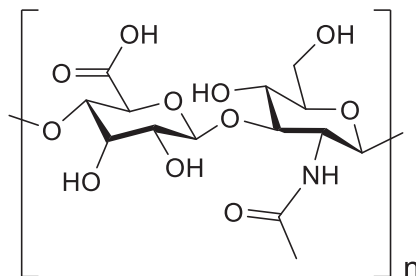


## Ein glucosesensitives, hyaluronsäurebasiertes, bioabbaubares Hydrogel zur *in vivo*-Messung des Blutzuckerspiegels

Gregor Uhlig, Daniela Franke, Gerald Gerlach. Technische Universität Dresden, Dresden/Deutschland

Nach aktuellen Schätzungen liegt die Wahrscheinlichkeit, im Laufe des Lebens an Diabetes Typ 1 oder 2 zu erkranken, bei über 10 % [1]. Beide Erkrankungen stellen ein hohes persönliches Risiko dar. Notwendige Grundlage für Behandlung und Prophylaxe ist die zuverlässige, kontinuierliche Messung der Glucosekonzentration im Blut. Im Interesse des Patienten sollte die eingesetzte Messmethodik möglichst wenig invasiv sein und eine hohe Biokompatibilität besitzen. Aufgrund ihrer einzigartigen Eigenschaften sind stimuli-responsive Hydrogele hier von besonderem Interesse [2]. Die Eignung responsiver Hydrogele für sensorische Anwendungen wurde in den letzten Jahren bereits eingehend untersucht. Im Besonderen sei hier auf die erfolgreiche Anwendung in piezoresistiven Drucksensoren hingewiesen [3].

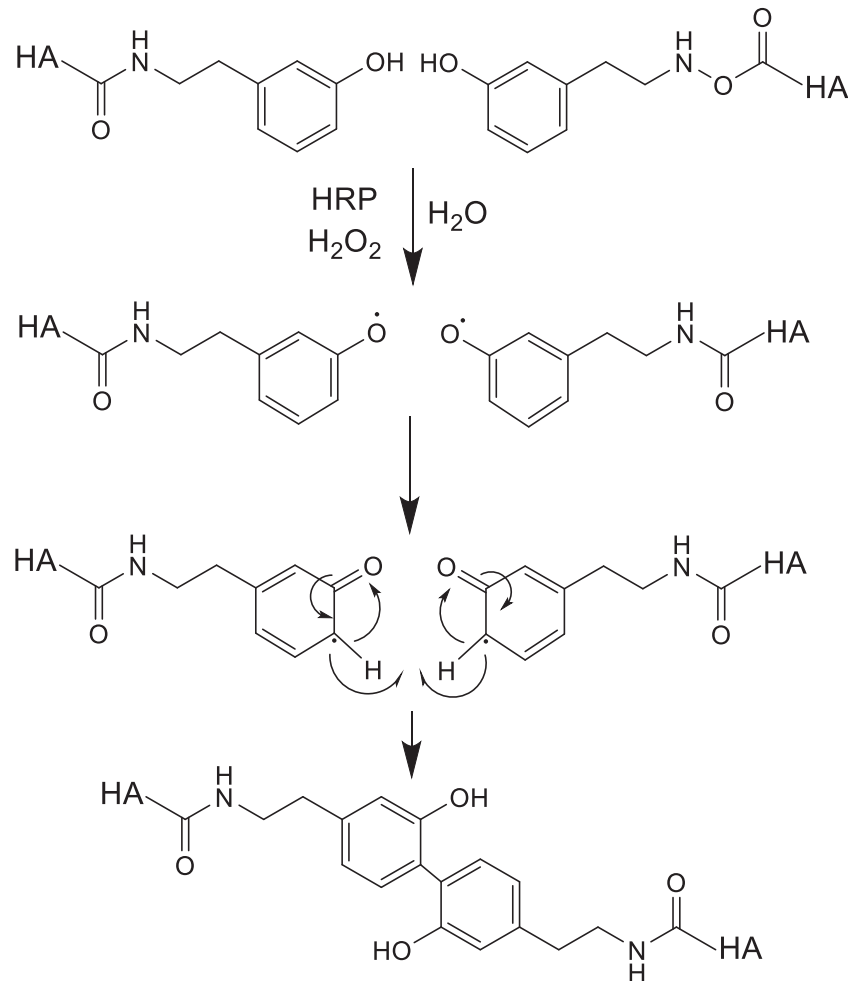
Ziel der hier vorgestellten Arbeit soll die Etablierung und Charakterisierung eines neuartigen glucosesensitiven Hydrogels auf Basis von Hyaluronsäure sein. Hierbei handelt es sich um ein Biopolymer (Abbildung 1), welches ein integraler Bestandteil der Extrazellulären Matrix sowie der Gelenkflüssigkeit ist. Aufgrund ihrer exzellenten Biokompatibilität, Bioabbaubarkeit und guten Funktionalisierbarkeit ist Hyaluronsäure Gegenstand intensiver biomedizinischer Forschung [4]. Die Kombination der günstigen Eigenschaften dieses Biomaterials mit dem etablierten Konzept der hydrogelbasierten Sensoren eröffnet vielversprechende Möglichkeiten im Bereich der Glucosemessung.



**Abbildung 1:** Wiederholeinheit der Hyaluronsäure

Zur Synthese eines Hydrogels aus freier Hyaluronsäure müssen die einzelnen Hyaluronsäureketten untereinander vernetzt werden. Hierzu wird Tyramin-funktionalisierte Hyaluronsäure (Substitutionsgrad: 5,3 % [Lifecore®]) eingesetzt. Die

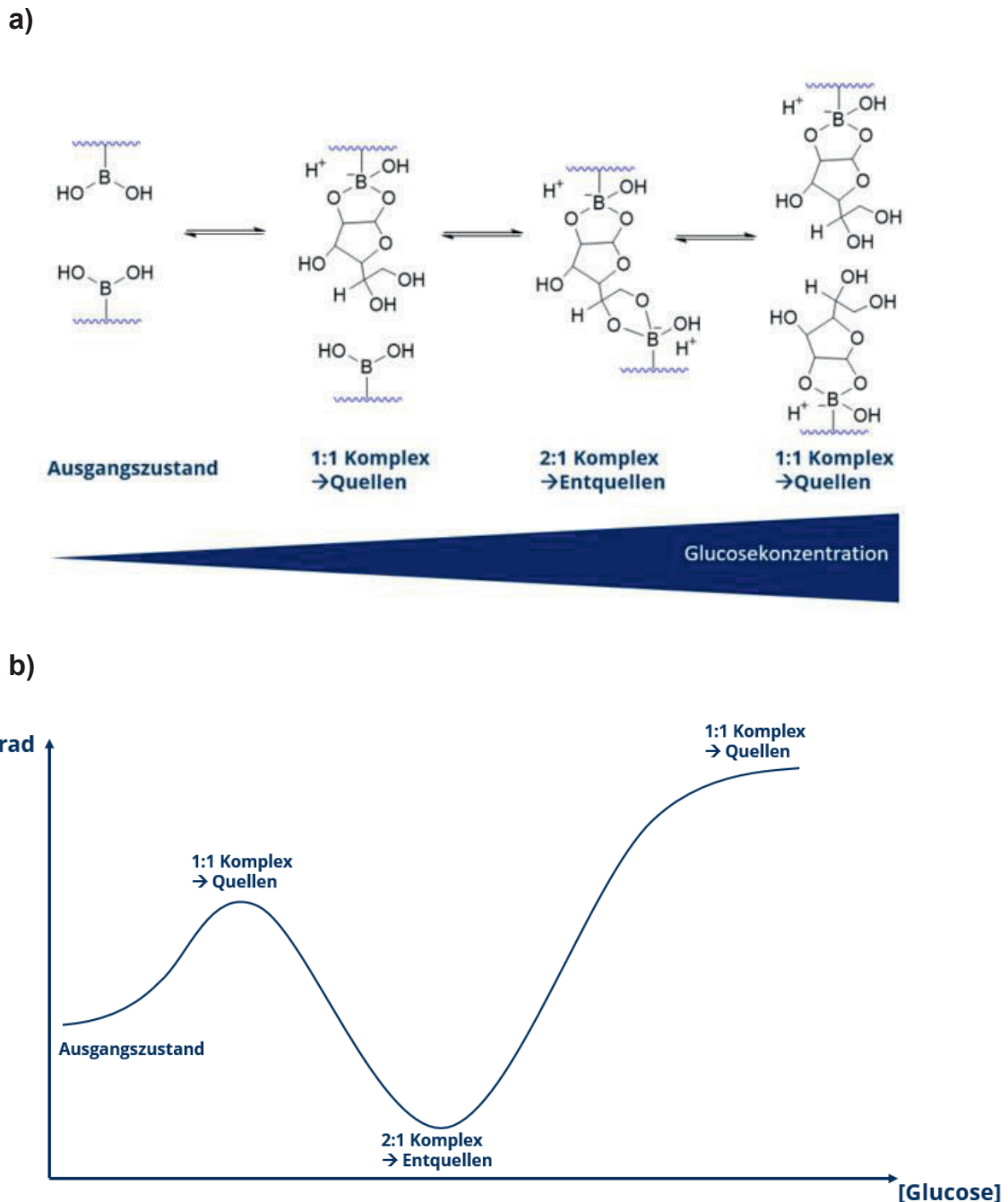
Vernetzung erfolgt über peroxidasevermittelte oxidative Phenolkupplung zwischen den einzelnen Tyraminresten (Abbildung 2).



**Abbildung 2:** Oxidative Phenolkupplung zwischen den Tyraminresten zur Hyaluronsäurevernetzung

Neben der Vernetzung der freien Hyaluronsäure zum Hydrogel stellt die Funktionalisierung hin zur Glucosesensitivität einen entscheidenden Schritt dar. Für andere Hydrogelsysteme hat sich hier die Einführung von Phenylboronsäuren ins Hydrogelnetzwerk bewährt [5]. Boronsäuren sind als starke Lewisäuren in der Lage, mit jeweils zwei freien Hydroxylresten der Glucose reversibel zu (Lewis-Säure-Base-) Komplexen zu reagieren. Diese Komplexe tragen eine freie Ladung, was zum Quellen des Netzwerkes führt. Je nach Glucosekonzentration und Boronsäuregehalt des Netzwerkes können jedoch auch zwei Boronsäurereste dasselbe Glucosemolekül binden. Dies führt in Folge einer Kettenkontraktion zum Entquellen (Abbildung 3a).

Somit ergibt sich ein dynamisches Quellverhalten, welches sich auf die gewünschte Anwendung fein optimieren lässt (Abbildung 3b).



**Abbildung 4:** a) Bildung der Boronsäure-Glucose-Komplexe, welche zu Quell- und Entquellvorgängen führen

b) Schematische Darstellung des zu erwartenden Quellverhaltens

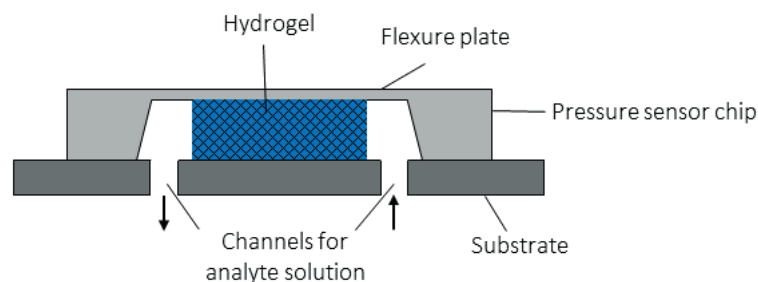
Mit den hergestellten PBA-funktionalisierten Hyaluronsäurehydrogelen wurden Quellversuche bei verschiedenen Glucosekonzentrationen (gelöst in phosphatgepufferter Salzlösung [PBS]) durchgeführt (**Tabelle 1**). Für einen theoretischen PBA-gehalt\* von 80 mol% (bezogen auf die Zahl freier COOH-Gruppen im Gelnetzwerk), wurde für eine Konzentration von 10 mM Glucose in PBS mit ca. 23 % der größte Quellgrad bestimmt. Diese Konzentration liegt nahe am physiologisch relevanten Bereich von 3 - 8 mmol [1].

\* Der tatsächliche PBA-Gehalt wurde bisher nicht analytisch erfasst, daher wird hier mit dem theoretischen Maximum gearbeitet

mol% PBA	10 mM Glucose	20 mM Glucose	30 mM Glucose
20	10,5 %	5 %	5 %
40	6 %	8 %	4 %
60	6 %	0 %	6 %
80	23,2 %	- 7 %	- 7 %

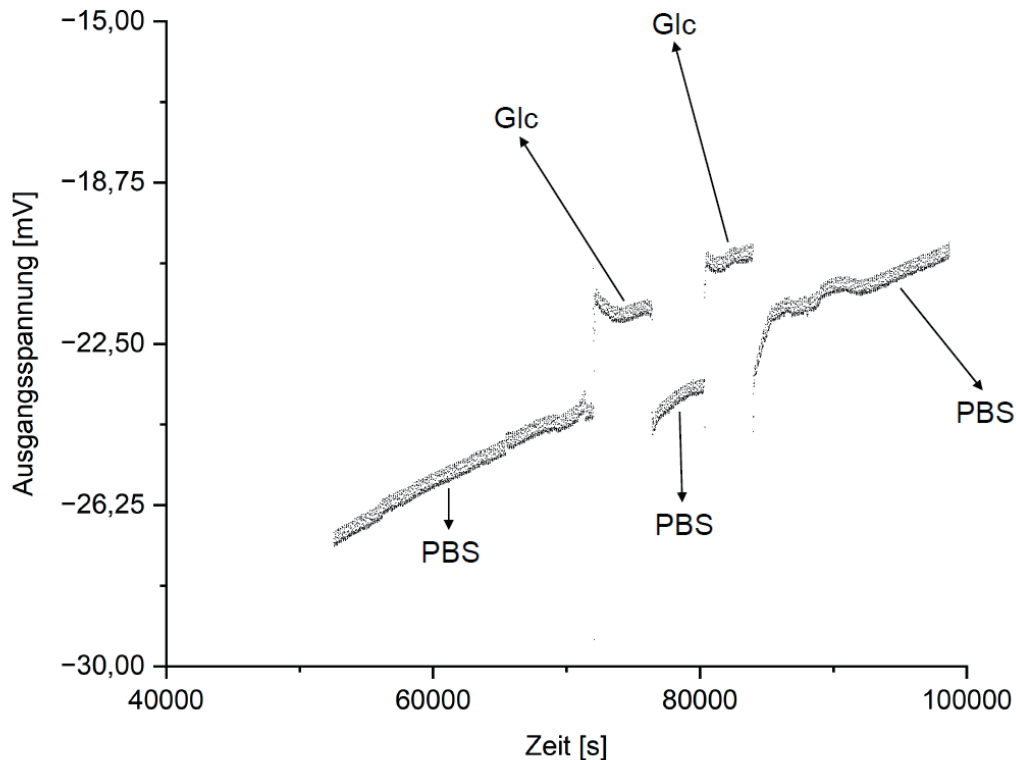
**Tabelle 1:** Ermittelte Quellgrade für verschiedene PBA-Gehalte in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration (in PBS)

Ein Quellgrad von 23 % ist ausreichend hoch, um das Quellverhalten in einem geeigneten Sensorchip messtechnisch zu erfassen. In diesem Falle wurde ein piezoresistiver Drucksensorchip, welcher als Durchflusszelle arbeitet, genutzt. Dessen prinzipieller Aufbau ist in **Abbildung 4** dargestellt und wurde in früheren Veröffentlichungen im Detail beschrieben [6][7].



**Abbildung 4:** Schematische Darstellung des zur Messung des Quelldrucks eingesetzten piezoresistiven Drucksensorchips

Zur Messung des Quellverhaltens wurde der Chip zunächst mit PBS eingespült. Anschließend wurden durch Wechsel des Mediums auf 10 mol% Glucose in PBS Sprungversuche durchgeführt. Zur Evaluation des Quellverhaltens wurde die Ausgangsspannung des Chips über der Zeit aufgetragen ( Abbildung 5).



**Abbildung 5:** Messung der Ausgangsspannung nach sprüpförmigen Änderungen des Mediums von PBS zu 10 mol% Glucose in PBS (Glc). Piezoresistiver Drucksensorchip. Hyaluronsäurehydrogel mit 80 mol% PBA

Aus dem in Abbildung 5 dargestellten Diagramm lassen sich zwei zentrale Aussagen ableiten. Zum einen zeigt das in den Chip eingebrachte Hyaluronsäurehydrogel eine deutliche Sensitivität auf Glucose. Zum anderen spricht es sehr schnell auf einen Wechsel des Quellmediums an. Problematisch ist, dass es auch nach 48 h Einlaufzeit nicht gelungen ist, das System zu equilibrieren, was am ausgeprägten Driftverhalten der Grundlinie erkennbar ist. Eine mögliche Ursache für das andauernde Driftverhalten könnte im besonderen rheologischen Verhalten der Hyaluronsäure zu finden sein. Für freie Hyaluronsäure ist bekannt, dass diese nicht nur strukturviskos ist, sondern auch thixotropes Verhalten zeigt [8].

Es ist grundsätzlich denkbar, dass sich ein ähnliches Verhalten auch im chemisch vernetzten Hydrogel zeigt. Dies würde bedeuten, dass sich die Steifigkeit des Gels unter der stetigen Krafteinwirkung im Chip kontinuierlich ändert.

Für die Zukunft ist geplant, das hier eingesetzte Gelsystem rheologisch zu untersuchen, um die getroffenen Annahmen zu evaluieren.

#### **Literatur:**

- [1] R. Paprott, K. Mühlenbruch et al. *BMJ Open Diabetes Res. Care* **2016**, 4:e000280
- [2] N. A. Peppas, J. Z. Hilt et al. *Advanced Materials* **2006**, 18, 1345–1360.
- [3] U. Schmidt, C. Jorsch et al. *J. Sens. Sens. Syst.* **2016**, 5, 409-417
- [4] E. Ahmadian, S. M. Dizaj et al. *Drug. Res.* **2019**, 70, 6-11
- [5] C. Zhang, M. Losego and P. V. Braun, *Chem. Mater.* **2013**, 25, 3239-3250
- [6] Gerlach, G. ; Arndt, K.-F. (Hg.): *Hydrogel sensors and actuators*, Kapitel 5 und 7, Springer, 2009
- [7] V. Schulz et al. *Procedia Engineering* **2011**, 25 , 1141-1144
- [8] Chi. H. Lee, V. Moturi, Y. Lee, *J. Control. Release* **2009**, 136, 88-98