

Rheum Ribes L. Ekstratını İçeren Sert Jelatin Kapsüllerin Kalite Kontrolünün Yapılması ve 1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesinin Değerlendirilmesi*

Quality Control of Hard Gelatin Capsules Containing *Rheum Ribes L.* Extract and Investigation of Its Effects on Oxidative Stress

Metin Yıldırımⁱ, Ebru Derici Ekerⁱⁱ, Ece Çobanoğluⁱⁱⁱ, Nefise Özlen Şahin^{iv}

ⁱArş. Gör., Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı
https://orcid.org/0000-0003-1346-312X,

ⁱⁱDr. Öğr. Üyesi, Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı
https://orcid.org/0000-0002-7094-7625

ⁱⁱⁱArş. Gör., Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı
https://orcid.org/0000-0002-4804-7495

^{iv}Prof. Dr., Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı
https://orcid.org/0000-0003-2357-8262

Öz

Amaç: Rheum türleri tıbbi öneme sahiptir. *Rheum ribes L.* yerel olarak Işkın, Uçkun veya Uşgun olarak bilinmektedir. Genellikle Lübnan'da, İran'da ve Türkiye'nin doğusunda yetişmektedir. *Rheum ribes L.* bitkisinin çeşitli bölümlerinden elde edilmiş ekstraktlar birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Anadolu folklorik tıbbında diyabet, hemoroid, ülser ve diyare tedavisinde kullanılan *Rheum ribes L.* bitkisinin ekstraktının hazırlanması, elde edilen toz ekstraktlarının Avrupa Farmakopesine uygun olarak toz kontrollerinin yapılması, hazırlanan ekstraktın sert jelatin kapsül formülasyonunun elde edilmesi ve *Rheum ribes L.* ekstraktını içeren sert jelatin kapsüllerin kapsül kalite kontrol çalışmalarının yapılması ile birlikte bitkisel ekstraktın in vitro olarak antioksidan özellik gösterip göstermediği incelenmiştir.

Yöntem: *Rheum ribes L.* bitkisi 2016 yılında Metin Yıldırım tarafından Nisan-Mayıs aylarında toplanmıştır. Sert jelatin kapsüllere dolumu gerçekleştirilen *Rheum ribes L.* ekstraktlarında yağın dansitesi, sıkıştırılmış dansite, sıkıştırılabilirlik indeksi, Hausner oranı, akış süresi, yağın açısı tayini, elek analizi, dolumu yapılan sert jelatin kapsüllere ise dağılıma testi, ağırlık sapması testi yapılmıştır. Bitki ekstraktının antioksidan aktivitesi 1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil (DPPH) metodu ile ölçülmüştür.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre yağın açısı 26.66 ± 0.30 , yağın dansitesi 0.37 ± 0.06 g/ml, sıkıştırılmış dansite 0.46 ± 0.09 g/ml, elek analizinin sonucuna göre d50: 214.734 ± 12.36 µm, d90: 43.99 ± 2.92 µm bulunmuş olup, yapılan dağılıma testinde ise suni mide vasatında 1 dakika 12 saniyede, suni barsak vasatında 2 dakika 10 saniyede kapsüller dağılıma göstermiştir. Dolumları yapılan kapsüllerde ağırlık sapması 250.16 ± 1.85 mg'dır. *Rheum ribes L.* ekstraktının IC50'si 74.1 ± 4.8 µg /ml olarak bulunmuştur.

Sonuç: Elde edilen verilere göre, Avrupa Farmakopesi baz alındığında kapsüller dolmu yapılan tozun akışkanlığı mükemmel, elek analizi sonucuna göre tozun inceliği çok kaba olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre; *Rheum ribes L.* ekstraktı içeren sert jelatin kapsüllerin formülasyon açısından bir sorun teşkil etmediği ve piyasada gıda takviyesi olarak kullanılabilirdiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Rheum ribes L.*, sert jelatin kapsül, oksidatif stres, kalite kontrol, Işkın

ABSTRACT

Aim: Rheum species are important plants in terms of medicine. *Rheum ribes L.* is locally known as Işkın, Uçkun or Uşgun. It is usually grown in Lebanon, Iran and the east of Turkey. Extracts from various parts of the plant *Rheum ribes L.* are used in the treatment of many diseases. In this study, the preparation of *Rheum ribes L.* extract which is used for treatment of diabetes, hemorrhoids, ulcer and diarrhea, powder controls of the obtained extracts in accordance with the European Pharmacopoeia, obtaining hard gelatin capsule formulation of prepared extract and capsule quality control studies of hard gelatin capsules including *Rheum ribes L.* extract, it was investigated whether the herbal extract demonstrated antioxidant properties in vitro.

Method: *Rheum ribes L.* were collected by Metin Yıldırım in April-May 2016. Hard gelatin capsules filled with *Rheum ribes L.* extracts were subjected to an angle of repose determination, bulk density, tapped density, sieve analysis, compressibility index, Hausner ratio, flow time and filled hard gelatin capsules were subjected to disintegration test and a weight deviation test. Antioxidant activity of plant extract was calculated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method.

Results: According to the results obtained, the angle of repose was 26.66 ± 0.33 °, the bulk density was 0.37 ± 0.06 g/ml, the tapped density was 0.46 ± 0.09 g/ml, the particle size as d50: 214.734 ± 12.36 µm, d90: 43.99 ± 2.92 µm was exhibited by sieve analysis and the disintegration test presented disintegration in artificial gastric medium at the end of 1 minute 12 seconds, in artificial intestinal medium at the end of 2 minutes and 10 seconds and the weight deviation in filled capsules was 250.16 ± 1.85 mg. The IC50 of *Rheum ribes L.* extract was found to be 74.1 ± 4.8 µg / ml.

Conclusion: According to the data obtained, based on the European Pharmacopoeia, the flowability of the powder-filled into capsules was 'excellent' and the particle size of the powder was found to be 'very coarse' powder according to sieve analysis. Hereunder to these results; it is believed that hard gelatin capsules containing *Rheum ribes L.* extract are not a problem in the formulation and can be used as a food supplement in the market.

*Lokman Hekim Dergisi, 2020; 10 (1): 91-98

DOI: 10.31020/mutfd.625929

e-ISSN: 1309-8004

Geliş Tarihi – Received: 27 Eylül 2019; Kabul Tarihi - Accepted: 19 Aralık 2019

İletişim - Correspondence Author: Metin Yıldırım <metinyildirim4@gmail.com>

Keywords: *Rheum ribes L.*, hard gelatin capsules, oxidative stress, quality control, Iskin

GİRİŞ

Rhubarb kelimesi Latince "rha", nehir anlamına gelirken "barb" barbar toprak anlamına gelmektedir. Romalılar, Rhubarb bitkilerini 'Rha' nehrinin ötesinde barbar topraklardan getirmişlerdir. Bu nedenle etimoloji uyarınca Rhubarbarum olarak adlandırılmıştır. Rhubarb 50'den fazla türü içeren Rheum cinsi için ortak bir addir. Rhubarb veya Rheum (Rheum Rhubarbarum), tüm dünyada yetişen otsu, uzun ömürlü, yenilebilir bir bitkidir. Bununla birlikte, medikal olarak kullanılan Rhubarb (*R. palmatum* veya *R. officinale*) Çin, Tibet, Hindistan ve Pakistanın yanı sıra birçok Avrupa ülkesinde yetiştirilmektedir. En güçlü antimikrobiyal aktivite gösteren türler Doğu Tibet'in yüksek rakımlarında yetişmektedir.¹ *Rheum ribes L.* folklorik olarak İran'da yatıştırıcı olarak, Türkiye'de ise kökleri diyabet, hemoroid, ülser ve diyare tedavisinde kullanılır. Kurt düşürücü ve balgam söktürücü özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir.² *Bacillus subtilis* ve *Enterobacter aerogenes* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir.³ İçerdiği aloe emodin, emodin, krizofanol türevlerinden dolayı kuvvetli hipoglisemik etki gösterir.⁴ Birçok bitki ekstraktının ağız yolu ile alınan sert jelatin kapsül formülasyonları geliştirilmiştir. Sert jelatin kapsüller gibi katı dozaj formlarının üretimi için farmasötik toz karışımlarının belirli mekanik özelliklere sahip olması istenmektedir. Tozların davranışı, parçacık özelliklerinden ve ayrıca bu ünite işlemlerinin tasarım ve çalışma koşullarından büyük ölçüde etkilenmektedir. Tozların akışkanlığı katı dozaj formülasyonlarının geliştirilmesinde oldukça önemlidir. Bu çalışmada *Rheum ribes L.* ekstraktının elde edilmesi, bu ekstraktın antioksidan özelliklerinin incelenmesi ve hazırlanan formülasyonun kalite kontrol çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM

1. Ekstraktın elde edilmesi

Rheum ribes L. Bitkisi 2016 yılında Elazığ, Buzluk dağından toplanmıştır (GPS koordinatları 38°44'16.0"N 39°17'03.4"E). 200 gram *Rheum ribes L.* kökü kurutulmuş ve havanda toz haline getirilip kartuşa konulmuştur. Sokslet aparatı yardımıyla %80'lik etanol ile 4 saat boyunca ekstrakte edilmiş ve 2 gün boyunca -40 oC'de liyofilizatör yardımıyla toz haline getirilmiştir.²

2. Elde edilen toz ekstraktın kalite kontrol çalışmalarının yapılması

Yapılan kalite kontrol çalışmalarının hepsi 3 kez tekrarlanmış olup, standart sapmaları hesaplanmıştır.

Görünür Hacim

100 ml'lik bir mezüre 20 gram toz test örneği sıkıştırmadan yumuşak bir şekilde aktarılmıştır ve görünür hacim (V₀) tayini gerçekleştirilmiştir. Vuruş yapılmadan ölçülen hacim, görünür hacim (V₀) olarak kaydedilmiştir. Avrupa Farmakopesinde yer alan 'Dereceli Silindirle Ölçüm' metodu esas alınmıştır.⁵

Sıkıştırılmış Hacim

Sıkıştırılmış hacim, yığın hacmi olarak da isimlendirilir. 100 ml'lik bir mezüre 20 gram toz test örneği sıkıştırmadan yumuşak bir şekilde aktarılmış ve ardından daha fazla toz sıkıştırılması mümkün olmayana kadar vuruş gerçekleştirilmiş ve elde edilen final hacim (V_f) sıkıştırılmış hacim olarak kaydedilmiştir.

Yığın Dansitesi

Bir tozun yığın dansitesi, sıkıştırılmamış bir toz numunesinin kütesinin hacmine oranıdır. Dolayısıyla, yığın dansitesi toz parçacıklarının yoğunluğuna ve toz yatağındaki parçacıkların düzenine bağlıdır. Yığın dansitesi ölçümleri, Avrupa farmakopesine uygun olarak yapılmıştır. Yığın dansitesi, aşağıdaki eşitlik kullanılarak "g/ml" cinsinden hesaplanmıştır.⁵

$$\text{Yığın dansitesi (g/ml)} = m / V_0$$

$$V_0: \text{sıkıştırılmamış görünür hacim}$$

Vuruş Dansitesi

Başlangıçtaki toz hacmi gözleminden sonra, ölçüm silindiri daha fazla hacim değişimi gözlenmeyene kadar mekanik olarak çalıştırılır ve okumaları yapılır. Vuruş dansitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.⁵

$$\text{Vuruş dansitesi (g/ml)} = m / V_f \quad m: \text{test örneğinin ağırlığı (g)} \quad V_f: \text{elde edilen son hacim (ml)}$$

Yığın Açısı Tayini

Toz ekstrakt ucu kapatılmış huni içerisine yerleştirilmiştir ve tozun serbest akışı huninin ucu açılarak başlatılmıştır. Huniden akan toz ekstrakt; yığın oluşturmuş ve bu yığının yüksekliği (h) ve yarıçapı (r) kullanılarak yığın açısı belirlenmiştir.⁵

$$\tan \alpha = \text{Yükseklik (h)}/\text{Yarıçap (r)}$$

Akış Süresi Tayini

Ağırlık Sapması Kontrolü

Darası alınmış 20 ml'lik mezüre toz ekstrakt eklenmiştir. Bu toz ekstraktın kütlesi kaydedilmiştir. Tartılan toz karışım, tekrar stoğa ilave edilmiştir. İşlem aynı toz karışım kaynağından her seferinde 20 ml alınarak 10 kez tekrarlanmıştır.⁵

Elek Analizi İle Partikül Boyutunun Saptanması

Elek testi Fritsch analysette 3 Spartan pulverisette 0 elek cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Kuru eleme yöntemi kullanılmıştır. Elekler aşağıdan yukarıya sırasıyla 20, 63, 125, 250, 500, 1000 µm'lik açıklığa sahiptir. 50 g toz ekstrakt elek sarsma cihazına yüklenmiş ve mekanik çalkalama işlemi 5 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir. Her eleğin üzerindeki toz miktarı tartılır. Elde edilen değerler, toz ekstraktın toz inceliği Avrupa Farmakopesi'nin toz inceliği sınıflandırılmasına göre değerlendirilmiştir.⁵

Hazırlanan Toz Ekstrakt İçin Sert Jelatin Kapsül Numaralarının Belirlenmesi

Hazırlanan toz ekstraktların hastaya sert jelatin kapsül formunda ulaştırılması hedeflenmiştir. Bu amaç kapsamında toz ekstraktın konulacağı sert jelatin kapsül numarası; kapsül dolum kartı ve tozun yığın dansitesi kullanılarak belirlenmiştir.

1. Rheum Ribes L. ekstraktı içeren sert jelatin kapsüllerin kalite kontrol çalışmaları

Dağılım Testi

Suni Mide Vasatında Dağılım Testi

Farmakopeye göre, hazırlanan suni mide vasatından 2 L alınıp dezentegrasyon cihazına eklenmiştir. Cihazdaki haznelere ayrı ayrı 3 adet kapsül yerleştirilmiş. Dağılım testi; vücut sıcaklığı olan 37°C' de gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, dezentegrasyon testi 3 kapsül için daha tekrarlanmıştır (n_T = 6).⁵

Suni Barsak Vasatında Dağılım Testi

Avrupa Farmakopesi'nde belirtildiği gibi hazırlanan suni barsak vasatından 2 L alınıp dezentegrasyon cihazına eklenerek 37°C'ye ısıtıldı. Cihazdaki haznelere kapsüller ayrı ayrı yerleştirilmiştir. Cihaz 1 saat süreyle, 6 adet kapsülle çalışılmıştır(n = 6).⁵

DPPH (1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil) Serbest Radikal Süpürücü Aktivite Ölçümü

DPPH ölçümü, Brand-Williams ve arkadaşlarının geliştirdiği metoda göre yapıldı.⁶ Farklı konsantrasyondaki *Rheum ribes L.* etanol ekstraktları, metanolde hazırlanan DPPH çözeltisi ile karıştırılıp 15 dakikada karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminin sonucunda 517 nm dalga boyunda UV-VİS spektrofotometrede ölçülmüştür. Temizleme oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{İnhibisyon} = 100 \times (\text{Abs}_{\text{kontrol}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{kontrol}}$$

Test örneklerinin, DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi ile hazırlanan grafiğe göre IC₅₀ değeri belirlenmiş, standart olarak BHT (butil hidroksi toluen) kullanılmıştır.

İstatistik analizler

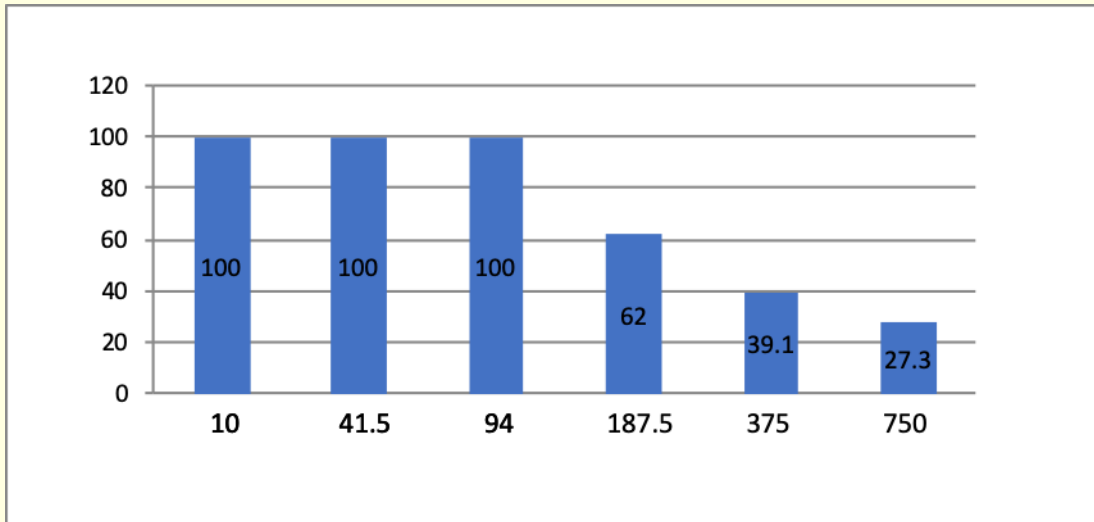
Çalışmamızda herhangi bir karşılaştırılma yapılmadığı için istatistiksel testlere başvurulmadan sadece tanımlayıcı istatistikler okuyucunun bilgilerine sunulmuştur. İstatistiksel analizler MS Office Excel (Microsoft) programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR

Avrupa Farmakopesi'nde yer alan Hausner oranına bağlı tozun akış özelliği sınıflandırılmasında toz ekstraktın akışı 'vasat' olarak belirlenmiştir. Üç kere tekrarlanan ölçümün sonucundan yığın açısı α : $26.66 \pm 0.33^\circ$ olarak belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Toz Testleri sonuçları.	
Görünür Hacim	54 ml
Sıkıştırılmış Hacim	43 ml
Yığın dansitesi	0.370 ± 0.06 g/ml
Vuruş Dansitesi	0.465 ± 0.09 g/ml
Sıkıştırılabilirlik İndeksi	20.37
Hausner Oranı	1.25
Yığın Açısı Tayini (n=3)	$26.66 \pm 0.33^\circ$
Akış Süresi Tayini (n=3)	1.31 ± 0.0264 sn
Toz kütleinde Ağırlık Sapması Kontrolü (n=10)	250.16 ± 1.85 mg

Bu değer Avrupa Farmakopesi'nde yer alan toz kütleinin yığın açısına bağlı olarak toz akış özelliklerinin sınıflandırılması dikkate alınarak değerlendirildiğinde toz akışı 'mükemmel' olarak tanımlanmaktadır. Eleme işleminin sonrasında her bir eleğin üzerinde kalan toz ekstraktlar tartılmış ve bu miktarlar toz kütleinin partikül boyutunun %27.3' ünün $750 \mu\text{m}$, %39.1'inin $375 \mu\text{m}$, %62 sinin $187.5 \mu\text{m}$, %100 'ün ise $94 \mu\text{m}$ 'den daha büyük olduğu bulunmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. Partikül büyüklüğü-%Kümülatif ağırlık grafiği.

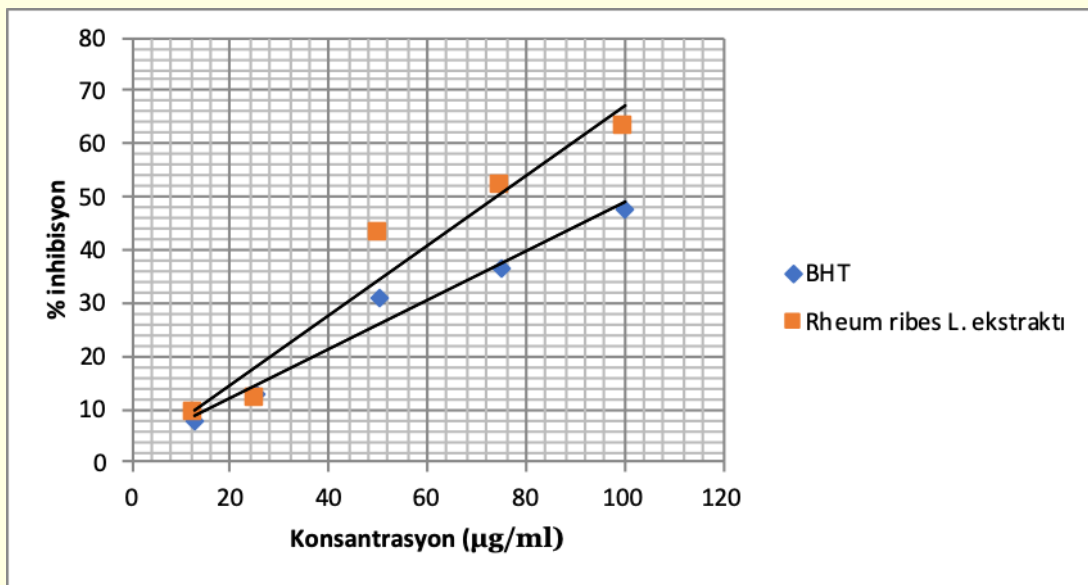
Avrupa Farmakopesi'ne göre bu değerler incelendiğinde *Rheum ribes L.* sıvı ekstraktlarından liyofilizasyon yöntemi kullanılarak hazırlanan toz ekstraktlarının 'kaba (iri taneli)' sınıfında yer aldığı belirlenmiştir. Dolum kartı ile yığın dansitesi, sert jelatin kapsüllere doldurulması gereken etkin madde miktarı belli olan ilaçlar için uygun kapsül büyüklüğü seçiminde kullanılmıştır. Yığın dansitesi; 0.37 ± 0.06 g/ml olan toz ekstraktan her bir kapsüle dolum yapılacak miktar 250 mg olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Dolayısıyla 250 mg'ın kapladığı hacmin tespiti tozun yığın dansitesi kullanılarak yapılmış olup $0,68$ ml olarak belirlenmiştir. 0 numaralı kapsülün hacminin 0.68 ml olması ve herhangi bir yardımcı maddeye (seyreltici doldurucu, kaydırıcı, bağlayıcı vb.) ihtiyaç duyulmadan '0' numaralı kapsüller dolum için seçilmiştir. *Rheum ribes L.* etanol ekstraktından elde edilen tozlarda serbest radikal giderim aktivitesi 5 farklı konsantrasyonda incelenmiştir ($12.5, 25, 50, 75, 100 \mu\text{g}/\text{ml}$). Standart olarak BHT 'ye göre karşılaştırma yapılmıştır. *Rheum*

ribes L. ekstraktının DPPH radikalini süpürme aktivitesine ait konsantrasyon- % inhibisyon grafiği Şekil 2'de gösterilmiştir. 100 µg /ml' de BHT %47.82 ±0.47, *Rheum ribes L.* ekstraktı % 63.17±1.5 bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. *Rheum Ribes L.* DPPH sonuçları.

Konsantrasyon (µg/ml)	100	75	50	25	12,5
BHT	47.82±5.3	36.33±3.8	31±3.2	13±1.6	8±0.7
<i>Rheum ribes L.</i> ekstraktı	63.17± 8.3	52±6.4	43±4.8	12±1.1	9.3±0.8

Yapılan çalışmada *Rheum ribes L.* (Işkın) ekstraktının IC₅₀ düzeyini 74.1±4.8 µg/ml olarak bulunmuştur (Şekil 2).



Şekil 2. DPPH % İnhibisyon, Konsantrasyon Eğrisi.

TARTIŞMA

Kimyasal ilaçların hem pahalı olmaları hem de yan etkilerinin fazla oluşu sebebiyle son yıllarda tamamlayıcı tıp yaklaşımlarına ilgi artmaktadır. Bu amaçla, yapılan fitoterapik çalışmalar kapsamında folklorik tıpta yaygın olarak kullanılan bitki droglarına yönelim artmıştır. Bu çalışmada, İran ve ülkemizin Doğu Anadolu bölgesinde yetişen ve şifalı bitkiler içerisinde yer alan *Rheum ribes L.* (Işkın)'nın, çeşitli kimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle antioksidan potansiyeli incelenmiş ve bu bitkinin ekstratından elde edilen tozlardan kapsülasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra bu kapsüllerin kalite kontrolleri yapılmıştır. Tozların akış özellikleri, partikül boyutları ön formülasyon aşamasında oldukça önemlidir. Bunun sebebi; tozların akış özelliklerinin ve partikül boyutlarının elde edilen formülasyonun içerik tekdüzeliğini, homojenitesini ve çözünme hızını etkileyebilmesidir. Bu özellikler, toz madde elde edilirken seriden seriye farklılık gösterebileceğinden bu farklılıkları ortadan kaldırmak için bu özelliklerin belirlenmesi ve kontrol altına alınması gerekmektedir. *Rheum ribes L.* kökünden elde edilen ekstraktın, toz kontrolleri ve hazırlanan sert jelatin kapsüllerin kontrolü Avrupa Farmakopesinde yer alan kriterler dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda yapılan çalışmalarda yığın ve vuruş dansitesi tablet formu haline getirilecek tozlar için tozun sıkıştırılabilirliği için kullanılırken; kapsül formunda hazırlanacak tozlar için ise tozların akışının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Kapsül seçiminde tozun yığın dansitesi değeri kullanılarak istenen toz

miktarının hacmi belirlenmiştir ve 0.68 ml hacminde olan '0' numaralı kapsüllere 0.68 ml'lik toz ekstrakt dolununun gerçekleştirilmesi sebebiyle formülasyona seyreltici-doldurucu eklenmesine ihtiyaç duyulmamıştır. Tozlara yardımcı madde eklenmesinin bir diğer sebebi olan tozların akış özelliğini iyileştirmek için ise akış özelliklerinin yığın açısı tayinine göre 'mükemmel' sıkıştırılabilirlik indeksi ve Hausner oranına göre ise 'vasat' olarak sınıflandırılması sebebiyle ihtiyaç duyulmamıştır. Farmakopede belirtildiği şekilde ağırlık sapması testi yapılmış ve uygun bulunmuştur. Dolu kapsüllere dağılma testi uygulandığında dezintegrasyonun pH'ya bağımlı olarak azaldığı ve mide ortamında bunun oldukça yüksek olduğu çalışmalar sonunda tespit edilmiştir. Bu da kapsüllerimizin midede dağılan kapsüller formunda olduğunu göstermektedir. Graziella Gonçalves Weigert, yapmış olduğu çalışmada ampisilin içeren sert jelatin kapsül ve hidrokispropil metil selüloz (HPMC) kapsüllerde yapılan testler sonucunda yığın açısı 40° den fazla olarak bildirilmiş ve düşük akış gösterdiği karakterize edilmiştir.⁷ Loreana Gallo ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *R. Purshiana*, *H. Virginiana*, *P. Boldus*, *C. Asiatica*, *V. officinalis*, *H. Perforatum*, *C. Scolymus* bitki ekstraktları üzerine yapmış oldukları çalışmada *R. Purshiana*'nın yığın açısı $28\pm 1^\circ$, *H. Virginiana* $28\pm 1^\circ$, *P. Boldus* $31\pm 3^\circ$, *C. Asiatica* yığın açısı $30\pm 2^\circ$, *V. officinalis* yığın açısı $21\pm 1^\circ$, *H. Perforatum* $20\pm 2^\circ$, *C. Scolymus* $30\pm 1^\circ$ olarak bulunmuştur. Yığın açısı tayini, az miktarda madde ile toz akışını karakterize etmek için yaygın bir yöntemdir. Amerikan farmakopesine göre yığın açıları 25 ile 30 derece arasında olan tozlar mükemmel akış gösteren tozlar olarak belirlenmiş olup 31 ile 35 derece arasında olanlar iyi 36 ile 40 derece arasında olanlar vasat, 41 derece ve daha fazla açiya sahip olanlar ise düşük akış özelliği göstermektedir⁸. Yaptığımız çalışmada, *Rheum ribes L.* ekstraktının yığın açısı $26.66\pm 0.33^\circ$ olarak bulunmuş mükemmel akış gösteren bir toz olduğu belirlenmiş olup Loreana Gallo ve Rane O. Coute'un yapmış olduğu çalışmalara göre uyumlu bulunmuş ve elde ettiğimiz bu sonuç *Rheum ribes L.* ekstraktından elde edilen tozun yeterli akış oranına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Yığın açısı bize kohesivlikle ilgili nicel bilgiler vermektedir.⁹ Yığın açısındaki artış bize tozun daha kohesiv olduğunu göstermektedir. Bu sebepten dolayı yığın açısı ile yığın dansitesi araştırılmıştır. Loreana Gallo ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada yığın dansitesi azaldığında yığın açısının arttığı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda yığın dansitesi 0.37 ± 0.06 g/ml, vuruş dansitesi ise 0.46 ± 0.09 g/ml bulundu. Bu nedenle kuru ekstraktlar düşük yığın dansitesi gösterdiğinde bu ekstraktlar daha koheziftir. Bizim çalışmamız Loreana Gallo ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile karşılaştırıldığında paralellik göstermektedir.⁹ Graziella Gonçalves Weigert, yapmış olduğu çalışmada ampisilin içeren sert jelatin kapsüller ve HPMC kapsüllerinde dezintegrasyon testi yapıldığında sert jelatin kapsüllerin beş dakikada içinde dağıldığı, ampisilin içeren HPMC kapsüllerin ise yedi dakikada dağıldığı belirtilmiştir. Bunun sebebi ise HPMC'nin selülozdan üretilmesi ve kolayca nemlenmesi ancak şişmesi ve dağılmasının vücut ısısında daha uzun zaman almasıdır⁷. Bu çalışmada sert jelatin kapsüller HPMC kapsüllere göre dağılmada ve sıkıştırılmada üstünlük göstermiştir. May Almukainzi ve ark.'larının diyet destek ürünleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada beş tablet ürünü ve iki kapsül ürünü incelemişlerdir. İncelenen bu kapsül ürünlerinden piyasadaki adı Chastaberry olan *Vitex agnus-castus* bitkisinin sert jelatin kapsüllerinin 37° derecede dağılma süreleri pH 1,2 de 6.5 ± 1 dakika, pH 4.5 de 6.7 ± 0.7 dk ve saf suda 5.8 ± 1 dk olduğu bildirilmiştir.¹¹ Naoko Sato-Masumoto ve ark. yapmış olduğu çalışmada japon diyet destekleri ürün piyasasında yer alan *Ginkgo Biloba L.* ve *Vitex Agnus-Castus L.* bitki ekstraktlarından elde edilen sert jelatin kapsül, tablet, film kaplı tabletlerin dezintegrasyon üzerine yapmış oldukları çalışmada *Ginkgo Biloba L.* içeren sert jelatin kapsül formülasyonunun 4.8 dakikada dağıldığı, yumuşak jelatin kapsül formülasyonunun 14.7 dakikada dağıldığı ancak bu bitkiye ait tablet formülasyonunun ve film kaplı tablet formülasyonunun 60 dakikadan fazla sürede dağılmadığı bildirilmiştir. *Vitex Agnus-Castus L.* içeren sert jelatin kapsül formülasyonunun 5,3 dakikada dağıldığı ve bu bitkiye ait tablet formülasyonunun 17.6 dakikada ve film kaplı tablet formülasyonunun 30 dakikada dağıldığı bildirilmiştir. Dağılma süresinin beklenenden uzun olması istenilen etkinin ortaya çıkmasını zorlaştırmaktadır.¹² Bizim çalışmamızda *Rheum ribes L.* ekstraktı içeren sert jelatin kapsüllerin dağılma

sürelerini incelediğimizde pH 1.2 de 1:12 dakika, pH 4.5 de 1:20 dakika, pH 6.8 de 2:10 dakika ve saf suda 3:00 dakikada dağılma gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar literatüre uygun olup dağılma süreleri istenilen etkinin ortaya çıkmasında herhangi bir sorun teşkil etmemektedir. Bu sebeple formülasyonumuza dağıtıcı eklenmesine gerek duyulmamıştır. Tablet formülasyonlarına göre kapsül formülasyonlarının dağılma süresinin düşük olmasından dolayı antioksidan içeriği yüksek olan *Rheum ribes L.* ekstraktı içeren sert jelatin kapsül formülasyonu etkin maddenin emiliminin daha hızlı olacağından dolayı tablet formülasyonuna göre daha avantajlıdır.

Çalışmamızda *Rheum ribes L.* ekstraktlarında DPPH ölçümleri yapılmıştır elde edilen sonuçlar bitki ekstraktının antioksidan özellik gösterdiğini kanıtlamıştır. Mehmet Öztürk ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada çözücü olarak metanol ve kloroform ile ekstrakte edilen *Rheum ribes L.* ekstraktlarının DPPH radikali giderme değerleri sırasıyla 60.60 ± 0.86 , 50.87 ± 0.30 iken bizim sonuçlarımıza göre ise 63.17 ± 8.3 olarak bulunmuş olup IC_{50} değeri 71 ± 4.8 $\mu\text{g/ml}$ olarak hesaplanmıştır¹³.

S. M. Raquibul Hasan ve arkadaşlarının 15 farklı bitki ekstraktı ile yapmış oldukları çalışmada IC_{50} değerlerini *Artocarpus lacucha Buch.-Ham.* bitkisinde 39.93 $\mu\text{g/ml}$, *accaurea ramiflora Lour.* bitkisinde 31,38 $\mu\text{g/ml}$, *Butea monosperma (Lam.) Taub.* bitkisinde 25.96 $\mu\text{g/ml}$, *Caesalpinia pulcherrima Linn.* bitkisinde 16 $\mu\text{g/ml}$, *Cocos nucifera Linn.* bitkisinde 13.67 $\mu\text{g/ml}$, *Commelina benghalensis Linn.* bitkisinde 21,53 $\mu\text{g/ml}$, *Curcuma alismatifolia Gangnep.* bitkisinde 18.72 $\mu\text{g/ml}$, *Feronia limolia Linn.* bitkisinde 17.60 $\mu\text{g/ml}$, *Hopea odorata Roxb.* bitkisinde 33.03 $\mu\text{g/ml}$, *Pomoea quamoelit Linn.* bitkisinde 25.96 $\mu\text{g/ml}$, *Michelia champaca Linn.* bitkisinde 22.43 $\mu\text{g/ml}$, *Punicagranatum Linn.*, bitkisinde 10.82 $\mu\text{g/ml}$, *Syzygium cumini Linn.* bitkisinde 4.25 $\mu\text{g/ml}$, *Tinospora cordifolia (Wild.) Miers.* bitkisinde 29.87 $\mu\text{g/ml}$, *Xanthium indicum Koenig.* bitkisinde 23.44 $\mu\text{g/ml}$ bulmuşlardır.¹⁴ Yaptığımız çalışmada bulduğumuz IC_{50} değerleri, S. M. Raquibul Hasan yapmış olduğu çalışmanın bulgularıyla uyumludur.

SONUÇ

Son zamanlarda ışkın üzerinde diyabet, hemoroid, ülser ve kanser çalışmaları yapılmaktadır. Işkın bitkisinden elde edilen tozların kapsül formülasyonunun göstermiş olduğu antioksidan özellik ve bu formülasyonun kalite kontrol testlerinde göstermiş olduğu literatüre uygun sonuçlar sayesinde ışkın kökünden elde edilmiş toz ekstraktların da bitkisel destek ürünlerinin içeriğinde yer alabilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Alaadin, A.M., Al-Khateeb, E.H., Jager, A.K., Antibacterial activity of the Iraqi Rheum ribes root, *Pharmaceutical biology*, 2007, 45, 688-690.
2. Naqishbandi, A.M., Josefsen, K., Pedersen, M.E., Jager, A.K., Hypoglycemic activity of Iraqi Rheum ribes root extract, *Pharmaceutical biology*, 2009, 47, 380-383.
3. Ebrahimi, F., Fatahi, Z., Jabbari, F., Aboali, L., Antibacterial Effect of Rheum ribes on EscherichiaColi, *Iran J PublicHealth*, 2014, 43, 282-282.
4. Ozbek, H., Ceylan, E., Kara, M., Ozgokce, F., Koyuncu, M., Hypoglycemic effect of Rheum ribes roots in alloxan induced diabetic and normal mice, *Scand J Lab Anim Sci*, 2004, 31, 113-115.
5. The european pharmacopoeia and common european standards for drugs and medicaments, *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 1968, 51, 89-96.
6. Kedare, S.B., Singh, R.P., Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay, *J Food Sci Tech Mys*, 2011, 48, 412-422.
7. Weigert, G.G., Ineu, A.P., Gomes, P., Evaluation of Hard Gelatin Capsules and Hydroxypropyl Methylcellulose Containing Ampicillin, *Quim Nova*, 2012, 35, 286-290.
8. The United States Pharmacopeia. The National Formulary. Rockville, Md. *United States Pharmacopeial Convention*, 1979.
9. Couto, R.O., Martins, F.S., Chaul, L.T., Conceicao, E.C., Freitas, L.A.P., Bara, M.T.F., Paula, J.R., Spraydrying of Eugeniadysenterica extract: effects of in-process parameters on product quality, *RevBras Farmacogn*, 2013, 23, 115-123.

10. Gallo, L., Ramirez-Rigo, M.V., Pina, J., Bucala, V., A comparative study of spray-dried medicinal plant aqueous extracts. Drying performance and product quality, *ChemEng Res Des*, 2015, 104, 681-694.
11. Almukainzi, M., Salehi, M., Bou-Chacra, N.A., Lobenberg, R., Investigation of the Performance of the Disintegration Test for Dietary Supplements, *Aaps J*, 2010, 12, 602-607.
12. Sato-Masumoto, N., Masada, S., Takahashi, S., Terasaki, S., Yokota, Y., Hakamatsuka, T., Goda, Y., Disintegration Test of Health Food Products Containing *Ginkgo Biloba L.* Or *Vitex Agnus-Castus L.* in the Japanese Market, *Medicines*, 2015, 2, 47-54.
13. Öztürk, M., Aydoğmuş-Öztürk, F., Duru, M. E., Topçu, G. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chemistry*, 2007, 103(2), 623-630.
14. Hasan, S.M.R., Hossain, M.M., Akter, R., Jamila, M., Mazumder, M.E.H., Rahman, S., DPPH free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants, *JMedPlantsRes*, 2009, 3, 875-879.