

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. GÜL BAKTİR**

**TALİNOLOL VE SİMVASTATİN ARASINDA  
P- GLİKOPROTEİNE BAĞLI OLASI BİR  
FARMAKOKİNETİK ETKİLEŞMENİN  
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ecz. ZELİHA PALA**

**İSTANBUL-2004**

## İÇİNDEKİLER

|                                                       |          |
|-------------------------------------------------------|----------|
| <b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>                               | <b>1</b> |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                              | <b>3</b> |
| 2.1. P-Glikoprotein                                   | 3        |
| 2.1.1. Yapısı ve fizyolojik önemi                     | 3        |
| 2.1.2. Kanser hücrelerinde P-glikoprotein regülasyonu | 6        |
| 2.1.3. P-glikoprotein ilaç farmakokinetiğindeki rolü  | 7        |
| 2.1.3.1. İlaç absorpsiyonundaki rolü                  | 7        |
| 2.1.3.2. İlaç dağılımındaki rolü                      | 10       |
| 2.1.3.2.1. Kan-Beyin bariyeri                         | 10       |
| 2.1.3.2.2. Placenta                                   | 13       |
| 2.1.3.3. İlaç metabolizmasındaki rolü                 | 13       |
| 2.1.3.4. İlaç atılımındaki rolü                       | 15       |
| 2.1.3.4.1. Safra ile atılım                           | 15       |
| 2.1.3.4.2. Renal atılım                               | 17       |
| 2.1.4. P-glikoprotein substratları                    | 19       |
| 2.1.5. P-glikoproteine bağlı ilaç etkileşimleri       | 21       |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.5.1. P-glikoprotein inhibisyonuna bağlı ilaç etkileşmeleri | 21 |
| 2.1.5.2. P-glikoprotein indüksiyonuna bağlı ilaç etkileşmeleri | 23 |
| 2.2. Kullanılan ilaçlar ile ilgili genel bilgiler              | 25 |
| 2.2.1. Simvastatin                                             | 25 |
| 2.2.1.1. Tanımı ve tarihçesi                                   | 25 |
| 2.2.1.2. Fiziksel ve kimyasal zellikleri                      | 25 |
| 2.2.1.3. Etki mekanizması                                      | 26 |
| 2.2.1.4. Farmakokinetik zellikleri                            | 26 |
| 2.2.1.4.1. Absorpsiyonu                                        | 26 |
| 2.2.1.4.2. Dağılımı                                            | 27 |
| 2.2.1.4.3. Metabolizması                                       | 28 |
| 2.2.1.4.4. Eliminasyonu                                        | 28 |
| 2.2.1.5. Endikasyonları                                        | 29 |
| 2.2.1.6. Dozaj ve uygulama                                     | 29 |
| 2.2.1.7. Kontredikasyonları                                    | 30 |
| 2.2.1.8. Yan etkileri                                          | 30 |
| 2.2.1.9. Müstahzarları                                         | 30 |
| 2.2.1.10. Simvastatin ve P-glikoprotein                        | 31 |
| 2.2.1.11. İlaç etkileşmeleri                                   | 31 |

|                                                                 |           |
|-----------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.2. Talinolol                                                | 34        |
| 2.2.2.1. Tanımı ve tarihçesi                                    | 34        |
| 2.2.2.2. Fiziksel ve kimyasal özellikleri                       | 35        |
| 2.2.2.3. Etki mekanizması                                       | 35        |
| 2.2.2.4. Farmakokinetik özellikleri                             | 36        |
| 2.2.2.4.1. Absorpsiyonu                                         | 36        |
| 2.2.2.4.2. Dağılımı                                             | 36        |
| 2.2.2.4.3. Metabolizması                                        | 36        |
| 2.2.2.4.4. Eliminasyonu                                         | 37        |
| 2.2.2.5. Endikasyonları                                         | 38        |
| 2.2.2.6. Kontrendikasyonları                                    | 38        |
| 2.2.2.7. Yan etkileri                                           | 38        |
| 2.2.2.8. Dozu ve veriliş yolu                                   | 38        |
| 2.2.2.9. Müstahzarları                                          | 39        |
| 2.2.2.10. İlaç etkileşimleri                                    | 39        |
| 2.2.2.11. Talinolol ve P-glikoprotein                           | 40        |
| 2.2.2.12. Talinololün P-glikoprotein aracılı ilaç etkileşimleri | 41        |
| <b>3. GEREÇLER VE YÖNTEM</b>                                    | <b>44</b> |
| 3.1. Kullanılan ilaçlar                                         | 44        |
| 3.2. Kullanılan kimyasal madde ve malzemeler                    | 44        |
| 3.3. Kullanılan aletler                                         | 45        |
| 3.4. Kullanılan bilgisayar programları                          | 45        |

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.5. Deney hayvanları                                                                        | 45 |
| 3.6. Deney planı                                                                             | 46 |
| 3.7. Biyoanalitik tayinler                                                                   | 46 |
| 3.7.1. Talinololün sıçan plazmasından ters faz kromatografi ile tayin yönteminin validasyonu | 46 |
| 3.7.1.1. Doğrusallık (standart çözeltiler için)                                              | 47 |
| 3.7.1.2. Doğruluk ve kesinlik (standart çözeltiler için)                                     | 48 |
| 3.7.1.2.1. Gün içi tekrarlanabilirlik                                                        | 48 |
| 3.7.1.2.2. Günler arası tekrarlanabilirlik                                                   | 48 |
| 3.7.1.3. Doğrusallık (plazmadan ekstraksiyon)                                                | 48 |
| 3.7.1.4. Doğruluk ve kesinlik (plazmadan ekstraksiyon)                                       | 49 |
| 3.7.1.4.1. Gün içi tekrarlanabilirlik                                                        | 49 |
| 3.7.1.4.2. Günler arası tekrarlanabilirlik                                                   | 49 |
| 3.7.1.5. Seçicilik                                                                           | 50 |
| 3.7.1.6. Tayin sınırları                                                                     | 50 |
| 3.7.2. Sıçanlardan elde edilen plazma örneklerindeki talinolol konsantrasyonlarının tayini   | 51 |
| 3.8. Biyometrik Hesaplamalar                                                                 | 51 |
| 3.8.1. Farmakokinetik parametreler ile ilgili hesaplamalar                                   | 51 |
| 3.8.2. İstatistiksel analiz                                                                  | 51 |

|                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4. BULGULAR</b>                                                                                 | <b>52</b> |
| 4.1. Talinololün sıçan plazmasından ters faz kromatografi ile tayininin validasyonuna ait bulgular | 52        |
| 4.1.1. Doğrusallık (standart çözeltiler)                                                           | 52        |
| 4.1.2. Doğruluk ve kesinlik (standart çözeltiler)                                                  | 52        |
| 4.1.2.1. Gün içi tekrarlanabilirlik                                                                | 52        |
| 4.1.2.2. Günler arası tekrarlanabilirlik                                                           | 52        |
| 4.1.3. Doğrusallık (plazmadan ekstraksiyon)                                                        | 56        |
| 4.1.4. Doğruluk ve kesinlik (plazmadan ekstraksiyon)                                               | 69        |
| 4.1.4.1. Gün içi tekrarlanabilirlik                                                                | 69        |
| 4.1.4.2. Günler arası tekrarlanabilirlik                                                           | 60        |
| 4.1.5. Seçicilik                                                                                   | 60        |
| 4.1.6. Tayin sınırları                                                                             | 62        |
| 4.2. Talinolol ile simvastatin arasındaki in vivo etkileşim çalışması bulguları                    | 62        |
| <b>5. TARTIŞMA</b>                                                                                 | <b>67</b> |
| <b>6. ÖZET</b>                                                                                     | <b>71</b> |
| <b>7. YABANCI DİLDE ÖZET (Summary)</b>                                                             | <b>72</b> |
| <b>8. KAYNAKLAR</b>                                                                                | <b>73</b> |
| <b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>                                                                                 | <b>82</b> |

## TEŞEKKÜR

**İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki çalışmaların yürütülebilmesi için tüm anabilim dalı akademik kadrosu olarak her alanda desteğini aldığımız, aynı zamanda kişisel olarak, akademik tecrübeleri ile bana yol gösteren İstanbul Üniversitesi Rektör Yardımcısı ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Osman Özdemir'e teşekkür ediyorum.**

**Yüksek lisans tez çalışmamın yürütülmesinde bana akademik bilgi ve tecrübeleri ile her zaman destek olan, bunun yanı sıra akademik görevlerim ve özel hayatımda da yakın ilgisini ve desteğini gördüğüm değerli danışman hocam Prof. Dr. Gül Baktır'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.**

**Anabilim Dalı'nda her zaman fikirlerinden yararlandığım, yapıcı eleştirileriyle akademik gelişimimde önemli katkısı bulunan Sayın Doç. Dr. Sönmez Uydeş Doğan'a, tez çalışmam boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen değerli araştırma görevlisi arkadaşlarım Uzm.Ecz. Alper Okyar, Uzm.Ecz. Selçuk Takır, Uzm.Ecz. İlkay Alp, Uzm.Ecz. Deniz Kaleli ve Uzm.Ecz. Özge Erdem'e ayrıca Anabilim Dalı görevlileri Ergün Akboğa ve Abdülhamit Kavak'a da teşekkür ederim.**

**Yüksek lisans eğitimimin ilk döneminde bana iş imkanı sağlayarak akademik çalışmalarımın kopmamamı sağlayan Embil İlaç Sanayii'ne, çalışmalarım için bana etken madde tedarik eden Nobel İlaç Sanayii'ne de teşekkürü bir borç bilirim.**

**Son olarak hayatım boyunca her zaman yanımda olarak bana her türlü imkanı sağlayan, ve bu tezin gerçekleşmesinde büyük katkıları bulunan sevgili aileme de sonsuz teşekkürlerimi sunarım.**

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlaç-ilaç ve ilaç-besin etkileşimleri, farmakodinamik ve farmakokinetik düzeyde olabilir. Kombine ilaç tedavisi sonucu görülen farmakokinetik etkileşmeler, uygulanan ilaçların terapötik etkilerinin zayıflamasına, şiddetlenmesine, etki sürelerinin değişmesine veya toksik etkilerinin görülmesine neden olabilmektedir. Klinik olarak önemli bir çok etkileşme, karaciğerde, sitokrom P450 (CYP) enzimlerinin aracılık ettiği metabolik reaksiyonlar sırasında, enzim inhibisyonu veya indüksiyonu sonucu meydana gelmekteyse de, son yıllarda, taşıyıcı proteinlerin substrat veya inhibitörü olan bazı ilaçların, bir arada kullanılmasının da, emilim, dağılım ve eliminasyon düzeyinde ciddi etkileşmelere yol açabildikleri açıkça ortaya konmuştur. Bu konuda üzerinde en çok çalışılan taşıyıcı protein, P-glikoproteindir (25, 27, 75, 79, 99).

Bir transmembran proteini olan P-glikoprotein (P-gp), ATP'ye bağımlı bir transport pompasıdır. P-gp'nin fizyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber ksenobiyotiklere ve kanserojen maddelere karşı organizmanın doğal bir savunma mekanizması olduğu ve onları vücuttan uzaklaştırma görevini üstlendiği öne sürülmektedir. Aynı zamanda P-gp'nin anatomik lokalizasyonu, ilaçların absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve atılımında önemli rol oynayabileceği yönündedir (68, 69, 89). P-gp ilk olarak Juliano ve Ling tarafından, kobayda kolşisine dirençli yumurtalık hücrelerinde tanımlanmıştır (34). Daha sonra, tümör hücrelerinde P-gp'nin varlığı gösterilmiş ve bu hücrelerde P-gp'nin antineoplastik ilaçları hücre dışına atarak, multipl ilaç rezistansı (multi-drug resistance, MDR) olarak tanımlanan prosesin gelişmesinde rol oynadığı saptanmıştır. P-gp'ye spesifik monoklonal antikor kullanılarak yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda, P-gp ekspresyonunun, organizmada bir çok dokuda yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir. P-gp özellikle, gastrointestinal kanalın epitel hücrelerinde, beyin ve testislerin kapiller endotel hücrelerinde, hepatositlerin kanaliküler yüzeyinde, böbrekte proksimal tübülün apikal yüzeyinde ve plasentanın epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunmaktadır (83, 84).



P-gp substratları arasında, kanser kemoterapisinde, hipertansiyonda, alerjik hastalıklarda, enfeksiyon hastalıklarında, immunosupresyon gerektiren durumlarda ve inflamatuvar hastalıklarda kullanılan bir çok ilaç bulunmaktadır. Bu ilaçların çoğu aynı zamanda, ilaçların metabolizmasında önemli bir rolü olan CYP enzimlerinin (özellikle CYP3A4) de substratıdır (50). P-gp ve CYP3A4 enziminin substrat spesifitesinin aynı olması, yani bir P-gp substratının aynı zamanda CYP3A4 enzimi ile metabolize olması veya CYP3A4 enzimini inhibe etmesi, P-gp'ye bağımlı olarak meydana gelen ilaç-ilâç veya ilâç-besin etkileşmelerinin aydınlatılması açısından büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır, zira substrat-inhibitör etkileşmesi sonucunda substratın plazma konsantrasyonundaki değişimin CYP3A4 enziminin inhibisyonuna mı yoksa P-gp inhibisyonuna mı bağılı olduğu değerlendirilememektedir. Etkileşme kalıbını tam olarak ortaya koymak için bu tip çalışmalarda CYP3A4 substratı olmayan ve metabolik klirensi çok düşük olan talinolol sıklıkla tercih edilen bir ilâçtır. Talinololün yanısıra, digoksin ve feksofenadin de bu amaçla kullanılan model ilâçlardır (11, 19, 25, 73, 79, 97).

**Simvastatin**, karaciğerde hidroliz sonucu aktif metaboliti olan  $\beta$ -hidroksiasid formuna dönüşerek etkisini gösteren ve CYP3A4 enzimleri ile metabolize edilen bir ön ilâçtır (52, 61). Aynı zamanda kolon karsinoma hücreleri (Caco-2 hücreleri) ve sıçan monosit hücrelerinde yapılan in vitro çalışmalarda, simvastatinin bir P-gp substratı olduğu gösterilmiştir (94). Simvastatinin hem CYP3A4 hem de P-gp için substrat olması, birlikte kullanılması gereken ilâçlar ile ciddi etkileşmelerin ortaya çıkma potansiyelini arttırmaktadır (99).

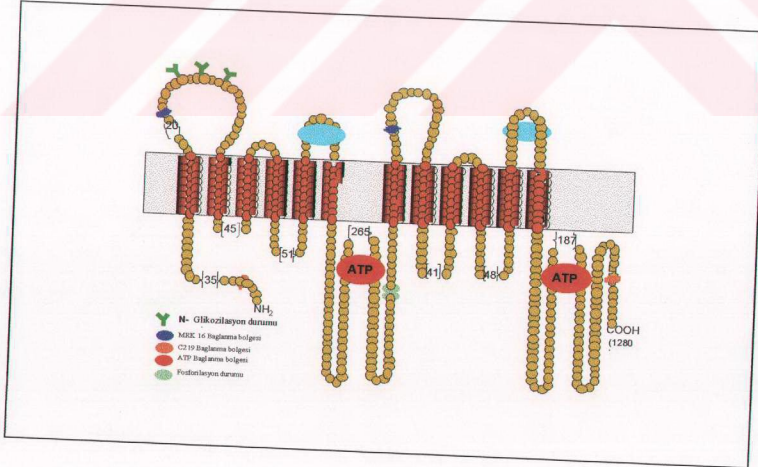
Amacımız, talinolol ile simvastatin arasında farmakokinetik bir etkileşmenin olup olmadığını in vivo göstermektir. Çalışmamızda simvastatin iki farklı dozda oral yoldan uygulanarak, tek doz halinde oral yoldan uygulanan talinololün plazma düzeylerine etkisi saptanmıştır. Muhtemel bir etkileşmenin bulunması, P-gp substratı ve inhibitörleri arasındaki etkileşmeye yeni örnekler olması ve bu konuda yapılacak olan klinik çalışmalara temel teşkil etmesi yönlerinden önemlidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. P-glikoprotein

#### 2.1.1. Yapısı ve fizyolojik önemi

P-glikoprotein (P-gp), hücre membranında yerleşmiş olan, protein yapısında ve ATP'ye bağımlı bir taşıyıcıdır (34). 200'den fazla proteinin içinde bulunduğu ve ilaçların biyolojik membranlardan geçişinden sorumlu olan ABC (ATP-binding cassette) üst familyasının bir üyesidir. 1280 aminoasidin birleşmesinden oluşur ve molekül ağırlığı 170 kilodalton'dur. Tek zincir üzerinde, eşit uzunlukta iki homolog bölümden membrana bağlıdır. Her bölümde, 6'şar tane transmembranal segment ve birer tane ATP-bağlanma bölgesi içerir. Aminoasid zincirindeki ATP'nin hidrolizi aktif ilaç taşınması için enerji sağlar. (10, 76, 89). P- gp'nin moleküler yapısı Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. P-gp'nin moleküler yapısı

İnsanda, MDR1 ve MDR3 olmak üzere, P-gp ekspresyonundan sorumlu iki ayrı gen vardır. Fare ve sıçanda ise mdr1a, mdr1b ve mdr2 olmak üzere P-gp kodlanmasını sağlayan 3 ayrı gen bulunur. İnsanda MDR1, fare ve sıçanda mdr1a ve mdr1b genleri P-gp'nin ilaç taşınmasından sorumlu fonksiyonlarının kodlanmasını sağlarken, MDR3 ve mdr2 genleri hücrelerde fosfolipid taşınmasından sorumlu özelliklerin kodlanmasını sağlar (48).

P-gp'ye spesifik monoklonal antikor kullanılarak yapılan immunohistokimyasal çalışmalar, P-gp'nin organizmada bir çok dokuda yaygın olarak bulunduğunu göstermektedir. P-gp özellikle, gastrointestinal kanalın epitel hücrelerinde, beyin ve testislerin kapiller endotel hücrelerinde, hepatositlerin kanaliküler yüzeyinde, proksimal tübülün apikal yüzeyinde ve plasentanın epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunmaktadır (Tablo 1). P-gp'nin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber, ksenobiyotik ve kanserojen maddeleri vücuttan uzaklaştırma görevini üstlenerek doğal bir savunma mekanizması işlevi gördüğü, aynı zamanda ilaçların absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve atılımında önemli rol oynadığı ayrıca üreme organlarında hormon transportunda ve endojen fosfolipidlerin taşınmasında rolü olduğu ortaya konulmuştur (45, 68, 69, 89).

**Tablo 1. P-glikoprotein dokulardaki ekspresyonu**

| <b>Doku</b>               | <b>Lokalizasyon</b>                     | <b>Fonksiyon</b>                                      |
|---------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| İnce bağırsaklar ve kolon | Epitel hücrelerin apikal membranı       | İlaçların bağırsak lümenine sekresyonu                |
| Santral sinir sistemi     | Kapiller endotel                        | Santral sinir sistemini ksenobiyotiklere karşı koruma |
| Böbrek                    | Proksimal tübüllerin epitel hücreleri   | İlaçların tübül lümenine sekresyonu                   |
| Karaciğer                 | Hepatositlerin kanaliküler membranı     | İlaçların safraya sekresyonu                          |
| Plasenta                  | Trofoblastlar                           | Fetüsü ksenobiyotiklere karşı koruma                  |
| Testis                    | Kapiler kan damarları endotel hücreleri | Kan-testis bariyeri                                   |
| Pankreas                  | Pankreatik kanal (ductul) hücreleri     | Bilinmiyor                                            |
| Böbreküstü bezleri        | Medulla ve korteksin yüzey hücreleri    | Bilinmiyor                                            |

P-gp ekspresyonunun bulunmadığı transgenik farelerde (P-gp knock-out mice) yapılan çalışmalarda (en azından laboratuvar koşullarında) bu hayvanların normal farelerin yaşam süreleri kadar hayatta kalmaları, sağlıklı olmaları, üreyebilmeleri, biyokimyasal fonksiyonlarının normal farelere yakınlık göstermesi, P-gp'nin vücutta hayati bir fizyolojik fonksiyonunun olmadığı fikrini doğrulamaktadır. Ancak bu transgenik canlıların bazı toksik maddelere karşı, normal farelere göre çok daha duyarlı olduğu da açıktır (49). Transgenik farelerin yaşadığı ortamda, ektoparazitlerden korunmak için rutin olarak yapılan ivermektin uygulaması sonucu, bu farelerin hemen hemen hepsinin felç nedeniyle öldüğü gözlenmiştir. Bunun sonucunda yapılan toksisite deneylerinde, transgenik farelerin, oral olarak uygulanan ivermektinin toksik etkilerine karşı normal farelere göre 50-100 kat daha duyarlı olduğu bulunmuştur (69).

### 2.1.2. Kanser hücrelerinde P-glikoprotein regülasyonu

İlaç rezistansı (MDR- multidrug resistance), kanser hastalarına uygulanan kemoterapinin başarısız olmasının temel nedenlerinden biridir. Tümör hücrelerinde gelişen bu direnç, ilaçların hücre dışına atılmasını sağlayan membran proteinlerinin ekspresyonunun bir sonucudur ve ilaçların hücre içi konsantrasyonlarının düşmesine neden olur. Yapılan çalışmalar, bu rezistansın temel olarak bitki ve mikroorganizmalardan elde edilen doğal ürünlere karşı geliştiği fakat sis-platin, siklofosfamid ve metotreksat gibi sentetik bileşiklere karşı gelişmediğini göstermiştir (59).

P-gp, kemoterapötik substratların etki bölgesine girişini engelleyerek, hücre içi ilaç konsantrasyonlarını düşürür. P-gp birçok kemoterapötik ilacı hücre dışına taşıyarak tümörün uygulanan bu ajanlara karşı direnç geliştirmesine ve buna paralel olarak P-gp substratı olan diğer kemoterapötiklere de direnç geliştirerek multipl ilaç rezistansının (MDR) gelişmesine neden olur (59). P-gp aracılığıyla direnç gelişen ilaçlar Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** P-gp aracılığıyla rezistans gelişen ilaçlar

| <u>Antineoplastik İlaçlar</u> | <u>Diğer İlaçlar</u> |
|-------------------------------|----------------------|
| Aktinomisin D                 | Kolşisin             |
| Daunorubisin                  | Emetin               |
| Doksorubisin                  | Etidium bromid       |
| Etoposid                      | Gramisidin D         |
| Mitoksantron                  | Mitramisin           |
| Taksol                        | Puromisin            |
| Teniposid                     | Valinomisin          |
| Vinblastin                    |                      |
| Vinkristin                    |                      |

### 2.1.3. P-glikoprotein'in ilaç farmakokinetikindeki rolü

P-gp'nin anatomik lokalizasyonu göz önüne alındığında, ilaçların farmakokinetikinde önemli bir yere sahip olduğu göze çarpmaktadır. İntraselüler lokalizasyonundan dolayı, P-gp, ilaçların kan dolaşımından beyin ve plasentaya, gastrointestinal lümeninden enterositlere geçişlerini sınırlandırabilmekte ayrıca hepatositlerden, renal tübül ve intestinal epitel hücrelerinden luminal boşluklara atılmasını da sağlamaktadır. Bu nedenle, P-gp'nin hücresel lokalizasyonunun bilinmesi, ilaçların in vivo kinetiklerinin değerlendirilmesi bakımından önemlidir (45, 48).

#### 2.1.3.1. İlaç absorpsiyonundaki rolü

Oral olarak uygulanan ilaçların büyük bir kısmı ince barsaklardan absorbe edilir. Barsak dıştan içe doğru seroza, kas tabakası, submukoza ve mukoza tabakasından oluşur. Barsak dokusunun lümene bakan yüzeyinde yer alan mukoza tabakası apikal membran olarak adlandırılırken, kılcak kan damarlarının bulunduğu submukoza tabakasına da bazolateral membran adı verilir. İlaçların absorpsiyonu apikal yüzeyden bazolateral yüzeye doğru iken, barsak lümenine sekresyon bazolateralden apikal yüzeye doğru gerçekleşir (47, 88).

İntestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonundaki rolü, ilk olarak, yüksek oranda P-gp ekspresyonun görüldüğü Caco-2 (insan kolon karsinoma hücreleri) hücreleri ile yapılan in vitro çalışmalarda belirlenmiştir. Bu hücrelerde, vinblastin ve dosetakselin (MDR ilaçlar) basolateralden apikal yüzeye (B→A) transportunun, A→B olan transporta göre, sırasıyla, 10 ve 20 kat daha fazla olduğu bulunmuş ve A→B olan transportun P-gp efluksunu inhibe eden verapamil ve MRK16 tarafından artırıldığı gösterilmiştir (30).

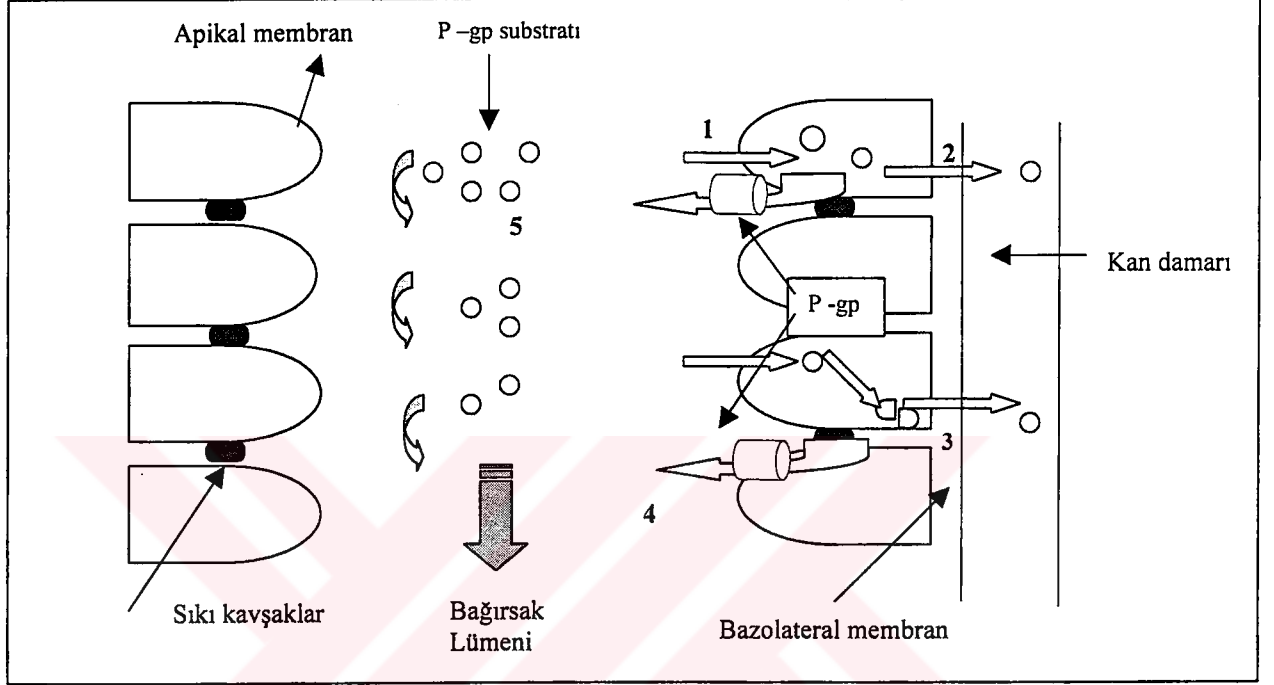
Transgenik farelerin kullanıldığı in vivo çalışmalarda da, P-gp substratı olduğu bilinen paklitaksel ve digoksinin oral biyoyararlanımlarının normal farelere göre artmış olduğu gösterilmiştir (48).

İn vitro, in vivo ve klinik çalışmalardan elde edilen bu sonuçlar, P-gp'nin barsak lümeninden ilaç transportunu sınırlandırarak, ilaç absorpsiyonunun azaltılmasında önemli bir role sahip olduğunu kanıtlamaktadır (48).

P-gp'ye spesifik bir antikor olan MRK16 ile yapılan histolojik çalışmalarda, P-gp'nin ince barsakta, enterositlerin fırça kenarlı membranlarının apikal yüzeylerinde lokalize olduğu gösterilmiştir (96, 83). İnsanda, gastrointestinal kanalda, MDR1 mRNA ekspresyonunun ölçülmesi sonucunda, P-gp ekspresyonunun mideden kolona doğru arttığı bulunmuştur (48).

P-gp, hücre içine giren substrat ilaç moleküllerini barsak lümenine atmak (efluks yapmak) suretiyle absorpsiyonlarını önler. Barsak lümenine gelen P-gp substratı önce apikal membrana penetre olur ve bir kısmı burada metabolize olabilir. Apikal membranda bir kısmı geçişe devam edip bazolateral kısma ulaşır ve kana geçer. Bir kısmı ise P-gp tarafından tutulur ve barsak lümenine geri atılır. Lümene geri atılan substratın bir kısmı tekrar membrana penetre olurken bir kısmı da feçesle elimine edilir (1, 5, 21, 104). P-gp'nin barsaktaki yerleşimi ve fonksiyonu Şekil 2'de gösterilmektedir (51).

**Şekil 2.** P-gp'nin barsaktaki yerleşimi ve fonksiyonu



- 1- P-gp substratının barsak lümeninden barsak hücresine (apikal membrana) geçişi
- 2- P-gp substratının hücre içinden geçip sistemik dolaşıma katılması
- 3- Apikal membranda metabolizma
- 4- P-gp aracılığı ile barsak lümenine atılım (sekresyon)
- 5- Substratın intestinal lümendeki hareketi ve feçesle eliminasyonu



### 2.1.3.2. İlaç dağılımındaki rolü

#### 2.1.3.2.1. Kan-Beyin Bariyeri

Santral sinir sistemi, beyini kan dolaşımındaki toksinlerden korumak ve beyinde oluşan toksik metabolitleri elimine etmek amacıyla önemli hücresel bariyerler içerir. Bu bariyerler sayesinde beyin kan dolaşımından tamamen ayrılır. Periferdeki organlardan farklı olarak beyin kapiller endotel hücreleri arasında maddelerin geçişini engelleyen sıkı kavşaklar bulunur. Ayrıca kapiller endotel hücreleri ekstraselüler matriks, astrosit ve mikrogial hücreler ile çevrelenmiştir (14, 37, 48, 81).

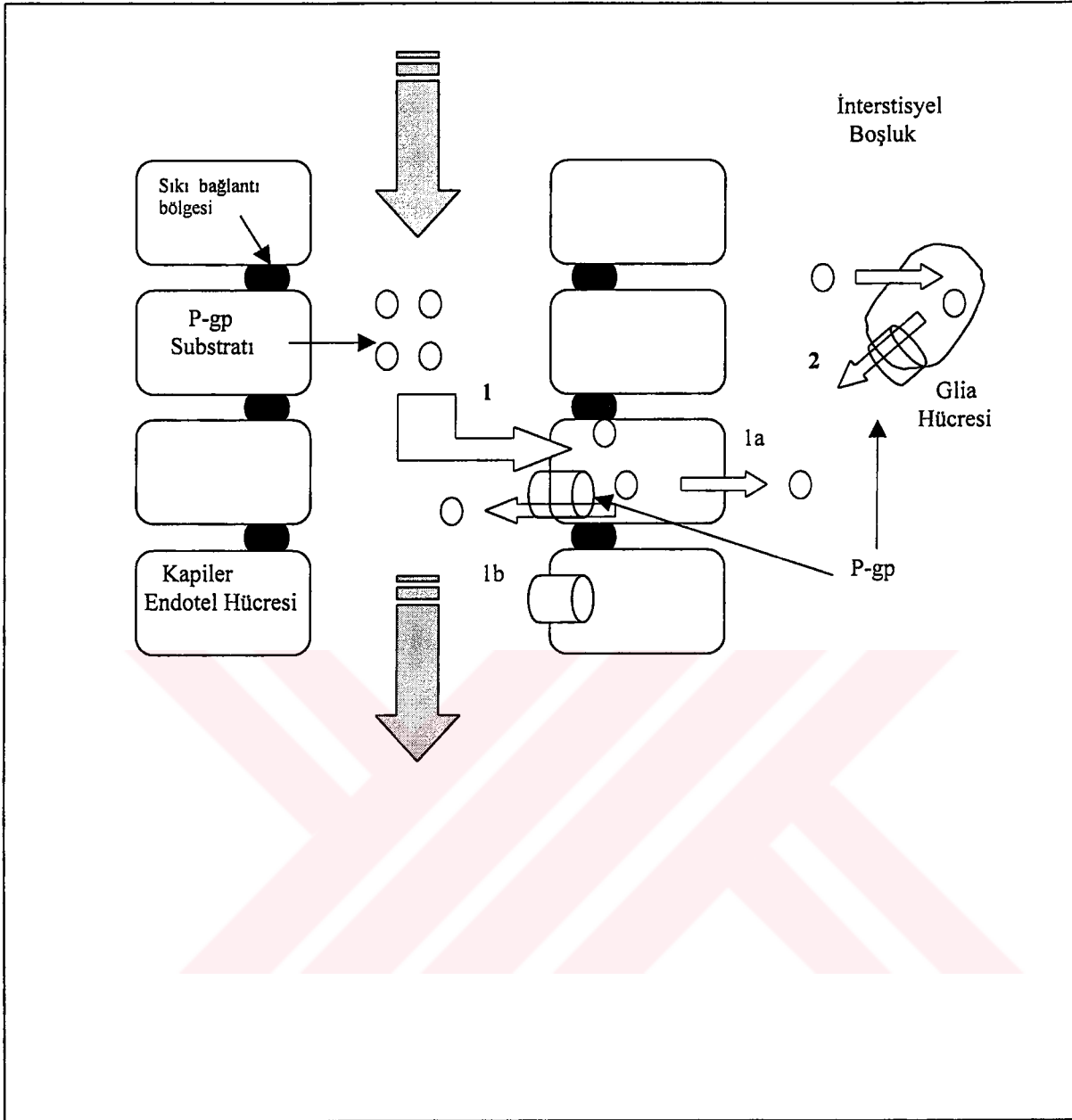
Lipofilik özellikteki ilaçlar, endotel hücrelerinden pasif difüzyon ile geçerek beyine girebilir. Lipofiliteye ek olarak molekül boyutu, iyonizasyon derecesi ve hidrojen bağları sayısı da ilaçların beyine penetrasyonlarını etkiler. İlaçların lipofilitesi ile beyine penetrasyonları arasında güçlü bir korelasyon vardır. Fakat buna rağmen, bazı lipofilik ilaçların (vinkristin, epipodofilotoksin) beyine kolaylıkla geçemediği görülmüştür. Monoklonal antikörler ile yapılan çalışmalar sonucunda, beyin kapillerlerinin endotel hücrelerinin apikal yüzeyinde, P-gp'nin yüksek oranda eksprese edildiği kanıtlanmış ve bu bulgular sonucunda bazı lipofilik ilaçların beyine düşük oranda geçmelerinin P-gp aracılığıyla meydana gelen efluksundan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır (14, 48, 81).

P-gp'nin beyindeki işlevi ile ilgili ilk deneyler in vitro koşullarda, fare beyin kapiller endotel hücrelerinde incelenmiş ve P-gp substratı olan ilaçların bu hücrelerin içine girişinin azaldığı; P-gp inhibitörleri ile birlikte uygulandığında ise bu prosesin tersine çevrildiği gösterilmiştir (86). Transgenik farelerle yapılan in vivo çalışmalarda, farklı kimyasal yapıda ve değişik terapötik kategoride yer alan P-gp substratı ilaçların beyine penetrasyonlarının normal farelere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 3) (48, 81).

P-gp, beyinde, kapiller endotel hücrelerinin apikal membranında ve glia hücrelerinde yer alır, toksik maddelerin beyin dokusuna geçişini sınırlar ve girmiş olan maddelerin kana atılmasını sağlar. Bu şekilde, toksik maddelere ve ksenobiyotiklere karşı bir engel niteliğindedir (Şekil 3) (51, 67).

**Tablo 3.** Transgenik [*mdr1a* (-/-)] ve normal [*mdr1a* (+/+)] farelerde, bazı P-gp substratlarının beyin dokusuna geçiş oranları

| İlaç        | Beyin düzeyi oranı<br><i>mdr1a</i> (-/-) : <i>mdr1a</i> (+/+) | Terapötik Kategori     | Ref.  |
|-------------|---------------------------------------------------------------|------------------------|-------|
| Amprenavir  | 27                                                            | HIV Proteaz inhibitörü | (62)  |
| İndinavir   | 11                                                            | HIV Proteaz inhibitörü | (38)  |
| Nelfinavir  | 36                                                            | HIV Proteaz inhibitörü | (38)  |
| Siklosporin | 17                                                            | İmmunsupresan          | (70)  |
| Digoksin    | 35                                                            | Kardiyotonik           | (70)  |
| Morfin      | 2                                                             | Narkotik Analjezik     | (70)  |
| Kinidin     | 29                                                            | Antiaritmik            | (19)  |
| Takrolimus  | 33                                                            | İmmunsupresan          | (102) |
| Verapamil   | 10                                                            | Antihipertansif        | (2)   |
| Vinblastin  | 22                                                            | Antineoplastik         | (66)  |



**1- P-gp substratının pasif difüzyon ile beyin kapillerine penetrasyonu**

**1a- Substratın interstisyel boşluğa geçmesi**

**1b- Substratın kapiller endotel hücresinden P-gp ile tekrar kapiller lümene atılması**

**2- P-gp substratının glia hücresine girişi ve P-gp aracılığı ile hücre**

**Şekil 3.** Kan-beyin bariyeri ve santral sinir sisteminde P-gp'nin yerleşimi ve fonksiyonu

#### 2.1.3.2.2. Plasenta

Monoklonal antikor kullanılarak yapılan çalışmalarda, insan plasentasında yüksek oranda P-gp ekspresyonunun olduğu görülmüştür. P-gp'nin plasentadaki fonksiyonu, insan plasenta koriokarsinoma epitel hücreleri kullanılarak in vitro koşullarda incelenmiştir. Vinblastin, vinkristin ve digoksinin B→A transportunun, A→B olan transportuna göre fazla olduğu ve P-gp inhibitörü siklosporin A ile bu transportun geri döndürüldüğü gösterilmiştir. Bu bulgulara göre, plasentada bulunan P-gp'nin başlıca fonksiyonu, ksenobiyotikleri hücrelerden uzaklaştırmaktır (48, 103).

P-gp, plasentada, anne dolaşımına dahil olan damarların apikal yüzeyinde bulunan trofoblastlarda lokalize olmuştur. Bu trofoblastlar, anne ve fötüs kan dolaşımı arasında fonksiyonel bariyer görevi görür. Besin ve artık madde değişimini sağlarken aynı zamanda fötal dolaşımı toksik maddelerden korur. Burada yer alan P-gp, anne kanında bulunan P-gp substratı ilaçları ve toksinleri geri pompalayarak fötusa geçmelerini büyük oranda engeller (68, 103).

Transgenik farelerin kullanıldığı in vivo çalışmalarda, ivermektin, digoksin, sakonavir ve paklitakselin fötusa geçen miktarının normal farelere oranla 10-20 kat fazla olduğu ve artan ivermektin penetrasyonunun fötusta anamolilere neden olduğu gösterilmiştir (48, 68).

#### 2.1.3.3. İlaç metabolizmasındaki rolü

İnsanlarda, ilaçların çoğunun barsak ve karaciğerdeki metabolizmasından sorumlu başlıca enzim CYP3A4 enzimidir. İnce barsakta, oral olarak uygulanan ilaçların başlıca absorpsiyon bölgesi olan villuslarda, olgunlaşmış enterositlerin içinde bulunur. Fonksiyonu ve yapısı açısından karaciğerde bulunan CYP3A4 ile aynıdır.

Rodentlerde, insan CYP3A4 izoenzimine benzer rodent CYP3A izoenzim ekspresyonu vardır. (5, 48, 96).

CYP3A4 ve P-gp'nin substrat spesifitesi genellikle aynıdır. Bir çok ilaç için CYP3A4 ve P-gp'nin ikili substrat olması, yani hem bu enzimler aracılığı ile metabolize olup hem de P-gp ile sekresyona uğraması, enzimi ve P-gp'yi kodlayan genlerin aynı kromozomun çok yakın yerlerinde lokalize olmasından kaynaklanmaktadır. MDR1 geni 7q21.1'de bulunurken, CYP3A4'ü kodlayan gen 7q22.1'de yer alır. Bu nedenle CYP3A4 için substrat olan bir ilaç aynı zamanda P-gp için de substrat olmaktadır. Ancak bu bir kural değildir. Örneğin, midazolam P-gp için substrat olmadığı halde CYP3A4 ile metabolize olur. P-gp için substrat, fakat CYP3A4 için substrat olmayan ilaçlar da vardır. Örneğin H<sub>1</sub>-reseptör blokleri feksofenadin ve kardiyotonik digoksin CYP3A4 ile metabolize olmaz ancak P-gp aracılığı ile sekresyona uğrar (11, 91, 92, 101).

CYP3A4 enzimi ve P-gp'nin substrat spesifitelerinin aynı olması, ayrıca barsak, karaciğer ve böbrekte eksprese olmaları, P-gp'nin ilaç metabolizmasında önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir (48).

P-gp ince barsakların epitel hücrelerinin giriş kısmında bulunmaktadır. Enterosit içine pasif difüzyonla geçen substrat ilacın bir kısmı CYP3A4 enzimi ile metabolize edilirken bir kısmı P-gp ile barsak lümenine sekrete edilir. Barsak lümenine sekrete olan ilacın bir kısmı tekrar pasif difüzyonla absorbe edilir. Böylece, P-gp sekresyonu, barsak lümeni ve enterositler arasında bir siklus oluşmasına neden olur. Bu şekilde ilaç moleküllerinin hücre içinde bulunma süresi uzar ve burada enzimatik metabolik reaksiyonlara maruz kalması artar. Geri absorbe olamayan ilaç ise barsaklardan elimine edilir (5, 48).

P-gp'nin intestinal metabolizmadaki rolünü aydınlatmak için yapılan bir çalışmada, sıçanlara 3 gün boyunca 40 mg/kg dozda oral yoldan deksametazon

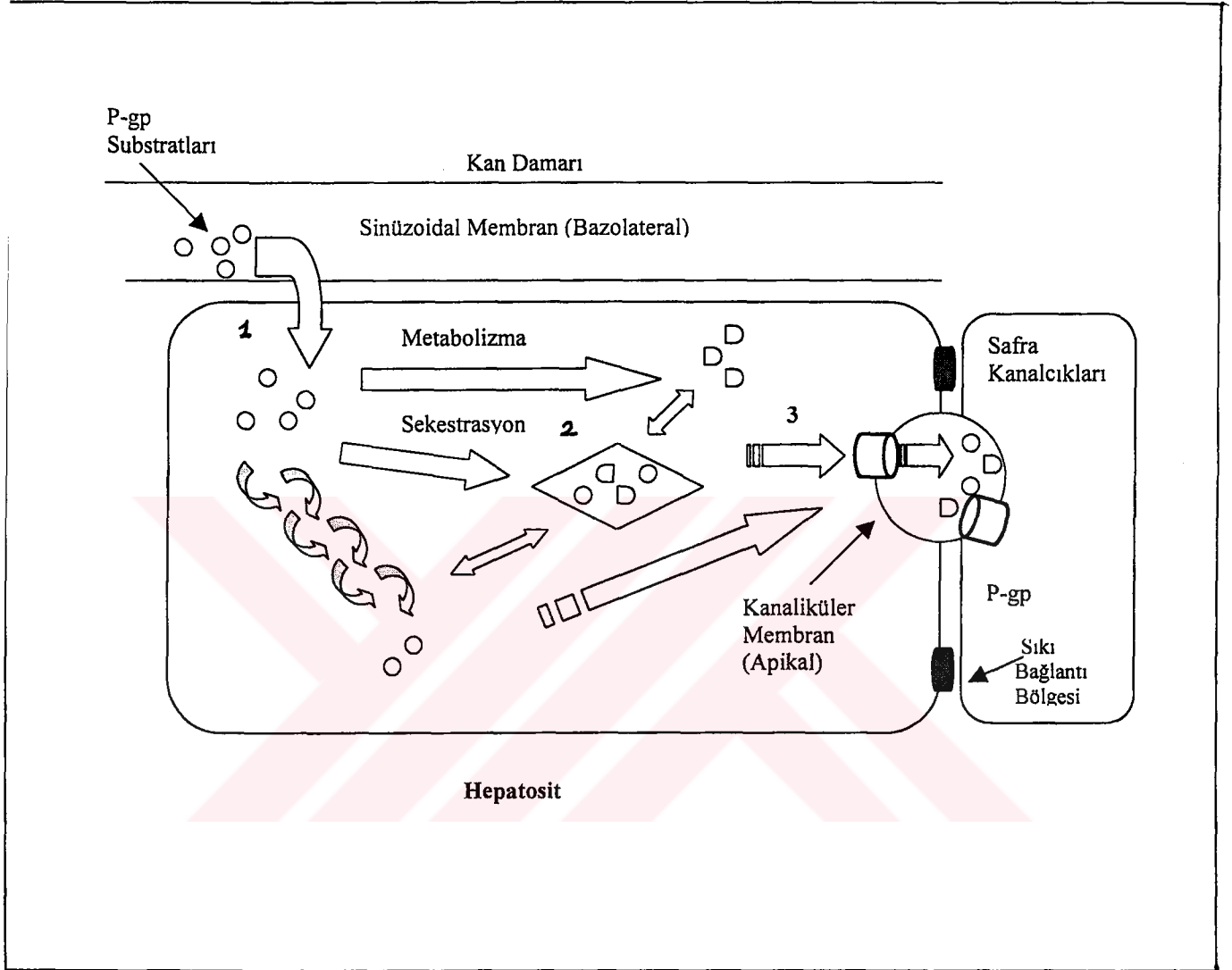
uygulanmış, barsaktaki CYP3A ve P-gp düzeyleri 2.5 kat artırılmıştır. Bunu takiben oral olarak uygulanan indinavirin (P-gp substratı) ilk-geçiş metabolizmasının, kontrol grubuna göre 6 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu, sadece CYP3A'nın 2.5 katlık artışıyla değil, P-gp ve CYP3A'nın her ikisinin de barsaktaki düzeylerinin artması ile açıklanabilmektedir (47).

#### **2.1.3.4. İlaç atılımındaki rolü**

##### **2.1.3.4.1. Safra ile atılım**

İlaçların biliyer atılımında P-gp'nin rolü, ilk olarak, P-gp'nin hepatositlerin kanaliküler membranlarında yüksek oranda eksprese edildiğini gösteren immunohistokimyasal çalışmalar ile ortaya konulmuştur (48). P-gp karaciğer hücrelerinin safra kanalikülü epiteline bakan yüzünde ve kanalikül epiteli hücrelerinin lümene bakan yüzünde bulunur. Karaciğer hücresine giren P-gp substratı, burada metabolize olabilir ve dokuda depolanabilir (sekestrasyon). Daha sonra ilaç safra kanalikülüne gelir ve membranın apikal tarafında bulunan P-gp ile safra kanalına taşınır. P-gp'nin karaciğerdeki yerleşimi ve fonksiyonu Şekil 4'de gösterilmektedir (51).

P-gp'nin karaciğerdeki fonksiyonunu ortaya koyan ve P-gp substratları ile gerçekleştirilmiş bir çok prelinik ve klinik çalışma mevcuttur. CYP3A4 ve P-gp inhibitörü eritromisin ile yapılan klinik bir çalışmada, eritromisinin feksofenadinin biliyer klirensini önemli derecede düşürdüğü ve feksofenadinin plazma konsantrasyonlarını yükselttiği gösterilmiştir. (2). Transgenik hayvanlarda yapılan in vivo çalışmalarda da, digoksin, doksorubisin ve vinblastinin biliyer klirensleri, normal fareler ile kıyaslandığında, sırasıyla, 2.7, 3 ve 5 kat daha düşük bulunmuştur (48).



- 1- P-gp substratlarının karaciğer hücresine penetrasyonu
- 2- Penetrasyon sonrası ilacın metabolize olması, dokuda depolanması (sekestrasyon) ve ilerlemesi
- 3- Substratın P-gp aracılığı ile safraya atılması

**Şekil 4.** Karaciğer hücrelerinde (hepatositlerde) P-gp yerleşimi ve fonksiyonu

#### 2.1.3.4.2. Renal atılım

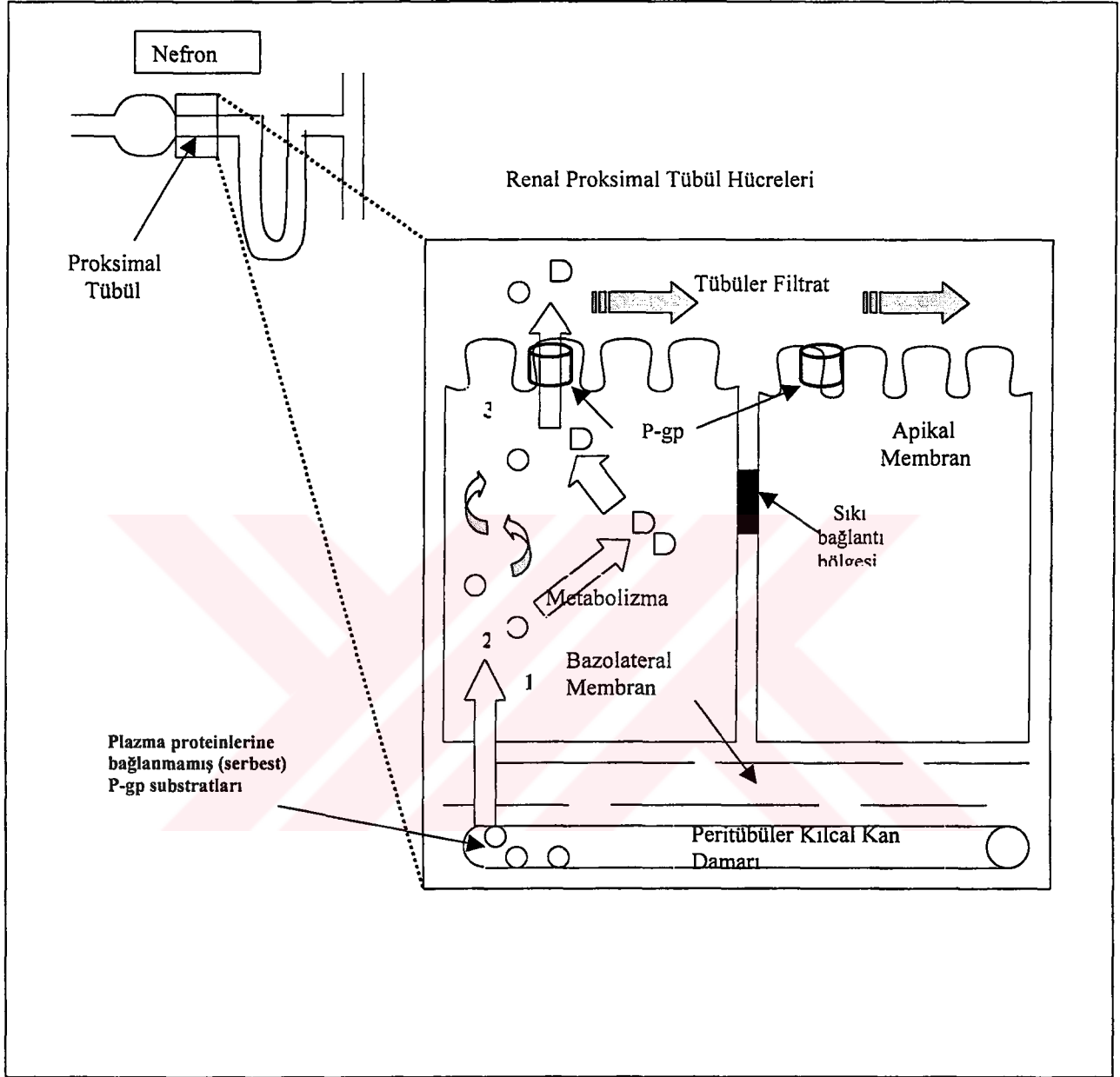
P-gp memelilerde, proksimal renal tübülusun fırça kenarlı membranında (apikal membranında) bulunmaktadır. Yapılan bir çok çalışma, böbrekteki P-gp'nin, ilaçların aktif sekresyonla eliminasyonunda önemli rolü olduğunu göstermektedir. Plazma proteinlerine bağlı olmayan P-gp substratı (serbest substrat), böbreğin proksimal tübülüs kısmında bulunan kılcak kan damarlarına gelir (peritübüler kapiller) ve proksimal tübül hücrelerine pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılı transport ile alınır. Burada substrat metabolizmaya uğrayabilir veya değişmeden kalabilir. Substrat ve/veya metabolit daha sonra proksimal tübül hücrelerinin membranında bulunan P-gp ile hücre dışına taşınarak tübüler filtrata karışır ve idrarla atılır (2, 51).

P-gp'nin böbrekteki yerleşimi ve fonksiyonu Şekil 5'de gösterilmektedir (51) .

Böbrekte bulunan P-gp'nin, ilaç eliminasyonundaki rolünü kanıtlamak için yapılan in vitro çalışmalarda, insan MDR1 geni transfer edilmiş Madin-Darby köpek (MDCK) ve domuz (LLC-PK1) böbreği epitel hücre kültürleri kullanılmıştır. Bu çalışmalarda, digoksinin LLC-PK1 hücrelerinde, B→A geçişinin A→B olan geçişe göre çok daha fazla olduğu ve ortama siklosporin A (P-gp inhibitörü) eklenmesi sonucu, digoksinin B→A geçişinin azalırken A→B geçişinin arttığı gösterilmiştir (48).

Böbreklerden yüksek oranda atılan ve P-gp substratı olan digoksin ile yapılan klinik çalışmalarda bu konu irdelenmiştir. 0.125 mg/gün dozunda oral yoldan digoksin uygulanan sağlıklı gönüllülere PSC 833 uygulanması, digoksinin renal klirensini 6.5 L/saat'ten, 2.3 L/saat'e düşürmüştür. 5. gün PSC 833 uygulaması sonunda ise bu değer 1.6 L/saat'e gerilemiştir. Digoksinin renal klirensindeki düşüş sonucunda plazma digoksin seviyelerinde artış gözlenmiştir (40).





- 1- P-gp substratlarının kılcal damardan proksimal tübül hücresine alınması
- 2- Hücre içinde metabolizma
- 3- Substratın ve/veya metabolitin tübüler filtrata P-gp aracılığı ile sekresyonu

**Şekil 5.** P-gp'nin böbrekteki yerleşimi ve fonksiyonu

#### 2.1.4. P-glikoprotein substratları

P-gp substrat spesifitesi yüksek olan bir proteindir, diğer bir deyişle, birbirinden fiziksel ve kimyasal yönden çok farklı ilaçlar P-gp ile taşınabilmektedir (68, 93). P-gp substratları hidrofobik ve/veya fizyolojik pH'da organik katyonlar, yani bazik ilaçlardır. Ancak bazı asidik bileşikler de (örn. atorvastatin) P-gp substratı olabilmektedir. P-gp substratlarının molekül ağırlığı düşük olabileceği gibi (örn. simetidin) yüksek de olabilir (örn. gramisidin). Bir çok P-gp substratı aromatik halka taşır, ancak aromatik olmayan halka taşıyan ilaçlar da substrat olabilmektedir. P-gp substratları farmakolojik etki kalıbına göre gruplandırılabilir. Bu şekildeki bir gruplandırma Tablo 4'de sunulmaktadır (68).

**Tablo 4.** P-gp substratlarının farmakolojik etkilerine göre gruplandırılması

##### **Amebisidler**

Emetin

##### **Analjezikler**

Asimadolin

Morfin

##### **Antibiyotikler**

Eritromisin

Gramisidin D

Levofloksazin

Rifampisin

Sparfloksazin

Valinomisin

##### **Antiaritmik İlaçlar**

Kinidin

##### **Antineoplastik ilaçlar**

Aktinomisin D

Bisantren Mitoksantron

Doketaksiel

Paklitaksiel

Doksorubisin

Daunorubisin

Epirubisin

Etoposid

Teniposid

Methotreksat

Topotekan

Vinblastin

Vinkristin

##### **Antiemetikler**

Domperidon

Ondansetron

**Antidiyareik ilaçlar**

Loperamid

**Antigut ilaçlar**

Kolşisin

**Antihipertansifler**

Bunitrolol

Debrizokin

Losartan

Seliprolol

Talinolol

**H<sub>1</sub>- reseptör blokerleri**

Feksofenadin

Desloratadin

**HIV proteaz inhibitörleri**

Amprenavir

İndinavir

Lopinavir

Nelfinavir

Ritonavir

Sakinavir

**Kardiyak glikozidler**

$\alpha$ -metildigoksin

$\beta$ -asetildigoksin

Digoksin

Digitoksin

**Kalsiyum kanal blokerleri ve metabolitleri**

Diltiazem

Mibefradil

Verapamil (zayıf substrat)

D-617

D-620

**Pestisidler, antihelmintikler, akarisidler**

Abamektin

İvermektin

**Antihiperlipidemik ilaçlar**

Atorvastatin

Lovastatin

Simvastatin

**Antiepileptik ilaçlar**

Fenitoin

Karbamazepin

**Diagnostik maddeler**

Rodamin 123

Hoechst 33342

**H<sub>2</sub>- reseptör blokerleri**

Ranitidin

Simetidin

**İmmüsupresif ilaçlar**

Siklosporin A

Takrolimus

**Kortikosteroidler**

Deksametazon

Hidrokortizon

Kortikosteron

Triamnisolon

## **2.1.5. P-glikoproteine bağılı ilaç etkileşmeleri**

### **2.1.5.1. P-glikoprotein inhibisyonuna bağılı ilaç etkileşmeleri**

P-gp birden fazla substrat bağlanma bölgesine sahiptir fakat sayısı tam olarak bilinmemektedir. Buna ek olarak iki adet ATP-bağlanma bölgesi vardır. İnhibitör ilaçlar, ilaç bağlanma ve ATP-bağlanma bölgelerini kompetitif veya non-kompetitif olarak bloke edebilirler. Ayrıca taşınma için gerekli enerjinin sağlandığı ATP hidrolizini bloke ederek de inhibisyon oluşturabilirler. Örneğin verapamil ATP hidrolizini etkilemeden taşınmayı kompetitif olarak bloke ederken, vanadat bağlanma bölgelerini etkilemeden sadece ATP hidrolizini bloke eder. Bu durumda, birden fazla bağlanma bölgesinin ve farklı mekanizmaların olması, substrat veya inhibitörlerin yapı etki ilişkilerinin kesin olarak anlaşılmasını zorlaştırmaktadır (48, 89).

P-gp inhibitörlerinin klinikteki kullanımları, ilk olarak, kemoterapiye dirençli, yüksek oranda P-gp içeren kanser hücrelerindeki rezistansı (MDR) geri çevirmelerine odaklı iken, ilerleyen sürede, bu inhibitörlerin, ilaçların farmakokinetik davranışlarını modüle etmek amacıyla da kullanılabileceği kanısına varılmıştır (68). Bu inhibitörler, P-gp'yi inhibe etme kapasiteleri ile diğer farmakodinamik etkilerden yoksun olma özellikleri göz önünde tutularak, birinci, ikinci ve üçüncü kuşak olmak üzere sınıflandırılmaktadır (41) (Tablo 5).

Birinci kuşak ilaçlar in vitro ortamda inhibe edici etkilerini yüksek konsantrasyonda (5-50  $\mu$ M) gösterirler. Bu grup modülatörlerin en etkin olanı immunsupresan bir ilaç olan siklosporindir. İkinci kuşak modülatörler, birinci kuşak ilaçlardan sonra P-gp inhibisyonu yaptığı saptanan; birinci kuşak ajanlara göre daha potent, toksisiteyi daha düşük olan bileşiklerdir. Bu grubun en yeni üyesi olan PSC 833, valspodar olarak da bilinir ve siklosporinin immunsupresif olmayan analogudur (68).

Üçüncü kuşak ajanlar, çok düşük konsantrasyonlarda (20-100 nanomolar) etkin olan ve farmakodinamik aktiviteden yoksun bileşiklerdir. P-gp inhibisyonu için in vivo çalışmalarda da düşük dozlarda kullanılırlar. Etkinlikleri diğer inhibitörlere göre yüksek olduğu için bazı araştırmacılar (62) GF 120918'in uygulandığı fareleri kimyasal knock-out fare (chemical knock-out mice) olarak tanımlamaktadır. LY335979 da GF120918 gibi son derece etkili P-gp inhibitörüdür. Bu bileşikler kanser tedavisinde, antineoplastik ilaçların etkinliklerini artırmak için prelinik çalışmalarda denenmektedir (68).

**Tablo 5.** P-glikoprotein inhibitörlerinin (MDR modölatörlerinin) sınıflandırılması

| <b>1. Kuşak Modölatörler</b>          | <b>Referans</b> |
|---------------------------------------|-----------------|
| Bepridil                              | 72              |
| Diltiazem                             | 87, 39          |
| Felodipin                             | 28              |
| Flupentiksol                          | 18              |
| İsradipin                             | 28              |
| Nikardipin                            | 87              |
| Nifedipin                             | 87              |
| Siklosporin-A                         | 41              |
| Trifluprazin                          | 39              |
| Verapamil                             | 87              |
| <b>2. Kuşak Modölatörler</b>          | <b>Referans</b> |
| R-verapamil                           | 41              |
| Emopamil                              | 41              |
| Gallopamil                            | 41              |
| PSC 833                               | 6               |
| <b>3. Kuşak Modölatörler</b>          | <b>Referans</b> |
| Akridonkarboksamid (GF 120918)        | 31              |
| Diketopiperazin (XR 9051)             | 12              |
| Diarilimidazol (OC 144-093)           | 54              |
| Siklopropildibenzosuberan (LY 335979) | 13              |

İnsanlarda digoksin ve verapamilin birlikte uygulanması sonucu P-gp inhibisyonuna bağlı bir etkileşim gözlenmiştir. Günde 160 mg ve 240 mg verapamil uygulaması sonucu, digoksinin plazma konsantrasyonu, doza bağımlı olarak sırasıyla %40 ve %60-80 oranında artmıştır. Digoksinin böbreklerden değişmeden elimine edildiği gözönüne alındığında plazmadaki artış, P-gp inhibisyonuna bağlı olarak absorpsiyonun artmasının ve renal eliminasyonun azalmasının bir sonucudur (90).

HIV'li hastalarda yapılan klinik bir çalışmada, sakonavir ve ritonavirin, potent bir P-gp ve CYP3A4 inhibitörü olan ketokonazol ile birlikte uygulanması, bu ilaçların beyin omurilik sıvısındaki konsantrasyonlarının artmasına neden olmuştur. Plazma konsantrasyonlarındaki artış beyin omurilik sıvısına göre kıyaslandığında çok düşük bulunmuştur (48).

#### **2.1.5.2. P-glikoprotein indüksiyonuna bağlı ilaç etkileşimleri**

MDR geni tarafından kodlanan Pgp ekspresyonunun, in vitro koşullarda çeşitli ajanlar tarafından indüklenebildiği gösterilmiştir. Bunlar arasında protein kinaz C'yi aktive edici ajanlar, yüksek temperatur ve kimyasal karsinojenler (örn. 2-asetilaminofluoren, 2-AAF) verilebilir (9, 36, 91). Sıçan ve fare hücre kültürlerindeki mdr mRNA seviyelerinin, adriamisin, daunomisin ve mitoksantron gibi bazı sitotoksik ilaçlarla akut maruziyet sonrasında arttığı görülmüştür. Fakat bu ajanlar sıçan ve fare hücre kültürlerindeki mdr mRNA seviyelerini anlamlı düzeyde artırırken, insan hücre kültüründe belirgin bir etkiye yol açmamıştır. Bu bulgu, P-gp indüktörlerinin indükleyici etkisinin türler arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır (48). İn vivo olarak, Schrenk ve ark. (71) sıçanlarda ve primatlarda (non-human primates) kolestaz sırasında MDR geninin indüklendiğini tesbit etmişlerdir. Farklı olarak, kömür ateşinde pişen etlerde açığa çıkan karsinojenik heterosiklik aminlerin ve polisiklik aromatik hidrokarbonların insanda P-gp indüksiyonuna yol açmadığı bildirilmiştir (17).

Lin ve arkadaşları (47) tarafından yapılmış bir çalışmada, sıçanlara 3 gün boyunca oral yoldan günde bir kez 40 mg/kg dozda deksametazon uygulanmış, intestinal ve hepatik P-gp düzeylerinin 2-3 kat arttığı görülmüştür.

P-gp'nin ajanlar tarafından indüklenmesi doku bağımlıdır. Yapılan bir çalışmada, 15 gün boyunca sıçanlara 10 mg/kg dozda siklosporin uygulaması sonucu böbrekler, barsak, karaciğer ve akciğerdeki P-gp düzeyleri kontrol grubuna göre sırasıyla %256, %239, %144 ve %69 oranında artarken maksimum indüksiyon 10 günlük uygulama sonucunda görülmüştür. Kalp, testis ve dalaktaki artış ise kontrol grubuna göre sırasıyla %82, %74 ve %50 oranında iken kalpteki maksimum artış 5, testis ve dalaktaki maksimum artış ise 15 gün sonunda görülmüştür. Bu uygulama esnasında beyindeki P-gp düzeylerinde herhangi bir artış olmamıştır (48).

Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada, 14 gün boyunca oral olarak uygulanan St John's Wort'un duodenal P-gp ve CYP3A4 düzeylerinde 1.4 ve 1.5 katlık bir artışa ve birlikte uygulanan digoksinin plazma AUC değerlerinde %18 oranında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (16).

## **2.2. Kullanılan ilaçlar ile ilgili genel bilgiler**

### **2.2.1. Simvastatin**

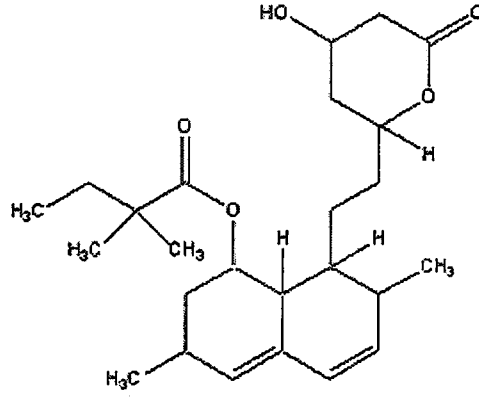
#### **2.2.1.1. Tanımı ve tarihçesi**

Simvastatin, hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan, 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-KoA) redüktaz inhibitörü bir ön-ilaçtır. *Aspergillus terreus*' un fermentasyon ürününden sentetik olarak elde edilmektedir. İnaktif lakton formunda olan simvastatin, oral yoldan uygulandıktan sonra hidroliz edilerek aktif olan  $\beta$ -hidroksi asid şekline dönüştürülür (52, 100).

#### **2.2.1.2. Fiziksel ve kimyasal özellikleri**

Simvastatinin açık kimyasal adı butanoik asit, 2,2-dimetil - 1,2,3,7,8,8a - heksahidro - 3,7 -dimetil -8- [2-(tetrahidro-4-hidroksi-6-okso-2H-piran-2-il)-etil] -1-naftalenil ester, [1S\*-[1 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,8 $\beta$  (2S\*,4S), -8a $\beta$ ]]'dır. Kapalı formülü C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub> olan simvastatinin molekül ağırlığı 418.57 gramdır. Beyaz, nonhigroskopik kristal toz şeklindedir. Kloroform, metanol ve etanoldeki çözünürlüğü iyi iken suda çözünmez. Lipofilik özellikteki simvastatinin pH 7 deki pKa değeri 5.5, lakton şeklinin yağ/su dağılım katsayısı (logP<sub>oct/su</sub>) 4.7, hidroksi asit şeklinin ise 2.1'dir (44, 52, 60).





**Simvastatin**

#### **2.2.1.3. Etki mekanizması**

Simvastatin, insanda, hepatik ve ekstrahepatik kolesterol biyosentezinde hız-kısıtlayıcı basamağı oluşturan HMG-KoA'nın, mevalonata dönüşmesini katalize eden HMG-KoA redüktaz enzimini kompetitif olarak inhibe ederek etki gösterir. İnhibisyon sonucunda karaciğer hücrelerindeki kolesterol ve lipoprotein düzeyinin düşmesi, bu hücrelerin yüzeyindeki düşük dansiteli lipoprotein (DDL) reseptörlerinin yoğunluğunun artmasına neden olur. Bu şekilde kolesterolün karaciğer ve diğer hücrelere girişi ve burada yıkımı artar. Ayrıca, kolesterolün dokulardan karaciğere geri taşınmasını ve metabolizmasını sağlayarak, plazmanın kolesterol ve trigliseridlerden temizlenmesinde rol oynayan yüksek dansiteli lipoprotein (YDL) düzeylerini artırır. Sonuç olarak kandaki total ve DDL kolesterol düzeyi azaltılmış olur (37, 61).

#### **2.2.1.4. Farmakokinetik özellikleri**

##### **2.2.1.4.1. Absorpsiyonu**

Oral yoldan, lakton şeklinde uygulanan simvastatin, gastrointestinal kanaldan yaklaşık olarak %60-80 oranında absorbe edilerek karaciğer ve plazmada,

karboksiesterazlar tarafından, inaktif lakton formundan aktif  $\beta$ -hidroksi asid metabolitine dönüştürülür. Absorpsiyon oranının yüksek olmasına karşın, simvastatinin, sağlıklı gönüllülere oral olarak uygulanmasını takiben,  $\beta$ -hidroksi asid formunun absölü biyoyararlanımı %5'dir (61). Biyoyararlanımının düşük olması, gastrointestinal sıvılardaki çözünürlüğünün ve mukozal membranlara permeabilitesinin düşük olmasına bağlansa da, başlıca nedeni barsak duvarı ve karaciğerde CYP3A4 enzimleri aracılığıyla ilk-geçiş etkisine uğramasıdır. Ayrıca, P-gp'ye bağlı sekresyonun da biyoyararlanımının düşük olmasında rolü olduğu düşünülmektedir (20, 32). Sağlıklı gönüllülerde ve hiperkolesterolemili hastalarda yapılan çalışmalar, simvastatin uygulanmasından sonra, aktif metabolitlerinin plazmadaki maksimum konsantrasyonlarına ( $C_{max}$ ) 1.1 ile 3 saat arasında ulaştıklarını göstermektedir (61). Etkiden sorumlu başlıca metabolit olan hidroksi asid simvastatinin plazmadaki maksimum konsantrasyonu ( $C_{max}$ ) 58.1  $\mu\text{g/L}$ , maksimum konsantrasyona ulaşma süresi ( $t_{max}$ ) ise 1.2 saattir. Az yağlı diyet simvastatinin intestinal emilimini etkilemez iken daha yağlı diyetin ne şekilde etkilediği bildirilmemiştir (44).

#### 2.2.1.4.2. Dağılımı

Hayvanlarda yapılan radyoaktif işaretli ilaç dağılım çalışmalarında, simvastatin ve aktif metabolitlerinin kolesterolün sentezlendiği başlıca yer olan karaciğerde yüksek miktarda bulunduğu ve diğer periferik dokulara çok az oranda dağıldığı gösterilmiştir (61). Sıçanlara i.v. yoldan uygulanan simvastatin laktonun düşük oranda beyine geçtiği saptanmıştır. Hayvanlarda yapılan kan-beyin bariyeri geçiş mekanizması çalışmalarında ise simvastatinin lakton formunun pasif difüzyonla kan-beyin bariyerini aştığı, bunun yanında, çok az miktarda aktif asid formunun da beyine anyon transport sistemleri ile taşındığı gösterilmiştir (64). Simvastatin ve aktif hidroksi asit formu yaklaşık %95 oranında plazma proteinlerine -özellikle albumin- bağlanır (20).

#### 2.2.1.4.3. Metabolizması

Farmakolojik olarak inaktif olan simvastatin lakton, karaciğer ve plazmadaki spesifik olmayan karboksiesterazlar ile en önemli aktif metaboliti olan simvastatin asite dönüştürülür. Bunun yanında, simvastatinin lakton formu, başlıca CYP3A4 enzimi ile olmak üzere, mikrozomal enzimlerle metabolizmaya da uğrar (32, 63). İn vitro hayvan karaciğer mikrozomal enzim çalışmalarında,  $\beta$ -hidroksi asid simvastatinin de dahil olduğu, en az 5 metabolit tanımlanmıştır. İnsan plazmasında bulunan başlıca aktif metabolitler,  $\beta$ -hidroksi asid simvastatin ve bunun 6'-hidroksi, 6'-hidroksimetil ve 6'-eksometilen türevleridir (61). İshigami ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, simvastatinin, erkek ve dişi sıçanlardaki metabolitlerinin farklı olduğu gösterilmiştir. Bu farklılığın nedeni, simvastatinin, dişi sıçanlarda CYP3A4 enzimi ile metabolize edilirken, erkek sıçanlarda CYP2C11 enzimi ile metabolize olmasıdır. İtrakonazol (CYP3A4 inhibitörü) varlığında, sadece dişi sıçanlarda simvastatinin AUC değerinde artış gözlenmesi, bu bulguyu desteklemektedir (33).

#### 2.2.1.4.4. Eliminasyonu

Simvastatinin (aktif ve inaktif metabolitleri) insandaki başlıca eliminasyon yolu biliyer atılımdır. Simvastatin, oral veya i.v. uygulanmasından bağımsız olarak, biliyer atılımdan sonra feçesle elimine olma eğilimindedir. Radyoaktif işaretli simvastatinin sağlıklı gönüllülere uygulanmasını takiben, radyoaktivitenin %58'i, biliyer olarak atılan simvastatin ve metabolitleri ve absorbe olmamış ilaç olarak feçeste saptanmıştır (44, 52).

Simvastatinin ilk-geçiş metabolizmasının önemli bir kısmının karaciğerde olmasından dolayı çok düşük miktarı böbreklerden elimine edilebilmektedir. 100 mg radyoaktif işaretli simvastatinin, sağlıklı gönüllülere oral olarak uygulanması sonucu, total radyoaktivitenin %13'ü idrarda saptanmıştır. Aktif metabolitler, idrarda tayin edilen dozun küçük bir miktarını oluşturmaktadır (%0.5) (20, 61).

Simvastatinin yarılanma ömrü 1.9 ile 15.6 saat arasında değişiklik gösterirken, aktif hidroksi asid formunun eliminasyon yarı ömrü ( $t_{1/2e}$ ) 1.9 saat, total vücut klirensi ( $Cl_{tot}$ ) ise 31.8 L/s (530 ml/dakika)' dır (61).

#### **2.2.1.5. Endikasyonları**

Hiperkolesteroleminin eşlik ettiği homozigot ve heterozigot familial (primer) hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi ile hiperkolesteroleminin birlikte olduğu karma hiperlipidemilerde kullanılır. Uzun süreli denemelerde ateroskleroz gelişmesini yavaşlatarak koroner arter hastalığı gelişme riskini azaltırlar. Akut myokard infeksiyonu geçirmiş hastalar da dahil, koroner arter hastalığı bulunanlarda, sekonder profilaksi sağladıkları, kardiyovasküler olay insidansını ve mortaliteyi azalttıkları gösterilmiştir. Serebral damarlarda ateroskleroz gelişmesini yavaşlatarak inme ve geçici iskemik atak insidansını azaltırlar (37, 61).

#### **2.2.1.6. Dozaj ve uygulama**

Simvastatinin, oral yoldan, günde 5-40 mg tek doz olarak gece kullanılması tavsiye edilmektedir. Tedaviye başlama dozu genellikle 5-10 mg/gün'dür. Doz, tedavinin amacına ve DDL-kolesterol düzeylerine göre kişisel olarak ayarlanmalıdır. Orta derecede böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlanmasına gerek yoktur. Genel olarak, simvastatinin yaşlı hastalardaki etkinliği ve tolere edilebilirliği normal popülasyon ile aynıdır. Simvastatinin, nikotinik asit ve fibratlar ile birlikte uygulanması, miyopati ve rabdomyoliz görülme riskinden dolayı sakıncalıdır. Siklosporin ile immunosupresan tedavi gören hastalarda, simvastatinin başlama dozu 5 mg/gün'dür ve günde 10 mg'ın üzerine çıkılmamalıdır (61).

#### **2.2.1.7. Kontrendikasyonları**

Teratojenik etkileri nedeniyle gebelikte kontrendikedir (gebelik kategorisi X). Doğurganlık çağındaki kadınların simvastatin alırken ve bıraktıktan 1 ay sonraya kadar hamile kalmamaları gerekmektedir. Kıkırdak ve kemik gelişmesi üzerindeki potansiyel bozucu etkileri nedeniyle emziren kadınlarda da kontrendikedir (37, 60).

Simvastatin, yüksek miktarda alkol kullanan ve/veya karaciğer hastalığı geçmişi olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. Aktif karaciğer hastalıkları veya transaminaz seviyelerindeki beklenmeyen yükselmelerde simvastatin kontrendikedir (60).

#### **2.2.1.8. Yan etkileri**

En sık görülen yan tesirleri mide-barsak tahrişine bağlı bulantı, kusma, konstipasyon veya diyare, dispepsi, abdominal ağrı veya kramptir. Ayrıca döküntü ve prutitus oluşturur. Seyrek görülen fakat ciddi sayılan yan tesirleri myopati ile hepatotoksik etkilerine bağımlı karaciğer bozukluğudur. Myopati, kreatin kinaz seviyelerinin yükselmesi ile karakterize kas ağrısı veya güçsüzlük olarak belirtilen bir durumdur. Yüksek dozda veya kandaki düzeylerini artıran ilaçlarla (CYP3A4 inhibitörleri gibi) alınırsa çizgili kaslar üzerindeki toksik etki şiddetlenir ve rabdomyoliz meydana gelebilir. Simvastatin kullanımı sonucu serum transaminazları aşırı şekilde artabilir. Tedavinin başında ve tedavi esnasında karaciğer fonksiyon testleri yapılarak karaciğer fonksiyonları izlenmelidir (37, 60).

#### **2.2.1.9. Müstahzarları**

Simvastatin, Simvakol 10 mg Film Tablet (Nobel), Zocor 10/-20 mg Film Tablet ve Zocor Fort 40 mg Film Tablet (Merck Sharp & Dohme), Zovatin 10 mg Film Tablet (Eczacıbaşı) olarak ülkemizde pazarlanmaktadır (4).

#### 2.2.1.10. Simvastatin ve P-glikoprotein

Statin türevi antihiperlipidemik ilaçların P-gp'ye bağımlı transportları, floresans veren işaretleyicilerin (daunorubisin) kullanıldığı in vitro hücre kültürü (G185 hücreleri) çalışmalarında incelenmiş ve lovastatin, simvastatin ve atorvastatinin P-gp'nin potent ve etkin birer inhibitörü olduğu kanıtlanmıştır. Simvastatin için hesaplanan IC<sub>50</sub> (maksimum inhibitör konsantrasyonun yarısı) değeri 9 µM iken lovastatin ve atorvastatin için bu değer sırasıyla 26 ve 271 µM'dır. Bu çalışmanın sonuçları simvastatinin, diğer statinlere göre, en potent P-gp inhibitörü olduğunu göstermektedir. Statinlerin CYP3A4 enzimine bağlandığı ve CYP3A4 ve P-gp'nin substrat spesifitesinin aynı olduğu göz önüne alındığında P-gp'ye afinitelerinin olması beklenen bir sonuçtur (95). Ayrıca statinlerin yüksek hepatik ekstraksiyonu, kanalikular plazma membranında lokalize olan P-gp tarafından safraya ekstre edildiğine dair bir kanıt oluşturmaktadır (7).

Bogman ve arkadaşları tarafından yürütülen diğer bir in vitro hücre kültürü çalışmasında ise, simvastatinin lakton formunun IC<sub>50</sub> değeri 24.5 µM iken aktif metaboliti olan simvastatin asidin P-gp modülasyonu üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (7).

#### 2.2.1.11. İlaç etkileşimleri

Hiperkolesterolemi, çoğu kez hayat boyunca tedavi gerektiren kronik bir durumdur. Statinler ile tedavi sırasında farklı ilaçlar da birlikte kullanılabilir. Bunun sonucunda farmakodinamik veya farmakokinetik ilaç etkileşimleri görülebilir. Statinlerin farmakodinamik düzeyde ilaç etkileşimlerine eğilimi yoktur (58). İskelet kası toksisitesi statin tedavisi sonucu ortaya çıkan ciddi bir yan tesirdir. Myopati, sonunda böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilen rabdomyolize ilerleyebilir. Statin tedavisi süresinde görülen myopati, genellikle, ilaç, hastalık ve birlikte kullanılan diğer ilaçlar

ile ortaya çıkan etkileşimlerin, statinlerin plazma konsantrasyonlarını artırmasının bir sonucudur (32).

Simvastatin, P-gp substratıdır ve esas olarak CYP3A4 enzimi ile metabolize edilir. Bundan dolayı P-gp ve CYP3A4 inhibitörleri ve indüktörleri ile etkileşime girme potansiyeline sahiptir (95).

Greyfurt suyunun simvastatinin ile birlikte sağlıklı gönüllülere uygulanması, simvastatin ve simvastatin asidin serum konsantrasyonlarında artışa neden olmuştur. Simvastatinin  $C_{max}$  değeri 9.4, ortalama  $AUC_{(0-\infty)}$  değeri 16, simvastatin asidin ortalama  $AUC_{(0-\infty)}$  değeri ise 7 kat artarken,  $t_{1/2}$  değeri değişmemiştir. Bu bulgular, greyfurt suyunun intestinal duvardaki CYP3A4 ve P-gp'yi inhibe ederek simvastatinin biyoyararlanımını artırdığını göstermektedir (46).

Simvastatinin siklosporin ile birlikte uygulanması, simvastatin ve metabolitlerinin ortalama AUC değerlerini kontrole göre 3 kat, simvastatinin  $C_{max}$  değerlerini ise 2 kat artırmıştır. Siklosporin, statinlerin hepatik klirensini artırmak veya ilk geçiş etkisini azaltarak biyoyararlanımlarını artırmak veya biliyer atılımlarını azaltmak suretiyle plazma konsantrasyonlarında artmaya neden olabilir. Aynı zamanda siklosporin P-gp'nin potent bir inhibitörüdür (100).

Simvastatinin itrakonazol ile birlikte uygulandığı klinik bir çalışmada, itrakonazol, simvastatinin CYP3A4 bağımlı ilk-geçiş etkisini inhibe ederek, simvastatin ve total simvastatin asidin  $AUC_{(0-\infty)}$  ve  $C_{max}$  değerlerinde 10-20 katlık bir artışa neden olmuştur. Bunun yanında, bu etkileşmenin olası diğer bir nedeninin de, itrakonazolun P-gp'yi inhibe ederek simvastatinin biyoyararlanımının artırmak suretiyle olduğu düşünülmektedir (53).



Eritromisin ve verapamilin, simvastatinin  $C_{max}$  değerlerinde 3.4 ve 2.6, simvastatinin AUC değerlerinde 6.2 ve 4.6, simvastatin asidin AUC değerlerinde ise 3.9 ve 2.8 katlık bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Eritromisin ve verapamilin simvastatin ile etkileşmesi, simvastatinin CYP3A4 metabolizmasının inhibisyonuna bağlı olabileceği yönündedir (35).

Diltiazem simvastatin ile beraber uygulandığında, simvastatinin plazma konsantrasyonunu dört kat yükseltirken kolesterol düşürücü etkisini de artırır. Diltiazem ve verapamil gibi kalsiyum kanal blokerlerinin simvastatin ile birlikte çok sayıda hasta grubuna (>12 000) uygulandığı bir çalışmada simvastatine bağlı miyopati riskine dair bir kanıt olmasa da simvastatinin diltiazem ile birlikte kullanımına bağlı iki rabdomiyozis vakası bildirilmiştir (58, 100).

Simvastatinin digoksin ile birlikte uygulanması, digoksinin plazma konsantrasyonlarında %20’lik bir artışa neden olmuştur. Bu artışın nedeni, digoksinin intestinal lümene P-gp bağımlı sekresyonunun inhibisyonu olduğu düşünülmektedir. Çünkü digoksin CYP3A4 enzimi ile metabolize edilmemektedir ancak P-gp ile sekrete edilmektedir (100).

Simvastatin ve HIV-proteaz inhibitörü bir ajan olan nelfinavirin sağlıklı gönüllülere birlikte uygulandığı bir çalışmada, nelfinavir, simvastatinin  $C_{max}$  ve AUC değerlerini ortalama 6 kat artırmıştır. Bu etkileşme, simvastatinin biyoyararlanımını etkileyen barsak duvarı ve karaciğerdeki CYP3A4 enzim inhibisyonuna bağlı olabileceği gibi P-gp inhibisyonuna da bağlı olabilir. HIV’li hastalarda görülen hiperkolesteroleminin uzun süreli tedavisinde simvastatin kullanılmamalıdır (29).

Potent bir CYP enzim -CYP3A4 dahil- indüktörü olan rifampisin, simvastatin ile birlikte uygulandığında, simvastatinin plazma konsantrasyonunda ciddi bir azalmaya neden olmuştur. Simvastatinin eliminasyon yarı ömrü rifampisin tarafından etkilenmez iken, barsak ve karaciğerdeki CYP3A4 bağımlı ilk-geçiş metabolizması ve P-gp indüksiyonu bu etkileşmenin nedeni olabilir (43).



St. John's Wort barsak duvarı ve karaciğerdeki CYP3A4 enziminin potent bir indüktörüdür ve birlikte kullanıldığı bazı CYP3A4 substratlarının plazma konsantrasyonlarını azaltır. Sağlıklı gönüllülere, St. John's Wort (tekrarlanan doz) ve simvastatinin (tek doz) birlikte uygulandığı klinik bir çalışmada, simvastatin lakton ve simvastatin hidroksi asidin plazma konsantrasyonlarında azalma gözlenmiştir. Total simvastatinin (lakton ve asid formu) AUC değerinin azalmış olması, simvastatinin ince barsak ve karaciğerdeki CYP3A4 aracılı ilk geçiş metabolizmasının artması ile açıklanabilir. Ayrıca St. John's Wort'ün insanlarda P-gp'i indüklediği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, plazma simvastatin konsantrasyonunun azalması P-gp indüksiyonunun bir sonucu da olabilir (80).

Yayınlanan son çalışmalarda, gemfibrozilin simvastatinin aktif asid formunun plazma konsantrasyonlarını artırdığını göstermektedir. Bu kombinasyon tedavisindeki artan miyopati riski büyük bir olasılıkla farmakokinetik bir etkileşimin sonucudur. Gemfibrozil CYP3A4 enzimini direkt olarak inhibe etmediğinden bu etkileşimin mekanizması simvastatin asidin non-CYP3A4 bağımlı metabolizmasına veya P-gp inhibisyonuna bağlı olabilir (3).

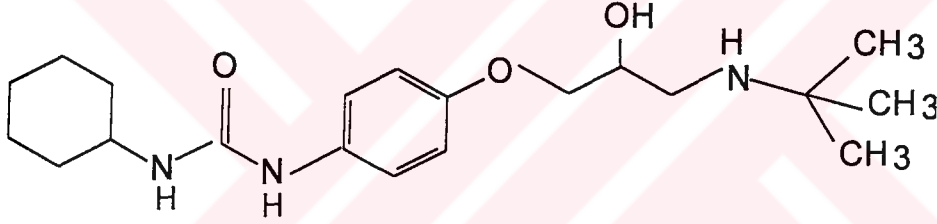
## **2.2.2. Talinolol**

### **2.2.2.1. Tanımı ve tarihçesi**

Talinolol, uzun etkili, kardioselektif  $\beta_1$ -reseptör antagonisti olan antihipertansif bir ilaçtır. İntrinsik semptomimetik aktiviteye (ISE) ve membran stabilize edici etkiye sahip değildir. 1975 yılında klinik kullanıma girmiştir ve özellikle Almanya ve Doğu Avrupa ülkelerinde kullanılmaktadır. Almanya'da Arzneimittelwerk Dresden GmbH (AWD) firması tarafından, Cordanum® ticari ismiyle üretilmektedir (15, 85).

### 2.2.2.2. Fiziksel ve kimyasal özellikleri

Talinololün kimyasal adı 1-(4-sikloheksilüreido-fenoksi)-2-hidroksi-3-*tert.*-butilaminopropen'dir. Kapalı kimyasal formülü  $C_{20}H_{33}N_3O_3$  , molekül ağırlığı 363.5 g olan talinolol, beyaz renkte bir tozdur. Zayıf baz karakterinde bir bileşik olan talinolol ( $pK_a = 9.4$ ), suda az (0.2 mg/ml), alkolde ve metanolde ise çok çözünür (99). Suyu seyreltik asid çözeltisi eklemek suretiyle pH'nın düşürülmesi talinololün sudaki çözünürlüğünü artırır. Diğer beta adrenerjik reseptör antagonistleri ile kıyaslandığında, talinololün suda ve yağda çözünürlüğü eşit orandadır. n-oktanol/su (pH 7) sistemi için yağ/su dağılım katsayısının 5.5 olduğu bildirilmiştir (85).



TALİNOLOL

### 2.2.2.3. Etki mekanizması

Talinolol selektif  $\beta$ -1 adrenerjik reseptör antagonistidir ve organizmadaki beta adrenerjik stimülasyonu kompetitif olarak bloke eder. Normal tedavi dozlarında kullanıldığında  $\beta$ -2 reseptörlere etkisi yok denecek kadar azdır (65, 85).

#### **2.2.2.4. Farmakokinetik Özellikleri**

##### **2.2.2.4.1. Absorpsiyonu**

Oral olarak uygulanan talinolol gastrointestinal sistemden hızla emilir fakat emilim sırasında P-gp aracılığıyla intestinal sekresyona uğramaktadır. Absolü biyoyararlanımı %55 tir. Talinololün metabolik klirensinin çok düşük olması ve metabolik ilk-geçiş etkisine uğramaması nedeniyle biyoyararlanımının düşüklüğü absorpsiyonunun tam olamamasından kaynaklanmaktadır. Sağlıklı gönüllülere, 50 mg dozda oral olarak uygulanan talinololün ortalama  $C_{max}$  değeri 168 ng/ml'dir (85). Oral uygulama sonrası plazmadaki maksimum düzeye yaklaşık 2 saat sonra ulaşır. Sıçanlarda da plazmadaki maksimum konsantrasyonlarına 2 saat sonra ulaştığı saptanmıştır (79). Talinololün absorpsiyonu besinlerle yaklaşık %50 oranında azalır, bu sebepten ilacın yemeklerden 1 saat önce alınması tavsiye edilir (65).

##### **2.2.2.4.2. Dağılımı**

Talinololün dağılım hacmi insanda  $3.3 \pm 0.5$  L/kg'dır. Bu değer alprenolol, bisoprolol, karteolol ve propranolol gibi beta bloker ilaçların dağılım hacmine yakın bir değerdir. Talinolol ekstrasellüler sıvı içinde dağılmakta ve/veya dokularda birirmektedir (85).

##### **2.2.2.4.3. Metabolizması**

Talinololün metabolizma oranı çok düşüktür. Uygulanan dozun sadece %1'i metabolize edilmektedir. Talinolol, karaciğerde, CYP3A4 enzimleri ile, çok düşük oranda, sikloheksil halkasından hidroksilasyonla, metabolitleri olan 3-, 4-cis ve 3-, 4-

trans hidroksitalinolol'e dönüştürülür. Metabolitlerinin herhangi bir farmakolojik etkiye sahip olup olmadığı bilinmemektedir (55, 85, 105).

#### 2.2.2.4.4. Eliminasyonu

Talinolol insanlarda ortalama olarak %60 oranında böbreklerden, %40 oranında ise ekstrarenal yollardan -büyük oranda feçes ile- değişmeden atılmaktadır. Oral olarak uygulanan talinololün hidroksi metabolitleri, %1'den daha az bir oranda idrarda saptanmıştır. Dolayısıyla talinololün metabolik degradasyonu ihmal edilebilir düzeydedir. 50 mg oral olarak uygulanan talinololün yarılanma ömrü 11.9 saattir. Talinolole ait farmakokinetik parametreler Tablo 6'de gösterilmektedir (85).

**Tablo 6.** Sağlıklı gönüllülere tek doz intravenöz infüzyon ile 30 mg ve oral yoldan tek doz halinde 50 mg dozda uygulanan talinolole ait farmakokinetik parametreler.

| <b>Parametre</b>           | <b>Talinolol infüzyon (<math>\bar{x} \pm SD</math>)</b> | <b>Talinolol p.o. (<math>\bar{x} \pm SD</math>)</b> |
|----------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| $C_{max}$ (ng/ml)          | 631±95                                                  | 168±67                                              |
| $t_{max}$ (saat)           | 0.5±0                                                   | 3.2±0.8                                             |
| $AUC_{0-36s}$ (ng.saat/ml) | 1334±114                                                | 1180±337                                            |
| $t_{1/2}$ (saat)           | 10.6±3.3                                                | 11.9±2.4                                            |
| $Cl_{tot}$ (ml/dak.kg)     | 4.9±0.6                                                 | -                                                   |
| $Cl_{ren}$ (ml/dak.kg)     | 2.8±0.7                                                 | -                                                   |
| $Cl_{nren}$ (ml/dak.kg)    | 2.1±0.7                                                 | -                                                   |

#### **2.2.2.5. Endikasyonları**

Talinolol akut taşikardi, instabil anjina pectoris, akut miyokard enfarktüsü, post miyokardial enfarktüs, arteriyel hipertansiyon ve koroner kalp hastalığında kullanılmaktadır (15, 65).

#### **2.2.2.6. Kontrendikasyonları**

Konjestif kalp yetmezliği, II. ve III. derece atriyoventriküler blok (AV blok), sinoatriyal blok (SA blok), kardiyojenik şok, bradikardi, bronşiyal astım, hipotansiyonda, ayrıca beta blokerlere aşırı duyarlılığı olanlarda ve pulmoner ödemde kullanılmamalıdır (65).

#### **2.2.2.7. Yan etkileri**

Kardiyovasküler yan etkiler olarak bradikardi, hipotansiyon, ekstremitelerde soğukluk hissi ve uyuşma sayılabilir. Gastrointestinal yan etki olarak karın ağrısı, diyare ve bulantı görülebilir. Mental yavaşlama, kabus görme ve kısa süreli düşünce kaybı santral sinir sistemine ait yan etkilerdir. Bunun dışında, saç dökülmesi, duyma bozuklukları, kilo artışı ve erektil disfonksiyon bildirilmiştir (65).

#### **2.2.2.8. Dozu ve veriliş yolu**

Akut kalp ritim bozukluğu ve miyokard enfarktüsü sonrası talinolol intravenöz yoldan 10 mg dozda uygulanır. İlaç damar içine 3-5 dakika içinde uygulanmalıdır. Aynı doz 10 dakika sonra tekrarlanır. Kalp fonksiyonları (EKG ile), kan basıncı ve nabzın yakından izlenmesi koşuluyla doz tekrar edilebilir (65).

İnstabil anjinada 10-20 mg talinolol, 24 saat i.v. infüzyon ile uygulanır (65).

Hipertansiyon tedavisi için, oral yoldan günde bir kez 100 mg veya 2 kez 50 mg dozda kullanılır. Gerekğinde doz 300 mg'a kadar çıkartılabilir. Koroner kalp hastalığında doz 100-200 mg/gün'dür. Taşikardi durumlarında ise 100-200 mg/gün dozunda uygulanır (65).

Böbrek yetmezliği bulunan hastalarda, talinololün oral biyoyararlanımının arttığı, yarılanma ömrünün uzadığı ve idrardan atılımının anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Özellikle ileri derecede böbrek yetmezliği bulunan hastalarda ( $Cl_{cr} < 10$  ml/dakika) doz ayarlamasına gidilmelidir. Böbrek yetmezliği bulunan hastalarda dozun %30-50 arasında azaltılması tavsiye edilmektedir (42).

#### **2.2.2.9. Müstahzarları**

Talinololün Almanya'da 50 ve 100 mg talinolol içeren film tablet ve 5 ml'sinde 10 mg talinolol içeren ampul şeklindeki preparatları mevcuttur (Cordanum® ASTA Medica AWD GmbH, Frankfurt a.M., Almanya) (65). İlaç Türkiye'de pazarlanmamaktadır.

#### **2.2.2.10. İlaç Etkileşmeleri**

Sülfasalazin, talinololün absorpsiyonunu ve biyoyararlanımını büyük ölçüde azaltır (65). Talinolol ve sülfasalazin beraber kullanılmamalı, eğer mutlaka birlikte kullanılmaları gerekiyorsa uygulamalar arasında 2-3 saatlik bir süre bırakılmalıdır.

Talinolol, verapamil veya diltiazem gibi kalp üzerine depresif etkisi bulunan kalsiyum antagonistleri, disopiramid, kinidin ve amiodaron gibi antiaritmik ilaçlarla,

MAO (monoaminoksidaz) inhibitörleri, periferik kas gevşeticiler ve alkolle birlikte kullanılmamalıdır (65).

Talinolol hipoglisemiye eşlik eden taşikardiyi maskeleyeceğinden, insülin ve oral hipoglisemikler ile beraber kullanılmamalıdır (65).

Non-steroidal antienflamatuvar ilaçlar vücutta su ve tuz tutulmasına yol açtığından, beta blokerlerin antihipertansif etkisini azaltabilir. Talinolol bu gruptaki ilaçlarla beraber uygulanmamalıdır (65).

#### **2.2.2.11. Talinolol ve P-gp**

P-gp ekspresyonu kanıtlanmış olan Caco-2 hücre kültüründe yapılan çalışmalarda, talinololün, P-gp substratı olduğu ve sekresyonunun verapamil ve MRK-16 (P-gp inhibitörleri) ile inhibe edilebildiği gösterilmiştir (79). Ayrıca sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada, i.v olarak uygulanan talinololün, bağırsak içindeki konsantrasyonu ölçülerek elde edilen sonuçlara göre, barsak lümenine sekrete olduğu ve sekresyonunun verapamil tarafından azaltıldığı gösterilmiştir (23, 24).

Talinololün, karaciğer mikrozomal enzimleri için substrat olmaması P-gp'ye bağlı ilaç-ilaç etkileşimlerinin değerlendirmesinde avantaj sağlamaktadır. Talinololün terapötik aralığı geniş, plazma proteinlerine bağlanma oranı (yaklaşık %25), renal ve biliyer klirensi, biyotransformasyon oranı düşüktür. Ayrıca P-gp ekspresyonundaki değişimlere karşı duyarlılığı yüksektir. Bu özelliklerinden dolayı, P-gp'nin dahil olduğu transport proseslerini ve ilaç-ilaç etkileşimlerini aydınlatmak için yapılan çalışmalarda model bileşik olarak kabul edilmektedir (79, 82, 85, 97, 105).

#### 2.2.2.12. Talinololün P-gp aracılı ilaç etkileşimleri

Talinolol ile yapılan ilaç etkileşim çalışmalarında başlıca iki tip etkileşme göze çarpmaktadır. Bunlar, P-gp inhibitörleri ile talinololün taşınmasının azaltılması sonucu biyoyararlanımında artma ve P-gp'yi indükleyen ilaçlarla birlikte uygulanan talinololün bağırsak lümenine transportunun artırılarak sistemik yararlanımının azaltılmasıdır.

Spahn-Langguth ve arkadaşlarının (79) yaptığı bir çalışmada, Wistar albino sıçanlara, oral yoldan 20 mg/kg dozda talinolol ile kalsiyum kanal blokeri ve antihipertansif bir ilaç olan verapamil 4 mg/kg ve 20 mg/kg dozda oral yoldan birlikte kombine olarak uygulanmış ve verapamilin talinololün farmakokinetiğine etkisi incelenmiştir. 4 mg/kg olarak uygulanan verapamil, talinololün  $C_{max}$  değerini kontrol grubuna göre %250 oranında artırırken, 20 mg/kg dozda oral verapamil ile birlikte uygulamada ki artış %50 olmuştur.

Verapamilin, talinololün intestinal sekresyonuna olan inhibe edici etkisi sağlıklı gönüllülerde, intestinal perfüzyon tekniği kullanılarak ortaya konulmuş, verapamil, intestinal P-gp fonksiyonunu inhibe ederek talinololün plazma konsantrasyonunu artırmıştır (23, 24).

Talinolol ile bazı P-gp substratları arasındaki etkileşmeyi incelemek için yapılan prelinik bir çalışmada, oral yoldan uygulanan verapamil, R-verapamil, siklosporin, PSC 833 (valspodar) ve rifampisin, talinololün oral biyoyararlanımına etkisi araştırılmıştır. Talinolol oral yoldan sıçanlara 20 mg/kg dozda tek başına (kontrol grubu) ve 20 mg/kg verapamil, 20 mg/kg R-verapamil, 10 mg/kg siklosporin, 50 mg/kg PSC 833 (valspodar) ve 10 mg/kg rifampisin ile birlikte uygulanmıştır. P-gp inhibitörü ilaçlar olan verapamil, R-verapamil, siklosporin, valspodar ve rifampisinin talinololün oral biyoyararlanımını artırdığı saptanmıştır (25).



Greyfurt suyu (GFS) ve talinolol etkileşmesinin incelendiği bir çalışmada, Sprague-Dawley sıçanlara rasemik talinolol 10 mg/kg dozda tek başına ve GFS ile birlikte oral yoldan uygulanmıştır. GFS, kontrol grubuna göre kıyaslandığında, talinololün maksimum plazma düzeylerini iki kat artırmış ve AUC değerlerini yükseltmiştir. GFS'nun bu etkisini, barsaklarda yapmış olduğu P-gp inhibisyonuna bağlı olarak göstermektedir (78).

Westphal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sağlıklı gönüllülere 100 mg talinolol oral yoldan tek doz halinde (kontrol grubu) ve aynı dozda, p.o. 0.5 mg digoksin ile birlikte uygulanmıştır. Talinolol ile birlikte uygulamada digoksine ait plazma konsantrasyonları-zaman eğrisi altında kalan alan ( $AUC_{0-72}$ ), kontrol grubuna kıyasla artmış (kontrol  $23.0 \pm 3.3$  ve talinolol ile birlikte uygulamada  $27.1 \pm 3.7$  ng.h/ml),  $C_{max}$  düzeyleri ise yükselmiştir. Bu artışlar istatistiki olarak anlamlıdır. Digoksinle birlikte uygulandığında, talinololün AUC ve  $C_{max}$  değerlerinde istatistiki olarak anlamlı olmayan düşüşler kaydedilmiştir. Araştırmacılar, oral yoldan uygulanan substrat ilaçların, taşıyıcı protein olan P-gp'ye bağlanmak için yarışmaya girdiğini ve talinololün digoksinin bağlanmasını engellediğini öne sürmüşlerdir. Bu etkileşme kalıbı CYP enzimlerine bağımlı etkileşmelere benzemektedir (98).

P-gp'yi in vitro olarak inhibe ettiği kanıtlanmış olan eritromisin ile talinololün etkileşmesini incelemek için, sağlıklı gönüllülere, oral yoldan tek başına 50 mg dozda talinolol (kontrol) ve 2 g dozda eritromisinin birlikte uygulandığı bir çalışma yapılmıştır. Eritromisin ile birlikte uygulamada, talinolole ait plazma konsantrasyonları-zaman eğrisi altında kalan alan ( $AUC_{0-24}$ ), kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. Ayrıca eritromisinle birlikte uygulama talinololün ortalama  $C_{max}$  değerlerinde de kontrol grubuna kıyasla artış meydana getirmiştir. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, eritromisin ile kombine uygulama talinololün renal klirensinde bir azalmaya yol açmamıştır. Araştırmacılar talinololün biyoyararlanımında ve maksimum plazma konsantrasyonu değerinde meydana gelen artışın, eritromisinin barsakta P-gp'yi inhibe etmesine ve dolayısıyla talinololün net absorpsiyonunda meydana gelen artışla ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (74).

Sağlıklı gönüllülerde yürütülen bir çalışmada, kronik olarak 600 mg dozda oral yoldan uygulanan rifampisin, 30 mg i.v. infüzyon ve 100 mg oral yoldan uygulanan talinololün farmakokinetiğine etkisi incelenmiştir. Kronik rifampisin uygulaması i.v. ve oral yoldan uygulanan talinololün AUC değerlerini kontrol grubuna göre sırasıyla %21 ve %35 oranında azaltırken;  $C_{max}$  düzeylerini sırasıyla %30 ve %40 oranında düşürmüştür. Ayrıca çalışma öncesi ve kronik rifampisin uygulaması sonrası deneklerden alınan duodenal biyopsi numuneleri de incelenmiş ve duodenal P-gp içeriklerinin rifampisin uygulanması sonrasında %100'e yakın oranda arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlara göre rifampisin tarafından oluşturulan P-gp indüksiyonu talinololün intestinal sekresyon suretiyle daha fazla atılmasına yol açmaktadır (97).

P-gp indüksiyonunun talinololün farmakokinetiğine etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada ise, sağlıklı gönüllülere 17 gün süreyle 200 µg dozda oral yoldan uygulanan levotiroksinin, gönüllülerin duodenum P-gp içeriğinde yükselmeye sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Ayrıca kronik olarak levotiroksin uygulanması 100 mg tek dozda ve oral yoldan uygulanan talinololün  $AUC_{0-\infty}$  değerlerinde azalmaya neden olmuştur (kontrol 2843±636 ng.h/ml ve levotiroksin uygulanması sonrası 2489±437 ng.h/ml) (77).

### 3. GEREÇLER VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan İlaçlar

**Talinolol:** Arzneimittelwerk Dresden GmbH, Radebeul–Almanya’dan sağlanmıştır.

Seri No. 9604014/01 10 g

**Simvastatin:** PharmaTech International Ltd., Dublin 2 – İrlanda’ dan sağlanmıştır.

Seri No. 1223757

#### 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

|                                                                             |                       |                 |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------|
| Metanol                                                                     | HPLC Grade (No. 6007) | Merck (Almanya) |
| Asetonitril                                                                 | HPLC Grade (No. 1030) | Merck (Almanya) |
| Potasyum dihidrojen fosfat                                                  | Saf                   | Merck (Almanya) |
| Sodyum klorür                                                               | Saf                   | Merck (Almanya) |
| Metil Sellüloz                                                              | Saf                   | Colorcon (ABD)  |
| o-Fosforik asid                                                             | Saf                   | Merck (Almanya) |
| Oasis® Ekstraksiyon Kartuşu 1 cc/30mg                                       |                       | Waters (ABD)    |
| Distile su, Milli Q (Millipore®, ABD) ultra saf su cihazından sağlanmıştır. |                       |                 |
| Symmetry® C <sub>18</sub> 250x4.6 mm, 5µm kolon                             |                       | Waters (ABD)    |
| Symmetry® Sentry® 2.1x3.9 mm ön kolon                                       |                       | Waters (ABD)    |
| Millipore® mobil faz süzme filtresi                                         |                       | Millipore (ABD) |
| Vial (1 ml’lik)                                                             |                       | Waters (ABD)    |

Çalışmada ayrıca Eppendorf tüpleri (1.5 ml), kapaklı polipropilen ve cam tüpler (10 ml), parafilm, enjektörler, heparinli tüpler, cerrahi makas ve pensler, çeşitli cam laboratuvar malzemeleri, mikropipetler kullanıldı.

### 3.3. Kullanılan Aletler

|                                   |                           |
|-----------------------------------|---------------------------|
| Waters 2690 Ayırma Modülü         | Waters (ABD)              |
| Waters 2487 UV/VIS Dedektör       | Waters (ABD)              |
| Millennium <sup>32</sup> Software | Waters (ABD)              |
| Vakum Pompası (-0.10 mBar)        | Millipore (ABD)           |
| Santrifüj Aleti                   | Hettich (Almanya)         |
| Manyetik Karıştırıcı              | Hanna (Singapur)          |
| pH metre                          | Metrohm Herisau (İsviçre) |
| Hassas Terazı                     | Sartorius (Almanya)       |
| Etüv                              | Suszarka (Polonya)        |
| Vakum Pompası                     | KNF (Almanya)             |
| Ultrasonik Banyo                  | Azaklı (Türkiye)          |

### 3.4. Kullanılan Bilgisayar Programları:

|                                   |                                 |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Millennium <sup>32</sup> Software | Waters (ABD)                    |
| TopFit Software                   | Gustav Fischer Verlag (Almanya) |

### 3.5. Deney Hayvanları

Deneylerde, ağırlıkları 180-230 g arasında değişen, dişi ve erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar pellet yem ile beslendi ve çeşme suyu verildi. Deney gününde ilaç uygulama saatinden 12 saat önce sıçanlar aç bırakıldı (sadece su verildi); deney boyunca ise sadece su ve ilaç uygulamasından 3 saat sonra pellet yem verildi.

### 3.6. Deney Planı

Talinolol ve simvastatinin %0.5'lik metil selüloz içerisinde süspansiyonları hazırlandı. Talinolol 20 mg/kg dozda tek başına (kontrol grubu) ve 10 mg/kg (düşük doz), 100 mg/kg (yüksek doz) dozda simvastatin ile birlikte Wistar albino sıçanlara gavaj yardımı ile oral yoldan uygulandı. Uygulanan talinolol ve simvastatin dozları literatür verileri göz önünde tutularak saptandı (26, 22). Her doz ve zaman noktası için 4 sıçan olmak üzere toplam 60 sıçan kullanıldı. Deney hayvanları son dozun verilmesini takip eden 2., 4., 6. ve 8. saatlerde ve her grup için 0. saatte bir sıçan ilaç uygulanmaksızın feda edildi. Hafif eter anestezisi altındaki deney hayvanlarının göğüs bölgesi makas yardımıyla açıldı ve kalplerinden ponksiyonla kanları alındı, heparinli tüplere aktarıldı, 3500 dönüş/dakika hızında santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Plazmalar analiz edilinceye kadar  $-25^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### 3.7. Biyoanalitik tayinler

#### 3.7.1. Talinololün sıçan plazmasından ters faz kromatografi ile tayin yönteminin validasyonu

Sıçan plazma örneklerindeki talinolol konsantrasyonlarının tayini için Oertel R. ve arkadaşlarının kullandığı metodlar esas alındı (55, 56). Tayinde Symmetry® 250-4 mm C<sub>18</sub> kolon (Waters) kullanıldı. Mobil faz olarak fosfat tamponu/asetonitril (73:27, v:v, pH: 4) kullanıldı, akış hızı 1 ml/dakika olarak belirlendi. Mobil fazın pH'sı 1 M o-fosforik asid ile pH 4'e ayarlandı. Mobil faz hazırlandıktan sonra ultrasonik banyoda 30 dakika süreyle degaze edildi, 0.45 µm membran filtreden süzüldü. Talinololün plazmadan ekstraksiyonunda Oasis® 1cc/30 mg (Waters) katı faz ekstraksiyon (SPE; solid phase extraction) kartuşları kullanıldı. Talinolol ultraviyole detektörle 242 nm'de verdiği pik ile teşhis edildi. Talinololün sıçan plazmasından tayinine ait kromatografik koşullar Tablo.1'de gösterilmektedir.

**Tablo 1.** Talinololün sıçan plazmasında tayinine ait kromatografik koşullar

|                   |                                                                 |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Kolon             | Symmetry® 250 mm x 4 mm (5 µm) C <sub>18</sub> Ters Faz Kolon   |
| Mobil Faz         | 0.05 M fosfat tamponu: asetonitril = 73:27 (v:v) ; pH :4        |
| Akış Hızı         | 1 ml/dak                                                        |
| Kolon Temperaturü | 40 °C                                                           |
| Enjeksiyon Hacmi  | 20 µl                                                           |
| Deteksiyon        | UV deteksiyon, 242 nm                                           |
| Ekstraksiyon      | SPE kolon (Oasis® 1cc/30 mg; Waters) ile katı faz ekstraksiyonu |
| Alıkonma Zamanı   | 9.4 dakika                                                      |

#### 3.7.1.1. Doğrusallık (standart çözeltiler için)

Doğrusallık, analizi yapılacak olan maddenin konsantrasyonu ile detektör cevabının belli bir konsantrasyon aralığında lineerlik (doğrusallık) göstermesidir.

50 mg talinolol hassas terazide tartıldı ve HPLC saflığındaki metanol ile 50 ml'lik balon jodede hacmine tamamlanarak stok çözelti hazırlandı (1 mg/ml'lik stok çözelti). Stok çözeltiden 1 ml alınarak 100 ml'lik balon jodede hacmine tamamlandı (10 µg/ml'lik stok çözelti). 10 µg/ml'lik stok talinolol çözeltisi kullanılarak metanolla yapılan seyreltmelerle 2 µg/ml, 1 µg/ml, 500 ng/ml, 200 ng/ml, 100 ng/ml, 50 ng/ml'lik standart çözeltiler elde edildi. Bu standart çözeltilerin herbirinden 4-6'şar adet hazırlanarak her biri 3 kez ayırma modülüne enjekte edildi. Kromatogramlardan elde edilen pik alanları kullanılarak  $y = ax + b$  formülüne göre bir kalibrasyon eğrisi çizildi.

### **3.7.1.2. Doğruluk ve kesinlik (standart çözeltiler için)**

#### **3.7.1.2.1. Gün içi tekrarlanabilirlik**

10 µg/ml’lik talinolol stok çözeltisinden metanolle yapılan seyreltmelerle yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml, 50 ng/ml konsantrasyonlarındaki talinolol çözeltilerinden 6’şar adet hazırlandı ve her biri 3 kez ayırma modülüne enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarının ortalaması alındı ve değişim katsayıları hesaplandı.

#### **3.7.1.2.2. Günler arası tekrarlanabilirlik**

10 µg/ml’lik talinolol stok çözeltisi kullanılarak metanolle yapılan seyreltmelerle yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml, 50 ng/ml konsantrasyonlarındaki talinolol çözeltilerinden 1’er adet hazırlandı ve her biri 3 kez ayırma modülüne enjekte edildi. Bu işlem birbirini takip eden 6 gün boyunca tekrarlandı ve her gün için yeni çözeltiler hazırlandı. Elde edilen pik alanlarının ortalaması alındı ve değişim katsayıları hesaplandı.

#### **3.7.1.3. Doğrusallık (plazmadan ekstraksiyon)**

Plazma örneklerinden kalibrasyon eğrisi çizilmesi amacıyla kapaklı cam tüplere 1’er ml boş sıçan plazması konuldu. Talinololün metanoldeki standart çözeltileri kullanılarak sıçan plazmasına 2 ve 1 µg/ml, 500, 200, 100 ve 50 ng/ml konsantrasyonları sağlayacak şekilde talinolol ilave edildi. Her bir konsantrasyon için 4-6 adet ayrı plazma örneği hazırlandı ve ekstre edildi. Ekstraksiyon şu şekilde gerçekleştirildi: Oasis® 1cc/30mg ekstraksiyon kartuşlarından önce 1 ml metanol ve

ardından 1 ml distile su geçirilerek şartlandırıldı. Daha sonra talinolol içeren sıçan plazması kartuşlardan geçirildi. Kartuşlar %5 metanol içeren 1 ml distile su ile yıkandı. 2 dakika kurutulduktan sonra kirli çözelti içeren tüpler atıldı, talinolol 1 ml metanol ile temiz cam tüplere alındı. İşlem bir vakum pompası ve kartuştan geçirilen sıvıların toplandığı cam tüpleri içeren özel bir cam kavanoz (VacElut®) ile gerçekleştirildi. Vakum pompasının basıncı 0.1 bar'a ayarlandı ve kartuşlardan dakikada 1 ml'den daha fazla hızlı sıvı geçişine izin verilmedi.

Elde edilen ekstreler 3 kez ayırma modülüne enjekte edildi. Elde edilen pik alanları kullanılarak  $y = ax + b$  formülüne göre bir kalibrasyon eğrisi çizildi.

#### **3.7.1.4. Doğruluk ve kesinlik (plazmadan ekstraksiyon)**

##### **3.7.1.4.1. Gün içi tekrarlanabilirlik**

Yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml, 50 ng/ml konsantrasyonda talinolol içeren sıçan plazma örneklerinden 6'şar adet hazırlandı 3.7.1.3.' deki gibi çalışılarak talinolol ekstre edildi. Elde edilen ekstrelerden 3 kez ayırma modülüne enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarının ortalaması alındı, geri kazanım ile değişim katsayıları hesaplandı.

##### **3.7.1.4.2. Günler arası tekrarlanabilirlik**

Yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml, 50 ng/ml konsantrasyonda talinolol içeren sıçan plazma örneklerinden 1'er adet hazırlandı ve 3.7.1.3.'de belirtildiği gibi çalışılarak talinolol ekstre edildi. Bu işlem birbirini takip eden 6 gün boyunca tekrarlandı ve her gün için yeni plazma örnekleri hazırlanarak



talinolol ekstre edildi. Elde edilen ekstrelerden 3 kez ayırma modülüne enjekte edildi ve elde edilen pik alanlarının ortalaması alınarak geri kazanım oranları ve değişim katsayıları hesaplandı.

#### **3.7.1.5. Seçicilik**

Boş sıçan plazma örnekleri ile 3.7.1.3’de belirtildiği gibi çalışıldı ve talinololün pik alıkonma zamanında pik verip vermediği saptandı. Ayrıca, inhibitör ilaç simvastatinin anlatılan deneysel koşullarda talinololün teşhis ve tayinine olumsuz bir etkisinin olup olmadığı saptandı.

#### **3.7.1.6. Tayin sınırları**

Bir yöntemin teşhis sınırı (MDC, minimum detectable concentration) teşhis edebileceği en düşük, miktar tayini sınırı ise (MQC, minimum quantifiable concentration) doğru ve kesin olarak kantifiye edilebileceği en düşük konsantrasyondur. Teşhis sınırı, sinyal/gürültü oranı tayini ile gerçekleştirilir. Bunun için yapılan çalışmalarda konsantrasyonu bilinen örnek ve boş numune kullanılır. Sonuçlara dayanarak tesbit edilebilen minimum madde miktarı bulunur. Genel olarak kabul edilen sinyal/gürültü oranı 2:1 veya 3:1’dir. Teşhis sınırı tayini için boş sıçan plazmaları ekstre edildi ve background değeri tesbit edildi ve sonuç 3 ile çarpılarak teşhis sınırı tesbit edildi. Kantitatif sınır ise, doğrusallık tayini yapılan kalibrasyon eğrisine ait ölçülebilen en düşük konsantrasyon değerini ifade eder. Talinolol için kantifiye edilebilir minimum konsantrasyon ve teşhis edilebilir minimum konsantrasyon değerleri ayrı ayrı hesaplandı.

### 3.7.2. Sıçanlardan elde edilen plazma örneklerindeki talinolol konsantrasyonlarının tayini

Numune toplama saatlerinde sıçanlardan elde edilen plazmaların herbirinden 1 ml'lik örnekler ile 3.7.1.3.'de belirtildiği gibi çalışılarak talinolol plazmadan ekstre edildi. Boş örnek olarak aynı sıçandan 0. saatte alınan kan örneğinden elde edilen plazma kullanıldı. Her analiz günü için yeni bir standart eğri çizildi ve  $y=ax+b$  formülü kullanılarak, örneklerin pik alanından konsantrasyonları hesaplandı. Her zaman noktası için iki örnekle çalışıldı ve örneklere ait konsantrasyon değerlerinin ortalaması alındı.

### 3.8. Biyometrik hesaplamalar

#### 3.8.1. Farmakokinetik parametreler ile ilgili hesaplamalar

Farmakokinetik parametrelerin hesaplanmasında, farmakokinetik ve farmakodinamik verilerin hesaplanmasına olanak veren, **TopFit™** programı kullanıldı (Version 2.0; Heinzl G, Woloszczak R, Thomann P., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 1993). Verilerin analizi non-kompartmental farmakokinetik model baz alınarak gerçekleştirildi. TopFit™ programıyla, 0-8 saat için plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altında kalan alan ( $AUC_{0-8h}$ ), talinololün eliminasyon hız sabiti ( $k_{el}$ ) ve eliminasyon yarılanma ömrü ( $t_{1/2}$ ) plazma verilerinden hareketle hesaplandı.

#### 3.8.2. İstatistiksel analiz

Çalışmamızda talinolol ile farklı dozlarda uygulanan simvastatinin, 2. saatteki plazma talinolol düzeyleri ve plazma  $AUC_{0-8h}$  değerlerinde, kontrol grubundaki değerler ile kıyaslandığında, anlamlı bir değişiklik oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla parametrik bir test olan t-testi kullanıldı, anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

## **4. BULGULAR**

### **4.1. Talinololün sıçan plazmasından ters faz kromatografi ile tayininin validasyonuna ait bulgular**

#### **4.1.1. Doğrusallık (standart çözeltiler)**

3.7.1.1.'de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen talinolol kalibrasyon eğrisi Grafik 1'de gösterilmektedir. Bu eğrinin hazırlanmasında kullanılan ortalama pik alanları Tablo 1'de, değişim katsayısı değerleri (CV) Tablo 2'de verilmiştir.

#### **4.1.2. Doğruluk ve kesinlik (standart çözeltiler)**

##### **4.1.2.1. Gün içi tekrarlanabilirlik**

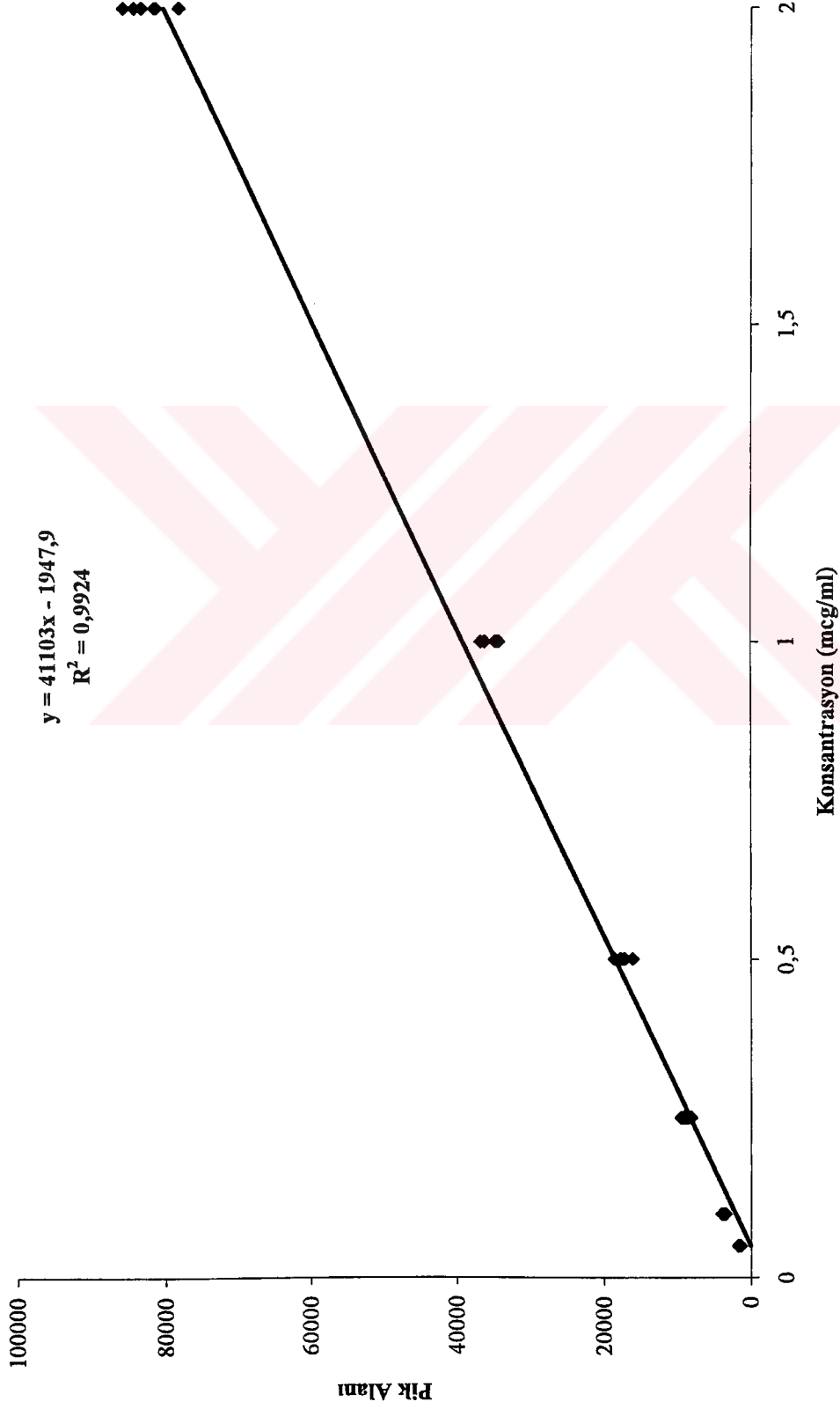
3.7.1.2.1'de açıklandığı gibi çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan standart çözeltilerden elde edilen pik alanları, standart sapma (SD) ve CV değerleri Tablo 3'de gösterilmektedir.

##### **4.1.2.2. Günler arası tekrarlanabilirlik**

3.7.1.2.2'de açıklandığı gibi çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan talinolol çözeltilerinden elde edilen pik alanları, SD ve CV değerleri Tablo 4'da gösterilmektedir.

**Tablo 1.** Talinolol konsantrasyonları ve elde edilen pik alanları (metanoldeki standart çözelti)

| Konsantrasyon ( $\mu\text{g/ml}$ ) | Pik Alanı |
|------------------------------------|-----------|
| 2                                  | 78185     |
| 2                                  | 81524     |
| 2                                  | 83250     |
| 2                                  | 81340     |
| 2                                  | 85717     |
| 2                                  | 84261     |
| 1                                  | 36710     |
| 1                                  | 34482     |
| 1                                  | 34301     |
| 1                                  | 34235     |
| 1                                  | 34652     |
| 1                                  | 36161     |
| 0.5                                | 17674     |
| 0.5                                | 17251     |
| 0.5                                | 17721     |
| 0.5                                | 18614     |
| 0.5                                | 17882     |
| 0.5                                | 16158     |
| 0.25                               | 9025      |
| 0.25                               | 9598      |
| 0.25                               | 8686      |
| 0.25                               | 8190      |
| 0.25                               | 9116      |
| 0.25                               | 9291      |
| 0.1                                | 3527      |
| 0.1                                | 3659      |
| 0.1                                | 3733      |
| 0.1                                | 3840      |
| 0.1                                | 3986      |
| 0.05                               | 1436      |
| 0.05                               | 1606      |
| 0.05                               | 1756      |
| 0.05                               | 1735      |



Grafik 1. Talinolol Kalibrasyon Eğrisi (Standart; metanoldeki çözelti)

**Tablo 2.** Talinolol kalibrasyon eğrisine ait ortalama pik alanı ve değişim katsayısı (CV) değerleri (n=4-6)

| Konsantrasyon (µg/ml) | Pik Alanı | CV (%) |
|-----------------------|-----------|--------|
| 2                     | 82379     | 3.20   |
| 1                     | 35090     | 3.03   |
| 0.5                   | 17750     | 4.58   |
| 0.25                  | 8984      | 5.40   |
| 0.1                   | 3749      | 4.64   |
| 0.05                  | 1633      | 9.00   |

**Tablo 3.** Gün içi tekrarlanabilirlik (Pik alanı olarak)

| Örnek No. | Talinolol konsantrasyonları |           |          |
|-----------|-----------------------------|-----------|----------|
|           | 1 µg/ml                     | 250 ng/ml | 50 ng/ml |
| 1         | 39364                       | 10096     | 1741     |
| 2         | 39583                       | 9720      | 1758     |
| 3         | 38101                       | 9231      | 1903     |
| 4         | 41445                       | 9219      | 1911     |
| 5         | 37805                       | 11003     | 1909     |
| 6         | 38167                       | 10619     | 1920     |
| x         | 39077                       | 9981      | 1857     |
| SD        | 1367                        | 731       | 83.6     |
| CV (%)    | 3.49                        | 7.32      | 4.5      |
| SEM       | 558                         | 298       | 34.1     |

**Tablo 4.** Günler arası tekrarlanabilirlik (Pik alanı olarak)

| Gün   | Talinolol konsantrasyonları |           |          |
|-------|-----------------------------|-----------|----------|
|       | 1 µg/ml                     | 250 ng/ml | 50 ng/ml |
| 1     | 37004                       | 8909      | 1973     |
| 2     | 43492                       | 8662      | 2191     |
| 3     | 38556                       | 8360      | 1654     |
| 4     | 38303                       | 8525      | 1918     |
| 5     | 40460                       | 8303      | 1915     |
| 6     | 41313                       | 8513      | 2096     |
| x     | 39584                       | 8545      | 1957     |
| SD    | 2364                        | 219       | 184      |
| CV(%) | 5.97                        | 2.56      | 9.4      |
| SEM   | 965                         | 89.4      | 75.1     |

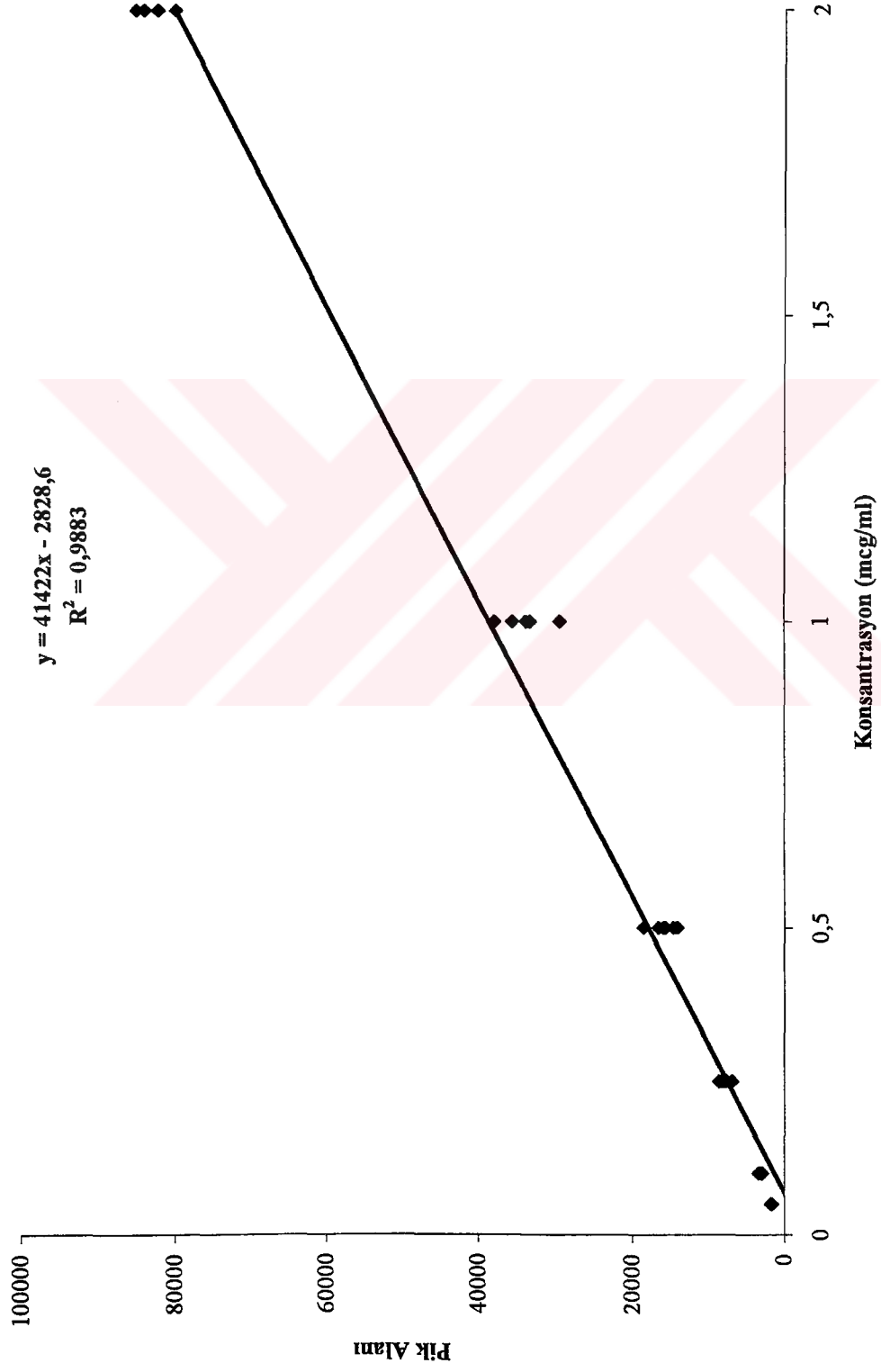
#### 4.1.3. Doğrusallık (plazmadan ekstraksiyon)

3.7.1.3’de anlatıldığı gibi çalışılarak talinololün plazma örneklerinden ekstraksiyonu sonucu elde edilen talinolol pik alanları ve geri kazanım değerleri Tablo 5’de, regresyon denklemi ve kalibrasyon eğrisi Grafik 2’de gösterilmiştir. Ayrıca her konsantrasyon için ortalama talinolol pik alanları ve geri kazanımlara ait SD ve CV değerleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Talinolol kalibrasyon eğrisine ait değerler ve geri kazanım oranları (Plazmadan ekstraksiyon)

| Kons. (µg/ml) | Pik Alanı | Geri kazanım (% olarak) |
|---------------|-----------|-------------------------|
| 2             | 79977     | 97.1                    |
| 2             | 82233     | 99.8                    |
| 2             | 84038     | 102.0                   |
| 2             | 85065     | 103.2                   |
| 2             | 82278     | 99.8                    |
| 1             | 33777     | 96.2                    |
| 1             | 37939     | 108.1                   |
| 1             | 29361     | 83.6                    |
| 1             | 33250     | 94.7                    |
| 1             | 35571     | 101.3                   |
| 0.5           | 15920     | 89.6                    |
| 0.5           | 14117     | 79.5                    |
| 0.5           | 14597     | 82.2                    |
| 0.5           | 18504     | 104.2                   |
| 0.5           | 16602     | 93.5                    |
| 0.5           | 15667     | 88.2                    |
| 0.25          | 8613      | 95.8                    |
| 0.25          | 8023      | 89.3                    |
| 0.25          | 7638      | 85.0                    |
| 0.25          | 8324      | 92.6                    |
| 0.25          | 7999      | 89.0                    |
| 0.25          | 6871      | 76.4                    |
| 0.1           | 3386      | 90.3                    |
| 0.1           | 3268      | 87.1                    |
| 0.1           | 3062      | 81.6                    |
| 0.1           | 3059      | 81.5                    |
| 0.1           | 2963      | 79.0                    |
| 0.05          | 1831      | 110.1                   |
| 0.05          | 1810      | 110.8                   |
| 0.05          | 1666      | 102.0                   |
| 0.05          | 1634      | 99.8                    |





Grafik 2. Talinolol Kalibrasyon Eğrisi (Plazmadan ekstraksiyon)

**Tablo 6. Talinololün kalibrasyon eğrisine ait ortalama pik alanı, gerikazanım, standart sapma ve değişim katsayısı değerleri (n=4-6)**

| Kons. (µg/ml) | Geri kazanım (%) | SD   | CV (%) |
|---------------|------------------|------|--------|
| 2             | 100.4            | 2.35 | 2.34   |
| 1             | 96.7             | 9.04 | 9.34   |
| 0.5           | 89.6             | 6.47 | 7.50   |
| 0.25          | 88.0             | 6.75 | 7.67   |
| 0.1           | 83.9             | 4.64 | 5.53   |
| 0.05          | 105.6            | 5.59 | 5.29   |

#### 4.1.4 Doğruluk ve kesinlik (plazmadan ekstraksiyon)

##### 4.1.4.1. Gün içi tekrarlanabilirlik

Yöntem 3.7.1.4.1’de açıklandığı gibi çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan plazma örneklerinden talinolol geri kazanım oranları Tablo 7’de görülmektedir.

**Tablo 7. Gün içi tekrarlanabilirlik (% Geri kazanım)**

| Örnek No. | Talinolol konsantrasyonları |           |          |
|-----------|-----------------------------|-----------|----------|
|           | 1 µg/ml                     | 250 ng/ml | 50 ng/ml |
| 1         | 95.2                        | 88.7      | 91.6     |
| 2         | 86.2                        | 96.4      | 96.0     |
| 3         | 80.8                        | 89.4      | 90.6     |
| 4         | 91.1                        | 85.2      | 90.2     |
| 5         | 92.9                        | 85.8      | 101.8    |
| 6         | 93.6                        | 90.9      | 90.4     |
| x         | 90.0                        | 89.4      | 93.4     |
| SD        | 5.5                         | 4.1       | 4.6      |
| CV (%)    | 6.1                         | 4.5       | 4.9      |
| SEM       | 2.2                         | 1.7       | 1.9      |

#### 4.1.4.2. Günler arası tekrarlanabilirlik

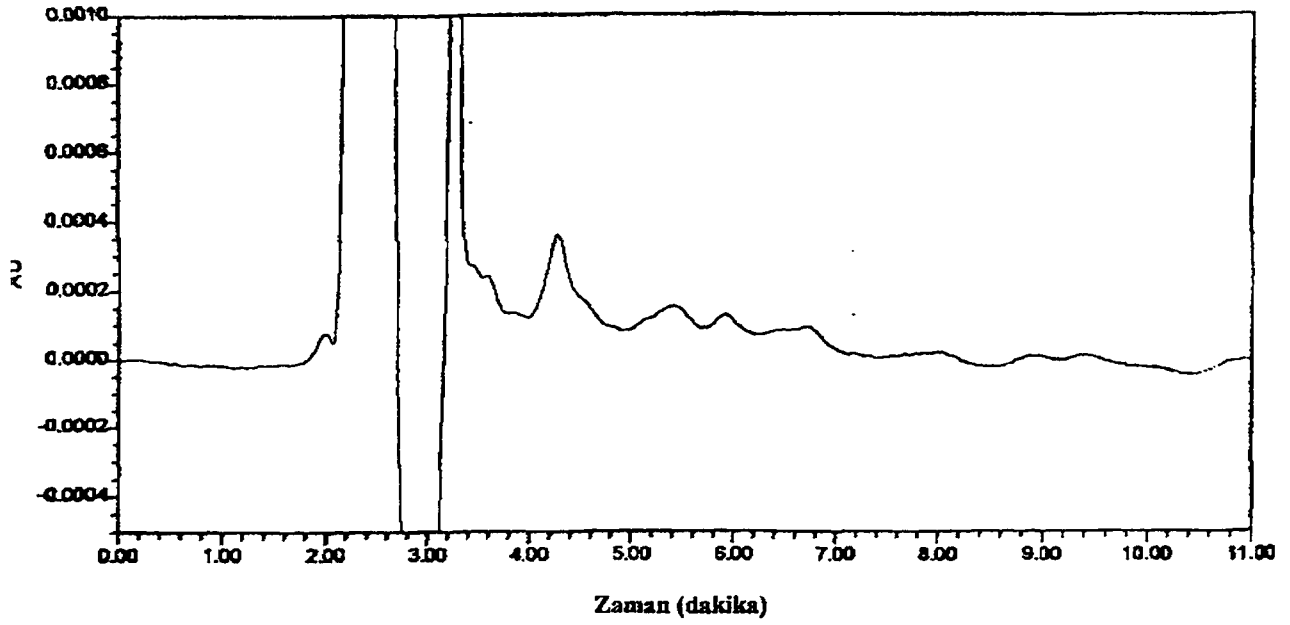
3.7.1.4.2’de belirtildiği gibi çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan plazma örneklerinden talinolol geri kazanım oranları Tablo 8’de görülmektedir.

**Tablo 8.** Günler arası tekrarlanabilirlik (% Geri kazanım)

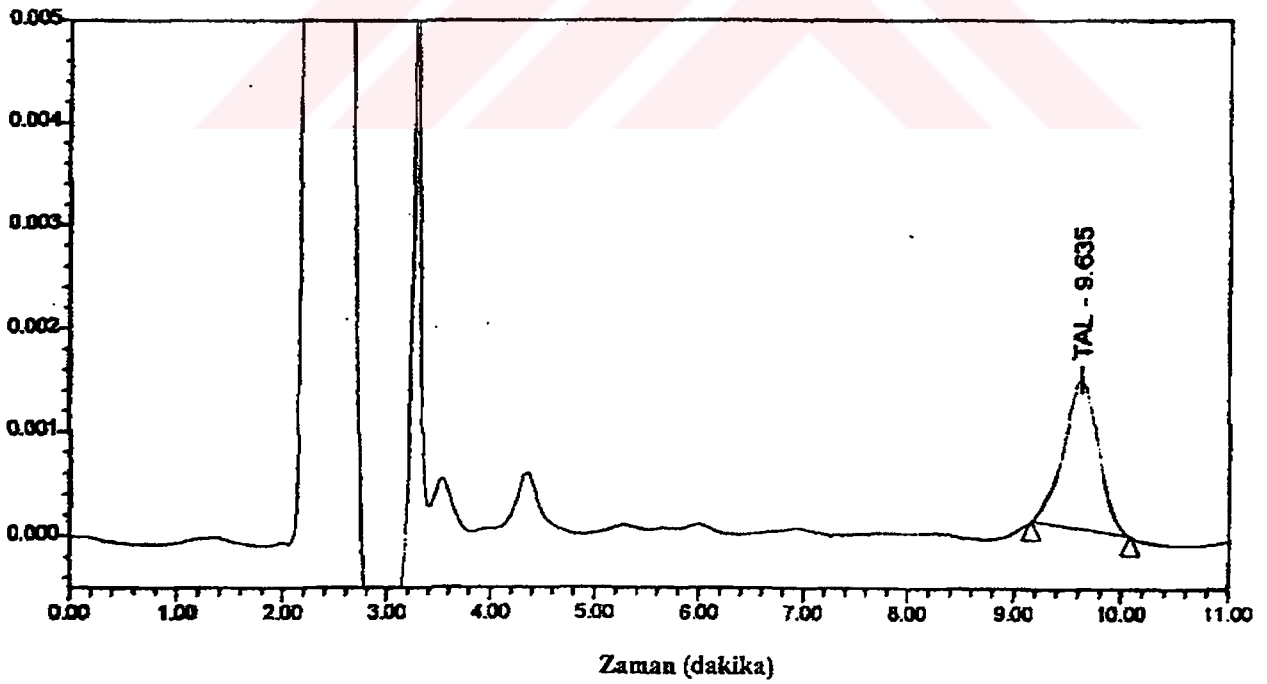
| Gün   | Talinolol konsantrasyonları |           |          |
|-------|-----------------------------|-----------|----------|
|       | 1 µg/ml                     | 250 ng/ml | 50 ng/ml |
| 1     | 86.4                        | 86.4      | 88.7     |
| 2     | 90.3                        | 87.2      | 87.9     |
| 3     | 87.0                        | 86.9      | 95.8     |
| 4     | 96.5                        | 82.5      | 110.7    |
| 5     | 92.5                        | 86.4      | 106.5    |
| 6     | 102.1                       | 81.6      | 98.5     |
| x     | 92.5                        | 85.2      | 98.0     |
| SD    | 6.0                         | 2.5       | 9.2      |
| CV(%) | 6.5                         | 2.9       | 9.4      |
| SEM   | 2.4                         | 1.0       | 3.8      |

#### 4.1.5. Seçicilik

3.7.1.5’de belirtildiği gibi yapılan çalışmalar ile boş plazma örneklerinde talinololün pik alıkonma zamanında başka bir pik oluşmadığı ve bu deneysel koşullarda simvastatinin talinololün teşhis ve tayinine olumsuz bir etkisi olmadığı saptandı. Belirtilen koşullarda talinolol piki 9.4 dakikada gözlendi. Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogramlar Şekil 1 ve 2’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (boş numune)



Şekil 2. Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (1 µg/ml)

#### 4.1.7. Tayin sınırları

Kantifiye edilebilir minimum talinolol konsantrasyonu 50 ng/ml, teşhis edilebilir minimum talinolol konsantrasyonu 25 ng/ml olarak belirlendi.

#### 4.2. Talinolol ile simvastatin arasındaki in vivo etkileşme çalışması bulguları

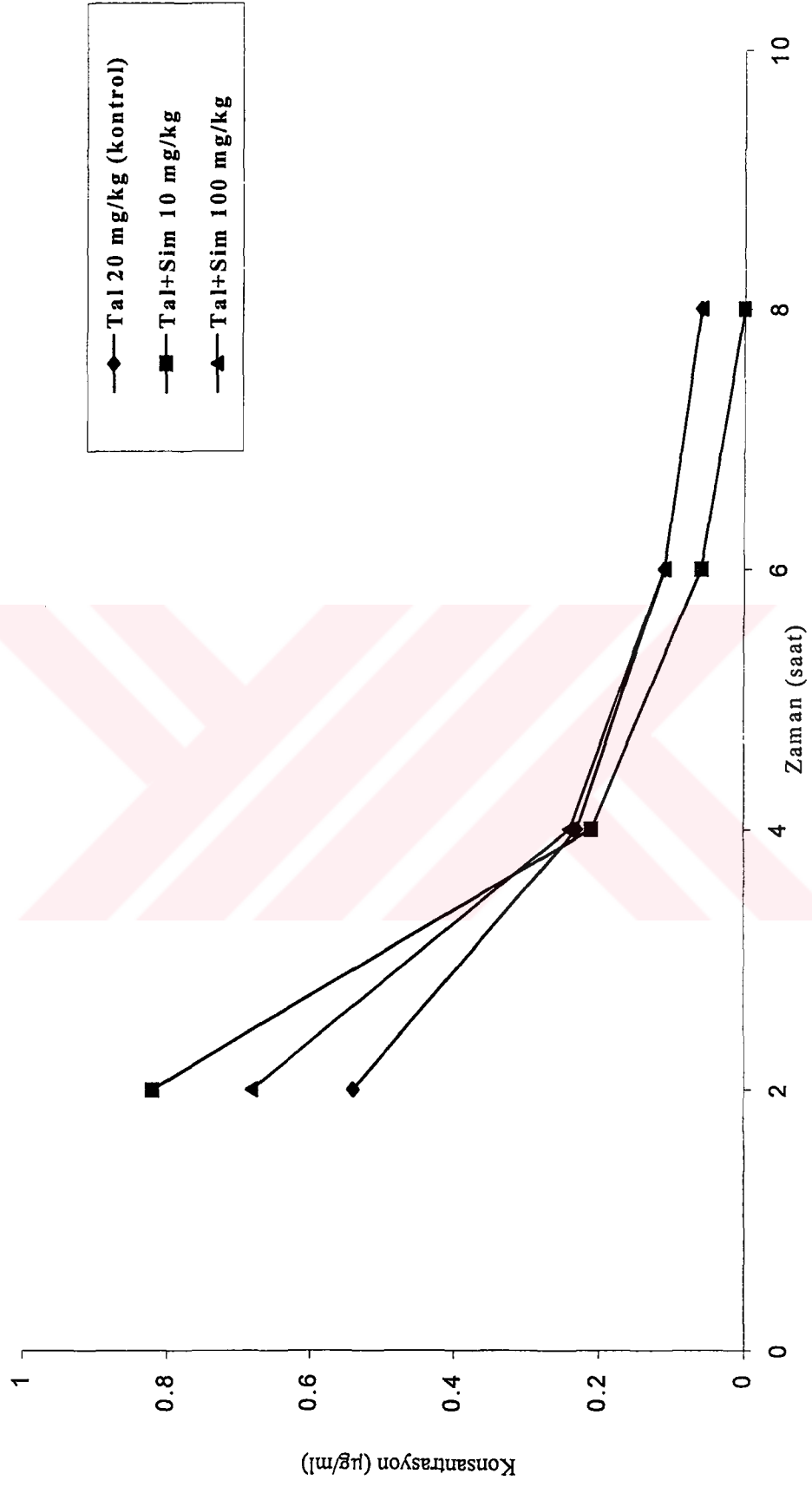
20 mg/kg dozda oral yoldan uygulanan talinolol (kontrol grubu) ve 20 mg/kg dozda oral yoldan uygulanan talinololün, 10 mg/kg (düşük) ve 100 mg/kg (yüksek) dozda oral yoldan simvastatin ile birlikte verilmesini takiben saptanan plazma talinolol düzeyleri Tablo 9 ve Grafik 3’de gösterilmiştir.

20 mg/kg dozda oral yoldan kontrol grubuna uygulanan talinololün plazma konsantrasyonu 2. saatin sonunda  $0.54 \pm 0.30$  µg/ml’ye ulaşmış, daha sonra giderek azalarak 8. saatte  $0.06 \pm 0.02$  µg/ml’ye düşmüştür. Talinololün oral yoldan düşük ve yüksek doz simvastatinle beraber uygulanmasından sonra saptanan plazmadaki talinolol düzeyleri de aynı şekilde 2. saatte en yüksek seviyeye ulaşmış ve 8. saatte en düşük seviyeye inmiştir.

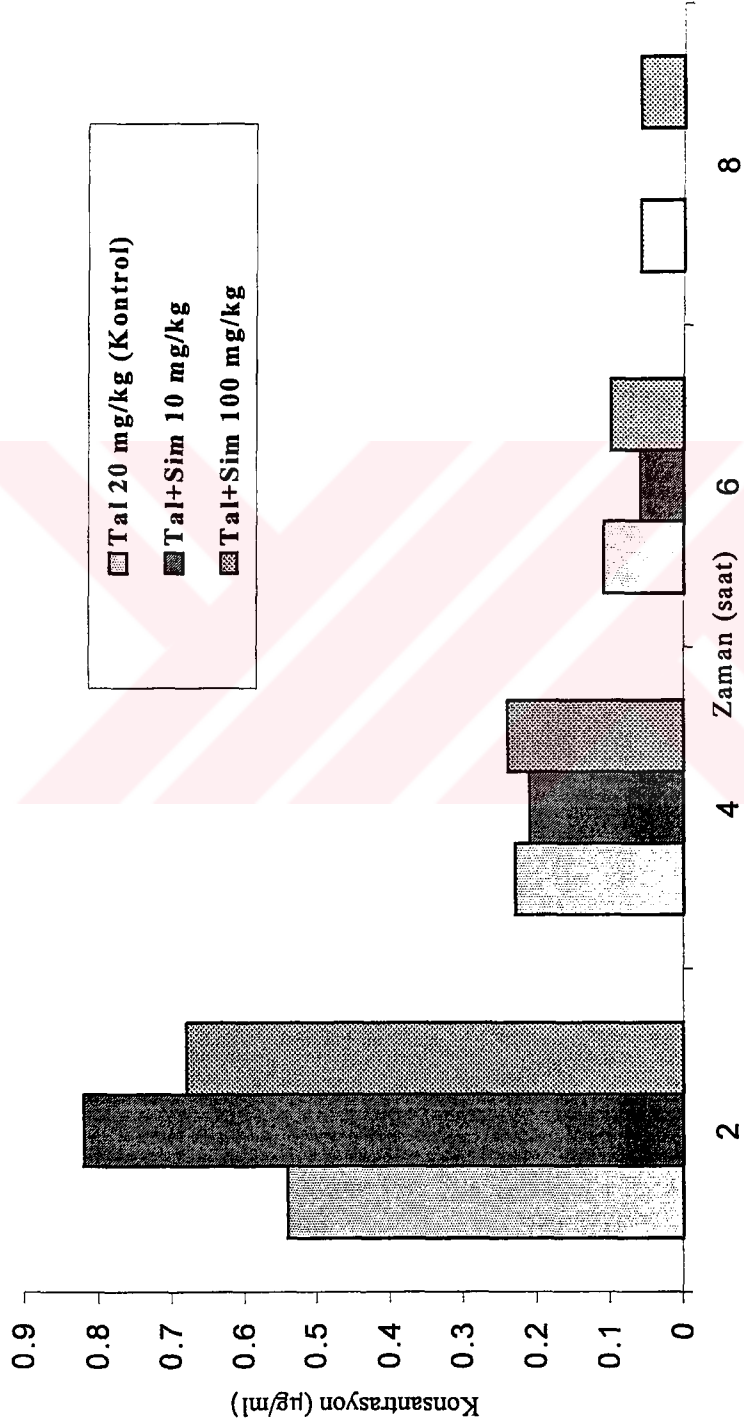
**Tablo 9.** Talinololün tek başına ve simvastatin ile birlikte uygulanması sonucu elde edilen plazma düzeyleri (µg/ml)

|                                                 | Sıçan | 0. saat | 2. saat | 4. saat | 6. saat | 8. saat |
|-------------------------------------------------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Talinolol<br>(20 mg/kg)                         | 1     | -       | 0.83    | 0.14    | -       | 0.08    |
|                                                 | 2     | -       | 0.74    | 0.05    | -       | 0.05    |
|                                                 | 3     | -       | 0.42    | 0.62    | 0.11    | 0.04    |
|                                                 | 4     | -       | 0.18    | 0.10    | -       | -       |
| Ortalama (X)                                    |       | -       | 0.54    | 0.23    | 0.11    | 0.06    |
| Standart Sapma (SD)                             |       | -       | 0.30    | 0.26    | -       | 0.02    |
| Talinolol (20 mg/kg)<br>Simvastatin (10 mg/kg)  | 1     | -       | 0.35    | 0.19    | 0.07    | -       |
|                                                 | 2     | -       | 0.14    | 0.25    | 0.06    | -       |
|                                                 | 3     | -       | 2.42    | 0.33    | 0.04    | -       |
|                                                 | 4     | -       | 0.35    | 0.07    | 0.05    | -       |
| Ortalama (X)                                    |       | -       | 0.82    | 0.21    | 0.06    | -       |
| Standart Sapma (SD)                             |       | -       | 1.07    | 0.11    | 0.01    | -       |
| Talinolol (20 mg/kg)<br>Simvastatin (100 mg/kg) | 1     | -       | 0.43    | 0.18    | -       | -       |
|                                                 | 2     | -       | 0.80    | 0.08    | 0.07    | -       |
|                                                 | 3     | -       | 1.05    | 0.18    | 0.03    | -       |
|                                                 | 4     | -       | 0.45    | 0.50    | 0.20    | 0.06    |
| Ortalama (X)                                    |       | -       | 0.68    | 0.24    | 0.10    | 0.06    |
| Standart Sapma (SD)                             |       | -       | 0.30    | 0.18    | 0.09    | -       |

20 mg/kg talinololün oral uygulanmasını takiben kontrol grubunda, 2. saatte ölçülen plazma talinolol düzeyleri  $0.54 \pm 0.30$  µg/ml iken, düşük ve yüksek doz simvastatin ile beraber uygulanması sonucu 2. saatte ölçülen talinolol konsantrasyonları, sırasıyla,  $0.82 \pm 1.07$  µg/ml ve  $0.68 \pm 0.30$  µg/ml olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 2. saat talinolol değerlerinde, düşük ve yüksek doz simvastatin ile beraber uygulama, sırasıyla, %52 ve %26'lık bir artışa neden olmuştur. 2. saatte ölçülen talinolol düzeylerindeki bu artış, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı değildir. Talinolol plazma düzeylerinin düşük ve yüksek doz simvastatin uygulaması sonucunda değişimi Grafik 4' te gösterilmiştir.



Grafik 3. Talinolol Plazma Düzeyleri



Grafik 4. Talinolol Plazma Düzeylerinin Değişimi



Plazma düzeylerinin aritmetik ortalamasından hareketle, talinolol için  $k_{el}$  ve  $t_{1/2}$  değerleri hesaplanmıştır. Kontrol grubu için  $k_{el}$  değeri 0.336 saat<sup>-1</sup>,  $t_{1/2}$  değeri ise 2.06 saat olarak bulunurken, oral yoldan düşük ve yüksek doz simvastatin ile kombine uygulamada bu değerler sırasıyla 0.626 saat<sup>-1</sup> ve 1.11 saat; 0.621 saat<sup>-1</sup> ve 1.12 saat olarak tesbit edilmiştir.

Kontrol grubunda, talinolol için 0-8. saatler arası hesaplanan plazma eğri altı alan ( $AUC_{0-8h}$ ) değeri  $1.62 \pm 0.82$  µg.h/ml olarak bulunmuştur. Düşük ve yüksek doz simvastatinle kombine uygulamadaki  $AUC_{0-8h}$  değerleri ise sırasıyla  $2.11 \pm 2.3$  µg.h/ml ve  $1.94 \pm 0.66$  µg.h/ml'dir. Düşük ve yüksek doz simvastatin ile birlikte uygulanan talinololün plazma  $AUC_{0-8h}$  değerlerinde sırasıyla %30 ve %20'lik bir artış olmuştur fakat bu artış istatistiki olarak anlamlı değildir. Talinolol simvastatin çalışmasına ait plazma  $AUC_{0-8h}$  değerleri Tablo 10'da gösterilmektedir.

**Tablo 10.** Talinolol simvastatin çalışmasına ait plazma AUC değerleri.

| Talinolol plazma AUC değerleri (µg.h/ml) |                    |                                            |                                             |
|------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                          | Talinolol 20 mg/kg | Talinolol 20 mg/kg<br>Simvastatin 10 mg/kg | Talinolol 20 mg/kg<br>Simvastatin 100 mg/kg |
| 1. sıçan                                 | 2.02               | 1.15                                       | 1.04                                        |
| 2. sıçan                                 | 1.63               | 0.84                                       | 1.83                                        |
| 3. sıçan                                 | 2.35               | 5.55                                       | 2.51                                        |
| 4. sıçan                                 | 0.46               | 0.89                                       | 2.36                                        |
| Ortalama                                 | 1.62               | 2.11                                       | 1.94                                        |
| SD                                       | 0.82               | 2.30                                       | 0.66                                        |

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, P-gp inhibitörü olduğu kanıtlanmış bir ilaç olan simvastatinin bir P-gp substratı olan talinololün farmakokinetiğine etkisi incelenmiştir. Talinolol 20 mg/kg dozda (kontrol grubu), simvastatin ise 10mg/kg ve 100 mg/kg dozlarda 20 mg/kg talinolol ile birlikte sıçanlara oral yoldan uygulanmış ve plazmadaki talinolol düzeyleri valide edilmiş HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir.

Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda, talinololün farmakokinetiği sıçanlarda kapsamlı olarak incelendiğinden, bu çalışmalar dikkate alınarak, sıçanlara oral yoldan uygulanan talinolol dozu 20 mg/kg, kan örneği toplama zamanları ise 0., 2., 4., 6. ve 8. saat olarak belirlenmiş ve her zaman noktası için 4 sıçan feda edilmiştir (26, 79). Yine daha önce yapılan P-gp'ye bağımlı ilaç / besin etkileşme çalışmalarında, P-gp inhibitörü ilaçların substrat ilaçla birlikte farklı doz düzeylerinde uygulanmasının gerekliliği vurgulanmış olduğundan simvastatin 10 mg/kg (düşük doz) ve 100 mg/kg (yüksek doz) olarak iki farklı dozda talinolol ile birlikte uygulanmıştır (78, 79, 94).

Çalışmamızda, düşük ve yüksek doz simvastatinin talinolol ile birlikte uygulanması, kontrol grubuna kıyasla 2. saatte plazmada ölçülen maksimum talinolol konsantrasyonlarında sırasıyla, %52 ve %26'lık bir artış saptanmıştır. 2. saatte ölçülen talinolol düzeylerindeki bu artış, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı değildir. Düşük ve yüksek doz simvastatin ile birlikte uygulanan talinololün plazma  $AUC_{0-8h}$  değerlerinde de kontrol grubuna göre sırasıyla %30 ve %20'lik bir artış olmuş, fakat bu artış da istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda dikkat çeken bir nokta, talinololün biyoyararlanımındaki artışın düşük doz simvastatin uygulaması sonucu %30 iken, yüksek doz simvastatin uygulaması ile %20 oranında olmasıdır. Benzer sonuçlar, talinololün atorvastatin (57) ve verapamil (79) ile birlikte sıçanlara oral olarak uygulandığı çalışmalarda da gözlenmiştir.

Elde ettiğimiz bu bulgular metabolizma sürecine mi, taşıyıcı protein olan P-gp' mi bağlı olduğu yoksa her iki sürecinde etkisinin olduğu konusunda çeşitli hipotezler ileri sürülebilir.

İlaçların oral biyoyararlanımlarını sınırlandıran en önemli nedenlerden biri, presistemik eliminasyondur. Karaciğerde hepatositlerin yanısıra ince barsak duvarında enterositler de ilaçların biyotransformasyonlarında önemli rol oynayan mikrozomal enzimleri (özellikle CYP3A4 enzimini) yoğun şekilde içerir. Oral yoldan uygulanan bazı ilaçlar, sistemik dolaşıma girmeden önce barsak duvarı ve/veya karaciğerde bulunan bu enzimler aracılığıyla metabolize edilerek sistemik dolaşıma geçen miktarları azalır ve biyoyararlanımları düşer. (5, 37, 96).

Diğer taraftan ilaçların enterositlerde bulunan taşıyıcı proteinlerle barsak lümenine sekresyonları da oral biyoyararlanımlarını kısıtlayan bir prosestir. Bu taşıyıcı proteinler arasında ilaçların biyoyararlanımlarının azalmasına neden olan en önemli protein P-glikoproteindir (5, 96, 98). Dikkat çeken bir olgu da P-gp ve CYP3A4 enziminin substrat spesifitesinin aynı olmasıdır. Bir P-gp substratının aynı zamanda CYP3A4 enzimi ile metabolize olması veya CYP3A4 enzimini inhibe etmesi ise, P-gp'ye bağımlı ilaç-ilaç ve besin-ilaç olan etkileşme çalışmalarında büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır çünkü substrat-inhibitör etkileşmesi sonucunda substratın plazma konsantrasyonundaki değişimin CYP3A4 enziminin inhibisyonuna mı yoksa P-gp inhibisyonuna mı bağlı olduğu kesin bir şekilde değerlendirilememektedir (25, 79, 73, 98).

Oral yoldan, lakton şeklinde uygulanan simvastatin, ince barsaklardan yaklaşık olarak %60-80 oranında absorbe edilmesine karşın aktif metaboliti olan  $\beta$ -hidroksi asid formunun absölü biyoyararlanımı %5'dir (61). Biyoyararlanımının düşük olmasının nedeni muhtemelen bağırsak duvarı ve karaciğerde CYP3A4 enzimleri aracılığıyla ilk-geçiş etkisine uğramasıdır. Yapılan çalışmalar simvastatinin CYP3A4 enzimi için substrat olduğunu göstermektedir (44, 52). Talinololün insandaki oral biyoyararlanımı ise yaklaşık olarak %55'dir. Fakat talinonol biyoyararlanımının tam olmamasının nedeni enzimlerle biyotransformasyona bağlı ilk geçiş etkisi değil, P-gp tarafından barsak lümenine sekresyonudur. Çünkü yapılan çalışmalar

talinololün çok düşük oranda metabolize edildiğini (uygulanan dozun %1) göstermektedir (23, 55, 79, 85, 105). Talinolol ve simvastatin ile ilgili bu veriler çerçevesinde talinololün CYP3A4 substratı simvastatin ile metabolik düzeyde bir etkileşime girmesi olası görülmemektedir.

P-gp ve CYP3A4 substratı olan simvastatinin, güçlü bir P-gp ve CYP3A4 inhibitörü olan siklosporin ile birlikte uygulanması, simvastatin ve metabolitlerinin ortalama AUC değerlerini kontrol grubuna kıyasla 3 kat, simvastatinin  $C_{max}$  değerlerini ise 2 kat artırmıştır. Bu artışın nedeni simvastatinin CYP3A4 metabolizmasının inhibisyonuna ve/veya P-gp'nin inhibisyonuna mı bağlı olduğu net olarak değerlendirilememiştir (100). Diğer taraftan sadece P-gp substratı olan digoksinin simvastatin ile birlikte uygulanması sonucu ise digoksinin biyoyararlanımını %20 oranında artırmıştır. Digoksinin CYP3A4 enzimi ile metabolize olmamasından dolayı bu artışın P-gp'nin simvastatin tarafından inhibe edilmesine bağlı olduğu söylenebilir (100). Bu veriler çerçevesinde simvastatin ile birlikte uygulanan talinololün plazma düzeylerindeki bu artışın başlıca nedeninin P-gp inhibisyonuna bağlı olması, metabolik süreçlerin etkileşimde rolü olmadığı güçlü bir olasılıktır.

Düşük doz simvastatin uygulaması sonucu talinololün biyoyararlanımının yüksek doz simvastatinle uygulamaya göre daha az artması barsakta absorpsiyondan sorumlu diğer taşıyıcılar tarafından talinololün absorpsiyonunu azaltılmasının bir sonucu olabilir. Barsakta P-gp'nin yanı sıra, absorpsiyondan sorumlu bir çok taşıyıcı vardır ve bunların da çok sayıda izoformu mevcuttur (68, 8). Çok sayıda taşıyıcının bir arada ve barsakta bulunması ilaçların birbiriyle etkileşme mekanizmalarını karmaşık hale getirmektedir. Talinolol ve simvastatinin diğer taşıyıcılar için substrat olup olmadığı tam olarak ortaya konmamıştır.

Dikkat çeken bir diğer bulgu da talinolole ait farmakokinetik parametrelerin bireyler arası farklılık göstermesi olmuştur. İshigami ve ark. sıçan karaciğer mikrozomlarını kullanarak yaptıkları in vitro çalışmada, simvastatinin CYP3A enzimi ile metabolizmasında cinsiyetten kaynaklanan farklılıklar saptamışlardır. Oluşan bu metabolitleri insan karaciğer mikrozomlarının oluşturduğu metabolitlerle karşılaştırdıklarında, dişi sıçanlar da oluşan metabolitler ile aynı olduğu, fakat erkek sıçan karaciğer mikrozomal enzimleri ile oluşan

metabolitlerin her ikisinden de farklı olduğunu gözlemişlerdir. Sıçanlar da CYP3A enzim inhibitörü olan itrakonazol ile simvastatini birlikte uyguladıkları in vivo bir çalışmada da dişi ve erkek sıçanlardaki simvastatin metabolizması arasında farklılık olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda da dişi ve erkek sıçanların birlikte kullanıldığı göz önünde bulundurulursa talinolol farmakokinetiğinde gözlemlenen bireyler arası farklılığın bir nedeninin de cinsiyete bağlı olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak simvastatin uygulamasının talinololün biyoyararlanımını arttırdığı ve bu etkileşim mekanizmasının bağırsaklarda bulunan P-gp'nin inhibisyonuna bağlı olduğu muhtemel gözükmemektedir. Simvastatininde dahil olduğu HMG-KoA redüktaz inhibitörleri kolesterol düşürmek amacıyla uygulanan tedavide tercih edilen önemli bir ilaç grubudur. Hiperkolesterolemi genellikle hayat boyu tedavi gerektiren kronik bir durumdur. Bu etdavi sırasında hastanın başka hastalıklar nedeniyle diğer ilaçları kullanması, bu ilaç grubu ile ciddi etkileşmelerin görülme potansiyelini arttırmaktadır (100). Çalışmamızın da, simvastatin ile diğer ilaçlar (muhtemelen P-gp substratları) arasında meydana gelebilecek ilaç-ilaç ve ilaç-besin etki,leşmelerinin aydınlatılması amacıyla yapılması muhtemel klinik çalışmalar için temel teşkil etmesini, P-gp inhibitörü ve P-gp substratı ilaçlar arasındaki diğer etkileşme çalışmalarına da katkıda bulunmasını umut etmekteyiz.

## 6. ÖZET

İlaç etkileşim mekanizmalarının aydınlatılması amacıyla son yıllarda üzerinde çalışılan bir konu P-glikoproteine (P-gp) bağlı ilaç etkileşimleridir. P-gp vücutta ilaç absorpsiyonu (barsak), dağılımı (santral sinir sistemi ve plasenta) ve eliminasyonunda (karaciğer ve böbrekler) rol oynayan organların hücre membranlarında bulunan taşıyıcı bir proteindir. Antihiperlipidemik bir ajan olan simvastatin organizmada aktif metaboliti olan simvastatin aside dönüşerek etki gösterirken aynı zamanda da CYP3A4 enzimi ile metabolize olmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalarda P-gp inhibitörü olduğu kanıtlanmıştır. Beta reseptör blokeri bir ajan olan talinolol de P-gp için substrattır ve CYP3A4 enzimi ile metabolize olmamaktadır. Bu özelliğinden dolayı ilaç-ilaç ve ilaç-besin etkileşme çalışmalarında, etkileşme kalıbını tam olarak ortaya koymak amacıyla tercih edilen model bir bileşiktir. Çalışmamızda amacımız, simvastatinin talinololün farmakokinetiği üzerine olan etkisini in vivo olarak incelemektir. Çalışmamızda ağırlıkları 180-230 g arasında değişen dişi ve erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Talinolol 20 mg/kg dozda tek başına ve 10 mg/kg (düşük), 100 mg/kg (yüksek) dozlarda simvastatin ile birlikte gavaj yardımıyla oral yoldan uygulandı. Talinolol uygulamasını takiben 0., 2., 4., 6. ve 8. saatlerde sıçanlardan kan alınarak plazma elde edildi ve tayin edilinceye kadar -25 C'de saklandı. Plazmadaki talinolol konsantrasyonları valide edilmiş bir HPLC metodu ile tayin edildi. Düşük ve yüksek doz simvastatin ile beraber uygulama plazmada 2. saatte ölçülen talinolol konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre sırasıyla, %52 ve %26'lık bir yükselmeye, talinolole ait plazma AUC<sub>0-8h</sub> değerlerinde de kontrol grubuna kıyasla %30 ve %20'lik bir artışa sebep olmuştur. Fakat bu artışlar istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Simvastatinin talinololün biyoyararlanımını artırmasının başlıca nedeninin P-gp'nin inhibisyonuna bağlı olması, metabolik süreçlerin bu etkileşimde rolü olmadığı güçlü bir olasılıktır. Talinololün biyoyararlanımındaki artışın yüksek doz simvastatine göre düşük doz simvastatin uygulaması ile daha fazla olması barsakta P-gp'nin yanı sıra absorpsiyondan sorumlu diğer taşıyıcılarında bulunmasının bir sonucu olabilir. Çok sayıda taşıyıcının bir arada bulunması ilaçların birbirleri ile etkileşme mekanizmalarını karmaşık hale getirmektedir.

## 7. SUMMARY

### **The investigation of P-glycoprotein-mediated pharmacokinetic interaction between simvastatin and talinolol**

For the purpose of explaining mechanism of drug interactions, one subject studied is drug interactions dependent on P-glycoprotein (P-gp). P-gp is a cell membrane-associated protein which transports a variety of drug substrates and influences drug absorption (intestine), distribution (central nervous system and placenta), and elimination (liver and kidney). It has been demonstrated that simvastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor, is a P-gp inhibitor in vitro and is metabolised via CYP3A4. Talinolol, a beta-1 receptor antagonist, is a P-gp substrate and does not undergo metabolism via CYP3A4 system. The present in vivo study was designed to investigate the influence of the P-gp inhibitor simvastatin on the pharmacokinetics of talinolol in rats. Talinolol (20 mg/kg) and talinolol with simvastatin at two different doses (low dose: 10 mg/kg ; high dose: 100 mg/kg) were administered to Wistar albino rats weighing 180-230 g (n=4, each time point) orally via gavage. Blood samples were taken by cardiac puncture before and 2, 4, 6 and 8 h after administration of the drugs. Blood samples were centrifuged and plasma was stored at -25 °C. Talinolol plasma concentrations were determined by a validated HPLC method.  $C_{max}$  values of talinolol were elevated by 52 and 26% and AUC values were increased by 30 and 20% following simvastatin co-administration at low and high doses, respectively, when compared to control. Nevertheless, these findings are not statistically significant versus control group.

Our results reveal that the increase of talinolol bioavailability may be related to P-gp inhibition. It is determined that this increase is not mediated by metabolic processes. Although talinolol bioavailability was increased upon co-administration of both low and high doses simvastatin, it was observed higher increase by low dose simvastatin coadministration. The higher increase by talinolol bioavailability by low dose simvastatin co-administration could be by reason of other transporter proteins besides P-gp.

Consequently, transporter mediated drug-drug interactions become more complex because interaction mechanism could not be explained clearly.



## 8- KAYNAKLAR

1. Arimori K, Nakano M. Drug absorption from blood into the gastrointestinal tract. *Pharm Res* 1998; 15: 371-376.
2. Ayrton A, Morgan P. Role of transport proteins in drug absorption, distribution and excretion. *Xenobiotica* 2001; 31 (8/9): 469-497.
3. Backman J.T, Kyrklund C, Kivisto K.T, Wang J.S, Neuvonen P.J. Plasma concentrations of active simvastatin acid are increased by gemfibrozil. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 122-9
4. Baktır G, Baktır E. İlaç Rehberi 2004; Rehber Tıbbi Yayınlar, İstanbul-2004.
5. Benet L.Z, Cummins C.L. The drug efflux-metabolism alliance: biochemical aspects. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 50: S3-S11.
6. Boesch D, Gaveriaux C, Jachez B, Pourtier-Manzanedo A, Bollinger P, Loo F. In vivo circumvention of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance tumor cells with SDZ PSC 833. *Cancer Res* 1991; 51: 4226-4233.
7. Bogman K, Peyer A.K, Török M, Küsters E, Drewe J. HMG-CoA reductase inhibitors and P-glycoprotein modulation. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 1183-1192.
8. Chan L.M.S, Lowes S, Hirst B.H. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *Eur J Pharm Sci* 2004; 21: 25-51.
9. Chaudhury P.M, Roninson I.B. Induction of multidrug resistance in human cells by transient exposure to different chemotherapeutic drugs. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 632-639.
10. Chen C, Chin J, Ueda K, Clark D, Pastan I, Gottesman M, Roninson I. Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* 1986; 47: 381-389.
11. Cvetkovic M, Leake B, Fromm M.F, Wilkinson G.R, Kim R.B. OATP and P-glycoprotein transporters mediate the cellular uptake and excretion of fexofenadine. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 866-892.
12. Dale I, Callaghan R, Holmes J.A, Martin K, Luscombe M, Mistry P, Ryder H, Steward A.J, Charlton P, Twentyman P.R, Bevan P. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by XR9051, a novel diketopiperazine derivative. *Br J Cancer* 1998; 78 (7): 885-892.



13. Dantzig A, Shepard R.L, Cao J, Law K.L, Ehlhardt W.J, Baughman T.M, Bumol T.F, Sratling J.J. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by a potent cyclopropyldibenzosuberane modulator, LY 335979. *Cancer Res* 1996; 56: 4171-4179.
14. Demeule M, Regina A, Jodoin J, Laplante A, Dagenais C, Berthelet F, Moghrabi A, Beliveau R. Drug transport to the brain: Key roles for the efflux pump P-glycoprotein in the blood-brain barrier. *Vasc Pharmacol* 2002; 38: 339-348.
15. de Mey C, Schroeter V, Butzer R, Jahn P, Weisser K, Wetterich U, Terhaag B, Mutschler E, Spahn-Langguth H, Palm D, Belz G.G. Dose-effect and kinetic-dynamic relationships of the  $\beta$ -adrenoceptor blocking properties of various doses of talinolol in healthy humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26: 879-888.
16. Dürr D, Steiger B, Kullak-Ublick G.A, Rentsch K.M, Steinert H.C, Meier P.J, Fattinger K. St John's wort induces intestinal P-glycoprotein/MDR1 and intestinal and hepatic CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 598-604.
17. Fontana R.J, Lown K.S, Paine M.F, Fortlage L, Santella R.M, Felton J.S, Knize M.G, Greenberg A, Watkins P.B. Effects of a chargrilled meat diet on expression of CYP3A, CYP1A, and P-glycoprotein levels in healthy volunteers. *Gastroenterology* 1999; 117: 89-98.
18. Ford J.M, Hait W.N. Pharmacology of drugs that alter multidrug resistance in cancer. *Pharmacol Rev* 1990; 43 (3): 155-199.
19. Fromm M.F, Kim R.B, Stein C.M, Wilkinson G.R, Roden D.M. Inhibition of P-glycoprotein-mediated drug transport: a unifying mechanism to explain the interaction between digoxin and quinidine. *Circulation* 1999; 99: 552-557.
20. Garcia M.J, Reinoso R.F, Navarro S, Prous J.R. Clinical pharmacokinetics of statins. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2003; 25(6): 457-481.
21. Gatmaitan Z.C, Arias I.M. Structure and function of P-glycoprotein in normal liver and small intestine. *Adv Pharmacol* 1993; 24: 77-96.
22. Germershausen J.I, Hunt V.M, Bostedor R.G, Bailey P.J, Karkas J.D, Alberts A.W. Tissue selectivity of the cholesterol-lowering agents lovastatin, simvastatin and pravastatin in rats in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 158(3): 667-75.
23. Gramattè T, Oertel R, Terhaag B, Kirch W. Direct demonstration of small intestinal secretion and site-dependent absorption of the  $\beta$ -blocker talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1996; 59: 541-9.
24. Gramattè T, Oertel R. Intestinal secretion of intravenous talinolol is inhibited by luminal R-verapamil. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 66: 239-245.
25. Hanafy A, Langguth P, Spahn-Langguth H. Pretreatment with potent P-glycoprotein ligands may increase intestinal secretion in rats. *Eur J Pharm Sci* 2001; 12: 405-415.

26. Hanafy A. Transport inhibition and induction as sources for absorption- and disposition-related drug-drug interactions: Talinolol as model substrate for the ABC-transporter P-glycoprotein. Martin-Luther Üniversitesi Halle-Wittenberg Eczacılık Okulu, Doktora Tezi, Halle/Saale (Almanya), 2001.
27. Hochman J.H, Yamazaki M, Ohe T, Lin J.H. Evaluation of drug interactions with P-glycoprotein in drug discovery: in vitro assessment of the potential for drug-drug interactions with P-glycoprotein. *Curr Drug Metab* 2002; 3(3); 257-73.
28. Höllt V, Kouba M, Dietel M, Vogt G. Stereoisomers of calcium antagonists which differ markedly in their potencies as calcium blockers are equally effective in modulating drug transport by P-glycoprotein. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 2601-2608.
29. Hsyu P, Schultz-Smith M, Lillibridge J.H, Lewis R.H, Kerr B.M. Pharmacokinetic interactions between nelfinavir and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors atorvastatin and simvastatin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(12): 3445-3450.
30. Hunter J, Jepson M, Tsuruo T, Simmons N, Hirst B. Functional expression of P-glycoprotein in apical membranes of human intestinal Caco-2 cells. *J Biol Chem* 1993; 268 (20): 14991-14997.
31. Hyafil F, Vergely C, Du Vignaud P, Grand-Perret T. In vitro and in vivo reversal of multidrug resistance by GF120918, an acridonecarboxamide derivative. *Cancer Res* 1993; 53: 4595-4602.
32. Igel M, Sudhop T, von Bergmann K. Metabolism and drug interactions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A-reductase inhibitors (statins). *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57: 357-364.
33. Ishigami M, Kawabata K, Takasaki W, Ikeda T, Komai T, Ito K, Sugiyama Y. Drug interaction between simvastatin and itraconazole in male and female rats. *Drug Metab Dispos* 2001; 29(7): 1068-1072.
34. Juliano R.L, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochem Biophys Acta* 1976; 455: 152-162.
35. Kantola T, Kivistö K.T, Neuvonen P.J. Erythromycin and verapamil considerably increase serum simvastatin and simvastatin acid concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64: 177-82.
36. Kauffmann H.M, Kepler D, Kartenbeck J, Schrenk D. Induction of cMRP/cMOAT gene expression by cisplatin, 2-acetylaminofluorene, or cycloheximide in rat hepatocytes. *Hepatology* 1997; 26: 980-985.
37. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt-1, Feryal Matbaacılık, Ankara-1995.

38. Kim R.B, Fromm M.F, Wandel C, Leake B, Wood A.J, Roden D.M, Wilkinson G.R. The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV protease inhibitors. *J Clin Invest* 1998; 101:289-294.
39. Klohs W.D, Steinkampf R.W, Havlick M.J, Jackson R.C. Resistance to anthracyclines and anthracyclines in multidrug-resistant P388 murine leukemia cells: reversal by calcium blockers and calmodulin antagonists. *Cancer Res* 1986; 46: 4352-4356.
40. Kovarik J, Rigaudy L, Guerret M, Gerbeau C, Rost K.L. Longitudinal assessment of P-glycoprotein-mediated drug interaction of valspodar and digoxin. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 66: 391-400.
41. Krishna R, Mayer L.D. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur J Pharm Sci* 2000; 11: 265-283.
42. Krueger M, Achenbach B, Terhaag B, Haase H, Richter K, Oertel R, Preiss R. Pharmacokinetics of oral talinolol following a single dose and during steady state in patients with chronic renal failure and healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2001; 39 (2): 61-66.
43. Kyrklund C, Janne M.B, Backman T, Kivistö K.T, Neuvonen M, Laitila J, Neuvonen P.J. Rifampin greatly reduces plasma simvastatin and simvastatin acid concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 592-7.
44. Lennernas H, Fager G. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32(5): 403-425.
45. Leveque D, Jehl F. P-glycoprotein and pharmacokinetics. *Anticancer Res* 1995; 15: 331-336.
46. Lilja J.J, Kivistö K.T, Neuvonen P.J, Grapefruit juice-simvastatin interaction: effect on serum concentrations of simvastatin, simvastatin acid and HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64: 477-83.
47. Lin J.H, Chiba M, Baille T.A. Is the role of the small intestine in first-pass metabolism overemphasized? *Pharmacol Rev* 1999; 51(2): 135-157.
48. Lin J.H. Drug-drug interaction mediated by inhibition and induction of P-glycoprotein. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55: 53-81.
49. Lui j, Liu Y, Powell D, Waalkes M, Klaasen C. Multidrug resistance mdr1a/mdr1b double knock-out mice are more sensitive than wild type mice to acute arsenic toxicity, with higher arsenic accumulation in tissue. *Toxicology* 2002; 170: 55-62.
50. Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim R.B. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 13-33.

51. Matheny C.J, Lamb M.W, Brouwer K.L.R, Pollack G.M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Pharmacotherapy* 2001; 21 (7): 778-796.
52. Mauro V.F. Clinical pharmacokinetics and practical application of simvastatin. *Clin Pharmacokinet* 1993; 24(3): 195-202.
53. Neuvonen P.J, Kantola T, Kivisto K.T. Simvastatin but not pravastatin is very susceptible to interaction with the CYP3A4 inhibitor itraconazole. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 63: 332-41.
54. Newman M.J, Rodarte J.C, Benbatoul K.D, Romano S.J, Zhang C, Krane S, Moran E.J, Uyeda R.T, Dixon R, Guns E.S, Mayer L.D. Discovery and characterization of OC144-093, a novel inhibitor of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Cancer Res* 2000; 60: 2964-2972.
55. Oertel R, Richter K, Trausch B, Berndt A, Gramatte T, Kirsch W. Elucidation of the structure of talinolol metabolites in man. Determination of talinolol and hydroxylated talinolol metabolites in urine and analysis of talinolol in serum. *J Chromatogr A* 1994; 660: 353-363.
56. Oertel R, Richter K, Gramatte T, Kirsch W. Determination of drugs in biological fluids by high performance liquid chromatography with on line sample processing. *J Chromatogr A* 1998; 797: 203-209.
57. Okyar A. Vinblastin ve atorvastatinin talinolol farmakokinetiğini P-glikoprotein üzerinden değiştirmesinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2004.
58. Paoletti R, Corsini A, Bellosa S. Pharmacological interactions of statins. *Atheroscler Suppl* 2002; 3: 35-40.
59. Pastan I, Gottesman M. Multidrug resistance. *Annu Rev Med* 1991; 42: 277-286.
60. PDR- Physicians' Desk Reference 54th Ed. Walsh P. (ed.) Medical Economics Company, Montvale NJ, 2000.
61. Plosker G.L, McTavish D. Simvastatin. *Drugs* 1995; 50(2): 334-363.
62. Polli J.W, Jarrett J.L, Studenberg S.D, Humphreys J.E, Dennis S.W, Brouwer K.E, Woolley J.L. Role of P-glycoprotein on the CNS disposition of amprenavir (141W94), an HIV protease inhibitor. *Pharm Res* 1999; 16 (8): 1206-1212.
63. Prueksaritanont T, Ma B, Yu N. The human hepatic metabolism of simvastatin hydroxy acid is mediated primarily by CYP3A, and not CYP2D6. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 56: 120-124.
64. Reinoso R.F, Navarro A.S, Garcia M.J, Prous J.S. Preclinical pharmacokinetics of statins. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002; 24(9): 593-613.

65. Rote Liste® 2000, Arzneimittelverzeichnis für Deutschland, Editio Cantor Verlag GmbH, Aulendorf –2000, 27-072.
66. Schinkel A.H, Smit J.J.M, van Tellingen O, Beijnen J.H, Wagenaar E, van Deemter L, Mol C.A.A.M, van der Valk M.A, Robanus-Maandag E.C, te Riele H.P.J, Berns A.J.M, Borst P. Disruption of the mouse *mdr1a* P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell* 1994; 491-502.
67. Schinkel A.H. P-glycoprotein, a gatekeeper in the blood brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev* 1999; 36: 179-194.
68. Schinkel A.H, Jonker J.W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55: 2-29.
69. Schinkel A.H. The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Sem Cancer Biol* 1997; 8: 161-170.
70. Schinkel A.H, Wagenaar E, van Deemter L, Mol C.A.A.M, Borst P. Absence of the *mdr1a* P-glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin and cyclosporin A. *J Clin Invest* 1995; 96: 1698-1705.
71. Schrenk D, Gant T, Preisegger K.H, Silverman J, Marino P, Thorgeirsson S. Induction of multidrug resistance gene expression during cholestasis in rats and nonhuman primates. *Hepatology* 1993; 17: 854-860.
72. Schuurhuis G.J, Broxterman H.J, van der Hoeven J.J.M, Pinedo H.M, Lankelma J. Potentiation of doxorubicin cytotoxicity by the calcium antagonist bepridil in the anthracycline-resistant and sensitive cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 1987; 20: 285-290.
73. Schwarz U.I, Gramatte T, Krappweis J, Berndt A, Oertel R, von Richter O, Kirch W. Unexpected effect of verapamil on oral bioavailability of beta-blocker talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 65: 283-290.
74. Schwarz U.I, Gramatte T, Krappweiss J, Oertel R, Kirch W. P-glycoprotein inhibitor erythromycin increases oral bioavailability of talinolol in humans. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2000; 38 (4): 161-167.
75. Shapiro L.E, Shear N. Drug interactions: proteins, pumps and P-450s. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47: 467-84.
76. Sharom F.J. The P-glycoprotein efflux pump: how does it transport drugs? *J Membrane Biol* 1997; 16: 161-175.
77. Siegmund W, Altmannsberger S, Paneitz A, Hecker U, Zschiesche M, Franke G, Meng W, Warzok R, Schroder E, Sperker B, Terhaag B, Cascorbi I, Kroemer H.K. Effect of levodopa administration on intestinal P-glycoprotein expression. Consequences for drug disposition. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 256-264.



78. Spahn-Langguth H, Langguth P. Grapefruit juice enhances intestinal absorption of the P-glycoprotein substrate talinolol. *Eur J Pharm Sci* 2001; 12: 361-367.
79. Spahn-Langguth H, Baktır G, Radschuweit A, Okyar A, Terhaag B, Ader P, Hanafy A, Langguth P. P-glycoprotein transporter and the gastrointestinal tract: Evaluation of the potential in vivo relevance of in vitro data employing talinolol as model compound. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998; 36: 16-24.
80. Sugimoto K, Ohmori M, Tsuruoka S, Nishiki K, Kawaguchi A, Harada K, Arakawa M, Sakamoto K, Masada M, Miyamori I, Fujimura A. Different effects of St John's wort on the pharmacokinetics of simvastatin and pravastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 518-24.
81. Sun H, Dai H, Shaik N, Elmquist W.F. Drug efflux transporters in the CNS. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55: 83-105.
82. Terhaag B, Gramatte T, Richter K, Voss J, Feller K. The biliary elimination of the selective beta-receptor blocking drug talinolol in man. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1989; 27 (4): 170-172.
83. Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman M, Pastan I, Willingham M.C. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7735-7738.
84. Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman M, Pastan I, Willingham M. Immunohistochemical localization in normal tissues of different epitopes in the multidrug transport protein P170: Evidence for localization in brain capillaries and crossreactivity of one antibody with a muscle protein. *J Histochem Cytochem* 1989; 37: 159-164.
85. Trausch B, Oertel R, Richter K, Gramatte T. Disposition and bioavailability of the beta 1- adrenoceptor antagonist talinolol in man. *Biopharm Drug Dispos* 1995; 16: 403-414.
86. Tsuji A, Terasaki T, Takabatake Y, Tenda Y, Tamai I, Yamashita T, Moritani S, Tsuruo T, Yamashita J. P-glycoprotein as the drug efflux pump in primary cultured bovine brain capillary endothelial cells. *Life Sci* 1992; 51(18): 1427-1437.
87. Tsuruo T, Iida H, Nojiri M, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Circumvention of vincristine and adriamycin resistance in vitro and in vivo by calcium influx blockers. *Cancer Res* 1983; 43: 2905-2910.
88. Türk Farmakoloji Derneği-Farmakoloji Ders Kitabı (Ed. Bökesoy T.A, Çakıcı İ, Melli M.) Bölüm 1.3A. Farmakokinetik Aşamalar I: İlaçların Absorpsiyonu, Prof. Dr. Gül Ayanoğlu-Dülger, Prof. Dr. Gül Baktır. Gazi Kitabevi, Ankara-2000.
89. Varma M.V, Ashokraj Y, Dey C.S, Panchagnula R. P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacol Res.* 2003; 48(4): 347-359.

90. Verschraagen M, Koks C.H, Schellens J.H, Beijnen J.H. P-glycoprotein system as a determinant of drug interactions: the case of digoxin-verapamil. *Pharmacol Res* 1999; 40(4): 301-306.
91. Vollrath V, Wielandt A, Acuna C, Duarte L, Andrade L, Chianale J. Effect of colchicine and heat shock on multidrug resistance gene and P-glycoprotein expression in rat liver. *J Hepatol* 1994; 21: 754-763.
92. Wacher V.J, Silverman J.A, Zhang Y, Benet L.Z. Role of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptides and peptidomimetics. *J Pharm Sci* 1998; 87 (1): 1322-1330.
93. Wacher V.J, Wu C.Y, Benet L.Z. Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P-450 3A and P-glycoprotein. Implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol Carcinog* 1995; 13: 129-134.
94. Wagner D. Spahn-Langguth H, Hanfy A, Koggel A, Langguth P. Intestinal drug efflux: formulation and food effects. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 50: S13-S31.
95. Wang E, Casciano C, Clement R.P, Johnson W. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) characterized as direct inhibitors of P-glycoprotein. *Pharm Res* 2001; 18: 800-806.
96. Watkins P.B. The barrier function of CYP3A4 and P-glycoprotein in the small bowel. *Adv Drug Del Rev* 1997; 27: 161-170.
97. Westphal K, Weinbrenner A, Zschiesche M, Franke G, Knoke M, Oertel R, Fritz P, von Richter O, Warzok K, Hachenberg T, Kauffmann H.M, Schrenk D, Terhaag B, Kroemer H.K, Siegmund W. Induction of P-glycoprotein by rifampicin increases intestinal secretion of talinolol in human beings: a new type of drug/drug interaction. *Clin Pharm Ther* 2000; 68: 345-355.
98. Westphal K, Weinbrenner A, Giessmann T, Stuhr M, Franke G, Zschiesche M, Oertel R, Terhaag B, Kroemer H.K, Siegmund W. Oral bioavailability of digoxin is enhanced by talinolol: evidence for involvement of intestinal P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 6-12.
99. Wetterich U, Spahn-Langguth H, Mutschler E, Terhaag B, Rösch W, Langguth P. Evidence for intestinal secretion as an additional clearance pathway of talinolol enantiomers: Concentration- and dose-dependent absorption in vitro and in vivo. *Pharm Res* 1996; 13: 526-534.
100. Williams D, Feely J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic drug interactions with HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41 (5): 343-370.
101. Yasuda K, Lan L.B, Sanglard D, Furuya K, Schuetz J.D, Schuetz E.G. Interaction of cytochrome P450 3A inhibitors with P-glycoprotein. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303(1): 323-32.

102. Yokogawa K, Takahashi M, Tamai I, Konishi H, Nomura M, Moritani S, Miyamoto K, Tsuji A. P-glycoprotein-dependent disposition kinetics of tacrolimus: studies in *mdr1a* knockout mice. *Pharm Res* 1999; 16: 1213-1218.
103. Young A, Allen C.E, Audos K.L. Efflux transporters of the human placenta. *Adv Drug Del Rev* 2003; 55: 125-132.
104. Zhang Y, Benet L.Z. The gut as a barrier to drug absorption. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40 (3): 159-168.
105. Zschiesche M, Lemma G.L, Klebingat K.J, Franke G, Terhaag B, Hoffmann A, Gramatte T, Kroemer H.K, Siegmund W. Stereoselective disposition of talinolol in man. *J Pharm Sci* 2002; 91: 303-311.





## 9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zeliha Pala  
Doğum Tarihi : 09.03.1980  
Doğum Yeri : İzmir  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### Eğitim:

1991-1994 : İzmir İnönü Lisesi  
1994-1997 : İzmir Kız Lisesi  
1997-2001 : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
2001- : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Eğitimi

Adres (ev) : Erdoğan Sok. No. 8/16 Feneryolu Kadıköy/İstanbul  
Adres (iş) : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ab. D.  
34116, Beyazıt- İstanbul  
Telefon ve Faks : (0212) 527 18 25  
Elektronik Posta Adresleri : [zelihapala@hotmail.com](mailto:zelihapala@hotmail.com)