

PAPER DETAILS

TITLE: BRAIN DRUG TARGETING

AUTHORS: Meltem ÇETİN,Yılmaz ÇAPAN

PAGES: 287-305

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/424592>

BEYNE İLAÇ HEDEFLENDİRİLMESİ

BRAIN DRUG TARGETING

Meltem ÇETİN Yılmaz ÇAPAN

Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology,
06100, Sıhhiye-Ankara, TURKEY

ÖZET

Bileşiklerin kandan santral sinir sitemine (SSS) geçişi kan beyin engeli (KBE) ve kan-beyin omurilik sıvısı bariyeri tarafından engellenmektedir. KBE varlığında, SSS hastalıklarının tedavisi için keşfedilmiş etkin maddelerin %98'inden fazlası beyin içine geçemez. Beyin kan damarları endotelinde sıkıştırılmış kavşaklar (tight junctions) mevcuttur. KBE SSS'ni çevre değişikliklerine karşı korur. Noniyonize, lipofilik ve düşük molekül ağırlıklı (<400-500 Da) etkin maddelerin küçük bir kısmı KBE'ni geçebilir. Ancak, amino asit, peptid, protein ve nöropeptid gibi polar ve yağda çözünmeyen (hidrofilik) maddelerin beyin içine taşınımı için spesifik taşıyıcı sistemlere (lipozom, nanopartikül, ve şimerik peptid teknoloji v.b.) ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Beyin, Şimerik peptid teknolojisi, Kan-beyin engeli (KBE), Santral sinir sistemi (SSS).

ABSTRACT

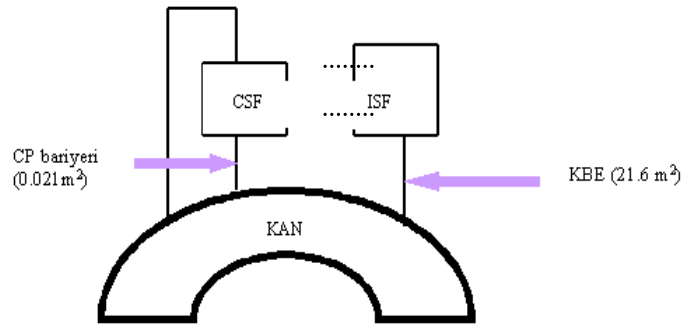
The transport of compounds from the circulating blood into the central nervous system (CNS) is restricted by the blood-brain barrier (BBB) and blood-cerebrospinal fluid barrier. Owing to the presence of the blood-brain barrier (BBB), more than 98% of all potential new drugs discovered for CNS do not cross the BBB. This barrier is formed by special endothelial cells sealed with tight junctions. It protects the nervous system against changes in the environment. Only a small class of drugs such as small molecules with unionized, lipophilic and low molecular weight molecules (< 400-500 Da) cross the BBB. However, polar and lipid-insoluble substances such as amino acids, peptides, proteins, and neuropeptides need specific carrier systems (liposomes, nanoparticles, and chimeric peptide technology etc.) to pass into the brain.

Key Words: Brain, Chimeric peptide technology, Blood-brain barrier (BBB), Central nervous system (CNS).

GİRİŞ

Nörolojik hastalıkların tedavisinde çok önemli bir zorluk etkin maddelerin beyine taşınması özellikle belirli bir bölgeye ulaştırılıp kontrollü veya sabit bir hızda salınmasıdır. Bu sorunun ortaya çıkmasında ve çoğu maddenin geçişinin engellenmesinde en önemli faktör kan beyin engelidir (KBE). KBE, merkezi sinir sisteminin normal fonksiyonunun devamını sağlayan temel difüzyon bariyeridir. Bu bariyer seçici, dinamik bir filtre görevi görerek peptid-proteinler de dahil olmak üzere, çoğu suda çözünür maddelerin merkezi sinir sistemine geçişini engellemektedir. Yine bu maddeler beyine geçseler bile beyindeki dağılımlarının kontrol edilmesinde belirsizlikler ortaya çıkmaktadır (1-5).

Beyinde, KBE ve Kan-Beyin omurilik sıvısı (Cerebrospinal fluid, CSF) bariyeri (koroid damar ağı, choroid plexus, CP) olmak üzere iki bariyer vardır. KBE, beyin interstisyel (hücreler arası) sıvısı (brain interstitial fluid, ISF) ile kanı birbirinden ayırırken, CP ise CSF'den kanı ayırmaktadır (6). Bu iki bariyer birbirinden anatomik ve fonksiyonel olarak farklıdır. Bu bariyerlerin plazma membranında bulunan transport sistem tiplerinin tamamen farklı olması sonucu bir etkin madde verildiğinde bu etkin madde CP'den geçerek CSF'ye ulaşabilirken, KBE'yi geçip ISF'ye ulaşamaz (7,8). Bu iki bariyer Şekil 1'de gösterilmiştir.

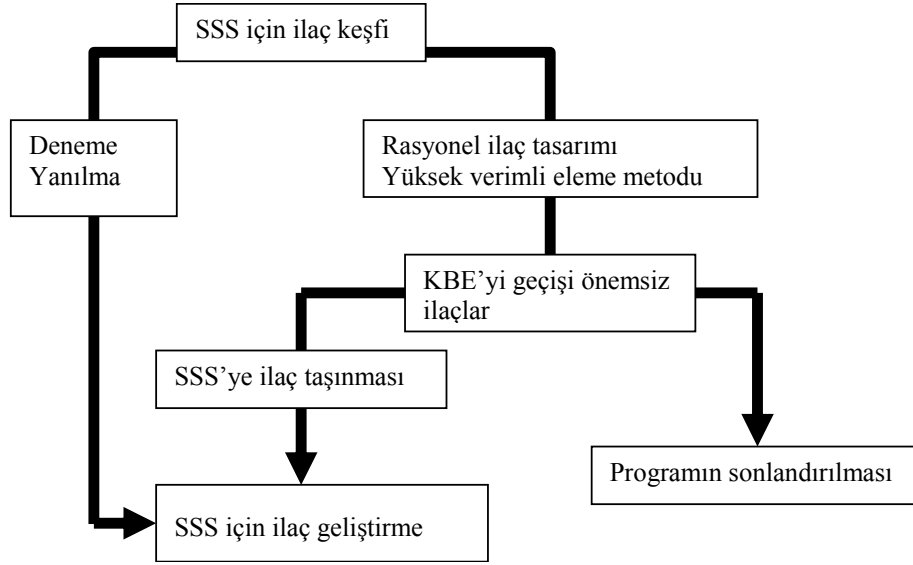


Şekil 1. KBE ve CP bariyeri (6).

Bu iki bariyerin yüzey alanları çok büyük farklılıklar göstermektedir. KBE'nin yüzey alanı $180 \text{ cm}^2/\text{gram}$ (beyin) dir. 1200 g İnsan beyini için KBE'nin yüzey alanı 21.6 m^2 iken CP'nin yüzey alanı 0.021 m^2 dir (6,9,10). KBE'nin geniş yüzey alanına sahip olması sonucunda verilen ilacın beyin parenkimasına geçişinde sadece KBE'nin geçirgenlik karakteristikleri belirleyici olmaktadır (6).

Tüm omurgalılarda beyin, kan beyin engeli tarafından kandaki maddelere (hormonlara, nöroaktif ve nörotoksik maddelere, peptid, protein v.b. etkin maddelere) karşı korunur ve santral sinir sisteminin homeostazı (SSS'nin normal şartlarının devamlılığı) sağlanır (11,12). Kan beyin engeli (KBE) beyin kan damar endoteli tarafından oluşturulan fiziksel, aynı zamanda sinirsel ve humoral uyarılardan etkilenen dinamik bir engeldir. Periferik dokulardaki endotelin aksine beyin kan damar endotelinde, katı ve sıvı alışverişinin serbestçe yapılmasını engelleyen sıkıştırılmış kavşaklar (tight junctions) bulunur. Bu özelliklerinin sonucu olarak KBE merkezi sinir sistemine sabit ve ekstraselüler (hücre dışı) çevre oluşturmak için önemli bir rol üstlenmiştir (13-22). KBE varlığında, SSS hastalıklarının tedavisi için keşfedilmiş etkin maddelerin %98'inden fazlası sistemik uygulanmasını takiben beyin içine geçemez. KBE'yi geçme derecesi ilacın yağdaki çözünürlüğüne, molekül ağırlığına, yüküne ve serum proteinlerine bağlanma derecesine bağlıdır (23).

Yirminci yüzyılda çoğunlukla küçük moleküllerin KBE'yi geçtiğine inanılmıştır. Bundan dolayı SSS etkin madde geliştirme programları, herhangi bir SSS'ye etkin madde hedeflendirme programı olmaksızın küçük moleküller üzerinde yoğunlaşmıştır. Oysa genel inanın aksine küçük moleküllerin çoğu KBE'yi geçemez. Yirmibirinci yüzyılda küçük moleküllerin yerini peptitler, rekombinant proteinler, monoklonal antikorlar ve antisens ilaçlar gibi büyük moleküller almıştır. Bu büyük moleküller KBE'yi geçemez. Dolayısıyla bir KBE-ilac hedeflendirme programı olmaksızın bu büyük moleküllerin SSS hastalıklarının tedavisinde kullanılması söz konusu olamaz (4). SSS ilaç geliştirme programlarında iki farklı yaklaşım söz konusudur; geleneksel deneme yanılma metodu ile yapı aktivite ilişkileri ve membrandan geçiş özellikleri bakımından uygun etkin maddeler seçilir veya yüksek verimli eleme ile KBE'yi geçişi önemsiz olan moleküller yapı aktivite ilişkisi temelinde seçilir. Seçilen molekül eğer bir beyine hedeflendirme potansiyeline sahipse SSS için ilaç geliştirme programına alınır; ancak yoksa program sonlandırılır (Şekil 2). Bundan dolayı, beyine etkin madde taşınması modern ilaç gelişiminde önemli bir rol oynar (23).



Şekil 2. SSS'ye yönelik ilaç geliştirmenin iki farklı yolu (23).

Santral Sinir Sistemine etkin madde taşınması ve hedeflendirilmesi için yeni stratejiler en az iki nedenden dolayı gereklidir; Bunlardan birincisi: 400-500 Da molekül ağırlığına sahip, yağda çözünabilir etkin maddeler dışındaki etkin maddelerin KBE geçişinin önemsiz olması (23,24) ve ikincisi de SSS hastalıklarının hayret verici şekilde yaygın olmasından (Amerika Birleşik devletlerinde 80 milyondan fazla insan, Alzheimer, Parkinson, İskemi, uyku bozuklukları, epilepsi v.b. SSS hastalıklarından şikayetçidir) dolayıdır (4). Pek çok etkin madde (antibiyotikler, nöropeptitler v.b.), beyin içine KBE'den önemsiz miktarlarda geçmektedirler (Tablo 1) (17,23). İlaç endüstrisinde peptid ve protein yapıdaki etkin maddelerin yıllık pazar payı 10 milyar dolardır; Ancak bu etkin maddelerin hiçbiri KBE'den geçemediği için beyin hastalıklarının tedavisinde etkin bir şekilde kullanılamamaktadır (6).

Tablo 1. Nörofarmasötikler ve KBE'den Geçişleri (23).

İlaç Tipi	KBE'den Geçiş
Peptitler	Hayır
Rekombinant proteinler	Hayır
Monoklonal antikorlar	Hayır
Antisens oligonükleotidler	Hayır
Küçük moleküller	
• lipitte çözünabilen, MA<500 Da	Evet
• lipitte çözünmeyen, MA>500 Da	Minimum

KAN BEYİN ENGELİNDEN İLAÇ TAŞINMASI

Lipofilik, fizyolojik pH'da noniyonize ve düşük molekül ağırlıklı etkin maddeler SSS'ne penetre olmaktadır. Ancak yağda çözünürlüğü zayıf olan, hidrojen bağı yapan fonksiyonel gruplara sahip küçük moleküller ve peptid, protein gibi suda çözünen etkin maddelerin SSS'ne taşınması için çeşitli taşıma stratejileri geliştirilmiştir (24,25). SSS'ye etkin madde taşıma stratejileri nöroşirurjik, farmakolojik ve fizyolojik olmak üzere üç grupta sınıflandırılabilir:

1. Cerrahi (nöroşirurjik) yöntemler (13),
2. Farmakolojik yöntemler (13),
3. Fizyolojik Yöntemler:
 - Taşıyıcı aracılıklı taşıma (Carrier Mediated transport, CMT)
 - Şimerik Peptidler (23,25).

Cerrahi ve farmakolojik yöntemlerden derlememizde bahsedilmeyecek ve fizyolojik yöntemler üzerinde durulacaktır.

◆ Taşıyıcı aracılıklı taşıma (Carrier-mediated transport, CMT)

CMT, kanda sirküle eden (devreden) besin ve peptidlerin beyine taşınması için potansiyele sahip bir yoldur. KBE, besin ve endojen bileşikler için çeşitli taşıma sistemlerine sahiptir. Bunlar;

- Glikoz ve mannoz için heksoz taşıma sistemi
- Fenilalanin, lösin ve diğer nötr (yüksüz) amino asitler için nötr amino asit taşıma sistemi
- Glutamat ve aspartat için asidik amino asit taşıma sistemi
- Lizin ve arginin için bazik amino asit taşıma sistemi
- b-alanin için b-amino asit transport sistemi
- Kolin ve tiyamin için kolin taşıma sistemi
- Laktat ve kısa zincirli yağ asitleri için monokarboksilik asit taşıma sistemi
- Adenin, guanin gibi purin bazları için nükleozit taşıma sistemi
- Mepiramin için amin taşıma sistemi
- Enkefalin, tiotropin salıcı hormon, arginin-vazopressin için peptid taşıma sistemi
- olarak özetlenebilir (25,26).

Bu taşıyıcı sistemler, doygunluğa ulaşan, moleküler seçicilik gösteren, beyine çeşitli etkin maddelerin (küçük moleküller, peptidler v.s.) taşınmasını sağlayan faydalı sistemlerdir (25).

◆ Şimerik peptidler

İlaç, peptid veya protein vektörlere konjuge edilerek beyin içine KBE'den adsorptif (Yüzeye tutunma aracılığı ile taşınma) veya reseptör aracılıklı taşınmaktadır (23,27).

◆ Adsorptif aracılıklı taşınma (Yüzeye tutunma aracılığı ile taşınma; Adsorptive-mediated transcytosis, AMT)

Pozitif yüklü madde (yükü protein kısmı, katyonize proteinler) ile negatif yüklü hücre zar yüzeyi (örnek: glikokaliks; hücre örtüsü, hücre yüzeyinde karbohidrat bakımından zengin tabaka) arasındaki elektrostatik etkileşim sonucu gerçekleşir. Kısaca, primer amin gruplarının hazırlanması ve bu grupların endotel hücrelerinin anyonik gruplarına bağlanması esasına dayanır (13,28,29). AMT, reseptör aracılıklı taşınma göre daha az afiniteye ancak daha yüksek kapasiteye sahiptir (28). Katyonik (pozitif yüklü) proteinlerin AMT yoluyla beyine geçişi artmaktadır. AMT, makromoleküllerin hücre içine taşınması için gelecek vadeden bir strateji olarak görülmektedir (28,30).

Katyonik albumin, aktif ajanların KBE'den beyin içine taşınması için faydalı bir vektör olarak görülmektedir (31,32). Doğal albumin asidik bir proteindir (izoelektrik pH(pI): ~4-5) ve kandan CSF içine çok yavaş bir şekilde geçmektedir. Bunun nedeni CP ve KBE'nin albumin için taşıyıcı bir sisteme sahip olmamasından kaynaklanmaktadır (6,33). Ancak bifonksiyonel amin gruplarının yüzey karboksil kalıntılarına (yüzey glutamat ve aspartat kalıntılarına karboksil grupları) kovalent olarak amid bağı ile bağlanması sonucu katyonik olan albumin kolaylıkla KBE'den geçmektedir (34). Katyonik proteinin pI değeri yaklaşık 8 olmaktadır. Bu reaksiyon pH kontrollü bir reaksiyondur ve pH azaldıkça katyonik protein oluşumu artmaktadır (6). Değişik kaynaklı katyonik plazma proteinleri yüksek derecede immünojeniktirler ve tekrarlayan uygulamalar sonucunda böbrek glomerüllerinde ve CP'de immün kompleksler halinde depolanmaktadırlar. Katyonik sığır veya insan albumini, sıçan ve tavşanlara uygulandığında başta böbrek bozukluğu olmak üzere toksik etkilere neden olmuşlardır (18,32,35).

IgG gibi antikorlar KBE'den geçebildikleri için beyin hastalıklarının tedavisi ve teşhisinde kullanılmışlardır. Sirkülasyondaki antikorların beyine taşınmasını artırmak için antikor katyonizasyonu yöntemi kullanılmıştır (13,30). Triguero ve arkadaşları katyonize IgG'nin izole edilmiş beyin kapilerine bağlandığını ve beyin içine geçişinin arttığını gözlemlemişlerdir (30,36,37).

Smith ve Borchardt ise in vitro KBE modeli kullanarak doğal ve katyonik albuminin endotel hücrelerinden geçişini incelemişler ve katyonik albuminin endotel hücrelerden geçişinin daha fazla olduğunu tesbit etmişlerdir (29,38).

Lektinler bitki orijinli glikoproteinlerdir (39). 1985 yılında Nag farklı lektinlerden bir çeşidinin (buğday tohum aglutini, WGA) beyin endotel plazma membranına bağlandığını göstermiştir (40). Fisher ve Kissel ise domuz beyninden izole edilen primer endotel hücrelerine bazı bitkisel lektinlerin bağlandığını ve özellikle bunlardan WGA'nın düşük toksisitesi ve beyin kapiler endoteline olan yüksek afinitesinden dolayı KBE'ye etkin madde hedeflendirilmesi için uygun bir aday olduğunu göstermişlerdir (41). WGA, AMT yolu ile KBE'den taşınmaktadır. Broadwell ve arkadaşları, HRP (horseradish peroxidase) ve WGA konjugatını i.v. enjekte ettiklerinde endotel hücre stoplazmasına birkaç saat içinde geçtiğini göstermişlerdir (42). Bununla birlikte reseptör aracılıklı taşınımında ise endotel stoplazmaya geçiş birkaç dakika içinde gerçekleşmektedir (6,42).

Bunların dışında; yapılarında lizin, arginin amino asitlerinin fazla olmasından dolayı katyonik olan proteinlerde (protamin, histon, adrenokortikotropik hormon analogu gibi) KBE'den AMT yolu ile geçmektedir (6). Ancak KBE ilaç-hedeflendirme vektörü olarak katyonik proteinlerin kullanılmasının;

1. Katyonik proteinlerin periferel dokulara yaygın bir şekilde dağılması
2. Kandan hızlı bir şekilde uzaklaştırılmaları

gibi sakıncaları vardır (43).

♦ Reseptör aracılıklı taşınma(RMT)

Beyin kapiller endotel sirküle eden peptid ve plazma proteinleri (transferrin, leptin, insülin, IGF-I ve IGF-II v.b.) için spesifik reseptörlere sahiptir. Yine beyin kılcal damarları düşük dansiteli lipoprotein içinde bir reseptör taşımaktadır ve bu reseptör modifiye edilmiş düşük dansiteli lipoproteinlerin (asetil düşük dansiteli lipoprotein gibi) reseptör aracılıklı taşınımından sorumludur (23,24,44,45,). KBE'deki insülin, IGF ve transferrin reseptör sistemleri bu proteinlerin in vivo olarak KBE'den taşınmasına aracılık etmektedirler (23,46,47). Periferel dokularda sıkıştırılmış kavşaklar bulunmadığından dolayı insülin, transferrin gibi sirkülasyondaki peptidler RMT sistemi aracılığı olmaksızın periferel dokulara kolaylıkla geçebilmektedir (48). Jefferies ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, beyin kılcal damarları transferrin reseptörüne (TfR) karşı geliştirilmiş antikolar tarafından seçici bir şekilde boyanmıştır (immünostain). Bununla birlikte

birçok periferik dokuların endotel hücrelerinin önemsiz miktarda immünoreaktif transferrin reseptörü içerdiği bulunmuştur (6,49).

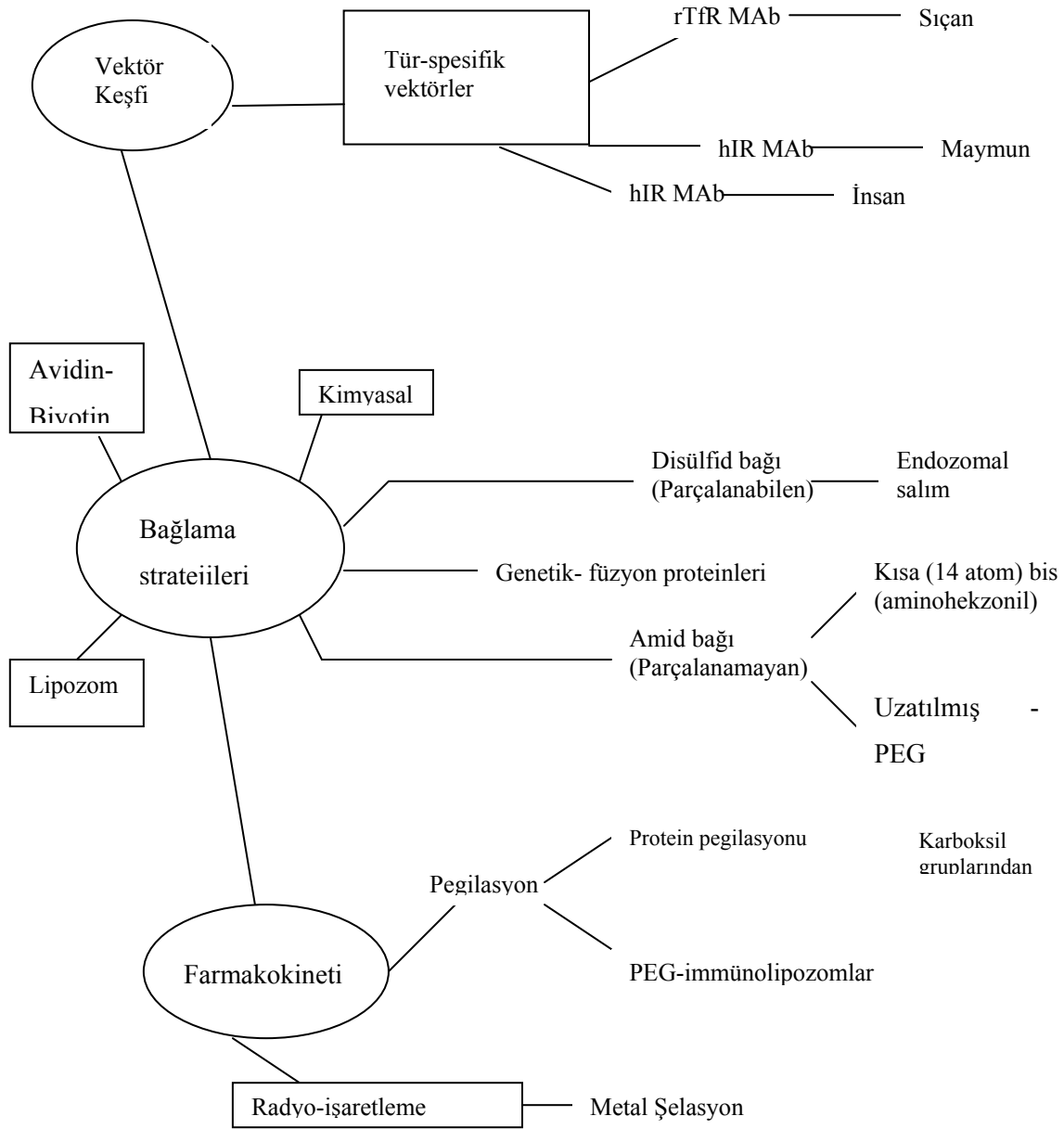
CMT sistemleri, besin maddeleri, vitaminler, hormonlar gibi küçük moleküllerin KBE'den saniyeler içinde taşınmasına aracılık ederken; RMT sistemleri ise kan dolaşımındaki peptid veya proteinlerin dakikalar içinde taşınmasına aracılık etmektedir. CMT sistemleri, taşıyıcı proteinlerin transmembran bölgeleri tarafından oluşturulmuş stereospesifik porlardır. Oysa KBE reseptörleri küçük transmembran bölgelere ve ligand-bağlanma alanlarını oluşturan büyük hücreler arası kısımlara sahiptir. Bu reseptör-ligand kompleksi endotel hücre içine endositoz yolu ile alınmakta ve reseptör tekrar plazma membranına dönmektedir (23).

Beyine ilaç-hedeflendirme vektörleri peptidler, modifiye edilmiş proteinler ve peptidomimetik monoklonal antikordur (MAbs). Bu vektörler KBE'deki reseptörlere bağlanmaktadır (27,50).

MAbs'ler agonist benzeri özelliklere sahiptir (51,52). Reseptöre, spesifik MAb'nin bağlanması ile reseptörde konformasyonel değişimler başlar ve bunun sonucunda peptid benzeri sinyal iletim fenomeni gerçekleşmektedir (6).

OX26 mürin monoklonal antikoru (monoclonal antibodies; MAb) sıçan transferrin reseptörü (TfR) için geliştirilmiştir (53-56). OX26 MAb KBE'deki transferrin reseptörüne bağlanarak RMT aracılığı ile KBE'den geçmektedir (57,58). Farmakolojik dozlarda TfR'ye bağlanma açısından OX26 ve transferrin arasında bir yarışma söz konusu değildir; Çünkü MAb ve transferrin, TfR'nin farklı bölgelerine bağlanmaktadır (59). OX26 MAb katyonik albuminden 4 kat daha fazla KBE'den geçiş özelliğine sahiptir (60).

Şimerik peptidler multifonksiyonel ilaç formülasyonlarıdır. KBE'yi aşamayan etkin madde, peptid veya monoklonal antikora bağlanarak konjugatı hazırlanmaktadır (6,27). Bu aşamada üç önemli başlama noktası vardır, bunlar vektör keşfi, bağlama stratejileri ve farmakokinetiktir (Şekil 3). Hazırlanan konjugat içinde yer alan etkin madde biyolojik aktivitesini devam ettirirken MAb'de reseptöre bağlanıp RMT aracılığıyla ilacın KBE'den geçişini sağlamalıdır. Bu nedenle konjugat hazırlanmasında, etkin madde/vektör bağlanması ve bağlanma stratejileri önemlidir. Konjugat hazırlarken parçalanamayan amid bağlayıcılar (linker) kullanılırsa her iki bileşen de biyolojik aktivitelerini korurlar. Parçalanmış disülfid bağlayıcılar kullanıldığında ise etkin madde konjugat halinde iken biyolojik aktivitesini kaybedilebilir; ancak konjugattan ayrıldığında tekrar biyolojik aktivitesini gösterebilir (6).

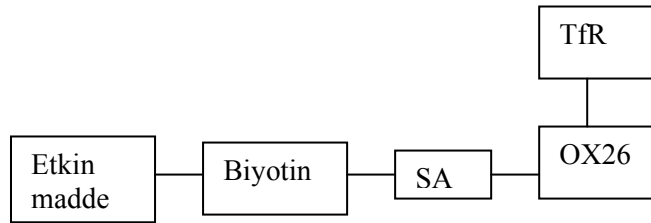


Şekil 3. Şimerik peptidlerin moleküler formülasyon çeşitliliği. rTfR: Rat transferrin reseptörü, hIR: İnsan insülin reseptörü (6).

- Avidin-Biyotin Teknolojisi

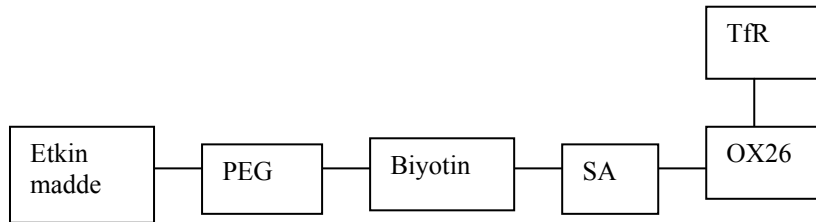
Etkin maddelerin taşıyıcı vektöre konjugasyonunu kolaylaştırmak için avidin-biyotin teknolojisi kullanılmaktadır. Avidin-vektör (OX26-MAb) konjugatlarının üretimi ile beyin etkin madde-taşıyıcı vektörlerinin gelişimi sağlanmıştır (23,30,58,61,62)

Bu teknoloji ile birçok biyotinlenmiş terapötiklerin KBE'den geçişi sağlanmaktadır (63-67). Bu yaklaşımda, Streptavidinin (SA, nötral avidin) biyotine yüksek afinite ile bağlanmasından yararlanılır ve OX26/SA konjugatı MBS (m-maleimidobenzoil N-hidroksisüksinimid ester) ve 2-iminotiyolen (traut's ajanı) kullanılarak hazırlanmaktadır. Bu işlemin paralelinde etkin maddenin monobiyotinilasyonu (etkin maddeye tek bir biyotinin bağlanması) gerçekleştirilmektedir (23,61). Burada monobiyotinilasyon önemlidir. Aksi takdirde yüksek molekül ağırlıklı agregatlar oluşmakta ve agregatlar kandan hızla uzaklaştırılmaktadır. Aynı ayrı hazırlanan etkin madde/biyotin konjugatı ve OX26/SA konjugatı daha sonra SA ve biyotin arasındaki yüksek afiniteden yararlanılarak kimyasal reaksiyonlar sonucu biraraya getirilmekte ve böylece beyine ilaç hedeflendirme sistemi elde edilmektedir (Şekil 4) (6,61,68).



Şekil 4. Şematik olarak formülasyonun gösterilmesi (6).

Peptit, protein (nöropeptidler v.b.) ve antisens oligonükleotidlerin KBE'ni aşarak beyine taşınması OX26 vektörü kullanılarak transferrin reseptörü aracılığıyla sağlanmıştır (63-71). Yapılan bu çalışmaların çoğunluğunda ayrıca polietilenglikol (PEG) etkin maddelerin (nörotropik faktörler: BDNF v.b.) farmakokinetik özelliklerini optimize etmek için kullanılmıştır (Şekil 5) (63,66,72).



Şekil 5. Şematik olarak PEG'li formülasyonun gösterilmesi (63).

Son zamanlarda küçük peptid-taşıyıcılar kullanılarak doksorubisin, dalargin ve penisilin gibi ilaçların beyne alımı artırılmıştır. Rousselle ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmalar, peptid aracılıklı beyne taşıma yönteminin, SSS'ne yönelik geliştirilen etkin maddelerin etkinliği ve kullanılabilirliği açısından faydalı bir yöntem olduğunu göstermiştir (73-75).

KBE'yi aşmanın diğer bir yolu ise etkin madde taşıyıcı olarak nanopartiküllerin kullanılmasıdır (76-78). Kullanılan nanopartiküllerin yarıçapları ortalama 100-400 nm'dir. İlaç polimer içine hapsedilmekte veya yüzeye adsorbe ettirilmektedir. İlave olarak nanopartikül/etkin madde formülasyonu bir sürfaktan ile kaplanmaktadır. Nanopartiküller de lipozomlar gibi i.v. uygulanımı takiben kandan hızla uzaklaştırılmaktadır (5 dakika içinde %90'ından fazlası). Kreuter, Schröder, Sabel, Begley, Alyautdin ve ark. tarafından etkin madde hapsedilmiş nanopartiküllerin KBE'yi geçebildiği rapor edilmiştir (79-83). 40-80 nm partikül büyüklüğüne sahip lipozomlar KBE'yi geçemezken (84) daha fazla partikül büyüklüğüne sahip nanopartiküller KBE'yi geçebilmektedir. Nanopartiküllerin farmakolojik bu etkisi bu yapıların formülasyonu ile ilgilidir. Bu yapıları stabilize etmek için polisorbata 80 gibi yüzey etkin maddeler kullanılmaktadır. Bilindiği gibi bu yüzey etkin maddeler, KBE'nin açılmasına neden olmaktadır (6). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki nanopartikülleri stabilize etmek için yüksek miktarda polisorbata 80 gerekmektedir (80,82). Olivier ve arkadaşları, etkin madde/nanopartikül/polisorbata 80 kompleksinin KBE'yi geçmesinden formülasyondaki yüzey etkin maddenin sorumlu olduğunu böyle bir KBE modifikasyonuna neden olan bir strateji kullanılmaması durumunda nanopartiküllerin de lipozomlar gibi KBE'yi aşamayacağını göstermişlerdir (85).

Nanopartiküllerin KBE'yi geçmesinde etkili olduğu düşünülen diğer mekanizmalar ise aşağıdaki şekilde özetlenebilir (76):

1. Nanopartiküllerin kapiler duvarına adsorbe olması ve artan konsantrasyondan dolayı KBE'yi geçmesi
2. Nanopartiküllerin sıkılaştırılmış kavşakların açılmasına neden olması
3. Nanopartiküllerin endotel hücreler tarafından endositoz yolu ile alınması

Poli(siyanoakrilat) nanopartikülleri in vivo olarak beyine etkin madde taşınımında başarı ile kullanılmışlardır. Bu polimerin en önemli avantajı çok hızlı bir şekilde biyolojik olarak parçalanmasıdır (76). Nanopartikül kullanılarak beyine taşınan ilk etkin madde heksapeptid dalargin'dir. Bu nanopartiküller ortalama 250 nm büyüklüğünde ve polisorbata 80 kaplı olarak kullanılmıştır (79,81).

Vinogradov ve arkadaşları tarafından beyne oligonükleotid taşınması için nanojeller kullanılmıştır. Oligonükleotid içeren nanojeller, polietilen glikol ve polietilenimin polimerlerinin çapraz bağlanması ile oluşmuş nano boyutta ağısı yapılardır. Yapılan *in vivo* çalışmada, nanojel i.v. olarak farelere uygulandığında oligonükleotidin beyne taşınımı, serbest haline göre 2 kat daha artmıştır (86).

SONUÇ

SSS hastalıklarının tedavisi için yeni ilaçların geliştirilmesi nörolojik alandaki moleküler gelişime ayak uyduramamaktadır. Bunun nedeni, SSS'ne yönelik geliştirilen yeni moleküllerin büyük çoğunluğunun KBE'ni geçememesidir. Bu duruma rağmen, ilaç firmaları herhangi bir beyne ilaç hedeflendirme programına sahip değildir. Bununla birlikte, bilimsel alanda ilaç hedeflendirme teknolojisi üzerinde çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Derlememizde de bahsedildiği gibi pek çok beyne ilaç taşıma stratejisi vardır. Bu stratejiler tek başına kullanıldığında bir takım üstünlük ve sakıncalara sahiptir (örneğin, CMT'de kontrollü bir ilaç taşınması sağlanmasına rağmen yüksek bir ilaç-taşıyıcı spesifikliği gerektirmektedir, RMT'de ise küçük moleküllerin, peptid yapıdaki etkin maddelerin, lipozomların beyne taşınması sağlanmakla birlikte, reseptörün doygunluğa ulaşması durumu, enzim bağımlı bir salımın görülmesi ve konjugat hazırlanması sırasında etkin maddenin aktivitesini kaybetmesi v.s.).

Sonuç olarak diyebiliriz ki; İlaç taşıma sistem ve tekniklerinin birarada kullanılması hiç şüphesiz SSS hastalıklarının tedavisi için faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Benoit, J.P., Faisant, N., Venier-Julienne, M.C., Menei, P.** "Development of microspheres for neurological disorders: from basics to clinical applications" *J. Control. Rel.*, **65**, 285-296, (2000).
2. **Mahoney, M.J., Saltzman, W.M.** "Controlled release of proteins to tissue transplants for the treatment of neurodegenerative disorders" *J. Pharm. Sci.*, **85**, 1276-1281 (1996).
3. **Schroeder, U., Sommerfeld, P., Ulrich, S., Sabel, B.A.** "Nanoparticle technology for delivery of drugs across the blood-brain barrier" *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1305-1307 (1998).
4. **Haller, M.F., Saltzman W.M.** "Localized delivery of proteins in the brain: Can transport be customized" *Pharm. Res.*, **15**, 377-385 (1998).
5. **Haller, M.F., Saltzman, W.M.** "Nerve growth factor delivery systems" *J. Control. Rel.*, **53**, 1-6 (1998).
6. **Pardridge, W. M.** "Drug targeting, drug discovery, and brain drug development" Pardridge, W.M (Ed.), *Brain Drug Targeting*, U.K., Cambridge University Press, Cambridge, 1 (2001).
7. **Terasaki, T., Pardridge, W.M.** "Restricted transport of AZT and dideoxynucleosides through the blood-brain barrier" *J. Infect. Dis.*, **158**, 630-632 (1988).

8. **Ahmed, A.E., Jacob, S., Loh, J.P., Samra, S.K., Nokta, M., Pollard, R.B.** "Comparative disposition and whole-body autoradiographic distribution of [2-14C]azidothymidine and [2-14C]thymidine in mice" *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **257**, 479-86 (1991).
9. **Crone, C.** "The permeability of capillaries in various organs as determined by use of the "indicator diffusion" method" *Acta Physiol. Scand.*, **58**, 292-305 (1963).
10. **Dohrmann, G.J.** "The choroid plexus: a historical review" *Brain Res.*, **18**, 197-218 (1970).
11. Sobue, K. "Induction of blood-brain barrier properties in immortalized bovine brain endothelial cells by astrocytic factors" *Neurosci. Res.*, **35**, 155-164 (1999).
12. **Kreuter, J., Alyautdin, R.N., Kharkevich, D.A., and Ivanov, A.A.** "Passage of peptides through the blood-brain barrier with colloidal polymer particles (nanoparticles)" *Brain Res.*, **674**, 171-174 (1995).
13. **Arıca, B., Kaş, H. S.** "Beyine ilaç taşınması" *Hacettepe Tıp Dergisi*, **28**, 4-14 (1997).
14. **Edwards, R. H.** "Drug delivery via the blood-brain barrier" *Nat. Neurosci.*, **4**, 221-222 (2001).
15. **Oldendorf, W.H.** "The blood-brain barrier" *Exp. Eye Rev.*, 25 (suppl.), 177-190 (1977).
16. **Pardridge, W.M.** "Recent advances in blood-brain barrier transport" *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **28**, 25-39 (1988).
17. **Prokai, L.,** Peptide drug delivery into the central nervous system, http://www.birkhauser.ch/books/biosc/pdr/pdr51_3.html
18. **Pardridge, W.M., Triguero, D., Buciak, J., Yang, J.** "Evaluation of cationized rat albumin as a potential blood-brain barrier drug transport vector" *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **255**, 893-899 (1990).
19. http://biosci.usc.edu/documents/bisc221-watts_lec8.pdf, Anatomy and physiology of blood-CSF barrier.
20. http://www.sfn.org/content/Publications/BrainBriefings/blood_brain_large.html
21. <http://www.soton.ac.uk/~jrc3/chudler/bbb.html>, Anatomy of the BBB.
22. **Ballabh, P., Braun, A., Nedergaard, M.** "The blood-brain barrier: an overview structure, regulation, and clinical implications" *Neurobiol. Dis.*, **16**, 1-13 (2004).

23. **Pardridge, W. M.** "Drug delivery to the brain" *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **17**, 713-731 (1997).
24. **Pardridge, W.M.** "Blood-brain barrier drug targeting: the future of brain drug development" *Molecular Interventions*, **3**, 90-105 (2003).
25. **Misra, A., Ganesh, S., Shahiwala, A., Shah, S.P.** "Drug delivery to the central nervous system: a review" *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **6**, 252-273 (2003).
26. **Wolka, A.M., Huber, J.D., Davis, T.P.** "Pain and the blood-brain barrier: obstacles to drug delivery" *Adv. Drug Deliv. Rev.* **55(8)**, 987-1006 (2003).
27. **Pardridge, W.M., Yang, J., Eisenberg, J., Mietus, L.J.** "Antibodies to blood-brain barrier bind selectively to brain capillary endothelial lateral membranes and to a 46K protein" *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **6**, 203-211 (1986).
28. <http://users.ahsc.arizona.edu/davis/bbbtransport.html>, Transport at the blood-brain barrier (BBB).
29. **Pardridge, W.M.** "New approaches to drug delivery through the blood brain barrier" *Trends Biotechnol.*, **12**, 239-245 (1994).
30. **Girod, J., Fenart, L., Rgina, A., Dehouck, M.-P., Hong, G., Scherrmann, J.-M., Cecchelli, R., Roux, F.** "Transport of cationized anti-tetanus Fab'2 fragments across an in vitro blood-brain barrier model: Involvement of the transcytosis pathway" *J. Neurochem.*, **73**, 2002-2008 (1999).
31. **Kang, Y. S., Pardridge, W.M.** "Brain delivery of biotin bound to a conjugate of neutral avidin and cationized human albumin" *Pharm. Res.*, **11**, 1257-1264 (1994).
32. **De Wolf, F.A., Brett, G.M.** "Ligand-binding proteins: Their potential for application in systems for controlled delivery and uptake of ligands" *Pharmacol. Rev.*, **52**, 207-236 (2000).
33. **Kumagai, A.K., Eisenberg, J.B., Parridge, W.M.** "Absorptive-mediated endocytosis of cationized albumin and a β -endorphin-cationized albumin chimeric peptide by isolated brain capillaries" *J. Biol. Chem.*, **262**, 15214-15219 (1987).
34. **Bergmann, P., Kacenenbogen, R., Vizet, A.** "Plasma clearance, tissue distribution of catabolism of cationized albumins with increasing isoelectric points in the rat" *Clin. Sci.*, **67**, 35-43 (1984).

35. **Gauthier, V.J., Mannik, M., Striker, G.E.** "Effect of cationized antibodies in performed immune complexes on deposition and persistence in renal glomeruli" *J. Exp. Med.*, **156**, 766-777 (1982).
36. **Triguero, D., Buciak, J.L., Yang, J., Pardridge, W.M.** "Blood-brain barrier transport of cationized immunoglobulin G: Enhanced delivery compared to native protein" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 4761-4765 (1989).
37. **Triguero, D., Buciak, J.L., Yang, J., Pardridge, W.M.** "Cationization of immunoglobulin G results in enhanced organ uptake of the protein after intravenous administration in rats and primates" *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **225**, 186-192 (1991).
38. **Smith, K.R., Borchardt, R.T.** "Permeability and mechanism of albumin, cationized albumin, and glycosylated albumin transcellular transport across monolayers of cultured bovine brain capillary endothelial cells" *Pharm. Res.*, **6**, 466-473 (1989).
39. **Biesa, C., Lehra, C.M., Woodleyb, J. F.** "Lectin-mediated drug targeting: history and applications" *Adv. Drug Deliv. Rev.* **56**, 425– 435 (2004).
40. **Nag, S.** "Ultrastructural localization of lectin receptors on cerebral endothelium" *Acta. Neuropathol.*, **66**, 105-110 (1985).
41. **Fischer,D., Kissel, T.** "Histochemical characterization of primarycapillary endothelial cells from porcine brains using monoclonal antibodies and fluorescein isothiocyanate-labelled lectins: implications for drug delivery" *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **52**, 1– 11 (2001).
42. **Broadwell, R.D., Balin, B.J., Salcman, M.** "Trancytotic pathway for blood-borne protein through the blood-brain barrier" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 632-636 (1988).
43. **Pardridge, W.M., Triguero, D., Buciak, J.B.** "Transport of histone through the blood-brain barrier" *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **251**,821-826 (1989).
44. **Dehouck, B., Dehouck, M.P., Fruchart, J.C., Cecchilli, R.** "Upregulation of the low density lipoprotein receptor at the blood-brain barrier: Intercommunications between brain capillary endothelial cells and astrocytes" *J. Cell Biol.*, **126**, 465-473 (1994).
45. **Triguero, D., Buciak, J.B., Pardridge, W.M.** "Capillary depletion method for quantifying blood-brain barrier transcytosis of circulating peptides and plasma proteins" *J. Neurochem.*, **54**, 1882-1888 (1990).
46. **Duffy, K.R., Pardridge, W.M.** "Blood-brain barrier transcytosis of insulin in developing rabbits" *Brain Res.*, **420**, 32-38 (1987).

47. **Fishman, J.B., Rubin, J.B., Handrahan, J.V., Conner, J.R., Fine, R.E.** “Receptor-mediated transcytosis of transferrin across the blood-brain barrier” *J. Neurosci. Res.*, **18**, 299-304 (1987).
48. **Steil, G.M., Ader, M., Moore, D.M., Rebrin, K., Bergman, R.N.** “Transendothelial insulin transport is not saturable in vivo” *J. Clin. Invest.*, **97**, 1497-1503 (1996).
49. **Jefferies, W.A., Brandon, M.R., Hunt, S.V., Williams, A.F., Gatter, K.C., Mason, D.Y.** “Transferrin receptor on endothelial brain capillaries” *Nature*, **312**, 162-163 (1984).
50. **Kumagai, A.K., Eisenberg, J., Pardridge, W.M.** “Absorptive-mediated endocytosis of cationized albumin and a β -endorphine-cationized albumin chimeric peptide by isolated brain capillaries. Model system of blood-barrier transport” *J. Biol. Chem.*, **262**, 15214-15219 (1987).
51. **Zick, Y., Rees-Jones, R.W., Taylor, S.I., Gorden, P., Roth, J.** “The role of antireceptor antibodies in stimulating phosphorylation of the insulin receptor” *J. Biol. Chem.*, **259**, 4396-4400 (1984).
52. **Heffetz, D., Fridkin, M., Zick, Y.** “Antibodies directed against phosphothreonine residues as potent tools for studying protein phosphorylation” *Eur. J. Biochem.*, **182**, 343-348 (1989).
53. **Friden, P.M., Walus, L.R., Watson, P., Doctrow, S.R., Kozarich, J.W., Backman, C., Bergman, H., Hoffer, B., Blood, F., Granholm, A.C.** “Blood-brain barrier penetration and in vivo activity of an NGF conjugate” *Science*, **259**, 373-377 (1993).
54. **Fishman, J.B., Rubin, J.B., Handrahan, J.V., Connor, J.R., Fine, R.E.** “Receptor-mediated transcytosis of transferrin across the blood-brain barrier” *J. Neurosci. Res.*, **18**, 299-304 (1987).
55. **Pardridge, W.M., Eisenberg, J., Yang, J.** “Human blood-brain barrier transferrin receptor” *Metabolism*, **36**, 892-895 (1987).
56. **Cornford, E.M., Cornford, M.E.** “New systems for delivery of drugs to the brain in neurological disease” *Lancet Neurol.*, **1**, 306-315 (2002).
57. **Jefferies, W.A., Brandon, M.R., Williams, A.F., Hunt, S.V.** “Analysis of lymphopoietic stem cells with a monoclonal antibody to the rat transferrin receptor” *Immunol.*, **54**, 333-341 (1985).

58. **Pardridge, W.M., Buciak, J.L., Friden, P.M.** "Selective transport of an anti-transferrin receptor antibody through the blood-brain barrier in vivo" *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **259**, 66-70 (1991).
59. **Skarlatos, S., Yoshikawa, T., Pardridge, W.M.** "Transport of [¹²⁵I] transferrin through the blood-brain barrier in vivo" *Brain Res.*, **683**, 164-171 (1995).
60. **Pardridge, W.M.** "Vector-mediated peptide drug delivery to the brain" *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **15**, 109-146 (1995).
61. **Kang, Y.S., Pardridge, W.M.** "Use of neutral avidin improves pharmacokinetics and brain delivery of biotin bound to an avidin-monoclonal antibody conjugate" *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **269**, 344-350 (1993).
62. **Yoshikawa, T., Pardridge, W.M.** "Biotin delivery to brain with a covalent conjugate of avidin and a monoclonal antibody to the transferrin receptor" *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **263**, 897-903 (1992).
63. **Pardridge, W.M., Wu, D., Sakane, T.** "Combined use of carboxyl-directed protein pegylation and vector-mediated blood-brain barrier drug delivery system optimizes brain uptake of brain-derived neurotrophic factor following intravenous administration" *Pharm. Res.*, **15**, 576-582 (1998).
64. **Lee, H., Kim, T. H., Park, T.G.** "A receptor-mediated gene delivery system using streptavidin and biotin-derivatized, pegylated epidermal growth factor" *J. Control. Release*, **83**, 109-119 (2002).
65. **Boado, J.R.J., Tsukamoto, H., Pardridge, W.M.** "Drug delivery of antisense molecules to the brain for treatment of Alzheimer's disease and cerebral AIDS" *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1308-1315 (1998).
66. **Sakane, T., Pardridge, W.M.** "Carboxyl-directed pegylation of brain-derived neurotrophic factor markedly reduces systemic clearance with minimal loss of biologic activity" *Pharm. Res.*, **14**, 1085-1091 (1997).
67. **Li, J.Y., Sugimura, K., Boado, R.J., Lee, H.J., Zhang, C., Duebel, S., Pardridge, W.M.** "Genetically engineered brain drug delivery vectors: cloning, expression and in vivo application of an anti-transferrin receptor single chain antibody-streptavidin fusion gene and protein" *Protein Eng.*, **12(9)**, 787-796 (1999).

68. **Song, B.W., Vinters, H.V., Wu, D., Pardridge, W.M.** “Enhanced neuroprotective effects of basic fibroblast growth factor in regional brain ischemia after conjugation to a blood-brain barrier delivery vector” *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **301**, 605-610 (2002).
69. **Zhang, Y., Pardridge, W.M.** “Neuroprotection in transient focal brain ischemia after delayed intravenous administration of brain-derived neurotrophic factor conjugated to a blood-brain barrier drug targeting systems” *Stroke*, **32**, 1378-1385 (2001).
70. **Wu, D., Pardridge, W.M.** “Central nervous system pharmacologic effect in conscious rats after intravenous injection of a biotinylated vasoactive intestinal peptide analog coupled to a blood-brain barrier drug delivery system” *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **279**, 77-83 (1996).
71. **Zhang, Y., Pardridge, W.M.** “Conjugation of brain-derived neurotrophic factor to a blood-brain barrier drug targeting system enables neuroprotection in regional brain ischemia following intravenous injection of the neurotrophin” *Brain Res.*, **889**, 49-56 (2001).
72. **Pardridge, W.M., Kang, Y.S., Buciak J.L.** “Transport of human recombinant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) through the rat blood-brain barrier in vivo using vector-mediated peptide drug delivery” *Pharm. Res.*, **11**, 738-746 (1994).
73. **Rousselle, C., Clair, P., Smirnova, M., Kolesnikov, Y., Pasternak, G.W., Gac-Breton, S., Rees, A.R., Scherrmann, J.M., Tamsamani, J.** “Improved brain uptake and pharmacological activity of dalargin using a peptide-vector-mediated strategy” *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **306**(1), 371-6 (2003).
74. **Rousselle, C., Clair, P., Tamsamani, J., Scherrmann, J.M.** “Improved brain delivery of benzylpenicillin with a peptide-vector-mediated strategy” *J. Drug Target.* **10**(4), 309-15 (2002)
75. **Mazel, M., Clair, P., Rousselle, C., Vidal, P., Scherrmann, J.M., Mathieu, D., Tamsamani, J.** “Doxorubicin-peptide conjugates overcome multidrug resistance” *Anticancer Drugs* **12**(2), 107-116 (2001).
76. **Kreuter, J.** “Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **47**, 65-81 (2001).
77. **Schroeder, U., Sommerfeld, P., Ulrich, S., Sabel, B.A.** “Nanoparticle technology for delivery of drugs across the blood-brain barrier” *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1305-1307 (1998).
78. **Schroeder, U., Sommerfeld, P., Sabel, B.A.** “Efficacy of oral dalargin-loaded nanoparticle delivery across the blood-brain barrier” *Peptides*, **19**, 777-780 (1998).

79. **Alyautdin, R., Gothier, D., Petrov, V., Kharkevich, D., Kreuter, J.** "Analgesic activity of the hexapeptide dalargin adsorbed on the surface of polysorbate 80-coated poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles" *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **41**, 44-48 (1995).
 80. **Kreuter, J., Alyautdin, R.N., Kharkevich, D.A., Ivanov, A.A.** "Passage of peptides through the blood-brain barrier with colloidal polymer particles (nanoparticles)" *Brain Res.*, **674**, 171-174 (1995).
 81. **Schroeder, U., Sabel, B.A.** "Nanoparticles, a drug carrier system to pass the blood-brain barrier, permit central analgesic effects of i.v. dalargin injections" *Brain Res.*, **710**, 121-124 (1996).
 82. **Alyautdin, R.N., Petrov, V.E., Langer, K., Berthold, A., Kharkevich, D.A., Kreuter, J.** "Delivery of loperamide across the blood-brain barrier with polysorbate 80-coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles" *Pharm. Res.*, **14**, 325-328 (1997).
 83. **Begley, D.J.** "The blood-brain barrier: Principles for targeting peptides and drugs to the central nervous system" *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 136-146 (1996).
 84. **Huwyler, J., Wu, D., Pardridge, W.M.** "Brain drug delivery of small molecules using immunoliposomes" *Proc. Natl.Acad. Sci. USA*, **93**, 14164-14169 (1996).
 85. **Olivier, J.C., Fenart, L., Chauvet, R., Pariat, C., Cecchelli, R., Couet, W.** "Indirect evidence that drug brain targeting using polysorbate 80-coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles is related to toxicity" *Pharm. Res.*, **16**, 1836-1842 (1999).
- Vinogradov, S.V., Batrakova, E.V., Kabanov, A.V.** "Nanogels for oligonucleotide delivery to the brain" *Bioconjugate. Chem.* **15**, 50-60 (2004).

received: 03.09.2004

accepted: 13.12.2004