

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE
TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

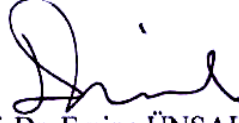
**TOPIKAL UYGULAMA İLE
SELAMEKTİNİN KOYUN VE
KEÇİLERDE PLAZMA
KONSANTRASYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Burcu GÜL BAYKALIR

2012

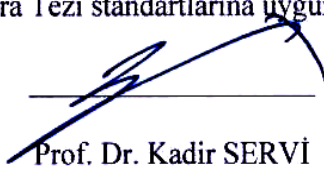
ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Emine ÜNSALDI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

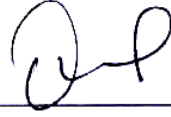


Prof. Dr. Kadir SERVİ

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gürdal DAĞOĞLU



Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

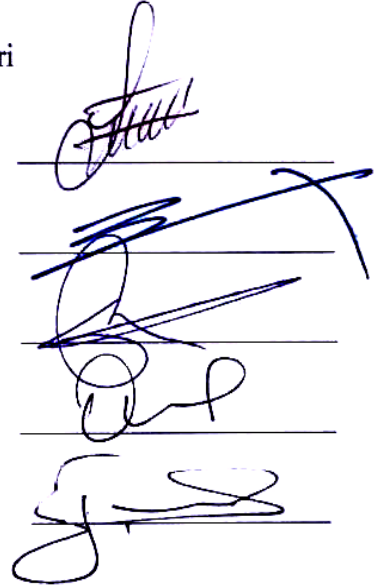
Prof.Dr.Songül SONAL

Prof.Dr.Kadir SERVİ

Prof.Dr.Sadettin TANYILDIZI

Prof.Dr.Gürdal DAĞOĞLU

Prof.Dr.Engin ŞAHNA



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Tablo Listesi	i
Şekil Listesi	ii
Kısaltmalar Listesi	iii
Teşekkür	v
1. Özet	vi
2. Abstract	viii
3. Giriş	1
3.1. Kimyasal Yapı	5
3.2. Etki Spektrumu	6
3.3. Etki Şekli	7
3.4. Farmakokinetiği	9
3.5. Güvenlik ve Toksisite	15
4. Gereç ve Yöntem	19
4.1. Gereç	19
4.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
4.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	19
4.1.3. Hayvan Materyali	20
4.1.4. İlaç Uygulama ve Örnek Alma İşlemi	21
4.2. Yöntem	21
4.2.1. Standart Hazırlaması	21
4.2.2. Plazma Ekstraksiyonu	22
4.2.3. HPLC Sistem	23

4.3. Farmakokinetik Parametrelerin Belirlenmesi	23
4.4. İstatistiksel Analizler	24
5. Bulgular	25
6. Tartışma	30
7. Kaynaklar	39
8. Özgeçmiş	49

Tablo Listesi

Sayfa No

Tablo 1: Makrosiklik laktonların sığırlardaki farmakokinetik
değerleri.

11

Tablo 2: Selamektinin koyun ve keçilere topikal yolla 12 mg/kg
dozda uygulanmasını takiben elde edilen farmakokinetik
değerler.

27

Şekil Listesi

Sayfa No

Şekil 1: Makrosiklik laktonun kimyasal yapısı.	4
Şekil 2: Selamektinin kimyasal yapısı.	6
Şekil 3: Nematodlarda sinaptik iletimde avermektinlerin rolü.	9
Şekil 4: Selamektinin HPLC' de analizinden elde edilen standart kromatogramı.	25
Şekil 5: Keçi plazmasının HPLC' de analizinden elde edilen selamektin kromatogramı.	26
Şekil 6: Koyun plazmasının HPLC' de analizinden elde edilen selamektin kromatogramı.	26
Şekil 7: Selamektinin 12 mg/kg dozunda koyunlara uygulanmasını takiben plazma yoğunluk-zaman profili.	28
Şekil 8: Selamektinin 12 mg/kg dozunda keçilere uygulanmasını takiben plazma yoğunluk-zaman profili.	28

Kısaltmalar Listesi

HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
C _{max}	Plazma maksimum konsantrasyon
AUC	Eğri altında kalan alan
MRT	Ortalama kalış süresi
T _{max}	Plazma maksimum konsantrasyona ulaşma süresi
ML	Makrosiklik laktonlar
GABA	Gama-aminobütirik asit
Cl	Klerens
Dİ	Damar içi
DA	Deri altı
top.	Topikal
T _{1/2}	Yarılanma ömrü
TAHAM	Fırat Üniversitesi Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
LC	Sıvı kromatografi
kg	Kilogram
mg	Miligram

µg	Mikrogram
ng	Nanogram
pg	Pikogram
mm	Milimetre
dk	Dakika
L	Litre
ml	Mililitre

Teşekkür

Doktora eğitimim süresince ve tez çalışmam boyunca bilgi, deneyim ve hoşgörüsünü eksik etmeyen ve her türlü yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Gürdal DAĞOĞLU' na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Analizlerin yapılmasında laboratuvar imkânı sağlayan ve bilimsel olarak yardımlarını esirgemeyen Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Kadir SERVİ' ye ve bilimsel olarak her türlü desteği esirgemeyen Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine en içten teşekkürlerimi sunarım. Deneysel çalışmalarım sırasında emeği geçen Arş. Gör. Hüseyin GÜNGÖR ve Veteriner Hekim Sedat GÖKMEN' e teşekkür ederim. Ayrıca beni bugünlere getiren aileme, sonsuz destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını 1980 no' lu proje ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Koordinasyon Birimi' ne teşekkür ederim.

1. ÖZET

Hayvanlarda iç ve dış parazitlerin sağaltımı amacıyla kullanılan, yeni bir avermektin türevi olan selamektinin koyun ve keçilerdeki plazma konsantrasyonu ile bazı farmakokinetik parametrelerinin araştırıldığı bu çalışmada; 1 yaşında ve dişi olmak üzere 12'şer adet akkaraman koyun ve kıl keçisi kullanılmıştır. Her iki gruptaki hayvanlara topikal olarak tek doz 12 mg/kg selamektin (Stronghold® % 12 240 mg, Pfizer) uygulanmıştır. İlaç uygulamasını takiben 35 gün süresince değişik aralıklarla kan örnekleri alınmış ve gerekli analizler yapılmıştır. Plazma selamektin tayininde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda; plazma konsantrasyonları, farmakokinetik parametrelerden plazma maksimum konsantrasyon (C_{max}), eğri altında kalan alan (AUC), ortalama kalış süresi (MRT) ve plazma maksimum konsantrasyona ulaşma süresi (T_{max}) değerlendirilmiştir. Buna göre plazma konsantrasyonu koyunlarda 1427.27 ± 90.52 pg/ml, C_{max} 4.78 ± 0.61 ng/ml, AUC 810.35 ± 115.95 saat.ng/ml, MRT 10.86 ± 0.89 gün ve T_{max} 72 saat; keçilerde ise plazma konsantrasyonu 1195.03 ± 70.81 pg/ml, C_{max} 3.27 ± 0.52 ng/ml, AUC 664.42 ± 72.62 saat.ng/ml, MRT 10.46 ± 0.74 gün, T_{max} ise 72 saat olarak belirlenmiştir. Koyun ve keçi arasında istatistiksel olarak plazma konsantrasyonları, C_{max} ve AUC değerleri bakımından önemli farklılıklar ($p < 0.05$) olmasına rağmen; MRT ve T_{max} değerleri açısından ise istatistiksel yönden önemli sayılabilecek bir farkın bulunmadığı ($p > 0.05$) tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, selamektinin koyun ve keçilerde paraziter enfeksiyonların tedavi veya kontrolünde topikal yol ile uygulanması halinde plazma

konsantrasyon düzeyi, $C_{\max}$ ve AUC değerlerinin koyunlarda keçilere göre daha yüksek bulunduğu, MRT ve $T_{\max}$ değerleri arasında ise önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Selamektin, koyun, keçi, topikal uygulama, HPLC.

2. ABSTRACT

Investigation of Plasma Concentrations Selamectin with Topical Administration in Sheep and Goats

In this study, plasma concentration with some kinetic parameters of selamectin, used for treatment of internal and external parasites in animals and a new derivate of avermectin, were investigated in 1 year old sheep and goats including 12 female akkaraman sheep and hair goats used in each. Both groups of animals were used selamectin (240 mg of 12 % Stronghold®, Pfizer) as a single topical dose of 12 mg/kg. Following administration of the drug during 35 days various intervals blood samples were taken and made necessary analysis. High pressure liquid chromatography (HPLC) were used for determination of plasma selamectin.

At result of the analysis, plasma concentrations, maximum plasma concentration (C_{max}), area under the curve (AUC), mean residence time (MRT) and the time to reach plasma maximum concentration (T_{max}) of pharmacokinetic parameters were evaluated. Accordingly, plasma concentration of 1427.27 ± 90.52 pg/ml, C_{max} 4.78 ± 0.61 ng/ml, AUC 810.35 ± 115.95 h.ng/ml, MRT 10.86 ± 0.89 days and T_{max} 72 hours in sheeps; plasma concentration of 1195.03 ± 70.81 pg/ml, C_{max} 3.27 ± 0.52 ng/ml, AUC 664.42 ± 72.62 h.ng/ml, MRT 10.46 ± 0.74 days and T_{max} 72 hours were defined in goats. Despite there were observed significant differences in terms of plasma concentrations, C_{max} and AUC values ($p < 0.05$), there were no statistically differences in MRT and T_{max} values statistically a significant diffence sheep and goats ($p > 0.05$).

In conclusion, when selamectin were administrated by topical route treatment or control of parasitic infections in sheep and goats there were determined that plasma concentration, $C_{\max}$ and AUC values in sheep higher than goat but there were not significant difference between MRT and $T_{\max}$ values.

Keywords: Selamectin, sheep, goat, topical administration, HPLC.

3. GİRİŞ

Avermektinler ve milbemisiner; insan ile hayvan sağlığında tüm dünyada yaygın olarak kullanılan makrosiklik laktonlar (ML) diye adlandırılan aileye ait bileşiklerdir. Streptomices' lerin toprakta bulunan doğal fermentasyon ürünleridir (1-3). Başlangıçta hayvanlarda parazitik enfeksiyonların tedavisi için kullanılırken, sonradan beşeri hekimlikte de kullanım alanı olduğu saptanmıştır (4). İnsan sağlığında ML' in en önemli kullanımı 1988 yılında deri altı dokuda nodüllerle karakterize olan *Onchocerca volvulus*' un neden olduğu nehir körlüğü hastağına karşı ivermektinin kullanımı olmuştur (5, 6). Ayrıca uyuz, bitlenme ve AIDS hastalarının parazitler enfeksiyonlarının tedavisinde de uygulama alanı bulmuştur (7-9).

ML geniş etki spektrumuna sahip, güvenilir ilaçlar olduğundan günümüzde hayvanlardaki çoğu parazitler hastalıkların tedavisinde geniş bir şekilde kullanılmaktadırlar (10-13). ML' in önemli iki yesi olan avermektinler (ivermektin, abamektin, doramektin, eprinomektin ve selamektin) ve milbemisiner (milbemisiner oksim ve moksidektin); hem endoparazitlere hem de ektoparazitlere karşı etkili olduklarından 'endosid' ve 'ektosid' kelimeleri birleştirilerek 'endektosid' olarak isimlendirilmiştir (14-19). İvermektin ise ML grubunda ilk endektosid olarak sınıflandırılan bileşiktir (20).

Avermektinler 1979' da üretilmiştir. Grubun ilk yesi olan ivermektin 1981 yılında Fransa' da ortaya çıkmasını takiben hayvanların antiparazitler mücadelesinde bir devrim yaratmış ve iki yıl içinde bu alanda dünyada en popüler ilaç olmuştur (3, 6, 16, 21-23). Ayrıca 1985' te tarımsal pestisid olarak piyasaya

sürülmüştür. 1991 yılında *Streptomyces avermitilis*' ten mutasyonel biyosentez yoluyla yeni bir avermektin üyesi olan doramektin üretilmiştir (16). Doramektinin kimyasal modifikasyonu ile elde edilen, yarı sentetik yeni bir ürün olan selamektin ise 1996 yılında köpek ve kedilere damlatma şeklinde uygulanmak üzere geliştirilmiş ve ilk defa 1999 yılında Amerika Birleşik Devletleri' nde kullanılmaya başlanmıştır (3, 24). Bu global gelişim programının başarıyla tamamlanmasından sonra selamektin, minimum 6 mg/kg dozunda, endo ve ektoparazitlerin birçoğunu içeren geniş etki spektrumu ile topikal bir ürün olarak günümüzde dünya çapında Stronghold® (Europe) ve Revolution® (USA) isimleriyle pazarlanmaktadır (14, 25-27). Bu grubun diğer bir üyesi olan eprinomektin ise 1997 yılında sığırlarda dökme formülasyonu şeklinde kullanıma sokulmuştur (12, 28, 29).

Veteriner ilaç ve insektisid olarak; 6 adet avermektin ve 2 adet milbemisin türevi ilaç ruhsatlandırılmış durumdadır. Bunlardan abamektin ve ivermektin en yaygın kullanılanlarıdır. İlk endektosid olan ivermektin; veteriner hekimlikte antiparazitik ve antelmintik olarak, beşeri hekimlikte ise intestinal kıl kurdu, onkoserkiazis (nehir körlüğü) ve lenfatik filariazis tedavisinde etkinliği onaylanan bir ilaç olarak kullanılmaktadır (6, 30-32). Bu grupta yer alan bir diğer ilaç olan eprinomektin ise laktasyondaki ineklerde, paraziter enfeksiyonların tedavisi için ruhsatlandırılmış ilk avermektindir. Ayrıca emamektin ise çiftlik somon balıklarındaki deniz bitlerinin tedavisi için ruhsatlandırılmıştır (2).

Avermektinler, *Streptomyces avermitilis*' in fermentasyonundan izole edilen ilk ML' dur (30). ML geniş kompleks halkalı yapılardır (**Şekil 1**). Avermektinlerin ana yapısını *Streptomyces avermitilis*' in fermentasyon ürünü

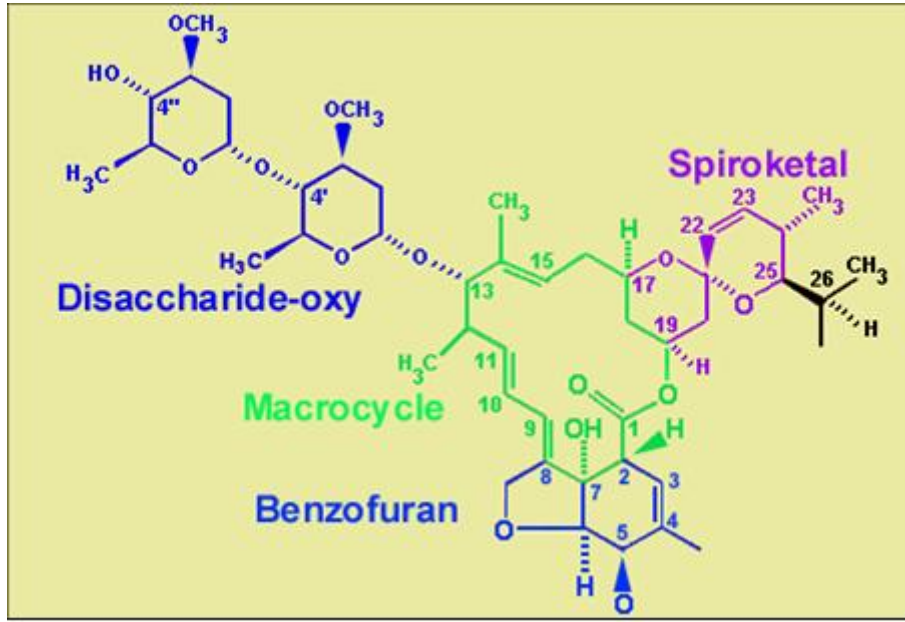
olan 16 üyeli makrosiklik lakton halkası oluşturmaktadır (16, 33). Bu halka içeriğinde; bir benzofuran halka, 13. karbondan fonksiyonel bir disakkarit grubu ve 17. ile 28. karbondan bir spiroketal grup bulunmakta iken selamektinde disakkarit grubu yerine monosakkarit grubu bulunmaktadır (2). *Streptomyces cyaneogriseusnoncyanogenus*’tan üretilmiş olan milbemisimler yapısal olarak avermektinlere benzerler, fakat yapılarında disakkarit grubu yoktur.

Streptomyces avermitilis’in gelişme ortamından farklı bir dizi avermektin belirlenmiş ve bu bileşikler A_{1a}, A_{1b}, A_{2a}, A_{2b}, B_{1a}, B_{1b}, B_{2a}, B_{2b} olarak isimlendirilmiştir (33, 34). Bunlardan A_{1a}, A_{2a}, B_{1a}, B_{2a} olmak üzere 4 ana türev şekillenirken az miktarda da A_{1b}, A_{2b}, B_{1b} ve B_{2b} türevleri de ortaya çıkmaktadır (3, 35). İzole edilen tüm bileşikler parazitleri etkilemekte, ancak ivermektin ismiyle bilinen B türevlerinin etkinliği daha fazla olmaktadır (30). Bu 4 ana türev 25. karbondan alt ünite olarak bütül’ün bulunmasıyla A_{1a}, A_{2a}, B_{1a}, B_{2a} olarak; izopropil’ün bulunmasıyla da A_{1b}, A_{2b}, B_{1b}, B_{2b} olarak adlandırılmaktadır (35). Avermektinler ‘A’ yapısında 5-metoksi grubunun ve ‘B’ yapısında ise 5-hidroksi grubunun bulunmasına göre sınıflandırılmaktadırlar (3, 35). ‘1’ yapısı ise ‘2’ yapısının dehidrasyonu ile 22. ile 23. karbon arasında çift bağın olmasıyla birbirinden ayrılmaktadır.

Bu yapılardan üçü; A_{2a}, B_{1a} ve B_{2a} temel fermentasyon ürünleridir. Bunların içerisinde B_{1a} diğer türevlerden daha geniş bir aktivite göstermektedir. B_{1a} ve B_{1b} türevleri hemen hemen aynı faaliyete sahiptir fakat B_{1a} yapısı B_{1b}’den çok daha fazla üretilendir. Bunun bir sonucu olarak, avermektin B₁ (genellikle abamektin olarak bilinir) doğal olarak üretilen en önemli avermektindir.

İvermektin ise onun 22. ile 23. karbon arasındaki çift bağın doyurulmasıyla üretilen yarısentetik türevidir. İvermektin, halen mükemmel bir antiparaziter etkiyi (tipik B₁ avermektinlerden) ve daha düşük toksisiteyi (tipik B₂ avermektinlerden) muhafaza etmektedir (1).

B₁ avermektinlerden hazırlanan ivermektin 22,23-dihidroavermektin B_{1a} ve 22,23-dihidroavermektin B_{1b}' yi sırasıyla > % 80 ve < % 20 oranında içermektedir (33, 36, 29, 34). Bu karışım abamektin olarak ticarileştirilmiştir (29, 30).



Şekil 1: Makrosiklik lakton kimyasal yapısı (37).

Avermektin B_{1a}' nın yarı sentetik türevleri olan emamektin benzoat ve ivermektin sırasıyla, insan ve hayvanların parazit kontrolünde kullanılmasına rağmen abamektin insektisid olarak kullanılmaktadır (30). Emamektin benzoat

Lepidoptera' nın çeşitli türlerini kontrol altına almada etkili olurken abamektin öncelikli olarak akarların kontrolünde kullanılmıştır (30).

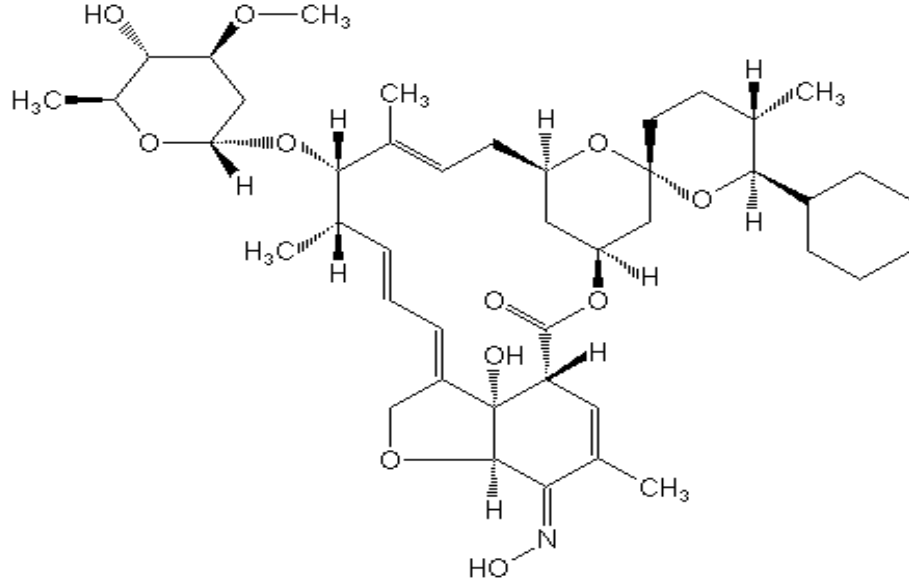
Avermektin ve milbemis grubunun altında yer alan yeni, geniş spektrumlu üyelerin farmakokinetik özellikleri farklı olsa da etki şekilleri, etki spektrumları ve parazitlerdeki direnç mekanizmaları benzerlik gösterir (3). Bu bileşikler, geniş spektrumlu olmasına rağmen bazıları spesifik parazit türlerine karşı yüksek etki göstermektedir (1).

İvermektin ticari olarak piyasaya sürülen ilk avermektin üyesi olması ve hayvan türleri arasında endektosid olarak daha yaygın şekilde kullanılmasından dolayı, evcil hayvanlardaki farmakokinetiği hakkında diğer grup üyelerine oranla daha fazla araştırma yapılmıştır. Avermektinlerin farmakokinetiğini uygulama yolu, ilacın formulasyonu, hayvanın cinsiyeti, tür içi ve türler arası varyasyonlar gibi faktörler önemli ölçüde etkilemektedir. Yağda yüksek oranda çözünebilen bu grup ilaçlar; geniş dağılım hacmine sahiptirler ve büyük miktarlarda biriktikleri karaciğer ile yağ dokudan yavaş bir şekilde elimine edilmektedirler (3, 13, 38).

3.1. Kimyasal Yapı

Avermektinler, organik çözücülerde iyi çözünen lipofilik bileşiklerdir ve pratik olarak suda çözünmezler (3). Avermektin grubunun ilk yarı sentetik bileşiği ivermektindir. 25. karbonda siklohekzil grubu ile karakterize olan doramektin mutasyonel biyosentez ile üretilmektedir (3, 21, 22, 29, 33). Kimyasal formülü, $C_{43}H_{63}NO_{11}$ (25 siklohekzil-25-de(1-metilpropil)-5-deoksi-22,23-dihidro-5-

(hidroksiimino)-avermektin B₁) olan selamektin ise doramektinin kimyasal modifikasyonuyla elde edilen, yarı sentetik yeni bir üründür (**Şekil 2**) (12).



Şekil 2: Selamektinin kimyasal yapısı (39).

3.2. Etki Spektrumu

ML tüm hayvanlarda karşılaşılan yuvarlak kurtlar ve kan emici dış parazitlere karşı son derece etkilidirler. ML şeritler ve kelebeklere etkili değildir (2). Bazı ilaç üreticileri bunların etki spektrumunu genişletmek için başka ilaçlarla kombine etmişlerdir. İvermektinin klorsulonla kombine edilmesi bunun bir örneğidir.

Selamektin tüm kedi ve köpek ırklarında etkili ve güvenilirdir. Topikal olarak uygulandığında endo ve ektoparazitlere, kedilerde kancalı kurtlar

(*Ancylostoma tubaeforme*) ve askaridler'e (*Toxocara cati*), köpeklerde ise askaridler (*Toxocara canis*) ile *Ancylostoma caninum* ve sarkoptik uyuzun (*Sarcoptes scabiei*) tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, köpek ve kedilerde kulak uyuzu (*Otodectes cynotis* enfestasyonu), bit enfestasyonları (*Felicola subrostratus*, *Trichodectes canis*), *Dirofilaria immitis*' e bağlı kalp nematodiasizi ve kene enfestasyonlarına karşı çok etkilidir. Bunun yanında *Uncinaria stenocephala*, *Toxascaris leonina*, *Rhipicephalus sanguineus* ve *Dermacentor variabilis* etkenlerine karşı da başarıyla kullanılmaktadır (12, 26, 29, 40-46).

Selamektin; klinikte minimum 6 mg/kg canlı ağırlık dozunda topikal olarak tek sefer, deriye damlatma şeklinde uygulanmaktadır. Topikal damlatma (% 6 ve % 12 damlatma çözeltisi) şeklinde uygulandığında köpek ve kedilerdeki etkisi 30 gün sürmektedir. Kedi ve köpeklerde pire (*Ctenocephalis felis*) ve *D. immitis* mikrofillerine karşı 60 gün süreyle % 100 etkili olmaktadır. Buna ilaveten 3 mg/kg dozunda 45 gün süreyle koruyucu etki oluşturmaktadır. *A. tubaeforme* ve *T. cati*' ye yüksek derecede (> % 90) etkilidir. İlaç erişkin *D. immitis*' e ve dolaşımdaki mikrofillerlerine karşı etkili değildir.

Son zamanlarda yapılan bazı araştırmalarda (47, 48) selamektinin gelincik, kobay, hamster, gerbil, fare, sıçan ve kirpilerdeki ekto ve endoparazitlere karşı da kullanılabileceği belirtilmektedir.

3.3. Etki Şekli

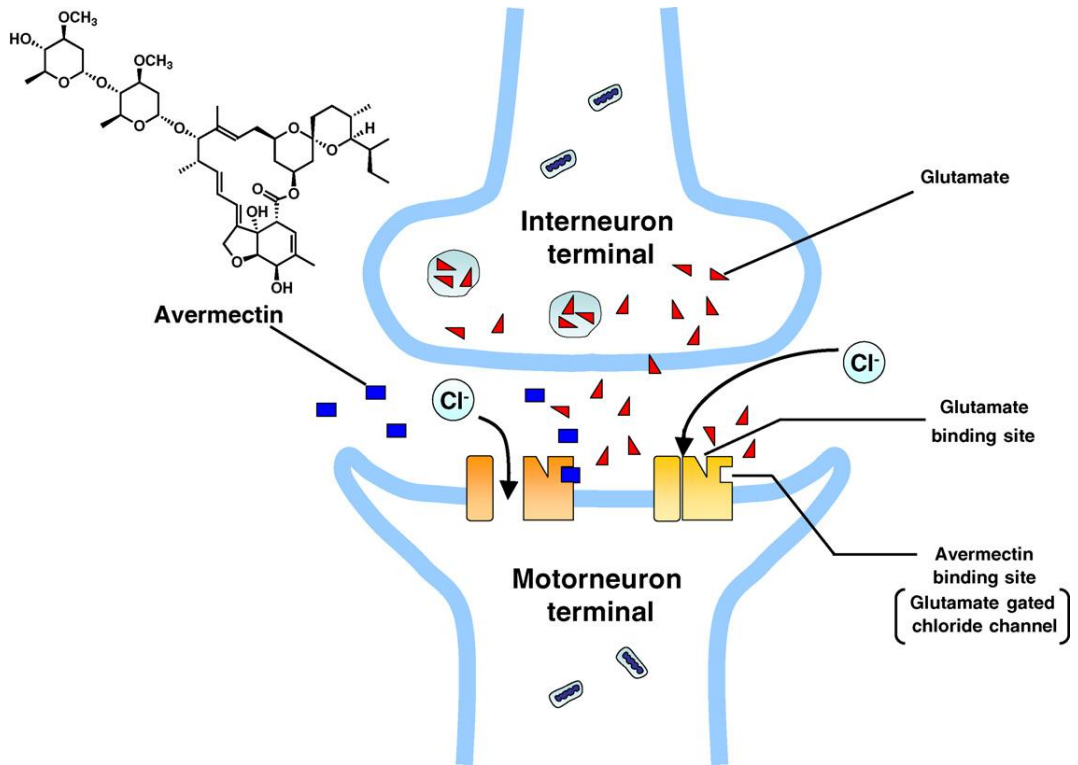
ML' ın etki şekli inhibitör nörotransmitterlerin reseptör kanallarıyla etkileşmesine dayanmaktadır. Memelilerde avermektinler GABA ve glisin

reseptörlerine etki ederken parazitlerde hedef bölge glutamat reseptörleridir (49). Sadece yüksek dozlarda GABA reseptörleriyle etkileşimi olmaktadır (50, 51) . ML' nin omurgalıların kas sisteminde olan (omurgasızlarda bulunmayan) glisin reseptörlerine ve parazitlerin kas sisteminde bulunup omurgalılarda olmayan glutamat reseptörlerine bağlandıkları ortaya konulmuştur (52).

Omurgalılarda GABA ve glisinin, sinir ve kas hücrelerinde klor iyonlarının iletkenliğini artırarak elektriksel aktiviteyi bloke ettiği bilinmektedir. Omurgasızlarda ise GABA ve glutamat aynı mekanizma aracılığıyla elektriksel aktiviteyi bloke etmektedir (2). Bu süreç boyunca, inhibitör nörotransmitterler (GABA, glisin veya glutamat) presinaptik sinir ucundan salıverilir ve intrinsik klor kanalı içeren postsinaptik reseptör proteinine bağlanırlar. Reseptöre bağlandıkları zaman kanal açılır ve postsinaptik sinir hücresi içine klor iyonları akışı olur. Bu klor geçirgenliği membran potansiyelini önemli ölçüde hiperpolarize etmektedir ve sinir iletimini durdurucu etki yapmaktadır. ML bu reseptörlere dönüşümsüz süreçli yüksek affiniteyle bağlanmaktadır.

Selamektin ise yuvarlak kurtlar ve kan emici dış parazitlerin sinir liflerinde yaygın olarak bulunan bu glutamat aracılı klor kanallarına yarışmalı olarak bağlanmaktadır. Glutamat ise bilindiği üzere parazitlerde sinaps ve kavşaklarda uyarı geçişini engelleyen bir nöromedyatördür (33). Bu kanallar parazitlerde yutak pompası gibi spesifik kaslarda lokalizedir. Bu bağlanma hücre zarında bulunan klor kanallarının açılmasına, buradan klorun hücre içine girmesine ve böylece sürekli hiperpolarizasyona neden olmaktadır. Hiperpolarizasyonda aksiyon potansiyel dalgasının doğmasını ve kaslara iletilmesini zorlaştırmaktadır. Sonuçta ilacın etkisi altında kalan parazitlerin felcine ve ölümüne neden olmaktadır (3, 29,

37, 41). Nematodlarda sinaptik iletimde avermektinlerin rolü **Şekil 3'** te gösterilmiştir.



Şekil 3: Nematodlarda sinaptik iletimde avermektinlerin rolü (16).

3.4. Farmakokinetiği

Avermektinlerin farmakokinetiğini; hayvanın türü, ilacın uygulama yolu ve formülasyonu, hayvanın cinsiyeti gibi faktörler etkilemektedir (19, 29).

Avermektinler, suda çok az çözünüp yağda yüksek oranda çözünmektedir (29, 53). Yağda yüksek çözünebildiklerinden dolayı yağ doku ilaç deposu olarak görev yapmaktadır. Aynı türün bireyleri arasında ve türler arasındaki varyasyon farklılıklarının bulunmasının yanı sıra geniş dağılım hacmine sahiptirler ve vücuttan yavaş bir şekilde atılırlar (29, 33).

Avermektinler ağız, deri ve parenteral yollarla kullanılırlar. Ağızdan verildikten sonra basit mideli hayvanlarda sindirim kanalından büyük ölçüde (% 95 dolayında) emilirken; gevişenlerde rumendeki yıkımlanma oranına bağlı olarak değişik oranlarda (% 25 - 65) emilmektedir (33). Sığırlarda makrosiklik laktonların farmakokinetik özellikleri **Tablo 1'** de gösterilmiştir.

Memelilerde ivermektin kullanılarak yapılan bir çalışmada (54) esas olarak ana ilaç formunu içeren doku rezidüleri ve feçesle atılan ilacın % 90' ının metabolize olmamış formda olduğu belirtilmiştir. Chiu ve ark. (55) ise ivermektin rezidülerinin sığırların yağ doku ve karaciğerinde yüksek konsantrasyonlarda, kas dokusunda ise daha düşük düzeyde olduğunu göstermişlerdir. Sığır, koyun ve rat karaciğerindeki başlıca metabolitleri; 24-hidroksimetil H₂B_{1a} ve 24-hidroksimetil-H₂B_{1a} monosakkariti olarak belirlenmiştir. Domuzlarda ise 3''-O-desmetil metabolitleri tespit edilmiştir. Sığırlarda, karaciğer ve yağ dokuda bulunan ivermektinin yarı ömrü sırasıyla 118 ve 182 saat, domuzlarda ise 120 saattir.

Tablo 1: Makrosiklik laktonların sığırlardaki farmakokinetik değerleri (56).

	Doz mg/kg	Uygulama yolu	AUC ng.gün/ml	C _{max} ng/ml	T _{max} gün	Cl L/saat/kg	Vd L/kg	t _{1/2} gün
İvermektin	0.2	iv	254	442	0	0.033	2.2	2.69
	0.2	sc	361	31.7	3.98	-	-	4.32
	0.5	Top.	116	12.2	3.4	-	-	5.30
Doramektin	0.2	iv	-	-	-	0.013	1.7	3.71
	0.2	sc	511	32.6	5.31	-	-	5.39
	0.5	Top.	168	12.2	4.30	-	-	9.80
Moksidektin	0.2	iv	195	-	-	0.046	3.0	2.97
	0.2	sc	162	33.5	0.369	-	-	10.3
	0.5	Top.	105	13.4	1	-	-	6.40
Eprinomektin	0.5	Top	239	43.8	2.05	-	-	2.03

Koyunlarda abamektinle yapılan bir çalışmada (57), dokulardaki abamektin rezidülerinin büyük çoğunluğunun metabolize olmamış abamektin formu olduğu belirlenmiştir. Abamektinin laktasyondaki keçilere 10 gün süreyle verildiği bir başka çalışmada (58) ise yenilebilir dokular, süt ve feçesteki rezidülerin % 85 - 99' unun abamektinin metabolize olmamış formları şeklinde olduğu gösterilmiştir.

Sığırlarda, doramektin kullanılarak yapılan bir çalışmada; uygulama sonrasında 3. günde karaciğerde bulunan kalıntı oranının % 70 olduğu gösterilmiştir (59). Doramektinin sığır karaciğerinde belirlenen ana metaboliti 3''-O-desmetil-doramektin' dir (toplam kalıntının % 8 - 19' u kadardır). Domuzlarda metabolize olmamış doramektin metabolitinin toplam rezidünün % 45 - 59' u kadar olduğu ifade edilmiştir (60). Bunun yanında yenilebilir dokularda bulunan başlıca metabolit olarak 3''-O-desmetil-doramektin tespit edilmiştir. Ayrıca koyunların karaciğerindeki doramektin ana metabolitinin en önemlisi 3''-O-desmetil-doramektin' dir.

Sığırlarda, eprinomektin uygulama sonrası 21. gün karaciğer, yağ, böbrek ve kas dokusunda sırasıyla, toplam rezidünün % 80, 100, 78 ve 75' i metabolize olmamış haldedir (61).

Somon balıklarında ise metabolize olmamış emamektin, kas dokuda 12 saat ve deride 90. günde sırasıyla, toplam rezidünün % 98 ve 83' ü kadar bulunmuştur (62).

Hayvan dokularındaki ML' in dağılım metabolizması açıkça tanımlanmıştır. Bunun yanında tüm dokularda temel ilacın en önemli kalıntı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca ML' in karaciğer ve yağ dokudaki kalıntısının

böbrek ve kas dokusuna kıyasla daha yüksek seviyede olduğu ileri sürülmüştür (2).

Selamektin, ağız ve topikal yolla minimum 6 mg/kg dozunda uygulanan bir ilaçtır. Farmakokinetik profilini ise hayvanın türü, ırkı, yaşı, cinsiyeti ve fizyolojik durumu, uygulama yolu, formülasyon ve yemleme, metabolizmadaki ve/veya diğer eliminasyon işlemlerindeki farklılıklar önemli ölçüde etkilemektedir (15, 29, 63- 65).

Topikal uygulama sonrası, kan dolaşımına giren selamektinin bir kısmı safra ile sindirim kanalına atılırken; kalan kısmı da yağ bezlerinde depolanmaktadır. Kan dolaşımına geçen selamektin, buradaki iç parazitleri ve kalp kurtlarını öldürürken; derinin yağ bezlerine dağılan ilaç molekülleri pire, kulak-sarkoptik uyuz gibi dış parazitlere karşı da etkinlik göstermektedir. Deri yoluyla tek sefer uygulandığında, köpek ve kedi plazmalarında, selamektin en az 30 gün süre ile etkili konsantrasyonda bulunmaktadır. İlaç vücutu başlıca dışkı ile (% 48 - 60) terk etmekle beraber metabolize olmamış küçük bir kısmı da idrarla (% 1 - 3) atılmaktadır (29, 41, 66, 67).

İvermektinin dağılım hacmi sığırlarda 0.45 - 2.4 L/kg, köpeklerde 2.4 L/kg ve koyunlarda 4.6 L/kg' dır. Koyunlarda dağılım hacminin büyük olması sebebiyle plazma düzeyi sığırlara göre daha düşüktür (33). Deri altı uygulama sonrası yarılanma ömrü keçilerde 4.03 gün, koyunlarda 3.68 gün ve atlarda 3.66 gündür (68, 69).

Taylarda ivermektin farmakokinetiğinin koyunlara benzer olduğu rapor edilmiştir (68, 70). Domuzlarda ise 300 µg/kg deri altı kullanımını takiben ilaç

tüm doku ve vücut sıvılarına dağılmaktadır (mukus, akciğerler, kulak kiri, deri, feçes gibi).

Doramektin ve ivermektinin değişik formülasyonlarının farmakokinetikleri üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda (65, 71) su içermeyen formülasyonlarının absorpsiyonu su içeren formülasyonlardan daha yavaş ve biyolojik yarı ömürlerinin daha uzun olduğu saptanmıştır. Bunun sonucunda da su içermeyen formülasyonların etkili plazma yoğunluklarının ve klinik etkilerinin daha uzun olduğu tespit edilmiştir.

Koyunlarda deri altı uygulamayı takiben ivermektinin etkili plazma yoğunluğunun, ağız yoluyla uygulananadan daha uzun süreli olduğu tespit edilmiştir (72). Sarasola ve ark. (64) selamektinin kedi ve köpeklerde damar içi yolla 0.05, 1 ve 0.2 mg/kg, topikal ve ağız yolu ile 24 mg/kg uygulanmasını takiben damar içi uygulama sonunda plazma yarı ömrünün ($t_{1/2}$) köpeklerde 14 saat, kedilerde 69 saat olduğunu, topikal uygulama sonrasında C_{max} ' in kedilerde 5513 ± 2173 ng/ml köpeklerde ise 86.5 ± 34.0 ng/ml olduğunu, T_{max} ' in ise kedilerde 15 ± 12 saat köpeklerde 72 ± 48 saat olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca selamektinin biyoyararlanımının kedilerde % 74, köpeklerde % 4.4 olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular köpeklere kıyasla kedilerde selamektinin daha uzun süre etkili olduğunu göstermektedir (55, 64, 73).

Avermektinlerin farmakokinetiğinin hayvan türleri arasında da farklı olduğu bildirilmiştir (3). Atlara 200 µg/kg dozda, ağız yolu ile ivermektin uygulanmasını takiben maksimum konsantrasyona ulaşma zamanının koyunlardan daha kısa, eğri altı alanının ise daha büyük olduğu tespit edilmiştir ve bu durum ilacın rumende parçalanması ve emiliminin daha yavaş olması ile açıklanmıştır.

Ağız yoluyla uygulamadan sonra biyoyararlanımın koyunlarda keçilerden dört kat daha büyük olduğu ve plazmada etkili ilaç yoğunluğunun daha uzun süre kaldığı tespit edilmiştir. Buzağılara 200 µg/kg dozda deri altı yolla doramektin, ivermektin ve abamektin uygulanmasını takiben doramektinin AUC değerinin daha büyük ve ortalama kalış süresinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (68, 73, 74).

Avermektinlerin farmakokinetiğini hayvanların cinsiyet, yaş ve fizyolojik durumları da etkilemektedir. Kısır boğa, düve ile süt ineğinde, laktasyonda olan ve olmayan develerde, süt ve besi koyunlarında, domuz yavrusu ve erişkin domuzlarda ivermektinin farmakokinetik profilinin farklı olduğu bildirilmiştir (15, 75).

3.5. Güvenlik ve Toksisite

ML sığır, domuz, koyun ve onaylanmış diğer türler için nispeten güvenlidir (2). Avermektinler ve milbemislerin sağaltım indeksleri diğer antelmintiklere göre çok geniştir ve son derece güvenilir ilaçlardır.

Selamektinle akut zehirlenmelerde; uygulanan bölgede kıl dökülmesi, kusma, kanlı ya da kansız ishal, anoreksi, letarji, salivasyon, taşipne, kaşıntı, ürtiker, eritem, ataksi ve ateş gibi toksikasyon belirtileri görülebilir. Ayrıca selamektinin akut doz aşımı durumunda nadiren de olsa ölümle sonuçlanan nöbetler görülebilmektedir (3, 29, 41).

6 haftalık kedi ve köpek yavrularına sağaltım dozunun 10 katı dozda (60 mg/kg) 7 ay boyunca selamektin verildiğinde hiç bir yan etki belirlenmemiştir

(29). Bunun yanında dişi ve erkek köpeklerde 18 mg/kg doza (tavsiye edilen dozun 3 katı) maruz kalınması durumunda bile selamektinin reproduksiyon üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Ancak nadiren de olsa kas spazmları, ataksi, felçler ve diğer nörolojik belirtilerin varlığı bildirilmiştir. Ayrıca selamektin 30 mg/kg dozunda Collie ırkı köpeklerde 3 ay süresince uygulandığında hiçbir yan etki belirlenmemiştir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda (29, 66) tek doz topikal selamektin (6 mg/kg) uygulanan köpeklerde herhangi bir zehirlenme belirtisi görülmemiştir.

İvermektin ve abamektinin toksik etkileri Collie ırkı köpekler ve Murray Grey ırkı sığırlarda görülmektedir (76, 77). P-glikoprotein ATP-bağımlı bir dışarı atım taşıyıcısıdır ve birçok ilacın merkezi sinir sistemine girişini kısıtlayan kan beyin bariyerinde önemli görev almaktadır. Başlangıçta memeli tümör hücrelerinde çoklu ilaç direnci (MDR) sunma yeteneğinden dolayı adlandırılmış ve MDR1 geni tarafından kodlanmıştır (78, 79). Çoğu Collie ırkı köpeklerdeki MDR1 geninde 4-bp silinmesiyle P-glikoprotein taşıyıcı görevini tamamen kaybetmektedir (80, 81). Bundan dolayı bu ırk hayvanlar etkilenmektedirler. Bu durum tamamen merkezi sinir sistemi içerisine ilacın penetrasyonunun ve ivermektin gibi diğer ML' in duyarlılığının dramatik bir şekilde artmasıyla ilgilidir (76, 82-84). Ölüm sonrası hayvanların beyin dokusunda ilaçların çok yüksek dozlarda olduğu tespit edilmiştir (76, 77). İvermektine duyarlı Collie ırkı köpekler üzerinde yapılan ilk güvenilirlik çalışmalarında selamektin ağız yoluyla uygulandığında bile mükemmel bir güvenilir profil sunmuştur. Ayrıca araştırmacılar selamektinin topikal yolla minimum 6 mg/kg dozunda uygulanması durumunda pirelere karşı uzun etki gösterdiği, uyuz etkenlerine etkili olduğu ve yine aynı

dozun kedi köpektaki kalp kurdu ile kancalı kurtların çoğalmasını engellediği bildirilmiştir (11, 12, 25, 64, 85-88).

Selamektinin topikal uygulanmasında, uygulama yerinde geçici bir kaşıntı ve eritem oluşturabildiği bildirilmiştir (43). Selamektinle yapılan kontrollü klinik çalışmalar sırasında aşı, antelmintik, antiparaziter, antibiyotik ve steroidlerle birlikte güvenle kullanılabileceği belirtilmiştir (41).

Yapılan bazı güvenlik çalışmalarında (29, 41, 43) toplam 44 adet kedi ve köpeğe çiftleşme öncesi, gebelik dönemi boyunca ve doğumdan sonraki 42. güne kadar 28 gün aralıklarla tedavi dozunun 3 katı dozda selamektin uygulanmış ve gebe hayvanlar ile yavrularında herhangi bir yan etki gözlenmemiştir. Bununla birlikte altı haftalıktan küçük hayvanlarda kullanılmaması gerektiği ileri sürülmüştür.

Avermektinlerin besin değeri olan hayvanlarda en önemli sakıncasını hayvansal dokularda uzun süre kalıntı bırakması oluşturmaktadır. Bu sebeple parenteral verilme durumunda sığırların 35 gün, koyunların 42 gün; deriye dökme tarzında uygulandığında uygulandığında ise sığırların 25 gün; ağızdan verildiğinde koyunların 28 gün geçmeden kesilmemesi ve doğumuna 28 gün kalan hayvanlarda kullanılmaması tavsiye edilmektedir (33).

Chiu ve ark. (89)' nın sığır, domuz ve koyun dokularında ivermektin rezidülerini araştırdıkları çalışmada; sığırlara deri altı 0.3 µg/kg dozda uygulama sonrası 7. günde ivermektin H₂B_{1a} karaciğer ve yağ dokuda sırasıyla 348 ve 134 µg/kg, 14. günde ise böbrek, karaciğer ve yağ dokuda sırasıyla 30, 100 ve 100 µg/kg bulmuşlardır. Koyunlara ise intraruminal 300 µg/kg dozda uygulamış ve uygulama sonrası 3. günde karaciğer ve yağ dokuda Minimum kalıntı limiti

(MRL)' nin altında bulunmuştur. Bu dokularda belirlenen en yüksek rezidü düzeyi uygulama sonrasındaki 1. günde karaciğerde ve yağ dokuda sırasıyla 114 ve 174 µg/kg olmuştur.

Hayvan dokularındaki ML kalıntılarının devamlılığı ilacın uygulama yoluna ve hayvan türüne bağlıdır. ML sığırlara dökme, deri altı enjeksiyon, kas içi veya bolus şeklinde uygulanabilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda dökme şekline kıyasla deri altı uygulama durumunda ML rezidülerinin daha kalıcı olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda 34 - 45 güne kadar değişen uzun bir arınma süresine ihtiyaç vardır. İvermektin, moksidektin ve eprinomektinin dokularda arınma süresi sırasıyla 28, 14 ve 17 gündür. Doramektin ise diğer dökme ML' a göre daha uzun süre (35 gün) kalmaktadır. Koyunlarda deri altı enjeksiyon ve dökme şeklinde uygulanan ML uygulamasından sonra arınma süresi sığırdaki gibidir. Domuzlarda ise deri altı enjeksiyondan sonra ivermektin sığırlara kıyasla daha kısa bir çekilme süresine (28 gün) ihtiyaç vardır. Fakat domuzlara doramektinin kas içi enjeksiyonu sonrasında sığıra kıyasla daha fazla süreye (49 gün) ihtiyaç olmaktadır.

Bu çalışma koyun ve keçilerde selamektinin 12 mg/kg dozunda topikal uygulama sonucunda 35 günlük süre boyunca plazma konsantrasyonlarını ve farmakokinetik profillerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Trifloroasetik anhidrid (Fluka, İsviçre)

Asetonitril (Sigma-Aldrich, Fransa)

Metanol (Sigma-Aldrich, Fransa)

Trietilamin (Merck, Almanya)

Tetrahidrofuran (Carlo Erba, İtalya)

Amonyum solüsyonu (Merck, Almanya)

Stronghold® % 12 240 mg (Pfizer, A.B.D.)

Selamektin (Pfizer, Türkiye)

4.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Balon joje 10, 25, 50, 100, 200 ml (Isolab)

Beher 25, 50, 100 ml (Isolab)

Bidistile su cihazı (GFL 2104)

Cam tüp 16x100 mm (Isolab)

Vakumlu cam kan alma tüpü Li Heparin 9 ml (Vacutest)

Erlen 25, 50, 100, 250 ml (Isolab)

Hassas Terazı (Denver Instrument Apx-153)

İnkübatör (Nüve FN₅₀₀)

Manyetik karıştırıcı (Colara Magnetomix)

Mavi ve sarı pipet ucu (Isolab)
Otomatik pipet 10-100 µl, 100-1000 µl (Introlab)
Mikro enjektör 1-10 µl (Hamilton)
Soğutmalı santrifüj (Hettich Universal 320AR)
-20°C soğutucu (Arçelik 2553 D)
Su banyosu (Nüve NB9)
Vorteks (Velp Scientifica 10.0176)
Vakum pompası (KNF Neuberger)
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi LC-20 AT (Schimadzu)
Kolon 5µ C18 11ØA, 250x4.60 mm (Phenomenex)
Katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuş C18/18% 200mg 3ml (Spe-ed™)
Sıvı kromatografi viyalleri 2 ml (Chromacol)

4.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmada klinik yönden sağlıklı olan ve fenotipik özellikleri belirlenen yaklaşık 1 yaşındaki dişi 12 akkaraman koyun (ortalama 40 kg) ve 12 kıl keçisi (ortalama 30 kg) olmak üzere toplam 24 hayvan kullanıldı. Hayvanlar koyun ve keçi olmak üzere 2 gruba ayrıldı ve aynı şartlarda 1 ay boyunca bakım ve beslemeye alındı. Bu süre içerisinde herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Besleme süresince hayvanlara konsantre yem olarak toklu yemi ve kaba yem olarak samandan oluşan rasyon ile su ad libitum olarak verildi. Deneysel uygulamalar Fırat Üniversitesi Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi'nde (TAHAM) gerçekleştirildi. Denemeye başlamadan önce Fırat Üniversitesi Etik

Kurulu' ndan onay (18.01.2010 / Toplantı: 1; Karar No: 03) alındı. Hayvanlardan ilaç uygulama sonrası belirli gün aralıklarında kan örnekleri alınarak kan örneklerinin analizi yapıldı.

4.1.4. İlaç Uygulama ve Örnek Alma İşlemi

Gruplara ayrılan hayvanlara tek doz 12 mg/kg selamektin (Stronghold® % 12 240 mg, Pfizer) sırt derisi üzerine dökme şeklinde topikal olarak uygulandı. İlaç uygulamadan bir gün önce ve ilaç uygulamasını takiben 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 16, 18, 21, 28 ve 35. günlerde vena jugularis' ten kan örnekleri (8 - 9 ml) vakumlu heparinli steril tüplere alındı. Alınan kan örnekleri 3500 rpm' de 12 dakika santrifüj edilerek plazmaları çıkarıldı.

4.2. Yöntem

4.2.1. Standart Hazırlama

Stok selamektin standart solüsyonu saf analitik standartlardan, solvent olarak HPLC saflığında asetonitril kullanılarak hazırlandı. 120000 ng/ml' lik stok solüsyon 120: 12: 1.2 ng/ml olacak şekilde balon jojelerde seyreltildi.

4.2.2. Plazma Ekstraksiyonu

Plazma selamektin tayini için katı faz ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Ekstraksiyon ve yıkama işlemleri Sutra ve ark. (90) tarafından tarif edilen metodla, türevlendirme işlemi ise Walker ve ark. (91) belirttiği metoda göre yapılarak HPLC floresan dedektör yardımıyla ölçüldü.

Deneyler sırasında; 1ml plazma bir tüpe aktarılarak, üzerine 0.75 ml asetonitril ilave edildi. Daha sonra 0.25 ml distile su eklenerek 1 dakika vortekste karıştırıldı. 3000 rpm' de 5 dakika + 4 °C' de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi.

C₁₈ SPE temizleme kartuşu vakum manifolduna yerleştirilerek önce 5 ml metanol daha sonra 5 ml distile su ile şartlandırıldı. SPE kartuşa 1ml süpernatant uygulandı ve sırasıyla 2 ml distile su, 1 ml metanol solüsyonu (% 75 distile su + % 25 metanol) geçirilerek elde edilen süzüntü döküldü. Yeni bir tüp konularak 2 ml asetonitril geçirildi. Elde edilen analit 50 °C' lik inkübatöre konularak kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra türevlendirme aşamasına geçildi.

Türevlendirme işlemi sırasında; kuruyan her tüpe 50 µl trietilamin, 50 µl asetonitril eklenip karıştırıldı. 150 µl trifloroasetik anhidrid solüsyonu (trifloroasetik anhidrid + asetonitril, 33:67) ilave edilip karıştırılarak 50 °C' lik benmaride 30 dk uçurilmaya bırakıldı. Sonra 250 µl amonyum solüsyonu (2 Molar metanolde hazırlanmış) ilave edilerek 50 °C' lik benmaride 10 dakika bekletildi. Daha sonra her tüpteki kalıntı sıvı kromatografi (LC) viyallerine aktarılarak toplam hacim 500 µl olacak şekilde asetonitrille tamamlandı ve viyaller cihaza yerleştirilerek 30 µl HPLC' ye enjekte edildi.

4.2.3. HPLC Sistem

Selamektin için Walker ve ark. çalışmasındaki (91) mobil faz kullanıldı. Bu mobil faz karışımı; asetonitril: su: tetrahidrofuran (68: 17: 15)' dan oluşmaktadır. Bu mobil faz akış hızı dakikada 1.0 ml olmak üzere sisteme pompalandı ve piklerin çıkış sürelerine göre her bir analiz 15 dakikada tamamlandı. Kolon olarak, 5 μ C18 11ØA, 250x4.60 mm kullanıldı. Analizler eksitasyon dalga boyu 360 nm, emisyon dalga boyu 450 nm olarak ayarlanan floresan dedektörlü HPLC' de yapılarak standart ve plazmadaki pikler ile geliş zamanlarına ait kromotogram görüntüleri kaydedildi.

4.3. Farmakokinetik Parametrelerin Belirlenmesi

Her bir hayvan için ilaç uygulamasını takiben elde edilen plazma konsantrasyon-zaman değerleri WinNonlin® 4.1 (WinNonlin® Professional Version 4.1, Pharsight Corporation, Scientific Consulting Inc., North Carolina, USA) programı yardımıyla hazırlandı. Her hayvan için elde edilen farmakokinetik parametreler topikal uygulama yolu ve bölmesiz (non-compartmental) model kullanılarak analiz edildi. Farmakokinetik parametrelerden; C_{max} , T_{max} , AUC ve MRT değişkenleri hesaplandı.

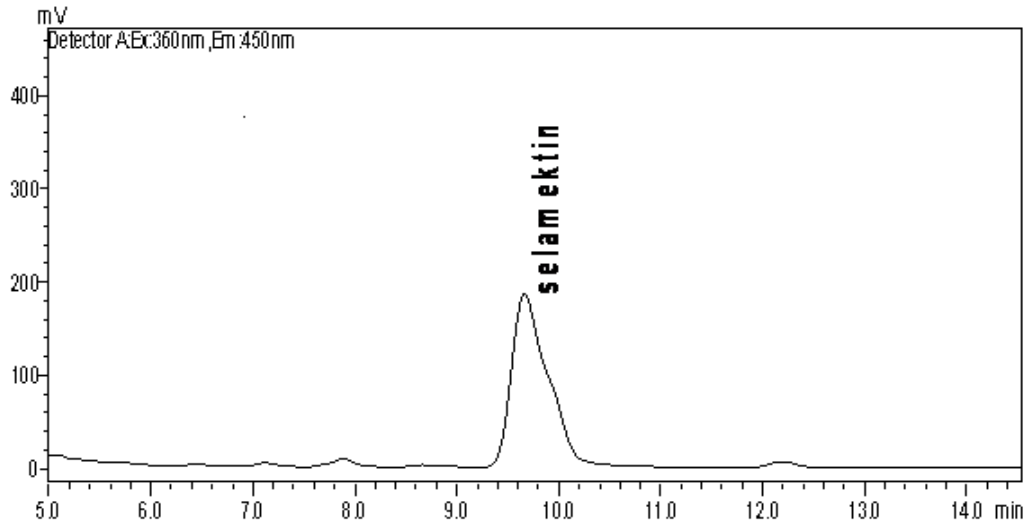
4.4. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS for Windows 11.5 paket programı kullanılarak yapıldı. Türler arasındaki plazma konsantrasyon ve bazı farmakokinetik değişkenler için normalite ve homojenite testi yapılarak parametrik olmayan test varsayımlarını karşıladığından MannWitney U testi yapıldı. Sonuçlar $\pm$ standart sapma (SS) olarak ifade edildi ve $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak farklı kabul edildi.

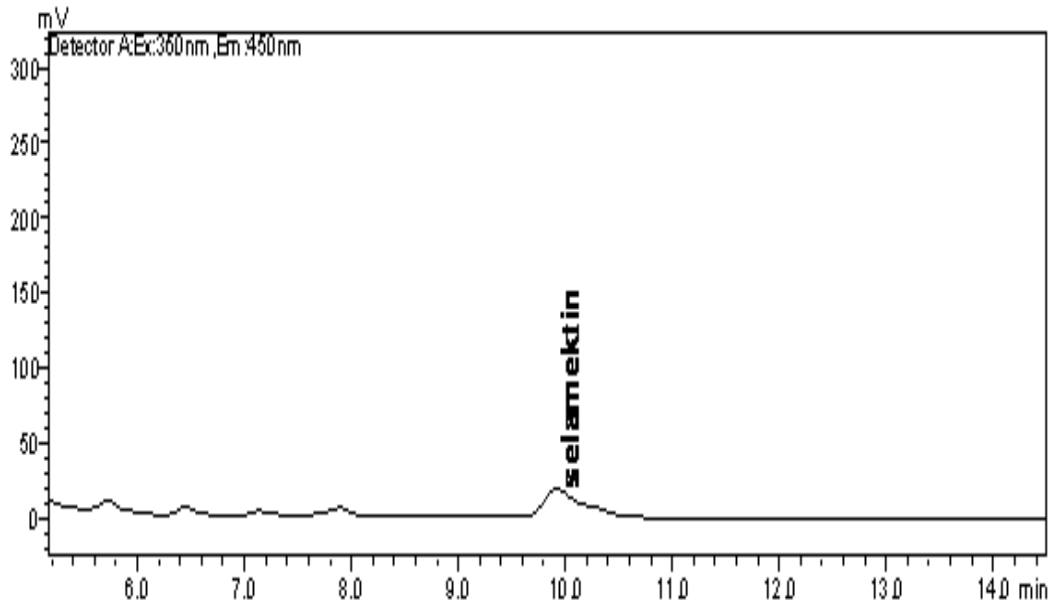
5. BULGULAR

Çalışma boyunca ilaç uygulanan hayvanlarda herhangi bir yan etki gözlenmemiştir. Analizler sonucunda selamektin standartının ve 3. gün keçi ve koyuna ait plazma örneklerinden elde edilen kromatogramları **Şekil 4, 5 ve 6'** da sunulmuştur. İlacın 12 mg/kg dozda topikal uygulanmasını takiben ortalama farmakokinetik parametreleri **Tablo 2'** de gösterilmiştir. Buna ilaveten ilaç uygulanmasını takiben koyunlarda ve keçilerde plazma ilaç ve zaman grafiği **Şekil 7 ve 8'** de gösterilmiştir.

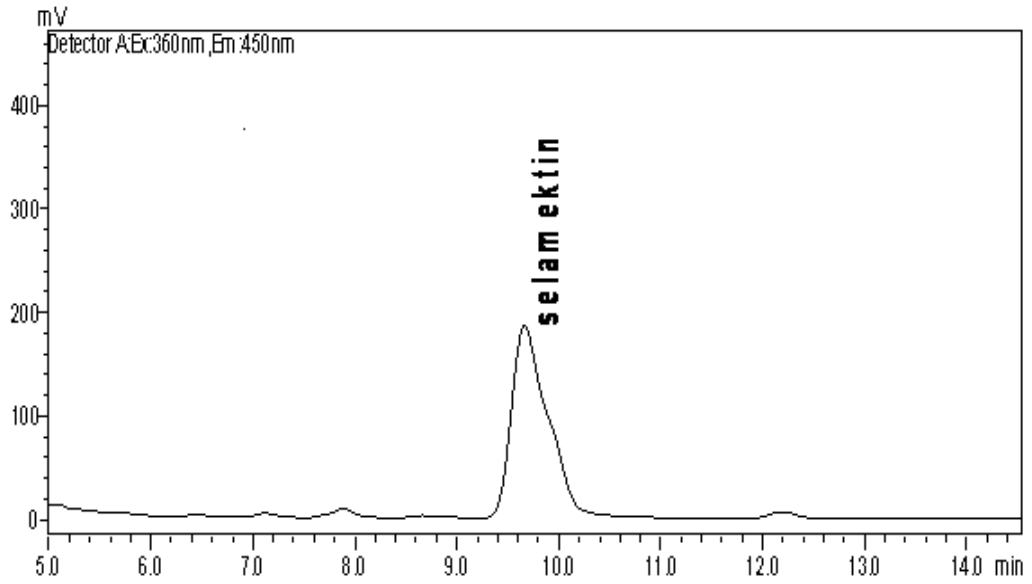
Plazma konsantrasyonlarının koyunlarda (1427.27 ± 90.52 pg/ml) keçilerdekenden (1195.03 ± 70.81 pg/ml) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0.05$).



Şekil 4: Selamektinin HPLC' de analizinden elde edilen standart kromatogramı.



Şekil 5: Keçi plazmasının HPLC’ de analizinden elde edilen selamektin kromatogramı.

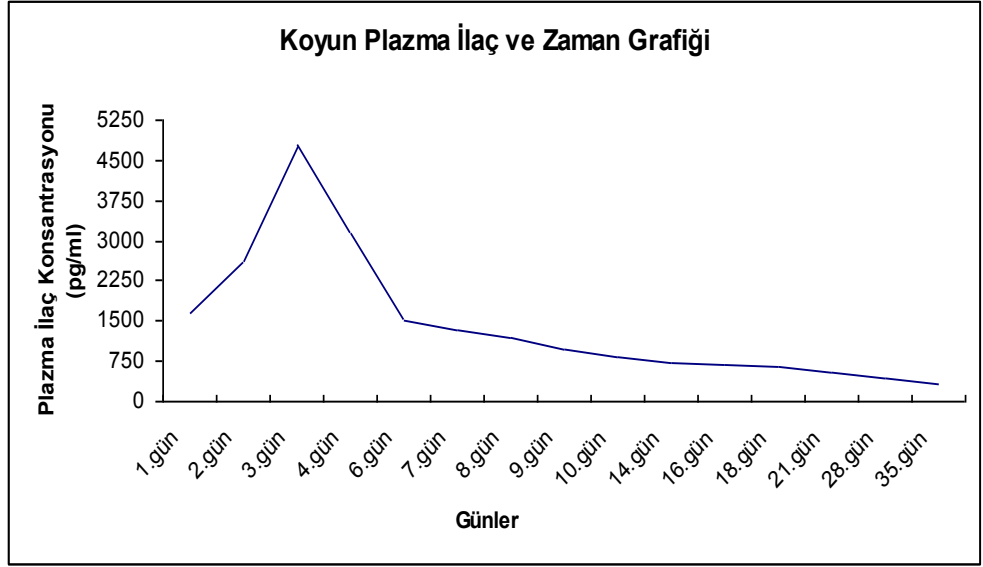


Şekil 6: Koyun plazmasının HPLC’ de analizinden elde edilen selamektin kromatogramı.

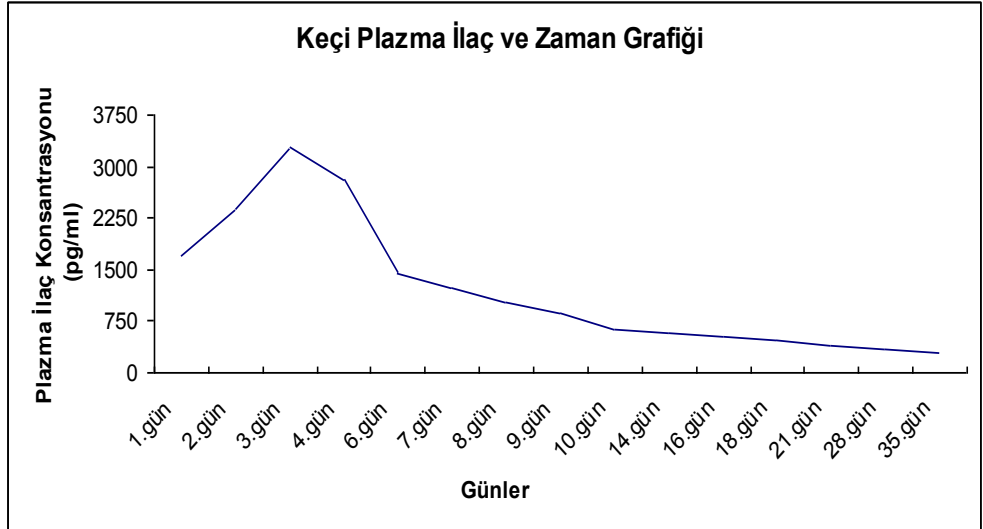
Tablo 2: Selamektinin koyun ve keçilere topikal yolla 12 mg/kg dozda uygulanmasını takiben elde edilen bazı farmakokinetik değerler.

Kinetik Parametreler	Koyun	Keçi
C_{max} (ng/ml)	4.78 ± 0.61^a	3.27 ± 0.52^b
AUC (saat.ng/ml)	810.35 ± 115.95^a	664.42 ± 72.62^b
MRT (gün)	10.86 ± 0.89^a	10.46 ± 0.74^a
T_{max} (saat)	72^a	72^a

Aynı satırda yer alan a, b farklı harflerle gösterilen gruplar arası fark önemlidir ($p < 0.05$).



Şekil 7: Selamectinin 12 mg/kg dozunda koyunlara uygulanmasını takiben plazma yoğunluk-zaman profili.



Şekil 8: Selamectinin 12 mg/kg dozunda keçilere uygulanmasını takiben plazma yoğunluk-zaman profili.

Farmakokinetik parametrelerden C_{max} , AUC, MRT ve T_{max} değerlendirilmiştir. Buna göre koyunlardan elde edilen C_{max} (4.78 ± 0.61 ng/ml) ve AUC (810.35 ± 115.95 saat.ng/ml) değerlerinin, keçilerden (C_{max} 3.27 ± 0.52 ng/ml, AUC 664.42 ± 72.62 saat.ng/ml) daha büyük olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). MRT ise koyunlarda 10.86 ± 0.89 gün, keçilerde 10.46 ± 0.74 gündür; ayrıca T_{max} koyun ve keçilerde 72 saat olarak belirlenmiştir. Bunların yanında plazma konsantrasyonları bakımından koyun ve keçi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p<0.05$) ve ayrıca C_{max} ve AUC değerleri bakımından da istatistiksel açıdan önemli sayılabilecek bir farkın olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Ancak MRT ve T_{max} değerleri bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı ($p>0.05$) tespit edilmiştir.

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada selamektinin koyun ve keçilere topikal 12 mg/kg dozunda uygulamasını takiben 35 gün süresince plazma dağılımları değerlendirilmiştir. Bu amaçla 1 yaşında dişi 12 adet akkaraman koyunu ve 12 adet kıl keçisi kullanılmıştır. Selamektin hayvanların sırt bölgesine 12 mg/kg dozunda topikal olarak uygulanmıştır. Kan örnekleri ilaç uygulamasından önce ve ilaç uygulamasını takiben 1. gün ile 35. günler arasında alınmış ve plazma örneklerinde selamektin fleurosan dedektör kullanılarak HPLC' de analiz edilmiştir.

Endektosid bir ilacın etkisi ve dozajı ilacın formülasyonuna, uygulama yoluna, biyoyararlanıma, farmakokinetik davranış ve metabolizma modeline bağlıdır. Bu faktörler plazma konsantrasyon zaman profilini belirlemektedir. Bu faktörlerin çeşitlerinin etkisi hayvan türü ve ilacın kimyasal yapısındaki farklılığa bağlı olmaktadır (92).

Selamektinle ilgili yapılan birçok farmakokinetik çalışmada (36, 41, 93-95) bu ilacın geniş bir dağılım hacmine sahip olduğu, vücutta uzun süre kaldığı, laktasyon döneminde sütle yüksek oranda atıldığı, farmakokinetik profilleri ve plazma konsantrasyonları üzerine yağ dokunun, hayvan türünün, uygulama yolunun, ilacın fizikokimyasal ve formülasyon yapısının, vücut ağırlığının, fizyolojik durumunun ve beslenmenin etkili olduğu bildirilmiştir.

Selamektinin farmakokinetiği ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda (10, 41, 64, 95) hayvanlarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmalar genellikle kedi ve köpek ile ilgilidir. Koyun, keçi ve sığırlarda ise selamektinle ilgili çalışma yapılmadığı görülmüştür.

Selamektinin farmakokinetiği üzerinde hayvan türünün etkili olduğu bildirilmiştir. Sarasola ve ark. (64) köpeklerde topikal uygulama sonucu biyoyararlanımın % 4.4, yarılanma ömrünün 11 gün, T_{max} ' in 3 gün olduğunu buna karşın kedilerde ise bu değerlerin sırasıyla % 74, 8 gün ve 15 saat olduğunu bildirmişlerdir. Chiu ve ark. (96) ivermektinin yarı ömrünün domuzlarda sığırlara göre daha kısa olduğunu, bu durumun domuzlarda metabolizma hızının sığırlardakinden daha hızlı olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde, doramektin uygulaması sonrası keçi ve domuzlarda, sığır ve koyunlara göre daha kısa yarı ömür gösterdiği saptanmıştır (95, 97-100). Türlerdeki bu farklılığın hayvanların derisindeki damarlaşma, kan akım hızı, metabolik farklılıklar ve tımarlama alışkanlığından kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

Selamektinin farmakokinetiği üzerine cinsiyetin de etkinliği olduğu belirtilmiştir. Dupuy ve ark. (10) yaptığı çalışmada topikal yolla erkek ve dişi köpeklerle 6 mg/kg dozunda selamektin uygulandıktan sonra erkek köpeklerde T_{max} 4.86 ± 3.56 gün, C_{max} 12.72 ± 5.13 ng/ml, yarılanma ömrü 12.14 ± 6.55 gün, AUC 192.08 ± 63.85 ng.gün/ml, 35. günde plazma konsantrasyonları 2.49 ± 1.71 ng/ml bulunmuşken dişi köpeklerde bu değerler sırasıyla 5.2 ± 1.87 gün, 22.65 ± 11.95 ng/ml, 10.73 ± 4.68 gün, 370.97 ± 146.87 ng.gün/ml, 3.62 ± 1.45 ng/ml bulunmuştur. MRT ise hem dişi hem erkek köpekte aynı (12.55 gün) çıkmıştır. Bu bulgulara göre dişi köpeklerde T_{max} , C_{max} ve AUC değerlerinin belirgin bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir. Yapılan bir başka çalışmada (95) ise ratlarda ağız yoluyla selamektin uygulamasından sonra dişilerde C_{max} ve AUC

değerlerinin erkeklere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışmada dişi koyun ve keçi kullanıldığı için erkeklere göre bir değerlendirme yapılamamıştır.

Avermektinlerde uygulama yolunun da C_{max} , T_{max} ve yarılanma ömrü gibi farmakokinetik parametreleri etkilediği bilinmektedir. Kedi ve köpeklerde selamektinin ağız yoluyla uygulanması durumunda topikal yolla uygulamaya göre daha yüksek C_{max} değeri ve daha kısa T_{max} değerleri bulunmuştur (64). Sığırlarda ivermektinin ağız, deri altı ve topikal yol ile uygulanmasından sonra yarılanma ömrü sırasıyla 2.7, 5.5 ve 5.3 gün bulunmuştur (34, 101). Ayrıca ineklerde eprinomektinle yapılan bir çalışmada (102) topikal uygulama sonrası C_{max} 16.16 ± 6.02 ng/ml, AUC değeri 91.00 ± 25.32 ng.gün/ml, T_{max} 3.20 ± 1.30 gün ve MRT değerinin 5.00 ± 0.96 gün olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin ise düşük absorpsiyon ve düşük sistemik biyoyararlanım olabileceği belirtilmiştir. Selamektinin koyun ve keçilerde uygulanması sonucu elde edilen değerler ineklerde yapılan eprinomektin çalışmasında (102) elde edilen bulgulara göre C_{max} değerinin daha düşük, AUC ve MRT değerlerinin daha yüksek, T_{max} değerinin ise benzer olduğu görülmüştür. Ayrıca Geyer ve ark. tarafılan yapılan çalışmada (78) selamektinin topikal uygulanması sonucu sırasıyla Wild ve *mdr1*^{-/-} knockout tip farelerde C_{max} 969.6 ± 329.5 ng/ml, 1052.5 ± 232.3 ng/ml; T_{max} 10.0 ± 2.8 saat, 16.0 ± 5.7 saat; AUC 24799.0 ± 6148.9 saat.ng/ml, 35781.0 ± 9107.9 saat.ng/ml olarak bulunmuştur. Farelerde bulunan C_{max} ve AUC değerlerinin koyun ve keçilerde saptanan değerlere göre daha yüksek, T_{max} ın ise daha düşük olduğu görülmüştür.

Beslenme de avermektinlerin farmakokinetiğinde etkili olmaktadır. Ağız yoluyla ilaç uygulamalarında yemin azaltılması veya tamamen kesilmesinin

ivermektinlerin emilimini artırdığı ve antelmintik etki gücünde artışına yol açtığı belirtilmiştir (103).

Vücut yağ oranı da ML farmakokinetiği üzerine etkilidir (102). Eprinomectin ile yapılan bir çalışmada (104) C_{max} ve AUC değerlerinin düşük yağ depolu keçilerde yüksek yağ depolu keçilere göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Yine ivermektinin yarı ömrünün domuz ve koyun gibi yağlı türlerde sığırlara göre daha uzun olduğu gözlenmiştir (93). Craven ve ark. (105) moksidektin ve ivermektinin yarı ömrünün yağ oranı yüksek domuzlarda yağ oranı düşük olan domuzlara göre daha uzun olduğunu saptamışlardır.

İlacın formülasyonu da avermektinlerin farmakokinetiğine etki etmektedir. Lo ve ark. (65) ivermektinin deri altı yolla propilen glikol - gliserol formülasyonunda uygulandığında sulu formülasyonuna kıyasla 3 katı daha yavaş emildiğini göstermişlerdir.

Ayrıca ilacın fizikokimyasal özelliği de önem arz etmektedir. Moksidektinde ivermektine kıyasla daha düşük C_{max} ve daha uzun T_{max} değerleri bulunmuştur (106). Bunun da moksidektinin ivermektine göre 100 kat daha fazla lipofilik olmasından ve yağ dokuda birikme özelliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Sığırlarda topikal uygulama sonucu daha polar yapıya sahip olan eprinomectin diğer avermektinlere göre daha kısa yarılanma ömrü ve daha yüksek C_{max} değerlerine sahiptir (107).

Bu çalışmada, topikal uygulama sonrası yapılan analizler sonucunda plazma konsantrasyonları ile farmakokinetik parametrelerden C_{max} , AUC, MRT ile T_{max} değerlendirilmiş ve plazma konsantrasyonu koyunlarda 1427.27 ± 90.52 pg/ml, keçilerde ise 1195.03 ± 70.81 pg/ml olarak bulunmuştur.

Çalışmada selamektin uygulanması sonucu elde edilen bulgulara koyunlarda C_{max} 4.78 ± 0.61 ng/ml, keçilerde 3.27 ± 0.52 ng/ml iken, Sarasola ve ark. (64)' nın yaptığı çalışmada C_{max} kedilerde 5513 ± 2173 ng/ml, köpeklerde ise 86.5 ± 34.0 ng/ml; Dupuy ve ark. (10)' nın yaptığı çalışmada ise C_{max} erkek köpeklerde 12.72 ± 5.13 ng/ml, dişi köpeklerde 22.65 ± 11.95 ng/ml bulunmuştur. Ayrıca Alvinerie ve ark. (92) keçilere 0.5 mg/kg topikal olarak eprinomectin uygulamasını takiben C_{max} değerini 5.60 ± 1.01 ng/ml bulmuşken, Alvinerie ve ark. (108)' nın yaptığı çalışmada eprinomectinin sığırlarda topikal uygulanmasını takiben C_{max} 43.76 ng/ml bulunmuş, bir başka çalışmada (109) ise erkek besi sığırında topikal olarak doramectin ve ivermectin uygulanmasını takiben ivermectinde C_{max} 12.2 ± 6.0 ng/ml, doramectinde ise C_{max} 12.2 ± 4.8 ng/ml bulunmuştur. Herd ve ark. (110)' nın sığırlarda ivermectinle yaptıkları çalışmasında C_{max} 32.9 ± 15.7 ng/ml bulmuşlardır. Hodoscek ve ark. (111)' nın çalışmasında laktasyondaki koyunlara topikal olarak eprinomectin uygulanmış; koyunlarda C_{max} değeri 2.22 ± 0.88 µg/l olarak bulunmuştur. Selamectin için koyun ve keçilerde elde edilen C_{max} değerleri diğer araştırmacıların bulduğu değerlere göre daha düşük bulunmuştur. Bunun ilaçların fizikokimyasal özelliklerinden, hayvan türü, türler arasındaki deri altı kan akım hızı ile deri altı yağ doku oranının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yapılan araştırmada AUC değeri koyunlarda 810.35 ± 115.95 saat.ng/ml, keçilerde ise 664.42 ± 72.62 saat.ng/ml iken Dupuy ve ark. (10)' nın yaptığı çalışmada AUC dişi köpeklerde 370.97 ± 146.87 ng.gün/ml, erkek köpeklerde 192.08 ± 63.85 ng.gün/ml olarak bulunmuştur. Sarasola ve ark. (64)' nın yaptığı çalışmada ise topikal yolla 24 mg/kg selamectin uygulamasını takiben AUC

kedilerde 743349 ± 443430 ng/ml, köpeklerde ise 15229 ± 4078 ng/ml olarak bulunmuştur. Alvinerie ve ark.'nın yaptığı çalışmada (92) eprinomectinin AUC değeri keçilerde 72.31 ± 11.15 ng.gün/ml bulunmuş, Alvinerie ve ark. (108) ise sığırlarda 239.07 ± 77.20 ng.gün/ml olarak bulmuşlardır. Gayrard ve ark. (109) besi sığırlarında doramektin için AUC (180.6 ± 39.9 ng.gün/ml) değeri ivermektinin değerinden (121.5 ± 42.7 ng.gün/ml) belirgin bir şekilde büyük bulunmuştur. Doramektinde daha büyük AUC görülmesi doramektinin plazma klerensinin daha düşük olması ve doramektinin pour-on formülasyonunun sistemik biyoyararlanımının daha yüksek olmasına bağlanmıştır. Hodosek ve ark. (111)'nin çalışmasında laktasyondaki koyun ve bunların kuzularında topikal eprinomectin uygulaması sonucunda koyun plazmasında AUC değerini 13.6 ± 4.8 µg.gün/l, sütte 10.3 ± 2.3 µg.gün/l, kuzu plazmasında ise 2.8 ± 1.1 µg.gün/l bulmuşlardır. Elde edilen selamektin AUC değerlerinin Alvinerie ve ark. (92, 108) ile Gayrard ve ark. (109)'ndan daha yüksek, Hodosek ve ark. (111)'na göre ise daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu durumun hayvan türü, türler arasındaki biyoyararlanım farklılıkları ve vücut yağ oranının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada T_{max} koyun ve keçilerde 72 saat (3 gün) olarak belirlenmiştir. Sarasola ve ark. (64) kedilerde 15 ± 12 saat, köpeklerde 72 ± 48 saat; Dupuy ve ark. (10) ise erkek köpeklerde 4.86 ± 3.56 gün, dişilerde 5.2 ± 1.87 gün olduğunu bildirmişlerdir. Alvinerie ve ark. (92) eprinomectini topikal olarak keçilere uyguladığı çalışmada T_{max} 2.55 ± 0.85 gün bulunmuştur. Gayrard ve ark.'nın çalışmasında (109) erkek besi sığırlarında ivermektinde T_{max} 3.4 ± 0.8 gün, doramektinde ise benzer T_{max} 4.3 ± 1.6 gün olduğu rapor edilmiştir. Hodosek ve

ark. (111)' nın çalışmasında ise laktasyondaki koyun ve bunların kuzularında topikal olarak eprinomektin uygulanmasını takiben T_{max} koyun plazmasında 1.2 ± 0.4 gün, sütte 1.5 ± 0.5 gün, kuzu plazmasında ise 2.3 ± 0.5 gün bulunmuştur. Selamektin için elde edilen T_{max} değerleri diğer araştırmacıların bulduğu değere göre farklılık gösterirken; koyun ile keçi arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Bu durumun gerek numune alma aralığının geniş olması ve gerekse de C_{max} değerlerinin birbirine yakın olmasından kaynaklanabildiği düşünülmektedir.

MRT, vücutta ilacın ilgili aşamalarındaki akıbeti (emilim, dağılım ve atılım) olan ve ilaç kalıcılığının karşılaştırılması için en uygun parametredir (92). Yapılan araştırmada MRT koyunlarda 10.86 ± 0.89 gün, keçilerde 10.46 ± 0.74 gün olarak bulunmuştur. Dupuy ve ark. yaptığı çalışmada (10) MRT hem dişi hem de erkek köpeklerde 12.55 gün; Sarasola ve ark. (64)' nın yaptığı çalışmada topikal yolla 24 mg/kg selamektin uygulamasını takiben MRT kedilerde 219.3 ± 86.1 saat, köpeklerde ise 270.3 ± 60.3 saat bulunmuştur. Alvinerie ve ark. (92) keçilere topikal eprinomektin uygulanması sonucu MRT 9.42 ± 0.43 gün olarak bulmuşken; Alvinerie ve ark. (108)' nın eprinomektini sığırlara pour-on uyguladığı çalışmada ise 4.16 ± 0.61 gün bulunmuştur. Bu çalışmalarda MRT değeri keçilerde sığırlara kıyasla 3 kez daha uzun bulunmuş ve farklılığın yavaş eliminasyon durumundan (biyotransformasyon ve ekstreksiyon) olabileceği ileri sürülmüştür. Alvinerie ve ark. (92) keçilerde saptadığı MRT düzeyi yapılan çalışmada keçilerdeki saptanan düzeye yakın bulunmuştur.

Keçiler, genellikle sığır ve koyunlardan farklı metabolik ve dispose profil göstermeye meyillidir. Sistemik biyoyaralanım düşüklüğünün temeli netlik kazanmamıştır. Fire dışında (örneğin; ilacın deri üzerinde lokal degradasyonu)

ilaç muhtemelen derinin bazı tabakalarında tutulmakta ve çok yavaş olarak serbest bırakılmaktadır (92). Hodoscek çalışmasında (111) laktasyondaki koyun ve bunların kuzusunda topikal olarak eprinomektin uygulaması sonrası MRT koyun plazmasında 7.7 ± 1.2 gün, sütte 9.4 ± 1.5 gün, kuzu plazmasında ise 7.7 ± 0.8 gün bulunmuştur. Laktasyondaki koyunlarda eprinomektinin MRT değeri laktasyondaki keçi ve sığırlara kıyasla daha uzundur. Bu uzunluk, koyunlarda litre başına düşen yağ yüzdesinin daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Eprinomektin muhtemelen derinin bazı tabakalarında tuzaklanarak yavaş salıverilmekte ve böylece uzun bir MRT ile sonuçlanmaktadır. Araştırma sonucunda elde edilen selamektin MRT değerleri Hodoscek' in (111) laktasyondaki koyun ve bunların kuzularındaki değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

Koyun ve keçilerde topikal yolla uygulanan selamektinin C_{max} , AUC ve T_{max} değerlerinin diğer yapılan çalışmalarla farklı olduğu, MRT değerlerinin ise benzerlik gösterdiği görülmüştür. Ayrıca yapılan çalışmada koyunlarda plazma konsantrasyonu, C_{max} ve AUC değerleri keçilere göre daha yüksek iken T_{max} ve MRT değerleri bakımından herhangi bir fark bulunmamıştır. Hayvan türleri arasındaki bu farklılığın nedenleri ise; türler arasındaki biyoyararlanım farklılıkları, deri ve deri altı yapısı (deri altı kan akışının daha yavaş olması, deri altı yağ dokusu fazlalığı), vücut yağ kitlesinin fazlalığı, metabolizması veya plazma klerensinin daha düşük olması ya da sistemik biyoyararlanımın yüksek oluşu ile açıklanabilmektedir (2, 3, 10, 95).

Sonuç olarak, selamektin koyun ve keçilerde paraziter hastalıkların kontrolünde topikal yol ile uygulanması halinde plazma konsantrasyon düzeyi,

C_{max} ve AUC değerlerinin koyunlarda daha yüksek olduğu, MRT ve T_{max} değerlerinde ise fark bulunmadığı saptanmıştır.

Selamektinin yakın bir zamanda geliştirilmiş yeni bir ilaç oluşu, araştırmaların çoğunlukla hedef tür olan kedi ile köpeklerde yapılması nedeniyle kinetik çalışma az bulunmaktadır. Besin değeri olan hayvanlarda avermektin kalıntılarının arınma sürelerinin uzun oluşundan dolayı koyun ve keçilerde selamektinin kullanımı ve farmakokinetiği ile ilgili herhangi bir bilgiye ulaşılamamıştır. Bu alışma selamektinin koyun ve keçilerdeki farmakokinetik verilerinin sunulması bakımından önem arz etmektedir. Sığır, koyun ve keçilerde selamektinin doz ve doz aralıklarının belirlenmesi, çeşitli farmakokinetik çalışmaların planlanıp yapılması, ilaç etkileşmelerinin ortaya konulması, yan ve toksik etkilerinin araştırılması, kalıntı süresinin belirlenebilmesi için yeni çalışmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

7. KAYNAKLAR

1. Shoop WL, Mrozik H, Fisher MH. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Veterinary Parasitology* 1995; 59: 139-156.
2. Danaher M, Howells LC, Crooks SRH, Flajs VC, Keffe MO. Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. *Journal of Chromatography* 2006; 844: 175-203.
3. Karademir Ü. Köpeklerde ivermectin ve doramectinin ağız ve derialtı yol ile uygulanmalarını takiben karşılaştırılmalı farmakokinetikleri. Yüksek Lisans Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2005.
4. Elgart GW, Meinking TL. Ivermectin. *Dermatol Clin* 2003; 21: 277-282.
5. Brown KR, Neu DC. Ivermectin-clinical trials and treatment schedules in onchocerciasis. *Acta Leiden* 1990; 59: 169-75.
6. Crump A, Omura S. Ivermectin, 'Wonder drug' from Japan: the human use perspective. *Proc Jpn Acad Ser B* 2011; 87: 13-28.
7. Alberici F, Pagani L, Ratti G, Viale P. Ivermectin alone or in combination with benzyl benzoate in the treatment of human immunodeficiency virus-associated scabies. *Br J Dermatol* 2000; 142(5): 969-972.
8. Currie B, Huffam S, O'Brien D, Walton S. Ivermectin for scabies. *Lancet* 1997; 350: 1551.
9. Glaziou P, Nyguyen LN, Moulia-Pelat JP, Cartel JL, Martin PM. Efficacy of ivermectin for the treatment of head lice (*Pediculosis capitis*). *Trop Med Parasitol* 1994; 45: 253-254.
10. Dupuy J, Derlon AL, Sutra JF, et al. Pharmacokinetics of selamectin in dogs after topical application. *Veterinary Research Communications* 2004; 28(5): 407-413.
11. Novotony MJ, Krautmann MJ, Ehrhart JC, et al. Safety of selamectin in dogs. *Veterinary Parasitology* 2000; 91: 377-391.

12. Bishop BF, Bruce CI, Evans NA, et al. Selamectin: a novel broad- spectrum endectocide for dogs and cats. *Vet Parasitol* 2000; 91: 163-176.
13. Gokbulut C, Bilgili A, Hanedan B, ve ark. Sex-related plasma disposition of ivermectin following pour-on administration in goats. *Veterinary Parasitology* 2009; 162: 342-345.
14. Maggie AF, David JS. A review of the off-label use of selamectin (Stronghold®/ Revolution®) in dogs and cats. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2008; 50: 46.
15. McKellar QA, Benchaoui HA. Avermectins and milbemycins. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1996; 19: 331-351.
16. Omura S. Ivermectin: 25 years and still going strong. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2008; 31: 91-98.
17. Arslan HH, Açıcı M, Umur Ş, Hökelek M. Dört tavşanda *Psoroptes cuniculi* enfestasyonu ve ivermektin ile tedavisi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008; 32(3): 244-246.
18. Durden DA. Positive and negative electrospray LC-MS-MS methods for quantitation of the antiparasitic endectocide drugs, abamectin, doramectin, emamectin, eprinomectin, ivermectin, moxidectin and selamectin in milk. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 850: 134-146.
19. Sallovitz JM, Lifschitz A, Imperiale F, et al. Doramectin concentration profiles in the gastrointestinal tract of topically-treated calves: Influence of animal licking restriction. *Veterinary Parasitology* 2005; 133: 61-70.
20. Campbell WC, Fisher MH, Stapley EO, Albers-Schonberg G, Jacob TA. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science* 1983; 221: 823-828.
21. Burg RW, Stapley EO. Isolation and characterisation of the producing organism. In: Campbell WC. (Editor). *Ivermectin and Abamectin*, Chapter 2, Springer-Verlag, Newyork 1989; 24-32.
22. Blagburn BL. Changing trends in ectoparasite control. In: Thoday KL, Foil CS, Bond R. (Eds) *Advances in Veterinary Dermatology Volume 4*, Oxford, Blackwell Science; 2002: 59-68.
23. Steel JW. Pharmacokinetics metabolism of avermectins in livestock. *Veterinary Parasitology* 1993; 48: 45-47.

- 24.Güleğen E, Çırak VY, Şenlik B, Aydın L. Bir Hamsterde *Demodex aurati* ve *Demodex criceti*' ye karşı selamectin uygulaması. YYU Veteriner Fakültesi Dergisi 2010; 21(1): 63-65.
- 25.McTier TL, Jones RL, Holbert MS, et al. Efficacy of selamectin against adult flea infestations (*Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis*) on dogs and cats. Vet Parasitol 2000; 91: 187-199.
- 26.Benchaoui HA, Clemence RG, Clements PJM, et al. Efficacy and safety of selamectin against fleas on dogs and cats presented as veterinary patients in Europe. Veterinary Parasitology 2000; 91: 223-232.
- 27.Pacey MS, Dutton CJ, Monday RA, Ruddock JC, Smith GC. Preparation of 13-epi-selamectin by biotransformation using a blocked mutant of *Streptomyces avermitilis*. The Journal of Antibiotics 2000; 53: 301-305.
- 28.Goudie A, Evans N, Gration K, et al. Doramectin: a potent novel endectocide. Vet Parasitol 1993; 49: 5-15.
- 29.Gupta RC. Ivermectin and selamectin. In: Gupta RC. (Editor). Veterinary Toxicology Basic and Clinical Principles. Academic Pres 2007; 508-513.
- 30.Klaassen CD. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. Seventh Edition, McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2008.
- 31.Tagboto SK, Townson S. *Onchocerca volvulus* and *O.linealis*: the microfilaricidal activity of moxidectin compared with that of ivermectin in vitro and in vivo. Ann Trop Med Parasitol 1996; 90: 497-505.
- 32.Dourmishev A, Serafimova D, Dourmishev L. Efficacy and tolerance of oral ivermectin in scabies. J Eur Acad Dermatol Venereol 1998; 11: 247-251.
- 33.Kaya S. Kemoterapötikler. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. (Editörler). Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji, Cilt 2, 3.Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara 2002: 455-457.
- 34.Fisher MH, Mrozik H. Chemistry. In: Campbell WC. (Ed). Ivermectin and Abamectin, Springer-Verlag, New York Inc, 1989, p. 1.

35. Novak J, Beran M, Nemecek J, Prikrylova V, Hajek P. Production of Avermectin A_{2a} and Monoglycosides A_{2a} and B_{2a} by a Strain of *Streptomyces avermitilis*. *Folia Microbiol* 1993; 38(5): 367-370.
36. Canga AG, Prieto AMS, Liebana MJD, et al. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The Veterinary Journal* 2009; 179: 25–37.
37. Anonim. Antiparazitici. <http://www.jelenasuran.com/predavanja/22.%20Antiparazitici.pdf>. 20.12.2011.
38. Zulalian J, Stout SJ, Dacunha AR, Rajan S. Comparative in vitro metabolism of moxidectin in cattle and rats. *European Association for Vet Pharm and Toxicology Proceedings of the 6 th International Congress, Edinburgh, Blackwell Scientific Publications, 1994 August 7-11, 285-286.*
39. Anonim. Selamectin. <http://en.wikipedia.org/wiki/Selamectin>. 07.02.2012.
40. McTier TL, Jernigan AD, Rowan TG, et al. Dose selection of selamectin for efficacy against adult fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs and cats. *Veterinary Parasitology* 2000; 91: 177-185.
41. Anonim. "Stronghold%6.DamlatmaÇözültisi". http://www.pfizer.com.tr/sites/tr/urunlerimiz/hayvan_sagligi_urunleri/ProdInfo/170.pdf 25.07.2011.
42. Jacobs DE. Selamectin- a novel endectocide for dogs and cats. *Vet Parasitol* 2000; 91: 161-162.
43. Ramsey I. *Small Animal Veterinary Formulary*. 6th Edition, British Small Animal Veterinary Association: 2008.
44. McTier TL, Holbert MS, Jernigan AD, et al. Dose selection of UK-124,114, a novel avermectin, for efficacy against fleas (*Ctenocephalides felis*) on dogs and cats. *Proceeding of the American Association of Veterinary Parasitology, Baltimore, MD, 1998 July 25-28.*
45. Deborah MM, Kimberly AB. Use of selamectin and moxidectin in the treatment of mouse fur mites. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 2008; 47(3): 20-24.

46. McTier TL, McCall JW, Jernigan AD, et al. Efficacy of UK-124, 114, a novel avermectin, for the prevention of heartworms in dogs and cats. In: Seward RL. (Ed), Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium'98. American Heartworm Society, Tampa, 1998: 187–192.
47. Fisher M, Beck W, Hutchinson MJ. Efficacy and safety of Selamectin (Stronghold[®]/Revolution[™]) used off-label in exotic pets. *Int J Appl Res Vet Med* 2007; 5: 87-96.
48. Beck W. Mass infestation by topical rat mite, *Ornithonyssus bacoti* (Acari: Macronyssidae), in gerbil experiences of treatment with selamectin (Stronghold). *Kleintierpraxis* 2001; 47(10): 607-613.
49. Bloomquist JR. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 2003; 54: 145-156.
50. Schaeffer JM, Haines HW. Avermectin binding in *Caenorhabditis elegans*. A two-state model for the avermectin binding site. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 2329-2338.
51. Arena JP, Liu KK, Paress PS, et al. The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. *J Parasitol* 1995; 81: 286.
52. Shan Q, Haddrill JL, Lynch JW. Ivermectin, an unconventional agonist of the glycine receptor chloride channel. *J Biol Chem* 2001; 276:12556-64.
53. Bassissi MF, Alvinerie M, Lespine A. Macrocyclic lactones: distribution in plasma lipoproteins of several animal species including humans. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2004; 138: 437-444.
54. Campbell WC. Ivermectin: An update. *Parasitology Today* 1985; 1: 10-16.
55. Chiu S, Green M, Baylis F, et al. Absorption, tissue distribution and excretion of tritium-labelled ivermectin in cattle, sheep and rat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 1990; 38: 2072-2078.
56. Benchaoui H. Population Medicine and Control of Epidemics. In: Cunningham F, Elliott J, Lees P. (Editors). *Comparative and Veterinary Pharmacology*, Springer, 2009; 114-133.

57. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/692/99-FINAL, 1999, (Abamectin, extension to sheep, summary report 2).
58. Maynard MS, Gruber VF, Feely WF, Alvaro R, Wislocki PG. Fate of the 8,9-Z Isomer of Avermectin B_{1a} in rats. J Agric Food Chem 1989; 37: 1487-1491.
59. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. 1997, (Doramectin summary report 1).
60. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/186/97-FINAL, 1997, (Doramectin, pigs and sheep, summary report 3).
61. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/114/96-FINAL, 1996, (Eprinomectin summary report 1).
62. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/546/99-FINAL, 1999, (Emamectin summary report 1).
63. Mugford CA, Kedderis GL. Sex-dependent metabolism of xenobiotics. Drug Metabolism Reviews 1998; 30: 441-498.
64. Sarasola P, Jernigan AD, Walker DK, et al. Pharmacokinetics of selamectin following intravenous, oral and topical administration in cats and dogs. J Vet Pharmacol Ther 2002; 25: 265-272.
65. Lo PKA, Fink DW, Williams JB, Blodinger J. Pharmacokinetic studies of ivermectin effects of formulation. Veterinary Research Communications 1985; 9: 251-268.
66. Gupta R, Masthay MB, Canerdy TD, et al. Human exposure to selamectin from dogs treated with Revolution, Methodological consideration for selamectin isolation. Toxicol Mech Methods 2005; 15: 317-321.
67. Kaya S. Kemoterapötikler. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. (Editörler). Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji, Cilt 2, 3. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara 2002: 463.
68. Prichard RK, Steel JW, Lacey E, Henneyssy DR. Pharmacokinetics of ivermectin in sheep following intravenous, intra-abomasal or intra-ruminal administration. J Vet Pharmacol Ther 1985; 8: 88-94.

69. Alvinerie M, Sutra JF, Galtier P. Ivermectin in goat plasma and milk after subcutaneous injection. *Ann Rech Vet* 1993; 24: 417-421.
70. Godber LM, Derksen FJ, Williams JF, Mahmoud B. Ivermectin toxicosis in a neonatal foal. *Aust Vet J* 1995; 72: 191-192.
71. Wicks SR, Kaye B, Weatherley AJ, et al. Effects of formulation on the pharmacokinetics and efficacy of doramectin. *Veterinary Parasitology* 1993; 49: 17-26.
72. McKellar QA, Marriner S, Bogan JA. Comparison of ivermectin, oxfendazole and levamisole for use as anthelmintics during the periparturient period in sheep. *Veterinary Record* 1988; 122: 558-560.
73. Marriner SE, McKinnon I, Bogan JA. The pharmacokinetics of ivermectin after oral and subcutaneous administration to sheep and horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1987; 10: 175-179.
74. Lifschitz A, Sallovitz J, Imperiale F, et al. Pharmacokinetic evaluation of four ivermectin generic formulations in calves. *Veterinary Parasitology* 2004; 119: 247-257.
75. Toutain PL, Alvinerie M, Galtier P. Plasma and milk kinetics of therapeutic doses of ivermectin for dairy cows. In: *Veterinary Pharmacology, Toxicology, Therapy in Food-producing Animals*. Simon F. (Ed). 4th European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology International Congress, Budapest, Hungary, Budapest University Press, 1988, 334.
76. Pulliam JD, Seward RL, Henry RT. Investigating ivermectin toxicity in collies. *Vet Med* 1985; 80: 33-40.
77. Seaman JT, Eagleson JS, Corrigan MJ, Webb RF. Avermectin B₁ toxicity in a herd of Murray Grey cattle. *Austral Vet J* 1987; 64: 284-285.
78. Geyer J, Gavrilova O, Petzinger E. Brain penetration of ivermectin and selamectin in *mdr 1a,b* P-glycoprotein- and *bcrp*-deficient knockout mice. *J Vet Pharmacol Therap* 2008; 32: 87-96.
79. Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Research* 2001; 11: 1156-1166.
80. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, Cantor GH. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 727-733.

81. Roulet A, Puel O, Gesta S, et al. MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *European Journal of Pharmacology* 2003; 460: 85-91.
82. Tranquilli WJ, Paul AJ, Todd KS. Assessment of toxicosis induced by high-dose administration of milbemycin oxime in collies. *American Journal of Veterinary Research*. 1991; 52: 1170-1172.
83. Geyer J, Döring B, Godoy JR, Moritz A, Petzinger E. Development of a PCR-based diagnostic test detecting a nt230 (del4) MDR1 mutation in dogs: verification in a moxidectin-sensitive Australian Shepherd. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2005; 28: 95-99.
84. Geyer J, Klintzsch S, Meerkamp K, et al. Detection of the nt230 (del4) MDR1 mutation in White Swiss Shepherd dogs: case reports of doramectintoxicosis, breed predisposition, and microsatellite analysis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2007; 30: 482-485.
85. Krautmann MJ, Novothy MJ, De Keulenaer K, et al. Safety of selamectin in cats. *Vet Parasitol* 2000; 91: 393-403.
86. McTier TL, Shanks DJ, Watson P, et al. Prevention of experimentally induced heartworm (*Dirofilaria immitis*) infections in dogs and cats with a single topical application of selamectin. *Vet Parasitol* 2000; 91: 259-268.
87. Itoh N, Muraoka N, Aoki M, Itagaki T. Treatment of *Notoedres cati* infestation in cats with selamectin. *Vet Rec* 2004; 154: 409.
88. Curtis CF. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mite infestations in dogs and cats. *Veterinary Dermatology* 2004; 15: 108-114.
89. Chiu SHL, Liu AYH. Metabolism and tissue residues. In: Campbell WC. (Ed.) *Ivermectin and Abamectin*, Springer-Verlag, New York, 1989, p. 135.
90. Sutra JF, Cadiergues MC, Dupuy J, Franc M, Alvinerie M. Determination of selamectin in dog plasma by high performance liquid chromatography with automated solid phase extraction and fluorescence detection. *Vet Res* 2001; 32: 455-461.
91. Walker DK, Fenner KS. A sensitive method for the measurement of the novel pet endectocide, selamectin (UK-124,114), in dog and cat plasma by chemical derivatisation and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2000; 24: 105-111.

92. Alvinerie M, Lacoste E, Sutra JF, Chartier C. Some pharmacokinetic parameters of eprinomectin in goats following pour-on administration. *Veterinary Research Communications* 1999; 23: 449-455.
93. Hennessy DR, Alvinerie MR. Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms. In: Vercruysse J, Rew RS. (Eds). *Macrocyclic Lactones and Antiparasitic Therapy*, Chapter 2, CABI Publishing, Oxon, 2002: 97-123.
94. Craven J, Bjorn H, Hennessy DR, Friis C. The effects of body composition on the pharmacokinetics of subcutaneously injected ivermectin and moxidectin in pigs. *J Vet Pharmacol Ther* 2002; 25: 227-232.
95. Pillai U, Harran L, Blackwell D, Updike L. Toxicokinetics of selamectin in rats and dogs. In: Soback S, McKellar Q. (Eds). *Proceeding of the 8th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2000; 23, supplement 1.
96. Chiu SHL, Taub R, Sestokas E, Lu AYH, Jacob TA. Comparative in vivo and in vitro metabolism of ivermectin in steers, sheep, swine and rat. *Drug Metabol Rev* 1987; 18: 289-302.
97. Nowakowski MA, Lynch MJ, Smith DG, et al. Pharmacokinetic and bio-equivalence of parenterally administered doramectin cattle. *J Vet Pharmacol Ther* 1995; 18: 290-298.
98. Atta AH, Abo-Shihada MN. Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectin in sheep. *J Vet Pharmacol Therap* 2000; 23(1): 49-52.
99. Escudero E, Carceles CM, Diaz MS, et al. Pharmacokinetics of moxidectin and doramectin in goats. *Res Vet Sci* 1999; 67: 175-179.
100. Friis C, Bjorn H. Proceedings of Pfizer Symposium 'Doramectin: A Novel Long Acting Endectocides for Use in Swine', 15th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Yokahama, Japan, 1995.
101. Wilkinson PK, Pope DG, Baylis FP. Pharmacokinetics of ivermectin administered intravenously to cattle. *J Pharm Sci* 1985; 75(10): 1105-7.
102. Wen H, Pan B, Wang Y, et al. Plasma and milk kinetics of eprinomectin following topical or oral administration to lactating Chinese Holstein cows. *Veterinary Parasitology* 2010; 174: 72-76.

103. Alvinerie M, Sutra JF, Cabezas I, Rubilar L, Perez R. Enhanced plasma availability of moxidectin in fasted horses. *J Equine Vet Sci* 2000; 20: 575-578.
104. Dupuy J, Chartier C, Sutra JF, Alvinerie M. Eprinomectin in dairy goats: dose influence on plasma levels and excretion in milk. *Parasitol Res* 2001; 87: 294-298.
105. Craven J, Bjorn H, Hennessy DR, Friis C, Nansen P. Pharmacokinetics of moxidectin and ivermectin following intravenous in pigs with different body compositions. *J Vet Pharmacol Ther* 2001; 24: 99-104.
106. Hayes PW. Moxidectin: understanding the unique persistent anthelmintic activity of this second generation macrocyclic lacton. In: *Australian Veterinarians in Industry*, Australian Veterinary Association Annual Conference, Canberra, Australia, 1994.
107. Alvinerie M, Lacoste E, Sutra JF, Chartier C. Some pharmacokinetic parameters of eprinomectin in goats following pour-on administration. *Veterinary Research Communications* 1999; 23: 449-455.
108. Alvinerie M, Sutra JF, Galtier P, Mage C. Pharmacokinetics of eprinomectin in plasma and milk following topical administration to lactating dairy cattle. *Res Vet Sci* 1999; 67: 229-232.
109. Gayraud V, Alvinerie M, Toutain PL. Comparison of pharmacokinetic profiles of doramectin and ivermectin pour-on formulations in cattle. *Veterinary Parasitology* 1999; 81: 47-55.
110. Herd RP, Sams RA, Ashcraft SM. Persistence of ivermectin in plasma and faeces following treatment of cows with ivermectin sustained-release, pour-on or injectable formulations. *Int J Parasitol* 1996; 26: 1087-1093.
111. Hodoscek L, Grabnar I, Milcinski L, et al. Linearity of eprinomectin pharmacokinetics in lactating dairy sheep following pour-on administration: Excretion in milk and exposure of suckling lambs. *Veterinary Parasitology* 2008; 154: 129-136.

8. ÖZGEÇMİŞ

31.10.1983 yılında Elazığ’ da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ’ da Evren Paşa İlkokulu ve Balakgazi Lisesi (YDA)’ nde tamamladıktan sonra 2001 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ ne girdim ve 2006 yılında lisans eğitimimi tamamladım. 2007 yılının Şubat ayında F.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı’ nda doktora eğitimime başladım ve aynı tarihte Kars Tarım İl Müdürlüğü’ ne Veteriner Hekim olarak atandım. 2007 yılının Kasım ayında Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen F.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı’ nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.