

# Opioid Peptitler: Farmasötik Önemi ve Formülasyon Yaklaşımları

## *Opioid Peptides: Pharmaceutical Significance and Formulation Approaches*

Demet ENGİN<sup>1</sup>,  
ORCID: 0009-0008-2340-264X  
Selin S. TİMUR<sup>2</sup>,  
ORCID: 0000-0001-9010-3457  
Stela MUÇAJ<sup>2</sup>,  
ORCID: 0000-0001-6769-5781  
R. Neslihan GÜRİSOY<sup>2\*</sup>,  
ORCID: 0000-0002-8589-2321

<sup>1</sup> Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup> Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, Ankara, Türkiye

### Corresponding author:

R. Neslihan GÜRİSOY  
Department of Pharmaceutical Technology,  
Faculty of Pharmacy, Hacettepe University,  
Ankara, Türkiye  
E-mail: ngursoy@hacettepe.edu.tr  
Tel: +90 312 305 1241

Received date : 27.04.2022  
Accepted date : 21.08.2023

DOI: 10.52794/hujpharm.1109147

### ÖZET

Opioidler, kendi reseptörlerine bağlanarak gösterdikleri ağrı kesici etki nedeniyle, binlerce yıldır ağrı tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde kullanımları daha kontrollü olarak hala devam etmektedir. Ancak yan etkileri ve bağımlılık potansiyelleri nedeniyle hastaların izlenmesi gerekmektedir. Araştırmacılar tarafından, insan vücudunda doğal olarak sentezlenen ve opioid benzeri etkilere yol açan endojen opioid peptitleri bulunmuştur. Bu peptitlerin sentetik analogları da sentezlenmektedir. Bu bileşikler kimyasal yapılarından dolayı hidrofiliktir, yüksek taşırlar ve oral olarak uygulanmaları kısıtlıdır. Bu nedenle formülasyon için farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir. Peptid tabanlı hidrojel sentezlenmesi ve bileşiğin hidrojele konjuge edilmesi, peptidin kumarinik asit temelli siklik bir ön ilaca dönüştürülmesi yaklaşımları stabil olmayan opioid peptitleri enzimatik parçalanmadan korur. Peptidin bir nanopartiküle yüklenmesi ve lipozomal nano taşıyıcıların kullanılmasında nanoteknolojiden yararlanılmıştır. Multiveziküler lipozomlar (DepoFoam) kullanılarak cerrahi sonrası ağrı yönetiminde peptid temelli ilaç uygulanması mümkündür. Opioid peptitler, tedavide faydalanılabilecek birçok endikasyona sahiptir. Peptitlerin formülasyonunda çok çeşitli teknolojiler kullanılmaktadır ve bu çalışmalardan umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Opioid, Opioid peptid, Opioid reseptör, Formülasyon, Lipozom

### ABSTRACT

Opioidler, kendi reseptörlerine bağlanarak gösterdikleri ağrı kesici etki nedeniyle, binlerce yıldır ağrı tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde kullanımları daha kontrollü olarak hala devam etmektedir. Ancak yan etkileri ve bağımlılık potansiyelleri nedeniyle hastaların izlenmesi gerekmektedir. Araştırmacılar tarafından, insan vücudunda doğal olarak sentezlenen ve opioid benzeri etkilere yol açan endojen opioid peptitleri bulunmuştur. Bu peptitlerin sentetik analogları da sentezlenmektedir. Bu bileşikler kimyasal yapılarından dolayı hidrofiliktir, yüksek taşırlar ve oral olarak uygulanmaları kısıtlıdır. Bu nedenle formülasyon için farklı yaklaşımlar geliştirilmiştir. Peptid tabanlı hidrojel sentezlenmesi ve bileşiğin hidrojele konjuge edilmesi, peptidin kumarinik asit temelli siklik bir ön ilaca dönüştürülmesi yaklaşımları stabil olmayan opioid peptitleri enzimatik parçalanmadan korur. Peptidin bir nanopartiküle yüklenmesi ve lipozomal nano taşıyıcıların kullanılmasında nanoteknolojiden yararlanılmıştır. Multiveziküler lipozomlar (DepoFoam) kullanılarak cerrahi sonrası ağrı yönetiminde peptid temelli ilaç uygulanması mümkündür. Opioid peptitler, tedavide faydalanılabilecek birçok endikasyona sahiptir. Peptitlerin formülasyonunda çok çeşitli teknolojiler kullanılmaktadır ve bu çalışmalardan umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

**Keywords:** Opioid, Opioid peptide, Opioid receptor, Formulation, Liposome

## 1. Giriş

Opioidlerin ağrı tedavisinde kullanımı *Papaver somniferum*'dan elde edilen afyonun keşfi ile başlamıştır. Opioid terimi genel olarak opioid reseptörlerine etki eden moleküller için kullanılır [1]. Opioidler doğal, yarı-sentetik veya sentetik kaynaklı olabilirler [2]. Çeşitli opioidlere örnekler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Opioidler günümüzde ağrı tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İşlevlerini opioid reseptörlerini etkileyerek gösterirler. Fakat, suüstimate açık ve bağımlılık potansiyelleri yüksek bileşikler olduklarından dolayı kullanımları izlenir.

## 2. Opioid Peptidler

Opioid peptidlerin keşfedilme öyküsü, ilk olarak beyinde morfin benzeri maddelerin olduğunun düşünülmesiyle başlamıştır [3]. İlk keşfedilen opioid peptid olan dinorfin, Goldstein ve ark. [4] tarafından bulunmuştur. Tanımlanan ilk endojen opioid peptid olan enkefalinler 1975 yılında Hughes ve Kosterlitz [5] tarafından tanımlanmıştır. Merkezi sinir sistemindeki yerleri dolayısıyla endojen opioidler nörotansmitter olarak çalışabilirler. Ayrıca hormon salımı ve termoregülasyonda da rol oynarlar [1].

### 2.1. Endojen Opioid-Hücre Membranı Etkileşmesi

Endojen opioidler hücre membranıyla etkileşim içindedirler. Opioid reseptörüne anahtar-kilit mekanizmasına göre bağlanırlar (Fisher's lock and key). Peptidin aktif (katlanmış) hali membran varlığında tercih edilirken peptidin inaktif formu membran yok ise tercih edilir [6].

### 2.2. Opioid Reseptörleri

Mu, Kappa ve Delta olmak üzere üç ana reseptör ailesi vardır. En yoğun buldukları bölge merkezi

sinir sistemidir. Ayrıca gastrointestinal sistem, üreme sistemi, kalp, akciğer, karaciğer gibi periferel organlarda bulunur [7]. Bu reseptörler sağlıklı bireyde uyarılara cevap olarak vücutta üretilen endojen peptidler tarafından aktive edilirler. Bu endojen peptidler endorfin, enkefalin ve dinorfindir. Reseptörler Yunan harfleriyle belirtilir [1].

#### 2.2.1. Mu ( $\mu$ ) Reseptörü

Mu ( $\mu$ ) reseptörü (MOP) morfin agonistidir [1]. Yoğun olarak beyin sapı, medial talamus ve amigdala da bulunur [8]. Reseptörün yoğun olduğu alanların ağrı ve analjezide etkili oldukları bilinmektedir [9]. MOP reseptörleri aktive edildiğinde; analjezi, solunum depresyonu, öfori, sedasyon, gastrointestinal hareketlilikte azalma ve fiziksel bağımlılık gibi etkiler ortaya çıkar. Bu etkiler opioid kullanımında da gözlenmektedir [1]. Buna ek olarak immün sistem fonksiyonları, termoregülasyon ve hormon salımı da etkilenir [9]. Mu<sub>1</sub> ve Mu<sub>2</sub> alt tipi vardır. Reseptörün alt tipleri farklı etkilerden sorumludur. MOP reseptörleri, MOP veya OP3 olarak da adlandırılır [1].

#### 2.2.2. Kappa ( $\kappa$ ) Reseptörü

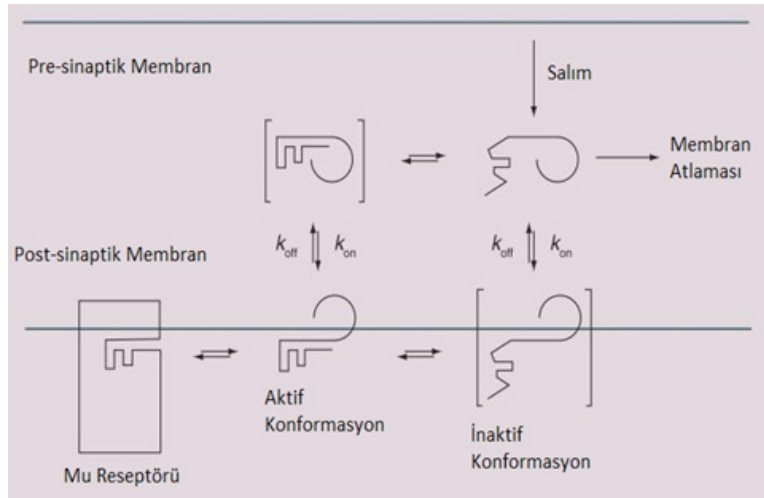
Kappa ( $\kappa$ ) reseptörü (KOP) limbik bölgede ve beyin sapıyla omurilikte yoğun olarak bulunur [1]. Dinorfin A ve dinorfin B, bu reseptöre bağlanan endojen opioid peptidlerdendir [4]. KOP reseptörleri; spinal analjezi, sedasyon, dispne, bağımlılık, disfori ve solunum depresyonu gibi durumlardan sorumludur. Kappa opioid reseptör (KOP) veya OP2 olarak da bilinir [1].

#### 2.2.3. Delta ( $\delta$ ) Reseptörü

Delta ( $\delta$ ) reseptörü (DOP) yoğun olarak amigdala, nucleus accumbens ve neokortekste bulunur [8]. Etkileri üzerine yapılan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Gastrointestinal hareketlilik, kardiyovasküler regülasyon ve ruh hali üzerine etkileri olduğu

**Tablo 1.** Opioid bileşik kaynakları [2]

Doğada bulunan doğal bileşikler	Yarı-sentetik bileşikler	Sentetik bileşikler
Morfin	Diamorfin (Eroin)	Petidin
Kodein	Dihidromorfon	Fentanil
Tebain	Buprenorfin	Metadon
Papaverin	Oksikodon	Alfentanil Remifentanil Tapentadol



Şekil 1. Schwyzer'in Membran Kompartman modeli [6]'dan izin alınarak kullanılmıştır.

düşünülmektedir [10]. DOP veya OP1 olarak da bilinir [1].

#### 2.2.4. Sigma ( $\sigma$ ) Reseptörü

Sigma ( $\sigma$ ) reseptörü psikometrik etki ve disforiden sorumludur. Artık opioid reseptör olarak sayılmaktadır. Bir sentetik halüsinojen olan fensiklidin ve analogları için hedef bölge olarak görülmektedir [1]. Tablo 2'de [1] opioid peptidler ve etki etkileri reseptörler belirtilmiştir.

Üç ana reseptör de ekstraselüler N-terminal ucu, 7 transmembran heliks, 3 ekstraselüler ve intraselüler halka ve intraselüler C-terminal ucuna sahiptir [1]. Opioid reseptör yapısı Şekil 2'de [11] verilmiştir.

Endojen opioid peptidler prekürsör proteinlerden temel alırlar. Tüm memeli opioid peptidleri üç prekürsörün farklılaşmasıyla oluşur: pro-opiomelanokortin (POMC), pro-enkefalin (PENK) ve pro-dinorfin (PDYN) [7]. Üç pro-hormon prekürsörü, endojen opioidlerin türediği bileşikler sağlamak amacıyla dönüşüme uğrar. PENK, DOP reseptörüne bağlanan [Met]-enkefalin ve [Leu]-enkefaline dönüşmek üzere parçalanır. PDYN temel alan dinorfin A ve B KOP agonistleridir. POMC ise  $\beta$ -endorfini oluşturmak üzere parçalanır.  $\beta$ -endorfin Mu reseptör agonistidir. Endomorfın 1 ve 2 de Mu reseptör agonistidir ancak prekürsörleri henüz tanımlanamamıştır [7]. Bu prekürsörler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Opioid reseptörlerinin uyarılması, analjeziye ek olarak çeşitli etkiler üretir. Bu etkiler genellikle re-

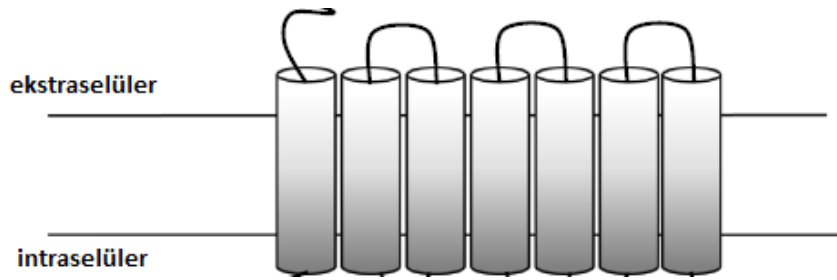
septörün türüne ve konumuna bağlı olarak değişir. Agonistlerin Mu reseptörüne bağlanması analjezi, sedasyon, solunum depresyonu, bradikardi, bulantı, kusma ve gastrik hareketlilikte azalma gibi etkiler gösterir. DOP reseptörleri analjezi ve gastrik hareketlilikte azalmaya sebep olurken; KOP reseptör stimülasyonu analjezi, diürez ve disforiye neden olur [12, 13].

Bir opioid agonist reseptöre bağlandığında bir dizi yolak tetiklenir. Agonist, reseptörün transmembran kısmı üzerindeki G-protein bağlı bölgesine bağlanır. Buna bağlı olarak G-proteinin  $\alpha$  alt ünitesine bağlı guanozin difosfat (GDP), intraselüler guanozin trifosfat (GTP) ile yer değiştirir. Bu durumda,  $\alpha$ -GTP kompleksi  $\beta\gamma$  kompleksinden uzaklaşır. Klasik bir opioid agonistin kendi G-protein reseptörüne bağlanması, adenilat siklazın inhibisyonuna neden olur. Bu durumda intraselüler siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeyi azalır [2]. Ek olarak; bu kompleksler bir takım iyon kanallarıyla da etkileşim içindedir. Opioidin reseptörüne bağlanmasıyla potasyum iletimi aktive olur. cAMP azaldığı için hücreye cAMP bağımlı kalsiyum iyonu akışı azalır. Kalsiyum iletimi inhibe olur ve söz konusu hücrenin hiperpolarizasyonu gözlenir. Ek olarak nöronal hücreler için nörotransmitter salımı azalır [2]. Opioid-nöron etkileşmesi Şekil 3'te [14] gösterilmiştir.

Opioidler ve endojen opioidler; GABA (gama aminobütirik asit) nöronları üzerinden presinaptik Şekil 1. reseptörleri aktive ederler, bu durumda beyinde GABA salımı azalır. GABA inhibisyonu dopaminer-

**Tablo 2.** Opioid peptidler ve etki ettikleri reseptörler [1]

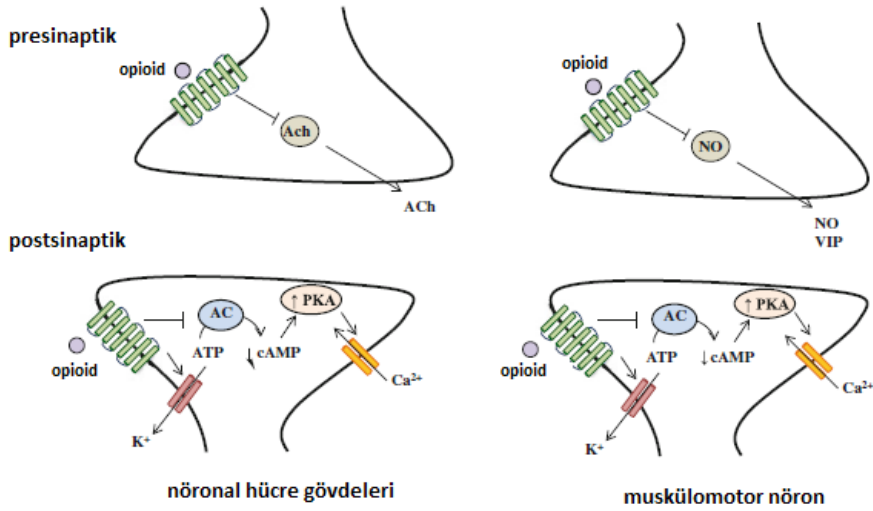
	<b>Mu</b>	<b>Delta</b>	<b>Kappa</b>
<b>Endojen Peptidler</b>			
Enkefalinler	Agonist	Agonist	
$\beta$ -endorfinler	Agonist	Agonist	
Dinorfin A	Agonist		Agonist
<b>Agonistler</b>			
Morfin	Agonist		Zayıf agonist
Kodein	Zayıf agonist	Zayıf agonist	
Fentanil	Agonist		
Meperidin	Agonist	Agonist	
Metadon	Agonist		
<b>Antagonistler</b>			
Nalokson	Antagonist	Zayıf antagonist	Antagonist
Naltrekson	Antagonist	Zayıf antagonist	Antagonist



**Şekil 2.** Opioid reseptör yapısı [11]'dan izin alınarak kullanılmıştır.

**Tablo 3.** Endojen opioid peptidlerin prekürsörleri ve reseptörleri [2]

<b>Reseptör</b>	<b>Prekürsör</b>	<b>Peptid</b>
DOP	Pro-enkefalin	[Met]-enkefalin [Leu]-enkefalin
KOP	Pro-dinorfin	Dinorfin-A Dinorfin-B
MOP	POMC, Bilinmiyor	$\beta$ -Endorfin Endomorfın-1 Endomorfın-2



Şekil 3. Opioid-nöron etkileşmesi [14]'dan izin alınarak kullanılmıştır.

Tablo 4. Memeli santral sinir sisteminden izole edilen ve üzerinde çalışılan bazı opioid peptidler [6]

Peptid	Aminoasit sekansı
<b>Enkefalinler</b>	
[Leu]-enkefalin	YGGFL
[Met]-enkefalin	YGGFM
<b>Endorfinler</b>	
$\beta$ -endorfin	YGGFMTSEKSQTPLVTLFKNAIIKNAYKKGE31
<b>Dinorfinler</b>	
Dinorfin A	YGGFLRRIRPKLKWQDNQ17
Dinorfin B (rimorfin)	YGGFLRRQFKVVT13
<b>Nosiseptinler</b>	
Nosiseptin	FGGFTGARKSARKLANQ
<b>Endomorfinler</b>	
Endomorfin-1	YPWF-NH2
Endomorfin-2	YPPF-NH2

jik nöronların daha hızlı çalışmalarına sebep olur ve "nucleus accumbens" alanında yer alan fazla dopamin yoğun bir haz duygusuna yol açar [1]. "Nucleus accumbens" beynin ödül bölgesi olarak da bilinir [15].

### 2.3. Opioid Peptidleri

Tablo 4'de [6] opioid peptidler ve aminoasit sekansları listelenmiştir.

A (Ala): alanin, R (Arg): arjinin, N (Asn): asparajin, D (Asp): aspartat, C (Cys): sistein, Q (Gln): gluta-

min, G (Gly): glisin, E (Glu): glutamat, H (His): histidin, I (Ile): izolösin, L (Leu): lösin, K (Lys): lizin, M (Met): metionin, F (Phe): fenilalanin, P (Pro): prolin, S (Ser): serin, T (Thr): treonin, W (Trp): triptofan, Y (Tyr): tirozin, V (Val): valin.

### 2.3.1. Enkefalin

Hughes ve Kosterlitz'in [5] araştırmasında tanımlanan peptidler metionin [Met]-enkefalin ve lösin [Leu]-enkefalindir. 1976 yılında Chung ve Li [16] tarafından yapılan çalışmada hipofiz bezinden ekstraksiyonla elde edilen  $\beta$ -endorfinin, terminal ucunda [Met]-enkefalin sekansını içerdiği keşfedilmiştir.

Endojen opioidlerin oluşmasında rol oynayan üç genin ürünleri POMC, PDYN ve PENK bileşikleridir. Bu prekürsörler farklı C-terminal aminoasitlere sahiptirler, bu nedenle prekürsörlerden temel alan endojen peptidler farklı opioid reseptörlere bağlanırlar [17].

Yapılan çalışmalarda akson terminallerinde ve hücre gövdelerinde enkefalinler tespit edilmiştir. Bu bulgu sonrasında enkefalinlerin nörotransmitter olarak görev yaptığı düşüncesi ortaya atılmıştır [18]. Enkefalin peptidler adrenal medullada bol miktarda bulunur ve o dokuya özgü nörotransmitterler tarafından salınabilirler [19].

[Met]-enkefalin ve [Leu]-enkefalinin yanı sıra, aynı sekansları içeren daha büyük peptidler de vardır. Bazıları enkefalin benzeri etkiler gösterirken bazıları farklı etkiler gösterir. Sentezlenen birçok enkefaline rağmen, bu iki pentapeptid PENK'in en aktif yan ürünleri olarak bilinmektedir [19].

Enkefalinler büyük oranda DOP ve MOP reseptörlerine bağlanır. Bağlanmayla birlikte fizyolojik ve hücresele bir yanıt oluşur, bunun sonucunda ilgili hücreler hiperpolarize olur. Hiperpolarizasyonla nöronların inhibisyonu gerçekleşir.

Enkefalinler ayrıca opioid büyüme faktör reseptörü (OGFr) denilen reseptöre de bağlanırlar [20]. OGFr, radyoaktif işaretli OGf'nin fare beynine enjekte edilmesiyle keşfedilmiştir [21]. Peptidin OGf'ye bağlanması protein konsantrasyonu, sıcaklık ve pH'dan etkilenir [19].

**Nörotransmitter olarak enkefalin:** Enkefalinin hücredeki yerleşim yerlerine bağlı olarak farklı görevleri olduğu düşünülmektedir. Bu düşüncüyü destekleyen bilgilerden biri ağrı liflerinin terminallerine yerleşmiş olan opioid reseptörlerinin keşfedilmesidir. Bu-

rada bulunan enkefalinin görevinin reseptörlerle etkileşime geçmek ve vazopressin veya dopamin gibi nörotransmitterlerin salımını inhibe etmek olduğu düşünülmektedir [22, 23].

**Nöromodülatör olarak enkefalin:** Enkefalinler sinaptik aktiviteyi modüle eder. Enkefalinin hipotalamusta bulunan miktarının yükselmesi, endokrinin düzenlenmesinde etkilidir. Motor aktivite, gastrointestinal hareketlilik, peristalsis ve duyu durumunun düzenlenmesi gibi durumlarda da enkefalin yolağı rol oynar [19].

**Büyüme faktörü olarak enkefalin:** 1980'li yıllarda ortaya atılan bir hipotezde enkefalinlerin normal ve anormal hücre ve dokuların büyümesini düzenlediğinden söz edilmiştir [24]. Bu etkiyi oluşturan peptid çok büyük oranda [Met]-enkefalindir. Bu nedenle peptidin nöromodülatör ve büyüme inhibe edici etkisini ayırt etmek için [Met]-enkefalinin adı OGF (opioid büyüme faktörü) olarak değiştirilmiştir. OGF, reseptörüne bağlandığında DNA sentezini inhibe eder. OGF-reseptör etkileşiminin uzun süreli bloke edilmesi durumunda hücrelerin proliferasyonu yüksek oranda artar. Tümör hücrelerinin 48 saat boyunca  $10^{-10}$  M gibi çok düşük konsantrasyonda OGf'ye maruz kalması durumunda bile nöroblastoma hücrelerinin büyümesi durdurulmuştur. Diğer preproenkefalin türevlerinde de inhibitör etki gözlenmiştir ancak etki çok kısa sürmüştür [25].

İnsanlarda OGf ve OGFr embriyo, kolon kanseri, renal kanser, nöroblastoma, cilt, pankreatik adenokarsinoma gibi çeşitli dokularda yer almaktadır. OGf-OGFr etkileşimi hücre yenilenmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez ve kanserde önemli bir rol oynar [21]. Enkefalinler ayrıca stres cevabının oluşmasında da önemlidir [26].

### 2.3.2. Endorfin

Yapılan bir çalışmada [27], endorfinlerin ve adrenokortikotropik hormon (ACTH)'un ortak bir prekürsörden türediği bulunmuştur.  $\beta$ -endorfin opioid agonisti etkiler gösterir. Yapılan *in vivo* deneylerde  $\beta$ -endorfinin antinosiseptif etkisi, bir antagonist maddenin uygulanmasından sonra ortadan kalkmıştır. Peptidin bağımlılık potansiyelini araştırmak için, farenin beynine  $\beta$ -endorfin çözeltisi infüze edilmiştir. Daha sonra uygulanan naloksonun ardından yoksunluk sendromu gözlenmiştir.  $\beta$ -endorfin ve morfin karşılaştırıldığında,  $\beta$ -endorfinin morfinden 18-33 kat daha potent olduğu görülmüştür [28].

$\beta$ -endorfin temel olarak hipofiz bezinde sentezlenir [29]. Bir protein olan POMC'den temel alır. ACTH ve melanosit stimüle edici hormon (MSH)'un sekanslarını içinde barındırır [30]. Stres  $\beta$ -endorfin salımını artırır. Stres varlığında  $\beta$ -endorfin ve diğer endojen opioid peptidler analjezi ve nöroendokrin regülasyonunda rol oynarlar. Ayrıca üreme sisteminin fonksiyonu da baskılanır [29]. Yapılan egzersizin yoğunluğuna göre vücutta endorfin salgılanır. Salgılanan endorfin kişinin daha iyi hissetmesini sağlar ve spor alışkanlığının oluşmasında etkilidir.

### 2.3.3. Dinorfin

Dr. Goldstein ve ark. [4] tarafından 1979 yılında yapılan çalışmada, 1975 yılında sığırın hipofiz bezinden izole edilen bileşiğin yapısı aydınlatılmaya çalışılmıştır [31]. Çalışma sonunda keşfedilen tri-dekapeptide, çok potent olmasına ithafen dinorfin adı verilmiştir [4]. 1981 yılında, peptidin 17 aminoasitten oluştuğu anlaşılmıştır ve aminoasit dizilimi aydınlatılmıştır [32]. Günümüzde dinorfinin ilk keşfedilen 13 aminoasit sekansına dinorfin B denilmektedir. Dinorfin A ismi ise 17 aminoasitli peptide verilen isimdir [3].

PDYN'den türeyen peptidler, klasik opioid reseptörler olan KOP, Mu ve DOP reseptörlerine farklı afinite gösterirler. Peptidin uzunluğu reseptör afinitesinin farklılaşmasında bir etkidir. Kısa molekül peptidler, uzun molekül peptidlere göre KOP reseptörüne daha düşük afinite gösterir [33].

Yoğun olarak hipokampus, amigdala, hipotalamus ve omurilikte bulunan dinorfinler birçok işlevde görev alırlar. Hafıza, öğrenme, stres, ağrı ve benzeri işlevlerde görevleri vardır [3]. Dinorfinin sentetik hali ile doğal halinin aktivitesi aynıdır. Dinorfin,  $\text{NH}_2$  terminal ucunda [Leu]-enkefalin sekansını barındırır [32].

Yüksek oranda KOP reseptörüne bağlanır, MOP ve DOP reseptörlerine de afinitesi vardır. Dinorfinin KOP reseptörüne bağlandıktan sonra tetikleyebileceği mekanizmalar arasında bağımlılık, depresyon, kronik ağrı ve epilepsinin olduğu düşünülmektedir. NMDA (N-metil D-aspartat) reseptörlerine direkt etkisiyle non-opioid etkiler de gösterir [3].

**Dinorfin Salım Mekanizmaları:** Dinorfin akson terminallerinden N tipi kalsiyum kanal aracılı salınır. Ayrıca L tipi kalsiyum kanalına bağlı olarak somatodentritik yolla da dinorfin salınır. Dinorfinin farklı yollarla salınması reseptör etkileşimlerinde de farklılık yaratabilir [3].

**Dinorfinin Reseptör Etkileşimleri:** Dinorfin KOP reseptörlerine bağlanır [3]. KOP reseptörü aktive edildiğinde; cAMP sentezi inhibisyonu [34], kalsiyum kanal inhibisyonu, potasyum kanal aktivasyonu [35] ve intraselüler  $\text{Ca}^{2+}$  seviyesi artışı [36] gibi çeşitli etkiler oluşur. Sıçan beyninde yapılan çalışmada elde edilen bulgulara göre, protein kinaz C ve inozitol fosfataz, DNA sentezinin KOP reseptör agonistleriyle modülasyonunda rol oynar [37].

Presinaptik olarak yerleşmiş KOP reseptörlerinin otoreseptör olarak davranmasının dinorfin sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir [38]. Dinorfinin bazı non-opioid fonksiyonları da vardır. Dinorfin NMDA reseptörleriyle etkileşime girebilir. Dinorfinin NMDA reseptörü üzerindeki hedeflerinden biri de reseptörün glisin bölgesidir [3].

Woods ve ark. [39] yaptığı bir çalışmada, dinorfinin NMDA reseptörünün alt ünitesi olan NR1'in asidik bölgesine tuz köprüsü yoluyla kovalent olmayan şekilde bağlandığı görülmüştür. Bu durumda dinorfin-NMDA etkileşiminin pH bağımlı olduğu düşünülmektedir [40].

Bağımlılık, dinorfin-KOP sisteminin regülasyonunda bozulmaya neden olur. Bu sistemin aktivitesindeki azalma, hücreleri uyuşturucu maddelerin akut etkilerine karşı daha fazla savunmasız bırakır [41].

Dinorfin, stres yollarının düzenleyicisi olarak görülebilir [3]. Vücutta strese karşı oluşan cevaplardan biri, adrenal bezlerden kortikosteron salımını düzenleyen HPA (Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aks) aracılığıyla olur. Dinorfin, bu yolun düzenlenmesinde güçlü bir rol oynar [3]. Strese uzun süreli maruziyet, dinorfin bağımlı disforiye yol açar. Stres kaynaklı dinorfin salımı, uyuşturucu arayışına neden olur.

1980-1990 yılları arasında yapılan çalışmalarda, limbik sistemden kaynaklanan kısmi kompleks nöbetlerde dinorfinin etkisi olabileceği düşünülmüştür. Anksiyetede de dinorfinin bir etkisinin olduğu öne sürülmüştür [3]. KOP stimülasyonunun antikonvülsan etkiyle sonuçlanan bir mekanizmayı başlattığı öne sürülmüştür. Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde endojen dinorfinin antikonvülsan ve antiepileptik etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Bu etkiler KOP aracılığıyla oluşur. Ancak bu veriler henüz insanlar üzerinde kanıtlanmamıştır [3].

KOP aktivasyonunun pro-depresan olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda, KOP antagonistleri yoksunluk sendromunda görülen anksiyete ve depresyonun önlenmesinde etkili olabilirler [42].

### 2.3.4. Endomorfin

Endomorfin-1 (EM1) ve endomorfin-2 (EM2), ilk olarak Zadina ve ark. [43] tarafından 1997 yılında sığır beyninden izole edilmiştir. EM1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH<sub>2</sub>) ve EM2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH<sub>2</sub>)'nin aminoasit dizilimi incelendiğinde aralarında 1 aminoasit farkı olduğu görülür [44]. Yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler doğrultusunda; EM1 yoğun olarak beyinde ve beyin sapında bulunurken EM2 omurilikte daha yoğun olarak bulunmaktadır [45]. EM1 ve EM2, opioid benzeri yan etkilere sebep olabilir. Bu etkiler arasında vazodilatasyon, bradikardi, hipotansiyon bulunur. Vazodilatör etki, endotelden nitrik oksit salımının stimüle olması nedeniyle olur [44]. Endomorfinler, birçok fizyolojik olayda rol oynarlar. Büyük oranda MOP reseptörlerine bağlanırlar ve bağlanma sonucunda analjezik etki ortaya çıkar [44].

*In vivo* ve *in vitro* yapılan çalışmalarda, endomorfinler akut ve nöropatik ağrıya diğer opioidlere göre daha fazla analjezik etki göstermişlerdir. Ayrıca çok daha az yan etkileri vardır. Ancak yapılan hayvan çalışmalarında endomorfinlerin tolerans ve bağımlılığa neden olduğu bulunmuştur. Membran permeabilitesinin de düşük olması ve enzimatik parçalanmaya duyarlı olması kullanımlarını zorlaştırmaktadır [44].

Yan etkileri ve düşük membran permeabilitesine sahip olmaları nedeniyle metilasyon, glikozilasyon gibi çeşitli modifikasyonlarla oluşan molekülleri bulunmaya çalışılmaktadır. Bazı modifikasyonlar, endomorfinlerin klinik kullanımları hakkında umut verici sonuçlar doğurmuştur. Karbonhidrat konjugasyonu peptidin dağılımı artmıştır, bu da kan-beyin bariyeri ve hücre membranlarına penetrasyonu artırır. Lipid konjugasyonu ile peptidin stabilitesi ve kan-beyin bariyerini geçiş oranı artırılabilir [44].

Zadina ve ark. [46] yaptıkları bir çalışmada, dört çeşit endomorfin analogu sentezlenmiştir ve morfinle karşılaştırılmıştır. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda; analoglar afiniteyi bozmadan solunum depresyonu, tolerans, motor bozuklukları gibi durumlarda önemli ölçüde iyileşme göstermiştir. Antinöroseptif özelliklerinin yanında oral, subkutan ve intravenöz uygulama sonrasında MOP reseptörüne seçici olarak bağlanıp uzun süren analjezik etki gösterdikleri gözlemlenmiştir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda, analoglar stabil plazma yarı ömrü ve uygun çözünürlük özellikleri göstermiştir [46].

### 2.4. Formülasyon Çalışmaları

Opioid peptidlerin keşfinden sonra ilaç olarak kullanımları araştırılmaya başlanmıştır. Bu araştırmalar sonucunda peptidlerin sentetik formları da çeşitli kimyasal yöntemlerle elde edilmiştir. Ancak, bu sentetik bileşiklerin ilaç olarak kullanılabilmesi için bazı özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Stabilitate, çözünürlük, enzim degradasyonundan korunma gibi özellikler üzerinde çalışılmaktadır. Opioid peptidler yüksek oranda hidrofilitiktir, yük taşırlar ve H bağlama potansiyelleri yüksektir.

Opioid peptidler, tedavide kullanılacak birçok endikasyona sahiptirler. Formülasyon olarak ilk hedef ise oral kullanıma uygun formülasyonlardır [47]. Fakat, peptidlerin oral yoldan kullanımı birkaç nedenden dolayı kısıtlıdır: Peptidin oral absorpsiyonu azdır, plazma yarı ömrü kısadır ve kan-beyin bariyeri nedeniyle etki yerine ulaşamaz [48]. Peptidler ayrıca hidrofilitik olmaları nedeniyle oral yoldan alındığında bağırsak lümenindeki içeriklerle hidrojen bağı yapmaya eğilim gösterirler, bu da epitelden difüze olmalarını kısıtlar [49]. Yapılan çalışmalardan çıkan sonuçlara göre esterifikasyon, siklizasyon ve lipidiyasyon gibi çeşitli modifikasyonlarla peptidin lipofilitik özelliği artırılabilir [47, 48].

Son zamanlarda lipid temelli taşıyıcı sistemler, özellikle kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemler (SEDSS), oral yoldan peptid uygulanması için en uygun yöntemler olarak görülmektedir. SEDSS gastrointestinal sıvıyla temas ettikten sonra stabil emülsiyonlar oluşturan yağlar, sürfaktanlar ve kosolvanlar içeren termodinamik olarak dayanıklı izotropik karışımlardır [47].

Peptid temelli ilaçların başka bir kısıtlayıcı tarafı ise kan-beyin bariyerine geçişlerinin zor olmasıdır. Kan-beyin bariyeri aminopeptidaz A, aminopeptidaz M ve anjiyotensin dönüştürücü enzim gibi çeşitli enzimleri içerir. Bu nedenle bir metabolik bariyer olarak da görülebilir [50]. Yapılan *in vitro* çalışmalarda bu enzimlerin inhibe edilmesi opioid peptidlerin kan-beyin bariyerine geçişinde artışa yol açmıştır [51]. Ancak, bu yöntem pratikte kullanılacak bir yöntem değildir. Bu nedenle, modifikasyonla lipofilititeyi artırma, bilinen taşıyıcı sistemleri kullanma, glikozilasyon gibi çeşitli yöntemlerle kan-beyin bariyeri aşılmaya çalışılmaktadır [50].

Opioid peptidlerin oral yolla uygulanmasında dört temel yaklaşım vardır: a. Formülasyonlarında yar-



dımcı maddelerin (penetrasyon artırıcılar, proteaz inhibitörleri gibi) kullanılması, b. ilaç taşıyıcı sistemlerin (mikropartikül, nanopartikül, lipozom, hidrojel gibi) hazırlanması, c. makromoleküler konjugasyon, d. kimyasal modifikasyon [52]. Aşağıda, bu yaklaşımlardan kısaca bahsedilmekte olup, sonrasında ilaç taşıyıcı sistemlerle yürütülmüş olan çeşitli çalışmalara dair literatür örnekleri incelenmektedir.

#### 2.4.1. Formülasyonda yardımcı maddelerin kullanılması

Peptid formülasyonlarında penetrasyon artırıcıların (katyonik dendrimer, kaprilik asit türevleri) ve proteaz inhibitörlerinin (N-asetilsistein, aprotinin) kullanımı uzun yıllardır araştırılmaktadır [53-55]. Bu yaklaşımla peptidin permeabilitesi ve absorpsiyonu artırılabilir. Ancak, bu bileşikler mukoza bütünlüğünü değiştirerek etki gösterir ve yan etkilere neden olabilir. Günümüzde gastrointestinal epiteli etkilemeden peptid molekülü üzerinde değişiklikler yapılarak biyoyararlanım artırılmaya çalışılmaktadır [52]. N-(8-[2-hidroksibenzoil]amino)kaprilat amfi-filik özellikte olan bir penetrasyon artırıcı olup bu yaklaşımın bir örneğidir. Semaglutid ile birlikte kullanıldığında gastrik pH'yı yükselterek pepsinojenin pepsine dönüşmesini engeller ve Semaglutidi enzimatik degradasyondan korur [56].

#### 2.4.2. İlaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanması

Gastrointestinal sistemdeki stabiliteleri birbirinden farklı olan katı mikropartikül, nanopartikül, lipozom,

kitosan ve hidrojel formülasyonları bu amaçla kullanılmak üzere araştırılmaktadır [52, 57, 58].

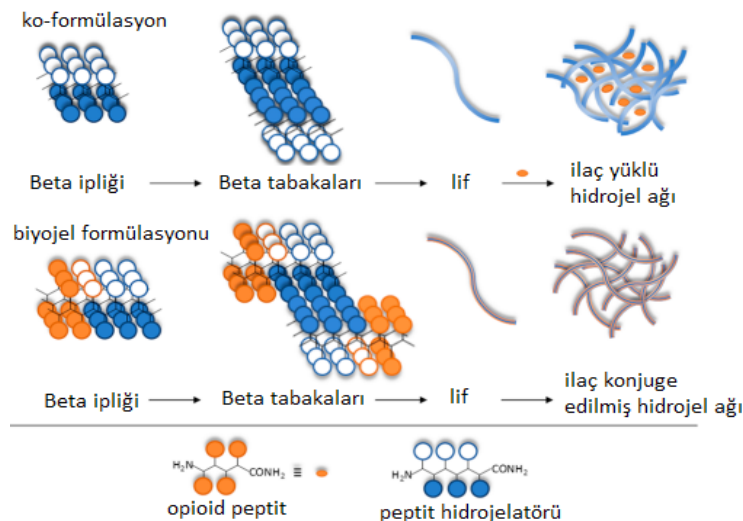
#### 2.4.3. Makromoleküler Konjugasyon

Polipeptidler bir makromoleküler taşıyıcıya (alkillenmiş polietilen glikol (PEG) gibi amfi-filik polimerler ve transferrin, lektin gibi proteinler vb.) konjuge edilebilirler. Bu yaklaşımın üstünlüğü, absorpsiyonu artırmak için ilacın moleküler özelliklerini değiştirmenin yeterli olmasıdır. Böylece, epitel hücrelerinin yapısını değiştirmeye oluşabilecek yan etkiler önlenmiş olur [52].

#### 2.4.4. Kimyasal Modifikasyon

Küçük moleküller kullanarak peptidleri modifiye etmek oral absorpsiyonu artırabilir. Lipidizasyon yaklaşımı oral biyoyararlanımı artırmada önemli rol oynar. Lipidizasyonda dimetilmaleik anhidrid, safra tuzu ve farklı alkil zincirleri kullanılmaktadır [58]. Ayrıca lipidizasyon peptidin gastrointestinal sistemde parçalanmasını engeller [52].

Oral veya parenteral yoldan peptid yapıda ilaçların uygulanabilmesi ve istenilen biyoyararlanımı gösterebilmesi için birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada yeni bir kısa amfi-filik peptid tabanlı hidrojel sentezlenmiştir. Bu hidrojeller opioid peptidlerin uzatılmış salımlı formülasyonlarında biyomateryal olarak kullanılmıştır [59]. Peptid tabanlı hidrojeller; biyodegradasyon özellikleri, biyoyoumlu olmaları ve sentez-safılaştırma basamaklarının görece kolay olmaları nedeniyle diğer hidrojelere göre daha çok tercih edilirler [60].



Şekil 4. Biyojel formülasyonu ve koformülasyonun gösterimi [59]'den izin alınarak kullanılmıştır.

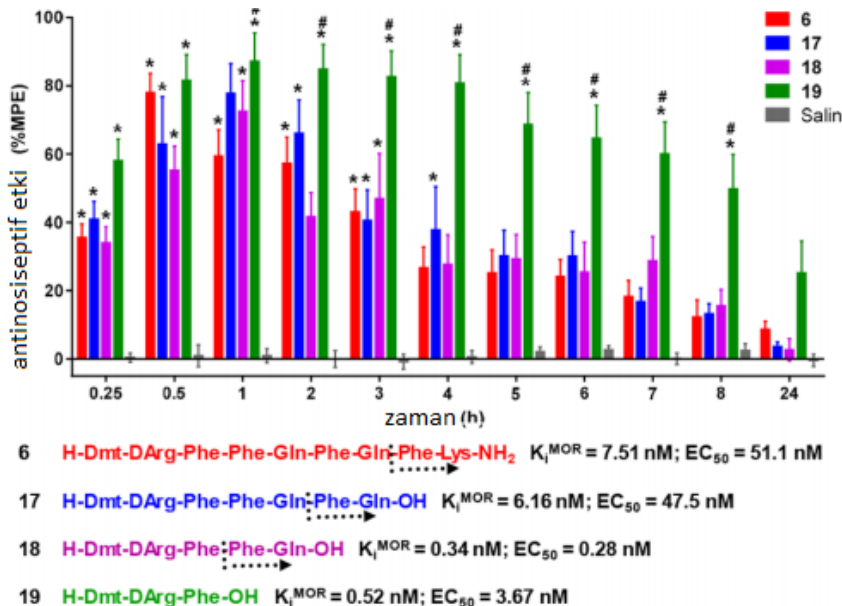
Yapılan bu çalışmada iki farklı hidrojel formülasyonu incelenmiştir: a. Peptid yüklü hidrojel ağı (koformülasyon), b. Hidrojel fiberlere kovalent bağlı analjezik farmakofor (sonucunda analjezik hidrojel konjugatı oluşur) (biyojel formülasyonu) [59]. Formülasyonun şematik gösterimi Şekil 4’te [59] gösterilmiştir.

Koformülasyonda, peptid salımı difüzyona bağlıdır ve peptidin hidrojel fiberlerle etkileşimiyle ayarlanır. Biyojel formülasyonunda bulunan kovalent bağ sayesinde peptid salım hızı azaltılabilir ve bu sayede yüksek dozda peptidin aniden salımı önlenir, hızlı itirah olması engellenir. Martin ve ark. [59] tarafından yapılan bu çalışmada çeşitli opioid farmakoforlar sentezlenmiştir. Sentezlenen farmakoforlar Şekil 5’te [59] verilmiştir.

1-5 arasındaki farmakoforlar dermofin (H-Tyr-DAla-Phe-Gly-TyrPro-Ser-NH<sub>2</sub>) ve endomorfın-2’den (H-Tyr-Pro-Phe-Phe-NH<sub>2</sub>) temel alınarak sentezlenmiştir. Bu farmakoforlar MOP reseptörüne yüksek afinite gösterirler. Bu peptidler daha sonra 14-15-16 numaralı hidrojelatörlerle koformüle edilmiş veya kovalent bağlanmıştır. Bu şekilde 6-13 arasındaki biyojel sekansları oluşmuştur. Bu sekanslar ön ilaç olarak kabul edilebilirler. Çalışmanın sonucunda 6 numaralı biyojel sekansının parçalanma profili incelendiğinde, çok potent ve uzun etkili bir metaboliti olduğu görülmüştür (19 numaralı metabolit). Bileşiğin parçalanma profili Şekil 6’da [59] gösterilmiştir. Şekil 2.6’da da görüldüğü üzere, bu sekansın biyolojik olarak parçalanması mümkündür. Etkin madde-

Bileşik	Kod	Sekans
1	OP1	H-Dmt-DArg-Phe-Phe-NH <sub>2</sub>
2	OP2	H-Dmt-DLys-Phe-Phe-NH <sub>2</sub>
3	OP3	H-Dmt-DArg-Abα-Ala-NH <sub>2</sub>
4	OP4	H-Dmt-Pro-Phe-Phe-NH <sub>2</sub>
5	OP5	H-Dmt-Pro-Trp-Phe-NH <sub>2</sub>
6	OP1-GEL2	H-Dmt-DArg-Phe-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
7	OP1-GEL4	H-Dmt-DArg-Phe-Phe-Gln-β <sup>h</sup> Phe-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
8	OP2-GEL1	H-Dmt-DLys-Phe-Phe-Glu-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
9	OP2-GEL2	H-Dmt-DLys-Phe-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
10	OP3-GEL2	H-Dmt-DArg-Abα-Ala-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
11	OP4-GEL1	H-Dmt-Pro-Phe-Phe-Glu-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
12	OP4-GEL2	H-Dmt-Pro-Phe-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
13	OP5-GEL2	H-Dmt-Pro-Trp-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
14	GEL1	H-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
15	GEL2	H-Phe-Gln-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>
16	GEL4	H-Phe-Gln-β <sup>h</sup> Phe-Phe-Gln-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>

Şekil 5. Opioid farmakoforlar (OP), biyojel ve hidrojelatör (GEL) sekansları [59]



Şekil 6. 6 numaralı bileşiğin in vitro parçalanma profili [59]’den izin alınarak kullanılmıştır.

lerin hidrojellere konjuge edilmesi ve ön ilaç haline getirilmesi yaklaşımı diğer birçok aktif sekansa da uygulanabilir. Kontrollü salım formülasyonları geliştirildiğinde, bu yöntem potansiyeli yüksek olan bir yaklaşım haline gelebilir [59].

Peptidlerin oral yoldan beyne ulaşması amacıyla yapılan başka bir çalışmada; lipidik bir ön ilaç hazırlanmış ve ön ilaç da bir nanopartikül içinde enkapsüle edilmiştir. Peptid olarak [Leu]-enkefalin seçilmiştir [48]. Şekil 7'de [61] bileşiğin yapısı gösterilmiştir.

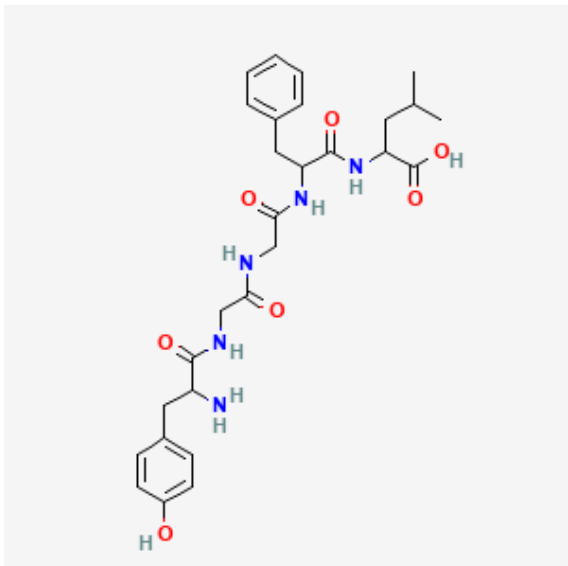
Nanopartiküllerin absorpsiyonu üç yolla artıracağı ileri sürülmüştür: Peptidin degradasyondan korunması, nanopartiküllerin gastrointestinal mukozaya bağlanmasının sağlanıp ilacın bağırsakta kalma süresinin artırılması [62] ve lipidik ön ilacın hücrelerden geçişi artırması [62-64].

Lalatsa ve ark.'nın [48] yaptığı çalışmada [Leu]-enkefalinin (H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH) ön ilacı olarak H-Tyr(palmitoil)-Gly-Gly-Phe-Leu-OH sentezlenmiştir. Bu bileşiğe TPLENK denmiştir. Polymer olarak kuarterner amonyum palmitoil glikol kitosan (GCPQ) sentezlenmiştir. Bileşiklerin kimyasal yapısı Şekil 8a ve Şekil 8b'de verilmiştir [48]. Çalışmanın sonuçlarına göre; GCPQ nanopartikülleri [Leu]-enkefalinin farmakodinamik aktivitesini artırmıştır. Oral yoldan alımda peptid stabilitesini etkileyen önemli unsurlardan biri de ince bağırsakta bulunan ve peptidleri parçalayan endopeptidaz ve eksopeptidaz enzimleridir. GCPQ'nun enzimler ve peptid

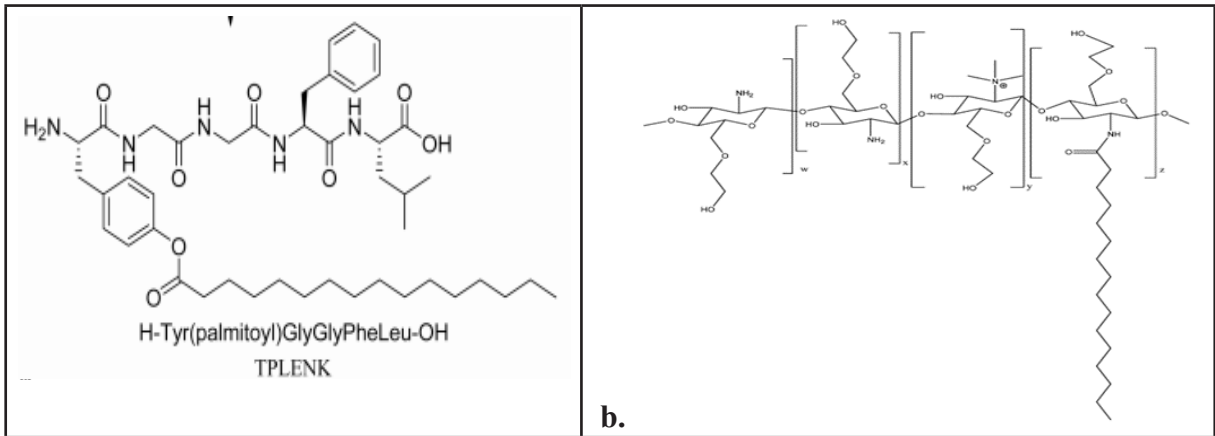
arasında bir bariyer görevi gördüğü düşünülmektedir. TPLENK kana ulaştığında plazma ve karaciğer esterazları tarafından [Leu]-enkefaline çevrilmektedir. İntravenöz uygulamada, GCPQ nanopartikülleri [Leu]-enkefalin ve TPLENK'i plazmada parçalamaktan korumaktadır. Ön ilaç uygulamasında peptidin doğrudan uygulanmasına oranla beyinde daha yüksek opioid peptid seviyesi ve farmakodinamik aktivite saptanmıştır [48].

Lindqvist ve ark. [65] tarafından yapılan çalışmada merkezi sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde büyük bir engel oluşturan ve beyine ilaç iletimini büyük ölçüde azaltan kan-beyin bariyerini aşmak ve beyine ilaç iletmek amacıyla glutatyon (GSH) konjuge edilmiş PEG kaplı lipozomlar geliştirilmiştir. Bu amaçla, opioid bir peptid olan DAMGO (H-Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-Gly-ol) (Şekil 9a.) kullanılmıştır. Bu bileşik enkefalin analogu olup, MOP reseptörüne yüksek seçicilik göstermektedir. Sonuçta, 127 nm vezikül boyutuna, 0,024 PDI değerine sahip lipozomlar elde edilmiştir. Lipozomların yapısı Şekil 9b.'deki gibi olup, geliştirilen lipozomların plazma yarılanma ömrü serbest DAMGO'ya göre  $9,2 \pm 2,1$  dakikadan,  $6,9 \pm 2,3$  saate yükselirken beyin interstisyel sıvı/kan oranı  $0,09 \pm 0,04$ 'ten  $0,21 \pm 0,17$  seviyelerine yükselmiştir. Fakat DAMGO'nun antinosiseptif etkisi intravenöz uygulamada düşüktür. Bileşik intraserebroventriküler yolla uygulandığında terapötik etkisi morfinden 20 kat daha fazladır. DAMGO'nun hidrofilik özelliği nedeniyle kan-beyin bariyerini aşip merkezi sinir sistemine geçmesi zordur [65].

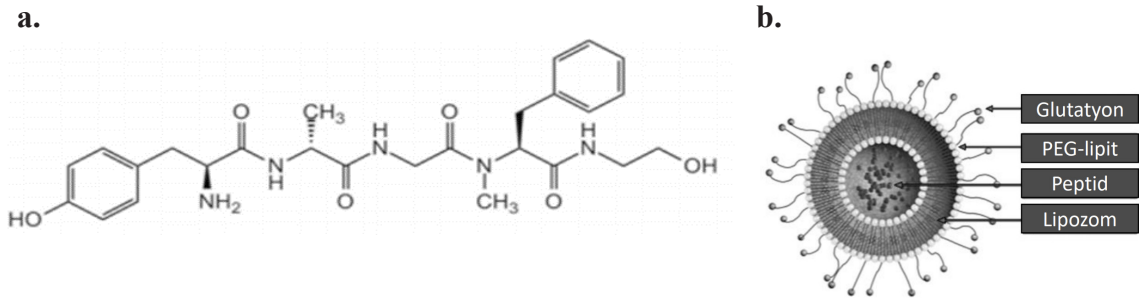
Lindqvist [66] tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise daha önce geliştirilmiş olan lipozom formülasyonlarında elde etmiş oldukları yüksek başarının arka planındaki mekanizmanın anlaşılabilmesi amacıyla serbest DAMGO, serbest DAMGO/boş GSH-PEG lipozomu, DAMGO yüklü GSH-PEG lipozomu ve PEG kaplı DAMGO yüklü lipozomlar kıyaslanmıştır. Bu çalışmanın amacı; lipozomal nano taşıyıcı formülasyonlar geliştirilerek hidrofilik bir peptid olan DAMGO'nun beyne taşınmasını artırmaktır. Üç çeşit lipozomal formülasyon geliştirilmiştir: a. Boş GSH-PEG (glutatyon-polietilen glikol) lipozomları, b. DAMGO içeren lipozomal GSH-PEG ve c. DAMGO içeren lipozomal PEG. Lipozomal olmayan DAMGO ise serbest DAMGO olarak kullanılmıştır. Çalışma *in vivo* olarak farelerde uygulanmıştır. Çalışma sonucunda serbest DAMGO'nun beyne sınırlı oranda geçebildiği ve dağılım gösterebildiği bulunmuştur. Peptidin beyin ve kandaki bağlanmamış ora-



Şekil 7. [Leu]-enkefalin yapısı [61]'den izin alınarak kullanılmıştır.



Şekil.8. a) TPLENK molekülü ve b) GCPQ molekülü [48]'den izin alınarak kullanılmıştır.



Şekil 9. a) Opioid peptid DAMGO ve b) Geliştirilen lipozomların yapısı [65]'dan izin alınarak kullanılmıştır.

nı %10'dan azdır. Bileşiğin beyinden klirensi beyne akış hızından 13 kat fazladır. Bu durum, peptidin kısa etki süresini açıklamaktadır. Lipozomal DAMGO uygulandığında ise beyin ve kandaki serbest peptid miktarı, serbest DAMGO'ya göre 2-3 kat daha fazladır. Aynı durum, DAMGO içeren lipozomal GSH-PEG uygulandığında da gözlenmiştir. Ancak, boş lipozomlar ve serbest DAMGO birlikte verildiğinde biyoyararlanımda bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu durumda, peptidin beyine taşınma miktarının artması için bileşiğin lipozom içinde olması gerektiği sonucuna ulaşılabilir [66].

Lewicky ve ark. [67] tarafından yapılan çalışmada, sahip oldukları birçok üstünlüğe rağmen düşük kan-beyin bariyerine geçiş, metabolizmaya uğramaları ve farmakokinetiklerinden dolayı kullanımları sınırlanan peptitler, beyine ilaç taşıyıcı sistemlerde sahip oldukları avantajları sebebiyle lipozom sistemleri ile formüle edilmiş ve beyne ilaç taşınmasında etkisi gösterilmiş olan mannoz ligandı ile bir araya getirilmiştir. Bu lipozomları geliştirmek için suda kendili-

ğinden birleşen C12-alkil-manopiranozit kullanılmış ve etkin madde olarak güçlü ve seçici bir KOP antagonistisi olan dinantin kullanılmıştır. Sonuçta, intranasal olarak uygulanmış olan dinantin yüklü glikolipozomlar, kullanılan peptidin beyin seviyelerini yaklaşık 3-3,5 kat iyileştirmiş ve glikolipozomların potansiyelini göstermiştir.

Zupancic ve ark. [47] tarafından yapılan çalışmada ise, özellikle merkezi sinir sistemlerinde güçlü reseptör agonistleri olmaları sebebiyle tercih edilen, fakat; oral uygulamada enzimatik reaksiyonlar, absorpsiyon ve kan-beyin bariyeri gibi engellere maruz kalan opioid peptidlerin oral kendiliğinden oluşabilen ilaç taşıyıcı sistemleri (SEDDS) hazırlanmıştır. Opioid peptid olarak güçlü DOP agonisti olan dalargin kullanılmıştır. Hazırlanan SEDDS'ler konsantrane bir şekilde hazırlanmış ve karakterizasyon çalışmalarından önce seyreltilmiştir. Geliştirilen iki formülasyon sırasıyla 42,1 ve 33,1 nm damlacık büyüklüğü ve 0,042 ve 0,034 PDI değerleri göstermiştir. Geliştirilen formülasyonların lipoliz çalışmaları 30 dakika

içinde formülasyonların %78,5 ve %92,1'inin sindirildiğini ve peptidin mucus geçirgenliğini artırarak enzimatik bozunmaya karşı koruyucu bir etki sergilediği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, SEDDS'lerin oral opioid peptid iletiminde uygun bir ilaç taşıyıcı sistem olduğunu göstermektedir [47].

Opioid peptidlerin oral yoldan kullanılması için geliştirilen bir diğer yaklaşım, peptidleri siklik ön ilaç haline getirerek peptidin fizikokimyasal özelliklerini iyileştirmektir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, [Leu]-enkefalinin ve onun analogu olan DADLE (H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-D-Leu-OH) bileşiğinin kumarinik asit temelli siklik ön ilaçları sentezlenmiştir [68]. DADLE bileşiğinin sentezlenen ön ilacının kimyasal yapısı Şekil 10a'da [69] verilmiştir. Çalışma sonucunda; esteraz enzimlerine duyarlı bir siklik ön ilacın membran permeabilitesinin, peptidin kendisine oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bunun sebebi ise, bileşiğin hücre içine girme yolunun değiştirilmesidir. Ayrıca, bu durum metabolik stabiliteyi de artırmıştır [68]. Kullanılan ön ilacın vücutta parçalanma profili Şekil 10b'da [69] gösterilmiştir.

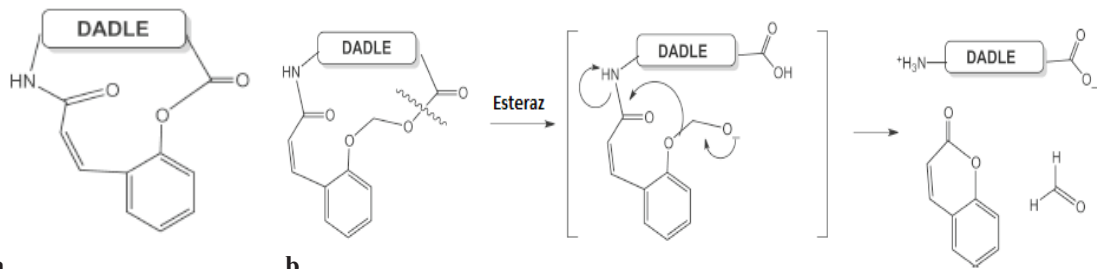
Peptidlerin formülasyonunda çoğunlukla lipozomlarla çalışılmıştır. Kullanılan lipozomlar da konvansiyonel lipozomlardır. Bunlar arasında tek tabakalı (ULV), çok tabakalı (MLV) sistemler ve daha yeni bir teknoloji olan multiveziküler lipozomlar veya diğer adıyla, DepoFoam mikropartikülleri bulunmaktadır. DepoFoam teknolojisi lipit temelli bir yaklaşımdır. Her DepoFoam mikropartikülü eş merkezli olmayan sulu bölmelerden oluşur ve lipit bir membranla kaplıdır. Bu yolla enkapsüle edilen etkin maddelerin uzatılmış salımı da sağlanabilir. Şekil 11'de [70] lipozomların görselleri verilmiştir.

DepoFoam teknolojisinin incelendiği bir çalışmada, DepoFoam partikülleri su-yağ-su emülsiyonu hazır-

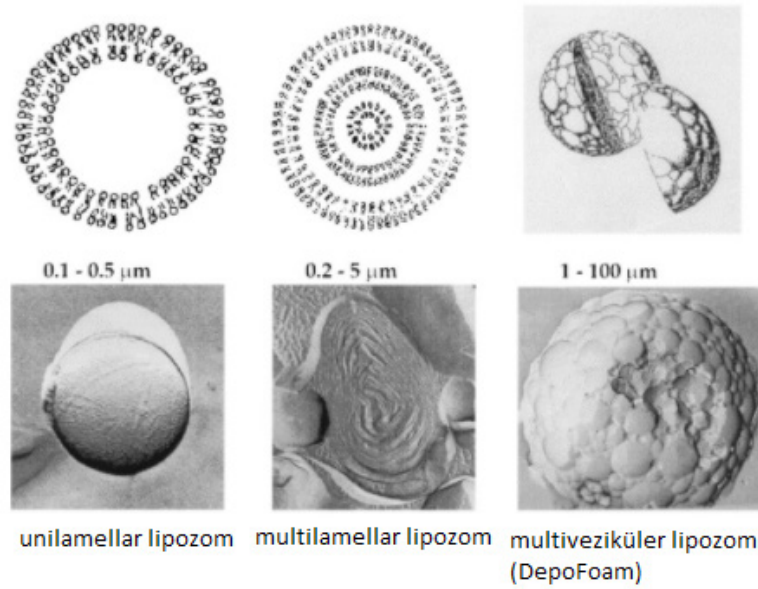
lanarak elde edilmiştir. Peptid olarak enkefalin kullanılmıştır. Şekil 12'de [70] çalışmadaki partiküllerin büyüklük dağılımı gösterilmiştir. Partikül büyüklüğü ikinci emülsifikasyon işlemi sırasında ayarlanabilir.

Farelerde yapılan farmakodinamik incelemede, analjezik etkinin 6 saate kadar sürdüğü bulunmuştur. Şekil 13'te [70] DepoEnkefalinin *in vitro* salım profili gösterilmektedir. *In vitro* çalışmalarda da DepoEnkefalin formülasyonunun uzun saatler boyunca peptid salımına devam ettiği görülmüştür. Peptid salım hızı, DepoFoam partiküllerinde bulunan lipit tabakanın içeriği değiştirilerek ayarlanabilir. DepoEnkefalin formülasyonunda trikaprilin:triolein ( $C_8:C_{18}$ ) oranının 9:1'den 14:1'e getirilmesiyle peptid salımı artırılmıştır.

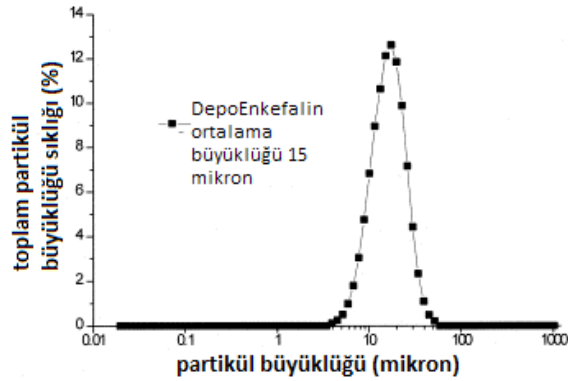
Partiküllere etkin maddelerin yüklenmesi aşamasında birkaç faktör rol oynar. İlacın suda çözünme yeteneği, membran geçirgenliği ve ilacın bulunduğu ilk sulu ortamın osmolaritesi bu faktörlerden bazılarıdır. İlaç salımını etkileyen faktörlerin arasında ise ilacın bulunduğu çekirdek emülsiyonun pH'ı, osmolaritesi, kullanılan yardımcı maddeler, ilaç konsantrasyonu, lipit yapısı ve ilaç-lipit etkileşmesi bulunur. Çalışmada kullanılan lipitler, vücutta doğal olarak bulunan lipitlerin sentetik versiyonudur. Bu nedenle biyoyumludurlar ve parenteral kullanıma da uygun oldukları düşünülmektedir. Matris biyoyumlu olduğu sürece hassas olan çeşitli bölgelere de (oküler, epidural, intratekal) uygulanabilir. DepoFoam teknolojisiyle peptid özellikli etkin maddeleri yüksek verimle enkapsüle etmek mümkündür. Bu teknoloji sayesinde opioid peptidler cerrahi sonrası ağrı yönetiminde başarılı bir şekilde kullanılabilir [70].



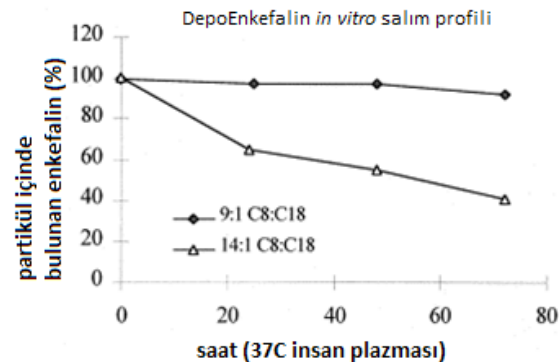
Şekil 10. a) Kumarinik asit temelli siklik ön ilaç b) Ön ilacın vücutta parçalanmasının gösterimi [69]'den izin alınarak kullanılmıştır.



Şekil 11. Lipozom teknolojilerinin şematik gösterimi ve elektron mikroskobu altındaki görüntüleri [70]'den izin alınarak kullanılmıştır.



Şekil 12. DepoEnkefalin partiküllerinin partikül büyüklüğü dağılımı [70]'den izin alınarak kullanılmıştır.



Şekil 13. DepoEnkefalin in vitro salım profili [70]'den izin alınarak kullanılmıştır.

### 3. Sonuç

Opioid peptidler, analjezik özellikleri nedeniyle ağrı tedavisinde yer alabilecek bileşiklerdir. Bunun yanında, farklı reseptörlerle etkileşerek antikonvulsan, antidepresan etkiler gösterebilecekleri de bilinmektedir. Klasik opioidlere oranla daha az yan etkileri vardır ve daha potentlerdir. Bu nedenle, klinikte kullanımı tedavide başarı oranının daha yüksek olmasını sağlar.

Met-[enkefalin]'in OGRFr'ye bağlanmasıyla hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyon çok düşük konsantrasyonda da gözlenmiştir [71]. Bu durum, kanser tedavisi için yeni bir umut olabilir.

Dinorfinin KOP reseptörüne bağlanmasıyla antikonvulsan etkinin olduğu kanıtlanmıştır. Bu etkinin insanlar üzerinde de olduğu kanıtlandığı takdirde epilepside kullanımı onaylanabilir.

Birçok kanser hastası, kemoterapi sonucu oluşan ağrılar için opioid ilaçlar kullanmaktadır. Ancak, bazı hastalar yan etkileri tolere edemeyebilir. Opioid peptidlerin daha az yan etkiye sahip olmaları ve daha düşük dozda aynı analjezik etkiyi sağlayabilmeleri, bu hastalar açısından bir üstünlüktür. Bu yönde araştırmalar yapılarak hastaların kullanımına sunulabilir.

Peptidlerin fizikokimyasal özellikleri nedeniyle stabilitelelerinin sağlanması zordur. Bu nedenle, farklı formülasyon yaklaşımları denenmektedir. Bu yaklaşımlar arasında öne çıkarlar; lipozom kullanımı, ön ilaç yaklaşımı ve nanopartiküllerdir. Ön ilaç haline dönüştürme, peptidi enzimler tarafından parçalanmaktan korur. Peptidin lipozoma hapsedilmesiyle hidrofilitik maskelenir ve kan-beyin bariyerini geçmek kolaylaşır. Nanopartiküller ise etkili bir ilaç taşıma sistemi olmakla birlikte, partikül boyutu küçüldükçe toksisite artabilir.

Son olarak, opioid peptidlerin büyük potansiyel göstermesine rağmen klinik kullanımlarının henüz çok kısıtlı olduğu söylenebilir. Terapötik etkileri ve ekonomik değerleri göz önüne alındığında, opioid peptidlerin yeni ilaç taşıyıcı sistemleri kullanarak oral yoldan uygulamalarını artırmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir konuda çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Araştırmacıların Katkı Beyanı

Fikir, Tasarım ve Dizayn, Denetleme: R.N.G.;

Literatür tarama: D.E., S.M.;

Yazma: D.E., S.M., S.S.T., R.N.G.;

Yorumlama, Eleştirel inceleme, Düzenleme: S.M., S.S.T., R.N.G.

## 4. Kaynaklar

1. Trescot AM, Datta S, Lee M, Hansen H. Opioid pharmacology. *Pain Physician*. 2008;11(2 Suppl):S133-53.
2. Pathan H, Williams J. Basic opioid pharmacology: an update. *Br J Pain*. 2012;6(1):11-6. DOI: 10.1177/2049463712438493.
3. Schwarzer C. 30 years of dynorphins--new insights on their functions in neuropsychiatric diseases. *Pharmacol Ther*. 2009;123(3):353-70. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2009.05.006.
4. Goldstein A, Tachibana S, Lowney LI, Hunkapiller M, Hood L. Dynorphin-(1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979;76(12):6666-70. DOI: 10.1073/pnas.76.12.6666.
5. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*. 1975;258(5536):577-80. DOI: 10.1038/258577a0.
6. Li Y, Lefever MR, Muthu D, Bidlack JM, Bilsky EJ, Polt R. Opioid glycopeptide analgesics derived from endogenous enkephalins and endorphins. *Future Med Chem*. 2012;4(2):205-26. DOI: 10.4155/fmc.11.195.
7. Feng Y, He X, Yang Y, Chao D, Lazarus LH, Xia Y. Current research on opioid receptor function. *Curr Drug Targets*. 2012;13(2):230-46. DOI: 10.2174/138945012799201612.
8. Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME, Akil H, Watson SJ. Autoradiographic differentiation of mu, delta, and kappa opioid receptors in the rat forebrain and midbrain. *J Neurosci*. 1987;7(8):2445-64.
9. Dhawan BN, Cesselin F, Raghubir R, Reisine T, Bradley PB, Portoghese PS, et al. International Union of Pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharmacol Rev*. 1996;48(4):567-92.
10. Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A, Ardati A, Henningsen RA, Bunzow JR, et al. Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science*. 1995;270(5237):792-4. DOI: 10.1126/science.270.5237.792.
11. Lemos Duarte M, Devi LA. Post-translational Modifications of Opioid Receptors. *Trends Neurosci*. 2020;43(6):417-32. DOI: 10.1016/j.tins.2020.03.011.
12. Pan Z, Hirakawa N, Fields HL. A cellular mechanism for the bidirectional pain-modulating actions of orphanin FQ/nociceptin. *Neuron*. 2000;26(2):515-22. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)81183-6.
13. McDonald J, Lambert D. Opioid receptors. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*. 2005;5(1):22-5. DOI: 10.1093/bjaceaccp/mki004.
14. Sobczak M, Salaga M, Storr MA, Fichna J. Physiology, signaling, and pharmacology of opioid receptors and their ligands in the gastrointestinal tract: current concepts and future perspectives. *J Gastroenterol*. 2014;49(1):24-45. DOI: 10.1007/s00535-013-0753-x.
15. Salgado S, Kaplitt MG. The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotact Funct Neurosurg*. 2015;93(2):75-93. DOI: 10.1159/000368279.
16. Li CH, Chung D. Isolation and structure of an untrikonta-peptide with opiate activity from camel pituitary glands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976;73(4):1145-8. DOI: 10.1073/pnas.73.4.1145.
17. Danielson PB, Dores RM. Molecular evolution of the opioid/orphanin gene family. *Gen Comp Endocrinol*. 1999;113(2):169-86. DOI: 10.1006/gcen.1998.7206.
18. Hökfelt T, Ljungdahl A, Terenius L, Elde R, Nilsson G. Immunohistochemical analysis of peptide pathways possibly

- related to pain and analgesia: enkephalin and substance P. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74(7):3081-5. DOI: 10.1073/pnas.74.7.3081.
19. McLaughlin P. Proenkephalin-Derived Peptides. In: Kastin A, editor. *Handbook of Biologically Active Peptides*. 2 ed: Academic Press; 2013.
20. Snyder SH. Opiate receptors and beyond: 30 years of neural signaling research. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:274-85. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2004.06.006.
21. Zagon IS, Verderame MF, McLaughlin PJ. The biology of the opioid growth factor receptor (OGFr). *Brain Res Brain Res Rev*. 2002;38(3):351-76. DOI: 10.1016/s0165-0173(01)00160-6.
22. McLaughlin PJ. Regulation of DNA synthesis of myocardial and epicardial cells in developing rat heart by [Met5]enkephalin. *Am J Physiol*. 1996;271(1 Pt 2):R122-9. DOI: 10.1152/ajpregu.1996.271.1.R122.
23. North RA, Tonini M. The mechanism of action of narcotic analgesics in the guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol*. 1977;61(4):541-9. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1977.tb07546.x.
24. Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker JM. Endogenous opioids: biology and function. *Annu Rev Neurosci*. 1984;7:223-55. DOI: 10.1146/annurev.ne.07.030184.001255.
25. Zagon IS, McLaughlin PJ. Endogenous opioid systems regulate growth of neural tumor cells in culture. *Brain Res*. 1989;490(1):14-25. DOI: 10.1016/0006-8993(89)90425-3.
26. Henry MS, Gendron L, Tremblay M-E, Drolet G. Enkephalins: Endogenous Analgesics with an Emerging Role in Stress Resilience. *Neural Plasticity*. 2017;2017:1546125. DOI: 10.1155/2017/1546125.
27. Mains RE, Eipper BA, Ling N. Common precursor to corticotropins and endorphins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74(7):3014-8. DOI: 10.1073/pnas.74.7.3014.
28. Loh HH, Tseng LF, Wei E, Li CH. beta-endorphin is a potent analgesic agent. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976;73(8):2895-8. DOI: 10.1073/pnas.73.8.2895.
29. Lee MW, S.L. Beta-Endorphin. In: Fink G, editor. *Encyclopedia of Stress*. 2 ed: Academic Press; 2007.
30. Comb M, Seeburg PH, Adelman J, Eiden L, Herbert E. Primary structure of the human Met- and Leu-enkephalin precursor and its mRNA. *Nature*. 1982;295(5851):663-6. DOI: 10.1038/295663a0.
31. Teschemacher H, Opheim KE, Cox BM, Goldstein A. Isolation. *Life Sciences*. 1975;16(12):1771-5. DOI: [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(75\)90271-4](https://doi.org/10.1016/0024-3205(75)90271-4).
32. Goldstein A, Fischli W, Lowney LI, Hunkapiller M, Hood L. Porcine pituitary dynorphin: complete amino acid sequence of the biologically active heptadecapeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78(11):7219-23. DOI: 10.1073/pnas.78.11.7219.
33. James IF, Fischli W, Goldstein A. Opioid receptor selectivity of dynorphin gene products. *J Pharmacol Exp Ther*. 1984;228(1):88-93.
34. Sharma SK, Klee WA, Nirenberg M. Opiate-dependent modulation of adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74(8):3365-9. DOI: 10.1073/pnas.74.8.3365.
35. North RA, Williams JT, Surprenant A, Christie MJ. Mu and delta receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(15):5487-91. DOI: 10.1073/pnas.84.15.5487.
36. Jin W, Lee NM, Loh HH, Thayer SA. Dual excitatory and inhibitory effects of opioids on intracellular calcium in neuroblastoma x glioma hybrid NG108-15 cells. *Mol Pharmacol*. 1992;42(6):1083-9.
37. Barg J, Belcheva MM, Rowiński J, Coscia CJ. kappa-Opioid agonist modulation of [3H]thymidine incorporation into DNA: evidence for the involvement of pertussis toxin-sensitive G protein-coupled phosphoinositide turnover. *J Neurochem*. 1993;60(4):1505-11. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1993.tb03314.x.
38. Nikolarakis KE, Almeida OFX, Yassouridis A, Herz A. Presynaptic auto- and allelo-receptor regulation of hypothalamic opioid peptide release. *Neuroscience*. 1989;31(1):269-73. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90049-3](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90049-3).
39. Woods AS, Kaminski R, Oz M, Wang Y, Hauser K, Goody R, et al. Decoy peptides that bind dynorphin noncovalently prevent NMDA receptor-mediated neurotoxicity. *J Proteome Res*. 2006;5(4):1017-23. DOI: 10.1021/pr060016+.
40. Kanemitsu Y, Hosoi M, Zhu PJ, Weight FF, Peoples RW, McLaughlin JS, et al. Dynorphin A inhibits NMDA receptors through a pH-dependent mechanism. *Mol Cell Neurosci*. 2003;24(3):525-37. DOI: 10.1016/s1044-7431(03)00214-8.
41. Shippenberg TS, Zapata A, Chefer VI. Dynorphin and the pathophysiology of drug addiction. *Pharmacol Ther*. 2007;116(2):306-21. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2007.06.011.
42. Chavkin C. Dynorphin--still an extraordinarily potent opioid peptide. *Mol Pharmacol*. 2013;83(4):729-36. DOI: 10.1124/mol.112.083337.
43. Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ. A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature*. 1997;386(6624):499-502. DOI: 10.1038/386499a0.
44. Gu Z-H, Wang B, Kou Z-Z, Bai Y, Chen T, Dong Y-L, et al. Endomorphins: Promising Endogenous Opioid Peptides for the Development of Novel Analgesics. *Neurosignals*. 2017;25(1):98-116. DOI: 10.1159/000484909.



45. Zadina JE, Gerall AA, Kastin AJH, L., Ge LJZ, X. Endomorphins: novel endogenous mu-opiate receptor agonists in regions of high mu-opiate receptor density. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;897:136-44.
46. Zadina JE, Nilges MR, Morgenweck J, Zhang X, Hackler L, Fasold MB. Endomorphin analog analgesics with reduced abuse liability, respiratory depression, motor impairment, tolerance, and glial activation relative to morphine. *Neuropharmacology.* 2016;105:215-27.
47. Zupančič O, Rohrer J, Thanh Lam H, Griebinger JA, Bernkop-Schnürch A. Development and in vitro characterization of self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for oral opioid peptide delivery. *Drug Dev Ind Pharm.* 2017;43(10):1694-702. DOI: 10.1080/03639045.2017.1338722.
48. Lalatsa A, Lee V, Malkinson JP, Zloh M, Schätzlein AG, Uchehgbu IF. A prodrug nanoparticle approach for the oral delivery of a hydrophilic peptide, leucine(5)-enkephalin, to the brain. *Mol Pharm.* 2012;9(6):1665-80. DOI: 10.1021/mp300009u.
49. Karls MS, Rush BD, Wilkinson KF, Vidmar TJ, Burton PS, Ruwart MJ. Desolvation Energy: A Major Determinant of Absorption, But Not Clearance, of Peptides in Rats. *Pharmaceutical Research.* 1991;8(12):1477-81. DOI: 10.1023/A:1015882030289.
50. Egleton RD, Mitchell SA, Huber JD, Palian MM, Polt R, Davis TP. Improved blood-brain barrier penetration and enhanced analgesia of an opioid peptide by glycosylation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;299(3):967-72.
51. Brownson EA, Abbruscato TJ, Gillespie TJ, Hruba VJ, Davis TP. Effect of peptidases at the blood brain barrier on the permeability of enkephalin. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;270(2):675-80.
52. Shen WC. Oral peptide and protein delivery: unfulfilled promises? *Drug Discov Today.* 2003;8(14):607-8. DOI: 10.1016/s1359-6446(03)02692-8.
53. Sadekar S, Thiagarajan G, Bartlett K, Hubbard D, Ray A, McGill LD, et al. Poly(amido amine) dendrimers as absorption enhancers for oral delivery of camptothecin. *Int J Pharm.* 2013;456(1):175-85. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.07.071.
54. Weng H, Hu L, Hu L, Zhou Y, Wang A, Wang N, et al. The complexation of insulin with sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl)amino]-caprylate for enhanced oral delivery: Effects of concentration, ratio, and pH. *Chinese Chemical Letters.* 2022;33(4):1889-94. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2021.10.023>.
55. Dan N, Samanta K, Almoazen H. An Update on Pharmaceutical Strategies for Oral Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins in Adults and Pediatrics. *Children (Basel).* 2020;7(12). DOI: 10.3390/children7120307.
56. Aroda VR, Blonde L, Pratley RE. A new era for oral peptides: SNAC and the development of oral semaglutide for the treatment of type 2 diabetes. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders.* 2022;23(5):979-94. DOI: 10.1007/s11154-022-09735-8.
57. Fan W, Xia D, Zhu Q, Li X, He S, Zhu C, et al. Functional nanoparticles exploit the bile acid pathway to overcome multiple barriers of the intestinal epithelium for oral insulin delivery. *Biomaterials.* 2018;151:13-23. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.022.
58. Chen G, Kang W, Li W, Chen S, Gao Y. Oral delivery of protein and peptide drugs: from non-specific formulation approaches to intestinal cell targeting strategies. *Theranostics.* 2022;12(3):1419-39. DOI: 10.7150/thno.61747.
59. Martin C, Dumitrascuta M, Mannes M, Lantero A, Bucher D, Walker K, et al. Biodegradable Amphipathic Peptide Hydrogels as Extended-Release System for Opioid Peptides. *Journal of Medicinal Chemistry.* 2018;61(21):9784-9. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01282.
60. Dasgupta A, Mondal JH, Das D. Peptide hydrogels. *RSC Advances.* 2013;3(24):9117. DOI: 10.1039/c3ra40234g.
61. [Leu]Enkephalin 2021 [Available from: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Leu\\_enkephalin](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Leu_enkephalin)].
62. Siew A, Le H, Thiovolet M, Gellert P, Schätzlein A, Uchehgbu I. Enhanced Oral Absorption of Hydrophobic and Hydrophilic Drugs Using Quaternary Ammonium Palmitoyl Glycol Chitosan Nanoparticles. *Molecular Pharmaceutics.* 2012;9(1):14-28. DOI: 10.1021/mp200469a.
63. Cheng WP, Gray AI, Tetley L, Hang Tle B, Schätzlein AG, Uchehgbu IF. Polyelectrolyte nanoparticles with high drug loading enhance the oral uptake of hydrophobic compounds. *Biomacromolecules.* 2006;7(5):1509-20. DOI: 10.1021/bm060130l.
64. Uchehgbu IF, Lane M, Schätzlein AG. Nanomedicines from polymeric amphiphiles. In: Torchilin VA, M., editor. *Handbook of Materials for Nanomedicine.* 1 ed: Jenny Stanford Publishing; 2011. p. 495-513.
65. Lindqvist A, Rip J, Gaillard PJ, Björkman S, Hammarlund-Udenaes M. Enhanced Brain Delivery of the Opioid Peptide DAMGO in Glutathione PEGylated Liposomes: A Microdialysis Study. *Molecular Pharmaceutics.* 2013;10(5):1533-41. DOI: 10.1021/mp300272a.
66. Lindqvist A. Quantitative Aspects of Nanodelivery Across the Blood-Brain Barrier : Exemplified with the Opioid Peptide DAMGO [Doctoral thesis, comprehensive summary]. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis; 2015.
67. Lewicky JD, Fraleigh NL, Martel AL, Nguyen TM, Schiller PW, Mousavifar L, et al. Improving the Utility of a Dynorphin Peptide Analogue Using Mannosylated Glycoliposomes. *Int J Mol Sci.* 2021;22(15). DOI: 10.3390/ijms22157996.

68. Gudmundsson OS, Pauletti GM, Wang W, Shan D, Zhang H, Wang B, et al. Coumarinic Acid-Based Cyclic Prodrugs of Opioid Peptides that Exhibit Metabolic Stability to Peptidases and Excellent Cellular Permeability. *Pharmaceutical Research*. 1999;16(1):7-15. DOI: 10.1023/A:1018828207920.
69. Laksitorini M, Kiptoo P, Siahaan T. Blood-Brain Peptides: Peptide Delivery. In: Kastin A, editor. *Handbook of Biologically Active Peptides*. 2 ed: Academic Press; 2013. p. 1702–10.
70. Ye Q, Asherman J, Stevenson M, Brownson E, Katre NV. DepoFoam technology: a vehicle for controlled delivery of protein and peptide drugs. *J Control Release*. 2000;64(1-3):155-66. DOI: 10.1016/s0168-3659(99)00146-7.
71. Cheng F, McLaughlin PJ, Verderame MF, Zagon IS. The OGF-OGFr axis utilizes the p16INK4a and p21WAF1/CIP1 pathways to restrict normal cell proliferation. *Mol Biol Cell*. 2009;20(1):319-27. DOI: 10.1091/mbc.e08-07-0681.