

インスリン透過制御機能を持つ ポリアクリル酸グラフト化 ePTFE 膜の調製条件の考察

日大生産工(院) ○高橋 靖宏
日大生産工 柏田 歩・松田 清美
山田 和典・平田 光男

【緒言】

糖尿病は生活習慣病の一つであり、治療はまず食事療法、運動療法を行ない、効果が得られない場合にインスリン療法が施される。インスリンの投与形態には、注射による投与や経口薬による投与がある。薬物を投与する際、必要な部分に必要なだけ薬理効果を作用させて、副作用を抑えるドラッグデリバリーシステム(DDS)が注目されているが、本研究では糖尿病患者に対するインスリン療法への DDS の構築を目的としている。

DDS には、pH、温度などの外部環境に対する刺激応答性を利用した生体適合性高分子を用いたものが提案されている¹⁾。

これまで我々は、延伸 PTFE(ePTFE)フィルムにアクリル酸(AAc)を 2 回グラフト重合して、さらにグルコースオキシターゼ(GOD)とカタラーゼを PAAc 鎖に共有結合法によって固定化させて、pH 7.80 のリン酸緩衝溶液下でインスリンの透過制御を行なってきた²⁾。PTFE は丈夫で化学的に不活性なので体内でも用いることができる。また PAAc は pH 応答性高分子の一つであり、pH が高いと膨潤し、低いと収縮する。

本研究では、血液(ヒト)の pH が 7.35~7.45 であるので、より実用性を高めるためにリン酸緩衝溶液の pH を 7.40 にし、AAc の光グラフ

ト重合時の反応時間を長く、また反応温度を変化させて、従来よりも直鎖の高分子鎖を形成させて、より効率よくインスリンの透過制御をできるようにすることを試みた。

【実験】

1. ePTFE-g-PAAc フィルムの調製

ePTFE フィルムの片面に酸素プラズマ処理を施し、酸素雰囲気下でフィルム表面に酸素含有基を形成させた。その後、光増感剤であるベンゾフェノンフィルム上に塗布し、脱気した濃度 1 mol/L の AAc 水溶液中に浸漬させて、出力 400 W の高圧水銀灯から波長 365 nm 付近の近紫外光を照射し 40°C、また 60 °C でそれぞれ 2~7 時間、光グラフト重合を行なった。ここで、それぞれ 7 時間光グラフト重合したフィルムを ePTFE-1g40d7h-PAAc、ePTFE-1g60d7h-PAAc フィルムとする。さらに、60°C で 2 時間、2 回光グラフト重合したフィルム(ePTFE-2g60d2h-PAAc)も調製した。また、グラフト率(Grafting ratio)は次の式によって算出した。

$$\text{Grafting ratio} = \frac{\text{Amount of grafted PAAc (g)}}{\text{Amount of untreated ePTFE film (g)}} \quad (1)$$

2. GOD とカタラーゼの固定化

1. で調製した ePTFE-g-PAAc フィルムを pH 6.30 のリン酸緩衝溶液に 24 時間浸漬させた後、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)によりグ

Consideration of preparation condition of PAAc grafted ePTFE film
with a function of Insulin permeation control

Yasuhiro TAKAHASHI, Ayumi KASHIWADA, Kiyomi MATSUDA,
Kazunori YAMADA and Mitsuo HIRATA

ラフト鎖を活性化させ、GOD とカタラーゼ、および縮合剤である 1-シクロヘキシル-3-2-(モルフォリノエチル)カルボジイミド-メソ-p-トルエンスルホネート(CMC)を反応させて、GOD とカタラーゼを PAAc 鎖に固定化させた ePTFE-g-PAAc フィルム(ePTFE-g-PAAc-i-GOD &catalase フィルム)を調製した。

3. インスリン透過制御実験

pH 7.40 に調製したリン酸緩衝溶液に 24 時間浸漬させた ePTFE-g-PAAc-i-GOD&catalase フィルムを、グラフトした側を透過側に向けて透過装置に固定し、供給側にインスリンを含む緩衝溶液(濃度 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$)、透過側には供給側と同じ pH の緩衝溶液を入れて実験を開始した。30 分毎に透過側の溶液の吸光度を測定してインスリン透過量を求めた。また、グルコースに応答した透過制御実験をする場合には、実験開始 90 分後にグルコース 0.18 g を透過側に加えた。

【結果・考察】

40 °C と 60 °C で、それぞれ 2~7 時間光グラフト重合して調製した ePTFE-g-PAAc フィルムのグラフト率と重合時間の関係を Fig. 1 に示す。60 °C でグラフト重合したものは、グラフ

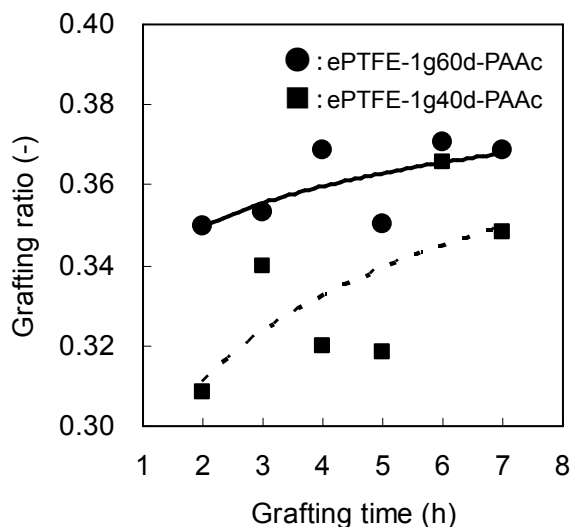


Fig. 1 Changes of grafting ratio with grafting time

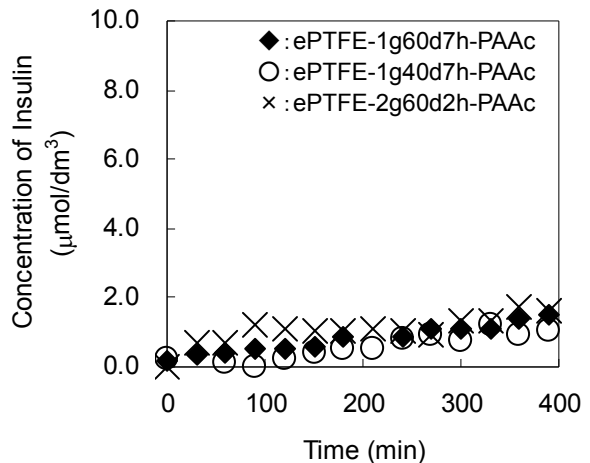


Fig. 2 Changes in the Insulin permeabilities through ePTFE-g-PAAc-i-GOD&catalase

ト重合を始めてから 6 時間ほどでほぼ一定になった。次に ePTFE-1g40d-PAAc, ePTFE-1g60d-PAAc フィルム, および ePTFE-2g60d-PAAc フィルムに GOD とカタラーゼを固定化したフィルムを用いたインスリン透過制御実験の結果を Fig. 2 に示す。1 回グラフト重合しただけでも、長時間グラフト重合することによって十分インスリンの透過を制御できる PAAc 鎖が重合できることがわかった。さらに、温度を 40°C にしてグラフト重合を行なった、グラフト率が低いフィルムを用いてもインスリン透過制御ができた。このことより 40°C でグラフト重合した時には、枝分かれの少ない、より長い PAAc グラフト鎖ができてることが考えられる。これらの結果から、酸素プラズマ処理を施した ePTFE フィルムに PAAc をグラフト重合させる時に、40°C, また 60°C でも長時間グラフト重合するとインスリンの透過をよく制御するフィルムが調製できることがわかった。

【参考文献】

- 1) Masatoshi Kidowaki et.al., *Drug Delivery System*, **21**, 592-598(2006)
- 2) 高橋靖宏, 松田清美, 柏田歩, 山田和典, 平田光男, 第 56 回高分子学会年次大会予稿集, 1769(2007)