

พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอชเพื่อการประยุกต์ทางชีวการแพทย์

pH-Responsive Polymers for Biomedical Applications

ณัฐวิศิษฐ์ ยะสารวรรณ*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Nuttawisit Yasarawan*

Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University,

Saen Sook, Mueang, Chonburi 20131

บทคัดย่อ

พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอชถูกนำมาใช้ในการประยุกต์ด้านชีวการแพทย์อย่างมากมาย เช่น ใช้เป็นระบบขนส่งยาหรือสารเคมีภายในร่างกาย โดยทั่วไปสารเคมีที่ต้องการขนส่งจะถูกเก็บกักไว้ในเครือข่ายหรืออนุภาคนาโนที่เกิดจากพอลิเมอร์ แต่ในบางกรณีสารเคมีจะเชื่อมต่อกับพอลิเมอร์ผ่านการเกิดพันธะเคมี การเปลี่ยนแปลงของพีเอชที่บริเวณอวัยวะหรือเนื้อเยื่อเป้าหมาย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างฉับพลันของอันตรกิริยาระหว่างประจุบนพอลิเมอร์หรือการสลายของพันธะเคมีในโครงสร้างของพอลิเมอร์ ส่งผลให้สารเคมีที่ขนส่งถูกปลดปล่อยออกมา บทความนี้ได้รวบรวมพื้นฐานทางทฤษฎีที่จำเป็นและการประยุกต์ที่น่าสนใจของพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอชตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

คำสำคัญ : พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอช; พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า; ไฮโดรเจล

Abstract

pH-Responsive polymers have been used in several biomedical applications such as delivery systems for drugs or chemicals in the body. Generally, the delivered chemicals are encapsulated within either networks or nanoparticles formed by such the polymers. However, in some cases, these chemicals can be attached to the polymers via chemical bonding. The changes in pH at the target organs or tissues trigger either sudden changes in charge interactions on the polymers or bond dissociation within the polymeric structures, leading to the release of the delivered chemicals. This article reviews essential theoretical background and interesting applications of pH-responsive polymers reported from the past to the present.

Keywords: pH-responsive polymer; stimuli-responsive polymer; hydrogel

1. บทนำ

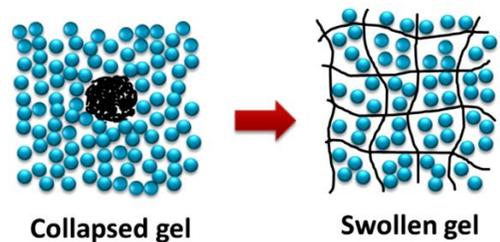
1.1 ไฮโดรเจล

ไฮโดรเจล (hydrogel) คือ วัสดุพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยสายโซ่ของโมเลกุลพอลิเมอร์ที่เชื่อมต่อกันเป็นเครือข่าย เครือข่ายนี้กระจายตัวอยู่ในน้ำซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก [1] การมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลักทำให้ไฮโดรเจลเหมาะกับการประยุกต์ที่เกี่ยวข้องกับระบบสิ่งมีชีวิต ทั้งในแง่ของความเข้ากันได้ระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อ การย่อยสลายทางชีวภาพและการขับถ่ายออกจากร่างกาย การเชื่อมต่อของพอลิเมอร์ภายในเครือข่ายไฮโดรเจลอาจเกิดผ่านพันธะโคเวเลนต์ (covalent bond) หรือครอสลิงค์ (crosslink) ที่แข็งแรง หรืออันตรกิริยาที่อ่อนกว่าพันธะโคเวเลนต์ เช่น อันตรกิริยาระหว่างประจุ (charge interaction) พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) อันตรกิริยาของความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) หรืออันตรกิริยาแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals interaction) งานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าพอลิเมอร์แต่ละชนิดสามารถตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ได้แก่ อุณหภูมิ พีเอช ไอออนแสง สนามแม่เหล็ก และสนามไฟฟ้า เป็นต้น [1] การตอบสนองของพอลิเมอร์มักเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ผันกลับได้ของสมบัติทางโครงสร้างและเคมีของโมเลกุลในปัจจุบัน

พอลิเมอร์ที่มีสมบัติพิเศษดังกล่าวถูกพัฒนาขึ้นอย่างต่อเนื่องเพื่องานด้านชีวการแพทย์ เช่น ใช้เป็นระบบขนส่งและปลดปล่อยยาภายในร่างกาย เป็นวัสดุเพื่องานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ หรือเป็นตัวจับสัญญาณสารเคมีในร่างกาย สำหรับไฮโดรเจลที่มีพอลิเมอร์เชื่อมต่อกันด้วยอันตรกิริยาที่อ่อนกว่าพันธะโคเวเลนต์ การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ พีเอช หรือตัวทำละลาย อาจทำให้โมเลกุลของพอลิเมอร์ภายในเจลหลุดออกจากกัน สถานะของพอลิเมอร์ในตัวทำละลายเช่นนี้เรียกว่า “ซอล (sol)”

อย่างไรก็ตาม การปรับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมสามารถเหนี่ยวนำให้โมเลกุลของพอลิเมอร์ในซอล

กลับมาเชื่อมต่อเป็นเจลได้อีกครั้ง เราเรียกการเปลี่ยนแปลงแบบผันกลับได้ระหว่างสถานะซอลและเจลของพอลิเมอร์ว่า “sol-gel transition” หรือ “gelation” [2,3] ในกรณีของเจลที่สายโซ่พอลิเมอร์เชื่อมต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์หรือครอสลิงค์ที่แข็งแรง เครือข่ายจะมีความคงตัวสูง การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมจะเหนี่ยวนำให้เกิดการบวม (swelling) และการยุบตัว (collapse) ของเครือข่าย ในน้ำดังรูปที่ 1 การบวมและการยุบตัวขึ้นอยู่กับความเข้ากันได้ของพอลิเมอร์ในเจลกับน้ำซึ่งแปรเปลี่ยนไปตามสภาวะแวดล้อม



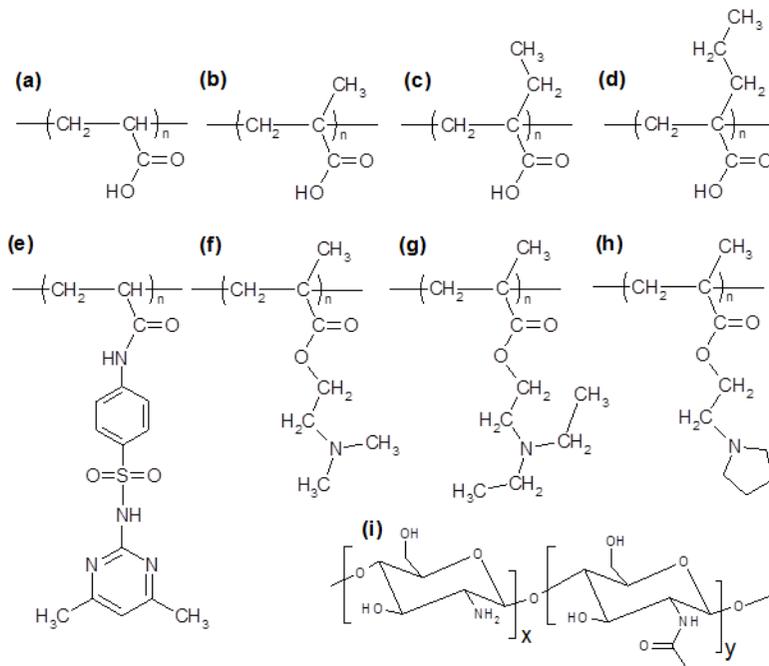
รูปที่ 1 ไฮโดรเจลในขณะยุบตัว (collapsed gel) และในขณะบวม (swollen gel) วงกลมขนาดเล็กจำนวนมากแทนโมเลกุลของน้ำที่เป็นตัวกลาง : ดัดแปลงจาก [4]

1.2 พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอช

พอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอช (pH-responsive polymer) ส่วนใหญ่เป็นพอลิอิเล็กโทรไลต์ (polyelectrolyte) ซึ่งหมายถึงพอลิเมอร์ที่นำไฟฟ้าได้เมื่ออยู่ในสถานะสารละลาย โมเลกุลของพอลิเมอร์เหล่านี้มีหมู่ฟังก์ชันกรดอ่อน (weak acidic functional group) ซึ่งสามารถจ่ายโปรตอนในน้ำแล้วเกิดเป็นไอออนลบ หรือหมู่ฟังก์ชันเบสอ่อน (weak basic functional group) ซึ่งสามารถรับโปรตอนใน

น้ำแล้วเกิดเป็นไอออนบวก ประสิทธิภาพการรับหรือจ่ายโปรตอนขึ้นอยู่กับความแรงของหมู่ฟังก์ชันและพีเอชในตัวกลาง โมเลกุลของพอลิเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันกรดจะไม่มีประจุที่พีเอชต่ำเนื่องจากหมู่ฟังก์ชันไม่เกิดการแตกตัว แรงดึงดูดที่เรียกว่า “แรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic force)” ภายในแกนหลักของโมเลกุล

จะทำให้โมเลกุลหดตัว ขนาดของแรงไฮโดรโฟบิกขึ้นอยู่กับสัดส่วนและการกระจายของส่วนที่ไม่ชอบน้ำในแกนหลักของโมเลกุล หากมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำอยู่มากแรงดึงดูดนี้ก็จะมีสูง การปรับแต่งความไม่ชอบน้ำทำได้โดยนำมอนอเมอร์ที่ชอบน้ำและมีหมู่ฟังก์ชันที่กลายเป็นไอออนได้มาเชื่อมต่อกับมอนอเมอร์ที่ไม่ชอบน้ำ



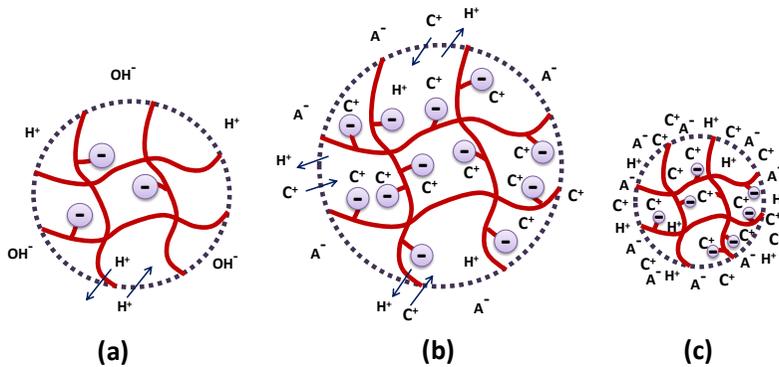
รูปที่ 2 ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอช (a) poly(acrylic acid), (b) poly(methacrylic acid), (c) poly(2-ethyl acrylic acid), (d) poly(2-propyl acrylic acid), (e) 4-amino-N-[4,6-dimethyl-2-pyrimidinyl]-benzenesulfonamide (sulfomethazine) containing polymer, (f) poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate), (g) poly(N,N-diethylaminoethyl methacrylate), (h) poly(N-ethylpyrrolidine methacrylate) และ (i) chitosan

หมู่ฟังก์ชันกรดบนโมเลกุลของพอลิเมอร์จะแตกตัวเป็นไอออนลบที่พีเอชสูง ๆ ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างประจุลบภายในโมเลกุล หากแรงผลักรุนแรงพอจะทำให้โมเลกุลของพอลิเมอร์เหี่ยยออก พอลิเมอร์ที่เกิดเป็นไอออนลบได้ที่พีเอชสูง ๆ ได้แก่ poly(acrylic acid) (PAA) ในรูปที่ 2(a) และพอลิเมอร์

ที่มีหมู่คาร์บอกซิลในรูปที่ 2(b) - 2(d) ในกรณีของ polysulfonamide ในรูปที่ 2(e) โปรตอนบนไนโตรเจนของหมู่ sulfonamide ในพอลิเมอร์สามารถแตกตัวได้ โดยการแตกตัวขึ้นอยู่กับความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่แทนที่บนไนโตรเจนนั้น [5] พอลิเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันเบสจะเป็นกลางทางไฟฟ้าที่

พีเอชสูง แต่จะรับโปรตอนแล้วเกิดเป็นไอออนบวกที่พีเอชต่ำ ดังนั้นสายพอลิเมอร์จะเหยียดออกที่พีเอชต่ำ และหดตัวที่พีเอชสูง ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่สามารถเกิดเป็นไอออนบวกได้ที่พีเอชต่ำ ๆ ได้แก่ พอลิเมอร์ในรูปที่ 2(f) - 2(i) รวมทั้ง polylysine (PL) และ poly-

ethylenimine (PEI) นอกจากนี้ยังมีพอลิเมอร์ที่มีทั้งหมู่ฟังก์ชันกรดและเบสในโมเลกุลเดียวกัน เช่น ISA23 ที่สังเคราะห์ขึ้นโดย Lavignac และคณะ โมเลกุลของ ISA23 จะเหยียดตัวที่พีเอชต่ำและหดตัวอย่างช้า ๆ ที่พีเอชเข้าใกล้ 7 [6]



รูปที่ 3 ผลกระทบของความแรงไอออน (ionic strength) ต่อโครงสร้างของไฮโดรเจลที่ระดับ (a) ความแรงไอออนต่ำ (b) ความแรงไอออนปานกลาง และ (c) ความแรงไอออนสูง : ดัดแปลงจาก [8]

1.3 ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อพีเอช

เมื่อโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอชถูกเชื่อมต่อเข้าด้วยกันเป็นเครือข่ายจะกลายเป็นไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อพีเอช โดยการเหยียดตัวและการหดตัวของสายโซ่พอลิเมอร์ภายในเครือข่ายจะทำให้ไฮโดรเจลเกิดการบวมและยุบตัวตามลำดับ นอกจากนี้พฤติกรรมทางโครงสร้างของไฮโดรเจลจะขึ้นอยู่กับความแรงของหมู่ฟังก์ชันและความไม่ชอบน้ำในแกนหลักของโมเลกุลพอลิเมอร์แล้ว ยังขึ้นกับความหนาแน่นของการครอสลิงค์ด้วย เมื่อความหนาแน่นของการครอสลิงค์สูง ช่องว่างภายในเครือข่ายจะแคบทำให้โมเลกุลของน้ำหรือสารเคมีผ่านออกจากเครือข่ายได้ยาก [7] อิทธิพลของความแรงไอออน (ionic strength) ที่มีต่อโครงสร้างของไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อพีเอชอาจอธิบายได้ด้วยแผนภาพในรูปที่ 3 สำหรับไฮโดรเจลที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์ประจุลบเมื่อปรับระดับความแรงไอออนจากต่ำไปสู่ปานกลาง

เคาน์เตอร์ไอออน (counterion) ประจุบวกในน้ำ (แทนด้วย C+ ตามแผนภาพ) จะเคลื่อนที่เข้าหาประจุลบของพอลิเมอร์ ทำให้ความเข้มข้นของเคาน์เตอร์ไอออนภายใน เจลสูงขึ้น ความแตกต่างระหว่างความดันออสโมติก (osmotic pressure) ภายในกับภายนอกเจลจะทำให้ น้ำถูกดันเข้าสู่เจล เจลจึงบวม แต่ที่ระดับความแรงไอออนสูง ($\approx 1-10$ M) เจลจะยุบตัวอีกครั้งเนื่องจากความเข้มข้นของเคาน์เตอร์ไอออนภายนอก เจลสูงเกินพอ ทำให้น้ำถูกดันกลับออกมาจากเจล [8]

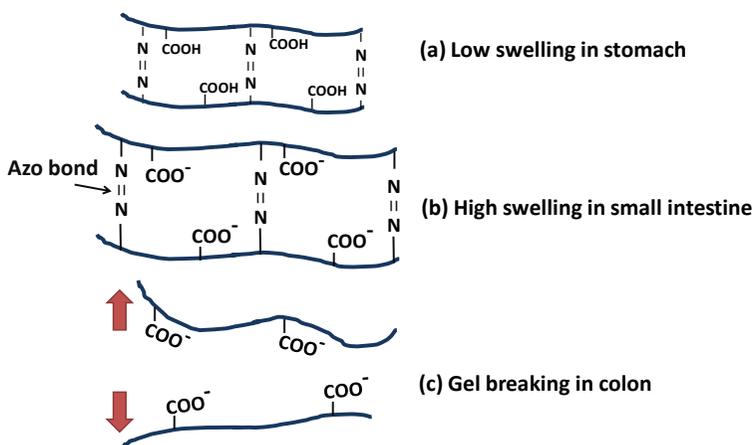
2. การประยุกต์ของพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอช

2.1 ระบบขนส่งยา

การทำงานของพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอชถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นเมื่อพอลิเมอร์เดินทางไปยัง

ส่วนต่าง ๆ ของร่างกายที่มีพีเอชต่างกัน พอลิเมอร์ที่ใช้เป็นตัวขนส่งยาเข้าสู่ร่างกายทางปากต้องทนต่อสภาวะกรดในกระเพาะอาหารและสามารถปลดปล่อยยาในสภาวะที่มีพีเอชสูงกว่า เช่น ภายในลำไส้ใหญ่ ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่มีสมบัติดังกล่าว ได้แก่ Eudragit® ซึ่งประกอบด้วย methacrylic acid และ methyl methacrylate [9,10] หรือพอลิเมอร์ที่ดัดแปลงจากเซลลูโลส เช่น carboxymethyl cellulose [11,12] cellulose acetate phthalate [13,14] หรือ hydroxypropyl methylcellulose phthalate [15,16] นอกจากนี้ยังมีการใช้พอลิแซคคาไรด์อีกหลายชนิดเป็นตัวขนส่งยาไปสู่ลำไส้ใหญ่ เช่น amylose, guar gum, pectin, chitosan, inulin, cyclodextrin, chondroitin sulphate, locust bean gum และ dextran พอลิแซคคาไรด์เหล่านี้เป็นสารธรรมชาติที่ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ย่อยสลายได้ และมีประโยชน์ต่อร่างกาย [9] นักวิจัยจำนวนหนึ่งทำการเชื่อมต่อโมเลกุลของยาเข้ากับพอลิเมอร์ด้วยวิธีทางเคมี ทำให้โมเลกุลของยาเกิดพันธะกับพอลิเมอร์โดยตรง เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า prodrugs โดยเมื่ออยู่ในสภาวะพีเอชที่เหมาะสม พันธะที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของยากับพอลิเมอร์จะสลายตัว ทำให้โมเลกุลของยา

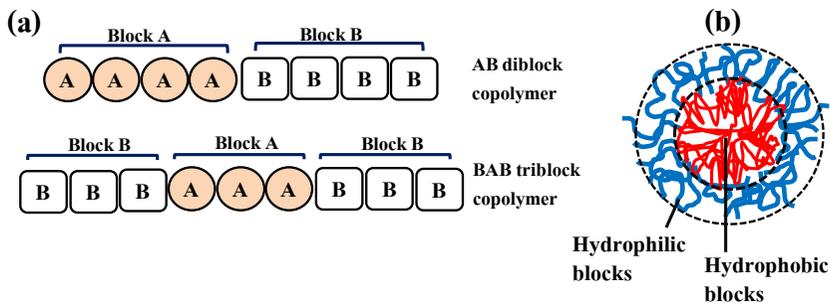
เป็นอิสระ prodrug ที่สังเคราะห์ขึ้นเป็นผลสำเร็จได้แก่ poly(N-methacryloylaminoethyl 5-aminosalicylamide) และ poly(methacryloylethoxyethyl 5-aminosalicylic acid) ซึ่งเกิดจากการเชื่อมโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอชกับยาต้านการอักเสบในลำไส้ใหญ่ ชื่อ 5-aminosalicylic acid การสลายพันธะระหว่างพอลิเมอร์กับยาผ่านการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ขึ้นกับพีเอช แต่ความเฉพาเจาะจงต่อลำไส้ใหญ่ของ prodrug ชนิดนี้ค่อนข้างต่ำ เนื่องจาก 5-aminosalicylic acid ถูกปลดปล่อยตั้งแต่บริเวณลำไส้เล็ก [17] ด้วยเหตุนี้จึงมีการพัฒนาระบบขนส่งยาที่อาศัยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่เป็นตัวควบคุมการปลดปล่อยยา เช่น เอนไซม์ glycosidase จากไมโครฟลอรา (microflora) ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในลำไส้ใหญ่ จะสลายพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ระหว่างพอลิแซคคาไรด์กับโมเลกุลของยา หรือเอนไซม์ azoreductase จากแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) ในลำไส้ใหญ่ช่วยสลายพันธะเอโซ (azo, -N=N-) ใน prodrugs ที่มีเอโซพอลิเมอร์ (azo polymers) [18,19]



รูปที่ 4 กลไกการปลดปล่อยยาในลำไส้ใหญ่ผ่านการสลายพันธะเอโซภายในโครงสร้างของเจล : ดัดแปลงจาก [20]

ไฮโดรเจลที่เป็นตัวขนส่งยาไปสู่ลำไส้ใหญ่ มักประกอบด้วยสายโซ่พอลิเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันกรดสายโซ่พอลิเมอร์เหล่านี้ถูกเชื่อมด้วยตัวครอสลิงค์ที่มีพันธะเอซิดังแผนภาพในรูปที่ 4 เมื่อเจลอยู่ในกระเพาะอาหารที่มีพีเอชต่ำ เจลจะยุบตัวทำให้มีความหนาแน่นสูง [รูปที่ 4(a)] บวกกับการมีพันธะเอซิดที่แข็งแรง ทำให้ยาไม่สามารถแพร่ออกมาจากเจลและยังเป็นการปกป้องยาจากกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร ในรูปที่ 4(b) เมื่อเจลผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็กที่มี

พีเอชสูงขึ้น เจลจะบวม แต่เนื่องจากพันธะเอซิดยังคงอยู่ ยาจึงอาจถูกปลดปล่อยออกมาเพียงเล็กน้อย ในรูปที่ 4(c) เมื่อเจลผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ เอนไซม์จากแบคทีเรียจะตรงเข้าสู่สายพันธะเอซิดทำให้เจลสลายตัว (การที่เจลยังบวมช่วยให้เอนไซม์ตรงเข้าสู่สายพันธะเอซิดได้ง่าย) ยาจะหลุดออกมาทั้งหมด เป็นการเพิ่มความเฉพาะเจาะจงของการปลดปล่อยยาในลำไส้ใหญ่ [18-22]



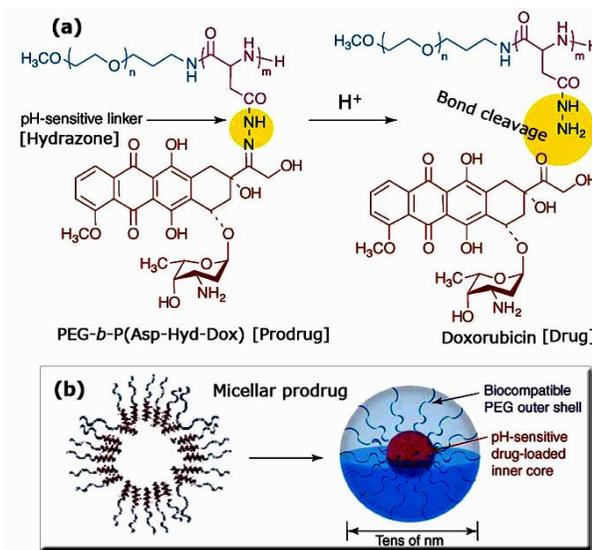
รูปที่ 5 แผนภาพแสดงโครงสร้างของ (a) diblock copolymer และ triblock copolymer, (b) ไมเซลล์ของ block copolymers ในน้ำ : ดัดแปลงจาก [23]

โครงสร้างของโมเลกุล block copolymer ประกอบด้วย block A และ block B ของหน่วยพอลิเมอร์ต่างชนิดกันมาเชื่อมต่อกันดังรูปที่ 5(a) ถ้าหน่วยพอลิเมอร์ใน block ทั้งสองมีความชอบน้ำต่างกันโมเลกุลของ block copolymer จะมีสมบัติเป็น amphiphile (มีส่วนที่ชอบและไม่ชอบน้ำในโมเลกุลเดียวกัน) ณ ความเข้มข้นและอุณหภูมิเฉพาะ โมเลกุลจะเกิดการรวมกลุ่มเป็นไมเซลล์ (micelles) ได้ เช่นเดียวกับสารลดแรงตึงผิว (surfactants) รูปที่ 5(b) แสดงโครงสร้างพื้นฐานของไมเซลล์แบบทรงกลม (spherical micelle) ที่เกิดจากการรวมกันของโมเลกุล block copolymer โดย block ที่ไม่ชอบน้ำของแต่ละโมเลกุลจะรวมกันอยู่ในแกนกลางของ

ไมเซลล์ ส่วน block ที่ชอบน้ำจะอยู่รอบนอกเพื่อสัมผัสกับน้ำ Lee และคณะ ศึกษาการใช้ไมเซลล์ที่เกิดจากโคพอลิเมอร์ poly(L-lactic acid)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(L-histidine) เป็นระบบขนส่งยา adriamycin (ชื่อทางการค้าของยาด้านมะเร็ง doxorubicin) ไปสู่เซลล์มะเร็ง จากผลการวิจัยพบว่าที่พีเอชเท่ากับ 7.4 (พีเอชปกติของเลือด) โคพอลิเมอร์จะรวมตัวเป็นไมเซลล์ที่เสถียรซึ่งมีโมเลกุลของยาอยู่ภายใน แต่ที่พีเอชเท่ากับ 6.6 (พีเอชที่บริเวณเซลล์มะเร็ง) ประจุบวกที่เกิดขึ้นบน poly(L-histidine) ของโคพอลิเมอร์ทำให้แกนกลางของไมเซลล์ไม่เสถียร โมเลกุลของ adriamycin จึงหลุดออกมาอย่างรวดเร็ว [24] Bae และคณะ ทำการเชื่อมโมเลกุลของ

doxorubicin เข้ากับ block copolymers ของกรดอะมิโน เช่น PEG-b-poly(aspartate) ผ่านการเกิดพันธะไฮดร่าโซน (hydrazone bond) เกิดเป็น prodrug ดังรูปที่ 6 (PEG คือ polyethylene glycol) เมื่อความเข้มข้นของ prodrug พอเหมาะจะสามารถรวมกลุ่มเป็นไมเซลล์ โดยบริเวณชั้นนอกของไมเซลล์คือ PEG block ที่ชอบน้ำ ส่วน aspartate-doxorubicin block จะอยู่ภายในแกนกลางของไมเซลล์ ที่พีเอชเท่ากับ 7.4 พันธะไฮดร่าโซนจะมีคามเสถียร ทำให้ doxorubicin ไม่สามารถหลุดออกไปจากไมเซลล์ได้ แต่ที่พีเอช 5-6 (ใกล้เคียงกับพีเอชภายในไลโซโซมของเซลล์มะเร็ง) พันธะไฮดร่าโซนจะสลายทำให้ doxorubicin หลุดออกมา จากการทดลองพบว่าไมเซลล์ของ prodrug ชนิดนี้มีความคงตัวดีในกระแสเลือด ทำให้ปริมาณ doxorubicin ที่หลุดออกมาในกระแสเลือดน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณที่พบในเซลล์มะเร็ง การฉีด prodrug ของ

doxorubicin ชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อร้ายในหนูได้ [25-27] Chang และคณะทำการเชื่อมต่ออนุพันธ์ของกรดอะมิโน N-Boc-histidine (Boc คือ tert-butoxycarbonyl) เข้าที่ปลายของโพลีเมอร์ PLGA-PEG-PLGA triblock copolymer (PLGA คือ poly(lactic-co-glycolic acid)) จากการศึกษาแบบ *in vitro* พบว่าไมเซลล์ของพอลิเมอร์ที่ถูกดัดแปลงนี้สามารถเก็บกัก doxorubicin ไว้ภายในที่พีเอชเท่ากับ 7.4 และเมื่อไมเซลล์เดินทางมาถึงเซลล์มะเร็งเต้านม MDA-MB-435 ที่พีเอชที่เป็นกรดอ่อน (ประมาณ 6.2) ในบริเวณเซลล์มะเร็งทำให้ไนโตรเจนที่วง imidazole ของ N-Boc-histidine เกิดการรับโปรตอนเป็นไอออนบวก แรงผลักระหว่างประจุบวกและความชอบน้ำที่เพิ่มขึ้นภายในแกนกลางของไมเซลล์จะทำให้ไมเซลล์ไม่เสถียร doxorubicin จึงถูกปลดปล่อยออกมา การมี PLGA ทำให้พอลิเมอร์สามารถย่อยสลายได้ภายในเซลล์ [28]

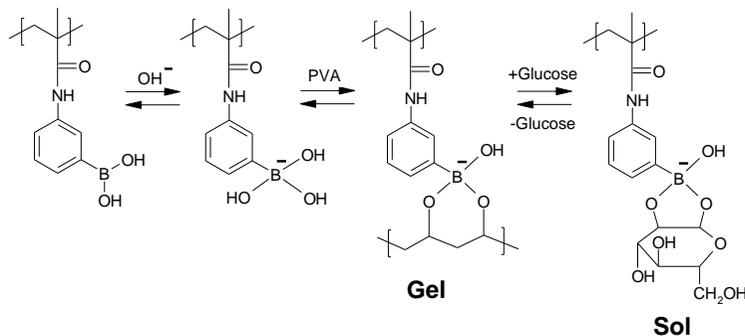


รูปที่ 6 (a) พันธะไฮดร่าโซน (hydrazone bond) ระหว่าง doxorubicin กับ PEG-b-poly(aspartate) ใน prodrug จะแตกออกในสภาวะกรด ทำให้ doxorubicin หลุดออกเป็นอิสระ (b) โมเลกุลของ prodrug ที่มี doxorubicin สามารถรวมตัวเป็นไมเซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวขนส่ง doxorubicin เข้าสู่เซลล์มะเร็ง : ดัดแปลงจาก [29]

2.2 ระบบขนส่งฮอร์โมน

โคพอลิเมอร์ของ N-isopropylacrylamide (NIPAAm) กับ acrylic acid (AAc) บางชนิดถูกพัฒนาเป็นตัวขนส่งฮอร์โมนแคลซิโทนิน (calcitonin) ซึ่งช่วยลดระดับแคลเซียมในเลือด ฮอร์โมนจะถูกบรรจุในเม็ดพอลิเมอร์ (polymeric bead) สำหรับรับประทาน เม็ดพอลิเมอร์มีความเสถียรเมื่ออยู่ในกระเพาะอาหาร แต่เมื่อผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็กที่มีสภาพเป็นเบส เม็ดพอลิเมอร์จะสลายตัวทำให้ฮอร์โมนหลุดออกมาและเกิดการดูดซึมได้ กลุ่มวิจัยของ Serres และกลุ่มวิจัยของ Ramkissoon-Ganorkar สังเคราะห์โคพอลิเมอร์ poly(NIPAAm-co-BMA-co-AAc) เพื่อใช้เป็นตัวขนส่งแคลซิโทนินไปสู่ลำไส้เล็ก องค์ประกอบ BMA (n-butyl methacrylate) และ AAc ทำให้เม็ดพอลิเมอร์ไม่ละลายในกรดจากกระเพาะอาหาร แต่เมื่อเม็ดพอลิเมอร์ผ่านเข้าสู่ลำไส้เล็ก พีเอชที่สูงขึ้นจะทำให้ AAc แตกตัว เม็ดพอลิเมอร์จึงละลายพร้อมกับปลดปล่อยฮอร์โมนออกมา [30,31] งานวิจัยจำนวนหนึ่งศึกษาการใช้ไฮโดรเจลเป็นตัวขนส่งฮอร์โมนอินซูลิน สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน พอลิเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของไฮโดรเจลต้องรับรู้การเปลี่ยนแปลงระดับกลูโคสในเลือดและทำให้เกิดการปลดปล่อยอินซูลินออกมาในจังหวะที่มีระดับกลูโคสในเลือดสูงเท่านั้น

โมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ใช้เป็นตัวขนส่งอินซูลินจะมีตัวจับสัญญาณกลูโคส (glucose sensors) เช่น เอนไซม์ กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) เชื่อมต่ออยู่ในสถานะที่มีกลูโคสในเลือดสูง กลูโคสออกซิเดสที่ต่ออยู่กับพอลิเมอร์จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสกลายเป็นกรดกลูโคนิก (gluconic acid) พีเอชที่ต่ำกว่า 7 ของกรดกลูโคนิกจะกระตุ้นให้ไฮโดรเจลปลดปล่อยอินซูลินออกมา [32-34] ในกรณีของ poly[3-(acrylamido)phenylboronic acid] ในรูปที่ 7 หมู่ phenylboronic ที่ยื่นออกมาจากแกนหลักของโมเลกุลจะเชื่อมต่อกับหมู่ไฮดรอกซิลของ poly(vinyl alcohol) (PVA) ในสถานะเบสทำให้เกิดเจล ในสถานะที่สารละลายมีความเข้มข้นของกลูโคสสูง โมเลกุลของกลูโคสที่มีหมู่ไฮดรอกซิลจะเข้าไปแทนที่ PVA ทำให้สายโซ่ของพอลิเมอร์ทั้งสองชนิดหลุดออกจากกัน ฮอร์โมนอินซูลินที่อยู่ภายในเจลจะถูกปลดปล่อยออกมา ปฏิกิริยาการแทนที่ PVA ด้วยกลูโคสเป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ ดังนั้นเจลจะคืนสภาพเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสลดลง ข้อจำกัดของการใช้ระบบเจลของพอลิเมอร์ที่มีหมู่ phenylboronic และ PVA เป็นตัวขนส่งอินซูลินคือความจำเพาะต่อกลูโคสของหมู่ phenylboronic ที่ค่อนข้างต่ำ [35-37]



รูปที่ 7 Sol-gel transition ของพอลิเมอร์ที่มีหมู่ phenylboronic และ poly(vinyl alcohol) ในสถานะที่มีและไม่มีกลูโคส : ดัดแปลงจาก [38]

2.3 ระบบขนส่งกรดนิวคลีอิก

การประยุกต์หนึ่งที่น่าสนใจคือการใช้พอลิเมอร์เป็นตัวขนส่งดีเอ็นเอ (DNA, deoxyribonucleic acid) เข้าสู่เซลล์ เพื่องานด้านพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) หรือยีนบำบัด (gene therapy) การนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์วิธีนี้จัดเป็นการนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์แบบที่ไม่ใช้ไวรัสเป็นพาหะ (non-viral transfection) เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นโมเลกุลที่ยาวและมีประจุลบที่ พีโอของทางสรีรวิทยา ในขณะที่หมู่ฟอสเฟตของฟอสฟอริบเดนเยื่อหุ้มเซลล์ก็มีประจุลบเช่นกัน ดังนั้นการนำ ดีเอ็นเอผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยตรงจึงเป็นเรื่องยาก [1] พอลิเมอร์พื้นฐานสองชนิดที่ใช้เป็นตัวนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ ได้แก่ poly(ethylenimine) (PEI) และ poly(L-lysine) (PLL) [39] ในสภาวะกรดอ่อน PEI และ PLL ที่มีประจุบวกจะจับกับดีเอ็นเอแล้วเกิดเป็นสารเชิงซ้อนประจุบวก สารเชิงซ้อนนี้สามารถเกาะผิวเซลล์ที่มีประจุลบและผ่านเข้าสู่เซลล์โดยกระบวนการ pinocytosis หรือ receptor-mediated endocytosis [40] พอลิเมอร์อื่น ๆ ที่ถูกนำมาศึกษาการขนส่งดีเอ็นเอ ได้แก่ poly(N,N-dimethyl aminoethyl methacrylate) (PDMAEMA) [41,42] และ poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers [43, 44] งานวิจัยจำนวนหนึ่งรายงานการใช้ไคโตซาน (chitosan) ในรูปที่ 2(i) เป็นตัวขนส่งดีเอ็นเอ ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติประเภท aminopoly saccharide รู้จักกันดีในรูปของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่กระตุ้นการขับถ่ายและลดการดูดซึมไขมันในลำไส้เล็ก

ไคโตซานมีประจุบวกในสภาวะกรดสามารถเข้ากับเนื้อเยื่อได้ดีและย่อยสลายได้ [45,46] Lavertu และคณะศึกษาการใช้ไคโตซานเป็นตัวขนส่งพลาสมิดดีเอ็นเอ (plasmid DNA) เข้าสู่เซลล์ human embryonic kidney 293 พบว่าสารเชิงซ้อน

ของไคโตซานกับพลาสมิดดีเอ็นเอเป็นอนุภาคนาโนขนาดประมาณ 200-400 nm ประสิทธิภาพการนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุลของไคโตซานและสัดส่วนของหมู่เอซิดิลที่ถูกกำจัดออกจากไคโตซาน [47] Lim และคณะ สังเคราะห์ poly(trans-4-hydroxy-L-proline ester) หรือ PHP ester ซึ่งมีประจุบวกและย่อยสลายได้ เมื่อ PHP ester จับกับดีเอ็นเอจะกลายเป็นสารเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้ สารเชิงซ้อนนี้สามารถพาดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ และให้ผลลัพธ์ใกล้เคียงกับการใช้ PLL [48] นอกจากนี้กลุ่มวิจัยของ Lim ยังสังเคราะห์ poly(α -(4-aminobutyl)-L-glycolic acid) (PAGA) ซึ่งไม่เป็นพิษและย่อยสลายได้ เมื่อ PAGA จับกับดีเอ็นเอจะเปลี่ยนเป็นสารเชิงซ้อนรูปทรงกลมที่มีความหนาแน่นสูงและละลายน้ำได้ ประสิทธิภาพการนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ของสารเชิงซ้อนนี้สูงกว่าสารเชิงซ้อนของ PLL กับดีเอ็นเอถึงสองเท่า [49] Wood และคณะ ใช้ PAMAM dendrimers (พอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบแตกกิ่งก้านคล้ายต้นไม้) และ PEO (พอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็นโซ่ตรง) เตรียมเป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบผสม เรียกว่า dendritic-linear hybrid polymers โมเลกุลของ dendritic-linear hybrid polymers สามารถรวมตัวเป็นอนุภาคนาโนและห่อหุ้มพลาสมิดดีเอ็นเอ (plasmid DNA) ไว้ภายในหมู่เอมีนปฐมภูมิที่ปลายของ dendrimer ทำหน้าที่ยึดพลาสมิดดีเอ็นเอไว้ภายในอนุภาค ที่ผิวด้านนอกของอนุภาคมีปลายโซ่ PEO ยื่นออกเป็นรัศมีโดยรอบ เมื่อตัดแปลงปลายโซ่ PEO ให้มีหมู่ของน้ำตาลแมนโนส (mannose) จะช่วยให้อนุภาคจับกับโปรตีน mannose receptor บนผิวเซลล์ได้ จากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ของอนุภาคนาโนชนิดนี้สูงกว่าสารเชิงซ้อนของ PEI และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำกว่า [50]

3. บทสรุปและข้อคิดเห็น

ความต้องการระบบขนส่งยาในร่างกายที่มีความเฉพาะเจาะจงในการปลดปล่อยยาสู่อวัยวะเป้าหมาย สามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยยาได้อย่างเหมาะสม ป้องกันการสลายตัวของยาก่อนการออกฤทธิ์หรือลดผลข้างเคียงของยา ทำให้พอลิเมอร์และไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อพีเอชถูกสังเคราะห์และพัฒนาอย่างไม่หยุดยั้ง งานวิจัยสมัยใหม่ยังเน้นถึงความสำคัญของพอลิเมอร์ที่เข้ากับเนื้อเยื่อได้ดี มีการต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันน้อยที่สุด ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย และสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ การใช้พอลิเมอร์ที่มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนหรือพอลิเมอร์จากธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการประยุกต์ทางชีวการแพทย์ นักวิจัยหลายกลุ่มศึกษาการเชื่อมต่อชีวโมเลกุลที่มีความซับซ้อน เช่น เอนไซม์ ฮอร์โมน หรือโปรตีนชนิดต่าง ๆ เข้ากับโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ตอบสนองต่อพีเอชหรือสภาวะอื่น ๆ ในร่างกาย เพื่อให้ได้พอลิเมอร์ที่สามารถทำงานสอดคล้องกับระบบอวัยวะหรือเมตาบอลิซึม [23,51,52] และอาจนำไปสู่การสังเคราะห์ชีวโมเลกุลเทียมชนิดใหม่ และการรักษาความผิดปกติในระดับเซลล์หรือยีนได้

4. เอกสารอ้างอิง

[1] Ward, M.A. and Georgiou, T.K., 2011, Thermoresponsive polymers for biomedical applications, *Polymers* 3: 1215-1242.

[2] Tanaka, T., 1981, Gels, *Sci. Am.* 244: 124-138.

[3] Gulrez, S.K.H., Al-Assaf, S. and Phillips, G.O., 2011, Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications, pp. 117-151, Carpi, A.,

Progress in Molecular and Environmental Bioengineering – From Analysis and Modelling to Technology Applications, InTech, Rijeka.

- [4] Fernández-Barbero, A., Suárez, I., Sierra-Martín, B., Fernández-Nieves, A., de Las Nieves, F., Marquez, M., Rubio-Retama, J. and López-Cabarcos, E., 2009, Gels and microgels for nanotechnological applications, *Adv. Colloid Interfac.* 147-148: 88-108.
- [5] Park, S.Y. and Bae, Y.H., 1999, Novel pH-sensitive polymers containing sulfonamide groups, *Macromol. Rapid. Comm.* 20: 269-273.
- [6] Lavignac, N., Lazenby, M., Foka, P., Malgesini, B., Verpillio, I., Ferruti, P. and Duncan, R., 2004, Synthesis and endosomolytic properties of poly(amidoamine) block copolymers, *Macromol. Biosci.* 4: 922-929.
- [7] Galaev, I. and Mattiasson B., 2007, Smart Polymers: Applications in Biotechnology and Biomedicine, 2nd Ed, CRC Press, New York, 496 p.
- [8] Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S. and Kankane, S., 2008, Responsive polymers in controlled drug delivery, *Prog. Polym. Sci.* 33: 1088-1118.
- [9] Sinha, V.R. and Kumria, R., 2001, Polysaccharides in colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.* 224: 19-38.
- [10] Chourasia, M.K. and Jain, S.K., 2003, Pharmaceutical approaches to colon

- targeted drug delivery systems, *J. Pharm. Sci.* 1: 33-66.
- [11] Butun, S., Ince, F.G., Erdugan, H. and Sahiner, N., 2011, One-step fabrication of biocompatible carboxymethyl cellulose polymeric particles for drug delivery systems, *Carbohydr. Polym.* 86: 636-643.
- [12] Dhar, N., Akhlaghi, S.P. and Tam, K.C., 2012, Biodegradable and biocompatible polyampholyte microgels derived from chitosan, carboxymethyl cellulose and modified methyl cellulose, *Carbohydr. Polym.* 87: 101-109.
- [13] Huang, C., Soenen, S.J., van Gulck, E., Vanham, G., Rejman, J., Van Calenbergh, S., Vervaet, C., Coenye, T., Verstraelen, H., Temmerman, M., Demeester, J. and De Smedt, S.C., 2012, Electrospun cellulose acetate phthalate fibers for semen induced anti-HIV vaginal drug delivery, *Biomaterials* 33: 962-969.
- [14] Liu, J. and Williams, R.O., 2002, Long-term stability of heat-humidity cured cellulose acetate phthalate coated beads, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 53: 167-173.
- [15] Fukasawa, M. and Obara, S., 2003, Molecular weight determination of hypromellose phthalate (HPMCP) using size exclusion chromatography with a multi-angle laser light scattering detector, *Chem. Pharm. Bull.* 51: 1304-1306.
- [16] Cerdeira, A.M., Goucha, P. and Almeida, A.J., 1998, Hydroxypropyl methyl cellulose phthalate beads containing a model non-steroid anti-inflammatory drug, *Int. J. Pharm.* 164: 147-154.
- [17] Davaran, S., Hanaee, J. and Khosravi, A., 1999, Release of 5-amino salicylic acid from acrylic type polymeric prodrugs designed for colon-specific drug delivery, *J. Controlled Release.* 58: 279-287.
- [18] Van den Mooter, G., Maris, B., Samyn, C., Augustijns, P. and Kinget, R., 1997, Use of azo polymers for colon-specific drug delivery, *J. Pharm. Sci.* 86: 1321-1327.
- [19] Tozaki, H., Nishioka, J., Komoike, J., Okada, N., Fujita, T., Muranishi, S., Kim, S.I., Terashima, H. and Yamamoto, A., 2001, Enhanced absorption of insulin and (Asu(1,7)) eel-calcitonin using novel azopolymer-coated pellets for colon-specific drug delivery, *J. Pharm. Sci.* 90: 89-97.
- [20] Ghandehari, H., Kopecková, P. and Kopecek, J., 1997, *In vitro* degradation of pH-sensitive hydrogels containing aromatic azo bonds, *Biomaterials* 18: 861-872.
- [21] Samyn, C., Kalala, W., van den Mooter, G. and Kinget, R., 1995, Synthesis and *in vitro* biodegradation of poly(ether-ester) azo polymers designed for colon targeting, *Int. J. Pharm.* 121: 211-216.

- [22] Maris, B., Verheyden, L., Van Reeth, K., Samyn, C., Augustijns, P., Kinget, R. and Van den Mooter, G., 2001, Synthesis and characterisation of inulin-azo hydrogels designed for colon targeting, *Int. J. Pharm.* 213: 143-152.
- [23] Kopeček, J., 2003, Smart and genetically engineered biomaterials and drug delivery systems, *Eur. J. Pharm. Sci.* 20: 1-16.
- [24] Lee, E.S., Oh, K.T., Kim, D., Youn, Y.S. and Bae, Y.H., 2007, Tumor pH-responsive flower-like micelles of poly(L-lactic acid)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(L-histidine), *J. Controlled Release* 123: 19-26.
- [25] Bae, Y.H., Nishiyama, N., Fukushima, S., Koyama, H., Yasuhiro, M. and Kataoka, K., 2004, Preparation and biological characterization of polymeric micelle drug carriers with intracellular pH-triggered drug release property: tumor permeability, controlled subcellular drug distribution, and enhanced *in vivo* antitumor efficacy, *Bioconjugate Chem.* 16: 122-130.
- [26] Bae, Y.H. and Kataoka, K., 2009, Intelligent polymeric micelles from functional poly(ethylene glycol)-poly(amino acid) block copolymers, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61: 768-784.
- [27] Bae, Y.H., Fukushima, S., Harada, A. and Kataoka, K., 2003, Design of environment-sensitive supramolecular assemblies for intracellular drug delivery: polymeric micelles that are responsive to intracellular pH change, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 42: 4640-4643.
- [28] Chang, G., Li, C., Lu, W. and Ding, J., 2010, N-Boc-histidine-capped PLGA-PEG-PLGA as a smart polymer for drug delivery sensitive to tumor extracellular pH, *Macromol. Biosci.* 10: 1248-1256.
- [29] Nishiyama, N., Bae, Y.H., Miyata, K., Fukushima, S. and Kataoka, K., 2005, Smart polymeric micelles for gene and drug delivery, *Drug Discovery Today* 2: 21-26.
- [30] Serres, A., Baudys, M. and Kim, S., 1996, Temperature and pH-sensitive polymers for human calcitonin delivery, *Pharm. Res.* 13: 196-201.
- [31] Ramkissoon-Ganorkar, C., Liu, F., Baudys, M. and Kim, S.W., 1999, Effect of molecular weight and polydispersity on kinetics of dissolution and release from pH/temperature-sensitive polymers, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 10: 1149-1161.
- [32] Podual, K., Doyle, F.J. and Peppas, N.A., 2000, Preparation and dynamic response of cationic copolymer hydrogels containing glucose oxidase, *Polymers* 41: 3975-3983.
- [33] Podual, K., Doyle, F.J., Peppas, N.A., 2000, Glucose-sensitivity of glucose oxidase-containing cationic copolymer

- hydrogels having poly(ethylene glycol) grafts, *J. Controlled Release* 67: 9-17.
- [34] Ito, Y., Casolaro, M., Kono, K. and Imanishi, Y., 1989, An insulin-releasing system that is responsive to glucose, *J. Controlled Release* 10: 195-203.
- [35] Kitano, S., Kataoka, K., Koyama, Y., Okano, T. and Sakurai, Y., 1991, Glucose-responsive complex formation between poly(vinyl alcohol) and poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) with pendent phenylboronic acid moieties, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* 12: 227-233.
- [36] Hisamitsu, I., Kataoka, K., Okano, T. and Sakurai, Y., 1997, Glucose-responsive gel from phenylborate polymer and poly(vinyl alcohol): prompt response at physiological pH through the interaction of borate with amino group in the gel, *Pharm. Res.* 14: 289-293.
- [37] Shiino, D., Murata, Y., Kataoka, K., Koyama, Y., Yokoyama, M., Okano, T. and Sakurai, Y., 1994, Preparation and characterization of a glucose-responsive insulin-releasing polymer device, *Biomaterials* 15: 121-128.
- [38] Qiu, Y. and Park, K., 2012, Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64: 49-60.
- [39] De Smedt, S., Demeester, J. and Hennink, W., 2000, Cationic polymer based gene delivery systems, *Pharm. Res.* 17: 113-126.
- [40] Schmaljohann, D., 2006, Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 58: 1655-1670.
- [41] Verbaan, F., van Dam, I., Takakura, Y., Hashida, M., Hennink, W., Storm, G. and Oussoren, C., 2003, Intravenous fate of poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate)-based polyplexes, *Eur. J. Pharm. Sci.* 20: 419-427.
- [42] Van de Wetering, P., Cherng, J.Y., Talsma, H. and Hennink, W.E., 1997, Relation between transfection efficiency and cytotoxicity of poly(2-(dimethyl amino) ethyl methacrylate)/plasmid complexes, *J. Controlled Release* 49: 59-69.
- [43] Esfand, R. and Tomalia, D.A., 2001, Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications, *Drug Discovery Today* 6: 427-436.
- [44] Dufès, C., Uchegbu, I.F. and Schätzlein, A.G., 2005, Dendrimers in gene delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57: 2177-2202.
- [45] Borchard, G., 2001, Chitosans for gene delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 52: 145-150.
- [46] Corsi, K., Chellat, F., Yahia, L.H. and Fernandes, J.C., 2003, Mesenchymal stem cells, MG63 and HEK293 transfection using chitosan-DNA nanoparticles, *Biomaterials* 24: 1255-1264.

- [47] Lavertu, M., Méthot, S., Tran-Khanh, N. and Buschmann, M.D., 2006, High efficiency gene transfer using chitosan/DNA nanoparticles with specific combinations of molecular weight and degree of deacetylation, *Biomaterials* 27: 4815-4824.
- [48] Lim, Y., Choi, Y.H. and Park, J., 1999, A self-destroying polycationic polymer: biodegradable poly(4-hydroxy-L-proline ester), *J. Am. Chem. Soc.* 121: 5633-5639.
- [49] Lim, Y., Han, S.O., Kong, H.U., Lee, Y., Park, J., Jeong, B. and Kim, S., 2000, Biodegradable polyester, poly[α -(4-aminobutyl)-L-glycolic Acid], as a non-toxic gene carrier, *Pharm. Res.* 17: 811-816.
- [50] Wood, K.C., Little, S.R., Langer, R. and Hammond, P.T., 2005, A family of hierarchically self-assembling linear-dendritic hybrid polymers for highly efficient targeted gene delivery, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 44: 6704-6708.
- [51] Miyata, T., Jikihara, A., Nakamae, K. and Hoffman, A.S., 1996, Preparation of poly(2-glucosyloxyethyl methacrylate)-concanavalin A complex hydrogel and its glucose-sensitivity, *Macromol. Chem. Phys.* 197: 1135-1146.
- [52] Garty, S., Kimelman-Bleich, N., Hayouka, Z., Cohn, D., Friedler, A., Pelled, G. and Gazit, D., 2010, Peptide-modified "smart" hydrogels and genetically engineered stem cells for skeletal tissue engineering, *Biomacromolecules* 11: 1516-1526.