmetik preparatlarda da kullanılmaktadır (76)

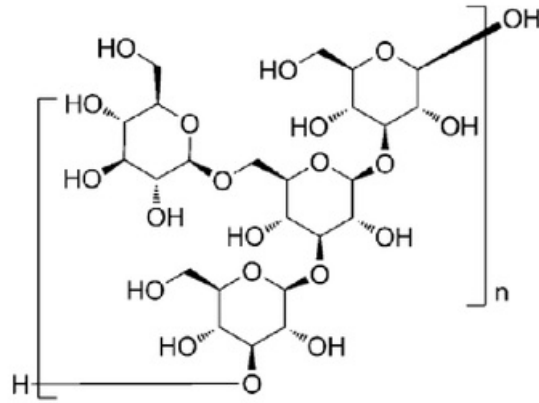


Şekil 5. Ksantan kimyasal formülü (74).

### 1.4.2 Sklerotium zankı

Skleroglukan (sklerotium zankı) bir homopolisakkarit olup d- glukoz içeren bir yapıya sahiptir. Bu polimer ipliksi bir mantar cinsi olan Sklerotium'ların hücre dışı polimeri olarak bilinmektedir. Bu mantarlara örnek olarak; *Sclerotium glucanicum*, *Sclerotium rolfii* ve *Sclerotium delphinii* sayılabilir. Endüstriyel boyutta tercih edilenler arasında *S.glucanicum* ve *S.rolfsii* türleri gelmektedir. Optimal fermantasyon koşullarında *S.glucanicum* türünden 8.5- 10 g/L skleroglukan elde etmek mümkündür. Skleroglukanın ilk kullanımı petrol sanayisindedir. Bunun sebebi ise pH ve sıcaklık bakımından ksantandan daha iyi olmasıdır (77).

Eczacılık alanında ise çeşitli çalışmalarda farklı formları kullanılmaktadır. Hidrojellerde de kullanılabilir. Reolojik özellikleri sebebi ile gıda, boya sanayi, kozmetik ve seramik sırlarında kullanılmakta olup yüksek stabilize özelliğinden dolayı ksantana üstünlük sağlamaktadır (78).

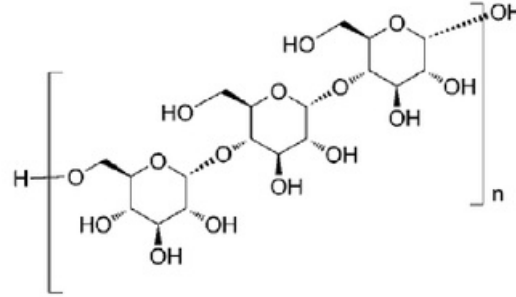


Şekil 6. Skleroglukan kimyasal formülü (75).



### 1.4.3 Pullulan

Orijini *Aurebasidium pullulans* linear bakterisi olan pullulan bakteriyal bir homopolisakarittir. Pullulan sayesinde suda çözünmeyen pat üretilmektedir (79). Bakteriyal kültürleri genellikle iki ekzopolisakkaritten elde edilmektedir. Biyosentez mekanizması tam olarak açığa kavuşmamıştır (80). Pullulan molekül ağırlığı kilodaltonlarda olup üretilen bakterinin suyu, üretim teknikleri, pH ve üretilen zemine bağlı olarak değişmektedir (81). Karakteristik olarak pullulan suda çözünebilir, doğal olarak higroskopik, toksik olmayan, yenilenebilir ve biyolojik olarak parçalanabilir özelliğine sahip bir moleküldür. Bu özelliklerinden dolayı, iyi bir yapıştırıcıdır ve bağlayıcı olma özelliğinden dolayı su geçirmez filmler elde edilmektedir. Tıbbi uygulamalar için biyolojik aktivitesi kanıtlanmıştır. Analizler sonucunda ise pullulanın antikanserojen ve antimutagen olduğu saptanmıştır. Sadece karaciğer hücreleri tarafından endositoz edilme özelliğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı karaciğer hastalıklarında polimerlerin dağıtımında iyi bir madde olarak nitelendirilir (83).



Şekil 7. Pullulan kimyasal açık formülü (78).

#### 1.4.4 Lizolesitin

Lesitin, polar ve apolar lipidlerin, %60 oranında polar lipidlerle bağlanması sonucu elde edilen bir karışımdır. Bunun yanı sıra doğal olarak yumurta sarısında, beyinde, sazan yumurtasında ve bitki tohumlarında bulunmaktadır. Kozmetik için kullanılmak üzere de soya fasüyesinden elde edilmektedir. Lesitin, fosfor bulunduran lipidler olarak fosfolipidler terimi altında incelenmektedir. Glikolipidler ve sfingolipidler ile birlikte hücre zarında bulunmaktadır. Fosfolipidler kozmetik ürünlerin aranan ham maddeleri arasındadır. Çünkü iyi bir emülsüfiye edici, stabilizatör ve lipozom kullanımı için elverişlidir.

Su/ yağ olarak hazırlanan emülsiyonların, fosfolipid emülsüfiye etkinliği lizolesitin denene biçimlerde spesifik enzimatik hidroliz ile kendini göstermektedir. Bu nedenden dolayı lizofosfolipidler kozmetik hammadesi olarak kullanılmaya uygundur. Hidrolize fosfolipidlerden olan lizolesitin, emülsüfiye edici ve ıslatıcı ajan olarak beslenme ve yiyeceklerde kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda yapısında serbest yağ asitleri bulundurmaktadır (81).

#### 1.5 Reoloji

Reoloji meydana gelen farklı dış kuvvetler etkisi ile maddelerin nasıl deforme olduklarını ve akış özelliklerini inceleyen bir bilimdir. Reolojik ölçümler, bir ürünün davranışını ve işlem, formülasyon değişimleri ve yaşlanma gibi etkenleri daha ürün kullanılmadan önce ölçmenin bir yoludur (82). Kimyasal, mekanik ve termal işlemleri ve katkı maddelerinin etkisini izlemek amacıyla reolojik ölçümler kullanılmaktadır.

Newton'a göre; viskozite, Newtonian sıvılar, yani ideal sıvılar için kayma hızından bağımsızdır. Viskozite ne kadar yüksek ise kayma için gerekli kuvvet o derece büyük olacaktır. Kayma ise hazırlanan formülasyonun ya da özel bir preparatın uygun olan kaplara doldurulması, dökme, püskürtme, yayma, karıştırma gibi fiziksel hareketlerinde önem taşımaktadır. Bazı maddelerin viskozitesi kayma hızından etkilenmez. Bazı maddelerin viskozitesi kayma hızı arttıkça artarken bazılarının ise hızı düşüş göstermektedir (85- 89).

Kozmetik alanında bitmiş ürünlerde olduğu gibi eczacılık alanında hazırlanan özellikle bir kaba koyulması gereken, akış özelliği gösteren ürünlerde reolojik olarak değerlendirilmesi son yıllarda önem kazanmıştır. Üretim, ambalajlama, dağıtım ve saklama sırasında ortaya çıkabilecek koşulların karşılanabilmesi reolojik çalışmalarla mümkün olabilmektedir. Ürünün reolojik özelliklerinin karakterize edilmesi ve bu özelliklerinin düzeltilmesi ile tüketicinin beklentileri olan stabilite, kıvam, uygulanabilirlik ve uygun görünüm belirlenebilmektedir (86).

### **1.5.1 Reolojik Özellikleri (Akış özellikleri)**

Eczacılık alanında geçerli olan birçok farklı akış tipi vardır. Bunları;

- Kayma hızındaki değişime bağlı olarak viskozitede değişim olmaz ise, bu akışa *Newton akış* adı verilir.
- Kayma hızındaki artış ile viskozite değişimi gösteren sistemler ise *Newton olmayan* olarak tanımlanır.

#### **1.5.1.1 Newton Akışı**

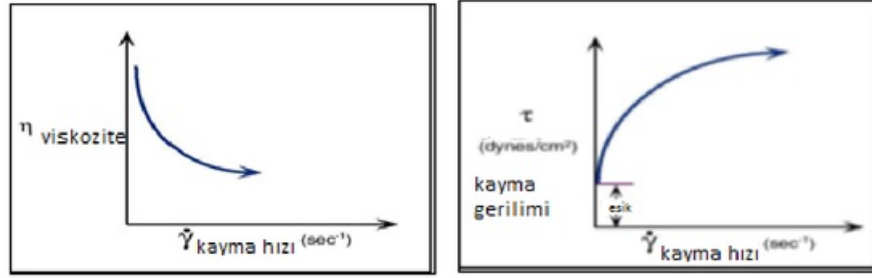
Su, çok seyreltik emülsiyon ve süspansiyonlar ve bazı yağlar Newton Akış göstermektedir.

#### **1.5.1.2 Newton Olmayan Akış Tipleri**

Kayma hızına, zamana ve kayma gerilimine bağlı olarak viskozitede değişimin görüldüğü akış tipi Newton olmayan akış tipidir.

### **Plastik Akış**

Plastik akış, eşik değeri (akışı başlatmak için gerekli minimum kuvvet) gösteren ve bu değerin üzerindeki kayma hızı değerlerinde viskozitede düşme görülen akış tipidir. Plastik akış, akışın kayma geriliminin belli bir değere ulaşmasından sonra başladığı durumdur. Bu değer "eşik değeri" adını alır. Plastik akış eğrisi orijinden geçmez (Şekil 8). Bu tip sıvılar hemen akmazlar ve kayma gerilimi belli bir eşik değerine ulaşıncaya kadar akış görülmemektedir.



**Şekil 8.** Plastik akış eğrileri (86).

#### **a. Bingham Akış**

Kendi başına akmayan maddeler Bingham akış gösteren maddeler olarak sınıflandırılırlar. Bu tip maddeler verim değerini aştıktan sonra Newtonian akış gösterirler.

#### **b. Casson Akışı**

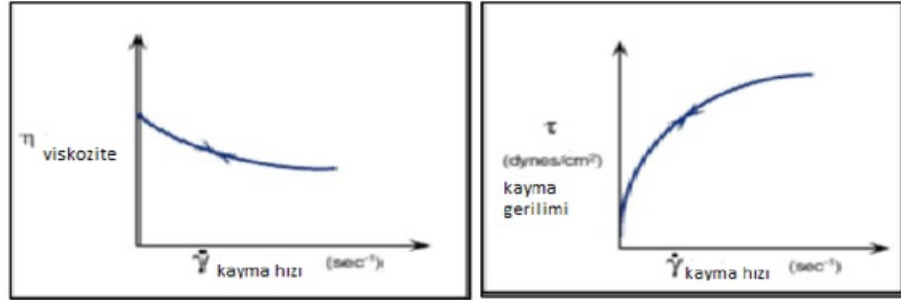
Casson akışın da başlayabilmesi için belli bir eşik değeri vardır. Eşik değeri aşıldıktan sonra bile Newtonian akış görülmez. Casson modeli ideal olmayan bir plastik akış gösterir.

İdeal ya da değil, tüm plastik sistemlerde kayma hızı arttıkça, viskozitede düşme eğilimi görülmektedir.

### ***Psödoplastik Akış***

Viskozitenin artan kayma hızı ile birlikte azaldığı, ancak biçimsel değişimin sıfır noktasından başladığı akış tipidir. Eğrisi orijinden başlar ve reogramla gösterilir (Şekil 9).

Dururken ağ yapısı gösteren maddeler psödoplastik akış göstermektedirler. Kayma kuvveti ile bu ağ yapısı parçalanır ve kaymaya bağlı olarak bir incelmeye görülür. Bu akışı gösteren sistemlere örnek olarak emülsiyonlar, dispersiyonlar ve süspansiyonlar verilebilir (90).



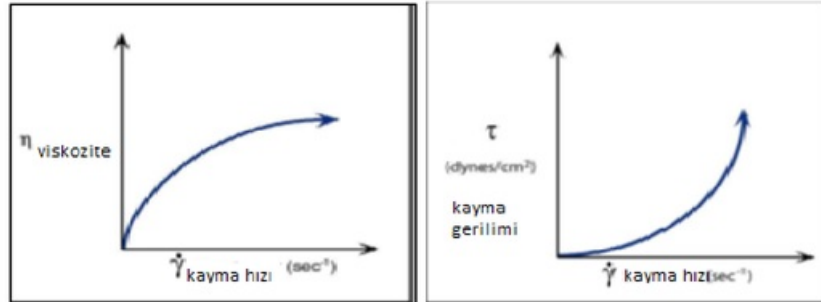
Şekil 9. Psödoplastik akış eğrileri (86).

### ***Dilatant Akış***

Artan kayma hızı ile viskozitede artışın görüldüğü akış tipidir ve bazı derişik süspansiyonlar ve çözeltilerde gözlemlenmektedir (Şekil 10).

Kayma hızı arttıkça sistemlerin viskozitesi de artmaktadır. Psödoplastik akışın tersine dilatan akışta kaymaya bağlı kalınlaşma görülmektedir.

Diğer sistemlere göre daha nadir olarak rastlanmaktadır. Dilatan akış gösteren sistemlere örnek olarak; ıslak kum ve yağlı boya verilebilir (89, 91- 94).



Şekil 10. Dilatant akış eğrileri (86).

### 1.5.2 Tiksotropi

Kaymaya bağlı olarak incelme gösteren maddelerde, ağ yapı parçalandıktan sonra sistemin viskozitesi azalma gösterir. Kayma kuvveti ortadan kaldırıldığında is belli bir zaman sonra başlangıç koşullarına geri dönüş gözlemlenir. Kayma hızı azaldığında ise yapı zaman içinde tekrar toparlanır ve viskozite başlangıçtaki değerine döner. Buna bağlı olarak tiksotropi terimi, kaymaya bağlı olarak düşük viskozite gösteren ve belirli süre içinde başlangıçtaki yapısına geri dönen sıvı veya yarı-katı sistemler için kullanılmaktadır (95).

### 1.5.3 Dinamik Özellikler

Maddelerin akışı, tek bir model ile açıklanamamaktadır. 'Viskoelastik' olarak tanımlanan bu tip maddeler için, sistemin elastik ve viskoz durumu incelenmelidir.

#### 1.5.3.1 Viskoelastisite

Birçok maddenin akışı bilinen ve açıklanan akış özelliklerine uymamaktadır ve bu mekanizmalarla ile açıklanamaz. İdeal elastik bir madde kendine uygulanan enerjiyi saklar ve geri verir. İdeal viskoz maddede ise tam tersi olarak uygulanan enerji absorblanır ve kaybolur. Gerçek maddeler ise bu iki özellik birleştirilerek viskoelastik davranış gösterirler (89, 96, 97).

Viskoz ve elastik özellikleri beraber gösteren madde davranışına "viskoelastik özellik" denir. Viskoelastik sistemler, sıvıların viskoz özelliklerini alırken katıların da elastik özelliklerini alan maddelerdir.

Eczacılıkta kullanılmakta olan krem, losyon, merhem, süspansiyon, supozituar, koloidal dağılımlar ve emülsiyon gibi sistemler viskoelastik özellik göstermektedir.

Reolojik özellikler, fizikokimyasal özellikler içinde en önemlisini oluşturmaktadır. Çünkü reolojik özellikler fiziksel stabiliteyi, kaliteyi ve de kullanımı etkilemektedir (94).

**1.6 *Euphorbia nicaensis* all. ssp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. SMITH var. *lasiocarpa* Boiss. Bitkisi ve Özellikleri**

Monoik olan bu cinsin bitkileri bir yıllık, iki yıllık veya çok yıllık olabilmektedir. Bireyleri otsu veya yarı çalimsıdır. Lateks taşırlar.

Türkiye Florası'nda *Euphorbia* cinsi 109 taksonla temsil edilmektedir. Bu 109 takson dört altcinsine ayrılmaktadır. Subgenus *Chamaesyce*, subgenus *Cystidospermum*, subgenus *Poinsettia* ve subgenus *Esula*. Bunların arasından subgenus *Esula* sekiz seksiyona ayrılmaktadır: Sect. *Balsamis*, sect. *Helioscopia*, sect. *Cymatospermum*, sect. *Herpetorrhiza*, sect. *Paralias*, sect. *Chylogala*, sect. *Esula* ve sect. *Lathyris* (98).

Euphorbiaceae familyasına ait bitkilerin hemen hemen hepsi deri için inflamatuvar, kostik, tahriş edici lateks ve tohum yağı üretirler. Diterpen esterlerinin varlığı ile kuvvetli anti-tümoral olduğu saptanmıştır (101).

Euphorbiaceae familyasının 7 cinsine ait (*Adenopeltis*, *Argythamnia*, *Avellanita*, *Colliguaja*, *Croton*, *Dysopsis* ve *Euphorbia*) 45 tür içim yapılan bir çalışmada, *Euphorbia* cinsinin diğerlerine nazaran daha fazla bioaktif bileşiğe sahip olduğu bulunmuştur (102).

Yapılan çok sayıdaki fitokimyasal ve farmakolojik araştırmalar sonucu, *Euphorbia* cinsinde varolan, bioaktif özellik sergileyen sekonder metabolitler diterpenoidler olduğu ortaya çıkmıştır.

*Euphorbia* türlerinin lateksi ok zehirine yardımcı katkı maddesi olarak kullanılmaktadır *Euphorbia* türleri üzerine yapılan çalışmalarda türlerin hepsinin latekslerinde kristallenebilen euphorbon molekülü bulunmuştur. Euphorbon'un tahriş edici etkiye sahip olmadığı toksik etkinin *Euphorbia* türlerinde olan resin molekülünden kaynaklandığı saptanmıştır (103).

Güney Rodos'ta bulunan *Euphorbia abyssinica* türü de yara ve ağrılara uygulanmaktadır. *Euphorbia candelabrum*'un lateksi zehirli ok yapımında kullanılmaktadır ve bu bitkinin uyuşturucu etkileri de vardır. Doğu Afrikada, resin ve euphorbon içeren lateksi de göz tümörlerine tedavi amaçlı uygulanmaktadır.

*Euphorbia hirta* bitkisinden hazırlanan infuzyon Portekiz’de ve Doğu Afrika’da mide ağrıları ve dizanteri tedavisi için kullanılırken, Hindistan’da kökleri yılan ısırıklarına karşı kullanılmaktadır. Yine aynı bitki Hawaii’de müshil, gargara ve yara lapası olarak kullanılmaktadır (103). Yine bu bitki ile yapılan araştırmalarda, yara iyileştirici özelliği saptanmıştır. (98).

*Euphorbia heterophylla* türünde yapılan çalışmalarda ise içeriğinde bulunan taninler ve flavanoidler sayesinde yara iyileşmesinde, epitelizasyon da etkili olduğu saptanmıştır (99).

*Euphorbia hypericifolia* Doğu Afrika’da yayılış göstermektedir ve bu bitkinin lateksi temizleyici ve deri lezyonlarında kostik olarak kullanılmaktadır (103).

*Euphorbia tirucalli*, Rodos’un güneyinde en bilinen kauçuk kaynağıdır. Lateksi deri için oldukça tahriş edicidir ve göz yuvalarına denk gelirse günlerce süren geçici körlüğe sebep olabilmektedir. Lateksin sulu eksrelerinde uygulanan antibiyotik testleri *S. aureus* ile pozitif, *E.coli* ile negatif sonuç vermiştir (103).

Yakın zamanda yapılan *Euphorbia* diterpenlerinin antitümör aktiviteleri ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bileşiklerin farklı insan kanser hücre hatlarında (örn: kronik miyeloid lösemi ve nazofarenks, mide, pankreas, akciğer, ovaryum ve kolon karsinoma) orta güçlü antiproliferatif etkileri olduğu kanıtlanması ile beraberinde bazı türlerinin de sitotoksik aktivitesi rapor edilmiştir (104).

Yapılan bir çalışmada yine diterpenoidlerden olan 20-O-2’(E),4’(Z)-decadienoyl) ingenol decadienoyl) ingenolün, hücre döngüsünün G2/ M fazında fare meme tümörü (MMT) hücrelerin büyümesini durmasını beraberinde getirmiştir. (105).

İnsan kronik miyeloid lösemi (K562) hastalığı üzerine yapılan çalışmada da ise jolkinolide B sitotoksitesisi test edilmiş ve bu bileşiğin 12.1 µg/ mL değerinde IC<sub>50</sub> ile K562 hücrelerine karşı yüksek aktivite gösterdiği gözlenmiştir (106).

*Euphorbia tuckeyana*’dan izole edilen helioscopinolides E ve B’nin *in vitro* ortamda insan gastrointestinal kanser hücre hatlarına (mide, pankreas, kolon karsinoma) tümör hücreleri üzerinde orta derecede büyüme önleyici özellik gösterdiği saptanmıştır (107).

*Euphorbia kansui*’nin köklerinin metanol ekstresi kahverengi bitki biti (*Nilaparvatal ugens Stal*) ve iki benekli örümcek kenesine (*Tetranychus urticae Koch*) karşı pestisit olarak kullanılmıştır (105).



Genel olarak Euphorbia cinslerine bakıldığında, bu zamana kadar yapılan çalışmalarda önemli tıbbi ve ekonomik değerinin olduğu bilinmektedir. Tedavi amaçlı kullanımlarında bronşit ve romatizmaya iyi geldiği (108), anti-tümör (109), siğillerde kullanıldığı (110) astım için kullanıldığı (111) ve analjezik olarak da işe yaradığı (112) yapılan bu çalışmalar sayesinde anlaşılmıştır. Sadece etnobotanik olarak da değil bilimsel çalışmalarla sütleğenin yara tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca *Euphorbia coniosperma* Boiss. lateksinin örümcek ve yılan ısırıklarında kullanıldığı rapor edilmiştir (113). Diğer bir ilginç kullanımına ise *Euphorbia nicaeensis* All. subsp. *glareosa* (PallasexBieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss. bitkisinin özellikle tarım işlerinde rastlanan Tinaebarbae hastalığının tedavisinde taze lateksinin ekstresi kullanılmıştır (114).

## 2 GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1 GEREÇ

#### 2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kloroform	Merck, Almanya
Metanol	Merck, Almanya
Etanol	Merck, Almanya
Silika jel	Kieselgel 60, 70-230 mesh, Merck
Potasyum Dihidrojen Fosfat	Merck, Almanya
Sodyum Hidroksit	Horasan Kimya Sanayi, Türkiye
Fenil alkol ve kaprilil glikol	Merck, Almanya

#### 2.1.2 Kullanılan Aletler

Nükleer Manyetik Rezonans Spekt. (1D)	1H-NMR: Varian AS400 (400 MHz), 13C-NMR: Varian AS400 (100 MHz)
Liyofilizatör	Christ-ALPHA 1-4 LD, İngiltere
Evaporatör	Heidolph Instruments Laborota 4001, Almanya
Ultrasonik Banyo	Elma, Transsonic 460/H, Almanya
Hassas terazi	Mettler Toledo, ABD
UV/Vis spektrometre	Perkin Elmer Lambda 35, ABD
Etüv	Elektromag, Türkiye
Yatay Çalkayıcı	IKA-VXR, Vibrax, Almanya
Otomatik Pipet (0- 100 µL)	Brand, Almanya
Otomatik Pipet (100- 1000 µL)	Brand, Almanya
Dissolüsyon Aleti	SOTAX, İsviçre
UV Spektrofotometresi	UV 1208 A Schimadzu, Japonya

## 2.2 YÖNTEM

### 2.2.1 Bitki Materyalinden Ekstre ve Saf Molekül Elde Edilmesi

Bitki materyali *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *Glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss Bolu Koroğlu Dağları'nda orman açıklık arazisi civarından 1000 metreden toplanmıştır (40°40'56.63 kuzey, 31°52'29.67). Bitkinin herbarium örneği Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Herbarium Merkezi'nde 28704 numaralı örnek olarak saklanmaktadır.



Şekil 11. Herbarium örneği

#### 2.2.1.1 Ekstraksiyon ve İzolasyon Sırasında Kullanılan Materyal ve Yöntemler

##### 2.2.1.1.1 Ekstraksiyon ve Yoğunlaştırma İşlemi

Açık havada ve gölgede kurutulmuş gövde (300 g), çiçek (100 g) ve yaprak (200 g) toz edildikten sonra 5L'lik balonlara aktarılmıştır. 2 L %80'lik etanol (EtOH) ile Soxhlet cihazı ile ekstraksiyon işlemi başlatıldı. Ekstraksiyon işlemi 55°C'de sabit tutulan hot plate üzerinde manyetik karıştırıcı kullanılarak 6 saat devam ettirildi. Ekstraksiyon sonunda elde edilen üç ayrı ekstre için ince tabaka kromatografisi (İ.T.K) yapılmıştır. Bu işlem sonucunda yaprak ve çiçekten elde edilen ekstraktların çalışmalar için kullanılmasına karar verildi. Ekstraksiyon işlemi sonrası filtre kağıdı yardımı ile süzülen ekstre rotary evaporatörde 50 °C'de evaporasyon işlemine tabii tutuldu. Evaporasyon işlemi sonrası kalan kuru ekstre miktarı 9.1186 g olduğu hassas terazide tartıldı ve bu miktara uygun olarak 'B' adı verilen açık kolon kromatografi sistemi kuruldu.

### 2.2.1.1.2 Kromatografik Yöntemler

**İnce tabaka kromatografisi (İ.T.K):** Çalışmanın tüm aşamalarında normal faz silika kaplı hazır plaklar (Kiesegel 60 F254, 0.2 mm, Merck, Art.5554) kullanılmıştır.

- Kromatografi tankı: Camag 22x23x8 cm
- Adsorban: Silika Jel (Alüminyum folyo, hazır plak, Kiesegel 60 F254, 0.2 mm, Merck, Art.5554)
- Çözgen sistemleri: Kloroform: Metanol (90: 10)  
Kloroform: Metanol: Su (80:20:2) (70:30:3) (61:32:7) (85:15:0,5)
- Tatbikler: Pastör pipeti kullanılarak plağın alt ucunun 1.5 - 2 cm yukarisından 1 cm ara ile yapılmıştır.
- Sürüklenme mesafesi: 6- 9 cm
- Lekelerin belirlenmesi: Sülfürik asitin sudaki %30'luk çözeltisi püskürtülmüş, ardından plaklar 1- 2 dakika 100- 110 °C' de ısıtılarak lekeler belirlenmiştir.

**Açık kolon kromatografisi:** Çalışmada normal faz silika jel kullanılarak doldurulmuş klasik açık kolon kromatografisinden yararlanılmıştır. Fraksiyonlar 5 - 20 mL toplanmış ve kontrolleri İ.T.K ile yapılmıştır.

- Dolgu materyali: Silika jel (Kieselgel 60, 70-230 mesh, Merck)
- Silika jel kolonun hazırlanması: Ekstre miktarı baz alınarak ölçülen silika jel çözgen sistemi süspanse hale getirilmiş ve elde edilen karışım, muslukları kapalı, alt ucuna pamuk yerleştirilmiş cam kolona aktarıldı. Kolonun şartlanması için bir süre daha uygun çözgen sistemi ilave edilip ve bu sırada alt kısımda kalan musluk açık bırakılıp sistemin aşağıdan bir erlene toplanması sağlandı. Son olarak hazır hale gelen kolonda çözgen sistemi adsorban üzerinde birkaç mm yüksekliğinde çözgen kalıncaya dek musluk kapalı konuma getirdi.
- Numune tatbiki: Ana kolon numune tatbiki sırasında, kuru tatbik yöntemi kullanılmış olup, elde edilen ekstre evaporatörde çözgen yardımı ile silika jel'e emdirilmiştir. Kolonun üzerine de yüzeyin bozulmasını önlemek için pamuk yerleştirildi.



**Şekil 12.** 'B' Ana kolon.

- Fraksiyon miktarı: Ana kolonda, fraksiyonlar erlen içerisinde 150 - 200 mL olacak şekilde toplandı. Ana kolondan (B kolonu) toplamda 69 fraksiyon toplamı işlemi sonlandırıldı. Ana kolon fraksiyonlardan elde edilen İ.T.K profil çıkarma işleminden sonra yeni kolonun saflaştırma işlemine hangi fraksiyonla devam edileceğinin kararı verildi. Bu sonuçlardan faydalanarak yeni kolonlar kuruldu ve deney tüplerine 15- 20 mL olacak şekilde toplanmaya devam edildi.
- Kullanılan açık kolon kromatografi yöntemi sürecinde A ve B (ana kolon) olarak adlandırılan 2 tane kolon kuruldu. A kolonu, B kolonu 61- 69 fraksiyonları birleştirilip yeni kolon kuruldu. A kolonu için de 90:10 (metanol: kloroform) sistemi kullanıldı. Toplamda 151 deney tüpü içerisinde toplanan maddelerden, İ.T.K profilleri sonucunda 93- 97 arasında kalan tüpler birleştirildi. Bu birleştirilme sonucunda kontroller yine İ.T.K ile yapıldı. Yapılan çalışma sonucunda, A kolonundan toplanan 93- 97 nolu fraksiyonlarda saf molekülün kesin tespiti için Manyetik Rezonans Spektrumu ( $^1\text{H-NMR}$ ) yöntemi kullanıldı.

## 2.2.2 Miktar Tayin Yönteminin Validasyonu

### 2.2.2.1 pH 7.4 Fosfat Tamponu Hazırlanması

1.361 g potasyum dihidrojen fosfat tartılıp distile suda çözündürülerek 50 mL'ye tamamlandı (A). 0.4 g sodyum hidroksit tartılıp distile suda çözündürülüp 50 mL'ye tamamlandı (B). A çözeltisinden 50 mL B çözeltisinden 39.5 mL alınarak 200 mL'ye distile su ile tamamlandı. pH metre ile asit veya baz kullanılarak gerektiğinde ayarlandı (115).

0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mL (A)

0.2 N NaOH 39.5 mL (B)

Distile su k. m. 200 mL

### 2.2.2.2 Kalibrasyon doğrusunun çizimi

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss bitkisinin *in vitro* çalışmalardaki miktar tayininde kullanılan kalibrasyon doğrusunun çizilmesi için 0.1 g kuru bitki ekstresi hassas terazide tartılarak 100 mL'lik balon jode etanolde çözündürüldü. Bu stok çözeltiden otomatik pipet yardımıyla 100- 200- 300- 400- 500- 600- 700- 800- 900  $\mu\text{L}$  çekildi. Her biri 10 mL'ye pH 7.4 fosfat tamponu ile tamamlandı. Önceden belirlenen maksimum dalga boyunda (270 nm) bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri okundu (n=3). Quercetin konsantrasyonlarına karşılık absorbans değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon doğrusu çizildi.

### 2.2.2.3 UV Spektrofotometrik Miktar Tayin Yönteminin Validasyonu

Bir analitik yöntemin validasyonu, analizi yapılacak olan maddenin miktar tayinine yönelik olarak kullanılan yöntemin doğruluk ve güvenilirliğini göstermek için yapılması gereken işlemlerden oluşmaktadır. Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside *in vitro* miktar tayin yöntemini validasyonuna yönelik olarak yapılan bu çalışmada doğrusallık, doğruluk, kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik) ve özgünlük gibi analitik validasyon ölçütleri incelenerek sonuçlar istatistiksel olarak yorumlandı.

#### 2.2.2.3.1 Doğrusallık (Linearity)

Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside *in vitro* miktar tayini için seçilen konsantrasyon aralığında elde edilen yanıtın orantılı olduğunun göstergesidir. Bunun için konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerlerinin doğrusal regresyon yöntemi ile regresyon doğrusu hazırlanır. Bu amaca yönelik olarak seçilen Bölüm 2.2.2.2.'de açıklanan 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyondaki ana stok çözeltiliden hareketle yapılan seyreltmeler sonucunda hazırlanan 10- 20- 30- 50- 70- 90  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyondaki kalibrasyon noktaları üzerinden spektrofotometrik analizi yapıldı. Bu konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri yardımıyla kalibrasyon denklemi bulundu.

#### 2.2.2.3.2 Doğruluk (Accuracy)

Kullanılan analitik yöntem ile elde edilen bulguların gerçek değerlere yakınlığının gösterilmesi amacıyla yapılmaktadır. Seçilen üç farklı konsantrasyonda hazırlanan kuru bitki ekstresi içeren çözeltileri hazırlanarak absorbansları belirlenen maks değerinde okundu.

#### 2.2.2.3.3 Kesinlik (Precision)

Kesinlik ölçütü, bir analitik yöntemin birbirini takip eden ölçümler arasındaki yakınlığın derecesini ifade etmektedir. Sayısal bir değeri yoktur ancak sonuçlar standart sapma (SS) ve varyasyon katsayıları (VK) ile ifade edilmektedir. İstatistiksel açıdan yeterli değerlendirmenin yapılabileceği sayıda konsantrasyonda örnek ardı ardına ölçülerek sonuçlar aritmetik ortalama (ort), SS ve VK hesaplanması ile değerlendirilmektedir. Kesinlik değerlendirmesinde iki alt ölçüt incelenmektedir:

**Tekrarlanabilirlik (Repeatability):** Aynı konsantrasyondaki Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnosid molekülünü içeren bitki ekstresinden hareketle, aynı laboratuvar, aynı analist ve aynı cihaz kullanılarak gerçekleştirilen ölçümlerde uyum ve uygunluk incelendi. Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde doğrusallık için hazırlanan 6 farklı seyreltme noktasından düşük- orta- yüksek konsantrasyonlar olacak şekilde 3 farklı konsantrasyon (10, 50 ve 90  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) seçilerek spektrofotometrede 3'er defa ardışık ölçümler tekrarlandı. Böylece cihazın aynı konsantrasyonları okuma doğruluğu test edildi. Elde edilen değerlerin istatistiksel olarak SS ve VK hesaplanmış ve sonuçlar yorumlandı. Bu değerlerin % 2'den küçük olması geçerli koşul olarak aranmaktadır.

**Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility):** Kullanılan analitik yöntemin farklı deney zamanlarında güvenilirliğinin kanıtlanması için yapılmaktadır. Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid saf molekülünü içeren kuru ekstrenin aynı stoktan hazırlanan çözeltilisinden hareketle 3 farklı konsantrasyon (10, 50 ve 90  $\mu\text{g/mL}$ ) seçilerek 3 farklı numune hazırlandı ve absorbansları ölçülerek elde edilen değerlerin SS ve VK hesaplanarak sonuçlar değerlendirildi. Bu değerlerin % 2'den küçük olması geçerli koşul olarak aranmaktadır.

#### **2.2.2.3.4 Özgünlük (Specificity)**

Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin sadece analiz edilmesi istenen yapıyı saptayabilmesi için formülasyonlara giren etkin madde dışındaki bileşenlerin pH 7.4 fosfat tamponunda 200- 400 nm dalga boyları arası taranarak spektrumları alındı.

#### **2.2.3 Sitotoksosite Testi**

Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen bitki ekstresinin *in vitro* sitotoksitesinin incelenmesi için, erişkin insan dermal fibroblastları (HDFa) kullanıldı. Hücreler 7. pasaja kadar RPMI 1640. (%10 FBS, penisilin/ streptomisin) besiyerinde büyütülerek pasajlandı. Uygun pasaj sayısına gelen hücreler 96 kuyucuklu plakalara, kuyucuk başına 500.000 hücre olacak şekilde ekimleri yapılarak 24 saat hücrelerin tabana tutunması beklendi. Daha sonra tabana tutunan hücrelere artan konsantrasyonlarda (0- 250  $\mu\text{g/ml}$ ) bitki ekstresi eklendi. 24 saat bitki ekstresine maruz bırakılan hücreler, uygulama süresi sonunda MTT ((3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi uygulanarak canlılıkları kontrol kuyucuklarına oranlanarak yüzde olarak hesaplandı.

Elde edilen bulgular GRAPHPAD Prism version 7 istatistik programı yardımıyla efektif konsantrasyon değerleri ( $\text{EC}_{50}$ ) hesaplandı. Uygulanan ekstre miktarının literatürle uygunluğu saptanmış oldu (119).



## 2.3 Jel formülasyonunun hazırlanması

### 2.3.1 Plasebo jel formülasyonunun hazırlanması

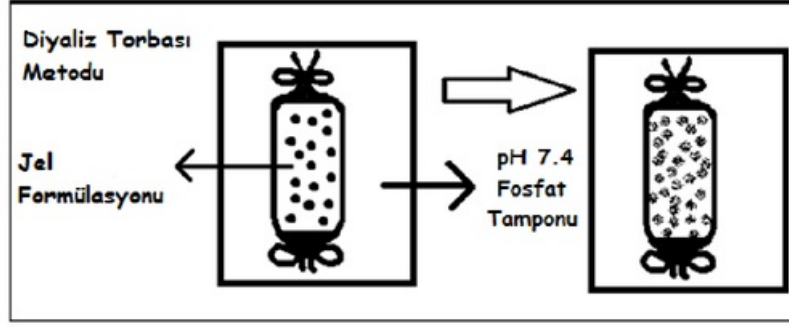
%2 Ecogel™ içeren jel formülasyonu hazırlandı. %0.10 miktarda tetrasodyum EDTA 40 °C'deki distile suda çözündürüldü. Çözünme gerçekleştikten sonra %2 Ecogel™ eklenerek mekanik karıştırıcıda düşük hızda (100 rpm) karıştırıldı. %1.00 gliserin eklenip 30 dakika boyunca mekanik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edildi. Soğumaya yakın koruyucu madde olarak fenetil alkol ve kaprilil glikol çözeltisi %1.10 oranında eklendi.

### 2.3.2 *Euphorbia nicaeensis* all. Ssp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun hazırlanması

%2 Ecogel™ içeren jel formülasyonu hazırlandı. Öncelikle gerekli miktardaki %0.10 miktarda tetrasodyum EDTA 40 °C 'deki distile suda çözündürüldü. Çözünme gerçekleştikten sonra %2 Ecogel™ eklenerek mekanik karıştırıcıda düşük hızda (100 rpm) karıştırıldı. Jelleşme tamamlandıktan sonra 0.6 g kuru bitki ekstresi eklendi. %1.00 Gliserin eklenip 30 dakika boyunca mekanik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edildi. Soğumaya yakın koruyucu madde olarak fenetil alkol ve kaprilil glikol çözeltisi %1.10 oranında eklendi.

### 2.3.3 Dissolüsyon Testi

Diyaliz torbaları test öncesinde, 4 cm boyunda kesildi ve 15 dakika distile suda bekletildi. % 0.6 *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *Glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresi içeren jel formülasyonundan 1g diyaliz torbalarına konuldu 37 °C 'lik pH 7.4 fosfat tamponu ortamında 100 rpm'de yatay çalkalayıcıda (IKA-VXR, Vibrax, Almanya) dissolüsyon çalışmaları yürütüldü. Belirlenen zaman aralıklarında örnekler alınarak spektrofotometrede 270 nm'de ölçümler yapıldı.



Şekil 13. Diyaliz torbası metodu.

### 2.3.4 *In vitro* Salım Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Hazırlanan formülasyonların *in vitro* salım deneyleri sonucunda elde edilen bulgular, salım kinetiklerinin belirlenmesi için Hixson Crowell, Higuchi, sıfır derece, ve birinci derece eşitliklerine göre analizi yapıldı. Bu analizler sırasında kullanılan eşitlikler aşağıda belirtildi (116, 117, 118).

$$m = (100^{1/3} - k_c t)^3 \quad \text{Eşitlik 1}$$

$$m = 100 - k_d \sqrt{t} \quad \text{Eşitlik 2}$$

$$m = 100 - k_o t \quad \text{Eşitlik 3}$$

$$m = m_o e^{-k_f t} \quad \text{Eşitlik 4}$$

$m$  :  $t$  zamanında çözünmeyen ilaç yüzdesi

$m_o$  : 0 zamanındaki ilaç miktarı

$t$  : Zaman (saat)

$k_o$  : Sıfır derece kinetiği değişmezi

$k_f$  : Birinci derece kinetiği değişmezi

$k_c$  : Hixson-Crowell kinetiği değişmezi

$k_d$  : Higuchi kinetiği değişmezi

Yapılan analizler sonucunda elde edilen determinasyon değerleri kullanılarak salım kinetikleri yorumlandı.

### 2.3.5 Stabilite Testi

Hazırlanan plasebo ve *Euphorbia nicaeensis* all. Ssp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresi içeren jel formülasyonlarının stabilite kabininde (Nüve TK 252) 25°C sıcaklık - % 40 relatif nem ve 40°C sıcaklık - % 75 relatif nem koşullarında 6 aylık stabilite çalışmaları yapıldı 0., 1., 3. ve 6. aylarda, reolojik ölçümler yapıldı.

Formülasyonun karakterizasyon çalışmaları sırasında, gözle incelenen formülasyonun rengi ve görünüşü incelendi.

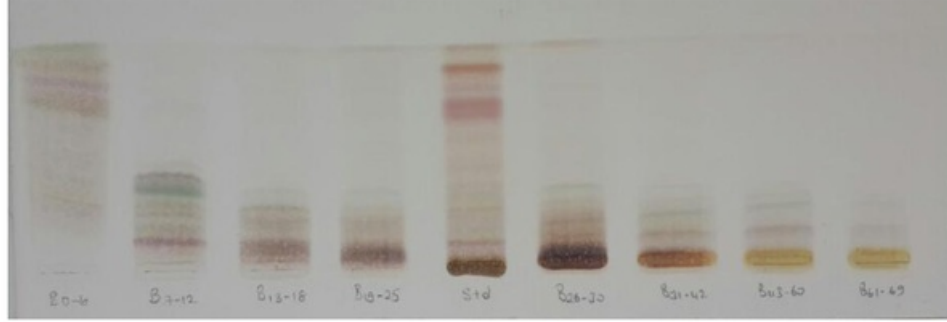
### 2.3.6 Reolojik Testler

Hazırlanan plasebo ve *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *Glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresi içeren jel formülasyonlarının reolojik ölçümleri, 0.,1.,3. ve 6. aylarda oda sıcaklığında 60 mm çapında 1° açılı plate/plate sistemi (35 mm, gap 0.3 mm, 0.1-10.0 Hz) kullanıldı. Formülasyonlar üzerinde ayrıca osilasyon ölçümleri yapıldı.

### 3 BULGULAR

#### 3.1 *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss Türünde İzolasyon Çalışmaları

Ekstraksiyon sonucu kullanılan açık kolon kromatografisi sisteminde, kurulan ilk kolon olan B kolunundan toplanan 69 fraksiyon için yapılan İTK ile bitkinin kimyasal profili görülmüştür.



Şekil 14. B kolonu İ.T.K profili 90: 10 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH).

Bitkinin ilk aşama kimyasal profil analiz çalışmaları tamamlandıktan sonra B 61- 69 fraksiyonları birleştirilmiş ve çözümden tamamen kurtulması için evaporasyon işlemine tabii tutulmuştur. Evaporasyon işlemi sonucunda elde edilen kuru ekstre; 3,100 gramdır.

Elde edilen kuru ekstre miktarına (3,100 g) uygun olarak yeni bir kolon kurulmasına karar verilmiştir. Bu açık kolon kromatografisi sistemi için dolgu materyali olarak silika jel, 90: 10 (CHCl<sub>3</sub>: MeOH) çözümlen sistemi kullanılmış ve fraksiyonlar toplanmaya başlanmıştır. Kurulan yeni kolona 'A' kodu verilmiştir. Fraksiyonların İTK profil çalışmaları için 80: 20: 2 (CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O) çözümlen sistemi kullanılmıştır. A kolonu izolasyon çalışmaları esnasında 20 mL'lik 151 fraksiyon toplanmış ve toplanan her bir fraksiyon için İ.T.K yapılmıştır.

Fraksiyon A'nın (93- 97) İTK ile kontrolleri sonucunda kirliliği olmayan bir fraksiyon olduğu görülmüştür. Bu fraksiyonlardan saf molekül 90: 10 (CHCl<sub>3</sub>: MeOH) çözümlen sistemi ile izole edilmiştir



**Şekil 15.** A 93- 97 saf moleköl İTK.

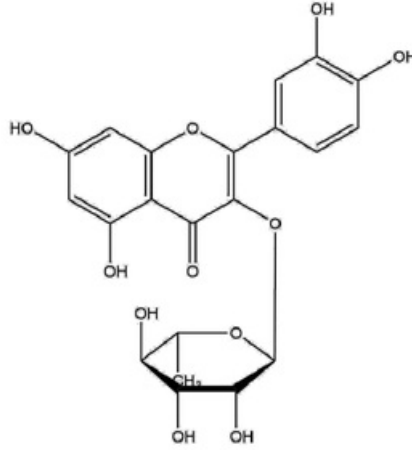


**Şekil 16.** A 93- 97 366 nm saf moleköl İTK.

**3.2 *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss Türünden İzole Edilen Flavanoid**

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss türünden izole edilen molekülün  $^1\text{H}$  NMR analizleri sonucu bir polimetoksiflavanoid olduğu tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında izole edilen molekülün daha önce yapılan çalışmalarda bulunan ve Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid isimli bileşik olduğu anlaşılmıştır. Bu molekülün yapı aydınlatılmasında NMR ( $^1\text{H}$ ) kullanılmıştır.



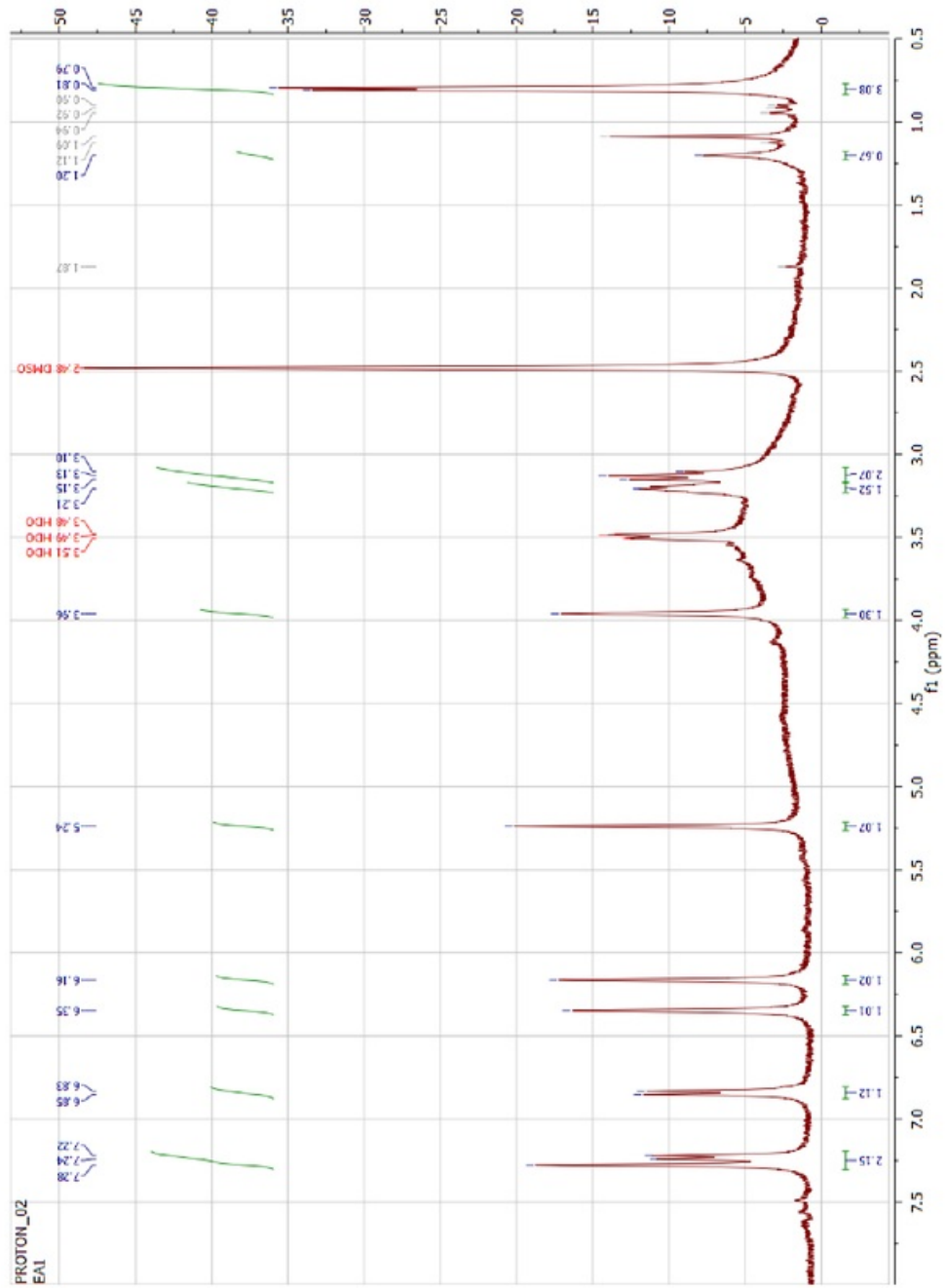
**Şekil 17.** Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid kimyasal formülü.

Kimyasal Formülü:  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$

Molekül Ağırlığı: 448.3769 g/mol

$^1\text{H}$ -NMR (DMSO, 400 MHz)

$^1\text{H}$  NMR (Py- $d_5$ ): 1.28 (3H, d,  $J = 6.0$ ,  $\text{CH}_3$ ), 3.60–4.68 (protons of sugar party), 5.10 (1H, br s, anomeric protons of rhamnose, H-1''), 6.50 (1H, d,  $J = 2.0$ , H-6), 6.61 (1H, d,  $J = 2.0$ , H-8), 7.18 (1H, d,  $J = 8.0$ , H-5'), 7.55 (1H, dd,  $J = 8.0, 2.0$ , H-6'), 7.90 (1H, d,  $J = 2.0$ , H-2'), 13.80 (1H, s, 5-OH)

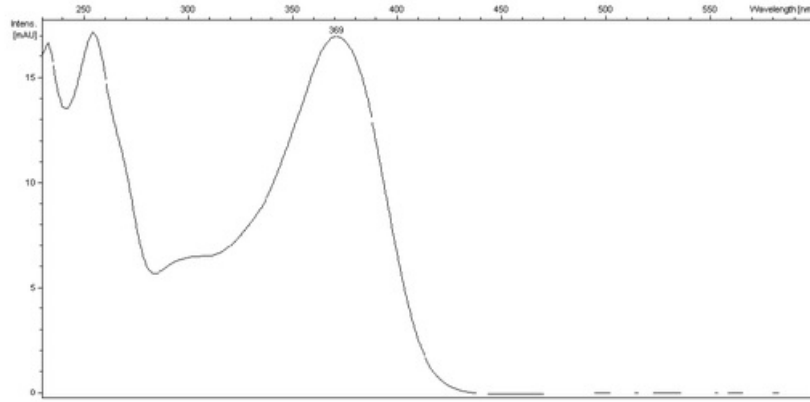


Şekil 18. A1 molekülü (Kersetin-3-O-α-L-ramnosid) <sup>1</sup>H-NMR spekturumu.

### 3.3 Etkin madde üzerine yapılan fizikokimyasal incelemelere ait bulgular

#### 3.3.1 Etkin maddenin UV spektrumuna ait bulgular

Yöntem 2.2.2.3'te anlatıldığı gibi çalışıldı. Etkrenin pH 7.4 fosfat tamponu içindeki UV spektrumu Şekil 19'da gösterilmiştir. Bu spekturumda 270 nm'de maksimum absorbans gözlemlendi. Bulunan maksimum değeri literatürde (120) belirtilen dalga boyuna uygun olduğu görüldü.



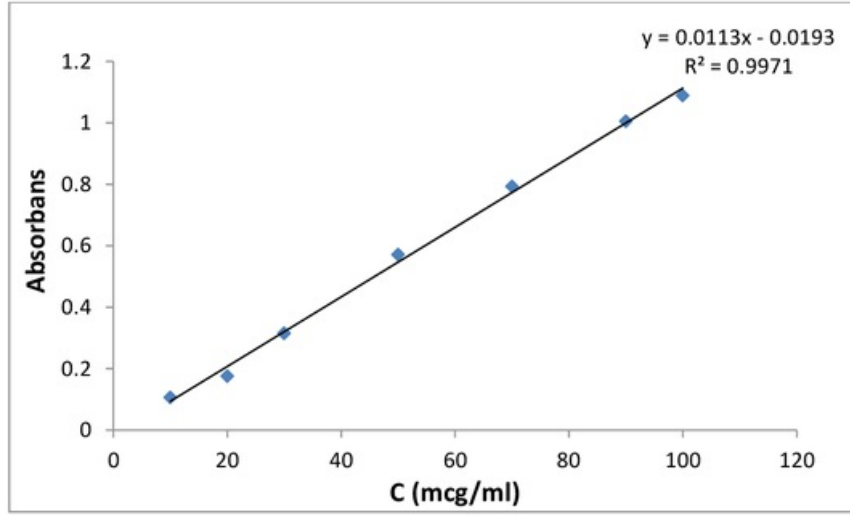
Şekil 19. UV spektrumu.

### 3.4 Spektrofotometrik miktar tayininde kullanılmak üzere standart eğrinin hazırlanmasına ait bulgular

#### 3.4.1 Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid spektrofotometrik miktar tayininde kullanılmak üzere pH 7.4 fosfat tamponundaki kalibrasyon doğrusunun çizilmesine ait bulgular

Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid'in kalibrasyon doğrusunun çizimi Yöntem 2.2.3.2.'te anlatıldığı gibi yapılmıştır. Şekil 20'de Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid pH 7.4 fosfat tamponundaki kalibrasyon doğrusu görülmektedir.





**Şekil 20.** Kersetin-3-O-α-L-ramnosid 270 nm dalga boyunda pH 7.4 fosfat tamponundaki standart eğrisi.

### **3.5 Spektrofotometrik miktar tayini yönteminin validasyonuna ait bulgular**

#### **3.5.1 Doğrusallık**

Kersetin-3-O-α-L-ramnosid Yöntem 2.2.2.2.'de anlatıldığı gibi pH 7.4 fosfat tamponunda standart eğrisi çizildi. Elde edilen standart eğrisi ve determinasyon katsayısı ( $r^2$ ) Şekil 19 de gösterilmiştir.

#### **3.5.2 Doğruluk**

Kersetin-3-O-α-L-ramnosid pH 7.4 fosfat tamponunda belirlenen konsantrasyonunda hazırlanan örnekleri spektrofotometrede 270 nm dalga boyunda 3 kez art arda okundu. Bu değerlere karşılık gelen konsantrasyon değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ) olarak kalibrasyon denklemleri yardımıyla hesaplandı.

**Tablo 1:** pH 7.4 fosfat tamponunda yapılan doğruluk ve geri elde edilebilirlik testine ait veriler.

Örnek No	10 µg/mL		50 µg/mL		90 µg/mL	
	A	C (µg/mL)	A	C (µg/mL)	A	C (µg/mL)
1	0.106	11.088	0.571	52.238	1.005	90.646
2	0.105	11.000	0.570	52.150	0.696	63.300
3	0.106	11.088	0.572	52.327	1.004	90,557
<b>Ort. (µg/mL)</b>	0.106	11.058	0.571	52.238	0.902	81.501
<b>SS (±)</b>	0.0005	0.002	0.001	0.007	0.178	15.763
<b>VK (%)</b>	0.005	0.221	0.001	0.365	19.754	19.340

### 3.5.3 Kesinlik

Kesinlik ölçütü, bir analitik yöntemin birbirini takip eden ölçümler arasındaki yakınlığın derecesini ifade etmektedir. Sayısal bir değeri yoktur ancak sonuçlar SS ve VK ile ifade edilmektedir. İstatistiksel açıdan yeterli değerlendirmenin yapılabileceği sayıda konsantrasyonda örnek ardi ardına ölçülerek sonuçlar aritmetik ortalama ( $\bar{X}$ ), SS ve VK hesaplanması ile değerlendirilmektedir.

### *Tekrar edilebilirlik*

Quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside pH 7.4 fosfat tamponunda 10- 50- 90 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanan örnekleri spektrofotometrede 270 nm dalga boylarında 3 kez art arda okundu. Bu ölçümlerde okunan absorbens değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** pH 7.4 fosfat tamponundaki tekrar edilebilirlik çalışmasına ait absorbens değerleri.

Örnek No	A (10 µg/mL)	A (50 µg/mL)	A (90 µg/mL)
1	0.106	0.571	1.005
2	0.105	0.570	0.696
3	0.106	0.572	1.004
Absorbans Ort.	0.106	0.571	0.902
SS (±)	0.0005	0.001	0.178
VK (%)	0.005	0.001	0.197

### **Tekrar elde edilebilirlik**

Yöntem 2.2.2.3.3.'te anlatıldığı gibi standart eğri çiziminde hazırlanan stok çözeltilerden alınan 100 µg/mL konsantrasyonda 6 farklı örneğin gösterdiği absorban değerleri spektrofotometrede 200- 400 nm aralığında okundu. Bu ölçümlerde okunan absorban değerleri Tablo 3'te verilmiştir.

**Tablo 3.** pH 7.4 fosfat tamponundaki tekrar elde edilebilirlik çalışmasına ait absorban değerleri.

Örnek No	A (10 µg/mL)	A (50 µg/mL)	A (90 µg/mL)
1	0.106	0.571	1.005
2	0.087	0.402	0.696
3	0.099	0.457	0.865
Absorbans Ort.	0.097	0.476	0.855
SS (±)	0.009	0.086	0.155
VK (%)	0.098	0.180	1.728

### **3.5.4 Özgünlük**

Yöntem 2.2.2.3.4'te anlatıldığı gibi yapıldı. Çalışmada kullanılan polimerlerin ve yardımcı maddelerin pH 7.4 fosfat tamponunda 200- 400 nm dalga boyları arasında spektrumları inceledi Quercetin-3-O-α-L-rhamnoside maksimum absorban verdiği dalga boylarında miktar tayinini etkileyecek bir absorban vermedikleri görüldü ve yöntemin etkin maddeye özgü olduğu bulundu.

### **3.6 Sitotoksite Testi**

Yöntem 2.2.3'te anlatıldığı gibi sitotoksite testi yapılmıştır. Bu test sonucunda ise; çiçek+yaprak ekstresi için EC<sub>50</sub> değerine varılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre, yaprak+çiçek ekstraktı için EC<sub>50</sub>: 18.324 ±1.09 µg/ml 'dir.

#### **3.6.1 Jel formülasyonunun hazırlanmasına ait bulgular**

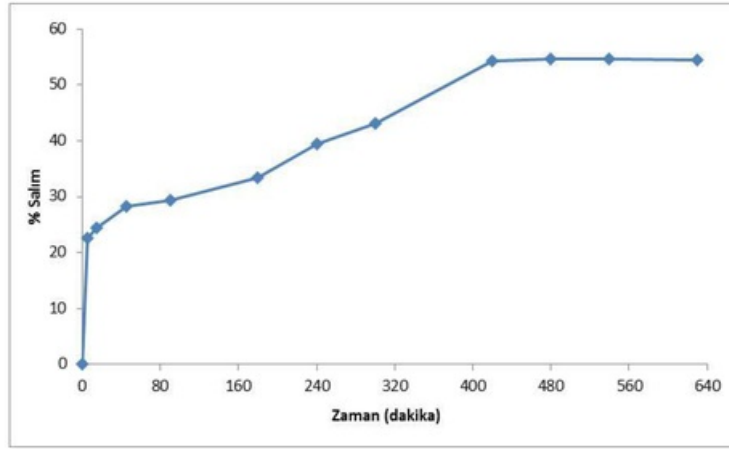
Yöntem 2.3.1' de anlatıldığı gibi etkin madde içemeyen jel formülasyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan bu jel formülasyonu stabilite ve dissolüsyon testi basamakları için hazır hale getirilmiştir.

### 3.6.2 *Euphorbia nicaensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun hazırlanmasına ait bulgular

Yöntem 2.3.2'de anlatıldığı gib etkin madde içeren jel formülasyonu hazırlanmıştır. Literatür taramalarında da görüldüğü üzere jel formülasyon içerisine % 0.6 oranında bitki ekstresi eklenmiştir (99). Hazırlanan formülasyon stabilite ve dissolüsyon testi basamakları için hazır hale getirilmiştir.

### 3.7 *In vitro* salım sonuçlarının değerlendirilmesine ait bulgular

Hazırlanan *Euphorbia nicaensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun ait *in vitro* salım çalışması için Yöntem 2.3.3 'te anlatıldığı gibi yapılmıştır. Bu yöntemlerle yapılan salım çalışmalarına ait salım grafiği Şekil 21'de verilmiştir. Kinetik değerlendirmeler sonucunda I.derece kinetiğe uyduğu görülmektedir.



Şekil 21. Hazırlanan *Euphorbia nicaensis* all. Ssp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. SMITH var. *lasiocarpa* Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun ait *in vitro* salım grafiği.

### 3.8 Stabilite testine ait bulgular

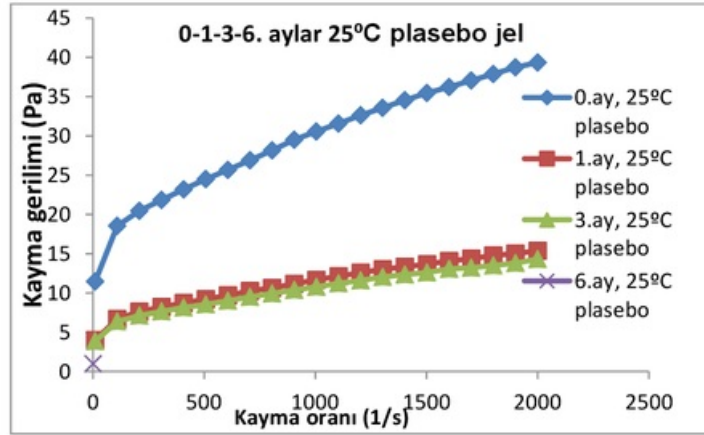
Yöntem 2.3.2'de anlatıldığı gibi hazırlanan *Euphorbia nicaensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresini içeren jel formülasyonunun ve plasebo jelin stabilite deneyleri 0., 1., 3. ve 6. aylarda yapılan ölçümlerle değerlendirilmiştir.

### 3.9 Reolojik testlere ait bulgular

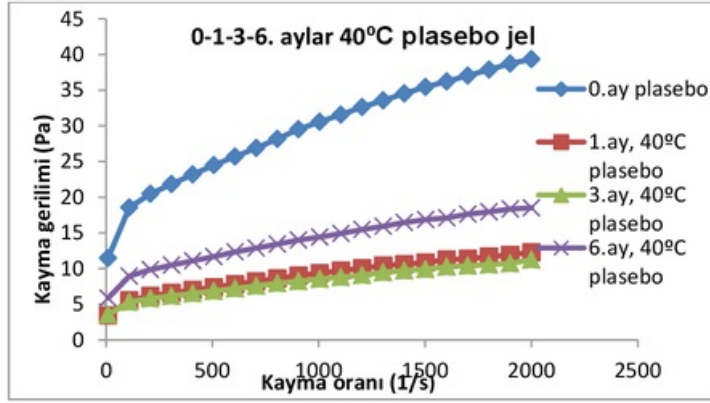
Hazırlanan plasebo ve *Euphorbia nicaensis* all. Subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresi içeren jel formülasyonlarının reolojik ölçümleri, Yöntem 2.3.6'da de anlatıldığı gibi 0., 1., 3. ve 6. aylarda oda sıcaklığında 60 mm çapında 1° açılı plate/plate sistemi (35 mm, gap 0.3 mm, 0.1-10.0 Hz) kullanıldı. Formülasyonlar üzerinde ayrıca osilasyon ölçümleri yapıldı. Formülasyonların elastik (G') ve viskoz modül (G'') değerleri hesaplandı.

#### 3.9.1 Akış testine ait bulguları

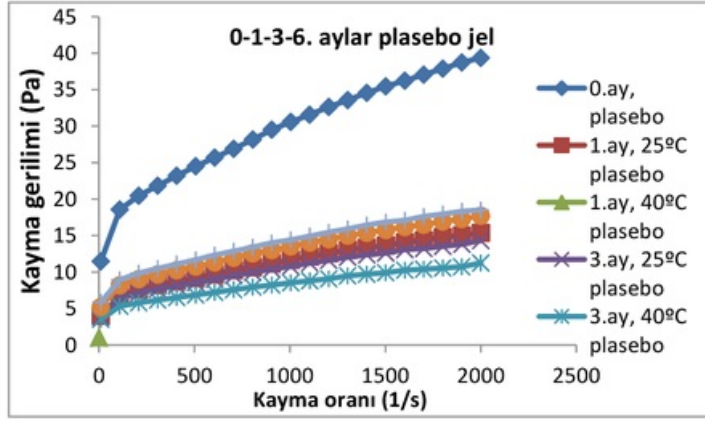
Yöntem 2.3.1 ve 2.3.2'de anlatıldığı gibi hazırlanan plasebo ve ekstre içeren formülasyonların kayma oranına karşı 25°C ve 40°C akış profillerinin eğrileri verilmiştir. Akış profillerine göre tüm jel formülasyonları plastik akış göstermektedir (Şekil 22- Şekil 28).



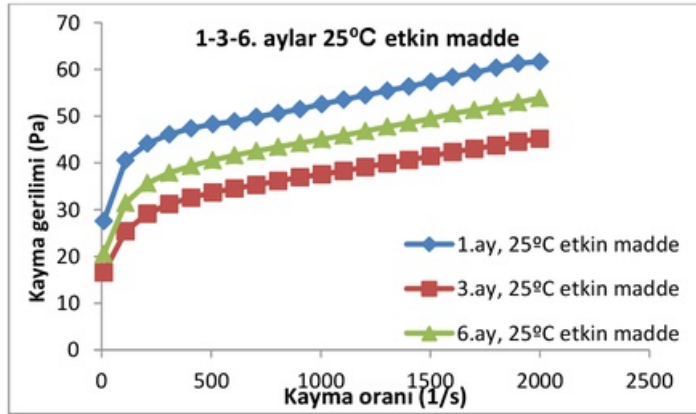
Şekil 22. 0.-1.-3.-6. aylar 25°C plasebo jel akış grafiği.



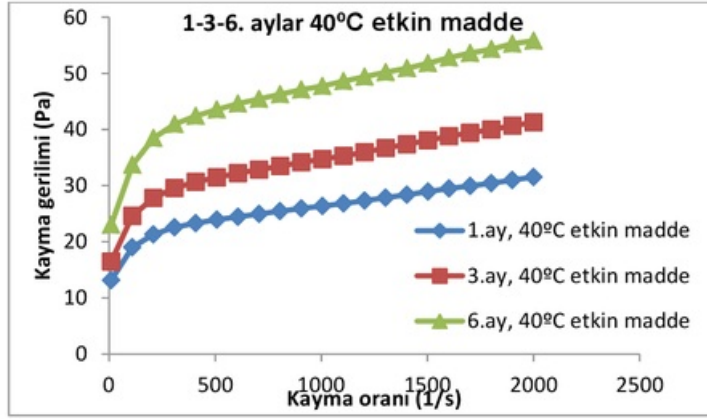
Şekil 23. 0.-1.-3.-6. aylar 40°C plasebo jel akış grafiği.



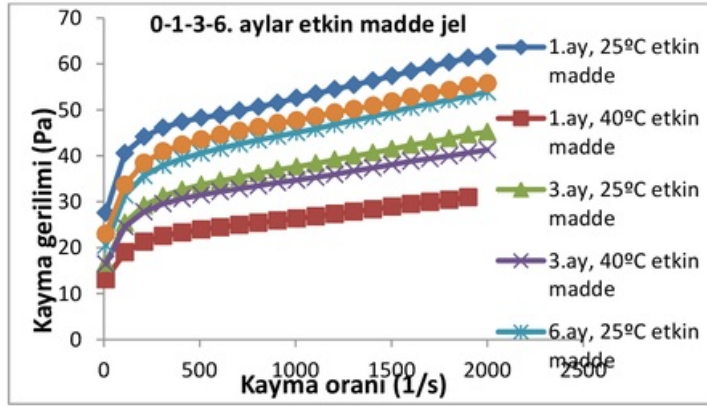
Şekil 24. 0-1-3-6. aylar 25°C ve 40°C plasebo jel akış karşılaştırma grafiği.



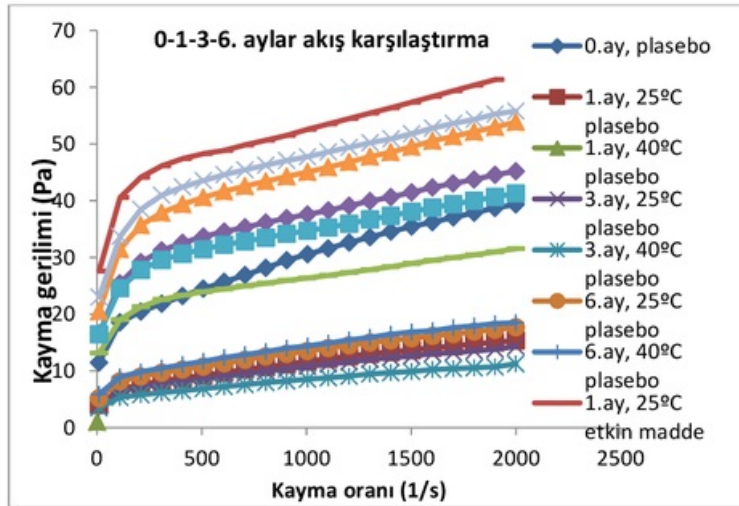
Şekil 25. 1-3-6. aylar 25°C etkin madde jel akış grafiği.



Şekil 26. 1-3-6. aylar 40°C etkin madde jel akış grafiği.



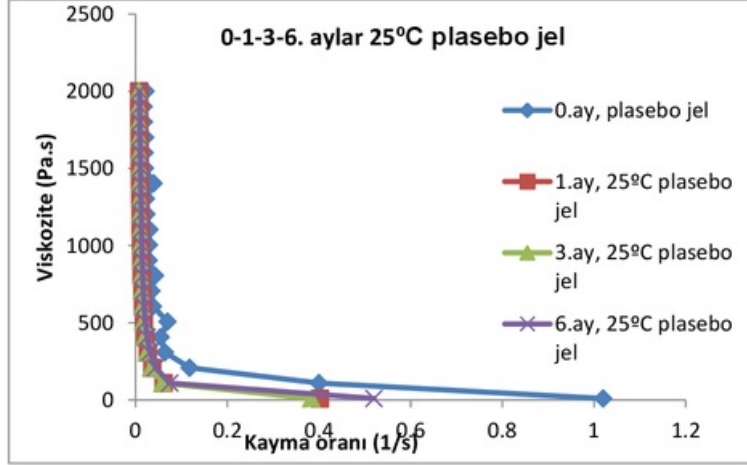
Şekil 27. 1-3-6. aylar 25°C ve 40°C etkin madde jel akış karşılaştırma grafiği.



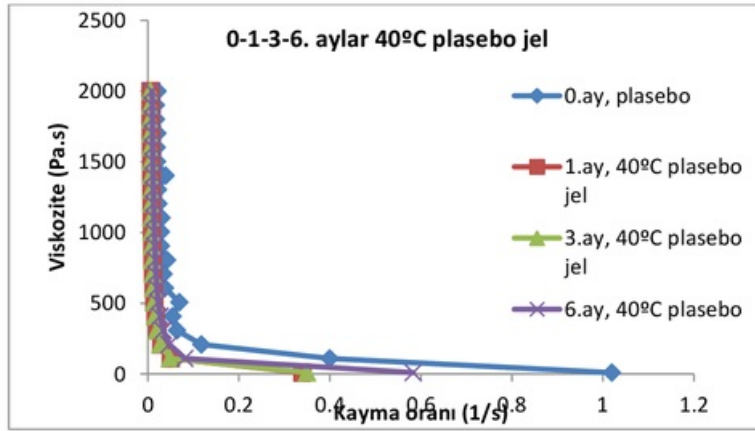
Şekil 28. 1-3-6. aylar 25°C ve 40°C etkin madde ve plasebo jel akış karşılaştırma grafiği.

### 3.9.2 Vizkozite ölçümleri bulguları

Jel formülasyonun vizkozite-kayma oranı Yöntem 2.3.6'da anlatıldığı gibi yapıldı. Şekil Şekil 29- Şekil 35'te jel formülasyonun 25°C ve 40°C'de vizkozite-kayma oranı grafikleri gösterilmiştir.

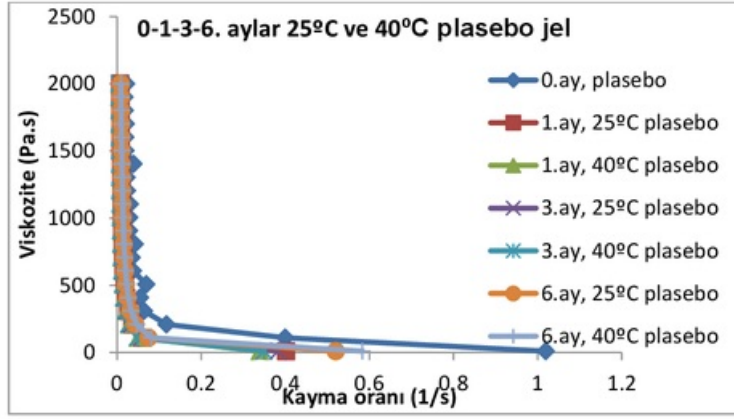


Şekil 29. 0.-1.-3.-6. aylar 25°C plasebo jel viskozite grafiği.

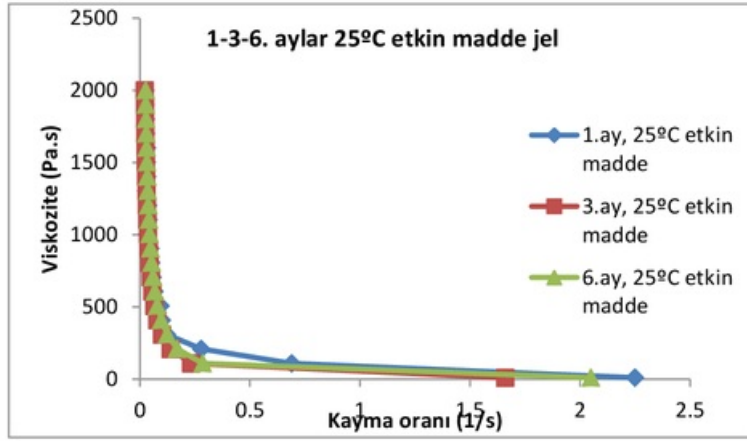


Şekil 30. 0.-1.-3.-6. aylar 40°C plasebo jel viskozite grafiği.

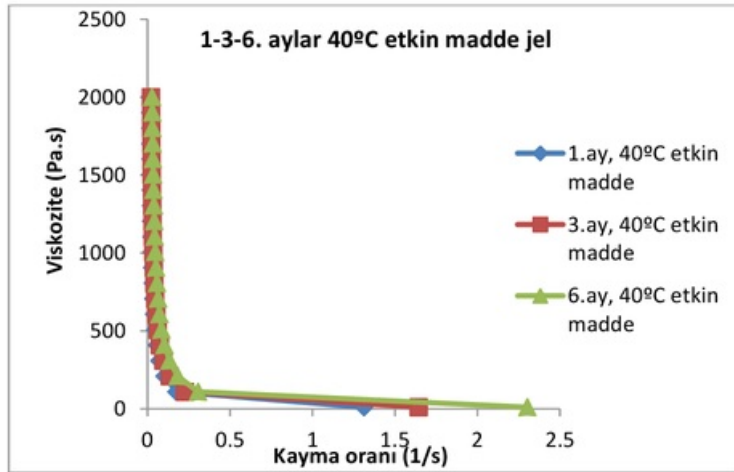




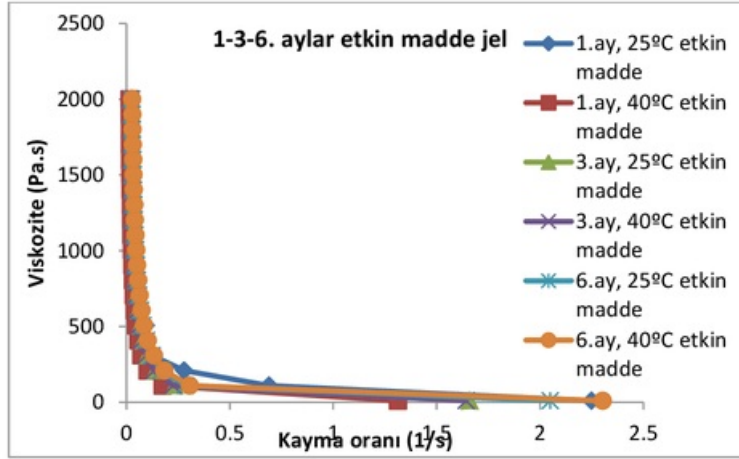
Şekil 31. 0-1-3-6. aylar 25°C ve 40°C plasebo jel viskozite karşılaştırma grafiği.



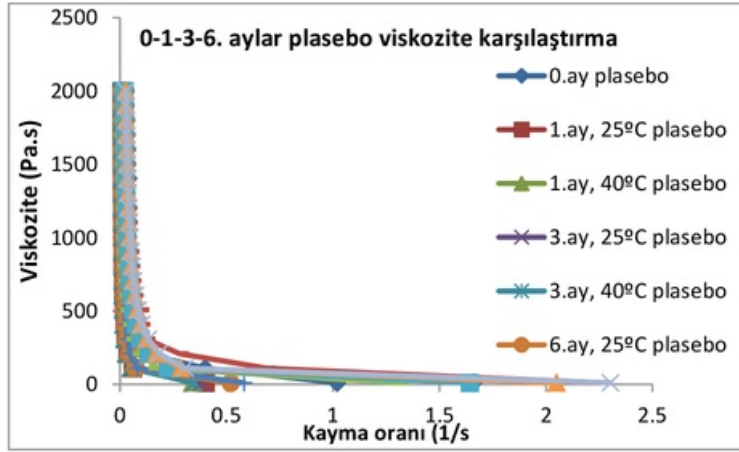
Şekil 32. 1-3-6. aylar 25°C etkin madde jel viskozite grafiği.



Şekil 33. 1-3-6. aylar 40°C etkin madde jel viskozite grafiği.



Şekil 34. 1-3-6. aylar 25°C ve 40°C etkin madde jel viskozite karşılaştırma grafiği.



Şekil 35. 0-1-3-6. aylar 25°C- 40°C etkin ve plasebo jel viskozite karşılaştırma grafiği.

#### 4 TARTIŞMA

Yara iyileşmesi çok fonksiyonlu fizyolojik bir olay olup hücrel ve biyokimyasal komponentlerin dışında çeşitli enzimatik yollar da iyileşmeye yardımcı olmaktadır. Doku yaralanması sonrası gelişen bir dizi olay, doku bütünlüğünü yeniden sağlamayı amaçlamaktadır. Yara iyileşmesi inflamasyon (1- 4 gün), proliferasyon (2- 22 gün) ve matürasyon-remodelleme (6-12 ay) safhalarını içermektedir. Yaranın iyileşme süresi uzadıkça yara uzun süre kapanmadığı için enfeksiyon riskinin artmaktadır. Bu yüzden yaraların iyileştirilmesi, enfeksiyona sebebiyet vermeden doğal süresinde ya da mümkünse anormal durumlara sebebiyet vermeden daha kısa sürede olmalıdır.

Doğal ve sentetik jel tipi formülasyonlar, film/membranlar, kompozitler, mikro/nanopartiküler sistemler yara iyileşmesi için geliştirilmiştir ve klinikte kullanılmaktadır. Doğal polimerler jelleri hazırlamak için çok tercih edilmektedir. Jelatin yara ve yanık tedavisinde sıklıkla kullanılan bir polimerdir. Doğal polimerler genellikle jellerin hazırlanmasında tercih edilirler. Jelatin değişik polimerler ile birlikte kullanıldığında dermal yanıkların tedavisinde destek doku olarak kullanılmaktadır. Biopolimerler ve biyomateryaller ile tedavi edilen yaralar hızlı iyileşme göstermektedir. Biyopolimerlerin yapısal düzeni normal deriye benzerdir. Bu nedenle uyum, biyoparçalanabilirliği ve yara iyileştirici özelliği uygulama kolaylığı nedeni ile ideal materyallerdir.

Yara iyileşmesi için tedavi topikal veya sistemik olarak uygulanmaktadır. Çeşitli büyüme faktörleri yara iyileşmesinde önemlidir. Doku ekstraktları, vitaminler, mineraller ve birçok bitki ürününün yara iyileştirme özelliği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Yara iyileşmesinde değişik ajanlara ihtiyacın gerekliliği nedeniyle birçok bitkisel ekstre çalışılmıştır. Bitkisel ürünler uzun yıllardır yara iyileşmesi tedavisinde kullanılmaktadır. Bitki ve ekstrelerin yara iyileşmesi üzerine etkisi bulunmaktadır. Bu doğal ajanlar çoklu mekanizmalar ile kaybedilen dokunun rejenerasyonunu ve iyileşmeyi indüklemektedir. Bununla birlikte yara iyileşmesi için önerilmeden önce bitkilerin geleneksel ilaç olarak kullanımı güvenilirlik, standardizasyon ve bilimsel validasyon gerektirmektedir.

İnsanlar yaşamlarını sürdürebilmek için bazı bitkileri besin olarak, bazılarında boya elde ederek, süs bitkisi olarak ya da tedavi amaçlı kullanarak bitkilerden yararlanmışlardır. Bitkisel droglar kontrolsüz bir şekilde kullanılmakta ve satılmakta olup yanlış bitki kullanımı istenmeyen durumlara yol açabilmektedir. Aktarlarda veya pazarlarda satılan ve özellikle tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin bilimsel yönden incelenmesi halk sağlığı için önem taşımaktadır.

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss ekstresi içeren bir jel formülasyonunun yara tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmesi amaçlanmıştır. Ekstrenin öncelikle fitokimyasal profilinin açığa çıkarılma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yara iyileştirme özelliğine sahip olan flavanoid grubu moleküllerin varlığı elde edilen ekstre için saptanmıştır. Daha sonrasında yapılan sitotoksikite çalışmalarında, sitotoksik değerlerin ölçümü yapıldı. Elde edilen EC<sub>50</sub> değerinin literatürle uygunluğu saptanmış oldu (119). Bunun sonrasında hazırlanacak olan % 0.6 ekstre değeri hesaplandı ve jel formülasyon hazırlandı. Sitotoksikite sonuçlarına bakıldığı zaman, yaşayan canlı hücre sayısının önemli ölçüde azalmadığı ve yara iyileştirici bir jel formülasyonu hazırlamak için uygun değer olabileceği görülmüş oldu.

Bu çalışmada Euphorbiaceae familyasına ait olan *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss türünden optimize olarak elde edilen ekstre jel formülasyon hazırlanmasında kullanılmıştır. Bu familyaya ait türlerde yapılan çalışmalarda bronşit ve romatizmaya iyi geldiği (108-110) antitümöral olduğu, astım için kullanıldığı ve analjezik etkisinin olduğu belirtilmektedir (111, 112). *Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss türünün taze yaprak latekslerinin yapılan çalışmalar ışığında Tinaebarbae hastalığına iyi geldiği saptanmıştır (114). Familyanın fitokimyasal ve farmakolojik çalışmaları sonucunda biyoaktif olan diterpenid grubuna sahip olduğu kanıtlanmış olup, tedavi edici özelliğini de bu gruptan aldığı düşünülmektedir (102).

Çalışmada kimyasal profil çıkarma basamağında açık kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır. A69 ana fraksiyon üzerinden yapılan ince tabaka kromatografisi ile işlemlere devam edilmiştir. 69 ana fraksiyon toplama işlemi sonucunda saf molekül eldesi için seçilen fraksiyon B61- 69'da 90: 10 (CHCl<sub>3</sub>: MeOH) sistemi kullanılmıştır (Şekil 14). Tütün kimyasal profillemeye çalışmaları yapıldığı zaman izole edilen molekülün bir flavanoid olan kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid olduğu NMR (<sup>1</sup>H) analizleri ışığında tespit edilmiştir. Kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosid yapılan çalışmalarda da izole edilen bir molekül olup, Euphorbiacea familyasının bireylerinin hemen hemen tamamında bulunmaktadır (98, 99).

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss türünün ekstresini içeren jel formülasyonun hazırlanmıştır. Jel hazırlamak için Lucas Meyer kozmetik firmasına ait olan Ecogel™ kullanılmıştır. Ecogel™ farklı polimerlerin bir araya gelmesi ile elde edilen karışım halindeki bir jelleştirici ajandır. Ksantan zankı, skleroglukan, pullulan ve lizolesitin polimerlerinin optimize kombinasyonunu içermektedir. İçeriğinde bulunan ksantan zankı ve skleroglukan jellere kalınlaşma özelliğini vermektedir.

İzole edilen saf molekül, etkin madde olan kersetin-3-O- $\alpha$ -L-ramnosidin pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde UV spekturum ölçümleri yapıldı. Ölçümlere uygun olarak kalibrasyon eğrisinin çizimi yapılarak olan r<sup>2</sup> değeri 0.9971 (Şekil 20) olarak hesaplandı. Hesaplanan bu değer yapılan tüm kalibrasyon çalışmalarında elde edilen değerlere yakın olarak bulunmuştur. Bu da yöntemin doğrusallığını teyit etmektedir.

Bitki ekstresi içeren jel formülasyonun hücrelere zarar verip vermediğini kontrol etmek için yapılan sitotoksiste testinde ekstre canlı hücrelere uygulanmıştır. Yöntem 2.2.3'te anlatıldığı gibi sitotoksiste çalışmaları yapılmıştır ve EC<sub>50</sub> değeri 18.324  $\pm$  1.09  $\mu$ g/mL olarak hesaplanmıştır. Toksik doz belirlenen çalışmalarda, % 0.6'lık değerler toksik olmadığı sonucuna varılmıştır. Jel formülasyonuna % 0.6 bitki ekstresi eklenmiştir (119).

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss türünün ekstresini içeren jel formülasyonunu hazırlamak için Lucas Meyer kozmetik firmasına ait olan Ecogel™ kullanılmıştır. Ecogel™ farklı polimerlerin bir araya gelmesi ile elde edilen karışım halindeki bir jelleştirici ajandır. Ksantan zankı, skleroglukan, pullulan ve lizolesitin polimerlerinin optimize kombinasyonunu içermektedir. İçeriğinde bulunan ksantan zankı ve skleroglukan jellere kalınlaşma özelliğini vermektedir.

Dissolüsyon çalışmalarına geçmeden önce izole edilen saf molekül, etkin madde olan Quercetin-3-O- $\alpha$ -L- rhamnoside'in pH 7.4 fosfat tamponu içerisinde UV spektrum ölçümleri yapıldı. Ölçümlere uygun olarak kalibrasyon eğrisinin çizimi yapılarak olan  $r^2$  değeri 0.9971 (Şekil 20) olarak bulunmuştur.

Dissolüsyon testi diyaliz torbası yöntemi ile yapılmış olup belli aralıklarla alınan örnekler UV spektrofotometre kullanılarak analiz edilmiştir. Dissolüsyon testine ait grafik Şekil 21'de verilmiştir. Hazırlanan jel formülasyonundan salım 7 saat devam etmiştir. Salım sonuçları 1.derece kinetiğe uymaktadır.

Jelin ambalajdan kolayca çıkabilmesi, ürünün istenen bölgede uzun süre dağılmadan kalabilmesi yarı katı preparatlar için önemli parametrelerdir. Formülasyonların reolojik özellikleri fiziksel stabilite, biyoyararlanım ve hastanın o ilacı kabul edebilirliğine etki etmektedir. Hazırlanan plasebo ve ekstre içeren jel formülasyonlarının stabilitesi, 25°C-%40 nem ve 40°C- %75 nem içeren stabilite kabinlerinde 6 ay süre ile izlenmiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, formülasyonların belirtilen süreler içinde görünüşlerinde bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Hazırlanan plasebo ve ekstre içeren jel formülasyonlarının stabilitesi, 25°C-%40 nem ve 40°C- %75 nem içeren stabilite kabinlerinde 6 ay süre ile izlenmiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, formülasyonların belirtilen süreler içinde görünüşlerinde bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Hazırlanan jel formülasyonlarının reoloji ve viskozite tayinleri yapılmıştır. Jel formülasyonlarına ait 25 °C ve 40°C 'de viskozite- kayma oranı ve kayma gerilimi-kayma oranı grafikleri Şekil Şekil 22- **Şekil 35**'te gösterilmiştir. Viskozite-kayma oranı ölçümlerinde jelin viskozitesi, öncelikle eşik değerin aşılması söz konusu olduğunda ise, bu tür formülasyonlar Newtonian olmayan akış göstermektedir. Çalışmada hazırlanan jel formülasyonu Şekil 22- Şekil 28'de de görüldüğü gibi plastik akış göstermektedir (86).

Yapılan fitokimyasal araştırmalarda, *Euphorbiaceae* familyasına ait türlerin içeriğinde taninler, alkaloidler, saponinler ve flavanoidler fazla miktarda bulunmaktadır (99). Türün, familyası ve içeriğinden kaynaklı olarak tanen ve flavanoid içeriğinden dolayı yara iyileştirici özelliği olması söz konusudur. Flavanoid gruplarının toksik etkisi bilinmektedir ancak çalışmada kullanılan bitki ekstresi miktarı sitotoksikite testi ile bulunduğundan dolayı toksik etkiye rastlanmamıştır. *Euphorbiaceae* familyası üyeleri toksik latekse sahiptir. Bu nedenle çalışmada, çiçek ve yaprak ekstraları kullanılmıştır.

## 5 SONUÇ

*Euphorbia nicaeensis* all. subsp. *glareosa* (Pall. Ex Bieb) A.R. Smith var. *lasiocarpa* Boiss türünün ekstresini içeren bir jel formülasyonu hazırlanarak salım çalışmaları ve reolojik ölçümleri yapılmıştır. Bu formülasyonun yara iyileşmesi üzerine etkisinin olup olmadığını incelemek amacıyla *in vivo* hayvan çalışmasında oluşturulan yara modelinde uygulanması planlanmaktadır.

## 6 KAYNAKLAR

1. Jakubovic, H.R., Ackerman, A.B. Structure and function of the skin: development, morphology and physiology. In: Dermatology, Moschella, S.L., Hurley, H.J. (Eds.), WB Saunders Company ,Philadelphia,1992, s.3-87.
2. Williams A. C.,Transdermal and Topical Drug Delivery - From Theory to Clinical Practice, UK 2004.
3. Lynch D. H., Roberts L. K., Daynes D. A., Skin imunology: The Achilles heel to transdermal drug delivery. J. Control Rel. 1987; 6: 39-50
4. Millington, P. F., Wilkinson, R. : Skin, First Ed., Cambridge University,Cambridge 1983
5. Nouveau-Richard, S., Monot, M., Bastien, P. ve De Lacharrière, O. In vivo epidermal thickness measurement: ultrasound vs. confocal imaging. Skin Res Technol 2004; 10: 136-140
6. Gibson M.; Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A Practical Guidefrom Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form; Interpharm/CRC Press U.S.A. 2004
7. Grasso, P. : Some Aspects of the Role of Skin Appendages in Percutaneous Absorption.; J. Soc. Cosmet. Chem; 1972; 22: 523-534
8. Taşpınar, A. : Deri Hastalıklarında Ön Bilgiler, A.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları,Sayı: 932 Ankara 1976
9. Zirra AM. The functional significance of the skin's stratum lucidum. Morphol Embryol 1976; 22: 9-12.
10. Weng Z.G., Lin Z.L., Zhang H.S., Sheng M.L., Ma J.Y., Wu C.F.; Clinical features and comprehensive treatment of late stage radiation and skin injuries; Chin Med J Eng.; 1991; 104: 581-584.
11. Kenneth R., Stevens JR.; The soft tissue. Radiation Oncology: Rationale,Technique, Results, USA, C. V. Mosby Co.; 1989; 6: 83-111.
12. Tırnaksız F. Ağabeyoğlu \_Çelebi N., Değim T., Değim Z., Doğanay T., Takka S., Acartürk F.; Modern Farmasötik Teknoloji Türk Eczacılar Birli\_i Eczacılık Akademisi Yayını; Ankara; 2007



13. Değim T., Deriden Emilim ve Deriye Uygulanan Yarı Katı Preparatlar. Acartürk F., Ağabeyoğlu İ., Çelebi N., Değim T., Değim Z., Doğanay T., Takka S., Tırnaksız F., Editörler. Modern Farmasötik Teknoloji. Ankara, Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, 2007; 337-354.
14. Barry, B. W., Williams, A. C. Terpenes as Skin Penetration Enhancers, Dekker, New York, 1993.
15. Kaggwa, G. B., Carey, M. J., Such, C., Saunders, B. R. A new family of water-swellaible microgel particles, J Colloid Interf Sci, 257: 2003. 392–397
16. Bediz Ölçer A, Gönül N. Perkütan Absorpsiyon ve Perkütan Absorpsiyonu Etkileyen Faktörler. Ankara Ecz. Fak. Derg. 2002;31 (1) s. 33-49
17. Barry, B.W. Transdermal Drug Delivery. P. Johnson, J.G. Lloyd-Jones (Ed.). Drug Delivery Systems, Fundamentals and Techniques. Chichester: Ellis Horwood Ltd. 1987. 200-223.
18. Pathan, I.B., Setty, C.M. Chemical Penetration Enhancer for Transdermal Drug Delivery Systems. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8 (2), 2009. 173-179.
19. Altındaş M. Yara Açık Yara. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No:27, İstanbul, 2001. 81-88
20. Yalçın H, Özkalp B. Vücut Hijyeninin Önemi ve Yara Bakımında Yeni Gelişmeler. 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, Samsun, 2005. s.287-308
21. Çınar C. Yara İyileşmesinde Destek Sağlayan Yöntemler. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi No:27, İstanbul, 2001. 165-171
22. Arab A, Orakçı V, Erbilen M, Şahin M. Yara İyileşmesi. Journal of Turgut Özal Medikal Center 1(2): 1994. 160-66.
23. Özkorkmaz-Gökalp E, Özay Y. Yara İyileşmesi ve Yara İyileşmesinde Kullanılan Bazı Bitkiler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2(2): 2009. 63-67
24. Alkan Z, Ünsaldı E, Şeker Y. Yaralarda Lokal Antibiyotik Uygulamalarının Yara Direnci Üzerine Etkileri. A. O. Vet. Fak. Derg. 37 (2): 1990. 364-374

25. Hunt T, Wound Healing. Current Surgical Diagnosis & Treatment<sup>de</sup>. Ed: Way LW, Doherty GM. United States of America : McGraw Hill, 2004:75-88.
26. Schoefl, G. I., "Studies of inflammation. III:Growing capillaries: Their structure and permeability", *Vir-chows Arch. Pathol. Anat.*, 1963. 337: 97
27. Skalli, O.,Gabbiani, G., "The biology of the myofibroblast relationship to wound contraction and fibrocontractive diseases". in Clark R.A.F. andHenson P.M. (eds), Plenum Publishing, *The molecular and Cellular Biology of Wound Repair*, New York, 373 (1988)
28. Ryan, G. B., " Myofibroblasts in human granalution tissue", *Hum. Pathol.*, 5: 55 (1974)
29. Gilliver SC, Ashcroft GS. Sex steroids and cutaneous wound healing: the contrasting influences of estrogens and androgens. *Climacteric.* 2007;10:276-88.
30. Kanda N, Watanabe S. Regulatory roles of sex hormones in cutaneous biology and immunology. *J Dermatol Sci.* 2005;38:1-7.
31. Hall G, Phillips TJ. Estrogen and skin: the effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53:555-68
32. Spann CT, Tutrone WD, Weinberg JM, Scheinfeld N ve ark. Topical antibacterial agents for wound care: a primer. *Dermatol Surg.* 2003;29:620-6.
33. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest.* 2007;117:1219-22
34. Kirsner R. Wound Healing. In: Bologna J, Jorizzo J, Rapini R, eds. *Dermatology.* 2nd ed.: Mosby Elsevier. 2008; (vol 2):2147-58
35. Kobayashi N, Nagai H, Yasuda Y, Kanazawa K. The early influence of albumin administration on protein metabolism and wound healing in burned rats. *Wound Repair Regen.* 2004;12:109-14
36. Mandal A. Do malnutrition and nutritional supplementation have an effect on the wound healing process *J Wound Care.* 2006;15:254-7
37. Hengge UR, Ruzicka T, Schwartz RA, Cork MJ. Adverse effects of topical glucocorticosteroids. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54:1-15; quiz 16-8.

38. Ertan G, Kırılmaz L, Özer Ö, Baloğlu E, Karasulu Y, Sevgi F ve ark. Deri. İçinde: Özer Ö, editör. Farmasötik Teknoloji I. İzmir: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayını, 2014: s. 210-244
39. Ertan G, Kırılmaz L, Özer Ö, Baloğlu E, Karasulu Y, Sevgi F ve ark. Yarı Katı Preparatlar. İçinde: Özer Ö, editör. Farmasötik Teknoloji II. İzmir: Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayını, 2015. 137-196
40. Geçgil Ş, "Merhemler", Farmasötik Teknoloji'ye Başlangıç, Cihan Matbaacılık, İstanbul, 1991, 283-294.
41. Swarbrick J, Boylan JC, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, New York, 1991
42. United States Pharmacopeia (USP 23-NF 19), Supp. 2, The United States Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville, MD 2000
43. British Pharmacopoeia, Her Majesty's Stationery Office. London, 1988, 691
44. The United States Pharmacopeia. 22th Edition, Mack Printing Company Easton, Pennsylvania, 1990
45. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Company, Pennsylvania, 1990
46. Zatz, J. L., Kushla, G. P., "Gels.", In; Lieberaman, H. A., Riger, M. M., Banker, G. S., Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, volume 2, 1996, 399-421.
47. Osborne D. W. Amann A. H. Topical drug delivery formulations , The upjohn company, Kalamazoo, Michigan. 1990
48. Ghosh, T. K., Pfister, W. R., Yum, S. I. Transdermal and Topical Drug Delivery Systems, Interpharm Press Inc., Buffalo Grove. 1997.
49. Harris, D., Robinson, J. R. Drug Delivery Via the Mucous Membranes of the Oral Cavity, J. Pharm. Sci, 1992. 81:1-10.
50. Sinha, V. R., Kumria, R. Polysaccharides in Colon Specific Drug Delivery, Int. J. Pharm, 2001. 224:19-38.
51. Krishnaiah, Y. S. R., Veer Raju, P., Kumar, B. D., Bhaskar, P., SatyanarayanaV. Development of Colon Targeted Drug Delivery Systems For Mebendazole, J. Cont. Rel, 2001. 77:87-95
52. Domb, A. J., Kost, J., Wiseman, D. M. Handbook of Biodegradable Polymers, Harwood Academic Publishers, 1997.

53. Erden N, Çelebi N, "Kitin ve kitozanın Farmasötik Teknolojideki Uygulanışı", FABAD Farm. Bil. Der., 15,277-287,1990.
54. Krístl J, Korbar JS, Struc E, Schara M, Rupprecht H, "Hydrocolloids and gels of chitosan as drug carriers", IntJ.Pharm., 99,13-19, 1993
55. Hejazi, R., Amiji, M. Chitosan-Based Gastrointestinal Delivery Systems, J. Cont. Rel, 2003. 89:151-165
56. Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association Production Staff, Washington, 2009.
57. Shin-Etsu Product Data, www.shinetsu.co.jp, 2004
58. The Merck Index, Twelfth Edition, Merck & Co., Inc., U.S.A., 1997
59. Tırnaksız F. Ağabeyoğlu İ. Çelebi N: Değim T. Değim Z. Doğanay T. Taka S. Acartürk F. ; Modern Farmasötik Teknoloji Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; Ankara; 2007
60. Lang R. A. Grüntzig P. M. Weisgerber C. Weis C. Odermatt E. K. Kirschner M. H. Polyinyl alcohol gel prevents abdominal adhesion formation in a rabbit model: Fertil Steril 2007; 88; 1180-1186
61. Nugent M. J. D. Higginbotham C. L. Preparation of a Novel freeze thawed polyvinyl alcohol composite hydrogel for drug delivery applications; Eur J Pharm Biopharm; 2007; 67; 377-386
62. Shinetsu <http://metolose.jp/e/>
63. Bonacucina, G., Spina, M., Misici-Falzi, M., Cepsi, M., Pucciarelli, S., Angeletti, M., Palmieri, G. F. Effect of Hydroxypropyl  $\beta$ -Cyclodextrin on the Self-Assembling and Thermogelation Properties of Poloxamer 407, 2007.
64. Güven, K. C. (1998). İlaç rehberi, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul
65. European Pharmacopoeia 7.6. (1 July 2012)
66. Slaughter, B. V., Khurshid S. S. ve diğ. Hydrogels in Regenerative Medicine, Adv. Mater.,21, .2009. 3307-3329
67. Altınışık, A. Synthesis, Characterization and applications of pH and temperature sensitive hydrogels, Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, Türkiye, 2011.
68. Wu C. J., Gaharwar, A.K., Chan, B. K., Schmidt, G. Mechanically Tough Pluronic F127/Laponite Nanocomposite Hydrogels from Covalently and Physically Cross-Linked Networks, Macromolecules, 44, 2011. 8215-8224

69. Zhao, S., Cao, M., Wu, J., Xu, W. Synthesis and Characterization of Biodegradable Thermo- and Ph-Sensitive Hydrogels Based on Pluronic F127/Poly( $\epsilon$ -caprolactone) Macromer and Acrylic Acid, *Macromolecular Research*, 17, 2009. 1025-1031
70. Zhou, H.Y., Chen, X.G., Kong, M., Liu, C.S., Cha, D.S., Kennedy, J.F. Effect of molecular weight and degree of chitosan deacetylation on the preparation and characteristics of chitosan thermosensitive hydrogel as a delivery system. *Carbohydrate polymers*, 73 (2), 2008, 265-273.
71. Tang, Y.F., Du, Y.M., Hu, X.W., Shi, X.W., Kennedy, J.F. Rheological characterisation of a novel thermosensitive chitosan/poly (vinyl alcohol) blend hydrogel. *Carbohydrate polymers*, 67 (4), 2007, 491-499
72. Lucas Meyer Kozmetik Firması
73. Pelletier, E.; Viebke, C.; Meadows, J.; Williams, P.A. A rheological study of the order–disorder conformational transition of xanthan gum. *Biopolymers* 2001, 59, 339–346.
74. Dumolin Y. Cartilier. L., Lenaerts, V. and Mateescu. M.A. Cross-linked amylose tablets containing alpha-amylase: an enzymatically-controlled drug release system. *J Control Release*. 1999 Aug 5; 1993, 60(2-3):161-7
75. Dräger, G., Krause, A., Möller, L. and Dumitriu, S., *Handbook of Biodegradable Polymers: Isolation, Synthesis, Characterization and Applications*, 2011, 133- 154, eds: Lendlein, A., Sisson, A., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
76. Katzbauer , B. Properties and application of Xanthan gum, *Polym Degrad. Stab.* , 59 , 1998, 81–84,
77. Survase, S. A. Saudagar, P. S. Bajaj, I. B. Singhal, R. S. Scleroglucan: Fermentative production, downstream processing and applications *Food Technology and Biotechnology* 45:2, 107-118
78. Coviello , T. , Palleschi , A. , Grassi , M. , Matricardi , P. , Bocchinfuso , G. , and Alhaique , F. *Molecules* , 2005 Jan 31, 10(1) , 6 – 33 Scleroglucan: a versatile polysaccharide for modified drug delivery.

79. Kataoka - Shirasugi , N. , Ikuta , J. , Kuroshima , A. , and Misaki , A., Antitumor activities and immunochemical properties of the cell-wall polysaccharides from *Aureobasidium pullulans*. *Biosci. Biotech. Biochem.* , 58 , 2145 – 2151
80. Simon , L. , Caye - Vaugien , C. , and Bouchonneau , M. Relation between pullulan production, morphological state and growth conditions in *Aureobasidium pullulans* : new observations *J Gen. Microbiol.* , 1993, 139 , 979 – 985
81. Egbaria K., Weiner N., Topical applications Liposomal Preparations *Cosmetics and Toiletries*, 1991; 106; 79-83
82. Shingel , K.I. Current knowledge on biosynthesis, biological activity, and chemical modification of the exopolysaccharide, pullulan *Carbohydr. Res.* , 2004, 339 , 447 – 460
83. Tabata , Y. , Matsui , Y. , Uno , K. , Sokawa , Y. , and Ikada , Y. Simple mixing of IFN with a polysaccharide having high liver affinity enables IFN to target to the liver. *J. Interferon Cytokine Res.* , 1999,19 , 287 – 292
84. Zuber, M. Controles pharmacotechniques. In: Seiller Mand Martini MC, eds. *Formes Pharmaceutiques Pour Application Locale*. Paris: Tec&Doc Lavoisier, 1996. 129-139
85. Lin, T.J. Rheology fundamentals and applications in cosmetic industry. In: DeNavarre MG, ed. *Chemistry and Manufacture of Cosmetics*. New York: D Van Nostrand Company Inc, 1962, 315-38
86. Yasemin Y., Rheolgy and Its Role In Cosmetology, *Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji AD, Eskişehir.*
87. Nae, H.N. Introduction to rheology. In: Laba D, ed. *Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries*. New York: Marcel Dekker Inc, 1993, 9-33
88. Pore, J. Rheologie-Thixotropie. In: Pore J, ed. *Emulsions, Micro-emulsions, Emulsions Multiples*. Paris: Tec&Doc Lavoisier, 1996, 175-240.
89. Yazan, Y. (2002). Reoloji ve kozmetolojideki yeri, *Türkiye Klinikleri Kozmetoloji Dergisi*, 3:115-128
90. Ikeda, S., Nishinari, K. (2001). 'Weak gel'-type rheological properties of aqueous dispersions of non-aggregated kappa-carragenan helices, *J Agr Food Chem*;49:4436–4441

91. Idson, B. Rheology: fundamental concepts. *Cosm Toilet* 93: 1978, 23-30.
92. Nae, H.N. Introduction to rheology. In: Laba D, ed. *Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries*. New York: Marcel Dekker Inc, 1993, 9-33
93. Pore, J. Rheologie-Thixotropie. In: Pore J, ed. *Emulsions, Micro-emulsions, Emulsions Multiples*. Paris: Tec&Doc Lavoisier, 1996, 175-240.
94. www.eczfak.anadolu.edu.tr, (2013). Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı "Reoloji".
95. Cheng, D.C.H. Thixotropy, *Int J Cosm Sci* 9 : 1987, 151-91
96. Gladwell, N., Rahalkar, R.R., Richmond, P. Influence of Disperse Phase Concentration Upon The Viscoelastic Behaviour of Emulsions. *Rheol. Acta* 1986. 25: 55-61
97. Van de Ven TGM, Hunter R.J. The energy dissipation in sheared coagulated sols. *Rhed Acta* 16: 1977, 534-543
98. Jaiprakash.B, Chandramohan , D.Narasimha Reddy, Burn Wound Healing Activity of *Euphorbia hirta*, *Ancient Science of Life* Vol : XXV (3 & 4) January, February, March & April, May, June 2006
99. Omale James\* and Emmanuel .T. Friday, Phtochemical Composition, Bioactivity and Wound Healing Potential of *Euphorbia Heterophylla* (Euphorbiaceae) Leaf Extract, *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research* Vol. 1(1), 2010, 54-63
100. Radcliffe-Smith, *Flora of Turkey* 1982
101. Upadhyay, R.R., Tumor promoting Diterpene Esters of the Family Euphorbiaceae, *Current Science*, 1996, 71 (1): 32-36p.
102. Bittner, M., Alarcón, J., Aqueveque, P., Becerra, J., Hernández, V., Hoeneisen, M. and Silva, M., Chemical study of the Euphorbiaceae family species of Chile, *Boletin De Sociedad Chilena De Quimica*, 2001, 46(4): 419-431p
103. Watt, J. and Brandwijk, M., *Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*, E & S Livingstone Ltd., London, 1962, 401-417p.
104. Vasas, A. and Hohmann, J., 2014, *Euphorbia diterpenes: isolation, structure, biological activity, and synthesis (2008–2012)*, *Chemical reviews*, 14(17): 8579-8612 p.

105. Le Dang, Q., Choi, Y. H., Choi, G. J., Jang, K. S., Park, M. S., Park, N. J., ... and Kim, J. C., Pesticidal activity of ingenane diterpenes isolated from *Euphorbia kansui* against *Nilaparvata lugens* and *Tetranychus urticae*, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2010, 13(1):51-54p.
106. Luo, H. and Wang, A., Induction of apoptosis in K562 cells by jolkinolide B, *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 2006, 84(10): 959-965p
107. Duarte, N., Lage, H. and Ferreira, M. J. U., Three new jatrophone polyesters and antiproliferative constituents from *Euphorbia tuckeyana*, *Planta medica*, 2008, 74(1): 61p
108. Pan, D.J., C.Q. Hu, J.J. Chang, T.T.Y. Lee, Y.P. Chen, H.Y. Hsu, D.R. Mcphail, A.T. Mcphail and K.H. Lee. 1991. Kansuiphorin-C and -D, cytotoxic diterpenes from *Euphorbia kansui*. *J. Of Phytochemistry*, 30: 1018-22.,
109. Shi, J.G., Z.J Jia and Y.Z. Cui. Novel tricyclic diterpenoids from *Euphorbia mictactina*. *J. Of Nat. Prod.*, 1995. 58: 51-55
110. Ferreira, M.J.U., A.M. Lobo and H. Wyler. Triterpenoides and steroids from *Euphorbia peplus*. *J. of Fitoterapia*, 1993. 4: 85-88.,
111. Vamsidhar, I., A.H. Mohammed, C.B. Nataraj, R. Madhusudana and M. Ramesh. Antinociceptive activity of *Euphorbia heterophylla* roots. *J. of Fitoterapia*, 2000. 71: 562-3
112. Ng, A.S. Diterpenes from *Euphorbia nerifolia* plants. *J. of Phytochemistry*, 1990. 29: 662-665
113. Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey) *Journal of Ethnopharmacology* 111 (2007) 341–364
114. Phytochemical Composition, Bioactivity and Wound Healing Potential of *Euphorbia heterophylla* (*Euphorbiaceae*) Leaf Extract Omale James et al. / *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research* Vol. 1(1), 2010, 54-6.
115. The United States Pharmacopeia. Easton, Mack Printing Company, 1990
116. Agabeyoglu, I. Dissol: A basic computer programme for the kinetic assessment of dissolution data. National Pharmaceutical Congress. Istanbul. 1981.



117. Higuchi, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices, *J Pharm Sci*, 52: 1963.
118. Hixson, A. W., Crowel, J. H. Dependence of Reaction Velocity upon Surface and Agitation I-Theoretical Consideration', *Industrial and Engineering Chemistry*, 1931. 23:923-31.
119. RAJA SIDAMBARAM R, DINESH M.G AND JAYALAKSHMI E.T, An *In Vitro* study of cytotoxic activity of *Euphorbia hirta* on HEP2 cells of human epithelioma of larynx, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, ISSN- 0975-1491 Vol 3, Suppl 3, 2011
120. Long-Ze Lin and James M. Hamly, A Screening Method for the Identification of Glycosylated Flavonoids and Other Phenolic Compounds Using a Standard Analytical Approach for All Plant Materials, *J Agric Food Chem*. 2007 Feb 21; 55(4): 1084–1096 .

## 7 ÖZGEÇMİŞ

Lisans eğitimimi Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde 2013 yılında tamamladım. Aynı yıl (2013) , Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım.

Burcu AKYAR  
akyar.burcu@gmail.com

# tez duzeltme

## ORIJINALLIK RAPORU

%3

BENZERLIK ENDEKSI

%3

İNTERNET  
KAYNAKLARI

%0

YAYINLAR

%0

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

## BIRINCIL KAYNAKLAR

1

[slideplayer.biz.tr](http://slideplayer.biz.tr)

İnternet Kaynağı

%1

2

[www.istanbulsaglik.gov.tr](http://www.istanbulsaglik.gov.tr)

İnternet Kaynağı

%1

3

[www.dermaneturk.com](http://www.dermaneturk.com)

İnternet Kaynağı

%1

4

[www.saglikbakanligi.com](http://www.saglikbakanligi.com)

İnternet Kaynağı

<%1

5

[readgur.com](http://readgur.com)

İnternet Kaynağı

<%1

6

[www.gata.edu.tr](http://www.gata.edu.tr)

İnternet Kaynağı

<%1

ALINTILARI ÇIKART

KAPAT

EŞLEŞMELERİ ÇIKAR < 5 WORDS

BİBLİYOGRAFYAYI  
ÇIKART

ÜZERİNDE