

**ÖZET****NANO-İLAÇ TAŞIMA SİSTEMİ**

- 5 Buluş; ilaç etken maddeleri, biyoaktif bileşenler, izleme ve görüntüleme ajanları gibi ajanların hedef olarak hasta hücrelere yönelik olarak aktif ve etkin taşınması amacıyla nano-ilac taşıma sistemiyle ilgilidir.

## İSTEMLER

1. Nano ilaç sistemi **olup, özelliği**; hiper dallanmış dendrimerik biyopolimerik nanopartiküller olan Boltorn HX (X:40,30,20)'lerin (BHX) yüzeyindeki -OH gruplarının Polietilenglikol metileter (mPEG), Pluronik F127 aracılı folik asit ile modifiye edilmiş olmasıdır.

2. İstem 1'e uygun bir ilaç sistemi **olup, özelliği**; 30-220 nm tanecik boyutlarında olmasıdır.

## TARİFNAME

### NANO-İLAÇ TAŞIMA SİSTEMİ

#### 5 Teknik Alan

Buluş, ilaç etken maddeleri, biyoaktif bileşenler, izleme ve görüntüleme ajanları gibi ajanların hedef olarak hasta hücrelere yönelik olarak aktif ve etkin taşınması amacıyla nano-ilac taşıma sistemiyle ilgilidir.

10

Bu buluş özellikle, hiperdallanmış dendrimerik biyopolimerik nanopartiküller olan Boltorn HX (X:40,30,20)'lerin yüzeyindeki -OH gruplarının PEG ve Pluronik F127 aracılı FA ile modifikasyonu sayesinde tedavi edilmesi amaçlanan bölgeyi hedefleyebilme ve polimerik dallar arasındaki nonokavitelere yerleştirilmiş özel ajanlarla (ilaç, aktif bileşen ve görüntüleme ajanları) tedavi edilmesi amaçlanan hücre, doku, organ, vb. (bundan sonra tedavi bölgesi olarak anılacaktır) hem ilaç salımı yapabilme hem de tedavi edilecek bölgenin görüntüleme cihazlarıyla (MRI, floresans, gb.) takibine (bundan sonra bu dual fonksiyon teranostik özellik olarak anılacaktır) olanak sağlayabilen nanotaşıyıcılarla ilgilidir. Tıpta diagnoz, prognoz ve hastalık takip ve tedavisinde kullanılabilir.

#### 20 Tekniğin Bilinen Durumu

Aşılamayan problemlerden birisi olan kanser günümüzde tamamen tedavi edilebilen bir hastalık değildir. Kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan tedavi şekli kemoterapi olup sistemik dolaşıma katılan kemoterapik ajanların hastalarda oluşturdukları yan etkiler oldukça fazladır. Klinik uygulamalarda kullanılan kemoterapötik ajanların düşük farmakokinetik profillere sahip olması ve vücutta eşit oranda dağılmamaları sonucunda hastalarda ciddi yan etkilerin yanı sıra sistemik toksisite oluşturmaktadır.

25

Son yıllarda ilaçların toksik etkisini azaltmak ve gelişen ilaç direncini engellemek amacıyla akıllı ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi için yoğun araştırmalar yapılmaktadır. İlaç taşıyıcı sistemlerin ilaç hedeflemeleri sayesinde tedavide kullanılan kemoterapötik ajanların oluşturduğu yan etkileri ortadan kaldırmak ve/veya azaltmak amaçlanmaktadır.

30

Halen daha önceden hedefleyebilen (pretargeting) teranostikler hücre yüzeyi biyobelirteçlerinin overeksprese olduğu birkaç kanser türü (meme, yumurtalık, prostat ve kolorektal kanserlar) ile sınırlıdır. Teranostikler optimal taşıyıcı özelliklerine, düşük renal atılıma, düşük immunogenicity ve antigenicity (örneğin teranostik NPLerin PEGlenmesi) sahip

35

olmalıdır ve yüksek kapasitede tedavi ajanlarını alabilmelidir çünkü spesifik moleküler belirteçler kanser hücrelerinde düşük derişimde bulunmaktadır. Gerçek teranostik uygulama için görüntüleme ve terapötik moleküllerin, moleküler hedeflerin, görüntüleme belirteçlerinin ve terapötik bileşiklerin spesifik olarak tanınması için çeşitli gruplarla fonksiyonelize edilmiş tek bir platformun parçası olması gerekir. Verimli tedavi için tümör içinde ve uniform olarak dağılması ve taşınması gereklidir veya hipertermi gibi güçlü tedaviye destek etkileri olmalıdır. Nanoboyutlu ilaç taşıyıcı platformların dağılımı pasif difüzyon kontrolüdür. Arttırılmış geçirgenlik ve alıkoyma etkisi (EPR etkisi), nanopatformların moleküler boyutu ve dolaşım süresi tedavinin başarısı açısından büyük öneme sahiptir. Tedavinin başarısı teranostik platformların kendilerine özgü fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Bağlanma bölgesi engeli hedefli ilaç taşımada kritik faktördür. Bu sorun teranostik dizaynda biyomoleküllerin kullanılmasıyla ve bileşenlerin boyutunu nano düzeyin altında tutarak aşılabilir. Hedefleme öncesi görüntüleme ve tedavinin birleştirilmesi tek bileşenli teranostike göre bazı avantajlar sunmaktadır. Bu strateji dolaşımda geçirilecek süreyi ve hedeflenen bölge dışında ilaç bileşeninden kaynaklı meydana gelecek toksisiteyi azaltır. İlaç taşıma sistemlerinde karşılaşılan en büyük sorun kargoyu (ilaç, biyoaktif bileşen vb.) hızlı olarak salıvermesidir (burst effect). Bir diğer sorun özellikle inorganik ilaç taşıma sistemlerinin vücuttan bertaraf edilememesidir. İlaç taşıma sisteminin karaciğer yoluyla yıkıma uğraması istenmez bunun yerine renal yolla yıkıma uğraması hedeflenmektedir. Bir başka problem kargoyu hedeflen sürede ve hedeflenen bölgeye taşıyamamasıdır. Ayrıca ilaç taşıma sistemlerinin henüz hedeflenen bölgeye ulaşmadan kan dolaşımında yabancı cisim olarak algılanarak RES veya diğer yollarla vücuttan atılması da istenmeyen bir durumdur.

İlaç hedefleme; hedeflendirilmiş ilacın etken maddesinin hedef doku veya organda seçici olarak toplanma yeteneği olarak tanımlanır. Pasif ve aktif hedefleme stratejileri kullanılarak ilaç taşıma sistemleri hastalıklı bölgeye yönlendirilebilmektedir. Nanopartiküllerin ilaç hedeflemede sahip olması gereken özellikler aşağıda sıralanmaktadır.

- İdeal Np boyutu 10-100 nm arasında olmalıdır. Sızıntılı vaskülatürdeki fenestrasyonlardan verimli ekstrasvazasyon için Np'lerin <400 nm'den olması;
- böbrekler filtrasyonundan kaçınmak için Np'lerin >10 nm olması gerekir.
- Böbrek eliminasyonunun yapılabilmesi için Np'lerin nötr veya anyonik yükü olmalıdır.
- Np'ler, kan dolaşımındaki opsonin proteinler ve mononükleer fagositik sistem (MPS) yoluyla yabancı maddeleri yok eden retikülo-endotelyal sistemden (RES) gizlenmelidir.

Polimerik nano taşıyıcılar ilaç taşıma ve/veya hedeflendirme sistemlerinde yüzeyleri çeşitli ajanlarla modifiye edilebilmelerinden dolayı büyük bir öneme sahiptir. Çeşitli yüzey modifikasyon ajanları ile modifiye edilmiş polimerik nano taşıyıcılar pek çok avantaj (özellikle hedeflendirme potansiyelleri ve hücresel tutulum yeteneklerinin artması, yüzey yapısının sterik engelle maskelenerek retiküloendotelial sistem (RES) makrofajlarından korunması ve kan dolaşımında kalma sürelerinin uzatılması, vb.) sunduğu için kanser tedavisi başta olmak üzere farklı tedavi alanlarında büyük öneme sahiptir. Folik asit ilaç taşıma sistemlerinde yaygın olarak kullanılan aktif tümör hedefleme ajanı olup folat reseptörüne (FAR) bağlanma yeteneğine sahiptir. FAR bilinen bir tümör belirticidir ve aktif hedeflendirilen nano boyuttaki terapötik ve görüntüleme ajanlarına konjuge olma özelliğine sahiptir. Sağlıklı doku ve organlarda sınırlı exprese olan FAR, akciğer, mesane, pankreas, göğüs, ovaryum, prostat, kolon, böbrek ve beyin tümörleri varlığında aşırı exprese olan glikosilfosfatidilinositol bağlantılı bir hücre yüzey reseptörüdür. Polimerik nano taşıyıcılar, ilaç taşıma ve/veya hedeflendirme sistemleri olarak kullanılabilen hiperdallanmış polimerler (HBP) 1980'lerin başında tanıtılmıştır. HBP'lerin öncelikle dış yüzeyleri ardışık işlevselleşmeye tabi tutularak ilaç veya gen dağıtım sistemleri olarak uygulanmaya elverişli çok fonksiyonlu HBP'ler hazırlanmaktadır. Dendrimerlere benzer şekilde, HBP'lerin iç kısmında, ilaçlar da dahil olmak üzere çeşitli moleküllerin kapsüllendiği nanokaviteler oluşmaktadır.

Alternatif olarak, biyoaktif bileşikler HBP iskelesi üzerinde, esas olarak yüzeyinde konjüge edilmiştir. Ek olarak, yüzeylerinde bulunan çok sayıda fonksiyonel grup, iyi bilinen çok değerlikli etki nedeniyle HBP'lerin hücrelere daha güçlü bağlanmasını sağlar. Bu durumda, bir polimer molekülü tarafından aynı anda birden fazla hücre reseptörüne erişilebilir. HBP'lerin yukarıdaki özelliklerinden yararlanarak, hem temel araştırmalarda hem de geleneksel ilaç terapötikleri ve gen dağıtımı da dahil olmak üzere teknolojik uygulamalarda kullanılmıştır. Bununla birlikte, HBP'lere dayanan etkili ilaç taşıma sistemleri (DDS) üretmek için, yüzeylerini uygun gruplarla işlevselleştirmek, bu nedenle fonksiyonel veya çok fonksiyonlu türevler sağlamak önemli bir araştırma konusudur ve bu amaçla, kapsamlı araştırmalar sürmektedir. Her harici grup türünün belirli bir işlevi vardır. Böylece, lipozomlar gibi diğer hedeflenmiş nanopartiküllerde olduğu gibi, HBP yüzeyine hedef ligandların eklenmesiyle belirli hücreler için özgünlük elde edilmiştir. Folik asit en yaygın kullanılan hedef ligandıdır. Ek olarak, HBP'lerin terminal grupları, poli(etilenglikol) zincirleri (PEG) ile işlevselleştirilerek suda çözünürlüğü artırılmış, toksisitesi azaltılmış, biyouyumluluk, stabilite ve biyolojik ortamda koruma sağlamıştır. Dendrimerik polimerlerin iç gruplarının modifikasyonu çözücü özelliklerini etkiler ve çeşitli ilaçların kapsüllenmesini mümkün kılar. HBP nanokaviteleri veya kovalent ilaç konjugasyonu, ilaç salımının etki alanındaki biyolojik ortamdaki değişikliklerle tetiklenebilecek şekilde düzenlenmiştir. Özetle, moleköl

mühendisliğiyle özel olarak hazırlanmış veya ticari olarak temin edilebilen HBP'lerin modifikasyonu, yapılarını değiştirmiş ve bazıları klinikte kullanılması için umut vaat eden sistemler olan ilaç iletim etkinliklerini artırmıştır.

- 5 HBP'ler esas olarak ilaç ve gen taşıma sistemlerinin geliştirilmesi için başlangıç materyalleri olarak kullanılır. Ticari olarak temin edilebilen bu HBP'ler, Boltorn H20, H30 ve H40 için sırasıyla, 16, 32 ve 64 birincil hidroksil grubu taşıyan çeşitli molekül ağırlıklarındadır. BH40 tek moleküllü misellerin çekirdeklerini oluşturur. Misel sisteminde çekirdek olarak bir dendrimer tercih edilerek, hedeflenen bölgede kovalent çapraz bağlamalar aracılığıyla ilaç
- 10 salınımını kolaylaştırır. Ayrıca BH40-PEG, amfifilik (hidrofobik ve hidrofilik grupları taşıyan) özelliğe sahiptir ve hidrofobik ilaçların kapsüllenmesini sağlayan unimoleküler miselleri oluşturabilir. Misellerin kararlılığını arttırmaya yönelik birçok çaba, esas olarak kritik misel oluşturan derişimin düşürülmesi ve kandaki dolaşım süresinin iyileştirilmesine odaklanmıştır. Yapılan bir çalışmada çekirdek olarak Boltorn H40, iç kabuk olarak hidrofobik poli(L-laktit)
- 15 (PLA) kullanılmış ve modifikasyonda hidrofilik metoksipoli(etilen glikol) (MPEG) ve folik ait konjuge edilmiş poli(etilen glikol) (PEG-FA) kullanılarak BH40-PLA-b-MPEG/PEG-FA kopolimeri hazırlanmıştır. Elde edilen bu kopolimerin sahip olduğu çekirdek-kabuk yapısından dolayı sulu çözeltilerde tek moleküllü miseller oluşturduğu kanıtlanmıştır. Benzer bir şekilde, hedef ligand olarak folat grubu taşıyan amfifilik çekirdek kabuk çok fonksiyonlu
- 20 HBP'ler sentezlenmiştir. Çekirdek polyester Boltorn H40'dan oluşmaktadır ve bu amfifilik polimerlerin iç kısmı hidrofobik poli(ε-epsilon-kaprolakton) zincirler (PCL) iken dış kabuk hidrofilik poli(etilen glikol) zincirlerdir. Tümör hücrelerinin hedeflenmesi, PEG zincirinin terminal hidroksil grubuna bağlı folat yarımı ile (BH40-PCL-PEG-FA) indüklenmiştir. Çekirdek olarak aşırı dallı alifatik polyester Boltorn H40, iç kısım olarak hidrofobik poli(-kaprolakton)
- 25 (PCL) segmentleri ve dış kabuk olarak hidrofilik poli(etilen glikol) (PEG) segmentleri vardır [10]. BH40'ın ilaç taşıma sisteminde çekirdek olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Ancak HBP olarak BH40, BH30 ve BH20 çekirdeklerinin kullanıldığı ilaç taşıma sistemlerine folik asit modifikasyonu için pluronik F127 biyopolimerinin aracı olarak kullanıldığı çalışmalara teknikte rastlanmamaktadır.

30

### **Buluşun Amacı**

Mevcut buluş, yukarıda bahsedilen gereksinimleri karşılayan, tüm dezavantajları ortadan kaldıran ve ilave bazı avantajlar getiren nano ilaç sistemleri ile ilgilidir.

35

Buluşun öncelikli amacı; BHX'lerin yüzeyine Pluronik F127 (F127) aracılığı ile bağlanan folik asit (FA) ile hücre zarındaki folat reseptörleri hedeflendiği ilaç sistemlerinin geliştirilmesidir.

biyoyumlu ve biyobozunur unsurlardan oluşur ve vücutta birikim yapmayan ilaç sistemlerinin geliştirilmesidir.

Buluşun diğer amacı; suda çözünür ve hem hidrofobik hem de hidrofilik uçlar içerdiğinden sulu ortamda misel özelliği gösteren ilaç sistemlerinin geliştirilmesidir.

Buluşun bir başka amacı; F127 dalları arasında bulunan hidrofobik kaviterler sayesinde kargonun (ilaç, görüntüleme ajanı, biyoaktif etken madde vb.) hedeflenen sürede taşınmasına ve kontrollü salımına olanak sağlayan bir ilaç sisteminin geliştirilmesidir.

Yukarıda anlatılan amaçların yerine getirilmesi için buluş, nano ilaç sistemi olup, hiper dallanmış dendrimerik biyopolimerik nanopartiküller olan Boltorn HX (X:40,30,20)'lerin (BHX) yüzeyindeki -OH gruplarının Polietilenglikol metileter (mPEG), Pluronik F127 aracılı folik asit ile modifiye edilmiştir.

Buluşun yapısal ve karakteristik özellikleri ve tüm avantajları aşağıda yazılan detaylı açıklama ve şekiller sayesinde daha net olarak anlaşılacaktır ve bu nedenle değerlendirmenin de bu detaylı açıklama ve şekiller göz önüne alınarak yapılması gerekmektedir.

### **Buluşun Açıklamasına Yardımcı Olacak Şekiller**

Şekil 1- İlaç sisteminin genel görünümü

Şekil 2- BHX-PEG (BHX: X=40, 30, 20)' in sentez mekanizması

Şekil 3- BHX-PEG-F127-FA'nın sentez mekanizması (BHX: X=40, 30, 20)

### **Buluşun Detaylı Açıklaması**

Bu detaylı açıklamada buluş sadece konunun daha iyi anlaşılmasına yönelik olarak ve hiçbir sınırlayıcı etki oluşturmayacak şekilde açıklanmaktadır.

Bu buluş konusu nano ilaç sistemi en temel halinde; hiper dallanmış dendrimerik biyopolimerik nanopartiküller olan Boltorn HX (X:40,30,20)'lerin (BHX) yüzeyindeki -OH gruplarının Polietilenglikol metileter (mPEG), Pluronik F127 aracılı folik asit ile modifiye edilmiştir. Buluş konusu ilaç sistemi tercihen 30-220 nm tanecik boyutlarındadır. Şekil 1'de ilaç sisteminin genel görünümü, Şekil 2'de BHX-PEG (BHX: X=40, 30, 20)' in sentez

mekanizması ve Şekil 3'te BHX-PEG-F127-FA'nın sentez mekanizması (BHX: X=40, 30, 20) verilmektedir.

Bu modifikasyon sayesinde tedavi edilmesi amaçlanan bölgeyi hedefleyebilme ve polimerik dallar arasındaki nonokavitelere yerleştirilmiş özel ajanlarla (ilaç, aktif bileşen ve görüntüleme ajanları) tedavi edilmesi amaçlanan hücre, doku, organ gibi (bundan sonra tedavi bölgesi olarak anılacaktır) hem ilaç salımı yapabilme hem de tedavi edilecek bölgenin görüntüleme cihazlarıyla (MRI, floresans gibi) takibine (bundan sonra bu dual fonksiyon teranostik özellik olarak anılacaktır) olanak sağlayabilen nanotaşıyıcılardır.

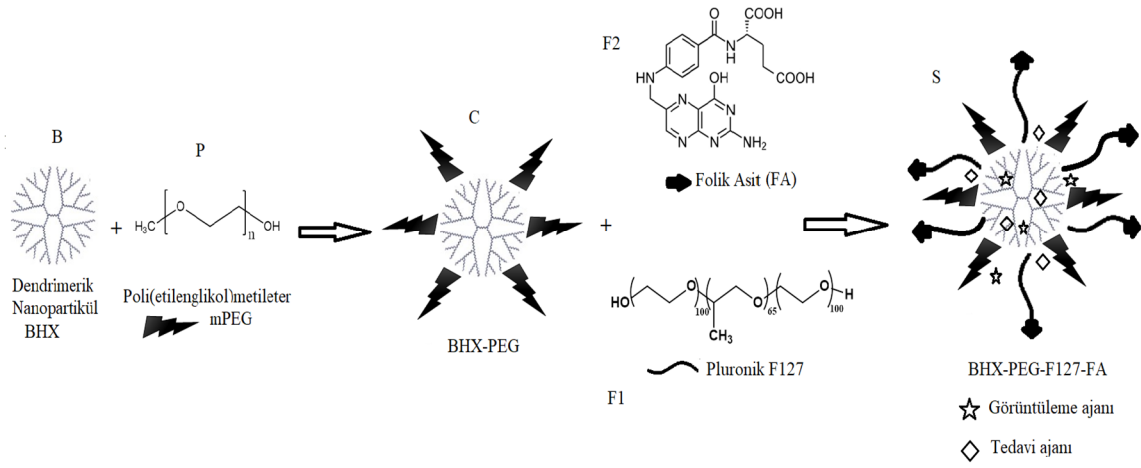
Tekniğin bilinen durumunda folatlama işlemleri çok basamaklı sentezle yapılırken geliştirilen buluşta Boltorn HX polimerlerinin yüzeyleri tek basamakta folatlanmaktadır. Ayrıca Pluronik F127-FA sentezi tek basamakta gerçekleştirilmiştir.

Buluş özellikle suda çözünebilen ve misel oluşturabilen 30-220 nm tanecik boyutlarında olmasıyla sızıntılı vaskülatürdeki fenestrasyonlardan verimli ekstrasvazasyon özelliğine sahiptir. 10 nm'den büyük olmasıyla böbrek filtrasyonunda kaçınırken, nötr olması nedeniyle de renal eliminasyon yoluyla bertaraf edilebilirler. Ayrıca PEG'lenmiş yüzeyleri sayesinde kan dolaşımındaki opsonin proteinler ve mononükleer fagositik sistem (MPS) yoluyla yabancı maddeleri yok eden retikülo-endotelyal sistemden (RES) gizlenebilir. Bu buluşun konusu tedavisi edilmesi planlanan hedeflenen bölgede hedeflenen tedaviyi hedeflenen süreçte gerçekleştirdikten sonra vücutta toksisiteye neden olmadan renal eliminasyonla sistemik dolaşımdan ve vücuttan bertaraf edilebilecek olan teranostik ajanın geliştirilmesidir.

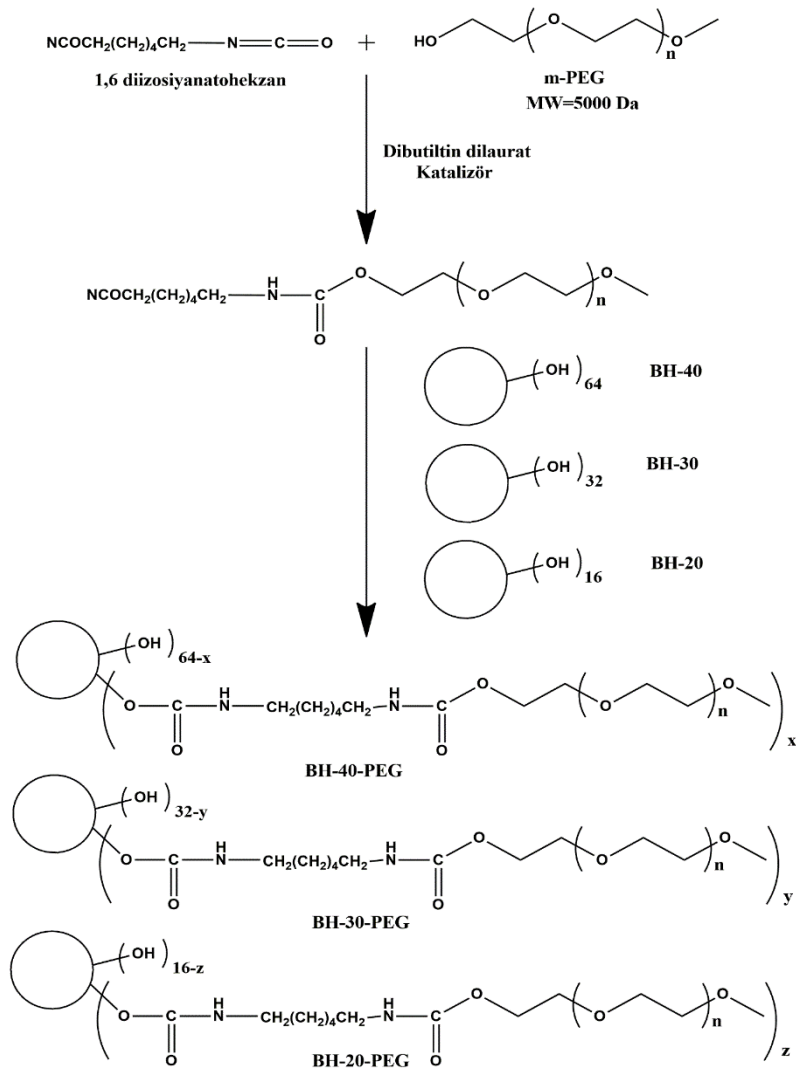
BHX (X=40, 30 ve 20) yüzeylerinde farklı sayıda OH grupları bulunan biyobozunur polimerlerdir. Yüzeylerdeki OH grupları farklı bileşiklerle birleşerek yeni ve fonksiyonel malzemelerin sentezlenmesine olanak sağlar. Polietilenglikol metileter, mPEG BHX'lerin serbest OH gruplarından bir kısmının fonksiyonelleştirilmesi için kullanılmaktadır ve BHX-PEG elde edilir. mPEG grupları sayesinde ilaç taşıma sistemi suda çözünür ve RES vb. sistemlerden korunarak işlevini yerine getirir. Pluronik F127 (F127) FDA onaylı, iyonik olmayan ve biyoyumlu ve biyobozunur bir kopolimerdir. BHX çekirdeklerinin folik asitle fonksiyonelleştirilmesine aracılık eder. Ayrıca uzun zincirli hidrofobik kolları sayesinde dendrimerik nanopartiküllerin hiperdallanmış yapıda olmasını sağlar. Folik asit hücrelerde folat reseptörlerine bağlanabilir. BHX yüzeyine (FA) modifikasyonunda F127 aracı olarak kullanılarak yeni ilaç taşıma sistemi elde edilmektedir (BHX-PEG-F127-FA). Bu ilaç taşıma sisteminde BHX yüzeylerine F127 aracılığı ile folatlama işlemi sentez yöntemi bakımından yenidir ve elde edilen bileşiğin özellikleri doğal olarak özgündür. Bilindiği gibi tepkimeye

girenler ürünlere dönüşür ve başlangıçtaki fiziksel ve kimyasal özelliklerini tamamen değiştirir.

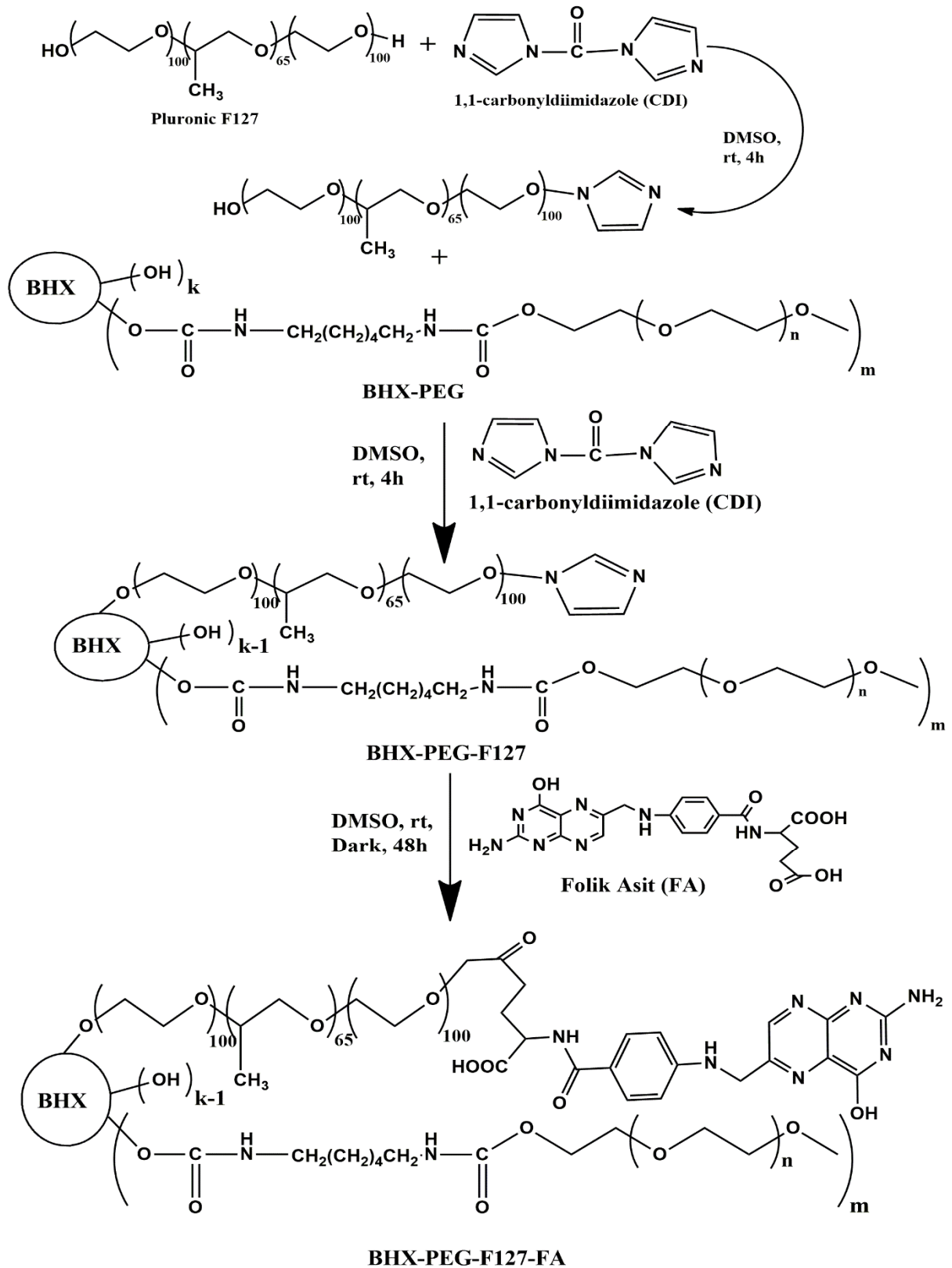
- 5 Buluş ile BHX'lerin yüzeyine Pluronik F127 (F127) aracılığı ile bağlanan folik asit (FA) ile hücre zarındaki folat reseptörleri hedeflenmektedir. Hazırlanan yeni ilaç taşıma sistemi biyouyumlu ve biyobozunur unsurlardan oluşur ve vücutta birikim yapmaz. Suda çözünür ve hem hidrofobik hem de hidrofilik uçlar içerdiğinden sulu ortamda misel özelliği gösterir. F127 dalları arasında bulunan hidrofobik kaviteler sayesinde kargonun (ilaç, görüntüleme ajanı, biyoaktif etken madde vb.) hedeflenen sürede taşınmasına ve kontrollü salımına olanak sağlar. Ayrıca yüzeylerinde bulunan folik asit sayesinde tümörlü veya yoğun folat reseptörüne sahip hastalıklı hücrelere bağlanarak ilacın hedeflenen bölgeye ulaşmasını ve burada toplanarak hücreye alınmasını sağlar. Yine yüzeylerde bulunan PEG grupları sayesinde ilaç taşıma sistemi RES vb. sistemlerden korunarak kan dolaşımında kalma süresi artar ve hedefleme, ilaç taşıma, görüntüleme ve kontrollü salım işlevlerini yerine getirir. İlaç taşıma sistemi nötr olduğu için renal olarak elimine edilir.
- 10
- 15



Şekil 1



Şekil 2



### Şekil 3