

# Kopolimeme micide: terapijski sustav za primjenu lijeka

---

**Pepić, Ivan**

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2005, 61, 295 - 315**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:567372>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-08**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



# Kopolimerne micide: terapijski sustav za primjenu lijeka

IVAN PEPIĆ

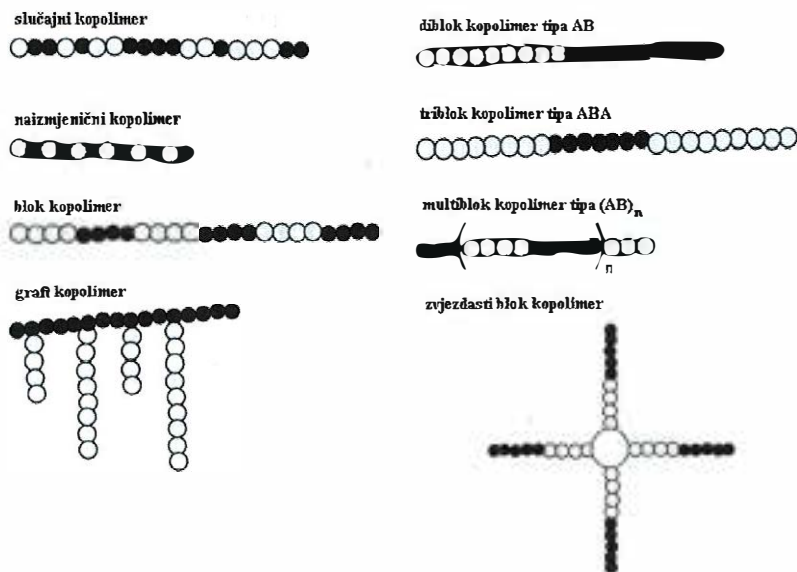
Zavod za farmaceutsku tehnologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta  
Sveučilišta u Zagrebu

## 1. Blok kopolimeri

Kopolimeri su građeni od nekoliko manjih jedinica (monomera). S obzirom na razmještaj monomernih jedinica u polimernom lancu, grupirani su u četiri tipa. Označavaju se kao: slučajni, naizmjenični, blok i graft kopolimeri. Arhitektura četiri kopolimerna tipa prikazana je uporabom dviju monomernih jedinica: A (●) i B (●) (slika 1) (1).

Blok kopolimeri općenito su definirani kao makromolekule linearne i/ili radijalne arhitekture dvaju ili više dijelova (blokova, segmenata) različitog monomernog sastava (2). Razmještaj kopolimernih dijelova u kopolimernom lancu svrstava blok kopolimere u četiri osnovna tipa (slika 1). Najjednostavniji je diblok kopolimer tipa AB sastavljen od A dijela povezanog s B dijelom. U drugom su tipu kopolimera postranični rubovi B dijela povezani s A dijelovima, čime nastaje triblok kopolimer tipa ABA. Treći tip kopolimera pokazuje višestruku povezanost A i B dijelova tako da tvori multiblok kopolimer tipa (AB)<sub>n</sub>. Nešto je složenija zvjezdasta arhitektura karakteristična četvrtom tipu blok kopolimera u kojemu A dio posjeduje funkcionalne skupine na koje se kopolimerizacijom vežu B dijelovi. Broj krakova zvjezdastog blok kopolimera ovisi o broju funkcionalnih skupina A dijela (1).

U posljednjem desetljeću unaprijeđene su brojne sintetske metode (npr. ionska polimerizacija, kontrolirana polimerizacija slobodnim radikalima, polimerizacija s višefunkcionalnim inicijatorima) kojima se pripravljaju blok kopolimeri dobro definiranog sastava, molekulske mase i strukture. Razvoj sintetskih tehnika omogućuje »krojenje« (*tailoring*) kopolimerne arhitekture i svojstava za točno definiranu svrhu. Brojni primjeri linearnih AB i ABA blok kopolimera pokazuju mogućnosti vezanja specifičnih funkcionalnih skupina na postraničnim završecima kopolimerne molekule i/ili u području kovalentnog veza dva kopolimerna dijela. Gotovo da nema ograničenja u dizajnu novih tipova blok kopolimera, odnosno novih arhitektura. Drugi je izazov sintetskim kemičarima pripremanje krajnje čistog produkta, što se posebno odnosi na uklanjanje hidrofobnih nečistoća (2).



Slika 1. Tipovi kopolimera i blok kopolimera (1)

Povećano zanimanje, razvoj i unapređivanje blok kopolimera većinom proizlaze iz njihovih jedinstvenih svojstava u otopini (samoorganiziranje), što je posljedica molekulske strukture, odnosno amfifilne prirode (2). Amfifilne makromolekule podjednako privlače pozornost bazičnih istraživača i istodobno nalaze svoje mjesto u primijenjenim znanostima i praktičnoj uporabi. Neizostavni su dio različitih grana industrije, a njihova se primjena osniva na površinskoj aktivnosti i međupovršinskim djelovanjima u dvo- ili višefaznim sustavima. Upotrebljavaju se kao emulgatori (U/V, V/U, V/U/V), stabilizatori različitih disperzija (u tehnologijama kemijske i fizičke modifikacije čvrstih površina kako bi se postigla specifična svojstva močenja, disperznosti i stabilnosti krutih čestica u tekućoj ili krutoj fazi), sredstva za flokuliranje i održavanje stabilnosti polimernih smjesa. Sposobnost samoorganiziranja i stvaranja supramolekulskih agregata ima istaknuto mjesto u biomedicinskim aplikacijama (solubilizacija biološki aktivnih tvari), ali i u drugim područjima nanotehnologije (npr. tehnologija metalnih nanočestica). Valja spomenuti i da se sposobnost solubilizacije i kompleksacije rabi u postupcima čišćenja i separacije u kemijskoj industriji, kao i za provođenje specifičnih kemijskih reakcija (2, 3).

## 2. Micelizacija amfifilnih kopolimera u vodenoj sredini

U selektivnom se otapanju amfifilne molekule samoorganiziraju i nastaju micelle različitih morfologija. Međutim, potrebno je istaknuti razlike u samoorganiziranju niskomolekulskih i kopolimernih amfifilnih molekula. Takve se različitosti nalažu već u terminologiji. Za niskomolekulske se amfifilne molekule u otopini bez agregata kaže da su u obliku *monomera*, dok se za blok kopolimere upotrebljava izraz *unimeri*. Naime, same pojedini-

ce kopolimerne molekule nazivamo monomerima, a ukupnu kopolimernu molekulu unimerom. Sljedeća, manje naglašena razlika, povezana je s uporabom riječi *micelle*. U otopini su niskomolekulskih površinski aktivnih tvari micelle agregati stabilni pri određenim uvjetima (koncentracija, temperatura) s konstantnim agregacijskim brojem, veličinom i oblikom. U otopinama kopolimera složeniji je tijek samoorganiziranja, a nastali agregati bitno su različiti s obzirom na stabilnost, agregacijski broj, oblik i veličinu. Iako se u literaturi najčešće rabi izraz *micelle*, iz konteksta proizlaze razlike niskomolekulskih i kopolimernih agregata.

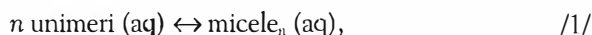
Micelizacija blok kopolimera proučavana je u različitim sredinama (vodenoj, polarnoj i nepolarnoj organskoj, a najnovija se istraživanja provode i u superkritičnim fluidima) (2). U ovome će radu biti opisane osnove micelizacije u vodenoj sredini na primjeru amfifilnih neionskih kopolimera.

Voda ima jedinstvena fizičko-kemijska svojstva među ostalim polarnim otapalima. Kao posljedica građe i raspodjele naboja, molekule su vode povezane vodikovim vezama i strukturirane u svojevrstu mrežu, iz čega proizlaze jedinstvena kohezivna svojstva otopine. U otopini su hidrofobne molekule okružene strukturiranim molekulama vode (4). Opisana je činjenica važna u razmatranju međudjelovanja nepolarnog dijela kopolimerne molekule pri nastajanju micela.

Micelizacija je amfifilnih kopolimera proces u kojem su značajni kritični parametri, odnosno koncentracija i temperatura. Kada su kopolimerni sustavi proučavani kao funkcija ukupne koncentracije, uočeno je postojanje micela samo iznad određene koncentracije koja se naziva *kritična micelizacijska koncentracija (cmc)*. Definirana je kao minimalna koncentracija kopolimera pri kojoj u otopini nastaju micelle u dinamičkoj ravnoteži sa slobodnim unimerima. Kada je koncentracija kopolimera niža od cmc vrijednosti u otopini se nalaze samo molekulsko otopljeni unimeri. Jednaki su kritični parametri opaženi i pri nastanku micela u ovisnosti o temperaturi. Tako su do određene temperature u otopini prisutni unimeri iz kojih nastaju micelle iznad određene minimalne temperature, tj. *kritične micelizacijske temperature (cmt)*. Općenito se može reći da u otopinama amfifilnih tvari vrijede istovjetni kritični parametri, iako micelle nastaju pri znatno nižim koncentracijama u otopini kopolimera, a cmc vrijednosti smanjuju se s povećanjem temperature (5–7).

## 2.1. Termodinamički pristup micelizaciji

Postoje dva glavna pristupa termodinamičkoj analizi micelizacijskog procesa. Prvi je model fazne separacije (*phase separation model*) koji pretpostavlja cmc kao koncentraciju zasićenja neagregiranih kopolimera, a micelle formiraju odvojenu fazu pri cmc. U modelu su o djelovanju masa (*mass-action model*) multimolekulske micelle i molekulsko otopljeni unimeri u dinamičkoj asocijacijsko-disocijacijskoj ravnoteži /1/ na koju se može primijeniti zakon o djelovanju masa.



gdje je  $n$  agregacijski broj (broj unimera po miceli) u jednostavnom asocijacijskom modelu. S druge strane postavljen je nešto složeniji višeravnotežni asocijacijski model (8) koji uključuje dva koraka dinamičke ravnoteže:



Višeravnotežni asocijacijski model pretpostavlja agregaciju malog broja unimera ( $m$  između 2 i 10) i konačno stvaranje micela udruživanjem agregata u atermalnom procesu.

U literaturi se većinom upotrebljava model o djelovanju masa kako bi se opisala micelizacija amfifilnih neionskih kopolimera, te kako bi se vrijednost promjene standardne slobodne energije ( $\Delta G^\circ$ ), entalpije ( $\Delta H^\circ$ ) i entropije ( $\Delta S^\circ$ ) micelizacije mogle korelirati s molekulskom masom i kopolimernim sastavom (2, 4–6, 8).

Primarni je razlog stvaranja micela postizanje stanja minimuma slobodne energije. Pri niskim se koncentracijama kopolimeri adsorbiraju na međupovršini otopina/zrak, tako da je u vodenoj sredini hidrofobni dio molekule orijentiran prema zraku, a hidrofilni prema vodi. Na taj se način smanjuje slobodna energija u sustavu. Međutim, povećavanjem koncentracije prekriva se cjelokupna međupovršina otopina/zrak pa je stvaranje micela u otopini daljnji način smanjivanja slobodne energije sustava. Pri tome se hidrofobni dijelovi orijentiraju prema unutrašnjosti micelle, a hidrofilni prema vodi zaštićujući hidrofobnu jezgru micelle od okolne vodene sredine. Promjena slobodne energije sustava ovisi o promjeni entalpije i entropije u sustavu prema jednadžbi  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$  (4). Standardna je entalpija micelizacije pozitivna, što upućuje na endotermni proces prijelaza unimera iz otopine u micelle. Slobodna je energija micelizacije negativna, s obzirom na spontano stvaranje termodinamički stabilnih micela. Stoga je jasno da negativna vrijednost entropije najviše pridonosi micelizaciji (4–6).

## 2.2. Kinetički pristup micelizaciji

Kinetika asocijacije i disocijacije micela proučavana je eksperimentalnim metodama tzv. relaksirajuće spektroskopije, koje se rabe za istraživanje brzih kemijskih reakcija u otopinama. U slučaju micelarnih otopina većina se takvih metoda temelji na promjeni agregacijske ravnoteže sustava, te registriranju odgovora sustava na izmijenjene ravnotežne uvjete. Proces se micelizacije može objasniti u dva koraka, što je u skladu s relaksacijskim eksperimentima micelarne ravnoteže koja pokazuje brzi ( $\tau_1$ , reda veličine mikrosekundi) i spori ( $\tau_2$ , reda veličine milisekundi) micelizacijski proces (9, 10).

Brzi je micelizacijski proces ( $\tau_1$ ) povezan s promjenom ravnoteže sustava (npr. povećanje kopolimerne koncentracije u odnosu na ravnotežnu vrijednost) pri čemu se micelle disociraju, što povećava koncentraciju unimera i premicelarnih agregata u sustavu.

Dakle, brzi korak u procesu asocijacije/disocijacije micela odgovara promjeni agregacijskog broja pri konstantnom broju, odnosno ukupnoj koncentraciji micela u sustavu. Ako promatramo sustav s aspekta stvaranja micela, brzi je proces povezan s međudjelovanjima micelle-unimeri, pri čemu se unimeri asociiraju u micelle te nastaju veliki, termodinamički nestabilni micelarni agregati. Ravnoteža sustava može biti pomaknuta i u smjeru



dezintegriranja micela, kada će se unimeri disocirati od micela, čija će ukupna koncentracija u sustavu ostati nepromijenjena. Hidrofobnost micelarne jezgre ne mijenja se u ovom procesu (10, 11).

Daljnji je korak u micelarnoj relaksaciji spori micelizacijski proces ( $\tau_c$ ) pri kojem se ukupna koncentracija micela u sustavu mijenja, dok agregacijski broj postiže vrijednost početnog ravnotežnog stanja (9). Ukratko se može reći da nastupa preraspodjela veličina micela, tj. restrukturiranje micela uz dehidraciju hidrofobne micelarne jezgre, koje je izostalo u prethodnom koraku (11, 12).

Micelizacija je od unimernog stanja vrlo brzi početni proces u kojem, kada su zadovoljeni cmc i cmt uvjeti, nastaje udruživanje unimera u privremeno organizirane micelarne agregate sve dok većina unimera bude micelizirana. Tada relaksacijom micelarna otopina uspostavlja ravnotežu brzim i sporim relaksacijskim procesom. Za postizanje stanja unimerne otopine, uz promjenu kritičnih parametara, potrebno je dugo vremensko razdoblje (13).

### 3. Kopolimerne micelle kao terapijski sustavi za primjenu lijekova

Micelle građene od niskomolekulskih površinski aktivnih tvari rabe se u farmaceutskoj tehnologiji za izradu otopina, a kao jedan od načina povećanja topljivosti u vodi teško topljivih ili netopljivih ljekovitih tvari. Takvim postupkom solubilizacije nastaju miješane micelle slabo topljivog lijeka i površinski aktivne tvari, a izrađene otopine su bistre ili slabo opalizirajuće (14). Osim u tehnologiji izrade otopina, takvi niskomolekulski micelarni sustavi mogu povećavati permeabilnost fizioloških barijera i na taj način utjecati na biodistribuciju lipofilnih, hidrofilnih i makromolekulskih lijekova. Time se može povećati biološka raspoloživost i/ili znatno umanjiti toksičnost i druga neželjena djelovanja nekih lijekova. Fenomen micelarne solubilizacije ima i svoje veliko biološko značenje za apsorpciju hrane i lijekova u probavnom sustavu, gdje nastaju miješane micelle sa žučnim i masnim kiselinama koje omogućuju transport kroz intestinalnu mukoznu membranu.

Međutim, miješani su niskomolekulski micelarni sustavi termodinamički nestabilni u vodenom mediju i podliježu vrlo brzom disocijaciji nakon razrjeđenja, što može rezultirati npr. taloženjem uklopljenog lijeka u krvi nakon parenteralne primjene. Istodobno površinski aktivne tvari imaju nezadovoljavajuće cmc vrijednosti (većinom milimolarno područje) i pretežno niski kapacitet za lijekove (15–17).

Takvi su nedostaci pridonijeli i potaknuli razvoj novih micelarnih sustava građениh od amfifilnih kopolimera. Blok kopolimeri imaju veću tendenciju stvaranja micela zbog znatno veće duljine hidrofobnog dijela molekule. Nastale su micelle termodinamički stabilnije s obzirom na niže cmc vrijednosti (pretežno mikromolarno područje). Disocijacija je sustava nakon razrjeđenja sporija, čime je poboljšana i kinetička stabilnost sustava. To naravno omogućuje dulje zadržavanje lijeka u micelarnom sustavu i moguću akumulaciju u ciljnom tkivu. Kopolimerni micelarni sustavi imaju i veći solubilizacijski kapacitet zbog većeg broja micela koje nastaju pri samoorganiziranju (niže cmc vrijednosti) i/ili veće hidrofobne jezgre micelle. Nadalje, veličina je micela nekoliko desetina nanometara, što također pridonosi postojanosti sustava nakon parenteralne primjene (18, 19).

Ringsdorf sa suradnicima (20) originalno je predložio uporabu amfifilnih sintetskih polimera u micelarnim sustavima radi produljenog oslobađanja. Uspješno je *in vivo* dokazan produljeni učinak hidrofilnog derivata ciklofosfamida kovalentno vezanog za hidrofobnu micelarnu jezgru, u usporedbi s originalnim lijekom.

Idealan micelarni sustav za primjenu lijeka trebao bi: (i) spontano nastati samoorganiziranjem lijeka, amfifilnog kopolimera i drugih specifičnih vrsta, (ii) biti veličine ~ 10 nm radi sposobnosti prodiranja u različita tkiva, (iii) biti kontrolirano stabilan u uvjetima *in vivo* radi prijenosa lijeka u željena tkiva/stanice i oslobađanja slobodnog oblika lijeka pri dodiru s ciljnim tkivom/stanicom, (iv) biti biokompatibilan i biorazgradiv (17, 21).

Moglo bi se reći da idealan micelarni sustav treba u što većoj mjeri oponašati prirodne supramolekulske nosače, kao što su virusi ili lipoproteini. U organizacijskom i funkcionalnom smislu virusi, kao sustavi za prijenos genetskog materijala, udovoljavaju većini navedenih zahtjeva. Sferične su građe s hidrofobnom jezgrom u koje je uklopljena molekula DNA ili RNA i hidrofilnim omotačem. Nastaju samoorganiziranjem biopolimera kako bi se smanjila slobodna energija sustava. Većina je animalnih virusa veličine od 20 do 100 nm, te ih retikuloendotelni sustav (RES) ne može prepoznati i ukloniti iz cirkulacije, a istodobno su preveliki za izlučivanje putem bubrega. Upravo se stoga virusi mogu dovoljno dugo zadržati u krvnom optoku i uspješno prodrijeti do ciljnih tkiva i stanica. Stabilnost im je kronološki programirana tako da sustav disocira upravo u trenutku dodira s ciljnom stanicom, pri čemu oslobađa genetski materijal. Nakon replikacije genetskog materijala u stanici nastaju novi virusi ponovnim samoorganiziranjem biopolimera i uklapanjem DNA ili RNA molekula u jezgru sustava.

Lipoproteini su lipidno-proteinski kompleksi s hidrofobnom jezgrom za prijenos kolesterola i lipida u krvi, a čine još jedan primjer prirodnih sustava sa strukturom sličnom micelama. Razdioba je veličina različitih skupina lipoproteina od 10 do 100 nm, tj. u području veličina koje osiguravaju zadovoljavajuće zadržavanje u krvnom optoku (22). Dakle, lipoproteini i virusi čine vrlo sofisticirane prirodne nanosustave čije razumijevanje može pomoći razvoju novih terapijskih sustava, napose micelarnih, za primjenu lijeka.

U tablici 1 navedeni su primjeri terapijskih micelarnih sustava. Hidrofilni je dio kopolimerne molekule većinom polietilenoksid (PEO) relativne molekulske mase 1000–12000 i duljine veće ili jednake duljini hidrofobnog dijela. Izložen vodenoj sredini izrazito je hidratiziran što rezultira steričkom stabilizacijom sustava i sprječavanjem koagulacije. Istodobno je netoksičan i neimunogen. Stoga je upotrebljavan u drugim terapijskim sustavima (npr. nanočestice, mikrosfere, liposomi) za povećanje biokompatibilnosti i steričku stabilizaciju. Hidrofobni je dio kopolimerne molekule raznolik zbog čega micelarni sustavi imaju različita fizičko-kemijska svojstva i učinkoviti su u primjeni specifičnog lijeka za koji su kreirani. Nažalost, sinteza je i manipulacija biokompatibilnim polimerima složena, jer promjena samo jednog parametra (npr. duljine hidrofobnog dijela) može utjecati na micelarnu veličinu, stabilnost, uklapanje i oslobađanje lijeka. Brojni se parametri mogu malo promijeniti pri sintezi polimera u različitim istraživačkim laboratorijima, što može znatno utjecati na konačni sustav. Upravo su stoga brojne studije napravljene s komercijalno dostupnim kopolimerima (17, 23).

Tablica 1. Primjeri kopolimernih micelarnih terapijskih sustava

Kopolimer	Lijek	Način uklapanja	Veličina micela (nm)	Cilj pripreve	Literatura
PEO-PBLA <sup>a</sup>	amfotericin	fizičko uklapanje	25,8 ± 4,2	povećanje topljivosti, povećanje antifungalne aktivnosti, smanjenje hemolitičke aktivnosti pri sustavnoj primjeni	24, 25
	doksorubicin* + dimerni derivat doksorubicina**	fizičko uklapanje	≈37 50–70	povećanje stabilnosti u otopini, produljeno oslobađanje, povećanje antitumorske aktivnosti	26* 27**
	indometacin	fizičko uklapanje	25–29	smanjenje nuspojava, pH-kontrolirano oslobađanje	28
PEO-P(Asp) <sup>b</sup>	cisplatin	kemijsko vezanje	16	smanjenje sustavne citotoksičnosti, produljeno oslobađanje	29
	doksorubicin	fizičko uklapanje i kemijsko vezanje		kontroliranje antitumorske aktivnosti <i>in vivo</i>	30, 31
	lizozim	elektrostatska asocijacija	47	nanoreaktor za enzimske reakcije, terapijski sustav za isporuku proteinskih struktura	32
PEO-P(Lys) <sup>c</sup>	iodidni derivat benzojeve kiseline	kemijsko vezanje	80	moгуća uporaba u kompjutoriziranoj tomografiji (CT) kao kontrastni medij	33
	pDNA	elektrostatska asocijacija	140–150	povećanje topljivosti kompleksa u vodi, povećanje stabilnosti prema nukleaznoj aktivnosti, povećanje učinkovitosti genskog prijenosa	34



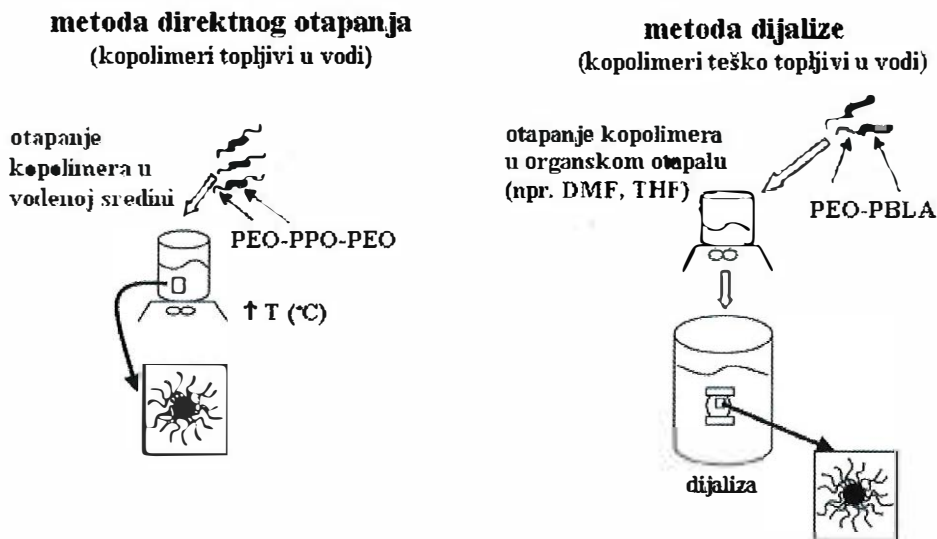
Kopolimer	Lijek	Način uklapanja	Veličina micela (nm)	Cilj pripreve	Literatura
MePEO-PDLLA <sup>d</sup>	paklitaksel	fizičko uklapanje		povećanje topljivosti, kreiranje novog terapijskog sustava kako bi se izbjegli problemi vezani uz Cremophor EL	35–37
PEO-PDLLA <sup>e</sup>	testosteron	fizičko uklapanje	15,6–18,9	model lijek	38
PEO-PCL <sup>f</sup>	dihidrotestosteron	fizičko uklapanje		povećanje topljivosti, produljeno oslobađanje u hormonskoj nadomjesnoj terapiji	39
MePEO-PCL <sup>g</sup>	indometacin	fizičko uklapanje	< 200	povećanje topljivosti, produljeno oslobađanje	40, 41
PEO-PE <sup>h</sup>	inhibitor tripsina iz ulja soje	fizičko uklapanje	< 20	produljeno vrijeme cirkulacije, ciljani prijenos lijeka (proteina) do određenih tumorskih tkiva	42
	dekvalin	fizičko uklapanje		povećanje topljivosti	43
	Gd-DTPA <sup>111</sup> In-DTPA	fizičko uklapanje	20	povećanje akumulacije dijagnostičkih sredstava u limfografiji	15
PEO-P(His) <sup>i</sup> i PEO-PLLA <sup>j</sup>	doksorubicin	fizičko uklapanje	114	smanjenje sustavne citotoksičnosti, ciljana primjena i pH-kontrolirano oslobađanje lijeka	44, 45
PEO-PHAA <sup>k</sup>	metotreksat	kemijsko vezanje	14	poboljšanje biodistribucije, produljeno oslobađanje	46
P(IPAA-DMAA)-PDLLA <sup>l</sup>	doksorubicin	fizičko uklapanje		termo-senzitivne micelle za ciljanu primjenu lijeka	47

Kopolimer	Lijek	Način uklapanja	Veličina micela (nm)	Cilj pripreve	Literatura
oMMA-PAAC <sup>m</sup>	doksorubicin	fizičko uklapanje		produljeno oslobađanje, bioadhezivni sustav za mukoznu primjenu hidrofobnih lijekova	48
LCC <sup>n</sup>	paklitaksel	fizičko uklapanje	< 100	povećanje topljivosti, povećanje citotoksične aktivnosti	49
PEO-PPO-PEO <sup>o</sup>	haloperidol	fizičko uklapanje	15	povećanje topljivosti, povećanje prijenosa kroz krvno-moždanu barijeru	21
	doksorubicin	fizičko uklapanje		smanjenje rezistencije citostatske terapije, povećanje akumulacije u tumorskom tkivu	50
	ATP	fizičko uklapanje		primjena niskomolekulskih tvari u stanice	51
	Ovalbumin virusno cjepivo protiv influence	fizičko uklapanje		povećanje antigene aktivnosti utjecajem na imunološki sustav (adjuvans)	52

<sup>a</sup>polietilenoksid-poli( $\beta$ -benzil-L-aspartat); <sup>b</sup>polietilenoksid-poli(L-asparaginska kiselina); <sup>c</sup>polietilenoksid-poli(L-lizin); <sup>d</sup>metoksipolietilenoksid-poli(D,L-laktat); <sup>e</sup>polietilenoksid-poli(D,L-laktat); <sup>f</sup>polietilenoksid-poli( $\epsilon$ -kaprolakton); <sup>g</sup>metoksipolietilenoksid-poli( $\epsilon$ -kaprolakton); <sup>h</sup>polietilenoksidni derivati fosfatidiletanolamina; <sup>i</sup>polietilenoksid-poli(L-histidin); <sup>j</sup>polietilenoksid-polimlječna kiselina; <sup>k</sup>polietilenoksid-poli(Z-hidroksietilaspamid); <sup>l</sup>poli(izopropilakrilamid-dimetilakrilamid)-polimlječna kiselina; <sup>m</sup>oligometilmetakrilat-poliakrilna kiselina; <sup>n</sup>N-laurilkarboksimetilkitozan, <sup>o</sup>polietilenoksid-polipropilenoksid-polietilenoksid

### 3.1. Metode pripreme i uklapanja lijeka u kopolimerne micelle

Metode se pripreme micela mogu podijeliti u dvije skupine, koje obuhvaćaju metode direktnog otapanja i metode dijalize. Izbor metode prvenstveno ovisi o topljivosti kopolimera u vodenoj sredini (slika 2).

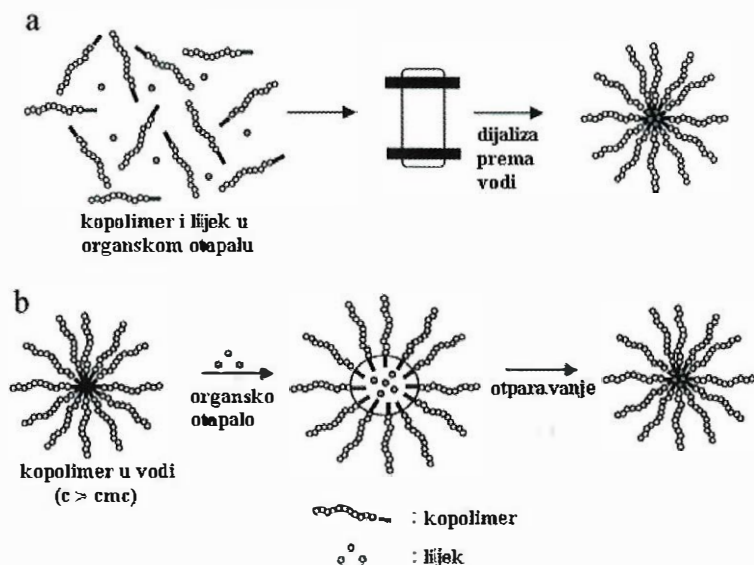


Slika 2. Metode pripreme kopolimernih micela (23)

Metodom direktnog otapanja kopolimer se jednostavno otopi u vodi ili drugoj vodenoj sredini (npr. fosfatni pufer) pri koncentraciji većoj od cmc te pri sobnoj ili povišenoj temperaturi. Takva se metoda često primjenjuje za kopolimere dobro topljive u vodi pa se npr. micelle s PEO-PPO-PEO triblok kopolimerima rutinski pripremaju direktnim otapanjem, iako se ponekad kopolimer i voda miješaju na povišenim temperaturama kako bi se osigurala micelizacija.

Metoda se dijalize primjenjuje za kopolimere koji nisu dobro topljivi u vodi, već se otapaju u organskom otapalu koje se miješa s vodom (dimetilsulfoksid, dimetilformamid, dimetilacetamid, acetonitril, tetrahidrofuran), a otopina se dijalizira prema vodi. Za vrijeme dijalize nastaju micelle i uklanja se organsko otapalo (17, 23).

Lijek u micelle može biti jednostavno fizički uklopljen i takvi sustavi čine nanospremnik (*nanoccontainers*) lijeka. Preliminarnim kemijskim vezanjem lijeka za hidrofobni dio kopolimerne molekule (npr. amidnom vezom) nastaju amfifilni polimer-lijek konjugati sa sposobnošću micelizacije. Takvo uklapanje lijeka u micelle uključuje složene sintetske korake i postupke čišćenja. Stoga je fizičko uklapanje bolji put uvođenja lijeka u micelle (53). S druge strane, mogu nastati polionske kompleksne micelle elektrostatskom asocijacijom nabijenog hidrofobnog dijela kopolimera i suprotno nabijene molekule lijeka (npr. DNA). Također je moguć nastanak nekog miješanog ili međuslučaja. Ako je lijek kemijski ili



**Slika 3.** Uklapanje lijeka u kopolimerne micelle metodom dijalize (a) i U/V emulzijskom metodom (b) (54)

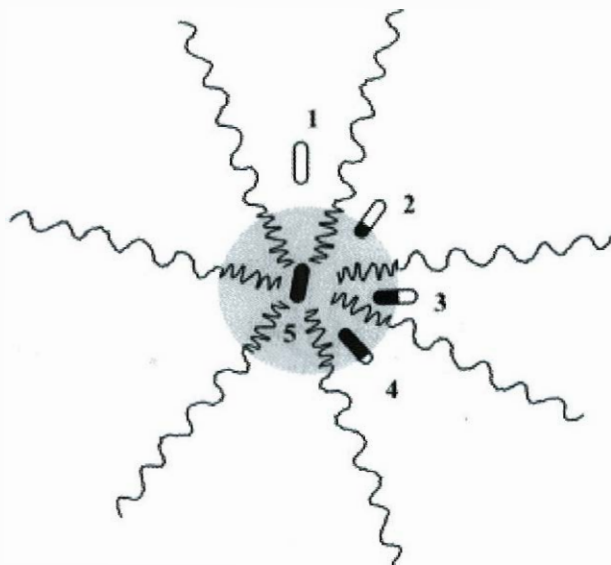
elektrostatski povezan s hidrofobnim dijelom kopolimera, uklapanje u micelle nastaje istodobno sa stvaranjem micela (17, 54).

Za fizičko uklapanje lijeka u micelle upotrebljavaju se metode koje ovise o metodi priprave micelarnih sustava.

Ako se micelle pripravljaju direktnim otapanjem u vodi, onda se već miješanjem micelarne otopine s lijekom može postići određeno uklapanje, iako takav jednostavan ravnotežni proces lijeka i micela ne mora rezultirati visokim stupnjem uklapanja. Postoje različiti pristupi metodi direktnog otapanja kojima se nastoji povećati uklapanje lijeka. Tako se lijek može otopiti u organskom otapalu koje se miješa s vodom (npr. etanol) te dodati micelarnoj otopini nakon čega se organsko otapalo otpari. Lijek se može otopiti u organskom otapalu (npr. aceton, etanol) koje se otpari, a micelarna se otopina dodaje na tanki film lijeka zaostalog na stjenkama tikvice. Vrlo slično, lijek i kopolimer mogu se otopiti u zajedničkom organskom otapalu koje se otpari pri čemu na stjenkama tikvice ostaje matriksni film lijeka i kopolimera, a micelle s uklopljenim lijekom nastaju dodatkom određenog volumena vode uz miješanje (17, 37).

Metoda dijalize sastoji se u prijenosu lijeka i kopolimera iz otapala u kojem su obje tvari dobro topljive (zajedničko organsko otapalo koje se miješa s vodom) u otapalo u kojemu je selektivno topljiv samo hidrofilni dio kopolimerne molekule (voda). Kako se dobro otapalo zamjenjuje selektivnim, tako hidrofobni dijelovi kopolimera samoorganiziranjem stvaraju micelarnu jezgru uklapajući pritom slabo topljivi lijek (slika 3 a) (17, 23, 54).

Lijek se u micelle može uklopiti i U/V emulzijskom metodom. Takva se metoda sastoji u pripravi micelarne vodene otopine, kojoj se dodaje lijek otopljen u organskom otapalu



**Slika 4.** Mogući smještaj lijeka unutar micelarnih odjeljaka (17)

koje se ne miješa s vodom (npr. kloroform), pri čemu nastaje emulzija tipa ulje u vodi (U/V). Otparavanjem organskog otapala nastaju micelle. Lijek se u njih uklapa, kako se otapalo otparava (slika 3 b) (17, 23, 54).

U nekim se slučajevima U/V emulzijska metoda upotrebljava za uklapanje lijeka u micelle koje se pripravljaju metodom dijalize (54).

Smještaj lijeka u micelarnim odjeljcima prvenstveno ovisi o hidrofilno-lipofilnim svojstvima lijeka. S obzirom da se u miceli udio vode smanjuje od visoko hidratiziranog micelarnog omotača do nehidratizirane ili vrlo slabo hidratizirane jezgre micelle, uspostavlja se gradijent polarosti duž kojega se lijek smješta ovisno o njegovim svojstvima (slika 4). Izrazito lipofilni lijek bit će uklopljen u hidrofobnu jezgru micelle (položaj 5), dok se izrazito hidrofilni lijek smješta u vanjski micelarni omotač (položaj 1). Molekule lijeka svojstava između izrazito hidrofilnih i izrazito lipofilnih imaju neke od prijelaznih položaja unutar micelle prikazanih slikom 4 (položaj 2-4) (17).

Način uklapanja lijeka u micelle ovisi i o temperaturi staklastog prijelaza ( $T_g$ ), koja utječe na pokretljivost kopolimernih lanaca u hidrofobnoj micelarnoj jezgri. Micelarna jezgra može biti u tekućem (*liquid like*) ili čvrstom (*solid like*) agregatnom stanju, što je određeno temperaturom staklastog prijelaza. Ispod temperature staklastog prijelaza micelarna je jezgra u čvrstom agregatnom stanju, dok je iznad te temperature u tekućem. Jezgra micelle građena od kopolimera visokih vrijednosti temperature staklastog prijelaza (npr. za polistiren  $T_g = 100^\circ\text{C}$ ) u čvrstom je stanju pri sobnoj ili fiziološkoj temperaturi s niskom pokretljivošću lanaca. Za uklapanje lijekova u takve sustave metode izbora su dijaliza ili U/V emulzijska metoda, kojima se povećava pokretljivost lanaca u micelarnoj jezgri i tako potiče uklapanje lijeka. Većina biokompatibilnih kopolimera ima znatno niže vrijed-



nosti temperature staklastog prijelaza (poliglikolna kiselina 35°C, polimljična kiselina 54°C, polikaprolakton -62°C, polipropilenoksid -75°C). Kopolimeri takvih hidrofobnih dijelova stvaraju micelle s jezgrom u tekućem agregatnom stanju i mnogo većom pokretljivošću lanaca pri sobnoj ili fiziološkoj temperaturi. U takvim se sustavima može postići zadovoljavajuće uklapanje već jednostavnim miješanjem lijeka i micelarne otopine (22, 23, 55).

Za određivanje stupnja uklapanja lijeka u micelarni sustav upotrebljava se koeficijent razdiobe (*partition coefficient*). U micelarnom sustavu s lijekom postoji dinamička izmjena molekula uklopljenih u micelu i otopljenih u okolnoj sredini u procesu koji se naziva razdioba. Kada je brzina prijelaza molekula lijeka iz micela u otopinu jednaka brzini prijelaza iz otopine u micelle, postignuta je ravnoteža definirana koeficijentom razdiobe kao termodinamičkom konstantom:

$$P = [S_m] / [S_v], \quad /3/$$

gdje je  $P$  koeficijent razdiobe,  $[S_m]$  koncentracija solubilizata (lijeka) u micelarnoj fazi i  $[S_v]$  koncentracija solubilizata u vodenoj fazi (56).

### 3.2. Solubilizacijski kapacitet kopolimernih micela

U prethodnom je poglavlju objašnjen utjecaj hidrofilno-lipofilnih svojstava lijeka na njegov smještaj u micelarnim odjeljcima. Iako postoji mogućnost uklapanja lijekova u oba odjeljka te na njihovoj međupovršini, najbolje su istraženi čimbenici koji utječu na uklapanje lipofilnih tvari u jezgru micelle. Vrlo se često znanstvenici, razvijajući kopolimerne micelarne sustave, suočavaju sa spoznajom ograničenog solubilizacijskog kapaciteta micela za lipofilne lijekove. Već sami volumen micelarne jezgre ograničava solubilizacijski kapacitet. Tako npr. u ukupnom volumenu 1%-tne micelarne otopine PEO-PCL kopolimera samo 0,5% pripada volumenu micelarne jezgre, što znači da je u jednom mililitru te otopine pet mikrolitara volumen micelarne jezgre (19, 23, 56). Kako bi se maksimalno iskoristio taj minimalni prostor za uklapanje, potrebno je upravljati brojnim čimbenicima koji kontroliraju učinkovitost uklapanja lijeka.

Odlučujući je čimbenik u solubilizaciji kompatibilnost lipofilnog lijeka i hidrofobne micelarne jezgre, iako međudjelovanje lijeka s hidrofilnim micelarnim omotačem i međudjelovanje s otapalom u manjoj mjeri mogu utjecati na proces solubilizacije. S jedne strane, kompatibilnost ovisi o svojstvima lijeka, kao što su molekularni volumen, površinska aktivnost, polarnost, hidrofilnost/lipofilnost, naboj i stupanj ionizacije (17, 19, 23, 55). Ipak, izborom se strukture hidrofobnog dijela kopolimera može postići maksimalna kompatibilnost sa željenim lijekom. Najviši stupanj solubilizacije postiže se visokom kompatibilnošću micelarne jezgre i lijeka. Za procjenu kompatibilnosti upotrebljava se Flory-Hugginsov parametar međudjelovanja ( $X_{sp}$ ) opisan jednadžbom /4/:

$$X_{sp} = (\delta_s - \delta_p)^2 V_s / RT, \quad /4/$$

gdje je  $X_{sp}$  parametar međudjelovanja solubilizata (s) i hidrofobnog dijela kopolimera (p),  $\delta_s$  Scatchard-Hildebrandov parametar topljivosti solubilizata (lijeka),  $\delta_p$  Scatchard-Hil-

debrandov parametar topljivosti hidrofobnog dijela kopolimera,  $V_s$  molarni volumen solubilizata,  $R$  opća plinska konstanta,  $T$  termodinamička temperatura (17, 19, 23). Što je manja pozitivna vrijednost parametra međudjelovanja, to je veća kompatibilnost solubilizata i hidrofobnog dijela kopolimera. Najveći je stupanj kompatibilnosti moguć u slučaju  $\delta_s = \delta_p$ . Za specifična međudjelovanja (npr. ionska) vrijednost parametra međudjelovanja može biti negativna. Zbog složenosti međudjelovanja kopolimera i lijeka, malo je vjerojatno da će neki micelarni sustav biti univerzalni nosač za sve lijekove, a jednako je vjerojatno da će neki lijek biti učinkovito primijenjen bilo kojim micelarnim sustavom (23).

Osim kompatibilnosti kopolimera i lijeka te međudjelovanja, postoje i drugi parametri koji utječu na solubilizacijski kapacitet kopolimernih micela:

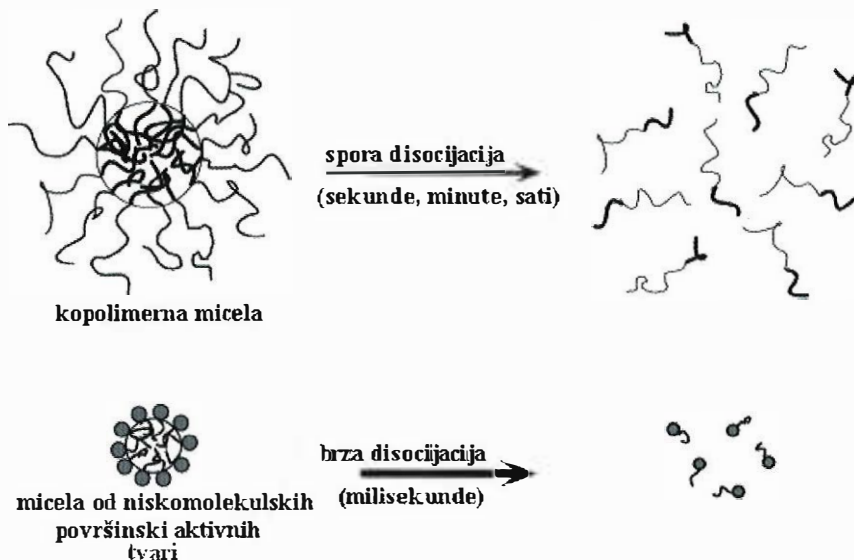
- *Duljina hidrofobnog dijela kopolimerne molekule.* Povećanjem hidrofobnog dijela kopolimera smanjuje se vrijednost kritične micelizacijske koncentracije, a povećava agregacijski broj. Povećanjem agregacijskog broja smanjuje se koncentracija micela, ali se povećava volumen micelarne jezgre i jačaju hidrofobna međudjelovanja većinom odgovorna za micelarnu solubilizaciju lipofilnih lijekova (17, 23).
- *Duljina hidrofilnog dijela kopolimerne molekule.* Značajnim povećanjem duljine hidrofilnog dijela kopolimera povećava se cmc vrijednost te smanjuje agregacijski broj, što povećava koncentraciju micela. Međutim, kako manji broj kopolimera čini micelu, tako se smanjuje volumen micelarne jezgre i slabe hidrofobna međudjelovanja pa se smanjuje stupanj solubilizacije hidrofobnih lijekova (17, 23).
- *Priroda hidrofilnog dijela kopolimera.* Učinak prirode hidrofilnog dijela kopolimera na uklapanje lijeka može se razmatrati Flory-Hugginsovom parametrom međudjelovanja. U slučaju povoljnih međudjelovanja lijeka i hidrofilnog dijela kopolimera, određena količina lijeka može biti uklopljena u vanjski micelarni omotač. Tako npr. PEO-PPO-PEO micelle imaju veći afinitet prema klorbenzenu, nego prema benzenu, što se ne očekuje, jer je parametar međudjelovanja benzena ( $\chi_{sp} = 0,0014$ ) niži od parametra međudjelovanja klorbenzena ( $\chi_{sp} = 0,0068$ ). To se može objasniti solubilizacijom određene količine klorbenzena u vanjskom micelarnom omotaču, s obzirom da je parametar međudjelovanja klorbenzena i polietilenaoksida ( $\chi_{sp} = 0,1711$ ) niži od parametra međudjelovanja benzena i polietilenaoksida ( $\chi_{sp} = 0,2483$ ). Vjerojatno će se amfifilni lijekovi s niskim parametrom međudjelovanja, kako za hidrofobni tako i za hidrofilni dio kopolimerne molekule, solubilizirati na međupovršini unutrašnjeg i vanjskog micelarnog odjeljka (23).
- *Koncentracija kopolimera.* O HLB svojstvima kopolimera ovisi utjecaj koncentracije na solubilizaciju; kod nekih se stupanj solubilizacije povećava s kopolimernom koncentracijom, dok je kod drugih stupanj solubilizacije neovisan o kopolimernoj koncentraciji. Solubilizacija naftalena u različitim tipovima PEO-PPO-PEO kopolimernih micela neovisna je o koncentraciji za kopolimere visokog udjela hidrofobnog dijela, dok se stupanj solubilizacije povećava s koncentracijom za kopolimere visokog udjela hidrofilnog dijela (23).

- *Koncentracija solubilizata (lijeka)*. Prisutnost hidrofobnog solubilizata može pridonijeti micelizaciji amfifilnih kopolimera, što se očituje smanjenjem cmc vrijednosti i povećanjem broja micela prisutnih u sustavu. Povećanjem koncentracije solubilizata povećava se agregacijski broj kopolimera, čime nastaju veće micelle koje imaju veći solubilizacijski kapacitet (23).

### 3.3. Stabilnost kopolimernih micela

Stabilnost kopolimernih micela može se promatrati s dva stajališta: termodinamičke stabilnosti (ravnotežnog ponašanja sustava) i kinetičke stabilnosti (dinamičkog ponašanja sustava). Najjednostavnije rečeno, termodinamička je stabilnost povezana s cmc vrijednostima ispod kojih se ravnoteža unimera i micela pomiče prema disocijaciji sustava, dok kinetička stabilnost daje informacije o stvarnom vremenu potrebnom za takvu disocijaciju. Dakle, sustav u uvjetima razrjeđenja, kada je koncentracija niža od cmc vrijednosti, može još određeno vrijeme ostati u micelarnom obliku prije disocijacije, što ovisi o stvarnoj brzini disocijacije, tj. kinetičkoj stabilnosti sustava (tablica 2) (17, 55).

Blok kopolimerne micelle, prema niskomolekulskim, pokazuju visok stupanj kinetičke stabilnosti nakon razrjeđenja zbog dugotrajnog relaksacijskog procesa koji rezultira sporom disocijacijom micela (slika 5).



**Slika 5.** Usporedba kinetičke stabilnosti kopolimernih micela prema micelama s niskomolekulskim površinski aktivnim tvarima (19)

Kinetička stabilnost ovisi o brojnim čimbenicima, uključujući agregatno stanje micelarne jezgre i udio otapala u njoj, duljinu hidrofobnog dijela kopolimera, PEO/PPO omjer te uklopljene hidrofobne tvari. S obzirom na **strukturu** kopolimernog dijela koji stvara mi-

celarnu jezgru, javljaju se hidrofobna ili elektrostatska međudjelovanja iz kojih proizlaze kohezivne sile koje kinetički stabiliziraju micelarni sustav. Jačina kohezivnih sila može se karakterizirati temperaturom staklastog prijelaza ( $T_g$ ), stupnjem kristaliničnosti i umrežavanja micelarne jezgre. Micele građene od hidrofobnih dijelova s visokim temperaturama staklastog prijelaza ( $T_g > 37^\circ\text{C}$ ) imaju *smrznutu* micelarnu jezgru s fizički udruženim kopolimernim lancima bez mogućnosti molekulskog gibanja. Takve micelle imaju tendenciju sporije disocijacije u odnosu na kopolimere s nižim vrijednostima  $T_g$ . Blok kopolimeri takvog tipa pružaju produljeno vrijeme cirkulacije sustava u krvi i postupno oslobađanje lijeka (17, 19, 23, 55). Uklapanje hidrofobnih lijekova u micelarnu jezgru može povećati micelarnu stabilnost. Npr. fizičkim se uklapanjem i kemijskom konjugacijom doksorubicina u PEO-P(Asp) micelle povećala kinetička stabilnost sustava. Stabilnost sustava povećava se s povećanjem udjela konjugiranog lijeka, ali i povećanjem fizički uklopljenog doksorubicina. To je objašnjeno povećanjem hidrofobnih međudjelovanja u micelarnoj jezgri i stvaranjem bolje pakiranih micela (30).

Čimbenik		Micelarna stabilnost
cmc	niska visoka	↑ ↓
$T_g$	niska visoka	↓ ↑
HLB-vrijednost	niska visoka	↓ ↑
udio konjugiranog lijeka	nizak visok	↓ ↑

**Tablica 2.** Čimbenici koji utječu na termodinamičku i kinetičku stabilnost kopolimernih micela (23)

### 3.4. Oslobađanje lijeka iz kopolimernih micela

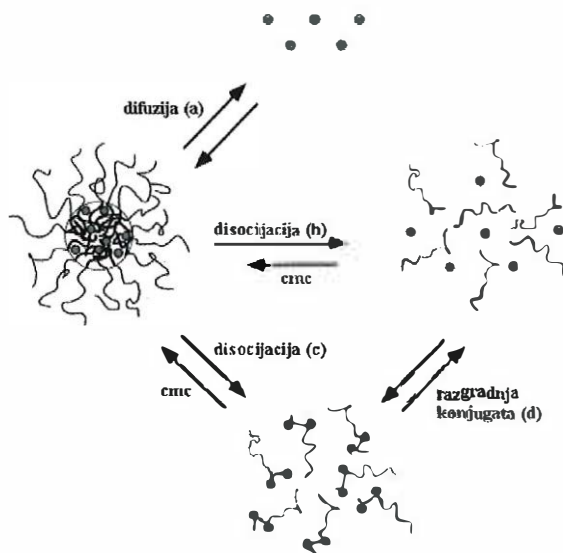
Stabilnost micelarnog sustava preduvjet je za kontrolu brzine oslobađanja lijeka. Za fizički uklopljene lijekove u stabilne micelle sa sporom biorazgradnjom, oslobađanje je kontrolirano brzinom difuzije lijeka ili brzinom disocijacije sustava (slika 6 a, b) (19, 23). Čimbenici koji kontroliraju oslobađanje lijeka iz micela usko su povezani s čimbenicima koji određuju micelarnu stabilnost.

Ako je lijek smješten u jezgru micelle, onda se jačanjem međudjelovanja s hidrofobnim dijelom kopolimerne molekule usporava oslobađanje lijeka. Jaka međudjelovanja povećavaju stupanj uklapanja lijeka i micelarnu stabilnost, ali smanjuju brzinu oslobađanja. Stoga je potrebno naći kompromis kako bi se optimizirala micelarna svojstva. Na takva međudjelovanja mogu utjecati pH vrijednost (pH-senzitivne micelle) i temperatura (termo-senzitivne micelle) vanjskog sredstva (17, 23). Tako se povećanjem pH vrijednosti sredstva od kiselog prema neutralnom povećava brzina oslobađanja indometacina iz

PEO-PBLA micela zbog sve veće ionizacije karboksilnih skupina lijeka te slabljenja hidrofobnih međudjelovanja (56). Fizičko će stanje micelarne jezgre utjecati i na brzinu oslobađanja lijeka preko veće ili manje pokretljivosti hidrofobnih lanaca, odnosno jačim ili slabijim međudjelovanjima s lijekom. Difuzija otapala u micelarnu jezgru može prilično smanjiti vrijednosti temperature staklastog prijelaza. Micelarne jezgre građene od nešto hidrofilnijih kopolimera mogu sadržavati određenu količinu vode, što ubrzava oslobađanje lijeka. Oslobađanje se može usporiti povećanjem količine uklopljenog lijeka zbog jačanja hidrofobnih međudjelovanja. Povećanjem duljine hidrofobnog dijela kopolimerne molekule povećava se jezgra micelle što usporava oslobađanje lijeka. Molekulski volumen lijeka utječe na brzinu difuzije lijeka iz micelle i što je on veći brzina difuzije je manja, a oslobađanje je sporije. Agregatno stanje lijeka također utječe na brzinu oslobađanja. Molekulsko otopljeni lijek u micelarnoj jezgri može imati ulogu plastifikatora i smanjivati temperaturu staklastog prijelaza te tako ubrzavati oslobađanje. Kada lijek nije dobro otopljen ili solubiliziran, već oblikuje odvojenu fazu unutar jezgre micelle, oslobađanje lijeka iz sustava može biti onemogućeno (17, 19, 23).

Hidrofilniji lijekovi uklopljeni u micelarni omotač i/ili na međupovršinu micelarnih odjeljaka bit će drukčije oslobađani, naspram lijekova iz micelarne jezgre. Vanjski je micelarni omotač prilično pokretan, stoga će se lijek vrlo brzo oslobađati (*burst release*). Lijekovi smješteni u ovim dijelovima micelle ne moraju difundirati kroz micelarnu jezgru tako da njegova veličina ne utječe na oslobađanje. Molekulski je volumen lijeka jednako zanemarniv (17, 23).

Pri kovalentnom vezanju lijeka i kopolimera, brzina oslobađanja ovisit će o kemijskom ili enzimskom cijepanju kovalentne veze. Postoji mogućnost prodiranja vode u micelarnu jezgru i hidrolize kemijske veze nakon čega slijedi difuzija lijeka. Kada je prodiranje vode



Slika 6. Mehanizmi oslobađanja lijeka iz kopolimernih micela (19)



u hidrofobnu jezgru ograničeno, oslobađanje je lijeka kontrolirano disocijacijom micelnog sustava. Sporom disocijacijom micela u kopolimerne konjugate i oslobađanjem slobodnog lijeka hidrolizom kovalentnih veza ograničene stabilnosti u konačnici se postiže produljeni učinak (slika 6 c, d) (19).

### 3.5. Farmakokinetika kopolimernih micela

Kopolimerni se micelarni sustavi molekulske mase veće od  $10^6$  g/mol ne mogu eliminirati bubrezima sve dok ne nastupi disocijacija sustava. Stoga vrijeme cirkulacije u krvi ovisi o vremenu stabilnosti sustava prema disocijaciji. S druge strane, veličina sustava (<200 nm) umanjuje prepoznavanje i eliminiranje RES-om, čime je također produljeno vrijeme cirkulacije u krvi. Kao što je rečeno, veličina je micelarnih sustava manja u usporedbi s drugim terapijskim sustavima, a slična je prirodnim nosačima (virusi, lipoproteini). Takva veličina olakšava prijelaz micela iz kapilara prema izvanstaničnoj tekućini u tumorskim i inflamatornim područjima. Pretpostavljeni su i različiti mehanizmi intracelularnog prijelaza micela koji su potvrđeni najnovijim istraživanjima (19, 57).

Biodistribucija lijeka uklopljenog u micelle određena je površinskim svojstvima nosača, kao što su naboj, stupanj hidrofilnosti i sterička stabilizacija. Hidrofilni je micelarni omotač stabilizirajuća međupovršina hidrofobne jezgre micelle i vanjskog sredstva. Svojstva vanjskog micelnog omotača pretežno utječu na biodistribuciju micela i uklopljenog lijeka. Micelarni je omotač većinom građen od PEO lanaca. PEO povećava stabilnost sustava steričkim odbojnim silama koje se suprotstavljaju van der Waalsovima međučestičnim privlačnim međudjelovanjima. Stupanj stabilizacije micelnog sustava ovisi o površinskoj gustoći PEO lanaca i debljini micelnog omotača. Površinska gustoća određuje izloženost jezgre micelle vanjskoj vodenoj sredini, a određena je agregacijskim brojem; što je veći agregacijski broj, veća je i površinska gustoća. U slučaju povećane izloženosti, hidrofobnim privlačenjem micelarnih jezgri, može nastupiti sekundarna agregacija i stvaranje velikih agregata (*klastera*). Sekundarnom se micelarnom agregacijom povećava prosječna veličina micela, što ima značajan učinak na biodistribuciju sustava. Velike su čestice podložnije uklanjanju RES-om i umanjene su sposobnosti prijelaza u izvanstaničnu tekućinu, odnosno nakupljanja u ciljnim tkivima (19, 23).

PEO omotač sprječava adsorpciju bioloških komponenata na površini čestice. Tako je izbjegnuta adsorpcija proteina koja bi u prvih nekoliko minuta mogla izazvati razaranje sustava, a time i naglo oslobađanje uklopljenog lijeka čiju bi farmakokinetiku bilo nemoguće predvidjeti. Površinska opsonizacija proteina, koji su dio RES-a, privlači makrofage, što može uzrokovati akumulaciju sustava u jetri, slezeni i plućima (19, 23).

Kovalentno je vezanje doksorubicina za PEO-P(Asp) kopolimer rezultiralo nastankom amfifilnog konjugata sa sposobnošću micelizacije. Nastale su micelle stabilne *in vivo*, a za disocijaciju je potrebno nekoliko sati. Vrijeme polueliminacije micelnog sustava ovisi o veličini PEO dijela kopolimera. Tako micelle s PEO dijelom od 12 kDa imaju  $t_{1/2}$  oko 7 sati, dok one s PEO dijelom od 5 kDa imaju  $t_{1/2}$  oko 1,5 sata, a micelle s PEO dijelom od 1 kDa imaju cirkulacijsko vrijeme polueliminacije znatno niže od 1 sata (17, 22).

## Block copolymer micelles as drug delivery systems

by I. Pepić

### S u m m a r y

Block copolymers are generally defined as macromolecules with linear and/or radial arrangement of two or more different blocks of varying monomer composition. The increasing interest in block copolymers arises mainly from their unique solution and associative properties as a consequence of their molecular structure. In fact when a block copolymer is dissolved in a liquid that is a thermodynamically good solvent for one block and a precipitant for the other, the copolymer chain may associate reversibly to form micellar aggregates. The micelles consist of a more or less swollen core of the insoluble blocks surrounded by a flexible corona of soluble blocks. It can in general be assumed that block copolymers in selective solvent form micelles via an association process, characterised by a certain CMC, below which only molecularly dissolved copolymer is present in solution, usually as unimers. Above CMC, multimolecular micelles are in equilibrium with the unimers. Concerning the kinetics of micellization in solution, it could be shown that two relaxation processes have to be considered for block copolymer micellar systems. All individual methods of micelle preparation can be divided into two large groups: the direct dissolution method and the dialysis method. The method of drug incorporation employed will depend mostly on the method of micelle preparation used for the particular block copolymer. The incorporated drug may lie within the micelle core, at the interface between the micelle core and the corona or even within the corona itself. The stability of block copolymer micelles includes two different concepts: thermodynamic stability and kinetic stability. Micelles as drug carriers are able to provide a set of advantages: they can solubilize poorly soluble drugs and those increase their bioavailability, they can stay in the body (in the blood) long enough providing gradual accumulation in the required area, their size permits them to accumulate in body region with leaky vasculature, they can be targeted by attachment of a specific ligand to the outer surface, and they can be prepared in large quantities easily and reproducibly. Being in a micellar form, the drug is well protected from possible inactivation under the effect of biological surroundings, it does not provoke undesirable side effects, and its bioavailability is usually increased.

(Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb)

### Literatura – References

1. N. Kumar, M.N.V. Ravikummar, A.J. Domb, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **53** (2001) 23.
2. G. Riess, *Prog Polym. Sci.* **28** (2003) 1107.
3. K. Mortensen, *Colloid. Surface. A* **183–185** (2001) 277.
4. A.T. Florence, D. Attwood, *Physicochemical principles of pharmacy*, Ed., 2<sup>nd</sup> ed., The MacMillan press LTD; London 1994, 199.
5. I. Astafieva, X.F. Zhong, A. Eisenberg, *Macromolecules* **26** (1993) 7339.

6. A. Alexandridis, T.A. Hatton, *Colloid. Surf. A* **96** (1995) 1.
7. A.V. Kabanov, I.R. Nazarova, I.V. Astafieva, E.V. Batrakova, V.Y. Alakhov, A.A. Yaroslavov, V.A. Kabanov, *Macromolecules* **28** (1995) 2303.
8. I. Paterson, J. Armstrong, B. Chowdhry, S. Leharne, *Langmuir* **13** (1997) 2219.
9. E. Hechi, H. Hoffmann, *Colloid. Surface. A* **96** (1995) 181.
10. B.A. Noskov, *Adv. Colloid Interface Sci.* **95** (2002) 237.
11. M.J. Kositzka, C. Bohne, P. Alexandridis, T.A. Hatton, J.F. Holzwarth, *Macromolecules* **32** (1999) 5539.
12. G. Waton, B. Michels, R. Zana, *J. Colloid. Interf. Sci.* **212** (1999) 593.
13. T. Nose, K. Iyama, *Comput. Theor. Polym. Sci.* **10** (2000) 249.
14. R. Senjković, *Osnove oblikovanja lijekova*, Školska knjiga, Zagreb 1994, 18.
15. V.S. Trubetskoy, V.P. Torchilin, *S.T.P. Pharma Sci.* **1** (1996) 79.
16. V.P. Torchilin, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 305.
17. V.P. Torchilin, *J. Contr. Rel.* **73** (2001) 137.
18. K. Kataoka, A. Harada, Y. Nagasaki, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **47** (2001) 113.
19. A. Lavasaniifar, J. Samuel, G.S. Kwon, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **54** (2002) 169.
20. H. Bader, H. Ringsdorf, B. Schmidt, *Angew. Makromol. Chem.* **123/124** (1984) 457.
21. A.V. Kabanov, E.V. Batrakova, N.S. Melik-Nubarov, N.A. Fedossev, T.Y. Dorodnich, V.Y. Alakhov, V.P. Chekhonin, I.R. Nazarova, A. Kabanov, *J. Contr. Rel.* **22** (1992) 141.
22. K. Kataoka, G.S. Kwon, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, *J. Contr. Rel.* **24** (1993) 119.
23. C. Allen, D. Maysinger, A. Eisenberg, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 3.
24. B.G. Yu, T. Okano, K. Kataoka, G. Kwon, *J. Contr. Rel.* **53** (1998) 131.
25. B.G. Yu, T. Okano, K. Kataoka, S. Sardari, G. Kwon, *J. Contr. Rel.* **56** (1998) 285.
26. G. Kwon, M. Naito, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, *J. Contr. Rel.* **48** (1997) 195.
27. K. Kataoka, T. Matsumoto, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, S. Fukushima, K. Okamoto, G.S. Kwon, *J. Contr. Rel.* **64** (2000) 143.
28. S.B. La, T. Okano, K. Kataoka, *J. Pharm. Sci.* **85** (1996) 85.
29. M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, S. Suswa, K. Kataoka, *J. Contr. Rel.* **39** (1996) 351.
30. M. Yokoyama, S. Fukushima, R. Uehara, K. Okamoto, K. Kataoka, Y. Sakurai, T. Okano, *J. Contr. Rel.* **50** (1998) 79.
31. M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, *J. Contr. Rel.* **32** (1994) 269.
32. A. Harada, K. Kataoka, *Macromolecules* **31** (1998) 288.
33. V.S. Trubetskoy, G.S. Gazelle, G.L. Wolf, V.P. Torchilin, *J. Drug Target.* **4** (1997) 381.
34. K. Katayose, K. Kataoka, *J. Pharm. Sci.* **87** (1998) 160.
35. X. Zhang, J.K. Jackson, M. Burt, *Int. J. Pharm.* **132** (1996) 195.
36. M. Ramaswamy, X. Zhang, H.M. Burt, K.M. Wasan, *J. Pharm. Sci.* **86** (1997) 460.
37. H.M. Burt, X. Zhang, P. Toleikis, L. Embree, W.L. Hunter, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 161.

38. S.A. Hagan, A.G.A. Coombes, M.C. Garnett, S.E. Dunn, M.C. Davis, L. Illum, S.S. Davis, S.E. Harding, S. Purkiss, P.R. Gellert, *Langmuir* **12** (1996) 2153.
39. C. Allen, J. Han, Y. Yu, D. Maysinger, A. Eisenberg, *J. Contr. Rel.* **63** (2000) 275.
40. I.G. Shin, S.Y. Kim, Y.M. Lee, C.S. Cho, Y.K. Sung, *J. Contr. Rel.* **51** (1998) 1.
41. S.Y. Kim, I.G. Shin, Y.M. Lee, C.S. Cho, Y.K. Sung, *J. Contr. Rel.* **51** (1998) 13.
42. V. Weissig, K.R. Whiteman, V.P. Torchilin, *Pharm. Res.* **15** (1998) 1552.
43. V. Weissig, C. Lizano, V.P. Torchilin, *J. Liposome Res.* **8** (1998) 391.
44. E.S. Lee, H.J. Shin, K. Na, Y.H. Bae, *J. Contr. Rel.* **90** (2003) 363.
45. E.S. Lee, K. Na, Y.H. Bae, *J. Contr. Rel.* **91** (2003) 103.
46. Y.L. Glen, S. Kwon, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 217.
47. F. Kohori, M. Yokoyama, K. Sakai, T. Okano, *J. Contr. Rel.* **78** (2002) 155.
48. T. Inoue, G. Chen, K. Nakamae, A.S. Hoffman, *J. Contr. Rel.* **51** (1998) 221.
49. A. Miwa, A. Ishibe, M. Nakano, T. Yamahira, S. Itai, S. Jimino, H. Kawahara, *Pharm. Res.* **15** (1998) 1844.
50. V. Alakhov, E. Kliniski, S. Li, G. Pietrzynski, A. Venne, E. Batrakova, T. Bronitch, A. Kabanov, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 113.
51. V.I. Slepnev, L.E. Kuznetsova, A.N. Gubin, E. V. Batrakova, V.Y. Alakhov, A.V. Kabanov, *Biochem. Int.* **26** (1992) 587.
52. M.J. Newman, M. Balusubramanian, C.W. Todd, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **32** (1998) 199.
53. N. Rapoport, *Colloid. Surface. B* **16** (1999) 93.
54. M. Jones, J. Lemux, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **48** (1999) 101.
55. A.V. Kabanov, E. V. Batrakova, V.Y. Alakhov, *J. Contr. Rel.* **82** (2002) 189.
56. S.B. Lu, T. Okano, K. Kataoka, *J. Pharm. Sci.* **85** (1996) 85.
57. R. Savic, L.B. Luo, A. Eisenberg, D. Maysinger, *Science* **300** (2003) 615.

Primljeno: 28.02. 2005.