**[[1]](#footnote-1)Polymersomeهای با ظرفیت بارگذاری بالا تهیه شده به روش خودانباشتگی مستقیم از کوپلیمرهای بلوکی در داروها**

**فنگ-یولین، چیه-یانگ چنگ، یو-هوآ چوانگ، شیه-هوانگ تونگ\***

**موسسه مهندسی و علوم پلیمر، دانشگاه بین المللی تایوان، تایپه، 10617، تایوان**

|  |  |
| --- | --- |
| اطلاعات مقاله  تاریخچه مقاله:  دریافت:15 آگوست 2017  دریافت پس از بازنگری  9 اکتبر 2017  پذیرش:22 نوامبر 2017  دسترسی انلاین23 نوامبر 2017  کلمات کلیدی  کوپلیمر بلوکی،حوضچه،رهایش دارو | چکیده  ما یک روش جدید برای تهیه حوضچه‌های[[2]](#footnote-2) کوپلیمرهای با ظرفیت بارگذاری بالای داروها ارایه می‌دهیم که پس از آن می‌تواند به شیوه‌ایی کنترل شده رهایش یابد.کوپلیمرهای بلوکی،شامل PS-b-PAA، PS-b-PEO و PCL-b-PEO زیست سازگار می‌باشند، که می‌توانند به صورت مستقیم درون حوضچه‌ها در آسپرین و آسپرین کپسوله شده، خودانباشته شوند.که تحرک بخش های جامد کوپلیمرهای بلوکی و مولکول‌های آسپرین به وسیله حرارت زیاد دادن و سرد کردن حلال با اتانول، بیان می‌شود.در ابتدا، آسپرین بعد از پیش آغشته سازی، با بلوک‌های هیدروفیل پیوند خورده، منجر به تشکیل سازه‌های دولایه می‌گردد.در طی حرارت دادن و سرد کردن حلال، دو لایه‌ها به دور حوضچه‌های محصور شده درون آسپرین پیچیده می‌شوند که حوضچه‌ها هسته‌ها را پر می‌کنند. برهمکنش‌های بین بلوک‌های کوپلیمرها و آسپرین توسط FT-IR مورد بررسی قرار گرفتند، و شکل حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین توسط میکروسکوپ انتقال الکترونی و تفرق نور دینامیکی مورد تایید قرار گرفت. مقدار جز آسپرین بارگذاری شده درون حوضچه ها استخراج شده %5±59 بیشتر از حوضچه‌های شکل گرفته مرسوم در سیستم‌های مایع با داروهای رقیق شده است. نرخ رهایش و مقدار رهایش نهایی آسپرین از حوضچه ها در محلول‌های آبی به وسیله افزودن مقادیر n- دی اکسان یا به وسیله تغییرات در مقدار pH می تواند کنترل شود. |

**1 مقدمه**

کوپلیمرهای بلوکی از دو یا چند هموپلیمر متصل شده به یکدیگر توسط پیوندهای کوالانت خودانباشته درون ساختارهای حلالی مختلف در مقیاس نانو تشکیل شده اند، نیروی محرک کاهش انرژی آزاد اثر متقابل بین زنجیرهای پلیمر و حلال‌ها،که در آن بخش‌های حلال دوست تمایل به تماس با حلال دارند درحالیکه بخش های حلال گریز از حلال محافظت می‌شوند[1-10]. چون نرخ نفوذ زنجیرهای بلند نسبتا کمتر می‌باشد،سینتیک ساختارهای تشکیل شده از کوپلیمرهای بلوکی می‌توانند بیشتر یا کمتر قفل شوند و بنابراین ساختارهای بیشتری از موارد دیگر که معمولا در سیستم های سورفکتانتی مشاهده می‌شود، ایجاد شده است ]4[. علاوه براین، برهمکنش‌های قوی بین مولکولی و گره خوردگی زنجیرهای بلند پلیمری تا حد زیادی خواص مکانیکی ساختارها را افزایش می‌دهد]11[، که منجر به پایداری بالاتر و نفوذپذیری کمتر شود که سیستم‌های سورفکتانتی مرسوم فاقد آن است. معماری های مختلف و قابل طراحی مولکولی، ساختارهای خودانباشته قدرتمند، کوپلیمرهای بلوکی را در زمینه نانوتکنولوژی برای امکان بهره برداری در کاربردهایی مانند سنتز مواد قالبهای نانو ]12-15[و رهایش دارو جذاب کرده است]3،16[. در میان ساختارهای خودانباشته کوپلیمرهای بلوکی، حوضچه‌ها (یا پلیمرزومها) توجه زیادی را به خود جلب کرده اند که منجر به توانایی آنها برای حمل مواد شده است ]10و12[. یکی از کاربردهای حوضچه‌های کوپلیمرهای بلوکی کپسوله سازی مولکولهای مهمان در فضاهای احاطه شده حوضچه های داخلی تو سط جداره دولایه قدرتمند می‌باشد.مولکول‌های کاربردی مهمان، مانند مولکول‌های فعال زیستی،داروها، عطرها، رنگ‌ها، و عوامل واکنش‌پذیر، می‌توانند به طور بالقوه و به طور کنترل شده رهایش یابد. این نوع از تکنولوژی نانو کپسولاسیون به عنوان فرصتی برای تعداد بسیار زیادی از صنایع شیمیایی ویژه شامل بایومدیکال، مراقبت شخصی، کشاورزی، غذا و رزین در نظر گرفته شده است. اخیرا به طور ویژه استفاده از حوضچه‌ها برای کنترل دارورسانی متمرکز شده است به علت مزیت های زیادی که حوضچه‌ها می‌تواند در مقایسه با شکل های معمول دوز ارایه دهند مانند کارآیی بهبود یافته، هدف دقیق، و کاهش سمیت،در درمان پزشکی، مانند درمان سرطان تقاضای مصرانه ایی وجود دارد]17و26[.

بیشتر مایسل های کوپلیمرهای بلوکی در محیط مایع نزدیک به دمای اتاق مورد مطالعه قرار گرفته اند.با این حال، نشان داده شده است که به علت اثر رقت کپسول سازی مولکول های مهمان در حوضچه ها در سیستم‌های مایع ناکاآمد است]27[.همچنین بیشتر کوپلیمرهای بلوکی حوضچه‌ها در حلال‌های آلی سمی شکل می‌گیرند،که در نتیجه کاربردهای زیست پزشکی آنها را محدود می‌کند]28[. ما قبلا گزارش کردیم که کوپلیمر بلوکی، پلی (استایرن –b-4- وینیل پریدین ) (PS-b-P4VP)، می تواند در دگزیکسولیک اسید مایع (DCA) ذوب شده در نقطه ذوب بالاتر از DCA، که جامد بلوری در دمای اتاق است، خودانباشته شود، که روش متفاوت از روش های معمول است. ساختارها می‌توانند بعد از خنک کردن تا دمای اتاق در حالت جامد باقی بمانند]29[.به عبارت دیگر مولکول‌های DCAنه تنها نیروهای محرک لازم برای تشکیل حوضچه‌ها را تامین می‌کند بلکه درون هسته حوضچه‌های کپسوله شده نیز محصور شده‌اند.از آنجا که مولکول‌های DCA در داخل حوضچه‌ها با دولایه محافظت می‌شوند در حالیکه می‌توان لایه خارجی با حلال های مناسب شست، حوضچه‌های پرشده با مولکولهای DCA می‌توانند به شکل ناقصی استخراج شوند. از طریق این استراتژی حوضچه‌های محصور شده با مولکولهای مجددا می توانند در حلالهای موردنظر برای رهایش کنترل شده یا در سایر محیطها جاییکه توابع خاص موردنیاز است،استخراج شوند.

در این مطالعه، ایده حوضچه‌های مستقیما شکل گرفته از کوپلیمرهای بلوکی در داروها و کپسوله کردن داروها در حوضچه‌ها گسترش دادیم.آسپرین، به عنوان یک داروی عامل ضدالتهابی و ضد پلاکت معمولی استفاده شد.گروه‌های استری و کربوکسیلیک اسید روی آسپرین میتوانند با پلیمرهای حامل گروهای –OH,-COOH واکنش کنند]30[. پلی (استایرن –b-آکریلیک اسید) (PS-b-PAA) به عنوان مدل کوپلیمر بلوکی انتخاب شد]31[. انتظار می‌رفت که آسپرین ذوب شده بتواند به عنوان یک حلال انتخابی برای بلوک PAA کار کند باعث خو انباشتگی PS-b-PAA شود.با این حال نقطه ذوب آسپرین به بزرگی 135 یکی از مسایل مهم در هنگام ذوب شدن آسپرین بشمار می‌آید که در دمای بالا ساختار شیمیایی مولکول‌های آسپرین تغییر کرده اند]32[. برای جلوگیری از واکنش‌های ناخواسته، روش آنیلینگ حلال در دمای پایین را جایگزین آنیلینگ حرارتی برای آماده سازی حوضچه های بارگذاری شده با آسپرین اتخاذ کردیم. در طی آنیلینگ حلال با اتانول، بخارهای حلال درون نمونه‌ها نفوذ کرده و آسپرین و کوپلیمربلوکی متورم می‌شوند. سپس مولکول‌ها می‌توانند به سمت تعادل ترمودینامیکی حرکت کنند و حوضچه‌هایی با هسته‌های پرشده با آسپرین را تشکیل دهند.

حوضچه‌های استخراج شده بارگذاری بالای جز آسپرین را نشان می‌دهند و رفتارهای رهایش آسپرین را می‌توان به وسیله افزودن حلال‌های خوب یا به وسیله تغییرات در مقدار pH محلول‌های آبی تنظیم کرد]33[. همچنین دیگر کوپلیمرهای بلوکی دوسردوست(amphiphilic) استفاده شده، از جمله پلی (استایرن-اتیلن اکساید) (PS-b-PEO) ]34[، و پلی (ɛ-کاپرولاکتون-b- اتیلن اکساید) (PCL-b-PEO)زیست سازگار]35[، در تشکیل حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین موفق بودند.این مطالعه راه آسان برای تهیه حوضچه‌های زیست سازگاری که توانایی حمل مقادیر زیادی دارو، ایده اختیاری برای رهایش کنترل شده دارو ، به خصوص برای استفاده دراز مدت ناشی از نفوذپذیری پایین حوضچه‌های دولایه ارایه می‌دهد.

2. بخش تجربی

1.2. مواد

پلی استایرن (70000)-b- اکریلیک اسید (13000) (شاخص پراکندگی= 1.10) و استیل سالسیلیک اسید، به عبارت دیگر آسپرین، (درجه خلوص 99.0%≤)؛ از شرکت سیگما-آلدریچ خریداری شد.پلی استایرن (42000)-b-اکریلیک اسید (4500) (شاخص پراکندگی=1.18)، پلی استایرن (20500)-b-اکریلیک اسید (2600) (شاخص پراکندگی=1.10)، پلی استایرن (58000)-b-اتیلن اکساید (8200) (شاخص پراکندگی=1.05)، و پلی کاپرولاکتون (32500)-b-اتیلن اکساید (5000) (شاخص پراکندگی=1.3) ازمنبع پلیمر خریداری شدند.اعداد درون پرانتز در کوپلیمرهای بلوکی وزن مولکولی عددی میانگین بر حسب گرم بر مول می‌باشند.حلال های تتراهیدروفوران(THF)، اتانول، و n-دیوکسان به ترتین از شرکت های ماکرون کمیکالز، سیگما-آلدریچ و جی.تی. بیکر خریداری شدند. بافر حاوی بورات (10=pH )، بافر حاوی فسفات (7=pH ) از ساینتفیک فیشر انگلستان خریداری شد. بافر استات (5=pH ) از ACROS خریداری شده بود.به محض دستیابی به تمام موادشیمیایی و حلال ها مورد استفاده قرار گرفتند.

2.2. تهیه نمونه

ابتدا کوپلیمرهای بلوکی در آون خلا با دمای 100 درجه سانتیگراد به مدت یک روز خشک شدند.برای آماده سازی حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین، 5 میلی گرم کوپلیمرهای بلوکی و 45 میلی گرم آسپرین در 2 میلی لیتر تتراهیدروفوران حل شدند، سپس به مدت دو روز در دمای اتاق همزده شد.پس از خوب مخلوط شدن، محلول پلیمر/آسپرین به مدت چند روز درون بشر تفلونی پوشیده شده توسط ظرف (پتری دیش) معکوس قرار گرفتند تا حلال به آرامی در دمای اتاق تبخیر شود. نمونه های خشک شده کوپلیمرهای بلوکی/آسپرین همراه یک فنجان اتانول درون آون در دمای 45 درجه سانتیگراد برای آنیلینگ حلال قرار داده شدند.بعد از آنیلینگ، نمونه ها از آون خارج شدند و اتانول تبخیر شده بود.نمونه های جامد آنیل شده – حلال مجددا درون تتراهیدروفوران، اتانول، یا آب برای شناسایی و تست های رهایش پراکنده شدند

2.3. تست های رهایش دارو

نمونههای جامد آنیلینگ شده در 5 میلی لیتر اتانل پراکنده شدند.سپس پراکندگی به مدت 15 دقیقه و با سرعت 11000دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین ته نشین شده جمع آوری شدند و با هوا خشک شدند. رفتارهای رهایش آسپرین در آب/n-دیوکسان به عنوان هم حلال به ترتیب، با نرخ حجمی و در مقادیر Ph متفاوت آب مورد مطالعه قرار گرفت. در تست‌های هم حلالی آب/n-دیوکسان، حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین جمع آوری شده، در 4 میلی لیتر از هم حلال‌ها آب/n-دیوکسان با نرخ حجمی = 50/50%،75/25%،100/0% پراکنده شدند. سپس محلول‌ها درون کیسه های دیالیز جداگانه با وزن مولکولی 1000 گرم برمول منتقل شدند. کیسه ها درون 40 میلی لیتر از هم حلال ها با همان نسبت از آب/n-دیوکسان درون کیسه های دیالیز قرار داده شدند تا مقدار رهایش آسپرین را تعیین کنند، 3 میلی لیتر از محلول گرفته شد و با یک اسپکتروفتومتر JASCO V-650 در طول موج 296 نانومتر که مشخصه جذب آسپرین میباشد،اندازه‌گیری شد. بعد از اندازه‌گیری، نمونه های محلول به کل محلول برگردانده شد تا حجم کل محلول حفظ شود. تست های رهایش در آب با مقادیر Ph متفاوت به روش مشابه انجام شد. حوضچه‌های بارگذاری شده با آسپرین در 5 میلی لیتر محلولهای بافر با10و7و 5= Ph پراکنده شدند. کیسه های دیالیز در 35 میلی لیتر از محلول‌های بافری مشابه قرار داده شدند. اجزا آسپرین در محلول‌های بافر به وسیله اندازه‌گیری جذب UV در 296 نانومتر طبق نمودارهای کالیبرشده با مواد مکمل که در شکل‌های 9S نشان داده شده، تعیین شدند.

4.2. شناسایی

برای گرفتن تصاویر میکروسکوپ الکترونی انتقالی (TEM) از ساختار میکروفازهای جدا شده کوپلیمرهای بلوکی با آسپرین و بدون آسپرین، نمونه‌ها در رزین (Arahdite 502) جاسازی شدند و درطول شب در دمای 60 درجه سانتیگراد پخت شدند و سپس به فیلم‌های فوق نازک با ضخامت 80 نانومتر با استفاده از چاقوی الماسی تقسیم شدند.بخش های نازک روی شبکه های مسی منتقل شدند و در معرض بخار RuO4 یا ید که به طور انتخابی به ترتیب بلوک های PAA یا PEO را برای افزایش تباین (کنتراست) لکه گذاری میکنند، قرار گرفتند. برای عکس از ساختارهای استخراج شده، بلوک خشک آنیل شده کوپلیمر/آسپرین نمونه ها در 5 میلی لیتر اتانل یا تتراهیدروفوران مجددا توسط امواج فراصوت پراکنده شدند و سپس محلول بر روی شبکه های مسی پوشش داده شده با کربن چکانده شدند و به دنبال آن توسط هوا خشک گردیدند.تصاویر TEM بر روی میکروسکوپ الکترونی انتقالی JEOL JEM-1230 در یک ولتاژ شتاب دهنده 100 کیلو ولتی جمع آوری شدند. طیف‌های مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) در دمای اتاق توسط طیف سنج Jasco مدل FTIR4100 ثبت گردیدند. برای اندازه‌گیری تفرق نور دینامیک (DLS)، نمونه‌های آنیل شده خشک کوپلیمر بلوکی/آسپرین در اتانل با غلظت 0.1درصد وزنی مجددا پراکنده شدند. قطر هیدرودینامیک ذرات به وسیله دستگاه تفرق نور90 Plus Brookhaven در دمای 25 درجه سانتیگراد تعیین شد.

3 . بحث و نتایج

1.3 برهمکنش بین آسپرین و PAA

ما ابتدا برای بررسی برهمکنش بین آسپرین و PS-b-PAA از FTIR استفاده کردیم. شکل 1 طیف FTIR مربوط به PS-b-PAA با وزن مولکولی متفاوت از بلوک ها، آسپرین، و مخلوط آسپرین و PS-b-PAA را نشان می‌دهد. مخلوط PS-b-PAA (آسپرین)×  نشان گذاری شده است درحالیکه × نسبت مولار آسپرین به واحد آکریلیک اسید (AA) می‌باشد.آسپرین جامد خالص باندهای جذبی در 1750 و 1680 نشان می دهد که از گروه‌های کربونیل C=O روی استر و کربوکسیلیک اسید تشکیل شده است در حالیکه گروه‌های C=O روی جامد PAA یک باند پهن در 1712 نشان می‌دهند. توجه داشته باشید که آسپرین و PAA در حالت جامد به ترتیب باندهای هیدروژنی بین مولکولی تشکیل می‌دهند و بنابراین، جذب های آسپرین خالص و PS-b-PAA خالص نشان داده شده در شکل 1 باندهایی هستند که تحت تاثیر برهمکنش های باند هیدروژنی می‌باشند.زمانیکه آسپرین و PS-b-PAA مخلوط می‌شوند، علاوه بر موارد اصلی،باندهای جدیدی در 1724 و 1689 مشاهده می‌شوند. پیشنهاد شده که آسپرین و PAA می‌توانند در سطح مولکولی باهم مخلوط گردند به طوری که باندهای هیدروژنی اصلی همان نمونه ها در آسپرین و PAA به طور جزیی توسط باندهای هیدروژنی آسپرین-AA جایگزین شوند که به این ترتیب باندهای جدیدی را ایجاد می‌کند. باند برجسته 1689 به طور ویژه برای PS-b-PAA(آسپرین)0.5 ، نشان میدهد که یک مقدار کمی از آسپرین می تواند بطور یکنواخت در بلوک های PAA توزیع گردد وقتی میزان آسپرین افزوده شود (×> 1 )، مقادیر اضافه آسپرین توسط خودشان کلوخه می شوند و باندهای اصلی در 1680 رسما بیشتر ادا می‌شوند. همچنین میتوان مخلوط شدن داخلی آسپرین و PAA توسط نمودار آبی کمرنگ انتقال آسپرین درمخلوط از باند 1750 نشان داد. چنین تغییراتی نشان می دهد که برهمکنش آسپرین-آسپرین در حضور PS-b-PAA ضعیف است. کوپلیمرهای بلوکی با وزنهای مولکولی متفاوت با کسرهای مشابه از بلوک های PS و PAA تغییرات مشابهی از جذب باندها نشان می‌دهند، به این معنی است که برهمکنش بین بلوک های PAA و آسپرین مستقل از وزن مولکولی است.

اثبات شده است برهمکنش بین آسپرین و بلوک های PAA توسط تغییر میکروساختار فاز جدا شده می تواند بیشتر باشد. شکل 2 تصاویر TEM مربوط به PS(42000)-b-PAA(4500) و PS(42000)-b-PAA(4500)(آسپرین)1 را درحالی نشان می دهد که بلوک های PAA با ید برای افزایش دانسیته الکترون لکه گذاری شدند ]36[. برای PS(42000)-b-PAA(4500) خالص شکل بلوک های PAA میکرو نواحی کروی (نواحی تاریک) در مخلوط پلی استایرن به علت کسر حجمی کم بلوک PAA در شکل 2a نشان داده شده است. زمانیکه با آسپرین در 1=× مخلوط می‌شود، بجای میکرو نواحی کروی، ساختار استوانه گونه همانطور که در شکل 2b نشان داده شده است مشاهده می‌شود. در PS(70000)-b-PAA(13000) بر پایه نمونه های نشان داده شده در شکل S1 از مواد مکمل به وضوح انتقالی مشابهی قابل مشاهده است. نتایج تایید می کنند که آسپرین به بلوک های PAA وابسته است تا کسر حجمی PAA(آسپرین) افزایش یابد، بنابراین منجر به انتقال ساختار از کروی به استوانه ایی می‌شود، مطالعات گسترده و مشابهی روی سیستم های کوپلیمرهای بلوکی بر پایه فوق مولکولی انجام شده است]37-40[.

2.3. حوضچه های بارگذاری شده آسپرین

برهمکنشهای قوی بین آسپرین و بلوک های PAA شناخته شده است، ما سپس خودانباشتگی PS-b-PAA در مقادیر زیاد آسپرین که به عنوان "حلال انتخابی"کار می کند مورد آزمایش قرار دادیم.PS(42000)-b-PAA(4500) و آسپرین در نسبت وزنی 1:9 یعنی 10 درصد وزنی از PS-b-PAA در آسپرین ابتدا درون تتراهیدروفوران حل شد و سپس تتراهیدروفوران به آرامی تبخیر شد تا نمونه ها قبل از مصرف مخلوط شوند.از آنجا که آسپرین یک جامد بلوری در دمای اتاق است ، پیش مخلوط سازی نمونه ها قبل از مصرف با ساختار جنبشی منجمد شده بعد از تبخیر کردن تتراهیدروفوران برای رسیدن به حالت تعادل نیاز به آنیلینگ بیشتری دارد. برای جلوگیری از واکنش شیمیایی آسپرین در دمای بالا]32[، ما روش آنیلینگ در دمای پایین 45 درجه سانتیگراد را بجای روش مرسوم آنیلینگ حرارتی عموما در دمای بالاتر از دمای انتقال شیشه ایی یا نقطه ذوب اتخاذ کردیم.[29]. نمونه های خشک از قبل آماده شده با بخار اتانل آنیل شدند. در طول فرآیند آنیلینگ حلال، اتانل درون نمونه ها نفوذ کرده و تحرک را به PS-b-PAA و آسپرین منتقل میکند. حرکت مولکول‌های آسپرین به عنوان یک حلال انتخابی بلوک های PAA کار میکند و اجازه می دهد PS-b-PAA درون ساختار بسیار پایدار ترمودینامیکی خودانباشته شود. بعد از آنیلینگ، ساختارها توسط اضافه کردن نمونه‌ها درون اتانل شستشو داده می‌شوند تا آسپرین آزاد حذف شود.

تصاویر TEM از ساختارهای خشک استخراج شده از انواع مختلف زمان های آنیلینگ در شکل 3 نشان داده شده است.همانطور که درشکل 3a نشان داده شده است، برای نمونه پیش ساخته ریخته گری شده (cast) از محلول تتراهیدروفوران بدون آنیلینگ حلال، ورق‌های نازک مسطح با اندازه چندین میکرومتر شکل گرفتند. دو جداره شدن ورق‌های مسطح قرار است به وسیله PS-b-PAA شکل گیرد درحالیکه بلوک های PAA در مقادیر زیاد آسپرین در مقایسه با مورد PS(42000)-b-PAA(4500)(آسپرین)1 که ساختارهای استوانه مانند تشکیل داده اند، حتی بیشتر متورم شده است (شکل2b) . پس از انحلال به مدت یک ساعت، لایه های دوم به تدریج به سمت ساختارهای کروی خم می‌شوند، به عبارت دیگر حوضچه ها. همانطور که در شکل 3b نشان داده شده است، در جاییکه همزیستی بین حوضچه ها و دولایه ها مشاهده می‌شود. از آنجاییکه حوضچه ها در آسپرین به طور مستقیم شکل می‌گیرند، حوضچه ها با آسپرین پر هستند، به علت دانسیته الکترونی بالای آسپرین بلورین به عنوان هسته های تاریک مشاهده می شوند. همانطور که در شکل 3c نشان داده شده است، وقتیکه زمان آنیلینگ تا 5 ساعت افزایش می یابد، بیشتر دولایه ها به درون حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین تبدیل می‌شوند. توجه داشته باشید که مولکول های آسپرین بعد از آنیلینگ حلال در ارتباط با دولایه ها ممکن است بیشتر بلورین شوند، که تباین (کنتراست) دانسیته الکترونی بین پوسته ها و هسته ها کاهش یابد. این توضیح می دهد که چرا ذرات در شکل 3a ساختار مایسل مانند به جای ساختار هسته-پوسته معمولی مشاهده شده برای حوضچه ها نشان می دهند. ساختار مشابهی را می‌توان برای 60 ساعت آنیلینگ مشاهده کرد، به این معنی است که حوضچه های در پایدارترین حالت ترمودینامیکی ساختاری هستند. اندازه ذرات از تصاویر TEM که دامنه پراکندگی از ده ها تا صدها نانومتر است،تخمین زده شدند. تفرق نور دینامیکی (DSL) برای اندازهگیری دقیق اندازه ذزات پراکنده شده در اتانل استخراج شده مورد استفاده قرار گرفت. اطلاعات شکل 4 دو توزیع از قطرها نشان میدهد، بزرگترین آن در حدود 280 نانومتر و کوچکترین آن در حدود 80 نانومتر است. بزرگترین اندازه باید مختص به حوضچه ها باشد درحالیکه کوچکترین آن ممکن است از دیگر ساختارهای خود انباشته جزیی حاصل شده باشد، بیشترین احتمال همزیستی مایسل ها با حوضچه ها می باشد. PS-b-PAA با وزنهای مولکولی مختلف اما تقسیم های مشابه از بلوک ها نیز میتواند برای آماده سازی حوضچه های بارگذاری شده آسپرین توسط آنیلینگ حلال مورد استفاده قرار گیرند. ساختارها با وزن مولکولی کمتر PS(20500)-b-PAA(2600) همانطور که در شکل S2 نشان داده شده است از همین روش آماده شد. قبل از آنیلینگ حلال، ساختارهای خو انباشته دو لایه های مسطح هستند. دو لایه ها بعد از آنیلینگ حلال به مدت سه ساعت به طور عمده به حوضچه های بارگذاری شده آسپرین تبدیل می‌شوند، که کوتاه تر از زمان مورد نیاز برای همان مراحل در موردPS(42000)-b-PAA(4500) می‌باشد. این به این دلیل است که نرخ نفوذ کوتاه تر PS(20500)-b-PAA(2600) بالاست و زنجیرها میتوانند تحت آنیلینگ برای رسیدن به تعادل سریعتر حرکت کنند.همانطور که انتظار می‌رود، کوپلیمرها بلوکی با وزن مولکولی بالاتر PS(70000)-b-PAA(13000)، در زمان انیلینگ بسیار طولانی‌تری،حدود 60 ساعت، شکل غالب حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین به طور خاص با توجه به نرخ پایین نفوذ در شکل S3 نشان داده شده است. در ادامه تایید شکل حوضچه‌ها، حوضچه بارگذاری شده آسپرین شکل گرفته شده توسط PS(42000)-b-PAA(4500) بعد از آنیلینگ برای 5 ساعت ، مجددا به آرامی در تتراهیدروفوران که یک حلال خوب برای هر دو بلوک ها و آسپرین است، پراکنده شد. وقتیکه حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین در تتراهیدروفوران برای یک روز پراکنده شدند، ساختارهای حوضچه‌ها بدون تغییر هستند، هنوز هسته‌های نشان داده شده در شکل 5a پر از آسپرین هستند. حوضچه‌ها نسبتا برای یک زمان کوتاه در یک حلال خوب به علت حرکت کم زنجیرهای پلیمری بلند، گره خورده و کریستالینیتی بالای آسپرین، پایدار هستند. بعد از سه روز، مولکول‌های آسپرین که به بلوک های PAA متصل شده‌اند شروع به پخش شدن درون حلال می‌کند، همانطور که در شکل 5b نشان داده شده است منجر به ایجاد سطح مشترک زبر حوضچه‌ها می‌شود.جالب است که هسته حوضچه‌ها بعد از 5 روز خالی می‌شوند و دیواره های دو لایه های حوضچه ها را می‌توان به طور واضح در شکل 5c نشان داده شده است، دید. این به این معنی است بیشتر مولکولهای آسپرین از هسته‌ها از طریق زنجیرهای پلیمر متورم شده دولایه،رهایش می‌یابند. تست دیگر انجام شده که در آن ابتدا حوضچه‌های بارگذاری شده درون اتانل پراکنده می‌شوند، سپس مقادیر مساوی تتراهیدروفوران به محلول اضافه می‌شود. تصاویر TEM نشان داده شده در شکل S4 بعد از یک روز، بیشتر مولکول‌ها‌ی آسپرین روی دو لایه ها حذف می‌شوند و دیوارهای حوضچه‌ها روشن می‌شود. نتایج تشکیل حوضچه‌های PS-b-PAA با آسپرین محصور شده در هسته را تایید می‌کنند. همچنین تتراهیدروفوران برای استخراج حوضچههای بارگذاری شده آسپرین شکل گرفته به وسیله PS(20500)-b-PAA(2600) استفاده شد. زمانیکه حوضچههای بارگذاری شده آسپرین درون تتراهیدروفوران به مدت یک روز پراکنده شدند، همانطور که در شکل S5 نشان داده شده است، هسته بیشتر حوضچه‌هابه علت نفوذ آسپرین به خارج از حوضچه‌ها خالی شدند. زمانیکه ما حوضچه های بارگذاری شده آسپرین شکل گرفته با PS(20500)-b-PAA(2600) را با آنهایی که توسط PS(42000)-b-PAA(4500) که 5 روز زمان برای رسیدن به حالت مشابه نیاز دارد مقایسه کردیم (شکل 5c)، آسپرین می تواند با سرعت بیشتری از حوضچه ها از طریق دولایه های تشکیل شده از زنجیرهای کوتاه‌تر پلیمری به خارج نفوذ کند. رفتار رهایش سریعتر حوضچه‌های شکل گرفته توسط PS(20500)-b-PAA(2600) ناشی از نفوذپذیری بالا منتج شده از نرخ نفوذ بالا و گره خوردگی کمتر زنجیرهای پلیمری کوتاه‌تر می‌باشد، در توافق با انتقال ساختاریافته سریع برای کوپلیمر با وزن مولکولی پایین تحت فرآیند آنیلینگ حلال همانطور که در بالا توضیح داده شد، بنا نهاده شده است. علاوه بر PS-b-PAA، دیگر کوپلیمرهای بلوکی دوسردوست (آمفیفیلیک)، شامل PS(58000)-b-PEO(8200) و PCL(32500)-b-PEO(5000)، می توانند به خوبی حوضچه های بارگذاری آسپرین تشکیل دهند. همانطور که در شکل 6S نشان داده شده است، ساختار میکروفازی جداشده استوکیومتری PS(58000)-b-PEO(8200)(آسپرین)1 از کره‌های خالص PS-b-PEO خالص بدون آسپرین به استوانه‌ها تغییر شکل می‌دهند، این به این معنی است که ارتباط بین مولکول‌های آسپرین و بلوک های PEO از طریق برهمکنش‌های پیوندهای هیدروژنی است. همانطور که در شکل 6a نشان داده شده است، برای نمونه‌های 10 درصد وزنی از PS-b-PEO در آسپرین بعد از آنیلینگ حلال درون اتانل به مدت 24 ساعت، حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین به دنبال همان مراحل که در بالا توضیح داده شد تشکیل شدند. در مورد PCL-b-PEO، اگرچه گروه‌های کربوکسیلیک اسید روی آسپرین می‌توانند با هر دو گروه‌های اتر روی PEO و گروه‌های کربونیل روی PCL ارتباط برقرار کنند، برهمکنش‌های پیوندهای هیدروژنی بین PEO و آسپرین باید قوی‌تر از آنها بین PCL و آسپرین باشد]41[.

ازاینرو، آسپرین همچنین می‌تواند به عنوان حلال انتخابی PCL-b-PEO کارکند. شکل 6b، حوضچههای بارگذاری شده آسپرین تشکیل شده توسط PCL-b-PEO ده درصد وزنی در آسپرین بعد از آنیلینگ حلال به مدت 24 ساعت را نشان می‌دهد. این نتایج تایید می‌کند که این روش در این کار می‌تواند به طور کلی بر روی کوپلیمرهای بلوکی دوسردوست (آمفیفیلیک) اعمال شود و توسعه یابد. به خصوص، PCL-b-PEO به طور کامل کوپلیمر بلوکی زیست سازگار است و برای دارورسانی در محیط درون بدن مناسب است]42،43[.

سازوکار تشکیل حوضچه‌ها را می‌توان در ادامه توضیح داد. در مقادیر زیاد از آسپرین، مانند 90% در این تحقیق، همانطور که در شکل 3a نشان داده شده است برهمکنش پیوندهای هیدروژنی مابین آسپرین و بلوک های هیدروفیل(آبدوست) اجاز‌ه‌ی آمیزش آسپرین با افزایش کسرهای حجمی و درنتیجه شکل گیری ساختارهای دولایه عایق را بعد از تبخیر تتراهیدروفوران را می‌دهد. بلوک های هیدروفیل (آّبدوست) روی لایه‌های خارجی در تماس با آسپرین شکل می‌گیرند در حالیکه بلوک های هیدروفوب(آبگریز) به عنوان لایه داخلی دفن می‌شوند. در طول فرایند آنیلینگ حلال، اتانل تحرک پلیمرها و آسپرین را میسر می‌سازد. کوپلیمرهای بلوکی به حوضچه‌ها تبدیل می‌شوند زیرا تبدیل صفحات دولایه های بزرگ به حوضچه‌های کوچک دستیابی به آنتروپی کوچکتر را تفسیر می‌کند، و همچنین، اتانل و آسپرین درحال حرکت درون لایه‌های آبگریز نامحلول هستند بطوریکه لبه‌های دولایه‌ها تمایل دارند به یکدیگر متصل شوند تا مانع از اتصال لایه‌های داخلی با اتانل و آسپرین شوند.

3.3. رفتارهای رهایش

ما نشان داده ایم که پلیمرهای بلوکی می توانند مستقیما حوضچه ها رادرون آسپرین تشکیل دهند و مقادیر قابل توجهی آسپرین درون هسته‌ها کپسوله کنند. سپس رفتارهای رهایش آسپرین از حوضچه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. دو روش به تصویب رسید: (1) رهایش در حلال آبی با غلظت های متفاوت از دی‌اکسان، یک حلال با نقطه جوش بالا که می تواند هردو PS و PAA را حل کند و (2) رهایش در محلول های آبی با مقادیر pHمتفاوت که می‌تواند درجه تورم برای پلیمرهای حساس به pH، مانند PAA، را تحت تاثیر قرار دهد یا می‌تواند نرخ تخریب پلیمرهای زیست سازگار مانند PCL را تحت تاثیر قرار دهد. به منظور حذف آسپرینی که کپسوله نیست یا درون حوضچه‌های مربوطه نیستند، نمونهها درون اتانل حل شدند و سانتیریفیوژ گشتند، و رسوبات که حاوی حوضچه های بارگذاری آسپرین جمع آوری شدند. حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین خشک شده برای تست رهایش درون محلول‌های آبی قرار داده شدند. تصاویر TEM از رسوبات حوضچه‌های PS(42000)-b-PAA(4500) بعد از سانتریفیوژ و پراکنش مجدد در اتانل در شکل 7S نشان داده شده است. هسته های حوضچه‌ها هنوز با آسپرین پر بودند.

مقدار بارگذاری شده دارو حوضچه‌های پلیمری به وسیله فرمول زیر محاسبه می‌شود]44[:

(%) حجم بارگذاری شده

حجم آسپرین بارگذاری شده برای حوضچه‌های PS(42000)-b-PAA(4500) برابر می‌باشد.، که بیشتر از حوضچه‌های معمولی شکل گرفته در سیستم‌های مایع است(30-40%).]45[ دارو بارگذاری شده موثر است زیرا حوضچه‌ها مستقیما در آسپرین شکل گرفته‌اند و مقدار زیادی آسپرین می‌تواند درون هسته‌ها محصور شود. همچنین برهمکنش‌های بین بلوک‌های PAA و آسپرین اجازه می دهد تا آسپرین با PAA ارتباط یابد ، که ظرفیت بارگذاری اضافی را افزایش می دهد.

نشان دادهشده است که نفوذپذیری دیوار حوضچه ساخته شده توسط پلی استایرن میتواند با افزودن n-دیوکسان افزایش یابد]46[. n-دیوکسان برای هر دو بولک هایPS و PAA حلالی خوب است و زنجیرهای متورم پلیمر میتوانند دارو را از حوضچه‌ها ترخیص کنند. شکل 7a تجمع رهایش آسپرین ازحوضچه‌های PS(42000)-b-PAA(4500) به عنوان تابع زمان در هم حلالهای n-دیوکسان/آب در سه نسبت حجمی متفاوت نشان می‌دهد. تجمع رهایش به وسیله فرمول زیر محاسبه می‌شود:

(%)تجمع رهایش

از آنجا که حوضچه‌های کوپلیمری بلوکی قوی هستند و آسپرین کریستالی می‌باشد،در عوض آسپرین در این سیستم با نرخ آهسته رهایش می یابد، حداقل به 15 روز زمان برای رسیدن به حداکثر رهایش حتی برای هم حلالی 50/50 نیاز است. نرخ‌های رهایش در 5 روز اول تفاوت قابل توجهی برای سه هم حلال‌ها ندارند زیرا بیشترین آسپرین رهایش یافته در این حالت باید از آنهایی که به طور کلی مرتبط با لایه های خارجی PAA هستند، باشند. بعد از 5 روز، دیواره‌های حوضچه‌ متورم و مولکول‌های آسپرین در هسته حوضچه‌ها از طریق دیوارها به حلال‌ها نفوذ می‌کنند. همانطور که انتظار می‌رود، مقدار رهایش نهایی با افزایش کسر n-دیوکسان افرایش می یابد. تصاویر TEM حوضچه‌ها بعد از رهایش در هم حلال‌های 50/50 به مدت 20 روز در شکل 8S و همچنین مقایسه با تصاویر قبل از رهایش در الحاقیه شکل 7a نشان داده شده است. حوضچه‌های اصلی پرشده به آنهای توخالی تبدیل می‌شوند، این به این معنی است که بیشتر مولکول‌های آسپرین به بیرون از حوضچه‌ها رهایش یافته اند.گروه‌های کربوکسیلیک اسید آویزان روی بلوک های PAA حساس به pH هستند. هنگامیکه در مقادیر بالای pH تخریب‌پذیری پروتونه رخ می‌دهد دفع الکترواستاتیکی بار منفی بین گروه‌های کربوکسیلیک اسید در محلول آبی افزایش می‌یابد، درحالیکه رهایش آسپرین از حوضچه‌های PS-b-PAA از طریق تورم بیشتر دیوارها سهل تر خواهد شد. برعکس، در مقادیر پایین pH، گروههای کربوکسیلیک اسیدها پروتونه می‌شوند و دفع غربالگری می‌شود بدین ترتیب رهایش آسپرین بایستی تا حدی عقب بیفتد. بافر بورات (pH=10) و بافر فسفات (pH=7) برای آزمایش وابستگی رهایش آسپرین از حوضچه‌های PS-b-PAA روی مقادیر pH مورد استفاده قرار گرفت. شکل b7 پروفایل‌های رهایش آسپرین در این دو محلول‌های بافری تعیین شده براساس نمودارهای کالیبراسیون درشکل 9S را نشان می‌دهد. در pH=10 نرخ رهایش بالاتر در مرحله اول و انباشتگی رهایش بیشتر در مرحله آخر مشاهده شد که سازگار با انتظارات بود. در pH=10 رهایش نهایی~ 54% است، که کمتر از رهایی توسط n-دیوکسان (~ 68% برای هم حلال 50/50 ) شد. ممکن است که رهایش آسپرین در مقادیر بالای pH به وسیله لایه‌های حساس به pH در PS به تاخیر بیفتد، اگرچه سازگاری زنجیرهای PS ممکن است توسط زنجیرهای متورم PAA در محیط پایه تحت تاثیر قرار بگیرد.

ما همچنین علاه بر حوضچه‌های PS-b-PAA، رهایش حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین شکل گرفته شده توسط PCL(32500)-b-PEO(5000) در محلول‌های بافر با مقادیر pH مختلف را آزمایش کردیم شناخته شد که PCL از طریق شکستن اتصالات استری در محیط اسیدی هیدرولیز می‌شود]47[. به عبارت دیگر، ما می توانیم با دستکاری کردن در مقادیر pH تنظیم شده به ثبات لایه‌های داخلی PCL در دیوارهای حوضچه رسید و درنتیجه رفتارهای رهایش حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین را کنترل کرد]42[.نمودارهای رهایش در بافر استات (pH=5) و بافر فسفات (pH=7) در شکل 8 نشان داده شده است. در pH=5 در مقایسه با 7pH= نرخ رهایش و مقدار رهایش بالاتر مشاهده می‌شود، که تخریب سریعتر PCL در pH پایین تایید می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که هدف روش های جدید برای تهیه حوضچه‌ها با ظرفیت بارگذاری بالاتر برای رهایش کنترل شده می تواند در مورد کوپلیمرهای بلوکی زیست سازگار مورد استفاده قرار گیرد.

4. نتیجه‌گیری

ما نشان دادیم که کوپلیمرهای بلوکی می‌توانند با موفقیت درون حوضچه‌ها در آسپرین خوانباشته شوند و آسپرین توسط آنیلینگ حلال با اتانل در دمای پایین به طور موثری کپسوله می‌شود.اتانل تحرک را به آسپرین تحمیل می‌کند که به تنهایی در دمای پایین جامد بلوری است. آسپرین پیوندهای هیدروژنی با بلوک های آبدوست تشکیل می‌دهد، درنتیجه به عنوان یک حلال انتخابی محرک خود انباشته کوپلیمرهای بلوکی کار می‌کند.آسپرین تقریبا درون تمام بخش های حوضچه‌های بسته شده را می‌کند، در مقایسه با حوضچههای شکل گرفته در محیط مایع،ظرفیت کپسوله سازی بالاتری به حوضچه‌ها می دهد.حوضچه‌ها با محتوای آسپرین بالا استخراج می‌شوند و آسپرین کپسوله شده با نرخ پایین تر برای مدت زمان طولانی‌تر در محلول‌های آبی به دلیل دیوارهای قوی شکل گرفته حوضچه‌ها به وسیله زنجیرهای کوپلیمری بلند، می‌تواند رهایش یابد. رفتارهای رهایش را می‌توان به وسیله افزودن حلال‌های خوب که هر دو بلوک‌های کوپلیمرها را حل کند، مانند n- دیوکسان، یا به وسیله تغییر مقادیر pH، که روی درجه تورم یا تخریب کوپلیمرها اثر میگذارد،تنظیم کرد. حوضچه‌های کوپلیمر بلوکی بارگذاری شده با آسپرین در این کار پتانسیل توسعه یافتن برای کاربردهای دراز مدت جهت رهایش کنترل شده دارو را دارند. این استراتژی راه را به سمت طبقات جدیدی از نانو مواد و گسترش برنامه های کاربردی نانوتکنولوژی موجود را هموار می‌سازد.

تقدیرنامه‌ها

بودجه مالی این کارتوسط حمایت مالی وزارت علوم و فناوری تایوان بود.(MOST 102-2221-E-002-229)

ضمیمه A اطلاعات مکمل

اطلاعات تکمیلی مربوط به این مقاله را می توانید در اینجا پیدا کنید <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.11.060>.

شکل 1 : طیف تبدیل فوریه طیف سنجی مادون قرمزPS-b-PAA با وزنهای مولکولی مختلف بلوکها، آسپرین، و مخلوط آنها PS-b-PAA(آسپرین)×

شکل 2 تصاویر TEM (a) PS(42000)-b-PAA(4500) و (b) PS(42000)-b-PAA(4500)(آسپرین)1

شکل 3: تصاویر TEM ساختارهای تشکیل شده توسط PS(42000)-b-PAA(4500) ده درصد وزنی در آسپرین قبل از آنیلینگ حلال (a) و بعد از آنیلینگ برای (b) یک ساعت و (c) پنج ساعت.

شکل 4 : توزیع اندازه حوضچه‌های شکل گرفته توسط PS(42000)-b-PAA(4500) در آسپرین بعد از آنیلینگ حلال برای پنج ساعت

شکل 5: تصاویر TEM حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین تشکیل شده توسط PS(42000)-b-PAA(4500) بعد از آنیلینگ حلال برای پنج ساعت و پس از پراکنش مجدد درون تتراهیدروفوران برای (a) یک روز(b)سه رور و (c) پنج روز

شکل 6 : تصاویر TEM حوضچه‌های بارگذاری شده آسپرین تشکیل شده توسط PS(58000)-b-PEO(8200) (a)و (b) PCL (32500)-b-PEO(5000) بعد از آنیلینگ حلال برای 24 ساعت

شکل 7 : تجمع رهایش های آسپرین از حوضچه‌هایPS(42000)-b-PAA(4500) به عنوان تابع زمان در (a) هم حلال‌های n- دیوکسان/ آب با نسبت های حجمی متفاوت و (b) محلول های بافری با pH های متفاوت. الحاقیه تصاویر TEM متناظر قبل از رهایش و بعد از رهایش 20 روزه رهایش برای هم حلالی 50/50 را نشان می‌دهد

.

شکل 8 : رفتارهای رهایش آسپرین بارگذاری شده حوضچه‌های PCL(32500)-b-PEO(5000) در محلول بافری با مقادیر pH متفاوت.

1. مولکول‌های پلیمری که حاوی یک بخش محلول در آب و یک قسمت غیرمحلول در آب هستند. این مولکول‌ها که به صورت ساختارهای توخالی گرد هستند، به عنوان polymersomes شناخته می‌شوند. [↑](#footnote-ref-1)
2. Vesicle این ساختارها وزیکول های بسته هستند که از لایه های لیپیدی دوگانه دوست تشکیل شده اند و بسته به تعداد لایه های لیپیدی به دو گروه تک لایه و چند لایه تقسیم می شوند.  [↑](#footnote-ref-2)