



**SAĞLIKLI VE TİP 2 DİYABET MODELİ
OLUŞTURULAN RATLARDA VERAPAMİLİN
SAKSAGLİPTİNİN FARMAKOKİNETİĞİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Orkun ATİK

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE

Tez No: 2023 - 011

Afyonkarahisar

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**SAĞLIKLI VE TİP 2 DİYABET MODELİ OLUŞTURULAN
RATLARDA VERAPAMILİN SAKSAGLIPTİNİN
FARMAKOKİNETİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Hazırlayan
Orkun ATİK**

**Danışman
Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE**

Tez No: 2023 - 011

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: “19.SAĞ.BİL.09”**

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ENSTİTÜ ONAYI

Öğrencinin	Adı - Soyadı	Orkun ATİK
	Numarası	163346001
	Anabilim Dalı	Farmakoloji ve Toksikoloji
	Programı	Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikolojisi Doktora Programı
	Program Düzeyi	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora
Tezin Başlığı		Sağlıklı ve Tip 2 Diyabet Modeli Oluşturulan Ratlarda Verapamilin Saksagliptinin Farmakokinetiği Üzerine Etkisi
Tez Savunma Sınav Tarihi		20.06.2023
Tez Savunma Sınav Saati		10:30

Yukarıda bilgileri verilen öğrenciye ait tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

Bu tez, Enstitü Müdürlüğünce kontrol edilerek, elektronik imza kullanılarak onaylanmıştır.

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

20/06/2023

Orkun ATİK

ÖZET

SAĞLIKLI VE TİP 2 DİYABET MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA VERAPAMİLİN SAKSAGLIPTİNİN FARMAKOKİNETİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ

Diabetes Mellitus (DM) kronik hiperglisemi ile seyreden, insülin sekresyonunda tamamen ya da kısmen eksiklik ile karakterize metabolik bir hastalıktır. İnsülin sekresyonunda kısmen azalma ve/veya perifer dokularda insülin direnci ile karakterize olan ve diyabet vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturan şekli ise Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)'dir. T2DM hastalarının en önemli hastaneye yatış ve ölüm nedeni olarak kardiyovasküler yan etkiler gösterilmektedir. Bir dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörü olan saksagliptinin, T2DM hastalarında glisemik kontrolü sağlamak amacıyla kullanımı önerilir. Verapamil ise bir kalsiyum kanal blokörü olup; hipertansiyon, supraventriküler taşiaritmi ve anjina pectoris gibi kardiyovasküler rahatsızlıklarda kullanımı önerilir. Bu çalışmada sağlıklı ve T2DM modeli oluşturulmuş ratlarda verapamilin, saksagliptinin farmakokinetiği üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada dört farmakokinetik çalışma grubuna (n=192) ek olarak metot validasyon çalışmaları (n=20) ile beraber toplam 212 adet erkek Wistar Albino ırkı rat kullanıldı. Sağlıklı saksagliptin (SS, n=48), sağlıklı verapamil + saksagliptin (SVS, n=48), diyabetik saksagliptin (DS, n=48) ve diyabetik verapamil + saksagliptin (DVS, n=48) grupları farmakokinetik çalışma gruplarını oluşturdu. Ayrıca farmakokinetik çalışma gruplarında, farmakodinamik farklılıkların belirlenmesi için kan glikoz düzeyleri araştırıldı. Etkileşim gruplarındaki ratlara verapamil yedi gün boyunca 10 mg/kg dozunda, saksagliptin ise tüm gruplara sekizinci gün tek doz 20 mg/kg dozunda gastrik gavaj yardımıyla oral yolla uygulandı. Plazma saksagliptin ve 5-hidroksi saksagliptin (5-HS) düzeyleri, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-UV kullanılarak belirlendi. Farmakokinetik parametreleri hesaplamak için bölmesiz metot kullanıldı. SS grubunda saksagliptinin yarılanma ömrü ($t_{1/2\lambda z}$) 3,97 saat; eğri altında kalan alan ($EAA_{0-\infty}$) değeri 22,84 saat* $\mu\text{g/mL}$; ortalama kalış süresi ($MRT_{0-\infty}$) 5,11 saat; total klerensi (Cl/F) 875,3 mL/saat/kg; dağılım hacmi ($V_{d\text{alan}}/F$) 5017,51 mL/kg; doruk konsantrasyonu (C_{doruk}) $4,8 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$ ve doruk konsantrasyona ulaşma süresi

(T_{doruk}) ise 1,5 saat olarak belirlendi. Diyabet ve verapamilin kombine etkisiyle saksagliptine ait $t_{1/2\lambda z}$ ve $EAA_{0-\infty}$ değerlerinde artış gözlenirken; Cl/F değerinde düşüş belirlendi. Verapamil uygulaması ve diyabetik durumun varlığı, saksagliptine ait C_{doruk} değerinde artış; T_{doruk} değerinde ise düşüşe neden oldu. Metabolit-Ana ilaç Oranı [MAO: ($EAA_{0-\infty}(5\text{-HS}) / EAA_{0-\infty}(\text{Saksagliptin})$)] SS, SVS, DS ve DVS grupları arasında sırasıyla 2,85; 1,5; 2,09 ve 1,01 değerlerinde tespit edildi. Saksagliptin uygulaması ile tüm gruplarda kan glikoz düzeylerinin azaldığı, verapamil ön tedavisi gören gruplardaki azalmanın da daha yüksek oranlarda gerçekleştiği tespit edildi. Verapamilin kan glikoz düzeylerindeki düşüşe katkısı diyabetik rat gruplarında, sağlıklı rat gruplarına kıyasla daha yüksek sayıda örnekleme zamanında istatistiksel olarak anlamlıydı. Diyabetik hastalarda verapamil, saksagliptinin terapötik etkinliğini artırabilir. Ancak bu çalışmada saksagliptinin tek doz kullanılması ve sınırlı sayıda rat üzerinde gerçekleştirilmesi sebebiyle, farmakokinetik ve farmakodinamik verilerin farklı popülasyonlarda tekrarlı uygulama ile ortaya çıkacak sonuçlarla tespit edilmesi ve bu sonuçların hangi mekanizmalar üzerinden şekillendiğinin belirlenmesi, T2DM hastalarında saksagliptin ve verapamil kullanımlarına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Farmakokinetik, Rat, Saksagliptin, Verapamil

SUMMARY

THE EFFECT OF VERAPAMIL ON THE PHARMACOKINETICS OF SAXAGLIPTIN IN HEALTHY AND TYPE 2 DIABETES MODELED RATS

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by chronic hyperglycemia and a complete or partial deficiency in insulin secretion. Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), which is characterized by a partial decrease in insulin secretion and/or insulin resistance in peripheral tissues, and accounts for approximately 90% of diabetes cases. Cardiovascular side effects are shown as the most important cause of hospitalization and death in T2DM patients. Saxagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor, is recommended for use in T2DM patients to achieve glycemic control. Verapamil, a calcium channel blocker, is recommended for use in cardiovascular disorders such as hypertension, supraventricular tachyarrhythmia and angina pectoris. In this study, it was aimed to investigate the effect of verapamil on the pharmacokinetics of saxagliptin in healthy and T2DM modeled rats. In addition to the four pharmacokinetic study groups (n=192), a total of 212 male Wistar Albino rats with method validation studies (n=20) were used in the study. Healthy saxagliptin (HS, n=48), healthy verapamil + saxagliptin (HVS, n=48), diabetic saxagliptin (DS, n=48) and diabetic verapamil + saxagliptin (DVS, n=48) groups formed the pharmacokinetic study groups. In addition, blood glucose levels were investigated to determine pharmacodynamic differences in pharmacokinetic study groups. Verapamil was administered to the rats in the interaction groups at a dose of 10 mg/kg for seven days, and saxagliptin was administered orally to all groups at a single dose of 20 mg/kg on the eighth day with the help of gastric gavage. Plasma saxagliptin and 5-hydroxy saxagliptin (5-HS) levels were determined using high pressure liquid chromatography-UV. The non-compartmental method was used to calculate the pharmacokinetic parameters. The half-life ($t_{1/2\lambda z}$) of saxagliptin in the HS group was 3,97 hours, area under the curve ($AUC_{0-\infty}$) value 22,84 h* μ g/mL, mean residence time ($MRT_{0-\infty}$) 5,11 hours, total clearance (Cl/F) 875,3 mL/hr/kg, volume of distribution ($V_{d_{area}/F}$) 5017,51 mL/kg, The peak concentration (C_{peak}) was

$4,8 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$ and the time to reach the peak concentration (T_{peak}) was 1,5 hours. With the combined effect of diabetes and verapamil, an increase was observed in the $t_{1/2\lambda_z}$ and $\text{AUC}_{0-\infty}$ values of saxagliptin, while a decrease was observed in the Cl/F value. Verapamil administration and the presence of a diabetic condition caused an increase in the C_{peak} value of saxagliptin and a decrease in the T_{peak} value. The values of Metabolite to Parent drug Ratio [MPR: ($\text{EAA}_{0-\infty(5\text{-HS})} / \text{EAA}_{0-\infty(\text{Saxagliptin})}$)] were determined as 2,85; 1,5; 2,09 and 1,01 among the HS, HVS, DS and DVS groups, respectively. It was determined that blood glucose levels decreased in all groups with saxagliptin administration, and the decrease was higher in the groups treated with verapamil pre-treatment. The contribution of verapamil to the reduction in blood glucose levels was statistically significant in diabetic rat groups at a higher number of sampling times compared to healthy rat groups. In diabetic patients, verapamil may increase the therapeutic efficacy of saxagliptin. However, since saxagliptin was used in a single dose and was performed on a limited number of rats in this study, determining the pharmacokinetic and pharmacodynamic data with the results that will occur with repeated administration in different populations and determining the mechanisms by which these results are shaped will contribute to the use of saxagliptin and verapamil in T2DM patients.

Keywords: Diabetes, Pharmacokinetic, Rat, Saxagliptin, Verapamil

ÖNSÖZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyon Birimi (BAPK) kapsamında 19.SAĞ.BİL.09 proje numarası ile yürütülen bu araştırmanın gerçekleşmesinde; bana rehberlik eden, çalışmama farklı açılardan bakmamı sağlayan, destek ve bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen başta değerli danışman hocam Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE olmak üzere hocalarım Prof. Dr. Hidayet YAVUZ, Prof. Dr. Sinan İNCE ve Doç. Dr. Ruhi TÜRKMEN'e,

Tez çalışmam sürecinde birikimleriyle bana destek olan Prof. Dr. Fatih Mehmet BİRDANE ve Doç. Dr. Orhan ÇORUM'a,

Son olarak projenin tüm aşamalarında bana katkı veren, doktora sürecim ve hayatımın her noktasında beni destekleyen, emekleri ve sevgisi ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan biricik eşim Arş. Grv. Hülya ATİK'e sonsuz teşekkürler.

Orkun ATİK
Afyonkarahisar
2023

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	I
SUMMARY	III
ÖNSÖZ	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIV
1. GİRİŞ	1
1.1. T2DM	2
1.2. T2DM Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	3
1.2.1. Biguanidler	3
1.2.2. Sülfonilüreler	3
1.2.3. Meglitinidler	4
1.2.4. Tiazolidindionlar	4
1.2.5. SGLT-2 İnhibitörleri	4
1.2.6. İnsülin	5
1.2.7. Amilin Analogları	5
1.2.8. Alfa Glikozidaz İnhibitörleri	5
1.2.9. İncretin Mimetikleri	5
1.2.9.1. GLP-1 Reseptör Agonistleri	7
1.2.9.2. DPP-4 İnhibitörleri	7
1.2.9.2.1. Saksagliptin	8
1.3. T2DM’de Hastalık Seyri	10
1.4. Antihipertansif İlaçlar	11

1.4.1. Kalsiyum Kanal Blokörleri	13
1.4.1.1. Verapamil	14
1.4.1.1.1. Verapamil ve Kalsiyum	15
1.4.1.1.2. Verapamil ve TXNIP	15
1.5. İlaç-İlaç Etkileşimleri	16
1.6. Hipotez ve Amaç	16
2. MATERYAL ve METOT	18
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	18
2.2. Hayvan Materyali	18
2.3. Deneysel Prosedür	18
2.3.1. T2DM Modelinin Oluşturulması.....	19
2.3.2. Farmakokinetik Çalışma Gruplarının Oluşturulması	19
2.4. Kan Glikoz ve Plazma İnsülin Seviyelerinin Belirlenmesi.....	21
2.5. İnsülin Direncinin (HOMA-IR) Değerlendirilmesi	21
2.6. Standartlar ve Stok Solüsyonlar.....	22
2.7. HPLC ve Kromatografik Şartlar	22
2.8. Örneklerin Analiz İçin Hazırlanması	23
2.9. Metot Validasyonu.....	23
2.10. Farmakokinetik Hesaplamalar	24
2.11. Farmakodinamik Analizler	25
2.12. İstatistiksel Analizler	25
3. BULGULAR	28
3.1. Diyabetik Parametreler	28
3.2. Farmakokinetik Parametreler.....	28
3.3. Farmakodinamik Parametreler.....	36
4. TARTIŞMA.....	39

4.1. Diyabetik Parametreler	39
4.2. Farmakokinetik Parametreler.....	40
4.3. Farmakodinamik Parametreler.....	46
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	49
6. KAYNAKLAR.....	50



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

α : Alfa

β : Beta

μL : Mikrolitre

μm : Mikrometre

μg / mL : Mikrogram / mililitre

5-HS: 5-hidroksi saksagliptin

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ACE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim

ANOVA: Analysis of variance (ANOVA)

AS: Adenilil siklaz

ATP: Adenozin trifosfat

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

C_{doruk} : Doruk plazma konsantrasyonu

Cl: Klerens

Cl/F: Total vücut klerensi

CYP3A: Sitokrom P450, aile 3, alt aile A

dk: Dakika

DM: Diabetes mellitus

DNA: Deoksiribo nükleik asit

DPP-4: Dipeptidil peptidaz-4

DS: Diyabetik Saksagliptin Grubu

DVS: Diyabetik Verapamil + Saksagliptin Grubu

EAA: Eğri altında kalan alan

EMA: Avrupa İlaç Kurumu

EMAA: İlk-moment eğrisi altında kalan alan

FDA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi

FK: Farmakokinetik

G₀: 0.saatteki kan glikoz seviyesi

G_t: t zamanındaki kan glikoz seviyesi

GIP: Glikoz bağımlı insülinotropik peptid

GLP-1: Glukagon benzeri peptid-1

gr: Gram

h: Saat

HbA1c: Glikozillenmiş hemoglobin

HOMA-IR: İnsülin direncinin homeostatik model değerlendirmesi

HPLC: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

IC₅₀: İnhibitör konsantrasyon 50

INS-1: Rat insülinoma hücre hattı

ip: Periton içi

K⁺: Potasyum iyonu

kDa: Kilodalton

K_{ATP} kanalı: Adenozin trifosfata duyarlı potasyum kanalı

KKB: Kalsiyum kanal blokörü

L: Litre

LOD: Tespit limiti

LOQ: Hesaplanabilir limit

M: Molarite

MAO: Metabolit-Ana ilaç oranı

mg/dL: Miligram / desilitre

mg/kg: Miligram / kilogram

mm: Milimetre

mmol: Milimol

MRT: Ortalama kalış süresi

mU: Miliünite

n: Örneklem büyüklüğü

NA: Nikotinamid

NAD: Nikotinamid adenin dinükleotit

NF-κB: Nükleer faktör kappa B

ng /mL: Nanogram / mililitre

NEP: Nötral endopeptidaz peptid

nm: Nanometre

Nrf2: Nükleer faktör eritroid 2

P: Anlamlılık (önemlilik) testine ilişkin olasılık değeri

P-gp: P-glikoprotein

pH: Hidrojen potansiyeli

PO: Per oral

PPAR: Peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptörler

ROT: Reaktif oksijen türleri

SD: Standart sapma

S/G: Sinyal / gürültü

SGLT-2: Sodyum-glukoz taşıma proteini-2

SF: Serum fizyolojik

SS: Standart sapma

SS: Sağlıklı Saksagliptin Grubu

STZ: Streptozotosin

SVS: Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin Grubu

$t_{1/2\alpha}$: Terminal eliminasyon yarılanma ömrü

T2DM: Tip 2 diabetes mellitus

T_{doruk} : Doruk konsantrasyona ulaşma zamanı

TXNIP: Tioredoksin etkileşimli protein

UV: Ultraviyole

Vb.: Ve benzeri

V_{dalan}/F : Dağılım hacmi

VK: Varyasyon katsayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. Mide-barsak kanalı mukoza hücrelerinden salgılanan inkretin hormonlarının pankreas üzerine etkileri ve DPP-4 enzimi ile yıkımlanmaları	6
Şekil 1.2. Saksagliptin iskelet formülü.....	10
Şekil 1.3. Verapamil iskelet formülü.....	14
Şekil 3.1. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda yarı-logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri	29
Şekil 3.2. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait yarı-logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Antihipertansif İlaçlar	11
Çizelge 2.1. Deneysel prosedürün şematik gösterimi	27
Çizelge 3.1. Farmakokinetik çalışma gruplarındaki diyabetik parametreler.....	28
Çizelge 3.2. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ratlarda farmakokinetik parametreleri	31
Çizelge 3.3. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) diyabetik ratlarda farmakokinetik parametreleri	31
Çizelge 3.4. Tek saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulanan sağlıklı ve diyabetik ratlarda saksagliptinin farmakokinetik parametreleri	32
Çizelge 3.5. Verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda farmakokinetik parametreleri	33
Çizelge 3.6. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri	34
Çizelge 3.7. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri	34
Çizelge 3.8. Tek saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulanan sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri.....	35
Çizelge 3.9. Verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri	36

Çizelge 3.10. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulamasını takiben sağlıklı ve diyabetik ratlarda saksagliptin ve 5-hidroksi saksagliptine ait eğri altında kalan alanlar 36

Çizelge 3.11. Saksagliptinin oral uygulamasından sonra sağlıklı ratlarda kan glikoz düzeyi (mg/dL) değişiklikleri 37

Çizelge 3.12. Saksagliptinin oral uygulamasından sonra diyabetik ratlarda kan glikoz düzeyi (mg/dL) değişiklikleri 37



1. GİRİŞ

Kan glikoz seviyesinin kontrolü pankreastan sentezlenen ve direkt olarak kana salınan iki hormon ile sağlanır. Pankreasın beta hücrelerinden sentezlenen ve kan glikoz seviyesini azaltıp glisemik kontrolü sağlayan en önemli hormon insülin dir. Kan şekerinin düştüğü durumlarda ise pankreasın alfa hücrelerinden sentezlenen glukagon devreye girip glisemik kontrolün devamını sağlar. Pankreatik adacıkların %80-90'ını insülin üretiminden sorumlu beta hücreleri oluşturur. Bu hücrelerde insülin sentezlenir, granüllerde depo edilir ve salınımı metabolik, hormonal ve nöral faktörler tarafından kontrol edilir (Carvalho vd., 2018).

Diabetes Mellitus (DM) kronik hiperglisemi ile seyreden; karbonhidrat, lipid ve protein metabolizasyonunda bozuklukların yaşandığı, insülin sekresyonunda tamamen ya da kısmen eksiklik ile karakterize metabolik bir hastalıktır (Alam vd., 2014). Yayınlanan verilere göre 2021 yılında dünyada DM hastalığına sahip 537 milyon insan olduğu ve bu sayının 2045'lerde 783 milyon seviyelerine yükseleceği öngörülmektedir (Saeedi vd., 2019; İnt. Kyn. 1). Nüfus artışı ve obeziteyle birlikte olağanüstü morbidite ve mortaliteyle seyreden bu hastalık günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilir. Gelişmekte olan ülkelerde DM hastalarının çoğunluğu 45-65 yaşları arasındayken, gelişmiş ülkelerde 65 ve üzeri yaşlardadır (King ve Rewers, 1993; King vd., 1998). Giderek artan prevalansına ek olarak DM hastalarının bakım maliyetleri de oldukça yüksektir. Diyabetli kişiler için tıbbi harcamalar, diyabetsizlere göre yaklaşık 2,3 kat daha fazladır (American Diabetes Association, 2018). ABD'de yapılan bir araştırmaya göre 2012 yılında DM'den ölen insan sayısının 246.000 civarında olduğu ve bu hastalığa yıllık harcanan paranın 245 milyar dolar seviyelerinde olduğu bildirilmiştir (American Diabetes Association, 2012).

Pankreastaki beta hücrelerinin otoimmün yıkımı ile karakterize ve insülin den tamamen yoksunluğun gözleendiği şekli Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM) olarak adlandırılır (Cnop vd., 2005). İnsülin sekresyonunda kısmen azalma ve/veya perifer dokularda insülin direnci ile karakterize olan ve diyabet vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturan şekli ise Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM)'dir. Ayrıca bazı hastaların Tip 1 veya 2 şeklinde

sınıflandırılması tam olarak kesinleştirilemediğinden, spesifik diyabet türleri tanımlanmıştır (gestasyonel diyabet, yetersiz beslenme ile ilgili diyabet vb.) (Alam vd., 2014).

1.1. T2DM

T2DM; genetik ve çevresel risk faktörlerine bağlı olarak şekillenebilir. İskelet kası, karaciğer ve yağ dokularında artan insülin direnci ve bozulmuş beta hücre işlevi gibi bazı patofizyolojik anormallikler glikoz düzensizliğine yol açabilir. Ayrıca açlık glukagon seviyesinde, bazal hepatik glikoz üretiminde ve açlık serbest yağ asit düzeylerinde gelişen artışlar da T2DM oluşumuna katkı sağlayabilir (Murea vd., 2012).

T2DM tanılı hastalar; hiperglisemi ve metabolik sendrom nedeniyle retinopati, nefropati ve nöropati gibi mikrovasküler komplikasyonlar ve kardiyovasküler, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalık dahil olmak üzere makrovasküler komplikasyonlar açısından artmış risk altındadır (Mantzoros ve Flier, 1995; Ricciardi ve Gnudi, 2021). Bu açıdan T2DM, majör advers kardiyak olaylar, aritmiler ve kalp yetmezliği insidansında artış ile ilişkilidir. Yerleşik koroner arter hastalığı olan bireylerin yaklaşık %70-75'inde DM tanısı veya glikoz düzensizliği vardır. Ayrıca T2DM hastalarının en önemli hastaneye yatış ve ölüm nedeni olarak kardiyovasküler yan etkiler gösterilmektedir (Sardu vd., 2019; Yun ve Ko, 2021).

Dünya genelinde yetişkin insanların %9,2 – 9,8'inde teşhis edilen bu hastalığın insidansının önümüzdeki 20 yılda artması öngörülmektedir (Danaei vd., 2011; Whiting vd., 2011). Amerikan ve Avrupa Diyabet Birlikleri'nin raporlarına göre hastalarda en çok dikkat edilmesi gereken nokta kan glikoz seviyesinin kontrol altında tutulmasıdır. DM hastalarında glikozillenmiş hemoglobin (HbA1c) seviyesinin sağlıklı insanlardaki değer olan %7 ve altına çekilmesi, temel hedeftir (Nathan vd., 2009). 1980'lerden itibaren giderek yaygınlaşan A1c testleri, günümüzde diyabet kontrolünün izlenmesinde önemli bir araç haline gelmiştir. Hemoglobine bağlı glikoz seviyesini gösteren bir değer olan HbA1c, son 2-3 aydaki ortalama kan glikoz düzeyini gösterir ve diyabet hastaları için en güvenilir parametre olarak kabul edilir. Diyabet hastası olmayan bir bireyin

hemoglobinlerindeki glikat oranı yaklaşık olarak %5'tir. Amerikan Ulusal Diyabet, Sindirim ve Böbrek Hastalıkları Enstitüsüne göre normal bir A1c düzeyi, %5,6 veya altında olmalıdır. %5,7 ila %6,4 seviyeleri ise prediyabet (gizli diyabet) durumunu göstermektedir (Ali ve Fonseca, 2013). T2DM hastalarının uzun dönemdeki hedefi HbA1c seviyesi iken; kısa dönem hedefleri de fasting plazma glikoz (açlık kan şekeri) ve post-prandial glikoz (tokluk kan şekeri) seviyelerindeki istenilen değerler olan (sırasıyla) 100 mg/dL ve 140 mg/dL'yi yakalamaktır (Carvalho vd., 2018).

Önceleri T2DM tedavisi, yalnızca kan şekerini düşürmeye odaklanmaktaydı. Ancak bu yaklaşım günümüzde kan şekerinin düşürülmesinin yanı sıra, T2DM'deki patofizyolojik kusurların tersine çevrilmesine ve kardiyak risklerin azaltılmasına doğru kaydı. T2DM'nin çok yönlü doğası göz önüne alındığında, hiperglisemi ve organ hasarı riskini iyileştirmek için birkaç tamamlayıcı ilaç tedavisine ihtiyaç olduğu çeşitli bilim insanlarınınca ifade edilmektedir (Fronzo, 2009; Standl vd., 2019).

1.2. T2DM Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

T2DM tedavisinde kullanılan antidiyabetik ilaçlar aşağıdaki başlıklar halinde incelenebilir.

1.2.1. Biguanidler

Metformin; T2DM tedavisinde sıklıkla tercih edilen, antidiyabetik ilaç denildiğinde ilk akla gelen, halihazırda kullanılan tek biguaniddir. Metformin, karaciğerde adenosin monofosfatla aktive olan protein kinazı aktive ederek, hepatik glikoz alımına neden olur ve mitokondriyal enzimler üzerindeki karmaşık etkiler yoluyla glukoneogenezi inhibe eder (Viollet vd., 2012).

1.2.2. Sülfonilüreler

Sülfonilüreler, K_{ATP} kanallarını bloke etme yetenekleri sayesinde pankreasta insülin salgısını artırarak kan şekerini düşürürler. Ayrıca karaciğerde glukoneogenezi

sınırlarlar. Bunların yanı sıra, lipidlerin yağ asitlerine parçalanmasını ve karaciğerde insülin klerensini de azaltırlar (MacDonald, 1990). Birinci kuşak sülfonilüreler klorpropamid ve tolbutamid etken maddeleri iken; ikinci ve üçüncü kuşak sülfonilüreler glipizid (glidiazinamid), glibenklamid (gliburid), gliklazid ve glimepiriddir (Chaudhury vd., 2017).

1.2.3. Meglitinidler

Meglitinidler (repaglinid, nateglinid ve mitiglinid), 1997'de T2DM tedavisi için onaylanmış sülfonilüre olmayan sekretagolardır. Meglitinidler, sülfonilürelerle aynı mekanizmayı paylaşır; aynı zamanda pankreasın beta hücrelerindeki sülfonilüre reseptörüne de bağlanırlar. Bununla birlikte meglitinidlerin reseptöre bağlanması sülfonilürelerden daha zayıftır ve bu nedenle, uygulanmalarında esneklik olan kısa etkili insülin sekretagoları olarak kabul edilir (Chaudhury vd., 2017).

1.2.4. Tiazolidindionlar

Biguanidler gibi, tiazolidindionlar da insülinin etkisini iyileştirir. Bu grup, çeşitli etken maddeler içermesine rağmen bazı yan etkileri nedeniyle günümüzde sadece rosiglitazon ve pioglitazon etken maddeleri tarafından temsil edilir. Tiazolidindionlar, PPAR'ın (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) agonistleridir ve yağ, kas ve karaciğer dahil olmak üzere birçok dokuda artan glikoz alımını kolaylaştırır. Etki mekanizmaları arasında serbest yağ asidi birikiminin azalması, inflammatuvar sitokinlerin azalması, adiponektin düzeylerinin yükselmesi ve beta hücre bütünlüğünün ve fonksiyonunun korunması yer alır (Chaudhury vd., 2017).

1.2.5. SGLT-2 İnhibitörleri

Sodyum-glikoz kotransporter inhibitörleri, glikozürik ajanlar sınıfındandır. Bu grupta kanagliflozin, dapagliflozin, empagliflozin ve ertugliflozin etken maddeleri yer alır. SGLT-2 inhibitörleri, SGLT-2'yi inhibe etme yeteneği sayesinde proksimal renal

tübülde glikoz reabsorpsiyonunu bloke ederek insülinde bağımsız bir şekilde glikoz seviyelerinde düşüş sağlar (Riser Taylor ve Harris, 2013).

1.2.6. İnsülin

Yeni tanımlanmış T2DM'li ve açıkça semptomatik (kilo kaybı, ketozis gibi katabolik özellikler veya poliüri/polidipsi dahil hiperglisemi özellikleri) ve/veya ciddi şekilde yükselmiş kan glikoz seviyeleri olan (350 mg/dL veya 16,7–19,4 mmol/L veya HbA1C $\geq$ 10–12%) hastalarda insülin tedavisine (ek ajanlarla birlikte veya olmadan) başlanması önerilir (Chaudhury vd., 2017).

1.2.7. Amilin Analogları

Nöroendokrin bir hormon olan amilin, pankreatik beta hücrelerinden insülin ile beraber salgılanır ve tokluk hiperglisemisine karşı etkilidir. Pramlintid (Similin) tarafından temsil edilen bu grup her iki DM hastalığında da kullanılabilir (Kruger vd., 1999).

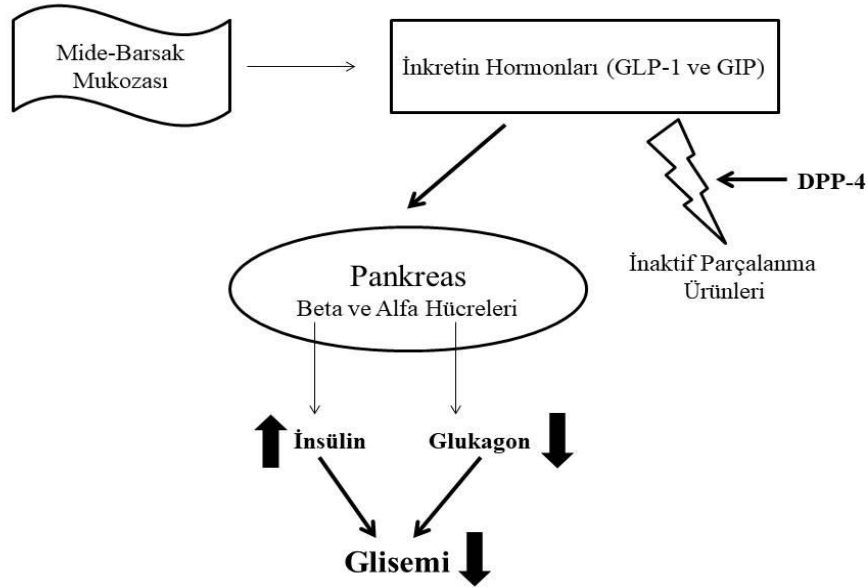
1.2.8. Alfa Glikozidaz İnhibitörleri

Bu ilaçlar barsaktan glikoz absorpsiyonunu geciktirerek etkilerini gösterirler. Alfa glikozidaz inhibitörleri grubunda akarboz ve miglitol etken maddeleri yer alır. Alfa glikozidaz inhibitörleri, ince bağırsaktaki alfa glikozidaz enzimini geri dönüşümlü inhibe ederek, karbonhidrat kompleksinin sindirimini geciktirir ve tokluk glikoz ve insülin düzeylerini düşürürler (Çubuk ve İnce, 2015).

1.2.9. İncretin Mimetikleri

Vücuda glikoz girişi insülin salınımını başlatan en önemli mekanizmadır. Oral yolla alınan glikoz, damar içi yolla alınan glikoza göre insülini daha yüksek oranda tetikler ve bu duruma inkretin etkisi denir. Total insülinin yaklaşık %70'i bu fenomen aracılığıyla salınır. İncretin etkisi barsaktan sentezlenen Glucose-dependent Insulinotropic

Poliptide (Glikoz Bağımlı İnsülinotropik Poliipeptid / GIP) ve Glukagon-like Peptide-1 (Glukagon Benzeri Peptid-1 / GLP-1) isimli iki adet hormonla regüle edilir. Bu inkretin hormonlarının salınımı arttığında insülin sekresyonu artarken, glukagon sekresyonu da azalır. Ayrıca bu hormonlar iştahı azaltarak besin alımını azaltmaya çalışırlar ve mide boşalmasını yavaşlatarak besin maddelerinin barsaktan kana geçmesini geciktirirler (Ali ve Fonseca, 2013). GIP ve GLP-1'in direkt olarak beta hücreleri üzerinde de olumlu etkileri vardır; büyümelerini ve farklılaşmalarını sağlarken ölüm oranını azaltırlar. Ayrıca proinsülin gen transkripsiyon ve translasyonunda aktivasyon artışı yaparak beta hücrelerinde insülin depo edilebilirliğini artırır (Drucker ve Nauck, 2006; Lambeir vd., 2008). GIP ve GLP-1'in yıkımlanmasından sorumlu olan enzim ise Dipeptidil Peptidaz-4 (DPP-4)'tür. GIP'in yarılanma ömrü 5-7 dakika civarı iken GLP-1'in yarılanma ömrü 2 dakikadan bile daha azdır. GLP-1'in yarısından fazlası sistemik dolaşıma girmeden DPP-4 tarafından metabolize edilir. Bu hormonların etkilerinin bu kadar kısa olmaları inkretin bazlı tedaviyi diyabet hastalarında ön plana çıkarmıştır. Özellikle GLP-1; insülin uyarıcı etkisinin yanı sıra oksidatif stres ve apoptozu azaltıcı, antioksidanları ise artırıcı özellikleriyle T2DM hastaları için kritik bir rol üstlenmektedir (Li vd., 2018).



Şekil 1.1: Mide-barsak kanalı mukoza hücrelerinden salgılanan inkretin hormonlarının pankreas üzerine etkileri ve DPP-4 enzimi ile yıkımlanmaları (Kayaalp, 2012).

1.2.9.1. GLP-1 Reseptör Agonistleri

Şu anda mevcut olan GLP-1 reseptör agonistleri eksenatid (eksendin-4), liraglutid, albiglutid, dulaglutid, liksisenatid ve semaglutiddir. Bu ilaçlar, DPP4 tarafından enzimatik bozunmaya karşı artan direnç sergiler (Chaudhury vd., 2017).

1.2.9.2. DPP-4 İnhibitörleri

DPP-4; 220 kDa ağırlığında, çeşitli hücre tiplerinin yüzeyinde bulunabilen, homodimerik tip II transmembran glikoproteini olarak ifade edilen bir serin peptidazdır (Rasmussen vd., 2003). Gastrointestinal sistem, böbrek, safra yolları ile karaciğer, plasenta, uterus, prostat, deri ve lenfositler dahil olmak üzere çoğu dokuda yaygın olarak sentezlenir (Drucker, 2003).

DPP-4 inhibitörleri; insülin salgısının uyarılması, glukagon salgısının inhibisyonu ve dolayısıyla glikoz kontrolünün iyileşmesine katkıda bulunan inkretin hormonu olan GLP-1'in inaktivasyonunu önleyerek etkinliğini gösterirler. Bununla birlikte; insanlar üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada, DPP-4 inhibitör tedavisi (Sitagliptin) ile beraber exendin 9-39 (GLP-1 reseptör antagonisti) uygulamasının, DPP-4 inhibitörünün glikoz düşürücü etkisinin yalnızca ~%50'sini bloke edebildiği belirlenmiştir. Sitagliptinin glukagon ve mide boşalması üzerindeki etkilerinin, GLP-1 reseptör blokajı ile ortadan kaldırıldığı ancak glikoz düşürücü ve insülinotropik etkilerinin ise neredeyse hiç azalmadan devam ettiği ifade edilmiştir (Aulinger vd., 2014). Bu durum; dolaşımdaki GLP-1'in ötesinde DPP-4'e duyarlı başka faktörlerin, glisemik kontrol sırasında inkretin etkisine önemli ölçüde katkıda bulunduğunu göstermektedir. Benzer şekilde başka araştırmacıların yaptığı çalışmaların sonucu olarak, DPP-4 inhibitörlerinin insülinotropik etkilerinin yalnızca GLP-1 üzerindeki etkisine bağlı olmadığı bildirilmiştir (Aulinger vd., 2014; Nauck vd., 2016). DPP-4 inhibitörleri ile tedavi gören hastalarda, özellikle biyoaktif GIP seviyelerinde önemli derecede yükselme gözlenmektedir. Bu durum DPP-4 inhibitörlerinin glisemik kontrolü sağlamasında GLP-1'in yanı sıra GIP hormonunun da kritik rol oynadığı anlamını taşır (Yanagimachi vd., 2017).

GLP-1 hormonunun yıkılmasından DPP-4 enzimi sorumludur. DPP-4 inhibitörlerinin etki mekanizmaları incelendiğinde özellikle GLP-1 hormonu ile olan ilişkisinin (seviyesinin azalmasını engelleyerek) en temel ve bilinen etki olduğu göze çarpar. Ancak, genel anlamda DPP-4 inhibitörlerinin glikoz düşürücü etkilerine yönelik mekanizmalar GLP-1'e bağımlı ve GLP-1'den bağımsız şeklinde iki başlık altında toplanır (Omar ve Ahren, 2014; Scheen, 2015). GLP-1'den bağımsız olan diğer dört olası biyoaktif peptidin; GIP, oksintomodulin, hipofiz adenilat siklaz aktive edici peptid ve stromal hücre kaynaklı faktör-1 α olduğu ifade edilmektedir (Proost vd., 1998; Humpert vd., 2005). Herşeye rağmen GLP-1'den bağımsız mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

T2DM tedavisinde DPP-4 enzimini inhibe etme düşüncesi yaklaşık 30 yıl önce ortaya atılmıştır (Deacon vd., 1995). İlk olarak 2006 yılında kullanıma sunulan sitagliptin ile beraber DPP-4 inhibitörü olarak onay alan toplam on iki adet etken madde mevcuttur. Sitagliptini (Plosker, 2014) takiben vildagliptin (Keating, 2014), saksagliptin (Dhillon, 2015), alogliptin (Keating 2015) ve linagliptin (Lajara, 2012) piyasaya sürülmüştür. Bu ilk onaylanan DPP-4 inhibitörleri, tüm dünyada T2DM tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlardır. Onaylanan ancak diğerleri kadar ön planda olmayan diğer DPP-4 inhibitör üyeleri ise anagliptin (Nishio vd., 2015), gemigliptin (Kim vd., 2013), teneligliptin (Scott, 2015), evogliptin (McCormack, 2015), omarigliptin (Biftu vd., 2014), trelagliptin (Kaku, 2015), gosogliptin (Sharma vd., 2012) ve setagliptindir (Lu vd., 2022). Bu ilaçlar arasında omarigliptin ve trelagliptin; haftada bir kez kullanılan, yeni nesil DPP-4 inhibitörleridir (Stoimenis vd., 2017).

1.2.9.2.1. Saksagliptin

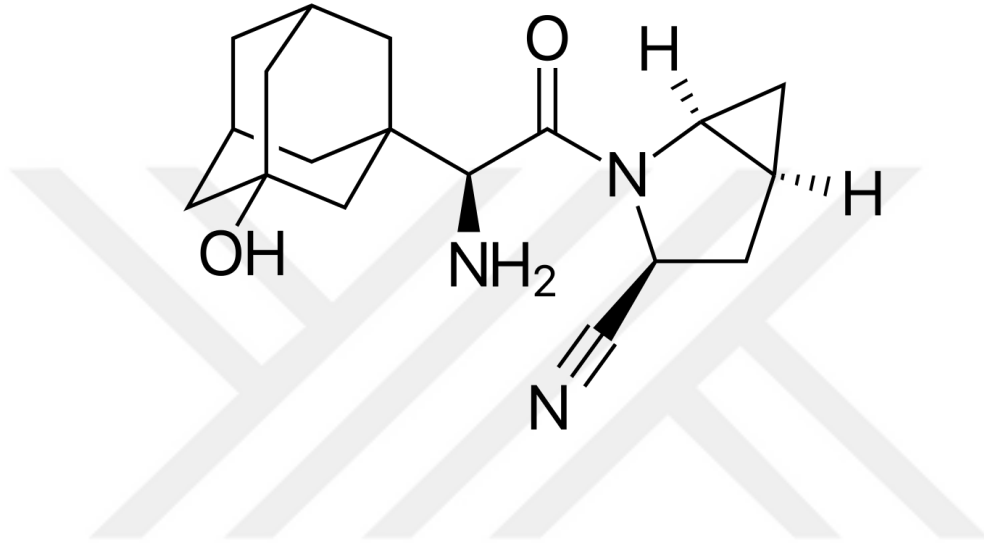
Saksagliptin ($C_{18}H_{25}N_3O_2$); güçlü ve seçici bir DPP-4 inhibitörü olup oral kullanıma uygun antidiyabetik bir ilaçtır. 2009 yılında Food and Drug Administration (FDA) ve European Medicines Agency (EMA)'dan onay alan saksagliptin, inkretin hormonlarının yıkılmasını azaltarak glisemik kontrolü sağlar (Drucker ve Nauck, 2006). Siyanopirrolidin bazlı ve peptidomimetik yapıda olan saksagliptin, DPP-4'e kovalent bağ ile bağlanır ve enzim inhibisyonunu başlatır (Havale ve Pal, 2009; Deacon, 2011).

Terapötik indeksi oldukça geniş olan saksagliptinin, 2,5 mg'dan 400 mg'a kadar olan dozlarında güvenle kullanılıp insanlarda GLP-1 seviyesini plasebo gruplarına göre 1,5-3 kat artırdığı ifade edilmiştir. İn vitro ortamda DPP-4 inhibitörlerinin değerlendirildiği bir araştırmada ise; saksagliptinin 50 nmol/L IC₅₀ değeri ile DPP-4'e karşı en yüksek inhibitör etkinlik gösteren ikinci DPP-4 inhibitörü olduğu belirlenmiştir (Baetta ve Corsini, 2011).

Saksagliptin [(S)-3-hidroksiadamantilglisin-Lcis-4,5-methanoprolinnitril] vücuda alındıktan sonra karaciğerde yüksek oranda metabolize olup aktif metaboliti olan 5-hidroksi saksagliptine (5-HS) [(S)-3,5-dihidroksiadamantilglisin-Lcis-4,5-methanoprolinnitril] dönüşür. CYP3A enzimlerinin metabolizasyonu sonucu oluşan 5-HS'nin etkinliği saksagliptinin yarısı kadardır. Gliptinler arasında CYP3A enzim ailesinin en çok ilgi duyduğu DPP-4 inhibitörü olan saksagliptin, aktif metabolitine dönüşmesi nedeniyle de diğer gliptinlerden ayrılır (Scheen, 2010). 2,5 – 50 mg/kg dozlarındaki oral biyoyararlanım değeri %70 civarında olan saksagliptin, vücutta oldukça yüksek bir dağılım hacmi gösterir. En yüksek konsantrasyona ulaştığı dokular bağırsak ve böbrek dokuları olan saksagliptinin renal ve hepatik klerensi söz konusudur. Hem saksagliptin hem de 5-HS plazma proteinlerine oldukça düşük oranda bağlanır (Boulton, 2017).

DPP-4 inhibitörlerinin, diğer ilaçların vücuttaki hareketlerini önemli ölçüde değiştirdiğine dair bir araştırma mevcut değildir. Bunun yanı sıra DPP-4 inhibitörleri P-glikoprotein (P-gp) substratlarıdır ve yapılan etkileşim çalışmaları sonucu, DPP-4 inhibitörlerine ait farmakokinetik parametrelerde değişimler gözlemlenmiştir (Vanhove vd., 2017). Ancak DPP-4 inhibitörleri terapötik indeksi geniş ilaçlar olarak kabul edilir. Bu etkileşim çalışmalarında DPP-4 inhibitörleri için değişim gösteren parametrelere rağmen hipoglisemi durumu söz konusu değildir (Krishna vd., 2007). Buna rağmen saksagliptin, DPP-4 inhibitörleri içinde istisnai bir ilaç olarak bilinir. Çünkü bir P-gp substratı olmasının yanı sıra CYP3A4/5 tarafından önemli ölçüde metabolize edilir ve bu nedenle ilaç-ilac etkileşim olaylarına en yatkın olan DPP-4 inhibitörü olarak gösterilir. Vücutta hemen hemen her dokuda bulunan P-gp, effluks (dışa atım) karakterde bir taşıt protein olup substratı olan ilaçların vücuttaki dağılımında;

dolayısıyla farmakokinetik profilinde oldukça kritik bir rol oynar. P-gp'nin aktivitesi sadece intirinsik olaylara bağılı olmayıp; ilaç kullanımı, kalıtsal problemler, tüketilen diyet ve çeşitli hastalıklar gibi çevresel faktörlere bağılı olarak değişiklik göstermektedir (Scheen, 2010). T2DM hastalarında da tıpkı CYP enzimlerinde olduğu gibi P-gp sentezinde değişiklikler olduğu çeşitli çalışmalarca ortaya konulmuştur (Dostalek vd., 2011; Kobori vd., 2013).



Şekil 1.2: Saksagliptin iskelet formülü (Recommended INN: List 54)

1.3. T2DM'de Hastalık Seyri

T2DM, patofizyolojik olarak oldukça çeşitlilik gösterebilen bir hastalıktır. Genelde bu hastalığa sahip bireylerde kan lipid ve yangısal mediyatörlerin seviyelerinde artış, immun sistemde bozukluk, nitrik oksit seviyesinde azalma (damar sertliği) ile kemik iliği, böbrek, sinir ve göz dokularında hasar oluşması gibi durumların biri veya birden fazlası gözlenebilmektedir (Avogaro ve Fadini, 2014). Ancak T2DM hastalarında gözlenen en önemli komplikasyonlar, kardiyovasküler rahatsızlıklardır. Yapılan araştırmalarda DM hastalarının %50'sinden fazlasında hipertansiyon olduğu belirlenirken; kalp krizi, felç, aritmi, aortik anövrizma vb komplikasyonların görülme ihtimalinin 2 kat fazla olduğu ifade edilmektedir (Emerging Risk Factors Collaboration, 2010).

T2DM hastalarında diğer dikkat çekici durum ise ilaçların farmakokinetik profillerinde değişime neden olabilmesidir. Özellikle büyük oranda renal yolla atılan ilaçların, T2DM hastalığına bağlı olarak şekillenebilen renal hasar nedeniyle vücuttaki hareketleri değişiklik gösterebilmektedir. Bunun yanı sıra diğer bir önemli husus ise ilaçların farmakokinetik profilleri üzerine direkt etkili olan enzimler ve taşıyıcı proteinlerdeki ekspresyon artışı ve/veya azalışıdır (Okabe ve Hashizume, 1994; Cashion vd., 2004). Deneysel diyabet modeli oluşturularak yapılan farmakokinetik çalışmalarda çelişkili sonuçların ortaya çıktığı gözlemlenmektedir. Örneğin Gour vd. (2021),’in ratlar üzerinde gerçekleştirdiği bir araştırmada tüberküloz ilacı olan bedakuilinin sağlıklı ve diyabetik ratlardaki farmakokinetik profili incelenmiştir. Sağlıklı ratlarda bedakuiline ait C_{dorum} değeri 482 ng/mL, $EAA_{(0-\infty)}$ değeri 6137 ng.sa/mL olarak bulunurken; diyabetik ratlarda bu değerler sırasıyla 259 ng/mL ve 3673 ng.sa/mL olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara zıt olarak Li vd. (2012),’nin yine ratlar üzerinde gerçekleştirdiği diğer bir araştırmada T2DM tedavisinde kullanılan bir ilaç olan glibenklamidin sağlıklı ratlardaki C_{dorum} değeri 0,259 µg/mL, $EAA_{(0-720 \text{ dk})}$ değeri 57,752 mg.dk/L olarak belirlenirken; diyabetik ratlarda bu değerler sırasıyla 0,910 µg/mL ve 321,24 mg.dk/L olarak tespit edilmiştir. Farklı araştırmalar sonucu T2DM hastalığının C_{dorum} , $t_{1/2}$, EAA ve Cl gibi önemli farmakokinetik parametrelerde canlı türü ve ırkı, hastalığın seyri, çalışma ortam koşulları ya da kullanılan ilaç farklılığı gibi sebeplerden dolayı farklı neticelerin ortaya çıkabildiği gözlenebilmektedir.

1.4. Antihipertansif İlaçlar

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar aşağıda verilen tablodaki gibi sınıflandırılabilir (İnt. Kyn. 2).

Çizelge 1.1. Antihipertansif İlaçlar

1.DİÜRETİKLER

1.a. Tiyazid Ailesi (*Bendroflumetiyazid, Benztiazid, Klopamid, Klortalidon, Klorotiazid, Siklotiazid, Hidroklorotiazid, İndapamid, Mefrusid, Metolazon ve*

Ksipamid)

1.b. Kıvrım Diüretikler (*Furosemid, Bumetanid, Etakrinik asit, Torsemid, Azosemid, Muzolimin, Piretanid ve Tripamid*)

1.c. K⁺ Tutucu Diüretikler (*Amilorid ve Triamteren*)

1.d. Aldosteron Reseptör Antagonistleri (*Spironolakton, Eplerenon, Canrenon, Atekanrenon*)

2.ADRENERJİK SİNİR SİSTEMİ ANTAGONİSTLERİ

2.a. Merkezi Etkililer (*Klonidin, Guanfasin, Guanabenz, α-metildopa, Rilmenidin ve Moksonidin*)

2.b. Periferik Etkililer

2.b.1. Adrenerjik Nöron Blokörleri (*Guanedrel, Guanetidin, Rauwolfia Alkaloidleri, Debrisokuin ve Betanidin*)

2.b.2 Gangliyon Blokörleri (*Hekzametonyum, Mekamilamin, Pentolinyum ve Trimethafan*)

2.c. Adrenerjik Reseptör Blokörleri

2.c.1. α Reseptör Blokörleri (*Prazosin, Terazosin, Doksazosin, Urapidil, Fentolamin, Fenoksibenzamin, Tolazolin, Dibenamin ve Ergot Alkaloidleri*)

2.c.2. β Reseptör Blokörleri (*Atenolol, Betaksolol, Bisoprolol, Esmalol, Metoprolol, Asebutolol, Seliprolol, Nadolol, Propranolol, Sotalol, Tertalolol, Timolol, Alprenolol, Oksprenolol ve Pindolol*)

2.c.3. α ve β Reseptör Blokörleri (Miks Etkililer) (*Labetalol, Busindolol ve Karvedilol*)

3.RENİN-ANJİYOTENSİN SİSTEMİNİ ETKİLEYEN İLAÇLAR

3.a. ACE İnhibitörleri (*Kaptopril, Alasepril, Fentiapril, Pivalopril, Zofenopril, Enalapril, Perindopril, Trandopril, Ramipril, Kuinapril, Delapril, Silazapril,*

Benazepril, Lisinopril, Pentopril ve Fosinopril)

3.b. Anjiyotensin II Reseptör Antagonistleri (*Losartan, Valsartan, Kandesartan, Eprosartan, İrbesartan, Tasosartan ve Telmisartan*)

4.DAMAR DÜZ KASLARI ÜZERİNE ETKİLİ İLAÇLAR

4.a. Kalsiyum Kanal Blokörleri (*Nifedipin, Felodipin, Nikardipin, İsradipin, Nisoldipin, Nitrendipin, Amlodipin, Lasidipin, Verapamil, Gallopamil ve Diltiazem*)

4.b. Potasyum Kanal Açıcılar (*Pinasidil, Nikorandil, Diazoksid, Minoksidil Sülfat ve Kromakalin*)

4.c. Doğrudan Damar Düz Kasını Gevşetici İlaçlar (*Sodyum Nitroprussid, Hidralazin ve Dihidralazin*)

5.YENİ GELİŞTİRİLMEKTE OLAN İLAÇLAR

5.a. Nötral Endopeptidaz Peptid (NEP) İnhibitörleri (*Sinorfan, Tiyorfan ve Omapatrilat*)

5.b. Endotelin I Reseptör Antagonistleri (*Bosentan ve Fosforamidon*)

5.c. Renin İnhibitörleri (*Pepstatin, Norstatin, Diflorostatin ve Silostatin*)

5.d. Diğerleri (*Serotonin Antagonistleri, Vazopressin Antagonistleri, Adrenomedullin ve Adenosin*)

1.4.1. Kalsiyum Kanal Blokörleri

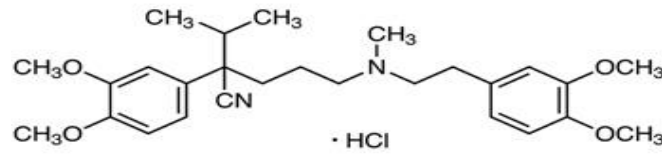
Kalsiyum kanal blokerleri (KKB'ler) ya da kalsiyum kanal antagonistleri, birçok endikasyon için yaygın olarak kullanılmaktadır. Kardiyovasküler endikasyonları arasında hipertansiyon, koroner spazm, anjina pectoris, supraventriküler disritmiler, hipertrofik kardiyomiyopati ve pulmoner hipertansiyon bulunur. Bunlara ek olarak Raynaud fenomeni, subaraknoid kanama ve migren baş ağrıları için de reçete edilirler. Bu ajanlar dihidropiridinler ve dihidropiridin olmayanlar olmak üzere iki ana kategoride sınıflandırılabilir. Dihidropiridin olmayanlar arasında verapamil, gallopamil ve

diltiazem bulunurken; dihidropiridinler sınıfı da amlodipin ve nikardipin gibi sonu “dipin” ile biten diğer etken maddeleri içerir (Dabush-Elisha vd., 2019; Kim vd., 2019a).

KKB’ler; kalp, damar düz kasları ve pankreastaki L-tipi uzun etkili voltaja bağımlı kalsiyum kanallarına bağlanarak kalsiyumun hareketini bloke ederler. Esas kullanım alanlarının yanında; yan etkilerinin az olması, serum lipid ve glikoz düzeylerinin kontrolüne katkıda bulunmaları, ateroskleroza yavaşlatmaları ile diyabetik kardiyomiyopati ve kronik renal bozuklukların gelişmesini engellemeleri gibi etkileri sayesinde DM hastalarında gelişen kardiyovasküler rahatsızlıklarda en çok tercih edilen ilaç gruplarından biridir (Godfraind, 2017).

1.4.1.1. Verapamil

İlk jenerasyon KKB’lerden biri olan verapamil ($C_{27}H_{38}N_2O_4$), 1960’ların ortalarında fenilalkilamin sınıfı kalsiyum kanal blokörü olarak bulunmuştur. Ana koroner ve sistemik arterlerin genişlemesine neden olur ve miyokardiyal kontraktiletiyi azaltır (Fleckenstien, 1977). Bu etkileri sayesinde hipertansiyon (Lewis vd., 1978), supraventriküler taşiaritmi (Krikler ve Spurrell, 1974) ve anjina pektoris (Parodi vd., 1979) gibi hastalıklarda kullanılır.



Şekil 1.3: Verapamil iskelet formülü (İnt. Kyn. 3)

1.4.1.1.1. Verapamil ve Kalsiyum

Verapamilin klasik etkisi hücreye kalsiyum influksunu (içe alım) azaltmaktır. Pankreastaki beta hücrelerinden insülin sekresyonu gerçekleşmesi de ortamdaki kalsiyum miktarına bağlıdır. DM hastalarında beklenen sonuç verapamil kullanıldığında prognozun daha da kötüye gitmesidir. Ancak tam da bu aşamada başka bir yolak devreye girer. Verapamil kullanılıp hücre içine kalsiyum alımı engellendiğinde; bir feedback mekanizması olarak adenilil siklaz (AS) enziminin etkinliği artar. AS'nin etkisiyle cAMP seviyesi artar, etkisi ve seviyesi artan cAMP, endoplazmik retikulumda depo edilmiş kalsiyumun salınmasını sağlar ve böylece hücre dışından gelmesi beklenen ancak verapamil ile engellenmiş olan kalsiyum hücre içinden karşılanmış olur. Ayrıca cAMP, beta hücrelerinin en önemli regülatörüdür; insülin sentezine, hücre farklılaşmasına/proliferasyonuna katkıda bulunur ve hücreleri apoptoza karşı korur (Seino ve Shibasaki, 2005; Altarejos ve Montminy, 2011; Bergantin vd., 2013; Caricati-Neto vd., 2015).

1.4.1.1.2. Verapamil ve TXNIP

T2DM hastalarında tedaviyi zorlaştıran en önemli olay beta hücrelerinde kütle/fonksiyon kaybı ve apoptoz şekillenmesidir. Beta hücrelerinde apoptoz gelişmesini sağlayan en önemli regülatörün ise Thioredoxin-interacting protein (Tioredoksin Etkileşimli Protein / TXNIP) olduğu çeşitli çalışmalarca ortaya konulmuştur. Ayrıca TXNIP, oksidatif stres regülasyonu ve inflammasyon şekillenmesi gibi vücut için zararlı gelişmelere de katkıda bulunur (Lane vd., 2013). Streptozotosin (STZ) ile DM oluşturulmuş farelerde TXNIP'yi üreten geni silinmiş olan grupta, normal genetik yapıda olan gruba göre beta hücrelerinde apoptozun 50 kat daha az gözlenmesi bu proteinin ne kadar zararlı olduğunu göstermektedir (Chen vd., 2008). TXNIP'nin hücre içinde sentezlenebilmesi için gerekli olan yolak kalsiyuma bağlı protein fosfataz 2B sinylidir. Verapamil kullanılıp hücre içine kalsiyum girişi engellendiğinde; insülin sekresyonunda olduğu gibi ikinci bir yolak devreye giremez, TXNIP sentezi şekillenemez ve beta hücrelerinde fonksiyon artışı ile apoptozunda azalış meydana gelir. Rat adacık (INS-1) ve insan adacık hücrelerinde yapılan in vitro çalışmalar verapamilin,

TXNIP sentezinde azalma gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur (Cha-Molstad vd., 2012; Carvalho vd., 2018). Diğer KKB'lerin de TXNIP sentezinde azalma yapabildiği ancak bu konuda en etkili ajanın verapamil olduğu ifade edilmektedir. TXNIP sentezinin engellenmesi baz alınarak yapılan bir çalışmada diltiazem ve verapamil karşılaştırılmış ve diltiazemin TXNIP sentez inhibisyonu yapma etkisinin verapamilin etkisinin ancak %50'si oranında olduğu belirlenmiştir (Xu vd., 2012).

1.5. İlaç-İlaç Etkileşimleri

Birden fazla ilaçla tedavi gören bir hastada karşılaşılması en muhtemel senaryolardan biri, ilaçların birbirleriyle etkileşime girmesidir. İlaç-ilaç etkileşimleri, iki veya daha fazla ilaç kombinasyon halinde kullanıldığında ortaya çıkabilir (Baxter ve Preston, 2010). Bu tür etkileşimler, ilaçların etkinliğini artırabilir veya zayıflatabilir, ciddi vakalarda ise hayatı tehdit edebilen istenmeyen ilaç reaksiyonlarına neden olabilir (Classen vd., 1997; Agarwal vd., 2020). Artan sayıda onaylanmış ilaçla birlikte, ilaçlar arasındaki etkileşim olasılığı da buna bağlı olarak artmaktadır (Khorı vd., 2011). İlaça bağlı şekillenen yan etkilerin en önemli nedenlerinden biri kabul edilen ilaç-ilaç etkileşimleri, farmakokinetik ve farmakodinamik etkileşim olarak iki şekilde incelenebilir (Palleria vd., 2013).

DM gibi patofizyolojik olarak karmaşık seyreden hastalıklarda birden fazla ilaç kullanımı oldukça yaygındır. Buna rağmen hastaların %50'den daha azı istenen glisemik hedeflere ulaşma başarısı gösterebilmektedir. Ayrıca beta hücre fonksiyonunda kalıcı hasar, kilo alımı ve hipoglisemi gibi endişeler antidiyabetik ilaçların bazılarının klinik faydalarını sınırlamaktadır (Braga vd., 2012; Wong vd., 2012).

1.6. Hipotez ve Amaç

Hipertansif T2DM hastalarında sıklıkla tercih edilen verapamil; aynı zamanda P-gp taşıyıcı proteini ve CYP3A sınıfı enzimlerinin inhibitörüdür (Hellum ve Nilsen, 2008; Wessler vd., 2013). Verapamil ile P-gp taşıyıcı proteini ve CYP enzimleri substratı olan pek çok ilacın klinik olarak anlamlı etkileşim gösterdiği bildirilmiştir (Chintala vd.,

2013; Elazab ve Hsu, 2021). Saksagliptinin, P-gp ve CYP3A4'ün substratı olması bu iki ilacın kombine kullanımında olası bir etkileşim şekillenebileceğini düşündürmektedir.

Sağlıklı deneklerde yapılan çalışmalarda verapamil uygulamasına bağlı görülen farklılıklara, bir de diyabetik koşullar eklendiğinde etkileşim süreçlerinin nasıl ilerleyeceği tahmin edilemeyebilir. Çünkü T2DM hastalığının vücutta pek çok fizyolojik değişikliklere yol açtığı (Roghani vd., 2013) ve değişen fizyolojik durumun uygulanan ilaçların farmakokinetiğini etkileyebileceği (Lavasanı vd., 2013; Dong vd., 2018) bildirilmiştir. Ayrıca diyabetik hastalarda antidiyabetik tedavi ile kombine bir şekilde hipertansiyon tedavisinin uygulanabileceği (Emerging Risk Factors Collaboration, 2010) dikkate alındığında; verapamil uygulanan T2DM modeli oluşturulmuş ratlarda saksagliptinin farmakokinetiğinin etkilenebileceği hipotez edildi. Elde edilecek sonuçların ışığında T2DM hastalarında saksagliptinin tek ve verapamil ile kombine kullanım sonucu etkinliğinin ortaya konması hedeflendi. Bununla beraber, sonuçlar değerlendirildiğinde T2DM hastalarında antihipertansif olarak tercih edilebilecek verapamilin avantajları ve dezavantajları ile birlikte antidiyabetik tedavi rejimine nasıl etki edebileceğinin görülmesine katkı sağlayacağı düşünüldü.

Yapılan literatür taramalarında verapamil uygulanan T2DM modeli oluşturulmuş ratlarda saksagliptinin farmakokinetiği ile ilgili herhangi bir veriye erişilememiştir. Bu çalışmanın temel amacı sağlıklı ve nikotinamid + streptozotosin (NA+STZ) ile indüklenmiş deneysel T2DM modeli oluşturulan ratlarda verapamil uygulanmasının 20 mg/kg dozunda oral yolla uygulanan saksagliptinin farmakokinetiği üzerine etkisinin belirlenmesi ve farmakodinamik açıdan da kan glikoz düzeyleri üzerine olan etkilerini karşılaştırmaktır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Saksagliptin standardı (%99) Acros Organics (United Kingdom)'dan, 5-hidroksi saksagliptin standardı (%99) Toronto Research Chemicals (Toronto, Canada)'dan ve verapamil hidroklorid standardı (%99) ise Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)'den temin edildi. Analitik saflıktaki metanol (%99,9) ve asetonitril (%99,9) Merck (Darmstadt, Germany)'den; ortofosforik asit (%85), etil asetat (%99,5) ve formik asit (%98) ise Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)'den temin edildi. T2DM modelinde kullanılan nikotinamid (NA; %99) Acros Organics (United Kingdom)'dan, streptozotosin (STZ; %95) Cayman Chemical Company (Michigan, USA)'den temin edildi. Saksagliptin hidroklorür (Onglyza 5 mg film kaplı tablet, AstraZeneca, Mt. Vernon, USA)'in tablet formülasyonu (10 tablet, 12,5 mL serum fizyolojikte hazırlandı; 4 mg/mL) oral uygulama için kullanıldı. HPLC analizlerinde bidistile su kullanıldı.

2.2. Hayvan Materyali

Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 150-200 g ağırlığındaki 212 adet erkek Wistar Albino ratı çalışma süresince aynı merkezde barındırıldı. Hayvanlar; bağıl nem ($40 \pm 3\%$), sıcaklık (22 ± 1 °C) ve 12 saat karanlık/12 saat aydınlık döngüsü koşullarında polipropilen kafeslerde tutuldu ve ad-libitum standart pelet yem ve su tüketmeleri sağlandı. Hayvanlarla ilgili tüm uygulamalar Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (Onay No: 49533702 / 71) onayı ile gerçekleştirildi.

2.3. DeneySEL Prosedür

212 adet rat rastgele olacak şekilde dört ana gruba ayrıldı (n=192). Kalan ratlar ise metot validasyon çalışmalarında kullanıldı (n=20).

2.3.1. T2DM Modelinin Oluşturulması

Ratlarda T2DM modeli, Abdellatief vd. (2017), metodunda (NA-STZ modeli) bazı değişiklikler yapılarak indüklendi. 12 saat boyunca aç bırakılan ratlara 110 mg/kg dozunda NA (44 mg/mL, serum fizyolojikte, bir rata uygulanan hacim 0,35 – 0,5 mL) intraperitoneal (ip) yolla uygulandıktan 15 dakika sonra 80 mg/kg dozunda STZ (pH:4,5; 0-4°C sıcaklığındaki 0.1 M sitrat tamponu içerisinde) yine ip yolla uygulandı. 7.gün yapılan ölçümde tüm ratların açlık kan glikoz düzeylerinin istenilen düzey olan 200 mg/dL'nin (11,1 mmol/L) üstünde olduğu görüldü (%100 başarı) ve bu metodun T2DM modelini başarıyla indüklediği belirlendi. Benzer şekilde bazı çalışmalar da NA-STZ kombinasyonu ile T2DM geliştirmek için daha yüksek STZ konsantrasyonlarını tercih etmiştir (Chatuphonprasert vd., 2014; Gumuslu vd., 2018). Çalışma prosedüründe, STZ uygulamasına bağlı olarak ratların hipoglisemik şoka girmesini engellemek adına STZ uygulamasının olduğu ve bir sonraki gün sularına sakkaroz ilave edildi (% 10).

2.3.2. Farmakokinetik Çalışma Gruplarının Oluşturulması

12 saat boyunca aç bırakılan 192 adet ratın 0.gün ağırlıkları tartıldı. Ratlar rastgele ikiye bölünerek sağlıklı (n=96) ve T2DM (n=96) gruplarını oluşturmak üzere uygulamalara başlandı. 96 adet rata NA-STZ uygulamaları yapılarak ratların diyabetik olmaları sağlandı ve diğer ratlara da STZ ve NA'nın çözücülerini olan sitrat tamponu ve serum fizyolojik uygulamaları yine aynı şekilde ip yolla yapıldı. Her iki grubun da kendi içinde tekrar ikiye ayrılmasıyla saksagliptin ve verapamil + saksagliptin grupları oluşturuldu.

1.Sağlıklı saksagliptin grubu (SS, n=48): Bu gruptaki ratlara 0.gün serum fizyolojik + sitrat tamponu yapıldı ve çalışmanın 35.gününden başlayarak 7 gün boyunca her sabah oral yolla serum fizyolojik uygulandı. İlaç uygulamasından önceki 8 saat boyunca aç bırakılan ratlara, kuyruk veninden birkaç damla kan temininden sonra (0.dk kan glikoz tayini) 42.günde saksagliptin tek doz 20 mg/kg dozunda gastrik gavaj yardımıyla oral yolla uygulandı.

2.Sağlıklı verapamil + saksagliptin grubu (SVS, n=48): Bu gruptaki ratlara 0.gün serum fizyolojik + sitrat tamponu yapıldı ve çalışmanın 35.gününden başlayarak 7 gün boyunca her sabah oral yolla 10 mg/kg dozunda verapamil (4 mg/mL, serum fizyolojikte, bir rata uygulanan hacim 0,35 – 0,5 mL) uygulandı (Liu vd., 2019). İlaç uygulamasından önceki 8 saat boyunca aç bırakılan ratlara, kuyruk veninden birkaç damla kan temininden sonra (0.dk kan glikoz tayini) 42.günün sabahı saksagliptin tek doz 20 mg/kg dozunda gastrik gavaj yardımıyla oral yolla uygulandı.

3.Diyabetik saksagliptin grubu (DS, n=48): Bu gruptaki ratlara 0.gün 110 mg/kg dozunda NA ip yolla uygulandıktan 15 dakika sonra 80 mg/kg dozunda STZ yine ip yolla uygulandı. 7.gün yapılan değerlendirmede her bir ratın kan glikoz düzeylerinin 200 mg/dL'nin üzerinde olduğunun belirlenmesiyle, ratların diyabetik olduğu saptandı. Ratlara, çalışmanın 35.gününden başlayarak 7 gün boyunca her sabah oral yolla serum fizyolojik uygulandı. İlaç uygulamasından önceki 8 saat boyunca aç bırakılan ratlara, kuyruk veninden birkaç damla kan temininden sonra (0.dk kan glikoz tayini) 42.günün sabahı saksagliptin tek doz 20 mg/kg dozunda gastrik gavaj yardımıyla oral yolla uygulandı.

4.Diyabetik verapamil + saksagliptin grubu (DVS, n=48): Bu gruptaki ratlara 0.gün 110 mg/kg dozunda NA ip yolla uygulandıktan 15 dakika sonra 80 mg/kg dozunda STZ yine ip yolla uygulandı. 7.gün yapılan değerlendirmede her bir ratın kan glikoz düzeylerinin 200 mg/dL'nin üzerinde olduğunun belirlenmesiyle, ratların diyabetik olduğu saptandı. Ratlara, çalışmanın 35.gününden başlayarak 7 gün boyunca her sabah oral yolla 10 mg/kg dozunda verapamil (4 mg/mL, serum fizyolojikte, bir rata uygulanan hacim 0,35 – 0,5 mL) uygulandı (Liu vd., 2019). İlaç uygulamasından önceki 8 saat boyunca aç bırakılan ratlara, kuyruk veninden birkaç damla kan temininden sonra (0.dk kan glikoz tayini) 42.günün sabahı saksagliptin tek doz 20 mg/kg dozunda gastrik gavaj yardımıyla oral yolla uygulandı.

T2DM modelinin başarıyla oluşturulduğunun görülmesi amacıyla tüm ratlardan (n=192) 35.gün aç şekilde tekrar tartıldıktan sonra kuyruk venlerinden insülin enjektörü yardımıyla alınan 0,4 – 0,6 mL kandan; kan glikoz düzeyleri ve bu kandan elde edilen

plazmada insülin düzeyleri belirlendi. İlaç uygulamaları, STZ'nin herhangi bir toksik etkisinden kaynaklanabilecek komplikasyonların önüne geçebilmek için STZ enjeksiyonundan sonraki 28.günde (çalışmanın 35.günü) gerçekleştirildi (Hu vd., 2011). Ayrıca şekillendirilen T2DM modeline bağlı olarak vücutta gelişmesi muhtemel fizyolojik değişikliklerin gerçekleşebilmesi için bu süre beklendi.

Dört grupta saksagliptin uygulamasını takiben her örnekleme zamanı için 6 adet rattan 0,17; 0,33; 0,5; 0,75; 1.; 1,5.; 2.; 3.; 4.; 5.; 6.; 7.; 8.; 10.; 12. ve 18. saatlerde hafif eter anestezisi altında retro-orbital pleksuslarından 0,4 – 0,6 mL hacminde kan örnekleri temin edildi. 6 adet rattan iki ardışık örnekleme zamanında (0,17 ile 0,33; 0,5 ile 0,75 gibi) sağ ve sol pleksus olmak üzere toplamda iki sefer kan örnekleri toplandı. Bu metotla; anesteziden kaynaklı şekillenebilecek farklılıkların önüne geçmek ve minimum sayıda hayvan kullanarak doğru bir analiz yapabilmek amaçlanmıştır. Ratlar, ikinci kan alımını takiben hafif eter anestezisi altındayken servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi edildi. Kan örnekleri cam hematokrit tüpleri aracılığıyla heparinize edilmiş (%0,5) 2 mL'lik eppendorf tüplere (VWR; Radnor, PA, USA) toplandı ve 3100 g'de 10 dk boyunca santrifüj edildi (Heraeus Megafuge 8R, Thermo Fisher Scientific, MA, USA). Elde edilen plazma örnekleri analiz zamanına kadar (30 gün) -20°C (UDD 300 BK, Uğur, Türkiye)'de saklandı.

2.4. Kan Glikoz ve Plazma İnsülin Seviyelerinin Belirlenmesi

Kan glikoz düzeyleri glikometre [lifecek silver GH82; Tianjin, China] ve plazma insülin düzeyleri ise ticari olarak temin edilen ELISA kiti [(Bioassay Technology Laboratory; Zhejiang, China), absorbans 450 nm, (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific, MA, USA)] aracılığıyla üreticinin talimatları izlenerek belirlendi.

2.5. İnsülin Direncinin (HOMA-IR) Değerlendirilmesi

HOMA-IR (Homeostatic Model Evaluation of Insulin Resistance / İnsülin Direncinin Homeostatik Model Değerlendirmesi) çalışmanın 35.gününde belirlenen açlık kan

glikoz ve plazma insülin düzeyleri kullanılarak aşağıdaki formüllere göre hesaplandı (1 mg/dL = 0,0555 mmol/L) (Matthews vd., 1985).

$$\text{HOMA-IR} = [\text{açlık insülin düzeyi (mU/L)} \times \text{açlık glikoz düzeyi (mmol/L)}] / 22,5$$

2.6. Standartlar ve Stok Solüsyonlar

Saksagliptin stok solüsyonu 1 mg/mL; 5-Hidroksi Saksagliptin (5-HS) stok solüsyonu 2 mg/mL olacak şekilde metanolde hazırlandı ve çalışma süresince -20°C’de saklandı. Çalışma boyunca kullanılacak kalibrasyon standartları ve kalite kontrol örneklerini hazırlamak için stok solüsyonlar dilüe (0,04-100 µg/mL) edildi. Saksagliptin ve 5-HS içermeyen plazma örneklerine saksagliptin (0,08; 0,10; 0,20; 0,40; 1; 2; 4; 10; 20; 40 µg/mL) ve 5-HS (0,08; 0,10; 0,20; 0,40; 1; 2; 4; 10; 20; 40 µg/mL) içeren standart solüsyonların farklı miktarları eklenerek kalibrasyon standartları hazırlandı. HPLC metodunun geri kazanım, kesinlik ve gerçeklik değerlerini belirlemek için saksagliptin ve 5-HS içeren kalibrasyon standartlarının düşük (0,2 µg/mL), orta (2 µg/mL) ve yüksek (20 µg/mL) konsantrasyonlarıyla hazırlanan kalite kontrol örnekleri kullanıldı.

2.7. HPLC ve Kromatografik Şartlar

Saksagliptin ve 5-HS analizi belirtilen metot üzerinde küçük değişiklikler yapılarak, yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazında (HPLC, Dionex, CA, USA) gerçekleştirildi (Peng vd., 2018). Pompa (P680), autosampler (ASI-100) ve kolon fırınından (TCC-100) oluşan HPLC-UV sistemi kullanıldı. Tespitler PDA-100 UV-VIS dedektör ile 211 nm’de gerçekleştirildi. Kolon sıcaklığı 40°C, autosampler ise oda sıcaklığında tutuldu. Saksagliptin ve 5-HS ayrımı plazma örneklerinde Nucleosil 100-5 C-18 (5 µm, 250x4,6 mm, Macherey-Nagel, Germany) kolon kullanılarak gerçekleştirildi. Saksagliptin ve 5-HS analizleri için mobil faz olarak A (pH’sı orto-fosforik asit ile 3’e ayarlanmış bidistile su) ve B (% 0,1 formik asit içeren ACN) solüsyonları kullanıldı. Saksagliptin analizinde kullanılan mobil faz: %40 A; %60 B; akış hızı: 0,2 mL/dk şeklinde iken; 5-HS analizindeki mobil faz: %35,5 A; %64,5 B ve akış hızı: 0,17 mL/dk hızında kullanıldı. Cihaza uygulanmadan önce tüm solüsyonlar

vakum eşliğinde 0,45 µm filtreden geçirilerek otuz dakika sonikasyona tabi tutuldu. Tüm örneklerde enjeksiyon hacmi 100 µL olarak ayarlandı. Dell PC kontrollü yazılım program (Chromeleon™ Chromatography Data System (CDS) Software) veri analizinde kullanıldı.

2.8. Örneklerin Analiz İçin Hazırlanması

Plazma örneklerinden saksagliptin ve 5-HS analizi belirtilen metot üzerinde küçük değişiklikler yapılarak belirlendi (Gao vd., 2012). Dondurucudan çıkartılan örnekler oda ısısında çözündürüldü. 200 µL plazma örneği ve 800 µL etil asetat, 2 mL hacmindeki mikrosantrifüj tüplerine konuldu. 30 saniye boyunca vortekslenerek 2500 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanttan 700 µL alınıp temiz bir tüpe aktarıldı ve bu tüplerin ağız kısmı açık bırakılarak etüvde [(37°C; 6 saat), (CLOF-125; CLS Scientific, Ankara, Türkiye)] solüsyonların buharlaşması beklendi. Uçurma işleminden sonra 350 µL mobil faz eklenip 60 saniye boyunca vortekse tabi tutulmasının ardından örnekler 100 µL hacminde HPLC'ye enjekte edildi.

2.9. Metot Validasyonu

Saksagliptin ve 5-HS konsantrasyonlarının tespiti için metot validasyonunun belirlenmesinde özgünlük, doğrusalılık, geri kazanım, duyarlılık (tespit limiti ve hesaplanabilir limit), kesinlik ve gerçeklik parametreleri kullanıldı.

Özgünlüğün belirlenmesinde blank rat örnekleri kullandı. Boş plazma ile gerçekleştirilen analizler sonucunda kromatogramda saksagliptin ve 5-HS'nin alıkonma zamanlarında plazma ve farklı kaynaklı piklerin olup olmadığı değerlendirildi. Kromatogram üzerinde saksagliptin ve 5-HS'nin alıkonma zamanlarında plazma veya farklı kaynaklı pikler gözlenmedi.

Doğrusallık için çalışma boyunca kullanılan çalışma ve kalibrasyon standartları günlük olarak hazırlandı. Konsantrasyonlara ait pik alanlar belirlendi ve kalibrasyon eğrileri çizdirilerek korelasyon katsayıları belirlendi. Saksagliptine ait çalışma ve kalibrasyon

standartlarının korelasyon katsayıları sırasıyla $>0,9938$ ve $>0,9928$ iken, 5-HS'ye ait çalışma ve kalibrasyon standartlarının korelasyon katsayıları sırasıyla $>0,9978$ ve $>0,9942$ olarak tespit edildi.

Blank rat örneklerine saksagliptin ve 5-HS içeren standart solüsyonların farklı miktarları 0,08; 0,8 ve 8 $\mu\text{g/mL}$ aralığında eklendi. Geri kazanımlar, kalite kontrol örneklerinin (0,08; 0,8 ve 8 $\mu\text{g/mL}$) sıradan bir numune gibi üç tekrarlı analizinin ardından belirlenen pik alanlarının, standartların pik alanlarıyla kıyaslanması ile belirlendi. Geri kazanım, kalite kontrol örneklerinde saksagliptin için $>88\%$, 5-HS için ise $>92\%$ olarak tespit edildi.

Tespit limiti (LOD) olarak kromatogram sinyallerinin geri plan gürültüye oranının (S/G) 3 olduğu konsantrasyon, hesaplanabilir limit (LOQ) olarak ise S/G oranının 6 olduğu konsantrasyon düzeyi baz alındı. LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesi için saksagliptin ve 5-HS'nin en düşük standart solüsyonları (0,01-0,1 $\mu\text{g/mL}$) blank rat örneklerine eklendi. Saksagliptin ve 5-HS için LOD değeri 0,04 $\mu\text{g/mL}$, LOQ değeri ise 0,08 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi.

Metodun gün içi ve günler arası kesinliği ve gerçekliği düşük (0,08 $\mu\text{g/mL}$), orta (0,8 $\mu\text{g/mL}$) ve yüksek (8 $\mu\text{g/mL}$) düzeylerde hazırlanan kalite kontrol örneklerinin 3 tekrarlı analizinin 3 farklı günde tekrar edilmesi ile belirlendi. Tüm kalite kontrol örneklerinde hesaplanan saksagliptin ve 5-HS konsantrasyonları üzerinden kesinlik için % varyasyon katsayısı [%VK: (standart sapma/ortalama)*100], gerçeklik için % bias değerleri hesaplandı. Kalite kontrol örneklerinde gün içi tekrar edilebilirlik için hesaplanan %VK saksagliptin için $<5\%$; 5-HS için $<4\%$ olarak belirlendi. Günler arası için ise %VK saksagliptin ve 5-HS için $<8\%$ olarak hesaplandı. Gün içi ve günler arası gerçeklikte ise saksagliptin için hesaplanan bias sırasıyla $\pm 6,1\%$ ve $\pm 7,5\%$ iken; 5-HS için hesaplanan bias sırasıyla $\pm 5,3\%$ ve $\pm 6,2\%$ idi.

2.10. Farmakokinetik Hesaplamalar

Saksagliptin ve 5-HS'nin ortalama plazma konsantrasyon-zaman eğrileri WinNonlin 6.1.0.173 (Pharsight Corporation, Scientific Consulting Inc., North Carolina, USA) programı aracılığıyla çizildi. Kompartmantal olmayan (bölmesiz) metot, farmakokinetik parametreleri hesaplamak için kullanıldı. Saksagliptin ve 5-HS'nin oral uygulamalarının ardından terminal eliminasyon yarılanma ömrü ($t_{1/2\lambda z}$), eğri altında kalan alan (EAA), ortalama kalış süresi (MRT), total vücut klerensi (Cl/F) ve dağılım hacmi ($V_{d\text{alan}}/F$)'den oluşan farmakokinetik parametreler hesaplandı. $t_{1/2\lambda z}$, $0,693/\lambda$ fomülü ile; EAA ise linear/log yöntemle belirlendi. MRT, EAA/EAA eşitlikleri yardımıyla hesaplandı. Saksagliptin ve 5-HS için doruk konsantrasyon (C_{doruk}) ve doruk konsantrasyona ulaşma zamanı (T_{doruk}); çizilen plazma konsantrasyon-zaman eğrileri üzerinden direkt bakı ile belirlendi. SS, SVS, DS ve DVS gruplarında saksagliptin ve 5-HS'ye ait eğri altında kalan alanlar belirtilen formül yardımıyla karşılaştırıldı; MAO: Metabolit-Ana ilaç Oranı ($EAA_{0-\infty(5\text{-HS})} / EAA_{0-\infty(\text{Saksagliptin})}$).

2.11. Farmakodinamik Analizler

Farmakokinetik çalışma için oluşturulan toplam dört grup (n=192) üzerinde hipoglisemik aktivite değerlendirildi. Saksagliptin ve verapamil + saksagliptin kombinasyonunun açlık kan glikoz seviyesi üzerindeki etkileri 18. saate kadar incelendi. Açlık kan glikoz düzeylerine olan etkiler FK çalışma için temin edilen örnekleme zamanları arasından (0; 0,33; 0,75; 1,5; 3; 5; 7; 10 ve 18.saat) belirlendi (42.gün). Gruplar arasındaki açlık kan glikoz düzeylerindeki farklılıklar aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı:

Kan glikoz düzeyindeki değişim (%): $[(G_0 - G_t) / G_0] \times 100$

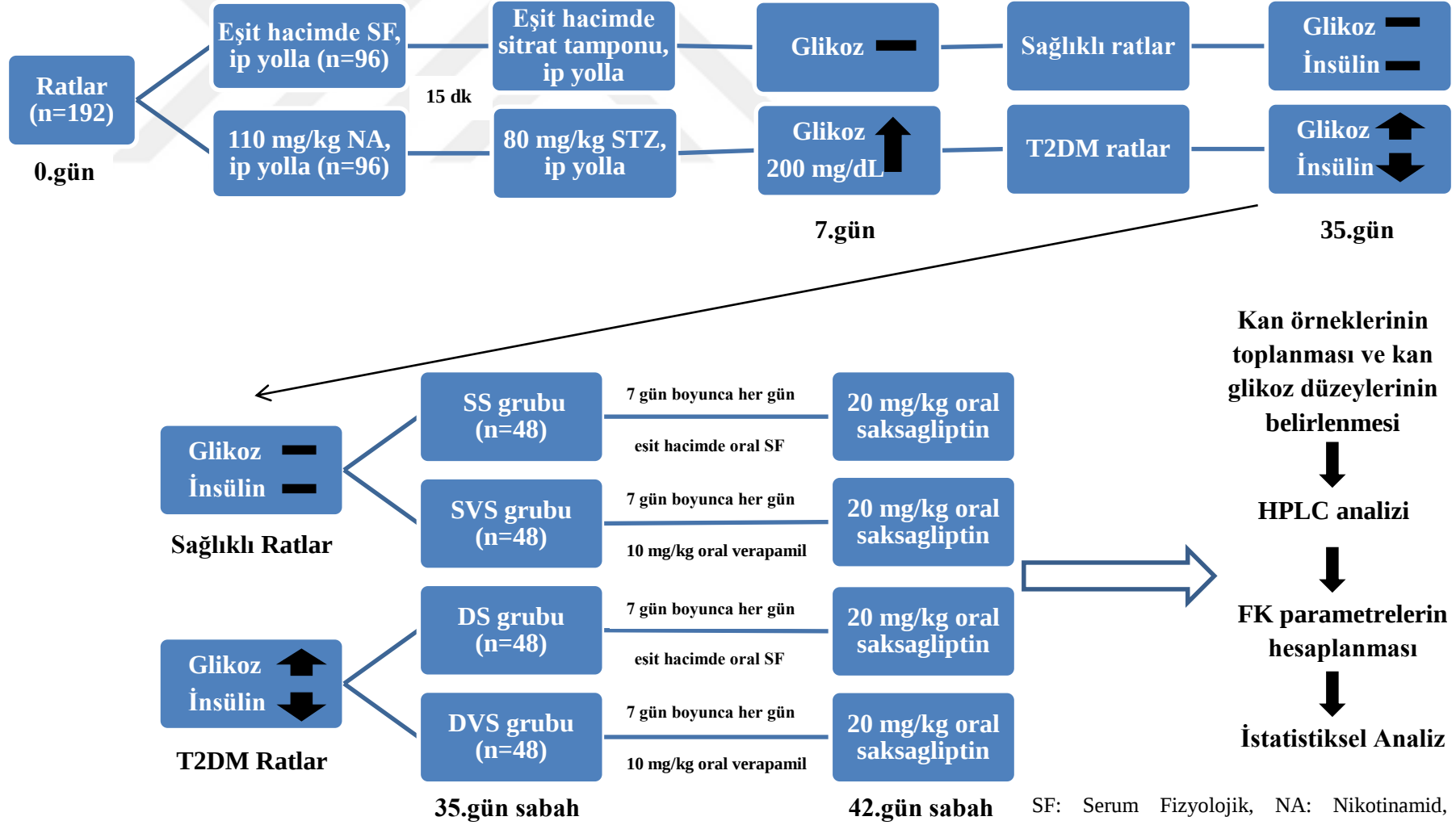
G_t : t zamanındaki ortalama kan glikoz seviyesi

G_0 : 0.saatteki ortalama kan glikoz seviyesi

2.12. İstatistiksel Analizler

SS, SVS, DS ve DVS grupları arasındaki diyabetik parametreler arasındaki istatistiksel farklılıklar tek yönlü ANOVA ve posthoc Duncan testi yardımıyla tespit edildi. Sağlıklı ve diyabetik ratlarda, saksagliptin ve 5-HS'ye ait ortalama plazma konsantrasyonları kullanılarak hesaplanan farmakokinetik verilerin değerlendirilmesi; gruplar arasındaki yüzde (%) farklılık hesaplanarak (Sağlıklı ratlar için: $[(SVS \text{ grubundan elde edilen veri} - SS \text{ grubundan elde edilen veri}) / SS \text{ grubundan elde edilen veri}] \times 100$), Diyabetik ratlar için: $[(DVS \text{ grubundan elde edilen veri} - DS \text{ grubundan elde edilen veri}) / DS \text{ grubundan elde edilen veri}] \times 100$, Sağlıklı ve Diyabetik ratların karşılaştırılması için ise: $[(DS \text{ grubundan elde edilen veri} - SS \text{ grubundan elde edilen veri}) / SS \text{ grubundan elde edilen veri}] \times 100$ ve $[(DVS \text{ grubundan elde edilen veri} - SVS \text{ grubundan elde edilen veri}) / SVS \text{ grubundan elde edilen veri}] \times 100$ analiz edildi. Farklılığın değerlendirilmesinde $\leq\%(-)25$ ve $\geq\%(+)25$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (Corum vd., 2019). Sağlıklı ve diyabetik ratlar arasındaki farmakodinamik farklılıklar Independent sample t testi ile belirlendi. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak verildi. İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versiyon 20.0 SPSS Inc, Chicago Illinois, USA) programı kullanıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel açıdan önemlilik sınırı kabul edildi.

Çizelge 2.1. Deneysel prosedürün şematik gösterimi



SF: Serum Fizyolojik, NA: Nikotinamid, STZ: Streptozotosin, T2DM: Tip 2 Diabetes Mellitus, SS: Sağlıklı Saksagliptin, SVS: Sağlıklı Verapamil+Saksagliptin, DS: Diyabetik Saksagliptin, DVS: Diyabetik Verapamil+Saksagliptin, FK: Farmakokinetik

3. BULGULAR

3.1. Diyabetik Parametreler

SS, SVS, DS ve DVS gruplarına ait diyabetik parametreler Çizelge 3.1’de sunuldu. SS ile SVS grupları arasında ve DS ile DVS gruplarında ağırlık, kan glikoz düzeyi ve plazma insülin düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Sağlıklı ve diyabetik ratların başlangıç ağırlıkları arasında bir fark gözlenmezken; 35.gün ağırlıkları arasında anlamlı fark olduğu belirlendi ($P < 0,001$). Bununla beraber sağlıklı ratların ağırlık kazanım düzeyleri, diyabetik ratlara kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek olarak bulundu ($P < 0,001$). 35.gün kan glikoz düzeyleri (STZ uygulamasından 28 gün sonra) incelendiğinde, diyabetik ratların kan glikoz düzeylerinin sağlıklı ratlara göre önemli oranda yüksek olduğu gözlemlendi ($P < 0,001$). Aynı şekilde diyabetik ratların 35.gün yapılan plazma insülin analizinde de, sağlıklı ratlara göre düşüş olduğu tespit edildi ($P < 0,001$). Elde edilen veriler aracılığıyla belirlenen HOMA-IR değeri ise anlamlı bir şekilde diyabetik ratlarda daha yüksek bulundu ($P < 0,001$).

Çizelge 3.1. Farmakokinetik çalışma gruplarındaki diyabetik parametreler

Parametre	Sağlıklı Ratlar		Diyabetik Ratlar	
	SS	SVS	DS	DVS
Ağırlık 0.gün (gr)	176,68 ± 14,81	176,45 ± 14,02	172,06 ± 14,05	171,45 ± 17,28
Ağırlık 35.gün (gr)	295,5 ± 13,07	291,68 ± 12,28	192,62 ± 13,84 [#]	189,52 ± 12,22 [#]
Ağırlık kazanımı (gr)	118,81 ± 12,52	115,22 ± 12,5	20,56 ± 9,75 [#]	18,06 ± 8,3 [#]
Kan glikoz düzeyi 35.gün (mmol/L)	4,7 ± 0,4	4,61 ± 0,44	14,9 ± 2,13 [#]	14,7 ± 1,5 [#]
Plazma insülin düzeyi 35.gün (mU/L)	15,85 ± 3,59	16,91 ± 5,44	11,95 ± 3,35 [#]	12,16 ± 3,69 [#]
HOMA-IR	3,31 ± 0,79	3,44 ± 1,06	7,94 ± 2,58 [#]	8,01 ± 2,66 [#]

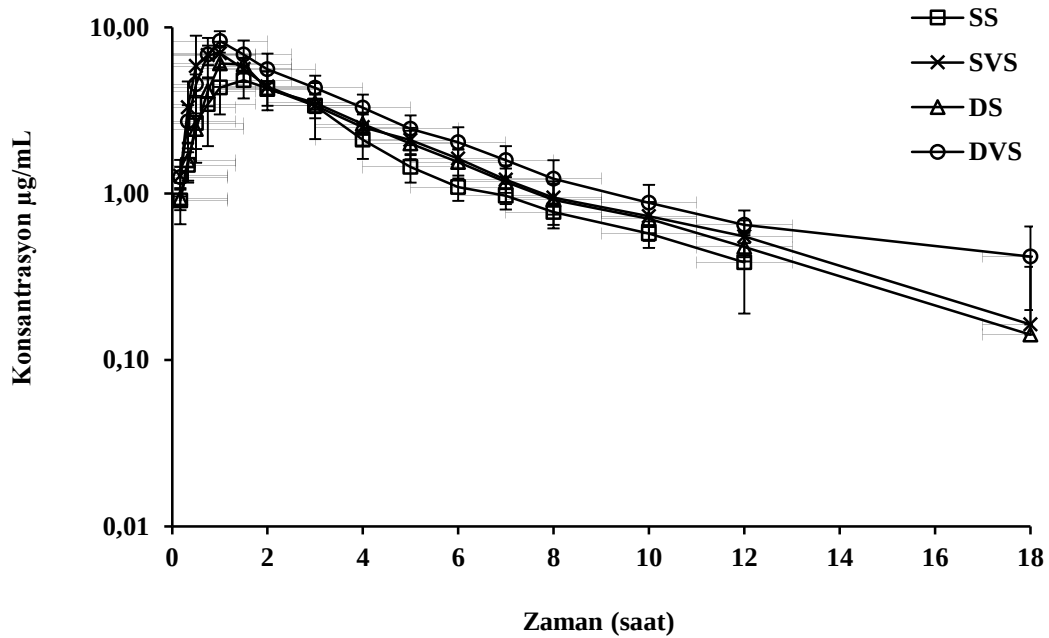
Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SS) olarak verildi. [#]: $P < 0,001$. Kan glikoz değeri için; 1 mg/dL = 0,0555 mmol/L. SS; Sağlıklı Saksagliptin grubu (n=48), SVS; Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu (n=48), DS; Diyabetik Saksagliptin grubu (n=48), DVS; Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu (n=48).

3.2. Farmakokinetik Parametreler

Yapılan çalışmada sağlıklı ve diyabetik ratlarda tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) uygulamasını takiben yapılan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) ve metaboliti 5-hidroksi saksagliptinin (5-HS) yarı-logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de sunuldu.

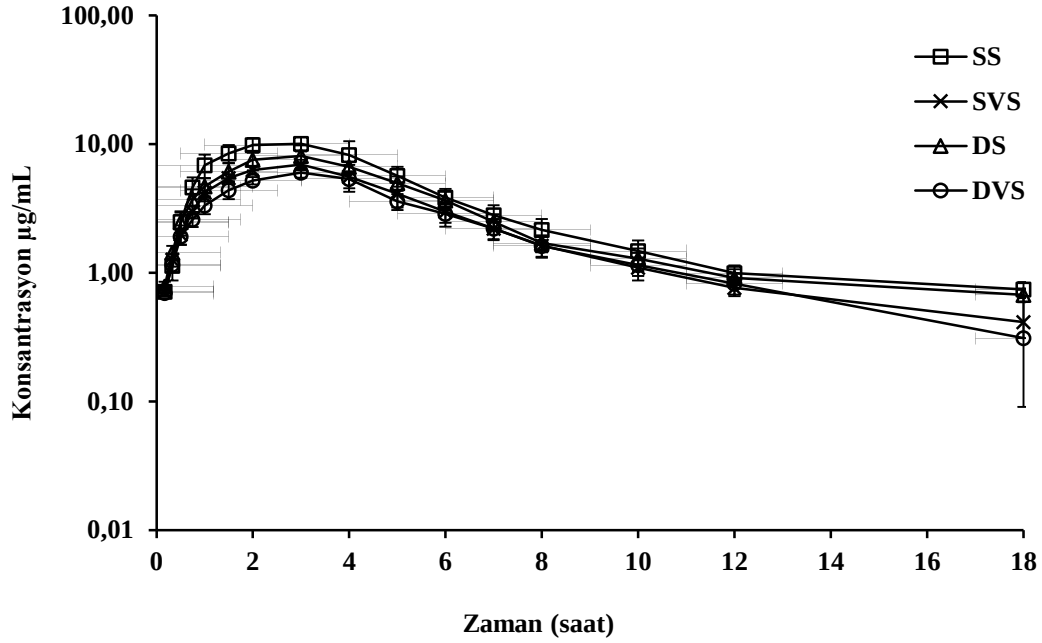
Saksagliptin, ilk gözlemsel nokta için (0,17. saat) SS, SVS, DS ve DVS gruplarında sırasıyla $0,9 \pm 0,25$; $1,27 \pm 0,31$; $0,93 \pm 0,14$ ve $1,25 \pm 0,19$ µg/mL’lik konsantrasyon sergiledi. Takiben SS grubunda 12.saatte $0,38 \pm 0,19$ µg/mL’lik konsantrasyona; SVS, DS ve DVS gruplarında ise 18.saatte sırasıyla $0,16 \pm 0,25$; $0,14 \pm 0,22$ ve $0,41 \pm 0,21$ µg/mL’lik konsantrasyona düştü.

5-HS’nin plazma konsantrasyonu ilk gözlemsel nokta için (0,17. saat) SS, SVS, DS ve DVS gruplarında sırasıyla $0,71 \pm 0,05$; $0,71 \pm 0,05$; $0,77 \pm 0,07$ ve $0,69 \pm 0,03$ µg/mL olarak belirlendi. Ardından 18.saatte SS, SVS, DS ve DVS gruplarında sırasıyla $0,74 \pm 0,1$; $0,41 \pm 0,32$; $0,67 \pm 0,08$ ve $0,31 \pm 0,34$ µg/mL’lik konsantrasyona düştü.



Şekil 3.1: Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda yarı-logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri

(n=6, ortalama±SS). SS: Sağlıklı Saksagliptin grubu, SVS: Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu, DS: Diyabetik Saksagliptin grubu, Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.



Şekil 3.2: Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait yarı-logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri (n=6, ortalama±SS). SS: Sağlıklı Saksagliptin grubu, SVS: Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu, DS: Diyabetik Saksagliptin grubu, Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.

Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ratlarda farmakokinetik parametreleri çizelge 3.2’de sunuldu. Bu parametreler SS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 3,97 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 22,84 (saat*µg/mL); $MRT_{0-\infty}$ 5,11 (saat); Cl/F 875,3 (mL/saat/kg); V_{dalan}/F 5017,51 (mL/kg); C_{doruk} $4,8 \pm 1,07$ (µg/mL) ve T_{doruk} 1,5 (saat) şeklinde hesaplandı. SS ve SVS grupları arasında $t_{1/2\lambda z}$ ve $MRT_{0-\infty}$ değerleri benzerdi. Buna karşın, SS grubuna kıyasla SVS grubunda $EAA_{0-\infty}$ ve C_{doruk} değerleri sırasıyla %28,72 ve %45 oranında yüksek; Cl/F , V_{dalan}/F ve T_{doruk} değerleri ise sırasıyla %22,29; %24,19 ve %33,33 oranında düşük olarak belirlendi. Bu değerlerden $EAA_{0-\infty}$, C_{doruk} ve T_{doruk} değerleri arasındaki farkların anlamlı olan %25’lik farkın üzerinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.2. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ratlarda farmakokinetik parametreleri

Parametre	SS	SVS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	3,97	3,87	-2,51
$EAA_{0-\infty}$ (saat* μ g/mL)	22,84	29,4	+28,72
$MRT_{0-\infty}$ (saat)	5,11	4,99	-2,34
Cl/F (mL/saat/kg)	875,3	680,15	-22,29
Vd_{alan}/F (mL/kg)	5017,51	3803,75	-24,19
C_{doruk} (μ g/mL)	4,8 $\pm$ 1,07	6,96 $\pm$ 1,22	+45
T_{doruk} (saat)	1,5	1	-33,33

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%)] : SVS grubunun SS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(SVS grubundan elde edilen veri - SS grubundan elde edilen veri) / SS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, EAA: eğri altında kalan alan, MRT: ortalama kalış süresi, Cl/F: total vücut klerensi, Vd_{alan}/F : dağılım hacmi, C_{doruk} : doruk konsantrasyon, T_{doruk} : doruk konsantrasyona ulaşma süresi. SS; Sağlıklı Saksagliptin grubu, SVS; Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu.

Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) diyabetik ratlarda farmakokinetik parametreleri çizelge 3.3'te sunuldu. Bu parametreler DS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 3,64 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 26,82 (saat* μ g/mL); $MRT_{0-\infty}$ 5,04 (saat); Cl/F 745,55 (mL/saat/kg); Vd_{alan}/F 3916,31 (mL/kg); C_{doruk} 6,05 $\pm$ 1,68 (μ g/mL) ve T_{doruk} 1 (saat) şeklinde hesaplandı. DS ve DVS grupları arasında T_{doruk} değerleri benzerdi. Ayrıca DS grubuna kıyasla DVS grubunda $t_{1/2\lambda z}$, $EAA_{0-\infty}$, $MRT_{0-\infty}$, Vd_{alan}/F ve C_{doruk} değerleri sırasıyla %62,63; %43,66; %34,92; %13,21 ve %36,19 oranında yüksek; Cl/F değeri ise %30,38 oranında düşük olarak belirlendi. Bu değerlerden $t_{1/2\lambda z}$, $EAA_{0-\infty}$, $MRT_{0-\infty}$, Cl/F ve C_{doruk} değerleri arasındaki farkların anlamlı olan %25'lik farkın üzerinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.3. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) diyabetik ratlarda farmakokinetik parametreleri

Parametre	DS	DVS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	3,64	5,92	+62,63
$EAA_{0-\infty}$ (saat* μ g/mL)	26,82	38,53	+43,66
$MRT_{0-\infty}$ (saat)	5,04	6,8	+34,92
Cl/F (mL/saat/kg)	745,55	519,04	-30,38
Vd_{alan}/F (mL/kg)	3916,31	4433,86	+13,21
C_{doruk} (μ g/mL)	6,05 $\pm$ 1,68	8,24 $\pm$ 1,2	+36,19
T_{doruk} (saat)	1	1	0

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%)] : DVS grubunun DS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(DVS grubundan elde edilen veri - DS grubundan elde edilen veri) / DS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, EAA: eğri altında kalan alan, MRT: ortalama kalış süresi, Cl/F: total vücut klerensi, V_{dalan}/F : dağılım hacmi, C_{doruk} : doruk konsantrasyon, T_{doruk} : doruk konsantrasyona ulaşma süresi. DS; Diyabetik Saksagliptin grubu, DVS; Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.

Tek saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulanan sağlıklı ve diyabetik ratlarda saksagliptinin farmakokinetik parametreleri çizelge 3.4'te sunuldu. Bu parametreler SS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 3,97 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 22,84 (saat* μ g/mL); $MRT_{0-\infty}$ 5,11 (saat); Cl/F 875,3 (mL/saat/kg); V_{dalan}/F 5017,51 (mL/kg); C_{doruk} $4,8 \pm 1,07$ (μ g/mL) ve T_{doruk} 1,5 (saat) şeklinde hesaplandı. SS grubuna kıyasla DS grubunda $EAA_{0-\infty}$ ve C_{doruk} değerleri sırasıyla %17,42 ve %26,04 oranında yüksek olarak belirlenirken; $t_{1/2\lambda z}$, $MRT_{0-\infty}$, Cl/F, V_{dalan}/F ve T_{doruk} değerleri sırasıyla %8,31; %1,36; %14,82; %21,94 ve %33,33 oranında düşük olarak tespit edildi. Bu değerlerden C_{doruk} ve T_{doruk} değerleri arasındaki farkların anlamlı olan %25'lik farkın üzerinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.4. Tek saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulanan sağlıklı ve diyabetik ratlarda saksagliptinin farmakokinetik parametreleri

Parametre	SS	DS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	3,97	3,64	-8,31
$EAA_{0-\infty}$ (saat* μ g/mL)	22,84	26,82	+17,42
$MRT_{0-\infty}$ (saat)	5,11	5,04	-1,36
Cl/F (mL/saat/kg)	875,3	745,55	-14,82
V_{dalan}/F (mL/kg)	5017,51	3916,31	-21,94
C_{doruk} (μ g/mL)	$4,8 \pm 1,07$	$6,05 \pm 1,68$	+26,04
T_{doruk} (saat)	1,5	1	-33,33

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%)] : DS grubunun SS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(DS grubundan elde edilen veri - SS grubundan elde edilen veri) / SS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, EAA: eğri altında kalan alan, MRT: ortalama kalış süresi, Cl/F: total vücut klerensi, V_{dalan}/F : dağılım hacmi, C_{doruk} : doruk konsantrasyon, T_{doruk} : doruk konsantrasyona ulaşma süresi. SS; Sağlıklı Saksagliptin grubu, DS; Diyabetik Saksagliptin grubu.

Verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda farmakokinetik parametreleri çizelge 3.5'te sunuldu. Bu parametreler SVS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 3,87 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 29,4 (saat* μ g/mL); $MRT_{0-\infty}$ 4,99 (saat); Cl/F 680,15 (mL/saat/kg); V_{dalan}/F 3803,75 (mL/kg); C_{doruk} $6,96 \pm 1,22$ (μ g/mL)

ve $T_{\text{dörük}}$ 1 (saat) şeklinde hesaplandı. SVS ve DVS grupları arasında $T_{\text{dörük}}$ değerleri benzerdi. SVS grubuna kıyasla DVS grubunda $t_{1/2\lambda z}$, $EAA_{0-\infty}$, $MRT_{0-\infty}$, Vd_{alan}/F ve $C_{\text{dörük}}$ değerleri sırasıyla %52,97; %31,05; %36,27; %16,56 ve %18,39 oranında yüksek olarak belirlenirken; yalnızca Cl/F değeri %23,68 oranında düşük olarak tespit edildi. Bu değerlerden $t_{1/2\lambda z}$, $EAA_{0-\infty}$ ve $MRT_{0-\infty}$ değerleri arasındaki farkların anlamlı olan %25’lik farkın üzerinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.5. Verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda farmakokinetik parametreleri

Parametre	SVS	DVS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	3,87	5,92	+52,97
$EAA_{0-\infty}$ (saat* $\mu\text{g/mL}$)	29,4	38,53	+31,05
$MRT_{0-\infty}$ (saat)	4,99	6,8	+36,27
Cl/F (mL/saat/kg)	680,15	519,04	-23,68
Vd_{alan}/F (mL/kg)	3803,75	4433,86	+16,56
$C_{\text{dörük}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	$6,96 \pm 1,22$	$8,24 \pm 1,2$	+18,39
$T_{\text{dörük}}$ (saat)	1	1	0

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%)] : DVS grubunun SVS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(DVS grubundan elde edilen veri - SVS grubundan elde edilen veri) / SVS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, EAA : eğri altında kalan alan, MRT : ortalama kalış süresi, Cl/F : total vücut klerensi, Vd_{alan}/F : dağılım hacmi, $C_{\text{dörük}}$: doruk konsantrasyon, $T_{\text{dörük}}$: doruk konsantrasyona ulaşma süresi. SVS; Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu, DVS; Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.

Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ratlarda metaboliti 5-HS’ye ait farmakokinetik parametreleri çizelge 3.6’da sunuldu. Bu parametreler SS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 5,91 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 65,03 (saat* $\mu\text{g/mL}$); $C_{\text{dörük}}$ $10,02 \pm 1,27$ ($\mu\text{g/mL}$) ve $T_{\text{dörük}}$ 3 (saat) şeklinde hesaplandı. SS ve SVS grupları arasında $T_{\text{dörük}}$ değerleri aynıydı. SS grubuna kıyasla SVS grubunda $t_{1/2\lambda z}$, $EAA_{0-\infty}$ ve $C_{\text{dörük}}$ değerleri sırasıyla %11,5; %32,32 ve %31,13 oranında düşük olarak belirlendi. Bu değerlerden $EAA_{0-\infty}$ ve $C_{\text{dörük}}$ değerleri arasındaki farkların anlamlı olan %25’lik farkın üzerinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.6. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri

Parametre	SS	SVS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	5,91	5,23	-11,5
$EAA_{0-\infty}$ (saat* $\mu\text{g/mL}$)	65,03	44,01	-32,32
C_{doruk} ($\mu\text{g/mL}$)	$10,02 \pm 1,27$	$6,9 \pm 0,65$	-31,13
T_{doruk} (saat)	3	3	0

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%)] : SVS grubunun SS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(SVS grubundan elde edilen veri - SS grubundan elde edilen veri) / SS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, EAA: eğri altında kalan alan, C_{doruk} : doruk konsantrasyon, T_{doruk} : doruk konsantrasyona ulaşma süresi. SS; Sağlıklı Saksagliptin grubu, SVS; Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu.

Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) diyabetik ratlarda metaboliti 5-HS'ye ait farmakokinetik parametreleri çizelge 3.7'de sunuldu. Bu parametreler DS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 7,76 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 56,18 (saat* $\mu\text{g/mL}$); C_{doruk} $8,06 \pm 1,67$ ($\mu\text{g/mL}$) ve T_{doruk} 3 (saat) şeklinde hesaplandı. DS ve DVS grupları arasında T_{doruk} değerleri aynıydı. DS grubuna kıyasla DVS grubunda $t_{1/2\lambda z}$, $EAA_{0-\infty}$ ve C_{doruk} değerleri sırasıyla %45,74; %30,49 ve %25,8 oranında düşük olarak belirlendi. Bu parametreler arasındaki farkların anlamlı olan %25'lik farkın üzerinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.7. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri

Parametre	DS	DVS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	7,76	4,21	-45,74
$EAA_{0-\infty}$ (saat* $\mu\text{g/mL}$)	56,18	39,05	-30,49
C_{doruk} ($\mu\text{g/mL}$)	$8,06 \pm 1,67$	$5,98 \pm 0,51$	-25,8
T_{doruk} (saat)	3	3	0

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%)] : DVS grubunun DS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(DVS grubundan elde edilen veri - DS grubundan elde edilen veri) / DS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, EAA: eğri altında kalan alan, C_{doruk} : doruk konsantrasyon, T_{doruk} : doruk konsantrasyona ulaşma süresi. DS; Diyabetik Saksagliptin grubu, DVS; Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.

Tek saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulanan sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-HS'ye ait farmakokinetik parametreleri çizelge 3.8'de sunuldu. Bu parametreler SS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 5,91 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 65,03 (saat* μ g/mL); C_{doruk} $10,02 \pm 1,27$ (μ g/mL) ve T_{doruk} 3 (saat) şeklinde hesaplandı. SS ve DS grupları arasında T_{doruk} değerleri aynıydı. SS grubuna kıyasla DS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ değeri %31,3 oranında yüksek olarak belirlenirken; $EAA_{0-\infty}$ ve C_{doruk} değerleri sırasıyla %13,6 ve %19,56 oranında düşük olarak tespit edildi. Bu değerlerden $t_{1/2\lambda z}$ değerleri arasındaki farkların anlamlı olan %25'lik farkın üzerinde olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.8. Tek saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulanan sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri

Parametre	SS	DS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	5,91	7,76	+31,3
$EAA_{0-\infty}$ (saat* μ g/mL)	65,03	56,18	-13,6
C_{doruk} (μ g/mL)	$10,02 \pm 1,27$	$8,06 \pm 1,67$	-19,56
T_{doruk} (saat)	3	3	0

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%)] : DS grubunun SS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(DS grubundan elde edilen veri - SS grubundan elde edilen veri) / SS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, EAA: eğri altında kalan alan, C_{doruk} : doruk konsantrasyon, T_{doruk} : doruk konsantrasyona ulaşma süresi. SS; Sağlıklı Saksagliptin grubu, DS; Diyabetik Saksagliptin grubu.

Verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-HS'ye ait farmakokinetik parametreleri çizelge 3.9'da sunuldu. Bu parametreler SVS grubunda $t_{1/2\lambda z}$ 5,23 (saat); $EAA_{0-\infty}$ 44,01 (saat* μ g/mL); C_{doruk} $6,9 \pm 0,65$ (μ g/mL) ve T_{doruk} 3 (saat) şeklinde hesaplandı. SVS ve DVS grupları arasında T_{doruk} değerleri aynıydı. SVS grubuna kıyasla DVS grubunda $t_{1/2\lambda z}$, $EAA_{0-\infty}$ ve C_{doruk} değerleri sırasıyla %19,5; %11,27 ve %13,33 oranında düşük olarak tespit edildi. Bu değerler arasındaki herhangi bir farkın anlamlı olan %25'lik farkın üzerinde olmadığı gözlemlendi.

Çizelge 3.9. Verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptinin (20 mg/kg, PO) sağlıklı ve diyabetik ratlarda metaboliti 5-hidroksi saksagliptine ait farmakokinetik parametreleri

Parametre	SVS	DVS	GAF (%)
$t_{1/2\lambda z}$ (saat)	5,23	4,21	-19,5
$EAA_{0-\infty}$ (saat* μ g/mL)	44,01	39,05	-11,27
C_{doruk} (μ g/mL)	6,9 $\pm$ 0,65	5,98 $\pm$ 0,51	-13,33
T_{doruk} (saat)	3	3	0

Gruplar Arası Farklılık [(GAF) (%): DVS grubunun SVS grubuna göre yüzde (%) farklılığını [(DVS grubundan elde edilen veri - SVS grubundan elde edilen veri) / SVS grubundan elde edilen veri x 100] ifade eder. $t_{1/2\lambda z}$: terminal eliminasyon yarı ömür, $EAA_{0-\infty}$: eğri altında kalan alan, C_{doruk} : doruk konsantrasyon, T_{doruk} : doruk konsantrasyona ulaşma süresi. SVS; Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu, DVS; Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.

Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulamasını takiben sağlıklı ve diyabetik ratlarda saksagliptin ve 5-HS'ye ait eğri altında kalan alanlar çizelge 3.10'de sunuldu. Metabolit-Ana ilaç Oranı [$MAO: (EAA_{0-\infty}(5\text{-HS}) / EAA_{0-\infty}(\text{Saksagliptin}))$] SS, SVS, DS ve DVS grupları arasında sırasıyla 2,85; 1,5; 2,09 ve 1,01 değerlerinde tespit edildi.

Çizelge 3.10. Tek ve verapamil (10 mg/kg, PO, 7 gün) ile birlikte uygulanan saksagliptin (20 mg/kg, PO) uygulamasını takiben sağlıklı ve diyabetik ratlarda saksagliptin ve 5-hidroksi saksagliptine ait eğri altında kalan alanlar

Grup	$EAA_{0-\infty}(\text{Saksagliptin})$ (saat* μ g/mL)	$EAA_{0-\infty}(5\text{-HS})$ (saat* μ g/mL)	$(EAA_{0-\infty}(5\text{-HS}) / EAA_{0-\infty}(\text{Saksagliptin}))$
SS	22,84	65,03	2,85
SVS	29,4	44,01	1,5
DS	26,82	56,18	2,09
DVS	38,53	39,05	1,01

MAO: Metabolit-Ana ilaç Oranı ($EAA_{0-\infty}(5\text{-HS}) / EAA_{0-\infty}(\text{Saksagliptin})$). SS; Sağlıklı Saksagliptin grubu, SVS; Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu, DS; Diyabetik Saksagliptin grubu, DVS; Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.

3.3. Farmakodinamik Parametreler

Sağlıklı ratlar (Çizelge 3.11) ve diyabetik ratlar (Çizelge 3.12) karşılaştırıldı. Ratlara yapılan saksagliptin uygulamasından sonra, belirtilen zamanlarda alınan örneklerde kan

glikoz düzeyleri (mg/dL) belirlenerek normal ve diyabetik gruplar arası yüzdesel farklar hesaplandı. SVS grubunun kan glikoz düzeylerinin düşüş yüzdesi, SS grubuna göre 0,33. saatte $5,79 \pm 1,28$ ve 0,75. saatte $20,65 \pm 6,4$ farkları ile istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğunu gösterdi ($P < 0,01$). DVS grubunun kan glikoz düzeylerinin düşüş yüzdesi DS grubu ile karşılaştırıldığında ise 0,33. saatte $18,96 \pm 3,19$ ($P < 0,01$); 0,75. Saatte $36,91 \pm 7,06$ ($P = 0,001$); 3. saatte $30,58 \pm 2,39$ ($P = 0,05$) ve 5. saatte $16,2 \pm 3,08$ ($P = 0,01$) farkları ile istatistiksel olarak anlamlı bir azalmayı ifade etti.

Çizelge 3.11. Saksagliptinin oral uygulamasından sonra sağlıklı ratlarda kan glikoz düzeyi değişiklikleri (n=6, ortalama $\pm$ SS)

	SS			SVS		
	Zaman (saat)	Kan glikoz değeri (mg/dL)	Yüzdesel fark (%)	Zaman (saat)	Kan glikoz değeri (mg/dL)	Yüzdesel fark (%)
1	0	$87,33 \pm 6,53$	$-2,69 \pm 1,67$	0	$83,16 \pm 5,91$	$-5,79 \pm 1,28^*$
	0,33	$85 \pm 6,81$		0,33	$78,33 \pm 5,39$	
2	0	$87,5 \pm 6,94$	$-9,16 \pm 3,16$	0	$83,16 \pm 9,82$	$-20,65 \pm 6,4^{\#}$
	0,75	$79,33 \pm 4,27$		0,75	$65,5 \pm 3,39$	
3	0	$81,33 \pm 6,74$	$-17,61 \pm 6,48$	0	$78,83 \pm 7,22$	$-16,13 \pm 5,15$
	1,5	$66,66 \pm 2,25$		1,5	$65,83 \pm 3,06$	
4	0	$83,16 \pm 9,62$	$-12,87 \pm 2,18$	0	$80,83 \pm 11,16$	$-11,22 \pm 8,58$
	3	$72,33 \pm 7,2$		3	$71,33 \pm 8,54$	
5	0	$83,83 \pm 5,56$	$-2,8 \pm 0,99$	0	$86,33 \pm 4,63$	$-3,77 \pm 2,11$
	5	$81,5 \pm 5,78$		5	$83 \pm 2,82$	
6	0	$81,16 \pm 4,66$	$-1,19 \pm 1,84$	0	$81,33 \pm 7,47$	$-0,54 \pm 2,07$
	7	$80,16 \pm 4,21$		7	$80,83 \pm 6,79$	
7	0	$80,33 \pm 8,18$	$+0,99 \pm 3,86$	0	$76,16 \pm 4,95$	$+0,01 \pm 2,53$
	10	$81 \pm 7,12$		10	$76,16 \pm 5,15$	
8	0	$80,33 \pm 2,8$	$+0,41 \pm 2,78$	0	$82,83 \pm 6,61$	$+0,71 \pm 3,83$
	18	$80,66 \pm 3,44$		18	$82,16 \pm 6,17$	

*: 1 nolu satırdaki SS ve SVS grubu arasındaki yüzdesel fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0,01$). #: 2 nolu satırdaki SS ve SVS grubu arasındaki yüzdesel fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0,01$). SS; Sağlıklı Saksagliptin grubu, SVS; Sağlıklı Verapamil + Saksagliptin grubu.

Çizelge 3.12. Saksagliptinin oral uygulamasından sonra diyabetik ratlarda kan glikoz düzeyi değişiklikleri (n=6, ortalama $\pm$ SS)

	DS			DVS		
	Zaman (saat)	Kan glikoz değeri (mg/dL)	Yüzdesel fark (%)	Zaman (saat)	Kan glikoz değeri (mg/dL)	Yüzdesel fark (%)
1	0	$278,5 \pm 65,84$	$-13,26 \pm 2,18$	0	$234,33 \pm 29,13$	$-18,96 \pm 3,19^{\&}$
	0,33	$241,16 \pm 55,86$		0,33	$189,5 \pm 20,69$	

2	0	240,5 ± 46,51	-21,52 ± 4,91	0	241,33 ± 21,2	-36,91 ± 7,06*
	0,75	187 ± 25,4		0,75	151,83 ± 17,78	
3	0	278,5 ± 44,86	-38,68 ± 4,2	0	236,33 ± 35,85	-46,01 ± 8,49
	1,5	169,83 ± 24,09		1,5	125,16 ± 3,48	
4	0	295,16 ± 32,03	-24,61 ± 5,91	0	274,83 ± 12,48	-30,58 ± 2,39 ^w
	3	221,33 ± 15,33		3	190,66 ± 8,5	
5	0	243,5 ± 35,16	-9,69 ± 3,96	0	263,5 ± 9,6	-16,2 ± 3,08**
	5	219,33 ± 28,08		5	220,83 ± 12,22	
6	0	265 ± 16,5	-7,29 ± 3,85	0	230 ± 12,58	-8,91 ± 4,16
	7	245,66 ± 18,43		7	209,16 ± 7,19	
7	0	249,66 ± 37,58	-2,08 ± 1,58	0	268 ± 24,23	-4,35 ± 5,02
	10	244,5 ± 36,84		10	255,83 ± 20,44	
8	0	269 ± 25,83	-0,1 ± 0,98	0	243 ± 19,12	-1,09 ± 1,65
	18	268,5 ± 23,27		18	240,16 ± 16,77	

&: 1 nolu satırdaki DS ve DVS grubu arasındaki yüzdesel fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0,01$). *: 2 nolu satırdaki DS ve DVS grubu arasındaki yüzdesel fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P = 0,001$). *: 4 nolu satırdaki DS ve DVS grubu arasındaki yüzdesel fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P = 0,05$). **: 5 nolu satırdaki DS ve DVS grubu arasındaki yüzdesel fark istatistiksel açıdan önemlidir ($P = 0,01$). DS; Diyabetik Saksagliptin grubu, DVS; Diyabetik Verapamil + Saksagliptin grubu.

4. TARTIŞMA

4.1. Diyabetik Parametreler

T2DM, insülin sekresyonuna veya insülin direnci kusurlarına yol açan heterojen bir metabolik sendromdur (Roghani vd., 2013). Yapılan çalışmada ratlarda T2DM'yi indüklemek için NA+STZ kombinasyonu tercih edilmiştir. STZ doğal olarak *Streptomyces achromogenes* tarafından üretilir. Tek doz STZ, beta hücreleri üzerinde doğrudan toksik etkiye neden olup, kalıcı hiperglisemi sağlar. Beta hücrelerine ulaşan STZ, bu hücrelerde DNA alkilasyonunun yanı sıra (Delaney vd., 1995) ATP ve NAD içeriğinin azalmasına (Heller vd., 1994) neden olur. Ayrıca oksidatif stresi, inflamasyonu ve endotel disfonksiyonu artırıcı etkileri söz konusudur (Eleazu vd., 2013). NA, vitamin B3'ün (niyasin) bir türevidir. STZ'nin toksik etkilerini antioksidan karakteri sayesinde azaltır (Szkudelski, 2001; Szkudelski, 2012). Serbest oksijen radikali ve nitrik oksit temizleyicisi olan NA, beta hücrelerinde rejenerasyonu artırıcı ve apoptozu inhibe edici etkinlik gösterir. Ayrıca metil grubu alıcısı olduğundan, DNA hasarını azaltıcı karakter gösterir (Bennett ve Pegg, 1981). Bu çalışmada sağlıklı ratlara (SS ve SVS grupları) göre diyabetik ratlarda (DS ve DVS); kilo kazanımında azalma, kronik hiperglisemi ve hipoinsülinemi gözlemlendi. Tüm bu parametreler, modeli doğrulamak için bakılan diyabet belirteçleridir (Kaur vd., 2018; Mohamed vd., 2019).

STZ; beta hücrelerinde glikoz oksidasyonu ve glikoz taşınmasına zarar verip glukokinaz aktivitesini bozar. Ayrıca insülin sentez ve sekresyonunu da azaltarak kronik bir hiperglisemiye neden olur (Bedoya vd., 1996; Rees ve Alcolado, 2005; Islam ve Wilson, 2012). Mevcut çalışmada diyabetik ratlarda STZ'ye bağlı gelişen hipergliseminin, beta hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROT) artmasına bağlı olarak gelişen oksidatif DNA hasarından kaynaklandığı ifade edilebilir. Bunun sonucunda pankreatik beta hücrelerinde işlev bozukluğu ve insülin seviyelerinde azalma şekillenmiş olabilir (Song vd., 2007). Aşırı ROT üretiminin tip 2 diyabet gelişiminde hayati bir rol oynadığı bilinmektedir. Diyabetik komplikasyonlar, diyabet sırasında üretilen serbest radikallerin doğrudan sonuçlarıdır (Ahmed vd., 2015). Bu çalışmada diyabetik ratlarda insülin seviyeleri azalsa da, DS grubunda $11,95 \pm 3,35$ mU/L ve DVS grubunda $12,16 \pm 3,69$ mU/L düzeylerinde plazma insülin konsantrasyonları belirlendi. Ayrıca kan glikoz ve insülin seviyelerine bağımlı bir parametre olan ve insülin

direncinin değerlendirilmesi için güçlü bir klinik belirteç olan HOMA-IR değeri de, diyabetik ratlarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (Patel vd., 2012). Bu bulgular, önceki çalışmalarla uyumlu sonuçlar elde edildiğini göstermektedir (Ahangarpour vd., 2017; Kpemissi vd., 2020).

STZ kaynaklı gelişen diyabet, kas kaybı ve doku proteini kaybı aracılığıyla kilo azalması ile ilişkilendirilmiştir (Balamurugan ve Ignacimuthu, 2011). Bunun sebebi diyabetik ratlarda belirlenen hipoinsülinemi olabilir. İnsülin, protein sentezini artırmak için amino asitlerin iskelet kasına akışını uyarır (Long vd., 2011). Bu nedenle; diyabette, insülin seviyesinin azalmasına bağlı olarak kilo kazanımı azalabilir. Ayrıca sağlıklı ratlara kıyasla diyabetik ratlarda kilo kazanımının çok daha az olmasının diğer bir sebebi karaciğer hasarı olabilir. Protein sentezi, glikojen depolanması ve alınan besin maddelerini vücudun kullanabileceği hale getirmesi gibi, kilo kazanımı ile ilişkilendirilebilecek işlevleri bulunan karaciğer; diyabetik durumlardan ciddi şekilde etkilenir (Sundaram vd., 2014). Diyabette, karaciğerde oksidatif stres artışının; hiperglisemi sonucu hücrelerde oluşan ROT'un yükselen düzeylerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Prasath ve Subramanian, 2013). Yükselen ROT üretimi, Nrf2 ve NF- κ B gibi inflammatuvar mediyatörlerin çekirdeğe translokasyonunu tetikleyerek inflamasyona dahil olan genlerin transkripsiyonunun artmasına neden olur (Zhang vd., 2016). Elde edilen verilerin ışığında diyabetik ratlarda gelişmesi muhtemel bir karaciğer hasarına bağlı olarak kilo kazanımının farklı olması anlaşılabilir.

4.2. Farmakokinetik Parametreler

Yapılan çalışmada saksagliptin için SS ve SVS grupları ile SS ve DS grupları arasında $t_{1/2\lambda z}$ değeri anlamlı bir fark göstermezken, DVS grubunda DS grubuna göre %62,63; DVS grubunda SVS grubuna göre %52,97 oranında bir artış gözlemlendi. Saksagliptin, elde edilen sonuçlarla benzer şekilde insanlar dahil pek çok türde 2-5 saatlik bir eliminasyon yarı ömrüne sahiptir. Eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2\lambda z}$); dağılım hacmi (Vd) ve klerens (Cl) parametrelerinden etkilenen bir değerdir. Bu parametrelerdeki farklılıklar, ilacın eliminasyon yarı ömür süresi üzerinde doğrudan etki gösterir (Toutain ve Bousquet-Mélou, 2004). SS ve SVS grupları ile SS ve DS grupları karşılaştırıldığında saksagliptine ait Vd_{alan}/F ve Cl/F değerlerinin benzer oranlarda azaldığı belirlendi. Dağılım hacmi ve klerensteki bu benzer orandaki azalma, karşılaştırılan bu gruplardaki

saksagliptin yarı ömür sürelerinin değişmemesinin sebebi olabilir. DVS ve DS grubu ile DVS ve SVS grupları karşılaştırıldığında ise DVS grubunda saksagliptin $V_{d_{alan}}/F$ değeri artarken, Cl/F değerinde azalma gözlemlendi. Bu farklılıklar dağılım hacmi ve klerens değerlerindeki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

Yapılan çalışmada saksagliptine ait Cl/F değerleri SVS grubunda SS grubuna göre %22,29; DVS grubunda DS grubuna göre %30,38; DS grubunda SS grubuna göre %14,82 ve DVS grubunda SVS grubuna göre %23,68 oranında azaldı. DS ve SS grupları arasındaki farkların diğer gruplara kıyasla daha az olması; diyabetin Cl/F değeri üzerinde, verapamil kadar etkili olmadığını göstermektedir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde; saksagliptinin ana metabolik yolağı CYP3A enzimleri aracılığıyla aktif metabolite (5-HS) çevrilmesidir (insanlarda CYP3A4) (Patel vd., 2011a). Ratlarda var olan CYP3A formları; CYP3A1, 3A2, 3A9, 3A18, 3A23 ve 3A62'dir (Matsubara vd., 2004). Farmakolojik olarak aktif olan 5-HS, çalışma yapılan tüm türlerde plazmada önemli seviyelerde tespit edilmiştir (Fura vd., 2009). Saksagliptin Cl/F değerinin verapamil uygulaması ile azalması, verapamilin CYP3A enzim sistemleri üzerindeki inhibitör etkisinden kaynaklanabilir. Verapamil uygulamasına bağlı gelişmesi olası enzim inhibisyonu sonucunda saksagliptin metabolizasyonunun ve buna bağlı olarak klerensinin de azalması beklenen bir durumdur. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, CYP3A enzimleri ile metabolizasyonu gerçekleştiren pioglitazonun verapamil ile kombine kullanıldığı zaman eliminasyonunun yavaşlaması; verapamilin enzim inhibisyonu yapmasına bağlanmış (Chintala vd., 2013), diğer bir çalışmada ise saksagliptinin, CYP3A enzim indüktörü olarak bilinen sükraloza ile kombine uygulandıktan sonra eliminasyon değerlerinde yükselme görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada in vivo durumlarda da saksagliptinin CYP enzim sistemleri üzerinde etkisi olan maddelerle kombine kullanıldığında etkileşime girebileceği ifade edilmiştir (Dayyih vd., 2015).

Saksagliptinin metabolizasyon harici diğer eliminasyon yolu da renal atılımdır. Saksagliptinin renal klerensinin glomerüler filtrasyondan yüksek olması, aktif tübüler sekresyonun da saksagliptinin eliminasyonuna katkıda bulunduğunu gösterir (Fura vd., 2009). Verapamil CYP3A enzim sistemleri üzerindeki inhibitör etkisinin yanında; vücutta pek çok dokuda bulunan, substratı olan maddelerin vücuttaki hareketlerine

önemli ölçüde etki eden ve dışa atım (efluks) karakterdeki bir taşıyıcı protein olan P-gp üzerinde de inhibitör etkinlik gösterir (Bansal vd., 2009). DPP-4 inhibitörlerinin de P-gp'nin substratı olduğu bilinmektedir (Scheen, 2010). Verapamil uygulaması ile saksagliptinin Cl/F değerindeki azalma, renal tübüllerde P-gp aracılı taşınımın inhibisyonunun etkisi ile gerçekleşmiş olabilir. Elde edilen sonuçlarla uyumlu şekilde verapamilin; P-gp'nin substratı olan diğer bir DPP-4 inhibitörü sitagliptin ile kombine kullanımda, sitagliptinin klerensinde de önemli oranda azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir (Kilaru vd., 2018).

Ratlarda diyabet modeli oluşturulup ilaçların farmakokinetik profillerinin incelendiği çalışmalarda birbirinden farklı sonuçların ortaya çıktığı gözlenmektedir. Farklı sonuçların oluşmasının nedeni olarak kullanılan ilacın farmakokinetik karakteri, uygulama dozu ve yolu, diyabet modelinin nasıl şekillendirildiği ile kullanılan hayvanların yaşı, ırkı ve vücut ağırlığı gibi durumlardan bahsedilmiştir (Gutierrez vd., 2015). Bu sonuçlara örnek olarak diyabet durumunun; paklitakselin klerensi üzerinde bir değişiklik yapmaması (Lee vd., 2012), glibenklamidin klerensinde azalma (Li vd., 2012) ve kanagliflozinin klerensinde ise artış şekillendirmesi (Dong vd., 2018) gösterilebilir. Bazı çalışmalarda diyabetin, karaciğer enzim sistemleri üzerinde indükleyici bir etki gösterdiği ifade edilir (Hu vd., 2010). Dolayısıyla saksagliptin gibi CYP enzim substratı olan bir ilacın, diyabetin etkisiyle klerensinin artacağı düşünülebilir. Ancak yine saksagliptin gibi bağırsak ve karaciğerde metabolize olan ilaçlar için metabolizma, uygulama yoluna bağlıdır. Damar içi yolla uygulanan ilaçlarda metabolizmanın çoğu karaciğerde gerçekleşirken; oral yolla uygulanan bir ilaçta bağırsaktaki presistemik metabolizasyon ön plana çıkar (Watkins, 1994; Pang, 2003). STZ ile indüklenerek diyabet modeli şekillendirilen farelerin bağırsaklarındaki CYP3A enzimlerinin aktivitesinde %50 oranında düşüş belirlenmiştir (Borbas vd., 2006). Yapılan çalışmada saksagliptinin Cl/F değeri üzerine diyabetin anlamlı bir etkisinin olmaması, ilacın oral yolla kullanımına bağlanabilir. Diyabete bağlı olası bir karaciğer CYP enzim indüksiyonu ile bağırsaktaki olası CYP enzim inhibisyonu beraber değerlendirildiğinde, saksagliptinin klerensinin diyabet durumunda değişiklik göstermemesi anlaşılabilir. Cl/F değerinde, DVS grubunda DS grubuna göre %30,38'lik oranla anlamlı olarak belirlenen azalma; hem diyabet hem de verapamilin kombine etkisinden kaynaklanabilir.

Yapılan çalışmada saksagliptine ait $V_{d_{alan}}/F$ değerleri SVS grubunda SS grubuna göre %24,19'luk düşüş; DVS grubunda DS grubuna göre %13,21'lik artış; DS grubunda SS grubuna göre %21,94'lük düşüş ve DVS grubunda SVS grubuna göre %16,56'lık artış gösterdi. Tüm gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı olan %25'lik dilimin altında kalsa da SVS grubu ile SS grubu arasındaki %24,19 ile DS grubu ile SS grubu arasındaki %21,94'lük düşüş farkları göze çarpmaktadır. Verapamil plazma proteinlerine oldukça yüksek oranda (ratlarda %95) bağlanır (Manitpisitkul ve Chiou, 1993). Verapamilin plazma proteinlerine yüksek bağlanma oranının saksagliptinin bağlanma oranını azaltarak, saksagliptinin dağılım hacminde artışa neden olması beklenebilir. Ancak saksagliptin plazma proteinlerine düşük oranlarda (ratlarda %18) bağlanan bir ilaçtır (EMA, 2009). Dolayısıyla plazma proteinlerine bağlanmada yaşanabilecek farklılıkların dağılım hacmi üzerindeki etkisinin önemsiz olması; saksagliptinin düşük oranda plazma proteinlerine bağlanmasından kaynaklanabilir.

Özellikle antidiyabetik ilaçlar için en sık tercih edilen uygulama, oral uygulamadır. Oral yolla uygulanan ilaçlar gastrointestinal epitelyal hücre zarını geçmek zorundadır. Buradan geçerek portal ven aracılığıyla karaciğere ve sonunda sistemik dolaşıma ulaşırlar (Fang vd., 2009). P-gp taşıyıcı proteini ve CYP3A enzimleri, bağırsak epitel hücrelerinde yapısal olarak sentezlenip; substratı olan ve oral yoldan uygulanan bazı ilaçların emiliminde önemli bir engel oluşturur (Kunta ve Sinko, 2004). Verapamil uygulaması ile muhtemel P-gp ve CYP3A inhibisyonlarına bağlı olarak saksagliptinin, normalden daha yüksek oranda sistemik dolaşıma geçtiği ve biyoyararlanımının arttığı düşünülebilir. Buna paralel bir şekilde, eliminasyonundaki azalmaya bağlı olarak plazma konsantrasyonundaki yükselme; saksagliptinin dağılım hacminde azalmaya sebep olmuş olabilir. Sonuçlarla uyumlu olarak; metforminin, verapamil uygulaması ile dağılım hacminin azaldığı gösterilmiştir (Han ve Choi, 2020).

Verapamile benzer şekilde, diyabet durumu da saksagliptinin dağılım hacminde düşüşe sebep oldu. Erkek ratların ince bağırsaklarının incelendiği bir çalışmada CYP3A izoformlarının varlığı araştırılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda bağırsak dokularında en yüksek oranda bulunan izoformun CYP3A62 olduğu ve onu CYP3A9'un takip ettiği tespit edilmiştir (Lan vd., 2008). Bağırsak sisteminde baskın olan bu CYP3A62 formu, insan CYP3A4 formuna benzer ekspresyon profili sergiler ve saksagliptinin

metabolizasyonunda önemli rol oynar (Matsubara vd., 2004). Diyabet durumunda bağırsaktaki CYP3A62 ekspresyonunun önemli düzeyde düştüğü (Lee vd., 2012), metabolizmasının azalmasına bağlı olarak saksagliptinin plazma konsantrasyonun yükseldiği ve dağılım hacminin azaldığı ifade edilebilir. CYP enzimlerine benzer şekilde diyabetin bağırsak P-gp işlevinde ve ekspresyonunda da bozulmaya neden olabileceği gösterilmiştir (Yu vd., 2010). Diyabete bağlı olarak bağırsaktaki P-gp fonksiyonunun aşağı regülasyonu ve ekspresyonundaki azalma, saksagliptinin plazmada artmasına ve dağılım hacminin azalmasına neden olmuş olabilir (Anger vd., 2009; Nawa vd., 2010).

Saksagliptin rat, köpek ve maymunlarda yüksek dağılım oranlarına sahiptir (Fura vd., 2009). Yağ dokusunda ve dolayısıyla vücut ağırlığında diyabete bağlı şekillenen azalma, saksagliptin gibi yüksek dağılım hacmine sahip ilaçların dağılım hacminde düşüşe neden olabilir (Lavasanı vd., 2013). İlaçların plazma proteinlerine bağlanmasının, plazma yağ asidi seviyelerindeki farklılık nedeniyle değişebileceği öne sürülmüştür (Nadai vd., 1990). STZ ile indüklenerek diyabet şekillendirilen ratlarda hücre içi dehidrasyonun (Anwana ve Garland, 1991) yanı sıra; insülin direnci, hiperglisemi, bozulmuş glikoz toleransı, hiperlipidemi, hipertansiyon ve hatta kan dolaşımının azalması gibi değişikliklerin olduğu ifade edilmiştir (Aypak vd., 2015; Franch-Nadal vd., 2015; Oh vd., 2016). Sonuç olarak, diyabete bağlı gelişen bu durumlar ilaçların vücuttaki dağılımını etkileyebilir.

Yapılan çalışmada saksagliptine ait ortalama C_{doruk} değerleri SVS grubunda SS grubuna göre %45; DVS grubunda DS grubuna göre %36,19; DS grubunda SS grubuna göre %26,04 ve DVS grubunda SVS grubuna göre %18,39 oranında arttı. Benzer şekilde saksagliptin EAA değerleri de, SVS grubunda SS grubuna göre %28,72; DVS grubunda DS grubuna göre %43,66; DS grubunda SS grubuna göre %17,42 ve DVS grubunda SVS grubuna göre %31,05 oranında yükseldi. Bu sonuçlar verapamil ve diyabetin, saksagliptinin plazma konsantrasyonu üzerinde artırıcı bir etkinliği olduğunu göstermektedir. Bir ilaca ait C_{doruk} ve EAA parametreleri; o ilacın biyoyararlanım ve eliminasyonu ile yakından ilişkilidir (Duan, 2010; Lea-Henry vd., 2018). Saksagliptinin, ratlarda oral uygulama sonrası biyoyararlanım değeri %75'tir (Fura vd., 2009). Verapamil tedavisine bağlı olarak gelişmesi muhtemel bağırsak CYP3A metabolizma

inhibisyonu, saksagliptinin plazma konsantrasyonunu artırıp, eliminasyonunu azaltmış olabilir (Choi ve Li, 2005; Chintala vd., 2013). Bu düşünceyi destekler nitelikte, mevcut çalışmada verapamil uygulamasına bağlı olarak azalan Cl/F değerleri, saksagliptine ait $C_{\text{dörük}}$ ve EAA değerlerinin artmasına sebep olmuş olabilir.

Saksagliptin, idrar (%25) ve feçes (%22) yoluyla benzer oranlarda vücuttan uzaklaştırılır (Golightly vd., 2012). P-gp'nin vücutta en çok sentezlendiği organların başında da bağırsak ve böbrek gelir. P-gp, substratı olan maddeleri aktif bir şekilde taşıyarak eliminasyona yönlendirir (Mealey vd., 2003). Verapamil uygulamasına bağlı olası P-gp inhibisyonu neticesinde absorpsiyonunun artmasına bağlı olarak saksagliptine ait $C_{\text{dörük}}$ ve EAA değerleri yükselmiş olabilir. Sonuçlarımızla uyumlu bir şekilde P-gp substratı olup verapamil ile kombine uygulanan ivermektin (Elazab ve Hsu, 2021), rivaroksaban (Kim vd., 2019b) ve paklitaksele (Choi ve Li, 2005) ait $C_{\text{dörük}}$ ve EAA değerlerinin yükseldiği bildirilmiştir. Verapamilin yanı sıra; diyabetik koşullar altında da intestinal P-gp seviyesinin ekspresyonundaki azalma nedeniyle (Nawa vd., 2010; Lee vd., 2012) biliyer atılımla uzaklaşacak saksagliptin oranında düşüş ve emiliminde artışa bağlı olarak $C_{\text{dörük}}$ ve EAA değerlerinin yükselebileceği düşünülebilir.

Yapılan çalışmada saksagliptine ait $T_{\text{dörük}}$ değeri SVS grubunda SS grubuna göre %33,33 oranında azalırken; DVS-DS grupları arasında aynıydı. DS grubunda SS grubuna göre yine %33,33 oranında azalırken; DVS-SVS grupları arasında aynıydı. Bu farklar; saksagliptinin oral uygulama sonrası verapamilin ve diyabetin etkisiyle emilim hızının yükseldiğini ifade eder. Diyabetin etkisi ve verapamil uygulaması sonrası özellikle oral yolla uygulanan ilaçların uğrak noktası olan bağırsak ve karaciğerde P-gp taşıyıcı proteini ile CYP3A enzimlerinin muhtemel inhibisyonuna bağlı olarak saksagliptin daha hızlı emilim göstermiş olabilir. Önceki çalışmalar da verapamilin (Huang vd., 2018, Zhou vd., 2019) ve diyabetin (Bae vd., 2006; Hu vd., 2010) CYP3A4 ve/veya P-gp aktivitesini inhibe ederek, birlikte uygulanan ilaçların emilim hızını artırabileceğini bildirmiştir. Ayrıca, saksagliptinin ana emilim bölgelerinden biri midedir (Dayyih ve ark 2015). Diyabet durumunda gastrik boşalmanın hızlandığına dair raporlar mevcuttur (Frank vd., 1995; Schwartz vd., 1996). Saksagliptinin midede daha kısa süre kalması, $T_{\text{dörük}}$ değerinin düşmesine neden olmuş olabilir.

Yapılan çalışmada saksagliptine ait $MRT_{0-\infty}$ değeri SVS ile SS grubunda benzerken, DVS grubunda DS grubuna göre %34,92 oranında yükseldi. DS ile SS gruplarında ise hemen hemen aynıyken, DVS grubunda SVS grubuna göre %36,27 oranında yükseldi. Ortalama kalış süresi, ilacın eliminasyon yarı ömrü ile ilişkili bir parametredir (Traş ve Elmas, 2005). $t_{1/2\lambda z}$ değerinin, DVS grubunda DS grubuna göre %62,63; SVS grubuna göre ise %52,97 oranında yükselmiş olması $MRT_{0-\infty}$ değerinin de artmasına neden olmuş olabilir. $t_{1/2\lambda z}$ ve $MRT_{0-\infty}$ değerlerinin yükselmesi, ilacın vücuttan arınma zamanında da uzamaya sebep olur (Söğüt Ertaş ve Kayalı, 2005).

Saksagliptinin %50'si CYP enzimleri aracılığıyla 5-HS'ye dönüştürülür (Tahrani vd., 2009). Yapılan çalışmada MAO değerleri SS, SVS, DS ve DVS gruplarında sırasıyla 2,85; 1,5; 2,09 ve 1,01 olarak tespit edildi. Saksagliptin ve 5-HS'nin EAA parametreleri baz alınarak hesaplanan bu değerlere göre hem verapamil hem de diyabetin, ratlardaki saksagliptin maruziyeti üzerine artırıcı; 5-HS'nin maruziyeti üzerine ise düşürücü etkinlik gösterdiği ifade edilebilir. Sonuçlarımızla örtüşen bir şekilde diğer bir kalsiyum kanal blokörü ve CYP enzim inhibitörü olarak bilinen diltiazem ve başka bir CYP enzim inhibitörü ketokonazol, kombine kullanım sonucu saksagliptinin EAA değerlerinde sırasıyla %109 ve %145 oranında artış; 5-HS'ye ait EAA değerlerinde ise sırasıyla %34 ve %88 oranında düşüş yapmıştır (Patel vd., 2011b). Aynı şekilde STZ ile indüklenen diyabet; baikalinin EAA değerinde %122 (Deng vd., 2012), metforminin EAA değerinde %23 (Lee vd., 2008), paklitakselin EAA değerinde %57 (Lee vd., 2012), mangiferinin EAA değerinde %134 (Liu vd., 2012) ve berberinin EAA değerinde %87 (Jia vd., 2017) oranında artışa neden olmuştur. Bu çalışmada saksagliptin EAA'sındaki artış ile 5-HS EAA'sındaki düşüşün de verapamil ve diyabetin özellikle bağırsak sistemindeki CYP enzim sistemleri ve P-gp taşıyıcı proteini üzerindeki inhibitör etkinliklerinden kaynaklanabileceği düşünülebilir. Saksagliptine ait Cl/F değerinin tüm gruplarda azalması, bu düşüncüyü destekler niteliktedir.

4.3. Farmakodinamik Parametreler

Saksagliptin, GLP-1'in yıkımını önleyerek glikoza bağlı insülin sekresyonunu güçlendiren ve glukagon sekresyonunu inhibe eden bir DPP-4 inhibitörüdür. T2DM hastalığında kullanılan güncel medikal ajanlardan biridir ve minimum istenmeyen etki ile önemli faydalar sunar (Anderson vd., 2016). Günde bir kez dozlamadan sonra bile

güçlü etkinlik gösterir. Saksagliptinin uzun süreli farmakolojik etkisine katkı sağlayan ilk ve en önemli unsur, aktif metaboliti olan 5-HS bileşiğinin genel etkinliğe katkıda bulunmasıdır (Fura vd., 2009). Aynı zamanda güçlü ve spesifik bir DPP-4 inhibitörü olan bu metabolit rat plazmasında da önemli konsantrasyonlarda dolaşır (Şekil 2). Ancak in vitro enzim kinetik bağlanma çalışmaları 37°C'de DPP-4 inhibisyonu açısından 5-HS'nin etkinliğinin, ana madde olan saksagliptin etkinliğinin yarısı kadar olduğunu göstermektedir (Wang vd., 2012). Bu nedenle saksagliptinin klinik farmakolojik profili dikkate alındığında, özellikle metabolit-ana madde oranının değiştiği durumlarda (ilaç-ilaç etkileşimi vb), daha çok saksagliptinin farmakokinetiği ön plana çıkar (Boulton, 2017). İkinci unsur olarak hem saksagliptinin hem de 5-HS'nin, DPP-4'ün katalitik bölgesine uzun süreli bağlanma kapasiteleri gösterilebilir (Kirby vd., 2008; Metzler vd., 2008). Saksagliptin ve 5-HS'nin; DPP-4 aktif bölgesinden yavaş olan ayrışmasının, plazma konsantrasyonu ile DPP-4 inhibisyonu arasında gecikme vermesi beklenir ve bu da bileşik için farmakokinetik yarı ömürden daha uzun bir farmakodinamik yarı ömür sağlar. Saksagliptinin uzun süreli farmakolojik etkisi ile ilgili olan diğer bir unsur da saksagliptin ve 5-HS'nin bağırsak dokularında yüksek konsantrasyonlara ulaşmasıdır (Fura vd., 2009). İncretin hormonlarının sentezlendiği yer olan bağırsak dokularında yüksek konsantrasyonlarda ve uzun süre bulunmaları farmakolojik etkinlik açısından önem arz eder. Genel dolaşıma ulaştıktan sonra ortaya çıkardıkları etkiye ek olarak, inkretinlerin etki mekanizmasına ilişkin hipotezlerden biri de, inkretinlerin bağırsaktaki L hücrelerinden salındıktan sonra, bağırsak intersitisyumunda nodoz gangliyondan kaynaklanan afferent duyuşal sinir liflerini aktive etmesidir (Holst ve Deacon, 2005). Bu hipotezde, intersitisyum içindeki DPP-4, pankreastan nöronal döngü aracılı insülin salınımını düzenlemek için oldukça önemli kabul edilir. Bu durum; saksagliptin tarafından yüksek glisemik etkinliğin ve anahtar hormonların güçlü modülasyonunun (en azından bir kısmının), bağırsak dokularındaki varlığından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmada saksagliptin uygulamaları ile kan glikoz değerlerinin azaldığı; bu azalmanın verapamil uygulanan gruplarda daha da yüksek oranlarda olduğu belirlendi. Diyabetik rat grupları arasındaki kan glikoz değerleri arasındaki farklılıklar daha ön plandaydı. Bu durum saksagliptin ile birlikte uygulanan verapamilin, glikoz düzeyini azaltma kapasitesini artırdığını ifade eder. Elde edilen sonuçlar farmakokinetik bulgular

ile örtüşmektedir. Verapamil uygulaması ile yükselen saksagliptin plazma konsantrasyonu, kan glikoz düzeylerinin daha yüksek oranlarda düşmesine neden olmuş olabilir. Saksagliptinin 2,5; 5 ve 10 mg/kg dozlarının kıyaslandığı bir çalışmada, T2DM'li hastalara 24 hafta boyunca her gün saksagliptinin verildiği ve çalışma sonunda HbA1c seviyelerinin sırasıyla %0,43; %0,46 ve %0,54 oranında düştüğü; doza bağlı artan bir cevabın şekillendiği ve hastalarda herhangi bir yan etkinin gözlenmediği bildirilmiştir (Rosenstock vd., 2008). Benzer şekilde bu çalışmada da saksagliptinin artan maruziyeti ile beraber lineer bir şekilde artan etkinliği söz konusu olabilir.

Ayrıca verapamilin kendi karakteristiği ile DM hastalarında prognozu iyiye yönelttiği çeşitli çalışmalarda ifade edilmiştir. STZ ile indüklenip DM geliştirilen farelerde verapamil kullanımı sonucu endojen insülin seviyesi ile beta hücrelerinin fonksiyonunda artış/apoptozunda azalış ve glikoz homeostazisinde ilerleme kaydedilmiştir (Carvalho vd., 2018). Başka bir çalışmada ciddi bir insülin direncine sahip olduğu belirlenen farelerde içme suyundan 1 mg/mL dozunda verapamil uygulanması insülin duyarlılığında ve glikoz homeostazisinde artış oluşturmıştır (Xu vd., 2012). DM hastalığına sahip insanlarda yapılan bir çalışmada ise açlık kan glikoz seviyesinin verapamil + antidiyabetik ilaç kullanan grupta, sadece antidiyabetik ilaç kullanan gruba göre 24 mg/dL daha az olduğu; HbA1c seviyesinin de verapamil + antidiyabetik ilaç kullanan grupta neredeyse istenilen değer olan %7'lere düştüğü belirlenmiştir (Khodneva vd., 2016). Kan glikoz homeostazisindeki katkılarının yanı sıra verapamil DM hastalarında nöropati (Xu vd., 2019), nefropati (Tabur vd., 2015), kardiyomiyopati (Shan vd., 2013), proteinüri (Jermendy ve Ruggenti, 2007) ve beyin hasarı (Jackson vd., 2018) gibi ciddi komplikasyonların görülme sıklığını azaltmıştır. Verapamilin bu etkileri göz önüne alındığında yapılan çalışmada kan glikoz düzeylerindeki azalma oranındaki artışın beklenen bir durum olduğu ifade edilebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

İlaç etkileşimleri genellikle klinik uygulamada görülür ve etkileşim mekanizmaları genellikle hayvan modellerinde değerlendirilir. Mevcut çalışmada geliştirilen T2DM modeli, antidiyabetik ilaçlar ile diğer ilaçlar arasında gelişebilecek etkileşimlere katkı sağladı. Sağlıklı ve diyabetik ratlarda verapamil uygulaması plazma saksagliptin konsantrasyonunu artırırken, 5-HS konsantrasyonunu azalttı. Diyabetik ratlarda, verapamil uygulamasının saksagliptinin terapötik aralığı içinde plazma konsantrasyonunun artışına neden olması, daha iyi terapötik etki ile sonuçlandı. Ancak diyabetik hastaların saksagliptini tekrarlayan dozlarda uzun süre kullanması önerilir. Verapamil ve saksagliptinin kombine şekilde uzun süre kullanılması durumunda ilaçların farmakokinetik profilleri değişiklik gösterebilir. Bu nedenle diyabetik hastalarda saksagliptin ve verapamilin birlikte kullanımından önce tekrarlayan dozlarda uzun süre uygulamayı takiben, saksagliptin ve verapamilin farmakokinetiğinin belirlenmesi gereklidir. Ayrıca diyabetik hastalarda saksagliptinin farmakokinetiği; uygulama dozu, yaş, ırk, vücut ağırlığı ve cinsiyet gibi bağımsız değişkenlerden etkilenebilir. Bu nedenle gelecek çalışmalarda; farklı diyabet modelleri indüklemesi, özellikle bağırsak-karaciğer ve böbrek dokularındaki enzim ve taşıyıcı proteinlerin sentez ve/veya aktivasyonun değerlendirilmesi, diyabete bağlı gelişebilecek oksidatif stres sonucu pankreas başta olmak üzere bağırsak-karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik olarak incelenmesi, çeşitli organ hasarlarının belirteçleri olarak serum biyokimya parametrelerinin belirlenmesi gereklidir.

Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında verapamil ve diyabetik koşullar, ratlarda saksagliptinin plazma konsantrasyonunda artışın yanı sıra klerens ve dağılım hacmi değerlerinde düşüşe neden oldu. Ayrıca verapamilin, saksagliptin ile beraber kullanımı; saksagliptinin kan glikoz düzeyini düşürücü etkinliğini yükseltti.

6. KAYNAKLAR

- Abdellatif, S.A., Beheiry, R.R., El-Mandrawy, S.A. (2017). Peppermint essential oil alleviates hyperglycemia caused by streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes in rats. *Biomed Pharmacother*, 95: 990-999.
- Agarwal, S., Agarwal, V., Agarwal, M., Singh, M. (2020). Exosomes: structure, biogenesis, types and application in diagnosis and gene and drug delivery. *Curr Gene Ther*, 20(3): 195-206.
- Ahangarpour, A., Heidari, H., Oroojan, A.A., Mirzavandi, F., Esfehiani, K.N., Mohammadi, Z.D. (2017). Antidiabetic, hypolipidemic and hepatoprotective effects of *Arctium lappa* root's hydro-alcoholic extract on nicotinamide-streptozotocin induced type 2 model of diabetes in male mice. *Avicenna J Phytomed*, 7(2): 169-179.
- Ahmed, D., Sharma, M., Kumar, V., Bajaj, H.K., Verma, A. (2015). 2 β -hydroxybetulinic acid 3 β -caprylate: an active principle from *Euryale Ferox* Salisb. seeds with antidiabetic, antioxidant, pancreas & hepatoprotective potential in streptozotocin induced diabetic rats. *J Food Sci Technol*, 52(9): 5427-5441.
- Alam, U., Asghar, O., Azmi, S., Malik, R.A. (2014). General aspects of diabetes mellitus. *Handb Clin Neurol*, 126: 211-222.
- Ali, S., Fonseca, V. (2013). Saxagliptin overview: special focus on safety and adverse effects. *Expert Opin Drug Saf*, 12(1): 103-109.
- Anderson, R., Hayes, J., Stephens, J.W. (2016). Pharmacokinetic, pharmacodynamic and clinical evaluation of saxagliptin in type 2 diabetes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 12(4): 467-473.
- Anger, G.J., Magomedova, L., Piquette-Miller, M. (2009). Impact of acute streptozotocin-induced diabetes on ABC transporter expression in rats. *Chem Biodivers*, 6(11): 1943-1959.
- Anwana, A.B., Garland, H.O. (1991). Intracellular dehydration in the rat made diabetic with streptozotocin: effects of infusion. *J Endocrinol*, 128(3): 333-337.
- Altarejos, J.Y., Montminy, M. (2011). CREB and the CRTC co-activators: sensors for hormonal and metabolic signals. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 12(3): 141-151.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2012. (2012). *Diabetes Care*, 35(Suppl. S1): 11–63.
- American Diabetes Association. Economic Costs of Diabetes in the U.S. in 2017. *Diabetes Care*, (2018). DOI: 10.2337/dci18-0007.
- Aulinger, B.A., Bedorf, A., Kutscherauer, G., de Heer, J., Holst, J.J., Göke, B., Schirra, J. (2014). Defining the role of GLP-1 in the enteroinsular axis in type 2 diabetes using DPP-4 inhibition and GLP-1 receptor blockade. *Diabetes*, 63(3): 1079-1092.
- Avogaro, A., Fadini, G.P. (2014). The effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibition on microvascular diabetes complications. *Diabetes care*, 37(10): 2884-2894.
- Aypak, C., Türedi, Ö., Bircan, M.A., Araz, M. (2015). Association of haematological parameters with bone mineral density in elderly diabetic women. *Acta Clin Belg*, 70(5): 339-344.
- Bae, S.K., Kim, J.Y., Yang, S.H., Kim, J.W., Kim, T., Lee, M.G. (2006). Pharmacokinetics of oltipraz in rat models of diabetes mellitus induced by alloxan or streptozotocin. *Life Sci*, 78(20): 2287-2294.

- Baetta, R., Corsini, A. (2011). Pharmacology of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Drugs*, 71(11): 1441-1467.
- Balamurugan, R., Ignacimuthu, S. (2011). Antidiabetic and hypolipidemic effect of methanol extract of *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(1): 30-36.
- Bansal, T., Mishra, G., Jaggi, M., Khar, R.K., Talegaonkar, S. (2009). Effect of P-glycoprotein inhibitor, verapamil, on oral bioavailability and pharmacokinetics of irinotecan in rats. *Eur J Pharm Sci*, 36(4-5): 580-590.
- Baxter, K., Preston, C.L. (2010). Stockley's drug interactions. Vol. 495, Pharmaceutical Press, London.
- Bedoya, F.J., Solano, F., Lucas, M. (1996). N-monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experientia*, 52(4): 344-347.
- Bennett, R.A., Pegg, A.E. (1981). Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin. *Cancer Res*, 41(7): 2786-2790.
- Bergantin, L.B., Souza, C.F., Ferreira, R.M., Smaili, S.S., Jurkiewicz, N.H., Caricati-Neto, A., Jurkiewicz, A. (2013). Novel model for "calcium paradox" in sympathetic transmission of smooth muscles: role of cyclic AMP pathway. *Cell Calcium*, 54(3): 202-212.
- Biftu, T., Sinha-Roy, R., Chen, P., Qian, X., Feng, D., Kuethe, J.T., Scapin, G., Gao, Y.D., Yan, Y., Krueger, D., Bak, A., Eirmann, G., He, J., Cox, J., Hicks, J., Lyons, K., He, H., Salituro, G., Tong, S., Patel, S., Doss, G., Petrov, A., Wu, J., Xu, S.S., Sewall, C., Zhang, X., Zhang, B., Thornberry, N.A., Weber, A.E. (2014). Omarigliptin (MK-3102): a novel long-acting DPP-4 inhibitor for once-weekly treatment of type 2 diabetes. *J Med Chem*, 57(8): 3205-3212.
- Borbás, T., Benkő, B., Dalmadi, B., Szabó, I., Tihanyi, K. (2006). Insulin in flavin-containing monooxygenase regulation: flavin-containing monooxygenase and cytochrome P450 activities in experimental diabetes. *Eur J Pharm Sci*, 28(1-2): 51-58.
- Boulton, D.W. (2017). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of saxagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor. *Clinical Pharmacokinet*, 56(1): 11-24.
- Braga, M.F.B., Casanova, A., Teoh, H., Gerstein, H.C., Fitchett, D.H., Honos, G., McFarlane, P.A., Ur, E., Yale, J.F., Langer, A., Goodman, S.G., Leiter, L.A., Diabetes Registry to Improve Vascular Events [DRIVE] Investigators. (2012). Poor achievement of guidelines-recommended targets in type 2 diabetes: findings from a contemporary prospective cohort study. *Int J Clin Pract*, 66(5): 457-464.
- Caricati-Neto, A., García, A.G., Bergantin, L.B. (2015). Pharmacological implications of the Ca²⁺/cAMP signaling interaction: from risk for antihypertensive therapy to potential beneficial for neurological and psychiatric disorders. *Pharmacol Res Perspect*, 3(5): e00181.
- Carvalho, D.S., de Almeida, A.A., Borges, A.F., Campos, D.V. (2018). Treatments for diabetes mellitus type II: new perspectives regarding the possible role of calcium and cAMP interaction. *Eur J Pharmacol*, 830: 9-16.
- Cashion, A.K., Holmes, S.L., Hathaway, D.K., Gaber, A.O. (2004). Gastroparesis following kidney/pancreas transplant. *Clin Transplant*, 18(3): 306-311.
- Cha-Molstad, H., Xu, G., Chen, J., Jing, G., Young, M.E., Chatham, J.C., Shalev, A. (2012). Calcium channel blockers act through nuclear factor Y to control transcription of key cardiac genes. *Mol Pharmacol*, 82(3): 541-549.

- Chatuphonprasert, W., Lao-Ong, T., Jarukamjorn, K. (2014). Improvement of superoxide dismutase and catalase in streptozotocin–nicotinamide-induced type 2-diabetes in mice by berberine and glibenclamide. *Pharm Biol*, 52(4): 419-427.
- Chaudhury, A., Duvoor, C., Reddy Dendi, V.S., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., Marco, A., Shekhawat, N.S., Montales, M.T., Kuriakose, K., Sasapu, A., Beebe, A., Patil, N., Musham, C.K., Lohani, G.P., Mirza, W. (2017). Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 diabetes mellitus management. *Front Endocrinol*, 8: 6.
- Chen, J., Hui, S.T., Couto, F.M., Mungrue, I.N., Davis, D.B., Attie, A.D., Lusi, A.J., Davis R.A., Shalev, A. (2008). Thioredoxin-interacting protein deficiency induces Akt/Bcl-xL signaling and pancreatic beta-cell mass and protects against diabetes. *FASEB J*, 22(10): 3581-3594.
- Chintala, R., Gadiko, C., Angoth, B., Yellu, N.R. (2013). Influence of verapamil on pharmacokinetics of pioglitazone in normal and diabetic rats. *Int J Pharm Sci Res*, 4(3): 1022-1026.
- Choi, J.S., Li, X. (2005). The effect of verapamil on the pharmacokinetics of paclitaxel in rats. *Eur Jo Pharm Sci*, 24(1): 95-100.
- Classen, D.C., Pestotnik, S.L., Evans, R.S., Lloyd, J.F., Burke, J.P. (1997). Adverse drug events in hospitalized patients: excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *Jama*, 277(4): 301-306.
- Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J.C., Jorns, A., Lenzen, S., Eizirik, D.L. (2005). Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes*, 54(suppl_2): 97-107.
- Corum, O., Er, A., Corum, D.D., Atik, O., Uney, K. (2019). Pharmacokinetics and bioavailability of ceftriaxone in brown trout (*Salmo trutta fario*) after intravenous and intramuscular administration. *Aquaculture*, 500: 272-277.
- Çubuk, G., İnce, S. (2015). Oral antidiyabetik ilaçlar. *Kocatepe Vet J*, 8(1): 95-102.
- Dabush-Elisha, I., Goren, O., Herscovici, A., Matot, I. (2019). Bradycardia during laparoscopic surgeries: a retrospective cohort study. *World J Surg*, 43(6): 1490-1496.
- Danaei, G., Finucane, M.M., Lu, Y., Singh, G.M., Cowan, M.J., Paciorek, C.J., Lin, J.K., Farzadfar, F., Khang, Y.H., Stevens, G.A., Rao, M., Ali, M.K., Riley, L.M., Robinson, C.A., Ezzati, M., Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Blood Glucose). (2011). National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2· 7 million participants. *The Lancet*, 378(9785): 31-40.
- Dayyih, W.A., Tamimi, L., Mallah, E., Mansour, K., Arafat, T., Bustami, M. (2015). Saxagliptin levels and its pharmacokinetic application in presence of sucralose in animals serum by HPLC method. *Int J Parm Pharmac Sci*, 7(9): 243-250.
- Deacon, C.F., Nauck, M.A., Toft-Nielsen, M., Pridal, L., Willms, B., Holst, J.J. (1995). Both subcutaneously and intravenously administered glucagon-like peptide I are rapidly degraded from the NH₂-terminus in type II diabetic patients and in healthy subjects. *Diabetes*, 44(9): 1126-1131.
- Deacon, C.F. (2011). Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes: a comparative review. *Diabetes Obes Metab*, 13(1): 7-18.
- Delaney, C.A., Dunger, A., Di Matteo, M., Cunningham, J.M., Green, M.H., Green, I.C. (1995). Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of

- Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates: lack of correlation with nitric oxide-releasing or O6-alkylating ability. *Biochem Pharmacol*, 50(12): 2015-2020.
- Deng, Y.X., Shi, Q.Z., Chen, B., Zhang, X.J., Liu, S.Z., Qiu, X.M. (2012). Comparative pharmacokinetics of baicalin in normal and the type 2 diabetic rats after oral administration of the Radix scutellariae extract. *Fitoterapia*, 83(8): 1435-1442.
- Dhillon, S. (2015). Saxagliptin: a review in type 2 diabetes. *Drugs*, 75(15): 1783-1796.
- Dong, S.T., Niu, H.M., Wu, Y., Jiang, J.L., Li, Y., Jiang, K.Y., Wang, X., Zhang, M.F., Han, M.F., Meng, S.N. (2018). Plasma pharmacokinetic determination of canagliflozin and its metabolites in a type 2 diabetic rat model by UPLC-MS/MS. *Molecules*, 23(5): 1229.
- Dostalek, M., Court, M.H., Yan, B., Akhlaghi, F. (2011). Significantly reduced cytochrome P450 3A4 expression and activity in liver from humans with diabetes mellitus. *Br J Pharmacol*, 163(5): 937-947.
- Drucker, D.J. (2003). Therapeutic potential of dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opin Investig Drugs*, 12(1): 87-100.
- Drucker, D.J., Nauck, M.A. (2006). The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *The Lancet*, 368(9548): 1696-1705.
- Duan, J.Z. (2010). Drug-drug interaction pattern recognition. *Drugs R D*, 10(1): 9-24.
- Elazab, S.T., Hsu, W.H. (2021). Effects of verapamil on the pharmacokinetics of ivermectin in rabbits. *J Vet Pharmacol Ther*, 44(3): 397-405.
- Eleazu, C.O., Eleazu, K.C., Chukwuma, S., Essien, U.N. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *J Diabetes Metab Disord*, 12(1): 1-7.
- EMA. (2009). European Medicines Agency, Evaluation of Medicines for Human Use. CHMP Assessment Report for Onglyza (International Nonproprietary Name: saxagliptin). Procedure No. EMA/H/C/001039. 7 Westferry Circus, Canary Wharf, London, E14 4HB, UK.
- Emerging Risk Factors Collaboration. (2010). Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *The Lancet*, 375(9733): 2215-2222.
- Fang, H.M., Xu, J.M., Mei, Q., Diao, L., Chen, M.L., Jin, J., Xu, X.H. (2009). Involvement of cytochrome P450 3A4 and P-glycoprotein in first-pass intestinal extraction of omeprazole in rabbits. *Acta Pharmacol Sin*, 30(11): 1566-1572.
- Flekanstein, A. (1977). Specific pharmacology of calcium in pericardium, cardiac pacemaker and vascular smooth muscles. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 17: 149-66.
- Franch-Nadal, J., Roura-Olmeda, P., Benito-Badorrey, B., Rodriguez-Poncelas, A., Coll-de-Tuero, G., Mata-Cases, M., GEDAPS (Primary Care Group for the Study of Diabetes). (2015). Metabolic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus patients according to diabetes duration. *Fam Pract*, 32(1): 27-34.
- Frank, J.W., Saslow, S.B., Camilleri, M., Thomforde, G.M., Dinneen, S., Rizza, R.A. (1995). Mechanism of accelerated gastric emptying of liquids and hyperglycemia in patients with type II diabetes mellitus. *Gastroenterology*, 109(3): 755-765.
- Fronzo, R.A.D. (2009). From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus (banting lecture). *Diabetes*, 58: 773-795.

- Fura, A., Khanna, A., Vyas, V., Koplowitz, B., Chang, S. Y., Caporuscio, C., Boulton, D.W., Christopher, L.J., Chadwick, K.D., Hamann, L.G., Humphreys, W.G., Kirby, M. (2009). Pharmacokinetics of the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor saxagliptin in rats, dogs, and monkeys and clinical projections. *Drug Metab Dispos*, 37(6): 1164-1171.
- Gao, J.W., Yuan, Y.M., Lu, Y.S., Yao, M.C. (2012). Development of a rapid UPLC-MS/MS method for quantification of saxagliptin in rat plasma and application to pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr*, 26(12): 1482-1487.
- Godfraind, T. (2017). Discovery and development of calcium channel blockers. *Front Pharmacol*, 8: 286.
- Golightly, L.K., Drayna, C.C., McDermott, M.T. (2012). Comparative clinical pharmacokinetics of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Clin Pharmacokinet*, 51(8): 501-514.
- Gour, A., Dogra, A., Sharma, S., Wazir, P., Nandi, U. (2021). Effect of disease state on the pharmacokinetics of bedaquiline in renal-impaired and diabetic rats. *ACS omega*, 6(10): 6934-6941.
- Gumuslu, E., Cine, N., Ertan, M., Mutlu, O., Komsuoglu Celikyurt, I., Ulak, G. (2018). Exenatide upregulates gene expression of glucagon-like peptide-1 receptor and nerve growth factor in streptozotocin/nicotinamide-induced diabetic mice. *Fundam Clin Pharmacol*, 32(2): 174-180.
- Gutierrez, V.O., Campos, M.L., Arcaro, C.A., Assis, R.P., Baldan-Cimatti, H.M., Peccinini, R.G., Paula-Gomes, S., Kettelhut, I.C., Baviera, A.M., Brunetti, I. L. (2015). Curcumin pharmacokinetic and pharmacodynamic evidences in streptozotocin-diabetic rats support the antidiabetic activity to be via metabolite(s). *J Evid Based Complementary Altern Med*, 2015, 678218. DOI: 10.1155/2015/678218.
- Han, S.Y., Choi, Y.H. (2020). Pharmacokinetic interaction between metformin and verapamil in rats: inhibition of the OCT2-mediated renal excretion of metformin by verapamil. *Pharmaceutics*, 12(5): 468.
- Havale, S.H., Pal, M. (2009). Medicinal chemistry approaches to the inhibition of dipeptidyl peptidase-4 for the treatment of type 2 diabetes. *Bioorg Med Chem*, 17(5): 1783-1802.
- Heller, B., Bürkle, A., Radons, J., Fengler, E., Jallowy, A., Müller, M., Burkart, V., Kolb, H. (1994). Analysis of oxygen radical toxicity in pancreatic islets at the single cell level. *Biol Chem*, 375: 597-602.
- Hellum, B.H., Nilsen, O.G. (2008). In vitro inhibition of CYP3A4 metabolism and P-glycoprotein-mediated transport by trade herbal products. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 102(5): 466-475.
- Holst, J.J., Deacon, C.F. (2005). Glucagon-like peptide-1 mediates the therapeutic actions of DPP-IV inhibitors. *Diabetologia*, 48(4): 612-615.
- Hu, N., Xie, S., Liu, L., Wang, X., Pan, X., Chen, G., Zhang, L., Liu, H., Liu, X., Liu, X., Xie, L., Wang, G. (2011). Opposite effect of diabetes mellitus induced by streptozotocin on oral and intravenous pharmacokinetics of verapamil in rats. *Drug Metab Dispos*, 39(3): 419-425.
- Huang, Y., Zhao, J., Jian, W., Wang, G. (2018). Effects of verapamil on the pharmacokinetics of dihydromyricetin in rats and its potential mechanism. *Xenobiotica*, 48(8): 839-844.
- Humpert, P.M., Neuwirth, R., Battista, M.J., Voronko, O., von Eynatten, M., Konrade, I., Rudofsky G., Wendt, T., Hamann, A., Morcos, M., Nawroth, P.P., Bierhaus, A. (2005).

- SDF-1 genotype influences insulin-dependent mobilization of adult progenitor cells in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 28(4): 934-936.
- International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances (INN) (2005). Recommended INN: List 54. *WHO Drug Information* 19(3): 263.
- Islam, M., Wilson, R.D. (2012). Experimentally induced rodent models of type 2 diabetes, In *Animal models in diabetes research*. Humana Press, Totowa, NJ, p: 161-174.
- İnt. Kyn. 1, https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf, 21.10.2022.
- İnt. Kyn. 2, https://tkd.org.tr/kilavuz/k03/4_2c93c.htm?wbnum=1107, 12.10.2022.
- İnt. Kyn. 3, <https://www.tcichemicals.com/US/en/p/V0118>, 22.10.2022.
- Jackson, D.A., Michael, T., Vieira de Abreu, A., Agrawal, R., Bortolato, M., Fisher, S.J. (2018). Prevention of severe hypoglycemia-induced brain damage and cognitive impairment with verapamil. *Diabetes*, 67(10): 2107-2112.
- Jermendy, G., Ruggerenti, P. (2007). Preventing microalbuminuria in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 23(2): 100-110.
- Jia, Y., Xu, B., Xu, J. (2017). Effects of type 2 diabetes mellitus on the pharmacokinetics of berberine in rats. *Pharm Biol*, 55(1): 510-515.
- Kaku, K. (2015). First novel once-weekly DPP-4 inhibitor, trelagliptin, for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Expert Opin Pharmacother*, 16(16): 2539-2547.
- Kaur, N., Kishore, L., Singh, R. (2018). *Dillenia indica* L. attenuates diabetic nephropathy via inhibition of advanced glycation end products accumulation in STZ-nicotinamide induced diabetic rats. *J Tradit Complement Med*, 8(1): 226-238.
- Kayaalp, O. (2012). *Tıbbi Farmakoloji*, 2. Cilt. 13. Baskı, Pelikan Yayıncılık, Ankara.
- Keating, G.M. (2014). Vildagliptin: a review of its use in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 74(5): 587-610.
- Keating, G.M. (2015). Alogliptin: a review of its use in patients with type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 75(7): 777-796.
- Khodneva, Y., Shalev, A., Frank, S.J., Carson, A.P., Safford, M.M. (2016). Calcium channel blocker use is associated with lower fasting serum glucose among adults with diabetes from the REGARDS study. *Diabetes Res Clin Pract*, 115: 115-121.
- Khori, V., Semnani, S.H., Roshandel, G.H. (2011). Frequency distribution of drug interactions and some of related factors in prescriptions. *Med J Tabriz Univ Med Sci*, 27(4): 29-32.
- Kilaru, N.B., Nuthakki, S., Pendyala, S., Kondru S., Pingili, R. (2018). Drug-drug interactions: Influence of verapamil on the pharmacokinetics of sitagliptin in rats and Ex vivo models. *Iran J Pharmacol Ther*, 16(1): 1-11.
- Kim, S.H., Lee, S.H., Yim, H.J. (2013). Gemigliptin, a novel dipeptidyl peptidase 4 inhibitor: first new anti-diabetic drug in the history of Korean pharmaceutical industry. *Arch Pharm Res*, 36(10): 1185-1188.
- Kim, J., Kim, Y.A., Hwangbo, B., Kim, M.J., Cho, H., Hwangbo, Y., Lee, E.S. (2019a). Effect of antihypertensive medications on sepsis-related outcomes: a population-based cohort study. *Crit Care Med*, 47(5): e386-e393.
- Kim, M., Son, H., Noh, K., Kim, E., Shin, B.S., Kang, W. (2019b). Effects of verapamil and diltiazem on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban. *Pharmaceutics*, 11(3): 133.

- King, H., Aubert, R.E., Herman, W.H. (1998). Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes care*, 21(9): 1414-1431.
- King, H., Rewers, M. (1993). Global Estimate for Prevalence of Diabetes and Impaired Glucose Tolerance. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group. *Diabetes Care*, 16: 157-177.
- Kirby, M.S., Dorso, C., Wang, A., Weigelt, C., Kopcho, L., Hamann, L., Marcinkeviciene, J. (2008). In vitro enzymologic characteristics of saxagliptin, a highly potent and selective DPP4 inhibitor with ‘slow binding’ characteristics. *Clin Chem Lab Med*, 46: A29.
- Kobori, T., Harada, S., Nakamoto, K., Tokuyama, S. (2013). Functional alterations of intestinal P-glycoprotein under diabetic conditions. *Biol Pharm Bull*, 36(9): 1381-1390.
- Kpemissi, M., Potârniche, A.V., Lawson-Evi, P., Metowogo, K., Melila, M., Dramane, P., Taulescu, M., Chandramohan, V., Suhas, D.S., Puneeth, T.A., Kumar, V.S., Vlase, L., Andrei, S., Eklu-Gadegbeku, K., Sevastre, B., Veerapur, V.P. (2020). Nephroprotective effect of *Combretum micranthum* G. Don in nicotinamide-streptozotocin induced diabetic nephropathy in rats: in-vivo and in-silico experiments. *J Ethnopharmacol*, 261: 113133.
- Krikler, D.M., Spurrell, R.A. (1974). Verapamil in the treatment of paroxysmal supraventricular tachycardia. *Postgrad Med J*, 50(585): 447-453.
- Krishna, R., Bergman, A., Larson, P., Cote, J., Lasseter, K., Dilzer, S., Wang, A., Zeng, W., Chen, L., Wagner, J., Herman, G. (2007). Effect of a single cyclosporine dose on the single-dose pharmacokinetics of sitagliptin (MK-0431), a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in healthy male subjects. *J Clin Pharmacol*, 47(2): 165-174.
- Kruger, D.F., Gatcomb, P.M., Owen, S.K. (1999). Clinical implications of amylin and amylin deficiency. *Diabetes Educ*, 25(3): 389-397.
- Kunta, J.R., Sinko, P.J. (2004). Intestinal drug transporters: in vivo function and clinical importance. *Curr Drug Metab*, 5(1): 109-124.
- Lajara, R. (2012). Use of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin in combination therapy for type 2 diabetes. *Expert Opin Pharmacother*, 13(18): 2663-2671.
- Lambeir, A.M., Scharpé, S., De Meester, I. (2008). DPP4 inhibitors for diabetes—what next?. *Biochem Pharmacol*, 76(12): 1637-1643.
- Lan, K., He, J.L., Tian, Y., Tan, F., Jiang, X.H., Wang, L., Ye, L.M. (2008). Intra-herb pharmacokinetics interaction between quercetin and isorhamnetin 1. *Acta Pharmacol Sin*, 29(11): 1376-1382.
- Lane, T., Flam, B., Lockey, R., Kolliputi, N. (2013). TXNIP shuttling: missing link between oxidative stress and inflammasome activation. *Front Physiol*, 4: 50.
- Lavasani, H., Sheikholeslami, B., Ardakani, Y.H., Abdollahi, M., Hakemi, L., Rouini, M.R. (2013). Study of the pharmacokinetic changes of Tramadol in diabetic rats. *J Pharm Sci*, 21(1): 1-9.
- Lea-Henry, T.N., Carland, J.E., Stocker, S.L., Sevastos, J., Roberts, D.M. (2018). Clinical pharmacokinetics in kidney disease: fundamental principles. *Clin J Am Soc Nephrol*, 13(7), 1085-1095.
- Lee, M.G., Choi, Y.H., Lee, I. (2008). Effects of diabetes mellitus induced by alloxan on the pharmacokinetics of metformin in rats: restoration of pharmacokinetic parameters to the control state by insulin treatment. *J Pharm Pharm Sci*, 11(1): 88-103.

- Lee, J.H., Lee, A., Oh, J.H., Lee, Y.J. (2012). Comparative pharmacokinetic study of paclitaxel and docetaxel in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biopharm Drug Dispos*, 33(8): 474-486.
- Lewis, G.R., Morley, K.D., Lewis, B.M., Bones, P.J. (1978). The treatment of hypertension with verapamil. *N Z Med J*, 87(612): 351-354.
- Li, Y., Wei, Y., Zhang, F., Wang, D., Wu, X. (2012). Changes in the pharmacokinetics of glibenclamide in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Pharm Sin B*, 2(2): 198-204.
- Li, N., Wang, L.J., Jiang, B., Li, X.Q., Guo, C.L., Guo, S.J., Shi, D.Y. (2018). Recent progress of the development of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Eur J Med Chem*, 151: 145-157.
- Liu, H., Wu, B., Pan, G., He, L., Li, Z., Fan, M., Jian, L., Chen, M., Wang, K., Huang, C. (2012). Metabolism and pharmacokinetics of mangiferin in conventional rats, pseudo-germ-free rats, and streptozotocin-induced diabetic rats. *Drug Metab Dispos*, 40(11): 2109-2118.
- Liu, J., Zhang, N., Li, N., Fan, X., Li, Y. (2019). Influence of verapamil on the pharmacokinetics of oridonin in rats. *Pharm Biol*, 57(1): 787-791.
- Long, Y.C., Cheng, Z., Copps, K.D., White, M.F. (2011). Insulin receptor substrates Irs1 and Irs2 coordinate skeletal muscle growth and metabolism via the Akt and AMPK pathways. *Mol Cell Biol*, 31(3): 430-441.
- Lu, J., Hao, Y., Zhang, F., Pan, H., Ding, J., Yu, Q., Wang, T. (2022). Disposition study of the novel dipeptidyl peptidase 4 inhibitor cetagliptin in rats. *Xenobiotica*, 52(5): 468-475.
- MacDonald, M.J. (1990). Elusive proximal signals of β -cells for insulin secretion. *Diabetes*, 39(12): 1461-1466.
- Manitpitikul, P., Chiou, W.L. (1993). Intravenous verapamil kinetics in rats: marked arteriovenous concentration difference and comparison with humans. *Biopharm Drug Dispos*, 14(7): 555-566.
- Mantzoros, C.S., Flier, J.S. (1995). Insulin resistance: the clinical spectrum. *Adv Endocrinol Metab*, 6: 193-232.
- Matsubara, T., Kim, H.J., Miyata, M., Shimada, M., Nagata, K., Yamazoe, Y. (2004). Isolation and characterization of a new major intestinal CYP3A form, CYP3A62, in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 309(3): 1282-1290.
- Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., Turner, R.C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7): 412-419.
- McCormack, P.L. (2015). Evogliptin: first global approval. *Drugs*, 75(17): 2045-2049.
- Mealey, K.L., Northrup, N.C., Bentjen, S.A. (2003). Increased toxicity of P-glycoprotein-substrate chemotherapeutic agents in a dog with the MDR1 deletion mutation associated with ivermectin sensitivity. *J Am Vet Med Assoc*, 223(10): 1453-1455.
- Metzler, W.J., Yanchunas, J., Weigelt, C., Kish, K., Klei, H.E., Xie, D., Zhang, Y., Corbett, M., Tamura, J.K., He, B., Hamann, L.G., Kirby, M.S., Marcinkeviciene, J. (2008). Involvement of DPP-IV catalytic residues in enzyme-saxagliptin complex formation. *Protein Sci*, 17(2): 240-250.
- Mohamed, R.S., Marrez, D.A., Salem, S.H., Zaghloul, A.H., Ashoush, I.S., Farrag, A.R.H., Abdel-Salam, A.M. (2019). Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of

- green sprouts juice and functional dairy micronutrients against streptozotocin-induced oxidative stress and diabetes in rats. *Heliyon*, 5(2): e01197.
- Murea, M., Ma, L., Freedman, B.I. (2012). Genetic and environmental factors associated with type 2 diabetes and diabetic vascular complications. *The review of diabetic studies: RDS*, 9(1): 6.
- Nadai, M., Yoshizumi, H., Kuzuya, T., Hasegawa, T., Johno, I., Kitazawa, S. (1990). Effect of diabetes on disposition and renal handling of cefazolin in rats. *Drug Metab Dispos*, 18(5): 565-570.
- Nathan, D.M., Buse, J.B., Davidson, M.B., Ferrannini, E., Holman, R.R., Sherwin, R., Zinman, B. (2009). Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*, 32(1): 193-203.
- Nauck, M.A., Kind, J., K€othe, L.D., Holst, J.J., Deacon, C.F., Broschag, M., He, Y.L., Kjems, L., Foley, J. (2016). Quantification of the contribution of GLP-1 to mediating insulinotropic effects of DPP-4 inhibition with vildagliptin in healthy subjects and patients with type 2 diabetes using exendin [9-39] as a GLP-1 receptor antagonist. *Diabetes*, 65(8): 2440-2447.
- Nawa, A., Fujita, W., Tokuyama, S. (2010). Inducible nitric oxide synthase-mediated decrease of intestinal P-glycoprotein expression under streptozotocin-induced diabetic conditions. *Life Sci*, 86(11-12): 402-409.
- Nishio, S., Abe, M., Ito, H. (2015). Anagliptin in the treatment of type 2 diabetes: safety, efficacy, and patient acceptability. *Diabet Metab Syndr Ob: Targets and Therapy*, 8: 163.
- Oh, W., Kim, E., Castro, M.R., Caraballo, P.J., Kumar, V., Steinbach, M.S., Simon, G.J. (2016). Type 2 diabetes mellitus trajectories and associated risks. *Big data*, 4(1): 25-30.
- Okane, N., Hashizume, N. (1994). Drug binding properties of glycosylated human serum albumin as measured by fluorescence and circular dichroism. *Biol Pharm Bull*, 17(1): 16-21.
- Omar, B., Ahrén, B. (2014). Pleiotropic mechanisms for the glucose-lowering action of DPP-4 inhibitors. *Diabetes*, 63(7): 2196-2202.
- Palleria, C., Di Paolo, A., Giofrè, C., Caglioti, C., Leuzzi, G., Siniscalchi, A., De Sarro, G., Gallelli, L. (2013). Pharmacokinetic drug-drug interaction and their implication in clinical management. *Journal Res Med Sci*, 18(7): 601-610.
- Pang, K.S. (2003). Modeling of intestinal drug absorption: roles of transporters and metabolic enzymes (for the Gillette Review Series). *Drug Metab Dispos*, 31(12): 1507-1519.
- Parodi, O., Maseri, A., Simonetti, I. (1979). Management of unstable angina at rest by verapamil. A double-blind cross-over study in coronary care unit. *Heart*, 41(2): 167-174.
- Patel, C.G., Kornhauser, D., Vachharajani, N., Komoroski, B., Brenner, E., Handschuh del Corral, M., Li, L., Boulton, D.W. (2011a). Saxagliptin, a potent, selective inhibitor of DPP-4, does not alter the pharmacokinetics of three oral antidiabetic drugs (metformin, glyburide or pioglitazone) in healthy subjects. *Diabetes Obes Metab*, 13(7): 604-614.
- Patel, C.G., Li, L., Girgis, S., Kornhauser, D.M., Frevert, E.U., Boulton, D.W. (2011b). Two-way pharmacokinetic interaction studies between saxagliptin and cytochrome P450

- substrates or inhibitors: simvastatin, diltiazem extended-release, and ketoconazole. *Clin Pharmacol: Adv Appl*, 3: 13-25.
- Patel, D.K., Prasad, S.K., Kumar, R., Hemalatha, S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2(4): 320-330.
- Peng, Y., Chang, Q., Yang, N., Gu, S., Zhou, Y., Yin, L., Aa, J., Wang, G., Sun, J. (2018). Quantitative determination of metformin, saxagliptin and 5-hydroxy saxagliptin simultaneously by hydrophilic interaction liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry and its application to a bioequivalence study with a single-pill combination in human. *J Chromatogr B*, 1081: 109-117.
- Plosker, G.L. (2014). Sitagliptin: a review of its use in patients with type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 74(2): 223-242.
- Prasath, G.S., Subramanian, S.P. (2013). Fisetin, a tetra hydroxy flavone recuperates antioxidant status and protects hepatocellular ultrastructure from hyperglycemia mediated oxidative stress in streptozotocin induced experimental diabetes in rats. *Food Chem Toxicol*, 59: 249-255.
- Proost, P., Struyf, S., Schols, D., Durinx, C., Wuyts, A., Lenaerts, J.P., Clercq, E.D., Meester, I.D., Van Damme, J. (1998). Processing by CD26/dipeptidyl-peptidase IV reduces the chemotactic and anti-HIV-1 activity of stromal-cell-derived factor-1 α . *FEBS Lett*, 432(1-2): 73-76.
- Rasmussen, H.B., Branner, S., Wiberg, F.C., Wagtmann, N. (2003). Crystal structure of human dipeptidyl peptidase IV/CD26 in complex with a substrate analog. *Nat Struct Biol*, 10(1): 19-25.
- Rees, D.A., Alcolado, J.C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med*, 22(4): 359-370.
- Ricciardi, C.A., Gnudi, L. (2021). Kidney disease in diabetes: From mechanisms to clinical presentation and treatment strategies. *Metab*, 124: 154890. DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154890.
- Riser Taylor, S., Harris, K.B. (2013). The clinical efficacy and safety of sodium glucose cotransporter-2 inhibitors in adults with type 2 diabetes mellitus. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 33(9): 984-999.
- Roghani, M., Vaez Mahdavi, M.R., Jalali-Nadoushan, M.R., Baluchnejadmojarad, T., Naderi, G., Roghani-Dehkordi, F., Joghataei, M.T., Kord, M. (2013). Chronic administration of daidzein, a soybean isoflavone, improves endothelial DSfunction and attenuates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res*, 27(1): 112-117.
- Rosenstock, J., Sankoh, S., List, J.F. (2008). Glucose-lowering activity of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor saxagliptin in drug-naïve patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 10(5): 376-386.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala A.A., Ogurtsova, K., Shaw, J.E., Bright, D., Williams, R., IDF Diabetes Atlas Committee. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract*, 157: 107843. DOI: 10.1016/j.diabres.2019.107843.

- Sardu, C., De Lucia, C., Wallner, M., Santulli, G. (2019). Diabetes mellitus and its cardiovascular complications: new insights into an old disease. *J Diabetes Res*, DOI: 10.1155/2019/1905194.
- Scheen, A.J. (2010). Pharmacokinetics of dipeptidylpeptidase-4 inhibitors. *Diabetes Obes Metab*, 12(8): 648-658.
- Scheen, A.J. (2015). A review of gliptins for 2014. *Expert Opin Pharmacother*, 16(1): 43-62.
- Schwartz, J.G., Green, G.M., Guan, D., McMahan, C.A., Phillips, W.T. (1996). Rapid gastric emptying of a solid pancake meal in type II diabetic patients. *Diabetes Care*, 19(5): 468-471.
- Scott, L.J. (2015). Teneligliptin: a review in type 2 diabetes. *Clin Drug Investig*, 35(11): 765-772.
- Seino, S., Shibasaki, T. (2005). PKA-dependent and PKA-independent pathways for cAMP-regulated exocytosis. *Physiol Rev*, 85(4): 1303-1342.
- Shan, H.L., Wang, Y., Wu, J.W., Hang, P.Z., Li, X., Sun, L.H., Qi, J.C., Mao, Y.Y., Sun, Z.D., Du, Z.M. (2013). Verapamil reverses cardiac iron overload in streptozocin-induced diabetic rats. *Naunyn-Schmiedeb Arch Pharmacol*, 386(7): 645-650.
- Sharma, R., Sun, H., Piotrowski, D.W., Ryder, T.F., Doran, S.D., Dai, H., Prakash, C. (2012). Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of ((3, 3-difluoropyrrolidin-1-yl)((2S, 4S)-4-(4-(pyrimidin-2-yl) piperazin-1-yl) pyrrolidin-2-yl) methanone, a dipeptidyl peptidase inhibitor, in rat, dog and human. *Drug Metab Dispos*, 40(11): 2143-2161.
- Song, F., Jia, W., Yao, Y., Hu, Y., Lei, L., Lin, J., Liu, L. (2007). Oxidative stress, antioxidant status and DNA damage in patients with impaired glucose regulation and newly diagnosed Type 2 diabetes. *Clin Sci*, 112(12): 599-606.
- Söğüt Ertaş Ö., Kayalı A. (2005). Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış. *Ecz Fak Derg* 34(1): 41-57.
- Standl, E., Khunti, K., Hansen, T.B., Schnell, O. (2019). The global epidemics of diabetes in the 21st century: Current situation and perspectives. *Eur J Prev Cardiol*, 26(2_suppl): 7-14.
- Stoimenis, D., Karagiannis, T., Katsoula, A., Athanasiadou, E., Kazakos, K., Bekiari, E. Matthews, D.R., Tsapas, A. (2017). Once-weekly dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Expert Opin Pharmacother*, 18(9): 843-851.
- Sundaram, R., Shanthi, P., Sachdanandam, P. (2014). Effect of tangeretin, a polymethoxylated flavone on glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 21(6): 793-799.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 50(6): 537-546.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med*, 237(5): 481-490.
- Tabur, S., Oğuz, E., Sabuncu, T., Korkmaz, H., Çelik, H. (2015). The effects of calcium channel blockers on nephropathy and pigment epithelium-derived factor in the treatment of hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Expl Hypertens*, 37(3): 177-183.
- Tahrani, A.A., Piya, M.K., Barnett, A.H. (2009). Saxagliptin: a new DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Adv Ther*, 26(3): 249-262.

- Toutain, P.L., Bousquet-mélou, A. (2004). Plasma clearance. *J Vet Pharmacol Ther*, 27(6): 415-425.
- Tıraş, B., Elmas, M. (2005). Klinik Farmakokinetik. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
- Vanhove, T., Remijsen, Q., Kuypers, D., Gillard, P. (2017). Drug–drug interactions between immunosuppressants and antidiabetic drugs in the treatment of post-transplant diabetes mellitus. *Transplant Rev*, 31(2): 69-77.
- Viollet, B., Guigas, B., Garcia, N.S., Leclerc, J., Foretz, M., Andreelli, F. (2012). Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci*, 122(6): 253-270.
- Wang, A., Dorso, C., Kopcho, L., Locke, G., Langish, R., Harstad, E., Shipkova, P., Marcinkeviciene, J., Hamann, L., Kirby, M.S. (2012). Potency, selectivity and prolonged binding of saxagliptin to DPP4: maintenance of DPP4 inhibition by saxagliptin in vitro and ex vivo when compared to a rapidly-dissociating DPP4 inhibitor. *BMC Pharmacology*, 12(1): 1-11.
- Watkins, P.B. (1994). Non-invasive tests of CYP3A enzymes. *Pharmacogenetics*, 4(4): 171-184.
- Wessler, J., Grip, L., Mendell, J., Giugliano, R. (2013). The P-Glycoprotein Transport System and Cardiovascular Drugs. *J Am Coll Cardiol*, 61(25): 2495-2502.
- Whiting, D.R., Guariguata, L., Weil, C., Shaw, J. (2011). IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*, 94(3): 311-321.
- Wong, N.D., Glovaci, D., Wong, K., Malik, S., Franklin, S.S., Wygant, G., Iloeje, U. (2012). Global cardiovascular disease risk assessment in United States adults with diabetes. *Diab Vasc Dis Res*, 9(2): 146-152.
- Xu, G., Chen, J., Jing, G., Shalev, A. (2012). Preventing β -cell loss and diabetes with calcium channel blockers. *Diabetes*, 61(4): 848-856.
- Xu, L., Lin, X., Guan, M., Zeng, Y., Liu, Y. (2019). Verapamil attenuated prediabetic neuropathy in high-fat diet-fed mice through inhibiting TXNIP-mediated apoptosis and inflammation. *Oxid Med Cell Longev*, 2019: 1896041. DOI: 10.1155/2019/1896041.
- Yanagimachi, T., Fujita, Y., Takeda, Y., Honjo, J., Sakagami, H., Kitsunai, H., Takiyama, Y., Abiko, A., Makino, Y., Kieffer, T.J., Haneda, M. (2017). Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor treatment induces a greater increase in plasma levels of bioactive GIP than GLP-1 in non-diabetic subjects. *Mol Metab*, 6(2): 226-231.
- Yu, S., Yu, Y., Liu, L., Wang, X., Lu, S., Liang, Y., Liu, X., Xie, L., Wang, G. (2010). Increased Plasma Exposures of Five Protoberberine Alkaloids from *Coptidis Rhizoma* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: Is P-GP Involved?. *Planta med*, 76(09): 876-881.
- Yun, J.S., Ko, S.H. (2021). Current trends in epidemiology of cardiovascular disease and cardiovascular risk management in type 2 diabetes. *Metab*, 123: 154838. DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154838.
- Zhang, Y., Yuan, D., Yao, W., Zhu, Q., Liu, Y., Huang, F., Feng, J., Chen, X., Huang, Y., Chi, X., Hei, Z. (2016). Hyperglycemia aggravates hepatic ischemia reperfusion injury by inducing chronic oxidative stress and inflammation. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 3919627. DOI: 10.1155/2016/3919627.
- Zhou, Y., Song, X., Dong, G. (2019). Effects of verapamil on the pharmacokinetics of puerarin in rats. *Xenobiotica*, 49(10): 1178-1182.