

واژه‌های کلیدی:

سامانه‌های رهایش
کنترل شده دارو
پلیمرزوم‌ها
کوپلیمرهای قطعه‌ای
دوگانه‌دوست
پلیمرهای حساس به محیط
سامانه‌های پاسخگو به محرک

مروری بر کاربرد پلیمرزوم‌ها در سامانه‌های نوین دارورسانی

آرزو مشاک^{۱*}، حمید موبدی^۱، آزاده غایی^۲

۱ تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، گروه سامانه‌های نوین دارورسانی

۲ تهران، دانشگاه تهران، دانشکده علوم و فنون نوین، گروه مهندسی علوم زیستی، بخش

مهندسی پزشکی

چکیده ...

پلیمرزوم‌ها، وزیکول‌هایی در مقیاس نانو هستند که توسط کوپلیمرهای قطعه‌ای دوگانه‌دوست تشکیل می‌شوند. این سامانه‌ها از خواصی چون ویژگی‌های مکانی، ماندگاری مناسب دارو در جریان خون و پایداری مطلوب برخوردارند؛ از اینرو کاربرد آن‌ها در رهایش کنترل‌شده‌ی مواد فعال زیستی مورد توجه قرار گرفته است. با انتخاب کوپلیمرهای قطعه‌ای مناسب، این سامانه‌ها قادرند با پاسخگویی به محرک‌های محیطی مانند دما، pH و عوامل اکسایش - کاهش، داروهای آب‌دوست و همچنین آب‌گریز را به‌طور کنترل شده در محل مشخص شده آزاد کنند. این توانایی به خصوص در رهایش داروهای ضدسرطان که عمدتاً آب‌گریز و نامحلول هستند مورد توجه قرار گرفته است. در این مقاله پلیمرزوم‌ها و کاربرد آن‌ها به‌عنوان حامل دارو معرفی می‌شود. روش‌های ساخت و سازوکار پاسخگویی به تغییرات محیطی تشریح شده، در نهایت سامانه‌های ساخته‌شده برای کنترل رهایش دارو، پروتئین، آنزیم و ژن معرفی می‌شوند.

*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

a.mashak@ippi.ac.ir

۱ مقدمه

لیپیدها و پلیمرها موادی هستند که به طور گسترده در صنعت پزشکی و داروسازی مورد توجه قرار گرفته‌اند. برای قرن‌ها این مواد از منابع طبیعی تهیه و عمدتاً به عنوان مواد پشتیبان یا افزودنی به کار برده می‌شدند. امروزه، با پیشرفت علم پزشکی، طیف وسیعی از لیپیدها و پلیمرهای طبیعی، نیمه‌صنعتی و صنعتی، در فرمول‌بندی داروها استفاده می‌شوند و امکان تولید فراورده‌های دارویی به شکل خوراکی، موضعی یا تزریقی را فراهم می‌آورند. با وجود اختلافات ساختاری قابل ملاحظه، لیپیدها و پلیمرها اغلب عملکرد مشابهی دارند. آن‌ها می‌توانند برای تهیه ماتریس‌های قابل حل، فرمول‌بندی‌های رهایش کنترل‌شده و سامانه‌های هدفمند کلژییدی شامل نانوذرات و وزیکول‌ها استفاده شوند یا برای بهبود فرایند نفوذ به کار روند. با این وجود، تفاوت‌هایی در خواص مکانیکی، نقطه ذوب، زیست‌تخریب‌پذیری، حلالیت و ...، آن‌ها را برای دستیابی به سامانه‌هایی با عملکرد متفاوت، مناسب می‌کند [۱-۲]. در این مقاله به ساختارهای وزیکولی تهیه شده از پلیمرهای مختلف اشاره خواهد شد. کاربرد این ساختارها در علم داروسازی به عنوان حامل‌های دارو مورد توجه قرار خواهد گرفت.

وزیکول‌ها گویچه‌هایی هستند که به صورت حفرات حاوی آب تشکیل شده‌اند. چنانچه این وزیکول‌ها از سرهم‌بندی فسفولیپیدهای طبیعی ساخته شوند؛ لیپوزوم نامیده می‌شوند و در صورتی که کوپلیمرهای قطعه‌ای دوگانه‌دوست، ساختار گویچه را تشکیل دهند پلیمرزوم نامیده می‌شوند.

پلیمرزوم‌ها دارای هسته‌ای آبی هستند که توسط دولایه از جنس کوپلیمری احاطه شده است. این غشای پلیمری باعث می‌شود وزیکول‌های محکم تری نسبت به لیپوزوم‌ها تشکیل شود. کاربرد پلیمرزوم‌ها در تهیه فراورده‌های دارویی، آرایشی و رنگ مورد توجه قرار گرفته است [۳-۴].

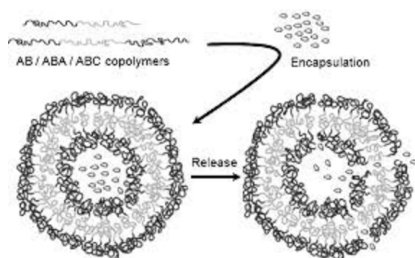
ویژگی‌هایی چون ویژگی‌های مکانی، ماندگاری مناسب دارو در جریان خون، امکان اصلاحات ساختاری متعدد و در نتیجه اثربخشی بهتر، پلیمرزوم‌ها را در مقایسه با لیپوزوم‌ها به گزینه مناسب‌تری برای بارگذاری دارو تبدیل کرده است. این مواد می‌توانند هم‌زمان مواد آب‌دوست را در هسته خود و مواد آب‌گریز را در غشای

لایه‌ای خود در بر بگیرند (شکل ۱) [۴].

سه دهه قبل، Zhang و همکاران [۵] در سال ۱۹۹۵ میلادی اولین گزارش در مورد تشکیل وزیکول‌ها با کوپلیمر پلی (استایرن)-b-پلی (آکرلیک اسید) را منتشر کردند که بعداً توسط Discher [۶] پلیمرزوم نامگذاری شد. در مطالعات بعدی ارتباط بین جرم مولی و ضخامت دولایه با خواص غشا در کوپلیمر پلی اتیلن گلیکول-b-پلی بوتادین مطالعه شد. از آن به بعد انتشار مقالات با تمرکز بر کاربرد لیپوزوم‌ها و پلیمرزوم‌ها برای بارگذاری داروهای آب‌دوست و آب‌گریز رشد چشمگیری داشته است [۲، ۷-۵].

اگرچه لیپوزوم‌ها از نظر ایمنی و تجزیه‌پذیری دارای مزایایی هستند، ماهیت شکننده لایه‌های لیپیدی و مشکلات موجود در فرمول‌بندی و عملکرد لیپیدها، توسعه آن‌ها را در موارد خاص نظیر سامانه‌های خوراکی رهایش کنترل‌شده‌ی دارو محدود می‌کند. از طرف دیگر ظهور پلیمرزوم‌ها، با تطبیق‌پذیری شیمیایی، پایداری و مقاومت بالا، فرصت‌های رهایشی جدید را ایجاد کرده است. وزیکول‌های پلیمری نسبت به لیپوزوم‌ها مزایایی چون داشتن خواص نفوذپذیری مناسب، ماندگاری مناسب دارو در جریان خون، امکان دستیابی به بازده بالای بارگذاری داروهای آب‌گریز با غشاهای ضخیم‌تر و همچنین بارگذاری هم‌زمان چند دارو و بالاخره امکان مهندسی دقیق ساختار پلیمری، متناسب با رهایش مطلوب و موردنظر دارند.

با وجود این هنوز نمونه تجاری فراورده‌های پلیمرزومی وارد بازار مصرف نشده است. این امر می‌تواند به دلیل دشواری و زمان‌بر بودن فرایند اخذ مجوزها و تأییدیه‌های لازم برای ماده افزودنی جدید



شکل ۱ طرح‌واره ساختار پلیمرزوم و رهایش دارو از آن [۴].

جدول ۱ معرفی برخی پلیمرها مورد استفاده در تهیه پلیمرزوم‌ها

کوپلیمر	ساختار شیمیایی	کوپلیمر	ساختار شیمیایی
PB-b-PEO		PIB-b-PEO	
PEG-PLA		PDMS-b-PEO	
PEE-b-PEO		PDMS-b-PMOXA	
PCL-b-PEO		PEG-PCL	

تنش برشی از طریق هم‌زدن یا به‌کاربردن جریان AC یا فراصوت، لایه‌های مختلف فیلم پس از هیدراته، جدا شده و می‌توانند وزیکول‌ها را در غلظت کم پلیمر ایجاد کنند. به این ترتیب هم‌زمان با تشکیل وزیکول‌ها، محلول حاوی دارو درون آن به دام افتاده و بارگذاری انجام می‌شود. با این روش می‌توان داروهای محلول در آب را بارگذاری کرد. برای مثال دوکسوروبیسین هیدروکلرید درون پلیمرزوم‌های مختلف بارگذاری شده است. همچنین داروهای آب‌گریز می‌توانند از قبل به همراه پلیمر به کمک حلال آلی مخلوط شده، در فیلم پلیمری قرار بگیرند. احتیاط‌های لازم بایستی در رابطه با سمیت حلال‌های آلی در نظر گرفته شوند. با این روش پاکلیتاکسل و کمپوتوسین درون غشای پلیمرزوم کپسوله شده‌اند. نتایج نشان داد. فرمول‌بندی‌های تهیه شده می‌توانند در دمای کمتر از دمای اتاق به مدت بیشتر از چهارماه پایدار بمانند [۱۰-۱۲].

در دومین راهبرد تهیه وزیکول‌های حاوی دارو از محلول یونیمری استفاده می‌شود. در این روش ابتدا پلیمر دوگانه‌دوست در حلال آلی حل می‌شود. انتخاب حلال برای انحلال قطعه آب‌دوست و آب‌گریز مرحله‌ای مهم و کلیدی است معمولاً از حلال‌هایی مثل دی‌متیل فرمامید (DMF)، تتراهیدروفوران و دی‌اکسان می‌توان استفاده کرد. برای مثال پس از انحلال کوپلیمرها در DMF به محلول به دست آمده آب اضافه می‌شود در این صورت

(Excipient) جدید توسط سازمان‌های نظارتی یا مربوط به مشکلات تولید مقیاس بالای نانوپلیمرزوم‌های تک‌توزیعی باشد [۲].

سامانه‌های تهیه شده از اختلاط لیپیدها و پلیمرها باعث افزایش کارایی سامانه‌های وزیکولی شده است. در وزیکول‌های دولایه هیبریدی پلیمر-لیپید خواص مکانیکی توسط بخش پلیمری و از طرف دیگر برهم‌کنش‌ها و افزایش نفوذپذیری توسط بخش لیپیدی تأمین می‌شود [۸]. جدول ۱ ساختار شیمیایی برخی پلیمرهای سازنده پلیمرزوم‌ها را نشان می‌دهد.

۲ بارگذاری دارو درون پلیمرزوم‌ها

برای بارگذاری دارو درون پلیمرزوم‌ها دو روش پیشنهاد می‌شود [۹]:

- حین فرایند تشکیل وزیکول‌ها
- پس از تشکیل وزیکول‌ها

۲-۱ بارگذاری دارو در حین فرایند تشکیل وزیکول‌ها

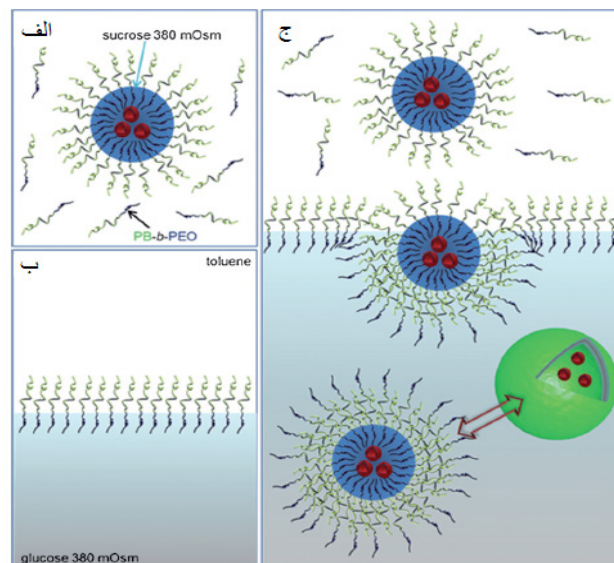
کپسوله کردن دارو درون پلیمرزوم‌ها با روش‌های مختلف امکان‌پذیر است. دو روش آب‌دار کردن فیلم پلیمری و تعویض حلال برای بارگذاری دارو، هم‌زمان با تشکیل وزیکول‌ها به کار می‌روند [۹]. در این روش ماتریس یا فیلم پلیمری درون محلول آبی یا محلول بافر که حاوی دارو است، قرار داده می‌شود. با اعمال

تولوئن و محلول آبی گلوکز ۳۸۰ mOsm ریخته می شود (شکل ۲ الف). کوپلیمر دوقطعه‌ای PB-b-PEO در تولوئن حل شده و قطرات امولسیون را در سطح مشترک پایدار می کند (تشکیل لایه کوچک تر داخلی) (شکل ۲ ب). در مرحله آخر نیروی گریز از مرکز و محلول غلیظ ساکارز (در مقایسه با گلوکز) درون قطرات، این قطرات را مجبور به عبور از سطح مشترک می کند. در این صورت لایه دوم و بزرگ تر وزیکول‌ها ساخته می شود (شکل ۲ ج) [۱۳]. امولسیون دوگانه آب/روغن/آب درون ابزارهای میکروسیالی، روش جایگزینی برای روش‌های معمولی ساخت پلیمرزوم‌ها است. در این روش سرهم‌بندی کوپلیمرها مستقیماً توسط قطرات امولسیون دوگانه حین تبخیر حلال آلی که برای حل کردن کوپلیمر استفاده شده بود انجام می‌شود [۹]. Theile و همکاران دستگاه میکروسیالی را طراحی کردند که وزیکول‌ها طی فرایند پیوسته و تکرارپذیری با قابلیت کنترل اندازه ذرات ساخته می‌شوند. در این روش از اختلاط دو حلال خودداری شده و با تزریق جداگانه مشکلاتی از قبیل تشکیل وزیکول‌ها در دیواره مجرا جلوگیری می‌شود [۱۴]. روش میکروسیالی برای کپسوله کردن رنگ‌های آب‌گریز و مولکول‌های آب‌دوست درون وزیکول‌های PEG-PLLA توسط Kim و همکاران استفاده شده است. با این روش

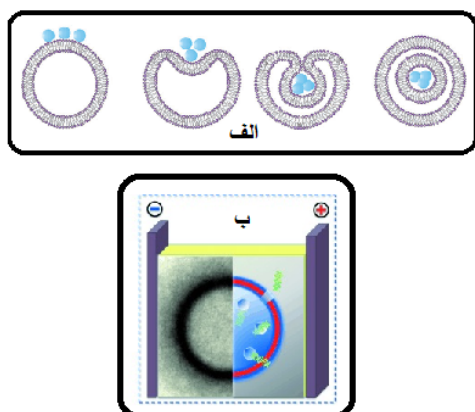
قطعه آب‌گریز کوپلیمر به دلیل اثر ضدحلالی آب، تجمع یافته، در نتیجه، محلول با تشکیل وزیکول‌ها کدر می‌شود. پس از آن می‌توان با کمک کیسه دیالیز حلال DMF را جداسازی کرد [۱۲].

یکی دیگر از روش‌های تهیه پلیمرزوم‌های حاوی دارو روش جابه‌جایی حلال یا رسوب گذاری نانو است. در این روش وزیکول‌های چندمحفظه‌ای با اندازه خیلی بزرگ به نام وزوزوم‌ها (Vesosomes) به روش امولسیونی تشکیل می‌شوند. بدین ترتیب که پلیمرزوم بزرگ حاوی پلیمرزوم کوچک تری است که پلیمرزوم‌های کوچک تر قبلاً از طریق آب‌زدایی فیلم حاوی دارو تشکیل شده بودند [۱۳].

سرعت رهایش داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین از وزوزوم‌های چندمحفظه‌ای توسط Marguet مورد بررسی قرار گرفته است. در این تحقیق پلیمرزوم‌های داخلی به روش نانورسوبی کوپلیمر قطعه‌ای PTMC-b-PGA تشکیل و سپس محلول تعلیقی حاصل درون پلیمرزوم‌های بزرگتر کوپلیمر قطعه‌ای PB-b-PEO از طریق امولسیون-سانتریفیوژ تثبیت شده است. به طور خلاصه در عمل، بخشی از امولسیون معکوس محلول آبی (در این مورد تعلیقی نانوپلیمرزوم PTMC-b-PGA با ساکارز ۳۸۰ mOsm sucrose در تولوئن بر روی سطح مشترک



شکل ۲ تشکیل وزوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین [۱۳].



شکل ۳ تهیه پلیمرزوم‌های حاوی دارو با استفاده از الف) فرایند شبه اندوسیتوزی، ب) میدان الکتریکی [۱۹-۱۸]

عوامل مختلفی بر سرعت رهایش دارو از پلیمرزوم‌ها موثر هستند. خواص شیمیایی و زیستی دارو و پلیمر از عوامل مهم هستند. معمولاً وزن مولکولی دارو، حلالیت آن در محیط بدن و امتزاج‌پذیری آن در ماتریس پلیمری بر منحني رهایش دارو تأثیرگذار است. هرچه دارو، خصلت آب‌دوستی بیشتری داشته باشد، به دلیل جذب آب و تخریب بیشتر دیواره ویزیکول‌ها، رهایش سریع‌تر اتفاق می‌افتد. در اصل، رهایش کنترل‌شده دارو از نانوحامل‌های پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر از طریق سازوکار نفوذ هدایت می‌شود که در آن نیروی محرکه نفوذ دارو به محیط، گرادیان غلظت دارو در ماتریس پلیمری است [۲۰، ۵]. از عوامل موثر بر نفوذپذیری دارو در پلیمرزوم‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد [۵]:

- ترکیب شیمیایی کوپلیمر قطعه‌ای (طول، ترکیب، هندسه مولکولی، حلالیت در آب)
- ضخامت غشای پلیمرزوم
- ضریب نفوذپذیری مولکول دارو درون کوپلیمر قطعه‌ای
- خصلت آب‌دوستی و آب‌گریزی مولکول‌های دارو
- باردار و بدون بار بودن مولکول‌های دارو
- میزان اسیدی بودن محیط بیرون و درون ویزیکول‌ها
- کوپلیمرهای قطعه‌ای مورد استفاده در ساختار ویزیکول‌ها نیز نقش موثری در سازوکار رهایش دارو ایفا می‌کنند. حساسیت هر قطعه به محرک خارجی همچون pH، شرایط اکسید-احیا، دما و تخریب آنزیمی، تولید ویزیکول‌های پاسخگو با قابلیت‌های

اندازه ویزیکول‌های تهیه‌شده را می‌توان کنترل کرد. برای تهیه ویزوزوم، ویزیکول‌های کوچک با قطر $5\mu\text{m}$ را درون ویزیکول‌های $30\mu\text{m}$ کپسوله کردند [۱۵]. در مقاله مروری که توسط Wang و همکاران منتشر شده به تهیه نانو و میکروذرات مختلف از جمله ویزیکول‌ها اشاره شده است [۱۶].

۲-۲ بارگذاری دارو پس از تشکیل ویزیکول‌ها

در این روش بارگذاری دارو پس از تشکیل ویزیکول‌ها انجام می‌شود. برای اولین بار Ahmed و همکاران بارگذاری پاکلیتاکسل را با تزریق به درون تعلیقی پلیمرزوم‌های PEG-PLA انجام دادند [۱۱]. Nahire و همکاران داروهای جمسیتابین و دوکسوروبیسین را پس از تشکیل ویزیکول‌های تهیه‌شده از PEG-S-S-PLA به روش گرادیان pH بارگذاری کردند. نتایج به دست آمده نشان داد بازده کپسوله‌شدن برای جمسیتابین و دوکسوروبیسین به ترتیب حدود ۴۵-۴۰ و ۲۷ درصد بوده است [۱۷]. الکترونفوژ (Electropermeabilisation) روش دیگری است که برای کپسوله کردن مولکول‌هایی نظیر DNA، پروتئین‌ها، mRNA یا داروهای زیست‌فعال در درون پلیمرزوم‌ها به کار می‌رود. این روش در زیست‌شناسی مولکولی برای انتقال مولکول‌های خارجی به درون سلول مورد استفاده قرار می‌گیرد. اصول کار، مبتنی بر استفاده از میدان الکتریکی خارجی است که باعث افزایش نفوذپذیری سطح غشایی می‌شود (شکل ۳) [۱۹-۱۸].

علاوه بر محرک‌های فیزیکی برای کپسوله کردن دارو، الهام گرفتن از طبیعت و نحوه ورود به درون سلول‌ها می‌تواند مفید باشد. در این راستا سازوکاری مبتنی بر فرایند اندوسیتوز پیشنهاد شده است. این روش توسط Jaskiewicz و همکاران با استفاده از پلیمرزوم‌های PDMS-PMOXA و نانوذرات پلی‌استایرن و SiO_2 مورد بررسی قرار گرفت. از طریق برهم‌کنش نانوذرات با غشای پلیمرزوم، انحنایی ایجاد می‌شود، با پیشرفت آن، پلیمرزوم کوچکی تشکیل می‌شود که همانند فرایند اندوسیتوز به داخل قسمت اصلی پلیمرزوم کشیده می‌شود. در نتیجه نانوذرات در حفره دولایه‌ای به دام می‌افتند [۱۹].

۳ سازوکار رهایش دارو از پلیمرزوم‌ها

Du و همکاران کوپلیمر دو قطعه‌ای PMPC-PDPA را برای تشکیل وزیکول‌های حساس به pH تهیه کردند. قطعه PDPA حساس به pH است نتایج مربوط به مطالعه با روش DLS نشان داد در pH اسیدی کوپلیمر در آب محلول است. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده به خاطر پروتون‌دار شدن گروه آمین نوع سوم در زنجیره‌های PDPA، دیواره وزیکول‌ها آب دوست‌تر شده و انحلال بیشتری نشان می‌دهند. با تجزیه وزیکول‌ها رهایش داروی کپسوله شده به سرعت اتفاق می‌افتد [۲۵]. پلیمرزوم‌های حاوی دو کسوروبیسین از پلی (اتیلن گلیکول)- پلی (ε-کاپرولاکتون)- پلی (گلوتامیک اسید) با اندازه ذره‌ای ۱۸۰ nm توسط Zhao و همکاران تهیه شده است. نتایج سنجش WST-1 نشان داد کوپلیمر سمیت کمی و سازگاری مناسبی پس از ۴۸ ساعت دارد. همچنین پلیمرزوم‌های حاوی دارو اثر ضدسرطانی بیشتری نسبت به داروی آزاد نشان می‌دهند [۲۶]. پلیمرزوم‌های تهیه شده از پلی اتیلن-گلیکول با انتهای کربوکسیل برای کپسوله کردن داروی آب دوست متوترکسات و داروی آب گریز کورکومین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد ابعاد وزیکول‌های کروی با اندازه ۷۰ nm می‌تواند با اسیدی شدن محیط افزایش یابد [۲۷].

۲-۴ پلیمرزوم‌های حساس به دما

توانایی پاسخگویی به دما در محلول پلیمری به این صورت است که با تغییر درجه حرارت، حداقل یکی از ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی (مانند حلالیت، تعادل آب دوستی-آب گریزی و صورت بندی) آن تغییر می‌کند. به طور کلی این پلیمرها دمای بحرانی‌ای دارند که با عبور از این دما تغییر فاز اتفاق می‌افتد. از اینرو به دو

مختلف را امکان پذیر می‌کند. در بیشتر کوپلیمرهای دو قطعه‌ای، پلی اتیلن گلیکول به عنوان قطعه آب دوست باعث افزایش حلالیت در محیط آبی می‌شود. همچنین پلی کاپرولاکتون، پلی (لاکتید) یا پلی (بوتادین) به عنوان قطعه‌های آب گریز استفاده می‌شوند. از طرف دیگر با تغییر درصد هر جزء قطعه در کوپلیمر نهایی می‌توان سرعت آزادسازی دارو را تنظیم کرد. مثلاً افزایش بخش PEG باعث آزادسازی سریع‌تر می‌شود. Rameez و همکاران از کوپلیمر دو قطعه‌ای با PCL و PLA به عنوان بخش آب گریز و PEO به عنوان بخش آب دوست برای تشکیل وزیکول‌های حامل اکسیژن بر پایه هموگلوبین استفاده کردند [۲۱].

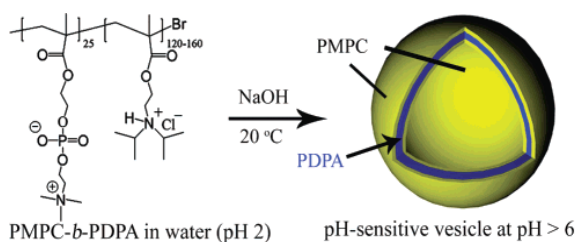
همچنین تشکیل وزیکول‌های پایدار در محیط آبی با استفاده از کوپلیمر سه قطعه‌ای ABA و ABC نیز مطالعه شده‌اند. کوپلیمرهای PEO-PCL-PEO-PDMS-PMOXA، PAA و PMOXA-PDMS-PMOXA برای بارگذاری داروهای مختلف بررسی شده‌اند [۲۲-۲۳].

نقش عوامل محیطی نیز بر سازوکار رهایش دارو مورد توجه قرار گرفته است. به طور کلی برای آزادسازی دارو از ساختار وزیکول‌ها روش‌های شیمیایی، فیزیکی و تنظیم نفوذپذیری دخیل هستند. در روش شیمیایی از عواملی چون تغییر pH، دما یا عوامل اکسندسته به نوع کوپلیمر سازنده وزیکول‌ها، برای خروج دارو استفاده می‌شود. از محرک‌های فیزیکی نیز می‌توان به اعمال فشار مکانیکی یا استفاده از پرتو UV اشاره کرد. در روش تنظیم نفوذپذیری نیز از محرک‌های فیزیکی و شیمیایی به طور هم‌زمان برای کنترل رهایش دارو استفاده می‌شود. مثلاً با تغییر شرایط محیطی با شبکه‌ای شدن ساختار کوپلیمری، رهایش دارو تنظیم می‌شود [۲۴، ۹].

۴-۱ پلیمرزوم‌های پاسخگو به محرک‌های محیطی

۱-۴ پلیمرزوم‌های پاسخگو به pH

pH اسیدی در بافت‌های ملتهب و یا تومورها (pH ۶.۸-۶) این امکان را مهیا می‌سازد که دارورسانی با استفاده از حامل‌های حساس به pH انجام شود. این وزیکول‌ها می‌توانند از کوپلیمرهای قطعه‌ای در pH بالاتر از pKa خود تشکیل شوند در این حالت بخش آب گریز شامل گروه‌های بدون بار هستند، پس از اسیدی شدن محیط، با یونیزه شدن گروه‌های عاملی و افزایش آب دوستی کوپلیمر، انحلال پذیری آن افزایش می‌یابد.



شکل ۴ ساختار شیمیایی کوپلیمر قطعه‌ای PMPC-PDPA [۲۵].

در ساختار خود قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی با آب است. با افزایش دما، به دلیل افزایش اغتشاش مولکولی، پیوند هیدروژنی تضعیف شده و برهم‌کنش پلیمر-آب کاهش یافته، در این صورت فاز پلیمری از حالت محلول خارج می‌شود. همچنین گروه آمین نوع دوم دارای بخش ایزوپروپیل آلکین با خصلت آب‌گریزی است که با افزایش دما، آب‌گریزی آن به دلیل برهم‌کنش پلیمر-پلیمر غالب خواهد شد. با توجه به برگشت‌پذیر بودن این فرایند، می‌توان تعادل آب‌دوستی-آب‌گریزی پلیمر را برای طراحی سامانه مناسب دارورسانی در جهت مناسب هدایت کرد [۲۷، ۵].

گروه‌های تحقیقاتی راهی یافته‌اند تا بتوانند LCST مربوط به این پلیمر را در دمای بالاتری تنظیم کنند. برای دستیابی به دمای بالاتر می‌توان از کوپلیمر شدن مونومر NIPAAm با مونومری آب‌دوست استفاده کرد. درحقیقت مونومر آب‌دوست، تعادل آب‌دوستی-آب‌گریزی را به سمت آب‌دوستی جابه‌جا می‌کند که منجر به برهم‌کنش بیشتر با مولکول‌های آب اطراف می‌شود. در این صورت پیوند هیدروژنی بیشتری تشکیل خواهد شد. این امر به نوبه خود به دمای بالاتری برای غلبه بر این پیوندهای هیدروژنی جدید نیاز دارد. نتیجه این خواهد بود که در دمای بالاتر زنجیرهای کوپلیمر، خودسرهم‌بندی را انجام خواهند داد [۲۸، ۵].

برای اولین بار استفاده از PNIPAAm به عنوان نانوحامل دارو در اواخر دهه ۹۰ میلادی توسط Gammas گزارش شده است. آن‌ها وزیکول‌های کوپلیمر PNIPAAm و قطعه‌هایی مانند پلی‌استایرن یا پلی‌L-لاکتید را برای کپسوله کردن دوکسوروبیسین سنتز کردند و سرعت رهایش دارو و زنده‌مانی سلولی را در دمای ۳۷ و ۴۲/۵°C ارزیابی کردند [۲۹].

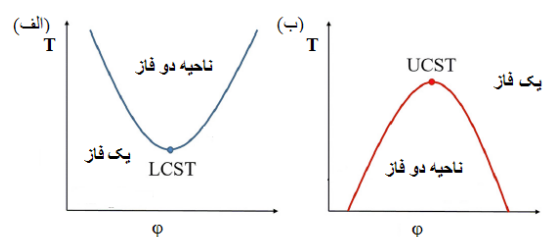
با وجود موفقیت‌هایی که در مطالعات اولیه و دانشگاهی بر روی این گونه کوپلیمرها انجام شده، پیشرفتی از نانوحامل‌های پلیمری پاسخگو به دما پس از مرحله بالینی گزارش نشده است. این در حالی است که لیپوزوم‌های پاسخگو به دما پیشرفت‌های بیشتری داشته‌اند تاجایی که فرآورده Thermo Dox® برای رهایش داروی دوکسوروبیسین در محل تومورهای سرطانی تهیه شده است [۳۰].

۳-۴ پلیمرزوم‌های حساس به عوامل اکسایش-کاهش

گروه تقسیم می‌شوند: پلیمرهایی که در نتیجه افزایش دما حل می‌شوند یا پلیمرهای دارای دمای انحلال بحرانی بالاتر (UCST) و آن‌هایی که با افزایش دما نامحلول می‌شوند یا پلیمرهای دارای دمای انحلال بحرانی پایین‌تر (LCST). در هر دو مورد برای پلیمرهای LCST و پلیمرهای UCST، تعادلی در برهم‌کنش پلیمر-پلیمر یا پلیمر-محیطی آبی وجود دارد. در حقیقت دمای محلول تعیین می‌کند که زنجیره پلیمری با یک زنجیره دیگر یا با محیط اطرافش برهم‌کنش بیشتری داشته باشد. در موردی که برهم‌کنش پلیمر-پلیمر غالب است، زنجیرها تمایل دارند به هم وصل شده، تعلیقی‌کداری تشکیل شود و برعکس. مثلاً برای پلیمرهای LCST در دمای بالاتر از نقطه LCST پلیمر و مولکول‌های محیط اطراف نمی‌توانند برهم‌کنش داشته باشند در نتیجه با جمع شدگی زنجیرهای پلیمری، محلول‌کداری تشکیل می‌شود (شکل ۵) [۵].

از این خاصیت در سامانه‌های دارورسانی و زیست‌فناوری استفاده می‌شود. برای مثال در مواردی که دمای توده توموری نسبت به دمای بدن بالاتر است می‌توان با انطباق دمای انحلال بحرانی، پلیمری حساس به دما در محدوده‌ی دمای بدن و دمای تومور، سامانه‌ای را برای رهایش کنترل شده داروی ضدسرطان طراحی کرد.

در سال‌های اخیر، نانوحامل‌های حساس به دما مورد توجه بیشتری قرار گرفته‌اند. اگرچه طیف وسیعی از کوپلیمرهای قطعه‌ای پاسخگو به دما سنتز شده‌اند اما پلی-N-ایزوپروپیل آکریل آمید PNIPAAm با LCST بین ۳۰ تا ۳۴ درجه سانتی‌گراد، کاربردهای متنوعی در طراحی سامانه‌های دارورسانی دارد. این پلیمر دارای گروه آویزان آمید نوع دوم است و به دلیل زوج الکترون‌های موجود



شکل ۵ دیاگرام فازی محلول پلیمری الف) LCST ب) UCST.

بطور کلی، سامانه ایده‌آل دارورسانی کنترل شده برپایه پلیمرزوم‌ها دارای خواصی چون زیست‌سازگاری، زیست تخریب‌پذیری و سهولت عامل‌دار شدن هستند. این مواد می‌توانند به عنوان حامل داروهای آبدوست، آبگریزی، پروتئین‌ها و ژن‌ها بکار روند.

۱-۵ پلیمرزوم‌ها به عنوان حامل داروهای آب دوست

Danafara از کوپلیمر mPEG-PCL برای بارگذاری داروی آب دوست آناپریل مائتات استفاده کرد. نتایج به دست آمده از آزمون TEM نشان داد اندازه وزیکول‌های به دست آمده حدود ۸۰ nm بوده، بازده کپسوله شدن ۸۵ درصد است [۳۵]. متوکسی-پلی (اتیلن گلیکول)، mPEG اصلاح شده با گروه‌های جانبی اتیل P-آمینوبنزوات (EAB) توسط Xu و همکاران برای تهیه پلیمرزوم‌های پلی فسفازن استفاده شده است. پلیمرزوم‌های تهیه شده قادرند داروی آب دوست دوکسوروبیسین هیدروکلرید و همچنین داروی آب-گریز دوکسوروبیسین پایه را کپسوله کنند [۳۶]. پلیمرزوم‌های حساس به دمای پلی فنولیک با اندازه ذرات کمتر از ۵۰۰ nm از کوپلیمر دو قطعه‌ای PVCLn-PVPONm با تانیک اسید که پلی فنولی آب کافت شونده است توسط Kozlovskaya تهیه شده است. توانایی کپسوله کردن دوکسوروبیسین و درشت مولکول فلورسین ایزوتیوسیانات FITC-دگستران درون پلیمرزوم‌های تهیه شده در دما و pH فیزیولوژی، مورد مطالعه قرار گرفت [۳۷]. پراواستاتین Paravastatin اولین بار در وزیکول‌های پلیمری PMOXA-PDMS-PMOXA بارگذاری شده، توانایی آن برای درمان پلاک‌های آترواسکلروتیک آسیب‌پذیر (دلیل بروز حمله قلبی) بررسی شد [۳۸].

۲-۵ پلیمرزوم‌ها به عنوان حامل داروهای آب گریز

پاکلیتاکسل (Tax) یکی از پرمصرف‌ترین داروهای ضدسرطان آب‌گریز است. این دارو در آب حلالیت کمی دارد. در مطالعات Burt و همکاران، پاکلیتاکسل در لایه آب‌گریز وزیکول‌های پلیمری PB-PEO بارگذاری شده است. البته وزیکول‌های پلیمری بارگذاری شده با پاکلیتاکسل زمانی که بر روی سلول‌های سرطانی سینه انسانی آزموده شدند در مقایسه با پاکلیتاکسل آزاد سمیت سلولی کمتری نشان دادند. وزیکول‌های پلیمری PB-PEO ممکن است ظرفیت بارگذاری کمتری (۱۳٪) در مقایسه با ساختار میسلی (بیشتر از ۲۵٪) داشته باشند؛ اما آن‌ها

کاربرد وزیکول‌های پلیمری حساس به اکسایش در زمینه درمانی، زیست‌حسگرها و زیست‌آشکارسازها مورد توجه قرار گرفته است. Napoli و همکاران از پلی (پروپیلن سولفید) (PPS) به عنوان قطعه آب‌گریز با PEG برای تشکیل کوپلیمر قطعه‌ای ABA استفاده کردند. پایین بودن دمای انتقال شیشه‌ای (T_g) پلیمر PPS، تشکیل وزیکول در دمای اتاق را بدون استفاده از کمک حلال، امکان‌پذیر می‌کند. بخش آب‌گریز مرکزی وزیکول‌ها یعنی PPS با تبدیل به سولفون‌ها اکسید می‌شود و بدین ترتیب خلصت آب دوستی وزیکول‌ها را افزایش می‌دهد [۳۱]. با تثبیت گلوکز اکسیداز (GOD) در پلیمرهای حساس به pH، وزیکول‌های حساس به گلوکز ساخته می‌شوند. گلوکونیک اسید که از واکنش گلوکز با GOD به دست آمده سبب اسیدی شدن محیط اطراف وزیکول شده، با تغییر ساختاری آن رهایش دارو اتفاق می‌افتد. Tai و همکاران از پلیمر دو قطعه‌ای PEG و پلی سرین اصلاح شده با کتال برای تهیه وزیکول‌های حساس به گلوکز حاوی انسولین نوترکیب انسانی (Recombinant Human Insulin) و GOD استفاده کردند [۳۲].

پلیمرهای دارای پیوندهای دی سولفیدی بین قطعه‌های آب‌گریز و آب دوست مورد توجه قرار گرفته‌اند. این پلیمرها به دلیل ثبات در محیط خارج سلولی و ناپایداری در محیط داخل سلول به دلیل اکسایش-کاهش قادر به آزادسازی دارو هستند. سامانه کوپلیمری پاسخگو به اکسایش-کاهش با پیوند دی سولفیدی برای تهیه پلیمرزوم‌های متوکسی پلی اتیلن گلیکول-پلی کاپرولاکتون (mPEG-SS-PCL-OH) حاوی دوکسوروبیسین با اندازه ذره‌ای ۱۲۰ nm استفاده شده است. نمونه‌ها با بازده ۸۶ درصد تهیه شده، تحت آزمون‌های برون‌تنی و درون‌تنی قرار گرفت. پایداری کلژییدی پلیمرزوم‌های حاوی دارو، حدود ۷۲ ساعت گزارش شده است [۳۳]. برای کپسوله کردن دوکسوروبیسین از پلیمرزوم‌های تهیه شده از خودسره‌بندی پلی (اتیلن گلیکول)-b-پلی (تری متیلن کربنات-کو-دی تیولان تری متیلن کربنات) (PEG-P(TMC-DTC)) و (PEG-P(TMC-DTC)) عامل‌دار شده با eNGQGEQc استفاده شده است. حلقه دی تیولان در ساختار پلیمرزوم نقش اکسنده دارد و می‌تواند به عوامل اکسایش پاسخ دهد [۳۴].

۵ نقش پلیمرزوم‌ها به عنوان حامل دارو

سرم گاوی را به عنوان مدل پروتئینی در کوپلیمر سه قطعه‌ای دو محیط دوسط PEO-PCL-PLA کپسوله کردند. پروتئین بر سطح خارجی وزیکول‌های پلیمری پیوند شده بود. این وزیکول‌های پلیمری زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر و همچنین مورد تأیید سازمان FDA هستند. بازده بارگذاری و امکان کپسوله کردن پروتئین‌های کوچک مورد مطالعه قرار گرفته است. همچنین وزیکول‌های پلیمری PEO-PLA و PEO-PCL برای کپسوله کردن هموگلوبین استفاده شده است [۲۲-۲۱]. اندازه گیری اتصال اکسیژن نشان داد که فرایند کپسوله شدن اثری بر خواص اتصال هموگلوبین ندارد. Li و همکاران از پلیمرزوم‌های پاسخگو به pH تهیه شده از ۲- (۳- (۵- آمینو ۱- کربوکسیپنتیل) - اورئیدو) - پنتان دی‌اوتیک اسید ۲- [۳- (۵- amino-1-carboxypentyl)-ureido]-pentanedioic acid برای کپسوله کردن آلبومین سرم گاوی و سیتوکروم C استفاده کردند [۴۶]. در مطالعه انجام شده توسط علی‌بلندی و همکاران از کوپلیمر دکستران- پلی (لاکتید-کو- گلیکولیک اسید) برای کپسوله کردن انسولین استفاده کردند. این سامانه با بازده کپسوله شدن حدود ۹۰ درصد تهیه شد و آزمون‌های برون تنی و درون تنی برای تجویز خوراکی آن انجام شد [۴۷].

۵-۵ پلیمرزوم‌ها به عنوان حامل آنزیم

آنزیم‌ها می‌توانند در درمان بیماری مورد استفاده قرار بگیرند ولی در بدن طول عمر کوتاهی دارند، به همین دلیل برای افزایش پایداری، کپسوله کردن آن‌ها در لیپوزوم‌ها و پلیمرزوم‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات Meier و همکاران نشان داد پروتئین‌های عملکردی می‌توانند در لایه‌های پلیمری وزیکول‌های تهیه شده از کوپلیمر سه قطعه‌ای PMOXA-PDMS متصل شوند. این وزیکول‌ها قادر خواهند بود که نقش نانوراکتور را داشته باشند؛ در این صورت آنزیم‌ها و پروتئین‌های کانالی متنوعی را حمل کنند. برای مثال نانوراکتورهای پلیمرزومی از این کوپلیمر سه قطعه‌ای سنتز شده، می‌توانند پروتئین کانالی Ompf, β -لاکتاماز، هیدرولاز نوکلئوزید، هورس رادیش پراکسیداز (Horseradish Peroxidase) و تریپسین را حمل کنند. باید اشاره کرد که نانوراکتورهای عملکردی فقط زمانی به دست می‌آید که پروتئین‌های کانالی مانند

ماندگاری بیشتر (حدود ۴ ماه) و رهایش کندتری در مدت زمان دو هفته نشان می‌دهند [۳۹]. همچنین از پلیمرزوم‌های تهیه شده از mPEG-PCL و mPEG-PDLLA و شکل اصلاح شده DMS-PMOXA برای بارگذاری پاکلیتاکسل استفاده شده است [۴۰-۴۱].

فلوتامید عامل ضد آندروژنی غیراستروئیدی است که به دلیل انحلال پذیری کم و نیمه عمر ۵-۶ ساعته دارای فراهمی زیستی پایینی است. استفاده از پلیمرزوم‌ها برای کپسوله کردن این دارو می‌تواند راهکار مناسبی برای افزایش فراهمی زیستی آن باشد. Youssef و همکاران از کوپلیمر PEG-PCL برای ساخت وزیکول‌های حاوی فلوتامید استفاده کردند. اندازه پلیمرزوم‌های تهیه شده حدود ۱۵۰ nm گزارش شده است. آزمون‌های پایداری نیز افزایش پایداری در مقایسه با نمونه لیپوزومی را نشان می‌دهد [۴۲].

۳-۵ پلیمرزوم‌ها به عنوان حامل داروهای چندگانه

دوکسوروبیسین و پاکلیتاکسل هر دو برای بهبود محدودیت‌های حلالیتی و اثر سمیت سلولی در وزیکول‌های پلیمری بارگذاری شده‌اند. مخلوط کوپلیمرهای قطعه‌ای PEG-PLA و PEG-PB برای تهیه وزیکول‌های پلیمری حاوی هر دو دارو مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اثر سامانه کنترل رهایش دارو بر روی مدل‌های موش و سلول‌های سرطان سینه انسان مورد بررسی قرار گرفت. وزیکول‌های حاوی دو دارو پس از ۲ روز ۲/۵ برابر اثر آپوپتوز نشان دادند [۴۳]. پلیمرزوم‌های ساخته شده از کوپلیمر پلی اتیلن گلیکول- کلسترول و زنجیر دسیل برای بارگذاری سه داروی مختلف شامل: دوکسوروبیسین، ۵- فلورو اوراسیل و لوکوورین استفاده شده است. وزیکول‌های بارگذاری شده با مخلوط هر سه دارو به طور هم‌زمان دارای اندازه ذره حدود ۱۳۳ nm بودند [۴۴]. پلیمرزوم‌های تهیه شده از کوپلیمر متوکسی- پلی (اتیلن گلیکول)- پلی (ε- کاپرولاکتون)- پلی (گلوتامیک اسید) برای کپسوله کردن دوکسوروبیسین و وراپامیل هیدروکلرید توسط Li و همکاران استفاده شده است. نتایج آزمون‌های برون تنی نشان داد که سامانه، حساس به pH بوده، سرعت رهایش هر دو دارو نسبت به نمونه شاهد کندتر شده است [۴۵].

۴-۵ پلیمرزوم‌ها به عنوان حامل پروتئین

Wittmann و همکاران در سال ۲۰۰۷ آلبومین

زنجیره جانبی ایمیدازولی حساس به pH توسط اسیدفولیک به عنوان بخش هدف (Targeting-moiety) عاملدار شده است. در pH=7/4 کوپلیمرهای PEG-pImHeMA-pGMA درون پلیمرزوم‌ها سرهم می‌شوند و در pH=5-6/5 ساختار آن تغییر کرده، دچار تجزیه می‌شود. این پلیمرزوم‌ها توانایی بارگذاری و رهایش الیگونوکلوئوتیدهایی با وزن مولکولی حدود 13/3 kDa با بازده کپسوله شدن 5/4% مولی را دارند [50].

۶ نتیجه‌گیری و چشم‌اندازهای آینده

در این مقاله تهیه و کاربرد سامانه‌های دارورسانی برپایه کوپلیمرهای قطعه‌ای سنتزی حساس به عوامل خارجی معروف به پلیمرزوم‌ها تشریح شده است. این سامانه‌ها با پاسخگویی به تغییرات شرایط محیطی همچون دما، میزان اسیدی بودن محیط و عوامل اکسایش/کاهش امکان تنظیم دقیق زمان و محل رهایش دارو را فراهم می‌کنند. از این رو، شرایط بارگذاری و ساخت سامانه‌های حاوی داروها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک مختلف و سازوکار رهایش بررسی شده است. خصوصیات فیزیکی شیمیایی و نفوذپذیری وزیکول‌های پلیمری ساخته شده، توانایی رهایش نسبتاً کنترل شده را از این نوع سامانه‌ها فراهم می‌آورد. هرچند خواص مناسب این سامانه‌ها، فرصتی عالی برای توسعه سامانه‌های درمانی انعطاف‌پذیر و موثر در جامعه علمی ارائه می‌دهند؛ با این حال، برای غلبه بر محدودیت‌هایی همچون بازده کم بارگذاری دارو و وجود باقی‌مانده حلال‌های آلی در محصول نهایی بایستی تحقیقات در زمینه فرمول‌بندی‌های پلیمرزومی سنتزی بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

Ompf (The Outer Membrane Protein F) درون پلیمرزوم درج شده باشند تا نفوذپذیری غشا از طریق بردن مواد به درون و انتقال محصولات به محیط خارج کنترل شود [48، 49].

۵-۶ پلیمرزوم‌ها به عنوان حامل ژن

توانایی رهایش ایمن و دقیق مواد ژنتیکی به محل هدف در محیط‌های پیچیده زیستی برای موفقیت ژن‌درمانی بسیار مهم است. وکتورهای ویروسی و غیرویروسی زیادی به دلیل ایمنی و اثربخشی آن‌ها ایجاد و ارزیابی شده است. پلیمرها به عنوان وکتورهای غیرویروسی نیز برای درمان اختلالات ژنتیکی مورد توجه قرار گرفته‌اند. از این رو، برای رهایش کنترل شده ژن‌درمانی از وزیکول‌های پلیمری حامل DNA پلاسمیدی استفاده می‌شود [49]. در مطالعات انجام شده توسط Battaglia و همکاران DNA در وزیکول‌های پلیمری PMPC-PDPA کپسوله شد. این وزیکول‌ها به pH حساس هستند و می‌توانند محتویات خود را در محیط اسیدی (pH 5/5) در اندوزوم‌ها و لیزوزوم‌ها آزاد کنند. آزمایش‌های لومیفراز لومینسنس نشان داده که این پلیمرزوم می‌تواند از DNA در مدت زمان دو هفته در محیط آبی محافظت کند. همچنین در مقایسه با لیپیدهای تجاری در دسترس، دارای سمیت سلولی کمتری است [10].

Gallon و همکاران برای رهایش الیگونوکلوئوتید فعال، وزیکول‌های حساس به pH را از سه قطعه‌ای PEG- b-pImHeMAb- pGMA این پلیمرزوم‌ها از دو قطعه آب‌دوست انتهایی از جنس PEG و پلی‌گلیسرول متاکریلات و قطعه مرکزی پلی‌ایمیدازول - هگزیل متاکریلات (Poly-ImHeMA) تشکیل شده است.

مراجع

- Allen L.V., Ansel H.C., Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Wolters Kluwer, 10th ed., Philadelphia, USA, **2013**.
- Siepmann J., Faham A., Clas S., Boyd B., Jannin V., Bernkop-Schnürch A., Zhao H., Lecommandoux S., Evans J., Allen C., Merkel O., Costabile G., Alexander M., Wildman R., Roberts C., Leroux J., Lipids and Polymers in Pharmaceutical Technology: Lifelong Companions, *International Journal of Pharmaceutics*, 558, 128–142, **2019**.
- Zhang X., Zhang P., Polymersomes in Nanomedicine - A Review, *Current Nanoscience*, 13, 124-129, **2017**.
- Onaca O., Enea R., Hughes D., Meier W., Stimuli-Responsive Polymersomes as Nanocarriers for Drug and Gene Delivery, *Macromolecular Bioscience*, 9, 129–139, **2009**.
- Zhang, L., Eisenberg, A., Multiple Morphologies of "Crew-Cut" Aggregates of Polystyrene-b-Poly(Acrylic Acid) Block Copolymers, *Science*, 268, 1728–1731, **1995**.
- Discher B.M., Won Y.Y., Ege D.S., Lee J.C.M., Bates F.S., Discher D.E., Hammer D.A., Polymersomes: Tough Vesicles Made from Diblock Copolymers, *Science*, 284, 1143–1146, **1999**.
- Shahriari M., Taghdisi S.M., Abnous K., Ramezani M., Synthesis of Hyaluronic Acid-based Polymersomes for Doxorubicin Delivery to Metastatic Breast Cancer, *International Journal of Pharmaceutics*, 572, 118835, **2019**.
- Peyret A., Zhao H., Lecommandoux S., Preparation and Properties of Asymmetric Synthetic Membranes based on Lipid and Polymer Self-assembly, *Langmuir*, 34, 3376–3385, **2018**.
- Messenger L., Gaitzsch J., Chierico L., Battaglia G., Novel Aspects of Encapsulation and Delivery Using Polymersomes, *Current Opinion in Pharmacology*, 18, 104–111, **2014**.
- Battaglia G., Ryan A.J., Pathways of Polymeric Vesicle Formation, *Journal of Physical Chemistry B*, 110, 10272-10279, **2006**.
- Ahmed F., Pakunlu R.I., Brannan A., Bates F., Minko T., Discher D.E., Biodegradable Polymersomes Loaded with Both Paclitaxel and Doxorubicin Permeate and Shrink Tumors, Inducing Apoptosis in Proportion to Accumulated Drug, *Journal of Controlled Release*, 116:150-158, **2006**.
- Hu Y., Qiu L. Polymersomes: Preparation and Characterization. In: Weissig V., Elbayoumi T. (eds) Pharmaceutical Nanotechnology. Methods in Molecular Biology, Humana, New York, NY, **2019**.
- Marguet M., Edembe L., Lecommandoux S., Polymersomes in Polymersomes: Multiple Loading and Permeability Control, *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 1173-1176, **2012**.
- Thiele J., Abate A.R., Shum H.C., Bachtler S., Forster S., Weitz D.A., Fabrication of Polymersomes Using Double-Emulsion Templates in Glass-Coated Stamped Microfluidic Devices, *Small*, 6, 1723-1727, **2010**.
- Kim S.H., Nam J., Kim J.W., Kim D.H., Han S.H., Weitz D.A., Formation of Polymersomes with Double Bilayers Templated by Quadruple Emulsions, *Lab on a Chip*, 13, 1351-1356, **2013**.
- Wang J., Li Y., Wang X., Wang J., Tian H., Zhao P., Tian Y., Gu Y., Wang L., Wang C., Droplet Microfluidics for the Production of Microparticles and Nanoparticles, *Micromachines*, 8, 22, **2017**.
- Nahire R., Haldar M.K., Paul S., Ambre A.H., Meghna V., Layek B., Katti K.S., Gange K.N., Singh J., Sarkar K., Mallik S., Multifunctional Polymersomes for Cytosolic Delivery of Gemcitabine and Doxorubicin to Cancer Cells, *Biomaterials*, 35, 6482-97, **2014**.
- Wang L.G., Chierico L., Little D., Patikarnmonthon N., Yang Z., Azzouz M., Madsen J., Armes S.P., Battaglia G., Encapsulation of Biomacromolecules within Polymersomes by Electroporation, *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 11122-11125, **2012**.
- Jaskiewicz K., Larsen A., Lieberwirth I., Koynov K., Meier W., Fytas G., Kroeger A., Landfester K., Probing Bioinspired Transport of Nanoparticles into Polymersomes, *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 4613-4617, **2012**.
- Zhao Y., Li X., Zhao X., Yang Y., Li H., Zhou X., Yuan W., Asymmetrical Polymer Vesicles for Drug Delivery and Other Applications, *Frontiers in Pharmacology*, 8, 374, **2017**.
- Rameez S., Alostha H., Palmer A. F., Biocompatible and Biodegradable Polymersome Encapsulated Hemoglobin: A Potential Oxygen Carrier, *Bioconjugate Chemistry*, 19, 1025, **2008**.
- Witte mann A., Azzam T., Eisenberg A., Biocompatible Polymer Vesicles from Biamphiphilic Triblock Copolymers and Their Interaction with Bovine Serum Albumin, *Langmuir*, 23, 4, 2224-2230, **2007**.
- Bain J., Berry M.E., Dirks C.E., Staniland S.S., Synthesis of ABA Tri-Block Co-Polymer Magnetopolymersomes via

- Electroporation for Potential Medical Application, *Polymers*, 7, 2558-2571, **2015**.
24. Yassin M.A., Appelhans D., Mendes R.G., Rummeli M.H., Voit B., pH-Dependent Release of Doxorubicin from Fast Photo-Cross-Linkable Polymersomes Based on Benzophenone Units, *Chemistry-A European Journal*, 18, 12227-12231, **2012**.
25. Du J., Tang Y., Lewis A. L., Armes S. P., pH-Sensitive Vesicles Based on a Biocompatible Zwitterionic Diblock Copolymer, *Journal of the American Chemical Society*, 127, 17982, **2005**.
26. Zhao L., Zhang X., Liu X., Li J., Luan Y., pH-responsive Poly(ethylene glycol) -Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(glutamic acid) Polymersome as an Efficient Doxorubicin Carrier for Cancer Therapy, *Polymer International*, 66, 1579-1586, **2017**.
27. Bordat A., Boissenot T., Nicolas J., Tsapis N., Thermoresponsive Polymer Nanocarriers for Biomedical Applications, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 138, 167-192, **2019**.
28. Qin S., Yan Geng Y., Dennis E. Discher D.E., Yang S., Temperature-Controlled Assembly and Release from Polymer Vesicles of Poly(ethylene oxide)-block-poly(N-isopropylacrylamide), *Advanced Materials*, 18, 2905-2909, **2006**.
29. Gammas S., Suzuki K., Sone C., Sakurai Y., Kataoka K., Okano T., Thermo-Responsive Polymer Nanoparticles with a Core-Shell Micelle Structure as Site-Specific Drug Carriers, *Journal of Controlled Release*, 48, 157-164, **1997**.
30. Celsion Corporation, ThermoDox®, Enhancing the Efficacy of Doxorubicin with Heat-activated Liposome Technology, <https://celsion.com/thermodox/>, htm available in 22, December **2019**.
31. Napoli A., Tirelli N., Kilcher G., Hubbell J. A., New Synthetic Methodologies for Amphiphilic Multiblock Copolymers of Ethylene Glycol and Propylene Sulfide, *Macromolecules*, 34, 8913-8917, **2001**.
32. Tai W., Mo R., Di J., Subramanian V., Gu X., Buse J.B., Gu Z., Bio-Inspired Synthetic Nanovesicles for Glucose-Responsive Release of Insulin, *Biomacromolecules*, 15, 3495-3502, **2014**.
33. Nehate C., Nayal A., Koul V., Redox Responsive Polymersomes for Enhanced Doxorubicin Delivery, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5, 1, 70-80, **2019**.
34. Zou Y., Meng F., Deng C., Zhong Z., Robust, Tumor-Homing and Redox-Sensitive Polymersomal Doxorubicin: A Superior Alternative to Doxil and Caelyx?, *Journal of Controlled Release*, 239, 149-158, **2016**.
35. Danafara H., Synthesis and Characterization of mpeg-PCL Copolymers as a Polymersomes for Delivery of Enalapril as a Model Hydrophilic Drug, *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14, 25-38, **2018**.
36. Xu J., Zhao Q., Jin Y., Qiu L., High Loading of Hydrophilic/Hydrophobic Doxorubicin into Polyphosphazene Polymersome for Breast Cancer Therapy, *Nanomedicine*, 10, 349-58, **2014**.
37. Kozlovskaya V., Liu F. Xue B. Ahmad F., Alford A., Saeed M., Kharlampieva E., Polyphenolic Polymersomes of Temperature-Sensitive Poly(N-vinylcaprolactam)-block-Poly(N-vinylpyrrolidone) for Anticancer Therapy, *Biomacromolecules*, 18, 2552-2563, **2017**.
38. Broz P., Ben-Haim N., Grzelakowski M., Marsch S., Meier W., Hunziker P., Inhibition of Macrophage Phagocytotic Activity by a Receptor-Targeted Polymer Vesicle-Based Drug Delivery Formulation of Pravastatin, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 51, 246-52, **2008**.
39. Burt H. M., Zhang X. C., Toleikis P., Embree L., Hunter W. L., Development of Copolymers of Poly(D,L-lactide) and Methoxypolyethylene Glycol as Micellar Carriers of Paclitaxel, *Colloids and Surfaces B*, 16, 161-171, **1999**.
40. Lee J.S., Feijen J., Biodegradable Polymersomes as Carriers and Release Systems for Paclitaxel Using Oregon Green® 488 Labeled Paclitaxel as a Model Compound, *Journal of Controlled Release*, 158, 312-318, **2012**.
41. Porta F., Ehrsam D., Lengerke C., Schwabedissen H., Synthesis and Characterization of PDMS-PMOXA-Based Polymersomes Sensitive to MMP-9 for Application in Breast Cancer, *Molecular Pharmaceutics*, 15, 4884-4897, **2018**.
42. Youssef S.F., Elnaggar Y., Abdallah O.Y., Elaboration of Polymersomes Versus Conventional Liposomes for Improving Oral Bioavailability of the Anticancer Flutamide, *Nanomedicine (Lond.)*, 13, 3025-3036, **2018**.
43. Ahmed F., Pakunlu R.I., Brannan A., Bates F., Minko T., Discher D.E., Biodegradable Polymersomes Loaded with both Paclitaxel and Doxorubicin Permeate and Shrink Tumors, Inducing Apoptosis in Proportion to Accumulated Drug, *Journal of Controlled Release*, 116, 150-8, **2006**.
44. Aibani N., Nesbitt H., Marino N., Jurek J., O'Neill C., Martin C., Di Bari I., Sheng Y., Logan K., Hawthorne S., McHale A., Callan J.F., Callan B., Electroneutral Polymersomes for Combined Cancer Chemotherapy, *Acta Biomaterialia*, 80, 327-340, **2018**.
45. Li N., Zhang P., Huang C., Song Y., Garg S., Luan Y., Co-delivery of Doxorubicin Hydrochloride and Verapamil Hydrochloride by pH-Sensitive Polymersomes for the Reversal of Multidrug Resistance, *RSC Advances*, 5, 77986-77995, **2015**.
46. Li X., Yang W., Zou Y., Meng F., Deng C., Zhong Z., Efficacious Delivery of Protein Drugs to Prostate Cancer Cells

- by PSMA-Targeted pH-Responsive Chimaeric Polymersomes, *Journal of Controlled Release*, 220, 704-714, **2015**.
47. Alibolandi M., Alabdollah F., Sadeghi F., Mohammadi M., Abnous K., Ramezani M., Hadizadeh F., Dextran-b-poly(lactide-co-glycolide) Polymersome for Oral Delivery of Insulin: In vitro and In vivo Evaluation, *Journal of Controlled Release*, 227, 58-70, **2016**.
48. Van Dongen S.F., Nallani M., Cornelissen J.J., Nolte R.J., van Hest J.C., A Three-Enzyme Cascade Reaction Through Positional Assembly of Enzymes in a Polymersome Nanoreactor, *Chemistry*, 15, 1107-14, **2009**.
49. Wang F., Gao J., Xiao J., Du J., Dually Gated Polymersomes for Gene Delivery, *Nano Letters*, 18, 5562-5568, **2018**.
50. Gallon E., Matini T., Sasso L., Mantovani G., Armiñan de Benito A., Sanchis J., Caliceti P., Alexander C., Vicent M.J., Salmaso S., Triblock Copolymer Nanovesicles for pH-Responsive Targeted Delivery and Controlled Release of siRNA to Cancer Cells, *Biomacromolecules*, 16, 1924-1937, **2015**.

