

胰岛素自调式给药凝胶系统的研究进展

冯贝贝, 折欢欢, 张毅, 谢卫红^{*}(湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430000)

摘要: 糖尿病是全球重点关注的医疗健康问题。目前皮下注射胰岛素的治疗方法存在给药不便、给患者带来痛苦和容易引发低血糖风险等问题, 因此以无痛方式给药和精准释放药物控制血糖是下一代糖尿病治疗的关键。在胰岛素自调式系统中, 聚合物水凝胶控释系统可精准控制胰岛素释放, 实时监测与控制血糖水平, 对提高糖尿病的治疗效果具有重要意义。本文综述了 3 类葡萄糖感应型智能化胰岛素释放凝胶系统的最新国内外研究进展。详细阐述了蛋白类葡萄糖感应系统、非蛋白类葡萄糖感应系统以及二者相结合葡萄糖感应系统的给药机制和优缺点, 对胰岛素自调式给药凝胶系统的研究进行了总结与展望。

关键词: 糖尿病; 胰岛素; 自调式给药; 凝胶

中图分类号: R94

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2022)23-3164-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.23.018

引用本文: 冯贝贝, 折欢欢, 张毅, 等. 胰岛素自调式给药凝胶系统的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(23): 3164-3170.

Research Progress of Self-regulated Insulin Delivery Gel System

FENG Beibei, SHE Huanhuan, ZHANG Yi, XIE Weihong^{*}(College of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430000, China)

ABSTRACT: Diabetes is a global medical and health problem. At present, subcutaneous injection of insulin has some problems, such as inconvenient administration, causing pain to patients and easily causing hypoglycemia risk. Therefore, painless administration and precise release of drugs to control blood glucose are the key to the next generation of diabetes treatment. In the insulin self-adjusting system, the polymer hydrogel controlled release system can accurately control the release of insulin, monitor and control the blood glucose level in real time, which is of great significance to improve the treatment effect of diabetes. In this paper, the latest research progress of three kinds of glucose sensing insulin release gel systems at home and abroad is reviewed. The drug delivery mechanism, advantages and disadvantages of protein glucose sensing system, non protein glucose sensing system and their combination are described in detail. The research on insulin self-adjusting gel delivery system is summarized and prospected.

KEYWORDS: diabetes; insulin; adjustable administration; gel

国际糖尿病联盟发布数据表明 2019 年全世界至少有 4.63 亿人患有糖尿病, 中国有 1.164 亿例糖尿病患者, 位居全球首位^[1]。糖尿病是一种血糖代谢紊乱疾病, 主要分为 2 种类型: 1 型糖尿病是由于胰岛 β 细胞的自身免疫破坏导致胰岛素产生和分泌不足造成; 2 型糖尿病是由于胰岛素抵抗和胰岛素分泌受损造成^[2]。胰岛素在 1 型和晚期 2 型糖尿病患者的治疗中起重要作用^[3]。目前最有效的治疗方法是定期监测血糖水平和多次皮下注射胰岛素^[4], 但频繁监测血糖和长期注射胰岛素会给患者带来痛苦和不便。目前, 葡萄糖响应和药物治疗在常规治疗中没有直接耦合, 无法精准调节患者的血糖水平^[5]。如果无法做到严格控制血糖, 患者可能会面临更严重的并发症^[6]。

开发一种以精准调控血糖和无痛方式用于胰岛素输送系统意义重大。刺激胰岛素释放主要可分为开环式释放系统[即药物的释放是由外部因素刺激(如电、磁力, 超声, 加热)而产生的], 以及闭环式释放系统(对药物的控制不依靠外部因素, 而是感应体内血糖浓度升高或下降精确控制胰岛素释放, 这种智能的系统也被研究者称为自调式给药系统^[7])。自调式给药系统对葡萄糖感应性和药物控制性要求严格, 以防止高血糖时胰岛素供给不足或低血糖时胰岛素仍在释放的情况发生^[8]。

水凝胶主要是由可膨胀且不溶于水的交联分子(常为亲水性聚合物)组成^[9-10], 具有网络结构可调^[11]、机械强度高^[12]和生物相容性好^[13]等特性, 被广泛应用于医疗领域。

基金项目: 国家自然科学基金项目(20875024)

作者简介: 冯贝贝, 女, 硕士 E-mail: 479089592@qq.com

^{*}通信作者: 谢卫红, 女, 博士, 教授 E-mail: xiewh@hbut.edu.cn

将葡萄糖“感应器”[如葡萄糖氧化酶(glucose oxidase, GOx)、伴刀豆球蛋白(concanavalin A, ConA)、苯硼酸(phenylboronic acid, PBA)等]装载在凝胶中,可使凝胶根据葡萄糖浓度变化做出不同的响应^[14],发生体积的改变或相的转变^[15],从而释放出凝胶内的胰岛素,起到“效应器”的作用。依据葡萄糖感应分子的类型,可将葡萄糖敏感型水凝胶分为3大类:蛋白类系统、非蛋白类系统和二者相结合的系统^[16]。

1 蛋白类系统

1.1 结合 GOx 的载药系统

GOx 是应用在葡萄糖响应中最常见的一种酶。在 GOx-葡萄糖载药系统中,GOx 通常被包埋或固定在对 pH 敏感的水凝胶基质中^[17]。当葡萄糖渗透入水凝胶,在 GOx 的催化下,葡萄糖转变为葡萄糖酸^[18],从而降低其微环境 pH。而 pH 敏感水凝胶会由于环境 pH 的变化而发生膨胀、收缩或崩解,从而释放药物。根据凝胶交联方式的不同,可将葡萄糖响应水凝胶分为化学交联型和物理交联型。前者一般含有交联剂,后者不含交联剂。化学交联水凝胶通过凝胶骨架的膨胀或收缩来释放胰岛素;物理交联水凝胶的凝胶结构容易被酸裂解,发生崩解而释放胰岛素。所以,基于 GOx 的葡萄糖响应凝胶分膨胀/收缩型水凝胶和崩解型水凝胶。

1.1.1 膨胀/收缩型水凝胶 pH 敏感型水凝胶根据解离基团不同可分为聚阴离子型水凝胶(含有酸性羧基基团)和聚阳离子型水凝胶(含碱性氨基基团)^[19]。在酸性条件下,凝胶的膨胀和收缩与所带的解离基团相关,其作用机制见图 1。图 1(A)为装载 GOx 和胰岛素的化学交联水凝胶,交联网络不易被破坏,只会随着微环境 pH 变化而改变凝胶形态;图 1(B)是阳离子型水凝胶,当葡萄糖进入基质内,与 GOx 结合,产生葡萄糖酸,在酸性条件下氨基($-\text{NH}_2$)质子化变为带正电的 $-\text{NH}_3^+$,凝胶中带正电的 $-\text{NH}_3^+$ 产生静电排斥使凝胶膨胀,从而释放出胰岛素;图 1(C)为阴离子型水凝胶,在酸性条件下,阴离子基团如羧基($-\text{COO}^-$)质子化变为不带电荷的($-\text{COOH}$),凝胶疏水性增加,而使凝胶收缩,挤压出凝胶内的胰岛素。

Kost 等^[20]通过将甲基丙烯酸羟乙酯、甲基丙烯酸二甲胺乙酯、四乙二醇二甲基丙烯酸酯、乙二醇、水和 GOx 的冷冻溶液进行辐射诱导聚合,形成一种含氨基的膨胀型葡萄糖响应大孔凝胶

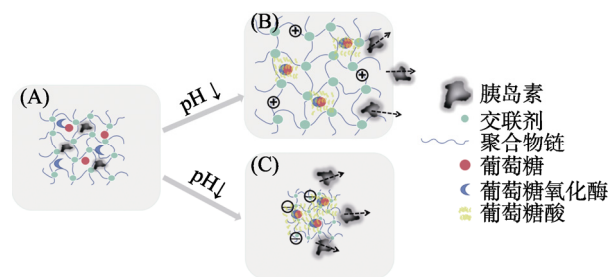


图 1 GOx 基葡萄糖感应型膨胀/收缩型水凝胶示意图
葡萄糖渗透入凝胶体系中, A-与 GOx 结合产生葡萄糖酸; B-pH 降低后导致阳离子型水凝胶膨胀; C-阴离子型水凝胶收缩。

Fig. 1 Schematic of Gox-based glucose sensing expansion / shrink hydrogel

In glucose penetrates into the gel system, A-bound to GOx to produce gluconate; B-pH reduction caused cationic hydrogel expansion; C-anionic hydrogel contraction.

膜。膜在缓冲液中储存 300 d 仍保留了 GOx 37% 的初始活性,且在植入小鼠体内 4 周后,保留了>65% 的酶初始活性。当 $400 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 葡萄糖引入初始无葡萄糖环境时,含有酶的大孔凝胶膨胀,对胰岛素的渗透性增加 2.4~5.5 倍。

Hassan 等^[21]合成了聚甲基丙烯酸-聚乙二醇[poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol), MAA-g-EG]水凝胶,通过丙烯酸酯基团与酶上氨的连接,在多肽的 N 端或氨基酸侧链上形成一个肽键,将 GOx 固定在凝胶内。在生理 pH 7.4 和无葡萄糖的情况下,水凝胶处于膨胀状态;在低 pH(pH 4.0)条件下,聚(甲基丙烯酸)的羧基基团质子化导致聚合物网络中的疏水性增加而导致凝胶收缩,挤出凝胶内的胰岛素等药物。

1.1.2 崩解型水凝胶 与膨胀型水凝胶释药不同,崩解型水凝胶一般不含化学交联剂,凝胶网络结构易被酸裂解,导致凝胶崩塌,从而释放出胰岛素,其作用机制见图 2。Li 等^[22]研发了一种注射型的水凝胶,可作为葡萄糖介导的胰岛素传递的新载体。该葡萄糖敏感系统是由 pH 敏感肽水凝胶、酶和胰岛素组成。酶促反应能降低微环境 pH,当微环境 pH 比肽水凝胶中的鸟氨酸和赖氨酸的 pKa 低时,鸟氨酸和赖氨酸质子化,产生静电斥力使凝胶分解,释放出胰岛素。体内实验表明用含酶和胰岛素的凝胶处理后的糖尿病小鼠能在正常血糖范围内维持 4 d,且注射的凝胶 2 周后能完全降解。

GOx 系统目前也存在一些问题:①酶促反应产生的副产物 H_2O_2 ,会抑制反应速率;②大体积水凝胶系统由于孔隙大,导致包封物过早泄漏。问题①可通过在凝胶体系中同时装载 GOx 和过氧

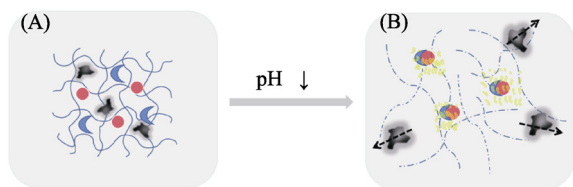


图2 GOx 基葡萄糖感应型崩解型水凝胶示意图

A-葡萄糖与崩解型水凝胶接触; B-体系中产生的葡萄糖酸使凝胶崩解, 释放出凝胶内部的胰岛素。

Fig. 2 Schematic diagram of the GOx-based glucose sensing lysis-type hydrogel

A-the glucose is in contact with the disintegrated hydrogel; B-the gluconic acid produced in the system disintegrates the gel and releases the insulin inside the gel.

化氢酶(catalase, CAT)来解决, CAT 能够分解 H_2O_2 , 同时产生的氧能够促进 GOx 的催化作用^[23-24]。Doyle 等^[25-27]将 GOx 和 CAT 包埋在聚(二乙基甲基丙烯酸乙酯-乙二醇)[poly(diethylaminoethyl methacrylate-g-ethylene glycol), DEAEM-g-EG]水凝胶中, 制备成微粒和圆盘形 2 种凝胶, 延缓了 GOx 的降解。问题②可通过先将酶和药物包封在纳米颗粒/胶囊中, 再与凝胶形成复合体系来解决。由于酶和药物被稳定地封装在微凝胶中, 避免了它们的过早泄漏。Gu 等^[28]用高压电喷雾设备一步法制备了壳聚糖微凝胶, 用于封装葡萄糖和载酶(GOx 和 CAT)的纳米胶囊。酶在这种纳米胶囊中, 热稳定性比天然酶提高了 50%。胰岛素和壳聚糖链之间的强静电和范德华相互作用使胰岛素被稳定地封装在微凝胶中, 胰岛素封装效率可达到(59.7±3.4)%。在高血糖水平(400 mg·dL⁻¹)下, 微凝胶的胰岛素释放率是普通水平(100 mg·dL⁻¹)下的 2.5 倍, 并且维持在正常血糖范围内 12 h, 而相比在没有酶纳米胶囊的情况下, 小鼠只能维持 2 h。Volpatti 等^[29]设计了一种海藻酸盐微凝胶包裹乙酰化右旋糖酐纳米颗粒复合体系, 纳米颗粒对胰岛素和 GOx 的包封率分别为 39%, 19%, 在高糖环境下, 酶促反应导致 pH 下降, 右旋糖酐遇酸分解, 释放胰岛素, 小鼠体内实验表明该体系可以实现长达 22 d 的血糖控制。

复合体系不仅能够实现对酶、胰岛素的良好包封, 避免药物过早泄露造成的低血糖风险, 而且可以实现在血糖控制下的胰岛素的持续释放, 具有内部传感器敏感性、外层材料控释性的优点。

1.2 结合 ConA 的载药系统

ConA 是一种凝集素, 凝集素是一类非酶、非抗体蛋白质, 能与糖非共价可逆结合, 作为葡萄糖感应型系统的天然受体。ConA 是葡萄糖感应型

系统中研究最热的凝集素, 它有 4 个葡萄糖的结合部位, 能够诱导多糖和甘露糖等形成聚合物凝胶^[30]。有研究报道 ConA 的半数致死量(LD₅₀)是 GOx 腹腔注射的 10 倍和静脉注射的 4 倍^[31], 因此采用 ConA 替代 GOx 能减少系统中的毒性。

ConA 基葡萄糖感应型水凝胶的原理见图 3。ConA 被固定在糖基质内, ConA 能与糖侧链交联形成三维网状结构凝胶, 将胰岛素装封在内, 见图 3(A)。当葡萄糖进入凝胶后, 取代了聚合物基质上的糖, 与 ConA 结合破坏交联使高分子链舒展开, 水凝胶变为溶胶, 胰岛素被释放出来^[32], 见图 3(B)。环境中葡萄糖的浓度越大, 其与 ConA 的竞争性结合越多, 就会释放出更多的胰岛素。当胰岛素或其他降血糖类药物被大量释放后, 葡萄糖浓度降低, ConA 与聚合物基质上的糖重新结合形成交联, 形成一种“凝胶-溶胶”可逆的糖敏感系统。

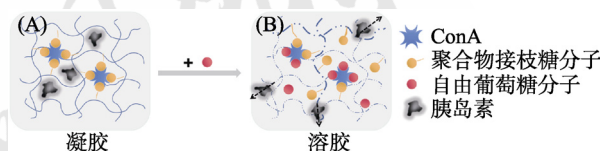


图3 ConA 基葡萄糖感应型水凝胶示意图

A-水凝胶内部装载 ConA 葡萄糖感应器; B-与葡萄糖结合后, 凝胶骨架被破坏, 释放出凝胶内部的胰岛素。

Fig. 3 Schematic diagram of the ConA-based glucose sensing hydrogel

A-the hydrogel was loaded inside with the ConA; B-when combined with the glucose, the gel skeleton was destroyed, releasing insulin from the inside of the gel.

ConA 具有一定的生物毒性^[33], 如果 ConA 流失到体系外, 不仅会危害人体健康, 而且会延长溶胶向凝胶状态的相转变时间, 导致系统不稳定。因此, ConA 系统中与 ConA 结合的聚合物链十分关键, 聚合物链上需要带有能够与 ConA 结合的基团。聚合物链可以由带糖基的物质组成, 如甲基丙烯酸酯衍生物(methacrylate derivatives of dextran, Dex-g)^[34]、烯丙基葡萄糖^[35]、N-(2-D-葡萄糖)丙烯酰胺^[36]、糖基氧基甲基丙烯酸酯^[37]、羧甲基葡聚糖^[38];也可以是带有羧基的支链淀粉^[39]或者由丙烯酸葡萄糖氧乙酯(glucosyloxyethylacrylate, GEA)和壳聚糖形成的一种壳聚糖衍生物 GEA-chitosan(含可反应的氨基和葡萄糖残基)^[40]构成。

Ballerstadt 等^[41]通过将 ConA 固定到多孔琼脂糖基质上, 发现固定的 ConA 的热变性速率几乎比其天然形式的可溶性 ConA 低 4 个数量级, 这提高

了 ConA 固有的功能稳定性。然后又采用同样的固定技术,将 Dex-g 和 ConA 制备成一种荧光亲和传感器(直径 0.4 mm,长度 3 mm),体外试验证明该传感器在生理相关葡萄糖浓度范围内具有快速响应性(2~4 min)和显著的长期稳定性(6 个月)^[30]。在此基础上,研究者制备了更小尺寸(直径 0.4 mm,长度 3 mm)的传感器,对完全植入的传感器进行了长达 16 d 的慢性体内评估,发现其能很好地跟踪血糖浓度的变化趋势,延迟时间<5 min^[42]。

Yin 等^[43]将葡萄糖感应型微球装载在可降解的壳聚糖凝胶中,微球用于装载 ConA 和胰岛素,凝胶网络中的 Dex-g 能与 ConA 作用形成可逆交联/解离的结构,体外试验表明该微球-凝胶体系比微球体系能更好地缓释胰岛素,避免突发释放,且在胰岛素释放 12 d 后仍能保持微球的葡萄糖响应性胰岛素释放特性。

为了解决 ConA 弱水溶性和生物活性不稳定性问题。Kim 等^[44]用 PEG 修饰 ConA,修饰后的 ConA 不仅在水溶度和稳定性上都得到了提高,而且聚乙二醇化不影响 ConA 的结合位点数(4 个)。除此之外,经 PEG 修饰的 ConA 对葡萄糖的亲合力是 ConA 的 3 倍多,当聚乙二醇化程度为 50% 时,葡萄糖的结合亲和力增加并达到最大值。Locke 等^[45]将聚乙二醇链共价附着在 ConA 表面的赖氨酸基团上,动态光散射测量表明,聚乙二醇修饰后,ConA 在 37 °C 下的热稳定性显著提高,且至少在 30 d 内保持稳定。这些研究说明聚乙二醇修饰的 ConA 可以克服热变性和非特异性静电结合的不稳定性问题,同时保持所需的糖结合特性。

2 非蛋白系统

PBA 能与 1,2-或 1,3-顺式二醇(如葡萄糖)强烈结合^[46],通过可逆的共价相互作用形成环酯,被认为是凝集素的人工模拟物^[47]。这种特性使 PBA 可作为葡萄糖的感应分子。与天然蛋白系统(GOx 和 ConA)不同,PBA 具有无免疫原性、稳定性好和通用性强的优势^[48]。PBA 一般以疏水未解离的形式存在,PBA 基团上的羟基(-OH)可与 H₂O 形成分子间氢键,导致 PBA 之间聚集,形成凝胶网络,见图 4(A);PBA 只有在带电的情况下能够与葡萄糖可逆共价形成稳定的复合物^[49],带电的 PBA 之间存在静电斥力,且 PBA 与葡萄糖反应产生的水^[50],使凝胶膨胀而释放出装载在内的胰岛素,见图 4(B)。当环境中的 pH 高于 PBA 的 pKa(8.2~9)

时才能实现 PBA 带电,而人体生理 pH 一般为 7.4,这会导致 PBA 聚集,降低 PBA 对葡萄糖的敏感性^[51],因此可以通过形成 PBA 衍生物,降低 PBA 的 pKa 来调节这一特性。

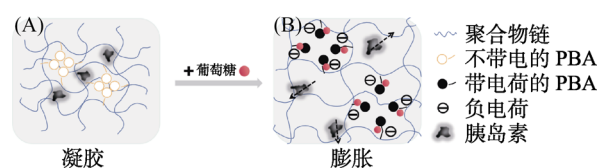


图 4 PBA 基葡萄糖感应型水凝胶示意图

A—水凝胶内部装载的 PBA 具有 -OH 基团,使体系内部相互连接形成凝胶;B—当葡萄糖进入凝胶后,与葡萄糖结合的 PBA 带负电荷,产生静电斥力使凝胶膨胀,释放出胰岛素。

Fig. 4 Schematic diagram of the PBA-based glucose sensing hydrogel

A—the PBA loaded inside the hydrogel had a -OH group, which enables the system to connect with each other to form a gel; B—when glucose enters the gel, the PBA bound to glucose is negatively charged, generating electrostatic repulsion to expand the gel and releasing insulin.

2.1 PBA 衍生物

Matsumoto 等^[52]用 PBA 与两亲性丙烯酰胺结合制备了一种 PBA 衍生物 4-(2-丙烯酰胺乙基-氨基甲酰)-3-氟苯基硼酸 [4-(2-acrylamidoethyl-carbamoyl)-3-fluorophenylboronic acid, AmECFPBA],用于形成凝胶并与导管共组装形成一种新型皮下植入式装置,该衍生物中具有最佳的吸电子对氨基甲基和甲氟取代基,具有与生理相当的 pKa 值(7.2)。实验结果表明基于这种 PBA 衍生物的凝胶系统不仅能够快速响应装置周围皮下间质中的葡萄糖浓度,而且能够在胰岛素缺乏和胰岛素抵抗条件下响应葡萄糖浓度变化持续≥3 周。

Chen 等^[53]将水凝胶制成贴片形式,而水凝胶的控释受皮肤温度不稳定的影响,因此实现水凝胶的温度可调节控释至关重要。研究发现通过增加硼酸盐组分(AmECFPBA)的比例可使凝胶具有温度依赖性^[51],但是硼酸盐的增加会导致网络疏水性增加,使其难以在生理温度下发挥作用,因此引入羟乙基丙烯酰胺缓解疏水性问题,同时分子间硼酸酯与羟基的形成可以进一步降低 pKa。实验结果表明该贴片的葡萄糖响应性释放可以持续 78 h。

Hu 等^[54]用温度响应单体 N-异丙基丙烯酰胺(N-isopropylacrylamide, NIPAM)和葡萄糖响应单体 3-丙烯酰胺苯硼酸 [3-acrylamidophenylboronic acid, AAPBA]共聚,然后与海藻酸盐(alginate, Alg)接枝,制备了温度/葡萄糖双响应共聚物(Alg-g-PNA)。结果表明,共聚物溶液在 10 °C 处于溶胶状态,当温度升高至生理温度(37 °C)时变成凝胶状

态,降低了药物的扩散速度,从而起到控释作用。

2.2 微球-水凝胶复合体系

近年来,将微/纳米结构材料应用于三维聚合物水凝胶,成为一种创新且有效的技术手段^[55]。聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]微球已被广泛应用于制造具有剪切稀释性能的可注射聚合物水凝胶,并产生快速响应的水凝胶^[56]。

张建华等^[57]将PBA修饰的PLGA微球与聚乙烯醇(polyvinyl, PVA)水凝胶相结合,通过PBA与PVA之间的硼酯键连接形成一种微球-水凝胶复合体系。微球的载药量和包封率分别为31.7%,41.9%。复合体系在PBS溶液中24 h内只有8%的胰岛素会从凝胶体系中释放,说明凝胶可以提高稳定性;当复合凝胶处在葡萄糖环境中时,PBA与小分子葡萄糖结合,造成原始硼酯键断裂,使凝胶解体并快速释放药物。

Zhao等^[58]将PBA修饰的PLGA微球与多巴胺偶联透明质酸(dopamine-hyaluronic acid, DOP-HA)水凝胶结合。在低糖水平下,多巴胺(dopamine, DOP)的邻苯二酚基团能与微球上的PBA基团连接,形成致密的渗透屏障,阻止胰岛素从微球中释放;在高糖水平下,葡萄糖与PBA反应,打破中性pH下DOP与PBA的结合,使微球从水凝胶中分离出来,从而导致胰岛素从颗粒中快速释放。微球对胰岛素的装载能力约为 $(35.6 \pm 4.5)\%$,封装效率约为 $(45.8 \pm 2.9)\%$ 。体外研究表明,在低糖浓度($100 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 和 $300 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)的PBS溶液中,微球-凝胶在24 h内只有约7%和11%的胰岛素释放,而在高糖浓度($500 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ 和 $1000 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)下,胰岛素释放量显著增加到52%和77%,这说明了该系统不仅能在正常血糖状态下减少不良的突发释放和泄漏。最重要的是将微球-凝胶注射进糖尿病小鼠体内后,在体内的胰岛素释放可以维持>3周,并且也不需要手术去除,因为大约7周后在注射部位没有观察到凝胶残留。

这些研究表明将载药颗粒包入水凝胶不仅能提高载药能力,而且能增强稳定性、减少药物的突发释放。

3 蛋白和非蛋白结合系统

基于PBA的胰岛素输送系统存在体内降解问题,重复使用会导致机体产生慢性毒性,另一局限性是PBA对葡萄糖的结合并不具有特殊性,且果糖对酶结合位点有更高的亲合力,导致PBA会

对非葡萄糖分子产生更高的信号,影响读数的准确性^[59],GOx可特异结合葡萄糖,并且GOx催化氧化葡萄糖的过程中产生的 H_2O_2 能够氧化和水解苯硼酸酯(phenylboronic ester, PBE)衍生物,因此GOx和PBA相结合的葡萄糖敏感型胰岛素自调式给药系统可有效解决PBA的胰岛素输送系统的问题^[52],开发双物质体系十分必要^[60]。

Liu等^[61]用PEG和聚氨基苯硼酯[poly(amino phenylboronic ester), PAPBE]自组装形成聚合物胶束PEG-b-PAPBE。该胶束对胰岛素、GOx的包封率分别为24.3%,13.2%,并保留了酶85%的原始活性,对糖尿病小鼠进行体内注射胰岛素(I)、胰岛素胶束(II)、胰岛素/GOx共负载胶束(III),发现(I)会诱发低血糖,(II)只能维持在正常血糖下8 h,而(III)能维持12 h。

Yoshida等^[62]将PBA修饰的聚(烯丙胺)[poly(allylamine), PAH]与莽草酸形成一种薄膜。胰岛素、GOx通过静电相互作用被吸附到PAH层中,膜能在生理条件下根据葡萄糖的浓度释放出胰岛素。这不仅解决了PBA在生理pH响应慢的问题,还形成了一种根据葡萄糖浓度变化控制释放的系统。

Zhou等^[63]合成了一种光交联双反应聚合体[p(mPEG-b-P(AA-PBA-co-DEAEMA-co-BMA)), PADB]。其中2-羟基-4-(甲基丙烯酰氧基)二苯甲(2-hydroxy-4-(methacryloyloxy)benzophenone, BMA)是一种交联剂,能够提高聚合体的稳定性。将PBA修饰成AAPBA以降低其pKa值,并与pH敏感单体DEAEMA共聚形成膜,甲氧基聚(乙二醇)(mPEG)具有高生物相容性,被用来中和PBA的轻微毒性。膜对胰岛素和GOx的装载量分别为44.8%,15.2%。在pH 7.4时,当葡萄糖(浓度为 $400 \text{ mg} \cdot \text{dL}^{-1}$)第一次进入膜时,AAPBA与葡萄糖结合,膜变成半透性并释放出部分胰岛素。葡萄糖继续向膜内核渗透,接触到GOx,发生酶促反应降低膜内pH,使前膜部分质子化并变为亲水性,导致膜完全膨胀变成全透膜,导致胰岛素全渗透出膜。小鼠体内实验表明,用聚合体处理的小鼠血糖水平相对稳定下降,可维持在正常血糖范围约3 d,无低血糖或高血糖高峰。

4 小结

新型生物材料和药物递送系统为胰岛素自调式系统提供了技术支撑,未来胰岛素用药将采用可控与长效的方式。该自调式系统由葡萄糖感应

器和胰岛素智能释放器组成。水凝胶网络结构会随微环境中 pH、温度等条件变化而变化,可智能释放胰岛素。可将 GOx、ConA、PBA 3 种葡萄糖敏感性物质装载在其中,发挥葡萄糖浓度感应器的作用。系统需具备以下特征:①对葡萄糖浓度感应性强。凝胶结构(如孔隙、尺寸)是凝胶释药动力学的重要影响因素,因此可通过减少其尺寸,做成微凝胶来解决大孔凝胶葡萄糖响应性问题,同时提高 3 种葡萄糖敏感性物质封装率和利用度是保持体系中葡萄糖敏感性的关键。②给药形式简便,更换频率低且药效长。给药形式可由频繁注射的闭环模式转变为智能的开环模式。凝胶-溶胶系统可采用以液态形式注射,在体温条件下可原位形成凝胶。有研究报道含 PBA 的闭环凝胶系统具有长效性葡萄糖反应性胰岛素释放能力,比 GOx 系统更具有优势。目前 PBA 对葡萄糖的特异性和选择性需进一步提高,可通过在 PBA 上引入吸电子体或选择性官能团以增强 PBA 对二醇的选择性。③凝胶释药系统应具有无不良反应且生物相容性好,可在体内降解的特点。多糖水凝胶含水量高、能模拟成纤维细胞,具有较好的生物相容性,因此如壳聚糖、海藻酸盐等天然材料被广泛应用于水凝胶的制作。目前研究开发了 GOx 与 PBA 结合的双物质系统,不仅能避免 GOx 的副产物带来的一系列危害,还能促进 GOx 的催化,同时也具有 PBA 材料的优势,在未来的葡萄糖感应型胰岛素自调式释药系统中十分具有应用潜力。胰岛素自调式给药凝胶系统通过可调性聚合物网络结构对药物进行负载,对葡萄糖的浓度应答敏感,智能地释放胰岛素,从而达到模拟“人工胰腺”,有效控制高血糖、治疗糖尿病的目的。

REFERENCES

- [1] SAEEDI P, PETERSOHN I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2019(157): 107843.
- [2] WILSON L M, CASTLE J R. Recent advances in insulin therapy[J]. Diabetes Technol Ther, 2020, 22(12): 929-936.
- [3] LV J, WU G, LIU Y, et al. Injectable dual glucose-responsive hydrogel-micelle composite for mimicking physiological basal and prandial insulin delivery[J]. Sci China Chem, 2019, 62(5): 637-648.
- [4] FUCHS S, ERNST A U, WANG L H, et al. Hydrogels in emerging technologies for type 1 diabetes[J]. Chem Rev, 2021, 121(18): 11458-11526.
- [5] SHEN D, YU H J, WANG L, et al. Recent progress in design and preparation of glucose-responsive insulin delivery systems[J]. J Control Release, 2020(321): 236-258.
- [6] WANG J Q, WANG Z J, YU J C, et al. Glucose-responsive systems: Glucose-responsive insulin and delivery systems: Innovation and translation[J]. Adv Mater, 2020, 32(13): 2070102.
- [7] YIN R X, BAI M R, HE J, et al. Concanavalin A-sugar affinity based system: Binding interactions, principle of glucose-responsiveness, and modulated insulin release for diabetes care[J]. Int J Biol Macromol, 2019(124): 724-732.
- [8] WEI B, CHEN W T, LIU T, et al. A case of hypoglycemia coma caused by excessive insulin injection[J]. Clin Med J(临床药物治疗杂志), 2021, 19(7): 75-78.
- [9] LI Y M, GE X Y. Self-regulated drug delivery systems[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2019, 31(10): 264-269.
- [10] CHEN Z W, WANG J Q, SUN W J, et al. Synthetic beta cells for fusion-mediated dynamic insulin secretion[J]. Nat Chem Biol, 2018, 14(1): 86-93.
- [11] LIAO J, HUANG H H. Smart pH/magnetic sensitive *Hericium erinaceus* residue carboxymethyl chitin/Fe₃O₄ nanocomposite hydrogels with adjustable characteristics[J]. Carbohydr Polym, 2020(246): 116644.
- [12] ISOBE N, TSUDOME M, KUSUMI R, et al. Moldable crystalline α -chitin hydrogel with toughness and transparency toward ocular applications[J]. ACS Appl Polym Mater, 2020, 2(4): 1656-1663.
- [13] JIA Z R, LV X H, HOU Y, et al. Mussel-inspired nanozyme catalyzed conductive and self-setting hydrogel for adhesive and antibacterial bioelectronics[J]. Bioact Mater, 2021, 6(9): 2676-2687.
- [14] HU D N, JU X J, XIE R, et al. Injectable temperature and glucose-responsive composite hydrogels for controlled release of insulin at physiological pH[J]. J Mater(材料导报), 2022, 36(3): 75-81.
- [15] TANG L Z, ZHANG L, DONG Y S, et al. Research progress on responsive hydrogels and their applications in biomedicines[J]. Chin J Appl Chem(应用化学), 2021, 38(7): 743-753.
- [16] VANDENBERG M A, WEBBER M J. Biologically inspired and chemically derived methods for glucose-responsive insulin therapy[J]. Adv Healthc Mater, 2019, 8(12): e1801466.
- [17] KISHIGAWA T, TAGAMI Y, NARITA T, et al. Volume change behavior of poly(L-lysine-alt-terephthalic acid) microcapsules encapsulating glucose oxidase[J]. Chem Lett, 2012, 41(10): 1148-1150.
- [18] ZHAO L, WANG L Y, ZHANG Y H, et al. Glucose oxidase-based glucose-sensitive drug delivery for diabetes treatment[J]. Polymers, 2017, 9(7): 255.
- [19] LI Y F, LIU J Y, WANG X Y, et al. Research progress of intelligent hydrogel drug control release system[J]. Stomatology(口腔医学), 2020, 40(10): 951-954, 964.
- [20] KOST J, HORBETT T, RATNER B, et al. Glucose-sensitive membranes containing glucose-oxidase-activity, swelling, and permeability studies[J]. J Biomed Mater Res, 1985(19): 1117-1133. Doi: org/10.1002/jbm.820190920.
- [21] HASSAN C M, DOYLE F J, PEPPAS N A. Dynamic behavior of glucose-responsive poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol) hydrogels[J]. Macromolecules, 1997, 30(20): 6166-6173.
- [22] LI X, FU M, WU J, et al. pH-sensitive peptide hydrogel for glucose-responsive insulin delivery[J]. Acta Biomater, 2017(51): 294-303.
- [23] GU Z, AIMETTI A A, WANG Q, et al. Injectable nano-network for glucose-mediated insulin delivery[J]. ACS Nano, 2013, 7(5): 4194-4201.
- [24] ZHANG K, WU X Y. Modulated insulin permeation across a glucose-sensitive polymeric composite membrane[J]. J Control Release, 2002, 80(1/2/3): 169-178.
- [25] PODUAL K, DOYLE F J III, PEPPAS N A. Preparation and dynamic response of cationic copolymer hydrogels containing glucose oxidase[J]. Polymer, 2000, 41(11): 3975-3983.
- [26] DORSKI C M, DOYLE F J III, PEPPAS N A. Glucose-responsive, complexation hydrogels[J]. Polym Prepr,

- 1996, 37(1): 475.
- [27] PODUAL K, DOYLE III F J, PEPPAS N A. Dynamic behavior of glucose oxidase-containing microparticles of poly(ethylene glycol)-grafted cationic hydrogels in an environment of changing pH[J]. *Biomaterials*, 2000, 21(14): 1439-1450.
 - [28] GU Z, DANG T T, MA M, et al. Glucose-responsive microgels integrated with enzyme nanocapsules for closed-loop insulin delivery[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(8): 6758-6766.
 - [29] VOLPATTI L R, FACKLAM A L, CORTINAS A B, et al. Microgel encapsulated nanoparticles for glucose-responsive insulin delivery[J]. *Biomaterials*, 2021(267): 120458. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120458.
 - [30] BALLERSTADT R, POLAK A, BEUHLER A, et al. *In vitro* long-term performance study of a near-infrared fluorescence affinity sensor for glucose monitoring[J]. *Biosens Bioelectron*, 2004, 19(8): 905-914.
 - [31] SONG J, ZHANG Y N, CHAN S Y, et al. Hydrogel-based flexible materials for diabetes diagnosis, treatment, and management[J]. *Npj Flex Electron*, 2021(5): 26.
 - [32] LI Q, GUAN Y, ZHANG Y J. Thin hydrogel films based on lectin-saccharide biospecific interaction for label-free optical glucose sensing[J]. *Sens Actuat B Chem*, 2018(272): 243-251.
 - [33] 蒋守群. 呕吐毒素处理对伴刀豆球蛋白 A 刺激鸡脾脏淋巴细胞的体外影响[J]. *广东饲料*, 2017, 26(5): 52.
 - [34] YIN R X, BAI M R, HE J, et al. Concanavalin A-sugar affinity based system: Binding interactions, principle of glucose-responsiveness, and modulated insulin release for diabetes care[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019(124): 724-732.
 - [35] OBAIDAT A A, PARK K. Characterization of glucose dependent gel-Sol phase transition of the polymeric glucose-concanavalin A hydrogel system[J]. *Pharm Res*, 1996, 13(7): 989-995.
 - [36] VALUEV I L, VANCHUGOVA L V, VALUEV L I. Polymeric hydrogels for controlled insulin release[J]. *Appl Biochem Microbiol*, 2020, 56(5): 505-511.
 - [37] WEI M, LI X, SERPE M. Stimuli-responsive microgel-based surface plasmon resonance transducer for glucose detection using a competitive assay with concanavalin A[J]. *ACS Appl Polym Mater*, 2019, 1(3): 519-525.
 - [38] ZHANG R, TANG M, BOWYER A, et al. Synthesis and characterization of a d-glucose sensitive hydrogel based on CM-dextran and concanavalin A[J]. *React Funct Polym*, 2006, 66(7): 757-767.
 - [39] LIN K H, YI J Z, MAO X H, et al. Glucose-sensitive hydrogels from covalently modified carboxylated pullulan and concanavalin A for smart controlled release of insulin[J]. *React Funct Polym*, 2019(139): 112-119.
 - [40] YIN R X, WANG K M, DU S, et al. Design of genipin-crosslinked microgels from concanavalin A and glucosyloxyethyl acrylated chitosan for glucose-responsive insulin delivery[J]. *Carbohydr Polym*, 2014(103): 369-376.
 - [41] BALLERSTADT R, GOWDA A, MCNICHOLS R. Fluorescence resonance energy transfer-based near-infrared fluorescence sensor for glucose monitoring[J]. *Diabetes Technol Ther*, 2004, 6(2): 191-200.
 - [42] BALLERSTADT R, EVANS C, GOWDA A, et al. *In vivo* performance evaluation of a transdermal near-infrared fluorescence resonance energy transfer affinity sensor for continuous glucose monitoring[J]. *Diabetes Technol Ther*, 2006, 8(3): 296-311.
 - [43] YIN R X, HE J, BAI M R, et al. Engineering synthetic artificial pancreas using chitosan hydrogels integrated with glucose-responsive microspheres for insulin delivery[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019(96): 374-382.
 - [44] KIM J J, PARK K. Glucose-binding property of pegylated concanavalin A[J]. *Pharm Res*, 2001, 18(6): 794-799.
 - [45] LOCKE A K, MEANS A K, DONG P, et al. A layer-by-layer approach to retain a fluorescent glucose sensing assay within the cavity of a hydrogel membrane[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2018, 1(5): 1319-1327.
 - [46] FU M, ZHANG C Y, DAI Y X, et al. Injectable self-assembled peptide hydrogels for glucose-mediated insulin delivery[J]. *Biomater Sci*, 2018, 6(6): 1480-1491.
 - [47] ELSHAARANI T. Study on synthesis and properties of phenylboronic acid based hydrogels and copolymers for glucose sensing and insulin delivery[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
 - [48] LIU H, LI Q W, XU S, et al. Progress in the glucose-sensitive insulin delivery system[J]. *China Pharm(中国药师)*, 2021, 24(7): 353-360.
 - [49] BAI M R. Regulated insulin delivery from glucose-responsive core-shell microspheres prepared by emulsification[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2019.
 - [50] WANG J. Preparation and study of glucose sensitive hydrogels based on PBA microgels[D]. Xi'an: Northwest University, 2019.
 - [51] MATSUMOTO A, YUASA M, SANJO M, et al. Boronate functionalized polymer gel based insulin delivery system with improved stability in performance: A comparative structure-function study[J]. *Chem Lett*, 2016, 45(4): 460-462.
 - [52] MATSUMOTO A, TANAKA M, MATSUMOTO H, et al. Synthetic "smart gel" provides glucose-responsive insulin delivery in diabetic mice[J]. *Sci Adv*, 2017, 3(11): eaaq0723.
 - [53] CHEN S Y, MIYAZAKI T, ITOH M, et al. Temperature-stable boronate gel-based microneedle technology for self-regulated insulin delivery[J]. *ACS Appl Polym Mater*, 2020, 2(7): 2781-2790.
 - [54] HU D N, JU X J, PU X Q, et al. Injectable temperature/glucose dual-responsive hydrogels for controlled release of insulin[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2021, 60(22): 8147-8158.
 - [55] PRIMAVERA R, KEVADIYA B D, SWAMINATHAN G, et al. Emerging nano- and micro-technologies used in the treatment of type-1 diabetes[J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2020, 10(4): 789.
 - [56] DEY G R, SAHA A. Surface engineered PLGA nanoparticle for threshold responsive glucose monitoring and "self-programmed" insulin delivery[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(9): 4645-4658.
 - [57] ZHANG J H, YANG J M, YAO D, et al. Fabrication and performance of glucose-sensitive hybrid hydrogels[J]. *J Tianjin Univ(Nat Sci Eng Technol Ed)(天津大学学报: 自然科学与工程版)*, 2021, 54(1): 27-34.
 - [58] ZHAO F L, WU D, YAO D, et al. An injectable particle-hydrogel hybrid system for glucose-regulatory insulin delivery[J]. *Acta Biomater*, 2017(64): 334-345.
 - [59] BRATLIE K M, YORK R L, INVERNALE M A, et al. Materials for diabetes therapeutics[J]. *Adv Healthc Mater*, 2012, 1(3): 267-284.
 - [60] TONG Z Z, ZHOU J Y, ZHONG J X, et al. Glucose- and H₂O₂-responsive polymeric vesicles integrated with microneedle patches for glucose-sensitive transcutaneous delivery of insulin in diabetic rats[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(23): 20014-20024.
 - [61] LIU X Y, LI C, LV J, et al. Glucose and H₂O₂ dual-responsive polymeric micelles for the self-regulated release of insulin[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, 3(3): 1598-1606.
 - [62] YOSHIDA K, AWAJI K, SHIMIZU S, et al. Preparation of microparticles capable of glucose-induced insulin release under physiological conditions[J]. *Polymers*, 2018, 10(10): 1164.
 - [63] ZHOU D X, LI S Y, FEI Z X, et al. Glucose and pH dual-responsive polymersomes with multilevel self-regulation of blood glucose for insulin delivery[J]. *Biomacromolecules*, 2021, 22(9): 3971-3979.

收稿日期: 2022-01-07
(本文责编: 蔡珊珊)