

Sistem Penghantaran Obat dengan Misel Polimer

Alasen Sembiring Milala

Fakultas Farmasi Universitas Surabaya

Abstrak

Saat ini dapat dikatakan sebagai era nanoteknologi, karena teknologi ini digunakan hampir di segala bidang, termasuk bidang teknologi farmasi yang mulai gencar mengembangkan sediaan farmasi dengan dengan sistem nano. Salah satu sistem nano tersebut berupa misel polimer, yang umumnya memiliki ukuran partikel di bawah 100 nm. Berdasarkan hasil riset, misel polimer terbukti mampu meningkatkan kelarutan serta bioavailabilitas obat yang bersifat hidrofobik. Terdapat beberapa metode pembuatan misel polimer yang masing-masing memiliki keunggulan dan kekurangan. Evaluasi yang dilakukan untuk mengkarakterisasi misel polimer di antaranya adalah penentuan *critical micelle concentration* (CMC), ukuran partikel, karakteristik permukaan, stabilitas, dan uji pelepasan. Walaupun sebagian besar riset misel polimer diaplikasikan dalam bidang onkologi dengan rute pemberian intravena, namun saat ini semakin banyak peneliti yang mengembangkan riset pengembangan obat untuk rute pemberian per oral. Dengan semakin banyak riset terkait penerapan teknologi misel polimer untuk obat per oral, diharapkan dapat mendorong uji klinik seperti yang dilakukan pada obat-obatan intravena.

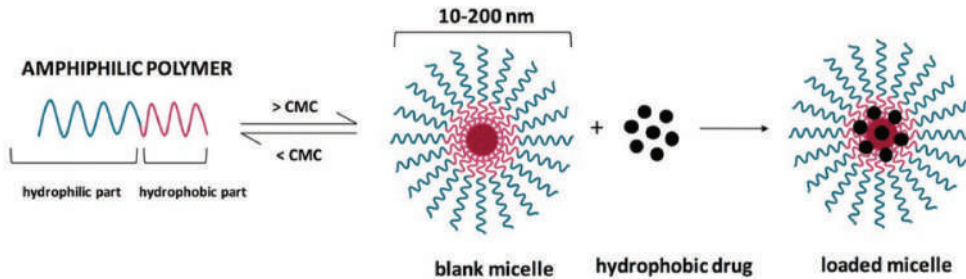
Abstract

Today is the era of nanotechnology, where almost all fields use nanotechnology. Likewise, the field of pharmaceutical technology is currently intensively developing pharmaceutical preparations using nanosystem. One of these nanosystems is polymeric micelles, which generally have particle size below 100 nm. Research showed that polymeric micelles have been proven to increase the solubility and bioavailability of hydrophobic drugs. There are several methods that can be used in polymeric micelles preparation, each of which has advantages and disadvantages. In order to characterize polymer micelles, parameter evaluation includes determination of critical micelle concentration (CMC), particle size, surface characteristics, stability, and release tests. Although most of the research on polymer micelles was applied in the field of oncology by the intravenous route of administration, researchers are currently developing drug delivery system using polymer micelles for oral route of administration. It can be further expected to initiate clinical research like such that has been done on intravenous administration.

Pendahuluan

Misel polimer merupakan salah satu sistem penghantaran obat yang tergolong ke dalam jenis sistem nano. Polimer yang digunakan untuk membuat misel adalah polimer yang bersifat amfifilik. Jenis polimer yang banyak digunakan adalah yang tergolong kopolimer, yaitu polimer yang dalam rantainya memiliki dua atau lebih jenis monomer yang berbeda. Misel polimer adalah agregat dari molekul polimer

yang bersifat amfifilik dengan gugus hidrofobik di dalam inti serta gugus hidrofilik pada permukaan yang kontak dengan air (Gambar 1). Gugus hidrofilik berperan untuk menstabilkan dan melindungi struktur nano, sedangkan gugus hidrofobik berperan untuk menjerap dan mengatur pelepasan obat yang dijerap struktur nano. Pada umumnya, misel yang dihasilkan memiliki ukuran partikel yang relatif kecil, yaitu antara 10 hingga 200 nm.



Gambar 1. Skema misel polimer¹

Misel polimer menunjukkan karakteristik khusus berupa koloid teragregasi yang terbentuk dari polimer amfifilik. Pada konsentrasi di bawah *critical micelle concentration* (CMC), polimer berupa molekul tunggal, sedangkan pada konsentrasi di atas CMC, polimer merakit diri menjadi misel polimer yang menata inti lipofilik di bagian internal dan cangkang hidrofilik di bagian eksternal. Selama beberapa tahun terakhir, riset sistem nano misel polimer meningkat, tidak hanya karena misel polimer mampu meningkatkan kelarutan dan stabilitas obat hidrofobik, tetapi juga karena kelebihan yang ditunjukkan dalam uji *in vivo*.^{2,3} Telah diketahui bahwa sebagian besar bahan aktif obat bersifat hidrofobik, sukar larut dalam air, sehingga sistem nano misel polimer sangat menjanjikan sebagai pembawa yang mampu meningkatkan kelarutan obat hidrofobik dalam air sekaligus meningkatkan bioavailabilitasnya.

Keunggulan sistem nano misel polimer

Sistem nano misel polimer memiliki beberapa keunggulan. Pertama adalah ukuran partikelnya yang sangat kecil, beberapa literatur menuliskan antara 10 hingga 100 nm dengan rentang distribusi yang sempit.^{4,5} Dengan rentang yang sempit, sistem nano misel polimer bersifat relatif stabil pada sirkulasi aliran darah. Kedua, misel polimer mampu meningkatkan kelarutan dalam air bagi obat-obatan yang bersifat hidrofobik. Misel polimer dapat mengikat molekul obat hidrofobik pada inti misel dan mempertahankan kelarutannya dalam air dengan menghambat agregasi *intermicellar* inti hidrofobik dengan cangkang yang bersifat hidrofilik. Yang ketiga adalah potensi toksisitas yang relatif rendah. Jika dibandingkan dengan misel yang dibuat dari surfaktan yang memiliki berat molekul yang rendah, maka misel polimer memiliki profil keamanan yang lebih baik. Selain itu, misel polimer memiliki CMC yang jauh lebih rendah dibandingkan misel yang terbuat dari surfaktan. Keempat, terdapat banyak jenis senyawa kimia yang dapat dimasukkan ke dalam misel polimer. Senyawa kimia yang banyak diteliti adalah senyawa organik dengan berat molekul rendah dan bersifat hidrofobik. Semua keunggulan ini ditampilkan pada perubahan profil farmakokinetik yaitu peningkatan waktu tinggal rata-rata lebih lama obat dalam aliran darah, peningkatan bioavailabilitas, penurunan dosis, dan kemungkinan penurunan toksisitas organ nonspesifik pada penghantaran obat ke jaringan target.^{3,6}

Kekurangan sistem nano misel polimer

Di samping keunggulan yang telah dijelaskan sebelumnya, misel polimer juga memiliki kekurangan yaitu tingkat pemuatan obat yang relatif rendah, efisiensi penyerapan yang rendah, dan stabilitas misel yang buruk. Hambatan utama yang menantang penerapan misel polimer untuk penghantaran obat untuk pemberian dengan rute per oral adalah pemuatan obat yang terbatas serta efisiensi penyerapan yang rendah. Stabilitas misel polimer yang buruk dalam kondisi fisiologis, khususnya di saluran gastrointestinal, merupakan tantangan lain untuk penghantaran obat oral. Setelah pemberian oral, misel akan terpapar perubahan pH, garam empedu, dan enzim pencernaan yang menyebabkan misel polimer dapat rusak.⁷

Kekurangan lain dari sistem misel polimer adalah metode pembuatan yang belum mantap dalam proses memasukkan zat aktif ke dalam inti misel polimer. Sampai sekarang belum terdapat metode pembuatan universal yang berlaku untuk semua polimer.⁴ Hal ini menyebabkan sebagian metode mengalami kendala untuk melakukan *scaling up* dari skala kecil di laboratorium menjadi skala industri yang besar.

Pemilihan karakteristik polimer

Sifat fisik dan biologis misel polimer bergantung pada sifat blok awal yang digunakan untuk pembuatan misel, oleh karena itu, pemilihan polimer yang sesuai sangat penting untuk desain awal struktur misel yang diperlukan dalam penghantaran obat. Pemilihan polimer ini memengaruhi karakteristik misel yang dihasilkan, seperti toksisitas, biodistribusi, farmakokinetik, dan kompatibilitas klinis.⁸ Selain melarutkan bahan aktif, ujung hidrofobik kopolimer amfifilik juga berfungsi untuk pelepasan terkontrol atau pelepasan obat yang responsif terhadap rangsangan. Di sisi lain, berat molekul dan sifat kimia cangkang yang hidrofilik mengatur sifat *stealth* (berlindung) dan kinetika sirkulasi misel. Kompatibilitas antara inti misel dan bahan aktif merupakan faktor penting untuk pembentukan misel polimer dan mengatur kemampuan penyerapan sistem pembawa.

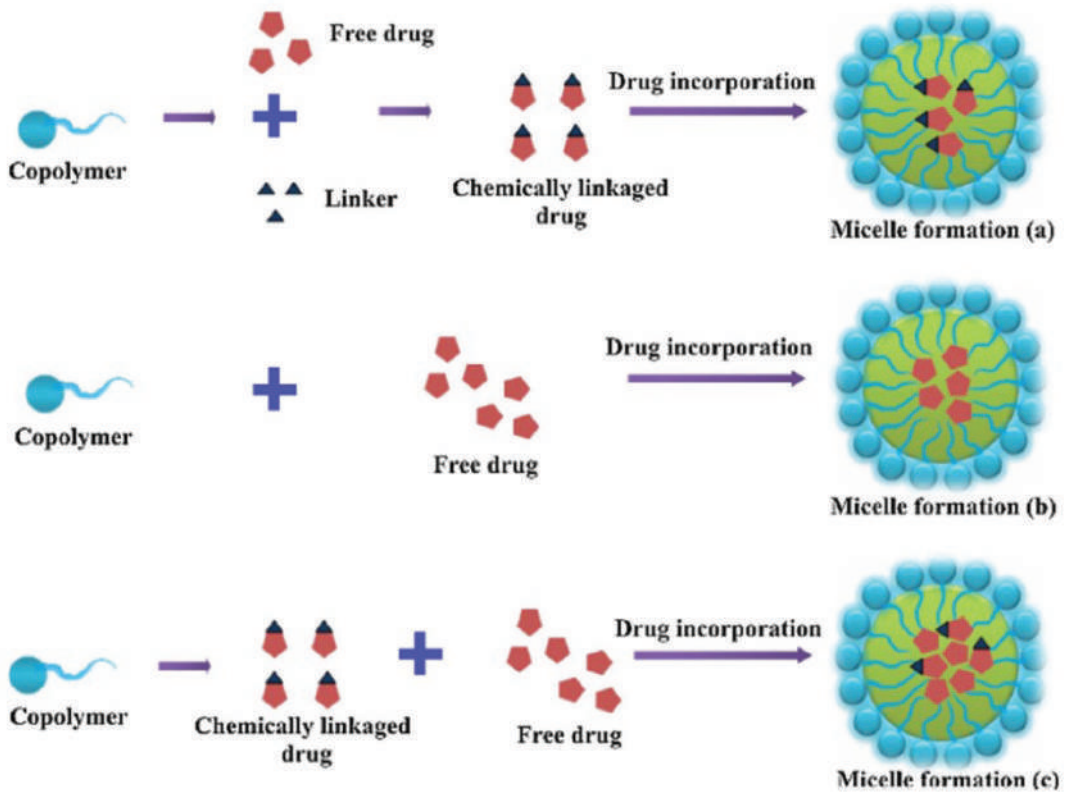
Efisiensi penyerapan misel juga bergantung pada keseimbangan gugus hidrofilik-lipofilik (*hydrophilic-lipophilic balance*/HLB) kopolimer blok dan rasio polimer terhadap obat (zat aktif). Mayoritas misel polimer yang digunakan dalam aplikasi farmasi dikembangkan dari kopolimer *diblock* amfifilik (hidrofilik-hidrofobik), *triblock* (hidrofilik-hidrofobik-hidrofilik/fobik), dan *multiblock* (hidrofilik-hidrofobik-hidrofobik).⁹ Jenis kopolimer yang paling sering digunakan dalam membuat misel polimer adalah kopolimer diblok atau triblok yang bersifat amfifilik. Blok hidrofilik yang paling umum digunakan adalah *polyethylene glycol* (PEG) atau *polyethylene oxide* (PEO). PEG bersifat sangat larut dalam air sehingga mampu menghalangi interaksi protein dan interaksi permukaan sel yang menurunkan penyerapan partikel oleh sistem retikuloendotelial (*reticuloendothelial system*/RES) sehingga meningkatkan waktu paruh dalam plasma dari bahan aktif dalam misel polimer.

Salah satu bahan amfifilik yang paling banyak dipelajari untuk membuat misel polimer adalah turunan kopolimer blok *polyethylene oxide-polypropylene oxide-polyethylene oxide* (PEO-PPO-PEO).¹⁰ Blok hidrofobik lainnya seperti *polycaprolactone* (PCL) alifatik, *polylactide* (PLA), *poly(lactic-co-glycolic acid)*/PLGA, dan *polycaprolactone-co-poly-D,L-lactic acid* (PCLLA) juga banyak diteliti.¹¹ Dari berbagai jenis polimer tersebut, PCL adalah polimer semikristal dan biokompatibel yang digunakan sebagai implan, *stent*, benang bedah, prostetik, dan dalam penghantaran obat. Tingkat hidrofobisitas PCL jauh lebih tinggi daripada PPO, sehingga menjamin stabilitas yang lebih baik serta kapasitas angkut yang lebih tinggi.

Selain PCL, gugus hidrofobik lain seperti *poly (acrylic acid)*, *phosphorylcholine*, *carboxymethyl chitosan*, *dextran*, *polyethylenimine* (PEI), *poly-L-lysine* (PLL), dan *polyallylamine* (PAA) telah digunakan dalam riset pengembangan obat sebagai tulang punggung polimer.¹²⁻¹⁹ Pemilihan gugus hidrofobik dilakukan berdasarkan kemudahan fabrikasi, stabilitas, dan biaya keseluruhan bahan. Gugus hidrofobik yang umumnya diteliti untuk sintesis kopolimer cangkang (*graft*) adalah PCL, PLA, PLGA, alkil rantai panjang kolesterol, dan PEO.²⁰ Pemilihan rantai hidrofobik diatur oleh pilihan strategi penyerapan obat, seperti jebakan fisik atau konjugasi kimia obat dengan gugus hidrofobik dari misel polimer.

Strategi formulasi misel polimer

Penyerapan obat menjadi misel polimer dapat dicapai dengan konjugasi kimia, jebakan fisik, atau kombinasi keduanya seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Strategi penyerapan obat dalam misel polimer melalui (a) konjugasi kimia, (b) jebakan fisik, dan (c) kombinasi (a) dan (b)⁹

Dalam metode konjugasi kimia, ikatan kovalen terbentuk antara obat dan inti misel yang bertindak sebagai penstabil dan mengikat molekul obat hingga mencapai tempat kerja.²¹ Misel yang terkonjugasi secara kimia memiliki stabilitas yang lebih baik daripada misel yang terperangkap secara fisik jika interaksi hidrofobik antara obat terkonjugasi dan inti lebih tinggi.²² Interaksi di tempat kerja obat ketika melepaskan zat aktif dari polimer dapat dipicu oleh pH, ion, suhu, sinyal endogen peptida, dan enzim. Tidak seperti misel yang terjebak secara fisik, misel yang terkonjugasi secara kimia dianggap sebagai entitas kimia baru karena modifikasi struktural dan kimianya dalam kompleks obat-kopolimer. Yoo dan Park (2001) mengkonjugasikan *doxorubicin* (DOX) ke gugus hidroksil terminal PLGA untuk menghasilkan konjugat obat-kopolimer (DOX-PLG-A-mPEG), yang mempertahankan pelepasan DOX lebih baik daripada misel PEG-PLGA yang baru yang mengandung DOX yang terjebak secara fisik.²³

Dalam metode jebakan fisik, obat langsung dimasukkan ke inti misel melalui interaksi hidrofobik.²⁴ Fares dkk. (2018) telah melakukan penelitian misel polimer dengan bahan aktif *lacidipine* menggunakan kombinasi Pluronic P-123 dan Pluronic F-127. Misel polimer *lacidipine* yang dibuat dengan metode hidrasi film tipis menunjukkan kelarutan 450 kali lipat dibandingkan *lacidipine* bebas dan meningkatkan laju disolusi secara signifikan. Studi bioavailabilitas formula misel polimer *lacidipine* yang diberikan secara oral pada kelinci membuktikan peningkatan AUC 6,85 kali lipat dibandingkan dengan suspensi oralnya.²⁵

Kombinasi metode fisik dan kimia dari jebakan obat juga telah diteliti untuk membuat nanopartikel misel mPEG-PCL yang memuat DOX dan *paclitaxel* (PTX).^{13,14} DOX langsung terkonjugasi secara kimia ke dalam kopolimer PCL, sementara PTX dijerap secara fisik. Awalnya, mPEG-PCL disintesis, diikuti dengan pengenalan gugus -CHO menggunakan *4-formylbenzoic acid* untuk konjugasi dengan DOX oleh ikatan basa Schiff. Strategi ini membantu dalam penghantaran obat hidrofobik dan hidrofilik dalam satu sistem misel yang sama. Pelepasan kedua obat lebih tinggi pada pH 5 daripada pada pH 7,4. Pelepasan DOX lebih tinggi daripada PTX, dan PTX yang bersifat hidrofobik menunjukkan pelepasan yang relatif lebih lambat.

Metode jebakan fisik lebih disukai daripada metode konjugasi kimia karena tidak memerlukan modifikasi kimia terhadap obat untuk dikonjugasi. Metode fisik memungkinkan penggabungan obat dan kopolimer dalam pelarut organik atau dalam air. Pemilihan pelarut tergantung pada HLB polimer. Sebagian besar metode fisik memerlukan pelarut organik yang pada tahap selanjutnya dihilangkan dari larutan misel polimer dengan penguapan.²⁶

Metode pembuatan misel polimer secara fisik

Terdapat dua kelas utama metode yang dapat diterapkan untuk merakit misel secara fisik, yaitu metode yang melibatkan dispersi polimer dalam pelarut berair, serta metode kedua di mana obat didispersikan dengan polimer atau dilarutkan dalam pelarut organik. Pemilihan metode pembuatan ini utamanya bergantung pada sifat fisikokimia kopolimer. Berikut adalah beberapa metode pembuatan yang sering digunakan:

a. Disolusi langsung

Ini adalah metode yang umum digunakan dalam pembentukan misel untuk blok kopolimer dengan kelarutan air yang tinggi. Dalam media berair, obat dilarutkan bersama dengan polimer yang membutuhkan pengadukan dan pemanasan untuk pemuatan obat ke dalam misel. Metode ini memiliki kekurangan yaitu efisiensi penjerapan yang relatif rendah serta pemuatan obat yang rendah.^{5,26,27}

b. Penguapan pelarut

Dalam metode ini, pelarut organik yang mudah larut dalam air, seperti *acetonitrile tetrahydrofuran*, *acetone* dan *methanol*, digunakan untuk melarutkan obat dan kopolimer. Pelarut yang sesuai dipilih untuk melarutkan bahan aktif dan polimer. Setelah larut, fase berair dimasukkan ke dalam campuran, kemudian diaduk terus menerus untuk menghilangkan pelarut organik. Pada saat fase organik diuapkan terjadi pembentukan misel. Meskipun metode ini memiliki keunggulan dalam *up scaling*, metode ini hanya dapat digunakan untuk membuat misel dengan polimer yang memiliki *hydrophilic-lipophilic balance* (HLB) yang tinggi.

c. Emulsi minyak dalam air

Dalam metode ini bahan aktif yang bersifat hidrofobik dilarutkan dalam pelarut *chloroform*, *dichloromethane*, atau *ethyl acetate* yang tidak dapat bercampur dengan air. Air suling ditambahkan untuk membentuk emulsi tipe minyak dalam air. Pelarut organik diuapkan secara perlahan untuk memperoleh misel yang mengandung obat. Berdasarkan penelitian, metode emulsifikasi menunjukkan efisiensi yang lebih baik pada enkapsulasi DOX dengan misel PEO-b-PBLA yang memiliki pemuatan DOX sebesar 12% (b/b) dibandingkan dengan metode dialisis yang hanya memiliki pemuatan 8% (b/b) DOX.²⁸ Keunggulan dari metode ini adalah kemudahan pembuatan dan ukurannya yang seragam. Selain itu metode ini memiliki potensi *up scaling* yang baik.²⁹ Kelemahan metode ini adalah kesulitan dalam menghilangkan obat bebas dan menguapkan pelarut organik.

d. Hidrasi film tipis

Dalam metode ini bahan aktif hidrofobik, kopolimer dilarutkan dalam pelarut organik. Pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* yang menghasilkan pembentukan film tipis yang kering. Media berair ditambahkan ke film dan diaduk serta disonikasi sehingga terbentuk misel polimer. Teknik ini adalah metode termudah untuk membuat misel, yang tidak memerlukan penggunaan bahan mahal, peralatan yang sulit, dan tidak memerlukan penggunaan tekanan atau suhu tinggi. Dengan menggunakan metode hidrasi film tipis, Fares dkk. (2018) berhasil membuat misel polimer yang menunjukkan menunjukkan kelarutan *lacidipine* 450 kali lipat dibandingkan *lacidipine* bebas.²⁵ Kekurangan metode hidrasi film tipis adalah efisiensi penjerapan yang rendah.

e. Dialisis

Metode ini digunakan jika kopolimer amfifilik memiliki kelarutan air yang rendah. Dalam metode ini blok kopolimer dan obat hidrofobik dengan kopolimer dilarutkan dalam pelarut organik yang campur dengan air (*dimethyl sulfoxide* (DMSO), N, N- *dimethylformamide* (DMF), *acetonitrile* (ACN), *tetrahydrofuran* (THF), *acetone*, atau *dimethylacetamide*). Larutan tersebut ditempatkan dalam kantung dialisis, kemudian direndam ke dalam air yang menginduksi pembentukan misel polimer. Metode dialisis cocok untuk obat hidrofobik dan kopolimer yang larut dalam pelarut organik. Metode dialisis digunakan secara luas dalam pembuatan misel polimer di laboratorium, tetapi tidak cocok untuk skala industri.³⁰ Kekurangan utamanya adalah sulit untuk menghilangkan pelarut organik dan obat bebas dari kopolimer blok dalam pelarut organik. Selain itu metode dialisis membutuhkan waktu yang lama dalam pembuatannya dan menghasilkan banyak air limbah.

f. Pengerinan beku

Dalam metode ini kopolimer dan bahan aktif dilarutkan dalam campuran pelarut berair dengan pelarut organik seperti air dan *tert-butanol* dan selanjutnya diliofilisasi. Campuran beku-kering yang diperoleh dilarutkan dengan menambahkan pembawa injeksi yang secara spontan membentuk misel berisi obat. Obat-obatan dan kopolimer dilarutkan dalam campuran air dan pelarut organik. Metode ini *feasible* untuk

produksi skala besar, tetapi terbatas pada blok kopolimer dan struktur obat yang larut dalam *tert-butanol*.³⁰ Metode pengeringan beku ini tergolong sederhana dan hemat biaya.⁵ Kekurangan metode ini adalah risiko adanya pelarut organik sisa pada produk akhir.²⁶

Evaluasi dan karakterisasi misel polimer

Evaluasi misel merupakan langkah pertama yang harus dilakukan setelah preparasi misel. Karakterisasi ini memberikan gambaran tentang *critical micelle concentration* (CMC), ukuran dan morfologi, karakteristik permukaan, stabilitas, serta profil pelepasan bahan aktif misel polimer.

1. CMC (*critical micelle concentration*)

Salah satu fitur yang paling relevan untuk mengevaluasi stabilitas sistem misel polimer adalah CMC. CMC merupakan parameter mendasar, karena misel mengalami beberapa variasi lingkungan, seperti perubahan pH, kekuatan ionik, paparan media yang berbeda dengan banyak protein dan sel, serta pengenceran pada saat pemberian oral atau injeksi intravena. CMC misel dapat ditentukan dengan mengukur perubahan tajam dalam parameter fisik yang terjadi pada CMC, seperti metode pengukuran tegangan permukaan.

Metode yang paling umum dalam evaluasi CMC antara lain spektroskopi fluoresensi, pengukuran tegangan permukaan, spektroskopi UV-Vis, dan hamburan cahaya dinamis (*dynamic light scattering/DLS*).³¹ Teknik yang disukai dalam menentukan CMC karena sensitivitasnya yang tinggi adalah metode yang melibatkan penggunaan pewarna fluorogenik, seperti *pyrene*.³² *Pyrene* adalah molekul yang memiliki hidrofobisitas tinggi dan sensitivitas tinggi terhadap polaritas media sekitarnya.³³ Ketika misel terbentuk, *pyrene* dipartisi pada inti hidrofobik dan dengan demikian, nilai CMC dapat ditentukan. Pendekatan lain dalam penentuan CMC menggunakan spektroskopi UV-Vis. Dalam hal ini, molekul pewarna hidrofobik yang dilarutkan dalam pelarut organik ditambahkan pada polimer amfifilik konsentrasi yang rendah (di bawah CMC); sehingga tidak ada partisi pewarna terjadi, karena tidak adanya misel, namun ketika konsentrasi polimer meningkat, terjadi peningkatan absorpsi di atas CMC. Perubahan nilai absorpsi yang tajam ini merupakan indikasi nilai CMC.

2. Ukuran dan distribusi ukuran misel

Ukuran misel adalah salah satu fitur terpenting terkait rute pemberian obat. Sebagai contoh, misel dengan ukuran kecil (10-100 nm) memiliki kapasitas untuk menghindari *clearance* di ginjal dan menghindari penangkapannya di sistem retikuloendotelial di hati dan limpa, membuatnya cocok sebagai sistem penghantaran obat dan sesuai untuk pemberian dengan rute intravena.³⁴ Di sisi lain, untuk pemberian oral, telah diamati bahwa sistem pembawa nano dengan ukuran di bawah 300 nm menunjukkan kemampuan untuk mengatasi *mucous clearance* di gastrointestinal dengan cepat.³⁵ Data distribusi ukuran partikel dan ukuran partikel sistem nano dapat diperoleh secara langsung dengan DLS. Teknik ini paling disukai untuk menentukan diameter hidrodinamik misel karena reproduibilitas, kesederhanaan, dan kecepatannya. Mikroskop gaya atom (*atomic force microscopy/AFM*) dan mikroskop elektron transmisi (*transmission electron microscopy/TEM*) adalah dua teknik alternatif dalam menentukan ukuran misel. Bentuk misel dan dispersi ukuran dapat dikarakterisasi dengan metode ini.

3. Karakteristik permukaan

Perilaku misel juga ditentukan oleh karakteristik permukaan, yang mengatur stabilitas pada injeksi intravena dan juga interaksi dengan mukus dan epitel. Sesuai dengan hasil yang diperoleh pada nanopartikel polimer padat, permukaan netral dan hidrofilik mengurangi pembentukan korona protein dan meningkatkan waktu sirkulasi setelah injeksi intravena.³⁶ Sebaliknya, misel dengan potensial zeta positif menunjukkan stabilitas yang sangat rendah dalam cairan biologis karena pengikatan protein nonspesifik dan peningkatan agregasi *in vivo*.^{37,38} Permukaan netral dan hidrofilik juga meningkatkan sifat penetrasi terhadap mukus, khususnya dalam kasus pemberian oral.^{39,40,41} Di sisi lain, sistem pembawa nano bermuatan positif dikenal dengan karakter mukoadhesif, yaitu karakter yang lebih baik berinteraksi dengan epitel, dan meningkatkan transportasi obat melintasi hambatan biologis.⁴²

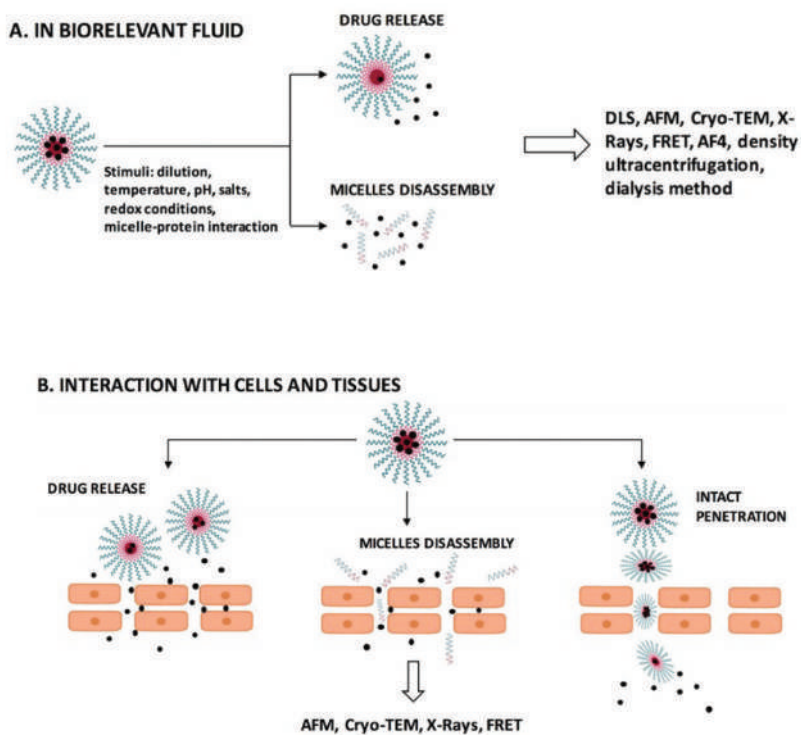
4. Stabilitas

Untuk mengukur stabilitas fisik dan kinetik misel digunakan parameter potensial zeta, transfer energi resonansi Förster (*Förster's resonance energy transfer/FRET*), transfer energi resonansi, dan transfer energi elektronik.⁴³ FRET membantu untuk memahami perakitan misel, stabilitas struktur, dan asosiasi obat-misel.⁴⁴ Sejumlah teknik analisis seperti hamburan cahaya statis, DLS, mikroskop elektron transmisi kriogenik, dan mikroskop gaya atom memberikan rincian tentang bentuk, ukuran, dan distribusi ukuran misel. Potensi zeta, FRET, transfer energi resonansi, dan transfer energi elektronik digunakan untuk mengukur stabilitas fisik dan kinetik misel.

5. Pelepasan obat

Pelepasan obat dari misel polimer dapat terjadi karena difusi obat dari misel utuh atau pembongkaran misel (**gambar 3**). Laju difusi obat dari misel tergantung pada kompatibilitas obat dengan pembentuk inti misel, jumlah obat yang dimuat, volume molekul obat, panjang blok

pembentuk inti, dan keadaan fisik inti sel.



Gambar 3. Skema pelepasan obat dan interaksi misel dengan cairan biologis (A) serta interaksi misel dengan sel dan jaringan (B)¹

Studi pelepasan obat dilakukan untuk mempelajari pengaruh eksipien dan metode pembuatan yang dipilih terhadap pelepasan obat. Uji pelepasan obat sangat penting dilakukan untuk penghantaran tertarget, yaitu untuk mengonfirmasi pelepasan obat akibat adanya stimulus dalam kondisi lingkungan tertentu. Uji pelepasan obat sistem nano tidak dapat dipelajari dengan metode konvensional karena tidak mungkin memisahkan obat yang dijerap dengan yang dilepas. Metode yang paling umum digunakan untuk menggambarkan pelepasan obat dari misel polimer adalah dengan metode kantong dialisis.¹

Pembahasan

Salah satu parameter yang penting dalam sistem nano adalah ukuran partikel. Ukuran partikel adalah parameter yang digunakan untuk menilai eliminasi sistem nano, yang mempelajari sirkulasi dan biodistribusi obat yang dijerap.⁴⁵ Nanopartikel yang lebih kecil dari 100 nm dapat menghindari clearance cepat oleh sistem retikuloendotelial yang mengarahkan sirkulasi obat *in vivo* yang panjang dan penetrasi membran yang lebih tinggi.⁴⁶ Ukuran partikel sistem nano adalah salah satu hal yang spesifik, untuk misel polimer berukuran 10 hingga 100 nm. Perubahan kondisi pelarut juga berpengaruh terhadap ukuran misel polimer yang terbentuk. Farokhzad, et al. (2007) menguji pembuatan misel polimer PEG-PLGA menggunakan empat macam pelarut yaitu air-THF, acetone, DMF, dan acetonitrile.⁴⁷ Dalam riset tersebut diteliti korelasi antara ketercampuran (*miscibility*) pelarut dengan ukuran misel polimer yang menunjukkan bahwa peningkatan *miscibility* menyebabkan penurunan ukuran partikel misel polimer. Penelitian serupa yang menggunakan kopolimer Me-PEO-PCL menunjukkan pengaruh pelarut terhadap ukuran dan distribusi misel yang terbentuk. Penggunaan acetone sebagai pelarut organik menghasilkan misel dengan diameter rata-rata 87,8 dan distribusinya relatif seragam dengan indeks polidispersitas 0,11. Sebaliknya, penggunaan THF sebagai pelarut organik menghasilkan misel yang lebih besar (109) nm yang ukuran partikelnya tersebar dengan *Poly Dispersity Index* 0,52. Oleh karena itu, pemilihan pelarut organik dilakukan dengan hati-hati, karena pelarut organik memengaruhi distribusi ukuran partikel misel polimer.

Parameter evaluasi lain yang sangat penting terhadap misel polimer adalah CMC. Metode spektrofotometri UV-Vis *iodium* adalah salah satu metode yang dapat digunakan. Pembuatan larutan standar dilakukan dengan mencampur dua gram *potassium iodide* dengan satu gram *iodium* dalam 100 ml air suling deionisasi. Larutan polimer dengan konsentrasi bervariasi antara 10^{-5} hingga 10^{-1} disiapkan lalu disimpan selama semalam di tempat yang gelap. Setelah kedua larutan dicampur, maka ditentukan absorbansinya pada panjang gelombang 366 nm, lalu dibuat kurva antara absorbansi dengan konsentrasi polimer. Perubahan absorbansi yang berubah mendadak mengindikasikan nilai CMC polimer tersebut.⁴⁸

Pengenceran dan stabilitas obat yang baik di lingkungan gastrointestinal tergantung pada nilai CMC misel polimer.⁴⁹ Nilai CMC yang rendah biasanya dipengaruhi oleh banyaknya daerah hidrofobik di inti misel. Untuk mencapai CMC yang lebih rendah, panjang rantai pada cangkang polimer harus dikontrol, sekaligus meningkatkan panjang rantai di inti polimer. Pentingnya rantai hidrofobik di inti misel terkait nilai CMC, telah dibuktikan oleh beberapa peneliti. Kang dkk. (2004) membuktikan bahwa pada peningkatan rantai hidrofobik kopolimer triblok, *polyvinylpyrrolidone*-blok-poli(D,L-*lactide*)-blok-*polyvinylpyrrolidone* (PVP-b-PDLLA-b-PVP) menghasilkan nilai CMC yang lebih rendah.⁵⁰

Salah satu strategi untuk meningkatkan pemuatan obat dan efisiensi enkapsulasi dalam misel polimer adalah memilih kopolimer dengan kompatibilitas yang baik dengan obat. Kompatibilitas antara kopolimer dan obat biasanya dihitung dengan menggunakan persamaan Hildebrand-Scatchard. Berdasarkan persamaan tersebut, pemuatan obat dalam misel polimer dapat diprediksi sampai batas tertentu. Selain itu, peningkatan kompatibilitas juga dapat mencegah kontak langsung obat bebas dengan mukosa usus yang dapat menyebabkan toksisitas. Selain efek hidrofobik, pemuatan obat ke dalam misel polimer juga difasilitasi oleh interaksi lain antara polimer dan obat-obatan berupa ikatan hidrogen dan interaksi ionik.⁵¹

Aspek penting lain dari sistem nano misel polimer ini menyangkut stabilitas misel sebagai fungsi waktu atau suhu. Evaluasi nilai potensial zeta atau ukuran misel polimer dapat dipakai untuk menilai stabilitas misel polimer. Stabilitas selama penyimpanan dapat ditingkatkan dengan pengeringan beku dengan atau tanpa bahan *cryoprotectant*. Penting juga untuk dicatat bahwa *Poly Dispersity Index*, berat molekul, dan arsitektur misel polimer memiliki efek penting pada efisiensi penyerapan dan kinetika pelepasan obat dari misel polimer.⁵² Berdasarkan penelitian selama ini, stabilitas sistem misel dapat ditingkatkan dengan menggunakan beberapa pilihan strategi. Pertama, dengan membentuk inti kristal menggunakan gugus hidrofobik seperti *polycaprolactone* yang berkontribusi pada stabilitas misel dan dapat memberikan retensi obat yang lebih besar dengan menurunkan laju difusi obat dari inti.⁵³ Kedua, meningkatkan gaya kohesif yang kuat antara obat dan segmen inti polimer seperti gaya hidrofobik, ikatan hidrogen, dan interaksi ion dapat memberikan stabilitas fisik pada sistem. Ketiga, membentuk *cross-linking* dari cangkang atau inti misel hidrofobik. Yang terakhir adalah pembuatan misel dengan muatan permukaan >30 mV yang dapat meningkatkan stabilitas misel.

Menurut Kim dan Park (2008), dorongan utama pelepasan obat yang dimuat dalam misel polimer adalah difusi obat, pengembangan matriks polimer, dan degradasi misel polimer. Namun interaksi polimer dan obat juga memengaruhi pelepasan yang berkelanjutan. Semakin kuat interaksi antara obat dengan inti misel maka semakin lambat pelepasan obat.⁵⁴ Uji pelepasan bahan aktif dari sistem nano umumnya dengan metode dialisis. Obat yang dilepas dari kantong dialisis berdifusi keluar ke media berair. Dengan menganalisis sampel yang diambil dari media berair pada beberapa titik maka kita dapat menentukan profil pelepasan bahan aktif.^{55,56} Untuk memastikan kebenaran hasil maka volume dan komposisi media uji pelepasan harus ditentukan dengan tepat untuk menjamin kondisi sink. Volume formula sistem nano dalam kantong dialisis sebagai kompartemen donor adalah 1 hingga 10 ml, sedangkan media berair sebagai kompartemen akseptor dengan volume antara 40 hingga 90 ml.^{55,56} Jumlah obat di kompartemen akseptor adalah hasil dari dua proses yaitu pelepasan obat dari misel polimer dan permeasi obat melewati membran dialisis. Hal yang sangat perlu diperhatikan adalah meyakinkan bahwa kondisi pengujian telah mencapai kondisi sink.⁵⁷

Seperti yang sudah diuraikan di depan, maka sistem formulasi misel polimer yang lebih disukai adalah sistem jebakan fisik. Ada enam metode yang diuraikan di depan yaitu disolusi langsung, penguapan pelarut, emulsi minyak dalam air, hidrasi film tipis, dialisis, dan pengeringan beku. Masing-masing metode memiliki keunggulan dan kekurangan. Dari berbagai riset yang dipublikasikan di jurnal internasional tampaknya metode hidrasi film tipis yang paling banyak dilakukan dalam pembuatan misel polimer. Semua metode di atas dapat digunakan dalam pembuatan misel polimer yang berisi obat. Namun hingga saat ini, tampaknya belum ada satu metode yang universal untuk pembuatan misel polimer dengan efisiensi penyerapan dan pemuatan yang tinggi. Selain itu, metode pembuatan mungkin sulit ditingkatkan dari skala kecil di laboratorium menjadi skala besar di industri. Oleh karena itu, diperlukan studi sistematis untuk menetapkan dan mengembangkan metode pembuatan yang efisien di rentang dosis terapi *in vivo*.

Riset formulasi misel polimer paling banyak diaplikasikan di bidang onkologi. Saat ini, penggunaan kemoterapi semakin penting dalam terapi kanker. Sementara radiasi dan pembedahan difokuskan pada area tertentu, agen antineoplastik menyebar ke seluruh tubuh sehingga dapat membunuh sel kanker yang telah menyebar dari tempat asalnya. Sejumlah besar obat di bidang onkologi menunjukkan kelarutan dalam air yang rendah.⁵⁸ Akibatnya, untuk pemberian injeksi intravena beberapa obat harus diformulasikan menggunakan pelarut dengan konsentrasi tinggi. Selain itu, beberapa di antaranya bersifat toksik dan cenderung menghasilkan efek samping yang serius. Oleh karena itu, misel polimer telah menarik minat yang cukup besar sebagai cara yang efisien untuk meningkatkannya. Misel polimer diupayakan untuk mengatasi beberapa keterbatasan spesifik yang ditunjukkan oleh obat yang digunakan dalam terapi kanker.

Selain di bidang onkologi, aplikasi misel polimer sangat dibutuhkan untuk obat analgesik. Kekurangan utama dari obat analgesik adalah waktu paruh plasma yang relatif pendek dan fakta bahwa banyak dari obat tersebut menunjukkan kelarutan dalam air yang sangat rendah. Hal ini, ditambah dengan efek sampingnya, membuat jenis obat ini menjadi kandidat yang sempurna untuk mengembangkan sistem yang memungkinkan pelepasan terkontrol, berguna dalam pengobatan penyakit kronis, seperti *rheumatoid arthritis*. Mengingat hal ini, misel polimer hadir sebagai sistem penghantaran obat potensial untuk aplikasi mereka di bidang biomedis. Kulthe dkk. (2011) mempelajari *aceclofenac* (ACL) yang memformulasi misel campuran Pluronic® L-81/P-123 dan mencapai konsentrasi ACL 4,70 mg/ml dalam formulasi yang mengandung 0,5% berat dari Pluronic L-81 dan 0,3% berat dari Pluronic P-123.⁵⁹

Selama ini penelitian tentang misel polimer lebih banyak dilakukan dengan rute pemberian injeksi intravena. Kabanov dkk. (2016) memperoleh paten dalam sistem penghantaran misel polimer PTX menggunakan poli (2-oxazoline) yang diberikan secara intravena.⁶⁰ Beberapa produk yang saat ini menjalani uji klinik, semuanya untuk terapi kanker dan dengan rute pemberian intravena.⁶¹ Saat ini, misel polimer GENEXOL-PM, misel dengan kopolimer PEG-PLA dengan bahan aktif *paclitaxel* telah disetujui untuk terapi kanker payudara metastasis dan *non-small cell lung cancer* di Korea Selatan, Bulgaria dan Hongaria, dan menjadi satu-satunya formulasi misel yang telah mencapai pasar.⁶²

Dekade ini sudah cukup banyak riset misel polimer yang diarahkan untuk penggunaan oral. Contohnya yang dilakukan Kumar dkk. (2020) yang meneliti misel polimer oral DTX menggunakan *oleic acid grafted carboxymethyl chitosan* (OA-CMCS). Studi farmakokinetik *in vivo* menunjukkan peningkatan C_{max} (1,97 kali lipat) dan AUC (2,62 kali lipat) dalam sistem nano misel polimer dibandingkan dengan bentuk suspensi DTX.⁶² Begitu pula Fares dkk. (2018) berhasil memformulasi misel polimer *lacidipine* dan membuktikan peningkatan AUC 6,85 kali lipat dibandingkan dengan suspensi oralnya.²⁵ Rute per oral adalah rute yang paling disukai pasien. Pemberian obat per oral adalah sistem pengobatan yang paling nyaman dan tidak menyakitkan saat digunakan, contohnya penggunaan analgesik untuk pengobatan penyakit kronis. Harapannya semakin banyak riset terkait pemberian secara oral, tidak sekedar riset preklinik, namun juga riset klinik seperti yang telah dilakukan pada pemberian secara intravena.

Kesimpulan

Sistem misel polimer mampu meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas obat yang bersifat hidrofobik. Namun hingga saat ini, belum ditemukan metode yang universal untuk pembuatan misel polimer. Mengingat pemberian oral adalah rute yang paling disukai pasien, diharapkan ke depan semakin banyak riset hingga uji klinik sistem nano misel polimer untuk pemakaian oral.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ghezzi M, Pescina S, Padula C, Santi P, Del Favero E, Cantu L, et al. Polymeric micelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions. *Journal of Controlled Release* 2021;332:312–36.
2. Domingues C, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, Veiga F, Figueiras A. Nanotheranostic Pluronic-like polymeric micelles: shedding light into the dark shadows of tumors. *Mol. Pharmaceutics* 2019;16(12):4757–74.
3. Attia ABE, Ong ZY, Hedrick JL, Lee PP, Ee PLR, Hammond PT, et al., Mixed micelles self-assembled from block copolymers for drug delivery. *Curr. Opin. Colloid Interf. Sci.* 2011;16(3):182-94.
4. Deepak P, Nagaich U, Sharma A, Gulati N, Chaudhary A. Polymeric micelles: Potential Drug Delivery Devices. *Indonesian J. Pharm.* 2013;24(4):222-37.
5. Reddy bpk, Yadav HKS, Nagesha DK, Raiziday A, Karim A. Polymeric Micelles as Novel Carriers for Poorly Soluble Drugs–A Review. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2015;15(6):4009-18.
6. Zhu Y and Liao L. Applications of nanoparticles for anticancer drug delivery: a review. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2015;15(7):4753-73.
7. Zhang J, Wu M, Yang J, Wu Q, Jin Z. Anionic poly (lactic acid)-polyurethane micelles as potential biodegradable drug delivery carriers. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2009;337(1-3):200-4.
8. Deshmukh AS, Chauhan PN, Noolvi MN, Chaturvedi K, Ganguly K, Shukla SS, et al. Polymeric micelles: Basic research to clinical practice. *International Journal of Pharmaceutics* 2017;532(1):249–68.
9. Munk P, Prochazka K, Tuzar Z, Webber SE. Exploiting polymer micelle technology. *Chemtech.* 1998;28(10):20-8.
10. Kabanov AV and Alakhov VY. Pluronic® block copolymers in drug delivery: from mi-cellar nanocontainers to biological response modifiers. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2002;19(1):1-72.
11. Zweers MLT, Engbers GHM, Grijpma DW, Feijen J. Release of anti-restenosis drugs from poly(ethylene oxide)-poly(d,l-lactico-glycolic acid) nanoparticles. *J Control Release* 2006;114(3):317-24.
12. Peng D, Zhang X, Feng C, Lu G, Zhang S, Huang X. Synthesis and characterization of amphiphilic graft copolymers with hydrophilic poly (acrylic acid) backbone and hydrophobic poly(methyl methacrylate) side chains. *Polymer* 2007;48(18):5250-8.
13. Wang H, Xu F, Wang Y, Liu X, Jin Q, Ji J. pH-responsive and biodegradable polymeric micelles based on poly (-amino ester)-graft-phosphorylcholine for doxorubicin delivery. *Polym. Chem.* 2013; 4:3012-301
14. Wang Z, Zheng L, Li C, Zhang D, Xiao y, Guan G, et al. A novel and simple procedure to synthesize chitosan-graft-poly-caprolactone in an ionic liquid. *Carbohydr. Polym.* 2013;94(1): 505-10.
15. Prabakaran M, Reis RL, Mano JF. Carboxymethyl chitosan-graft-phosphati- dylethanolamine: amphiphilic matrices for controlled drug delivery. *React. Funct. Polym.* 2007;67(1):43-52.
16. Bajgai MP, Parajuli DC, Ko JA, Kang HK, Khil M, Kim HY. *Carbohydr. Polym.* 2009;78(4):833-40.
17. Qiu LY and Bae YH. Self-assembled polyethylenimine-graft-poly(e-caprolactone) micelles as potential dual carriers of genes and anticancer drugs. *Biomaterials.* 2007;28(28):4132-42.
18. Gu J, Cheng WP, Hoskins C, Lin PKT, Zhao L, Zhu L, et al. Nano self-assemblies based on cholate grafted poly-L-lysine enhanced the solubility of sterol-like drugs. *J Microencapsul.* 2011;28(8):752-62.
19. Thompson CJ, Ding C, Qu X, Yang Z, Uchedbu IF, Tetley L, et al. The effect of polymer architecture on the nano self-assemblies based on novel comb-shaped amphiphilic poly (allylamine). *Colloid Polym. Sci.* 2008; 286:1511-26.
20. Thompson CJ, Tetley L, Uchegbu IF, Cheng WP. The complexation between novel comb shaped amphiphilic polyallylamine and insulin-Towards oral insulin delivery. *Int. J. Pharm.* 2009;376(1-2):46-55.
21. Patel AM, Modi AJ, Patel GN. Intelligent polymeric micelles as novel carrier for delivery of most anticancer drugs and nucleic acids. *Pharmacologia* 2012;3(9):362-70.
22. Yokoyama M. Polymeric micelles as a new drug carrier system and their required considerations for clinical trials. *Expert*

DAFTAR PUSTAKA

- Opin Drug Deliv. 2010;7(2):145-58.
23. Yoo HS and Park TG. Biodegradable polymeric micelles composed of doxorubicin conjugated PLGA-PEG block copolymer. *J Control Release* 2001;70(1-2):63-70.
 24. Rapoport N. Physical stimuli-responsive polymeric micelles for anti-cancer drug delivery. *Prog. Polym. Sci.* 2007;32(8-9):962-90.
 25. Fares AR, ElMeshad AN, Kassem MAA. Enhancement of dissolution and oral bioavailability of lacidipine via pluronic P123/F127 mixed polymeric micelles: formulation, optimization using central composite design and in vivo bioavailability study. *Drug Deliv.* 2018;25(1):132-42.
 26. Kaur J, Mishra V, Singh SK, Gulati M, Kapoor B, Chellappan DK, et al. Harnessing amphiphilic polymeric micelles for diagnostic and therapeutic applications: Breakthroughs and bottlenecks. *J Control Release.* 2021; 334:64-95.
 27. Mourya VK, Inamdar N, Nawale RB, Kulthe SS. Polymeric Micelles: General Considerations and their Applications. *Indian Journal of Pharmaceutical Research and Education* 2011;45(2):128-38.
 28. Kwon G, Naito M, Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K. Block copolymer micelles for drug delivery: loading and release of doxorubicin. *J. Control. Release* 1997;48(2):195-201.
 29. Almeida M, Magalhaes M, Veiga F, Figueras A. Poloxamers, poloxamines and polymeric micelles: Definition, structure and therapeutic applications in cancer. *J Polym Res* 2018;25(31):1-14.
 30. Aliabadi HM and Lavasanifar A. Polymeric micelles for drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2006;3(1):139-62.
 31. Rub MA, Azum N, Kumar D, Asiri AM, Marwani HM. Micellization and microstructural studies between amphiphilic drug ibuprofen with non-ionic surfactant in aqueous urea solution. *J. Chem. Thermodyn.* 2014; 74:91-102.
 32. Ray GB, Chakraborty I, Moulik SP. Pyrene absorption can be a convenient method for probing critical micellar concentration (cmc) and indexing micellar polarity. *J. Colloid Interf. Sci.* 2006;294(1):248-54.
 33. Chakraborty T, Chakraborty I, Ghosh S. The methods of determination of critical micellar concentrations of the amphiphilic systems in aqueous medium. *Arab. J. Chem.* 2011;4(3):265-70.
 34. Ishida O, Maruyama K, Sasaki K, Iwatsuru M. Size-dependent extravasation and interstitial localization of polyethyleneglycol liposomes in solid tumor-bearing mice. *Int J Pharm.* 1999;190(1):49-56.
 35. Primard C, Rochereau N, Luciani E, Genin C, Delair T, Paul S, et al. Traffic of poly(lactic acid) nanoparticulate vaccine vehicle from intestinal mucus to sub-epithelial immune competent cells. *Biomaterials* 2010;31(23):6060-8.
 36. Logie J, Owen SC, McLaughlin CK, Schoichet MS. PEG-Graft Density Controls Polymeric Nanoparticle Micelle Stability. *Chem. Mater.* 2014;26(9):2847-55.
 37. Zhu Y, Meng T, Tan Y, Yang X, Liu Y, Liu X, et al. Negative Surface Shielded Polymeric Micelles with Colloidal Stability for Intracellular Endosomal/Lysosomal Escape. *Mol. Pharmaceutics* 2018;15(11):5374-86.
 38. Honary S and Zahir. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - a review (Part 2). *Trop. J. Pharm. Res.* 2013;12(2):265-73.
 39. Taipaleenmaki EM, Mouritzen SA, Schattling PS, Zhang Y, Standler B. Mucopenetrating Micelles with a PEG Corona. *Nanoscale* 2017;46(9):18438-48.
 40. Taipaleenmaki EM, Brodzkij E, Stadler B. Mucopenetrating Zwitterionic Micelles. *ChemNanoMat* 2020;6(5):744-50.
 41. Bandi SP, Kumbhar YS, Venuganti VVK. Effect of particle size and surface charge of nanoparticles in penetration through intestinal mucus barrier. *J. Nanopart. Res.* 2020;22(62):1-11.
 42. Jubeh TT, Barenholz Y, Rubinstein A. Differential adhesion of normal and inflamed rat colonic mucosa by charged liposomes. *Pharm Res.* 2004;21(3):447-53.
 43. Harris DC. Applications of spectrophotometry. *Quantitative Chemical Analysis*, W. H. Freeman and Company, 8th edition. New York: W. H. Freeman and Company; 2010.p.419-44.
 44. Morton SW, Zhao X, Quadir MA, Hammond PT. FRET-enabled biological characterization of polymeric micelles. *Biomaterials*

- 2014;35(11):3489–96.
45. Cai Z, Wang Y, Zhu L, Liu Z. Nanocarriers: a general strategy for enhancement of oral bioavailability of poorly absorbed or pre-systemically metabolized drugs. *Curr Drug Metab.* 2010;11(2):197-207.
 46. Kataoka K, Kwon GS, Yokohama M, Okano, Sakurai Y. Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery. *J. Control. Release* 1993; 24:119–32.
 47. Cheng J, Teply BA, Sherifi I, Sung J, Luther G, Gu FX, et al. Formulation of functionalized PLGA-PEG nanoparticles for in vivo targeted drug delivery. *Biomaterials.* 2007;28(5):869-76.
 48. Akbar MU, Zia KM, Nazir A, Iqbal J, Ejaz SA, Akash MSH. Pluronic-Based Mixed Polymeric Micelles Enhance the Therapeutic Potential of Curcumin. *AAPS PharmSciTech.* 2018;19(6):2719-39.
 49. Francis MF, Cristea M, Winnik FM. Polymeric micelles for oral drug delivery: why and how. *Pure Appl. Chem.* 2004;76(7-8):1321-35.
 50. Kang N and Leroux J. Triblock and star-block copolymers of N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide or N-vinyl-2-pyrrolidone and d, lactide: synthesis and self-assembling properties in water. *Polymer (Guildf).* 2004;45(26):8967–80.
 51. Zhang JX, Li XJ, Qiu LY, Li XH, Yan MQ, Jin Y, et al. Indomethacin-loaded polymeric nanocarriers based on amphiphilic polyphosphazenes with poly (N-isopropylacrylamide) and ethyl tryptophan as side groups: preparation, in vitro and in vivo evaluation. *J Control Release* 2006;116(3):322-9.
 52. Atanase LI. Micellar Drug Delivery Systems Based on Natural Biopolymers. *Polymers (Basel).* 2021;13(3):477.
 53. Letchford K, Liggins R, Burt H. Solubilization of hydrophobic drugs by methoxy poly(Ethylene Glycol)-blockpolycaprolactone diblock copolymer micelles: theoretical and experimental data and correlations. *J Pharm Sci.* 2008;97(3):1179-90.
 54. Gao J, Ming J, He B, Fan Y, Gu Z, Zhang X. Preparation and characterization of novel polymeric micelles for 9-nitro-20(S)-camptothecin delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2008;34(2-3):85-93.
 55. D'Souza S. A review of in vitro drug release test methods for nano-sized dosage forms. *Adv. Pharm.* 2014; 304757:1-12.
 56. Gupta V and Trivedi P. In vitro and in vivo characterization of pharmaceutical topical nanocarriers containing anticancer drugs for skin cancer treatment, in: A.M. Grumezescu (Ed.), *Lipid Nanocarriers for Drug Targeting.* William Andrew Publishing. 2018: 563-627.
 57. Gaucher G, Satturwar P, Jones M, Furtos A, Leroux J. Polymeric micelles for oral drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm.* 2010;76(2):147-58.
 58. Narvekar M, Xue HY, Eoh JY, Wong HL. Nanocarrier for poorly water- soluble anticancer drugs-barriers of translation and solutions. *AAPS PharmSciTech* 2014;15(4):822-33.
 59. Kulthe SS, Inamdar, Choudari YM, Shirolkar SM, Borde LC, Mourya VK. Mixed micelle formation with hydrophobic and hydrophilic Pluronic block copolymers: implications for controlled and targeted drug delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2011;88(2):691-6.
 60. Kabanov AV, Jordan R, Luxenhofer L. Polymeric delivery systems for active agents. *Google Patents* (2016).
 61. Toscanini MA, Limeres MJ, Garrido AV, Cagel M, Bernabeu E, Moretton MA, et al. Polymeric micelles and nanomedicines: Shaping the future of next generation therapeutic strategies for infectious diseases. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 2021;66:102927.
 62. Kumar R, Sirvi A, Kaur S, Samal SK, Roy S, Sangamwar AT. Polymeric micelles based on amphiphilic oleic acid modified carboxymethyl chitosan for oral drug delivery of bcs class iv compound: Intestinal permeability and pharmacokinetic evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2020;153(1):105466.