

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AZELAİK ASİT İÇEREN TOPİKAL SIVI KRİSTAL FORMÜLASYONLARIN
TASARIMI VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Kim. Merve AYTEKİN

Hacettepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Yönetmeliğinin
Kozmetoloji Programı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Süeda HEKİMOĞLU

ORTAK TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. R. Neslihan GÜRSOY

ANKARA

2008

Sağlık Bilimler Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Kozmetoloji Programı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Süeda Hekimoğlu
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye Prof. Dr. Yılmaz Çapan
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye Prof. Dr. Filiz Öner
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye Prof. Dr. Ayşen Karaduman
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye Doç. Dr. R. Neslihan Gürsoy
(Hacettepe Üniversitesi)

ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve yönetim kurulunun kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hakan S. ORER
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren ve her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, büyük desteğini gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. Süeda Hekimoğlu'na, ilgisi ve desteğiyle her zaman yanımda olan ortak tez danışmanım Doç. Dr. R. Neslihan Gürsoy'a, değerli bilgilerini benden esirgemeyen, H.Ü. Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ayşen Karaduman'a,

Çalışmalarım sırasında kullandığım azelaik asidi sağlayan Dr. Orhan Vaizoğlu'na (Orva İlaç Sanayi ve Tic. Ltd. Şti), FTIR analizlerinin yapılmasına olanak sağlayan ve yardımcı olan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya anabilim dalından Arş. Gör. Mehmet Alp'e, erime noktası tayininin yapılmasına olanak sağlayan ve yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Selma Saraç ve Ecz. Peri Aytaç'a, FTIR spektrumunun yorumlanmasında yardımlarını esirgemeyen Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Sevim Dalkara'ya, HPLC çalışmalarım süresince yardımlarını gördüğüm Dr. Ecz. Emirhan Nemutlu ve Likrom Analitik Çözümler Pazarlama Ltd. Şti.'den Cihad Ünlü'ye, reolojik çalışmalarım sırasında yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Polimer Kimyası Anabilim Dalı'ndan Yard. Doç. Dr. Pınar Akkaş Kavaklı'ya,

Tezimin her aşamasında bana yardımcı olan, sabrı ve sonsuz anlayışı ile bana güç ve destek veren Ecz. Tuğba Gülsün ve Bio. Eren Ayata başta olmak üzere, Ecz. Mine Silindir, Uzm. Ecz. Elif Ay, Dr. Ecz. Burcu Sayın, Dr. Ecz. Mustafa Sinan Kaynak, Uzm. Ecz. Pelin Aksungur Aydın ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı elemanlarına, yanımda olmasalar da her zaman büyük desteklerini hissettiğim değerli arkadaşlarım Fulya Türküner ve Duygu Özkan'a,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez çalışmalarım sırasında da sevgi ve desteğini esirgemeyen, bana inanan ve güvenen sevgili aileme, anneanneme ve dedeme,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

ÖZET

Aytekin, M. Azelaik asit içeren topikal sıvı kristal formülasyonların tasarımı ve değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji, Kozmetoloji Programı Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara, 2008. Deriye uygulamaya yönelik sıvı kristal ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımı ve değerlendirilmesi amacıyla model madde olarak %1 azelaik asit içeren formülasyonlar geliştirilmiştir. Üçgen faz diyagramı çalışmaları sonucunda, yüzey etkin madde olarak Brij 721P ve Brij 72, yağ fazı olarak sıvı parafin ve suyun değişik oranlarda kullanılmasıyla, lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon, lamellar sıvı kristal yağlı sistemleri ve yağ/su emülsiyonu olmak üzere dört farklı formülasyon geliştirilmiştir. Formülasyonların karakterizasyonları, polarizan mikroskop, reolojik inceleme ve diferansiyel taramalı kalorimetri ile yapılmıştır. Formülasyonların oda sıcaklığında 6 ay boyunca stabil kaldığı gözlenmiş olup, yapılan in vitro salım çalışması sonucunda en hızlı salım lamellar sıvı kristal ve yağ/su emülsiyonundan elde edilirken, lamellar sıvı kristal emülsiyon ve lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinden salımın daha yavaş olduğu gözlenmiştir. Formülasyonların stratum korneum bileşenleri ile etkileşimi de diferansiyel taramalı kalorimetri ile incelenmiş olup, lipid ve protein pikleri üzerinde en şiddetli etkinin lamellar sıvı kristal ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminde gözlenmesi, bu formülasyonların deriden geçişte daha etkin olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular ışığında, lamellar sıvı kristal sistemlerin uygun topikal ilaç taşıyıcı sistemler olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Lamellar sıvı kristaller, azelaik asit, in vitro salım, diferansiyel taramalı kalorimetri.

ABSTRACT

Aytekin, M. Design and evaluation of topical lamellar liquid crystal formulations containing azelaic acid. Hacettepe University, Institute of Health Sciences, M. Sc. Thesis in Pharmaceutical Technology, Cosmetology Program, Ankara, 2008. Liquid crystal drug delivery systems containing 1% azelaic acid as a model drug were formulated and evaluated for the purpose of topical drug delivery. Ternary phase diagram studies led to the preparation of four different formulations, named as lamellar liquid crystal, lamellar liquid crystal emulsion, and lamellar liquid crystal oily system and oil/water emulsion formulation, containing different concentrations of surfactant/cosurfactant (Brij 721P/Brij 72), oil (liquid paraffin) and water. Characterization of formulations was performed by polarized light microscopy, rheological analyses and differential scanning calorimetry. Formulations were stable for 6 months at room temperature. In vitro release studies indicated that the fastest release was achieved by the lamellar liquid crystal and oil/water emulsion systems whereas slower release was observed from the lamellar liquid crystal emulsion and lamellar liquid crystal oily systems. The interaction between the components of the stratum corneum and the formulations was investigated by differential scanning calorimetry. The lamellar liquid crystal and lamellar liquid crystal emulsion formulations were found to have the most drastic effect on lipid and protein components of the stratum corneum, implying that these formulations could be more effective in permeation of the drug through the skin as compared to the other formulations. In conclusion, it could be said that lamellar liquid crystal systems could be promising for topical drug delivery.

Keywords: Lamellar liquid crystals, azelaic acid, in vitro release, differential scanning calorimetry.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR SAYFASI	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xv
GİRİŞ VE AMAÇ	1
1. GENEL BİLGİLER	
1.1. Sıvı Kristal Sistemler	2
1.1.1.Sıvı Kristallerin Tanımı	2
1.1.2. Sıvı Kristallerin Tipleri	7
1.1.2.1.Termotropik Sıvı Kristaller ve Tipleri	7
1.1.2.2. Liyotropik Sıvı Kristaller ve Tipleri	8
1.1.2.2.1.Hekzagonal Sıvı Kristal Faz	10
1.1.2.2.2.Kübik Sıvı Kristal Faz	11
1.1.2.2.3. Lamellar Sıvı Kristaller	11
1.2.Liyotropik Sıvı Kristallerin Farmasötik uygulamaları	12
1.3. Lamellar Sıvı Kristaller	15
1.3.1. Yapıları ve Oluşum Mekanizmaları	15
1.3.2. Hazırlanmaları	15
1.3.2.1. Üçgen Faz Diyagramları	16
1.3.2.2. Karakterizasyonda Kullanılan Yöntemler	17
1.3.2.2.1. Polarize Işık Mikroskobu	17
1.3.2.2.2. Dar Açılı X Işını Saçılımı Spektroskopisi (SAXS) ve Geniş Açılı X Işını Saçılımı Spektroskopisi (WAXS)	18
1.3.2.2.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)	19
1.3.2.2.4. Reolojik İnceleme	20

1.3.2.2.5. Dondurarak Kesit Alma Transmisyon Elektron Mikroskobu (Freeze-Fracture TEM (FF-TEM))	21
1.3.3. Sıvı Kristallerin Üstünlükleri ve Sakıncaları	22
1.3.4. Lamellar Sıvı Kristallerin Topikal Uygulamaları	23
1.3.5. Topik Uygulanan Dozaj Şekillerinin Deri İle Etkileşiminin İncelenmesi	24
1.3.5.1. Azaltılmış Toplam Yansıtma Fourier Dönüşüm Infrared Spektroskopisi (Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Spectroscopy, ATR-FTIR) ve Fourier Dönüşüm Infrared Spektroskopisi (FTIR)	24
1.3.5.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)	26
1.4. Azelaik Asit	28
1.4.1. Kimyasal Yapısı	28
1.4.2. Fizikokimyasal Özellikleri	28
1.4.3. Farmakolojik Özellikleri	29
1.4.4. Stabilitesi	29
1.4.5. Farmakodinamik Özellikleri	30
1.4.6. Farmakokinetik Özellikleri	31
1.4.7. Uygulama Alanları	31
1.4.8. Piyasa Formülasyonları ve Formülasyon Geliştirme Çalışmaları	33
2. DENEYSEL	
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler, Malzemeler	36
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
2.1.2. Kullanılan Aletler	37
2.2. Yöntemler ve Deneyle	38
2.2.1. Azelaik Asidin Fizikokimyasal Özelliklerinin Tayini	38
2.2.1.1. FTIR Spektrumu	38
2.2.1.2. UV Spektrumu	38
2.2.1.3. Kalibrasyon Doğrusu	38
2.2.1.4. Analitik Yöntem Validasyonu	39
2.2.1.5. Dayanıklılık	41
2.2.1.6. Çözünürlük Tayini	41
2.2.1.7. Erime Derecesi Tayini	42
2.2.2. Formülasyon Çalışmaları	42

2.2.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları	42
2.2.2.2. Formülasyonlarda Kullanılan Yüzey Etkin Maddeler	43
2.2.2.3. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmaları	44
2.2.2.4. Lamelar Sıvı Kristal, (LSK) Lamellar Sıvı Kristal Emülsiyon(LSK-ES), Lamellar Sıvı Kristal Yağlı Sistemleri (LSK-YS) ve Y/S Emülsiyonu (Y/S E)	47
2.2.2.5. Formülasyonların Hazırlanması	47
2.2.2.6. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	49
2.2.3. In Vitro Salım Çalışmaları	50
2.2.3.1. Difüzyon Aygıtı	50
2.2.3.2. Difüzyon Ortamının Hazırlanması	51
2.2.3.3. Salım Deneylerinin Yapılması	51
2.2.3.4. Miktar Tayini	52
2.2.3.5. Salım Süresince Azelaik Asidin Stabilitesinin İncelenmesi	52
2.2.3.6. Formülasyonların Stratum Korneum ile Etkileşiminin DSC ile İncelenmesi	52
2.2.4. Stabilite Çalışmaları	53
2.2.5. Bulguların İstatistiksel olarak İncelenmesi	54
3. BULGULAR	
3.1. Azelaik Asidin Fizikokimyasal Özellikleri	55
3.1.1. FTIR Spektrumu	55
3.1.2. UV Spektrumu	57
3.1.3. Kalibrasyon Doğrusu	58
3.1.4. Analitik Yöntem Validasyonu	58
3.1.4.1. Doğrusallık	58
3.1.4.2. Kesinlik	59
3.1.4.3. Özgünlük	60
3.1.4.4. Teşhis Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)	61
3.1.4.4. Dayanıklılık	61
3.1.5. Çözünürlük Tayini	62
3.1.6 Erime Derecesi Tayini	63
3.2. Formülasyon Çalışmaları	63

3.2.1. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan İncelemeler	63
3.2.1.1. Makroskobik İncelemeler	64
3.2.1.2. Mikroskobik İncelemeler	64
3.2.1.3. Reolojik İnceleme	68
3.2.1.4. Emülsiyon Tipi Tayini ve Mikroskobik İncelemeler	72
3.2.1.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) Analizi	72
3.3. In Vitro Salım Çalışmaları	77
3.3.1. Lamellar Sıvı Kristal, Lamellar Sıvı Kristal Emülsiyon Sistemi, Lamellar Sıvı Kristal Yağlı Sistemi ve Y/S Emülsiyonundan Salım	77
3.3.2. Formülasyonların Stratum Korneum Bileşenleri ile Etkileşiminin DSC ile İncelenmesi	83
3.4. Stabilite Çalışmaları	87
3.4.1. Makroskobik İncelemeler	87
3.4.2. Mikroskobik İncelemeler	87
4. TARTIŞMA	93
SONUÇ	100
KAYNAKLAR	101
ÖZGEÇMİŞ	117
EKLER	118

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CMC	Kritik Misel Konsantrasyonu
KPP	Kritik Paketlenme Parametresi
POE	Polioksi Etilen
I_1	Kübik Sıvı Kristal Faz
$L\alpha$	Lamellar Sıvı Kristal Faz
H_1	Hekzagonal Sıvı Kristal Faz
Ia3d	Sürekli Kübik Faz
H_{11}	Ters hekzagonal Faz
Pn3m	Elmas Yapıda Kübik Sıvı Kristal Faz
Im3m	İlkel Yapıda Kübik Sıvı Kristal Faz
I2	Ters Miseller Kübik Faz
V2	Ters Sürekli Kübik Faz
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
SAXS	Dar Açılı-X Işını Saçılımı Spektroskopisi
WAXS	Geniş Açılı-X Işını Saçılımı Spektroskopisi
PM	Polarize Işık Mikroskobu
FF-TEM	Dondurarak Kesit Alma Transmisyon Elektron Mikroskobu
ATR-FTIR	Azaltılmış Toplam Yansıtma Fourier Dönüşüm Infrared Spektroskopisi
FTIR	Fourier Dönüşüm Infrared Spektroskopisi
FDA	Food and Drug Administration
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
PDA	Photodiode Array
AzA	Azelaik Asit
LSK	Lamellar Sıvı Kristal
LSK-ES	Lamellar Sıvı Kristal Emülsiyon Sistemi
LSK-YS	Lamellar Sıvı Kristal Yağlı Sistemi
Y/S E	Yağ/Su Emülsiyonu
X_{ort}	Aritmetik Ortalama
SH	Standart Hata
VK	Varyasyon Katsayısı
LOD	Teşhis sınırı
LOQ	Tayin sınırı

ŞEKİLLER

	Sayfa
1.1. Çeşitli fazlarda moleküllerin dizilimi	2
1.2. Yüzey etkin maddelerin, serbest yüzey enerjisini azaltma mekanizmaları	3
1.3. Yüzey aktif madde monomerleri ve miseller arasındaki geri dönüşümlü termodinamik dengenin gösterimi	4
1.4. Kritik paketlenme parametresinin bileşenlerinin şematik gösterimi	5
1.5. Değişik kritik paketlenme parametreleri ve bunun sonucu oluşan yapılar	6
1.6. Sıcaklık ve yüzey aktif madde konsantrasyonuna göre oluşan liyotropik sıvı kristal fazlar	9
1.7. (a) Normal ve (b) ters hekzagonal fazın şematik görünümü	10
1.8. Farklı kübik fazların şematik gösterimi	11
1.9. Lamellar sıvı kristal fazın şematik gösterimi	12
1.10. Amfifilik blok kopolimer, yağ ve sudan oluşan formülasyonların oluşturdukları sıvı kristal yapıların üçgen faz diyagramında gösterimi (I1: miseller kübik, H1: hekzagonal, V1: sürekli kübik, L α : lamellar sıvı kristal, V2: ters sürekli kübik, H2: ters hekzagonal, and I2: ters miseller kübik)	16
1.11. Lamellar sıvı kristal fazların a) Malta Haçı ve b) yağlı şerit ve c) hekzagonal sıvı kristal fazın polarize ışık mikroskopundaki görüntüleri	18
1.12. 1-hekzadesil-3-metilimidazolium klorür/1-dekanol/su sisteminde oluşan lamellar sıvı kristal fazın SAXS spektrumu	19
1.13 Stratum korneumun ATR-FTIR spektrumu	25
1.14. a) CaSO ₄ ile kurutulmuş, b) 0.2 mg H ₂ O/mg stratum korneum oranında nemlendirilmiş, c) 0.6 mg H ₂ O/mg stratum korneum oranında nemlendirilmiş stratum korneumun DSC termogramı	26
1.15. Azelaik asidin kimyasal yapısı	28
2.1. Yüzey etkin madde:yardımcı yüzey etkin madde oranının 3:1 olduğu üçgen faz diyagramı (A=lamellar sıvı kristal yağlı sistemi bölgesi, B=emülsiyon bölgesi, C=lamellar sıvı kristal bölgesi)	45
2.2. Yüzey etkin madde:yardımcı yüzey etkin madde oranının 3:2 olduğu üçgen faz diyagramı (A=lamellar sıvı kristal yağlı sistemi bölgesi, B=emülsiyon bölgesi, C=lamellar sıvı kristal bölgesi)	45

3.1. Azelaik aside ait (a) örnek (b) referans FTIR spektrumu	55
3.2. Azelaik asidin %1'lik çözeltisinin metanol:su (10 mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki UV spektrumu	56
3.3. Azelaik asidin metanol:su (10 mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (n=6)	57
3.4. Azelaik asit içermeyen a) LSK, b) LSK-ES, d) LSK-YS ve c) Y/S E formülasyonlarının polarize ışık altındaki görüntüsü (10x)	64
3.5. Azelaik asit içeren (%1, a/a) a) LSK, b) LSK-ES, c) LSK-YS ve d) Y/S E formülasyonlarının polarize ışık altındaki görüntüsü (10x)	65
3.6. a) %20 azelaik asit içeren Azelderm® krem, b) %15 azelaik asit içeren Finacea® jelin polarize ışık altındaki görüntüsü (10x)	66
3.7. Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar yağlı sistemlerinin ve Y/S emülsiyonunun 30°C'deki reolojik osilatör profilleri (0.1-100 Hz)	67
3.8. Etkin madde içeren (%1, a/a) lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar yağlı sistemlerinin ve Y/S emülsiyonunun 30°C'deki reolojik osilatör profilleri (0.1-100 Hz)	67
3.9 Azelaik asidin DSC termogramı	71
3.10. Brij 721P, Brij 72 ve Brij 721P:Brij 72 (3:1) karışımının DSC termogramı	71
3.11. Azelaik asit içermeyen lamellar sıvı kristal sistem (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (LSK-ES), lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin (LSK-YS) ve Y/S emülsiyonuna (Y/S E) ait DSC termogramları	74
3.12. Azelaik asit içeren (%1, a/a) lamellar sıvı kristal (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon (LSK-ES), lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin (LSK-YS) ve Y/S emülsiyonuna (Y/S E) ait DSC termogramları	75
3.13. Azelaik asit içeren (%1 (a/a)) lamellar sıvı kristal (■), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (◆), lamellar sıvı kristal yağlı sistemden (▲) ve Y/S emülsiyonu (●) azelaik asidin salım profili (n=7)	76
3.14. Azelaik asidin lamellar sıvı kristal (■), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (◆), lamellar sıvı kristal yağlı sistemden (▲) ve Y/S emülsiyonu (●) Higuchi kinetiğine göre salım profili (n=7)	79
3.15. Stratum Korneumun DSC termogramı	81

- 3.16** Stratum korneumun (SC) ve etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemin (LSK-ES), lamellar sıvı kristal yağlı sistemin (LSK-YS) ve Y/S emülsiyonunun (Y/S E) stratum korneuma uygulanması sonucu elde edilen DSC termogramları 82
- 3.17** Lamellar sıvı kristallerin **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10x) 87
- 3.18** Lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10x) 88
- 3.19** Lamellar sıvı kristal yağlı sisteminin **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10x) 89
- 3.20** Y/S emülsiyonunun **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10x) 90

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonu bileşenleri	46
3.1. Azelaik asidin, metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki 40 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlar için tekrar edilebilirlik sonuçları (n=6)	58
3.2. Azelaik asidin, metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki 40 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlar için tekrar elde edilebilirlik sonuçları (n=6)	59
3.3. Azelaik asidin metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki dayanıklılığı (n=6)	60
3.4. Azelaik asidin 4 mM pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) salım ortamındaki çözünürlük testi sonucu (n=3)	61
3.5 Etkin madde içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonu için osilasyon parametreleri (1 Hz)	69
3.6. DSC termogramlarında elde edilen faz geçiş sıcaklıkları (°C) ve erime entalpisi değerleri (ΔH_m , J/g)	72
3.7. Azelaik asit içeren (%1,a/a) lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistem ve Y/S emülsiyonundan 12 saat sonunda salınan azelaik asit miktarları ve salım hızları	78
3.8. Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon (LSK-YS), lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin (LSK-YS) ve Y/S emülsiyonu (Y/S E) stratum korneuma uygulanması sonucunda elde edilen faz geçiş sıcaklıkları ve entalpileri	82

GİRİŞ VE AMAÇ

Sıvı kristaller son yıllarda kozmetik, kimya ve eczacılık alanlarında topikal taşıyıcı sistemler olarak oldukça fazla ilgi çekmektedir. Bu sistemlerin bu kadar fazla ilgi çekmesinin en önemli nedenlerinden biri, bu kolloid sistemlerle canlıların hücrelerindeki lipid çifte tabaka arasındaki benzerliktir. Sıvı kristaller kullanılarak, suda çözünürlüğü az olan etkin maddelerin çözünürlüğü artırılabilir gibi, proteinler gibi stabilite sorunu olan etkin maddeler formülasyona hapsedilerek bu maddelerin korunması ve hedef doku ya da organa taşınması sağlanabilir. Bu sayede, etkin maddelerin biyoyararlanımı artırılabilir. Sıvı kristallerin hazırlanmaları kolay olup, bu sistemlerle etkin maddelerin kontrollü salımı sağlanabilmektedir. Ayrıca, sıvı kristaller deriye uygulandıklarında uzun süreli nemlenme sağlayabilmektedir.

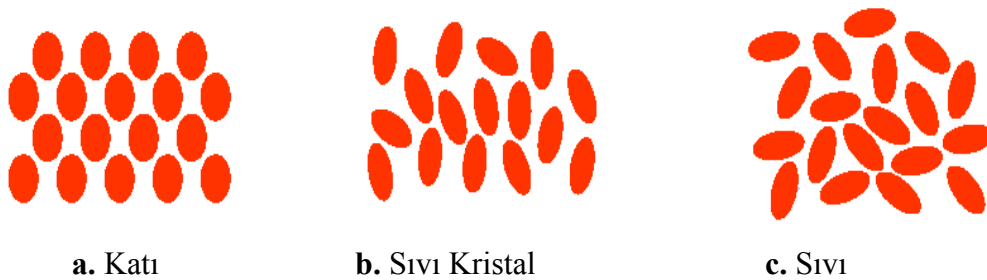
Bu çalışmada, lamellar sıvı kristal fazların topikal kullanımında ilaç taşıyıcı sistemler olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla geliştirilen formülasyonlarda etkin madde olarak, akneye ve dermatolojik/kozmetik bir sorun olan pigmentasyon bozukluklarına etkili olan azelaik asit seçilmiştir. En sık karşılaşılan hastalıklardan biri olan aknenin bazı türleri ciltte leke bırakabilmektedir. Azelaik asit hem akne tedavisinde hem de depigmentasyon etkisiyle, akne lekelerinin hafifletilmesinde rol oynayan bir etkin maddedir. Azelaik asidin piyasada konvansiyonel krem ve jel formülasyonları bulunmaktadır. Fakat bu krem (%20) ve jel (%15) formülasyonları fazla miktarda azelaik asit içermekte, bu da kaşıntı, eritem, yanma, batma gibi yan etkilere neden olmaktadır. Azelaik asidin çözünürlüğünün artırılmasına yönelik çalışmalar göz önüne alınarak, bu çalışmada, %1 azelaik asit içeren lamellar sıvı kristal yarı katı sistemlerde, lamellar sıvı kristallerin çözünürleştirici etkisi, ilaç salımı ve deriyle etkileşimi incelenmiştir.

Bu amaçlar doğrultusunda, bu çalışmada azelaik asit içeren lamellar sıvı kristal formülasyonların tasarlanması, hazırlanan formülasyonların karakterizasyonu, sıvı kristal formülasyonlardan etkin madde salımı çalışmaları planlanmış ve gerçekleştirilmiştir.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. SIVI KRİSTAL SİSTEMLER

Maddeler doğada katı, sıvı ve gaz olmak üzere üç ana fazdan biri durumunda bulunur. Katı fazda madde belirli bir şekle sahip olup molekülleri arasındaki bağ enerjileri ile atom ve moleküllerinin potansiyel enerjileri büyük, kinetik enerjileri ise küçüktür. Katıların molekülleri üç boyutta düzenli tekrarlanıyorsa kristal, molekülleri arasında uzun mesafe düzeni yoksa amorf (şekilsiz) katı olarak bilinirler. Sıvıların belirli bir şekli yoktur. Sıvılar buldukları kabın şeklini alırlar ve sıvı molekülleri, aralarındaki bağ enerjisi küçük olduğundan buharlaşabilirler. Sıvılar, üzerine etkiyen basıncı aynen iletir ve sıkıştırılmazlar. Gaz molekülleri arasındaki bağ, katı ve sıvı molekülleri arasındaki bağa göre zayıftır [1]. Katı fazdan sıvı faza geçiş, özel bir geçiş yapısı gösteren termodinamik olarak kararlı mezofaz (sıvı kristal) olarak da bilinen bir arafazdan geçilerek oluşmaktadır [2].



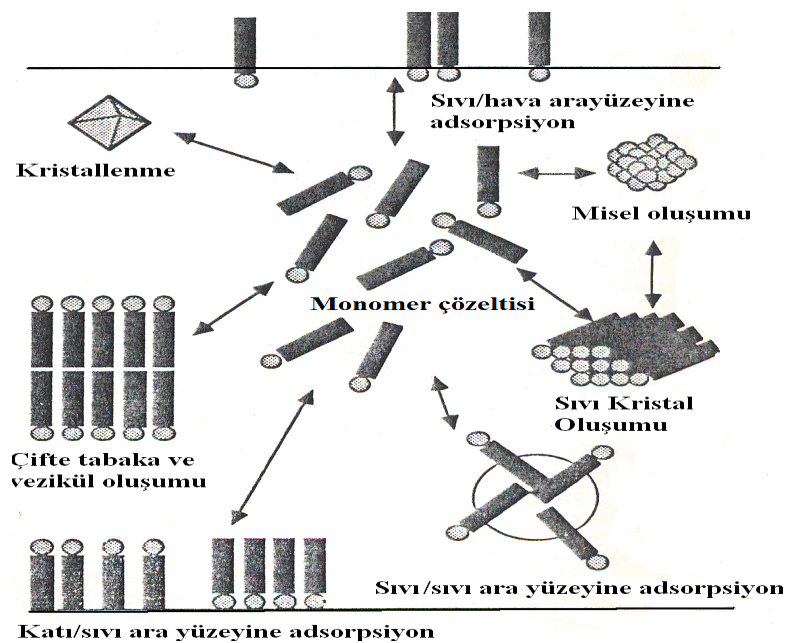
Şekil 1.1. Çeşitli fazlarda moleküllerin dizilimi [1].

1.1.1 Sıvı Kristallerin Tanımı

Sıvı kristaller, katılarla sıvılar arasında bir geçiş özelliği gösteren yapılardır. Sıvı kristallerde moleküller bir veya iki boyutta katı kristallerdeki gibi düzenlenmiş, aynı zamanda sıvılarda olduğu gibi diğer boyutlarda serbest halde bulunmaktadır. Bu nedenle, sıvı kristaller, hem katı maddelerin moleküler düzenine ve hem de sıvı maddelerin akış özelliklerine aynı anda sahiptir. Sıvı kristallerin anizotropik saçılımla karakterize, özgün optik özellikleri bulunmaktadır. Sıvı kristaller ilk olarak 1888 yılında Avusturya'lı botanikçi F. Reinitzer tarafından bulunmuştur. Reinitzer

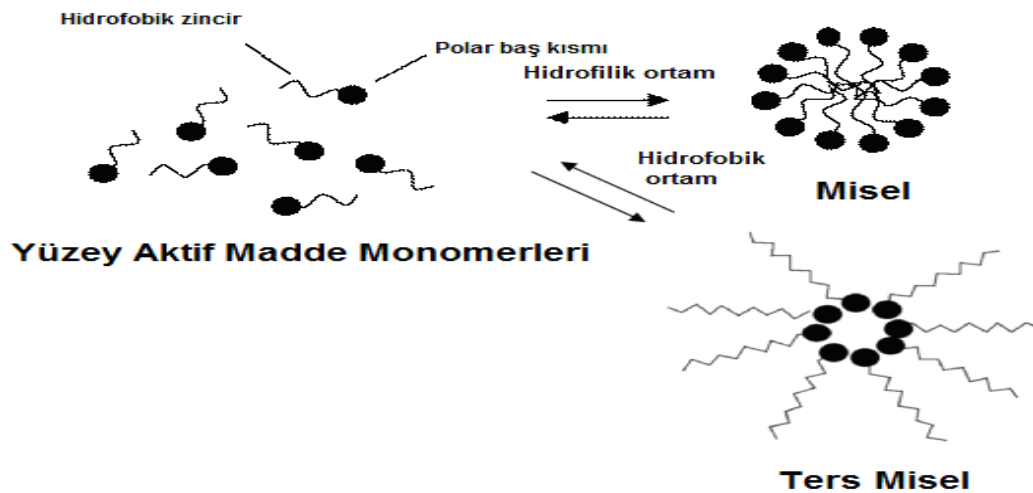
yaptığı deneyler sonucunda, kolesterolbenzoat adlı bileşiğin iki farklı erime noktasına sahip olduğunu gözlemiştir. Oda sıcaklığında kristal yapıda olan maddenin, ısıtıldığında 145.5°C’de bulanık bir sıvıya dönüştüğünü ve 178.5°C’de bu yapının ortadan kalkıp, berrak bir sıvı oluştuğunu gözlemiştir. Soğutmayla olayın tersine döndüğü anlaşılmıştır. Daha sonra Alman fizikçi D. Lehmann, polarize mikroskop altında yaptığı incelemeler sonucunda bulanık görünümde olan fazın anizotropik bir karakter taşıdığını ortaya koymuş ve termodinamik olarak kararlı olan bu fazın maddenin yeni bir hali olduğu sonucuna vararak, bu fazı, sıvı kristal faz olarak adlandırmıştır [3].

Sıvı kristal sistemlerin oluşumunu açıklayabilmek için, öncelikle sıvı kristalleri oluşturan yüzey etkin maddeleri ve bunların çeşitli çözücüler ile oluşturdukları miseller ve asosiyasyon bileşikleri incelenmelidir. Yüzey etkin maddeler, içerdikleri liyofilik ve liyofobik gruplar sayesinde ara yüzeylere adsorbe olarak, yüzey gerilimini düşürmekte ve arayüzeylerin serbest enerjisini azaltmaktadırlar. Ara yüzeyler doygunluğa ulaştığında, yüzey etkin maddeler Şekil 1.2’deki mekanizmalarla sistemin enerjisini azaltmaktadırlar [4].



Şekil 1.2. Yüzey etkin maddelerin, yüzey serbest enerjisini azaltma mekanizmaları [4].

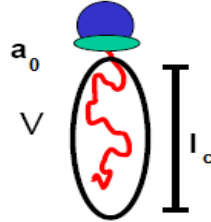
Yüzey/arayüzey gerilimini azaltma mekanizmalarından biri, yüzey etkin maddelerin hidrofobik kısımlarının çözücüyle temasını engelleyip, hidrofilik kısmın ise çözücüyle temasını sağlayarak misel adı verilen agregatları oluşturmaktır. Yüzey etkin maddeler, çözücünün hidrofilik olduğu durumlarda miselleri oluştururken, çözücünün hidrofobik olduğu durumlarda hidrofilik kısmın çözücüyle temasını engelleyerek ters miselleri oluşturmaktadırlar [5] (Şekil 1.3.).



Şekil 1.3. Yüzey etkin madde monomerleri ve miseller arasındaki geri dönüşümlü termodinamik dengenin gösterimi [6].











Misellerin oluşabilmesi için gerekli en düşük yüzey etkin madde konsantrasyonu olan “kritik misel konsantrasyonunun (CMC)” aşılması gerekmektedir [7]. Sıcaklıkta meydana gelen değişiklikler, yüzey etkin madde konsantrasyonu ve yüzey etkin maddedeki yapısal gruplar miselin büyüklüğüne, şekline ve agregasyon sayısına etki ederek küresel, çubuksu veya disk şeklinde misellerden lamellar yapıya kadar çeşitli değişik yapıların oluşmasına neden olur [4]. Kritik misel konsantrasyonunun hesaplanması ve buna etki eden faktörler üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır [8,9]. Yüzey etkin maddelerin hidrofilik ve hidrofobik gruplarının kapladığı boşluk ve oluşturduğu çeşitli miseller yapılarının geometrisine dayanarak oluşturulan miseller yapı teorisi, Israelachivili, Mitchell ve Ninham tarafından geliştirilmiştir [10]. Yüzey etkin maddelerin kendiliğinden oluşturduğu bu yapıların meydana gelmesindeki en önemli etken hidrofobik ve hidrofilik ara fazlar arasındaki etkileşime ve polar baş gruplarının arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Bu

etkileşimleri açıklamak için de “kritik paketlenme parametresi” (KPP) kullanılır. Kritik paketlenme parametresi, $R = v / a_0 \times l_c$, formülü ile gösterilir. Bu formülde geçen v , yüzey etkin maddenin yapısındaki hidrokarbon zincirinin kapladığı hacmi, a_0 , polar baş grubunun alanını, l_c ise kritik zincir uzunluğunu belirtmektedir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Kritik paketlenme parametresinin bileşenlerinin şematik gösterimi [11].

Şekil 1.5’de de görüldüğü üzere kritik paketlenme parametresinin 0.5’ten küçük olması küresel veya çubuk şeklinde misellerin oluşmasına, 0.5–1 arasında olması çifte tabakaların oluşmasına, 1’den büyük olması ise ters misellerin oluşmasına neden olmaktadır. Oluşan yapıların dengesi, oluşumun termodinamiğine ve agregatların kendi içindeki ve birbiri arasındaki etkileşim kuvvetlerine bağlıdır [12]. Yüzey etkin maddenin hidrokarbon zincirinin misel içinde çözünmesi, kapladığı hacmi (v) artırır. Polar baş grubunun alanını etkileyen faktörler ise sadece yapısıyla sınırlı olmayıp, sistemin içerdiği elektrolit miktarı, sıcaklık, pH ve çözeltiliye eklenen diğer maddeler de etki eden önemli faktörler arasındadır. Örneğin; orta zincir uzunluğuna sahip bir alkolün ortama eklenmesi sonucunda, alkol polar baş kısmı ile etkileşmekte ve yüzey etkin maddenin yapısındaki polar baş kısmının kapladığı alan artmaktadır. İyonik yüzey etkin maddelerde ise, çözeltideki elektrolit konsantrasyonunun artmasıyla elektriksel çifte tabaka baskılanmakta ve bunun sonucunda, yüzey etkin maddenin yapısındaki polar baş kısmının kapladığı alan azalmaktadır. Bu azalmanın miktarına bağlı olarak, oluşan miseller küresel yapıdan silindirik yapıya geçiş gösterebilmektedir. Polioksi etilen (POE) zinciri içeren iyonik olmayan yüzey etkin maddelerde ise sıcaklıktaki artışa bağlı olarak POE zincirinin dehidrasyonunda artış söz konusu olduğunda, oluşan yapının şekli değişebilir [5].

KPP	Kritik paketlenme şekli	Oluşan Yapılar
	Koni 	Küresel miseller 
1/3-1/2	Kesik koni 	Silindirik miseller 
1/2-1	Kesik koni 	Esnek çift tabakalar, veziküller 
~ 1	Silindir 	Düzlemsel çift tabaka 
> 1	Ters kesik koni 	Ters miseller 

Şekil 1.5. Değişik kritik paketlenme parametreleri ve bunun sonucu oluşan yapılar [4].

Değişik kritik paketlenme parametreleri sonucu oluşan yapılar arasındaki denge, yüzey etkin maddelere, bunların oluşturdukları asosiyasyon bileşikleri arasındaki kuvvetlere ve oluşan bu bileşiklerin oluşum sürecine bağlıdır. Sulu ortamda oluşan misellerin şekli, yüzey etkin madde çözeltilerinin bulanma noktası, viskozitesi ve suda çözünmeyen maddeleri çözündürme gibi özelliklerini etkilemektedir. Kritik misel konsantrasyonuna ulaşıldığında, amfifilik moleküller kendiliğinden değişik yapısal düzenlenmeler ve çeşitli boyutlarda koloidal agregatlar oluşturmaya başlarlar. Oluşan bu agregatlar, “asosiyasyon miseller”i adını almaktadır. Bu durumdaki çözelti henüz sıvı kristal özelliği göstermemekte ve “izotropik miseller çözelti” adını almaktadır [13]. Konsantrasyon artırıldığında, belirli bir yapısal düzene sahip, belirgin liotropik yapılar oluşmaya başlar ve çözelti anizotropik özellik gösterir.

1.1.2. Sıvı Kristallerin Tipleri

Sıvı kristaller, yapılarında hem sıvıların akış özelliklerini, hem de katıların düzenli kristal yapılarını taşımakta olup kendi kendine organize olabilen sistemlere en güzel örnektirler. Oluşumları sırasında kullanılan yöntemlere göre iki ana gruba ayrılırlar; bunlar, termotropik ve liyotropik sıvı kristallerdir [13]. Oluşumları sıcaklıktaki değişiklik sonucu meydana geliyorsa termotropik sıvı kristaller, oluşmaları için çeşitli çözücülere gereksinim duyuluyorsa liyotropik sıvı kristaller elde edilir [14,15].

1.1.2.1. Termotropik Sıvı Kristaller ve Tipleri

Termotropik sıvı kristaller çözücüye ihtiyaç duyulmaksızın sıcaklıktaki değişime bağlı olarak a) Nematik, b) Kolesterik ve c) Smektik olmak üzere üç farklı şekilde gözlenebilmektedirler. Yapı olarak ince, uzun ve çubuksu yapıda veya disk biçimindeki moleküllerden oluşan sistemlerdir.

- **Nematik Faz**

Uzun aralıklı yönelme düzenine (long range orientational order) sahip, fakat uzun aralıklı konum düzenine (long range positional order) sahip olmayan termotropik sıvı kristal faz, nematik faz olarak adlandırılır [16]. Sahip oldukları anizotropinin dışında, moleküllerin yönelme düzeninden dolayı, akış özellikleri normal sıvılarınkine benzemektedir.

- **Kolesterik Faz**

Kolesterik veya kiral nematik sıvı kristal faz, bir açı ile dizilmiş kiral moleküller ve onların herbir düzlemdeki ortalama dizilişini gösteren bir yönlendiriciden oluşur. Kolesterik faz, ilk olarak kolesterol içeren sıvı kristallerde gözleendiği için bu adı almıştır [16].

- **Smektik Fazlar**

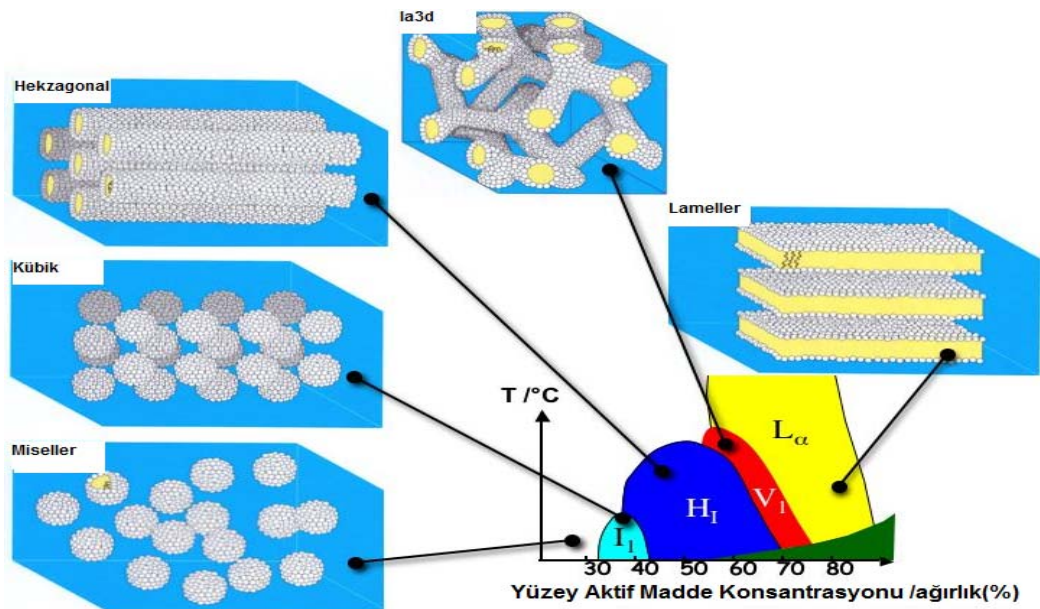
Smektik sözcüğü ilk olarak yirminci yüzyılın başlarında kullanılmış olup, Yunancada sabun anlamına gelmektedir. Bu fazın mekanik özelliklerinin sabunlarda gözlenene yakın olması nedeniyle bu adı almıştır. Smektik sıvı kristal fazlar, bir yönde uzun aralıklı konum düzenine ve uzun aralıklı yönelme düzenine sahiptir [16].

1.1.2.2. Liyotropik Sıvı Kristaller ve Tipleri

Liyotropik sıvı kristaller ortamın sıcaklığına ve kullanılan maddelerin konsantrasyonuna bağlı olarak farklı şekillerde bulunabilen sıvı kristallerdir. Bunlar, bir veya iki yüzey etkin madde, genellikle yardımcı yüzey etkin madde, polar bir çözücü ve yağdan oluşur. Liyotropik sıvı kristaller arasında uzun aralıklı yönelme düzeni vardır. Fakat, uzun aralıklı konum düzeni görülmemektedir [12]. Liyotropik sıvı kristaller yapılarında bulunan amfifilik yüzey etkin maddelerden dolayı anizotropi gösterirler. Anizotropi; maddenin fiziksel özelliklerinin ölçüldüğü yöne göre değişmesi demektir. Doğada veya canlı yapısında bulunan bazı maddeler, üzerine gelen ışınların polarizasyon düzlemini değiştirirler. Anizotropik herhangi bir maddeye, bir ışın demeti yollandığında, polarize ışığın düzlemine paralel giden ışınlar aydınlık alan, dik giden ışınlar ise karanlık alan olarak gözlenir [17]. Sıvı kristallerde de anizotropi sayesinde, polarize ışık altında renkli polarizan çaprazları şeklinde görülürler [18].

Liyotropik sıvı kristaller yapılarındaki bileşenlerin oranlarına göre; lamellar, hegzagonal veya kübik sıvı kristal fazlardan birinde bulunabilirler. Sıvı kristallerin yapılarındaki yüzey etkin maddelerin birbirini takip eden polar ve apolar tabakalar halinde dizilmesi sonucunda lamellar sıvı kristal faz oluşur [13]. Eklenen çözücü madde ya da moleküllerin polar ya da apolar yapısına göre lamellar fazdan, hegzagonal ya da ters hegzagonal faza geçiş görülebilir. Hegzagonal faza eklenebilecek su veya apolar madde miktarı hegzagonal fazın yapısından dolayı sınırlıdır. Çözücünün fazlasının eklenmesiyle kübik veya miseller fazlara geçiş olabilir [19].

Çözücü konsantrasyonundaki değişikliklerin yanısıra, sıcaklık ve yüzey etkin madde konsantrasyonunda yapılan değişiklikler de farklı liyotropik sıvı kristal fazların elde edilmesine olanak sağlamaktadır (Şekil 1.6).



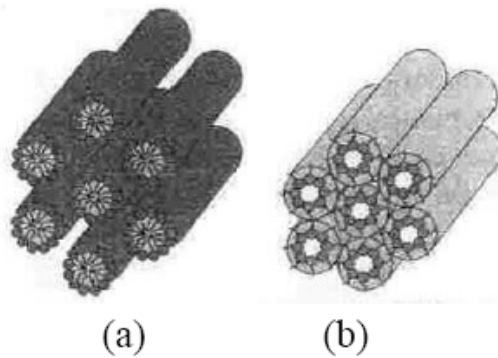
Şekil 1.6. Sıcaklık ve yüzey etkin madde konsantrasyonuna göre oluşan liyotropik sıvı kristal fazlar [20].

En düşük yüzey etkin madde konsantrasyonu ve sıcaklıkta en basit sıvı kristal faz olan, miseller kübik faz (I₁) gözlenmektedir. Bu yapı, oldukça viskoz olup, izotropik özellik göstermektedir. Yüzey etkin madde konsantrasyonu arttıkça miseller, silindirler şeklinde dizilerek, uzun aralıklı düzene sahip hekzagonal fazı (H₁) oluşturur. Daha yüksek yüzey etkin madde konsantrasyonlarında, L_α ile gösterilen lamellar faz oluşmaktadır. Lamellar fazda, yüzey etkin maddeler çifte tabakalar şeklinde dizilmektedir. Hekzagonal ve lamellar fazın arasında bir geçiş fazı olan sürekli kübik faz (Ia_{3d}), bu iki fazın oluşumu için gereken konsantrasyonun arasında bir yüzey etkin madde konsantrasyonu içermektedir. Yüzey etkin madde konsantrasyonunun lamellar faz için gerekenden daha fazla olduğu durumlarda, ters hekzagonal (H_{II}) ve ters miseller fazlar oluşmaktadır [21].

1.1.2.2.1. Hekzagonal Sıvı Kristal Faz

Hekzagonal sıvı kristaller, iki boyutlu düzenlenmeye sahip sürekli olmayan sistemler olup, çubuksu misellerin biraraya gelmesi sonucu oluşurlar. Çubuksu miseller genellikle merkezdeki bir çubuksu yapının etrafına 6 çubuksu yapının hekzagonal şekilde dizilmesiyle oluşmaktadır (Şekil 1.7). Bu dizilim sırasında, dış faz su olduğunda yüzey etkin maddelerin hidrofobik kuyruk kısmı misellerin iç kısmıyla, hidrofilik baş kısmı ise dış ortamla etkileşecek şekilde dizilmekte olup bu yapı normal hekzagonal faz (H_1) olarak bilinmektedir. Dış faz apolar olduğunda, normal hekzagonal fazdaki dizilimin tersi bir dizilim gözlenmekte olup, yapı ters hekzagonal faz (H_{II}) adını almaktadır [22]. Hekzagonal sıvı kristal fazda, yapılar arasındaki boşluk, su miktarına bağlı olarak 1 ve 5 nm arasında değişmektedir [13]. Hekzagonal sıvı kristal faz, lamellar sıvı kristal faz gibi anizotropi özelliğine sahip olup, polarizan ışık mikroskopuyla incelendiğinde yelpaze şekline benzer bir yapıda görünmektedir.

Hekzagonal sıvı kristal faz, yüksek su konsantrasyonuna sahip olmasına rağmen, bu faz oldukça viskozdur. Ters hekzagonal fazda, hidrokarbon zincirleri, hekzagonal düzenlenmiş silindirler arasındaki boşlukları doldurmaktadır. Bu silindirlerin çapları 1-2 nm arasındadır [23].

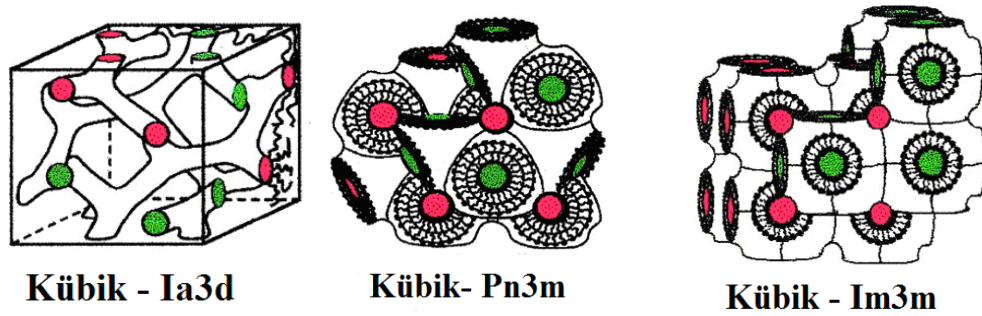


Şekil 1.7. (a) Normal ve (b) ters hekzagonal fazın şematik görünümü [23].

1.1.2.2.2. Kübik Sıvı Kristal Faz

Viskoz izotropik faz olarak da bilinen kübik izotropik faz, yapısal olarak lamellar ve hekzagonal fazlar kadar iyi karakterize edilebilmiş bir sistem değildir. Oluşturulması zor bir fazdır. Kübik fazlarda, moleküler agregatların kübik düzenlenmesi görülmektedir. Bu düzenlenme, miseller ve ters miseller fazlarda gözlenen düzenlenmeye benzer şekildedir [23].

Kübik faz oldukça viskoz bir faz olup, viskozitesi hekzagonal fazdan daha fazladır. Kübik fazların en önemli özelliği, sahip oldukları izotropik yapıdır. Sahip oldukları izotropik yapı nedeniyle, uzayda belirli bir yönelim tercihi göstermemekte, maddenin fiziksel özellikleri ölçüldüğü yöne göre değişmemektedir. Bu nedenle, kübik faz, polarize ışık mikroskopunda karakteristik bir görünüme sahip olmadığından bu yöntemle karakterize edilemez [24]. Şekil 1.8’de çeşitli kübik fazların şematik gösterimi görülmektedir. $Pn3m$, $Im3m$ ve $Ia3d$ fazları sırasıyla, elmas yapısında (D), ilkel yapıda (P) ve giroid (G) yapıda yüzey yapısına karşılık gelmektedir.

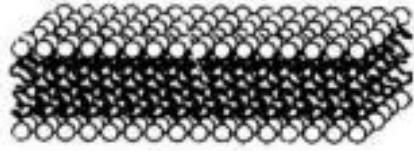


Şekil 1.8. Farklı kübik fazların şematik gösterimi [25].

1.1.2.2.3. Lamellar Sıvı Kristal Faz

Hücre membranının yapısına benzeyen yapısıyla dikkat çeken lamellar faz, çifte tabakalardan oluşmuş bir yapı olup termodinamik olarak dayanıklı, optik olarak anizotropik sistemlerdir (Şekil 1.9). Bu özellikleri ile polarize ışık mikroskopunda karakteristik bir görünüme sahiptirler. Lamellar sıvı kristaller polarize ışık altında

incelendiklerinde, renkli “Malta haçı” şeklinde gözlenmektedirler. Yapılarında bulunan çifte tabakalar arasındaki boşluk sabit olup, bu tabakalar birbiri üzerinde kayabilmektedir. Bu sayede, lamellar sıvı kristaller çok fazla su içermemelerine karşın, kübik ve hekzagonal faza göre daha düşük bir viskoziteye sahiptirler [26].



Şekil 1.9. Lamellar sıvı kristal fazın şematik gösterimi [4].

1.2. Liyotropik Sıvı Kristallerin Farmasötik ve Kozmetik Uygulamaları

Liyotropik sıvı kristaller son yıllarda kozmetik alanında, kimya endüstrisinde ve farmasötik teknoloji alanlarında ilaç taşıyıcı sistemler olarak oldukça fazla dikkat çekmektedirler. Bunun nedeni, liyotropik sıvı kristallerin sahip olduğu kendilerine özgü özellikleridir. Bunlar, çift kırınım, dışardan uygulanan manyetik, elektriksel ve mekanik kuvvetlerden etkilenme ve sıcaklık, pH gibi faktörler değiştirilerek faz geçişlerinin düzenlenebilmesidir. Birçok ilaç etkin maddesinin kendiliğinden sıvı kristal özelliğe sahip olmasının yanı sıra [27] liyotropik sıvı kristal sistemler içerisine antifungal [28], antiinflamatuvar [29, 30], antikanser [31], antibiyotik [32] ilaçlar, bunların yanı sıra; peptit-protein yapısında maddeler [33] ve güneşten koruyucular [34] hapsedilerek uygulanmıştır. Ayrıca liyotropik sıvı kristaller kullanılarak, dermal [34], mukozal [35], vajinal [36], periyodontal [32] ve oral [37 – 39] yollarla ilaç taşınması mümkündür.

Lamellar liyotropik sıvı kristaller, termodinamik stabiliteleri ve deriye benzer yapıları sayesinde deriye ilaç taşınmasında kullanılmaktadırlar. Makai ve arkadaşları [26] suda çözünen efedrin hidroklorürün ve suda çözünmeyen tenoksikamın lamellar sıvı kristal sistemlerden salımını incelemişler ve lamellar sıvı kristal formülasyonların hem suda çözünmeyen ilaçların taşınması için uygun sistemler olduklarını hem de suda çözünen ilaçlar için de uzatılmış salım sağlayabildiklerini

göstermişlerdir. Lamellar sıvı kristallerin yanısıra, hekzagonal ve ters kübik fazlar da ilaçların dermal taşınmasında kullanılmaktadır. Model madde olarak siklosporin A'nın kullanıldığı bir çalışmada, bu maddenin ters kübik ve hekzagonal fazlardan salımı in vitro ve in vivo olarak incelenmiş ve her iki fazın da deriye siklosporin A'nın penetrasyonunu arttırdığını gözlemişlerdir. Böylece sıvı kristal fazların, peptidlerin deriye taşınmasının optimize edilmesi için uygun sistemler olduğunu belirtmişlerdir [40].

Kübik faz ise çeşitli polaritede ve büyüklükteki ilaçları çözündürme veya disperse etme özelliği sayesinde, ilaç taşıyıcı sistem olarak oldukça geniş bir alanda kullanılmaktadır. Kübik fazdan ilaç salımı için öngörülen mekanizma, dış ortam ile kübik faz arasında suyun difüzyonel değişimi ile ilacın taşınması şeklindedir. Kübik faz sahip olduğu yüksek viskozite ile içine hapsedilen ilacın difüzyonunu yavaşlatarak, kontrollü salımına olanak vermektedir. Kübik faz ayrıca, ilaçların mukozal [35], vajinal [36] ve periyodontal [41] taşınması amacıyla da incelenmiştir. Ayrıca, ameliyat sonrası enfeksiyon ve ağrıların azaltılması için kullanılan antibiyotik ve analjeziklerin taşınması için de kübik sıvı kristal faz ile yapılan çalışmalar literatürde mevcuttur. Böylece, analjezik ilaçların uzun süreli salımı, antibiyotiklerin ise stabil bir şekilde taşınması sağlanabilmektedir [42]. Piyasada, non-steroidal antiinflamatuar ilaç içeren kübik sıvı kristal fazların topikal uygulanan preparatları mevcuttur. Bunlara örnek olarak, Contrheuma Gel Forte N, Trauma-Dolgit Gel and Dolgit Mikrogel verilebilir [43].

Sıvı kristallerin kozmetik uygulamaları da literatürde yer almaktadır. Sıvı kristaller makyaj ürünlerinde, saç bakımı, güneşten koruyucu ve deri bakımı ürünlerinde kullanılabilirler. El-Nokaly ve arkadaşları [44] çeşitli silikonlar, gliserin, pigment ve amfifilik bir yüzey etkin madde içeren (Y/S emülsiyonu tipinde) sıvı kristal formülasyon içerisinde veya deride sıvı kristal oluşturabilen, fondöten olarak kullanılmak üzere emülsiyon formülasyonları hazırlamış ve bu formülasyonların nemlendirme yetisini arttırdığını, kolayca sürülebilir olduğunu, deride yapışkanlık hissine ve parlak bir görünüme neden olmadığını belirtmişlerdir. Yine aynı araştırmacıların yaptıkları bir başka çalışmada, polimerik sıvı kristaller

kullanılarak, sabun formülasyonu geliştirilmiştir [45]. Cioca ve arkadaşları ise [46] vitamin A içeren, kolesterik sıvı kristal formülasyonları hazırlamış ve bu formülasyonla vitamin A'nın deriden penetrasyonunun arttığını ve geciktirilmiş salım sağlandığını belirtmişlerdir. Ayrıca, bunların yanısıra, piyasada da sıvı kristal içeren çeşitli kozmetik preparatlar mevcuttur. Biopoint adıyla piyasada şampuan, saç köpüğü, serum, saç şekillendirici sprey ve saç maskeleri şeklinde sıvı kristal yapıda, vitamin F içeren formülasyonlar bunlara örnek olarak verilebilir.

1.3. LAMELLAR SIVI KRİSTALLER

1.3.1. Yapıları ve Oluşum Mekanizmaları

Lamellar sıvı kristal faz birbirini takip eden çifte tabakalardan oluşmaktadır. Bu yapı aynı zamanda, fosfolipid içeren biyolojik membranların da yapısıdır. Bu düzenli yapı, çift yönlü sonsuz tabakalar şeklinde dizilen, su molekülleri tarafından sınırlandırılmış, hepsi birbirine paralel olarak dizilen amfifilik moleküller tarafından oluşturulmaktadır.

Çifte tabaka yapısı yerçekimi etkisinden etkilenmediğinden, tabakalar arasındaki tekrar eden dikey boşluk sabittir. Bu faz sahip olduğu kendine özgü yapısı ve optik özellikleri sayesinde rahatlıkla teşhis edilebilmektedir [26].

1.3.2. Hazırlanmaları

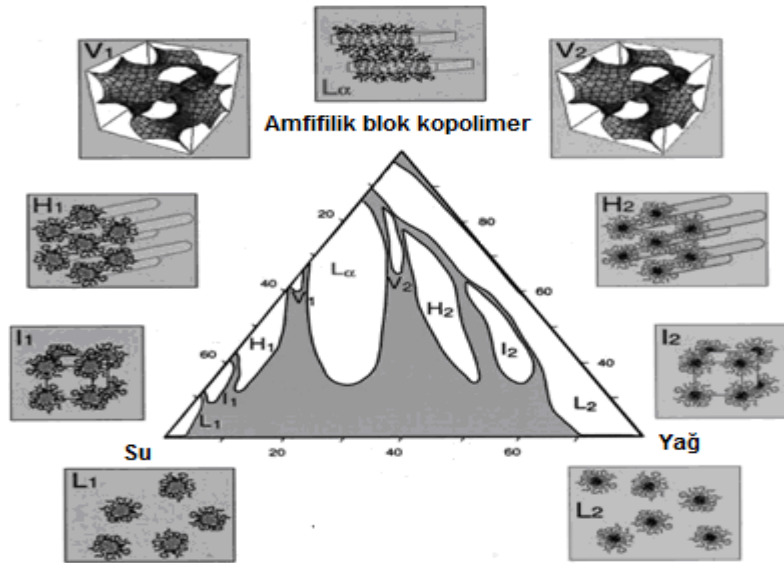
Lamellar sıvı kristaller hazırlanmaları basit sistemlerdir. Lamellar sıvı kristal sistemler hazırlanırken, yağ ve yüzey etkin madde karışımı ile su fazı 60-75°C arasına ısıtılmakta, daha sonra su fazı, yağ ve yüzey etkin madde karışımına damla damla sürekli karıştırılarak eklenmektedir. Hazırlanan karışım oda sıcaklığına gelene kadar soğutulmaktadır. Karıştırma sırasında preparatlarda hava kabarcığı oluşumundan kaçınılması son derece önemlidir [29,47]

Bunun yanısıra, lamellar sıvı kristallerin hazırlanmasında vorteks veya santrifüj yöntemleri de kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde, maddeler cam tüplere tartıldıktan sonra, karışımlar birkaç kez vorteksle karıştırılarak veya santrifüj kullanılarak homojenize edilmekte ve dengeye gelmeleri sağlanmaktadır [48].

1.3.2.1. Üçgen Faz Diyagramları

Üçgen faz diyagramları üç bileşenli sistemler olup, sabit basınç ve sıcaklıkta farklı yağ, su ve yüzey etkin madde oranları kullanılarak, elde edilen emülsiyonların ve sıvı kristal fazların incelenmesi, farklı fazların oluştuğu bölgelerin ve amaca uygun formülasyonun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Sıvı kristallerin oluşturdukları fazlara ait bölgelerin belirlenmesinde üçgen faz diyagramları yeterli bilgiyi vermektedir.

Sabit basınç ve sıcaklıkta, eşkenar üçgenin her bir köşesinde bileşenler yerleştirilir ve üçgenin her bir kenarı eşit parçalara bölünerek bileşenlerin yüzdesi ağırlık cinsinden ifade edilir [49]. Şekil 1.10'da amfifilik blok kopolimer, su, yağ sisteminde çeşitli oranlar için oluşan sıvı kristal fazlar görülmektedir. Bu sistemde farklı amfifilik kopolimer (polioksietilen/polioksipropilen) oranları için 9 farklı liotropik faz gözlenmiştir.



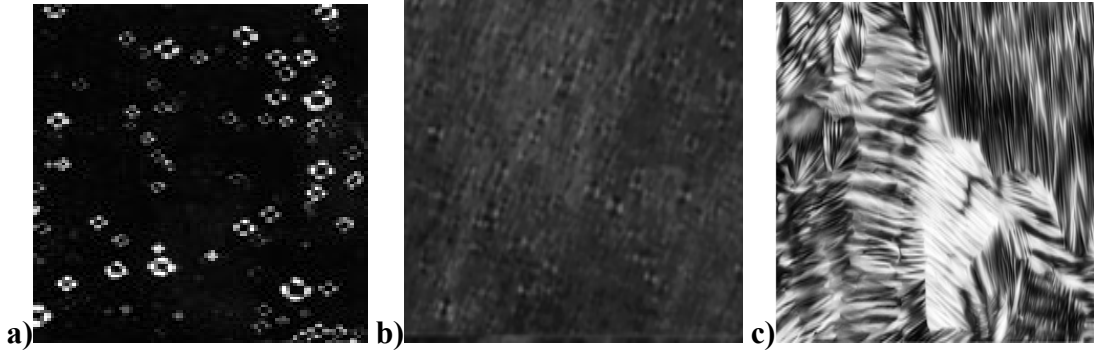
Şekil 1.10. Amfifilik blok kopolimer, yağ ve sudan oluşan formülasyonların oluşturdukları sıvı kristal yapıların üçgen fazda gösterimi (I1: miseller kübik, H1: hekzagonal, V1: sürekli kübik, L α : lamellar sıvı kristal, V2: ters sürekli kübik, H2: ters hekzagonal, and I2: ters miseller kübik) [50].

1.3.2.2. Karakterizasyonda Kullanılan Yöntemler

Lamellar sıvı kristaller genellikle beyaz, opak, yarı katı kıvamda, homojen, pürüzsüz, kolay sürülebilir sistemlerdir [28]. Sıvı kristal yapıların karakterizasyonunda sıklıkla kullanılan teknikler polarize ışık mikroskobu (PM), diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC), dar açılı-X ışını saçılımı (SAXS) ve geniş açılı-X ışını saçılımı (WAXS) spektroskopileri, reolojik inceleme ve dondurarak kesit alma transmisyon elektron mikroskobu (Freeze-Fracture TEM) yöntemleridir.

1.3.2.2.1. Polarize Işık Mikroskobu

Sıvı kristallerin karakterizasyonunda, polarize ışık mikroskobu (PM) en çok tercih edilen yöntemlerden biridir. Bu teknikte, polarize ışık altında sıvı kristal fazların sahip oldukları anizotropi özelliğinden faydalanılır. Anizotropi, maddenin fiziksel özelliğinin maddenin ölçüldüğü yere göre değişmesi şeklinde tanımlanır. Sıvı kristaller sahip oldukları bu özellik sayesinde polarize ışık altında karakteristik görüntüler verirler. Her bir sıvı kristal karakteristik siyah beyaz görünüme sahiptir. Polarizöre λ kamasının eklenmesiyle, sıvı kristal yapılar renkli olarak gözlenebilir. Anizotropik herhangi bir maddeye, bir ışın demeti yollandığında, polarize ışığın düzlemine paralel giden ışınlar aydınlık alan, dik giden ışınlar ise karanlık alan olarak gözlenir [17]. Polarize ışık altında farklı sıvı kristal fazlar farklı karakteristik görünüme sahiptirler. Şekil 1.11’de lamellar ve hekzagonal sıvı kristal fazların sahip oldukları karakteristik yapıların polarize ışık mikroskobundaki görüntüsü görülmektedir. Hekzagonal sıvı kristal faz, yelpazeye benzer yapısıyla karakterize iken, lamellar sıvı kristal faz yağsı şerit yapısına ek olarak sahip olduğu “Malta haçı” yapısıyla karakterizedir. Lamellar sıvı kristalde oluşan “Malta haçı” yapısı, lamellar tabakaların eşmerkezli olarak düzenlenmesinden oluşan eş odaklı (konfokal) bölgelerden kaynaklanmaktadır. Bazı lamellar sıvı kristallerde bu bölgelerin fazlalığından dolayı, yağsı şerit yapısı yerine daha baskın “Malta haçı” yapısı gözlenmektedir.



Şekil 1.11. Lamellar sıvı kristal fazların a) Malta Haçı ve b) yağsı şerit ve c) hegzagonal sıvı kristal fazın polarize ışık mikroskopundaki görüntüleri [26].

1.3.2.2.2. Dar Açılı X Işını Saçılımı Spektroskopisi (SAXS) ve Geniş Açılı X Işını Saçılımı Spektroskopisi (WAXS)

Sıvı kristallerde molekül düzenlemelerinin ve fazların karakteristik yapılarının incelenmesinde kullanılan en değerli teknik X ışını spektroskopisidir. Bu teknikler sıvı kristallerin yönelme ve dizilmeleri konusunda direkt bilgi sağlarlar. X ışını saçılması yöntemi sayesinde, çeşitli yapıların sahip oldukları karakteristik girişimler incelenebilmektedir [51]. Lamellar faz, sahip olduğu özgün tabakalar arası boşluktan (d) dolayı, karakteristik girişim piklerine sahiptir. Bragg eşitliğine göre; d aşağıdaki formülle hesaplanabilir.

$$d = n\lambda / 2 \sin \gamma \quad (\text{Eşitlik 1.1})$$

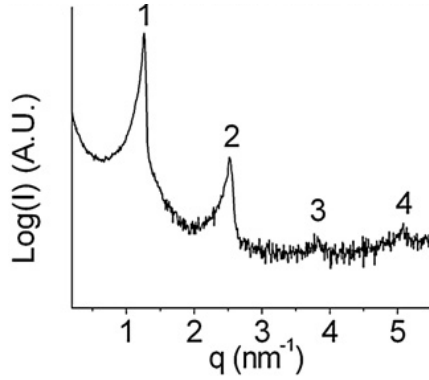
λ : kullanılan x-ışınının dalga boyu

n : girişimin derecesini gösteren katsayı

γ : girişimin oluştuğu açı

Bu denklemden de anlaşılacağı gibi, tabakalar arası boşluk d , girişimin oluştuğu açı, γ , ile ters orantılıdır. Uzun mesafe düzeninde, d 'nin büyük değerleri için dar açılı x-ışını spektroskopisi (SAXS) ve kısa mesafe düzeninde, d 'nin küçük değerleri için ise geniş açılı x-ışını spektroskopisi (WAXS) yöntemleri kullanılabilir. Lamellar sıvı kristal sistemler için yapılan SAXS çalışmaları incelendiğinde, lamellar sıvı kristallerin 1:2:3:4 oranında 4 karakteristik Bragg piki verdiği (Şekil 1.12) ve

ayrıca SAXS çalışmaları ile lamellar sıvı kristal yapıların tekrar eden lamellar arası boşluklarının büyüklüğünün bulunabildiği belirtilmiştir [52]. Ayrıca, lamellar sıvı kristallere çeşitli maddelerin eklenmesi sonucunda lamellar arası boşluk (d) ve lamellar sıvı kristallere ait diğer parametrelerde meydana gelebilecek değişiklikler de SAXS yöntemi sayesinde incelenebilmektedir [53].



Şekil 1.12. 1-hekzadesil-3-metilimidazolyum klorür/1-dekanol/su sisteminde oluşan lamellar sıvı kristal fazın SAXS spektrumu [52].

1.3.2.2.3 Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) termal analiz yöntemlerinden biri olup maddelerde sıcaklıkla meydana gelen ısı akışındaki değişimin ölçülmesine yarar. Alüminyum kaplardan birine örnek konurken, boş alüminyum kap referans olarak kullanılır. Bu kaplar, aynı sıcaklığa kadar ısıtılarak referans kap ve örnek kaplardaki ısı değişimi sıcaklığa karşı ölçülür. Faz geçişlerinin entalpisi gibi mikroskopik yöntemlerle elde edilemeyen bazı veriler DSC yöntemiyle elde edilebilir. Aynı şekilde, mikroskopla elde edilen yapıya ilişkin bilgiler DSC yöntemiyle elde edilemeyeceğinden, bu iki yöntem birbirini tamamlayan yöntemler olarak düşünülebilir. DSC ile elde edilen entalpi verileri $\Delta H = T\Delta S$ formülü kullanılarak, faz geçişi için entropi değerleri elde edilebilir.

DSC’de, sistemin entalpisinde meydana gelen değişim, faz geçişinde harcanan veya dış ortama verilen enerjiye bağlı olarak, endotermik veya ekzotermik

pikler şeklinde gözlenmektedir. Kristal yapıdan amorf yapıya geçiş yüksek enerji gerektiren bir işlemdir. Bunun tersine, kristal yapıdan, sıvı kristal yapıya veya sıvı kristal yapıdan amorf yapıya geçiş için daha az miktarda enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır [54]. Entropi tarafından yürütülen faz geçişleri, spesifik ısı kapasitesindeki değişikliğe bağlı olarak, referans çizginin eğiminde meydana gelen bir değişiklik şeklinde gözlenmektedir. Lamellar sıvı kristallerde faz geçiş sıcaklıklarının [54,55] lamellar sıvı kristal yapıya hapsolmuş su ve serbest su arasındaki farkın [56] ve lamellar sıvı kristallerle deri arasındaki etkileşimin incelenmesinde [57] DSC sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Yapılan DSC analizleri sayesinde piklerin kayması, piklerin kaybolması ve piklerin entalpileri arasındaki farklar kullanılarak sıvı kristal yapıların aydınlatılması mümkün olmaktadır.

1.3.2.2.4. Reolojik İnceleme

Farklı kolloidal taşıyıcılar farklı reolojik özellik gösterirler [58]. Sıvı kristal yapılarda düzenin artmasına bağlı olarak viskozitede artma gözlenmektedir. Kübik, hegzagonal ve lamellar fazlar psödoplastik akış gösteren sistemlerdir. Kübik ve hegzagonal fazın viskozitesi, lamellar faza göre daha fazladır. Bunun nedeni, kübik fazın sahip olduğu üç boyutlu ve hegzagonal fazın sahip olduğu iki boyutlu yapıdan kaynaklanmaktadır. Lamellar sıvı kristal faz, sahip olduğu tek yönlü uzun mesafe düzeni nedeniyle daha düşük viskoziteye sahiptir. Kübik ve hegzagonal fazlarda sahip oldukları jel yapısı nedeniyle, akışın başlaması için belirli bir kuvvet uygulanması gerekmektedir. Ters fazlarda ise, polar baş kısmındaki fonksiyonel grupların etkileşmesinden dolayı jel karakteri daha belirgindir. Bu etkileşimler sonucunda, yapılar arasında oluşabilecek hidrojen bağları sayesinde kuvvetli ağ yapısı gözlenebilir. Fakat, içerdikleri apolar gruplar yüzünden, ters mezofazlarda oluşan yapıların arasındaki etkileşimler daha zayıftır. Bundan dolayı, oluşan jel yapısı daha kolay deforme olabilmektedir [59].

Sıvı kristal jellerin viskoelastik özelliklerinin ölçülmesinde tercih edilen yöntem osilasyon ölçümleridir. Osilasyon yöntemi sayesinde diğer reolojik çalışmalarda oluşan mekanik deformasyon oluşmadan, kayma gerilimi uygulanmadan ve sıvı kristal yapıya zarar vermeden viskoelastik özelliklerin

belirlenmesi mümkün olmaktadır. Osilasyon yönteminde öncelikle, sabit açısal hızda (ω), artan gerilimin fonksiyonu olarak kompleks modülü (complex modulus, G^*) ölçülür. Lineer viskoelastik bölgenin boyutu sayesinde bir yapının dayanıklılığı hakkında bilgi edinilebilir [60]. Viskoelastik özellikleri belirleyen iki bileşen saklama modülü (storage modulus, G') ve kayıp modülü (loss modulus, G''). Saklama modülü maddenin elastik özellikleri hakkında, kayıp modülü ise maddenin viskoz özellikleri hakkında bilgi verir. Aşağıdaki eşitlik G' , G'' ve G^* arasındaki ilişkiyi belirtmektedir.

$$G^* = G' + iG'' = (G'^2 + G''^2)^{1/2} \quad (\text{Eşitlik 1.2})$$

Kompleks viskozite, osilasyon ölçümleri sırasında maddenin akışa karşı gösterdiği direncin göstergesidir. Bu değer ne kadar yüksekse maddenin akışa karşı gösterdiği direnç de o kadar yüksektir. Kompleks viskozite, $\eta^* = G^* / \omega$ formülü ile hesaplanır.

Osilasyon ölçümleri sayesinde, lamellar, hekzagonal ve kübik sıvı kristallerin viskoelastik özellikleri tayin edilebilmektedir. Ayrıca, sıvı kristal fazların durgun hal ve geçici akış davranışlarını açıklayan çeşitli çalışmalar mevcuttur [61,62]. Kübik faz ve hekzagonal faz, lamellar faza oranla daha fazla su içermesine rağmen daha yüksek bir viskoziteye sahiptir. Bunun nedeni, lamellar sıvı kristal fazın çifte tabakalarının birbiri üzerinden kayabilme özelliği sayesinde daha serbest hareket edebilmesidir.

1.3.2.2.5. Dondurarak Kesit Alma Transmisyon Elektron Mikroskobu (Freeze-Fracture TEM, FF-TEM)

Polimer çözeltileri, jeller, emülsiyonlar, liyotropik ve termotropik sıvı kristaller, koloidal dağılımlar, deterjanlar ve diğer mikro yapılı akışkanların moleküler yapısı ve makroskobik özellikleri arasındaki ilişkinin incelenmesi, bu maddelerin uygun bir şekilde kullanılabilmesi açısından oldukça önemlidir. Dondurarak-kesit alma teknikleri ile partiküllerin veya dağılımı oluşturan birimlerin

üç boyutlu görünümü elde edilebileceği gibi, bu yapıların bir düzlemdeki yönelmeleri ve dağılımları da aynı anda incelenebilmektedir [63].

1.3.3. Sıvı Kristallerin Üstünlükleri ve Sakıncaları

Sıvı kristallerin topikal ilaç taşıyıcı sistemler olarak tercih edilmesinin sebepleri aşağıda sıralanmıştır [64-66] :

- Çeşitli ilaçlar için kontrollü salım sağlayabilmeleri hasta uyumunu arttırmakta ve bu sistemlerin tercih edilmesini sağlamaktadır.
- Suda zor çözünen ya da hiç çözünmeyen ilaçların çözünürlüğünde artışa neden olduklarından ilaçların topikal uygulanması için uygun sistemler olarak kabul edilmektedirler.
- Hapsedilen ilaç etkin maddelerinin aktivitelerinin ve biyoyararlanımlarının arttığı gözlenmiştir
- Stabilite sorunu olan maddelerin, stabil bir halde hedef doku/organa taşınmalarına olanak sağladıklarından topikal kullanıma uygun sistemlerdir.
- İçerdikleri iyonik olmayan yüzey etkin maddeler sayesinde penetrasyon artırıcı etkiye sahiptirler.
- Hazırlanmaları kolaydır. Fazla enerji gerektiren basamaklar içermez.
- Oda sıcaklığında saklandıklarında yapılarında herhangi bir değişiklik olmaması bu sistemlerin stabilite sorunları olmadığını göstermektedir.
- Biyolojik olarak toksik ve iritan özellik göstermezler.

Bu özellikler göstermektedir ki; bu sistemler dermal ve transdermal ilaç taşınmasında umut vaat eden sistemlerdir.

Sıvı kristal sistemlerin sakıncaları ise ;

- Sıcaklık, mekanik basınç, elektrik ve manyetik alan gibi çevresel faktörlerden etkilenmeleri,

- İçerdikleri yüzey etkin madde miktarına bağlı olarak deride hafif iritasyona neden olabilmeleri,
- Etkin madde yükleme kapasitelerinin sınırlı olmasıdır.

1.3.4. Lamellar Sıvı Kristallerin Topikal Uygulamaları

Yüzey etkin maddeler, kendiliğinden biraraya gelerek çeşitli asosiyasyon bileşikleri ve miseller oluşturma eğilimindedirler. Bu oluşan yapılardan olan liyotropik sıvı kristal fazlar, çeşitli ilaçlar için topikal uygulamada tercih edilen sistemlerdir. Bunun nedeni, bu fazların sahip oldukları termodinamik stabiliteleri, yüksek çözündürme kapasiteleri, kontrollü salım sağlayabilme özellikleri ve sahip oldukları geniş viskozite aralığıdır. Lamellar liyotropik sıvı kristaller, deriye benzer yapıları sayesinde deriye ilaç taşınmasında kullanılmaktadırlar. Suda znen efedrin hidroklorürün ve suda çözünmeyen tenoksikamın lamellar sıvı kristal sistemlerden salımı incelenmiş ve lamellar sıvı kristal formülasyonların suda çözünmeyen ilaçlar için uygun taşıyıcı sistemler oldukları ve suda çözünen ilaçlar için ise uzatılmış salım sağlayabildiklerini gösterilmiştir [26]. Yapılan bir çalışmada, lamellar sıvı kristal fazda %5 hidrokortizon zndrlebilmiş ve ilacın difüzyon hızının bu sıvağ sayesinde 4 kat arttığı gözlenmiştir [67]. Müller-Goymann ve Hamann [68] ters miseller ve lamellar sıvı kristal fazdan, fenoprofen asit ve fenoprofen sodyum tuzunun salımını incelemişler ve miseller fazdan lamellar sıvı kristal faza faz geçişi olduğunda geciktirilmış salım elde edildiğini belirtmişlerdir. Periodontal hastalıkların tedavisinde de kontrollü salım sağlayan sıvı kristal fazlardan yararlanılmıştır [41]. Metronidazol benzoat içeren kübik faz sıvı kristalleri jinjival sıvıyla temas sonucunda faz değişimine uğrayarak lamellar sıvı kristal faza geçmiş ve bu faz da metronidazol benzoatın kontrollü salımını sağlamıştır. Ayrıca, Nesseem ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, lamellar sıvı kristal sistem içerisine %0.1 konsantrasyonda itrakonazol hapsedilmiş ve antimikotik aktivitesi incelenmiştir. Sonuç olarak, %0.1 itrakonazol içeren sıvı kristal formülasyonun topikal uygulama için uygun bir sistem olduğu belirtilmiştir [28].

1.3.4. Topik Uygulanan Dozaj Şekillerinin Stratum Korneum İle Etkileşiminin İncelenmesi

Topikal formülasyonların deri ile etkileşimi, etkin formülasyonların hazırlanması açısından en önemli parametrelerden biridir. Çeşitli lipid ve protein bölgelerinden meydana gelen kompleks bir yapı olan stratum korneum, topikal penetrasyon için engel görevi görmektedir. Stratum korneum ile ilacın veya formülasyonun etkileşim derecesi penetrasyon kinetiğini etkilemektedir. Fakat stratum korneum ve taşıyıcı sıvağ arasındaki etkileşimlerin sayısı ve tipinin fazla olması incelenmesi sonucu elde edilen verilerin yorumlanmasını zorlaştırmaktadır [69]. Yüzey etkin maddelerin, deri ile etkileşiminin incelendiği bir çalışmada, taşıyıcı olarak lipozomlar kullanılmış ve yüzey etkin maddelerin konsantrasyonunun artması ile estradiolün deriden geçişinin arttığı gözlenmiştir. Ayrıca yüzay aktif maddelerin yerine limonen kullanılmasıyla da benzer bir artış görülmüştür [70].

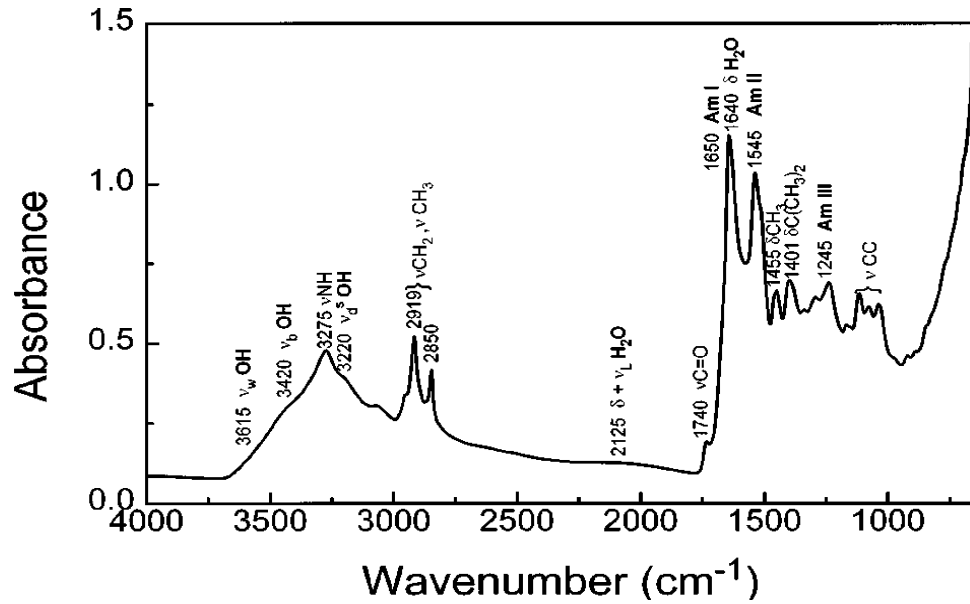
Deri ile etkileşimin incelenmesinde azaltılmış toplam yansıtma fourier dönüşüm infrared spektroskopisi (ATR-FTIR), fourier dönüşüm infrared spektroskopisi (FTIR) ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır [71].

1.3.5.1. Azaltılmış Toplam Yansıtma Fourier Dönüşüm Infrared Spektroskopisi (Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Spectroscopy, ATR-FTIR) ve Fourier dönüşüm Infrared Spektroskopisi (FTIR)

Azaltılmış Toplam Yansıtma Fourier dönüşüm Infrared Spektroskopisi (ATR-FTIR) tekniği, girişimsel olmayan ve hızlı bir teknik olup, maddelerin stratum korneuma geçişinin in vitro ve in vivo olarak nicel tayinini yapabilmektedir. Bu sayede, stratum korneuma geçen maddenin stratum korneuma geçiş hızı ve miktarı, kolay, hızlı ve güvenilir olarak tayin edilebilmektedir. Ölçümler sonucunda, kararsız hal difüzyon denklemi kullanılarak, stratum korneuma geçen maddenin permeasyon katsayısı ve maksimum transdermal akıya ulaşması için geçen süre belirlenebilmektedir [72]. Ayrıca ATR-FTIR, stratum korneumdaki su miktarının ölçülmesi [73], permeasyon artırıcıların etkisinin incelenmesi ve bir model maddenin

(4-siyanofenol; CP) değişik taşıyıcı sistemlerden difüzyonunun incelenmesinde kullanılmıştır [74].

ATR-FTIR tekniğinin önemli bir avantajı da örnek hazırlanmasına gerek duyulmaması ve dolayısıyla örnek hazırlamadan gelecek hataların ortadan kaldırılmasıdır [74]. FTIR metodu, stratum korneumdaki hidrokarbon zincirlerinin dizilimini, paketlenme parametrelerini ve faz geçişlerini incelemek için de kullanılmaktadır. Şekil 1.13'te stratum korneumun ATR-FTIR spektrumu görölmektedir.



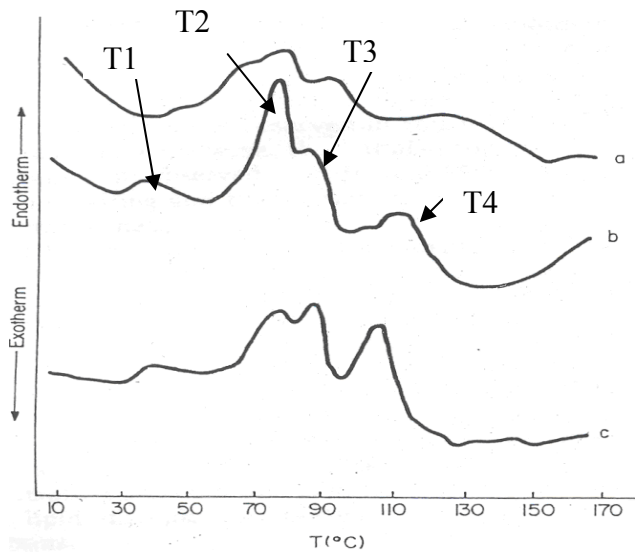
Şekil 1.13 Stratum korneumun ATR-FTIR spektrumu [72].

Fourier Dönüşüm Infrared Spektroskopisi (FTIR), stratum korneum lipidlerinin organizasyonun incelenmesinde kullanılan bir tekniktir. Literatürde yapılan çaişmalar incelendiğinde, karakterizasyon çaişmalarında FTIR tekniğinin DSC ile birlikte kullanıldığı görölmektedir. Bununla ilgili yapılan bir çaişmada, selekoksib içeren nanoemülsiyonların uygulandığı deride, nanoemülsiyonun stratum korneumdaki lipid tabakalarına penetrasyonu sonucunda, derideki seramidlerin baş kısımlarındaki hidrojen bağının kırıldığı görölmüştür [75]. Ayrıca yapılan başka bir çaişmayla da, hidrofilik penetrasyon artırıcıların seramidlerin baş kısımları

arasındaki H bağıını zayıflattıkları, lipofilik penetrasyon artırıcıların ise, lipid çifte tabaka yapıları arasındaki boşluğu artırarak etki ettiği FTIR analizleriyle gösterilmiştir [76,77].

1.3.6. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

Termal teknikler, derinin engel özelliğinin ve davranışının incelenmesinde sıklıkla kullanılan yöntemlerdendir. Böylece stratum korneum lipidlerinin yapısı ve bunların permeasyon arttırıcılarla etkileşimi incelenebilmektedir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, stratum korneumun DSC analizi sonucunda dört temel pik elde edildiği görülmektedir. Bunlar, lipid, lipid-protein ve protein-protein yapıları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Bu piklerden ilki olan ve 40°C’de gözlenen pik (T1), lipidlerin ortagonal paketlenmeden hekzagonal paketlenmeye geçişini gösteren, 70°C’de gözlenen pik (T2), lipidlerin hekzagonal paketlenmeden daha düzensiz sıvı hale geçişini, 80°C’de gözlenen pik (T3), proteinlere bağlı lipidlerin jel fazdan sıvı faza geçişini, son olarak ise 90°C’den sonra gözlenen pik (T4) proteinlerin denatürasyonunu göstermektedir (Şekil 1.14) [78].



Şekil 1.14. a) CaSO₄ ile kurutulmuş, b) 0.2 mg H₂O/mg stratum korneum oranında nemlendirilmiş, c) 0.6 mg H₂O/mg stratum korneum oranında nemlendirilmiş stratum korneumun DSC termogramı [78].

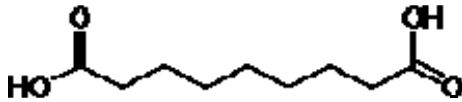
Topikal formülasyonlar, stratum korneumun yapısındaki lipid veya protein yapılarla etkileşmekte ve bu sayede etkilerini göstermektedir. Bununla ilgili bir çalışmada, lesitin mikroemülsiyon jel ve izopropil palmitatın deri ile etkileşimi incelenmiş ve sonuçta izopropil palmitatın ve mikroemülsiyon jelin stratum korneumun lipidleriyle etkileştiği görülmüştür [79]. Selekoksisib içeren nanoemülsiyonlarla yapılan bir başka çalışmada da, nanoemülsiyon formülasyonunun protein denatürasyon pikini daha düşük derecelere kaydırıldığı, dolayısıyla geçiş mekanizmasında hücrelerarası yolu kullandığı belirtilmiştir [75].

1.4. AZELAİK ASİT

Azelaik asit (AzA) 9 karbonlu, doymuş bir dikarboksilik asittir. Oleik asidin oksidasyonu veya serbest ve esterleşmiş yağ asitlerinin kimyasal, fiziksel ve biyolojik oksidasyonu meydana gelmektedir [80]. İnsan vücudunda ve çeşitli tahılların tohumunda doğal olarak bulunmaktadır .

1.4.1. Kimyasal Yapısı

Azelaik asidin kimyasal yapısı 1,7-Heptandikarboksilik asit olup, şekil 1.15’de görülmektedir.



Şekil 1.15. Azelaik asidin kimyasal yapısı

Kapalı formülü: $C_9H_{16}O_4$

CAS Numarası: 123-99-99

Sinonimleri: nonanedioik asit, 1,7-heptanedikarboksilik asit, leparjilik asit, ankoik asit, Azelex, Skinoren [81,82].

1.4.2. Fizikokimyasal Özellikleri

Molekül ağırlığı: 188.22 g

Organoleptik Özellikleri: Beyaz, kokusuz, toz veya toz halinde kristal

Çözünürlüğü: 1 L suda 1°C’de 1 g, 20 °C’de 2.4 g, 50 °C’de 8.2 g, 65 °C’de 22g’dır. Alkolde ve kaynar suda kolayca çözünür. 1000 g eterde 11 °C’de 18.8 g, 15°C’de 26.8 g çözünür [81].

Dağılım Katsayısı: 1.57 [82]

Erime Derecesi: 106.5 °C

1.4.3. Farmakolojik Özellikleri

Azelaik asit ilk olarak, aktif melanositlerin mitokondrisindeki oksidoredüktazları ve tirozinazın aktivitesini baskılama özelliğinden dolayı, hiperpigmentasyon tedavisinde kullanılmıştır [83]. Yapılan tedaviler sırasında, tesadüfen azelaik asidin akne lezyonları üzerinde olumlu bir etkisi olduğu görülmüştür. Azelaik asit, sebace bezin büyüklüğünü ya da sebum salım hızını etkilememektedir. Da Silva ve arkadaşlarının [84] yaptıkları bir çalışmada azelaik asidin, sebum bileşimi, salım hızı, veya sebace bezlerin büyüklüğü üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı fakat epidermal keratinizasyonu değiştirdiği görülmüştür. Ayrıca azelaik asidin, keratohyalin granülleri ve tonofilament demetlerinin sayısını ve büyüklüğünü azalttığı, mitokondrinin büyümesine neden olduğu gözlenmiştir. Azelaik asidin akne ve hiperpigmentasyon bozuklukları üzerindeki etki mekanizmaları aşağıda belirtilmiştir:

1. Tirozinazı geri dönüşümlü olarak engeller,
2. Sebace bezleri sitümile eden dihidrotestosteron (**DHT**)'un oluşmasını sağlayan 5- α redüktaz enzimini inhibe eder [85].
3. Pilosebace kanaldaki keratohyalin granüllerinin üretimini azaltarak hiperkornifikasyonu normale döndürür [86]
4. Foliküldeki *Propionibacterium Acnes* kolonizasyonunu azaltır,
5. Nötrofillerde, reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltır, ve
6. Akne oluşumuna neden olan bazı bakterilerin DNA sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterir [87,88].

1.4.4. Stabilitesi

Azelaik asit, normal şartlarda stabil, indirgeyici ajanlarla, oksitleyici ajanlarla ve bazlarla geçimsiz, aşırı ısı ve ışıktan bozulan bir maddedir. Bunun yanı sıra, bazı alkoller, örneğin etanol, oda sıcaklığında azelaik asidin stabilitesini olumsuz etkilemekte ve formülasyonun etkisiz olmasına neden olmaktadır [89].

Azelaik asidin termal stabilitesinin incelendiği bir çalışmada, azelaik asit otoklavda ısıtma ve 20 dakika kaynatma gibi ısısal işlemlere tabi tutulmuş ve azelaik

asidin stabil olduğu ve antibakteriyel etkisinin ısıtma sonucu değişmediği gözlenmiştir [90].

1.4.5. Farmakodinamik Özellikleri

Akneli deride inflamasyona neden olan reaksiyonların gerçekteşmesinden Propionibakteriler ve Stafilokoklar gibi çeşitli bakteri türleri sorumludur [91]. Azelaik asidin bazı aerobik ve anaerobik bakteriler üzerinde bakteristatik etkisi olduğu bilinmektedir. 250 mmol/L'den daha yüksek konsantrasyonlarda ise P. acne ve S. epidermidis'e karşı bakterisit etki göstermektedir. Bu etkinin ortamdaki besin azlığı veya pH'nın azalması ile arttığı gözlenmiştir [92]. Ayrıca azelaik asit, hücresel protein sentezini engelleme özelliği sayesinde antimikrobiyal özelliğe de sahiptir. Azelaik asidin %20'lik kreminin kullanılması sonucu serbest yağ asidi oranında ve kütanöz mikroflora yoğunluğunda azalma gözlenmiştir [93].

Azelaik asit, sebace bezler ve sebum salım hızı üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmamakla birlikte, 0.1 – 3 mmol/L konsantrasyonda 5- α -redüktaz aktivitesini inhibe etmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda %15 veya %20 azelaik asit içeren kremlerle tedavi edilen akneli hastalarda deri yağlanmasında subjektif bir azalma görüldüğu belirtilmiştir [85].

Protein sentezini inhibe edici özelliğinin yanında azelaik asit bir keratinizasyon ajanıdır [84]. Keratinosit farklılaşmasının son aşamalarında sitoplazmik proteinlerin sentezini inhibe eder. İnsan dermal fibroblastları veya epidermal melanositleri üzerinde yapılan in vitro çalışmalarda [94] 1mmol/L azelaik asidin belirgin bir antiproliferatif veya sitotoksik etkiye sahip olmadığı görülmüş ve yüksek konsantrasyonlarda (10 – 40 mmol/L) azelaik asitle sıçan fibroblastları ve keratinositleri üzerinde yapılan çalışmada da sitotoksik bir etki gözlenmemiştir [95].

Yapılan çalışmalarda azelaik asidin 10 – 100 mmol/L konsantrasyonda kullanıldığında, zamana ve konsantrasyona bağlı olarak insan kütanöz melanoma hücre kültüründeki DNA sentezini engellediği görülmüşür [92]. Ayrıca, insan

koroidal melanoma, Harding-Passey ve Cloudman murin melanoma ve insan skuamöz hücre karsinoması gibi çeşitli hücre kültürleri üzerinde de konsantrasyona ve zamana bağlı sitotoksik ve antiproliferatif özellik göstermiştir. Azelaik asidin bu antitümoral etkisi oluşturduğu mitokondri hasarı ve DNA sentezini inhibe etme özelliğinden kaynaklanmaktadır [96].

1.4.6. Farmakokinetik Özellikleri

Azelaik asit insanlara oral ve topikal olarak, azelaik asidin sodyum tuzu ise intravenöz, intraarteryal ve intralenfatik infüzyon şeklinde uygulanmıştır. Azelaik asidin tek doz (0.5 – 5 g) uygulanmasından 2 saat sonra plazma konsantrasyonunun 6 – 75 mg/L'ye ulaştığı görülmüştür [97]. Azelaik asidin perkütan absorpsiyonu ile ilgili Täuber ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 6 sağlıklı erkek gönüllüye 5 g %20 azelaik asit krem uygulanmış ve 1 hafta sonra da azelaik asit süspansiyonu oral olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak azelaik asidin topikal uygulamadan sonra uygulanan dozun sadece %3.6'sının absorblandığı, oral uygulamadan sonra ise tamamen absorblanıp, 12 saat sonunda %60'ının değişmeden idrarla dışarı atıldığı bulunmuştur [98].

1.4.7. Uygulama Alanları

Azelaik asit, sahip olduğu antiproliferatif, antibakteriyal, keratolitik ve komedolitik etkilerinden dolayı akne ve bunun yanısıra, çeşitli hiperpigmentasyon bozukluklarının (rozasea, solar lentigo ve melazma gibi) tedavisinde kullanılmaktadır [87,88]. Bunların yanısıra, azelaik asit antitümoral etkiye sahiptir. Azelaik asidin antitümoral etkisi, çeşitli in vitro hücre kültürü çalışmaları ve in vivo klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır. Azelaik asidin çeşitli malin melanoma hücreleri üzerindeki zamana ve doza bağlı antiproliferatif ve sitotoksik etkisi, onun DNA sentezi ile ilgili enzimleri ve mitokondriyal oksidoredüktazları inhibe etme özelliğinden kaynaklanmaktadır [99]. Azelaik asit, hiperaktif ancak anormal melanositler üzerinde seçici olarak etki göstermekte ve normal hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermemektedir [100].

- **Akne, Rozasea, Diğer Hiperpigmentasyon Bozuklukları ve Melazma**

Bladon ve arkadaşları [93] tarafından topikal uygulanan azelaik asit ve oral tetrasiklinin etkinliği 45 erkek denek üzerinde 6 ay süren çift kör bir çalışma ile karşılaştırılmış ve tetrasiklinin daha etkili olduğu bulunmuştur. Cavicchini ve arkadaşları [101] ise %20 azelaik asit ve %5 benzoil peroksit jel ile yaptıkları 4 ay süren çalışmada azelaik asit krem ve benzoil peroksit jelin benzer derecede etki gösterdiklerini, azelaik asidin daha iyi tolere edilirken benzoil peroksidin ise daha hızlı etki gösterdiğini bulmuşlardır. Katsambas ve arkadaşları [102] tarafından %20 azelaik asit içeren krem ve bunun plasebosu, %20 azelaik asit içeren krem ve %0.05 tretinoin içeren krem ayrı ayrı karşılaştırılmış ve %20 azelaik asit içeren kremin plasebosuna göre daha etkili olduğu görülmüş, etkinlik bakımından ise tretinoin ve azelaik asit içeren kremler arasında bir fark bulunamamıştır. Ayrıca, azelaik asit içeren kremin tretinoin içeren kremden daha az lokal yan etkiye neden olduğu görülmüştür.

Rozasea çok evreli bir hastalık olup, kızarıklık, papülopüstüller rozasea ve deri nodüllerini içermektedir [103]. Rozasea hastalarının şikayetleri çoğunlukla yüzün orta kısmında periyodik olarak gözlenen kızarıklık ve eritemdir. Hastalığın tedavisinde topikal olarak en çok azelaik asit ve metronidazol kullanılmaktadır. %20 oranında azelaik asit içeren kremler papül, püstül ve eritem üzerinde etkili bulunmuştur [104]. Lezyonlardaki düzelme ikinci ayda başlar, belirgin olarak üçüncü ayda farkedilir.

Melazma, keskin sınırları olan, çoğunlukla simetrik, açık gri veya koyu kahverengi makül ve lekelerle karakterize yaygın bir hastalıktır. Pigmentasyon derecesi, aktif melanositlerin sayısına, sentezine, melanazomların büyüklüğüne ve keratinositler içindeki yüzdesine bağlıdır. Azelaik asit, hiperaktif melanositler üzerindeki seçici etkisi sayesinde melazma tedavisinde kullanılmaktadır [105]. Yapılan bir çalışmada, %20 azelaik asit kremin etkinliği, hidrokortizon içeren kremle (%2) karşılaştırılmış ve azelaik asit içeren kremin tedavide daha etkili olduğu

bulunmuştur [106]. Öte yandan, azelaik asit içeren kremin (%20) etkisi %4 hidrokortizon içeren kremle karşılaştırıldığında arada belirgin bir fark bulunamamıştır [107].

1.4.8. Piyasa Formülasyonları ve Formülasyon Geliştirme Çalışmaları

Azelaik asit piyasada krem (%20) ve jel (%15) formülasyonları şeklinde bulunmaktadır. Azelaik asidin FDA'den onaylı Azelex® adlı bir krem ve Finacea® adlı bir jel formülasyonu bulunmaktadır. Türkiye'de ise azelaik asit, Azelderm® krem, Skinoren krem, Finacea® jel ve Azelex jel formülasyonları ile piyasada mevcuttur. Azelex krem (%20), akne tedavisi için 1996'dan beri kullanılmaktadır. Krem formülasyonu, etkin madde olarak %20 azelaik asit ve stearyl oktaoat, gliserin, gliseril stearat, stearyl alkol, setil palmitat, kokogliseridler, PEG-5 gliseril stearat, propilen glikol, saf su ve koruyucu olarak benzoik asit içermektedir. Formülasyon deriye günde iki kere uygulanmaktadır [108].

Azelaik asidin krem formülasyonu (%20), akne ve rozase tedavisinde etkili olmasına rağmen, azelaik asidin etkinliğinin artırılması için çalışmalara devam edilmiştir [109]. Bu amaçla, azelaik asidin poliakrilik asit içeren jel formülasyonu hazırlanmıştır. Bu formülasyonun pH'sı 4.8 olup derinin normal asit mantosuna zarar vermemektedir. Bunun yanı sıra, jel formülasyonu azelaik asidi mikronize partiküllerini (1-10 µm) içermekte olup, bu partiküllerin transfoliküler permeasyonu kolaydır. Böylece, daha etkili bir formülasyon geliştirilmiş olmaktadır. Ayrıca, azelaik asit krem (%20) ve jelin (%15) fare derisinden geçişi in vitro olarak karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, azelaik asidin jel formülasyonundan canlı deriye geçen kısmın (%25.3) krem formülasyonuna (%3.6) göre daha fazla olduğu görülmüştür [109]. Son yıllarda, rozase tedavisinde Finacea®'yı diğer topikal formülasyonlarla karşılaştıran ve Finacea®'nın tedavideki etkinliğini inceleyen çalışmalar yapılmıştır. 2003 yılında yayınlanan ve Elewski ve arkadaşlarının [110] yaptıkları çalışmada azelaik asit jelin (%15) etkisi metranidazol jel (%0.75) ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, inflamatuvar lezyonlar için, ortalama lezyon sayısı ve yüzde azalma bakımından azelaik asit jelin (%15) metranidazol jeli (%0.75) göre daha üstün olduğu bulunmuştur.

Ayrıca azelaik asidin topikal kullanımı da herhangi bir sistemik yan etkiye neden olmamakta ve deride alerjik veya fotodinamik bir reaksiyona sebebiyet vermemektedir. Azelaik asidin jel formülasyonu (%15) oldukça etkili olup hastalar tarafından iyi tolere edilebilmektedir. Sebep olduğu lokal iritasyon (yanma, batma ve kaşınma) genellikle hafif olup geçicidir. Bu formülasyon, inflamatuvar papülopüstüler rozasea tedavisinde bütün deri tipleri için etkili ve güvenli bir tedavi olarak görülmektedir. Yüzde oluşan hiperpigmentasyonun tedavisinde krem sıvağına karşı azelaik asit kremin (%20) etkisi, tip IV, V ve VI deriye sahip hastalarda 24 haftalık tedavi süresince karşılaştırılmış ve azelaik asit krem (%20) bu deri tiplerinde etkili ve iyi tolere edilebilen bir tedavi yöntemi olarak belirtilmiştir [111]. Finacea® jel propilen glikole hassasiyeti olan hastalar için uygun değildir. Günde iki kere (sabah ve akşam) lezyonların bulunduğu bölgeler yıkandıktan sonra uygulanır. Düzenli kullanım önemlidir. Genellikle, akne lezyonlarında iyileşme jelin kullanımından dört ay sonra gözlenmeye başlanır [108]. Aynı şekilde, azelaik asit kremin (%20) metranidazol krem (%0.75) ile yapılan karşılaştırılmasında, azelaik asit kremin (%20) metranidazol kreme (%0.75) göre daha güvenli ve etkili bir formülasyon olduğu gösterilmiştir [104].

Daha az azelaik asitle daha etkin, daha az yan etki gösteren formülasyonların hazırlanabilmesi için oda sıcaklığında azelaik asidin stabilitesini etkilemeden tamamen çözünmesi gerekmektedir. Piyasaya sunulabilecek bir formülasyon hazırlanabilmesi için ise, çözünen azelaik asit oda sıcaklığında stabil kalabilmelidir. Azelaik asit çözündüğünde deride daha az iritasyona neden olup deriden daha fazla absorbe edilebilmektedir. Daha fazla absorpsiyon, etkili bir formülasyon için daha az miktarda azelaik aside ihtiyaç duyularak, deride meydana gelen iritasyon riskinin azaltılması anlamına gelir. Berova ve arkadaşları [112] su, elma pektini ve ayçiçeği yağı içeren bir emülsiyon formülasyonu geliştirmiş ve etkin madde olarak %10-20 azelaik asit kullanmıştır. Fakat bu formülasyonda azelaik asit tamamen çözünmediği için, ancak yüksek konsantrasyonda kullanıldığında etkisini gösterebilmektedir. Aynı problem Nazzaro-Porro [113 – 115] krem formülasyonu ve Thornfeld'in [116] hazırladığı etanol içeren formülasyon için de geçerlidir. Venkateswaran [117] ise

azelaik asidin polietilen glikol, propilen glikol ve dipropilen glikol gibi glikol türevleri ve etil alkol yardımıyla çözündürüldüğü bir formülasyon geliştirmiştir. Fakat, burada da azelaik asit etanol tarafından stabilize edilebileceği gibi, etanol içeren formülasyon deride kuruluğa yol açabilmektedir. Bu nedenle, Mather [118] azelaik asidin tamamen çözündüğü, glikol bazlı stabil bir krem formülasyonu geliştirmiştir.

Literatürde azelaik asidin çeşitli topikal dozaj şekillerinden salımının incelendiği çalışmalar mevcuttur. Gasco ve arkadaşları [119] azelaik asidin viskozitesi artırılmış mikroemülsiyon (%6.4) ve jelden (%15) salımını, tam kalınlıktaki karın derisi kullanarak incelemişlerdir. Her iki formülasyonda da, gecikme zamanı gözlenmiş olup, mikroemülsiyondan salınan azelaik asit yüzdesi jeldekinden bir kaç kat fazla bulunmuştur. Azelaik asidin deriden hızlı ve önemli ölçüde geçişi, azelaik asidin mikroemülsiyonun iç fazından dış fazına sürekli difüzyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür. Azelaik asidin, etozomal ve lipozomal formülasyonlardan salımının incelendiği bir başka çalışmada da, azelaik asidin sahip olduğu amfifilik yapıdan dolayı, etozom ve lipozomların iç fazı ve dış fazı arasında hızla partisyona uğrayarak salındığı belirtilmiştir [120].

Bu tez çalışmasında, literatürdeki çalışmalardan yola çıkılarak suda çözünürlüğü az olan azelaik asidin lamellar sıvı kristal formülasyonlar içerisinde çözündürülüp, azelaik asidin bu formülasyonlardan salımının ve formülasyonların deri ile etkileşiminin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. DENEYSEL

2.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER, ALETLER, MALZEMELER

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Amonyum asetat	Riedel de Haën, Almanya
Asetik asit (%100)	Prolabo, Fransa
Azelaik asit*	Fisher Scientific, ABD
Borik asit	Merck, Almanya
Polioksietilen (2) stearil eter (Brij 72)	ICI, İngiltere
Polietilen (21) stearil eter (Brij 721 P)	ICI, İngiltere
Polioksil-10-oleil eter (Brij 96V)	ICI, İngiltere
Gliseril monooleat	ICI, İngiltere
Metanol G (ChromosolV HPLC grade)	Sigma-Aldrich, Almanya
Sıvı parafin	Merck, Almanya
Sodyum borat	Merck, Almanya
Sodyum klorür	Merck, Almanya
Potasyum dihidrojen fosfat	Riedel de Haën, Almanya
Tripsin (tip IX-S)	Sigma Chemical Company, ABD

* Azelaik asit, Orva İlaç Sanayi ve Tic. A.Ş. (Türkiye) tarafından hibe edilmiştir.

2.1.2. Kullanılan Aletler

Chiba iğneleri	Bacton-Bickinson, Norveç
Daldırılabilir manyetik karıştırıcı	Variomag, Almanya
Diferansiyel Taramalı Kalorimetre(DSC)	TA Instruments, Q100, ABD
Erime derecesi tayin cihazı	Thomas Hoover, ABD
Franz Difüzyon Hücresi	İldam (özel imalat), Türkiye
FTIR	Jasco FTIR 420, Japonya
Hassas terazi AX200	Schimadzu, Japonya
HPLC	Waters, İngiltere
HPLC dedektörü	Waters, İngiltere
HPLC kolonu	Supelco, İngiltere
Millipore DI deiyonize su sistemi	Millipore, Fransa
Millipore Simpak ultrasaf su sistemi	Millipore, Fransa
pH metre model 420	Thermo Orion, İsviçre
Polarizan mikroskop	Leica DM EP, Almanya
Selofan Membran(MWCO 12000-14000)	Arthur H. Thomas Co., ABD
Su banyosu	Edmund Bühler-Tübingen, Almanya
Termostatlı ısıtıcı	Haake, Almanya
Ultrasonik banyo	Schimadzu W-160, Japonya
UV Spektrofotometre	Schimadzu, Japonya
Vakum pompası	Newman, İngiltere
Reometre	HAAKE Thermo MARS, ABD
Yatay çalkalayıcı	Gerhardt, Kart Kolb, Almanya

2.2. YÖNTEMLER VE DENEYLER

2.2.1. Azelaik Asidin Fizikokimyasal Özelliklerinin Tayini

Azelaik asidin fizikokimyasal özelliklerini tayin etmek amacıyla FTIR spektrumu çekilmiş , çözünürlüğü ve erime derecesi tayin edilmiştir. 10 mM amonyum asetat içeren ve pH'sı %96'lık asetik asit çözeltisiyle 5.0 ± 1.0 'e ayarlanmış metanol:su (2:3 , h/h) çözücü sisteminde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) sisteminde kalibrasyon denklemi saptanarak validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2.2.1.1. FTIR Spektrumu

Azelaik asit , potasyum bromür kullanılarak tablet haline getirildikten sonra Jasco FTIR 420 Spectrometer spektrofotometresi ile spektrumu çekilmiş ve dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden değerlendirilmiştir.

2.2.1.2. UV Spektrumu

Azelaik asidin UV spektrumu, %1'lik çözeltisi kullanılarak 10 mM amonyum asetat içeren ve pH'sı %96'lık asetik asit çözeltisiyle 5.0 ± 1.0 'e ayarlanmış metanol:su (2:3 , h/h) çözücü sisteminde , $\lambda=200-400$ nm aralığında çekilmiştir.

2.2.1.3. Kalibrasyon Doğrusu

Azelaik asit miktar tayini, HPLC photo diode array (PDA) dedektör kullanılarak, Hypersil ODS (5 μm -250x 4.6 mm) C18 ters faz kolon kullanılarak yapılmıştır. Miktar tayini için 10 mM amonyum asetat içeren ve pH'sı %96'lık asetik asit çözeltisiyle 5.0 ± 1.0 'e ayarlanmış metanol:su (2:3 , h/h) çözücü sistemi, mobil faz olarak kullanılmış ve akış hızı 1 mL/dk olacak şekilde ayarlanmıştır [121].

Azelaik asidin bu çözücü sistemindeki 2000 µg/mL'lik stok çözeltisinden hareketle 7 noktalı 6 seri çalışılmıştır. Hazırlanan 20, 40, 100, 200, 400, 800, 1200 µg/mL'lik çözeltiler kullanılarak HPLC ile λ_{\max} 210 nm'de kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemleri elde edilmiştir.

2.2.1.4. Analitik Yöntem Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, kullanılan analitik yöntemden elde edilen verilerin güvenilirliği hakkında bilgi verir. Analitik yöntem validasyonu için gerekli parametreler aşağıda verilmiştir.

- Doğrusallık (Linearity)
- Kesinlik (Precision)
 - ✓ Tekrar edilebilirlik (Repeatability)
 - ✓ Tekrar elde edilebilirlik (Reproducibility)
- Teşhis Sınırı ve Tayin Sınırı (Limit of Dedection (LOD), Limit of Quantification (LOQ))
- Duyarlılık (Sensitivity)
- Özgünlük (Specifity)
- Tutarlılık (Ruggedness)
- Dayanıklılık (Stability, Etkin maddenin teşhis ve tayin aşamasında)

Doğrusallık

Analitik yöntemin doğrusallığı, deney bulgularının doğrudan veya dolaylı olarak örnek içindeki madde konsantrasyonu ile belirli bir aralıkta olmasıdır. Kalibrasyon doğruları bölüm 2.2.1.3'te belirtildiği gibi hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltilerden hareketle 7 noktalı 6 seri çalışılmıştır. Elde edilen çözeltilerin pik alanları hesaplanarak, bunlara karşılık gelen konsantrasyonlardan hareketle doğru denklemleri elde edilmiş ve tanımlayıcılık katsayıları hesaplanarak denklemin doğrusallığı gösterilmiştir.

Kesinlik

Spesifik analiz koşulları altında elde edilen bağımsız analitik sonuçlar arasındaki uyumun derecesidir. Kesinlik yalnız tesadüfi hataların dağılımı ile ilişkilidir, gerçek değerle ilgisi yoktur. Kesinlik, standart sapma (SS), standart hata (SH), veya varyasyon katsayısı (VK) ile ifade edilir. Bir analitik yöntemin kesinliği istatistiksel açıdan yeterli değerlendirmenin yapılacağı sayıda, aynı konsantrasyonda örnek ardarda ölçülerek aritmetik ortalama X_{ort} , SH ve VK hesaplaması ile değerlendirilir. Tekrar edilebilirlik (repeatability) ve tekrar elde edilebilirlik (reproducibility) kesinliğin ifade edilmesini sağlar.

Tekrar Edilebilirlik

Stok çözülden 40 $\mu\text{g/mL}$ ve 800 $\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde düşük ve yüksek iki konsantrasyon seçilmiş ve hazırlanan çözeltilerin analizinden elde edilen azelaik aside ait pik alanları λ_{max} 210 nm'de 6 kez ölçülmüştür. Pik alanlarına karşılık gelen konsantrasyonlar için X_{ort} , SH ve VK hesaplanmıştır. VK'nın %2den küçük olması yöntemin tekrar edilebilirliğini gösterir.

Tekrar Elde Edilebilirlik

Stok çözülden 40 $\mu\text{g/mL}$ ve 800 $\mu\text{g/mL}$ olacak şekilde düşük ve yüksek iki konsantrasyon seçilmiş ve çözeltiler 6 kez ayrı ayrı hazırlanmıştır. hazırlanan çözeltilerin analizinden elde edilen azelaik aside ait pik alanları HPLC ile λ_{max} 210 nm'de ölçülerek X_{ort} , SH ve VK hesaplanmıştır. VK'nın %2'den küçük olması yöntemin tekrar elde edilebilirliğini gösterir.

Özgünlük

Miktar tayini için kullanılacak analitik yöntemin, sadece azelaik aside ait olup olmadığını bulmak için, formülasyon aşamasında kullanılacak diğer yardımcı maddeler HPLC’de tayin edilmiştir.

Teşhis Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Analitik yöntemin validasyonu için önemli parametrelerden ikisi teşhis ve tayin sınırıdır. Teşhis sınırı (LOD), analizi yapılacak maddenin sinyalinin geri plan gürültüden ayrılabilmesi için gerekli en düşük madde miktarıdır. LOD hesaplanırken, örnekten elde edilen pikin, referans çizginin gürültü seviyesinin 3 katı olduğu konsantrasyon belirlenir. Tayin sınırı ise (LOQ), analizi yapılan maddenin güvenilir ve doğru bir şekilde tayin edilebilmesi için gerekli en düşük madde miktardır. LOQ hesaplanırken, örnekten elde edilen pikin, referans çizginin gürültü seviyesinin 10 katı olduğu konsantrasyon belirlenir.

2.2.1.5. Dayanıklılık

Ölçüm süresince etkin maddenin dayanıklılığının gösterilebilmesi için, 40 µg/mL ve 800 µg/mL azelaik asit içeren çözeltiler, hazırlandıkları anda, 1., 5., 10., 24 ve 48. saatlerde analiz edilerek konsantrasyondaki değişim 48 saat süresince incelenmiştir.

2.2.1.6. Çözünürlük tayini

Difüzyon ortamı olarak Sintov ve arkadaşlarının [122] kullandığı ortamdan hareketle 4 mM pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) karışımı seçildiği için azelaik asidin bu ortamdaki çözünürlüğü incelenmiştir. Bu amaçla 50 mL’lik flakonlara aşırı miktarda azelaik asit tartılmış, üzerine 4mM pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) karışımından 10 mL eklenmiştir. Flakonların ağzı lastik tıpa ve alüminyum kapaklar ile sıkıca kapatılmıştır. 37°C sıcaklıktaki su banyosunda, 80 devir/dk hızda yatay

çalkalayıcıda farklı sürelerde (1, 5, 10 ve 12. saat) tutulmuştur. Her saat için 3 örnekle çalışılmış ve örnekler 0.45 µm'lik filtrelerden süzöldükten sonra HPLC ile $\lambda=210$ nm'de elde edilen pik alanlarından yola çıkılarak çözünürlük tespit edilmiştir.

2.2.1.7. Erime Derecesi Tayini

Azelaik asidin erime derecesi, Thomas Hoover kapiller erime tayini cihazı ile tayin edilmiştir.

2.2.2. Formülasyon Çalışmaları

Azelaik asidin, ilaç taşıyıcı sistemlerden biri olan sıvı kristal sistemler içine hapsedilmesi amaçlanmış ve buna yönelik formülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi ve lamellar sıvı kristal yağlı sisteminin yanısıra, Y/S emülsiyonu da çalışılmıştır.

2.2.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

Makroskobik ve mikroskobik görünüm, stabilite ve kozmetik kabul edilebilirlik açısından uygun sıvı kristal formülasyonlarının hazırlanması amacıyla, ön formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Ön formülasyon çalışmaları sırasında kullanılan yüzey etkin maddeler; gliseril monooleat, Brij 96, Brij 96V, Brij 72 ve Brij 721P , yağlar; susam yağı, izopropil miristat ve sıvı parafindir. Yüzey etkin madde olarak gliseril monooleat ve yağ fazı olarak susam yağının kullanıldığı formülasyonlarda faz ayrımı gözlenmiş olup stabil formülasyonlar elde edilememiştir. Bu nedenle, lamellar sıvı kristaller ile ilgili literatürler incelenmiş ve literatürde Brij serilerinden Brij 96, Brij 96 V ve Brij 97'nin sıvı kristal oluşturmak için uygun yüzey etkin maddeler olduğu belirtilmiştir. Makai ve arkadaşları [26, 123] sıvı parafin/Brij 96 V/gliserol/su ve sıvı parafin/Brij 96/gliserol/su sistemleri kullanılarak stabil lamellar sıvı kristaller oluşabildiğini göstermişlerdir. Wang ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada [124] izopropil miristat/Brij 97/su, oleik asit/Brij

97/su ve geraniol/Brij 97/su sistemlerini kullanmışlar ve bu sistemler kullanılarak lamellar ($L\alpha$), hegzagonal (H_{II}) ve kübik ($Fd3m$) sıvı kristal fazlar oluşturulabildiğini göstermişlerdir. Bu çalışmalar ışığında, yüzey etkin madde olarak, literatürde üzerinde çok fazla çalışılmamış olan ve liyotropik sıvı kristal oluşturma potansiyeline sahip, Brij 721 P ve Brij 72'nin kullanılmasına karar verilmiştir.

Çalışmalar sırasında sıvı parafin/ Brij721P: Brij 72/ su üçlü sistemi seçilerek, farklı Brij 721P :Brij 72 oranları olarak 3:1 ve 3:2 (a/a) denenmiştir. Ardından hazırlanan formülasyonlar polarize ışık altında, oluşan sıvı kristal fazlar yapılarına, oluşan fazın yoğunluğuna ve homojenliğine göre incelenerek en uygun formülasyonlar seçilmiştir.

2.2.2.2 Formülasyonlarda Kullanılan Yüzey Etkin Maddeler

- **Brij 721 P**

Brij 721 P, iyonik olmayan bir yüzey etkin madde olup, polietilen (21) stearil eter yapısındadır. HLB değeri 15.5'tur. Brij 721 P kremlerde, losyonlarda, aerosollerde ve antiperspiran ürünlerde sıklıkla kullanılan bir yüzey etkin maddedir. Brij 721 P iyonik olmayan yapısından dolayı, bir çok formülasyonun içeriğinde bulunmakta ve geniş bir pH aralığında kullanılabilir. HLB değeri olarak 15.5'ten daha düşük HLB değerlerinin elde edilmesi için daha düşük HLB değerine sahip yüzey etkin maddelerle karışımları kullanılır. Bu amaçla genellikle Arlamol E veya Brij 72 ile birlikte kullanılmaktadır. Bu yüzey etkin maddelerle birlikte kullanıldığında, sıvı kristal faz oluşturma potansiyeline sahiptir [125]. Literatürde, Brij 721 P ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, Brij 721 P'nin Y/S kremi [126] ve güneşten koruyucu krem [127] formülasyonlarında bulunduğu ve formülasyonun özelliğine göre %1-5 aralığında kullanıldığı görülmektedir. Bu çalışmada da Brij 721 P lamellar sıvı kristal oluşturma potansiyeli nedeniyle yüzey etkin madde olarak seçilmiştir.

- **Brij 72**

Brij 72, iyonik olmayan bir yüzey etkin madde olup, polioksietilen (2) stearil eter yapısındadır. HLB değeri 4.9'dur. Brij 72 kremlerde, losyonlarda ve antiperspiran ürünlerde Brij 721P ile birlikte sıklıkla kullanılan bir yüzey etkin maddedir. HLB değeri düşük olduğundan, S/Y emülsiyonları için uygun bir yüzey etkin maddedir. Brij 721P ile kullanıldığında sıvı kristal oluşturma potansiyeline sahiptir [125].

Literatürde, Brij 72, HLB değeri yüksek yüzey etkin maddelerle birlikte kullanılarak, Y/S emülsiyonu [126], nanopartiküller [128] ve güneşten koruyucu [129] formülasyonlar hazırlanmıştır. Bu çalışmada da Brij 72, Brij 721 P ile kullanılarak, sıvı kristal sistemler hazırlanması amaçlanmıştır.

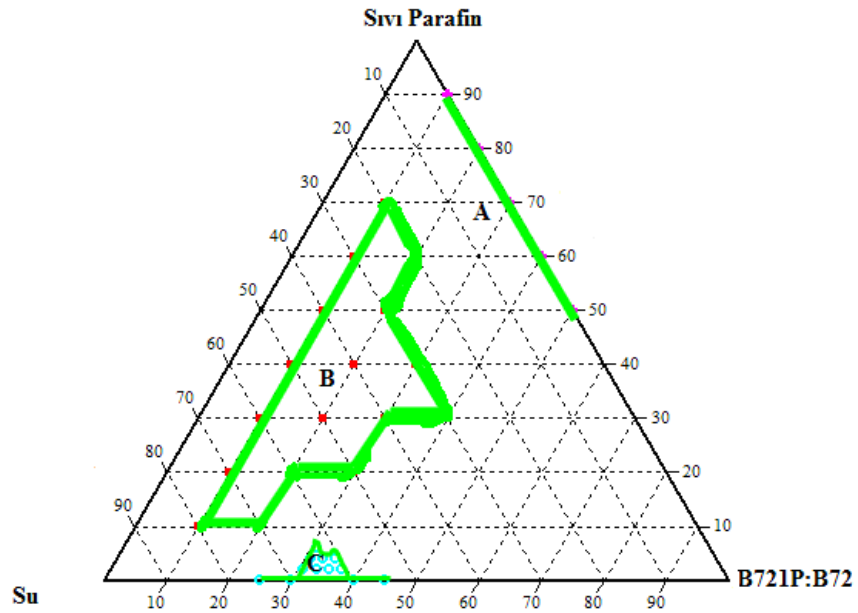
2.2.2.3. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmaları

Üçgen faz diyagramları, üç veya dört bileşenli farmasötik sistemlerin formülasyonu aşamasında kullanılan sistemlerdir. Bu bileşenler arasında, yağ fazı, su fazı ve yüzey etkin madde bulunmaktadır. Lamellar sıvı kristallerde genellikle dördüncü faz olarak yardımcı yüzey etkin madde de bulunabilmektedir.

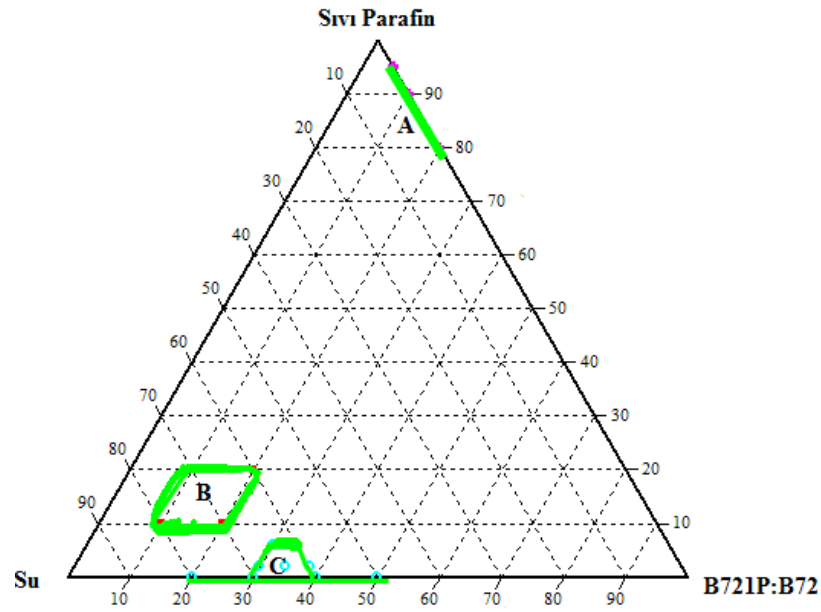
Bileşenlerden biri yağ fazı olan sıvı parafindir. Bir diğer bileşen olan yüzey etkin madde Brij 721P ve yardımcı yüzey etkin madde Brij 72'dir. Dördüncü bileşen sudur. Yapılan ön formülasyon çalışmaları sırasında, optimum formülasyonun elde edilebilmesi için, farklı Brij 721P:Brij 72 oranları denenmiştir. Brij 721P:Brij 72 oranının 3:1 ve 3:2 olduğu üçgen faz diyagramları oluşturulmuştur (Şekil 2.1 ve 2.2.).

Üçgen faz diyagramlarında oluşan fazlar için ayrı ayrı bölgeler belirlenmiştir. Yüzey etkin madde:yardımcı yüzey etkin madde oranı belirlendikten sonra öncelikle 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20 ve 90:10 oranlarında yüzey

etkin madde ve yağ fazı karışımı hazırlanmış ve daha sonra karışıma su ilave edilerek üçgen faz diyagramı oluşturulmuştur. Fazların olduğu bölgelerin sınırları belirlenerek bölgeler adlandırılmıştır.



Şekil 2.1. Yüzey etkin madde:yardımcı yüzey etkin madde oranının 3:1 olduğu üçgen faz diyagramı (A=lamellar sıvı kristal yağlı sistemi bölgesi, B=emülsiyon bölgesi, C=lamellar sıvı kristal bölgesi)



Şekil 2.2. Yüzey etkin madde:yardımcı yüzey etkin madde oranının 3:2 olduğu üçgen faz diyagramı (A=lamellar sıvı kristal yağlı sistemi bölgesi, B=emülsiyon bölgesi, C=lamellar sıvı kristal bölgesi)

Hazırlanan üçgen faz diyagramları incelendiğinde Brij 721 P:Brij 72 oranının 3:1 olduğu üçgende, daha geniş lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal yağlı sistem ve emülsiyon bölgeleri elde edilmiştir. Bu nedenle, sonraki çalışmalar için Brij 721P:Brij 72 oranının 3:1 olduğu üçgen faz diyagramı seçilmiştir (Şekil 2.1).

Bu üçgen faz diyagramında, belirlenen emülsiyon ve lamellar sıvı kristal faz bölgelerinden seçilen noktalar hazırlanarak, homojen ve stabil lamellar sıvı kristal (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (LSK-ES), lamellar sıvı kristal yağlı sistemi (LSK-YS) ve Y/S emülsiyonu (Y/S E) seçilmiştir.

2.2.2.4. Lamellar Sıvı Kristal (LSK), Lamellar Sıvı Kristal Emülsiyon (LSK-ES) Sistemi, Lamellar Sıvı Kristal Yağlı Sistemi (LSK-YS) ve Y/S Emülsiyonu (Y/S E)

Ön formülasyon çalışmaları sonucunda uygun bulunan ve incelemeye alınan formülasyonlar ve bunların bileşenlerinin oranları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonu bileşenleri

Formülasyon Kodu	Sıvı Parafin	Brij 721P:Brij 72 (3:1)	Su	Mikroskopik görünüm
LSK	0	30	70	Lamellar sıvı kristal
LSK-ES	6	31	63	Lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi
LSK-YS	70	30	0	Lamellar sıvı kristal yağlı sistemi
Y/S-E	40	10	50	Emülsiyon

2.2.2.5 Formülasyonların Hazırlanması

Seçilen formülasyonlar Csoka ve arkadaşlarının [130] geliştirdiği metodun modifikasyonu ile hazırlanmıştır. Formülasyonlarda farklı oranlarda yağ, su ve yüzey etkin madde kullanılmıştır. Formülasyonlar aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal formülasyonun hazırlanması için, gerekli miktarda yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin madde bir behere tartılarak ağzı parafilmle kapatılmıştır. Gerekli miktarda ultra saf su, flakona tartılarak ağzı kauçuk tıpayla kapatılmıştır. 70°C’ye ısıtılmış su banyosunda yüzey etkin madde karışımı ve su fazı ayrı ayrı ısıtılarak termometreyle sıcaklık kontrol edilmiştir. Sonra gerekli miktarda ultra saf su, plastik damlalık yardımıyla yüzey

etkin madde karışımına eklenmiş ve su banyosundaki manyetik karıştırıcı ile 600 rpm'de karıştırılmıştır.

Etkin madde içermeyen Y/S emülsiyonu ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminin hazırlanması için, gerekli miktarda yağ, yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin madde bir behere tartılarak ağzı parafilmle kapatılmıştır. Gerekli miktarda ultra saf su, flakona tartılarak ağzı kauçuk tıpayla kapatılmıştır. 70°C'ye ısıtılmış su banyosunda yağ, yüzey etkin madde karışımı ve su fazı ayrı ayrı ısıtılarak termometreyle sıcaklık kontrol edilmiştir. Sonra gerekli miktarda ultra saf su, plastik damlalık yardımıyla yağ ve yüzey etkin madde/yardımcı yüzey etkin madde karışımına eklenmiş ve su banyosundaki manyetik karıştırıcı ile 600 rpm'de karıştırılmıştır.

Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal yağlı sisteminin hazırlanması için ise, gerekli miktarda yağ, yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin madde bir behere tartılarak ağzı parafilmle kapatılmıştır. 70°C'ye ısıtılmış su banyosunda sıvı parafin ve yüzey etkin madde karışımı ısıtılarak termometreyle sıcaklık kontrol edilmiştir. Karışım, su banyosundaki manyetik karıştırıcı ile 600 rpm'de karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımlar su banyosundan alındıktan sonra, oda sıcaklığına soğuyana kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır.

Azelaik asit konsantrasyonu saptanırken, etkin maddenin, geliştirilen lamellar sıvı kristal ve emülsiyon sistemleri içinde çözünmesi amaçlanmıştır. Literatürde, azelaik asit içeren formülasyonlarda kullanılan %0.2-6.4 aralığındaki düşük konsantrasyonlar göz önünde bulundurularak [119,120,131], azelaik asit konsantrasyonu tüm formülasyonlar için %1 olarak saptanmıştır.

Etkin madde içeren formülasyonlar hazırlanırken, etkin maddenin suda çözünürlüğü az olduğundan etkin madde yağ fazına eklenmiş ve yukarıda etkin madde içermeyen formülasyonlar için belirtilen hazırlama yöntemi aynen uygulanmıştır. Hazırlanan formülasyonlar bir gece boyunca 25°C'deki su banyosunda bekletirlerken sistemlerin dengeye gelmesi sağlanmıştır. Hazırlanan

preparatlar 24 saat sonra polarizan mikroskop altında incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda sıvı kristal faz bölgeleri belirlenmiş olup makroskobik ve mikroskobik açıdan en iyi sonucu veren formülasyonlar belirlenmiştir.

2.2.2.6. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

- **Makroskobik İnceleme**

Hazırlandıktan sonra 25 °C’de su banyosunda saklanan formülasyonların görünüşü, rengi, kıvamı ve faz ayrılması olup olmadığı incelenmiştir.

- **Emülsiyon Tipi Tayini ve Makroskobik İnceleme**

Metilen mavisi çözeltisi ile boyanan Y/S emülsiyonu, mikroskop ile incelenerek tip tayini yapılmıştır.

- **Mikroskobik İnceleme**

Etkin madde içeren ve içermeyen sıvı kristal fazların kendilerine özgü karakteristik renkli yapıları Leica DM EP polarizan ışık mikroskopuyla incelenerek sıvı kristal faz yapıları aydınlatılmıştır [26,31,132].

- **Reolojik İnceleme**

Etkin madde içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristal , lamellar sıvı kristal emülsiyon, lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin ve Y/S emülsiyonunun reolojik özelliklerinin belirlenmesi için yapılan osilasyon ölçümleri Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Polimer Kimyası Anabilim Dalı’nda gerçekleştirilmiştir. Lineer viskoelastik bölgenin belirlenmesi için, sabit 1 Hz frekansta, ve 30±0.05 °C sıcaklıkta, 0-30 Pa aralığında, HAAKE MARS Reometre ile çalışılmıştır. Lineer viskoelastik bölge belirlendikten sonra, belirlenen bölgede sabit kayma geriliminde (6 Pa), 0.1-100 Hz aralığında, saklama modülü (G') ve

kayıp modulusu (G'') ölçümleri yapılmıştır. Tüm formülasyonlar için yapılan ölçümler, tekrarlı 3 ölçümün ortalaması alınarak ifade edilmiştir.

- **Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)**

Azelaik asit, Brij 72, Brij 721P ve Brij 721P:Brij 72 (3:1) karışımı, %1 (a/a) azelaik asit içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon, lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin ve Y/S emülsiyonunun termal davranışının incelenmesi için DSC çalışmaları yapılmıştır. Ölçümler, DSC Q100 (TA Instruments, USA) cihazı ile $10\text{ }^{\circ}\text{C.dk}^{-1}$ ısıtma hızında, $20 - 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ aralığında yapılmıştır. Etkin madde alüminyum kaba, diğer örnekler ise alüminyum hermetik kaba ($5 - 10\text{ mg}$) tartıldıktan sonra kaplar preslenerek kapatılmıştır. Referans olarak boş alüminyum ve alüminyum hermetik kaplar kullanılmıştır. Sıcaklıktaki artışa bağlı olarak örneklerde meydana gelen ısı değişimi ölçülmüştür.

2.2.3. İn Vitro Salım Çalışmaları

İN vitro salım çalışmalarında azelaik asidin, lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonundan salımı incelenmiştir.

2.2.3.1. Difüzyon Aygıtı

Salım çalışmalarında kullanılan Franz difüzyon hücreleri inert camdan yapılmış donör bölme ve reseptör bölme olmak üzere iki bölmeden oluşmaktadır. Reseptör bölmenin hacmi 10 mL olup difüzyon alanı 2.5cm^2 dir. Yan kısımdan yukarı doğru uzanan örnek alma kolu bulunmaktadır. Selofan zar reseptör bölmenin açık olan üst kısmına yerleştirilir. Şilifli camdan yapılmış olan donör bölmenin yerleştirilmesi ile, selofan zar, donör ve reseptör bölmeler arasında metal yaylar ile sıkıştırılır. Reseptör ortamdaki difüzyon ortamı manyetik karıştırıcı ile 600 rpm 'de karıştırılır. Difüzyon hücreleri, donör bölme oda sıcaklığında ve reseptör bölme tamamen su banyosuna dalacak şekilde 37°C 'lik su banyosuna yerleştirilir.

2.2.3.2. Difüzyon Ortamının Hazırlanması

Salım deneylerinde kullanılacak difüzyon ortamı seçilmeden önce, literatürde azelaik asit ile yapılan salım çalışmaları incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda farklı ortamlar kullanıldığı görülmüştür. Gasco ve arkadaşlarının [119], azelaik asit (%6.4, a/a) içeren mikroemülsiyonlardan yaptıkları bir çalışmada, salım ortamı olarak 0.1 M pH 7.0 tamponu kullanmışlardır. Peira ve arkadaşları [131] ise mikroemülsiyondan azelaik asit (%1, a/a) ve sodyum tuzunun salımını incelemişler ve salım ortamı olarak ise su:propilen glikol (50:50) kullanmışlardır. Azelaik asidin etozom ve lipozomlardan salımının incelendiği bir başka çalışmada, salım ortamı olarak izotonik Palitzsch tamponu:etanol (70:30) karışımı kullanılmıştır [120].Azelaik asidin sudaki dispersiyonu ve azelaik asit-hidroksipropil- β -siklodekstrin inklüzyon kompleksinden salımın incelendiği bir başka çalışmada ise salım ortamı olarak pH 7.4 tamponu kullanılmıştır [133]. Sintov ve arkadaşları [122] etil salisilat ve azelaik asit içeren TU-2100 adlı bir bileşik geliştirmiş ve bunun salımını, pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) ortamında incelemişlerdir. Yapılan çözünürlük deneyi sonucunda, 4 mM pH 7.4 tamponu: etanol (50:50) ortamı sink koşulu sağladığı için uygun salım ortamı olarak bulunmuş ve azelaik asit (%1, a/a) içeren formülasyonların salım deneyleri bu ortamda yapılmıştır.

2.2.3.3. Salım Deneylerinin Yapılması

Salım deneylerinde, difüzyon hücrelerinin içlerinde manyetik balık bulunan reseptör bölmelerine %50 pH 7.4 fosfat tamponu, %50 etanol içeren çözelti doldurulmuştur. Reseptör bölmenin üzeri, bir gece önceden distile su içinde ıslatılarak şişirilen selofan zar ile hava kalmayacak şekilde kapatılmıştır. Donör bölmenin üzerine reseptör bölme yerleştirilmiş ve selofan zarın sabit durmasını sağlamak amacıyla yay sistemi kullanılarak sabitlenmiştir. Franz difüzyon hücrelerinin örnek alma koluna Chiba iğneleri yerleştirilmiştir. Daha sonra, hazırlanan Franz difüzyon hücreleri sıcaklığı 37°C'ye ayarlanmış su banyosundaki çok noktalı manyetik karıştırıcı üzerine kurulan pleksiglas yuvalara yerleştirilir.

Difüzyon ortamı için karıştırma hızı 600 rpm olarak ayarlandıktan sonra sistem dengeye gelene kadar bekletilmiştir.

1g formülasyon örneği reseptör bölme ile donör bölme arasında bulunan selofan zarın üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Salım çalışmalarında kör olarak etkin madde içermeyen formülasyonlar kullanılmıştır. 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 ve 12. saatlerde örnek alma kolundaki Chiba iğneleri yardımıyla 1 mL örnek alınmış ve yerine aynı miktarda ve aynı sıcaklıktaki difüzyon ortamı ilave edilmiştir.

2.2.3.4. Miktar Tayini

Alınan örneklerdeki azelaik asit miktarı, UV dedektör kullanılarak HPLC’de $\lambda=210$ nm’de elde edilen pik alanlarından yararlanılarak yapılmıştır. Elde edilen pik alanlarının değerleri kalibrasyon denkleminde yerine konarak konsantrasyon değerleri hesaplanmış ve zamana karşı salınan miktar hesaplanmıştır.

2.2.3.5. Salım Süresince Azelaik Asidin Stabilitésinin İncelenmesi

Salım süresince etkin maddenin stabil olup olmadığı %50 pH 7.4 fosfat tamponu, %50 etanolden oluşan difüzyon sistemi içinde yüksek (800 $\mu\text{g/mL}$) konsantrasyonda azelaik asit içeren çözeltilerde incelenmiştir. Hazırlanan azelaik asit çözeltileri, salım deneylerinde kullanılan Franz difüzyon hücrelerinin reseptör bölmesine konarak in vitro salım deneyi koşullarında bekletilip belirli zaman aralıklarında (0, 1, 5, 10 ve 24. saatlerde) örnek alınarak azelaik asit miktarı HPLC’de tayin edilmiştir.

2.2.3.6. Formülasyonların Stratum Kerneum ile Etkileşiminin DSC ile İncelenmesi

Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonunun deri ile etkileşiminin incelenmesi için DSC çalışmaları yapılmıştır.

Deri ile etkileşimin incelenmesinde kullanılan insan karın derisi Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı tarafından yapılan abdominoplasti (karın gerdirme) ameliyatından alındıktan sonra temizlenerek -20°C 'de saklanmıştır. Deri, kullanılmadan önce $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat bekletilmiş ve daha sonra gerekli miktarda deri, bistüri yardımıyla kesilmiştir. Epidermisi ayırmak için kesilen deri 60°C 'lik sıcak suda 2 dakika tutulmuştur. Elde edilen epidermis distile suyla yıkandıktan sonra, silika jel içeren desikatörde, 12 saat kurutulmuş ve üzerinde herhangi bir kesik ya da delik olup olmadığı incelenmiştir. Hazırlanan epidermis örneği, 12 saat boyunca %0.1'lik tripsin çözeltisinde dermal kısım alta gelecek şekilde bekletilmiştir. Elde edilen stratum korneum tabakası, distile suyla yıkandıktan sonra, aşırı doymuş potasyum sülfat çözeltisi içerisinde 3 gün boyunca bekletilerek hidrate edilmiştir. Daha sonra stratum korneum tabakaları, %20 – 25 hidrasyon elde edebilmek için Whatman No:1 filtre kağıdı ile kurutulmuştur [75]. Elde edilen stratum korneum örneğinden yaklaşık 15 mg, alüminyum hermetik kaplara alınmış ve dengeye gelmesi için yarım saat bekletilmiştir.

2.2.4. Stabilite Çalışmaları

Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonu üzerinde 25°C 'de stabilite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığı 25°C 'de sabitlenmiş su banyosunda saklanan formülasyonlar dayanıklılık açısından incelenmiştir. Bu çalışmalar, makroskobik ve mikroskobik incelemeler olmak üzere iki grupta yürütülmüştür. Belirtilen koşulda, 0, 1, 7, 30 ve 180 gün bekletilen lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonunda renk, kıvam ve homojenlik açısından değişim olup olmadığı, mikroskobik yapısında değişiklik olup olmadığı ve faz ayrımına uğrayıp uğramadığı incelenmiştir.

2.2.5. Bulguların İstatistiksel olarak İncelenmesi

Deney bulgularının ortalamaları, standart sapma veya standart hata ile birlikte verilmiştir. HPLC yöntem validasyonu çalışmalarında günler arasındaki farkın incelenmesi, çözünürlük çalışmaları, in vitro salım deneyleri ve reolojik çalışmalarda önce Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi ile gruplar arasında fark olup olmadığı araştırılmış ve daha sonra ise, Mann-Whitney U testi kullanılarak hangi gruplar arasında fark olduğu incelenmiştir. Salım süresince etkin maddenin stabilitesinin incelendiği deneyde ise, tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

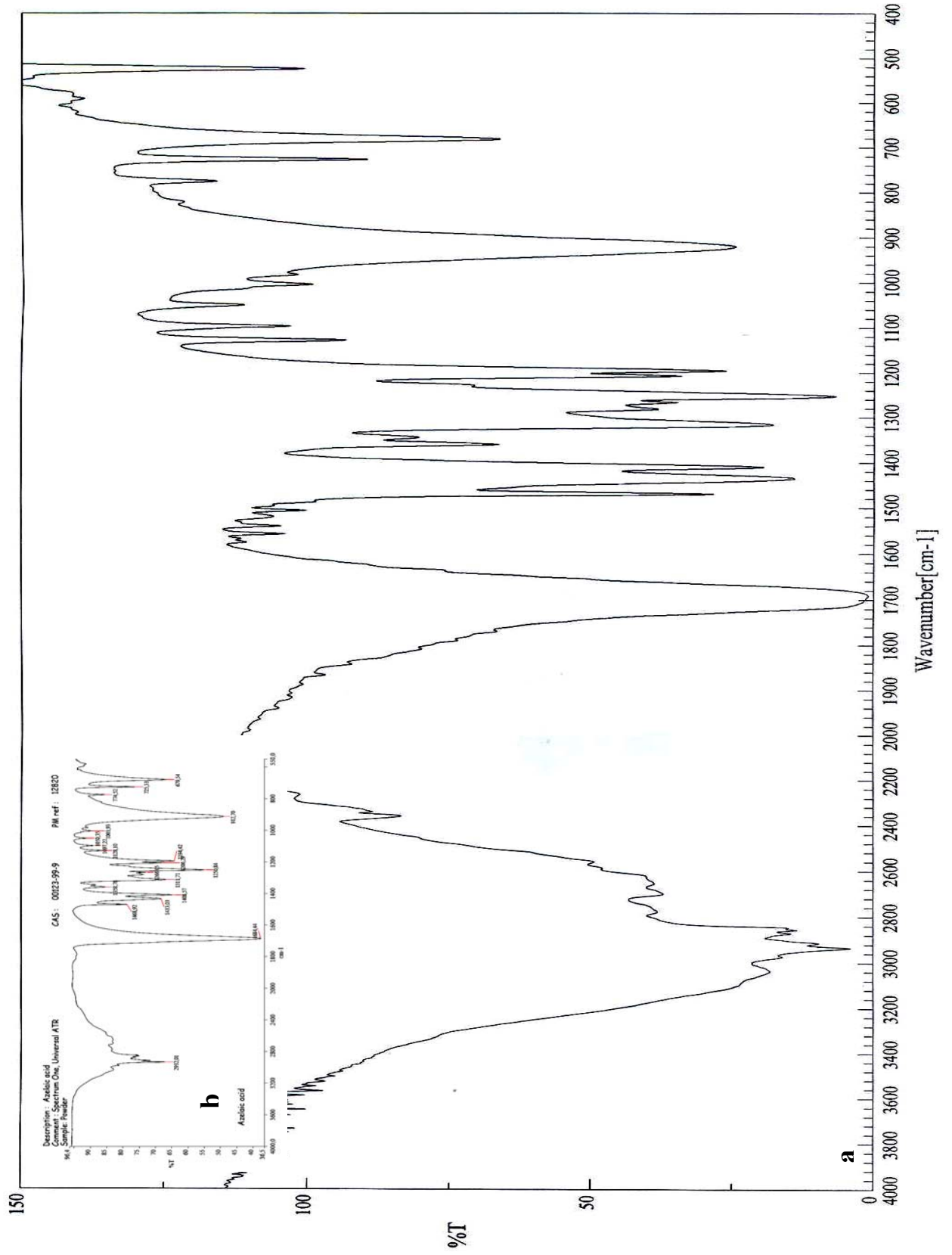
Çalışmada elde edilen bulgular beş ana başlık altında toplanmış olup; birinci bölümde azelaik aside ait fizikokimyasal bulgular verilmiştir. İkinci bölümde formülasyon çalışmaları ve formülasyonlar üzerinde yapılan incelemelerin sonuçları bulunmaktadır. Üçüncü bölümde, in vitro salım deneyleri, dördüncü bölümde formülasyonların deri ile etkileşiminin incelendiği DSC çalışmaları, beşinci bölümde ise fiziksel dayanıklılık çalışmalarının sonuçları verilmiştir.

3.1. Azelaik Asidin Fizikokimyasal Özellikleri

Azelaik asidin FTIR ve UV spektrumları çekilmiş, kalibrasyon doğru denklemi hesaplanmış ve analitik validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Etkin maddenin çözünürlüğü ve erime derecesi de belirlenmiştir.

3.1.1. FTIR Spektrumu

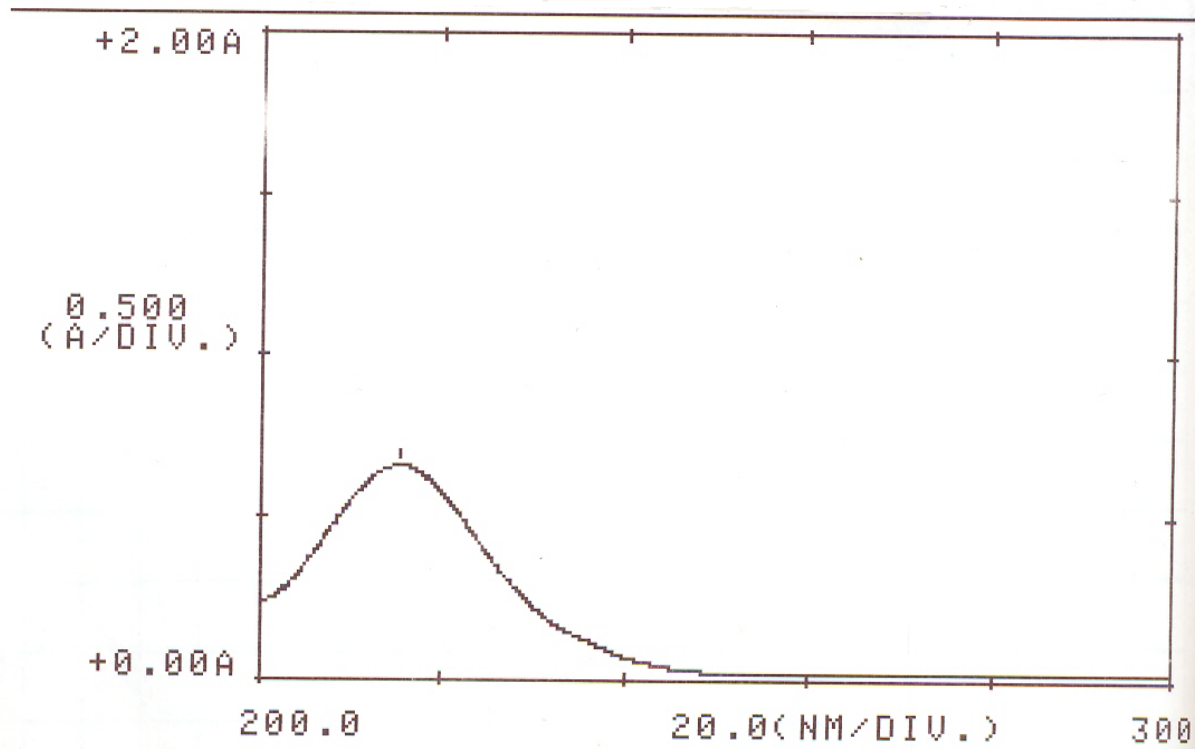
Bölüm 2.2.1.1.'de anlatıldığı gibi azelaik asidin potasyum bromürle 10 t/cm² basınçta hazırlanmış %1 diskleri kullanılarak çekilen FTIR spektrumunda maddenin yapısına özgü, 3000 cm⁻¹ civarında, C-H gerilim bantlarının yanında geniş bir H gerilim piki gözlenmiştir. 1699 cm⁻¹ civarında, dimer molekülün asimetric karbonil (C=O) gerilim piki gözlenmiştir. C-O gerilim piki ise 1300 cm⁻¹ civarında gözlenmektedir. Asimetric karbonil gerilme titreşimi 1699 cm⁻¹'de gözlenmiştir. 1469, 1434 ve 1409 cm⁻¹'de gözlenen CH₂ eğilme pikidir. C-O gerilmesi ise 1300 cm⁻¹'de gözlenmiştir. OH düzlem içi frekansı 1410 – 1435 düzlem dışı frekansı ise 927 cm⁻¹'de gözlenmektedir. Alınan tüm sinyaller literatür ile uyumludur [133] (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Azelaik aside ait (a) örnek (b) referans FTIR spektrumu [134].

3.1.2. UV Spektrumu

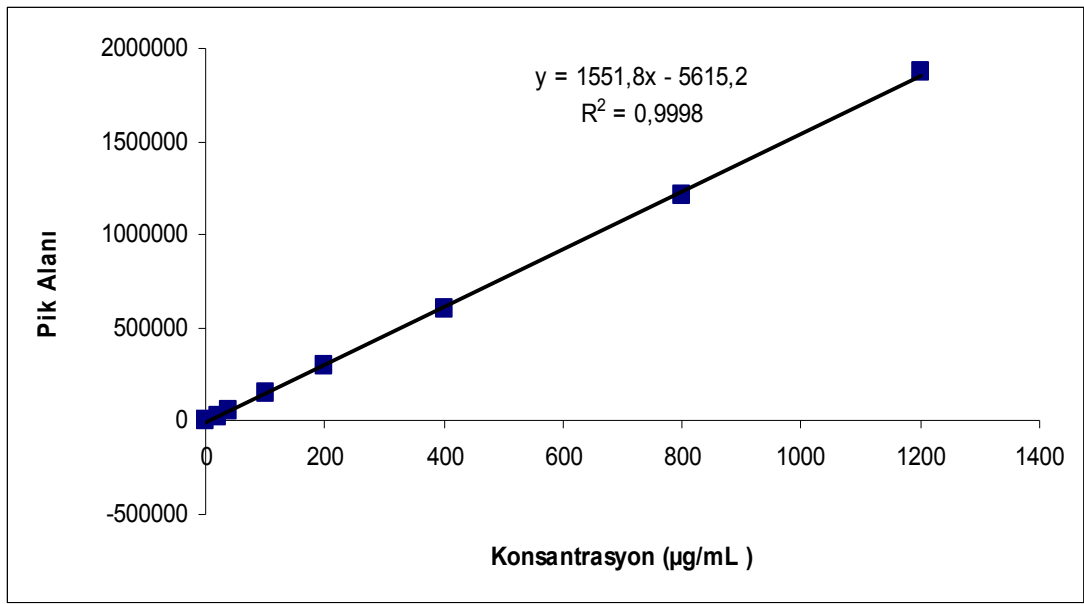
Bölüm 2.2.1.2'de anlatıldığı gibi azelaik asidin UV spektrumu, %1'lik çözeltisi çözeltisi kullanılarak 10 mM amonyum asetat içeren ve pH'sı 5.0 ± 1.0 'e getirilmiş metanol:su (2:3) sisteminde $\lambda=200 - 400$ nm aralığında çekilmiştir. Azelaik asidin metanol:su (10mM amonyum asetat, pH=5.0) HPLC mobil faz sisteminde hazırlanan çözeltisi 210 nm'de karakteristik bir pik vermektedir (Şekil 3.2) . UV spektrumundan elde edilen veri Mansour ve arkadaşlarının çalışmasından elde edilen veriyle uyumludur [121].



Şekil 3.2. Azelaik asidin %1'lik çözeltisinin metanol:su (10 mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki UV spektrumu

3.1.3. Kalibrasyon Doğrusu

Azelaik asidin, metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu Bölüm 2.2.1.3’de açıklandığı gibi HPLC’de elde edilmiştir. Hazırlanan farklı konsantrasyondaki çözeltilerden hareketle, azelaik asit için kalibrasyon doğrusu çizilmiş ve doğruların denklemi doğrusal regresyonla bulunmuş ve doğrusalıktan ayrılış önem kontrolü yapılarak, doğrusalıktan ayrılışın önemsiz olduğu bulunmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Azelaik asidin metanol:su (10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki kalibrasyon doğrusu ve denklemi (n=6)

3.1.4. Analitik Yöntem Validasyonu

Azelaik aside ait miktar tayini yöntemi doğrusallık, kesinlik, özgünlük, dayanıklılık açısından incelenmiştir. Bu bölümde azelaik asidin kalibrasyon doğrusu için yapılan analitik yöntem validasyonu sonuçları verilmektedir.

3.1.4.1. Doğrusallık

Bölüm 2.2.1.4'de açıklandığı gibi etkin maddenin, metanol:su (10mM amonyum asetat, pH=5.0) çözücü sistemindeki kalibrasyon doğrusu konsantrasyona karşı elde edilen pik alanlarıyla hesaplanmış ve tanımlayıcılık katsayısı $R^2 = 0.9998$ bulunarak denklemin doğrusallığı gösterilmiştir (Şekil 3.3).

3.1.4.2. Kesinlik

Tekrar Edilebilirlik

Azelaik asidin 40 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerinin HPLC'de analiz edilmesi sonucunda elde edilen azelaik aside ait pik alanları HPLC'de 210 nm dalga boyunda 6 ayrı kez ölçülmesinden hareketle hesaplanan etkin madde konsantrasyonlarından X_{ort} , SH ve VK hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3.1'de verilmiştir. VK %2'den küçük olduğu için yöntemin tekrar edilebilir olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.1. Azelaik asidin, metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki 40 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlar için tekrar edilebilirlik sonuçları (n=6)

Örnek	Pik alanı ($\lambda= 210$ nm)	Konsantrasyon (µg/mL)	$X_{ort} \pm SH$	VK (%)
40 µg/mL	60214	42.42	42.17±0.13	0.76
	59065	41.68		
	60149	42.38		
	59943	42.25		
	59359	41.87		
	60248	42.44		
800 µg/mL	1229724	796.07	798.57±1.17	0.36
	1238132	801.49		
	1233733	798.65		
	1230480	796.56		
	1229770	796.10		
	1239831	802.58		

Tekrar Elde Edilebilirlik

40 µg/mL ve 800 µg/mL çözeltiler, aynı stoktan 6 kez ayrı ayrı hazırlanarak çözeltilerin pik alanları HPLC ile $\lambda = 210$ nm'de ölçülmüştür. Aynı stoktan hareketle hazırlanan, 6 adet aynı konsantrasyonda çözeltinin HPLC'de analiz edilmesi sonucu azelaik aside ait pik alanları ölçülerek X_{ort} , SH ve VK hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 3.2'de verilmiştir. VK'nın %2'den küçük olması yöntemin tekrar elde edilebilir olduğunu göstermiştir.

Tablo 3.2. Azelaik asidin, metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki 40 µg/mL ve 800 µg/mL konsantrasyonlar için tekrar elde edilebilirlik sonuçları (n=6)

Örnek	Pik alanı ($\lambda = 210$ nm)	Konsantrasyon (µg/mL)	$X_{ort} \pm SH$	VK (%)
40 µg/mL	59975	42.27	42.17±0.13	0.77
	59065	41.68		
	60350	42.51		
	59943	42.25		
	59359	41.87		
	60248	42.44		
800 µg/mL	1228986	795.59	797.80±1.03	0.32
	1233210	798.32		
	1229886	796.17		
	1230603	796.64		
	1231970	797.52		
	1239831	802.58		

3.1.4.3. Özgünlük

Bölüm 2.2.1.4'de açıklandığı gibi, formülasyona giren yardımcı maddelerin 200 – 400 nm aralığında azelaik asidin absorbans verdiği dalga boyunda herhangi bir pik verip vermediğinin test edilebilmesi için azelaik asit içermeyen boş sıvı kristal formülasyonlar metanol:su (10mM amonyum asetat, pH=5.0) çözücü sisteminde ve pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) sisteminde HPLC ile analiz edilmiş ve 210 nm'de herhangi bir absorbans vermediği saptanmıştır.

3.1.4.4. Teşhis Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırı (LOQ)

Kullanılan miktar tayini yöntemi için, bölüm 2.2.1.4'de açıklandığı şekilde, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 20 ve 5 µg/ mL olarak bulunmuştur.

3.1.4.5. Dayanıklılık

Azelaik asidin düşük (40 µg/mL) ve yüksek (800 µg/mL) konsantrasyonda hazırlanan çözeltileri, etkin maddenin dayanıklı olduğunun gösterilmesi için incelenmiştir. Hazırlanan çözeltilerin, hazırlandıkları anda, 1., 5., 10. ve 24. ve 48. saatlerde HPLC'de yapılan analizi sonucunda elde edilen pik alanları hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar konsantrasyona çevrilmiştir. Böylece konsantrasyondaki değişim bir gün süresince incelenmiş; zamana karşı konsantrasyon farkları istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Bu sonuçlar doğrultusunda, azelaik asidin HPLC'de analiz edildiği süre boyunca metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) çözücü sisteminde dayanıklı olduğunu göstermektedir (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Azelaik asidin metanol:su(10mM amonyum asetat, pH=5.0) mobil faz sistemindeki dayanıklılığı (n=6)

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Hesaplanan Konsantrasyon (µg/mL)	VK (%)
		$X_{ort} \pm SH$	
0	40	43.39± 0.18	1.01
1	40	42.89± 0.21	1.22
5	40	42.93± 0.32	1.83
10	40	41.97± 0.42	2.45
24	40	41.80± 0.32	1.91
48	40	43.39± 0.25	1.44
0	800	809.12± 0,43	0.13
1	800	809.42± 1.13	0.34
5	800	809.87± 0.44	0.13
10	800	808.63± 1.00	0.30
24	800	810.70± 0.80	0.24
48	800	808.67± 0.45	0.14

3.1.5. Çözünürlük Tayini

Bölüm 2.2.1.5’de anlatıldığı gibi 5, 8 ve 12 saat boyunca yapılan çözünürlük çalışmalarından elde edilen bulgular Tablo 3.4’te gösterilmektedir. 5, 8 ve 12. saatler sonunda elde edilen çözünürlük verileri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Azelaik asidin, salım ortamı olarak belirlenen pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) ortamındaki maksimum çözünürlüğü 12. saat sonunda 120.40 ± 0.13 mg/mL olarak saptanmıştır.

Tablo 3.4. Azelaik asidin 4 mM pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) salım ortamındaki çözünürlük testi sonucu (n=3)

Zaman (saat)	Pik alanı	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$) (dil. 1/200)	Çözünürlük (mg/mL) $X_{\text{ort}} \pm \text{SH}$
5	836396	579.36	115.87 \pm 0.44
	849045	588.01	117.60 \pm 0.23
	853705	591.19	118.24 \pm 0.13
8	873374	604.64	120.93 \pm 0.22
	873948	605.03	121.01 \pm 0.32
	872187	603.83	120.77 \pm 0.41
12	867518	600.64	120.13 \pm 0.15
	862793	597.41	119.48 \pm 0.21
	878267	607.99	121.60 \pm 0.20

3.1.6 Erime Derecesi Tayini

Azelaik asidin erime derecesi $106 \pm 0.5^\circ\text{C}$ olarak tayin edilmiştir (n=6). Bu bilgi literatürde verilen $106-109^\circ\text{C}$ aralığına uygundur [81,82].

3.2. FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI

3.2.1. Formülasyonlar Üzerinde Yapılan İncelemeler

Hazırlanan lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonu üzerinde makroskopik ve mikroskopik incelemeler, reolojik inceleme ve DSC çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1. Makroskobik İncelemeler

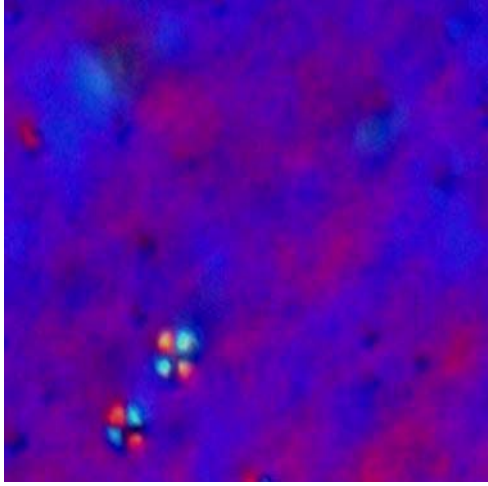
Bölüm 2.2.2.6.'da belirtilen formülasyonlar üzerinde makroskobik incelemeler gerçekleştirilmiştir. Makroskobik incelemeler sonucunda, formülasyonlardan, Y/S emülsiyonunun beyaz renkte, diğer formülasyonların ise kırık beyaz renkte olduğu gözlenmiştir. Azelaik asit içeren preparatların ise renklerinin beyaz olduğu gözlenmiştir.

Formülasyonlar, kıvam açısından incelendiğinde ise, formülasyonların hepsinin yarı katı krem kıvamında olduğu gözlenmiştir. Hazırlanan formülasyonlardan hiç birinde faz ayrımı gerçekleşmemiştir.

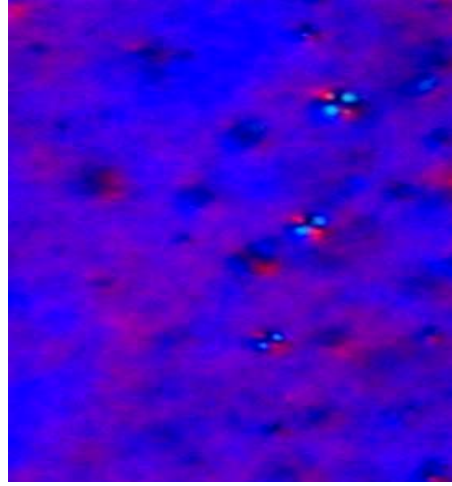
3.2.1.2. Mikroskobik İncelemeler

Sıvı kristal formülasyonların lamellar sıvı kristal özelliği ve Y/S emülsiyonu Leica DM EP polarize ışık mikroskobu ile incelenerek aydınlatılmıştır Şekil 3.4 ve 3.5'te etkin madde içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonunun polarizan mikroskop altındaki görüntüleri verilmektedir. Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal formülasyonda (Şekil 3.4a) lamellar yapının karakteristik özelliği olan yağsı şerit yapısının yanında "Malta haçı" yapısı polarize ışık mikroskobu ile yoğun bir şekilde gözlenmiştir. Malta haçı yapısı, polarizan ışık altında karakteristik renkli çaprazlar halinde görülmektedir. Etkin madde içeren lamellar sıvı kristal sistemde ise (Şekil 3.5.a), etkin maddenin eklenmesiyle, etkin maddenin lamellar sıvı kristal yapı içerisinde çözündüğü ve yapıda herhangi bir değişiklik meydana getirmediği gözlenmiştir. Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminde de lamellar sıvı kristal sisteminde olduğu gibi lamellar sıvı kristallere özgü yağsı şerit yapısı ve bunun yanında "Malta Haçı" yapısı yoğun bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 3.4b). Etkin madde yapı içerisinde çözünmüş halde bulunduğundan, etkin maddenin eklenmesiyle lamellar sıvı kristal yapıda herhangi bir değişiklik meydana getirmemiştir (Şekil 3.5b). Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal yağlı sisteminde ise, lamellar sıvı kristallere ait "Malta Haçı" yapısı

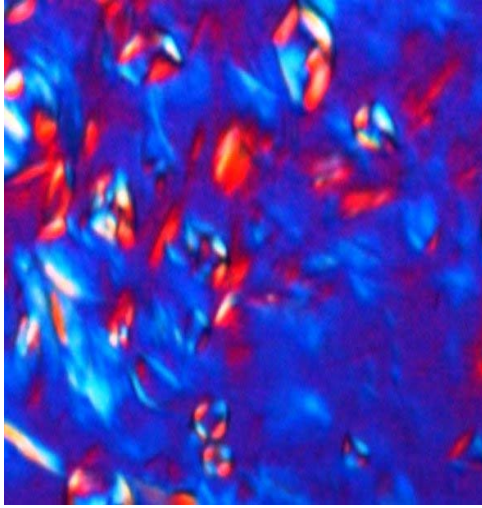
gözlenmemiştir. Bu sistemde gözlenen, çeşitli araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda [131,135,136] da gözlenmiş olan ve bozulmuş Malta Haçı adıyla belirtilen yapıdır (Şekil 3.4c). Bu yapı, Jurado ve arkadaşlarının [137] çalışmasında da gözlenmiş olup lamellar sıvı kristal faz olarak tanımlanmaktadır. Etkin madde eklenmesiyle, lamellar sıvı kristal ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemlerinde de olduğu gibi, lamellar sıvı kristal yağlı sisteminde de yapıda bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 3.5 c) . Y/S emülsiyonunda ise klasik emülsiyon görüntüsü gözlenmiş olup, etkin maddenin eklenmesi sonucunda Y/S emülsiyonunun yapısında da diğer sistemlerde olduğu gibi herhangi bir değişme meydana gelmemiştir (Şekil 3.4d ve 3.5d). Azelaik asidin piyasa preparatı olan ve bir Y/S emülsiyonu olan Azelderm® krem (%20) ile etkin maddenin içerisinde çözülmüş halde bulunduğu iddia edilen jel formülasyonu olan Finacea®'nın (%15) mikroskop görüntüleri Şekil 3.6.'da görülmektedir. Şekilde de görüldüğü gibi piyasa preparatlarında azelaik asit süspansiyon halindedir. Ön formülasyon çalışmaları, %5 ve %10 azelaik asidin bu sistemler içerisinde çözünmediğini gösterdiği için, bu çalışmada %1 konsantrasyonda çözülmüş azelaik asit içeren formülasyonlar tercih edilmiştir.



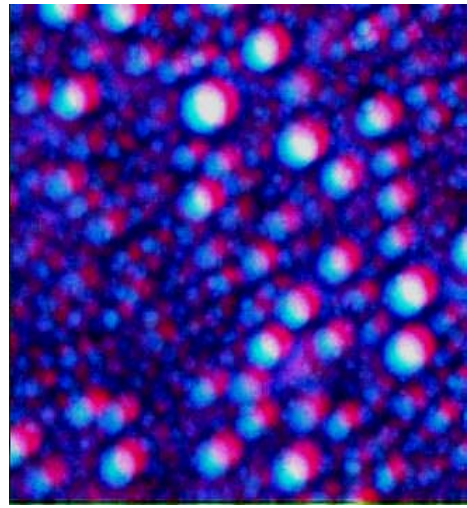
a)



b)

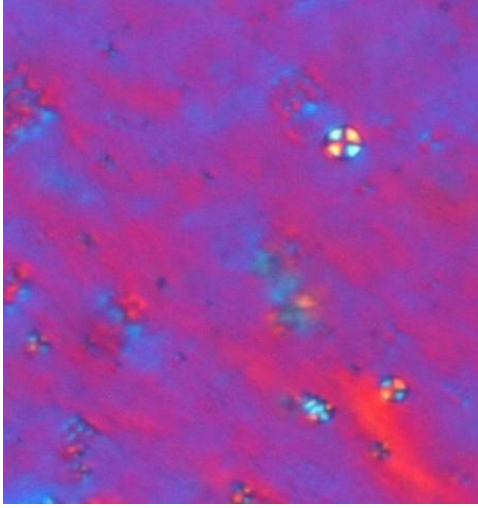
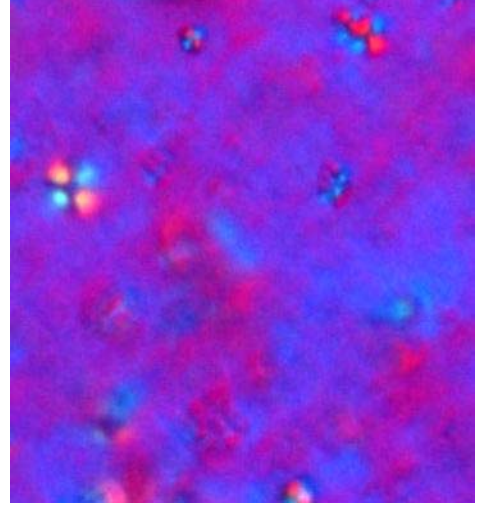
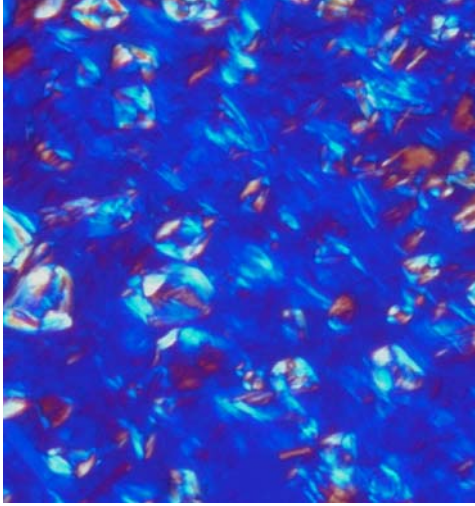
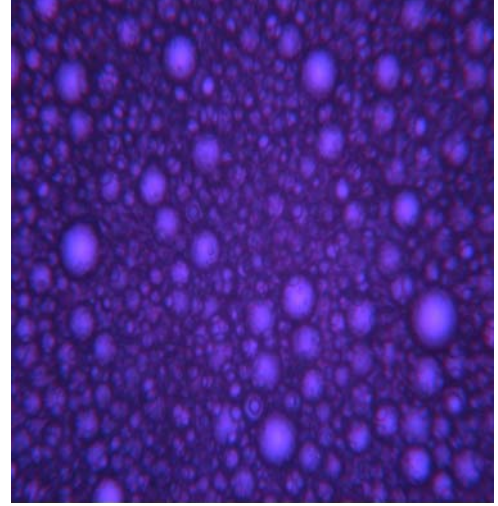


c)

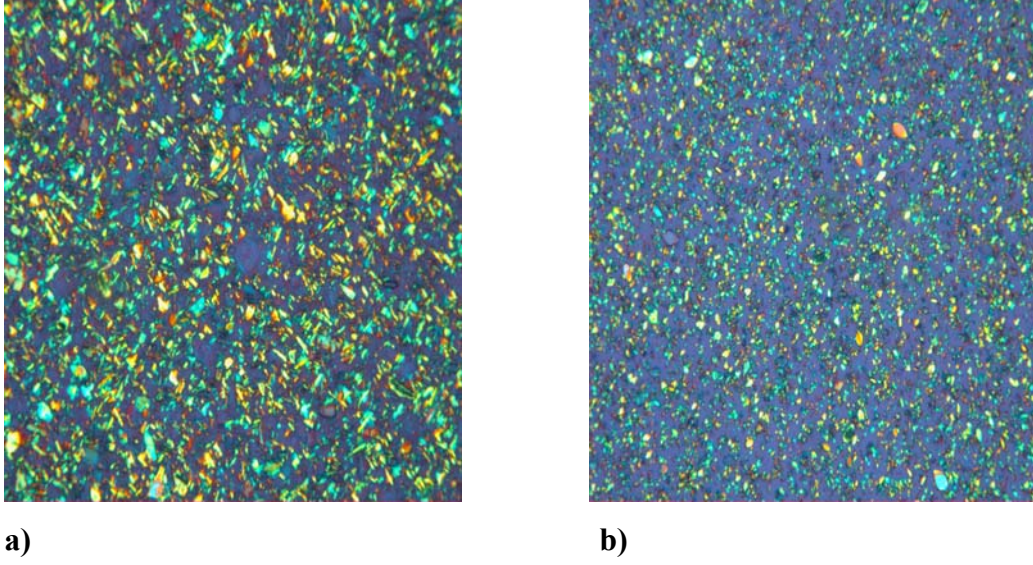


d)

Şekil 3.4. Azelaik asit içermeyen **a)** LSK, **b)** LSK-ES, **c)** LSK-YS ve **d)** Y/S E formülasyonlarının polarize ışık altındaki görüntüsü (10x)

**a)****b)****c)****d)**

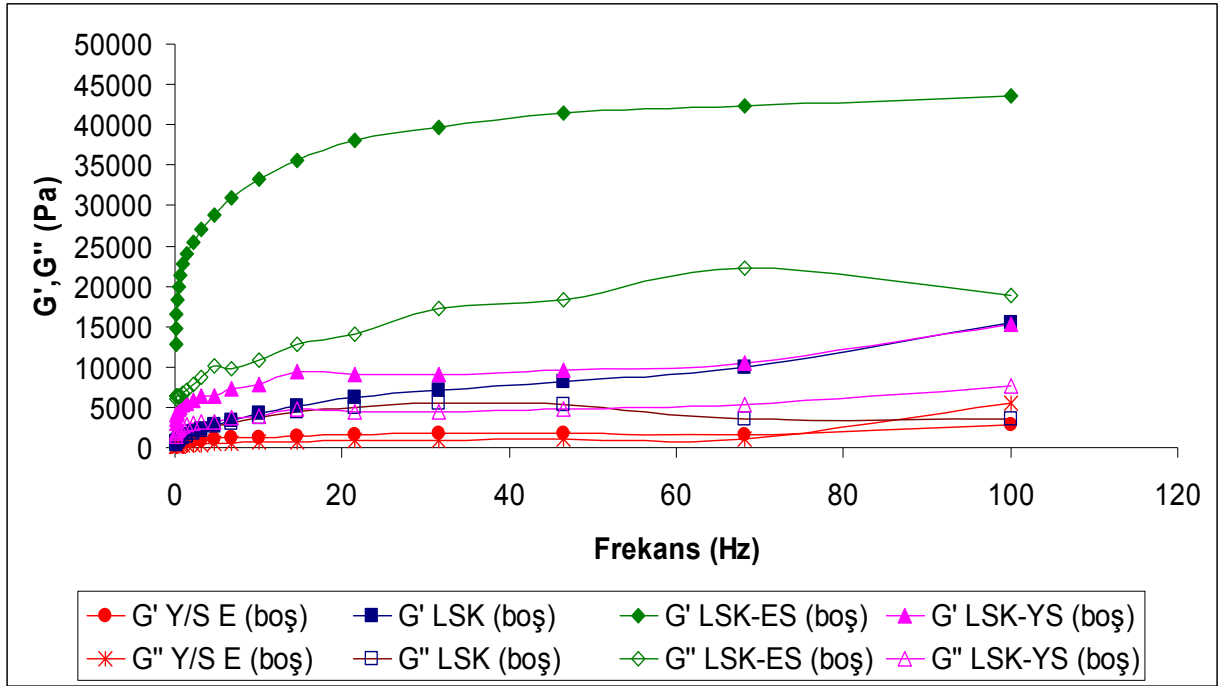
Şekil 3.5. Azelaik asit içeren (%1, a/a) **a)** LSK, **b)** LSK-ES, **c)** LSK-YS ve **d)** Y/S E formülasyonlarının polarize ışık altındaki görüntüsü (10x)



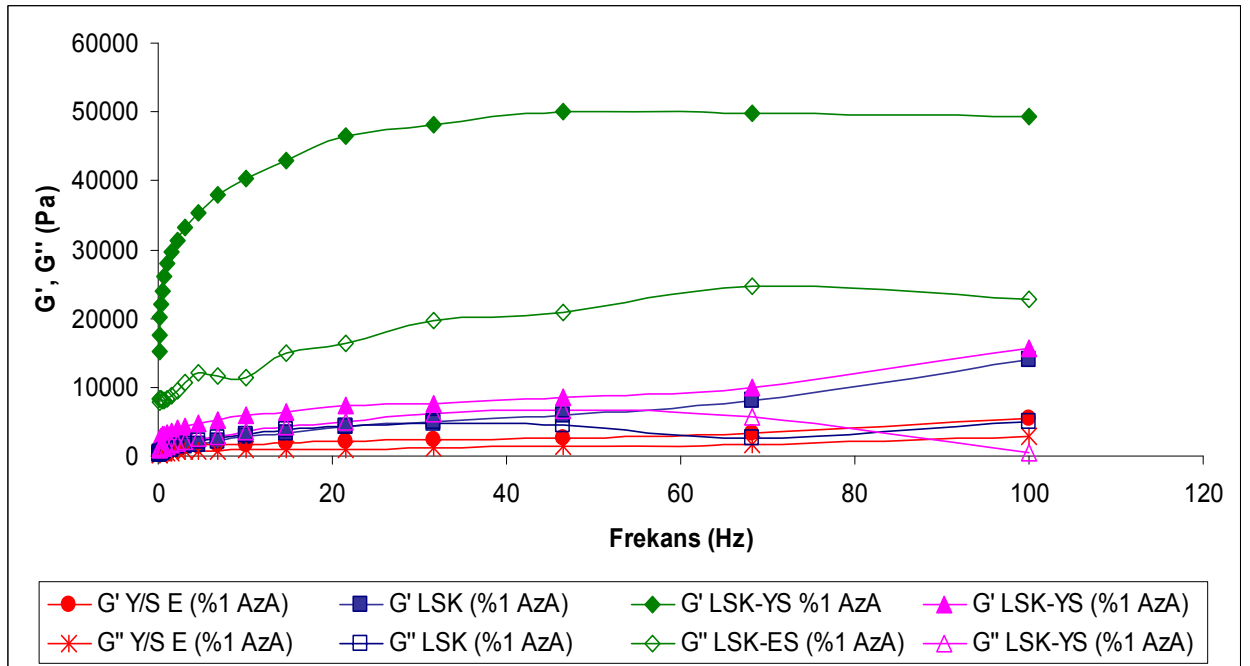
Şekil 3.6. a) %20 azelaik asit içeren Azelderm[®] krem, **b)** %15 azelaik asit içeren Finacea[®] jelin polarize ışık altındaki görüntüsü (10x)

3.2.1.3. Reolojik İnceleme

Etkin madde içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonunun reolojik özellikleri bölüm 2.2.2.6'da belirtildiği şekilde ölçülmüştür. Şekil 3.7'de etkin madde içermeyen, Şekil 3.8'de ise etkin madde içeren lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonunun reolojik osilatör profilleri görülmektedir. Etkin madde içeren ve içermeyen formülasyonlar için bütün frekans aralıklarında G' değeri, G'' değerinden büyüktür ($p < 0.05$). Bu da, hazırlanan sistemlerin viskozdan çok elastik özellik gösterdiğini belirtmektedir [26]. Şekil 3.7 ve 3.8 incelendiğinde, lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi ve lamellar sıvı kristal yağlı sistemi için saklama modulusunun (G'), kayıp modulusuna (G'') göre daha fazla olduğu ve saklama modulusunun (G') uygulanan frekansa bağlı bir değişim gösterdiği, kayıp modulusunda (G'') ise düşük frekanslarda bazı sapmalar olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, lamellar yapıyı işaret etmekte olup lamellar yapının karakterizasyonu açısından önemlidir [26].



Şekil 3.7. Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar yağlı sistemlerinin ve Y/S emülsiyonunun 30°C'deki reolojik osilatör profilleri (0.1-100 Hz)



Şekil 3.8. Etkin madde içeren (%1, a/a) lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar yağlı sistemlerinin ve Y/S emülsiyonunun 30°C'deki reolojik osilatör profilleri (0.1-100 Hz)

Tablo 3.5’de tüm formülasyonlar için 1 Hz’deki osilasyon parametreleri görülmekte olup, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, hem en düşük faz açısına (δ) sahip olduğundan hem de saklama modulusu (G') değeri, kayıp modulusunun (G'') 3.34 katı olduğundan viskoelastik özelliği en fazla olan örnektir. Maksimum kompleks viskozite değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup ($p < 0.05$), etkin madde içermeyen formülasyonlar için maksimum viskozite sırasıyla LSK-ES (22600 Pa.s) > LSK-YS (5470 Pa.s) > LSK (1123 Pa.s) > Y/S E (624 Pa.s) değerlerini almaktadır. Etkin madde içeren formülasyonlar için ise maksimum kompleks viskozite değeri, LSK-ES (27100 Pa.s) > LSK-YS (3683 Pa.s) > Y/S E (1004 Pa.s) > LSK (600 Pa.s) sırasını izlemektedir. Minimum kompleks viskozite değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup ($p < 0.05$), etkin madde içermeyen formülasyonlar için minimum viskozite sırasıyla LSK-ES (75.70 Pa.s) > LSK (25.4 Pa.s) > LSK-YS (24.6 Pa.s) > Y/S E (13.49 Pa.s) değerlerini almaktadır. Etkin madde içeren formülasyonlar için ise minimum kompleks viskozite değeri, LSK-ES (86.33 Pa.s) > LSK-YS (24.83 Pa.s) > Y/S E (23.60 Pa.s) > LSK (12.27 Pa.s) sırasını izlemektedir.

Tablo 3.5 Etkin madde içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonu için osilasyon parametreleri (1 Hz)

Formülasyon	η_{\min} (Pa.s) D 100 s⁻¹	η_{\max} (Pa.s) D 0.1 s⁻¹	δ (°)	G' (Pa)	G'' (Pa)
LSK	25.4±1.14	1123±61.81	40.23±0.26	1514±19.65	1285±15.09
LSK-ES	75.70±0.94	22600±245.13	16.45±0.21	22707±235.84	6696±71.60
LSK-YS	24.6±0.81	5470±78.61	18.64±0.99	5275±56.65	1803±23.21
Y/S E	13.49±0.73	624±13.77	23.88±0.89	705±7.89	311±4.71
LSK (%1 AzA)	23.60±0.20	600±17.67	48.01±0.25	783±17.24	871±25.13
LSK-ES (%1AzA)	86.33±17.24	27100±308.09	16.60±0.02	27883±317.46	8315±97.26
LSK-YS (%1 AzA)	24.83±0.38	3683±39.15	23.64±0.68	3338±44.43	1454±20.67
Y/S E (%1 AzA)	12.27±1.41	1004±61.77	20.55±0.20	1477±11.57	459±6.92

Her bir formülasyon için, frekans değeri olarak 1 Hz'de elde edilen G' ve G'' değerleri ayrı ayrı istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve herbir formülasyon arasında G' ve G'' değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Aynı şekilde, %1 azelaik asit içeren formülasyonlar için de, frekans değeri olarak 1 Hz'de elde edilen G' ve G'' ayrı ayrı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında herbir formülasyon arasında G' ve G'' değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$) (Tablo 3.5.).

Etkin madde içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristallerin maksimum kompleks viskozite, G' ve G'' değerleri karşılaştırıldığında, bu değerlerin lamellar sıvı kristal ve lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinde, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemine göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu da, yağ/yüzey etkin madde

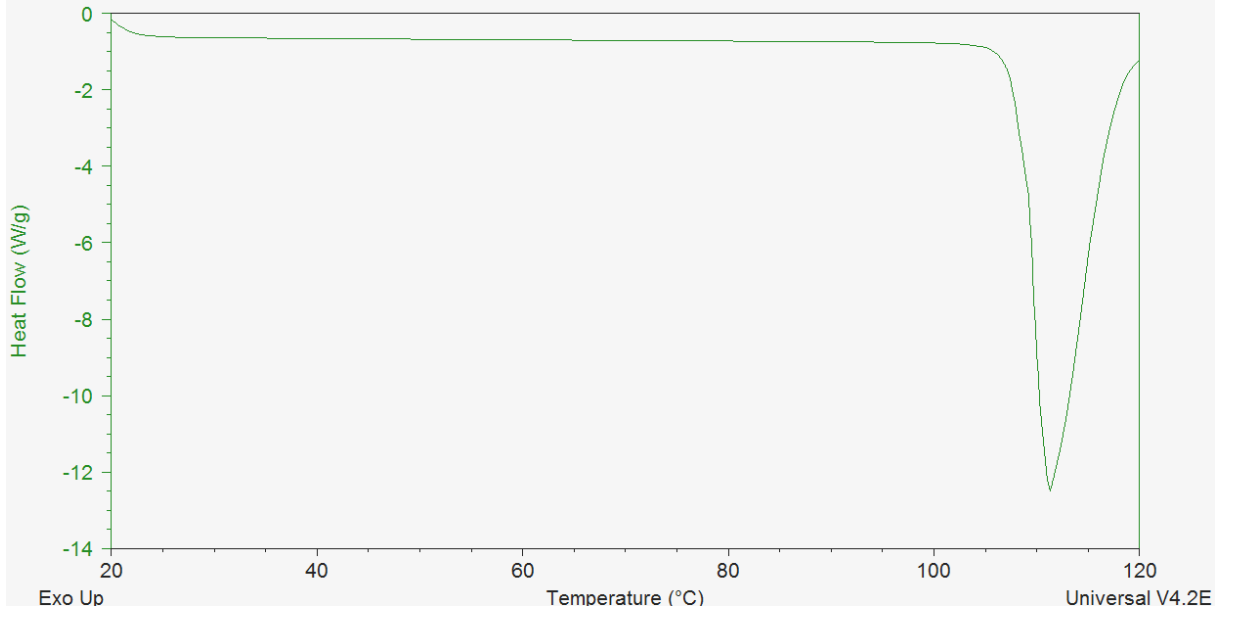
karışımı/su sistemi olan lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminin, sırasıyla yağ/yüzey etkin madde karışımı ve yüzey etkin madde karışımı/su sistemlerinden oluşan lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve lamellar sıvı kristaline göre daha viskoz ve daha düzenli bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminin oluşturduğu lamellar sıvı kristal yapının en sağlam yapı olduğunu göstermektedir [138,139].

3.2.1.4. Emülsiyon Tipi Tayini ve Mikroskopik İncelemeler

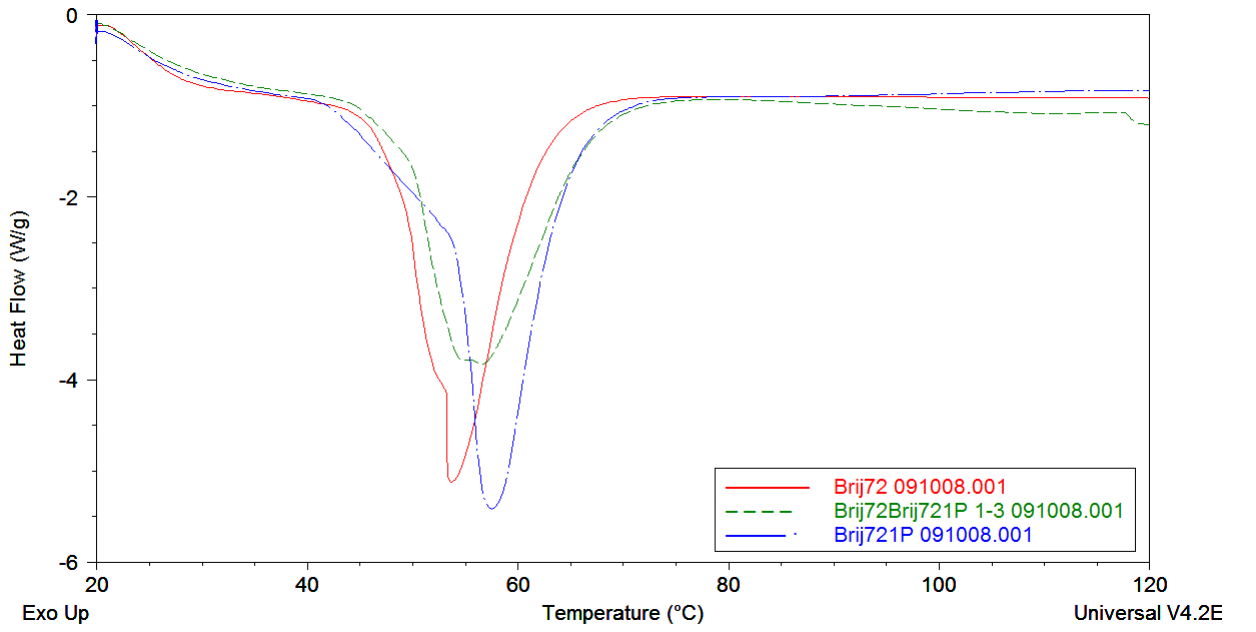
Hazırlanan Y/S emülsiyonu metilen mavisi ile boyanarak mikroskop altında incelenmiştir. Metilen mavisi ile dış fazın mavi olması, hazırlanan emülsiyonun Y/S tipinde olduğunu göstermiştir.

3.2.1.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) Analizi

Azelaik asit, Brij 721P, Brij 72, Brij 721P:Brij 72 (3:1) karışımı, %1 azelaik asit içeren ve içermeyen lamellar sıvı kristal sistem (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (LSK-ES), lamellar sıvı kristal yağlı sistemi (LSK-YS) ve Y/S emülsiyonu (Y/S E) bölüm 2.2.2.6'da belirtildiği şekilde analiz edilmiş ve Şekil 3.9, 3.10, 3.11 ve 3.12'deki DSC termogramları elde edilmiştir.



Şekil 3.9 Azelaik asidin DSC termogramı.



Şekil 3.10. Brij 721P, Brij 72 ve Brij 721P:Brij 72 (3:1) karışımının DSC termogramı.

Tablo 3.6. DSC termogramlarında elde edilen faz geçiş sıcaklıkları (°C) ve erime entalpisi değerleri (ΔH_m , J/g)

Formülasyon	Faz geçiş Sıcaklığı (°C)	ΔH_m (J/g)
Brij 72	57.06	89.82
Brij 721P	50.94	107.60
Brij 721P:Brij 72 (3:1)	54.29	97.76
LSK	58.78	9.53
LSK-ES	62.42	8.65
LSK-YS	40.13	5.29
	55.01	10.98
Y/S E	63.66	1.42
LSK (%1 Azelaik asit)	57.60	13.23
LSK-ES (%1 Azelaik asit)	59.22	5.34
LSK-YS (%1 Azelaik asit)	41.28	2.24
	53.14	6.42
Y/S E (%1 Azelaik asit)	57.95	3.11
Azelaik asit	111.29	195.4

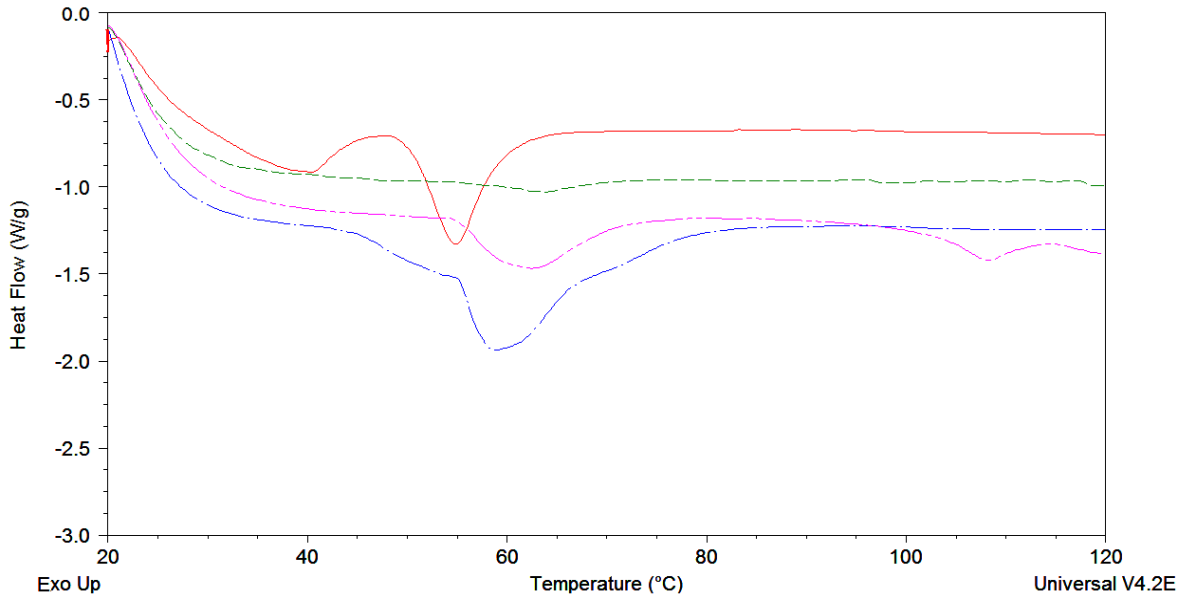
Azelaik asidin DSC analizi ile faz geçiş sıcaklığı 111.29 °C (ΔH_m : 195.4 J/g) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.9, Tablo 3.6). Bu değer, literatürde verilen değer olan 105 °C'dan farklılık göstermektedir [133]. Analizi yapılan maddenin saflık derecesi ve kullanılan cihazın farklı olması, elde edilen DSC termogramlarında farklılıklara yol açabilmektedir. Etkin maddenin teşhisi ve saflığı, UV ve FT-IR spektroskopisi, erime derecesi tayini HPLC analizi ile teyid edilmiş olduğu ve DSC cihazının kalibrasyonu indiyum standardı ile gerçekleştirilmiş olduğu için, faz geçiş sıcaklığındaki farkın kullanılan cihazın farklı oluşundan ileri gelmiş olabileceği düşünülmektedir.

Saf haldeki Brij 72 ve Brij 721P'ye ait faz geçiş sıcaklıkları sırasıyla 57.06 °C (ΔH_m : 89.82 J/g) ve 50.94 °C (ΔH_m : 107.60 J/g) olarak bulunmuştur (Şekil 3.10, Tablo 3.6). Brij 721 P, polietilen (21) stearil eter ve Brij 72 ise polioksietilen (2) stearil eter yapısında olup, faz geçiş sıcaklıkları arasındaki fark yapılarındaki polioksietilen ve polietilen gruplarının farklılığından kaynaklanmaktadır. Literatürde, bu iki yüzey etkin maddeden sadece Brij 72'ye ait DSC bilgisi bulunmaktadır ve bu madde için verilen faz geçiş sıcaklığı değeri 44 °C'dır [140]. Bu farkın, yine

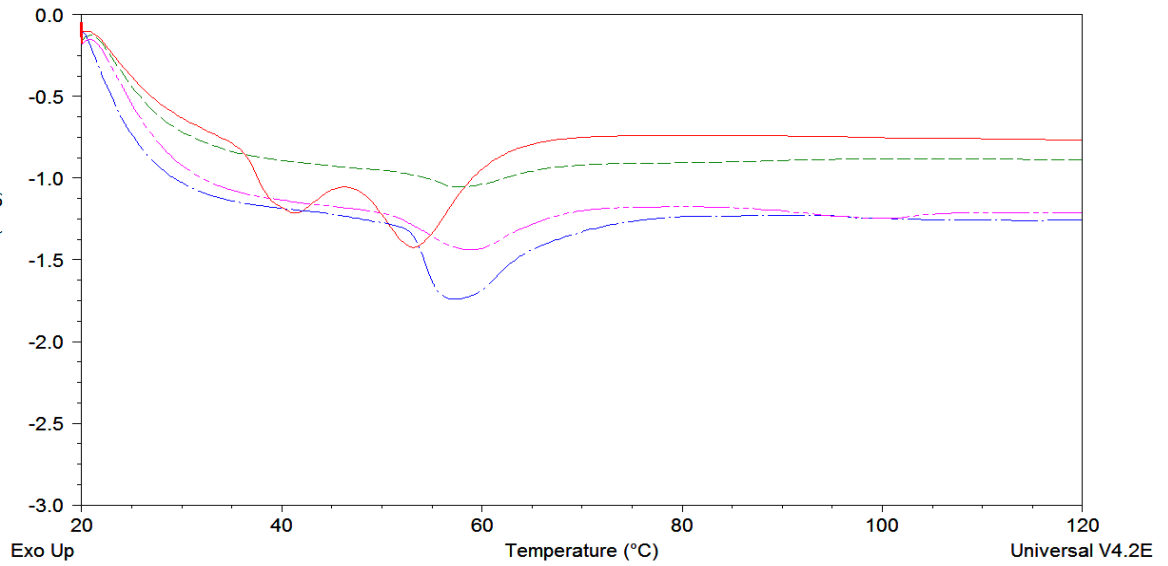
kullanılan maddenin saflığından ve/veya cihaz farkından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yüzey etkin maddelerin DSC analizlerinde elde edilen bir diğer bulgu, Brij 72 ve Brij 721P'nin 3:1 oranındaki karışımının termogramıdır (Şekil 3.10, Tablo 3.6). Bu termogramda, yüzey etkin madde karışımının faz geçiş sıcaklığı 54.29 °C (ΔH_m : 97.76 J/g) olarak bulunmuş olup, bu değer, her iki maddenin saf haldeyken sahip oldukları faz geçiş sıcaklıklarının (Brij 72: 57.06 °C, Brij 721P: 50.94 °C) arasında bir değerdir. Bu sonuç, bu iki yüzey etkin maddenin birbirleriyle olan etkileşimini ortaya koymaktadır.

Azelaik asit içermeyen formülasyonların termogramları incelendiğinde; lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, Y/S emülsiyonunun faz geçiş piklerinin şiddetinin yüzey etkin madde karışımının miktarıyla orantılı olarak arttığı görülmektedir. Ayrıca, hazırlanan formülasyonlarda, yüzey etkin maddelerle birlikte su ve/veya yağın varlığının yüzey etkin madde karışımına ait faz geçiş sıcaklığı değerinin (54.29 °C) daha yüksek bir değere kaymasına yol açtığı gözlenmiştir (Şekil 3.11, Tablo 3.6). Faz geçiş sıcaklığındaki bu artış, LSK-YS (55.01 °C) sistemi için çok belirgin olmamasına karşın, LSK (58.78 °C), LSK-ES (62.42 °C) ve Y/S E (63.66 °C) sistemleri için daha belirgindir. Bu formülasyonların faz geçiş entalpileri karşılaştırıldığında ise, lamellar sıvı kristal sistem ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminin faz geçiş entalpilerinin, Y/S emülsiyonunun faz geçiş entalpisinden sırasıyla 6.71 ve 6.07 kat fazla olduğu görülmektedir. Bu da, lamellar sıvı kristal yapıda faz geçişi için gereken enerjinin Y/S emülsiyonuna göre daha fazla olduğunu, dolayısıyla lamellar sıvı kristal yapının daha düzenli bir yapı olduğunu göstermektedir. Bunun yanında, lamellar sıvı kristal sistem ve lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin gösterdikleri faz geçiş sıcaklığının farklı oluşu, yüzey etkin madde karışımının, farklı çözücü ortamlarında oluşturduğu farklı paketlenme davranışından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, faz geçişlerinin formülasyonlarda daha yüksek bir sıcaklığa kaymasının, formülasyon bileşenlerinin sistem içinde birbirlerine göre farklı şekilde konumlanmaları ve düzenlenmeleri sonucunda, yüzey etkin madde karışımına kıyasla daha dayanıklı yapılar oluşturmaları şeklinde açıklanabilir.

Formülasyonlara %1 (a/a) oranında azelaik asit eklenmesiyle elde edilen termogramlar Şekil 3.12’de verilmiştir. Bu termogramlardan görüleceği gibi, etkin maddeye ait ve 111.29 °C’da görülen endotermi hiçbir formülasyonun termogramında yer almamaktadır. Ayrıca, etkin madde içermeyen formülasyonlarla karşılaştırıldığında, azelaik asit içeren formülasyonların faz geçiş sıcaklıklarının daha düşük değerlere kaydığı gözlenmiştir (Tablo 3.6). Azelaik asidin eklenmesi Y/S emülsiyonu ve lamellar sıvı kristal sisteminin erime entalpisini artırırken, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi ve lamellar sıvı kristal yağlı sisteminin entalpisini azalttığı görülmektedir. Etkin madde içeren ve içermeyen formülasyonların erime entalpileri incelendiğinde ise, saf haldeki maddelerin erime piklerine göre entalpi değerlerinin çok düşük bir değere kaydığı gözlenmiştir.



Şekil 3.11. Azelaik asit içermeyen lamellar sıvı kristal sistem (LSK, —·—), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (LSK-ES, — — —), lamellar sıvı kristal yağlı sistemi (LSK-YS, —) ve Y/S emülsiyonuna ait (Y/S E, — — —) DSC termogramları



Şekil 3.12. Azelaik asit içeren (%1, a/a) lamellar sıvı kristal (LSK, ———), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (LSK-ES, — — —), lamellar sıvı kristal yağlı sistemi (LSK-YS, ———) ve Y/S emülsiyonuna ait (Y/S E, - - - -) DSC termogramları

Bütün bu veriler ışığında; azelaik asidin formülasyon bileşenleriyle etkileştiği ve formülasyonların içinde tamamen çözüldüğü belirlenmiştir. Etkin maddenin formülasyonlarda tamamen çözülmüş olduğu ayrıca polarizan mikroskopisi ile teyid edilmiştir (Şekil 3.5)

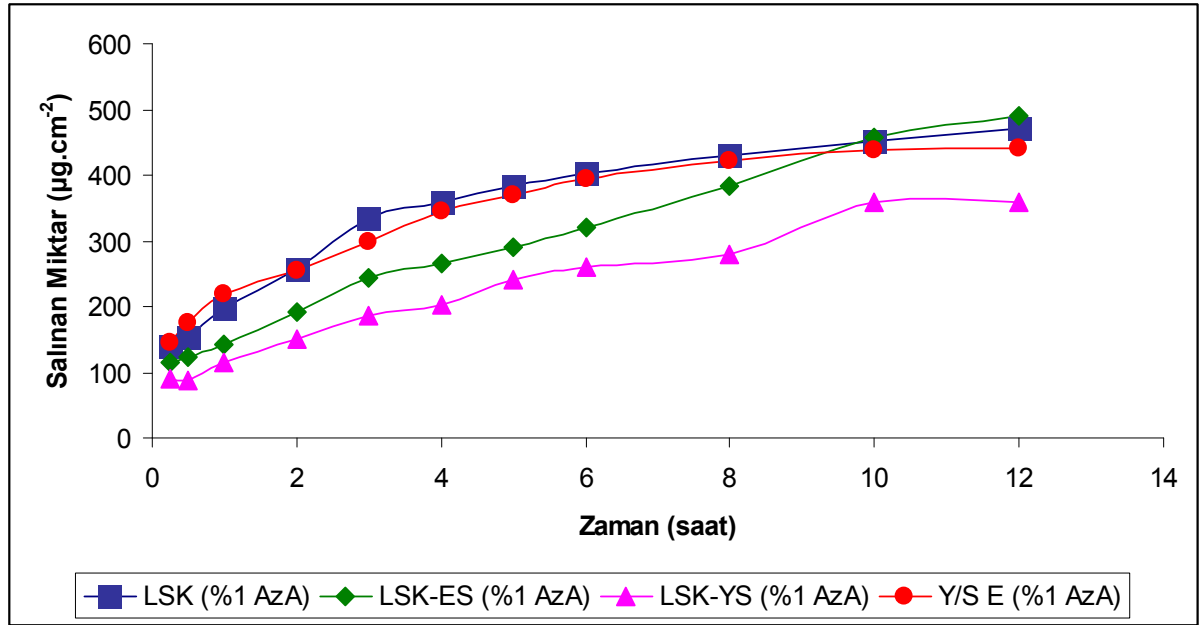
3.3. İn Vitro Salım Çalışmaları

Bölüm 2.2.3.1.'de belirtilen tüm formülasyonlar kullanılarak, bölüm 2.2.3.4'te açıklandığı şekilde in vitro salım deneyleri gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Lamellar Sıvı Kristal, Lamellar Sıvı Kristal Emülsiyon Sistemi, Lamellar Sıvı Kristal Yağlı Sistemi ve Y/S Emülsiyonununun Salım

Etkin maddenin, lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, ve lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonundan bölüm 2.2.3.4'te

belirtildiği şekilde gerçekleştirilen in vitro salım deneylerinde elde edilen sonuçlar Şekil 3.13'te görülmektedir.



Şekil 3.13. Azelaik asit içeren (%1 (a/a)) lamellar sıvı kristal (■), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (◆), lamellar sıvı kristal yağlı sistemden (▲) ve Y/S emülsiyonu (●) azelaik asidin salım profili (n=7)

Lamellar sıvı kristal sistemlerin suda çözünürlüğü az olan ilaçların çözünürlüğünü artırdığı literatürde belirtilmiştir [141]. Bu çalışmada da, suda çözünürlüğü az olan azelaik asit (%1, a/a) lamellar sıvı kristal formülasyonlarda çözülmüş halde bulunmaktadır. %1 azelaik asit içeren formülasyonların salım profili incelendiğinde (Şekil 3.13), salım miktarı ve salım hızları açısından formülasyonlar arası farklılığın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi ve Y/S emülsiyonundan etkin maddenin salım hızı ve miktarı lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden daha fazladır ($p < 0.05$). Formülasyonlardan elde edilen salım hızları incelendiğinde, salım hızlarının sırasıyla LSK ($136.34 \mu\text{g.cm}^{-2} \text{s}^{-1/2}$) > Y/S E ($122.61 \mu\text{g.cm}^{-2} \text{s}^{-1/2}$) > LSK-ES ($115.61 \mu\text{g.cm}^{-2} \text{s}^{-1/2}$) > LSK-YS ($103.39 \mu\text{g.cm}^{-2} \text{s}^{-1/2}$) şeklinde olduğu gözlenmektedir (Tablo 3.7). 12 saat sonunda formülasyonlardan salınan miktarlar

incelendiğinde ise , en yüksekten en düşüğe LSK-ES (489.62 $\mu\text{g.cm}^{-2}$) > LSK (472.21 $\mu\text{g.cm}^{-2}$) > Y/S E (440.78 $\mu\text{g.cm}^{-2}$) > LSK-YS (358.78 $\mu\text{g.cm}^{-2}$) sıralaması elde edilmektedir (Tablo 3.7). Formülasyonlardan etkin maddenin salım hızı, formülasyonların içerdiği su miktarları açısından karşılaştırıldığında, etkin maddenin en hızlı salındığı formülasyonun en fazla su içeren lamellar sıvı kristal formülasyon olduğu, en yavaş salındığı formülasyonun ise su içermeyen lamellar sıvı kristal yağlı sistemi olduğu görülmüştür (Tablo 3.7). Lamellar sıvı kristal sisteminde, yüksek miktarda su bulunmaktadır. Ayrıca salım ortamı ve kullanılan selofan zar da hidrofilik olduğundan azelaik asidin öncelikle lamellar sıvı kristal sistemdeki ve daha sonra ortamdaki su ile etkileşmesinin salım hızını artırmış olabileceği düşünülebilir. Azelaik asidin, lamellar sıvı kristal emülsiyon ve Y/S emülsiyonu sistemlerinden salımları incelendiğinde lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminden salımın Y/S emülsiyonuna göre daha yavaş olduğu görülmektedir (Tablo 3.7) Her iki sistem de, yağ/yüzey etkin madde:yardımcı yüzey etkin madde/su sistemi olsa da, lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminde oluşan lamellar sıvı kristal yapı, yağ/su emülsiyonuna göre daha sağlam bir yapı olduğundan azelaik asidin salımını yavaşlatabileceği düşünülmüştür. Lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden azelaik asit salımı incelendiğinde ise, hidrofilik özellikteki selofan zar ve salım ortamının, su içermeyen lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden salım için bir engel görevi görüp en yavaş salıma neden olduğu düşünülmektedir.

Azelaik asidin lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, Y/S emülsiyonu ve lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden salımı sıfırıncı derece ve Higuchi kinetiğine göre incelenmiş ve bu kinetiklere göre hesaplanan salım hızları ve tanımlayıcılık katsayıları (R^2) Tablo 3.7'de verilmiştir.

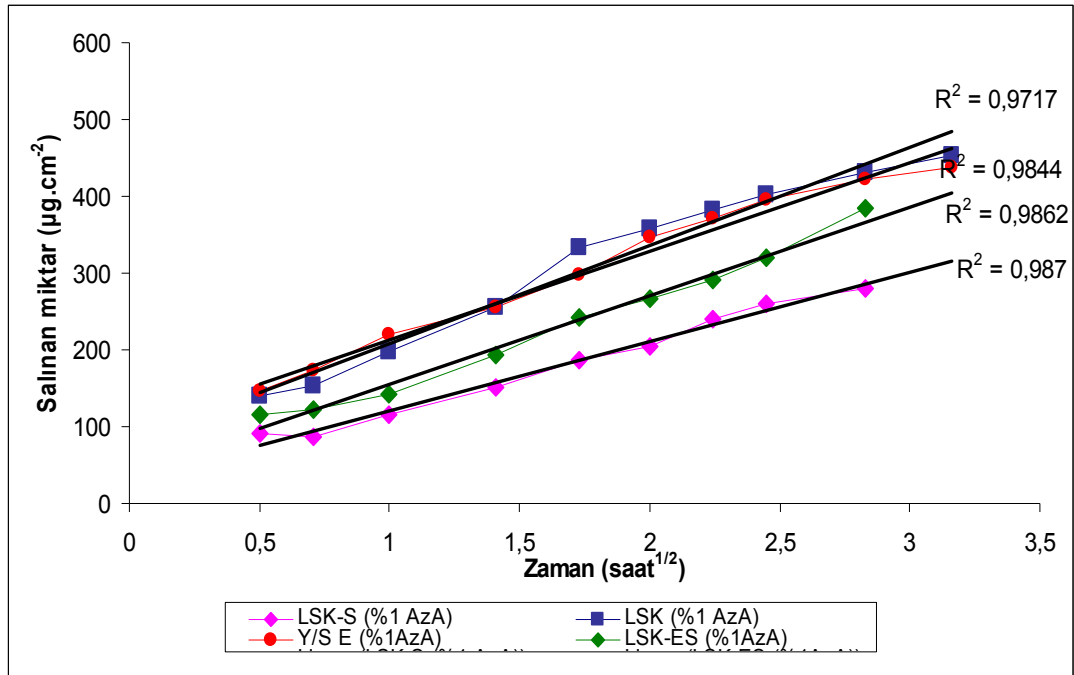
Tablo 3.7. Azelaik asit içeren (%1,a/a) lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistem ve Y/S emülsiyonundan 12 saat sonunda salınan azelaik asit miktarları ve salım hızları

Formülasyon		Salım miktarı ($\mu\text{g.cm}^{-2}$) (t=12 saat)	Salım Hızı ($\mu\text{g.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ($\mu\text{g.cm}^{-2} \text{s}^{-1/2}$) [□]	R ²
LSK	Sıfıncı Derece Kinetiği	472.21±1.18	33.01±0.06	0.87
	Higuchi Kinetiği	472.21±1.18	136.34±0.36	0.97
Y/S E	Sıfıncı Derece Kinetiği	440.78±1.32	30.10±0.15	0.90
	Higuchi Kinetiği	440.78±1.32	122.61±0.58	0.98
LSK-ES	Sıfıncı Derece Kinetiği	489.62±1.55	34.74±0.15	0.99
	Higuchi Kinetiği	489.62±1.55	115.61±0.51	0.99
LSK-YS	Sıfıncı Derece Kinetiği	358.78±0.77	26.74±0.05	0.96
	Higuchi Kinetiği	358.78±0.77	103.39±0.18	0.99

*($X_{\text{ort}} \pm \text{SH}$, n=6)

□ Higuchi kinetiğine göre hesaplanan salım hızı birimi

Her iki kinetiğe göre elde edilen tanımlayıcılık katsayıları göz önüne alındığında, azelaik asidin bütün formülasyonlardan salımının Higuchi kinetiğine ($Q=k.t^{1/2}$) daha iyi uyum sağladığı görülmüştür (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Azelaik asidin lamellar sıvı kristal (■), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (◆), lamellar sıvı kristal yağlı sistemden (▲) ve Y/S emülsiyonundan (●) Higuchi kinetiğine göre salım profili (n=7)

Birim yüzeyden salınan etkin madde miktarı ile zamanın karekökü arasında doğrusal bir ilişki mevcuttur. Hazırlanan formülasyonlardan ilaç salımının, zamanın karekökü ile doğrusal bir ilişki göstermesi, ilaç salımının difüzyon kontrollü olarak gerçekleştiğine işaret etmektedir [31]. Gabboun ve arkadaşları [29], lamellar, hekzagonal ve kübik sıvı kristal fazlardan salisilik asit, diklofenak asit ve diklofenak asit tuzlarının salımlarını oktanolle doyurulmuş lipofilik bir bariyer ve tüsüz fare derisi kullanarak incelemiştir. Bu çalışmalar sonucunda, bütün sistemlerden salımın sıfıncı derece kinetiğine uyduğu, anizotropik olan lamellar ve hekzagonal fazdan salisilik asit ve diklofenak sodyum salımın izotropik olan kübik faza göre daha yavaş olduğu ve ilaç salımında etkili olan hız belirleyici basamağın ilacın sıvağdan difüzyonu olduğu belirtilmiştir.

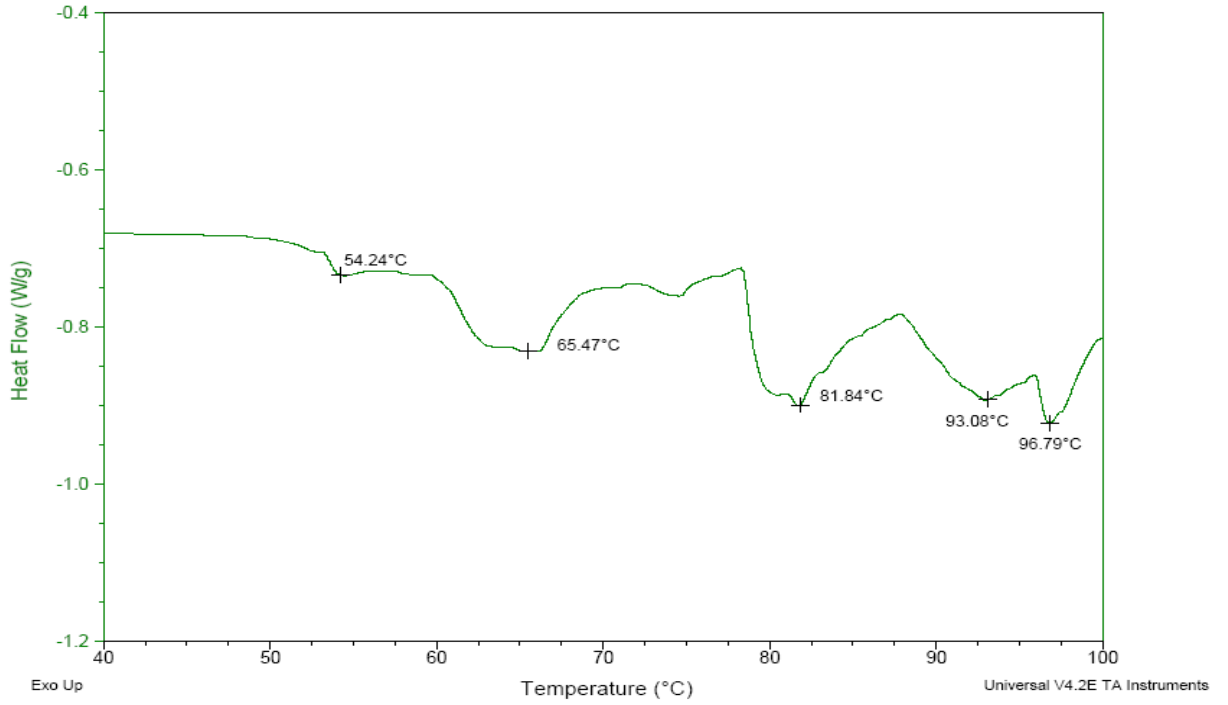
Csoka ve arkadaşları [130] karbopol jeli standart olarak kullanarak, lamellar sıvı kristal, hidrojel ve y/s kreminden hidrofilik (ketamin hidroklorür) ve lipofilik (piroksikam) ilaçların salımını incelemişler ve en az salımın lamellar sıvı kristal ve

y/s kreminden elde edildiğini göstermişlerdir. Makai ve arkadaşları [26] lamellar sıvı kristallerin sıvı parafin/Brij 96/gliserol/su içeren sistemlerden suda çözünmeyen tenoksikam ve suda çözünen efedrin hidroklorürün salımını incelemişler ve efedrin hidroklorürün salımının 1. derece kinetiğine, tenoksikam salımının ise sıfırıncı derece kinetiğine uygun gerçekleştiğini ve lamellar sıvı kristal sistemlerin bu iki ilaç için uzatılmış salım sağladığını belirtmişlerdir. Suda çözünmeyen tenoksikamın, lamellar sıvı kristal içerisindeki çözünmesini de, ilacın hem lamellar boşluk hem de amfifilik yüzey etkin maddelerin polar baş kısımlarıyla etkileşerek gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir. Değişik oranda Synperonic A7/su kullanılarak hazırlanan lamellar ve hegzagonal sıvı kristal sistemlerden klorheksidin diasetat salımının incelendiği başka bir çalışmada [142], hegzagonal sıvı kristallerden ilaç salımının sıfırıncı derece kinetiğe uyduğu ve lamellar sıvı kristallerden salımın ise Fick yasasına uymadığı görülmektedir. Ayrıca, lamellar sıvı kristallerden salımın hegzagonal faza göre daha az olduğu, bunun da hegzagonal sıvı kristallerin lamellar sıvı kristallere göre daha düzenli bir yapıya sahip olmaları ve lamellar sıvı kristallerin yapılarına su alarak ilacın daha fazla salınmasına neden oldukları belirtilmiştir. Bütün bu çalışmaların ışığında, lamellar sıvı kristal sistemlerden ilaç salımının kinetiğinin ilacın yapısına bağlı olduğu, lamellar sıvı kristallerin suda çözünmeyen ilaçları çözündürleştirmede ve uzatılmış salım sağlanmasında etkili olduğu söylenebilir. Bu tez çalışmasında hazırlanan formülasyonlarda da azelaik asit lamellar sıvı kristal sistemler içerisinde çözüldürülmüş, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ile azelaik asidin yavaşlatılmış salımı sağlanmış ve lamellar sıvı kristal formülasyonda ise saha hızlı salım elde edilmiştir. Bu da, lamellar sıvı kristallerin oluştukları bileşenlere ve bunların oranlarına göre salım hızı ve miktarının değişebildiğini göstermektedir.

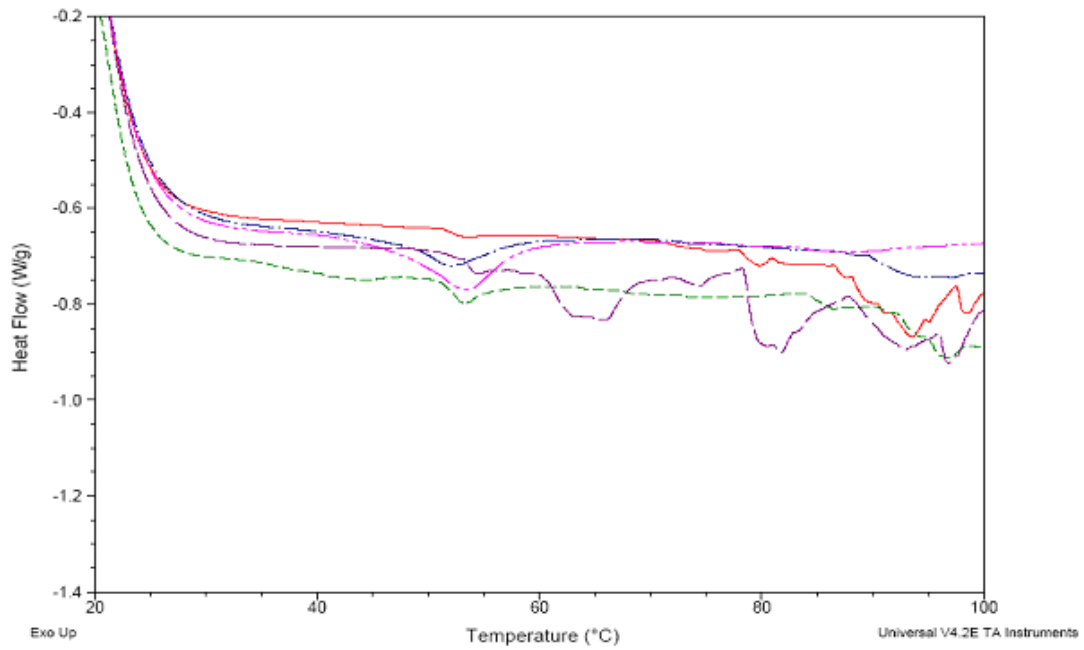
Salım çalışmalarının sonuçları, yapılan reolojik çalışma ile karşılaştırıldığında, en düşük kompleks viskoziteye, G' ve G'' değerlerine sahip lamellar sıvı kristal formülasyondan salımın en fazla olduğu görülmektedir. En yüksek kompleks viskoziteye, G' ve G'' değerlerine sahip lamellar sıvı kristal emülsiyon formülasyonundan salım ise lamellar sıvı kristal ve Y/S emülsiyonundan daha azdır. Bu da, hazırlanan sistemlerin viskozite ile etkin maddenin salımı arasındaki ters orantıya uyduğunu göstermektedir [31].

3.3.2. Formülasyonların Stratum Korneum Bileşenleri ile Etkileşiminin DSC ile İncelenmesi

Bölüm 2.2.3.6’da anlatıldığı şekilde etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal sistem, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonunun deri ile etkileşiminin incelenmesi için DSC çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar şekil 3.15 ve 3.16 ve Tablo 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3.15 Stratum Korneumun DSC termogramı



Şekil 3.16 Stratum korneumun (SC, — — —) ve etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal (LSK, — — — ·), lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi (LSK-ES, — — — — —), lamellar sıvı kristal yağlı sistemi (LSK-YS, — — — — —) ve Y/S emülsiyonunun (Y/S E, — — — — —) stratum korneuma uygulanması sonucu elde edilen DSC termogramları

Tablo 3.8. Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon (LSK-ES), lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin (LSK-YS) ve Y/S emülsiyonu (Y/S E) stratum korneuma uygulanması sonucunda elde edilen faz geçiş sıcaklıkları (°C) ve entalpileri (ΔH_m , J/g)

Formülasyon	Faz Geçiş Sıcaklığı (°C)					Erime Entalpisi (J/g)				
	T1	T2	T3	T4	T5	ΔH_{m1}	ΔH_{m2}	ΔH_{m3}	ΔH_{m4}	ΔH_{m5}
SC	54.24	65.47	81.84	93.08	96.79	0.12	3.04	4.19	1.59	0.98
LSK	52.01	-	-	93.76	-	1.14	-	-	0.84	-
LSK-ES	53.38	-	88.17	-	-	4.48	-	0.39	-	-
LSK-YS	52.97	-	79.82	93.66	98.60	0.09	-	0.23	3.40	0.78
Y/S E	53.23	-	86.41	-	96.58	0.72	-	0.22	-	1.41

Hazırlanan formülasyonların stratum korneum bileşenleriyle etkileşiminin incelenmesi için öncelikle stratum korneumun DSC analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz sonucunda, stratum korneuma ait beş temel endoterm elde edilmiştir (Şekil 3.15, Tablo 3.8). Bu endotermlerdeki faz geçiş sıcaklıkları; 54.24 °C (T1), 65.47 °C (T2), 81.84 °C (T3), 93.08 °C (T4) ve 96.79 °C (T5) olarak belirlenmiştir. Literatürde, stratum korneumun DSC analizine ilişkin ilk ve temel olarak kabul edilen çalışma Van Duzee tarafından yapılmıştır. Van Duzee'nin çalışmasında [78], stratum korneumun DSC ile analizi sonucunda dört temel endoterm elde edilmiştir. Bunlar; 40 °C (T1), 75 °C (T2), 85 °C (T3) ve 107 °C (T4)'da faz geçişi göstermişlerdir. Bu ilk çalışmadan sonra, başka araştırmacılar tarafından stratum korneumun DSC analizine ilişkin çeşitli çalışmalar yürütülmüş olup, bu çalışmalarda bulunan temel endotermlerin gerek genişlikleri gerekse faz geçiş sıcaklıkları farklılık göstermektedir [75,78, 143, 144]. Dreher ve arkadaşları [79], T1, T2, T3, T4 olarak sırasıyla 38 °C, 71 °C, 84 °C ve 96 °C değerlerini belirlemişlerken, Vaddi ve arkadaşları [145], üç endoterm tespit etmişlerdir: 62 °C, 79 °C ve 95 °C. Son yıllarda yapılan çalışmalarda; Pappinen ve arkadaşları [143], 33.4 °C, 49.5 °C, 73.5 °C ve 86.1 °C değerlerini bulmuşlar; öte yandan, Shakeel ve arkadaşları [75], 34 °C, 82 °C, 105 °C ve 114 °C değerlerini belirlemişlerdir. Buna ilave olarak; Silva ve arkadaşları [144], yüksek tarama hızıyla DSC analizi sonrasında, SC bileşenlerine ait en az sekiz endotermin tespit edilmesinin mümkün olduğunu bulmuşlardır.

Bütün bu çalışmalardan görüleceği gibi, biyolojik bir materyal olan stratum korneumun DSC ile analizi sonrasında elde edilen termogramlar farklılık göstermektedir. Bu farklılık; özellikle SC bileşenlerinin heterojen özelliğine bağlı olup, başka faktörlerden de etkilenmektedir. Özellikle, stratum korneum örneklerinin hazırlanmasında kullanılan yöntem, stratum korneumun hidrasyon derecesi ve DSC ile analizde kullanılan farklı ısıtma hızları, elde edilen termogramların tekrar elde edilebilirliği üzerinde belirleyici rol oynamaktadır [75,144]. Bizim çalışmamızda, stratum korneuma ait DSC bulgularında belirlenen temel endotermlerin literatürdeki bulgularla karşılaştırılabilir olduğu görülmektedir.

DSC termogramlarında hangi endotermin hangi bileşene ait olduğu belirlenirken literatürde yine farklılık göze çarpmaktadır. Ancak, bir genelleme yapılacak olursa, 30 – 40 °C’de görülen endotermin sebace lipidlerine, 50 – 85 °C’de görülen iki endotermin hücrelerarası lipidlere ve 90 °C’nin üzerindeki sıcaklıklarda görülen endotermlerin protein denatürasyonuna (α -keratin) ait olduğu söylenebilir. Bu bağlamda; bizim çalışmamızda elde edilen bulgular incelendiğinde, sebace lipidlere ait endoterm gözlenmemiş olup, 54.24 °C ve 65.47 °C’de elde edilen endotermlerin stratum korneum lipidlerine ait olduğu, 81.84 °C, 93.08 °C ve 96.79 °C’lerde elde edilen endotermlerin ise, stratum korneum proteinlerine ait olduğu sonucuna varılmıştır. Literatürdeki çalışmalarda, 30 – 40 °C arasında gözlenen sebace lipidlere ait endotermin zayıf bir pik olduğu ve her zaman gözlenemeyebileceği, ayrıca, sebace lipidlerin deriden geçişte önemli bir rol oynamadıkları belirtilmiştir [143].

Hazırlanan formülasyonların stratum korneum bileşenleri ile etkileşiminin DSC ile analizi sonrasında elde edilen bulgular incelendiğinde; her bir formülasyonda farklı endotermlerin kaybolduğu gözlenmiştir (Şekil 3.16, Tablo 3.8). Lamellar sıvı kristal formülasyonu (LSK) ile stratum korneumun etkileşiminde, T2, T3 ve T5 endotermleri tamamen kaybolmuştur. Diğer bir deyişle, ikinci lipid endotermi ve protein denatürasyon endotermi bu termogramda bulunmamaktadır. Lamellar sıvı kristal emülsiyon sistem (LSK-ES) ile stratum korneumun etkileşimi sonucunda, T2, T4 ve T5 endotermlerinin kaybolduğu görülmektedir. Ayrıca, T3 protein endotermi genişlemiş ve daha yüksek bir faz geçiş sıcaklığına kaymış olarak görülmektedir. Yağ/su emülsiyonu (Y/S E) ile muamele edilen stratum korneumun bileşenleri incelendiğinde; T2 ve T4 endotermlerinin tamamen kaybolduğu, T3 endoterminin ise genişlediği ve daha yüksek bir değere kaydığı görülmektedir. Lamellar sıvı kristal yağlı sistemin (LSK-YS) stratum korneum ile etkileşimi incelendiğinde ise, sadece T2 endoterminin tamamen kaybolduğu gözlenmektedir. Bu sonuçlara göre; LSK ve LSK-ES sistemlerinin stratum korneumun hem lipid hem de protein bileşenleriyle etkileştiği düşünülmektedir [75,78]. Ayrıca, protein endotermlerinin genişlemesi ve daha yüksek bir faz geçiş sıcaklığı değerine kayması, stratum korneumun dehidrasyonu sonucu meydana gelmiş olabilir [75]. Son olarak,

LSK-YS sisteminin stratum korneumun sadece lipid bileşenleriyle etkileştiği düşünülmektedir.

Bütün bu bulgular göstermektedir ki, hazırlanan formülasyonların hepsi stratum korneumun lipid bileşenleriyle etkileşmektedir. Ayrıca, formülasyonlardan LSK-YS dışındaki diğer sistemler stratum korneumun protein bileşenleriyle de etkileşmektedirler. Bu sonuç ışığında; etkin maddenin deriden geçişinde formülasyon bileşenlerinin stratum korneum lipidleriyle ve proteinleriyle etkileşiminin rol oynayacağı söylenebilir.

3.4. STABİLİTE ÇALIŞMALARI

Bölüm 2.2.4'te anlatıldığı gibi fiziksel stabilitenin incelendiği çalışmada, 25°C'de su banyosunda bekletilen formülasyonlar üzerinde fiziksel stabilite çalışması yapılmış ve sonuçları incelenmiştir.

Etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyonu, lamellar sıvı kristal yağlı sistemleri ve Y/S emülsiyonu belirlenen aralıklarla makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir.

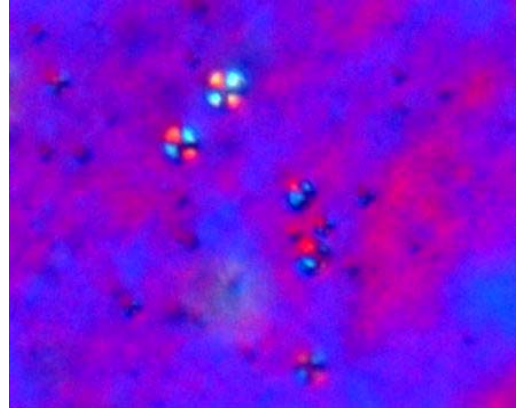
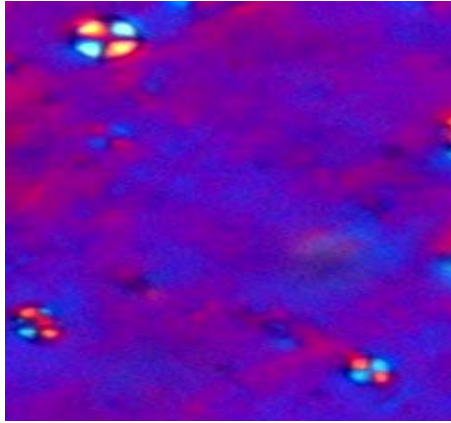
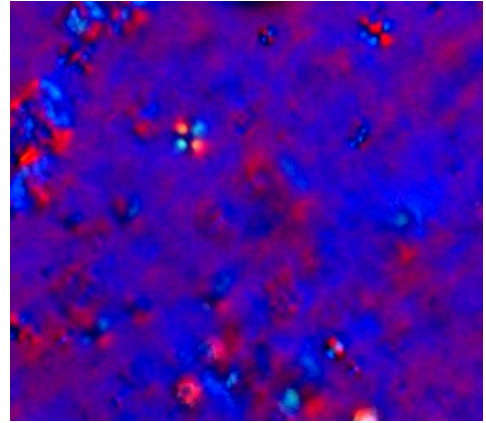
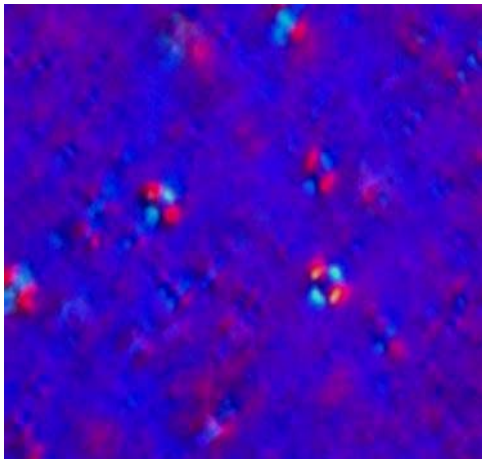
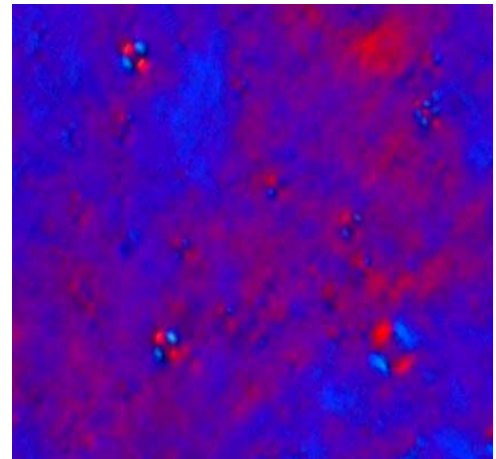
3.4.1. Makroskobik İncelemeler

Fiziksel stabilitenin incelendiği çalışmada 25°C sıcaklıkta bekletilen formülasyonlarda homojenitede bozulma olup olmadığı ve kıvamda farklılık olup olmadığı incelenmiştir. Formülasyonlarda 6 ay sonunda kıvam ve renk açısından bir değişiklik görülmemiştir.

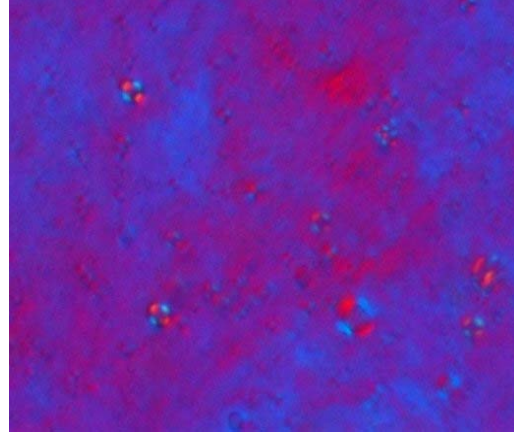
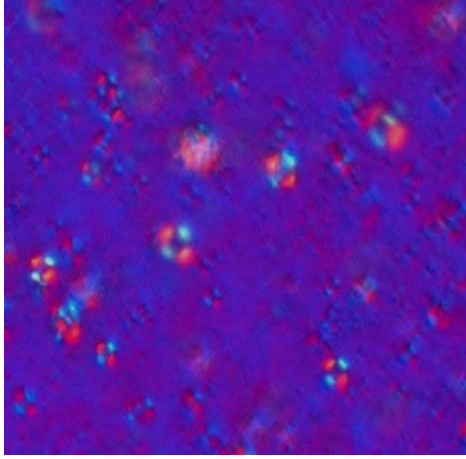
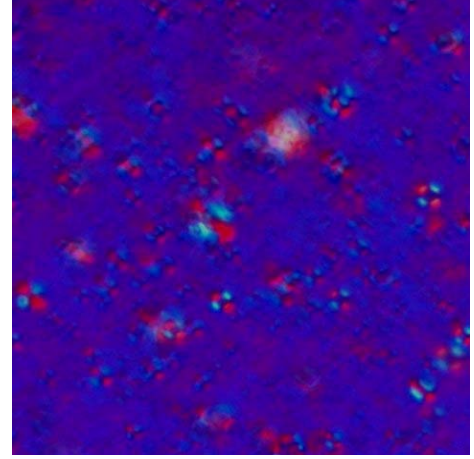
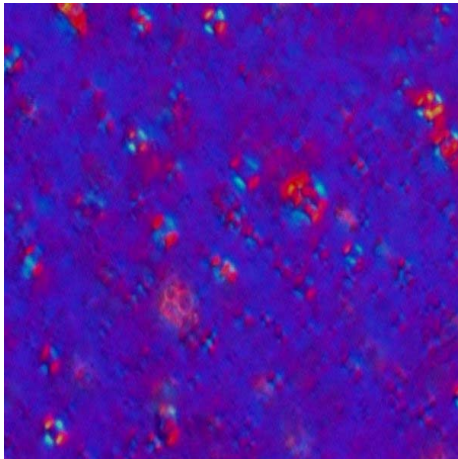
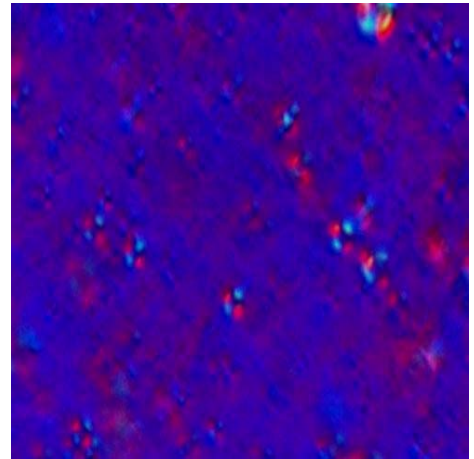
3.4.2. Mikroskobik İncelemeler

25 °C'de saklanan etkin madde içermeyen lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ve Y/S emülsiyonunun mikroskobik özellikleri, hazırlandıkları anda, 1.gün, 7.gün, 1.ay ve 6.ayda polarizan

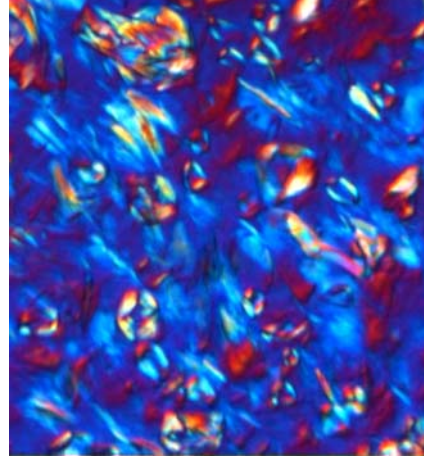
ışık mikroskopuyla incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda, lamellar sıvı kristal sistem, hazırlandığı anda sahip olduğu yağsı şerit yapısı ve Malta haçı yapısını incelendiği bütün zaman aralıklarında korumuş, yapıda herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği gözlenmiştir (Şekil 3.17). Lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi incelendiğinde, gözlenen lamellar sıvı kristale ait yağsı şerit yapısı ve yoğun Malta haçı yapısının incelenen bütün zaman aralıklarında korunduğu, 6 ay süresince yapıda herhangi bir bozulma olmadığı (Şekil 3.18), benzer şekilde lamellar sıvı kristal yağlı sistemi incelendiğinde ise, bu yapıda gözlenen ve Eccleston ve arkadaşlarının [135] “bozulmuş Malta Haçı” adı verdiği yapıda da 6 ay süresince herhangi bir değişiklik meydana gelmediği (Şekil 3.19) izlenmektedir. Y/S emülsiyonu ise sahip olduğu klasik emülsiyon görüntüsünü 1 hafta süresince korumuş olup, 1 haftadan sonra emülsiyon damlacıklarında büyüme meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 3.20). Literatürde, kuarsetin içeren lamellar sıvı kristal formülasyonlar üzerinde 4°C, 25°C ve 40°C’de 12 ay boyunca yapılan stabilite çalışması sonucunda, lamellar sıvı kristal formülasyonların yapıya özgü yağsı şerit ve “Malta Haçı” görüntüsünün korunduğu belirtilmiştir [146]. Bu tez kapsamı içerisinde yapılan stabilite çalışması, hazırlanan formülasyonların oda sıcaklığında 6 ay süreyle saklanmaları sonucunda makroskobik ve mikroskobik özelliklerinde değişme meydana gelmediğini ve bu süre boyunca formülasyon stabilitesinin sağlandığını göstermektedir.

**a)****b)****c)****d)****e)**

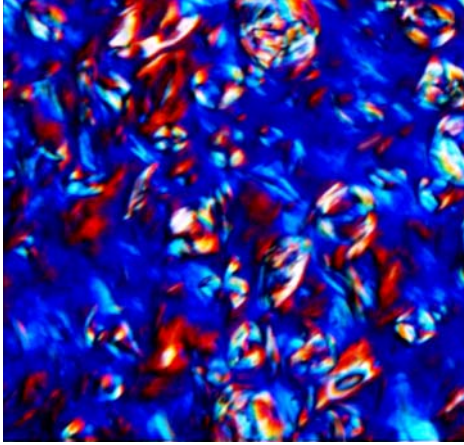
Şekil 3.17. Lamellar sıvı kristallerin **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10 x)

**a)****b)****c)****d)****e)**

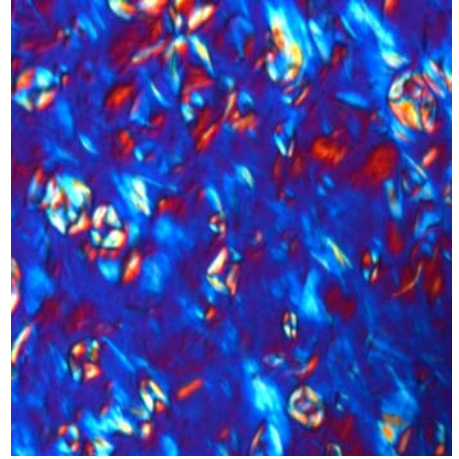
Şekil 3.18. Lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10 x)



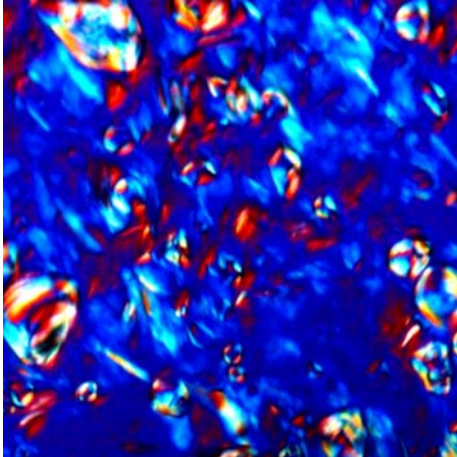
a)



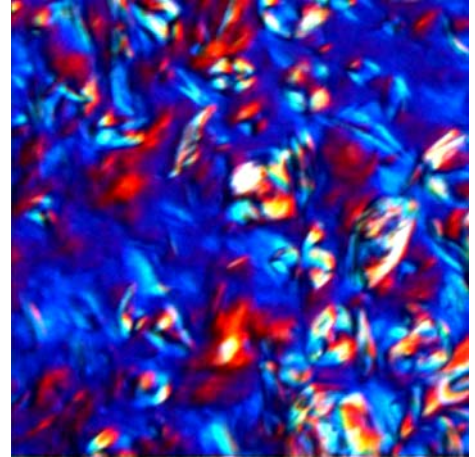
b)



c)

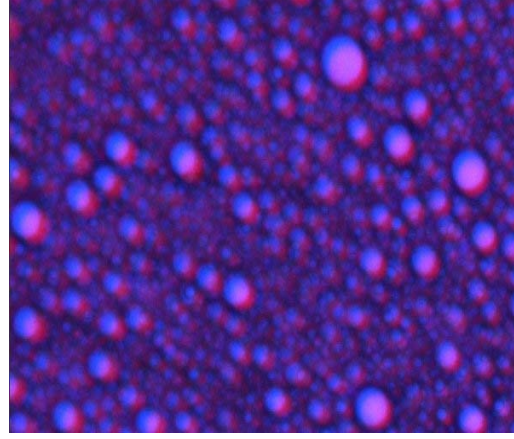


d)

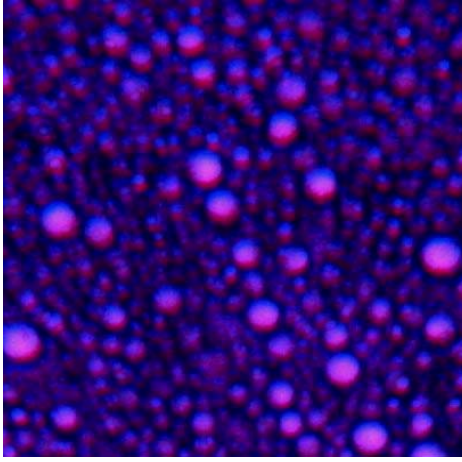


e)

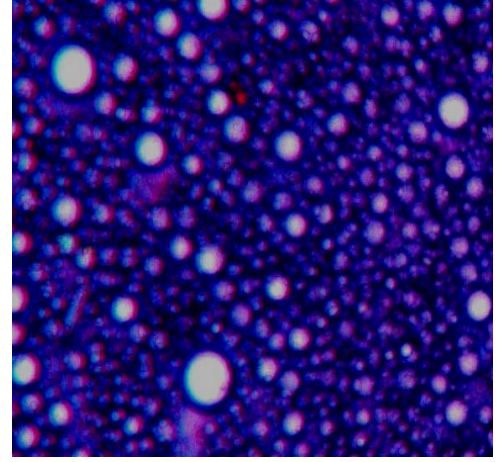
Şekil 3.20. Lamellar sıvı kristal yağlı sisteminin **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10x)



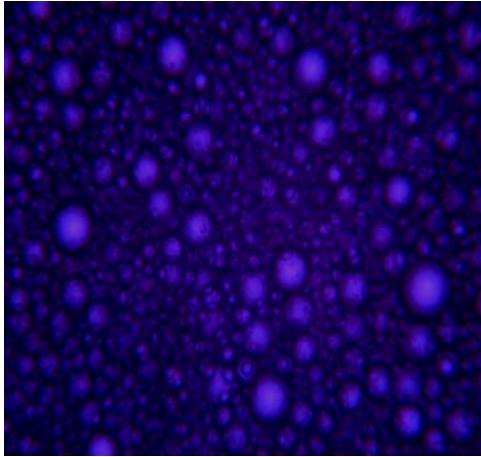
a)



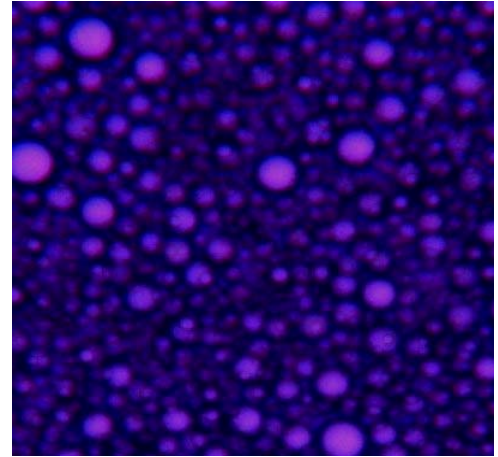
b)



c)



d)



e)

Şekil 3.19 Y/S emülsiyonunun **a)** $t=0$, **b)** $t=1$ gün, **c)** $t=1$ hafta, **d)** $t=1$ ay ve **e)** $t=6$ ay sonraki polarizan mikroskop görüntüleri (10x)

4. TARTIŞMA

Sıvı kristaller yapılarında hem sıvıların akış özelliklerini, hem de katıların düzenli kristal yapılarını taşırlar. Sıvı kristaller, oluşumları sırasında kullanılan yöntemlere göre iki ana gruba ayrılırlar. Bunlar termotropik ve liyotropik sıvı kristallerdir [13]. Termotropik sıvı kristallerin oluşumları sıcaklıktaki değişimler sonucunda, liyotropik sıvı kristallerin oluşumları ise hem konsantrasyon hem de sıcaklıktaki değişimler sonucunda gerçekleşebilmektedir [15]. Liyotropik sıvı kristaller, yağ, su, yüzey etkin madde ve genellikle yardımcı yüzey etkin maddelerin farklı oranlarda kullanılması ile hazırlanmaktadır [139]. Bu çalışmada ilaç taşıyıcı sistem olarak, liyotropik sıvı kristal fazlardan biri olan lamellar sıvı kristal faz seçilmiştir. Lamellar sıvı kristallerin seçilmesindeki amaç, bu yapıların hidrofilik ve hidrofobik ilaçların kontrollü salımını sağlayabilmeleri [68,123], suda çözünürlüğü az olan ilaçların çözünürlüğünün artırılmasını sağlayabilmeleri [141], stabilite sorunu olan maddelerin stabil bir halde hedef doku/organa taşınmalarına olanak sağlamaları [147], içerdikleri yüksek su miktarı sayesinde deride uzun süreli nemlenme sağlayabilmeleri [148] ve çeşitli parametrelerin değiştirilmesi ile deriden geçişin istenen şekilde modifiye edilebilmesi [149] gibi avantajlara sahip olmalarıdır.

Bu tez çalışmasında, lamellar sıvı kristal (LSK), lamellar sıvı kristal emülsiyon (LSK ES) ve lamellar sıvı kristal yağlı (LSK YS) sistemlerinin yanısıra Y/S emülsiyonu formülasyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonların karakterizasyonu için, formülasyonlar polarize ışık mikroskopunda incelenmiştir. Lamellar sıvı kristallerin mikroskobik incelemelerinin yapıldığı çalışmalar incelendiğinde, bu yapının oluşması için belirli bir süre gerektiği belirtilmiş, bu nedenle yapılan mikroskobik incelemeler, formülasyonlar hazırlandıktan 1 gün ile 1 hafta arasında değişen zamanlarda yapılmıştır [124,139]. Bu çalışmalar göz önünde bulundurularak formülasyonların mikroskobik incelemeleri formülasyonlar hazırlandıktan 1 gün sonra yapılmıştır. Yapılan mikroskobik incelemeler sonucunda, lamellar sıvı kristal ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemlerinde, lamellar sıvı kristal yapısının karakteristik özelliği olan, yağsı şerit yapısının yanısıra yoğun bir şekilde “Malta haçı” yapısı gözlenmiştir (Şekil 3.4.a, 3.4b) [56]. Lamellar sıvı kristal

yağlı sisteminde ise, lamellar sıvı kristal sistemlerine özgü “Malta Haçı” yapısı yerine Eccleston ve arkadaşlarının [135] bozulmuş Malta Haçı adını verdikleri yapı gözlenmiştir (Şekil 3.4c). Jurado ve arkadaşları [137] da, hazırladıkları yağ/yüzey etkin madde karışımında elde ettikleri bu yapının lamellar sıvı kristal yapı olduğunu belirtmişlerdir. Y/S emülsiyonu ise bu formülasyonun klasik emülsiyon görünümünde olduğunu göstermektedir (Şekil 3.4d).

Lamellar sıvı kristallerin hazırlandıktan sonra stabil halde bulunabilmeleri için saklama koşullarından sıcaklığın önemli bir parametre olduğu literatürde belirtilmektedir [149]. Bu nedenle, etkin madde içermeyen formülasyonlar üzerinde yapılan stabilite çalışmasında hazırlanan formülasyonlar 25 °C’de saklanmıştır. Lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon, lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinin ve Y/S emülsiyonunun renginde veya kıvamında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda ise, lamellar sıvı kristal ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemlerinde (Şekil 3.17 ve 3.18) yağsı şerit ve “Malta haçı” yapısıyla ve lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerinde (Şekil 3.19) bozulmuş “Malta haçı” ve yağsı şerit yapısıyla karakterize lamellar sıvı kristal yapının 6 ay süresince stabil olduğu gözlenmiştir. Y/S emülsiyonu sistemi ise damlacık boyutunda gözlenen hafif artışa rağmen, 6 ay boyunca herhangi bir faz ayrımına uğramadığından, stabil olabileceği düşünülmüştür.

Tez çalışmaları kapsamında yapılan DSC analizleri ile, öncelikle etkin madde, yüzey etkin maddeler ve yüzey etkin madde/yardımcı yüzey etkin madde karışımının (3:1) termal özellikleri incelenmiştir. Azelaik aside ait DSC termogramı (Şekil 3.9) ve tablo 3.6. incelendiğinde azelaik aside ait erime pikinin 111.29°C’de gözlemlendiği görülmektedir. Bu, azelaik asidin literatürde belirtilen erime sıcaklığından (105°C) farklı olarak bulunmuştur [133]. Bunun nedeninin kullanılan aletlerin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Brij 72, Brij 721P ve bu yüzey etkin maddelerin 3:1 oranındaki karışımının DSC analizinden elde edilen veriler incelendiğinde (Tablo 3.6), Brij 721 P ve Brij 72’nin 3:1 oranındaki karışımından elde edilen faz geçiş sıcaklığı ve entalpisinin (54.29°C, 97.76 J/g), saf haldeki yüzey etkin maddelerin DSC analizinden elde edilen faz geçiş sıcaklıkları ve faz geçiş

entalpilerinin arasında bir değer aldığı görülmektedir. Bu da, Brij 721 P ve Brij 72'nin birbirleriyle etkileşmeleri sonucunda farklı bir yapı oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca, Brij 721 P ve Brij 72'nin faz geçiş sıcaklıkları (50.94°C,57.06°C)ve entalpileri (107.6 J/g, 89.82 J/g) (Tablo 3.6) arasındaki fark da bu yüzey etkin maddelerin hidrofobik zincir kısmındaki grupların farklılığından kaynaklanmaktadır. Etkin madde içermeyen formülasyonlarla yapılan DSC çalışmaları sonucunda, her bir formülasyondaki yağ/ yüzey etkin madde karışımı/ su içeriğine, oranına ve etkileşimlerine bağlı olarak termogramlarda elde edilen faz geçiş sıcaklıklarında ve entalpilerinde farklılıklar gözlenmiştir. Lamellar sıvı kristal yapı gösteren sistemler ile Y/S emülsiyonu sistemleri karşılaştırılacak olursa, Y/S emülsiyonundan elde edilen faz geçiş entalpisinin lamellar sıvı kristal yapı gösteren sistemlere göre daha düşük olduğu görülmektedir (Tablo 3.6). Bu sonuç, lamellar sıvı kristaller içeren sistemlerde faz geçişi için daha fazla enerjiye gereksinim olduğunu ve bu yapıların Y/S emülsiyonuna göre daha sağlam bir yapı oluşturduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada, etkin madde olarak, sahip olduğu antiantibakteriyel, keratolitik ve komedolitik özelliklerinden dolayı çeşitli hiperpigmentasyon bozuklukları ve akne tedavisinde kullanılan azelaik asit seçilmiştir [150]. Akne, sadece dermatolojik ve kozmetik bir sorun olmayıp özellikle yüzde bıraktığı lekeler nedeniyle hastalarda psikolojik sorunlara da neden olabilen bir hastalıktır. Azelaik asidin, akne lekelerini hafifletme özelliği de bu etkin maddenin seçilmesinde etkili olmuştur. Azelaik asit, doymuş, 9 karbonlu bir dikarboksilik asit olup, vücutta eser miktarda bulunmaktadır. Çeşitli enzimleri (tirozinaz, 5- α redüktaz, p450 redüktaz) in vitro geri dönüşlü olarak inhibe etme özelliğine sahip olup, bu nedenle hiperpigmentasyon lekelerinin hafifletilmesinde kullanılmaktadır. Bu etkisini hiperaktif melanositlere karşı seçici etki göstererek gerçekleştirir. Ayrıca, mitokondriyal solunumu ve DNA sentezini de engeller. Azelaik asidin piyasada jel (%15) ve krem (%20) formülasyonu bulunmakta olup, bu formülasyonlar süspand halinde azelaik asit içermektedir. Bu nedenle, azelaik asit miktarını azaltmaya ve azelaik asidi çözünürleştirmeye yönelik çalışmalar da [112-117] göz önüne alınarak, bu çalışmada içerisinde %1 azelaik

asidi çözülmüş halde bulunduran sıvı kristal formülasyonların hazırlanması amaçlanmıştır.

Azelaik asit içeren (%1, a/a) formülasyonların mikroskopik incelenmesi sonucunda, hem sıvı kristal bazlı formülasyonlarda hem de Y/S emülsiyonunda etkin maddenin çözüldüğü gözlenmiştir (Şekil 3.5a – d). %1 konsantrasyonda azelaik asidin formülasyonlar içerisinde çözüldüğü yapılan DSC çalışmaları ile de gösterilmiştir. Şekil 3.12'deki termogramlar incelendiğinde 111.29 °C sıcaklıkta gözlenen azelaik asit pikinin (Şekil 3.9) tamamen kaybolması, mikroskopik incelemelerde azelaik asidin sistemler içerisinde çözülmüş halde bulunduğu ait veriyi desteklemektedir (Şekil 3.5a – d).

Reolojik incelemeler hem formülasyonların viskoziteleri ve reolojik davranışları hakkında bilgi verirken hem de sıvı kristal yapının aydınlatılmasına yardımcı olmaktadır [151]. Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de görüldüğü gibi tüm formülasyonlar için frekansa karşı çizilen G' ve G'' osilatör profilleri incelendiğinde tüm formülasyonlar için G' değerinin G'' değerinden büyük olduğu gözlenmektedir. Bu da, lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon, lamellar sıvı kristal yağlı sistemleri ve Y/S emülsiyonunun viskoelastik özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır [152]. Engström ve arkadaşları [141], monoolein kullanarak hazırladıkları çeşitli liyotropik sıvı kristal sistemler için yaptıkları reolojik ölçümler sonucunda sistemlerin faz açısının (δ) 0° ve 90° arasında yer aldığını bunun da viskoelastik sistemlerin karakteristik özelliği olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, G' değerinin G'' değerinden büyük olması, G' değerinin uygulanan frekansa bağımlılığının az olması ve G'' değerinin uygulanan frekansta küçük değerler alması lamellar sıvı kristal sistemlerde lamellar sıvı kristal yapının varlığını kanıtlamaktadır [26]. Ayrıca, Tablo 3.5 incelendiğinde faz açısı (δ) değerlerine bakılacak olursa, en düşük faz açısına sahip lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminin (16.45°) en viskoelastik sistem olduğu görülmektedir. Lamellar sıvı kristal yapılar için G' değerlerinin G'' değerlerine oranı incelendiğinde (Tablo 3.5), bu oranın lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminde (3.34) en fazla, lamellar sıvı kristal sisteminde ise en az (1.17) olduğu

gözlenmektedir. Bu sonuçlar da bize, lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminin en sağlam yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

Azelaik asit içeren (%1, a/a) formülasyonlar viskoziteleri açısından incelendiğinde (Tablo 3.5), minimum kompleks viskozite değerleri, göz önüne alınırsa, en yüksek minimum kompleks viskozite gösteren formülasyon lamellar sıvı kristal emülsiyon (86.33 Pa.s) iken en düşük minimum kompleks viskozite değerine sahip olan formülasyon lamellar sıvı kristaldır (12.77 Pa.s). Aradaki lamellar sıvı kristal yağlı sistemi (24.83 Pa.s) ve lamellar sıvı kristal (23.6Pa.s) sistemlerinin minimum kompleks viskozite değerleri birbirine oldukça yakındır. Maksimum kompleks viskozite, lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, lamellar sıvı kristal yağlı sistemi, lamellar sıvı kristal ve Y/S emülsiyonu için sırasıyla 22600 Pa.s, 5470 Pa.s, 1123 Pa.s, 624 Pa.s değerlerini almaktadır (Tablo 3.5). Maksimum kompleks viskozite değerleri göz önüne alındığında en yüksek viskoziteye sahip sistemin lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemi, en düşük viskoziteye sahip sistemin ise Y/S emülsiyonu olduğu görülmektedir.

Viskozitenin salım üzerindeki etkisi bilinen bir gerçektir. Genel olarak viskozitenin artması salımı geciktirmektedir [123]. In vitro salım çalışmaları azelaik asit için sink koşulların elde edildiği 4 mM pH 7.4 fosfat tamponu:etanol (50:50) ortamında yapılmış olup azelaik asidin bu ortam içerisindeki çözünürlüğü 120.40 mg/mL olarak bulunmuştur. Elde edilen salım sonuçlarında göre, en hızlı salım lamellar sıvı kristal ($136.34 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1/2}$) formülasyonundan elde edilirken, en düşük hız lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden ($103.39 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1/2}$) elde edilmiştir. Hidrofilik selofan zar ve hidrofilik salım ortamının kullanılması sonucunda lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon ve Y/S emülsiyonu formülasyonlarından salımın, yağlı bir sistem olan lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden salımdan daha hızlı ve miktar açısından daha fazla olduğu görülmektedir [130]. Azelaik asidin, su içeriği en fazla olan lamellar sıvı kristal formülasyondan en hızlı ($136.34 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1/2}$) salındığı, su içermeyen lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden ise en yavaş salındığı ($103.39 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1/2}$) gözlenmektedir. Azelaik asit, içerdiği iki hidroksil (-OH) grubu sayesinde su ile etkileşme ve hidrojen bağı

yapabilme kapasitesine sahiptir [153]. Yüksek miktarda su içeren lamellar sıvı kristal sisteminde azelaik asidin öncelikle lamellar sıvı kristal sistemdeki ve daha sonra ortamdaki su ile etkileşmesinin salım hızının artmasında etkili olabileceği düşünülmüştür. Azelaik asidin, lamellar sıvı kristal emülsiyon ve Y/S emülsiyonu sistemlerinden salımları incelendiğinde lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminden salımın Y/S emülsiyonuna göre daha yavaş olduğu görülmektedir (Tablo 3.7) Lamellar sıvı kristal emülsiyonunu sahip olduğu yüksek viskozite nedeniyle en sağlam yapıya sahip olduğundan, bu sistemden azelaik asit salımının daha yavaş gerçekleştiği düşünülmektedir. Lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden azelaik asit salımı incelendiğinde ise, hidrofilik özellikteki selofan zar ve salım ortamının, su içermeyen lamellar sıvı kristal yağlı sisteminden salım için bir engel görevi görüp en yavaş salıma neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, lamellar sıvı kristal sistemin viskozitesi en az olan formülasyon olması ve sıvı kristal yapısı salımın daha hızlı olmasına nedendir. Fakat, viskozite çalışmalarında elde edilen sıralama formülasyonlardan in vitro salım çalışmaları üzerinde çok etkin görülmemektedir. Çünkü formülasyonların yapıları ve hidrofilik/hidrofobik özellikleri salımda daha baskın olmaktadır.

Salım sonuçları genel olarak azelaik asidin sıvı kristal bazlı formülasyonlardan değişik hızlarda salındığını göstermekte olup, özellikle hızlı etki istenen durumlarda lamellar sıvı kristal ve Y/S emülsiyonu tercih edilirken, daha yavaş ve uzun süreli tedaviler için lamellar sıvı kristal yağlı sistemi uygun olabilir. Çünkü azelaik asit ile akne, rozase ve hiperpigmentasyon bozukluklarının tedavisi 3-4 aylık bir süreç olup değişik salım hızlarına ve etkinlik derecelerine sahip tedavi şekilleri gerekmektedir. Bu çalışmada, azelaik asidin Y/S emülsiyonu kadar etkin olabilecek lamellar sıvı kristal formülasyonları ve daha yavaş salım sağlayan lamellar sıvı kristal yağlı sistemi elde edilmiştir. In vitro salım çalışmalarının selofan zar ile yapılması elde edilen sonuçların deriden geçişte bazı değişikliklere uğramasına neden olur. Bu farklılığı, in vitro deriden geçiş çalışmaları ile değerlendirmek olası iken, daha çok deriden geçiş mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik, formülasyonların stratum korneum bileşenleriyle etkileşimi DSC çalışmaları ile incelenmiştir [123]. DSC çalışmalarından elde edilen sonuçlardan (Tablo 3.8 ve

Şekil 3.16), stratum korneum bileşenlerine ait endotermikler üzerinde en şiddetli etkiyi lamellar sıvı kristal ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemlerinin gösterdiği anlaşılmaktadır. Lamellar sıvı kristal formülasyon, T2 ve T3 lipid endotermikleri ile T5 protein pikini yok ederken, lamellar sıvı kristal emülsiyon sisteminin ise T2 lipid pikinin yanısıra, T4 ve T5 protein piklerini yok ettiği görülmektedir. Ayrıca, T3 lipid pikinin de faz geçiş sıcaklığının daha yüksek bir değere kaydığı görülmektedir. Y/S emülsiyonunu T2 lipid piki ile T4 protein pikini yok etmiştir. Lamellar sıvı kristal yağlı sistemi ise sadece T2 lipid pikini yok etmiştir. Bu da, deriden emilim göz önüne alındığında yüzey etkin maddelerin lipid ekstraksiyonu ve/veya protein denatürasyonu yoluyla penetrasyon artırıcı özelliklerini gösterebilecekleri düşünülmüştür [78]. Bu etkiyi artıran özelliklerden birisi de lamellar sıvı kristal formülasyonlarda suyun bulunmasıdır. Lamellar sıvı kristal ve lamellar sıvı kristal emülsiyon sistemleri içerdikleri su ve yüzey etkin maddeler sayesinde stratum korneumun hem lipid bileşenleriyle hem de protein bileşenleriyle etkileşebilmektedir. Bu çalışmada geliştirilen tüm lamellar sıvı kristal bazlı formülasyonlar ve Y/S emülsiyonu stratum korneumun lipid ve/veya protein yapılarıyla etkileşerek deriden emilimi artırma yönünde hareket edebilir.

SONUÇ

Sıvı kristallerin topikal uygulamalarını incelemek üzere bu tez çalışması kapsamında; sıvı parafin, Brij 721P:Brij 72 (3:1) karışımı ve su kullanılarak basit bir hazırlama yöntemi ile %1 azelaik asit içeren ve oda sıcaklığında 6 ay stabil olan lamellar sıvı kristal formülasyonları ve Y/S emülsiyonu hazırlanmıştır. Farklı yüzey etkin madde:su:ve/veyayağ içeriğine sahip olan, bu nedenle farklı reolojik özellikler ve termal etkileşimler gösteren formülasyonlar arasında en hızlı salım lamellar sıvı kristal formülasyondan, en düşük salım da lamellar sıvı kristal yağlı sistemden elde edilmiştir. Formülasyonların stratum korneum lipitleri ile etkileşimi DSC çalışmaları ile incelenmiş olup, sıvı kristal yağlı sisteminin lipit pikini etkilemesi, yapısında su bulunan diğer sıvı kristal bazlı formülasyonların ve Y/S emülsiyonunun ise lipit piklerinin yanısıra protein piklerini de etkilemesi geliştirilen tüm formülasyonların azelaik asidin deriden geçişini artırma yönünde etki edebileceğini düşündürmektedir.

Azelaik asit içeren (%1, a/a) lamellar sıvı kristal, lamellar sıvı kristal emülsiyon ve lamellar sıvı kristal yağlı sistemlerin etkin maddenin deriden emilimini artıracak, topikal kullanıma uygun, stabil formülasyonlar olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Özgan Ş. ve Yazıcı M. (2003). Sıvı Kristaller ve Faz Geçişleri. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 6(2), 20-27
2. Goodby, J. W. (1998) Liquid Crystals and Life, *Liquid Crystals*, 24 (1), 25-38
3. Lehmann, O., (1889), On Flowing Crystals, *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 4, 462–472.
4. Myers, D., (2005), Chapter Three Surfactants In Solution: Micellization and Related Association Phenomena, *Surfactant Science and Technology*, John Wiley & Sons Inc.
5. Wang X., Zhou, Q., (1999) Chapter 1 Liquid Crystal State of Matter, *Liquid Crystalline Polymers*, Wiley VCH.
6. Liu, C.L., Nikas, Y.J., Blankschtein, D., (1996), Novel Bioseparations Using Two-Phase Aqueous Micellar Systems, *Biotechnology and Bioengineering*, 52, 185-192.
7. Ruckenstein, E., Nagarajan R., (1975) Critical micelle concentration. Transition point for micellar size distribution, *The Journal of Physical Chemistry*, 79, 24, 2622-2626
8. Allen, C., Maysinger, D., Eisenberg, A., (1999) Nano-engineering block copolymer aggregates for drug delivery, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 16, 3-27
9. Zhang, Z., Yin, H., (2005) Effect of polyoxypropylene chain length on the critical micelle concentration of propylene oxide-ethylene oxide block copolymers, *Journal of Zhejiang University Science*, 6(3), 219-221
10. Israelachvili, J., (1992) Intermolecular and surface forces, Chapter Three Fluid-Like Structures and Self-Assembling Systems. Micelles, Bilayers, and Biological Membranes, Academic Press.
11. Micelle Formation. MPI of Colloids and Interfaces, (t.y.). Erişim: 26 Eylül 2007 [http://www.mpikg-golm.mpg.de/kc/scripts/Mizellbildung .pdf](http://www.mpikg-golm.mpg.de/kc/scripts/Mizellbildung.pdf)

12. Zang, J., Wang, Z., Liu, J., Chen, S., ve Liu, G., (2002) Chapter 2: Synthetic Self Assembled Materials. *Self Assembled Nanostructures*, American Scientific Publishers.
13. Burducea, G., (2004) Lyotropic Liquid Crystals I. Specific Structures, *Romanian Reports in Physics*, 56 (1), 66-86.
14. Burducea, G., (2004) Lyotropic Liquid Crystals II. Structural Polymorphism, *Romanian Reports in Physics*, 56 (1), 87-100
15. Tiddy, G.J.T, (1980) Surfactant-water liquid crystal phases. *Physics Reports* 57, 1-46.
16. Coates, D., (2001), Chapter 2 Thermotropic Liquid Crystals. Jones, W. (Ed), *Organic Molecular Solids: Properties and Application*, Wiley VCH.
17. Beica, T., Moldovan, R., Tintaru, M., Enache, I., Frunza, S., (2004) Measurements of optical anisotropy of a calamitic lyotropic liquid crystal, *Crystal Research Technology*, 39, 2, 151-156
18. Ge, L., Chen, L., Guo, R., (2007) Microstructure and Lubrication Properties of Lamellar Liquid Crystal in Brij30/[Bmim]PF₆/H₂O System. *Tribology Letters*, 28(2), 123-130.
19. Brown, G.H., (1977) Structures and properties of the liquid crystalline state of matter. *Journal of Colloid and Interface Science* 58(3), 534-548
20. Lyotropic liquid crystal, (t.y.) Erişim: 16 Haziran 2007 http://images.google.com.tr/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/a/a0/Lyotropic1.jpg&imgrefurl=http://en.wikipedia.org/wiki/Lyotropic_liquid_crystal&usq=__d5U5ACr7bvwp_NvwtXc4n6FvRQ4=&h=540&w=720&sz=75&hl=tr&start=170&um=1&tbnid=q89PbIiNjdjg9M:&tbnh=105&tbnw=140&prev=/images%3Fq%3Dsurfactant%2Bconcentration%2Bvs%2Btemperature%26start%3D162%26ndsp%3D18%26um%3D1%26hl%3Dtr%26sa%3DN
21. Zana, R., (2005) , Chapter 1 Introduction to Surfactants and surfactant Self Assemblies, *Dynamics of Surfactant Self Assemblies*, CRC Press.
22. Freiburger., N., Glatter, O., (2006) Small-Angle Scattering from Hexagonal Liquid Crystals, *The Journal of Physical Chemistry B*, 110, 14719-14727

23. Singh, S., Dunmur, D., A., (2003), Chapter 10 Lyotropic Liquid Crystals, *Liquid Crystals: Fundamentals*, World Scientific Publishing Company
24. Abe, S., Takahashi, H., (2007) A comparative study of the effects of dimethylsulfoxide and glycerol on the bicontinuous cubic structure of hydrated monoolein and its phase behavior, *Chemistry and Physics of Lipids*, 147 (2), 59-68
25. Cherezov, V., Fersi, H., Caffrey M., (2001) Crystallization Screens: Compatibility with the Lipidic Cubic Phase for *in Meso* Crystallization of Membrane Proteins, *Biophysical Journal*, 81, 1, 225-242
26. Makai, M., Csányi, E., Dékány, I., Németh, Z., Eros, I., (2003), Structural properties of nonionic surfactant/glycerol/paraffin lyotropic liquid crystals. *Colloid and Polymer Science*, 281 (9), 839-844.
27. Stevenson, C.L., Bennett, D. B., Lechuga-Ballesteros, D., (2005) Pharmaceutical liquid crystals: The relevance of partially ordered systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94 (9), 1861 – 2109.
28. Nesseem, D. I., (2001) Formulation and evaluation of itraconazole via liquid crystal for topical delivery system. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26 (3), 387-399.
29. Gabboun, N., H., Najib, N., M., Ibrahim, H., G., Assaf, S., (2001) Release of salicylic acid, diclofenac acid and diclofenac acid salts from isotropic and anisotropic nonionic surfactant systems across rat skin, *International Journal of Pharmaceutics*, 212, 1, 73-80.
30. Lynch, M., L., Ofori-Boateng, A., Hippe, A., Kochvar, K., Spicer, P., T., (2003) Enhanced loading of water-soluble actives into bicontinuous cubic phase liquid crystals using cationic surfactants, *Journal of colloid and interface science*, 260, 2, 404-413
31. Boyd, B., Whittaker, D., V., Khoo, S., Davey, G., (2006) Lyotropic liquid crystalline phases formed from glycerate surfactants as sustained release drug delivery systems, *International journal of Pharmaceutics*, 309, 1-2, 218-226

32. Stolze K., Stellfeld, M. (1992) Systemic absorption of metronidazole after application of a metronidazole 25% dental gel, *Journal of Clinical Periodontology*, 19, 693–697.
33. Wallin, R., Engström, S., Mandenius, C., F., (1993) Stabilisation of Glucose Oxidase By Entrapment In A Cubic Liquid Crystalline Phase, *Biocatalysis*, 8, 73-80
34. Vyas, S.P., Jaitely, V. and Kanaujia, P., (1997), Self-assembling supramolekular biovectors: a new dimension in a novel drug delivery systems. *Pharmazie*, 52, 259–267.
35. Nielsen, L.S., Schubert, L., Hansen, J., B., (1998) Bioadhesive drug delivery systems 1. Characterization of mucoadhesive properties of systems based on glyceryl mono-oleate and glyceryl monolinoleate. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 6, 231–239
36. Geraghty, P.B., Attwood, D., Collett, J.H., Dandiker, Y., (1996), The in Vitro Release of Some Antimuscarinic Drugs from Monoolein/ Water Lyotropic Liquid Crystalline Gels, *Pharmaceutical Research*, 13, 1265-1271.
37. Longer, P., Tyle, M., Mauger, J.W., (1996) A cubic-phase oral drug delivery system for controlled release of AG337, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 22,603–608
38. Burrows, R., Collett, J.H., Attwood, D., The release of drugs from monoglyceride–water liquid crystalline phases, *International Journal of Pharmaceutics* 111 (1994), pp. 283–293.
39. Boyd, B., Khoo, S., Whittaker, D., V., Davey, G., Porter, C., J., H., (2007) A lipid-based liquid crystalline matrix that provides sustained release and enhanced oral bioavailability for a model poorly water soluble drug in rats, *International Journal of Pharmaceutics*, 340, 1-2, 52-60
40. Lopes, L.B., Lopes, J.L.C., Oliveira, D.C.R., Thomazini, J.A., Garcia, M.T.J., Fantini, M.C.A., Collett, J.H., Bentley, M., V., L., B., (2006) Liquid crystalline phases of monoolein and water for topical delivery of cyclosporin A: characterization and study of *in vitro* and *in vivo* delivery, *European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics*. 63, 146–155

41. Norling, T., Lading, P., Engstöm, S., Larson, K., Krog, N. Nissen, S. (1992) Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 19, 687–692
42. Park, E., Maniar, M., Shah, J.C., (1998) Biodegradable polyanhydride devices of cefazolin sodium, bupivacaine, and taxol for local drug delivery: Preparation, kinetics and mechanism of in vitro release. *Journal of Controlled Release* 52, 179–189.
43. Goymann, G., (2004) Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, 2, 343-356
44. El-nokaly, M., Igo-kemenes, K., Jacobovic, D. A., Langlois, A., Vatter, M. L., (1997), Cosmetic Make-up Compositions, United States Patent 5688831, Amerika Patenti
45. El-Nokaly N.S., (1991) Toilet Bar Composition Made With Polymeric Lyotropic Liquid Crystals, WO/1991/009106, Dünya Patenti
46. Cioca; G., James, A., Manuel, L., Walter P., Liquid Crystal Containing Cosmetic and Pharmaceutical Compositions and Methods for Utilizing Such Compositions, United States Patent 4999348, Amerikan Patenti
47. Chang, C. M., Bodmeier R., (1997), Swelling of and Drug Release from Monoglyceride-Based Drug Delivery Systems, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86 (6), 747-752.
48. Farkas, E., Kiss, D., Zelkó, R., (2007) Study on the release of chlorhexidine base and salts from different liquid crystalline structures, *International Journal of Pharmaceutics*, 340, 1-2, 71-75
49. Bulut, F., (1982) Üçgen Faz Dengesi Diyagramları ve Farmasötik Teknolojideki Yeri, *Doğa Bilim Dergisi*, 6(3), 87-91
50. Alexandridis, P., Olsson, U., Lindman, B. A., (1998) Record Nine Different Phases (Four Cubic, Two Hexagonal, and One Lamellar Lyotropic Liquid Crystalline and Two Micellar Solutions) in a Ternary

Isothermal System of an Amphiphilic Block Copolymer and Selective Solvents (Water and Oil) *Langmuir*, 14, 2627-2638.

51. Mezzenga, R., Meyer, C., Servais, C., Romoscanu, A. I., Sagalowicz, L., Hayward, R.C., (2005), Shear Rheology of Lyotropic Liquid Crystals: A Case Study, *Langmuir*, 21, 3322-3333.
52. Imura, T., Hikosaka, Y., Worakitkanchanakul, W., Sakai, H., Abe, M., Konishi, M., Minamikawa, H., Kitamoto, D., (2007) Aqueous-Phase Behavior of Natural Glycolipid Biosurfactant Mannosylerythritol Lipid A: Sponge, Cubic, and Lamellar Phases, *Langmuir*, 23, 1659-1663
53. Jeong T.h., Oh, S.G., (2007) Lyotropic Behaviors of a Phospholipid-based Lamella Liquid Crystalline Phase Hydrated by Propylene Glycol as a Polar Solvent: Correlation of DSPC vs PG Concentration, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 28(1), 108-115
54. Shin, S., T., Kumar, S., Finotello, D., Keast, S., S., Neubert, M., E., (1992) High-Precision Heat Capacity Study of Phase Transitions In A Lyotropic Liquid Crystal, *Physical Review A*, 45, 8683-8692
55. Fukada, K., Matsuzaka, Y., Fujii, M., Kato, T., Seimiya, T., (1998), Phase behavior and lyotropic-liquid crystal structure of alkyltrimethylammonium bromide-water mixtures around freezing temperature of water, *Thermochimica Acta*, 308, 159-164.
56. Fehér, A., Csányi, E., Csóka, I., Kovács, A., Erős, I., (2005) Thermoanalytical investigation of lyotropic liquid crystals and microemulsions for pharmaceutical use, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 82 (2), 507-512
57. Leopold, C.S., Leppold B.C., An attempt to clarify the mechanism of the penetration enhancing effects of lipophilic vehicles with differential scanning calorimetry (DSC). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 47, 276–281
58. Roux, D., Nallet, F., Diat, O., (1993) Rheology of Lyotropic Lamellar Phases. *Europhysics Letters*, 24, 53-58.

59. Montalvo, G., Valiente, M., Rodenas, E., (1996), Rheological properties of the L phase and the hexagonal, lamellar, and cubic liquid crystals of the CTAB/benzyl alcohol/water system, *Langmuir*, 12 (21), 5202-5208.
60. Yazan, Y., (2002), Reoloji Ve Kozmetolojideki Yeri, *Türkiye Klinikleri Kozmetoloji*, 3 (2), 115-128.
61. Chang, Chin-Ming; (1998), Low viscosity monoglyceride-based drug delivery systems transforming into a highly viscous cubic phase. *International Journal of Pharmaceutics*, 173(1-2), 51-60.
62. Fehér, A., Urbán, E., Erős, I., Szabó-Révész, P., Csányi, E., (2008) Lyotropic liquid crystal preconcentrates for the treatment of periodontal disease, *International Journal of Pharmaceutics*, 358, 1-2, 23-26
63. Mondain-Monval, O., (2008), Freeze Fracture TEM investigations in liquid crystals, *Current Opinion in colloid and Interface Science*, 10, 250-255
64. Shah, J., C., Sadhale Y., Chilukuri, D., M., (2001) Cubic phase gels as drug delivery systems, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, 229–250.
65. Drummond, C. J., Fong, C., (1999) Surfactant self-assembly objects as novel drug delivery vehicles. *Current Opinion in Colloids and Interface Science*, 4(6), 449-456.
66. Mueller-Goymann, C.C., Frank, G., (1986) Interaction of lidocaine and lidocaine-HCl with the liquid crystal structure of topical preparations. *International Journal of Pharmaceutics*, 29, 147–159.
67. Wahlgren, S., Lindstrom, A. L., Friberg, S. E., (1984) Liquid crystals as a potential ointment vehicle. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(10), 1484-1486.
68. Müller-Goymann, C.C., Hamann, H.-J., (1993) Sustained release from reverse micellar solutions by phase transformations into lamellar liquid crystals, *Journal of Controlled Release*. 23, 165–174.
69. Cross, S.E., Pugh, W.J., Hadgraft, J., Roberts, M.S., (2001) Probing the effect of vehicles on topical delivery: understanding the basic relationship between solvent and solute penetration using silicone membranes, *Pharmaceutical Research*, 18, 7, 999-1005

70. El Maghraby, M. M., Williams, A. C., B. W. Barry, (2004), Interactions of surfactants (edge activators) and skin penetration enhancers with liposomes, *International Journal of Pharmaceutics*, 276 (1-2), 143-161.
71. Babita, K., Kumar, V., Rana, V., Jain, S., Tiwary, A.K., (2006), Thermotropic and Spectroscopic Behavior of Skin: Relationship with Percutaneous Permeation Enhancement, *Current Drug Delivery*, 3, 95-113.
72. Mendelsohn, R., Flach, C.R., Moore, D.J., (2006), Determination of molecular conformation and permeation in skin via IR spectroscopy, microscopy, and imaging, *Biochimica. Biophysica Acta* 1758, 923–933.
73. Potts, R. O., Guzek, O., Harris, R. R., MacKie, J. E., (1985), A noninvasive, in vivo technique to quantitatively measure water concentration of the stratum corneum, *Archives of Dermatology*, 277, 489–495.
74. Pirot, F., Kalia, Y.N., Stinchcomb, A.L., Keating, G., Bunge, A., Guy, R. H., (1997) Characterization of the permeability barrier of human skin *in vivo*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 1562-1567
75. Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Shafiq, S., (2008) Skin permeation mechanism and bioavailability enhancement of celecoxib from transdermally applied nanoemulsion, *Journal of Nanobiotechnology*, 6, 8
76. Guillard, EC, Laugel, C, Baillet-Guffroy, A., (2008), Molecular interactions of penetration enhancers within ceramides organization: A FTIR approach., *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, (Article In Press)
77. Caussin S., Gooris G.S., Bouwstra J.A., (2008) FTIR studies show lipophilic moisturizers to interact with stratum corneum lipids, rendering the more densely packed. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1778 (6), 1517-1524.
78. Van Duzee, B.F., (1975) Thermal analysis of human stratum corneum. *Journal of Investigative Dermatology*. 65, 404–408.

79. Dreher, F., Walde, P., Walther, P., Wehrli, E., (1997) Interaction of a lecithin microemulsion gel with human stratum corneum and its effect on transdermal transport, *Journal of Controlled Release*, 45 (2), 131-140.
80. Cavicchini, S., Caputo, R., (1989) Long-term treatment of acne with 20% azelaic acid cream. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 143, 40–44
81. Reynolds, J. E. F. (1989) *Martindale the Extra Pharmacopeia*, Londra, The pharmaceutical Press.
82. O’Neil M.J. (2001) *The Merck Index (13th Edition)*, USA, Merck& Co., Inc.
83. Gupta, A.K., Gover, M.D., (2007) Azelaic acid (15% gel) in the treatment of acne rosacea, *International Journal of Dermatology*, 46, 5, 533-538
84. Mayer-Da-Silva, A., Gollnick, H., Detmar, M., Gassmuller, J., Parry, A., Muller, R., Orfanos, C.E., (1989) Effects of azelaic acid on sebaceous gland, sebum excretion rate and keratinization pattern in human skin. An in vivo and in vitro study. *Acta Dermato-Venereologica supplement (Stockh)* 143, 20-30
85. Stamatiadis, D., Bulteau-Portois, M.C., Mowszowicz, I., (1988) Inhibition of 5 alpha-reductase activity in human skin by zinc and azelaic acid. *British Journal of Dermatology*, 119, 5, 627-632
86. Webster, G.F., (2002) Acne Vulgaris. *British Medical Journal*. 325, 475-479
87. Schallreuter, K.U., Wood, J.W., (1990) A possible mechanism of action for azelaic acid in the human epidermis. *Archives of Dermatological Research*, 282, 3, 168-71
88. Passi, S., Picardo, M., Mingrone, G., Breathnach, A.S., Nazzaro-Porro, M., (1989) Azelaic acid--biochemistry and metabolism, *Acta Dermato-Venereologica Supplement (Stockh)*. 143, 8-13 ,
89. Hebert, R.F., (2001) Therapeutically improved salts of azelaic acid. United States Patent 6734210, 514/460 Amerika Patent.
90. Moniharapon, T., Moniharapon, E., Watanabe, Y., Hshinaga, F., (2005) Inhibition of Food Pathogenic Bacteria by Azelaic Acid. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8, 3, 450-455

91. Kalaycıyan, A., Bahar, H., Oğuz, O., Torun, M.M., Aydemir, E.H., (2001), Akne Vulgarisin Şiddeti Üzerine Bakterilerin Etkisi, *Türkiye Klinikleri Dermatoloji*. 11, 146-149
92. Bojar, R.A., Holland, K.T., Leeming, J.P., Cunliffe, W.J., (1988) Azelaic acid: its uptake and mode of action in *Staphylococcus epidermidis* NCTC 11047. *The Journal of Applied Bacteriology*. 64, 6, 497-504 .
93. Bladon P.T., Burke B.M., ve Cunliffe WJ, (1986) Topical azelaic acid and the treatment of acne: A clinical and laboratory comparison with oral tetracycline. *British Journal of Dermatology*, 114, 493-499
94. Nguyen, Q.H., Bui, T.P., (1995) Azelaic acid: Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties and its therapeutic role in hyperpigmentary disorders and acne. *International Journal of Dermatology*. 34, 75-84
95. Ward, B.J., Breathnach, A.S., Robins, E.J., Bhasin, Y.P., Ethridge, L., Nazzaro-Porro, M., Passi, S., (1986) Effect of L-carnitine on cultured murine melanoma cells exposed to azelaic acid. *Journal of Investigative Dermatology*. 86, 4, 438-441
96. Breathnach, A.S., Martin, B., Nazzaro-Porro, M., Passi, S., Mann, P., Cooper, J., Morpurgo, G., (1979) Effect of dicarboxylic acids on normal melanocytes in dispersed tissue culture. *British Journal of Dermatology*, 101, 641-649
97. Passi, S., (1993), Pharmacology and pharmacokinetics of azelaic acid. *Reviews in Contemporary Pharmacotherapy*, 4, 441-447.
98. Täuber, U., Weiss, C., Matthes, H., (1992), Percutaneous absorption of azelaic acid in humans, *Experimental Dermatology*, 1(4), 176-179.
99. Breathnach, A.S., (1999) Azelaic acid : potential as a general antitumoural agent. *Medical hypotheses*. 52, 3, 221-226.
100. Katsambas, A.D., Lotti, T.M., (2003) European Handbook of Dermatological Treatments, Almanya, Springer-Verlag Company.
101. Cavicchini, S., ve Caputo, R., (1989) Long-term treatment of acne with 20% azelaic acid cream. *Acta Dermato Venereologica*, Suppl 143, 40-44.
102. Katsambas, A., Graupe, K., Stratigos, J., (1989) Clinical studies of 20% azelaic acid cream in the treatment of acne vulgaris. Comparison with

vehicle and topical tretinoin. *Acta Dermatologica Venereologica*, (Suppl 143), 35-39.

103. Cohen, A. F., Tiemstra, J. D., (2002) Diagnosis and treatment of rosacea, *Journal of American Board of Family Practice*, 15, 214-217.
104. Maddin, S., (1999) A comparison of topical azelaic acid 20% cream and topical metronidazole 0.75% cream in the treatment of patients with papulopustular rosacea *Journal of American Academy and Dermatology* 40(6 Pt 1), 961-5.
105. Grimes, P.E., (1995) Melasma: Etiologic and therapeutic considerations *Archives of Dermatology* 131, 1453-1457.
106. Verallo-Rowell, V.M., Verallo, V., Graupe, K., Lopez-Villafuerte, L., Garcia-Lopez, M., (1989) Double-blind comparison of azelaic acid and hydroquinone in the treatment of melasma. *Acta Dermato-Venereologica*. Suppl. 143, 58-61.
107. Balino, L.M., ve Graupe, K., (1991) The treatment of melasma, 20% azelaic acid versus 4% hydroquinone cream. *International Journal of Dermatology*, 30, 893-895.
108. Physicians Desk Reference, Kanada, Thomson Corporation
109. Draelos, Z.D., (2006) The Rationale for Advancing the Formulation of Azelaic Acid Vehicles. *Cutis*, 77 (suppl 2), 7-11.
110. Elewski, B. E., Fleischer, A. B. Jr, Pariser, D. M., A (2003) Comparison of 15% Azelaic Acid Gel and 0.75% Metronidazole Gel in the Topical Treatment of Papulopustular Rosacea *Archives of Dermatology*, 139, 1444-1450.
111. Lowe, N.J., Rizk, D., Grimes, P., Billips, M., ve Pincus, S., (1998) Azelaic acid %20 cream in the treatment of facial hyperpigmentation in darker-skinned patients *Clinical Therapeutics*, 20 (5), 945-959.
112. Berova, N., Nkiolova, A., Kratchanov, Chr., and Popova, M., (1994) Hypoallergic Cosmetic Emulsion with Azelaic Acid for Prophylaxy and Treatment of Acne Vulgaris *Journal of Applied Cosmetology*, 12(3), 51.
113. Nazzaro-Porro, N., (1981) Process for treatment of hyperpigmentary dermatoses US4292326, Amerikan Patenti.

114. Nazzaro-Porro, N., (1983) Process for the treatment of acne US4,386,104, Amerikan Patenti.
115. Nazzaro-Porro, N., (1989) Process for the treatment of hyperpigmentary dermatoses including malignant melanomas US4,818,768, Amerikan Patenti.
116. Thornfeld, C.R., (1987) Treatment of nonacne inflammatory and infectious dermatoses and hair loss US4,713,394 Amerikan Patenti.
117. Venkateswaran (1996) Aqueous topical anti-acne compositions of low pH US 5,549,888, Amerikan Patenti.
118. Mather, K., (1997), Topical vehicles containing solubilized and stabilized azelaic acid, US 5,925,679, Amerikan Patenti.
119. Gasco M.R., Gallarte M., Pattarino F., (1991) In vitro permeation of azelaic acid from viscosized microemulsions, *International Journal of Pharmaceutics*, 69, 193-196.
120. Esposito E., Menegatti E., Cortesi R., (2004) Ethosomes and liposomes as topical vehicles for azelaic acid: A preformulation study, *Journal of Cosmetic Science*, 55, 253-264.
121. Mansour, A. M., Ibrahiem, M. M., (2002) Simultaneous determination of azelaic and benzoic acids in topical preparations by liquid chromatography, *Chromatographia*, 55(7-8), 435-437.
122. Sintov, A.C., Behar-Canetti, C., Friedman, Y., Tamarkin, D., (2002) Percutaneous penetration and skin metabolism of ethylsalicylate-containing agent, TU-2100: in-vitro and in-vivo evaluation in guinea pigs. *Journal of Controlled Release*, 79(1), 113-122.
123. Makai, M., Csányi, E., Németh, Zs., Pálinkás, J., Eros, I., (2003) Structure and drug release of lamellar liquid crystals containing glycerol *International Journal of Pharmaceutics*, 256 (1-2), 95-107.
124. Wang, Z., Diao, Z., Liu, F., Li, G., Zhang, G., (2006) Microstructure and rheological properties of liquid crystallines formed in Brij 97/water/IPM system. *Journal of Colloid and Interface Science* 297(2), 813-818.

125. Material Safety Data Sheet Brij 721 MSDS, http://www.sciencelab.com/xMSDS-Brij_721-9923144 (t.y.). Erişim: 26 Temmuz 2006.
126. Montenegro, L., Carbone, C., Paolino, D., Drago, R., Stancampiano, A. H., Puglisi, G., (2008) In vitro skin permeation of sunscreen agents from O/W emulsions. *International Journal of Cosmetic Science* 30(1), Pages 57 - 65.
127. Boothroyd, S., Galley, E., Stammers, A.M., Sunscreen compositions, US 5,250,289, Amerikan Patenti.
128. Koziara, J. M., Lockman, P. R., Allen D. D., Mumper, R. J., (2003) *In Situ* Blood–Brain Barrier Transport of Nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 20 (12), 1772-1778.
129. Gonzenbach, H. U., Bringham, A., Sidrac, D., (1999) Light Screening Compositions, US 5,985,251, Amerikan Patenti
130. Csóka, E., Csanyi, G., Zapantis, E., Nagy, A., Fehér-Kiss, G., Horváth, G., Blazsó, I., (2005) In vitro and in vivo percutaneous absorption of topical dosage forms: case studies, *International Journal of Pharmaceutics* 291, 11–19.
131. Peira, E., Carlotti, M. E., Cavalli, R., Trotta, M., (2006) Azelaic acid sodium salt in the formulation of microemulsions for topical applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 16 (5), 375-379.
132. Savic D.S., Savic, M.M., Vesic, S.A., Vuleta, G.M., Müller-Goymann, C.C., (2006), Vehicles based on a sugar surfactant: Colloidal structure and its impact on in vitro/in vivo hydrocortisone permeation. *International Journal of Pharmaceutics*, 320 (1-2), 31, , 86-95
133. Manosroi, J., Apriyani, M. G., Foe, K., Manosroi, A., (2005) Enhancement of the release of azelaic acid through the synthetic membranes by inclusion complex formation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, 293(1-2), 235-240.
134. Sciencefinder Database “Azelaic acid”.
135. Eccleston, M.K. Behan-Martin, G.R. Jones and E. Towns-Andrews, Synchrotron X-ray investigations into the lamellar gel phase formed in

pharmaceutical creams prepared with cetrimide and fatty alcohols, *International Journal of Pharmaceutics*, 203 (2000), pp. 127–139

136. Savic, S., Savic, M., Tamburic, S., Vuleta, G., Vesic, S., Müller-Goymann, C.C., (2007), An alkylpolyglucoside surfactant as a prospective pharmaceutical excipient for topical formulations: The influence of oil polarity on the colloidal structure and hydrocortisone in vitro/in vivo permeation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30 (5), 441-450
137. Jurado, E., Bravo, V., Vicaria, C.M., Fernandez-Arteaga, A., Garcia-Lopez, A.L., (2008), Triolein solubilization using highly biodegradable non-ionic surfactants., *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 326 (3), 162-168
138. Granizo, N., Alvarez, M., Valiente, M., (2006), The effect of octyl glucoside on rheological behavior of diluted and concentrated lamellar phases. *Journal of Colloid and Interface Science*, 298, 363–368
139. Comelles, F., Sánchez-Leal, J., González, J. J., (2005) Lamellar liquid crystals made of anionic surfactant, oleic acid, diethyleneglycol monoethyl ether and water. *Colloid Polymer and Science* 283(8), 925-931.
140. Pardakhty, A., Varshosaz, J., Rouholamini, (2007) A., In vitro study of polyoxyethylene alkyl ether niosomes for delivery of insulin. *International Journal of Pharmaceutics*, 328, 130–141.
141. Engström, S., Nordén, T. P., Nyquist, H., (1999) Cubic phases for studies of drug partition into lipid bilayers *European Journal of Pharmaceutical Sciences* , 8(4), 243-254.
142. Farkas, E., Zelkó, R., Török, Gy., Rácz, I., Marton, S., (2001), Influence of chlorhexidine species on the liquid crystalline structure of vehicle, *International Journal of Pharmaceutics*, 213 (1-2), 1-5.
143. Pappinen, S., Hermansson, M., Kuntsche, J., Somerharju, P., Wertz, P., Urtti, A, Suhonen, M., (2008) Comparison of rat epidermal keratinocyte organotypic culture (ROC) with intact human skin: lipid composition and

thermal phase behavior of the stratum corneum. *Biochimica Biophysica Acta*. 1778(4), 824-834.

144. Silva, C.L., Nunes, S.C.C., Eusébio, M.E.S. Sousa, J.J.S., Pais, A.A.C.C., (2006), Study of human stratum corneum and extracted lipids by thermomicroscopy and DSC. *Chemistry and Physics of Lipids*, 140, 36-47.
145. Vaddi, H.K., Ho, P.C., Chan, Y.W., Chan, S.Y., (2002), Terpenes in ethanol: haloperidol permeation and partition through human skin and stratum corneum changes, *Journal of Controlled. Release*, 81, 121 – 126.
146. Vicentini, FT. Casagrande, R. Veri, WA Jr. Georgetti, SR. Bentley, MV. Fonseca, MJ. (2008). Quercetin in lyotropic liquid crystalline formulations: physical, chemical and functional stability. *AAPS PharmSciTech*, 9(2), 591-596.
147. Lee, J. Kellaway, W. (2000). Buccal permeation of [-Ala², -Leu⁵]enkephalin from liquid crystalline phases of glyceryl monooleate. *International Journal of Pharmaceutics*, 195, 35-38.
148. Iwai, H., Fukasawa, J., Suzuki, T., (1998), A liquid crystal application in skin care cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science*, 20, 87–102.
149. Brinon, L., Geiger, S., Alard, V., Doucet, J., Tranchant, J., Couarraze, G., (1999), Percutaneous absorption of sunscreens from liquid crystalline phases, *Journal of Controlled Release*, 60, 67-76.
150. Fleischer, AB Jr., (2006), The Evolution of Azelaic Acid, *Cutis*, 77(2 Suppl), 4-6.
151. Cordobés, F., Franco, J.M., Gallegos, C.,(2005), Rheology of the lamellar liquid-crystalline phase in polyethoxylated alcohol/water/heptane systems. *Grasas y Aceites*, 56 (2), 96-105
152. Sagalowicz, L., Mezzenga, R., Leser, M. E. (2006), Investigating reversed liquid crystalline mesophases. *Current Opinion in Colloid and InterfaceScience*, 11(4), 224-229.
153. Bond, A.D., Edwards, M. R., Jones, W., (2001), Azelaic Acid, *Acta Crystallographia*, E57, o143 – o144.