

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：31602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670083

研究課題名(和文) 機能性薄膜を用いたインスリン自動放出制御システムの構築と革新的DDSへの展開

研究課題名(英文) Construction of controlled insulin release system using functional thin films and its development to innovative DDS

研究代表者

小野 哲也(Ono, Tetsuya)

奥羽大学・薬学部・講師

研究者番号：70433555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：薄膜表面に固定化した機能性物質の挙動について詳細に調べる目的で、機能性物質として可逆的に酸化還元可能な触媒である2,2,6,6-テトラメチルピペリジン 1-オキシル(TEMPO)を用いて検討を行った。その結果、TEMPO修飾電極を用いることで水溶液系における糖類の酸化反応が可能であり、糖濃度依存的に酸化電流値の変化が得られたことから、定量への応用も可能であることが示唆された。さらに、均一系で触媒を用いた場合よりも高感度の定量も可能であった。これらの結果から、薄膜表面に固定化した機能性物質は、均一系で用いるときと同等またはそれ以上の活性を見出すことが可能であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We investigate the electrocatalytic activity of the TEMPO-modified electrode for the oxidation of carbohydrates in phosphate buffer solution under neutral aqueous solution. The modified electrode was prepared onto the surface of a glassy carbon electrode by the electrochemical polymerization of TEMPO precursor containing pyrrole side chain. Cyclic voltammetric studies showed that the anodic peak current of the cyclic voltammogram increased in the concentration of carbohydrates in a dose-dependent manner. On the other hand, in the CVs of the homogeneous TEMPO in the presence of carbohydrates, the oxidation peaks did not increase dramatically.

研究分野：物理化学

キーワード：電気化学 電解触媒反応

1. 研究開始当初の背景

効果的な薬物送達システム(DDS)を目指した様々な取り組みが各地で行われており、その中でも、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)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、実用化に向けた様々な検討が行われてきた。しかし、これらの手法では、薬物放出制御の目的で電位を印加するために回路を組み込むなどの複雑なシステムを必要とするため、必然的に装置が大きくなってしまふことや多大なコストがかかってしまふなど、実用化にはまだ課題があった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、薄膜中にインスリン貯蔵庫とグルコース濃度依存的なインスリン放出機能を同時に有する機能性薄膜を作製することである。この薄膜を作製して薬物投与システムに応用すれば、血糖値の上昇に伴いインスリンが血中に放出され、血糖値が正常レベルまで低下するとインスリンの放出が自動で停止するという、薬物放出完全自動制御型の全く新しい薬物投与システムとなる。本手法は、疾患の個人差による影響を一切受けず、糖尿病以外の疾患にも応用が可能であり、複数回投与や血中濃度モニタリングを必要とする薬物投与に極めて有用である。そのため、本システムの確立は服薬する患者および管理する医師それぞれの負担を劇的に改善するとともに、薬剤の過剰投与を自動で回避するため安全性にも優れており、現在の医療現場に広く普及し、多大な利益をもたらすものと期待される。

3. 研究の方法

(1) 機能性薄膜を用いた薬物の取り込みと糖濃度依存的な放出の検討

糖濃度依存的に構造変化を起こすフェニルボロン酸を連結した重合単量体を用い、その電解重合による機能性薄膜の作製について種々の条件で検討を行った。この機能性薄膜を薬物モデル化合物の存在下で作製することによって薄膜中への薬物の取り込みを行い、種々の濃度のグルコース水溶液への浸漬により、取り込んだ薬物の放出を行った。放出された薬物の定量には、紫外可視分光法を用いた。なお、重合はすべてサイクリックボルタンメトリー(CV)により行った。CVは作用電極にITO電極、参照電極に銀-塩化銀、対極に白金線を用いた3電極系で行った。電解重合は重合単量体(1~10 mM)を含むアセトニトリル溶液を電解液として、0 V~+1.4 Vの範囲での電位掃引により行った。

(2) ニトロキシラジカル修飾電極を用いたグルコースの水溶性系電解触媒酸化反応のpH依存性の調査

薄膜表面に固定化した機能性物質の様々なpH条件下における挙動を詳細に調べるため、代表的な可逆的酸化還元触媒である2,2,6,6-Tetramethylpiperidine, 1-oxyl(TEMPO)を電極上に固定化して、種々のpH条件下における触媒の挙動について考察を行った。修飾電極の作製及び電解触媒酸化反応の評価は、CVにより行った。CVは作用電極にグラッシーカーボン(GC)電極(3 mm)、参照電極に銀-塩化銀、対極に白金線を用いた3電極系で行った。電解重合はTEMPO修飾ピロール(10 mM)を含むアセトニトリル溶液を電解液として、0 V~+1.4 Vの範囲での電位掃引により行った。電解触媒酸化反応は、グルコース(0~100 mM)を基質として含むリン酸緩衝液(100 mM, pH 5~11)を電解液として+0.3 V~+0.9 Vの範囲で電位掃引を行い、反応に伴う酸化電流値の増加比率(酸化電流値比)を指標として評価した。また、比較対象として、同様のエステル構造を有する4-Ethoxycarbonyl-TEMPOを均一系で用いた。

(3) ノルトロピン型ニトロキシラジカル(NNO)を用いたアミン類の電気化学分析

水溶液中における機能性物質の挙動が、それ自身の立体的構造、電子的効果によりどのように変化するのかを詳細に調べるため、TEMPO以外の有機ニトロキシラジカル化合物について検討を行った。電解触媒酸化反応およびその評価は、すべてCVにより行った。CVは作用電極に金電極(3 mm)、参照電極に銀-塩化銀電極を用いた3電極系で、100 mMリン酸緩衝液(pH 7.4)を主な電解液とし、ニトロキシラジカル化合物としてNNOまたは1-メチル-2-アザアダマンタン-N-オキシ(1-Me-AZADO)またはTEMPO(0.5 mM)を基質として種々のアミン類(0~100 mM)を適宜混合して行った。

4. 研究成果

(1) 重合単量体の構造を種々変化させて重合を行ったところ、薄膜中への機能性物質の固定化量を制御可能であることが明らかとなった。具体的には、重合単量体の機能性物質と重合反応部位の間の炭素鎖の伸長により、固定化量が増加した。また、その連結部位の官能基の違いによっても固定化量が変化した。

次いで、薬物モデル化合物として、分子サイズの異なるアスピリンとエリオクロムブラックT等について、その取り込みと放出について検討を行ったが、ある程度の薬物の取り込みは確認できたものの、糖濃度依存的な放出には至らなかった。そのため、薄膜上の

機能性物質の挙動についてさらなる知見を得るために、(2)(3)の検討を行った。

(2) 電解重合法により作製した TEMPO 修飾電極を用いたグルコースの電解触媒酸化反応に伴う酸化電流値比は、均一系で 4-Ethoxycarbonyl-TEMPO を用いた場合と同様に、pH 5~11 までの範囲において pH を上げていくにつれて増加する傾向が認められた。また、ほとんどの pH 条件下において、TEMPO 修飾電極を用いることで均一系水溶液中における 4-Ethoxycarbonyl-TEMPO のグルコース電解触媒酸化反応よりも高い酸化電流値比が観察された(図1)。これらのことから、TEMPO の電極上への固定化により広い pH 範囲で水溶液中でのグルコース電解触媒酸化反応を効率的に行えることが明らかになった。

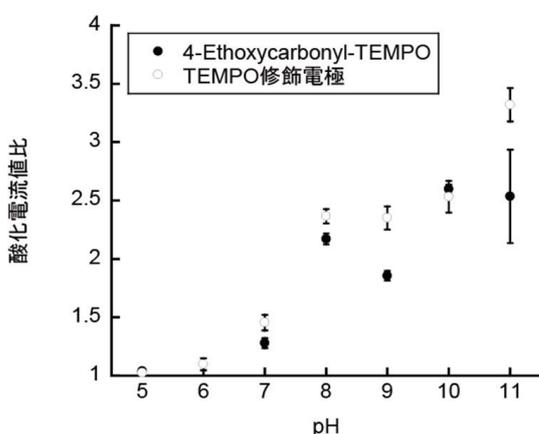


図1 4-Ethoxycarbonyl-TEMPOとTEMPO修飾電極の酸化電流値比; 100 mV s⁻¹

(3) NNO を電子移動メディエーターとして利用することで、室温下、中性リン酸緩衝液中でのアミン類の電解触媒酸化反応が可能であった。この反応は2級または3級アミン選択的に進行し、カルボン酸など他の官能基を含むアミノ酸などにおいても適用可能であった。また、反応に伴って観察される酸化電流の増加比率は、2級および3級アミン類の濃度に依存して大きくなった(図2)。これらの結果から、NNO の利用により温和な条件下でアミン類の水溶液系電解触媒酸化反応が可能であり、アミン類の定量にも応用可能であることが示唆された。

また、これら中性水溶液系条件下での酸化電流値の増加は、TEMPO ではほとんど観察されなかったものであり、1-Me-AZADOを用いた場合よりも、より顕著であった。その1例として、2級アミンを有するアミノ酸であるプロリンを基質として用いた場合の酸化電流値比の変化を図3に示す。

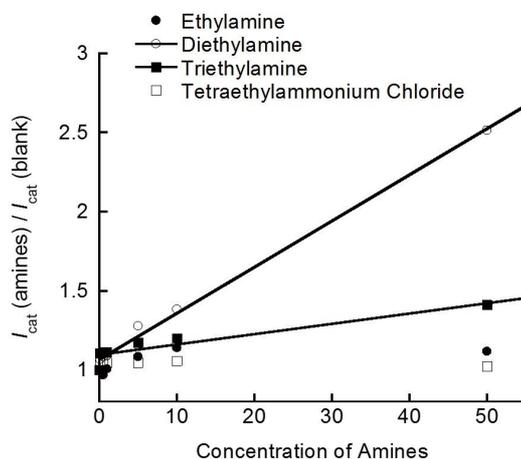


図2 エチルアミン類の濃度変化に伴う NNO の酸化電流値比の変化

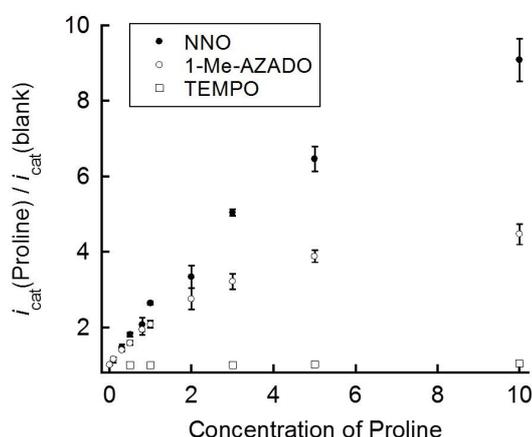


図3 プロリン濃度変化に伴う各ニトロキシラジカル化合物の酸化電流値比の変化

また、サルコシンや EDTA など、他のアミノ酸やアミノ基を有する化合物においても同様の結果が得られている。

これらの結果から、ニトロキシラジカル化合物の構造を適宜選択してこの手法を用いることで、様々な濃度範囲において種々のアミン類、アミノ酸類の定量が可能であ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)

Katsuhiko Sato, Tetsuya Ono, Kentaro Yoshida, Toshinori Ito, Yoshitomo Kashiwagi, Electrochemical Determination of D-Glucose Using Nortropine-N-Oxyl under Physiological Conditions, *Electroanalysis*, 査読有, Vol. 27, 2015, pp.2272-2274,

[学会発表](計4件)

清水 駿生、小野 哲也、吉田 健太郎、
柏木 良友、ニトロキシラジカル修飾電極
を用いた糖アルコールの中性水溶媒系電解
触媒酸化反応、第55回日本薬学会東北支部
大会、2016年9月25日、奥羽大学薬学部
(福島県・郡山市)

小野 哲也、和泉 かおる、佐藤 勝彦、
吉田 健太郎、柏木 良友、ノルトロピン型
ニトロキシラジカルを用いたアミン類の
電気化学分析、日本分析化学会第65年会、
2016年9月16日、北海道大学工学部(北
海道・札幌市)

和泉 かおる、小野 哲也、佐藤 勝彦、
吉田 健太郎、柏木 良友、ノルトロピン型
ニトロキシラジカルを用いたアミン類の
電解触媒酸化反応、日本薬学会第136年会、
2016年3月28日、パシフィコ横浜(神奈
川県・横浜市)

小笠原 陵、小野 哲也、佐藤 くるみ、
吉田 健太郎、柏木 良友、重合単量体構造
設計による電解重合複素環ポリマーの作製
制御、第44回複素環化学討論会、2014年9
月11日、札幌市民ホール(北海道・札幌市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野 哲也 (ONO, Tetsuya)

奥羽大学・薬学部・講師

研究者番号: 70433555