

# コポリ(γ-ベンジル-L-グルタミル-N<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチル アミノプロピル-L-グルタミン)膜の構造と透過性

Conformation and Permeability of Copoly(γ-benzyl-L-glutamyl-N<sup>5</sup>-  
di-hydroxyethylaminopropyl-L-glutamine) Film

妹 尾 学\*・黒 柳 能 光\*

Manabu SENŌ and Yoshimitsu KUROYANAGI

## 1. はじめに

医用高分子材料に要求される基本的な機能は医用目的機能性と生体適合性であり、前者は目的とする医療効果を発揮するために必要な機能で、物質透過性、吸着分離能、輸送担体能、光学的性質などであり、後者は血液適合性および組織適合性を示す。また医療目的により半永久的な耐久性を必要とするものと、逆に生体内で分解され吸収あるいは排除されるものに分けられる。一例として火傷時の創傷カバー剤には再生コラーゲン膜が優れた機能をもつ。すなわち水蒸気の適切な透過性、治療に必要な医薬物の物質透過性、組織細胞適合性などを備え治療過程に伴い分解吸収される。血液適合性と組織適合性は材料と生体との界面現象でありいくつかの相違した要因が含まれる。<sup>1)</sup>合成高分子材料の中でポリ-α-アミノ酸は上述した分解吸収型材料として興味深い。一般にポリ-α-アミノ酸はα-ヘリックス構造およびβ-構造をとり、ポリ-α-アミノ酸膜の気体透過性は低い。気体透過は棒状分子であるα-ヘリックスの側鎖間で生ずる。<sup>2)</sup>そこで本研究ではポリ-α-アミノ酸を化学修飾することにより水酸基を有した大きな置換基を導入し、より大きな

親水性側鎖領域をつくることにより、透水性に優れたポリ-α-アミノ酸膜を合成した。透水性は水中の酸素や溶質の透過性と密接な関係をもつため、透水性および細胞親和性の優れた材料の開発は、細胞の周囲環境の恒常性を維持する灌流培養型基材としても興味深い。<sup>1,3)</sup>

## 2. 実 験

ポリ(γ-ベンジル-L-グルタメート)を臭化水素含有酢酸で部分的に脱ベンジル化し、カルボキシル基をN-ヒドロキシサクシンイミドで活性化しアミノアルコールと反応させ、疎水性のγ-ベンジル-L-グルタミン酸残基と親水性のN<sup>5</sup>-ヒドロキシアシルキル-L-グルタミン残基から成るコポリマーを合成した。<sup>4)</sup>反応過程を図1に示した。両アミノ酸残基の組成比を変えることにより含水率の異なるコポリマーを得た。各コポリマーのジメチルホルムアミド溶液からキャスト法により成膜し、膜の分子立体構造と水分子の透過性を調べた。

## 3. 結 果 と 考 察

アミノアルコールとしてN-(3-アミノプロピル)ジエタノールアミンを用いて合成したコポリマーの特性を表

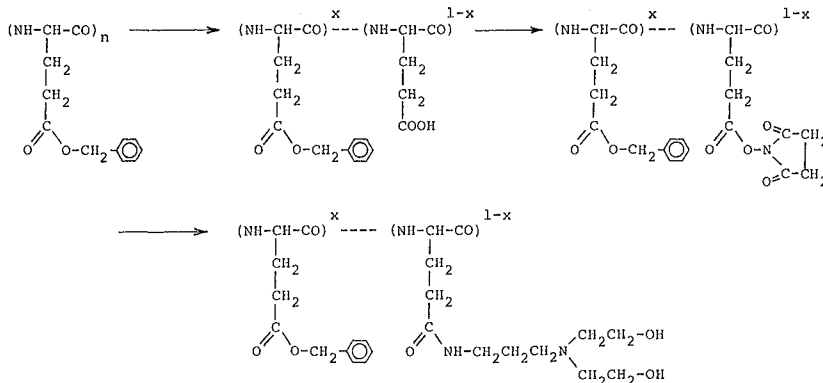


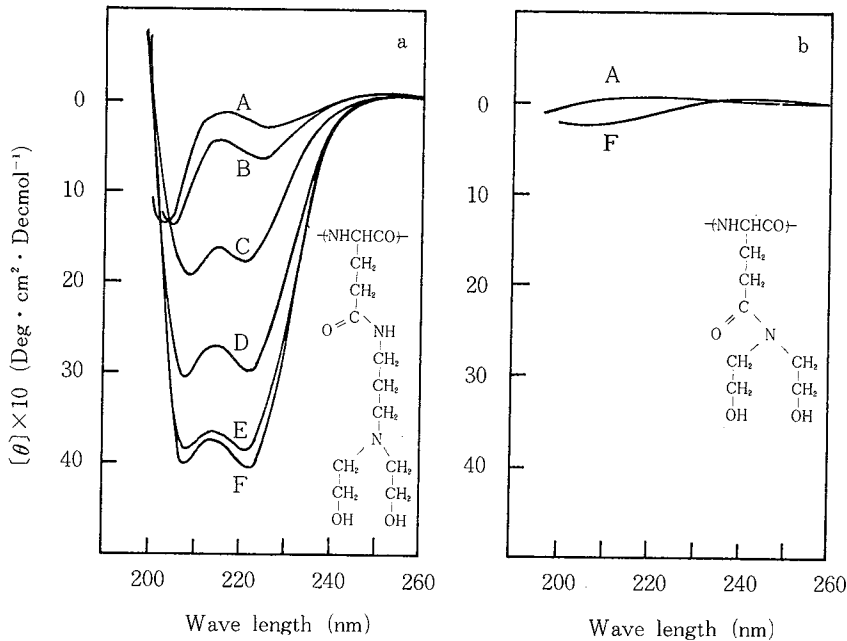
図1 コポリ(γ-ベンジル-L-グルタミル-N<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチルアミノプロピル-L-グルタミン)の合成方法

\* 東京大学生産技術研究所 第4部

## 研 究 速 報

表 1 コポリ ( $\gamma$ -ベンジル-L-グルタミン-N<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチルアミノプロピル-L-グルタミン)

サンプル名	残 基 モ ル 分 率		$b_0$ Moffitt パラメーター	ヘリックス 含 量 (%)	膜表面 接触角(度) (ぬれ特性)	膜の 含水率 (%)
	ベンジン エステル	ジヒドロキシ アルキル				
PBLG	1.00	0	-630	100	73	0
Copoly-Hyd-20	0.80	0.20	-600	95	70	5
Copoly-Hyd-38	0.62	0.38	-595	94	69	11
Copoly-Hyd-51	0.49	0.51	-590	94	68	10
Copoly-Hyd-60	0.40	0.60	-590	94	66	41
Copoly-Hyd-80	0.20	0.80	-580	92	63	53
Poly-Hyd-100	0	1.00	-550	87	—	—

図 2 水-エタノール系におけるポリ(N<sup>5</sup>- $\omega$ -ヒドロキシアリル-L-グルタミン)のコンホメーション

1に示した。各アミノ酸組成のコポリマーはジメチルホルムアミド中では、ほとんど $\alpha$ -ヘリックス構造をとる。膜表面のぬれ特性は水酸基含量の増大に対し、わずかし減少しない。これはベンジルエステルにより水酸基によるぬれ効果が抑制されるためと考えられる。含水率は水酸基含量に著しく依存し、特に水酸基含量60%以上で含水率は40%以上となり、水和現象に伴う分子立体構造の変化が予想される。そこでN<sup>5</sup>-ヒドロキシアリル-L-グルタミン残基の水溶液中の $\alpha$ -ヘリックス形成能を調べた。図2には長い側鎖をもつポリ(N<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチルアミノプロピル-L-グルタミン)と短い側鎖をもつポリ(N<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチル-L-グルタミン)の水-エタノール系でのコンホメーションを円偏光二色性測定により調べた結果を示した。短い側鎖をもつポリマーは分枝したジヒドロキシエチルアミノ基による立体障害によ

り $\alpha$ -ヘリックス構造は発現しない。<sup>5)</sup>しかし長い側鎖をもつポリマーは分枝した原子団が主鎖から離れるため、このような立体障害が起こらない。アルコール濃度の増大に伴うヘリックス構造の発現は、側鎖水酸基の周辺に発生する水クラスターがアルコールの添加によりこわれるため構造発現するものと考えられる。<sup>6,7)</sup>このようにN<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチルアミノプロピル-L-グルタミン残基は $\alpha$ -ヘリックス形成能をもつが水和した場合にはその形成能は失われる。

コポリマー中におけるN<sup>5</sup>-ジヒドロキシエチルアミノプロピル-L-グルタミン残基の構造形成能を調べるために、石英板上に成膜した試料の円偏光二色性測定を試みた。図3から明らかのように、ヒドロキシアリルグルタミン残基を50%含有するコポリマーについては、乾燥時および湿潤時において共に $\alpha$ -ヘリックス構造特有のスペ

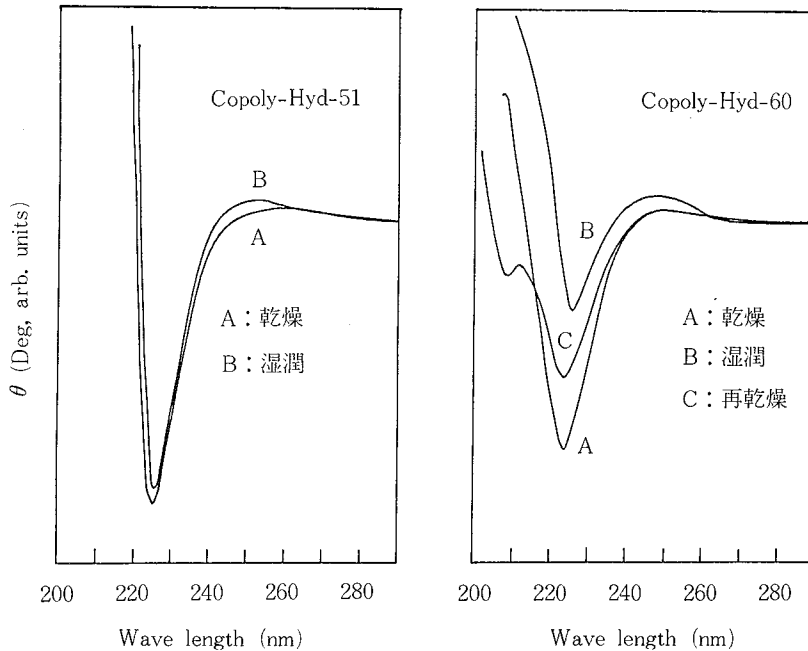


図3 コポリ(γ-ベンジル-L-グルタミル-N<sup>ε</sup>-ジヒドロキシエチルアミノプロピル-L-グルタミン)膜のCDパターン

クトルを示した。しかしヒドロキシルグルタミン残基を60%含有するコポリマーについては湿潤時にはα-ヘリックス構造に対応するパターンは変化し、再び乾燥した試料については部分的にヘリックス構造がこわれたスペクトルを示した。コンホメーションの変化は膜の含水率と関連し表1に示したように含水率は著しく増大する。

本研究で合成したコポリ-α-アミノ酸膜の水分子の透過はα-ヘリックスの側鎖間、すなわち水酸基をもった大きな親水性側領域で生じると考えられる。上述したようにヒドロキシルグルタミン含量の多いコポリマーについては、膨潤することによる部分的にα-ヘリックス構造がこわれるため、このような不規則構造の領域も水分子の透過に大きく関与することが予想される。図4には各ポリマー膜の水蒸気透過性の温度依存性を示した。真空減圧下での膜を通しての水分子の透過は温度の上昇に伴い著しく促進される。水蒸気透過性は水酸基含量に大きく依存している。ヒドロキシルグルタミン含量60%以上の膜については、膨潤による機械的強度の低下のため真空減圧下での測定はできない。そこで100cmの静水圧下での膜の透水性を調べた。膜の透水性の表示は次式で定義される係数 $L_p(g^{-1}\cdot cm^2\cdot sec)$ に膜厚 $\lambda$ (cm)をかけた $\lambda\cdot L_p$ を用いた。<sup>8)</sup>

$$J_v = L_p \Delta P$$

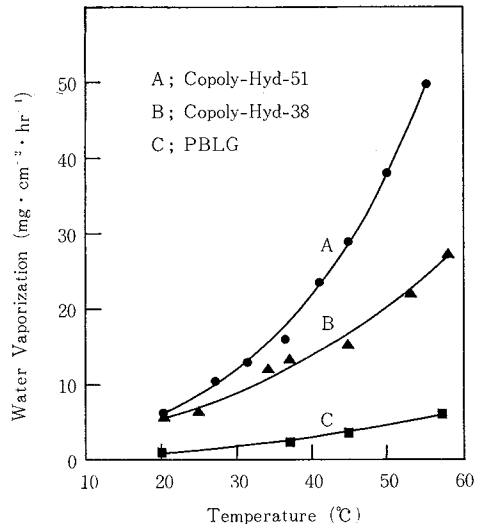


図4 真空減圧下における膜の水蒸気透過性

ここに、 $J_v$ は水の体積流束( $cm^3\cdot sec^{-1}$ )、 $\Delta P$ は印加圧( $g\cdot cm^{-1}\cdot sec^{-2}$ )を表す。 $\lambda\cdot L_p$ は膜厚に依存しない透水性を評価できる。各ポリマー膜の透水性の温度依存性を図5に示した。透水性は温度の上昇に伴い著しく増大し、また水酸基含量に大きく依存する。たとえばヒドロキシルグルタミン70%のコポリマー膜の透水性は、37°Cにおいて $2.6\times 10^{-14} g^{-1}\cdot cm^3\cdot sec$ であり、市販の透析用セル

研 究 速 報

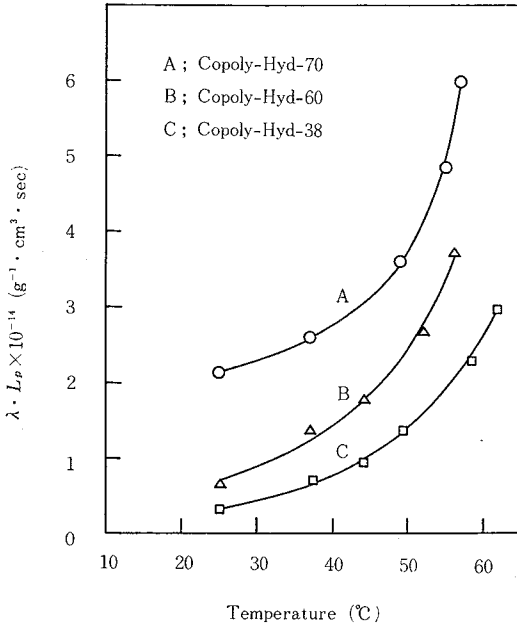


図5 100 cm 静水圧下における膜の透水性

表2 膜の水透過性

サンプル名	透水性 <sup>a)</sup>	水蒸気透過性 <sup>b)</sup>	膜厚 ×10 <sup>-4</sup> cm
	mg/cm <sup>2</sup> ·hr	mg/cm <sup>2</sup> ·hr	
PBLG	—	2.6	25
Copoly-Hyd-38	—	13.9	20
Copoly-Hyd-51	1.6	15.9	17
Copoly-Hyd-60	3.3	—	20
Copoly-Hyd-70	6.0	—	15
Cellulose	10.8	—	40

a) 100cm 静水圧下, 37°C b) 真空減圧下, 37°C

ローズ膜の透水性,  $12.3 \times 10^{-14} \text{ g}^{-1} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{sec}$  の約 1/5 の値に達する。表2には各ポリマー膜の 37°C における透水性および水蒸気透過性の値を示した。たとえばヒドロキシアシルグルタミン含量 51% の膜については、応用例として火傷時における創傷カバー剤に要求される水蒸気透過性、および湿潤時における力学的強度はかなり満足できるものと思われる。一方、ヒドロキシアシルグルタミン含量 70% の膜については、応用例として細胞培養における灌流培養型基材に要求される酸素および溶質透過性は、高い透水性から判断して十分可能と思われる。<sup>11)</sup>

4. む す び

疎水性ポリ- $\alpha$ -アミノ酸の化学修飾により透水性の優れたコポリ- $\alpha$ -アミノ酸膜の合成が可能であった。特に長い側鎖をもつ N<sup>5</sup>-ジヒドロキシアミノプロピル-L-グルタミン残基は大きな親水性側領域を形成するため、透水性を付与するためには有効であった。また活性カルボキシル基と N(3-アミノプロピル)ジエタノールとの反応により側鎖にアミド結合が導入され、側鎖間で分子内あるいは分子間水素結合が形成され一度キャスト法によりできた膜は、ほとんど合成ポリ- $\alpha$ -アミノ酸を溶解させるジクロロ酢酸にもトルフルオ酢酸にも溶解しなくなる。

一般にエステル結合は生体内で加水分解酵素により分解されるが、コポリマー中の疎水性残基側鎖のベンジルエステルは、フェニル基の存在により酵素による加水分解反応を受けにくいと考えられる。<sup>9)</sup>

非荷電のヒドロゲル表面における血液成分や細胞の付着は材料表面に形成される水和層により抑制されるが、本研究で扱った含水性コポリ- $\alpha$ -アミノ酸は、フリーのカルボキシル基を部分的に残存させることにより、やや酸性に荷電した含水性ポリ- $\alpha$ -アミノ酸膜の合成も可能であり、このような表面では血栓形成を引き起こす第1段階となる血漿タンパクの付着抑制効果が期待できる。<sup>10)</sup>

(1983年3月30日)

参 考 文 献

- 1) 長岡昭二 “含水性高分子の生体適合性と生医材料としての利用に関する研究、博士論文、京大 (1982)
- 2) A. Takizawa et. al. J. Appl. Polym. Sci., 18, 1443 (1974); Polymer, 15, 157 (1974)
- 3) J. F. Kruse, “Growth, Nutrition and Metabolism of Cells in Culture”, Ed., G. H. Rollblat and V. J. Cristfalo vol. 2, p. 11, Academic Press, London (1972)
- 4) Y. Kuroyanagi et. al. J. Polymer Sci., Chem. Ed., in press
- 5) Y. Kuroyanagi et. al. Colloid and Polymer Sci., in press
- 6) M. Barteri and B. Pispisa, Biopolymers, 12, 2309 (1973)
- 7) G. Ebert and Y. Kuroyanagi J. Biological Macromolecules, in press
- 8) 酒井良忠ら, 高分子論文集, 34, 801 (1977)
- 9) 林 寿郎ら, 第12回医用高分子シンポジウム (1983)
- 10) 妹尾 学編 “医用高分子” 共立出版 (1978)