

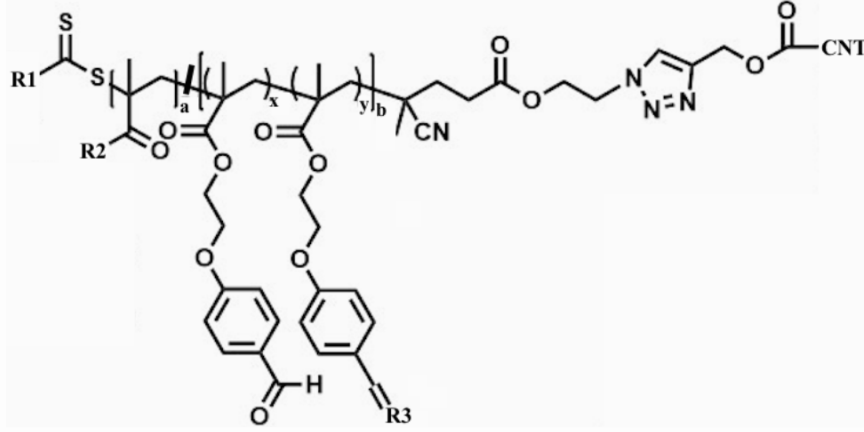
ÖZET

KANSER TEDAVİSİ İÇİN GLİKOPOLİMER İÇEREN KARBON NANOTÜPLERİN SENTEZİ

- 5 Mevcut buluş, kanser tedavisinde kullanım için glikopolimer içeren karbon nanotüplerden oluşan ilaç taşıma platformlarına, bu platformların hazırlanmasında kullanılan yöntemlere ve bu platformları içeren farmasötik bileşimlere ilişkindir.

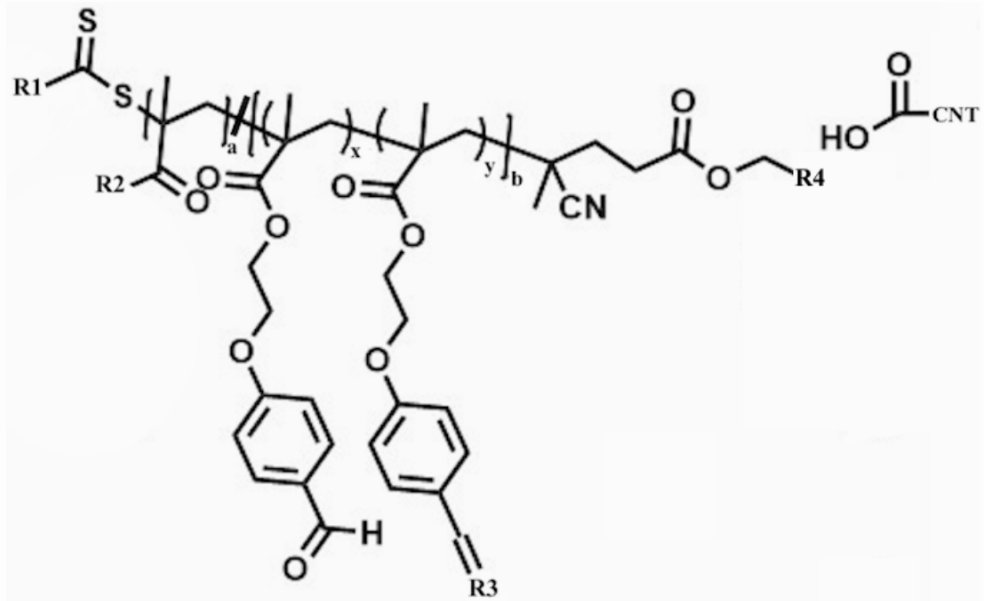
İSTEMLER

1. İlaç taşıma platformu olarak kullanım için (Formül I)



5 *Formül I*

veya Formül II ile gösterilen



10 *Formül II*

hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup burada,

R₁, C₆H₅, C₁₂H₂₅ veya C₁₂H₂₅S içerisinden,

R_2 , glukoz, galaktoz, mannoz, fruktoz, glukozamin, ksiloz, miyoinositol içerisinde

R_3 antineoplastik ajanlar içerisinde,

5 R_4 ise bir karbon nanotüp yüzeyine π - π istiflenmesi ile tutunan moleküller içerisinde seçilir ve

a, x ve y birbirinden bağımsız olarak; 1 ile 250 arasında, b ise 10 ile 250 arasında bir doğal sayıdır.

2. İstem 1'e göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup özelliği karbon nanotüp yüzeyine π - π istiflenmesi ile tutunan molekül piren veya porfirindir.

10 3. İstem 1 veya 2'ye göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup özelliği antineoplastik ajanların nükleosit analogları, antifolatlar, diğer metabolitler, topoizomera I inhibitörleri, antrasiklinler, podofilotoksinler, taksanlar, vinka alkaloidleri, alkilleyici maddeler, platin bileşikler, antihormonlar, radyofarmasötikler, monoklonal antikorlar, tirozin kinaz inhibitörleri, rapamisin'in memeli hedefi (mTOR) inhibitörleri, retinoidler, bağışıklık sistemini düzenleyici maddeler, histondeasetilaz inhibitörleri ve diğer maddeleri kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilmesidir.

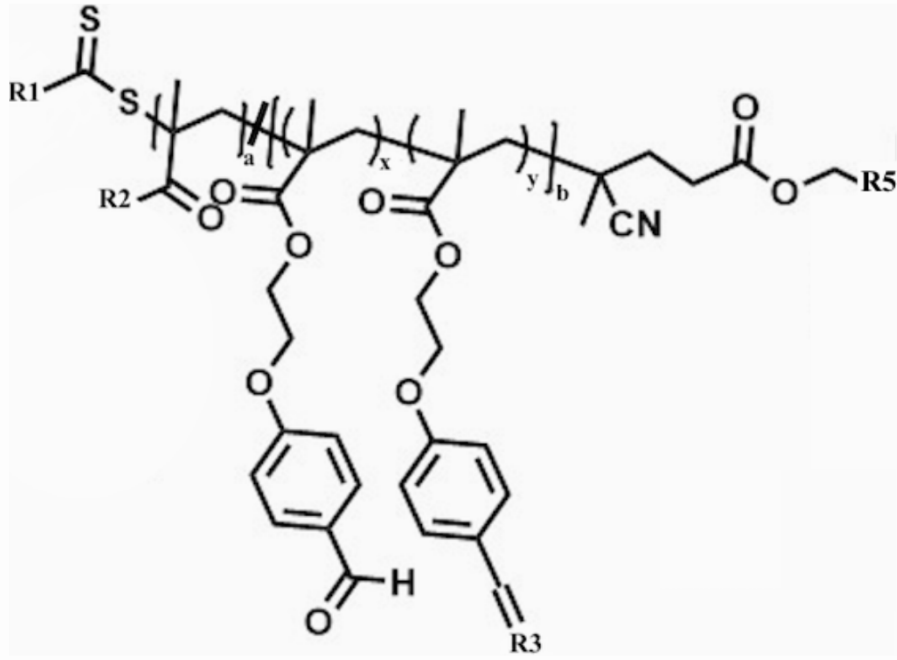
15 4. İstem 3'e göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup özelliği antineoplastik ajanın dosetaksel, doksorubisin, doksorubisin hidroklorür, epirubisin, epirubisin hidroklorür, gempitabin, gempitabin hidroklorür, goserelin asetat'tan oluşan bir grubun içerisinde seçilmesidir.

25 5. İstem 1-4'ten herhangi birine göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup özelliği R_1 'in C_6H_5 ; R_2 'nin fruktoz; R_3 'ün Doksorubisin ve R_4 'ün piren olması ve a, x ve y'nin birbirinden bağımsız olarak; 1 ile 250 arasında, b'nin ise 10 ile 250 arasında bir doğal sayı olmasıdır..

6. İstem 1-5'ten herhangi birine göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup özelliği a'nın 150 ile 250 arasında bir doğal sayı; b'nin 10 ile 15 arasında bir doğal sayı ve x ve y değerlerinin ise birbirinden bağımsız olarak 3 ile 15 arasında bir doğal sayı olmasıdır.

30 7. İstem 1-5'ten herhangi birine göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup özelliği nonkovalent şekilde bir diğer madde ile konjuge formda bulunmasıdır.

8. İstem 6'ya göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup diğer madde bir hedefleyici ajandır.
9. İstem 7'ye göre hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) olup diğer madde folik asittir.
- 5 10. İstem 1-8'den herhangi birine göre Formül I veya Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüplerin (h-CNT) hazırlanmasında ara ürün olarak kullanım için Formül III ile gösterilen bileşikler



burada; R₁, C₆H₅, C₁₂H₂₅ veya C₁₂H₂₅S içerisinden,

- 10 R₂, glukoz, galaktoz, mannoz, fruktoz, glukozamin, ksiloz, miyoinositol içerisinden

R₃ antineoplastik ajanlar içerisinden,

R₅ ise kovalent bağlanma için -CH₂N₃ olarak, nonkovalent bağlanma için ise porfrin veya piren gibi karbon nanotüp yüzeyine π - π istiflenmesi ile tutunan moleküller içerisinden seçilir ve a, b, x ve y birbirinden bağımsız olarak; 1 ile 250 arasında bir doğal sayıdır.

15

11. Kanser hastalığının tedavisinde ilaç olarak kullanım için İstem 1-8'den herhangi birine göre Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpler (h-CNT).

12. Meme kanseri veya böbrek kanseri veya prostat kanseri tedavisinde ilaç olarak kullanım için İstem 1-8'den herhangi birine göre Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpler (h-CNT).
- 5 13. Etkin madde olarak istem 1-8'den herhangi birine göre Formül I ve/veya Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpleri (h-CNT) içeren farmasötik bileşimler.
14. İstem 1-8'den herhangi birine göre Formül I ve/veya Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüplerin (h-CNT) en az bir diğer etkin madde ile kombine kullanımı.
- 10 15. İstem 13'e göre bir kullanım olup diğer etkin madde antikanser ajanlar, bağışıklık sistemini düzenleyici maddeler, antivirüsler, antimikrobiyaller, ya da anestetik maddeler ya da bunların ikili veya üçlü kombinasyonları içerisinden seçilir.

15

20

25

TARİFNAME

KANSER TEDAVİSİ İÇİN GLİKOPOLİMER İÇEREN KARBON NANOTÜPLERİN SENTEZİ

- 5 Mevcut buluş, kanser tedavisinde glikopolimer içeren karbon nanotüplerden oluşan ilaç taşıma platformlarına, bu platformların hazırlanmasında kullanılan yöntemlere ve bu platformları içeren farmasötik bileşimlere ilişkindir.

Tekniğin Bilinen Durumu

- 10 Kansere bağlı ölümlerin sayısında dünya çapında artış yaşanmaktadır. Kemoterapi, kanser için uygulanan en yaygın tedavi stratejilerinden biridir. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan birçok ilaç kanser kemoterapisinde kullanılmaktadır.

- 15 Her ne kadar terapötik etkinliğinin var olduğu bilinse de kemoterapi ilaçları, ilaç ancak uygun konsantrasyonda ve doğru hedeflenen tümör dokusunda biriktiğinde etkili olabilir. Bununla birlikte, klasik küçük molekülü kemoterapi ajanları spesifik olarak sadece tümör bölgesine ulaşmadığı için bu ajanlar sağlıklı dokulara da nüfuz etmektedir. Bu durum ciddi yan etkilere ve/veya etkinliği düşük kanser tedavisine neden olmaktadır.

- 20 Polimerik nano-taşıyıcılara dayalı, ilaç taşıma sistemleri, belirli hedeflere terapötiklerin verimli dağıtımını ve sürekli salımını gerçekleştirme kabiliyetleri nedeniyle kanser tedavisindeki zorlukların üstesinden gelebilir. Lipozomlar, miseller, kapsüller, dendrimerler ve polimerik nanopartiküller dahil olmak üzere çeşitli yenilikçi nano-taşıyıcı sistemlerin veya bunların konvansiyonel ilaçlarla konjuge edilmiş formlarının, hedefli ilaç taşıma sistemleri olarak uygulamaları bilinmektedir.

Bu amaçla kullanılabilecek yapılardan bir tanesi de karbon nanotüpler gibi karbon bazlı nanomateriyallerdir.

- 25 Karbon nanotüpler (CNT) sağladıkları geniş yüzey alanı ve dayanıklı olmaları nedeniyle ilaç taşıma sistemi olarak kullanıma uygun bir platform oluşturmaktadır. Ancak, karbon nanotüplerin oldukça hidrofobik yapıda olmaları onların biyoyumluluk ve sulu ortamda dağılımlarını olumsuz etkilemektedir.

- 30 Tekniğin bilinen durumunda var olan bu dezavantajları göz önüne alan buluşçular, biyoyumlu ve suda dispers olabilen karbon nanotüp bazlı ilaç taşımaya uygun platformları geliştirmeyi amaçlamaktadır.

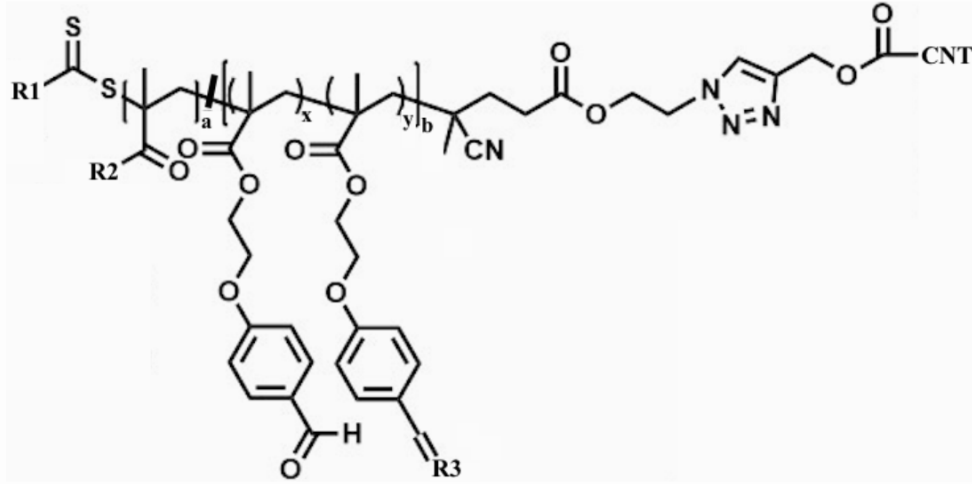
Buluş sahipleri aynı zamanda kanda uzatılmış dolaşım süresine sahip, tümör dokusunda birikenve etkili antikanser özellik gösteren ve biyoyumluluğu yüksek karbon nanotüp bazlı ilaç taşıma platformları geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Şekillerin Detaylı Açıklaması

- 5 Şekil 1: Hücreleri 24 saat boyunca Dox, CNT/P7, CNT/P8, CNT/P7/FA ve CNT/P8/FA içeren bir çözeltiye maruz bıraktıktan sonra hücre canlılığının ölçülmesi ve elde edilen sonuçlar (% olarak) grafikte verilmiştir: Şekil 1(A)'da MCF-7 ait sonuçlar ve Şekil 1(B)'de MDA-MB-231 hücre hatlarına ait sonuçlar gösterilmektedir.

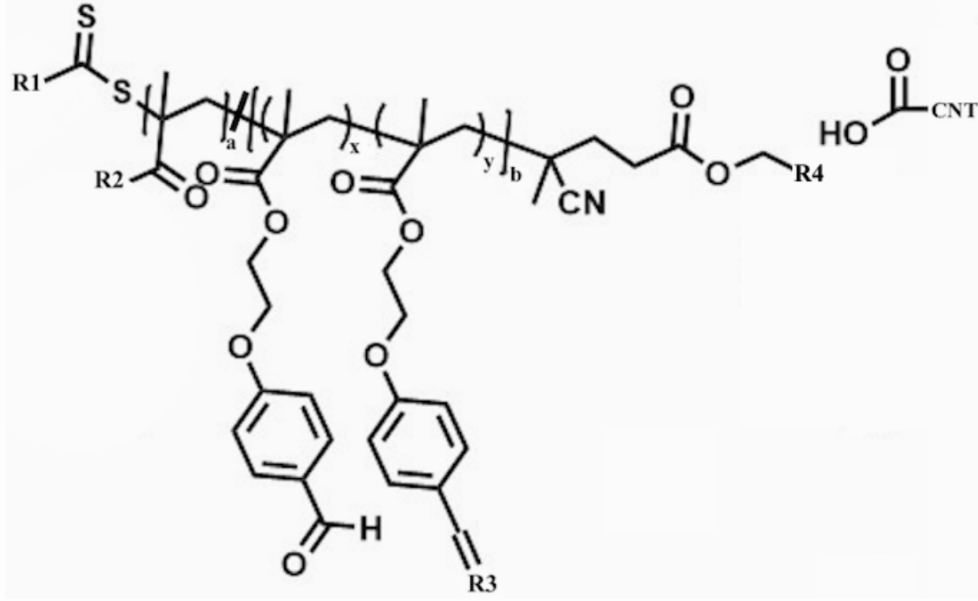
10 Buluşun Detaylı Anlatımı

Mevcut buluş ilaç taşıma platformu olarak kullanım için (Formül I)



15 Formül I

veya Formül II ile gösterilen



Formül II

hibrit karbon nanotüplere (h-CNT) ilişkin olup burada,

R_1 , C_6H_5 , $C_{12}H_{25}$ veya $C_{12}H_{25}S$ içerisinde,

5 R_2 , glukoz, galaktoz, mannoz, fruktoz, glukozamin, ksiloz, miyoinositol içerisinde

R_3 antineoplastik ajanlar içerisinde,

R_4 ise porfrin veya piren gibi karbon nanotüp yüzeyine π - π istiflenmesi ile tutunan moleküller içerisinde seçilir ve

10 a, x ve y birbirinden bağımsız olarak; 1 ile 250 arasında, b ise 10 ile 250 arasında bir doğal sayıdır.

Buluşun tercih edilen bir uygulamasında a; 150 ile 250 arasında bir doğal sayı; b; 10 ile 15 arasında bir doğal sayı ve x ve y değerleri ise birbirinden bağımsız olarak 3 ile 15 arasında bir doğal sayıdır.

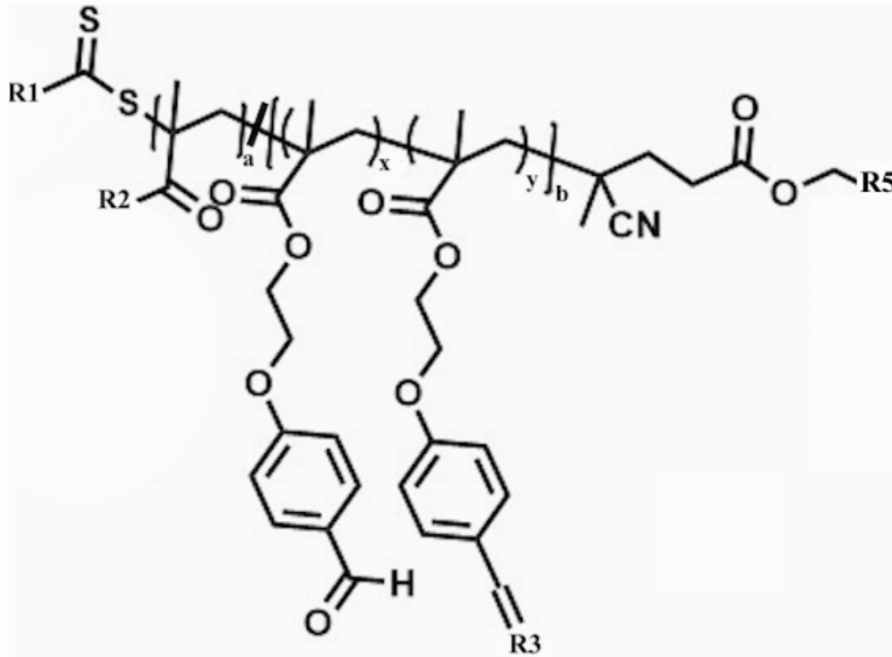
15 Buluşa uygun polimer ilaç konjugatı ile fonksiyonelleştirilmiş hibrit karbon nanotüpler, kovalent veya nonkovalent şekilde bağlanan glikopolimerler sayesinde biyoyumlu hale gelmektedir. Ayrıca, glikopolimer ünitesi üzerinde yer alan glukoz, galaktoz, mannoz, fruktoz, glukozamin, ksiloz, miyoinositol gibi GLUT reseptörü substratları, kanser hücrelerinde yaygın olarak bu reseptöre ilacın spesifik olarak taşınmasını sağlamak ve yine glikopolimer ünitesi üzerinde yer alan ilaç kargosunun

20 burada salımı ile hedefli ilaç taşıma amacı gerçekleştirilmektedir.

Buluş kapsamında kullanılan “CNT” ifadesi karbon nanotüpleri ifade etmektedir. Burada bahsi geçen karbon nanotüpler herhangi bir benzer polimer ile kovalent veya nonkovalent şekilde fonksiyonelleşmemişlerdir. Burada bahsi geçen karbon nanotüplerin yüzeyleri doğal formunda olabilir veya kovalent veya nonkovalent bağlanmaya imkan verecek şekilde teknikte bilinen yöntemler ve fonksiyonel gruplarla modifiye edilmiş olabilir. Örneğin, kovalent bağlanma için kullanılan karbon nanotüplerin yüzeyleri alkin grupları ile modifiye edilmiştir, diğer yandan nonkovalent bağlanma için kullanılan karbon nanotüplerin (CNT) yüzeyleri karboksilik asit gruplarıyla modifiye edilmiştir. Bu tarifname kapsamında “karbon nanotüp” ve “CNT” ifadeleri birbiri ile aynı anlamda olup birbiri yerine kullanılabilir.

Buluş kapsamında kullanılan (h-CNT) ifadesi buluşa uygun Formül I ve Formül II ile gösterilen “hibrit karbon nanotüp”leri ifade etmektedir. Burada bahsedilen hibrit karbon nanotüpler, karbon nanotüplerin (CNT) buluşa uygun Formül III ile gösterilen glikopolimer ile modifiye edilmesiyle elde edilir. Söz konusu modifikasyon glikopolimerin (Formül III) karbon nanotüpe (CNT) kovalent (Formül I) veya nonkovalent (Formül II) olarak bağlanmasıyla gerçekleşir. Burada bahsedilen nonkovalent bağlanma glikopolimer (Formül III) üzerinde yer alan π - π istiflenmesi ile tutunan molekülün, örneğin porfirin veya piren, karbon nanotüpün duvarına π - π istiflenmesi ile bağlanmasıyla gerçekleşir.

Burada bahsi geçen glikopolimer Formül III ile gösterilmekte olup burada



R₁, C₆H₅, C₁₂H₂₅ veya C₁₂H₂₅S içerisinde,

R₂, glukoz, galaktoz, mannoz, fruktoz, glukozamin, ksiloz, miyoinositol içerisinde

R₃ antineoplastik ajanlar içerisinde,

5 R₅ ise kovalent bağlanma için –CH₂N₃ olarak, nonkovalent bağlanma için ise porfrin veya piren gibi karbon nanotüp yüzeyine π - π istiflenmesi ile tutunan moleküller içerisinde seçilir ve

a, x ve y birbirinden bağımsız olarak; 1 ile 250 arasında, b ise 10 ile 250 arasında bir doğal sayıdır.

10 Buluşun tercih edilen bir uygulamasında a; 150 ile 250 arasında bir doğal sayı; b; 10 ile 15 arasında bir doğal sayı ve x ve y değerleri ise birbirinden bağımsız olarak 3 ile 15 arasında bir doğal sayıdır.

Buluşa uygun Formül III ile gösterilen glikopolimerler, diblok kopolimerlerdir.

15 Burada bahsi geçen “antineoplastik ajan” ifadesi kanser hastalığının tedavisinde veya semptomlarının giderilmesinde veya semptomlarının hafifletilmesinde kullanılan ajanları ifade etmektedir.

20 Buluş kapsamında antineoplastik ajanlar nükleosit analogları, antifolatlar, diğer metabolitler, topoizomeras I inhibitörleri, antrasiklinler, podofilotoksinler, taksanlar, vinka alkaloidleri, alkilleyici maddeler, platin bileşikler, antihormonlar, radyofarmasötikler, monoklonal antikolar, tirozin kinaz inhibitörleri, rapamisinin memeli hedefi (mTOR) inhibitörleri, retinoidler, bağışıklık sistemini düzenleyici maddeler, histondeasetilaz inhibitörleri ve diğer maddeleri kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

25 Nükleosit analogları azasitidin, kladribin, klofarabin, sitarabin, desitabin, floksuridin, fludarabin, flouroürasil (5-FU), gemitabin, merkaptopurin, nelarabin, pentostatin, tioguanin, trifluridin ve tipirasili kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Antifolatlar metotreksat, pemetreksed, pralatreksed ve raltitreksedi kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Diğer metabolitler hidroksikarbamidi kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Topoizomeras I inhibitörleri irinotekan ve topotekanı kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

- 5 Antrasiklinler daunorubisin, doksorubisin, epirubisin, idarubisin, mitoksantron ve valrubisini kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Podofilotoksinler etoposid ve teniposidi kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

- 10 Taksanlar cabazitaksel, dosetaksel ve paklitakseli kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Vinka alkaloidleri vinblastin, vincristin, vindesin, vinflunin ve vinorelbini kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Alkilleyici maddeler bendamustin, klorambusil, dakarbazin, melfalan, streptozotosin ve trabectedini kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

- 15 Anti-hormon bileşikler abirateron, bicalutamid, siproteron, degarelik, eksemestane, fulvestrant, goserelin, histrelin, leuprolide, mifepristone ve triptorelini kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

- 20 Tirozin kinaz inhibitörleri afatinib, aksitinib, bosutinib, kobimetinib, crizotinib, dasatinib, erlotinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, nilotinib, osimertinib, pazopanib, ruksolitinib, sunitinib ve vandetanibi kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Rapamisin'in memeli hedefi (mTOR) inhibitörleri everolimus ve temsirolimus'u kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

- 25 Retinoidler alitretinoin, beksarotene, isotretinoin, tamibarotene ve tretinoini kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Bağışıklık sistemini düzenleyici maddeler lenalidomid, pomalidomid ve talidomidi kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Histon deasetilaz inhibitörleri belinostat, panobinostat, valproate ve vorinostatı kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Diğer maddeler anagrelide, seritinib, dabrafenib, idelalisib, ibrutinib, palbosiklib, vemurafenib, bleomisin, bortezomib, daktinomisin, eribulin, estramustine, iksabepilone, mitomisin, prokarbazin, alektinib, fluksimesteron, iobenguane, imiguimod, interferon, iksazomib, lanreotid, lentinan, octreotid, omacetaksine, tegafur, gimerazil, oterasil, urasil, kombrestatin ve klorokini kapsayan ancak bunlar ile sınırlı olmayan bir gruptan seçilebilir.

Buluşun özellikle tercih edilen bir uygulamasında antineoplastik ajan dosetaksel, doksorubisin, doksorubisin hidroklorür, epirubisin, epirubisin hidroklorür, gemitabin, gemitabin hidroklorür, goserelin asetat'tan oluşan bir grubun içerisinde seçilir.

Buluşun tercih edilen bir uygulamasında buluş, Formül I veya Formül II'ye göre hibrit karbon nanotüplere ilişkin olup burada R_1 C_6H_5 ; R_2 fruktoz; R_3 Doksorubisin ve R_4 piren olarak seçilir ve a, x ve y birbirinden bağımsız olarak; 1 ile 250 arasında, b ise 10 ile 250 arasında bir doğal sayıdır.

Buluşun tercih edilen bir uygulamasında a; 150 ile 250 arasında bir doğal sayı; b; 10 ile 15 arasında bir doğal sayı ve x ve y değerleri ise birbirinden bağımsız olarak 3 ile 15 arasında bir doğal sayıdır.

Buluşa uygun Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpler nonkovalent şekilde bir diğer madde ile konjuge formda bulunabilir. Burada bahsi geçen diğer madde bir hedefleyici ajan, örneğin folik asit olabilir. Burada bahsi geçen hedefleyici ajanın hibrit karbon nanotüple π - π istiflenmesi yapacak karakterde olması gereklidir.

Buluş bir diğer açıdan buluşa uygun Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüplerin hazırlanmasında ara ürün olarak kullanım için Formül III ile gösterilen glikopolimerlere ilişkindir.

Buluş aynı zamanda kanser hastalığının tedavisinde ilaç salım sistemi olarak kullanım için Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpleri açıklamaktadır.

Burada kullanılan şekliyle, "tedavi" ya da "tedavi etme" ifadeleri bir rahatsızlık tarafından tehdit edilen ya da bir rahatsızlığa sahip bir denekte patolojik bir rahatsızlığı karakterize eden en az bir semptomun engellenmesini, azaltılmasını,

hafifletilmesini, iyileştirilmesini ya da bloke edilmesini ifade etmektedir. Farklı kanser türlerine ilişkin sınırlayıcı olmayan bir liste aşağıda verilmektedir: karsinomlar, katı dokuların karsinomları, skuamöz hücreli karsinomlar, adenokarsinomlar, sakromlar, gliyomlar, yüksek dereceli gliyomlar, blastomlar, nöroblastomlar, plazmasitomlar, histiositomlar, melanomlar, adenomlar, hipoksik tümörler, miyelomlar, metastatik kanserler ya da genel anlamda kanserler. Burada açıklanan bileşiklerin tedavisinde kullanılabileceği spesifik kanser örnekleri arasında ise B hücreli lenfoma, T hücreli lenfoma, mikozis fungoides, Hodgkin Hastalığı, mesane kanseri, beyin kanseri, sinir sistemi kanseri, baş ve boyun kanseri, baş ve boynun skuamöz hücreli karsinomları, böbrek kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri benzeri akciğer kanserleri, nöroblastom/gliyoblastom, yumurtalık kanseri, pankreas kanseri, prostat kanseri, deri kanseri, karaciğer kanseri, melanom, ağzın, boğazın, yemek borusunun skuamöz hücreli karsinomu, kolon kanseri, rahim ağzı kanseri, rahim ağzı karsinomu, meme kanseri ve epitelyal kanser, böbrek kanseri, genitoüriner kanser, pulmoner kanser, yemek borusu karsinomu, baş ve boyun karsinomu, kalın bağırsak kanseri, hemotopietik kanserler; testis kanseri; kolon ve Rektal kanserler, prostat kanseri ya da pankreas kanseri sayılabilir.

Buluş konusu Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) ayrıca servikal ve anal displazileri, diğer displaziler, ağır displaziler, hiperplazi, tipik olmayan hiperplazi ve neoplazi benzeri kanser öncesi rahatsızlıkların tedavisi için de kullanılabilir.

Burada kullanılan şekliyle "kanser" ve "kanserli" ifadeleri kötü huylu tümörlere işaret etmektedir ya da kontrolsüz hücre büyümesi ile karakterize edilen fizyolojik durumu açıklamaktadır.

Buluşun tercih edilen bir uygulamasında, meme kanseri veya böbrek kanseri veya prostat kanseri tedavisinde ilaç olarak kullanım için Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpler açıklanmaktadır.

Buluşun özellikle tercih edilen bir uygulamasında, meme kanseri tedavisinde ilaç taşıma sistemi olarak kullanım için Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) açıklanmaktadır.

Buluş bir diğer açıdan etken madde olarak Formül I ve/veya Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpleri (h-CNT) içeren farmasötik bileşimlere ilişkindir.

- Buluş konusu Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpleri (h-CNT) içeren farmasötik bileşim bu bileşimin bir hastaya uygulanması açısından tercih edilen
- 5 yönteme dayalı olarak herhangi bir uygun formda olabilir. Buluş konusu Formül I ve/veya Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpleri (h-CNT) içeren farmasötik bileşim örneğin sıvı dispersiyonlar ya da sulu veya yağlı süspansiyonlar şeklinde oral yoldan uygulanacak şekilde formüle edilebilir ya da bileşim örneğin derialtı, damar içi, kas içi, göğüs kemiği içi, intraperitoneal, deri içi, transdermal ya da diğer infüzyon
- 10 teknikleri benzeri parenteral uygulama için formüle edilebilirBuluş konusu Formül I ve/veya Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpleri (h-CNT) içeren farmasötik bileşimler bir deneğe tercihen transdermal, subkütan, intranazal, intravenöz, kas içi, tümör içi olarak uygulanmaktadır. Herhangi bir durumda uygulama açısından en uygun yol bu buluşun konusu Formül I ve/veya Formül II ile gösterilen hibrit karbon
- 15 nanotüplerde (h-CNT) bulunan belirli terapötik maddeye, hastalığın mizacına ve ciddiyetine ve deneğin fiziksel durumuna dayalı olacaktır.

- Buluş konusu Formül I ve Formül II ile gösterilen hibrit karbon nanotüpler (h-CNT) antikanser ajanlar ya da bağışıklık sistemi düzenleyici ajanlar, antivirüsler, antimikrobiyaller, ya da anestetik maddeler ya da bunların ikili, üçlü kombinasyonları
- 20 şeklinde olabilecek bir ya da birkaç diğer tedavi edici şekilde aktif bileşikler ile birlikte, örneğin eşzamanlı olarak, sıralı olarak ya da ayrı olarak da uygulanabilir.

Bahsi geçen ikinci terapötik madde buluş konusu polimer-ilaç eşleniğinde mevcut olan maddeden farklı olması kaydıyla bu tarifname içerisinde listelenen antineoplastik ajanlar arasından seçilebilir.

- 25 Bu tarifname bağlamında içerir ifadesinin kapsar ifadesini belirtmesi amaçlanmıştır.

Teknik açıdan uygun olan yerlerde, buluşun uygulamaları birleştirilebilir.

Uygulamalar burada belirli özellikler/elemanlar içerecek şekilde açıklanmıştır. Açıklama ayrıca esas olarak bahsi geçen özellikleri/elemanları içeren ya da bunlardan meydana gelen diğer uygulamaları da kapsamaktadır.

- 30 Patentler ve başvurular benzeri teknik referanslar referans yolu ile bu dokümana dahil edilmiştir.

Burada spesifik olarak ve açıkça anlatılan uygulamalar tek başına ya da bir veya birkaç diğer uygulama ile birlikte bir feragatnameye esas teşkil edebilir.

Şimdi buluş sadece örnek amaçlı olan ve bu buluşun kapsamını herhangi bir şekilde kısıtlar olarak yorumlanmaması gereken aşağıdaki örneklerle atıfta bulunularak açıklanacaktır.

ÖRNEKLER

Materyal ve Metot

Saf (modifiye edilmemiş) çok duvarlı karbon nanotüpler (p-MWCNT'ler) Sigma-Aldrich'ten satın alındı (Ürün Kodu: 724769). Saf CNT'lerin yüzeyi, CuAAC click reaksiyonunun öncüsü olan alkin fonksiyonel grubu içeren karbon nanotüpler elde etmek için gerekli olan propargil alkol gibi farklı yapıları bağlamak için kimyasal etkileşim noktaları görevi gören karboksil grupları bağlamak amacıyla H_2SO_4 ve HNO_3 karışımı ile oksitlendi. Aksi belirtilmedikçe, diğer tüm reaktifler ticari tedarikçilerden satın alındı ve alındığı gibi kullanıldı. 4-Siyanopentanoik asit ditiyobenzoat (CPADB), p- (2-hidroksietoksi) benzaldehit (PEHBA), p- (2-metakriloksietoksi) benzaldehit (MAEBA), 2-azidoetanol ve 1-O-metakriloil-2,3:4,5-di-O-izopropiliden-D-fruktopiranoz (*ipFruMA*) ise literatüre bilinen yöntemlerle sentezlenmiştir.

Örnek 1: Piren-1-ilmetil 4-siyano-4- ((fenilkarbonotiyoil) tiyo) pentanoat (CPADB-Py) RAFT ajanı sentezi

1-Pirenmetanol (0.99 g, 4.29 mmol), CPADB (1.00 g, 3.57 mmol) ve 4-dimetilaminopiridin (0.43 g, 3.57 mmol) kuru tetrahidrofuran (20 mL) içerisinde çözündürüldü. Daha sonra *N,N'*-disikloheksilkarbodiimid (0.96 g, 4.65 mmol) ilave edildi ve reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 24 saat karıştırıldı. Beyaz çökeltiyi ayırmak için reaksiyon karışımı süzüldü. Süzüntü, ham kırmızı bir katı verecek kadar konsantre edildi ve ham ürün teknikte bilinen yöntemlerle saflaştırıldı.

Örnek 2: 2-azidoetil 4-siyano-4 - ((fenilkarbonotiyoil) - tiyo) pentanoat (CPADB- N_3) RAFT ajanının sentezi

2-Azidoetanol (0.37 g, 4.29 mmol), CPADB (1.00 g, 3.57 mmol) ve 4-dimetilaminopiridin (0.43 g, 3.57 mmol) kuru tetrahidrofuran (20 mL) içerisinde çözündürüldü. Daha sonra *N,N'*-disikloheksilkarbodiimid (0.96 g, 4.65 mmol) ilave

edildi ve reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 24 saat karıştırıldı. Beyaz çökteltiyi çıkarmak için reaksiyon karışımı süzüldü. Süzüntü, ham kırmızı bir katı verecek kadar konsantre edildi, ham ürün teknikte bilinen yöntemlerle saflaştırıldı. Örnek 3: Bir

5 makro-RAFT ajanı olarak piren fonksiyonel grubu taşıyan P ((2-metakriloksietoksi) benzaldehit) homopolimerinin (P (MAEBA)-Py, P1) sentezi

Ağzı kapalı cam balon içerisine MAEBA (1.20 g, 5.12 mmol), azobisisobütironitril (AIBN) (2.62 mg, 16.0×10^{-3} mmol) ve CPADB-Py (63.16 mg, 0.12 mmol) eklendi ve 5.12 mL toluen / asetonitril karışımı (5: 1 h / h) içinde çözöldü.

Polimerizasyon daha sonra bir termostatik silikon yağ banyosunda 70°C 'de
10 gerçekleşti. Polimerizasyon ortamında monomer, tersinir ekleme-parçalanma zincir transfer (RAFT) ajanı ve AIBN ($[M]_0$: $[CTA]_0$: $[I]_0$) arasındaki oran 40: 1.0: 0.125 idi. Polimerizasyon reaksiyonu 5 saat sonra hızlı soğutma ve oksijene maruz bırakılarak sonlandırıldı. Daha sonra karışım, reaksiyona girmemiş monomer ve RAFT ajanını uzaklaştırmak için iki kez 10 kat fazla heksan içinde çöktüröldü. Son olarak,
15 saflaştırılmış polimer 24 saat vakum altında kurutuldu. ($M_{n,teo} = 3.30$ kDa, $M_{n,NMR} = 4.20$ kDa, $M_{n,GPC} = 2.95$ kDa, $\bar{D} = 1.13$, PS standartlarına göre)

Örnek 4: Bir makro-RAFT ajanı olarak azido fonksiyonel uç grubu taşıyan P ((2-metakriloksietoksi) benzaldehit) homopolimerinin (P (MAEBA)-N₃, P2) sentezi

Bölmeli kapalı yuvarlak tabanlı bir şişeye, MAEBA (2.0 g, 8.53 mmol), AIBN (4.30
20 mg, 26.28×10^{-3} mmol) ve CPADB-N₃ (74.36 mg, 0.21 mmol) eklendi ve 8.53 mL toluen / asetonitril karışımı (5:1 h/h) içinde çözöldü. Polimerizasyon daha sonra bir termostatik silikon yağ banyosunda 70°C 'de gerçekleşti. Polimerizasyon ortamında monomer, RAFT ajanı ve AIBN ($[M]_0$: $[CTA]_0$: $[I]_0$) arasındaki oran 40: 1.0: 0.125 idi. Polimerizasyon reaksiyonu 5 saat sonra hızlı soğutma ve oksijene maruz
25 bırakılarak sonlandırıldı. Daha sonra karışım, reaksiyona girmemiş monomer ve RAFT ajanını uzaklaştırmak için iki kez 10 kat fazla metanol içinde çöktüröldü. Son olarak, saflaştırılmış polimer 24 saat vakum altında kurutuldu (verim: 0.76 g; $M_{n, teori} = 4.05$ kDa, $M_{n, NMR} = 4.80$ kDa, $M_{n, GPC} = 3.50$ kDa, $\bar{D} = 1.06$, PS standartlarına göre).

30 Örnek 5: Glikoblok kopolimerlerinin RAFT polimerizasyonu yoluyla hazırlanmasına yönelik genel prosedür

Genel prosedüre göre P1, glikoblok kopolimerin elde edilmesi için bir Makro-RAFT ajanı olarak kullanıldı. İlk olarak, sızdırmaz cam balon içerisine P1 (87.5 mg, 0.0206 mmol, $M_{n, NMR} = 4.20$ kDa), *ipFruMA* (1.689 g, 5.147 mmol) ve AIBN (0.591 mg) eklendi ve 4.20 mL toluen / asetonitril karışımı (2.5: 1 h/h) içinde çözüldü.

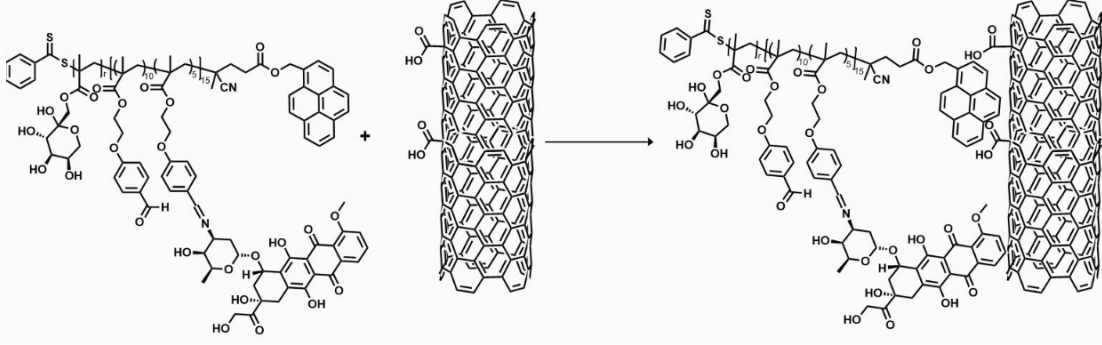
- 5 Polimerizasyon ortamında monomer, Makro-RAFT ajanı ve AIBN ($[M]_0$: [makro-RAFT]: [I]) arasındaki oran 250: 1.0: 0.175 idi. Karışım bir saat nitrojen akışına maruz bırakılarak çözünmüş oksijenden arındırıldı ve bir silikon yağı banyosunda 70 ° C'de 8.5 saat karışmaya bırakıldı. Glikoblok kopolimer, reaksiyona girmemiş monomerleri ve RAFT ajanını uzaklaştırmak için metanol içinde iki kez çöktürülerek saflaştırıldı. Daha sonra 0.928 g uçuk pembe bir katı verecek şekilde 25 ° C'de gece boyunca vakum altında kurutuldu. P(*ipFruMA-b-MAEBA*)-Py (P3) dönüşümü % 60.8 ve polimer verimi % 55 olarak hesaplandı. P(*ipFruMA-b-MAEBA*)-N₃ (P4) sentezlemek için aynı prosedür uygulandı. Bir Makro-RAFT ajanı olarak P2 (306 mg, 0.064 mmol, $M_{n, NMR} = 4.80$ kDa) kullanıldı. Makro-RAFT ajanının septa sızdırmaz cam balona eklenmesinin ardından, 12.18 mL toluen / asetonitril karışımı (2.5: 1 h / h) içerisine *ipFruMA* (5.23 g, 15.937 mmol) ve AIBN (1.832 mg, 0.0112 mmol) eklendi. Polimer P(*ipFruMA-b-MAEBA*)-N₃ (P4) 0.334 g uçuk pembe katı olarak elde edildi ve polimer dönüşümü % 93.6 olarak ve polimer verimi % 85 olarak hesaplandı.
- 10

- Glikoblok kopolimerlerin koruma gruplarının uzaklaştırılması, daha önce literatürde açıklanan yöntemlerle gerçekleştirildi. Bu işlem sonrasında hazırlanan koruma grubu uzaklaştırılmış polimerlerden P(*FruMA-b-MAEBA*)-Py polimeri P5 olarak ve P(*FruMA-b-MAEBA*)-N₃ polimeri ise P6 olarak adlandırıldı.
- 20

Örnek 6: Glikoblok kopolimer-Dox konjugatlarının hazırlanması

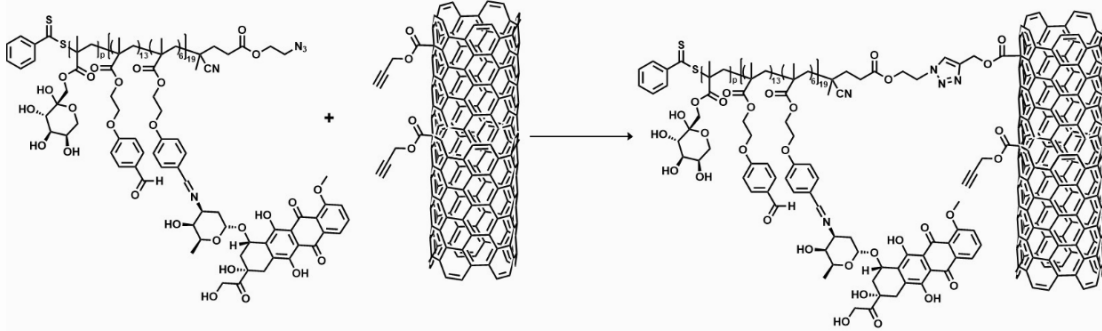
- Doksorubisinin birincil amini (Dox, 8 eşd.), dimetil sülfoksit (DMSO) içinde trietilamin (Et₃N) varlığında, glikoblok kopolimerlerin (1 eşd.) aldehit grubuna kovalent olarak bağlandı. Elde edilen Dox ile konjuge glikoblok kopolimerler P(*FruMA-b-MAEBA*)-Py / Dox ve P (*FruMA-b-MAEBA*)-N₃ / Dox, sırasıyla P7 ve P8 olarak adlandırıldı.
- 25

- Örnek 7: CNT-COOH ve P (*FruMA-b- MAEBA*)-Py / Dox arasında π - π istiflemesi için protokol: (CNT/P7)
- 30



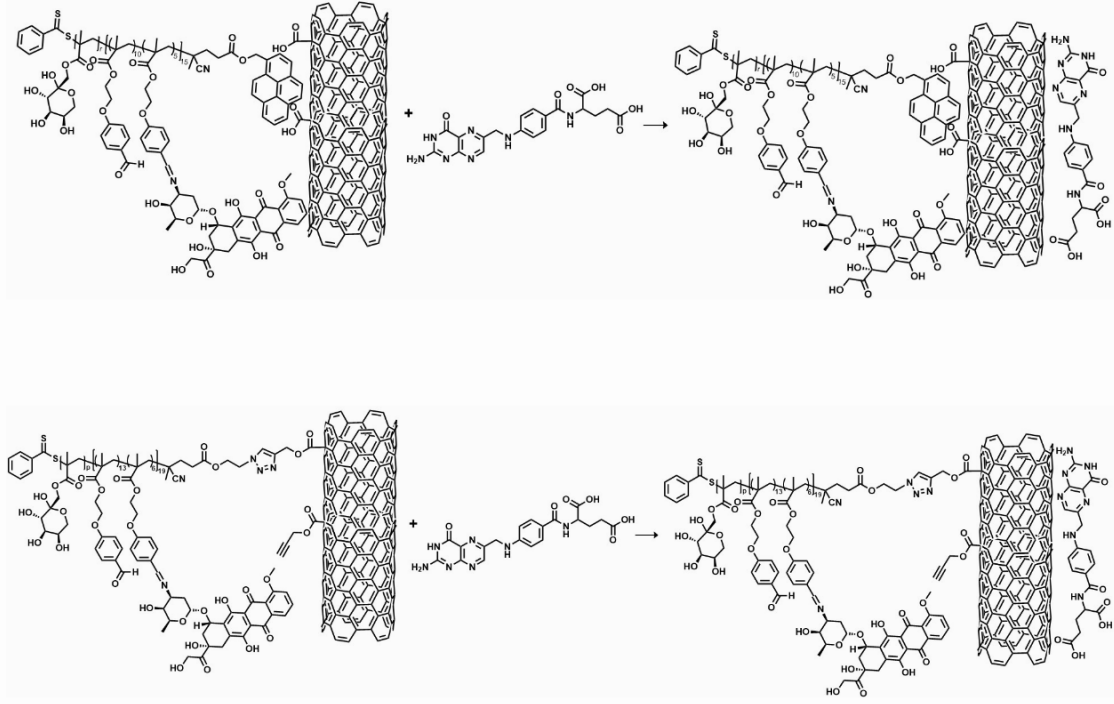
CNT-COOH ve P (FruMA-*b*- MAEBA) -Py / Dox (P7) arasındaki kovalent olmayan bağlanma, önceki literatür raporlarına göre hafif değişikliklerle gerçekleştirildi. Kısaca, 70 mg CNT-COOH, 210 mL dimetilformamid (DMF): ultra saf (UP) su (1: 2, v / v) içinde ultrason banyosunda dağıtıldı. 10 dakikalık dispersiyondan sonra, 350 mg Dox-konjuge ve uç kısmında piren ile fonksiyonlandırılmış glikoblok kopolimer (P7) ilave edildi ve karışım, ortam sıcaklığında 96 saat karıştırıldı. Dispersiyon, yüklenmemiş kopolimeri uzaklaştırmak için bir membran filtreden (PTFE membran filtre; gözenek boyutu: 0,2 µm) süzüldü. Filtredeki katı, fazla miktarda etanol kullanarak sonike edildi ve bağlanmayan kopolimerler çözücüde tespit edilmeyene kadar tekrar yıkamaya devam edildi (UV-vis ile izlendi). Geri kazanılan siyah toz, vakum altında kurutuldu.

Örnek 8: CNT-alkin ve P (FruMA-*b*-MAEBA)-N₃ / Dox arasındaki CuAAC click reaksiyonu için protokol: (CNT/P8)



70 mg CNT-alkin 210 mL DMF: UP su (1:2, h/h) içinde bir ultrason banyosunda dağıtıldı. 10 dakikalık dispersiyondan sonra, Dox-konjuge uç kısmında azid fonksiyonel grubu taşıyan glikoblok kopolimer (P8, 350 mg), sodyum askorbat (10 mg) ve CuSO₄.5H₂O (50 mg) ilave edildi ve 3 defa dondurma - vakum - çözüme döngüsü gerçekleştirilerek çözünmüş oksijenin reaksiyon ortamından uzaklaştırılmasından sonra 48 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Tepkimeye

- girmemiş kopolimeri uzaklaştırmak için dispersiyon bir filtreden (PTFE membran filtre; gözenek boyutu: 0,2 μm) süzüldü. Filtrede kalan katı, fazla miktarda etanol kullanılarak sonike edildi ve çözücü içinde reaksiyona girmemiş kopolimer tespit edilmeyene kadar tekrar tekrar yıkandı (UV-vis ile izlendi). Geri kazanılan siyah toz,
- 5 vakum altında kurutuldu. Örnek 9: CNT/P7 ve CNT/P8'in Folik Asit yüklemesi için genel protokol



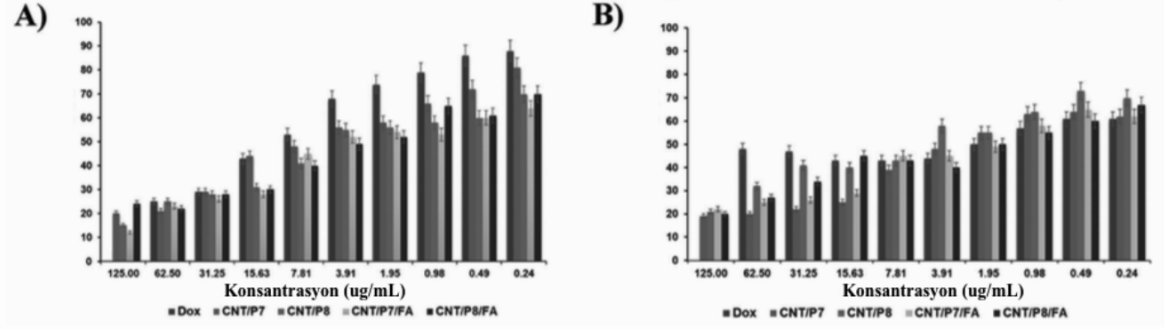
- 10 20 mg önceden modifiye edilmiş CNT'ler (CNT/P7, CNT/P8), bir ultrason banyosunda 60 mL DMF içerisinde dağıtıldı. 10 dakikalık dispersiyondan sonra Folik asit (FA) (100 mg) eklenmiş ve karışım oda sıcaklığında 48 saat karıştırıldı. Dispersiyon, CNT'ye tutunmayan FA'yı uzaklaştırmak için membran filtreden (PTFE membran filtre; gözenek boyutu: 0,2 μm) süzüldü. Filtredeki kalan katı, fazla
- 15 miktarda etanol kullanılarak sonike edildi ve çözücüde serbest FA tespit edilmeyinceye kadar yıkandı (UV-vis ile izlendi). Geri kazanılan siyah toz, vakum altında kurutuldu. Elde edilen FA yüklü karbon bazlı nanomateryaller CNT/ P7/FA ve CNT/P8/FA olarak adlandırıldı.

Örnek 10: *In vitro* çalışmalar

- 20 İnsan meme kanseri hücre hatları MCF-7 ve MDA-MB-231, Amerikan Doku Kültürü Koleksiyonundan elde edildi. Kanser hücre hatları Dulbecco'nun modifiye edilmiş Eagle - F12 (DMEM/F12) ortamında: % 10 fetal sıgır serumu (FBS) ve 100 U mL⁻¹

penisilin-streptomisin ile takviye edilmiş besi yeri karışımı kullanılarak, 37°C'de, % 95 nemlendirilmiş ve % 5 CO₂ içeren bir inkübatörde büyütüldü. Hücre yoğunluğu %80'e ulaştıktan sonra hücreler % 0,25 tripsin-etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) kullanılarak yapışıkları yüzeyden ayrıldı ve tüp içerisinde toplandı. İleri deneyler için hücreler, toplama ve santrifüjlemeden sonra besiyeri içerisinde yeniden büyütülmeye devam edildi.

Yapılan in vitro analizler sonucunda, Dox, FA, P7, P8, CNT-COOH, CNT-alkin, CNT/P7, CNT/P7/FA, CNT/P8 ve CNT/P8/FA'nın denenen hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri kolorimetrik bir metot olan 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT) testi ile değerlendirildi. Sonuçlarımız, tek başına P5, P6 ve FA'nın artmış hücre toksisitesi ile ilişkili olmadığını, kemoterapötik ilaç içeren maddelerin ise MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında daha yüksek hücre ölümüne sahip olduğunu gösterdi (Şekil 1). Bununla beraber, CNT-COOH toksisite göstermedi. Bu nedenle, saf çok duvarlı CNT karboksilasyonu, dispers edilebilirliğini ve biyouyumluluğu arttırırken, herhangi bir toksik etkiye neden olmadığı sonucuna varıldı. Her iki hücre hattı ile yapılan MTT analizi; FA kaplamalı veya kaplamasız CNT'lere Dox yüklü glikopolimer konjugasyonunun sitotoksikite açısından serbest Dox'e oranla daha etkin olduğunu göstermiştir. FA kaplı hibrit-CNT'lerin sitotoksitesini diğer maddelerden çok daha yüksektir, bu da FA'nın Dox'un hücre içi alımını arttırmada kritik bir etkiye sahip olduğunu düşündürmektedir. CNT/P7/FA'nın MCF-7 ve MDA-MB-231'in hücre toksisitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Hibrit-CNT/FA, Dox'un hücre içine girişini tetikleyerek, tümör hücrelerinin hasar alması ve apoptozuna yol açar. CNT/P7/FA'nın antitümör etkisi, MDA-MB-231 hücre hattı için daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu sonuç, fruktoz ve FA parçalarının, konjuge kemoterapötik ilacın sitotoksitesini arttırdığını göstermektedir.



Şekil 1