

**TÜRKİYE PİYASASINDA BULUNAN MERYEMANA DİKENİ
(*SILYBUM MARIANUM*) EKSRAKTINI İÇEREN SERT JELATİN
KAPSÜLLERİ ÜZERİNDE KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PELİN ŞEHNAZ ÇAĞLAYAN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
OCAK- 2020**

**TÜRKİYE PİYASASINDA BULUNAN MERYEMANA DİKENİ
(*SILYBUM MARIANUM*) EKSRAKTINI İÇEREN SERT JELATİN
KAPSÜLLERİ ÜZERİNDE KALİTE KONTROL ÇALIŞMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PELİN ŞEHNAZ ÇAĞLAYAN

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

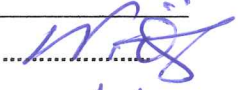
**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ebru DERİCİ EKER**

**MERSİN
OCAK – 2020**

ONAY

Pelin Şehnaz ÇAĞLAYAN tarafından Dr. Öğr. Üyesi Ebru Derici EKER danışmanlığında hazırlanan "Türkiye Piyasasında Bulunan Meryemana Dikeni Ekstraktını İçeren Sert Jelatin Kapsüllerde Yapılan Kalite Kontrol Çalışmaları" başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 15 Ocak 2020 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Nefise Özlen ŞAHİN	
Üye	Doç. Dr. Meral URHAN KÜÇÜK	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ebru DERİCİ EKER	

Yukarıdaki Jüri kararı Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 23.01.2020 tarih ve 2020-02/37 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi

beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

15 Ocak 2020/ 15 January 2020

İmza / Signature

Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname
Pelin Şehnaz ÇAĞLAYAN

ÖZET
TÜRKİYE PİYASASINDA BULUNAN MERYEMANA DİKENİ (*SILYBUM MARIANUM*)
EKSRAKTINI İÇEREN SERT JELATİN KAPSÜLLERİ ÜZERİNDE KALİTE KONTROL
ÇALIŞMALARI

Meryemana dikenî bitkisi (*Silybummarianum* (L) Gaerth) Compositae/Asteracea familyasına ait tek yıllık otsu bitkidir. Bitkinin içeriğinde silimarin, taksifolin, kuersetin, albümin gibi flavonolignan maddeler bulunur. Karaciğeri zararlı serbest radikallerden koruyan yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir. Klinik olarak destekleyici tedavi seçenekleri arasında önem kazanmıştır. Ülkemizde ve dünyada preparatları yaygın kullanılmaktadır. Ülkemizdeki piyasada bulunan preparatları Tarım Bakanlığı izniyle piyasaya sürüldüğü için diğer beşeri ilaçlar gibi *in vitro* ve *in vivo* etkinlik, güvenlik, kalite kontrol testlerinden geçmemektedir. Çalışmamızda Meryemana dikenî bitkisinin piyasadaki aldığımız sert jelatin kapsül formülasyonlarının kalite kontrol açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Meryemana dikenî meyvesi içeren sert jelatin kapsüller ve içeriği üzerinde yığın açısı tayini, yığın dansitesi, sıkıştırılmış dansite, elek analizi, dezentegrasyon testi, ağırlık sapması testi, Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR) spektrumu, Taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemesi, DPPH antioksidan kapasitesi ölçümü, fenolik madde tayini analizleri yapılmıştır. Literatürde benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Meryemana dikenî bitkisinin sert jelatin kapsülleri üzerindeki kalite kontrol testlerindeki literatüre uygun sonuçlar nedeniyle bitkisel destek olarak kullanımının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Silybum marianum* (meryemana dikenî), silimarin, silibinin, sert jelatin kapsül, kalite kontrol.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ebru Derici EKER, Mersin Üniversitesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT
QUALITY CONTROL WORK IN THE TURKEY MARKET FOUND IN
MILK THISTLE (*SILYBUM MARIANUM*) HARD GELATIN CAPSULES

Milkthistle (*Silybum marianum* (L) Gaerth) is a perennial herbaceous plant belonging to the Compositae/Asteracea family. It contains flavonolignan substances such as silymarin, taxifoline, quercetin, albumin. It has high antioxidant capacity which protect sliver from harmful free radicals. It has gained importance among clinically supportive treatment options. Preparations are widely used in our country and in the world. Since the preparations in the market in our country are released with the permission of the Ministry of Agriculture, they do not undergo *in vitro* and *in vivo* efficacy, safety and quality control tests like other human drugs. In this study, we aimed to evaluate the hard gelatin capsule formulations of milkthistle in terms of quality control. Determination of heap angle on hard gelatin capsules containing content of spike fruit, heap density, compressed density, sieve analysis, disintegration scattering test, weight deviation test, Fourier transform infrared (FT-IR) spectrum, Scanning electron microscopy (SEM) examination, DPPH antioxidant capacity measurement and phenolic content analysis were performed. No similar studies have been found in the literature. Since milkthistle plant quality control tests on hard gelatin capsules are in accordance with the literature results, we think it will be suitable for use as herbal support.

Keywords: *Silybum marianum* (milkthistle), silymarin, silibinin, hard gelatin capsule, quality control.

Advisor: Assistant. Prof. Ebru Derici EKER, Department of PharmaceuticalTecnology, University of Mersin, Mersin.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi birikimi, tecrübe ve hoşgörüsü ile her zaman bana ışık tutan sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Nefise Özlen ŞAHİN'e,

Yüksek lisans eğitimim ve tezim süresince her zaman desteği ile yanımda olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan sevgili danışman hocam Sayın Doktor Öğretim Üyesi Ebru DERİCİ EKER'e,

Başladığım günden itibaren her ricamda beni kırmadan yardım eden, nazik ve arkadaş canlısı Arş. Gör. Ece KARABULUT'a,

FT-IR analizindeki destekleri için İLKO İLAÇ'a ,

DPPH analizindeki önerileri için Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim dalı Dr. Öğr. Üyesi Şerife Selma URAS GÜNGÖR'e,

Eğitimim ve tez çalışmam boyunca bana manevi destek olup hep yanımda olan en değerlilerim canım annem ve kızıma,

Tez çalışmam boyunca bana hep destek olan değerli yol arkadaşım sende iyiki varsın,

Adını yazamadığım değerli yüksek lisans arkadaşlarıma,

Hepinize sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	2
2.1. Meryemana Dikeni (<i>Silybum marianum</i>) Hakkında Genel Bilgiler	2
2.1.1. Türkiye’de Halk Arasında Kullanılışı	4
2.1.2. Meryemana Dikeninin Türkiye’deki Preparatları	4
2.1.3. Meryemana Dikeninin Dünyadaki Preparatları	4
2.1.4. Bitkinin Mikroskopik Görünüşü	4
2.2. Meryemana Dikeni Bitkisinin Kimyasal Bileşenleri	5
2.3. Silymarin’in Etki Mekanizması	7
2.4. Silymarin’in Farmakokinetiği	7
2.5. Silymarin’in Yan Etkileri	7
2.6. Silymarin’in İlaçlarla Etkileşimi	8
2.7. Milk Thistle (<i>Silybum marianum</i>) Biyolojik Etkileri	8
2.7.1. Karaciğer Üzerine Hepatoprotektif Etkisi	8
2.7.2. Alzheimer Hastalığı ve Demans Üzerindeki Etkisi	9
2.7.3. Parkinson Hastalığı Üzerindeki Etkisi	10
2.7.4. Antikarsinojenik Etkileri	10
2.7.5. Cilt Kanseri Üzerindeki Etkisi	10
2.7.6. Hepatosellüler Karsinoma Üzerindeki Etkisi	11
2.7.7. Meme Kanseri Üzerindeki Etkisi	11
2.7.8. Yumurtalık Kanseri Üzerindeki Etkisi	12
2.7.9. Rahim Ağzı Kanseri Üzerine Etkisi	12
2.7.10. Mesane Kanseri Üzerindeki Etkisi	12
2.7.11. Akciğer Kanseri Üzerindeki Etkisi	13
2.7.12. Prostat Kanseri Üzerindeki Etkisi	13
2.7.13. Ağız Kanseri Üzerindeki Etkisi	14
2.7.14. Mide Kanseri Üzerindeki Etkisi	14
2.7.15. Kolon Kanseri Üzerindeki Etkisi	14
2.7.16. Pankreas Kanseri Üzerindeki Etkisi	15
2.7.17. Lösemi Üzerindeki Etkisi	15
2.7.18. Nefroprotektif Etkisi	15
2.7.19. Nöroprotektif Etkisi	16
2.7.20. Kardiyoprotektif Etkisi	16
2.7.21. Hipokolesterolemik ve Hipolipidemik Etkiler	17
2.7.22. Diyabet Üzerindeki Etkisi	17
2.7.23. Sepsis Üzerindeki Etkisi	18
2.7.24. Osteoporoz ve Osteoartrit Üzerindeki Etkiler	18
2.8. Kapsüller	18
2.8.1. İçeriklerine Göre Kapsül Tipleri	19
2.8.2. Kapsüllerin Avantajları	19
2.8.3. Kapsüllerin Dezavantajları	19

	Sayfa
2.8.4. Kapsüllerin Tarihi	20
2.8.5. Sert Kapsüller	20
2.8.6. Kapsül Ölçüleri	20
2.8.7. Kapsüllerin Stabilitesi	21
2.8.8. Kapsüllerin Biyoyararlılığı	22
2.8.9. Kapsüllerin Formülasyonu	22
2.8.10. Kapsüllerin Üretimi	22
2.8.10.1. Kapsül Gövdesinin Üretimi	22
2.8.11. Kapsüllere Doldurulacak Karışımın Özellikleri	23
2.8.11.1. Partikülün Şekli ve Büyüklüğü	23
2.8.11.2. Karışımın Homojenitesi	24
2.8.11.3. Akış Özelliği	25
2.8.11.4. Nem İçeriği	25
2.8.12. Yardımcı Maddelerin Kullanımı	26
2.8.13. Sert Jelatin Kapsüllerin Doldurulması	27
2.8.13.1. Uygun Kapsül Boyunun Seçilmesi	27
2.8.14. Doldurma Yöntemi	28
2.8.14.1 Doldurma Makinaları	28
2.8.14.2. Döner Levha ile Dozaj Sağlayan Dolum Makineleri	29
2.8.14.3. Helezon Dozajı	29
2.8.14.4. Tıkama Dozajı	30
2.8.14.5. Borucuk Dozajı	30
2.8.14.7. Vakum Yöntemi	30
2.8.15. Kapsüllerde Yapılan Kontroller	30
2.8.15.1. Dolu Kapsüllerde Yapılan Kontroller	31
2.8.15.1.1. Dezentegrasyon ve Disolüsyon Testleri	31
2.8.15.1.2. Toz Basılabilirliğinin Ölçülmesi	31
2.8.15.1.2.1. Yığın Dansitesi (Bulk Density)	31
2.8.15.1.2.2. Sıkıştırılmış Dansite (Tapped Density)	32
2.8.15.1.2.3. Sıkıştırılabilirlik İndeksi ve Hausner Oranı	32
2.8.15.1.3. Toz İnceliğinin Belirlenmesi	32
2.8.15.1.4. Toz Akış Özelliklerinin Belirlenmesi	33
2.8.15.1.4.1. Yığın Açısı Tayini	33
2.8.15.1.5. Dozaj Ünitelerinin Tekdüzeliliği	34
2.8.15.1.6. Ağırlık Sapması Testi	35
2.8.16. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR)	35
2.8.17. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	36
2.8.17.1. Serbest Oksijen Radikalleri	37
2.8.17.2. Antioksidanlar	37
2.8.18. Çalışmanın Amacı	38
3. MATERYAL ve YÖNTEM	39
3.1. Materyal	39
3.1.1. Materyal Eldesi	39
3.2. Kullanılan Ekipman ve Gereçler	39
3.2.1. Suni Mide Vasatının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	39
3.2.2. Suni Barsak Vasatının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.4. Kullanılan Yöntemler	40
3.4.1. Meryemana Dikeni (Silybum marianum) Ekstresi İçeren Kapsüllerden Alınan Tozun Testleri	40
3.4.1.1. Ağırlık Sapması ve İçerik Tekdüzeliliği	40
3.4.1.2. Görünür Hacim	40
3.4.1.3. Yığın Dansitesi ve Vuruş Dansitesi	40
3.4.1.3.1. Yığın Dansitesi	40

	Sayfa
3.4.1.3.2. Vuruş Dansitesi	41
3.4.1.4. Akış Özelliklerinin İncelenmesi	41
3.4.1.4.1. Hausner Oranı	41
3.4.1.4.2. Akış Hızı ve Yığın Açısı Tayini	41
3.4.1.5. Elek Analizi	41
3.4.1.6. Meryemana Dikeni Bitkisi Kapsüllerinin Dağılma Testi	42
3.4.1.6.1. Suda dağılma testi	42
3.4.1.6.2. Suni Mide Vasatında Dağılma Testi	42
3.4.1.6.2. Suni Bağırsak Vasatında Dağılma Testi	42
3.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İncelemesi	42
3.6. Fourier Dönüşümlü Infrared (FT-IR) Spektrumu	43
3.7. DPPH Antioksidan Kapasitesi Ölçümü	43
3.8. Fenolik Madde Tayini	43
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	44
4.1. Ağırlık Sapması Kontrolü	44
4.2. Görünür Hacim ve Sıkıştırılabilirlik	46
4.3. Yığın Dansitesi	46
4.4. Vuruş Dansitesi	46
4.5. Hausner Oranı	47
4.6. Akış Hızı ve Yığın Açısı Tayini	48
4.7. Elek Analizi ile Partikül Boyutunun Saptanması	49
4.8. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Partikül Boyutunun Saptanması	50
4.9. Dezentegrasyon Testleri	55
4.9.1. Saf Suda Dağılma Testi	55
4.9.2. Suni Mide Vasatında Dağılma Testi	55
4.9.3. Suni Bağırsak Vasatında Dağılma Testi	55
4.10. DPPH Antioksidan Kapasitesi Ölçümü	56
4.11. Fenolik Madde Tayini	60
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	80

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Kapsül Ölçüsü Hacim Tablosu	21
Tablo 2.2. Terimlerin Tanımlanması	24
Tablo 2.3. Sıkıştırılabilirlik İndeksi, Akış Özelliği ve Hausner Oranı İlişkisi	25
Tablo 2.4. Toz Akış Özellikleri ile Yığın Açısı İlişkisi	34
Tablo 2.5. Doz ve Etkin Maddenin Oranı	35
Tablo 4.1. A Numunesi için Standart Sapma Tablosu	44
Tablo 4.2. B Numunesi için Standart Sapma Tablosu	44
Tablo 4.3. C Numunesi için Standart Sapma Tablosu	45
Tablo 4.4. D Numunesi için Standart Sapma Tablosu	45
Tablo 4.5. Ortalama Standart Sapma Karşılaştırması	45
Tablo 4.6. Numune Tozların Görünür Hacmi ve Vuruştan Sonraki Hacimleri	46
Tablo 4.7. Numunelerin Yığın Dansitelerinin Karşılaştırması	46
Tablo 4.8. Numunelerin Vuruş Dansitelerinin Karşılaştırması	47
Tablo 4.9. Numunelerin Hausner Oranı Karşılaştırması	47
Tablo 4.10. Numunelerin Akış Özellikleri Karşılaştırması	47
Tablo 4.11. Numunelerin Akış Süresi Karşılaştırması	48
Tablo 4.12. Numunelerin Yığın Açısı Karşılaştırması	48
Tablo 4.13. Yığın Açısına Göre Toz Akış Özellikleri Tablosu	48
Tablo 4.14. Elek Analizine Göre Numunelerin Partikül Büyüklüğü Dağılımı	49
Tablo 4.15. A Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı	49
Tablo 4.16. B Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı	49
Tablo 4.17. C Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı	50
Tablo 4.18. D Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı	50
Tablo 4.19. Saf Suda Kapsüllerin Dağılma Hızı	55
Tablo 4.20. Suni Mide Vasatında Kapsüllerin Dağılma Hızı	55
Tablo 4.21. Suni Bağırsak Vasatında Kapsüllerin Dağılma Hızı	56
Tablo 4.22. Meryemana Dikeni Ekstrelerinin % DPPH Giderme Aktivitesi	60
Tablo 4.23. Meryemana Dikeni Ekstrelerinin Fenolik Madde Miktarları	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Meryemana Dikenli Bitkisi Görünümü	3
Şekil 2.2. Meryemana Dikenli Meyvesi	4
Şekil 2.3. Elektron mikroskopunda Meryemana Dikenli Meyvesi Enine Kesitinin Fotomikrografisi: a) exocarp; b) mesocarp; c) endocarp; d) testaepidermisi; e) subepidermal tabaka; f) endosperm; g) embriyo	5
Şekil 2.4. Silymarinin Molekül Formülü	6
Şekil 2.5. Silymarinin Aktif Bileşenleri	6
Şekil 2.6. Kapsül Boyu – Yığın Ağırlığı Grafiği	27
Şekil 2.7. Elle Kapsül Doldurma Makinesi	28
Şekil 2.8. Tam Otomatik Kapsül Doldurma Makinesi	29
Şekil 4.1. A Numunesinin SEM Görüntüleri	51
Şekil 4.2. B Numunesinin SEM Görüntüleri	52
Şekil 4.3. C Numunesinin SEM Görüntüleri	53
Şekil 4.4. D Numunesinin SEM Görüntüleri	54
Şekil 4.5. FTIR-Saf Silymarin	56
Şekil 4.6. A Numunesinin FT-IR Spektrumu	57
Şekil 4.7. B Numunesinin FT-IR Spektrumu	57
Şekil 4.8. C Numunesinin FT-IR Spektrumu	58
Şekil 4.9. D Numunesinin FT-IR Spektrumu	58
Şekil 4.10. BHT-DPPH için Kalibrasyon Eğrisi	59
Şekil 4.11. Gallik Asit-Total Fenol için Kalibrasyon Eğrisi	60

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simgesi	Tanım
GSH	Glutatyon
AD	Alzheimer Hastalığı
METH	Metamfetamin
MAO	Monoaminooksidaz
SOD	Süper Oksit Dismutaz
COX	Siklooksijenaz
EGFR	Düşük RegüleEpidermal Büyüme Faktörü
İNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentezi
VEGF	Hipoksiye Bağlı VaskülerEndotelial Büyüme Faktörünün Azalması
NAC	N-Asetilsistein
FT-IR	Fourier Dönüşümlü İnfrared
FCR	Folin-Ciocalteu Reaktifi
SEM	Taramalı Elektron mikroskobu
M	Molar
Mg	Miligram
mL	Mililitre
MDA	Malondialdehit
CCL ₄	Karbon TetraKlorür

1.GİRİŞ

Günümüzde hayvan ve insan sağlığının korunması amacıyla kullanılan ilaçların ve kimyasal maddelerin risk oluşturmaları nedeniyle beşerî ve veteriner hekimlik ile gıda ve çevre alanlarında yapılan araştırmaların pek çoğu hem hastalıkların tedavisinde hem de koruyucu hekimlikte bitkisel ürünlerin kullanımını teşvik etmektedir [1]. Alternatif tedavi olarak bilinen besinsel ürünlerin (nutrasötikler) kullanımı günümüzde tıbbın her sahasında giderek artmaktadır. Nutrasötikler temel beslenmenin yanında sağlığa faydalı gıda veya gıda bileşikleridir. Bu ürünler alışılagelmiş olarak tablet ve kapsül gibi formlarda bulunurlar. Nutrasötikler hastalıkların tedavisinde veya önlenmesinde faydaları bilimsel olarak ispatlanmış, toksik olmayan, gıda destekleridir. Geniş bir ürün yelpazesi ile bugün dünyada 40-50 milyar dolarlık bir pazar oluşmuştur. Özellikle ABD’de en hızlı gelişen sektör olma niteliğindedir [2].

Meryemana dikenli bitkisi (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), Compositae/Asteracea familyasına ait tek yıllık otsu bir bitkidir. Bitkinin kökeni; Afrika’nınstepleri, GüneyAvrupaveÖnAsya olup; Avrupa’da, Afrika’nınkuzeyindeveAsya’nınbatısında doğal olarak yayılışgöstermektedir. Ülkemizdeözellikle Akdeniz, Karadeniz ve Ege bölgelerinde daha çok yol kenarlarında olmak üzere doğal yayılış gösteren bir bitkidir [3]. Meryem ana dikenli bitkisinin içeriğinde; silimarin, taksifolin, kuersetin, albumin gibi flavonolignan maddeler bulunur.

Nutrasötikler, çoğunluğunu bitkisel kökenli farmasötik preparatların oluşturduğu diyet destek ürünleridir. Bu ürünler, çoğunlukla, Tarım Bakanlığı izniyle piyasaya sürülmektedir. Sağlık Bakanlığı’ndan ruhsat alan beşerî ilaçlar gibi *in vitro* ve *in vivo* etkinlik, güvenlik ve kalite kontrol testlerinden geçmeleri gerekmemektedir. Bu da pek çok sorunu beraberinde getirmektedir. Küresel anlamda bu konuda sorunlar mevcuttur. Bitkisel ürünlerin toplanma zamanı, toplanma, depolanma, kurutulma zamanları ve işlemleri, etken madde izolasyonu ve standardizasyonu, stabilite ve diğer kalite kontrol çalışmalarının, *in vivo* verilerin eksikliği bu ürünlerin alternatif tedavide ya da konvansiyonel tedaviye destek olarak kullanılmasında önemli faydalar sağlanmasına rağmen kullanımlarını kısıtlayan sorunlardır. Bu sorunların çözümlenmesi için piyasada bulunan preparatların etkinlik, güvenlik ve farmasötik açıdan değerlendirilmesi gerekir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Meryemana Dikeni (*Silybum marianum*) Hakkında Genel Bilgiler

Meryemana dikeni bitkisi (*Silybum marianum*), kapalı tohumlu bitkilerin (Magnoliophyta ya da Angiospermae) çift çenekliler (*Magnoliopsida*) sınıfına ait papatyagiller (*Asteraceae*) familyasından 30-100 cm yükseklikte gövdesi köşeli, seyrek tüylü. 1-2 yıllık otsu bir bitkidir. Yapraklar soluk yeşil renkli, beyaz damarlı, kenarları derin dişli ve dikenlidir. Çiçekler baş şeklinde birarada, mor (nadiren beyaz) renklidir (Şekil 2.1). Meyve 7 mm kadar uzunlukta ve esmer renkli olup uç kısmında 15 mm kadar uzunlukta beyaz renkli bir tüy demeti bulunur [4-5]. Bitkinin kökeni; Afrika'nın stepleri, Güney Avrupa ve Ön Asya olup; Avrupa'da, Afrika'nın kuzeyinde ve Asya'nın batısında doğal olarak yayılış göstermektedir. Ülkemizde özellikle Akdeniz, Karadeniz ve Ege bölgelerinde doğal yayılış gösteren bir bitkidir. Günümüzde drog olarak kullanılan kısmı siyah renkli aken şeklindeki meyveleridir (tohumları) [6]. Meryemana dikeni bitkisinin içeriğinde; silimarin, taksifolin, kuersetin, albumin gibi flavonolignan maddeler bulunur. İçeriğinde %70-80 gibi ciddi bir oranda bulunduğu bilinen silimarin isimli madde nedeniyle etkili bir antioksidandır. Karaciğeri zararlı serbest radikallerden korur. %25-30 oranında sabit yağ, tanen, nişasta ve silimarin türevleri içermektedir. Silimarin; bir flavonol ve bir aromatik alkolün birleşmesi ile meydana gelen bir maddedir. İçerisinde bulunan önemli bileşikler: silybin, silydianin ve silychristindir [6-7].



Şekil 2.1. Meryemana Dikeni Bitkisi Görünümü.

Familya: Asteraceae (Compositae)

Latince Adı: *Silybum marianum* (L.) Gaertner (Sinonim: *Carduus marianus* L.)

Türkçe Adı: Devedikeni, Meryemana dikeni, Gengel

İngilizce Adı: MilkThistle

Kullanılan kısımları: Meyveleri

Kayıtlı olduğu Farmakope ve Monograflar:

Alman Farmakopesi,

Avrupa Farmakopesi,

İngiliz Bitki Farmakopesi,

Martindale,

Komisyon E Monografları,

WHO Monogramları.



Şekil 2.2. Meryemana Dikeni Meyvesi [9].

2.1.1. Türkiye’de Halk Arasında Kullanılışı

Bal ile karıştırılan tozu veya meyvelerden hazırlanan %5’lik dekoksyonu karaciğer hastalıklarına karşı ve safra arttırıcı olarak kullanılmaktadır [8].

2.1.2. Meryemana Dikeninin Türkiye’deki Preparatları

Maxinfor kombine kapsül, Heparmed tablet, CardoMariano kapsül, Silymarin kapsül, Artichokeplus kombine kapsül, MDA kapsül, Hangover kapsül, Hepaminol kapsül, Silimar tablet, MilkThistle-Solgar kapsül, MilkThistle-Arkopharma kapsül, MilkThistle-Balen kapsül, MilkThistle-NaturesBounty kapsül, Hepa -4 kombine tablet [8].

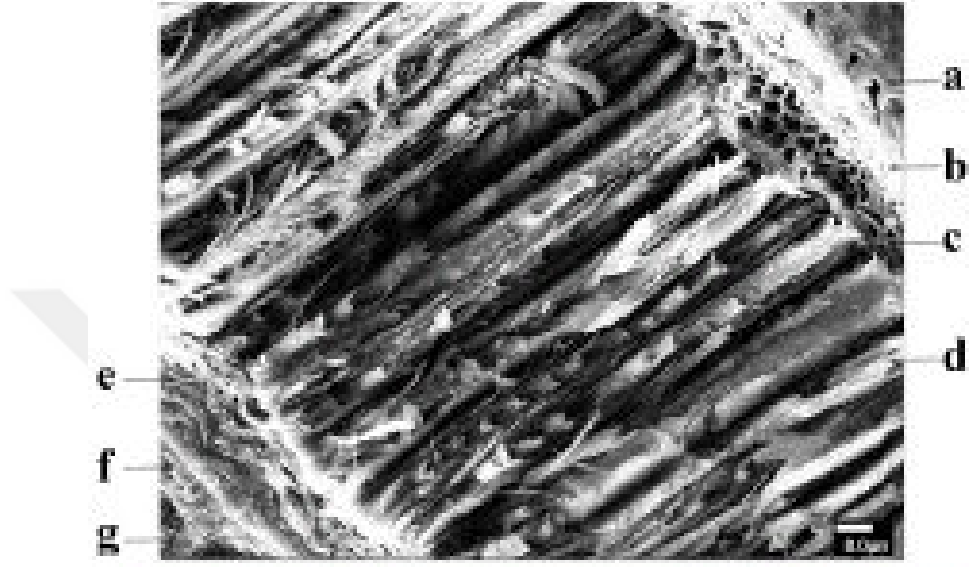
2.1.3. Meryemana Dikeninin Dünyadaki Preparatları

Cardomarin, Ciscolex, Cordomarin, Cronol, Dorogan, Durasliymarin, Emil, Enterohepat, Epacardo, Eparfit, Eparsil, Escarmine, Halodren, Hepadestal, Hepagerina, HepalarHepallolina, Hepato-Framan, Laragon, Lecemin, Legalon, Pluropon, Sematron, Silarin [8].

2.1.4. Bitkinin Mikroskopik Görünüşü

Texas Southern Üniversitesi Kimya bölümünde, *Silybummarianum L.* ile yapılan elektron mikroskobu taramasında Meryemana diken meyvesi incelenmiştir. Meyvenin bölümleri perikarp, testaepidermis, endosperm, embriyo, ekzokarp, mezokarp ve endokarp’tan oluşur.

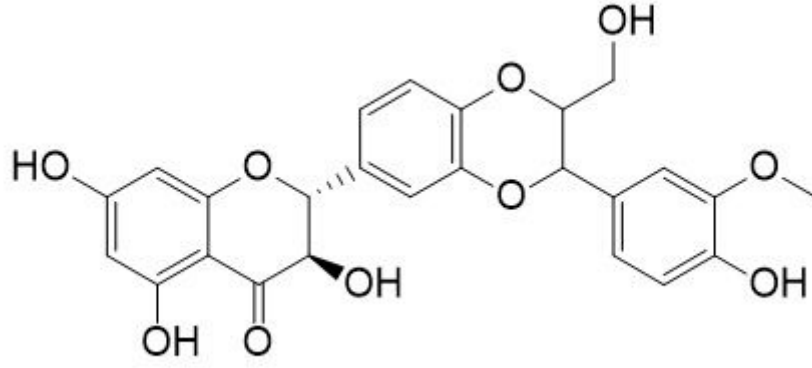
Ekzokarp en dıştaki katmandır. Orta katman mezokarptaperikarpparankimi ve meyvelerin lekeli görünümünden sorumlu koyu tanenler bulunur. Endokarp bölümü büyük kalsiyum oksalat prizmatik kristallerini içerir. Testaepidermis katmanı uzun makroskopik katlardan oluşmuştur. Endospermi tek bir hücre tabakasından oluşmuş embiryonun iki kotiledonunu çevreleyen birçok hücre ile yağ damlacıklarından oluşmuştur [9].



Şekil 2.3.Elektron mikroskobunda Meryemana Dikeni Meyvesi Enine Kesitinin Fotomikrografisi: a) exocarp; b) mesocarp; c) endokarp; d) testaepidermisi; e) subepidermal tabaka; f) endosperm; g) embriyo [9].

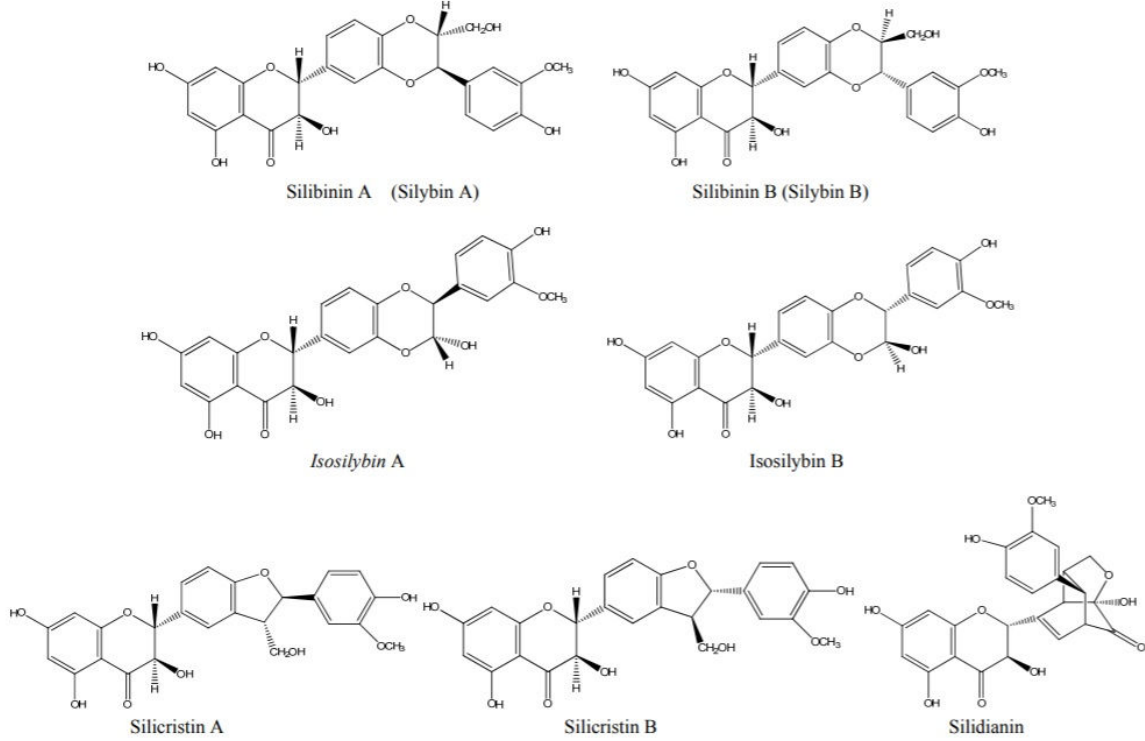
2.2. Meryemana Dikeni Bitkisinin Kimyasal Bileşenleri

Silymarin'in molekül formülü $C_{25}H_{22}O_{10}$ dur. Molekül ağırlığı 482,4 g/mol olup IUPAC adı(2S,3R)-3,5,7-trihydroxy-2-[(2S,3S)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl]-2,3-dihydrochromen-4-one'dır.



Şekil 2.4. Silymarinin Molekül Formülü

Silymarin standardize edilmiş kuru öz, en az yedi flavonolignandan oluşan bir biyoflavonoid kompleksidir (Şekil 2.4). Silibinin, bu kompleks ekstraktın ana bileşenidir (yaklaşık %60-70) ve biyolojik olarak silimarinin en aktif bileşenidir, bunu silicristin (%20), sililiin (%10) ve izosilbin (%5) izlemektedir (Şekil 2.5). Silibinin, 1:1[2] oranında silibinin A ve silibinin B'nin iki stereoizomerinin bir karışımıdır.



Şekil 2.5. Silymarinin Aktif Bileşenleri

2.3. Silymarin'in Etki Mekanizması

Silymarinin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte literatürde 4 farklı şekilde açıklanmıştır:

1. Glutasyon (GSH)'un intrasellüler içeriğini düzenleyerek serbest radikal temizleyicilerle birlikte lipid peroksidasyonuna karşı etki gösterir.
2. Hepatotoksik ajanların hepatositlere girmesini önleyen hücre membranı stabilizatörü ve permeablite düzenleyicisi olarak davranır.
3. Karaciğer rejenerasyonunu artırıp RNA polimerazın aktivitesini uyarıcı etki yapar.
4. Karaciğer stellat hücrelerinin miyofibroblastlara transformasyonun inhibe ederek siroza neden olan kollajenfibrillerin artışına engel olur.
5. Glukuronidasyonu artırır ve glutasyonun tükenmesinin önler,
6. Toksik etki ile bozulmuş immün sistemi düzenler [6-7].

2.4. Silymarin'in Farmakokinetiği

Silymarin/silibinin hızlı, ancak yüksek liposolibilitesi ve zayıf suda çözünürlüğü nedeniyle zayıf bir şekilde emilir. Oral bir silimarin uygulamasından sonra (eşdeğer 120 mg silibinin), pik plazma konsantrasyonuna 1-2 saat içinde ulaşır [10]. Plazmadaki Silibinin, karaciğer, akciğerler, cilt, prostat ve pankreasta hızla dağılır ve ağızdan verildikten sadece bir saat sonra maksimum seviyeye ulaşılır. Silibinin'in yaklaşık %70'i plazma proteinlerine bağlanır ve safradaki konsantrasyon plazmadakilere göre 100 kat daha yüksektir. İnsanlarda, daha yüksek dozlarda silibinin, I ve II metabolizma fazlarına tabi tutulur; böylece karaciğer mikrozomları, birinci fazda bir tane baskın metilenmiş metabolit üretirken, üç mono-hidroksil metaboliti ve bir dihidroksilmetaboliti küçük miktarlarda üretilir. İkinci fazda Silibininmonoglukuronid, silibinindiglukuronid, silibininmonosülfat ve silibininglukuronid sülfat, daha sonra O-demetilsilibininglukuronid ve silibinintriglucuronid üretilir. Silimarin'in (%25'e eşdeğer silibinin) yarısı ortadan kaldırılması 6.32 saattir ve esas olarak safra yoluyla atılır. Silimarin'in sadece %1-7'si idrarla atılır [11-12]. Bununla birlikte, tespit edilen 31 metabolitin idrar boşaltımı 24 saat boyunca temizleme ile izlenirken, önemli miktarlarda glukuronitler, sülfoglukuronitler ve diglukuronitler 48 saat içinde atılır [13].

2.5. Silymarin'in Yan Etkileri

Alman Farmakopesi, çeşitli karaciğer durumları için silymarin kullanımını onaylamıştır ve önerilen dozlarda yan etkisi olmadığını kabul etmişlerdir. Meryemana Dikeni Ekstraktı,

Gebelikte (560 mg/gün), çocuklarda (20-50 mg intravenöz) ve 75 yaş üstü yaşlılarda (420 mg/gün) kullanımı güvenlidir. Meryemana Dikeni ekstraktlarının toksik etkileri 1200 mg/gün dozunda kaydedilmemiş, ancak klinik çalışmaların çoğunda üç eşit doza bölünmüş 160-600mg/gün dozlarında denemeleri yapılmıştır. Bununla birlikte, günde 1500 mg'dan daha büyük dozlarda hafif alerjiler kaydedilmiştir. Birkaç hastada, mide ekşimesi, diyare, şişkinlik ve dispepsi bildirmiştir. Silimarin'in 41 aya kadar kullanım için iyi tolere edildiği ve güvenli olduğu kanıtlanmıştır [14].

2.6. Silimarin'in İlaçlarla Etkileşimi

Silimarin'in doza bağlı bir şekilde, karaciğerden ksénobiyotiklerin hepatobiliyer kanala atılmasından sorumlu olan P-glikoproteinini inhibe ettiği ve bu yollarla atılan ilaç birikimine neden olabileceği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, sadece silimarin ile metronidazol arasındaki etkileşimler (metronidazolün klaransını yaklaşık %30 artırır), pirazinamid (atılmasını önler) [11] ve warfarin (kanama riskini artırır) şimdiye kadar tespit edilmiştir [15].

2.7. Milk Thistle (*Silybum marianum*) Biyolojik Etkileri

2.7.1. Karaciğer Üzerine Hepatoprotektif Etkisi

Modern Batı tıbbı, silimarinin hepatoprotektif özelliklerini hayvan çalışmaları ve klinik denemeler yaparak doğrulamıştır [16]. Silimarin, antioksidan, anti-inflamatuar, antifibrotik, detoksifiye edici ve yenileyici özelliklere sahiptir. Protein sentezini ve karaciğer rejenerasyonunu uyarır. Silimarin çok sayıda hepatoprotektif etkiye sahiptir: serbest radikalleri temizleyerek lipid peroksidasyonunu önler ve düşük glutatyon (GSH) seviyelerini artırır. Ksenobiyotiklerin neden olduğu hasarda membran geçirgenliğini ve membran stabilitesini düzenler, nükleer ekspresyonu düzenler ve miyofibroblastlarda (sirozlu) hepatositlerin transformasyonunu inhibe eder [17-18]. Yeni *in vivo* çalışmalar, silimarinin, karbon tetraklorürün (CCl₄) indüklediği hepatik fibroziste güçlü bir hepatoprotektif ajan olduğunu kanıtlamıştır. Sililin uygulamasını takiben, daha önce CCl₄ ile tedavi edilen sıçanlara tatbik edildikten sonra, glutamik oksaloasetik transaminaz ve glutamik piruvik transaminaz seviyelerinin normale döndüğü ve silimarinin karaciğerdeki tahribatlı değişiklikleri düzelttiğine işaret eden bağıl büyüme faktörünün salgılanmasının azaldığı gösterilmiştir [19]. Son zamanlarda, çeşitli hepatotoksik maddelere karşı bir antioksidan olarak silimarin savunma kapasitesinin olası mekanizmasına dair bir çalışma yayımlanmıştır. Deney farelerine oral yoldan verilen silimarin, transsülfürasyon yolunda (sistatinyonin, sistein ve glutatyon)

homosisteinden üretilen metabolitlerin miktarını arttırmış, sistatyonin β -sentazın aktivitesini yükseltmiştir. Bu durum, karaciğer sitozolünün arttırılmış oksijen radikal temizleme kapasitesi ve azalmış lipidperoksidasyonuyla sonuçlanmıştır. İlk kez silimarinin antioksidan kapasitesinin, sistein sentezi artışı ile karaciğerdeki hepatik glutatyon üretimine bağlı olduğu ve taurinin bozulmasını önlediği gösterilmiştir [20]. Silimarin, α -faloidin ve α -amanitin toksinlerinin (mantar *Amanitaphalloides*'ten) emilimini inhibe eder, çünkü bunların hücre yüzeyine bağlanmasını önler ve hücre membranları üzerindeki taşıma sistemlerini sınırlar. Silimarin/silibinin, hepatositlerin nükleer A polimeraz aktivasyonu ile rejenerasyonunu uyarır, protein sentezini artırır ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu inhibe eder [21]. Silimarin'in hepatoprotektif olduğu gösterilmiştir [22]. Alkolsüz yağlı karaciğer [18], alkolik karaciğer sirozu [23] ve akut ve kronik hepatitin tedavisinde kullanılabilir [24].

2.7.2. Alzheimer Hastalığı ve Demans Üzerindeki Etkisi

Alzheimer hastalığı (AD), ilerleyici bilişsel bozukluk ve protein plak birikimi ile karakterizedir. AD'li hastaların beyin hücrelerinde bulunan bir protein plak bileşeni olan amiloid β 'nin ($A\beta$ -peptid) hücre dışı toplanması, bu hastalıkta ana histopatolojik değişikliği sunar. Apeptitin, oksidatif bir strese neden olan yüksek oranda reaktif bir hidroksil radikale dönüştürülen H_2O_2 oluşturduğu varsayılmaktadır. İnsan nöroblastomu SH-SZ5Y hücre hattı üzerine yapılan *in vitro* çalışmada silibininin, bağımlı bir şekilde, Apeptitin agregasyonunu inhibe ettiği, Apeptit sitotoksitesini azalttığı, hidrojen peroksit üretimini ve hücre hasarını azalttığı kanıtlanmıştır. Silibinin, GSH ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyelerini artıran ve lipidperoksidasyonunu inhibe eden güçlü bir antioksidan ajandır. Çalışma, silibininin antioksidan etkilerini doğrulamıştır ve $A\beta$ agregasyonu ile indüklenen H_2O_2 üretiminin azalmasının nöroprotektif aktivitesi için ana yol olduğunu kabul etmiştir [25].

Silibinin'in bilişsel işlev üzerindeki olumlu etkileri, hafıza kaybına neden olan ve yeni bir nesneyi tanıma kabiliyetini azaltan metamfetamin (METH) nedeniyle farelerde yapılan *in vivo* çalışmalar ile doğrulanmıştır. METH, insanlarda halüsinasyonlar ve yanılsamalara neden olur ve METH kronik kullanımı yoksunluktan sonra bilişsel eksikliklere neden olur. Silibinin, METH'nin etkilerini etkisiz hale getirmiş ve yeni maddeleri tanımak için gereken zamanı kısaltmıştır (yeni nesne tanıma testindeki bozulma). Sağlıklı farelere uygulanan Silibinin, serotonin ve dopamin seviyelerinde herhangi bir değişikliğe neden olmamış, ancak ön muamele olarak verildiğinde, METH'nin bu sistemler üzerindeki etkilerini yok etmiştir. Silibinin'in monoamin oksijenazı (MAO) inhibe ettiği ve dopamin ve serotonin metabolizmasını azalttığı düşünülmektedir. Silibinin antioksidan etkisi, dopamin ve serotonin konsantrasyonlarının beyinde kalmasına neden olan peroksinitril konsantrasyonunu azaltmaktır. Silibinin anti-enflamatuar etkileri, orta

beyin, striatum, talamus, orbitofrontal ve METH tarafından provoke edilen insular kortekslerde mikrogial aktivasyonu sağlamıştır. Ayrıca, bir pro-enflamatuarkaskadı başlatan ve sitokinleri serbest bırakan lipopolisakaritlerin neden olduğu nörotoksisiteden koruma sağlamakta, bu nedenle silibinin, uyuşturucu bağımlılarının tedavisinde potansiyel olarak önemli bir role sahip olabileceği ileri sürülmektedir [26].

2.7.3. Parkinson Hastalığı Üzerindeki Etkisi

Parkinson hastalığında dopaminerjik nöronların dejenerasyonunun olası nedenleri şunlardır: GSH seviyelerinin azaltılması, DNA hasarı, demir birikimi ve öncelikle, dopaminerjik maddelere yol açan oksidatif fosforilasyon ve enerji metabolizmasına zarar veren oksidatif stres nöron ölümü. Silymarin, birçok nörodejeneratif hastalıklarda glial hücrelerde MAO'yu inhibe ederek, peroksidasyon ürün salgılanmasını uyararak ve ribozomal RNA sentezini sentezini azaltarak süper oksidizmutaz (SOD) seviyelerini korur [27].

2.7.4. Antikarsinojenik Etkileri

Silimarin, çeşitli kanser durumlarının tedavisinde etkili kemoprotektif ve kemopreventif ajanlar grubunda sınıflandırılır. 1999 yılında silibininin, prostat karsinomu LNCaP ve DU145 hücre hatlarında, meme kanseri MCF-7 hücrelerinde ve servikal karsinom A431 hücrelerinde DNA sentezini inhibe ettiği bildirilmiştir [28].

2.7.5. Cilt Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silymarin, kimyasal olarak indüklenmiş cilt kanseri olan farelerde TNF- α endojen promotörünün ekspresyonunu azaltma kapasitesini göstermiştir. Ağız yoluyla verilen silimarin sadece tümör büyümesini engellemekle kalmamış, aynı zamanda mevcut tümörlerin hacmini (%80-97) hayvanlarda toksisite belirtileri göstermeden azaltmıştır. Silimarin, mitojenle aktiveleştirilen protein kinaz familyasının tüm proteinlerini inhibe etmiştir. Silimarinin, SKB-1 farelerinde UVB radyasyonuna bağlı deri tümörü başlangıcı, tümör büyümesi ve tam karsinojenezi olan koruyucu bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Silimarin, UVB kaynaklı güneş yanıklarının inhibisyonunu ve apoptotik hücrelerin oluşumunu, cilt ödemi, katalaz aktivitesini azaltmış, ekspresyon indüksiyonunu ve siklooksijenazın (COX) aktivitesini indüklemiş, ornitindekarboksilaz aktivitesini, topikal veya oral olarak uygulandıktan sonra veya sonrasında önemli ölçüde etkilemiştir. DNA'yı hasardan koruyan p53-p21 kaskadını düzenleyen silymarin, bir dizi timidindimer-pozitif hücreyi azaltmış ve UV'ye maruz kaldıktan sonra

uyararak DNA hasarının kinetiğini yavaşlatır. Silymarin, UVB ışınları ile akut radyasyon sırasında farelerin epidermisinde Cip1/p21 protein seviyesini indüklemiş, böylece hücre çoğalmasını ve hücre büyümesinden sorumlu genlerin kaskad bir şekilde ekspresyonunu inhibe etmiştir [29-30]. Ek olarak, yeni çalışmalarda silimarinin ana bileşeninin, IGF-1R aktivasyonunun inhibisyonu, ardından ERK1/2 ve JNK fosforilasyonunun [31] baskılanması ve insanın indüklenmiş otofaji koruması yoluyla hücreleri apoptozdan çıkardığı tespit edilmiştir. Silibinin toksik olmayan foto-koruyucu etkileri, cilt kanserinin tedavisi için potansiyel olarak yararlı bir kemo-önleyici madde olmasını sağlamıştır [32].

2.7.6. Hepatosellüler Karsinoma Üzerindeki Etkisi

Hepatosellüler karsinoma tedavisinde silimarinin olumlu etkileri birkaç *in vivo* ve *invitro* çalışmada rapor edilmiştir. İndüklenmiş hepatosellüler karsinoma olan Wistar sıçanları üzerinde yapılan çalışmada silibinin ile tedavi, artan aminotransferaz (AST ve ALT), fosfataz (ACP ve ALP), laktat seviyelerini düzenlemiştir. Silimarin alan tümörleri olan hayvanlarda kontrol grubuna kıyasla dehidrojenaz, gama-glutamilttransferaz ve 5'nükleotidaz, tümör marker alfa-fetoprotein ve karsinoembriyonik antijen MDA-DNA oluşumundaki azalma gözlenmiştir [33]. Tümörün yüksek bir etanol konsantrasyonu ile indüklendiği H4IIE hepatositleri üzerine yapılan araştırmalar, Silibinin'in hepatoprotektif etkilerini doğrulamış, CYP2E1'i inhibe etmiş (ancak alkol dehidrojenazı değil) ve etanol metabolizmasını, reaktif oksijen türleri (ROS) seviyesini azaltmış, aynı zamanda proliferasyonu ve erozyonu da düşürmüştür. Ayrıca, son çalışmalar, silimarin ile yapılan ön tedavinin, amfoterisin B'nin neden olduğu oksidatif strese duyarlı insan hepatosellüler karsinoma hücre hatlarındaki sitokin-gen ekspresyonunu azalttığını doğrulamıştır [34].

2.7.7. Meme Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silymarin, insan meme karsinomasının tedavisinde doza ve zamana bağlı şekilde hem ankraj bağımlı hem de ankraj bağımsız hücre büyümesini durdurmuştur. Hücre büyümesi ve proliferasyonu üzerindeki etkileri muhtemelen sikline bağlı kinaz (CDK) inhibitörü Cip1/p21G1'in protein ekspresyonunda 19 katına kadar indüksiyonla bağlantılı olduğu için hücre döngüsü ilerlemesinde durmaya neden olmuştur [35]. Ek olarak, silibinin insan meme kanseri hücrelerinde doksorubisin, sisplatin ve karboplatin gibi antikanser kemoterapötiklerle sinerjistik bir etkiye sahiptir. MMP-9'un bağlanma bölgesinde AP-1 DNA'sı, insan meme kanseri hücrelerinin *in vitro* kültürlerinde MMP-9 ekspresyonunu önlemiştir [36-37]. Sonuçlar, D- α -tokoferil-polietilenglikol 1000 süksinat içeren silibinin yüklü lipid nanoparçacıklarının

kullanımı ile daha da güçlenmiştir [38]. Kısa süre önce silibininin, transkripsiyon seviyesinde Wnt yardımcı reseptörü LRP6 ekspresyonunu baskılayarak bir Wnt/p-katenin sinyal inhibitörü olduğu ve silibininin anti-kanser aktivitesinin Wnt/LRP6 sinyalleşmesi üzerindeki inhibitör etkisiyle ilişkili olduğu bulunmuştur [39].

2.7.8. Yumurtalık Kanseri Üzerindeki Etkisi

İnsan yumurtalık kanseri hücrelerinin ksenograftına gömülmüş tüysüz farelere ağızdan tatbik edilen Silipid (IDB 1016-fosfatidilkolin ile silibinin kompleksi), tümör kütlelerinde %78 oranında önemli bir azalma sağlamıştır [40]. Silibininin paklitakselin direncini aşmasını sağladığı tespit edilmiştir. Paklitaksel duyarlı ve paklitaksel dirençli hücreler üzerinde yapılan *in vitro* çalışmada paklitaksel dirençli tümör hücrelerinin invazivliğini azalttığı saptanmıştır [41]. Bu etkiler *in vivo* koşullarda kanıtlanırsa, paklitaksel ile kombinasyon halinde silibinin, paklitaksele dirençli hastalarda tümörlerin tedavisinde stratejinin bir parçası olabilir.

2.7.9. Rahim Ağzı Kanseri Üzerine Etkisi

Silimarinin, rahim ağzı karsinomu tedavisinde kullanılabileceğine ilişkin çalışmalar mevcuttur. Silymarin, düşük dozlarda (80 µmol/L) insan servikal kanseri HeLa hücrelerinin apoptozuna ve yüksek dozlarda ise (160 µmol/L) hücre nekrozuna neden olmuştur. MAPK aktivasyonu ile silimarinin neden olduğu apoptoz, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik hücrelerin nükleer parçalanması nedeniyle olabileceği bildirilmiştir [42]. Silibininin, insan servikal (HeLa) ve hepatoma (Hep3B) hücrelerinde hipoksi ile indüklenmiş HIF-1a birikimini ve HIF-1 transkripsiyonel aktivitesini inhibe ettiği, Akt'yi aktive ettiği ve HeLa ve Hep3B tarafından salgılanan hipoksi ile indüklenen vasküler endotel büyüme faktörünü azalttığı bulunmuştur. Bunun yanı sıra hücre proliferasyonunu inhibe etmiştir [43].

2.7.10. Mesane Kanseri Üzerindeki Etkisi

İndüklenmiş mesane kanseri olan ICR fareleri üzerinde yapılan bir çalışmada, oral yolla uygulanan silimarinin, kanserin başlangıcında 8 hafta boyunca 1000 ppm'lik bir dozda veya başlamadan 24 hafta sonra, neoplastik lezyonların sayısında ve hastalık ilerlemesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur [43]. Ayrıca, silibinin, *in vivo* çalışmalarda tümörlerin tümör hacmini ve ağırlığını azaltmış, hücre çoğalmasını ve tümörlerin apoptozisini arttırmış ve tümör RT4 ksenograft büyümesini inhibe etmiştir. Etki mekanizması, protein ekspresyonunun ve nükleer lokalizasyonunun azalmasıdır [44].

2.7.11. Akciğer Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silibinin, A549 insan akciğer kanseri hücrelerinin büyümesini yavaşlatmış ve NF- κ B yolundaki doksorubisin modülasyonunun etkisini arttırmıştır [45]. Ek olarak, silibinin, insan küçük hücreli akciğer karsinomunda etoposid ve doksorubisine karşı direnci tersine çevirmiş ve kemoterapötiklerlesinerjik olarak etki etmiştir [46]. Silibinin ile oral ön tedavi, akciğer kanserinin üreteran tarafından tetiklendiği fareler üzerinde yapılan çalışmada kontrol grubuna göre tümörlerin ve büyük tümörlerin (> 1.5 mm) istatistiki olarak azaltılması sağlanmıştır. Bu çalışma, silibininin yüksek derecede vaskülarize tümör sayısını azalttığı ve vaskülarize tümörlerde kan damarlarının yoğunluğunu azalttığını göstermiştir. Son olarak silibinin, ekspresyonu tümör gelişiminden sorumlu anjiyogenez sürecinde artmış olan iNOS ve COX-2 enzimlerinin seviyelerini düşürmüştür [47]. Silibinin ile ön muamele, A549 insan akciğer kanseri hücrelerinin *invitro* koşullar altında çoğalmasından sorumlu sitokinlerin neden olduğu STAT1 ve STAT3'ün fosforilasyonunu azaltmıştır. Silibinin, DNA'nın AP-1 transkripsiyon faktörünü inhibe etmiş, MAPK kaskadını bloke etmiş ve akciğer kanseri tedavisi için potansiyel bir koruyucu ajan olabileceği gösterilmiştir [48]. Suda çözünen bir form olan Silibinin-meglumin, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu fare ksenograftlarının "altın standart" gefitinib kadar etkili bir şekilde inhibe etmiş ve gefitinib-yanıt vermeyen tümörlerin direncini tersine çevirmiştir [49].

2.7.12. Prostat Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silibininin, hem hormona bağımlı hem de hormondan bağımsız prostat kanseri ile anti-kanserojen aktiviteye sahip olduğu ve komponentizosilbin B, topoIIa gen promotör aktivitesinin en etkili baskılayıcısı olarak gösterilmiştir [50]. Silibinin sitokeratinlerin ve kromogranin A'nın ekspresyonunun artmasına neden olmuş ve insan prostat karsinomu LNCaP hücrelerinde retinoblastoma (Rb) ve Rb ile ilişkili proteinlerin fosforilasyon durumunu modüle etmiştir. Ayrıca, LNCaP hücrelerinde prostat spesifik antijeninde hücre azalması için önemli olan bir azalmaya neden olmuştur. Silibinin/silimarin, tümör büyüme faktörü (TGF- α) mRNA ekspresyonunu durdurmuş ve hem LNCaP hem de DU145 hücrelerinde salgılanan ve hücrelerel TGF- α seviyelerini azaltmıştır. DU145 prostat kanseri hücrelerinde sadece NF- κ B sinyal aktivitesini düşürmemiş, aynı zamanda hücrelerin yaygın olarak inhibe edilen TNF α kaynaklı apoptoza duyarlılığını arttırmıştır [51]. Ek olarak, prostat kanserinde silipid/silibinin etkisi, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) seviyesinin düşürülmesi ve/veya içindeki insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) seviyesinin yükseltilmesi ile gerçekleştirilmiştir [52]. Silibinin ile siklin B1, siklin E ve siklin A protein seviyelerinde doza

bağımlı bir azalma da gözlenmiş; bu durumun, oral silibinin, tümör IGF-IGFBP-3 ekseninin modülasyonu ve hücre döngüsü düzenlemesi yoluyla PCA büyümesini ve ilerlemesini bloke ettiğini öne sürülmüştür [53].

2.7.13. Ağız Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silimarin *in vitro* çalışmada insan farenksskuamözkarzinomu (FaDu) hücrelerinin canlılığını azalttığı kanıtlanmıştır. FaDu hücrelerinin apoptozundan önce 10 kat azalan Aktfosforilasyonu ve beş ila altı kat upregüle edilmiş fosfataz ve tensin homolog ifadesi izlenmiştir. Bu, Bcl-2 ekspresyonunun inhibisyonuna ve FaDu hücrelerinin apoptozisine yol açan kaspaz aktivitesinin yükselmesine neden olmuştur [54].

2.7.14. Mide Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silibinin doza bağlı olarak insan mide karzinomu SGC-7901 hücrelerinin büyümesini durdurmuştur. Yani, SGC7901 hücre hattının hücre döngüsü ilerlemesinde G2 fazının durmasına neden olmuştur. SGC-7901 hücrelerinin büyüme inhibisyonu, silibinin, p34Cdc2 seviyelerinin ekspresyonunu ve indüklenmiş p53 ve p21 ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Kaspazın aktivasyonunu içeren son bir ortak yol, çoğu kemoterapötik ajan için olağandır. Şaşırtıcı bir şekilde, silibinin, SGC-7901 hücrelerinin kaspazdan bağımsız bir şekilde apoptotik ölümüne neden olmuştur [55].

2.7.15. Kolon Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silibinin, doza bağlı bir şekilde, insan kolon kanserinin FET ve GEO hücre çizgilerinin G2/M fazında ve G1 fazındaki zayıf farklılaşmış HCT116 hücrelerinde hücre döngüsünün durmasını indüklemiştir. Prostat kanserinde olduğu gibi silibinin, CDK'yı ve D1'in aktivitesini inhibe etmiştir. Kolon karzinomunda sadece COX-2 ekspresyonunu ve aktivitesini azaltmamış aynı zamanda otokrin TGF-a salgılanmasını ve bunun düşük regüle büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve EGFR ifadesine bağlanmasını da inhibe etmiştir [56]. F344 sıçanlarında doza bağlı bir şekilde kolonik ACF (anormal kripti odakları) sıklığında önemli bir azalma, silimarinin (100, 500 ve 1000 ppm) diyet uygulamasından sonra, kanserojenlere 4 haftalık maruz kalma sırasında veya sonrasında elde edilmiştir [57]. Ağızdan verilen silibinin, tümör başlangıcından önce veya sırasında, tümörlerin sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olurken, indüklenen kolonlu Wistar sıçanlarında çalışmanın tamamı boyunca makroskopik olarak görülebilen tümörlerin gelişmesini önlemiştir. Silibinin, bağırsak mikro florasının enzim

aktivitesini modüle etmiş, kolonda oksidatif stresi azaltmış ve 1,2-dimetilhidrazin (DMH)'in yeniden toksifikasyonunu önlemiştir. Ayrıca, silibinin, antioksidan enzim fonksiyonlarının oluşumunu kolaylaştırmıştır [58]. Bir başka *in vivo* çalışma, silibininin, insan kolorektal karsinomu HT29 ksenogreftine karşı anti-proliferatif bir etkiye sahip olduğunu ve metastazi önlemede çok önemli olan bir antianjiyogenik etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Silibinin antiproliferatif aktivitesi, siklin D1 ekspresyonunun yanı sıra ERK1/2 ve Akt fosforilasyonunun downregüle edilmesiyle başarılmıştır. *İn vivo* silibinin antianjiyogenik aktivitesinin, uyarılabilir nitrik oksit sentezi (iNOS), COX-1, COX-2, hipoksi indükleyici faktör-la (HIF-la) ve hipoksiye bağlı vasküler endotelial büyüme faktörünün azalması (VEGF)'nin inhibisyonu ile bağlantılı olduğu ortaya konmuştur [59]. Bu nedenle, silibinin, kolon kanseri tedavisi için umut verici bir kanser önleyici madde olarak düşünülmelidir.

2.7.16. Pankreas Kanseri Üzerindeki Etkisi

Silibinin, yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda insan pankreas karsinomu BxPC-3 ve PANC-1 tümör ksenogreftlerinin büyümesini baskılamış, hücre proliferasyonunu durdurmuş ve BxPC-3 tümörlerinde apoptozu indüklemiştir. BxPC-3 hücrelerinde doza ve/veya zamana bağlı bir şekilde G1 durmasına ve PANC-1 hücrelerinde orta derecede bir tutuklanmaya neden olmuştur. Çalışmalar silibininin, G1/S hücre döngüsü ilerlemesini, siklin D1 ve CDK4/2'nin downregülasyonu veya CDKI'lerin upregülasyonu yoluyla engellediğini varsaymıştır [60].

2.7.17. Lösemi Üzerindeki Etkisi

Silibinin, doza bağlı bir şekilde, insan promyeolitik lösemi HL60 hücre hattının çoğalmasını ve her iki protein kinazı vasıtasıyla 1,25- (OH) 2D3 vitamini ile birleştirildiğinde daha da belirginleşen hücre farklılaşmasının önlenmesini durdurmuştur [61]. Silymarin, K562 lösemi hücrelerinde Akt protein seviyelerini kuvvetle inhibe etmiş, kaspaz aktivasyonuna ve insan lösemi hücrelerinin büyümesini durduran ve bunların apoptozunu indükleyen PARP klevajına yol açmıştır [62]. Bu, aynı hücre kültüründe hem silibinin A hem de silibinin B için doğrulanmış ve ayrıca diastereoizomerlerin, silibinin rasemik karışımından daha güçlü olduğunu göstermiştir [63].

2.7.18. Nefroprotektif Etkisi

Yapılan çalışmalarda silibinin-hemisüksinat (ayrıca silisristin ve silidianin), kontrol grubundan yaklaşık %23 daha fazla fibroblastlara (Afrika yeşil maymunu, *C. aethiops*) benzer

şekilde Vero hücrelerinin çoğalmasını, hücrelerdeki DNA moleküllerinin sentezini artırmıştır, protein sentezi ve parasetamolüntoksik etkilerini azaltmıştır. Ek olarak, silibinin, sisplatin ve vinkristin tarafından kimyasal olarak zarar görmüş hücreler üzerinde, bu ilaçlardan önce verildiğinde pozitif bir etkiye sahiptir olduğu saptanmıştır [64]. Diyabetik nefropatili hastalarda son fazdaki silimarin tedavisi, *in vitro* çalışmalarda immünoregülatör defektlerin normalleşmesine neden olmuştur [65]. Silimarin, doza bağlı bir şekilde, böbrek hasarı sonrası iskemi ve reperfüzyonda önleyici rol oynamış ve tübüllerin dilatasyon ve vakumlama, pelvik enflamasyon, interstisyel inflamasyon, perirenal yağ infiltrasyonu ve glomerüler ve tübüler nekrozu içeren morfolojik değişiklikleri azaltmıştır [66].

2.7.19. Nöroprotektif Etkisi

Sililyinin, *in vivo* bir çalışmada asetaminofenin neden olduğu beyin hasarı ile sıçanlarda nöroprotektif bir etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur. Yalnızca silimarin ile tedavi edilen sıçanlar grubunda, kontrol ile ilişkili olarak GSH ve askorbik asit düzeylerinde artış ve hafif SOD seviyelerinde artış gözlenirken, parasetamol uygulanmadan üç gün önce silimarin alan grupta MDA seviyeleri anlamlı derecede azalmıştır. Silimarinin, nonenzimatik ROS'u CNS'ye bağladığı veya antioksidan aktiviteye dahil olan protein sentezini arttırdığı ve bu nedenle, nörodejeneratif ve nörotoksik bozuklukların tedavisinde sililyin kullanılmasını önerdiği varsayılmaktadır [67]. Silimarin ile antioksidan sistemlerin (SOD, CAT ve GSH) aktivitesini arttırdığı için Na-florürün neden olduğu nörotoksisite ile sıçanlarda yapılan *in vivo* çalışmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir nöroprotektif etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir [68].

2.7.20. Kardiyoprotektif Etkisi

Obez farelerin miyokardındaki yağ infiltrasyonu, obez ve diyabetik hastaların miyokard steatozuna veya alkolsüz steatoz hastalarına karşılık gelecek şekilde uyarıldığı bir çalışmada silibinin, tedavi edilmemiş gruba kıyasla serumdaki ALT seviyelerini üç kat düşürdüğü, insülin ve glikoz seviyelerini azalttığı, ayrıca üretilen insülin direncinin ortadan kaldırılmasını sağladığı ortaya konmuştur. Silibinin ile tedavi, miyokard hasarını önemli ölçüde azaltmış ve miyokardiositlerin çoğunun morfolojik anormalliklerini hafifleterek, oksidatif stresin neden olduğu hasarı azaltarak GSH seviyesini korumuştur. Silibinin, artan TNF-a ekspresyonunu tamamen ortadan kaldırmış ve obez farelerde gözlenen IL-6 gen ekspresyonunu azaltmıştır [69]. Silibinin, H9c2 kalp hücrelerinde fenilefrin ile indüklenen hipertrofik tepkiyi, atriyalnatriüretikpeptidinupregülasyonunu ve ERK1/2 ve Akt sinyal yollarını bloke ederek

hücrel protein seviyelerinin artmasını hafifletmiş, H9c2 hücrelerinin silibinin ile ön muamelesi, bunları H_2O_2 ile indüklenen hücrel strese karşı da korumuştur [70].

2.7.21. Hipokolesterolemik ve Hipolipidemik Etkiler

Sililin ile dört aylık bir randomize çift kör çalışmada, insüline bağımlı olmayan hiperlipidemik hastalarda standart bir tedavi ile günde üç kez (200 mg tablet) uygulanması, kontrol grubuna kıyasla total kolesterol, LDL ve trigliserit seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olmuştur [71]. Silibinin-siklodekstrin, düşük kontrollü insüline bağımlı olmayan diyabetli hastaları olan çift kör altı aylık bir çalışmadaki plasebo grubuna göre trigliserit düzeylerini anlamlı şekilde azaltmıştır [72]. Silimarin ile tedavi, bir ay boyunca, toplam kolesterol, LDL ve VLDL seviyelerini önemli ölçüde azaltmış ve dislipidemili 57 hasta ile yapılan randomize klinik çalışmada, HDL seviyelerini hafifçe arttırmıştır (silimarin, lovastatin ile aynı etkiyi göstermiştir) [73].

2.7.22. Diyabet Üzerindeki Etkisi

Wistar sıçanları üzerinde yapılan bir çalışmada silibinin, karaciğerde belirgin bir hipoglisemik etki göstermiştir. Sırasıyla, doyunlukta açlık ve glikoliz sırasında glukoneogeneziinhibe ederek, diyabet tedavisinde klinik olarak silibinin klinik uygulama olasılığını açmıştır [74]. Silimarin alan grupta, diabetesmellitus tip II hastalarının kan glikoz düzeyi, artmış glikoz seviyesinin çift kör plasebo kontrollü bir klinikte kaydedildiği plasebo grubuna göre uygulamadan dört ay sonra istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Silimarinle tedavi edilen hastalarda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, hafif fakat istatistiksel olarak anlamlı olmayan kilo kaybı ve kan basıncında azalma görülmüştür [71].

Silimarin ile yapılan uzun süreli tedavi, alkolik karaciğer hastalığı ve NASH hastaları gibi hastalık öyküleri ve patolojik özellikleri olan alkole bağlı karaciğer sirozu hastalarında lipoperoksidasyon ve insülin direncini azaltmıştır. Yani açlık kan şekeri seviyelerinde, insülin seviyesinin azalmasında (%40), eksojen insülin gereksinimlerinin azalmasında, günlük kan şekeri seviyelerinde düşüş, günlük glikozüri ve HbA1c seviyelerinin azalmasında anlamlı bir azalma silimarin alan grupta sadece 4 aylık uygulamadan sonra kaydedilmiştir [75]. Ek olarak, diyabetiklerde glikoz ve yağ asidi seviyelerindeki artış, insülin direnci, pankreatik β -hücrelerinin işlevsizliği ve insülin sekresyonu eşliğinde ROS artışına neden olmuştur [76].

2.7.23. Sepsis Üzerindeki Etkisi

Makrofajları aktive eden ve sitokin üreten ve oksidatif strese neden olan endotoksinlerin sepsis gelişimi ve çoklu vücut fonksiyon bozukluklarında anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Silimarin ile yapılan ön tedavi, indüklenmiş septik akciğer ve beyin hasarı olan farelerdeki bir çalışmada antioksidan N-asetilsistein(NAC) ile yapılan ön işlemle aynı etkiye sahip bulunmuştur. NAC ile tedavi edilen grupta hayatta kalma oranı, 72 saat sonra silimarin ile tedavi edilen grupta bezer olarak saptanmıştır. Hem silimarin hem de NAC, sepsis kaynaklı TNF-a, IL-1 ve IL-6, LDH ve MDA artışını etkili bir şekilde ortadan kaldırdığı ortaya konmuştur. Silimarin, antioksidan durumu dengeleme ve enflamatuvar mediatörleri düzenleme yeteneği nedeniyle, akciğerler ve beyin sepsisinin neden olduğu oksidatif hasarı durdurmuştur [77].

2.7.24. Osteoporoz ve Osteoartrit Üzerindeki Etkiler

Seidlova-Wuttke ve arkadaşları silimarinin kemik yapısı üzerinde raloksifen benzeri bir etkiye sahip olduğunu fark etmişlerdir [78]. Başka bir çalışmada, silimarinin, ovarektomi sonrası sıçanlarda luteinize edici hormon seviyesini veya kolesterol, LDL ve HDL seviyelerini etkilemediği, ancak endometriallüminalepitelinin kontrol grubuna kıyasla hipertrofini arttırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, silimarin uzun kemiklerin trabeküler kısmının yoğunluğunu arttırmış, alkalın fosfataz seviyelerini düşürmüş ve serumdaki kalsiyum ve fosfor seviyelerini arttırarak, paratiroid hormonunun salgılanmasından 5.5 kat daha fazla uyarmıştır. Bu çalışmada, silimarin osteoporoz gelişimine karşı potansiyel kullanımı, etkisinin sadece östrojen reseptörü ile sağlanamayacağı, ancak diğer bazı etki mekanizmalarının dahil edilmesi gerektiği varsayılarak doğrulanmıştır [79].

2.8. Kapsüller

Kapsüller, etkin maddenin çeşitli şekil ve kapasitede çözünebilen bir kap veya kabuk içine doldurulmasıyla hazırlanan tek dozluk katı ilaç şekilleridir. Kapsül hazırlamanın amacı etkin maddenin tadını ve kokusunu maskelemektir. Değişik görünüş, şekil, renk ve büyüklükte kapsüller bulunur. Jelatin kapsül kabuğu formülasyonlarına bağlı olarak yumuşak veya sert olabilir. Kapsüllerin hasta tarafından tamamen yutulması amaçlanmaktadır. Kapsüller önceden ölçülmüş tıbbi tozu iletmek için bir araç olarak kullanılır. Kapsül dozaj formları, piyasadaki toplam dozaj formlarının %10'undan fazlasını kaplar. Kapsül sözcüğünün orijinali Latince'den köken alan *capsula*'dan gelir.

Kapsüller sert ve yumuşak olarak sınıflandırılabilir. Sert kapsül başlık ve gövde olmak üzere 2 parçadan oluşur. Başlığın yarıçapı gövdeye göre daha büyüktür [80].

2.8.1. İçeriklerine Göre Kapsül Tipleri

1. Normal Kapsüller

- a) Gelcap (Pharma) Kapsül
- b) Licaps (Capsugel)
- c) Coni-Snap (Capsugel)
- d) Star-Lock (Schere)

2. Etkileri Uzatılmış Kapsüller

3. Mide Vasatına Dayanıklı Kapsüller [81].

2.8.2. Kapsüllerin Avantajları

1. Kapsül duvarının çabuk çözünmesi ve hazırlanmaları sırasındaki sıkıştırma işleminin tabletlere göre daha az olması nedeniyle, kapsüllerin biyoyararlanımlarının tabletlere göre daha iyi olduğu düşünülmektedir.
2. Kapsüllerin hazırlanması tabletlere göre daha basit ve kolaydır. Daha az sayıda yardımcı madde ve üretim ekipmanı kullanılarak hazırlanabilirler.
3. Kapsüller, hoş olmayan ilaçların tadını ve kokusunu maskelerler ve kolayca uygulanabilirler. Görünüş açısından caziptirler.
4. Nemli olduklarında kaygan olurlar ve bu nedenle az miktarda su ile kolayca yutulurlar.
5. Kabuklar fizyolojik olarak inert olup gastrointestinal sistemde kolayca ve çabucak sindirilirler.
6. Ekonomiktirler.
7. Kabuklar ışığa karşı koruma sağlamak için opaklaştırılabilir (titanyum dioksit ile).

2.8.3. Kapsüllerin Dezavantajları

1. Sert jelatin kapsüller, %12-16 oranında su içerirler. Bu nedenle, su ile kolaylıkla hidrolize uğrayan maddeler için uygun değildir.
2. Bazı ilaçlar jelatin ile reaksiyona girebilir.
3. Kapsüllerin yemek borusuna yapışma özelliği tabletlere göre daha fazladır. Yeterli miktar su ile (en az 100 ml) ayakta alınması önerilmektedir.

4. Jelatin kapsüllerin kullanımı, hayvansal kaynaklı olması nedeniyle, dini inançlara veya vejetaryen diyetle ilgili olarak kısıtlanmaktadır.

2.8.4. Kapsüllerin Tarihi

Jelatin kapsülün ilk patenti Paris'te 1834 yılında Mothes (jelatin kapsül mucidi) ve Dublanc (Fransız Patenti 5648) tarafından alınmıştır. Sert jelatin kapsüllerin ilk sanayi ölçekli imalatı, Detroitli bir eczacı olan Hubel tarafından gerçekleştirilmiştir [82].

2.8.5. Sert Kapsüller

Sert Kapsüllerin esas maddesi jelatindir. Nişasta, selüloz türevleri, polivinil alkol/vinil asetat karışımları da sert kapsül hazırlamakta kullanılan diğer maddelerdir. Sert jelatin kapsüller jelatin, Arap zamkı, boya ve su karışımından özel teknikler ve özel makinelerle hazırlanır. Sert kapsüller kapak ve gövde olmak üzere iki parçadan oluşur. Renkleri genellikle ayrı olan kapsüllerin üst parçasının çapı alt kısımdan daha geniş, yüksekliği ise alt kısımdan daha kısadır. Büyüklükleri hacimlerinin alabileceği distile su miktarına göre numaralandırılmıştır. Numaralar büyüdükçe hacimler küçülmektedir.

Jelatin kapsüller toksik değildir ve dünya genelinde kullanımı kabul edilir. Vücutta kolayca çözünür, nispeten inertsdir ve kapsül kabukları birçok farklı malzeme ile güvenle doldurulabilir. Parlak görünüşü, nötr tadı ve işleme kolaylığını muhafaza etme özelliği, jelatini ilaç formülasyonunun dış tabakası olarak kullanmak için uygun bir materyal haline getirir. Jelatin doğal olarak oluşan bir protein değildir, fakat fibröz protein kolajeninden türemiştir [83].

2.8.6. Kapsül Ölçüleri

Kapsüllerin 000'dan 5'e kadar numaralanan 8 tipi vardır. Bunun dışında özel boyutlar A, B, C, D de vardır. Kapsülde boyutlar aldığı ml su ile hesaplanır. Normalde, sert jelatin kapsüller %13-16 nem içerir [82].

Kapsüllerin büyüklüğü, içerisine konacak madde miktarına göre seçilir, insan tababetinde en çok 0 ila 5 numaralar tercih edilir. Tablo 2.1 değişik numaradaki kapsüllerin yaklaşık olarak alabildikleri madde miktarlarını göstermektedir. Bu miktarlar tozun kristal şekline ve küme dansitesine vb. göre değişiklikler gösterebilir.

Tablo 2.1. Kapsül Ölçüsü Hacim Tablosu

Kapsül Numarası	Hacim (ml)	Kinin Sülfat (g)	Sodyum Bikarbonat (g)	Aspirin (g)
0	0,66-0,75	0,33	0,68	0,55
1	0,48-0,55	0,23	0,55	0,33
2	0,35-0,40	0,20	0,40	0,25
3	0,27-0,30	0,12	0,33	0,20
4	0,21-0,25	0,10	0,25	0,15
5	0,14-0,15	0,07	0,12	0,10

Sert jelatin kapsüllerin içine:

- Tozlar
- Granüller
- Pelletler
- Mikropelletler
- Mikroküreler
- Mikrokapsüller
- Boncuklar
- Tabletler
- Minitabletler
- Yarı katılar
- Sıvı maddeler (örneğin; mısır yağı, zeytinyağı, hint yağı gibi) doldurulabilir.

2.8.7. Kapsüllerin Stabilitesi

Sıcaklığı 15-25 derece ve bağıl nemi %30-70 arasında olan ortamlarda ve nem geçirmeyen kaplar içinde saklanması gerekir. Bununla birlikte Capsugel'in literatürüne göre, oransal nem ve sıcaklık değişimi sırasıyla %35-65 ve 15-25 °C, kapsül kalitesi üzerinde, özellikle de orijinal ambalaj bozulmadan kalırsa, çok az etkiye sahiptir. Depolama önerileri uygulandığında, boş kapsüller yıllarca sabit kalır [84]. Işıktan etkilenen maddelerin uygun renkte olan kapsüllere konularak stabiliteleri sağlanabilir. UV ışığın dalga boyu ve geçiş miktarı

kapsülün rengine bağlıdır. UV ışığının opak renkte olan kapsüllere geçiş minimum düzeydedir [85].

2.8.8. Kapsüllerin Biyoyararlılığı

Kapsül preparatlarının biyoyararlılığıgastrointestinal sıvı içerisindeki ilaç solüsyonun dağılımı ve absorpsiyonuyla birlikte karmaşık bir prosestir. Genellikle iyi formüle edilmiş kapsül formülasyonunbiyoyararlılığı tabletler ile karşılaştırıldığında daha yüksektir [86].

2.8.9. Kapsüllerin Formülasyonu

İyi bir formülasyonun üretilmesi için, ilacın fizikokimyasal özellikleri (boyut ve şekil, çözünürlük ve akışkanlık gibi), yardımcı maddelerin kullanımı, yardımcı maddeler ile uyumluluk, işleme yöntemi, dolum makinesi tipi ve diğer daha pratik konular maliyet ve şirket uygulamaları dikkate alınmalıdır [87-88]. Bir kapsül formülasyonu geliştirirken hedefler, doğru dozaj, tatmin edici biyolojik kullanılabilirlik özellikleri ve sorunsuz kapsül dolum prosedürünü sağlamaktır. Bu hedeflere ulaşmak için, bir kapsül, her zaman, formülasyonun performansını arttıran yardımcı maddeler ile birlikte etken madde içerir.

2.8.10. Kapsüllerin Üretimi

Sert kapsüller daldırma (dipping) yöntemi ile hazırlanır. Bu yöntemin prensibi paslanmaz çelikten yapılmış çubukların eritilmiş kapsül duvarı çözeltisine batırılarak bu çubukların yüzeyinde kapsül duvarı filminin oluşturulmasıdır. Jelatin, boyalar, koruyucu maddeler ve su, sert jelatin kapsül duvarını oluşturan maddelerdir.

2.8.10.1. Kapsül Gövdesinin Üretimi

Sert jelatin kapsül kabukları gövde ve kapak olmak üzere iki ayrı parça olarak üretilir. Önce jelatin çözeltisi hazırlanır. Çözeltinin havası vakumla alınır. Bu çözeltinin bir kısmı ayrılarak boya ve koruyucu maddelerle karıştırılır. Çözeltinin viskozitesi ölçülür ve gerekiyorsa ayarlanır. Kapsül gövdeleri aşağıdaki aşamalardan geçerek üretilir.

Daldırma: Metal tablalar üzerine belirli aralık ve uzunlukta yerleştirilmiş metal çubuklar, kapsül gövdesi ve kapağı oluşturmak üzere belirli viskozitedeki erimiş jelatin çözeltisine daldırılır. Metal çubuklar oda sıcaklığında (yaklaşık 22°C), jelatin çözeltisinin sıcaklığı ise 50–55 °C'dir. Metal çubukların üzerinde yaklaşık 12 saniyede film tabakası oluşur.

Döndürme: Metal çubuklar jelatin çözeltisinden geri çekilir ve kendi etrafında 2,5 kez çevrilir. Böylece jelatinin çubukların üzerinde homojen dağılımı ve kapsüllerin ucunda baloncuk oluşumu engellenmiş olur. Bu işlemden sonra oluşan film üzerine soğuk hava üflenir.

Kurutma: Jelatin filmle kaplanmış olan metal çubuklar kurutma fırınında kurutulur. Kurutma işlemi çok hızlı ve aşırı olmamalıdır. Kapsül duvarının erimesi veya sertleşmesine izin verilmemelidir.

Kesme: Bronz bıçaklar kullanılarak kapsüllerin gövde ve kapak kısımları metal çubuklardan kesilir.

Tıraşlama: Kesilen kapsül gövdeleri ve kapaklar tıraşlanarak düzeltilir.

Birleştirme: Kapsül gövdeleri ve kapaklar bir kanalda dizilerek iki parça birleştirilir. Üretilen kapsüllerin nem içeriği %15-18 arasındadır. Bu nem içeriği kapsül kabuğunun fiziksel özellikleri açısından önem taşır. Düşük nem koşullarında (<%12) kapsüller çok kırılgan hâle gelir. Yüksek nemde ise (>%18) kapsüller yumuşar.

2.8.11. Kapsüllere Doldurulacak Karışımın Özellikleri

Kapsüllerin doldurulmasında kullanılacak toz karışımın içeriği önemlidir. Doldurma, etkin maddelerin ve kullanılan yardımcı maddelerin fiziksel özelliklerine bağlıdır. Kolay işleme ve kapsül şeklinin kullanılmasının amaca uygun olup olmadığını tayin ederken, göz önünde bulundurulması gereken özellikler şunlardır [88]:

- Partikülün şekli ve büyüklüğü
- Karışımın homojenitesi
- Akış özelliği
- Nem içeriği

2.8.11.1. Partikülün Şekli ve Büyüklüğü

Geçmişte tanecik şekli için çok sayıda ölçüm önerilmiştir. Tanecik şeklinin doğasını gösteren daha sık kullanılan nitel terimler aşağıdaki tablo da gösterilmektedir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Terimlerin Tanımlanması

Asiküler	İğnemsî
Anguler	Keskin kenarlı veya kabaca çok yüzlü şekle sahip
Kristal	Billur yapıda
Dentritik	Ağaçsı
Fibröz	Düzenli veya düzensiz ipliksi şekilde
Granüler	Yaklaşık olarak eş boyutlara ve düzensiz şekle sahip
Asimetrik	Simetriye sahip olmayan
Modüler	Yuvarlak, düzensiz şekle sahip
Yassı	Tabak şeklinde

Tanecik şeklinin niteliksel bir tarifi her zaman yeterli değildir ve bu nedenle şekil hakkında niceliksel bilgi de kullanılır [89]. Tanecik şeklini tanımlamanın en basit yolu, taneciklerin kalınlığı, genişliği ve uzunluğu ölçümleri anlamındadır. Şekil verisi bu nedenle genellikle mikroskobik ölçümlerden çıkarılır. Benzer tanecik boyutlarına sahip, ancak farklı tanecik şekillerine sahip olan tozlar, partiküller arası temas bölgelerindeki farklılıklardan dolayı belirgin şekilde farklı akış özelliklerine sahiptir. Küresel tanecikler ara yüzler arası minimum temaslara sahiptir ve bu nedenle iğne veya plaka şeklinde tanecikler akış sorunları sergilemekte iken düzensiz şekilli taneciklere göre daha serbestçe akan olma eğilimindedir. Kaba, düz veya açısız partiküller yumuşak veya yuvarlak taneciklerle karıştırıldığında, farklı tanecik şekilleri akış özelliklerinde farklılıklardan ötürü yığınlara ayrılır [90].

Partikül boyutu, kapsül formülasyonu üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Tanecik boyutu, parçacığın bir tarafı ile karşı tarafı arasındaki mesafeyi belirten bir ölçüm olarak tanımlanabilir. Bununla birlikte, bu açıklama, tanecik düzensiz şekle sahipse yetersiz kalır. Genellikle, ince uzun tanecikler küresel taneciklerden daha tutunma özelliği gösterir. Partikül büyüklüğü tozların akışkanlığını etkiler [91]. Genellikle partikül boyutu 250µm daha büyük olan tozlar partikül boyutları 50-150µm olan tozlara göre daha akışkandır ve eğer partikül boyutu 10 µm'den az ise, tozlar genellikle aşırı kohesivleşir. Toz karışımlarında küresel ve kübik şekillere sahip olan tozların doldurumu kolaydır. Bazı kristal şekillere sahip olan tozların kapsüllere doldurması sırasında zorluklar çekilebilir [92].

2.8.11.2. Karışımın Homojenitesi

Kapsüle konacak karışım homojen olmalı ve doldurma işlemi esnasında içeriğindeki maddeler arasında ayrışmalar veya tabakalanma olmamalıdır [93].

2.8.11.3. Akış Özelliği

Tozların akış özelliklerini belirlemek için çeşitli yöntemler kullanılmıştır (Tablo 2.3). Hafifçe kohezif tozlar için, bazı ham ölçümler açısal ölçümle sağlanabilir. Statik bir yığın toz konik bir yığın eğilimi gösterir. Bu 'koninin' yanının yatay açısı belli bir değeri aşamaz ve bu yığın açısı olarak bilinir [94].

Tablo 2.3. Sıkıştırılabilirlik İndeksi, Akış Özelliği ve Hausner Oranı İlişkisi

Akış Özelliği	Sıkıştırılabilirlik İndeksi	Hausner Oranı
Mükemmel	1-10	1.00-1.11
İyi	11-15	1.12-1.18
Vasat	16-20	1.19-1.25
Orta	21-25	1.26-1.34
Kötü	26-31	1.35-1.45
Çok Kötü	32-37	1.46-1.59
Çok, çok kötü	> 38	> 1.6

Toz akışı kapsül dolum ekipmanında düzgün besleme açısından büyük önem taşır. İlaç karışımının, düzgün bir şekilde paketlenmiş bir toz yatağı üretmek için makul derecede serbest akışa sahip olması gerektiğini belirtilmiştir. Tozun akışkanlığı aynı zamanda katı ve toz homojenliğinde içeriğin homojenliği ve kapsüllerin doğru dozlanması ve yardımcı maddelerin ilaç karışımı içinde eşit dağılımı açısından önemli bir rol oynamaktadır [95].

2.8.11.4. Nem İçeriği

Bir ilacın ya da malzemenin nem içeriği sıklıkla denge nem içeriği olarak açıklanır. Denge nem içeriği, belirli bir sıcaklıktaki havadaki nemle dengede sabit bir susuz numune tarafından adsorbe edilen nem miktarı olarak tanımlanabilir. Sert jelatin kapsül kabuğu için denge nem içeriği, %30-50 arasındaki bağıl nemli bir atmosferde %13-16w/w arasındadır. Kapsül kabuğunun nem içeriği %10'un altına düşerse, jelatin kırılğan hale gelir ve nem içeriği %18'in üzerine çıkarsa, jelatin kabuğu yumuşatılıp bozulacaktır [92].

Nem kapsül içeriğine aktarılırsa, neme duyarlı ilacın stabilitesi ile ilgili problemler yaşanabilir. Emilen nem veya emilen nem katmanı çeşitli reaksiyonlara sebebiyet vererek (örneğin, hidroliz) ilacın parçalanmasına neden olabilir. İlaç absorbe edilen nem tabakası varlığında çözülür ve bozulur. Bu nem tabakası ayrıca oksijeni çözebilir ve ilacın oksidasyonuna neden olabilir. İlaçta ayrıca nemin kimyasal bağlara etkisiyle ilacın aktif maddesinde

biyoyararlanım problemleri gözlenebilir. Kapsül dolumundan sonra veya bu esnada nem absorpsiyonunu engellemek amacıyla bazı maddeler karışıma ilave edilebilir bu ilave edilen karışımlar arasında en ideal sonuçları verenler magnezyum karbonat, magnezyum oksit ve talktır [97].

2.8.12. Yardımcı Maddelerin Kullanımı

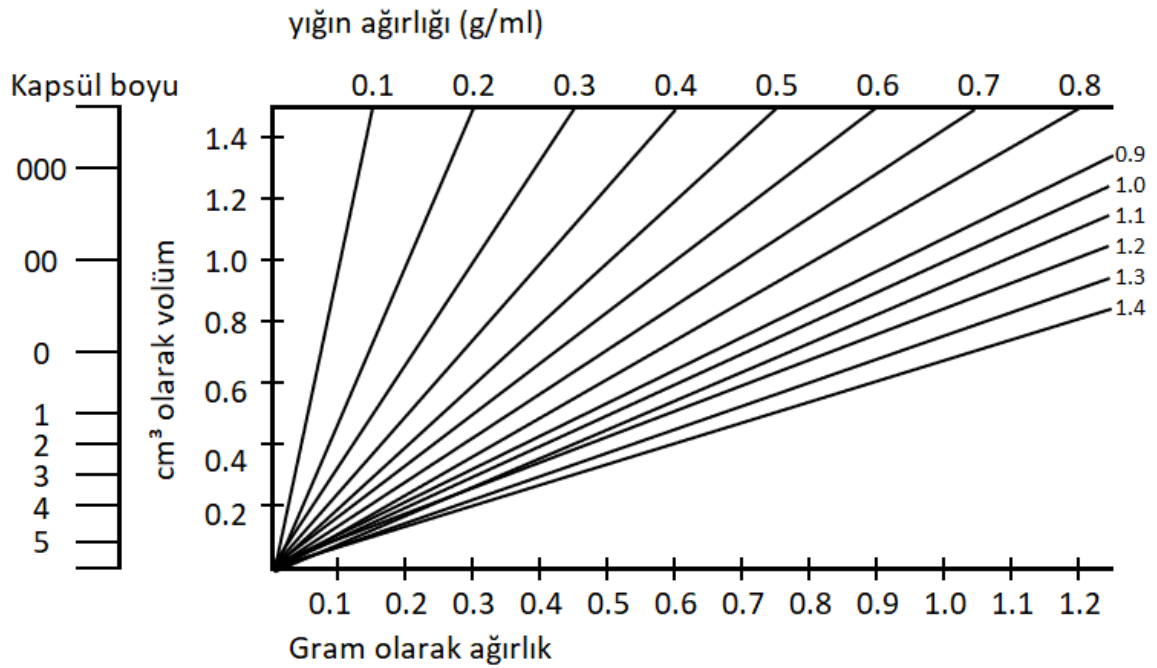
1. **Lubrikant:** Kapsül doldurma veya tabletleme makinelerine ilacın doldurulmasını kolaylaştırmak için kullanılan bileşiklere lubrikant eklenir. Özellikle otomatik bir kapsül dolum makinesi kullanıldığında kapsül ve tablet yapımında lubrikant kullanımı önemlidir. Lubrikant olarak magnezyum stearat (sıklıkla %1'den az) yaygın olarak kullanılır. Çözünemeyen magnezyum stearatın su geçirmez özelliği gastrointestinal sıvıda çözünme sorununa neden olabilir. Gecikmeli çözünme ve daha sonra geciken emilim, arzulanan göre tamamen farklı farmakokinetik profillere neden olabilir [98].
2. **Yüzey aktif madde:** Katı taneciklerin çözünmesini arttırmak için kullanılır. Lityum karbonat yaygın olarak kullanılan yüzey aktif bir maddedir. Jelatin kabuğu çözündükten sonra kapsül formülasyonunda suda çözünmeyen kayganlaştırıcıların bulunmaması durumunda bile, kuru tozların çözünmesi için kuru tozun etrafını çevreleyen hava sıvısı ile yer değiştirmesi gereklidir. Yüzey aktif madde taneciklerin aglomerasyonunu önler ve çözünmeyi hızlandırır. Formülasyon, bir ilaç maddesinin biyoyararlanımı etkileyebilir ve bu aynı ilacın iki jenerik kapsül ürününün farklı biyoyararlanımı gösterebilmesinin sebebidir [83].
3. **Disintegrant:** Önceleri, disintegrantlar kapsül formülasyonuna dahil edilmemiştir, çünkü geleneksel disintegrantlar (normal olarak tablette kullanılır) kapsüllerde bulunan gevşek sıkıştırılmış toz için etkili değildir. Bununla birlikte, durum, ıslandığında hacmini daha fazla genişletme kapasitesine sahip olan yeni kapsüller (süper-parçalayıcı) ile birlikte değişmiş ve böylece kapsül içindeki gevşek biçimde paketlenmiş toz kütlesini bozabilmiştir. Yaygın olarak kullanılan disintegrantlar, nişasta, sodyum nişasta glikolat gibi modifiye edilmiş nişasta, kroskarmeloz sodyum gibi modifiye edilmiş selüloz, mikrokristalin selüloz, önceden jelatinleştirilmiş nişasta ve aljinatlardır. Disintegrant'ın kapsül formülasyonları üzerindeki etkisini incelemek için bir dizi çalışma yapılmıştır. El ile doldurulan kapsül, makine ile doldurulan kapsüllerden daha gözeneklidir ve içeriğin az sıkıştırılmasını sağlar. Toz sıkıştırılabilirliği, disintegrantların etkililiğini etkiler. Sıkıştırma arttıkça toz kütlesinin gözenekliliği azalır. Yüksek düzeydeki disintegrantlar yaygın olarak kullanılan tabletler ile kıyaslamak için kapsül formülasyonları için gereklidirler. Bunun sebebi toz kütlesinin gözenekliliğidir [99].

2.8.13. Sert Jelatin Kapsüllerin Doldurulması

Kapsüller doldurulurken üç noktaya dikkat edilmelidir, çünkü dozajın düzgünlüğü bunlara bağlıdır. Bu faktörler uygun kapsül boyunun seçilmesi, doldurma metodu ve doldurma maddesinin nitelikleridir.

2.8.13.1. Uygun Kapsül Boyunun Seçilmesi

Birbirine geçme kapsüllerin ihtiva edebilecekleri miktar en çok 1.37ml ile en az 0.13ml arasında olmalıdır. Sıvıların kapsüllere tam olarak doldurulması çok kolaydır, toz veya pelletlerde ise, değişik tozların akma hacimleri ve akış kabiliyetleri gibi faktörleri dikkate almak gerekir. Tüm bu faktörlerin doldurmaya etkileri büyüktür. Tozların ağırlıklarını bilerek uygun kapsül boyutu aşağıdaki diyagramdan tespit edilebilir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Kapsül Boyu – Yığın Ağırlığı Grafiği [100]

2.8.14. Doldurma Yöntemi

Kapsüller, özel apareyler yardımıyla veya elle doldurulur. Yarı elle doldurularak çalışan makineler, genellikle laboratuarlarda kullanılır. Endüstriyel alanda otomatik dolum için, iyi bir dozaj doğruluğu sağlayan çeşitli tipte makineler kullanılmaktadır. Bu makineler özellikle dozaj sistemleri bakımından birbirinden farklıdır [100].

2.8.14.1 Doldurma Makinaları

İlaç karışımı iyi formüle edilmişse, kapsüller dolum hassasiyeti yüksek derecede doldurulabilir. Dolumda kullanılan makinalar kullandıkları sisteme göre manuel, yarı otomatik ve otomatik olmak üzere kategorize edilebilirler (Şekil 2.7). Otomatik makinalar devamlı ve aralıklı çalışanlar olarak farklı çeşitlerde olabilirler. Dozajlama mekanizması direkt ve indirekt olarak 2'ye ayrılır. Tam otomatik kapsül doldurma makineleri, saatte 150,000 adete kadar dolum yapabilir (Şekil 2.8). Yarı otomatik kapsül doldurma makineleriyle ise saatte 10,000 adet kadar dolum sağlanabilir. Direkt olan sistemde kapsüldeki doz doğrudan ölçülür. İndirek olan sistemde makine dozu ayrı bir mekanizma ile ölçer [101].



Şekil 2.7. Elle Kapsül Doldurma Makinesi



Şekil 2.8. Tam Otomatik Kapsül Doldurma Makinesi

2.8.14.2. Döner Levha ile Dozaj Sağlayan Dolum Makineleri

Bu makinelerin çalışma prensibi; dolacak maddeyi sürmek suretiyle kapsüllerin doldurulmasıdır. Doldurulacak madde, döner levha aracılığıyla, içinde kapsül alt kısmı bulunan deliklere getirilir. Bu yöntemle, kapsül alt kısmını üst kenarına kadar doldurmak mümkündür.

2.8.14.3. Helezon Dozajı

Bu yöntem, özellikle tozlar ve ince, kolay akan granüller için kullanılır. Bu yöntemle kapsül istenilen yüksekliğe kadar doldurulabilir. Dozaj bu şekilde döner levha ile doldurmanın aksine, kapsülün üst kenarından daha aşağıda kalabilir [100].

2.8.14.4. Tıkama Dozajı

Bu makinede dolum pistoncuklarla yapılır. Bu yöntem, daha sıkı bir doldurma elde etmek için, daha büyük bir miktarın daha küçük bir hacme doldurulması gerektiğinde tavsiye edilir. Burada da döner levha sistemine benzer şekilde dozaj, kapsül boyunu ve karışımın etkin madde yüzdesini değiştirmek suretiyle ayarlanabilir.

2.8.14.5. Borucuk Dozajı

Bu yöntemde, doze edilecek miktar bir borucukta komprime edilip silindirik bir baskı şeklinde kapsüle sokulur. Basınç istenildiği gibi ayarlanabilir. Bu şekilde kapsüle mümkün olan en yüksek miktar doldurulabilmektedir. Bütün bu yöntemler, iyi sonuçlar verir ve kayıplar, elle doldurulan yöntemden daha azdır. Tarif edilen doldurma apareylerinden hangisinin seçileceği doze edilecek maddenin niteliklerine ve tarzına göre belirlenmelidir. En uygun kompresyon veya dozaj borucuğu ile doldurulmalıdır. Bu iki sistemle genellikle maddelerin granül haline sokulmasına lüzum kalmaz. Tozlar pek kötü akış özellikleri çok kötü olmadığı takdirde, kaydırıcı madde ilavesiyle bunlara doldurulabilir. Bütün kapsül doldurma makineleri otomatik olarak boş kapsüllerin alt ve üst kısmını ayırır, kapsülleri doldurur ve dolmuş kapsüllerin alt ve üst kısımlarını birbirine geçirir. Doldurulmuş kapsüller, çabuk sayımlarda veya nakliye esnasında olası sallamalar veya ani hareketlere maruz kaldıklarında açılmaya yüz tutabilirler. Bu sorun ise, kapsüllerin kaynak yapılması ve bandrollandırılmaları ile önlenir. Bu kaynaklama işlemi; nokta kaynak usulü ve bantlama olmak üzere iki şekilde yapılabilir [100].

2.2.14.6. Titreşim Metodu

Titreşim metodu kapsülün gövdesini doldurmada titreşimli besleme mekanizmasını kullanır. Titreşim toz haznesinden kapsüle doğru toz akışına sebep olur. Bu mekanizmada dolum hacmi kontrol edilir. Osaka doldurum makinası bu prensip ile üretilmiştir. Bu makine yüksek kapasitede ve sürekli olarak doldurum yapabilmektedir. Bu makine ticari olarak uygun değildir.

2.8.14.7. Vakum Yöntemi

Vakum yönteminde kullanılan makine devamlı çalışmaktadır. Malzeme dozu, bir dozatore benzer bir cihazda ölçülür. Toz bir sıkıştırma gerçekleştiği bir filtre vasıtasıyla emme

yoluyla dozator içine çekilir. Toz tapası, doktor kapsül gövdesinin üzerine konumlanıncaya kadar bir vakumla yerinde tutulur. Başlık daha sonra vakumu kapatarak ve pozitif bir basınç uygulayarak kapsül gövdesi ile kapatılır [100].

2.8.15. Kapsüllerde Yapılan Kontroller

2.8.15.1. Dolu Kapsüllerde Yapılan Kontroller

2.8.15.1.1. Dezentegrasyon ve Disolüsyon Testleri

İlaç etkin maddesi ve yardımcı maddelerin fizikokimyasal özellikleri incelenip onaylandıktan sonra, Farmakopelerde belirtilen dezentegrasyon ve disolüsyon çalışmaları gerçekleştirilir. Katı dozaj şekillerinin hasta tarafından alınmasını takiben ilaç, eğer konvansiyonel ise, midede dezentegrasyon ve disolüsyondan ibaret olan salım olayıyla etkin maddeyi serbestler. Serbestlenen etkin madde, emilime uğrayarak kan dolaşımına geçer. Farmakokinetiktebiyoyararlanım açısından en önemli adım olan absorpsiyonun yani emilimin gerçekleşmesi için, ilaç etkin maddesinin salımı şarttır. Bunun için de ilacın önce mide vasatında dağılması ve daha sonra, çözünmesi gerekir. Bu nedenle, Farmasötik Teknoloji’de ilaç geliştirmede ön formülasyon çalışmalarında “dağılım (dezentegrasyon)” ve “çözünme (disolüsyon)” deneyleri gerçekleştirilir. Bir ilaç formülasyonu, iyi fizikokimyasal özelliklere sahip olabilir. Ama, istenen biyolojik ortamda istenen sürede çözünmüyorsa, terapötik planda başarıdan söz etmek mümkün olamaz.

Çözünme zamanı, jelatinin ve kapsüllerin imalinde kullanılan maddelerin kalitesine, fabrikasyon metodunun iyiliğine ve iyi depolama şartına bağlıdır. Çözünme zamanı suda veya suni mide vasatında tespit edilebilir. Çözünme iki aşamada gerçekleşir. Önce kapsül en zayıf noktasından kırılır ve içeriğinin bir kısmını serbestler. İkinci aşamada kapsül tamamen çözünür ve içeriğini tamamen çözücüye salar. Duruma göre, vasat, berrak veya az çok bulanık bir hal alır.

Literatürde, mide vasatının iki dakikadan daha az bir zamanda kapsüllere nüfus ettiği ve kapsül içeriğinin kapsül alındıktan sonra 2-5 dakika zarfında mideye geçtiği tesbit edilmiştir.

2.8.15.1.2. Toz Basılabilirliğinin Ölçülmesi

2.8.15.1.2.1. Yığın Dansitesi (Bulk Density)

Bir tozun hacimsel özelliklerini etkileyen partiküller arası etkileşimler aynı zamanda toz akışını etkileyen etkileşimler olduğundan dolayı yığın ve sıkıştırılmış dansitelerin

karşılaştırılması belirli bir tozdaki bu etkileşimlerin nispi önemini ölçebilir. Bu karşılaştırma, sıkıştırılabilirlik indeksi veya Hausner oranı gibi tozun akma kabiliyetinin bir endeksi olarak kullanılır. Sıkıştırılabilirlik indeksi ve Hausner oranı, bir tozun yukarıda tarif edildiği gibi sıkıştırılma eğiliminin ölçütleridir. Bu nedenle, tanecikler arası etkileşimlerin nispi önemini değerlendirmeye izin verirler. Serbest akışlı bir tozda, bu gibi partiküller arası etkileşimler daha az önemlidir, yığın ve sıkıştırılmış dansiteleri birbirine yakın değerlerdir. Toz akışının kötü olduğu tozlar için, partiküller arası etkileşimler sıklıkla daha büyüktür, yığın ve sıkıştırılmış dansiteleri arasında daha büyük bir fark gözlemlenecektir. Bu farklılıklar sıkıştırılabilirlik indeksinde ve Hausner oranını yansıtır.

Sıkıştırılabilirlik indeksi: $100 (V_0 - V_f) / V_0$

Hausner Oranı: V_0 / V_f

V_0 = Görünür Hacim

V_f = Final sıkıştırılmış hacim

Ölçümü yapılan materyale bağlı olarak, sıkıştırılabilirlik indeksi V_0 yerine V_{10} (10 vuruş sonrası hacim) kullanılarak belirlenebilir. Ancak bu durum, sonuçlarda açıkça belirtilmelidir.

2.8.15.1.2.2. Sıkıştırılmış Dansite (Tapped Density)

Sıkıştırılmış dansite, toz numunesini içeren haznenin mekanik olarak etkilenmesinden sonra artmış olan bir yığın dansitesidir. Sıkıştırılmış dansite, toz numunesini içeren dereceli ölçme silindrine veya kaba uygulanan mekanik işlemde sonra elde edilir. Başlangıçtaki toz hacmi veya kütlesi gözleminde sonra (yığın dansitesi ölçümünden sonra), ölçüm silindiri veya kabı daha fazla hacim değişimi gözlenmeyene kadar mekanik olarak çalıştırılır ve okumaları yapılır.

2.8.15.1.2.3. Sıkıştırılabilirlik İndeksi ve Hausner Oranı

Sıkıştırılabilirlik İndeksi ve Hausner Oranı için önerilen yöntem: 250ml'lik volumetrik silindir ve 100g test örneği kullanılır. Daha düşük hacim ve miktarlar da kullanılabilir ancak bu durumda yöntemdeki varyasyonlar sonuçlar ile birlikte tanımlanmalıdır. Çalışmanın 3 kez tekrarlanması ve ortalamasının alınması önerilir.

2.8.15.1.3. Toz İnceliğinin Belirlenmesi

Partikül büyüklüğü dağılımı analitik eleme yöntemi ile veya diğer uygun yöntemlerin uygulanması ile elde edilir. Pratik uygulamasının kolay olması sebebiyle elekler, toz inceliğini

ölçmek için yaygın olarak kullanılır. Elek yöntemi, taneciklerin büyük çoğunluğunun yaklaşık 75µm'den büyük olduğu durumlarda en uygundur, ancak daha küçük tanecik boyutlarına sahip bazı tozlar için de yöntem valide edildiği sürece uygulanabilir. Işık difraksiyonu, çok çeşitli taneciklerin boyutunu ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Kümülatif dağılım analitik eleme veya diğer yöntemlerin uygulanması ile belirlendiğinde, partikül boyutu aşağıdaki şekilde karakterize edilebilir:

x_{90} = Partikül büyüklüğü kümülatif dağılımının %90'ının altında olduğu değer

x_{50} = Medyan partikül büyüklüğü (%50 partikül değeri bu değerin altında, %50 partikül değeri bu değerin üstünde)

x_{10} = Partikül büyüklüğü kümülatif dağılımının % 10'unun altında olduğu değer

'd' bu değerleri belirlemek için yaygın olarak kullanılır. Dolayısıyla bu değerler; d_{90} , d_{50} , d_{10} sembolleri kullanılarak gösterilebilir.

$Q_r(x)$ = partiküllerin x 'den küçük veya eşit bir boyutta kümülatif dağılımı; r , dağılım tipini yansıtır.

2.8.15.1.4. Toz Akış Özelliklerinin Belirlenmesi

İlaç endüstrisinde tozların yaygın kullanımı, toz akışının karakterize edilmesi için çeşitli yöntemlerin üretilmesini sağlamıştır. Toz davranışı çok yönlüdür ve bu durum toz akışının karakterize edilmesini zorlaştırmaktadır. Toz akışını test etmek için sıkça bildirilen 4 yöntem şunlardır:

1. Yığın açısı,
2. Sıkıştırılabilirlik indeksi veya Hausner oranı,
3. Orifisten akış oranı,
4. Shear hücresi

Bu temel yöntemlerin her birinin çeşitli varyasyonları mevcuttur. Test yöntemleri ve çeşitleri göz önüne alındığında, test metodolojisinin standartlaştırılması yararlı olacaktır. Genel olarak, toz akışını ölçmek için kullanılacak herhangi bir yöntem; pratik, kullanışlı, tekrarlanabilir, hassas olmalıdır ve anlamlı sonuçlar vermelidir.

2.8.15.1.4.1. Yığın Açısı Tayini

Yığın açısı, katıların akış özelliklerini karakterize etmek için çeşitli bilim dallarında kullanılmıştır. Yığın açısı, tanecikler arası sürtünme veya tanecikler arasındaki harekete karşı

direnç ile ilgili bir karakteristiktir. Yığın açısı tayini sonuçlarının kullanılan metoda oldukça bağlı olduğu bildirilmiştir. Deneysel zorluklar, tozların segregasyonu ve koninin oluşturulması sırasında tozun havalandırılmasından kaynaklanmaktadır. Zorluklarına rağmen, yöntem ilaç endüstrisinde kullanılmaya devam edilmekte ve üretim problemlerini tahmin etmede kullanılmaktadır. Yığın açısı kullanılarak toz akışının niteliksel tanımlamasında bazı değişiklikler olmasına rağmen, farmasötik literatürünün çoğu Carr'ın sınıflandırması ile tutarlılık göstermektedir (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. Toz Akış Özellikleri ile Yığın Açısı İlişkisi

Toz Akış Özellikleri	Yığın açısı (derece)
Mükemmel	25-30
İyi	31-35
Vasat	36-40
Orta	41-45
Kötü	46-55
Çok kötü	56-65
Çok, çok kötü	> 66

$$\text{Yığın açısı: } \tan \alpha = \text{Yükseklik} / 0,5 * \text{Taban}$$

2.8.15.1.5. Dozaj Ünitelerinin Tekdüzeliliği

Dozun tekdüze ve doğru bir şekilde olmasını sağlamak için, bir serideki her ürünün, etikette yazan dar bir aralıkta etkin bir madde içeriğine sahip olması gerekir aksi belirtilmedikçe dozaj birimlerinin spesifikasyonunun tekdüzeliği, kutanöz uygulama için tek dozlu kaplardaki süspansiyonlar, emülsiyonlar veya jeller için aranmaz. İçerik tekdüzeliği testi, multivitamin ve eser element preparatları için gerekli değildir. “Dozaj ünitesinin tekdüzeliği” terimi, dozaj üniteleri içerisindeki aktif maddenin miktarındaki tekdüzelik derecesi olarak tanımlanmaktadır (Tablo 2.5).

Dozaj ünitelerinin tekdüzeliği, iki yöntemden biri ile gösterilebilir:

1. İçerik tekdüzeliği
2. Ağırlık sapması

Tablo 2.5. Doz ve Etkin Maddenin Oranı

Dozaj formu	Tipi	Alt tipi	Doz ve etkin maddenin oranı	
			$\geq 25\text{mg}$ ve $\geq \%25$	$<25\text{mg}$ ya da $<\%25$
Tablet	Kaplanmamış		Ağırlık sapması	İçerik tekdüzeliği
	Kaplanmış	Film Kaplı	Ağırlık sapması	İçerik tekdüzeliği
		Diğerleri	İçerik tekdüzeliği	İçerik tekdüzeliği
Kapsül	Sert		Ağırlık sapması	İçerik tekdüzeliği
	Yumuşak	Süspansiyon, emülsiyon, jel	İçerik tekdüzeliği	İçerik tekdüzeliği
		Çözelti	Ağırlık sapması	Ağırlık sapması
Tek dozluk katılar	Tek bileşen		Ağırlık sapması	Ağırlık sapması
	Çok bileşen	Dondurularak kurutulmuş çözelti	Ağırlık sapması	Ağırlık sapması
		Diğerleri	İçerik tekdüzeliği	İçerik tekdüzeliği
Tek dozluk çözeltiler			Ağırlık sapması	Ağırlık sapması
Diğerleri			İçerik tekdüzeliği	İçerik tekdüzeliği

2.8.15.1.6. Ağırlık Sapması Testi

Sert jelatin kapsüller için 10 Kapsül ayrı ayrı tartılır. Her kapsülün içeriği uygun bir şekilde çıkarılır. Boş kapsüller ayrı ayrı tartılır ve boş kapsülün kütlesini ilgili brüt kütleden çıkartarak içeriğinin net kütlesi her kapsül için hesaplanır. Her kapsüldeki etken madde, net içerik üzerinden hesaplanır. Kabul değeri hesaplanır.

2.8.16. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR)

FTIR matematiksel Fourier dönüşümü yöntemi ile ışığın infrared yoğunluğuna karşı dalga sayısını ölçen bir kimyasal analitik yöntemdir. Elektromanyetik ışık dizisinin kızıl ötesi bölgesi 14000 cm^{-1} ile 10 cm^{-1} arasındadır ve yakın dalga boylu kızıl ötesi (NIR; $4000\sim 14000\text{ cm}^{-1}$), orta dalga boylu kızıl ötesi (MIR; $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$) ve uzak dalga boylu kızıl ötesi (FIR; $4\sim 400\text{ cm}^{-1}$) olmak üzere üç ana bölgeden oluşmaktadır [102]. Kızıl ötesi radyasyonu kimyasal bağların gerilme, büzülme ve bükülme gibi farklı titreşim hareketleri ile absorbe edilir. Kızıl

ötesi bölgesinde kimyasal bağların titreşimlerdeki değişim ve absorpsiyon özellikleri spektral piklerin oluşmasını sağlar [103].

IR spektrumu, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin parmak izini göstermektedir. Her dalga boyunda ayrı ayrı tarama gerekmez hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar elde edilir. Elektromanyetik ışımının organik moleküller tarafından soğurulması, moleküldeki atomların türüne, düzenlenmesine, moleküllerin şekline, büyüklüğüne bağlı olduğundan spektroskopik yöntemler, organik maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi, yapılarının aydınlatılması, stereokimyasal özelliklerinin bulunması ve saflık kontrolü gibi çok geniş alanda uygulanmaktadır [104-105].

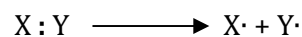
2.8.17. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Genel olarak oksidatif stres prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulduğu patolojik bir durumdur. Canlılarda serbest radikallerin başlıca kaynağı oksijendir. Serbest oksijen radikalleri (SOR) normal hücre metabolizması sırasında ortaya çıkan yan ürünlerdir ve başlıca hedef molekülleri çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitleridir [111].

Serbest radikaller bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal üründür. Atomlardaki elektronlar yörünge olarak bilinen boşluklarda hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur [112].

Bir serbest radikal üç yolla ortaya çıkabilir [113]:

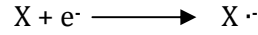
1. Kovalent bağ taşıyan bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar.



2. Bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesiyle oluşurlar ve heterolitik bölünmede kovalent bağ oluşturan her iki elektron atomlardan birisinde kalır.



3. Bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar [112]. Serbest oksijen radikalleri yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif olduklarından tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliği gösterirler ve yapılarının bozulmalarına neden olurlar [114].

2.8.17.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Moleküler oksijen (O₂), birçok metabolik olayda terminal elektron akseptörü olarak görev yaptığından, aerobik canlılar için hayati öneme sahiptir. Fizyolojik şartlarda gerçekleşen pek çok hücresel aktivite, SOR oluşumuna yol açabilmektedir [115-116]. Oksijen dünyada en çok bulunan moleküldür. Oksijen; travma, ödem, oklüzyon gibi dokuda beslenme ve dolaşım bozukluğu meydana getirebilen durumlarda doku tarafından üretilen bazı metabolitlerle reaksiyona girerek serbest oksijen radikallerini oluşturmaktadır.

2.8.17.2. Antioksidanlar

Organizmada tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırasında sürekli olarak oksidanlar üretilmektedir [117]. Bu reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta, antioksidan savunma sistemleri olarak bilinen bazı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge halinde bulunur. Bu radikallerin oluşma hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme dengenin bozulmasına neden olur. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum sonuçta doku hasarına yol açmaktadır [118].

Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi, hem de hücre dışı savunma mekanizmalarıyla etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunma albümin, bilirubin, transferrin, serüloplazmin, ürik asit, vitaminler gibi çeşitli molekülleri içermektedir.

Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadırlar.

Antioksidanlar etkilerini başlıca şu yollarla gösterirler [119]:

- Serbest radikal oluşumunun önlenmesi veya serbest radikallerin ortamdan uzaklaştırılması
- Katalitik metal iyonlarının uzaklaştırılması
- Çöpçü (scavenger) etki; serbest oksijen radikalleri ile etkileşerek onları yakalama ve daha az reaktif başka bir moleküle çevirerek etkisiz hale getirme (antioksidan enzimler)
- Söndürücü (quencher) etki; serbest oksijen radikalleri ile etkileşime girip onlara bir proton aktararak aktivitelerinin azaltılması veya inhibe edilmesi (flavanoidler, vitaminler)
- Onarıcı (repair) etki
- Zincir kırıcı (chain breaking) etki; serbest oksijen radikallerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri bağlayarak zincir reaksiyonlarının yavaşlatılması veya sonlandırılması (transferrin, ferritin, serüloplazmin).

2.8.18. Çalışmanın Amacı

Meryemana dikenî bitkisi (*Silybum marianum* (L) Gaertner) ekstraktı içeren piyasa preparatları, ülkemizde Tarım Bakanlığı izni ile piyasada yer almaktadır. Dolayısıyla bu preparatlar diğer beşerî ilaçlar gibi çeşitli *in vivo* ve *in vitro* kalite kontrol ve güvenlik testlerine tabi tutulmamaktadır. Bu durumun beraberinde getirdiği çeşitli problemler, preparattan beklenen etkinin yeterince gerçekleşmemesine neden olabilir. Yapılan bu çalışma ile piyasada yer alan bu ürünlerde çeşitli kalite kontrol testleri yapılmıştır. Elde edilen veriler ile sağlık alanına ve literatüre katkı sağlayacağı kanısındayız.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Materyal Eldesi

Çalışmanın bu kısmında deneysel araştırmalarda kullanılmak üzere çeşitli firmalarca üretilmiş olan ve eczanelerde satışa sunulan 4 farklı markanın milkthistle sert jelatin kapsül formu piyasadan temin edilmiştir. Testlerde gereken tüm hammaddeler ve materyaller Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji laboratuvarlarından kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Ekipman ve Gereçler

Elek seti ve elek sarsma cihazı (FRITICH ANALYSELTE 3 SPARTAN- Almanya)

Elektronik terazi (ADVENTURER- O'HAUS- Çin)

Tablet dezentegrasyon cihazı (PHARMA TEST- Almanya)

Taramalı Elektron Mikroskopu [SEM] (ZEISS –SUPRA 55-150R ES- Almanya)

FT-IR spektrofotometrisi (BRUKER-ALPHA-101370-LASER CLASS 1- Almanya)

UV Spektrofotometresi (SPECTRO 22-LABOMED İNC.-Almanya)

Manyetik karıştırıcı (VELP SCIENTIFICA-Almanya)

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Distile su (Milipor, ABD; cihazı ile laboratuarda günlük olarak elde edilip kullanılmıştır.)

1N HCl (MERCK, Almanya)

Sodyum dihidrojen fosfat (MERCK, Almanya)

Disodyum hidrojen fosfat (MERCK, Almanya)

Metanol (MERCK, Almanya)

2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (SIGMA-ALDRICH,Almanya)

Folin-Ciocalteu' phenol (SIGMA-ALDRICH,Almanya)

Sodyum Karbonat (MERCK,Almanya)

3.2.1. Suni Mide Vasatının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

HCL 16,6 ml

Distile su 2000 ml

3.2.2. Suni Barsak Vasatının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sodyum dihidrojen fosfat	15,6 g
Disodyum hidrojen fosfat	14,2 g
Distile su	2000 ml

3.4. Kullanılan Yöntemler

3.4.1. Meryemana Dikeni (*Silybum marianum*) Ekstresi İçeren Kapsüllerden Alınan Tozun Testleri

3.4.1.1. Ağırlık Sapması ve İçerik Tekdüzeliliği

Meryemana Dikeni bitkisi sert jelatin kapsüllerinden her numuneden ayrı ayrı 10 kapsül tartıldı. Kapsüllerin içeriği uygun bir şekilde çıkarıldı. Boş kapsüller de ayrı ayrı tartıldı ve boş kapsülün kütlesi ilgili brüt kütleden çıkarılarak içeriğin net kütlesi her kapsül için hesaplandı.

3.4.1.2. Görünür Hacim

Ölçüm mezürüne dört çeşit numune her bir tozumuzdan 20g tartılarak yerleştirildi. Vuruş yapılmadan her numunenin hacmi okundu.

3.4.1.3. Yığın Dansitesive Vuruş Dansitesi

3.4.1.3.1. Yığın Dansitesi

Tüm numuneler 100 ml lik mezürlere ayrı ayrı konuldu ve V_o tayin edildi. Yığın dansitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak her numune için ayrı ayrı hesaplandı.

$$\text{Yığın dansitesi} = M/V_o$$

M =Tartılmış numune örneği

V_o =Sıkıştırılmamış görünür hacim

3.4.1.3.2. Vuruş Dansitesi

Vuruş dansitesi aşağıdaki formül ile her numune için ayrı ayrı hesaplandı.

$$\text{Vuruş Dansitesi} = M/V_f$$

M=Tartılmış numune

V_f=Elde edilen son hacim

3.4.1.4. Akış Özelliklerinin İncelenmesi

3.4.1.4.1. Hausner Oranı

Her numunenin Hausner oranı aşağıdaki formül ile ayrı ayrı hesaplandı.

$$\text{Hausner Oranı} = V_o/V_f$$

V_o=Görünür Hacim

V_f=Son sıkıştırılmış hacim

3.4.1.4.2. Akış Hızı ve Yığın Açısı Tayini

Her bir numuneden 25 ml hacimde alınarak hazırlanan düzeneğe ayrı ayrı akış süresi hesaplandı. Düz bir zemin üzerinde koni oluşturmuş toz yığınının yan yüzeyi ile oturduğu düzlem arasındaki açı hesaplandı ve numunelerin akış özellikleri belirlendi.

3.4.1.5. Elek Analizi

Elek analizinde amaç, toz örnek içerisinde partiküllerin büyüklükleri ve yüzdeleri hesaplamaktır. Uygulamada standart eleklerin bir dizisi, en küçük delikli elek en altta ve en büyük delikli elek en üstte olmak üzere üst üste yerleştirilir. Analiz, örneği en üst eleğe konularak üst kapak kapatılır. Elek seti belirli bir süre mekanik olarak titreştirilerek eleme gerçekleştirilir. Eleme sonrasında eleklerde kalan partiküller alınır, tartılır ve her bir elekte ayrı ayrı kalan kütleler, toplam örneğin kütlesine bölünerek toz partiküllerin % çapları hesaplanır.

Bu çalışmada her bir numunenin partikül büyüklüğü tayini için elek analizi yöntemi kullanıldı. Eleklerin gözenek çapları 20µm, 63µm, 125µm, 250µm, 500µm ve 1mm'dir. Elekler, en büyük gözenekli en üstte, en küçük gözenekli en altta yer alacak şekilde büyükten küçüğe doğru üst üste yerleştirilip elek sarsma cihazına (Fritsch, Almanya) kondu. Hassas olarak

tartılan 1 nolu numuneden alınan 10g örnek en üstteki eleğe konup cihazın kapağı kapatılarak vidaları sıkıldı. Cihaz 5 dakika boyunca uygun titreşimde çalıştırıldı. Eleme işlemi sonucunda elek seti sarsma makinesinden alınarak, her elek üstünde kalan toz miktarı tartılıp veriler kaydedildi. Aynı işlemler tüm numuneler için gerçekleştirildi. Her bir analiz üçer kez tekrarlandı.

3.4.1.6. Meryemana Dikenli Bitkisi Kapsüllerinin Dağılma Testi

3.4.1.6.1. Suda Dağılma testi

Dezintegrasyon çalışmaları, PharmaTest (Almanya) dezintegrasyon cihazında farklı ortamlarda sürekli karıştırılarak (100 rpm) dağılma süresi tayin edildi. Suyun sıcaklığı 37°C'ye getirildi. Tüm numunelerden 6 kapsül kullanılarak ayrı ayrı su içinde dağılma süreleri hesaplandı.

3.4.1.6.2. Suni Mide Vasatında Dağılma Testi

Farmakopeye göre 2L suni mide vasatı hazırlandı. Dezintegrasyon cihazına kondu. Her numunenin kapsüllerinden 6'şar adet dezintegrasyon cihazına yerleştirildi. Suni mide vasatının sıcaklığı 37°C'ye getirildi. Sonra her numune için ayrı ayrı kapsüllerin dağılma süresi hesaplandı.

3.4.1.6.2. Suni Bağırsak Vasatında Dağılma Testi

Farmakopeye göre hazırlanan suni bağırsak vasatından 2L dezintegrasyon cihazına konuldu. Her numuneden üçer kapsül kullanılarak dağılma süreleri hesaplandı.

3.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İncelemesi

Hazırlanan numunelerin mikroskobik yapısı Taramalı Elektron Mikroskobu'nda (SEM) incelendi. Bunun için tüm numuneler platin ile kaplandı, ZeissSupra 55 (Almanya) Taramalı Elektron Mikroskobu'nda incelendi ve resimler dijital olarak kaydedildi.

3.6. Fourier Dönüşümlü Infrared (FT-IR) Spektrumu

Hazırlanan numunelerden Fourier Dönüşümlü Infrared (FT-IR) Spektrofotometre ölçümü (FTIR) için FTIR (Bruker-Alpha-101370-Laser class 1-Almanya) cihazı kullanılarak 4000-400 cm⁻¹ dalga sayıları arasında spektrumları alındı.

3.7. DPPH Antioksidan Kapasitesi Ölçümü

Bir serbest readikal olan DPPH (1,1-difenil-2pikrilhidrazil) radikalinin antioksidan madde tarafından yakalanarak mor renginin açılmasının spektrofotometrede ölçülerek tayin edilmesine dayanır. Radikalın mor renginin açılması antioksidan kapasitesinin varlığını gösterir. Reaksiyon karışımının absorbansının düşmesi serbest radikal giderme aktivesinin yüksek olduğunu gösterir.

Piyasadan temin edilen farklı Meryemana dikenî kapsüllerinden elde edilen metanollueksraktların her birinden 1 er ml alınarak, 4 ml 0,1 mM DPPH (metanolde) çözeltisi ilave edildi. Karışım karanlıkta ve oda koşullarında 30 dk bekletildi. Sonra spektrofotometrede 517nm absorbans değerleri okundu. Deney 3 kez tekrarlandı ve aritmetik ortalamaları alındı. % DPPH radikalı giderme aktivitesi aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{DPPH radikal giderme aktivitesi (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Eksrenin 517nm'deki absorbansı}}{\text{Kontrolün 517nm'deki absorbansı}}\right) \times 100$$

3.8. Fenolik Madde Tayini

Farklı Meryemana dikenî kapsüllerinden elde edilen metanollueksraktlardakifenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile tayin edilmiştir. Bu yöntemde fenolik bileşikler ile Folin-Ciocalteu reaktifi mavi yeşil renklerinde bileşik oluşturmaktadır. Piyasadan temin edilen farklı Meryemana dikenî kapsüllerinden hazırlanan eksraktların her birinden 1ml alındı üzerine 45ml distile su ilave edildi. Sonra 1ml FCR eklendi. 3 dk sonra 3ml %2 lik Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilip oda koşullarında manyetik karıştırıcıda 2 saat bekletildi. Sonra spektrofotometrede 760nm'de absorbans değerleri okundu. Deney 3 defa tekrar edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ağırlık Sapması Kontrolü

Bölüm 3'te açıklandığı üzere her numuneden önce 10'ar tane dolu kapsül ayrı ayrı hassas terazi ile ölçüldü, kapsüller boşaltılıp ölçüm işlemi her boş kapsül için tekrarlandı. Toplam 40 kapsül dolu ve boş olarak tartıldı. Sonuçlar tabloya yazıldı standart sapma değeri hesaplandı (Tablo 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, değerler gram cinsinden verilmiştir).

Tablo 4.1. A Numunesi için Standart Sapma Tablosu

Sıra No	Tanım	Dolu Kapsül	Boş Kapsül	Toz Ağırlığı	Toz Ortalama Ağırlık	Toz Standart Sapma	Toz Standart Sapma %
1	Tartım	0,4940	0,1010	0,3930	0,3964	0,00240416	0,86
2	Tartım	0,4900	0,1010	0,3890	0,3964	0,00523259	1,87
3	Tartım	0,5100	0,1010	0,4090	0,3964	0,00890955	3,18
4	Tartım	0,4910	0,0980	0,3930	0,3964	0,00240416	0,86
5	Tartım	0,4860	0,0960	0,3900	0,3964	0,00452548	1,61
6	Tartım	0,5140	0,1010	0,4130	0,3964	0,01173797	4,19
7	Tartım	0,4960	0,1010	0,3950	0,3964	0,00098995	0,35
8	Tartım	0,5030	0,1030	0,4000	0,3964	0,00254558	0,91
9	Tartım	0,4720	0,0990	0,3730	0,3964	0,01654630	5,90
10	Tartım	0,4930	0,0840	0,4090	0,3964	0,00890955	3,18
Ortalama Standart Sapma						0,01189958	

Tablo 4.2. B Numunesi için Standart Sapma Tablosu

Sıra No	Tanım	Dolu Kapsül	Boş Kapsül	Toz Ağırlığı	Toz Ortalama Ağırlık	Toz Standart Sapma	Toz Standart Sapma %
1	Tartım	0,2840	0,0820	0,2020	0,2886	0,06123545	30,01
2	Tartım	0,3180	0,0780	0,2400	0,2886	0,03436539	16,84
3	Tartım	0,3050	0,0830	0,2220	0,2886	0,04709331	23,08
4	Tartım	0,4010	0,0780	0,3230	0,2886	0,02432447	11,92
5	Tartım	0,4350	0,0890	0,3460	0,2886	0,04058793	19,89
6	Tartım	0,3550	0,0840	0,2710	0,2886	0,01244508	6,10
7	Tartım	0,4600	0,0900	0,3700	0,2886	0,05755849	28,21
8	Tartım	0,3370	0,0830	0,2540	0,2886	0,02446589	11,99
9	Tartım	0,4150	0,0780	0,3370	0,2886	0,03422397	16,77
10	Tartım	0,4090	0,0880	0,3210	0,2886	0,02291026	11,23
Ortalama Standart Sapma						0,05802337	

Tablo 4.3. C Numunesi için Standart Sapma Tablosu

Sıra No	Tanım	Dolu Kapsül	Boş Kapsül	Toz Ağırlığı	Toz Ortalama Ağırlık	Toz Standart Sapma	Toz Standart Sapma %
1	Tartım	0,6380	0,0900	0,5480	0,4917	0,03981011	11,45
2	Tartım	0,6210	0,0930	0,5280	0,4917	0,02566798	7,38
3	Tartım	0,5400	0,0940	0,4460	0,4917	0,03231478	9,29
4	Tartım	0,6400	0,0960	0,5440	0,4917	0,03698168	10,64
5	Tartım	0,5450	0,0930	0,4520	0,4917	0,02807214	8,07
6	Tartım	0,6140	0,0920	0,5220	0,4917	0,02142534	6,16
7	Tartım	0,5440	0,0910	0,4530	0,4917	0,02736503	7,87
8	Tartım	0,5530	0,0950	0,4580	0,4917	0,02382950	6,85
9	Tartım	0,5240	0,0900	0,4340	0,4917	0,04080006	11,73
10	Tartım	0,6350	0,1030	0,5320	0,4917	0,02849640	8,20
Ortalama Standart Sapma						0,04641851	

Tablo 4.4. D Numunesi için Standart Sapma Tablosu

S.No	Tanım	Dolu Kapsül	Boş Kapsül	Toz Ağırlığı	Toz Ortalama Ağırlık	Toz Standart Sapma	Toz Standart Sapma %
1	Tartım	0,7250	0,1190	0,6060	0,6099	0,00275772	0,64
2	Tartım	0,7350	0,1150	0,6200	0,6099	0,00714178	1,66
3	Tartım	0,7210	0,1220	0,5990	0,6099	0,00770746	1,79
4	Tartım	0,7180	0,1210	0,5970	0,6099	0,00912168	2,12
5	Tartım	0,7180	0,1180	0,6000	0,6099	0,00700036	1,62
6	Tartım	0,7500	0,1220	0,6280	0,6099	0,01279863	2,97
7	Tartım	0,7220	0,1210	0,6010	0,6099	0,00629325	1,46
8	Tartım	0,7690	0,1300	0,6390	0,6099	0,02057681	4,77
9	Tartım	0,7420	0,1210	0,6210	0,6099	0,00784889	1,82
10	Tartım	0,7400	0,1520	0,5880	0,6099	0,01548564	3,59
Ortalama Standart Sapma						0,01618264	

Tablo 4.5. Ortalama Standart Sapma Karşılaştırması

Numune	Ortalama Standart Sapma
A	0,01189958
B	0,05802337
C	0,04641851
D	0,01618264

4.2. Görünür Hacim ve Sıkıştırılabilirlik

Vuruştan önceki ve vuruştan sonraki hacimleri ölçülmüştür.

Tablo 4.6. Numune Tozların Görünür Hacmi ve Vuruştan Sonraki Hacimleri

Numune	V0	V100
A	40 ml	37 ml
B	45 ml	38 ml
C	38 ml	37 ml
D	40 ml	38 ml

Vuruştan önceki görünür hacmi veya yığın hacmi: V0

Vuruştan sonraki görünür hacim veya vuruş hacmi: V100

4.3. Yığın Dansitesi

Çıkan sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmış ve tabloya yazılmıştır.

$$\text{Yığın Dansitesi} = M/V_0$$

M=20 g tartılmış numune

V₀=Sıkıştırılmamış görünür hacim

Tablo 4.7. Numunelerin Yığın Dansitelerinin Karşılaştırması

Numune	ml	g	Yığın Dansitesi
A	40	20	0,5000
B	45	20	0,4444
C	38	20	0,5263
D	40	20	0,5000

4.4. Vuruş Dansitesi

Çıkan sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmış ve tabloya yazılmıştır.

$$\text{Vuruş Dansitesi} = M/V_f$$

M=20 g tartılmış numune

V_f=Vuruş sonrası hacim

Tablo.4.8. Numunelerin Vuruş Dansitelerinin Karşılaştırması

Numune	ml	g	Vuruş Dansitesi
A	37	20	0,5405
B	38	20	0,5263
C	37	20	0,5405
D	38	20	0,5263

4.5. Hausner Oranı

Elde edilen sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmış ve tabloya yazılmıştır.

$$\text{Hausner Oranı} = V_o / V_f$$

Tablo 4.9. Numunelerin Hausner Oranı Karşılaştırması

Numune	V _o	V _f	Hausner Oranı
A	40	37	1,0811
B	45	38	1,1842
C	38	37	1,0270
D	40	38	1,0526

Hausner oranına göre numunelerin akış özellikleri belirlenmiş ve aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo.4.10. Numunelerin Akış Özellikleri Karşılaştırması

Numune	Hausner Oranı	Akış Özelliği
A	1,0811	Mükemmel
B	1,1842	İyi
C	1,0270	Mükemmel
D	1,0526	Mükemmel

4.6. Akış Hızı ve Yığın Açısı Tayini

Her numunenin akma süresi üçer defa kronometre ile hesaplandı ve ortalama akış hızı belirlendi. Sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.11. Numunelerin Akış Süresi Karşılaştırması

Numune	Akış Süresi 1	Akış Süresi 2	Akış Süresi 3	Akış Hızı Ortalaması
A	0,87	0,94	0,89	0,90
B	19,75	20,35	19,59	19,90
C	0,58	0,60	0,61	0,60
D	11,65	11,40	11,45	11,50

Her numunenin yığın açıları aşağıdaki formül ile hesaplanmış ve aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

$$\text{Yığın Açısı} = \text{Yükseklik} / \text{Yarıçap}$$

Tablo.4.12. Numunelerin Yığın Açısı Karşılaştırması

Numune	Yükseklik	Yarıçap	Yığın Açısı
A	0,90	5,50	0,1636
B	1,30	4,00	0,3250
C	0,50	9,00	0,0556
D	1,80	4,50	0,4000

Tablo 4.13. Yığın Açısına Göre Toz Akış Özellikleri Tablosu

Yığın Açısı (Derece)	Toz Akış Özellikleri
25-30	Mükemmel
31-35	İyi
36-40	Vasat
41-45	Orta
46-55	Kötü
56-65	Çok Kötü
> 66	Çok, çok kötü

4.7. Elek Analizi ile Partikül Boyutunun Saptanması

Test ettiğimiz meryemana dikenli bitkisi numunelerimizin partikül büyüklüğü elek testi ile tespit edilmiştir. Aşağıdaki tabloda Eleklerin por çaplarına göre numunelerin partikül büyüklüğü dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Elek Analizine Göre Numunelerin Partikül Büyüklüğü Dağılımı

Toplama Kabı	A	B	C	D
20 µm	0,0000	0,0000	0,8580	0,4460
63 µm	4,9500	0,0950	9,4670	4,9250
125 µm	5,4060	1,9100	7,2980	11,3860
250 µm	8,0900	13,5300	0,5360	1,9880
500 µm	1,2950	1,5650	0,1780	0,1790
1 mm	0,2190	1,6580	0,0000	0,0000

Aşağıdaki tablolarda da her numunenin elek porlarındaki % ağırlık dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 4.15. A Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı

Toplama Kabı	A	% Ağırlık
20 µm	0,0000	0,00
63 µm	4,9500	24,80
125 µm	5,4060	27,08
250 µm	8,0900	40,53
500 µm	1,2950	6,49
1 mm	0,2190	1,10

Tablo 4.16. B Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı

Toplama Kabı	B	% Ağırlık
20 µm	0,0000	0,00
63 µm	0,0950	0,51
125 µm	1,9100	10,18
250 µm	13,5300	72,13
500 Mm	1,5650	8,34
1 mm	1,6580	8,84

Tablo 4.17. C Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı

Toplama Kabı	C	% Ağırlık
20 µm	0,8580	4,68
63 µm	9,4670	51,63
125 µm	7,2980	39,80
250 µm	0,5360	2,92
500 µm	0,1780	0,97
1 mm	0,0000	0,00

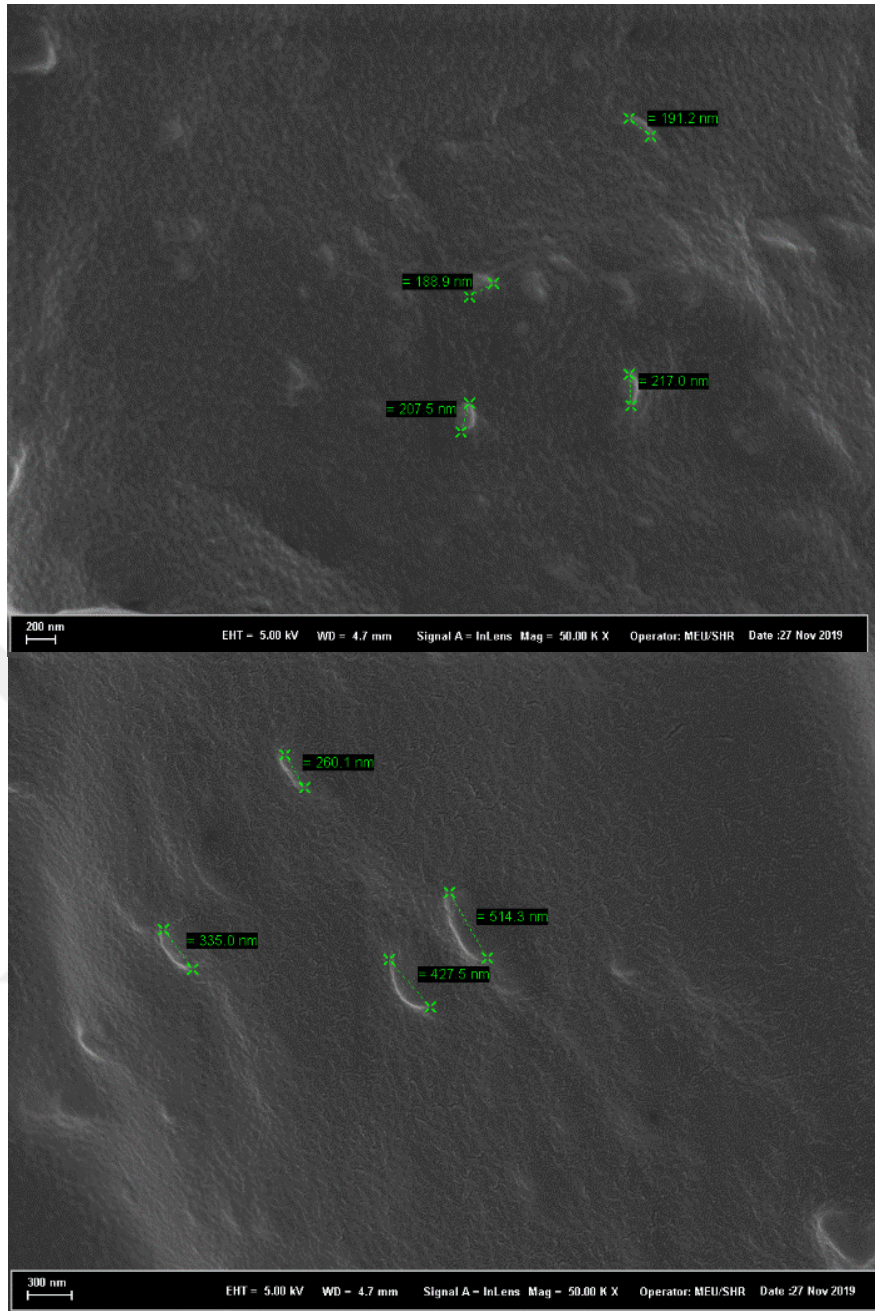
Tablo 4.18. D Numunesinin Elek Porlarında % Ağırlık Dağılımı

Toplama Kabı	D	% Ağırlık
20 µm	0,4460	2,36
63 µm	4,9250	26,03
125 Mm	11,3860	60,17
250 Mm	1,9880	10,51
500 Mm	0,1790	0,95
1 Mm	0,0000	0,00

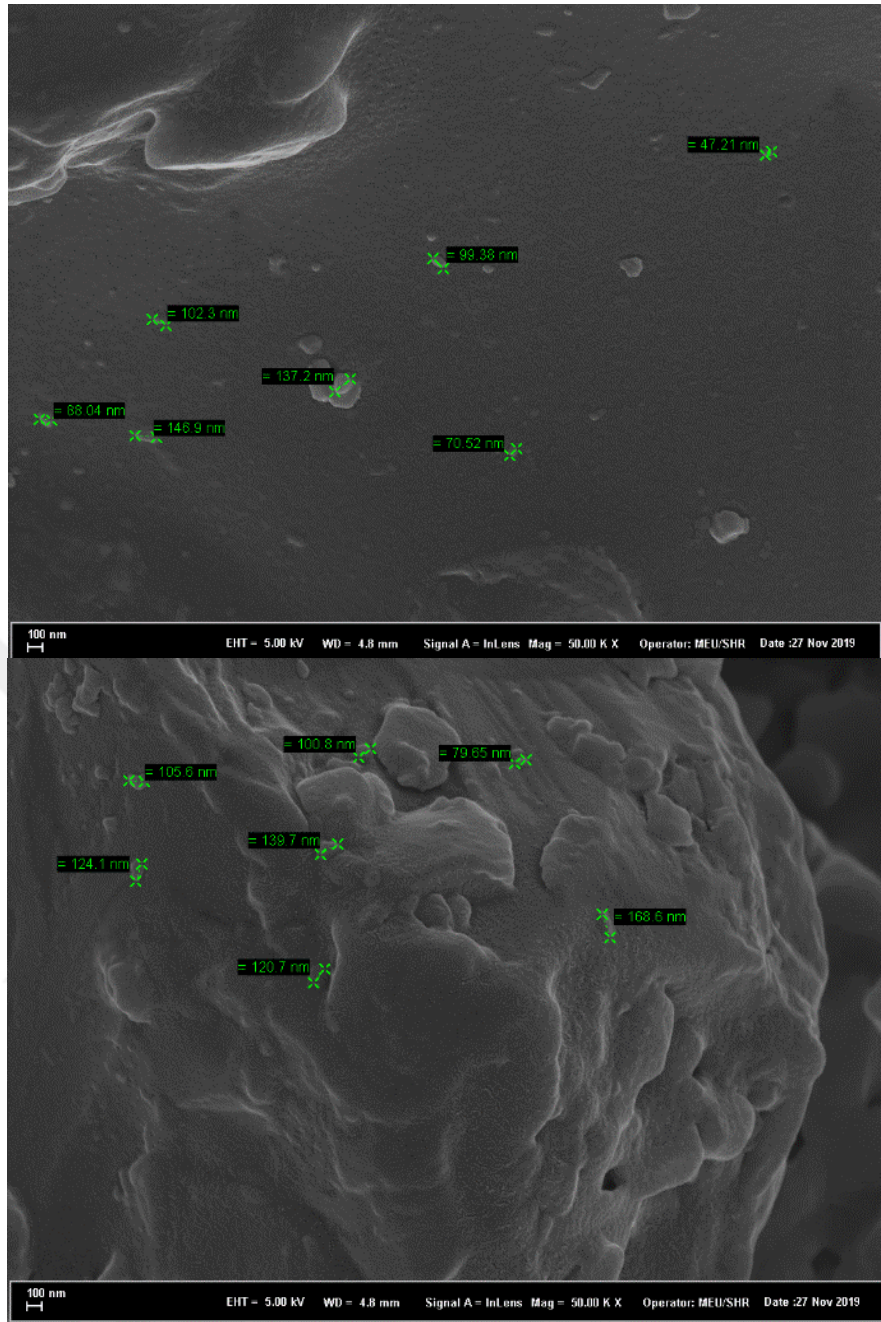
Yapılan elek analizi sonucunda ağırlıklı olarak, A numunesinin %40,53 250 µm, B numunesinin %72,3 250 µm, C numunesinin %51,63 63 µm, D numunesinin %60,17 125 µm partikül büyüklüğüne sahip olduğu bulunmuştur. Farmakopeye göre A ve B numunesi orta derecede ince, C numunesi çok ince, D numunesi incedir.

4.8. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Partikül Boyutunun Saptanması

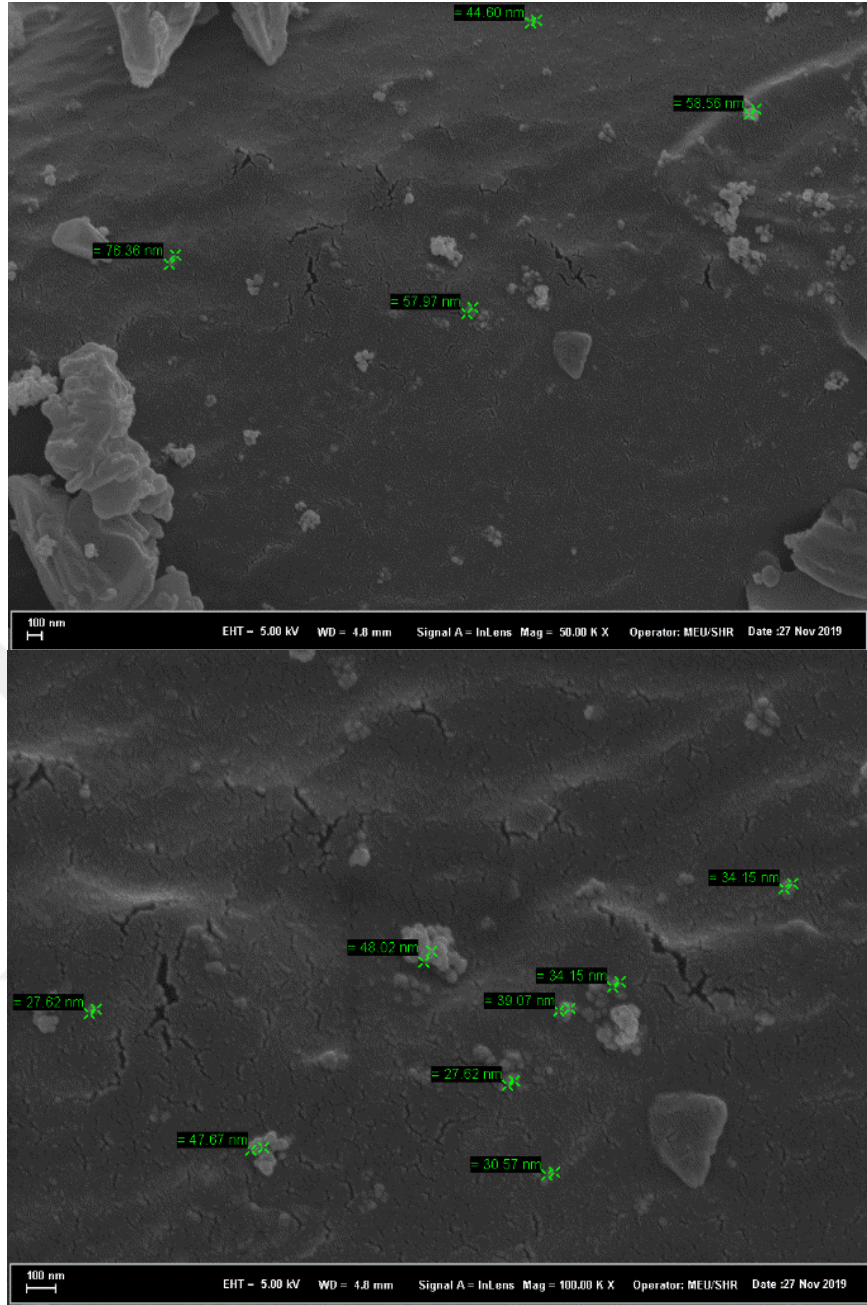
Kapsüllerin içerisindeki tozdan elde edilen Meryemana dikenli numunelerimiz SEM ile analiz edilmiştir. Her numune için ayrı ayrı çalışılmış partikül büyüklükleri incelenmiştir. SEM görüntüleri partikül büyüklükleri tespit etmek amacı ile farklı boyutlardaki ölçümleri kullanılmıştır.



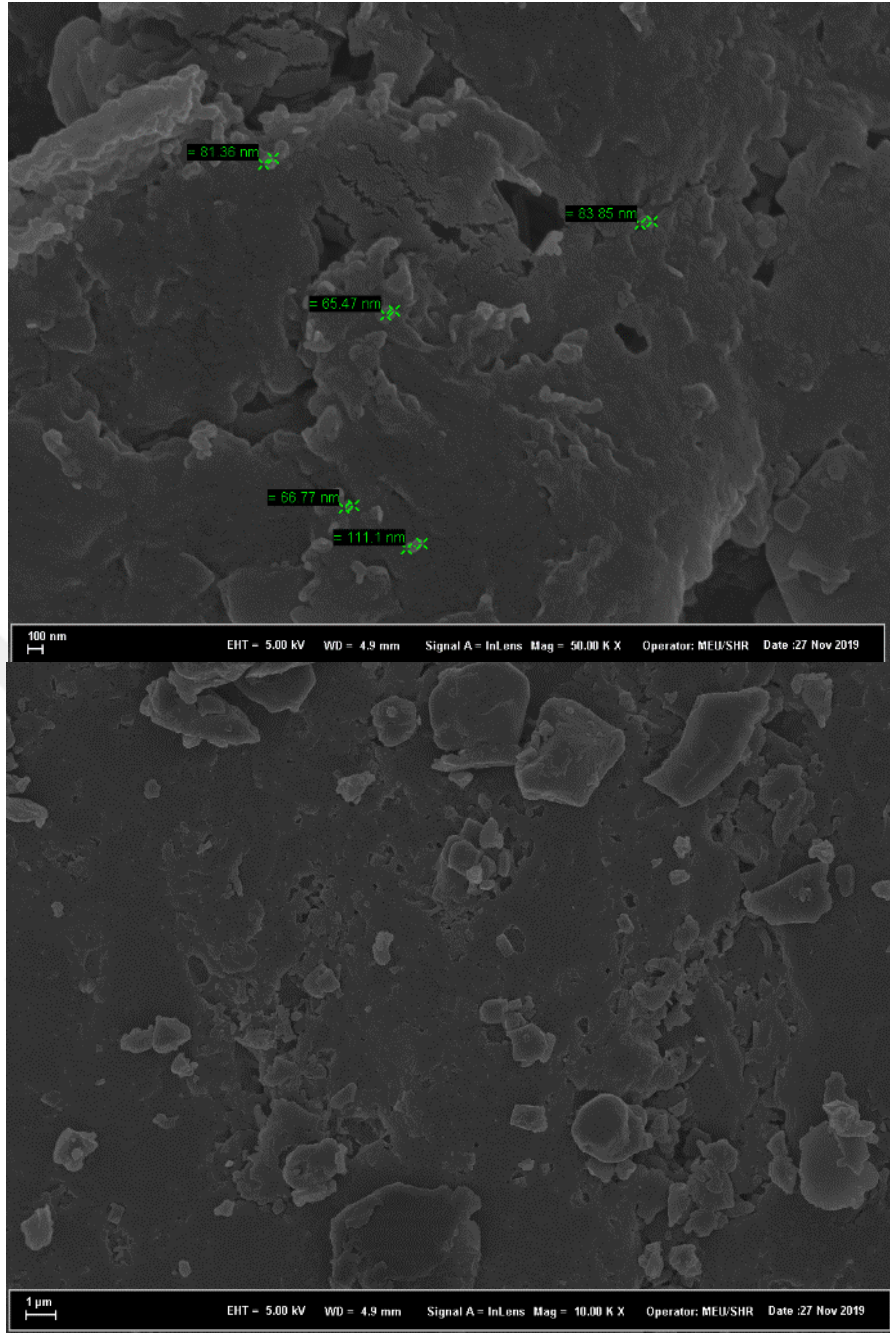
Şekil 4.1. A Numunesinin SEM Görüntüleri



Şekil 4.2. B Numunesinin SEM Görüntüleri



Şekil 4.3. C Numunesinin SEM Görüntüleri



Şekil 4.4. D Numunesinin SEM Görüntüleri

SEM ile yaptığımız incelemede A numunesi içinde partikül büyüklükleri sırası ile 188.9nm, 191.2nm, 207.3nm, 217nm'dir. B numunesi için partikül büyüklükleri 47.21nm, 70.52nm, 88.04nm, 99.38nm, 102.3nm, 137.2nm, 160nm, 185.2nm, 205.3nm, 254.3nm'dir. C numunesi için partikül büyüklükleri 21.32nm, 27.62nm, 31.67nm, 34.15nm, 35.26nm, 39.07nm, 39.28nm, 47.67nm, 48.02nm'dir. D numunesi için ise partikül büyüklükleri 65.47nm, 66.77nm, 81.36nm, 83.85nm ve 111.1nm olarak bulunmuştur. Elek analizi ile kıyasladığımızda sonuçlar benzer çıkmıştır. Farmakopeye göre SEM incelemesi sonucu partikül büyüklükleri A ve B numuneleri orta ince, C numunesi çok ince ve D numunesi ince bulundu.

4.9. Dezentegrasyon Testleri

4.9.1. Saf Suda Dağılma Testi

Dezentegrasyon cihazı ile saf suda $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ ısıda kapsüllere uygulanan dağılma testi sonuçları aşağıdaki tabloda (Tablo 4.19) gösterilmiştir. Numune kapsüllerimiz saf suda minimum 3 dk 36 sn ile maksimum 5 dk 33 sn süresi arasında dağıldı.

Tablo 4.19. Saf Suda Kapsüllerin Dağılma Hızı

Numune	Saf Suda Dağılma Süresi
A	5 dk. 33 sn.
B	4 dk. 00 sn.
C	3 dk. 36 sn.
D	5 dk. 05 sn.

4.9.2. Suni Mide Vasatında Dağılma Testi

Dezentegrasyon cihazı ile farmakopeye göre hazırlanmış suni mide vasatında $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ ısıda kapsüllere uygulanan dağılma testi sonuçları aşağıdaki tabloda (Tablo 4.20) gösterilmiştir. Numune kapsüller minimum 1 dk 23 sn ile maksimum 3 dk 20 sn arasında dağılmıştır.

Tablo 4.20. Suni Mide Vasatında Kapsüllerin Dağılma Hızı

Numune	Suni Mide Vasatında Dağılma
A	3 dk. 20 sn.
B	3 dk. 06 sn.
C	1 dk. 23 sn.
D	2 dk. 29 sn.

4.9.3. Suni Bağırsak Vasatında Dağılma Testi

Dezentegrasyon cihazı ile farmakopeye göre hazırlanmış suni bağırsak vasatında $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ ısıda kapsüllere uygulanan dağılma testi sonuçları aşağıdaki tabloda (Tablo 4.21) gösterilmiştir. Numune kapsüller minimum 1 dk 25 sn ile maksimum 2 dk 43 sn arasında tamamen dağılmıştır.

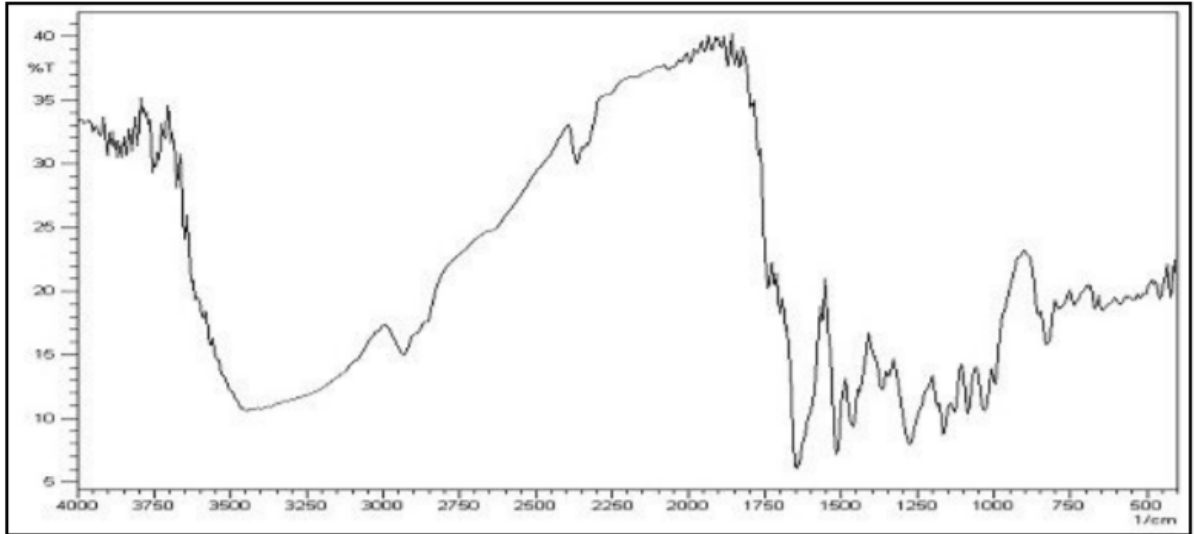
Tablo 4.21. Suni Bağırsak Vasatında Kapsüllerin Dağılma Hızı

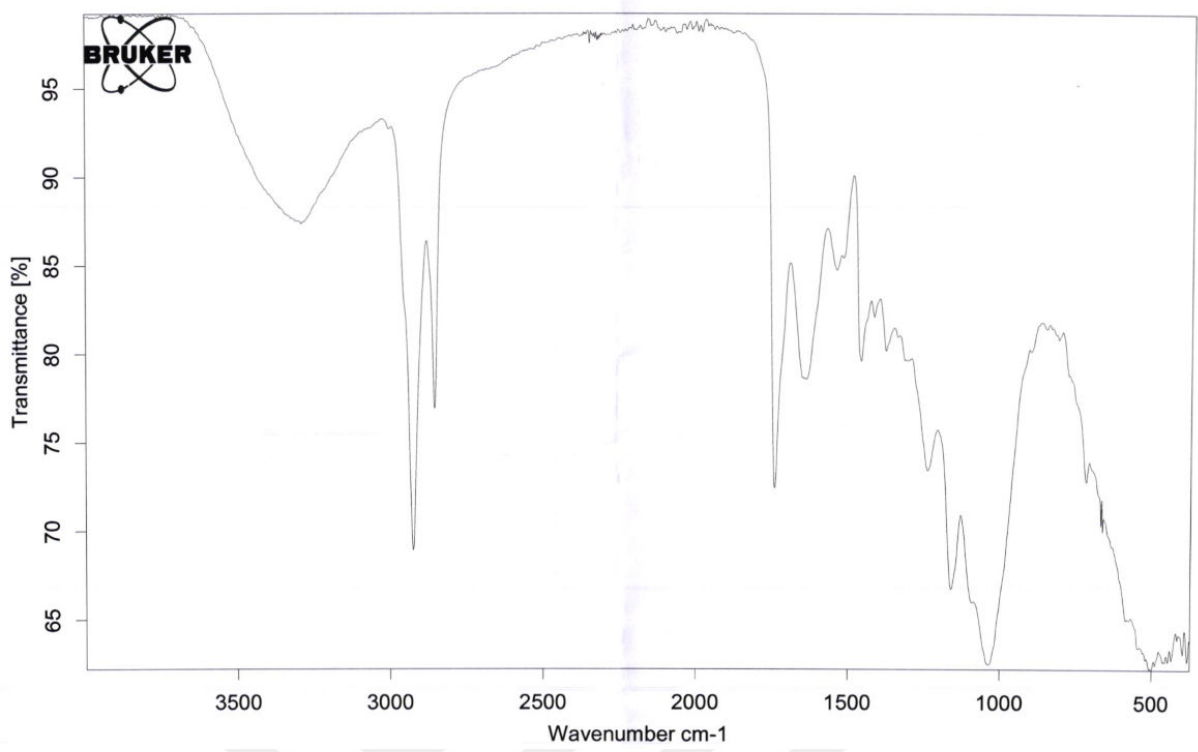
Numune	Suni Bağırsak Vasatında Dağılma
A	2 dk. 43 sn.
B	2 dk. 10 sn.
C	1 dk. 25 sn.
D	2 dk. 05 sn.

Yaptığımız dağılma testlerine göre tüm numuneler midede çözülmetedir.

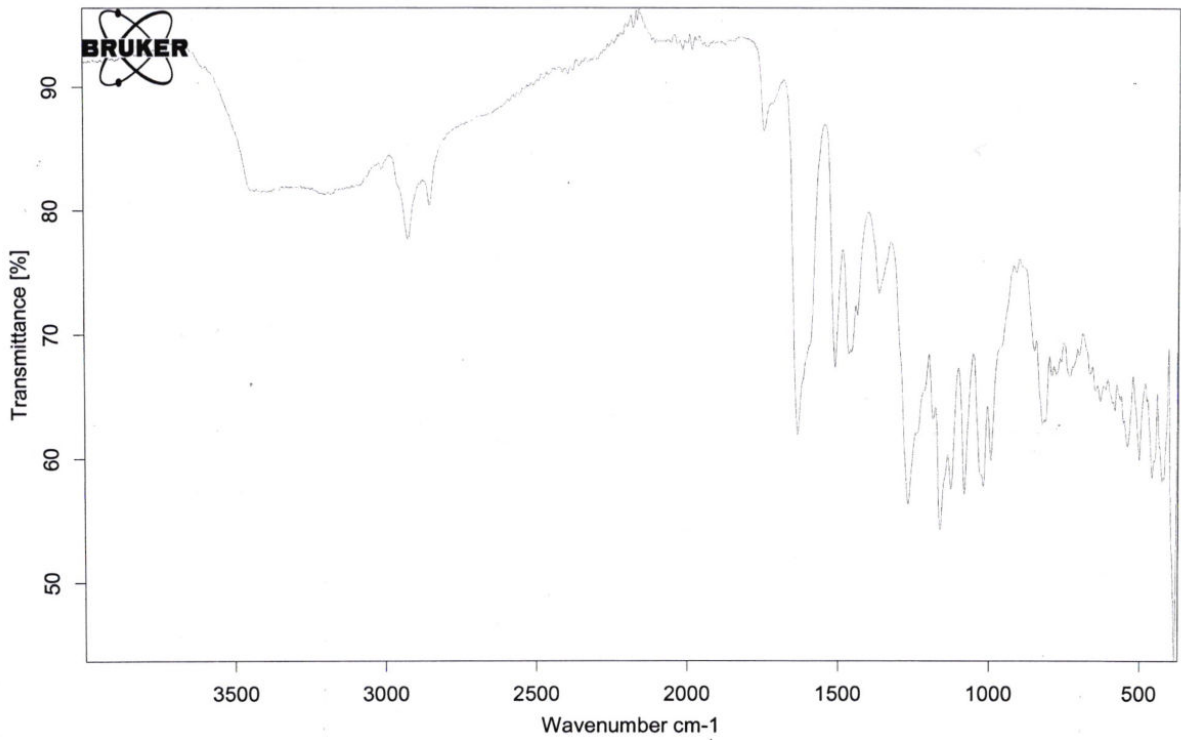
4.9. FT-IR Spektrofotometrisi Analizi

Bölüm 3.6.'da anlatıldığı şekilde elde edilen saf silymarinin IR spektrumunda, fonksiyonel gruplarına ait bantlar Şekil 4.3'de gösterildi. Numunelerimize ait IR spektrumları silymarinin spektrumu ile karşılaştırıldığında, silymarinin açık formülünde görülen belirleyici kimyasal gruplarını ifade eden absorpsiyon bantlarının numunelerden elde edilen IR spektrumunda da yer aldığı saptandı.

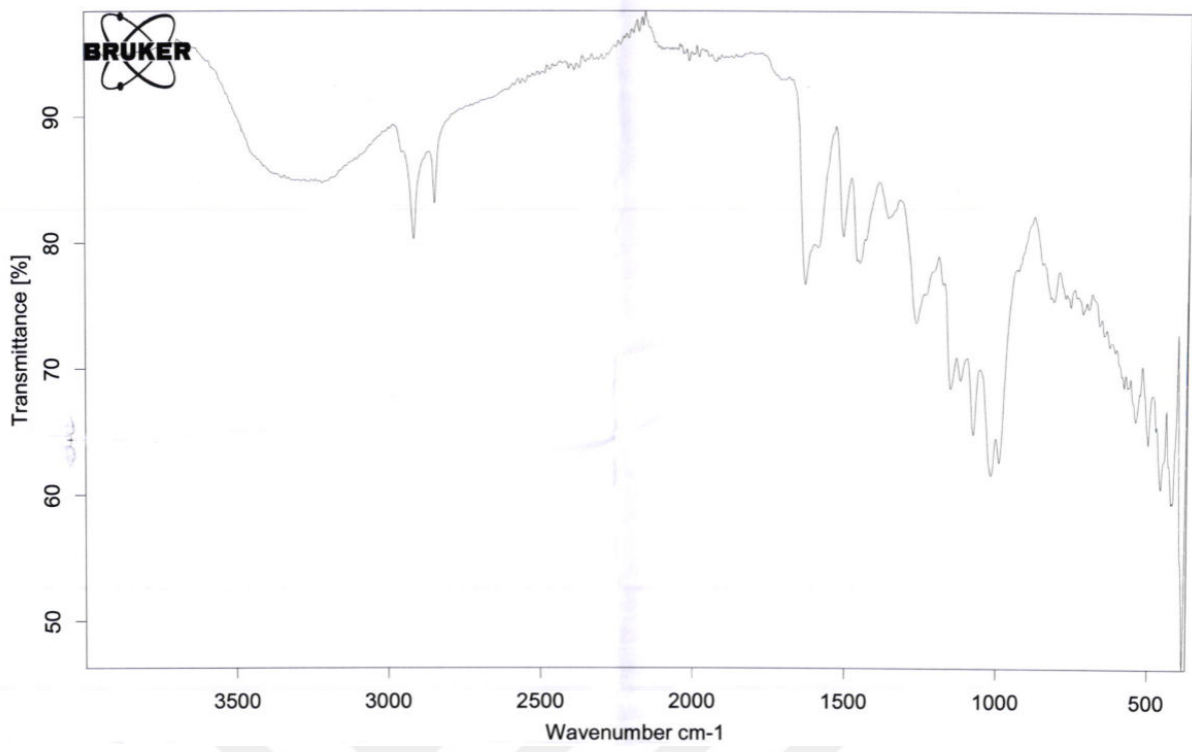
**Şekil 4.5.** FTIR-Saf Silymarin



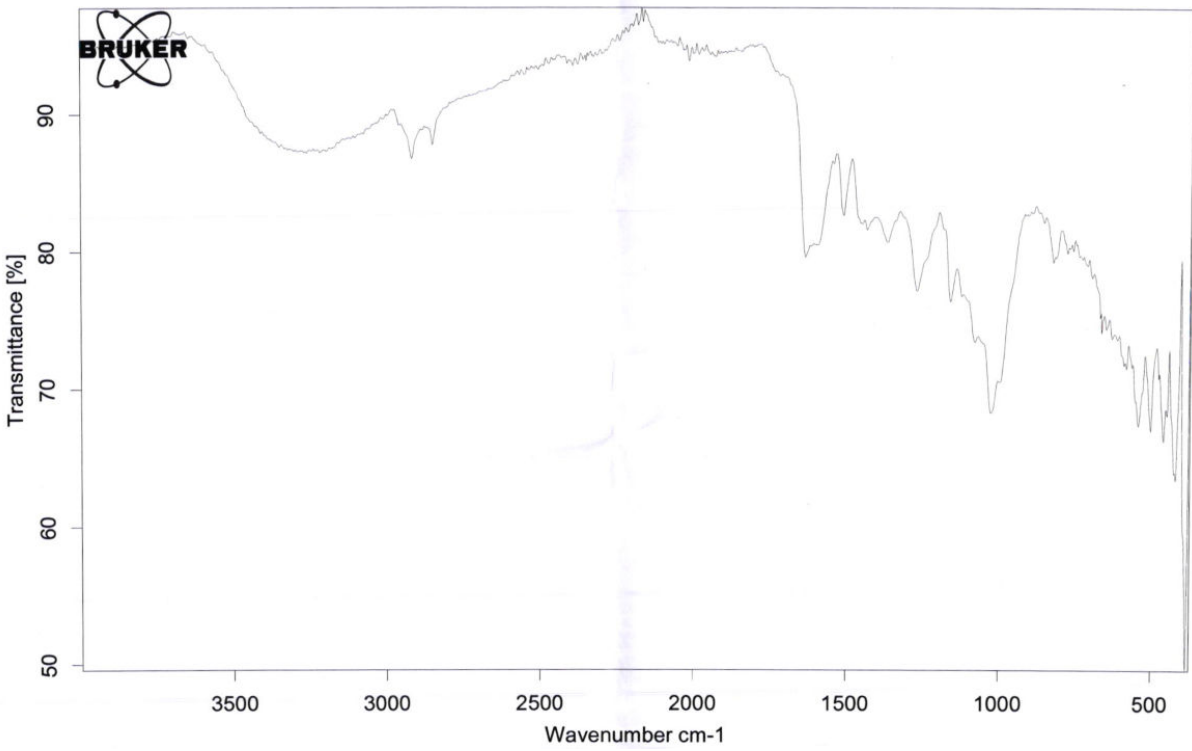
Şekil 4.6. A Numunesinin FT-IR Spektrumu



Şekil 4.7. B Numunesinin FT-IR Spektrumu



Şekil 4.8. C Numunesinin FT-IR Spektrumu



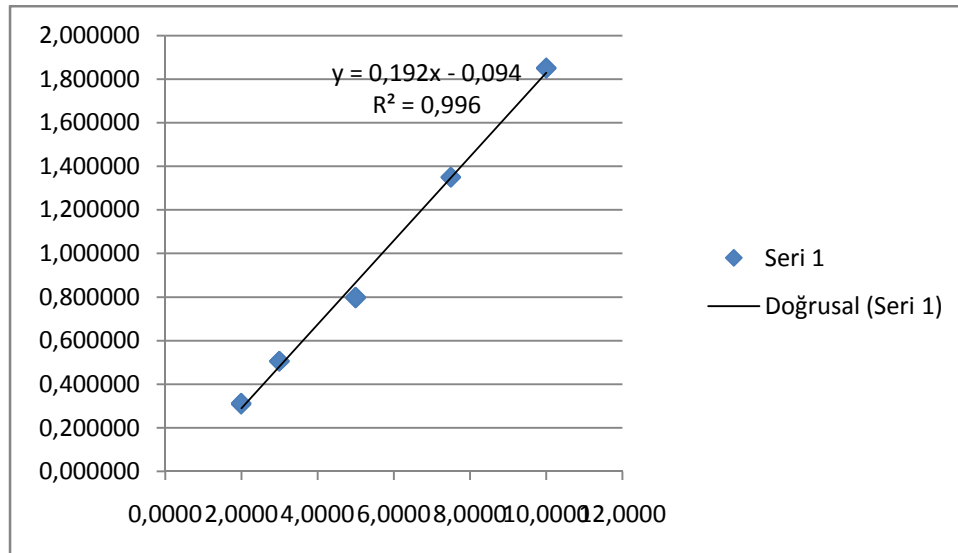
Şekil 4.9. D Numunesinin FT-IR Spektrumu

4.10.DPPH Antioksidan Kapasitesi Ölçümü

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal temizleme yönteminde, kararlı ve sentetik bir radikal olan DPPH kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite tanımlanır. DPPH koyu mor renkte bir radikaldır. Antioksidandan bir proton alarak renksiz α,α -difenil- β -pikrilhidrazil molekülüne dönüşür. Antioksidan madde tarafından indirgenmesi sonucu rengi açılır. Spektrofotometrede 517nm’de absorbansı ölçülür.

Silymarin siroz, toksik kimyasallar ve alkole bağlı yağ infiltrasyonu ve hepatit gibi çeşitli karaciğer hastalıklarında yaygın olarak kullanılan karaciğer koruyucu bir ajan olmakla birlikte etki mekanizması hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte hepatoprotektif etkileri; lipid peroksidasyonunu baskılaması, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azaltması ve serbest radikalleri temizlemesi aracılığıyla gerçekleşen antioksidan etkilerine atfedilebilir.

Bu çalışmada piyasadan temin edilen Meryemana dikenî kapsüllerinin metanollü ekstraktlarından hazırladığımız çalışma çözeltileri DPPH çözeltisi ile karıştırılıp 517nm’de spektrofotometrede absorbans değerleri ölçüldü. Numunenin çözüldüğü metanol ve DPPH çözeltisi kör olarak kullanılmıştır. Standart olarak bütillendirilmiş hidroksitolun (BHT)’ye göre karşılaştırma yapıldı. DPPH radikalini giderme aktivitesi standartımızda % 64 olarak saptanmıştır. Standart ile karşılaştırıldığında en yüksek % DPPH giderme aktivitesi A numunesinde (% 77,7), en düşük % DPPH giderme aktivitesi C numunesinde (% 53,11) hesaplanmıştır (Tablo 4.22 ve Şekil 4.10).



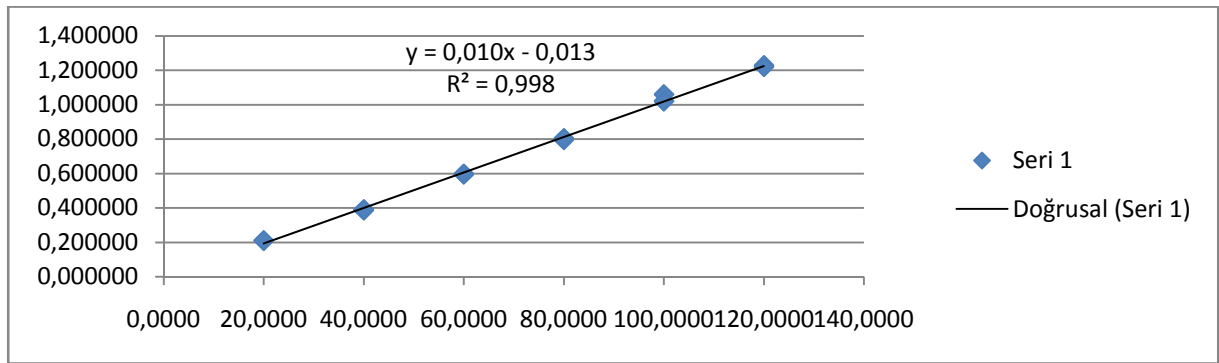
Şekil 4.10. BHT-DPPH için Kalibrasyon Eğrisi

Tablo 4.22. Meryemana Dikeni Ekstrelerinin % DPPH Giderme Aktivitesi

Numune	% DPPH giderme aktivitesi (inhibisyon)
A	77,7
B	54,44
C	53,11
D	62,11

4.11. Fenolik Madde Tayini

Piyasadan temin edilen Meryemana dikeni kapsüllerinin metanollü ekstrelerindeki toplam fenolik maddeler FolinCiocalteuReaktifi (FCR) ile tayin edildi. Ekstrede fenolik madde bulunuyorsa spektrofotometrede 760nm’de maksimum absorbans değeri gözlenir. Absorbans değeri ekstredeki fenolik madde miktarıyla doğru orantılıdır. Bu nedenle gallik asit kullanılarak standart gallik asit grafiği hazırlandı. (Şekil 4.12) FolinCiocalteu metoduna göre yapılan analizde toplam fenolik madde miktarına ait veriler Tablo 4.23’de gösterilmiştir. En yüksek değer B numunesinde 74,63 olarak, en düşük değer ise A numunesinde 26,93 olarak bulunmuştur.

**Şekil 4.11.** Gallik Asit-Total Fenol için Kalibrasyon Eğrisi

Tablo 4.23. Meryemana Dikeni Ekstrelerinin Fenolik Madde Miktarları

Numune	Toplam fenolik madde miktarı (µg GAE/mg)
A	26,93
B	74,63
C	69,4
D	65,26

Bu çalışmada Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Rusya ve Anadolu da yaygın olarak bulunan Meryemana dikeni (*Silybum marianum* L.) bitkisinin ekstraktını içeren sert jelatin kapsüllerin piyasada bulunan dört farklı firmaya ait ürünleri temin edilerek üzerlerinde kalite kontrol çalışmaları yapılmıştır. Alternatif tedavi yöntemi olarak bilinen besinsel ürünlerin (nutrasötiklerin) günümüzde tıbbın her sahasında kullanımı giderek artmaktadır. Bu bitkinin içeriğinde %70 - %80 gibi ciddi bir oranda bulunduğu bilinen silimarin isimli madde nedeniyle etkili bir antioksidandır ve karaciğeri zararlı serbest radikallerden korur.

Numune kapsüllerin ağırlık sapması testleri yapılmış A ve D numunesi farmakopeye uygun, C numunesi farmakope oranına çok yakın, B numunesi ise farmakopeye uygun değildir.

Meryemana dikeni kapsüllerinden alınan bitki ekstraktlarının partikül boyutu elek analizi ile incelendiğinde çıkan sonuçlar farmakopeye uygundur. Numunelerimizin partikül büyüklükleri ince, çok ince ve orta incelikte bulunmuştur. SEM ile yapılan mikroskobik analiz sonuçları da elek analizi ile benzer sonuçlar vermiştir. Numunelerin partikül büyüklükleri yine ince, çok ince ve orta ince olarak tespit edilmiştir. Biyoyararlanım açısından kullanımları uygundur.

Couto R. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda *Eugeniadysenterica* bitkisinin ekstraktından elde edilen tozda yığın açısı 40.3 ± 1.85 bulunmuştur (78). Gallo L. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *V. officinalis* kuru bitki ekstraktının yığın açısını 31 ± 1 Hausner oranını 1.21 ± 0.05 olarak tespit etmişlerdir (77). *R. purshiana* 28, *H. virginiana*, *P. boldus*, *C. asiatica*, *V. officinalis*, *H. perforatum*, *C. scolymus* bitki ekstraktları üzerine yapmış oldukları çalışmada *R. purshiana*'nın yığın açısı 28 ± 10 , *H. virginiana* 28 ± 10 , *P. Boldus* 31 ± 30 , *C. asiatica* yığın açısı 30 ± 20 , *V. officinalis* yığın açısı 21 ± 10 , *H. perforatum* 20 ± 20 , *C. scolymus* 30 ± 10 olarak tespit etmişlerdir. Yığın açısı bize kohesivlikle ilgili nicel bilgiler vermektedir [78]. Yığın açısındaki artış tozun daha kohesiv olduğunu gösterir. Gallo L. ve arkadaşları yığın açısı ile yığın dansitesi arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada yığın dansitesi azaldığında yığın açısının arttığı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda kullandığımız kapsül numunelerinin

yığın dansiteleri A0,5000/B 0,4444/C 0,5263/D 0,5000 olarak bulunmuştur. Bu nedenle kuru ekstraktlar düşük yığın dansitesi olduğunda koheziftirler. Gallo L. ve arkadaşlarının yaptığı çalışma bu açıdan bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir [79].

Masumoto N. ve arkadaşlarının Japonya piyasasında bulunan *Ginkgo Biloba L.* ve *Vitex Agnus-Castus L.* bitki ekstraktlarından yapılan sert jelatin kapsül ve tabletlerin dezentegrasyonu üzerine yaptıkları analizlerde *Ginkgo Biloba L.* içeren sert jelatin kapsüllerin 4.8dk dağıldığı fakat yumuşak jelatin kapsüllerin 14.7dk tablet ve film kaplı tabletlerin 60dk fazla sürede dağıldığını saptamışlardır. *Vitex Agnus-Castus L.* içeren sert jelatin kapsüllerin 5.3dk'da dağıldığı ve bu bitkiye ait tablet ve film kaplı tabletlerin 30dk'da dağıldığı raporlanmıştır. Sert jelatin kapsüller istenen etkinin ortaya çıkması için uygun görülmüştür (82).

Meryemana Dikeni ekstraktı içeren sert jelatin kapsüllerin dağılma sürelerini analiz ettiğimizde saf suda ortalama 4.30 dk'da çözüldüğü, pH 1.2 suni mide vasatında ortalama 2.30 dk'da çözüldüğü, suni bağırsak vasatı pH 6.8 de yaptığımız analizde de ortalama 2dk'da çözüldüğü görülmüştür. Elde edilen sonuçlar literatüre uygundur. Tüm numuneler midede çözünmektedir. Numunelerin dağılma hızı kapsüllerden istenen etkinin ortaya çıkması için yeterlidir. Bu sayede sert jelatin kapsül içerisindeki etken maddenin emilimi hızlı olacaktır. Sert jelatin kapsüller tablet formülasyonlarına göre oldukça avantajlıdır.

Infrared (FT-IR) spektroskopisi; moleküllerdeki çeşitli bağların titreşim frekanslarını ölçer ve moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir ve İki organik bileşiğin aynı olup olmadığının anlaşılmasını sağlar

Meryemana bitkisinin meyvesine ait FT-IR spektrumunun analizinde silimarinin sadece meyvelerin kabuğunda bulunduğu doğrulanmıştır. Kromon karbonil grubu (1660 cm⁻¹), aromatik eter bağlantı grubu (1160 cm⁻¹), fenolik hidroksil grubu (3500 cm⁻¹), keto grubu (1745 cm⁻¹) ve lakton halka grubu (1752) cm⁻¹). Silimarin için karakteristik emilim sadece meyvelerin kabuğunda tespit edilmiştir. Meyvelerin kabuğunda bulunan, endosperm tabakalarında bulunmayan Raman bantları 1605 cm⁻¹'de uzanan simetrik aromatik halka, 1649 cm⁻¹'de uzanan C = C halka ve 1500 cm⁻¹'de asimetrik halka titreşimidir [9]

Texas Southern Üniversitesi Kimya bölümünde, *Silybum marianum L.* ile yapılan çalışmada mikroskopik spektroskopi [SEM] kullanılarak silimarin ekstresi veriminin arttırmak amaçlanmıştır. Bizim yaptığımız çalışma ile ortak noktası da budur. Bizde *Silybum marianum L.* bitki ekstresinin SEM ile partikül büyüklüğünü inceleyerek kalite kontrol çalışmasını gerçekleştirdik.

ABD'de James I. Lee ve arkadaşları piyasada bulunan altı farklı Meryemana dikeni preparatının silimarin bileşenlerinin standartlaştırılmış ekstreleri üzerinde karşılaştırma yapmışlar. Ticari silimarinin standardize edilmiş ekstraktlarında altı aktif bileşenin eşzamanlı

ölçümü için kütle spektrometrisi (MS) ve kombinasyon halinde sıvı kromatografi (LC) ile hassas yöntemler geliştirmişlerdir. Silimarinin içinde bulunan altı izomerik flavonoglinan bileşenlerinin oranları araştırılmış ve her preparatta farklı silimarin bileşiği bulunmuştur. Bu nedenle silimarinin karmaşık bir kimyasal karışıma sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bu araştırmaya göre piyasada bulunan silimarin içeren preparatların kalitesini araştırmak için mutlaka daha ileri hammadde kontrollerine ve analitik analizlere ihtiyaç olduğu sonucuna varmışlardır [106]. Bizim yaptığımız çalışma ile benzer bir çalışma olup kullandığımız metotlar tamamen farklıdır. Biz Meryemana Diken bitkisinin piyasadaki sert jelatin kapsül formlarının farmakopeye göre kalite kontrol testlerini yapıp, FT-IR spektrofotometrisi analizi, DPPH % antioksidan giderme kapasitesi tayini, Fenolik madde tayini ile SEM incelemelerini gerçekleştirerek ürünleri karşılaştırdık. Genel olarak kapsüllerin içerisinde silimarin bileşiğinin varlığını tespit ettik. Literatürde bizim çalışmamıza benzeyen başka bir çalışma bulunamamıştır.

Savita Mishra ve arkadaşları Hindistanda silimarin içeren üç çeşit polimer kaplı sürekli salımlı tablet geliştirmişlerdir. Formülasyonu yapılan tabletlerin kalite kontrolleri için ağırlık değişimi, kırılabilirlik, sertlik, etkileşim çalışmaları, parçalanma ve *in vitro* salım gibi nitel analizler yapmışlardır. Her formülasyonun (F1, F2 ve F3) kalitatif çalışmasındaki küçük farklılıklar, tablet formülasyonu boyunca homojen bir sıkıştırma prosedürünün göstergesidir. Tüm formülasyonlar %1-3 oranında kaplama kullanılarak hazırlanmış ve sertlik, gevreklik ve formüle edilmiş kaplı sentetik ve bitkisel ilaçların en iyi kombinasyonunu belirlemek için analiz edilmiştir. Kırılabilirlik ve ağırlık değişimi her formülasyon için %1'den az bulunmuş. Tablet sertliği, kabul edilebilir resmi sınırlar içindedir. Hazırlanan tabletin enterik kaplama kabiliyeti, tabletleri 0.1 N HCl'de parçalanamayacak hale getirmiştir. Beş tablet, 2 saat boyunca 0.1 N HCl'de tutulmuş, ancak süre boyunca hiçbir ayrışma bildirilmemiştir. Bununla birlikte, ortam fosfat tamponu ile değiştirildiğinde, formülasyon 1, formülasyon 2 ve formülasyon 3'ü sırasıyla sırasıyla parçalamak için (pH 7.4) 30, 20 ve 15 dakika sürmüş ve enterik kaplama tabletlerin her formülasyonu 2 saat içinde 0.1 N HCl'de herhangi bir salım göstermemiştir. Çözünme ortamı, fosfat tamponu ile değiştirilmiş ve ilaç salımı gözlenmiş ve formülasyondasılının %90'a kadar salınmış olduğunu saptamışlardır. Formülasyon 2, silibinin için %98'lik bir salım göstermiş, öte yandan, formülasyon 3, silibinin için %84 olan her iki ilacın orta düzeyde salınımını göstermiştir. Kontrollü salım ortamı nedeniyle, her bir formülasyon maksimum miktarını salmak için minimum 28 saat almıştır. Sonuç olarak polimer kaplı tablet formülasyonları, ilaçların sürekli salınmasını sağlamak için etkili ve yerleşik yöntemlerdir. Termal olarak stabil ve nötr bir lineer polisakarit olan Pullulan kullanılmışlardır. Bu çalışma ile pullulan kaplı tabletin kandaki sabit ilaç konsantrasyonunu muhafaza etme yeteneğine sahip olduğu sonucuna varmışlardır. Bu araştırmada bizim

çalışmamızdan farklı olarak sert jelatin kapsül formu değil polimer kaplı tablet formülasyonu geliştirip kalite kontrol analizlerini yapmışlardır [107].

Adriana Campodonico ve arkadaşları piyasadaki beş çeşit silimarin içeren tablet ve kapsüllerin üzerinde kalite kontrol testleri uygulamışlardır. Kapsül ve tabletlerde çözünme testleri (disolüsyon testi), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve UV spektrofotometrisi analizlerini kullanmışlar. Farmasötikformülasyonlardakisilimarin (SI) değerini tahmin etmek için basit bir çözünme testi geliştirmişlerdir. Çözünme testinde saf su yerine sodyum laurilsülfat kullanmışlardır. Sonuçlar, dozaj formunun dağılması koşuluyla, çözünen miktarların etiketli değer %50 ila 90'ı arasında olduğunu göstermiştir. İki ürün bu deneysel koşullarda parçalanamamıştır. Yani farmakokinetik olarak biyoyararlanımı düşük bulunmuştur [108].

Cha Yen Kuen ve arkadaşları hidrofobik olarak modifiye Edilmiş kitosan nanoparçacıklarının kullanıldığı zayıf çözünen bir ilaç olan silibinin yüklenmesi, etkinliği ile ilgili çalışma yapmışlardır. Bu çalışma, hidrofobik olarak değiştirilmiş bir kitosan nanoparçacık (pCNP) sistemi kullanan, suda az çözünen bir fenolik bileşik olan artan ilaç yükleme, terapötik dağıtım ve silibininin (SLB) hücresel birikimini bildirmektedir. Bu çalışmada, kitosan nanoparçacıkları 2,4,6-Trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) analizi ile doğrulandığı gibi bir palmitoil grubunu vermek üzere hidrofobik olarak modifiye edilmiştir. Nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri TNBS analizi kullanılarak incelenmiş ve zayıflatılmış toplam yansıma Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) analizleri yapılmıştır. FTIR profili ve elektron mikroskopisi, pCNP ve pCNP-SLB'nin nano boyutlu partiküller olarak başarılı bir şekilde oluşumunu korurken, Dinamik Işık Saçılması (DLS) ve Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) sonuçları pCNP ve pCNP- arasında boyutta bir genişleme göstermiştir. Nanopartiküllerin sitotoksitesini değerlendirmek için daha sonra A549 akciğer kanseri hücre dizisi kullanılarak bir Metiltiyazolildifenil-tetrazolyum bromür (MTT) sitotoksite deneyi yapılmış. Sitotoksite analizleri, CNP ve pCNP tarafından verildiğinde SLB'nin artırılmış bir etkinliğini sergilemiştir. İlginç bir şekilde, SLB'nin kontrollü salımı pCNP-SLB sistemi kullanılarak sağlanmış, CNP sisteminin hidrofobik modifikasyonuna atfedilen CNP-SLB'ye kıyasla 72 saatlik işlemlerde daha yüksek sitotoksik etkiler ve daha düşük IC50 değerleri sağlanmıştır [109]. Bu çalışmada da bizim de kullandığımız FT-IR ile SEM analizleri geliştirmiş oldukları kitosan nanopartiküllerine uygulanmıştır.

Nisar Ahmet ve arkadaşlarının Hepatoprotektif bitkide (*Silybum marianum* L.) DPPH serbest radikal süpürücü aktivite ve fenotipik fark isimli çalışmasında Meryemana dikenli bitkisinin farklı türleri arasındaki fenotipik farkları değerlendirilmiştir. Beyaz çiçekli bitkiden toplanan genç yapraklar, mor çiçekli bitkiden (%55.1) daha yüksek olan %64.8 aktivite sergilemiştir. Her iki çeşitten toplanan ana gövde, %50 ila 52 arasında benzer aktivite

saptanmıştır. Beyaz çiçekli bitkinin olgun kökleri için %67,2'lik bir aktivite kaydedilmiş ardından mor çeşidin kökleri (%65) izlenmiştir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdaki gibi antioksidan % hesaplamada DPPH yöntemi kullanılmıştır. Bizim çalışmada ise piyasadaki farklı Meryemana bitkisi preparatlarının karşılaştırmasını yaptık ve DPPH yöntemi ile %77.77, %54.44, %53.11 ve %62.11 sonuçlarına ulaştık. Bitkinin farklı türlerinde ve piyasadaki farklı preparatlarında birbirlerine yakın antioksidan aktivite gözlenmiştir. Özellikle B ve C numunelerinin sonuçları birbirine çok yakın bulunmuştur. A ve D numunelerinde farklılık vardır [110].

Çiğdem Çelebi, Fesleğenin fenolik madde dağılımı ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi isimli tez çalışmasında, bizim çalışmamızdaki gibi DPPH % giderme kapasitesi tayini, fenolik madde tayini analizlerini yapmıştır. Bu çalışmada 15 çeşit farklı baharat markasının fesleğen numuneleri incelenip karşılaştırılmıştır. Fenolik madde tayininde yöntem benzer olup spektrofotometrede 760 nm de absorbans değerleri ölçülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği (GAE) g olarak mg/g cinsinden $r^2 = 0,998$ bulunmuştur. Bizim Meryemana Dikeni ile yaptığımız fenolik madde tayininde sonuç $r^2 = 0,9983$ olarak bulunmuştur. Fesleğen numunelerinin absorbans değerleri birbirinden çok farklı çıkmıştır. Meryemana Dikeninin ($\mu\text{g GAE/ mg}$) cinsinden fenolik madde miktarları sırasıyla A numunesinde 26,93, B numunesinde 74,63, C numunesinde 69,4, D numunesinde de 65,26 bulunmuştur. Fesleğen numunelerinde yapılan DPPH % antioksidan giderme kapasitesi tayininde sonuçlar %33 ile %80 arasında değişiklik göstermiştir(120). Antioksidan aktivitedeki farklılıkların farklı Meryemana Dikeni bitkilerinin fenolik madde konsantrasyonu içerisindeki antioksidan aktiviteye sahip bileşen unsurlarının farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Meryemana Dikeninde % inhibisyon değerleri incelendiğinde fenolik maddelerin oranları ile antioksidan aktivitenin uyumlu olmadığı görülmektedir.

Araştırdığımız Meryemana Dikeni sert jelatin kapsüllerinin antioksidan içeriği vardır. Yaptığımız % DPPH antioksidan giderme kapasitesi tayinlerinde sonuçlar literatür ile karşılaştırıldığında benzer bulunmuştur. Kapsüller üzerinde yaptığımız analizlerde sadece ağırlık sapması tayininde B numunesi hariç, sonuçlar farmakopeye uygun bulunmuştur. Diğer taraftan fenolik madde miktarlarına bakıldığında karşılaştırma yapabileceğimiz bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Dolayısıyla Meryemana Dikeninin incelediğimiz numuneleri bitkisel destek ürünü olarak önerilebilir. Daha ileri çalışma olarak piyasadaki tablet formülasyonları da incelenebilir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Son yıllarda destekleyici tedavi seçeneklerinin tıp alanında direk artan bir önem kazandığı görülmektedir. Meryemana dikenini de bu doğal ürünlerin başında gelen ve biyolojik yönden aktif birçok bileşiği içerisinde bulunduran bir üründür. Literatürde yer alan çalışmalar ışığında Meryemana dikenini doğal bir ürün olarak umut verici bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmüştür, ancak ekstrakt içeriğinin standardize edilmeden ve hakkında yeterli farmakokinetik-farmakodinamik çalışmalar yapılmadan kullanılmasıyla istenmeyen etkilerin oluşması muhtemeldir. Bir maddenin ilaç olabilmesi için gerekli üç temel özelliği olan hedefe yönelik olması, etkisinin doza bağlı olması ve etkisinin geçici olması gerekmektedir. Bundan dolayı Meryemana dikeninin daha etkili ve verimli kullanılabilmesi için etki mekanizmalarına aydınlatılabilecek moleküler düzeyde yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Modern tıbbın antibiyotik direnci, antineoplastik direnci, bozulmuş homeostazisin düzeltilmesi gibi patolojik durumlarda yetersiz kalması hali yeni ilaç ve tedavi desteklerinin araştırılmasını önemli kılmaktadır. Bu açıdan bakıldığında Meryemana dikenini ileri çalışmalar ve standardizasyon işlemlerinden sonra önemli bir yardımcı tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada farklı firmalardan sağlanan Meryemana dikenini kapsülleri üzerinde farmasötik etkinlik ve kalite kontrol testleri yapılmıştır. Meryemana dikenini bitkisinin sert jelatin kapsüllerinin kalite kontrol testlerinde göstermiş olduğu literatüre uygun sonuçlar sayesinde analizini yaptığımız numunelerin bitkisel destek ürünü olarak kullanımı uygundur.

KAYNAKLAR

- [1] **Alan M. Dattner** From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to the future *Dermatologic Therapy*, 16(2), 2003
- [2] **Castolda, S.,** and Capasso, F., "Propolis an old remedy used in modern medicine" *Fitoterapia*, 73, 51-56 (2002).
- [3] **Kocaman N, Dabak Ö.** (2015). Hepatoprotektif bir ajan: Silymarin. *Fırat Tıp Dergisi*. Cilt 20, Sayı 3, 128-132
- [4] **Baytop, T.,** 1984. Türkiye 'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:40, İstanbul
- [5] **Tanker, M. ve Tanker, N.,** 2003. Farmakognozi Cilt 1. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:66. Ankara
- [6] **Meriçli, A. H.,** 1989. İlaç Hammaddesi Olarak Silybum marianum Flavonolignan ve Flavanoidleri. XIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, Cilt II. Sayfa: 47-54. İstanbul.
- [7] **Demirezer, L. Ö., Ersöz, T., Saracoglu, İ. Ve Sener, B.,** 2007. Türkiye de Kullanılan Bitkiler. 'FFD Monografı'. MN Medikal ve Nobel Tıp Kitapevi 1. Baskı.
- [8] RxMediaPharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı. GEMAŞ Genel Müh. Mek. San. Ve Tic. A.Ş. Programı, Meryemana Diken.
- [9] **L. Duma Hlangothia¹, Fawzia Abdel-Rahman², Thao Nguyen¹, Kevin Anthony¹ and Mahmoud A Saleh^{1*}** Distribution of Silymarin in the Fruit of Silybum marianum ¹Department of Chemistry, Texas Southern University, 3100 Cleburne Street, Houston, Texas 77004, USA
- [10] **Kim YC, Kim EJ, Lee ED, Kim JH, Jang SW, Kim YG, Kwon JW, Kim WB, Lee MG.** (2003) Comparative bioavailability of silibinin in healthy male volunteers. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 41, 593-596.
- [11] **Wu JW, Lin LC, Tsai TH.** (2009) Drug-drug interactions of silymarin on the perspective of pharmacokinetics. *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 185-193.
- [12] **Wen Z, Dumas TE, Schrieber SJ, Hawke RL, Fried MW, Smith PC.** (2008) Pharmacokinetics and metabolic profile of free, conjugated, and total silymarin flavonolignans in human plasma after oral administration of milk thistle extract. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 36, 65-72.
- [13] **Calani L, Brighenti F, Bruni R, Del Rio D.** (2012) Absorption and metabolism of milk thistle flavonolignans in humans. *Phytomedicine*, 20, 40-46.
- [14] **Post-White J, Ladas EJ, Kelly KM.** (2007) Advances in the Use of Milk Thistle (Silybum marianum). *Integrative Cancer Therapies*, 6, 104-109.
- [15] **Brantley SJ, Oberlies NH, Kroll DJ, Paine MF.** (2010) Two flavonolignans from milk thistle (Silybum marianum) inhibit CYP2C9-mediated warfarin metabolism at clinically achievable concentrations. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 332, 1081-1087.

- [16] **Kren V, Walterová D.** (2005) Silybin and silymarin-new effects and applications. Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia, 149, 29-41.
- [17] **Abenavoli L, Capasso R,** Milic N, Capasso F. (2010) Milkthistle in liver diseases: past, present and future. *Phytotherapy Research*, 24, 1423-1432.
- [18] **Abenavoli L, Aviello G,** Capasso R, Milic N, Capasso F. (2011) Milkthistle for treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatitis Monthly*, 11, 173-177.
- [19] **Tzeng JI, Chen MF,** Chung HH, Cheng JT. (2013) Silymarin decreases connective tissue growth factor to improve liver fibrosis in rats treated with carbontetrachloride. *Phytotherapy Research*, 27, 1023-1028
- [20] **Kwon do Y, Jung YS, Kim SJ,** Kim YS, Choi DW, Kim YC. (2013) Alterations in sulfur amino acid metabolism in mice treated with silymarin: a novel mechanism of its action involved in enhancement of the antioxidant defense in liver. *Planta Medica*, 79, 997-1002.
- [21] **Pradhan SC, Girish C.** (2006) Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *The Indian Journal of Medical Research*, 124, 491-504.
- [22] **Shaker E, Mahmoud H,** Mnaa S. (2010) Silymarin, the antioxidant component and Silybum marianum extracts prevent liver damage. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 48, 803-806.
- [23] **Parés A, Planas R,** Torres M, Caballería J, Viver JM, Acero D, Panés J, Rigau J, Santos J, Rodés J. (1998) Effects of silymarin in alcoholic patients with cirrhosis of the liver: results of a controlled, double-blind, randomized and multicenter trial. *Journal of Hepatology*, 28, 615-621
- [24] **Mayer KE, Myers RP,** Lee SS. (2005) Silymarin treatment of viral hepatitis: a systematic review. *Journal of Viral Hepatitis*, 12, 559-567
- [25] **Yin F, Liu J, Ji X, Wang Y,** Zidichouski J, Zhang J. (2011) Silibinin: a novel inhibitor of A β aggregation. *Neurochemistry International*, 58, 399-403
- [26] **Lu P, Mamiya T, Lu L,** Mouri A, Niwa M, Kim HC, Zou LB, Nagai T, Yamada K, Ikejima T, Nabeshima T. (2010) Silibinin attenuates cognitive deficits and decreases of dopamine and serotonin induced by repeated methamphetamine treatment. *Behavioural Brain Research*, 207, 387-393
- [27] **Baluchnejadmojarad T,** Roghani M, Mafakheri M. (2010) Neuroprotective effect of silymarin in 6-hydroxydopamine hemi-Parkinsonian rat: Involvement of estrogen receptors and oxidative stress. *Neuroscience Letters*, 480, 206-210
- [28] **Bhatia N, Zhao J,** Wolf DM, Agarwal R. (1999) Inhibition of human carcinoma cell growth and DNA synthesis by silibinin, an active constituent of milkthistle: comparison with silymarin. *Cancer Letters*, 147, 77-84
- [29] **Katiyar SK, Korman NJ,** Mukhtar H, Agarwal R. (1997) Protective effects of silymarin against photocarcinogenesis in a mouse skin model. *Journal of the National Cancer Institute*, 89, 556-566.

- [30] **Pinnell SR.** (2003) Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48, 1–19.
- [31] **Liu W, Otkur W, Li L, Wang Q, He H, Zang L, Hayashi T, Tashiro S, Onodera S, Xia M, Ikejima T.** (2013) Interference of silibinin with IGF-1R signalling pathways protects human epidermoid carcinoma A431 cells from UVB-induced apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 432, 314–319
- [32] **Singh RP, Agarwal R.** (2005) Mechanisms and preclinical efficacy of silibinin in preventing skin cancer. *European Journal of Cancer*, 41, 1969–1979
- [33] **Ramakrishnan G, Augustine TA, Jagan S, Vinodhkumar R, Devaki T.** (2007) Effect of silymarin on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis in rats. *Experimental Oncology*, 29, 39–44
- [34] **Zi X, Feyes DK, Agarwal R.** (1998) Anticarcinogenic effect of a flavonoid antioxidant, silymarin, in human breast cancer cells MDA-MB 468: induction of G1 arrest through an increase in Cip1/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of cyclin-dependent kinases and associated cyclins. *Clinical Cancer Research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 4, 1055–1064
- [35] **Lin ZY, Chuang WL.** (2011) Influence of silibinin on differential expressions of total cytokine genes in human hepatocellular carcinoma cell lines. *Biomedicine and Preventive Nutrition*, 1, 91–94
- [36] **Lee SO, Jeong YJ, Im HG, Kim CH, Chang YC, Lee IS.** (2007) Silibinin suppresses PMA-induced MMP-9 expression by blocking the AP-1 activation via MAPK signaling pathways in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 354, 165–171.
- [37] **Kim S, Choi JH, Lim HI, Lee SK, Kim WW, Kim JS, Kim JH, Choe JH, Yang JH, Nam SJ, Lee JE.** (2009) Silibinin prevents TPA-induced MMP-9 expression and VEGF secretion by inactivation of the Raf/MEK/ERK pathway in MCF-7 human breast cancer cells. *Phytomedicine*, 16, 573–580.
- [38] **Xu P, Yin Q, Shen J, Chen L, Yu H, Zhang Z, Li Y.** (2013) Synergistic inhibition of breast cancer metastasis by silibinin-loaded lipid nanoparticles containing TPGS. *International Journal of Pharmaceutics*, 454, 21–30.
- [39] **Lu W, Lin C, King TD, Chen H, Reynolds RC, Li Y.** (2012) Silibinin inhibits Wnt/ β -catenin signaling by suppressing Wnt co-receptor LRP6 expression in human prostate and breast cancer cells. *Cellular Signalling*, 24, 2291–2296.
- [40] **Gallo D, Giacomelli S, Ferlini C, Raspaglio G, Apollonio P, Prislei S, Riva A, Morazzoni P, Bombardelli E, Scambia G.** (2003) Antitumor activity of the silybin-phosphatidyl choline complex, IdB 1016, against human ovarian cancer. *European Journal of Cancer*, 39, 2403–2410.
- [41] **Zhou L, Liu P, Chen B, Wang Y, Wang X, Chiriva Internati M, Wachtel MS, Frezza EE.** (2008) Silibinin restores paclitaxel sensitivity to paclitaxel-resistant human ovarian carcinoma cells. *Anticancer Research*, 28, 1119–1127.
- [42] **Huang Q, Wu LJ, Tashiro S, Onodera S, Li LH, Ikejima T.** (2005) Silymarin augments human cervical cancer HeLa cell apoptosis via P38/JNK/MAPK pathways in serum-free medium. *Journal of Asian Natural Products Research*, 7, 701–709.

[43] **García-Maceira P, Mateo J.** (2009) Silibinin inhibits hypoxia-inducible factor-1 α and mTOR/p70S6K/4E-BP1 signalling pathway in human cervical and hepatoma cancer cells: implications for anticancer therapy. *Oncogene*, 28, 313-324.

[43] **Vinh PQ, Sugie S, Tanaka T,** Hara A, Yamada Y, Katayama M, Deguchi T, Mori H. (2002) Chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in male ICR mice. *Japanese Journal of Cancer Research: Gann*, 93, 42-49.

[44] **Singh RP, Tyagi A, Sharma G,** Mohan S, Agarwal R. (2008) Oral silibinin inhibits in vivo human bladder tumor xenograft growth involving down regulation of survivin. *Clinical Cancer Research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 14, 300-308.

[45] **Singh RP, Mallikarjuna GU,** Sharma G, Dhanalakshmi S, Tyagi AK, Chan DC, Agarwal C, Agarwal R. (2004) Oral silibinin inhibits lung tumor growth in athymic nude mice and forms a novel chemocombination with doxorubicin targeting NF-kB-mediated inducible chemoresistance. *Clinical Cancer Research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 10, 8641-8647.

[46] **Sadava D, Kane SE.** (2013) Silibinin reverses drug resistance in human small-cell lung carcinoma cells. *Cancer Letters*, 339, 102-106.

[47] **Singh RP, Deep G, Chittezhath M,** Kaur M, Dwyer-Nield LD, Malkinson AM, Agarwal R. (2006) Effect of silibinin on the growth and progression of primary lung tumors in mice. *Journal of the National Cancer Institute*, 98, 846-855.

[48] **Chittezhath M, Deep G, Singh RP,** Agarwal C, Agarwal R. (2008) Silibinin inhibits cytokine-induced signaling cascades and down-regulates inducible NO synthase in human lung carcinoma A549 cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7, 1817-1826.

[49] **Cufí S, Bonavia R, Vazquez-Martin A,** Corominas-Faja B, Oliveras-Ferraro C, Cuyàs E, Martín-Castillo B, Barrajón-Catalán E, Visa J, Segura Carretero A, Bosch-Barrera J, Joven J, Micol V, Menéndez JA. (2013) Silibinin meglumine, a water-soluble form of milk thistle silymarin, is an orally active anti-cancer agent that impedes the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in EGFR-mutant non-small-cell lung carcinoma cells. *Food and Chemical Toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 60, 360-368.

[50] **Davis-Searles PR, Nakanishi Y, Kim NC,** Graf TN, Oberlies NH, Wani MC, Wall ME, Agarwal R, Kroll DJ. (2005) Milk thistle and prostate cancer: differential effects of pure flavonolignans from *Silybum marianum* on antiproliferative endpoints in human prostate carcinoma cells. *Cancer Research*, 65, 4448-4457.

[51] **Singh RP, Agarwal R.** (2004) A cancer chemopreventive agent silibinin, targets mitogenic and survival signaling in prostate cancer. *Mutation Research*, 555, 21-32.

[52] **Verschöyle RD, Greaves P, Patel K, Marsden DA,** Brown K, Steward WP, Gescher AJ. (2008) Evaluation of the cancer chemopreventive efficacy of silibinin in genetic mouse models of prostate and intestinal carcinogenesis: Relationship with silibinin levels. *European Journal of Cancer*, 44, 898-906.

[53] **Raina K, Blouin MJ,** Singh RP, Majeed N, Deep G, Varghese L, Glodé LM, Greenberg NM, Hwang D, Cohen P, Pollak MN, Agarwal R. (2007) Dietary feeding of silibinin inhibits prostate

tumor growth and progression in transgenic adenocarcinoma of the Mouse prostate model. *CancerResearch*, 67, 11083-11091.

[54] **Su CH, Chen LJ, Liao JF, Cheng JT.** (2013) Increase of phosphatase and tensin homolog by silymarin to inhibit human pharynx squamous cancer. *Journal of Medicinal Food*, 16, 778-784.

[55] **Zhang Y, Li Q, Ge Y, Chen Y, Chen J, Dong Y, Shi W.** (2013) Silibinin triggers apoptosis and cell-cycle arrest of SGC7901 cells. *Phytotherapy Research*, 27, 397-403.

[56] **Hogan FS, Krishnegowda NK, Mikhailova M, Kahlenberg MS.** (2007) Flavonoid, silibinin, inhibits proliferation and promotes cell-cycle arrest of human colon cancer. *The Journal of Surgical Research*, 143, 58-65.

[57] **Kohno H, Tanaka T, Kawabata K, Hirose Y, Sugie S, Tsuda H, Mori H.** (2002) Silymarin, a naturally occurring polyphenolic antioxidant flavonoid, inhibits azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats. *International Journal of Cancer*, 101, 461-468.

[58] **Sangeetha N, Viswanathan P, Balasubramanian T, Nalini N.** (2012) Colon cancer chemopreventive efficacy of silibinin through perturbation of xenobiotic metabolizing enzymes in experimental rats. *European Journal of Pharmacology*, 674, 430-438.

[59] **Singh RP, Gu M, Agarwal R.** (2008) Silibinin inhibits colorectal cancer growth by inhibiting tumor cell proliferation and angiogenesis. *Cancer Research*, 68, 2043-2050.

[60] **Nambiar D, Prajapati V, Agarwal R, Singh RP.** (2012) In vitro and in vivo anticancer efficacy of silibinin against human pancreatic cancer BxPC-3 and PANC-1 cells. *Cancer Letters*, pii: S0304-3835(12)00539-3. doi: 10.1016/j.canlet.2012.09.004.

[61] **Kang SN, Lee MH, Kim KM, Cho D, Kim TS.** (2001) Induction of human promyelocytic leukemia HL-60 cell differentiation into monocytes by silibinin: involvement of protein kinase C. *Biochemical Pharmacology*, 61, 1487-1495.

[62] **Zhong X, Zhu Y, Lu Q, Zhang J, Ge Z, Zheng S.** (2006) Silymarin causes caspases activation and apoptosis in K562 leukemia cells through inactivation of Akt pathway. *Toxicology*, 227, 211-216.

[63] **Zhang J, Luan Q, Liu Y, Lee DY, Wang Z.** (2011) A comparison of the diastereoisomers, silybin A and silybin B, on the induction of apoptosis in K562 cells. *Natural Product Communications*, 6, 1653-1656.

[64] **Sonnenbichler J, Scalera F, Sonnenbichler I, Weyhenmeyer R.** (1999) Stimulatory effects of silibinin and silicristin from the milk thistle *Silybum marianum* on kidney cells. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290, 1375-1383.

[65] **Dietzmann J, Thiel U, Ansorge S, Neumann KH, Tager M.** (2002) Thiol-inducing and immunoregulatory effects of flavonoids in peripheral blood mononuclear cells from patients with end-stage diabetic nephropathy. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 1347-1354.

[66] **Dashti-Khavidaki S, Shahbazi F, Khalili H, Lessan-Pezeshki M.** (2012) Potential renoprotective effects of silymarin against nephrotoxic drugs: a review of literature. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15, 112-123.

[67] **Nencini C, Giorgi G, Micheli L.** (2007) Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. *Phytotherapy Research*, 14, 129-135.

- [68] **Nabavi SM, Sureda A,** Nabavi SF, Latifi AM, Moghaddam AH, Hellio C. (2012) Neuroprotective effects of silymarin on sodium fluoride-induced oxidative stress. *Journal of Fluorine Chemistry*, 142, 79-82.
- [69] **Salamone F, Galvano F,** Marino A, Paternostro C, Tibullo D, Bucchieri F, Mangiameli A, Parola M, Bugianesi E, LiVolti G. (2012) Silibinin improves hepatic and myocardial injury in mice with non alcoholic steatohepatitis. *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 44, 334-342.
- [70] **Anestopoulos I,** Kavo A, Tentes I, Kortsaris A, Panayiotidis M, Lazou A, Pappa A. (2013) Silibinin protects H9c2 cardiac cells from oxidative stress and inhibits phenylephrine-induced hypertrophy: potential mechanisms. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24, 586-594.
- [71] **Huseini HF,** Larijani B, Heshmat R, Fakhrzadeh H, Radjabipour B, Toliati T, Raza M. (2006) The efficacy of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (silymarin) in the treatment of type II diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Phytotherapy Research*, 20, 1036-1039.
- [72] **Lirussi F, Beccarello A,** Zanette G, De Monte A, Donadon V, Velussi M, Crepaldi G. (2002) Silybin-beta-cyclodextrin in the treatment of patients with diabetes mellitus and alcoholic liver disease. Efficacy study of a new preparation of an anti-oxidant agent. *Diabetes, Nutrition and Metabolism*, 15, 222-231.
- [73] **Mesheemish BAR,** Hussain SAR, Ismail SH, Hussein KI, Sulaiman AA. (2007) Hypolipidemic effect of silymarin in dyslipidaemia of different etiologies. *Journal of the Faculty of Medicine, Baghdad*, 49, 449-456.
- [74] **Colturato CP,** Constantin RP, Maeda AS Jr, Constantin RP, Yamamoto NS, Bracht A, Ishii-Iwamoto EL, Constantin J. (2012) Metabolic effects of silibinin in the rat liver. *Chemico-biological Interactions*, 195, 119-132.
- [75] **Velussi M,** Cernigoi AM, De Monte A, Dapas F, Caffau C, Zilli M. (1997) Long-term (12 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. *Journal of Hepatology*, 26, 871-879.
- [76] **Abenavoli L, Milic N, Capasso F.** (2012) Anti-oxidant therapy in non-alcoholic fatty liver disease: the role of silymarin. *Endocrine*, 42, 754-755.
- [77] **Toklu HZ, Tunali Akbay T, Velioglu-Ogunc A, Ercan F, Gedik N, Keyer-Uysal M, Sener G.** (2008) Silymarin, the antioxidant component of *Silybum marianum*, prevents sepsis-induced acute lung and brain injury. *The Journal of Surgical Research*, 145, 214-222.
- [78] **Seidlová-Wuttke T,** Becker V, Christoffel H, Jarry W, Wuttke D. (2003) Silymarin is a selective estrogen receptor β (ER β) agonist and has estrogenic effects in the metaphysis of the femur but no anti-estrogenic effects in the uterus of ovariectomized (ovx) rats. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 86, 179-188.
- [79] **El-Shitany NA, Hegazy S,** El-Desoky K. (2010) Evidence for anti-osteoporotic and selective estrogen receptor modulator activity of silymarin compared with ethinylestradiol in ovariectomized rats. *Phytotherapy Research*, 24, 116-125.

- [80] **Gullapalli, R.P., Mazzitelli, C.L.**, Gelatin and Non-Gelatin Capsule Dosage Forms, *Journal of pharmaceutical sciences* 2017
- [81] **Melia, C.D.**, Davis, S.S., Reviewarticle: mechanisms of drug release from tablets and capsules. 2. Dissolution, *Aliment Pharmacol Ther* 1989, 3, 513-525.
- [82] **Ma, J.H., Yang, M., Zeng, M., Chen, X.M.**, Lan, J., [A review on liquid-filled hard gelatin capsules], *Zhongguo Zhongyao zazhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica* 2008, 33, 602-605.
- [83] **Jones, B.E.**, The Manufacture of Hard Gelatin Capsules, *Chem Eng - London* 1982, 174-177.
- [84] **Georgarakis, M., Hatzipantou, P.**, Kountourelis, J.E., Effect of Particle-Size, Content in Lubricant, Mixing Time and Storage Relative-Humidity on Drug Release from Hard Gelatin Ampicillin Capsules, *Drug development and industrial pharmacy* 1988, 14, 915-923.
- [85] **Caviglioli, G., Parodi, B., Posocco, V., Cafaggi, S., Bignardi, G.**, Stability study of hard gelatin capsules containing retinoic acid, *Drug development and industrial pharmacy* 2000, 26, 995-1001.
- [86] **Digenis, G.A.**, Gold, T.B., Shah, V.P., Cross-Linking of Gelatin Capsules and Its Relevance to Their in-Vitro in Vivo Performance, *Journal of pharmaceutical sciences* 1994, 83, 915-921.
- [87] **Newton, J.M., Bader, F.**, The Angle of Internal Flow as an Indicator of Filling and Drug Release Properties of Capsule Formulations, *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1987, 39, 164-168.
- [88] **Strand, B.L., Gaserod, O., Kulseng, B., Espevik, T., Skjak-Baek, G.**, Alginate-polylysine-alginate microcapsules: effect of size reduction on capsule properties, *Journal of microencapsulation* 2002, 19, 615-630.
- [89] **Etzler, F.M., Uddin, M.N.**, Powder Technology and Pharmaceutical Development: Particle Size and Particle Adhesion, *Kona Powder Part J* 2013, 125-143.
- [90] **Nie, D.M., Lin, J.Z., Zhang, K.**, Flow Patterns in the Sedimentation of a Capsule-Shaped Particle, *Chinese Physics Letters* 2012, 29,
- [91] **Newton, J.M., Bader, F.**, The influence of drug and diluent particle size on the in vitro release of drug from hard gelatin capsules, *The Journal of pharmacy and pharmacology* 1980, 32, 167-171.
- [92] **Nakagawa, H., Mohri, K., Nakashima, K., Sugimoto, I.**, [Effects of particle size of rifampicin and addition of magnesium stearate on release of rifampicin from hard gelatin capsules (author's transl)], *Yakugaku Zasshi* 1980, 100, 1111-1117.
- [93] **Podczeczek, F., Lee Amies, G.**, The bulk volume changes of powders by granulation and compression with respect to capsule filling, *International journal of pharmaceutical sciences* 1996, 142, 97-102.
- [94] **Osorio, J.G., Muzzio, F.J.**, Effects of powder flow properties on capsule filling weight uniformity, *Drug development and industrial pharmacy* 2013, 39, 1464-1475.

[95] **Vanooteghem, M., Dewinter, B., Ludwig, A.**, Influence of the Mixing Conditions on the Flow Properties of Powders to Be Filled into Hard Gelatin Capsules, *A c t a P h a r m J u g o s l* 1988, 38, 287-295.

[96] **Berntsson, O., Zackrisson, G., Ostling, G.**, Determination of moisture in hard gelatin capsules using near infrared spectroscopy: applications to at-line process control of pharmaceuticals, *J o u r n a l o f P h a r m a c e u t i c a l a n d b i o m e d i c a l a n a l y s i s* 1997, 15, 895-900.

[97] **York, P.**, Analysis of Moisture Sorption Hysteresis in Hard Gelatin Capsules, MaizeStarch, and MaizeStarch –DrugPowder Mixtures, *J o u r n a l o f P h a r m a c y a n d P h a r m a c o l o g y* 1981, 33, 269-273.

[98] **Zhou, Y., Qu, J.**, Ionic Liquids as Lubricant Additives: A Review, *A C S a p p l i e d m a t e r i a l s & i n t e r f a c e s* 2017, 9, 3209-3222.

[99] **Botzolakis, J.E., Augsburger, L.L.**, Disintegrating Agents in Hard Gelatin Capsules .2. Swelling Efficiency, *D r u g d e v e l o p m e n t a n d i n d u s t r i a l p h a r m a c y* 1988, 14, 1235-1248.

[100] **Prof. Dr. Kasım Cemal GÜVEN** Tıbbi Formüller 11.Baskı 2006 638-640

[101] **Small, L.E., Augsburger, L.L.**, Instrumentation of an automaticcapsule-filling machine, *J o u r n a l o f P h a r m a c e u t i c a l s c i e n c e s* 1977, 66, 504-509.

[102]**SkoogDA, Holler FJ, Nieman TA.** 1998. Principles of Instrumental Analysis. 5th Edition. Kılıç E, Köseoğlu F, Yılmaz H (çeviri ed) Bilim Yayıncılık, Ankara,. s. 850.

[103] **Naumann D, Helm D, Labischinski H, Giesbrecht P.** 1991. The characterization of microorganisms by Fourier-transform infrared spectroscopy. In: Modern Techniques for Rapid Microbiological Analysis, Nelson WH (chief ed.) VCH, New York, pp. 43–96.

[104] **Erdik E.** 1993. Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler. Gazi Kitabevi, ISBN: 975-7373-04-1, 531s., Ankara.

[105] **Doğan A, Siyakus G, Severcan F.** 2007. FTIR spectroscopic characterization of irradiated hazelnut (*Corylusavellana* L.). *FoodChem*, 100 (2007) 1106-1114.

[106] **James I.LeeMaheshNarayanJeffreyS.Barrett**, Analysis and comparison of active constituents in commercial standardized silymarin extracts by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry Author linksopenoverlay panel <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.07.063>

[107]**Savita MISHRA, Sandhya HORA, Vibha SHUKLA, Mukul DAS, Harsha KHARKWAL, Deepshika KATARE**, Sustained release tablets of sorafenib-silibinin combinations for the treatment of hepatocellular carcinoma, Institute of Biotechnology, UniversityUttarPradesh, Noida, India

[108] **Adriana Campod’ónico, EstelaCollado, RitaRicci, HoracioPappa, Adriana Segall, andMar’ia Teresa Pizzorno**, Dissolution Test for Silymarin Tablets and Capsules, Catedra de Control de Calidad de Medicamentos, Facultad de Farmacia ´ y Bioqu´imica, Universidad de Buenos Aires, Jun’ın 956, (1113) Buenos Aires, Argentina

- [109] **ChaYeeKuen, SharidaFakurazi**, [...], and Mas Jaffri Masarudin, Increased Loading, Efficacy and Sustained Release of Silibinin, a Poorly Soluble Drug Using Hydrophobically-Modified Chitosan Nanoparticles for Enhanced Delivery of Anticancer Drug Delivery Systems, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5707596/>
- [110] **NisarAhmad, HinaFazal, Bilal Haider Abbasi**, DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybummarianum* L.) Quaid-i-Azam University, Pakistan 2013
- [111] **Vassale C, Petrozzi L, Btto N, Andreassi MG, Zucchelli GC**. Oxidative stress and its association with coronary artery disease and different atherogenic risk factors. *J InternMed*, **2004**; 256(4):308-315.
- [112] **Atlan N, Dincel AS, Koca C**. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Turk J Biochem*, **2006**; 31(2):51-56.
- [113] **Halliwell B, Gutteridge JMC**. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd Ed., London: Oxford Science Publications, **2001**:22-24.
- [114] **Halliwell B**. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med*, **1991**; 91(C3):14-21.
- [115] **Freeman BA, Crapo JD**. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* **1982**; 47(5):412-426.
- [116] **Halliwell B, Gutteridge JMC**. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd Ed., Oxford: Clarendon Press, **1989**: 432-433.
- [117] **Abrescia P, Golino P**. Free radicals and antioxidants in cardiovascular diseases. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, **2005**; 3(1):159-171.
- [118] **Serafini M, Del Rio D**. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Report*, **2004**; 9(3):145-152.
- [119] **Halliwell B**. Antioxidant characterization Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, **1995**; 49(10):1341-1348.
- [120] **Çiğdem ÇELEBİ**, Fesleğenin Fenolik Madde Dağılımı ve Antioksidan Aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010, Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Pelin Şehnaz ÇAĞLAYAN

Doğum Tarihi :02/08/1978

E-mail :p.sehnaz@outlook.com

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Eczacılık fakültesi	Azerbaycan Devlet Tıp Üniversitesi	1997-2002
Yüksek Lisans			
Doktora			

Görevler :

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

- 1.
- 2.
- 3.