

Çoklu Emülsiyonlar ve Kozmetiklerde Kullanımı

F. Binnur SOYTÜRK*, Nilüfer TARIMCI**^o

Çoklu Emülsiyonlar ve Kozmetiklerde Kullanımı

Özet : Çoklu emülsiyonlar kozmetik uygulamalar için ideal sistemlerdir. Proteinler ve vitaminler gibi suda çözünen maddeler ile parfümler gibi yağda çözünen maddeler aynı preparat içinde hazırlanabilirler. Aynı zamanda, birçok kozmetik ve kozmesötik maddenin sürekli salımı sağlanabilmektedir.

Bu derlemede, çoklu emülsiyonlar hakkında genel bilgi verilmekte ve hazırlama yöntemleri, etkin maddenin salım mekanizmaları ve kozmetik uygulamaları anlatılmaktadır.

Anahtar kelimeler: s/y/s çoklu emülsiyonlar, Hazırlama yöntemleri, Sürekli etki, Kozmetik kullanım

Geliş Tarihi : 04.06.1999

Düzeltilme Tarihi : 17.09.1999

Kabul Tarihi : 17.09.1999

Multiple Emulsions and Their Use in Cosmetics

Summary : Multiple emulsions are ideal systems for cosmetic applications. Water soluble substances such as proteins and vitamins and oil soluble substances such as perfumes can be formulated in the same products. They also sustain release of the various cosmetic ingredients. This review article includes general information about the multiple emulsions, preparation methods and release mechanisms of the active substances. Cosmetic applications of these systems are also introduced.

Key words: w/o/w multiple emulsion, Preparation methods, Sustained release, Cosmetic usage

GİRİŞ

Son yıllarda farmasötik alanda kullanılan bir grup yeni dozaj şeklinin kozmetik amaçlı olarak da kullanılmaya başlandığı görülmektedir. Lipozom, ni-ozom, mikroemülsiyon, çoklu emülsiyon, sıvı kristal ve mikrosüngerleri içeren bu yeni grup sistemler hem daha etkin ve güvenli hem de daha kolay kullanım özelliklerine sahip olmalarından dolayı ilgi çekmekte, dolayısıyla da yaygın olarak araştırılmaktadırlar. Bu sistemlerden birisi olan çoklu emülsiyonlar dispers faz içinde dış faz ile aynı yapıya sahip daha küçük damlacıkların dağıldığı emülsiyon sistemleri olarak tanımlanabilirler¹. Diğer bir deyişle; iç fazın sürekli faz ile karışabilen, hatta çoğu kez sürekli faz ile aynı olan daha küçük damlacıkları

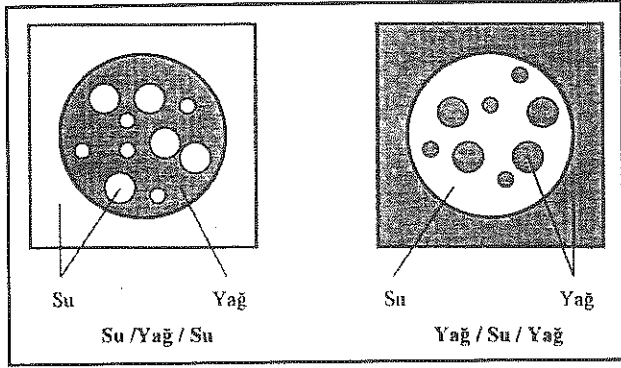
enkapsüle ettiği sistemler olarak açıklanırlar^{2,3}.

Birbiri ile karışabilen iki sıvı fazın, bunlarla karışmayan diğer bir sıvı faz tarafından ayrılması su/yağ/su (S/Y/S) ve yağ/su/yağ (Y/S/Y) olmak üzere başlıca iki tip çoklu emülsiyon oluşumuna neden olur⁴. S/Y/S çoklu emülsiyonlarında iç ve dış su fazları birbirinden bir yağ tabakası ile ayrılırken, Y/S/Y çoklu emülsiyonlarında ise iki yağ fazı bir su fazı tarafından ayrılmaktadır. Buna göre (Şekil 1)⁵ bir S/Y/S çoklu emülsiyonu küçük su damlacıklarını enkapsüle eden yağ fazının tekrar bir su fazı içinde dağıtılması şeklinde ve tam tersine Y/S/Y çoklu emülsiyonu ise küçük yağ damlacıklarını enkapsüle eden su fazının tekrar bir yağ fazı içinde dağıtılması tarzında anlatılabilir^{6,7}.

* Bağ-Kur Genel Müdürlüğü Sağlık İşleri Daire Başkanlığı, Necatibey, ANKARA.

** Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan, ANKARA

^o Yazışma Adresi



Şekil 1. Su/Yağ/Su ve Yağ/Su/Yağ çoklu emülsiyonlarının şematik gösterimi.

Çoklu emülsiyonlar üzerinde ilk yayın 1925 de yapılmış ve Seifriz basit emülsiyonların faz inversiyonu sırasında bu tip dispersiyonların varlığını bildirmiştir⁸. Daha sonraları bazı araştırmalar yapılsa da, yaklaşık 40 yıl boyunca bu alanda bir ilerleme görülmemiştir. 1965 yılında Herbert'in⁹ influenza virüsü için yaptığı çalışmalar ile konu tekrar önem kazanmıştır. Araştırmacı influenza virüsü antijeni için kullanılan su/yağ (S/Y) tipi basit emülsiyonu polisorbata 20 içeren bir sulu çözelti içine ilave ederek ilk orjinal S/Y/S çoklu emülsiyonunu hazırlamıştır. Bu çoklu emülsiyonun uygulandığı farelerde, aynı dozda antijen içeren S/Y emülsiyonu verilen gruba göre daha iyi cevap alındığı, enjeksiyonun kolay olduğu ve genellikle lezyonsuz bir yağ deposu görüldüğü bildirilmiştir.

Çoklu emülsiyonların ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılacağı fikri ise yaklaşık 10 yıl önce gündeme gelmiştir. 1990 yılından itibaren de gerçeklik kazanmıştır. Bununla beraber, üç faz veya üçlü faz emülsiyonları olarak adlandırılan bazı kozmetik ürünlerin çoğunlukla gerçek çoklu emülsiyon yapısında olmadığı da görülmektedir⁷.

Çoklu Emülsiyonların Avantajları ve Dezavantajları

Çoklu emülsiyonlar ilaç verilme sistemi olarak çok önemli veziküler sistemlerdir. Çünkü; hassas maddelerin korunması, birbiri ile geçimsiz bileşiklerin tek bir preparatta biraraya getirilebilmesi ve enkapsüle edilmiş etken maddenin sürekli ve kontrollü salınımının sağlanması gibi üç önemli özelliğe sahiptirler. Ayrıca, çoklu emülsiyonlar klasik emülsiyonlar gibi doğrudan ve kolay olarak deriye uygulanabilirler. Deriyi basit bir sulu emülsiyona göre

daha iyi nemlendirirken, klasik bir yağlı emülsiyon kadar yağlı yapışkan bir film yapmadan aynı yağlı etkiyi gösterirler. Formüllerinde bir çok etken maddeleri içerebilirler. Buna rağmen, günümüzde çoklu emülsiyon tarzında çok az ticari preparat vardır. Çünkü bu sistemler bazı dezavantajlara da sahiptirler. Bu dezavantajlar:

- Çoklu emülsiyonların hazırlanmasındaki zorluklar,
- Stabilitelerinin zayıflığı,
- Salım mekanizmalarının henüz tam olarak anlaşılmamış olması,
- Kozmetik açıdan bakıldığında, deriye uygulandıktan sonraki davranışları hakkındaki bilgilerin tam net olmayışı, şeklinde özetlenebilir^{6,10}.

Çoklu Emülsiyon Formülasyonlarında Yer Alan Maddeler

Yağ Fazı: Pekçok yağ ile uygun hazırlama yöntemi kullanarak çoklu emülsiyon elde etmek mümkündür. Bununla beraber, kullanılan yağlar oluşan sistemin stabilitesi ve özellikleri üzerinde önemli etkiye sahiptirler³.

Davis ve Walker¹¹ sıvı parafin, skualane, susam yağı, mısır yağı ve araşit yağı ile hazırladıkları çoklu emülsiyonları 6-karboksifloressein ile spektrofotometrik yöntemle incelemişler ve çoklu emülsiyon veriminin yağ fazının yapısına bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Omotosh ve ark¹² yağ fazı olarak oktan, dodekan, hekzadekan, toluen, sikloheksan ve isopropil miristat kullanılarak çoklu emülsiyonlar hazırlamışlardır. Bu formüllerin iç su fazından sodyum klorür ve 5-fluorourasil salımını araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada, iç su fazında enkapsüle edilen aktif madde salımının, diğer faktörlerin yanı sıra yağ fazının stabilitesine, yağın yapısına, konsantrasyonuna ve fizikokimyasal özelliklerine bağlı olduğunu göstermiştir.

Çoklu emülsiyonlar üzerinde yapılan birçok çalışmada, yağ olarak sıvı parafinin tercih edildiği görülmektedir¹³⁻¹⁵. Ayrıca mumlar ve silikonlar¹⁶, badem yağı¹⁷, yerkıstığı yağı¹⁸, soya yağı¹⁹ ve zeytin yağı²⁰ gibi maddeler de yağ olarak kullanılmıştır.

Yüzey Aktif Maddeler: Çoklu emülsiyonların hazırlanabilmesi için, genellikle farklı HLB değerine sahip en az iki yüzey aktif madde kullanılması gerekmektedir. Böylece birinci yüzey aktif madde ile primer emülsiyon, diğeriyle de çoklu emülsiyon elde edilmektedir.

Hazırlanacak çoklu emülsiyonun yapısına bağlı olarak, çeşitli yüzey aktif maddelerin kullanılabilmesi bildirilmekle birlikte, yiyecek, ilaç ve kozmetik alanında düşük toksisiteleri ve diğer maddelerle etkileşmeye girmemelerinden dolayı non iyonik yüzey aktif maddelerin tercih edilmesi önerilmektedir. Kullanılacak yüzey aktif maddenin seçiminde HLB değeri rol oynamaktadır. S/Y/S tipi çoklu emülsiyonlarda kullanılan primer yüzey aktif madde HLB değerinin 2-7 ve ikinci yüzey aktif madde HLB değerinin de 6-16 arasında olması önerilmektedir³. Böylece stabil bir S/Y/S çoklu emülsiyon sistemi için gereken biri düşük, diğeri yüksek HLB değerine sahip iki yüzey aktif maddeden birincisi viskoelastik film yaparak çok stabil bir primer emülsiyon eldesi ikincisi ise; çoklu damlaların flokülasyon ve koelesansını engelleyen etkili bir bariyer oluşumunu sağlayacaktır.

Abd-Elbary ve ark²¹ lipofilik ve hidrofilik yapıda noniyonik yüzey aktif maddeler ile çalışmışlardır. Çalışmanın sonucunda; oluşan çoklu emülsiyonun kullanılan yüzey aktif maddeye bağlı olduğu, lipofilik yüzey aktif maddenin kimyasal yapısının sistemin hazırlanmasını etkilediği, ancak lipofilik yüzey aktif maddenin HLB değerinin etkili olmadığı ileri sürülmüştür.

Adeyeye ve Price²² da noniyonik yüzey aktif maddenin konsantrasyon ve cinsinin çoklu emülsiyonların oluşumu ve stabilitesini etkilediğini göstermişlerdir. Ohwaki ve ark.²³ yaptıkları çalışmada iç su fazına hidrofilik yüzey aktif madde ilavesinin koelesansı ve su akışını engellediğini, buna karşılık yağ fazına ilavesinin ise koelesansı engellemezken sadece su akışını engellediğini bildirmişlerdir.

Hameyer ve Jenni²⁴ çoklu emülsiyon hazırlanması için farklı HLB değerine sahip en az iki yüzey aktif madde kullanılması gereğinden yola çıkarak, noniyonik, anyonik ve amfoterik yüzey aktif maddeleri tek ve çok fonksiyonlu olarak sınıflayıp incelemişlerdir. Çok fonksiyonlu olan grubun aynı zamanda polimerik olarak da sınıflanabileceğini bildiren araştırmacılar, sonuçta uygun lipofilik yüzey

aktif maddelerin çok fonksiyonlu noniyonik maddeler olduğu görüşüne varmışlardır. Araştırmacılar, kullanılan yüzey aktif madde konsantrasyonunun da sistemin stabilitesini etkilediğini belirtmişlerdir.

Jager-Lezer ve ark.²⁵ S/Y/S tipi çoklu emülsiyonlarda lipofilik yüzey aktif madde konsantrasyonunun hem stabilite hem de salım özellikleri açısından önemli rol oynadığını göstermişlerdir. Lipofilik yüzey aktif madde konsantrasyonundaki artışın suda çözünen etkin madde salımını azalttığı, stabiliteyi artırdığı bildirilmiştir. Yüksek konsantrasyondaki hidrofilik yüzey aktif maddenin ise stabiliteyi olumsuz yönde etkilediği vurgulanmıştır. Bu bulguları destekleyen diğer bir çalışmada, araştırmacılar lipofilik yüzey aktif madde etkisini olası iki mekanizma ile açıklamışlardır. Buna göre lipofilik yüzey aktif maddenin ya emülsifikasyonun ikinci basamağında birinci ara yüzeyden ikinciye göç etmesi sonucu membranın güçlenmesi; ya da yağ fazından birinci ara yüzeye difüze olmasıyla iç su damlalarının koelesansını engellemesi söz konusu olmaktadır²⁶.

Diğer Maddeler: Çoklu emülsiyonun yapısına giren diğer maddeler genellikle su fazında yer alan maddelerdir. S/Y/S çoklu emülsiyonlarında etkin madde iç su fazına yüklenerek uzatılmış salım sağlanabilir. Bununla beraber bu sistemlerin hem iç, hem de dış su fazına etkin madde yüklenmesi de mümkündür²⁷. Raynal ve ark.²⁸ iç su fazına sodyum laktat, dış su fazına klorheksidin diglukonat ve yağ fazına da spironolaktan yükleyerek uygun özelliklere sahip bir dermatolojik krem oluşumu üzerinde çalışmışlardır.

S/Y/S tipi çoklu emülsiyonların iç su fazına NaCl, MgCl₂, AlCl₃, CaCl₂ gibi elektrolitler ilave edilebilir. Böylece hem çoklu emülsiyonun stabilitesinin artırılması sağlanırken, hem de bu moleküllerin izlenmesi ile çoklu emülsiyon verimi hesaplanabilir. Abd-Elbary ve ark.²⁹ bu elektrolitlerin formülasyona etkisini ortamda Veegum, Aerosil ve PEG 400 varken ve yokken incelemişler ve bunların stabiliteyi etkilediğini göstermişlerdir. Bu etki elektrolitin konsantrasyonuna bağlı olduğu kadar, katyon değerliğine de bağlıdır. Ayrıca Veegum, Aerosil ve PEG 400 de emülsiyonun stabilitesini artırmaktadır.

Çoklu emülsiyonlarda stabiliteyi artırmak için jel ya-

pıcı maddeler de kullanılabilir. Bu amaçla Oza ve Frank³⁰ kolloidal mikrokristalin sellüloz (CMCC) kullanarak hazırladıkları preparatlarda mikroskobik incelemeler, partikül büyüklüğü analizleri ve reolojik ölçümler yapmışlar ve freeze-etc elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde Avicel RC 591 in Y/S ara yüzeyinde üç boyutlu bir ağ yapısı oluşturduğunu göstermişlerdir. Bu da stabil çoklu emülsiyon hazırlanmasını sağlamaktadır.

Kundu³¹ ise xanthan zank , Avicel RC 591 ve Carbopol 1342 kullanarak topikal kullanım amaçlı S/Y/S ve Y/S/Y tipi çoklu emülsiyon formülleri geliştirmiştir. Yapılan çalışmalarda, jel yapıcı maddelerin formülasyona etkisi, hazırlanan formüllerin değişik sıcaklıklardaki stabilitesi ve salım özellikleri incelenmiş etkin madde salımına sodyum klorürün etkisi araştırılmıştır. Sonuçta; hazırlanan preparatlar ile etkin maddenin kontrollü salımının sağlandığı ve bu sistemler hayvanlara topikal olarak uyguladığında sistemik absorpsiyonun olmadığı belirtilmiştir.

Kanebo firması³² tarafından Y/S tipi bir primer emülsiyonun bentonit dispersiyonu içinde dağıtılması ile S/Y/S çoklu emülsiyonu hazırlanmıştır. Sistemin iyi bir stabiliteye sahip olduğu ve bentonit yerine xanthan zankın da kullanılabilceği bildirilmiştir³³.

Çoklu Emülsiyonları Hazırlama Yöntemleri

İki Basamaklı Emülsifikasyon Yöntemi: Bu yöntemde; birinci basamakta lipofilik veya hidrofilik yapıda yüzey aktif madde kullanılarak genel yöntemler ile bir S/Y veya Y/S tipi primer emülsiyon elde edilir. İkinci emülsifikasyon basamağında ise; bu primer Y/S veya S/Y tipi emülsiyon hazırlamadan hemen sonra, lipofilik veya hidrofilik bir yüzey aktif madde içeren yağlı ya da sulu fazda tekrar emülsifiye edilerek, Y/S/Y veya S/Y/S tipi çoklu emülsiyon oluşturulur³⁴. Bu teknik basit gibi gözükmesine karşın, her basamağın çoklu emülsiyon hazırlamasına ve özelliklerine etkisi vardır ve bu etki klasik emülsiyonların hazırlanmasında görülenenden daha önemlidir. Emülsifikasyonun ikinci basamağı kritik basamaktır²⁷. Bu, pekçok araştırmacı tarafından yıllardır en yaygın olarak kullanılan yöntemdir^{18,35,36}.

Faz Dönüşüm (İnversiyon) Yöntemi: Faz dönüşüm yöntemi, diğer hazırlama yöntemlerine kıyasla iki basamaklı emülsifikasyon yöntemine benzer bir tekniktir. İki yöntem arasındaki fark, iki basamaklı emülsifikasyonda yüzey aktif maddenin sulu çözeltisine primer emülsiyon eklenirken, faz dönüşüm yönteminde yağlı yüzey aktif madde çözeltisine sulu yüzey aktif maddenin eklenmesidir. Yapılan çalışmalarda konsantre S/Y emülsiyonunun faz dönüşümünün, S/Y/S çoklu emülsiyonunun oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir. Faz inversiyon yönteminde hidrofilik yüzey aktif maddenin sulu çözeltisi, lipofilik yüzey aktif madde içeren yağa eklenmekte ve S/Y emülsiyonunun faz dönüşümünden dolayı S/Y/S çoklu emülsiyonu elde edilmektedir³⁷.

Üçlü Faz Diagram Yöntemi: Üçlü faz diagram yöntemi; su, yağ ve yüzey aktif maddenin belirli oranlarda karıştırıldığında lamellar faz veya yağlı isotropik faz oluşturmaları ve buna yüksek hızda karıştırma ile eklenen suyun iki fazdan birinde dağılarak, çoklu emülsiyon sisteminin hazırlanması esasına dayanır. Bu yöntem, tek bir emülsifikasyon basamağından oluştuğu için cazip gibi görünmekle birlikte, bazı zorlukları da vardır. Öncelikle üçlü sistemde lamellar faz veya yağlı isotropik fazın oluşması gerekir. Bunun yanı sıra tüm yüzey aktif maddelerin lamellar faz vermemesi ve kullanılan yüzey aktif madde miktarının da diğer yöntemlere göre daha fazla olması gibi dezavantajları olduğu da bildirilmektedir¹⁰. Yapılan bir çalışmada, diğer bileşenlerle birlikte sıvı kristal fazın varlığının S/Y/S veya Y/S/Y tipi çoklu emülsiyonun oluşumuna yardımcı olduğu ve oluşan emülsiyonun stabilitesini artırdığı gösterilmiştir³⁸.

Çoklu emülsiyonların hazırlanmasını alet, sıcaklık, karıştırma hızı ve süresi, faz hacmi gibi çeşitli parametrelerin etkilediği bilinmektedir. Ancak tüm parametreler topluca değerlendirildiğinde; stabil bir sistem için iki şartın gerektiği görülmektedir. Bunlardan ilki son derece stabil bir primer emülsiyon ile çalışılması, diğeri ise HLB değeri birbirinden farklı iki yüzey aktif madde kullanılmasıdır. Diğer tüm hususlar ana hatları ile genelleştirilmişse de bunlar üzerinde değişik varyasyonların yapılması mümkündür^{39,40}.

Çoklu Emülsiyonların Salım Mekanizması

Çoklu emülsiyonların salım mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bununla beraber, sistemin taşıdığı etkin maddenin yapısına bağlı olarak, üç çeşit salım mekanizması olduğu düşünülmektedir. Bu mekanizmalar:

- İyonize olmayan, yağda çözünen etkin maddenin yağ tabakasından pasif difüzyon ile salımı,
- Yağlı membranın şişmesi ve kırılması yolu ile etkin maddenin serbestleşmesi,
- İyonize olan ve olmayan maddelerin lipofilik yüzey aktif madde ile kolaylaştırılmış transportu'dur⁴¹.

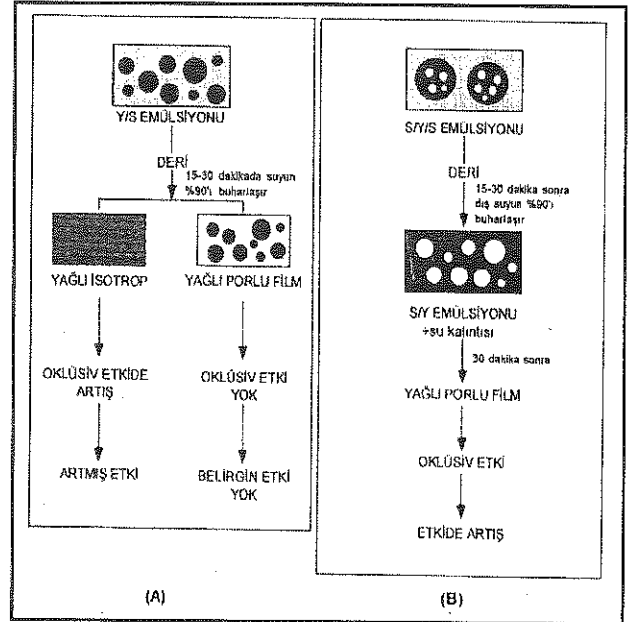
Pasif difüzyon ile etkin madde salımı 1. derece kinetiğine uyar ve Fick kanunu ile açıklanmaktadır³. Omotosho ve ark.⁴² da NaCl ve 5-fluorourasilin salım mekanizmalarını incelemişler ve salımın yağ fazından difüzyon ile olduğunu bildirmişlerdir. Diğer mekanizmaya göre ise; çoklu emülsiyonun iki su fazı arasındaki osmotik basınca bağlı olarak, dış su fazından iç su fazına su akışı olur. Bu globüllerin şişmesine ve belli bir noktadan sonra yağ membranını kırılarak, iç su fazında enkapsüle edilen maddenin dışarı salımına neden olmaktadır. Raynal ve ark.²⁸ yaptıkları çalışmada; çoklu emülsiyonun iç su fazındaki sodyum laktatın, hem iç sulu damlaların şişmesini takiben yağ fazının kırılmasıyla, hem de yağ tabakasından difüzyonla salındığını bildirmişlerdir.

Tokgöz ve ark.⁴³ hazırladıkları çoklu emülsiyonların iç su fazına iki floresan özellikli madde yüklemişlerdir. Bu maddelerin sıcaklık, pH ve iç fazdaki diğer birleşenlerin varlığından etkilenip etkilenmediği, ayrıca her iki maddenin emülsiyonun reolojik özelliklerine etkileri araştırılmıştır. Salım deneyleri de maddenin çoklu damlaların şişerek kırılması ile serbestleştiğini göstermiştir.

Çoklu Emülsiyonların Deri Üzerindeki Davranışları

Çoklu emülsiyonların topikal kullanımlarında, deri üzerindeki davranışları henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak, bu konuda iki hipotez öne sürülmektedir⁷. Birinci hipoteze göre; enkapsüle edilen aktif maddenin sadece yağ damlalarının kırılmasıyla salındığı kabul edilmektedir. Bu kırılmaya ya preparatın uygulanması sırasında ya-

pılan ovma hareketlerinin ya da, su ile seyrelen preparatta iç su damlalarının şişmesi ve buna bağlı olarak yağ tabakasının incelmesinin neden olduğu ileri sürülmektedir. Sonuçta iç fazdaki sulu damlalar şişer ve patlar. Bu da aktif maddenin dış su fazına salınarak, serbest hale geçmesini sağlar. Bu noktadan sonra çoklu emülsiyon Y/S tipi klasik emülsiyon gibi davranır. 15-30 dakika içinde suyun %90'ı buharlaşır ve deri üzerinde yağlı isotrop ya da yağlı porlu bir film oluşur. Oluşan yağlı isotropda hem oklüzif etki hem de etkinlik artarken, yağlı porlu filmde böyle bir sonuç gözlenmemektedir. İkinci hipoteze göre ise; iç faza yüklenen etkin maddenin yağ membrandan difüzyonla salındığı kabul edilmektedir. Çoklu emülsiyon uygulandıktan 15-30 dakika sonra suyun %90'ı buharlaşır, geriye S/Y tipi emülsiyon kalır. Bu da yağlı porlu film ve oklüzif özellik gösterir. Böylece etki artar (Şekil 2 A,B)⁷.



Şekil 2. Çoklu emülsiyonların deriye uygulandıktan sonra varsayılan davranış biçimleri
A: Basit Emülsiyon B: Çoklu Emülsiyon

Çoklu Emülsiyonların Kozmetik Uygulamaları

Çoklu emülsiyonlar, kozmetik amaçlı kullanımlar için ideal sistemler olarak gösterilmektedir. Çünkü:

- Çoklu emülsiyonların her kompartmanına farklı etkin madde yükleme imkanı vardır. Yani bir S/Y/S tipi çoklu emülsiyon, iki su fazında suda çözünen protein, enzim ve vitamin tipi aktif maddeler ile

yağlı fazında yağda çözülen örneğin parfüm gibi maddeler kullanılarak hazırlanabilmektedir.

- Çoklu emülsiyonlar deriye uygulandıktan sonra, enkapsüle edilmiş etkin maddenin kontrollü salımına imkan sağlamaktadırlar.

- Çoklu emülsiyonların klasik bir krem viskozluğunda hazırlanması mümkündür.^{39,44}

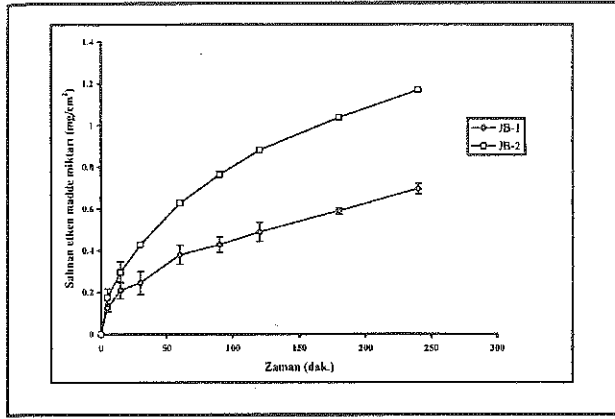
Yapılan çeşitli çalışmalarda; güneş kremlerinin, nemlendirici ve koruyucu el kremlerinin, makyaj temizleyicilerin, traş kremlerinin ve antiperspiranların çoklu emülsiyon yapısında hazırlanabileceği ileri sürülmektedir. Bu çalışmalara göre; bir makyaj temizleyici için dış fazda polietilen partikülleri iç fazda hyaluronik asit biraraya getirilirken, bir vücut bakım preparatında ise dış fazda sodyum laktat, iç fazda gliserin kullanılarak formüller hazırlanabilir. Koruma amaçlı bir el kremi, dış faza limon ekstresi ve iç faza da hidrokinon gibi pigmentasyonu önleyici maddeler ilavesi ile formüle edilebilir. Bir antiperspiran ürün ise; dış fazda alüminyum türevleri ve iç fazda triklorokarbonilid gibi bakterisid maddelerle çoklu emülsiyon tarzında hazırlanabilir. Derinin sağlıklı görünümü iç fazda lanolinhidroksietilen ve dış fazda besleyici protein türevleri içeren bir çoklu emülsiyon ile korunabilir⁵. Çoklu emülsiyon tarzında ilk ticari ürün Lancaster firmasına ait olan "Unique Moisturizing" dir⁷. Estee Lauder Laboratuvarlarına ait "Triple Creme Skin Rehydrator" isimli ürün, derinin yirmi saatten fazla yumuşak, nemli ve esnek tutulacağı ileri sürülerek, S/Y/S tipi çoklu emülsiyon sistemi olarak sunulmuştur⁸. Çoklu emülsiyonların kozmetik amaçlı kullanımları sayesinde; parfümlerin sürekli salınımının sağlanacağı, deri nemlenmesinin uzatılacağı, hassas biyolojik maddelerin korunacağı ve geçimsiz bileşiklerin birbirinden etkileşmesinin önlenebileceği bildirilmektedir⁸. Ayrıca Bioderma ve Rubinstein firmalarının da ticari çoklu emülsiyon preparatları bulunmaktadır¹⁶. Meiji Milk Products firması S/Y/S tipi bir çoklu emülsiyon formülünü temizleyici losyon olarak kullanılmak üzere hazırlamıştır⁴⁵. Bu alanda son yıllarda yapılan çalışmalara bir örnek olarak Babor firması tarafından üretilen S/Y/S tipi çoklu emülsiyon verilebilir. Bu formülün faz inversiyon yöntemine göre hazırlandığı ve stabilite artırıcı olarak polar mumlar ile organik hidrojel yapıcı ajanların karışımını içerdiği belirtilmektedir⁴⁶.

Raynal ve ark.²⁸ akneli ciltler için bir çoklu emülsiyon formülü hazırlamışlardır. Bu preparatta yağ fazına yüklenen spironolakton ile akne tedavisi planlanırken, dış su fazındaki klorheksidin glukonat ile antibakteriyel etki sağlanmakta ve iç fazında bulunan sodyum laktat ile de deriyi nemlendirme amaçlanmaktadır.

Tokgöz ve ark.⁴⁷ iç su fazında askorbik asit ve N-asetil-L-sistein içeren S/Y/S çoklu emülsiyonu üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar; hazırlanan sistemin çok iyi bir stabiliteye sahip olduğunu ve etken maddeyi çok yavaş salıdığını göstermiştir. Yazan ve ark.¹⁷ tarafından A vitamini içeren S/Y/S tipi çoklu emülsiyonlar hazırlanmıştır. Bu sistemlerin stabiliteelerini artırmak için su fazına eklenen polivinil prolidonun (PVP) etkisi incelenmiş ve PVP'nin sistemlerin reolojik davranışları ve stabilitesini çok az etkilediği sonucuna varılmıştır.

Jager-Lezer ve ark.³⁵ tarafından yapılan bir araştırmada ise, iç su fazında glikolik asit içeren çoklu emülsiyon formülleri üzerinde stabilite, salım özellikleri ve nemlendirici etki incelenmiştir. Araştırmacılar stabil çoklu emülsiyon formüllerinin etkin maddenin korunması açısından çok cazip sistemler olduğunu bildirmişlerdir. Yazan ve ark.⁴⁸ yaptıkları başka bir çalışmada iç su fazına glikolik asit yüklenen bir çoklu emülsiyonu in vitro ve in vivo testlerle değerlendirerek, bu sistemin kuru ciltlere uygun olduğu ve cildin esnekliğine katkıda bulunduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bir alfa hidroksi asit (AHA) türevi olan glikolik asit dermokozmetolojide tercih edilen bir maddedir.

Diğer çalışma ise dermokozmetik amaçlı iç su fazında sodyum sülfasetamid yüklenerek hazırlanan S/Y/S tipi çoklu emülsiyonlar üzerinde yapılmıştır. Bu çalışmada jel bazlı S/Y/S çoklu emülsiyonlarının iç ve dış su fazına etkin madde yüklenip, her iki sistemden çıkış modifiye Franz hücresi kullanılarak incelenmiştir (Şekil 3). Çalışmanın sonucunda etkin maddeyi iç su fazında içeren formülden salımın çok daha yavaş olduğu görülmüştür. Bu fark, dış su fazında sodyum sülfasetamid bulunan formülün klasik bir Y/S emülsiyonu gibi davrandığını; diğer sistemle ise uzatılmış salım sağlandığını göstermektedir⁴⁰.



Şekil 3. Sodyum sülfasetamit'in jel bazlı çoklu emülsiyonlardan salım profili⁴⁰ :

JB 1 : Etkin maddeyi iç su fazında içeren S/Y/S çoklu emülsiyonu

JB 2 : Etkin maddeyi dış su fazında içeren S/Y/S çoklu emülsiyonu

Çoklu Emülsiyonların Farmasötik Uygulamaları

Bu derlemede, çoklu emülsiyonların kozmetik amaçlı kullanımları açıklanmış olmakla birlikte farmasötik alandaki uygulamalarına da kısaca değinilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

Herbert⁹ ile çoklu emülsiyonların farmasötik amaçla kullanılmaya başlanmasından sonra, çeşitli araştırmacılar konuyla ilgilenmişlerdir. Yapılan ilk çalışmalardan birinde Benoy ve ark.⁴⁹ metotreksat sodyum, sitozin arabinozit ve vinblastine sülfat üzerinde araştırmalar yapmışlardır. R1 lenfoma implante edilen farelere, methotrexate sodyum içeren çoklu emülsiyonlar tek doz uygulandığında, bunun etkin madde çözeltisini içeren uygulamadan daha etkili olduğu ve günde 5 kez verme ile elde edilen doz seviyesine ulaştığı görülmüştür. Diğer iki maddeyle de benzer sonuçlar alınmıştır. Takahashi ve ark.⁵⁰ bleomisin ve mitomisin taşıyan çoklu emülsiyonları tümör içine uygulamışlardır. Böylece günlük enjeksiyon gereksinimini ortadan kaldıran uzatılmış salım elde edilirken, istenmeyen sistemik etkiler de gözlenmemiştir. Sitozin arabinozit ile yapılan bir diğer çalışmada da hazırlanan stabil sistemden etkin maddenin çok yavaş salındığı gözlenmiştir⁵¹. Bu diğer hastalıklar için olduğu gibi özellikle kanser tedavisi açısından da çoklu emülsiyonları oldukça cazip bir duruma getirmektedir.

Brodin ve ark.⁵² S/Y/S tipi çoklu emülsiyondan naltrekson hidroklorür ve Y/S/Y çoklu emülsiyonundan da naltrekson bazın salım profillerini incelemişlerdir. İç su fazında sorbitol veya sodyum klorür bulunan S/Y/S çoklu emülsiyonu ile bunların olmadığı formül kıyaslandığında ilkinde %70 lik uzatılmış salım gözlemlendiği bildirilmiştir. Analjezik etkili bir madde olan pentazosin ile de çalışılmıştır. Pentazosinin sık alınması nedeniyle hasta kabulü açısından uygun olmayan dozaj formu yerine, uzatılmış salımını sağlayan S/Y/S çoklu emülsiyonunun daha yararlı olacağı düşünülmüştür. İn vitro ve in vivo analizlerle bu sistemden pentazosinin kontrollü ve uzatılmış salımının sağlandığı sonucuna varılmıştır⁵³.

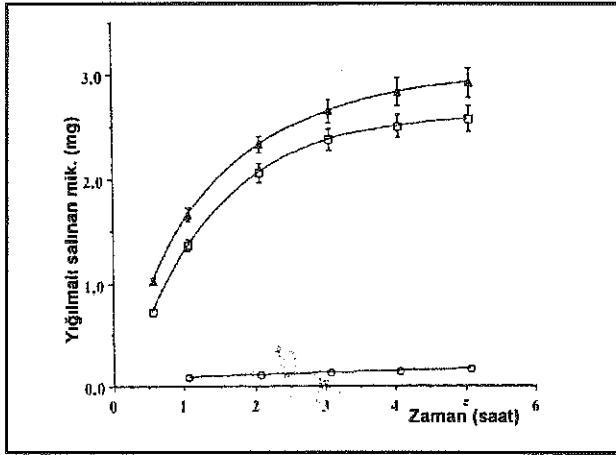
Klorokin fosfat malarya tedavisinde en etkili ve en yaygın kullanılan ilaçlardan birisidir. Parenteral uygulamasında, dış faza başlangıç dozu ve iç faza da idame dozu yüklenerek çoklu emülsiyon hazırlanması tasarlanmıştır. Böylece etkinliğinin artırılması dışında, hastalar açısından da uygun bir dozaj formunun geliştirilebileceği düşünülmüştür¹⁹. Klorokin oral alındığında ise, yüksek absorpsiyon ve iyi tolere edilmesine karşın, hoş olmayan tadı nedeniyle, özellikle çocuklarda problem yaratmaktadır. Bu nedenle; çoklu emülsiyonun iç fazında enkapsüle edilmiş formun oral kullanılması, kötü tadın kapatılmasını sağlayacağı gibi kontrollü salıma da imkan verebilecektir⁵⁴.

İç su fazına rifampisin yüklenen çoklu emülsiyon sistemi üzerinde yapılan çalışmalarda uzatılmış salım elde edilerek, preparatın uygulama sıklığını azaltmak amaçlanmıştır⁵⁵. İlaç zehirlenmelerinin tedavisinde de çoklu emülsiyonların kullanılabilmesi düşünülmüştür. S/Y/S tipi çoklu emülsiyonların iç su fazı toksinlerin tutulup uzaklaştırılabileceği bir alan olarak etkili olabilecek, yani bir kapan ve tuzak görevi yapabilecektir. Örneğin, barbitüratlar için bu sistem kullanılabilir. Ancak, bunun için çoklu emülsiyonun iç su fazında aktif kömür, spesifik ilaç antikorları veya ilaca bağlanan plazma proteinlerinin olması gerekmektedir².

Çoklu emülsiyonlar oral insülin kullanımını sınırlayan sorunların aşılmasında bir alternatif olarak düşünülmüştür. Silva Cunha ve ark.⁵⁶ tarafından yapılan bir dizi çalışmada hazırlanan S/Y/S tipi çoklu emülsiyonların iç su fazındaki insülini en-

zimatik bozulmaya karşı koruduğu, sistemin 4-6 °C de 6 aydan fazla stabil kaldığı görülmüştür. İn vivo analizlerin de bu sonuçları desteklediği, ancak insülin absorpsiyonunun artırılması için daha ileri çalışmalara gerek olduğu belirtilmiştir. Nitekim yazarların bu doğrultudaki araştırmalarından elde ettikleri başarılı in vitro sonuçları daha sonra in vivo olarak da inceledikleri bildirilmiştir^{57,58}.

Topikal uygulamalarda çoklu emülsiyonların sağladığı avantajları incelemek için yapılan bir çalışmada ise; metronidazolün S/Y/S tipi bir çoklu emülsiyonu ile S/Y ve Y/S tipi basit emülsiyonlardan salımı incelenmiştir. Formülasyonlardan gelebilecek farklılıkları önlemek üzere her 3 formülasyonda aynı maddelerden oluşturulmuştur. Sellulöz membran kullanılarak yapılan in vitro çıkış deneylerinde S/Y/S çoklu emülsiyonunun etkin maddeyi Y/S emülsiyonuna göre daha yavaş saldığı, buna karşın S/Y emülsiyonundan çıkışın çok daha yavaş olduğu gösterilmiştir⁵⁹ (Şekil 4). Metronidazol suda çözünen bir madde olduğu için S/Y emülsiyonundan salımı diğer iki sisteme göre bariz bir şekilde yavaş olmaktadır.



Şekil 4. Metronidazolün S/Y/S (□), Y/S (▲) ve S/Y (○) emülsiyonlarından in vitro salımı⁵⁹

SONUÇ

Çoklu emülsiyonların kendine özgü sorunları henüz tam olarak çözülememiştir. Bununla beraber yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, hem farmasötik hem de kozmetik açıdan çoklu emülsiyonların yakın bir gelecekte oldukça yaygın olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Çünkü bu sis-

temler klasik emülsiyonlar gibi hem kolayca deriye uygulanabilir hem de yağlı bir film bırakmadan deriyi daha iyi nemlendirirler. Lipozom ve niozom gibi diğer taşıyıcı sistemler ile karşılaştırıldığında ise çoklu emülsiyonlarda aynı özelliklere sahiptirler. Hazırlandıkları zaman klasik bir krem görünümünde olmaları nedeniyle de lipozom ve niozomlar gibi tekrar formüle edilmeye gerek yoktur. Bütün bu üstünlüklerinden dolayı çoklu emülsiyonlar son yıllarda detaylı olarak incelenmekte ve araştırmacılar tarafından mükemmel sistemler olarak tanımlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Morton R. *Specialized pharmaceutical emulsions*. In *Pharmaceutical Dosage Forms Disperse Systems*, Vol.1, Lieberman HA, Rieger MM, Banker GS, (eds) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 245-283, 1988.
2. Whitehill D. Multiple emulsions and their future uses, *Chem. Drug.* 213, 130, 132, 135, 1980.
3. Florence AT, Whitehill D. The formulation and stability of multiple emulsions, *Int. J. Pharm.*, 11, 277-308, 1982.
4. Yazan Y. *New trends in cosmetic formulations*. in *Proceedings of Second International Cosmetics Symposium (ICoS)*. Başer KHC, Yazan Y (eds). Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, s, 161-191, 1995.
5. Seiller M, Vaution C, Grossiord JL, Rabaron A. Les emulsions multiples en cosmetologie, *Actual. Pharm.*, 289, 41-43, 1991.
6. Seiller M, De Luca M, Vaution C, Grossiord JL, Rabaron A. Multiple emulsions, *Nouv. Dermatol.*, 10 (1), 88-94, 1991.
7. Seiller M, Orecchioni A, Vaution C. Vesicular systems and multiple emulsions in cosmetology, in *Cosmetic Dermatology*, in Baran R, Maibach HI (eds), Martin Dunitz Ltd., London, pp, 27-35, 1994.
8. Fox C. An introduction to multiple emulsions, *Cosmet. Toiletries*. 101 (11), 101-106, 109-112, 1986.
9. Herbert WJ. Multiple emulsions. A new form of mineral-oil antigen adjuvant, *Lancet*. 2, 771, 1965.
10. Seiller M, Tokgöz NS, Grossiord JL. Multiple emulsions as promising preparations in cosmetic science. In *Proceedings of First International Cosmetics Symposium (ICoS)*. Başer KHC, Yazan Y (eds), Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, s, 157-184, 1993.
11. Davis SS, Walker I. Measurement of the yield of multiple emulsion droplets by a fluorescent tracer technique, *Int. J. Pharm.*, 17, 203-213, 1983.
12. Omotosho JA, Whately TL, Law TK, Florence AT. The

- nature of the oil phase and the release of solutes from multiple (W/O/W) emulsions, *J. Pharm. Pharmacol.* 38, 865-870, 1986.
13. Tomita M, Abe Y, Kondo T. Viscosity change after dilution with solutions of water-oil-water emulsions and solute permeability through the oil layer, *J. Pharm. Sci.*, 71 (3), 332-334, 1982.
 14. Magdassi S, Garti N. A kinetic model for release of electrolytes from W/O/W multiple emulsions, *J. Controlled Release.* 3, 273-277, 1986.
 15. Ferreira Lam, Doucet J, Seiller M, Grossiord JL, Marty JP, Wepierre J. *In vitro* percutaneous absorption of metronidazole and glucose: comparison of O/W, W/O/W and W/O systems, *Int. J. Pharm.* 121, 169-179, 1995.
 16. Yazan Y, Seiller M, Puisieux F. Multiple emulsions, *Boll. Chim. Farm.* 132, (6), 187-194, 1993.
 17. Yazan Y, Aralp Ü, Seiller M, Grossiord JL. PVP in multiple emulsions, *Cosmet. Toiletries.* 110 (9), 53-57, 1995.
 18. Brodin AF, Frank SG. Drug release from O/W/O multiple emulsion, *Acta. Pharm. Suec.*, 15 (2), 111-118, 1978.
 19. Omotosho JA, The effect of acacia, gelatin and polyvinylpyrrolidone on chloroquine transport from multiple W/O/W emulsions, *Int. J. Pharm.*, 62, 81-84, 1990.
 20. Lin SY, Wu WH. Physical parameters and release behaviors of W/O/W multiple emulsions containing cosurfactants and different specific gravity of oils, *Pharm. Acta. Helv.*, 66 (12), 342-347, 1991.
 21. Abd-Elbary A, Noure SA, Mansour FF. Efficacy of different emulsifying agents in preparing O/W/O or W/O/W multiple emulsions, *Pharm. Ind.*, 46(9), 964-969, 1984.
 22. Adeyeye CM, Price JC. Effect of non-ionic surfactant concentration and type on the formation and stability of W/O/W multiple emulsions: microscopic and conductometric evaluations, *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 17 (5), 725-736, 1991.
 23. Ohwaki T, Machida R, Ozawa H, Kawashima Y, Hino T, Takeuchi H, Niwa, T. Improvement of the stability of water-in-oil-in-water multiple emulsions by the addition of surfactants in the internal aqueous phase of the emulsions, *Int. J. Pharm.*, 93, 61-74, 1993.
 24. Hameyer P, Jenni KR. Emulsifiers for multiple emulsions, *Cosmet. Toiletries.* 111 (7), 39-48, 1996.
 25. Jager-Lezer N, Terrise I, Bruneau F, Tokgöz S, Ferreira L, Clause D, Seiller M, Grossiord JL. Influence of lipophilic surfactant on the release kinetics of water-soluble molecules entrapped in a W/O/W multiple emulsion, *J. Controlled Release.* 45, 1-13, 1997.
 26. Feiger S, Tokgöz S, Fructus A, Jager-Lezer N, Seiller M, Lacombe C, Grossiord JL. Kinetics of swelling-breakdown of aW/O/W multiple emulsion: possible mechanisms for the lipophilic surfactant effect, *J. Controlled Release.* 52, 99-107, 1998.
 27. De Luca M, Grossiord JL, Medard JM, Vaution C, Seiller M. A stable W/O/W multiple emulsion, *Cosmet. Toiletries.* 105 (11), 65-66, 69, 1990.
 28. Raynal S, Grossiord JL, Seiller M, Clause D. A topical W/O/W multiple emulsion containing several active substances: formulations, characterization and study of release, *J. Controlled Release.* 26, 129-140, 1993.
 29. Abd-Elbary A, Noure SA, Ibrahim I. Physical stability and rheological properties of W/O/W emulsions as a function of electrolytes, *Pharm. Ind.*, 52 (3), 357-363, 1990.
 30. Oza KP, Frank SG. Multiple emulsions stabilized by colloidal microcrystalline cellulose, *J. Disper. Sci. Tech.*, 10 (2), 163-185, 1989a.
 31. Kundu SC. Preparation and evaluation of multiple emulsions as controlled release topical drug delivery systems, Thesis University St's John, U.S.A., 1990.
 32. JP 63 33,311 Kanebo Ltd
 33. Fox C. Advances in cosmetic science and technology IV. Cosmetic vehicles, *Cosmet. Toiletries.* 110 (9), 59-75, 1995.
 34. Matsumoto S, Kang WW. Formation and applications of multiple emulsions, *J. Disper. Sci. Tech.*, 10 (4-5), 455-482, 1989.
 35. Jager-Lezer N, Denine R, Grossiord JL, Wepierre J, Rault S, Seiller M. Formulating multiple emulsions with moisturizing actives, *Cosmet. Toiletries.* 111 (11), 53-58, 1996.
 36. Fredro-Kumbaradzi E, Stupar M, Vuleta G, Simov A. Release of sulfacetamide sodium from multiple W/O/W emulsions, *Pharmazie.* 46, 607-608, 1991.
 37. Matsumoto S. Development of W/O/W-type dispersion during phase inversion of concentrated W/O emulsions, *J. Colloid Interface Sci.*, 94 (2), 362-368, 1983.
 38. Kavaliunas DR, Frank SG. Liquid crystal stabilization of multiple emulsions, *J. Colloid Interface Sci.*, 66, 586-588, 1978.
 39. Tadros TF, Dederen C, Taelman MC. A new polymeric emulsifier, *Cosmet. Toiletries.* 112 (4), 75-86, 1997.
 40. Soytürk FB. Kozmetik amaçlı çoklu emülsiyon formülasyonları üzerinde çalışmalar, *Yüksek Lisans*

- Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1997.
41. Davis SS. Liquid membranes and multiple emulsions, *Chem. Ind.*, 3, 683-687, 1981.
 42. Omotosho JA, Law TK, Florence AT, Whateley TL. Effect of oil phase on release from W/O/W multiple emulsions stabilised by interfacial complexation, *J. Pharm. Pharmacol.*, 37, 4P. Suppl. 1985.
 43. Tokgöz NS, Grossiord JL, Fructus A., Seiller M., Prognon P. Evaluation of two fluorescent probes for the characterization of W/O/W emulsions, *Int. J. Pharm.* 141, 27-37. 1996.
 44. Tadros TF. Future developments in cosmetic formulations, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 14, 93-111, 1992.
 45. US 4,971,721 Meiji Milk Products Company Ltd.
 46. DE 19,630,176 Dr Babor GMBH und Co Germany.
 47. Tokgöz NS, Prognon P, Fructus AE, Grossiord JL, Marty JP, Seiller M. Advantages of a new cosmetic form for the use of alpha hydroxy acids, in Proceedings of Second International Cosmetics Symposium (ICoS). Başer, KHC, Yazan Y (eds), Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, s, 211, 1995.
 48. Yazan Y, Seiller M, Arslan K. Formulation and evaluation of a multiple emulsion containing glycolic acid, *Drug. Cosmet. Ind.*, 160(1), 30-37, 101-103, 1997.
 49. Benoy C, Elson LA, Schneider R. Multiple emulsions, a suitable vehicle to provide sustained release of cancer chemotherapeutic agents, *Brit. J. Pharmacol.*, 45, 135P, 1972.
 50. Takahashi T, Ueda S, Kono K, Majima S. Attempt at local administration of anti-cancer agents in the form of fat emulsion, *Cancer*, 38, 1507-1514, 1976.
 51. Kim C-K, Kim S-C, Shin H-J, Kim KM, Oh K-H, Lee Y-B, Oh I-J. Preparation and characterization of cytarabine-loaded W/O/W multiple emulsions, *Int. J. Pharm.*, 124, 61-67, 1995.
 52. Brodin AF, Kavaliunas, DR, Frank SG. Prolonged drug release from multiple emulsions, *Acta. Pharm. Suec.*, 15 (1), 1-12, 1978b.
 53. Mishra B, Pandit JK. Multiple water-oil-water emulsions as prolonged release formulations of pentazocine, *J. Controlled Release*. 14, 53-60, 1990.
 54. Vaziri A, Warburton B. Slow release of chloroquine phosphate from multiple taste-masked W/O/W multiple emulsions, *J. Microencapsulation*. 11(6), 641-648, 1994.
 55. Nakhare S, Vyas SP. Prolonged release multiple emulsion based system bearing rifampicin: *In vitro* characterisation, *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 21(7), 869-878, 1995.
 56. Silva Cunha A, Grossiord JL, Puisieux F, Seiller M. Insulin in W/O/W multiple emulsions: preparation, characterization and determination of stability towards proteases *in vitro*, *J. Microencapsulation*. 14, (3), 311-319, 1997a.
 57. Silva Cunha A, Grossiord JL, Puisieux F, Seiller M. Insulin in W/O/W multiple emulsions biological activity after oral administration in normal and diabetic rats, *J. Microencapsulation*. 14(3), 321-333, 1997b.
 58. Silva Cunha A, Grossiord JL, Puisieux F, Seiller M. W/O/W multiple emulsions of insulin containing a protease inhibitor and an absorption enhancer: preparation, characterization and determination of stability towards proteases *in vitro*, *Int. J. Pharm.*, 158, 79-89, 1997c.
 59. Ferreira L, Seiller M, Grossiord JL, Marty JP, Wepierre J. Vehicle influence on *in vitro* release of metranidazole: role of w/o/w multiple emulsion, *Int. J. Pharm.*, 109, 251-259, 1994.