



พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิเพื่อการประยุกต์ทางชีวการแพทย์ Temperature-Responsive Polymers for Biomedical Applications

ณัฐวิศิษฐ์ ยะสารวรรณ¹

บทคัดย่อ

พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิมีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาด้านชีวการแพทย์และเทคโนโลยีชีวภาพ ในฐานะวัสดุเพื่อการใช้งานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิสามารถเหนี่ยวนำให้พอลิเมอร์เกิดการรวมตัวเป็นโครงข่าย โครงข่ายของพอลิเมอร์เหล่านี้สามารถทำหน้าที่เป็นโครงเพื่อให้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงเกิดการยึดเกาะได้ นอกจากนี้โครงข่ายของพอลิเมอร์และไมเซลล์ยังถูกนำมาใช้เป็นตัวขนส่งตัวยาที่ต้องการไปสู่อวัยวะเป้าหมาย ตัวขนส่งยาสามารถควบคุมอัตราเร็วของการปลดปล่อยตัวยาให้มีความเหมาะสม เพื่อให้ตัวยาวออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ บทความนี้ได้รวบรวมพื้นฐานทางทฤษฎีที่จำเป็น งานวิจัยที่เกี่ยวข้องตลอดจนการประยุกต์ที่น่าสนใจของวัสดุพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิในปัจจุบัน

ABSTRACT

Temperature-responsive polymers play important roles in biomedical and biotechnological development as materials for applications in tissue engineering. The change of temperature induces the formation of polymeric networks which can serve as tissue scaffolds to which cultured cells can adhere. In addition, the polymeric networks and micelles can be used as drug carriers which deliver required drugs to specific target organs. By using drug carriers, the release rate of drugs can be optimally controlled, allowing effective drug activities. This article reviews essential theoretical background, related researches and interesting applications of temperature-responsive polymers reported to date.

¹ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

E-mail: nuttawis@hotmail.com

คำสำคัญ: พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า ไฮโดรเจล การขนส่งยา วิศวกรรมเนื้อเยื่อ

Keywords: Temperature-responsive polymers, Stimuli-responsive polymers, Hydrogels, Drug delivery, Tissue engineering

1. บทนำ

พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า (stimuli-responsive polymers) ถูกสังเคราะห์และถูกพัฒนาขึ้นมาเป็นเวลากว่าสามทศวรรษ พอลิเมอร์ดังกล่าวตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมได้อย่างว่องไว และมีนัยยะ งานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองทางเคมีและทางกายภาพของพอลิเมอร์ต่อสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่นอุณหภูมิ ค่าพีเอช ตัวทำละลาย ความแรงของไอออน แสง สนามแม่เหล็ก หรือสนามไฟฟ้า เป็นต้น (Qiu and Park, 2012) พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ (temperature-responsive polymers) ถูกศึกษาและค้นคว้าค่อนข้างมาก เพราะถูกค้นพบก่อนพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้าชนิดอื่น (Hoffman, 2002) ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องตลอดจนวิธีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิได้ถูกพัฒนาไปมากแล้วเช่นกัน นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิเหนี่ยวนำให้พอลิเมอร์เกิดการตอบสนองนั้นสะดวกต่อการประยุกต์ใช้ที่ต้องนำพอลิเมอร์เข้าสู่ร่างกาย หากเทียบกับการใช้ปัจจัยภายนอกชนิดอื่น ๆ เช่น การฉายแสงหรือการผ่านสนามไฟฟ้า พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิถูกนำมาใช้ประโยชน์ด้านชีวการแพทย์และเทคโนโลยีชีวภาพอย่างมากมาย เช่น ใช้เป็นตัวขนส่งและปลดปล่อยตัวยา หรือใช้เป็นวัสดุสำหรับงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เป็นต้น

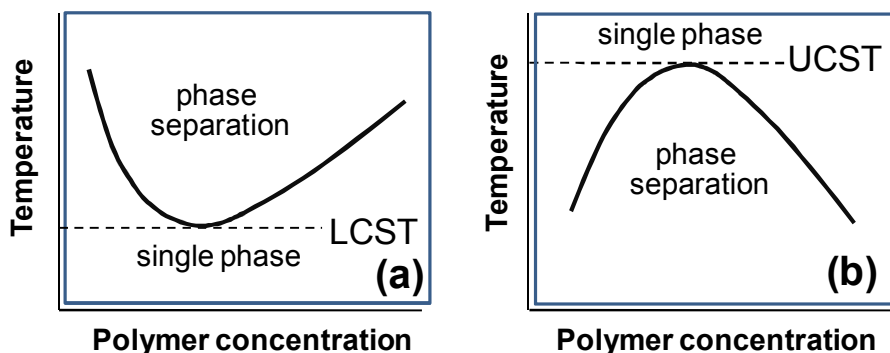
2. พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ

2.1 พฤติกรรมทางวัฏภาค

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับน้ำที่ล้อมรอบหรือระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ด้วยกันเอง (Ruel-Gariépy and Leroux, 2004) การเปลี่ยนแปลงของอันตรกิริยาทั้งสองเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโมเลกุล การรวมกลุ่มกัน หรือการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของพอลิเมอร์อย่างฉับพลัน หากสายโซ่พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิถูกเชื่อมเข้าด้วยกันเป็นโครงร่างตาข่าย การตอบสนองต่ออุณหภูมิของแต่ละสายโซ่พอลิเมอร์ย่อมส่งผลกระทบต่อสมบัติของโครงร่างตาข่ายทั้งหมด เราอาจจำแนกพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ ออกเป็น 2 ประเภท ตามพฤติกรรมทางวัฏภาค (phase behavior) ที่ขึ้นกับอุณหภูมิของพอลิเมอร์ในตัวทำละลาย ได้แก่ พอลิเมอร์ที่มีอุณหภูมิวิกฤติของสารละลายแบบต่ำสุด (lower critical solution temperature, LCST) และพอลิเมอร์ที่มีอุณหภูมิวิกฤติของสารละลายแบบสูงสุด (upper critical solution temperature, UCST) (Ward and Georgiou, 2011) คำว่า “อุณหภูมิวิกฤติของสารละลาย (critical solution temperature)” หมายถึงอุณหภูมิต่ำที่สุด (ในกรณีของ LCST) หรืออุณหภูมิสูงที่สุด (ในกรณีของ UCST) ที่พอลิเมอร์ยังคงละลายเป็นเนื้อเดียวกับตัวทำละลายได้ รูปที่ 1(a) และ 1(b) แสดงรูปร่างทั่วไปของแผนผังวัฏภาค (phase diagram) ของพอลิเมอร์ที่มี LCST และ UCST ตามลำดับ เส้นโค้งในรูปคือ “เส้นโค้งของความเข้ากันได้ (miscibility curve)” ซึ่งเป็นเส้นแบ่งระหว่างบริเวณที่ระบบมีหนึ่งวัฏภาค (single phase) กับ

บริเวณที่ระบบเกิดการแยกวัฏภาค (phase separation) อุณหภูมิบนเส้นโค้งคือ “อุณหภูมิของการเปลี่ยนวัฏภาค (phase transition temperature)” ที่อุณหภูมิดังกล่าว โมเลกุลของพอลิเมอร์จะเริ่มแยกออกจากตัวทำละลาย ทำให้สารละลายขุ่น (cloudy) เราจึงมักเรียกจุดนี้ว่า “จุดขุ่น (cloud point)” (Ruel-Gariépy and Leroux, 2004; Ward and Georgiou, 2011) อุณหภูมิ LCST ในรูปที่ 1(a) และอุณหภูมิ UCST ในรูปที่ 1(b) คือ อุณหภูมิของการเปลี่ยนวัฏภาค ที่จุดต่ำสุดและที่สูงสุดบนเส้นโค้งของความเข้มข้นได้ ตามลำดับ พฤติกรรมทางวัฏภาคของพอลิเมอร์ในตัวทำละลาย ถูกกำหนดโดยค่าพลังงานอิสระกิบส์ (The Gibbs free energy, ΔG) ดังสมการ $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ เมื่อ ΔH คือการเปลี่ยนแปลงเอนทัลปี (enthalpy change) ซึ่งเกี่ยวข้องกับแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับตัวทำละลายและแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ ΔS คือการเปลี่ยนแปลงเอนโทรปี (entropy change) ซึ่งแสดงความไม่เป็นระเบียบในระบบ ปัจจัยหลักที่ทำให้สารละลายของพอลิเมอร์ที่มี LCST เกิดการแยกวัฏภาคคือการเพิ่มขึ้นของเอนโทรปี การเพิ่มอุณหภูมิจนสูงกว่า LCST เหนี่ยวนำให้เกิดการสลายแรงยึดเหนี่ยว

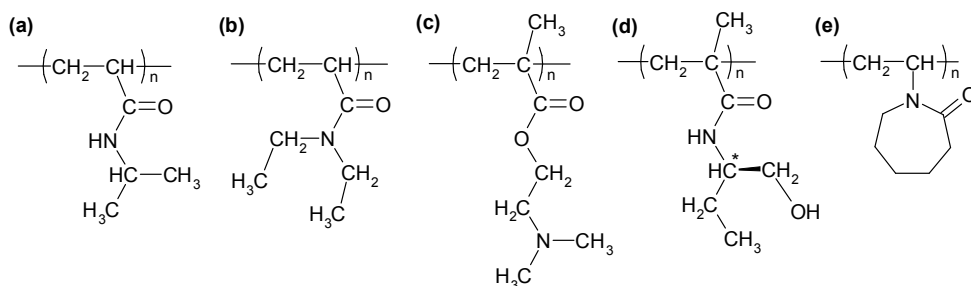
ระหว่างพอลิเมอร์กับตัวทำละลาย (เช่น พันธะไฮโดรเจน ในกรณีที่ตัวทำละลายคือน้ำ) โมเลกุลของตัวทำละลายที่มีอิสระภาพเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้เอนโทรปีของระบบสูงขึ้น จนเพียงพอที่จะชดเชยเอนทัลปีที่ใช้ไปในการสลายแรงยึดเหนี่ยวระหว่างพอลิเมอร์กับตัวทำละลาย ผลกระทบดังกล่าวทำให้พลังงานอิสระกิบส์ลดลง การแยกวัฏภาคจึงเกิดขึ้นได้ (Ruel-Gariépy and Leroux, 2004; Ward and Georgiou, 2011) อาจเรียกปรากฏการณ์ที่โมเลกุลของพอลิเมอร์หลุดออกจากการห่อหุ้มโดยโมเลกุลของน้ำว่า “ผลของไฮโดรโฟบิก (hydrophobic effect)” และเรียกแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่เกิดจากผลอันนี้ว่า “แรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic forces)” (Southall et al., 2001; Klouda and Mikos, 2008) สารละลายของพอลิเมอร์ที่มี UCST เกิดการแยกวัฏภาคเมื่ออุณหภูมิลดต่ำกว่า UCST ตามทฤษฎีแล้ว การลดลงของอุณหภูมิทำให้เอนโทรปีของระบบลดลงเสมอ ดังนั้นการแยกวัฏภาคและการละลายของพอลิเมอร์จะขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงเอนทัลปีเป็นหลัก การละลายของพอลิเมอร์ที่มี UCST จะเป็นแบบดูดความร้อนเนื่องจากพอลิเมอร์จะละลายได้ดีที่อุณหภูมิสูง (Jeong et al., 2002)



รูปที่ 1 แผนผังวัฏภาค (phase diagram) ของพอลิเมอร์ที่มี (a) อุณหภูมิวิกฤติของสารละลายแบบต่ำสุด (LCST) และ (b) อุณหภูมิวิกฤติของสารละลายแบบสูงสุด (UCST) (ภาพดัดแปลงจาก Ward and Georgiou, 2011)

หนึ่งในพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิและถูกนำมาศึกษามากที่สุด ได้แก่ poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) (Qiu and Park, 2012) ในรูปที่ 2(a) PNIPAAm ในน้ำมีค่า LCST $\approx 32^{\circ}\text{C}$ การละลายน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า LCST เกิดจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่าง PNIPAAm กับน้ำที่มีความเสถียร (Jeong et al., 2002) การดัดแปลงพอลิเมอร์ของ *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm) ให้มีค่า LCST ใกล้เคียงกับอุณหภูมิในร่างกาย (37°C) ทำได้โดยนำ NIPAAm รวมกับมอนอเมอร์ชนิดอื่น การนำมอนอเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำมารวมกับ NIPAAm ทำให้ได้โคพอลิเมอร์ที่มี LCST ต่ำกว่า PNIPAAm ที่เป็นโฮมพอลิเมอร์ แต่ถ้าใช้มอนอเมอร์ที่ชอบน้ำมากหรือเกิด

พันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้จะให้ผลตรงกันข้าม นอกจากนี้ค่า LCST จะลดลงเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของ PNIPAAm เพิ่มขึ้น (Kim et al., 2009) พอลิเมอร์สังเคราะห์อื่นที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิได้แก่ poly(*N*-(*L*)-(1-hydroxymethyl) propylmethacrylamide) [P(LHMPMAAm): LCST $\approx 30^{\circ}\text{C}$] (Aoki et al., 2001); poly(*N,N*-diethylacrylamide) [PDEAAm: LCST $\approx 25\text{--}32^{\circ}\text{C}$] (Qiu and Park, 2001); poly(*N*-vinyl caprolactam) [PVCL: LCST $\approx 25\text{--}35^{\circ}\text{C}$] (Vihola et al., 2007; Vihola et al., 2008) และ poly[2-(dimethylamino) ethylmethacrylate] [PDMAEMA: LCST $\approx 50^{\circ}\text{C}$] (Cho et al., 1997) ดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 2



รูปที่ 2 ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ (a) PNIPAAm, (b) PDEAAm, (c) PDMAEMA, (d) P(LHMPMAAm) และ (e) PVCL

2.2 ไฮโดรเจล

ไฮโดรเจล (hydrogel) คือโครงข่ายแบบสามมิติที่เกิดจากการเชื่อมโยงกันของสายโซ่พอลิเมอร์ โครงข่ายเหล่านี้กระจายอยู่ในน้ำที่เป็นตัวกลาง ไฮโดรเจลทุกชนิดมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก (อาจมากถึง 90% โดยน้ำหนัก) (Ward and Georgiou, 2011) จึงเหมาะต่อการประยุกต์ใช้ในทางชีวภาพ เราอาจแบ่งไฮโดรเจลออกเป็น 2 ประเภท ตามชนิดของแรงดึงดูดระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ในโครงข่าย ได้แก่

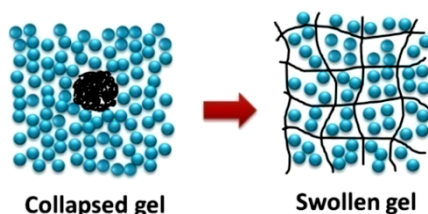
(a) เจลกายภาพ (physical gels) คือโครงข่ายที่เกิดจากการเชื่อมโยงของสายโซ่พอลิเมอร์ด้วยอันตรกิริยาที่อ่อนกว่าพันธะโคเวเลนต์

(Tsitsilianis, 2010) เช่น อันตรกิริยาระหว่างไอออน (ionic interactions) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) อันตรกิริยาแบบไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interactions) และ อันตรกิริยาแบบแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals interactions) นอกจากนี้การจัดเรียงตัวของไมเซลล์ (micellar packing) ก็อาจเป็นจุดเริ่มของการเกิดเจลกายภาพได้ (Castelletto et al., 2005; Hwang et al., 2013) เมื่อเจลกายภาพอยู่ในตัวทำละลายที่ดี ซึ่งมีปริมาตรตัวทำละลาย อุณหภูมิ และระยะเวลาที่พอเหมาะ สายโซ่พอลิเมอร์จะหลุดออกจากกัน ทำให้เจลสูญเสียโครงสร้างไป อย่างไรก็ตามโครงสร้างของเจลสามารถ

คืนตัวได้โดยการปรับสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสม เจลกายภาพจึงถูกเรียกว่า “เจลแบบผันกลับได้ (reversible gels)” (Hennink and van Nostrum, 2002; Gulrez et al., 2011) การเปลี่ยนแปลงแบบผันกลับได้ระหว่างสถานะของโซล (sol) และเจล (gel) เรียกว่า “การเปลี่ยนสถานะโซล-เจล (sol-gel transition)” หรือ “การเกิดเจล (gelation)” (Tanaka, 1981; Gulrez et al., 2011)

(b) เจลเคมี (chemical gels) คือโครงข่ายของสายโซ่พอลิเมอร์ที่เชื่อมโยงกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ (covalent bonds) หรือการเชื่อมขวาง (crosslink) ที่

แข็งแรง (Patrickios and Georgiou, 2003) โครงสร้างของเจลเคมีมีความคงตัวสูง เจลเคมีที่เกิดจากพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสามารถแสดงการบวมตัว (swelling) และการยุบตัว (collapse) แบบผันกลับได้ ภายใต้อิทธิพลของอุณหภูมิ ดังรูปที่ 3 เจลที่เกิดจากพอลิเมอร์ที่มี LCST จะบวมที่อุณหภูมิต่ำกว่า LCST เนื่องจากโมเลกุลของพอลิเมอร์ในเจลจะชอบน้ำ มีโมเลกุลของน้ำมาล้อมรอบ แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่า LCST โมเลกุลของน้ำจะถูกผลักออกจากพอลิเมอร์ทำให้เจลยุบตัว

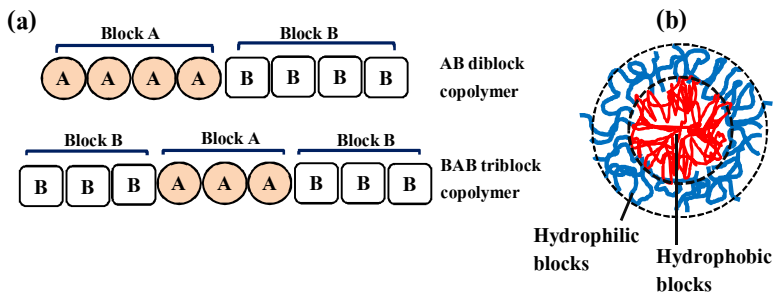


รูปที่ 3 เจลในสถานะยุบตัว (ซ้ายมือ) และสภาวะบวมตัว (ขวามือ) วงกลมแทนโมเลกุลของน้ำที่เป็นตัวทำละลาย (ภาพดัดแปลงจาก Fernández-Barbero et al., 2009)

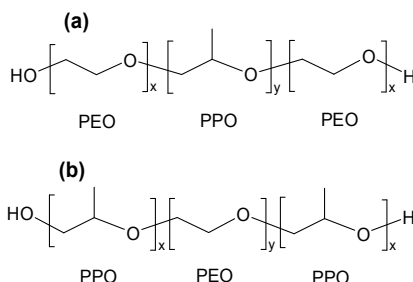
2.3 Block Copolymers

แผนภาพในรูปที่ 4(a) แสดงการจัดเรียงตัวของโครงสร้างในโมเลกุลของบล็อกโคพอลิเมอร์ ซึ่งประกอบด้วยบล็อก A และบล็อก B ของพอลิเมอร์ต่างชนิดกันมาเชื่อมต่อกัน ถ้าองค์ประกอบใน บล็อกทั้งสองมีความชอบน้ำต่างกัน โมเลกุลของบล็อกโคพอลิเมอร์จะมีสมบัติเป็นแอมฟิไฟล์ (amphiphile) และสามารถรวมกลุ่มเป็นไมเซลล์ (micelles) ได้ภายในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม รูปที่ 4(b) แสดงโครงสร้างของไมเซลล์แบบทรงกลมที่เกิดจากการรวมกันของบล็อกโคพอลิเมอร์ โดยบล็อกที่ไม่ชอบน้ำของแต่ละโมเลกุลจะรวมกันอยู่ภายในแกนกลางของไมเซลล์ ส่วนบล็อกที่ชอบน้ำจะอยู่รอบนอกและสัมผัสกับน้ำ ตัวอย่างของบล็อกโคพอลิเมอร์ทางการค้า ได้แก่ Pluronic และ Pluronic R ในรูปที่ 5

Pluronic เป็น PEO-PPO-PEO ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ซึ่งประกอบด้วยบล็อกของ poly(ethylene oxide) (PEO) เชื่อมต่อกับบล็อกของ poly(propylene oxide) (PPO) จำนวนหน่วยมอโนเมอร์ในแต่ละบล็อกของ PEO และ PPO จะแตกต่างกันไปตามชื่อรหัส ตัวอย่างเช่น Pluronic P85 มีบล็อกของ PEO และ PPO ขนาดประมาณ 26 และ 40 หน่วยตามลำดับ (Ruel-Gariépy and Leroux, 2004; Hammouda, 2010) ในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม โมเลกุลของ Pluronic สามารถเกาะเกี่ยวกันเองด้วยแรงไฮโดรโฟบิกระหว่างบล็อกของ PPO ที่ไม่ชอบน้ำ จนเกิดเป็นเจลกายภาพ การมีบล็อกของ PEO ซึ่งชอบน้ำทำให้เจลสามารถกระจายตัวในน้ำและอุ้มน้ำได้



รูปที่ 4 แผนภาพแสดงโครงสร้างของ (a) ไดบล็อกโคพอลิเมอร์ (diblock copolymer) และไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ (triblock copolymer); (b) ไมเซลล์ของบล็อกโคพอลิเมอร์ในน้ำ (ภาพดัดแปลงจาก Kopeček, 2003)



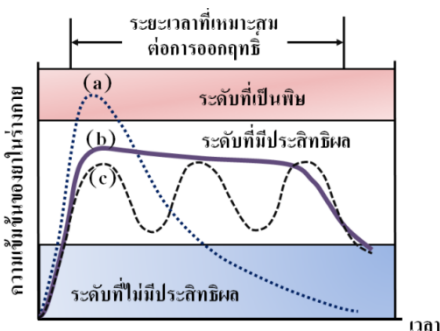
รูปที่ 5 (a) Pluronic และ (b) Pluronic R (ภาพดัดแปลงจาก Qiu and Park, 2012)

3. การประยุกต์

3.1 ระบบขนส่งและควบคุมการปลดปล่อยยา

จากแผนภาพในรูปที่ 6 จะเห็นว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของตัวยาในร่างกายสูงเกินไปจะเป็นพิษ แต่หากต่ำเกินไปจะทำให้การรับตัวยาไม่มีประสิทธิภาพ การรับตัวยาโดยตรงแบบหนึ่งโดส (กรณี a) จะต้องรับตัวยาปริมาณมากในคราวเดียว เนื่องจากความเข้มข้นของตัวยาจะลดลงอย่างรวดเร็วตามเวลา ในกรณีของ

การรับตัวยาโดยตรงแบบซ้ำโดส (กรณี c) ถึงแม้ว่าจะไม่ต้องรับตัวยาปริมาณมากในคราวเดียว แต่ก็ต้องรับตัวยาเป็นช่วงๆอย่างต่อเนื่อง เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของตัวยาให้เหมาะสม การรับตัวยาแบบใช้ตัวควบคุมการปลดปล่อย (กรณี b) ทำให้ตัวยาถูกปลดปล่อยสู่กระแสเลือดหรืออวัยวะเป้าหมายด้วยปริมาณที่เหมาะสม ในอัตราที่สม่ำเสมอ และภายในระยะเวลาที่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ของตัวยา



รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของตัวยาในร่างกายกับเวลา: (a) การรับตัวยาโดยตรงแบบหนึ่งโดส (single dose) (b) การรับตัวยาแบบใช้ตัวควบคุมการปลดปล่อย และ (c) การรับตัวยาโดยตรงแบบซ้ำโดส (repeated doses) (ภาพดัดแปลงจาก Bajpai et al., 2008)

ในการประยุกต์ไฮโดรเจลเป็นตัวขนส่งและปลดปล่อยตัวยา ไฮโดรเจลที่มีตัวยาบรรจุอยู่ ณ อุณหภูมิห้องจะถูกนำเข้าสู่ร่างกาย อุณหภูมิในร่างกายที่สูงกว่า LCST จะกระตุ้นให้เจลยุบตัว ขอบด้านนอกของเจลซึ่งสัมผัสกับน้ำมากกว่าจะหดตัวได้ไวกว่าขอบด้านใน ขอบด้านนอกของเจลจึงมีความหนาแน่นสูงกว่า ขณะเดียวกันช่องว่างภายในเจลจะถูกบีบ การแพร่ผ่านของน้ำและโมเลกุลของตัวยาออกจากเจลจึงถูกควบคุม นอกจากนี้การที่มีพอลิเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำอยู่ในโครงสร้างของเจลจะช่วยเพิ่มแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเจลกับโมเลกุลของตัวยาที่ไม่ชอบน้ำ ทำให้อัตราเร็วในการปลดปล่อยตัวยาไม่สูงเกินไป (Ward and Georgiou, 2011)

เจลเคมีของ PNIPAAm ถูกพัฒนาเป็นระบบขนส่งตัวยาอย่างกว้างขวาง เจลจะยุบตัวที่อุณหภูมิของร่างกายทำให้โมเลกุลของตัวยาและน้ำถูกปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วในตอนแรก หลังจากนั้นการปลดปล่อยตัวยาจะถูกควบคุมให้อัตราเร็วที่สม่ำเสมอ Okuyama และคณะรายงานว่า เจลของ poly(NIPAAm-co-BMA) ซึ่งเป็นโคพอลิเมอร์ของ NIPAAm กับ *n*-butyl methacrylate (BMA) แสดงการปลดปล่อยยาด้วยอัตราที่สม่ำเสมอ เป็นไปตามจลศาสตร์อันดับศูนย์ โคโมโนเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำอย่าง BMA ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับโครงสร้างเจลและทำให้เจลยุบตัวช้า (Okuyama et al., 1993) งานวิจัยของ Coughlan และคณะแสดงให้เห็นว่าอัตราเร็วในการปลดปล่อยตัวยาจากเจลของ PNIPAAm ขึ้นกับความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้เป็นสารเชื่อมขวาง (crosslinker) เมื่อความเข้มข้นของสารเชื่อมขวางสูง ขนาดของช่องว่างในเจลจะเล็กลง ทำให้อาณัติยาผ่านออกจากเจลได้ยาก แต่ความสามารถในการบวมตัวของเจลจะสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารเชื่อมขวางต่ำ (Coughlan and Corrigan, 2008)

Jones et al. พบว่าเจลของ hydroxyethyl methacrylate (HEMA) กับ PNIPAAm (LCST ในน้ำเท่ากับ 34 °C) สามารถบรรจุและปลดปล่อยตัวยาต้านจุลชีพ (antimicrobial drug) ชื่อ zinctetraphenylporphyrin ออกมาด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสม โครงสร้างของเจลมีความคงตัวดีและเหมาะสมกับสภาวะในร่างกาย นอกจากนี้การควบคุมสัดส่วนองค์ประกอบของโคพอลิเมอร์ด้วยการสังเคราะห์อย่างมีระบบจะทำให้สามารถดัดแปรค่า LCST และสมบัติการปลดปล่อยตัวยาของเจลให้เหมาะสมต่อการใช้งานได้ (Jones et al., 2007)

นอกจาก PNIPAAm แล้วยังมีการนำพอลิเมอร์ในกลุ่ม poly(*N*-alkylacrylamide) อื่น มาเตรียมเป็นไฮโดรเจล ได้แก่ poly(dimethylacrylamide) (PDMAAm) (Bromberg et al., 1997; Bekiari et al., 2004; Takahashi and Sakohara, 2012) และ poly(*N,N*-diethylacrylamide) (Ulbrich and Kopeček, 1979; Martellini et al., 2003; Grazon et al., 2011) เป็นต้น Martellini et al. เตรียมเจลจากโคพอลิเมอร์ 2 ชนิด ได้แก่ คือ poly(*N,N*-dimethylacrylamide-co-2-methoxyethylacrylate) และ poly(acrylamide-co-2-methoxyethylacrylate) โดยใช้ trimethylol propane trimethacrylate เป็นสารเชื่อมขวาง เจลทั้งสองชนิดสามารถควบคุมการปลดปล่อยตัวยาปฏิชีวนะ gentamicin sulphate ที่อุณหภูมิ 37 °C โดยปริมาณยาที่ปลดปล่อยออกมามีความสัมพันธ์แบบเส้นตรงกับรากที่สองของเวลาตามกฎการแพร่ของฟิค (Fick's Law) (Martellini et al., 2003)

Kan et al. เตรียม PEG-PLGA-PEG ไตรบล็อกโคพอลิเมอร์ ในตัวกลางที่เป็นอิมัลชัน (emulsion) ของ น้ำ กับ น้ำมัน ชื่อ Lipiodol® องค์ประกอบ PLGA (รูปที่ 7) ช่วยให้พอลิเมอร์สามารถ

ย่อยสลายทางชีวภาพได้ (biodegradable) จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 20–30°C พอลิเมอร์ที่กระจายตัวอยู่ในน้ำจะกลายเป็นเจลกายภาพล้อมรอบหยดน้ำมันที่มี paclitaxel (สารเคมีที่ใช้บำบัดมะเร็ง) ละลายอยู่เจลที่เกิดในระบบบิโอมัลชันนี้มีการปลดปล่อย paclitaxel แบบควบคุม โดยจลนศาสตร์ของการปลดปล่อยเป็นแบบอันดับศูนย์ paclitaxel ที่ปลดปล่อยออกมาสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์บุผิวหลอดเลือดจากรกของมนุษย์ (human umbilical vein endothelial cells) ได้อย่างมีนัยยะ (Kan et al., 2005)

Xyloglucan เป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่อยู่ในผนังเซลล์พืช จึงเหมาะต่อการประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรม การเปลี่ยนสถานะโซล-เจลของ xyloglucan ในน้ำจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อหมู่ galactose ของ xyloglucan ถูกกำจัดออกไปเกินกว่า 35% อุณหภูมิของการกลายเป็นเจลแปรผกผันกับทั้งความเข้มข้นของ xyloglucan (Miyazaki et al., 1998) และสัดส่วนของหมู่ galactose ที่ถูกกำจัด โดยเมื่อสัดส่วนของหมู่ galactose ที่ถูกกำจัดเพิ่มขึ้นจาก 35% เป็น 58% อุณหภูมิของการกลายเป็นเจลจะลดลงจาก 40°C เป็น 5°C (Shirakawa et al., 1998) การกำจัดหมู่ galactose จะเพิ่มแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิกซึ่งทำให้โมเลกุลของพอลิเมอร์ในเจลหดตัว การหดตัวของโมเลกุลนี้สอดคล้องกับผลการวัดการกระเจิงของแสงและการลดลงของความหนืด (Brun-Graeppe et al., 2010) มีการใช้เจลของ xyloglucan เป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยตัวยาหลายชนิด เช่น mitomycin C (ยาด้านมะเร็ง) (Suisha et al., 1998), theophylline (ยาขยายหลอดลม) (Miyazaki et al., 2001), pilocarpine hydrochloride (ยารักษาภาวะน้ำลายแห้งและต้อหิน) (Miyazaki et al., 2001), indomethacin (Miyazaki et al., 1998; Kawasaki

et al., 1999), ibuprofen และ ketoprofen (ยาแก้ปวดและลดการอักเสบ) (Takahashi et al., 2002)

3.2 วัสดุเพื่องานวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

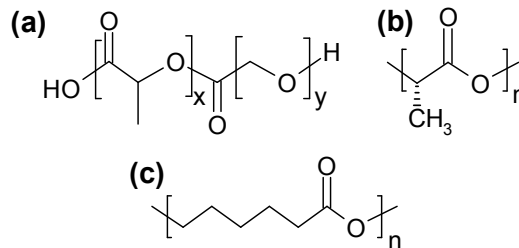
ไฮโดรเจลที่มีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบสามารถเข้ากับเนื้อเยื่อได้ดี มีความเป็นพิษต่ำและสามารถย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ในร่างกาย ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเช่น Yoshida และคณะสังเคราะห์เจลที่สามารถย่อยสลายได้ของ PNIPAAm โดยใช้พอลิเมอร์ของกรดอะมิโนเป็นสารเชื่อมขวาง ปริมาตรของเจลตอบสนองต่ออุณหภูมิอย่างทันทีทันใด (Yoshida et al., 2003)

Bessa et al. สังเคราะห์พอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างคล้ายอีลาสตินจากหน่วยซ้ำพอลิเปปไทด์โมเลกุลของพอลิเมอร์ชนิดนี้เหยียดตัวที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องมาจากการล้อมรอบโดยน้ำ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอันตรกิริยาภายในโมเลกุลของพอลิเมอร์จะทำให้โมเลกุลพับไปมาจนกลายเป็นอนุภาคนาโน อนุภาคนี้อาจรวมตัวกันเป็นโครงข่ายที่ช่วยสร้างกระดูก ชื่อ BMP-2 และ BMP-14 โปรตีนทั้งสองชนิดถูกปลดปล่อยจากอนุภาควัยอัตราที่สม่ำเสมอ 2 สัปดาห์ ช่วยให้การสร้างกระดูกเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ (Bessa et al., 2010)

พอลิเอสเทอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ เช่น poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), poly(L-lactic acid) หรือ poly(L-lactide) (PLLA) และ polycaprolactone (PCL) ในรูปที่ 7 ผ่านการรับรองโดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา (Qiu and Park, 2001) ไฮโดรเจลที่มีพอลิเมอร์เหล่านี้เป็นองค์ประกอบจึงสามารถย่อยสลายได้ ตัวอย่างเช่น Xiao และคณะเตรียมเจลจากโคพอลิเมอร์ของ NIPAAm, L-lactic acid และ dextran (พอลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่ง) การมี PNIPAAm อยู่ในโครงสร้างทำให้เจลมีการยุบตัวและ

บวมตัวตอบสนองต่ออุณหภูมิได้ (LCST ของโคพอลิเมอร์เท่ากับ 32°C) สำหรับ dextran ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ชอบน้ำสามารถย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ในร่างกาย ส่วน PLLA ย่อยสลายได้ผ่านการสลาย

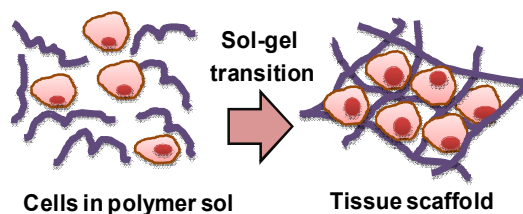
พันธะเอสเทอร์ การสลายพันธะชนิดนี้ในน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า LCST จะง่ายกว่าที่อุณหภูมิสูงกว่า LCST (Xiao et al., 2004)



รูปที่ 7 ตัวอย่างพอลิเอสเทอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ (a) poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), (b) poly(l-lactic acid) หรือ poly(L-lactide) (PLLA) และ (c) polycaprolactone (PCL)

นักวิจัยสามารถเตรียมพอลิเมอร์ให้อยู่ในรูปสารละลายสำหรับฉีดเพื่อใช้งานทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) พอลิเมอร์ที่ถูกฉีดเข้าสู่บริเวณที่เป็นเป้าหมายในร่างกายจะแปรสภาพเป็นไฮโดรเจลโดยการกระตุ้นจากอุณหภูมิในร่างกาย ไฮโดรเจลที่เกิดขึ้นจะทำหน้าที่เป็นโครงให้เซลล์ยึดเกาะ เรียกว่า "tissue scaffold" ดังรูปที่ 8 การยึดเกาะของเซลล์บนไฮโดรเจลช่วยให้การประสานกันของเนื้อเยื่อเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ (Ruel-Gariépy and

Leroux, 2004) Wu และคณะได้ทำการเชื่อมต่อสายโซ่ที่ไม่ชอบน้ำของ poly(caprolactone)-2-hydroxyethylmethacrylate (PCL-HEMA) เข้ากับ PNIPAAm และ dextran เพื่อเตรียมให้เป็นเจลแบบฉีดที่บรรจุ bovine serum albumin (BSA) ซึ่งเป็นสารอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ลงในเจลชนิดนี้ พบว่าเจลสามารถควบคุมการปลดปล่อย BSA ได้เป็นเวลาหลายวันก่อนที่เจลจะสลายตัว (Wu et al., 2009)



รูปที่ 8 การเกิดเจลเพื่อเป็นโครงให้เซลล์ยึดเกาะ (tissue scaffold) (ภาพดัดแปลงจาก Ward and Georgiou, 2011)

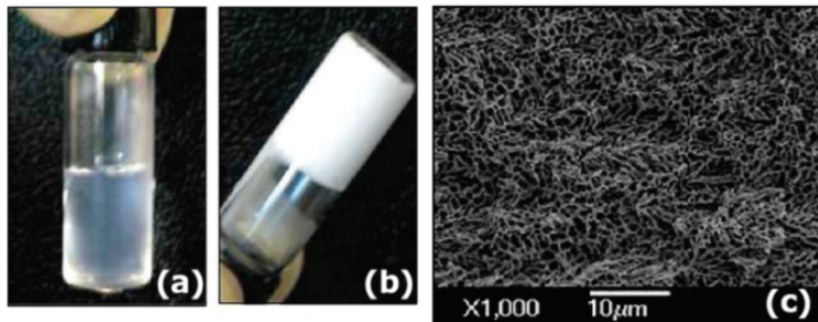
Ma และคณะพบว่า poly(NIPAAm-co-HEMA-co-MAPLA) ในน้ำ (MAPLA คือ methacrylate-poly(lactide)) กลายเป็นเจลได้ดังรูปที่ 9 อุณหภูมิของการเกิดเจลขึ้นกับสัดส่วนของมอนอเมอร์และความเข้มข้นของพอลิเมอร์โครงสร้างของเจล

มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นสูง (tensile strengths ≈ 100 kPa และ shear moduli ≈ 60 kPa) ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่ผนังหลอดเลือด (vascular smooth muscle cells) โดยไม่เป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้เจลยังสามารถ

ย่อยสลายได้ใน phosphate buffered saline (PBS) ที่อุณหภูมิ 37°C ภายในระยะเวลา 6-7 เดือน โดยหากมี MAPLA ในเจลมามาก เจลจะยิ่งสลายตัวได้ง่าย (Ma et al., 2010)

Stile and Healy สังเคราะห์เจลของ PNIPAAm ที่ถูกดัดแปรด้วยโมเลกุลของเปปไทด์ โดยพบว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า LCST เจลจะมีความยืดหยุ่นสูงพอที่จะถูกฉีกผ่านท่อเล็กๆโดยไม่สลายตัว เปปไทด์ในพอลิเมอร์ทำหน้าที่สนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์บนเจล (Stile and Healy, 2001) Garty และคณะดัดแปลงพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิในตระกูล

Pluronic ชื่อ Pluronic 127 (มีบล็อกของ PEO และ PPO ซึ่งมีปริมาณหน่วยของพอลิเมอร์ 99 และ 67 หน่วย ตามลำดับ) โดยมีหมู่ maleimide ที่ปลายของโมเลกุล จากนั้นจึงเชื่อมปลายดังกล่าวเข้ากับสายเปปไทด์ผ่านการทำปฏิกิริยาระหว่างพันธะคู่ของ maleimide กับหมู่ไทออล (thiol group) ในกรดอะมิโน cysteine ตรงปลายของสายเปปไทด์ สารละลายของพอลิเมอร์ที่ถูกดัดแปรนี้เปลี่ยนเป็นเจลได้ที่อุณหภูมิของร่างกาย การมีเปปไทด์ทำให้เจลสามารถจับกับเซลล์ได้ดี (Garty et al., 2010)



รูปที่ 9 (a) poly(NIPAAm-co-HEMA-co-MAPLA) เข้มข้น 16.7 wt% (อัตราส่วนโมล NIPAAm/HEMA/MAPLA เท่ากับ 80/10/10) ในบัฟเฟอร์ PBS ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10°C (b) สารละลายกลายเป็นเจลที่ 37°C ภายในเวลาเพียง 30 วินาที และ (c) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะของเจลในข้อ (b) (ภาพดัดแปลงจาก Ma et al., 2010)

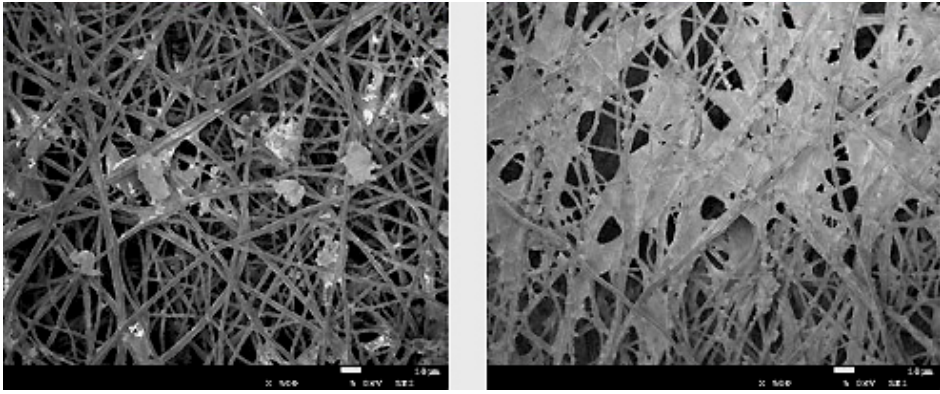
มีรายงานว่ามีการนำพอลิเมอร์ในตระกูล Pluronic มาดัดแปลงอีกมากมาย เช่น การเตรียมเจลที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิทางสรีรวิทยาจากโคพอลิเมอร์ของ RGD กับ chitosan-Pluronic (RGD คือไตรเปปไทด์ที่ประกอบด้วย L-arginine, glycine และ L-aspartic acid), โคพอลิเมอร์ของ gelatin-Pluronic และโคพอลิเมอร์ของ chitosan-Pluronic เพื่อใช้เป็นโครงสร้างสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ควบคุมการสร้างกระดูกอ่อนชื่อ chondrocyte (Park et al., 2008; Park et al., 2009; Kim et al., 2010)

Guo และคณะเตรียม poly(Pluronic-co-L-lactide) เพื่อใช้เป็นวัสดุสำหรับผลิตเส้นใยนาโน (nanofibers) เส้นใยที่ได้ถูกนำมาใช้เป็นโครงสำหรับยึดเซลล์ osteoblast (เซลล์สร้างเนื้อเยื่อกระดูก) ดังรูปที่ 10 เส้นใยนาโนนี้สามารถยึดเซลล์ osteoblast ได้ดีและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้เซลล์เจริญเติบโตได้ดีเมื่อเนื้อเยื่อมีความสมบูรณ์เส้นใยนาโนก็จะย่อยสลายไป (Guo et al., 2013)

PoligoGel เป็นบล็อกโคพอลิเมอร์ที่มีสมบัติใกล้เคียงกับ Pluronic มีค่า LCST ในน้ำใกล้เคียงกับ

อุณหภูมิในร่างกายและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ จากการทดลองโดย Borden และคณะพบว่า PoligoGel สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารละลายสำหรับฉีด

mesenchymal stem cells ของหนู โดยเมื่ออยู่ในรูปของเจลจะช่วยรั้งเซลล์ไม่ให้ถูกชะไปจากบริเวณที่ทำ การฉีด (Borden et al., 2010)



รูปที่ 10. ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงการเจริญของกลุ่มเซลล์ osteoblast บนเส้นใยนาโนที่เตรียมจาก poly(Pluronic-co-L-lactide) ภาพทางซ้ายมือและขวามือถ่ายหลังจากการมีกลุ่มเซลล์ยึดเกาะอยู่บนเส้นใยเป็นเวลา 1 วัน และ 3 วัน ตามลำดับ (ภาพดัดแปลงจาก Guo et al., 2013)

4. บทสรุป

พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิเป็นวัสดุที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการประยุกต์ใช้ทางชีวการแพทย์และเทคโนโลยีชีวภาพ ด้วยโครงสร้างโมเลกุลและองค์ประกอบที่เอื้ออำนวยต่อการดัดแปรทางเคมีและทางกายภาพของพอลิเมอร์ ทำให้นักวิจัยสามารถขนส่งตัวได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถปลดปล่อยตัวยาที่เฉพาะเจาะจงต่ออวัยวะ ควบคุมอัตราการปลดปล่อยตัวยาได้อย่างเหมาะสม ลดผลข้างเคียงของตัวยาหรือป้องกันมิให้โมเลกุลของยาละลายตัวก่อนการออกฤทธิ์ การดัดแปรพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิให้มีส่วนประกอบของกรดอะมิโน หรือพอลิแซ็กคาไรด์ ช่วยลดความเป็นพิษของพอลิเมอร์ต่อเนื้อเยื่อและเซลล์ รวมทั้งทำให้พอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ภายในร่างกาย พอลิเมอร์ประเภทนี้เหมาะที่จะนำมาเตรียมเป็นโครงเพื่อรองรับการปลูกถ่ายเซลล์ หรือเป็นตัวปลดปล่อยสารเคมีที่มีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ในปัจจุบันนักวิจัยพยายามเชื่อมต่อชีวโมเลกุลที่มี

ความซับซ้อน เช่น เอนไซม์ ฮอร์โมน หรือสารพันธุกรรม กับพอลิเมอร์ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิหรือสภาวะแวดล้อมอื่นๆ (Miyata et al., 1996; Miyata et al., 2002; Kopeček, 2003; Garty et al., 2010) เพื่อให้ได้พอลิเมอร์ที่ทำงานสอดคล้องกับกิจกรรมในร่างกาย หรือช่วยให้พอลิเมอร์เข้าถึงเนื้อเยื่อหรือเซลล์บางชนิดได้ง่ายขึ้น งานวิจัยเหล่านี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการรักษาความผิดปกติในระดับเซลล์หรือยีน หรือการพัฒนาความสามารถแบบพุ่งเป้า (targeting ability) ของตัวขนส่งสารเคมีเพื่อการบำบัดโรคมะเร็ง

5. เอกสารอ้างอิง

Aoki, T., Muramatsu, M., Torii, T., Sanui, K., Ogata, N. (2001). Thermosensitive phase transition of an optically active polymer in aqueous milieu. *Macromolecules* 34: 3118-3119.

- Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S., Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Prog. Polym. Sci.* 33: 1088-1118.
- Bekiari, V., Pagonis, K., Bokias, G., Lianos, P. (2004). Study of poly(N,N-dimethylacrylamide)/CdS nanocomposite organic/inorganic gels. *Langmuir* 20: 7972-7975.
- Bessa, P.C., Machado, R., Nurnberger, S., Dopler, D., Banerjee, A., Cunha, A.M., Rodriguez-Cabello, J.C., Redl, H., van Griensven, M., Reis, R.L., Casal, M. (2010). Thermoresponsive self-assembled elastin-based nanoparticles for delivery of BMPs. *J. Controlled Release.* 142: 312-318.
- Borden, B.A., Yockman, J., Kim, S.W. (2010). Thermoresponsive hydrogel as a delivery scaffold for transfected rat mesenchymal stem cells. *Mol. Pharmaceutics* 7: 963-968.
- Bromberg, L., Grosberg, A.Y., Matsuo, E.S., Suzuki, Y., Tanaka, T. (1997). Dependency of swelling on the length of subchain in poly(N,N-dimethylacrylamide)-based gels. *J. Chem. Phys.* 106: 2906-2910.
- Brun-Graeppe, A.K.A.S., Richard, C., Bessodes, M., Scherman, D., Narita, T., Ducouret, G., Merten, O.W. (2010). Study on the sol-gel transition of xyloglucan hydrogels. *Carbohydr. Polym.* 80: 555-562.
- Castelletto, V., Hamley, I.W., Yuan, X.F., Kelarakis, A., Booth, C. (2005). Structure and rheology of aqueous micellar solutions and gels formed from an associative poly(oxybutylene)-poly(oxyethylene)-poly(oxybutylene) triblock copolymer. *Soft Matter.* 1: 138-145.
- Cho, S.H., Jhon, M.S., Yuk, S.H., Lee, H.B. (1997). Temperature-induced phase transition of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate-co-acrylamide). *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 35: 595-598.
- Coughlan, D.C., Corrigan, O.I. (2008). Release kinetics of benzoic acid and its sodium salt from a series of poly(N-isopropylacrylamide) matrices with various percentage crosslinking. *J. Pharm. Sci.* 97: 318-330.
- Fernández-Barbero, A., Suárez, I., Sierra-Martín, B., Fernández-Nieves, A., de Las Nieves, F., Marquez, M., Rubio-Retama, J., López-Cabarcos, E. (2009). Gels and microgels for nanotechnological applications. *Adv. Colloid Interface Sci.* 147-148: 88-108.
- Garty, S., Kimelman-Bleich, N., Hayouka, Z., Cohn, D., Friedler, A., Pelled, G., Gazit, D. (2010). Peptide-modified "smart" hydrogels and genetically engineered stem cells for skeletal tissue engineering. *Biomacromolecules* 11: 1516-1526.
- Grazon, C., Rieger, J., Sanson, N., Charleux, B. (2011). Study of poly(N, N-diethylacrylamide) nanogel formation by aqueous dispersion polymerization of N, N-diethylacrylamide in the presence of poly(ethylene oxide)-b-poly(N,N-dimethylacrylamide) amphiphilic macromolecular RAFT agents. *Soft Matter* 7: 3482-3490.
- Gulrez, S.K.H., Al-Assaf, S., Phillips, G.O. (2011). Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. Rijeka: InTech. pp. 117-151.
- Guo, Q., Li, X., Ding, Q., Li, D., Zhao, Q., Xie, P., Tang, X., Luo, F., Qian, Z. (2013). Preparation and characterization of poly(pluronic-co-L-lactide) nanofibers for tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromolec.* 58: 79-86.
- Hammouda, B. (2010). SANS from Pluronic P85 in d-water. *Eur. Polym. J.* 46: 2275-2281.

- Hennink, W.E., van Nostrum, C.F. (2002). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 13-36.
- Hoffman, A.S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 3-12.
- Hwang, H.S., Shin, G.W., Park, H.J., Ryu, C.Y., Jung, G.Y. (2013). Micellar ordered structure effects on high-resolution CE-SSCP using Pluronic triblock copolymer blends. *Electrophoresis* 34: 518-523.
- Jeong, B., Kim, S.W., Bae, Y.H. (2002). Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 37-51.
- Jones, D.S., Lorimer, C.J., Andrews, G.P., McCoy, C.P., Gorman, S.P. (2007). An examination of the thermorheological and drug release properties of zinc tetraphenylporphyrin-containing thermoresponsive hydrogels, designed as light activated antimicrobial implants. *Chem. Eng. Sci.* 62: 990-999.
- Kan, P., Lin, X.Z., Hsieh, M.F., Chang, K.Y. (2005). Thermogelling emulsions for vascular embolization and sustained release of drugs. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 75B: 185-192.
- Kawasaki, N., Ohkura, R., Miyazaki, S., Uno, Y., Sugimoto, S., Attwood, D. (1999). Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for oral drug delivery. *Int. J. Pharm.* 181: 227-234.
- Kim, D.H., Heo, S.J., Shin, J.W., Mun, C.W., Park, K.M., Park, K., Jee, K.S. (2010). Preparation of thermosensitive gelatin-pluronic copolymer for cartilage tissue engineering. *Macromol. Res.* 18: 387-391.
- Kim, S., Kim, J.H., Jeon, O., Kwon, I.C., Park, K. (2009). Engineered polymers for advanced drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 71: 420-430.
- Klouda, L., Mikos, A.G. (2008). Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 68: 34-45.
- Kopeček, J. (2003). Smart and genetically engineered biomaterials and drug delivery systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 20: 1-16.
- Ma, Z., Nelson, D.M., Hong, Y., Wagner, W.R. (2010). Thermally responsive injectable hydrogel incorporating methacrylate-poly(lactide) for hydrolytic lability. *Biomacromolecules* 11: 1873-1881.
- Martellini, F., Mei, L.H.I., Baliño, J.L., Carenza, M. (2003). Water and drug transport in radiation-crosslinked poly(2-methoxyethylacrylate-co-dimethyl acrylamide) and poly(2-methoxyethylacrylate-co-acrylamide) hydrogels. *Radiat. Phys. Chem.* 66: 155-159.
- Miyata, T., Jikihara, A., Nakamae, K., Hoffman, A.S. (1996). Preparation of poly(2-glucosyloxyethyl methacrylate)-concanavalin A complex hydrogel and its glucose-sensitivity. *Macromol. Chem. Phys.* 197: 1135-1146.
- Miyata, T., Uragami, T., Nakamae, K. (2002). Biomolecule-sensitive hydrogels. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 79-98.
- Miyazaki, S., Kawasaki, N., Endo, K., Attwood, D. (2001). Oral sustained delivery of theophylline from thermally reversible xyloglucan gels in rabbits. *J. Pharm. Pharmacol.* 53: 1185-1191.
- Miyazaki, S., Suisha, F., Kawasaki, N., Shirakawa, M., Yamatoya, K., Attwood, D. (1998). Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for rectal drug delivery. *J. Controlled Release.* 56: 75-83.

- Miyazaki, S., Suzuki, S., Kawasaki, N., Endo, K., Takahashi, A., Attwood, D. (2001). *In situ* gelling xyloglucan formulations for sustained release ocular delivery of pilocarpine hydrochloride. *Int. J. Pharm.* 229: 29-36.
- Okuyama, Y., Yoshida, R., Sakai, K., Okano, T., Sakurai, Y. (1993). Swelling controlled zero order and sigmoidal drug release from thermo-responsive poly(N-isopropylacrylamide-co-butyl methacrylate) hydrogel. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 4: 545-556.
- Park, K., Joung, Y., Park, K., Lee, S., Lee, M. (2008). RGD-Conjugated chitosan-pluronic hydrogels as a cell supported scaffold for articular cartilage regeneration. *Macromol. Res.* 16: 517-523.
- Park, K.M., Lee, S.Y., Joung, Y.K., Na, J.S., Lee, M.C., Park, K.D. (2009). Thermosensitive chitosan-Pluronic hydrogel as an injectable cell delivery carrier for cartilage regeneration. *Acta Biomater.* 5: 1956-1965.
- Patrickios, C.S., Georgiou, T.K. (2003). Covalent amphiphilic polymer networks. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 8: 76-85.
- Qiu, Y., Park, K. (2001). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 53: 321-339.
- Qiu, Y., Park, K. (2012). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64: 49-60.
- Ruel-Gariépy, E., Leroux, J.C. (2004). *In situ*-forming hydrogels-review of temperature-sensitive systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58: 409-426.
- Shirakawa, M., Yamatoya, K., Nishinari, K. (1998). Tailoring of xyloglucan properties using an enzyme. *Food Hydrocolloids* 12: 25-28.
- Southall, N.T., Dill, K.A., Haymet, A.D.J. (2001). A view of the hydrophobic effect. *J. Phys. Chem. B.* 106: 521-533.
- Stile, R.A., Healy, K.E. (2001). Thermo-responsive peptide-modified hydrogels for tissue regeneration. *Biomacromolecules* 2: 185-194.
- Suisha, F., Kawasaki, N., Miyazaki, S., Shirakawa, M., Yamatoya, K., Sasaki, M., Attwood, D. (1998). Xyloglucan gels as sustained release vehicles for the intraperitoneal administration of mitomycin C. *Int. J. Pharm.* 172: 27-32.
- Takahashi, A., Sakohara, S. (2012). Thermosensitive properties of amphiphilic N,N-dimethylacrylamide gel grafted with thermosensitive oligo(N-isopropylacrylamide). *J. Appl. Polym. Sci.* 124: 1208-1216.
- Takahashi, A., Suzuki, S., Kawasaki, N., Kubo, W., Miyazaki, S., Loebenberg, R., Bachynsky, J., Attwood, D. (2002). Percutaneous absorption of non-steroidal anti-inflammatory drugs from *in situ* gelling xyloglucan formulations in rats. *Int. J. Pharm.* 246: 179-186.
- Tanaka, T. (1981). Gels. *Sci. Am.* 244: 124-138.
- Tsitsilianis, C. (2010). Responsive reversible hydrogels from associative "smart" macromolecules. *Soft Matter* 6: 2372-2388.
- Ulbrich, K., Kopeček, J. (1979). Cross-linked copolymers of N,N-diethylacrylamide with improved mechanical properties. *J. Polym. Sci. Pol. Sym.* 66: 209-219.
- Vihola, H., Laukkanen, A., Tenhu, H., Hirvonen, J. (2008). Drug release characteristics of physically cross-linked thermosensitive poly(N-vinylcaprolactam) hydrogel particles. *J. Pharm. Sci.* 97: 4783-4793.

- Vihola, H., Marttila, A.K., Pakkanen, J.S., Andersson, M., Laukkanen, A., Kaukonen, A.M., Tenhu, H., Hirvonen, J. (2007). Cell-polymer interactions of fluorescent polystyrene latex particles coated with thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-vinylcaprolactam) or grafted with poly(ethylene oxide)-macromonomer. *Int. J. Pharm.* 343: 238-246.
- Ward, M.A., Georgiou, T.K. (2011). Thermoresponsive polymers for biomedical applications. *Polymers* 3: 1215-1242.
- Wu, D.Q., Qiu, F., Wang, T., Jiang, X.-J., Zhang, X.Z., Zhuo, R.X. (2009). Toward the development of partially biodegradable and injectable thermoresponsive hydrogels for potential biomedical applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 1: 319-327.
- Xiao, H., Nayak, B.R., Lowe, T.L. (2004). Synthesis and characterization of novel thermoresponsive-co-biodegradable hydrogels composed of N-isopropylacrylamide, poly(L-lactic acid), and dextran. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 42: 5054-5066.
- Yoshida, T., Aoyagi, T., Kokufuta, E., Okano, T. (2003). Newly designed hydrogel with both sensitive thermoresponse and biodegradability. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 41: 779-787.

