

## TERMORESPONZIVNÍ POLYMERY – OD LABORATORNÍ KURIÓZITY K PERSPEKTIVNÍM MATERIÁLŮM PRO LÉKAŘSKÉ APLIKACE

MARTIN HRUBÝ<sup>a</sup>, JAN KUČKA<sup>b,c</sup>, HANA MACKOVÁ<sup>a</sup>, ONDŘEJ LEBEDA<sup>c</sup> a KAREL ULBRICH<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav makromolekulární chemie, v. v. i., Akademie věd České republiky, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6,

<sup>b</sup> Katedra organické a jaderné chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 43 Praha, <sup>c</sup> Ústav jaderné fyziky, v. v. i., Akademie věd České republiky, 250 68 Řež u Prahy  
mhruby@centrum.cz

Došlo 27.9.07, přijato 5.11.07.

Klíčová slova: termoresponzivní polymer, lékařské aplikace

### Obsah

1. Úvod
2. Studované termoresponzivní polymery
3. Faktory ovlivňující fázovou separaci ve vodném prostředí
4. Bioerodabilní a biodegradovatelné systémy
5. Použití termoresponzivních polymerů v medicíně
  - 5.1. Rozpustné, micelární a liposomální systémy pro biomedicínální aplikace
  - 5.2. Nerozpustné systémy pro biomedicínální aplikace
6. Závěr

### 1. Úvod

V poslední době bylo mnoho pozornosti věnováno vývoji tzv. „chytrých“ nebo „inteligentních“ materiálů („smart materials“), tj. materiálů, které jsou schopny vratně reagovat na změnu určité vlastnosti vnějšího prostředí, jako je teplota, světlo, magnetické pole apod.<sup>1,2</sup> Tento přehledný článek se zaměřuje na polymery schopné vratně reagovat na změny teploty, a to zejména na polymery vykazující ve vodných roztocích dolní kritickou rozpouštěcí teplotu (LCST – „lower critical solubility temperature“), tedy polymery, které jsou rozpustné ve vodném prostředí za nízké teploty, ale při jejím zvýšení nad LCST dojde u nich vlivem desolvatace řetězce k hydrofobizaci makromolekul, ke kolapsu klubka a fázové separaci, která se makroskopicky projevuje jako zákal. Narozdíl od principiálně obdobné tepelné denaturace bílkovin však jde o děj vratný, při ochlazení dojde k opětovnému rozpouštění, při-

čemž velikost hystereze závisí na konkrétním systému<sup>3</sup>. Řada termoresponzivních polymerů s LCST blízkou teplotě lidského těla (37 °C) má velký potenciál možných aplikací zejména v biomedicínských oborech<sup>2,4</sup>. Důležitým faktorem je zde i to, že LCST lze pro daný systém nastavit dle požadované aplikace (viz dále).

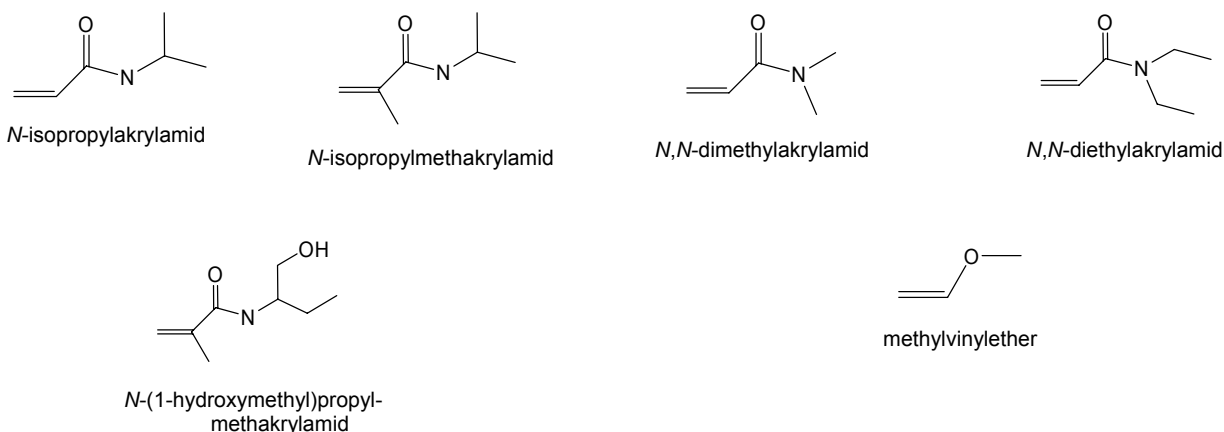
### 2. Studované termoresponzivní polymery

Termoresponzivní chování a existence LCST jsou dány kompeticí hydrofobních interakcí nepolárních skupin v molekule polymeru se solvatací polárních skupin a tvorbou vodíkových vazeb mezi polymerem a vodou. Energetický zisk daný hydrofobními interakcemi, které jsou hnačím motorem fázové separace, protože vedou k intra- a intermolekulární agregaci, má totiž jinou tepelnou závislost než energetický zisk daný solvatační energií a tvorbou vodíkových vazeb, které vedou k molekulárnímu rozpouštění polymeru. Existuje tedy teplota, nad kterou už solvatace nedokáže kompenzovat hydrofobní interakce<sup>5</sup>. Při překročení této teploty dojde k přechodu „coil to globule“, k desolvataci řetězců a následně ke zmenšení hydrodynamického poloměru polymerního klubka a k fázové separaci<sup>1,6,7</sup>. Zde je třeba podotknout, že teplota fázové separace („cloud point temperature“, CPT, tj. teplota zákalu), která je obvykle při studiu teplotních závislostí sledována, je obecně vyšší nebo rovna LCST, protože LCST odpovídá minimu na křivce závislosti CPT na koncentraci polymeru v roztoku (obr. 1)<sup>8,9</sup>.

Termoresponzivně se tedy chovají polymery, které mají částečně hydrofilní a částečně hydrofobní charakter.



Obr. 1. Závislost teploty fázové separace na koncentraci polymeru v roztoku; CPT – teplota fázové separace; LCST – dolní kritická rozpouštěcí teplota; w – hmotnostní zlomek polymeru v roztoku



Obr. 2. Struktury vybraných monomerů, jejichž homo- a kopolymery jsou termoresponzivní

Nejstudovanější jsou především homopolymery a kopolymery *N*-isopropylakrylamidu<sup>10</sup>, *N*-isopropylmethakrylamidu<sup>3,9,10</sup>, *N,N*-dimethylakrylamidu<sup>10</sup>, *N,N*-diethylakrylamidu<sup>7</sup>, 2-karboxy-*N*-isopropylakrylamidu<sup>11</sup>, *N*-(1-hydroxymethyl)propylmethakrylamidu<sup>12</sup>, *O*-acyl-*N*-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu<sup>13</sup>, *N*-akryloyl-*N*-alkylpiperazinů<sup>14</sup>, *N*-vinylisobutylamidu<sup>15</sup> a *N*-vinylkaprolaktamu<sup>1</sup>, dále „elastin-like“ polypentapeptidové sekvence [(Val-Pro-Gly-X-Gly)<sub>n</sub>, kde X je volitelná aminokyselina, kterou ale nesmí být prolin]<sup>8,16</sup>, poly(vinylmethylether)<sup>17</sup>, methylovaná celulóza a její deriváty<sup>18</sup>, polyorganofosfazenů<sup>5,19</sup> a další. Struktury vybraných monomerů, jejichž homo- a kopolymery jsou termoresponzivní jsou na obr. 2.

Zvláštní skupinu polymerních termoresponzivních systémů tvoří blokové amfifilní kopolymery, u nichž ani jeden z bloků není sám o sobě termoresponzivní. Jde zejména o polyethylenoxid-*block*-polypropylenoxid-*block*-polyethylenoxid (Pluronic<sup>®</sup>, Poloxamer<sup>®</sup>)<sup>20</sup>, polyethylenoxid-*block*-polylaktid<sup>21</sup> a polyethylenoxid-*block*-polykaprolakton<sup>22</sup>. Tyto blokové kopolymery v koncentrovanějších vodných roztocích (typicky > 10 %) po zvýšení teploty přecházejí z viskózního roztoku na pevný gel, což je dáno tepelně závislým přechodem z koloidního roztoku izolovaných micel na fyzikální síť.

Byly studovány i polymerní gely, které se zvýšením teploty naopak zkapalňují, a mají tedy „opačné“ termoresponzivní chování. Jde především o polymerní gely, u nichž jsou převažujícími intermolekulárními síťujícími vazbami vodíkové vazby a hydrofobní interakce nehrájí podstatnější roli; tedy polysacharidové gely (např. agar, karagenan<sup>23</sup>), některé proteinové gely jako želatina<sup>23,24</sup> apod. Rozvolnění vodíkových vazeb po zvýšení teploty je i podstatou rozpadu dvoušroubovice DNA na jednořetězovou DNA, využívané např. při amplifikaci DNA polymerázovou řetězovou reakcí (PCR, cit.<sup>25</sup>).

### 3. Strukturní a enviromentální faktory ovlivňující fázovou separaci ve vodném prostředí

Teplotu, při které dochází k fázové separaci, lze cíleně měnit v širokém rozmezí na základě znalosti podstaty tohoto fenoménu. Jak bylo řečeno výše, podstatou jevu je kompetice hydrofobních interakcí, které vedou k fázové separaci (vysrážení) polymeru z roztoku, a hydrofilních interakcí, které umožňují rozpuštění polymeru ve vodě. Posílením hydrofobních interakcí (např. zakopolymerováním hydrofobnějšího komonomeru) se tedy dá CPT posunout směrem dolů a naopak hydrofilizace řetězce (např. zakopolymerováním hydrofilnějšího komonomeru) posouvá CPT směrem nahoru<sup>26</sup>. Složením kopolymery lze proto v určitém rozmezí nastavit CPT na předem zvolenou hodnotu. Při přílišné hydrofobizaci se kopolymer stane nerozpuštěným a při přílišné hydrofilizaci mizí termoresponzivní chování<sup>26</sup>. V mnoha případech je CPT lineární funkcí molárního obsahu hydrofilnější, resp. hydrofobnější komonomerní jednotky v termoresponzivním kopolymery<sup>1,26</sup>. Pokud je hydrofilita, resp. hydrofobita použitého komonomeru závislá na pH díky přítomnosti ionizovatelných skupin, pak lze výhodně kombinovat termoresponzivní chování s chováním závislým na pH. Kupříkladu kopolymery obsahující komonomerní jednotky s karboxylovou skupinou (jako je kyselina akrylová, kyselina methakrylová nebo *N*-methakryloyl L-valin) mají vyšší CPT v alkalickém prostředí<sup>27,28</sup>, kde je karboxylová skupina ionizována, a tudíž polárnější než v kyselém prostředí<sup>29</sup>. Navíc se v alkalickém prostředí projevuje též fenomén elektrostatické repulze mezi řetězci, který tuto závislost CPT na pH prostředí dále prohlubuje<sup>27</sup>. Na analogickém principu jsou založeny systémy citlivé kromě na teplotu i na redoxpotenciál prostředí, např. kopolymery obsahující ferrocenovou skupinu, která je nenabitá v redukčním prostředí (ferrocen,

Fe<sup>2+</sup>) a nabitá a tudíž polárnější v oxidačním prostředí (ferricinium, Fe<sup>3+</sup>)<sup>30</sup>.

Významnou roli hraje efekt sterický; polymery připravené z monomerů, které jsou konstituční isomery, mají totiž obecně velmi rozdílné CPT. Efekt sterického uspořádání je natolik významný, že u chirálních monomerů, kde je asymetrický uhlík v postranním řetězci, dokonce hraje významnou roli skutečnost, zda je použit čistý jeden enantiomer nebo racemát<sup>12</sup>.

Pokud je stejná hydrofobní nebo hydrofilní skupina zavedena na konec řetězce, je efekt na CPT podstatně vyšší, než když je uprostřed řetězce<sup>31</sup>, což je dáno pravděpodobně rovněž sterickými příčinami. Pokud je hydrofilní nebo hydrofobní komonomer dostatečně rozměrný, může převážit amfifilní charakter takového systému o struktuře podobné roubovanému polymeru nad zprůměrováním hydrofobicity celého řetězce a dojde ke vzniku micel, podobně jako je tomu u blokových a roubovaných kopolymerů<sup>26,32</sup>.

U termoresponzivních blokových kopolymerů typu polyethylenoxid-*block*-polypropylenoxid-*block*-polyethylenoxid lze CPT nastavit na podobném principu poměrem délek hydrofilních a hydrofobních bloků<sup>1</sup>.

Efekt molekulové hmotnosti polymeru na CPT je patrný pouze u oligomerů, u výšemolekulárních struktur už CPT na molekulové hmotnosti prakticky nezávisí<sup>8,9</sup>. Zde je potřeba říci, že oblast teploty fázové separace může být u statistických kopolymerů výrazně rozšířena („rozostřena“) při nízkých molekulových hmotnostech oproti analogickým homopolymerům, protože ze statistických důvodů je chemická heterogenita mezi molekulami v obsahu hydrofobnějšího, respektive hydrofilnějšího komonomeru vyšší u kopolymerů s nízkou molekulovou hmotností<sup>9</sup>.

Dalšími faktory, které ovlivňují CPT, jsou koncentrace polymeru a obsah solí<sup>15,33</sup> nebo organických rozpouštědel<sup>34,35</sup> v prostředí. Závislost CPT na koncentraci polymeru byla již zmíněna výše (obr. 1). Koncentrační efekt je samozřejmě relevantní jen u rozpustných systémů, u zesítěných gelů a povrchů jsou molekuly fixovány ve svých pozicích. Přítomnost solí v prostředí má výrazný vysolovací efekt<sup>15,33</sup> v důsledku snížení aktivity vody a tím potlačení interakcí mezi vodou a polymerem (solí způsobují snížení LCST). Organická rozpouštědla, která jsou v čistém stavu rozpouštědly termoresponzivních polymerů a jsou mísitelná s vodou (methanol, dimethylsulfoxid apod.), mají zajímavý efekt<sup>26,34</sup>, silně totiž snižují CPT. Polymer je tedy v určitém koncentračním rozmezí poměrů voda (rozpouštědlo polymeru) – organické rozpouštědlo (rovněž v čistém stavu rozpouštědlo polymeru) nerozpustný, jde vlastně o analogii vysolování, mající za příčinu snížení aktivity vody v prostředí, čímž klesá solvatace řetězce, přičemž hydrofobní interakce zůstávají vysoké. Pokud dále zvyšujeme obsah organického rozpouštědla, stane se po překročení určité koncentrace polymer opět rozpustným, ale již se nechová jako termoresponzivní a díky potlačení hydrofobních interakcí jde o klasický roztok polymeru v organickém rozpouštědle<sup>26</sup>.

#### 4. Bioerodabilní a biodegradovatelné systémy

Polymerní systémy, které jsou do organismu aplikovány jako nosiče biologicky aktivních molekul, by měly být z organismu odstranitelné, nebo v něm metabolizovatelné. V zásadě existují tři způsoby, jak odstranit fázově separovaný polymer z organismu: použít polymer, který je degradovatelný v hlavním řetězci na nízkomolekulární fragmenty, polymer, který obsahuje hydrolyticky labilně vázané hydrofobní skupiny, které jsou odštěpitelné za podmínek *in vivo*, anebo polymer, který má výraznou koncentrační závislost CPT s dostatečně rychlou kinetikou rozpouštění.

Termoresponzivní polymery, které se hydrolyzují na nízkomolekulární látky, jsou v podstatě dvojího typu: polymerní fosfazeny<sup>19,36</sup> (spontánně se hydrolyzují na kyselinu fosforečnou, amoniak a alkohol) a „elastin-like“ polypeptidy<sup>16</sup>, které jsou proteasami enzymaticky degradovatelné na aminokyseliny, podobně jako přirozené bílkoviny.

Kontrolovaného rozpuštění polymerů s nedegradovatelným základním řetězcem (zejména polymerů akrylového a methakrylového typu) lze docílit pomocí řízené hydrofilizace. Jak už bylo řečeno, zvýšení hydrofobicity snižuje CPT a naopak vzrůst hydrofility polymeru ji zvyšuje. Zavedeme-li tedy do řetězce hydrolyticky labilní monomerní jednotku, u které se hydrolyzou výrazně zvýší hydrofilita (např. odštěpením hydrofobní struktury pomocí hydrolyzy hydrazonové nebo esterové vazby), pak hydrolyza může způsobit zvýšení CPT nad teplotu v příslušném místě a tím následně rozpuštění polymeru<sup>26,37</sup>. Rozpustný polymer pak může být v závislosti na molekulové hmotnosti vyloučen močí nebo žlučí.

Jiným způsobem, jakým může být fázově separovaný polymer řízeně rozpuštěn, je využití rovnováhy mezi rozpuštěným polymerem a polymerem fázově separovaným. Vždy totiž existuje určitá frakce polymeru, která po fázové separaci zůstane v roztoku, a ta je v rovnováze se separovanou frakcí, takže pokud je polymer průběžně odstraňován z rozpuštěné fáze např. ledvinami nebo játry (do žluči), nakonec dojde i k úplnému rozpuštění separované fáze. Ustavení rovnováhy může mít velmi různou kinetiku v závislosti na chemické struktuře a i molekulové hmotnosti polymeru, od velmi pomalé (např. akrylamidy, fosfazeny) až po rychlou, v řádu desítek hodin (např. Pluronic<sup>®</sup>)<sup>20,38</sup>.

#### 5. Použití termoresponzivních polymerů v medicíně

Použití termoresponzivních polymerů v medicíně lze v zásadě rozdělit na dva typy aplikací podle charakteru použitého materiálu: aplikace založené na použití polymeru nebo supramolekulárního systému, při nichž je systém za laboratorní teploty kapalný a při určité teplotě dojde k fázové separaci polymeru, a aplikace, při nichž je systém nerozpustný i za nízké teploty a využívá se změny v botnání a hydrofobitě vzniklé překročením kritické teploty.

### 5.1. Rozpustné, micelární a liposomální systémy pro biomedicínální aplikace

Rozpustné polymerní termoresponzivní systémy lze v medicíně použít několikerým způsobem. Prvním způsobem může být vytvoření injikovatelného depa<sup>20,38</sup>, tj. roztok polymeru s léčivem je injikován do příslušného místa v organismu, kde dojde k fázové separaci a vyloučení pevného polymeru. Takto vzniklé depa pak slouží k postupnému řízenému uvolňování léčiva vázaného v pevné fázi fyzikální nebo chemickou vazbou. Tento způsob aplikace je výhodný zejména tam, kde je žádoucí lokální a nikoliv systémový efekt, a je proto používán zejména pro aplikaci kancerostatik<sup>20,38</sup> a radionuklidů (brachyterapie)<sup>26,39</sup>. Principiálně obdobné je využití termoresponzivních polymerů jako injikovatelné matrice pro růst buněk ve tkáňovém inženýrství (náhrada tkání)<sup>40</sup>. Termoresponzivní polymer použitý pro tento typ aplikace nesmí mít lokálně dráždivý efekt a musí být z místa postupně odstranitelný (viz výše).

Nejstudovanější oblastí možného využití termoresponzivních polymerů v medicíně je cílení hypertermií<sup>4,9,41,42</sup>. I zde jsou aplikace směřovány především do oblasti protinádorové terapie. Metoda je založena na lokálním zvýšení teploty tkání v místě požadovaného efektu a využívá buď skutečnosti, že v nádorové tkáni je často díky vyšší metabolické aktivitě teplota zvýšena, nebo je lokálního zvýšení teploty v cílové tkáni dosaženo vnějším ohřevem. Po injekční aplikaci roztoku léčiva vázaného na termoresponzivním nosiči dojde v cílové tkáni k preferenčnímu ukládání polymeru díky fázové separaci a vysrážení původně rozpustného termoresponzivního polymeru, nebo tvorbě micel a nanočástic. V případě liposomů dojde ke zvýšení permeability liposomální membrány a zvýšení úniku léčiva z liposomu v přehřáté tkáni (termoresponzivní liposomy, viz dále). Zde je třeba podotknout, že cílení hypertermií má i své nevýhody, jako je nezanedbatelná závislost teploty fázové separace na koncentraci u většiny studovaných polymerů, a dále nemožnost vyhřát cílovou tkáň na více než cca 42–43 °C kdy dochází k termodestrukci okolní zdravé tkáně. Problémy přináší i skutečnost, že zejména statistické kopolymery jsou molekulárně heterogenní, takže různé frakce molekul mají různou teplotu fázové separace<sup>9</sup> a teplotní rozmezí, ve kterém dojde k vyloučení veškerého polymeru, je velmi široké.

Ze systémů se zvýšeným ukládáním fázovou separací v přehřátém místě jde především o rozpustné polymery, zejména poly(*N*-isopropylakrylamid) a poly(*N*-isopropylmethakrylamid), které obsahují zakopolymerované léčivo (např. doxorubicin) vázané na nosič řízeně degradovatelnou chemickou vazbou. Pokud je odštěpované léčivo hydrofobní, lze takto i zajistit řízené rozpouštění polymeru jako důsledek řízeného odštěpování léčiva v cílové tkáni (zvýšením CPT při degradaci)<sup>9</sup>.

Významný nosičový systém představují i termoresponzivní polymerní micely, které mohou být v zásadě dvojího druhu – s termoresponzivním jádrem a hydrofil-

ním obalem a s hydrofobním jádrem a termoresponzivním obalem.

Diblokové kopolymery s jedním blokem vodorozpustným a druhým termoresponzivním tvoří pod CPT molekulární roztok a nad CPT micely s jádrem tvořeným termoresponzivním polymerem a obalem tvořeným hydrofilním polymerem<sup>43,44</sup>. Jednodušší je příprava nanočástic podobné struktury vznikajících zahřátím termoresponzivního polymeru v přítomnosti surfaktantu ve vodném roztoku<sup>45</sup>. Micely i surfaktanty stabilizované nanočástice mají z termodynamických důvodů velmi úzkou distribuci velikostí, což je velkou výhodou pro jejich použití zejména v protinádorové terapii. Hlavním důvodem použití micel v protinádorové terapii<sup>13</sup> je totiž jejich silný EPR („Enhanced Permeation and Retention“) efekt, jehož působením dochází k pasivnímu hromadění makromolekul a supramolekulárních struktur, jako jsou micely, v nádorové tkáni<sup>46</sup>. Efekt je způsoben zvýšenou propustností nově vytvořených cév v nádoru pro makromolekuly oproti normální tkáni a nedostatečným nebo zcela chybějícím odtokem lymfy z nádoru. Blokovaný kopolymer s kovalentně vázaným léčivem, aplikovaný jako molekulární roztok, se při zvýšení teploty na fyziologickou hodnotu (37 °C) stává amfifilním a uspořádá se do vysokomolekulární micelární struktury. Vhodnou volbou struktury termoresponzivního bloku (kombinace struktury polymeru a léčiva) lze dosáhnout řízeného rozpadu micel v průběhu např. hydrolytický řízeného uvolňování hydrofobního léčiva z nosiče v důsledku zvýšení CPT hydrofobního polymerního bloku nad teplotu lidského těla. Takový polymer se stane opět zcela rozpustným a může být eliminován z organismu glomerulární filtrací<sup>13</sup>. Nevýhodou, kromě obecných nevýhod micelárních systémů spojených hlavně s existencí rovnovážné koncentrace unimeru (polymerní řetězec nezačleněný do micel) v roztoku micel, je určitá technická komplikace při aplikaci.

Micely s hydrofobním jádrem a termoresponzivním obalem jsou typem systémů, ve kterých jsou pod CPT v roztoku přítomny micely, které mají jádro tvořené hydrofobním blokem a obal termoresponzivním blokem, který se pod CPT chová jako hydrofilní polymer<sup>43,47</sup>. Při překročení CPT dojde k vysrážení polymeru z roztoku jako u rozpustných termoresponzivních nosičů<sup>48</sup>. Tento typ nosičů je navržen k podobnému účelu jako rozpustné termoresponzivní polymery, tj. k cílení do přehřáté tkáně, ovšem s tím, že do micely lze navíc hydrofobní léčivo vázat i čistě fyzikálně hydrofobními interakcemi do jádra, což u rozpustného nosiče není možné<sup>47</sup>.

Rada studií se zabývá termoresponzivními liposomy, které rovněž umožňují cílení lokální hypertermií<sup>10,49,50</sup>. Liposomy jsou kulovité nanočástice tvořené dvouvrstevnou lipofilní membránou obklopující dutinu vyplněnou vodným roztokem, kterou membrána zcela odděluje od vnějšího prostředí. Membrány termoresponzivních liposomů při překročení CPT kolabují, membrána se stává propustnou a nebo se dokonce liposom rozpadá a léčivo, původně v dutině obsažené, se uvolní. Termoresponzivitě liposomů lze zajistit dvojím způsobem – buď na membrá-

nu připojit či do vnitřního prostoru liposomu umístit termoresponzivní polymer<sup>10,51</sup>, např. akrylamidového typu, čímž při překročení CPT dojde k hydrofobizaci tohoto polymeru a následnému narušení struktury liposomu<sup>52</sup>, anebo namíchat při přípravě membrány liposomu takovou směs fosfolipidů, že při překročení teploty fázového přechodu ( $T_m$ ) dojde ke skokové změně fluidity membrány<sup>49</sup>. Při vyšší teplotě je pak kapalnější membrána výrazně propustnější pro léčivo. Zejména tento druhý typ termoresponzivních liposomů lze výhodně kombinovat s pokrytím liposomu biokompatibilním polyethylenoxidem<sup>49</sup>, což výrazně zvyšuje poločas cirkulace takových liposomů v krevním řečišti díky potlačení nežádoucích interakcí s retikuloendotelovým systémem.

Jako zvláštní kapitolu termoresponzivních systémů je možné uvést termoresponzivní magnetické nano- a mikročástice (obsahující ferity)<sup>53,54</sup>, u nichž lze jednak za účelem řízené akumulace kombinovat efekt hypertermie s cílením magnetickým polem, a jednak použít dodatečně vysokofrekvenční magnetické pole k dalšímu zvýšení teploty v cílové tkáni<sup>55</sup>, ve které jsou ferity nakumulovány (termodestrukce cílové tkáně). Tyto nanočástice lze rovněž výhodně využít i pro zobrazování tkání *in vivo* jadernou magnetickou rezonancí („magnetic resonance imaging“, MRI)<sup>53</sup>.

## 5.2. Nerozpustné systémy pro biomedicínální aplikace

Termoresponzivní polymery nacházejí uplatnění i v aplikacích, kde není ani potřebné ani žádoucí, aby byl polymer v některém kroku rozpustný, a využívá se toho, že při zvýšení teploty nad CPT dojde ke skokové hydrofobizaci polymerních řetězců a v případě hydrogelů k výraznému snížení stupně nabotnutí<sup>56</sup>.

Nejstudovanější z tohoto typu možných aplikací jsou termoresponzivní hydrogely<sup>56–60</sup>. Hydrogely, tedy polymerní sítě s vysokým obsahem vody, lze použít např. jako depo léčiva s uvolňováním řízeným teplotou<sup>61</sup>. Jako základní polymer je obvykle volen některý z výše uvedených termoresponzivních polymerů. Spojky mezi řetězci mohou být zavedeny pomocí di- či vícefunkčního síťovačla, jako je methylenbis(akrylamid)<sup>62</sup>, nebo to mohou být hydrofobní zapleteniny dostatečně velkých hydrofobních bočních řetězců komonomerů (fyzikální síť)<sup>57</sup> a nebo může jít i o příčné vazby vzniklé na základě kationt-aniontových interakcí<sup>58</sup>. U polymerních hydrogelů způsobuje termoresponzivní chování silný pokles stupně nabotnutí při překročení CPT (cit.<sup>56</sup>). Pokud se použije čistě polymerní gel, kinetika odbotnutí po zvýšení teploty bývá dosti pomalá, protože na povrchu gelu se kvůli fázové separaci utvoří hydrofobní vrstva, která pak brání úniku vody z vnitřku gelu<sup>56,63</sup>. Uvnitř sítě pak vznikají nehomogenity tvořené fázově separovaným polymerem a vodou, což narušuje strukturu gelu. Toto lze obejít přidáním hydrofilního komonomeru, který ovšem zároveň zvyšuje CPT (cit.<sup>27</sup>), anebo přidáním pevného nebo netvrdícího plniva typu silikátu, které povrchovou vrstvu naruší, a tím významně urych-

lí odbotnutí polymeru uvnitř bloku gelu a zároveň i zlepšuje mechanické vlastnosti gelu<sup>60,64</sup>. Takto lze plnivem i přepínat mezi negativní a pozitivní kontrolou difuze skrz gel a využít termoresponzivitu např. pro membránové aplikace. Difuze samotným polymerním gelem, odbotnalým zvýšenou teplotou, je totiž po fázové separaci zpomalena v důsledku desolvatace a agregace polymerních řetězců (negativní kontrola). V přítomnosti plniva, které s teplotou nemění svůj objem a je mechanicky dostatečně odolné, se však odbotnáním otevřou póry mezi gelem a částicemi plniva, takže zvýšením teploty se propustnost takového kompozitu naopak zvýší<sup>65</sup>.

Dalším typem aplikace jsou polymerní vrstvy s hydrofobicitou řízenou teplem, a tím i smáčivostí. Nejčastější metodou přípravy takových vrstev je roubování termoresponzivního polymeru na nerozpustnou podložku<sup>66</sup>. Hlavními oblastmi aplikací takovýchto vrstev jsou chromatografické materiály umožňující teplem řízenou adsorpci/desorpci hydrofobního solutu<sup>67</sup> a povrchy kultivačních misek pro tkáňové kultury, kde lze buňky vyrostlé na hydrofobním podkladu nad CPT snadno a velmi šetrně uvolnit do média pouhým ochlazením, které zhydrofilizuje povrch takovéto termoresponzivní misky a tím sníží adhezivitu buněk na takovýto povrch<sup>66,68</sup>.

## 6. Závěr

Termoresponzivní polymery s dolní kritickou rozpouštěcí teplotou blízkou teplotě lidského těla, které byly kdysi pouhou laboratorní kuriozitou, jsou nyní velmi perspektivními a intenzivně studovanými materiály pro technické, biologické a medicínské aplikace. Jejich vlastnosti je možno nastavit v širokém rozmezí pomocí vhodné volby architektury systému a hydrofilně-hydrofobní rovnováhy, a upravit je tak dle požadavků aplikací. Lze tak vnést citlivost na změny teploty okolního prostředí do polymerních micel, hydrogelů, dep léčiv a dalších systémů.

*Práce vznikla v rámci řešení grantového projektu Grantové agentury Akademie věd České republiky č. IAA-400480616.*

### Seznam zkratk:

CPT	teplota fázové separace (cloud point temperature)
EPR (efekt)	efekt zvýšené akumulace makromolekul a supramolekulárních struktur v nádorové tkáni (enhanced permeation and retention)
LCST	dolní kritická rozpouštěcí teplota (lower critical solubility temperature)
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
MRI	zobrazování jadernou magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging)

## LITERATURA

1. Gil E. S., Hudson S. A.: *Prog. Polym. Sci.* 29, 1173 (2004).
2. Alarcon C. D. H., Pennadam S., Alexander C.: *Chem. Soc. Rev.* 34, 276 (2005).
3. Chytrý V., Netopilík M., Bohdanecký M., Ulbrich K.: *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* 8, 817 (1997).
4. Hrubý M., Kučka J., Kozempel J., Lebeda O.: *Chem. Listy* 100, 10 (2006).
5. Sohn Y. S., Kim J. K., Song R., Jeong B.: *Polymer* 45, 3081 (2004).
6. Monteux C., Mangeret R., Laibe G., Freyssingeas E., Bergeron V., Fuller G.: *Macromolecules* 39, 3408 (2006).
7. Lessard D. G., Ousalem M., Zhu X. X., Eisenberg A., Carreau P. J.: *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* 41, 1627 (2003).
8. Meyer D. E., Chilkoti A.: *Biomacromolecules* 5, 846 (2004).
9. Chytrý V., Ulbrich K.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 16, 427 (2001).
10. Yoshino K., Kadowaki A., Takagishi T., Kono K.: *Bioconjugate Chem.* 15, 1102 (2004).
11. Ebara M., Aoyagi T., Sakai K., Okano T.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 39, 335 (2001).
12. Aoki T., Muramatsu M., Torii T., Sanui K., Ogata N.: *Macromolecules* 34, 3118 (2001).
13. Soga O., van Nostrum C. F., Fens M., Rijcken C. J. F., Schiffelers R. M., Storm G., Hennink W. E.: *J. Controlled Release* 103, 341 (2005).
14. Gan L. H., Deen G. R., Loh X. J., Gan Y. Y.: *Polymer* 42, 65 (2001).
15. Suwa K., Yamamoto K., Akashi M., Takano K., Tanaka N., Kunugi S.: *Colloid Polym. Sci.* 276, 529 (1998).
16. Rincon A. C., Molina-Martinez I. T., de Las Heras B., Alonso M., Bailez C., Rodriguez-Cabello J. C., Herro-Vanrell R.: *J. Biomed. Mater. Res.* 78A, 343 (2006).
17. Bhattacharjee R. R., Chakraborty M., Mandal T. K.: *J. Phys. Chem., B* 110, 6768 (2006).
18. Lee S. C., Cho Y. W., Park K.: *J. Bioactiv. Compat. Polym.* 20, 5 (2005).
19. Lee B. H., Lee Y. M., Sohn Y. S., Song S. C.: *Bull. Korean Chem. Soc.* 23, 549 (2002).
20. Hatefi A., Amsden B.: *J. Controlled Release* 80, 9 (2002).
21. Jeong B., Bae Y. H., Lee D. S., Kim S. W.: *Nature* 388, 860 (1997).
22. Kim M. S., Hyun H., Seo K. S., Cho Y. H., Lee J. W., Lee C. R., Khang G., Lee H. B.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 44, 5413 (2006).
23. Shehata H., Shalaby M. T., Hassan A. M.: *J. Food Sci. Technol. (Mysore)* 31, 298 (1994).
24. Kuijpers A. J., Engbers G. H. M., Feijen J., De Smedt S. C., Meyvis T. K. L., Demeester J., Krijgsveld J., Zaat S. A. J., Dankert J.: *Macromolecules* 32, 3325 (1999).
25. Petti C. A. *Clin. Infect. Dis.* 44, 1108 (2007).
26. Hrubý M., Kučka J., Lebeda O., Macková H., Babič M., Koňák Č., Studenovský M., Sikora A., Kozempel J., Ulbrich K.: *J. Controlled Release* 119, 25 (2007).
27. Zhang X. Z., Yang Y. Y., Wang F. J., Chung T. S.: *Langmuir* 18, 2013 (2002).
28. Makhaeva E. E., Tenhu H., Khokhlov A. R.: *Macromolecules* 35, 1870 (2002).
29. Yamazaki Y., Tada T., Kunugi S.: *Colloid Polym. Sci.* 278, 80 (2000).
30. Kuramoto N., Shishido Y., Nagai K.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 35, 1967 (1997).
31. Chung J. E., Yokoyama M., Aoyagi T., Sakurai Y., Okano T.: *J. Controlled Release* 53, 119 (1998).
32. Xia Y., Burke N. A. D., Stover H. D. H.: *Macromolecules* 39, 2275 (2006).
33. Okamura H., Mori T., Minagawa K., Masuda S., Tanaka M.: *Polymer* 43, 3825 (2002).
34. Schild H. G., Muthukumar M., Tirrell D. A.: *Macromolecules* 24, 948 (1991).
35. Lee S. B., Song S. C., Jin J. I., Sohn Y. S.: *Polym. Bull.* 45, 389 (2000).
36. Lee B. H., Song S. C.: *Macromolecules* 37, 4533 (2004).
37. Neradovic D., Hinrichs W. L. J., Kettenes-van den Bosch J. J., van Nostrum C. F., Hennink W. E.: *J. Controlled Release* 72, 252 (2001).
38. Ruel-Gariepy E., Leroux J. C.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58, 409 (2004).
39. Hrubý M.; Šubr V., Kučka J., Kozempel J., Lebeda O., Sikora A.: *Appl. Radiat. Isot.* 63, 423 (2005).
40. Kim S., Chung E. H., Gilbert M., Healy K. E.: *J. Biomed. Mater. Res.* 75A, 73 (2005).
41. Han H. D., Choi M. S., Hwang T., Song C. K., Seong H., Kim T. W., Choi H. S., Shin B. C.: *J. Pharm. Sci.* 95, 1909 (2006).
42. Kang S. I., Na K., Bae Y. H.: *Colloids Surf., A* 231, 103 (2003).
43. Cammas-Marion S., Okano T., Kataoka K.: *Colloids Surf., B* 16, 207 (1999).
44. van Nostrum C. F., Neradovic D., Soga O., Hennink W. E., v knize: *Polymeric Drug Delivery Volume I - Particulate Drug Carriers* (S. Svenson, ed.), ACS Symposium Series, vol. 923, kap. *Polymeric micelles with transient stability: a novel drug delivery concept*. American Chemical Society, Washington 2006.
45. Koňák Č., Hrubý M.: *Macromol. Rapid Commun.* 27, 877 (2006).
46. Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumura Y., Hori K.: *J. Controlled Release* 65, 271 (2000).
47. Cho C. S., Cheon J. B., Jeong Y. I., Kim I. S., Kim S. H., Akaike T.: *Macromol. Rapid Commun.* 18, 361 (1997).
48. Chee C. K., Rimmer S., Soutar I., Swanson L.: *Polym. Int.* 55, 740 (2006).
49. Davidsen J., Jorgensen K., Andresen T. L., Mouritsen O. G.: *Biochim. Biophys. Acta* 1609, 95 (2003).

50. Han H. D., Shin B. C., Choi H. S.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **61**, 110 (2006).
51. Chandaroy P., Sen A., Hu S. W.: *J. Controlled Release* **76**, 27 (2001).
52. Kono K., Yoshino K., Takagishi T.: *J. Controlled Release* **80**, 321 (2002).
53. Zhang J. L., Srivastava R. S., Misra R. D. K.: *Langmuir* **23**, 6342 (2007).
54. Shamim N., Hong L., Hidajat K., Uddin M. S.: *Colloids Surf., B* **55**, 51 (2007).
55. Muller-Schulte D., Schmitz-Rode T.: *J. Magn. Magn. Mater.* **302**, 267 (2006).
56. Zhang X. Z., Chu C. C.: *J. Mater. Chem.* **13**, 2457 (2003).
57. Akiyoshi K., Kang E. C., Kurumada S., Sunamoto J., Principi T., Winnik F. M.: *Macromolecules* **33**, 3244 (2000).
58. Dautzenberg H., Gao Y. B., Hahn M.: *Langmuir* **16**, 9070 (2000).
59. Seida Y., Takeshita K., Nakano Y.: *J. Appl. Polym. Sci.* **90**, 2449 (2003).
60. Serizawa T., Wakita K., Kaneko T., Akashi M.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **40**, 4228 (2002).
61. Hsiue G. H., Hsu S. H., Yang C. C., Lee S. H., Yang I. K.: *Biomaterials* **23**, 457 (2002).
62. Stile R. A., Burghardt W. R., Healy K. E.: *Macromolecules* **32**, 7370 (1999).
63. Kato N., Sakai Y., Shibata S.: *Macromolecules* **36**, 961 (2003).
64. Haraguchi K., Takehisa T., Fan S.: *Macromolecules* **35**, 10162 (2002).
65. Iwata H., Oodate M., Uyama Y., Amemiya H., Ikada Y.: *J. Membr. Sci.* **55**, 119 (1991).
66. Tsuda Y., Kikuchi A., Yamato M., Sakurai Y., Umezumi M., Okano T.: *J. Biomed. Mater. Res.* **69A**, 70 (2004).
67. Kobayashi J., Kikuchi A., Sakai K., Okano T.: *J. Chromatogr., A* **958**, 109 (2002).
68. Canavan H. E., Cheng X. H., Graham D. J., Ratner B. D., Castner D. G.: *Langmuir* **21**, 1949 (2005).

**M. Hrubý<sup>a</sup>, J. Kučka<sup>b,c</sup>, H. Macková<sup>a</sup>, O. Lebeda<sup>c</sup>, and K. Ulbrich<sup>a</sup>** (<sup>a</sup> *Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, <sup>b</sup> *Department of Organic and Nuclear Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*, <sup>c</sup> *Nuclear Physics Institute, Academy of Sciences of the Czech Republic, Řež near Prague*): **Thermoresponsive Polymers – from Laboratory Curiosity to Advanced Materials for Medicinal Applications**

Thermoresponsive (thermosensitive) polymers have their lower critical solubility temperature close to body temperature. These promising and intensively studied “smart” materials for medical applications are the topic of this review. Properties of the polymers can be tailored for a wide range of applications through a proper choice of polymer architecture and hydrophilic/hydrophobic balance of the polymer segments. The temperature sensitivity may thus be introduced into micelles, hydrogels, depot drugs and other polymer systems.



**Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta**  
**CHEMIE**

*Proděkan chemické sekce Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze upozorňuje, že*

**na bakalářské obory studijního programu Chemie**

**jsou ve školním roce 2008/2009, kromě učitelské kombinace chemie – biologie,**

**studenti přijímáni bez přijímacích zkoušek.**

Ke studiu budou přijati uchazeči s ukončeným úplným středním nebo úplným středním odborným vzděláním. Přihlášky a podrobné informace: PŘF UK, studijní oddělení, Albertov 6, 128 43 Praha 2, tel: 221 951 155, 221 951 156.  
Přihlášky ke studiu se přijímají do 29. února 2008.

---

**Další informace naleznete na webových stránkách PŘF UK – [www.natur.cuni.cz](http://www.natur.cuni.cz).**