

Polimerik veziküller ve biyolojik uygulamaları

Polymeric vesicles and biological applications

Umut Can ÖZ¹, Asuman BOZKIR¹

ÖZET

Bilimin gelişmesindeki temel yaklaşım olan doğayı taklit etme çabasının günümüzdeki en son örneklerinden birisi polimerik veziküler sistemlerdir. Hücresel bölümlendirmenin yapıtaşı olan fosfolipitlerin kendiliğinden oluşum süreci ile veziküler yapıları oluşturması sürecinin, sentetik amfilik kopolimerler üzerinde uygulanması ile üretilen polimerik veziküllerin biyolojik uygulamaları, özellikle eczacılık ve tıp alanında büyük ilgi görmüştür. Polimerik veziküller, kopolimerin hidrofobik bloğunun su ile temasını en aza indirmek için yan yana gelerek çifte tabakalı bir membran oluşturması ve bu membranın sulu ortamı çevrelemesiyle meydana gelen mikroskopik/nanoskopik partiküllerdir. Yapılarındaki sulu lümen içerisinde hidrofilik molekülleri barındırabilen bu sistemler aynı zamanda hidrofobik molekülleri kopolimerik vezikül membranı içerisinde taşıyabilmektedirler. Dolayısıyla, yapısında her türlü molekülü taşıyabilme kapasitesi olan ve üretilen çeşitli kopolimerler ile kendisine farklı uygulama alanları bulmuş polimerik veziküller, araştırmacılar tarafından çoğunlukla ilaç taşıyıcı sistemler, medikal görüntüleme ajanları, nanoreaktörler ve son yıllarda da kendiliğinden çalışan nanomotorlar olarak kullanılmaktadır. Bu derleme ile, polimerik veziküller üzerinde çalışma yapacak bilim insanlarına/

ABSTRACT

One of the most recent example of the effort to imitate nature which is the basic approach for the development of science, is the polymeric vesicular systems. The biological applications of the polymeric vesicles produced by the application of self-assembly process of vesicle forming phospholipids which are the building blocks of cellular compartmentalization, on synthetic amphiphilic copolymers, have attracted considerable interest, especially in the field of pharmaceuticals and medicine. Polymeric vesicles are microscopic / nanoscopic particles which are formed by the confinement of an aqueous environment by the copolymeric bilayer membrane which is shaped by the aim of minimizing the contact angle between the hydrophobic block of the copolymer and water. These systems, which can contain hydrophilic molecules in their aqueous lumen, can also carry hydrophobic molecules in the copolymeric vesicle membrane. Therefore, polymeric vesicles, which have the capacity to carry all kinds of molecules in the structure and can be produced from various copolymers, have been utilized in different application areas such as drug delivery systems, medical imaging agents, nanoreactors and self-propelling nanomotors in recent years. With this review, it is aimed to present a general perspective to scientists / researchers who will work on

¹Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara



İletişim / Corresponding Author : Asuman BOZKIR

Ankara Üni. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı 06100 Ankara - Türkiye
Tel : +90 532 431 83 94 E-posta / E-mail : bozkir@pharmacy.ankara.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 08.12.2017
Kabul Tarihi / Accepted : 16.04.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.87369

Öz UC, Bozkır A. Polimerik veziküller ve biyolojik uygulamaları.
Türk Hij Den Biol Derg, 2018; 75(4): 443-458

araştırmacılara genel bir perspektifin sunulması ve güncel bilgilerin bir arada verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: polimerik vezikül, polimerzom, ilaç taşıyıcı sistem, yapay hücre

polymeric vesicles and along with outlining the current information in the field.

Key Words: polymeric vesicle, polymersome, drug delivery system, protocell

GİRİŞ

Son 40 yıl içerisinde kimya ve biyoloji alanlarında kaydedilen bilimsel ilerlemeler; tıp, enerji, gıda, tarım ve iletişim gibi insan hayatında oldukça önemli yer tutan farklı sektörler üzerinde büyük etki yapmıştır. Özellikle tıp, eczacılık ve biyoloji alanlarında nanoteknolojik uygulamaların kendine yer bulmasıyla beraber bu disiplinlerdeki araştırmalar ve elde edilen ürünler büyük bir değişime uğramıştır.

Günümüzün bu gelişmeleri, insanoğlunun doğayı taklit etme çabaları sonucunda elde edilen verilerin birikerek yorumlanması ile ortaya çıkmaktadır. Yaşamın yapı taşlarının ayrıştırılıp izole edilmesinin ve herhangi bir canlı sistemin/organizmanın karmaşık yapısını oluşturmuş dinamik doğanın sağlanmasının ilk adımı “bölümlendirme”dir (1). Bölümlendirme, bir başka deyişle kontrol edilebilir hacimler yaratma ve molekülleri birbirinden ayırma yeteneği, karmaşık uygulamalar için en önemli gereksinimdir. Biyolojik bölümlendirme, boyutları nanometreden mikrometreye kadar değişebilen, sulu bir ortamı çevreleyen birkaç nanometre kalınlığındaki membranın oluşturduğu yapıların kullanılması ile gerçekleşmektedir. Membran oluşumu, kapalı sulu bölümlerin meydana gelişinin temel yapıtaşıdır. Farklı birimlerden oluşan bu tasarım, hücre içindeki düzenlenmenin ve insan vücudu gibi kompleks bir makinenin kontrolü için gerekli evrimsel bir adımdır. Hücre seviyesinde protein taşınımının, endozomal membranın tomurcuklanarak taşınacak proteini tamamen çevreleyerek, gerçekleşebilmesi veya bazı

hücre organellerinin kendilerine özgü membranlar ile çevrelenmesi bölümlendirmeye örnek verilebilir (2). Bilim adamları uzun süredir bu yeteneği taklit etmek için çok sayıda sentetik yaklaşım denemişlerdir. Bu sentetik yaklaşımların en başarılısı bölümlendirmeden sorumlu biyolojik yapı taşının taklit edilmesi ile elde edilen “fosfolipit” lerdir. Hâlihazırda, fosfolipitlerin makromoleküler analogları, polimer kimyasının derin bir şekilde anlaşılmasıyla ve gelişmiş kopolimerizasyon tekniklerinin kullanılmasıyla başarılı bir şekilde sentezlenebilmektedir. Yapısında hidrofilik ve hidrofobik kısımları taşıyan (amffilik) kopolimerler, “kendiliğinden oluşum” (self-assembly) ile bir membranın çevrelediği çeşitli yapılara dönüşecek şekilde tasarlanabilmektedirler. Bunların en basitleri, bir membranın küresel şekilde içine kapanması ile meydana gelen keseler ile temsil edilir ki bunlarda veziküller olarak adlandırılır. Bunlar lipozomların daha dayanıklı analogları olarak değerlendirilmektedir.

1. Polimerik Veziküller

Amffilik kopolimerlerden oluşmuş polimerik vezikül (Pv)'ler, yaygın olarak bilinen ismiyle “polimerzom”lar ya da “sentetik virüsler” olarak tanımlanmışlardır (Şekil 1). Pv'ler kimyasal etkin madde (3) / gen (4) /protein (5) gibi çeşitli kargo taşıyıcı araç, nanoreaktör (6), medikal görüntüleme ve teşhis ajanı (7) olarak kullanılmaktadır. Pv yapısı ilk olarak Discher ve arkadaşları (1999) tarafından tanımlanıp isimlendirilmiştir (8). 5-15 nanometre

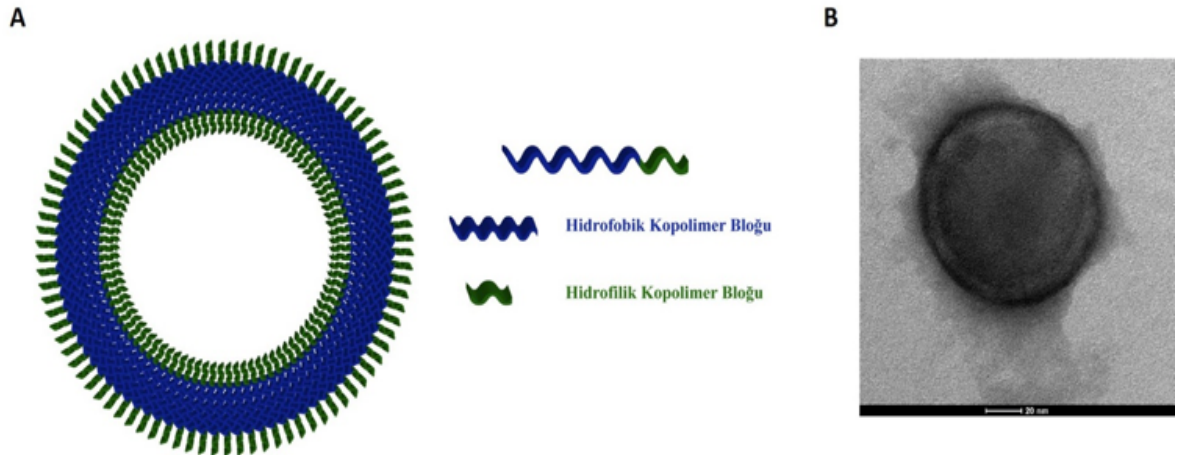
kalınlığındaki polimerik bir membranın sulu bir lümeni çevrelemesi ile meydana gelen mikroskobik/nanoskobik partiküllerdir. Membranın esas yapısını, sulu ortam ile temasını en aza indirmek için bir araya gelmiş, kopolimerin hidrofobik bloğu oluşturmaktadır. Buna ek olarak kopolimerin hidrofilik bloğu ise hem Pv lümenine hem de dış sulu ortama doğru dallanmış pozisyonda bulunmaktadır.

Amfifilik kopolimerlerin sulu ortamlarda kendiliğinden oluşum prensibiyle meydana getirdiği Pv'ler, yapıları itibarıyla lipozomları andırmaktadır. Lipozomların sergiledikleri bütün avantajlara sahip olmasının haricinde ayrıca lipozomlara kıyasla membran kalınlıkları çok daha fazla olan Pv'ler bu özellikleri nedeniyle koloidal stabiliteleri hem kinetik hem de termodinamik açıdan çok daha fazladır (9). Ayrıca yapıları itibarıyla çok çeşitli kimyasal modifikasyona uygun oldukları için farklı amaçlarda kullanımları mümkündür. Avantajlarının yanı sıra Pv'lerin dezavantaj olarak değerlendirilebilecek tek yönleri ise, üretimleri için gerekli kopolimerlerin hayli gelişmiş kopolimerizasyon bilgisi ve zorlu reaksiyonlar sonrasında elde edilebilir olması ve çok dar bir moleküler alanda vezikül yapılarına dönüşmeleridir.

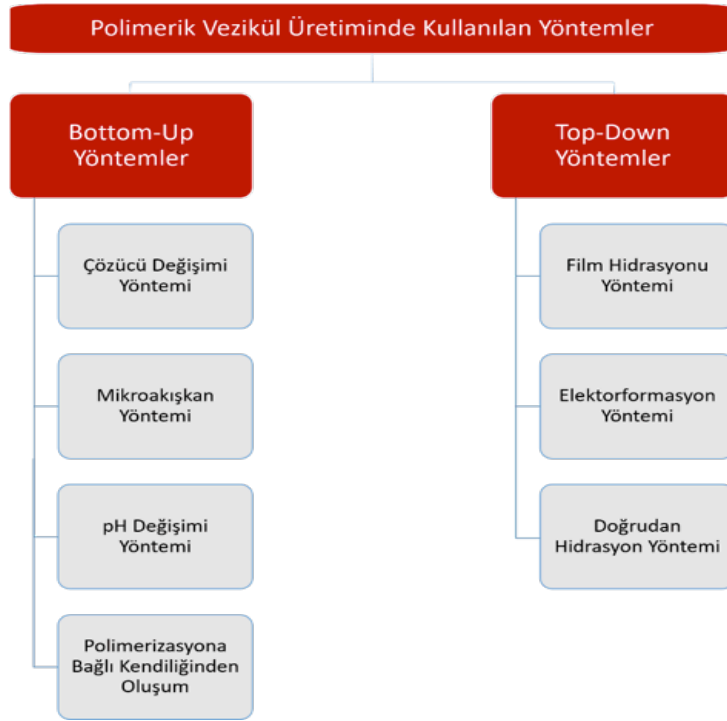
Üretim yöntemi ve kullanılan kopolimerlerin benzerliği nedeniyle Pv'ler, miseller yapıya kısmen benzemektedir. Miseller yapıya göre en önemli üstünlükleri ise kimyasal olarak çeşitli molekülleri (hidrofilik ve hidrofobik), herhangi bir elektrostatik etkileşim ya da fazladan başka bir mekanizmaya ihtiyaç duymaksızın taşıyabilmeleridir. Standart matris ya da kapsül tipi katı nanopartiküllere göre üretim yöntemleri kolay ve ölçek büyütme uygun olup, agregasyon göstermezler ve farklı kimyasal yapıdaki maddelerin taşınmasına elverişlidirler. Pv'lerin bu avantajları ve amaçlanan uygulamaya yönelik olarak boyutlarının mikrometre seviyesinden nanometre seviyesine geçecek şekilde üretilebilir olmaları, biyomedikal ve elektronik uygulamalara kadar farklı alanlarda çalışan bilim insanları ve mühendislerin dikkatini çekmektedir.

2. Polimerik Vezikül Hazırlama Yöntemleri

Pv hazırlama yöntemleri “bottom-up (yukarıdan aşağıya) yöntemler” ve “top-down (aşağıdan yukarıya) yöntemler” olmak üzere iki sınıfta gruplandırılabilir (Şekil 2).



Şekil 1. Polimerik veziküllerin yapısının şematik gösterilişi (A). Tarafımızca üretilmiş nanometre boyutundaki bir polimerik veziküle ait geçirimli elektron mikroskopi görüntüsü (B).



Şekil 2. Polimerik veziküllerin üretiminde kullanılan yöntemler.

2.1 Bottom-Up Yöntemler

Aşağıdan yukarıya olarak adlandırılan bu yöntem grubunda PV'ler, blok kopolimerin monomer seviyesinde çözülmüş halde bulunduğu ortamdan hareketle su esaslı bir çözeltinin eklenmesiyle, monomerlerin bir araya gelmeye başlamasıyla oluşurlar.

2.1.1 Çözücü Değişimi Yöntemi: “Çözücü Değişimi Yöntemi” ya da bir diğer adıyla ko-solvan yöntemi çoğunlukla suda çözünmeyen kopolimerlerde kullanılan hazırlama yöntemidir. Tipik bir çözücü değişimi yönteminde (10) öncelikle, kopolimerler, tetrahidrofur, dioksan, dimetilformamid veya dimetilsülfoksit gibi kopolimerin tüm bloklarını çözen ortak bir çözücü içerisinde çözülür. Ardından, bir blok ile uyumlayıp sadece diğer blok için seçici bir çözücü, kopolimer çözeltisine yavaş yavaş ilave edilir ya da tersi olarak kopolimer çözeltisi bu çözücü

içerisine yavaşça ilave edilir. Yaygın olarak kullanılan bir blok için uygun çözücü, hidrofilik blokları çözen ve hidrofobik blokları çözmeyen sulu çözeltidir. Hidrofobik bloklar, veziküle ait membranı oluşturacak şekilde bir araya gelme eğilimi gösterirken, çözülmüş haldeki hidrofilik bloklar vezikülü stabilize eden membranın dış kısmını oluştururlar. Organik çözücü ile su arasındaki oran kendiliğinden oluşan yapıların morfolojisini etkileyebilir. Bununla birlikte, vezikül oluşumunu desteklemek için, su içeriği genel olarak kritik su konsantrasyonundan daha yüksek olmalıdır. Bu teknikte, artan su oranı ile daha büyük hidrofob-su arayüzey geriliminin bir sonucu olarak, sulu bir ortamın ilavesiyle küresel misellerden silindirik misellere ve son olarak veziküllere geçiş tetiklenmektedir (11). Son olarak, organik çözücü, suya karşı diyaliz edilerek ortamdan uzaklaştırılır. Çözücü değişimi yöntemiyle üretilen PV'ler, kullanılan kopolimere bağlı olarak, daha dar partikül büyüklüğü dağılımına ulaşmak için

sonikasyon ve ekstrüzyon gibi üretim sonrası işlemlere maruz bırakılabilmektedirler (12).

2.1.2 Mikroakışkan Yöntemi: Organik çözücü kullanılan bir diğer Pv hazırlama yöntemi ise “Mikroakışkan (Çift Emülsiyon Şablonu) Yöntemi”dir. Esas olarak mikroakışkan cihazı kanalları içerisinde su içinde yağ içinde su (s/y/s) tipi mikroemülsiyon oluşturma temeline dayanmaktadır (13). Prensipte olarak, kopolimer bloklarını çözen bir organik çözücü içinde çözülmüş kopolimerin mikroakışkan sistem çipinin mikro kanallarında sulu çözelti ile bir araya gelip çift emülsiyonu oluşturması ve sonrasında da organik çözücünün polimerik çift tabakayı oluşturmak için yapıdan uzaklaştırılması şeklinde özetlenebilir. Bu yöntemde, organik çözücünün seçimi çok önemli bir faktördür. Uygun bir organik çözücü veya bunların bir karışımı, belirli bir buharlaşma hızını karşılayacak şekilde seçilmelidir çünkü böylece oluşan çift emülsiyon buharlaştırma işlemi boyunca dengede kalması istenmektedir (14). Bununla birlikte, buharlaştırmadan başka, organik fazının çift emülsiyon damlacıklarından manyetik nanopartiküllerin kullanılmasıyla uzaklaştırıldığı yöntemlerde bildirilmiştir (15). Mikroakışkan yöntemi, çift emülsiyon yaklaşımı ile Pv üretimi için son derece hassas bir araçtır. Oluşturulan Pv’lerin büyüklük dağılımları ve bileşimi oldukça homojen ve tekrarlanabilir niteliktedir. Bu teknik sayesinde etkin maddeler ve çözücüler doğru seçilirse, %100 enkapsülasyon etkinliği kolayca elde edilebilir. Bunun nedeni diğer tekniklerde olduğunun aksine, ortaya çıkan yapıların kendiliğinden oluşum esasına dayanmayan üretim sürecidir. Bununla birlikte, mikroakışkan yönteminin en büyük dezavantajı, şablonun boyut kısıtlamasından dolayı, nanometre ölçeğinde Pv’lerin üretilmemesidir. Ancak daha sonra geliştirilen mikroakışkan çiplerde “hidrodinamik akış odaklama” yöntemiyle nanometre büyüklüğünde Pv’lerin üretimi gerçekleştirilebilmiştir (16). Hidrodinamik akış odaklanmasında, kopolimerin

organik çözücüdeki çözeltisi ve kopolimer bloklarından birisi için seçici bir çözelti olmak üzere birbirleriyle karışabilen iki sıvı beraber akış halinde olup, difüzyon bağlı karışma ve sonrasında da kendiliğinden oluşum sürecini sağlayan laminar bir akış sağlamaktadırlar. Bu gelişmelere rağmen mikroakışkan yönteminin en büyük problemi hala yüksek verimde Pv üretiminin sağlanamamış olmasıdır. Bu problemi aşmak için üretimi paralel hale getirme (17) üzerinde çalışmalar olsa da, bu çalışmaların yüksek verimde Pv üretimi üzerine etkisi henüz gözlemlenmemiştir.

2.1.3 pH Değişimi Yöntemi: Pv’ler, pH duyarlı kopolimerlerin sulu çözeltilerinin pH değeri basit bir şekilde kontrol edilerek hazırlanabilmektedir (18). “pH Değişimi Yönteminde” pH duyarlı kopolimerler öncelikle düşük pH (pH - 1-2) değerine sahip sulu bir çözeltide çözülür ve ardından sistemin pH değeri sodyum hidroksit gibi bazik bir maddenin çözeltisinin yavaşça ilavesi ile artırılıp, kopolimerin veziküler yapıları oluşturmasına izin verilir. Bu yöntem sadece pH duyarlı kopolimere uygulanabilmektedir.

Bu yöntemlerin haricinde, iki farklı yük taşıyan kopolimer karışımının sulu çözelti içerisinde elektrostatik etkileşimler aracılığıyla Pv yapılarını oluşturduğu bildirilmiştir (19).

2.1.4 Polimerizasyona Bağlı Kendiliğinden Oluşum:

Polimerizasyona bağlı kendiliğinden oluşum (Polymerization Induced Self-Assembly, PISA) (20), tersinir eklenme-parçalanma zincir transferi (Reversible Addition Fragmentation chain Transfer, RAFT) polimerizasyonu esnasında, polimerizasyon işleminin in-situ olarak kendiliğinden oluşan yapıların ortaya çıkmasına izin vermesiyle meydana gelmektedir. RAFT polimerizasyonu için başlatıcılar seçici bir çözücüye ilave edilir ve çözünmeyen blok giderek polimerize edilir, böylece farklı yapıların oluşumu ve geçişine yol açar. Zincir sentezi tamamlanmış bir bloğun, diğer bloğun zincir uzamasında makro başlatıcı olarak kullanılması ve zincir uzaması başlayan bu

ikinci bloğun polimerizasyon derecesi kendiliğinden oluşum sürecini yöneterek, ortaya çıkan yapıların morfolojini belirler.

2.2 Top-Down Yöntemler

2.2.1 Film Hidrasyonu Yöntemi: “Film Hidrasyonu Yönteminde” kopolimerler öncelikle bir organik çözücüde çözülürler. Bu çözelti bir vial ya da altı yuvarlak bir balon içerisine konularak organik çözücü uçurulur. Sonrasında, hidrofilik zincir için seçici olan su veya sulu bir tampon film tabakasının üzerine eklenir. Burada Pv oluşumunu tetikleyen durum, su içine difüze olan kopolimer fazı ile kopolimere difüze olan su fazı arasındaki konsantrasyon gradyanıdır. Bu gradyan, zamanla orantılı olarak azalmaktadır. Konsantrasyon gradyanı değiştiğinde, lameller yapıların tamamen gevşeyerek Pv’ler oluşturmaya zamanı olmayabilir (21). Karşılıklı difüzyonu sağlamak ve konsantrasyon gradyanını sabit tutmak için manyetik karıştırma, vorteks ya da sonikasyon gibi harici bir enerji kaynağı uygulanabilir. Pv oluşumu için kullanılan en yaygın yöntem olan film hidrasyonunda, önceden dökülmüş ince kopolimer filmin mekanik karıştırma altında hidrasyonu bu kinetik engelin üstesinden gelir. Ancak bu yöntemle yaygın büyüklük dağılımına sahip ve metastabil fazları içerebilen bir Pv süspansiyonu elde edilir. Bu süspansiyona uygulanacak sonikasyonu takip eden dondur-çöz döngüsü ve sonrasındaki, istenilen por büyüklüğüne sahip membrandan Pv süspansiyonunu belirli sayıda geçirme işlemi, partikül büyüklüğünü daraltarak küçültmektedir (22).

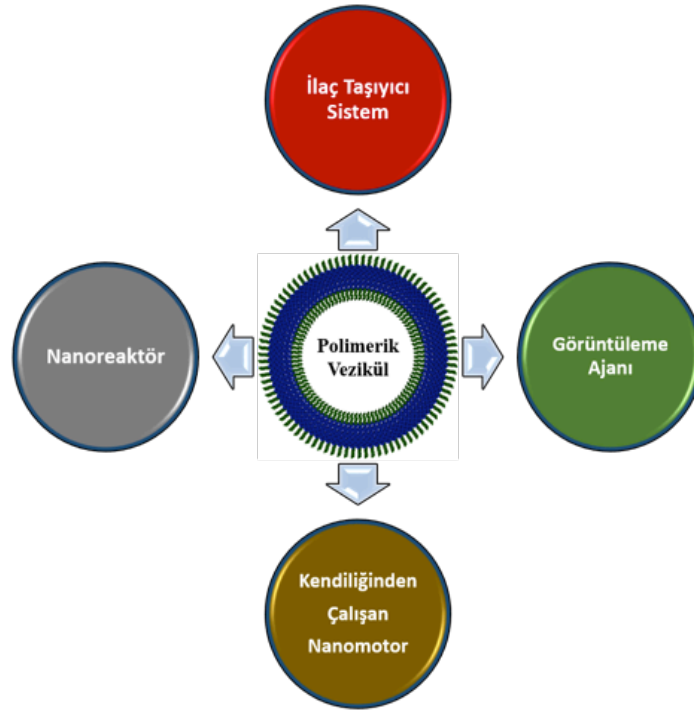
2.2.2 Elektroformasyon Yöntemi: Lipozomların elektrik akımı uygulanması ile elde edilmesi stratejisi (23) modifiye edilerek “elektroformasyon yönteminin” Pv’lerde kullanılması için uyarlanmıştır. Bu yöntem, suyun kopolimer içerisine doğru difüzyonunu artıran bir elektrik alan uygulamasıyla amfilik kopolimer filminin hidrasyonu esasına dayanmaktadır (24). Bu yöntem genellikle tek tabakalı Pv’lerin oluşumunu

sağlamasına karşın, yüksek miktarda üretime izin vermez ve çoğunlukla deneysel bir araç olarak kabul edilir.

2.2.3 Doğrudan Hidrasyon Yöntemi: “Doğrudan Hidrasyon” metodunda, katı haldeki kopolimerin doğrudan su veya sulu tampon çözeltisi içerisinde çöktürülmesi ve takibinde veziküllerin oluşması için kendiliğinden oluşum sürecine izin verilmesi adımları izlenmektedir (25). Kopolimerin sünger fazının, yüksek sıcaklıklarda, hızlı oluşumu ile etkin bir Pv üretimi sağlanmıştır. Sonrasında ise karıştırma işlemi ile soğutulmuş oda sıcaklığına getirilen sisteme aynı sırada, hem kopolimerin hidrofilik kısmı ile uyumlu hem de ortamdaki sulu faz içerisinde çözünebilen diğer bir sulu polimer çözeltisi damla damla eklenmiştir. Amfilik kopolimerin yavaş hidrasyonu ile sünger fazından, istenilen disperse haldeki veziküler yapıya geçiş sağlanarak Pv’ler elde edilmiştir. Bu yöntem hiçbir aşamasında organik çözücü kullanımı içermemektedir. Doğrudan hidrasyonu işleminde kopolimerlerin hidrasyonu, oluşmuş veziküllerin morfolojisini ve boyut dağılımını etkileyebilen, daha uzun süre ve daha yüksek karıştırma hızı gerektirmektedir.

3. Polimerik Veziküllerin Biyolojik Uygulamaları: Polimerik veziküllerin biyolojik uygulama alanları, güncel gelişmeler göz önüne alındığında temel olarak “ilaç taşıyıcı sistemler”, “görüntüleme ajanı”, “nanoreaktörler” ve “kendiliğinden çalışan nanomotorlar (otonom hareketli nanomotorlar)” olmak üzere dört ana başlıkta gruplandırılabilir.

3.1 Polimerik Veziküllerin İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Kullanımı: İlaç etkin maddelerinin in-vivo stabilitelerini yükseltmek, etkinlikte artış sağlamak, biyoyararlanımı artırmak, farmakokinetik profili iyileştirmek, salım profilini modifiye etmek gibi nedenlerle Pv’ler içerisine yüklenebilmektedir. Genel olarak Pv’lerden kimyasal



Şekil 3. Polimerik veziküllerin biyolojik uygulama alanları.

etkin madde moleküllerinin salım kinetiği, etkin maddenin membrandan difüzyonuna bağlıdır ve bu durumda vezikül lümeni ile Pv'yi çevreleyen ortam arasındaki konsantrasyon gradyanı aracılığıyla yönetilmektedir. Bununla birlikte, lipitlere kıyasla daha kalın olan polimerik membranlardan difüzyon oldukça sınırlıdır ve dolayısıyla difüzyon ancak membranın bütünlüğünün bozulması veya morfolojik değişiklikleri ile başarılabilmektedir. Poli(laktik asit) (PLA) ve poli(kaprolakton) (PCL) gibi poliester blokları içeren amfifilik kopolimerlerden oluşan Pv'ler, çoğunlukla bir hidrolitik mekanizma yoluyla bozunmaları nedeniyle, ilaç taşıyıcı uygulamaları için yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Poli(laktik asit)-b-poli(etilen glikol) (PLA-PEG) veya poli(kaprolakton)-b-poli(etilen glikol) (PCL-PEG) blok kopolimerlerinin zincir uçlarının hidrolizi, bloğun hidrofobik fraksiyonunun kısılmasına ve dolayısıyla hidrofilik-hidrofobik blok oranının değişmesine neden olur (26). Bu mekanizma, kopolimerin moleküler şeklinde ve

sonuç olarak da veziküllerin morfolojik faz geçişinde değişikliğe neden olur. Bu nedenle, veziküler yapı içerisinde enkapsüle olan hidrofilik veya hidrofobik etkin maddelerin salım profili, blok kopolimerlerin hidrolitik olarak bozunması ve dolayısıyla agregatların morfolojik faz değişimleriyle yakından ilgilidir (27).

Pv'lerden etkin maddelerin salım oranı, Pv membranının permeabilitesine, kopolimerlerin molekül ağırlığına ve hidroliz oranına bağlı olduğu her zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Buna bağlı olarak, Pv'lerden hızlı bir erken etkin madde salımının sistemik toksisiteye neden olabileceği, buna karşın yavaş salım hızının da etkin maddenin etki alanındaki terapötik etkinliğini engelleyebileceği için Pv zarının geçirgenliği, molekül ağırlığı ve hidroliz oranı, sadece Pv'ler hedef bölgeye ulaştıktan sonra kontrollü etkin madde salımına izin verecek şekilde tasarlanmalıdır. Bu açıdan Pv'ler, uyarıcıya duyarlı kopolimerler pH, sıcaklık, ışık, indirgenme ve manyetik alanlardaki

değişiklikler gibi bazı uyarılardan sinyal almak üzere tasarlanabilmektedir. Bunlar daha sonra Pv'lere aktarılıp uyarılara cevap verilerek terapötik etkin maddenin salımını tetikler.

Pv'lerin çevresel uyarılara cevap verme özelliklerini tasarlamak için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir ve bunlar şu şekilde özetlenebilir:

(i) kopolimer zincirinin hidrofobik-hidrofilik dengesinin değiştirilmesi;

(ii) uyarılara yanıt olarak bir blok kopolimerin çözünürlüğünün değiştirilmesi;

(iii) terapötik etkin maddenin salımı için Pv yapısını çözmek ya da parçalamak;

(iv) uyarılara karşı kararsız olan kimyasal bağ açılmasının kullanılması ve

(v) Pv'lerin şişmesine veya yıkılmasına yol açmak.

Terapötik maddenin tetiklenmiş salımı, bu maddenin istenilen vücut bölgesindeki spesifik birikimine dayanarak, farmakokinetik ve güvenlik profillerini iyileştiren programlanmış etkin madde salımı sağlar. Bu durum özellikle, kemoterapötik etkin maddeler gibi, dar terapötik pencere kimyasal etkin maddeler için geçerlidir (28).

Kimyasal ilaç etkin maddelerinin yanı sıra, Pv'lerin sulu lümenine peptit/protein yapısındaki biyomakromoleküller de yüklenebilmektedir. Peptit/protein yapısındaki maddeler kanser, diyabet, kardiyovasküler ve birçok metabolik bozukluklarında dahil olduğu çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılabilen, güçlü terapötik etkiye sahip makromoleküllerdir. Terapötik proteinlerle yapılan tedavi enzimatik bozunma ve böbrekten atılım aracılığıyla hızlı eliminasyon, vücudun farklı bölgelerine spesifik olmayan giriş, immün yanıtın indüklemesi durumu ve hücre alım ile ilgili sınırlamalardan dolayı hızla ortadan kaldırılmasından dolayı halen zorlu bir görev olarak değerlendirilmektedir (29). Bu sorunları gidermek için, terapötik proteinler polimerlere konjuge edilebilmekte, PEG'lenebilmekte ve ayrıca

lipozomlara, misellere ve terapötik etki bölgelerine güvenli bir şekilde ulaştırılmalarına yönelik diğer taşıyıcılara yüklenebilmektedirler. Ancak protein taşıyıcılarının kullanımı, hazırlanışlarında organik çözücülerin kullanılmasından kaynaklanan protein denatürasyonu, proteinlerin kimyasal modifikasyonu, düşük protein yüklenmesi ve fizyolojik ortamdaki instabiliteleri gibi bu taşıyıcıları sistemik uygulama için uygun olmayan hale getiren bazı dezavantajları kapsayabilmektedir (30). Bahsedilen bu çıkmaz noktaların üstesinden gelebilmek için, farklı proteinlerin yüklenmesinde Pv'ler başarıyla kullanılmıştır.

Pv'ler ayrıca antijen/adjuvan taşıyıcı araçlar olarak da kullanılmaktadır. 2011 yılında yayınlanmış bir çalışmada (31) geliştirilen Pv'lerin yüzeyine influenza virüsü hemagglütinin antijenini adsorbe edilmiş ve viral antijenin in-vivo immünojenitesini artırdığı ortaya çıkmıştır. Poli(etilen glikol)-bl-poli(propilen sülfid) esaslı oksidasyona duyarlı Pv'lerin, dentritik hücre endozomlarına hem antijen hem de adjuvan taşınımı için kullanımı ortaya konulmuştur (32). Bu amaçla, toll benzeri reseptör agonisti olan gardikimod enkapsüle edilmiş Pv'lerin interlökin-6 ve interlökin-12 sitokin ekspresyonunu 10 kat artırdığı gözlemlenmiştir. Sonuçlar, oksidasyona duyarlı Pv'lerin hücre aracılı antijen spesifik bağışıklık yanıtlarını indüklemek için bir antijen taşıyıcı sistem olarak işlev görebildiğini göstermektedir.

Pv'ler, kimyasal etkin maddeler/ biyomakromoleküllerin terapötik etkilerini arttırmak ve toksisitelerini azaltmak için, farklı aktif hedefleme mekanizmaları vasıtasıyla, enkapsüle ettikleri terapötik kargonun spesifik dokulara veya hücrelere taşınması amacıyla, küçük moleküllerden (33) polisakkaritlere (34), antikora (35), peptitlere (36), proteinlere (37) veya bunların kombinasyonuna (38) kadar değişen farklı hedefleme ligandları ile işlevsel hale getirilebilmektedir. Bu anlamda, farklı patolojik durumlar için spesifik olan hücre reseptörleri veya sinyal yollarını tanımak ve

etkileşimde bulunmak için hedeflenmiş Pv'ler tasarlanmıştır. Bunun haricinde özellikle kanser teşhisli hastalardaki tümör gelişen bölgelerdeki vasküler yapının bozulması ve bu bozuk endotel aracılığıyla tümör dokusunda nanopartiküllerin birikim durumu (Artırılmış Geçirgenlik ve Alıkoyma, Enhanced Permeation and Retention, EPR), pasif hedeflendirme olarak adlandırılmaktadır. Dikkat çeken uygulamalar hâlihazırda mevcut olan kemoterapinin iyileştirilmesi ve kanser hedeflemesine yönelik olmakla birlikte, nörodejeneratif bozukluklar, iltihaplanma ve iştme kaybı dâhil diğer bazı hastalıkları hedeflemek için de Pv'lerin kullanımı araştırılmıştır.

3.2 Polimerik Veziküllerin Görüntüleme Ajansı Olarak Kullanımı

Mükemmel bir kargo taşıyıcı sistem olan Pv'lerin görüntüleme uygulamaları için kullanışlı sistemler olduğu, son araştırmalar ışığında yayınlanan makaleler ile ortaya çıkmaktadır. Ghoroghchian ve arkadaşları (2007), poli(etilen oksit)-b-poli (ϵ -kaprolakton) (PEO-PCL) ve poli(etilen oksit)-b-poli(γ -metil- ϵ -kaprolakton) kopolimerlerinden hareketle özel ışık absorblayıcı özelliklere sahip Pv'ler oluşturmayı başarmışlardır (39). Bu, polimerik membrana, porfirin esaslı floresans veren maddelerin dahil edilmesiyle elde edilebilmiştir. Ortaya çıkan son yapı, görünür bölgeden kızılötesi bölgesine kadar, kuantum noktacıklarına benzer optik özellikler göstermektedir.

Massignani ve ark. (2010), benzer bir amaçla geliştirdikleri Pv'ler aracılığıyla floroforların taşınımı incelenmişlerdir (40). Detayına bakıldığında amfilik floresans özellikli moleküller, Pv membranının yapısı içerisinde olacak şekilde formüle edilmiş ve sitotoksik/immünojenik olmayan bir hücresel takip sistemi üretebilmek için hücre içine taşınmıştır. Dolayısıyla, bu tür floroforlar ile yüklü Pv'ler, "nanometre boyutundaki görüntüleme ajanları" olarak kullanılmak için umut vadeden sistemlerdir (41). Floroforların Pv'ler içine enkapsülasyonuna ilaveten bu taşıyıcının görüntüleme alanında kullanım potansiyeli, gözenekli

poli(etilen oksit)-b-poli(bütadien) (PBD-PEO) Pv'leri içerisine manyetik rezonans (MR) kontrast ajanlarının enkapsüle edilmesiyle araştırılmıştır (42). Pv'ler, 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glisero-3-fosfolipidi ile blok kopolimerin 85:15 molar oranındaki karışımından hareketle film hidrasyonu yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Bir dendrimere kovalan olarak tutturulmuş şelat halindeki gadolinyum, Pv lümeni içine yüklenmiş ve daha sonra Pv membranının stabilitesini arttırmak için bir kimyasal başlatıcı eklenerek serbest radikal polimerizasyonu ile diblok kopolimerin çapraz bağlanması sağlanmıştır. Triton X-100 gibi bir sürfaktan ilave edildikten sonra, Pv membranından fosfolipit bileşeni uzaklaştırılmış ve suyun kolay akışı için membran içerisine gözenekler oluşturulmuştur. Görüntüleme amacıyla gadolinyum iyonları tarafından sağlanan sinyalin kuvveti, gadolinyuma bağlı su molekülleri ile bunları çevreleyen su arasındaki hızlı değişim kinetiklerine bağlı olduğu ortaya konmuş ve bu durum da Pv membranındaki gözeneklerin varlığı ile kolaylaştırılmıştır (42). Pv membranındaki gözeneklerden gadolinyumun olası kaçışı, gadolinyum şelatlarının dendrimerler ile konjugasyonu ile engellenmiştir. Pv içerisine enkapsüle edilmiş gadolinyum, serbest olarak bulunan gadolinyum iyonları tarafından üretilen sinyal yoğunluğunu büyük ölçüde artırma avantajına sahiptir, çünkü ortalama her bir Pv içerisine neredeyse 44000 gadolinyum iyonu yüklenmiştir.

PBD-PEO kopolimerlerinin başka bir görüntüleme uygulaması, Pv membranı içindeki kuantum noktacıklarının enkapsülasyonu uygulamasını kapsamaktadır (43). Kuantum noktacığı nanokristalleri, geniş görüntüleme uygulamaları nedeniyle şimdiye kadar büyük oranda incelenmiştir. Kuantum noktacıklarının bu inorganik özellikleri, daha biyoyumlu olan organik bazlı floroforlara kıyasla biyolojik uygulamalarını sınırlayan hücresel toksisiteye neden olmaktadır (41).

3.3. Polimerik Veziküllerin Nanoreaktör Olarak Kullanımı:

Sentetik biyoloji, hücre fonksiyonları için gerekli temel biyolojik süreçler (yaşamın kökeni) ve daha derin anlayışlara sahip olmak için potansiyel imkânlar sunmaktadır (44). Canlı hücrelerden ilham alan bilim insanları, hayatın devamıyla ilgili karmaşık biyolojik süreçleri anlamak için sentetik hücresel yapılar yaratmak üzerine çalışmalarını son yıllarda arttırmışlardır. Bu sentetik hücresel sistemler, “yapay hücreler/sentetik hücreler” olarak isimlendirilmektedir (45). Tanım olarak ideal yapay hücreler, bilgi materyallerini (DNA, RNA, Protein) bölümlendirerek yerleştirme, büyüme ve kendini onarma, kendini kopyalama süreci aracılığıyla evrim ve maddelerin/bilgilerin transferi gibi temel hücre fonksiyonlarını gösteren biyotik, abiyotik materyallerden veya bunların kombinasyonundan üretilebilen sentetik hücre benzeri sistemlerdir (46). Yapay hücreler, hücresel işlevleri incelemek veya biyoteknolojik biyoreaktörler/ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmak üzere biyolojik hücrelerin özelliklerini taklit etmeyi amaçlayan yapay yapılardır. Su bazlı bir bölümde belirli biyolojik süreçler için tasarlanmış sentetik sistemi içeren bu yapay hücreler, hücre dışı ile iletişim sağlamak için tercihen yarı geçirgen veya seçici geçirgen olması gereken bir membran ile sınırlandırılmıştır. Bu yapay hücrelerden, biyolojik süreci istenmeyen dış faktörlerden izole etmek üzere veya biyolojik sürecin unsurlarını birbirine yakın tutmak üzere ya da bazı moleküllerin tasarlanan mikro çevreye girip çıkmasını düzenlemek üzere yararlanılmaktadır.

Preseptte ilkel hücreler, karmaşık biyolojik sistemlerden yoksun hücrelerin temel birimleri olup, esas olarak bileşenlerinin kendiliğinden oluşum özelliklerine dayanmaktadır ve hücre iletişimi, büyümesi ve bölünmesi de dâhil olmak üzere temel hücre fonksiyonlarını elde etmek için çevre ile etkileşimdedirler (47). Bu nedenle, kendiliğinden oluşan veziküler yapılar, ilkel hücrelerin ana bileşenleri oldukları için, yapay hücre geliştirmek için ideal adaydır. Yapısal blokların yağ asitleri, fosfolipitler,

protein-polimer konjugatları, polielektrolitler veya polimerler olduğu kendiliğinden oluşu veya mikro faz ayırımına dayanan sentetik hücre modelleri inşası için, kendiliğinden oluşan blok kopolimerler gibi çeşitli stratejiler araştırılmıştır.

3.3.1. Polimerik Veziküllerin Bölümlendirilmiş Yapay Hücreler Olarak Kullanımı:

Biyobölümlendirme, çeşitli proteinlerin ve enzimlerin hücrenin işlevleri için gerekli olan çeşitli metabolik (biyokimyasal) reaksiyonları gerçekleştirmek için molekülleri ve sinyalleri kolayca iletebildikleri hücrelerin temel gereksinimidir. Doğanın bölümlendirme stratejisini taklit etmek amacıyla Pv'ler, iç sulu lümen ve polimer membran ile dış kısım arasındaki ara yüzeyde bulunan reaksiyon alanı nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Pv'ler belirli biyokimyasal reaksiyonlar için proteinleri ve enzimleri belirli bir mikro/nano alana kapatıp, dışarıyla ile iletişimi sağlamak için de bir membran ile çevreleyebilmektedirler.

Hücrelerin bölümlendirme stratejilerini taklit etmek için geliştirilen model yapay hücreler, Pv alanında yaygın olarak incelenen kavramlardan biridir (48). Çoğu durumda, bölümlendirme stratejilerini temsil etmek üzere geliştirilen Pv esaslı yapay hücreler, nanoreaktörler olarak değerlendirilmektedir. Nanoreaktörlerin kendini onarma ve kendini kopyalama özelliklerine sahip olmalarına rağmen, hücrelerin bazı biyolojik özelliklerini/işlevlerini taklit edebilmeleri noktalarında yapay hücre tanımını yerine getirdikleri görülmektedir. Bu nedenle, yapay hücreler ile nanoreaktörler eş anlamlı olarak kullanılabilirlerdir.

Pv esaslı nanoreaktörler, sulu bölümlerindeki enzimatik reaksiyonları sağlamak için çeşitli enzimleri enkapsüle eden ve bu enzimlerin kopolimer membrandan salımına izin vermeyen Pv'lerdir. Bu şekilde, nanoreaktörlerin tasarımı hassas enzimleri proteolitik bozulmadan korumakta ve aynı zamanda sulu lümendeki katalitik reaksiyonlara veya

reaksiyon sonu ürünlerden istenilen bileşiklerin Pv dışarısına taşınmasına izin vermektedir. Genel olarak nanoreaktörler, Pv'lerin membran geçirgenliğine bağlı olarak iki sınıfa ayrılabilirler: (i) seçici veya yarı geçirgen nanoreaktörler ve (ii) kanal donanımlı nanoreaktörler.

Seçici/yarı geçirgen Pv nanoreaktörlerinde kopolimer membran; oksijen türleri, glukoz, tetrametilbenzidin, pirogallol, glukonolakton ve laktonlar gibi çok küçük moleküllere karşı geçirgendir (12). Basit oksijen geçirgen nanoreaktörler, PBD-PEO ve PCL-PEO'dan hareketle üretilmiş ve hemoglobin enkapsüle edilmiş Pv'lerin kullanımıyla elde edilebilmektedir (5). Bu örneklerden ikincisinde oksijen geçirgenliği, Pv'lerin (~ 8 ve 18 nm) artan membran kalınlığı ile % 57'ye kadar düşmüştür. Hemoglobinin enkapsülasyonunun oksijen bağlama kapasitesini değiştirmediğini, ancak nanoreaktörlerin azalmış aktivitesinin esasen sınırlı membran geçirgenliğinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Süper oksit dismutaz enkapsüle edilmiş poli(2-metil oksazolin)-b-poli(dimetil siloksan)-b-poli(2-metil oksazolin) triblok kopolimerinden oluşan Pv'ler, antioksidan nanoreaktörler olarak bildirilmiştir (12). Kopolimer membranın süperoksit radikallerine geçirgen olduğu, böylece hidrojen peroksit halinde detoksifikasyonun sağlandığı gösterilmiştir. Stabilitate ve bozunmaya karşı korumaya ek olarak, enkapsüle edilmiş süper oksit dismutazın birkaç hafta boyunca etkinliğini koruduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, nihai ürün olan H₂O₂ hala biyolojik koşullarda zararlı etkilere neden olabilecek bir reaktif oksijen türüdür.

Alternatif bir stratejide hem süper oksit dismutaz hem de peroksidazı taklit eden çifte enzim görevi yapabilen, küçük bir molekül (metal kompleksi) enkapsüle edilmiş benzer Pv'lerin kullanımını incelemiştir. Bu yolla süperoksit radikalleri, Pv membranına nüfuz ederek öncelikle H₂O₂'ye ve daha sonra toksik olmayan bir nihai ürün olan suya detoksifiye edilebilmektedir (28). Bununla birlikte,

kopolimerik membran suya geçirgen değildir (49) ve bu durum belirli bir süre sonra, bir nihai ürün olarak suyun sürekli birikimi üzerine nanoreaktörlerin ozmolizine yol açabilir. Süperoksit radikallerinin triblok kopolimer membrandan geçebilmesinin, kopolimerin hidrofobik bölümünün blok uzunluğuna oldukça bağımlı olduğu bildirilmiştir.

Messenger ve ark. (2016), seçici geçirgenliğe sahip olan ve 1,5 nm boyutundaki organik moleküllerin taşınmasına izin veren hibrid nano-taşıyıcılar geliştirilmiştir (50). Boyutça büyük enzimlerin (yaklaşık 5 nm), bu veziküllerin içine enkapsüle edilebilir, işlemde sonrada katalitik olarak aktif kalabilecekleri ve bu hibrid yapıların yeni bir enzimatik nanoreaktör türünü oluşturduğu ifade edilmiştir. Araştırmanın temelinde, membran yapısında DNA nano-gözenekleri olan Pv'ler geliştirilmesi amaçlanmıştır. Pv'lerin ve DNA gözeneklerinin amaçlanan hedef doğrultusunda yüksek ayarlanabilirliği; ilaç taşınımı, biyolojik görüntüleme, biyo-kataliz ve yapay hücre uygulamaları için nano-taşıyıcıların hazırlanmasında anahtar olduğu gösterilmiştir. Öncelikle Pv'ler ve DNA nano-gözenekleri ayrı ayrı hazırlanıp, sonrasında bir arada inkübe edilerek, ortalama her bir Pv'nin 7 DNA nano-gözeneği taşıyacağı şekilde, nano-gözeneklerin Pv membranına eklenmesi gerçekleştirilmiştir. Nano-gözenekler ile dekore edilmiş Pv'lerin işlevselliği, hibrid taşıyıcıların enzimatik nanoreaktörlere dönüştürülebileceğini gösteren bir enzimatik deneyle gösterilmiştir. Deney, florojenik bir enzim substratının, DNA gözenekleri boyunca taşınması ve Pv içerisine enkapsüle edilmiş tripsin ile floresans ürüne bölünmesine dayanmaktadır. DNA nano-gözeneği taşıyan Pv'lerdeki enzimatik aktivitenin, taşımayanlara oranla 10 kat daha hızlı olduğu bulunmuştur.

Yapay hücrelerin yaratılmasında önemli olan hücrelerin yaşamı bakımından gerekli olan bilgilendirme bileşiklerini, kendini eşleme (replikasyon) süreci boyunca üretmektir. Hücrenin kendini onarması ve çoğalması için, enzimatik reaksiyonların aracılık ettiği

gen (DNA/RNA) ve protein ifade etme yetenekleri, hayati önem taşımaktadır. Çeşitli sentetik hücrel sistemlerde RNA replikasyonu, DNA çoğaltılması (polimeraz zincir reaksiyonu), DNA transkripsiyonu ve mRNA translasyonu gibi biyolojik işlemleri taklit eden model yapay hücreler, farklı araştırma grupları tarafından kapsamlı olarak incelenmiştir (51). Genel olarak protein ekspresyon süreci, bir proteine dönüşen mRNA üretimi ile sonlanan DNA transkripsiyonundan oluşur. Bu işlem, DNA, RNA, nükleotidler, enzimler (polimerazlar), fosfatlar, vb. gibi bileşenlerin bir havuzunu gerektirir. Dolayısıyla, tamamen biyolojik makinelerin tek bir yapay hücreye dâhil edilmesi oldukça karmaşıktır. Bununla birlikte, piyasada bulunan protein sentez kitleri, bu bileşenlerin yapay hücrelere dâhil edilmesini sıradan hale getirmektedir. Ancak, tüm bu maddelerin karışımının geleneksel yöntemlerle enkapsülasyonunda karşılaşılan karmaşıklık, yapay hücreler ile protein sentezinin verimliliğini etkileyen sınırlayıcı faktördür. Alternatif olarak, yüksek enkapsülasyon etkinliğini sağlayan mikroakışkan teknolojisi, enkapsülasyon sürecini kontrol etmek için kullanılmaktadır. Model yapay hücrelerin çoğu, protein sentezi için gerekli biyolojik sisteminin enkapsüle edilmesinden oluşan bir protein ifade sistemi olarak geliştirilmiştir. Bu sistemin beslenmesinde kullanılan tüm bileşenler protein sentezi için kullanıldıktan sonra, gerekli bileşenlerinin dışarıya transferine izin vermeyen geçirimsiz sentetik membranlar nedeniyle zamanla protein üretimi doygunluğa ulaşır. Bu nedenle, yapay hücrelere kontrollü membran geçirgenliği kazandırmak, daha uzun süre sürekli protein üretilmesini sağlamaktadır.

Lipozom tabanlı yapay hücreler ile karşılaştırıldığında, gen ekspresyonu ve protein sentezi için Pv esaslı yapay hücrelerin geliştirildiği örnek sayısı hayli azdır. Martino ve arkadaşları (2012), PLA-PEG'den oluşan Pv'ler içerisine, bakteri membranı ilişkili hücre iskeleti aktin benzeri proteinin (MreB) hücre dışı olarak ekspresyonu için gerekli bütün biyolojik gereksinimler örneğin; *E. coli*'den elde edilmiş ribozomal ekstre ve pDNA gibi

moleküller başarıyla enkapsüle edilmiştir (52). Bu çalışmada, Pv'lere ilişkin genel bir sınırlama olan yaygın büyüklük dağılımı ve düşük enkapsülasyon etkinliği, mikroakışkan teknolojisi kullanılması ile aşılmıştır. Oldukça büyük boyutlu Pv'ler (126 µm) içinde MreB-kırmızı floresan proteininin birkaç saat içindeki yüksek verimli hücre dışı ifadesi, 32°C'deki floresans ile kanıtlanmıştır.

3.4. Polimerik Veziküllerin Kendiliğinden Çalışan Nanomotorlar Olarak Kullanımı

Hücrelerin otonom hareketi, diğer hücreler ile iletişim kurmak ve kendi aralarında koordine olmak için gerektiği kadar, çevresel değişikliklere tepki olarak, ya belirli bir bölgeye doğru ya da bu bölgeden uzaklaşarak hücre göçünü düzenlemek için de vazgeçilmez bir işlemdir. Bu nedenle, bilim adamları hücre içi ve hücrel motiliteyi anlamak ve otonom olarak hareket eden biyolojik motorlar olarak işlev görebilecek yapay hücreleri tasarlamak için kendiliğinden hareket eden hücrelerin hareketini taklit etmek için çaba göstermektedirler. Ortam sinyallerine cevap olarak herhangi bir dış kuvvet olmadan göç etmeye yönlendirilebilen kendiliğinden hareket özellikleri, tamamıyla sentetik Pv esaslı nanoreaktörlerin oluşturulmasında önemli bir adımdır (28).

Temel olarak hücrel hareketlilik, hücrel iskelet polimerleri ve motor proteinlerin birleştirilmesi ve ayrılması ile yönetilmektedir. Bu bağlamda sentetik hücrel sistemlerde membran hareketini oluşturmak için aktin filamentleri ve mikrotübüllerin dinamik olarak birleşmesini ve ayrılmasını gösteren az çalışma bulunmaktadır. Örneğin, aktin filamentleri, hücrenin motilitesinde önemli bir rol oynayan membran çıkıntılarına yol açan kuvveti oluşturur (53). Daha erken aşamalarda, proteinlerle kaplı polistiren mikroküreler, aktin polimerizasyonunu katalize ederek aktin filamentlerinin simetrik olarak düzenlenmesine yol açmıştır. Bu simetrisinin kendiliğinden kırılmasının ardından, mikroküreler tek yönlü hareket göstermiştir

(54). Lipozomlar içerisindeki aktin polimerizasyonu, yapay hücre hareketliliğinin gelişimi için gerekli olan, hücre iskeletine benzer ağlar oluşturmak için araştırılmıştır (55).

Lemièr ve ark. (2015) membranın ileri doğru itilmesini sağlayan membrandaki aktin polimerizasyonunu taklit etmek için, membran lamellipodyum (Lamellipodium: Hücrenin hareketini sağlayan, yüzeyindeki aktin proteini içerikli hücre iskeleti uzantısıdır) uzantısının hücre mekanizması ile benzer, hücre boyutunda lipozomlar geliştirilmiştir (56).

Otonom hareket, sadece aksiyon polimerizasyonu ve motor proteinler gibi biyolojik ilkeler kullanılarak elde edilmemektedir. Asimetrik ortamlardaki brownian hareketler ve difüzyonel etki gibi tamamen abiyotik fiziksel prensipler, sentetik hücre sistemlerinin hareketliliğini yönlendirmek için itici güç üretmek üzere ayarlanabilmektedir. Yapay hücrelerde yönlendirilmiş hareketi başarmak için iyon gradyanının, çeşitli kimyasal reaksiyonların ve adezyonun kullanımı gibi farklı yaklaşımlar önerilmektedir (57).

Joseph ve ark. (2017), farklı blok kopolimerler kullanarak, glukoz konsantrasyonunun yüksek olduğu bölgeye doğru kendiliğinden hareket eden asimetrik Pv'ler geliştirmişlerdir. Bu amaçla, kopolimerik membranın glukoz geçirgen olduğu asimetrik Pv'lerin içerisine glukoz oksidaz ve katalaz enzimlerini enkapsüle etmişlerdir. Ortamda bulunan glukozun kopolimer membrandan Pv içerisine girişini takiben,

enkapsüle edilmiş enzimler aracılığıyla meydana gelen birbirini takip eden reaksiyonlar sonucunda toksik olmayan D-glukono- δ -lakton glukoz ürünü oluşmakta ve Pv'nin dışarısına atılmaktadır. Böylece Pv sistemi glukoz konsantrasyonunun yüksek olduğu bölgelere otonom olarak yönelmektedir. Araştırmacılar geliştirdikleri bu sistemi, moleküllerin kan beyin bariyerinden taşınması amacıyla kullanmışlardır ve geliştirdikleri kendiliğinden hareket eden bu sistemin, peptit aracılı hedeflendirilmiş sistemlere göre kan beyin bariyerini dört kat daha fazla oranda aşabildiğini göstermişlerdir (58).

SONUÇ

Polimer kimyasındaki son gelişmeler ile araştırmacıların, geliştirdikleri polimer mimarileri üzerindeki artan hakimiyetleri, biyoloji alanında kullanılan sentetik sistemlerin artmasına neden olmaktadır. Özellikle ilaç taşıyıcı sistemler ve yapay hücreler (sentetik virüsler) alanında kendine büyük bir araştırma/uygulama alanı bulmuş Pv'ler, son yirmi yılda oldukça ilgi çekmiştir. Polimerik mimari ve kompozisyonun, hedeflenen amaç doğrultusunda şekillendirilebilir ve modifiye edilebilir olması, bu sistemlerin araştırma odağında bulunmasının temel nedeni olduğu şüphesizdir. Sentetik nanoreaktörlerden kendiliğinden çalışan nanomotorlara kadar çeşitli araştırma konularına yayılmış uygulamaları olan polimerik veziküllerin gelecekte, multidisipliner bakış açısı ile farklı alanlardaki ihtiyaçları giderecek yeni uygulamalar bulacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Konu ile ilgili çalışmalar, TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) tarafından desteklenmiştir (Proje No: 213M760).

KAYNAKLAR

1. Massignani M, Lomas H, Battaglia G. Polymersomes: A Synthetic Biological Approach to Encapsulation and Delivery. In: Carusco, ed. *Modern Techniques for Nano- and Microreactors/-reactions*. Heidelberg: Springer, 2010: 115-54.
2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Walter P, Raff M, Roberts K. *Molecular Biology of the Cell* 4th ed. New York: Routledge, 2002.
3. Ahmed F, Pakunlu R, Brannan A, Bates F, Minko T, Discher DE. Biodegradable polymersomes loaded with both paclitaxel and doxorubicin permeate and shrink tumors, inducing apoptosis in proportion to accumulated drug. *Journal of Controlled Release*, 2006; 116(2): 150-8.
4. Lomas H, Du J, Canton I, Madsen J, Warren N, Armes SP, et al. Efficient encapsulation of plasmid DNA in pH-sensitive PMPC-PDPA polymersomes: Study of the effect of PDPA block length on copolymer-DNA binding affinity. *Macromolecular Bioscience*, 2010; 10(5): 513-30.
5. Rameez S, Alostha H, Palmer AF. Biocompatible and biodegradable polymersome encapsulated hemoglobin: A potential oxygen carrier. *Bioconjugate Chemistry*, 2008; 19(5): 1025-32.
6. Gaitzsch J, Appelhans D, Wang L, Battaglia G, Voit B. Synthetic bio-nanoreactor: Mechanical and chemical control of polymersome membrane permeability. *Angewandte Chemie - International Edition*, 2012; 51(18): 4448-51.
7. Huang WC, Chen YC, Hsu YH, Hsieh WY, Chiu HC. Development of a diagnostic polymersome system for potential imaging delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015; 128: 67-76.
8. Discher BM, Won YY, Ege DS, Lee JCM, Bates FS, Discher DE, et al. Polymersomes: Tough vesicles made from diblock copolymers. *Science*, 1999; 284: 1143-6.
9. Bozkır A, Kocyiğit S. An investigation of physical and chemical stabilities of liposomes. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 1995; 24(1): 42-52.
10. Ayen WY, Garkhal K, Kumar N. Doxorubicin-loaded (PEG)-PLA nanopolymersomes: effect of solvents and process parameters on formulation development and in vitro study. *Molecular Pharmaceutics*, 2011; 8(2): 466-78.
11. Shen H, Eisenberg A. Morphological phase diagram for a ternary system of block copolymer PS310-b-PAA52/Dioxane/H₂O. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1999; 103(44): 9473-87.
12. Axthelm F, Casse O, Koppenol WH, Nauser T, Meier W, Palivan CG. Antioxidant nanoreactor based on superoxide dismutase encapsulated in superoxide-permeable vesicles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2008; 112(28): 8211-7.
13. Lorenceau E, Utada AS, Link DR, Cristobal G, Joanicot M, Weitz DA. Generation of polymersomes from double-emulsions. *Langmuir*, 2005; 21(20): 9183-6.
14. Ho CS, Kim JW, Weitz DA. Microfluidic fabrication of monodisperse biocompatible and biodegradable polymersomes with controlled permeability. *Journal of the American Chemical Society*, 2008; 130(29): 9543-9.
15. Habault D, Dery A, Leng J, Lecommandoux S, Le Meins JF, Sandre O. Droplet microfluidics to prepare magnetic polymer vesicles and to confine the heat in magnetic hyperthermia. *IEEE Transactions on Magnetics*, 2013; 49(1): 182-90.
16. Thiele J, Steinhauser D, Pfohl T, Förster S. Preparation of monodisperse block copolymer vesicles via flow focusing in microfluidics. *Langmuir*, 2010; 26(9): 6860-3.
17. Romanowsky MB, Abate AR, Rotem A, Holtz C, Weitz DA. High throughput production of single core double emulsions in a parallelized microfluidic device. *Lab Chip*, 2012; 12(4): 802-7.
18. Du J, Tang Y, Lewis AL, Armes SP. pH-sensitive vesicles based on a biocompatible zwitterionic diblock copolymer. *Journal of the American Chemical Society*, 2005; 127(51): 17982-3.
19. Kishimura A, Koide A, Osada K, Yamasaki Y, Kataoka K. Encapsulation of myoglobin in PEGylated polyion complex vesicles made from a pair of oppositely charged block ionomers: A Physiologically available oxygen carrier. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007; 46(32): 6085-8.
20. Wan WM, Hong CY, Pan CY. One-pot synthesis of nanomaterials via RAFT polymerization induced self-assembly and morphology transition. *Chem, Commun*; 2009; (39): 5883-5.
21. Battaglia G, Ryan AJ. Pathways of polymeric vesicle formation. *Journal of Physical Chemistry B*, 2006; 110(21): 10272-9.
22. Photos PJ, Bacakova L, Discher B, Bates FS, Discher DE. Polymer vesicles in vivo: Correlations with PEG molecular weight. *Journal of Controlled Release*, 2003; 90(3): 323-34.
23. Angelova MI, Dimitrov DS. Liposome electroformation. *Faraday Discussions of the Chemical Society*, 1986; 81(0): 303-11.

24. Lee James CM, Bermudez H, Discher BM, Sheehan MA, Won YY, Bates FS, et al. Preparation, stability, and in vitro performance of vesicles made with diblock copolymers. *Biotechnology and Bioengineering*, 2001; 73(2): 135-45.
25. O'Neil CP, Suzuki T, Demurtas D, Finka A, Hubbell JA. A novel method for the encapsulation of biomolecules into polymersomes via direct hydration. *Langmuir*, 2009; 25(16): 9025-9.
26. Ahmed F, Discher DE. Self-porating polymersomes of PEG-PLA and PEG-PCL: Hydrolysis-triggered controlled release vesicles. *Journal of Controlled Release*, 2004; 96(1): 37-53.
27. Geng Y, Discher DE. Visualization of degradable worm micelle breakdown in relation to drug release. *Polymer*, 2006; 47(7): 2519-25.
28. Balasubramanian V, Herranz-Blanco B, Almeida PV, Hirvonen J, Santos HA. Multifaceted polymersome platforms: Spanning from self-assembly to drug delivery and protocells. *Progress in Polymer Science*, 2016; 60: 51-85.
29. Torchilin VP, Lukyanov AN. Peptide and protein drug delivery to and into tumors: Challenges and solutions. *Drug Discovery Today*, 2003; 8(6): 259-66.
30. Liu G, Ma S, Li S, Cheng R, Meng F, Liu H, et al. The highly efficient delivery of exogenous proteins into cells mediated by biodegradable chimaeric polymersomes. *Biomaterials*, 2010; 31(29): 7575-85.
31. Barnier Quer C, Robson Marsden H, Romeijn S, Zope H, Kros A, Jiskoot W. Polymersomes enhance the immunogenicity of influenza subunit vaccine. *Polymer Chemistry*, 2011; 2(7): 1482-5.
32. Scott Ea, Stano A, Gillard M, Maio-Liu AC, Swartz MA, Hubbell JA. Dendritic cell activation and T cell priming with adjuvant- and antigen-loaded oxidation-sensitive polymersomes. *Biomaterials*, 2012; 33(26): 6211-9.
33. Pang Z, Gao H, Yu Y, Guo L, Chen J, Pan S, Ren J, Wen Z, Jiang X. Enhanced intracellular delivery and chemotherapy for glioma rats by transferrin-conjugated biodegradable polymersomes loaded with doxorubicin. *Bioconjugate Chemistry*, 2011; 22(6): 1171-80.
34. Huang J, Bonduelle C, Thévenot J, Lecommandoux S, Heise A. Biologically active polymersomes from amphiphilic glycopeptides. *Journal of the American Chemical Society*, 2012; 134(1): 119-22.
35. Lee JS, Groothuis T, Cusan C, Mink D, Feijen J. Lysosomally cleavable peptide-containing polymersomes modified with anti-EGFR antibody for systemic cancer chemotherapy. *Biomaterials*, 2011; 32(34): 9144-53.
36. Pangburn TO, Bates FS, Kokkoli E. Polymersomes functionalized via "click" chemistry with the fibronectin mimetic peptides PR_b and GRGDSP for targeted delivery to cells with different levels of $\alpha 5 \beta 1$ expression. *Soft Matter*, 2012; 8(16): 4449-61.
37. Egli S, Nussbaumer MG, Balasubramanian V, Chami M, Bruns N, Palivan C, et al. Biocompatible functionalization of polymersome surfaces: A new approach to surface immobilization and cell targeting using polymersomes. *Journal of the American Chemical Society*, 2011; 133(12): 4476-83.
38. Robbins GP, Saunders RL, Haun JB, Rawson J, Therien MJ, Hammer DA. Tunable leuko-polymersomes that adhere specifically to inflammatory markers. *Langmuir*, 2010; 26(17): 14089-96.
39. Ghoroghchian PP, Frail PR, Li G, Zupancich JA, Bates FS, Hammer DA, et al. Controlling bulk optical properties of emissive polymersomes through intramembranous polymer-fluorophore interactions. *Chemistry of materials : a publication of the American Chemical Society*, 2007; 19(6): 1309-18.
40. Massignani M, Canton I, Sun T, Hearnden V, Macneil S, Blanazs A, Armes SP, Lewis A, Battaglia G. Enhanced fluorescence imaging of live cells by effective cytosolic delivery of probes. *Plos One*, 2010; 5(5): e10459.
41. Duncan TV, Ghoroghchian PP, Rubtsov IV, Hammer DA, Therien MJ. Ultrafast excited-state dynamics of nanoscale near-infrared emissive polymersomes. *Journal of the American Chemical Society*, 2008; 130(30): 9773-84.
42. Cheng Z, Tsourkas A. Paramagnetic porous polymersomes. *Langmuir*, 2008; 24(15): 8169-73.
43. Mueller W, Koynov K, Fischer K, Hartmann S, Pierrat S, Basché T, et al. Hydrophobic shell loading of PB-b-PEO vesicles. *Macromolecules*, 2009; 42(1): 357-61.
44. P Stano. Synthetic biology of minimal living cells: primitive cell models and semi-synthetic cells. *Systems and Synthetic Biology*, 2010; 4(3): 149-56.
45. Dzieciol AJ, Mann S. Designs for life: Protocell models in the laboratory. *Chemical Society Reviews*, 2012; 41(1): 79-85.
46. Szostak JW, Bartel DP, Luisi PL. Synthesizing life. *Nature*, 2001; 409(6818): 387-90.
47. Hanczyc MM, Szostak JW. Replicating vesicles as models of primitive cell growth and division. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2004; 8(6): 660-4.

48. Palivan CG, Fischer-Onaca O, Delcea M, Iteľ F, Meier W. Protein-polymer nanoreactors for medical applications. *Chemical Society Reviews*, 2012; 41(7): 2800-23.
49. Kumar M, Grzelakowski M, Zilles J, Clark M, Meier W. Highly permeable polymeric membranes based on the incorporation of the functional water channel protein Aquaporin Z. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007; 104(52): 20719-24.
50. Messenger L, Burns JR, Kim J, Cecchin D, Hindley J, Pyne AL, et al. Biomimetic hybrid nanocontainers with selective permeability. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016; 55(37): 11106-9.
51. Hammer DA, Kamat NP. Towards an artificial cell. *FEBS Letters*, 2012; 586(18): 2882-90.
52. Martino C, Kim SH, Horsfall L, Abbaspourrad A, Rosser SJ, Cooper J, et al. Protein expression, aggregation, and triggered release from polymersomes as artificial cell-like structures. *Angewandte Chemie - International Edition*, 2012; 51(26): 6416-20.
53. Pollard TD, Borisy GG. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*, 2003; 112(4): 453-65.
54. Van Oudenaarden A, Theriot JA. Cooperative symmetry-breaking by actin polymerization in a model for cell motility. *Nat Cell Biol*, 1999; 1(8): 493-9.
55. Stachowiak JC, Richmond DL, Li TH, Brochard-Wyart F, Fletcher DA. Inkjet formation of unilamellar lipid vesicles for cell-like encapsulation. *Lab on a chip*, 2009; 9(14): 2003-9.
56. Lemière J, Carvalho K, Sykes C. Cell-sized liposomes that mimic cell motility and the cell cortex. In: Jennifer, R. Wallace, eds. *Methods in Cell Biology*. Oxford. Academic Press. 2015: 271-85.
57. Kamat NP, Katz JS, Hammer DA. Engineering polymersome protocells. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2011; 2(13): 1612-23.
58. Joseph A, Contini C, Cecchin D, Nyberg S, Ruiz-Perez L, Gaitzch J, et al. Chemotactic synthetic vesicles: Design and applications in blood-brain barrier crossing. *Science Advances*, 2017; 3(8):e1700362.