T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

FARELERDE METOTREKSATIN FARMAKOKİNETİĞİ ÜZERİNE SİLİBİNİN ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Şerafettin KARTAL

Danışman

Prof. Dr. Orhan ÇORUM

HATAY- 2026

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

FARELERDE METOTREKSATIN FARMAKOKİNETİĞİ ÜZERİNE SİLİBİNİN ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Şerafettin KARTAL

Danışman

Prof. Dr. Orhan ÇORUM

Bu tez, "1002-A Hızlı Destek Modülü" kapsamında TÜBİTAK tarafından 224O365 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

HATAY- 2026

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

FARELERDE METOTREKSATIN FARMAKOKİNETİĞİ ÜZERİNE SİLİBİNİN ETKİSİ

Doktora Tezi

Şerafettin KARTAL

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 05/02/ 2026 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Muammer ELMAS

Üye: Prof. Dr. Enver YAZAR

Üye: Prof. Dr. Fatih SAKİN

Üye: Prof. Dr. Murat YÜKSEL

Üye: Prof. Dr. Orhan ÇORUM

Bu tez, Enstitümüz Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji (VET) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Metotreksat, kanser ve immün sistem hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Silibin ise immünomodülatör, antiinflamatuar, antifibrotik, antioksidan, antiapoptotik ve sitoprotektif özellikleri ile başta karaciğer olmak üzere böbrek, dalak ve safra kesesi hastalıklarından korunmada ve tedavisinde kullanılan doğal bir bileşiktir. Metotreksat ile eşzamanlı olarak silibin kullanımının, kanser ve immün hastalıkların tedavisinde terapötik etkinliği artırabileceği bildirilmiştir. Ancak metotreksat ve silibinin taşıt proteinler üzerindeki etkilerinden dolayı eşzamanlı kullanımlarında farmakokinetik etkileşim potansiyeli olan iki ilaçtır. Bu nedenle silibinin eş zamanlı kullanımı metotreksatın plazma ve doku farmakokinetiğini değiştirebilir. Metotreksatın farmakokinetiğindeki değişim ise tedavide başarısızlığa veya toksik etkilere yol açabilir. Metotreksat ile silibin arasında farmakokinetik ilaç etkileşiminin yönünün belirlenmesi tedavinin başarısı açısından oldukça önemlidir. Bu çalışma kapsamında metotreksatın plazma ve doku dağılımı üzerine silibinin etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu araştırmadan elde edilen veriler iki ilacın kombine kullanımını içeren hastalık durumlarında etkili kullanımına ve yeni çalışmaların şekillenmesine katkı sağlayacaktır.

Bu araştırma "1002-A Hızlı Destek Modülü" kapsamında TÜBİTAK tarafından 224O365 numaralı proje olarak desteklenmiştir. TÜBİTAK'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bilimsel bilgi ve desteklerini esirgemeyen başta danışmanım Prof. Dr. Orhan ÇORUM olmak üzere, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri'ne, lisans ve doktora eğitimimde tecrübe ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Halis UĞUZ ve Prof. Dr. Kamil ÜNEY'e, çalışmanın deneysel aşamasında yardımını ve desteğini esirgemeyen Vet. Hek. Serhat AYAN'a, hayatımın bu sürecinde hep yanımda hissettiğim sevgili eşime, anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Kabul ve Onay II
ÖNSÖZ III
İÇİNDEKİLER IV
ŞEKİLLER DİZİNİ VI
ÇİZELGELER DİZİNİ VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ VIII
ÖZET IX
ABSTRACT X
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. Metotreksat Hakkında Genel Bilgiler 2
2.1.1. Metotreksatın Kullanım Alanları 3
2.1.2. Metotreksatın Toksik Etkileri 3
2.1.3. Metotreksatın Farmakokinetiği 4
2.2. Silibin Hakkında Genel Bilgiler 5
2.2.1. Silibinin Koruyucu Etkileri 6
2.2.2. Silibinin Farmakokinetiği 7
2.3. Taşıyıcı Proteinlerin İlaç Etkileşimindeki Önemi 7
2.3.1. Metotreksatın İlaç Etkileşim Çalışmaları 8
2.3.2. Silibinin İlaç Etkileşimindeki Rolü 11
2.3.3. Metotreksat ve Silibinin Eş Zamanlı Kullanımı 13
3. GEREÇ ve YÖNTEM 16
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve İlaçlar 16
3.2. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar 16
3.3. Hayvan Materyali 17
3.4. Deneysel Uygulamalar 17
3.4.1. Dışkı ve İdrar Örneklerinin Toplanması 18
3.4.2. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması 18
3.5. Metotreksat Analizi 18
3.5.1. Standartlar ve Stok Solüsyonlar 18
3.5.2. HPLC ve Kromatografik Şartlar 19
3.5.3. Örneklerin Analiz İçin Hazırlanması 19

3.5.4. Metot Validasyonu 20
3.6. Farmakokinetik Hesaplamalar 20
3.7. İstatiksel Analizler 21
4. BULGULAR 22
4.1. Plazma Farmakokinetiği 22
4.2. Doku Farmakokinetiği 23
4.3. Metotreksatın Kümülatif Atılımı 27
5. TARTIŞMA 28
6. SONUÇ 38
7. KAYNAKLAR 39
EKLER 46
EK-1 Etik Kurul Kararı 46
ÖZGEÇMİŞ 47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4.1. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek doz (MTX+YS) silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası yarı logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrisi.....22

Şekil 4.2. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek doz (MTX+YS) silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası yarı logaritmik doku konsantrasyon-zaman eğrileri. 24

Şekil 4.3. Metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek doz (MTX+YS) silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası MTX'ın idrar ve dışkıdan kümülatif atılımı.....27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Metotreksatın farmakokinetik etkileşim çalışmaları.....9

Çizelge 2.2. Silimarin ve silibin uygulamasının ilaçların farmakokinetiği üzerine etkisi. 12

Çizelge 3.1. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar 16

Çizelge 4.1. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek (MTX+YS) doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası metotreksatın farmakokinetik parametreleri. 23

Çizelge 4.2. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek (MTX+YS) doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası metotreksatın dokulardaki farmakokinetik parametreleri.....26

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	ATP bağlayıcı kaset taşıyıcısı
BCRP	Meme kanseri direnç proteini
C_{doruk}	Doruk konsantrasyon
Cl/F	Total klirens
CYP	Sitokrom P450
DS	Düşük doz silibin
EAA	Eğri altında kalan alan
MDR	Çoklu ilaç direnci
MRP	Çoklu ilaç direnciyle ilişkili protein
MRT	Ortalama kalış süresi
MTX	Metotreksat
OAT	Organik anyon taşıyıcısı
OATP	Organik anyon taşıyıcı polipeptidler
OCT	Organik katyon taşıyıcısı
P-gp	P glikoprotein
RFC	İndirgenmiş folat taşıyıcısı
SLC	Çözünmüş madde taşıyıcısı
$t_{1/2\lambda z}$	Eliminasyon yarılanma ömrü
T_{doruk}	Doruk konsantrasyona ulaşma süresi
V_Z/F	Dağılım hacmi
YS	Yüksek doz silibin

ÖZET

Farelerde Metotreksatın Farmakokinetiği Üzerine Silibinin Etkisi

Bu çalışmanın amacı farelerde metotreksatın (MTX) plazma ve doku farmakokinetiği ile kümülatif idrar ve dışkı atılımı üzerine silibinin etkisini belirlemektir. Toplam 180 adet fare rastgele 3 eşit gruba ayrıldı. Birinci gruba (MTX) intraperitoneal yolla 20 mg/kg tek doz MTX uygulandı. İkinci gruba (MTX+DS) düşük doz silibin (10 mg/kg, 24 saatte bir 7 gün, oral) + MTX intraperitoneal yolla 20 mg/kg tek doz uygulandı. Üçüncü gruba (MTX+YS grubu) yüksek doz silibin (50 mg/kg, 24 saatte bir 7 gün, oral) + MTX intraperitoneal yolla 20 mg/kg tek doz uygulandı. Tüm gruplarda MTX uygulama sonrası 0, 0.08, 0.25, 0.5, 1., 2., 4., 6., 8., 10., ve 12. saatlerde plazma ve doku örnekleri (beyin, mide, ince barsak, kalp, kas, karaciğer, akciğer, böbrek, dalak ve testis) alındı. Ayrıca 0-2., 2-4., 4-6., 6-8., 8-10. ve 10-12. saatlerde idrar ve dışkı örnekleri toplandı. Örneklerden MTX analizi HPLC-UV yardımıyla gerçekleştirildi. Düşük ve yüksek doz silibin uygulamasının MTX'ın plazma EAA ve C_{doruk} değerlerini artırdığı ve Cl/F ve V_z/F (MTX+DS hariç) değerlerini azalttığı belirlendi. Silibin uygulaması sonrası MTX'ın plazma $t_{1/2\lambda z}$, MRT ve T_{doruk} değerlerinde değişiklik görülmedi. Düşük ve yüksek doz silibin uygulaması MTX'ın EAA ve C_{doruk} değerleri kas, testis ve dalak dokusunda artarken; beyin dokusunda azaldı. Farklı doz silibin uygulaması sonrası EAA değeri böbrekte arttı, karaciğerde azaldı ve akciğerde değişmedi. Silibin böbrek, kalp, ince barsak ve mide dokularında EAA ve C_{doruk} değerlerinde farklılığa neden oldu, ancak bu farklılık dozla ilişkili değildi. MTX'ın idrar ve dışkıdan 12 saat süresince kümülatif atılımı sırasıyla %60 ve %5.73 olarak belirlendi ve silibin uygulaması idrar ve dışkıdan kümülatif atılımını azalttı. Sonuç olarak silibin uygulamasının MTX'ın plazma ve doku farmakokinetiğinde önemli değişikliklere neden olduğu, bu değişikliklerin silibinin dozundan bağımsız olarak dokulara göre farklılık gösterdiği belirlendi. Ancak, silibin uygulaması sonrası dokularda taşıt proteinlerin seviyelerinin incelendiği ve MTX'in terapötik etkinliğin belirlendiği daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Doku, Farmakokinetik, İlaç etkileşimi, Metotreksat, Silibin

ABSTRACT

The Effect of Silybin on the Pharmacokinetics of Methotrexate in Mice

The aim of this study was to determine the effect of silybin on the plasma and tissue pharmacokinetics and cumulative urinary and fecal excretion of methotrexate (MTX) in mice. A total of 180 mice were randomly divided into three equal groups. The first group (MTX) received a single dose of 20 mg/kg MTX intraperitoneally. The second group (MTX+DS) received a low dose of silybin (10 mg/kg, every 24 hours for 7 days, orally) + a single dose of 20 mg/kg MTX intraperitoneally. The third group (MTX+YS) received a high dose of silybin (50 mg/kg, every 24 hours for 7 days, orally) + a single dose of 20 mg/kg MTX intraperitoneally. Plasma and tissue samples (brain, stomach, small intestine, heart, muscle, liver, lung, kidney, spleen, and testes) were collected in all groups at 0, 0.08, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 hours after MTX administration. Additionally, urine and feces samples were collected at 0-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-10, and 10-12 hours. MTX analysis was performed using HPLC-UV. It was determined that low and high-dose silybin administration increased plasma AUC and C_{max} of MTX and decreased Cl/F and Vz/F (except for MTX+DS) values. No changes were observed in plasma $t_{1/2\lambda z}$, MRT, and T_{max} of MTX after silybin administration. Low and high-dose silibin administration increased the AUC and C_{max} values of MTX in muscle, testicular, and spleen tissue, while decreasing them in brain tissue. After different doses of silybin administration, the AUC value increased in the kidney, decreased in the liver, and remained unchanged in the lung. Silybin caused differences in AUC and C_{max} values in kidney, heart, small intestine, and stomach tissues, but these differences were not dose-related. The cumulative excretion of MTX in urine and feces over 12 hours was determined to be 60% and 5.73%, respectively, and silybin administration reduced the cumulative excretion in urine and feces. In conclusion, it was determined that silybin administration caused significant changes in the plasma and tissue pharmacokinetics of MTX, and these changes differed depending on the tissue and independently of the silybin dose. However, more detailed studies are needed that examine the levels of transporter proteins in tissues after silybin administration and to determine therapeutic efficacy of MTX.

Keywords: Tissue, Pharmacokinetics, Drug interaction, Methotrexate, Silybin.

1. GİRİŞ

İlaç-ilaç etkileşimleri, iki veya daha fazla ilacın eş zamanlı kullanımı sonucunda ilaçlardan birinin diğerinin farmakolojik etkisini, terapötik etkinliğini veya toksisite profilini değiştirmesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Bu etkileşimler bazı klinik durumlarda, terapötik etkinliği artırmak ya da yan etkileri azaltmak amacıyla bilinçli ve kontrollü şekilde kullanılabilmektedir. Ancak çoğu zaman polifarmasi (çoklu ilaç kullanımı), hastaların kullandıkları ilaçları eksik bildirmesi veya klinik açıdan önemli olabilecek etkileşimlerin göz ardı edilmesi sonucunda istenmeyen etkileşimler olarak ortaya çıkabilmektedir. İlaç etkileşimleri; farmakokinetik, farmakodinamik ve farmasötik etkileşimler olarak 3 gruba ayrılmaktadır (Rathi ve Meibohm 2006; Büyükokuroğlu ve ark., 2019).

Farmakokinetik etkileşimler, kombine kullanılan ilaçlardan birinin diğerinin veya birbirlerinin emilim, dağılım, metabolizma ve atılım fazlarından birini veya birkaçını değiştirdiği etkileşimlerdir. Farmakokinetik etkileşim sonucunda ilaçların plazma ve dokulardaki düzeyleri değişir. İlaç konsantrasyonunun azalması etkili düzeye ulaşılamamasından dolayı tedavide başarısızlığa neden olurken ilaç konsantrasyonunun artması ise istenmeyen etkilere neden olabilir (Palleria ve ark., 2013). Farmakodinamik etkileşimde ise ilacın plazma konsantrasyonunda herhangi bir değişiklik olmaksızın, reseptör, sinyal yolu veya efektör düzeyinde modülasyonu içerir ve bu da ilaç yanıtının artmasına veya azalmasına yol açar (Rathi ve Meibohm 2006).

İlaç etkileşimleri, ilaçların birlikte kullanımının yanında ilaçların besinlerle beraber alımı durumlarında da gerçekleşebilir. Besin-ilaç etkileşimleri ise besinlerin beslenme veya terapötik amaçlı olarak ilaçlarla birlikte alınması sonucu şekillenebilir ve ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamik profillerinde değişikliklere neden olabilir. Bitkisel ürünlerde bulunan aktif bileşikler, sitokrom P450 enzimleri ve taşıyıcı proteinler üzerindeki etkileri ile ilaçların farmakokinetiğini değiştirebilir. Sonuçta ilacın terapötik etkinliğinin azalmasına veya toksisite riskinin artmasına yol açabilir (Posadzki ve ark., 2013).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Metotreksat Hakkında Genel Bilgiler

Metotreksat (MTX) dihidrofolat redüktazı bloke ederek, folik asit metabolizmasını inhibe eden antimetabolit bir ilaçtır (Grim ve ark., 2003). MTX akut lenfositik lösemisinin tedavisinde ve romatoid artritin tedavisinde kullanımı ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Ayrıca MTX antineoplastik, antiinflamatuar, immünsüpresif ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı birçok hastalık durumunda kullanılmaktadır (Cole ve ark., 2006).

MTX yüksek dozlarda kanser hücrelerinde folik asit sentezini inhibe ederken, düşük dozlarda adenozin sinyallemesini düzenleyerek anti-inflamatuar etki gösterir (Malaviya ve ark., 2010). MTX folik asitin yapısına benzer olduğu için dihidrofolat redüktaz ile yarışmalı inhibisyona girer ve dihidrofolatın, tetrahidrofolata çevrilmesini engeller (Chan ve Cronstein 2010). Tetrahidrofolat hem DNA hem de RNA sentezinde önemli rol oynayan timidilatın üretiminde rol oynar. MTX tetrahidrofolat eksikliğine yol açarak pürin ve pirimidin metabolizması ve DNA sentezi gibi önemli olayların gerçekleşmesini engeller. Bunun sonucunda MTX'ın antineoplastik ve toksik etkileri ortaya çıkar (Hanoodi ve Mittal 2023; Singh ve ark., 2019; Maksimovic ve ark., 2020).

MTX amidoimidazol karboksamido ribonükleotid (AICAR)'i, formil AICAR'a dönüştüren AICAR transformilaz enzimini bloke ederek adenozin ve guanin metabolizmasının engellenmesine ve adenozin birikimine neden olur (Friedman ve Cronstein 2019). Adenozin, tüm dokularda ve vücut sıvılarında bulunan bir pürin nükleozitidir ve adenozin reseptörlerine (A1, A2A, A2B ve A3) bağlanarak hücre ve organ fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol alır. Adenozin reseptörlerinden A1 ve A2B'nin aktivasyonu, nötrofil ve monositlerden proinflamatuar sitokin salınımında artışa ve proinflamatuar etkilere neden olurken A2A ve A3 adenozin reseptörlerinin aktivasyonu ise T hücreleri, tümör nekroz faktörü α ve interlökin 1 beta gibi proinflamatuvar sitokinleri baskılayarak antiinflamatuvar etkiye neden olur (Stamp ve ark., 2012; Friedman ve Cronstein 2019). MTX'ın antiinflamatuar etkisinin A2A ve A3 reseptörleri üzerindeki etkilerinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Maksimovic ve ark., 2020).

2.1.1. Metotreksatın Kullanım Alanları

MTX ilk olarak 1948 yılında akut lenfositik lösemisinin tedavisinde sitotoksik antiproliferatif bir ajan olarak onkolojide kullanılmaya başlanmış ve 1988 yılında FDA tarafından romatoid artritin tedavisinde kullanımı onaylanmıştır. MTX; meme kanseri, gestasyonel trofoblastik hastalıklar, baş ve boyun kanserleri, kutanöz T hücreli lenfoma, osteojenik sarkom, koryokarsinom, akciğer kanseri, mesane kanseri, beyin medulloblastomu, primer merkezi sistem lenfomaları ve kronik miyeloid löseminin tedavisinde kullanılır. Bu kullanımlarının yanı sıra, sedef hastalığı, multiple skleroz, Crohn hastalığı gibi immün sistem hastalıklarında da kullanılır (Abolmaali ve ark., 2013; Levêque ve ark., 2011).

2.1.2. Metotreksatın Toksik Etkileri

MTX'ın yan etkileri doza ve kullanım süresine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. MTX romatoid artrit ve sedef hastalıklarında düşük dozlarda (7.5-30 mg/hafta), kanserde ise yüksek dozlarda (500 mg/m^2) kullanılır (Malaviya ve ark., 2010). MTX'in düşük dozlarda yaygın görülen yan etkileri arasında mide bulantısı, kusma, mukozal ülser, iştah kaybı, karaciğer enzimlerinde (transamainazlar) artış, lökopeni ve trombopeni bildirilmiştir (Mazaud ve Fardet 2017). MTX hücrelerde oksidatif strese neden olur ve oksidatif strese bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin artması (hidrojen peroksit, süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri ve hipoklorit radikalleri gibi) membran lipitleri, proteinler, karbonhidratlar ve DNA'ya önemli zararlar verir. Oksidanların artması veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizma oksidatif strese maruz kalır ve hücresel metabolizmanın bozulması, moleküler yıkım ve doku hasarına neden olur (Hess ve Khasawneh 2015; Freeman ve Crapo 1982). MTX' in karaciğer, böbrek, testis gibi doku ve organlar üzerindeki toksik etkilerinin bu mekanizmalar aracılığıyla olabileceği bildirilmiştir (Di Martino ve ark., 2023). Bu mekanizmalar göz önüne alındığında kanser hücreleri ve MTX gibi kemoterapötik ajanların neden olduğu oksidatif stres ve oksidatif stres kaynaklı inflamasyonun neden olduğu organ hasarını azaltmak için antioksidan ajanların eşzamanlı kullanımı tavsiye edilmektedir (Karimi ve ark., 2011).

MTX'ın romatoid artritli hastalarda 2 ila 4 yıl boyunca kullanımı sonrasında hepatotoksite görülme riskinin %70 olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2018). MTX kaynaklı hepatotoksisitenin nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen toksisitenin

oluşmasında ilacın hücresel yolaklarının etkili olabileceği rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2018; Hamed ve ark., 2022). MTX'in karaciğer yıldızsı hücrelerini aktive etmesi, kolajen ve fibronektin gibi diğer matriks proteinlerinin üreticisi olan miyofibroblastlar üzerinde hücre büyümesine neden olması ve folatın kronik kaybına yol açması olabileceği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2018; Hamed ve ark., 2022). Hepatik folat depolarında azalma ve lokal folat eksikliğine bağlı toksisite, MTX'ın karaciğer üzerindeki olası toksik etkilerinden biridir (Conway ve Carey 2017). MTX'ın akut karaciğer hasarı; hepatositlerde MTX-poliglutamat komplekslerinin birikmesi, hepatosit plazma membranının lizisine neden olur. Karaciğer enzimleri dolaşıma salınır ve serbest oksijen radikallerinin üretimine yol açar. Serbest oksijen radikalleri inflamatuar yanıtı indükleyerek mitokondriyal tükenmeye ve apoptoza neden olur (Di Martino ve ark., 2023).

MTX toksisitesine karşı testisin oldukça duyarlı olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2018; Kamel ve ark., 2019). MTX'ın testiste germ hücrelerinde DNA hasarına (Padmanabhan ve ark., 2008), spermatojenik epitel hasarına, destek hücre yapısında bozukluklara yol açarak infertilite ve döl verimi problemlerine neden olduğu rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2018). MTX'ın böbrek hasarı genellikle yüksek dozlarda ve uzun süreli kullanım sonrasında oluşmaktadır. MTX'ın büyük çoğunluğu (%80) böbrekler yolu ile atıldığı için özellikle yüksek dozlarda böbrek tübülleri içinde çökerek kristal nefropati oluşturabileceği belirtilmiştir (Howard ve ark., 2016). MTX'ın uzun süreli kullanımının sitokin salınımı ve immünolojik tepkiler sonucu alveolar epitel hücre hasarı, akciğer fibrozu, interstisyel pnömoni ve alveoler yıkım gibi tepkilerle akciğerde toksik etkilere yol açtığı bildirilmiştir (Hamed ve ark., 2022). Ayrıca MTX ile tedavi edilen romatoid artritli hastalarda miyelosupresyon, lökopeni, nötropeni ve megaloblastik anemi gibi hematolojik bozukluklar ile alopesi, yorgunluk, ateş, enfeksiyon riskinde artış, pankreatit ve maligniteye neden olduğu rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2018; Hamed ve ark., 2022). MTX gebelik sınıflandırmasında X kategorisinde yer alan bir ilaç olduğu için gebelik ve laktasyon durumunda kullanımı kontrendikedir (Hanoodi ve Mittal 2023).

2.1.3. Metotreksatın Farmakokinetiği

MTX oral, kas içi, damar içi, intratekal veya deri altı yollarla uygulanabilir. Oral uygulama sonrasında esas olarak proksimal jejenumdan emilir ve biyoyararlanımı %30-90 arasında değişir. Oral uygulama sonrası 0.75-2 saat içinde maksimum plazma

konsantrasyonuna ulaşır (Grim ve ark., 2003; Gao ve ark., 2021). MTX plazma proteinlerine %35-50 oranında bağlanır (Maksimovic ve ark., 2020). Geniş dağılım hacmine sahip olduğu için (0.87-1.43 L/kg) karaciğer, böbrek, incebağırsak, mide, dalak ve akciğer gibi dokulara geçişi iyidir (Grim ve ark., 2003; Gao ve ark., 2021). MTX'ın metabolizmasında asıl olarak dihidrofolat redüktaz enzimi rol alır ve metabolizma sonucu karaciğerde 7-hidroksi-metotreksata ve hücre içi poliglutamatlara dönüştürülür. Ayrıca bağırsak bakterileri tarafından parçalanarak 4-amino-deoksi-N10-metilpteroik asite dönüştürülür (Grim ve ark., 2003). MTX'ın biotransformasyonunda kan ve idrarda bulunan aldehid oksidaz enzimi de rol alır (Levêque ve ark., 2011). MTX'ın yaklaşık %80'i değişmeden, %3'ü 7-hidroksi-metotreksat olarak başlıca tübüler salgılanma ile böbreklerden idrar ile atılır (Gao ve ark., 2021), ve tübüler salgılanma ile atılan probenesid ve levetirasetam gibi ilaçlar ile farmakokinetik etkileşime girdiği bildirilmiştir (Bain ve ark., 2014). MTX'ın geriye kalan kısmı ise başta safra yolu olmak üzere süt, tükürük gibi vücut sıvıları ile atılmaktadır. İnsanlarda MTX'ın eliminasyon yarılanma ömrü 7-10 saat arasında değişmektedir (Shen ve Azarnoff 1978; Gao ve ark., 2021). MTX'ın hücrelere alımında çözünen taşıyıcı protein (SLC) taşıyıcı ailesinden OATP (organik anyon taşıyıcı polipeptit), OAT (organik anyon taşıyıcıları) ve RFC (azaltılmış folat taşıyıcısı) taşıyıcıları rol alırken, hücreden atılımında P-gp, meme kanseri direnç proteini (BCRP) ve çoklu ilaç direnci proteini (MRP) gibi ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı (ABC) proteinleri görev alır ve MTX'in bu taşıyıcı proteinlerin substratı olduğu rapor edilmiştir (Sun ve ark., 2012: Gao ve ark., 2021; Sato ve ark., 2023).

2.2. Silibin Hakkında Genel Bilgiler

Süt devedikeni olarak bilinen *Silybum marianum*, Asteraceae familyasına ait bir bitkidir ve ismini bu bitkinin süt beyazı damarlarından alır. Silimarin; süt devedikeninin tohumlarından ve meyvelerinden elde edilir (Abenovoli ve ark., 2018; Bijak, 2017). Silimarin; silibin, izosilibin, silidianin ve silikristin olmak üzere dört flavonolignan izomerinin kompleks bir karışımıdır. Silibin, yapının %60-70'ini temsil eden ana ve en aktif bileşendir ve silimarinin ana etkilerinden sorumludur (Kshirsagar ve ark., 2009). Silibin; silibin A ve silibin B olmak üzere iki trans diastereoizomer formu bulunur ve bunlar 1.4-benzodioksan halkasındaki C-10 ve C-11 referans pozisyonlarına göre farklılaşır, farmakolojik etkileri benzerdir (Abenovoli ve ark., 2018; Bijak, 2017).

2.2.1. Silibinin Koruyucu Etkileri

Silibin ve diğer silimarin bileşenleri antiinflamatuar, immünmodülatör, antifibrotik, antiproliferatif, antioksidan, antiapoptik, sitoprotektif, antineoplastik ve antiviral etkileri ile başlıca karaciğer, böbrek, dalak ve safra kesesi hastalıklarını tedavi etmek için 2000 yılı aşkın süredir kullanılan doğal bir bileşiktir. Silimarin ve silibinin ayrıca akciğer, gastrointestinal sistem ve kardiyovasküler hastalıklarda ve kan glukoz düzeylerinin düzenlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Karimi ve ark., 2011).

Silibin sahip olduğu farmakolojik etkilerinden dolayı özellikle karaciğer toksisitesinde kullanılır (Karimi ve ark., 2011; Wadhwa ve ark., 2022). Silibin lipid peroksidasyonun inhibisyonu, hepatosit rejenerasyonu, kupffer hücresi inhibisyonu, mast hücresi stabilizasyonu, nötrofil göçünün inhibisyonu, siklin bağımlı kinazların inhibisyonu ve kanser hücresinde büyümeyi durdurması gibi etkileri sayesinde karaciğer hasarında olumlu etkilere sahiptir. Silibin hepatosit zarlarının işlevsel bütünlüğünü koruyarak gama-glutamil transferaz, glutamik-oksalasetik transaminaz, glutamik pirüvik transaminaz ve alkalen fosfataz gibi karaciğer enzimlerinin normale dönmesini sağlar (Dixit ve ark., 2007; Abdel-Moneim ve ark., 2015).

Silibin NF-κB, tümör nekroz faktörü α, prostaglandin E2 ve lökotrien B4 gibi proinflamatuar mediyatörlerin üretimini azaltarak antiinflamatuar ve antioksidan etki gösterir (Liu ve ark., 2023; Křen ve Valentová 2022). Silibin serbest oksijen radikallerini azaltırken (Jaffar ve ark., 2024); glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim seviyelerini artırır. Ayrıca enzimatik olmayan nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2) yolaklarını aktive ederek antioksidan etki gösterir (Wadhwa ve ark., 2022). Silibinin karaciğer, akciğer ve meme kanseri başta olmak üzere birçok kanser türünde kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskılayıcı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. Silibin ve diğer silimarin bileşenlerinin, hücre döngüsünün G1/S fazında duraklamaya yol açtığı; siklin bağımlı kinaz inhibitörlerini aktive ettiği, anti-apoptotik gen ürünlerinin ekspresyonunu azalttığı; hücre sağkalımında rol oynayan kinazları inhibe ettiği ve proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerini baskıladığı ortaya konulmuştur. Silibin bu mekanizmalar aracılığıyla, tümör hücrelerinin çoğalması, invazyonu, metastazı ve anjiyogenezi ile ilişkili gen ürünlerinin ekspresyonunu baskıladığı rapor edilmiştir (Wadhwa ve ark., 2022).

2.2.2. Silibinin Farmakokinetiği

Silimarin ve silibin çoğunlukla ağız yoluyla uygulanır ve başlıca duodenumdan %20-50 oranında emilir. Bağırsak epitelinin apikal tarafında bulunan MRP2 ve BCRP taşıyıcı proteinleri silibinin emilimini kısıtlar (Xie ve ark., 2019) ve sıçanlarda mutlak oral biyoyararlanımı %1 düzeyindedir (Wu ve Tsai 2007). Silibin plazma proteinlerine %70 oranında bağlanır ve dokulara hızlı dağılım gösterir ve farelere 50 mg/kg dozda uygulamadan 1 saat sonra dokulardaki hem serbest hem de konjuge silibinin konsantrasyonun maksimum seviyelere ulaştığı belirtilmiştir. Safradaki silibin konsantrasyonu serum konsantrasyonundan 60-100 kat daha yüksektir. Silibinin dokulardaki C_{doruk} değerinin mide>karaciğer>pankreas>akciğer>prostat>cilt sırasıyla elde edildiği bildirilmiştir (Xie ve ark., 2019). Silibin oral uygulamadan sonra, karaciğerde faz I ve faz II enzimleri tarafından biyotransformasyonuna uğrar. Faz I metabolizmasında esas olarak CYP2C8 enzimi rol alır (Xie ve ark., 2019). Silibin ve metabolitleri faz II biyotransformasyonuna uğrar ve %55 glukuronidlenmiş konjugatlara ve %28 sülfatlanmış konjugatlara dönüşür (Xie ve ark., 2019). Faz II metabolizması sonucunda oluşan silibin konjugatları enterohepatik siklusa girdiği bildirilmiştir (Bijak, 2017). Oral yolla uygulanan silibinin %3-8'i idrarla değişmeden atılırken yaklaşık %80'i safra ile glukuronid ve sülfat konjugatları şeklinde atılır. Ratlarda silibinin eliminasyon yarılanma ömrü 6-8 saattir (Bijak, 2017).

2.3. Taşıyıcı Proteinlerin İlaç Etkileşimindeki Önemi

İlaç taşıyıcı proteinlerin asıl görevi besin, şeker, amino asit, nükleotid ve vitamin gibi endojen substratları hücre içine veya dışına taşıyarak vücudu; diyetle veya çevreden aldığı toksinlere karşı korumaktır. Bu taşıyıcılar fizyolojik substratların yanında yapısal olarak fizyolojik substratlara benzeyen ilaçları da tanıma ve taşıma potansiyeline sahiptir. İlaç taşıyıcı proteinler, ilaçların emilimi, dağılımı ve atılımında rol oynar. Bu nedenle bu taşıyıcıların işlevindeki değişiklikler veya bireyler arasındaki farklılıklar ilaçların farmakokinetiğini dolayısıyla terapötik etkinliğini veya toksik etkilerini değiştirebilir (You ve Morris 2022). ABC ve SLC taşıyıcıları ilaçların hücre ve dokuya geçişi ve birikmesinde rol oynayarak ilaçların farmakokinetiğinde değişikliğe neden olurlar (Clay ve Sharom 2014)

ABC taşıyıcı protein ailesi effluks karakterde taşıyıcılardan oluşur. Bu proteinler ilaç absorpsiyonunu ve dokulara ilaç girişini önleme ve ilaç atılımını artırma gibi etkilerinden dolayı genel olarak ksenobiyotiklere maruz kalmayı azaltarak organizma için koruyucu bir rol oynar (Szakács ve ark., 2008). ABC taşıyıcı ailesinde yer alan P-gp, BCRP ve MRP gibi effluks karakterdeki taşıyıcıların hastalık, kanser ve yangı durumlarında ilgili dokularda ve kanser hücre hattında yüksek seviyede eksprese olduğu ve antikanser ilaçların hücrelere temasını azaltabileceği bildirilmiştir (Gao ve ark., 2021). Kanser hücrelerinde ve tümörlerde ABC taşıyıcılarının aşırı ekspresyonu, substrat ilacın hücre hattından uzaklaşmasına ve kemoterapinin başarısızlığına katkıda bulunan çoklu ilaç direnç gelişimine (MDR) yol açar. İnsanlarda bildirilen MDR'lerin çoğundan P-gp, BCRP ve diğer MRP taşıyıcı proteinlerinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Sun ve ark., 2012). SLC taşıyıcı proteinleri ise hücre zarları boyunca çeşitli ilaçların, endojen ve eksojen bileşiklerin hücrelere alımından sorumlu olan taşıyıcı protein ailesidir (Gao ve ark., 2021; Sato ve ark., 2023). SLC taşıyıcıları içerisinde OATP, OAT, OCT, RFC gibi influks karakterde taşıyıcılar yer alır ve böbrek, karaciğer, bağırsak, akciğer, kas, testis, beyin gibi birçok doku ve organda bulunur (Giacomoni ve ark., 2010; Roth ve ark., 2012).

2.3.1. Metotreksatın İlaç Etkileşim Çalışmaları

MTX; ABC taşıyıcı ailesinde yer alan P-gp, MRP2, MRP4 ve BCRP taşıt proteinleri ile SLC taşıyıcı ailesinde yer alan OATP ve OAT, RFC taşıyıcılarının substratıdır (Sato ve ark. 2023; Gao ve ark., 2021; Hwang ve ark., 2024). Tedavide kullanılan ilacının ilgili doku ve hücrelere olan temasını artırarak daha iyi terapötik yanıt almak ve yan etkileri ve ilaç direnci gelişimini azaltmak amacıyla taşıyıcı inhibitörleri/modülatörleri kullanılmaktadır (Shukla ve ark., 2011; Wu ve ark., 2008). Romatoid artrit (Solomon ve ark., 2020) ve sedef hastalığında MTX'ın tümör dokusuna penetrasyonunun artırılması ve MDR'nin engellenmesi için, ilaç taşıyıcıların inhibitörleri konumunda bulunan ilaçlarla eş zamanlı kullanımının daha iyi bir etkinlik sağlayabileceği rapor edilmiştir (Sani ve ark., 2010). Ayrıca kanser hastalarında yüksek dozda MTX (500 mg/m^2) (Malaviya ve ark., 2010) kullanılırken eşzamanlı olarak taşıt proteinlerin inhibitörlerin kullanımının dokulara geçişi artırabileceği ve önemli yan etkilere neden olabileceği belirtilmiştir (Levêque ve ark., 2011; Jafari ve ark., 2023). Bu nedenle MTX'ın, taşıt protein inhibitörleri ile eşzamanlı kullanımında plazma ve

doku konsantrasyonunun izlenmesi ve uygun dozun seçilmesi konusunda dikkatli olunması önemlidir. Kombine kullanımda eşzamanlı kullanılan ilaçların MTX'ın farmakokinetiği üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar Çizelge 1.'de sunuldu.

Çizelge 2.1. Metotreksatın farmakokinetik etkileşim çalışmaları

Eş-zamanlı kullanılan ilaç	**Tür**	**Olası etkileşim mekanizması**	**Farmakokinetik değişim**	**Kaynak**
Hidroksiklorokin	Rat	P-gp inhibisyonu	C_{doruk} ve EAA artışı	Zhang ve ark. (2025)
Ketoprofen, İndometasin	Fare	OAT inhibisyonu	EAA ve C_{doruk} artışı, Cl/F ve V_z/F azalışı	Elmorsi ve ark. (2013)
Schisandra chinensis (Şizandra bitkisi)	Rat	P-gp ve OAT1-3 inhibisyonu	EAA ve C_{doruk} artışı, Cl/F ve V_z/F azalışı	Fu ve ark. (2021)
Resveratrol	Rat	P-gp, MRP2 ve OAT inhibisyonu	C_{doruk} ve EAA artışı, $t_{1/2}$ uzaması, Cl/F azalışı	Jia ve ark. (2016)
Pantoprazol Omeprazol	Fare	BCRP inhibisyonu	Cl azalışı, EAA artışı	Breedveld ve ark. (2004)
Puerarin	Rat	P-gp ve OAT inhibisyonu	C_{doruk}, EAA, F artışı, Cl/F azalışı, $t_{1/2}$ uzaması	Liu ve ark. (2014)
Bestatin	Rat	P-gp ve OAT inhibisyonu	C_{doruk}, EAA, F artışı Cl/F azalışı, $t_{1/2}$ uzaması	Zhu ve ark. (2014)
Magnolia officinalis (Manolya)	Rat	MRP2 inhibisyonu	EAA ve MRT artışı	Yu ve ark. (2024)
Floium Sennae (Sinameki yaprağı)	Rat	BCRP, MRP2 inhibisyonu	EAA ve MRT artışı	Yu ve ark. (2021)
Tranilast	Rat	OAT inhibisyonu	C_{doruk} ve EAA artışı Cl azalışı	Wang ve ark. (2022)
Amiodaron	Rat	OAT inhibisyonu	EAA artışı, Cl azalışı	Fuksa ve ark. (2008)
Levetirasetam	İnsan	Tübüler sekresyon üzerinde yarışma	Renal klirens azalışı	Bain ve ark. (2014)
Penisilin-Amoksilin	Maymun-İnsan	Tübüler sekresyon üzerinde yarışma	Renal klirens azalışı	Williams ve ark. (1984); Ronchera ve ark. (1993)

Rifampisin	İnsan	OATP, BCRP ve MRP4 inhibisyonu	EAA ve C_{doruk} artışı	Hwang. ve ark. (2024)
Piperasilin/tazobaktam	İnsan	OAT inhibisyonu	Renal klirens azalışı	Zarychanski ve ark. (2006)
Oksasilin	İnsan	OAT inhibisyonu	Renal klirens azalışı	Titier ve ark. (2002)
Salisilat, piroksikam, ibuprofen, naproksen, sulindak, tolmetin, etodolak	İn vitro	MRP2 ve MRP4 inhibisyonu, Böbrekten atılımın engellenmesi	Böbreklerden atılımın azalışı	El-Sheikh ve ark. (2007)
Favipiravir	İnsan	Aldehid oksidaz inhibisyonu	MTX metabolizmasının ve eliminasyonunun azalışı	Demir ve ark. (2022)
Probenesid, Siklosporin	Fare	P-gp, BCRP, MRP1 ve MRP2 inhibisyonu	EAA artışı, Cl azalışı, $t_{1/2}$ uzaması	Sani ve ark. (2010)
Probenesid	İnsan	OAT inhibisyonu	Renal klirens azalışı	Aherne ve ark. (1978)
Tofasitinib	İnsan	-	Anlamlı bir değişim yok	Cohen ve ark. (2010)
Pefisitinib	İnsan	-	Anlamlı bir değişim yok	Zhu ve ark. (2020)
Fenebrutinib	İnsan	-	Anlamlı bir değişim yok	Jones ve ark. (2019)

EAA: eğri altında kalan alan, Cl; total klirens, C_{doruk}; maksimum ilaç konsantrasyonu, $t_{1/2}$; eliminasyon yarılanma ömrü, MRT; ortalama kalış süresi, P-gp; p-glikoprotein, BCRP; meme kanseri direnç proteini, MRP; çoklu ilaç direnciyle ilişkili protein, OAT; organik anyon taşıyıcıları.

Çizelge 1'de yer alan çalışmalar incelendiğinde; özellikle taşıt proteinler üzerine etkili ilaçların, eşzamanlı uygulamada MTX'ın farmakokinetiğinde önemli değişikliklere neden olabileceği görülmektedir. Etkileşimlerin büyük çoğunluğunun böbrek üzerinde yüksek derecede ekprese olan OAT1 ve OAT3 (Roth ve ark., 2012; Giacomini ve ark., 2010) inhibisyonu ile olduğu bildirilmiştir. OAT1 ve OAT3 böbreğin bazolateral membranında bulunur (Giacomini ve ark., 2010) ve kandan böbrek dokusuna ilaç geçişinde rol oynar. Bu taşıyıcıların ilaçlar ve doğal bileşikler tarafından inhibisyonu sonucu MTX'ın kandan böbreğe dolayısıyla idrara geçişi azalacağından MTX'ın klirensinin azaldığı, C_{doruk} ve EAA değerlerinde artış meydana geldiği bildirilmiştir. MTX tübüler salgılanma ile atılır ve

probenesid, levetirasetam, penisilin ve amoksilin gibi tübüler salgılanma ile atılan ilaçlar ile eşzamanlı uygulaması farmakokinetik ilaç etkileşimine neden olur. Bununla birlikte P-gp, MRP2 ve MRP4 inhibisyonun da MTX'ın klirensini azaltabileceği ve sonuçta doku maruziyetini artırabileceği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2025; Jia ve ark., 2016; Hwang ve ark., 2024). P-gp, BCRP, MRP2 ve MRP4 böbreğin apikal membranında yer alır (Giacomini ve ark., 2010) ve ilaçların böbrek proksimal tübülünden idrara atılmasında rol alır. Aynı zamanda P-gp, BCRP, MRP2 bağırsak epitelinin apikal membranında bulunur ve ilaçların bağırsak lümenine atılımını sağlar. Bu taşıyıcıların inhibisyonu sonucu MTX'ın farmakokinetiğinin değiştiği bildirilmiştir (Liu ve ark., 2014; Zhu ve ark., 2014; Yu ve ark., 2021). MTX'ın klirensinin azalması yanında bazı çalışmalarda eliminasyon yarılanma ömrünün ve ortalama kalış süresinin uzaması MTX'ın yalnızca plazmada değil, böbrek ve diğer iyi kanlanan dokularda daha uzun süre kaldığını düşündürmektedir. Bu durum, taşıyıcı inhibisyonunun dağılım ve doku eliminasyonu düzeyinde de etkili olabileceğini ve plazma farmakokinetiği yanında doku maruziyetinin de artabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, taşıyıcı ekspresyon düzeyleri gibi farklılıkların da göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Fenebrutinib, pefisitinib ve tofasitinib gibi ilaçların MTX'ın farmakokinetiğinde anlamlı bir değişime neden olmadığı bildirilmiştir. Bu ilaçlar ile birlikte uygulama sonrası herhangi bir etkileşim görülmemesi eşzamanlı kullanılan ilaçların ilaç taşıyıcı proteinler üzerinde inhibisyona/indüksiyona yol açmaması veya MTX'ın farmakokinetik yolakları üzerinde etkilerinin olmaması ile ilişkilendirilebilir.

2.3.2. Silibinin İlaç Etkileşimindeki Rolü

Yapılan çalışmalarda silimarin ve silibinin ABC taşıyıcı ailesinde yer alan P-gp, BCRP, MRP1 ve MRP2 taşıyıcılarının inhibitörleri olduğu (Xie ve ark., 2019; Dobiasová ve ark., 2020) ve bu taşıyıcıların ekspresyon düzeylerini %59–%79 oranında inhibe ettikleri ortaya konulmuştur (Dobiasová ve ark., 2020). Ayrıca silimarinin, SLC taşıyıcı ailesinde yer alan OATP ve OAT taşıyıcıları üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (Köck ve ark., 2013). Silibin ve silimarinin başta CYP3A4 ve CYP2C9 olmak üzere (Faisal ve ark., 2021; Sridar ve ark., 2004; Brantley ve ark., 2013), CYP1A2, 2B6, 2C8, 2C19 ve 2D6 enzimleri üzerine inhibitör etkisi bildirilmiştir (Beckmann-Knopp ve ark., 2000).

Silibin başta karaciğer ve böbrek hastalıkları olmak üzere birçok hastalık durumunda yararlı etkilerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak silibin, taşıt proteinler ve ilaç metabolizmasında rol alan enzimler üzerindeki etkilerinden dolayı, bu hastalık durumlarında tedavi amaçlı kullanılan ilaçların farmakokinetiğinde ve dolayısıyla terapötik etkilerinde değişikliğe yol açabilir (Xie ve ark., 2019). Çeşitli ilaçların farmakokinetiği üzerine silimarin ve silibinin etkisi ile ilgili yapılan çalışmaları Çizelge 2.'de sunuldu.

Çizelge 2.2. Silimarin ve silibin uygulamasının ilaçların farmakokinetiği üzerine etkisi.

İlaç	**Eşzamanlı kullanılan ilaç**	**Tür**	**Olası etkileşim mekanizması**	**Farmakokinetik değişim**	**Kaynak**
Silimarin	Simvastatin	Rat	CYP, UGT, Paraoksonazlar, P-gp	EAA ve C_{doruk} artışı	Li ve ark. (2019)
Silimarin	Ribavirin	Rat	Gastrointestinal sistemde fiziko-kimyasal etkileşim	EAA ve C_{doruk} azalışı ve dağılım hacmi artışı	Liao ve ark. (2016)
Silimarin	Domperidon	İnsan	CYP3A4, P-gp inhibisyonu	EAA artışı	Yamsani ve Yamsani (2014)
Silibin	Nitrendipin	Tavşan	CYP2C9, P-gp	EAA ve C_{doruk} artışı ve klirens azalışı	Vorugant i ve ark. (2014)
Silibin	İmitanib	Rat	CYP3A4 inhibisyonu	EAA artışı, klirens azalışı ve $t_{1/2}$ uzaması	Wang ve ark. (2014)
Silimarin	Atorvastatin	Diabeti k Rat	CYP3A2	EAA artışı, klirens azalışı	Malekine jad ve ark. (2014)
Silimarin	Darunavir-Ritonavir	İnsan	CYP3A4, P-gp	EAA azalışı	Moltó ve ark. (2012)

Silibin	Karvedilol	Rat	CYP2C9, P-gp inhibisyonu	EAA, C_{doruk} ve F artışı	Lee ve Choi (2011)
Silibin	Paklitaksel	Rat	CYP3A4, P-gp inhibisyonu	F artışı	Lee ve Choi (2010)
Silibin	Tamoksifen	Rat	CYP3A4, P-gp	EAA, C_{doruk} ve F artışı	Kim ve ark. (2010)
Silimarin,	Losartan	İnsan	CYP2C9 inhibisyonu	EAA azalışı	Han ve ark. (2009)
Silimarin	Talinolol	İnsan	P-gp inhibisyonu	C_{doruk} ve EAA artışı	Han ve ark. (2009)
Silibin	Pirazinamid	Rat	CYP3A4, P-gp	Dağılım hacminde değişim	Wu ve Tsai (2007)
Silimarin	Nifepidin	İnsan	CYP3A4 inhibisyonu	EAA azalışı	Fuhr ve ark. (2007)
Silimarin	Metronidazol	İnsan	CYP3A4, CYP2C9, P-gp indüksiyonu	EAA azalışı	Rajnaray ana ve ark. (2004)
Silimarin	İndinavir	İnsan	CYP3A4	EAA azalışı	Piscitelli ve ark. (2002)

EAA: eğri altında kalan alan, Cl; total klirens, C_{doruk}; maksimum ilaç konsantrasyonu, $t_{1/2}$; Eliminasyon yarılanma ömrü, F; biyoyararlanım, CYP; sitokrom p450, P-gp; p-glikoprotein, UGT: üridin difosfat glukuronil transferaz.

2.3.3. Metotreksat ve Silibinin Eş Zamanlı Kullanımı

MTX kanser kemoterapisinde ve romatoid artrit gibi immün sistem hastalıklarında sıklıkla kullanılır. Bu hastalıklarda silibinin MTX ile kombine kullanımının etkinliği artırdığı rapor edilmiştir (Alimoradian ve ark., 2023; Hagag ve ark., 2016). Romatoid artritli hastalara silibin uygulamasının reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve proinflamatuar

sitokin düzeylerini azaltarak MTX'ın antiartritik aktivitesini güçlendirdiği; buna paralel olarak biyokimyasal belirteçlerde ve klinik skorlarda iyileşme sağladığı rapor edilmiştir (Hussain ve ark., 2016; Hussain ve Mortada 2014). Silibinin birçok kanser türünde kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskılayıcı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Wadhwa ve ark., 2022). Silibinin eşzamanlı uygulamasının MTX'ın antineoplastik ve antiromatoit etkisini artırdığı ve istenmeyen etkilerini azalttığı rapor edilmiştir (Karimi ve ark., 2011; Wadhwa ve ark., 2022; Ghodousi ve ark., 2023).

MTX kullanım dozuna ve sıklığına bağlı olarak başta karaciğer, akciğer, testis ve böbrek olmak üzere doku ve organlarda oksidatif strese ve dolayısıyla istenmeyen etkilere neden olur. MTX'ın istenmeyen etkilerinin önüne geçmek veya hafifletmek için doğal bileşikler kullanılmaktadır. Günümüzde önerilen kanser tedavi rejimleri, sağlıklı hücreler üzerinde sınırlı sitotoksik etkisi olan veya hiç sitotoksik etkisi olmayan doğal bileşiklerin kullanıldığı, eşzamanlı kullanıldığı ilaç ile sinerjistik etkileşim sağlayan veya adjuvan etkilerinden yararlanılan yeni bir yaklaşımı içermektedir (Dobiasová ve ark., 2020). Yapılan deneysel çalışmalarda silibinin/silimarinin sahip olduğu farmakolojik etkilerinden dolayı MTX'ın neden olduğu karaciğer, böbrek (Ahmed ve ark., 2023; Dabak ve Kocaman 2015; Hagag ve ark., 2016; Khawaja ve El-Orfali 2024), akciğer (Kalemci ve ark., 2015), testis (Yaman ve ark., 2018; Oufi ve Al-Shawi 2014) ve kemik iliği üzerine toksik etkisini azalttığı (Oufi 2018) bildirilmiştir. Bu bilgiler silibinin MTX'ın farmakolojik etkisini artırdığı ve istenmeyen etkilerini azalttığını göstermektedir.

MTX dihidrofolat redüktazı inhibe edip folik asit metabolizmasını bozan antimetabolit bir ilaçtır (Grim ve ark., 2003) ve birçok kanser türünün tedavisinde ve romatoid artrit gibi otoimmun hastalıklarda yaygın olarak kullanılır (Abolmaali ve ark., 2013; Levêque ve ark., 2011). Silibin ise immünomodülatör, antiinflamatuar, antifibrotik, antioksidan, anti-apoptik, sitoprotektif ve antineoplastik etkileriyle başta karaciğer olmak üzere birçok doku ve organ hastalığının tedavisinde kullanılan doğal bir bileşiktir (Karimi ve ark., 2011).

Silibinin eşzamanlı uygulamasının MTX'ın antikanser ve antiromatoit etkisini artırdığı ve istenmeyen etkilerini azalttığı rapor edilmiştir (Karimi ve ark., 2011; Wadhwa ve ark., 2022; Ghodousi ve ark., 2023). Silibin bu yararlı etkilerinden dolayı MTX ile eşzamanlı olarak kullanılabilir. Ancak iki ilacın eşzamanlı kullanılması hem emilim, dağılım,

metabolizma ve atılım düzeyinde hem de taşıt proteinler üzerindeki etkilerinden dolayı ilaç-ilaç etkileşimine neden olabilir. MTX; P-gp, BCRP, MRP gibi effluks karakterdeki taşıt proteinleri ile OAT, OATP ve RFC gibi SLC ailesinde yer alan taşıt proteinlerin substratı (Sun ve ark., 2012: Gao ve ark., 2021; Sato ve ark., 2023) iken; silibinin P-gp, BCRP, MRP1, MRP2, OAT ve OATP taşıt proteinlerinin inhibitörü (Xie ve ark., 2019; Dobiasová ve ark., 2020) olduğu rapor edilmiştir. Bu taşıt proteinlerin inhibitörü/indüktörü olan ilaçlar ile eşzamanlı kullanımının MTX'ın farmakokinetiğinde önemli değişikliğe neden olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma kapsamında silibinin taşıt proteinler üzerindeki inhibitör etkisi ve atılım yollarında MTX ile etkileşime girme potansiyelinden dolayı MTX'ın farmakokinetiğini değiştirebileceği hipoteze edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı farelere silibinin düşük (10 mg/kg) ve yüksek (50 mg/kg) dozlarda günde bir defa 7 gün boyunca oral yolla uygulamasının MTX'ın plazma ve doku (beyin, mide, ince barsak, kalp, kas, karaciğer, akciğer, böbrek, dalak ve testis) farmakokinetiği ile kümülatif idrar ve dışkı atılımı üzerine etkisini belirlemektir.

Farmakokinetik ilaç-ilaç etkileşimleri sonucu yetersiz ilaç konsantrasyonuna bağlı tedavide başarısızlık veya yüksek ilaç konsantrasyonuna bağlı toksik etkiler görülebilir. Bu çalışma kapsamında silibin ile eşzamanlı uygulama sonrası MTX'ın plazma ve doku farmakokinetiğindeki olası değişimin ortaya konulması etkileşimin yönünün anlaşılması noktasında oldukça önemlidir. Özellikle taşıt proteinler üzerine etkili ilaçların MTX'ın plazma farmakokinetiğini değiştirdiğini ortaya koyan çok sayıda çalışma olmasına karşın doku dağılımındaki değişimin incelendiği herhangi bir araştırmaya rastlanamadı. Bu çalışmada MTX'ın plazma ve doku farmakokinetiği ile kümülatif idrar ve dışkı atılımını üzerine silibinin muhtemel etkisi ilk defa ve detaylı olarak incelendi.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve İlaçlar

Metotreksat disodyum analitik standardı (%98.5; Alfa Aesar, Karlsruhe, Almanya) temin edildi. Asetonitril, potasyum dihidrojen fosfat, ortofosforik asit, formik asit ve trikloroasetikasit analitik saflıkta idi ve Sigma Aldrich'ten (St. Louis, ABD) temin edildi. Farelere ilaç uygulaması için MTX'ın enjeksiyonluk çözeltisi (Methotrexate, 500 mg/ 20mL, Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş, İstanbul, Türkiye) ve silibin analitik standardı kullanıldı (%98, Sigma Aldrich, St. Louis, ABD). Fareleri anesteziye almak için tiyopental sodyum (Pental NA, IE Ulagay, İstanbul, Türkiye) kullanıldı.

3.2. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Araştırmanın deneysel ve laboratuvar aşamalarında kullanılan alet ve ekipmanlar Çizelge 3.'te sunuldu.

Çizelge 3.1. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Alet / Ekipman	**Marka**
HPLC-UV sistemi Pompa (LC-20AT), Degasser (DGU-20A), Autosampler (SIL-20A), Kolon fırını (CTO-10A), Dedektör (SPD-20A UV-VIS)	Shimadzu, Japonya
Hassas terazi	Ohaus, ABD
Santrifüj cihazı	Sigma, Almanya
Manyetik karıştırıcı	İsolab, Almanya
Saf su sistemi	Younglin Instrument, Güney Kore
pH metre	Mettler Toledo, İsviçre
Derin dondurucu	Meiling, Çin
Homojenizatör	İsolab, Almanya
Otomatik pipet	VWR, ABD
İnertsil C18 Kolon	GL Sciences, Japonya
Vorteks	VWR, ABD
Ultrasonik su banyosu	VWR, ABD
Metabolik kafes	

3.3. Hayvan Materyali

Çalışmanın fareler üzerindeki aşaması Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Araştırma Swiss Albino ırkı, 8-12 haftalık, ortalama 40 gram canlı ağırlıktaki, 186 adet erkek fare üzerinde gerçekleştirildi. Fareler deneysel çalışma süresince polisülfon yapıdaki kafeslerde, 24±1°C, %60 atmosferik nem ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık uygulanan ortamda barındırıldı. Yem ve su ihtiyaçları ad libitum olarak sağlandı. Hayvan deneylerine başlamadan önce S.Ü. Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu Başkanlığı'ndan hayvanlar üzerinde gerçekleştirilecek işlemlerin Etik Kurul Yönergesi'ne uygunluğuna dair rapor (No: 2024-51) alındı.

3.4. Deneysel Uygulamalar

Çalışma toplam 186 adet erkek fare üzerinde gerçekleştirildi. Bu farelerden 6 tanesi metod validasyon çalışmalarında kullanıldı ve geri kalan fareler (n=180) ise aşağıda belirtilen şekilde üç eşit gruba ayrıldı.

1. Grup; Metotreksat grubu (MTX, n=60): Bu grupta bulunan farelere intraperitoneal yolla 20 mg/kg tek doz MTX uygulandı (Oktar ve ark., 2010).
2. Grup; Metotreksat+Düşük doz silibin grubu (MTX+DS, n=60): Bu grupta bulunan farelere silibin; 24 saatte bir 7 gün boyunca 10 mg/kg dozda oral yolla uygulandı. Son silibin (7. gün) uygulamasından 30 dakika sonra intraperitoneal yolla 20 mg/kg dozda MTX uygulandı (Kim ve ark., 2010; Lee ve Choi 2011)
3. Grup; Metotreksat+Yüksek doz silibin grubu (MTX+YS, n=60): Bu grupta bulunan farelere silibin 24 saatte bir 7 gün boyunca 50 mg/kg dozda oral yolla uygulandı. Son silibin (7.gün) uygulamasından 30 dakika sonra intraperitoneal yolla 20 mg/kg dozda MTX uygulandı (Wang ve ark., 2014; Kim ve ark., 2010)

Farelere ilaç uygulaması için 1 mL'de 25 mg MTX içeren ticari preparat (Methotrexate, 500 mg/ 20mL, Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. Ticari preparat enjeksiyonluk su ile 4 mg/mL olacak şekilde dilue edildi ve farelere ortalama 0.2 ml ilaç uygulandı. Silibini çözdürmek için %0.5'lik karboksimetilselüloz kullanıldı. 10 mg/kg doz grubu için 1.6 mg/mL ve 50 mg/kg doz grubu için 8 mg/mL konsantrasyonda silibin hazırlandı.

3.4.1. Dışkı ve İdrar Örneklerinin Toplanması

MTX uygulamasını takiben fareler metabolik kafeslere konularak 0-2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-10 ve 10-12. saatlerde idrar ve dışkı örnekleri toplandı. Her örnekleme zamanında 6 adet fare kullanıldı. İdrar ve dışkı örneklerinin alınmasında; 0-2. saatlerde 2. saatte, 2-4. saatlerde 4. saatte, 4-6. saatlerde 6. saatte, 6-8. saatlerde 8. saatte, 8-10 saatlerde 10. saatte ve 10-12. saatlerde 12. saatte kan ve doku örnekleri alınan fareler kullanıldı. Metot validasyon çalışmalarında kullanılan fareler ise direkt olarak metabolik kafeslere konularak 0-12. saatler arasındaki idrar ve dışkı örnekleri toplanıldı ve analiz zamanına kadar -80 ^{0}C'de saklandı.

3.4.2. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

MTX uygulamasını takiben her örnekleme zamanında 6'şar adet fareden 0.08, 0.25, 0.30, 1., 2., 4., 6., 8., 10. ve 12. saatlerde kan ve doku örnekleri alındı. Kan örnekleri (0.5-1 mL) tiyopental sodyum (intraperitoneal, 60 mg/kg) anestezisi altında farelerin kalplerinden heparinle yıkanmış insulin enjektörü yardımıyla alındı. Daha sonra fareler servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi edilerek beyin, mide, ince barsak, kalp, kas (femur bölgesi kasları), karaciğer, akciğer, böbrek, dalak ve testis dokuları alındı. Kan örnekleri 4000 x g de 10 dakika santrifüj edilerek plazma örnekleri elde edildi ve analiz zamanına kadar doku örnekleri ile birlikte -80 ^{0}C'de saklandı.

3.5. Metotreksat Analizi

3.5.1. Standartlar ve Stok Solüsyonlar

MTX stok solüsyonu, 1mg/mL olacak şekilde saf suda hazırlandı ve çalışma süresince -80 ^{0}C'de tutuldu. Çalışma boyunca kullanılacak çalışma ve kalibrasyon standartlarını hazırlamak için stok solüsyon dilüe edildi. MTX içermeyen kan, doku, idrar ve dışkı örneklerine MTX içeren standart solüsyonların farklı miktarları eklenerek kalibrasyon standartları hazırlandı. MTX içeren kalite kontrol örneklerinin düşük, orta ve yüksek konsantrasyonları HPLC metodunun geri kazanım, duyarlılık (tespit limiti ve hesaplanabilir limit) ve kesinlik değerlerini belirlemek için kullanıldı.

3.5.2. HPLC ve Kromatografik Şartlar

Plazma, doku, idrar ve dışkı örneklerinden MTX analizi daha önce bildirilen metotlar üzerinde bazı küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirildi (Begas ve ark., 2014; Moghbel ve ark., 2003). MTX analizi için UV-VIS dedektör (SPD-20A), pompa (LC-20AT), degasser (DGU-20A), otosampler (SIL-20A) ve kolon fırınından (CTO-10A) oluşan Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) sistemi (Shimadzu, Tokyo, Japonya) kullanıldı. MTX'ın kromatografik ayrımında Inertsil C18 kolon (4.6 × 250 mm; 5 µm) kullanıldı ve dalga boyu 307 nm'ye ayarlandı. Kolon fırını yardımıyla kolon sıcaklığı 30 °C ve otosampler sıcaklığı ise oda sıcaklığında ayarlandı. Mobil faz olarak potasyum dihidrojen fosfat (ortofosforik asit ile pH 3.5'e ayarlandı) ve asetonitril kullanıldı. Plazma ve doku analizlerinde mobil faz oranları değişkenlik gösterdi. Fosfat buffer oranı plazma ve karaciğer, beyin, testis, dalak, kalp, akciğer dokuları için %80, ince bağırsak, mide ve böbrek için %85 ve idrar ve dışkı için %88 olarak ayarlandı. Mobil faz akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlandı.

3.5.3. Örneklerin Analiz İçin Hazırlanması

Derin dondurucudan (-80 °C) çıkarılan plazma, doku, idrar ve dışkı örnekleri oda ısısına getirildi. Doku örnekleri homojenizasyon tüplerine konuldu ve homojenizatör yardımıyla (10000 rpm de 30 saniye) homojenize edildi. Daha sonra mikrosantrifüj tüplerine doku örneklerinden 100 mg ve plazma örneklerinden 100 µL konuldu. Proteinleri denatüre etmek için plazma örneklerine 40 µL trikloroasetik asit ve doku örneklerine 200 µL %0.1'lik formik asit eklendi. Karışım 1 dakika vorteks yapıldıktan sonra 10000 x g 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernatant otosampler viallerine aktarıldı ve 20 µL'si HPLC sistemine enjekte edildi. İdrar ve dışkı örnekleri su ile 10 kat dilue edildi ve sonrasında 100 µL örnek alındı ve üzerine 200 µL %0.1'lik formik asit eklendi. Karışım 1 dakika vorteks yapıldıktan sonra 10000 x g 15 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant otosampler viallerine aktarıldı. HPLC sistemine; idrar örneklerinden 50 µL ve dışkı örneklerinden 20 µL olacak şekilde enjekte edildi.

3.5.4. Metot Validasyonu

Fare örneklerinin analizi için, metodun geçerliliğinin belirlenmesinde özgünlük, doğrusallık, geri kazanım, duyarlılık (tespit limiti ve hesaplanabilir limit) ve kesinlik performans ölçütleri olarak kullanıldı. Metodun özgünlüğü MTX içermeyen plazma, doku, idrar ve dışkı örnekleri kullanılarak kromatogramda MTX'ın alıkonma zamanında matriks kaynaklı piklerin girişim yapıp yapmadığı değerlendirilerek belirlendi. Bu değerlendirmeler sonucunda MTX alıkonma zamanında herhangi bir pik gözlenmedi ve metodun özgün olduğu belirlendi.

Doğrusallığın belirlenmesinde çalışma ve kalibrasyon standartlarının pik alanları hesaplandı. Konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak kalibrasyon eğrileri çizildi ve korelasyon katsayıları hesaplandı. Stok solüsyon ultra saf su ile dilue edilerek çalışma standartları (0.04, 0.10, 0.20, 0.40, 1, 2, 4, 10, 20, 40, 100 ve 200 µg/mL) hazırlandı. MTX içermeyen kan, doku, idrar ve dışkı örneklerine stok solüsyon veya çalışma standartlarından eklenerek kalibrasyon standartları (0.04, 0.10, 0.20, 0.40, 1, 2, 4, 10, 20, 40, 100 ve 200 µg/mL (g)) hazırlandı. Bu analizler sonucunda çalışma standartlarının (R^2:0.9992) ve kalibrasyon standartlarının (R^2:0.996) bu konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu belirlendi. En düşük tespit limiti (LOD) ve en düşük hesaplanabilir limiti (LOQ) belirlemek için MTX'in en düşük standart solüsyonları (0.01-0.1 µg/mL (g)) MTX içermeyen plazma, doku, idrar ve dışkı örneklerine yüklendi. LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.02 ve 0.04 µg/mL (g) olarak belirlendi. MTX'ın düşük (0,1 µg/mL (g)), orta (1 µg/mL (g)) ve yüksek konsantrasyonları (10 µg/mL (g)) kalite kontrol örnekleri olarak kullanıldı. Kalite kontrol örneklerinin 5 farklı günde 5'er tekrarlı analizleri gerçekleştirildi. MTX'ın geri kazanımı plazma için >%85 olarak belirlendi. Geri kazanım değerinin kalp ve akciğer için >%65, diğer dokular için >%80 ve idrar ve dışkı için >%100 olduğu belirlendi. Gün içi ve günler arası varyasyon katsayılarının (%20) ve bias değerlerinin (±15) istenilen sınırlar içerisinde olduğu belirlendi.

3.6. Farmakokinetik Hesaplamalar

MTX'ın plazma, doku, idrar ve dışkı konsantrasyonları hesaplandı. Bu araştırmada her örnekleme zamanında farklı fareler kullanıldığı için farmakokinetik hesaplamalar örnekleme zamanlarındaki ortalama konsantrasyonlar üzerinden gerçekleştirildi (Corum ve

Üney 2020). Ortalama plazma konsantrasyonları üzerinden farmakokinetik parametreler WinNonlin programı (6.1.0.173, Pharsight Corporation, Mountain View, NC, USA) kullanılarak hesaplandı. Plazma örnekleri için eğri altında kalan alan (EAA), terminal eliminasyon yarılanma ömrü ($t_{1/2\lambda z}$), total vücut klerensi (Cl/F), dağılım hacmi (Vz/F), toplam EAA'nın son ölçüm noktasından sonsuza kadar ekstrapole edilen plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alan (EAA %), ortalama kalış süresi (MRT), doruk konsantrasyon (C_{doruk}) ve doruk konsantrasyona ulaşma süresi (T_{doruk}) hesaplandı. Doku örnekleri için ise EAA, $t_{1/2\lambda z}$ ve C_{doruk} parametreleri hesaplandı. Eğrinin altında kalan alan değerinin belirlenmesinde linear/log yöntemi kullanıldı. MTX'ın C_{doruk} ve T_{doruk} değerleri konsantrasyon-zaman eğrilerinin direkt bakısı ile tayin edildi. MTX'ın idrar ve dışkı ile atılım oranları % kümülatif atılan doz miktarı hesaplanarak belirlendi.

3.7. İstatiksel Analizler

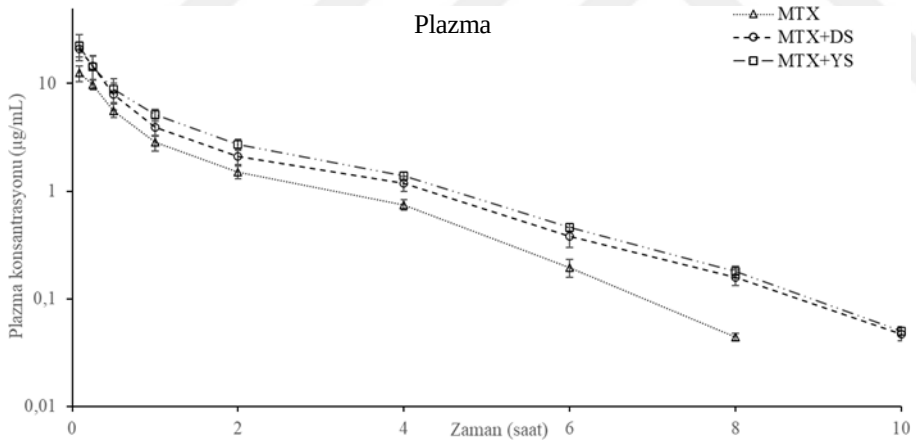
Plazma ve doku konsantrasyonları ortalama±standart sapma şeklinde sunuldu. Farmakokinetik hesaplamalar ortalama konsantrasyonlar üzerinden gerçekleştirildiği için istatistiksel değerlendirme takip eden formüle göre gerçekleştirildi. Formül: (X grubu-Y grubu)/Y grubu*100). Değerlendirme sonucunda ≤%(−)25 ve ≥%(+)25 değerleri istatistiksel olarak önem derecesi olarak kabul edildi (Hudachek ve Gustafson, 2013; Corum ve Üney 2020).

4. BULGULAR

MTX'ın periton içi yolla 20 mg/kg dozda tek, düşük doz (10 mg/kg, 24 saatte bir 7 gün, oral) ve yüksek doz (50 mg/kg, 24 saatte bir 7 gün, oral) silibin ile eşzamanlı uygulaması sonrası farelerde lokal ya da sistemik herhangi bir etki görülmedi. Çalışma süresince farelerin genel durumları, davranışları ve yeme içmeleri normal idi.

4.1. Plazma Farmakokinetiği

Farelere MTX'ın tek, düşük ve yüksek doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası MTX'ın yarı logaritmik plazma konsantrasyon zaman eğrileri Şekil 4.1' de sunuldu. MTX'ın tek başına uygulaması sonrası plazmadan 8.saate kadar tespit edilirken düşük ve yüksek doz silibin ile eş zamanlı uygulaması sonrası 10.saate kadar tespit edildi.



Şekil 4.1. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek doz (MTX+YS) silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası yarı logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrisi (n=6, ortalama±SD).

Farelere MTX'ın tek, düşük ve yüksek doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası MTX'ın farmakokinetik parametreleri Çizelge 4.1'te sunuldu. MTX'ın $t_{1/2\lambda z}$, MRT ve T_{doruk} değerleri gruplar arasında benzer idi (≤%(±)25). MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} ve $EAA_{0-\infty}$ değerlerinin sırasıyla %34.97-52.10 ve %76.01-76.36 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25). Ayrıca EAA_{last} değerinin MTX+YS

grubunda MTX+DS grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi (≥%(+)25). V_z/F değeri MTX ve MTX+DS gruplarında benzer iken (≤%(±)25) MTX+YS grubunda %34 oranında azaldığı belirlendi (≤%(–)25). MTX grubu ile karşılaştırıldığında, Cl/F değeri MTX+DS ve MTX+YS gruplarında sırasıyla %34.24 ve %43.19 oranında azalırken (≤%(–)25), C_{doruk} değeri sırasıyla %66.93 ve %77.63 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25).

Çizelge 4.1. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek (MTX+YS) doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası plazma farmakokinetik parametreleri.

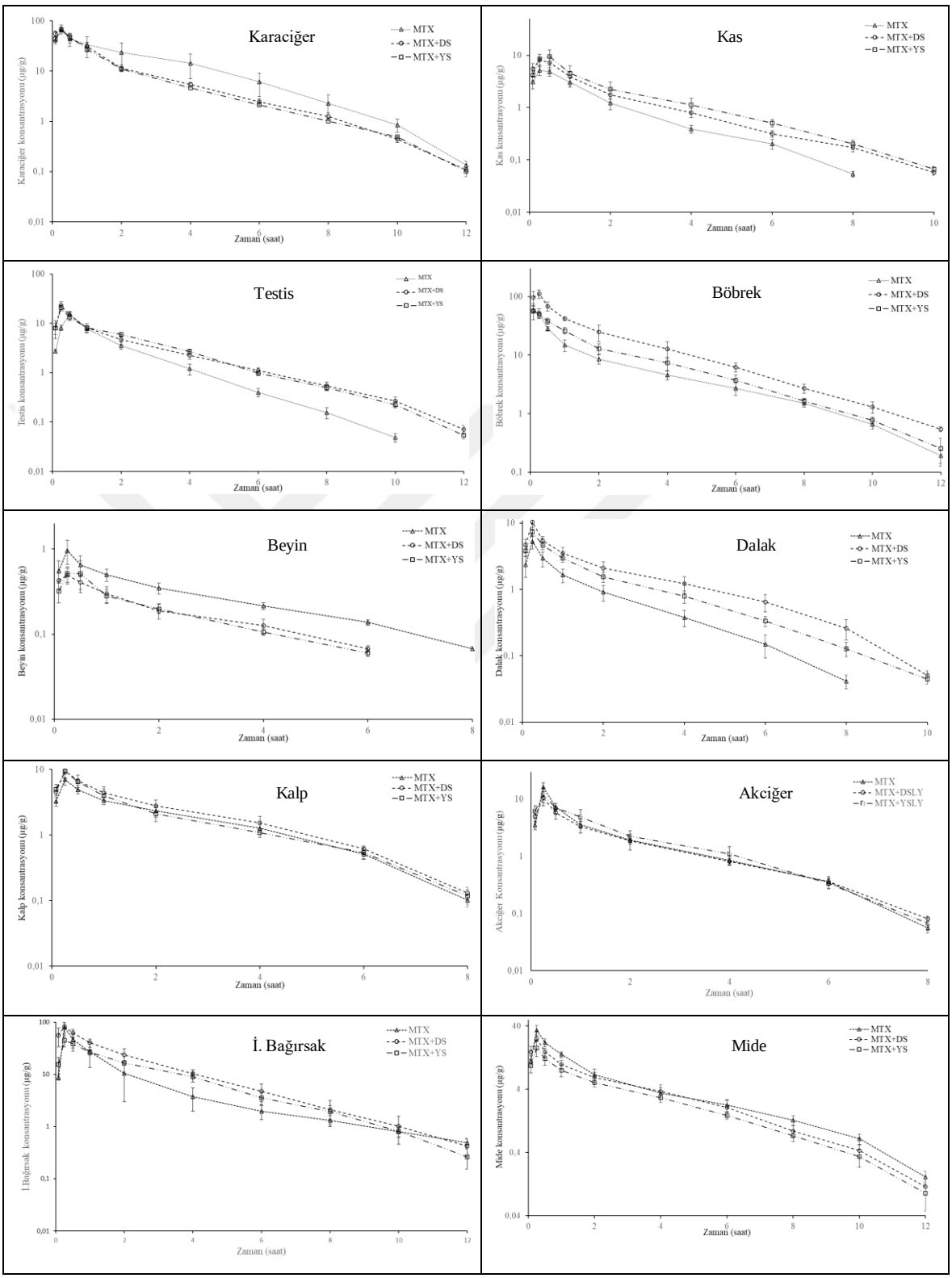
Parametre	MTX grubu	MTX+DS grubu	MTX+YS grubu
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	1.19	1.45	1.39
EAA_{last} (saat*µg/mL)	11.55	15.59 [a]	20.37 [bc]
$EAA_{0-\infty}$ (saat*µg/mL)	11.63	17.69 [a]	20.47 [b]
EAA_{ekstra} (%)	0.65	0.55	0.49
MRT (saat)	1.53	1.70	1.76
Vz/F (L/kg)	2.97	2.37	1.96 [b]
Cl/F (L/saat/kg)	1.72	1.13 [a]	0.98 [b]
C_{doruk} (µg/mL)	12.52	20.90 [a]	22.24 [b]
T_{doruk} (saat)	0.08	0.08	0.08

[a]= MTX+DS grubunun MTX grubuna göre istatistiksel farkını gösterir. [b]= MTX+YS grubunun MTX grubuna göre istatistiksel farkını gösterir. [c]= MTX+YS grubunun MTX+DS grubuna göre istatistiksel farkını gösterir. (≥%(+)25; ≤%(–)25)

$t_{1/2\lambda z}$; terminal eliminasyon yarılanma ömrü, $EAA_{0-\infty}$; eğri altında kalan alan, EAA (%); Toplam EAA'nın son ölçüm noktasından sonsuza kadar ekstrapole edilen plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alan, MRT; ortalama kalış süresi, Vz/F; dağılım hacmi, Cl/F; total vücut klirensi, C_{doruk}; doruk konsantrasyon, T_{doruk}; doruk konsantrasyona ulaşma süresi.

4.2. Doku Farmakokinetiği

Farelere MTX'ın tek, düşük ve yüksek doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası MTX'ın yarı logaritmik doku konsantrasyon zaman eğrileri Şekil 4.2'de sunuldu. MTX tek, düşük ve yüksek doz silibin ile eşzamanlı uygulaması sonrası karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, ince bağırsak ve mide dokularında elde edilen doku konsantrasyon zaman eğrilerinin benzer olduğu belirlendi. Silibin uygulaması kas, dalak ve testis dokularında MTX'ın tespit süresini uzatırken beyin dokusunda tespit süresini azalttı.



Şekil 4.2. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek doz (MTX+YS) silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası yarı logaritmik doku konsantrasyon-zaman eğrileri (n=6, ortalama±SD).

Farelere MTX'ın tek, düşük ve yüksek doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası MTX'ın dokulardaki farmakokinetik parametreleri Çizelge 4.2'te sunuldu.

Karaciğer dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında $t_{1/2\lambda z}$ değerinin sırasıyla %26.22 ve %27.86 oranında uzadığı (≥%(+)25); EAA_{last} değerinin sırasıyla %32.33 ve %37.29 oranında azaldığı (≤%(–)25) ve C_{doruk} değerinin değişmediği belirlendi (≤%(±)25).

Kas dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değerinin sırasıyla %55.44 ve %91.04 oranında ve C_{doruk} değerinin sırasıyla %59.25 ve %93.82 oranında daha yüksek olduğu belirlendi (≥%(+)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25).

Testis dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değerinin sırasıyla %48.95 ve %54.50 oranında ve C_{doruk} değerinin sırasıyla %50.35 ve %42.71 oranında daha yüksek olduğu belirlendi (≥%(+)25). MTX+DS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ değeri %33.07 oranında uzarken (≥%(+)25); MTX+YS grubunda herhangi bir farklılık tespit edilmedi (≤%(±)25).

Böbrek dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değerinin %144.73 ve %36.13 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25). Ayrıca EAA_{last} değerinin MTX+DS grubunda, MTX+YS grubundan daha yüksek olduğu tespit edildi (≥%(+)25). C_{doruk} değeri MTX+DS grubunda %73.64 oranında artarken (≥%(+)25); MTX+YS grubunda herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25).

Beyin dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değeri sırasıyla %48.37 ve %48.83 oranında ve C_{doruk} değerinin sırasıyla %44.79 ve %37.5 oranında azaldığı belirlendi (≤%(–)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25).

Dalak dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değerinin sırasıyla %142.21 ve %76.38 oranında ve C_{doruk} değerinin sırasıyla %97.34 ve %40.79 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25). Ayrıca EAA_{last} ve C_{doruk} değerleri MTX+DS grubunda, MTX+YS grubuna göre daha yüksek idi (≥%(+)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25).

Kalp dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında C_{doruk} değeri sırasıyla %34.51 ve %32.67 oranında arttığı (≥%(+)25); EAA_{last} değerinin MTX+DS grubunda %26.74 artarken (≥%(+)25); MTX+YS grubunda değişmediği belirlendi (≤%(±)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25).

Akciğer dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında C_{doruk} değeri sırasıyla %35.17 ve %26.47 oranında azalırken (≤%(–)25), EAA_{last} ve $t_{1/2\lambda z}$ değerlerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25).

İnce bağırsak dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS grubunda EAA_{last} değeri %73.53 oranında artarken (≥%(+)25), MTX+YS grubunda değişmediği (≤%(±)25), C_{doruk} değeri MTX+YS grubunda %40.77 oranında azalırken (≤%(–)25); MTX+DS grubunda değişmediği belirlendi (≤%(±)25). MTX ile karşılaştırıldığında $t_{1/2\lambda z}$ değerinin MTX+DS ve MTX+YS gruplarında sırasıyla %37.63 ve %39.06 oranında kısaldığı görüldü (≤%(–)25).

Mide dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında C_{doruk} değerinin %26.12 ve %47.72 oranında azaldığı belirlendi (≤%(–)25). MTX+DS grubunda, C_{doruk} değeri MTX+YS grubundan daha yüksek idi (≥%(+)25). EAA_{last} değeri MTX+DS grubunda değişmez iken (≤%(±)25); MTX+YS grubunda %35.22 oranında azalmıştır (≤%(–)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25).

Çizelge 4.2. Farelere metotreksatın tek (MTX), düşük (MTX+DS) ve yüksek (MTX+YS) doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası metotreksatın dokulardaki farmakokinetik parametreleri.

	$t_{1/2\lambda z}$ (saat)			**EAA_{last} (saat*µg/mL)**			**C_{doruk} (µg/mL)**		
Doku	**MTX**	**MTX+ DS**	**MTX+ YS**	**MTX**	**MTX+ DS**	**MTX+ YS**	**MTX**	**MTX+ DS**	**MTX+ YS**
Karaciğer	1.22	1.54^{a}	1.56^{b}	138.92	94.00^{a}	87.11^{b}	65.16	70.50	67.47
Kas	1.38	1.65	1.58	8.26	12.84^{a}	15.78^{b}	5.67	9.03^{a}	10.99^{b}
Testis	1.30	1.73^{a}	1.53	21.43	31.92^{a}	33.11^{b}	15.45	23.23^{a}	22.05^{b}
Böbrek	1.91	1.81	1.78	69.99	171.29^{a}	95.38^{bc}	62.33	108.23^{a}	60.79^{c}
Beyin	2.57	2.69	2.31	2.15	1.11^{a}	1.10^{b}	0.96	0.53^{a}	0.60^{b}
Dalak	1.35	1.32	1.55	5.97	14.46^{a}	10.53^{bc}	5.27	10.40^{a}	7.42^{bc}

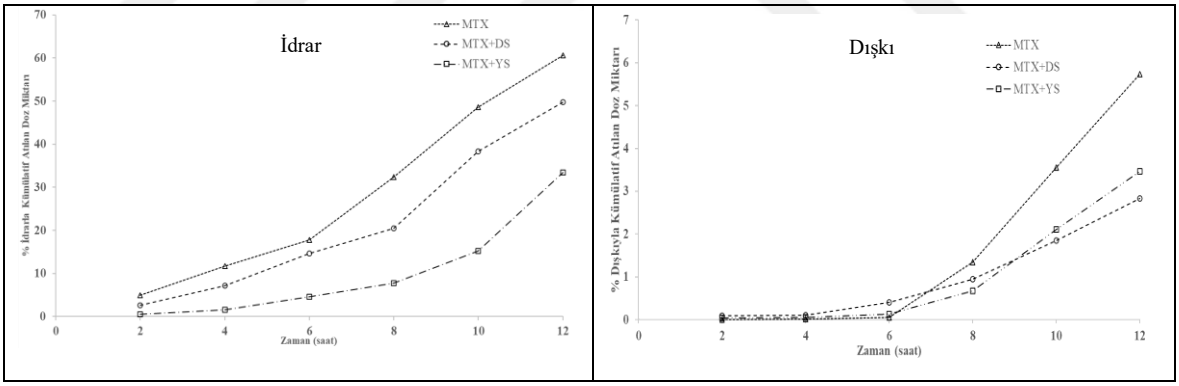
Kalp	1.45	1.44	1.48	13.05	16.54[a]	14.08	7.07	9.51[a]	9.38[b]
Akciğer	1.24	1.37	1.18	14.06	12.32	15.34	16.43	10.65[a]	12.08[b]
İ. Bağırsak	2.79	1.74[a]	1.70[b]	83.81	145.44[a]	98.89[c]	80.10	82.67	47.44[bc]
Mide	1.93	1.62	1.77	51.69	42.86	33.48[b]	34.34	25.37[a]	17.95[bc]

[a]= MTX+DS grubunun MTX grubuna göre istatistiksel farkını gösterir. [b]= MTX+YS grubunun MTX grubuna göre istatistiksel farkını gösterir. [c]= MTX+YS grubunun MTX+DS grubuna göre istatistiksel farkını gösterir. (≥%(+)25; ≤%(–)25)

$t_{1/2kz}$; terminal eliminasyon yarılanma ömrü, EAA_{last}; eğri altında kalan alan, C_{doruk}; doruk konsantrasyonu.

4.3. Metotreksatın Kümülatif Atılımı

Farelere MTX'ın tek veya düşük ve yüksek doz silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası MTX'ın idrar ve dışkıdan kümülatif atılımı Şekil 4.3'te sunuldu. MTX'ın idrar ve dışkıdan 12 saat süresince kümülatif atılımları sırasıyla %60 ve %5.73 olarak belirlendi. Hem düşük doz hem de yüksek doz silibin uygulaması MTX'ın idrar ve dışkıdan kümülatif atılımını önemli oranda azalttı. MTX'ın idrar ile kümülatif atılımı MTX+DS ve MTX+YS grubunda sırasıyla %17.79 (≥%(–)25) ve %44.78 oranında; dışkı ile kümülatif atılımı %50.78 ve %39.61 oranında azaldı (≤%(–)25).



Şekil 4.3. Metotreksatın tek (MTX) veya düşük (MTX+DS) ve yüksek doz (MTX+YS) silibin ile eşzamanlı olarak uygulaması sonrası MTX'ın idrar ve dışkıdan kümülatif atılımı

5. TARTIŞMA

İlaç–ilaç etkileşimlerinin önemli bir bölümü, ilaçların farmakokinetik süreçlerinde görev alan taşıyıcı proteinler aracılığıyla meydana gelmektedir. Taşıyıcı proteinler ve metabolik enzimlerin ilaçların absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve eliminasyon basamaklarında belirleyici rol oynadığını ve etkileşimlerin temel mekanizmalarını oluşturduğu bildirilmektedir (Goodman, 1996; You ve Morris 2022). ABC taşıyıcı proteinleri ilaçların hücre dışına taşınmasından sorumlu olup biyoyararlanım ve doku dağılımını sınırlayabilmektedir. SLC taşıyıcı proteinleri ise ilaçların hücre içine alımında rol oynamakta ve sistemik maruziyeti doğrudan etkilemektedir. Bu taşıyıcıların inhibisyonu veya indüksiyonu, eş zamanlı kullanılan ilaçların plazma ve doku konsantrasyonlarında belirgin değişikliklere neden olarak klinik açıdan anlamlı ilaç etkileşimlerine yol açabilmektedir (Giacomini ve ark., 2010). Taşıyıcı proteinlerde inhibisyon veya indüksiyona neden olan ve tübüler sekresyon yolu ile atılan ilaçların MTX'ın farmakokinetiğini etkileyerek klirens, eliminasyon yarılanma ömrü, ortalama kalış süresi, dağılım hacmi ve EAA gibi parametrelerde anlamlı değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir. Bu nedenle MTX, ilaç-ilaç etkileşimlerine duyarlı bir ilaç olarak kabul edilmektedir. MTX, ABC ve SLC ailesinde yer alan birçok taşıt proteinin substratıyken (Sun ve ark., 2012: Gao ve ark., 2021; Sato ve ark., 2023) silibinin bu taşıt proteinlerin inhibitörü olduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle bu iki ilacın eşzamanlı kullanımı farmakokinetik ilaç etkileşimine neden olabilir. Bu çalışma kapsamında MTX'ın plazma ve doku farmakokinetiği üzerine silibinin etkisi ilk defa ortaya konuldu ve silibinin MTX'ın farmakokinetiğinde önemli değişikliklere neden olduğu belirlendi.

Deney hayvanlarında yapılan farmakokinetik ilaç etkileşim çalışmalarında silibin 0.3 mg/kg'dan 350 mg/kg kadar değişen dozlarda oral yolla tek ve tekrarlı (3-15 gün) olarak kullanılmıştır (Lee ve Choi 2011; Chang ve ark., 2009) ve genel olarak çalışmalarda 0.5 mg/kg ve 50 mg/kg dozlarında tercih edilmiştir. Ayrıca eşzamanlı kullanılan ilaçların farmakokinetiği üzerine silibinin etkisinin doza bağlı olarak arttığı ve tekrarlı kullanım sonrası etkileşimin daha belirgin olduğu belirtilmiştir (Kim ve ark., 2010; Lee ve Choi 2010, Voruganti ve ark. 2014). Bu nedenle bu araştırmada silibinin oral yolla 10 ve 50 mg/kg dozlarda 7 gün boyunca kullanımı tercih edilmiştir. MTX, silibinin uygulamasından 30

dakika sonra intraperitoneal yolla 20 mg/kg tek doz uygulandı. Silibin ile ilgili ilaç etkileşim çalışmalarında farmakokinetiği incelenen ilaçlar, silibin uygulamasından 30 dakika sonra uygulandığından bu çalışmada da aynı zamanlama tercih edilmiştir (Lee ve Choi 2011; Wang ve ark., 2014; Kim ve ark., 2010; Lee ve Choi 2010; Wu ve ark., 2007). Farelerde MTX'ın intraperitoneal yolla 20–40 mg/kg dozlarında uygulanması antinflamatuvar ve immunsupresif etkiye neden olduğu için bu çalışmada 20 mg/kg dozu kullanılmıştır (Oktar ve ark. 2010).

Bu araştırmada farelere MTX'ın intraperitoneal yolla uygulaması sonrası plazma V_z/F, Cl/F, $t_{1/2\lambda z}$ ve EAA_{last} değerleri sırasıyla 2.97 L/kg, 1.72 L/saat/kg, 1.19 saat ve 11.63 saat*µg/mL olarak tespit edildi (Çizelge 4.4). Farelere MTX'ın 50 mg/kg dozda IP yolla uygulaması sonrası V_z/F, Cl/F, $t_{1/2\lambda z}$ ve EAA değerleri sırasıyla 7.4 ml, 16.62 ml/saat, 1.49 saat ve 60.22 saat*µg/mL olarak bulunmuştur (Elmorsi ve ark., 2013). Ayrıca farelere IP yolla 10 mg/kg dozda uygulama sonrasında Cl/F, $t_{1/2\lambda z}$ ve EAA_{last} değerleri sırasıyla 2.3 L/saat/kg, 0.61 saat ve 267 saat*µg/mL iken 600 mg/kg dozda uygulama sonrası 2.9 L/saat/kg, 0.51 saat ve 12500 saat*µg/mL olarak rapor edilmiştir (Lobo ve Balthasar 2003). Bu çalışmalar incelendiğinde farelerde MTX'ın genel olarak klirensinin hızlı ve eliminasyon yarılanma ömrünün kısa olduğu görülmüştür. Çalışmalar arasında MTX'ın farmakokinetik parametrelerindeki farklılık doz, kullanılan ilaç, analiz metodu ve hesaplama yöntemindeki farklılıktan kaynaklanabilir.

MTX hidrofilik ve iyonize bir molekül olmasına rağmen, RFC1 ve diğer taşıyıcı proteinler aracılığıyla hücre içine aktif olarak alınması ve hücre içinde folil-poliglutamat sentaz tarafından poliglutamat formlarına dönüştürülerek uzun süre kalması dokularda birikmesine ve dağılım hacminin geniş olmasına (0.87-1.43 L/kg) neden olur (Grim ve ark., 2003; Maksimovic ve ark., 2020; Gao ve ark., 2021). MTX'ın karaciğer, böbrek, incebağırsak, mide, dalak ve akciğer gibi dokulara iyi penetre olduğu bildirilmiştir (Gao ve ark., 2021). Bu araştırmada da MTX, 2.97 L/kg'lık bir değer ile geniş dağılım hacmi sergiledi (Çizelge 4.1). Farelerde MTX'in V_z/F değeri düşük doz silibin uygulaması sonrası değişmez iken (≤%(±)25) yüksek doz silibin uygulaması sonrası %34 oranında azaldı (≤% (–)25) (Çizelge 4.1). Daha önceki çalışmalarda; pantoprazolün BCRP inhibisyonu ile (Breedveld ve ark., 2004), şizandra bitkisinin OATP1 ve P-gp inhibisyonu ile (Fu ve ark., 2021) ve bestatinin P-gp ve OAT inhibisyonu ile (Zhu ve ark., 2014) MTX'in V_z/F'ni azalttığı bildirilmiştir. Dağılım hacmi plazma proteinlerine bağlanma ile ters orantılıdır ve

bağlanma oranının artması dağılım hacmini azaltırken bağlanma oranının azalması dağılım hacmini arttırır (Kayaalp, 2005). MTX plazma proteinlerine %35-50 oranında bağlanırken silibin %70 oranında bağlanır (Maksimovic ve ark., 2020; Wu ve Tsai 2007). Bu iki ilacın eşzamanlı uygulaması sonrası silibinin, MTX'in plazma proteinlerine bağlanma oranını azaltıp V_z/F değerini artırması beklenirken dağılım hacmi azaldı (Çizelge 4.1). MTX doku ve hücrelere ilaç alımı ve atılımında rol alan ABC (P-gp, BCRP, MRP) ve SLC (OATP, OAT, RFC) ailesinde yer alan birçok taşıt proteinin substratı iken silibinin bu taşıt proteinlerin inhibitörüdür (Xie ve ark., 2019; Dobiasová ve ark., 2020). Yüksek doz grubunda V_z/F değerinin azalması silibinin taşıt proteinler üzerindeki inhibitör etkisinden kaynaklanabilir.

MTX+DS ve MTX+YS gruplarında MTX'ın plazma Cl/F değerinin sırasıyla %34.24 ve %43.19 oranında azaldığı belirlendi (≤%(-)25) (Çizelge 4.1). MTX'ın büyük kısmı değişmeden idrar ile atılır ve atılımın yaklaşık %75'i renal tübüler sekresyon yoluyla olur (Grim ve ark., 2003). Silibinin yaklaşık %80'i dışkı ile atılırken (Bijak, 2017), çok az bir miktarı (%1-8) idrar ile atılır (Bijak, 2017; Tvrdý ve ark., 2021). İki ilacın atılım yollarının büyük oranda farklı olmasından dolayı tübüler sekresyon üzerinde yarışma ihtimali düşüktür. MTX, OAT ve RFC-1 taşıyıcıları ile kan dolaşımından bazal membrana taşınır ve sonrasında P-gp, BCRP, MRP gibi effluks taşıyıcılar ile apikal membrandan idrara atılır (Iwaki ve ark., 2017). Resveratrol (Jia ve ark., 2016), pantoprazol ve omeprazol (Breedveld ve ark., 2004), puerarin (Liu ve ark., 2014), bestatinin (Zhu ve ark., 2014), ketoprofenin ve indometasinin (Elmorsi ve ark., 2013) OAT, P-gp ve MRP inhibisyonu sonucu MTX'ın klirensini azalttığı bildirilmiştir. Silibinin ise P-gp inhibisyonuna neden olarak nitrendipin (Voruganti ve ark., 2014), imitanib (Wang ve ark., 2014) ve atorvastatinin (Malekinejad ve ark., 2014) klirensini azaltmıştır. Bu doğrultuda silibinin P-gp, OAT ve MRP taşıyıcı proteinlerin inhibisyonuna neden olarak MTX'ın klirensi azaltmış olabilir. Ayrıca prostaglandinler (PGE2-PGI2) böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızında rol alır ve non-steroidal antiinflamatuar ilaçların prostaglandin inhibisyonuna bağlı olarak MTX'ın böbreklerden atılımını azalttığı bildirilmiştir (El-Skeikh ve ark., 2007). Silibinin prostaglandin sentezini inhibe ettiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Lim ve ark., 2014; Woo ve ark., 2015). Silibinin MTX'ın klirensini azaltmasında bu mekanizma da etkili olmuş olabilir.

MTX'ın plazma $t_{1/2\lambda z}$ değeri; MTX+DS grubunda 1.45 saate ve MTX+YS grubunda 1.39 saate uzamış olsa da gruplar arası farkın önemli olmadığı (≤%(±)25) belirlendi (Çizelge

4.1). $t_{1/2\lambda z}$ değeri V_Z/F ve Cl/F değerlerinden şekillenen hibrit bir parametredir (Toutain ve Bousquet-mélou 2004) ve bu parametrelerdeki değişikliklerden etkilenir. $t_{1/2\lambda z}$ değeri V_Z/F ile doğru orantılı iken Cl/F değeri ile ters orantılıdır. Bu nedenle silibin uygulaması sonrası hem V_Z/F (MTX+DS hariç) hem de Cl/F değerlerinin azalmasından dolayı $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir fark görülmemiş olabilir (Çizelge 4.1). Daha önce yapılan çalışmalarda, rifamisin, febuksostat (Hwang ve ark., 2024), ketoprofen ve indometasin (Elmorsi ve ark., 2013) uygulamalarının MTX'ın V_Z/F ve Cl/F değerlerini azalttığı ve $t_{1/2\lambda z}$'de herhangi bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda MTX'ın plazma EAA_{last} değerinin MTX+DS ve MTX+YS gruplarında sırasıyla %34.97 ve %76.36 oranında ve $EAA_{0-\infty}$ değerinin ise sırasıyla %52.10 ve %76.01 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25) (Çizelge 4.1). Bu sonuçlar, silibinin uygulamasının MTX'ın sistemik maruziyetini belirgin şekilde artırdığını ve bu etkinin (EAA_{last} için) yüksek doz silibin ile daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. MTX tek uygulama sonrası plazmada 8. saate kadar tespit edilirken düşük ve yüksek doz silibin uygulaması sonrası 10. saate kadar tespit edildi. Silibin uygulaması sonrası EAA değerlerindeki artış plazma konsantrasyon zaman eğrisinin değişmesinden kaynaklanmış olabilir (Şekil 4.1). Plazma C_{doruk} değeri MTX+DS ve MTX+YS gruplarında sırasıyla %66.93 ve %77.63 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25) (Çizelge 4.1). C_{doruk} değerinin şekillenmesinde ilacın absorpsiyon oranı, dağılım hacmi ve klirens değerleri önemlidir (Cicekler ve ark., 2024). Silibin uygulaması sonrası C_{doruk} değerindeki değişiklik bu parametrelerdeki farklılıktan kaynaklanabilir.

Karaciğer dokusunda MTX grubu ile karşılaştırıldığında, MTX+DS ve MTX+YS gruplarında $t_{1/2\lambda z}$ değerinin sırasıyla %26.22 ve %27.86 oranında uzadığı (≥%(+)25) ve EAA_{last} değerinin ise %32.33 ve %37.29 oranında azaldığı görüldü (≤%(–)25). Gruplar arasında C_{doruk} değerinde ise herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Karaciğer dokusunda başlıca eksprese edilen ve ilaçların hepatositlere alımında rol oynayan OATP1A2, OATP1B1, OATP2B1, OAT2 ve OCT1 gibi taşıyıcı proteinlerin inhibisyonu, dokuya ilaç alımını ve dolayısıyla maruziyetini azaltabilir (Giacomini ve ark., 2010; Roth ve ark., 2012). Silibinin, hepatositlerde OATP1B1, OATP1B3 ve OATP2B1 üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterdiği rapor edilmiştir (Köck ve ark. 2013). Bu doğrultuda, silibinin influks karakterdeki bu taşıyıcıları inhibe ederek MTX'in karaciğer hücrelerine alımını azaltarak EAA_{last} değerinde ve doku maruziyetinde azalmaya yol açmış olabilir. MTX'in

metabolizması asıl olarak dihidrofolat redüktaz enzimi tarafından gerçekleşir ve karaciğerde 7-hidroksi-metotreksata ve hücre içi poliglutamatlara dönüştürülür (Grim ve ark., 2003). Bununla birlikte CYP 450 enzimlerinin MTX'in metabolizmasında ve farmakokinetiğinde önemli rol oynamadığı bildirilmiştir (Breedveld ve ark., 2004; Jia ve ark., 2016). Silibinin CYP enzimleri üzerinde inhibitör etkiye sahip iken (Faisal ve ark., 2021; Beckmann-Knopp ve ark., 2000), dihidrofolat redüktaz enzimi üzerindeki inhibitör veya indüktör etkisi hakkında bilgi bulunmamaktadır. Silibin karaciğerde dihidrofolat redüktazı indükleyerek MTX'in 7-hidroksi-metotreksata dönüşümünü artırabilir ve bu durum EAA_{last} değerini azaltmış olabilir. Hepatositlerin apikal membranında yer alan BCRP, MRP2 ve P-gp taşıt proteinleri safra ile atılımında ve bazolateral membranda bulunan MRP3 ve MRP4 taşıt proteinleri ilaçların karaciğerden atılımında önemli rol oynamaktadır (Giacomini ve ark., 2010; Roth ve ark., 2012). Silibinin P-gp, BCRP, MRP1 ve MRP2 gibi effluks taşıyıcı proteinler üzerindeki inhibitör etkisi (Xie ve ark., 2019; Dobiasová ve ark., 2020) ile MTX'in karaciğerden atılımını azaltıp $t_{1/2\lambda z}$ değerini uzatmış olabilir (≥%±25).

Kas dokusunda MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değerinin sırasıyla %55.44 ve %91.04 oranında ve C_{doruk} değerinin sırasıyla %59.25 ve %93.82 oranında arttığı (≥%(+)25) ve $t_{1/2\lambda z}$ değerinin değişmediği belirlendi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). İnsanların iskelet kasında influks karakterdeki OATP2B1 ve OAT1 taşıyıcıları ile effluks karakterdeki MRP1, MRP4 ve MRP5 taşıyıcı proteinlerinin bulunduğu bildirilmiştir (Roth ve ark. 2012; Knauer ve ark. 2010). İskelet kası miyoblast hücrelerinde özellikle OATP2B1 ve MRP1 ekspresyonunun ilaçların doku maruziyeti üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Knauer ve ark. 2010). Bu bağlamda eşzamanlı uygulama sonrası EAA_{last} ve C_{doruk} değerlerinin artması, silibinin MRP1 gibi effluks karakterdeki taşıyıcıları inhibe etmesine bağlı olarak MTX'in hücre içi konsantrasyonunu artırmasından kaynaklanabilir.

Testis dokusunda MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değerinin sırasıyla %48.95 ve %54.50 oranında ve C_{doruk} değerinin sırasıyla %50.35 ve %42.71 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25). Ayrıca MTX+DS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ değeri önemli oranda uzarken (≥%(+)25); MTX+YS grubunda herhangi bir farklılık görülmedi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Testis dokusunda P-gp, BCRP, MRP1 ve MRP4 gibi effluks karakterdeki taşıyıcı proteinler bulunur. Bu taşıyıcılar leyding hücreleri, kan-testis bariyerinin ana yapısını oluşturan sertoli hücreleri, peritübüler miyoid hücreler ve

endotel kılcal damarlara lokalize olmuştur ve ilaçların testis dokusuna geçişini sınırlandırırlar (Mruk ve ark., 2011; Roth ve ark. 2012). Silibinin P-gp, BCRP, MRP1 ve MRP4 taşıt proteinleri üzerindeki inhibitör etkisi ile MTX'ın EAA_{last} ve C_{doruk} değerlerini artırmış olabilir.

Böbrek dokusunda MTX'ın EAA_{last} değeri, MTX+DS ve MTX+YS gruplarında sırasıyla %144.73 ve %36.13 oranında daha yüksek bulundu (≥%(+)25). C_{doruk} değerleri MTX+DS grubunda %73.64 oranında artarken (≥%(+)25); MTX+YS grubunda herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25). Ayrıca MTX+DS grubunda EAA_{last} ve C_{doruk} değeri MTX+YS grubundan daha yüksek idi (≥%(+)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerlerinde anlamlı bir değişim görülmedi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Böbrek proksimal tübül hücrelerinin bazolateral ve apikal membranlarında P-gp, BCRP, MRP2 ve MRP4 gibi effluks karakterdeki taşıyıcı proteinler bulunur. MTX bu taşıt proteinlerin substratı iken silibin ise inhibitörüdür (Xie ve ark., 2019; Dobiasová ve ark., 2020; Gao ve ark., 2021; Hwang ve ark., 2024; Giacomini ve ark., 2010). Bu bulgular değerlendirildiğinde, silibininin effluks karakterdeki bu taşıyıcıları inhibe etmesi sonucunda MTX'in renal tübüler sekresyonunu azaltarak EAA_{last} ve C_{doruk} değerlerinde artışa yol açmış olabilir.

Beyin dokusunda MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değeri sırasıyla %48.37 ve %48.83 oranında ve C_{doruk} değerleri sırasıyla %44.79 ve %37.50 oranında azaldı (≤%(–)25). Buna karşılık $t_{1/2\lambda z}$ değerlerinde gruplar arasında herhangi bir farklılık görülmedi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Beyin dokusuna ilaç geçişinde rol oynayan taşıyıcı proteinler incelendiğinde; beyin kapiller endotel hücrelerinin apikal membranında OATP1 ve OATP2 (Giacomini ve ark., 2010), koroid pleksusun apikal ve bazolateral membranlarında OATP1C ve OATP3A ile kan-beyin bariyerinde OATP1A2 ve OATP2B1 gibi influks karakterdeki taşıyıcıların ifade edildiği bildirilmiştir (Roth ve ark., 2012). Beyin kapillar endotel hücreleri apikal membranında P-gp ve BCRP gibi effluks karakterde taşıyıcılar da bulunur (Giacomini ve ark. 2010). Silibinin effluks karakterdeki bu taşıyıcıları inhibe edip beyin dokusuna MTX'ın geçişini artırıp EAA_{last} ve C_{doruk} değerlerini artırmasını beklerken zıt bir etki görülmüştür. Beyin dokusunda MTX'in EAA_{last} ve C_{doruk} değerinin azalması beyin dokusunda silibinin OATP1-2 gibi influks karakterdeki proteinler üzerine etkisinin P-gp ve BCRP gibi effluks karakterdeki proteinler üzerine olan etkisinden daha belirgin olmasından kaynaklanabilir.

Dalak dokusunda MTX ile karşılaştırıldığında, MTX+DS ve MTX+YS gruplarında EAA_{last} değeri sırasıyla %142.21 ve %76.38 oranında ve C_{doruk} değeri sırasıyla %97.34 ve %40.79 oranında arttığı belirlendi (≥%(+)25). Ayrıca EAA_{last} ve C_{doruk} değerleri MTX+DS grubunda MTX+YS grubuna göre daha yüksek idi (≥%(+)25). Gruplar arasında $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Dalak dokusunun lenfositler ve eritrositler için önemli bir doku rezervuarı olduğu bildirilmiştir (Mebius ve Kraal 2005; Kapila ve ark., 2023). MTX'ın lenfositlere hücre içi girişinde RFC taşıyıcısının rol oynadığı gösterilmiş olmasına karşın (Matsuda ve ark., 2008), eritrositlere MTX'ın giriş mekanizmasına ilişkin net ve doğrudan bir taşıyıcı bilgisine literatürde rastlanmamıştır. Ayrıca silibinin RFC taşıyıcısı üzerindeki inhibitör veya indükleyici etkisine dair yayımlanmış bir veriye ulaşılamamıştır. Dalağın vücutta yüksek kanlanmaya sahip organlardan biri olması ve dalak dokusunda bulunan effluks karakterdeki taşıyıcı proteinlerin silibin tarafından inhibe edilebilme potansiyeli birlikte değerlendirildiğinde, bu etkinin MTX'in dalak dokusundaki eliminasyonunu sınırlandırarak EAA_{last} ve C_{doruk} değerlerinde artışa yol açmış olabileceği düşünülmektedir.

Kalp dokusunda MTX C_{doruk} değerinin MTX+DS ve MTX+YS gruplarında sırasıyla %34.51 ve %32.67 oranında daha yüksek olduğu belirlendi (≥%(+)25). EAA_{last} değeri MTX+DS grubunda %26.74 oranında artarken (≥%(+)25) MTX+YS grubunda herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Kalp dokusunun vasküler endotel hücreleri üzerinde OATP, P-gp ve MRP taşıyıcı proteinlerinin bulunduğu bildirilmiştir (Roth ve ark., 2012; Solbach ve ark., 2006). Silibinin bu taşıyıcılar üzerindeki inhibitör etkisi ile C_{doruk} ve EAA_{last} değerlerinde artışa neden olmuş olabilir. Düşük ve yüksek doz silibin uygulamasının $t_{1/2\lambda z}$ değerinde herhangi bir farklılığa neden olmadığı belirlendi (≤%(±)25).

Akciğer dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında C_{doruk} değerinin sırasıyla %35.17 ve %26.47 oranında azalmasına karşın (≤% (–)25); EAA_{last} ve $t_{1/2\lambda z}$ değerlerinde herhangi bir değişiklik olmadı (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Akciğer bronş, alveol ve damar endotelinde effluks karakterde P-gp, MRP ve BCRP taşıyıcı proteinleri (Van der Deen ve ark., 2005) ile influks karakterde OATP (Roth ve ark., 2012) taşıyıcı proteinleri bulunur. Akciğer dokusunda EAA_{last} değerinin değişmemesinin nedeni silibinin effluks ve influks karakterdeki taşıyıcıları eşzamanlı olarak inhibe ediyor olmasından kaynaklanabilir.

İnce bağırsak dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS grubunda EAA_{last} değeri %73.53 oranında artarken (≥%(+)25) C_{doruk} değerinin değişmediği (≤%(±)25) ve MTX+YS grubunda C_{doruk} değerinin %40.77 oranında azaldığı (≤%(–)25) ve EAA_{last} değerinin değişmediği belirlendi (≤%(±)25). MTX'in $t_{1/2\lambda z}$ değerinin MTX+DS ve MTX+YS gruplarında sırasıyla %37.63 ve %39.06 oranında kısaldığı tespit edildi (≤%(–)25) (Çizelge 4.2). İnce bağırsak epitelinin apikal membranında başlıca P-gp, MRP2 ve BCRP gibi effluks karakterde ABC taşıyıcı proteinleri bulunur (Giacomini ve ark., 2010) ve bu taşıyıcıların inhibisyonu MTX'ın bağırsak lümenine atılımı kısıtlayabilir ve bu durum EAA_{last} değerini artırmış olabilir. Ancak düşük ve yüksek doz grubunda elde edilen sonuçların bu kadar farklı olmasının nedeni tam olarak bilinmemektedir.

Mide dokusunda; MTX grubu ile karşılaştırıldığında MTX+DS ve MTX+YS gruplarında C_{doruk} değerinin %26.12 ve %47.72 oranında azaldığı (≤%(–)25); EAA_{last} değeri MTX+DS grubunda değişmezken (≤%(±)25); MTX+YS grubunda %35.22 oranında azaldığı belirlendi (≤%(–)25). Ayrıca $t_{1/2\lambda z}$ değerinde gruplar arasında herhangi bir farklılık belirlenmedi (≤%(±)25) (Çizelge 4.2). Mide parietal hücreleri ve pilor bezlerinde OATP2A1 taşıyıcılarının bulunduğu bildirilmiştir (Roth ve ark., 2012). Silibinin influks karakterdeki taşıyıcıları inhibe ediyor olması EAA_{last} ve C_{doruk} değerlerinin azalmasına yol açmış olabilir.

Çalışmamızda MTX'ın dokular arasındaki dağılımının farklılık sergilemesinin nedeni; dokularda influks ve effluks taşıyıcı proteinlerin ekspresyon düzeylerinin değişkenlik göstermesi (Giacomini ve ark., 2010; Roth ve ark., 2012), bu taşıyıcıların dokuya özgü apikal veya bazolateral membranda bulunarak ilacın atılımına ve/veya emilimine katkıda bulunması (Ito ve ark., 2005; Chan ve ark. 2004) ve ilaçların söz konusu taşıyıcılara olan afinitesinin dokuya özgü farklılıklar sergilemesinden (Giacomini ve ark., 2010; Litman ve ark., 2001) kaynaklanabilir.

MTX'ın idrarla % kümülatif atılan doz miktarı %60 olarak belirlendi. MTX'ın idrar ile kümülatif atılımı düşük doz ve yüksek doz silibin grubunda MTX grubuna kıyasla sırasıyla %17.79 (≥%(–)25) ve %44.78 (≤%(–)25) oranında azaldı. Daha önce yapılan çalışmalarda puerarinin (%32) ve bestatinin P-gp ve OAT taşıyıcı inhibisyonu ile MTX'ın idrarla kümülatif atılımını önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2014; Zhu ve ark. 2014). MTX'ın yaklaşık %80'i değişmeden, %3'ü 7-hidroksi-metotreksat olarak başlıca tübüler salgılanma ile böbreklerden idrar ile atılır (Gao ve ark., 2021). Böbrek proksimal

tübüllerin apikal membranında P-gp, BCRP, MRP2 ve MRP4 taşıyıcıları bulunur ve substratlarının idrara taşınmasında rol alır (Giacomini ve ark. 2010), bazolateral membranda ise başlıca OAT1, OAT2, OAT3 influks proteinleri bulunur ve substratların kandan böbrek dokusuna geçişini sağlar (Giacomini ve ark. 2010; Roth ve ark., 2012). Silibin uygulanan grubun MTX grubuna göre kümülatif atılımının azalması silibin effluks ve influks karakterdeki bu taşıyıcıları inhibe ederek MTX'ın idrar ile atılımını azaltmış olması olabilir. MTX'ın dışkıyla kümülatif atılımı %5.73 iken düşük doz ve yüksek doz silibin grubunda bu atılımın sırasıyla %50.78 ve %39.61 oranında azaldığı belirlendi (≤%(–)25). Bağırsak epiteli apikal membranında P-gp, BCRP ve MRP2 gibi effluks karakterde taşıyıcılar bulunur ve substratları bağırsak lümenine taşıyarak dışkı ile atılmasını sağlar (Giacomini ve ark. 2010). Silibin bu taşıyıcılar üzerinde inhibitör etkisi ile (Xie ve ark., 2019; Dobiasová ve ark., 2020) MTX'ın bağırsak lümenine dolayısı ile dışkı yoluyla atılımının azalmasına yol açmış olabilir.

Çalışmamızda MTX+DS grubu ile karşılaştırıldığında, MTX+YS grubunda plazma V_z/F, Cl/F, $t_{1/2\lambda z}$, EAA_{Inf} ve C_{doruk} değerlerinde herhangi bir farklılık belirlenmez iken (≤%(±)25); EAA_{last} değerinde önemli bir artış görüldü (≥%(+)25) (Çizelge 4.1). Daha önceki çalışmalarda silibinin artan dozlarının karvedilol (Lee ve Choi 2011), tamoksifen (Kim ve ark., 2010) ve nitrendipinin (Voruganti ve ark., 2014) EAA ve C_{doruk} değerlerinde anlamlı artışa neden olmasına karşın, $t_{1/2\lambda z}$ ve T_{doruk} parametrelerinde anlamlı bir farka neden olmaması bu çalışma bulguları ile tutarlıdır. Düşük ve yüksek doz silibin uygulaması sonrası MTX'ın EAA ve C_{doruk} değerleri kas, testis ve dalak dokusunda artarken beyin dokusunda azaldı (≤%(–)25). Farklı doz silibin uygulamasının EAA değerini böbrekte artırdığı (≥%(+)25), karaciğerde azalttığı (≤%(–)25) ve akciğerde değiştirmediği (≤%(±)25) belirlendi. Silibin uygulaması böbrek, kalp, ince barsak ve mide dokularında EAA ve C_{doruk} değerlerinde farklılığa neden olduğu ancak bu farklılığın dozla ilişkili olmadığı belirlendi (Çizelge 4.2). Genel olarak plazma ve dokulardaki farmakokinetik değişim incelendiğinde silibin uygulamasının MTX'in plazma ve doku dağılımını değiştirdiği, değişimin yönünün dokular arasında önemli farklılıklar gösterdiği ve silibin dozundan bağımsız olduğu belirlendi (Çizelge 4.1- 4.2).

Mevcut araştırmanın eksik yönlerinden en önemlisi MTX ve silibinin eşzamanlı uygulaması sonrası influks ve effluks karakterdeki taşıt proteinlerin gen ifadesi ve protein seviyesindeki değişimin incelenmemiş olmasıdır. MTX birçok kanser türü ve otoimmün

hastalıklarda kullanım potansiyeli bulunan bir ilaç olduğu için taşıt protein düzeyindeki değişimin tüm dokular üzerinde incelenmesi gerektiği düşünülmesine karşın mevcut projenin bütçesi ve aşırı iş yükünden dolayı bu işlem gerçekleştirilemedi. Silibin ile eşzamanlı uygulama sonrası MTX'in plazma proteinlerine bağlanma oranı ile metabolizma ve atılım yolaklarındaki değişimin incelenmemiş olması da eksikler arasında yer alır. Ayrıca çoklu doz farmakokinetiğin incelenmemesi ve çalışmanın sağlıklı fareler üzerinde gerçekleştirilmesi araştırmanın eksik yönleri arasında yer alır.

6. SONUÇ

Farelerde silibin uygulamasının MTX'ın plazma ve doku farmakokinetiğinde belirgin değişikliklere yol açtığı belirlendi. Düşük ve yüksek doz silibin uygulamaları, MTX'ın plazma konsantrasyonlarını anlamlı düzeyde artırırken, görünür dağılım hacmi ve klirens değerlerinde azalmaya neden oldu. Silibinin her iki dozu, MTX'ın karaciğer, testis ve beyin dokularındaki düzeylerini anlamlı olarak azaltırken; kas, böbrek, dalak ve ince bağırsak dokularındaki düzeylerini artırmıştır. Düşük doz silibin uygulaması kalp dokusunda MTX düzeylerinde anlamlı bir artışa yol açarken, mide dokusunda yalnızca yüksek doz silibin uygulaması anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. Akciğer dokusunda MTX düzeylerinde ise anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

Silibinin MTX'ın plazma ve doku farmakokinetiği üzerindeki bu etkilerinin, influks ve effluks karakterdeki taşıyıcı proteinlerin inhibisyonu veya indüksiyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Silibinin, farklı dokularda yer alan influks ve effluks taşıyıcıları üzerindeki etkilerinin değişkenlik gösterdiği ve bu taşıyıcıların MTX'ın dokulara geçişi ile eliminasyonundaki katkılarının dokuya özgü farklılıklar sergileyebileceği ve farmakokinetik parametrelerdeki değişimin dokular arasında farklı olmasının bu durumdan kaynaklanabileceği değerlendirildi.

Silibin MTX'ın hem etkinliğini artırması hem de istenmeyen etkisini azaltması nedeniyle eşzamanlı kullanım potansiyeli olan bir ilaçtır. Bu çalışma sonucu değerlendirildiğinde silibinin eşzamanlı uygulamasının MTX'ın plazma ve doku dağılımını değiştirdiği, bu değişimin yönünün dokular arasında farklılık gösterdiği ve bu farklılıktan dolayı MTX maruziyetinin dokuya göre değişiklik gösterebileceği belirlendi. Bu çalışma sonucunda özellikle iki ilacın tekrarlı kullanımına bağlı olarak bazı dokularda MTX'ın doku maruziyetinin artmasına bağlı olarak toksik etkilere neden olabileceği ve bazı dokularda da MTX'ın doku maruziyetini azaltarak tedavide başarısızlığa neden olabileceği dikkate alınmalıdır. Bu nedenle MTX-silibin etkileşiminin tekrarlı uygulama sonucunda ortaya konulması, daha spesifik çalışmalar ile hedef hastalık veya doku üzerinde gerçekleştirilmesi, doku dağılımı ve eliminasyonunda rol oynayan mekanizmaların ayrıntılı olarak aydınlatılması için taşıt proteinlerin değişiminin incelendiği moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. **Abdel-Moneim, A. M., Al-Kahtani, M. A., El-Kersh, M. A., Al-Omair, M. A**. Free radical-scavenging, anti-inflammatory/anti-fibrotic and hepatoprotective actions of taurine and silymarin against CCl4 induced rat liver damage. *PLOS one*, **2015**, 10(12), e0144509.
2. **Abenavoli, L., Izzo, A. A., Milić, N., Cicala, C., Santini, A., Capasso, R.** Milk thistle (Silybum marianum): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases. *Phytotherapy research*, **2018,** *32*(11), 2202-2213.
3. **Abolmaali, S. S., Tamaddon, A. M., Dinarvand, R.** A review of therapeutic challenges and achievements of methotrexate delivery systems for treatment of cancer and rheumatoid arthritis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **2013,** *71*, 1115-1130.
4. **Aherne, G. W., Piall, E., Marks, V., Mould, G., White, W. F.** Prolongation and enhancement of serum methotrexate concentrations by probenecid. *Br Med J*, **1978,** *1*(6120), 1097-1099.
5. **Ahmed, W. A., Qatea, F. K., Qasim, B. J., Nashtar, S. B., Al-Radeef, M. Y.** Effects of Silymarin against Hepatic and Renal Toxicity Induced by Methotrexate in Rats. *Tikrit Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2023,** *17*(2), 28-38.
6. **Alimoradian, A., Garshasbi, M., Asafari, M., Golitaleb, M., Tabar, R. M., Mortaji, S., Tajik, R.** Effect of silymarin on hepatic complications caused by methotrexate and its analgesic effects in patients with rheumatoid arthritis, **2023.**
7. **Bain, E., Birhiray, R. E., Reeves, D. J.** Drug-drug interaction between methotrexate and levetiracetam resulting in delayed methotrexate elimination. *Annals of Pharmacotherapy*, **2014**, *48*(2), 292-296.
8. **Beckmann-Knopp, S., Rietbrock, S., Weyhenmeyer, R., Böcker, R. H. Beckurts, K. T., Lang, W., Fuhr, U.** Inhibitory effects of silibinin on cytochrome P-450 enzymes in human liver microsomes. *Pharmacology & Toxicology*, **2000**, 86(6), 250-256.
9. **Begas, E., Papandreou, C., Tsakalof, A., Daliani, D., Papatsibas, G., Asprodini, E.** Simple and reliable HPLC method for the monitoring of methotrexate in osteosarcoma patients. *Journal of Chromatographic Science*, **2014**, *52*(7), 590-595.
10. **Bijak, M**. Silybin, a major bioactive component of milk thistle (Silybum marianum L. Gaernt). Chemistry, bioavailability, and metabolism. *Molecules*, **2017**, *22*(11), 1942.
11. **Brantley, S. J., Graf, T. N., Oberlies, N. H., Paine, M. F. A** systematic approach to evaluate herb-drug interaction mechanisms: investigation of milk thistle extracts and eight isolated constituents as CYP3A inhibitors. *Drug Metabolism and Disposition*, **2013**, 41(9), 1662-1670.
12. **Breedveld, P., Zelcer, N., Pluim, D., Sönmezer, O., Tibben, M. M., Beijnen, J. H., Schellens, J. H.** Mechanism of the pharmacokinetic interaction between methotrexate and benzimidazoles: potential role for breast cancer resistance protein in clinical drug-drug interactions. *Cancer Research*, **2004**, *64*(16), 5804-5811.
13. **Büyükokuroğlu, M. E., Tanyeri, P., Keleş, R**. İlaç-ilaç etkileşimleri konusunda farkındalık. *Online Turkish Journal of Health Sciences*, **2019,** *4*(3), 377-391.
14. **Chan, E. S., Cronstein, B. N.** Methotrexate how does it really work? *Nature Reviews Rheumatology*, **2010**, *6*(3), 175-178.
15. **Chang, J. C., Wu, Y. T., Lee, W. C., Lin, L. C., Tsai, T.** H. Herb–drug interaction of silymarin or silibinin on the pharmacokinetics of trazodone in rats. *Chemico-Biological interactions*, **2009,** 182(2-3), 227-232.
16. **Cicekler, M. A., Oguz, H., Corum, O**. Effect of Salbutamol on the Disposition Kinetics of Levofloxacin in the Plasma and Lung of Rats. Current drug metabolism, **2024**, 25(6), 425-430.
17. **Clay, A. T., Sharom, F. J.** Multidrug Resistance Protein: P-Glycoprotein. *Drug Transporters: Molecular Characterization and Role in Drug Disposition*, **2014**, 141-160.
18. **Cohen, S., Zwillich, S. H., Chow, V., LaBadie, R. R., Wilkinson, B.** Co-administration of the JAK inhibitor CP-690,550 and methotrexate is well tolerated in patients with rheumatoid arthritis without need for dose adjustment. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **2010**, *69*(2), 143-151.
19. **Cole PD., Alcaraz, M. J., Smith, A. K., Tan, J., Kamen, B. A.** Pharmacodynamic properties of methotrexate and AminotrexateTM during weekly therapy. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **2006,** *57*(6), 826-834.
20. **Conway, R., Carey, J. J.** Risk of liver disease in methotrexate treated patients. *World Journal of Hepatology*, **2017,** *9*(26), 1092.

21. **Dabak, D. O., Kocaman, N**. Effects of silymarin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Renal Failure*, **2015,** *37*(4), 734-739.
22. **Demir, E., Sütcüoğlu, O., Demir, B., Ünsal, O., Yazıcı, O. A** possible interaction between favipiravir and methotrexate: Drug-induced hepatotoxicity in a patient with osteosarcoma. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, **2022,** *28*(2), 445-448.
23. **Di Martino, V., Verhoeven, D. W., Verhoeven, F., Aubin, F., Avouac, J., Vuitton, L., Wendling, D.** Busting the myth of methotrexate chronic hepatotoxicity. *Nature Reviews Rheumatology*, **2023,** *19*(2), 96-110.
24. **Dixit, N., Baboota, S., Kohli, K., Ahmad, S., Ali, J. Silymarin:** A review of pharmacological aspects and bioavailability enhancement approaches. *Indian journal of pharmacology*, **2007,** 39(4), 172-179.
25. **Dobiasová, S., Řehořová, K., Kučerová, D., Biedermann, D. Káňová, K., Petrásková, L., Viktorová, J.** Multidrug resistance modulation activity of silybin derivatives and their anti-inflammatory potential. *Antioxidants*, **2020,** 9(5), 455.
26. **Durna Corum, D., Uney, K**. Gender differences in the effect of calcitriol on the body disposition and excretion of doxorubicin in mice. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **2020**, 45(5), 653-664.
27. **Elmorsi, Y. M., El-Haggar, S. M., Ibrahim, O. M., Mabrouk, M. M.** Effect of ketoprofen and indomethacin on methotrexate pharmacokinetics in mice plasma and tumor tissues. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **2013**, *38*(1), 27-32
28. **El-Sheikh, A. A., Van Den Heuvel, J. J., Koenderink, J. B., Russel, F. G**. Interaction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with multidrug resistance protein (MRP) 2/ABCC2-and MRP4/ABCC4-mediated methotrexate transport. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **2007**, *320*(1), 229-235.
29. **Faisal, Z., Mohos, V., Fliszár-Nyúl, E., Valentová, K., Káňová, K., Lemli, B., Poór, M.** Interaction of silymarin components and their sulfate metabolites with human serum albumin and cytochrome P450 (2C9, 2C19, 2D6, and 3A4) enzymes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2021**, 138, 111459.
30. **Freeman, B. A., Crapo, J. D**. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, **1982**, *47*(5), 412-426.
31. **Friedman B., Cronstein, B.** Methotrexate mechanism in treatment of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, **2019**, *86*(3), 301-307.
32. **Fu, R., Wang, X. N., Guo, C. H., Li, Y., Ding, C. Y., Li, Y. J., Dong, Z. J.** Wuzhi capsule increased systemic exposure to methotrexate by inhibiting the expression of OAT1/3 and P-gp. *Annals of Translational Medicine*, **2021,** *9*(10), 845.
33. **Fuhr, U., Beckmann-Knopp, S., Jetter, A., Lück, H., Mengs, U.** The effect of silymarin on oral nifedipine pharmacokinetics. *Planta Medica*, **2007**, 73(14), 1429-1435.
34. **Fuksa, L., Brcakova, E., Cermanova, J., Hroch, M., Chladek, J., Kolouchova, G., Micuda, S.** Amiodarone modulates pharmacokinetics of low-dose methotrexate in rats. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, **2008**, *29*(5), 289-299.
35. **Gao, J., Wang, C., Wei, W.** The effects of drug transporters on the efficacy of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Life Sciences*, **2021,** *268*, 118907.
36. **Ghodousi, M., Karbasforooshan, H., Arabi, L., Elyasi, S.** Silymarin as a preventive or therapeutic measure for chemotherapy and radiotherapy-induced adverse reactions: A comprehensive review of preClinical and Clinical data. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **2023,** *79*(1), 15-38.
37. **Giacomini, K. M., Huang, S. M., Tweedie, D. J., Benet, L. Z., Brouwer, K. L., Chu, X., Zhang, L.** Membrane transporters in drug development. *Nature reviews. Drug Discovery*, **2010**, *9*(3), 215-236.
38. **Goodman, L. S.** Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, **1996**, (Vol. 1549, pp. 1361-1373).
39. **Grim, J., Chládek, J., Martínková, J.** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methotrexate in non-neoplastic diseases. *Clinical Pharmacokinetics*, **2003**, *42*, 139-151.
40. **Hagag, A. A., Elgamsy, M. A., El-Asy, H. M., Mabrouk, M. M**. Protective role of silymarin on hepatic and renal toxicity induced by MTX based chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Mediterranean Journal of Hematology and İnfectious Diseases*, **2016**, *8*(1), e2016043.
41. **Hamed, K. M., Dighriri, I. M., Baomar, A. F., Alharthy, B. T., Alenazi, F. E., Alali, G. H., Alzahrani, S.** Overview of methotrexate toxicity: a comprehensive literature review. *Cureus*, **2022,** *14*(9).

42. **Han, Y., Guo, D., Chen, Y., Chen, Y., Tan, Z. R., Zhou, H. H.** Effect of silymarin on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite E-3174 in healthy Chinese volunteers. *European journal of Clinical Pharmacology*, **2009,** 65(6), 585-591.
43. **Hanoodi, M., Mittal, M.** Methotrexate. In *StatPearls [Internet]*. **2023,** StatPearls Publishing.
44. **Hess, J. A., Khasawneh, M. K.** Cancer metabolism and oxidative stress: Insights into carcinogenesis and chemotherapy via the non-dihydrofolate reductase effects of methotrexate. *BBA Clinical*, **2015,** *3*, 152-161.
45. **Howard, S. C., McCormick, J., Pui, C. H., Buddington, R. K., Harvey, R. D.** Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate. *The oncologist*, **2016,** *21*(12), 1471-1482.
46. **Hudachek, S. F., Gustafson, D. L.** Coadministration of lapatinib increases exposure to docetaxel but not doxorubicin in the small intestine of mice. *Anti-cancer drugs*, **2013,** *24*(9), 958-968.
47. **Hussain, S. A., Mortada, A. H., Jasim, N. A., Gorial, F. I.** Silibinin improves the effects of methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis: pilot Clinical study. *Oman Medical Journal*, **2016,** *31*(4), 263.
48. **Hwang, S., Lee, Y., Jang, Y., Cho, J. Y., Yoon, S., Chung, J. Y.** Comprehensive evaluation of OATP- and BCRP-mediated drug–drug interactions of methotrexate using physiologically-based pharmacokinetic modeling. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, **2024,** *116*(4), 1013-1022.
49. **Iwaki, M., Shimada, H., Irino, Y., Take, M., Egashira, S.** Inhibition of methotrexate uptake via organic anion transporters OAT1 and OAT3 by glucuronides of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2017,** *40*(6), 926-931
50. **Jafari, F., Arasteh, O., Hosseinjani, H., Allahyari, A., Ataei Azimi, S., Askari, V. R.** A critical review of methotrexate Clinical interactions: role of transporters. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, **2023,** *19*(2), 91-107.
51. **Jaffar, H. M., Al-Asmari, F., Khan, F. A., Rahim, M. A., Zongo, E.** Silymarin: Unveiling its pharmacological spectrum and therapeutic potential in liver diseases—A comprehensive narrative review. *Food Science & Nutrition*, **2024,** 12(5), 3097-3111
52. **Jia, Y., Liu, Z., Wang, C., Meng, Q., Huo, X., Liu, Q., Liu, K.** P-gp, MRP2 and OAT1/OAT3 mediate the drug-drug interaction between resveratrol and methotrexate. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2016**, *306*, 27-35.
53. **Jones, N. S., Winter, H., Katsumoto, T. R., Florero, M., Murray, E., Walker, H., Chinn, L. W.** Absence of pharmacokinetic interactions between the Bruton's tyrosine kinase inhibitor fenebrutinib and methotrexate. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **2019,** *371*(1), 202-207.
54. **Kalemci, S., Topal, Y., Celik, S. Y., Yilmaz, N., Beydilli, H., Kosar, M. I., Altuntas, I.** Silibinin attenuates methotrexate-induced pulmonary injury by targeting oxidative stress. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **2015**, *10*(2), 503-507.
55. **Kamel, M. E., Mohammad, H. M., Maurice, C., Hagras, M. M.** Ginseng nanopartiCles protect against methotrexate-induced testicular toxicity in rats. *Egypt J Basic Clin Pharmacol*, **2019**, *9*, 101397.
56. **Kapila, V., Wehrle, C. J., Tuma, F.** Physiology, spleen. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing, **2023.**
57. **Karimi, G., Vahabzadeh, M., Lari, P., Rashedinia, M., Moshiri, M**. "Silymarin", a promising pharmacological agent for treatment of diseases. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **2011,** 14(4), 308.
58. **Kayaalp SO**. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Onbirinci Baskı, Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık, **2005**, s. 145-238.
59. **Khawaja, G., El-Orfali, Y.** Silibinin's effects against methotrexate-induced hepatotoxicity in adjuvant-induced arthritis rat model. *Pharmaceuticals*, **2024,** *17*(4), 431.
60. **Kim, C. S., Choi, S. J., Park, C. Y., Li, C., Choi, J. S**. Effects of silybinin on the pharmacokinetics of tamoxifen and its active metabolite, 4-hydroxytamoxifen in rats. *Anticancer Research*, **2010,** 30(1), 79-85
61. **Knauer, M. J., Urquhart, B. L., Meyer zu Schwabedissen, H. E., Schwarz, U. I., Lemke, C. J., Leake, B. F., Tirona, R. G.** Human skeletal muscle drug transporters determine local exposure and toxicity of statins. *Circulation Research*, **2010,** *106*(2), 297-306.
62. **Köck, K., Xie, Y., Hawke, R. L., Oberlies, N. H., Brouwer, K. L.** Interaction of silymarin flavonolignans with organic anion-transporting polypeptides. *Drug Metabolism and Disposition*, **2013,** *41*(5), 958-965.

63. **Křen, V., Valentová, K.** Silybin and its congeners: from traditional medicine to molecular effects. *Natural Product Reports*, **2022,** 39(6), 1264-1281
64. **Kshirsagar, A., Ingawale, D., Ashok, P., & Vyawahare, N.** Silymarin: A comprehensive review. *Pharmacognosy Reviews*, **2009,** *3*(5), 126.
65. **Lee, C. K., Choi, J. S.** Effects of silibinin on the pharmacokinetics of carvedilol after oral administration in rats. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, **2011,** 41(3), 153-159.
66. **Lee, C. K., Choi, J. S.** Effects of silibinin, inhibitor of CYP3A4 and P-glycoprotein in vitro, on the pharmacokinetics of paclitaxel after oral and intravenous administration in rats. *Pharmacology*, **2010**, 85(6), 350-356.
67. **Levêque, D., Santucci, R., Gourieux, B., Herbrecht, R.** Pharmacokinetic drug–drug interactions with methotrexate in oncology. *Expert review of Clinical pharmacology*, **2011,** *4*(6), 743-750.
68. **Li, Y., Wu, Y., Li, Y. J., Meng, L., Ding, C. Y., Dong, Z. J.** Effects of silymarin on the in vivo pharmacokinetics of simvastatin and its active metabolite in rats. *Molecules*, **2019,** 24(9), 1666.
69. **Liao, S., Jin, X., Li, J., Zhang, T., Zhang, W., Shi, W., Zhang, Z.** Effects of silymarin, glycyrrhizin, and oxymatrine on the pharmacokinetics of ribavirin and its major metabolite in rats. *Phytotherapy Research*, **2016**, 30(4), 618-626.
70. **Lim, R., Morwood, C. J., Barker, G., Lappas, M.** Effect of silibinin in reducing inflammatory pathways in in vitro and in vivo models of infection-induced preterm birth. *PLoS One*, **2014**, *9*(3), e92505.
71. **Liu, Q., Wang, C., Meng, Q., Huo, X., Sun, H., Peng, J., Liu, K.** MDR1 and OAT1/OAT3 mediate the drug-drug interaction between puerarin and methotrexate. *Pharmaceutical Research*, **2014,** *31*, 1120-1132.
72. **Liu, Y., Hao, C., Li, L., Zhang, H., Zha, W., Ma, L., Gan, J.** The role of oxidative stress in the development and therapeutic intervention of hepatocellular carcinoma. *Current Cancer Drug Targets*, **2023,** 23(10), 792-804
73. **Lobo, E. D., Balthasar,** J. P. Pharmacokinetic–pharmacodynamic modeling of methotrexate-induced toxicity in mice. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2003,** 92(8), 1654-1664.
74. **Maksimovic, V., Pavlovic-Popovic, Z., Vukmirovic, S., Cvejic, J., Mooranian, A., Al-Salami, H., Golocorbin-Kon, S.** Molecular mechanism of action and pharmacokinetic properties of methotrexate. *Molecular Biology Reports*, **2020,** *47*, 4699-4708.
75. **Malaviya, A. N., Sharma, A., Agarwal, D., Kapoor, S., Garg, S., Sawhney, S.** Low-dose and high-dose methotrexate are two different drugs in practical terms. *International Journal of Rheumatic Diseases*, **2010,** *13*(4), 288-293.
76. **Malekinejad, H., Rokhsartalab-Azar, S., Hassani-Dizaj, S., Alizadeh-Fanalou, S., Rezabakhsh, A., Amniattalab, A.** Effects of silymarin on the pharmacokinetics of atorvastatin in diabetic rats**.** *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics***, 2014,** *39*(4), 311-320.
77. **Mamani-Matsuda, M., Cosma, A., Weller, S., Faili, A., Staib, C., Garçon, L., Weill, J. C.** The human spleen is a major reservoir for long-lived vaccinia virus–specific memory B cells. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **2008,** *111*(9), 4653-4659.
78. **Mazaud, C., Fardet, L.** Relative risk of and determinants for adverse events of methotrexate prescribed at a low dose: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *British Journal of Dermatology*, **2017,** *177*(4), 978-986.
79. **Mebius, R. E., Kraal, G.** Structure and function of the spleen. *Nature Reviews İmmunology*, **2005**, *5*(8), 606-616.
80. **Moghbel, A., Zand-Moghaddam, A., Rezaee, S., Pedram, M.** High-Performance Liquid Chromatography Determination of Methotrexate in Plasma. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **2003,** *2*(3), 149-152.
81. **Moltó, J., Valle, M., Miranda, C., Cedeño, S., Negredo, E., Clotet, B.** Effect of milk thistle on the pharmacokinetics of darunavir-ritonavir in HIV-infected patients. Antimicrobial agents and chemotherapy, **2012,** 56(6), 2837-2841.
82. **Mruk, D. D., Su, L., Cheng, C. Y.** Emerging role for drug transporters at the blood–testis barrier. *Trends in Pharmacological Sciences*, **2011**, *32*(2), 99-106.
83. **Oktar, S., Gökçe, A., Aydin, M., Davarci, M., Meydan, S., Oztürk, O. H., Koç, A.** Beneficial effect of erdosteine on methotrexate-induced testicular toxicity in mice. Toxicology and industrial health, **2010**, 26(7), 433-438.
84. **Oufi, H. G.** The cytogenetic effects of silibinin alone and in combination with methotrexate in mouse bone marrow. *European Journal of Pharmacology*, **2018**, *824*, 179-184.

85. **Oufi, H. G., Al-Shawi, N. N.** The effects of different doses of silibinin in combination with methotrexate on testicular tissue of mice. *European Journal of Pharmacology*, **2014,** *730*, 36-40.
86. **Padmanabhan, S., Tripathi, D. N., Vikram, A., Ramarao, P., Jena, G. B.** Cytotoxic and genotoxic effects of methotrexate in germ cells of male Swiss mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental mutagenesis*, **2008**, *655*(1-2), 59-67.
87. **Palleria, C., Di Paolo, A., Giofrè, C., Caglioti, C., Leuzzi, G., Siniscalchi, A., Gallelli, L.** Pharmacokinetic drug-drug interaction and their implication in Clinical management. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences***, 2013**, *18*(7), 601.
88. **Piscitelli, S. C., Formentini, E., Burstein, A. H., Alfaro, R., Jagannatha, S., Falloon, J.** Effect of milk thistle on the pharmacokinetics of indinavir in healthy volunteers. Pharmacotherapy: *The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, **2002,** 22(5), 551-556.
89. **Posadzki, P., Watson, L., Ernst, E.** Herb–drug interactions: an overview of systematic reviews. *British journal of Clinical pharmacology***, 2013**, *75*(3), 603-618.
90. **Rajnarayana, K., Reddy, M. S., Vidyasagar, J., Krishna, D. R.** Study on the influence of silymarin pretreatment on metabolism and disposition of metronidazole. *Arzneimittelforschung*, **2004**, 54(02), 109-113.
91. **Rathi, C., Meibohm, B.** Pharmacokinetics of peptides and proteins. *Reviews in Cell Biology and Molecular Medicine*, **2006,** *1*(2), 300-326.
92. **Ronchera, C. L., Hernandez, T., Peris, J. E., Torres, F., Granero, L., Jiménez, N. V., Pla, J. M.** Pharmacokinetic interaction between high-dose methotrexate and amoxycillin. *Therapeutic Drug Monitoring*, **1993,** *15*(5), 375-379.
93. **Roth, M., Obaidat, A., Hagenbuch, B.** OATPs, OATs and OCTs: the organic anion and cation transporters of the SLCO and SLC22A gene superfamilies. *British Journal of Pharmacology*, **2012**, *165*(5), 1260-1287.
94. **Sani, S. N., Henry, K., Böhlke, M., Kim, J., Stricker-Krongrad, A., Maher, T. J.** The effects of drug transporter inhibitors on the pharmacokinetics and tissue distribution of methotrexate in normal and tumor-bearing mice: a microdialysis study. *Cancer chemotherapy and pharmacology***, 2010,** *66*(1), 159-169.
95. **Sato, K., Seki, T., Mizutani, A., Muranaka, Y., Hirota, S., Nishi, K., Kobayashi, M. A** single high-dose irradiation changes accumulation of methotrexate and gene expression levels of SLC and ABC transporters in cancer cells. *Frontiers in Pharmacology*, **2023,** *13*, 1069321.
96. **Shen, D. D., Azarnoff, D. L.** Clinical pharmacokinetics of methotrexate. *Clinical Pharmacokinetics*, **1978,** *3*(1), 1-13.
97. **Shukla, S., Ohnuma, S., V Ambudkar, S**. Improving cancer chemotherapy with modulators of ABC drug transporters. *Current Drug Targets*, **2011,** *12*(5), 621-630.
98. **Singh, R. K., van Haandel, L., Kiptoo, P., Becker, M. L., Siahaan, T. J., Funk, R. S.** Methotrexate disposition, anti-folate activity and efficacy in the collagen-induced arthritis mouse model. *European Journal of Pharmacology*, **2019**, *853*, 264-274.
99. **Solbach, T. F., König, J., Fromm, M. F., Zolk, O.** ATP-binding cassette transporters in the heart. *Trends in Cardiovascular Medicine*, **2006**, 16(1), 7-15.
100. **Solomon, D. H., Glynn, R. J., Karlson, E. W., Lu, F., Corrigan, C., Colls, J., Ridker, P. M.** Adverse effects of low-dose methotrexate: a randomized trial. *Annals of İnternal Medicine*, **2020,** *172*(6), 369-380.
101. **Sridar, C., Goosen, T. C., Kent, U. M., Williams, J. A., Hollenberg, P. F.** Silybin inactivates cytochromes P450 3A4 and 2C9 and inhibits majör hepatic glucuronosyltransferases. *Drug Metabolism and Disposition*, **2004,** 32(6), 587-594
102. **Stamp LK., Hazlett, J., Roberts, R. L., Frampton, C., Highton, J., Hessian, P. A.** Adenosine receptor expression in rheumatoid synovium: a basis for methotrexate action. *Arthritis Research & Therapy*, **2012,** *14*(3), R138.
103. **Sun, Y. L., Patel, A., Kumar, P., Chen, Z. S.** Role of ABC transporters in cancer chemotherapy. *Chinese Journal of Cancer*, **2012**, *31*(2), 51.
104. **Szakács, G., Váradi, A., Özvegy-Laczka, C., Sarkadi, B.** The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME–Tox). *Drug Discovery Today*, **2008,** *13*(9-10), 379-393.
105. **Titier, K., Lagrange, F., Péhourcq, F., Moore, N., Molimard, M.** Pharmacokinetic interaction between high-dose methotrexate and oxacillin. *Therapeutic drug monitoring*, **2002**, *24*(4), 570-572.

106. **Toutain, P. L., Bousquet-mélou,** A. Plasma clearance. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **2004,** *27*(6), 415-425.
107. **Tvrdý, V., Pourová, J., Jirkovský, E., Křen, V., Valentová, K., Mladěnka, P.** Systematic review of pharmacokinetics and potential pharmacokinetic interactions of flavonolignans from silymarin. *Medicinal Research Reviews*, **2021**, *41*(4), 2195-2246.
108. **Van der Deen, M**., **De Vries, E. G., Timens, W., Scheper, R. J., Timmer-Bosscha, H., Postma, D. S**. ATP-binding cassette (ABC) transporters in normal and pathological lung. Respiratory research, **2005,** 6(1), 59.
109. **Voruganti S., Yamsani S.K, Yamsani M.R.** Effect of silibinin on the pharmacokinetics of nitrendipine in rabbits. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. **2014,** 39(4), 277-81.
110. **Wadhwa, K., Pahwa, R., Kumar, M., Kumar, S., Sharma, P. C., Singh, G., Jeandet, P.** Mechanistic insights into the pharmacological significance of silymarin. *Molecules*, **2022**, 27(16), 5327.
111. **Wang, J., Yuan, W., Shen, Q., Wu, Q., Jiang, Z., Wu, W., Huang, X.** The key role of organic anion transporter 3 in the drug–drug interaction between tranilast and methotrexate**.** *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **2022**, *36*(4), e22983.
112. **Wang, L., Wang, Z., Xia, M. M., Wang, Y. Y., Wang, H. Y., Hu, G. X.** Inhibitory effect of silybin on pharmacokinetics of imatinib in vivo and in vitro. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **2014,** 92(11), 961-964.
113. **Wang, W., Zhou, H., Liu, L.** Side effects of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: A systematic review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2018,** *158*, 502-516.
114. **Wang, Y., Zhao, T. T., Zhao, H. Y., Wang, H.** Melatonin protects methotrexate-induced testicular injury in rats. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, **2018**, *22*(21).
115. **Williams, W. M., Chen, T. S., Huang, K. C.** Effect of penicillin on the renal tubular secretion of methotrexate in the monkey. *Cancer Research*, *44*(5), **1984,** 1913-1917.
116. **Woo, S. M., Min, K. J., Chae, I. G., Chun, K. S., Kwon, T. K.** Silymarin suppresses the PGE2-induced cell migration through inhibition of EP2 activation; G protein-dependent PKA-CREB and G protein-independent Src-STAT3 signal pathways. *Molecular Carcinogenesis*, **2015,** *54*(3), 216-228.
117. **Wu, C. P., Calcagno, A. M., Ambudkar, S. V.** Reversal of ABC drug transporter-mediated multidrug resistance in cancer cells: evaluation of current strategies. *Current Molecular Pharmacology***, 2008**, *1*(2), 93-105.
118. **Wu, J. W., Tsai, T. H.** Effect of silibinin on the pharmacokinetics of pyrazinamide and pyrazinoic acid in rats. *Drug Metabolism and Disposition*, **2007,** 35(9), 1603-1610.
119. **Xie, Y., Zhang, D., Zhang, J., Yuan, J.** Metabolism, transport and drug–drug interactions of silymarin. *Molecules*, **2019**, *24*(20), 3693.
120. **Yaman, T., Uyar, A., Kaya, M. S., Keles, Ö. F., Uslu, B. A., Yener, Z.** Protective effects of silymarin on methotrexate-induced damages in rat testes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2018,** 54(01), e17529.
121. **Yamsani, S. K., Yamsani, M. R.** Effect of silymarin pretreatment on the bioavailability of domperidone in healthy human volunteers. *Drug Metabolism and Drug İnteractions*, **2014,** 29(4), 261-267.
122. **You, G., Morris, M. E.** Overview of drug transporter families. *Drug Transporters: molecular characterization and role in drug disposition*, **2022,** 1-7.
123. **Yu, C. P., Li, P. Y., Chen, S. Y., Lin, S. P., Chen, Y. C., Ho, L. C., Hou, Y. C.** An acute herb–drug interaction of Magnoliae Officinalis Cortex with methotrexate via inhibiting multidrug resistance-associated protein 2. *Journal of Food and Drug Analysis*, **2024**, *32*(1), 103.
124. **Yu, C. P., Peng, Y. H., Huang, C. Y., Hsieh, Y. W., Hou, Y. C., Lin, S. P.** Folium sennae increased the bioavailability of methotrexate through modulation on MRP 2 and BCRP. *Pharmaceuticals*, **2021,** *14*(10), 1036.
125. **Zarychanski, R., Wlodarczyk, K., Ariano, R., Bow, E.** Pharmacokinetic interaction between methotrexate and piperacillin/tazobactam resulting in prolonged toxic concentrations of methotrexate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2006**, *58*(1), 228-230.
126. **Zhang, G., Wang, R., Chen, G., Liu, S., Jie, H., Chen, W., Li, Q.** Hydroxychloroquine increases the exposure of methotrexate in plasma and red blood cells: a pharmacokinetic interaction study in rats in vivo. *Frontiers in Pharmacology*, **2025**, *16*, 1561001.
127. **Zhu, T., Moy, S., Valluri, U., Cao, Y., Zhang, W., Sawamoto, T., Akinlade, B**. Investigation of potential drug–drug interactions between peficitinib (ASP015K) and methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical drug investigation*, **2020**, *40*(9), 827-838.

128. **Zhu, Y., Meng, Q., Wang, C., Liu, Q., Huo, X., Zhang, A., Liu, K.** Methotrexate-bestatin interaction: involvement of P-glycoprotein and organic anion transporters in rats. *International Journal of Pharmaceutics*, **2014**, *465*(1-2), 368-377.
129. **Ito, K., Suzuki, H., Horie, T., Sugiyama, Y.** Apical/basolateral surface expression of drug transporters and its role in vectorial drug transport. *Pharmaceutical research*, **2005**, 22(10), 1559-1577.
130. **Chan, L. M., Lowes, S., Hirst, B. H.** The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *European journal of pharmaceutical sciences*, **2004**, 21(1), 25-51.
131. **Litman, T., Druley, T. E., Stein, W. D., Bates, S. E.** From MDR to MXR: new understanding of multidrug resistance systems, their properties and clinical significance. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, **2001,** 58(7), 931-959.

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Belgesi

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta okul eğitimini Erzurum'da, lise eğitimini Konya'da tamamladı. 2016 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandı ve lisans eğitimini tamamlayarak 2021 yılında mezun oldu. 2021-2022 tarihleri arasında Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji anabilim dalında doktora eğitimine başladı. 2022 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Samandağ Meslek Yüksekokulu'na öğretim görevlisi olarak atandı ve çalışmaya devam etmektedir.