

グルコース応答膜を用いた投薬デバイスの構築

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

日大総研 平田光男

[緒言]

汎用高分子の表面改質は、基質である高分子材料の表面に他の機能性高分子材料を導入することで、基質の高分子材料にはない機能を付与させる。温度、pH、光など、特定の環境変化に応答して物性を大きく変化させることのできる刺激応答性高分子を導入した高分子材料は、工業的だけではなく、医学的にも活用されている。そこで、本研究では汎用高分子の表面改質を利用し、生体適合性高分子材料であり、化学的にも不活性で丈夫であるポリテトラフルオロエチレン (PTFE) を延伸した多孔質膜 (ePTFE フィルム) に pH 応答性高分子のポリアクリル酸 (PAAc) を酸素プラズマ処理及び光グラフト重合によって導入する。これにより、ePTFE フィルムの孔を pH に応答して透過-不透過に切り替えられる pH 応答性高分子膜 (ePTFE-g-PAAc フィルム) 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) を同時に固定化し、ePTFE-g-PAAc フィルムをグルコース応答膜として機能させ、糖尿病治療を対象とした投薬デバイスの構築を目指す[1][2]。

[実験]

ePTFE フィルム (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施し、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とアセトンの混合溶液に 30 秒間浸漬してフィルム表面にベンゾフェノンを塗布した。このフィルムを、十分に脱気した濃度 2.0 mol/dm³ の AAc 水溶液約 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℃ で 6 時間光グラフト重合を行い、ePTFE-g-PAAc フィルムを調製した。

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、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 フィルムを 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-GOD&Catalase フィルムとした。

ePTFE-g-PAAc-GOD&Catalase フィルム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-GOD&Catalase フィルムを、酸素プラズマ処理、および光グラフト重合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 (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℃ 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。

Construction of medication device by use of glucose-responsive film

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

[結果・考察]

インスリン透過制御実験の結果をFig. 1に示す。Fig. 1より、グルコースを加える90分までインスリンの透過が抑制されていることが確認できた。しかし、グルコース応答速度が遅いため投薬デバイスとして用いることはできないと判断し、固定化酵素を増加させる必要があると考えた。PTFE表面にグラフトしたPAAcグラフト鎖にアスパラギン酸を縮合してカルボキシル基を増加させた後、酵素を固定化することで固定化酵素量の増加及びそれに伴うグルコース応答速度の向上が期待できると考えた。

そこで、同様に調製したePTFE-g-PAAcフィルムにアスパラギン酸を縮合し、そのフィルムについてFT-IR, ESCAにより表面の解析を行った(Fig. 2, 3)。

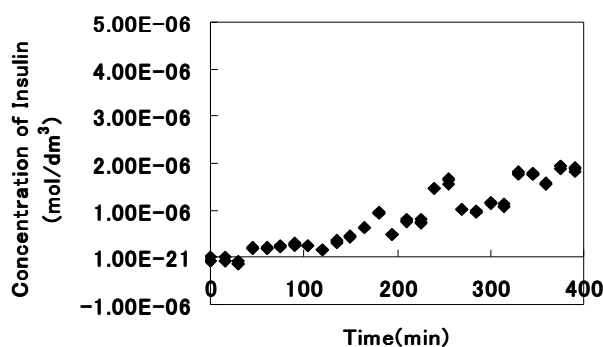


Fig. 1 Changes in the Insulin permeabilities through ePTFE-g-PAAc-i-GOD&Catalase film

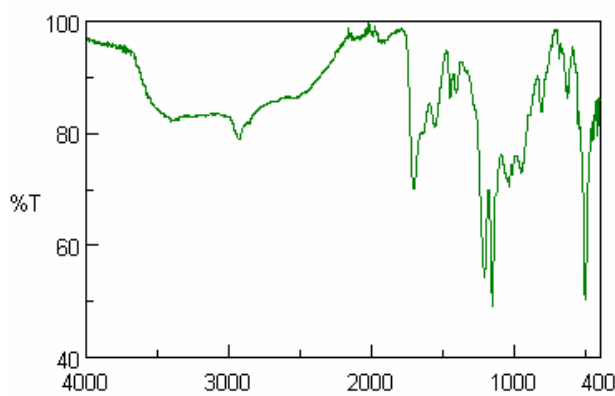


Fig. 2 IR spectrum of ePTFE-g-PAAc-Asp film

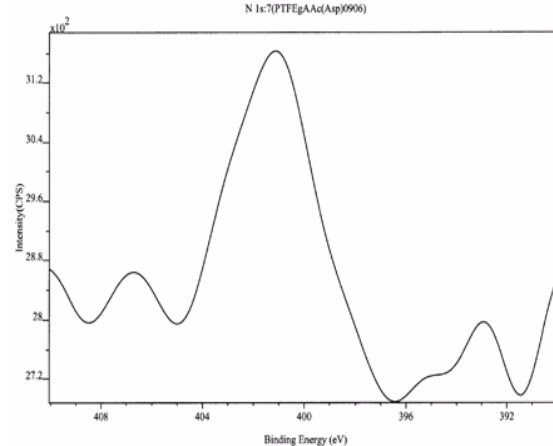
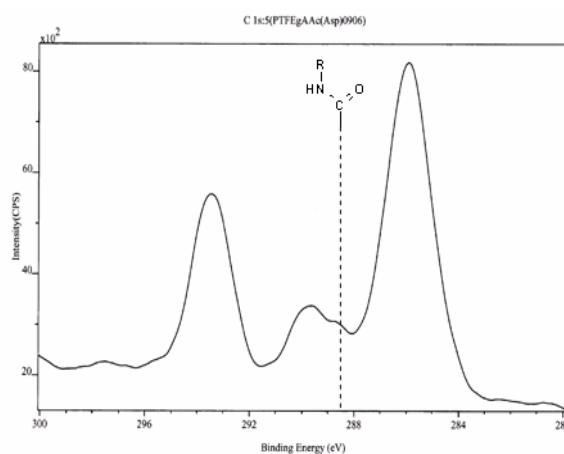


Fig. 3 ESCA spectra of ePTFE-g-PAAc-Asp film

Fig. 2, 3より、アスパラギン酸の縮合によるアミド結合のピークを確認できた。また窒素の存在を確認できたことから、アスパラギン酸の導入を確認できた。

[展望]

アスパラギン酸を縮合させたフィルムにGOD及びカタラーゼを固定化し、インスリン透過制御実験を行う。またアスパラギン酸と類似した構造をもつグルタミン酸についても検討を行う。

[参考文献]

- [1] M. Kidowaki, *Drug Delivery System*, **21** (2006) 592.
- [2] S. Sershen, J. West, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54** (2002) 1226.