

## Yeni Jenerasyon TREN ve Jeffamine® D230 Çekirdekli PEG Sonlu PAMAM Dendrimerler: Sentezi, Karakterizasyonu, Sulfametoksazol (SMZ) İçin Kompleks ve İn Vitro Salımı Çalışması

Mustafa Ulvi GÜRBÜZ<sup>1</sup>, Ali Serol ERTÜRK<sup>2</sup>, Metin TÜLÜ<sup>1</sup>

**ÖZET:** Sulfametoksazol (SMZ) bir antibiyotiktir ve trimetoprim ile bakteriyostatik ve idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılır. SMZ ile ilgili sorun, zayıf su çözünürlüğü, dolayısıyla klinik uygulamalarda düşük biyoyararlanımıdır. Bu çalışmada, yeni jenerasyon TREN (T) ve Jeffamine® D230 (D) çekirdekli PEG bisamin sonlu (T5.PEG COOH ve D5.PEG COOH) PAMAM dendrimer sentezlendi. Sentezlenen dendrimerler, <sup>1</sup>H NMR ve ATR-FTIR ile karakterize edilerek SMZ'nin ilaç taşıyıcı ve *in vitro* salımı çalışması araştırıldı. PAMAM dendrimerin SMZ'nin çözünürlüğünü arttırmada ki rol'ü 0.002 M dendrimer varlığında 54 kat ve T5.PEG COOH> D5.PEG COOH azalan sıralamada belirlendi. *In vitro* salımı çalışması gösteriyor ki, 2 saat sonra SMZ'den en yavaş salımı SMZ-T5.PEG COOH (% 12.3) ilaç-dendrimer çözeltisinde gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** İlaç taşıyıcı sistem, pegilasyon, poly(amidoamin) pamam, sulfametoksazol

## New-Generation TREN and Jeffamine® D230 Core PEG Terminated PAMAM Dendrimers: Synthesis, Characterization, Complexation

**ABSTRACT:** Sulfamethoxazole (SMZ) is an antibiotic and used widely in the treatment of bacteriostatic and urinary tract infections with trimethoprim. The problem with SMZ is its poor water solubility, therefore, low bioavailability in clinical applications. In this study, we synthesized new-generation TREN and Jeffamine® D230 core PEG bisamine terminated (T5.PEG COOH and D5.PEG COOH) PAMAM dendrimers. Synthesized dendrimers were characterized by <sup>1</sup>H NMR, and ATR-FTIR investigated as drug carriers of SMZ and *in vitro* release studies. The role of PAMAM dendrimer in the solubility enhancement of SMZ was in the decreasing order of T5.PEG COOH> D5.PEG COOH, and 54-fold in the presence of 0.002 M dendrimer. In *in vitro* release studies showed that after 2h, the slowest release of SMZ was observed from the drug-dendrimer solution of SMZ-T5.PEG COOH (% 12.3).

**Keywords:** Drug delivery system, pegylation, poly(amidoamine) pamam, sulfamethoxazole

<sup>1</sup> Mustafa Ulvi GÜRBÜZ (0000-0002-8684-5746), Metin TÜLÜ (0000-0001-9791-4922), Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya, İstanbul, Turkey

<sup>2</sup> Ali Serol ERTÜRK (0000-0001-5352-7939), Adıyaman Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya, Adıyaman, Turkey  
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Mustafa Ulvi GÜRBÜZ, mustaufalvig@gmail.com

## GİRİŞ

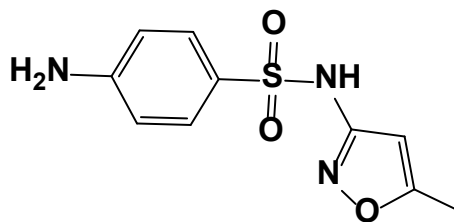
Kansere bağlı ölümlerin son yıllarda dünya çapında hızlı bir artış göstermektedir. WHO istatistiklerine göre 2030 yılına kadar kanserden ölenlerin sayısında % 45 artış öngörülmektedir (Thanki et al., 2013). Bu sağlık problemini çözmek amacıyla ilaç sektörü yeni anti-kanser ilaçları geliştirmek için büyük paralar ve çalışmalar sarf etmektedir (Maeda, 2012). Fakat yeni geliştirilen ilaçların çözünürlüklerinin düşük olmasından dolayı vücut içerisinde etkili bir biyoyararlılık gösterememesi ve tümörlü dokunun yanı sıra sağlıklı doku ve organlarda etkili olması gibi bazı dezavantajları vardır. Kan dolaşımındaki anti-kanser ilaçları böbrekler tarafında hızlı bir şekilde emilerek dışarıya atılmaları sebebiyle kanser hastalarına sıklıkla aynı tedavi uygulanmaktadır (Okuda et al., 2006; Jain and Bharatam, 2014). Anti-kanser ilaçların kanserli hücreyi hedefleyerek doğru zaman ve miktarda kontrollü salınımı gerçekleştirmek için nanopartiküller, lipozomlar, miseller, polimerler ve dendrimerler gibi biyomalzemeler kullanılmaktadır (Oerlemans et al., 2010).

Dendrimerlerin monodispersitesi, suda çözünürlüğü, kapsülleme yeteneği ve çok sayıda fonksiyonel uç grupları gibi fiziksel karakterleri, bu makro molekülleri ilaç taşıma aracı olarak kullanılması için uygun bir aday yapmaktadır (Morgan et al., 2006). Dendrimerlerin ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmasında üç temel özelliğinden yararlanılmaktadır. Bunlardan birincisi, suda çok az çözünen birçok ilacın yapısının getirdiği avantajlar sayesinde çözünürlüğünü ve biyoyararlılığını artırabilmekte; ikincisi, boyutlarının kontrol edilebilir olmasından dolayı böbrek eşiğini aştığından dolayı böbreklerde filtrelenmediğinden kan dolaşımında daha uzun süre kalabilmekte; üçüncüsü ise, dendrimerin yüzey gruplarını hedeflendirme grupları ile modifiye edilerek ilacın hedef bölgeye ulaşmasını sağladığı gibi, ilacın sağlıklı dokulara etkisini azaltabilmektedir (Caminade and Turrin, 2014). Farmasötik alanında geniş uygulama alanlarına sahip olmasına rağmen, amin sonlu dendrimerlerin sitotoksosite

ve hemolitik toksisite özellik göstermesinden dolayı biyolojik sistemlerde kullanımını kısıtlamaktadır (Kesharwani et al., 2014). Toksikiteyi minimize etmek için biyoyumlu dendrimer sentezlemek (nötral ve anyonik foksiyonel gruplu) veya dendrimer yüzeyini toksik olmayan yüzey gruplarıyla modifiye etmek gerekmektedir (Jevprasesphant et al., 2003; Agrawal et al., 2007; Medina and El-Sayed, 2009).

Biyoyumlu polietilen glikol (PEG) maddesi toksik, immünojenik ve antijenik olmayan, suda yüksek çözünürlüğe sahip polimerik yapılardır (Zhu et al., 2010). PAMAM dendrimerin yüzeyini PEG ile modifiye edilerek, dendrimerin toksisite sorunlarının üstesinden gelmek, etkin maddenin ve taşıyıcı sistemin çözünürlüğünü arttırmak ve artırılmış geçiş ve alıkonma etkisiyle etken maddenin tümöre alınımı arttırmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (Luo et al., 2002). Dendrimerlerin yüzeyi PEG ile modifiye edilerek biyoyumlu dendrimerler elde edilmesinin yanı sıra etken maddeyi veya hedeflendirme ligandlarını dendrimerlere PEG aracılığıyla kovalent bağlarla konjuge edilebilmektedir (Zhang et al., 2010; Zhao et al., 2010; Ohya et al., 2016). Bu sayede ilaçların çözünürlüğünü ve kararlılığının arttırmakla birlikte, ilaç taşıyıcı sistemin hedef bölgeye ulaştığında etken maddenin asit ortamında salınımlı gerçekleşirebilir (Öztürk et al., 2017).

Son çalışmamızda TREN (T) ve Jeffamine® D230 (D) çekirdekli yüksek jenerasyonlu PAMAM türü dendrimer sentezini ve karakterizasyonu gösterildi (Ertürk et al., 2017b; Gürbüz et al., 2017). Bu çalışmada (T) ve (D) çekirdekli ester sonlu PAMAM dendrimerin (D4.5.COOCH<sub>3</sub> ve T4.5.COOCH<sub>3</sub>) ~ % 10 oranında PEG bisamin ile modifiye edildikten sonra geriye kalan ester grupları hidroliz edilerek çözünürlüğü çok düşük olmasından dolayı, kanın içinde hızlı emilmemesi, plazma proteinleriyle yetersiz ilişkisi ve birçok yan etkisi (ateş, deri döküntüsü, hematolojik bozukluk, vb.) gibi olumsuz etkileri neden olan sulfametoksazol (SMZ) (Şekil 1) ile fiziksel etkileşimlerini sağlayarak ilacın sudaki çözünürlüğü araştırıldı.



Şekil 1. SMZ kimyasal özellikleri:  $\lambda_{\max}$  = 256 nm, pKa = 6.16 ve 1.97, Moleküler ağırlık = 253.27 g mol<sup>-1</sup>

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyaller ve cihazlar

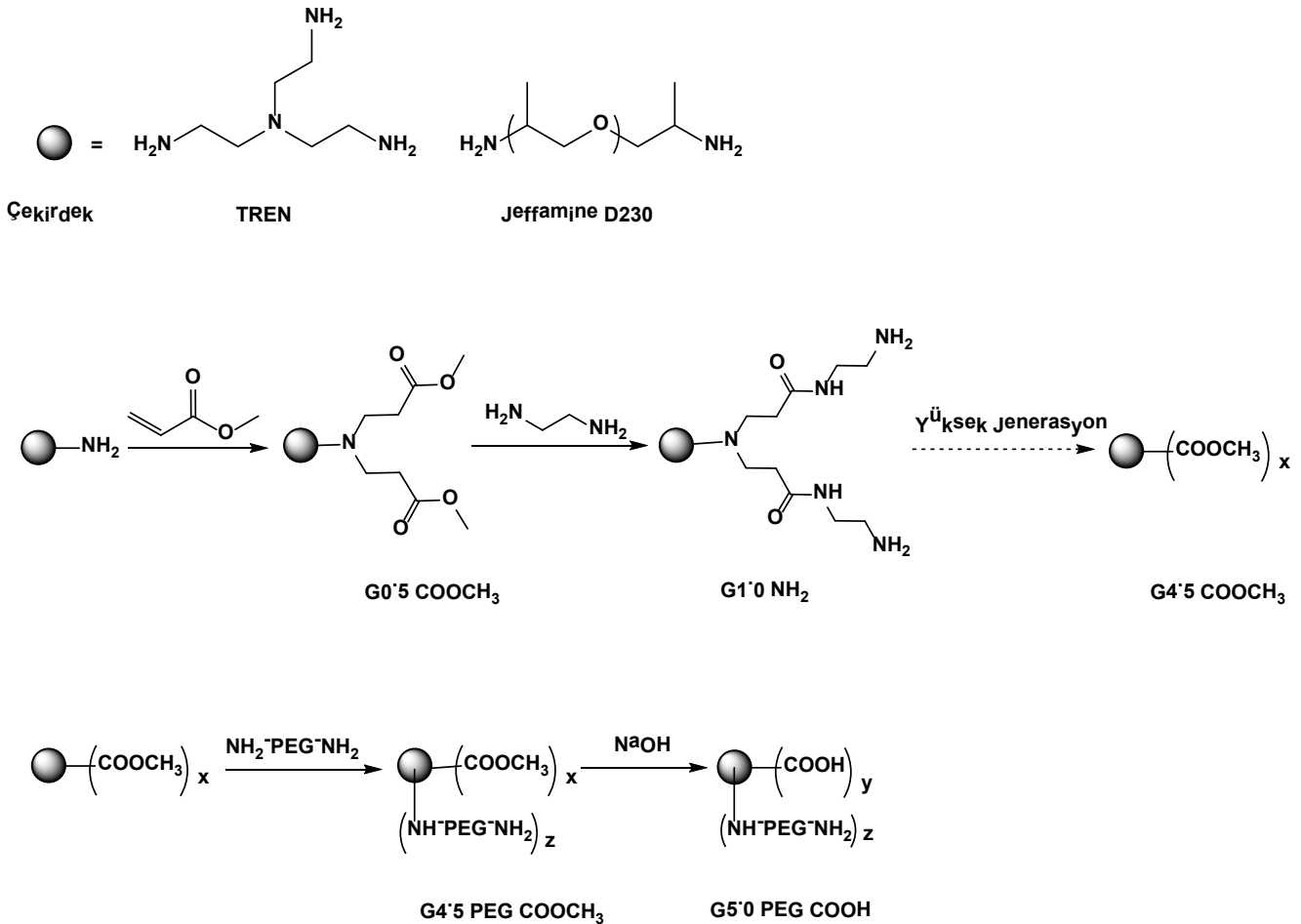
Tris (2-aminoethyl)amin (TREN), Jeffamine® D230, PEG bisamin ( $M_n \approx 2000 \text{ g mol}^{-1}$ ), etilendiamin (EDA), metilakrilat, metanol, n-butanol, NaOH ve sulfametoksazol (SMZ) Sigma-Aldrich firmasından temin edildi, Bütün çözeltiler 18.2 MΩ Millipore Milli-Q cihazından elde edilen ultra saf ile hazırlandı. NMR ölçümleri Bruker 500 MHz cihazı kullanılarak alındı. UV-Vis spektrumları PG T70 UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak alındı. İnfrared spektrum ölçümleri için ATR-FTIR Bruker Tensor 27 ( $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ ) spektrofotometresi kullanıldı.

### PAMAM Dendrimerin Sentezi

(T) ve (D) çekirdekli PAMAM dendrimerlerin PEG bisamin ile yapılan yüzey modifikasyonu son çalışmamıza göre yapıldı (Gürbüz et al., 2016). 20 mL

metanol içerisindeki ester sonlu PAMAM türü dendrimer çözeltilerin (D4.5.COOCH<sub>3</sub> ve T4.5.COOCH<sub>3</sub>) üzerine metanol de çözülmüş olan PEG bisamin (ester sayısının % 10) maddesi argon atmosferi altında 0 °C sıcaklıkta 5 saat boyunca damla damla ilave edildi. 24 saat oda sıcaklığında karıştırıldı.

Reaksiyon bittikten sonra ortamdaki çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Sıvı fazlı polimer destekli alıkonma (LPR) yönteminde 15 psi N<sub>2</sub> basınçta, metanol çözücüsü içerisinde, 10 kDa membranlar kullanılarak saflaştırma işlemi yapıldı. Son çözelti döner buharlaştırıcı ile uçuruldu. Sarımsı sıvı madde elde edildi. Elde edilen D5.PEG COOCH<sub>3</sub> ve T5.PEG COOCH<sub>3</sub> maddelerini NaOH (ester sayısının 1.5 katı) ile 24 saat boyunca karıştırıldı. Çözücü döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırılarak beyaz katı D5.PEG COOH ve T5.PEG COOH maddeleri elde edildi (Şekil 2 ve Çizelge 1).



Şekil 2. PEG bisamin sonlu PAMAM dendrimerlerin sentezi

**Çizelge 1.** PEG bisamin sonlu PAMAM dendrimerlerin kimyasal özellikleri

Dendrimer	x	y	z
% 10 PEGilasyon			
D4.5.PEG COOCH <sub>3</sub>	56	-	8
T4.5.PEG COOCH <sub>3</sub>	86	-	10
D5.PEG COOH	-	56	8
T5.PEG COOH	-	86	10

### SMZ-PAMAM Dendrimer Komplekslerin Hazırlanması

SMZ-PAMAM dendrimer kompleksleri önceki çalışmalarımıza göre hazırlandı (Ertürk et al., 2017b, 2017a; Gürbüz et al., 2017). 1:1 molar oranında SMZ-PAMAM karışımları metanolde çözüldü. 24 saat süre boyunca 37 °C sıcaklıkta ve 250 rpm hızında karıştırıldı.

Döner buharlaştırıcı yardımıyla çözücü uzaklaştırıldı ve geriye kalan çökeltiye saf su ilave ederek 2 saat boyunca karışması sağlandı. Daha sonra 0.45 µm'lik gözeneklere sahip süzgeç kâğıdı ile filtre edildi. SMZ-PAMAM dendrimer kompleksleri UV-Vis (230-400 nm) cihazı ile analizi yapıldı.

### UV-Vis Karakterizasyonu

SMZ-PAMAM dendrimer kompleksleri metanol ile son konsantrasyon 12.5 µg mL<sup>-1</sup> olacak şekilde seyreltildi. Bu komplekslerin UV-Vis cihazı ile 400-230 nm aralığında spektrum ölçümleri alındı. SMZ karakteristik bantı  $\lambda_{max} = 256$  nm'dir. SMZ-PAMAM dendrimer kompleksleri oluştuktan sonra bu bantlarda herhangi bir kayma gözlemlenmedi (Ertürk et al., 2017a, 2017b; Gürbüz et al., 2017).

### SMZ Çözünürlük Testi

PAMAM dendrimerlerin (T5.PEG COOH ve D5.PEG COOH) 2.5 x 10<sup>-4</sup> – 2 x 10<sup>-3</sup> M arasındaki ultra saf su içerisindeki çözeltileri 5 mL'lik balon jode hazırlandı. Fazla miktarda ilaç ilave edilerek doygun çözeltiler oluşturulduktan sonra 24 saat boyunca 37 °C'de 250 rpm hızında karıştırıldı. 24 saatin sonunda çözeltiler 6000 rpm hızında 5 dakika boyunca santrifüj yapıldıktan sonra çözünmeyen ilaçlar 0.45 µm'lik gözeneklere sahip süzgeç kâğıdı ile çözelti ortamından uzaklaştırıldı.

SMZ-PAMAM dendrimer kompleks çözeltilerinin absorbans bantları belli bir aralıkta (0-1 abs) olabilmesi için seyreltme yapıldıktan sonra ölçümler alındı. SMZ'nin kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak ilacın miktarı belirlendi.

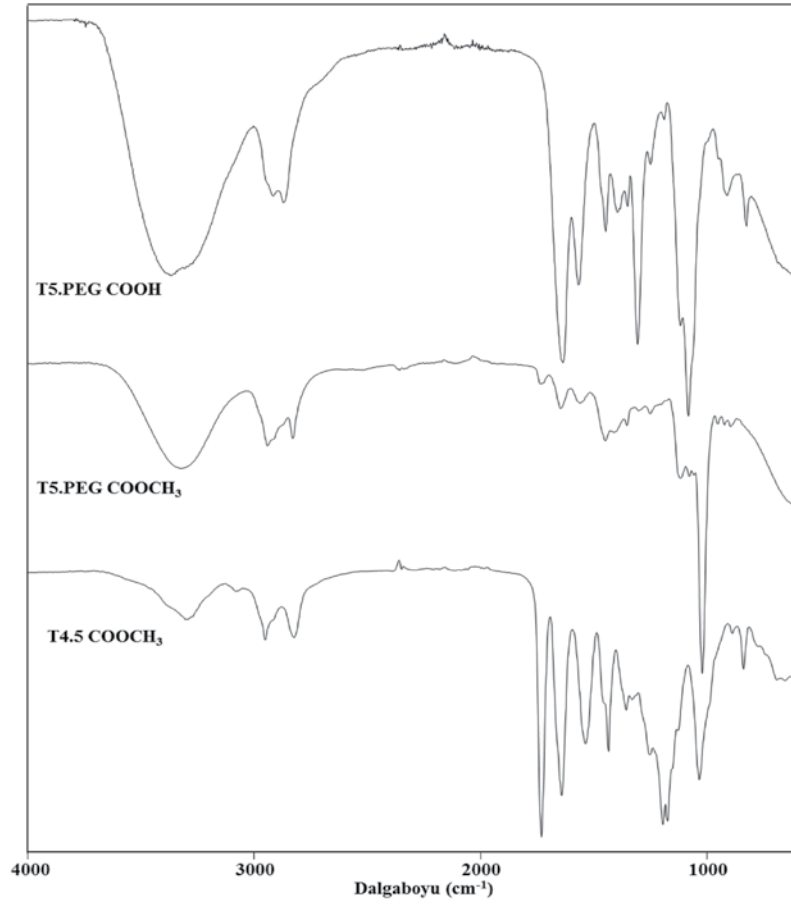
### İlaç Salımı (İn Vitro) Çalışması

T5.PEG COOH ve D5.PEG COOH dendrimerlerin SMZ ile yapmış olduğu komplekslerinin *in vitro* ilaç salımı özellikleri araştırıldı (Gürbüz et al., 2017). Kontrol çözeltisi olarak 4 mg mL<sup>-1</sup>'lik saf SMZ çözeltisi hazırlandı. İlaç-dendrimer kompleks çözeltileri 4 mg mL<sup>-1</sup> olacak şekilde PBS (pH 7.4) ile seyreltildi. Daha sonra bu çözeltilerden 1 mL alınarak diyaliz paketine (Ma 1 kDa) aktarıldı. Diyaliz paketi 50 mL beher içerisine konuldu ve 40 mL PBS (pH 7.4) çözeltisi ilave edildi. 50 rpm hızında ve 2 saat boyunca karıştırma işlemi devam ederken, düzenli aralıklarla numune alındıktan sonra aynı oranda taze PBS çözeltisi ilave edildi ve ilacın 256 nm'deki absorbans bandı takip edilerek dendrimerlerin ilaç salımı oranları tespit edildi.

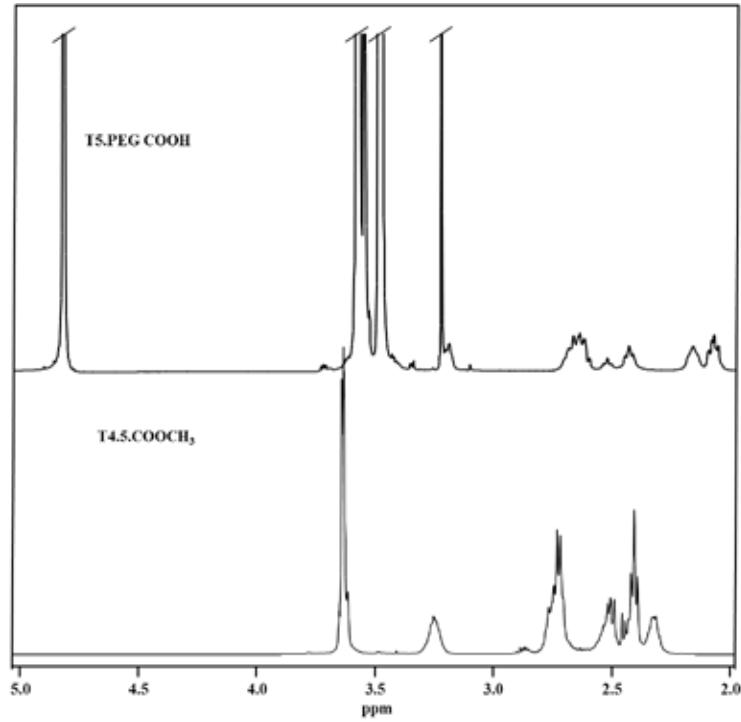
### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### PAMAM Dendrimerin Karakterizasyonu

Suda çözünebilir dendrimerler ATR ve NMR yöntemleri kullanılarak karakterize edildi. Yüksek jenerasyonlu ester sonlu dendrimerlere (D4.5. COOCH<sub>3</sub> ve T4.5. COOCH<sub>3</sub>) ~ % 10 oranında PEG bisamin maddesini bağladığımızda PEG molekülünde bulunan eter grubu (C-O) ~ 1020 cm<sup>-1</sup> de kuvvetli bir bant oluşturmuş ve ~ % 90 oranındaki ester grubu hidroliz edilerek ester bantının kaybolması ve ~ 3000 cm<sup>-1</sup> üzerinde asitten kaynaklanan yayvan bandın görülmesi reaksiyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin kanıtıdır (Şekil 3). Yüksek jenerasyonlu dendrimerlere (D4.5. COOCH<sub>3</sub> ve T4.5. COOCH<sub>3</sub>) ~ % 10 oranında PEG bisamin molekülü ile modifiye edilmesinden sonra elde ettiğimiz dendrimerin <sup>1</sup>H NMR spektrumunu incelediğimizde PEG maddesinin de bulunan metilen grupları 3.5-3.7 ppm arasında rezonans yaptığı görüldü. Uçuna PEG bağlanmış dendrimerin sudaki çözünürlüğü arttırmak için ester gruplarını asit grubuna dönüştürdüğümüzde metil esterleri <sup>1</sup>H NMR spektrumunda kaybolduğu gözlemlendi (Şekil 4).



Şekil 3. TREN çekirdekli PEG bisamin sonlu PAMAM dendrimerin ATR spektrumu



Şekil 4. TREN çekirdekli PEG bisamin sonlu PAMAM dendrimerin NMR spektrumu

**D5.PEG COOCH<sub>3</sub>**

Sarımsı sıvı elde edildi (1,16 g, % 97). ATR-IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3324 (NH), 1735 (C=O), 1648 (HNC=O), 1562 (HNC=O), 1023 (C-O). <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ H (500 MHz; CD<sub>3</sub>OD) 2.34-2.45(m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>), 2.56-2.66(m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>), 2.76-2.91 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.26-3.32 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.37 (s, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.58 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.68 (s, COOCH<sub>3</sub>), 3.70 (t, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>).

**T5.PEG COOCH<sub>3</sub>**

Sarımsı sıvı elde edildi (1,24 g, % 98). ATR-IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3317 (NH), 1737 (C=O), 1648 (HNC=O), 1560 (HNC=O), 1020 (C-O). <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ H (500 MHz; CD<sub>3</sub>OD) 2.36-2.45(m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>), 2.56-2.65(m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOCH<sub>3</sub>), 2.77-2.87 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.26-3.32 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.37 (s, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.58, (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.67 (s, COOCH<sub>3</sub>), 3.70 (t, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>),

**D5.PEG COOH**

Beyaz katı madde elde edildi (0.73 g, % 100). ATR-IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3321 (COOH), 1645 (HNC=O), 1568 (HNC=O), 1406 (O-H), 1022 (C-O). <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ H (500 MHz; CD<sub>3</sub>OD) 2.38-2.43 (m,

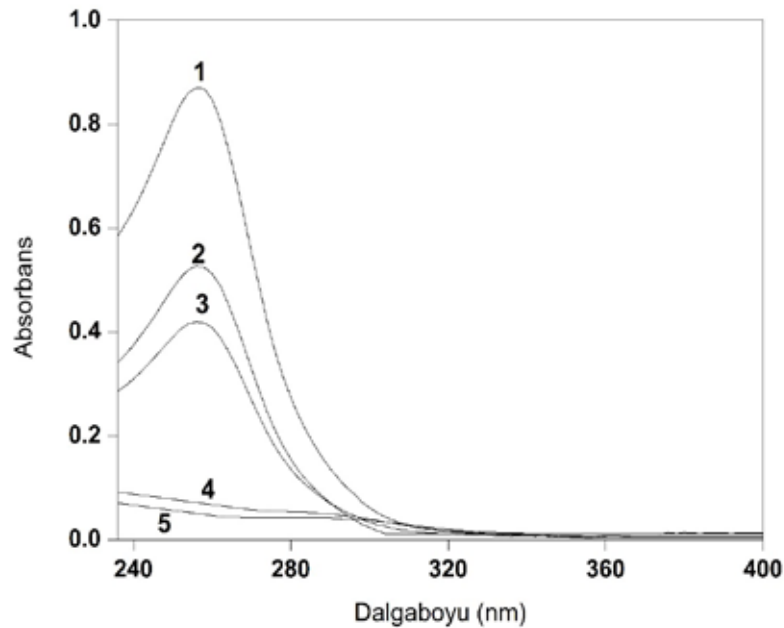
CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH), 2.64-2.70 (m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH), 2.72-2.76 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.33-3.35 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.37 (s, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.68 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.77 (t, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>).

**T5.PEG COOH**

Beyaz katı madde elde edildi (0.73 g, % 100). ATR-IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> 3336 (COOH), 1641 (HNC=O), 1566 (HNC=O), 1402 (O-H), 1025 (C-O). <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ H (500 MHz; CD<sub>3</sub>OD) 2.13-2.19 (m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH), 2.40-2.45 (m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH), 2.48-2.52 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.09-3.12 (m, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NR<sub>2</sub>), 3.14 (s, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.43 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.52 (t, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>).

**SMZ-Dendrimer Komplekslerinin UV-Vis Tarafından Karakterizasyonu**

SMZ, PAMAM dendrimer ve SMZ-PAMAM dendrimer komplekslerinin UV-Vis spektrumları Şekil 5'de gösterilmektedir. SMZ için  $\lambda_{\max}$  = 256 nm iken PAMAM dendrimerlerin  $\lambda_{\max}$  = ~280 nm'dir. SMZ-PAMAM dendrimer komplekslerinin ve SMZ'nun 256 nm'deki absorbans bantları gösteriyor ki, dendrimerler SMZ ile elektrostatik etkileşim ve enkapsülasyon yaparak SMZ'nin çözünürlüğünün artmasına neden olmuşlardır (Gürbüz et al., 2017).



**Şekil 5.** UV-Vis spektrumu (1) SMZ (12.5  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>); (2) SMZ-T5.PEG COOH kompleks (12.5  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>); (3) SMZ-D5.PEG COOH kompleks (12.5  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>); (4) T5.PEG COOH (25  $\mu$ M); (5) D5.PEG COOH (25  $\mu$ M)



### SMZ Çözünürlüğü Üzerindeki Dendrimerin Konsantrasyon Etkisi

Farklı konsantrasyona sahip (T) ve (D) çekirdekli PEG sonlu suda çözünebilir PAMAM dendrimerlerin (T5.PEG COOH ve D5.PEG COOH) SMZ'nin sudaki çözünürlüğü üzerindeki etkisi incelendi ve sonuçlar Şekil 6'da gösterildi. SMZ'nun sudaki çözünürlüğü, dendrimer konsantrasyonların (0-2 mM) artmasıyla önemli bir artış tespit edildi.

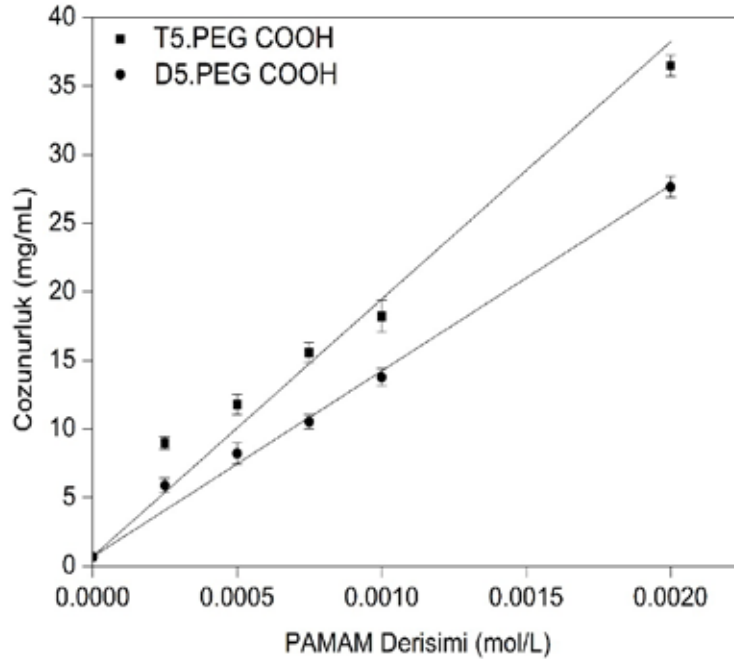
### SMZ Çözünürlüğü Üzerindeki Dendrimerin Yüzey Fonksiyonel Grupların Etkisi

Dendrimerler ilaçlarla hidrojen bağ, elektrostatik etkileşim ve etken maddeyi iç kavitelere enkapsülleyerek ilaçların çözünürlüklerinin artmasına sebep olmaktadır. Dendrimerin yüzeyinde ve iç kavitelere bulunan birçok fonksiyonel gruplar ilaçlarla değişik etkileşime girerek çözünürlüklerinin artmasına sebep olabilmektedir.

Amin sonlu dendrimerlerin biyolojik çalışmalarda dezavantajını ortadan kaldırmak için suda çözünebilir PEG sonlu dendrimerleri

sentezleyerek düşük çözünürlüğe sahip SMZ'nin çözünürlüğünde kayda değer bir artış sağlandı. En son yapılan çalışmada, (T) çekirdekli farklı yüzey gruplarına sahip dendrimerler ile SMZ'nin sudaki çözünürlük çalışması yapıldı ve ilacın çözünürlüğünü 30.68 mg mL<sup>-1</sup>'e kadar arttırıldı (Gürbüz et al., 2017).

Bu çalışmada PEG sonlu (T) ve (D) çekirdekli dendrimerleri kullanılarak SMZ'nin (sudaki çözünürlüğü 0.68 mg mL<sup>-1</sup>) sudaki çözünürlüğünü incelendi. SMZ ile yapılan çalışmada (T) çekirdekli dendrimerin (D) çekirdekli dendrimerlere göre SMZ ilacın çözünürlüğünü arttırmada daha fazla etkili olduğu görüldü. Çünkü aynı jenerasyonlara sahip (T) çekirdekli dendrimerin fonksiyonel grup sayıları (D) çekirdekli dendrimerlere göre daha fazla olmaktadır (Çizelge 1). D5.PEG COOH ve T5.PEG COOH dendrimerlerde bulunan yüzey fonksiyonel grupların SMZ'de bulunan amin gruplarıyla hidrojen bağ (COOH...NH<sub>2</sub> gibi) yapabildiği gibi, dendrimerlerin enkapsülasyon yapabilme özelliğinin de etkisiyle ilacın çözünürlüğünü sırasıyla 27.48 mg mL<sup>-1</sup> ve 36.48 mg mL<sup>-1</sup>'e kadar arttırdığı gözlemlendi (Şekil 6).

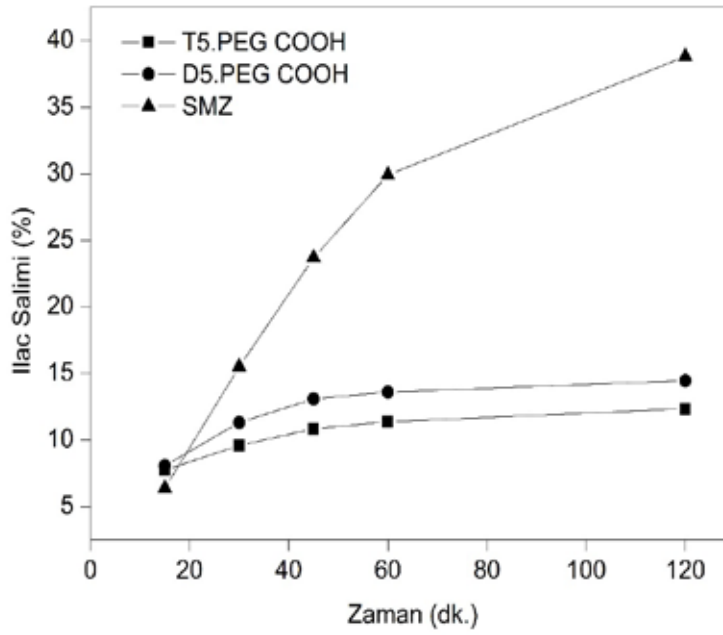


Şekil 6. PEG bisamin sonlu PAMAM dendrimerin konsantrasyona bağlı olarak SMZ'nin çözünürlüğü üzerindeki etkisi

### SMZ-Dendrimer Komplekslerin *In Vitro* Çalışması

(T) çekirdekli farklı yüzey gruplarına sahip dendrimer-SMZ komplekslerinin *in vitro* (% 16-27) salımı özelliği önceki çalışmamızda değerlendirildi (Gürbüz et al., 2017). Bu çalışmada ise, PEG sonlu dendrimerlerin SMZ ile kompleks oluşturduktan

sonra 2 saat sonundaki *in vitro* salımı sonuçları ise SMZ, T5.COOH PEG ve D5.COOH PEG için sırasıyla % 38.8, % 12.3, % 14.5 olarak raporlandı (Şekil 7). Bu çalışmada görüldüğü gibi, dendrimer-ilaç komplekslerinin çok az *in vitro* salımı gerçekleştirmiş olmaları ileride yapılabilecek birçok çalışmada pozitif sonuçların alınabileceğinin göstergesidir.



Şekil 7. (T) ve (D) çekirdekli PEG bisamin sonlu dendrimerin SMZ ile yapmış olduğu kompleksinin *in vitro* salımı çalışması

### SONUÇ

Bu çalışmada, (D) ve (T) maddelerinden yola çıkarak yüksek jenerasyonlu suda çözünebilir PEG bisamin sonlu PAMAM türü dendrimerleri mikrodalga ve geleneksel yöntemleri kullanarak başarılı bir şekilde sentezlendi ve LPR saflaştırma yöntemi kullanılarak saflaştırıldı. Sentezlenen dendrimerlerin karakterizasyonunu <sup>1</sup>H NMR ve ATR yöntemleri kullanılarak karakterize edildi. Sentezlenen dendrimerlerin hidrofobik özellik gösteren SMZ'nin çözünürlüğü üzerindeki etkisi araştırıldı ve dendrimer-ilaç komplekslerinin *in vitro* salımı çalışması yapıldı. PEG bisamin sonlu PAMAM türü dendrimerlerin SMZ ile yapılan çözünürlük çalışmasında (T) çekirdekli dendrimerlerin ilacın çözünürlüğünü 36.48 mg mL<sup>-1</sup>, (D) çekirdekli dendrimerlerin ise 27.48 mg mL<sup>-1</sup>'ye kadar arttırabildiği gözlemlendi. SMZ ve dendrimer-

SMZ komplekslerinin *in vitro* salımı sonuçlarına göre dendrimer-ilaç komplekslerinin (% 12.3 ve % 14.5) saf SMZ'ye (% 38.8) göre daha düşük oranlarda salımı yaptığı görüldü. Bu sonuçlar bize gösteriyor ki, kanser hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen reseptörlere spesifik olarak bağlanacak vitaminler, peptidler ve antikorlar gibi tümöre spesifik hedeflendirme ligandlarının PEG sonlu dendrimerlere konjugasyonu ile dendrimer-etkin madde konjugatlarının kanser hücrelerine aktif hedeflendirilmesi gerçekleştirilebilir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2015-01-02-DOP07 numaralı projesi ile desteklenmiştir.



## KAYNAKLAR

- Agrawal P, Gupta U, Jain NK, 2007. Glycoconjugated peptide dendrimers-based nanoparticulate system for the delivery of chloroquine phosphate. *Biomaterials*, 28: 3349-3359.
- Caminade AM, Turrin CO, 2014. Dendrimers for drug delivery. *Journal of Materials Chemistry B*, 2: 4055-4066.
- Ertürk AS, Gürbüz MU, Tülü M, 2017a. The effect of PAMAM dendrimer concentration, generation size and surface functional group on the aqueous solubility of candesartan cilexetil. *Pharmaceutical Development and Technology*, 22: 111-121.
- Ertürk AS, Gürbüz MU, Tülü M, 2017b. New-generation Jeffamine® D230 core amine, TRIS and carboxyl-terminated PAMAM dendrimers: Synthesis, characterization and the solubility application for a model NSAID drug Ibuprofen. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21: 385-399.
- Gürbüz MU, Ertürk AS, Tülü M, 2017. Synthesis of surface-modified TREN-cored PAMAM dendrimers and their effects on the solubility of sulfamethoxazole (SMZ) as an analog antibiotic drug. *Pharmaceutical Development and Technology*, 22: 678-689.
- Gürbüz MU, Öztürk K, Ertürk AS, Yoyen-Ermis D, Esendağlı G, Çalış S, Tülü M, 2016. Cytotoxicity and biodistribution studies on PEGylated EDA and PEG cored PAMAM dendrimers. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 27: 1645-1658.
- Jain V, Bharatam PV, 2014. Pharmacoinformatic approaches to understand complexation of dendrimeric nanoparticles with drugs. *Nanoscale*, 6: 2476-2501.
- Jevprasesphant R, Penny J, Jalal R, Attwood D, McKeown NB, D'Emanuele A, 2003. The influence of surface modification on the cytotoxicity of PAMAM dendrimers. *International Journal of Pharmaceutics*, 252: 263-266.
- Kesharwani P, Jain K, Jain NK, 2014. Dendrimer as nanocarrier for drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 39: 268-307.
- Luo D, Haverstick K, Belcheva N, Han E, Saltzman WM, 2002. Poly(ethylene glycol)-conjugated PAMAM dendrimer for biocompatible, high-efficiency DNA delivery. *Macromolecules*, 35: 3456-3462.
- Maeda H, 2012. Macromolecular therapeutics in cancer treatment: The EPR effect and beyond. *Journal of Controlled Release*, 164: 138-144.
- Medina SH, El-Sayed ME, 2009. Dendrimers as carriers for delivery of chemotherapeutic agents. *Chemical Reviews*, 109: 3141-3157.
- Morgan MT, Nakanishi Y, Kroll DJ, Griset AP, Carnahan MA, Wathier M, Oberlies NH, Manikumar G, Wani MC, Grinstaff MW, 2006. Dendrimer-encapsulated camptothecins: increased solubility, cellular uptake, and cellular retention affords enhanced anticancer activity in vitro. *Cancer Research*, 66: 11913-11921.
- Oerlemans C, Bult W, Bos M, Storm G, Nijssen JFW, Hennink WE, 2010. Polymeric micelles in anticancer therapy: targeting, imaging and triggered release. *Pharmaceutical Research*, 27: 2569-2589.
- Ohyama A, Higashi T, Motoyama K, Arima H, 2016. In vitro and in vivo tumor-targeting siRNA delivery using folate-PEG-appended dendrimer (G4)/ $\alpha$ -cyclodextrin conjugates. *Bioconjugate Chemistry*, 27: 521-532.
- Okuda T, Kawakami S, Akimoto N, Niidome T, Yamashita F, Hashida M, 2006. PEGylated lysine dendrimers for tumor-selective targeting after intravenous injection in tumor-bearing mice. *Journal of Controlled Release*, 116: 330-336.
- Öztürk K, Esendağlı G, Gürbüz MU, Tülü M, Çalış S, 2017. Effective targeting of gemcitabine to pancreatic cancer through PEG-cored Flt-1 antibody-conjugated dendrimers. *International Journal of Pharmaceutics*, 517: 157-167.
- Thanki K, Gangwal RP, Sangamwar AT, Jain S, 2013. Oral delivery of anticancer drugs: challenges and opportunities. *Journal of Controlled Release*, 170: 15-40.
- Zhang Y, Sun Y, Xu X, Zhang X, Zhu H, Huang L, Qi Y, Shen YM, 2010. Synthesis, biodistribution, and microsingle photon emission computed tomography (SPECT) imaging study of technetium-99m labeled PEGylated dendrimer poly(amidoamine) (PAMAM)-folic acid conjugates. *Journal of medicinal chemistry*, 53: 3262-3272.
- Zhao Y, Liu S, Li Y, Jiang W, Chang Y, Pan S, Fang X, Wang YA, Wang J, 2010. Synthesis and grafting of folate-PEG-PAMAM conjugates onto quantum dots for selective targeting of folate-receptor-positive tumor cells. *Journal of colloid and interface science*, 350: 44-50.
- Zhu S, Hong M, Zhang L, Tang G, Jiang Y, Pei Y, 2010. PEGylated PAMAM dendrimer-doxorubicin conjugates: in vitro evaluation and in vivo tumor accumulation. *Pharmaceutical Research*, 27: 161-174.