

## 糖質モノマーを用いたヒドロゲルの合成とその性質

福留功博

## Synthesis of Hydrogels by Use of Glycosylated Monomer and Their Properties

Norihito FUKUDOME

(Accepted September 27, 2013)

**Abstract** Polystyrene derivative having galactose residue (PVLA) were cross-linked by 2,4-toluene diisocyanate and 4,4'-diphenylmethane diisocyanate at 50°C for 24 h using N,N-dimethylformamide as the solvent. The swelling ratio of hydrogel cross-linked by 4,4'-diphenylmethane diisocyanate was high compared with that by 2,4-toluene diisocyanate. Further, useful hydrogels obtained by copolymerization of styrene derivative having galactose residue (VLA), N-vinylacetamide (NVA) and N,N'-methylenebisacrylamide (bisA) were synthesized by free-radical reaction at 55°C for 4 h using V-50 as the initiator in distilled water. The swelling behavior of their hydrogels in various solutions was studied in detail. Hydrogels containing NVA gave cationic hydrogels, which absorbed ca. 50 times as much water as their own weight in 2N-HCl.

**Keywords** [Hydrogel, Glycosylated monomer, Cross-link, Swelling ratio]

## 1 序論

ヒドロゲルは、その内部に含まれている物質を徐々にヒドロゲルの外へ放出するという特徴を持っている。ヒドロゲルを形成する高分子化合物の主鎖の化学修飾やヒドロゲルをとりまく外部環境、ヒドロゲルの網目の大きさなどにより、ヒドロゲル内包物質の放出速度は制御され、このような性質を持つヒドロゲルは、薬物送達システム（医薬の徐放性制御）への応用が期待される。

岡野らは熱応答性に優れている N-イソプロピルアクリルアミドとポリテトラメチレングリコールを用いてモデル薬物としてインドメタシンを内包した相互侵入網目構造のヒドロゲルを作成し、その薬物徐放性について調べている<sup>1, 2)</sup>。外部の熱環境に対してインドメタシンはパルス型の徐放性を示し、35°C付近で徐放し、25°C付近まで温度を下げると徐

放がストップすることを明らかにしている。また、Hoffman らは N-イソプロピルアクリルアミドとメタクリル酸から成るヒドロゲルにモデル薬物としてビタミン B12 を内包させ、このヒドロゲルから生理食塩水中へのビタミン B12 放出挙動を調べ、熱刺激に対してビタミン B12 の放出が制御されることを明らかにした<sup>3~5)</sup>。

一方、明石らと筆者は、これまでヘパリン・プロスタグランジン I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) 内包ヒドロゲルを担持したポリ塩化ビニル<sup>6)</sup>やポリエーテルウレタンウレア<sup>7)</sup>が、ヘパリン・PGI<sub>2</sub>の徐放により、フィブリン（血栓）生成と血小板吸着の二つの独立した血液凝固システムを抑制することを明らかにした。

このように様々な性質をもつヒドロゲルはコンタクトレンズ、湿布剤、人工筋肉や人工皮膚などの医療分野への応用、農業・食品分野への応用など有用なソフトマテリアルとして期待されている<sup>8~10)</sup>。

本報では、ガラクトースオキシダーゼにより容易にガラクトース残基の6位のヒドロキシメチル基を選択的に酸化しアルデヒド基を導入可能な糖質モノマーを用いた種々のヒドロゲルの合成、およびその性質について報告する。

## 2 実験

### 2.1 糖質高分子・側鎖架橋型ヒドロゲルの合成

#### 2.1.1 試薬

ラクトースを配したスチレン誘導体(VLA) (図1) および、そのポリマー (PVLA) は小林らの手法に従い合成した<sup>1)</sup>。4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネート、トルエン-2,4-ジイソシアネート、エピク

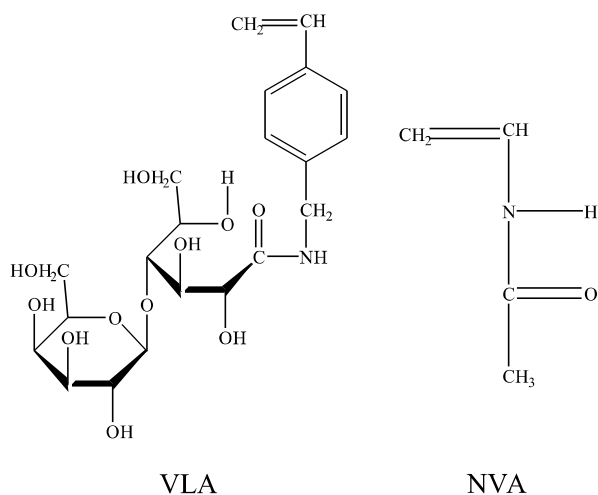


図1 VLA、NVAの化学構造

ロクロヒドリン、ヘキサメチレンジイソシアネートは東京化成工業(株)製のものを使用した。N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) は、半井化学薬品(株)製のを乾燥脱水ベンゼンと共沸させ、脱水減圧蒸留(60℃, 35mmHg)して使用した。ベンゼンは、半井化学薬品(株)製のを蒸留し金属ナトリウムで脱水乾燥して使用した。

#### 2.1.2 糖質高分子・側鎖架橋型ヒドロゲルの合成操作

溶媒にN,N-ジメチルホルムアミド (DMF) を用いて、PVLA に対して種々の割合で架橋剤 (トルエン-2,4-ジイソシアネート、4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネート、ヘキサメチレンジイソシアネート、エピクロロヒドリン) を加え、それぞれ 50℃で 24 時間反応させて得たゲルを、1 週間、蒸留水中に放置してゲル中の DMF を蒸留水で置換し、そのヒドロゲルを凍結乾燥して乾燥ヒドロゲルを得た(表1)。

### 2.2 糖質高分子・主鎖架橋型ヒドロゲルの合成

#### 2.2.1 試薬

N,N-メチレンビスアクリルアミド (bis-A) は半井化学薬品(株)製の電気泳動用試薬を使用した。アゾ系開始剤 (V-50) は和光純薬工業(株)製のをそのまま用いた。N-ビニルアセトアミド (NVA) は昭和電工(株)より提供されたものをそのまま用いた。

#### 2.2.2 糖質高分子・主鎖架橋型ヒドロゲルの合成操作

溶媒に水を用いて VLA、NVA (図1)、bis-A を種々の割合で溶解し、水溶性アゾ系開始剤である V-50 をトータルモノマーに対し 1 (mol%) 加え、窒素下、

表1 種々の架橋剤を用いた糖質高分子 (PVLA)・側鎖架橋型ヒドロゲルの合成

サンプル No.	PVLA(mmol)	架橋剤(mmol)				溶媒(ml)		収率(%)	膨潤度
		トルエン-2,4-ジイソシアネート	4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネート	ヘキサメチレンジイソシアネート	エピクロロヒドリン	DMF	0.25N-NaOH		
1	0.37	0.25	-	-	-	6.0	-	-	
2	0.37	0.37	-	-	-	6.0	65	1.5	
3	0.37	0.56	-	-	-	6.0	78	1.3	
4	0.37	0.88	-	-	-	6.0	-	-	
5	0.37	-	0.25	-	-	6.0	-	-	
6	0.37	-	0.37	-	-	6.0	72	4.2	
7	0.37	-	0.56	-	-	6.0	84	2.2	
8	0.37	-	0.88	-	-	6.0	91	1.3	
9	0.37	-	-	0.25	-	6.0	-	-	
10	0.37	-	-	0.37	-	6.0	-	-	
11	0.37	-	-	0.56	-	6.0	-	-	
12	0.37	-	-	0.88	-	6.0	-	-	
13	0.37	-	-	-	0.25	6.0	-	-	
14	0.37	-	-	-	0.37	6.0	-	-	
15	0.37	-	-	-	0.56	6.0	-	-	
16	0.37	-	-	-	0.88	6.0	-	-	

表 2 架橋剤に bis-A を用いた糖質高分子・主鎖架橋型ヒドロゲルの合成

サンプル No.	モノマー(mmol)		bis-A(mmol)	bis-A/モノマー (mol%)	蒸留水(ml)	膨潤度
	VLA	NVA				
17	5.0	-	0.025	0.5	6.0	98.8
18	5.0	-	0.05	1.0	6.0	28.6
19	5.0	-	0.10	2.0	6.0	14.1
20	5.0	-	0.15	3.0	6.0	11.9
21	5.0	-	0.30	6.0	6.0	10.1
22	5.0	-	0.75	15.0	6.0	9.5
23	2.5	2.5	0.05	1.0	6.0	22.9

※アゾ系開始剤(V-50)/モノマー = 1/100

55°Cで4時間加熱し共重合させてヒドロゲルを合成した。得られたヒドロゲルは、未反応モノマーを取り除くため、3日間、蒸留水中に浸した後、凍結乾燥し、乾燥ヒドロゲルを得た(表2)。

### 2.3 膨潤度の測定

ヒドロゲルの膨潤度は、乾燥したヒドロゲルを蒸留水中に3日間以上、浸して飽和膨潤に達したところで、それをステンレス製のフィルターでろ過し、バルク状ヒドロゲル表面に付着した蒸留水をろ紙で軽く拭き取り、その保水ヒドロゲルの重量を測定し、乾燥ヒドロゲルの重量で除して求めた。また、比膨潤度は、所定溶液中でのヒドロゲルの重量を蒸留水中でのヒドロゲルの重量で除して求めた。

## 3 結果および考察

### 3.1 糖質高分子・側鎖架橋型ヒドロゲルの架橋密度とその膨潤度

糖質高分子・側鎖架橋型ヒドロゲルの合成条件を

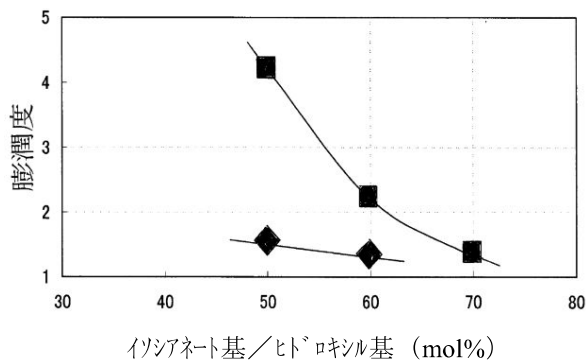


図 2 糖質高分子・側鎖架橋型ヒドロゲルの架橋剤量が膨潤度に及ぼす影響  
(■) 4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネート、(◆) トルエン-2,4-ジイソシアネート

表1に示した。トルエン-2,4-ジイソシアネート、4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネート、ヘキサメチレンジイソシアネート、エピクロロヒドリンの添加量を変化させ、ゲルの合成を行ったが、ヘキサメチレンジイソシアネートとエピクロロヒドリンを架橋剤に用いたサンプル(サンプル No.9~16)は、PVLA 溶液に粘性を与えることはできたが塊状のゲルを得るには至らなかった。一方、トルエン-2,4-ジイソシアネートと4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネートを架橋剤に用いたサンプル(サンプル No.2,3,6,7,8)は、塊状のゲルを形成した。図2にサンプル No.2,3,6,7,8の仕込時のPVLA中のヒドロキシル基に対する架橋剤中のイソシアネート基のmol%と膨潤度の関係を示した。4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネートを架橋剤として用いたヒドロゲルは、トルエン-2,4-ジイソシアネートを架橋剤として用いたヒドロゲルより高い膨潤度を示し、更にイソシアネート基のmol%の減少に伴い膨潤度は増大した。この結果は架橋剤の分子鎖長の影響によるものと考えられる。

### 3.2 VLA, bis-A の共重合により得られたヒドロゲルの性質

VLA, bis-A の共重合条件を表2に示した。ヒドロゲルは仕込量に対して定量的に得られ、高い粘着性を示した。得られたヒドロゲルの架橋剤の割合と膨

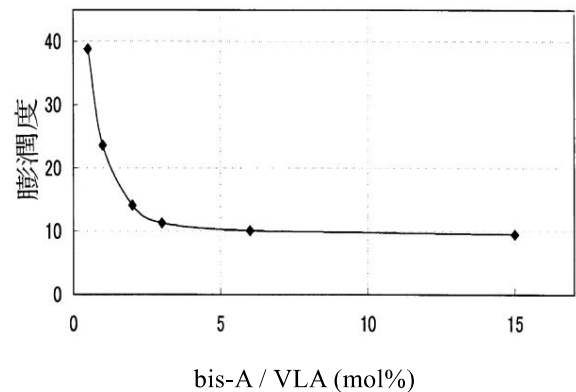


図 3 VLA, bis-A 共重合ヒドロゲルの架橋剤の割合と膨潤度の関係

潤度の関係を図3に示した。bis-Aの割合が減少するに伴い膨潤度は増大した。特にサンプル No.18はその形状を保持し粘着性が高く、且つ比較的高い膨潤度を示した。サンプル No.18のヒドロゲルを用い、温度に対する膨潤安定性を調べた結果を図4に示す。25°Cでの膨潤度を1として比膨潤度で示したが、温度の上昇に伴い比膨潤度は僅かに小さくなった。VLA, bis-A 共重合ヒドロゲルは、20°C~80°Cの間で

安定に吸水し、その形状を保持した。サンプル No.18 のヒドロゲルを用い、塩溶液に対する膨潤安定性を調べた結果を図 5 に、酸溶液に対する膨潤安定性を調べた結果を図 6 に示す。VLA, bis-A 共重合ヒドロゲルは、塩溶液中で安定に吸水し、ヒドロゲルの高分子鎖に修飾されている糖鎖のヒドロキシル基と水との間で強固な水素結合を形成していることが示唆された。また、酸溶液中でも比膨潤度に変化はなく、

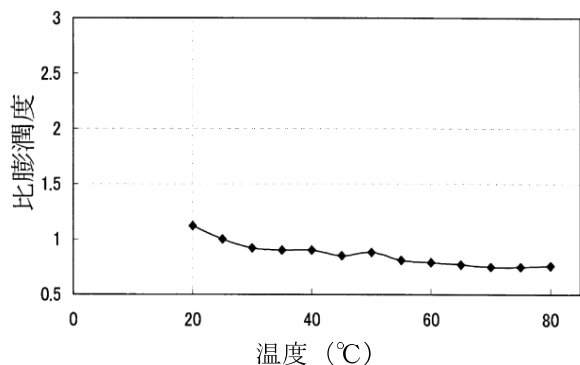


図 4 VLA, bis-A 共重合ヒドロゲル (サンプル No.18) の温度に対する膨潤安定性

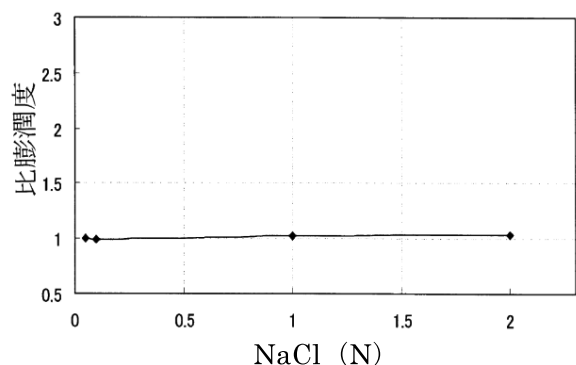


図 5 VLA, bis-A 共重合ヒドロゲル (サンプル No.18) の塩溶液中での膨潤安定性

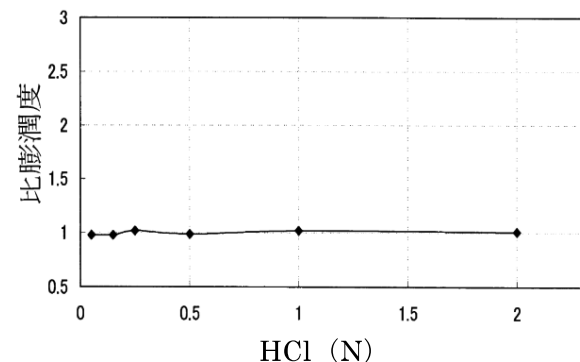


図 6 VLA, bis-A 共重合ヒドロゲル (サンプル No.18) の酸溶液中での膨潤安定性

このことから VLA 中のアミド結合が酸により加水分解されることなく、ヒドロゲルの 3 次元構造が強固に維持されたことが示された。

### 3.3 VLA, NVA, bis-A の共重合により得られたヒドロゲルの性質

VLA, NVA, bis-A の共重合条件を表 2 (サンプル No.23) に示した。VLA, NVA モノマーは等 mol 量、仕込まれ、ヒドロゲルは定量的に得られたが、その粘着性は VLA, bis-A 共重合ヒドロゲルに比べ低かった。しかしながら、膨潤度は VLA, bis-A 共重合ヒドロゲル (サンプル No.18) と VLA, NVA, bis-A 共重合

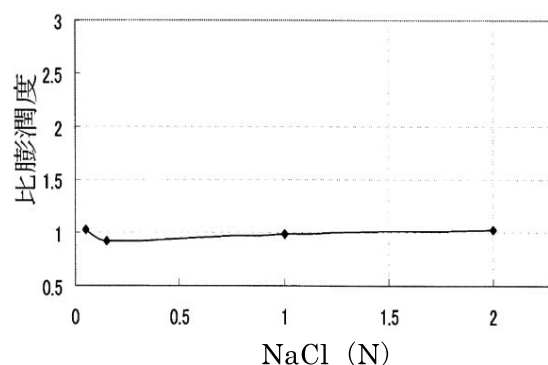


図 7 VLA, NVA, bis-A 共重合ヒドロゲル (サンプル No.23) の塩溶液中での膨潤安定性

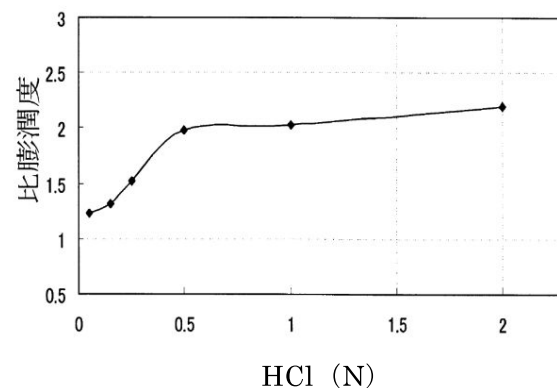


図 8 VLA, NVA, bis-A 共重合ヒドロゲル (サンプル No.23) の酸溶液中での膨潤安定性

ヒドロゲル (サンプル No.23) で、ほとんど差は無かった。サンプル No.23 のヒドロゲルを用い、塩溶液に対する膨潤安定性を調べた結果を図 7 に示す。VLA, NVA, bis-A 共重合ヒドロゲルは塩溶液中で安定に吸水し、VLA, bis-A 共重合ヒドロゲルと同等の膨潤安定性を示した。図 8 に、VLA, NVA, bis-A 共重合ヒドロゲル (サンプル No.23) の酸溶液に対する膨潤安定性を調べた結果を示す。酸濃度の上昇に伴い比膨潤度は増大した。塩酸濃度が 0.5N で比膨潤

度は約 2 となり、それ以上の濃度では大幅な比膨潤度の増大は確認されなかった。また、2N-HCl にさらされたヒドロゲルは非常に脆くなっていた。1N-HCl にさらされたヒドロゲルは、その形状を保持し、乾燥ヒドロゲル自重の約 50 倍の水を吸収した。酸溶液中で比膨潤度が増大したことは、ヒドロゲル中の NVA ユニットのアミド基が酸により加水分解され、続いてアミノ基の窒素 4 級化がおこりカチオンを生成し、このイオン反発により 3 次元網目構造が広がったことに起因すると考えられる。

#### 4 結論

本研究では、ガラクトース残基を有する VLA を用いて種々のヒドロゲルを合成した。PVLA をジイソシアネート化合物を用いて架橋したヒドロゲルは、架橋剤の分子鎖長によりその膨潤度が制御されることが明らかとなった。一方、VLA, NVA, bis-A の共重合により得られたヒドロゲルの膨潤度は、糖鎖のヒドロキシル基を介した水素結合により、塩溶液中、酸溶液中でも安定していた。また、VLA, NVA, bis-A の共重合ヒドロゲルは 1N-HCl でカチオン性ヒドロゲルとなり、乾燥ヒドロゲル自重の約 50 倍もの水を吸収することが明らかとなった。

ヒドロゲルは、薬物送達システム、固定化酵素などの基剤として有用であるが、VLA, NVA, bis-A の共重合ヒドロゲルは、糖鎖由来の強い粘着性や生体適合性があり湿布基剤などへの応用が期待される。更に、VLA のガラクトース残基の 6 位のヒドロキシメチル基はガラクトースオキシダーゼにより容易にアルデヒド基に変換される。このことは、ヒドロゲルに内包したアミノ基を有する様々な化合物（生体由来の生理活性物質など）をアルデヒド基とアミノ基の間で形成された schiff 塩基を介して制御するシステムの構築に応用できると期待される。

#### 謝辞

本研究をまとめるにあたり、昭和電工(株)より N-ビニルアセトアミド(NVA)を提供いただきました。心より感謝申し上げます。

#### 参考文献

- 1) T. Okano, Y. H. Bae, H. Lacobs, S. W. Kim : Thermally on-off switching polymers for drug permeation and release, *J. Controlled Release*, 11, pp.255-265, 1990
- 2) K. Mukae, Y. H. Bae, T. Okano, S. W. Kim : A new thermosensitive hydrogel: Poly(ethyleneoxide-dimethylsiloxane-ethyleneoxide)/poly(N-isopropylacrylamide) interpenetrating polymer networks.II. On-off regulation of solute release, *Polymer J.*, 22, pp.250-265, 1990
- 3) A. S. Hoffman : The origins and evolution of "controlled" drug delivery systems, *J. Controlled Release*, 18, pp.153-163, 2008
- 4) L. C. Dong, A. S. Hoffman : Thermally reversible hydrogels? Immobilization of enzymes for feedback reaction control, *J. Controlled Release*, 4, pp.223-227, 1986
- 5) T. G. Park, A. S. Hoffman : Immobilization of *Arthrobacter simplex* in a thermally reversible hydrogel effect of temperature cycling on steroid conversion, *Biotechnol. Bioeng.*, 35, pp.152-159, 1990
- 6) M. Akashi, S. Takeda, T. Miyazaki, E. Yashima, N. Miyauchi, I. Maruyama, T. Okadome, and Y. Murata : Antithrombogenic Poly(vinyl chloride) with Heparin-and/or Prostaglandin I<sub>2</sub>-Immobilized in Hydrogels, *J. Bioactive and Compatible Polym.*, 4, pp.4-16, 1989
- 7) 福留功博 : ヘパリン・プロスタグランジン I<sub>2</sub> 内包ヒドロゲルを担持した抗血栓性ポリエーテルウレタンウレア, 都城工業高等専門学校研究報告, 42, pp.13-18, 2008
- 8) K. Haraguchi, S. Taniguchi, T. Takehisa : Reversible Force Generation in a Temperature- Responsive Nanocomposite Hydrogel Consisting of Poly-(N-isopropylacrylamide) and Clay, *ChemPhys- Chem.*, 6, pp.238-241, 2005
- 9) N. A. Peppas, J. Klier : Controlled release by using poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol)hydrogels, *J. Controlled Release*, 16, pp.203-214, 1991
- 10) H. Miyaji, T. Sugaya, K. Kato, N. Kawamura, M. Kawanami, : The Effects of Collagen Hydrogel Implantation in Buccal Dehiscence Defects in Beagles, *J. Oral tissue engine.*, 5, pp.87-95, 2007
- 11) K. Kobayashi, H. Sumitomo, Y. Ina : Synthesis and Functions of Polystyrene Derivatives Having Pendant Oligosaccharides, *Polymer J.*, 17, pp.567-575, 1985