

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：31602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790168

研究課題名(和文) 血糖値認識能を有する次世代型インスリン投与システムの構築

研究課題名(英文) Development of a novel self-regulated insulin release system

研究代表者

小野 哲也(Ono, Tetsuya)

奥羽大学・薬学部・助教

研究者番号：70433555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：ニトロキシラジカルを結合したピロールを単量体に用いた電解重合により、ニトロキシラジカル修飾電極を作製した。この修飾電極を作用電極に用いて、アミン類を含む電解液中で電位掃引することにより、アミン類の電解触媒酸化反応が可能であった。また、ベンジルアミンの電解触媒酸化反応に伴う酸化電流値は、ベンジルアミンの濃度依存的に変化することが明らかとなり、定量への利用も可能であったことから、この手法で作製した薄膜上の機能性分子は、その化学的特性を維持したまま利用可能であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The TEMPO-modified electrode prepared by the electrochemical polymerization of TEMPO precursor containing pyrrole side chain exhibits electrocatalytic activity for the oxidation of primary and secondary amines. Cyclic voltammetric studies showed that the peak current of the cyclic voltammogram increased linearly with the increasing concentration of amine in the sample solution.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：ドラッグデリバリー

1. 研究開始当初の背景

効果的な薬物送達システムの構築を目指した取り組みが各地で行われており、とりわけ、マイクロおよびナノエレクトロメカニカルシステム (MEMS, NEMS) を用いたシステムが、必要な薬物を必要な部位に必要な量だけ供給できることから注目され、実用化に向けて *in vivo* での検討まで行われている。しかし、薬物放出制御の目的で電位を印加するための回路を組み込むなど、この手法を用いるためには複雑なシステムを必要とし、装置の大きさのために外科的手術を必要とすることや、高価であることが解決の困難な問題点である。

2. 研究の目的

回路等の複雑なシステムを利用せず、化学的な反応のみで血糖値を感知して、自動で治療薬物を放出するような薬物投与システムを構築する。これにより、一日に複数回の注射による薬物投与を必要としている患者の負担軽減や、薬物過剰投与による副作用の回避等、医療現場において様々な利益が期待される。

3. 研究の方法

電解重合法を利用して作製することで、薬物の取り込みおよび放出を自由に行うことが可能となる薄膜に、機能性分子を修飾することで、2つの機能を併せ持った機能性薄膜を作製した。電解重合は、重合単量体および支持塩を含む電解液中で、サイクリックボルタメトリー (CV) を用いて電位掃引することにより行い、ITO 電極および白金電極上に機能性薄膜を作製した。

(1) 糖濃度依存的な化学変化を示す機能性分子としてフェニルボロン酸を用い、電解重合の単量体となるピロールに共有結合により結合させて、重合単量体とした。また、薬物のモデル化合物として、中性でインスリンと同様に電荷を形成し、且つ紫外可視吸収を有するアスピリンを用いた。グルコース含有水溶液中におけるアスピリンの放出量の定量は、紫外可視分光光度法により行った。

(2) フェニルボロン酸誘導体は、電気化学的活性を有していないために、薄膜上への固定化量を算出することが困難である。そこで、モデル化合物としてニトロキシラジカルを用いて、(1)と同様にピロールに共有結合により結合させて重合単量体とした。

作製したニトロキシラジカル修飾電極を作用電極として用い、アミン類を種々の濃度で含有する電解液中で電位掃引することにより、アミン類の電解触媒酸化反応を行った。

(3) 薄膜上への機能性分子の固定化量を増加させて、機能性薄膜中での糖濃度依存的な化学変化量の増加を達成すべく、電極表面へのグラフェン修飾について検討した。電極上へのグラフェン修飾は、グラフェンオキシド

ドを含有するリン酸緩衝液中で、CV により $-1.5 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ まで電位掃引することにより、電極表面で還元された還元グラフェンオキシドを電極表面に固定化する方法で行った。

作製したグラフェン修飾電極を用いて (1) および (2) と同様に電解重合を行い、種々の条件での機能性薄膜の作製制御について検討した。

4. 研究成果

(1) フェニルボロン酸を、電解重合可能な単量体であるピロールに結合させて、CV により電解重合することで、フェニルボロン酸を含有する機能性薄膜を作製可能であった。しかし、グルコース含有水溶液中への薄膜中からの薬物放出量の制御、また、フェニルボロン酸の薄膜上への固定化量の算出が困難であり、精密な機能性薄膜作製条件を決定することができなかつたため、以下の検討を行った。

(2) ニトロキシラジカルを結合させた重合単量体とともに、電解重合可能な単量体である 2,2'-ピチオフェンを用いて、CV により電解共重合させることで、ニトロキシラジカルの薄膜上への固定化量を自由に制御可能であった。この結果は、フェニルボロン酸結合ピロールを単量体に用いた場合でも、同様にフェニルボロン酸の薄膜上への固定化量を制御可能であることを示すものである。

作製したニトロキシラジカル修飾電極を作用電極に用いて、アミン類を含む電解液中で電位掃引することにより、アミン類の電解触媒酸化反応が可能であることが明らかとなった。また、ベンジルアミンの電解触媒酸化反応に伴う酸化電流値は、電解液中のベンジルアミンの濃度依存的に増加することが明らかとなった (図 1、図 2)。

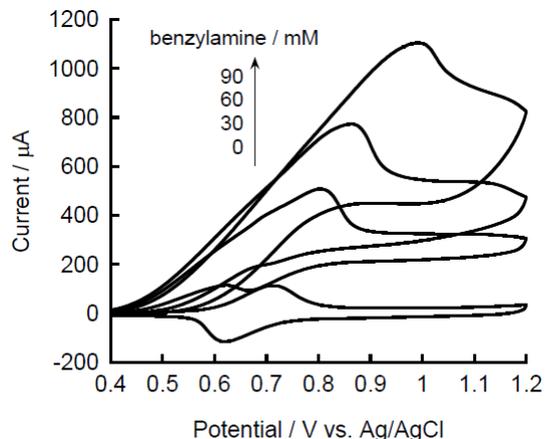


図 1 ベンジルアミン (0~90 mM) 存在下におけるニトロキシラジカル修飾電極のサイクリックボルタモグラム (掃引速度: 40 mV s^{-1})

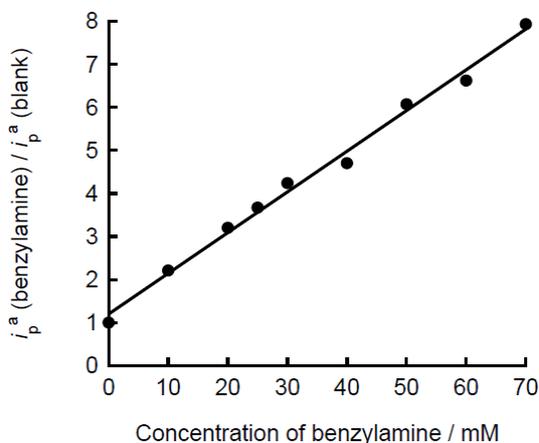
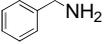
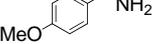


図2 ニトロキシラジカル修飾電極を用いた CV のベンジルアミン濃度変化に伴う酸化電流値の変化

これらの結果は、電解重合により作製した薄膜上の機能性分子の化学的特性は維持されており、特定の物質の濃度を検出可能であることを示すものである。この結果により、フェニルボロン酸を機能性分子として用いた場合にも、ニトロキシラジカルと同様に、薄膜上で糖濃度依存的な化学変化を引き起こすことが示唆された。

次に、種々のアミン類を基質として電解液中に含有させて検討したところ、この修飾電極は、種々のアミン類の電解触媒酸化反応にも利用可能であった(表1)。

表1 ニトロキシラジカル修飾電極を作用電極に用いたときの、アミン類の CV における触媒電流値(触媒電流: アミン存在下における酸化電流値のアミン非存在下に対する増加比率)

| Substrate | Catalytic Current | Substrate | Catalytic Current |
|---|-------------------|---|-------------------|
|  | 9.4 |  | 2.6 |
|  | 10.1 |  | 3.3 |
|  | 7.1 |  | 9.8 |
|  | 8.6 | | |

これらの結果から、この手法で作製した機能性薄膜において、薄膜上に固定化された機能性物質は、その活性を維持するとともに幅広い基質に適用可能であることも明らかとなった。

(3) 電極表面への還元グラフェンオキシドの固定化により、精密な増加比率の制御は困難であったものの、電極の表面積を1.2倍~3.5倍の範囲で増加させることが可能であった。

この手法で作製したグラフェン修飾電極

を用いた電解重合による機能性薄膜の作製を行ったところ、グラフェン未修飾時のニトロキシラジカル化合物の固定化量(5~8 nmol cm⁻²)に比較して、表面積の増加に伴い、その固定化量が10~60 nmol cm⁻²と、2倍程度まで増加することが明らかとなった。

以上、これらの研究成果から得られた手法を利用して機能性薄膜を作製することにより、より詳細な薄膜の作製制御が可能となることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yoshitomo Kashiwagi, Yumiko Takamori, Kentaro Yoshida, Tetsuya Ono, Electrochemical Copolymerization of Nitroxyl Radical Precursor Containing Pyrrole Side Chain and Bithiophene, *Electroanalysis*, 査読有, Volume25, Issue12, 2013, pp.2575-2577
DOI:10.1002/elan.201300357

〔学会発表〕(計 5 件)

佐藤 くるみ、小野 哲也、吉田 健太郎、柏木 良友、電解重合により作製した TEMPO 修飾グラフェン電極の電極反応挙動、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本

小野 哲也、小笠原 陵、佐藤くるみ、吉田 健太郎、柏木 良友、電解重合を利用したメディエーター修飾電極作製の効率化、第 43 回複素環化学討論会、2013 年 10 月 17 日、岐阜

小野 哲也、東条 直樹、吉田 健太郎、柏木 良友、電解重合により作製した TEMPO 修飾電極の電極反応挙動、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 29 日、横浜

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野 哲也 (ONO, Tetsuya)
奥羽大学・薬学部・助教、
研究者番号：70433555

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：