

Merhem Sıvağlarından Etken Madenin In Vitro Diffüzyon Hızının Matematiksel İncelenmesi

Mathematical Investigation of In Vitro Diffusion Rate of a Drug From Ointment Bases

Enver İZGÜ* — İlbeyi AĞABEYOĞLU*

Bir merhem içindeki etken maddenin vücuda geçmesi üzerine çok çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Bu faktörlerin ne olduğunun ve diffüzyonu nasıl etkilediklerinin bilinmesi, bilimsel açıdan oldukça önemlidir. Bu konu üzerinde geniş araştırmalar yapı- lıp, bir takım metotlar geliştirilmiştir. Bunları başlıca iki grupta altında toplayabiliriz :

- 1 — İn vitro metotlar
- 2 — İn vivo metotlar

İn vivo metotlar esas olarak bir merhemi deney hayvanı veya bir insan derisine tatbik edip, belli bir süre sonra kan, idrar, vs. gi- bi analiz metotlarıyla vücuda geçen madde miktarını tesbit etmek- ten ibarettir.

İn vitro metotlar başlıca üçe ayrılır :

- a — Agar jeli metotları
- b — Kromatografik metot
- c — Membran metotları

Birinci metotta, reaktif emdirilmiş bir agar jeli üzerine konan merhemden diffüze olan etken maddenin meydana getirdiği renkli bölgenin büyüklüğü ölçülerek bir kaniya varılır.

İkinci metotta ise, aynı işlem bir filtre kâğıdı vasıtasıyla yapı- lır (1).

Redaksiyona verildiği tarih : 2 Nisan 1974

(*) A. Ü. Eczacılık Fakültesi Gelenek Farmasi Kürsüsü

Membran metotlarında, yarı geçirgen bir membranın bir yüzünde merhem, diğer yüzünde izotonik sodyum klorür çözeltisi bulunur. Çözeltiye geçen etken maddenin belli zaman aralıklarında miktar tayini yapılır.

Birçok araştırmacı, merhemlerden etken maddenin diffüzyonunu incelemiş ve bu diffüzyona etki eden faktörleri tesbit etmişlerdir. Bu arada, birçok merhem sıvağı geliştirilmiş ve bu sıvağların özellikleri literatürde bildirilmiştir (2 - 22, 32). Bundan başka, merhem sıvağlarına bazı yardımcı maddeler ilâve edilip, bunların diffüzyon üzerindeki rolleri incelenmiştir (23 - 25). Bu arada, emülsiyon merhemlerine değişik emülgatörlerin ilâvesiyle diffüzyonun ne şekilde etkilendiği de araştırılmıştır. Değişik etken maddelerle yapılan araştırmalar değişik sonuçlar vermiştir (13, 14, 16, 17, 26 - 31). Bu arada incelenen diğer bir husus, sıvağa giren emülgatörün Hidrofil Lipofil Dengesinin (HLB) diffüzyon üzerine olan etkisidir (33, 34).

Merhemler üzerinde diğer ilginç bir bir araştırma, LOCKIE ve SPROWLS tarafından yapılmıştır (35). Bu araştırmacılar % 5 iyot ve % 20 sulfatiazolü çeşitli sıvağlarda agar tüp metoduyla incelemişlerdir. Reaktif emdirilmiş agarda meydana gelen diffüzyon uzaklığını zamana bağlı olarak ölçmüşlerdir. Sonuçları grafik haline getirince parabolik bir eğri ortaya çıkmıştır. Bu eğrinin genel denklemi,

$$X^2 = k T \quad (1)$$

şeklindedir.

Burada T, diffüzyon süresi ve X de, diffüzyon uzaklığıdır. k, bir katsayı olup, sıvağa göre değişmektedir. Bu araştırmacılar, ondört merhem için bu katsayıyı tesbit etmişlerdir.

CORAN ve HUYCK, Kold Krem sıvağına sulfatiazol ilâve etmiş ve sulu fazın yağlı faza oranını değiştirerek diffüzyonu incelemişlerdir (34). Bu çalışmayı kromatografik metot ile yapmışlardır. Neticede, diffüzyon mesafesi ile su yüzdesi arasında matematiksel bir ilişki araştırmış ve aşağıdaki denklemi bulmuşlardır :

$$X = 37.4 + 12.1 \log \frac{y - 2.5}{8.8 - y} \quad (2)$$

Bu araştırmacılar, bundan sonra LOCKIE ve SPROWLS'un deneylerini (35) kromatografik metot ile tekrarlamışlardır. Meydana gelen diffüzyon uzaklığıyla (kâğıtta), X in katsayısı (agarda) arasındaki korelasyon katsayısını hesaplamışlar ve bu değeri 0,7 bulmuşlardır. Böylece, her iki metodun paralelliği ayrıca gösterilmiştir.

Biz bu araştırmada in vitro metotlardan agar jeli ve kromatografik metot üzerinde aşağıdaki amaçlarla çalıştık :

1 — Zamana bağlı olarak meydana gelen etken madde diffüzyonunu matematiksel denklemler halinde ifade etmek,

2 — Bu denklemlerdeki sabiteleri çeşitli sıvağlar için değerlendirmek ve dolayısıyla diffüzyon hakkında önceden bilimsel bir tahmin yapabilme imkânını araştırmak,

3 — Merhem sıvağlarına ilâve edilen çeşitli yardımcı maddelerin etken madde diffüzyonuna ve bulduğumuz diffüzyon denklemlerindeki sabiteler üzerindeki etkilerini incelemek,

4 — Sıvağa ilâve edilen emülgatörün HLB değerinin diffüzyon üzerindeki etkisini görmek,

5 — Sıvağdaki su miktarının etkisini incelemek,

6 — Yukarıda değinilen hususları gerek agar jelinde ve gerekse kromatografik metoda paralel olarak tatbik edip, bu iki metot arasında bir korelasyon olup olmadığını istatistiki açıdan araştırmak. Şöyle ki; kromatografik metoddaki diffüzyonu önce matematiksel denklemlerle ifade etmek (bu husus üzerinde LOCKIE ve SPROWLS durmamışlardır), sonra her iki metottaki diffüzyonu ifade eden denklemlerdeki sabiteler arasındaki paralelliği incelemek.

Bu araştırma ile ilgili istatistik bilgi özeti :

Yapılan bilimsel araştırmaların sonunda çoğunlukla iki veya daha fazla değişken arasında bir oran veya ilişki bulunduğu görülmüştür. Bilimsel bir sonuç elde edebilmek için, bu değişkenler arasında cebirsel bir denklem kurma yoluna gidilir (eğer mümkünse).

Bunların sonuçları bir grafik üzerinde noktalar halinde işaretlenir. Eğer bu noktalar az çok bir doğru gösteriyorsa, lineer bir ilişkiden bahsedilir. Eğer bir eğri veriyorsa, non - lineer bir bağıntı var demektir.

Herhangi iki değişken arasındaki matematiksel ilişkiyi bulmak için önce X in T ye karşı (X ve T iki değişken) grafiği çizilir. Noktalar bir doğru vermiyorsa, çeşitli denemelerin yapılması gerekir. Örneğin : X^2 , T ye göre; X^3 , T ye göre; $\log X$, T ye göre; $\log X$, $\log T$ ye göre, vs. Bizim bu araştırmada $\log X$, $\log T$ ye göre bir doğru verdi. Yani arada, parabolik bir ilişki bulduk. Burada X, diffüzyon uzaklığını T de, diffüzyon süresini ifade etmektedir.

Genel doğru denklemini

$$y = aZ + n \quad (3)$$

şeklinde ifade edersek, bizim bulgularımıza göre,

$$y = \log X \quad (4)$$

$$\text{ve} \quad Z = \log T \quad (5)$$

olur. a ve n, birer sabitedir.

a : Doğrunun eğimi,

n : Doğrunun ordinatı kestiği nokta.

Bunların hesabı En Küçük Kareler Metodu'na göre yapıldı (35). Bunun için deneysel sonuçlar önce bir tablo haline getirilir :

Tablo : 1 — İstatistik Değerlendirme

N	T	X	y	Z	yZ	y ²	Z ²
1							
2							
.							
.							
.							
N							
			Σy	ΣZ	ΣyZ	Σy^2	ΣZ^2

Buradan,
$$a = \frac{N \Sigma yZ - (\Sigma Z)(\Sigma y)}{N \Sigma Z^2 - (\Sigma Z)^2} \quad (6)$$

ve
$$b = \frac{(\Sigma y)(\Sigma Z^2) - (\Sigma Z)(\Sigma yZ)}{N \Sigma Z^2 - (\Sigma Z)^2} \quad (7)$$

Böylece aranan denklem ortaya çıkar.

Bu hesaplamalar iki değişken arasındaki ilişkinin cinsini gösterir. Bu ilişkiye uyuma derecesini ise, Korelasyon Katsayısı verir. Bu, -1 ilâ +1 arasında değişen bir sayı olup, boyutsuzdur. Korelasyon katsayısını hesap etmek için yine yukarki tablodan istifade edilir :

$$r = \frac{N \Sigma yZ - (\Sigma Z)(\Sigma y)}{\sqrt{[N \Sigma Z^2 - (\Sigma Z)^2] [N \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2]}} \quad (8)$$

Burada r, korelasyon katsayısıdır. Elde edilen denklem, değişimleri belli bir ölçüde ifade eder. Bu ölçüyü, Varyasyon verir.

$$\text{Varyasyon} = r^2 \quad (9)$$

Denkleme uymayan değişmelerin de hesaplanması gerekir. Bunun, İzah Edilemeyen Varyasyon verir :

$$b = \text{İzah Edilemeyen Varyasyon} = 1 - r^2 \quad (10)$$

Bu değer ne kadar küçük olursa, bulunan denklem o kadar neticelere uygundur.

M E T O T

Agar jeli metodu :

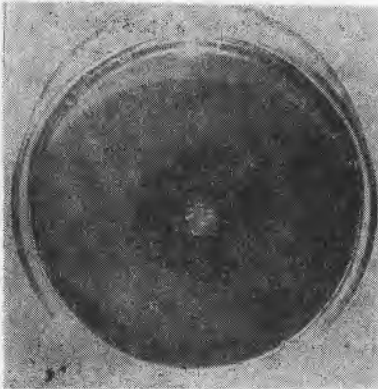
% 2 lik agar jeli kaynatılarak hazırlanır. Henüz sıcak iken, 1 ml Ferri Klorür TS (USP) ilâve edip, 10 cm çaplı Petri kutularına 21.

- 6 — Hidrofil Merhem USP XVIII
- 7 — Beeler sıvağı (5,6) :
- | | |
|----------------------|-------|
| Setil alkol | 150 g |
| Beyaz balmumu | 10 g |
| Propilen glikol | 100 g |
| Sodyum lauril sülfat | 20 g |
| Distile su | 720 g |
- 8 — Sulu Krem BP 1968 (Modifiye)
- | | |
|---------------------------|--------|
| Emülsifiye Merhem BP 1968 | 300 g |
| Metil paraben | 0.25 g |
| Propil paraben | 0.15 g |
| Distile su k.m. | 1000 g |
- 9 — Silicone-Gibson sıvağı (37):
- | | |
|--------------------------|--------|
| Setil alkol | 15 g |
| Sodyum lauril sülfat | 1 g |
| Dimetikon-350 centistoke | 40 g |
| Metil paraben | 0.25 g |
| Propil paraben | 0.15 g |
| Distile su | 43 g |

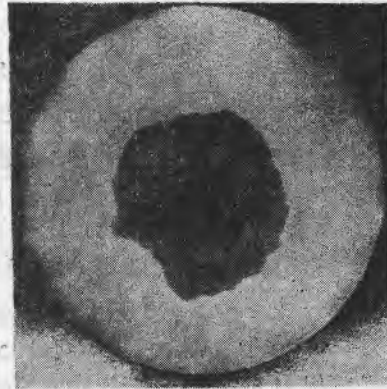
D — Suda eriyen sıvağlar :

- 1 — Gliserin Merhemi NF XIII
- 2 — Polietilen Glikol Merhemi USP XVIII
- 3 — Sıvağ II (39) :
- | | |
|------------------------|-------|
| Setil alkol | 50 g |
| Polietilen glikol 400 | 475 g |
| Polietilen glikol 4000 | 375 g |
- 4 — Sıvağ III (39) :
- | | |
|------------------------|-------|
| Span 40 (Atlas) | 10 g |
| Polietilen glikol 400 | 400 g |
| Polietilen glikol 4000 | 500 g |
| Distile su | 90 g |
- 5 — Sıvağ G (38) :
- | | |
|-----------------------------------|-------|
| Polietilen glikol 400 monostearat | 260 g |
|-----------------------------------|-------|

Polietilen glikol 400	370 g
Polietilen glikol 4000	370 g
6 — Yağısız Sıvıglı (40) :	
Gliserin monosearat	100 g
Bentonit	20 g
Gliserin	250 g
Distile su	630 g
7 — Üniversal y/s Merhem Sıvıglı (41) (modifiye) :	
Kalsiyum glukonat	1 g
Sodyum alginat	30 g
Metil paraben	2 g
Gliserin	450 g
Distile su	517 g
8 — Hollander ve Mc Clanahan Sıvıglı (42) :	
Sodyum lauril sülfat	0.5 g
Bentonit	130 g
Metil paraben	1 g
Beyaz Vaseline	320 g
Distile su	540 g
9 — Veegum Sıvıglı :	
Veegum	100 g
Sodyum lauril sülfat	1 g
Distile su k.m.	1000 g

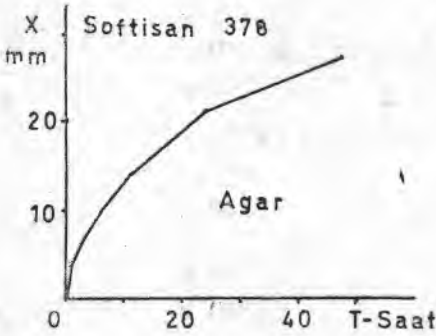


Resim. 1 : Hidrofil Vaseline
Agar Diffüzyonu

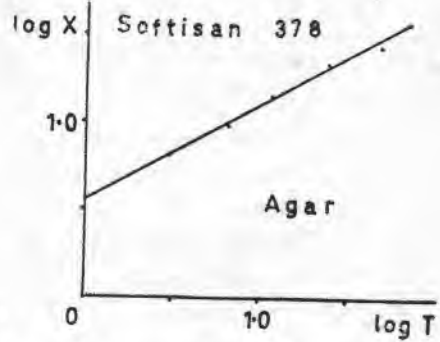


Resim. 2 : Hidrofil Vaseline
Kâğıt Diffüzyonu

Bu sıvağlarla hazırlanan merhemlerden oluşan diffüzyonu agar jeli ve kromatografik metot yardımıyla inceledik. Her sıvağ için paralel üç deney yapıp, ortalama diffüzyon bulundu. Hidrofil Vaselinein meydana getirdiği diffüzyon, Resim 1 ve 2 de görülmektedir. Zamana bağlı olarak oluşan diffüzyon ayrıca grafik halinde Şekil 1 ve 2 de Softisan 378 için çıkarılmıştır. Şekil 1 de eğrinin parabolik hali kesin olarak görülmektedir. Bu değerler Şekil 2 de $\log X - \log T$ şeklinde grafik haline getirilince ortaya bir doğru çıkmaktadır. Bu doğrudan, denklem sabitelerini hesaplama yoluna gidilmiştir.



Şekil : 1



Şekil : 2

Deney sonuçları diffüzyon açısından zamana bağlı olarak şöyle bir genel denklem vermektedir.:

$$X = k T^a \quad (11)$$

X : Diffüzyon uzaklığı, T : Süre, k ve a birer sabitedir. Bu denklemin her iki tarafının logaritması alındığında,

$$\log X = a \log T + \log k \quad (12)$$

şekline dönüşmektedir. Görüldüğü üzere, $\log X$, $\log T$ ye göre çizilirse, meydana gelen doğrunun eğimi a ve ordinatı kestiği nokta $\log k$ dir. Biz bütün sıvağlar için k ve a sabitelerini deneysel sonuçlardan hesaplama yoluyla bulduk. Bu hesapları bir örnekle göstereyim :

Beyaz Merhem ile yukardaki metotlara göre deney yapıldı. Kağıt deneyi sonuçlarının değerlendirilmesi :

T (saat)	Diffüzyon çapları (mm)
1.05	11.3, 13.75, 12.75
2.02	11.8, 14.9, 13.25
3.00	12.0, 15.25, 13.9
5.78	12.75, 16.5, 15.0

Buradan, ortalamaları hesaplayalım,

$$(\text{Çap})_1 = \frac{11.3 + 13.75 + 12.75}{3} = 12.60 \text{ mm}$$

$$(\text{Çap})_2 = \frac{11.8 + 14.9 + 13.25}{3} = 13.32 \text{ mm}$$

$$(\text{Çap})_3 = \frac{12.0 + 15.25 + 13.90}{3} = 13.72 \text{ mm}$$

$$(\text{Çap})_6 = \frac{12.75 + 16.5 + 15.0}{3} = 14.75 \text{ mm}$$

bulunur. Diffüzyon uzaklıkları, $X = (\text{Çap} - 10)/2$ denkleminde hesaplanır. Bunlar, $X_1 = 1.30 \text{ mm}$, $X_2 = 1.66 \text{ mm}$, $X_3 = 1.86 \text{ mm}$ ve $X_6 = 2.38 \text{ mm}$ olarak bulunur. T ve X in logaritmalarını ve bu logaritmaların çarpımlarıyla karelerini hesaplarız:

log X	log T	(log X)(log T)	(log X) ²	(log T) ²
0.1139	0.0212	0.0024	0.0130	0.0004
0.2197	0.3054	0.0671	0.0483	0.0932
0.2691	0.4771	0.1284	0.0724	0.2276
0.3757	0.7616	0.2862	0.1411	0.5805

Şimdi bu tablolardan yararlanarak $(\log X) - (\log T)$ doğrusunun denklemini hesap edelim. Bunun için yukarıki tabloların kolon toplamalarını yapmamız gerekecektir. Bunlar :

$$N = 4, \Sigma(\log T) = 1.5656, \Sigma(\log X) = 0.9784$$

$$\Sigma(\log T)(\log X) = 0.4841, \Sigma(\log T)^2 = 0.9019, \Sigma(\log X)^2 = 0.2748$$

Önce (6) ve (7) denklemleri yardımıyla genel doğru denklemi-
mindeki a ve n sabitlerini hesap edelim (burada serbest değişken
Z yerine log T ve y yerine de, log X konmuştur) :

$$n = \frac{0.9784 \times 0.9019 - 1.5656 \times 0.4841}{4 \times 0.9019 - 1.5656 \times 1.5656} = 0.1076$$

$$a = \frac{4 \times 0.4841 - 1.5656 \times 0.9784}{4 \times 0.9019 - 1.5656 \times 1.5656} = 0.3500$$

Bu halde aradığımız denklem,

$$\log X = 0.1076 + 0.35 \log T$$

şeklini alır. Bundan sonra, $0.1706 = \log k$ deyip, denklemi normal
hale dönüştürürsek,

$$X = 1.281 T^{0.35}$$

olarak aradığımız denklemi buluruz.

Şimdi X ve T arasındaki korelasyonu hesaplıyalım. Bu, non li-
neer olup, log X ve Log T arasındaki lineer korelasyona eşittir (ya-
ni y ve Z arasındaki). Bunun için, yukarki tablolardan ve (8) denk-
leminden faydalanacağız:

$$r = \frac{4 \times 0.4841 - 1.5656 \times 0.9784}{\sqrt{(4 \times 0.9019 - 1.5656 \times 1.5656) (4 \times 0.2728 - 0.9784 \times 0.9784)}} = 0.999$$

Ayrıca,

$$b = \text{İzah edilemeyen varyasyon} = 1.0 - 0.999 \times 0.999 = 0.0017$$

Yani, % 0.17 dir.

Yukarki bütün hesaplar herbir sıvağda, agar ve kağıt metotları
için iki defa tekrar edilmektedir. Görüldüğü üzere, uzun ve karma-
şık hesaplar icabetmektedir. Ayrıca, bu hesaplamalarda hata yap-
mak çok kolaydır. Bundan dolayı, bu hesapları yapmada IBM 360
Bilgisayarından istifade ettik.

Gerek agar ve gerekse kâğıt diffüzyonu için genel denklem ay-
nı olup, sadece sabiteler değişmektedir. Bu sabiteler TABLO 3 de ve-
rilmiştir.

Tablo : 3 — Sıvağların Sabitleri (DeneySEL Sonuçlar)

SIVAĞLAR	Agar				Kağıt			
	k	a	r	b (%)	k	a	r	b (%)
Vaselin	2.41	0.45	0.985	2.98	0.30	0.55	0.970	5.83
Beyaz Merhem	3.05	0.51	0.994	1.2	1.28	0.35	0.999	0.17
Sarı Merhem	3.08	0.52	0.991	1.81	0.12	1.14	0.957	8.41
Softisan 378	3.71	0.53	0.999	0.2	4.01	0.68	0.999	0.15
As. Dom. Yağı	4.56	0.46	0.995	0.93	5.95	0.36	0.981	3.82
Sebum	4.09	0.47	0.998	0.33	0.65	0.74	0.994	1.20
Susuz Lanolin	3.02	0.40	0.990	0.6	0.72	0.50	0.902	18.58
Hidro. Vaselin	3.86	0.42	0.990	0.70	0.60	0.64	0.995	0.78
Basit Merhem	4.35	0.41	0.992	0.8	4.38	0.50	0.997	0.67
Paraf Merhemi	3.56	0.47	0.998	0.36	1.21	0.72	0.995	1.07
Susuz Eucerin	3.57	0.46	0.994	1.20	4.22	0.11	0.974	5.11
Emül. Merhem	3.88	0.43	0.999	0.28	0.29	1.17	0.999	0.15
Lan. Alk. Mer.	4.50	0.52	0.987	2.49	10.13	0.38	0.984	3.21
Softisan 601	3.41	0.54	0.991	1.78	0.17	1.35	0.970	5.96
Xalifin 15	3.74	0.43	0.997	0.55	1.89	0.58	0.999	0.15
Lanolin	4.08	0.40	0.992	1.48	0.69	0.64	0.996	0.78
Kold Krem	3.47	0.50	0.998	0.44	1.03	0.63	0.994	1.20
Gülsuyu Mer.	4.10	0.43	0.998	0.33	2.25	0.53	0.992	1.37
Sulu Eucerin	3.96	0.48	0.993	1.33	0.35	0.85	0.997	0.54
Yağı Krem	4.17	0.45	0.999	0.19	3.66	0.44	0.999	0.24
Hidrofil Merhem	4.44	0.48	0.998	0.40	16.72	0.21	0.998	0.43
Beeler Sıvağı	4.04	0.48	0.993	1.35	3.50	0.26	0.989	2.27
Sulu Krem	4.08	0.51	0.996	0.80	1.00	0.63	0.972	5.52
Sil. Gib. Sıvağı	3.89	0.52	0.993	1.31	0.81	0.69	0.990	1.93
Glis. Merhemi	5.36	0.44	0.997	0.67	1.51	0.18	1.000	0.06
Hol. Mc. Cla.	5.05	0.46	0.993	1.42	—	—	—	—
Univ. Sıvağ	5.47	0.46	0.991	1.70	2.91	0.45	0.999	0.18
Veegum Sıvağı	6.14	0.50	0.993	1.48	11.75	0.15	0.968	6.29
P. E. G. Merhem	—	—	—	—	4.31	0.61	1.000	0.01
Sıvağ II	—	—	—	—	2.15	0.50	0.998	0.49
Sıvağ III	—	—	—	—	1.09	0.52	0.955	8.79
Sıvağ G	—	—	—	—	1.04	0.71	0.996	0.90

Bütün sıvağların grafikleri parabolik bir eğri göstermektedir. Bazıları tam uymakta, bazıları da az farklılık göstermektedir. $\log X$ ile $\log T$ ye göre çizilen grafikler ise, doğru vermektedir. Bu husus, hem agar jelinde, hem de filtre kağıdında aynıdır. LOCKIE ve SPROWLS (35, 43) agar jelinde diffüzyonun parabolik olduğunu

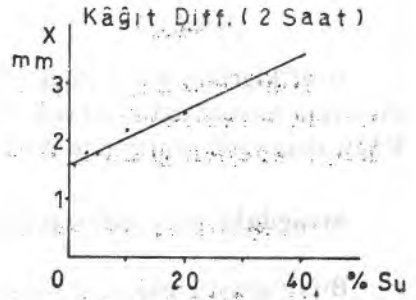
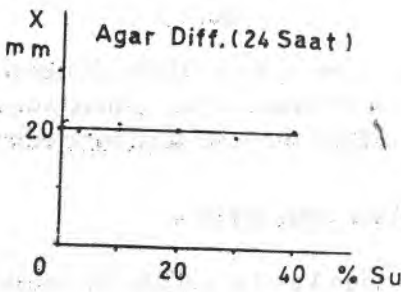
Tablo : 6 — Değişik su yüzdeli merhemler

Su yüzdesi	0	1	3	5	10	20	30	40
Salis. asit	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Distile su	—	0.05	0.15	0.25	0.50	1.00	1.50	2.00
Vaselin 6	4.85	4.80	4.70	4.60	4.35	3.85	3.35	2.85

Önce salisilik asitle Vaselin 6 karıştırıldı, sonra su yedirildi. Agar jeli ve kromatografik metotlar tatbik edildi. Sonuçlar TABLO 7 ve Şekil 5 ve 6 da yer almaktadır.

Tablo : 7 — Su yüzdesinin diffüzyon katsayılarına etkisi

SU %	Agar				Kâğıt			
	k	a	r	b (%)	k	a	r	b (%)
0	4.34	0.48	0.987	2.52	1.03	0.66	0.993	1.45
1	4.60	0.47	0.987	2.61	1.27	0.41	0.987	2.59
3	4.23	0.47	0.999	0.16	1.33	0.40	0.993	1.34
5	4.38	0.47	0.992	1.53	1.44	0.35	0.990	1.99
10	4.71	0.46	0.995	1.06	1.69	0.37	0.986	2.68
20	4.19	0.49	0.996	0.81	2.12	0.29	0.997	0.66
30	4.49	0.45	0.996	0.71	1.53	0.38	0.999	0.17
40	4.81	0.45	0.996	0.85	2.27	0.26	0.991	1.77



Şekil : 5

Şekil : 6

Su yüzdesinin agarda fazla fark yapmadığı görülmektedir. Ancak kâğıt deneylerinde, düşük oranlarda lineer bir artma mevcuttur.

Bunlardan başka, Hidrofil Vaseline, Basit Merhem, Parafin Merhemi ve Softisan 601 e % 30 su ilâve edip aynı deneyleri tekrarladık. Bu deneylerin sonuçları da TABLO 8 de yer almaktadır.

Tablo : 8 — Değişik sıvağlarda suyun diffüzyona etkisi

SIVAĞ	Agar				Kâğıt			
	k	a	r	b (%)	k	a	r	b (%)
Hidro. Vaseline	4.12	0.43	0.991	1.84	—	—	—	—
Basit Merhem	4.70	0.43	0.999	0.20	—	—	—	—
Paraf. Merhemi	3.57	0.49	0.996	0.86	—	—	—	—
Softisan 601	—	—	—	—	0.63	1.03	0.994	1.27

Merhem sıvağlarına giren yardımcı maddelerin diffüzyona etkisi :

Bunun için şu formülle merhemler hazırlandı :

Salisilik asit	0.15 g
Yardımcı madde	0.25 g
Vaseline	4.60 g

Önce salisilik asitle vaselin karıştırıldı. Sonra, sıvı olan yardımcı madde ilâve edilip, iyice homojen hale getirildi. Katı olan yardımcı maddeler ise, önce bir beherde vaselinle beraber su banyosunda etirildi. Sonra salisilik asit ilâve edip, iyice karıştırıldı. Karıştırarak soğutuldu.

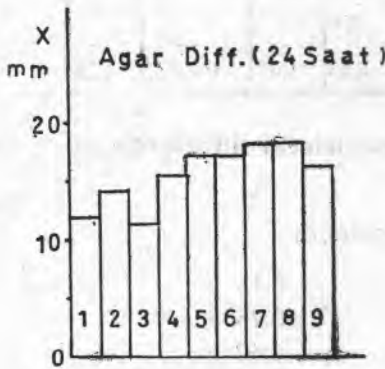
Kullanılan yardımcı maddeler ve sonuçlar TABLO 9 ile, Şekil 7 ve 8 de yer almaktadır.

Görüldüğü gibi, katı parafin hariç, bütün yardımcı maddeler diffüzyonu artırmışlardır. Kâğıt deneylerinde ise, katı parafin de artırmıştır.

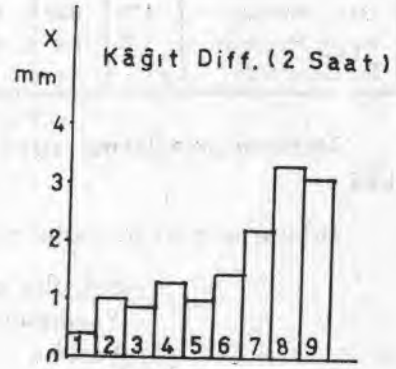
Not : Şekil 7 ve 8 deki 1 no. lu sütun, yardımcı madde ihtiva etmeyen vaselindir.

Tablo : 9 — Yardımcı maddelerin diffüzyona etkisi

MADDE YARDIMCI	Gra- fik No.	Agar				Kâğıt				Grafik No.
		k	a	r	b (%)	k	a	r	b (%)	
Balık nefsi	2	2.83	0.51	0.990	2.00	0.70	0.54	0.987	2.61	2
Katı parafin	3	1.53	0.67	0.989	2.23	0.56	0.71	0.995	1.10	3
Sıvı parafin	4	3.05	0.50	0.996	0.88	0.98	0.28	0.869	24.52	4
Setil alkol	5	4.10	0.46	0.993	1.44	0.70	0.55	0.995	0.96	5
Stearil alkol	6	3.01	0.55	0.989	2.25	0.86	0.63	0.988	2.30	6
Stearik asit	7	3.74	0.49	0.995	1.06	1.50	0.54	0.999	0.23	7
Heksil laurat (*)	8	3.78	0.49	0.997	0.67	2.15	0.62	0.996	0.79	8
Desil oleat (**)	9	3.49	0.48	0.994	1.18	2.15	0.51	0.998	0.48	9



Şekil : 7



Şekil : 8

TARTIŞMA

Sıvağlardan oluşan diffüzyon :

Otuz üç adet sıvağla yapılan deneylerin sonuçları tablo ve grafikler halinde çıkarılmıştır. Bu deneyler agarda ve filtre kâğıdında paralel olarak yapılmıştır. Yaptığımız ilk çalışma, zamana bağlı olarak meydana gelen diffüzyonu cebirsel olarak formüle edebilmektir. Bunu yaptık. Gerek agardaki ve gerekse kâğıttaki diffüzyon parabolik bir eğri gösteriyor. Bu eğrinin genel şekli, (11) denklemi

(*) Cetiol A, Henkel and Cie GmbH, W. Germany.

(**) Cetiol V, Henkel and Cie GmbH, W. Germany.

gibidir. Denklemin belirtilmesi için, k ve a sabitelerinin bulunması gerekir. Bu hesapları bütün sıvağlar için yaptık. Bulunan sonuçlar yukarıki tablolarda yer almaktadır.

İkinci grafikler ise, $\log T$ ile $\log X$ arasında çizilmiştir. Bir doğru göstermektedir. Bunun genel şekli (12) denklemiyle ifade edilmektedir. Bu durumda eğim a , ve ordinatı kestiği yer de, $\log k$ ya eşittir. Gerek eğimi, gerekse $\log k$ yı grafikten hesaplamak mümkündür. Ancak, En Küçük Kareler Metodu, hesap yoluyla daha duyar sonuçlar vereceğinden, biz bu yolu seçtik. Tablolardan görüldüğü üzere, korelasyon katsayısı çok büyüktür. Aynı şekilde, İzah Edilemeyen Varyasyon ufak değerlerde kalmaktadır. Dolayısıyla, bulunan denklemler deneyleri oldukça iyi ifade etmektedir.

Denklemlerde \bar{u} olarak bulunan a sabitesi, agar deneyleri için 0.4 ilâ 0.55 arasında oynamaktadır. LOCKIE ve SPROWLS yaptıkları araştırmalarda (35, 43) bu sabiteyi hesaplama yolun gitmemişler, doğrudan doğruya 0.5 almışlardır. Biz, buradaki hesabı derinleştirip, bu sabiteyi daha duyar olarak hesap ettik.

Diğer sabite k katsayısına gelince, bu da, agar deneyleri için 2.4 ilâ 6.1 arasında değişmektedir. Lipofilik sıvağlar için düşükçe ve hidrofilik sıvağlar için daha yüksektir.

Kâğıt deneylerinde \bar{u} ler 0.11 ilâ 1.35 arasında değişmektedir. Katsayılar da, 0.12 ilâ 16.7 arasında oynamaktadır. Sıvağın lipofil veya hidrofil olması ile bu durum arasında pek bir ilişki kuramadık. Agar ve kâğıt deneylerinin paralellliği üzerinde şu şekilde çalıştık: Her iki deneyle elde edilen denklemlerin \bar{u} leri arasında korelasyon katsayısını hesap ettik. Bulunan değer 0.295 tir. Bu, bir ilişki olmadığını göstermektedir. Esasen agar denklemlerinde \bar{u} ler fazla değişmemektedir. Bunun üzerine, denklemlerdeki katsayılar arasındaki korelasyonu araştırdık. Bu halde koelasyon katsayısı 0.71 bulduk. Bu ise, her iki metot arasında bir paralellik olduğunu gösterir. CORAN ve HUYCK (44) da benzer bir paralellik bulmuşlardı. Bu araştırmacılar, agar denklemleri katsayıları ile, kâğıt diffüzyon mesafeleri arasında korelasyonu hesap etmişler ve bu korelasyon katsayısını 0.7 olarak hesaplamışlardı. Ancak bu araştırmacılar, kâğıt diffüzyonunu denklem halinde ifade etmemişler-

di. Biz bunu yaptıktan sonra, her iki diffüzyon denklemleri sabiteleri arasındaki korelasyonu da hesap ettik.

Hidrokarbon sıvağlardan Vaseline en az diffüzyon veren sıvağ olmuştur. Bu grupta Softisan 378 ve Asilbentli Domuz Yağı yüksek diffüzyon kabiliyetleriyle göze çarpmaktadır.

Absorpsiyon sıvağlarda en dikkati çeken sıvağ, Lanolin Alkollerli Merhemi olmuştur. Bu sıvağ, hem ağarda, hem de kâğıtta çok iyi diffüzyon vermiştir. Bunun sebebi, ihtiva ettiği lanolin alkolleridir. Bu sıvağın su tutma kabiliyeti de yüksektir.

Softisan 601 de oldukça iyi diffüzyon vermiştir. Bunun da su tutma kabiliyeti fazladır.

Parafin Merhemi, Hidrofil Vaseline, Xalifin 15 ve Basit Merhem orta derecede diffüzyon vermektedir.

Lanolin Alkollerli Merhemine, eşit oranda su katıldığı zaman Yağlı Krem meydana gelmektedir. Bu sıvağ da, iyi diffüzyon verenler arasındadır.

Buna karşılık Lanolin, her iki cins deneyde de etken maddeyi az vermiştir. Kold Krem ve Gülsuyu Merhemleri, orta derecede diffüzyon vermektedirler. Hidrofil Merhem, kâğıt deneylerinde etken maddeyi derhal vermektedir. Dış fazın su olmasında bunun büyük rolü vardır. Esasen, denediğimiz bütün y/s sıvağlarda emülgatör olarak sodyum lauril sülfat kullanılmıştır. Bu yüzden diffüzyonlar da birbirine yakındır. Bu grupta en az diffüzyon vereni Beeler Sıvağıdır. Emülsifiye Merhem yaklaşık olarak iki buçuk misli su katıldığında Sulu Krem meydana gelmektedir. Bir y/s emülsiyonu olduğu için diffüzyon bu sıvağda da yüksektir.

Silicone - Gibson sıvağı bu grupta en yüksek diffüzyonu vermiştir. Bu sıvağın diğer bir özelliği de, kullanılmasındadır; normal krem veya merhemler sürüldüğü yerin (meselâ eller) yıkanmasıyla (bilhassa sabunla) gitmektedir. Silikon hidrofob olduğu için deri üzerinde kalmakta ve kaygan bir film teşkil etmektedir. Böylece, koruyucu özelliğini uzun zaman muhafaza etmektedir. Bu özelliği ve ayrıca da iyi diffüzyon vermesi, Silicone -Gibson sıvağını çok avantajlı yapmaktadır.

Suda eriyen merhemler, yüksek seviyede diffüzyon vermişlerdir. Bunların başında Veegum Sıvağı gelmektedir. Bu sıvağ gerek % 90 su ihtiva etmesinden ve gerekse içindeki sodyum lauril sülfattan dolayı denediğimiz sıvağlar içinde en çok diffüzyon veren olmuştur. Her iki metotta da, iyi netice alınmıştır.

Sodyum alginat ihtiva eden Üniversal y/s Sıvağı da iyi netice vermiştir. Ancak bu sıvağın biraz yapışkan olması bir dezavantaj teşkil edebilir.

Bentonitli Hollander ve Mc Clanahan Sıvağının da diffüzyon verme kabiliyeti yüksek olmuştur. Bu sıvağın kıvamı gayet uygundur.

Gliserin Merhemi, asırlardır bilinen ve kullanılan bir sıvağıdır. Bilhassa agarda iyi netice vermiştir.

Polietilen glikollü sıvağları agar metoduyla denemek mümkün olmadı. Bu sıvağlar agar jelinden büyük ölçüde su emip, jelin üzerine taşarak yayıldılar. (Bu yüzden bunlara yalnız kromatografik metod tatbik ettik.) Ancak, deney bozulmadan önce ve bozulduktan sonra da, agara çok fazla etken madde verdiklerini müşahade ettik. Kantitatif olarak, bütün sıvağlar içinde en fazla diffüzyon veren bunlardır. Ancak terkiplerine giren yardımcı maddeler diffüzyonu değiştirmektedir. Melâ Polietilen Glikol Merhemi oldukça iyi diffüzyon verirken, buna% 5 setil alkol ilâvesiyle meydana gelen Sıvağ III, daha az vermektedir. Ancak uygun oranda su ilâvesi bu durumu belki düzeltebilir. Bu tip sıvağlar genellikle görünüş ve kıvam açısından bilhassa tavsiye edilir. Ancak etken maddeyi verme bakımından faydaları tartışma konusudur. Bazı yazarlar tavsiyelerken, bazıları da etmemektedirler. İn vitro deneylerin sonucu olarak tavsiye edilebilir : ancak mutlaka in vivo deneylere başvurmak lâzımdır. Etken maddeyi yüksek bir konsantrasyonda yüzeysel olarak verebilirler. Ancak deriye ve dokulara aynı şekilde verdikleri şüphelidir. Ayrıca agar, hidrofik bir jel olarak gerek polietilen glikollere ve gerekse diğer suda eriyebilen sıvağlara benzer yapıdadır. Bu sıvağlarda görülen yüksek diffüzyon bu liyofal durumla alâkalı olabilir. Doğrudan doğruya insanlar üzerinde in vitro deney yapmak en emin ve tavsiye edilecek bir yoldur.

HLB nin diffüzyona etkisi :

Değişik HLB li merhemlerden agarda 24 saat sonra meydana gelen diffüzyon HLB ile çok az farketmektedir. Bu, ilginç bir durumdur. Çünkü, sodyum salisilat ile yapılan ön deneylerde bu durumun tam aksi görülmüştü. Burada, etken maddenin sıvağdaki çözünürlüğünün etkisi büyüktür. Bu hususun, daha derin deneylerle araştırılmasında fayda görürüz. Buna karşılık, kâğıt deneylerinde ise, çok farklı bir durum görüyoruz. Diffüzyon, HLB ile çok değişmektedir. Benzer bir duruma, HARTMAN ve arkadaşları da rastlamışlardır (33, 34). Bu grafikte dört yerde bir tepe görülmektedir (HLB 3, 7, 12 ve 16). Bunların bazılarını belki de şu şekilde izah edebiliriz : HLB 7 deki tepe, önceki deneylerde izlediğimiz, vasetinin lüzumlu HLB sidir. HLB 11 deki durum ise : Bu HLB de bir y/s emülsiyonu meydana gelmesinden olabilir. HLB 16 da muhtemel bir solubilizasyon olayı düşünüyoruz. Bunlar, aklımıza gelen hususlardır, bu konuda daha derin araştırmalar icabeder.

TABLO 5 de görüldüğü üzere, agar k sabitesi az da olsa, HLB ile değişmektedir. Bu değişimin tesadüfi mi, yoksa ilişkili mi olduğunu anlamak için, her ikisi arasında (HLB ve k sabitesi) korelasyon katsayısını hesap ettik. Bulunan değer, 0,80 dir. Bu rakam, arada bir korelasyonun varlığını göstermektedir. Yani k katsayısı, HLB ile orantılı ve ilişkilidir.

Aynı hesabı kâğıt deneylerinin katsayısı ile HLB arasında yapınca, korelasyon katsayısını 0.2 bulduk. Bu da, bir ilişkinin olmadığını göstermektedir. Esasen bu durum, tablodan da görülmektedir.

Su yüzdesinin etkisi :

Su yüzdesi ile agar denklemleri katsayıları arasındaki korelasyon katsayısını hesapladık. Bunu, 0,43 olarak bulduk. Bu değer, arada bir ilişkinin olmadığını göstermektedir. Aynı hesabı kâğıt denklemlerinin katsayıları için yaptık. Burada 0.80 değerini bulduk. Bu sonuç, ilgi çekicidir. Zaten bu durum tablodan da açık olarak görülmektedir. Yalnız % 30 luk deneyde bir sapma vardır. Bu da, bir deney hatasından ileri gelebilir.

24 saat sonra agardaki diffüzyon mesafesi, su yüzdesine bağlı görülmemektedir. Fakat kâğıt deneylerinde ilişki vardır. Bu durumun bir izahı olarak, filtre kâğıdının selektif bir emme yaparak, sulu fazı çektiği kanısındayız.

Ayrı bir deney olarak, Hidrofil VaseLin, Basit Merhem, Parafin Merhemi ve Softisan 601 e % 30 su ilâve edip, aynı deneyleri yaptık. İlâve edilen bu suyun, diffüzyonu olumlu yönde etkilediğini gördük.

Denenen bu sıvağların hepsi de, emülsiyon sıvağları şekline dönüşmektedirler. Bunlar ise, görüldüğü üzere, etken maddeyi daha fazla vermektedirler.

Yardımcı maddelerin diffüzyona etkisi :

Deneyleri yaparken dikkatimizi çeken bir husus, parafinli yardımcı maddeleri kullanırken, agarda yayılan alanın renginin çok zayıf oluşu idi. Yani ilâve edilen bu maddeler, diffüze olan madde miktarında kantitatif bir azalma meydana getirmişlerdi. Burada, ilâve edilen hidrokarbonlu maddelerin salisilik asidi daha çok çözdüğü düşünülebilir.

İlâve edilen maddelerin hemen hepsi diffüzyonu artırmışlardır. Bunda, setil ve stearil alkol gibi maddelerin su tutma ve yardımcı emülgatör özelliklerinin rolü olabilir. Sıvı parafin ise, sıvağın viskozitesini azaltarak diffüzyonu attırabilir. Ancak, kanımız odur ki, viskozitenin rolü olmakla beraber, burada önemli faktör, yardımcı maddenin hidrofil karakteriyle ilgilidir.

Modern merhem formüllerine giren ve Kosmetikte kullanılan yardımcı maddelerden Heksil Laurat ve Desil Oleat da, diffüzyonu yüksek ölçüde artırmaktadırlar.

Ö Z E T

Bu araştıramada genel olarak, merhem sıvağlarından oluşan in vitro etken madde diffüzyonunu inceledik. Bunun için agar jeli ve filtre kâğıdı metotlarını paralel olarak kullandık. Deneylerin sonunda bulunan değerleri matematiksel olarak inceleyip, cebirsel denklemler halinde ifade etmeye çalıştık. Esas olarak, LOCKIE ve

SPROWLS'un (35, 43) çalışmalarından hareket ettik. Bu araştırmacılar agar jelinde oluşan diffüzyonu $X^2 = k T$ denklemiyle ifade etmişlerdi; biz daha genel bir ifade olan $X = k T^a$ denkleminden giderek sonuca ulaştık. Çeşitli sıvağlar için bu denklemin sabitelerini tesbit ettik. Bu denklemlerdeki sabiteler tesbit edildikten sonra, bu sabitelere hangi faktörlerin etkilediğini araştırdık.

Elde edilen sonuçlara göre :

a — Salisilik asit genel olarak, hidrokarbonlu ve yağlı sıvağlardan az, emülsiyonlu sıvağlardan çok diffüze olmaktadır. Bu arada, Lanolin Alkolleri Merhemi, tatbik edilen her iki metotta da, çok iyi diffüzyon vermiştir. Suda eriyebilen sıvağlardan Veegum Sıvağı da aynı durumdadır.

b — Kromatografik metotta, filtre kâğıdından oluşan diffüzyon da, tarafımızdan tesbit edilen $X = k T^a$ parabolik denklemine uymaktadır.

c — Salisilik asidin diffüzyonunda HLB nin rolü agar jeli metodunda hiç görülmemekte, ancak filtre kâğıdı metodunda görülmektedir. Aynı durum, su yüzdesinin etkisi incelendiğinde de görülmüştür.

d — Denenen bir çok sıvağda, bulunan neticeler her iki metotta da, paralellik arz etmektedir. Bu neticeler arasındaki korelasyon katsayısı 0.71 dir. Bulunan bu sonuç, literatüre uygundur.

e — Merhemlere ilâve edilen yardımcı maddelerin hidrofob olanları salisilik asidin diffüzyonunu büyük ölçüde, hidrofob olanları ise, daha az seviyede artırmaktadır.

f — Elde edilen cebirsel denklemler yardımıyla meydana gelecek diffüzyon mesafesini önceden hesaplamak kolaylaşmakta, böylece deney yapmadan bilimsel bir yargıya varmak mümkün görülmektedir. Bu çalışmada, bir kısım sıvağlarla salisilik asidin denklemin sabitelerini tesbit etmiş bulunuyoruz.

Bu çalışmanın pratik yönünden, lokal veya sistemik etki elde etmek için merhem sıvağlarının seçiminde, daha evvelki çalışmalarla birlikte yardımcı olabileceği kanısına varılmıştır.

S U M M A R Y

In this research, we have investigated the general in vitro diffusion profile from ointments. For this, we have used the agar gel and the filter paper methods in parallel. We have dealt with the results mathematically and tried to put them into algebraic equations. We have started from the work of LOCKIE and SPROWLS (35, 43). These researchers have found the diffusion in agar gel as $X^2 = k T$. We have attacked the problem from a more general direction, by taking the equation as $X = k T^a$. We have established the constants for a number of ointment bases. After this, we have investigated the factors which influence these constants.

The results are :

a — As a general rule, salicylic acid diffuses from emulsion bases much more than from hydrocarbon or oleaginous bases. The base, Wool Alcohols Ointment BP 1968, gives very good diffusion in both methods. Same is true for the water soluble base, Veegum Base.

b — In the chromatographic method, the diffusion on filter paper follows the parabolic relation $X = k T^a$ as determined by us.

c — The role of HLB on the diffusion of salicylic acid seems to be nil with the agar gel method. However, HLB shows a definite influence with the filter paper method. Similar results are obtained on the investigation of the influence of water content.

d — With the bases tested, the results obtained from both of these methods seem to confirm each other. The correlation coefficient between the results is 0.71. This result is in accordance with the literature.

e — The auxillary substances added to ointment bases increase the diffusion of salicylic acid. Those that are hydrophilic in nature, give higher diffusion than the hydrophobic ones.

f — It is an easy matter to calculate the diffusion distance in advance, by means of the above mentioned algebraic equations. In this way, it seems possible to draw a scientific conclusion without consulting to experiments. In this research, we have established the equation constants for some ointment bases with salicylic acid.

It is believed that, these results, together with previous researches, will be helpful practice, for selecting suitable ointment bases for local or systemic effect in general use.

L I T E R A T Ü R

- 1 — İzgü, E, Lee, C. O., J. Amer. Pharm. Ass. Pract. Ed., **15**, 396 (1954).
- 2 — Shelmire, J. B., J. Inves. Dermatol., **26**, 105 (1955).
- 3 — Shelmire, J. B., AMA Arch. Dermatol., **78**, 191 (1958).
- 4 — Foley, E., C. O., J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed., **31**, 105 (1942).
- 5 — Beeler, E. C., Bull. of the Nat. Form. Comm., **11**, 27 (1943).
- 6 — Beeler, E. C., J. Amer. Pharm. Ass. Pract. Ed., **3**, 231 (1942).
- 7 — Busse, L. W., J. Amer. Ass. Pract. Ed., **4**, 314 (1943).
- 8 — Jefferies, S. F., Nash, H. A., Harmon, R. L., Reynolds, D. C., Bunde C. A., J. Amer. Pharm. Ass. Pract. Ed., **13**, 337 (1952).
- 9 — Johnston, G. W., Lee, C. O., J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed., **32**, 25 (1943).
- 10 — Jones, E. R., Lewicki, B., J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed., **40**, 509 (1951).
- 11 — Mutimer, M. N., Riffkin, C., Hill, J. A., *ibid.* **45**, 101, (1956).
- 12 — Kolstad, C. K., Lee, C. O., *ibid.*, **44**, 5 (1955).
- 13 — Barker, D. Y., DeKay, G. H., Christian, J. E., *ibid.*, **45**, 527 (1956).
- 14 — Barker, D. Y., Christian, J. E., DeKay, H., *ibid.* **45**, 601 (1956).
- 15 — Richter, G., *Arzneim. Forsch.*, **7**, 419 (1957).
- 16 — Stark, J. F., Christian, J. E., DeKay, G., J. Amer. Pharm. Ass. **47**, 223 (1958).
- 17 — Patel, K. C., Banker, G. S., DeKay, H. G., *ibid.* **50**, 294 (1961).
- 18 — Craw, R. O., Lee, C. O., *Pharm. Archiv.*, **9**, 1 (1938).
- 19 — Neuroth, M. L., Lee, C. O., Christian, J. E., Jenkins, G. L., J. Amer. Pharm. Ass., **35**, 321 (1946).
- 20 — Hart, F., Huyck, C. L., *ibid.* **37**, 272 (1948).
- 21 — Wood, J. A., Rising, L. W., *ibid.* **42**, 481 (1943).
- 22 — Stolar, M. E., Rossi, G. V., Barr, M., *ibid.* **49**, 144 (1960).

- 23 — Plaxco, J. M., Husa, W. J., : *ibid.* **45**, 141 (1956).
- 24 — Tinker, R. B., Husa, W. J., : *ibid.* **46**, 243 (1957).
- 25 — Whitworth, C. W., *J. Pharm. Sci.*, **57**, 1540 (1968).
- 26 — Patel, K. C., Banker, G. S., DeKay, H. G., : *ibid.* **50**, 300 (1961).
- 27 — Li, P. L., Kuever, R. A., : *ibid.* **27**, 1217 (1938).
- 28 — MacDonald, L. H., Himelick, R. E., : *ibid.* **37**, 368 (1948).
- 29 — Whitworth, C. W., Becker, C. H., : *ibid.* **54**, 569 (1965).
- 30 — Stolar, M. E., Rossi, G. V., Barr, M., : *ibid.* **49**, 148 (1960).
- 31 — Wood, J. A., Rising, L. W., Hall, N. A., : *ibid.* **51**, 668 (1962).
- 32 — Mayer, A., Kedvessy, E., *Pharm. Ind.* **31**, 323 (1969).
- 33 — Rhyne, J. W., Payne, W. J., Hartman, C. W., *J. of Amer. Pharm. Ass.* **49**, 234 (1960).
- 34 — Spittle, R. Y., Hartman, C. W., *ibid.* **49**, 325 (1960).
- 35 — Lockie, L. D., Sprowls, J. B., : *ibid.* **38**, 222 (1949).
- 36 — Spiegel, M. R., «Statistics». : Schaum Pub. Co. New York, (1961).
- 37 — Plein, J. B., Plein, E. M., *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.* **42**, 19 (1953).
- 38 — Goldstein, S. W., *J. Amer. Pharm. Ass. Pract. Ed.*, **15**, 41 (1954).
- 39 — Meyers, D. B. et al. : *ibid.* **11**, 32 (1950).
- 40 — Cox, C. L., Goedrich, P., *J. Amer. Pharm. Ass.* **1**, 210 (1940).
- 41 — Huston, M. J. et al., *Can. Pharm. J.*, **82**, (Spet. 15, 1949).
- 42 — Hollander and Mc Clanahan. : *J. Invest. Dermatol.*, **11**, 127 (1948).
- 43 — Lockie, L. D., Sprowls, J. B., *J. Amer. Pharm. Ass.*, **40**, 72 (1951).
- 44 — Coran, A., Huyek, C. L., : *J. of the Soc. of Cosm. Chem.*, **7**, 20 (1956).