

278989

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

KAFEİNİN DEĞİŞİK MERHEM
SIVAĞLARINDAN İN VİTRO DİFÜZYONU
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

GALENİK FARMASİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

Ecz. Süeda Konur

ANKARA - 1980

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

KAFEİNİN DEĞİŞİK MERHEM
SIVAĞLARINDAN İN VİTRO DİFÜZYONU
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

GALENİK FARMASİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

Ecz. Süeda Konur

Rehber Öğretim Üyesi : Doç. Dr. Serpil KIŞLALIĞLU

ANKARA - 1980

I Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No.</u>
GİRİŞ ve AMAÇ	1
I- GENEL BİLGİLER	3
I.1. Kafein	3
I.1.1. Kafeinin Farmakolojik Özellikleri ve Kullanılışı	3
I.1.2. Diğer Özellikleri	5
I.2. Deri	6
I.2.1. Deride Görülen Anomaliler	8
I.2.1.1. Atopik Dermatit	8
I.2.1.1.1. Bebeklik Ekzeması	9
I.2.1.1.2. Çocukluk Ekzeması	9
I.2.1.1.3. Yetişkin Atopik Ekzeması	10
I.2.1.2. Atopik Dermatitin Tedavisi	10
I.3. Perkütan Absorpsiyon ve Perkütan Absorpsiyonu Etkileyen Faktörler	12
I.4. Topik Olarak Kullanılan Farmasötik Şekiller	15
I.4.1. Merhemler	15
I.4.1.1. Hidrokarbon Sıvağları	16
I.4.1.2. Absorpsiyon Sıvağları	16
I.4.1.3. Suyu Yıkayabilen Sıvağlar	17
I.4.1.4. Suda Çözünen Sıvağlar	17
I.4.2. Merhemlerden Etken Madde Salıverilmesinin Matematiksel İncelenmesi	19
I.4.2.1. Çözelti Tipi Merhemlerden Etken Madde Salıverilmesi	20
I.4.2.2. Süspansiyon Tipi Merhemlerden Etken Madde Salıverilmesi	21

I.4.3.	Etken Maddenin Merhem Sıvağlarından Difüzyonunu İnceleme Yöntemleri	23
I.4.3.1.	İn Vivo Yöntemler	23
I.4.3.2.	İn Vitro Yöntemler	24
I.4.3.2.1.	Agar Jeli Yöntemleri	24
I.4.3.2.1.1.	Mikrobiyolojik Yöntem	25
I.4.3.2.1.2.	Kimyasal Yöntem	25
I.4.3.2.1.3.	Fiziksel Yöntem	26
I.4.3.2.2.	Kromatografik Yöntem	26
I.4.3.2.3.	Difüzyon Yöntemleri	27
I.4.3.2.3.1.	Zarsız Difüzyon	28
I.4.3.2.3.2.	Zardan Difüzyon	28
I.4.4.	İn Vitro İlaç Salıverilmesini Etkileyen Faktörler	31
I.4.4.1.	Merhem Sıvağlarının Etkisi	32
I.4.4.2.	Etken Madde Konsantrasyonunun Etkisi	33
I.4.4.3.	Etken Madde Partikül Büyüklüğünün Etkisi	34
I.4.4.4.	Merhem Hazırlama Yöntemlerinin Etkisi	34
I.4.4.5.	Diğer Değişkenlerin Etkisi	35
II - DENEYSEL		38
II.1.	Kullanılan Aletler	38
II.2.	Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Materyel	38
II.3.	Kafein	39
II.3.1.	Kafeinin Genel Tanımı ve Erime Derecesi	39
II.3.2.	Partikül Büyüklüğü	40
II.3.3.	Kafeinin Spektrofotometrik Özellikleri ve Kalibrasyon Eğrisi	40

II.3.4.	Kafeinin Çözünürlük Çalışmaları	44
II.3.4.1.	Kafeinin Sudaki Çözünürlüğü	44
II.3.4.2.	PEG 400 ve Sıvı Parafindeki Çözünürlük	44
II.3.5.	Partisyon Katsayısının Bulunması	45
II.4.	Difüzyon Çalışmaları	46
II.4.1.	Difüzyon Ayrıtıcı	46
II.4.2.	Merhemler	48
II.4.2.1.	Merhem Sıvağlarının Hazırlanışları	48
II.4.2.2.	Kafein Merhemlerinin Hazırlanışı	50
II.4.2.3.	Kompleks Yapıcı Maddelerin İlavesi	51
II.4.2.4.	Koruyucu Maddelerin İlavesi	51
II.4.3.	Difüzyon Deneylerinin Yapılışı	52
II.4.4.	Deneylerin Tekrarlanabilirliği	54
II.4.5.	Stabilite Çalışmaları	55
II.4.6.	Bulguların İstatistiksel Değerlendirilmesi	56
III-	BULGULAR	57
III.1.	Bulguların Sunuluşu	57
III.2.	Kafein Konsantrasyonunun Difüzyona Etkisi	58
III.3.	Merhem Sıvağlarının Difüzyona Etkisi	65
III.3.1.	Vazelin Merhemlerinden Salıverilme	70
III.4.	Kompleks Yapıcı Maddelerin Etkisi	74
III.5.	Koruyucu Maddelerin Difüzyona Etkisi	77
III.6.	Merhemlerin Stabilitesi	78

Sayfa No.

IV - TARTIŞMA ve SONUÇ	82
IV.1. Bulgulara Matematiksel Yaklaşım	82
IV.2. Kafein Konsantrasyonunun Etkisi	84
IV.3. Merhem Sıvağlarının Etkisi	92
IV.3.1. Vazelin Merhemlerinden Salıverilme	93
IV.4. Kompleks Yapıcı Maddelerin Etkisi	96
IV.5. Koruyucu Maddelerin Etkisi	97
IV.6. Merhemlerin Stabilitesi	98
Ö Z E T	102
SUMMARY	103
KAYNAKLAR	104
EK TABLOLAR	

H.Ü. Eczacılık Fakültesi Galenik Farmasi Bilim Dalında yaptığım bu araştırmayı yöneten ve bana her yönden yardımcı olan, bilgi ve fikirlerinden yararlandığım hocam Sayın Doç. Dr. Serpil KIŞLALIOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunar, çalışmalarım sırasında gösterdikleri yakın ilgi ve yardımlarından dolayı Galenik Farmasi Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Atilla HINCAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Örneklerimin X-ışını difraksiyonlarını alan ve termal analizlerini yapan Braunschweig Teknik Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Enstitüsünden Prof. Dr. C. Führer'e, bulgularımın istatistiksel değerlendirmelerini yapan H.Ü. Bilgi İşlem Merkezi görevlilerine ve tezimin her aşamasında bana destek olan tüm bölüm arkadaşlarıma ve çalışanlarına da ayrıca teşekkür ederim.

GİRİŞ ve AMAÇ

Merhemler tedavide kullanılan en eski farmasötik şekillerden biri olup milattan 3000-5000 sene önce Babilliler ve Asurlular tarafından kullanıldıkları bilinmektedir. Günümüze kadar önemini yitirmeyen bu preparat tipi, antibiyotikler, analjezikler, antienflamatuvarlar, antihistaminikler gibi birçok etken madde grubunun topik kullanımında çok uygun bir farmasötik şekildir.

Son senelere kadar yalnızca oral ve parenteral olarak kullanılan kafeinin topik olarak kullanılabileceğini gösteren bazı klinik çalışmalar bu araştırmanın başlangıç noktasını oluşturmuştur.

Atopik dermatit tedavisinde etkili olduğu gösterilen kafein, klinik çalışmalarda rastgele bir seçimle yalnızca hidrofilik merhem sıvağı içinde kullanıldığı için, bu araştırmada değişik kafein merhem formülasyonları hazırlanarak, bu merhemlerden *in vitro* koşullarda kafein difüzyonu ve bu difüzyonda etkili olabilecek değişik faktörler incelenmiştir.

Bu araştırmanın amacı;

- a- Merhemlerdeki kafein konsantrasyonunun,
- b- Merhem sıvağlarının,
- c- Kafeinle kompleks yapan maddelerin,
- d- Merhemlere konan koruyucu maddelerin,

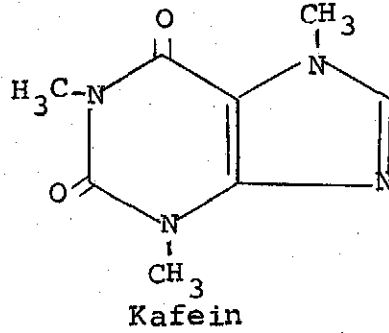
e- Merhemlerin bekletilme sürelerinin, kafeinin saliverilmesine etkilerini *in vitro* olarak incelemek ve böylece daha sonra yapılması düşünülen *in vivo* deneyler ve klinik çalışmalara yardımcı olabilmektedir.

I- GENEL BİLGİLER

Bu bölümde araştırmada etken madde olarak kullanılan kafein, merhemlerin uygulama yeri olan deri, kafein merhemlerinin tedavide kullanıldıkları bir deri hastalığı olan atopik dermatit ve deriden absorpsiyonu etkileyen faktörler kısaca incelendikten sonra, merhemlerden *in vitro* difüzyonu saptama yöntemleri ve bu difüzyona etki eden faktörler hakkında daha geniş bir bilgi sunulmasına çalışılmıştır.

I.1. Kafein

Bu araştırmada etken madde olarak kullanılan kafein, 1,3,7-trimetilksantin yapısında ve molekül ağırlığı 194,19 olan anhidr kafeindir.



I.1.1. Kafeinin Farmakolojik Özellikleri ve Kullanılışı

Kafeinin en önemli farmakolojik etkileri merkezi sinir sisteminde ve kardiyovasküler sistemde görüldüğü için, merkezi sinir sistemi, kalp ve solunum uyarıcısı olarak kullanılır. Uykusuzluk yapma, yorgunluğa karşı dayanıklılığı artırma etkileri de vardır. Diüretik etkisi diğer ksantinlerden daha azdır(1).

Kafein ve diğer metilksantinlerin etki mekanizmaları tam olarak bilinmemekteyse de, bu ilaçlarla, bir siklik adenilik asit olan siklik adenozin -3',5'- monofosfatın (CAMP) doku düzeyleri arasında bir ilişki olduğu gerçektir. Metilksantinlerin CAMP'yi inaktive eden siklik 3',5'- nükleotid fosfodiesteraz enzimini inhibe ettikleri gösterilmiştir (2). Böylece metilksantinler CAMP'nin doku konsantrasyonlarını artırmaktadırlar. *In vitro* histamin salıverilmesinin kateşolaminler ve metilksantinler tarafından inhibe edilmesinin sebebi, sonuç olarak her iki ilaç grubunun da CAMP'nin hücreler arası miktarını artırmalarıdır(3).

Kafeinin şimdiye kadar oral ve parenteral kullanımını biliyor idiyse de, son senelerde topik kullanımı ile de etki elde edilebileceği iddia edilmeye başlanmıştır. Nitekim tedavide bazı antiallerjik saç ve deri preparatlarının formülünde bulunan kortizonun yan etkilerini önlemek ve aynı zamanda sinerjik etki elde edebilmek için kullanıldığı patentli preparatları vardır (4-6).

Bunlardan başka, kafeinin merhem halinde atopik dermatit tedavisinde yararlı olduğu da öne sürülmüştür (7-10).

Kafein oral yolla alındığı zaman mide barsak sisteminden hızla ve hemen hemen tümüyle absorbe olmaktadır (11). Topik kullanımı seyrek görüldüğü için perkütan absorpsiyon derecesi bilinmemekle birlikte, psoriasis tedavisinde oral vitamin A tedavisi yanısıra tüm vücuda uygulanan aşırı miktardaki % 30'luk kafein merhemi ile, hastada huzursuzluk, kusma, taşikardi, kan basıncı yükselmesi gibi zehirlenme belirtileri görülmüştür (12).

I.1.2. Diğer Özellikleri

Kafein ve diğer ksantin türevi maddelerin en önemli özellikleri sulu ortamda bazı maddelerle kompleks yapmaları ve sulu çözeltilerinde self-asosiyasyona uğramalarıdır.

Kafeinin; sodyum salisilat, sodyum asetat, sodyum benzoat (13-15), benzoik asit (16,17), aspirin, p-hidroksibenzoik asit, m-hidroksibenzoik asit, salisilik asit, sodyum salisilat, butil paraben (18), sülfatiazol, sülfadiyazin, p-aminobenzoik asit, benzokain, fenobarbital, barbital (19), pikrik asit, o-ftalik asit, suberik asit ve valerik asit (20) ile yaptığı komplekslere ilişkin birçok çalışmalar vardır. Kafein, sülfatiazol, sülfadiyazin ve aspirinle yaptığı komplekslerinde bu maddelerin çözünürlüğünü artırırken, sodyum benzoat, sodyum salisilat ve sodyum asetatla yaptığı komplekslerde ise kendisinin sudaki çözünürlüğünü artırmaktadır. Kafeinin çözünürlüğünü artıran kompleksler ve preparatlar U.S.P. XVIII, T.K. 1948, T.F. 1974 gibi bazı farmakopelere de girmiştir.

Kafeinin başka maddelerle yaptığı kompleksler dışında kendi molekülleriyle de asosiyasyon kompleksleri yaptığı ve sulu çözeltilerinde monomer, dimer ve tetramerler halinde bulunduğu gösterilmiştir. Monomerlerden polimerlere geçişin dönüşümlü olduğu da aynı çalışmada belirtilmiştir (21). Kafein sulu çözeltilerinin termodinamiğini inceleyen daha pekçok araştırma (22-24) varsa da konumuzla doğrudan ilgili olmadıklarından bunların ayrıntılarına burada inilmemiştir.

Yine araştırmamızla dolaylı olarak ilgisi olan bir konu da "deri" dir. Bu araştırmada kullanılan zar bir canlı derisi olmayıp sentetik bir zar olmasına karşın, sonuçta formülasyonu yapılacak kafein merhemi atopik dermatit olarak bilinen bir deri hastalığının tedavisinde kullanılacağı için, değişik yönleri bakımından derinin kısaca incelenmesi yerinde olacaktır.

I.2. Deri (25,26)

Deri vücudun koruyucu örtüsünü oluşturan çok tabakalı bir organdır. Tabakalarına göre; epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç kısımda incelenir.

Epidermis, derinin en dış tabakası olup, topik preparatların uygulama bölgesidir. Yüzeyi "sebum" denilen, değişik gliseritler, serbest yağ asitleri, mumları, squalen ve kolesterolden oluşan bir karışımın terle yaptığı kesikli bir yüzey filmi ile örtülüdür. Bu filmin pH'sı asidiktir ve vücut bölgelerine göre 4,5'dan 6,5'a kadar değişir. Buna derinin "Asit Mantosu (Acid Mantle)" da denir.

Epidermis, histolojik açıdan beş tabakadan oluşmuştur. En dışta stratum corneum (boynuzsu tabaka), daha iç kısımlara doğru stratum lucidum (engel tabaka), stratum granulosum (granüler tabaka), stratum spinosum (iğsi hücre tabakası) ve stratum germinativum (doğurgan tabaka) olarak dizilen tabakalardan perkütan absorpsiyon açısından en önemli olanı stratum corneumdur.

Stratum corneum veya boynuzsu tabaka olarak da adlandırılan bu tabaka; düzleşmiş, çekirdek taşımayan, ölü, keratinize hücrelerden oluşmuştur. Yüzeyindeki ölü hücreler döküldükçe stratum germinativum (doğurgan tabaka) tarafından oluşturulan hücrelerin yüzeye çıkıp, şekil ve yapılarının değişmesi ile sürekli olarak yenilenir. İnce, zarsı yapıda bir tabakadır. Kalınlığı vücudun bazı bölgelerinde 10-15µm iken ayak tabanı ve avuç içinde 600 ile 800 µm arasında değişebilir. Bileşiminin yaklaşık % 85'ini protein, % 7-9'unu doymuş ve doymamış serbest yağ asitleri ve esterleri, trigliseritler, kolesterol, % 6-8'ini mukopolisakkaritler, karbonhidratlar, müsinler, lipoaminoasitler oluşturur. Derinin engel oluşturma işlevi olarak bilinen, suyun içerden dışarıya çıkmasını ve dışardan da içeriye girmesini kontrol özelliğinin hemen hemen tümünü stratum corneum yüklediği için topik olarak uygulanan preparatlardan etken maddenin deriden penetrasyonu ve absorpsiyonunda bu tabaka en önemli rolü oynar.

Epiderminin hemen altı olan dermis, gerçek deri olarak da adlandırılır. Morfolojik yapıları farklı olmasına rağmen epidermis ve dermis tek bir yapı oluşturacak şekilde sıkıca bağlanmışlardır. Kan damarları, lenf damarları, kıl folikülleri, yağ bezleri, ter bezleri, kas ve sinir lifleri bu tabakada bulunur. Dermisin fibröz ve esnek özelliği deriye kuvvet ve esneklik kazandırır.

Hipodermis (subkütan tabaka) bazen ayrı bir birim olarak incelenmesine rağmen çoğunlukla dermisin bir parçası olarak ele alınır. Yağ hücreleri ve fibröz dokudan oluşan bir tabakadır.

I.2.1. Deride Görülen Anomaliler

Derinin normal yapı ve fonksiyonlarının hastalık veya dış etkenlerle bozulması sonucunda geçirgenliğinde önemli değişiklikler olabilir. Örneğin, aşırı keratinizasyon st.corneumu kalınlaştırıp perkütan absorpsiyonu azaltırken, yanık, kesik, çizik gibi etkenler ve ekzema, dermatit gibi hastalıklar absorpsiyonu artırır. Epidermisi tahrip eden hastalıklar ve yaralanmalar, derinin engel işlevini büyük ölçüde değiştirirler veya tümüyle yok edebilirler (27).

Deri hastalıkları arasında en çok görülenler değişik tip ekzema ve dermatitlerdir. Atopik dermatit de kaşıntılı bir deri hastalığı olup, tedavisi zor fakat araştırma yönünden ilginç bir konudur.

I.2.1.1. Atopik Dermatit

Derideki bu patolojik durum Amerikalı doktorlar tarafından "allerjik dermatit", "allerjik ekzema" veya "nörodermatit" olarak adlandırılmasına karşın, Avrupalılar "prurigo Besnier" terimini kullanmaktadırlar (28).

Atopi (Atopy) terimi 1925'de Coca tarafından ortaya atılmış olup, aşırı duyarlılığa karşı kalıtsal eğilimin olması demektir. Ekzema, astım, allerjik rinit (rhinitis) ve ürtiker atopik hastalıklar sınıfına girerler (29).

Atopik dermatit; bebeklik ekzeması, çocukluk ekzeması ve yetişkin atopik ekzeması olmak üzere üç grupta incelenir(29,30).

I.2.1.1.1. Bebeklik Ekzeması

2 aylıktan 2 yaş grubuna kadar olan bebeklerin yanaklarında kızarıklıklarla başlar. Kızarıklıklardaki küçük epidermal veziküllerin (kabarcıkların) parçalanmasıyla sızıntılı kabuklanmış bölgeler oluşur. Bu belirtiler hızla baş derisi, boyun, alın, kollar, bacaklar ve bileklere yayılır. Kaşıntı başlıca belirtisidir. Bu ekzemanın sızıntılı, seboreik ve kuru tipleri vardır. Genellikle 2 yaşın sonuna doğru bu semptomlar kaybolur.

I.2.1.1.2. Çocukluk Ekzeması

Vücudun aynı bölgelerinde görülür. Sızıntı azalmıştır. Yerini kuru ve daha papüler (küçük sert kabarcıklar) bir yapı almıştır. Kaşıntı yine vardır ve derinin sıyrılmasına, çizilmesine neden olur. Bu da likenifikasyonu yani derinin sertleşmesini, kalınlaşmasını ve sekonder enfeksiyonları uyarır. Kaşıma uyarısı hastanın kontrolü dışındadır. Lokal tedavinin amacı, esas olarak bu kaşıntıyı hastanın dayanabileceği bir düzeye indirmektir.

I.2.1.1.3. Yetişkin Atopik Ekzeması

Boyun, alın, göz çevresi, eller, bilekler, diz ve dirseklerin iç kısmında görülür. Esas lezyonlar; kuru, hafif kabarık, tepesi düz papüller halindedir. Bu papüller birleşerek sertleşme ve hafif pulsu plaklar oluşturma eğilimindedirler. Kaşıntı nedeniyle bu plaklar sızıntılı hale gelebilir veya enfekte olabirler.

Birçok allerjik durumda olduğu gibi, kişi büyüdükçe hastalığın şiddeti azalır ve orta yaştan sonra ender görülür.

Genel olarak atopik dermatitin her üç devresinde deride kaşıntı, su toplama ve kabuklanma görülmektedir.

I.2.1.2. Atopik Dermatitin Tedavisi

Bu hastalığın tedavisinde öncelikle diyet ve allerjiye, neden olabilecek çevre faktörleri kontrol altına alınmaktadır. Dahili tedavide antihistaminikler ve kortikosteroidler kullanılmaktadır.

Topik tedavi için ise, Burow çözeltisi, Alibour çözeltisi, 1/5000'lik potasyum permanganat çözeltisi, katran merhemleri, antihistaminik merhemler, krem, merhem, aerosol veya losyon tipindeki topik kortikosteroid preparatları kullanılmaktadır (29). Fakat uzun süreli kullanım için antihistaminikler, kortikosteroidler ve katran preparatları uygun değildir. Katran merhemlerinin

irritasyon gibi yan etkilerinden başka karsinojenik özelliklerinin de olması (31), kortizonlarla deri atrofisi, pigmentasyon bozukluğu, steroid akne ve genel yan etkilerinin görülmesi (32) tedavide daha değişik maddelerin denenmesine neden olmaktadır.

Kafein, atopik dermatit tedavisinde etkinliği araştırılan maddelerden biridir. Kaplan ve arkadaşları hidrofilik merhem sıvağı içinde önce % 10 (7), daha sonra % 30 kafein (8) içeren merhemlerin atopik dermatitli hastalarda olumlu sonuçlar verdiğini gözlemişlerdir. Daha sonraki çalışmalarında hidrofilik merhem sıvağında % 30 kafein ve % 0.5 hidrokortizon karışımı içeren merhem, yalnızca % 0.5 hidrokortizon içeren merhemden daha üstün olduğunu ve % 0,1 betametazon valerat kremi ile aralarında önemli bir fark olmadığını göstermişlerdir (9).

Kafeinin atopik dermatiti tedavi edici etkisini Siegel ve arkadaşları (10) epidermis ve subkütan dokudaki suyu serbestleştirerek hidrokortizonun çözünmesine yardım etmesine bağlamaktasalar da Kaplan ve arkadaşları CAMP'yi 5'AMP'ye parçalayan, hem normal hem de atopik deride bulunan siklik nükleotid fosfodiesteraz enzimini (33,34) inhibe ederek CAMP'nin deri düzeylerini artırmaya bağlamaktadırlar (7-9).

Merhem içindeki kafeinin bu etkisini gösterebilmesi için önce merhem sıvağından bırakılması, daha sonra deriden penetrasyonu ve absorpsiyonu gerekmektedir. Atopik dermatitli deride yer yer görülen su dolu kabarcıklar ve kabuklanmalar perkütan absorp-

siyonu hem olumlu hem de olumsuz yönde etkilemesine rağmen sonuç olarak absorpsiyon mutlaka gerçekleşmektedir. Bu araştırmada esas olarak incelenen konu kafeinin değişik merhem sıvağlarından *in vitro* difüzyonu olmakla birlikte perkütan absorpsiyonu etkileyen faktörler hakkında da çok kısa bir bilgi verilmesine çalışılmıştır.

I.3. Perkütan Absorpsiyon ve Perkütan Absorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Perkütan absorpsiyon; etken maddenin sıvağından salıverilmesi, açığa çıkan maddenin deriye penetre olması ve daha sonra da dolaşım sistemine geçmesine verilen addır. Buna deri yolu ile absorpsiyon da denir.

Perkütan absorpsiyona, tanımından da anlaşılacağı gibi etken madde, sıvağ, deri ve dolayısıyla denek cinsine ait birçok faktör etki etmektedir. Bu faktörler daha sonra I.4.4. de *in vitro* ilaç salıverilmesini etkileyen faktörler başlığı altında daha geniş olarak inceleneceği için bu bölümde yalnızca literatürdeki *in vivo* deneylere ait bulgular incelenecektir.

Perkütan absorpsiyonu etkileyen faktörlerin başında ilacın partiyon katsayısı gelmektedir. Genellikle ilacın yağ/su partiyon katsayısı arttıkça perkütan absorpsiyonu da artmaktadır (35-37). Fakat kafein gibi, incelenen diğer maddelere göre daha düşük partiyon katsayısına sahip olan bir maddenin kolayca

absorplanmasının (38,39) nedeniyse, Katz ve Shaikh (35), Stoughton ve Clendenning (40)'in öne sürdükleri "bir maddenin kolay penetre olabilmesi, partiyon katsayısının yanısıra maddenin su ve lipidlerdeki mutlak çözünürlüğüne de bağlıdır" görüşü ile açıklanmaktadır. Çünkü kafein kloroform gibi organik çözücülerde sudaki kadar çok çözünen bir maddedir (38).

Etken maddenin konsantrasyonu da perkütan absorpsiyona etki etmektedir. Perkütan absorpsiyon hızının etken madde konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak arttığını gösteren sonuçlar olduğu gibi (41), herhangi bir değişikliğin gözlenmediği sonuçlar da vardır (36,42).

Etken maddenin partiyon katsayısı ve konsantrasyonu, perkütan absorpsiyona etki eden faktörlerden ilaca ait olanlarıdır. Absorpsiyonu etkileyen diğer faktörlerden bazıları da sıvağa ait özelliklerdir. Sıvağın tipi, perkütan absorpsiyonu en fazla değiştirebilen faktörlerden biridir. Bir ilacın değişik sıvağlardaki çözünürlüğü, partiyon katsayısı, difüzyon katsayısı gibi özellikleri farklı olduğu gibi, sıvağların fizikokimsayal özelliklerinden dolayı deri üzerindeki etkileri de değişik olmaktadır. Bu nedenle kömür katranı (31), metil salisilat (41), etil aminobenzoat (42) ve salisilik asidin (43) merhem sıvağlarından absorpsiyonları, sıvağların fizikokimyasal özelliklerinin değişikliği nedeniyle farklı bulunmuştur.

Sıvağ tipinden başka, sıvağa ait diğer bir özellik de pH'dır. Özellikle asidik ve bazik ilaçların perkütan absorpsiyonlarının

sıvağ pH'sından etkilenmelerinin nedeni, birçok ilacın perkütan absorpsiyonunun iyonize olmamış şeklinin lipoidal bir engelden pasif difüzyonla geçişiyle ilgilidir. Bu durum, asidik ve bazik ilaçların iyonize olmamış şekillerinin buldukları pH'larda deriden absorpsiyonlarının daha fazla olması ile kanıtlanmıştır (36,44).

Perkütan absorpsiyonu artırmanın diğer bir yolu da, formüle yüzey aktif maddelerin ve yardımcı çözücülerin eklenmesidir. Fakat yüzey aktif eklenmesinin her zaman olumlu sonuç vermediği, etken madde ve yüzey aktif maddelerin tipine göre absorpsiyonun bazen azaldığı veya değişmediği Stolar ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (45). Yardımcı çözücü olarak en çok kullanılan maddelerden biri dimetil-sülfoksit (DMSO)'tir. Bu maddenin absorpsiyonu artırıcı etkisinin etken maddeyi çözünürleştirmesinin yanı sıra deri üzerindeki direkt etkisinden de ileri geldiği düşünülmektedir (44). DMSO'nun, kafeinin perkütan absorpsiyonunu da artırdığı bilinmektedir (39).

Perkütan absorpsiyon inceleme çalışmaları deney hayvanları ve insan derileri üzerinde yapıldığı için denek cinsi (38,46), bölgesel farklılıklar (47) ve derinin fiziksel durumu (41) da absorpsiyonu önemli ölçüde etkileyen faktörlerdendir.

Bu faktörlerden hemen hemen hepsi, merhemlerden *in vitro* ilaç salıverilmesini de etkiledikleri için I.4.4. de bu başlık altında daha geniş olarak inceleneceklerdir.

I.4. Topik Olarak Kullanılan Farmasötik Şekiller

Bu amaçla genellikle çözelti, süspansiyon, emülsiyon ve merhem tipi preparatlar kullanılmaktaysa da deri üzerinde kalıcı olmaları, istenen sürede istenen etkiyi sağlamaları ve daha çok alışılmış bir farmasötik şekil olmaları nedeniyle merhemler, topik uygulamada en fazla kullanılan preparatlardandır.

I.4.1. Merhemler

Deriye ovularak kolayca sürülebilecek kıvamda, haricen kullanılan yarı-katı preparatlardır. Topik uygulamada etken maddeleri taşıyıcı görevi yaptıkları gibi, sıvağların kendilerinin de koruyucu ve yumuşatıcı özellikleri olabilir. Bu özellikler sıvağın tipine göre değişir. İyi hazırlanmış bir merhem hem tedavi edici etkinliği, hem de kozmetik açıdan kabul edilebilirliği olmalıdır. Bu nedenle formülasyonda kullanılacak merhem sıvağının seçimi önemlidir. Sıvağ seçiminde ilacın çözünürlüğü, stabilitesi, sıvağlardan salıverilme ve deriden absorpsiyon derecesi, hastalığın tipi göz önüne alınarak en uygun seçim yapılmalıdır.

Uzun seneler merhemler tanımları gereği, yağlı maddeler ve bunların karışımlarının kullanılması ile sınırlandırılmışlardır. Bugün ise yağlı maddelere ek olarak, aynı viskozitede ve daha fazla etkinlik gösterebilen fakat görünüşleri ve yapıları tümüyle farklı yapılar da bu sınıfa girmişlerdir.

Merhem sıvağlarının çok değişik şekillerde sınıflandırılmalarına rağmen en çok kullanılanı U.S.P. XVIII'in sınıflandırmasıdır. Bu sınıflamada merhem sıvağları yapıları ve özelliklerine göre hidrokarbon sıvağları, absorpsiyon sıvağları, suyla yıkanabilen sıvağlar ve suda çözünen sıvağlar olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Her sınıfın ana özellikleri kısaca aşağıda incelenmiştir (26,48,49).

I.4.1.1. Hidrokarbon Sıvağları

Bu sıvağlara "yağlı sıvağlar" adı da verilmektedir. En önemli özellikleri su içermemeleri, hidrofobik olmaları, bu nedenle kolayca su absorplamamaları, dolayısıyla suda çözünmemeleri ve deri üstüne sürüldüklerinde su ile kolayca yıkanıp uzaklaştırılmamalarıdır. Vazelin ve beyaz merhem bu grubun tipik örnekleridir. Vazelin; kıvamı, nötr-oluşu ve deri üzerine kolayca sürülebilmesi nedenleriyle çok kullanılan merhem sıvağlarının başında gelir. Grubunun genel özelliği gereği suyla uzaklaştırılmadığı için deri üzerinde örtücü bir film bırakır. Bu film, deriden terin buharlaşarak uzaklaşmasını önlediği için deriyi daha hidrate bir duruma getirir ve stratum corneumun geçirgenliği artar. Bu gruptaki sıvağların deriyi yumuşatıcı özellikleri kullanılışlarındaki tercih nedenlerinden biridir.

I.4.1.2. Absorpsiyon Sıvağları

Bu grup sıvağlar da, su/yağ (s/y) emülsiyonları hariç, su içermezler, fakat hidrofiliktirler ve su absorplarlar. Absorpsiyon

sıvağları suda çözünmezler ve çoğunlukla deriden su ile uzaklaştırılamazlar.

Bu sıvağlar iki grup altında incelenmektedir. Bunlardan ilki anhidr lanolin, hidrofilik vazelin gibi sulu çözeltilerin ilâvesinde s/y emülsiyonları oluşturan anhidr şekiller, diğeri ise s/y emülsiyonlarıdır. s/y emülsiyonları yapılarında su içerirler ve daha fazla sulu çözeltiliyi özellikleri değişmeden yapılarında tutabilirler. Lanolin ve kold krem (cold cream) bu gruba örnek olarak verilebilir.

Absorpsiyon sıvağları deri üzerinde yağlı bir film bıraktıkları için yumuşatıcı özellikleri nedeniyle kullanılırlar.

I.4.1.3. Suyu Yıkayabilen Sıvağlar

Genellikle krem olarak adlandırılan yağ/su (y/s) emülsiyon tipi sıvağlardır. Yapıları gereği su içerirler ve su absorplayabilirler, suda çözünmezler fakat suyla yıkanarak deriden uzaklaştırılabilirler. Yapılarındaki suyun buharlaşmasından sonra uygulama yerinde yarı geçirgen bir film bırakırlar. En önemli avantajlarından biri, seröz salgıları kolayca absorplamalarıdır. Bu sıvağ grubunun en bilinen örneği hidrofilik merhemdir.

I.4.1.4. Suda Çözünen Sıvağlar

Yağsız merhem sıvağları da denilen bu grup sıvağlar yapılarında su içermezler fakat su absorplama, suda çözünme ve

suyla yıkanarak uzaklaştırılabilme yetenekleri vardır.

Yüksek molekül ağırlıklı katı polietilen glikoller ile düşük molekül ağırlıklı sıvı polietilen glikollerin uygun oranlarda karıştırılmaları ile istenen viskozitede merhem sıvağları elde edilir. Deri üzerindeki örtücü etkilerinin s/y emülsiyon sıvağlarından daha az olmasına rağmen, deri salgıları ile kolayca karışabilmeleri ve suyla uzaklaştırılabilmeleri bu sıvağların avantajlarıdır. Polietilen glikol sıvağların etken maddeler ile geçimliliği ve etken maddeyi salıverme özellikleri kullanılmadan önce dikkatle incelenmelidir.

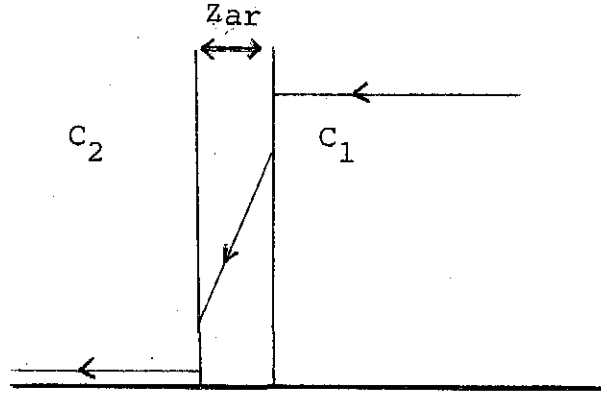
Polietilen glikol sıvağlardan başka kitre, pektin, aljinatlar, metil selüloz ve karboksi metil selüloz gibi maddelerle hazırlanan sulu jeller de bu sıvağ grubuna girmektedirler.

Özellikleri birbirlerinden bu kadar farklı olan sıvağlar merhemlerden etken madde salıverilmesinde önemli rol oynarlar. Kullanılan etken maddelerin fiziksel ve fizikokimyasal özellikleri birinden diğerine çok değişken olduğundan, ilacın en fazla salıverildiği sıvağın saptanması, önceden araştırma yapılmaksızın karar verilmemesi gereken bir konudur.

Bu konuda yapılan deneysel çalışmaların yanısıra merhemlerden etken madde salıverilmesini teorik olarak inceleyen eşitlikler geliştirilmekte ve bunların deneysel verilere uygunluğu araştırılmaktadır.

I.4.2. Merhemlerden Etken Madde Salıverilmesinin Matematiksel İncelenmesi

Biyolojik zarlardan ilaçların penetrasyonu ve absorpsiyonu genellikle pasif difüzyonla olur. Pasif difüzyon, etken maddenin konsantrasyonunun yüksek olduğu bölgeden düşük olduğu bölgeye geçişidir ve Fick'in birinci yasasıyla tanımlanır. Bu yasaya göre ilacın zardan difüzyon hızı ($\frac{dC}{dt}$), zarın iki tarafındaki konsantrasyon farkı (ΔC) ile orantılıdır ve Eşitlik 1 ile gösterilir (50).



ŞEKİL -1 : FICK YASASININ ŞEMATİK GÖRÜNÜMÜ

$$- \frac{dC}{dt} = k_a \Delta C = k_a (C_1 - C_2) \quad \text{Fick Yasası} \quad (1)$$

$\frac{dC}{dt}$: ilacın zardan difüzyon hızı

ΔC : Zarın iki tarafındaki C_1 ve C_2 ilaç konsantrasyonları arasındaki fark

k_a : Etken maddenin difüzyon katsayısına, zarın kalınlığına, alanına ve ilaca karşı geçirgenliğine bağlı olan orantı sabitesidir.

Perkütan absorpsiyon pasif difüzyonla olduğu için, merhemlerden ilaç absorpsiyonunu belirten eşitlikler de Fick yasasından türetilmiştir (51). Bu konuda Higuchi (52)'nin çözülmüş halde ve süspansiyon halinde etken madde içeren merhemlerden absorpsiyonu matematiksel olarak açıklayan iki eşitliği vardır. Sentetik zarlardan ilaç geçişinin de Fick yasasına göre olduğu gösterildiğinden (53), bu eşitlikler hem biyolojik zarlardan ilaç penetrasyonunun ve absorpsiyonunun, hem de sentetik zarlardan etken madde geçişinin matematiksel tanımı için kullanılmaktadır.

I.4.2.1. Çözelti Tipi Merhemlerden Etken Madde Salıverilmesi

Etken maddenin sıvağ içinde tümüyle çözüldüğü merhemlerden difüzyon; ilacın başlangıç konsantrasyonu, difüzyon katsayısı, merhem tabakasının kalınlığı ve uygulama süresinin bir fonksiyonudur.

Çözelti tipi merhemlerden etken madde difüzyonu için Higuchi (52) tarafından geliştirilen Eşitlik 2, daha sonra Higuchi (51) tarafından basitleştirilerek Eşitlik 3 şeklini almıştır.

$$Q = hC_0 \left[1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{m=0}^{\infty} \frac{1}{(2m+1)^2} e^{-\frac{D(2m+1)^2 \pi^2 t}{4h^2}} \right] \quad (2)$$

Q : t zamanında birim alandan salıverilen etken madde miktarı.

h : Uygulanan merhem tabakasının kalınlığı

C₀ : Etken maddenin başlangıç konsantrasyonu

D : İlacın sıvağ içindeki difüzyon katsayısı

t : Difüzyon süresi

Eşitlik 2'nin daha basit ve pratikte en çok kullanılan şekli Eşitlik 3'dür.

$$Q = 2C_0 \sqrt{\frac{Dt}{\pi}} \quad (3)$$

Q : t zamanında birim alandan salıverilen etken madde miktarı (g/cm²)

C₀ : Etken maddenin merhem içindeki başlangıç konsantrasyonu (g/cm³)

D : Ilacın merhemdeki difüzyon katsayısı (cm²/sn)

t : Zaman (sn)

Bu formülden birim zamanda salıverilen etken madde miktarının; merhem başlangıç konsantrasyonu ve maddenin difüzyon katsayısının ve zamanın kareköküyle orantılı olduğu görülmektedir.

I.4.2.2. Süspansiyon Tipi Merhemlerden Etken Madde Salıverilmesi

Süspansiyon halinde çok ince etken madde partikülleri içeren merhemlerden difüzyon ve absorpsiyon; etken maddenin merhemdeki konsantrasyonu, çözünürlüğü, difüzyon katsayısı ve difüzyon zamanının bir fonksiyonudur ve Higuchi (52,54) tarafından aşağıdaki eşitlikle ifade edilmiştir.

$$Q = \sqrt{Dt (2A - C_s) C_s} \quad (4)$$

Q : t zamanında birim alandan absorbe olan etken madde miktarı

A : Etken maddenin merhemdeki konsantrasyonu (birim/cm³)

C_s : Etken maddenin merhem dış fazındaki çözünlüğü
(birim/cm³)

D : Etken madde molekülünün dış fazdaki difüzyon katsayısı

t : Zaman

Genellikle süspansiyon tipi merhemlerde ilacın çözünlüğü, merhemdeki konsantrasyonundan çok küçük (C_s « A) olduğu için, Eşitlik 4 daha basitleştirilerek Eşitlik 5'teki şeklini alır.

$$Q = \sqrt{2ADC_s t} \quad (5)$$

Bu eşitliğe göre süspansiyon tipi merhemlerden etken madde salıverilmesi; birim hacımda bulunan ilaç miktarının, ilacın difüzyon katsayısının, çözünlüğüne ve zamanın kareköküyle orantılıdır. Burada beklenenin tersine difüzyonun, merhemdeki ilaç konsantrasyonu ile doğrudan bir ilişkisi yoktur.

Süspansiyon tipi merhemlerden ilaç bırakılma hızı Eşitlik 5'teki A, D ve C_s'nin kontrolü ile ayarlanabilir. Örneğin C_s; pH değişikliği, yardımcı çözücü veya kompleks yapıcı madde ilavesiyle değiştirilebilir, D; sıvağın mikroskopik viskozitesi ile ters orantılı olduğu için bu yolla değiştirilebilir, A ise çok daha kolay değiştirilerek etken maddenin difüzyon hızı ayarlanabilir.

I.4.3. Etken Maddenin Merhem Sıvağlarından Difüzyonunu İnceleme Yöntemleri

Eşitlik 2,3 ve 4'den de anlaşıldığı gibi zamana karşı absorbe olan veya salıverilen madde miktarının saptanması o maddenin merhemden difüzyonu veya absorpsiyonu hakkında fikir vermektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalar *in vivo* ve *in vitro* yöntemler olarak iki grup altında incelenmektedir.

I.4.3.1. *In Vivo* Yöntemler

Bu çalışmalarda merhem canlı hayvan veya insan derisine uygulandıktan sonra etken maddenin deriye penetrasyonu ve absorpsiyonu değişik yöntemlerle saptanmaktadır. En çok kullanılan yöntem, idrar ve kan örneklerinde etken maddenin miktar tayinini yapmaktır. Etken madde radyoaktif işaretli ise radyoaktif yöntemle (38,55), işaretli değilse uygun bir analitik yöntemle miktar tayini yapılır. Örneğin salisilatların perkütan absorpsiyonu genellikle kandaki miktarları üzerinden yapılmaktadır (41,43,44,45). Merhemin uygulandığı deri bölgesinin veya etken maddenin bazı organlara olan ilgisi nedeniyle, biriktiği organın çıkarılıp incelenmesi de *in vivo* yöntemlerden biridir (56). Etken maddenin denekte gösterdiği biyolojik reaksiyondan yararlanılarak da absorpsiyon hakkında bilgi edinilebilir. Örneğin, kortikosteroidlerin perkütan absorpsiyonları önkolda vazokonstrüksiyon yapma (35), nikotinik asit ve türevlerinin absorpsiyonu ise vazodilatasyon yapma (40) özelliklerinden yararlanılarak incelenmektedir.

In vivo yöntemler daha fazla çeşitlilik göstermekle birlikte uygulanmalarındaki zorluk, pahalılık, denek bulmaktaki güçlük nedenleri ile, perkütan absorpsiyonu incelenecek olan etken maddenin uygunluğu önce *in vitro* yöntemlerle saptanmakta ve ancak bundan sonra *in vivo* absorpsiyon çalışmalarına geçilmektedir.

I.4.3.2. *In vitro* Yöntemler

Merhemlerden etken madde difüzyonunun incelenmesinde en çok kullanılan *in vitro* yöntemler agar jeli yöntemleri, kromatografik yöntem ve difüzyon yöntemleridir.

I.4.3.2.1. Agar Jeli Yöntemleri

Bu yöntemin aslı, bir agar jeline uygun şekilde merhem uygulanması ve etken maddenin difüzyonunun yöntemine özgü yollarla saptanmasıdır. Difüzyon derecesinin saptanması genellikle, mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel yöntemlerle yapılmaktadır.

I.4.3.2.1.1. Mikrobiyolojik Yöntem

Bu yöntemin aslı, mikroorganizma ile aşılınmış agar jelinin belli yerlerinde açılan boşluklara konan merhemdeki etken maddenin salıverilmesi sonucu yüzeydeki mikroorganizma üremesini durdurabilme yeteneğinin ölçülmesidir. Özellikle antibiyotik, antimikotik ve antibakteriyel maddeler için kullanılan bir yöntemdir.

5-Fluorositozin ve tolnaftat (57), sülfanilamid, salisilik asit, iyot ve klortetrasiklin (56), benzoik asit ve salisik asit (58), polimiksin, basitrasin, ve neomisin (59)'in değişik sıvağlardan difüzyonları ve difüzyona etki eden bazı faktörler bu yöntemle incelenmiştir.

I.4.3.2.1.2. Kimyasal Yöntem

Bu yöntemde hazırlanan agar jeli içine difüzyonu incelenecek etken madde ile reaksiyona girerek renk veren bir reaktif eklenir. Etken maddenin difüzyonu sonucu meydana gelen renkli halka veya bandın genişliğinden etken maddenin difüzyon derecesi saptanır.

Literatürde, iyodun nişasta ile verdiği mor, sülfanilamid veya sülfatiazolün Ehrlich's reaktifi ile verdiği sarı, benzoik asit ve salisilik asidin demir-3-klorür ile verdiği menekşe renkli banda dayanarak yapılan kimyasal difüzyon çalışmaları vardır (56,60,61,62).

Ayrıca, kitre jellerinin agar jelleri yerine difüzyon ortamı olarak kullanılabileceği de bu yöntemle gösterilmiştir (63).

I.4.3.2.1.3. Fiziksel Yöntem

Etken maddesi boyar madde olan merhemlere uygulanan bir yöntemdir. Etken maddesi akrinol olan bir merhem in difüzyonu, zamanla yayılan maddenin jel üzerinde oluşturduğu renkli halkanın çapı ölçülerek incelenmiştir (64).

Literatürde çok rastlanan yukardaki üç yöntemin dışında, U.V. ışığında fluoresans veren maddelerin agar jeline difüzyonunun saptanmasında fluoresans yönteminin (65) ve radyoaktif etken maddeler için radyoaktif yöntemin (66) kullanıldığı da görülmektedir.

Agar jeli yöntemlerinin en önemli dezavantajı, etken maddenin yalnızca halka veya bant oluşturduğu bölgede değil, tüm agar jeli ortamı içinde de dağılması ve böylece halka oluşması gereken bölgede ilaç konsantrasyonunun bakteriyostatik etki veya renk oluşturacak konsantrasyonun altına düşmesi ile maddenin tam açığa çıkış özelliğini yansıtmayan küçük bir halka görülmesidir.

I.4.3.2.2. Kromatografik Yöntem

Bu yöntem Izgü ve Lee (67) tarafından geliştirilmiştir. Etken madde ile renk veren bir reaktif emdirilmiş filtre kağıdı,

bir petri kutusu kapağına yerleştirilir. Yaklaşık 1 cm. derinliğinde ve genişliğinde cam bir silindire merhem konur. Daha sonra bu silindir filtre kağıdının merkezine yerleştirilir. Filtre kağıdını ve merhemi taşıyan petri kutuları ağızları açık olarak, alt bölümünde su bulunan bir desikatöre konur. Oda sıcaklığında, açığa çıkan etken maddenin reaktifle verdiği renkli halkanın genişliği belli zaman aralıklarıyla incelenerek, merhem sıvağlarının karşılaştırılması yapılabilir.

Chandra ve arkadaşları da değişik ilaçların PEG sıvağdan bırakılmalarına DMSO'nun etkisini; mikrobiolojik agar difüzyonu, kimyasal difüzyon ve dializ hücresinden difüzyon yöntemlerinin yanısıra filtre kağıdı yöntemiyle de incelemişlerdir(68).

I.4.3.2.3. Difüzyon Yöntemleri

Bu yöntemde özel bir hücre içine konan merhemden etken maddenin Fick yasasına göre difüzyon ortamına geçişi, difüzyon ortamından belli zaman aralıklarıyla alınan örneklerde etken madde miktarının saptanmasıyla incelenir.

Difüzyon yöntemleri en çok kullanılan *in vitro* yöntemlerdir. Daha önce anlatılan diğer yöntemlere üstünlüğü, her türlü etken maddeye uygulanabilmesi, sonuçlarının kantitatif, kesin ve küçük zaman aralıklarındaki farklılığı saptayacak kadar hassas olmasıdır.

Difüzyon yöntemleri, zarsız ve zardan difüzyon olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilir.

I.4.3.2.3.1. Zarsız Difüzyon

Bu yöntemde, difüzyonu incelenecek merhem bir saat camına (69), şişe kapağına (70) veya petri kutusu kapağına (71-73) konur, yüzeyi iyice düzleştirildikten sonra içinde difüzyon ortamı bulunan kabın tabanına yerleştirilir. Jurgens ve Becker (73), içinde merhem bulunan petri kutusunun ağzına paslanmaz çelikten bir elek geçirerek, bu difüzyon kabını ters çevirip difüzyon ortamının içine asmışlardır. Bu yöntemde, merhemle difüzyon ortamını ayıran bir zar bulunmadığı için, en büyük sorun merhemi kap içinde tutabilmektir. Ayrıca merhem ile difüzyon ortamının karışmaması için genellikle yağlı sıvağlarla sulu difüzyon ortamları (70,72,73), sulu jel tipi sıvağlarla ise yağlı difüzyon ortamları (71) kullanılır. Zarsız difüzyonun tek avantajı, zar etkisinin ortadan kaldırılmış olmasıdır.

I.4.3.2.3.2. Zardan Difüzyon

Bu yöntemde, difüzyon hücresi içindeki merhemle difüzyon ortamı sentetik bir zar veya hayvan derisi ile birbirlerinden ayrılır.

Bu amaçla yapı ve şekilleri birbirinden farklı olan çeşitli difüzyon hücreleri kullanılmaktadır, fakat yöntem genellikle hep aynıdır. Özel bir difüzyon hücresine konan merhemin, yüzeyi düzeltildikten sonra yarı geçirgen bir zarla örtülüp, sabit sıcaklıktaki su banyosunda tutulan difüzyon ortamı çözeltilisine daldırılması kuralına dayanır. Belli zaman aralıklarıyla

difüzyon ortamından alınan örneklerde etken madde miktarı saptanarak merhemden etken maddenin salıverilmesi incelenir.

Bazı araştırmacılar merhemlerin zardan difüzyonunu incelemek için özel difüzyon hücreleri hazırlamışlardır. Örneğin, Bottari ve arkadaşları salisilik asit merhemleriyle yaptıkları çalışmada paslanmaz çelikten bir hücre geliştirmişler(74), daha sonra bu hücreyi tümüyle polimetil metakrilat (Plexiglas)'dan yapmışlardır(75). Mutimer dializ hücresi (76) de orijinal veya biraz değiştirilmiş şekliyle literatürde sıklıkla görülen bir hücre tipidir (77-80). Diğer difüzyon hücrelerinden farkı difüzyon ortamını oluşturan çözeltinin de hücre içinde olmasıdır. Aralarında zar bulunan bölmelerden birine merhem diğerine difüzyon ortamının konulduğu iki bölmeli difüzyon hücrelerinden (81,82) başka, sulu bir ortamdaki etken maddenin yarı-katı bir fazdan geçerek başka bir sulu ortama ulaşmasını incelemek için üç bölmeli bir hücre daha geliştirilmiştir (83). Literatürde daha başka şekillerde özel olarak yapılmış difüzyon hücreleri de görülmektedir (84-88).

Bu özel şekilli hücreleri sağlamak olanağı her zaman bulunamadığı için, genellikle daha basit ve kolay bulunabilir tipte difüzyon hücreleri kullanılmaktadır. Plakogiannis ve Yaakob (89) metil salisilatın merhem sıvağlarından salıverilmesini incelerken 1 onzluk* merhem kavanozlarını difüzyon hücresi olarak kullanmışlardır.

*) 1 onz (ounce) = 2.83495×10^{-2} kg.

Merhemlerden etken madde difüzyonunu inceleyen diğer çalışmalarda York ve Saleh (90) 3.12 cm. çapında, 0.62 cm. derinliğinde çelik kaplar, Hincal (91) 2.8 cm. çapında, 8 cm. uzunluğunda cam borular, Whithworth ve arkadaşları ise açık ucunun çapı 40 mm., taban çapı 30 mm. ve derinliği 25 mm. olan plastik kapaklar kullanmışlardır (92-94).

Ayres ve Laskar (95) da benzokainin değişik merhem sıvağlarından difüzyonunu derinliği 3.1 cm., çapı 2.4 cm. olan basit cam kaplar kullanarak incelemişlerdir. Bu çalışmada difüzyon ortamı olarak bir beher içindeki 37.5 ± 0.5 °C'deki distile su kullanılmıştır ve difüzyon ortamının karıştırılmamasına özellikle dikkat edilmiştir.

Kafeinin değişik merhem sıvağlarından difüzyonun incelendiği bu araştırmada kullanılan difüzyon hücresi ve sistemi de Ayres ve Laskar'ın çalışmasındaki sisteme benzemektedir. Buraya kadar anlatılan gelişmiş veya basit difüzyon hücrelerinin kullanıldığı çalışmaların sonuçları arasında sistemden gelen bir farklılık bulunmadığı için, bu araştırmada çok ucuza malolan ve her yerde kolayca yaptırılabilen olan 1.8 cm çapında ve 1.5 cm. derinliğinde cam hücreler kullanılmıştır.

Difüzyon yöntemlerinde, hücrelerin şekillerinden başka kullanılan zarların tipleri de değişmektedir. Difüzyon hücrelerinde yarı geçirgen zar olarak domuz (84,91), tavşan (46,79,91), köpek (91) ve sıçan (46) derileri, ayrıca kuzu kör barsağından elde

edilen zarlar(92,93,94,96) gibi hayvansal kaynaklı zarlar ve deriler kullanılmaktadır. Hatta otopsi veya cerrahi işlemler sonunda elde edilen insan derisi (46,86,87,97,98) ve insan stratum corneumu (99) kullanılmakla birlikte bunların kolayca sağlanamaması, pahalı olması ve derilerin yağ tabakasından ayrılması için bazı işlemler gerektirmesi, daha çok sentetik zarların kullanılmasına neden olmaktadır.

Merhemlerden etken maddenin salıverilmesini ve penetrasyonunu model sistemlerde incelemek için en çok kullanılan sentetik zarlar, hidrofobik özellikte olan dimetilpolisiloksan zar (silikon kauçuğu zar) (74,75,83) ve bir selüloz türevi olan hidrofilik özellikteki selofan zardır (80,81,85,89,90,95,100,101).

Deri ile selofan zar yapı olarak birbirlerinden çok farklı olmalarına rağmen her ikisinin de yarı geçirgen olması, derinin de bir dereceye kadar hidrofilik özellik göstermesi ve selofan zarın derideki kıl dipleri, ter bezi ağızları ve hücreler arası boşlukların yerine geçebilen gözenekli bir yapısının olması, difüzyon yöntemlerinde deri yerine selofan zarın kullanılabileceğini göstermiştir (81,95). Bu nedenlerle bu araştırmada selofan zar kullanılmasında bir sakınca görülmemiştir.

I.4.4. *In Vitro* İlaç Salıverilmesini Etkileyen Faktörler

Merhemlerden etken madde salıverilmesi perkütan absorpsiyonun ilk basamağı olduğundan, I.3. de kısaca anlatılan perkütan absorpsiyonu etkileyen faktörler aynı zamanda *in vitro* ilaç salıve-

rilmesini de etkilemektedir. Bu faktörler arasında merhem sıvağlarının tipi, etken maddenin konsantrasyonu, partikül büyüklüğü, merhem hazırlama yöntemlerinin farklılığı, merheme eklenen yüzey aktif maddeler, yardımcı çözücüler ve kompleks yapıcı maddelerin etkisi de sayılabilir.

I.4.4.1. Merhem Sıvağlarının Etkisi

Değişik etken maddeler model olarak kullanılarak yapılan çalışmalarda merhem sıvağlarının difüzyona etkisi incelenmiş, etken madde ve sıvağ özelliğine bağlı olarak değişik sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, salisilik asit susuz yağlı sıvağlara göre emülsiyon tipi sıvağlardan daha fazla bırakılmaktadır (74). Yine aynı madde ile yapılan diğer çalışmalar (83,94)'da y/s tipi emülsiyon sıvağının salisilik asidi vazelin sıvağlardan daha iyi bıraktığını göstermektedir. Salisilik asit en az polietilen glikol (PEG) merhemden bırakılmaktadır (43,45,83,84). Buna salisilik asidin taşıdığı fenolik hidroksil gurubu ile PEG'nin kompleks yapması ve sıvağ içinde tutulmasının neden olduğu saptanmıştır.

Buna karşın benzokaini selofan zardan en fazla bırakan sıvağ PEG merhemidir (95). Burada PEG merheminin su çekerek çözünmesi difüzyonu artırmaktadır. PEG merheminin bileşimindeki sıvı polietilen glikol miktarı arttıkça benzokain salıverilmesinin azalması ise, st. corneumun fiziksel yapısındaki değişikliklerin artmasından ileri gelmektedir (99).

Diğer etken maddelerden metil salisilatın, en fazla hidrofilik merhemden bırakılması da hidrofilik merhemde su çekmesi ve selofan zarın suya karşı geçirgenliğinin fazla olmasına bağlanmaktadır (89). Suda çok çözünen bir madde olan rezorsinolün sulu jellerden salıverilme hızı, yağlı jellerdekinden 50-300 kez daha hızlıdır (101).

Bütün bu çalışmalar, değişik merhem sıvağlarının etken maddenin özelliklerine göre salıverilmeyi etkilediğini göstermektedir.

I.4.4.2. Etken Madde Konsantrasyonunun Etkisi

Genel olarak merhemdeki etken madde konsantrasyonu arttıkça, maddeden maddeye değişen bir sınır konsantrasyona kadar, etken maddenin salıverilmesi de artmaktadır. Bu durum değişik sıvağlı benzokain ve salisilik asit (102), sülfasetamid ve sulfatiazol (96) ve salisilik asit (93) merhemleriyle yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yine salisilik asit ile yapılan başka bir araştırmada, konsantrasyonun etken maddenin sıvağ içindeki çözünürlük sınırına kadar artması, salıverilmeyi hızlı olarak artırırken, bu sınır aşıldıktan sonra artış hızı yavaşlamaktadır (74).

Fakat etken madde konsantrasyonundaki artış merhemden salıverilmeyi her zaman artırmamaktadır. Örneğin, PEG merheminde benzokain konsantrasyonunun % 20'ye çıkarılmasının difüzyon hızını azalttığı görülmüştür (95).

I.4.4.3. Etken Maddenin Partikül Büyüklüğünün Etkisi

Merhemlerden etken madde salıverilmesini etkileyen faktörlerden biri de partikül büyüklüğüdür. Partikül büyüklüğünün küçültülmesinin, etken maddenin yüzey alanının artmasına ve sıvağ içinde daha fazla çözünmesine neden olduğu, sonuçta da ilacın salıverilmesini artırdığı düşünülmektedir (58). Vazelin merhemlerinden büyük ve küçük partiküllü salisilik asitle yapılan bir difüzyon çalışmasında (103) elde edilen sonuç yukardaki görüşe uyarken, yine aynı etken madde ile yapılan bir başka çalışmada (94) tamamen zıt bir sonuç alınmıştır. Yalnız, bu iki çalışmada incelenen partikül büyüklüklerinin sınırları değişiktir.

I.4.4.4. Merhemi Hazırlama Yöntemlerinin Etkisi

Merhem hazırlama yöntemleri mekanik karıştırma ve eritme olarak ikiye ayrılmaktadır. Her iki yöntem ve ayrıca eritme yönteminde uygulanan sıcaklık salisilik asit merhemlerinde, mekanik karıştırma yöntemiyle hazırlanan merhemlerin 70°C'de eritilerek hazırlanan merhemlere kıyasla daha fazla (93), 50°C'de eritme ile hazırlananlara kıyasla ise, daha az etken madde salıverdikleri (94) gösterilmiştir. O halde bir merhem hazırlanırken en uygun hazırlama yöntemi önceden denenerek bulunmalıdır.

I.4.4.5. Diğer Değişkenlerin Etkisi

Bu başlık altında genellikle etken maddenin çözünürlüğünü artırmak amacıyla merhemlere eklenen yüzey aktif maddeler, yardımcı çözücüler ve kompleks yapıcı maddelerin etkileri incelenmiştir.

Genel olarak yüzey aktif maddeler merhemlerden etken madde bırakılmasını artırmaktadırlar (93,96), fakat bu artış yüzey aktifin belli bir konsantrasyonu ile en yüksek değerine ulaşmaktadır. Birçok çalışmada bu konsantrasyon % 1 olarak bulunmuştur. Merhemlere daha yüksek konsantrasyonlarda yüzey aktif madde eklenmesinin, etken maddenin salıverilmesini azalttığı görülmüştür (66,104,105).

Yüzey aktif maddelerden başka yardımcı çözücülerin katımı da merhemlerden difüzyonu etkilemektedir. Bu amaçla merhemlere dimetilsülfoksit (DMSO), dimetilformamit (DMF), dimetilasetamit (DMA), alkol ve sıvı polietilen glikoller eklenmektedir. Fakat bu yardımcı maddelerin her zaman salıverilmeyi artırmadığı, hatta bazı sıvağlarda azalttığı görülmektedir. Örneğin, DMSO; tetrasiklin hidroklorür, salisilik asit, nitrofurazon ve sülfadiazinin PEG sıvağdan salıverilmesini artırırken (68), salisilik asidin pamuk tohumu yağı ve y/s emülsiyon tipi sıvağdan salıverilmesini azaltmakta olduğu saptanmıştır (92). Atropin sülfat (106), salisilik asit (107) ve kloramfenikolün (108) merhem sıvağlarından difüzyonlarına değişik yardımcı çözücülerin etkileri incelendiğinde, etken maddelerin bırakılmalarını en fazla

artıran yardımcı çözücünün DMSO olduğu bulunmuştur. Bu maddenin etkisinin ilacın çözünürlüğünü artırmasından veya deri ile yapılan çalışmalarda direkt olarak deriyi etkilemesinden ileri geldiği öne sürülmektedir.

Merhemlerde geniş olarak incelenmemiş bir konu kompleks yapıcı maddelerin etken madde bırakılmasına ve absorpsiyonuna etkisidir. İlaç-kompleks oluşumu absorpsiyon ve biyoyararlanımı etkileyen faktörlerden biridir. Fakat literatürdeki, komplekslerin absorpsiyonunu inceleyen çalışmaların çoğunluğu mide-barsak sistemi ile ilgili olup (109-112), komplekslerin topik preparatlardan absorpsiyona etkisi üzerinde fazla çalışma yoktur. Bu konuda yapılan bir araştırmada, benzokainle kompleks yapan sodyum salisilatın, benzokainin PEG merhem ve sulu kremden salıverilmesini artırdığı, vazelin merheminde azalttığı ve sulu lanolin merheminde ise değiştirmedeği bulunmuştur (90). Bu sonuç komplekslerin de, etken maddenin merhemlerden *in vitro* difüzyonunu diğer faktörler gibi olumlu veya olumsuz yönde etkileyebildiğini göstermektedir.

Buraya kadar incelenen tüm faktörler, bir etken maddenin değişik merhem sıvağlarından difüzyonu ve difüzyonu artıran değişkenler hakkında deneysel çalışmalar yapılmadan genel kurallar konulmasının olanaksız olduğunu göstermektedir. Bu nedenle bu bölümdeki faktörlerin hepsi, her etken madde için *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla ayrı ayrı incelenmeli ve o maddeye özgü en uygun merhem formülü saptanmalıdır.

Bütün bu faktörlerin ışığı altında bu araştırmada, son yıllarda atopik dermatitte kullanılabileceği bildirilen kafeinin merhem tipi preparatları için en uygun formülasyonun yapılmasına çalışılmıştır. Bunun için de *in vitro* difüzyon yöntemlerinden yararlanılarak en uygun sivağın bulunmasına çalışılmış, difüzyona etki eden faktörlerden bazılarının bu sistemlerdeki etkisi incelenmiştir.

II- DENEYSEL

Bu bölümde, I. bölümde verilen genel bilgilerden hareketle kafein merhemlerinin incelenmesi için uygun görülen bir difüzyon sistemi ile yapılan çalışmaların yöntemleri verilmiştir.

II.1- Kullanılan Aletler

U.V. Spektrofotometresi : Beckman, DB-GT, Double Beam Spectrophotometer

U.V. Spektrofotometresi : Bausch and Lomb, Spectronic 700

I.R. Spektrofotometresi : Perkin-Elmer 457, Grating IR Spectrophotometer

Mikroskop : Nikon Polarizan Microscope, Type 104

Viskometre : Rheotest 2

Erime derecesi tayin aygıtı : Thomas Hoover Capillary melting point apparatus

Termostatlı ısıtıcı : B.Braun, Messungen Apparatebau.

Elek sistemi : Erweka Tip VT elek sallayıcısı ve Endecott (BS 410) elekleri

Çalkalayıcı su banyosu : Gerhardt

Santrifüj : Hettish EBA III

II.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Materyel.

1-Octanol - Merck

Propil paraben - Bayer

Metil paraben - Bayer

Sodyum benzoat - Merck

Sıvı parafin - Merck

Sorbitan monooleat (Span 80) - Atlas

Polietilen glikol (PEG) 400 - BDH

Polietilen glikol (PEG) 4000 - Merck

Propilen glikol - Merck

Stearil alkol

Sodyum lauril sülfat

Vazelin

Distile su - pH'sı 6, iletkenliği 1.1 μ MHOS olan deiyonize ve
camdan distillenmiş su

Selofan zar - E.I. du Pont Nemours and Co.

Kafein - Merck

II.3. Kafein

Kafein bu araştırmada kullanılan etken madde olduğu için, tüm fiziksel ve fizikokimyasal özelliklerinin etraflıca bilinmesi gerekmektedir.

II.3.1. Kafeinin Genel Tanımı ve Erime Derecesi.

Bu araştırmada kullanılan anhidr kafein, molekül ağırlığı 194.19 olan bir ksantin türevidir. Kokusuz, acı tatda ve hemen hemen amorfa yakın küçük kristallerden oluşan beyaz bir tozdur.

Kafein, 80°C'lik etüvde 4 saat tutulduktan sonra erime derecesi saptanarak 236°C bulunmuştur. Bu bulgu U.S.P.XVIII'de ve T.F. 1974'de verilen 235-237.5°C aralığına girmektedir.

II.3.2. Partikül Büyüklüğü

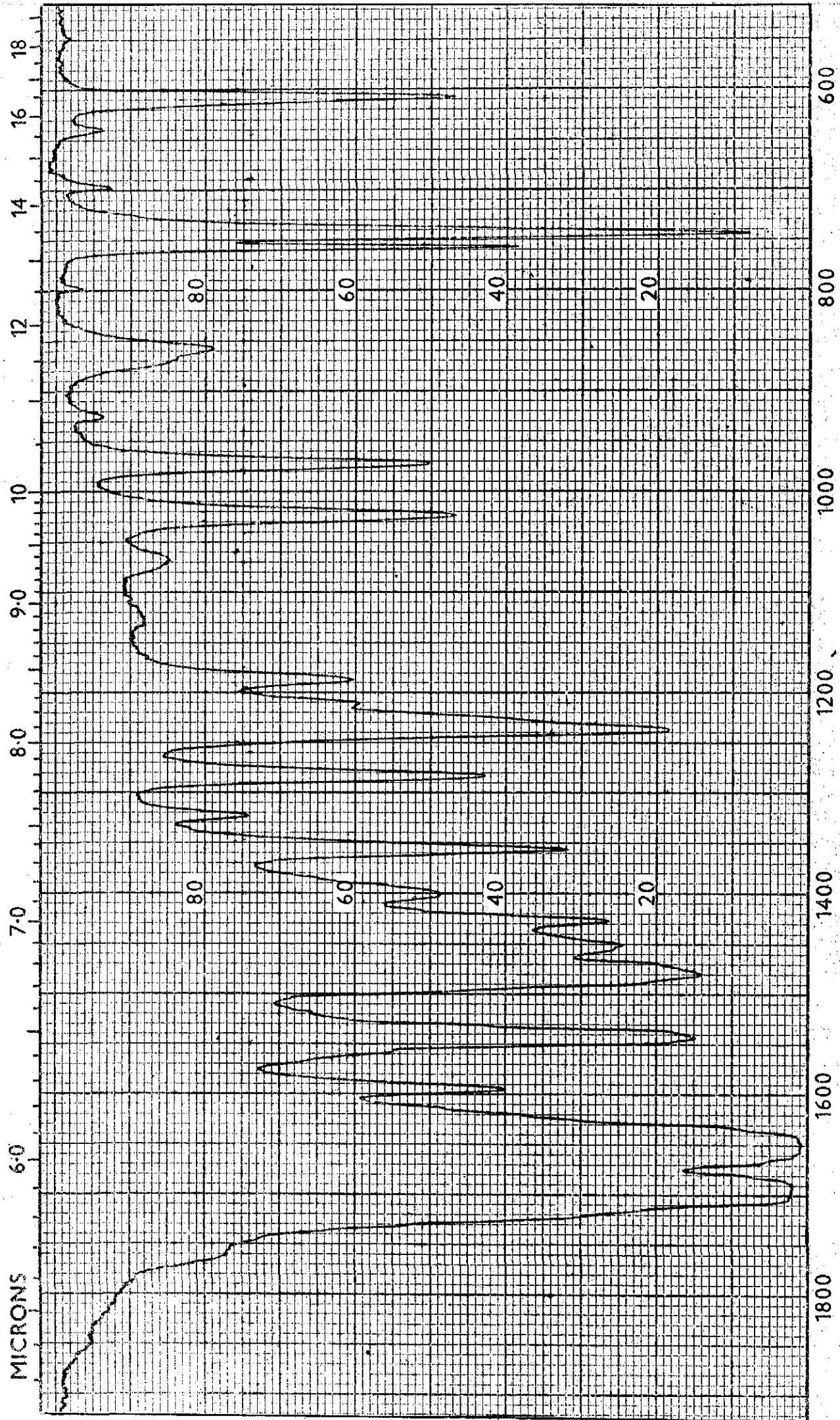
Yapılan mikroskopik tayinlerle, çalışmamız için sağladığımız kafeinin partikül büyüklüğü dağılımının çok geniş bir aralıkta olduğu belirlenerek, difüzyon çalışmalarında bu dağılımı daha kısıtlamak amacıyla, eldeki örnek fraksiyonlanmış ve 45-180 μm arasındaki toz kümeleri birleştirilerek kullanılmıştır. Bütün deneylerde aynı kümeden çalışılmıştır.

II.3.3. Kafeinin Spektrofotometrik Özellikleri ve Kalibrasyon Eğrisi.

Şekil 2'de kafeinin $4000-400\text{ cm}^{-1}$ dalga boyları arasında KBr tuzu ile hazırlanan diskinden elde edilen I.R. spektrumu görülmektedir. Bu grafikte saf kafein için spesifik olan 1658 veya 1695 ve 745 pikleri (113) aynı bölgelerde görülmektedir.

Şekil 3 kafeinin distile su içindeki % 0.001'lik çözeltisinin U.V. spektrumunu göstermekte olup, bu çözelti $\lambda = 272\text{ nm}$ de maksimum absorpsiyon piki vermiştir. Kafein çözeltisinin pH'sının 2-14 arasında değişmesinin U.V. spektrumunda bir değişiklik yapmaması (114,115) ve etanollü çözeltisinde $\lambda_{\text{max}} = 273\text{ nm}$, 0.1 N HCl içindeki çözeltisinde ise $\lambda_{\text{max}} = 272\text{ nm}$ olması (113) bizim bulgumuzun da literatüre uygunluğunu kanıtlamaktadır.

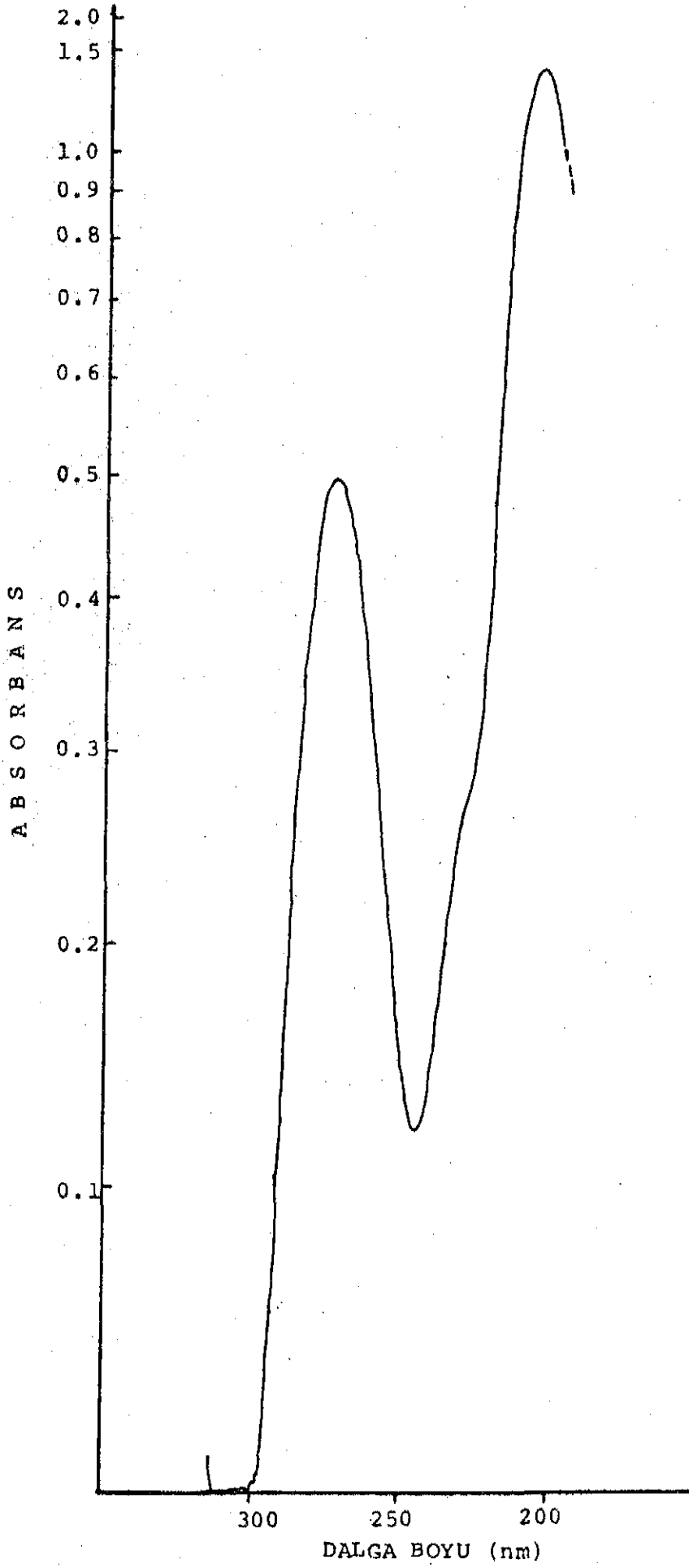
Difüzyon çalışmalarında kafeinin miktar tayini sulu çözeltiden yapıldığı için, kafeinin $1 \times 10^{-2}\text{ M}$ 'lık stok çözeltisinden hareketle hazırlanan 1,5,10,30,50,80 ve $100 \times 10^{-6}\text{ M}$ 'lık çözeltileri kullanılarak $\lambda_{\text{max}} = 272\text{ nm}$ 'de Şekil 4'deki kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve Lambert-Beer yasasına uygunluğu kontrol edilmiştir.



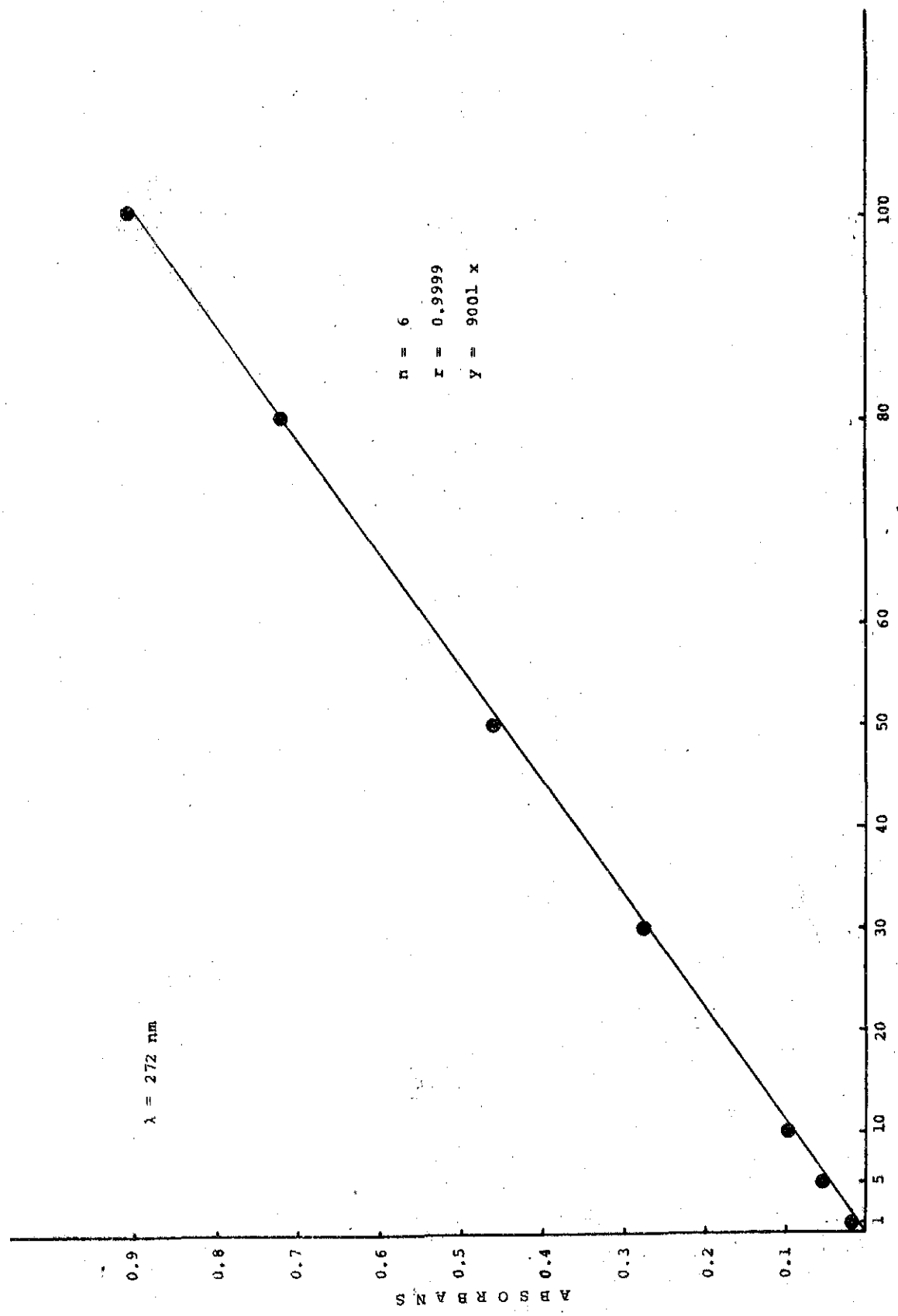
DALGA NUMARASI (CM⁻¹)

ŞEKİL 2 : KAFEİNİN I. R. SPEKTRUMU

TRANSMITANS



ŞEKİL 3: KAFEİNİN U.V.SPEKTRUMU



SEKIL 4 : KAFEININ KALIBRASYON EGRISI

II.3.4. Kafeinin Çözünürlük Çalışmaları

Bu araştırmada kullanılan difüzyon ortamı distile su olduğu için öncelikle kafeinin sudaki çözünürlüğü saptanmıştır.

PEG 400 ve sıvı parafin ise, kullanılan merhem sıvağlarının ana bileşeni olduklarından, kafeinin merhem sıvağlarındaki çözünürlükleri hakkında bir fikir vermesi için bu çözücülerdeki çözünürlüğü de bulunmuştur.

II.3.4.1. Kafeinin Sudaki Çözünürlüğü

Kafeinin sudaki çözünürlüğü ^{de} 25°C/saptanmıştır. 50 ml.lik vida kapaklı tüplere 15 ml. distile su ve yaklaşık 400 mg. kafein konulduktan sonra ağızları kapatılan tüpler, 95 devir/dakika hızda yatay çalkalanma yapan 25°C'deki su banyosunda dengeye erişene kadar çalkalanmışlardır. Denge süresi 5 dakikadan 24 saate kadar örnekler alınarak saptanmış ve 5 dakika sonunda elde edilen çözünürlük değeri ile 24 saat sonunda elde edilen değer arasında bir fark bulunamaması, sistemin 5 dakikada dengeye geldiğini göstermiştir. Bu deney sonunda kafeinin 25°C'de distile sudaki çözünürlüğü 0.10 mol/litre olarak bulunmuştur. Literatürde (116) 30°C'deki sudaki çözünürlüğün 0.13 mol/litre olarak verilmesi, 25°C'de bulduğumuz değer doğruluğunu desteklemektedir.

II.3.4.2. PEG 400 ve Sıvı Parafindeki Çözünürlük

Kafeinin PEG 400'deki % 0.1, 0.2, 0.5, 1 ve 2 (a/h)'lik, sıvı parafindeki % 0.001, 0.01, 0.1, 0.5 ve 1 (a/h)'lik karışımları sırasıyla 10 ml.lik ve 15 ml.lik kapaklı tüplere konulmuş

ve tüpler 37°C 'lik su banyosunda 125 devir/dakika hızda 48 saat çalkalandıktan sonra çözünme görülen en yüksek konsantrasyonlar PEG 400 için % 1, sıvı parafin için ise % 0.001 olarak bulunmuştur. Bu bulgu, kafeinin PEG 400'deki çözünürlüğünü 20°C 'de % 0.1-1 olarak veren literatüre (117) de uymaktadır.

II.3.5. Partisyon Katsayısının Bulunması

Kafeinin oktanol/su partisyon katsayısının saptanması için 50 ml.lik kapaklı tüplere 10 ml. 0.0824 M'lık kafein çözeltisi ve 10 ml. 1-oktanol konulmuş, 37°C 'de 80 devir/dakikada 24 ve 48 saat çalkalanan tüpler bu süreler sonunda alınarak, su ve oktanol fazları santrifüjlenerek ayrılmıştır. Aynı işlemler spektrofotometrik okumada kör olarak kullanılan distile su için de yapılmıştır. Sulu fazdan alınan 0.1 ml.lik örnekler distile su ile 100 ml.ye tamamlanarak $\lambda = 272 \text{ nm}$ 'deki absorbanları köre karşı okunmuş ve sistemin 24 saatte dengeye ulaştığı görülmüştür. Hesaplanan sulu ve oktanollü faz konsantrasyonları kullanılarak Eşitlik 6'dan kafeinin oktanol/su partisyon katsayısı $k = 0.464$ olarak bulunmuştur.

$$k = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \quad (6)$$

k : oktanol/su partisyon katsayısı

C_1 : ilacın su fazındaki başlangıç konsantrasyonu

C_2 : ilacın su fazındaki denge konsantrasyonu.

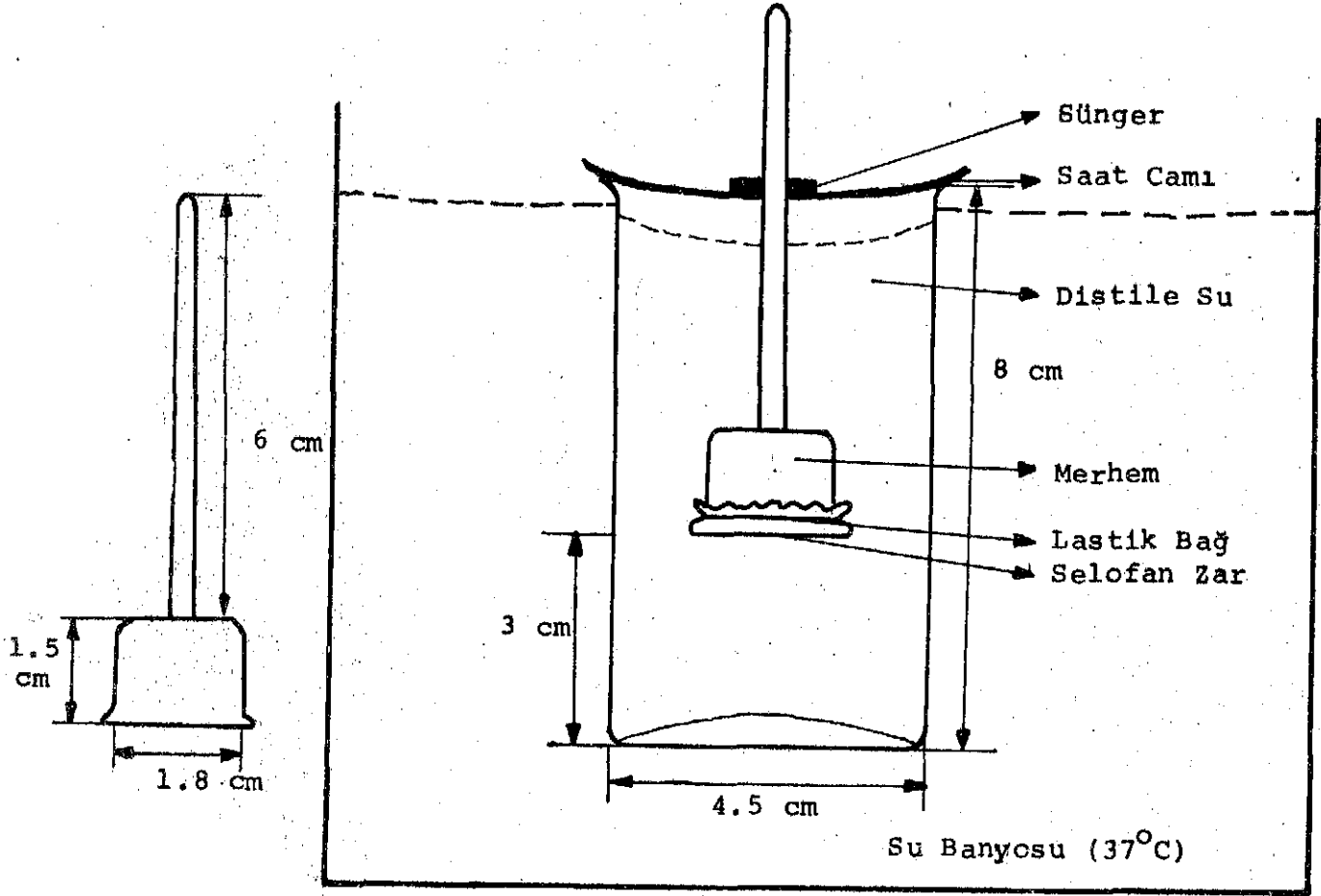
Partisyon katsayısının saptanmasındaki amaç, değişik merhem sıvağlarının difüzyon özelliklerini açıklayabilmek olduğu için, dağılım ortamı olarak distile su kullanılmıştır. Literatürde (118) kafeinin oktanol/su partisyon katsayısı olarak verilen 0,801 değeri kafeinin tamponlanmış daha seyreltik bir çözeltisiyle elde edilmiştir. Bu sonuçla bizim bulgumuz arasındaki fark, kullandığımız kafein çözeltisinin daha yoğun ve tamponlanmamış olması nedeniyle, daha fazla dimer ve polimerler içermesi ve bunların da organik faza geçişinin az olması ile açıklanabilir.

II.4. Difüzyon Çalışmaları

Merhem şeklindeki bir preparatta etken maddenin perkütan absorpsiyonu için öncelikle sıvağdan salıverilmesi gerekmektedir. Bu salıverilmeyi *in vitro* olarak inceleyen çalışmalar, I.4.3.2. de verilmişti. Bu yöntemlerden, kolaylıkla uygulanabilen ve güvenilir sonuçlar veren difüzyon yöntemleri araştırmamızda kullanılmıştır. Ayres ve Laskar (95)'in kullandığı hücreden esinlenerek geliştirilen difüzyon hücresinin ve sisteminin ayrıntıları II.4.1. de verilmektedir.

II.4.1. Difüzyon Aygıtı

Şekil 5'de görülen difüzyon aygıtında kullanılan difüzyon hücresi inert camdan yapılmış olup, iç çapı 1.8 cm., derinliği 1.5 cm., sapı 6 cm. ve difüzyon alanı 2.54 cm^2 dir. Bu hücrenin; difüzyon ortamı olarak 100 ml. distile su içeren ve



ŞEKİL : 5- DİFÜZYON HÜCRESİ ve DİFÜZYON AYGITI

çapı 4.5 cm., yüksekliği 8 cm. olan bir beherin içine, difüzyon alanı tabandan 3 cm. yukarda olacak şekilde yerleştirilmesiyle difüzyon aygıtı hazırlanmıştır. Beherin ağzı hem difüzyon ortamının buharlaşmasını önlemek hem de difüzyon hücrelerini sabit konumda tutabilmek için ortası delinmiş olan bir saat camı ile kapatılmıştır. Difüzyon hücrelerinin sapı bu delikten geçirildikten

sonra bir sünger parçası ile sabitleştirilmiş ve böylece hazırlanan difüzyon aygıtı 37°C sabit sıcaklıktaki bir su banyosuna yerleştirilmiştir.

Bu şekilde hazırlanan difüzyon aygıtı ile yapılan deneylere geçmeden önce araştırmamızda kullanılan değişik merhemlerin seçimi ve hazırlanmaları üzerinde durulacaktır.

II.4.2. Merhemler

I.4.1. de sınıflandırılan merhem sıvağlarından herbirine örnek olmak üzere birer sıvağ seçilerek değişik konsantrasyonlarda kafeinin bu sıvağlardan bırakılmaları ve bırakılmayı etkileyen faktörler incelenmiştir.

Hidrokarbon sıvağı olarak değişik kaynaklardan sağlanan iki tip vazelin, emülsiyon sıvağlarına örnek olarak s/y tipi bir emülsiyon sıvağı (93) ve U.S.P.XVIII'de verilen bir y/s emülsiyon sıvağı olan hidrofilik merhem, suda çözünen sıvağlardan da yine U.S.P.XVIII'deki polietilen glikol (PEG) merhemi seçilmiştir.

Tüm sıvağlar taze hazırlandıktan sonra kullanılmışlar ve kafeinin salıverilmesini etkileyebilecekleri düşünülerek hiçbirisine koruyucu madde katılmamıştır.

II.4.2.1. Merhem Sıvağlarının Hazırlanışları

Vazelin sıvağlar hariç olmak üzere diğer merhem sıvağları alındıkları farmakope veya literatürde verilen yönteme göre hazırlanmıştır.

Deneylerde kullanılan vazelinler iki ayrı kaynaktan sağlandıkları için, vazelin A ve vazelin B olarak isimlendirildikten sonra, her ikisinin de kafeini salıverme yetenekleri saptanmıştır.

Emülsiyon sıvağlarına örnek olarak seçilen s/y emülsiyon sıvağının bileşimi;

Beyaz vazelin	% 64
Sorbitan monooleat (Span 80)	% 6
Distile su	% 30

şeklinde olup, Span 80' in su banyosunda yaklaşık 70°C'de eritilmiş vazelin ile karıştırılıp, aynı sıcaklığa getirilmiş distile suyun yavaş yavaş eklenerek, emülsiyon soğuyup merhem kıvamı alınca kadar karıştırılmasıyla hazırlanmıştır.

y/s Emülsiyon sıvağı olarak seçilen hidrofilik merhem, U.S.P. XVIII'de verilen formüldeki metil ve propil parabenler çıkarıldıktan sonra aşağıdaki formüle göre hazırlanmıştır.

Sodyum lauril sülfat	10 g.
Propilen glikol	120 g.
Stearil alkol	250 g.
Beyaz vazelin	250 g.
Distile su	370 g.

Önce stearil alkol ve beyaz vazelin su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılarak eritilmiş, diğer taraftan, sodyum lauril sülfat ve propilen glikol de distile su içinde çözündürülüp aynı sıcaklığa kadar ısıtıldıktan sonra, karıştırılarak stearil alkol ve vaze-

lin karışımına ilave edilmiştir. Sıvağ soğuyup merhem kıvamı alıncaya kadar karıştırılmıştır.

Suda çözünen sıvağlardan olan PEG merhemi USP, XVIII' deki formülüne göre hazırlanmıştır. Bileşimi,

PEG 4000	400 g.
PEG 400	600 g.

olan bu sıvağ PEG 4000 ve PEG 400 karışımının su banyosunda yaklaşık 65°C'ye kadar ısıtılarak eritilmesi ve sonra soğuyup merhem kıvamına gelinceye kadar karıştırılmasıyla hazırlanmıştır.

Bu sıvağlarla, II.4.3. de anlatılan difüzyon deneyleri sonucu elde edilen dializat örneklerinin U.V. taraması yapılmış ve kafeinin $\lambda = 272$ nm'deki pikini etkileyecek herhangi bir pik vermedikleri görülmüştür.

II.4.2.2. Kafein Merhemlerinin Hazırlanışı

Etken maddenin sıvağa ilavesi, basit karıştırma yöntemi ile havanda yapılmıştır. % 1,5,10,20 ve 30 (a/a) konsantrasyonlar için gerekli kafein hassas olarak tartılmış ve havanda ezildikten sonra taze hazırlanmış sıvağ azar azar ilave edilerek, homojen bir merhem elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Spektrofotometrik okumalarda kör olarak kullanılmak üzere hazırlanan, etken madde içermeyen merhem sıvağları ve kafein merhemleri difüzyon deneylerinden önce 16 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra kullanılmışlardır.

II.4.2.3. Kompleks Yapıcı Maddelerin İlavesi

Kafeinle kompleks yaptığı I.1.2. de belirtilen sodyum benzoatın, vazelin B ve PEG merhemden kafein salıverilmesi üzerindeki etkisini incelemek için iki değişik yöntemle kafein-sodyum benzoat kompleksleri hazırlanmıştır. Birinci yöntemde (119) eşit miktarda kafein ve sodyum benzoat toz halinde havanda karıştırılmış ve bu karışım kompleks I olarak belirtilmiştir. İkinci yöntemde (26) ise, eşit miktardaki kafein ve sodyum benzoat karışımı alkol ilavesi ile yumuşak bir pat kıvamına getirilmiş ve bu pat oda sıcaklığında kurutulduktan sonra havanda toz edilerek kompleks II olarak adlandırılmıştır.

Her iki kompleks de, % 10 kafein konsantrasyonuna karşılık gelen toplam % 20 (a/a) konsantrasyon oluşturacak şekilde vazelin B ve PEG merhemlerine II.4.2.2. de anlatıldığı gibi ilave edilmiş ve merhemler 16 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra difüzyon deneylerinde kullanılmışlardır.

Kör olarak yalnızca % 10 (a/a) konsantrasyonda sodyum benzoat içeren merhemler hazırlanmıştır.

II.4.2.4. Koruyucu Maddelerin İlavesi

Kafeinin birçok organik madde ile özellikle p-hidroksibenzoik asit ve türevleriyle etkileşerek kompleksler yaptığı I.1.2. de anlatılmıştı. Bu etkileşmelerin merhem sıvağları içinde de olup olmadığını ve bunun kafein salıverilmesine etkisini incelemek için

% 10 (a/a) konsantrasyonda kafein içeren vazelin B ve PEG merhemlerine % 0.05, 0.1 ve 0.3 (a/a) konsantrasyonlarda parabenler katılmıştır.

Vazelin merhem için propil paraben, PEG merhem için de metil paraben kullanılmıştır. Gerekli miktarda tartılan metil veya propil paraben, sıvağın az bir kısmında su banyosunda eritilerek çözündürülmüş ve daha sonra, sıvağın kalan kısmı ile havanda karıştırılmış olan kafeinin üzerine eklenerek homojen bir merhem elde edilinceye kadar karıştırılmıştır.

Ayrıca kör olarak kullanılmak üzere yalnızca % 0.05, 0.1 ve 0.3 (a/a) konsantrasyonlarda metil veya propil paraben içeren merhemler de hazırlanmıştır.

II.4.3. Difüzyon Deneylerinin Yapılışı

Merhemlerden etken madde salıverilmesini inceleyen *in vitro* yöntemlerden biri olan difüzyon yöntemlerinde, genel olarak bir hücre içine doldurulan merhemden difüzyon ortamına geçen etken madde miktarı, belli zaman aralıklarında difüzyon ortamından alınan örneklerde yapılan miktar tayinleri ile saptanmaktadır. Burada önemli olan noktalar; merhemin hücre içine hava kabarcığı kalmayacak şekilde doldurulması, eğer zar kullanılıyorsa, zarın merhem yüzeyinin tümüyle temas etmesi, sıcaklık ve diğer difüzyon koşullarının deney süresince sabit tutulmasıdır.

Bu araştırmada, hazırlandıktan sonra 16 saat bekletilmiş olan merhemler, II.4.1. de anlatılan ve Şekil 5'de görülen difüzyon hücresine bir spatül yardımıyla, içerde hava boşluğu kalmayacak Şekilde doldurulmuş ve yüzeyi spatülle dzgnleştirildikten sonra hücrenin çeperlerine bulaşan merhem yumuşak bir kağıt ile silinerek uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 16 saat distile su içinde bekletilmiş olan selofan zar bu yüzey üzerine örtülüp, parmakla hafifçe bastırılarak zarın merhemin tüm yüzeyi ile temas etmesi sağlanmış ve bir lastikle sıkıca bağlanarak sabitleştirilmiştir. Bu Şekilde hazırlanan difüzyon hücresi, difüzyon ortamı olarak 100 ml distile su içeren beherlere Şekil 5'de grldğ gibi yerleştirilmiş ve sistem tümüyle 37°C'deki bir su banyosuna konulmuştur. Difüzyon ortamına geçen kafein konsantrasyonu belli zaman aralıklarında 272 nm'de spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Kafeinin 6 saat sonunda yapısal bir değişikliğe uğramadığı, değişik merhem sıvağlarınının 6. saat sonunda difüzyon ortamlarından alınan örneklerin U.V. taraması ile görülmüştür. Bu nedenle, difüzyon süresi 6 saat olarak alınmıştır. Ölçümler, başlangıçta 15. ve 30. dakikada, daha sonra 6 saat süresince birer saatlik aralıklarla ortamdandan alınan 1 ml'lik örneklerde ve gerektiğinde örneğin uygun hacimlere seyreltilmesinden sonra yapılmıştır. Örnekler alınırken, beherin kapağı çıkarıldıktan sonra difüzyon hücresi dışarıya çıkarılmadan bir pipetle ortam karıştırılıp, 1 ml örnek alınmış ve yerine hemen 1 ml distile su ilave edilerek difüzyon ortamınının hacmi sabit tutulmuştur.

Spektrofotometrik okumalar, kör olarak kullanılan sıvağlar veya merhemlerden aynı koşullarda elde edilen dializat örneklerine karşı yapılmış ve elde edilen absorbans değerleri, eğer seyreltme yapıldıysa seyreltme faktörü ile çarpıldıktan sonra veya direkt olarak, kalibrasyon eğrisinin formülünde yerine konularak konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

II.4.4. Deneylerin Tekrarlanabilirliği

II.4.1. de anlatılan difüzyon sistemi ve II.4.3. de anlatılan difüzyon deneylerinden alınan sonuçların tekrarlanabilirliği % 10 kafein içeren vazelin A merhemi ile kontrol edilmiştir (Tablo 1).

TABLO 1. DİFÜZYON DENEYLERİNİN TEKRARLANABİLİRLİĞİ

Zaman	Ortalama Kafein Konsantrasyonu	S_D (n = 6)	Varyasyon Katsayısı
15 dak.	$5.33 \times 10^{-6} M \pm$	0.39×10^{-6}	18.2
30 dak.	$6.73 \times 10^{-6} M \pm$	0.25×10^{-6}	9.3
1 S	$8.06 \times 10^{-6} M \pm$	0.28×10^{-6}	8.6
2 S	$1.23 \times 10^{-5} M \pm$	0.03×10^{-5}	6.4
3 S	$1.50 \times 10^{-5} M \pm$	0.03×10^{-5}	5.6
4 S	$1.80 \times 10^{-5} M \pm$	0.03×10^{-5}	4.3
5 S	$1.91 \times 10^{-5} M \pm$	0.03×10^{-5}	4.5
6 S	$2.12 \times 10^{-5} M \pm$	0.04×10^{-5}	5.1

Tablo 1'de görüldüğü gibi 15. ve 30. dakikada alınan örneklerde varyasyon katsayısı 18 ve 9 iken 120. dakikadan itibaren değişkenlik ~ 5 'e kadar azalmış ve bu değerde sabitleşmiştir. Bu sonuç, bulgularımızın tekrarlanabilir olduğunu göstermiştir.

Difüzyon deneyleri genellikle 5 kez tekrarlanmasına rağmen özellikle emülsiyon sıvıağlarında sonuçlar Tablo 1'de verilenlerden fazla değişkenlik gösterebildiği için, bu sayı bazen 15'e kadar çıkarılmıştır.

II.4.5. Stabilite Çalışmaları

Merhemleri uzun süre bekletmenin, etken maddenin salıverilmesine olumsuz etki yapabileceği düşünülmeye gereken bir konu olduğu için, % 10 kafein içeren vazelin B ve PEG merhemleri üç ay bekletildikten sonra 6 saatlik bir difüzyon deneyi ile kafein salıverilmesi incelenmiştir. Merhemler üç ay boyunca oda sıcaklığında, kapaklı cam kavanozlarda ve ışıktan uzak bir dolap içinde bekletilmişlerdir.

Diğer taraftan, merhemlere katılan koruyucu maddelerin de üç aylık bekleme sonunda kafein difüzyonuna nasıl bir etki yapacağını belirlemek için II.4.2.4.de anlatıldığı gibi hazırlanan, koruyucu içeren % 10'luk vazelin B ve PEG merhemleri de koruyucu içermeyenlerle aynı koşullarda bekletilmişlerdir. Koruyucu içeren bu merhemlerin stabilite çalışması sonuçları, yalnızca 6. saat sonunda difüzyon ortamına geçen kafein miktarları

ile gösterilmiştir. Fakat difüzyon deneyinin genel koşullarını bozmamak için 15 dakikadan 6 saate kadar olan sürede daha önce belirtilen zamanlardaki 1 ml'lik örnekler difüzyon ortamından alınıp, yerine 1 ml distile su konulmuştur.

II.4.6. Bulguların İstatistiksel Değerlendirilmesi

Değişik kafein konsantrasyonları ile tüm sıvağlardan elde edilen salıverilme sonuçları Student's t testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve böylece ortalamalar arası farkın önem kontrolü yapılmıştır. Grafiklerdeki ilk üç noktanın dışında kalan noktalar arasındaki farklılık önemli ise, bu iki merhemden kafein salıverilmesinin farklı olduğu kabul edilmiştir.

III- BULGULAR

III-1. Bulguların Sunuluşu

Eşitlik 3,4 ve 5'de görüldüğü gibi merhemlerden bırakılan etken madde miktarı difüzyon süresinin bir fonksiyonu olduğu için bu çalışmalardan elde edilen bulgular, difüzyon zamanına karşı, salıverilen madde konsantrasyonunun çizilmesiyle elde edilen grafiklerle gösterilmektedir. Fakat literatürde görüldüğü gibi bu grafikler her zaman doğrusal bir ilişki göstermemektedir(93,94).

Matematiksel olarak değişkenler arası ilişkiler basit ve sağlıklı olarak doğrusal denklemlerle değerlendirildiği için, difüzyon çalışmalarının verileri de doğrusal bir bağlantı gösterecek şekilde düzenlenebilir. Bu amaçla difüzyon zamanının logaritmasına karşı salıverilen madde konsantrasyonunun logaritması (90) veya zamanın kareköküne karşı konsantrasyon değişiklikleri (74,89,95) grafiklere geçirilmektedir.

Araştırmamızın bulgularını en iyi şekilde gösterebileceğimiz şekli bulmak için bir bilgisayar yardımıyla sonuçlarımızın zamana karşı konsantrasyon değişmesi, zamanın logaritmasına karşı konsantrasyon değişiminin logaritması ve zamanın kareköküne karşı konsantrasyon değişikliğini gösteren doğrusal ve logaritmik denklemlere uyumları yaptırılmıştır. Bu denklemlerin korelasyon katsayıları karşılaştırılmış ve PEG merhemleri hariç olmak üzere diğer tüm merhemlerde zamanın kareköküne karşı açığa çıkan kafein konsantrasyonu çizildiğinde, elde edilen eğrilerin korelasyon katsayıları en

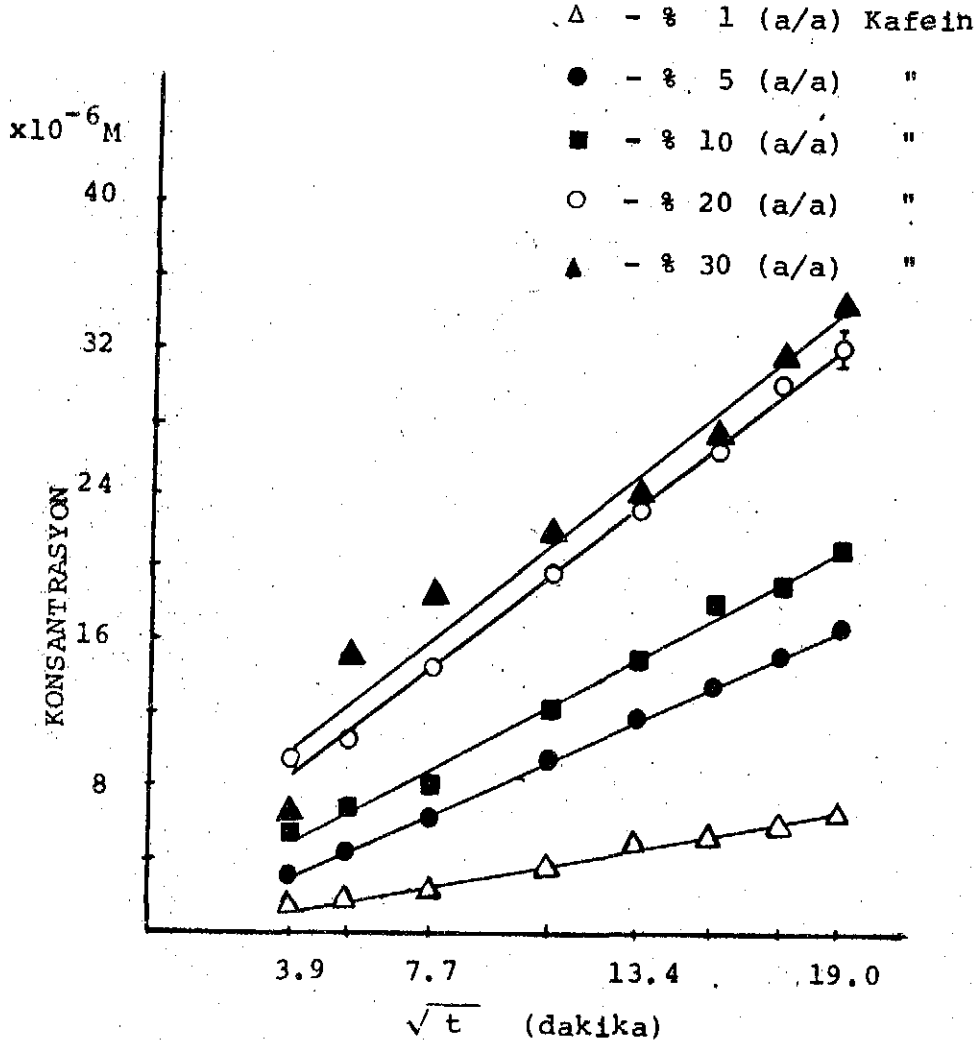
yüksek doğrusal uyumu göstermiştir. PEG sıvağlı merhemlerde ise zamanın logaritması, difüzyon ortamına geçen kafein konsantrasyonunun logaritmasına karşı çizildiğinde, elde edilen doğruların korelasyon katsayıları diğer denklemlerin korelasyon katsayılarına kıyasla daha uygun bulunmuştur. Bu nedenle PEG sıvağlı merhemlerden elde edilen bulgular logaritmik kağıt üzerinde gösterilirken, diğer merhemlerin bulguları milimetrik kağıt üzerinde gösterilmiştir.

Yukarıda açıklandığı şekilde çizilen grafiklerde, deneysel noktalar en az beş, en çok onbeş deneyin ortalaması olup değişik geometrik şekillerle belirtilmiş, bunlardan geçen ve bilgisayar yardımıyla hesaplanan en uyumlu doğrular çizilmiştir. Her bir deneysel bulgunun ortalamasının standart hatası (S_D), deneysel noktalardan geçen dikey çizgilerle belirlenmiştir. Ortalamaların standart hatası bazı bulgularda, verilen grafikte gösterilemeyecek kadar küçük olduğundan ancak çizilebilecek boyutlarda olanlar gösterilmiştir.

III.2. Kafein Konsantrasyonunun Difüzyona Etkisi

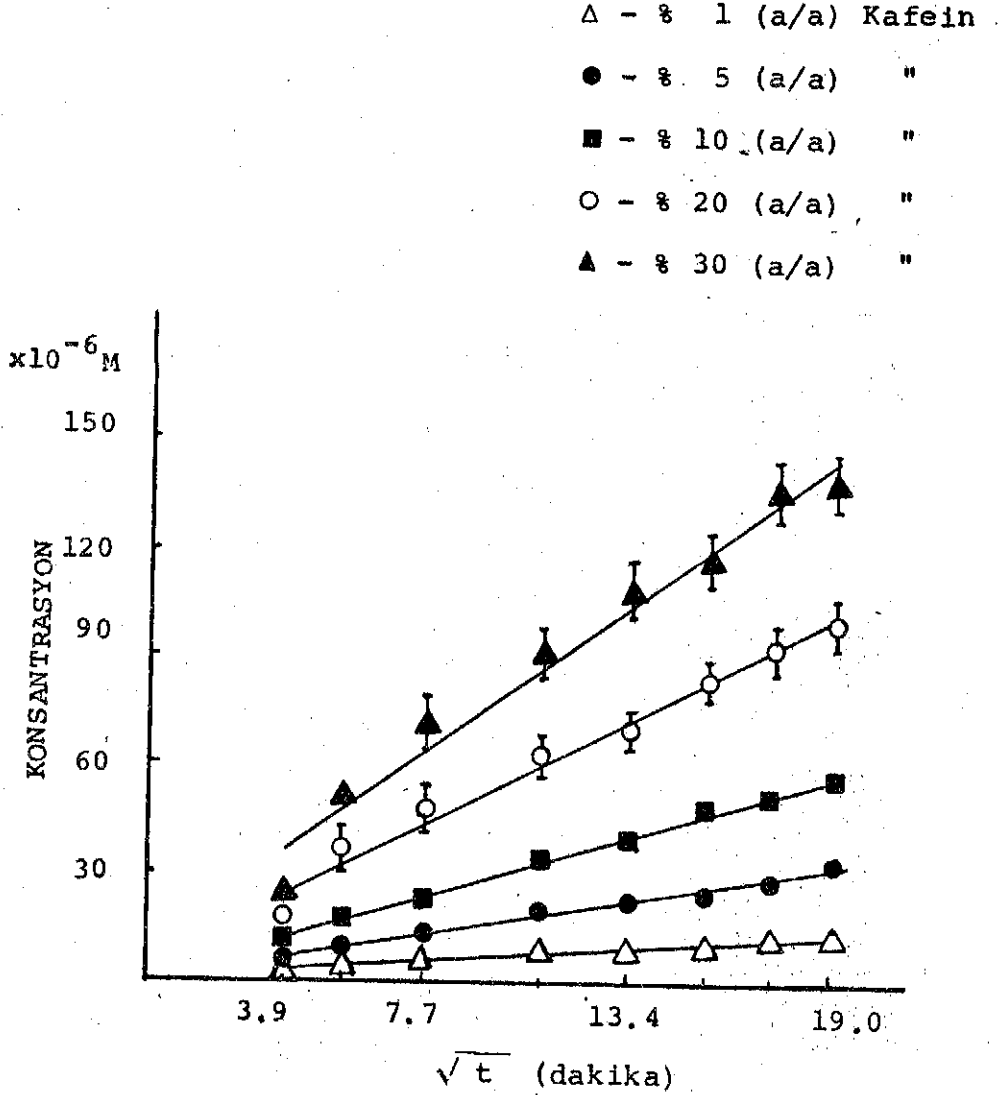
Şekil 6-11 arasındaki grafiklerde % 1,5,10,20 ve 30 (a/a) konsantrasyonlarda kafein içeren değişik merhem sıvağlarından salıverilme görülmektedir.

Şekil 6 ve Şekil 7 vazelin A ve vazelin B merhemlerinden değişik konsantrasyonlarda kafeinin salıverilmesini göstermektedir.



ŞEKİL 6: DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİNİN VAZELİN A MERHEMLERİNDEN SALIVERİLMESİ.

Her iki şekilden de görüldüğü gibi % 1'den % 30'a kadar artan kafein konsantrasyonuna bağlı olarak difüzyon da artmıştır. Şekil 6'daki vazelin A merhemlerinin konsantrasyonlar arası salıverilme farklılıkları istatistiksel olarak irdelendiğinde yalnızca % 20 ve % 30 kafein konsantrasyonları arasındaki farkın önemsiz olduğu görülmüş, diğer bütün konsantrasyonlardan salıverilme tüm zaman aralıklarında farklı bulunmuştur (Ek Tablo-1).

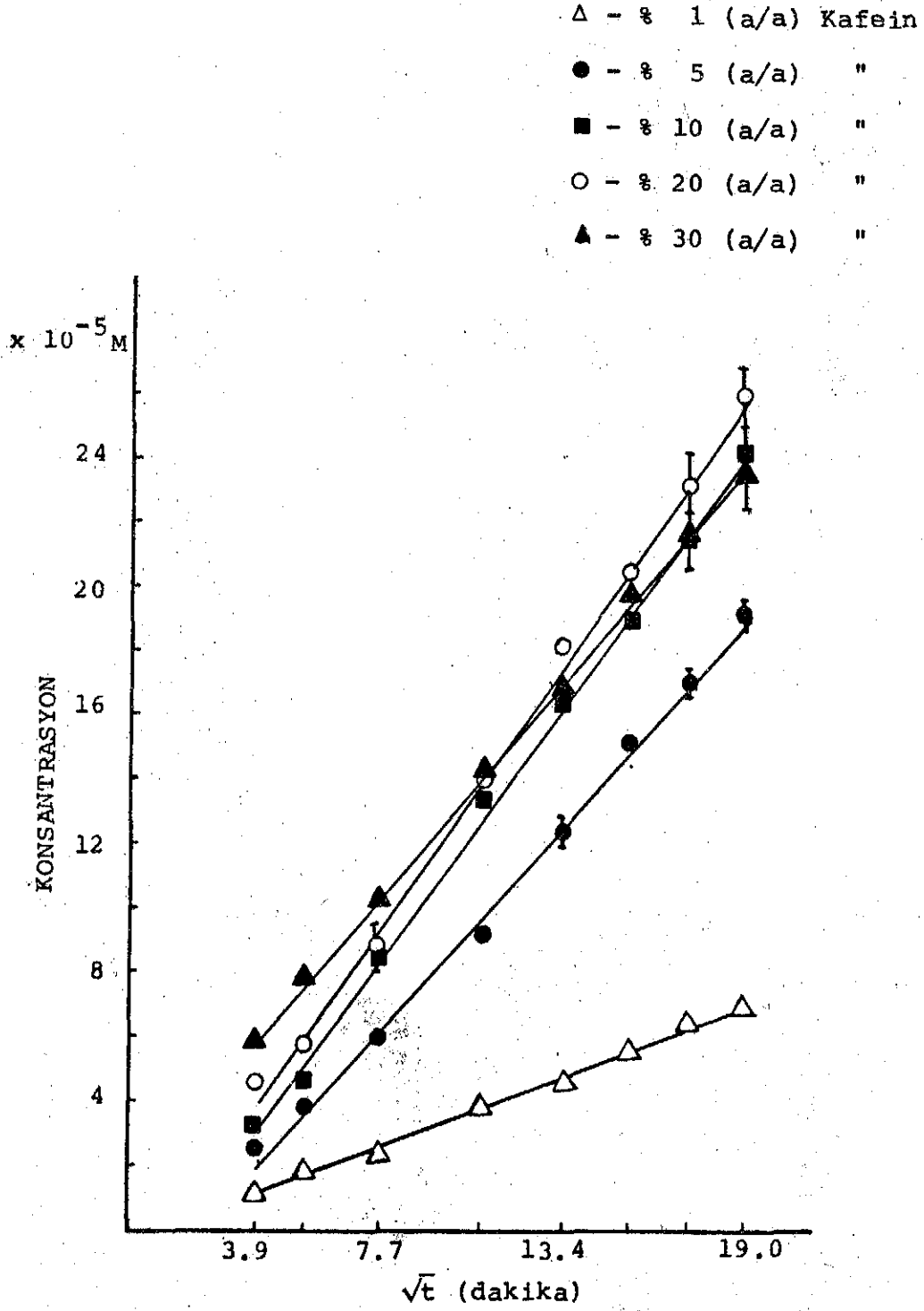


ŞEKİL 7 : DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİNİN VAZELİN B MERHEMLERİNDEN SALIVERİLMESİ.

Vazelin B merheminde (Şekil 7) ise % 1'den % 30'a kadar olan tüm konsantrasyonlar arasındaki farklılıkların önemli olduğu görülmüştür (Ek Tablo-2).

Yani vazelin A sıvağından % 1-20 arasındaki konsantrasyonlardaki kafein, vazelin B sıvağından ise % 1'den % 30'a kadar tüm konsantrasyonlar 6 saatlik süre içinde değişik miktarlarda bırakılmaktadır.

Şekil 8, s/y emülsiyon tipi merhemden aynı konsantrasyonlardaki kafeinin salıverilmesini göstermektedir.

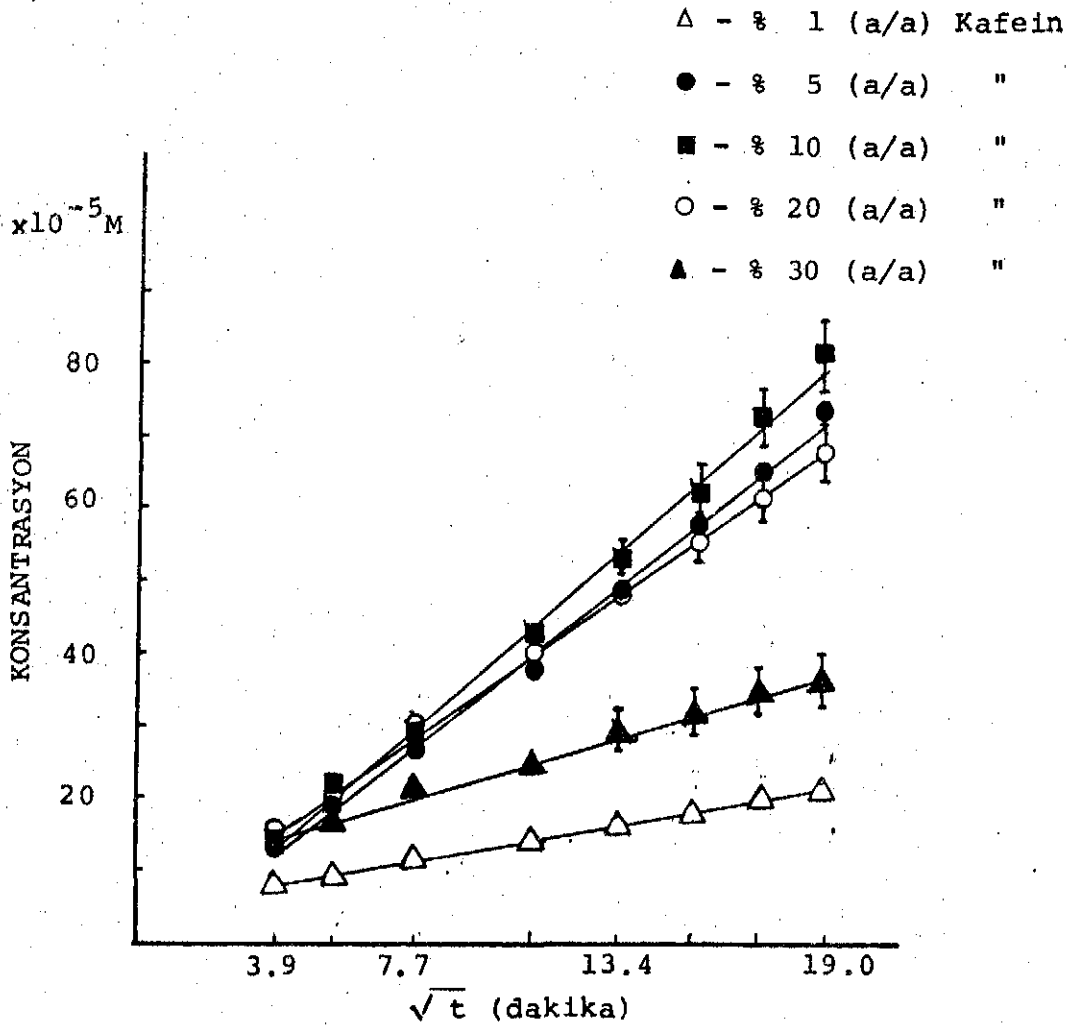


ŞEKİL 8 : DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİNİN s/y TİPİ EMÜLSİYON MERHEMLERİNDEN SALİVERİLMESİ.

Bu grafikten görüldüğü gibi saliverilen kafein miktarı, merhem konsantrasyonunun % 10'a kadar artması ile artmış, bu konsantrasyondan yüksek konsantrasyonlar saliverilen miktarı artırmamışlardır.

Şekil 8'deki saliverilme eğrilerinde % 10 ve % 20, % 10 ve % 30, % 20 ve % 30 kafein konsantrasyonları için önemli bir fark bulunamamıştır (Ek Tablo - 3).

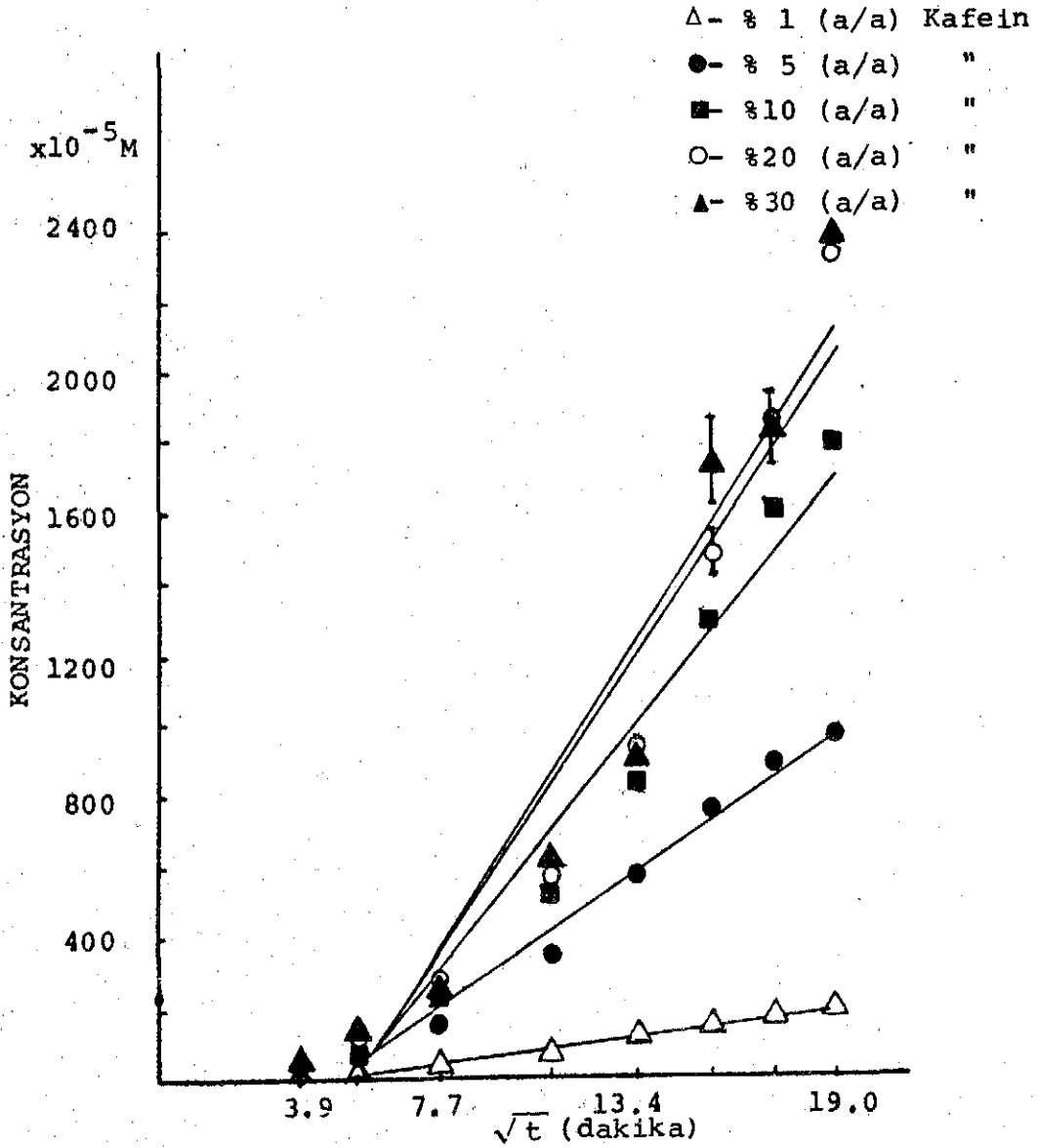
Hidrofilik merhemden kafein bırakılması Şekil 9'da verilmiştir.



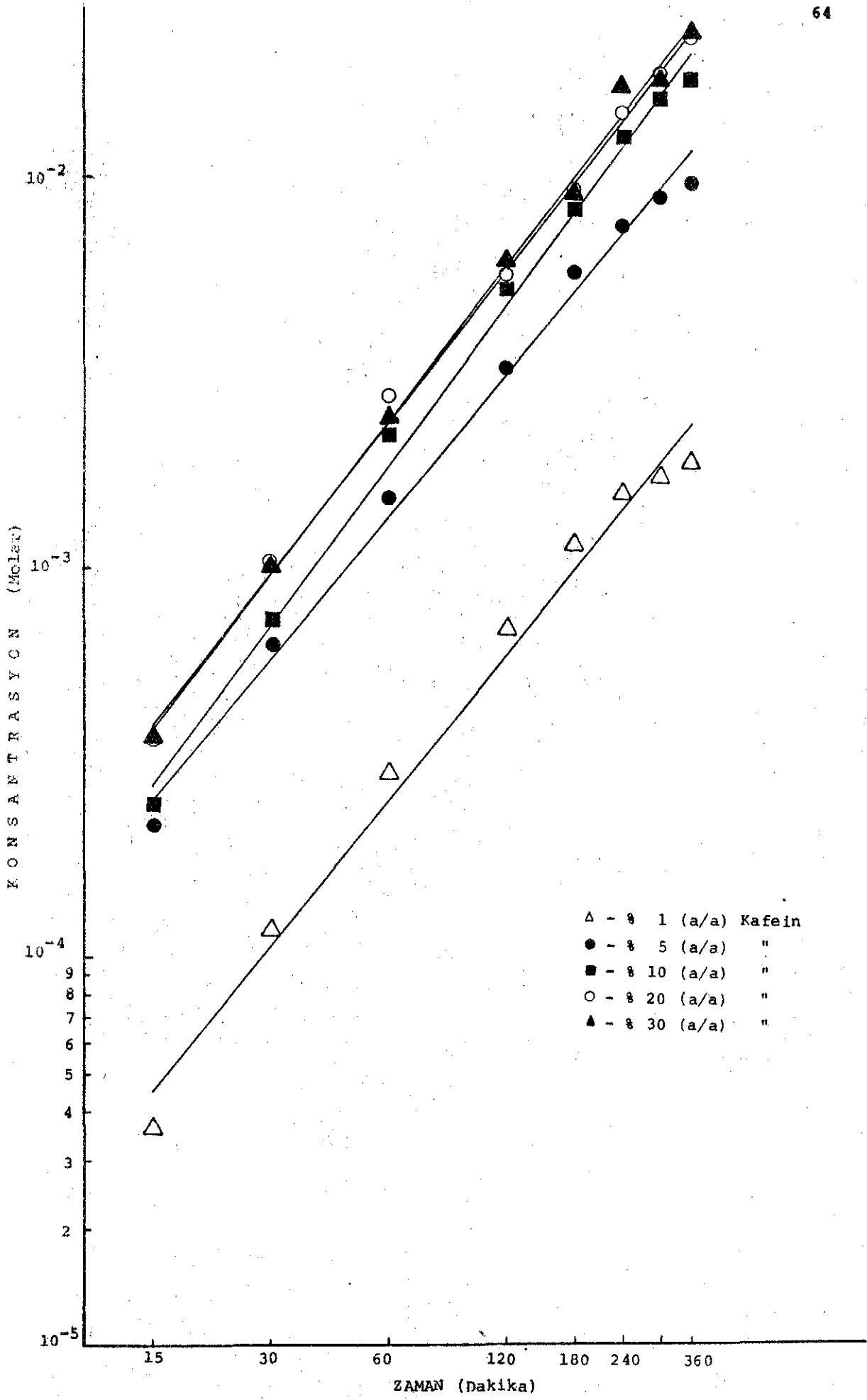
ŞEKİL 9 : DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİNİN HİDROFİLİK MERHEMLERDEN SALIVERİLMESİ.

Bu şekil üzerinde % 10 kafein konsantrasyonuna kadar saliverilmenin konsantrasyona bağlı olarak arttığı görülmekle birlikte, % 5 ve % 10, % 5 ve % 20, % 10 ve % 20'lik konsantrasyonlar arasında önemli bir fark olmadığı bulunmuştur. Ayrıca % 30 kafein içeren merhemden saliverilmenin önemli derecede azaldığı görülmektedir (Ek Tablo - 4).

PEG merhemden kafein bırakılması hem difüzyon zamanının kareköküne karşı konsantrasyon değişmesi, hem de zamanın logaritmasına karşı konsantrasyonun logaritması grafikleri ile Şekil 10 ve Şekil 11'de gösterilmiştir.



ŞEKİL 10: DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİNİN PEG MERHEMLERİNDEN SALIVERİLMESİ,



ŞEKİL 11: DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİNİN PEG MERHEMLERİNDEN SALIVERİLMESİNİN LOGARİTMİK GÖSTERİŞİ.

Bu grafikler üzerinde III.1. de belirtildiği gibi logaritmik çizimde doğrusal ilişkiye uyum daha iyidir. Bu nedenle bundan sonra, PEG merhemleriyle yapılan bütün çalışmaların sonuçları logaritmik olarak gösterilecektir.

PEG merhemlerinde kafein konsantrasyonunun % 20'ye kadar artması salıverilmeyi artırmıştır. Fakat % 20 ve % 30 kafein konsantrasyonları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (Ek Tablo - 5).

Şekil 6'dan Şekil 11'e kadar olan bulgulardan görüldüğü gibi kafein konsantrasyonlarının salıverilmeye etkisi en belirgin olarak vazelin sıvağlarında görülmektedir.

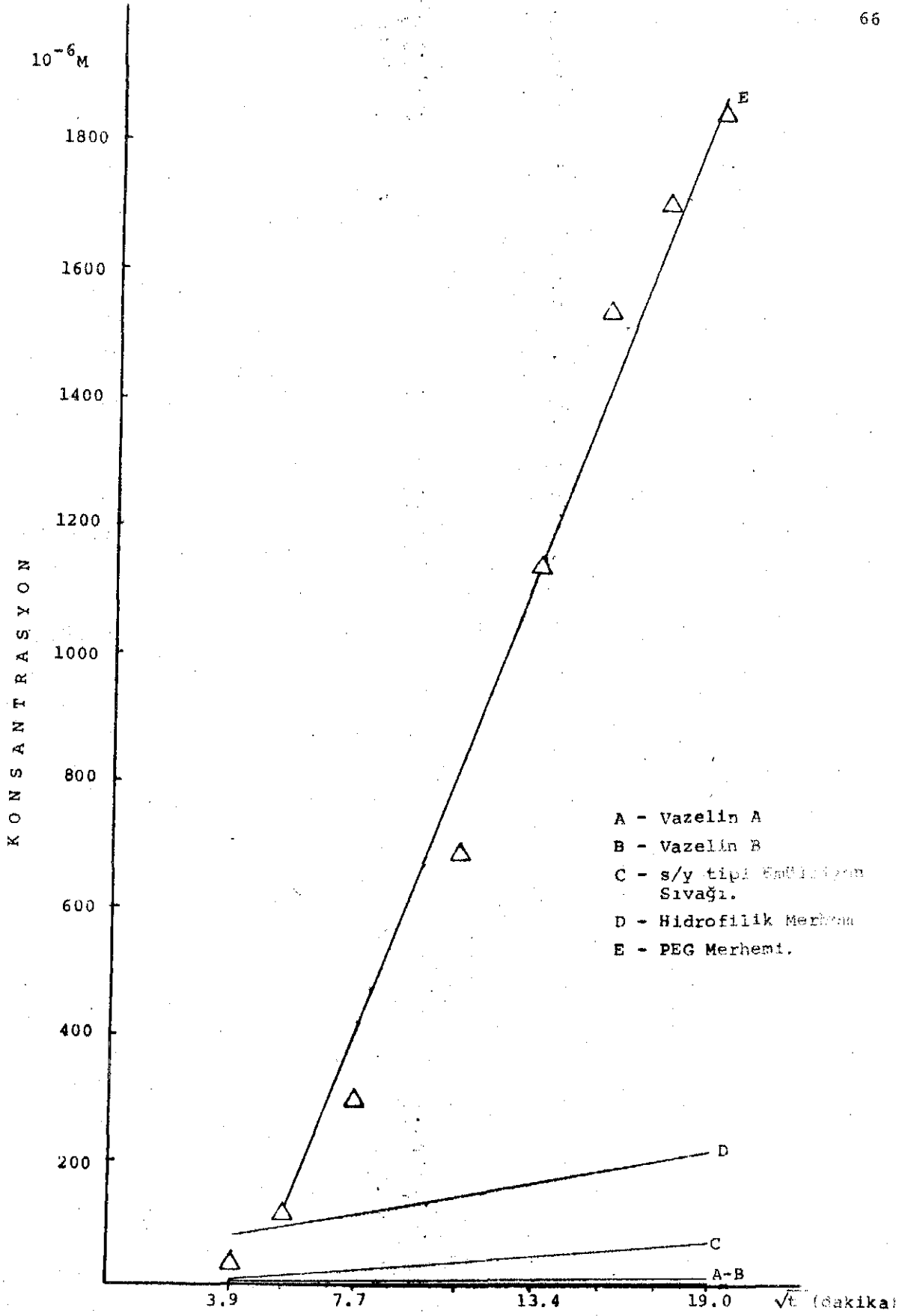
III.3. Merhem Sıvağlarının Difüzyona Etkisi

I.4.4.1. de anlatıldığı gibi merhem sıvağlarının tipi etken madde difüzyonunu etkileyen en önemli faktörlerden biridir.

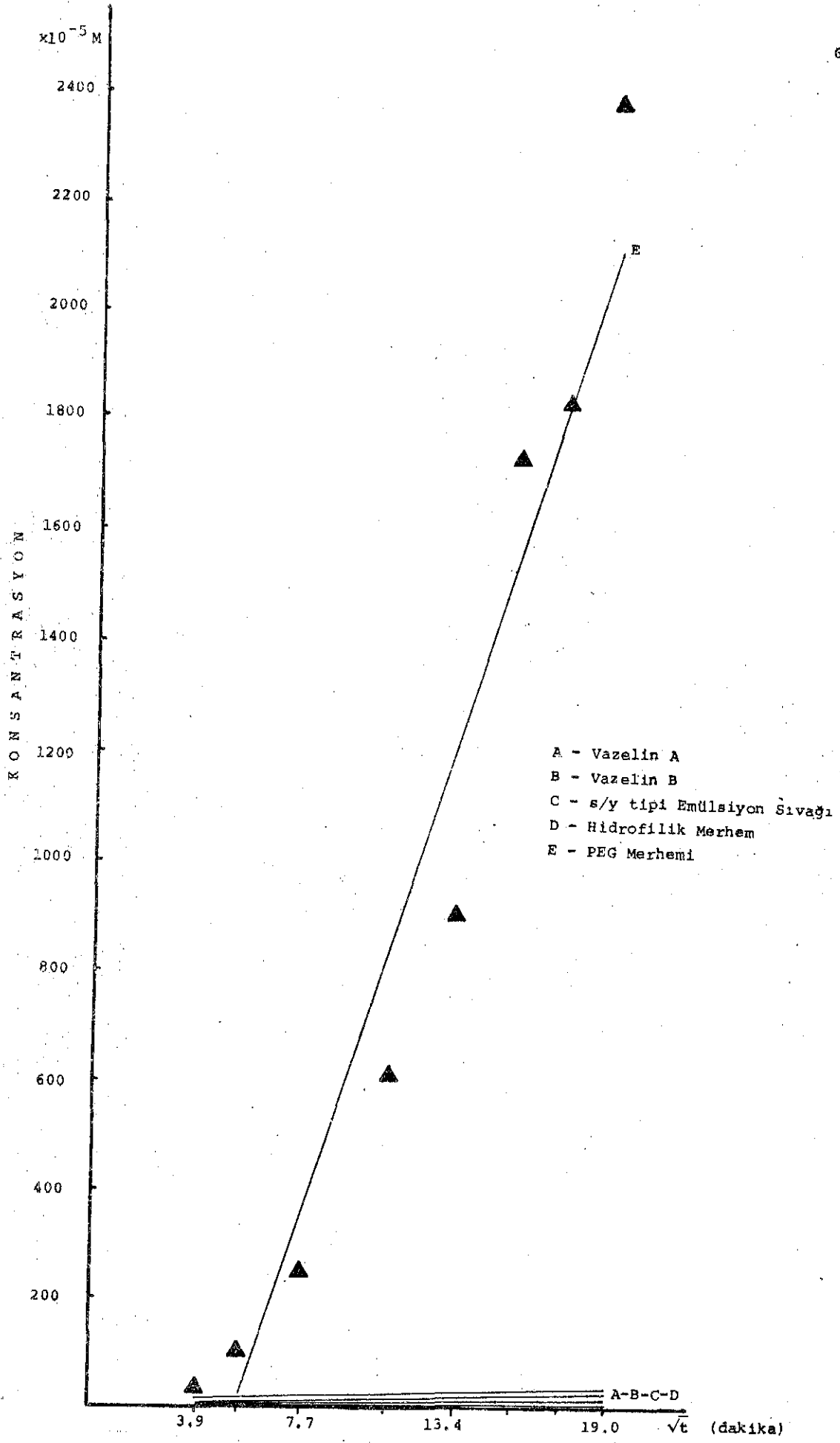
Bu başlık altında vazelin sıvağları, s/y tipi emülsiyon sıvağı, hidrofilik merhem ve PEG merheminin kafeinin salıverilmesine olan etkileri incelenecektir.

Şekil 12 ve Şekil 13'de % 1 ve % 30 konsantrasyonlarda kafeinin değişik merhem sıvağlarından bırakılması görülmektedir.

Şekil 12 üzerinde vazelin A, vazelin B, s/y tipi emülsiyon sıvağı ve hidrofilik merhemden salıverilme birbirlerine yakın doğrular verdiklerinden bunlar üzerinde deneysel noktalar gösterilmemiş, yalnızca teorik doğrular çizilmiştir. Şekil 13'de de aynı durum görüldüğü için vazelin A, vazelin B, s/y tipi emülsiyon sıvağı ve hidrofilik merhemden bırakılma deneysel noktalarla belirlenmemiştir.



ŞEKİL 12: % 1 (a/a) KAFEİNİN DEĞİŞİK MERHEM SIVAĞLARINDAN SALIVERİLMESİ.



ŞEKİL 13: % 30 (a/a) KAFEİNİN DEĞİŞİK MERHEM SIVAĞLARINDAN SALIVERİLMESİ.

Her iki şekilden de anlaşıldığı gibi kafeini en az bırakan sıvağ vazelin A olup, daha sonra sırasıyla vazelin B, s/y tipi emülsiyon sıvağı ve hidrofilik merhem gelmektedir. PEG merheminin ise, diğer sıvağlara göre kafeini en fazla bırakan sıvağ olduğu açıkça görülmektedir.

Kullanılan % 5, 10, 20 kafein konsantrasyonları da değişik merhem sıvağlarından Şekil 12 ve Şekil 13'deki sıraya uygun olarak salıverildiği için bunlar ayrı grafiklerle gösterilmemiş, yalnızca en düşük ve en yüksek konsantrasyonların grafikleri verilmiştir. Fakat, % 1,5, 10, 20 ve 30 kafein içeren değişik merhemlerden salıverilme hızlarını belirten, difüzyon zamanının kareköküne karşı konsantrasyon değişikliği grafiklerinin eğimlerini içeren Tablo 2'den bu farklılıklar da kolayca anlaşılabilir.

Aynı kafein konsantrasyonlarının değişik merhem sıvağlarından salıverilmeleri birbirinden istatistiksel olarak da farklı bulunmuştur (Ek Tablo - 6-10).

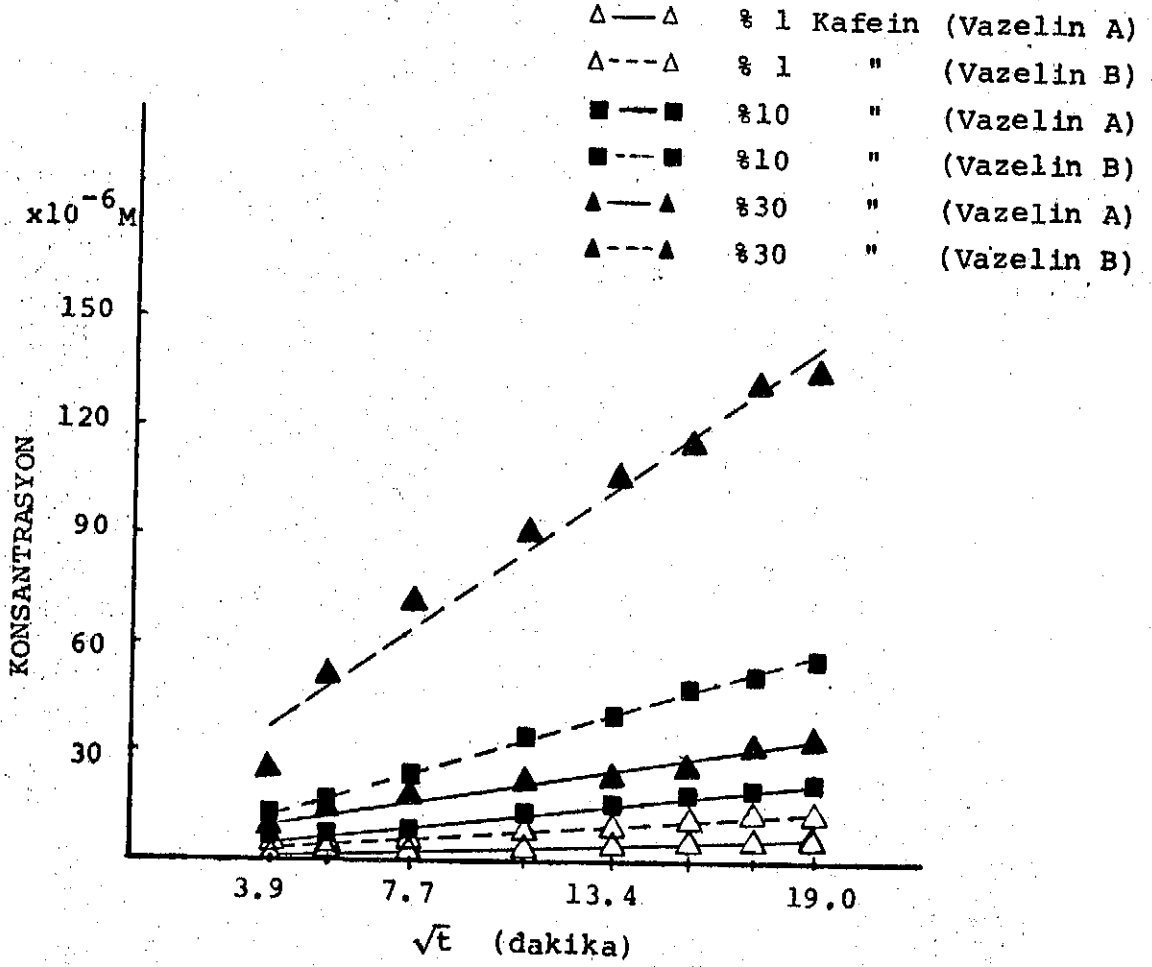
Değişik konsantrasyonlarda kafeinin en fazla PEG merhemlerinden salıverildiği ve bu salıverilmenin hidrofilik merhem, s/y tipi emülsiyon sıvağı ve vazelin sıvağlarına doğru azaldığı açık olarak görülmektedir.

TABLO-2: DEĞİŞİK MERHEM SIVAĞLARINDAN KAFEİNİN SALIVERİLME HIZLARI

Sivağ Cinsi	% K a f e i n K o n s a n t r a s y o n l a r ı			
	1	5	10	20
VAZELİN A	0.3709x10 ⁻⁶	0.9192x10 ⁻⁶	1.083x10 ⁻⁶	1.570x10 ⁻⁶
VAZELİN B	0.6702x10 ⁻⁶	1.724x10 ⁻⁶	2.947x10 ⁻⁶	5.053x10 ⁻⁶
s/y tipi EMÜLSİYON MERHEMİ	3.842x10 ⁻⁶	11.12x10 ⁻⁶	13.86x10 ⁻⁶	14.41x10 ⁻⁶
HİDROFİLİK MERHEM	8.889x10 ⁻⁶	39.49x10 ⁻⁶	43.61x10 ⁻⁶	34.79x10 ⁻⁶
PEG MERHEMİ	130.7x10 ⁻⁶	674.5x10 ⁻⁶	1229x10 ⁻⁶	1489x10 ⁻⁶
				1549x10 ⁻⁶

III.3.1. Vazelin Merhemlerinden Salıverilme

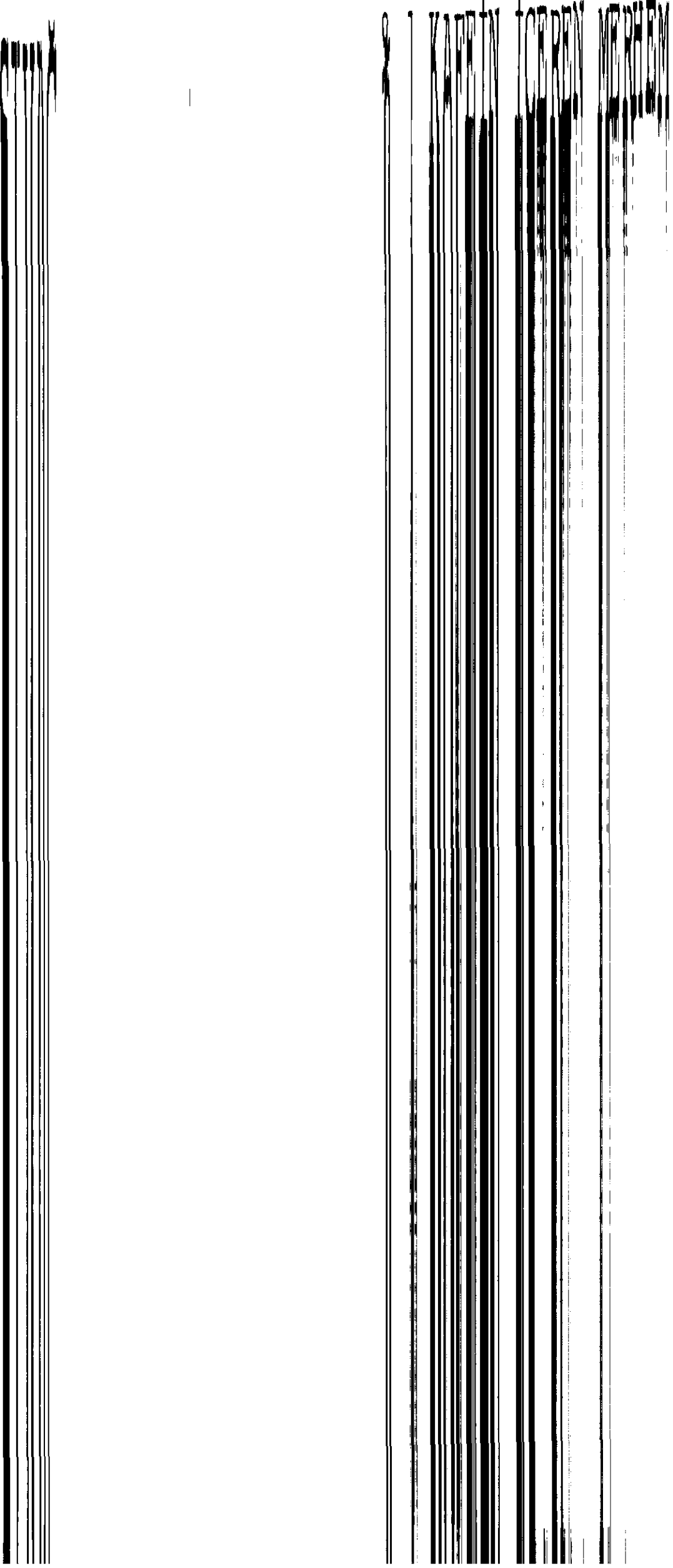
Şekil 14'de vazelin A ve vazelin B'den % 1, 10 ve 30 konsantrasyonlarındaki kafeinin bırakılması görülmektedir.

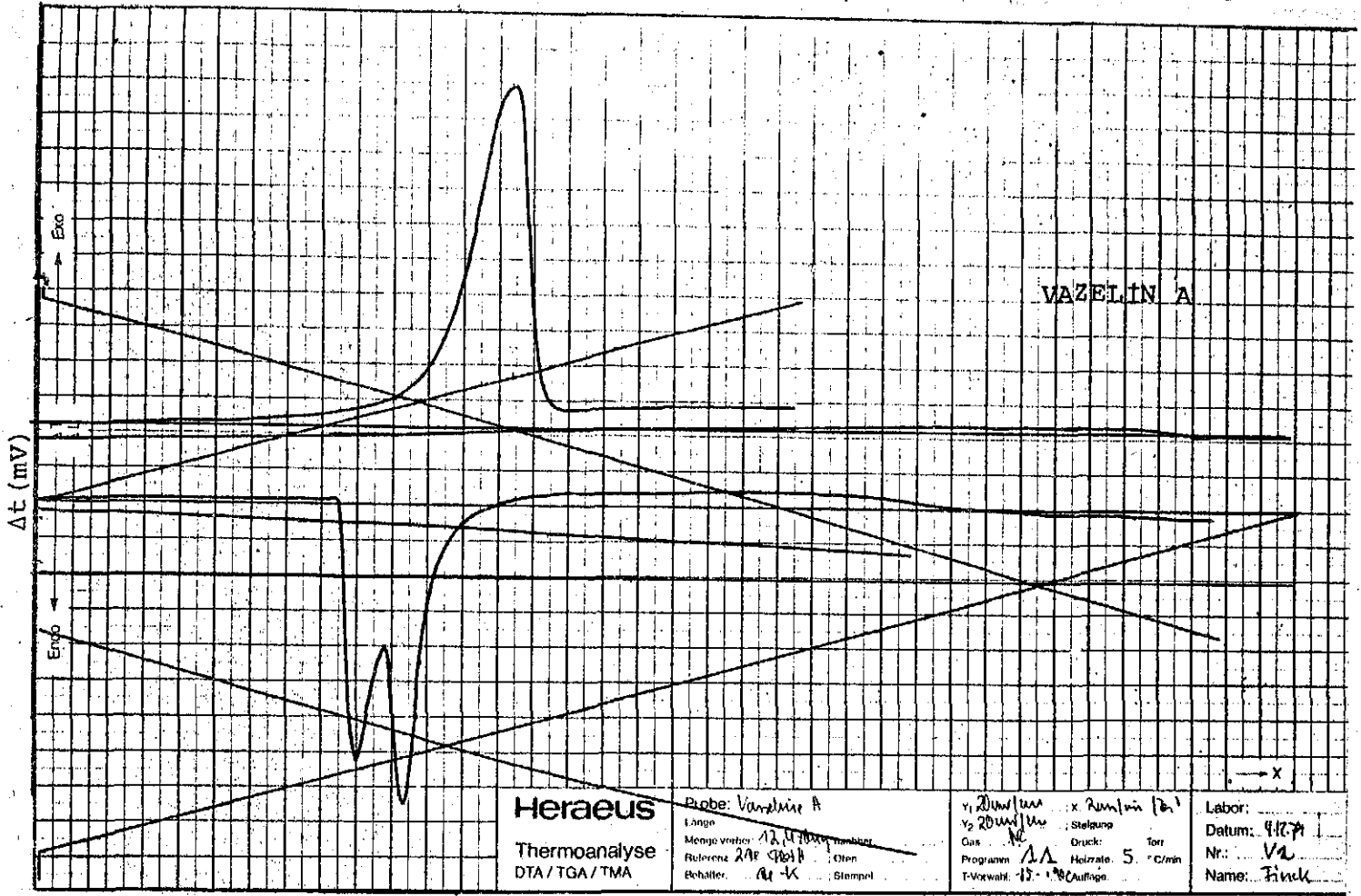


ŞEKİL 14: DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİNİN VAZELİN A ve VAZELİN B MERHEMLERİNDEN SALIVERİLMESİ.

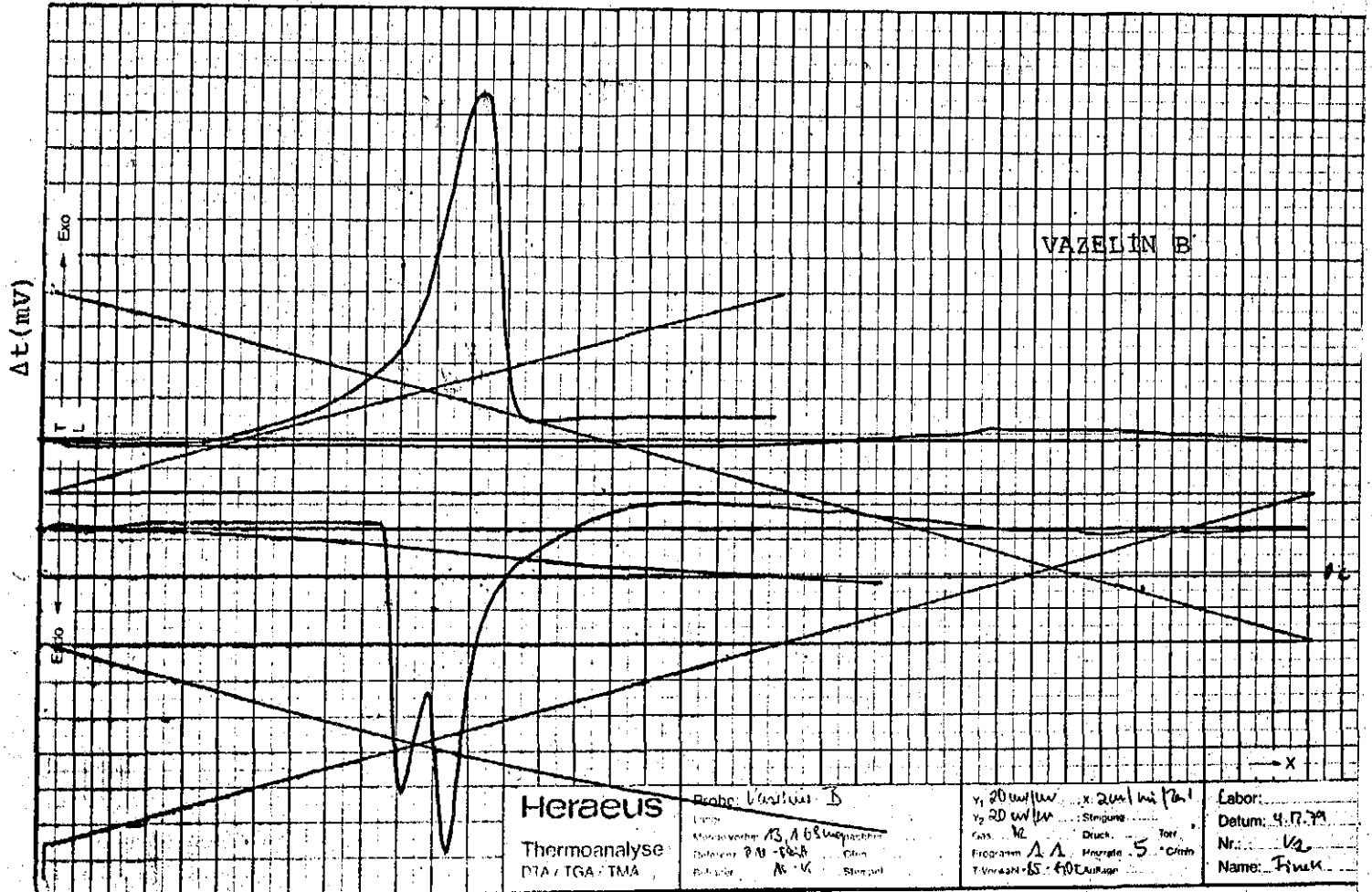
Herbir konsantrasyon için her iki sivağdan salıverilme, istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (Ek Tablo-6-10). Bu farklılık Şekil 14'de de belirgindir.

Her iki vazelin mikroskop altında incelenerek aralarında bir farklılık olup olmadığı araştırılmıştır. Şekil 15'de vazelin A ve vazelin B sıvağları ve % 1'lik merhemlerin mikroskopik yapısı görülmektedir.





SICAKLIK



SICAKLIK

ŞEKİL 17: VAZELİN A VE VAZELİN B'NİN TERMAL DIFERANSİYEL ANALİZLERİ.

X-ışını analizlerinde her iki sıvağın da Bragg aralıklarının aynı olduğu görülmektedir. Aynı şekilde iki sıvağın da kısa mesafelerde kristal yapısının aynı olduğu görülmektedir. Bunu Debye-Sherrer halkalarının yoğunluklarının aynı olması da kanıtlamaktadır. Bu bulguyu kuvvetlendirmek için yapılan diferansiyel termal analizlerde (Şekil 17), ısıtma ve soğutmada faz değişim noktalarının her iki sıvağda da aynı olduğu görülmektedir. İki sıvağda da erime entalpisi ve erime derecesi 56.5°C 'dir. Kristalizasyon derecesi ise $53.5-54^{\circ}\text{C}$ 'dir. Bu bulgulardan vazelin A ve vazelin B'nin kristal özelliklerinde bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Salıverilme bulgularında görülen belirgin farklılıkların nedeni daha ilerde tartışılacaktır.

III.4. Kompleks Yapıcı Maddelerin Etkisi

Kafeinle kompleks yapan sodyum benzoatın difüzyona etkisi, kafeini en az bırakan sıvağlardan biri olan vazelin B ve en fazla bırakan PEG merhemleri ile çalışılmıştır. Bunun nedeni, vazelinden salıverilmenin düşük olmasına rağmen, bu sıvağın kullanılan sıvağlar içinde en az etkileşme yapmasıdır. Bu şekilde ilave edilen kompleksleşme ajanının salıverilmeye etkisi en açık biçimde vazelin sıvağlarıyla belirlenecektir.

PEG sıvağları ise salıverilmenin en yüksek olduğu sıvağlardır ve vazelinin aksine birçok madde ile kolayca etkileşirler. Bu nedenle her iki sıvağın kompleksleşme ajanının etkisi

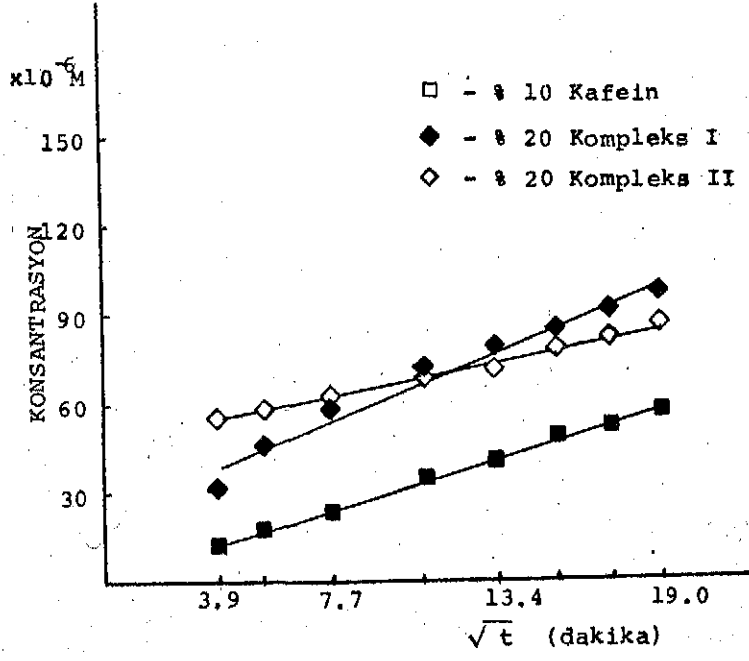
açısından karşılaştırılmasının ilginç olacağı düşünülmüştür.

Sodyum benzoatın kompleksleşme ajanı olarak seçilmesinin nedeni bu maddenin kafeinin sudaki çözünürlüğünü arttırmasıdır (13-15). Bu özelliğin seçilen merhem sıvağlarından kafein salıverilmesini ne şekilde etkileyeceği incelenmek istenmiştir.

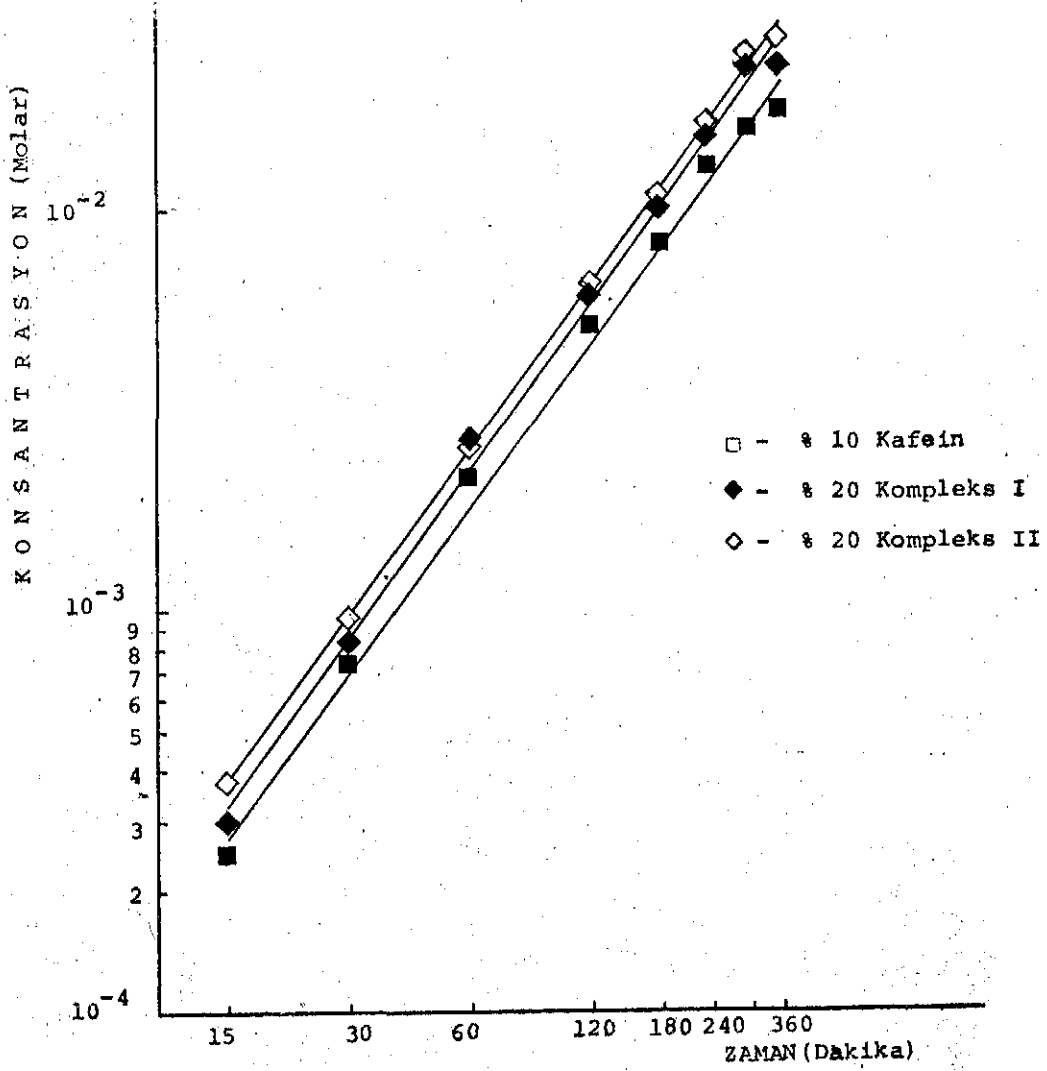
Şekil 18 ve Şekil 19, II.4.2.3. de anlatıldığı gibi iki değişik yöntemle hazırlanan ve kompleks I, kompleks II olarak belirlenen kafein-sodyum benzoat kompleksleri içeren merhemlerden kafein salıverilmesini göstermektedir.

Şekil 18, % 10'luk kafein, kompleks I ve kompleks II'nin vazelin B merhemlerinden salıverilmesini göstermekte olup, bu grafik üzerinde yapılan istatistiksel değerlendirmeler kafeinle her iki kompleksin salıverilmelerinin farklı olduğunu belirtmiştir (Ek Tablo-11). Kompleks I ve Kompleks II arasında ise salıverilme yönünden belirgin bir farklılık yoktur.

Aynı şekilde, Şekil 19'dan da görüleceği gibi PEG merhemlerinden salıverilme de benzer görünüm vermektedir. Bunda da komplekslerin salıverilmeleri arasında bir farklılık olmadığı halde, kafeinle komplekslerin bırakılmaları istatistiksel olarak farklıdır (Ek Tablo - 11).



ŞEKİL 18: KOMPLEKS I ve KOMPLEKS II'NİN VAZELİN B MERHEMLERİNDEN SALIVERİLMESİ.



ŞEKİL 19 : KOMPLEKS I VE KOMPLEKS II'NİN PEG MERHEMLERİNDEN SALIVERİLMESİ.

III.5. Koruyucu Maddelerin Difüzyona Etkisi

% 10 Kafein içeren vazelin B ve PEG merhemlerine II.4.2.4. de anlatıldığı gibi ilave edilen % 0.05, 0.1 ve % 0.3 (a/a) konsantrasyonlardaki metil ve propil parabenlerin taze hazırlanmış merhemlerden kafein salıverilmesine etkileri Tablo 3'de görülmektedir.

TABLO-3: TAZE HAZIRLANMIŞ MERHEMLERDE KORUYUCULARIN ETKİSİ

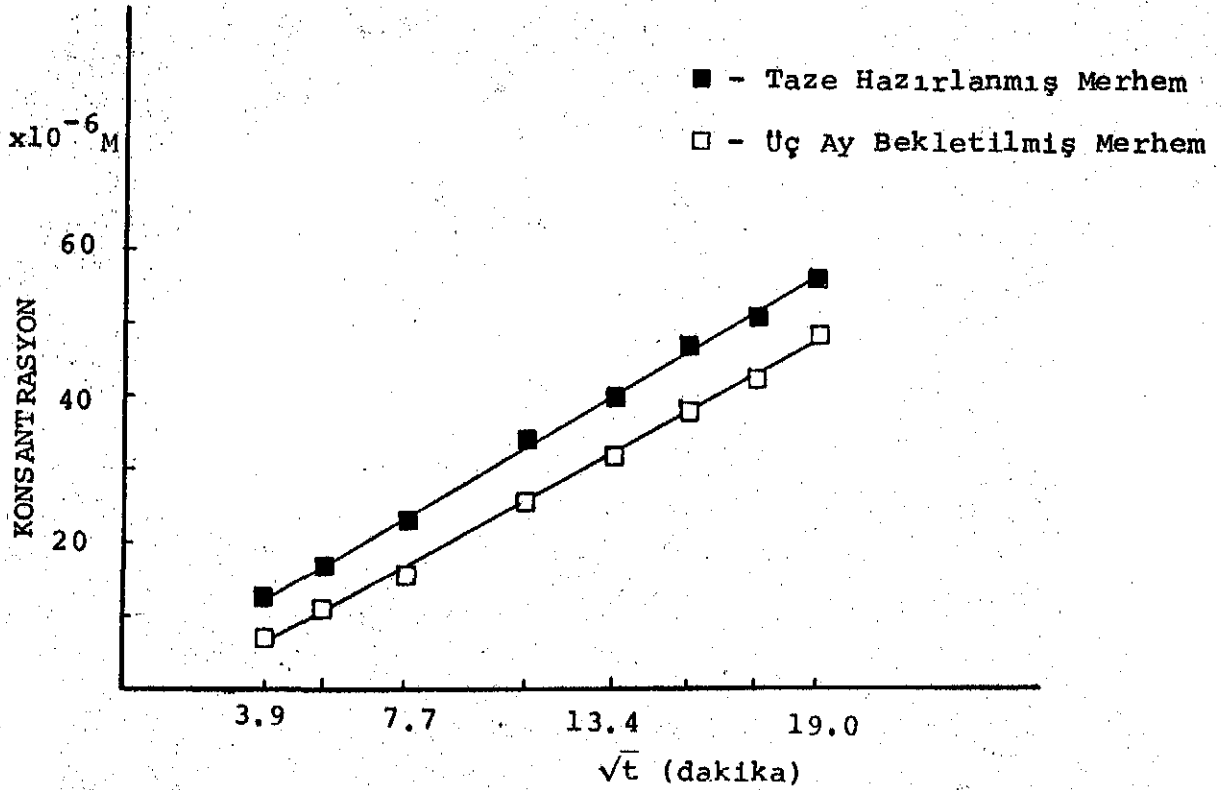
Paraben Konsantrasyonu	% 10 Vazelin B Merheminden 6.Saat Sonunda Salıverilen Kafein Konsantrasyonu $\pm S_{\bar{D}}$ (n = 5)	% 10 PEG Merheminden 6.Saat Sonunda Salıverilen Kafein Konsantrasyonu $\pm S_{\bar{D}}$ (n = 5)
% 0	$5.36 \times 10^{-5} M \pm 0.13 \times 10^{-5}$	$1.66 \times 10^{-2} M \pm 0.03 \times 10^{-2}$
% 0.05	$5.57 \times 10^{-5} M \pm 0.11 \times 10^{-5}$	$1.70 \times 10^{-2} M \pm 0.05 \times 10^{-2}$
% 0.1	$5.20 \times 10^{-5} M \pm 0.25 \times 10^{-5}$	$1.66 \times 10^{-2} M \pm 0.08 \times 10^{-2}$
% 0.3	$5.56 \times 10^{-5} M \pm 0.13 \times 10^{-5}$	$1.76 \times 10^{-2} M \pm 0.06 \times 10^{-2}$

Tablo 3'den de anlaşıldığı gibi hem vazelin B hem de PEG merhemlerine değişik konsantrasyonlarda paraben ilave edilmesi taze hazırlanmış merhemlerde kafein salıverilmesine önemli bir etki yapmamıştır. Koruyucu içeren ve içermeyen % 10'luk vazelin ve PEG merhemlerinden salıverilme arasında önemli bir fark olmadığı istatistiksel açıdan da kanıtlanmıştır (Ek Tablo -12).

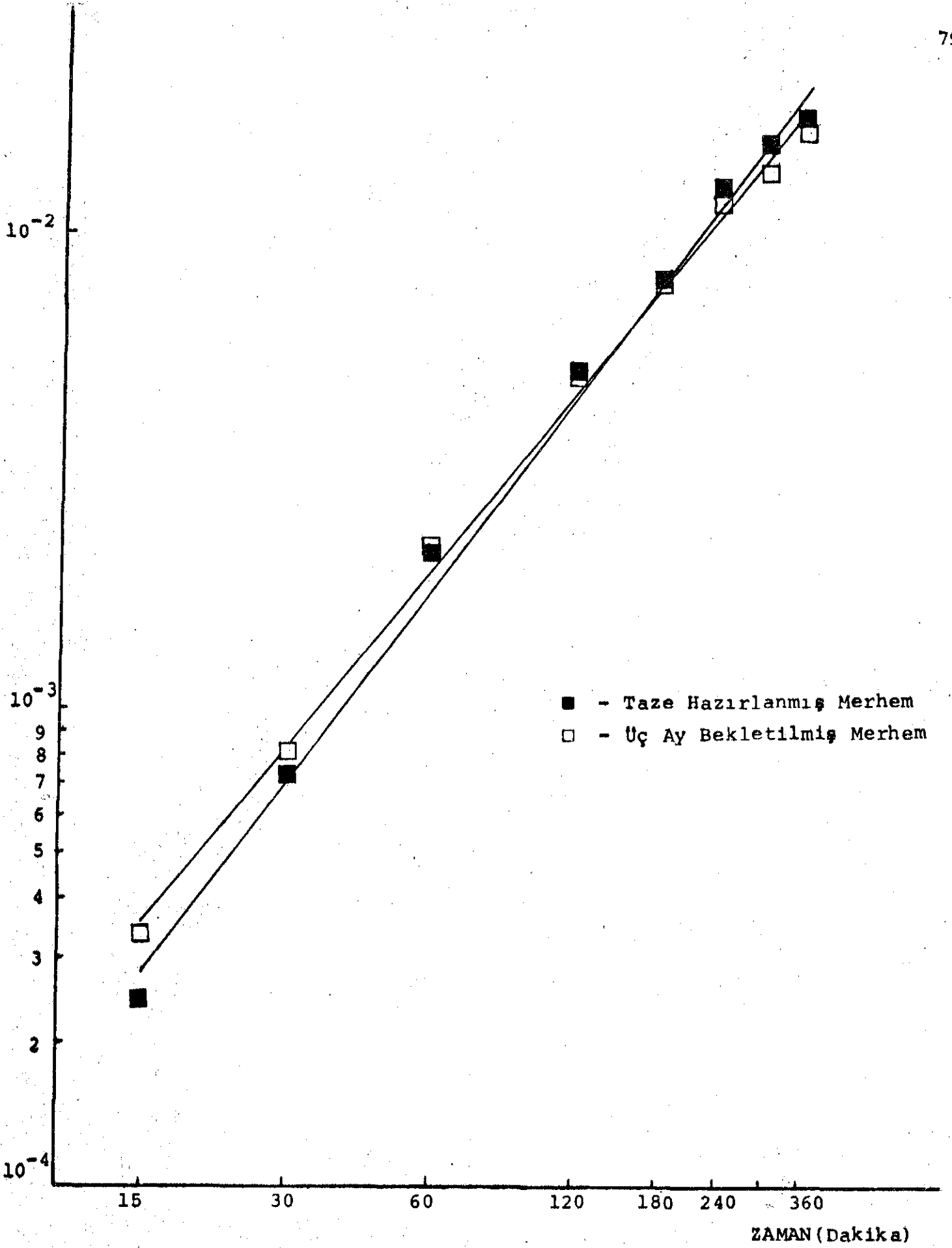
III.6. Merhemlerin Stabilitesi

Koruyucu içermeyen % 10 vazelin B ve % 10 PEG merhemlerine bekletmenin etkisini incelemek için üç ay sonunda difüzyon deneyleri yapılmış ve bu sonuçlar taze hazırlanmış merhemlerden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Şekil 20'deki % 10 vazelin B merhemi ile alınan sonuçlardan görüldüğü gibi üç ay bekleme sonunda kafein saliverilmesinde bir azalma olmuştur. Bu azalma istatistiksel açıdan da önemlidir (Ek Tablo-13).



ŞEKİL 20 : % 10 KAFEİN İÇEREN VAZELİN B MERHEMİNDEN BEKLETME SONUNDA KAFEİN SALIVERİLMESİ.



ŞEKİL 21: % 10 KAFEİN İÇEREN PEG MERHEMİNDEN BEKLETME SONUNDA KAFEİN SALIVERİLMESİ.

Aynı durum % 10 PEG merheminde görülmemiştir. Şekil 21'den, üç aylık bekletmenin kafein salıverilmesinde azalmaya neden olmadığı anlaşılmaktadır. Beklemiş ve beklememiş PEG merhemler arasındaki fark istatistiksel olarak da önemsiz bulunmuştur (Ek Tablo-13).

Koruyucu içeren merhemlerin bekleme sonucu gösterdiği değişiklikler incelendiğinde ise Tablo 4'de verilen görünüm ortaya çıkmıştır.

% 0.05, 0.1 ve 0.3 propil paraben içeren vazelin merhemlerinden salıverilen kafein miktarında 3. ay sonunda bir azalma görülmüştür. Bu değer her merhem taze hazırlandığı zamanki salıverdiği kafein miktarı ile karşılaştırıldığında, aradaki farklar istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur (Ek Tablo-14).

% 0.1 ve 0.3 konsantrasyonlarda paraben içeren % 10 PEG merhemlerinde ise 3. ay sonunda kafein bırakılmasında, hazırlandığı zamankine göre önemli bir değişiklik görülmemiş olup, bu durum istatistiksel olarak da gösterilmiştir (Ek Tablo -14). Yalnızca % 0.05 konsantrasyonda metil paraben içeren % 10 PEG merheminden üç ay sonunda salıverilen kafein miktarında, taze hazırlandığı zamankine göre istatistiksel olarak önemli bir artma olmuştur (Ek Tablo - 14). Yalnız, bu önemlilik tek bir kafein konsantrasyonu ve sınırlı sayıda yapılan deneylerle elde edilmiş olduğu için gerçekliği tartışma konusu olabilir.

TABLO 4: DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KORUYUCU İÇEREN MERHEMLERDE BEKLETMENİN ETKİSİ

Paraben Konsant- rasyonu	% 10 Vazelin B Merheminden 6. Saat Sonun- da Salıverilen Kafein Konsantrasyonu $\pm S_D (n = 5)$		% 10 PEG Merheminden 6. Saat Sonunda Salıverilen Kafein Konsantrasyonu $\pm S_D (n = 5)$	
	Taze Hazırlan- mış Merhem	3 Ay Bekletilmiş Merhem	Taze Hazırlan- mış Merhem	3 Ay Bekletilmiş Merhem
% 0.05	$5.57 \times 10^{-5} M$ $\pm 0.11 \times 10^{-5}$	$4.30 \times 10^{-5} M$ $\pm 0.08 \times 10^{-5}$	$1.70 \times 10^{-2} M$ $\pm 0.05 \times 10^{-2}$	$1.95 \times 10^{-2} M$ $\pm 0.03 \times 10^{-2}$
% 0.1	$5.20 \times 10^{-5} M$ $\pm 0.25 \times 10^{-5}$	$4.44 \times 10^{-5} M$ $\pm 0.08 \times 10^{-5}$	$1.66 \times 10^{-2} M$ $\pm 0.08 \times 10^{-2}$	$1.83 \times 10^{-2} M$ $\pm 0.05 \times 10^{-2}$
% 0.3	$5.56 \times 10^{-5} M$ $\pm 0.13 \times 10^{-5}$	$4.61 \times 10^{-5} M$ $\pm 0.14 \times 10^{-5}$	$1.76 \times 10^{-2} M$ $\pm 0.06 \times 10^{-2}$	$1.80 \times 10^{-2} M$ $\pm 0.02 \times 10^{-2}$

IV- TARTIŞMA ve SONUÇ

Yeni bir farmasötik preparatın etkinliğini ve buna etki eden faktörleri incelemek için önce *in vitro* koşullarda bir seri deney yapılmakta ve daha sonra bu deneylerin sonuçlarının ışığı altında *in vivo* çalışmalara geçilmektedir. Genellikle *in vitro* deney sonuçları *in vivo* çalışmalar için bir temel oluştururlar.

Bu araştırmaya konu olarak seçilen kafein merhemleri de yeni bir preparat olduğu için, değişik faktörlerin, kafein merhemlerden *in vitro* salıverilmesine etkileri incelenmiştir.

IV.1. Bulgulara Matematiksel Yaklaşım

Bulguların, PEG merhemler hariç olmak üzere diğer tüm merhemlerde Higuchi (52)'nin $Q = \sqrt{2AC_s Dt}$ eşitliğinden yararlanılarak, difüzyon zamanının kareköküne karşı salıverilen kafein konsantrasyonlarının çizildiği grafiklerle gösterildiği III.1. de anlatılmıştı. Çalışılan merhemlerin hepsinin süspansiyon tipinde olması ve PEG merhemler dışındaki merhemlerde zamanın kareköküne karşı çizilen konsantrasyon grafiklerinin bir doğru vermesi vazelin sıvağları, s/y tipi emülsiyon sıvağı ve hidrofilik merhemden kafein bırakılmasının Eşitlik 5'e uyduğunu göstermektedir.

PEG merhemlerinden salıverilmenin ise Eşitlik 5'e uymadığı, en iyi doğrusal uyumun logaritmik denklemle elde edilmesinden anlaşılmaktadır.

Higuchi (52)'nin birim alandan salıverilmeyi gösteren $Q = \sqrt{2AC_s Dt}$ eşitliği difüzyon alanının tümünden salıverilen miktara göre yeniden düzenlenirse aşağıdaki şekli almaktadır.

$$q = Q.A' = A' \sqrt{2AC_s Dt} \quad (7)$$

A' : Difüzyon alanı

q : t zamanında tüm alandan difüze olan etken maddenin miktarı

A : Etken maddenin merhemdeki konsantrasyonu

C_s : Etken maddenin merhemdeki çözünürlüğü

D : Etken maddenin merhemdeki difüzyon katsayısı

t : Zaman

Bu eşitliğe uyumun iyi olması için maddenin çözünürlüğünün (C_s), difüzyon katsayısının (D) ve difüzyon alanının (A') tüm difüzyon süresince sabit kalması gerekmektedir. Diğer sıvağlarda bu koşullar sağlandığı halde PEG merheminin suya karşı ilgisinin farklı olması bu eşitlikten sapmalara neden olmaktadır. PEG merheminin su çekmesi nedeniyle difüzyon hücreğine giren su zarda belirgin bir kabarma yaparak, alanı (A') artırmaktadır. Ayrıca PEG merheminin bir süre sonra tamamen çözelti haline geçmesinden dolayı ortamın viskozitesindeki azalmaya bağlı olarak

hem kafeinin difüzyon katsayısı (D), hem de zamanın bir fonksiyonu olarak çözünen miktarı (C_s) artmaktadır. Böylece Eşitlik 5'deki parametrelerin hepsinin zamanla değişmesi, PEG merhemlerinde bu eşitliğe uyumu azaltmaktadır.

Bu nedenle PEG merhemlerden elde edilen bulgular logaritmik olarak gösterilmiştir.

IV.2. Kafein Konsantrasyonunun Etkisi

Araştırmamızda incelenen merhemlerin hepsinin süspanسیون tipinde olduğu, vazelin, s/y tipi emülsiyon sıvağı, hidrofilik merhem ve PEG sıvağlarında en düşük konsantrasyon olan % 1 kafein içeren merhemlerin mikroskop altında çekilen fotoğraflarıyla Şekil 15 ve Şekil 22'de görülmekte olup, kafein konsantrasyonu arttıkça süspansiyonda parçacık sayısında da büyük bir artış olduğu gözlenmiştir.

Kafeinin sıvı parafin ve PEG 400 içinde 37°C'deki çözünürlüklerinin, sırasıyla, % 0.001 ve % 1 olarak bulunması da oda sıcaklığında hazırlanan % 1,5,10,20 ve 30 konsantrasyonlardaki merhemlerde çözünme olmayacağını göstermekle birlikte, yağlı sıvağlarda daha az olan çözünürlüğün suda çözünen sıvağlara doğru arttığını ortaya koymaktadır.

Genel olarak merhemlerdeki etken madde konsantrasyonunun artması ile salıverilen madde miktarında da artış olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (93,102).

Bu araştırmada, merhemlerdeki etken madde konsantrasyonunun % 1'den % 30'a kadar artması ile difüzyon hızında artışın en belirgin olarak gözleendiği sıvağlar, vazelin A ve vazelin B'dir (Şekil 6 ve Şekil 7). Bu sıvağlarda etken madde çözünmediği ve sıvağla da etkileşmediği için salıverilmeyi etkileyen tek değişken ilacın konsantrasyonu olduğundan, artan konsantrasyonların difüzyonu artırıcı etkileri daha açık olarak görölmektedir.

Kafeinin zamana karşı difüzyon ortamındaki konsantrasyon değişmesi incelenirse, aralarındaki ilişkinin doğrusal olma olasılığı oldukça zayıf görölmektedir.

Nitekim süspansiyon tipi merhemlerden salıverilmeyi gösteren Higuchi'nin (52) $Q = \sqrt{2AC_sDt}$ eşitliği de difüzyonun doğrudan konsantrasyon ile değil, karekökü ile orantılı olduğunu göstermektedir.

Aynı şekilde Şekil 6, Şekil 7 ve Tablo 2 incelendiğinde, kafeinin salıverilme hızının konsantrasyon artışı ile aynı oranda artmadığı anlaşılmaktadır.

Şekil 6 ve Tablo 2'de göröldüğü gibi, % 1, 5, 10 ve 20 konsantrasyonlardaki difüzyon hızları daha hızlı olarak artarken, % 30 konsantrasyonda hızdaki artış azalmakta ve bu konsantrasyondaki kafein salıverilmesi, % 20 konsantrasyondakine göre çok fazla artmamaktadır. Ek Tablo 1'de de göröldüğü gibi % 20 ile % 30 konsantrasyonları arasındaki fark 3. saatten sonra istatistiksel

olarak önem taşımamaktadır.

Vazelin B'de ise (Şekil 7), % 30'a kadar artan kafein konsantrasyonunun difüzyon üzerinde daha etkili olduğu görülmektedir. Fakat incelenen her iki tip emülsiyon sıvağında da kafein konsantrasyonu ile salıverilen madde miktarı arasındaki ilişkinin vazelin sıvağlardaki gibi olmadığı Şekil 8, Şekil 9 ve Tablo 2'den anlaşılmaktadır.

s/y tipi emülsiyon merheminde (Şekil 8), merhemdeki kafein konsantrasyonu % 10'a kadar arttıkça hem salıverilme hızı, hem de salıverilen kafein miktarı artmaktadır. Fakat % 10'dan sonraki % 20 ve % 30 konsantrasyonlardan salıverilen miktarla, % 10 konsantrasyondan salıverilen kafein miktarı arasında önemli bir artış olmadığı istatistiksel olarak da gösterilmiştir (Ek Tablo 3). O halde s/y tipi merhem sıvağında % 20 ve % 30 konsantrasyonlardan kafein kullanmak etken maddeyi boşuna harcamak olacaktır.

Ayrıca Tablo 2 incelenirse s/y tipi emülsiyon merheminde % 5 ve % 30 konsantrasyonlardan salıverilme hızları birbirine çok yakındır. Bu durum Şekil 8'de her iki doğrunun birbirlerine paralel olmasıyla da görülmektedir. Bu durumda konsantrasyonun % 5'den % 30'a yükseltilmesinin, s/y tipi emülsiyon merheminden salıverilen kafeinin toplam miktarında önemli bir artış meydana getirirken, salıverilme hızını artırmadığı ortaya çıkar. Bu sonuç Bottari ve ark. (74)'nin sonucuna da uymaktadır ve tedavi açı-

sından, salıverilen toplam ilaç miktarından çok, salıverilme hızının önemli olduğu durumlarda anlam kazanmaktadır. Yine % 5 konsantrasyona göre % 10 ve % 20 konsantrasyonlar salıverilen toplam ilaç miktarından çok, salıverilme hızının önemli olduğu durumlarda anlam kazanmaktadır. Yine % 5 konsantrasyona göre % 10 ve % 20 konsantrasyonlar salıverilen toplam etken madde miktarını arttırmakta fakat difüzyon hızındaki artış daha yavaşlamaktadır.

Aynı durum Şekil 9'da hidrofilik merhemde de görülmektedir. Sıvağdaki kafein konsantrasyonu % 1'den % 5'e artırılınca grafikten ve Tablo 2'den görüldüğü gibi salıverilme hızında hızlı bir artış olmakta fakat bu artış % 10 ve % 20 kafein konsantrasyonlarında görülmemektedir. İstatistiksel önem kontrolü tablosu da (Ek Tablo 4) % 5 ve % 10, % 5 ve % 20 ve % 10 ve % 20 konsantrasyonları arasında, etken maddenin bırakılan miktarlarında önemli bir farklılık olmadığını ortaya koymaktadır. Fakat hidrofilik merhemle elde edilen en dikkate değer sonuç, merhemdeki kafein konsantrasyonu % 30 olunca difüzyon hızında ve difüze olan kafein miktarında % 5, 10 ve 20 konsantrasyonlara göre belirgin bir azalma olmasıdır. Tablo 2 ve Şekil 9'da bu durum açıkça görülürken, istatistiksel değerlendirme sonuçları da bu azalmanın önemli olduğunu gösterir (Ek Tablo-4).

Benzokain ile yaptıkları bir çalışmada Ayres ve Laskar (95) da PEG merheminde konsantrasyonun % 5 ve % 10'dan % 20'ye

çıkarılmasının difüzyon hızını azalttığını bulmuşlar ve bunu etken maddenin çözünürlüğündeki azalma nedeniyle çökelek oluşmasına bağlamışlardır. Bu araştırmada ise bu azalma kafeinin kristal yapısının değişmesine bağlanabilir. Bu durumu daha iyi açıklamak için Şekil 22'deki sıvağları ve % 1 kafein içeren merhemleri gösteren fotoğrafları tekrar incelemek gerekir. Görüldüğü gibi, su içeren emülsiyon merhemlerinde kafein kristalleri, susuz vazelin ve PEG merhemlerindeki daha değişik bir kristal görünümündedir. Susuz sıvağlardaki amorf görünüşlü anhidr kafein kristalleri, emülsiyon sıvağlarında çok fazla uzayarak ince uzun iğnecikler şeklinde kristallere dönüşmektedir. Kafein kristallerinde görülen bu büyüme granül şeklindeki preparatlarında da saptanmıştır (120). Çubuk şeklindeki bu kristallere "Whisker" adını veren araştırmacılar, whisker'ların da anhidr kafeinle aynı erime derecesi, Rf değeri gösterdiklerini ve IR spektrumları, X-ışınları analizlerinde de fark olmadığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda görülen büyümüş kristaller ise mikroskopik görünümleri bakımından, sulu çözeltisinden kristallendirilen hidrate kafein kristallerine benzediği için, emülsiyon merhemlerinin her ikisinde de anhidr kafeinin hidrate kafeine dönüştüğü düşünülmektedir.

Şekil 22'deki fotoğraflardan da görüldüğü gibi uzayan kristaller sıvağı bir ağ gibi kaplamıştır. Özellikle % 20 ve 30 gibi yüksek konsantrasyonlarda mikroskop altında incelenen mer-

hemlerde çok yoğun bir kristal ağı oluşmuştur. s/y tipi emülsiyon sıvağında ve hidrofilik merhemde yüksek kafein konsantrasyonlarının salıverilmeyi artırmayışı ve hidrofilik merhemde % 30 kafein konsantrasyonundan salıverilmeye görülen azalma, bu kristallerin aşırı büyümesine bağlanabilir.

Bu merhemlerde kafeinin salıverilme olayı ile kristallerinin büyümesi olayının birbirini ters yönde etkilediği düşünülebilir. Bu durumda merhemde içerdiği kafeinin bir kısmı kristal büyümesinde kullanıldığı için salıverilmeyi sağlayan kafein konsantrasyonunun kristal büyümesine bağımlı olarak azalması söz konusu edilebilir. Bunun sonucunda, kafein konsantrasyonu^{na} bağılı olarak difüzyon hızının azalması ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, kafeinin s/y tipi emülsiyon sıvağında % 10, hidrofilik merhemde ise % 5 konsantrasyondan fazla kullanılması salıverilmeyi artırmadığı için gereksizdir. Kaplan ve ark.nın ilk çalışmalarında (7) hiçbir neden göstermeksizin ve merhem hazırlama koşullarını belirtmeksizin kullandıkları % 10 kafein içeren hidrofilik merhemde, *in vitro* deneylerde, % 5'lik merhemden farklı olmadığı, daha sonraki çalışmalarında (8,9) kullandıkları % 30 kafein konsantrasyonunun hidrofilik merhemlerden *in vitro* koşullarda bırakılan miktarının ise % 5'lik merhemden bile az olduğu görülmüştür.

PEG merhemlerinde (Şekil 22) anhidr kafein kristallerinde bir değişiklik olmamıştır. Şekil 10'daki difüzyon zamanınının kare-

köküne karşı salıverilen kafein konsantrasyonunu ve Şekil 11' deki zamanın logaritmasına karşı konsantrasyonun logaritmasını gösteren grafikler, kafein konsantrasyonunun % 1,5,10 ve 20'ye kadar artması ile difüzyonun arttığını gösterir. % 20 ve % 30 kafein konsantrasyonları arasında salıverilen madde miktarı bakımından istatistiksel yönden önemli bir fark yoktur (Ek Tablo-5). O halde PEG merheminde de % 30 kafein konsantrasyonu hariç olmak üzere konsantrasyon ile salıverilme arasında artan bir ilişki vardır.

İncelenen tüm sıvağlar içinde yalnızca PEG merheminde bir gecikme zamanı (lag-time) görülmüştür. PEG merheminin suda çözünen bir sıvağ olduğu I.4.1.4.de verilmişti. Bu merhemde suda çözünme özelliği, kafeinin salıverilmesinde bir gecikmeye neden olmuştur. Çünkü burada, başlangıçta kafein salıverilmesinden daha baskın olan işlem, hidrofilik özellikte olan selofan zardan suyun difüzyon hücreğine geçerek PEG sıvağı çözmesidir. Bu nedenle 30 dakikaya gelinceye kadar çözünme ve salıverilme işlemlerinin yarışması sonucunda salıverilme gecikmektedir.

Sonuç olarak, su içermeyen merhem sıvağlarında kafein konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak etken madde salıverilmesinin de arttığı, su içeren emülsiyon sıvağlarında ise konsantrasyon artışının, bir sınır değerinden sonra salıverilmeyi belirgin bir şekilde etkilemediği, hatta hidrofilik merhemde en yüksek kafein konsantrasyonunun (% 30) salıverilmeyi azalttığı söylenebilir.

IV.3. Merhem Sıvağlarının Etkisi

Değişik sıvağların, % 1,5,10,20 ve 30 konsantrasyonlardaki kafeinin salıverilmesi üzerindeki etkilerinin aynı sırayı izlediği Şekil 12, Şekil 13 ve Tablo 2'den kolaylıkla görülmektedir.

Bu sıvağlardan kafeini en iyi salıverme özelliği olanı PEG merhemidir. Daha sonra hidrofilik merhem ve s/y tipi emülsiyon sıvağı gelir. En az salıveren sıvağ ise vazelin sıvağıdır.

Kafeinin sıvı parafin ve PEG 400'deki çözünürlükleri göz önüne alınırsa, çözünmediği sıvağdan daha az, çözüldüğü sıvağdan ise daha fazla salıverildiği sonucuna varılır. Örneğin, Tablo 2'den vazelin A ve PEG merhemlerinden % 10 konsantrasyonda kafeinin difüzyon hızları karşılaştırılırsa, PEG merheminden salıverilmenin yaklaşık 1×10^3 kez daha fazla olduğu görülmektedir. Yine aynı merhemlerden 6. saat sonunda salıverilen kafein miktarı vazelin A'da $2,12 \times 10^{-5}$ M iken, PEG merheminde $1,80 \times 10^{-2}$ M'dir.

Genel kural olarak merhemlerde, ilaçların çözüldükleri sıvağlardan daha az, çözünmedikleri sıvağlardan ise daha fazla bıraktıkları söylenmesine rağmen, bizim bulgularımız bu kurala ters düşmektedir. Fakat buna karşın, literatürde bizim bulgularımıza benzer bulgular da vardır (95).

Kafeinin özellikle PEG merheminden fazla miktarda salıverilmesini, PEG merheminin fizikokimyasal özelliği ile açıklayabiliriz. PEG merheminin suya ilgisi çok fazla olduğu ve selofan zar da hidrofilik özellikte olduğu için, PEG tarafından suyun çekilmesine hiçbir engel oluşturmamaktadır. Bu şekilde PEG merheminin bir süre sonra tamamen çözünmesi, salıverilme olayını yarı-katı bir sıvağdan difüzyon yerine, çözültiden difüzyon şekline dönüştürmektedir.

Ortam viskozitesinin azalması etken maddenin difüzyon katsayısını (D) artırdığı için (52), salıverilen kafein miktarında bir artma beklenir. Ayrıca PEG merheminin higroskopik özelliği sonucu difüzyon hücreğine giren su, selofan zarda belirgin bir şişme oluşturmakta ve bu da difüzyon alanını (A') artırmaktadır. Bundan başka, sıvı hale geçen PEG sıvağında kafeinin çözünen miktarında (C_s) da artış olmaktadır. Böylece PEG merhemlerinde Eşitlik 7'deki A, D ve C_s değerlerinin artması kafeinin salıverilmesinin diğer sıvağlardakinden fazla olmasına neden olmaktadır.

IV.3.1. Vazelin Merhemlerinden Salıverilme

III.3.1. de kanıtlandığı gibi vazelin A ve vazelin B'nin kristal yapıları arasında hiçbir farklılık bulunamamıştır.

Her iki sıvağın da difüzyon çalışmaları aynı şartlar altında yapılmış olduğundan, bu sıvağlardan kafeinin salıverilen

miktarları ve difüzyon hızları arasında da bir farklılık olmaması gerekirdi.

Oysa Şekil 14'de görüldüğü gibi, tüm kafein konsantrasyonları için vazelin A ve vazelin B'den salıverilme istatistiksel olarak belirgin bir şekilde farklı bulunmuştur (Ek Tablo 6-10).

Bunun nedenlerinin, vazelin kristallerinin agregasyon derecelerinin ve kristal büyüklüğü dağılımlarının farklılığından ileri geldiği düşünülebilir. Bu halde sıvağların viskoz özellikleri kontrol edilerek bu savın gerçekliği kanıtlanır. Boylan (121) merhem sıvağlarının viskoz özellikleri hakkında koni ve plak tipi Ferranti-Shirley viskometresi ile yaptığı araştırmada küçük kristalli vazelinlerin viskozitesinin, büyük kristalli vazelinlere kıyasla daha fazla olduğunu iddia etmiştir. Bunun üzerine vazelin A ve vazelin B'nin viskoziteleri 37°C'de bir koni ve plak tipi viskometre ile 10-2450 sn⁻¹'e kadar değişen kayma hızlarında (shear rate) incelenerek hesaplanmıştır. Her iki sıvağ da pseudoplastiğe yakın plastik viskoz özellikler göstermişlerdir. Çalışılan bütün kayma hızlarında vazelin A'nın viskozitesi vazelin B'den fazla bulunmuştur. Aynı şekilde vazelin A tiksotropik özellikler gösterdiği halde vazelin B'de bu özellikler bulunamamıştır.

Her iki sıvağın görünür (apparent) viskoziteleri, kayma hızı (shear rate)'na karşı kayma gerilimi (shear stress) çizil-

diğinde elde edilen eğrinin doğru şekline geçtiği en yüksek noktadan hesaplanmıştır. Vazelin A'nın viskozitesi 1.85, vazelin B'nin ise 0.69 Poise olarak bulunmuştur.

Vazelin A ve vazelin B'nin mikroskopik görünümüleri (Şekil 15) ile viskozite bulguları karşılaştırılacak olursa kesin bir yargıya varılamamakla birlikte, vazelin A'nın kristallerinin vazelin B'ye kıyasla daha ince ve küçük bir görünümde oldukları düşünülebilir. Aynı sıvağın viskozitesi vazelin B'den daha büyüktür. Bu şartlar altında bulgularımızın Boylan (121)'inkilerle aynı doğrultuda oldukları söylenebilir.

Davis ve Khanderia (122) bir çalışmalarında difüzyonu etkileyen viskoz özelliklerin, görünür viskozitelerdeki farklılık değil, viskoelastik parametrelerin farklılığı olduğunu savunmuşlardır. Bu çalışmada vazelin A ve vazelin B'nin viskoelastik parametrelerini saptama olanağı olmadığı için her iki sıvağın bu özellikleri hakkında birşey söylenemeyecektir. Yalnız vazelin A'nın tiksotropik özellikte olup, vazelin B'nin bu özellikten yoksun olması göz önüne alınarak, birincisinin viskoelastik özelliğinin olacağı, ikincisinin ise böyle bir özellik taşımayacağı doğrultusunda bir yorum getirilebilir.

Sonuç olarak, vazelin A ve vazelin B'nin arasında yapısal ve termodinamik bir farklılık olmadığı halde, bu yapı içindeki kristal dağılımı değişikliğinin hem viskoz, hem de difüzyon özelliklerini etkilediği savunulmaktadır.

IV.4. Kompleks Yapıcı Maddelerin Etkisi

Bu çalışmada merhemlerden kafein salıverilmesine etki eden faktörlerden birinin de kompleks yapıcı maddeler olduğu bulunmuştur. Burada kullanılan sodyum benzoatın kafeinle kompleks yaparak kafeinin sudaki çözünürlüğünü artırdığı I.1.2.de anlatılmıştı. Çalışmamızda kullanılan selofan zar hidrofilik özellikte ve difüzyon ortamı da su olduğu için, en hidrofobik sıvağ olan vazelinde bile bir miktar su difüzyon hücresine girecektir. Sodyum benzoatla yaptığı kompleks nedeniyle sudaki çözünürlüğü artan kafein de daha kolaylıkla difüzyon ortamına geçecektir.

Bu durum PEG merhemleri için de söz konusudur. Fakat PEG merhemlerinde kafeinin kendisinin de çözünürlüğünün fazla olması ve bu merhem bir süre sonra çözelti haline geçmesi sodyum benzoatın etkisini, vazelin sıvağlarındakilere kıyasla azaltmaktadır. Yine de kompleks oluşumu yağlı ve suda çözünen sıvağlarda salıverilmeyi önemli ölçüde artırmıştır.

Kompleks I ile Kompleks II arasında difüzyon özellikleri bakımından fark bulunamaması, kompleks II'nin hazırlanmasında kullanılan alkolün kompleksin tipini etkilemediğini göstermektedir. Bu sonuç, kafein-sodyum benzoatın bir kompleks değil karışım (mixture) olduğunu gösteren çalışmaları (13-15) desteklemektedir.

IV.5. Koruyucu Maddelerin Etkisi

Merhemlere koruyucu olarak ilave edilen metil ve propil parabenin kafeinin kolaylıkla kompleks yaptığı p-hidroksi-benzoik asit (18) türevleri olmaları nedeniyle, bu maddelerin kafein merhemlerinde salıverilme üzerine bir etki yapıp yapmayacakları incelenmiştir.

Bu amaçla nötr bir sıvağ olan vazelin seçilirken, parabenlerle merhem sıvağları arasındaki etkileşmenin sonuçlarını görmek için de PEG merhemi seçilmiştir. Çünkü polietilen glikollerle metil ve propil parabenin etkileştikleri bilinmektedir (82,123).

Fakat sonuçlar, taze hazırlanmış vazelin ve PEG merhemlerine ilave edilen % 0.05, 0.1 ve 0.3 konsantrasyonlarındaki metil veya propil parabenin koruyucu içermeyen merhemlere kıyasla difüzyonu etkilemediğini ve bu nedenle incelenen konsantrasyonlardaki parabenlerin, merhem sıvağları içinde kafeinle veya polietilen glikollerle belirgin bir etkileşme yapmadığını göstermektedir.

Her iki sıvağda da koruyucu içermeyen merhemle, en yüksek konsantrasyon olan % 0.3 paraben içeren merhem arasında difüzyon açısından önemli bir fark olmaması, değişik paraben konsantrasyonları arasındaki farkın önemsiz olmasını da açıklamaktadır.

IV.6. Merhemlerin Stabilitesi

Vazelinin nötr bir sıvağ olması kafeinle herhangi bir etkileşmesinin olmayacağını düşündürmekteyse de, üç ay bekletilmiş olan % 10 kafein içeren merhemlerde difüzyonda önemli bir azalma görülmüştür (Şekil 20).

Bunun nedenleri çok değişik olabilir. Gerçi bu merhemmin makroskobik ve mikroskobik incelenmesi sonunda koku, renk, görünüm ve kristal yapı değişiklikleri görülemediyse de, bekletme nedeniyle vazelin ile kafein molekülleri arasında bazı bağların oluştuğu veya kafein moleküllerinin sıvağ içindeki yerleşimlerinin değişikliğe uğradığı düşünülebilir. Bütün bunlar salıverilen kafein miktarının azalmasını açıklayan olasılıklar olarak öne sürülebilir.

PEG merheminde ise üç ay sonra difüzyonda değişiklik görülmeysi dikkate değer bir sonuçtur. Polietilen glikollerin birçok madde ile kompleks yapması (82,84,123), vazeline kıyasla bu sıvağın kafeinle çok daha kolay etkileşebileceğini ve bu etkileşmenin de zamana bağlı olarak kafein salıverilmesini azaltabileceğini veya çoğaltabileceğini düşündürmekteydi. Fakat, bulgularda görüldüğü gibi bekletmenin kafeinle PEG merhem arasındaki etkileşmeye hiçbir katkısı olmamıştır (Şekil 21). Bu sonuç, araştırma bulgularının pratiğe uygulanması açısından sevindiricidir. Çünkü kafeini en fazla salıveren sıvağ olan PEG merheminin aynı zamanda en dayanıklı sıvağ olması da ayrı bir avantajdır.

Aynı şekilde değişik konsantrasyonlarda koruyucu ilave edilen % 10'luk vazelin ve PEG merhemlerinin stabilitesi incelendiğinde, koruyucu içermeyen merhemlerdeki aynı özellikler tekrarlanmıştır. Yani üç ay sonunda koruyucu içeren vazelin merhemlerinden bırakılma azalmış, PEG merhemlerinde ise % 0.05 metil paraben içeren merhem hariç olmak üzere bir değişiklik gözlenmemiştir. % 0.05 metil paraben konsantrasyonunun etkisi de difüzyonu artırıcı yöndedir. O halde % 10 kafein içeren PEG merhemine % 0.1 ve % 0.3 konsantrasyonlarda metil paraben ilâve edilmesi, etken madde difüzyonunu etkilememektedir.

% 10'luk vazelin merheminden kafeinin, üç ay bekletmeden sonraki bırakılmasını azaltan faktör eğer mikroorganizma üremesi olsaydı, koruyucu ilavesinin bu sonucu değiştirmesi gerekirdi. Fakat görülmektedir ki, vazelin ile kafein arasında propil parabeni içine almaksızın, daha çok fizikokimyasal olduğu düşünölebilecek bir etkileşme söz konusudur.

% 10'luk PEG merhemine koruyucu ilâvesi de üç ay sonundaki dayanıklılığı olumsuz yönde etkilemediği için, bu merheme koruyucu ilave ederek hazırlamak daha uzun bekletme sürelerinde ortaya çıkabilecek olan mikroorganizma etkisini de azaltmış olacaktır.

Atopik dermatitte kullanılan kafein merhemleri için en uygun sıvağı saptamak amacıyla yapılan bu araştırma, seçilen *in vitro* koşullar altında en uygun sıvağın PEG merhemi olduğunu göstermektedir.

İncelenen değişik merhem sıvağlarında, artan kafein konsantrasyonları ile en fazla salıverilmenin % 20 kafein içeren PEG merheminden olduğu ve bu değerın % 30 kafein içeren PEG merheminden farklı olmadığı görülmüştür. Kafein konsantrasyonu artışı, vazelin B hariç olmak üzere her sıvağda bir sınır değerinden sonra salıverilmeyi artırıcı yönde etkilemediği için, bu konsantrasyonlardan fazla kafein kullanmak maddeyi boşa harcamak olacağından gereksizdir.

Difüzyonu artırıcı faktörlerden kompleks yapıcı maddelerin ilâvesi, PEG merheminden kafein bırakılmasını artırdığı, koruyucu maddeler de difüzyonu etkilemediği için en uygun formülasyonun % 20 kafeinle birlikte sodyum benzoat ve metil paraben içeren PEG merhemi olduğu düşünülmektedir.

Kaplan ve ark.(7-9)'nın klinik çalışmalarında kullandıkları hidrofilik merhem, bu araştırmada kafeini salıverme yeteneği bakımından PEG merheminden sonra ikinci sırada bulunmuştur. Özellikle bu araştırmacıların % 10'luk kafein merheminden (7) daha iyi sonuç aldıklarını bildirdikleri, % 30'luk kafein merheminin (8) kafeini salıverme yeteneğinin, *in vitro* koşullarda % 5 ve % 10'luk kafein içeren hidrofilik merhemlerden daha az olduğu görülmüştür.

Bu nedenle, bu araştırmada incelenen tüm sivağların ve kafein konsantrasyonlarının *in vivo* alışmalarla da ayrıca değerlendirilmesinden sonra, atopik dermatitte kullanılacak en etkili kafein merhemi formülasyonunun bulunması düşünölmektedir.

Ö Z E T

% 1, 5, 10, 20 ve 30 konsantrasyonlarda kafeinin değişik merhem sıvağlarından *in vitro* bırakılmalarının incelendiği bu araştırmada, sıvağların kafeini salıverme yetenekleri PEG merhemi > hidrofilik merhem > s/y tipi emülsiyon sıvağı > vazelin B > vazelin A sırasında azalmaktadır.

Susuz sıvağlarda kafein konsantrasyonunun artışı genellikle difüzyonu artırırken, bu durum, emülsiyon sıvağlarında kristal büyümesi nedeniyle, % 5 veya % 10 kafein konsantrasyonunun üstünde görülmemektedir.

Kafeinle kompleks yaparak sudaki çözünürlüğünü artıran sodyum benzoat, vazelin ve PEG merhemlerinden kafein bırakılmasını artırmaktadır.

Vazelin ve PEG merhemlerine koruyucu olarak parabenlerin ilavesi kafein bırakılmasını etkilememektedir. Buna karşın her iki merhemin koruyucu içeren ve içermeyen tiplerinin oda sıcaklığında üç ay bekletilmesi sonunda, kafeinin salıverilmesi; vazelin merheminde, kafein moleküllerinin sıvağ içindeki yerleşimlerinin değişebileceği olasılığı nedeniyle azalmakta, PEG merheminde ise genellikle değişmemektedir.

S U M M A R Y

In this study, release of caffeine from different ointment bases in 1, 5, 10, 20 and 30 % concentrations was studied.

For all caffeine concentrations investigated, the release was highest from PEG ointment. It was decreasing with hydrophilic and emulsifying ointment, petrolatum B and petrolatum A in that order.

Release of caffeine from petrolatum and PEG bases usually increased with increasing concentrations. On the other hand, release patterns from emulsion type of ointment bases were independent of concentration for some percentages of caffeine due to possible crystal growth in these bases.

The amount of released caffeine increased from vaseline and PEG bases, when complexed with sodium benzoate.

In freshly prepared samples, caffeine release was not affected by addition of parabens to vaseline and PEG bases. After storing the ointments with and without preservatives at room temperature for three months, decreased release was obtained from vaseline ointments, whereas no change was observed in PEG ointments.

K A Y N A K L A R

1. Kayaalp, O.: Tibbi Farmakoloji, Cilt 1, Garanti Basımevi, Ankara, 1978.
2. Butcher, R.W., Sutherland, E.W.: Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials. I. Purification and properties of cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterize adenosine 3',5'-phosphate in human urine, J.Biol.Chem., 237, 1244 (1962).
3. Lichtenstein, L.M., Margolis, S.: Histamine release in vitro: Inhibition by catecholamines and methylxanthines, Science, 161, 902 (1968).
4. Hahn, C.: Ger. Offen. 2,350,315 (1975); C.A.83, 120850 n (1975).
5. Hahn, C.: Ger. Offen. 2,364, 373 (1975); C.A. 83, 136936 f (1975).
6. Stuetten, G.: Ger. Offen. 2,636,277 (1978); C.A.88,177215 s (1978).
7. Kaplan, R.J., Daman, L., Shereff, R., Rosenberg, E.W., Robinson, H.: Treatment of atopic dermatitis with topically applied caffeine, Arch. Dermatol., 112, 880 (1976).
8. Kaplan, R.J., Daman, L., Rosenberg, E.W., Feigenbaum, S.: Treatment of atopic dermatitis with topically applied caffeine, Ibid., 113, 107 (1977).
9. Kaplan, R.J., Daman, L., Rosenberg, E.W., Feigenbaum, S.: Topical use of caffeine with hydrocortisone in the treatment of atopic dermatitis, Ibid., 114, 60 (1978).

10. Siegel, F.P., Ecanow B., Blake, M.I.: Caffeine as an adjust in the treatment of atopic dermatitis, *Ibid.*, 114, 1717 (1978).
11. Axelrod, J., Reichenthal, J.: The fate of caffeine in man and a method for its estimation in biological material, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 107, 519 (1953).
12. Ippen, H., Kölmel, K.: Perkutane Coffeinvergiftung, *Dtsch. med. Wschr.*, 102, 1851 (1977).
13. Blake, M., Harris, L.E.: The action of solubilizing agents on the solubility of xanthine derivatives in water. I. The application of partition studies to theophylline and caffeine combinations, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 41, 521 (1952).
14. Blake, M., Harris, L.E.: The action of solubilizing agents on the solubility of xanthine derivatives in water. II. The application of conductimetric titrations on the study of xanthine combinations, *Ibid.*, 41, 524 (1952).
15. Blake, M., Harris, L.E.: The action of solubilizing agents on the solubility of xanthine derivatives in water. III. The application of cryoscopy to the study of caffeine, theophylline, and theobromine with solubilizing agents, *Ibid.*, 41, 527 (1952).
16. Higuchi, T., Zuck, D.A.: Solubilizing action of caffeine on benzoic acid, *Ibid.*, 41, 10 (1952).
17. Higuchi, T., Zuck, D.A.: Investigation of some complexes formed in solution by caffeine. II. Benzoic acid and benzoate ion, *Ibid.*, 42, 132 (1953).

18. Higuchi, T., Zuck, D.A.: Investigation of some complexes formed in solution by caffeine. III. Interactions between caffeine and aspirin, p-Hydroxybenzoic acid, m-hydroxybenzoic acid, salicylic acid, salicylate ion, and butyl paraben, *Ibid.*, 42, 138 (1953).
19. Higuchi, T., Lach, J.L.: Investigation of some complexes formed in solution by caffeine. IV. Interactions between caffeine and sulfathiazole, sulfadiazine, p-aminobenzoic acid, benzocaine, phenobarbital, and barbital, *Ibid.*, 43, 349 (1954).
20. Higuchi, T., Lach, J.L.: Investigation of some complexes formed in solution by caffeine. V. Interactions between caffeine, p-aminobenzoic acid, m-hydroxybenzoic acid, picric acid, o-phthalic acid, suberic acid, and valeric acid, *Ibid.*, 43, 524 (1954).
21. Guttman, D., Higuchi, T.: Reversible association of caffeine and of some caffeine homologs in aqueous solution, *Ibid.*, 46, 4 (1957).
22. Gill, S.J., Downing, M., Sheats, G.F.: The enthalpy of self-association of purine derivatives in water, *Biochemistry*, 6, 272 (1967).
23. Cesaro, A., Russo, E., Crescenzi, V.: Thermodynamics of caffeine aqueous solutions, *J. Phys. Chem.*, 80, 335 (1976).
24. Goyan, F.M., Borazan, H.N.: Osmotic properties of aqueous solutions containing caffeine, *J. Pharm. Sci.*, 57, 861 (1968).

25. Wells, F.V., Lubowe, I.I.: *Cosmetics and the Skin*, Reinhold Pub. Corp., New York, 1964.
26. *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 15. Baskı, Mack Publishing Comp., Easton, 1975.
27. Stewart, W.M. D., Danto, J.L., Maddin, S.: *Dermatology - Diagnosis and treatment of cutaneous disorders*, 3. Baskı, The C.V. Mosby Comp., Saint Louis, 1974.
28. Hanifin, J.M., Lobitz, W.C.Jr.: *Newer concepts of atopic dermatitis*, *Arch. Dermatol.*, 113, 663 (1977).
29. Dondokos, A.N.: *Andrews' Diseases of the Skin - Clinical Dermatology*, 6. Baskı, W.B. Saunders Comp., Pa., 1971.
30. Murat, A.: *Klinik Dermatoloji ve Veneroloji*, İ.Ü. Tıp Fak. Yayınları, No. 84, Özışık Matbaası, İstanbul, 1971.
31. Ritschel, W.A., Siegel, E.G., Ring, P.E.: *Biopharmaceutical evaluation of topical tar preparations*, *Sci. Pharm.*, 43, 11 (1975).
32. Onat, F.: *Deri hastalıklarında dışardan kullanılan kortikosteroid'lerin yan etkileri; Deri ve Zührevi hastalıklarda yenilikler*, I. Simpozyum, 1973, A.Ü. Tıp Fak. Yayınları, No. 38, A.Ü. Basımevi, Ankara, 1974.
33. Holla, S.W.J., Hollman, E.P.M.J., Mier, P.D., Staak, W.J. B.M., Urselmann, E., Warndorff, J.A.: *Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase in skin. II. Levels in atopic dermatitis*, *Br. J. Derm.*, 86, 147 (1972).
34. King, L.E. Jr., Solomon, S.S., Hashimoto, K.: *Cyclic nucleotide phosphodiesterase in normal and cancerous human skin*, *Clin. Res.*, 22, 329 A (1974).

35. Katz, M., Shaikh, Z.I.: Percutaneous corticosteroid absorption correlated to partition coefficient, *J. Pharm. Sci.*, 54, 591 (1965).
36. Arita, T., Hori, R., Anmo, T., Washitake, M., Akatsu, M., Yajima, T.: Studies on percutaneous absorption of drugs. I., *Chem. Pharm. Bull.*, 18, 1045 (1970).
37. Hadgraft, J., Hadgraft, J.W., Sarkany, I.: The effect of glycerol on the percutaneous absorption of methyl nicotinate, *Br.J.Derm.*, 87, 30 (1972).
38. Bartek, M.J., LaBudde, J.A., Maibach, H.I.: Skin permeability in vivo : Comparison in rat, rabbit, pig and man, *J. Invest Dermatol.*, 58, 114 (1972).
39. Rogers, J.G.Jr., Cagan, R.H., Kare, M.R.: Percutaneous absorption of several chemicals, some pesticides included, in the red-winged blackbird, *Environ. Physiol. Biochem.*, 4, 104 (1974).
40. Stoughton, R.B., Clendenning, W.E., Kruse, D.: Percutaneous absorption of nicotinic acid and derivatives, *J. Invest. Dermatol.*, 35, 337 (1960).
41. Cotty, V.F., Skerpac, J., Ederma, H.M., Zurzola, F., Kuna, M. : The percutaneous absorption of salicylates as measured by blood plasma levels in the rabbit, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 11, 97 (1960).
42. Ueda, M., Senda, K., Tsuji, A., Koizumi, T.: Percutaneous absorption of ethyl aminobenzoate from various ointment bases, *Yakuzaigaku*, 35, 1 (1975).

43. Stolar, M.E., Rossi, G.V., Barr, M.: The effect of various ointment bases on the percutaneous absorption of salicylates. I. Effect of type of ointment base, J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 49, 144 (1960).
44. Marcus, F., Colaizzi, J.L., Barry, III. H.: pH effects on salicylate absorption from hydrophilic ointment, J. Pharm. Sci., 59, 1616 (1970).
45. Stolar, M.E., Rossi, G.V., Barr, M.: The effect of various ointment bases on the percutaneous absorption of salicylates. II. Effect of surface-active agents, J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 49, 148 (1960).
46. Chowhan, Z.T., Pritchard, R.: Effect of surfactants on percutaneous absorption of naproxen. I. Comparisons of rabbit, rat and human excised skin, J. Pharm. Sci., 67, 1272, (1978).
47. Feldmann, R.J., Maibach, H.I.: Regional variation in percutaneous penetration of ¹⁴C cortisol in man, J. Invest. Dermatol., 48, 181 (1967).
48. The United States Pharmacopoeia (U.S.P. XVIII), 18. Baski, Mack Printing Co., Easton, 1970.
49. Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L.: The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 2. Baski, Lea and Febiger, Pa., 1976.
50. Gibaldi, M.: Introduction to Biopharmaceutics, Lea and Febiger, Pa., 1971.
51. Higuchi, W.I.: Analysis of data on the medicament release from ointments, J. Pharm. Sci. 51, 802 (1962).

52. Higuchi, T.: Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments, J. Soc. Cosmet. Chem., 11, 85 (1960).
53. Nakano, M., Juni, K., Arita, T.: Controlled drug Permeation, I. Controlled release of butamben through silicone membrane by complexation., J. Pharm. Sci., 65, 709 (1976).
54. Higuchi, T.: Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension, Ibid., 50, 874 (1961).
55. Feldmann, R.J., Maibach, H.I.: Absorption of some organic compounds through the skin in man, J. Invest. Dermatol., 54, 399 (1970).
56. Plein, J.B., Plein, E.M.: A comparison of in vivo and in vitro tests for the absorption, penetration and diffusion of some medicinals from silicone and petrolatum ointment bases, J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 46, 705 (1957).
57. Hıncal, A.A.: İki antifungal maddenin merhem halinde formülasyonunda merhem sıvağlarının rolü. II. Merhemlerden 5-fluorositozin ve tolnaftatin saliverilmesinin mikrobiyolojik yöntemle araştırılması, Mikrobiyol. Bült., 13, 35 (1979).
58. Konning, G.H., Mital, H.C.: Sheabutter V.: Effect of particle size on release of medicament from ointment, J. Pharm. Sci., 67, 374 (1978).
59. Florestano, H.J., Bahler, M.E., Jeffries, S.F.: Comparative release of antibiotics from water-miscible-type and grease-type ointment bases, J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 45, 538 (1956).

60. Plein, J.B., Plein, E.M.: A preliminary study of silicone oils as dermatological vehicles, *Ibid.*, 42, 79 (1953).
61. Lockie, L.D., Sprowls, J.B.: A critical study of the diffusion of iodine and sulfathiazole from ointments, *Ibid.*, 38, 222 (1949).
62. Izgü, E., Ağabeyoğlu, İ.: Merhem sıvağlarından etken maddenin *in vitro* difüzyon hızının matematiksel incelenmesi, *Ank. Ecz. Fak. Mec.*, 4, 65 (1974).
63. Izgü, E., Geçgil, Ş., Alperen, Z., Yalvaç, H.: Kitre zamkı jellerinin difüzyon ortamı olarak kullanılması ve ilaçların kitre jellerinden difüzyon özelliğinin diğer merhem sıvağları ile mukayesesi, *Ibid.*, 4, 92 (1974).
64. Mechida, Y., Nagai, T.: Semisolid bases containing hydroxypropyl cellulose, *Chem. Pharm. Bull.*, 23, 1003 (1975).
65. Ağabeyoğlu, İ.: Merhem Sıvağlarından Etken Maddenin Difüzyon Hızının Matematiksel İncelenmesi, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 1972.
66. Barker, D.Y., Christian, J.E., DeKay, H.G.: A Radioactive tracer technique for determining the release of medication from hydrophilic ointment bases, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 45, 601 (1956).
67. Izgü, E., Lee, C.O.: A preliminary note on measuring the relative diffusion of medicaments from ointment bases by chromatographic methods. *J. Amer. Pharm. Assoc., Pract. Ed.*, 15, 396 (1954).
68. Chandra, K., Chakrabarti, T., Srivastava, G.P.: Influence of dimethyl sulphoxide on the release of various drugs from PEG base, *Pharm. Weekbl.* 112, 85 (1977).

69. Howard, R.W.: An evaluation of sulfonamide ointment bases, *New Eng. J. Med.*, 232, 698 (1945).
70. Foster, S., Wurster, D.E., Higuchi, T., Busse, L.W.: A pharmaceutical study of Jelene ointment Base, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 40, 123 (1951).
71. Poulsen, B.J., Young, E., Coquilla, V., Katz, M.: Effect of topical vehicle composition on the in vitro release of fluocinolone acetonide and its acetate ester, *J. Pharm.Sci.*, 57, 928 (1968).
72. Dempksi, R.E., Portnoff, J.B., Wase, A.W.: In vitro release and in vitro penetration studies of a topical steroid from from nonaqueous vehicles, *Ibid.*, 58, 579 (1969).
73. Jurgens, R.W. Jr., Becker, C.H.: Semisolid oleaginous ointment bases for ophthalmic use, *Ibid.*, 63, 443 (1974).
74. Bottari, F., Di Colo, G., Nannipieri, E., Saettone, M.F., Serafini, M.F.: Influence of drug concentration on in vitro release of salicylic acid from ointment Bases, *Ibid.*, 63, 1779 (1974).
75. Bottari, F., Di Colo, G., Nannipieri, E., Saettone, M.F., Serafini, M.F.: Release of drugs from ointment Bases. II. In vitro release of benzocaine from suspension type aqueous gels, *Ibid.*, 66, 926 (1977).
76. Mutimer, M.N., Riffkin, C., Hill, J.A., Glickman, M.E., Cyr, G.N.: Modern ointment technology. II. Comparative evaluation of bases, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 45, 212 (1956).

77. Gólucki, Z.: Liberation of water soluble and insoluble active principles from anhydrous lipid ointment bases, Dissert. Pharm. Pharmacol., 24, 631 (1972).
78. Wardyńska, H.: Metody badania in vitro uwalniania witaminy a z różnych podłoży maściowych, Acta Polon. Pharm., 32, 95 (1975).
79. Wardyńska, H.: Reporpcja witaminy a przez skórę poza ustrojem, Ibid., 33, 403 (1976).
80. Piekos, R., Teodorozyk, J., Stozkowska, W.: Silikon derivatives of medicinal agents. X. Diffusion rates of methylsilyl derivatives of isomeric cresols and phenol from ointment base, Sci. Pharm., 44, 13 (1976).
81. Wood, J.A., Rising, W.L., Hall, N.A.: Diffusion of sodium salicylate and salicylic acid within hydrophilic ointments, J. Pharm. Sci., 51, 668 (1962).
82. Patel, N.K., Foss, N.E.: Interaction of some pharmaceuticals with macromolecules. I. Effect of temperature on the binding of parabens and phenols by polysorbate 80 and polyethylene glycol 4000., Ibid., 53, 94 (1964).
83. Nakano, M., Patel, N.K.: Release, uptake, and permeation behaviour of salicylic acid in ointment bases, Ibid., 59, 985 (1970).
84. Loveday, D.E.: An in vitro method for studying percutaneous absorption, J. Soc. Cosmet. Chem., 12, 224 (1961).
85. Koizumi, T., Higuchi, W.I.: Analysis of data on drug release from water-in-oil emulsions as a function of pH, J. Pharm. Sci., 57, 87 (1968).

86. Coldman, M.F., Poulsen, B.J., Higuchi, T.: Enhancement of percutaneous absorption by the use of volatile : nonvolatile systems as vehicles, *Ibid.*, 58, 1098 (1969).
87. Franz, T.J.: Percutaneous absorption on the relevance of in vitro data, *J. Invest.Dermatol.*, 64, 190 (1975).
88. Kakemi, K., Kameda, H., Kakemi, M., Ueda, M., Koizumi, T.: Model studies on percutaneous absorption and transport in the ointment. II. Hydrophilic ointment of NaI, *Chem. Pharm. Bull.* 23, 2114 (1975).
89. Plakogiannis, F.M., Yaakob, M.: Influence of ointment bases on the in vitro release of methyl salicylate, *Pharm. Acta Helv.*, 52, 236 (1977).
90. York, P., Saleh, A.A.M.: Modification of diffusion rates of benzocaine from topical vehicles using sodium salicylate as complexing agent, *J. Pharm. Sci.*, 65, 493 (1976).
91. Hıncal, A.A.: İki antifungal maddenin merhem halinde formülasyonunda merhem sıvağlarının rolü. I. 5-Fluorositozin ve tolnaftatin merhemlerinden salıverilmelerinin difüzyon yöntemi ile araştırılması, *Doğa*, 3,39 (1978).
92. Whitworth, C.W.: Effect of various liquids on the diffusion of salicylic acid from ointment bases, *J. Pharm. Sci.*, 57, 1540 (1968).
93. Whitworth, C.W., Asker, A.F.: Effect of small-scale preparation techniques on diffusion of salicylic acid from various ointment bases, *Ibid.*, 63, 1618 (1974).

94. Asker, A.F., Whitworth, C.W.: Effect of formulation and processing techniques on release of salicylic acid from ointments, *Ibid.*, 63, 1774 (1974).
95. Ayres, J.W., Laskar, P.A.: Diffusion of benzocaine from ointment bases, *Ibid.*, 63, 1402 (1974).
96. Whitworth, C.W., Becker, C.H.: Study of diffusion of two sulfonamides from ointment bases, *Ibid.*, 54, 569 (1965).
97. Zesch, A., Schaefer, H.: Penetration kinetics of four drugs in the human skin., *Acta Dermato-Venereol.*, 54, 91 (1974).
98. Ostrenga, J., Steinmetz, C., Poulsen, B.: Significance of vehicle composition. I: Relationship between topical vehicle composition, skin penetrability, and clinical efficacy, *J. Pharm. Sci.*, 60, 1175 (1971).
99. Belmonte, A.A., Tsai, W.: Benzocaine diffusion from polyethylene glycol through human stratum corneum, *Ibid.*, 67, 517 (1978).
100. Guyot-Hermann, A.M., Robert, H., Merle, C., Ringard, J., Trublin, F.: Cellule de dialyse simple pour l'étude de la liberation des principes actifs des pommades et des suppositoires, *Bull. Soc. Pharm. Lille*, 31,1 (1975).
101. Spang-Brunner, B.H., Speiser, P.P.: Release of a drug from homogeneous ointments containing the drug in solution, *J. Pharm. Pharmac.*, 28, 23 (1976).
102. Ali, A.A., Geneidi, A.S., Salama, R.B.: A new oil-based aerosil gel "olag", *Indian J. Pharm. Sci.*, 40, 139 (1978).

103. Wahlgren, S., Hänniren, K., Führer, C.: Untersuchungen an Suspensionssalben. I. Mittg.: Die Diffusion von Salicylsäure in Vazelin, Dtsch. Apoth. Ztg., 116, 1267 (1976).
104. Barker, D.Y., DeKay, H.G., Christian, J.E.: A study of the effect of nonionic emulsifying agents on the release of medication from hydrophilic ointment bases, J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed., 45, 527 (1956).
105. Stark, J.F., Christian, J.E., DeKay, H.G.: A comparative study of surfactant influence on the release of ions from an emulsified ointment base, Ibid., 47, 223 (1958).
106. Whithworth, C.W., Stephenson, R.E.: Liquid additive effect on release of atropine sulfate from ointment bases, Can. J. Pharm. Sci., 10, 89 (1975).
107. Whitworth, C.W., Elsabbagh, H.M.: Effect of high liquid concentrations and viscosity on the in vitro diffusion of salicylic acid and sodium salicylate from ointment bases, Ibid., 13, 77 (1978).
108. Jain, N.K., Agrawal, R.K.: Effect of additives on chloramphenicol release from ointment bases, Indian J. Pharm. Sci., 40, 48 (1978).
109. Levy, G., Matsuzawa, T.: Effect of complex formation on drug absorption. II. Lipoid-soluble dye complexes, J. Pharm. Sci., 54, 1003 (1965).
110. Levy, G., Mroszczak, J.: Effect of complex formation on drug absorption. VI. Drug permeation through an artificial lipoid barrier, Ibid. 57, 235 (1968).

111. Reuning, R.H., Levy, G.: Effect of complex formation on drug absorption. VII. Effect of complexation and self-association on the absorption of caffeine, *Ibid.*, 57, 1335 (1968).
112. Reuning, R.H., Levy, G.: Effect of complex formation on drug absorption. VIII. Intestinal transfer characteristics of the salicylamide-caffeine system, *Ibid.*, 57, 1342 (1968).
113. Clarke, E.G.C.: Isolation and identification of drugs, The pharmaceutical press, London, 1969.
114. Cavalieri, L.F., Fox, J.J., Stone, A., Chang, N.: On the nature of xanthine and substituted xanthines in solution, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1119 (1954).
115. Bergmann, F., Dikstein, S.: The relationship between spectral shifts and structural changes in uric acids and related compounds, *Ibid.*, 77, 691 (1955).
116. Higuchi, T., Lach, J.L.: Investigation of complexes formed in solution by caffeine. VI. Comparison of complexing behaviors of methylated xanthines with p-aminobenzoic acid, salicylic acid, acetylsalicylic acid, and p-hydroxybenzoic acid, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 43, 527 (1954).
117. Wahlgren, S.: The production of pills and tablets by means of the drop method. VI. The solubility of some pharmaceuticals in polyethylene glycol 3000 and 400, *Svensk Farm. Tidskr.*, 66, 585 (1962).

118. Sanvordeker, D.R., Pophristov, S., Christensen, A.: Relationship between in vitro intestinal absorbability and partition coefficients of xanthene derivatives, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 3, 236 (1977).
119. The Merck Index, 9. Baski, Merck and Co., Inc., Rahway, N.J., 1976.
120. Yamada, M., Nishimura, Y., Matsuzaki, T.: Growth behaviours and mechanism of caffeine whiskers on the granules, *Yakugaku Zasshi*, 96, 1223 (1976).
121. Boylan, J.C.: Rheological study of selected pharmaceutical semisolids., *J. Pharm. Sci.*, 55, 710 (1966).
122. Davis, S.S., Khanderia, M.S.: The influence of the rheological properties of the vehicle on the release of drugs from semi-solid ointments , APGI 1st International Conference on Pharmaceutical Technology., 3, 30 (1977).
123. Lach, J.L., Ravel, K., Blaug, S.M.: Study of complex formation by polyethylene glycol and dimethylurea with some pharmaceuticals, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 46, 615 (1957).

EK TABLULAR

EK TABLO - 1: DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİN İÇEREN VAZELİN A MERHEMLERİNDEN ETKEN MADDE BİRA-
KILMASININ ORTALAMALAR ARASI FARK DENETİMİ.

Difüzyon Süresi	% K a f e i n K o n s a n t r a s y o n l a r ı											
	1 - 5 P	1 - 10 P	1 - 20 P	1 - 30 P	5 - 10 P	5 - 20 P	5 - 30 P	10 - 20 P	10 - 30 P	20 - 30 P	10 - 30 P	20 - 30 P
15 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	>0.100 önemsiz	<0.010
30 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
1 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.001	<0.010
2 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.050
3 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.200 önemsiz
4 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.500 önemsiz
5 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.200 önemsiz
6 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.100 önemsiz

EK TABLO - 3 : DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİN İÇEREN S/Y EMÜLSİYON MERHEMLERİNDEN ETKEN MADDE BIRAKILMASININ ORTALAMALAR ARASI FARK DENETİMİ.

Difüzyon Süresi	% K a f e i n K o n s a n t r a s y o n l a r ı									
	1 p̄ 5	1 p̄ 10	1 p̄ 20	1 p̄ 30	5 p̄ 10	5 p̄ 20	5 p̄ 30	10 p̄ 20	10 p̄ 30	20 p̄ 30
15 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
30 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.001	<0.001
1 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.020	<0.001	>0.500 önemsiz	>0.001	>0.050 önemsiz
2 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.100 önemsiz	>0.200 önemsiz	>0.800 önemsiz
3 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.010	<0.001	>0.500 önemsiz	>0.050 önemsiz
4 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.010	>0.050 önemsiz	>0.200 önemsiz	>0.500 önemsiz
5 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.050	>0.100 önemsiz	>0.500 önemsiz	>0.200 önemsiz
6 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.050	>0.100 önemsiz	>0.500 önemsiz	>0.100 önemsiz

EK TABLO 4: DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİN İÇEREN HİDROFİLLİK MERHEMLERDEN ETKEN MADDE BIRAKILMASININ ORTALAMALAR ARASI FARK DENETİMİ.

Difüzyon Süresi	% K a f e i n									
	1 - 5 p	1 - 10 p	1 - 20 p	1 - 30 p	5 - 10 p	5 - 20 p	5 - 30 p	10 - 20 p	10 - 30 p	20 - 30 p
15 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.200 önemsiz	<0.050	>0.500 önemsiz	>0.100 önemsiz	>0.800 önemsiz	>0.100 önemsiz
30 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.050	>0.200 önemsiz	>0.200 önemsiz	>0.200 önemsiz	<0.010	>0.050 önemsiz
1 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.050 önemsiz	<0.010	<0.010	>0.800 önemsiz	<0.001	<0.001
2 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.100 önemsiz	>0.200 önemsiz	<0.001	>0.200 önemsiz	<0.001	<0.001
3 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.100 önemsiz	>0.800 önemsiz	<0.001	>0.200 önemsiz	<0.001	<0.001
4 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.200 önemsiz	>0.200 önemsiz	<0.001	>0.100 önemsiz	<0.001	<0.001
5 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.100 önemsiz	>0.200 önemsiz	<0.001	>0.050 önemsiz	<0.001	<0.001
6 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.100 önemsiz	>0.100 önemsiz	<0.001	<0.050	<0.001	<0.001

EK TABLO 5 : DEĞİŞTİK KONSANTRASYONLARDA KAFEİN İÇEREN PEG MERHEMLERİNDEN ETİKEN MADDE BIRAKILMASININ ORTALAMALAR ARASI FARK DENETİMİ.

Difüzyon Süresi	% Kafein Konsantrasyonları									
	1 p 5	1 p 10	1 p 20	1 p 30	5 p 10	5 p 20	5 p 30	10 p 20	10 p 30	20 p 30
15 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.050 önemsiz	<0.001	<0.001	<0.010	<0.001	>0.800 önemsiz
30 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.020	<0.010	<0.001	<0.020	<0.001	>0.800 önemsiz
1 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.020	<0.050	>0.100 önemsiz
2 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.010	<0.001	<0.050
3 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.050 önemsiz	>0.500 önemsiz
4 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.020	<0.010	>0.100 önemsiz
5 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.020	>0.050 önemsiz	>0.800 önemsiz
6 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.500 önemsiz

EK TABLO 6 : 1 KAFEİN İÇEREN DEĞİŞİK MERHEMLERDEN BIRAKILMANIN ORTALAMALAR ARASI FARK DENETİMİ.

Difüzyon Süresi	S I V A Ğ						C I N S I					
	Vaz. A Hidr. Merh. P	Vaz. A PEG Merh. P	Vaz. A s/y Merh. P	Hidr. Merh. PEG Merh. P	Hidr. Merh. s/y Merh. P	PEG Merh. s/y Merh. P	Vaz. B Hidr. Merh. P	Vaz. B PEG Merh. P	Vaz. B s/y Merh. P	Vaz. A Vaz. B P		
15 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		
30 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		
1 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		
2 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		
3 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		
4 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		
5 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		
6 S	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

Vaz. A : Vazelin A
 Vaz. B : Vazelin B
 s/y Merhem : s/y tipl Emülsiyon Merheml

Hidr. Merh. : Hidrofilik Merhem
 PEG Merh. : PEG Merheml

ER TABLO 11 : VAZELİN B VE PEG MERHEMLERİNDE KAFEİNLE KOMPLEKSLERİNİN SALIVERİLMESİNİN ORTALAMALAR ARASI FARK DENETİMİ.

Difüzyon Süresi	VAZELİN B MERHEMLERİ				PEG MERHEMLERİ			
	VAZ. B (% 10) VAZ. B + Komp. I	VAZ. B (% 10) VAZ. B + Komp. II	VAZ. B + Komp. I VAZ. B + Komp. II	PEG + Komp. I PEG + Komp. II	PEG (% 10) PEG + Komp. I	PEG (% 10) PEG + Komp. II	PEG (% 10) PEG + Komp. I	
15 dak.	<0.001	<0.001	<0.001	<0.020	<0.050	<0.001	<0.001	
30 dak.	<0.001	<0.001	<0.010	>0.200 önemsiz	>0.200 önemsiz	<0.010	<0.010	
1 S	<0.001	<0.001	>0.200 önemsiz	>0.800 önemsiz	<0.050	<0.050	<0.050	
2 S	<0.001	<0.001	>0.200 önemsiz	>0.200 önemsiz	<0.010	<0.001	<0.001	
3 S	<0.001	<0.001	>0.050 önemsiz	>0.050 önemsiz	<0.010	<0.001	<0.001	
4 S	<0.001	<0.001	>0.200 önemsiz	>0.200 önemsiz	<0.010	<0.001	<0.001	
5 S	<0.001	<0.001	>0.050 önemsiz	<0.050	<0.001	<0.001	<0.001	
6 S	<0.001	<0.001	<0.050	<0.010	<0.001	<0.001	<0.001	

VAZ. B (% 10) : % 10 Kafein içeren Vazelin B Merhemi
VAZ. B + Komp. I : % 20 Kompleks I içeren Vazelin B Merhemi
VAZ. B + Komp. II : % 20 Kompleks II içeren Vazelin B Merhemi
PEG (% 10) : % 10 Kafein içeren PEG Merhemi
PEG + Komp. I : % 20 Kompleks I içeren PEG Merhemi
PEG + Komp. II : % 20 Kompleks II içeren PEG Merhemi

ERK TABLO 12 : TAZE HAZIRLANMIŞ MERHEMLERDE KORUYUCU ETKİSİNİN ORTALAMALAR ARASI FARK DENEYİMİ.

Sıvağ	% Paraben Konsantrasyonu						
	0 - 0.05	0 - 0.1	0 - 0.3	0.05 - 0.1	0.05 - 0.3	0.1 - 0.3	
PEG (% 10)	P > 0.200 önemsiz	P > 0.800 önemsiz	P > 0.100 önemsiz	P > 0.500 önemsiz	P > 0.200 önemsiz	P > 0.200 önemsiz	
Vazelin B (% 10)	P > 0.200 önemsiz	P > 0.500 önemsiz	P > 0.200 önemsiz	P > 0.100 önemsiz	P > 0.800 önemsiz	P > 0.200 önemsiz	

ER TABLO 13 - % 10 KAFEİN İÇEREN VAZELİN VE PEG MERHEMLERİNDE BEKLEME ETKİSİNİN ORTA-
LAMLAR ARASI FARK DENETİMİ.

Difüzyon Süresi	VAZELİN B (% 10)		PEG Merhemi (% 10)	
	Taze Hazırlanmış Merhem	3 Ay Beklemiş Merhem	Taze Hazırlanmış Merhem	3 Ay Beklemiş Merhem
15 dak.		P < 0.001		P < 0.020
30 dak.		P < 0.001		P > 0.050 önemsiz
1 S		P < 0.001		P > 0.800 önemsiz
2 S		P < 0.001		P > 0.200 önemsiz
3 S		P < 0.001		P > 0.100 önemsiz
4 S		P < 0.001		P > 0.200 önemsiz
5 S		P < 0.001		P < 0.001
6 S		P < 0.001		P < 0.050

EK TABLO 14 - DEĞİŞİK KONSANTRASYONLARDA KORUYUCU İÇEREN MERHEMLERDE BEKLEME ETKİSİNİN ORTALAMALAR ARASI FARK DENETİMİ.

% Paraben Konsantrasyonu	VAZELİN B (% 10)		PEG MERHEMİ (% 10)	
	Taze Hazırlanmış Merhem	3 Ay Beklemiş Merhem	Taze Hazırlanmış Merhem	3 Ay Beklemiş Merhem
0.05		P < 0.001		P < 0.010
0.1		P < 0.020		P > 0.100 önemsiz
0.3		P < 0.010		P > 0.500 önemsiz

12.10.1951 yılında Burdur'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Keçiborlu, Isparta ve Ankara'da tamamladım. 1968 yılında H.Ü. Eczacılık Fakültesinde başladığım eczacılık eğitimi- ni 1973 yılında bitirdim. Bir süre S.S.Y.B. Eczacılık Genel Mü- dürliğünde ve Atatürk Sanatoryumunda eczacı olarak çalıştıktan sonra 1974 yılında H.Ü. Eczacılık Fakültesi Galenik Farmasi Bi- lim Dalında asistan olarak görevine başladım ve bu görevime devam etmekteyim.

ÖZGEÇMİŞ

