

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**BARNİDİPİN VE TALİNOLOL ARASINDAKİ  
P-GLİKOPROTEİNE BAĞLI OLASI BİR  
FARMAKOKİNETİK ETKİLEŞMENİN İNCELENMESİ**

**NARİN ÖZTÜRK**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. ALPER OKYAR**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI  
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

**İSTANBUL-2010**

## TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

20 / 07 / 2010



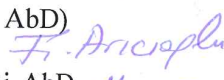




Prof. Dr. Tamer DEMİRALP  
Müdür

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
 Program Adı : Farmakoloji  
 Programın seviyesi : Yüksek Lisans  Doktora   
 Anabilim Dalı : Farmakoloji  
 Tez Sahibi : Narin ÖZTÜRK  
 Tez Başlığı : Barnidipin ve talinolol arasındaki P-glikoproteine bağlı olası bir farmakokinetik etkileşiminin incelenmesi  
 Sınav Yeri : Eczacılık Fakültesi  
 Sınav Tarihi : 09 / 07 / 2010

### Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1. Prof. Dr. Gül BAKTİR (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd) 
2. Prof. Dr. Sönmez UYDEŞ-DOĞAN (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd) 
3. Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU (Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd) 
4. Yrd. Doç. Dr. Alper OKYAR (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd-Danışman) 
5. Yrd. Doç. Dr. Gökçe TOPAL\_TANYILMAZ (İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Abd) 

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Narin ÖZTÜRK



## İTHAF

Sevgili Ailem'e ithafen...

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel ve manevi desteğini hep yanımda hissettiğim Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Gül BAKTIR'a,

Bilgisi, deneyimleri ve tavsiyeleri ile tez çalışmalarına yön veren ve yüksek lisans eğitimim boyunca manevi desteğini esirgemeyen, beni her konuda ilgi ve sabırla dinleyen değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Alper OKYAR'a,

Değerli görüşlerinden ve bilgisinden her zaman yararlandığım Sayın Prof. Dr. Sönmez UYDEŞ DOĞAN'a,

Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim Arş. Gör. Dr. Zeliha PALA KARA'ya,

Yüksek lisans eğitimim boyunca vermiş oldukları bilimsel ve manevi destek için Anabilim Dalımız Öğretim Üyeleri Yrd. Doç. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ, Yrd. Doç. Dr. F. İlkay ALP, Yrd. Doç. Dr. Selçuk TAKIR'a ve Anabilim Dalımız Araştırma Görevlisi Dr. Deniz KALELİ DURMAN ile Uzm. Ecz. Nihan ÇARÇAK'a,

Tez çalışmalarım boyunca dostluklarını ve manevi desteklerini benden esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Ecz. Deniz EKER KIZILAY, Ecz. Deniz YAVUZ, Uzm. Ecz. Fulya GEZERLER, Ecz. İsmail Hakkı ALTUN ve Ecz. Ayşe TÜLÜ' ye ve Anabilim Dalı görevlimiz Erdal DOĞAN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni "Yurt İçi Yüksek Lisans Bursu" ile destekleyen TÜBİTAK'a,

Son olarak yaşamımın her döneminde olduğu gibi tez çalışmalarım boyunca da maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan Sevgili Ailem'e,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4701

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	XİV
ÖZET .....	XVİ
ABSTRACT.....	XVİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. ABC Taşıyıcı Proteinleri.....	4
2.2. P-glikoprotein (P-gp, ABCB1, MDR1) .....	8
2.2.1. P-gp'nin Moleküler Yapısı.....	8
2.2.2. P-gp İzofomları.....	9
2.2.3. P-gp'nin Dokulardaki Ekspresyonu ve Fonksiyonu .....	10
2.2.4. P-gp'nin Fizyolojik Öneminin Araştırılmasında mdr1 – Knockout Fareler .....	13
2.3. P-gp'nin İlaç Farmakokinetiğindeki Rolü .....	14
2.3.1. İlaç Absorpsiyonundaki Rolü.....	14
2.3.2. İlaç Dağılımındaki Rolü.....	18
2.3.2.1. Kan – Beyin Bariyeri .....	18
2.3.2.2. Plasenta .....	20
2.3.3. İlaç Metabolizmasındaki Rolü .....	22
2.3.4. İlaç Atılımındaki Rolü .....	25
2.3.4.1. Safra İle Atılım.....	25
2.3.4.2. İdrar İle Atılım .....	26
2.4. Kanser Hücrelerinde Çoklu İlaç Rezistansı ve P-gp'nin Rolü.....	28
2.5. P-gp Substratları.....	29
2.6. P-gp İnhibitörleri.....	32

2.7. P-gp İndüktörleri .....	35
2.8. P-gp'ye Bağlı İlaç Etkileşmeleri .....	37
2.9. Talinolol .....	41
2.9.1. Tanımı ve Tarihçesi .....	41
2.9.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	41
2.9.3. Farmakodinamik Özellikleri .....	42
2.9.4. Farmakokinetik Özellikleri .....	43
2.9.4.1. Absorpsiyonu .....	43
2.9.4.2. Dağılımı .....	44
2.9.4.3. Metabolizması .....	44
2.9.4.4. Eliminasyonu .....	44
2.9.5. Endikasyonları .....	45
2.9.6. Kontrendikasyonları .....	45
2.9.7. Yan Etkileri .....	46
2.9.8. Dozu ve Veriliş Yolu .....	46
2.9.9. İlaç Etkileşmeleri .....	47
2.9.10. Talinololün P-gp Aracılı İlaç Etkileşmeleri İle İlgili Çalışmalar .....	47
2.9.10.1. P-gp İnhibisyonuna Bağlı İlaç Etkileşmeleri .....	47
2.9.10.2. P-gp İndüksiyonuna Bağlı İlaç Etkileşmeleri .....	48
2.9.11. Müstahzarları .....	49
2.10. Barnidipin .....	50
2.10.1. Tanımı ve Tarihçesi .....	50
2.10.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	50
2.10.3. Farmakodinamik Özellikleri .....	51
2.10.4. Farmakokinetik Özellikleri .....	52
2.10.4.1. Absorpsiyonu .....	52
2.10.4.2. Dağılımı .....	52
2.10.4.3. Biyotransformasyonu .....	53
2.10.4.4. Eliminasyonu .....	54
2.10.5. Endikasyonları .....	54
2.10.6. Kontrendikasyonları .....	54
2.10.7. Yan Etkileri .....	55
2.10.8. Dozu ve Veriliş Yolu .....	56

2.10.9. İlaç Etkileşmeleri .....	56
2.10.10. Müstahzarları .....	57
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	58
3.1. Deneysel Hayvanları .....	58
3.2. Kullanılan İlaçlar .....	58
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler .....	59
3.4. Kullanılan Aletler.....	60
3.5. Bilgisayar Programları .....	60
3.6. Farmakokinetik Deneysel .....	61
3.6.1. Tek Doz Barnidipin Çalışması .....	61
3.6.2. Tekrarlı Doz Barnidipin Çalışması .....	62
3.7. Talinololün Sıçan Plazmasından Ters Faz Kromatografi İle Tayini .....	62
3.7.1. Analitik Tayin Metodu.....	62
3.7.2. Mobil Fazın Hazırlanışı .....	63
3.7.3. Biyoanalitik Yöntemin Validasyonu.....	63
3.7.4. Doğrusallık (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri).....	64
3.7.5. Doğruluk ve Keskinlik (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri) .....	64
3.7.5.1. Gün İçi Tekrarlanabilirlik .....	65
3.7.5.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik.....	65
3.7.6. Doğrusallık (Plazmadan Ekstraksiyon).....	65
3.7.6.1. Talinololün Plazmadan Ekstraksiyonu.....	66
3.7.7. Doğruluk ve Keskinlik (Plazmadan Ekstraksiyon).....	66
3.7.7.1. Gün İçi Tekrarlanabilirlik .....	66
3.7.7.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik.....	67
3.7.8. Seçicilik.....	67
3.7.9. Tayin Sınırları .....	67
3.7.10. Sıçanlardan Elde Edilen Plazma Örneklerindeki Talinolol Konsantrasyonlarının Tayini.....	68
3.8. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması .....	68
3.9. İstatistiksel Analiz.....	69
4. BULGULAR.....	70
4.1. Talinololün Sıçan Plazmasından Ters Faz Kromatografi İle Tayininin Validasyonuna Ait Bulgular .....	70



4.1.1. Doğrusallık (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri) .....	70
4.1.2. Doğruluk ve Kesinlik (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri) .....	70
4.1.2.1. Gün İçi Tekrarlanabilirlik .....	70
4.1.2.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik.....	70
4.1.3. Doğrusallık (Plazmadan Ekstraksiyon).....	73
4.1.4. Doğruluk ve Kesinlik (Plazmadan Ekstraksiyon).....	75
4.1.4.1. Gün İçi Tekrarlanabilirlik .....	75
4.1.4.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik.....	76
4.1.5. Seçicilik.....	77
4.1.6. Tayin Sınırları .....	78
4.2. Talinolol İle Barnidipin Arasındaki İn Vivo Etkileşme Çalışması Bulguları.....	78
4.2.1. Tek Doz Barnidipin Çalışması İle İlgili Bulgular .....	78
4.2.2. Tekrarlı Doz Barnidipin Çalışması İle İlgili Bulgular .....	84
5. TARTIŞMA .....	90
6. KAYNAKLAR .....	98
ETİK KURUL KARARI .....	109
ÖZGEÇMİŞ .....	110

## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: İnsanda ABC üst familyasına ait proteinlerin sınıflandırılması.....	5
Tablo 2-2: İnsanlarda ve rodentlerde P-gp izoformları .....	10
Tablo 2-3: P-gp'nin dokulardaki ekspresyonu ve fonksiyonu.....	11
Tablo 2-4: P-gp aracılığıyla rezistans gelişen antineoplastik ilaçlar .....	28
Tablo 2-5: P-gp substratlarının farmakolojik etkilerine göre gruplandırılması.....	30
Tablo 2-6: P-glikoprotein inhibitörlerinin (MDR modülatörlerinin) sınıflandırılması .....	34
Tablo 2-7: P-gp'yi indükleyici ajanlar.....	36
Tablo 2-8 : P-gp inhibisyonu ile ilişkili klinik olarak önemli ilaç-ilaç etkileşmeleri.....	38
Tablo 2-9: P-gp indüksiyonu ile ilişkili klinik olarak önemli ilaç-ilaç etkileşmeleri.....	40
Tablo 2-10 : 12 sağlıklı gönüllüye oral yoldan tek doz halinde 50 mg dozda uygulanan talinolole ait farmakokinetik parametreler.....	45
Tablo 2-11: Barnidipin HCl'nin oral uygulanmasından sonra sıçanlara ve insanlara ait farmakokinetik parametreler.....	53
Tablo 3-1: Talinololün sıçan plazmasından tayinine ait kromatografik koşullar .....	63
Tablo 4-1: Talinolol konsantrasyonları ve elde edilen pik alanları (talinololün metanoldeki standart çözeltileri).....	71
Tablo 4-2: Talinolol kalibrasyon eğrisine ait ortalama pik alanları ve değişim katsayısı (CV) değerleri (n=4-6).....	72
Tablo 4-3: Gün içi tekrarlanabilirlik (pik alanı olarak) .....	73
Tablo 4-4: Günler arası tekrarlanabilirlik (pik alanı olarak).....	73
Tablo 4-5: Talinolol kalibrasyon eğrisine ait değerler ve geri kazanım oranları (Plazmadan ekstraksiyon).....	74
Tablo 4-6: Talinololün kalibrasyon eğrisine ait ortalama pik alanı, gerikazanım, standart sapma ve değişim katsayısı değerleri (n=4-6) .....	75
Tablo 4-7: Gün içi tekrarlanabilirlik (% Geri kazanım) .....	76
Tablo 4-8: Günler arası tekrarlanabilirlik (% Geri kazanım) .....	76
Tablo 4-9: Tek doz barnidipin çalışmasında talinololün tek başına ve barnidipin ile birlikte oral yoldan uygulanması sonucu elde edilen plazma konsantrasyonları (µg/ml) .....	80

Tablo 4-10: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolole ait plazma $AUC_{0-6.saat}$ değerleri ( $\mu\text{g}\cdot\text{sa}/\text{ml}$ ).....	84
Tablo 4-11: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında kontrol ve DDB grubuna ait plazma talinolol düzeyleri ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).....	86
Tablo 4-12: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolole ait plazma $AUC_{0-6.saat}$ değerleri ( $\mu\text{g}\cdot\text{sa}/\text{ml}$ ).....	88

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: ABC familyasına ait bazı taşıyıcı proteinlerin moleküler yapısı .....	6
Şekil 2-2: ABC taşıyıcı proteinlerinden P-gp'nin efluks fonksiyonu.....	7
Şekil 2-3: P-gp'nin moleküler yapısı .....	9
Şekil 2-4: İlaçların bağırsak membranından geçiş mekanizmaları.....	15
Şekil 2-5: İnce bağırsak epitel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC taşıyıcı proteinlerinin lokalizasyonu .....	16
Şekil 2-6: Beyin kapiller endotel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları.....	19
Şekil 2-7: Plasentada P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu .....	22
Şekil 2-8: İnsan enterositlerinde intestinal CYP3A4 ve P-glikoprotein fonksiyonel etkileşimi.....	24
Şekil 2-9: Karaciğerde P-gp'nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu .....	26
Şekil 2-10: Böbrekte P-gp'nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu .....	27
Şekil 2-11 : Talinololün kimyasal yapısı .....	42
Şekil 2-12: Barnidipinin kimyasal yapısı.....	51
Şekil 4-1: Talinolol kalibrasyon eğrisi (metanoldeki standart çözeltiler için).....	72
Şekil 4-2: Talinolol kalibrasyon eğrisi (plazmadan ekstraksiyon) .....	75
Şekil 4-3: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (boş numune) .....	77
Şekil 4-4: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (1µg/ml).....	77
Şekil 4-5: Tek doz barnidipin çalışmasında kontrol grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu - zaman eğrisi (ortalama ± SE; µg/ml) .....	81
Şekil 4-6: Tek doz barnidipin çalışmasında DDB (düşük doz barnidipin) grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu - zaman eğrisi (ortalama ± SE; µg/ml).....	81
Şekil 4-7: Tek doz barnidipin çalışmasında YDB (yüksek doz barnidipin) grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu - zaman eğrisi (ortalama ± SE; µg/ml).....	82

Şekil 4-8: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma konsantrasyonu – zaman eğrileri (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$ ).....	82
Şekil 4-9: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma düzeylerinin zamana göre değişimi (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$ ) .....	83
Şekil 4-10: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolole ait plazma $\text{AUC}_{0-6.\text{saat}}$ değerleri (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g.sa/ml}$ ).....	84
Şekil 4-11: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında kontrol grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu – zaman eğrisi (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$ ).....	86
Şekil 4-12: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında DDB (düşük doz barnidipin) grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu – zaman eğrisi (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$ ).....	87
Şekil 4-13: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma konsantrasyonu – zaman eğrileri (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$ ) .....	87
Şekil 4-14: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma düzeylerinin zamana göre değişimi (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g/ml}$ ) .....	88
Şekil 4-15: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolole ait plazma $\text{AUC}_{0-6.\text{saat}}$ değerleri (ortalama $\pm$ SE; $\mu\text{g.sa/ml}$ ).....	89

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

**ABC:** ATP-bağlayıcı kaset (ATP-binding cassette)

**ATP:** Adenozin trifosfat

**P-gp:** P-glikoprotein

**MDR:** Çoklu ilaç rezistansı (multidrug resistance)

**MDR1:** İnsanda çoklu ilaç rezistans proteini 1 (P-glikoprotein)

**mdr1a/1b:** Rodentte çoklu ilaç rezistans proteini 1a/1b (P-glikoprotein)

**ABCB1:** P-glikoprotein (insanda)

**abcb1a/1b:** P-glikoprotein (rodentte)

**MRP1:** Çoklu ilaç rezistansı ilişkili protein 1 (multidrug resistance associated protein 1)

**ABCC1:** Çoklu ilaç rezistansı ilişkili protein 1, MRP1 (insanda)

**BCRP:** Meme kanseri rezistans proteini, insanda (breast cancer resistance protein)

**ABCG2:** Meme kanseri rezistans proteini, BCRP (insanda)

**MDR3 (MDR2):** İnsanda fosfolipid taşınmasından sorumlu P-gp izoformu (ABCB4)

**mdr2:** Rodentte fosfolipid taşınmasından sorumlu P-gp izoformu (abcb4)

**BSEP:** Safra tuzu atılım pompası (bile salt exporting protein)

**CYP450:** Sitokrom P450 enzim sistemi

**CYP3A4:** Sitokrom P450 3A4

**NBD:** Nükleotid bağlayan domain

**TMD:** Transmembranal domain

**HIV:** İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus)

**Caco-2:** İnsan kolon adenokarsinom hücre dizisi

**MDCK:** Madin-Darby köpek böbrek epitel hücreleri

**LLC-PK1:** Domuz böbrek epitel hücreleri

**LLC-GA5-COL150:** MDR1 cDNA transfer edilmiş LLC-PK1 hücreleri

**HeLa:** İnsan servikal karsinom hücre dizisi

**Hvr100-6:** Vinblastine maruz bırakılmış, aşırı P-gp eksprese eden HeLa hücreleri

**AUC:** Plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altında kalan alan (Area Under The Curve)

**C<sub>max</sub>:** Maksimum konsantrasyon

**t<sub>max</sub>:** Maksimum konsantrasyona ulaşma zamanı

**t<sub>1/2</sub>:** Eliminasyon yarılanma ömrü

**CL/F :** Oral klerens

**Cl<sub>cr</sub>:** Kreatinin klerensi

**F:** Biyoyararlanım

**BOS:** Beyin omurilik sıvısı

**cDNA:** Tamamlayıcı DNA

**mRNA:** Mesajcı RNA

**i.v. :** İntravenöz

**p.o. :** Per Oral (Oral yoldan)

**PXR:** Pregnan X reseptörü

**RT-PCR:** Reverse Transkriptaz - Polimeraz Zincir Reaksiyonu

**HLB:** Hidrofilik lipofilik denge (Hydrophilic lipophilic balance)

**HPLC:** Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)

**UV/VIS:** Ultraviyole / Vizibl

**SPE:** Katı Faz Ekstraksiyonu (Solid Phase Extraction)

**CV:** Değişim katsayısı (Coefficient variation)

**X:** Ortalama

**SD:** Standart sapma (Standart deviation)

**SE:** Standart hata (Standart error)

**DDB:** Düşük doz barnidipin

**YDB:** Yüksek doz barnidipin

## ÖZET

Öztürk, N. (2010). Barnidipin ve Talinolol Arasındaki P-glikoproteine Bağlı Olası Bir Farmakokinetik Etkileşmenin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

P-glikoprotein (P-gp), ATP'ye bağımlı bir efluks pompası işlevi gören bir transmembran proteinidir. P-gp substratlarının, P-gp inhibitörleri ile birlikte kullanılması farmakokinetik ilaç etkileşmelerine yol açmakta ve etkileşme sonucunda yan/toksik etkiler görülebilmektedir. İn vitro çalışmalarda, kalsiyum kanal blokeri olan barnidipinin P-gp'yi güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Bir beta reseptör antagonisti olan talinolol ise saf P-gp substratıdır. Çalışmamızda amacımız, tek ve tekrarlanan dozda barnidipin kullanımının talinololün farmakokinetiği üzerine etkisini in vivo olarak Wistar sıçanlarda incelemektir. Tek doz çalışmasında, sıçanlara talinolol 20 mg/kg dozda tek başına ve 1 mg/kg (düşük), 10 mg/kg (yüksek) dozlarda barnidipin ile birlikte oral yoldan uygulanmıştır. Tekrarlı doz çalışmasında, 4 gün boyunca 1 mg/kg dozda barnidipin tek başına ve 5. gün 20 mg/kg talinolol ile birlikte oral yoldan uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise 4 gün boyunca sıvağ ve 5. gün 20 mg/kg talinolol verilmiştir. Talinolol uygulanmasını takiben 0,5., 1., 2., 4. ve 6. saatlerde sıçanlardan kan alınmış ve plazma talinolol konsantrasyonları HPLC ile tayin edilmiştir. Düşük ve yüksek doz barnidipin ile birlikte uygulama, talinololün  $C_{max}$  değerlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %9 ve %108; plazma  $AUC_{0-6saat}$  değerlerinde ise sırasıyla %34 ve %47'lik bir artışa sebep olmuştur. Tekrarlı doz çalışmasında ise düşük doz barnidipinin talinolol ile birlikte uygulanması, kontrole göre talinololün  $C_{max}$  ve  $AUC_{0-6saat}$  değerlerinde sırasıyla %90 ve %92'lik artışa sebep olmuştur. Fakat bu artışlar istatistiki olarak anlamlı değildir. Barnidipinin, talinololün biyoyararlanımını artırması P-gp inhibisyonuna bağlı olabilir. Tekrarlanan dozda barnidipin uygulanmasının talinololün  $AUC_{0-6saat}$  değerlerinde daha yüksek bir artış meydana getirmesi ise barnidipin ile oluşan P-gp downregülasyonunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Talinolol, barnidipin, P-glikoprotein, ilaç-ilaç etkileşmesi, farmakokinetik.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 4701



## ABSTRACT

Ozturk, N. (2010). Investigation of P-glycoprotein-mediated Pharmacokinetic Interaction Between Barnidipine and Talinolol. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmacology. Master Thesis. Istanbul.

Concomitant administration of P-gp substrates and inhibitors may cause drug interactions leading to side/toxic effects. Barnidipine is antihypertensive drug and, inhibitor of P-gp in vitro and talinolol is beta blocker and pure P-gp substrate. The present in vivo study was designed to investigate the effects of both single and repeated doses of barnidipine on the pharmacokinetics of talinolol in rats. In single-dose study, talinolol (20 mg/kg) alone and talinolol with barnidipine at low (1 mg/kg) and high dose (10 mg/kg) administered to rats orally. In repeated-dose study, rats were treated with barnidipine (1 mg/kg/day) for four days orally then with talinolol (20 mg/kg p.o., on day 5) and, rats in control group were treated with excipient for four days and then talinolol alone on day 5. Blood samples were collected at 0.5, 1, 2, 4, 6h after administration of talinolol and, plasma talinolol levels were determined by HPLC.  $C_{max}$  values of talinolol elevated by 9% and 108%, and plasma  $AUC_{0-6h}$  values increased by 34% and 47% following barnidipine co-administration at low and high doses, respectively. In repeated-dose study,  $C_{max}$  and  $AUC_{0-6h}$  values of talinolol increased by 90% and 92% respectively following low doses of barnidipine co-administration with talinolol as compared to control. Nevertheless, these increments are not statistically significant. Increment of talinolol bioavailability upon co-administration of both low and high doses of barnidipine may be due to P-gp inhibition. Higher increase of talinolol plasma  $AUC_{0-6h}$  values due to the repeated doses of barnidipine may be explained by downregulation of P-gp.

**Key Words:** Talinolol, barnidipine, P-glycoprotein, drug-drug interaction, pharmacokinetics.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 4701

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlaç etkileşme mekanizmalarının aydınlatılması amacıyla, farmakokinetik alanında son yıllarda üzerinde yoğun olarak çalışılan bir konu P-glikoproteine (P-gp) bağlı ilaç-ilaç ve ilaç-besin etkileşmeleridir. Kanser, HIV ve bazı kronik hastalık durumları ile özellikle yaşlılarda birden çok hastalığın bir arada görülmesi nedeniyle çeşitli ilaçların eşzamanlı olarak kullanılması modern tıpta oldukça yaygınlaşmış bir uygulamadır. Ancak tedavi etkinliğini artırmak amacıyla sıklıkla uygulanan polifarmasi, farmakokinetik ve farmakodinamik ilaç etkileşmeleri ve istenmeyen yan etkiler ile sonuçlanabilmektedir. Farmakokinetik etkileşmeler, uygulanan ilaçların terapötik etkilerinin zayıflamasına veya şiddetlenmesine, etki sürelerinin değişmesine veya toksik etkilerinin görülmesine neden olabilmektedir. Klinik olarak önemli bir çok farmakokinetik etkileşme, sitokrom P450 (CYP450) enzimlerinin aracılık ettiği metabolik reaksiyonlar sırasında, enzim indüksiyonu veya inhibisyonu sonucu meydana gelmekteyse de, son yıllarda P-gp taşıyıcı proteininin substratı, inhibitörü veya indüktörü olan bazı ilaçların, bir arada kullanılmasının da, emilim, dağılım ve eliminasyon düzeyinde ciddi etkileşmelere yol açabildiği ortaya konmuştur (DuBuske 2005; Aszalos 2007; Padowski ve Pollack 2010).

ABC üst familyasının bir üyesi olan P-gp, ATP hidrolizine bağımlı olarak çalışan ve efluks pompası işlevi gören bir membran proteindir (Balayssac ve ark. 2005; Ravna ve Sager 2009). P-gp, ilk defa 1976 yılında Juliano ve Ling tarafından, kolşisine dirençli Çin hamsteri yumurtalık hücrelerinde aşırı eksprese edilen bir yüzey glikoproteini olarak tanımlanmıştır (Juliano ve Ling 1976). Daha sonra, tümör hücrelerinde P-gp'nin varlığı gösterilmiş ve bu hücrelerde P-gp'nin antineoplastik ilaçları hücre dışına atarak çoklu ilaç direnci (multidrug resistance, MDR) olarak tanımlanan hücrel prosenin gelişmesinde rol oynadığı saptanmıştır. P-gp, tümör hücrelerindeki ekspresyonunun yanı sıra normal, sağlıklı insan dokularında da büyük ölçüde eksprese edilmektedir. İnsanda bu taşıyıcı özellikle gastrointestinal kanalda, kan-beyin bariyerinde, karaciğerde, böbrekte ve plasentada eksprese edilmektedir (Lin ve Yamazaki 2003; Balayssac ve ark. 2005; Takano ve ark. 2006; Lee 2010). P-gp'nin

ilaç ve diğer xenobiyotikleri vücuttan uzaklaştırarak doğal bir savunma mekanizması işlevi gördüğü öne sürülmektedir. P-gp'nin anatomik lokalizasyonu, ilaçların absorpsiyonu, dağılımı, metabolizması ve atılımında önemli rol oynadığını göstermektedir. Gastrointestinal kanalda lokalize olan P-gp, oral olarak uygulanan substratlarının bağırsak epitel hücrelerinden lümenine geri atılması suretiyle absorpsiyonlarını ve dolayısıyla oral biyoyararlanımlarını azaltırken, aynı zamanda intravenöz uygulanan ilaçları kandan bağırsak lümenine sekrete ederek eliminasyonlarının artmasına neden olmaktadır (Lin ve Yamazaki 2003, Kunta ve Sinko 2004; Takano ve ark. 2006; Padowski ve Pollack 2010). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda P-gp inhibisyonu ve indüksiyonunun ilaç etkileşmelerine neden olduğu gösterilmiştir. P-gp substratlarının oral yoldan P-gp inhibitörleri ile birlikte kullanılması substrat ilaçların biyoyararlanımlarını artırarak terapötik etkilerini artırabileceği gibi toksisitelerinin artmasına ve advers etkilerinin şiddetlenmesine yol açabilmektedir. Bununla birlikte P-gp substratlarının P-gp indüktörleri ile birlikte kullanılması substrat ilaçların biyoyararlanımlarının azalmasına ve terapötik etkilerinin zayıflamasına neden olabilmektedir (Lin ve Yamazaki 2003; Kunta ve Sinko 2004; Padowski ve Pollack 2010).

Barnidipin oral yoldan kullanılan, uzun etkili, potent ve selektif bir kalsiyum kanal blokeridir. Hafif ve orta dereceli hipertansiyon tedavisinde kullanılır. Etkisini damar düz kaslarındaki kalsiyum kanallarını bloke ederek gösterir ve damar yataklarında vazodilatasyona yol açar (Malhotra ve Plosker 2001; Liau 2005). Yapılan in vitro çalışmalarda, barnidipinin CYP450 enzimlerinden CYP3A4'ü ve ilaveten, ilaç-ilaç ve ilaç-besin etkileşmelerinden sorumlu P-gp'yi güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (Kato, Nakajima, Shimada ve ark. 2000; Kato, Nakajima, Yamazaki ve ark. 2000; Takara ve ark. 2002; Komoto ve ark. 2007). Aynı zamanda gerçekleştirilen in vitro çalışmalarda barnidipinin P-gp üzerinde direkt inhibitör etki göstermesi yanında P-gp mRNA ekspresyonunda azalmaya (down-regülasyon) neden olduğu bildirilmiştir (Takara ve ark. 2002; Komoto ve ark. 2007). Barnidipinin P-gp ve ayrıca CYP3A4 üzerindeki bu inhibe edici etkisi, P-gp ve CYP3A4 substratı olan ilaçlarla etkileşmesine yol açabilir. Dolayısıyla barnidipinin P-gp substratı olan ilaçlarla birlikte uzun süre kullanımı bu ilaçların farmakokinetik profilini değiştirebilir.

P-gp substratlarının çoğu, aynı zamanda, ilaçların metabolizmasında önemli bir rolü olan CYP3A4 enziminin de substratıdır. P-gp ve CYP3A4'ün substrat spesifitelerinin örtüşmesi ilaç-ilaç etkileşmesi sonucu gözlenen etkinin altında yatan mekanizmanın ayırt edilmesini zorlaştırmaktadır (Marzolini ve ark. 2004; Takano ve ark. 2006). P-gp için substrat olan ve beta reseptör blokörü olarak halen tedavide kullanılan bir ilaç olan talinololün çok düşük metabolik klirensi, geniş terapötik aralığı, plazma proteinlerine düşük oranda bağlanması gibi avantajlı farmakokinetik özellikleri nedeniyle P-gp aracılı intestinal transportun değerlendirilmesinde ve P-gp ile ilişkili ilaç etkileşme çalışmalarında model bir bileşik olarak kullanılmaktadır (Wetterich ve ark. 1996; Spahn-Langguth ve ark. 1998; Fischer ve ark. 2005; Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Weiler ve ark. 2006).

Çalışmamızda amacımız, barnidipin ile talinolol arasında P-gp'ye bağlı bir etkileşimin olup olmadığını *in vivo* olarak sıçanlarda göstermektir. Bu amaçla, barnidipin oral yoldan, yüksek ve düşük doz olmak üzere iki ayrı dozda kullanılarak tek doz halinde oral yoldan uygulanan talinololün plazma düzeyleri üzerine etkisi *in vivo* olarak sıçanlarda incelenmiştir. Ayrıca barnidipinin düşük dozu 4 gün boyunca oral yoldan tek başına ve 5. gün tek doz oral yoldan talinolol ile birlikte uygulanarak, yinelenen dozda barnidipin kullanımının P-gp üzerindeki etkisi incelenmiştir. Muhtemel bir etkileşmenin varlığı, P-gp substratı ve inhibitörleri arasındaki etkileşmeye yeni bir örnek olması ve bu konuda yapılacak olan klinik çalışmalara temel teşkil etmesi yönlerinden önem arz etmektedir. Kombine ilaç tedavilerinden başarılı sonuçlar alınabilmesi ve istenmeyen ilaç-ilaç etkileşmelerinin önlenmesi için farmakokinetik ilaç etkileşmelerinde önemli rol oynayan P-gp'nin inhibitörleri ile substratları arasındaki etkileşimin *in vivo* şartlarda incelenmesinin önemli olacağı görüşündeyiz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. ABC Taşıyıcı Proteinleri

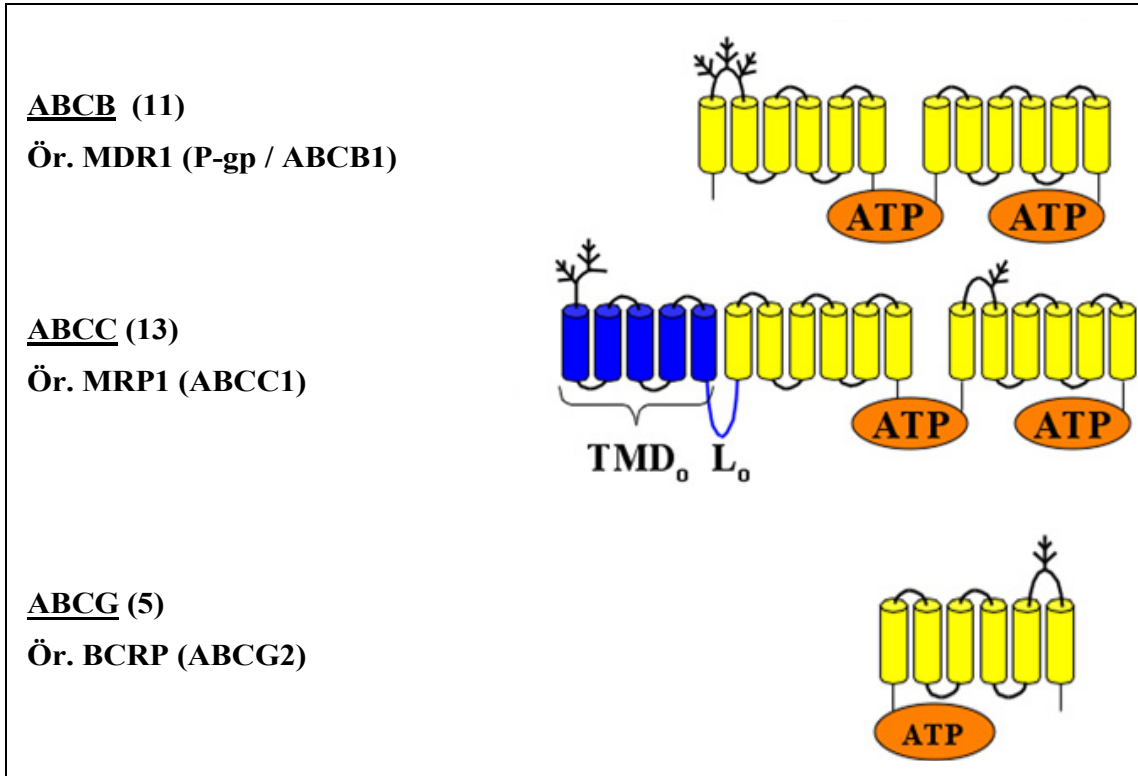
ABC (ATP-binding cassette) taşıyıcı üst familyası çeşitli ilaçların, zenobiyotiklerin ve endojen bileşiklerin (fosfolipidler, steroller, safra asitleri, peptidler, amino asitler, polisakkaritler, inorganik iyonlar, metabolik ürünler) biyolojik membranlardan taşınmasını sağlayan membran proteinlerinden oluşmaktadır. ABC proteinleri, substratlarını aktif olarak membranlardan pompalamak için ATP hidrolizine bağımlı olarak çalışan primer aktif taşıyıcılardır. ABC taşıyıcı familyası oldukça farklı bileşikleri taşıyan yaklaşık 300 protein içermektedir ve bu familyanın proteinleri bakterilerden insanlara kadar tüm canlılarda bulunmaktadır. İnsan genomunda 49 gen ile temsil edilmekte olan bu üst familya, gen yapıları, domainlerinin sayısı ve organizasyonu, amino asit dizilim homolojileri temel alınarak 7 alt familyaya ayrılmıştır (Tablo 2-1) (Stavrovskaya ve Stromskaya 2008; Huls ve ark. 2009; Ravna ve Sager 2009; Padowski ve Pollack 2010).

ABC taşıyıcı proteinleri ağırlıklı olarak karaciğer, bağırsak, böbrek, kan-beyin bariyeri, kan-testis bariyeri ve plasenta gibi dokularda eksprese edilerek yapısal olarak farklı çeşitli ilaçların absorpsiyonları ve oral biyoyararlanımları ile hepatobiliyer, intestinal ve üriner atılımları üzerinde önemli rol oynarlar. Ayrıca ilaçların beyin, testis ve fetüs ile diğer bazı özel hücre ve doku kompartmanlarına penetrasyonlarını sınırlandırarak ilaç dağılımı üzerinde de majör etkilere sahiptirler. ABC taşıyıcılarından bazıları (MDR1, MRP1 ve BCRP gibi) ilaç farmakokinetiği üzerindeki etkilerinin yanı sıra özellikle tümör hücrelerinde aşırı eksprese edilerek kemoterapötik ilaçlara karşı gelişen çoklu ilaç rezistansından (multidrug resistance; MDR) da sorumludurlar (Schinkel ve Jonker 2003; Aszalos 2007; Huls ve ark. 2009).

**Tablo 2-1: İnsanda ABC üst familyasına ait proteinlerin sınıflandırılması – Stavrovskaya ve Stromskaya (2008)'den değiştirilerek**

Alt Familya	Alternatif İsim	Protein Sayısı	İlaç Rezistansına Neden Olan Proteinler	
			<u>İsim</u>	<u>Sayı</u>
ABCA	ABC1	12	ABCA2	1
ABCB	MDR	11	ABCB1 (P-gp)	3
			ABCB4 (MDR2)	
			ABCB11 (BSEP)	
ABCC	MRP	13	ABCC1 (MRP1)	8
			ABCC2-6 (MRP2-6)	
			ABCC10 (MRP7)	
			ABCC11 (MRP8)	
ABCD	ALD	4		
ABCE	OABP	1		
ABCF	GCH20	3		
ABCG	White	5	ABCG2 (BCRP)	1

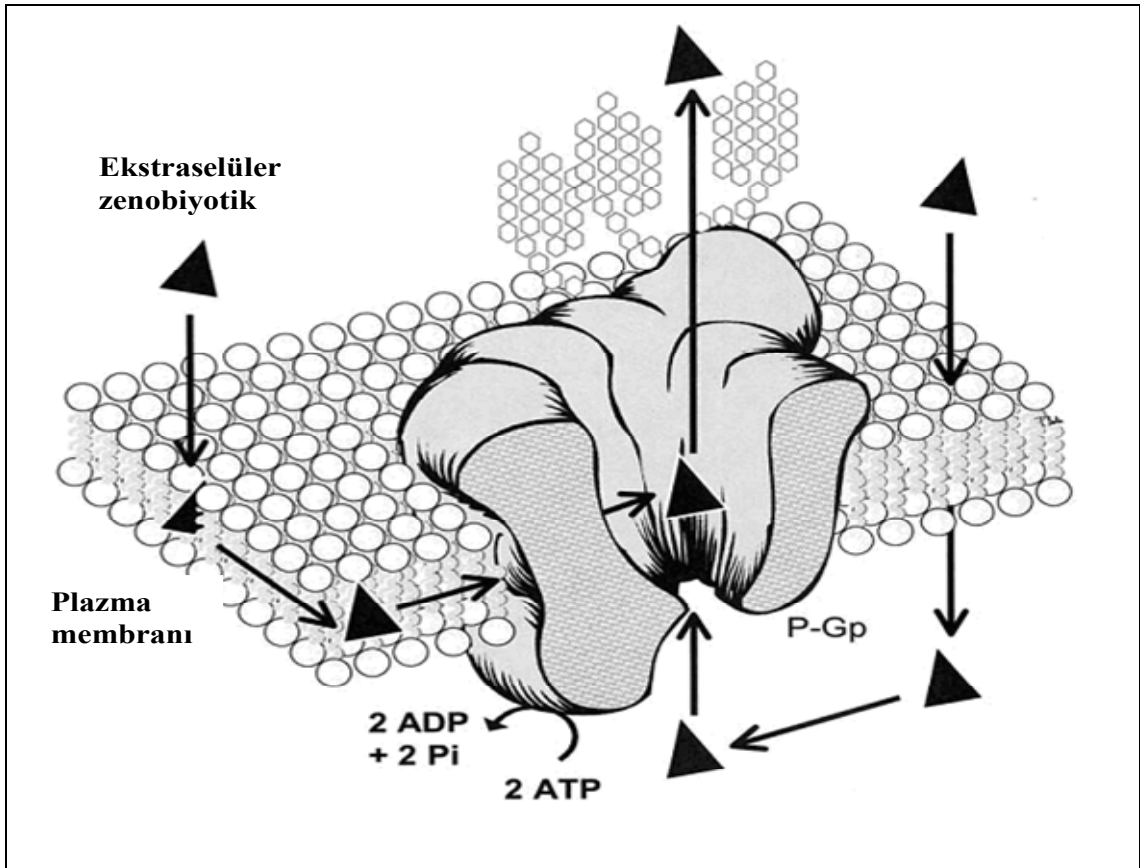
ABC taşıyıcı proteinlerinin fonksiyonel bir birimi tipik olarak iki sitoplazmik ATP bağlayan domain (NBD, nucleotid-binding domain) ve membran çift tabakasının içine gömülmüş iki transmembranal domainden (TMD) oluşmaktadır. NBD'ler, ABC taşıyıcı familyasına karakteristik özelliğini veren ve ATP bağlanması ve hidrolizi için gerekli olan Walker A, Signature C ve Walker B motifleri olarak adlandırılan oldukça korunumlu aminoasit dizileri içermektedir. Her bir TMD ise genel olarak birbirlerine ekstra- ve intraselüler kıvrımlarla bağlanmış altı transmembranal segmentten oluşmaktadır. İki adet TMD ve NBD içeren ABC proteinleri tam taşıyıcılar olarak adlandırılırken (P-gp, ABCB1), birer adet TMD ve NBD içerenlere yarım taşıyıcılar (BCRP, ABCG2) denilmektedir. Yarım taşıyıcıların taşıma fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için homodimer veya heterodimer oluşturmaları gerekir. Bazı ABC proteinlerinde ise 5 adet transmembranal segment içeren ilave bir TMD bulunmaktadır (MRP1, ABCC1) (Şekil 2-1) (Dean ve ark. 2001; Loo ve Clarke 2008; Rees ve ark. 2009).



**Şekil 2-1: ABC familyasına ait bazı taşıyıcı proteinlerin moleküler yapısı – Loo ve Clarke (2008)'den değiştirilerek**

ABC taşıyıcılarının sitoplazmik NBD'leri, ATP bağlanması ve hidrolizini sağlayarak substrat moleküllerinin konsantrasyon gradiyentine karşı membranın diğer tarafına taşınabilmesi için gerekli enerjiyi sağlarken, TMD'ler yapısal olarak farklı çeşitli substratları bağlayarak ATP bağlanması sonucu transmembranal segmentlerde oluşan konformasyonel değişiklik sayesinde substratların membranın diğer tarafına geçiş yolunu oluştururlar. Yapısal analizler, taşıyıcı molekülün transmembranal heliksleri tarafından membran içinde geniş bir cep oluşturulduğunu ortaya koymuştur. Bu cep, membranın içine doğru substratların cebin içine girebileceği iki lateral açıklığa sahiptir. Genel olarak kabul edilen modele göre ilaçlar sitozolden veya çift tabakalı membranın sitoplazmik yaprağından taşıyıcının yüksek afiniteli bağlanma bölgesine girer ve bağlanır. Taşıyıcının intraselüler nükleotid bağlayıcı domainlerine ATP bağlanması ile oluşan güçlü konformasyonel değişiklik sonucunda lateral açıklıklar kapanır ve ilaç bağlayıcı ceplerin ilaca afinitesi azalarak ilacın ekstraselüler ortama atılmasına yol açar. ATP hidrolizini takiben taşıyıcı molekül substratlara yüksek afinite

gösteren başlangıçtaki orijinal konformasyonunu yeniden oluşturur (Loo ve Clarke 2008; Stavrovskaya ve Stromskaya 2008; Seeger ve van Veen 2009). ABC taşıyıcı proteinlerinden üzerinde en çok çalışılan protein olan P-gp'nin efluks fonksiyonu Şekil 2-2'de gösterilmiştir.



Şekil 2-2: ABC taşıyıcı proteinlerinden P-gp'nin efluks fonksiyonu – Marzolini ve ark. (2004)' ten değiştirilerek

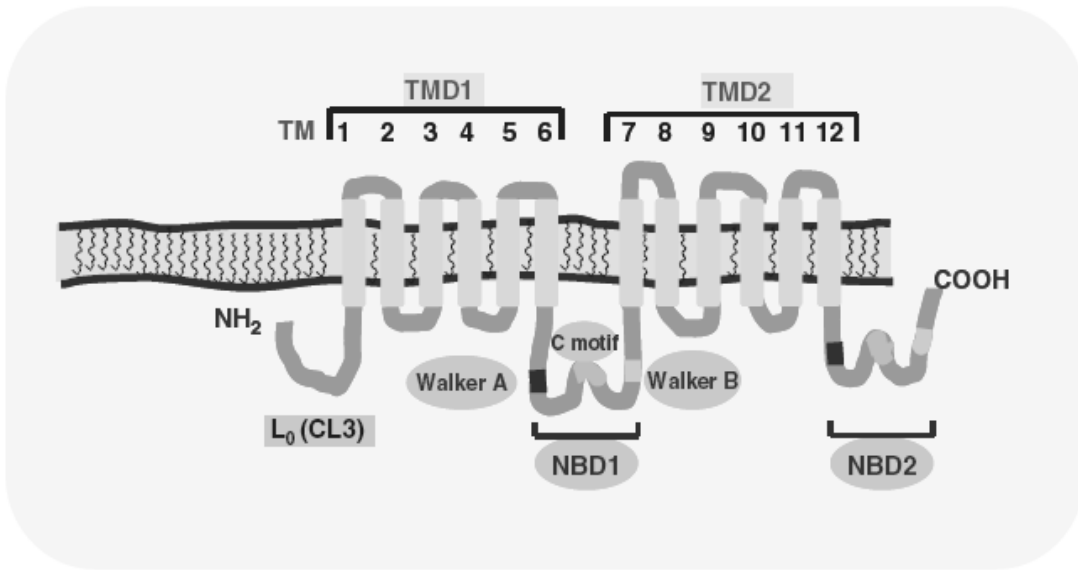


## 2.2. P-glikoprotein (P-gp, ABCB1, MDR1)

### 2.2.1. P-gp'nin Moleküler Yapısı

ABC üst familyasının ilk keşfedilen üyesi olan P-gp, ATP hidrolizine bağımlı olarak çalışan ve efluks pompası işlevi gören bir membran proteindir. ABC familyasının ABCB1 alt familyasına ait olan P-gp insanlarda 7q21.1 kromozomda yer alan MDR1/ABCB1 geni tarafından kodlanmaktadır ve klonlanan ilk ABC taşıyıcısıdır. P-gp, özellikle tümör hücrelerinde kemoterapi ilaçlarına karşı gelişen çoklu ilaç rezistansı ve ilaç farmakokinetiğindeki önemli rolünden dolayı ABC üst familyasının üzerinde en çok çalışılan ve en iyi karakterize edilen proteindir (Lin ve Yamazaki 2003; Varma ve ark. 2003; Marzolini ve ark. 2004; DuBuske 2005). P-gp (MDR1), ilk defa 1976 yılında Juliano ve Ling tarafından, kolşisine dirençli Çin hamsteri yumurtalık hücrelerinde aşırı eksprese edilen ve yapısal olarak farklı ilaçlara karşı direnç gösteren bir yüzey glikoproteini olarak tanımlanmıştır. Bu glikoprotein yapısal olarak birbiriyle ilişkili olmayan çeşitli ilaca karşı membran permeabilitesini modüle edici etkisinden dolayı "Permeability" kelimesinin baş harfi olan "P" harfi ile adlandırılmıştır (Juliano ve Ling 1976; Takano ve ark. 2006).

P-gp 1280 amino asitin birleşmesinden oluşur ve molekül ağırlığı 170 kilodalton'dur. Tek bir polipeptid zinciri üzerinde, eşit uzunlukta iki homolog bölümden membrana bağlıdır. Molekül altışar transmembranal segment içeren iki TMD ve iki NBD'den oluşmaktadır. NH<sub>2</sub>- ve COOH- terminali ve NBD'ler intraselüler olarak yerleşmiştir. Her bir NBD, Walker A ve B motifleri ile Signature C motifini içermektedir. Bu motifler nükleotidlerin direkt olarak bağlanmasında ve hidrolizinde rol oynamaktadır. İlk ekstraselüler kıvrım N-glikozillenmiştir. Oldukça hidrofobik olan transmembranal segmentler, substratların bağlanmasında ve atılmasında görev yaparken, son derece korunumlu bölgeler olan ATP bağlayan domainler, ATP hidrolizi ile substratların aktif olarak taşınması için gerekli enerjiyi sağlarlar. P-gp üzerinde yapılan in vitro çalışmalar glikozilasyonun ATPaz aktivitesi ve transport fonksiyonunu etkilemediğini göstermiştir (Schinkel ve Jonker 2003; Varma ve ark. 2003; DuBuske 2005; Zhou 2008; del Amo ve ark. 2009). P-gp'nin moleküler yapısı Şekil 2-3'te gösterilmiştir.



Şekil 2-3: P-gp'nin moleküler yapısı – Zhou (2008)'den

### 2.2.2. P-gp İzofomları

İnsanlarda P-gp gen ailesinin iki üyesi (MDR1 ve MDR3); fare ve sıçanlarda ise bu ailenin üç üyesi (mdr1a, mdr1b ve mdr2) bulunmaktadır. Fare ve sıçanlardaki mdr1a ve mdr1b birlikte insandaki MDR1'in görevini üstlenmektedir. İnsanda MDR1 geni, fare ve sıçanlarda ise mdr1a ve mdr1b genleri tarafından kodlanan P-gp, ilaçların hücre dışına atılmasından ve çoklu ilaç rezistansından sorumlu iken; insan MDR3 geni ile fare ve sıçanlarda mdr2 geni tarafından kodlanan P-gp'ler hepatositlerin kanaliküler plazma membranlarında lokalize olarak safraya fosfolipid transportunda görev almaktadırlar (Zhang ve Benet 2001; Lin ve Yamazaki 2003; Klaassen ve Aleksunes 2010). MDR3'ün fosfolipidlere ek olarak digoksin, paklitaksel ve vinblastin gibi çeşitli ilaçların transportunda görev aldığı, MDR3 transfer edilmiş hücrelerde yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Lin ve Yamazaki 2003). İnsan MDR1 ile fare mdr1a arasında %82 ve insan MDR1 ile fare mdr1b arasında %79 homoloji bulunmaktadır (del Amo ve ark. 2009). İnsanlarda ve rodentlerde eksprese edilen P-gp izoformları Tablo 2-2'de verilmiştir.

**Tablo 2-2: İnsanlarda ve rodentlerde P-gp izoformları – Zhang ve Benet (2001)'den değiştirilerek**

Organizma	İlaç taşıyıcı protein	Fosfolipid taşıyıcı protein
İnsan	MDR1	MDR2 (MDR3)
Fare	mdr1a, mdr1b	mdr2
Sıçan	mdr1a, mdr1b	mdr2
Hamster	P-gp 1, P-gp 2	P-gp 3

### 2.2.3. P-gp'nin Dokulardaki Ekspresyonu ve Fonksiyonu

Monoklonal antikor kullanılarak gerçekleştirilen immünohistokimyasal analizler P-gp'nin, tümör hücrelerindeki ekspresyonunun yanı sıra, sağlıklı insan dokularında da büyük ölçüde eksprese edildiğini göstermiştir. İnsanlarda bu taşıyıcı, karaciğerde hepatositlerin kanaliküler yüzeyinde, böbreklerde proksimal tübüllerin epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde, ince bağırsakların ve kolonun silindirik epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde eksprese edilmektedir. P-gp ayrıca, beyin, periferik sinirler ve testislerde kapiller endotel hücrelerinin luminal yüzeyinde, koroid pleksus epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde, plasentanın epitel hücrelerinin (sinsitiotrofoblast) apikal yüzeyinde eksprese edilerek kan-beyin ve kan-serebrospinal sıvı, kan-testis ve kan-plasenta gibi çeşitli kan-doku bariyerlerini oluşturmaktadır (Fromm 2002; Lin ve Yamazaki 2003; Balayssac ve ark. 2005). P-gp'nin dokulardaki lokalizasyonu ve fonksiyonu Tablo 2-3'te verilmiştir.

Yapılan çalışmalar, P-gp'nin pankreasın kanalcık hücrelerinde, adrenal medulla ve korteksin yüzeyel hücrelerinde, kalp, hematopoietik stem hücreleri, doğal öldürücü hücreler (natural killer cells), antijen sunan dentritik hücreler, T ve B lenfositleri ile retina, deri, özofagus, mide, iskelet kası gibi çeşitli hücre ve dokularda da eksprese edildiğini göstermiştir (Johnstone ve ark. 2000; Fromm 2002; Takano ve ark. 2006).

**Tablo 2-3: P-gp'nin dokulardaki ekspresyonu ve fonksiyonu – Fromm (2002) ve Takano (2006)'dan**

<b>Doku</b>	<b>Lokalizasyon</b>	<b>Fonksiyon</b>
İnce bağırsaklar ve kolon	Epitel hücrelerin apikal membranı	İlaçların bağırsak lümenine sekresyonu
Karaciğer	Hepatositlerin kanaliküler membranı	İlaçların safraya sekresyonu
Böbrek	Proksimal tübüllerin epitel hücrelerinin apikal membranı	İlaçların tübül lümenine sekresyonu
Santral sinir sistemi	Kapiller endotel hücrelerinin luminal membranı	Santral sinir sistemini zenobiyotiklere karşı koruma
Testis	Kapiller kan damarlarının endotel hücreleri	Kan-testis bariyeri
Plasenta	Trofoblastlar	Fetüsü zenobiyotiklere karşı koruma
Göz	Retinal kapiller endotel hücreleri, konjonktiva epitel hücreleri, iris ve siliyer kas hücreleri	Kan-oküler bariyer

P-gp'nin anatomik lokalizasyonu ve efluks fonksiyonu göz önüne alındığında ilaçların farmakokinetiği üzerinde 3 farklı yolla etkili olduğu görülmektedir (Fromm 2004; Marchetti ve ark. 2007; Padowski ve Pollack 2010):

1) Gastrointestinal kanalda enterositlerin apikal (luminal) membranında eksprese olan P-gp, oral yoldan alınan substratlarının enterositlere alınmasını sınırlandırarak absorpsiyonlarını ve dolayısıyla oral biyoyararlanımlarını etkileyebilir. Ayrıca intestinal sekresyonla kandan bağırsak lümenine atılmalarını kolaylaştırarak intestinal atılımlarını artırabilir.

2) Böbreklerde proksimal tübül hücrelerinin apikal membranında ve karaciğerde hepatositlerin kanaliküler membranında eksprese edilen P-gp, kan dolaşımına geçen ilaçların sırasıyla idrar ve safra ile atılımlarını hızlandırarak ilaç eliminasyonuna ve detoksifikasyona katkıda bulunabilir.

3) Beyin, plasenta, testis, lenfosit gibi dokularda lokalize olan P-gp, çeşitli kan-doku bariyerini oluşturarak ilaçların duyarlı doku ve hücrelere penetrasyonlarını sınırlandırabilir ve bu hücrelerdeki akümülyasyonlarını önleyebilir. P-gp, bu hassas dokuları zararlı maddelere karşı doğal koruma fonksiyonunu gerçekleştirirken, bir taraftan da ilaç dağılımını etkileyerek özellikle bazı ilaçların (antipsikotik ilaçlar, HIV proteaz inhibitörleri, antineoplastik ilaçlar) terapötik etkilerini göstermelerine engel olabilir.

P-gp, ilaçları ve diğer xenobiyotikleri vücuttan uzaklaştırarak doğal bir savunma mekanizması işlevi görmesinin yanı sıra hormonlar ve fosfolipidler gibi endojen moleküllerin transportunda ve regülasyonunda da görev almaktadır (Balayssac ve ark. 2005).

#### 2.2.4. P-gp'nin Fizyolojik Öneminin Araştırılmasında mdr1 – Knockout Fareler

P-gp geni etkisizleştirilmiş transgenik farelerin (mdr1 knockout mice) geliştirilmesi, P-gp'nin fizyolojik öneminin araştırılmasında kilometre taşı olmuştur. P-gp ekspresyonunun bulunmadığı transgenik farelerde yapılan çalışmalarda 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 farelerin bazı toksik maddelere karşı, normal farelere göre çok daha duyarlı olduğu da açıktır (Schinkel 1997; Xie ve ark. 2004; Stanley ve ark. 2009).

Schinkel ve arkadaşları tarafından yapılan bir toksisite çalışmasında mdr1a<sup>(-/-)</sup> farelerin, oral yoldan uygulanan, antihelmintik ilaç ivermektinin nörotoksik etkilerine karşı normal farelere göre 50 – 100 kat daha hassas oldukları gözlenmiştir. Oral ivermektin uygulanmasından bir gün sonra mdr1a<sup>(-/-)</sup> farelerin plazmalarında ivermektin düzeyleri normal farelere göre 3 kat daha fazla bulunurken; beyindeki düzeyleri 90 kat artmıştır. Beyinde ivermektinin aşırı birikmesi nörotoksisiteye yol açarak farelerin felç yüzünden ölümleriyle sonuçlanmıştır (Schinkel 1997). Sonuç olarak, mdr1a<sup>(-/-)</sup>, mdr1b<sup>(-/-)</sup> ve mdr1a/1b<sup>(-/-)</sup> knockout farelerde P-gp ekspresyonunun olmaması; P-gp substratlarının eliminasyonlarının azalmasına, beyine penetrasyonlarının artmasına ve vücutta birikmelerine yol açabilmektedir (Zhang ve Benet 2001).

Farelerde bulunan üç izoformun (mdr1a, mdr1b ve mdr2) dokulardaki dağılımları aşağıdaki gibidir: (Stanley ve ark. 2009).

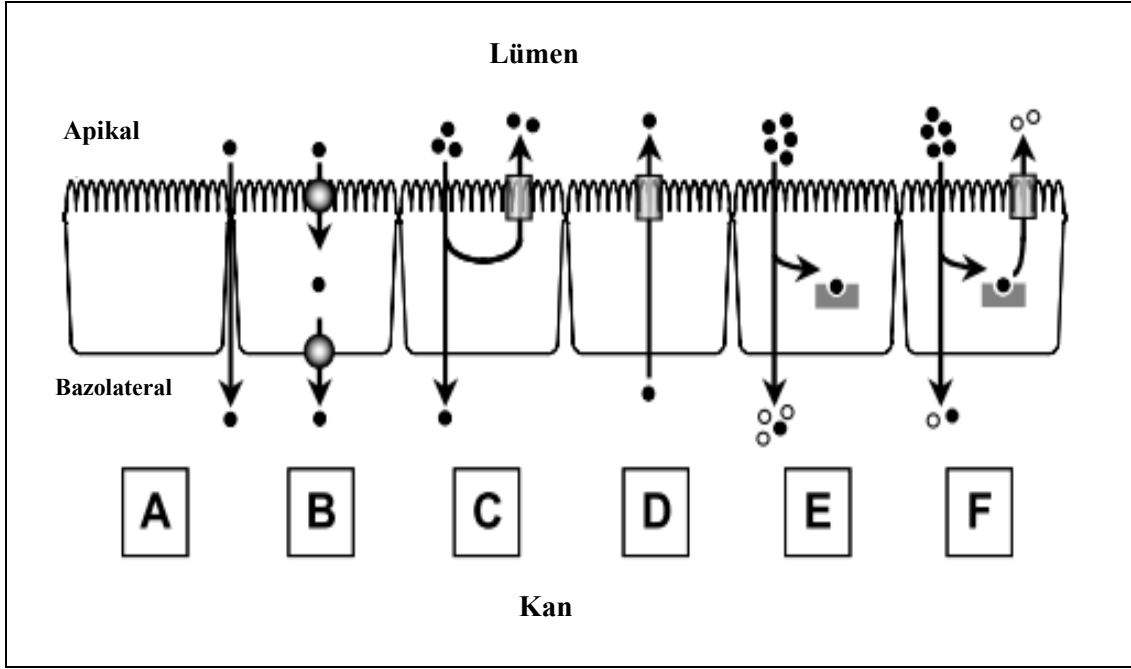
- mdr1a: Bağırsak, beyin, kalp, akciğer ve böbreklerde yüksek düzeylerde; karaciğer ve dalakta daha düşük düzeylerde bulunur.
- mdr1b: Gebe uterusunda ve adrenal bezde en yüksek, böbrek ve kalpte orta düzeylerde bulunur. Ayrıca kas, beyin, karaciğer, dalak ve akciğerde eksprese edilir.
- mdr2: Karaciğer, kas ve dalakta ve daha düşük düzeyde olmak üzere kalp ve adrenal bezde eksprese edilir.

## 2.3. P-gp'nin İlaç Farmakokinetiğindeki Rolü

### 2.3.1. İlaç Absorpsiyonundaki Rolü

İlaçların hedef bölgelerine ulaşabilmeleri için çeşitli biyolojik bariyerleri aşmaları gerekir. Oral yoldan kullanılan ilaçların kan dolaşımına ve oradan da etkili oldukları bölgelere ulaşabilmeleri için geçmeleri gereken ilk büyük engel bağırsak epitelidir. Bağırsak duvarı, dıştan içe doğru seroza, kas tabakası, submukoza ve mukoza tabakalarından oluşur. Bağırsak dokusunun lümene bakan yüzeyinde yer alan mukoza tabakası apikal membran olarak adlandırılırken, kılcak kan damarlarının bulunduğu submukoza tabakasına bazolateral membran adı verilir. İlaçların absorpsiyonu apikal membrandan bazolateral membrana doğru ( $A \rightarrow B$ ) iken, kandan bağırsak lümenine sekresyon (intestinal sekresyon) bazolateralden apikal membrana doğru ( $B \rightarrow A$ ) gerçekleşir (Lin, Chiba ve Baillie 1999; Chan ve ark. 2004).

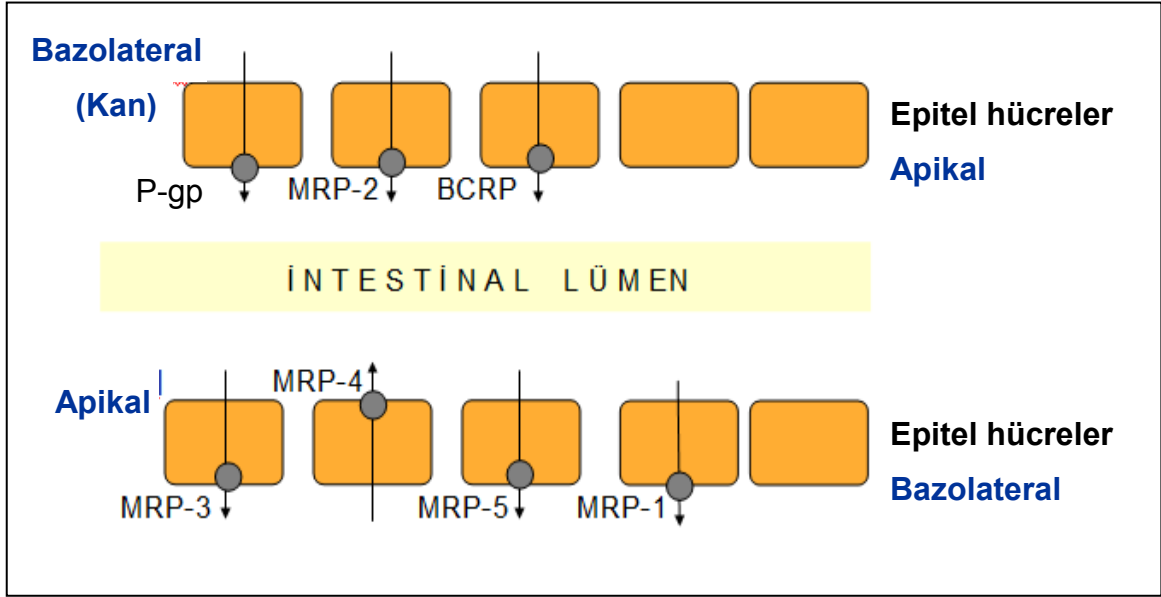
Bileşikler intestinal epitel paraselüler ve transselüler olmak üzere iki şekilde geçebilirler. İntestinal epitel çeşitli yapıdaki ilaçların kana geçişlerine karşı seçici bir bariyer oluşturur. İlaçların paraselüler yol aracılığıyla absorpsiyonları hücreler arası sıkı kavşaklar tarafından sınırlandırılır (Şekil 2-4A). Apikal ve/veya bazolateral membranlardaki taşıyıcı-aracılı mekanizmalar bazı ilaçların transselüler absorpsiyonlarını kolaylaştırabilir (Şekil 2-4B). Bağırsak epitel hücrelerinin apikal membranında bulunan P-gp gibi efluks taşıyıcıları ilaçları intestinal lümene aktif bir şekilde geri atarak kana geçişlerini sınırlandırabilirler (Şekil 2-4C). Apikal efluks taşıyıcıları ayrıca kana geçmiş olan ilaçların aktif olarak intestinal lümene geri salgılanmalarını sağlayarak intestinal atılımlarını kolaylaştırabilirler (Şekil 2-4D). İntestinal metabolize edici enzimler ilaçları kana geçmeden önce metabolize edebilirler (Şekil 2-4E). Apikal efluks taşıyıcıları ve intraselüler metabolize edici enzimler işbirliği içinde çalışarak intestinal absorpsiyona karşı etkili bir bariyer oluştururlar. İntestinal enzimler tarafından metabolize edilen ilaçların metabolitleri aynı zamanda efluks taşıyıcıları için substrat olabilir (Şekil 2-4F) (Chan ve ark. 2004).



**Şekil 2-4: İlaçların bağırsak membranından geçiş mekanizmaları – Chan ve ark. (2004)'ten değiştirilerek**

Bir transmembranal efluks taşıyıcısı olan P-gp, gastrointestinal kanalda, özellikle kolon ve ileumda, kolumnar (silindirik) epitel hücrelerinin apikal membranında (fırça kenarlı membran) yüksek miktarda eksprese edilmektedir. P-gp ekspresyonu jejunum, duodenum ve mideye doğru giderek azalmaktadır. P-gp ekspresyonunun duodenumdan kolona doğru arttığı rodentlerde ve insanlarda yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. P-gp yapısal ve farmakolojik olarak birbiriyle ilişkili olmayan, nötral veya pozitif yüklü çok çeşitli hidrofobik bileşiği taşıyabilmektedir (Chan ve ark. 2004; Takano ve ark. 2006). P-gp, substratı olan ilaçların enterositlerin içine alınmasını kısıtlayarak emilimlerini azaltırken, enterositlerden dışarıya atılmalarını da kolaylaştırarak hücrel akümülyasyonlarını önlemektedir. Bu şekilde substrat ilaçların oral biyoyararlanımları ve intestinal klerensleri üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Takano ve ark. 2006; del Amo ve ark. 2009). İnce bağırsak epitel hücrelerinde ABC familyasına dahil olan P-gp'nin ve diğer taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu Şekil 2-5'te gösterilmiştir.





**Şekil 2-5: İnce bağırsak epitel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC taşıyıcı proteinlerinin lokalizasyonu**

İntestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonunu etkilediğine dair ilk kanıtlar in vitro şartlarda P-gp'yi yüksek oranda eksprese eden Caco-2 hücrelerinde (insan kolon adenokarsinom hücreleri) yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Caco-2 hücrelerinde vinblastin ve dosetakselin B→A (bazal → apikal) yönünde gerçekleşen transportu A→B (apikal → bazal) yönünde gerçekleşen transportuna göre sırasıyla 10 ve 20 kat fazla bulunmuştur. Ortama P-gp inhibitörleri olan verapamil ve MRK 16'nın eklenmesi transport fonksiyonunu A→B yönünde önemli ölçüde artırmıştır (Lin ve Yamazaki 2003). Aynı hücre serileriyle yapılan bir başka çalışmada bir P-gp substratı olan siklosporinin B→A yönünde gerçekleşen transportu başlangıçta A→B yönünde gerçekleşen transportuna göre daha yüksek değerlerde iken ortama P-gp inhibitörleri olan progesteron ve klorpromazin eklenmesinden sonra siklosporinin A→B yönünde gerçekleşen transportu B→A yönünde gerçekleşen transportuna göre anlamlı olarak artmıştır. Ayrıca Caco-2 hücrelerinde yapılan çalışmalarda peptidlerin B→A yönünde gerçekleşen transportlarının verapamil uygulamasıyla inhibe edilmesi, P-gp'nin peptidlerin absorpsiyonunda önemli rol oynadığını göstermiştir. İn vitro çalışmalardan elde edilen bu bulgular P-gp'nin intestinal lümeninde ilaçların emilimini önemli ölçüde etkileyebileceğini göstermektedir (Lin ve Yamazaki 2003).

İntestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonundaki rolü ile ilgili direkt kanıtlar  $mdr1a^{(-/-)}$  knockout farelerin kullanıldığı in vivo çalışmalardan elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada paklitakselin oral absorpsiyonu,  $mdr1a^{(-/-)}$  ve  $mdr1a^{(+/+)}$  farelerde incelenmiştir. Paklitakselin intravenöz ve oral uygulanmasından sonra ölçülen plazma AUC değerleri  $mdr1a^{(-/-)}$  farelerde,  $mdr1a^{(+/+)}$  farelere göre sırasıyla 2 ve 6 kat yüksek bulunmuştur. Paklitakselin oral biyoyararlanımı  $mdr1a^{(+/+)}$  farelerde %11 iken  $mdr1a^{(-/-)}$  farelerde %35 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca paklitakselin intravenöz uygulanmasından sonra kan dolaşımından intestinal lümeneye salgılanan miktarı  $mdr1a^{(+/+)}$  farelerde,  $mdr1a^{(-/-)}$  farelere göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur.  $mdr1a^{(-/-)}$  farelerde, intravenöz uygulama sonrasında,  $mdr1a^{(+/+)}$  farelere göre paklitakselin plazma düzeylerindeki artışı, eliminasyondaki azalmayı gösterirken, oral yoldan uygulanan paklitakselin plazma düzeylerindeki artışı hem eliminasyondaki azalmayı hem de intestinal lümeneden absorpsiyon derecesindeki artışı yansıtmaktadır. Bu in vivo çalışma intestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonu ve intestinal sekresyondaki rolünü açık bir şekilde ortaya koymaktadır. İntestinal P-gp'nin ilaç absorpsiyonundaki rolü digoksin ile yapılan klinik bir çalışmayla da desteklenmiştir. Duodenal P-gp ekspresyonu ile digoksinin plazma düzeyleri arasında negatif bir korelasyon görülmüştür (Lin ve Yamazaki 2003).

Bir çalışmada, safra akımı engellenen  $mdr1a^{(+/+)}$  ve  $mdr1a^{(-/-)}$  farelere i.v. yoldan uygulanan digoksin dozunun intestinal lümeneye atılan miktarları 90 dakika süreyle izlenmiş ve sırasıyla %16 ve %2 olarak tespit edilmiştir (Lin ve Yamazaki 2003). Bir klinik çalışmada ise intravenöz yoldan uygulanan talinololün lümeneye sekrete edildiği ve bu sekresyonun iyi bilinen bir P-gp inhibitörü olan verapamil tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (Gramatte ve Oertel 1999). Sıçanlara hem intravenöz hem de oral yoldan, talinolol ve verapamilin birlikte uygulandığı bir prelinik çalışmada; P-gp inhibitörü verapamilin, model bir P-gp substratı olan talinololün AUC ve  $C_{max}$  değerlerini belirgin bir şekilde arttırdığı görülmüştür (Spahn-Langguth ve ark. 1998). İn vitro çalışmalar ile in vivo prelinik ve klinik çalışmalardan elde edilen bu bulgular P-gp'nin, oral yoldan alınan substrat ilaçların bağırsak lümeninden absorpsiyonlarını sınırlandırarak oral biyoyararlanımlarında ve ayrıca kandan bağırsak lümenine geri salgılanmalarını sağlayarak intestinal eliminasyonlarında önemli rol oynadığını göstermektedir.

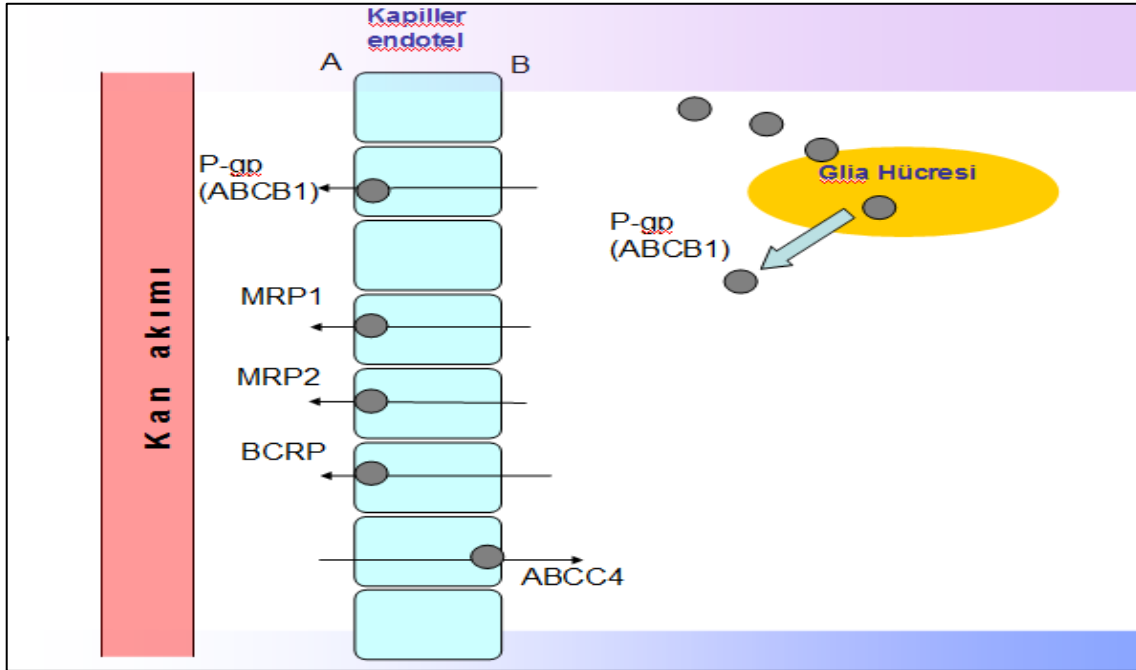
### 2.3.2. İlaç Dağılımındaki Rolü

#### 2.3.2.1. Kan – Beyin Bariyeri

Beyin kapillerlerinin permeabilitesi diğer dokulardakilerden farklılık göstermektedir ve yapısal özellikleri nedeniyle çeşitli ilaçlara ve toksik bileşiklere karşı kan-beyin bariyerini oluşturmaktadır. İlaçların ve çeşitli toksik bileşiklerin santral sinir sistemi kapillerlerinden beyin ve omurilik dokusuna girişlerini engelleyen yapısal özellikleri şunlardır: I) Beyin kapiller endotel hücreleri arasında diğer yerlerdeki kapillerlerden farklı olarak sıkı kavşaklar (tight junction) bulunmaktadır, aralık veya por bulunmamaktadır. II) Beyin kapillerleri vücudun diğer yerlerindeki kapillerlerden farklı olarak tek sıra astrosit hücrelerinden oluşan glia tabakası ile sarılmışlardır ve bu hücreler birbirlerine sıkı bir şekilde kenetlenmiştir. III) Beyin kapiller endotel hücrelerinin lümenine bakan membranında, endotel hücresine geçen ilaçları kapiller içine geri pompalayan P-gp ve benzeri proteinlerden oluşan bir dışa atım (efluks) transportör protein sistemi bulunmaktadır (Kayaalp 2009 p. 35).

Beyin kapiller endotel hücrelerinin arasındaki sıkı kavşaklar nedeniyle ilaçların endotel hücrelerinin arasından (sulu fazdan, paraselüler) geçişlerine pek olanak yoktur. Sadece lipofilik ilaçlar endotel hücrelerinin içinden (transselüler) geçerek beyin dokusuna ve BOS'a (beyin-omurilik sıvısı) ulaşabilir. İlaçların beyine penetrasyonlarında lipofilité önemli bir faktör olmasına rağmen pek çok lipofilik ilacın (vinkristin, epipodofilotoksin vb.) beyne penetrasyonu zayıftır (Lin ve Yamazaki 2003; Urquhart ve Kim 2009). Monoklonal antikor kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda P-gp'nin beyin kapiller endotel hücrelerinin apikal yüzeyinde ve ayrıca BOS'u üreten sıkı kavşaklı koroid pleksus epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir (Fromm 2002; Urquhart ve Kim 2009). Bu bulgulara göre yağda çözünürlüğü yüksek bazı ilaçların beyine düşük oranda geçmelerinin, P-gp'nin efluks fonksiyonundan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Bu dokularda eksprese olan P-gp kan-beyin ve kan-serebrospinal sıvı bariyerini oluşturarak ilaçların beyin ve omurilik dokusu ile BOS'a geçmelerini engellemek ve geçmiş olanları kana geri atmak suretiyle ilaçların dağılımında önemli rol oynamaktadır (Lin ve Yamazaki 2003; Fromm 2004). Beyin kapiller endotel hücrelerinde P-gp ve

diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları Şekil 2-6'da gösterilmiştir.



**Şekil 2-6: Beyin kapiller endotel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları**

Transgenik fareler ile yapılan çalışmalarda, kan-beyin bariyerindeki P-gp'nin, kardiyovasküler ilaçlar (digoksin, kinidin), opioidler (morfin, loperamid, metadon), HIV proteaz inhibitörleri, ikinci kuşak antimistaminikler, bazı antidepresan ilaçlar ve antipsikotikler gibi çeşitli farmakolojik gruptaki ilacın beyine girişlerinin engellenmesinde önemli rol oynadığı görülmüştür. P-gp substratlarının beyindeki düzeyleri  $mdr1a^{(-/-)}$  knockout farelerde normal farelere göre daha yüksektir. Bu farelerde P-gp eksikliği substrat ilaçların farmakolojik ve toksik etkilerini artırabilmektedir.  $Mdr1a/1b^{(-/-)}$  fareler asimadolinin sedatif etkilerine ve ivermektinin nörotoksik etkilerine karşı normal farelere göre, sırasıyla 8 ve 100 kat daha duyarlıdır (Balayssac ve ark. 2005; Linnet ve Ejsing 2008). İkinci kuşak antihistaminikler (örn. feksofenadin, setirizin) P-gp için substrat iken, birinci kuşak antihistaminiklerin P-gp substratı olmaması, ikinci kuşak antihistaminiklerin niçin sedatif etkilerinin olmadığını kısmen açıklayabilmektedir (Chishty ve ark. 2001). Antipsikotik bir ilaç olan risperidonun P-gp

knockout farelerde, kontrol grubu farelerine göre 10 kat daha fazla beyin dokusuna geçtiği görülmüştür. Psikiyatride politerapinin oldukça yaygın olduğu göz önünde bulundurulduğunda, kan-beyin bariyerindeki P-gp ile ilişkili ilaç-ilaç etkileşmelerinin oluşma riskine karşı dikkatli olunmalıdır (Linnet ve Ejsing 2008).

Yapılan *in vivo* çalışmalar P-gp tarafından dağılımları sınırlandırılan ilaçların beyin dokusundaki düzeylerinin bazı ilaçlar tarafından modifiye edilebileceğini göstermiştir. Örneğin bir P-gp substratı olan domperidonun santral sinir sistemine penetrasyonu ve dolayısıyla nörolojik yan etkileri P-gp tarafından sınırlandırılmaktadır. Domperidonun sıçanlara bir P-gp inhibitörü olan verapamil ile birlikte uygulanması domperidonun beyin dokusundaki dağılımını artırabilmektedir (Dan ve ark. 2002). Verapamil ve PSC 833 (valsopodar); karbamazepin, fenitoin, fenobarbital, lamotrijin ve felbamat gibi antiepileptik ilaçların beyin dokusundaki konsantrasyonlarını artırabilmektedir. Amprenavir, indinavir ve sakonavir gibi proteaz inhibitörlerinin beyin dokusundaki düzeyleri birlikte kullanılan P-gp modülatörleri tarafından artırılmaktadır (Balayssac ve ark. 2005). Bir klinik çalışmada, antidiyareik etkileri için kullanılan opioid ilaç loperamid ile bir P-gp inhibitörü olan kinidin arasında oluşan ilaç etkileşmesi sonucu opioidlerin klasik advers etkisi olan solunum depresyonu görülürken, loperamidin aynı dozu tek başına verildiğinde hastaların solunum fonksiyonlarında herhangi bir etki gözlenmemiştir (Sadeque ve ark. 2000). Bu bulgulara göre, kan-beyin bariyerini oluşturan P-gp'nin bazı bileşiklerin serebral dağılımlarında önemli rol oynadığı açıktır. Ayrıca bu yapılardaki P-gp aktivitesinin değişimi ilaç dağılımını değiştirerek ilaca maruziyetin artması sonucu spesifik doku toksisitesine neden olabilmektedir (Balayssac ve ark. 2005; Linnet ve Ejsing 2008).

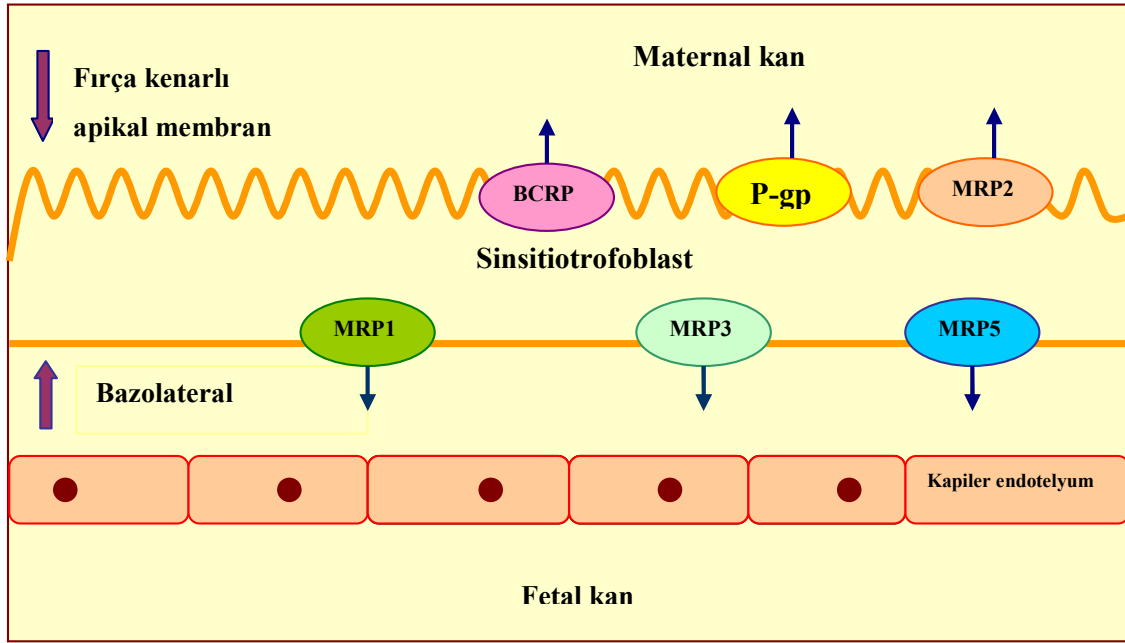
### **2.3.2.2. Plasenta**

Plasental P-gp ekspresyonu hem gen hem de protein düzeyinde ve gebeliğin tüm fazlarında çeşitli deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. P-gp, plasentada sinsitiotrofoblast hücrelerinin fırça kenarlı membranında (apikal yüzeyde, anne kanına bakan yüzeyde) lokalize olmuştur. Plasental fetal kapillerlerin endotel hücrelerinde P-gp'nin eksprese

edilmediği gösterilmiştir. Trofoblastlar anne ve fetüs kan dolaşimleri arasında fonksiyonel bir bariyer oluşturur. Trofoblastlarda eksprese edilen P-gp aktif bir şekilde zenobiyotikleri trofoblastlardan maternal dolaşıma geri pompalayarak, çeşitli ilaç ve toksik bileşiklerin fetüste birikmesine engel olur ve geliştirmekte olan fetüsü gebeliğin erken döneminden sonuna kadar ilaçların ve zenobiyotiklerin toksik etkilerine karşı korur (Ceckova-Novotna ve ark. 2006; Weier ve ark. 2008; Vahakangas ve Myllynen 2009).

Yapılan çalışmalar P-gp'nin plasentadaki trofoblastlarda ağırlıklı olarak hamileliğin ilk trimesterinde eksprese edildiğini, hamileliğin sonraki dönemlerine doğru giderek azaldığını göstermiştir (Mathias ve ark. 2005). Bir başka çalışmada hamileliğin 13-14. haftalarında ölçülen plasentadaki P-gp ekspresyon düzeylerinin hamileliğin tüm dönemlerindeki P-gp düzeylerinden iki kat fazla olduğu görülmüştür (Ceckova-Novotna ve ark. 2006). Bu bulgular P-gp ekspresyonunun, fetüsün gelişim evrelerinin kontrolü altında olduğunu göstermektedir. P-gp ekspresyonunun hamileliğin ilk trimesterinde yüksek olması, P-gp için substrat olan ilaçların; zenobiyotiklerin zararlı etkilerine karşı daha hassas olan erken dönemdeki fetüse ulaşmasını engellemektedir. Hamilelik boyunca P-gp ekspresyonundaki değişikliklere bağlı olarak fetüsün zenobiyotiklere maruz kalma riski de değişmektedir (Weier ve ark. 2008).

Plasental P-gp'nin fetüsü zenobiyotiklere karşı korumadaki rolü transgenik farelerde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalarda ivermektin, digoksin, sakinavir ve paklitakselin fetüse geçen miktarlarının normal farelere oranla 10-20 kat fazla olduğu ve artan ivermektin penetrasyonunun fetüste doğumsal defektlere yol açtığı görülmüştür (Schinkel ve Jonker 2003; Balayssac 2005). P-gp'nin insan plasentasındaki fonksiyonu, yüksek miktarda P-gp eksprese eden insan plasmanta koryokarsinoma epitel hücre kültürleri kullanılarak in vitro koşullarda incelenmiştir. Vinblastin, vinkristin ve digoksinin B→A yönünde gerçekleşen transportunun, A→B yönünde gerçekleşen transportuna göre önemli ölçüde yüksek olduğu görülmüştür. Ortama P-gp inhibitörü siklosporin A'nın eklenmesi, bu ilaçların A→B transportunu artırırken, B→A transportunu azaltmıştır. Plasentada P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu Şekil 2-7'de gösterilmiştir.



Şekil 2-7: Plasentada P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu

### 2.3.3. İlaç Metabolizmasındaki Rolü

Bağırsak enterositlerinde gerçekleşen faz I metabolizma ve efluks mekanizması, oral yol ile alınan ilaçların biyoyararlanımlarının belirlenmesinde son derece önemli faktörlerdir. İntestinal metabolizmada majör ilaç metabolize edici enzim olan CYP3A4, efluks mekanizmasında ise transmembranal efluks pompası P-gp önemli rol oynamaktadır. Bu iki protein, oral yoldan uygulanan ilaçların primer absorpsiyon bölgesi olan gastrointestinal kanalda villusların ucundaki olgun enterositlerde oldukça yüksek miktarlarda bulunmaktadır. CYP3A4 zenobiyotikleri metabolize ederken, P-gp zenobiyotikleri epitel hücresinden lümeneye geri pompalamaktadır (Zhang ve Benet 2001; Chan ve ark. 2004).

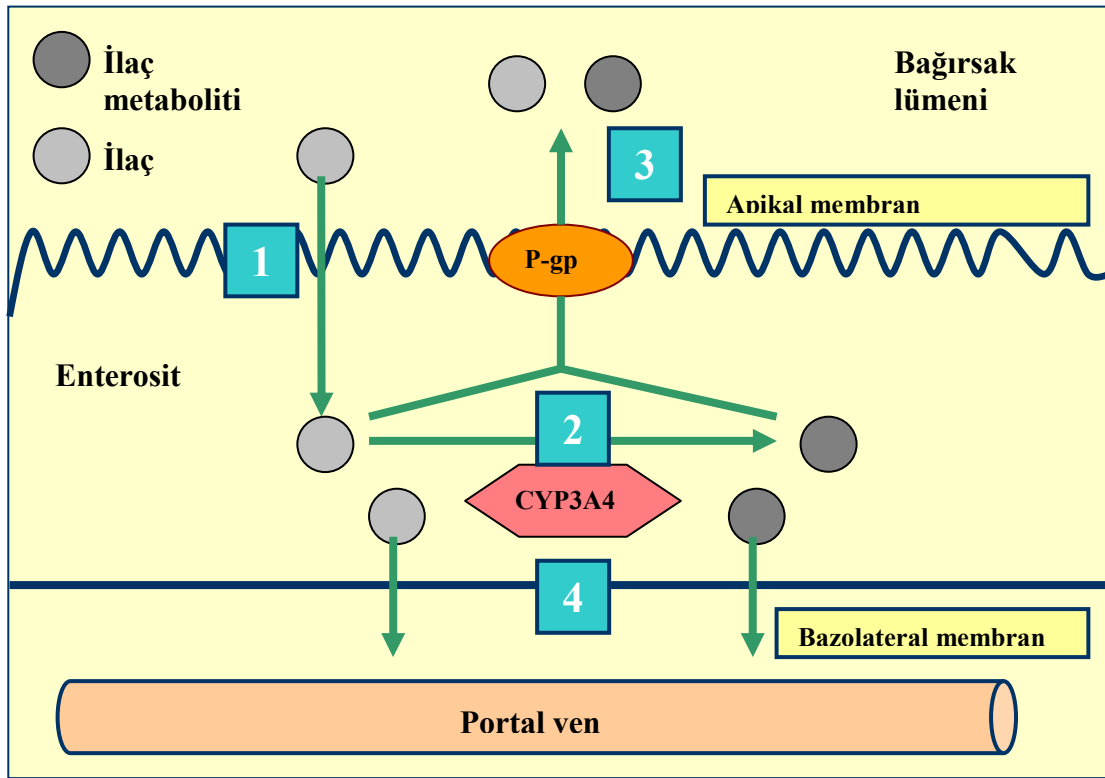
CYP3A4 insanlarda en önemli ilaç metabolize edici enzimlerden biridir. Oldukça geniş bir substrat spesifitesine sahip olan CYP3A4 günümüzde kullanılan ilaçların yaklaşık % 50'sinin faz I metabolizmasından sorumludur. CYP3A4, primer ekspresyon bölgesinin karaciğer olmasına rağmen, ince bağırsaklarda ve böbreklerde de önemli miktarlarda bulunmaktadır (Lin ve Yamazaki 2003; Kivistö ve ark. 2004;

DuBuske 2005). Yapılan çalışmalarda CYP3A4 ekspresyonu ve aktivitesinin ince bağırsağın proksimalinden distal ucuna doğru azaldığı görülmüştür (Takano ve ark. 2006). CYP3A4 ile P-gp'nin ince bağırsaktaki ekspresyon bölgeleri farklılık göstermektedir. P-gp çoğunlukla ince bağırsağın distal bölgesinde, CYP3A4 ise proksimal bölgesinde daha fazla eksprese edilmektedir. Bununla birlikte bu iki detoksifiye edici protein eşgüdümlü çalışarak konağı, birçok ilacın dahil olduğu çeşitli eksojen zararlı bileşiklere karşı koruyan bir savunma mekanizması oluşturmaktadır (Kivistö ve ark. 2004; Takano ve ark. 2006). P-gp substratlarının birçoğu aynı zamanda CYP3A4'ün de substratıdır. CYP3A4 enziminin, karaciğerin yanı sıra ince bağırsaklar ve böbreklerde de eksprese edilmesi ve P-gp ve CYP3A4'ün substrat özgüllüklerinin örtüşmesi, zenobiyotiklerin bağırsaktan emilimlerini azaltarak ve detoksifikasyonlarını artırarak vücudun korunmasında sinerjistik rol oynadıklarını düşündürmektedir. (Zhang ve Benet 2001; Lin ve Yamazaki 2003; Takano ve ark. 2006).

Enterositler tarafından alındıktan sonra bazı ilaç molekülleri CYP3A4 tarafından metabolize edilmektedir. Metabolik çevrilmeden kaçan ilaç moleküllerinden bazıları kan dolaşımına geçerken bazıları hücrelerden P-gp tarafından lümene geri atılmaktadır. Lümene geri atılan ilacın bir kısmı feçesle atılırken bir kısmı enterositlere tekrar girmektedir. Bu şekilde ilacın bağırsakta kalış süresi P-gp yardımıyla uzatılmış, aynı zamanda CYP3A4 tarafından lokal metabolik çevrilme olasılığı da arttırılmıştır (DuBuske 2005; Padowski ve Pollack 2010). Şekil 2-8'de intestinal CYP3A4 ve P-gp'nin fonksiyonel etkileşimi gösterilmiştir.

P-gp ve CYP3A4'ün substrat spesifitelerinin genellikle aynı olması, bu iki proteini kodlayan genlerin aynı kromozomun birbirlerine çok yakın lokuslarında lokalize olmalarından kaynaklanmaktadır. P-gp'yi kodlayan MDR1 geni 7q21.1'de bulunurken, CYP3A4'ü kodlayan gen 7q22.1'de yer almaktadır. P-gp substratlarının çoğunun aynı zamanda CYP3A4 için de substrat olmasına rağmen bu kesin bir kural değildir. Örneğin, digoksin, feksofenadin ve talinolol P-gp'nin birer substratı oldukları halde CYP3A4 ile önemli ölçüde etkileşmemektedirler. Aynı şekilde bir CYP3A4 substratı olan midazolam, P-gp ile taşınmamaktadır (Choudhuri ve Klaassen 2006; Takano ve ark. 2006).





**Şekil 2-8: İnsan enterositlerinde intestinal CYP3A4 ve P-glikoproteininin fonksiyonel etkileşimi**

(1) Pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılı transport ile ilaç absorpsiyonu, (2) CYP3A4 aracılı metabolizma, (3) Ana ilaç ve/veya metabolitlerinin P-gp tarafından enterositlerden bağırsak lümenine geri atılması, (4) Ana ilaç ve/veya metabolitlerinin enterositlerin bazal membranından pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılı transport ile portal vene taşınması.

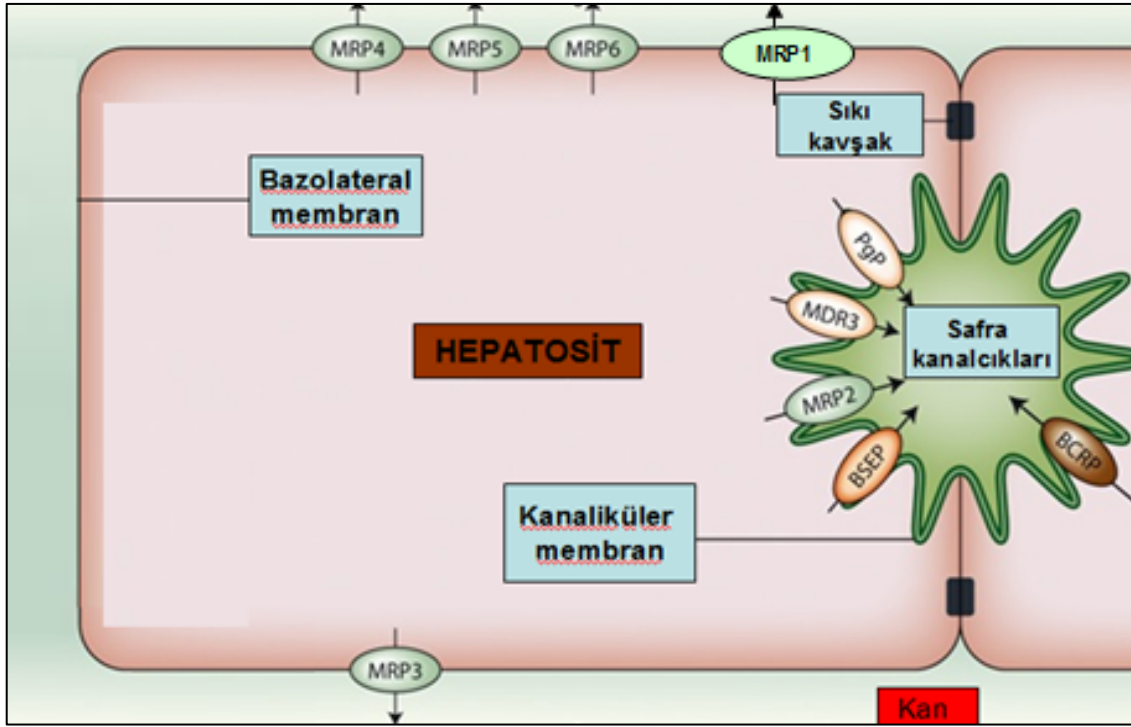
P-gp'nin intestinal metabolizmadaki rolünü aydınlatmak amacıyla yapılan bir in vivo çalışmada sıçanlara oral yoldan 3 gün boyunca 40 mg/kg dozda deksametazon uygulanmış, ince bağırsaklardaki P-gp ve CYP3A4 düzeyleri 2,5 kat artmıştır. Bunu takiben oral olarak uygulanan indinavirin intestinal ilk geçiş metabolizmasının kontrol grubuna göre 6 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir. İndinavirin intestinal ilk geçiş metabolizmasındaki 6 katlık artış sadece intestinal CYP3A4 düzeylerindeki 2,5 katlık artış ile değil; CYP3A4 ve P-gp'nin her ikisinin de intestinal düzeylerindeki artış ile açıklanabilmektedir. Bu bulgu P-gp'nin, indinavirin ilk-geçiş metabolizmasını artırdığını göstermektedir (Lin, Chiba, Chen ve ark. 1999).

### 2.3.4. İlaç Atılımındaki Rolü

#### 2.3.4.1. Safra İle Atılım

P-gp'nin ilaçların biliyer atılımındaki rolü ilk olarak, yapılan immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda, karaciğerde hepatositlerin kanaliküler (apikal) membranında eksprese edildiğinin gösterilmesi ile ortaya konmuştur (Lin ve Yamazaki 2003). Biliyer atılım için ilacın ilk olarak pasif difüzyon ve/veya hepatik "uptake" taşıyıcıları aracılığıyla hepatositlerin sinüzoidal (bazolateral) membranından geçmesi gerekir. Hepatositlerin sinüzoidal membranı katyonların, anyonların ve endojen bileşiklerin kan dolaşımından hepatositlere alınmasını sağlayan çok sayıda aktif taşıyıcı içermektedir. Hepatositlerde ilaç molekülleri difüze olarak kanaliküler membrana ulaşırlar ve buradan kanaliküler membranda bulunan P-gp ve diğer efluks taşıyıcı sistemleri tarafından safraya pompalanırlar. Genellikle ilaç molekülleri hepatositler içinde bazolateral membrandan apikal membrana difüze olurken biyotransformasyona uğramaktadırlar (Lin ve Yamazaki 2003; Padowski ve Pollack 2010). Karaciğerdeki P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu Şekil 2-9'da gösterilmiştir.

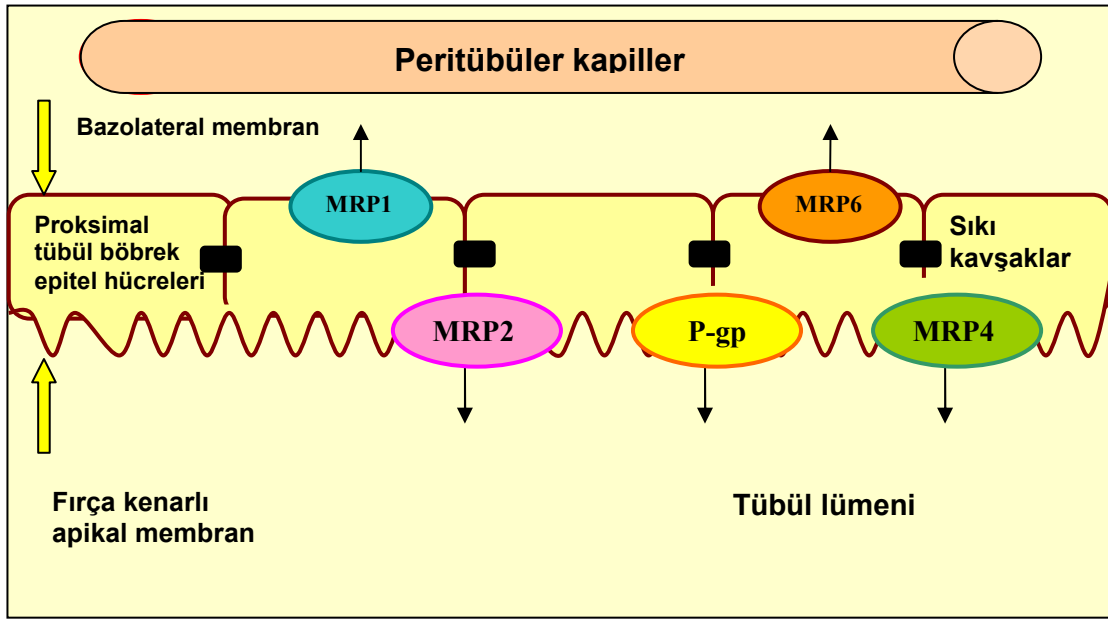
Karaciğerin kanaliküler membranında *mdr1a* ve *mdr1b* genlerinin her ikisinin de eksprese edilmesinden dolayı, P-gp'nin ilaçların biliyer atılımındaki rolü *mdr1a/1b*<sup>(-/-)</sup> farelerde (double knockout mice) incelenmiştir. Kanaliküler membranda *mdr1a* ve *mdr1b* P-gp ekspresyonunun olmaması, çok sayıda ilacın biliyer atılımında *mdr1a*<sup>(-/-)</sup> ve normal farelere kıyasla büyük oranda azalmaya neden olmuştur. Nöromusküler bloke edici bir ajan olan vekuronyum farelerde büyük ölçüde biliyer atılım ile elimine edilmektedir. Yapılan çalışmalarda vekuronyumun biliyer atılımı *mdr1a/1b*<sup>(-/-)</sup> knockout farelerde, *mdr1a*<sup>(-/-)</sup> ve normal farelere göre oldukça düşük bulunmuştur. Vekuronyumun biliyer klirensi *mdr1a*<sup>(-/-)</sup> farelerde normal farelere göre 2,5 kat daha az iken, *mdr1a/1b*<sup>(-/-)</sup> knockout farelerde normal farelere göre 6 kat daha düşüktür (Lin ve Yamazaki 2003). Bir P-gp substratı olan Rhodamin 123 ile yapılan bir başka çalışmada sıçanlara rifampin, deksametazon ve St. John's Wort gibi P-gp indüktörlerinin uygulanması sonucu, Rhodamin 123'ün safraya atılımı sırasıyla %40, %55 ve %14 oranında artmıştır (Kageyama ve ark. 2006).



Şekil 2-9: Karaciğerde P-gp'nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu - <http://www.solvobiotech.com>'dan değiştirilerek

### 2.3.4.2. İdrar İle Atılım

P-gp böbreklerde, proksimal tübüllerin fırça kenarlı (apikal) membranında lokalize olmuştur. Renal atımda ilk olarak ilaç molekülleri renal epitel hücrelerinin bazolateral membranından geçerek kan dolaşımından (peritübüler kapillerlerden) hücre içine pasif difüzyon veya taşıyıcı aracılı transport ile alınırlar. İlaçlar renal epitel hücrelerinde biyotransformasyona uğrayabilirler. Bazolateral membran ilaçların hücre içine alınmasından sorumlu çok sayıda aktif taşıyıcı içermektedir. Substrat ilaç ve/veya metaboliti renal epitel hücrelerinin fırça kenarlı (luminal) membranında bulunan P-gp tarafından hücre dışına taşınarak tübüler filtrata karışır ve idrarla atılır (Lin ve Yamazaki 2003). Böbrekte P-gp ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonları Şekil 2-10'da gösterilmiştir.



**Şekil 2-10: Böbrekte P-gp'nin ve diğer ABC familyasına ait taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu**

Böbreklerde P-gp'nin, ilaçların üriner atılımındaki rolünü incelemek amacıyla insan MDR1 geni transfer edilmiş Madin-Darby köpek böbreği (MDCK) ve domuz böbreği (LLC-PK1) epitel hücre kültürleri kullanılmıştır. Bu çalışmalarda, digoksinin LLC-PK1 hücrelerinde, B→A yönünde gerçekleşen transportu, A→B yönündeki transportuna göre oldukça fazla bulunmuştur. Ortama P-gp inhibitörü olan siklosporin A'nın eklenmesi sonucunda digoksinin B→A yönlü transportu azalırken, A→B yönlü transportu artmıştır. Aynı şekilde vinblastinin MDCK hücre kültürlerinde, B→A yönünde gerçekleşen transportu, A→B yönlü transportuna göre 6 kat daha yüksek bulunmuştur (Lin ve Yamazaki 2003).

P-gp'nin, digoksinin renal klirensindeki rolünü değerlendirmek amacıyla yapılan bir klinik çalışmada, 0,125 mg/gün dozunda oral yoldan digoksin uygulanan sağlıklı gönüllülere, bir P-gp inhibitörü olan valsopodarın (PSC 833) tek doz uygulanması sonucunda, digoksinin renal klirensi 6,5 L/saat'ten 2,3 L/saat'e düşmüştür. 5. gün valsopodar uygulaması sonucunda digoksinin renal klirensi 1,6 L/saat'e gerilemiştir. Bu bulgular P-gp'nin, substrat ilaçların böbrek epitel hücrelerinden idrara atılmasında önemli rol oynadığını göstermektedir (Matheny ve ark. 2001).

#### 2.4. Kanser Hücrelerinde Çoklu İlaç Rezistansı ve P-gp'nin Rolü

Kanser hastalarına uygulanan kemoterapinin başarısız olmasının temel nedenlerinden biri çoklu ilaç rezistansıdır. Çoklu ilaç rezistansı, memeli hücrelerinde, özellikle tümör hücrelerinde, antikanser ilaçlara karşı gelişen ve ilacın hücre içerisine alınmasını engelleyen hücresel yanıtı tanımlayan bir kavramdır. Kemoterapötiklere karşı kanser hücrelerinde gelişen direncin oluşumunda bir çok mekanizma rol oynamaktadır. Çoklu ilaç rezistansına neden olan mekanizmalar içerisinde en iyi bilinen P-gp aracılığı ile gerçekleşen hücre davranışıdır (Lee 2010). P-gp kanser hücrelerinde normalden fazla eksprese edilerek, yapısal olarak farklı pek çok ilacın hücre içerisine alınmasını engellemek ve tümör hücrelerinden dışarı atmak suretiyle intraselüler ilaç konsantrasyonlarının azalmasına neden olmaktadır. Bu durum kemoterapinin başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. P-gp'nin substrat spesifitesinin yüksek olmasından dolayı tümör hücrelerinde P-gp substratı olan, yapısal olarak farklı bir çok sitotoksik ilaca karşı çapraz direnç görülmüştür, dolayısıyla bu fenomen çoklu ilaç rezistansı olarak adlandırılmıştır (Vaalburg ve ark. 2005; Yuan ve ark. 2008; Lee 2010) P-gp aracılığıyla rezistans gelişen antineoplastik ilaçlar Tablo 2-4'te verilmiştir.

**Tablo 2-4: P-gp aracılığıyla rezistans gelişen antineoplastik ilaçlar – Stavrovskaya ve Stromskaya (2008)'den değiştirilerek**

Antineoplastik İlaç Sınıfı	İlaç
Antrasiklinler	Doksorubisin, Daunorubisin, Epirubisin, İdarubisin
Epipodofilotoksinler	Etoposid, Teniposid
Vinka alkaloidleri	Vinkristin, Vinblastin, Vinorelbin
Taksanlar	Paklitaksel, Doseetaksel
Kinaz İnhibitörleri	İmatinib, Flavopiridol
Diğer İlaçlar	Mitoksantron, Tamoksifen, Mitomisin, Aktinomisin D, Metotreksat

Tümör hücreleri, sitotoksik antikanser ilaçlar tarafından hasara uğratıldıklarında, P-gp, MRP1 ve BCRP gibi taşıyıcı proteinleri aşırı düzeyde eksprese etmektedir (Aszalos 2007). Kanser in etkili kimyasal tedavisinde bir engel olarak ortaya çıkan P-gp aracılı çoklu ilaç rezistansını yenmek ve antikanser ilaçların tümör hücrelerinde birikmelerini sağlamak amacıyla P-gp işlevini bloke eden moleküller elde etmeye yönelik birçok çalışma yapılmış ve çoklu ilaç rezistansını tersine çeviren çok sayıda molekül (multidrug resistance reversal agents) elde edilmiştir. P-gp'yi inhibe eden bu moleküller, P-gp modülatörleri olarak da adlandırılmaktadır (Vaalburg ve ark. 2005; Morjani ve Madoulet 2010). P-gp ekspresyonunun ve/veya aktivitesinin modülasyonu kanser tedavilerinde P-gp substratı olan antikanser ilaçların farmakolojik profillerini geliştirmek adına yararlı bir strateji olabilir (Marchetti ve ark. 2007).

## 2.5. P-gp Substratları

P-gp 200 daltondan 1900 daltona kadar çeşitli boyutta bir çok organik molekülün taşınmasında rol oynamaktadır (Ceckova-Novotna ve ark. 2006). Son derece geniş bir substrat spesifitesine sahip olan P-gp, antikanser ajanlar, immünosupresanlar, steroid hormonlar, kalsiyum kanal blokerleri,  $\beta$ -blokerler ve kardiyak glikozidler gibi birbiriyle ilişkili olmayan yapısal ve farmakolojik olarak farklı, çok sayıda hidrofobik ilacı taşıyabilmektedir (Takano ve ark. 2006). P-gp substratlarının ortak özelliği amfipatik yapıda olmalarıdır. P-gp substratlarının çoğu yüksüz ve/veya fizyolojik pH'da organik katyonlar, yani bazik ilaçlardır, ancak metotreksat ve fenitoin gibi bazı asidik bileşikler de düşük oranda taşınabilmektedir. P-gp'nin çoğu substratı aromatik gruplar içermektedir, ancak aromatik olmayan halka taşıyan moleküller de substrat olabilmektedir (Schinkel ve Jonker 2003, DuBuske 2005; Ceckova-Novotna ve ark. 2006). P-gp substratları farmakolojik etki kalıbına göre gruplandırılabilir. Bu şekildeki bir gruplandırma Tablo 2-5'te verilmiştir.

**Tablo 2-5: P-gp substratlarının farmakolojik etkilerine göre gruplandırılması – Fromm (2002), Schinkel ve Jonker (2003), Balayssac (2005) ve Zhou (2008)'den**

<b>Farmakolojik Grup</b>	<b>İlaçlar</b>
Amebisidler	Emetin
Analjezikler	Asimadolin, Morfin
Antiaritmik İlaçlar	Kinidin
Antibiyotikler	Eritromisin, Gramisidin, Levofloksazin, Sparfloksazin, Rifampisin, Doksisisiklin, Tetrasiklin, Valinomisin
Antidepresanlar	Amitriptilin, Venlafaksin, Paroksetin
Antidiyareik İlaçlar	Loperamid
Antiemetikler	Domperidon, Ondansetron
Antiepileptikler	Fenitoin, Karbamazepin, Fenobarbital, Lamotrijin, Felbamat
Antigut İlaçlar	Kolşisin
Antihiperlipidemik İlaçlar	Atorvastatin, Lovastatin
Antineoplastik İlaçlar	Aktinomisin D, Mitomisin C, Daktinomisin, Bisantren, Mitoksantron, Doseksel, Paklitaksel, Doksorubisin, Daunorubisin, Epirubisin, Etoposid, Teniposid, İmatinib, Metotreksat, İrinotekan, Topotekan, Tamoksifen, Vinblastin, Vinkristin, Vindesin, Vinorelbin, İdarubisin, Amsakrin, Trimetreksat
$\beta$ -blokerler	Bunitrolol, Seliprolol, Talinolol

**Tablo 2-5: Devam**

<b>Farmakolojik Grup</b>	<b>İlaçlar</b>
Diagnostik Maddeler	Rhodamin 123, Hoechst 33342
H <sub>1</sub> -reseptör Blokerleri	Feksofenadin, Desloratadin
H <sub>2</sub> -reseptör Blokerleri	Ranitidin, Simetidin
HIV Proteaz İnhibitörleri	Amprenavir, İndinavir, Lopinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Sakinavir
İmmüsupresif İlaçlar	Siklosporin A, Takrolimus, Sirolimus
Kardiyak Glikozidler	$\alpha$ -metil digoksin, $\beta$ -metil digoksin, Digoksin, Dijitoksin
Kortikosteroidler	Deksametazon, Hidrokortizon, Kortikosteron, Triamsinolon
Nöroleptikler	Klorpromazin, Fenotiyazin
Pestisitler, Antihelmintikler, Akarisidler	Abamektin, İvermektin
Proton Pompası İnhibitörleri	Lansoprazol, Omeprazol, Pantoprazol
Kalsiyum Kanal Blokerleri	Diltiazem, Mibefradil, Verapamil
Diğerleri	Debrizokin, Losartan, Terfenadin, Vekuronyum



## 2.6. P-gp İnhibitörleri

P-gp substratlarının P-gp aracılı transportları bazı bileşikler tarafından inhibe edilebilmektedir. Bağırsaklar, karaciğer, böbrekler, beyin, plasenta ve testis gibi önemli dokularda ekprese edilen P-gp'nin inhibe edilmesi, P-gp substratı ilaçların absorpsiyonlarının artması sonucu sistemik ve hedef doku maruziyetlerinin artmasına ve renal sekresyonları ile biliyer atılımlarının azalması sonucu klerenslerinin azalmasına yol açabilmektedir (Fischer ve ark. 2005) P-gp, sayısı bilinmemekle beraber birden fazla substrat bağlanma bölgesine sahiptir ve ilaç transportu için gerekli enerjiyi sağlamak üzere iki adet ATP-bağlayıcı domain içermektedir. Tüm ilaç bağlayıcı bölgeler ve ATP bağlayıcı domainler fonksiyonel bir birim oluşturarak işbirliği içinde çalışırlar (Lin ve Yamazaki 2003). P-gp inhibitörleri, P-gp'nin ilaç bağlanma bölgeleri için yarışarak P-gp aktivitesini kompetitif olarak inhibe edebileceği gibi (kompetitif inhibitörler), direkt ATP hidrolizini bloke ederek (non-kompetitif inhibitörler) P-gp aktivitesini inhibe edebilmektedir (Marchetti ve ark. 2007). Örneğin, verapamil P-gp'nin transport fonksiyonunu, ATP hidrolizini etkilemeksizin kompetitif bir şekilde inhibe ederken; vanadat, substrat bağlanma bölgeleri ile etkileşmeden, ATP hidrolizini bloke ederek P-gp'nin taşıma fonksiyonunu inhibe etmektedir. Siklosporin ise hem substrat bağlanma bölgeleri ile etkileşerek hem de ATP hidrolizini bloke ederek P-gp inhibisyonuna neden olmaktadır (Lin ve Yamazaki 2003).

P-gp inhibitörlerinin (P-gp modülatörleri) klinikteki kullanımları, ilk olarak, kemoterapiye dirençli, yüksek oranda P-gp içeren kanser hücrelerindeki rezistansı geri çevirmelerine odaklı iken, ilerleyen zamanlarda, bu inhibitörlerin, ilaçların farmakokinetik davranışlarını modüle etmek amacıyla da kullanılabilmesi kanısına varılmıştır (Schinkel ve Jonker 2003). P-gp inhibitörleri, kanser, epilepsi, bakteriyel, parazitik ve fungal hastalıkların kemoterapisinde başarısızlığa yol açan çoklu ilaç rezistansını azaltmak veya inhibe etmek amacıyla kullanılmaktadırlar (Seelig ve Gatlik-Landwojtowicz 2005). P-gp modülatörleri, P-gp'yi inhibe etme kapasiteleri ile farmakodinamik etkilerden yoksun olma özellikleri göz önünde tutularak birinci, ikinci ve üçüncü kuşak modülatörler olarak sınıflandırılmaktadır (Coley 2010; Lee 2010) (Tablo 2-6).

Bir P-gp substratı olan verapamilin lösemili hücrelerde P-gp aracılı çoklu ilaç rezistansını tersine çevirdiğinin keşfedilmesinden sonra P-gp inhibitörlerinin tespit edilmesine ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar artmıştır ve ilk keşfedilen bu ilaçlar birinci kuşak modülatörler olarak adlandırılmıştır. Çeşitli hücre serileri ile yapılan çalışmalarda verapamilin, doksorubisin gibi antikanser ilaçların intraselüler akümülyasyonlarını artırdığı görülmüştür. Daha sonraları yapılan in vitro çalışmalarda, felodipin, isradipin, nikardipin, nifedipin, bepridil ve diltiazem gibi diğer bazı kalsiyum kanal blokerlerinin de P-gp'yi inhibe ederek çoklu ilaç rezistansını tersine çevirme yeteneğine sahip oldukları görülmüştür. İmmüsupresan bir ilaç olan siklosporin A, bu grup ilaçların en etkin olanıdır. Siklosporin A'nın çoklu ilaç rezistansını tersine çevirici etkisi miyelomlu ve akut lösemili hastalar ile yürütülen faz II çalışmaları sırasında bulunmuştur (Krishna ve Mayer 2000; Marchetti ve ark. 2007; Lee 2010, Morjani ve Madoulet 2010). Ancak bu grup ilaçlar, afinitelerinin düşük olması sebebiyle yüksek dozlarda kullanılmaları gerektiğinden in vivo koşullarda toksisiteye yol açabilmektedirler. Ayrıca bazı ilaçların diğer taşıyıcılar ve enzim sistemleri için de substrat olması, kemoterapi ajanlarıyla birlikte kullanıldıklarında istenmeyen farmakokinetik ilaç etkileşmelerine yol açabilmektedir. Bu yüzden bazı durumlarda P-gp modülatörleri, antikanser ilaçlarla birlikte kullanıldıklarında toksisiteyi önleyebilmek için antikanser ilaçların dozlarının azaltılması gerekmektedir (Coley 2010; Morjani ve Madoulet 2010; Potschka 2010).

İkinci kuşak modülatörler, çoğu verapamil ve siklosporin A analogu olan, birinci kuşak modülatörlere göre daha potent ve toksisiteleri daha düşük olan bileşiklerdir. Bir siklosporin analogu olan PSC 833, P-gp aracılı çoklu ilaç rezistansının tersine çevrilmesinde siklosporin A'ya göre 10 kat daha potent bulunmuştur. Valspodar olarak da bilinen bu bileşik immünosupresif etkiye sahip değildir (Coley 2010; Morjani ve Madoulet 2010). Ancak bu ilaçlar da seçiciliklerinin düşük olmasından dolayı, diğer taşıyıcılar ve CYP3A4 enzimi ile etkileşerek birlikte kullanıldıkları ilaçların sistemik maruziyetlerini artırmakta ve istenmeyen ilaç-ilaç etkileşmelerine neden olabilmektedir (Coley 2010; Potschka 2010).

Üçüncü kuşak modülatörler, yeni keşfedilen ve çok düşük konsantrasyonlarda etkin olan, selektif, P-gp'ye afiniteleri yüksek, farmakodinamik aktiviteden yoksun bileşiklerdir. P-gp inhibisyonu için in vivo çalışmalarda da düşük dozlarda kullanılırlar. Üçüncü kuşak modülatörlerin P-gp substratı olan antikanser ilaçlarla olan kombinasyonları önemli farmakokinetik etkileşmelere yol açmamaktadır ve iyi tolere edilmektedir. Birinci ve ikinci kuşak modülatörlerin aksine üçüncü kuşak modülatörler non-kompetitif inhibitörlerdir. Bu bileşikler kanser tedavisinde, antineoplastik ilaçların etkinliklerini artırmak için klinik çalışmalarda denenmektedir (Seelig ve Gatlik-Landwojtowicz 2005; Ravna ve Sager 2009; Coley 2010; Potschka 2010).

**Tablo 2-6: P-glikoprotein inhibitörlerinin (MDR modülatörlerinin) sınıflandırılması - Krishna ve Mayer (2001) ve Srinivas ve ark. (2006)'dan değiştirilerek**

Kategori	Örnekler
<b>1. Kuşak Modülatörler</b>	
<b>(Kimyasal Yapı / Farmakolojik Etki)</b>	
Kalsiyum Kanal Blokerleri	Verapamil, diltiazem, bepridil, nifedipin
Kalmodulin İnhibitörleri	Trifluprazin, proklorperazin, trans-flupentiksol
Koroner Vazodilatörler	Dipiridamol, amiodaron
İndol Alkaloidleri	Vindolin, rezerpin
Kinolonlar	Klorokin, kinin, kinidin
Hormonlar ve hormon antagonistleri	Progesteron, tamoksifen
Sefalosporinler	Sefoperazon, seftriakson
Antikanser İlaç Analogları	N-asetildaunorubisin, C-20-vinblastin
İmmünoşüpresanlar	Siklosporin A
Protein Kinaz İnhibitörleri	Staurosporin
Surfaktanlar ve Lipidler	Kremofor-EL, Tween 80
Antikorlar	MRK16, UIC-2

Tablo 2-6: devam

Kategori	Örnekler
<b><u>2. Kuşak Modülatörler</u></b>	
1. Kuşak Modülatörlerin Yapısal Analogları	Deksverapamil, emopamil, gallopamil, Ro11-2933, deksniguldipin
Siklosporin A Analogları	PSC 833 (Valspodar)
Diğerleri	Ro44-5912
<b><u>3. Kuşak Modülatörler</u></b>	
Siklopropildibenzosuberan	Zosukidar (LY335979)
Akridonkarboksamid	Elakridar (GF120918)
Diketopiperazin	XR9051
Diarilimidazol	Ontogen (OC144-093)
Antrasiklin	Annamisin
Antranilamid	Tarikidar (XR9576)
Diklorodifenildikloroetan	Mitotan, NSC-38721
Kinolin	MS-209
Pipekolinat	Birikodar (VX-710)
Diğerleri	Lanikidar (R101933) Mifepriston (RU486), ONT-093

### 2.7. P-gp İndüktörleri

Preklinik ve klinik çalışmalar P-gp ekspresyonunun CYP450 enzimleri gibi indüklenebilir olduğunu göstermiştir. P-gp'nin ve ilaç metabolize edici enzimlerin ekspresyon düzeyleri pregnan X reseptörü (PXR), konstitütif androstan reseptörü ve D vitamini bağlayıcı reseptör gibi nükleer reseptörler tarafından regüle edilmektedir. St John's wort'teki hiperforin gibi bazı bitkilerin içindeki aktif bileşenler, bu nükleer reseptörlerden bir veya daha fazlasını aktive ederek metabolize edici enzimlerin ve P-gp gibi ABC taşıyıcılarının ekspresyonlarını artırmaktadır. İn vitro çalışmalarda çeşitli karotenoidlerin ve bunların metabolitlerinin (retinol ve  $\beta$ -karoten) PXR aktivasyonuna neden oldukları görülmüştür. Yine in vitro çalışmalarda rifampisin, paklitaksel ve

rezerpin gibi çeşitli ilaçların CYP3A4 ve MDR1 gen ekspresyonlarını aynı mekanizma ile indükledikleri gösterilmiştir (Marchetti ve ark. 2007).

İndükleyiciler arasında üzerinde en çok çalışılanlar rifampisin ve St. John's Wort'tür. Rifampisin ve St. John's Wort, intestinal ve hepatik P-gp ile CYP3A4'ü indükleyerek P-gp ile taşınan ve/veya CYP3A4 ile metabolize olan oral yoldan kullanılan ilaçların farmakokinetiklerini etkileyebilmektedir (Takano ve ark. 2006). Rifampin ve St. John's Wort ile sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan klinik çalışmalarda intestinal P-gp'nin önemli ölçüde indüklendiği görülmüştür. Sağlıklı gönüllülere rifampin uygulanmasından sonra duodenal biyopsilerde P-gp indüksiyonu 3,5 kat artarken, St. John's Wort uygulanmasından sonra P-gp indüksiyonunun 1,4 kat arttığı görülmüştür (Marchetti ve ark. 2007). Rifampisin tedavisi sırasında kullanılan midazolam, triazolam, simvastatin, verapamil, dihidropiridin türevi kalsiyum kanal antagonistleri, siklosporin, HIV proteaz inhibitörleri, (S)-varfarin, sülfonilüre, digoksin gibi pek çok ilacın farmakolojik etkinliği ve gücü plazma konsantrasyonlarının düşmesine bağlı olarak azalmaktadır (Takano ve ark. 2006). P-gp ekspresyonunu indükleyici ajanlar Tablo 2-7'de verilmiştir.

**Tablo 2-7: P-gp'yi indükleyici ajanlar – Zhou (2008)'den değiştirilerek**

<b>İndükleyici ajan</b>			
Amiodaron	Diltiazem	Mitoksantron	Retinoik asit
Amprenavir	Dokсорubisin	Morfin	Rifampin
Bromokriptin	Eritromisin	Nelfinavir	Ritonavir
Klorambusil	Etoposid	Nikardipin	St. John's Wort
Sisplatin	Fluorourasil	Nifedipin	Takrolimus
Klotrimazol	Hidroksiüre	Fenobarbital	Tamoksifen
Kolşisin	İnsülin	Fenotiyazin	Verapamil
Siklosporin	İndinavir	Fenitoin	Vinblastin
Daunorubisin	Metotreksat	Probenesid	Vinkristin
Deksametazon	Midazolam	Rezerpin	Yohimbin

## 2.8. P-gp'ye Bağlı İlaç Etkileşmeleri

P-gp'nin ilaç farmakokinetiğindeki rolünün anlaşılmasıyla ilaç-ilaç ve ilaç-besin etkileşmeleri ile ilgili çalışmalara ilgi giderek artmıştır. P-gp yapısal ve farmakolojik olarak farklı, çok sayıda ilacın farmakokinetiği üzerinde önemli etkilere sahiptir. Çeşitli ilaçlar, besinler ve bitkisel bileşenler P-gp inhibisyonuna ve indüksiyonuna bağlı farmakokinetik etkileşmelere yol açabilmektedir. P-gp substratları ve inhibitörleri arasında meydana gelen farmakokinetik etkileşmeler sonucunda ilaçların biyoyararlanımlarının artması, istenmeyen yan etkilere ve toksisite artışına sebep olabilmektedir. Aynı şekilde P-gp substratları ve indüktörleri arasında oluşan etkileşmeler, plazma ilaç düzeylerinde azalmaya yol açarak tedavinin başarısız olmasına neden olmaktadır. Bugüne kadar pek çok ilaç, St. John's Wort ve greyfurt suyu ile ilgili, P-gp inhibisyonu ve indüksiyonuna dayanan klinik olarak önemli etkileşmeler rapor edilmiştir (Marchetti ve ark. 2007). Tablo 2-8'de P-gp inhibisyonu ve Tablo 2-9'da P-gp indüksiyonu ile ilişkili klinik olarak önemli ilaç etkileşmeleri verilmiştir.

**Tablo 2-8 : P-gp inhibisyonu ile ilişkili klinik olarak önemli ilaç-ilaç etkileşmeleri – Marchetti ve ark. (2007)'den değiştirilerek**

<b>İlaç</b>	<b>İnhibitör</b>	<b>Etki / Toksikite</b>	<b>Mekanizma</b>
Digoksin	Kinidin	Daha yüksek plazma düzeyi Daha düşük renal klirens	P-gp inhibisyonu
Digoksin	Verapamil	Daha yüksek plazma düzeyi Daha düşük renal klirens	P-gp inhibisyonu
Digoksin	Talinolol	Daha yüksek plazma düzeyi ve AUC Daha düşük renal klirens	P-gp inhibisyonu
Digoksin	Klaritromisin	Daha yüksek plazma düzeyi Daha düşük renal klirens	P-gp inhibisyonu
Digoksin	Eritromisin	Daha yüksek plazma düzeyi Daha düşük renal klirens	P-gp inhibisyonu
Digoksin	İtrakonazol	Daha yüksek plazma düzeyi Daha düşük renal klirens	P-gp inhibisyonu
Digoksin	Ritonavir	Daha yüksek AUC ve $t_{1/2}$ Digoksin toksisitesi	P-gp inhibisyonu

**Tablo 2-8: devam**

<b>İlaç</b>	<b>İnhibitör</b>	<b>Etki / Toksikite</b>	<b>Mekanizma</b>
Paklitaksel	Siklosporin A	Daha yüksek biyoyararlanım	P-gp ve CYP3A4 inhibisyonu
Paklitaksel	Elakridar (GF120918)	Daha yüksek biyoyararlanım	P-gp ve CYP3A4 inhibisyonu
Paklitaksel	Valspodar (PSC-833)	Daha yüksek plazma AUC	P-gp inhibisyonu
Dosetaksel	Siklosporin A	Daha yüksek biyoyararlanım	P-gp ve CYP3A4 inhibisyonu
Sakinavir	Ritonavir	Daha yüksek oral biyoyararlanım	P-gp ve CYP3A4 inhibisyonu
Takrolimus	Verapamil	Daha yüksek plazma düzeyi ve Takrolimus toksisitesi	P-gp ve CYP3A4 inhibisyonu
Talinolol	Eritromisin	Daha yüksek AUC	P-gp inhibisyonu
Siklosporin A	Eritromisin	Daha yüksek AUC düzeyi ve Pik plazma konsantrasyonu	P-gp ve CYP3A4 inhibisyonu
Loperamid	Kinidin	Santral sinir sisteminde daha fazla advers etki	P-gp inhibisyonu



**Tablo 2-9: P-gp indüksiyonu ile ilişkili klinik olarak önemli ilaç-ilaç etkileşmeleri – Marchetti ve ark. (2007)'den değiştirilerek**

<b>İlaç</b>	<b>İndüktör</b>	<b>Etki / Toksikite</b>	<b>Mekanizma</b>
Digoksin	Rifampin	Daha düşük plazma düzeyi ve AUC	P-gp ve CYP3A4 indüksiyonu
Talinolol	Rifampin	Daha düşük AUC	P-gp indüksiyonu
Siklosporin A	Rifampin	Daha düşük oral biyoyararlanım	P-gp ve CYP3A4 indüksiyonu
Digoksin	St. John's Wort	Daha düşük AUC ve ve pik plazma konsantrasyonu	P-gp indüksiyonu
Siklosporin A	St. John's Wort	Daha düşük plazma düzeyi	P-gp indüksiyonu
İndinavir	St. John's Wort	Daha düşük plazma düzeyi	P-gp ve CYP3A4 indüksiyonu
Tacrolimus	St. John's Wort	Daha düşük plazma düzeyi	P-gp ve CYP3A4 indüksiyonu

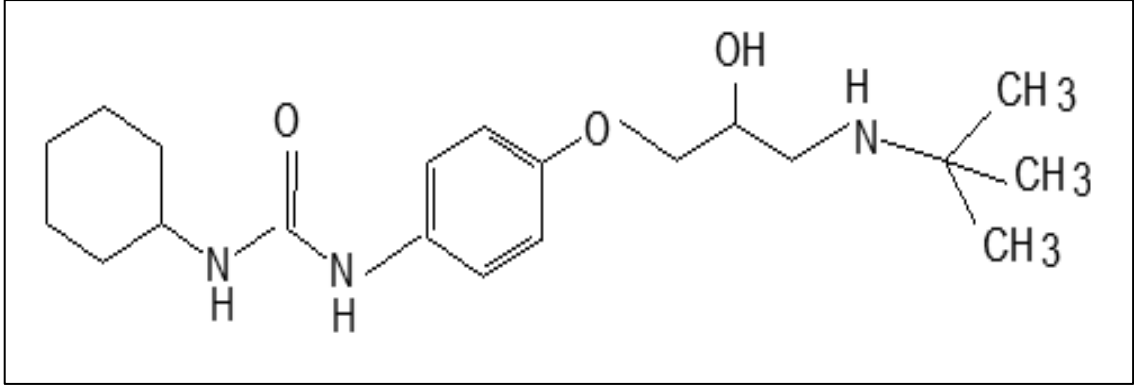
## 2.9. Talinolol

### 2.9.1. Tanımı ve Tarihçesi

Talinolol, uzun etkili, selektif  $\beta$ -1 adrenerjik reseptör antagonisti ve antihipertansif bir ilaçtır. İntrinsik sempatomimetik aktiviteye (ISE, parsiyel agonistik aktivite) ve membran stabilize edici etkiye sahip değildir. Talinolol 1975 yılından bu yana Almanya'da ve Doğu Avrupa ülkelerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Almanya'da Arzneimittelwerk Dresden GmbH (AWD) firması tarafından, Cordanum<sup>®</sup> ticari ismiyle üretilmektedir (Trausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; He ve ark. 2007). Oral yoldan günde 50-300 mg dozlarda arteriyel hipertansiyon, koroner kalp yetmezliği ve taşidisritmi gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kronik olarak kullanılmaktadır. Piyasada hızlı-salımlı tabletleri ile intravenöz infüzyon için injektabl solüsyonları mevcuttur (Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Weiler ve ark. 2006).

### 2.9.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Talinololün kimyasal adı S(-)/R(+)-1-(4-sikloheksil-üreido-fenoksi)-2-hidroksi-3-terciyer butil-aminopropan'dır. Kapalı kimyasal formülü  $C_{20}H_{33}N_3O_3$ 'tür. Molekül ağırlığı 363,5 g/mol olan talinolol beyaz renkte bir tozdur. Zayıf baz karakterinde bir bileşik olan talinolol ( $pK_a = 9,43$ ), suda az (0,2 mg/ml), metanolde ise çok çözünür (Wetterich ve ark. 1996; Oertel ve ark. 1998; He ve ark. 2007). Talinololün suda çözünürlüğü pH'ya bağlıdır. Suyu seyreltik asit çözeltisi eklemek suretiyle pH'nın düşürülmesi talinololün sudaki çözünürlüğünü artırır. Diğer  $\beta$ -adrenerjik reseptör antagonistlerine kıyasla, orta derecede lipofilik bir bileşik olan talinololün n-oktanol/su (pH 7, 37°C) sistemi için yağ/su dağılım katsayısının (partisyon katsayısı) 0,74 olduğu bildirilmiştir (Trausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Bolger ve ark. 2006). Talinololün kimyasal yapısı Şekil 2-11'de gösterilmektedir.



**Şekil 2-11 : Talinololün kimyasal yapısı**

### 2.9.3. Farmakodinamik Özellikleri

Talinolol selektif  $\beta$ -1 adrenerjik reseptör antagonistidir ve organizmadaki  $\beta$ -1 adrenerjik stimülasyonu kompetitif olarak bloke eder. Normal tedavi dozlarında kullanıldığında  $\beta$ -2 reseptörlerine etkisi yok denecek kadar azdır (de Mey ve ark. 1995; Verlag 2000).

Talinolol, aterojenik lipid profili üzerinde olumsuz bir etki göstermez ve glukoz metabolizması üzerine etkisi yoktur. Son yapılan çalışmalarda, sigara içenlerde ve koroner kalp hastalığı olanlarda, talinololün antioksidan etkilere sahip olduğu, plazma lipid peroksidlerini ve nötrofil aktivasyonunu anlamlı olarak azalttığı rapor edilmiştir (He ve ark. 2007). Talinolol  $\beta$ 1-adrenoreseptörlerine orta derecede afinite gösterir. Talinololün S (-) enantiyomerinin afinitesi rasemat formuna göre iki kat daha yüksektir,  $\beta$ <sub>1</sub> – selektiviteleri ise hemen hemen aynıdır (Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Bolger ve ark. 2006; He ve ark. 2007). Terapötik doz aralığında (50-300 mg/gün), talinololün  $\beta$ <sub>1</sub>-selektivitesi, atenololden üstün, metoprolol ile benzer ve bisoprololden düşüktür (He ve ark. 2007).

## 2.9.4. Farmakokinetik Özellikleri

### 2.9.4.1. Absorpsiyonu

Oral olarak uygulanan talinolol gastrointestinal kanaldan hızla emilir ancak emilimi tam değildir. Mutlak biyoyararlanımı % 55'tir. Talinolol emilimi sırasında P-gp aracılığıyla aktif intestinal sekresyona uğramaktadır. Oral uygulama sonrası plazmadaki maksimum düzeylerine yaklaşık 2 saat sonra ulaşır (Trausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; Gramatte ve Oertel 1999). Sıçanlarda da plazmadaki maksimum konsantrasyonlarına 2 saat sonra ulaştığı saptanmıştır (Spahn-Langguth ve ark. 1998). Talinololün absorpsiyonu besinlerle yaklaşık %50 oranında azalır, bu sebepten ilacın yemeklerden 1 saat önce alınması tavsiye edilir (Terhaag ve ark. 1992). Talinolol minör derecede enterohepatik resirkülasyona uğramaktadır (Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Weiler ve ark. 2006).

Talinololün metabolik klirensi çok düşüktür ve metabolik ilk-geçiş etkisine uğramamaktadır. Talinololün oral biyoyararlanımındaki düşüklüğün, P-gp aracılı aktif intestinal sekresyondan kaynaklandığı düşünülmektedir (Trausch ve ark. 1995; Gramatte ve ark. 1996). P-gp'nin gastrointestinal kanaldaki dağılımının tekdüze olmamasından dolayı talinololün absorpsiyon derecesi absorpsiyon bölgesine bağlıdır. P-gp ekspresyonunun bağırsağın aşağı segmentlerine doğru artmasına paralel olarak talinololün absorpsiyonu azalmaktadır. Duodenumdaki P-gp ekspresyonu jejunum, ileum ve kolona kıyasla daha düşüktür, bu nedenle talinolol gastrointestinal kanalın üst kısımlarında daha hızlı absorbe edilmektedir. (Gramatte ve ark. 1996; Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Weiler ve ark. 2006). Talinololün absorpsiyonu doza-bağımlıdır ve lineer olmayan bir absorpsiyon profili göstermektedir (Wetterich ve ark. 1996). Yapılan bir çalışmada, P-gp substratı olan talinololün, 25, 50, 100 ve 400 mg'lık hızlı salımlı tabletlerinin uygulanmasından sonra lineer olmayan bir doz-AUC ilişkisi görülmüştür. Bu lineer olmayan, doza bağımlı absorpsiyon; P-gp'nin yüksek dozlarda talinolol tarafından doyurulması sonucunda efluks transportunun azalmasından kaynaklanmaktadır. Yani talinololün oral biyoyararlanımı daha yüksek dozlarda uygulandığında artmaktadır (Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Bolger ve ark. 2006).

#### 2.9.4.2. Dağılımı

Talinolol ekstraselüler sıvı kompartmanına ve tüm dokulara dağılmaktadır. 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 (Trausch ve ark. 1995). Plazma proteinlerine bağlanma oranı düşüktür (Zschiesche ve ark. 2002).

#### 2.9.4.3. Metabolizması

Talinololün metabolizma oranı çok düşüktür. Uygulanan dozun sadece %1'i metabolize edilmektedir. Oral olarak uygulanan talinololün hidroksi metabolitleri, %1'den daha az oranda idrarda saptanmıştır. Dolayısıyla talinololün metabolik degradasyonu ihmal edilebilir düzeydedir (Oertel ve ark. 1994). Talinolol, karaciğerde, çok düşük oranda, sikloheksil halkasından hidroksilasyonla, metabolitleri olan 4-trans 3-cis, 4-cis ve 3-trans hidroksitalinolol'e dönüştürülür. 4-trans hidroksitalinolol oluşumu majör metabolik yolaktır. Talinololün metabolik degradasyonunda rol oynayan enzimin CYP3A4 olduğu düşünülmektedir, çünkü talinololün tüm hidroksimetabolitlerinin oluşumu ketokonazol tarafından inhibe edilirken, kinidin veya  $\alpha$ -naftoflavon tarafından inhibe edilmemiştir. Metabolitlerinin herhangi bir farmakodinamik etkiye sahip olup olmadığı bilinmemektedir (Trausch ve ark. 1995; Zschiesche ve ark. 2002; Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Bolger ve ark. 2006).

#### 2.9.4.4. Eliminasyonu

Talinolol insanlarda yaklaşık olarak % 60 oranında böbreklerden ve % 40 oranında ise ekstrarenal yollardan – büyük oranda feçes ile – atılmaktadır. Oral olarak uygulanan talinolol dozunun yaklaşık %99'u değişmeden ve %1'i hidroksi metabolitleri halinde elimine edilir. Talinololün yarılanma ömrü 11,9 saattir. Bu nedenle günde tek doz olarak 100 mg dozda alınan talinolol 24 saat boyunca terapötik etkinlik

sağlayabilmektedir (Trausch ve ark. 1995; Tubic, Wagner, Spahn-Langguth, Bolger ve ark. 2006). Talinolole ait farmakokinetik parametreler Tablo 2-10'da verilmiştir.

**Tablo 2-10 : 12 sağlıklı gönüllüye oral yoldan tek doz halinde 50 mg dozda uygulanan talinolole ait farmakokinetik parametreler – He ve ark. (2007)'den değiştirilerek**

<b>Parametre</b>	<b>X ± SD</b>
AUC <sub>0-60</sub> (ng.saat/ml)	1763,7 ± 377,5
AUC <sub>0-∞</sub> (ng.saat/ml)	1860,0 ± 377,9
C <sub>max</sub> (ng/ml)	147,8 ± 63,8
t <sub>max</sub> (saat)	2,0 ± 0,7
t <sub>1/2</sub> (saat)	12,0 ± 2,6
CL/F (L/saat)	27,9 ± 5,5

### 2.9.5. Endikasyonları

Talinolol, akut taşikardi, instabil anjina pectoris, akut miyokard enfarktüsü, post miyokardial enfarktüs, arteriyel hipertansiyon ve koroner kalp hastalığında kullanılmaktadır (Verlag 2000; He ve ark. 2007).

### 2.9.6. Kontrendikasyonları

Konjestif kalp yetmezliği, II. ve III. derece atriyoventriküler blok, sinoatriyal blok, kardiyojenik şok, bradikardi, bronşiyal astım ve hipotansiyonda, ayrıca beta blokerlere aşırı duyarlılığı olanlarda ve pulmoner ödemde kullanılmamalıdır (Verlag 2000).

### 2.9.7. 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, işitme bozuklukları, kilo artışı ve erektil disfonksiyon bildirilmiştir. Renal bozukluklarda veya P-gp inhibitörleri ve indüktörleri ile birlikte kullanıldığında rutin terapötik ilaç izlemi yapılması yararlıdır (Verlag 2000; He ve ark. 2007).

### 2.9.8. 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. İnstabil anjında 10-20 mg talinolol, 24 saat i.v. infüzyon ile uygulanır. Hipertansiyon tedavisi için, oral yoldan günde bir kez 100 mg veya 2 kez 50 mg dozda kullanılır. Gerektiğinde doz 300 mg'a kadar çıkartılabilir. Koroner kalp hastalığında ise doz 100-200 mg/gün'dür. Taşikardi durumlarında da 100-200 mg/gün dozunda uygulanır (Verlag 2000).

Böbrek yetmezliği olan 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 oranında azaltılması tavsiye edilmektedir (Krueger ve ark. 2001).

### 2.9.9. İlaç Etkileşmeleri

Talinolol, i.v. yoldan, verapamil veya diltiazem gibi kalp üzerine depresif etkisi bulunan kalsiyum antagonistleri ile birlikte uygulanmamalıdır. Disopiramid, kinidin ve amiodaron gibi antiaritmik ilaçlarla beraber talinololün i.v. olarak uygulanmasından kaçınılmalıdır (Verlag 2000). Talinolol, MAO (monoaminoksidaz) inhibitörleri, periferik kas gevşeticiler, oral antidiyabetikler ve alkolle birlikte alınmamalıdır. Talinolol hipoglisemiye eşlik eden taşikardiyi maskeleyeceğinden, insülin ve oral hipoglisemikler ile beraber kullanılmamalıdır (Verlag 2000). Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar vücutta su ve tuz tutulmasına yol açtığından, beta blokerlerin antihipertansif etkisini azaltabilir. Talinolol bu gruptaki ilaçlarla beraber uygulanmamalıdır (Verlag 2000).

Sülfasalazin, talinololün absorpsiyonunu ve biyoyararlanımını büyük ölçüde azaltır. Talinolol ve sülfasalazin beraber kullanılmamalı, eğer mutlaka birlikte kullanılmaları gerekiyorsa uygulamalar arasında 2-3 saatlik bir süre bırakılmalıdır (Terhaag ve ark. 1992).

### 2.9.10. Talinololün P-gp Aracılı İlaç Etkileşmeleri İle İlgili Çalışmalar

Talinololün P-gp aracılığı ile diğer ilaçlarla etkileşmeleri, çeşitli prelinik ve klinik çalışmalarla incelenmiştir. Başlıca iki tip etkileşme göze çarpmaktadır. Bunlar, P-gp'nin inhibisyonu sonucu ilaç transportunun azalması veya P-gp'nin indüklenmesi sonucu P-gp ekspresyonunda artışla birlikte ilaç transportunun artışıdır.

#### 2.9.10.1. P-gp İnhibisyonuna Bağlı İlaç Etkileşmeleri

Spahn-Langguth ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, Wistar albino sıçanlara 20 mg/kg dozda talinolol; 4 mg/kg ve 20 mg/kg dozlarda verapamil ile birlikte oral yoldan uygulanmış ve verapamilin talinolol farmakokinetiğine etkisi incelenmiştir.



4 mg/kg dozda uygulanan verapamil, talinololün  $C_{max}$  değerini kontrol grubuna göre %250 oranında artırırken, 20 mg/kg dozda uygulanan verapamil ile  $C_{max}$  değerindeki artış % 50 olmuştur (Sphan-Langguth ve ark. 1998). Bir başka çalışmada Gramatte ve arkadaşları, talinololün insanlara intravenöz olarak verildiğinde ince bağırsak epiteli tarafından lümene sekrete edildiğini ve bu sekresyonun iyi bilinen bir P-gp inhibitörü olan verapamil tarafından inhibe edildiğini göstermişlerdir (Gramatte ve ark. 1999).

Talinololün (50 mg, oral, tek doz), eritromisin (2 g, oral, tek doz) ile birlikte uygulandığı bir klinik çalışmada, talinololün AUC değerinin kontrol grubuna göre %52 ve  $C_{max}$  değerinin %26 oranında arttığı görülmüştür,  $t_{max}$  değeri ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Talinololün renal klerensi değişmezken,  $t_{1/2}$ 'de küçük ama istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. Talinololün oral biyoyararlanımındaki artışın, eritromisin tarafından P-gp'nin inhibe edilmesine bağlı olduğu düşünülmektedir (Schwarz ve ark. 2000).

Westphal ve arkadaşları tarafından sağlıklı gönüllülerle yapılan bir başka çalışmada oral yoldan 100 mg dozda uygulanan talinolol, oral yoldan 0,5 mg dozda uygulanan digoksinin  $AUC_{0-6saat}$  ve  $AUC_{0-72saat}$  değerlerini kontrol grubuna göre sırasıyla %18 ve %23 oranında artırırken,  $C_{max}$  değerinde %45 oranında artışa neden olmuştur (Westphal, Weinbrenner, Giessman ve ark. 2000). Sprague-Dawley sıçanlara 10 mg/kg dozda rasemik talinololün greyfurt suyu ile birlikte oral yoldan uygulandığı bir başka çalışmada ise,  $C_{max}$  değeri kontrol grubunun 2 katına çıkarken, AUC değerleri kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artmıştır (Sphan-Langguth ve Langguth 2001).

### **2.9.10.2. P-gp İndüksiyonuna Bağlı İlaç Etkileşmeleri**

P-gp indüksiyonunun talinololün farmakokinetiğine etkisinin incelendiği bir klinik çalışmada, sağlıklı gönüllülere 17 gün süreyle 200 µg dozda oral yoldan uygulanan levotiroksinin, duodenal P-gp ekspresyonunu arttırdığı ve 100 mg/kg dozda oral yoldan tek doz olarak uygulanan talinololün  $AUC_{0-\infty}$  değerlerinde azalmaya neden olduğu görülmüştür (kontrol  $2843 \pm 636$  ng.h/ml ve levotiroksin uygulanması sonrası

2489±437 ng.h/ml) (Siegmund ve ark. 2002). Bir başka klinik çalışmada sağlıklı gönüllülere 9 gün boyunca 600 mg/gün dozda uygulanan rifampisin, duodenal P-gp ekspresyonunu 4,2 kat artırırken; intravenöz yoldan tek doz 30 mg ve oral yoldan 7 gün boyunca 100 mg dozda talinolol ile birlikte uygulanması sonrasında talinololün serum AUC değerlerini kontrol grubuna göre sırasıyla %21 ve %35 oranında azaltmıştır (Westphal, Weinbrenner, Zschiesche ve ark. 2000).

Antiepileptik bir ilaç olan karbamazepinin P-gp üzerine etkilerini değerlendirmek üzere yapılan bir çalışmada ise karbamazepinin (600 mg dozda, 14-18 gün boyunca), i.v. yoldan 30 mg dozda ve oral yoldan 19 gün boyunca 100 mg dozda uygulanan talinololün farmakokinetiği üzerine etkileri incelenmiştir. Duodenal MDR1 mRNA ekspresyonunun önemli ölçüde indüklendiği görülmüştür. Talinololün absorpsiyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Renal ve metabolik klerenste ise artış görülmüştür (Giessmann ve ark. 2004).

Schwarz ve arkadaşları tarafından dokuz sağlıklı gönüllü ile yürütülen bir çalışmada, sağlıklı gönüllülere 12 gün boyunca günlük 900 mg St. John's Wort uygulanması sonrasında, oral yoldan 50 mg dozda ve intravenöz yoldan 30 mg dozda uygulanan talinololün farmakokinetiği üzerine etkisi incelenmiştir. St. John's Wort'ün duodenal mukozada MDR1 mRNA ekspresyonunu ve P-gp düzeylerini artırdığı görülmüştür. St. John's Wort oral yoldan uygulanan talinololün biyoyararlanımını kontrol grubuna göre %25 ve AUC değerini %31 azaltırken, oral klirensini %93 oranında artırmıştır. İntravenöz yoldan uygulanan talinololün nonrenal klerensinde ise kontrol grubuna göre %35 oranında artma görülmüştür (Schwarz ve ark. 2007).

### **2.9.11. Müstahzarları**

Talinololün Almanya'da 50 ve 100 mg talinolol içeren film tabletleri ve 5 ml'sinde 10 mg talinolol içeren ampul şeklindeki preparatları mevcuttur (Cordanum® ASTA Medica AWD GmbH, Frankfurt a.M., Almanya) (Verlag 2000). İlaç Türkiye'de pazarlanmamaktadır.

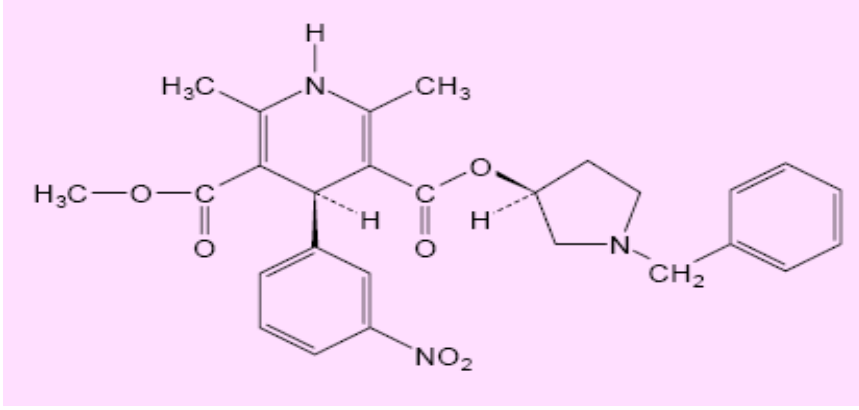
## 2.10. Barnidipin

### 2.10.1. Tanımı ve Tarihçesi

Barnidipin, hafif ve orta dereceli esansiyel hipertansiyonun tedavisinde kullanılan, uzun etkili, potent ve vazoselektif 1,4-dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokeridir. Barnidipin HCl, Japonya'nın Tokyo şehrindeki Yamanouchi Pharmaceutical Co. Ltd. firması tarafından sentez edilmiş ve antihipertansif ilaç olarak geliştirilmiştir. 1992 yılında Japonya'da piyasaya sürülmüştür. "Mepirodipin, YM097305, LY198561" olarak da adlandırılmaktadır. Barnidipin, molekülün saf S-S optik izomerlerini içeren modifiye salımlı kapsülleri şeklinde sunulmaktadır (Sakai ve ark. 1997; Malhotra ve Plosker 2001; Liau 2005).

### 2.10.2. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Barnidipinin açık kimyasal adı [(+)-(3'S,4S)-3-(1'-benzil-3'-pirolidinil)-metil-2,6-dimetil-4-(m-nitrofenil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat'tır (van Zwieten 1998). Kapalı kimyasal formülü  $C_{27}H_{29}N_3O_6$ 'dır. Molekül ağırlığı 528 g/mol olan barnidipin HCl açık sarı renkte bir tozdur (Üstünes 2010). Fizikokimyasal olarak barnidipin HCl suda çözünebilirliği bakımından, nifedipin ve nisoldipin gibi diğer dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerlerinden ayrılmaktadır. Barnidipinin oda sıcaklığındaki çözünürlüğü 2,89 mg/ml'dir ( $pK_a=6,99$ ). Lipofilik karakterde bir bileşik olan barnidipin, metanol ve etanolde çözünebilmektedir. Molekül, biri dihidropiridin halkasında ve diğeri pirolidinil halkasında olmak üzere iki kiral merkeze sahiptir ve dört optik izomeri bulunmaktadır. Dört optik izomerin potenslerine göre sıralanışı (+)-S-S > (+)-S-R > (-)-R-R > (-)-R-S şeklindedir. Bu dört izomer arasında (+)-S-S izomeri en potent ve en uzun etkili olan  $Ca^{2+}$  antagonistidir (Yamada ve ark. 1992; Sakai ve ark. 1997; van Zwieten 1998). Barnidipinin kimyasal yapısı Şekil 2-12'de gösterilmiştir.



**Şekil 2-12: Barnidipinin kimyasal yapısı – Malhotra ve Plosker (2001)' den**

### 2.10.3. Farmakodinamik Özellikleri

Barnidipin (S,S izomeri), damar duvarındaki düz kas hücrelerinin eksitabl membranlarında yer alan voltaj bağımlı L-tipi kalsiyum kanalları üzerine yüksek afinite gösteren, lipofilitesi yüksek, spesifik ve güçlü bir kalsiyum kanal antagonistidir. Diğer kalsiyum kanal antagonistlerine benzer şekilde, spesifik iyonlara geçirgen olan vasküler düz kas hücresindeki iyon kanallarından ekstraselüler kalsiyumun hücre içine girişini inhibe eder. Esas etkisini periferik arteriyelleri genişleterek gösterir; böylece periferik damar rezistansının azalmasına bağlı olarak kan basıncı düşer. Barnidipin hem sistolik hem de diyastolik basıncı önemli ölçüde düşürmektedir. Sempatik stimülasyona neden olmaz ve refleks taşikardi oluşturmaz. Barnidipinin modifiye salımlı formülasyonunun etkisi yavaş başlar, güçlü ve uzun süreli bir etki oluşturur. Antihipertansif etkisi 24 saat devam eder, bu nedenle günde tek doz kullanılır. Oral yoldan günde tek doz 10-20 mg alındığında etkilidir. Uzun süreli kullanımda etkisine tolerans gelişmez. (van Zwieten 1998; Beudeker ve ark. 2000; Malhotra ve Plosker 2001; Liau 2005; Spirou ve ark. 2006). Barnidipinin klinik antihipertansif etkinliği, nitrendipin ve amlodipin gibi diğer dihidropiridin grubu kalsiyum kanal antagonistleri ve diğer antihipertansif ilaç gruplarına ait atenolol ve enalapril ile benzerlik gösterir. Barnidipin ve diğer dihidropiridin grubu kalsiyum antagonistleri, hipertansiyon hastalarının tedavisinde  $\beta$ -blokerler ve ACE inhibitörleri ile birlikte etkili kombinasyonlar oluştururlar (Malhotra ve Plosker 2001). Barnidipin esansiyel hipertansiyonlu hastalarda, total periferik rezistans, renovasküler rezistans ve hepatik vasküler rezistansı önemli ölçüde

azaltır (Liau 2005). Barnidipinin, serum lipid profili, glukoz düzeyi ve elektrolit düzeyleri üzerinde herhangi olumsuz bir etki göstermediği bildirilmiştir (Malhotra ve Plosker 2001; Spirou ve ark. 2006).

#### **2.10.4. Farmakokinetik Özellikleri**

##### **2.10.4.1. Absorpsiyonu**

Barnidipin oral yoldan kullanılır. Gastrointestinal kanaldan kolayca emilir, ancak büyük ölçüde ilk geçiş metabolizmasına uğrar. Barnidipinin oral biyoyararlanımı % 1,1'dir. Besinler barnidipinin biyoyararlanımını önemli ölçüde etkilememektedir (van Zwieten 1998; Malhotra ve Plosker 2001). Hızlı ve yavaş salınan pelletlerden (1:2) oluşan barnidipinin modifiye salımlı formülasyonunun oral uygulanmasından sonra, değişmemiş barnidipinin plazma düzeyleri 1. ve 6. saatlerde pik verir. Bu iki pikin modifiye salımlı formülasyondaki hızlı ve yavaş salımlı pelletlerin karışımından ileri geldiği düşünülmektedir (Teramura, Watanabe ve ark. 1997; Liau 2005). Barnidipinin 10 mg'lık modifiye salımlı formülasyonunun tek dozda oral yoldan uygulanmasından sonra elde edilen AUC değeri 2,85 µg.sa/L ve pik plazma konsantrasyonu ( $C_{max}$ ) 0,48 µg/L olarak hesaplanmıştır (Malhotra ve Plosker 2001). Barnidipin HCl'nin oral olarak uygulanmasından sonra elde edilen sıçanlara ve insanlara ait farmakokinetik parametreler Tablo 2-11'de gösterilmektedir.

##### **2.10.4.2. Dağılımı**

İn vitro çalışmalar barnidipinin plazma proteinlerine, özellikle albumine yüksek oranda (% 92,4-98,9) bağlandığını göstermektedir. İn vitro çalışmalarda, plazma proteinlerine bağlanmanın amitriptilin, diazepam, diklofenak, fenitoin ve varfarin gibi ilaçlarla herhangi bir etkileşmeye yol açmadığı bildirilmiştir. İlaç anne sütüne geçmektedir. Sıçanlarda oral yoldan tek doz radyoaktif işaretlenmiş barnidipin ile yapılan çalışmalar, barnidipinin gastrointestinal kanal, karaciğer ve böbreklerde plazmaya göre daha yüksek düzeylerde bulunduğunu göstermiştir. Barnidipinin beyindeki düzeyi düşük bulunmuştur (Sakai ve ark. 1997; Malhotra ve Plosker 2001).

**Tablo 2-11: Barnidipin HCl'nin oral uygulanmasından sonra sıçanlara ve insanlara ait farmakokinetik parametreler – Teramura ve ark. (1995)'ten**

Parametreler	Doz		
	0,4 mg/kg (n=4)	1,0 mg/kg (n=4)	3,0 mg/kg (n=4)
<b>Sıçan</b>			
t <sub>max</sub> (saat)	0,3	0,3	0,3
C <sub>max</sub> (ng/ml)	19,0	75,8	292,6
AUC <sub>0-∞</sub> (ng.saat/ml)	15,2	47,4	191,1
t <sub>1/2β</sub> (saat)	1,0	1,7	1,0
F (%)	11	13	18
<b>İnsan</b>	<b>5 mg (n=4)</b>	<b>10 mg (n=4)</b>	<b>20 mg (n=3)</b>
t <sub>max</sub> (saat)	1,0	1,6 ± 0,4	1,2 ± 0,4
C <sub>max</sub> (ng/ml)	0,6	1,0 ± 0,2	4,7 ± 1,6
AUC <sub>0-24 saat</sub> (ng.saat/ml)	2,1	4,4 ± 0,6	13,1 ± 3,2
t <sub>1/2</sub> (saat)	1,9	4,8 ± 1,2	–
t <sub>1/2α</sub> (saat)	–	–	1,4 ± 0,0
t <sub>1/2β</sub> (saat)	–	–	7,5 ± 3,8

#### 2.10.4.3. Biyotransformasyonu

Barnidipin metabolize olarak büyük ölçüde inaktif metabolitlerine dönüşür. İnsanlarda primer metabolik yollar dihidropiridin halkasının oksidasyonu, benzilpirolidin ester hidrolizi ve N-debenzilyasyondur (Teramura, Watanabe ve ark. 1997; Liau 2005). İn vitro çalışmalar, barnidipin metabolizmasının esas olarak CYP3A izoenzim ailesi aracılığı ile oluştuğunu ortaya koymuştur. Barnidipin başlıca karaciğerde sitokrom P450 3A4 (CYP3A4) enzimi tarafından metabolize edilmektedir ve karaciğerde ilk geçiş etkisine maruz kalmaktadır (Teramura ve ark. 1996; Teramura, Fukunaga ve ark. 1997; Beudeker ve ark. 2000; Liau 2005). Sonuç olarak, bu enzimle etkileşen diğer ilaçlar barnidipin metabolizmasını değiştirebilme potansiyeline sahiptir (Beudeker ve ark. 2000).

#### **2.10.4.4. Eliminasyonu**

Eliminasyon, temel olarak metabolizma yoluyla gerçekleşir. Barnidipin ve metabolitleri feçes ve idrar yoluyla atılır (Sakai ve ark. 1997). Sağlıklı gönüllülere 5-20 mg tek doz oral yoldan barnidipin uygulanmasından sonra, değişmemiş ilacın idrarla atılımı ihmal edilebilir düzeyde ( $\leq$  uygulanan dozun % 0,003'ü) bulunmuştur (Teramura ve ark. 1996). Tekrarlanan uygulamalardan sonra barnidipinin medyan terminal eliminasyon yarılanma ömrü, iki kompartmanlı analitik modele göre 20 saattir (Malhotra ve Plosker 2001).

#### **2.10.5. Endikasyonları**

Barnidipin, hafif ve orta dereceli esansiyel hipertansiyon tedavisinde kullanılır (Liau 2005).

Barnidipin renal arterlerde vazodilatasyona yol açarak renal kan akımını artırabilir. Ayrıca yüksek dozlarda glomerüler filtrasyonu artırabilir. Renal parenkimal hipertansiyonlu hastalarda, idrar hacmini ve sodyum atılımını artırarak kan basıncının düşmesine neden olmaktadır. Bu bulgulara dayanarak birçok araştırmacı barnidipinin renal bozukluklarla ilişkili hipertansiyonun tedavisinde kullanılabileceğini düşünmektedir. Ayrıca renovasküler hipertansiyonlu hastaları içeren plasebo-kontrollü çalışmalarda, barnidipinin kan basıncını düşürdüğü görülmüştür (Liau 2005).

#### **2.10.6. Kontrendikasyonları**

Konjestif kalp yetmezliği ve kalp bloğunda kontrendikedir (Liau 2005). Barnidipinin plazma düzeyleri, hafif ve orta dereceli hepatik disfonksiyonu olan hastalarda, sağlıklı gönüllülere göre 3-4 kat yüksek bulunmuştur. Barnidipin bu nedenle karaciğer yetmezliği olanlarda kullanılmamalıdır (Malhotra ve Plosker 2001).

İn vitro etkileşim çalışmalarının sonuçlarına göre, güçlü CYP3A4 inhibitörleri ile kombinasyon halinde kullanıldığında barnidipinin kan düzeyleri artabilir. Bu nedenle HIV proteaz inhibitörleri, ketokonazol, itrakonazol, eritromisin ve klaritromisin ile birlikte kullanılmalıdır (Üstünes 2010).

### **2.10.7. Yan Etkileri**

Barnidipinin yan etkileri hafif veya orta derecededir ve yan etki görülme sıklığı diğer dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerlerine kıyasla çok daha düşüktür. Çoğu yan etki tedavinin erken döneminde başlamaktadır ve genellikle geçicidir (Beudeker ve ark. 2000). Yan etki insidansı 20 mg/gün başlangıç dozuyla başlayan hastalarda; 10 mg/gün başlangıç dozuyla başlayıp 20 mg/gün dozuna yükseltelen hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (van der Velden ve ark. 1998). Barnidipinin 10 mg günlük dozunun uygulanmasından sonra sık görülen yan etkiler baş ağrısı, al basması, periferik ödem, baş dönmesi ve çarpıntıdır (Liau 2005).

Barnidipinin modifiye salımlı formülasyonu avantajlı yan etki profili göstermektedir. Etkinin yavaş başlaması ve uzun süreli olması, kısa etki süreli kalsiyum antagonistlerinin aksine, hedef organların zarar görmesine ve akut kardiyovasküler olayların oluşmasına neden olan kan basıncındaki fluktuasyonları önlemektedir (Beudeker ve ark. 2000). Barnidipin genelde iyi tolere edilmektedir. Yaşlı hastalarda görülen hipertansiyonun kontrol altına alınmasında hidroklorotiazit kadar etkili ve tolere edilebilir bulunmuştur. (Otterstad ve Ruilope 2000; Malhotra ve Plosker 2001). Barnidipinin yan etkileri çoğunlukla kısa sürelidir. Amlodipin ve nitrendipine kıyasla daha seyrek ödem yapar. İlaç sempatik stimülasyona neden olmaz ve refleks taşikardi oluşturmaz (Malhotra ve Plosker 2001; Liau 2005). Barnidipinin atenolol ile birlikte kullanıldığı bir klinik çalışmada, tedavi etkinliği artarken yan etki insidansının sadece barnidipin kullanımına kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Benzer şekilde barnidipin ve enalapril kombinasyonunda yan etki insidansı tek başına barnidipin kullanımına kıyasla daha düşük bulunmuştur (Ruilope ve Coca 1998; Malhotra ve Plosker 2001; Liau 2005).



### 2.10.8. Dozu ve Veriliş Yolu

Yetişkinler için önerilen başlangıç dozu oral yoldan günde tek doz 5-10 mg'dır. Yüksek kan basıncının kontrol altına alınması için gerektiğinde doz kademeli olarak 10-15 mg'a artırılabilir (Liau 2005). Diyabetli hastalarda ve yaşlılarda, barnidipin dozunun ayarlanmasına gerek yoktur (Malhotra ve Plosker 2001).

### 2.10.9. İlaç Etkileşmeleri

Barnidipin ve diğer antihipertansif ilaçların birlikte uygulanması, kan basıncında ileri lde düşmeye neden olabilir (stnes 2010).

Barnidipinin farmakokinetik etkileşim profili, tam olarak araştırılmamıştır. İn vitro çalışmalar, barnidipinin CYP3A4 tarafından metabolize edildiğini göstermektedir. CYP3A4' inhibe eden veya indükleyen ilaçların barnidipinin farmakokinetiği üzerindeki etkisine ilişkin ayrıntılı in vivo etkileşim çalışması bulunmamaktadır (stnes 2010). CYP3A4 ile metabolize edilen simvastatin, metoprolol, diazepam ve CYP2D6 ile metabolize edilen terfenadinle yapılan in vitro etkileşim çalışmalarının sonuçları, barnidipinin sitokrom P450 izoenzimleri tarafından metabolize edilen ilaçların farmakokinetikleri üzerinde klinik olarak önemli bir etkiye sahip olmadığı yönündedir (Beudeker ve ark. 2000; Korstanje 2000). Ayrıca in vitro çalışmalarda barnidipinin karaciğer mikrozomal enzimleri tarafından metabolizmasının amitriptilin, diklofenak, fenitoin, teofilin, glibenklamid, simvastatin ve varfarinden etkilenmediği bildirilirken; in vitro veriler siklosporinin barnidipin metabolizmasını inhibe edebileceğini göstermektedir (Teramura, Fukunaga ve ark. 1997; Beudeker ve ark. 2000)

Bir in vivo etkileşim çalışması, barnidipinin diğoksın farmakokinetiğini etkilemediğini göstermiştir (Beudeker ve ark. 2000). Spesifik bir etkileşim çalışmasında ise simetidin ile birlikte kullanım, barnidipinin plazma düzeylerinin ortalamasının iki

katına çıkmasına yol açmıştır. Bu nedenle, barnidipin, simetidin ile birlikte kullanıldığında dikkatli olunmalıdır (Beudeker ve ark. 2000; Üstünes 2010)

Alkol ve greyfurt suyu ile birlikte kullanıldığında, barnidipinin oral biyoyararlanımında artış görülebilir ancak bu artış klinik olarak anlamlı değildir (Beudeker ve ark. 2000).

#### **2.10.10. Müstahzarları**

Barnidipin, molekülün saf S-S optik izomerlerini içeren modifiye salımlı kapsülleri şeklinde sunulmaktadır (Liau 2005). Türkiye’de, 20 ve 30 kapsüllük blister ambalajlarda, 10 ve 20 mg barnidipin içeren modifiye salımlı kapsülleri mevcuttur ve Libradin® ticari ismiyle pazarlanmaktadır. Dünyadaki müstahzarları Cyress®, Hypoca®, Libradin®, Osipine® ve Vasexten®’dir (Üstünes 2010).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 200-250g ağırlığında Wistar outbred erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Sıçanlar standart pellet sıçan yemi ile beslenmişler ve sıçanlara çeşme suyu verilmiştir. Deney gününde ilaç uygulama saatinden 12 saat önce sıçanlar aç bırakılmış, sadece su içmelerine izin verilmiştir. Sıçanlara ilaç uygulamasından 3 saat sonra pellet yem verilmiştir. Hayvanlar  $22\pm 2$  °C'de ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunun sağlandığı bir ortamda muhafaza edilmişlerdir.

Deneyler İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 24.09.2009 tarihli, 111 no.lu Etik Kurul kararına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2. Kullanılan İlaçlar

**Talinolol:** Arzneimittelwerk Dresden GmbH (Radebeul-Almanya)

(Seri No. 9604014/01)

**Barnidipin:** EuroAsias (ABD)

(Seri No. 23 – 120/10)

### 3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

<b>Metanol:</b> HPLC Grade (No. 6007)	Merck (Almanya)
<b>Asetonitril:</b> HPLC Grade (No. 1030)	Merck (Almanya)
<b>Potasyum dihidrojen fosfat:</b> Saf	Merck (Almanya)
<b>o-Fosforik asit:</b> Saf	Merck (Almanya)
<b>Metil Selüloz:</b> Saf	Colorcon (ABD)
<b>Eter:</b> Saf	Merck (Almanya)
<b>Su:</b> HPLC grade (rezistans değeri 18,2 MΩ.cm)	Milli Q-Millipore (ABD)
<b>Millipore® mobil faz süzme filtresi (0,45µm):</b>	Millipore (ABD)
<b>Oasis® ekstraksiyon kartuşu:</b> HLB tipinde (1 cc/30 mg)	Waters (ABD)
<b>Heparinli tüp:</b> 10 mL'lik	BD Vacutainer (İngiltere)
<b>HPLC vialleri:</b> 100 µL'lik	Waters (ABD)
<b>Symmetry® C<sub>18</sub> 250x4,6 mm, 5µm HPLC kolonu:</b>	Waters (ABD)
<b>Symmetry® Sentry® 2,1x3,9 mm HPLC ön kolonu:</b>	Waters (ABD)

Çalışmada ayrıca Eppendorf tüpleri (1,5 mL) ve otomatik mikropipetler, kapaklı polipropilen ve cam tüpler, otomatik pipet uçları, alüminyum folyo, parafilm ve çeşitli cam laboratuvar malzemeleri kullanılmıştır.

### 3.4. Kullanılan Aletler

<b>2695 Ayırma Modülü (HPLC):</b>	Waters (ABD)
<b>2487 UV/VIS Dedektör:</b>	Waters (ABD)
<b>Hassas Terazi:</b>	Sartorius (Almanya)
<b>Manyetik Karıştırıcı:</b>	Hanna (Singapur)
<b>pH-metre:</b>	Metrohm Herisau (İsviçre)
<b>Ultrasonik Banyo:</b>	Elma (Almanya)
<b>Vakum Pompası (-0,10 mbar):</b>	Millipore (ABD)
<b>Vakum Pompası (-0,40 mbar):</b>	KNF (Almanya)
<b>VacElut<sup>®</sup> Ekstraksiyon Tablası:</b>	Varian (ABD)
<b>Vorteks Cihazı:</b>	IKA (Almanya)
<b>Santrifüj Aleti:</b>	Hettich (Almanya)
<b>Etüv:</b>	Susarka (Polonya)
<b>Buzdolabı (+4°C):</b>	Arçelik (Türkiye)
<b>Derin Dondurucu (-20°C):</b>	Arçelik (Türkiye)

### 3.5. Bilgisayar Programları

HPLC sistemini kontrol etmek için Empower (Waters-ABD), istatistiksel değerlendirme için Graph Pad Software programı kullanılmıştır.

### 3.6. Farmakokinetik Deneyler

Çalışmamızda tek doz ve tekrarlanan dozda barnidipin kullanımının talinolol farmakokinetiğine etkilerini incelemek amacıyla iki ayrı çalışma yürütülmüştür. Tek doz çalışması için 3 grup; tekrarlı doz çalışması için 2 grup olmak üzere her biri 3 sıçan içeren toplam 5 grup oluşturulmuştur (Sıçanlara son dozun verilmesini takiben kan alım işlemi için 0.5, 1 ve 2. saatlerde bir; 4. ve 6. saatlerde bir ve ilaç uygulamasından hemen önce 0. saatte bir sıçan olmak üzere her gruptan 3 sıçan kullanılmıştır). İstatistiki anlamlılık ifade eden sonuçları alabilmek için deney tekrar sayısı 4 olarak belirlenmiştir (n=4).

Talinolol ve barnidipinin % 0,5'lik metil selüloz içerisinde süspansiyonları hazırlanmıştır. Talinolol 20 mg/kg dozda, barnidipin ise 1 mg/kg (düşük doz) ve 10 mg/kg (yüksek doz) dozlarda hafif eter anestezisi altındaki sıçanlara oral yoldan gavaj yardımı ile uygulanmıştır. Talinolol ve barnidipin dozları literatür verileri göz önünde tutularak saptanmıştır (Sakai ve ark. 1997; Okyar 2004).

#### 3.6.1. Tek Doz Barnidipin Çalışması

- i. **Kontrol:** Talinolol 20 mg/kg dozda, tek başına oral yoldan gavaj yardımı ile tek doz uygulanmıştır (Kontrol Grubu; n=4).
- ii. **DDB (Düşük Doz Barnidipin):** 20 mg/kg dozda talinolol, 1 mg/kg (düşük doz) dozda barnidipin ile birlikte oral yoldan gavaj yardımı ile tek doz uygulanmıştır (n=4)
- iii. **YDB (Yüksek Doz Barnidipin):** 20 mg/kg dozda talinolol, 10 mg/kg dozda (yüksek doz) barnidipin ile birlikte oral yoldan gavaj yardımı ile tek doz uygulanmıştır (n=4).

### 3.6.2. Tekrarlı Doz Barnidipin Çalışması

- i. **Kontrol:** Sıçanlara 4 gün boyunca, günde tek doz olmak üzere sadece sıvağ (% 0.5'lik metil selüloz) p.o. uygulanmıştır. 5. gün 20 mg/kg dozda talinolol oral yoldan gavaj yardımı ile tek doz uygulanmıştır (Kontrol Grubu; n=4).
- ii. **DDB (Düşük Doz Barnidipin):** Sıçanlara 4 gün boyunca, günde tek doz 1 mg/kg barnidipin tek başına p.o. uygulanmıştır. 5. gün 20 mg/kg dozda talinolol, 1 mg/kg dozda barnidipin ile birlikte oral yoldan gavaj yardımı ile uygulanmıştır (n=4).

Deney hayvanlarına ilaç uygulanmadan önce (0.saat) ve son dozun verilmesini takip eden 0.5, 1, 2, 4 ve 6. saatlerde sıçanların orbital venlerinden heparinli tüplere yaklaşık 1'er ml kan alınmış, 3500 dönüş/dakika hızında santrifüj edilmiş ve plazmaları ayrılarak Eppendorf tüplere alınmıştır. Plazmalar analiz edilinceye kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

## 3.7. Talinololün Sıçan Plazmasından Ters Faz Kromatografi İle Tayini

### 3.7.1. Analitik Tayin Metodu

Sıçan plazma örneklerindeki talinolol konsantrasyonlarının tayini için Oertel R. ve arkadaşlarının kullandığı HPLC metodu esas alınmıştır (Oertel ve ark. 1994; Oertel ve ark. 1998). Talinololün sıçan plazmasından tayinine ait kromatografik koşullar Tablo 3-1' de verilmiştir.

**Tablo 3-1: Talinololün sıçan plazmasından tayinine ait kromatografik koşullar**

Kolon	Symmetry® 250 mm x 4 mm (5 µm) C <sub>18</sub> ters faz kolon
Ön kolon	Symmetry® Sentry® 2,1 x 3,9 mm C <sub>18</sub> ters faz ön kolon
Mobil faz	0,05 M fosfat tamponu : asetonitril = 73:27 (v:v) ; pH=4
Akış hızı	1 ml/dak
Kolon sıcaklığı	40°C
Enjeksiyon hacmi	20 µl
Dedektör	2487 çift dalga boylu UV/VIS dedektör
Dalga boyu	242 nm
Alıkonma zamanı	9,5 dakika
Ekstraksiyon	SPE kolon (Oasis® 1 cc/30 mg; Waters) ile katı faz ekstraksiyonu

### 3.7.2. Mobil Fazın Hazırlanışı

0,05 M fosfat tamponunun hazırlanması için 6,8 gram KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> hassas terazide tartılmış ve 1 L'lik balon jode HPLC saflığındaki distile su ile hacmine tamamlanmıştır. 1 L'lik mezürde 730 ml potasyum dihidrojen fosfat tamponu ile 270 ml asetonitril karıştırılarak mobil faz elde edilmiştir. Mobil fazın pH'sı 1M o-fosforik asit ile 4'e ayarlanmıştır. Mobil faz hazırlandıktan sonra ultrasonik banyoda 30 dakika süre ile degaze edilmiş ve 0,45 µm membran filtreden süzölmüştür.

### 3.7.3. Biyoanalitik Yöntemin Validasyonu

Validasyon, herhangi bir metod, işlem, cihaz, materyal, faaliyet ve sistemin gerçekten kendisinden beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanmasıdır. Analitik metod validasyonundaki parametreler doğrusallık, doğruluk, kesinlik, seçicilik, teşhis sınırı, kantitatif sınır, geri kazanım oranı ve stablitedir (Okyar 2004). Kullanılan analitik yöntemin doğrusallık, doğruluk ve kesinliğinin saptanması amacıyla gerek talinolole ait standart çözeltiler, gerekse talinolol spike edilmiş plazma örnekleriyle çalışılmıştır.



#### **3.7.4. Doğrusallık (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri)**

Doğrusallık, analizi yapılacak olan maddenin konsantrasyonu ile dedektör cevabının belli bir konsantrasyon aralığında lineerlik (doğrusallık) göstermesidir (Okyar 2004).

Metodun doğrusallığı için, 50 mg talinolol hassas terazide tartılmış ve HPLC saflığındaki metanol ile 50 ml'lik balon jodede hacmine tamamlanarak stok çözelti hazırlanmıştır (1 mg/ml'lik stok çözelti). Stok çözeltilerden 1 ml alınarak 100 ml'lik balon jodede hacmine tamamlanmıştır (10 µg/ml'lik stok çözelti). 10 µg/ml'lik stok talinolol çözeltisi kullanılarak metanolle yapılan seyreltmelerle 2 µg/ml, 1 µg/ml, 500 ng/ml, 200 ng/ml, 100 ng/ml ve 50 ng/ml'lik standart çözeltiler elde edilmiştir. Bu standart çözeltilerin her birinden 4-6'şar adet hazırlanarak her biri 3 kez ayırma modülüne enjekte edilmiştir. Kromatogramlardan elde edilen pik alanları kullanılarak  $y=ax+b$  formülüne göre bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

#### **3.7.5. Doğruluk ve Kesinlik (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri)**

Doğruluk, deneysel değerlerin doğru değere ne kadar yakın olduğunun ölçüsüdür. Bir analitik metodun doğruluğu analiz bitiminde elde edilen sonuçların gerçek değere yakınlığı ile tespit edilir. Analitik metod ne kadar hatasızsa, doğruluk derecesi o kadar yüksektir (Okyar 2004).

Bir analitik yöntemin kesinliği, aynı analitik koşullar altında bir dizi ölçümde veri değerlerinin birbirlerine ne derece yakın olduğunun ölçüsüdür. Kesinlik standart sapma (SD) veya değişim katsayısı (CV) değeri ile ifade edilir. Kesinlik uygulanan tayin yönteminin tekrarlanabilirliğini belirtmek suretiyle incelenmektedir. Tekrarlamada kesinlik için değişim katsayısı (CV), sıfırdan farklı en az 3 konsantrasyonda en az 6'şar tayin sonucu yüksek ve orta konsantrasyon için %15, düşük konsantrasyon için %20'yi aşmamalıdır. Tekrarlanabilirlik, gün içi tekrarlanabilirlik ve günler arası tekrarlanabilirlik olmak üzere iki şekilde tarif edilmektedir (Okyar 2004).

### **3.7.5.1. Gün İçi Tekrarlanabilirlik**

Standart sapma bir gün boyunca oluşturulan bir seri çalışmadan oluşur. Bu parametre miktar belirlemede kullanılan her analitik işlem için gereklidir. Bu işlem için 10 µg/ml'lik talinolol stok çözeltisinden metanolla yapılan seyreltmelerle yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml ve 50 ng/ml konsantrasyonlarındaki talinolol çözeltilerinden 6'şar adet hazırlanmış ve her biri 3 kez ayırma modülüne enjekte edilmiştir. Elde edilen pik alanlarının ortalaması alınmış ve değişim katsayıları hesaplanmıştır.

### **3.7.5.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik**

Uzun dönem standart sapma farklı günlerde gerçekleştirilen deneylerin bir kısmından meydana gelmektedir. Bu işlem için 10 µg/ml'lik talinolol stok çözeltisi kullanılarak metanolla yapılan seyreltmelerle yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml ve 50 ng/ml konsantrasyonlarındaki talinolol çözeltilerinden 1'er adet hazırlanmış ve her biri 3 kez ayırma modülüne enjekte edilmiştir. Bu işlem birbirini takip eden 6 gün boyunca tekrarlanmış ve her gün için yeni çözeltiler hazırlanmıştır. Elde edilen pik alanlarının ortalaması alınmış ve değişim katsayıları hesaplanmıştır.

### **3.7.6. Doğrusallık (Plazmadan Ekstraksiyon)**

Plazma örneklerinden kalibrasyon eğrisi çizilmesi amacıyla kapaklı cam tüplere 1'er ml boş sıçan plazması konulmuştur. Talinololün metanoldeki standart çözeltileri kullanılarak sıçan plazmasına 2 ve 1 µg/ml, 500, 200, 100 ve 50 ng/ml konsantrasyonları sağlayacak şekilde talinolol ilave edilmiştir. Her bir konsantrasyon için 4-6 adet ayrı plazma örneği hazırlanmış ve ekstre edilmiştir.

### 3.7.6.1. Talinololün Plazmadan Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon şu şekilde gerçekleştirilmiştir:

Oasis<sup>®</sup> 1cc/30mg ekstraksiyon kartuşlarından önce 1 ml metanol ve ardından 1 ml distile su geçirilerek şartlandırılmıştır. Daha sonra talinolol içeren sıçan plazması kartuşlardan geçirilmiştir. Kartuşlar %5 metanol içeren 1 ml distile su ile yıkanmıştır. 2 dakika kurutulduktan sonra kirli çözelti içeren tüpler atılmıştır. Talinolol 0,5 ml metanol ile temiz cam tüplere alınmıştır. İşlem bir vakum pompası ve kartuştan geçirilen sıvıların toplandığı cam tüpleri içeren özel bir cam kavanoz (VacElut<sup>®</sup>) ile gerçekleştirilmiştir. Vakum pompasının basıncı 0,1 bar'a ayarlanmıştır ve kartuşlardan dakikada 1 ml'den daha hızlı sıvı geçişine izin verilmemiştir.

Elde edilen ekstreler 2 kez ayırma modülüne enjekte edilmiştir. Elde edilen pik alanları kullanılarak  $y=ax+b$  formülüne göre bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

### 3.7.7. Doğruluk ve Kesinlik (Plazmadan Ekstraksiyon)

#### 3.7.7.1. Gün İçi Tekrarlanabilirlik

Yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml ve 50 ng/ml konsantrasyonda talinolol içeren sıçan plazma örneklerinden 6'şar adet hazırlanmış ve 3.7.6.1.'deki gibi çalışılarak talinolol ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstrelerden 3 kez ayırma modülüne enjekte edilmiştir. Elde edilen pik alanlarının ortalaması alınarak geri kazanım oranları ve değişim katsayıları hesaplanmıştır.

### 3.7.7.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik

Yüksek, orta ve düşük konsantrasyonları temsil eden 1 µg/ml, 500 ng/ml ve 50 ng/ml konsantrasyonda talinolol içeren sıçan plazma örneklerinden 1'er adet hazırlanmış ve 3.7.6.1.'de belirtildiği gibi çalışılarak talinolol ekstre edilmiştir. Bu işlem birbirini takip eden 6 gün boyunca tekrarlanmış ve her gün için yeni plazma örnekleri hazırlanarak talinolol ekstre edilmiştir. Elde edilen ekstrelerden 3 kez ayırma modülüne enjekte edilmiş ve elde edilen pik alanlarının ortalaması alınarak geri kazanım oranları ve değişim katsayıları hesaplanmıştır.

### 3.7.8. Seçicilik

Bir analitik metodun seçiciliği, o metodun örnekte bulunan analiz edilecek madde ve diğer madde ve/veya metabolitleri birbirinden ayırma yeteneğidir. Bunun için talinolol içermeyen boş sıçan plazma örnekleri ile 3.7.6.1'de belirtildiği gibi çalışılmıştır ve talinololün pik alıkonma zamanında pik verip vermediği saptanmıştır. Ayrıca inhibitör ilaç barnidipinin anlatılan deneysel koşullarda talinololün teşhis ve tayinine olumsuz bir etkisinin olup olmadığı saptanmıştır.

### 3.7.9. Tayin Sınırları

Bir yöntemin teşhis sınırı (MDC, minimum detectable concentration) teşhis edilebileceği en düşük, miktar tayini sınırı (MQC, minimum quantifiable concentration) ise 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 tespit 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 edilmiş, background değeri tespit edilmiş ve sonuç 3 ile çarpılarak teşhis sınır tespit edilmiştir. 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 hesaplanmıştır.

### **3.7.10. Sıçanlardan Elde Edilen Plazma Örneklerindeki Talinolol Konsantrasyonlarının Tayini**

Numune toplama saatlerinde sıçanlardan elde edilen plazmaların her birinden 1 ml'lik örnekler ile 3.7.6.1.'de belirtildiği gibi çalışılarak, talinolol plazmadan ekstre edilmiştir. Boş örnek olarak sıçanlardan 0. saatte alınan kan örneğinden elde edilen plazma kullanılmıştır. Her analiz günü için yeni bir standart eğri çizilmiş ve  $y=ax+b$  formülü kullanılarak, örneklerin pik alanından konsantrasyonları hesaplanmıştır.

### **3.8. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması**

Kromatogramlardan elde edilen pik alanları kullanılarak  $y=ax+b$  denklemine göre çizilen kalibrasyon eğrisinden talinololün plazma örneklerindeki konsantrasyonları hesaplanmıştır. Talinololün 0-6. saat için plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi, Microsoft Excel programı kullanılarak elde edilmiştir. Plazmadaki talinolol düzeyleri ortalama  $\pm$  standart hata ( $X \pm SE$ ) olarak gösterilmiştir. 0-6. saat arasında her zaman noktasındaki ortalama konsantrasyonlardan elde edilen plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi kullanılarak, eğri altında kalan alan ( $AUC_{0-6.saat}$ ) lineer trapezoidal yöntemle (yamuklar yöntemi) göre hesaplanmıştır.  $t=0$  ve son örneğin alındığı zaman noktası arasındaki AUC değerleri ortalama  $\pm$  standart hata ( $X \pm SE$ ) olarak gösterilmiştir. Maksimum plazma konsantrasyonu ( $C_{max}$ ) ve maksimum konsantrasyona ulaşma zamanı ( $t_{max}$ ) parametreleri plazma konsantrasyonu-zaman eğrisine bakılarak tespit edilmiştir.

### 3.9. İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel anlamlılığı parametrik bir test olan Student's t-testi ile değerlendirilmiştir. 0,05'ten küçük olan p değerleri ( $p < 0,05$ ) anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Talinololün Sıçan Plazmasından Ters Faz Kromatografi İle Tayininin Validasyonuna Ait Bulgular

#### 4.1.1. Doğrusallık (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri)

3.7.4.'te anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen talinolol kalibrasyon eğrisi Şekil 4-1'de gösterilmektedir. Bu eğrinin hazırlanmasında kullanılan ortalama pik alanları Tablo 4-1'de, değişim katsayısı (CV) değerleri, Tablo 4-2'de verilmiştir.

#### 4.1.2. Doğruluk ve Kesinlik (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri)

##### 4.1.2.1. Gün İçi Tekrarlanabilirlik

3.7.5.1.'de açıklandığı şekilde çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan standart çözeltilerden elde edilen pik alanları, standart sapma (SD) ve CV değerleri Tablo 4-3'te gösterilmektedir.

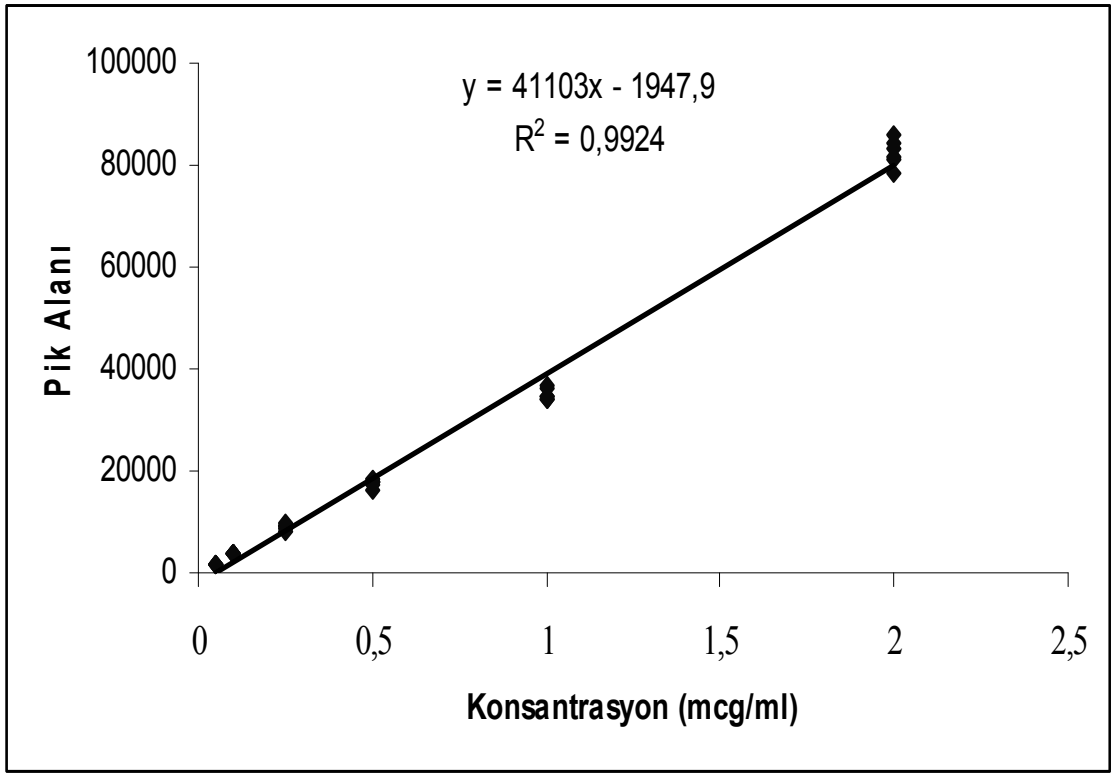
##### 4.1.2.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik

3.7.5.2.'de açıklandığı şekilde çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan talinolol çözeltilerinden elde edilen pik alanları, SD ve CV değerleri Tablo 4-4'te gösterilmektedir.

**Tablo 4-1: Talinolol konsantrasyonları ve elde edilen pik alanları (talinololün metanoldeki standart çözeltileri)**

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





Şekil 4-1: Talinolol kalibrasyon eğrisi (metanoldeki standart çözeltiler için)

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

Konsantrasyon ( $\mu\text{g/ml}$ )	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 4-3: 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
SE	558	298	34,1

**Tablo 4-4: Günler arası tekrarlanabilirlik (pik alanı olarak)**

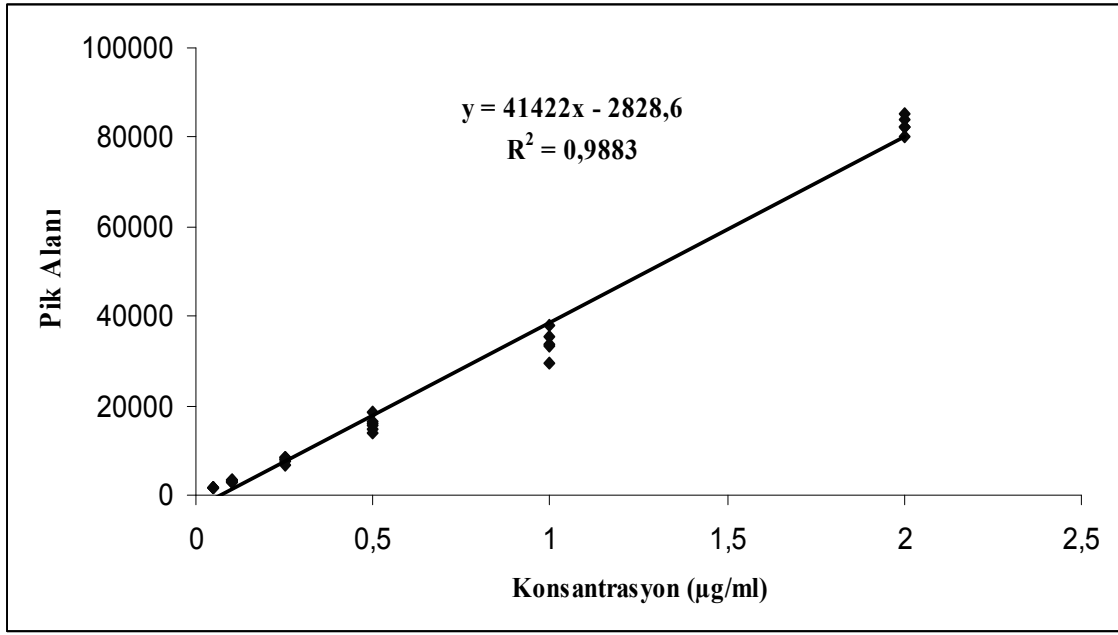
Gün	Talinolol konsantrasyonları		
	1 µg/ml	250 ng/ml	50 ng/ml
1	37004	8909	1973
2	43492	8662	2191
3	38556	8360	1654
4	38303	8525	1918
5	40460	8303	1915
6	41313	8513	2096
X	39584	8545	1957
SD	2364	219	184
CV(%)	5,97	2,56	9,4
SE	965	89,4	75,1

#### 4.1.3. Doğrusallık (Plazmadan Ekstraksiyon)

3.7.6.'da anlatıldığı şekilde çalışılarak talinololün plazma örneklerinden ekstraksiyonu sonucu elde edilen talinolol pik alanları ve geri kazanım değerleri Tablo 4-5'te, regresyon denklemi ve kalibrasyon eğrisi Şekil 4-2'de gösterilmiştir. Ayrıca her konsantrasyon için ortalama talinolol pik alanları ve geri kazanımlara ait SD ve CV değerleri Tablo 4-6'da gösterilmiştir.

**Tablo 4-5: Talinolol kalibrasyon eğrisine ait değerler ve geri kazanım oranları (Plazmadan ekstraksiyon)**

Konsantrasyon (µg/ml)	Pik Alanı	Geri Kazanım (%)
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



Şekil 4-2: Talinolol kalibrasyon eğrisi (plazmadan ekstraksiyon)

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

Konsantrasyon (µ/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 İçi Tekrarlanabilirlik

Yöntem 3.7.7.1.'de açıklandığı gibi çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan plazma örneklerinden elde edilen talinolol geri kazanım oranları Tablo 4-7'de gösterilmektedir.

**Tablo 4-7: 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
SE	2,2	1,7	1,9

#### 4.1.4.2. Günler Arası Tekrarlanabilirlik

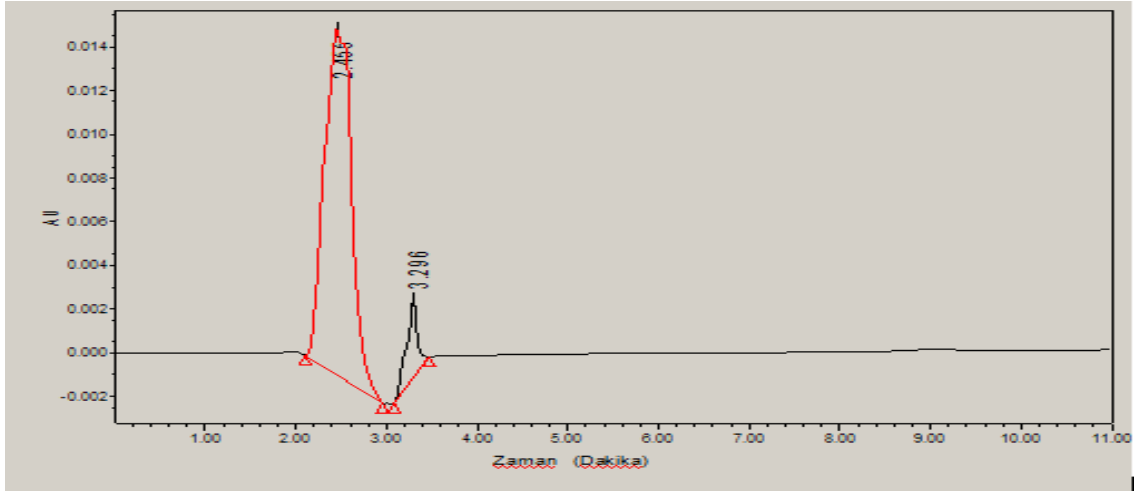
3.7.7.2.'de belirtildiği gibi çalışılarak 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan plazma örneklerinden talinolol geri kazanım oranları Tablo 4-8'de gösterilmektedir.

**Tablo 4-8: Günler arası tekrarlanabilirlik (% Geri kazanım)**

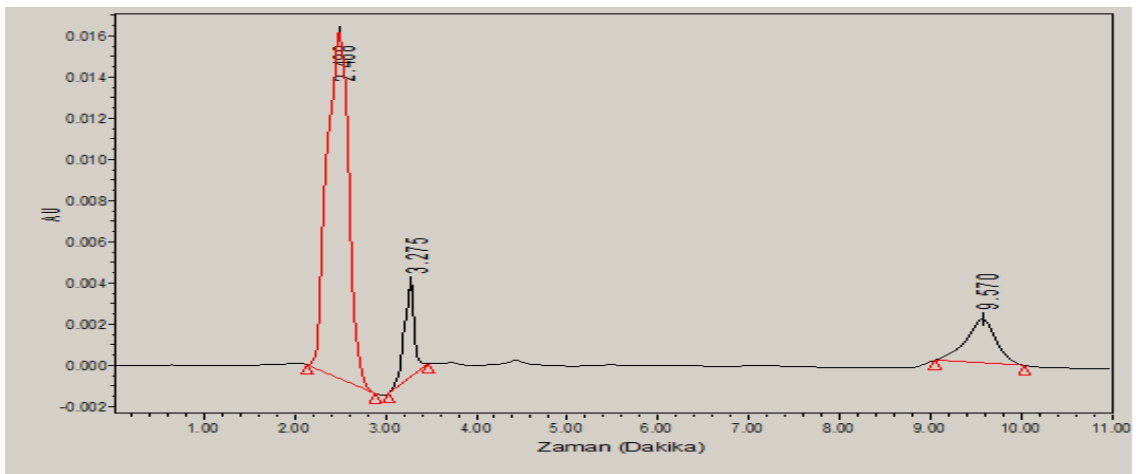
Gün	Talinolol Konsantrasyonları		
	1 µg/ml	250 ng/ml	50 ng/ml
1	86,4	86,4	88,7
2	90,3	87,2	87,9
3	87,0	86,9	95,8
4	96,5	82,5	110,7
5	92,5	86,4	106,5
6	102,1	81,6	98,5
X	92,5	85,2	98,0
SD	6	2,5	9,2
CV	6,5	2,9	9,4
SE	2,4	1,0	3,8

#### 4.1.5. Seçicilik

3.7.8.'de belirtildiği şekilde yapılan çalışmalar ile boş plazma örneklerinde talinololün pik alıkonma zamanında başka bir pik oluşmadığı ve bu deneysel koşullarda barnidipinin talinololün teşhis ve tayinine olumsuz bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Belirtilen koşullarda talinolol piki 9,5. dakikada gözlenmiştir. Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogramlar Şekil 4-3 ve Şekil 4-4'te gösterilmektedir.



**Şekil 4-3: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (boş numune)**



**Şekil 4-4: Talinololün plazmada ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogram (1µg/ml)**

#### 4.1.6. Tayin Sınırları

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

### 4.2. Talinolol İle Barnidipin Arasındaki İn Vivo Etkileşme Çalışması Bulguları

#### 4.2.1. Tek Doz Barnidipin Çalışması İle İlgili Bulgular

20 mg/kg dozda talinololün, tek başına oral yoldan tek doz uygulandığı kontrol grubu, düşük doz barnidipin (1 mg/kg, p.o.) ile birlikte uygulandığı DDB grubu ve yüksek doz barnidipin (10 mg/kg, p.o.) ile birlikte uygulandığı YDB grubu sıçanlara ait 0,5., 1., 2., 4. ve 6. saatlerde plazmada saptanan talinolol konsantrasyonları Tablo 4-9'da verilmiştir. Kontrol, DDB ve YDB gruplarına ait plazma talinolol konsantrasyonu – zaman eğrileri sırasıyla Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7'de gösterilmektedir. Şekil 4-8'de ise üç gruba ait plazma talinolol konsantrasyonu - zaman eğrileri birlikte verilmiştir.

Kontrol grubunda, 20 mg/kg dozda, tek başına oral yoldan uygulanan talinololün, maksimum plazma düzeylerine 2. saatin sonunda ulaştığı görülmüş ve  $0,39 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$  olarak tespit edilmiştir. Daha sonra talinolol konsantrasyonları giderek azalmış ve 6. saatte  $0,09 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$ 'ye düşmüştür. 20 mg/kg dozda talinololün 1 mg/kg dozda barnidipin ile birlikte uygulandığı DDB grubunda talinololün plazma konsantrasyonları 0,5. saatte hızla yükselerek  $0,37 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$  değerine ulaşmış daha sonra 1. ve 2. saatlerde giderek azalarak plazmada 2. saat sonunda  $0,23 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$  olarak tespit edilmiştir. Daha sonra yeniden yükselerek 4. saatte tekrar pik yapmış ve  $C_{\text{max}}$  değerine ulaşmıştır ( $0,43 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$ ). Kontrol grubunda talinolol maksimum plazma konsantrasyonuna 2. saatte ulaşılırken, DDB grubunda  $t_{\text{max}}$  değeri 4. saat olarak saptanmıştır. DDB grubunda talinololün maksimum plazma konsantrasyonları, kontrol grubuna göre %9 oranında artmıştır.

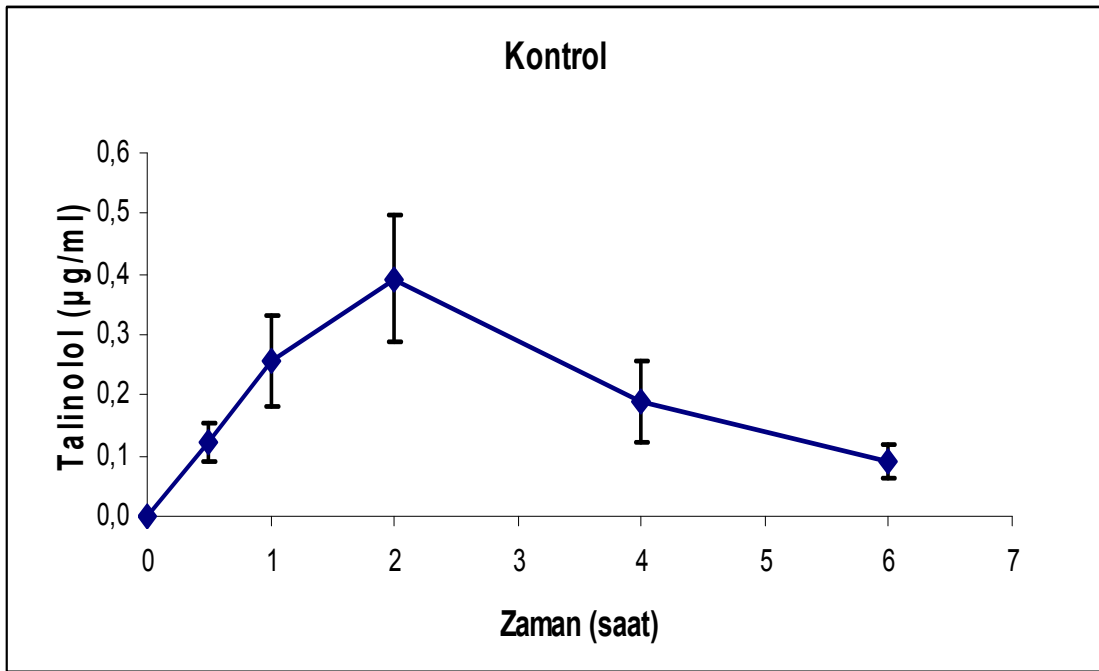
20 mg/kg dozda talinololün 10 mg/kg dozda barnidipin ile birlikte uygulandığı YDB grubunda, talinololün plazma konsantrasyonları 0,5. saatin sonunda maksimum düzeye ulaşarak  $0,82 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$  olarak tespit edilmiştir. 0,5. saatten sonra giderek azalmış ve 6. saatin sonunda  $0,13 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$ 'ye düşmüştür. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 0,5. saatin sonunda plazma talinolol konsantrasyonlarında istatistiki olarak ileri derecede anlamlı fark bulunmaktadır ( $p < 0,01$ ). Kontrol grubunda  $0,39 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$  olan  $C_{\text{max}}$  değerinin, YDB grubunda, istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubuna göre %108 oranında arttığı görülmektedir ( $0,82 \pm 0,14 \mu\text{g/ml}$ ). Talinololün plazma düzeylerinin, düşük ve yüksek dozda barnidipin ile birlikte uygulanması sonucunda, 0,5., 1., 2., 4. ve 6. saatlerdeki değişimi Şekil 4-9'da gösterilmektedir.



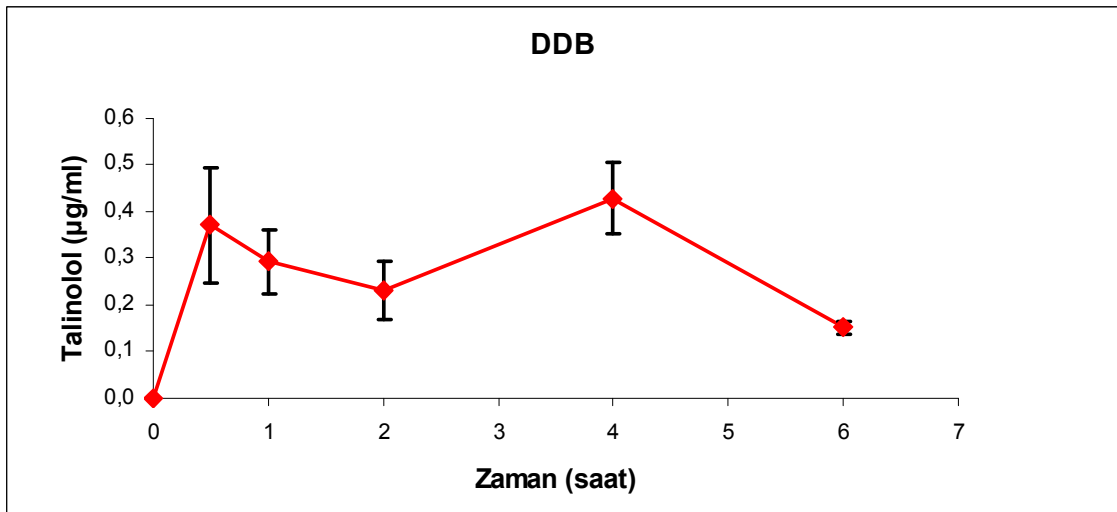
**Tablo 4-9: Tek doz barnidipin çalışmasında talinololün tek başına ve barnidipin ile birlikte oral yoldan uygulanması sonucu elde edilen plazma konsantrasyonları (µg/ml)**

Plazma talinolol konsantrasyonları (µg/ml)							
<b>Kontrol</b>							
Zaman (saat)	Sıçan 1	Sıçan 2	Sıçan 3	Sıçan 4	X	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,21	0,11	0,09	0,07	0,12	0,06	0,03
1	0,46	0,17	0,27	0,12	0,26	0,15	0,07
2	0,52	0,14	0,60	0,31	0,39	0,21	0,10
4	0,39	0,13	0,14	0,10	0,19	0,14	0,07
6	0,17	0,06	0,08	0,06	0,09	0,05	0,03
<b>DDB</b>							
Zaman (saat)	Sıçan 1	Sıçan 2	Sıçan 3	Sıçan 4	X	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,68	0,46	0,16	0,19	0,37	0,25	0,12
1	0,47	0,23	0,32	0,15	0,29	0,14	0,07
2	0,28	0,39	0,12	0,14	0,23	0,13	0,06
4	0,20	0,48	0,55	0,48	0,43	0,15	0,08
6	0,11	0,16	0,17	0,17	0,15	0,03	0,01
<b>YDB</b>							
Zaman (saat)	Sıçan 1	Sıçan 2	Sıçan 3	Sıçan 4	X	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	1,02	0,71	0,46	1,08	0,82**	0,29	0,14
1	0,77	0,33	0,38	0,76	0,56	0,24	0,12
2	0,42	0,30	0,27	0,36	0,34	0,07	0,03
4	0,34	0,19	0,19	0,20	0,23	0,07	0,04
6	0,18	0,10	0,11	0,15	0,13	0,04	0,02

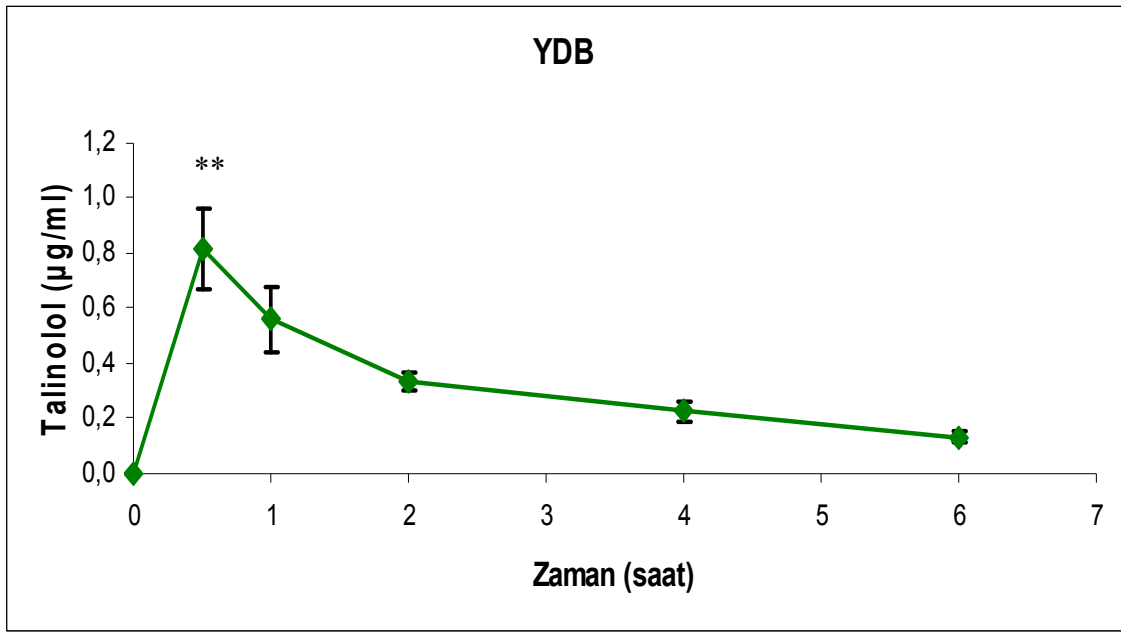
\*\*  $p < 0.01$ , aynı zaman noktalarındaki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, (İstatistiksel analiz olarak Student's t-testi kullanılmıştır).



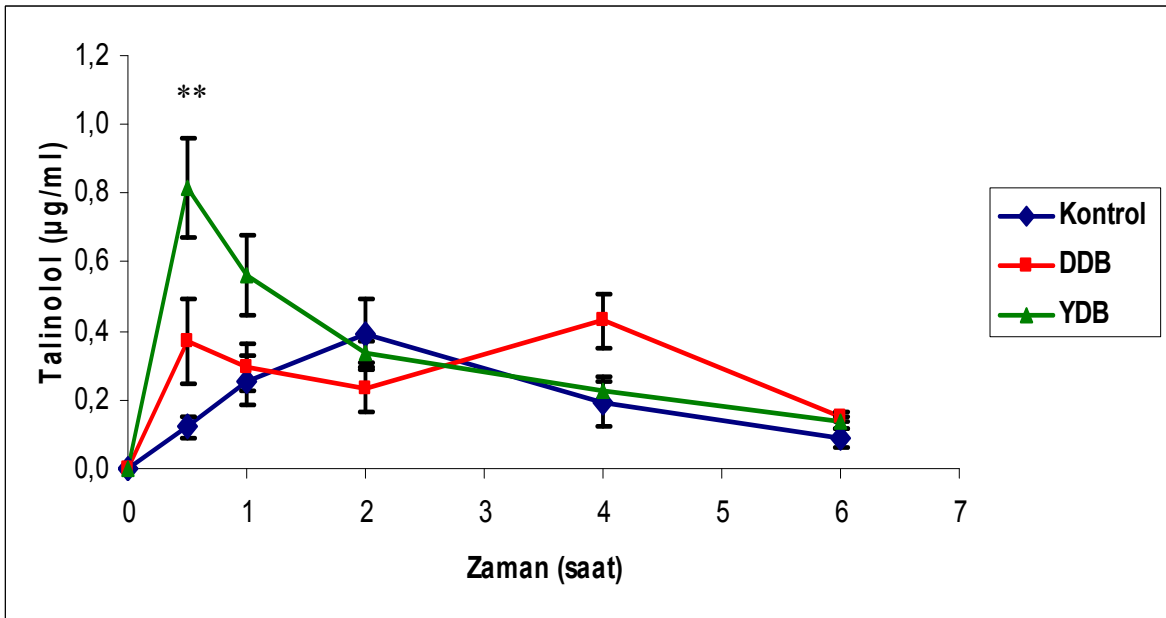
**Şekil 4-5: Tek doz barnidipin çalışmasında kontrol grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu - zaman eğrisi (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )**



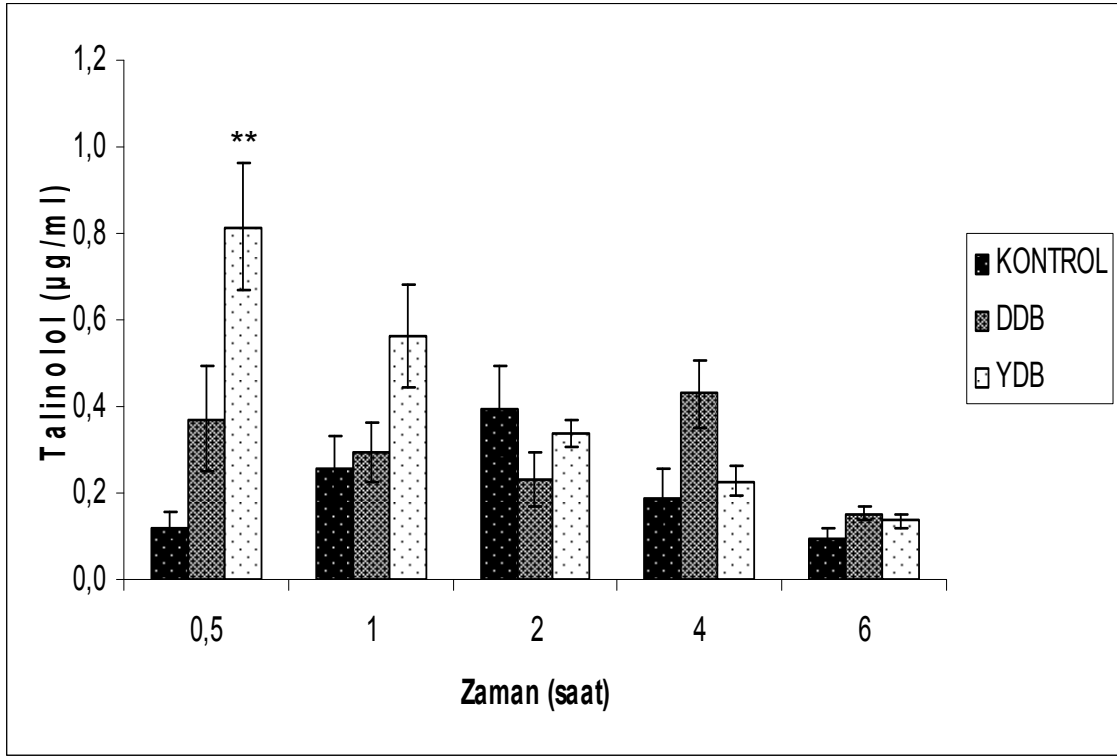
**Şekil 4-6: Tek doz barnidipin çalışmasında DDB (düşük doz barnidipin) grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu - zaman eğrisi (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )**



Şekil 4-7: Tek doz barnidipin çalışmasında YDB (yüksek doz barnidipin) grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu - zaman eğrisi (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )



Şekil 4-8: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma konsantrasyonu - zaman eğrileri (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )



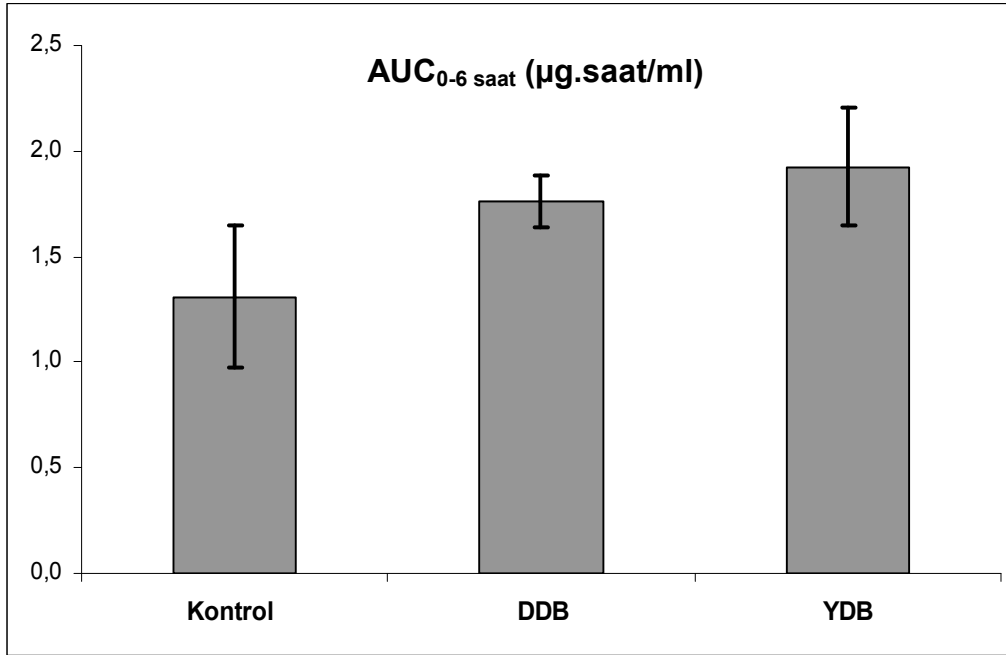
**Şekil 4-9: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma düzeylerinin zamana göre değişimi (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )**

\*\*  $p < 0,01$ , aynı zaman noktalarındaki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, (İstatistiksel analiz olarak Student's t-testi kullanılmıştır).

Kontrol grubunda, talinolol için 0-6. saatler arasında hesaplanan plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altındaki alan ( $AUC_{0-6.saat}$ ) değeri  $1,31 \pm 0,34$   $\mu\text{g.sa/ml}$ 'dir. DDB ve YDB grupları için hesaplanan  $AUC_{0-6.saat}$  değerleri ise sırasıyla  $1,76 \pm 0,12$   $\mu\text{g.sa/ml}$  ve  $1,93 \pm 0,28$   $\mu\text{g.sa/ml}$ 'dir. DDB ve YDB gruplarının  $AUC_{0-6.saat}$  değerlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %34 ve %47'lik bir artış görülmektedir, fakat bu artışlar istatistiki olarak anlamlı değildir. Kontrol, DDB ve YDB gruplarına ait plazma  $AUC_{0-6.saat}$  değerleri Tablo 4-10'da verilmiştir. 0-6. saat için talinolol plazma  $AUC_{0-6.saat}$  düzeylerini gösteren histogram ise Şekil 4-10'da gösterilmiştir.

**Tablo 4-10: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolole ait plazma AUC<sub>0-6.saat</sub> değerleri (µg.sa/ml)**

<b>Talinolol plazma AUC<sub>0-6.saat</sub> değerleri (µg.sa/ml)</b>			
<b>Sıçan No.</b>	<b>Kontrol</b>	<b>DDB</b>	<b>YDB</b>
1	2,18	1,62	2,58
2	0,72	2,11	1,53
3	1,51	1,77	1,41
4	0,84	1,54	2,19
X	1,31	1,76	1,93
SD	0,67	0,25	0,55
SE	0,34	0,12	0,28



**Şekil 4-10: Tek doz barnidipin çalışmasında talinolole ait plazma AUC<sub>0-6.saat</sub> değerleri (ortalama ± SE; µg.sa/ml)**

#### 4.2.2. Tekrarlı Doz Barnidipin Çalışması İle İlgili Bulgular

Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında, 4 gün boyunca sadece oral yoldan sıvağ (%0,5'lik metil selüloz) ve 5. gün 20 mg/kg dozda talinololün sıçanlara tek başına, oral yoldan, tek doz uygulandığı kontrol grubu ile 4 gün boyunca düşük doz barnidipin

(1 mg/kg, p.o.) ve 5. gün barnidipin ile birlikte 20 mg/kg dozda talinololün uygulandığı DDB grubu sıçanlara ait 0,5., 1., 2., 4. ve 6. saatlerde plazmada saptanan talinolol konsantrasyonları Tablo 4-11’de verilmiştir. Kontrol ve DDB grubuna ait plazma talinolol konsantrasyonu – zaman eğrileri ise Şekil 4-11, Şekil 4-12 ve Şekil 4-13’te gösterilmiştir.

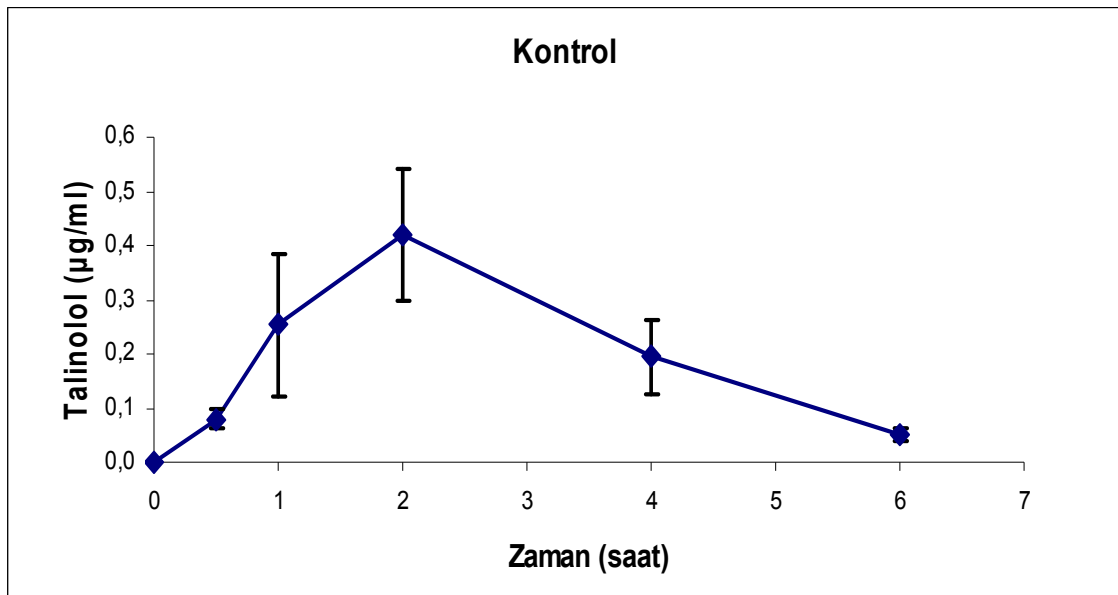
Kontrol grubunda 20 mg/kg dozda uygulanan talinololün maksimum plazma düzeylerine 2. saatin sonunda ulaşılmış ve  $0,42 \pm 0,12$  µg/ml olarak tespit edilmiştir. Daha sonra talinolol konsantrasyonları giderek azalmış ve 6. saatte  $0,05 \pm 0,01$  µg/ml’ye düşmüştür. 4 gün boyunca düşük doz barnidipin (1 mg/kg, p.o.) ve 5. gün barnidipin ile birlikte 20 mg/kg dozda talinololün uygulandığı DDB grubu sıçanlarda ise talinololün plazma konsantrasyonlarının 4. saatin sonunda maksimum düzeye ulaştığı görülmüş ve  $0,80 \pm 0,21$  µg/ml olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda  $t_{max}$  değeri 2. saat iken yinelenen dozda barnidipinin uygulandığı DDB grubunda  $t_{max}$  değerinin 4. saat olduğu görülmektedir.  $C_{max}$  değerleri karşılaştırıldığında DDB grubunda, kontrole göre istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte % 90 oranında artış görülmektedir. DDB ve kontrol grubunun 4. saatleri kıyaslandığında kontrole göre plazma talinolol konsantrasyonunun yaklaşık 3 kat arttığı görülmektedir ve istatistiksel olarak anlamlılık arz etmektedir ( $p < 0,05$ ). Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinololün plazma düzeylerinin 0,5., 1., 2., 4. ve 6. saatlerdeki değişimi Şekil 4-14’te gösterilmektedir.

Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında, kontrol grubunda, talinolol için 0-6. saatler arasında hesaplanan plazma konsantrasyonu - zaman eğrisi altındaki alan ( $AUC_{0-6.saat}$ ) değeri  $1,30 \pm 0,41$  µg.sa/ml iken, DDB grubu için hesaplanan  $AUC_{0-6.saat}$  değeri ise  $2,50 \pm 0,47$  µg.sa/ml’dir. DDB grubunun  $AUC_{0-6.saat}$  değerinde kontrol grubuna göre %92 oranında artış görülmektedir, fakat bu artış istatistiki olarak anlamlı değildir. Kontrol ve DDB gruplarına ait plazma  $AUC_{0-6.saat}$  değerleri Tablo 4-12’de verilmiştir. 0-6. saat için talinolol plazma  $AUC_{0-6.saat}$  düzeylerini gösteren histogram ise Şekil 4-15’te verilmiştir.

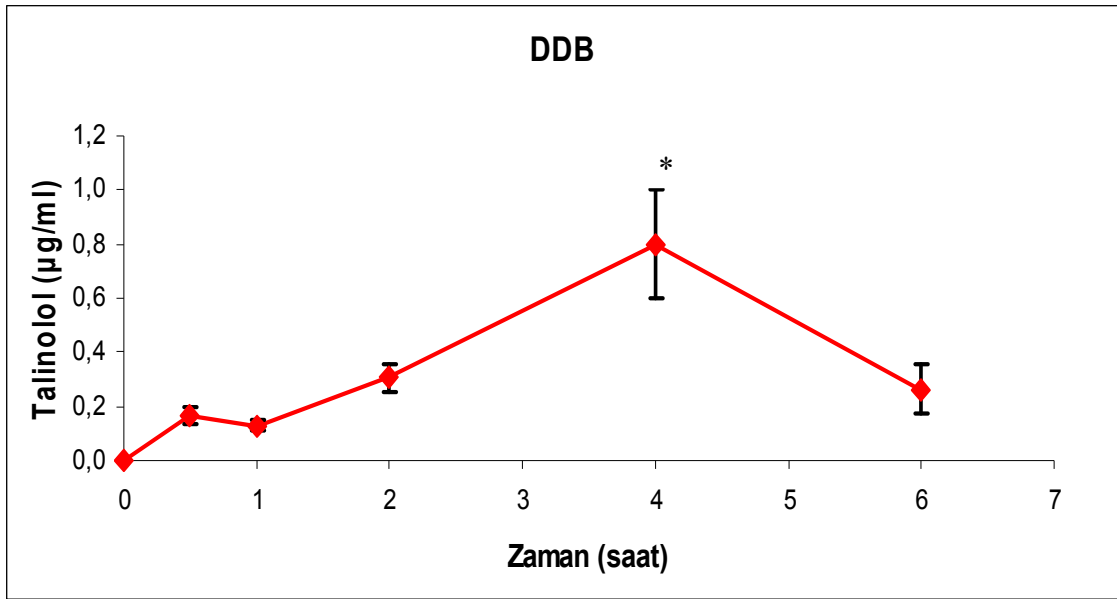
**Tablo 4-11: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında kontrol ve DDB grubuna ait plazma talinolol düzeyleri ( $\mu\text{g/ml}$ )**

Plazma talinolol konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )							
<b>Kontrol</b>							
Zaman (saat)	Sıçan 1	Sıçan 2	Sıçan 3	Sıçan 4	X	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,10	0,07	0,04	0,12	0,08	0,04	0,02
1	0,64	0,17	0,06	0,15	0,25	0,26	0,13
2	0,73	0,49	0,31	0,16	0,42	0,24	0,12
4	0,39	0,16	0,17	0,06	0,19	0,14	0,07
6	0,08	0,03	0,06	0,04	0,05	0,02	0,01
<b>DDB</b>							
Zaman (saat)	Sıçan 1	Sıçan 2	Sıçan 3	Sıçan 4	X	SD	SE
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,20	0,07	0,18	0,21	0,16	0,06	0,03
1	0,11	0,10	0,14	0,17	0,13	0,03	0,02
2	0,40	0,17	0,32	0,34	0,31	0,10	0,05
4	1,15	1,13	0,64	0,28	0,80*	0,42	0,21
6	0,39	0,44	0,05	0,16	0,26	0,19	0,09

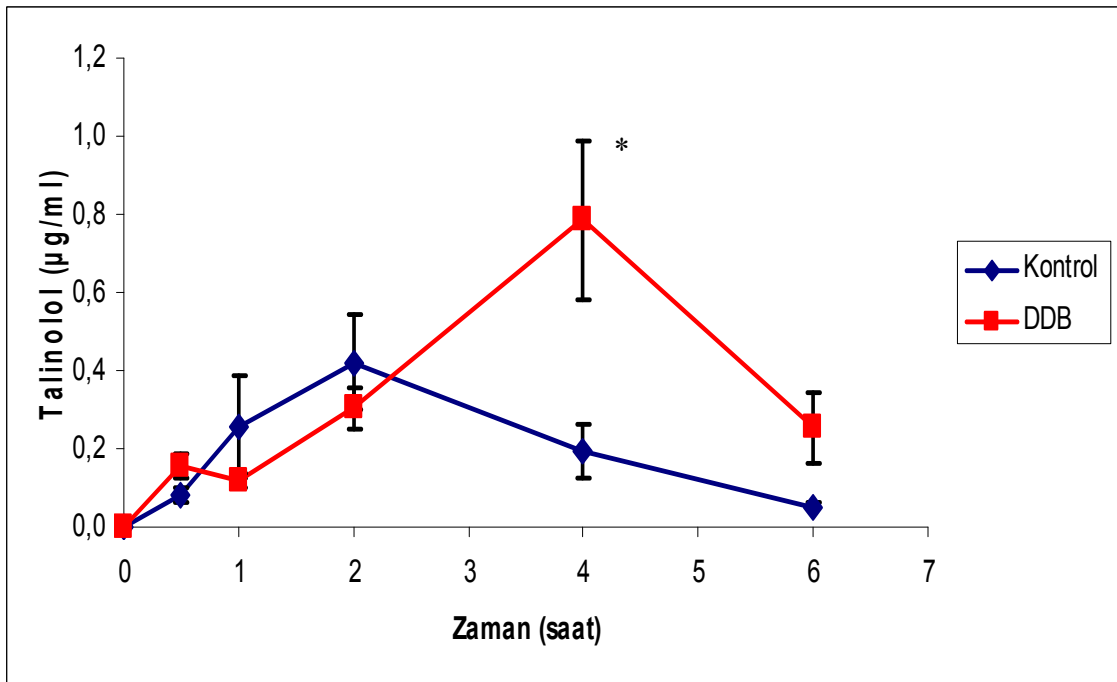
\*  $p < 0.05$ , aynı zaman noktalarındaki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, (İstatistiksel analiz olarak Student's t-testi kullanılmıştır).



**Şekil 4-11: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında kontrol grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu – zaman eğrisi (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )**

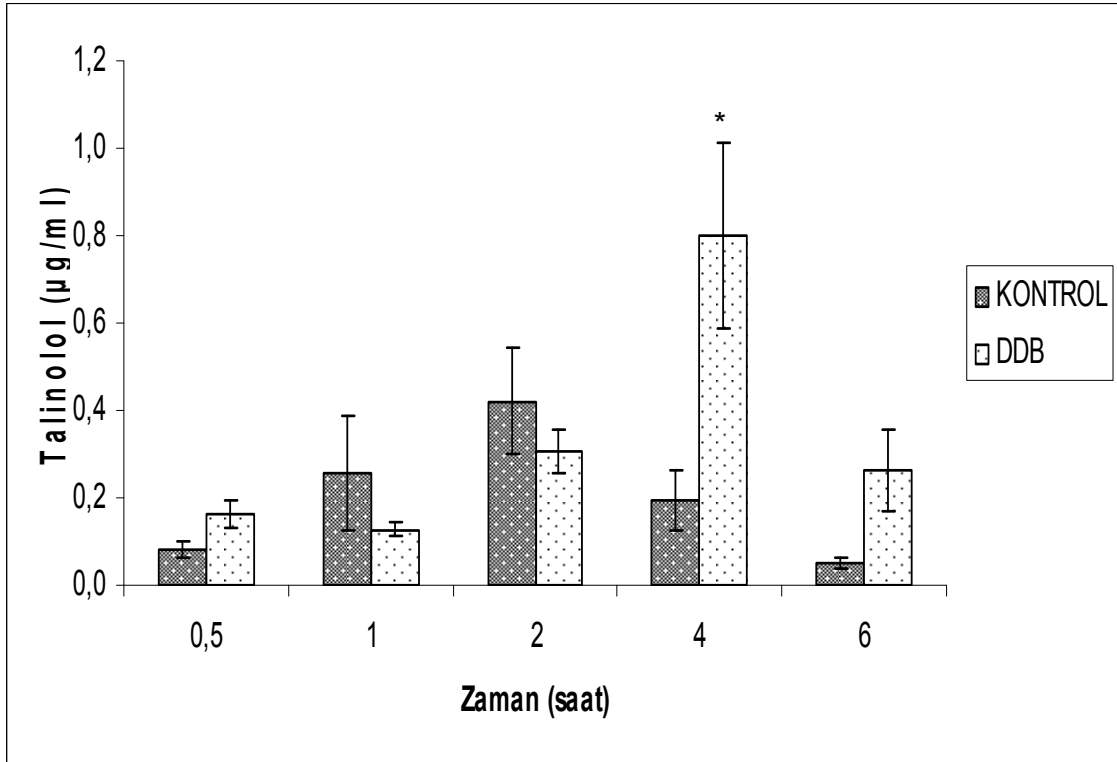


**Şekil 4-12: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında DDB (düşük doz barnidipin) grubuna ait talinolol plazma konsantrasyonu – zaman eğrisi (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )**



**Şekil 4-13: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma konsantrasyonu – zaman eğrileri (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )**



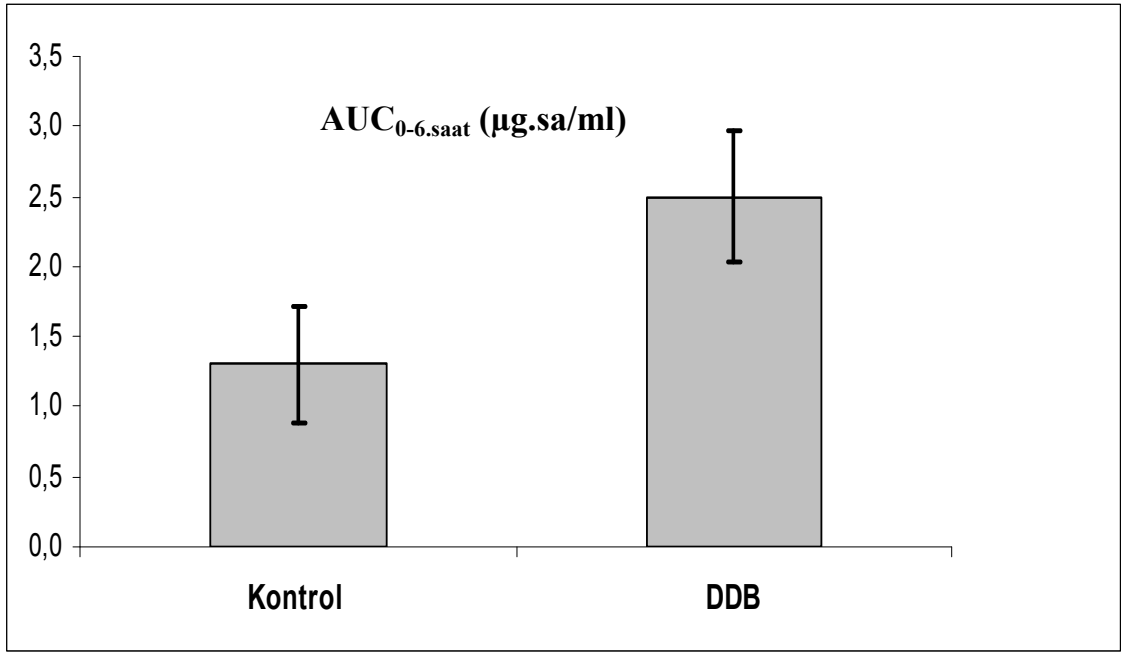


**Şekil 4-14: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolol plazma düzeylerinin zamana göre değişimi (ortalama  $\pm$  SE;  $\mu\text{g/ml}$ )**

\*  $p < 0,05$ , aynı zaman noktalarındaki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, (İstatistiksel analiz olarak Student's t-testi kullanılmıştır).

**Tablo 4-12: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolele ait plazma  $\text{AUC}_{0-6.\text{saat}}$  değerleri ( $\mu\text{g.sa/ml}$ )**

Talinolol plazma $\text{AUC}_{0-6.\text{saat}}$ değerleri ( $\mu\text{g.sa/ml}$ )		
<u>Sıçan No.</u>	<u>Kontrol</u>	<u>DDB</u>
1	2,47	3,49
2	1,25	3,06
3	0,93	2,01
4	0,57	1,45
X	1,30	2,50
SD	0,83	0,94
SE	0,41	0,47



**Şekil 4-15: Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında talinolole ait plazma AUC<sub>0-6.saat</sub> değerleri (ortalama ± SE; µg.sa/ml)**

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, P-gp inhibisyonuna yol açtığı in vitro şartlarda kanıtlanmış bir ilaç olan barnidipinin, bir P-gp substratı olan talinololün farmakokinetiğine etkisi sıçanlar üzerinde incelenmiştir. Tek doz barnidipin çalışmasında, talinolol 20 mg/kg dozda tek başına (kontrol grubu); barnidipin ise 1 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarda, talinolol ile birlikte oral yoldan sıçanlara uygulanmıştır. Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında ise, barnidipin 1 mg/kg dozda tek başına 4 gün süreyle ve 5. günde 20 mg/kg dozda talinolol ile birlikte sıçanlara oral yoldan verilmiştir. Plazmadaki talinolol düzeyleri valide edilmiş HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir.

Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalarda talinololün farmakokinetiği sıçanlarda ayrıntılı olarak incelendiğinden, bu çalışmalar dikkate alınarak, sıçanlara oral yoldan uygulanan talinolol dozu 20 mg/kg, kan örneği toplama zamanları ise 0., 0,5., 1., 2., 4. ve 6. saat olarak belirlenmiştir (Spahn-Langguth ve ark. 1998; Hanafy 2001). Yine daha önce yapılan P-gp'ye bağımlı ilaç etkileşme çalışmalarında, P-gp inhibitörü ilaçların substrat ilaç ile birlikte farklı doz düzeylerinde uygulanması gerekliliği üzerinde durulmuş olduğundan, barnidipin 1 mg/kg (düşük doz) ve 10 mg/kg (yüksek doz) olarak iki farklı dozda talinolol ile birlikte uygulanmıştır (Sakai ve ark. 1997; Spahn-Langguth ve ark. 1998). Ek olarak, yinelenen dozda barnidipin uygulanmasının talinolol farmakokinetiğine etkisi incelenmiştir.

Akut çalışma ve tekrarlı doz çalışmasında, kontrol gruplarının konsantrasyon-zaman eğrileri incelendiğinde, talinololün daha önceki çalışmalarımızla oldukça benzer bir farmakokinetik profil sergilediği görülürken, barnidipinin tek dozda ve yinelenen dozlarda uygulanmasının, talinololün farmakokinetik profilini oldukça değiştirdiği net bir şekilde tespit edilmiştir.

Tek doz barnidipin çalışmasında, kontrol grubunda  $t_{max}$  değeri 2. saat olarak tespit edilmiştir ve bu bulgu bundan önce yapılan çalışmalarla (Spahn-Langguth ve ark.

1998; Hanafy 2001) uyum göstermektedir. Düşük doz barnidipinin talinolol ile birlikte uygulandığı grupta ise talinololün maksimum plazma düzeylerine 4. saatin sonunda ulaşılmış ve talinololün pik plazma konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla %9'luk bir artış görülmüştür. Bununla birlikte, yüksek doz barnidipinin talinolol ile birlikte uygulanması, talinololün maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanını düşürmüş ve  $t_{max}$  değeri 30. dakika olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 30. dakikada talinololün maksimum plazma konsantrasyonunda %108 oranında artış görülmüştür. Ek olarak, hem düşük hem de yüksek doz barnidipinin talinolol ile birlikte uygulanması sonucunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 0-6 saat için hesaplanan AUC değerlerinde ( $AUC_{0-6saat}$ ) sırasıyla % 34 ve % 47 oranında artış görülmüştür. Düşük ve yüksek doz barnidipinin talinolol ile birlikte uygulanması ile kontrol grubuna göre hem  $C_{max}$  hem de  $AUC_{0-6saat}$  değerlerinde görülen bu artışlar istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Bununla birlikte yüksek doz barnidipinin talinolol ile birlikte uygulandığı grupta, kontrol grubu ile kıyaslandığında 0,5. saatin sonunda plazma talinolol konsantrasyonlarında 5,7 katlık bir artış görülmektedir ve istatistiki olarak ileri derecede anlamlı fark arz etmektedir ( $p<0,01$ ).

Elde ettiğimiz bu bulgular, barnidipinin, talinololün metabolizma sürecine olan etkisini ve ilaveten taşıyıcı proteinler üzerinden, talinolol farmakokinetiğinin, barnidipin tarafından değiştirilebileceğini akla getirmektedir. Talinololün metabolik degradasyonunda rol oynayan enzimin CYP3A4 olduğu düşünülmektedir, çünkü karaciğer mikrozomlarında yapılan çalışmalarda, talinololün tüm hidroksi metabolitlerinin oluşumu ketokonazol tarafından inhibe edilirken, kinidin veya  $\alpha$ -naftoflavon tarafından inhibe edilmemiştir (Zschiesche ve ark 2002). Oral yoldan uygulanan barnidipinin biyoyararlanımı oldukça düşüktür. İlacın biyoyararlanımının düşük olmasının bir nedeni bağırsak duvarı ve karaciğerdeki CYP3A4 enzimleri aracılığıyla büyük ölçüde ilk geçiş etkisine uğramasıdır (Teramura ve ark. 1996; Teramura, Fukunaga ve ark. 1997; Malhotra ve Plosker 2001). İlk bakışta, talinolol ile barnidipin arasında CYP3A4 enzimi üzerinden bir etkileşmenin olabileceği akla gelebilir. Ancak, talinololün uygulanan dozunun ancak %1'i metabolize edilmekte ve ilaç aslında büyük oranda intestinal sekresyona uğramakta ve değişmemiş olarak böbreklerden atılmaktadır (Trausch ve ark. 1995; Gramatte ve Oertel 1999; Tubic,

Wagner, Spahn-Langguth, Weiler ve ark. 2006). Dolayısıyla, talinolol ile CYP3A4 substratı barnidipin arasında metabolik düzeyde bir etkileşmenin oluşması mümkün gözükmemektedir.

CYP3A4 substratı olan barnidipinin aynı zamanda P-gp için de substrat olması şaşırtıcı değildir. Barnidipinin de dahil olduğu 1,4-dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerleri ile yapılan bir in vitro çalışmada, barnidipinin CYP3A4 enzim aktivitesi üzerine güçlü inhibitör etkilerinin gösterilmesinden sonra, CYP3A4 ile örtüşen bir substrat/inhibitör spesifitesine sahip P-gp ile de etkileşebileceği düşünülmüştür. Bu amaçla 1,4-dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokerlerinin P-gp aracılı transport üzerine inhibitör etkileri aşırı P-gp eksprese eden çeşitli özel hücre serileriyle in vitro koşullarda incelenmiştir (Kato, Nakajima, Shimada ve ark. 2000; Kato, Nakajima, Yamazaki ve ark. 2000). Kato ve arkadaşları tarafından yapılan in vitro çalışmalarda, MDR1 transfer edilmiş LLC-GA5-COL150 hücreleri kullanılarak, daunorubisin ve digoksinin bu hücre tabakalarından transselüler transportları, 1,4-dihidropiridin grubu kalsiyum antagonistlerinin varlığında ve yokluğunda değerlendirilmiştir. Daunorubisin ve saf bir P-gp substratı olan digoksin transportunun barnidipin ( $IC_{50} = 8.6 \mu M$ ) tarafından güçlü bir şekilde inhibe edildiği görülmüştür. (Kato, Nakajima, Yamazaki ve ark. 2000). Dolayısıyla, kontrol grubu ile kıyaslandığında, düşük ve yüksek doz barnidipin uygulamasıyla elde edilen  $AUC_{0-6saat}$  değerlerindeki artışlar ve yüksek doz barnidipin uygulanması sonucunda kontrol grubuna göre 0,5. saatte talinololün plazma konsantrasyonunda görülen 5,7 katlık artış P-gp inhibisyonu ile açıklanabilir.

Talinololün substrat olarak kullanıldığı daha önceki çalışmalarımızda, P-gp inhibitörü olan verapamil (1 mg/kg, p.o.), simvastatin (10 ve 100 mg/kg p.o.) ve vinblastinin (2,5 mg/kg p.o.) benzer şekilde talinololün AUC değerlerinde çeşitli oranlarda artış yaptığı saptanmıştır (Spahn-Langguth ve ark. 1998; Okyar 2004; Pala 2004). Yüksek doz barnidipin uygulanması sonucu elde edilen  $t_{max}$ 'taki azalma da yine P-gp inhibisyonu ile gerçekleşmiş olabilir. Daha önce yine Wistar sıçanlar üzerinde yaptığımız çalışmamızda, talinololün yüksek dozda oral yoldan verapamil (20 mg/kg) ile birlikte uygulanması ile talinololün  $C_{max}$  değerlerinde kontrol grubuna kıyasla artış görülürken,  $t_{max}$  değeri 0.5. saat (kontrol grubunda 2. saat) olarak saptanmıştır. Yüksek

doz barnidipin ile birlikte talinolol uygulanması ile elde edilen  $AUC_{0-6\text{saat}}$  değeri, kontrol grubu ile kıyaslandığında %47'lik bir artışa işaret etmektedir. İstatistiksel olarak anlamlılık arz etmeyen bu artışa ek olarak yüksek doz barnidipin uygulamasının, talinololün organizmadan daha yavaş elimine olmasına yol açtığı da izlenmektedir.

Tekrarlı doz barnidipin çalışmasında, barnidipinin 1 mg/kg dozda 4 gün süreyle tek başına ve 5. günde talinolol ile birlikte uygulanması, kontrol grubuna (4 gün boyunca % 0,5'lik metil selüloz çözeltisi uygulanan grup) kıyasla  $C_{\text{max}}$  ve  $AUC_{0-6\text{saat}}$  değerlerinde sırasıyla %90 ve % 92'lik artışlara sebep olmuştur. Ancak meydana gelen bu artışlar yine istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Ek olarak yinelenen dozda barnidipinin talinolol ile birlikte uygulandığı grupta, 4. saatlerde saptanan plazma talinolol konsantrasyonlarının kontrol grubu ile kıyaslandığında 3,2 kat arttığı görülmektedir ve bu fark istatistiki olarak anlamlılık arz etmektedir ( $p < 0,05$ ). Barnidipinin yinelenen dozlarda uygulanması ile meydana gelen  $C_{\text{max}}$  ve  $AUC_{0-6\text{saat}}$  değerlerindeki artışlar akut çalışmalarda olduğu gibi P-gp inhibisyonuna bağlı olabilir. İlave olarak, literatürlerde barnidipinin de içinde bulunduğu bazı kalsiyum kanal blokerlerinin, in vitro koşullarda P-gp'nin mRNA'sında azalma (downregülasyon) meydana getirdikleri bildirilmiştir.

Takara ve arkadaşları tarafından yapılan bir in vitro çalışmada 12 kalsiyum antagonistinin MDR1-aracılı transport ve MDR1 mRNA ekspresyonu üzerine etkileri iki ayrı hücre kültürü üzerinde incelenmiştir. Kalsiyum antagonistlerinin MDR1-aracılı digoksin transportu üzerine inhibitör etkileri aşırı MDR1 eksprese eden LLC-GA5-COL150 hücrelerinde araştırılmıştır. Daha sonra, aşırı P-gp eksprese eden Hvr100-6 hücre serilerinde, kalsiyum antagonistlerinin, MDR1 substratları olan vinblastin ve paklitaksele karşı çoklu ilaç rezistansını tersine çevirici etkileri incelenmiştir (Takara ve ark. 2002). Bu 12 kalsiyum kanal blokerinin LLC-GA5-COL150 hücrelerinde digoksin transportunu inhibe edici güçleri sırasıyla nikardipin, manidipin, benidipin > bepridil, barnidipin, efonidipin, verapamil, nilvadipin > nisoldipin > nitrendipin > diltiazem > nifedipin şeklindedir. Kalsiyum kanal blokerlerinin Hvr100-6 hücrelerinde vinblastin ve paklitaksele karşı çoklu ilaç rezistansını tersine çevirici etkileri ise sırasıyla manidipin > verapamil > benidipin >

barnidipin > nikardipin > bepridil, diltiazem, nilvadipin > efonidipin, nifedipin, nisoldipin, nitrendipin şeklindedir. Bepridil, barnidipin, efonidipin, verapamil ve nilvadipin, digoksin transportu üzerinde benzer inhibitör etkiler göstermiştir. Ancak barnidipin ve verapamilin, vinblastin ve paklitaksel transportu üzerinde çok daha güçlü etkiler gösterdiği görülmüştür. LLC-GA5-COL150 hücreleri kalsiyum kanal antagonistlerine sadece 4 saat; Hvr100-6 hücreleri ise 3 gün boyunca maruz bırakılmıştır. RT-PCR analizi ile bu hücrelerde barnidipin ve verapamil tarafından MDR1 mRNA ekspresyonunun azaltıldığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, barnidipin ve verapamilin; vinblastin ve paklitakselin MDR1-aracılı transportu üzerine güçlü inhibitör etkileri, barnidipin ve verapamil tarafından MDR1 mRNA ekspresyonunun azaltılması (downregülasyon) ile açıklanmıştır (Takara ve ark. 2002). Bu sonuçlar, bazı farmakolojik ajanlar tarafından MDR1 mRNA ekspresyonunun downregülasyonunun, çoklu ilaç rezistansının geri çevrilmesinde yeni bir strateji olabileceğini göstermektedir. Bugüne kadar MDR1 mRNA'nın downregülasyonu verapamil, kersetin, mitramisin, eritroid farklılaşma faktörü aktivin A gibi makromoleküller ve lökoregulin ile gösterilmiştir (Takara ve ark. 2002).

Komoto ve arkadaşları tarafından yürütülen bir başka in vitro çalışmada HeLa ve Hvr100-6 hücreleri kullanılarak kalsiyum antagonistlerinin MDR1 mRNA ekspresyonu üzerine etkileri incelenmiş ve bu çalışmayla Takaro ve arkadaşlarının bulguları desteklenmiştir. Barnidipin, benidipin, manidipin, nikardipin ve verapamil, Hvr100-6 hücrelerinde doksorubisin HCl ve daonurubisin HCl'ye karşı oluşan direnci tersine çevirmiştir. Ayrıca, kalsiyum antagonistlerinin MDR1-aracılı efluks transportu üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla vinblastinin Hvr100-6 hücrelerindeki akümüülasyonu incelenmiştir. Barnidipin, benidipin, manidipin, nikardipin ve verapamil, Hvr100-6 hücrelerinde, vinblastinin MDR1-aracılı transportunu inhibe etmiştir. Bu bulgular Takaro ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışma bulgularını desteklemektedir. Ek olarak Hvr100-6 hücrelerinde MDR1 mRNA ekspresyonunun, barnidipin, manidipin, nikardipin ve verapamil tarafından azaltıldığı görülmüştür (Komoto ve ark. 2007). Özetle, kalsiyum kanal blokerlerinden barnidipin, P-gp'yi direkt inhibe edici etkilerinin yanında downregülasyon suretiyle MDR1 mRNA ekspresyonunu azaltarak MDR1-aracılı transport üzerine güçlü inhibitör etkiler

gösterebilmektedir (Takara ve ark. 2002; Komoto ve ark. 2007). Bu bulgular, P-gp substratlarının özellikle barnidipin ile uzun süre birlikte kullanıldıklarında MDR1'in downregülasyonu nedeniyle farmakokinetik profillerinin değişebileceğini göstermektedir.

İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, düşük doz barnidipinin talinolol ile tek doz uygulandığı grupta  $AUC_{0-6\text{saat}}$  değerindeki artış kontrole göre % 47 iken, tekrarlı doz çalışmasında barnidipinin yinelenen dozda uygulandığı grupta  $AUC_{0-6\text{saat}}$  değerlerindeki artışın %92 olması P-gp mRNA ekspresyonunda azalmayı düşündürmektedir. Bununla beraber, verapamilin in situ şartlarda, yinelenen dozda uygulandığında talinololün efektif permeabilitesinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediği çalışma grubumuza bağlı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Hanafy ve ark. 2001). Bir başka ifadeyle in vitro çalışmalardaki sonuçlar ile in situ sonuçlar paralellik arz etmemektedir. Ancak verapamil için geçerli bu durumun barnidipin için geçerli olup-olmadığı henüz bilinmemektedir ve in situ intestinal perfüzyon çalışması ile açıklığa kavuşturulabilir.

Burada dikkat çekici hususlar, tek doz çalışmasında düşük doz barnidipinin uygulandığı grupta talinololün plazma konsantrasyonlarının iki ayrı zaman noktasında pik yapması, tekrarlı doz barnidipin çalışmasında, talinololün  $t_{\text{max}}$  değerinin 4. saatte gerçekleşmesi ve bu saatte saptanan yüksek plazma talinolol konsantrasyonlarıdır. Talinolol farmakokinetiği ile ilgili klinik ve prelinik çalışmalar mercek altına alındığında çift pik fenomeninin varlığı bilinmektedir (Westphal ve ark. 2000; Weitschies ve ark. 2005; Bernsdorf ve ark. 2006; Okyar ve ark. yayınlanmamış çalışma). Çift pik fenomeni bu zamana kadar insanlarda oral yoldan uygulanan simetidin, furosemid, piroksikam, ranitidin, alprazolam, fenazopiridin ve talinolol gibi ilaçlarda saptanmıştır. Enterohepatik siklus, gastrointestinal transit zamanı, gastrik motilitenin azalması, pH'ya bağlı çözünürlük, presistemik metabolizma/eflüks ve göreceli olarak absorpsiyonun daha düşük olduğu bir bölge ile birbirinden ayrılan iki ayrı absorpsiyon bölgesinin varlığı gibi çeşitli faktörlerin çift pik fenomenine yol açtığı düşünülmektedir. Bazı durumlarda ilacın farmakolojik etkisinin de çift pik oluşumunda etkili olabileceği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada alprazolamın oral uygulanmasını



takiben çift pik fenomeni görülmüştür ve bu durum alprazolamın kas gevşetici etkisinden dolayı gastrik motilitenin azalması ile açıklanmıştır. Talinololün oral uygulanmasından sonra çoğu bireyde 1-2 ve 4-6. saatlerde çift pik fenomeni gözlenmektedir. Talinololde bu fenomenin varlığı intestinal-hepatik absorpsiyon yolağı boyunca heterojen emilim ve efluks olaylarının karmaşık etkileşimi ile açıklanmıştır. Presistemik enterohepatik yolak boyunca enterositlerin ve hepatositlerin apikal ve bazolateral membranlarında yer alan çeşitli ilaç uptake ve efluks taşıyıcılarının varlığı ve koordineli etkileşimi söz konusudur. Talinolol için uptake taşıyıcılarının varlığı talinolol absorpsiyonu üzerindeki P-gp etkisini maskeleyebilmektedir (Siegmond ve ark. 2003; Zhou 2003; Shang ve ark. 2005; Weitschies ve ark. 2005; Mirfazaelian ve Mahmoudian 2006). Yapılan çalışmalarda rifampisin, karbamazepin ve tiroksin tarafından duodenal P-gp'nin induksiyonu talinolol biyoyararlanımını azaltmış ve eliminasyon hızını artırmıştır. Bu çalışmalarda çift pik fenomeni korunmuştur. Diğer taraftan, talinololün, nonspesifik P-gp modülatörü olan eritromisin ile birlikte kullanıldığı çalışmada talinolol absorpsiyonu artmıştır ve bununla birlikte ikinci pik fenomeni, yüksek birinci pikten dolayı ortadan kalkmıştır (Weitschies ve ark. 2005). Bizim çalışmamızda da yüksek doz barnidipinin talinolol ile birlikte uygulandığı grupta çift pik fenomeninin görülmemesinin nedeni plazma düzeylerinin hızlı bir şekilde pik yapması ( $t_{max} = 0,5$  saat) olabilir.

Sonuç olarak, barnidipin uygulamasının talinololün farmakokinetik profilini değiştirdiği ve uygulanan barnidipin dozuna ve süresine bağlı olarak P-gp'nin bundan değişik şekillerde etkilenebileceği muhtemel gözükmektedir. Ek olarak, barnidipinin, birçoğu SLC (Solute Carrier) familyasında yer alan ve bağırsakta absorpsiyondan sorumlu taşıyıcılar (absorptif taşıyıcılar) ile etkileşme potansiyeli akılda tutulmalıdır. Barnidipinin de dahil olduğu 1,4-dihidropiridin türevi kalsiyum kanal blokerleri çok eski yıllardan beri hipertansiyon tedavisinde kullanılan önemli bir ilaç grubudur. Hipertansiyon, genellikle 50'li yaşlardan sonra başlayan ve hayat boyu devam eden, vücutta diğer birçok hastalığın oluşmasından sorumlu bir hastalıktır. Hipertansiyonda tedavi etkinliğini artırmak amacıyla sıklıkla uygulanan kombine ilaç tedavileri ve özellikle birden çok hastalığın bir arada görüldüğü yaşlı hasta popülasyonunda hipertansiyona eşlik eden diğer hastalıklar, çeşitli ilaçların eşzamanlı olarak

kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir. Barnidipin ile tedavi sırasında alınan diğerk ilaçlar, farmakokinetik ilaç etkileşmeleri ve istenmeyen yan etkiler ile sonuçlanabilir. Farmakokinetik etkileşmeler, barnidipin ile birlikte uygulanan ilaçların terapötik etkilerinin şiddetlenmesine, etki sürelerinin değişmesine veya toksik etkilerinin görülmesine neden olabilir.

Çalışmamızın, barnidipin ile tedavi sırasında eş zamanlı olarak alınan ve P-gp için substrat olan ilaçlar arasında meydana gelebilecek ilaç-ilaç etkileşmelerinin aydınlatılması amacıyla yapılması muhtemel prelinik ve klinik çalışmalar için temel teşkil etmesini ve bundan sonra yapılacak taşıyıcı aracılı etkileşme çalışmalarına katkıda bulunmasını öngörmekteyiz.

## 6. KAYNAKLAR

- Aszalos, A. (2007). Drug-drug interactions affected by the transporter protein, P-glycoprotein (ABCB1, MDR1) II. Clinical aspects. *Drug Discovery Today*, **12(19-20)**, 838-843.
- Balayssac, D., Authier, N., Cayre A., ve Coudore, F. (2005). Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug-drug interactions? *Toxicology Letters*, **156**, 319-329.
- Bernsdorf, A., Giessmann, T., Modess, C., Wegner, D., Igelbrink, S., Hecker, U. ve ark. (2006). Simvastatin does not influence the intestinal P-glycoprotein and MRP2, and the disposition of talinolol after chronic medication in healthy subjects genotyped for the ABCB1, ABCC2 and SLCO1B1 polymorphisms. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **61(4)**, 440-450.
- Beudeker, H.J., van der Velden, J.W. ve van der Aar, E.M. (2000). Interaction profile and tolerability of barnidipine. *International Journal of Clinical Practice*, **114**, 36-40.
- Ceckova-Novotna, M., Pavek, P. ve Staud, F. (2006). P-glycoprotein in the placenta: expression, localization, regulation and function. *Reproductive Toxicology*, **22**, 400-410.
- Chan, L.M., Lowes, S. ve Hirst, B.H. (2004). The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **21**, 25-51.
- Chishty, M., Reichel, A., Siva, J., Abbott, N.J. ve Begley, D.J. (2001). Affinity for the P-glycoprotein efflux pump at the blood-brain barrier may explain the lack of CNS side-effects of modern antihistamines. *Journal of Drug Targeting*, **9(3)**, 223-228.
- Choudhuri, S. ve Klaassen, C.D. (2006). Structure, function, expression, genomic organization, and single nucleotide polymorphisms of human ABCB1 (MDR1), ABCC (MRP), and ABCG2 (BCRP) efflux transporters. *International Journal of Toxicology*, **25**, 231-259.
- Coley, H.M. (2010). Overcoming multidrug resistance in cancer: clinical studies of P-glycoprotein inhibitors. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 341-358.

- Dan, Y., Murakami, H., Koyabu, N., Ohtani, H. ve Sawada, Y. (2002). Distribution of domperidone into the rat brain is increased by brain ischaemia or treatment with the P-glycoprotein inhibitor verapamil. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **54(5)**, 729-733.
- Dean, M., Rzhetsky A. ve Allikmets R. (2001). The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Research*, **11(7)**, 1156-1166.
- Del Amo E.M., Heikkinen, A.T. ve Mönkkönen, J. (2009). In vitro-in vivo correlation in P-glycoprotein mediated transport in intestinal absorption. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **36**, 200-211.
- De Mey, C., Schroeter, V., Butzer, R., Jahn, P., Weisser, K., Wetterich, U. ve ark. (1995). Dose-effect and kinetic-dynamic relationships of the beta-adrenoceptor blocking properties of various doses of talinolol in healthy humans. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **26**, 879-888.
- DuBuske, L.M. (2005). The role of P-glycoprotein and organic anion-transporting polypeptides in drug interactions. *Drug Safety*, **28(9)**, 789-801.
- Fischer, V., Einolf, H.J. ve Cohen, D. (2005). Efflux transporters and their clinical relevance. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **5**, 183-195.
- Fromm, M.F. (2002). The influence of MDR1 polymorphisms on P-glycoprotein expression and function in humans. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54**, 1295-1310.
- Fromm, M.F. (2004). Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends in Pharmacological Sciences*, **25(8)**, 423-429.
- Giessmann, T., May, K., Modess, C., Wegner, D., Hecker, U., Zschiesche, M. ve ark. (2004). Carbamazepine regulates intestinal P-glycoprotein and multidrug resistance protein MRP2 and influences disposition of talinolol in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **76**, 192-200.
- Gramatte, T. ve Oertel, R. (1999). Intestinal secretion of intravenous talinolol is inhibited by luminal R-verapamil. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **66**, 239-245.
- Gramatte, T., Oertel, R., Terhaag, B. ve Kirch, W. (1996). Direct demonstration of small intestinal secretion and site-dependent absorption of the beta-blocker talinolol in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **59**, 541-549.

- Hanafy, A. (2001). *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.
- He, J., Terhaag, B., Yang, L.Y., Zhang, B.K., Su, F.L., Zhu, Y.G. ve ark. (2007). Determination of talinolol in human plasma by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry: application to pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*, **853**, 275-280.
- Huls, M., Russel, F.G., ve Masereeuw, R. (2009). The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **328(1)**, 3-9.
- Johnstone, R.W., Ruefli, A.A. ve Smyth, M.J. (2000). Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends in Biochemical Sciences*, **25(1)**, 1-6.
- Juliano, R.L. ve Ling, V. (1976). A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochimica et Biophysica Acta*, **455**, 152-162.
- Kageyama, M., Fukushima, K., Togawa, T., Fujimoto, K., Taki, M., Nishimura, A., ve ark. (2006). Relationship between excretion clearance of rhodamine 123 and P-glycoprotein (Pgp) expression induced by representative Pgp inducers. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **29(4)**, 779-784.
- Katoh, M., Nakajima, M., Shimada, N., Yamazaki, H. ve Yokoi, T. (2000). Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by 1,4-dihydropyridine calcium antagonists: prediction of in vivo drug-drug interactions. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **55(11-12)**, 843-852.
- Katoh, M., Nakajima, M., Yamazaki, H. ve Yokoi, T. (2000). Inhibitory potencies of 1,4-dihydropyridine calcium antagonists to P-glycoprotein-mediated transport: comparison with the effects on CYP3A4. *Pharmaceutical Research*, **17(10)**, 1189-1197.
- Kayaalp, S.O. (Ed.). (2009). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (12. Baskı). Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd. Şti.
- Kivistö, K.T., Niemi, M. ve Fromm, M.F. (2004). Functional interaction of intestinal CYP3A4 and P-glycoprotein. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, **18**, 621-626.

- Klaassen, C.D. ve Aleksunes, L.M. (2010). Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation. *Pharmacological Reviews*, **62(1)**, 1-96.
- Komoto, C., Nakamura, T., Yamamori, M., Ohmoto, N., Kobayashi, H., Kuwahara, A. ve ark. (2007). Reversal effects of Ca<sup>2+</sup> antagonists on multidrug resistance via down-regulation of MDR1 mRNA. *The Kobe Journal of Medical Sciences*, **53(6)**, 355-363.
- Korstanje, C. (2000). Barnidipine, a long-acting slow onset calcium antagonist. *International Journal of Clinical Practice*, **114**, 2-5.
- Krishna, R. ve Mayer, L.D. (2000). Multidrug resistance (MDR) in cancer mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **11**, 265-283.
- Krishna, R. ve Mayer, L.D. (2001). Modulation of P-glycoprotein (PGP) mediated multidrug resistance (MDR) using chemosensitizers: recent advances in the design of selective MDR modulators. *Current Medicinal Chemistry-Anticancer Agents*, **1(2)**, 163-174.
- Krueger, M., Achenbach, H., Terhaag, B., Haase, H., Richter, K., Oertel, R. ve ark. (2001). Pharmacokinetics of oral talinolol following a single dose and during steady state in patients with chronic renal failure and healthy volunteers. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **39**, 61-66.
- Kunta, J.R. ve Sinko, P.J. (2004). Intestinal drug transporters: in vivo function and clinical importance. *Current Drug Metabolism*, **5**, 109-124.
- Lee, C.H. (2010). Reversing agents for ATP-binding cassette drug transporters. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 325-340.
- Liau, C.S. (2005). Barnidipine: a new calcium channel blocker for hypertension treatment. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, **3(2)**, 207-213.
- Lin, J.H., Chiba, M. ve Baillie, T.A. (1999). Is the role of the small intestine in first-pass metabolism overemphasized? *Pharmacological Reviews*, **51(2)**, 135-158.
- Lin, J.H., Chiba, M., Chen, I.W., Nishime, J.A., Deluna, F.A., Yamazaki, M. ve Lin, Y.J. (1999). Effect of dexamethasone on the intestinal first-pass metabolism of indinavir in rats: evidence of cytochrome P-450 3A and P-glycoprotein induction. *Drug Metabolism and Disposition*, **27(10)**, 1187-1193.

- Lin, J.H. ve Yamazaki, M. (2003). Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*, **42(1)**, 59-98.
- Linnet, K. ve Ejsing, T.B. (2008). A review on the impact of P-glycoprotein on the penetration of drugs into the brain. Focus on psychotropic drugs. *European Neuropsychopharmacology*, **18**, 157-169.
- Liver: Localization of efflux and uptake transporters in hepatocytes*. Erişim 16.06.2010. Solvo Biotechnology: <http://www.solvobiotech.com/Solvo%20Solutions/liver.html>
- Loo, T.W. ve Clarke D.M. (2008). Mutational analysis of ABC proteins. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **476**, 51-64.
- Malhotra, H.S. ve Plosker, G.L. (2001). Barnidipine. *Drugs*, **61(7)**, 989-996.
- Marchetti, S. Mazzanti, R. Beijnen, J.H. ve Schellens, J.H. (2007). Concise review: Clinical relevance of drug-drug and herb-drug interactions mediated by the ABC transporter ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *The Oncologist*, **12**, 927-941.
- Marzolini, C., Paus, E., Buclin, T. ve Kim, R.B. (2004). Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): Recent advances and clinical relevance. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **75**, 13-33.
- Matheny, C.J., Lamb, M.W., Brouwer, K.R. ve Pollack, G.M. (2001). Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Pharmacotherapy*, **21(7)**, 778-796.
- Mathias, A.A., Hitti, J. ve Unadkat, J.D. (2005). P-glycoprotein and breast cancer resistance protein expression in human placenta of various gestational ages. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **289(4)**, 963-969.
- Mirfazaelian, A. ve Mahmoudian, M. (2006). A simple pharmacokinetics subroutine for modeling double peak phenomenon. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, **27**, 119-124.
- Morjani, H. ve Madoulet, C. (2010). Immunosuppressors as multidrug resistance reversal agents. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 433-446.
- Oertel, R., Richter, K., Gramatte, T. ve Kirch, W. (1998). Determination of drugs in biological fluids by high-performance liquid chromatography with on-line sample processing. *Journal of Chromatography A*, **797**, 203-209.

- Oertel, R., Richter, K., Trausch, B., Berndt, A., Gramatte, T. ve Kirch, W. (1994). Elucidation of the structure of talinolol metabolites in man. Determination of talinolol and hydroxylated talinolol metabolites in urine and analysis of talinolol in serum. *Journal of Chromatography B*, **660**, 353-363.
- Okyar, A. (2004). *Vinblastin ve atorvastatinin P-glikoprotein üzerinden talinolol farmakokinetiğini değiştirmesinin incelenmesi*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.
- Otterstad, J.E. ve Ruilope, L.M. (2000). Treatment of hypertension in the very old. *International Journal of Clinical Practice*, **114**, 10-19.
- Padowski, J.M. ve Pollack, G.M. (2010). Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Methods in Molecular Biology*, **596**, 359-384.
- Pala, Z. (2004). *Talinolol ve simvastatin arasında P-glikoproteine bağlı olası bir farmakokinetik etkileşmenin incelenmesi*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.
- Potschka, H. (2010). Targeting regulation of ABC efflux transporters in brain diseases: a novel therapeutic approach. *Pharmacology and Therapeutics*, **125**, 118-127.
- Ravna, A.W. ve Sager, G. (2009). Molecular modeling studies of ABC transporters involved in multidrug resistance. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **(9)**, 186-193.
- Rees, D.C., Johnson, E. ve Lewinson, O. (2009). ABC transporters: the power to change. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **10**, 218-227.
- Ruilope, L.M. ve Coca, A. (1998). The role of combination therapy in the treatment of hypertension. *Blood Pressure*, **7(Suppl 1)**, 22-26.
- Sadeque, A.J., Wandel, C., He, H., Shah, S. ve Wood, A.J. 2000. Increased drug delivery to the brain by P-glycoprotein inhibition. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **68(3)**, 231-237.
- Sakai, T., Teramura, T., Okamiya, H. ve Inagaki, O. (1997). A review on barnidipine: a novel calcium antagonist. *Cardiovascular Drug Reviews*, **15(4)**, 273-290.
- Schinkel, A.H. (1997). The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Seminars in Cancer Biology*, **8**, 161-170.



- Schinkel, A.H. ve Jonker, J.W. (2003). Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **55(1)**, 3-29.
- Schwarz, U.I., Gramatte, T., Krappweis, J., Oertel, R. ve Kirch, W. (2000). P-glycoprotein inhibitor erythromycin increases oral bioavailability of talinolol in humans. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **38**, 161-167.
- Schwarz, U.I., Hanso, H., Oertel, R., Miehle, S., Kuhlisch, E., Glaeser, H. ve ark. (2007). Induction of intestinal P-glycoprotein by St John's Wort reduces the oral bioavailability of talinolol. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **81(5)**, 669-678.
- Seeger, M.A. ve van Veen, H.W. (2009). Molecular basis of multidrug transport by ABC transporters. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1794**, 725-737.
- Seelig, A. ve Gatlik-Landwojtowicz, E. (2005). Inhibitors of multidrug efflux transporters: their membrane and protein interactions. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **5**, 135-151.
- Shang, E., Xiang, B., Liu, G., Xie, S., Wie, W. ve Lu, J. (2005). Determination of phenazopyridine in human plasma via LC-MS and subsequent development of a pharmacokinetic model. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **382(1)**, 216-222.
- Siegmund, W., Altmannsberger, S., Paneitz, A., Hecker, U., Zschesche, M., Franke, G. ve ark. (2002). Effect of levothyroxine administration on intestinal P-glycoprotein expression: consequences for drug disposition. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **72**, 256-264.
- Siegmund, W., Ludwig, K., Engel, G., Zschesche, M., Franke, G., Hoffmann, A. ve ark. (2003). Variability of intestinal expression of P-glycoprotein in healthy volunteers as described by absorption of talinolol from four bioequivalent tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **92(3)**, 604-610.
- Spahn-Langguth, H., Baktir, G., Radschuweit, A., Okyar, A., Terhaag, B., Ader, P. ve ark. (1998). P-glycoprotein transporters and the gastrointestinal tract: evaluation of the potential in vivo relevance of in vitro data employing talinolol as model compound. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **36(1)**, 16-24.

- Spahn-Langguth, H. ve Langguth, P. (2001). Grapefruit juice enhances intestinal absorption of the P-glycoprotein substrate talinolol. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **12**, 361-367.
- Spirou, A., Rizos, E., Liberopoulos, E.N., Kolaitis, N., Achimastos, A., Tselepis, A.D. ve ark. (2006). Effect of barnidipine on blood pressure and serum metabolic parameters in patients with essential hypertension: a pilot study. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, **11(4)**, 256-261.
- Srinivas, E., Murthy, J.N., Rao, A.R. ve Sastry, G.N. (2006). Recent advances in molecular modeling and medicinal chemistry aspects of phospho-glycoprotein. *Current Drug Metabolism*, **7(2)**, 205-217.
- Stanley, L.A., Horsburgh, B.C., Ross, J., Scheer, N. ve Wolf, C.R. (2009). Drug transporters: gatekeepers controlling access of xenobiotics to the cellular interior. *Drug Metabolism Reviews*, **41(1)**, 27-65.
- Stavrovskaya, A.A. ve Stromskaya, T.P. (2008). Transport proteins of the ABC family and multidrug resistance of tumor cells. *Biochemistry (Moscow)*, **73(5)**, 592-604.
- Takano, M., Yumoto, R. ve Murakami, T. (2006). Expression and function of efflux drug transporters in the intestine. *Pharmacology and Therapeutics*, **109**, 137-161.
- Takara, K., Sakaeda, T., Tanigawara, Y., Nishiguchi, K., Ohmoto, N., Horinouchi, M. ve ark. (2002). Effects of 12 Ca<sup>2+</sup> antagonists on multidrug resistance, MDR1-mediated transport and MDR1 mRNA expression. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**, 159-165.
- Teramura, T., Fukunaga, Y., Van Hoogdalem, E.J., Watanabe, T ve Higuchi, S. (1997). Examination of metabolic pathways and identification of human liver cytochrome P450 isozymes responsible for the metabolism of barnidipine, a calcium channel blocker. *Xenobiotica*, **27(9)**, 885-900.
- Teramura, T., Tokunaga, T., Matsumoto, H., Watanabe, T. ve Higuchi, S. (1996). Metabolism of barnidipine hydrochloride, a potent calcium antagonist, in rat and dog. *Xenobiotica*, **26(2)**, 177-187.
- Teramura, T., Watanabe, T., Higuchi, S. ve Hashimoto, K. (1995). Pharmacokinetics of barnidipine hydrochloride, a new dihydropyridine calcium channel blocker, in the rat, dog and human. *Xenobiotica*, **25(11)**, 1237-1246.

- Teramura, T., Watanabe, T., Higuchi, S. ve Hashimoto, K. (1997). Metabolism and pharmacokinetics of barnidipine hydrochloride, a calcium channel blocker, in man following oral administration of its sustained release formulation. *Xenobiotica*, **27(2)**, 203-216.
- Terhaag, B., Palm, U., Sahre, H., Richter, K. ve Oertel, R. (1992). Interaction of talinolol and sulfasalazine in the human gastrointestinal tract. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **42**, 461-462.
- Trausch, B., Oertel, R., Richter, K. ve Gramatte, T. (1995). Disposition and bioavailability of the  $\beta_1$ -adrenoceptor antagonist talinolol in man. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, **16**, 403-414.
- Tubic, M., Wagner, D., Spahn-Langguth, H., Bolger, M.B. ve Langguth, P. (2006). In silico modeling of non-linear drug absorption for the P-gp substrate talinolol and of consequences for the resulting pharmacodynamic effect. *Pharmaceutical Research*, **23(8)**, 1712-1720.
- Tubic, M., Wagner, D., Spahn-Langguth, H., Weiler, C., Wanitschke, R., Böcher, W.O. ve ark. (2006). Effects of controlled-release on the pharmacokinetics and absorption characteristics of a compound undergoing intestinal efflux in humans. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **29**, 231-239.
- Urquhart, B.L. ve Kim, R.B. (2009). Blood-brain barrier transporters and response to CNS-active drugs. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **65**, 1063-1070.
- Üstünes, L. (Ed.). (2010). *Rx MediaPharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı*. İzmir: Gemaş.
- Vaalburg, W., Hendrikse, N.H., Elsinga, P.H., Bart, J. ve van Waarde, A. (2005). P-glycoprotein activity and biological response. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **207**, (257-260).
- Vahakangas, K. ve Myllynen, P. (2009). Drug transporters in human blood-placental barrier. *British Journal of Pharmacology*, **158**, 665-678.
- Van der Velden, J.W., Beudeker, H.J. ve Nishi, M. (1998). Diversity and intensity of adverse events in the treatment of hypertension with barnidipine. *Blood Pressure*, **7(Suppl 1)**, 27-29.
- Van Zwieten, P.A. (1998). Pharmacological profile of barnidipine: a single optical isomer dihydropyridine calcium antagonist. *Blood Pressure*, **7(Suppl 1)**, 5-8.

- Varma, M.V., Ashokraj, Y., Dey, C.S. ve Panchagnula, R. (2003). P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacological Research*, **48**, 347-359.
- Verlag, C. (Ed.). (2000). *Rote Liste® 2000, Arzneimittelverzeichnis für Deutschland*. Aulendorf, Germany: Editio Cantor Verlag GmbH.
- Weier, N., He, S.M., Li, X.T., Wang, L.L. ve Zhou, S.F. (2008). Placental drug disposition and its clinical implications. *Current Drug Metabolism*, **9(2)**, 106-121.
- Weitschies, W., Bernsdorf, A., Giessmann, T., Zschiesche, M., Modess, C., Hartmann, V. ve ark. (2005). The talinolol double-peak phenomenon is likely caused by presystemic processing after uptake from gut lumen. *Pharmaceutical Research*, **22(5)**, 728-735.
- Westphal, K., Weinbrenner, A., Giessmann, T., Stuhr, M., Franke, G., Zschiesche, M. ve ark. (2000). Oral bioavailability of digoxin is enhanced by talinolol: evidence for involvement of intestinal P-glycoprotein. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **68(1)**, 6-12.
- Westphal, K., Weinbrenner, A., Zschiesche, M., Franke, G., Knoke, M. Oertel, R. ve ark. (2000). Induction of P-glycoprotein by rifampin increases intestinal secretion of talinolol in human beings: a new type of drug/drug interaction. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **68(4)**, 345-355.
- Wetterich, U., Spahn-Langguth, H., Mutschler, E., Terhaag, B., Rösch, W. ve Langguth, P. (1996). Evidence for intestinal secretion as an additional clearance pathway of talinolol enantiomers: concentration- and dose-dependent absorption in vitro and in vivo. *Pharmaceutical Research*, **13(4)**, 514-522.
- Xie, Y., Liu, J., Liu, Y., Klaassen, C.D. ve Waalkes, M.P. (2004). Toxicokinetic and genomic analysis of chronic arsenic exposure in multidrug-resistance *mdr1a/1b(-/-)* double knockout mice. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **255**, 11-18.
- Yamada, S., Matsuoka, Y., Suzuki, N., Sugimoto, N., Kato, Y. ve Kimura, R. (1992). Determination of a novel calcium channel antagonist, mepirodipine, in plasma by radioreceptor assay using (+)-[3H]PN 200-110. *Pharmaceutical Research*, **9(9)**, 1227-1230.
- Yuan, H., Li, X., Wu, J., Li, J., Qu, X., Xu, W. ve Tang, W. (2008). Strategies to overcome or circumvent P-glycoprotein mediated multidrug resistance. *Current Medicinal Chemistry*, **15**, 470-476.

- Zhang, Y. ve Benet, L.Z. (2001). The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein. *Clinical Pharmacokinetics*, **40(3)**, 159-168.
- Zhou, H. (2005). Pharmacokinetic strategies in deciphering atypical drug absorption profiles. *Journal of Clinical Pharmacology*, **43(3)**, 211-227.
- Zhou, S.F. (2008). Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica*, **38(7-8)**, 802-832.
- Zschiesche, M., Lemma, G.L., Klebingat, K.J., Franke, G., Terhaag, B., Hoffman, A. ve ark. (2002). Stereoselective disposition of talinolol in man. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **91**, 303-311.

## ETİK KURUL KARARI



T.C  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 123

24/09/2009

Sn. Yrd. Doç. Dr. Alper OKYAR  
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Karar No: 111  
Başvuru Tarihi: 11/09/2009

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Eczacı Narin ÖZTÜRK'e ait "Barnidipin ve talinolol arasındaki P-glikoproteine bağlı olası bir farmakokinetik etkileşmenin incelenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ  
İ. Ü. HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Müjdat UYSAL  
Üye

Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN  
Üye

Prof. Dr. Muriye AKEV  
Üye

Doç. Dr. Alper YILMAZ  
Üye

Doç. Dr. Mehmet YALTIRIK  
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ  
Üye

Avukat Safiye ALTUN  
Üye

Mak. Müh. Seyfettin AVCI  
Üye

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Narin	<b>Soyadı</b>	Öztürk
<b>Doğ.Yeri</b>	Kırcaali	<b>Doğ.Tar.</b>	1985
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>TC Kim No</b>	10193563930
<b>Email</b>	ozturk.narin@gmail.com	<b>Tel</b>	0536 492 56 70

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>		
<b>Lisans</b>	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2008
<b>Lise</b>	Beşiktaş Atatürk Anadolu Lisesi	2004

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
<b>1.</b>	Staj	Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti.	1 ay (2006-2007)
<b>2.</b>	Staj	Siteler Eczanesi	2 ay (2006-2007)
<b>3.</b>	Staj	Semra Altıok Eczanesi	3 ay (2006-2007)

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
<b>İngilizce</b>	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	82.5	
<b>Fransızca</b>	Zayıf	Zayıf	Zayıf	-	

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>	85.530	84.854	83.340
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi

## **SERTİFİKALAR**

- İ.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 16/02/2009 – 27/02/2009
- “GAMP 5” Educational Conference (ISPE Turkey Affiliate) Attendant Certificate, 28 Mart 2008
- “Risk Management and ICH Q9” (ISPE Turkey Affiliate) Attendant Certificate, 14 Eylül 2007
- “Bilgisayar İşletmenliği” İSMEK, 01/10/2006 – 10/02/2007

## **BURS VE ÖDÜLLER**

- TÜBİTAK-BİDEB Yurt İçi Yüksek Lisans Bursu, 2008-2010
- Prof.Dr. Hayriye Amal Ödülü, Ekim 2006

**Özel İlgi Alanları (Hobileri):** Sinemaya gitmek, kitap okumak, seyahat etmek, yüzmek, piyano çalmak, müzik dinlemek, badminton oynamak.