

ホスホリルコリン基含有芳香族ポリアミドの合成と生体適合性

下山田 直矢*¹・奥 正敬*¹・長瀬 裕*²・岩崎 泰彦*³・石原 一彦*⁴

Synthesis and biocompatibility of aromatic polyamides containing phosphorylcholine moiety

by

Naoya SHIMOYAMADA*¹, Masataka OKU*¹, Yu NAGASE*²,
Yasuhiko IWASAKI*³ and Kazuhiko ISHIHARA*⁴

(Received on September 30, 2006 & accepted on November 22, 2006)

Abstract

2-Methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) polymer has been reported to be an ideal biocompatible material. In this study, to develop the durability of phosphorylcholine (PC)-containing polymer, the synthesis of novel aromatic diamine compounds containing a PC group with different spacer structures was carried out to prepare aromatic polyamides with a PC moiety. The obtained polymers were soluble in specific solvents such as dimethylsulfoxide (DMSO), *N,N*-dimethylformamide (DMF) and 1-methyl-2-pyrrolidinone (NMP) at room temperature. This solubility of polymers is an advantage in the processing of medical devices. From the results of X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), the P_{2p} peak was clearly observed for the polymer surface coated under moisturized conditions. In addition, it was confirmed from the results of blood-contacting experiments that the PC-containing polyamide films coated under moisturized conditions exhibited blood compatibility, even though the PC content was about 20 mol% in contrast to polyamide without the PC unit.

Keywords: *Biocompatibility, Diamine monomer, Aromatic polyamides, Phosphorylcholine*

1. 緒言

医療分野で使われているデバイスの多くは高分子材料から作られており、その中にはポリエチレン (PE)、ポリ塩化ビニル (PVC)、ポリスルホン (PSf) などといった加工性に富んだ高分子材料が数多く使われている。これらの材料は生体分子との接触を免れることでできないため生体との適合性を必要とする。生体側が異物と認識することで血液凝固作用が起こり血栓を形成する。従来、この血栓形成を抑制するために抗凝固剤であるヘパリンと併用させる必要があった。しかし、長時間ヘパリンの投与を続けることで副作用 (ヘパリン起因性血小板減少症、骨多孔症、またアレルギー反応など) が起こるために、できるだけ併用を避けることが望ましい。そのため生体適合性をもつ表面を構築させた材料が必要となってくる。生体適合性のある材料としてポリジメチルシロキサン (PDMS)、セグメント化ポリウレタン (SPU)、またポリテトラフルオロエチレン (PTFE) などがあり、これらの材料は生体内外で短時間に限った使用であれば生体材料として問題はほとんどないが、長期間の使用と

なると生体分子と接触し続けることで生体の異物反応を受けてしまう。そのため医療デバイスとしても、さらに優れた生体適合性材料を作り出す必要がある。

そこで、最も理想的な生体適合性表面を有している生体膜に着目し、この生体膜と同様な表面を材料表面上に構築させることができれば優れた生体適合性材料を作り出せるであろうというコンセプトから、生体膜成分であるリン脂質極性基であるホスホリルコリン (PC) 基を導入した 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) ポリマーが開発された。この MPC ポリマー表面上では自由水含量が高く、また表面電位 (と電位) が 0 mV という電氣的に中性を示すことで静電的相互作用を引き起こすために生体分子との相互作用がないと報告されている。この MPC ポリマーは優れた生体適合性を示すだけでなく、親水性基である PC 基をもつことで高い保湿性を示すことが知られており、既にコンタクトレンズや化粧品などに実用化されている^{2,3)}。現在ではドラッグデリバリーシステム (DDS) や組織工学などに関する研究が数多くなされ、幅広い分野への応用性を秘めた材料として期待されている⁴⁻⁸⁾。

そこで、MPC ポリマーのもつ耐熱性や機械的強度などを改善することでさらなる用途の拡大を見込めるのではないかと考えた。主鎖に耐熱性や強度の高いポリアミド、ポリウレタン、ポリウレア、あるいはポリイミドなどを有し、側鎖に PC 基を含有するポリマーを合成することができれば十分な耐久性をも

* 1 工学研究科工業化学専攻博士前期課程
* 2 工学部応用化学科教授
* 3 東京医科歯科大学生体材料工学研究所助教授
* 4 東京大学工学研究科マテリアル工学専攻教授

つ生体適合性材料を作り出せるものと考えられる。また、特定の溶媒にのみ可溶性ポリマーとなれば成型加工も容易となり、医療現場で使われる水、アルコール系溶媒に不溶であれば、生体内外の使用による安全性という点において有利であると思われる。一方、材料の滅菌法には多くの手法があるが、その中でも120℃の蒸気により滅菌を行う高圧蒸気滅菌を行うことが耐熱性をさらに向上させることで可能となる。さらに、ポリマーの耐久性の向上によってポリマー単独による材料化が可能となる点においても有利といえる。以前、PC基含有芳香族ジアミンモノマーからポリウレタン-ウレアを合成し評価したことを報告した⁹⁾。本研究では、このジアミンモノマーと酸クロリドから重縮合反応を簡便に進めることができる点と、分子間で水素結合を有するために耐熱性や機械的強度に優れた材料が期待できるという点から主鎖骨格をポリアミドとし合成を試みた。得られたポリマーの基礎物性、表面特性、また血液適合性を評価したので報告する。

2. 実験

2.1 ホスホリルコリン基含有ジアミンモノマー(DAPC)の合成

2.1.1 3,5-ジニトロ安息香酸 2-ヒドロキシエチル(1a)の合成

アルゴン雰囲気下、滴下ロート内に3,5-ジニトロ安息香酸クロリド(10.0g, 43.4mmol)を入れテトラヒドロフラン(THF, 150mL)に溶解した。一方、三ツロフラスコ内でトリエチルアミン(TEA, 12.0mL, 86.7mmol)およびエチレングリコール(24.0mL, 434mmol)をTHF(340mL)に溶解し、氷水浴中にて滴下ロート内の溶液をゆっくり滴下させ一晩反応させた。反応後、反応溶液を過剰の蒸留水に注ぎ込みクロロホルムで抽出した。有機相を回収し無水硫酸ナトリウムで脱水ろ別した後、減圧下で溶媒を溜去した。次に、生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒：酢酸エチル/ヘキサン=1:3)にて精製後、1aを黄色固体として得た。

IR, ν (KBr, cm^{-1}) : 3221 (O-H), 3072, 3045, 2880 (C-H), 1724 (C=O), 1541 (C=C), 1344 (-NO₂), 1286, 1173, 1078 (C-O-C), 1012, 920, 844, 779.

¹H-NMR, δ (400MHz, CDCl₃, ppm) : 1.86 (1H, t, $J=5.74\text{Hz}$), 4.05 (2H, t, $J=5.86\text{Hz}$), 4.61 (2H, t, $J=3.78\text{Hz}$), 9.20 (2H, d, $J=2.20\text{Hz}$), 9.25 (1H, s).

上記の反応において、エチレングリコールの代わりにヘキサジオール、デカンジオール、ジエチレングリコール、およびトリエチレングリコールをそれぞれ用いて同様な反応を行い、構造の異なる化合物1b、1c、1d、および1eを合成した。構造と合成結果の詳細はScheme 1およびTable 1に示す。

2.1.2 2-[2-(3,5-ジニトロフェニルカルボニルオキシ)エチル]2-オキシ-1,3,2-ジオキサホスホラン(2a)の合成

アルゴン雰囲気下、三ツロフラスコ内にてジニトロ化合物1a(4.00g, 15.6mmol)およびTEA(8.66mL, 62.5mmol)をTHF(82mL)に溶解し、氷水浴中で攪拌しながら2-クロロ-2-オキシ-1,3,2-ジオキサホスホラン(2.87mL, 31.2mmol)をシリンジでゆっくりと滴下し、滴下後室温で2時間反応させた。その後、反応溶液に過剰のヘキサンを加え生じた沈殿物をろ別し、さらにこの沈殿物をクロロホルムで抽出後蒸留水で洗浄し、有機相を

回収して無水硫酸ナトリウムで脱水ろ別した。減圧下で溶媒を完全に溜去することで2aを白色固体として得た。

IR, ν (KBr, cm^{-1}) : 3077, 2886 (C-H), 1731 (C=O), 1533 (N-O), 1256 (P=O), 1003, 932, 741.

¹H-NMR, δ (400MHz, DMSO-d₆, ppm) : 4.5 (6H, m), 4.67 (2H, t, $J=4.27\text{Hz}$), 9.05 (2H, d, $J=2.20\text{Hz}$), 9.13 (1H, s).

上記の反応において、1aの代わりに1b、1c、1d、および1eをそれぞれ用いて同様な反応を行い、構造の異なる化合物2b、2c、2d、および2eを合成した。構造と合成結果の詳細はScheme 1およびTable 1に示す。

2.1.3 2-(3,5-ジニトロフェニルカルボニルオキシ)エチルホスホリルコリン(3a)の合成

アルゴン雰囲気下、ホスホラン化合物2a(7.29g, 20.1mmol)をナスフラスコ中で乾燥アセトニトリル(130mL)に溶解させた。この溶液を氷水浴中で十分に冷やした後、乾燥トリメチルアミン(3.57mL, 40.2mmol)を加え、容器を密封して60℃で一晩反応させた。反応終了後、溶媒を半分程度溜去させることで沈殿物を生じたのでこれをろ別し、その後真空乾燥させ、3aを淡青色固体として得た。

IR, ν (KBr, cm^{-1}) : 3412, 2961, 2891 (C-H), 1730 (C=O), 1545 (-NO₂), 1285 (P=O), 1076 (C-O-C), 962, 924, 731.

¹H-NMR, δ (400MHz, DMSO-d₆, ppm) : 3.02 (2H, s), 3.44 (9H, s), 4.97 (4H, m), 5.45 (2H, t, $J=4.64\text{Hz}$), 9.89 (2H, d, $J=1.95\text{Hz}$), 9.98 (1H, t, $J=2.08\text{Hz}$)

上記の反応において、2aの代わりに2b、2c、2d、および2eをそれぞれ用いて同様な反応を行い、構造の異なる化合物3b、3c、3d、および3eを合成した。構造と合成結果の詳細はScheme 1およびTable 1に示す。

2.1.4 2-(3,5-ジアミノフェニルカルボニルオキシ)エチルホスホリルコリン(4a)の合成

PC基含有ジニトロ化合物3a(4.15g, 9.85mmol)をナスフラスコ中でエタノール(125mL)に溶解させ、この溶液に5%パラジウムカーボン粉末(0.417g, 0.197mmol)を加え、アセトン・ドライアイス浴で-78℃に冷却した系内で雰囲気水を水素ガスに置換し、室温で一晩反応させた。反応終了後、反応溶液に適量のテトラヒドロフランを加えセライトを通してろ過し、このろ液を半分程度濃縮した後過剰のジエチルエーテルに落とすと黄色沈殿物を生じた。これをろ別し真空乾燥させることで、ジアミンモノマー4aを黄色固体として得た。

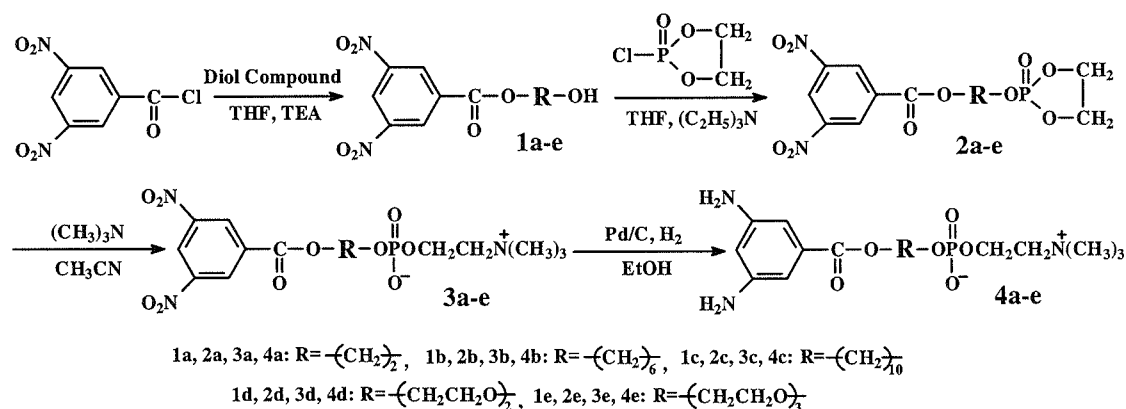
IR, ν (KBr, cm^{-1}) : 3198 (-NH₂), 2891 (C-H), 1716 (C=O), 1533 (C=C), 1352, 1302, 1231 (P=O), 1072 (N-CH₃), 966, 739.

¹H-NMR, δ (400Hz, DMSO-d₆, ppm) : 3.13 (9H, s), 3.54 (2H, t, $J=4.76\text{Hz}$), 4.01 (2H, m), 4.10 (2H, m), 4.44 (2H, t, $J=4.64\text{Hz}$), 7.80 (2H, d, $J=15.4\text{Hz}$), 8.03 (1H, s), 8.99 (2H, s), 9.14 (2H, s).

上記の反応において、3aの代わりに3b、3c、3d、および3eをそれぞれ用いて同様な反応を行い、構造の異なる化合物4b、4c、4d、および4eを合成した。構造と合成結果の詳細はScheme 1およびTable 1に示す。

2.2 ポリアミド(PA)の合成

アルゴン雰囲気下、イソフタル酸クロリド(0.740g, 3.65mmol)



Scheme 1 Preparation of diamine monomer containing phosphorylcholine moiety.

Table 1 Synthetic yields of each compound.

Code	Diol compound	1a-e	2a-e	3a-e	4a-e
a	Ethylene Glycol	80.6 %	89.0 %	97.4 %	92.1 %
b	1,6-Hexanediol	77.5 %	79.9 %	40.7 %	61.8 %
c	1,10-Decanediol	53.6 %	88.9 %	78.6 %	70.7 %
d	Diethylene Glycol	76.2 %	59.8 %	46.9 %	23.0 %
e	Triethylene Glycol	71.2 %	78.1 %	81.6 %	54.1 %

と 2,2-ビス[4-(アミノフェノキシ)フェニル]プロパン(1.50g, 3.65mmol)をナスフラスコ内で混合し、この混合物を -78°C に冷却した後、1-メチル-2-メチルピロリドン(7.5 mL)をゆっくりと加え、室温まで昇温してその後5時間攪拌した。得られたポリマー溶液を過剰のメタノールに注ぎ込み生成した沈殿を吸引る過後熱真空乾燥することでポリアミド(PA)を淡褐色固体として得た。

IR, ν (KBr, cm^{-1}): 3411 (N-H), 2964 (C-H), 2927, 1654 (C=O), 1604, 1498 (C=C), 1406, 1305, 1230, 1170, 831, 723.

2.3 ホスホリルコリン基含有ポリアミド(CPA-a)の合成

アルゴン雰囲気下、イソフタル酸クロリド(0.590g, 2.93mmol)、2,2-ビス[4-(アミノフェノキシ)フェニル]プロパン(1.08g, 2.64mmol)、およびジアミンモノマー**4a** (0.110g, 0.293mmol)をナスフラスコ内で混合し、この混合物を -78°C に冷却した後1-メチル-2-メチルピロリドン(4.0 mL)をゆっくりと加え、室温まで昇温してその後24時間攪拌した。得られたポリマー溶液を過剰のメタノールに注ぎ込み生成した沈殿を吸引る過後熱真空乾燥することでPC基含有芳香族ポリアミドCPA-aを淡褐色固体として得た。

IR, ν (KBr, neat, cm^{-1}): 3292 (N-H), 2962 (C-H), 2927, 1664 (C=O), 1604, 1498 (C=C), 1406, 1307, 1230(P=O), 1172, 1080(N-CH₃), 813, 725.

上記の重合反応において、**4a**の代わりに**4b**、**4c**、**4d**、および**4e**をそれぞれ用いて同様な重合を行い、構造の異なるポリアミドCPA-b、CPA-c、CPA-d、およびCPA-eを合成した。構造と合成結果の詳細はScheme 2およびTable 2に示す。

2.4 キャラクターリゼーション

¹H-NMR スペクトルは、日本電子(株)製 NM-TH5SK 400MHz FT-NMR を用いて測定した。赤外吸収(IR)スペクトルは、島津製作所製フーリエ変換赤外分光光度計 FTIR-8400

を用いて測定した。ポリマーの分子量は、東ソー(株)製ゲルパーミエーションクロマトグラフィー(GPC)システム(ポンプ:CCPD、カラム:TSK gels Multipore HXL-M x 3本、カラムオープン:CO-8010、示差屈折率計:RI-8010)を用い、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)を溶媒として分子量の標準物質として標準ポリスチレンを用い測定した。ポリマーの熱物性は、セイコー電子工業(株)DSC-6200示差走査熱量測定(DSC)を用いて測定した。ポリマー薄膜上の表面物性はアルバック・ファイ(株)Quantum 2000 X線光電子分光分析(XPS)装置を用い、入射角 45° にて測定した。

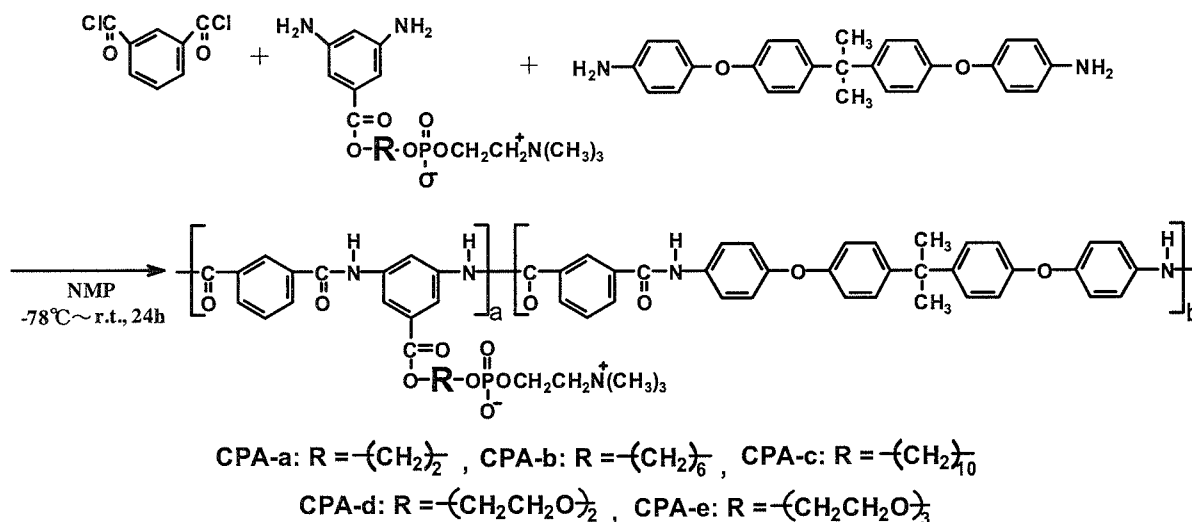
2.5 血液接触試験

得られたポリマーを濃度0.5 wt%となるようにN-メチルピロリジノンに溶解させポリマー溶液を作製した。これらの溶液に、ポリエチレンテレフタレート(PET)円形基板(直径:14 mm、厚さ:0.2 mm)を浸漬し 60°C にて2時間コーティングを行った。この操作を2度繰り返すことにより、PET基板表面にポリマー薄膜を形成させた。

その後このPET基板をリン酸緩衝溶液(PBS)2mlに一晩浸した後、PBSを取り除き、ヒトの血液から採取したヒト血小板多血漿(PRP)および全血1.0mLを 37°C で1時間接触させた。接触後、PBSで5回洗浄し、1.0mLのグルタルアルデヒド水溶液にて2時間固定化しさらに蒸留水で5回洗浄後、一晩凍結乾燥を行った。その後、PET基板表面を金蒸着し、その表面を走査型電子顕微鏡(SEM、JEOL製 TSM-5200)で観察した。

2.6 血小板粘着試験¹⁰⁾

血液接触試験と同様の方法でコーティングしたPET基盤をリン酸緩衝溶液(PBS)2mlに一晩浸した後、PBSを取り除き、ヒトの血液より採取したヒト血小板多血漿(PRP)700 μL に 37°C で1時間浸漬した。その後ポリマー薄膜表面を、リン酸緩衝液(PBS)にて5回洗浄後、非イオン性界面活性剤であるポ



Scheme 2 Synthesis of polyamides containing phosphorylcholine moiety.

Table 2 Results of polymerizations to prepare polyamides containing phosphorylcholine moiety.

Polymer	Phospholipid unit (mol %)		PC (wt %) ^{a)}	T_g (°C) ^{b)}	Yield (%)	$M_n \times 10^{-4}$ ^{c)}	M_w/M_n ^{c)}
	In feed	In copolymer ^{a)}					
PA	0	0	0	215	98.7	10.8	2.9
CPA-a	30	16.7	11.3	191	74.1	1.8	5.2
CPA-b	30	23.1	17.7	206	77.9	5.0	4.7
CPA-c1	30	10.1	11.1	147	69.3	2.1	5.1
CPA-c2	50	25.0	23.1	150	67.2	1.9	7.8
CPA-d	30	22.0	16.4	204	82.3	4.9	5.2
CPA-e1	30	13.0	9.31	148	74.2	2.34	4.8
CPA-e2	50	23.4	19.0	140	54.3	1.8	4.6

a) Determined by ¹H-NMR spectra.

b) The glass transition temperature (T_g) was observed by DSC.

c) Determined by gel permeation chromatography based on polystyrene standards.

Table 3 Solubility of polyamides in various solvents. (○: soluble, ×: insoluble)

Polymer	H ₂ O	EtOH	Acetone	CHCl ₃	THF	DMSO	DMF	NMP
PA	×	×	×	×	×	○	○	○
CPA-a	×	×	×	×	×	○	○	○
CPA-b	×	×	×	×	×	○	○	○
CPA-c	×	×	×	×	×	○	○	○
CPA-d	×	×	×	×	×	○	○	○
CPA-e	×	×	×	×	×	○	○	○

リエチレングリコールモノ-p-イソオクチルフェニルエーテル (Triton) 溶液を蒸留水で 0.5wt% に調整した水溶液中に浸漬し 1 時間静置することでポリマー薄膜表面に粘着した PRP を溶液中に脱離させた。得られた溶液に LDH-細胞毒性テスト試薬 (LDH-Cytotoxic Test, Wako) を加え、デヒドロゲナーゼ (脱水素酵素) 反応させると試薬中の発色成分 (ニトロテトラゾリウムブルー) のため溶液が着色される。そこでマイクロプレートリーダー (570 nm) でこの溶液中の吸光度を測定した。さらに、PRP 中の血小板濃度を細胞計数装置 (コールターカウンター) (MULTISIZER II, Beckman Counter, CA) で計測し、段階的に希薄した PRP 溶液も同様に吸光度を測定することで検量線

を作成した。この検量線に基づきポリマー薄膜上に粘着した血小板量を算出した。

3. 結果および考察

3.1 ホスホリルコリン基含有ジアミンモノマーの合成

ここでは以前合成した PC 基含有芳香族ポリアミド¹⁰⁾とは異なり、PC 基とポリマー主鎖に柔軟なスペーサー成分を導入して、剛直な芳香族ポリアミドの側鎖 PC 基の運動性を高められるかどうかを検討した。そのためのモノマー化合物として、スペーサー構造に鎖長が異なるアルキレン鎖あるいはオキシエチ

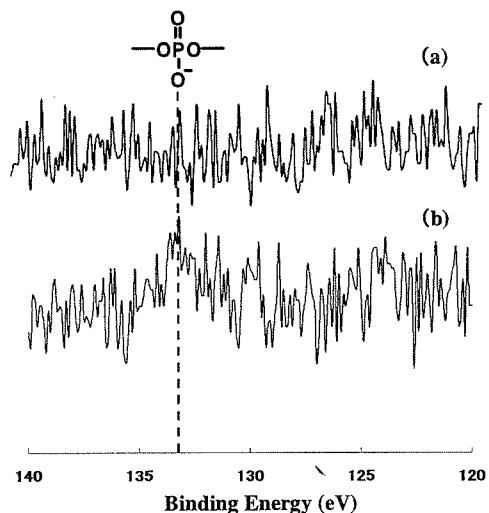


Figure 1 XPS spectra of the surface on the CPA-e2 film coated in dry conditions (a) and coated in moisturized conditions (b).

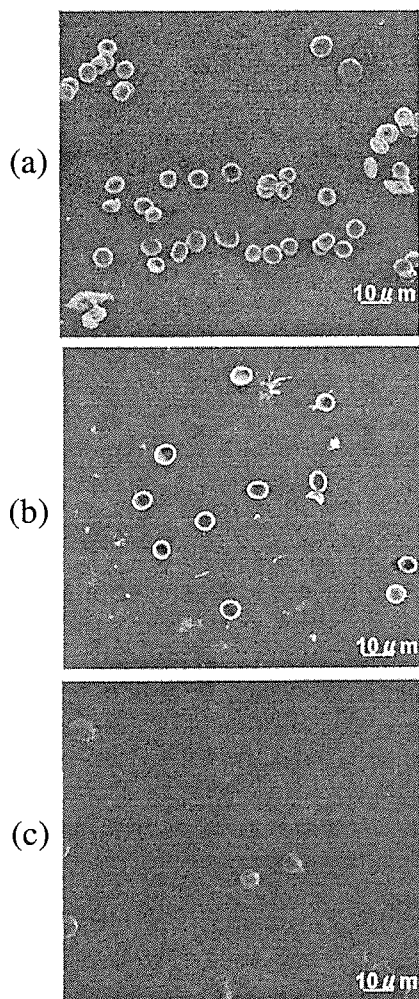


Figure 2 SEM pictures of the adhered Red Blood Cells on the PA film (a), CPA-e2 films coated in dry conditions (b) and coated in moisturized conditions (c).

レン鎖を導入した新規なジアミン化合物の合成を検討した。

Scheme 1 に合成経路を示す。まず、3,5-ジニトロベンゾイルクロリドとジオール化合物とのエステル化反応により鎖長の異なる 5 種のヒドロキシ基含有ジニトロ化合物 **1a-e** を得た。次に、これらの化合物 **1a-e** と 2-クロロ-2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン (COP) とのエステル化反応によりホスホラン化合物 **2a-e** を得た。以前の合成ルート **10** ではここで得られる目的物生成物が加水分解しやすいために収率が 50% 程度であったが、クロロホルムで抽出を行うだけの工程で、目的生成物を高収率で得ることができた。さらに、ホスホラン化合物 **2a-e** とトリメチルアミンによるホスホラン開環反応により PC 基含有芳香族ジニトロ化合物 **3a-e** を得て、最後にこれらの化合物 **3a-e** を用いてパラジウムカーボンを触媒とした水素化還元により、目的物とする 5 種の PC 基含有芳香族ジアミンモノマー **4a-e** をそれぞれ合成することができた。

3.2 ホスホリルコリン基含有ポリアミドの合成と溶解性

得られたジアミンモノマー類を用いた重縮合により PC 基含有芳香族ポリアミドを合成した。合成経路を Scheme 2 に示す。はじめにジアミンモノマー同士を溶媒に溶解させ、 -78 度で溶液を完全に凍らせて後に酸クロリド溶液を滴下させることで低温溶液重縮合を行った。低温重縮合を行うことで分子量分布の制御、またゆっくりと反応を進めることで高分子量体を得ることができるという利点がある。そして、共重合体組成の異なる PC 基含有コポリアミドを合成した。詳しい重合結果を Table 2 に示す。

得られた共重合体 CPA-a、CPA-b、CPA-d では PC 基含有ジアミンモノマーの仕込み量 30 mol% に対して約 20mol% 程度の導入率であった。これは、PC 基含有ジアミンモノマーの高い吸水性のためモノマーの秤量が正確でなかったためと考えられる。実際に、共重合体の収率、分子量はいずれもホモポリマー (PA) に比べると非常に低い値を示した。また、比較的長いスペーサーをもつ CPA-c1 や CPA-e1 では PC 基仕込み量 30mol% に対して PC 基導入率が約 10mol% と低下した。そこで、PC 基導入率を約 20mol% 程度まで増加させるために PC 基含有ジアミンモノマーの仕込み率を 50mol% として共重合体 CPA-c2、CPA-e2 をそれぞれ合成した。側鎖が長くなることによりジアミン部位の重合反応性が低下すると考えられ、低収率で低分子量体のポリマーであった。

得られたポリマーの溶解性を Table 3 に示す。得られたポリマーは全て医療現場で用いられる水やアルコール系の溶媒に不溶であり、DMSO、DMF、そして NMP といった非プロトン系極性溶媒にのみ可溶という結果であった。特定の溶媒にのみ可溶であるために容易に成形加工できるとともに生体材料としての耐溶媒性に優れる利点をもつことがわかった。

次に、CPA-e2 で作製した薄膜上における表面物性の結果を Figure 1 に示す。湿潤雰囲気の下コーティングを行うことでホスホリルコリン基由来のリンのピークを僅かに観察することができた。湿潤雰囲気でコーティングを行うことで、親水性基であるホスホリルコリン基がより表面に近いところに局在化したままコーティングされたと考えられる。

3.3 血液接触試験結果

血液接触試験は、得られたポリマーをポリエチレンテレフタ

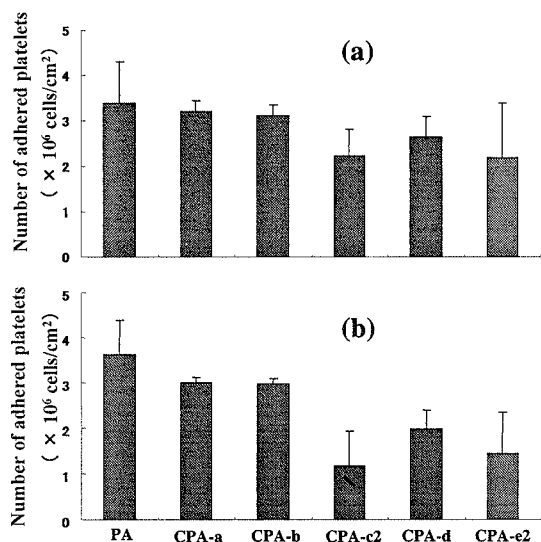


Figure 3 Number of adhered platelets on the polyamide films coated in dry conditions (a) and coated in moisturized conditions (b).

ラート (PET) 基板にコーティングさせ、その PET 基板にヒトから採取した全血を 1 時間接触させて行った。接触させた後、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察を行った。SEM 写真を Figure 2 に示す。PC 基が導入されていないホモポリマー (PA) では血液成分の粘着が非常に多く、また、血球が活性化を引き起こし変形している。また乾燥雰囲気下でコーティングを行った CPA-e2 では PC 基の導入に伴い血液成分の粘着を抑制していることがあった。さらに、湿潤雰囲気下でコーティングを行った CPA-e2 では乾燥雰囲気下でコーティングを行った CPA-e2 よりさらに血液成分の粘着を抑制していた。よって、この結果からも、湿潤雰囲気下でコーティングを行なうことでより最表面にホスホリルコリン基を局在させることができたと思われる。

3.4 血小板定量試験結果

血液接触試験と同様に PET 基板へコーティングし薄膜を形成させた。その表面にヒト全血を遠心分離 (1200rpm, 15 分間) で得られる血小板多血漿 (PRP) 成分を接触させ測定を行った。その結果を Figure 3 に示した。乾燥雰囲気下コーティングを行ったホスホリルコリン基含有ポリアミドではホモポリマー (PA) より血小板粘着量を僅かに減少させることができた。また、湿潤雰囲気の下コーティングを行ったホスホリルコリン基含有ポリアミドではさらに薄膜上に粘着した血小板量を減少させることができた。Figure 1 に示した XPS の結果と総括して考えると、コーティングを湿潤雰囲気下で行うことで効果的にホスホリルコリン基をポリマー薄膜表面に多く局在化することができた。また、特にスペーサーの長い CPA-c2 や CPA-e2 において最も湿潤雰囲気による影響が強く、表面に局在化できることがわかった。

4. 結論

生体膜成分の PC 基を含有した芳香族ジアミンモノマーを合

成し、それを用いて PC 基含有ポリアミドの合成に成功した。さらに側鎖スペーサー部のアルキル鎖長や構造の異なる共重合体を数種合成することができた。得られたポリマーの溶解性は、医療現場で用いられる水やエタノールなどに不溶であるために耐溶剤性の優れた材料であり、特定の溶媒 (DMSO, DMF, そして NMP) に可溶であるため成型加工性しやすいという利点がある。また、約 120℃ 度までの温度に耐えられるものであり、そのためバイオマテリアルとして重要な室温、体温、滅菌の際の加熱においても十分な安定性を有していると考えられる。表面物性として XPS 測定を行ったところ特に CPA-c2 や CPA-e2 において湿潤雰囲気の下コーティングを行うことでホスホリルコリン基由来のリンのピークを観察することができ、このコーティング方法が有利であると思われる。この結果は血液接触試験や血小板定量試験でも裏付けることができた。しかし、合成された共重合体はホスホリルコリン基の仕込み率に対する導入率、また分子量が低く、自立膜を作製することは困難であった。

湿潤雰囲気下でコーティングを行うこと、またスペーサー部位を長くすることで、ホスホリルコリン基が材料表面上に局在化しやすいことがわかった。今後はここで得られた知見を活かし、さらにホスホリルコリン基含有ジアミンモノマーの反応性を向上させるためにジアミンモノマーの化学構造に改良を加えていく予定である。

謝辞：本研究の一部は、文部科学省平成 15-18 年度科学研究費補助金 (基盤研究 C, No. 15550110) の助成を受けて行ったものである。

参考文献

- 1) T. Ueda, H. Oshida, K. Karita, K. Ishihara and N. Nakabayashi, *Polymer. Journal*, **24**, pp. 1259-1269 (1992).
- 2) 中林宜男、石原一彦、岩崎泰彦、バイオマテリアル、コロナ社(1999).
- 3) 石原一彦、畑中研一、山岡哲二、大矢裕一、バイオマテリアルサイエンス、東京化学同人(2003).
- 4) K. Ishihara, *Science and Technology of Advanced Materials*, **1**, pp. 131-138 (2000).
- 5) M. Tanaka, T. Motomura, M. Kawada, T. Anzai, Y. Kasori, T. Shiroya, K. Shimura, M. Onishi and A. Mochizuki, *Biomaterials*, **21**, pp. 1471-1481 (2000).
- 6) M. Tanaka, A. Mochizuki, N. Ishii, T. Motomura and T. Hatakeyama, *Biomacromolecules*, **3**, pp. 36-41 (2002).
- 7) Y. Iwasaki, A. Yamasaki, K. Ishihara, *Biomaterials*, **24**, pp. 3599-3604 (2003).
- 8) Y. Iwasaki, N. Nakabayashi, K. Ishihara, *The Japanese Society For Artificial Organs*, **6**, pp. 260-266 (2003).
- 9) 中島智、奥正敬、長瀬裕、岩崎泰彦、石原一彦、東海大学紀要工学部、**44**, pp. 1-8 (2004).
- 10) N. Morimoto, A. Watanabe, Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, K. Ishihara, *Biomaterials*, **25**, pp. 5353-5361 (2004).
- 11) M. Oku, S. Nakajima, Y. Tadokoro, N. Shimoyamada, Y. Nagase, Y. Iwasaki, K. Ishihara, *Transactions of the Materials Society of Japan*, **30**, pp. 1037-1040 (2005).