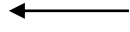


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**HİDROKSİKLORAKİN'İN P-GLİKOPROTEİN
SUBSTRATI TALİNOLOLÜN FARMAKOKİNETİĞİNE
ETKİSİ**

MHD SAEED SAKBANI

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. ZELİHA PALA KARA**

**FARMAKOLOJİ
FARMAKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF

Sevgili Aileme ithafen

TEŞEKKÜR

Çalışmanın her aşamasında beni destekleyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam Doç. Dr. Zeliha Pala Kara'ya,

Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Sönmez Uydeş Doğan'a,

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığımız Prof. Dr. Alper Okyar'a ve yüksek lisans ders dönemimde katkıları olan Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli hocalarıma,

Deneylerimi laboratuvarında gerçekleştirmemi mümkün kılan, tez çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen ve tezimin her aşamasında katkıları ve öğrettiği her şey için değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Dilek Öztürk Civelek'e,

Deneylerine katıldığım ve çok şey öğrendiğim değerli arkadaşım Dr. Ecz. Kübra Akyel ve değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Narin Öztürk'e,

Tez yazma sürecimde çalışmalarım için en uygun ortamı sağladıkları için Fatih Belediyesi ve Fatih Merkez Kütüphanesi'ne,

Tüm hayatım boyunca destekleri, duaları ve sevgileri ile her zaman yanımda olan sevgili aileme,

Çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37200

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ABC Familyasına Dahil Olan Taşıyıcı Proteinler	3
2.2.P-glikoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1)	5
2.2.3.P-gp'nin Moleküler Yapısı ve Dışa Atım Mekanizması.....	5
2.2.4.P-gp'nin Farklı Dokulardaki Ekspresyonu ve İşlevi.....	7
2.2.6.Substrat Tanıma ve Yapı Aktivite İlişkisi.....	9
2.3.P-gp'nin İlaç Farmakokinetiği ve Dağılımındaki Rolü	12
2.3.1.İlaç Absorpsiyonundaki Rolü.....	12
2.3.3.İlaç Metabolizmasındaki Rolü	14
2.3.4.İlaç Atılımındaki Rolü	15
2.3.5. Bağırsak P-glikoprotein Ekspresyonu/Fonksiyonunu etkileyen Faktörler	18
2.4.P-Glikoprotein Aracılı İlaç-İlaç Etkileşimleri	20
2.4.1.P-glikoprotein İnhibisyonu	20
2.4.2.P-gp İndüksiyonu ve İlaç Etkileşimleri.....	25
2.4.3.P-gp Prob Substratları ve Etkileşimleri.....	26
2.5.P-gp Ekspresyonunun Regülasyonu	29
2.6.Talinolol	29
2.6.1.Farmakodinamik Özellikleri	30
2.6.2.Farmakokinetik Özellikleri	31
2.6.3.Endikasyonları	32
2.6.4.Kontraendikasyonları	32

2.6.5.Yan etkileri.....	32
2.6.6.Dozu ve Veriliş Yolu	32
2.6.7.İlaç Etkileşimleri.....	33
2.6.8.Müstahzarları	33
2.7.Hidroksiklorokin	33
2.7.1.Farmakodinamik Özellikleri ve Etki Mekanizması	34
2.7.2.Farmakokinetik Özellikleri.....	37
2.7.3.Yan Etkileri	38
2.7.4.Kontraendikasyonları	39
2.7.5.Dozu ve Veriliş Yolu	39
2.7.6.İlaç-ilaç Etkileşimleri.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları	41
3.2. Uygulanan İlaçlar ve Hazırlanışı	41
3.3. Kullanılan Kimyasallar ve Gereçler.....	41
3.4. Kullanılan Cihazlar	42
3.5. Bilgisayar Programları	43
3.6. İn vivo deneyler	44
3.7. Ters Faz Kromatografisi ile Talinololün Plazmadan Tayini.....	45
3.7.1. Analitik Tayin Metodu.....	45
3.7.2. Mobil Fazın Hazırlanışı	46
3.7.3. Biyoanalitik Metodun Validasyonu	46
3.7.4. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması	47
3.8. P-gp Protein Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi	47
3.8.1. Karaciğer Dokusundan protein izolasyonu	47
3.8.2. Western Blotting İşlemi	48
3.9. İstatistiksel Analiz.....	50
4. BULGULAR.....	51
4.1. Biyoanalitik Yöntem Validasyonuna Ait Bulgular.....	51
4.1.1. Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri.....	51
4.1.2. Talinololün Plazmadan Ekstre Edilmiş Standart Çözeltileri.....	51
4.2. Talinololün Sıçanlardaki Plazma Bulguları	53
4.3. Tekrarlı doz HCQ uygulamasının karaciğerde P-gp düzeylerine etkisi	58

5. TARTIŞMA	59
KAYNAKLAR	63
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	83



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: İnsan ABC üst ailesinin protein sınıflandırılması	3
Tablo 2-2: P-gp'nin farklı dokulardaki ekspresyonu ve işlevi	8
Tablo 2-3: Bilinen P-gp substrat sınıfları	9
Tablo 2-4: İnce bağırsaktaki P-gp ekspresyonunda ve işlevinde varyasyona neden olabilecek faktörler	18
Tablo 2-5: P-gp ekspresyonu/fonksiyonu değiştiren bazı hastalık durumları	19
Tablo 2-6: Bilinen P-gp inhibitörleri	23
Tablo 2-7: P-gp İndüktörleri ve Etki Mekanizması	26
Tablo 3-1: Kullanılan kimyasallar ve gereçler	41
Tablo 3-2: Kullanılan Cihazlar	42
Tablo 3-3: Deney Grupları.....	44
Tablo 3-4: Talinolol'ün plazmadan tayin koşulları	45
Tablo 3-5: Jel elektroforezinde yararlanılan tamponlar ve kullanılan hacimler	48
Tablo 3-6: Transfer aşamasında yararlanılan tamponlar ve kullanılan hacimler.....	49
Tablo 4-1: Talinolol plazma geri kazanım oranı ve değişim katsayısı değerleri (n=5). 52	
Tablo 4-2: Talinolole ait hesaplanan farmakokinetik veriler.....	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: ABC taşıyıcısı proteini olan MRP1'nin kristal yapısı – (Ssharom ve ark. 2008)'dan değiştirilerek.....	4
Şekil 2-2: P-gp'nin yapısı ve hücrede lokalizasyonu (Silva ve ark. 2015)'ten değiştirilerek.	6
Şekil 2-3: Mevcut işlevsel P-gp eflüks modelleri (Dewanjee ve ark. 2017)'den değiştirilerek.	7
Şekil 2-4: İnce bağırsak epitel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu (Murakami ve ark. 2020)'den değiştirilerek.....	13
Şekil 2-5: P-gp ve diğer taşıyıcı ABC proteinlerin kan beyin bariyeri kapiller endotel hücrelerinde lokalizasyonu (Mahringer ve Fricker 2016)'den değiştirilerek.	14
Şekil 2-6: Hepatositlerde P-gp ve diğer ABC ailesine ait taşıyıcılar proteinler (Gameiro ve ark. 2017)'den değiştirilerek.	16
Şekil 2-7: Böbrek proksimal tübül epitel hücrelerindeki P-gp ve taşıyıcılar (Degorter ve ark. 2012)'den değiştirilerek.....	17
Şekil 2-8: Talinololün yapısı.....	30
Şekil 2-9: Hidroksiklorokinin kimyasal yapısı —(https://www.sigmaaldrich.com)`den değiştirilerek.	34
Şekil 4-1: Talinolol standartlarından çizilen kalibrasyon eğrisi (plazmadan ekstraksiyon)	51
Şekil 4-2: Metanolda 0,5 µg/ml'lik talinolol standardına ait kromatogram.	52
Şekil 4-3: Talinololün 0,2 µg/ml'lik plazma standardına ait kromatogram.	53
Şekil 4-4: Tek Doz TAL Kontrol ve Tek Doz TAL+HCQ gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).	55
Şekil 4-5: Tekrarlı Doz TAL Kontrol ve Tekrarlı Doz TAL+HCQ gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).....	55
Şekil 4-6: Tekr Doz TAL Kontrol ve Tekrarlı Doz TAL Kontrol gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).....	56
Şekil 4-7: Tek Doz TAL+HCQ ve Tekrarlı Doz TAL+HCQ gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).	56
Şekil 4-8: Tüm çalışma gruplarında talinolole ait C _{maks} bulguları(Ort±SH;µg.h/ml).....	57

Şekil 4-9: Tüm çalışma gruplarında talinolole ait AUC_{total} bulguları ($Ort \pm SH; \mu g.h/ml$).	57
Şekil 4-10: Tekrarlı doz gruplarında karaciğerdeki P-gp düzeyleri. $*(P < 0,05)$	58



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

P-gp: P-glikoprotein

HCQ: Hidroksiklorokin

TAL: Talinolol

HPLC-UV: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-ultraviyole dedektör

C_{maks}: Maksimum plazma konsantrasyonu

AUC: Konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alan (The area under the concentration-time curve)

ATP: Adenozin trifosfat

Covid: Koronavirüs hastalığı

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

FDA: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)

ABC: ATP-binding cassette (ATP-bağlayıcı kaset) süper ailesi

MDR1: Multidrug resistance protein 1 (İnsanda ABCB1, MDR1, P-glikoprotein, P-gp)

Mdr1: Multidrug resistance protein 1 (Farede abcb1a ve abcb1b veya mdr1a ve mdr1b, P-gp)

MRP1: Multidrug resistance-associated protein 1 (Çoklu ilaç direnci protein 1, ABCC1)

MRP2: Multidrug resistance-associated protein 2 (Çoklu ilaç direnci protein 2, ABCC2)

BCRP: Breast cancer resistance protein (Meme Kanseri rezistans proteini)

BSEP: Bile salt export pump

MDR3: Multidrug resistance protein 3 (çoklu ilaç direnci proteini 3, İnsan ABCB4)

mdr2: Multidrug resistance protein 2 (çoklu ilaç rezistans proteini 2, Fare ABCB4)

kDa: Kilo Dalton

TMH: Transmembranal heliks

TMD: Transmembrane domain (transmembranal bölge)

KBB: Kan Beyin Bariyeri

BOS: Beyin omurilik sıvısı

CYP: Sitokrom P450

ABY: Akut böbrek yetmezliği
HİV: Human immunodeficiency virus (insan immun yetmezlik virüsü)
ART: Antiretoviral tedavi
DNA: Deoksiribo nükleik asit
m-RNA: messenger RNA (mesajcı RNA)
invMED1: ters çevirilmiş mediatör-1 ögesi
AP-1: Aktivatör protein 1
HSE: Isı şok ögesi
SXR: Steroid ksenobiyotik reseptörü
PXR: Pregnane ksenobiyotik reseptörü
RXR α : Retinoid kesnobiyotik reseptörü α
HSF-1: Isı şok transkripsiyon faktörü 1
NF-Y: Nükleer faktör Y
EGR-1: Erken büyüme yanıtı proteini
YB-1: Y-kutusu bağlayıcı protein 1
CAR: Chimeric antigen reseptör (Kimerik antijen reseptörü)
KKY: Kronik kalp yetmezliği
t_{1/2}: yarılanma ömrü
CL/F: Oral klerens
SD: Standard deviation (standart sapma)
EKG: Elektrokardiyografi
MAOI: Monoamin oksidaz inhibitörü
SLE: Sistemik lupus eritematozus
RA: Romatoid artrit
TGN: Trans-golgi net (transgolji ağ)
OVA: Ortalama vücut ağırlığı
PVDF: Poliviniliden fluorür
SE: Standard error (standart hata)
TBST: Tween 20 içeren tris tamponlu salin çözeltisi
mA: Miliamper

%CV: % Varyasyon katsayısı

Kel: Eliminasyon hız sabiti

Vd: Dağılım hacmi

OATP: Organic-anion-transporting polypeptides (organik anyon taşıma polipeptitleri)

OCT: Organik katyon taşıyıcı



ÖZET

Sakbani MS, Hidroksiklorokin'in P-glikoprotein Substratı Talinolol'ün Farmakokinetiğine Etkisi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji (Eczacılık) Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2022.

Hidroksiklorokin (HCQ) kronik inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan antimalaryal bir ilaçken Covid-19 pandemisinde viral klirenste artma ve azalmış hastalık progresyonu nedeni ile tedavi şemasına dahil edildikten sonra, yan etki ve potansiyel ilaç-ilaç etkileşmelerinden dolayı tedaviden çıkartılmıştır. P-glikoprotein (P-gp), vücudun çeşitli dokularında eksprese olarak ilaçların farmakokinetiğinde ve ilaç-ilaç etkileşmelerinde önemli rol oynayan bir efluks proteindir. Bu çalışmada, tek doz ve tekrarlanan dozda uygulanan HCQ'nin eş zamanlı uygulanan P-gp substratı talinololün farmakokinetiğine etkilerinin Wistar albino sıçanlarda incelenmesi amaçlanmıştır. Tek doz çalışmasında, HCQ (25 mg/kg) ve talinolol (20mg/kg), tekrarlı uygulamada ise, 7 gün süre ile HCQ (25 mg/kg) uygulamasını takiben 8. günde tek doz talinolol (20 mg/kg) oral olarak sıçanlara uygulanmıştır (her grup için n=5). 0.5, 1.,2.,4. ve 5. saatlerde kan örneği alınmış ve talinololün plazma düzeyleri HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir. Tekrarlı doz uygulama sonrası karaciğer P-gp protein düzeyleri Western blot ile tayin edilmiştir. HCQ'nin tek doz uygulaması talinololün C_{maks} ($0,16 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}$ vs $0,23 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$; $p=0,3095$) ve AUC_{total} ($0,54 \pm 0,18 \mu\text{g*sa/ml}$ vs $0,74 \pm 0,19 \mu\text{g*sa/ml}$; $p=0,1905$) değerlerini 1,4 kat artırırken, 7 günlük uygulama C_{maks} ($0,22 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$ vs $0,19 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$; $p=0,8413$) ve AUC_{total} ($0,62 \pm 0,11 \mu\text{g*sa/ml}$ vs $0,53 \pm 0,12 \mu\text{g*sa/ml}$; $p=0,3095$) değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Tekrarlı doz HCQ uygulaması karaciğer P-gp protein düzeylerini azaltmıştır. Tek doz ve tekrarlı doz HCQ çalışmasında elde ettiğimiz farklı sonuçların, HCQ'nin diğer intestinal alım taşıyıcılarının inhibisyonu veya P-gp inhibisyonu sonucu meydana gelen başka taşıyıcıların upregülasyonuna bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelime: Hidroksiklorokin, Talinolol, P-glikoprotein, İlaç-ilaç etkileşmesi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37200.

ABSTRACT

Sakbani MS, The effect of Hydroxychloroquine on the pharmacokinetics of the P-glycoprotein substrate Talinolol. İstanbul University, Institute of Graduate Studies in Health Sciences, Department of Pharmacology (Pharmacy), Master Thesis. İstanbul, 2022.

Hydroxychloroquine (HCQ) is an antimalarial drug used in the treatment of chronic inflammatory diseases and was included in the treatment protocol of Covid-19 for a period of time and was then withdrawn due to side effects and potential drug-drug interactions. P-glycoprotein (P-gp) is an efflux protein that plays an important role in the pharmacokinetics of drugs and drug-drug interactions as it is highly expressed in various tissues. In this study, we investigated the effects of single-dose and repeated-dose HCQ administration on the pharmacokinetics of Talinolol in Wistar Albino rats. In single-dose group, HCQ (25 mg/kg) and Talinolol (20mg/kg) were administered, in repeated-dose group, HCQ (25 mg/kg) was administered for 7 days and was administered with Talinolol (20mg/kg) on the 8th day. Blood samples were taken at 0.5, 1, 2, 4 and 5. hours and plasma levels of Talinolol were determined with validated HPLC method. Repeated-dose liver P-gp protein levels were determined by Western blot. C_{max} and area under the curve (AUC_{total}) were evaluated. A single dose of HCQ increased the C_{max} ($0.16 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$ vs $0.23 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$; $p=0.3095$) and AUC_{total} ($0.54 \pm 0.18 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ vs $0.74 \pm 0.19 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; $p=0.1905$) of Talinolol 1.4 times, whereas repeated administration resulted in a decrease in C_{max} ($0.22 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$ vs $0.19 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$; $p=0.8413$) and AUC_{total} ($0.62 \pm 0.11 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ vs $0.53 \pm 0.12 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$; $p=0.3095$). Repeated administration of HCQ decreased liver P-gp protein levels. It is thought that the different results we obtained from single-dose and repeated-dose HCQ study may be due to the inhibition of other intestinal uptake transporters by HCQ or the upregulation of other transporters resulting from the inhibition of P-gp.

Keyword: Hydroxychloroquine, Talinolol, P-glycoprotein, Drug-drug interactions.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 37200.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Taşıyıcı proteinler birçok proteini içerisinde barındıran çok geniş bir ailedir. İnsanda taşıyıcı proteinlerin ATP bağımlı taşıyıcılar (ABC), sekonder taşıyıcılar, iyon kanalları ve sınıflanmamış taşıyıcılar olmak üzere dört ana sınıfı vardır (TransportDB: [http:// www.membranetransport.org](http://www.membranetransport.org)). ABC taşıyıcı üst ailesi birçok ilacın, yabancı maddenin ve vücutta sentezlenen bileşiğin biyolojik zarlardan taşınmasına aracılık eden membran taşıyıcılarından oluşmaktadır. Bu taşıyıcılar, substratlarını etkin şekilde membranlardan dışa atmak için ATP hidrolizine tabi olarak işleyen başlıca aktif taşıyıcılardır. İnce bağırsakta, karaciğerde ve böbrekte eksprese edilen taşıyıcı proteinler, ilaç farmakokinetiği ve ilaç-ilaç etkileşimleri için özellikle önemlidir.

İlaç etkileşmelerinin süreçlerinin daha iyi açıklanması amacıyla son yıllarda üzerine odaklanan bir mekanizma da, P-gp'nin ilaç-ilaç ve ilaç-besin etkileşmelerinde oynadığı roldür. P-gp hepatositlerde, böbrek epitel hücrelerinde, enterositlerin luminal yüzeyinde, testis ve beyinin kapiller endotel hücrelerinde lokalize olarak ilaç ve diğer zenobiyotiklerin sekresyonunda rol oynayan bir ATP bağımlı membran taşıyıcı proteindir. P-gp'ye afinite gösteren ve bu taşıyıcı ile taşınan ilaçlar P-gp substratı olarak adlandırılır. Özellikle intestinal sekresyona uğrayan P-gp substrat ilaçların oral biyoyararlanımı önemli ölçüde azalabilir. Bu substratların P-gp ile taşınmasını engelleyen ilaçlar ise P-gp inhibitörü olarak adlandırılır ve bu ilaçların vücuttan atılımlarını engelleyebilir ve substratın doku dağılımını değiştirebilir. Literatürde taşıyıcı aracılı birçok ilaç-ilaç etkileşmesi bildirilmiştir. Bu etkileşmelerden bazıları hayatı tehdit edici durumlara yol açabilir (Padowski and Pollack 2010; Gül ve ark. 2016).

Antimalaryal etkili bir ilaç olan ve özellikle kronik inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılan Hidroksiklorokin (HCQ), antiviral aktivitesinden dolayı da Covid-19 tedavisinde bir süre kullanılmıştır. Yapılan çalışmalara göre hidroksiklorokin ölüm oranına etkisi azdır veya hiç yoktur. Ayrıca ilacın yol açtığı advers etkiler tedavinin sonlandırılmasına neden olduğu rapor edilmiştir. Bu bulgular doğrultusunda hidroksiklorokin WHO ve FDA'nin Covid-19 tedavi şemasından çekilmiştir (FDA.gov, 15/06/2020; World Health Organisation, 2020). Yapılan çalışmalar HCQ'nin P-gp için substrat ve inhibitör olduğunu ortaya koysa da (Weiss ve

ark., 2020), P-gp bağımlı ilaç-ilac etkileşmesinin in vivo değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

P-gp için substrat olduğu bilinen ve günümüzde $\beta 1$ reseptör blokeri olarak tedavide uygulanan bir ilaç olan talinolol, metabolizmaya uğramadan vücuttan atılması, plazma proteinlerine düşük oranda bağlanması ve geniş terapötik indeksi gibi bir takım olumlu özelliği nedeniyle P-gp bağımlı bağırsak transportun değerlendirilmesinde ve P-gp aracılı ilaç-ilac etkileşme araştırmalarında uygun bir probe substrat olarak tanımlanmıştır. (Wetterich ve ark. 1996; Spahn-Langguth ve ark. 1998; Fischer ve ark. 2005; Tubic ve ark. 2006b).

Çalışmamızda, sıçanlara oral yoldan tek doz ve tekrarlı dozda HCQ uygulaması ile oral yoldan uygulanan talinololün plazma düzeylerindeki değişikliği değerlendirilerek HCQ ile talinolol arasında P-gp'ye ilişkin bir etkileşmenin varlığının gösterilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca uygulanan HCQ'nin izole edilen dokulardaki P-gp protein düzeylerine etkisi Western blot yöntemi ile tayin edilmiştir. Bu çalışma, olası bir etkileşmenin saptanması ile taşıyıcı proteinlerinden P-gp'nin etkileşim mekanizmalarındaki kompleks rolünün aydınlatılmasına dair bir örnek daha olması ve HCQ'nin tedavide P-gp substratı diğer ilaçlar ile güvenli kullanımına kaynak teşkil etmesi açısından önem arz etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ABC Familyasına Dahil Olan Taşıyıcı Proteinler

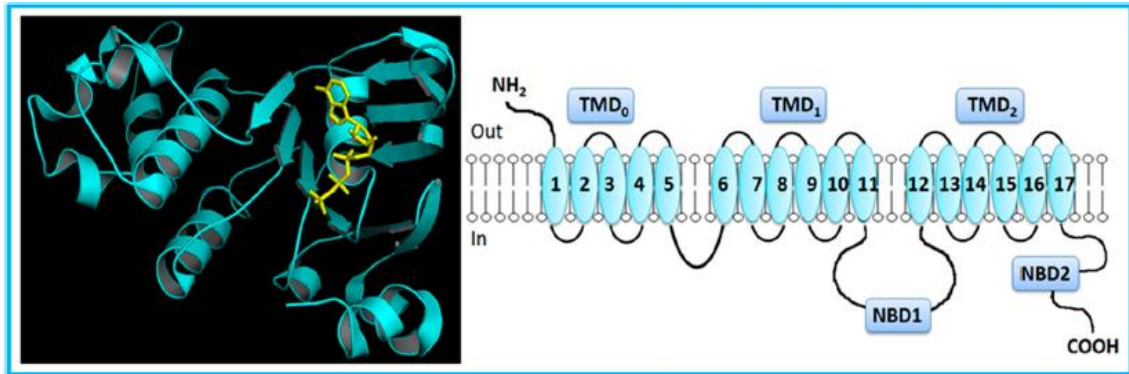
ABC (ATP-bağlayıcı kaset) taşıyıcıları, ATP'ye bağımlı olarak yapısal olarak çeşitli moleküllerin hücrelerden atılmasına aracılık ederek hücrelerin ksenobiyotiklere karşı korunmasında rol oynayan kritik unsurlardır (Schinkel ve ark. 2003; Joshi ve ark. 2016). Bazı ABC taşıyıcıları, endojen ajanların homeostazından da sorumludur ve kusurlu ABC genlerini taşıyan kişiler, Tangier hastalığı, Stargardt hastalığı ve adrenolökodistrofi gibi belirli hastalıklara karşı daha duyarlı olabilmektedir. (Vender ve ark. 2001; Lander ve ark. 2001; Dean ve ark. 2001; Choi ve ark. 2014). İnsan ABC taşıyıcıları, amino asit dizilerinin benzerliğine göre ABCA ile ABCG olarak adlandırılan yedi alt ailede sınıflandırılan 49 üyeden oluşmaktadır (Tablo 2-1) (Dassa ve ark. 2001; Vasliou ve ark. 2009; Morita ve ark. 2012). Ayrıca ABC taşıyıcıları gerçekleştirdikleri taşımanın yönüne göre importerlar veya exporterlar olmak üzere iki gruba sınıflandırılmaktadır. ABC importerları prokaryotlarla sınırlıdır, ve besinler için bir alım sistemi olarak işlev görürken, ABC exporterlar toksik bileşiklerin ve çeşitli lipid türlerinin hücresel sekresyonuna aracılık eder. Hemen hemen tüm ökaryotik ABC taşıyıcıları exporter olarak işlev görür ve plazma membranlarının yanı sıra endoplazmik retikulum, Golgi aygıtı, lizozomlar, peroksizomlar ve mitokondride lokalizedir (Higgins ve ark. 1992; Saurin et al, 1999; Morita et al, 2012).

Tablo 2-1: İnsan ABC üst ailesinin protein sınıflandırılması – (Stavrovskaya ve Stromskaya (2008)'den değiştirilerek

Alt Familya	Alternatif İsim	Protein Sayısı	İlaç Rezistansına Neden Olan Proteinler	
			İsim	Sayı
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

İnsan ABC taşıyıcıları ağırlıklı olarak, enterositlerin fırça yüzey membranında, hepatositlerin biliyer kanaliküler membranında, böbreğin proksimal tübüllerindeki luminal membranda ve kan-beyin bariyerindeki epitel hücrelerinde bulunmaktadır. Bu lokalizasyon ABC taşıyıcılarına ilaçların ve ksenobiyotiklerin absorpsiyon, dağılım, ve atılımında belirleyici rol kazandırmaktadır. Bu proteinlerin bir kısmı (MDR1, MRP1 ve BCRP) farmakokinetikteki rollerinin yanında kanser hücrelerinde aşırı eksprese olarak tedavide kullanılan ajanlara karşı meydana gelen çoklu ilaç direncinin gelişmesine aracılık eder (Schinkel ve Jonker 2003; Aszalos 2007; Huls ve ark. 2009). ABC taşıyıcısı olan MRP1'nin kristal yapısı ve membran lokalizasyonu şekil 2-1'de çizilmiştir.



Şekil 2-1: ABC taşıyıcısı proteini olan MRP1'nin kristal yapısı – (Ssharom ve ark. 2008)'dan değiştirilerek.

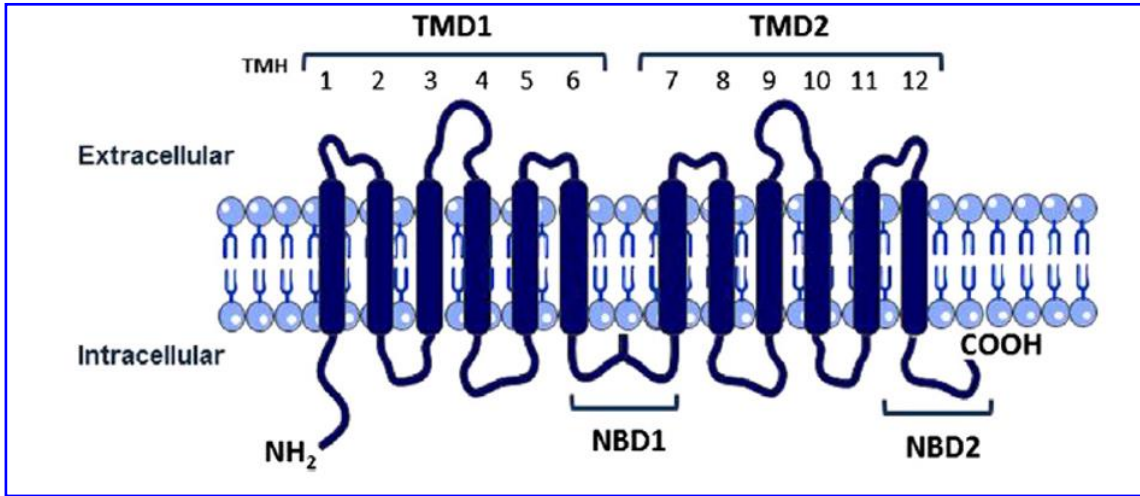
2.2.P-glikoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1)

P-gp, ABC üst ailesinin ilk keşfedilen üyesi ve insanlarda 7 numaralı kromozomda bulunan ABCB1 geni tarafından kodlanan ve ilk klonlanan ABC taşıyıcı proteindir. P-gp 1976 yılında Kolşisin'e karşı dirençli Çin hamsteri yumurtalık hücrelerinde eksprese olan bir yüzey fosfoglikoproteini olarak tanımlanmıştır. Bu keşif, P-gp'nin, ATP hidrolizi ile etkinleştirilen enerjiye bağlı bir dışa atım taşıyıcı protein olduğunun bulgusuna yol açmıştır. Bu glikoproteine, yapı açısından birbirine benzemeyen birçok ilacın membran geçirgenliğini modüle etmesinden dolayı "permeability" sözünün ilk harfi olan "P" adı verilmiştir (Juliano ve Ling 1976; Lin ve Yamazaki 2003; Takano ve ark. 2006).

İnsanlarda, ABCB1 gen familyasının MDR1 ve MDR3 olmak üzere iki üyesi varken, fare ve sıçanlarda mdr1a, mdr1b ve mdr2 olmak üzere üç üyesi bulunmaktadır (Gottesman ve Pastan 1993; Schinkel 1997; Lin ve Yamazaki 2003). MDR1 ve mdr1a/1b genleri tarafından kodlanan P-gp bir ilaç efluks taşıyıcısı olarak işlev görürken, insan MDR3, fare ve sıçan mdr2 tarafından kodlanan P-gp'nin fosfolipidlerin taşınmasında işlevsel olduğu gösterilmiştir (Ruetz ve Gros 1994; Van Helvoort ve ark. 1996; Lin ve Yamazaki 2003). MDR3 P-gp fosfolipidlerin yanı sıra, digoksin ve paklitaksel gibi ilaçların transmembranal dışa atımını arttırdığı, MDR-3 tansfekte hücrelerde yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Smith ve ark. 2000; Lin ve Yamazaki 2003). MDR1 ile mdr1a arasında %82 homoloji bulunurken, mdr1b ile MDR1 arasında %79 homoloji bulunmuştur (del Amo ve ark. 2009).

2.2.3.P-gp'nin Moleküler Yapısı ve Dışa Atım Mekanizması

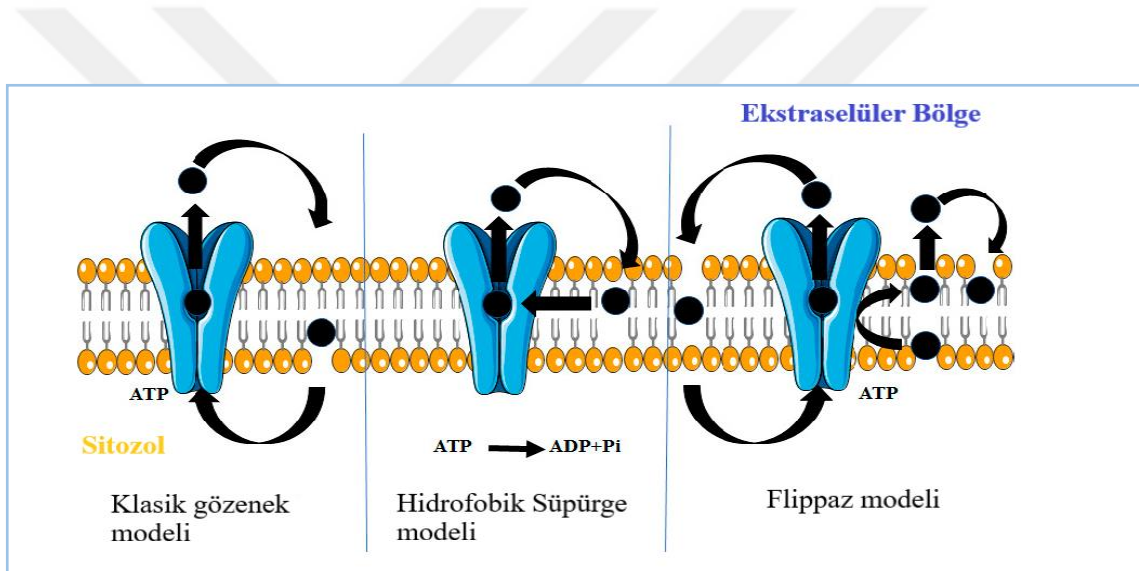
P-glycoprotein'in moleküler ağırlığı 170kDa'dur ve 1280 amino asitin birleşmesinden oluşmaktadır. P-gp her biri bir ATP-bağlayıcı motif ile bir hücre içi esnek bağlayıcı polipeptit halkası ile ayrılan altı transmembran alanı içeren iki homolog ve simetrik yapıdan (kaset) oluşmaktadır (Gottesman ve Pastan 1993; Lin ve Yamazaki 2003; Giacomini ve ark. 2010; Choi ve ark. 2014). İnsan P-gp'nin iki yarısı özdeş değildir ve hizalanmış amino asitlerin sadece %43'ü aynıdır (Chen ve ark. 1986; Lin ve Yamazaki, 2003). Bölgeye yönelik mutajenez ve antikor haritalama çalışmaları, insan P-gp'nin iki kasetinin, tek bir fonksiyonel bütünlük oluşturmak amacıyla bir etkileşime girdiğini göstermektedir (Loo ve Clarke 1994; Muller ve ark. 1996; Lin ve Yamazaki 2003). P-gp'nin yapısı ve hücrede lokalizasyonu Şekil 2-2'de gösterilmiştir.



Şekil 2-2: P-gp'nin yapısı ve hücrede lokalizasyonu (Silva ve ark. 2015)'ten değiştirilerek.

Hem ATP hidrolizini ilaçların plazma zarının diğer tarafına hareketi ile birleştiren kesin bir mekanizma, hem de protein ile substrat etkileşiminin tam yeri henüz iyi tanımlanmamıştır. Bununla birlikte, mevcut deneysel verileri hesaba katan “hidrofobik süpürge”, “flippaz” ve “gözenek” modelleri gibi birkaç model öne sürülmüştür (Şekil 2-3) (Varma ve ark. 2003; Hennessy ve Spiers 2007). Ayrıca “İki silindirli motor” modeli de önerilmiştir (Jones ve George 1998; 2000). İlk iki model yaygın olarak en çok kabul edilen modellerdir (Varma ve ark. 2003; Hennessy ve Spiers 2007; Sharom 2011) ve P-gp için üç boyutlu yapısal veriler ile tutarlıdır (Rosenberg ve ark. 1997; 2001). “Hidrofobik Süpürge” modelinin genel bir fikir birliği, P-gp'nin plazma zarının iç yaprakçığına gömülü hidrofobik bileşikler tanıması (çift tabakaya parçalandıktan sonra) ve bunları zardan doğrudan hücre dışı sulu ortama pompalaması ilkesine dayanır (Higgins ve Gottesman 1992). Önemli olarak, taşıyıcı, substratları sitozole girmeden önce bile yakalayabilir, böylece hücreyi potansiyel olarak toksik moleküllere maruz kalmaktan korur (Sharom 2011). Bu modelde, yapısal veriler, substratların, TMH'ler 5/8 ve 2/11 arasında oluşturulan “kapılar” yoluyla bağlanma bölgelerine erişebildiğine işaret etmektedir (Loo ve ark. 2003). Alternatif “ters çevirme” modeli ise, P-gp substratlarının, lipid çift tabakasının iç yaprakçığından, plazma zarının dış yaprakçığına veya doğrudan hücre dışı ortama çevrildiğini farzetmektedir, bu nedenle ilaç substratlarının, zarın hidrofobik çekirdeğinde değil, çift tabakanın bir yaprakçığında lokalize olmasını gerektirir (Higgins ve Gottesman 1992). Bu modele

göre, P-gp'nin bir ilaç konsantrasyon gradyanı oluşturmaya imkan sağlamak için substratların membranın çift yaprakçığı arasından düşük oranda spontan hareket etmesi gerekmektedir (Eckford ve Sharom 2009). Dikkat çekici bir şekilde, bu modellerin her ikisi de P-gp substratlarının protein ile etkileşime girmeden önce lipid fazına parçalandığını farzetmektedir. Bu, P-gp'nin alışılmadık derecede geniş substrat özgüllüğünü açıklamaya yardımcı olabilir, çünkü özgüllüğün birincil belirleyicisi, bir substratın lipid çift tabakasına uygun şekilde interkalasyon yeteneği olacağından, substrat bağlama bölgesi ile müteakip etkileşim ikincil öneme sahip olacaktır (Hennessy ve Spiers 2007).



Şekil 2-3: Mevcut işlevsel P-gp eflüks modelleri (Dewanjee ve ark. 2017)'den değiştirilerek.

2.2.4.P-gp'nin Farklı Dokulardaki Ekspresyonu ve İşlevi

Tümör hücrelerindeki ekspresyonuna ek olarak, insan P-gp'si normal dokularda da yüksek oranda ekspresedir. İnsanda bu taşıyıcı, böbreklerde proksimal tübüllerinin epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde, karaciğerde kanaliküler membranda, bağırsakların epitel hücrelerinde, plasentanın epitel hücrelerinde, pankreastaki küçük kanalların apikal yüzeyinde ve adrenal medulla ile korteksin yüzeyel hücrelerinde lokalizedir. P-gp ayrıca, santral sinir sisteminin kılcal damarlarının endotel hücrelerinde, kan-beyin ve kan-beyin omurilik sıvısı bariyerlerini oluşturan koroid pleksus epitelinin sub-apikal yüzeyinde de ekspresedir (Thiebaut ve ark. 1987; Cordon-Cardo ve ark. 1990; Rao ve

ark. 1990; Fromm 2002; Lin 2003). P-gp'nin farklı dokulardaki ekspresyonu ve işlevi Tablo 2-2'te gösterilmiştir.

Tablo 2-2: P-gp'nin farklı dokulardaki ekspresyonu ve işlevi (Jackson ve ark. 1999; Lagasse ve ark., 2000; Fromm 2002; Takano 2006; Huls ve ark., 2009)'dan değiştirilerek.

Doku	Lokalizasyon	İşlevi
Kolon ve ince bağırsaklar	Epitel hücrelerde apikal membranda	İlaçların bağırsak lümenine geri pompalanması
Karaciğer	Hepatositlerde kanaliküler membranda	İlaçların hepatositlerden safraya pompalanması
Böbrek	Proksimal tübüllerin epitel hücrelerinde apikal membranda	İlaçların tübül lümenine sekresyonu
Testis	Kapiller kan damarlarının endotel hücreleri	Kan-testis bariyeri
Santral sinir sistemi	Kapiller endotel hücrelerin luminal membrane	Santral sinir sistemini yabancı maddelere karşı koruma
Göz	Retinal kapillerin endotel hücrelerinde, konjonktivanın epitel hücrelerinde, iris ve siliyer kas hücrelerinde	Kan oküler bariyernden ksenobiyotiklerin geçmesini engellemek
Plasenta	Trofoblastlar	Fetüsü ksenobiyotiklere karşı koruma
Yan populasyon (Side Population) hücreleri	Kemik iliği kaynaklı kök hücreler	Ekspresyon kaybı hücre farklılaşmasına neden olur

P-gp'nin dokulardaki lokalizasyonu ve eflüks fonksiyonu olması nednei ile, üç ana işlevden sorumlu olduğu bilinmektedir (Padowski ve Pollack 2010)

1. Gastrointestinal sistemde enterosit hücrelerinin apikal membranında ekspresyonu sonucu oral uygulanan ilaçların vücuda emilimlerini ve dolayısıyla oral biyoyararlanımlarını azaltabilir. Üstelik ilaçların intestinal atılım ile kandan bağırsak lumenine geri atılmalarını sağlayarak intestinal eliminasyonunu arttırabilir.

2. İlaç kan dolaşımına geçtiğinde P-gp, hepatositlerin kanaliküler membranında ve proksimal tübüler hücrelerin luminal membranında ekspresyonu sonucu ilacın sırasıyla safra ve idrara atılmasını sağlar.

3. P-gp biyolojik membranlarda eksprese edilerek, ilaçların ve ksenobiyotiklerin hassas dokulara penetrasyonunu engeller.

2.2.6.Substrat Tanıma ve Yapı Aktivite İlişkisi

P-gp, moleküler ağırlığı 250'den (simetidin) ile 1202'ye varan (siklosporin) çok çeşitli kimyasal yapılara sahip pek çok ilacı tanıyabilir ve taşıyabilmektedir. P-gp tarafından taşınan ilaçlar arasındaki tek ortak özellik, bunların çoğunun hidrofobik olmasıdır; bu, hücrelerin lipid membranının bölünmesinin, bir substratın P-gp aktif bölgeleriyle etkileşiminin ilk adımı olduğunu düşündürmektedir (Pan ve ark. 1994; Wu ve ark. 1995; Lin ve Yamazaki 2003). Ecker ve arkadaşlarının çalışmaları (1999), bileşiklerin hem lipofilitesinin hem de hidrojen bağlarının sayısının, bileşiklerin P-gp afinitesini belirlemede muhtemelen en önemli parametreler olduğunu göstermiştir. Lipofiliklik ne kadar yüksekse veya hidrojen bağlarının sayısı ne kadar fazlaysa, substratlar P-gp'ye o kadar affinite göstermektedir (Ecker ve ark. 1999). Seelig ve Landwojtowicz (2000), lipofilikliğe ve hidrojen bağlarının sayısına ek olarak, P-gp ile bir etkileşim için substratların bazı temel yapısal özelliklerinin gerekli olduğunu öne sürmüştür (Seelig ve Landwojtowicz 2000). Bilinen P-gp substrat sınıfları ve bazı örnekleri Tablo 2-3'te bilinmiştir

Tablo 2-3: Bilinen P-gp substrat sınıfları – (Matheny ve ark. 2001; Kim 2002; Zhou 2008; Sharom 2011; Morrissey ve ark. 2012; ve Weiss 2020)'den değiştirilerek.

Sınıf	Örnek
Analjezik opioidler	Morfin, pentazosin, fentanil, asimadolin
Antiarritmikler	Kinidin, verapamil, digoksin

Antikanser ajanlar

Antibiyotikler

Antrasiklinler (doksorubisin, daunorubisin),
aktinomisinler (aktinomisin D), mitomisin C,
mitoksantron

Kamptotesinler

topotekan, irinotekan (CPT-11)

Antimetabolitler

Metotreksat, sitarabin, 5-florourasil,
hidroksiüre

Epipodofillotoksinler

Etoposid, teniposid

Taksanlar

Paklitaksel, doketaksel

Vinca alkaloidleri

Vinblastin, vinkristin

Alkilleyici ajanlar

Klorambusil, sisplatin

Tirozin kinaz inhibitörleri

İmatinib mesilat

Epidermal büyüme faktörü reseptör
inhibitörleri

Geftinib

Diğerleri

Tamoksifen, bisantren

İmmüsupresif İlaçlar

Siklosporin A, takrolimus, sirolimus

Antidepresanlar

Amitriptilin, nortriptilin, doksepin, venlafaksin,
paroksetin

Antihiperlipidemik İlaçlar

Atorvastatin, lovastatin

İshal önleyici ajanlar

Loperamid (opioid), oktreotid

Antiemetikler

Ondansetron, domperidon

Antiepileptikler ve antikonvülsanlar

Topiramet, fenitoin, karbamazepin,
fenobarbital

Antigut ajanları

Kolşisin

Antihelmintikler

İvermektin

Antihistaminikler

Terfenadin, feksofenadin

Anti-HIV ajanlar

Nelfinavir, ritonavir, sakinavir, amprenavir,
indinavir

Antihipertansifler	Reserpin, debrizokin, celiprolol, losartan, talinolol, prazosin
β -blokörler	Bunitrolol, seliprolol, talinolol
Kardiyak Glikozidler	digoksin, dijitoksin
Antimikrobiyal ajanlar	Eritromisin, doksisisiklin, itrakonazol, ketokonazol, levofloksasin, rifampisin, sparfloksasin, tetrasiklin, grepafloksasin, klaritromisin, gramicidin A, valinomisin
Trifluoperazin, trans-flupentiksol	Trifluoperazin, trans-flupentiksol
Kardiyak glikozitler	Digoksin, digitoksin
Kolesterol düşürücü ajanlar	Lovastatin, simvastatin
Döngüsel peptitler	Valspodar (PSC-833), beauverisin
Histsamin H1-reseptör antagonistleri	Floresan boyalar Rodamin 123, hökst 33342, kalsein asetoksimetilester
Histamin H2-reseptör antagonistleri	Feksofenadin, Desloratadin
Proton Pompası İnhibitörleri	Simetidin, ranitidin İmmünosupresif ajanlar
Lineer peptitler	Siklosporin A, takrolimus, sirolimus ve valspodar
Kalsiyum Kanal Blokörleri	Lansoprazol, omeprazol, pantoprazol
Kortikosteroidler	ALLN (N-asetil-L-leusil-L leVecuroniumucylnorleucinal), leupeptin, pepstatin A
Kas gevşetici ajanlar	Diltiazem, mibefradil, verapamil
Doğal ürünler	Deksametazon, hidrokortizon, kortikosteron, triamsinolon
Nöroleptikler	Vekuronyum
Pestisitler	Flavonoidler, kurkuminoidler
	Klorpromazin, fenotiyazin
	Metilparathion, endosulfan, paraquat
	Aldosteron, kortikosteron, deksametazon,

Steroid hormonları	kortizol, metilprednizolon
	Hidroksiklorokin
Antimalaryallar	

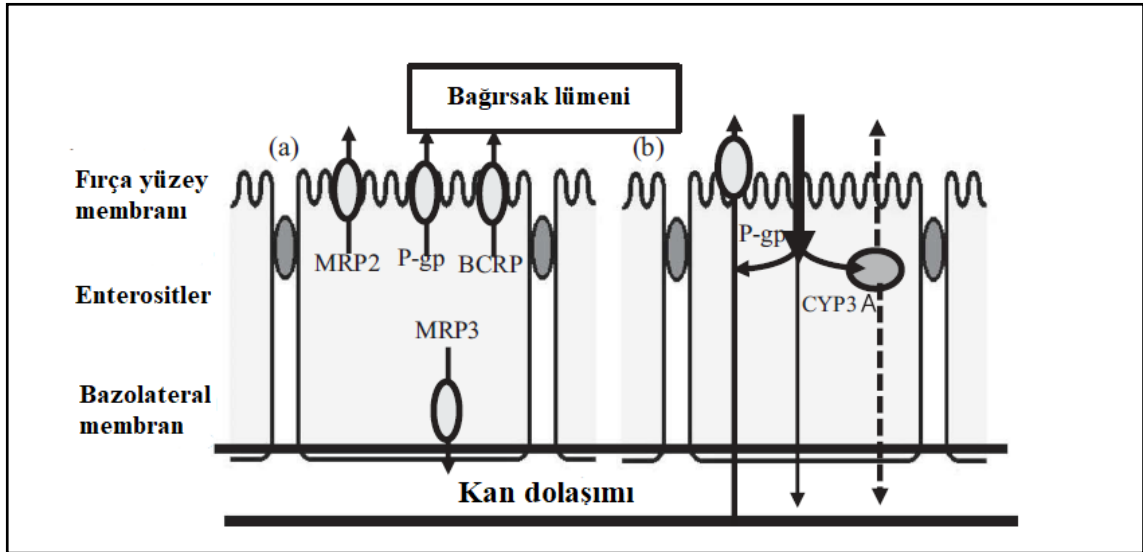
2.3.P-gp'nin İlaç Farmakokinetiği ve Dağılımındaki Rolü

Stratejik lokalizasyonu nedeniyle, P-gp, ilaçların kan dolaşımından beyne ve plasentaya, ve gastrointestinal lümeninden enterositlere hücresel alımını işlevsel olarak sınırlandırabilir. Öte yandan, bu taşıyıcı, ilaçların hepatositlerden, renal tübüllerden ve bağırsak epitel hücrelerinden bitişik luminal boşluğa eliminasyonunu da arttırabilir. Bu nedenle, P-gp'nin ilaçların farmakokinetiğindeki rolünü aydınlatmak çok önemlidir (Lin ve Yamazaki 2003).

2.3.1.İlaç Absorpsiyonundaki Rolü

Oral yoldan verilen ilaçların çoğu, lipofilisiteleri nedeniyle pasif transselüler difüzyon yoluyla sistemik dolaşıma girerler. Bu nedenle, bir ilacın bağırsak emilimi genellikle lipofilikliği temelinde tahmin edilir. Ve şimdiye kadar tanımlanan P-gp substratları için en yaygın fizikokimyasal özellik, bunların çoğunlukla lipofilik olmaları olduğundan, ilaçların absorpsiyonu, epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde yüksek oranda eksprese edilen P-gp eflüks taşıyıcısının varlığı ile daha da karmaşık hale gelir. Mezenterik kan dolaşımına emilen net ilaç miktarı, içeri alım yöntemiyle emilen miktar ile dışarı atım yöntemiyle ekstrüde edilen miktarın ve enzimler tarafından metabolize edilen miktarın toplamı arasındaki farktır (Lin ve Yamazaki 2003).

P-gp'nin ekspresyonu, bağırsağın uzunluğu boyunca aynı düzeyde değildir: sıçan jejunumunda daha yüksek düzeyde bulunurken, insan gastrointestinal kanalında mideden kolona doğru arttığı bulunmuştur (Fojo ve ark. 1987; Nakayama ve ark. 2000; Lin ve Yamazaki 2003). P-gp ve başka taşıyıcı proteinlerin ve enzimlerin ince bağırsak epitel hücrelerinde lokalizasyonu şekil 2-4'de gösterilmiştir.



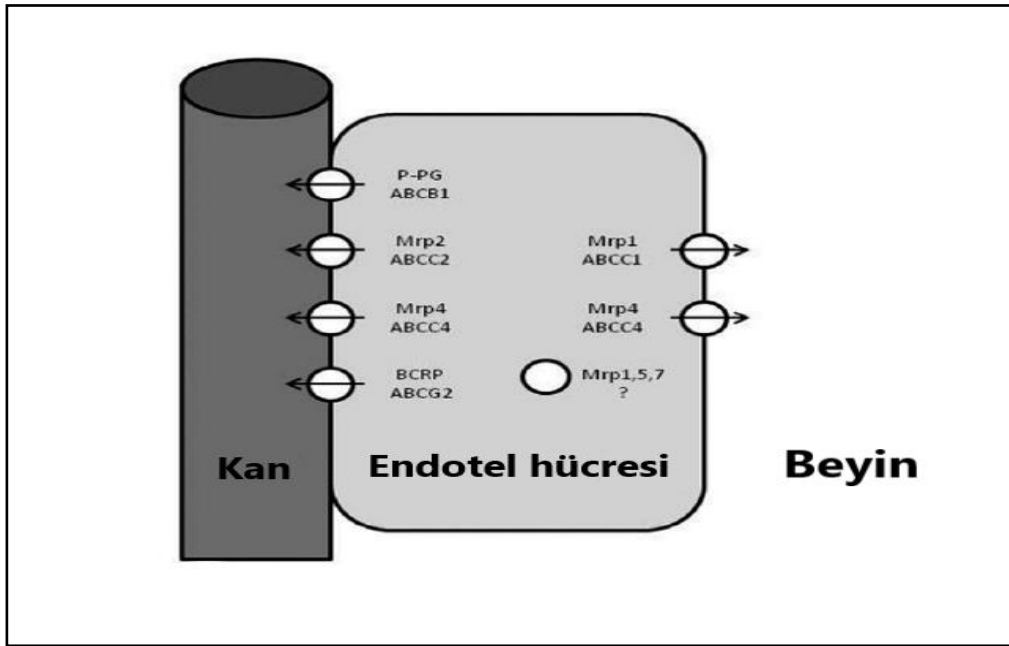
Şekil 2-4: İnce bağırsak epitel hücrelerinde P-gp ve diğer ABC taşıyıcı proteinlerin lokalizasyonu (Murakami ve ark. 2020)’den değiştirilerek.

Bağırsak P-gp ilaç absorpsiyonundaki rolünün ilk kanıtı P-gp’yi aşırı eksprese eden Caco-2 hücrelerinde in vitro olarak gözlemlenmiştir. Caco-2 hücrelerinde, dosetaksel ve vinblastinin B-A Taşınması, A-B taşınmasından sırasıyla 10 ve 20 kat daha fazla görülmüştür. A-b taşınması P-gp eflüks fonksiyonunu bloque eden verapamil ve MRK16’in varlığında ise önemli ölçüde azalmıştır (Hunter J ve ark. 1993a;1993b). Bağırsak P-gp’nin ilaç emilimindeki rolüne ilişkin doğrudan kanıt, *mdr1a*^(-/-) mutant fareler ile yapılan in vivo çalışmalarda edinilmiştir. *mdr1a*^(-/-) ve *mdr1a*^(+/+) farelerinde Paklitakselin oral absorpsiyonu incelendiğinde, paklitakselin plazma maruziyeti, oral ve intravenöz ilaç uygulamasından sonra *mdr1a*^(-/-) farelerde *mdr1a*^(+/+) farelere göre sırasıyla 6 ve 2 kat daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca Paklitakselin oral biyoyararlanımı *mdr1a*^(-/-) farelerde %35 iken *mdr1a*^(+/+) farelerde %11 olarak hesaplanmıştır. Gastrointestinal P-gp eflüks işlevi ayrıca intravenöz uygulanan paklitakselin önemli miktarda doğrudan kan dolaşımından bağırsak lümenine atıldığı gözlemleriyle desteklenmektedir (Sparreboom ve ark. 1997; Lin ve Yamazaki 2003).

2.3.2.Kan beyin bariyerindeki Rolü

Beyin birçok yönden vücudun diğer organlarından farklıdır. Beynin en önemli özelliklerinden biri de KBB (Kan Beyin Bariyeri) ile kan dolaşımından anatomik olarak ayrılmasıdır. Sonuç olarak, endotel hücrelerinin içinden yalnızca lipofilik ilaçlar geçebilir ve beyin dokusuna ve beyin-omurilik sıvısına (BOS) ulaşabilir (Lin ve Yamazaki 2003). *Mdr1a*^(-/-) mutant hayvan modeli, ilaçların beyin alımını incelemek

için güçlü bir araç sağlamaktadır. Vahşi tip farelere kıyasla *mdr1a/1b*^(-/-) çift mutant farelerde beyin digoksin konsantrasyonunda 27 kat artış gözlenirken, karaciğer, böbrek ve plazmadaki digoksin konsantrasyonunda sadece 2.5 kat artış gözlenmiştir (Schinkel ve ark. 1994). P-gp ve diğer ABC taşıyıcılarının beyin kapiller endotel hücrelerinde lokalizasyonu şekil 2-5'te gösterilmiştir.



Şekil 2-5: P-gp ve diğer taşıyıcı ABC proteinlerin kan beyin bariyeri kapiller endotel hücrelerinde lokalizasyonu (Mahringer ve Fricker 2016)'den değiştirilerek.

2.3.3.İlaç Metabolizmasındaki Rolü

Karaciğer, büyüklüğü ve ilaç metabolize eden enzimlerin yüksek içeriği nedeniyle ilaç metabolizmasının ana bölgesidir. İnsanlarda CYP3A4, ilaçların karaciğer ve bağırsak metabolizmasında yer alan başlıca enzimdir. Örtüşen substrat spesifikliği ve bağırsak, böbrek ve karaciğerde CYP3A enzimleri ile birlikte ekspresyonu nedeniyle, P-gp'nin ilaç metabolizmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, P-gp'nin metabolizma üzerindeki etkisinin büyüklüğü, P-gp ve CYP3A arasındaki ilişkiye bağlı görünmektedir. İlaç molekülleri, hücre içi dağılım ve metabolize edilmeden önce P-gp'ye maruz kalır. İlaç moleküllerinin büyük bir kısmı, epitel hücrelerinin içinden bağırsak P-gp tarafından bağırsak lümenine geri atılır; ancak

ekstrüde edilen ilaçların bir kısmı daha sonra epitel hücrelerine tekrar emilebilir. Tekrarlayan ekstrüzyon ve yeniden emilim süreçleri aracılığıyla, P-gp, ilaç moleküllerinin hücre içi kalma süresini uzatır ve ilacı metabolize eden enzimlere maruz kalma olasılığını artırır (Lin ve Yamazaki 2003; DuBuske 2005; Padowski ve Pollack 2010).

P-gp ve CYP3A4 için bir substrat olan indinavirin CYP3A4 aracılı bağırsak metabolizması üzerindeki etkisi, Caco-2 hücrelerinin kullanıldığı bir in vitro çalışmada değerlendirilmiştir. İlaç apikal tarafa uygulandığında oluşan metabolit miktarının tek tabakanın öbür tarafına taşınan ana ilacın miktarına oranı olarak ifade edilen majör metabolitin (M6) oluşumu, ilaç bazolateral tarafa uygulandığından 6 kattan fazla bulunmuştur (Lin 1999; Hochman ve ark. 2000). Benzer şekilde, Caco-2 hücrelerinde siklosporinin metabolizması, apikal taraftan bazolateral tarafa göre daha fazla bulunmuştur (Gan ve ark. 1996). P-gp'nin bağırsak metabolizması üzerindeki etkisi in vivo olarak da gösterilmiştir: İndinavirin bağırsak ilk geçiş metabolizması kontrol sıçanlarında %6 iken, deksametazon ön tedavi gören sıçanlarda (3 gün boyunca ağızdan 40mg/kg) %34'e çıkmıştır. Deksametazon ile ön tedavi CYP3A ve P-gp düzeylerinde 2.5 kat artışa neden olmasına rağmen, indinavir bağırsak ilk geçiş metabolizmasının 6 kat artması, CYP3A bağırsak düzeyinde artış ile tek başına açıklanamaz. Artan bağırsak ilk geçiş metabolizması büyük olasılıkla artmış bağırsak CYP3A ve P-gp düzeylerinin kombinasyonu ile açıklanabilir (Lin ve ark. 1999; Lin ve Yamazaki 2003).

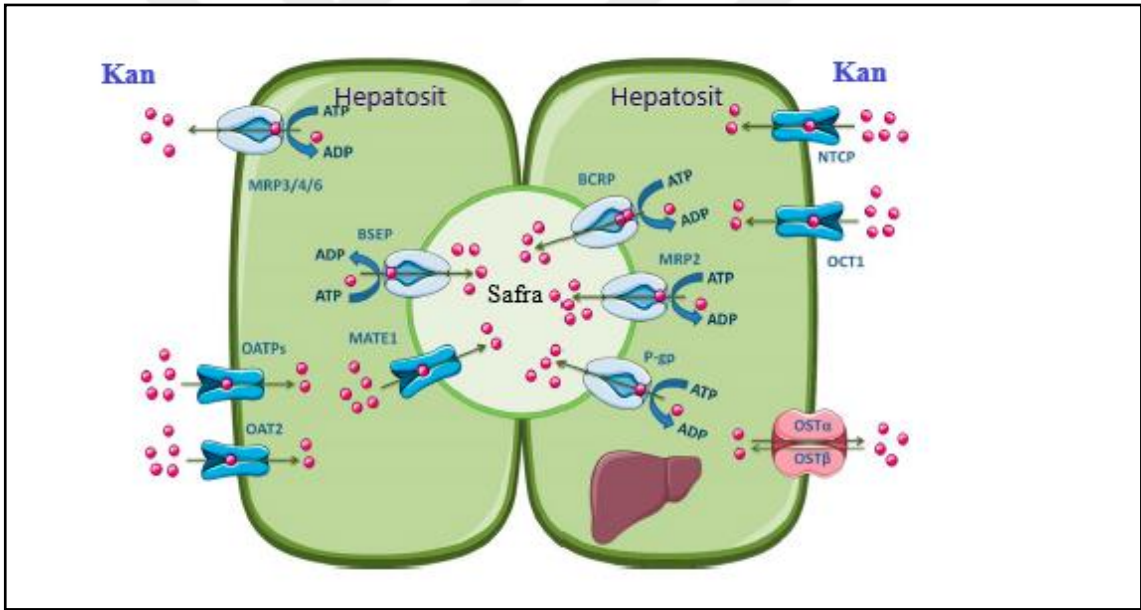
2.3.4.İlaç Atılımındaki Rolü

Hem karaciğer hem de böbrek, değişmemiş ilaçların ve metabolitlerinin atılımında önemli bir rol oynamaktadır.

2.3.4.1.Safra ile Atılımındaki Rolü

Biliyer atılım için, bir ilacın önce hepatositlerin sinüzoidal (bazolateral) membranını pasif difüzyon ve/veya hepatik alım taşıyıcıları ile geçmesi gerekmektedir. Hepatositlere girdikten sonra, ilaç molekülleri yayılmaya devam eder ve P-gp ve diğer eflüks taşıyıcı sistemlerin ilaç moleküllerini safraya pompalayacağı kanaliküler membrana ulaşır. P-gp'nin vinkristin'in biliyer atılımına dahil olduğu izole karaciğer perfüzyonu çalışmalarında gösterilmiştir (Kamimoto ve ark. 1989). *mdr1a* mutant farelerle yapılan çalışmalardan elde edilen, ilaçların biliyer atılımında P-gp'nin rolüne ilişkin daha doğrudan kanıtlar bulunmaktadır: Digoksinin biliyer klirensi, *mdr1a*^(+/+)

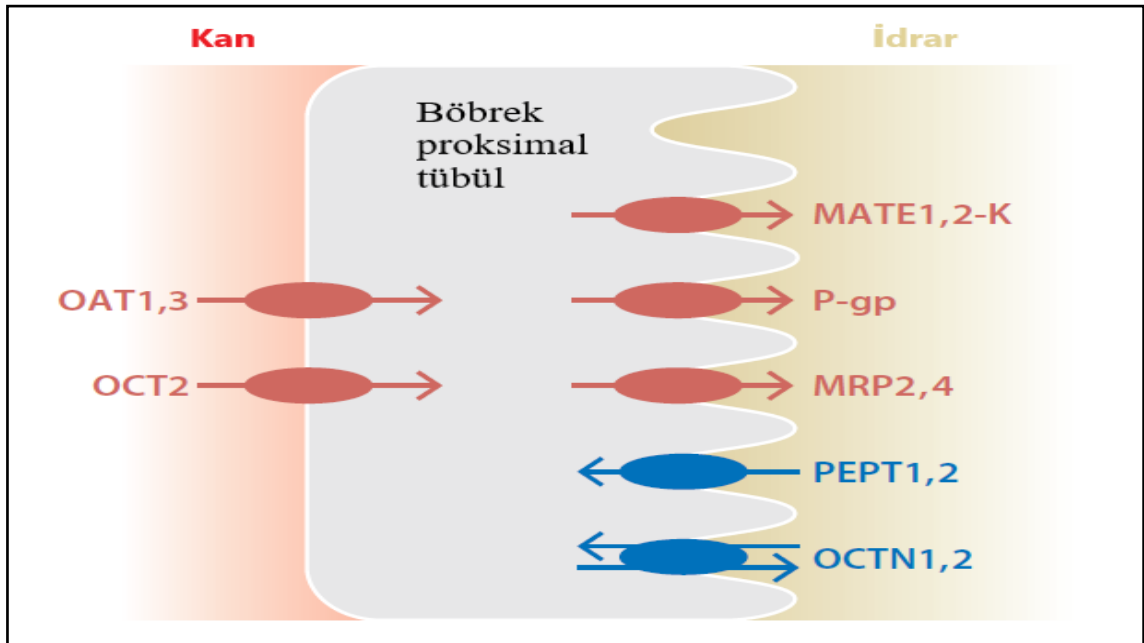
farelerde 2.3 ml/dak/kg iken $mdr1a^{(-/-)}$ farelerde ise, 0.84 ml/dak/kg'a kadar azalmıştır (Kawahara ve ark. 1999). Değişmemiş doksorubisin ve vinblastinin safraya atılımının $mdr1a^{(+/+)}$ farelerde $mdr1a^{(-/-)}$ farelere göre sırasıyla 3 ila 5 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Van Asperen ve ark. 2000). Hem $mdr1a$ hem de $mdr1b$ genleri kanaliküler membran üzerinde eksprese edildiğinden, ilaçların biliyer atılımı bir çift mutant fare modelinde daha ileri araştırılmıştır: $mdr1a/1b^{(-/-)}$ çift mutant farelerde vekuronyumun biliyer atılımının vahşi tip farelerinkinden yaklaşık 6 kat daha düşükken, $mdr1a^{(-/-)}$ farelerdeki biliyer klirens, vahşi tip farelerdekinden sadece 2.5 kat daha düşüktür (Smit ve ark. 1998a; 1998b). Karaciğerde eksprese olan P-gp ve ABC ailesine ait diğer taşıyıcıların hepatositlerde lokalizasyonu şekil 2-6'da gösterilmiştir.



Şekil 2-6: Hepatositlerde P-gp ve diğer ABC ailesine ait taşıyıcılar proteinler (Gameiro ve ark. 2017)'den değiştirilerek.

2.3.4.2.İdrar ile Atılımındaki Rolü

İmmünohistokimyasal çalışmalar, P-gp'nin, renal sekresyonun ana bölgesi olan proksimal renal tübülün apikal fırça kenarlı membranında lokalize olduğunu ortaya koymaktadır (Smith ve ark. 2000). İnsan P-gp'sini eksprese eden LLC-PK1 tek tabaka çalışmalarında, digoksinin B-A transepitelyal taşınması, A-B taşınmasından 7 kat daha fazla bulunmuştur (Okamura ve ark. 1993). İntravenöz uygulanan digoksinin biliyer klirensi, $mdr1a^{+/+}$ farelerde ve $mdr1a^{-/-}$ farelerde sırasıyla 3.15 ve 0.99 ml/dak/kg çıkmıştır (Kawahara ve ark. 1993). Öte yandan, $mdr1a^{-/-}$ tek mutant farelerde doksorubisin ve $mdr1a/1b^{-/-}$ çift mutant farelerde tributilmetilamonyum, azidoprokainamid ve vokuronyum gibi P-gp substratlarının renal atılımı, sırasıyla $mdr1a^{+/+}$ ve $mdr1a/1b^{+/+}$ farelerdekenden daha yüksek bulunmuştur (Smit ve ark. 1998; Van Asperen ve ark. 1999). Bu çelişkili sonuçların olası bir açıklaması, doksorubisin ve bu temel bileşiklerin renal atılımında diğer taşıyıcı sistemlerin rol oynayabileceği ve $mdr1a$ ve $mdr1b$ genlerinin devre dışı bırakılmasının diğer taşıyıcı sistemlerin ekspresyonunu artırabileceğidir (Lin ve Yamazaki 2003). Böbrek proksimal tübül epitel hücrelerindeki P-gp ve diğer taşıyıcılar şekil 2-7'da gösterilmiştir.



Şekil 2-7: Böbrek proksimal tübül epitel hücrelerindeki P-gp ve taşıyıcılar (Degortter ve ark. 2012)'den değiştirilerek.

2.3.5. Bağırsak P-glikoprotein Ekspresyonu/Fonksiyonunu etkileyen Faktörler

İnce bağırsak P-gp'nin ekspresyonu ve işlevi, ağızdan alınan gıda/takviyeler ve hastalık durumları gibi birçok faktör tarafından kolayca modüle edilebilmektedir. Eksojen olarak uygulanan maddelerin katkısına ek olarak, P-gp ekspresyonu ve işlevi, bireylerin vücut ağırlığı, metabolik enzimlerin ve taşıyıcıların gen polimorfizmleri, diyet ve sirkadiyen ritim gibi biyolojik ve/veya fizikokimyasal özelliklerinden de etkilenmektedir (Murkami ve ark. 2020). Bağırsak P-gp ekspresyonu ve/veya işlevinde varyasyona neden olabilecek faktörler Tablo 2-4'te gösterilmiştir.

Tablo 2-4: İnce bağırsaktaki P-gp ekspresyonunda ve işlevinde varyasyona neden olabilecek faktörler (Murkami ve ark. 2020)'den değiştirilerek.

Faktör	Etki
Sirkadiyen Ritim	Memelilerde bağırsak P-gp ekspresyonu 24-saatlik ritimden etkilenmektedir: Protein düzeyi akşam sabaha göre daha yüksek bulunduğundan, P-gp substratı ilaçları akşam almak, sabaha göre daha düşük biyoyararlanıma sebebiyet verebilir.
İlaç-ilaç etkileşimi	Bağırsak P-gp birçok ilaç tarafından modüle edilebilir (P-gp/CYP3A substrat ilaçları, inhibitörleri ve indüktörleri)
Yardımcı Maddeler/Formülasyon	Birçok noniyonik ve toksik olmayan surfaktan madde P-gp işlevini baskılayabilir. Bu tür yardımcı maddeleri içeren formülasyonlar, P-gp substratı ilaçlarının oral biyoyararlanımını artırabilir.
Besin/Gıda Takviyeleri	Birçok doğal polifenol, sarı kantaron gibi doğal ürünler ve belirli probiyotikler P-gp'nin fonksiyon ve ekspresyonunu değiştirebilmektedir.
Gen polimorfizmleri	Gen polimorfizmleri, bazı P-gp substratı ilaçların oral biyoyararlanımını değiştirebilir.
Obezite	Obezite bağırsak P-gp ekspresyonunu azaltarak P-gp substratı ilaçların biyoyararlanımını artırabilir.

2.3.5.2.P-glikoprotein ve Hastalık Durumları

Hastalık durumları, biyolojik sıvılardaki sitokinlerin üretimi ve bileşenlerin ve endojen P-gp substratlarının/inhibitörlerinin konsantrasyonlarının modülasyonu dahil olmak üzere çok sayıda mekanizma yoluyla çeşitli taşıyıcıların ve enzimlerin ekspresyonunu ve işlevini sistemik olarak modüle etmektedir. Gliserol ile oluşturulan böbrek yetmezliği (ABY) olan sıçanlarda, böbrekteki P-gp protein seviyelerinin 2.5 kat arttığı, ancak karaciğer ve beyinde değişmeden kaldığı rapor edilmiştir (Huang ve ark. 2000). Bağırsak P-gp ekspresyonu/fonksiyonu değiştiren bazı hastalıklar Tablo 2-5’da gösterilmiştir.

Tablo 2-5: P-gp ekspresyonu/fonksiyonu değiştiren bazı hastalık durumları (Murakami ve ark. 2020)’den değiştirilerek.

Kolorektal Karsinomlar	P-gp ekspresyonu, etkilenmemiş komşu dokulara kıyasla etkilenen dokularda daha düşüktür.
Diyare	P-gp ekspresyonu azalır ve P-gp substratı ilaçların oral biyoyararlanımı artar.
Karaciğer Yetmezliği	Ursodeoksikolik asit ile tedavi edilen primer biliyer siroz hastalarında bağırsak P-gp ve BCRP indüklenmiş olabilir.
İnflamatuar Bağırsak Hastalığı hariç, İnflamasyon	Bağırsak P-gp'nin mRNA ve protein seviyeleri azalır. P-gp substratı ilaçların absorpsiyonu artmış ve eflusu azalmıştır. Akut inflamasyonda, modüle edilmiş P-gp zamanla düzelir.
İskemi/Reperfüzyon (Hayvan çalışması)	Sıçanlarda bağırsak P-gp ekspresyonu/fonksiyonu iskemi periyodu, tıkanıklığın kan damarı üzerindeki basıncı ve kanın reperfüzyonundan sonraki süreye bağlı olarak modüle edilmiştir.
Organ nakilleri	Bağırsak P-gp aktiviteleri, transplantasyondan sonra en az 1 yıl boyunca zamanla dalgalanabilir. P-gp substratı ilaçlar için terapötik ilaç düzeyi izlemi gereklidir.
Tiroid Disfonksiyonu	Hipotiroidizm, MDR1/P-gp mRNA ve digoksin klirensini arttırmışken, hipertiroidizmin önemli bir etkisi saptanmamıştır.
HIV-İnfeksiyonu	HIV ile enfekte antiretroviral tedavi (ART) görmemiş

		katılımcılarda kolonun rektosigmoid bölgesindeki P-gp düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır.
		HIV ile enfekte ART ile tedavi edilen hastalarda, P-gp ekspresyonu daha yüksek bulunmuştur.
Bakteriyel (İn vitro)	Adhezyon	P-gp fonksiyonu inhibe edildiğinde Caco-2 hücrelerine bakteriyel adhezyonun artmış olması, P-gp'nin bakteri adhezyonunu baskıladığını öne sürmektedir.

2.4.P-Glikoprotein Aracılı İlaç-İlaç Etkileşimleri

CYP enziminin, özellikle de CYP3A4'ün inhibisyonu ve indüksiyonu, belgelenmiş ilaç etkileşimlerinin muhtemelen en yaygın nedenleridir. CYP'nin aracılık ettiği etkileşimlerin bir sonucu olarak ciddi yan etkiler nedeniyle bazı önde gelen ilaçlar piyasadan çekilmiştir. CYP aracılı ilaç etkileşimleri gibi, P-gp substratları ve P-gp inhibitörleri (veya indüktörleri) birlikte uygulandığında P-gp aracılı ilaç etkileşimleri beklenebilir. P-gp inhibisyonu ve indüksiyonunun farmakokinetik sonuçları, hayvanlarda ve insanlarda CYP enzimlerinin inhibisyonu ve indüksiyonunda gözlemlenenlere benzerdir (Lin ve Yamazaki 2003).

2.4.1.P-glikoprotein İnhibisyonu

Çoklu ilaç direnci, bir tür ilaca maruz kalan kanser hücrelerinin yapısal ve işlevsel olarak çok farklı ilaçlara çapraz direnç geliştirmesi fenomeni olarak tanımlanmıştır (Pauwels ve ark. 2007; Palmiera ve ark. 2012a). Efluks sisteminin indüksiyonu (P-gp), hedef proteinlerin değiştirilmiş fonksiyonu veya ekspresyonu (Örn: topoizomerez, tubulin), detoksifikasyon yollarının indüksiyonu, geliştirilmiş DNA onarımı, ve apoptotik sinyal yolağındaki değişimler gibi mekanizmaların çoklu ilaç direncinde önemli rol oynadığı rapor edilmiştir. Çoklu ilaç direnci ile ilişkili problemlerin üstesinden gelmek üzere üstlenilen klinik stratejiler arasında P-gp'nin doğrudan inhibisyonu ilk olarak 1981'de gösterilmiş ve şu ana kadar en iyi araştırılan mekanizmadır (Tsuruo ve ark. 1981). P-gp inhibitörleri ilaçların biyoyararlanımlarını inhibe etmek amacıyla antimikrobiyal (azitromisin, eritromisin, siprofloksasin) ve kanser (vinkristin, daunorubisin) tedavisinde koterapötik yaklaşım olarak önerilmiştir (Amin 2013; Silva ve ark. 2015).

2.4.1.1.P-gp İnhibisyonunun Mekanizmaları

Bir P-gp inhibitörü, (A) substrat bağlama bölgesini yarışmalı, yarışmasız, veya allosterik olarak bloke ederek, (B) ATP hidrolizine müdahale ederek veya (C) hücre zarı lipidlerinin bütünlüğünü değiştirerek P-gp aktivitesini inhibe edebilir (Drori ve ark. 1995; Shapiro ve Ling 1997a; Varma ve ark. 2003) Örneğin verapamil, P-gp'nin siklik aktivitesini engellemeden taşıma fonksiyonunu kompetitif olarak inhibe ederken, vanadat bağlama bölgeleri ile etkileşime girmeden P-gp'nin ATP-bağlama bölgeleri ile etkileşime girerek, siklosporin ise hem substrat tanıma bölgeleri hem de ATP hidrolizi ile müdahale ederek taşıma fonksiyonunu inhibe eder. Kompleksitesi nedeniyle, P-gp için substrat ve inhibitör olan ilaçlar ile birlikte uygulandığında P-gp inhibisyonunun mekanizmasını ve tipini belirlemek zordur. LLC-PK1 hücrelerinde digoksinin P-gp aracılı transepitelyal taşınması siklosporin tarafından inhibe edilmesine rağmen, digoksin şaşırtıcı bir şekilde siklosporinin P-gp aracılı transepitelyal taşınmasını engellememiştir (Okamura ve ark. 1993; Lin ve Yamazaki 2003). Ayrıca, çoklu ilaca dirençli P388 lösemi hücreleriyle yapılan in vitro çalışmalar, verapamilin P-gp aracılı daunomisin atılımını yarışmalı bir şekilde inhibe ettiğini, vinblastinin ise daunomisin ile yarışmasız bir inhibisyon gösterdiğini ortaya koymuştur (Ayesh ve Shao 1996; Lin ve Yamazaki 2003). Caco-2 hücrelerinde yapılan çalışmalar vinblastin taşınmasının, verapamil tarafından yarışmalı bir şekilde ve dideoksiforskolin tarafından ise yarışmalı olmayan bir biçimde inhibe edildiği gösterilmiştir (Hunter ve ark. 1993; Lin ve Yamazaki 2003). Yukarıdaki örneklerde gösterildiği üzere, P-gp inhibisyonu modeli, substrata bağımlı görünmekte olup basit kinetiği izlememektedir. Günümüzde P-gp inhibitörü olarak işlev gören birçok ilaç bulunmakta ve bazıları diğer klinik endikasyonları için terapötik ajanlar olarak kullanılmaktadır (Silva ve ark. 2015).

2.4.1.2.P-gp İnhibitörleri

P-gp inhibitörleri kronolojik geliştirilmesine göre değil, afinite, seçicilik, ve toksisite özelliklerine göre 4 kuşakta sınıflandırılmaktadır (Palmeira ve ark. 2012a; Dewanjee ve ark. 2017). Birinci kuşak inhibitörler, farmakolojik olarak aktif bileşiklerdir ve P-gp inhibe etme kabiliyetini klinik kullanımda veya klinik çalışmalarda göstermiştir (Varma ve ark. 2003; Palmeira ve ark. 2012a). Bu ilaçların çoğu kendileri P-gp substratlarıdır ve böylece, diğer P-gp substratları ile efluks için yarışarak etki gösterirler (yarışmalı inhibisyon) (Varma ve ark. 2003). Bununla birlikte,

bu bileşiklerin klinik kullanımda P-gp inhibitörü olarak kullanımı toksisiteyi nedeniyle sınırlıdır. Örneğin, verapamilin P-gp'yi inhibe etmesi için gerekli olan 2–6 μ M plazma konsantrasyonu insanlarda toksik kardiyovasküler etkiler ile ilişkili bulunmuştur (Ford ve Halit 1990). Daha sonra, P-gp'yi daha spesifik olarak modüle eden 2. ve 3. kuşak inhibitörler, 1. kuşak inhibitörlerin toksisite profilini iyileştirmek için geliştirilmiştir (Fox ve Bates 2007; Palmeira et al 2012a). İkinci kuşak inhibitörler, 1. Kuşak inhibitörlerin terapötik aktivitelerini azaltmak ve P-gp inhibisyon etkinliğini ve potansini arttırmak amacıyla yapısal modifikasyonlara tabi tutulan analoglardır. Bu nedenle, bu bileşikler 1. Kuşağın farmakolojik aktivitesinden yoksun ve genellikle daha yüksek P-gp afinitesine sahiptir. 1. Kuşak inhibitörlerle kıyasla daha iyi farmakolojik profile sahip olmalarına rağmen, 2. Kuşak inhibitörlerin sitotoksik ajanların metabolizmasını ve atılımını inhibe ederek kabul edilemez toksisiteye yol açmak gibi klinik kullanımını sınırlayan ve dolayısıyla klinik çalışmalarda kemoterapi dozunu azaltmayı gerektiren birtakım özellikleri vardır. Aslında, valsopodar ve birikodar gibi bu bileşiklerin birçoğu CYP için de substrattır ve bu P-gp modülatörleri ile kemoterapötik ajanların CYP için arasındaki yarışma, kemoterapötik ilaç toksisitesine neden olan öngörülemeyen farmakokinetik etkileşimlere yol açmıştır (Palmeira ve ark. 2012a).

1. ve 2. Kuşak P-gp modülatörlerinin kısıtlamalarının üstesinden gelmek amacıyla, birkaç yeni 3. Kuşak P-gp blokörü kantitatif yapı-aktivite ilişkileri ve kombinatorial kimya kullanılarak geliştirilmiştir. Bu P-gp inhibitörleri esas olarak çoklu ilaç dirençli tümör tedavisini ve P-gp inhibisyonunun seçiciliğini ve potansini iyileştirmek hedefiyle geliştirilmiştir (Palmeira 2012a). Bu bileşikler 1. Ve 2. Kuşak inhibitörlerden 10 kat daha yüksek bir potens göstermiştir (Varma ve ark. 2003). İlk üç nesli geliştirmek için harcanan tüm çabalara rağmen P-gp inhibitörlerinin gözlenen çeşitli yan etkileri ve farmakokinetik etkileşimleri yüzünden klinik kullanımları sınırlı kalmıştır. Bu sebeple, yeni P-gp inhibitörleri keşf etmek için yeni stratejiler kullanılmıştır. 4. Kuşak inhibitörler doğal kaynaklardan ekstrakte edilmiş bileşikler ve türevleri, yüzey aktif maddeler (surfaktanlar), lipidler, peptidomimetikler, ve taşıyıcı inhibisyonu ile birlikte başka faydalı biyolojik aktiviteye sahip ajanlar (çift ligandlar) gibi bileşiklerden oluşmaktadır (Palmeira ve ark. 2012a). P-gp inhibitörleri Tablo 2-6'de gösterilmiştir.

Tablo 2-6: Bilinen P-gp inhibitörleri (Silva ve ark. 2015)'den değiştirilerek.

Sınıf	Örnekler
1. Kuşak	
Analjezikler	Meperidin, pentazosin
Anestezikler	Kloroform, Benzialkol, Dietil eter, Propofol
Antibiyotikler	Sefoperazon, seftriakson, salinomisin, nigerisin, eritromisin, azitromisin, brefeldin A, bafilomisin,
Antikanser İlaçlar	klaritromisin, valinomisin Tamoksifen, bikalutamid, mitotan, gefitinib, lapatinib,
Antifungallar	erlotinib, lonafarnib (SCH 66336), tipifarnib, vinblastin İtrakonazol, ketokonazol, ekonazol, dihidroptikantol A,
Antihistaminikler	aureobasidin A
Anti-inflamatuar ilaçlar	Benzkinamid, azelastin, tesmilifene, astemizol, terfenadin Zomepirac, indometasin, SC236, kurkumin, ibuprofen, NS-398
Antidepresanlar	Amoksapin, loksapin, sertralin, paroksetin, fluoksetin
Antimalaryal ilaçlar	Kinin
Antiprotozoal İlaçlar	Hycanthone, monensin, metronidazol
Antiviral İlaçlar	Konkanamisin A, ritonavir, nelfinavir, sakinavir
Anksiyolitikler ve Sedatif-hipnotikler	Midazolam
Kardiyak-Dolaşım İlaçları	Antiarritmikler: amiodaron, propafenon, kinidin Kalsiyum kanal blokerleri: verapamil, emopamil, nifedipin, nikardipin, niguldipin, nitrendipin, nimodipin, felodipin, isradipin, lomerizin, tetrandrin, mibefradil, diltiazem, bepridil Antiplatelet ilaç: dipiridamol Antihipertansifler: reserpin, prazosin, doksazosin, karvedilol
Santral sinir sistemi stimülanları	Kafein, pentoksifilin, nikotin, kotinin
Kolesterol düşürücü	Atorvastatin

İlaçlar	
İmmünoşüpresif	Siklosporin A, takrolimus, sirolimus
İlaçlar	
Nöroleptikler ve	Trans-Flupentixol, perfenazin, proklorperazin,
Antipsikotikler	klorpromazin, trifluoperazin, perospiron, haloperidol
Fosfodiesteraz	Vardenafil
İnhibitörleri	
Steroid hormonları	Progesteron, medroksiprogesteron, kortizol, metilprednizolon, medroksiprogesteron 17-asetat, mifepriston, tirilazad
Diğer 2. Kuşak	Deksverapamil, MM36, KR-30031, RO44-5912, PAK-
İnhibitörler	104P, deksniguldipin, sinkonin, hidro-sinkonin, kinin, homodimer Q2, BIBW22BS, valsopodar (PSC 833), biricodar (VX 710), timcodar (VX-853), toremifen, SB- RA-31012 (tRA96023), CGP 42700, WK-X-34, dofequidar (MS-209), stipiamid homodimer, S9788
3. ve 4. Kuşak	Zosukuidar (LY335979), tarikuidar (XR9576), elakridar
İnhibitörler	(GF120918), lanikuidar, ontogen, DP7, PGP-4008, CBT-1
Doğan Ürünler	Flavonoidler: kersetin, tangeretin, nobiletin, sinensetin, baicalein heptametoksiflavon Alkaloidler: pervillein F, eliptisin Kumarinler: cnidiadin, conferone, praeruptorin A, rivulobirin A, DCK Kannabinoidler: kannabidiol Takkalonolidler: takalonolidler A Diterpenler: jolkinol B, portlankinol, öfodendroidin D, pepluanin A Seskiterpenler: dihidro-β-agarofuran seskiterpenler Triterpenler: sifolenon E, uvaol, sifolenol A, oleanolik asit

	Ginsenosidler: 20S-ginsenosid
	Polienler: pentadeka-(8,13)-dien-11-yn-2-one
	Liganlar: şsandrın A, silibinin, nirtetralin
Peptidomimetikler	Reversin 121, reversin 205, peptid 15, XR9051
Surfaktanlar ve lipidler	Pluronic P85, tween-20, triton X-100, kremofor EL, poli(etilen glikol)-300 (PEG-300), Nonidet P40
Çift Ligandlar	P-gp ve tümör hücre büyümesi dual inhibitörleri (1-[2-(1H-benzimidazol-2yl)metanamin]-4-propoksi-9H-tiyoksanten-9-on) gibi aminli tiyoksantonlar).

İki substratın aynı P-gp molekülü için yarışması, genellikle substratların P-gp aracılı taşınması üzerinde bir inhibitör etki ile sonuçlanmasına rağmen, bazı durumlarda P-gp aracılı dışa atım aktivasyonu rapor edilmiştir. Doksorubisinin P-gp aracılı hücre dışı atılımı, çoklu ilaca dirençli HCT-15 hücrelerinde bazı flavonoidler tarafından önemli ölçüde arttırıldığı rapor edilmiştir (Critchfield ve ark. 1994). ATPase aktivite çalışmalarında da stimülasyon gözlemlenmiştir. Örneğin verapamil indüklenen ATPaz aktivitesi, progesteron, diltiazem, amitriptilin ve propranolol tarafından stimüle edildiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, iki substratın, P-gp'ye aynı anda allosterik olarak etkileşime girebilecek farklı bölgelerden bağlanabileceğini göstermektedir (Litman ve ark. 1997; Lin ve Yamazaki 2003).

2.4.2.P-gp İndüksiyonu ve İlaç Etkileşimleri

Sekiz sağlıklı gönüllüde 10 gün boyunca 600 mg/gün rifampisinin birlikte uygulanmasından önce ve sırasında digoksinin farmakokinetiğini karşılaştıran bir klinik çalışmada, digoksinin plazma Cmaks ve AUC değerleri rifampisinden önce 5,4 mcg/L ve 55 mcg.saatt/L'den rifampisinin uygulamasıyla birlikte sırasıyla 2.6 mcg/L ve 38 mcg.h/L'ye düşmüştür. Duodenal biyopsiler, rifampisin tedavisinin intestinal P-gp içeriğini 3.5 kat arttırdığını ve bu da digoksinin oral AUC'si ile ters orantılı olduğunu ortaya koymuştur. Rifampisin ile ön tedavi, sağlıklı gönüllülerde feksofenadin ile siklosporinin sistemik maruziyetini önemli ölçüde azaltmıştır (Greiner ve ark. 1999; Lin ve Yamazaki 2003). P-gp'yi indükleyen ajanlar Tablo 2-7'de gösterilmiştir.

Tablo 2-7: P-gp İndüktörleri ve Etki Mekanizması (Li ve ark. 2009; Elmeliogy ve ark. 2020)'den değiştirilerek.

P-gp İndüktörü	Etki Mekanizması
Rifampin	Güçlü PXR agonisti
Fenitoin	Güçlü CAR agonisti, zayıf PXR agonisti
Karbamazepin	Güçlü CAR agonisti, zayıf PXR agonisti
Sarı kantaron	Güçlü PXR agonist
Rifabutin	PXR agonisti
Kuersetin	PXR ve CAR agonisti
Kurkumin	PXR agonisti
Genistein	PXR agonisti

2.4.3.P-gp Prob Substratları ve Etkileşimleri

Digoksin, feksofenadin, talinolol ve dabigatran eteksilat CYP metabolizmasına çok az veya hiç oranda uğradıkları için çalışmalarda P-gp prob substratları olarak kullanılmaktalar (Akamine ve ark. 2019)

Rifampin uygulamasının digoksin, talinolol, feksofenadin ve dabigatran dahil olmak üzere, P-gp prob substratlarının maruziyeti üzerindeki etkisini araştıran birkaç çalışma yürütülmüştür. Toplu olarak, bu çalışmaların sonuçları, rifampin ile birlikte uygulandığında p-gp substratlarının toplam maruziyetindeki ortalama azalmanın %20 ila %67 arasında değiştiğini ve dabigatran ve feksofenadin maruziyeti üzerindeki etkilerin digoksin ve talinolol ile gözlenenden daha fazla olduğunu göstermiştir. Rifampin ile birlikte uygulanması, oral yoldan uygulanan P-gp substratlarının C_{maks} 'ı 19-69,5% oranında azalmıştır (Elmeliogy ve ark. 2020).

Fenitoin ile birlikte uygulanması, digoksinin maruziyetinde 22% düşüş görülmüştür. Fenitoin, digoksinin toplam sistemik klirensini %25 oranında artırmıştır; bu, potansiyel olarak hepatositlerde P-gp'nin indüklenmesi yoluyla renal olmayan

klirenste bir artışa işaret ederek, digoksinin biliyer eliminasyonunun artmasına yol açmıştır (Elmeliegy ve ark. 2020).

Karbamazepin, feksofenadinin AUC ve Cmaks'ını sırasıyla 39% ve 35% oranında azaltmıştır. Ayrıca karbamazepin tek doz dabigatran eteksilat (ön ilaç) ile uygulandığında, dabigatranın AUC ∞ ve Cmaks değerlerinde sırasıyla 28.6% ve 33.4% oranında azalmaya neden olmuştur. Bağırsak P-gp prob substratı olan dabigatranın maruziyetindeki bu azalma, bağırsak P-gp ekspresyonunun ve/veya işlevsel aktivitesinin arttığını öne sürmektedir. Oral yoldan tekrarlı-doz uygulanan karbamazepin, Oral uygulanan talinolol'ün maruziyetini %14,3 oranında düşürmüş ve $t_{1/2}$ değerini etkilememiştir. Karbamazepin ön tedavisi feksofenadinin Cmax ve AUC değerlerini sırasıyla 41,6% ve 42,8% oranında azaltmıştır (Elmeliegy ve ark. 2020).

Eşit miktarda hiperforin içeren sarı kantaron tedavisi (yaklaşık 300 mg), P-gp substratları feksofenadin, talinolol ve digoksin'in AUC değerlerini sırasıyla 46%, 31% ve yaklaşık 25% oranında azalttığı rapor edilmiştir (Elmeliegy ve ark. 2020).

Kuercetin'in P-gp üzerindeki etkisi, doğası gereği ikili görünmektedir. Bir yandan Wang ve ark. kuersetin ile birlikte uygulandığında talinolol maruziyetinde %20'lik bir azalma olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, kuersetin, sıçanlarda siklosporin maruziyetini 43.3% oranında azaltmıştır. Ancak, siklosporin ayrıca CYP3A yoluyla da metabolize edilir (aynı zamanda kuersetin tarafından indüklenir), bu nedenle P-gp indüksiyonunun siklosporin maruziyetinde gözlenen azalmaya nispi katkısı belirlenemez. Öte yandan, bazı çalışmalar kersetin'in P-gp'yi inhibe edebileceğini göstermiştir. Kuersetin, domuzlarda digoksin ile birlikte uygulandığında, digoksinin AUC değerinde 2.7 kat artışa neden olduğu bildirilmiştir. Ek olarak, kuersetinin sağlık insan deneklerinde fexofenadin maruziyetini 55% oranında arttırdığı gösterilmiştir. Bu tutarsızlık için olası bir açıklama, kersetin'in P-gp üzerindeki konsantrasyona bağlı etkisi olabilir (Elmeliegy ve ark. 2020).

Kurkuminin talinololün sistemik maruziyeti üzerindeki etkisini araştıran iki çalışma bulunmaktadır. Bir çalışmada, kurkumin varlığı, talinololün Cmaks ve AUC değerlerinde sırasıyla 29% ve 42% oranında azalmaya yol açmıştır. Başka bir çalışmada, kurkuminin talinolol ile birlikte uygulanmasının, talinolol Cmaks ve AUC'sini sırasıyla 20% ve 81% oranında arttırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle, kuersetin

gibi, kurkuminin P-gp üzerindeki modölatör etkisi hakkında çelişkili raporlar mevcuttur (Elmeliegy ve ark. 2020).

Valspodar ile birlikte uygulanması digoksinin AUC ve Cmaks değerlerinde sırasıyla 3 ve 2,5 kat artışa neden olmuştur. Quinidin ile birlikte uygulandığında digoksinin maruziyeti 2.5 kat artmıştır. Siklosporin digoksinin AUC'sini 2 kat arttırmıştır. Klaritromisin ve amiodaron ile birlikte uygulanması digoksinin Cmaks değerlerinde sırasıyla 2 kat ve 3 kat artışa neden olmuştur. Talinolol ile birlikte uygulanması digoksinin AUC ve Cmaks değerlerinde sırasıyla 47% ve 50% artışa neden olmuştur. 10 günlük 600mg/gün rifampisin tedavisi digoksinin AUC ve Cmaks değerlerini sırasıyla 5,4 ng/mL ve 55ng/mL.s`dan 2,6 ng/mL (51.8%) ve 38 ng/mL.s'a düşürmüştür (Akamine ve ark. 2019).

Güçlü bir P-gp inhibitörü olan R-verapamil, intestinal perfüzyon tekniğiyle talinololün sekresyonunu inhibe etmesine rağmen, in vivo şartlarda talinolol ile birlikte uygulandığında talinololün AUC'sini 25% oranında düşürmüştür. 9 günlük 600mg/gün rifampisin ön tedavisi iv ve oral yoldan uygulanan talinololün AUC'sini sırasıyla 21% ve 35% oranında düşürmüştür (Akamine ve ark. 2019).

Güçlü bir P-gp inhibitörü olan kurkuminin sağlıklı yetişkinlerde talinolol ile birlikte uygulanması talinololün AUC değerlerini 33% oranında düşürmüştür. Tek bir bardak greyfurt suyu suyla kıyasla talinololün AUC, Cmaks ve idrarla atılım değerlerini sırasıyla 56%, 57% ve 56%'ya düşürmüştür. Tekrarlı greyfurt alımı benzer etkiye neden olmuştur (44%'dan 65%'e azalma). Sarı kantaron, karbamazepin ve rifampisin ile in vivo P-gp indüksiyonu, oral ve intravenöz uygulanan talinololün AUC'sini 7-35% oranında azalmıştır. AUC'deki azalma oral uygulamadan sonra intravenöz uygulamaya göre daha büyüktü. 12 günlük 900mg/gün Sarı kantaron tedavisi oral ve intravenöz uygulanan talinololün AUC'sini sırasıyla 31% ve 6,1% oranında düşürmüştür (Ma ve ark. 2010).

Tek doz 120 mg verapamil dabigatran AUC ve Cmaks'ını sırasıyla 143% ve 179% oranında arttırmıştır. 9 günlük 600mg/gün rifampisin ön tedavisi dabigatranın AUC ve Cmaks'ını sırasıyla 67% ve 65,5% oranında düşürmüştür (Akamine ve ark. 2019).

6 günlük 240mg/gün verapamil tedavisi fexofenadinin AUC ve Cmaks değerlerini sırasıyla 2,5 ve 2,9 kat arttırmıştır. 6 günlük 450mg/gün rifampisin tedavisi

feksofenadinin AUC'sini 3 kat arttırmıştır. Güçlü bir P-gp indükleyicisi olan karbamazepinin 7 günlük 300mg/gün tedavisi feksofenadinin (R-) ve (S-) enantiomerlerinin AUC'lerini sırasıyla 51% ve 60% oranında düşürmüştür (Akamine ve ark. 2019).

2.5.P-gp Ekspresyonunun Regülasyonu

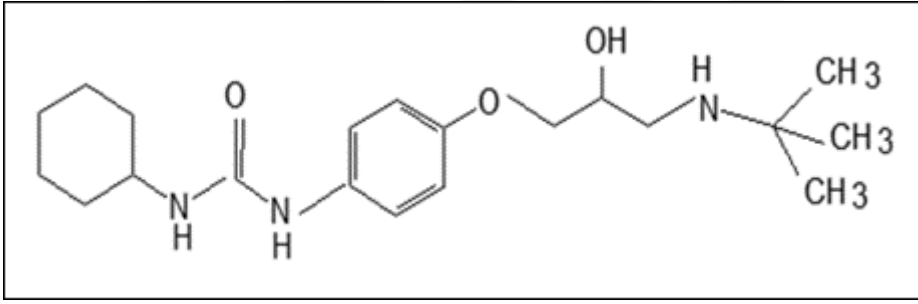
Genel olarak P-gp ekspresyonunun birçok hücre hattında ve sarkomlarda, insan MDR1 m-RNA düzeylerinin upregülasyonu yoluyla arttığı kabul edilmektedir (Hennessy ve Spiers 2007). Artan insan MDR1 m-RNA seviyesi gen amplifikasyonu ve/veya artan gen transkripsiyonuna bağlıdır (Fojo ve ark. 1985; Scotto ve ark. 1986; Shen ve ark. 1986; Roninson 1992). iMDR1 geninde GC-box, Y-box, bir p53 ögesi, ters çevirilmiş mediatör-1 ögesi (invMED1), bir aktivatör protein 1(AP-1) ögesi, bir ısı şok ögesi (HSE), bir steroid ksenobiyotik reseptörü (SXR) ögesi [pregnane ksenobiyotik/retinoid ksenobiyotik reseptör α (PXR /RXR α) heterodimer için bir bağlanma yeri) ve başka promotör öğeler bulunmuştur (Labialle ve ark. 2002; Hennessy ve Spiers 2007). İnsan MDR1 geninin transkripsiyonel aktivitesinin regülasyonu, bu konsensüs cis-elemanlarını (promotör elemanları) bağlayan birkaç trans-etkili proteine (transkripsiyon faktörleri) bağlıdır ve sonuç olarak, P-gp'ye doğrudan ilaç bağlanması yoluyla gerçekleşmez (Labialle ve ark. 2002). MDR1 gen transkripsiyonunun upregülasyonunda, ısı şoku transkripsiyon faktörü 1, özgüllük proteini 1, aktivatör protein 1, CCAAT-bağlayıcı protein beta [C/EBP β veya NF-IL-6(IL-6 ekspresyonu için bir nükleer faktör)] nükleer faktör Y (NF-Y), erken büyüme yanıtı proteini 1 (EGR-1) ve Y-kutusu bağlayıcı protein 1 (YB-1) dahil olmak üzere çeşitli transkripsiyon faktörlerinin dahil olduğu bildirilmiştir (Combates ve ark. 1994; McCoy ve ark. 1995; Ohga ve ark. 1998; Daschner ve ark. 1999; Ogretmen ve Safa 1999a; Hu ve ark. 2000; Vilaboa ve ark. 2000). P-gp indüktörleri tablo 2-8'de gösterilmiştir.

2.6.Talinolol

Uzun etki ve parsiyel agonistik aktiviteye sahip olmayan talinolol, oldukça seçici bir B-1 antagonistidir. 1975 yılında klinik uygulamaya girmiştir ve Doğu Almanya ve Doğu Avrupa'da sıklıkla kullanılmaktadır. Almanya'da Arzneimittelwerk Dresden GmbH şirketi tarafından Cordanum (<https://drugs.ncats.io/drug/3S82268BKG>) ticari ismiyle üretilmektedir (Tausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; He ve ark. 2007,). Talinololün klinik etkinliği çeşitli kardiyovasküler hastalıklarda iyi

kanıtlanmıştır. Talinolol, kronik tedavi sırasında günlük 50-300 mg'lık oral dozlarda uygulanmaktadır. Piyasada hızlı-salımlı tabletleri ve injektabl solüsyonları mevcuttur (Tubic ve ark. 2006a; Kara ve ark. 2021).

Talinololün kapalı kimyasal formülü $C_{20}H_{33}N_3O_3$ 'tür. Açık Kimyasal adı ise S(-)/R(+)-1-(4-sikloheksil-üreido-fenoksi)-2-hidroksi-3-tertiyer-butil-aminopropan'dır. Beyaz renkte bir toz olan talinololün moleküler ağırlığı 363,5 g/mol'dur. Talinolol zayıf baz karakterinde bir bileşik olmakla birlikte, metanolde iyi çözünür, suda ise çözünürlüğü azdır (0,2 mg/ml) (Wetterich ve ark. 1996; Oertel ve ark. 1998; He ve ark., 2007). Talinolol, diğer B-antagonistleri ile karşılaştırıldığında, orta derecede, ve pH'a bağlı bir su ve lipit çözünürlüğü vardır (n-oktanol-su dağılım katsayısı, pH 7'de 5-5'tir) (Tausch 1995). Talinololün yapısı Şekil 2-8'de gösterilmiştir.



Şekil 2-8: Talinololün yapısı

2.6.1.Farmakodinamik Özellikleri

Parsiyel agonist aktivitesi ve spesifik olmayan membran stabilize edici etkisi olmayan talinolol, uzun etkili, β_1 -adrenoreseptör antagonistidir. β_1 reseptörler için talinolol seçiciliği atenolole göre daha üstündür, metoprolol ile karşılaştırılabilir ve bisoprololden daha düşüktür. Talinolol β_1 adrenoreseptörler için orta düzeyde bir afiniteye ve propranolol ile kıysala daha yüksek ve daha uzun bir β reseptör işgal derecesine sahiptir. Talinololün konjestif kalp yetmezliği (KKY) olan 46 hastada 6 aylık tedaviden sonra sol ventrikül fonksiyonunu ve egzersiz kapasitesini iyileştirdiği rapor edilmiştir. Ayrıca talinololün sigara içenlerde antioksidan etkileri olduğu düşünülmektedir (He Juan 2007).

2.6.2.Farmakokinetik Özellikleri

2.6.2.1.Absorpsiyonu

Oral yoldan verilen talinolol gastrointestinal kanaldan hızlı bir şekilde emilmesine rağmen (t_{maks} 2 saat), %55'lik mutlak biyoyararlanımı ile absorpsiyonu tam değildir. Oral yoldan uygulanan talinololün nisbeten düşük absorpsiyonu, P-gp aracılı intestinal sekresyonla ilişkilendirilmiştir çünkü talinolol çok düşük oranda metabolizmaya uğramakta ve enzimlere bağlı ilk geçiş etkisinden etkilenmemektedir. (Trausch 1995, Gramatte ve ark 1996). (Trausch ve ark. 1995; Wetterich ve ark. 1996; Gramatte ve Oertel 1999). Talinololün sıçanlarda da benzer farmakokinetik profil sergilediği görülmüştür (Spahn-Langguth ve ark. 1998). Yemekle birlikte alınan Talinololün emilimi %50 oranında azalır, bu yüzden talinololün yemeklerden 1 saat önce uygulanması yararlıdır (Terhaag ve ark. 1992).

Absorpsiyonu doza bağımlı olan talinolol, doğrusal olmayan bir absorpsiyon profiline sahiptir (Wetterich ve ark 1996). Bu doğrusal olmayan doza bağımlı emilim, yüksek dozlarda uygulanan talinololün meydana getirdiği P-gp saturasyonu sonucu intestinal sekresyonu azalır. Dolayısıyla, yüksek dozlarda oral uygulanan talinololün biyoyararlanımı artmaktadır (Tubic ve ark. 2006b). Oral uygulanan talinololün karakteristik bir özelliği, farmakokinetik profilinde gözlemlenen ve muhtemelen bağırsak lümeninin ötesindeki depolama yolunun meydana getirdiği çift-pik fenomenidir (Weitschies et al 2005).

2.6.2.2.Dağılımı

Hücre dışı sıvı kompartmanlarına ve tüm dokulara dağılabilen talinolol, insanda $3,3 \pm 0,5$ L/kg'lık bir dağılım hacmine sahiptir (Trausch ve ark. 1995). Talinolol plazma proteinlerine düşük oranda bağlanmaktadır (Zschiesche ve ark. 2002).

2.6.2.3.Metabolizması

Metabolize olan talinolol oranı yaklaşık 1%'dir ve bu nedenle metabolizmaya uğrayan oranı göz ardı edilebilir düzeydedir (Oertel ve ark. 1994). Karaciğerde 4-trans3-cis, 4-cis ve 3-trans hidroksitalinolol'e dönüştürülür. Ketokonazol talinololün hidroksimetabolitlerinin oluşumunu inhibe etmesine karşın, kinidin ve naftoflavon inhibe etmemiştir, bu nedenle CYP3A4'ün talinolol metabolizmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Talinololün metabolitlerinin sahip olduğu herhangi bir

farmakodinamik etki rapor edilmemiştir (Trausch ve ark. 1995; Zschiesche ve ark. 2002; Tubic ve ark. 2006b).

2.6.2.4.Eliminasyonu

İnsanlarda talinololün yaklaşık %60 oranında böbreklerden atılırken, %40 oranında başlıca feçes ile eliminasyona uğramaktadır. Talinolol 11,9 saatlik bir yarılanma ömrüne sahiptir. Doalysıyla, günlük 100 mg'lık talinolol dozu 24 saatlik etkinlik sağlayabilmektedir (Trausch ve ark. 1995; Tubic ve ark. 2006b).

2.6.3.Endikasyonları

Talinolol, koroner kalp hastalığı, akut miyokardial infarktüsü ve sonrası, akut kalp çarpıntısı, kararsız angina pectoris ve arteriyel hipertansiyon tedavilerinde endikedir (Rote Liste® 2000; He ve ark. 2007).

2.6.4.Kontraendikasyonları

Talinolol, konjestif kalp yetmezliği, hipotansiyon, sinoatriyal blok, kardiyojenik şok, bronş astımı, bradikardi, 2. ve 3. derece atriyoventriküler blok gibi durumlara ilave olarak, β blokörlerine karşı duyarlılığı olan hastalarda kontraendikedir (Rote Liste® 2000).

2.6.5.Yan etkileri

Talinololün hipotansiyon, bradikardi, el ve ayaklarda soğukluk ve uyuşukluk gibi kardiyovasküler yan etkileri vardır. Bulantı, karın ağrısı ve diyare sindirim sisteminde görülen yan etkilerdir. Santral sinir sistemi yan etkileri ise, zihinsel yavaşlık, kısa dönem düşünce kaybı ve kabus görmeden oluşmaktadır. Ayrıca, kilo alımı, saç kaybı, ereksiyon bozukluğu ve işitme bozuklukları rapor edilmiştir. Böbrek yetmezliğinde veya P-gp substratları ile birlikte uygulandığında devamlı terapötik ilaç izlemi yapılması tavsiye edilir (Rote Liste® 2000; He ve ark. 2007).

2.6.6.Dozu ve Veriliş Yolu

Talinolol, post miyokard infarktüsü ve akut kalp ritim bozukluğu 10 mg dozda intravenöz olarak verilir. İlacın damar içine 3 ile 5 dakika içinde uygulanıp 10 dakika geçtikten sonra tekrar aynı dozda verilir. Aynı dozun tekrar verilebilmesi için, Kalp fonksiyonlarının EKG ile kontrol edilmesi, kan basıncı ve nabzın yakından izlenmesi şarttır. Talinolol kararsız anginada 10-20 mg dozda 24 saat intravenöz infüzyon olarak

uygulanır. Hipertansiyon tedavisinde kullanılan talinolol ise, günde iki adet 50mg'lık tablet veya günde 1 adet 100mg'lık tablet olarak uygulanır. Gerekli durumlarda bu dozun 300 mg'a çıkartılması kabul edilebilir. Koroner kalp hastalığı durumlarında günlük 100-200mg doz uygundur. Aynı doz taşikardi hastalarında da geçerlidir (Rote Liste® 2000).

Böbrek yetmezliğinde talinololün oral maruziyetinin arttığı, $t_{1/2}$ değerinin arttığı ve idrarla atılan miktarının önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. İlerlemiş böbrek bozukluğu olan hastalarda doz ayarlamasının yapılması elzemdir. Bu durumda dozun %30-50 oranında düşürülmesi önerilmektedir (Krueger ve ark. 2001).

2.6.7.İlaç Etkileşimleri

Kalp üzerine baskılayıcı etkiye sahip i.v. yoldan uygulanan diltiazem veya verapamil gibi kalsiyum kanal blokörleri ile talinololün uygulanmaması gerekmektedir. Ayrıca talinolol, amiodaron ve kinidin gibi düzensiz kalp atışını önleyen ilaçlarla i.v. yoldan alınmamalıdır (Rote Liste® 2000). Talinololün periferik kas gevşeticiler, MAOI'leri, antidiyabetik ajanlar ve aklol ile uygulanmasından kaçınılmalıdır. Hipoglisemi sonucu gelişen taşikardiyi inhibe edeceğinden, talinolol oral hipoglisemik ilaçlarla alınmamalıdır (Rote Liste® 2000). Vücutta su ve tuz tutulmasına yol açan steroid olmayan anti-enflamatuvar ilaçlarla talinololün uygulanmasından kaçınılmalıdır (Rote Liste® 2000).

Talinololün emilimi ve biyoyararlanımını önemli ölçüde azaltığından, sülfasalazin ile birlikte uygulanmamalıdır. İki ilacın birlikte kullanılmalarından kaçınılamazsa, uygulama arasında en az 2-3 saat beklenmelidir (Terhaag ve ark. 1992).

2.6.8.Müstahzarları

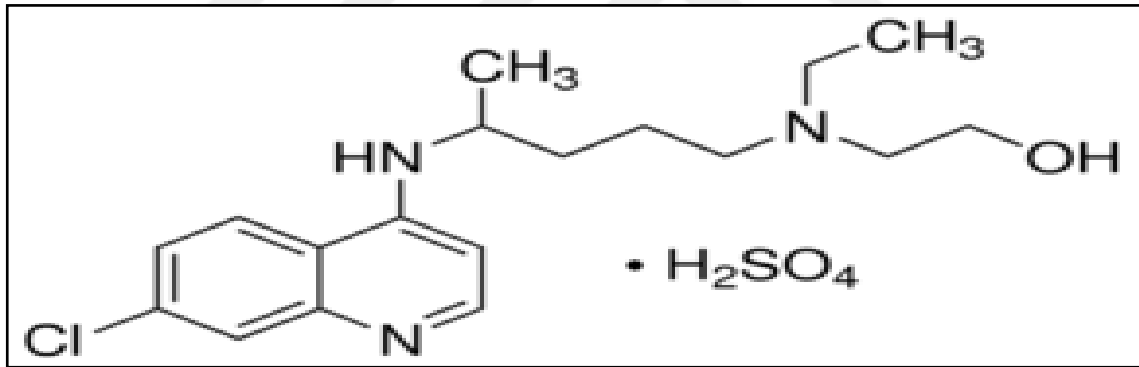
Talinololün Cordanum® adı altında 50 ve 100 mg'lık tabletleri ve 10 mg'lık ampul müstahzarları bulunmaktadır (Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis). Türkiye'de talinolol etken maddesinin bulunduğu bir ürün yoktur.

2.7.Hidroksiklorokin

Klorokin, Dünya Savaşı sırasında ABD'de antimalaryal aktivite için araştırılan 4-aminokinolinler'dan biriydi. Klorokin sonunda en umut verici olduğunu kanıtladı ve savaş bölgelerinde denenmeye başlamıştır. Milyonlarca asker klorokini antimalaryal profilaksi için aldığı anda, ilacın askerlerin döküntülerini ve inflamatuvar artriti de

iyileştirdiği gözlemi, antimalaryallerin sistemik lupus eritematozus (SLE)'de etkinliğini gösteren ilk çalışmaya yol açmıştır. O zamandan beri, antimalaryallerin romatizmal hastalıklardaki rolü belirlenmiştir ve günümüzde SLE ve romatoid artrit (RA) kullanımı yaygındır (Ben-Zvi ve ark. 2012).

Hidroksiklorokin'in kapalı kimyasal formülü $C_{18}H_{26}ClN_3O$ 'dur ve R ve S enantiyomerlerinden oluşan rasemik bir karışımdır. Kimyasal adı 2-[4-[(7-Klorokin-4-yl)amino]pentil-etilamino]etanol'dur. HCQ'nun sentetik formu 1955'te sentezlenmiştir ve klorokinden yalnızca bir hidroksil grubuyla farklıdır (Ben-Zvi ve ark. 2012). Hidroksiklorokin, hidroksiklorokin sülfat olarak uygulanır ve moleküler ağırlığı 335.9g/mol'dür. HCQ suda yüksek oranda çözülen, ışığa duyarlı, beyaz bir tozdur (87 mg/mL (200.48 mM)). HCQ dimetil sülfoksit ve etanolda çözünmemektedir (SelleckChem). Hidroksiklorokinin kimyasal yapısı şekil 2-10'de gösterilmiştir.



Şekil 2-9: Hidroksiklorokin kimyasal yapısı —(<https://www.sigmaaldrich.com>)'den değiştirilerek.

2.7.1. Farmakodinamik Özellikleri ve Etki Mekanizması

HCQ başlangıçta malariyayı tedavi etmek için kullanılan bir antimalaryal ilaç olarak pazarlandı, ancak o zamandan beri malaria tedavisinde daha etkili ilaçlar yerini aldı. Bununla birlikte, daha sonra bir bağışıklık sistemi modülatörü rolünde bir DMARD (Hastalığı Modifiye Eden Antiromatizmal İlaçlar) olarak tanımlandı ve o zamandan beri sistemik lupus eritematozus ve romatoid artrit dahil olmak üzere otoimmün hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. HCQ, fagositoz ve kemotaksi inhibisyonu, toll-benzeri reseptör sinyali, lenfositlerde kalsiyum sinyali, makrofaj aracılı

sitokin üretimi ve matris metalloproteinazları içeren çeşitli immünomodülatör etkilere sahiptir (Ben-Zvi ve ark. 2012; Nazir, Kumar ve ark. 2021). Klorokin ve hidroksiklorokin, otoimmün ve deri hastalıklarına ek olarak, onkoloji ve pediatrik inflamatuvar bozukluklarda da bir tedavi seçeneği olarak ortaya çıkmaktadır (Yusuf ve ark. 2017).

HCQ, bağışıklık tepkilerini çeşitli mekanizmalar yoluyla modüle etmektedir: 1. Dendritik hücrelerde 7 ve 9 Toll benzeri reseptörleri inhibe ederek, interferon-alfa üretimini inhibe eder. 2. Lizozomotropik etkileri yoluyla endolizozomal sistemin fonksiyonlarını bozar. 3. Dolaşımdaki proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerini düşürür. 4. T-hücre proliferasyonunu inhibe eder. 5. Nötrofil hücre sayısını azaltmadan nötrofillerden gelen hücre dışı oksidanların etkisini ortadan kaldırır, 6. T hücreler içindeki T-hücre reseptörüne bağımlı kalsiyumu ve dolayısıyla antijen işlemlerini bozar, 7. Otofagiye inhibe ederek efektör T hücrelerin alt kümesinin apoptozisini indükler, 8. Hücre içi vakuollar içindeki pH'ı arttırarak ve lizozomal fonksiyona müdahale ederek, otoimmün tepkileri tetiklemek için gerekli antijenik peptitlerin işlenmesine etki eder (Yusuf ve ark. 2017; Nirk ve ark. 2020). Hidroksiklorokin endikasyonları Tablo 2-8'da gösterilmiştir.

Tablo 2-8: Hidroksiklorokin endikasyonları (Yusuf ve ark. 2017)'den değiştirilerek.

Hidroksiklorokin Endikasyonları

Romatolojik Hastalıklar

Sistemik lupus eritematozus

Romatizmal eklem iltihabı

Sjögren sendromu

Antifosfolipid sendromu

Osteoartrit

Dermatomyozit

Jüvenil idiopatik artriti

Psoriatik artrit

Kemoterapiye bağlı artropati

Dermatolojik Hastalıklar

Porfiris kutena tarda (endikasyon dışı kullanım)

Diskoid lupus

Kutanöz sarkoidoz

Granöloma annölare

Liken planus

Kutanöz psödolenfoma

Onkoloji*

Yama kökenli konak hastalığı (Akut hastalığın profilaksisinde)

Küçük hücreli olmayan akcięer kanseri

Kronik lenfositik lösemi (B-hücresi)

Otofaji inhibitörü olarak adjuvan kullanımı

**Hidroksiklorokin onkolojide sıklıkla daha yüksek dozlarda kullanılır (kısa süreler için günlük 800-2000mg dozlarda kullanılabilir).*

Pediatric

Çocuklarda interstisyel akciğer hastalığı (endikasyon dışı kullanım)

Sistemik lupus eritematoz

Diskoid lupus

2.7.1.1.Hidroksiklorokin'in Antiviral Aktivitesi

HCQ'nın anti-viral aktivitesi, temel olarak endozomal sistemin ve trans-Golgi ağının (TGN) pH'ını artırma yetenekleriyle bağlantılıdır (Savarino ve ark. 2003). Bu nedenle, endositozlu viryonların endozomların sınırlayıcı membranı ile füzyonu için düşük bir endozomal pH gerektiğinden, bu ilaç çok sayıda virüsün hücre girişini inhibe edebilmektedir. Bu bağlamda hücresel modellerde yapılan çalışmalarda HCQ'nın, dang virüsü (DENV2), chikungunya virüsü, hepatit A ve C virüsü, influenza A virüsü, Zika virüsü, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüsü (SARS-CoV) ve Borna hastalığı virüsü gibi virüslerin replikasyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Nirk ve ark. 2020).

2.7.2.Farmakokinetik Özellikleri

Hidroksiklorokin farmakokinetiği, bu ilacın büyük dağılım hacmi ve uzun yarılanma ömrü nedeniyle karmaşıktır. Ayrıca, hidroksiklorokin doz-yanıt ilişkisi ve toksisite eşiği henüz tam olarak tanımlanmamıştır.

2.7.2.1.Absorpsiyonu

Hidroksiklorokin genellikle bağırsağın üst bölümlerinden emilir. Hidroksiklorokin sülfatın (200 mg) maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi ortalama 0,43 saattir (Schrezenmeier ve Dörner 2020). İlaç, yaklaşık 6 aylık tedavi ile kararlı durum konsantrasyonunun %95'ine ulaşır. Daha kısa tedavi süreleri, ilacın kararlı durum konsantrasyonuna ulaşması için yeterli süre sağlamaz ve tedavinin tam klinik sonuçları görülemeyebilir. Hidroksiklorokin oral biyoyararlanımı yaklaşık %75'tir, ancak ilacın farmakokinetik profili bireyler arasında farklılık göstermektedir. Bu farklılığın hidroksiklorokin etkinliğini de etkilediği öne sürülmektedir (Shippey ve ark. 2018). Bununla birlikte, hidroksiklorokin biyoyararlanımı böbrek yetmezliği olan hastalarda daha yüksektir (Schrezenmeier ve Dörner 2020).

Hidroksiklorokin absorpsiyon derecesi üzerinde gıda etkisinin olmadığı, ancak gıda varlığında absorpsiyonun önemli ölçüde uzadığı rapor edilmiştir (Nicol ve ark. 2020). Birey içi ve bireyler arası farmakokinetik varyasyonunun değerlendirildiği 6 sağlıklı gönüllüyü içeren bir klinik çalışmada, bireyler arası biyoyararlanım varyasyonu %27-38 iken, birey içi biyoyararlanım varyasyonu %11-16 bulunmuştur. Ayrıca hidroksiklorokin enantiomerlerinin kan ve plazma konsantrasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, (R)-hidroksiklorokin (S)-hidroksiklorokin ile kıyasla kan (oran=2,2. Aralık=1,6-2,9) ve plazmada (oran=1,6. Aralık=1,2-1,9) daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu gözlemlenmiştir (Schrezenmeier ve Dörner 2020).

2.7.2.2.Dağılımı

Hidroksiklorokin yarılanma ömrü, kandaki 47.257 L'lik büyük dağılım hacmi nedeniyle oldukça uzundur (40-60 gün). İlaç, inraselüler ve hücreler arası bölmelere dağılabilir, bu da uzun ortalama kalış süresine (~ 1.300 saat) neden olur. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %30 ile %50 arasındadır ve hidroksiklorokin hem albümin hem de alfa glikoproteine bağlandığı rapor edilmiştir (35, 36). Hidroksiklorokin plasentaya ve süte geçtiği rapor edilmiştir (Nicol ve ark. 2020). Hidroksiklorokin, melanine güçlü bir şekilde bağlanır ve cilt ve gözler gibi melanin

içeren dokularda birikebilir, bu da belirli dokuya özgü yan etkileri (hidroksiklorokin retinopatisi gibi) açıklayabilir (Schrezenmeier ve Dörner 2020).

2.7.2.3. Metabolizması

Hidroksiklorokin ana metaboliti, Sitokrom P450 enzimleri CYP2D6, 2C8, 3A4 ve 3A5 tarafından metabolizması sonucunda oluşan desetilhidroksiklorokin'dir (Nicol ve ark. 2020).

2.7.2.4. Atılım

Hidroksiklorokin yarılanma ömrü 40-60 gündür. İdrarda değişmeden atılan hidroksiklorokin'in ortalama miktarı %23-27 arasında değişmektedir (McLachlan et al). (S)-Hidroksiklorokin ortalama ($\pm$ SS) renal klirensi 41 ± 11 ml/dk'dır ve yaklaşık (R)-hidroksiklorokininkinin iki katıdır. Ayrıca (S)-hidroksiklorokin yarılanma ömrü önemli ölçüde daha kısa bulunmuştur. Bunun nedeni, kısmen (S)-hidroksiklorokin daha hızlı atılım ve hepatik metabolizmasıdır (Nicol ve ark. 2020).

2.7.3. Yan Etkileri

HCQ'nun hipoglisemik ilaçlar alan diyabetli hastalarda şiddetli hipoglisemiye ve nadiren kemik iliği baskılanması veya iskelet kası güçsüzlüğüne neden olduğu bildirilmiştir. HCQ tedavisinin başlamasından hemen sonra önceden karaciğer hastalığı olmayan hastalarda fulminan karaciğer yetmezliği raporları olmuştur. Konvansiyonel HCQ dozları alan hastaların %1'inin serum değerlendirmesinde karaciğer enzimlerinde yükselme olduğu ve birlikte ele alındığında, bildirilen bu vakaların kendine özgü ilaç reaksiyonunu (İdiosinkratik) temsil ettiği kabul edilmektedir (Yusuf ve ark. 2017). HCQ tedavisinin yan etkileri nadirdir, ancak yine de mevcuttur ve özellikle uzun süreli uygulama sırasında çok ciddi olabilmektedir (Haładyj ve ark. 2018). Genel olarak, HCQ veya klorokin alan RA hastalarında en yaygın yan etkiler gastrointestinal rahatsızlıklar, ciltte renk değişiklikleri, kutanöz döküntüler ve yüksek kas enzimleridir. Nadir olmasına rağmen, retinopati, nöromüsküler ve kardiyak toksisiteler, potansiyel olarak HCQ tarafından tetiklenen en ciddi ve yaşamı tehdit eden yan etkilerdir (Plantone ve Koudriavtseva 2018; Nirk ve ark. 2020).

2.7.4.Kontraendikasyonları

Hidroksiklorokin'in kontraendikasyonları: 4-aminokinolon bileşiklerine karşı bilinen aşırı duyarlılık, önceden var olan makülopati ve hamileliktir (Electronic Medicines Compendium 2014).

2.7.5.Dozu ve Veriliş Yolu

Hidroksiklorokin 200 veya 400mg'lık dozlarda film kaplı tablet olarak mevcuttur. Günde 6,5 mg/kg İVA (mg/kg İdeal vücut ağırlığı/gün) olan maksimum HCQ dozu, geleneksel olarak çoğu yetişkin için güvenli kabul edilmiştir (The Royal College of Ophthalmologists 2009; Marmor ve ark. 2011). Ancak, son kanıtlar ortalama vücut ağırlığına (OVA) dozlamamanın toksisiteyi daha çok öngördüğünü ve geniş bir vücut habitusu aralığında daha doğru olduğunu göstermektedir (Melles ve Marmor 2014; Marmor ve ark. 2016; Yusuf ve ark. 2017).

2.7.6.İlaç-ilaç Etkileşimleri

HCQ ile Lexicomp veri tabanında toplam 45 ilaç-ilaç etkileşimi bildirilmiştir. Bunlardan simetidin, remdisivir ve meflokin ile olan etkileşimler major olarak sınıflandırılmış ve birlikte kullanılmasının kontrendike olduğu bildirilmiştir. Artemether/lumefantrine ve dapson ile birlikte kullanımı için tedavi modifikasyonu önerilmiş iken diğer etkileşimlerin şiddeti orta düzey olarak sınıflanmış ve tedavi izlemi önerilmiştir.

Hidroksiklorokin, CYP enzimleri tarafından farmakolojik olarak aktif metabolite dealkile edilir. Hidroksiklorokin, metoprololü metabolize eden CYP2D6 enzimi için yarışarak metoprololün düzeylerini etkiler. Sonuç olarak, metoprololün plazma konsantrasyonu ve biyoyararlanımı hidroksiklorokin tedavisi ile artar (Somer ve ark. 2000). Hidroksiklorokin, lokal pH değişiklikleri yoluyla metotreksatın gastrointestinal absorpsiyonunu azaltabilir ve dolayısıyla metotreksatın biyoyararlanımını düşürebilir (Furst 1996; Bannwarth 1996). Hidroksiklorokin ayrıca siklosporin düzeylerini de artırabilir; bu nedenle, kombine tedavi sırasında siklosporin seviyeleri yakından izlenmelidir (Van den Borne 1998).

Hidroksiklorokin, tamoksifen (meme kanseri tedavisinde kullanılan seçici bir östrojen reseptör modülatörü) ile birlikte kullanımı, retinel epitel hücrelerindeki lizozomal enzimler üzerindeki sinerjistik inhibisyonu nedeniyle artan göz toksisitesi ile

ilişkilidir. Bu nedenle tamoksifen, hidroksiklorokin veya klorokin ile kombine kullanımı 6 ay ile sınırlandırılmalıdır (Toimela ve ark. 1998).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları

Çalışmamızda 12 haftalık, 250-350g ağırlığında, erişkin Wistar albino erkek sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından sağlanmıştır. Sıçan kafeslerinde standart pellet yem ve çeşme suyu bulundurulmuştur. Her sıçan grubunu barındıracak 4 adet şeffaf plastik kafes kullanılmış, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünü sağlayan bir odada barındırılmıştır. Kafesler oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Çalışma süresince hayvanlara yem veya su kısıtlaması gerçekleştirilmemiştir. Hayvan deneylerine başlanmadan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 27.07.2020 tarihli ve 76 nolu Etik Kurul Kararı alınmıştır.

3.2. Uygulanan İlaçlar ve Hazırlanışı

Talinolol (TAL): Arzneimittelwerk Dresden GmbH (Radebeul-Almanya) (Seri No. 9604014/01). Oral uygulama için talinolol toz, %0.5'lik metil selülozde süspanse edilmiş ve 10mg/ml olarak hazırlanmıştır.

Hidroksiklorokin (HCQ): Koçak Farma İlaç ve Kimya Sanayi A.Ş. (Lot No. 2004S111). HCQ serum fizyolojikde çözündürülmüş ve 10mg/ml olarak hazırlanmıştır.

3.3. Kullanılan Kimyasallar ve Gereçler

Tablo 3-1: Kullanılan kimyasallar ve gereçler

Metanol: HPLC Grade (No. 6007)	Merck, Almanya
Asetonitril: HPLC Grade (No. 1030)	Merck, Almanya
Potasyum dihidrojen fosfat: Saf	Merck, Almanya
o-Fosforik asit: Saf	Merck, Almanya
Eter: Saf (rezistans değeri 18,2 MΩ.cm)	Merck, Almanya
Ketamin	Pfizer, Almanya
İzofluran	Adeka, Türkiye
(İsoflurane USP, inhalasyon için solüsyon 100ml)	
Orto-fosforik asit	Merck, Almanya
Distile Su (HPLC Grade)	Human Power I Scholar UV, JJS, ABD
Serum Fizyolojik	Eczacıbaşı Baxter, Türkiye

(İzotonik sodyum klörür solüsyonu 0,9%)	
Ripa hücre parçalama tamponu	Santa Cruz, ABD
Laemmlı örnek hazırlama tampon	Biorad, ABD
Betamerkaptoetanol	Merck, Almanya
Proteaz inhibitör karışımı	CST, ABD
%10'luk TGX Stain-Free Fast Cast	Biorad, ABD
PVDF 0,45 µm membran	Millipore, ABD
Yağsız süt tozu	Applichem, Almanya
Sodyum dodesil sülfat	Merck, Almanya
Tris HCl	Sigma, ABD
Sodyum Klorür	Merck, Almanya
Glisin	Glisin Affymetrix, ABD
Tween 20	Affymetrix, ABD
Hidroklorik asit	Merck, Almanya
Boyalı protein marker	GangNam-Stain, Kore
Coomassie Brilliant Blue G-250	Sigma, ABD
APS	Alfa Aesar, ABD
TEMED	Alfa Aesar, ABD
İzopropanol	Merck, Almanya
Anti-P-gp antikoru	Millipore, ABD
Anti-Lamin B1 antikoru	CTS, ABD
Anti-mouse IgG antikoru	CTS, ABD
Anti-rabbit IgG antikoru	CTS, ABD
Su: HPLC grade	Milli Q-Millipore, ABD

Çalışmamızda bu malzemelere ek olarak farklı büyüklüklerde Eppendorf tüpleri, plastik tüpler, otomatik pipet ve piper uçları, aşı bandı kullanılmıştır.

3.4. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3-2: Kullanılan Cihazlar

LC 20 Ayırma Modülü	Shimadzu, Japonya
LC-20AT pompa	Shimadzu, Japonya
SIL AT-HT otoörnekleyici	Shimadzu, Japonya
SPD-20A UV/VIS Dedektör	Shimadzu, Japonya
Hassas Terazı	Sartorius Almanya
pH-metre	Orion, ABD

Bead Ruptor	Omni International, ABD
Ultrasonik Banyo	Elma, Almanya
Vakum Pompası (-0,40 mbar)	Varian, ABD
Vorteks Cihazı	IKA, Almanya
Santrifüj Aleti	VWR, ABD
Etüv	Susarka, Polonya
250mm x 4 mm (5 µm) C18 ters faz kolon	Phenomenex, ABD
2,1 x 3,9 mm C18 ters faz ön kolon	Phenomenex, ABD
C8 ön kolon kartuşu; 4x 3 mm (id)	Phenomenex, ABD
HPLC vialleri: 200 µL'lik	Waters, ABD
Oasis® ekstraksiyon kartuşu: HLB tipinde (1 cc/30 mg)	Waters, ABD
Ekstraksiyon tablası	Varian, ABD
Otomatik pipetler	Thermo, ABD
Paslanmaz çelik gavaj	Fine Science Tools, ABD
Qubit 2.0 Fluorometre	Thermo, ABD
Dikey Elektrophorez	Biorad, ABD
Jel Transfer Aparatı	Biorad, ABD
Elektrophorez Güç Kaynağı	Biorad, ABD
Chemidoc Jel Görüntüleme Cihazı	Biorad, ABD
Ultrasonik Homojenizatör	Sonopuls HD 2200, Almanya
Cerrahi aletler	Bahadır A.Ş., Samsun-Türkiye
Santrifüj	Hermle Z326K, Almanya
Santrifüj	Nüve NF800, Türkiye
Derin Dondurucu (-20°C):	Arçelik, Türkiye
Buzdolabı (+4 °C)	Arçelik, Türkiye

3.5. Bilgisayar Programları

HPLC cihazının denetimi ve analiz izlemi LCsolutions programı ile gerçekleştirilmiştir. Farmakokinetik parametreler Microsoft Excel 2013, istatistik hesaplamalar ise Graphpad Prism 5.00 (GraphPad Software, ABD) programı ile gerçekleştirilmiştir.

3.6. İn vivo deneyler

Çalışmada tek uygulama ve tekrarlı uygulamada HCQ'in talinolol plazma düzeylerine etkilerini araştırmak üzere iki farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Tek-doz uygulama çalışmasında 2 grup, tekrarlı-doz uygulama çalışmasında 2 grubumuz olup her grup 5 sıçandan oluşmaktadır. Sıçanlara gavaj yardımı ile oral yoldan uygulanan 20mg/kg'lık talinolol ve 25mg/kg'lık HCQ hafif izorfluran anestezisi altında uygulanmıştır. Dozlar benzer çalışmalar göz önünde bulundurularak belirlenmiştir (Ono ve ark. 2003; Niknahad ve ark. 2016; Öztürk ve ark. 2017). Literatur bilgisine dayanarak yüksek tek doz barnidipin uygulanması sonrasında talinolol plazma maruziyetinin %33 oranında arttığı bildirilmiştir (Öztürk ve ark. 2017). Çalışmamızda artış oranı %60 olarak beklenirse, %80 güce göre R programında toplam 20 deney hayvanının alınması uygun bulunmuştur.

Tek doz HCQ çalışması talinolol kontrol grubu ve talinolol+tek doz HCQ grubu olmak üzere, iki grup içermektedir. Talinolol kontrol grubunda sıçanlara 20 mg/kg'lık talinolol dozu gavaj ile p.o. olarak uygulanmıştır. Tek doz Talinolol+HCQ grubunda ise, sıçanlara 25 mg/kg'lık HCQ ve 20 mg/kg'lık talinolol dozu birlikte olarak oral yoldan gavaj yardımı ile uygulanmıştır.

Tekrarlı doz HCQ çalışması, talinolol grubu ve talinolol+tekrarlı doz HCQ grubu olmak üzere, iki grup içermiştir. Talinolol kontrol grubunda sıçanlara 7 gün süre ile, her gün tek dozluk miktarı talinolol sıvağı oral yoldan verilmiştir. 8. günde 20 mg/kg'lık talinolol dozu uygulanmıştır. Talinolol+tekrarlı doz HCQ grubunda ise, sıçanlara 7 gün süre ile her gün 25 mg/kg'lık HCQ gavaj ile uygulanmıştır. 8. günde aynı dozlarda HCQ ile 20 mg/kg dozda talinolol gavaj ile uygulanmıştır. Deney grupları Tablo 3-3'te verilmiştir.

Tablo 3-3: Deney Grupları

Grup adı	Deney hayvanı (n)
Tek Doz TAL Kontrol	5
Tek Doz TAL+HCQ	5
Tekrarlı Doz TAL Kontrol	5
Tekrarlı Doz TAL+HCQ	5
Toplam Sayı	20

İlaçların uygulanmasını takiben hafif izofluran anestizisi altında 30, 60, 120, 240. dakikalarda sıçanların sağ jugular veninden kısa 21 Gx5/8 inch bir iğne ile 0,5'er ml kan alınmıştır. Sıçanlar ketamin anestezisi altında 300. dakikada insülin enjektörü ile kalpten kan alınarak kurban edilmiş ve toraksı açılarak karaciğer izole edilmiştir. Heparinli eppendorf tüplere alınan kan örnekleri hemen 3500 rpm hızında santrifüjlenmiş ve plazmaları ayrılmıştır. Ayrılan Plazmalar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Karaciğer ve ileum izole edildikten sonra Western blot analizi için -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.7. Ters Faz Kromatografisi ile Talinololün Plazmadan Tayini

3.7.1. Analitik Tayin Metodu

Elde edilen plazma örneklerindeki talinolol konsantrasyonları, Öztürk ve ark. ile Pala Kara ve arkadaşlarının kullandığı HPLC metodu esas alınarak tayin edilmiştir (Öztürk ve ark. 2017; Pala Kara ve ark. 2020). Talinololün HPLC ile kromatografik tayin koşulları Tablo 3-4'te gösterilmiştir.

Tablo 3-4: Talinolol'ün plazmadan tayin koşulları

Kolon	Phenomex 250mm x 4 mm (5 µm) C18 ters faz kolon
Ön kolon	Phenomenex® 2,1 x 3,9 mm C18 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	35°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

13,6 g mono potasyum fosfat mikro terazide tartılmış ve 2 L'lik balonjoddede ultrapure distile su ile hacmine tamamlanarak 0,05M fosfat tamponu hazırlanmıştır. Mobil fazı elde etmek için 2'lik mezürde 1460ml KH_2PO_4 ile 540ml $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ (asetonitril) karıştırılmıştır. Mobil fazın pH'sını 4'e ayarlamak için 1M ortho H_3PO_4 kullanılmıştır. Mobil fazın degaze işlemi 20 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir.

3.7.3. Biyoanalitik Metodun Validasyonu

3.7.3.1. Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri

1mg/ml'lik stok çözeltinin hazırlanması için 20 mg talinolol miktro terazide tartılmış ve 20 ml'lik cam şişede konulmuş ve metanol ile hacmine tamamlanmıştır. 10µg/ml'lik stok çözeltinin hazırlanması için ana stoktan 0,5 ml alınmış ve 50 ml'lik kapaklı şişede metanol ile hacmine tamamlanmıştır. Benzer seyreltmeler yapılarak düşük (0,1µg/ml), orta (0,5µg/ml) ve yüksek (2µg/ml) konsantrasyonlu standart çözeltiler hazırlanmıştır.

3.7.3.2. Doğruluk ve Kesinlik (Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri)

Elde edilen çözeltilerden 5'şer örnek hazırlanmış ve her biri 2 kez okutulmuştur. Bulunan pik alanlarının parametreleri hesaplanmıştır.

3.7.3.3. Doğrusallık (Plazmadan Ekstraksiyon)

Kalibrasyon eğrisini çizmek için boş insan plazması ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 3.7.3.1'de anlatıldığı şekilde talinolol standart çözeltileri hazırlanmış ve insan plazmasına 6 farklı konsantrasyon (0,05 µg/ml, 0,1 µg/ml , 0,2 µg/ml , 0,5 µg/ml 1 µg/ml ve 2 µg/ml) oluşturacak şekilde spike edilmiştir. Her konsantrasyon yeni plazma örneği kullanılarak hazırlanmıştır.

3.7.3.4. Talinololün Plazmadan Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon süreci Oasis® 1cc/30mg'lik ekstraksiyon kartuşları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle kartuşların şartlanması için 1000µl metanol geçirilmiş ve ardından kartuşun kurummasını beklemeden kartuşlardan 1000µl distile su geçirilerek yıkanmıştır. Kartuşların tıkanmasını önlemek amacıyla sıçanlardan elde edilen ve kartuşlarda geçirilecek 150-250µl'lik plazma örneklerine eşit miktarda distile su ilave edilmiş ve elde edilen karışımlar iyice vortekslenip şartlanmış kartuşlardan geçirilmiştir. Kartuşların yıkanması 50µl metanol içeren 1000µl distile su ile yapılmıştır. Kartuşlar

iyice kurutulduktan sonra plastik tüplere Eppendorf tüpleri yerleştirilmiş ve talinolol kartuşlardan 1 ml metanol geçirilerek elüe edilmiştir. Ekstraksiyon süreci vakum pompası ve Vac Elut kartuş manifoldu ile gerçekleştirilmiştir. Aparatın basıncı 1 dbar'a ayarlanmış ve dakikada 1000 μ l'den hızlı sıvı geçmeyecek şekilde izlenmiştir. Elde edilen örnekler iki kez okutulmuştur. Elde edilen pik alanlarından standart eğri çizilmiş ve eğrinin $y=ax+b$ denklemi kullanılarak hayvan örneklerindeki talinolol konsantrasyonları bulunmuştur.

3.7.3.5. Doğruluk ve Kesinlik (Plazmadan Ekstraksiyon)

Metanol standartlarında olduğu gibi, 3 farklı konsantrasyonun her birinden 5'şer adet plazma örneği hazırlanmış ve ekstre edilmiştir. Elüe edilen talinolol çözeltilerinin her biri iki kez okutulmuştur.

3.7.4. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması

Talinololün plazma konsantrasyonları, standart kalibrasyon eğrisini kullanarak hesaplanmıştır. Pik plazma konsantrasyonu (C_{max}) ve belirmesine kadar geçen süre (t_{max}) değerleri doğrudan talinolol plazma konsantrasyonu-zaman eğrisinden elde edilmiştir. 0 ila 5. saat (AUC_{0-5h}) arasındaki plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altındaki alan yamuk yöntemiyle hesaplanmıştır. $AUC_{0-\infty}$, standart teknikler kullanılarak son örnekleme zamanından sonra ekstrapolasyonlu kısmın eklenmesiyle elde edilmiştir. Talinololün diğer farmakokinetik parametreleri, kompartman olmayan yöntemle hesaplanmıştır. Eliminasyon hızı sabiti (k_{el}), talinolol plazma konsantrasyonu-zaman grafiğinin üç noktalarından hesaplanmıştır ve bu çizginin eğimi k_{el} 'e eşittir. Yarılanma ömrü $t_{1/2}$, verilerin terminal noktalarının log-lineer yaklaşımıyla hesaplanmıştır. Terminal eliminasyon yarılanma ömrü ve eliminasyon hız sabiti (k_{el}), $t_{1/2} = \ln 2 / k_{el}$ formülü ile birbirine dönüştürülmüştür. Oral dozajdan sonra görünen total sistemik klirens (CL/F) doz/ AUC_{toplam} 'dan, görünen dağılım hacmi (V_d) ise, CL/k_{el} 'den hesaplanmıştır.

3.8. P-gp Protein Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

3.8.1. Karaciğer Dokusundan protein izolasyonu

Derin dondurucuda muhafaza edilen karaciğer dokuları oda sıcaklığında bekletilmeden proteaz inhibitör ile radyo immünopresipitasyon tamponu çözelti karışımı içerisine konulmuş ve seramik boncuklar ile Bead Ruptor (Omni international)

cihazında parçalanmıştır. Parçalama süreci sonunda elde edilen karışım 30 dakika süreyle 14 bin dönüş/dakika hızında soğutmalı santrifüjde (+4 °C) sentrifüjlenmiş ve üst fazı yeni bir eppendorf tüpüne alınmış ve tekrar -80 °C'lik derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Qubie 2.0 Fluorometer cihaz kullanılarak toplam protein derişimi ölçülmüştür.

3.8.2. Western Blotting İşlemi

Jel elektroforezinde yararlanılan tamponlar ve kullanılan hacimleri Tablo 3-5'te listelenmiştir.

Tablo 3-5: Jel elektroforezinde yararlanılan tamponlar ve kullanılan hacimler

Tampon	Hazırlanışı
4X Ayırıştırıcı Tampon 18,2 g Tris/HCL + 0,4 g SDS	(1.5 M Tris/HCL pH: 8,8; %0,4 SDS) distile su içerisinde çözülerek 100 ml' ye tamamlanır.
4X Yığıcı Tampon ,1 g Tris/HCL + 0,4 g SDS	(0,5 M Tris/HCL pH: 6,8; %0,4 SDS) distile su içerisinde çözülerek 100 ml' ye tamamlanır.
10X Yürütme Tamponu 30 g Tris baz + 144 g Glisin + 10 g SDS + 4,5 ml konsantre HCl	toplam hacim 1L olacak şekilde çözülür. Tampon çalışma esnasında distile suyla 1x konsantrasyonuna getirildi.

Derişimi belirlenen protein örneklerine buz içindeyken eşit miktarda %95 2x Laemmli Sample Tamponu ile %5 betamerkapetanol karışımı eklenmiş ve 70 °de 10 dakika süreyle ısıtıcı blokta inkübe edildikten sonra tekrar buzda bekletilmiştir. Proteinlerin ayrışımı Mini-Protean TGX (4-20%) Precast jel kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Boyalı marker jelin ilk kuyusuna yüklenmiş ve sonrasında kontrol ve HCQ grubu protein örnekleri kuyuların devamında yüklenmiştir. Proteinleri yürütme süreci başlangıçta 80V'de sonrasında 120V'de tamamlanmış ve toplamda 210 dakika sürmüştür. Proteinlerin ayrıştırılmasından sonra transfer sürecine başlanmıştır. Transfer sürecinde kullanılan tamponlar ve hazırlama basamakları Tablo 3-6'da listelenmiştir.

Tablo 3-6: Transfer aşamasında yararlanılan tamponlar ve kullanılan hacimler

Tampon	Hazırlanışı
Transfer Tamponu	40ml 5X Trans Blot Turbo Transfer tamponu + 40ml Metanol + 80ml distile su
20 X TBS	48,8gr Tris Baz + 160gr NaCl + 800ml Distile su, pH 7,6'ya ayarlandıktan sonra tampon 1L'ye tamamlandı. +4°C'de muhafaza edildi.
1X TBST	50ml 20X TBS + 950ml distile su + %0,2 Tween-20

Proteinlerin jel elektroforez işlemi ile ayrıştırılmasının bitmesinden birkaç dakika önce 3 farklı küvete distile su, metanol ve 1X transfer buffer eklenmiştir. Jelin boyutlarına uygun olacak şekilde kesilmiş 0,45µm gözenek büyüklüğüne sahip Poliviniliden fluorür membranı, metanol içeren küvette 2 dakika süreyle şartlandırılmış, sonrasında distile su küvetinde aynı süre ile yıkanmış, akabinde transfer tamponu içinde 2 dakika bekletilerek aktive edilmiştir. Jel elektroforez işlemi bittikten sonra transfer edilmek üzere sandviç modeli oluşturulmuş ve elde edilen jel aktive edilmiş membran ile transfer tamponu ile ıslatılmış filtre kurutucu kağıtlar arasında yerleştirilmiştir. Oluşturulan sandviç modeli Biorad soğuk transfer cihazına yerleştirilmiştir. Proteinler, soğuk transfer cihazı 10 saat süreyle 100 miliamper elektrik akımında çalıştırılarak transfer edilmiştir. Elde edilen membran nonspesifik reaksiyon odaklarının engellenmesi için içinde tween 20 bulunan 1X tris tamponlu salin çözeltisi ile %5 yağsız süt tozu solüsyon karışımı içinde buzdolabında bir gece bırakılmıştır.

Primer ve sekonder antikorlar içinde tween 20 bulunan 1X tris tamponlu salin çözeltisi ile %5 yağsız süt tozu solüsyon karışımı içinde P-gp binde bir, Lamin B1 dörtbinde bir, Anti-mouse IgG ikibinde bir ve Antirabbit IgG ikibinde bir olarak hazır edilmiştir. Gece buzdolabında primer antikor inkübasyonu uygulanmış membranın yıkanması, içinde tween 20 bulunan 1X tris tamponlu salin çözeltisi ile 5 kez 5 dakika 80 rpm çalkalayıcı ile gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında uygulanan sekonder antikor 1 saat süre ile inkübe edilmiş, sonrasında membrana bir önceki basamaktaki aynı yıkama işlemi uygulanmıştır. LumiGlo ECL kiti substratları bire bir oranında asetat kağıdı üzerine yerleştirilen membrana uygulanmış ve ışıktan korunmalı bir yerde 1 dakika süreyle inkübe edilmiş, sonrasında kemilüminesan inceleme asetat kağıdı hava

ve sıvı bırakmayacak şekilde sıyrılarak Biorad Görüntüleme Sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Western blotting sürecinde elde edilen protein bantları Bio-Rad Image Lab Software 6.1 programı ile derecelendirilmiştir.

3.9. İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki farklılık ortalama $\pm$ standart hata (SH) değerleri kullanılarak parametrik olmayan Mann-Whitney testi ile değerlendirilmiştir. 0,05'ten küçük çıkan p değerleri ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

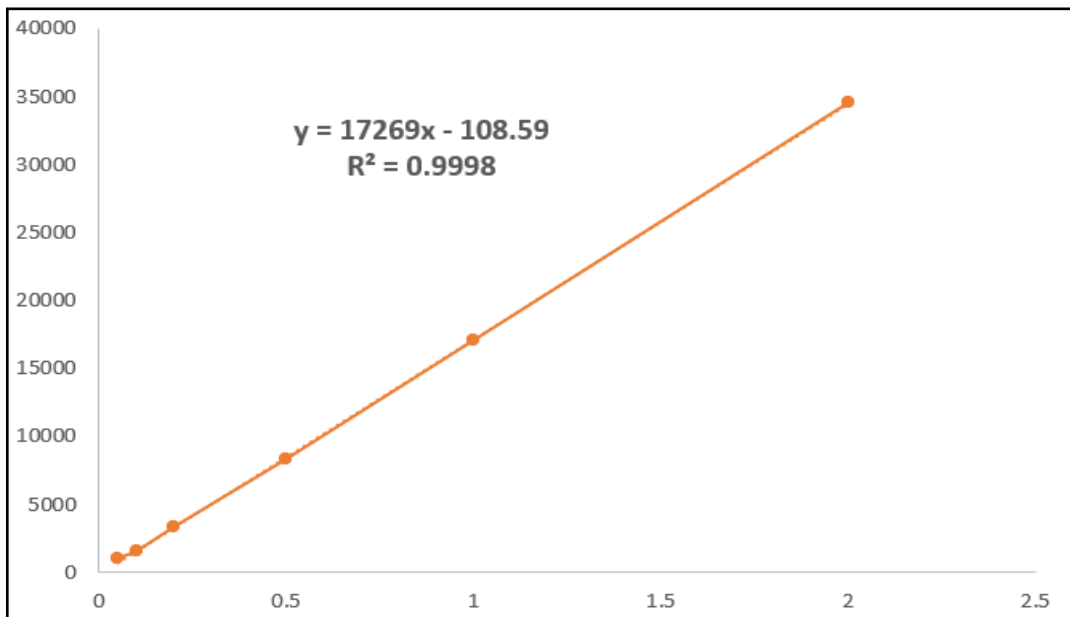
4.1. Biyoanalitik Yöntem Validasyonuna Ait Bulgular

4.1.1. Talinololün Metanoldeki Standart Çözeltileri

3.7.3.2’de açıklandığı şekilde çalışılarak, 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml ve 2µg/ml konsantrasyonlarında talinololün metanoldeki standart çözeltilerinin pik alanları kesinlik göstermektedir (n=5). Değişim katsayısı CV (%) değerleri 0.04 – 1.6% arasındadır.

4.1.2. Talinololün Plazmadan Ekstre Edilmiş Standart Çözeltileri

3.7.3.3’de açıklandığı şekiilde çalışılarak 2 ve 1 µg/ml, 500, 200, 100 ve 50 ng/ml konsantrasyonda elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4-1’de gösterilmiştir. 3.7.3.4’de açıklandığı şekilde çalışılarak, 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml ve 2µg/ml konsantrasyonlarında talinololün plazma örneklerinden ekstraksiyonu sonucu elde edilen pik alanların yüzdelik geri kazanım ve değişim katsayısı bulguları Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

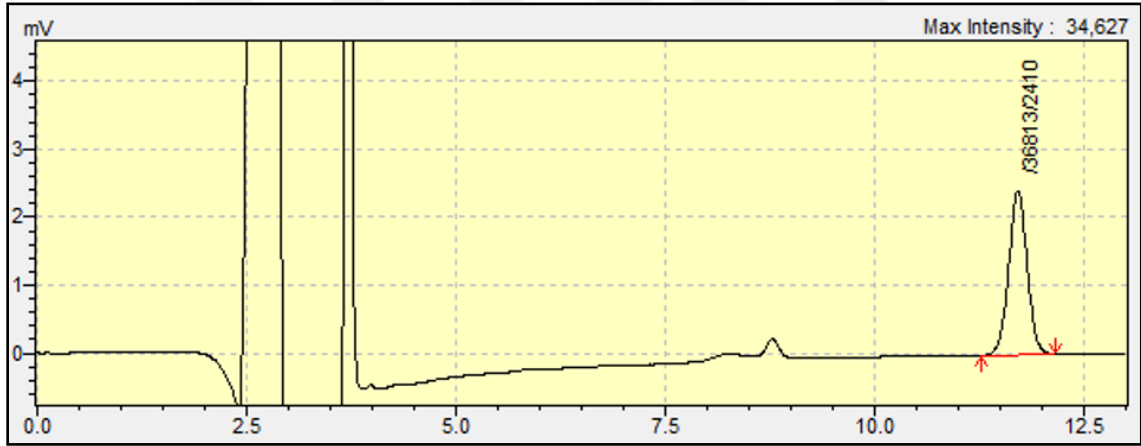


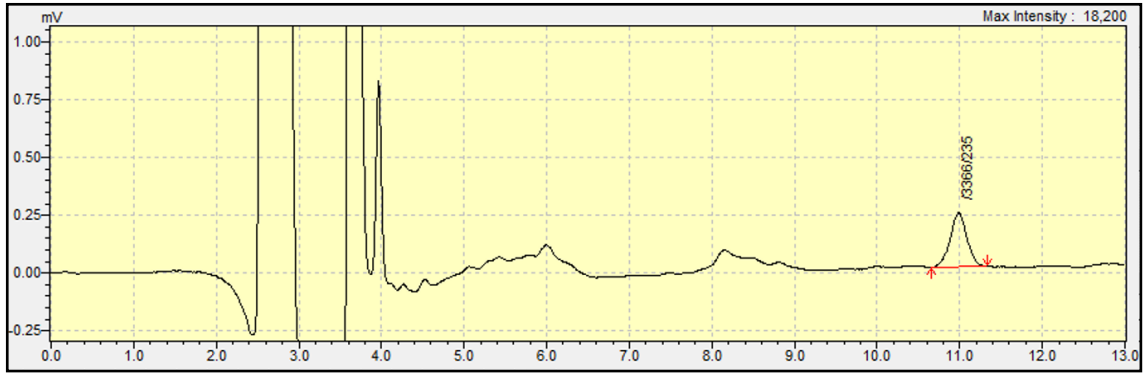
Şekil 4-1: Talinolol standartlarından çizilen kalibrasyon eğrisi (plazmadan ekstraksiyon)

Tablo 4-1: Talinolol plazma geri kazanım oranı ve değişim katsayısı değerleri (n=5).

Konsantrasyon (μ /ml)	Geri Kazanım (%)	CV (%)
0,1	106,57	10,73
0,5	111,51	9,00
2	105,83	4,20

Talinololün metanol ve plazma standardı ters faz kromatografi ile tayinine ait kromatogramlar sırasıyla Şekil 4-2 ve Şekil 4-3’de gösterilmiştir.

**Şekil 4-2:** Metanolda 0,5 μ g/ml’lik talinolol standardına ait kromatogram.



Şekil 4-3: Talinololün 0,2 µg/ml’lik plazma standardına ait kromatogram.

4.2. Talinololün Sıçanlardaki Plazma Bulguları

Sıçanların çoğunda talinololün maksimum plazma konsantrasyonuna 120. dakikada ulaşılmıştır. Tek Doz TAL Kontrol grubunda maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) $0,164 \pm 0,09$ µg/ml bulunmuştur. Talinolol konsantrasyonu 5. saatte $0,06 \pm 0,031$ µg/ml’ye düşmüştür. Tek doz Talinolol 25 mg/ml HCQ ile beraber uygulanan sıçanlarda (Tek Doz TAL+HCQ) talinololün maksimum plazma konsantrasyonu (C_{max}) $0,235 \pm 0,1$ µg/ml bulunmuştur. Talinolol konsantrasyonu 5. saatte $0,056 \pm 0,019$ µg/ml’ye düşmüştür. Tek Doz TAL+HCQ grubunda talinolol plazma konsantrasyonu Tek Doz TAL Kontrol grubuna göre %43,3 oranında artış göstermiştir.

Tek Doz TAL Kontrol grubunda 0-∞. saatler arasında hesaplanan plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altındaki alan ($AUC_{0-\infty}$) $0,541 \pm 0,182$ µg.h/ml’dir. Tek Doz TAL+HCQ grubunda ise $AUC_{0-\infty}$ değeri $0,741 \pm 0,194$ µg.h/ml olarak hesaplanmıştır. $AUC_{0-\infty}$ değerinin %37 oranında arttığı bulunmuştur.

Tekrarlı Doz Tal Kontrol grubunda maksimum plazma konsantrasyonu (C_{max}) $0,222 \pm 0,039$ µg/ml bulunmuştur. Talinolol konsantrasyonu 5. saatte $0,064 \pm 0,036$ µg/ml ’ye düşmüştür. Tekrarlı Doz TAL+HCQ grubunda ise, maksimum plazma konsantrasyonu (C_{max}) $0,190 \pm 0,064$ µg/ml olarak hesaplanmıştır. 5. saatte talinolol plazma konsantrasyonu $0,045 \pm 0,021$ µg/ml’ye azalış göstermiştir. Tekrarlı Doz TAL+HCQ grubunda talinolol plazma konsantrasyonu Tekrarlı Doz TAL Kontrol grubuna göre %14,3 oranında düşmüştür.

Tekrarlı Doz TAL Kontrol grubunda ise $AUC_{0-\infty}$ $0,620 \pm 0,112 \mu\text{g.h/ml}$ olarak hesaplanmışken, Tekrarlı Doz TAL Kontrol grubunda ise $0,527 \pm 0,121 \mu\text{g.h/ml}$ olarak değerlendirilmiştir. $AUC_{0-\infty}$ değerinin azalış oranı %15 olarak hesaplanmıştır.

Tek Doz verileri Mann Whitney testi ile değerlendirilmiş ve P-gp substratı hidroksiklorokin talinololün C_{max} değerini arttırsa da anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p=0,3095$). Tekrarlı Doz Verileri de değerlendirildiğinde de anlamlı bir etki saptanmamıştır ($p=0,8413$).

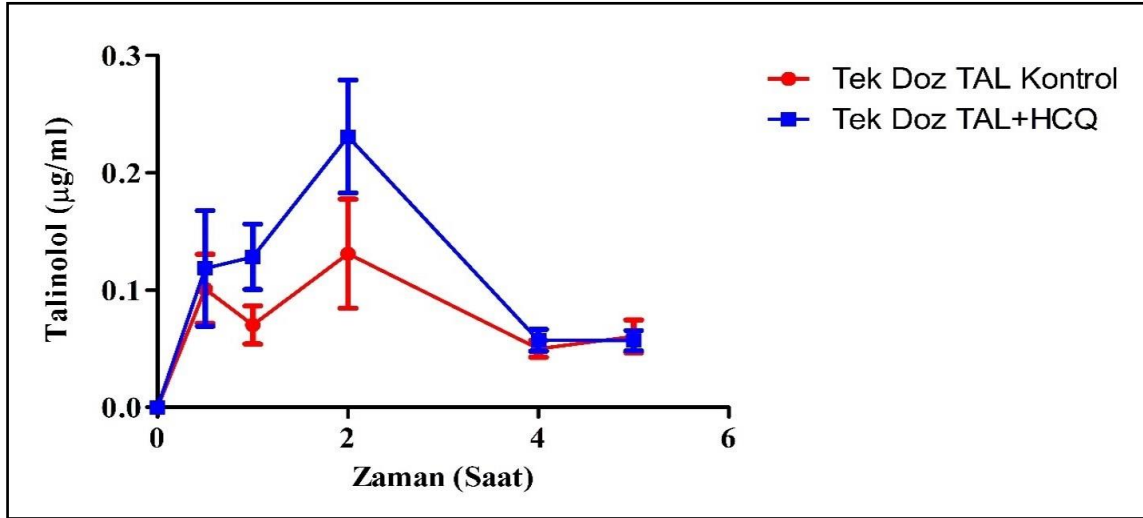
Aynı şekilde Tek Doz ve Tekrarlı Doz $AUC_{0-\infty}$ verileri Mann Whitney testi ile değerlendirildiğinde hidroksiklorokin talinololün $AUC_{0-\infty}$ değerine etkisi anlamlı bulunmamıştır, p değerleri sırasıyla 0,1905, 0,3095'dir. Talinolola ait hesaplanan farmakokinetik veriler Tablo 4-2'de verilmiştir.

Tablo 4-2: Talinolole ait hesaplanan farmakokinetik veriler.

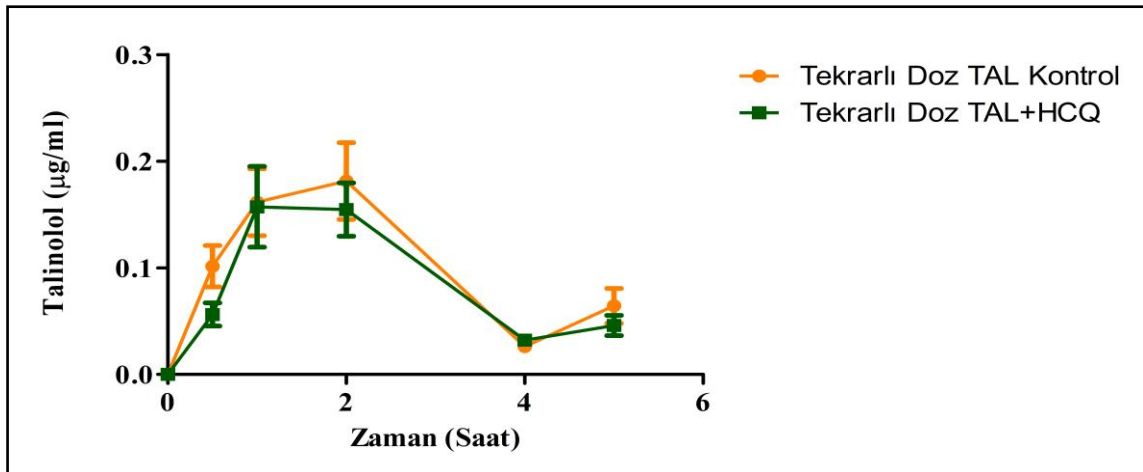
	Tek Doz TAL	Tek Doz	Tekrarlı Doz	Tekrarlı Doz
	Kontrol	TAL+HCQ	Tal Kontrol	Tal+HCQ
$AUC_{0-\infty h}$	$0,541 \pm 0,182$	$0,741 \pm 0,194$	$0,620 \pm 0,112$	$0,527 \pm 0,121$
($\mu\text{g.h/ml}$)*				
C_{maks}	$0,164 \pm 0,091$	$0,235 \pm 0,100$	$0,222 \pm 0,039$	$0,190 \pm 0,064$
($\mu\text{g/ml}$)*				
k_{el} (h^{-1})	0.390	0.529	0.780	0.716
$t_{1/2}$ (h)	1.777	1.310	0.900	0.970
V_d (ml)	36.953	18.978	13.084	17.395
Cl (L/h)	13.301	9.024	9.898	11.682

* Ortalama $\pm$ standart olarak gösterilmiştir. Geri kalan değerler ortalama şeklinde gösterilmiştir.

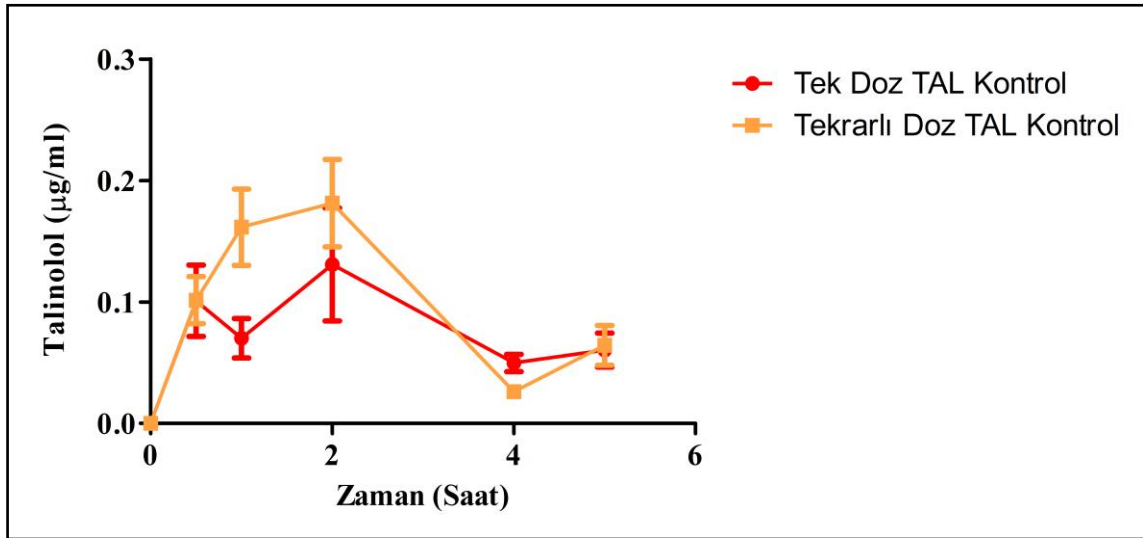
Tek Doz TAL Kontrol, Tek Doz Tal+HCQ, Tekrarlı Doz TAL Kontrol, Tekrarlı Doz TAL+HCQ gruplarına ait karşılaştırmalı plazma konsantrasyon zaman eğrileri Şekil 4-4, Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7’de gösterilmiştir. Karşılaştırmalı C_{maks} ve $AUC_{0-\infty}$ histogramları Şekil 4-8 ve Şekil 4-9’de gösterilmiştir.



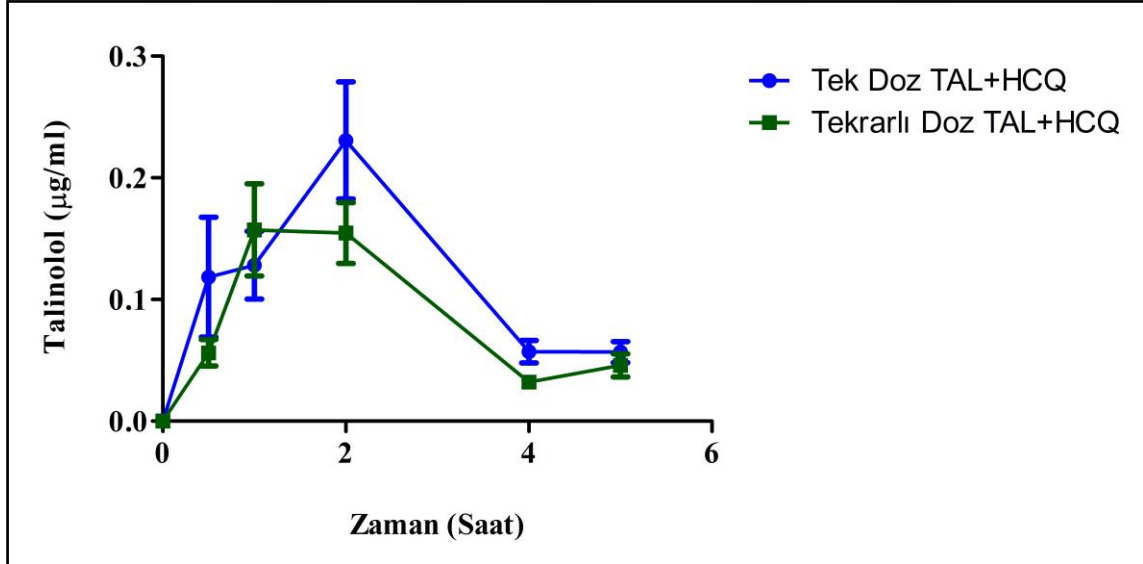
Şekil 4-4: Tek Doz TAL Kontrol ve Tek Doz TAL+HCQ gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).



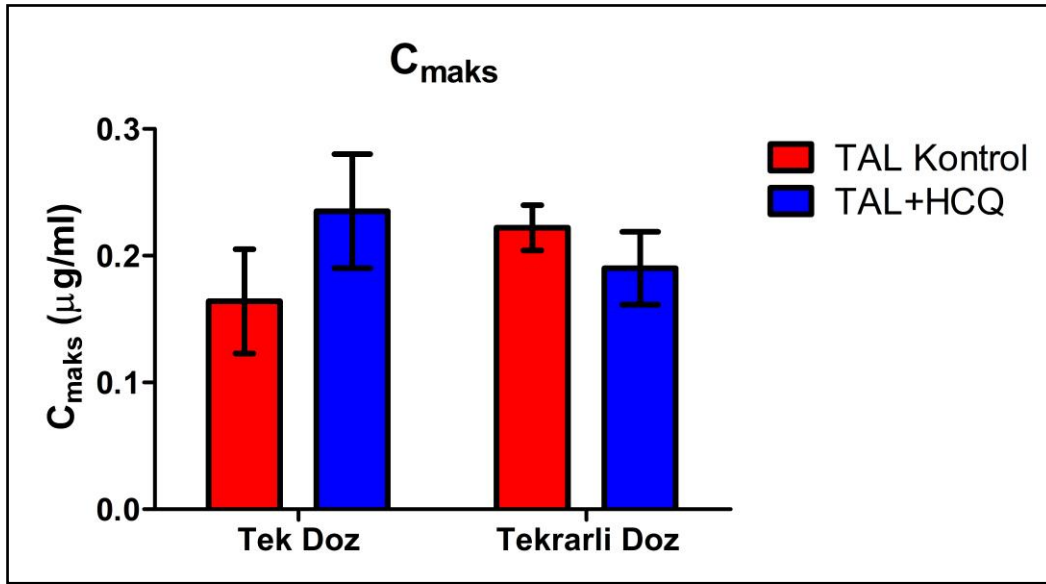
Şekil 4-5: Tekrarlı Doz TAL Kontrol ve Tekrarlı Doz TAL+HCQ gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).



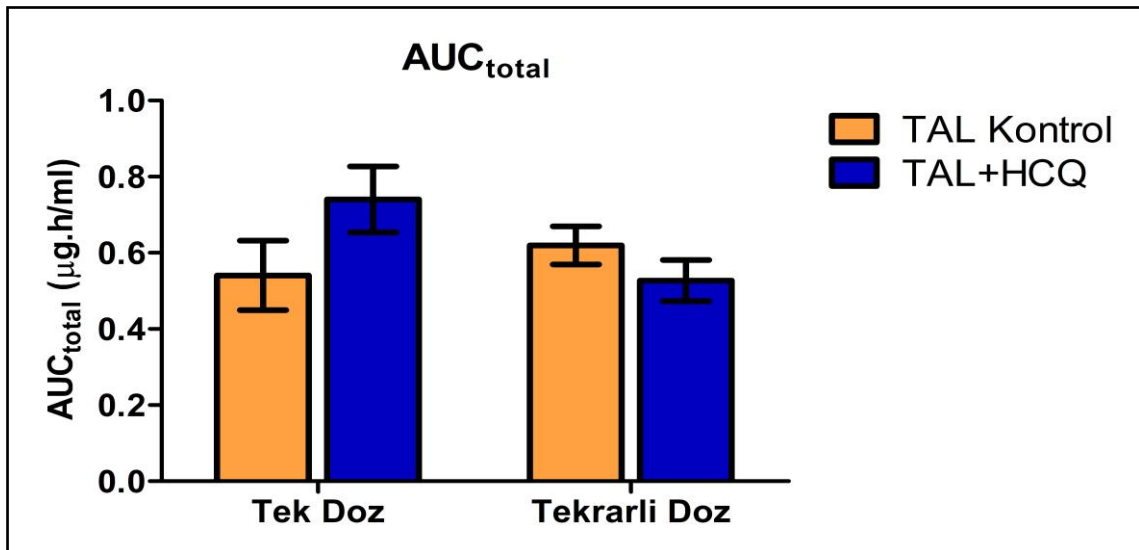
Şekil 4-6: Tekr Doz TAL Kontrol ve Tekrarlı Doz TAL Kontrol gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).



Şekil 4-7: Tek Doz TAL+HCQ ve Tekrarlı Doz TAL+HCQ gruplarının talinolol plazma derişim - zaman eğrileri (Ort±SH;µg/ml).



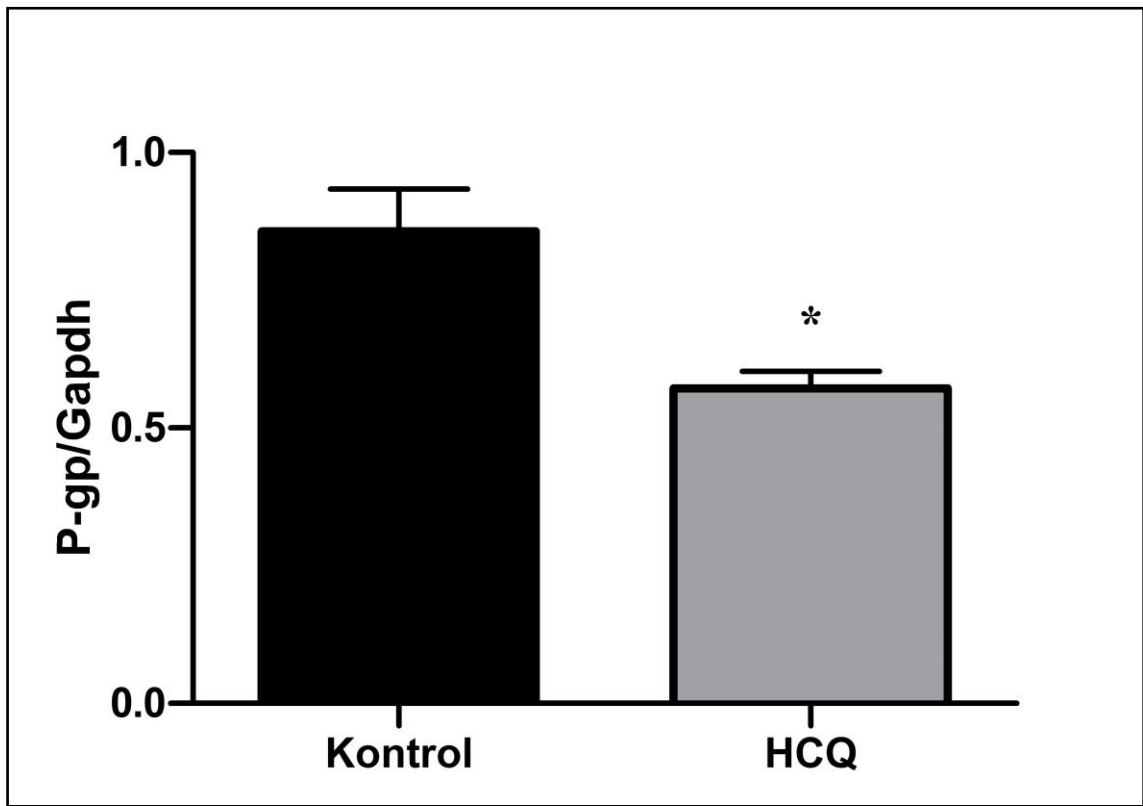
Şekil 4-8: Tüm çalışma gruplarında talinolole ait C_{maks} bulguları (Ort±SH;µg.h/ml).



Şekil 4-9: Tüm çalışma gruplarında talinolole ait AUC_{total} bulguları (Ort±SH;µg.h/ml).

4.3. Tekrarlı doz HCQ uygulamasının karaciğerde P-gp düzeylerine etkisi

8 gün boyunca oral 25 mg/kg hidroksiklorokin uygulaması sonrası 8. günde deney hayvanları sakrifiye edilmiştir. Karaciğer izolasyonu yapılmıştır. Karaciğerde P-gp düzeyleri kontrol ve hidroksiklorokin uygulanan sıçanlarda değerlendirilmiştir (Şekil 4-10). Karaciğerde protein ekspresyonu incelendiğinde; TAL Kontrol grubunda TAL+HCQ grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur. İki grubun Mann Whitney test ile karşılaştırılması sonucu anlamlı fark bulunmuştur ($P=0.0159$). Karaciğer P-gp düzeyleri şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4-10: Tekrarlı doz gruplarında karaciğerdeki P-gp düzeyleri. *($P<0,05$).

Tekrarlı HCQ uygulaması süresince deney hayvanları hergün aynı saatte tartılmış ve kiloları kaydedilmiştir. Bu bağlamda deney öncesi ve son günü arasında kilo değişimi açısından anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, hidroksiklorakinin karaciğer P-gp protein ve P-gp substratı talinololünün plazmadaki düzeylerine etkisi incelenmiştir. Çalışmamızda tek doz ve tekrarlanan dozda hidroksiklorokin kullanımının talinolol plazma düzeylerine etkilerini incelemek amacıyla iki ayrı çalışma yürütülmüştür. Tek doz çalışması için 2 grup; tekrarlı doz çalışması için 2 grup olmak üzere her biri 5 sıçan içeren toplam 4 grup oluşturulmuştur. Talinolol 20 mg/kg dozda tek başına, hidroksiklorokin ise 25 mg/kg dozda, talinolol ile birlikte sıçanlara gavaj yardımı ile p.o. uygulanmış ve talinolol plazma düzeyleri valide edilmiş yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-UV) ile tayin edilmiştir. Karaciğerdeki P-gp düzeyleri Western Blot yöntemi ile tayin edilmiştir.

Talinololün farmakokinetiğini inceleyen çalışmalar göz önünde alınarak, sıçanlara p.o. yoldan gavaj yardımı ile uygulanan talinolol dozu 20 mg/kg, kan örneği toplama zamanları ise 0,5., 1., 2., 4. ve 5. saat olarak belirlenmiştir (Öztürk ve ark. 2017; Pala Kara ve ark. 2020). Hidroksiklorokin oral 25 mg/kg'lık (yüksek) dozu ise Sprague-Dawley ve Albino sıçanlarında yürütülen klorokin çalışmaları esas alınarak belirlenmiştir (Ono ve ark. 2003; Niknahad ve ark. 2016).

Weiss ve arkadaşları (2020) HCQ'nin P-gp için bir substrat ve zayıf bir inhibitör olduğunu in vitro koşullarda ortaya koysalar da (Weiss ve ark. 2020), HCQ'nin bir P-gp model substratının farmakokinetik profilini in vivo şartlarda tek doz ve tekrarlı doz uygulamada ne düzeyde etkilediği ilk bu çalışmada araştırılmıştır.

Tek doz ve tekrarlı doz çalışmalarında, kontrol gruplarının talinolol plazma konsantrasyonu-zaman eğrileri değerlendirildiğinde, talinololün daha önce yapılan çalışmalardakine benzer bir farmakokinetik profil izlediği görülmüştür. Bunun yanında, tek doz ve tekrarlı doz HCQ gruplarında kontrol gruplarına göre farklı bir farmakokinetik profil sergilediği gözlenmiştir. Tek doz kontrol grubunda talinolol t_{maks} değerine 2. saatte erişilmiştir ve bu bulgu geçmişte yapılan çalışmalarla uyumludur (Spahn-Langguth ve ark. 1998; Hanafy 2001; Öztürk ve ark. 2017; Pala Kara ve ark. 2020). Tek doz HCQ+TAL grubunda ise talinolol t_{maks} 2. saatte tespit edilmiş ve kontrole göre C_{maks} ve AUC_{total} değerlerinde sırasıyla %43,3 ve %37 artış gözlenmiştir.

Tekrarlı doz çalışmasında ise, kontrol grubunda t_{maks} 2. saatte tespit edilmesinin aksine, HCQ grubunda t_{maks} 3. saatte tespit edilmiştir. Ayrıca, C_{maks} ve AUC_{total} değerlerinde sırasıyla %14,3 ve %15 azalış görülmüştür. Her iki çalışma grubunda da C_{maks} ve AUC_{total} değerlerindeki değişiklikler istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

İki vaka raporunda, hidroksiklorokin ile eşzamanlı tedavi sırasında P-gp substratı olduğu bilinen digoksinin plazma konsantrasyonlarının arttığını gösterilmiştir (Leden 1982). Weiss ve arkadaşları (2020) hidroksiklorokin, sıklıkla ilaç-ilaç etkileşimlerine aracılık eden önemli efluks (P-gp ve BCRP) ve absorptif taşıyıcıları (OATP1B1, OATP1B3 ve OATP2B1) inhibe etme potansiyelini ve hidroksiklorokin taşıyıcı genler üzerindeki olası indükleyici etkilerini değerlendirdiği detaylı bir in vitro çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmaya göre hidroksiklorokin, 10 μM 'yi aşan hücre dışı konsantrasyonlarda P-gp'yi inhibe etmiş ve aynı zamanda bir P-gp substratı olduğu varsayımıyla birlikte, bu inhibisyonun büyük olasılıkla kompetitif bir inhibisyon olduğu ortaya konmuştur. Çalışmamızda hidroksiklorokin zayıf bir P-gp inhibitörü olması göz önünde alındığında tek doz uygulanan grupta plazma C_{maks} ve AUC değerlerindeki artış anlamlı olmasa da, beklendiği gibi P-gp inhibisyonuna bağlı olarak gelişmiş olması muhtemeldir.

Fakat tekrarlı doz çalışmasında talinololün C_{maks} ve AUC_{total} değerlerinin beklenen aksine azalması P-gp inhibisyonu ile açıklanamamaktadır. Bu çalışmada elde ettiğimiz Western blot sonuçlarına göre tekrarlı dozda hidroksiklorokin uygulaması karaciğer P-gp protein düzeylerinde bir azalmaya neden olmuştur. Weiss ve arkadaşları da hidroksiklorakinin PXR veya AhR aracılı ABCB1 mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde etkilenmediğini LS180 hücre hattında göstermişlerdir. Bu sonuç doğrultusunda tekrarlanan uygulamada HCQ'nin P-gp indüksiyonuna bağlı ilaç-ilaç etkileşmelerine aracılık etmesi beklenmemektedir (Weiss ve ark. 2020).

Talinololün oral biyoyararlanımında, P-gp ile ince bağırsağa sekresyonuna ek olarak, absorpsiyona aracılık eden absorptif taşıyıcısı OATP1a5 da önemlidir (Shirasaka ve ark. 2009, 2010). İnsan OATP2B1'inin (sıçan OATP1a5 homologu) in vitro koşullarda hidroksiklorakin tarafından konsantrasyona bağlı olarak inhibe edildiği bir çalışmada gösterilmiş iken (Xu ve ark. 2016) diğer bir çalışmada bu yönde bir bulgu elde edilmemiştir (Weiss ve ark 2020). Bu iki çalışma incelendiğinde uygulanan hidroksiklorakin dozlarının bu farklılığa neden olmuş olabileceği düşünülebilir. Bizim

çalışmamızda da tekrarlı dozda uygulanan hidroksiklorakin artan konstrasyonu nedeni ile talinololün absorpsiyonundan sorumlu olduğu gösterilmiş OATP1a5 taşıyıcı proteinini inhibe etmiş ve buna bağlı olarak C_{maks} ve AUC_{total} değerleri azalmış olabilir.

Taşıyıcı proteinlerin ilaçların farmakokinetiğine etkileri ve ilaç-ilaç etkileşmelerindeki öneminin gösterildiği in vivo çalışmalarda da çalışmamızın sonucuna paralel bulgular elde edilmiştir. Güçlü bir P-gp inhibitörü olan R-verapamil sağlıklı gönüllülerde talinolol ile birlikte uygulandığında, beklenenin aksine talinololün AUC'sinde plaseboya göre 25% oranında azalmaya neden olmuştur. Yazarlar bu beklenmedik sonucu açıklamak için R-verapamil'in P-gp üzerindeki etkisinin doza bağlı olduğunu varsaymışlardır (Schwarz ve ark. 1999). Ayrıca, Abcb1a/b^(-/-) mutant farelerde verapamil ile birlikte uygulanması talinololün emilimini arttıracığına azaltmıştır (Schwarz ve ark. 2001). Güçlü bir P-gp inhibitörü olan kurkumin ile talinololün etkileşimlerinin değerlendirildiği bir çalışmada, kurkumin talinololün AUC değerlerini kontrol grubuna göre %33 azaltmıştır. Yazarlar maruziyetteki bu düşüşün P-gp inhibisyonunun sonucunda meydana gelen talinololün substrat olduğu MRP-2'nin upregülasyonu ile açıklamışlardır (Juan ve ark. 2007). P-gp inhibitörü olduğu düşünülen greyfurt suyunun talinolol ile birlikte uygulandığı bir çalışmada, duodenal MDR1 mRNA düzeyleri önemli ölçüde etkilenmemiştir. Ayrıca, 6 günlük normal güçlü greyfurt suyunun alımı P-gp'nin intestinal ekspresyonunu tutarlı olarak değiştirmemiştir. Buna rağmen, greyfurt suyunun tek ve tekrarlı alımı talinololün AUC'sini sırasıyla 56% ve 65% oranında düşürmüştür. Yazarlar bu P-gp'den bağımsız inhibisyonun ancak başka bir intestinal alım sürecinin inhibisyonu ile meydana gelmiş olabileceğinin sonucuna varmışlar ve in vitro yapılan talinolol ve greyfurt suyu çalışmalarını göz önünde bulundurarak bu azalmanın intestinal OATP ailesinin bir üyesinin inhibisyonu sonucu olduğunu önermişlerdir (Schwarz ve ark. 2005). Bu bulgular göz önünde tutularak talinololün MRP-2 ve OATP ailesi ile ilişkisini araştıran tüm çalışmalar incelenmiştir ve sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

MRP-2 eksikliği olan sıçanlarda talinololün absorpsiyonu ve dağılımının arttığı rapor edilmiştir (Bernsdorf ve ark. 2003). Başka araştırmacılar bu bulguya dayanarak karbamazepinin talinolol farmakokinetiği üzerindeki etkisini hem P-gp hem de MRP-2 ile ilişkilendirmişlerdir (Giessmann ve ark. 2004). Aynı yazarların sağlıklı insan deneklerinde yürüttüğü bir çalışmada, MRP-2 mRNA ile talinolol renal klirensi arasında bir korelasyon saptanmıştır ($r=-0.61$, $p=0.02$) (Giessmann ve ark. 2004). Başka bir

çalışmada talinololün emilimi ABCC2 (MRP-2) geni polimorfizmleri tarafından etkilendiği saptanmıştır (Haenisch ve ark. 2008).

Sağlıklı gönüllülerde OATP1B1 için genotipleme yapıldığı bir çalışmada, SLCO1B1*1B varyantı talinololün yarılanma ömrünü yaklaşık 2 saat düşürmüştür (Bernsdorf ve ark. 2006). Transfekte edilmiş HEK293 hücreleri ve *Xenopus laevis* oositlerinde yapılan çalışmalarda, talinololün OATP1A2, OATP2B1 ve OATP1A5 için bir substrat olduğu ortaya çıkarılmıştır (Naddaf ve ark. 2010; Shirasaka ve ark. 2010).

Genel olarak, sıçanlara enteral uygulamadan sonra talinolol farmakokinetiği ve P-gp ekspresyonu önemli ölçüde birey içi ve bireyler arası değişkenlik göstermektedir (Spahn-Langguth ve ark. 1998; Kagan ve ark. 2010; König ve ark. 2013). Bu bağlamda çalışmamızda sınırlı sayıda deney hayvanı ile farmakokinetik süreçler üzerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememesinin nedeni bu farklılıklara bağlı olabilir.

Bu çalışmalardan yola çıkarak, tekrarlı doz HCQ çalışmasında elde ettiğimiz beklenmedik sonuçların, HCQ aracılı diğer intestinal alım sürecinin inhibisyonu veya P-gp inhibisyonu sonucu meydana gelen MRP-2 gibi başka taşıyıcı upregülasyonu neticesinde çıktığı speküle edilebilir. Bununla birlikte, bu çoklu sürecin talinololün emiliminde rol oynaması bir P-gp prob substratı olarak talinololün seçiciliğini kısıtlasa da, talinololün dışa atım ve alım taşıyıcılarına afinitesi, bağırsaktaki dışa atım ve alım taşıyıcıları arasındaki karmaşık etkileşimi değerlendirmeyi amaçlayan mekanik çalışmalarda yararlı bir özellik olabileceğinin görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

Akamine Y, Yasui-Furukori N, Uno T. Drug-Drug Interactions of P-gp Substrates Unrelated to CYP Metabolism. *Curr Drug Metab*. 2019;20(2):124-129.

Aller, S.G.; Yu, J.; Ward, A.; Weng, Y.; Chittaboina, S.; Zhuo, R.; Harrell, P.M.; Trinh, Y.T; Zhang, Q.; Urbatsch, I.L. Structure of P-Glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science* 2009, 323, 1718–1722.

Ambudkar SV, Cardarelli CO, Pashinsky I, et al. Relationship between the turnover number for vinblastine transport and for vinblastine-stimulated ATP hydrolysis by human P-glycoprotein. *J Biol Chem* 1997; 272: 21160-6.

Amin ML. P-glycoprotein Inhibition for Optimal Drug Delivery. *Drug Target Insights*. 2013 Aug 19;7:27-34.

Aszalos A. Drug-drug interactions affected by the transporter protein, P-glycoprotein (ABCB1, MDR1) I. Preclinical aspects. *Drug Discov Today*. 2007 Oct;12(19-20):833-7.

Ayesh S, Shao Y-M, Stein WD. Co-operative, competitive and non-competitive interactions between modulators of P-glycoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1316: 8-18.

Balayssac D, Authier N, Cayre A, Coudore F. Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug-drug interactions? *Toxicol Lett*. 2005 Apr 28;156(3):319-29.

Bannwarth B, Péhourcq F, Schaefferbeke T, Dehais J. Clinical pharmacokinetics of low-dose pulse methotrexate in rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacokinet*. 1996 Mar;30(3):194-210.

Ben-Zvi I, Kivity S, Langevitz P, Shoenfeld Y. Hydroxychloroquine: from malaria to autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012 Apr;42(2):145-53.

Bernsdorf A, Giessmann T, Modess C, Wegner D, Igelbrink S, Hecker U, Haenisch S, Cascorbi I, Terhaag B, Siegmund W. Simvastatin does not influence the intestinal P-glycoprotein and MPR2, and the disposition of talinolol after chronic

medication in healthy subjects genotyped for the ABCB1, ABCC2 and SLCO1B1 polymorphisms. *Br J Clin Pharmacol*. 2006 Apr;61(4):440-50.

Bernsdorf A, May K, Kunert-Keil C, Moritz KU, Kroemer HK, Siegmund W. Expression of P-glycoprotein and MRP2 and distribution of talinolol in MRP2-deficient rats (GY/TR). *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2003; 367:R110.

Bruggemann EP, Germann UA, Gottesman MM, et al. Two different regions of phosphoglycoprotein are photoaffinitylabeled by azidopine. *J Biol Chem* 1989; 264: 15483-8.

C.F. Higgins, ABC transporters: from microorganisms to man, *Annu. Rev. Cell Biol.* 8 (1992) 67–113.

Chen C-J, Chin JE, Ueda K, et al. Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* 1986; 47: 381-9.

Chiba P, Holzer W, Landau M, et al. Substituted 4-acylpyrazoles and 4-acylpyrazolones: synthesis and multidrug resistance-modulating activity. *J Med Chem* 1998; 41: 4001-11.

Choi YH, Yu AM. ABC transporters in multidrug resistance and pharmacokinetics, and strategies for drug development. *Curr Pharm Des.* 2014;20(5):793-807.

Combates NJ, Rzepka RW, Chen YN, Cohen D. NF-IL6, a member of the C/EBP family of transcription factors, binds and trans-activates the human MDR1 gene promoter. *J Biol Chem*. 1994 Nov 25;269(47):29715-9.

Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Boccia J, et al. Expression of the multidrug resistance gene product (P-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. *J Histochem Cytochem* 1990; 38: 1277-87.

Critchfield JW, Welsh CJ, Phang JM, et al. Modulation of Adriamycin accumulation and efflux by flavonoids in HCT-15 colon cells. *Biochem Pharmacol* 1994; 48: 1437-45.

Daschner PJ, Ciolino HP, Plouzek CA, Yeh GC. Increased AP-1 activity in drug resistant human breast cancer MCF-7 cells. *Breast Cancer Res Treat.* 1999 Feb;53(3):229-40.

Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res* 2001; 11: 1 156–66.

Del Amo EM, Heikkinen AT, Mönkkönen J. In vitro-in vivo correlation in P-glycoprotein mediated transport in intestinal absorption. *Eur J Pharm Sci.* 2009 Feb 15;36(2-3):200-11.

Dewanjee S, Dua TK, Bhattacharjee N, Das A, Gangopadhyay M, Khanra R, Joardar S, Riaz M, Feo V, Zia-Ul-Haq M. Natural Products as Alternative Choices for P-Glycoprotein (P-gp) Inhibition. *Molecules.* 2017 May 25;22(6):871.

Drori S, Eytan GD, Assaraf YG. Potentiation of anticancer-drug cytotoxicity by multidrug-resistance chemosensitizers involves alterations in membrane fluidity leading to increased membrane permeability. *Eur J Biochem.* 1995 Mar 15;228(3):1020-9.

DuBuske LM. The role of P-glycoprotein and organic anion-transporting polypeptides in drug interactions. *Drug Saf.* 2005;28(9):789-801.

Dassa E, Bouige P. The ABC of ABCS: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms. *Res Microbiol.* 2001 Apr-May;152(3-4):211-29.

Ecker G, Huber M, Schmid D, et al. The importance of a nitrogen atom in modulators of multidrug resistance. *Mol Pharmacol* 1999; 56: 791-6.

Eckford PD, Sharom FJ. ABC efflux pump-based resistance to chemotherapy drugs. *Chem Rev.* 2009 Jul;109(7):2989-3011.

Electronic Medicines Compendium. Plaquenil 200mg Filmcoated Tablets. 2014.

Elmeliegy M, Vourvahis M, Guo C, Wang DD. Effect of P-glycoprotein (P-gp) Inducers on Exposure of P-gp Substrates: Review of Clinical Drug-Drug Interaction Studies. *Clin Pharmacokinet.* 2020 Jun;59(6):699-714.

Fischer V, Einolf HJ, Cohen D. Efflux transporters and their clinical relevance. *Mini Rev Med Chem.* 2005 Feb;5(2):183-95.

Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, et al. Expression of a multidrug resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 265-9.

Roninson IB, Chin JE, Choi KG, Gros P, Housman DE, Fojo A, Shen DW, Gottesman MM, Pastan I. Isolation of human *mdr* DNA sequences amplified in multidrug-resistant KB carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986 Jun;83(12):4538-42.

Ford JM, Hait WN. Pharmacology of drugs that alter multidrug resistance in cancer. *Pharmacol Rev*. 1990 Sep;42(3):155-99.

Fox E, Bates SE. Tariquidar (XR9576): a P-glycoprotein drug efflux pump inhibitor. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2007 Apr;7(4):447-59.

Fromm MF. The influence of MDR1 polymorphisms on P-glycoprotein expression and function in humans. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002 Nov 18;54(10):1295-310.

Fromm MF. Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. *Trends Pharmacol Sci*. 2004 Aug;25(8):423-9.

Furst DE. Pharmacokinetics of hydroxychloroquine and chloroquine during treatment of rheumatic diseases. *Lupus*. 1996 Jun;5 Suppl 1:S11-5.

Gameiro M, Silva R, Rocha-Pereira C, Carmo H, Carvalho F, Bastos ML, Remião F. Cellular Models and In Vitro Assays for the Screening of modulators of P-gp, MRP1 and BCRP. *Molecules*. 2017 Apr 8;22(4):600.

Gan LS, Moseley MA, Khosla B, Augustijns PF, Bradshaw TP, Hendren RW, Thakker DR. CYP3A-like cytochrome P450-mediated metabolism and polarized efflux of cyclosporin A in Caco-2 cells. *Drug Metab Dispos*. 1996 Mar;24(3):344-9.

International Transporter Consortium, Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, Benet LZ, Brouwer KL, Chu X, Dahlin A, Evers R, Fischer V, Hillgren KM, Hoffmaster KA, Ishikawa T, Keppler D, Kim RB, Lee CA, Niemi M, Polli JW, Sugiyama Y, Swaan PW, Ware JA, Wright SH, Yee SW, Zamek-Gliszczynski MJ, Zhang L. Membrane transporters in drug development. *Nat Rev Drug Discov*. 2010 Mar;9(3):215-36.

Giessmann T, May K, Modess C, Wegner D, Hecker U, Zschiesche M, Dazert P, Grube M, Schroeder E, Warzok R, Cascorbi I, Kroemer HK, Siegmund W. Carbamazepine regulates intestinal P-glycoprotein and multidrug resistance protein MRP2 and influences disposition of talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 Sep;76(3):192-200.

Gottesman MM, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 385-427

Gramatté T, Oertel R. Intestinal secretion of intravenous talinolol is inhibited by luminal R-verapamil. *Clin Pharmacol Ther.* 1999 Sep;66(3):239-45.

Greenberger LM. Major photoaffinity drug labeling sites for iodoaryl azidoprazosin in P-glycoprotein are within or immediately C-terminal to transmembrane domains 6 and 12. *J Biol Chem* 1993; 268: 11417-25

Greiner B, Eichelbaum M, Fritz P, et al. The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *J Clin Invest* 1999; 104: 147-53

Gül, I.G., Eryilmaz, G. and Karamustafalioglu, K.O. (2016) 'P-glikoprotein ve Tedaviye Direncteki Rolu/P-glycoprotein and its Role in Treatment Resistance', *Psikiyatride Guncel Yaklasimlar/Current Approaches to Psychiatry*, 8(1), 19+, available:<https://link.gale.com/apps/doc/A601658490/AONE?u=anon~44f6eb5b&sid=googleScholar&xid=f9dd3f31> [accessed 25 Apr 2022].

Haenisch S, May K, Wegner D, Caliebe A, Cascorbi I, Siegmund W. Influence of genetic polymorphisms on intestinal expression and rifampicin-type induction of ABCC2 and on bioavailability of talinolol. *Pharmacogenet Genomics.* 2008 Apr;18(4):357-65.

Haładyj E, Sikora M, Felis-Giemza A, Olesińska M. Antimalarials - are they effective and safe in rheumatic diseases? *Reumatologia.* 2018;56(3):164-173.

Hanafy A. Transport inhibition and induction as sources for absorption and disposition related drug-drug interactions: Talinolol as model substrate for the ABC-transporter P-glycoprotein. Martin-Luther Üniversitesi Halle-Wittenberg Eczacılık Okulu, Doktora Tezi, Halle/Saale, Almanya, 2001.

He J, Terhaag B, Yang LY, Zhang BK, Su FL, Zhu YG, Song J, Tang J, Liu XL, Peng WX. Determination of talinolol in human plasma by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry: application to pharmacokinetic study. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007 Jun 15;853(1-2):275-80.

Hennessy M, Spiers JP. A primer on the mechanics of P-glycoprotein the multidrug transporter. *Pharmacol Res.* 2007 Jan;55(1):1-15.

Higgins CF, Gottesman MM. Is the multidrug transporter a flippase? *Trends Biochem Sci.* 1992 Jan;17(1):18-21.

Hochman JH, Chiba M, Nishime J, et al. Influence of P-glycoprotein on the transport and metabolism of indinavir in Caco-2 cells expressing cytochrome P450 3A4. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 310-8

Hu Z, Jin S, Scotto KW. Transcriptional activation of the MDR1 gene by UV irradiation. Role of NF- κ B and Sp1. *J Biol Chem.* 2000 Jan 28;275(4):2979-85.

Huang ZH, Murakami T, Okochi A, et al. Expression and function of P-glycoprotein in rats with glycerol-induced acute renal failure. *Eur J Pharmacol.* 2000;406(3):453–460.

Huls M, Russel FG, Masereeuw R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009 Jan;328(1):3-9.

Hung LW, Wang IX, Nikaido K, et al. Crystal structure of the ATP-binding subunit of an ABC transporter. *Nature* 1998; 396: 703-7

Hunter J, Hirst BH, Simmons NL. Drug absorption limited by P-glycoprotein mediated secretory drug transport in human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Pharm Res* 1993; 10: 743-9

Hunter J, Jepson MA, Tsuruo T, et al. Functional expression of P-glycoprotein in apical membranes of human intestinal Caco-2 cell layers: kinetics of vinblastine secretion and interaction with modulators. *J Biol Chem* 1993; 268: 14991-7

Hunter J, Jepson MA, Tsuruo T, et al. Functional expression of P-glycoprotein in apical membranes of human intestinal Caco-2 cell layers: kinetics of vinblastine secretion and interaction with modulators. *J Biol Chem* 1993; 268: 14991-7

Jackson KA, Mi T, Goodell MA. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Dec 7;96(25):14482-6.

Johnstone RW, Ruefli AA, Smyth MJ. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem Sci*. 2000 Jan;25(1):1-6.

Jones PM, George AM. A new structural model for P-glycoprotein. *J Membr Biol*. 1998 Nov 15;166(2):133-47.

Jones PM, George AM. Symmetry and structure in P-glycoprotein and ABC transporters what goes around comes around. *Eur J Biochem*. 2000 Sep;267(17):5298-5305.

Joshi AA, Vaidya SS, St-Pierre MV, Mikheev AM, Desino KE, Nyandeghe AN, Audus KL, Unadkat JD, Gerk PM. Placental ABC Transporters: Biological Impact and Pharmaceutical Significance. *Pharm Res*. 2016 Dec;33(12):2847-2878.

Juan H, Terhaag B, Cong Z, Bi-Kui Z, Rong-Hua Z, Feng W, Fen-Li S, Juan S, Jing T, Wen-Xing P. Unexpected effect of concomitantly administered curcumin on the pharmacokinetics of talinolol in healthy Chinese volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007 Jul;63(7):663-8.

Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta* 1976; 455: 152-62.

Kagan L, Dreifinger T, Mager DE, Hoffman A. Role of p-glycoprotein in region-specific gastrointestinal absorption of talinolol in rats. *Drug Metab Dispos*. 2010 Sep;38(9):1560-6.

Kage K, Tsukahara S, Sugiyama T, et al. Dominant-negative inhibition of breast cancer resistance protein as drug efflux pump through the inhibition of S-S dependent homodimerization. *International J cancer. J Int Cancer* 2002; 97: 626–30.

Kamimoto Y, Gatmaitan Z, Hsu J, et al. The function of Gp170, the multidrug resistance gene product, in rat liver canalicular membrane vesicles. *J Biochem Chem* 1989; 264: 11693-8.

Kara ZP, Ozturk D, Ozturk N, Orman MN, Baktir G, Okyar A. Effects of atorvastatin on talinolol absorption: A potential drug-drug interaction. *Pharmazie*. 2020 Mar 20;75(2):70-74.

Kawahara M, Sakata A, Miyashita T, et al. Physiologically based pharmacokinetics of digoxin in mdr1a knockout mice. *J Pharm Sci* 1999; 88: 1281-7.

Kim RB. Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers. *Drug Metab Rev*. 2002 Feb-May;34(1-2):47-54.

Kim RB. Drug transporters in HIV Therapy. *Top HIV Med*. 2003 Jul-Aug;11(4):136-9.

König J, Müller F, Fromm MF. Transporters and drug-drug interactions: important determinants of drug disposition and effects. *Pharmacol Rev*. 2013 May 17;65(3):944-66.

Krueger M, Achenbach H, Terhaag B, Haase H, Richter K, Oertel R, Preiss R. Pharmacokinetics of oral talinolol following a single dose and during steady state in patients with chronic renal failure and healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2001 Feb;39(2):61-6.

abialle S, Gayet L, Marthinet E, Rigal D, Baggetto LG. Transcriptional regulators of the human multidrug resistance 1 gene: recent views. *Biochem Pharmacol*. 2002 Sep;64(5-6):943-8.

Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, Wang X, Finegold M, Weissman IL, Grompe M. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*. 2000 Nov;6(11):1229-34.

Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):860-921.

Lankas GR, Cartwright ME, Umbenhauer DR. P-glycoprotein deficiency in a subpopulation of CF-1 mice enhances avermectin-induced neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 143: 357-65

Lankas GR, Wise LD, Cartwright ME, et al. Placenta P-glycoprotein deficiency enhances susceptibility to chemically induced birth defects in mice. *Reprod Toxicol* 1998; 12: 457-63

Lankas GR, Wise LD, Cartwright ME, et al. Placenta P-glycoprotein deficiency enhances susceptibility to chemically induced birth defects in mice. *Reprod Toxicol* 1998; 12: 457-63

Leden I. Digoxin-hydroxychloroquine interaction? *Acta Med Scand.* 1982;211(5):411-2.

Li, Y.; Ross-Viola, J.S.; Shay, N.F.; Moore, D.D.; Ricketts, M.-L. Human CYP3A4 and Murine Cyp3A11 are regulated by equol and genistein via the pregnane X receptor in a species-specific manner. *J. Nutr.* 2009, 139, 898–904.

Lin JH, Chiba M, Chen I-W, et al. Effect of dexamethasone on the intestinal first-pass metabolism of indinavir in rats: evidence of cytochrome P-450 3A and P-glycoprotein induction. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 1187-93.

Lin JH, Yamazaki M. Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42(1):59-98.

Lin JH. Role of pharmacokinetics in the discovery and development of indinavir. *Adv Drug Deliv Rev* 1999; 39: 33-49.

Litman T, Zeuthen T, Skovsgaard T, et al. Competitive, non-competitive and cooperative interactions between substrates of P-glycoprotein as measured by its ATPase activity. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1361: 169-76

Loo TW, Clarke DM. Reconstitution of drug-stimulated ATPase activity following co-expression of each half of human P-glycoprotein as separate polypeptides. *J Biol Chem* 1994; 269: 7750-5

Loo TW, Clarke DM. Mutational analysis of ABC proteins. *Arch Biochem Biophys.* 2008 Aug 1;476(1):51-64.

Loo TW, Bartlett MC, Clarke DM. Substrate-induced conformational changes in the transmembrane segments of human P-glycoprotein. Direct evidence for the substrate-induced fit mechanism for drug binding. *J Biol Chem.* 2003 Apr 18;278(16):13603-6.

Ma JD, Tsunoda SM, Bertino JS Jr, Trivedi M, Beale KK, Nafziger AN. Evaluation of in vivo P-glycoprotein phenotyping probes: a need for validation. *Clin Pharmacokinet.* 2010 Apr;49(4):223-37.

Mahringer A, Fricker G. ABC transporters at the blood-brain barrier. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2016 May;12(5):499-508.

Marmor MF, Kellner U, Lai TY, Lyons JS, Mieler WF. Revised recommendations on screening for chloroquine and hydroxychloroquine retinopathy. *Ophthalmology* 2011; 118: 415–422.

Marmor MF, Kellner U, Lai TY, Melles RB, Mieler WF. Recommendations on Screening for Chloroquine and Hydroxychloroquine Retinopathy (2016 Revision). *Ophthalmology* 2016; 123: 1386–1394.

Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim RB. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther.* 2004 Jan;75(1):13-33.

Padowski JM, Pollack GM. Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Methods Mol Biol.* 2010;596:359-84.

McCoy C, Smith DE, Cornwell MM. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate activation of the MDR1 promoter is mediated by EGR1. *Mol Cell Biol.* 1995 Nov;15(11):6100-8.

Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 727-33

Melles RB, Marmor MF. The risk of toxic retinopathy in patients on long-term hydroxychloroquine therapy. *JAMA Ophthalmol* 2014; 132: 1453–1460.

Morrissey KM, Wen CC, Johns SJ, Zhang L, Huang SM, Giacomini KM. The UCSF-FDA TransPortal: a public drug transporter database. *Clin Pharmacol Ther.* 2012 Nov;92(5):545-6.

Muller M, Bakos E, Welker E, et al. Altered drug-stimulated ATPase activity in mutants of human multidrug resistance protein. *J Biol Chem* 1996; 271: 1877-83

Murakami T, Bodor E, Bodor N. Modulation of expression/function of intestinal P-glycoprotein under disease states. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2020 Jan;16(1):59-78.

Naddaf, F., Keiser, M., Didrigkeit, K., Oswald, S., Scheuch, E., Kock, K., Kroemer, H. K. and Siegmund, W. In vitro effects of intestinal and hepatic uptake transporters on talinolol uptake. *Br J Clin Pharmacol.* 2010; 70, 45.

Nakayama A, Saitoh H, Oda M, et al. Region-dependent disappearance of vinblastine in rat small intestine and characterization of its P-glycoprotein-mediated efflux system. *Eur J Pharm Sci* 2000; 11: 317-24.

Nazir AM, Koganti B, Gupta K, Memon MS, Aslam Zahid MB, Shantha Kumar V, Tappiti M, Mostafa JA. Evaluating the Use of Hydroxychloroquine in Treating Patients With Rheumatoid Arthritis. *Cureus.* 2021 Nov 6;13(11):e19308.

Nicol MR, Joshi A, Rizk ML, Sabato PE, Savic RM, Wesche D, Zheng JH, Cook J. Pharmacokinetics and Pharmacological Properties of Chloroquine and Hydroxychloroquine in the Context of COVID-19 Infection. *Clin Pharmacol Ther.* 2020 Dec;108(6):1135-1149.

Niknahad H, Heidari R, Firuzi R, Abazari F, Ramezani M, Azarpira N, Hosseinzadeh M, Najibi A, Saeedi A. Concurrent Inflammation Augments Antimalarial Drugs-Induced Liver Injury in Rats. *Adv Pharm Bull.* 2016 Dec;6(4):617-625.

Nirk EL, Reggiori F, Mauthe M. Hydroxychloroquine in rheumatic autoimmune disorders and beyond. *EMBO Mol Med.* 2020 Aug 7;12(8):e12476.

Oertel R, Richter K, Gramatté T, Kirch W. Determination of drugs in biological fluids by high-performance liquid chromatography with on-line sample processing. *J Chromatogr A.* 1998 Feb 27;797(1-2):203-9.

Oertel R, Richter K, Trausch B, Berndt A, Gramatté T, Kirch W. Elucidation of the structure of talinolol metabolites in man. Determination of talinolol and hydroxylated talinolol metabolites in urine and analysis of talinolol in serum. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1994 Oct 14;660(2):353-63.

Ogretmen B, Safa AR. Identification and characterization of the MDR1 promoter-enhancing factor 1 (MEF1) in the multidrug resistant HL60/VCR human acute myeloid leukemia cell line. *Biochemistry*. 2000 Jan 11;39(1):194-204.

Ohga T, Uchiumi T, Makino Y, Koike K, Wada M, Kuwano M, Kohno K. Direct involvement of the Y-box binding protein YB-1 in genotoxic stress-induced activation of the human multidrug resistance 1 gene. *J Biol Chem*. 1998 Mar 13;273(11):5997-6000.

Okamura N, Hirai M, Tanigawara Y, et al. Digoxin-cyclosporin A interaction: modulation of the multidrug transporter P-glycoprotein in the kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266: 1614-9

Okamura N, Hirai M, Tanigawara Y, et al. Digoxin-cyclosporin A interaction: modulation of the multidrug transporter P-glycoprotein in the kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266: 1614-9

Okyar, A. Vinblastin ve atorvastatinin P-glikoprotein üzerinden talinolol farmakokinetiğini değiştirmesinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul, 2004.

Ono C, Yamada M, Tanaka M. Absorption, distribution and excretion of ¹⁴C-chloroquine after single oral administration in albino and pigmented rats: binding characteristics of chloroquine-related radioactivity to melanin in-vivo. *J Pharm Pharmacol*. 2003 Dec;55(12):1647-54.

Ozturk N, Ozturk D, Pala-Kara Z, Okyar A. Pharmacokinetics of talinolol is modified by barnidipine: implication of P-glycoprotein modulation. *Pharmazie*. 2017 Jan 10;72(1):29-34.

Padowski JM, Pollack GM. Pharmacokinetic and pharmacodynamic implications of P-glycoprotein modulation. *Methods Mol Biol*. 2010;596:359-84.

Palmeira A, Sousa E, Vasconcelos MH, Pinto MM. Three decades of P-gp inhibitors: skimming through several generations and scaffolds. *Curr Med Chem.* 2012a;19(13):1946-2025.

Pan B-F, Dutt A, Nelson JA. Enhanced transepithelial flux of cimetidine by Madin-Darby canine kidney cells overexpressing human P-glycoprotein. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 1-7.

Pardridge WM. Transport of protein-bound hormones into tissue in vivo. *Endocr Rev* 1981; 2: 103-23 Rapoport SI. Transport in cells and tissues. In: Rapoport SI, editor. *Blood-brain barrier in physiology and medicine*. New York (NY): Raven Press, 1976: 17-42

Paul AJ, Tranquilli WJ, Seward RL, et al. Clinical observations in Collies given ivermectin orally. *Am J Vet Res* 1987; 48: 684-5

Pauwels EK, Erba P, Mariani G, Gomes CM. Multidrug resistance in cancer: its mechanism and its modulation. *Drug News Perspect.* 2007 Jul-Aug;20(6):371-7.

Pinkett HW, Lee AT, Lum P, Locher KP, Rees DC. An inward-facing conformation of a putative metal-chelate-type ABC transporter. *Science* 2007; 315: 373–7. [PubMed: 17158291]

Plantone D, Koudriavtseva T. Current and Future Use of Chloroquine and Hydroxychloroquine in Infectious, Immune, Neoplastic, and Neurological Diseases: A Mini-Review. *Clin Drug Investig.* 2018 Aug;38(8):653-671.

Pulliam JD, Seward RL, Henry RT, et al. Investigating ivermectin toxicity in Collies. *Vet Med* 1985; 80: 33-40.

Q, Bounaud P, Kudul S, et al. Identification of the domains of photoincorporation of the 3'- and 7-benzophenone analogues of taxol in the carboxyl-terminal half of murine mdr1b P-glycoprotein. *Biochemistry* 1998; 37: 11272-9.

Roninson IB. From amplification to function: the case of the MDR1 gene. *Mutat Res.* 1992 May;276(3):151-61.

Rosenberg MF, Kamis AB, Callaghan R, Higgins CF, Ford RC. Three-dimensional structures of the mammalian multidrug resistance P-glycoprotein

demonstrate major conformational changes in the transmembrane domains upon nucleotide binding. *J Biol Chem* 2003; 278: 8294–9.

Rosenberg MF, Callaghan R, Ford RC, Higgins CF. Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein to 2.5 nm resolution determined by electron microscopy and image analysis. *J Biol Chem*. 1997 Apr 18;272(16):10685-94.

Rosenberg, M. F., Velarde, G., Ford, R. C., Martin, C., Berridge, G., Kerr, I. D., Callaghan, R., Schmidlin, A., Wooding, C., Linton, K. J., & Higgins, C. F. (2001). Repacking of the transmembrane domains of P-glycoprotein during the transport ATPase cycle. *The EMBO journal* 20(20), 5615–5625.

Ruetz S, Gros P. Phosphatidylcholine translocase: a physiological role for the *mdr 2* gene. *Cell* 1994; 77: 1071-81

Savarino A, Boelaert JR, Cassone A, Majori G, Cauda R. Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases? *Lancet Infect Dis*. 2003 Nov;3(11):722-7.

Schinkel AH, Jonker JW. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55: 3–29.

Schinkel AH. The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Cancer Biol* 1997; 8: 161-70.

Schinkel AH, Jonker JW. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003 Jan 21;55(1):3-29.

Schrezenmeier E, Dörner T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat Rev Rheumatol*. 2020 Mar;16(3):155-166.

Scotto KW. Transcriptional regulation of ABC drug transporters. *Oncogene*. 2003 Oct 20;22(47):7496-511.

Scotto KW, Egan DA. Transcriptional regulation of MDR genes. *Cytotechnology*. 1998 Sep;27(1-3):257-69.

Scotto KW, Biedler JL, Melera PW. Amplification and expression of genes associated with multidrug resistance in mammalian cells. *Science*. 1986 May 9;232(4751):751-5.

Seeger MA, van Veen HW. Molecular basis of multidrug transport by ABC transporters. *Biochim Biophys Acta*. 2009 May;1794(5):725-37.

Seelig A, Landwojtowicz E. Structure-activity relationship of P-glycoprotein substrates and modifiers. *Eur J Pharm Sci* 2000; 12: 31-40

Senior AE, Gadsby DC. ATP hydrolysis cycles and mechanism in P-glycoprotein and CFTR. *Semin Cancer Biol* 1997; 8: 143-50

Shapiro AB, Ling V. Stoichiometry of coupling of rhodamine 123 transport to ATP hydrolysis by P-glycoprotein. *Eur J Biochem* 1998; 254: 189-93

Shapiro AB, Ling V. Effect of quercetin on Hoechst 33342 transport by purified and reconstituted P-glycoprotein. *Biochem Pharmacol*. 1997a Feb 21;53(4):587-96.

Sharom, F.J. ABC multidrug transporters: Structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics* 2008, 9, 105–127.

Sharom FJ. The P-glycoprotein multidrug transporter. *Essays Biochem*. 2011 Sep 7;50(1):161-78.

Shen DW, Fojo A, Chin JE, Roninson IB, Richert N, Pastan I, Gottesman MM. Human multidrug-resistant cell lines: increased *mdr1* expression can precede gene amplification. *Science*. 1986 May 2;232(4750):643-5.

Shippey EA, Wagler VD, Collamer AN. Hydroxychloroquine: An old drug with new relevance. *Cleve Clin J Med*. 2018 Jun;85(6):459-467.

Shirasaka Y, Kuraoka E, Spahn-Langguth H, Nakanishi T, Langguth P, Tamai I. Species difference in the effect of grapefruit juice on intestinal absorption of talinolol between human and rat. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010 Jan;332(1):181-9.

Schwarz UI, Seemann D, Oertel R, Miehle S, Kuhlisch E, Fromm MF, Kim RB, Bailey DG, Kirch W. Grapefruit juice ingestion significantly reduces talinolol bioavailability. *Clin Pharmacol Ther*. 2005 Apr;77(4):291-301.

Schwarz UI, Gramatté T, Krappweis J, Berndt A, Oertel R, von Richter O, Kirch W. Unexpected effect of verapamil on oral bioavailability of the beta-blocker talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1999 Mar;65(3):283-90.

Schwarz UI, Seemann D, Oertel R, Miehle S, Kuhlisch E, Fromm MF, Kim RB, Bailey DG, Kirch W. Grapefruit juice ingestion significantly reduces talinolol bioavailability. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 Apr;77(4):291-301.

Silva R, Vilas-Boas V, Carmo H, Dinis-Oliveira RJ, Carvalho F, de Lourdes Bastos M, Remião F. Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy. *Pharmacol Ther.* 2015 May;149:1-123.

Smit JW, Schinkel AH, Muller M, et al. Contribution of the murine *mdr1a* P-glycoprotein to hepatobiliary and intestinal elimination of cationic drugs as measured in mice with an *mdr1a* gene disruption. *Hepatology* 1998; 27: 1056-63

Smit JW, Schinkel AH, Weert B, et al. Hepatobiliary and intestinal clearance of amphiphilic cationic drugs in mice in which both *mdr1a* and *mdr1b* genes have been disrupted. *Br J Pharmacol* 1998; 124: 416-24

Smith AJ, van Helvoort A, van Meer G, et al. MDR3 P-glycoprotein, a phosphatidylcholine translocase, transports several cytotoxic drugs and directly interacts with drugs as judged by interference with nucleotide trapping. *J Biol Chem* 2000; 275: 23530-9

Somer M, Kallio J, Pesonen U, Pyykkö K, Huupponen R, Scheinin M. Influence of hydroxychloroquine on the bioavailability of oral metoprolol. *Br J Clin Pharmacol.* 2000 Jun;49(6):549-54.

Spahn-Langguth H, Baktir G, Radschuweit A, Okyar A, Terhaag B, Ader P, Hanafy A, Langguth P. P-glycoprotein transporters and the gastrointestinal tract: evaluation of the potential in vivo relevance of in vitro data employing talinolol as model compound. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 1998 Jan;36(1):16-24.

Sparreboom A, van Asperen J, Mayer U, et al. Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 2031-5

Stavrovskaya AA, Stromskaya TP. Transport proteins of the ABC family and multidrug resistance of tumor cells. *Biochemistry (Mosc)*. 2008 May;73(5):592-604.

Takano A, Kusuhara H, Suhara T, Ieiri I, Morimoto T, Lee YJ, Maeda J, Ikoma Y, Ito H, Suzuki K, Sugiyama Y. Evaluation of in vivo P-glycoprotein function at the blood-brain barrier among MDR1 gene polymorphisms by using ¹¹C-verapamil. *J Nucl Med*. 2006 Sep;47(9):1427-33.

Tang-Wai DF, Kajiji S, DiCapua F, et al. Human (MDR1) and mouse (mdr1, mdr3) P-glycoproteins can be distinguished by their respective drug resistance profiles and sensitivity to modulators. *Biochemistry* 1995; 34: 32-9

Terhaag B, Palm U, Sahre H, Richter K, Oertel R. Interaction of talinolol and sulfasalazine in the human gastrointestinal tract. *Eur J Clin Pharmacol*. 1992;42(4):461-2.

The Royal College of Ophthalmologists. Hydroxychloroquine and Ocular Toxicity Recommendations on Screening, 2009.

Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, et al. Cellular localization of the multidrug resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 7735-8

Toimela T, Tähti H, Salminen L. Retinal pigment epithelium cell culture as a model for evaluation of the toxicity of tamoxifen and chloroquine. *Ophthalmic Res*. 1995;27 Suppl 1:150-3.

Trausch B, Oertel R, Richter K, Gramatté T. Disposition and bioavailability of the beta 1-adrenoceptor antagonist talinolol in man. *Biopharm Drug Dispos*. 1995 Jul;16(5):403-14.

Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res*. 1981 May;41(5):1967-72.

Tubic M, Wagner D, Spahn-Langguth H, Weiler C, Wanitschke R, Böcher WO, Langguth P. Effects of controlled-release on the pharmacokinetics and absorption characteristics of a compound undergoing intestinal efflux in humans. *Eur J Pharm Sci*. 2006 Nov;29(3-4):231-9.

Langguth P. Effects of controlled-release on the pharmacokinetics and absorption characteristics of a compound undergoing intestinal efflux in humans. *Eur J Pharm Sci.* 2006 Nov;29(3-4):231-9.

Umbenhauer DR, Lankas GR, Pippert TR, et al. Identification of a P-glycoprotein-deficient subpopulation in CF-1 mouse strain using a restriction fragment length polymorphism. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 146: 88-94

V. Vasiliou, K. Vasiliou, D.W. Nebert, Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family, *Hum. Genomics* 3 (2009) 281–290. Morita 2012

V.V. Rao, J.L. Dahlheimer, M.E. Bardgett, A.Z. Snyder, R.A. Finch, A.C. Sartorelli, D. Piwnica-Worms, Choroid plexus epithelial expression of MDR1 P glycoprotein and multidrug resistance-associated protein contribute to the blood-cerebrospinal-fluid drug-permeability barrier, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (1999) 3900–3905.

Van Asperen J, van Tellinge O, Tijssen F, et al. Increased accumulation of doxorubicin and doxorubicinol in cardiac tissue of mice lacking *mdr1a* P-glycoprotein. *Br J Cancer* 1999; 79: 108-13

Van Asperen J, van Tellingen O, Beijnen JH. The role of *mdr1a* P-glycoprotein in the biliary and intestinal secretion of doxorubicin and vinblastine in mice. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 264-7

Van den Borne, B. E. et al. Combination therapy in recent onset rheumatoid arthritis: a randomized double blind trial of the addition of low dose cyclosporine to patients treated with low dose chloroquine. *J. Rheumatol.* 25, 1493–1498 (1998).

Van Helvoort A, Smith AJ, Sprong H, et al. MDR1 P-glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine. *Cell* 1996; 87: 507-17

Varma MV, Ashokraj Y, Dey CS, Panchagnula R. P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacol Res.* 2003 Oct;48(4):347-59.

Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science.* 2001 Feb 16;291(5507):1304-51.

Rote Liste® 2000, Arzneimittelverzeichnis für Deutschland. Aulendorf, Germany: Editio Cantor Verlag GmbH, 2000.

Vilaboa NE, Galán A, Troyano A, de Blas E, Aller P. Regulation of multidrug resistance 1 (MDR1)/P-glycoprotein gene expression and activity by heat-shock transcription factor 1 (HSF1). *J Biol Chem*. 2000 Aug 11;275(32):24970-6.

W. Saurin, M. Hofnung, E. Dassa, Getting in or out: early segregation between importers and exporters in the evolution of ATP-binding cassette (ABC) transporters, *J. Mol. Evol.* 48 (1999) 22–41.

Weiss J, Bajraktari-Sylejmani G, Haefeli WE. Interaction of Hydroxychloroquine with Pharmacokinetically Important Drug Transporters. *Pharmaceutics*. 2020 Sep 25;12(10):919.

Weitschies W, Bernsdorf A, Giessmann T, Zschiesche M, Modess C, Hartmann V, Mrazek C, Wegner D, Nagel S, Siegmund W. The talinolol double-peak phenomenon is likely caused by presystemic processing after uptake from gut lumen. *Pharm Res*. 2005 May;22(5):728-35.

Wetterich U, Spahn-Langguth H, Mutschler E, Terhaag B, Rösch W, Langguth P. Evidence for intestinal secretion as an additional clearance pathway of talinolol enantiomers: concentration- and dose-dependent absorption in vitro and in vivo. *Pharm Res*. 1996 Apr;13(4):514-22.

World Health Organization. (2020). Therapeutics and COVID-19: living guideline, 17 December 2020. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/337876>.

Wu C-Y, Benet LZ, Hebert MF, et al. Differentiation of absorption and first-pass gut and hepatic metabolism in humans: studies with cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 58: 492-7.

Xu C, Zhu L, Chan T, Lu X, Shen W, Madigan MC, Gillies MC, Zhou F. Chloroquine and Hydroxychloroquine Are Novel Inhibitors of Human Organic Anion Transporting Polypeptide 1A2. *J Pharm Sci*. 2016 Feb;105(2):884-890.

Yamazaki M, Neway WE, Ohe T, et al. In vitro substrate identification studies for P-glycoprotein mediated transport: species difference and predictability of in vitro results. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 723-35

Yusuf IH, Sharma S, Luqmani R, Downes SM. Hydroxychloroquine retinopathy. *Eye (Lond)*. 2017 Jun;31(6):828-845.

Zhang Y, Benet LZ. The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein. *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(3):159-68.

Zhou SF. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica*. 2008 Jul;38(7-8):802-32.

Zschiesche M, Lemma GL, Klebingat KJ, Franke G, Terhaag B, Hoffmann A, Gramatté T, Kroemer HK, Siegmund W. Stereoselective disposition of talinolol in man. *J Pharm Sci*. 2002 Feb;91(2):303-11.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI**HİDROKSİKLORAKİN'İN P-GLİKOPROTEİN SUBSTRATI
TALİNOLOLÜN FARMAKOKİNETİĞİNE ETKİSİ-2****ORJİNALLİK RAPORU**

% **19**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **18**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **2**
YAYINLAR

% **3**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

