

**INTELIGENTNE POLIMERY I ICH STOSOWANIE
W KONTROLOWANYM UWALNIANIU INSULINY
PODCZAS LECZENIA DIABETOLOGICZNGO**

**SMART POLYMERS AND THEIR USE IN CONTROLLED
INSULIN RELEASE DURING DIABETIC THERAPY**

Nikola Fajkis

*Uniwersytet Jagielloński w Krakowie,
Wydział Chemii,
ul. Gronostajowa 2, 30-387, Kraków
e-mail: nikola.fajkis@gmail.com*

*Praca wyróżniona w konkursie Krakowskiego Oddziału PTChem na konferencji
studenckiej Horyzonty Nauki – Forum prac Dyplomowych 2017*

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Inteligentne polimery jako nośniki leków; 1.1. Budowa nośników; 1.2. Sposoby wykorzystania polimerów w celu przedłużonego czasu uwalniania substancji czynnej
2. Cukrzyca i sposoby jej leczenia; 2.1. Cukrzyca jako jednostka chorobowa; 2.2. Etiologia cukrzycy; 2.3. Leczenie cukrzycy
3. Inteligentne polimery jako nano-nośniki insuliny; 3.1. Zarys działania inteligentnych polimerów podczas kontrolowanego przedłużonego uwalniania insuliny; 3.2. Poli(kwas metakrylowy-g-glikol etylenowy); 3.3. Kwas hialuronowy; 3.4. Koniugaty insulina-transferyna; 3.5. Poli(hydroksomaślan-co-hydroksoheksanianu); 3.6. Chitozan

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

Nikoła Fajkis, studentka V roku chemii (specjalność: polimery i kompozyty) na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Pracę licencjacką realizowała pod opieką prof. dr. hab. Leszka Fiedora na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ. Odbyla staże naukowe w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie, Centralnym Laboratorium Pomiarowo-Badawczym, Photo High Technologies, Selvita i w Synthos S.A. Pracę magisterską wykonuje w firmie Photo High Technologies. Jest aktywnym członkiem Naukowego Koła Chemików, Polskiego Towarzystwa Chemicznego oraz Samorządu Studentów Wydziału Chemii UJ.

ABSTRACT

This overview will discuss the smart polymers as drug nanocarriers, their construction and shapes showing their using for controlled insulin release. The report will focus on diabetes mellitus as a disease unit, its etiology and treatment by injection and by using smart polymers. The ingredients described in this article are: poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol), hyaluronic acid, G-CSF-transferrin conjugate in cultured enterocyte-like Caco-2 monolayers, poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) and chitosan. Such “intelligent” polymers and their use in a controlled insulin release in diabetic therapy are immensely promising.

Keywords: smart polymers, drug delivery system, diabetes mellitus, insulin

Słowa kluczowe: inteligentne polimery, system przenoszenia leków, cukrzyca, insulina

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

DDS	– system przenoszenia leków (ang. <i>drug delivery system</i>)
PE	– polietylen (ang. <i>polyethylene</i>)
PP	– polipropylen (ang. <i>polypropylene</i>)
PVC	– polichlorek winylu (ang. <i>poly(vinyl chloride)</i>)
PVA	– poli(alkohol winylowy) (ang. <i>poly(vinyl alcohol)</i>)
PVAc	– poli(octan winylu) (ang. <i>poly(vinyl acetate)</i>)
PAA	– kwas poliakrylanowy (ang. <i>poly(acrylic acid)</i>)
MC	– metyloceluloza (ang. <i>methylcellulose</i>)
EC	– etyloceluloza (ang. <i>ethylcellulose</i>)
NC	– nitroceluloza (ang. <i>nitrocellulose</i>)
AC	– octan celulozy (ang. <i>cellulose acetate</i>)
HPMC	– hydroksopropylometyloceluloza (ang. <i>hydroxypropyl methylcellulose</i>)
PS	– polistyren (ang. <i>polystyrene</i>)
CMC	– karboksymetyloceluloza (ang. <i>carboxymethylcellulose</i>)
HLA	– ludzkie antygeny leukocytarne (ang. <i>human leukocyte antigen</i>)
LADA	– autoimmunologiczna cukrzyca dorosłych o późnym początku (ang. <i>late-onset autoimmune diabetes of adults</i>)
s.c.	– podskórnice (ang. <i>subcutaneously</i>)
i.v.	– dożylnie (ang. <i>intravenously</i>)
GLP-1	– glukagonopodobny peptyd 1 (ang. <i>glucagon-like peptide-1</i>)
DPP-4	– peptydaza dipeptydylowa IV (ang. <i>dipeptidyl peptidase-4</i>)
P(MMA-g-EG)	– poli(kwas metakrylowy-g-glikol etylenowy) (ang. <i>poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol)</i>)
PEG	– poli(glikol etylenowy) (ang. <i>poly(ethylene glycol)</i>)
PMAA	– poli(kwas metakrylowy) (ang. <i>poly(methacrylic acid)</i>)
HA	– kwas hialuronowy (ang. <i>hyaluronic acid</i>)
PHBHHx	– poli(hydroksymaślan-co-hydrokseyheksanianu) (ang. <i>poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate)</i>)
ESI-MS	– elektrosprej sprzężony ze spektrometrem mas (ang. <i>electrospray ionization – mass spectrometry</i>)

WPROWADZENIE

Szacuje się, że liczba chorujących na cukrzycę w przeciągu 30 lat wzrośnie o około 195 milionów. W 2000 roku odnotowano 171 milionów chorych, zaś do 2030 roku liczba zachorowań może wzrosnąć do 366 milionów.

Cukrzyca charakteryzuje się podwyższonym poziomem glukozy we krwi. Wynika to z nieprawidłowego działania insuliny lub jej błędnej produkcji przez komórki beta wysp Langerhansa. Insulina jest hormonem niezbędnym do przekształcania składników pokarmowych w energię.

Najbardziej powszechnym sposobem na regulowanie poziomu cukru we krwi jest iniekcja insuliny do ciała pacjenta. Niestety jest to również najbardziej kłopotliwy, niewygodny i bolesny sposób leczenia. Alternatywne metody to przeszczepienie trzustki, przeszczepienie wysp Langerhansa, zastosowanie wszczepialnej pompy insulinowej sterowanej glikemią, operacje bariatryczne, a także stosowanie inteligentnych polimerów jako nanoprzenośników.

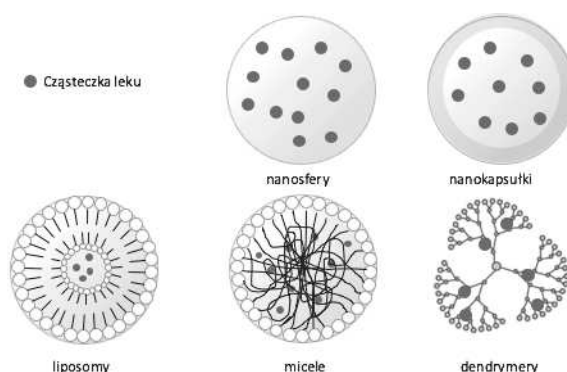
Opracowywane są sposoby doustnego podawania hormonu zamkniętego w nanocząstkach polimerowych. Dzięki temu insulina uwalniana jest w określonym miejscu w organizmie pacjenta. Główną funkcją leków o przedłużonym uwalnianiu substancji czynnej jest utrzymanie jej stałego stężenia w organizmie pacjenta przez określony czas, bez konieczności wielokrotnego przyjmowania terapeutycznego.

Trwają również badania nad polimerowymi plastrami zbudowanymi z usieciowanej matrycy kwasu hialuronowego. Plastry te posiadają ultra cienkie igielki, które wprowadzają insulinę do tkanki podskórnej zanurzając się w płynie międzyfazowym. Prawidłowy poziom glukozy we krwi podczas stosowania plastrów polimerowych jest utrzymywany do dziewięciu godzin. Wykazano również, że seryjne podawanie inteligentnych plastrów pozwala na osiągnięcie długoterminowej kontroli poziomu glukozy we krwi.

1. INTELIĞENTNE POLIMERY JAKO NOŚNIKI LEKÓW

1.1. BUDOWA NOŚNIKÓW [4–9]

Jednym z najważniejszych zastosowań inteligentnych polimerów jest system dostarczania leków (DDS). Zależy on od nośników, które zapewniają precyzyjną dystrybucję oraz czasowe uwalnianie cząstek aktywnych w miejscu docelowym. Nośniki te, jako integralne elementy DDS, występują w różnych formach – jako nanokapsułki, mikrokapsułki, kapsosomy, liposomy, micelle, dendrymery (Rys. 1). W zależności od kształtu nośnika, wyróżnia się różne sposoby przyłączenia cząstek leku.



Rysunek 1. Schemat form występowania nośników
Figure 1. A scheme of carriers' form

Główną funkcją leków o przedłużonym uwalnianiu substancji czynnej jest utrzymanie jej stałego stężenia w organizmie pacjenta przez określony czas, bez konieczności wielokrotnego przyjmowania terapeutycznego. Ze względów toksykologicznych preferowane są biodegradowalne makrocząsteczki, które powlekają, wbudowują, kompleksują lub wiążą cząsteczki leku w jonitach. W tym celu najczęściej wykorzystywane są polimery naturalne i ich pochodne (chitozan, celuloza, skrobia), jak również polimery syntetyczne: PE, PP, PVC, PVA, PVAC, PAA i inne. Wyróżnia się trzy główne sposoby uwalniania substancji czynnej poza obszar otoczki polimerowej: dyfuzję, wypłukiwanie leku przez warstwę polimerową, a także erozję substancji czynnej. Leki o przedłużonym uwalnianiu są wykorzystywane między innymi w leczeniu chorób serca, naczyń wieńcowych oraz przewodu pokarmowego, a także zapobieganiu cukrzycy i chorobom psychicznym.

1.2. SPOSOBY WYKORZYSTANIA POLIMERÓW W CELU PRZEDŁUŻONEGO CZASU UWALNIANIA SUBSTANCJI CZYNNEJ [7]

Pierwszy sposób stosowany do kontrolowanego, przedłużonego uwalniania substancji aktywnej polega na powlekanii cząsteczek leku odpowiednio dobranymi polimerami. To, czy zbudowana z nich powłoka polimerowa zostaje rozpuszczona jest związane z wartością pH środowiska, w którym się znajduje. Ze względu na jego różną wartość, zależną od miejsca w układzie pokarmowym, możliwe jest docelowe podawanie leku. Budowa nośnika wpływa również bezpośrednio na sposób wydostawania się leku z otoczki polimerowej. W przypadku gdy buduje ją polimer nierozpuszczalny w wodzie (np. EC, NC, AC), substancja aktywna zostaje uwolniona poprzez dyfuzję. Drugi ze sposobów powlekania opiera się na porofoforach (np. octofalan celulozy, celuloza mikrokrystaliczna, skrobia), które w trakcie wędrówki przez przewód pokarmowy pęcznieją lub rozpuszczają się. Wzrasta zatem przepuszczalność powłoki, dzięki czemu substancja lecznicza może wydostać się na zewnątrz otoczki polimerowej.

Kolejnym sposobem jest wbudowywanie polegające na naniesieniu substancji aktywnej w nośniku. Opóźnione uwalnianie jest możliwe dzięki zastosowaniu nośników hydrofilowych (MC, karmeloza sodu, HPMC, PAA), lipofilowych oraz „nierozpuszczalnych” w przewodzie pokarmowym (PVC, PE, AC, EC, PS itd.). W pierwszym przypadku zastosowany polimer zaczyna pęcznieć tworząc hydrożel, który zwiększając lepkość opóźnia uwalnianie substancji czynnej. W przypadku nośnika lipofilowego lek uwalniany jest przy określonej wartości pH środowiska pod wpływem odpowiednich enzymów. Polimery „nierozpuszczalne” w wodzie determinują powolne wypłukiwanie leku. Proces ten odbywa się dzięki kapilarom, które mają różne właściwości.

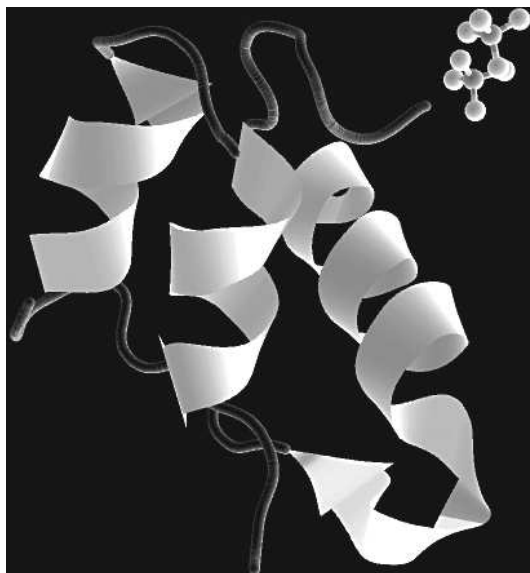
Metoda kompleksowania opiera się na syntezie trudno rozpuszczalnego kompleksu składającego się z substancji leczniczej i polimeru (CMC, dekstran, kwas poligalakturonowy). Substancja czynna uwalniana jest podczas stopniowego rozpadu związku kompleksowego.

Mechanizm uwalniania substancji leczniczej osadzonej na jonitach polega na wymianie jonowej. Jest ona możliwa w przypadku zastosowania leku o charakterze zarówno kwasowym jak i zasadowym.

2. CUKRZYCA I SPOSOBY JEJ LECZENIA

2.1. CUKRZYCA JAKO JEDNOSTKA CHOROBY [10-13]

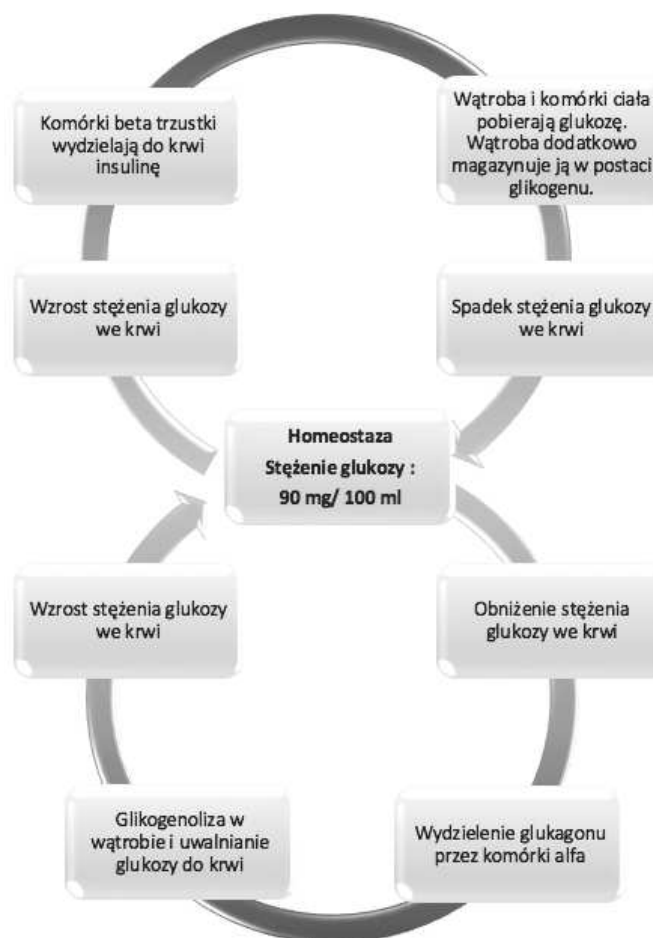
Cukrzyca, jedna z najczęstszych chorób metabolicznych, charakteryzuje się podwyższonym poziomem glukozy we krwi wynikającym z nieprawidłowego działania insuliny (Rys. 2) lub jej błędnej produkcji przez komórki beta. Antagonistą insuliny jest glukagon. Oba te hormony działając poprzez pojedynczą, krótką pętlę metaboliczną ujemnego sprzężenia zwrotnego, utrzymują prawidłowe stężenie glukozy we krwi (90 mg/100 ml). Natomiast jego nieprawidłowa wartość prowadzi do zaburzeń bioenergetycznych oraz homeostatycznych organizmu.



Rysunek 2. Cząsteczka insuliny [baza: Protein Data Bank]
Figure 2. An insulin molecule

Zarówno glukagon jak i insulina produkowane są przez trzustkę, gdzie można wyodrębnić narząd wyspowy (wysepki Langerhansa). Składa się on zarówno z komórek alfa produkujących glukagon jak i komórek beta syntezujących insulinę.

Sprężenie zwrotne ujemne, oparte na działaniu dwóch antagonistów, pozwala na utrzymanie prawidłowego stężenia glukozy we krwi. Przy nadmiernej ilości cukru następuje wyrzut insuliny, co stymuluje pobór tego cukru przez tkanki. Determinuje to skuteczne obniżenie glukozy we krwi. Zaś w sytuacji odwrotnej – przy niedoborze glukozy – sekrecja glukagonu powoduje uwolnienie cukru z tkanek (Rys. 3).



Rysunek 3. Antagonistyczne działanie insuliny i glukagonu [11]
 Figure 3. The antagonistic effect of insulin and glucagon

2.2. ETIOLOGIA CUKRZYCY [11, 14]

W znanych typach cukrzycy następuje wzrost stężenia glukozy we krwi. Zależnie od przyczyny wzrostu wartości stężenia glukozy wyróżnia się dwa typy cukrzycy.

Cukrzyca typu I (insulinozależna) jest chorobą autoimmunologiczną, w której komórki beta zostają niszczone przez układ odpornościowy. Dzieje się tak w przypadku, gdy osoba predysponowana (posiadająca haplotypy genów zgodności tkanekowej HLA-DR3 i – DR4 oraz HLA-DP i HLA-DQb) jest narażona na czynnik wywołający, którym może być np. zakażenie (wirus Cocksackie B4, wirus zapalenia przyusznic), związki azotowe lub toksyny.

Typ ten pojawia się najczęściej w dzieciństwie i jest leczony za pomocą iniekcji insuliny do ciała pacjenta. Początek choroby jest nagły, a pierwszymi objawami są kwasica ketonowa i śpiączka. Zdarza się, że osoby po 65. roku życia również zaczynają chorować na cukrzycę typu I tzw. LADA. Objawami tego rodzaju są przede wszystkim zmęczenie, złe samopoczucie, utrata masy ciała, zaburzenia widzenia, kwasica ketonowa i wymioty.

Obecnie insulinę otrzymuje się z genetycznie modyfikowanych bakterii. Trwają badania nad komórkami macierzystymi zdolnymi do przekształcenia się w nowe, zdolne do produkcji insuliny komórki beta.

Cukrzyca typu II (niezależna od insuliny) charakteryzuje się nieprawidłową odpowiedzią komórek docelowych na dostarczoną insulinę. Mimo tego, że jest ona produkowana, tkanka nie jest w stanie pobrać jej cząsteczek z krwi, poprzez co rośnie jej miejscowe stężenie. Wyodrębniono wiele genów mogących sprzyjać jej powstawaniu. Są to geny transportera glukozy 2, kanałów potasowych, sulfonylomocznika, kanałów wapniowych oraz białek strukturalnych ziarnistości wydzielniczych insuliny. Drugą z kolei przyczyną choroby jest nadwaga ciała oraz związane z nią parametry – źle zbilansowana dieta oraz brak aktywności fizycznej. Przedłużająca się hiperglikemia może powodować uszkodzenie komórek beta. Objawami cukrzycy drugiego typu są przede wszystkim: pragnienie, częstomocz, zmęczenie, złe samopoczucie, pogarszający się wzrok i zaburzenia psychiczne. W Stanach Zjednoczonych cukrzyca typu II stanowi ogromny problem i jest siódmą w kolejności przyczyną wszystkich zgonów.

Powikłania można podzielić na ostre (śpiączka cukrzycowa, ketonowa, hipermolalna i mleczanowa), przewlekłe (mikroangiopatie: retinopatia oraz nefropatia, makroangiopatie: zmiany w naczyniach wieńcowych, miażdżyca naczyń mózgowych, choroby naczyń obwodowych, a także neuropatie: przewlekła neuropatia obwodowa, ostre zapalenie nerwów obwodowych, mononeuropatia, amiotrofia, neuropatia wegetatywna) oraz zmiany skórne.

2.3. LECZENIE CUKRZYCY [14, 15]

Leczenie cukrzycy obejmuje pięć kolejnych kroków: edukację pacjenta, leczenie nefarmakologiczne (odpowiednia dieta i wysiłek fizyczny), leczenie hipoglikemizujące, zwalczanie czynników ryzyka choroby sercowo-naczyniowej oraz leczenie powikłań cukrzycy.

Szkolenie chorych pacjentów jest tak samo ważne jak dieta, aktywność fizyczna i farmakoterapia. To właśnie ono zapewnia dobrą współpracę w relacji pacjent-lekarz. Chorzy nie powinni również zapominać o monitorowaniu i notowaniu wszelkich zmian oraz pomiarów stężenia glukozy we krwi.

Kolejnym krokiem jest zastosowanie odpowiedniej diety opartej na regularnie przyjmowanych posiłkach o odpowiedniej podaży kalorii. Ważną kwestią jest również zbliżona kaloryczność posiłków każdego dnia oraz skład jakościowy diety.

Konsultowane są taką zasady bezpiecznego podejmowania wysiku fizycznego przez pacjenta.

Leczenie farmakologiczne opiera się na iniekcji insuliny do ciała pacjenta. Ze względu na budow chemiczną wyróżnia się insulin ludzką i jej analogi. Innym kryterium podziału jest czas działania hormonu. Wyróżnia się analogi insuliny szybko działające z zakresem działania 3–5 godzin (aspart, glulizyna, lispro), insuliny krótko działające – 6–8 godzin (neutralna), insuliny srednio długo działające – 18–20 godzin (izofanowa) oraz analogi długo działające – powyżej 24 godzin (detemir, glargina, degludec). Dwa pierwsze rodzaje są klasyfikowane do insulin posiłkowych, które wstrzykiwane są przed posiłkiem zwykle trzy razy dziennie. Dwa ostatnie rodzaje objęte są grup insulin podstawowych, które naśladowuj podstawowe wydzielanie insuliny endogennej. Zazwyczaj podaje się je s.c. raz lub dwa razy dziennie. Podstawowe wydzielanie insuliny naśladowuj również szybko działające analogi lub krótko działające insuliny ludzkie. Dzieje się tak tylko wtedy, gdy są one podawane i.v. w pompie infuzyjnej lub w ciągłym wlewie s.c. z osobistej pompy insulinowej.

Podaje się również doustne leki przeciwcukrzycowe, które pod względem chemicznym można zakwalifikowa jako pochodne biguanidu (metformina), pochodne sulfonylomocznika (gliklazyd, glikwidon, glimepiryd), inhibitor α -glukozydazy (akarboza), agonista receptora jądrowego PPAR- γ (pioglitazon), inhibitor kotransportera sodowo-glukozowego 2 (dapagliflozyna, empagliflozyna, kanagliflozyna).

Dodatkowo mogą być podawane leki inkretynowe, które również obniżają poziom glukozy według różnych mechanizmów. Ich działanie jest podobne do endogennego hormonu inkretynowego – GLP-1. Lekami, które działają jak antagoniści receptora GLP-1 to eksenatyd, liraglutyd, liksysenatyd, albiglutyd. Ich działanie opiera się na zwiększaniu zaleznego od glukozy wydzielania insuliny oraz hamowaniu wydzielania glukagonu. Drugą grup leków inkretynowych są inhibitory DPP-4 (linagliptyna, saksagliptyna, sitagliptyna, wildagliptyna). Hamują one inaktywacj endogennych inkretyn (GLP-1), a także zwiększają wraliwo komerek beta na glukoz.

Alternatywne metody leczenia to przeszczepienie trzustki, przeszczepienie wysp Langerhansa, zastosowanie wszczepialnej pompy insulinowej sterowanej glikemi, operacje bariatryczne, a także stosowanie inteligentnych polimerów jako nanoprzenonikw.

3. INTELIGENTNE POLIMERY JAKO NANONOŚNIKI INSULINY

3.1. ZARYS DZIAŁANIA INTELIGENTNYCH POLIMERÓW PODCZAS KONTROLOWANEGO PRZEDŁUŻONEGO UWALNIANIA INSULINY [15-24]

Iniekcyjne podawanie insuliny jest skutecznym sposobem regulowania stężenia glukozy we krwi, jednak bardzo uciążliwym i niekomfortowym. Naprzeciw tym problemom wyszli naukowcy zajmujący się DDS. Badania dotyczące inteligentnych polimerów i ich aplikacji w kontrolowanym, przedłużonym uwalnianiu insuliny są bardzo przyszłościowe. Nie tylko ułatwią one codzienne życie diabetyków, ale również mogą okazać się przełomowym odkryciem i zastosowaniem chemii polimerów.

Pierwszym parametrem, na którego zmiany potrafią reagować inteligentne polimery, jest wartość pH. Na zmianę odczynu środowiska szczególnie wrażliwe są polimery jonowe, które posiadają zasadowe lub kwasowe grupy boczne. Reakcja polimerów na zmianę parametru jest możliwa dzięki zastosowaniu jednej z dwóch poznanych strategii działania: zmiany konformacji jonizowanych grup w celu osiągnięcia rozpuszczalności, a także wykorzystanie wiązań wrażliwych na niskie wartości pH, które w odczynie kwaśnym ulegają rozerwaniu, a w trakcie tego zjawiska uwalniana jest cząsteczka zakotwiczona w szkielecie.

Rozróżnia się hydrożele anionowe lub kationowe. Pierwsze z nich są jonizowane przy wyższych wartościach pH niż pKa sieci polimerowej. Właściwość ta jest szczególnie ważna dla leków, których uwalnianie docelowe ma się rozpocząć w jelitach (górny odcinek jelita cienkiego i grubego). Cząsteczki biologicznie aktywne są zatem bezpieczne i chronione przed degradacją i denaturacją przy niskich wartościach pH żołądka. Na pęcznienie hydrożeli ma również wpływ siła jonowa roztworu. Dla wartości pH niższej niż wartość pKa, występuje minimalny wpływ siły jonowej na pęcznienie, ponieważ polimer znajduje się w stanie zwiniętym. Wraz ze wzrostem siły jonowej stopień spęcznienia zmniejsza się. Zjawisko to obserwujemy przy wyższej wartości pH niż pKa sieci polimerowej.

Druga grupa to hydrożele kationowe, które zjonizowane są przy niższych wartościach pH niż pKa sieci polimerowej. Ta grupa makrocząsteczek nadaje się do uwalniania leku w żołądku lub środowiskach wewnątrzkomórkowych przy dość niskich wartościach pH. Zatem w wyższych odcinkach układu pokarmowego (jama ustna, gardło, przełyk) lek ma zapewnioną ochronę. Dodatkowo, ze względu na niską rozpuszczalność hydrożeli kationowych przy pH obojętnym, stosuje się je także jako preparaty maskujące smak.

Innowacyjnym sposobem bezbolesnej iniekcji insuliny jest plaster polimerowy, który został opracowany w oparciu o technologię druku atramentowego HP. Jest on wyposażony w ultra cienkie igielki, które wprowadzają insulinę podskórną. Dodatkowo zawiera on mikroprocesor, który zarządza wprowadzaniem jednego lub kilku leków w ściśle ustalonych dawkach o konkretnej porze dnia.

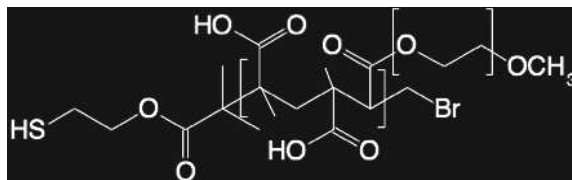
Poniżej przedstawiono niektóre polimery stosowane do kontrolowanego uwalniania insuliny podczas leczenia diabetologicznego.

3.2. POLI(KWAS METAKRYLOWY-g-GLIKOL ETYLENOWY) [25–32]

Poli(kwas metakrylowy-g-glikol etylenowy) to kopolimer PEG szczepiony PMAA otrzymany w wyniku polimeryzacji w suspensji. Polimer ten wykazuje właściwości hydrożelu anionowego wrażliwego na zmianę wartości pH otaczającego środowiska. Dzięki temu podawana p.o. insulina jest chroniona przed kwaśnym odczynem żołądka. Ochronę przed degradacją proteolityczną zapewnia zwinięty hydrożel, który chroni cząsteczki insuliny znajdujące się wewnątrz niego. Przy wyższych wartościach pH kompleksy ulegają dysocjacji, co powoduje szybkie pęcznienie żelu i uwolnienie leku w górnym odcinku jelita cienkiego. Udowodniono również, że łańcuchy PEG o masie cząsteczkowej 1000 wykazały najwyższy stopień skomplikowania przy niskich wartościach pH. Zaś największą liczbę kompleksów tworzą równomierne ilości MAA i PEG.

Dodatkowo, pod wpływem pH w kopolimerze P(MAA-g-EG) mogą być zrywane wiązania PEG. Odłączone cząsteczki polimerowe zaczynają działać jako mukoadhezyjne promotory na powierzchni polimerowej. Łańcuchy PEG przeplatają warstwę śluzu jelita cienkiego, tworząc wiązania wodorowe z komponentami polisacharydowymi. Mukoadhezja zdecydowanie zwiększa czas przebywania nośnika w miejscu wchłaniania, co sprzyja zwiększonej biodostępności. Ponadto łańcuchy PEG hamują działanie enzymów luminalnych zależnych od wapnia (trypsyna, α -chemotrypsyna). Jest to możliwe dzięki zdolności grup bocznych (karboksylowych) do chelatowania tego pierwiastka. Prowadzi to do lokalnego podwyższenia stężenia leku w miejscu absorpcji.

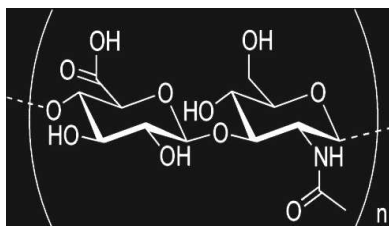
Badano P(MAA-g-EG) pod względem działania cytotoksycznego, elektrofizjologicznego i transportującego insulinę na monowarstwach enterocytów za pomocą linii komórkowej Caco-2. Stwierdzono, że hydrożele P(MAA-g-EG) wykazały niewielkie działanie cytotoksyczne niezależne od składu kopolimeru. Poza tym właściwości chelatujące Ca^{2+} odgrywają ważną rolę w określaniu zdolności i skuteczności hydrożelu do otwierania szczelnych połączeń, które regulują przenikanie przez szlak transportowy. W badaniach wykazano, że P(MAA-g-EG) może być cytokompatybilnym nośnikiem insuliny do enterocytów.



Rysunek 4. Cząsteczka poli(kwasu metakrylowego-g-glikolu etylenowego)
Figure 4. A poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol) molecule

3.3. KWAS HIALURONOWY [33–39]

Kwas hialuronowy (HA) jest polimerem naturalnym, który można zakwalifikować do anionowych glikozaminoglikanów. Polimer ten reaguje na zmieniającą się wartość pH środowiska. Odpowiedzialna jest za to grupa karboksylowa występująca w polimerze, jak również usieciowana struktura hydrożelu. Spekulowano, że HA jest opłacalną alternatywą dla doustnych układów dostarczania insuliny. Potwierdzono tę tezę badając skuteczność dostarczania leku przez szlak transkorynaryjny za pomocą nośników zbudowanych właśnie z kwasu hialuronowego. Wykazano zdecydowanie większą skuteczność niż w przypadku DDS z zastosowaniem P(MAA-g-EG).



Rysunek 5. Cząsteczka kwasu hialuronowego
Figure 5. A hyaluronic acid molecule

HA zaczęto wykorzystywać jako jeden ze związków chemicznych używanych w nowoczesnym sposobie dostarczania insuliny do krwi pacjenta – w inteligentnych plastrach insulinowych. System ten jest oparty na nanocząstkach, które zawierają oksydazę glukozy i insulinę. Ich ścianka zbudowana jest z kwasu hialuronowego skoniugowanego z 2-nitroimidazolem. Oksydaza działając na glukozę utlenia ją. Występuje zatem miejscowe niedotlenienie, które determinuje hydrofilowość ścianki nanocząstek. Powoduje to rozpuszczenie otoczki i uwolnienie insuliny. Zapoczątkowuje to nową, lepszą metodę podawania insuliny pacjentom diabetologicznym. Pozwala ona przede wszystkim na szybsze dostarczenie leku do ciała pacjenta niż zezwalają na to systemy oparte na zmianie wartości pH. Dodatkową innowacją jest stosowanie plastrów zbudowanych z usieciowanej matrycy HA. Plastry te posiadają ultracienkie igielki, które wprowadzają insulinę do tkanki pod-

skórznej, zanurzając się w płynie międzyfazowym. Prawidłowy poziom glukozy we krwi jest utrzymywany do dziewięciu godzin. Wykazano również, że seryjne podawanie inteligentnych plastrów pozwoliło na osiągnięcie długoterminowej kontroli poziomu glukozy we krwi.

3.4. KONIUGAT INSULINA-TRANSFERYNA [40-48]

Insulina i transferyna z wiązaniami disiarczkowymi tworzą koniugat, który ułatwia transkomórkowe dostarczanie białek terapeutycznych. Zdecydowanie poprawia to biodostępność doustną insuliny. Strategie oparte na połączeniu hydrożeli kompleksowych oraz koniugatów insuliny-transferyny dają obiecujące rezultaty. W celu badania modyfikacji insuliny podczas jej reakcji z transferyną dogodne jest użycie spektroskopii ESI-MS.

Transferyna jest białkiem, które pozwala na zwiększenie wychwytu środków terapeutycznych (tu: insuliny) przez komórki. Naturalnie jest ona zaangażowana w transport żelaza. Pobieranie transferyny zostało wykorzystane do zwiększenia transcytozy środków terapeutycznych i nośników leków w polaryzowanych komórkach nabłonkowych i śródbłonkowych.

Wykazano, że koniugat insuliny-transferyny wykazuje powolny i długi efekt hipoglikemiczny w porównaniu z insuliną natywną ludzką, która była podawana szczerom. Należy jednak pamiętać, że receptor transferyny występuje głównie w błonie śródbłonkowej komórek nabłonkowych, co może ograniczać wybór miejsca docelowego. Mimo tego insulina i czynnik stymulujący kolonie granulocytów sprzężone z transferyną były transportowane przez monowarstwy komórek Caco-2. Komórki te służą jako dobrze scharakteryzowany model jelita *in vitro*. Umożliwia to ocenę zdolności przechodzenia substancji chemicznych przez barierę jelitową.

Transport koniugatu insulina-transferyna opiera się na hydrożelach kompleksujących. Przykładem polimeru wchodzącego w skład takiego kompleksu jest P(MAA-g-EG) opisany w Rozdziale 3.2. Wyróżnia się wiele zalet takiego połączenia. Przede wszystkim insulina w postaci skoniugowanej jest chroniona przez steryczną przeszkodę jaką jest transferyna. Atak proteolityczny jest zatem utrudniony. Dodatkowo, ze względu na potencjał hydrożeli i wykorzystywanej przez niego mukoadhezji, większość koniugatu zostaje uwolniona dopiero w jelicie cienkim, w którym będzie on przebywał przez dłuższy czas. Należy podkreślić, że koniugat może przechodzić przez barierę jelitową drogą transkomórkową, w której pośredniczą receptory transferyny. Może to dodatkowo zwiększyć wchłanianie insuliny.



Rysunek 6. Częsteczka transferyny [baza: Protein Data Bank]
Figure 6. A transferrin molecule [base: Protein data Bank]

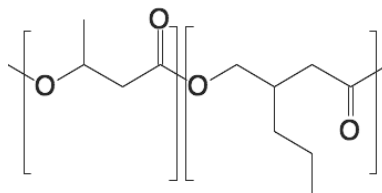
3.5. POLI(HYDROKSYMAŚLAN-CO-HYDROKSYHEKSANIANU) [49-52]

PHBHHx może być zastosowany jako inteligentny polimer służący do kontrolowanego, przedłużonego uwalniania insuliny tylko dzięki zastosowaniu nanocząsteczek ulegających biodegradacji przez fosfolipidy insuliny. Wykazuje on kulisty kształt o średniej wielkości cząsteczek 186,2 nm, potencjale dzeta $-38,4$ mV i skuteczności wyczytywania równej 89,73%.

Poprzednio PHBHHx był używany jako nanoprzełącznik leków hydrofobowych. Właśnie ze względu na jego silne właściwości lipofilowe, insulina nie może być w nim przechowywana, gdyż wykazuje silne powinowactwo do wody. Aby kapsułkować hydrofilowe leki w lipofilowe lub hydrofobowe materiały, należy stosować metodę podwójnej emulsji. Ze względu na jej niską wydajność, szukano nowych metod.

Wykazano, że kompleks fosfolipidowy leku zdecydowanie zwiększa lipofilość insuliny, a to pozwala na jej kapsułkowanie. Równie ważną substancją jest dezoksychołan sodu. Jako związek powierzchniowo czynny, zwiększa on ujemny ładunek powierzchni przedstawiony jako potencjał dzeta nanocząstek. Umożliwia utrzymanie stabilności nanocząsteczki poprzez oddziaływanie elektrostatyczne. Równocześnie zapobiega to agregacji cząsteczek i wyciekowi insuliny.

Ze względu na mały rozmiar cząsteczki PHBHHx a jednocześnie wysoki potencjał dzeta nanocząstek istnieją trudności z oddzieleniem leku od otoczki polimerowej.



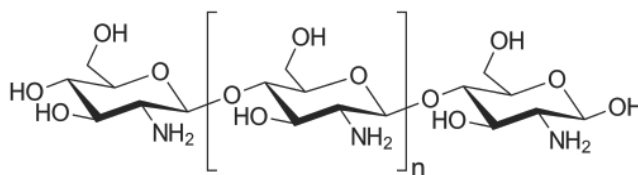
Rysunek 7. Cząsteczka poli(hydrokomaślanu-co-hydroksyheksanianu)
Figure 7. A poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) molecule

3.6. CHITOZAN [53-63]

Chitozan jest liniowym polisacharydem złożonym z *D*-glukoaminy oraz *N*-acetylo-*D*-glukoaminy. Cząsteczka ta jest stabilna w środowisku zasadowym i obojętnym. Dopiero przy niskich wartościach pH zachodzi protonowanie wolnych grup aminowych. Prowadzi to do zwiększenia jego rozpuszczalności.

Chitozan pozwala na dostarczanie insuliny doustnie, donosowo i podskórnice. Dzięki mechanizmowi mukoadhezyjnemu przedłuża się czas retencji uwalniania insuliny. Chroni ją także przed przedwczesną enzymatyczną degradacją. Stosuje się również chitozan modyfikowany chemicznie o małym ciężarze cząsteczkowym, który zwiększa hydrofilowość. Jego połączenie z kwasami tłuszczowymi (występującymi w postaci nanocząstek hydrofobowych) zwiększa biodostępność farmakologiczną – absorpcję insuliny przez tkanki limfatyczne. Pozytywny wpływ chitozanu na dostarczanie przezsłuzówkowe insuliny opiera się na jego zdolności do otwierania szczelności połączeń międzykomórkowych nabłonka. Ułatwia to transport leku poprzez redystrybucję F-aktyny, która warunkuje przepływ na drodze parakomórkowej.

Obserwowano różne postaci połączenia insulina-chitozan (lub jego pochodnych): płynna mieszanina, nanocząsteczki, nanokompleksy, mieszanina proszków, mikrocząstki, liposomy, dojelitowe kapsułki, tabletki, hydrożele. Wykazano [62, 63], że biodostępność farmakologiczna insuliny jest o 20% większa niż podczas podawania iniekcyjnego.



Rysunek 8. Cząsteczka chitozanu
Figure 8. A chitidan molecule

UWAGI KOŃCOWE

Inteligentne polimery znajdują szerokie zastosowania w kontrolowanym uwalnianiu insuliny w miejscu docelowym. Dzięki temu możliwe jest stałe kontrolowanie stężenia glukozy w organizmie pacjenta i utrzymywanie go na odpowiednim poziomie. Jest to szczególnie ważne u osób chorych, które na co dzień muszą się borykać z uciążliwym i bolesnym podskórnym wstrzykiwaniem leku.

Nanonośniki wykorzystują różne schematy działania – m.in. stężenie glukozy oraz zmieniające się wartości pH w układzie pokarmowym człowieka. Ze względów toksykologicznych preferowane są biodegradowalne makrocząsteczki, które powlekać, inkorporują, kompleksują lub wiążą cząsteczki leku w jonitach.

Badania dotyczące inteligentnych polimerów i ich aplikacji w kontrolowanym, przedłużonym uwalnianiu insuliny są bardzo przyszłościowe. Mogą one nie tylko ułatwić codzienne życie diabetyków, ale również stać się przełomowym odkryciem chemii polimerów.

PODZIĘKOWANIA

Składam serdeczne podziękowania Pani dr hab. Ewie Witek za cenne uwagi dotyczące pracy i poświęcony czas. Dziękuję również Kolegom: studentowi medycyny Bartoszowi Franczakowi za pomoc merytoryczną oraz Konradowi Dąbrowskiemu za weryfikację tekstu angielskiego.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R. Ukielski, P. Sobiecki, *Polimery*, 2008, **53**, 793.
- [2] T. Takagi, *Proc. Int. Symp. Microsys. In-tell. Mater. Robots*, 1995, 3.
- [3] C.A. Rogers, *Sci. Am.*, 1995, **273**, 154.
- [4] T.M. Allen, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2002, **2**, 750.
- [5] J.M. Harris, R.B. Chess, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2003, **2**, 214.
- [6] G. Orive, E. Anitua, *Nat. Rev. Neurosci.*, 2009, **10(9)**, 682.
- [7] B. Devasier, K. Sanghyo, *Polymer Nanoparticles for Smart Drug Delivery*, Intech, 2014.
- [8] M. Sobczak, E. Ołędzka, W.L. Kołodziejcki, R. Kuźmicz, *Polimery*, 2007, **52**, 411.
- [9] K.E. Uhrich, S.M. Cannizzaro, R.S. Langer, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 3181.
- [10] K.I. Rother, *N. Engl. J. Med.*, 2007, 1499.
- [11] N. Campbell, J. Reece, L. Urry, M. Cain, S. Wasserman, P. Moinorsky, R. Jackson, *Biologia*, REBIS, Poznań 2013.
- [12] F.S. Greenspan, D.G. Grandner, *Endokrynologia ogólna i kliniczna*, Wydawnictwo Czelej, Lublin 2004.
- [13] A. Klein, *Molekularne mechanizmy regulacji hormonalnej*, Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2010.
- [14] B. Zahorska-Markiewicz, E. Małecka-Tendera, *Patofizjologia kliniczna*, Elsevier, Wrocław 2009.
- [15] P. Gajewski, A. Szczeklik, *Interna Szczeklika, Medycyna Praktyczna*, Kraków 2016.

- [16] S. Mura, J. Nicolas, P. Couvrer, *Nat. Mater.*, 2013, **12**(11), 991.
- [17] B. Kim, N. Peppas, *Biomed. Microdevices*, 2003, **5**(4), 333.
- [18] R. Siegel, B. Firestone, *Macromolecules*, 1988, **21**(11), 3254.
- [19] A. Khare, N. Peppas, *Biomaterials*, 1995, **16**(7), 559.
- [20] S. De, N. Aluru, B. Hohnson, *J. Microelectromech. Syst.*, 2002, **11**(5), 544.
- [21] K. Raemdonck, J. Demeester, S. Smedt, *Soft Matter.*, 2004, **5**(4), 707.
- [22] T. Yoshida, T.C. Lai, G.S. Kwon, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2013, **10**(11), 1497.
- [23] D. Douroumis, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2011, **8**(5), 665.
- [24] *Rewelacyjny, inteligentny plaster HP* [online], Hewlett-Packard, [dostęp: 13.05.2017] <http://www.mojacukrzyca.org/?a=text&id=1373>
- [25] A.M. Lowman, M. Morishita, M. Kajita, T. Nagai, N.A. Peppas, *J. Pharm. Sci.*, 1999, **88**(9), 933
- [26] J. Klier, A.B. Scranton, N.A. Pappas, *Macromolecules*, 1990, **23**(23), 4944.
- [27] L. Sharpe, A. Daily, S. Horawa, P. Nicholas, *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2014, **11**(6), 901.
- [28] C.L. Bell, N.A. Pappas, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, 1996, **7**(8), 671.
- [29] A.M. Lowman, N.A. Peppas, *Polymer*, 2000, **41**(1), 73.
- [30] N.A. Pappas, Y.B. Huang, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004, **56**(11), 1675.
- [31] Y. Huang, W. Leobandung, A. Foss, *J. Control. Release*, 2000, **65**(1), 63.
- [32] A.M. Lowman, M. Morishita, M. Kajita, T. Nagai, N.A. Pappas, *J. Pharm. Sci.*, 1999, **88**(9), 933.
- [33] H. Ichikawa, N. Peppas, *J. Biomed. Mater. Res.*, 2003, **67**(2), 609.
- [34] G. Pitarresi, E.F. Craparo, F.S. Palumbo, B. Carlisi, G. Giammona, *Biomacromolecules*, 2007, **8**(6), 1890.
- [35] C. Fiorica, G. Pitarresi, F.S. Palumbo, A. Abruzzo, R. Altomare, G. Damiano, M.C. Giovale, G. Tomasello, M. Licciarde, V.D. Palumbo, G. Giammona, A.I. Monte, *Int. J. Polym. Sci.*, 2014, ID 689390.
- [36] L.N. Han, Y.F. Zhao, L.F. Yin, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 2012, **13**(3), 836.
- [37] J. Yu, Y. Zhang, Y. Ye, R. DiSanto, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2015, **122**, 8260.
- [38] M. Cros, Elsevier, 2016, **63**, 143.
- [39] Z. Zhu, H. Luo, W. Lu, H. Luan, Y. Wu, J. Luo, Y. Wang, J. Pi, C.Y. Lim, H. Wang, *Pharm. Res.*, 2014, **31**(12), 3348.
- [40] *Insulinowy plaster zamiast zastrzyków*. [online], PAP, [dostęp: 13.05.2017] <http://naukawpolsce.pap.pl/aktualnosci/news,405699>.
- [41] C.Q. Xia, J. Wang, W.C. Shen, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2000, **295**, 594.
- [42] D. Shah, W.C. Shen, *J. Pharm. Sci.*, 1996, **85**, 1306.
- [43] S. Gosk, C. Vermehren, G. Storm, T. Moos, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2004, **24**, 1993.
- [44] S.V. Vinogradov, E.V. Batakova, A.V. Kabanov, *Bioconjug. Chem.*, 2004, **15**, 50.
- [45] J.R. Burdo, D.A. Antonettim, E.B. Wolpert, J.R. Connor, *Neuroscience*, 2003, **121**, 883.
- [46] N. Kavimandan, E. Losi, J. Wilson, J. Brodbelt, N. Peppas, *Bioconjug. Chem.*, 2006, **17**(6), 1376.
- [47] A. Widera, Y. Bai, W.C. Shen, *Pharm. Res.*, 2004, **21**, 278.
- [48] I.D. Angelis, L. Turco, *Curr. Protoc. Toxicol.*, 2011, **20**(6), 47.
- [49] Q. Peng, Z.R. Zhang, T. Gong, G.Q. Chen, X. Sun, *Biomaterials*, 2012, **33**(5), 1583.
- [50] B. Sarmiento, S. Martins, D. Ferreira, E.B. Souto, *Int. J. Nanomedicine*, 2007, **2**, 743.
- [51] S. Xie, S. Wang, B. Zhao, C. Han, M. Wang, W. Zhou, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2008, **67**, 199.
- [52] F. Cui, K. Shi, L. Zhang, A. Tao, Y. Kawashima, *J. Control. Release*, 2006, **114**, 242.
- [53] T.W. Wong, *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.*, 2009, **3**(1), 8.
- [54] S. Sadigh-Eteghad, M. Talebi, M. Farhoudi, J. Mahmoudi, B. Reyhani, *Neurosciences*, 2013, **18**(3), 281.
- [55] L. Chanoong, D.W. Lee, *Carbohydrate Polymers*, 2015, **117**(6), 887.
- [56] Y. Gao, L. He, H. Katsumi, T. Sakne, *Int. J. Pharm.*, 2008, **359**, 70.

- [57] M.R. Avadi, A. Jalali, A.M. Sadeghi, *Int. J. Pharm.*, 2005, **293**, 83.
- [58] A.H. Krauland, D. Guggi, A. Bernkop-Schnurch, *J. Control. Release*, 2004, **95**, 547.
- [59] H. Tozaki, J. Komoike, C. Tada, *J. Pharm. Sci.*, 1997, **86(9)**, 1016.
- [60] Y. Pan, Y.J. Li, H.Y. Zhao, J.M. Zheng, H. Xu, G. Wei, J.S. Hao, F.D. Cui, *Int. J. Pharm.*, 2002, **249**, 139.
- [61] S. Mao, O. Germershaus, D. Fischer, T. Linn, R. Shnepf, *Pharm. Res.*, 2005, **22(12)**, 2058.
- [62] Z. Ma, T.M. Lim, L.Y. Lim, *Int. J. Pharm.*, 2005, **293**, 271.
- [63] S. Yu, Y. Zhao, F. Wu, Z. Wang, H. Niu, C. Li, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2008, **68**, 526.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 marca 2018