

グルコース応答機能を有する ePTFE-g-PAAc-i-GOD/Catalase film の

生体内薬物放出デバイスへの応用

日大生産工 (院) ○小林 悠太

日大生産工 柏田 歩・松田 清美・山田 和典・平田 光男

[緒言]

ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)はフッ素系樹脂の一つであり、その表面エネルギーの低さから化学的安定性・撥水性などの長所を持つ。また、その性質からエンジニアリングプラスチックとして広範な用途で展開している。反面、その不活性さから表面の機能化や接着は困難である。そこで、本研究では PTFE を延伸した多孔質膜(ePTFE film)に酸素プラズマ処理を行うことで表面にペルオキシラジカルを生成し、光グラフト重合により pH 応答性高分子のポリアクリル酸(PAAc)を導入する。これにより、ePTFE フィルムの孔を pH に応答して透過-不透過を切り替えられる pH 応答性高分子膜(ePTFE-g-PAAc film)が調製できることが確認されている。その PAAc グラフト鎖にグルコースオキシダーゼ(GOD)とカタラーゼ(Catalase)を固定化し、ePTFE-g-PAAc film をグルコース応答膜として機能させ、グルコースに応答して薬物を放出する糖尿病治療を対象とした生体内薬物放出デバイスの構築を目指す[1] [2]。また、表面処理にアルゴンプラズマ処理を用いることで酸素プラズマ処理より多量のラジカルが生成することが報告されているため、プラズマ処理方法についても検討する[3] [4]。

[実験]

ePTFE film(直径 47 mm, 孔径 0.5 μm , 空隙率 78 %, 膜厚 75 μm)に酸素プラズマ処理を 2 分間行い、酸素含有基を形成させた後、増感剤として 0.0275 mol/dm³ に調製したベンゾフェノンのアセトン溶液をフィルム表面に塗布した。このフィルムを、十分に脱気した濃度 2.0 mol/dm³ の AAc 水溶液 50 cm³ と共に反応管に入れ、窒素で十分置換する。その後、光グラフト重合装置(リコーロータリー光化学反応装置

RH400-10W)を用いて、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、反応温度 40°C で 6 時間光グラフト重合を行い、ePTFE-g-PAAc film を調製した。また、アルゴンプラズマ処理を 30 秒間行い調製したフィルム、アルゴンプラズマ処理を 30 秒間を行い増感剤を使用せずにグラフト重合を行ったフィルムも同様に調製した。

調製したフィルムを pH 6.30 のリン酸緩衝溶液に 24 時間浸漬させた後、濃度 0.043 mol/dm³ になるように pH 6.30 リン酸緩衝溶液で調製した NHS 溶液に 2 時間浸漬し、グラフト鎖中のカルボキシル基を活性化させた。その後、ePTFE-g-PAAc film を pH 6.30 のリン酸緩衝溶液で洗浄し、GOD 約 8.3 mg, カタラーゼ約 5.0 mg, CMC 0.25 g を pH 6.30 のリン酸緩衝溶液で 100 cm³ に調製した酵素溶液に 4 時間浸漬して、グラフト鎖中のカルボキシル基と酵素中のアミノ基間で共有結合によって、酵素固定化を行った。こうして GOD とカタラーゼを固定化したフィルムを ePTFE-g-PAAc-i-GOD/Catalase film とした。

ePTFE-g-PAAc-i-GOD/Catalase film のグルコース応答性を確認するため、インスリン透過実験を行った。pH 7.40 のリン酸緩衝溶液に 24 時間浸漬させた ePTFE-g-PAAc-i-GOD/Catalase film を、表面を機能化させ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(濃度 10.0 $\mu\text{mol/dm}^3$)を含むリン酸緩衝溶液 100 cm³, 透過側には、同じ pH のリン酸緩衝溶液 100 cm³ のみを入れて、36 °C の恒温水槽中で実験を行った。実験開始 90 分後透過側にグルコースを加え、15 分毎に透過側の溶液を 275 nm の波長で吸光度を測定してインスリン透過量を求めた。

Application of glucose-responsive ePTFE-g-PAAc-i-GOD/Catalase film to intravital drug-release device

Yuta KOBAYASHI, Ayumi KASHIWADA, Kiyomi MATSUDA, Kazunori YAMADA, and Mitsuo HIRATA

[結果・考察]

酸素プラズマ処理を施し調製したフィルムを O₂PT film, アルゴンプラズマ処理を施し調製したフィルムを ArPT film, 増感剤を用いずに調製したフィルムを NS film とした。各フィルムの IR 測定結果を Fig. 1 に示す。

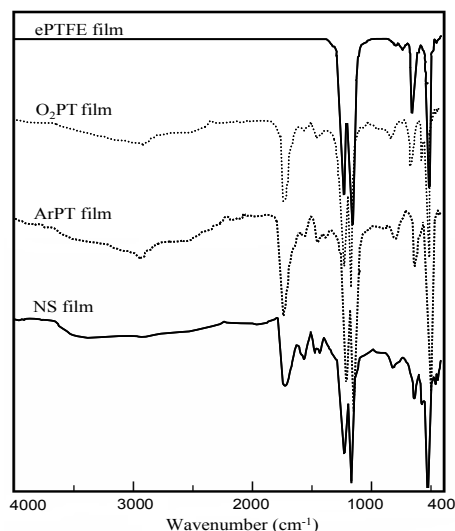


Fig. 1 IR spectra of ePTFE-g-PAAc films

グラフト化を行った全てのフィルムで 1700 cm⁻¹ 付近に C=O, 3000cm⁻¹ 付近に OH のピークが検出されたことから, PAAc のカルボキシル基由来のものであると判断した。このことから, グラフト化を行った全てのフィルムで PAAc の導入が確認できた。

また, グラフト前後のフィルムの重量から式 (1)を用いてグラフト率を算出した結果を Fig. 2 に示す。

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

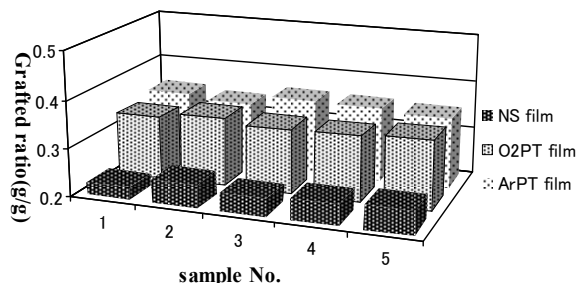


Fig. 2 Grafted ratio of ePTFE-g-PAAc films

NS film のグラフト率は低くなり, O₂PT film と ArPT film のグラフト率は, ほぼ同じとなった。

各フィルムに酵素を固定化し, インスリン透過実験を行った結果を Fig. 3 に示す。

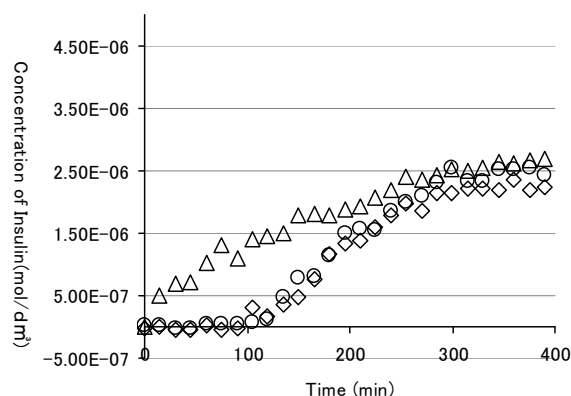


Fig. 3 Changes in the Insulin permeabilities through ePTFE-g-PAAc-i-GOD/Catalase film (△O₂PT film, ○ArPT film, and △NS film)

O₂PT film と ArPT film では 90 min まではインスリンの透過が抑制され, グルコースを添加した後フィルムがグルコースに反応してインスリンが放出された。しかし, NS film ではグルコースを添加する前からインスリンが透過しており, インスリンの透過を抑制できるほどの PAAc グラフト鎖が導入できていなかったと考えられる。

[まとめ]

Ar プラズマ処理を用いることで, 短時間で酸素プラズマ処理と同等の効果が得られることがわかった。また, 増感剤を使用しなくとも PAAc をグラフト化できることがわかった。しかし, インスリンの透過を抑制できるほどのグラフト率は得られなかった。

[展望]

今回は同じモノマー濃度でグラフト重合を行ったため, AAc 水溶液の濃度を変え, 増感剤を用いずに高グラフト率のフィルムが得られるか検討し, インスリンの透過制御を目指す。

[参考文献]

- [1] M. Kidowaki, *Drug Delivery System*, **2006**, 21, 592. [2] S. Sershen, J. West, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2002**, 54, 1226. [3] Chen Wang, Jie-Rong Chen, *Applied Surface Science*, **2007**, 253, 4599-4606. [4] Y. Mei, *J. Biomed. Mate. Res. PartA.*, **2006**, 79A, 974.