

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2018年1月4日(04.01.2018)



(10) 国際公開番号

WO 2018/003821 A1

(51) 国際特許分類:
C08F 230/02 (2006.01) C09D 143/02 (2006.01)
A61L 33/06 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2017/023654

(22) 国際出願日: 2017年6月28日(28.06.2017)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2016-129411 2016年6月29日(29.06.2016) JP

(71) 出願人: 日油株式会社 (NOF CORPORATION)
[JP/JP]; 〒1506019 東京都渋谷区恵比寿四丁目20番3号 Tokyo (JP). 国立大学法人 東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO)
[JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 石原 一彦 (ISHIHARA, Kazuhiko);
〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内大学内 Tokyo (JP). 松田 将 (MATSUDA, Masaru); 〒2100865 神奈川県川崎市川崎区千鳥町3-3 日油株式会社内 Kanagawa (JP). 野田 朋澄 (NODA, Tomozumi); 〒2100865 神奈川県川崎市川崎区千鳥町3-3 日油株式会社内 Kanagawa (JP). 山田 智 (YAMADA, Satoshi); 〒2100865 神奈川県川崎市川崎区千鳥町

3-3 日油株式会社内 Kanagawa (JP). 坂元 伸行 (SAKAMOTO, Nobuyuki); 〒2100865 神奈川県川崎市川崎区千鳥町3-3 日油株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 庄 司 隆, 外 (SHOJI, Takashi et al.);
〒5320011 大阪府大阪市淀川区西中島五丁目6番13号 御幸ビル307号 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,

(54) Title: COPOLYMER AND APPLICATION THEREFOR

(54) 発明の名称: 共重合体およびその用途

(57) Abstract: Provided are: a copolymer having sufficient biocompatibility for use in medical material applications; and a method for forming a cross-linked body that uses said copolymer and imparts biocompatibility to a substrate surface. More specifically, a protein-absorption suppression effect and a cell-adhesion inhibition effect, being characteristics of phosphorylcholine groups, are imparted to the substrate surface. The present invention was completed as a result of the discovery that a copolymer containing a phosphorylcholine structural unit and a photoreactive structural unit or a copolymer containing a phosphorylcholine structural unit, a photoreactive structural unit, and a hydrophobic structural unit can impart a protein-absorption suppression effect and a cell-adhesion inhibition effect to a substrate surface by using a simple method called light irradiation.

(57) 要約: 医療材料用途に用いられるに十分な生体適合性を有する共重合体と該共重合体を用いて基材表面に生体適合性を付与する架橋体形成方法を提供する。詳しくは、基材表面にホスホリルコリン基の特長である蛋白質吸着抑制効果と細胞接着抑制効果を与える。ホスホリルコリン構成単位および光反応性構成単位を含有する共重合体、または、ホスホリルコリン構成単位、光反応性構成単位および疎水性構成単位を含有する共重合体が、光照射という簡便な手法にて基材表面に蛋白質吸着抑制効果と細胞接着抑制効果を付与できることを見出し、本発明を完成した。

SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称： 共重合体およびその用途

技術分野

[0001] 本発明は、共重合体およびその用途に関する。

本出願は、参照によりここに援用されるところの日本出願特願2016-129411号優先権を請求する。

背景技術

[0002] ホスホリルコリン基含有共重合体は、血液適合性に代表される優れた生体適合性を有する。そのために、ホスホリルコリン基含有共重合体を生体適合性に乏しい基材表面に被膜形成することで生体適合化させる用途に利用されている。例えば、人工心臓、人工肺、人工血管、コンタクトレンズ等の各種医療機器への表面処理剤に利用されている（非特許文献1）。

このとき多くは、該共重合体を、生体適合性を付与すべき基材表面に対して物理結合あるいは化学結合を介して基材表面に結合させ、含水被膜ゲルを形成することで用いている。物理結合を基材表面に行うには、ホスホリルコリン基を有する重合体に疎水基を有する単量体を導入して物理結合する方法やイオン性基を導入してイオン結合する方法が挙げられる。

[0003] しかし、これらの方法は、共重合体の構造の一部を別の官能基で置き換える必要があり、ホスホリルコリン基の機能を十分に発揮できない。さらには基材との親和性が不十分であれば耐久性が不十分となりはがれてしまうこととなる。一方、化学結合性基を導入したホスホリルコリン基含有共重合体は基材表面と化学結合するため、少ない官能基の導入で基材と結合し、比較的耐久性の高い被膜を形成することができる（特許文献1）。しかし、この化学結合性基を導入した場合には、基材表面に官能基があることが必須要件となり、またホスホリルコリン基含有共重合体同士の結合は一般的にないため、耐久性も十分ではなかった。さらには、化学結合時の未反応官能基を後処理で不活性化する工程についても必要であり実用上の多くの課題を有してい

た。

[0004] そこで、光反応性を有するホスホリルコリン基含有共重合体が提案されている（特許文献2）。この共重合体は、基材の選択において化学結合性官能基がなくても基材表面に結合することができ、かつ被膜形成性にも優れている。しかしながら、基材表面への光反応性アジド基を有する単量体を製造する際に酸塩化物やハロゲン溶媒を使用することから、製造時の安全性確保には十分な管理が必要であった。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：米国特許6090901号明細書

特許文献2：特開2010-059367号公報

非特許文献

[0006] 非特許文献1：石原一彦，MMJ the Mainichi medical journal誌，「医療の森：明日への展望（2）：医療用新素材『MPC共重合体』」，2010年，第6巻，第2号，p. 68-70

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 生体適合性化すべき基材表面への光反応性基を有し、該表面を被覆するための安定な架橋体を形成するための共重合体については十分な追求がなされていなかった。

すなわち本発明の課題は、医療材料用途に用いられるに十分な生体適合性を有する共重合体と該共重合体を用いて基材表面に生体適合性を付与する架橋体形成方法を提供することであり、詳しくは、基材表面にホスホリルコリン基の特長である蛋白質吸着抑制効果と細胞接着抑制効果を与えることである。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意検討した結果、ホスホリルコリン構成

単位および光反応性構成単位を含有する共重合体、または、ホスホリルコリン構成単位、光反応性構成単位および疎水性構成単位を含有する共重合体が、光照射という簡便な手法にて基材表面に蛋白質吸着抑制効果と細胞接着抑制効果を付与できることを見出し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は下記の通りである。

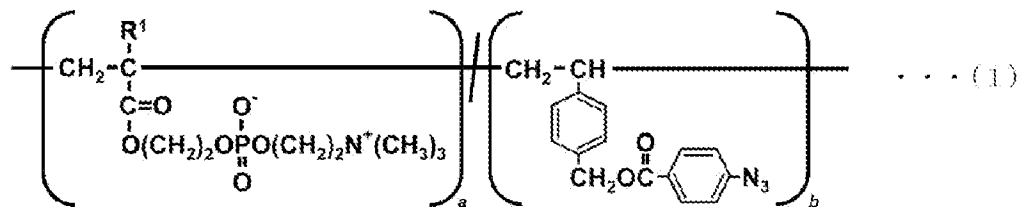
- [0009] 〔1〕重量平均分子量が10,000～1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが、

$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

 である共重合体。

[化1]



(上記式(1)中、R¹は、水素原子またはメチル基を示す。)

- 〔2〕重量平均分子量が10,000～1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

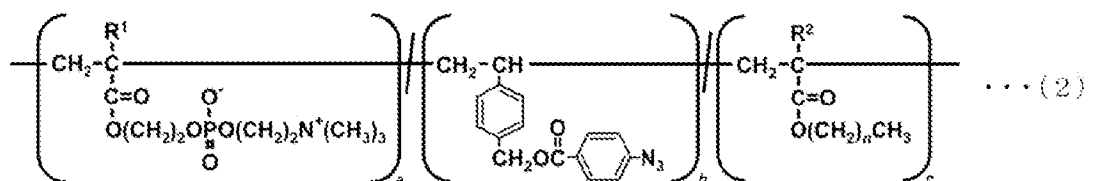
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である共重合体。

[化2]



(上記式(2)中、R¹、R²は、水素原子またはメチル基を示す。n=3～

１７である。）

〔３〕２－メタクリロイルオキシエチル－２－トリメチルアンモニオエチルホスフェートに基づく構成単位および４－（４－アジドベンゾイルオキシメチル）スチレンに基づく構成単位を含む、前記の〔１〕に記載の共重合体。

〔４〕２－メタクリロイルオキシエチル－２－トリメチルアンモニオエチルホスフェートに基づく構成単位、４－（４－アジドベンゾイルオキシメチル）スチレンに基づく構成単位およびメタクリル酸ブチルに基づく構成単位を含む、前記の〔２〕に記載の共重合体。

〔５〕２－メタクリロイルオキシエチル－２－トリメチルアンモニオエチルホスフェートに基づく構成単位、４－（４－アジドベンゾイルオキシメチル）スチレンに基づく構成単位およびメタクリル酸ステアリルに基づく構成単位を含む、前記の〔２〕に記載の共重合体。

〔６〕前記の〔１〕～〔５〕のいずれかに記載の共重合体を含む表面処理剤。

〔７〕蛋白質吸着抑制用表面処理剤である前記の〔６〕に記載の表面処理剤。

〔８〕細胞接着抑制用表面処理剤である前記の〔６〕に記載の表面処理剤。

〔９〕前記の〔１〕～〔５〕のいずれかに記載の共重合体または前記の〔６〕～〔８〕のいずれか１に記載の表面処理剤を、基材表面にコーティングした後、該基材表面に光照射して、該基材表面に架橋体を形成することを特徴とする架橋体の形成方法。

〔１０〕前記の〔９〕に記載の架橋体の形成方法により得られた架橋体。

〔１１〕前記の〔１〕～〔５〕のいずれか１に記載の共重合体または前記の〔６〕～〔８〕のいずれか１に記載の表面処理剤に光照射して得られる架橋体。

〔１２〕前記の〔１０〕または前記の〔１１〕に記載の架橋体を含む医療

用具。

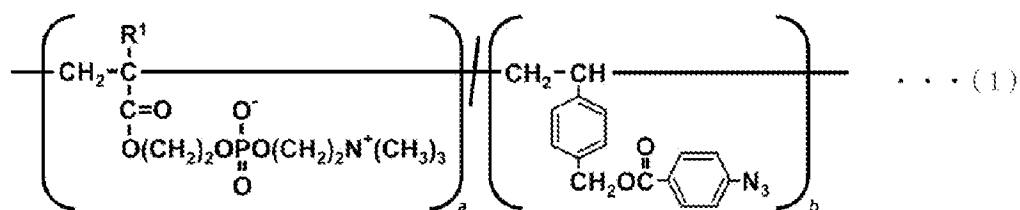
〔13〕重量平均分子量が10,000～1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが

$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である共重合体を含む表面処理剤。

[化3]



(上記式(1)中、R¹は、水素原子またはメチル基を示す。)

〔14〕重量平均分子量が10,000～1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

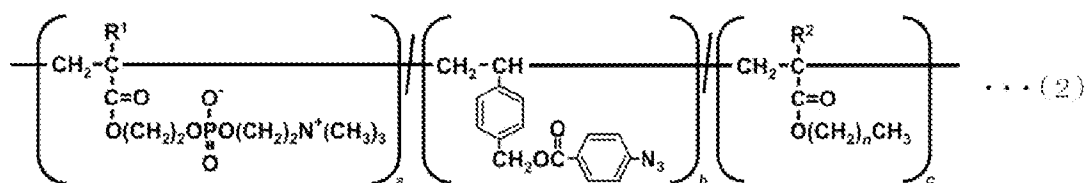
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である共重合体を含む表面処理剤。

[化4]



(上記式(2)中、R¹、R²は、水素原子またはメチル基を示す。n=3～17である。)

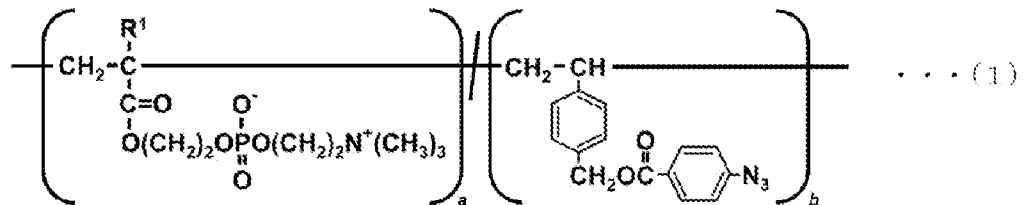
〔15〕重量平均分子量が10,000～1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが

$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である共重合体を使用する表面処理方法。

[化5]



(上記式(1)中、 R^1 は、水素原子またはメチル基を示す。)

[16] 重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

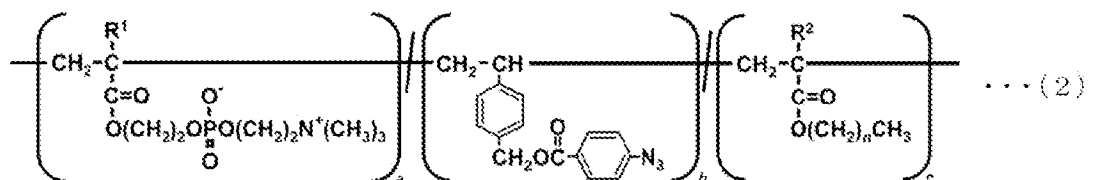
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である共重合体を使用する表面処理方法。

[化6]



(上記式(2)中、 R^1 、 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 $n = 3 \sim 17$ である。)

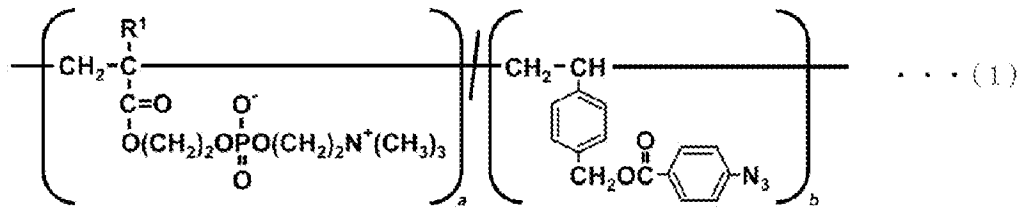
[17] 重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが

$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である表面処理用共重合体。

[化7]



(上記式(1)中、 R^1 は、水素原子またはメチル基を示す。)

[18] 重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

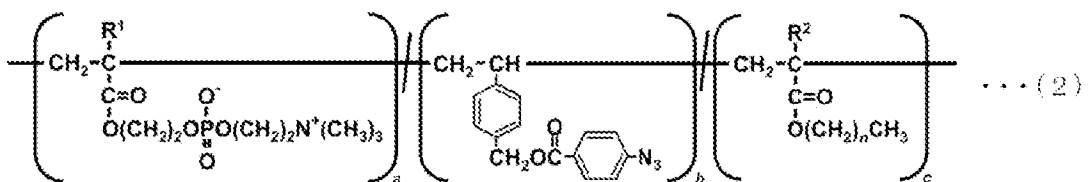
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である表面処理用共重合体。

[化8]



(上記式(2)中、 R^1 、 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 $n = 3 \sim 17$ である。)

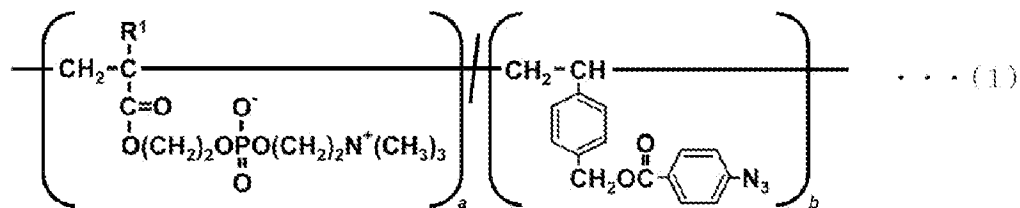
[19] 重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが、

$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である共重合体を表面処理剤の製造としての使用。

[化9]



(上記式(1)中、 R^1 は、水素原子またはメチル基を示す。)

[20] 重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

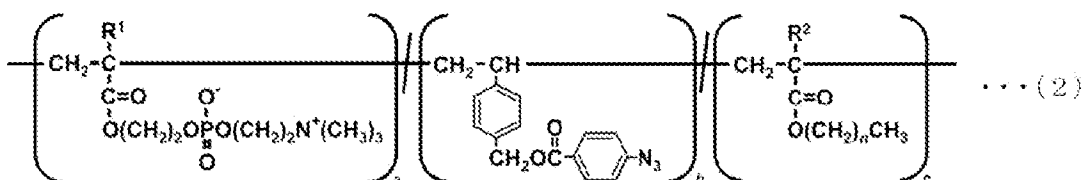
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である共重合体を表面処理剤の製造としての使用。

[化10]



(上記式(2)中、 R^1 、 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 $n = 3 \sim 17$ である。)

発明の効果

[0010] 本発明により、医療材料用途に用いられるに十分な生体適合性を有する共重合体と該共重合体を用いて基材表面に生体適合性を付与する架橋体形成方法が提供される。

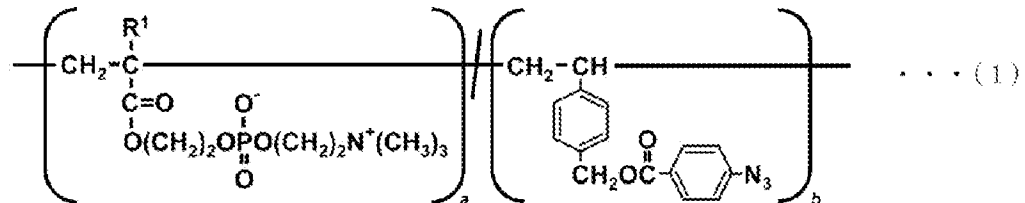
発明を実施するための形態

[0011] 以下、本発明をさらに詳細に説明する。

本発明の対象の共重合体は、下記式(1)で表される構造を有し、ホスホリルコリン構成単位および光反応性構成単位からなる共重合体である。

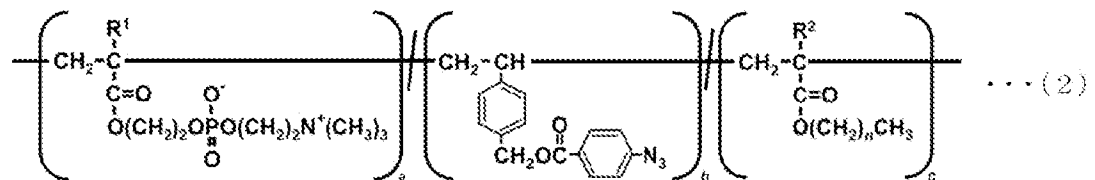
また、本発明の対象の共重合体は、下記式（２）で表される構造を有し、ホスホリルコリン構成単位、光反応性構成単位および疎水性構成単位からなる共重合体である。

[0012] [化11]



[0013] 上記式（１）中、 R^1 は、水素原子またはメチル基を示す。 a 、 b はモル比率を表し、 $a/(a+b)=0.75\sim0.99$ 、 $b/(a+b)=0.01\sim0.25$ である。

[0014] [化12]



[0015] 上記式（２）中、 R^1 、 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 a 、 b 、 c はモル比率を表し、 $a/(a+b+c)=0.30\sim0.98$ 、 $b/(a+b+c)=0.01\sim0.25$ 、 $c/(a+b+c)=0.01\sim0.69$ 、 n は $3\sim17$ である。

[0016] 本発明の対象の表面処理剤は、本発明の共重合体を含む。

本発明の対象の架橋体の形成方法は、本発明の共重合体又は本発明の表面処理剤を基材表面にコーティングした後、該基材表面に光照射して、該基材表面に架橋体を形成することを特徴とする。

本発明の対象の架橋体は、本発明の架橋体の形成方法により得られる、又は、本発明の共重合体又は本発明の表面処理剤に光照射して得られる。

本発明の対象の医療用具は、本発明の架橋体を含む。

[0017] 本発明の共重合体の各構成単位について、下記に説明する。

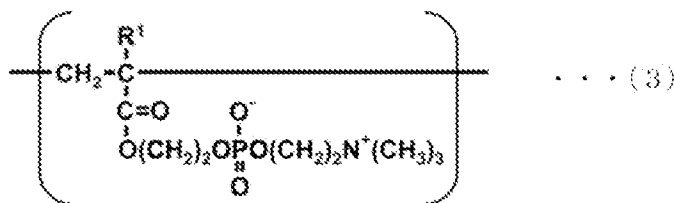
[ホスホリルコリン構成単位]

本発明の共重合体は、ホスホリルコリン（PC）基含有単量体に基づく構成単位（参照：式（3））を共重合体構造中に含む。共重合体構造中、ホスホリルコリン基は、生体膜の主成分であるリン脂質と同様の構造を有する極性基である。ホスホリルコリン基を共重合体中に導入することで、蛋白質吸着抑制、細胞吸着抑制、抗血栓性、親水性などの生体適合性を共重合体に付与することができる。

さらに、該共重合体を基材表面上で光処理等することで基材に生体適合性を付与できる。

前記PC基含有単量体としては、2-（メタ）アクリロイルオキシエチル-2'-（トリメチルアンモニオ）エチルホスフェート（別名：2-メタクリロイルオキシエチル-2'-トリメチルアンモニオエチルホスフェート）（参照：式（8））が挙げられる。

[0018] [化13]



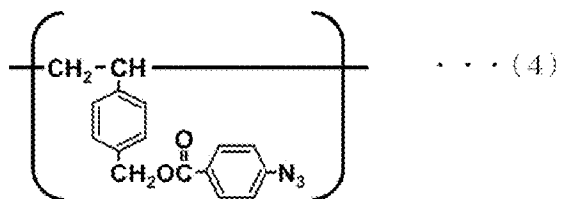
[0019] 上記R¹は、水素原子またはメチル基を示す。

[0020] [光反応性構成単位]

本発明の共重合体は、光反応性アジドフェニル基を含有する構成単位（参照：式（4））を共重合体構造中に含む。アジドフェニル基は、光照射により反応性に富むニトレンを生成し、基材あるいは共重合体から水素原子を引き抜くことで結合し得るものである。アジドフェニル基含有単量体としては、4-（4-アジドベンゾイルオキシメチル）スチレン（参照：式（9）、以下、A z S t と略す場合がある）が挙げられる。

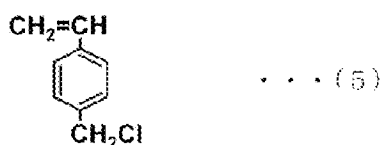
[0021]

[化14]

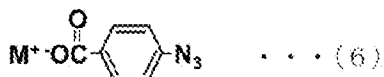


[0022] A z S t は、例えば、クロロメチルスチレン（参照：式（５））とカルボン酸アルカリ金属塩（参照：式（６））の置換反応により合成することができるが、これに限定されるものではない。

[0023] [化15]



[0024] [化16]



[0025] 上記式（６）中、Mは、アルカリ金属を示す。

[0026] クロロメチルスチレン（以下、CMSと略す場合がある）としては、例えば、AGCセイミケミカル（株）製品を使用することができる。

カルボン酸アルカリ金属塩は、４－アジド安息香酸（以下、ABAと略す場合がある）とアルカリ金属塩により調製される。式（６）中のMは、アルカリ金属であり、例えば、リチウム原子、ナトリウム原子、カリウム原子等が挙げられるが、好ましくはナトリウム原子、カリウム原子である。

カルボン酸アルカリ金属塩の使用量は、原料であるCMS 1.0モルに対し0.5～1.0モル、好ましくは、1.0～3.0モルである。0.5モル未満では、原料のCMSが残存するため純度が低下する場合があります、1.0モルを超える場合では、使用原料費の増加、釜効率の低下によりコスト面で不利となる場合がある。

反応に用いられる溶媒としては、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシ

ド類およびスルホランなどのスルホン類、N，N－ジメチルホルムアミド、N，N－ジメチルアセトアミド、N－メチルピロリドンなどアミド類が挙げられる。なお、これらの溶媒は、単独または二種以上を混合して使用しても良い。

[0027] 置換反応の反応温度は、反応条件により適切な反応温度を選べるが、通常30～80℃が好ましい。反応温度が高くなると副反応が顕著になる場合があるため、現実的な速度で反応が進行する範囲において、なるべく低温で反応を行うことが重要である。

反応後、A z S t は抽出、洗浄操作により回収される。該抽出操作は、例えば、得られた反応液を酢酸エチルに溶解し、食塩水により複数回洗浄することで、有機層に抽出される。また、洗浄液として、アルカリ性の水性媒質を用いることで、未反応のA B A を効率的に除去することができる。なお、アルカリ性の水性媒質の例示としては、水とアルカリ性溶媒（例、炭酸カリウム水溶液）との混合溶媒であるが特に限定されない。

上記操作によりA z S t 溶液を得ることができ、必要があれば、クロマトグラフィー等により精製することができる。また、A z S t の光反応性の点から冷凍暗所保管が望ましい。

[0028] [疎水性構成単位]

本発明の共重合体は、疎水性基含有単量体に基づく構成単位（参照：式（7））を共重合体構造中に含んでもよい。疎水性基は、疎水性基材表面への物理吸着により、当該共重合体の塗布性を向上させることができる。

該疎水性基含有単量体としては、（メタ）アクリル酸ブチル、（メタ）アクリル酸ヘキシル、（メタ）アクリル酸2－エチルヘキシル、（メタ）アクリル酸デシル、（メタ）アクリル酸ドデシル、（メタ）アクリル酸トリデシル、（メタ）アクリル酸ステアシル等の疎水性置換基有するメタクリル酸エステル（参照：式（10））が挙げられる。

[0029]

[化17]



[0030] 上記 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 $n = 3 \sim 17$ である。

[0031] 本発明の共重合体の重量平均分子量が 10,000 未満の場合は、重合体の精製が困難であり、1,000,000 を超える場合は、製造時の粘性が高くなりすぎ取り扱いが困難となるおそれがある。

なお、本発明の共重合体の重量平均分子量の好ましい範囲は、20,000 ~ 80,000 であり、より好ましい範囲は 23,000 ~ 75,000 である。

式 (1) 中、 a および b は、式 (3) および式 (4) の 2 つの構成単位の構成比、すなわち対応する単量体のモル比を表す。

式 (2) 中、 a 、 b および c は、式 (3)、式 (4) および式 (7) の 3 つの構成単位の構成比、すなわち対応する単量体のモル比を表す。

[0032] ここで、 a 、 b および c は、当該構成単位の構成比を表しているのみであって、本発明の共重合体が式 (3) および式 (4) で表されるブロック、または、式 (3)、式 (4) および式 (7) で表されるブロックからなる、ブロック共重合体のみを意味するものではない。本発明の共重合体は、式 (3) および式 (4) の構成単位、または、式 (3)、式 (4) および式 (7) の構成単位 (単量体) のランダム共重合体であってもよく、ブロック共重合体であってもよく、あるいは、ランダム部とブロック部が混在する共重合体であってもよい。また、交互共重合体部が存在してもよい。

また、当該構成単位の構成比を表す a 、 b および c の比は、任意に調製可能であり、水性媒体に可溶な共重合体であることが好ましい。なお、水性媒体は、例えば、水、水/アルコール混合溶媒等を例示することができる。

本発明の共重合体のホスホリルコリン構成単位、光反応性構成単位、および疎水性構成単位の組合せは、以下の通りであるが、特に限定されない (左

がホスホリルコリン構成単位、中央が光反応性構成単位および右が疎水性構成単位を示す)。

[0033] MPC-AzSt

MPC-AzSt-メタクリル酸ブチル

MPC-AzSt-メタクリル酸ヘキシル

MPC-AzSt-メタクリル酸2-エチルヘキシル

MPC-AzSt-メタクリル酸デシル

MPC-AzSt-メタクリル酸ドデシル

MPC-AzSt-メタクリル酸トリデシル

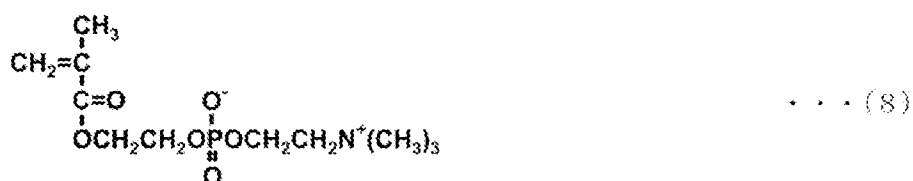
MPC-AzSt-メタクリル酸ステアリル

さらに、下記の実施例より、より好ましい本発明の共重合体のホスホリルコリン構成単位、光反応性構成単位および疎水性構成単位の組合せは、MPC-AzSt-メタクリル酸ブチルである(実施例4~6)。

次に、本発明の共重合体の製造方法例について説明する。

[0034] 上述の式(1)で表される構造を有する本発明の共重合体(2元共重合体)においては、例えば、下記式(8)で示されるMPC(2-メタクリロイルオキシエチル-2-トリメチルアンモニオエチルホスフェート)と、下記式(9)で示されるAzStを、MPCおよびAzStの合計量に対して、MPCをモル比で0.75~0.99、AzStをモル比で0.01~0.25の割合で含む単量体組成物を重合させる(重合反応系)ことで、式(1)に示される構造を有する共重合体を得ることができる。

[0035] [化18]



[0036]

[化19]



[0037] [化20]



[0038] 上述の式(2)で表される構造を有する本発明の共重合体(3元共重合体)においては、上記重合反応系中に式(10)で示されるメタクリル酸エステル(n は3~17)を加えればよい。

例えば、式(8)で示されるMPCと、式(9)で示されるAzStと、式(10： $n=3$)で示されるメタクリル酸ブチル(BMA)を、MPC、AzStおよびBMAの合計量に対して、MPCをモル比で0.30~0.98、AzStをモル比で0.01~0.25、BMAをモル比で0.01~0.69の割合で含む単量体組成物を重合させることで、式(2)に示される構造を有する共重合体(R^1 、 R^2 はメチル基を示し、 $n=3$ を示す)を得ることができる。

さらに共重合可能な他の単量体を構成成分として含有してもよい。

[0039] 上記単量体組成物の重合反応は、例えば、ラジカル重合開始剤の存在下、窒素、二酸化炭素、アルゴン、ヘリウム等の不活性ガスで反応系内を置換して、または当該雰囲気において、ラジカル重合、例えば、塊状重合、懸濁重合、乳化重合、溶液重合等の公知の方法により行うことができる。

上記単量体組成物の重合反応は、得られる重合体の精製等の観点から、溶液重合が好ましい。この重合反応により、式(1)あるいは(2)で示される構造を有する共重合体を得られる。なお、式(1)あるいは(2)の共重合体は、上記の通り、ランダム共重合体であってもよく、ブロック共重合体であってもよく、あるいは、ランダム部とブロック部が混在する共重合体で

あってもよい。また、交互共重合体部が存在してもよい。

加えて、前記の式（１）で表される構造を有する２元共重合体においては、 $a/(a+b)=0.75\sim0.99$ 、好ましくは $0.80\sim0.95$ 、 $b/(a+b)=0.01\sim0.25$ 、好ましくは $0.05\sim0.20$ を満たすものである。

また、前記の式（２）で表される構造を有する３元共重合体においては、 $a/(a+b+c)=0.30\sim0.98$ 、好ましくは $0.30\sim0.80$ 、 $b/(a+b+c)=0.01\sim0.25$ 、好ましくは $0.05\sim0.20$ 、 $c/(a+b+c)=0.01\sim0.69$ 、好ましくは $0.05\sim0.65$ を満たすものである。

別の記載方法として、前記の式（１）で表される構造を有する２元共重合体において、本発明の共重合体のホスホリルコリン構成単位の比率 a および光反応性構成単位の比率 b は、 $a:b$ が $100:1\sim33$ を満たすものである。

また、前記の式（２）で表される構造を有する３元共重合体において、本発明の共重合体のホスホリルコリン構成単位の比率 a 、光反応性構成単位の比率 b および疎水性構成単位の比率 c は、 $a:b:c$ が $100:1\sim83:1\sim230$ を満たすものである。

さらに、下記の実施例より、より好ましい本発明の共重合体のホスホリルコリン構成単位の比率 a 、光反応性構成単位の比率 b および疎水性構成単位の比率 c は、 $a:b:c$ が $0.6\sim0.8:0.05\sim0.19:0.01\sim0.30$ を満たすものである（実施例４～６）。

これら共重合体の精製は、再沈殿法、透析法、限外濾過法等の一般的な精製方法により行うことができる。

[0040] ラジカル重合開始剤としては、アゾ系ラジカル重合開始剤、有機化酸化物、過硫酸化物が挙げられる。

アゾ系ラジカル重合開始剤としては、例えば、２，２－アゾビス（２－ア

ミノプロピル)二塩酸塩、2, 2-アゾビス(2-(5-メチル-2-イミダゾリン-2-イル)プロパン)二塩酸塩、4, 4-アゾビス(4-シアノ吉草酸)、2, 2-アゾビスイソブチルアミド二水和物、2, 2-アゾビス(2, 4-ジメチルバレロニトリル)、2, 2-アゾビスイソブチロニトリル(AIBN)、ジメチル-2, 2'-アゾビスイソブチレート、1-(1-シアノ-1-メチルエチル)アゾ)ホルムアミド、2, 2'-アゾビス(2-メチル-N-フェニルプロピオンアミジン)ジハイドロクロライド、2, 2'-アゾビス(2-メチル-N-(2-ヒドロキシエチル)-プロピオンアミド)、2, 2'-アゾビス(2-メチルプロピオンアミド)ジハイドレート、4, 4'-アゾビス(4-シアノペンタン酸)、2, 2'-アゾビス(2-(ヒドロキシメチル)プロピオニトリル)等が挙げられる。

[0041] 有機過酸化物としては、過酸化ベンゾイル、ジイソプロピルペルオキシジカーボネート、t-ブチルペルオキシ-2-エチルヘキサノエート、t-ブチルペルオキシピバレート、t-ブチルペルオキシジイソブチレート、過酸化ラウロイル、t-ブチルペルオキシネオデカノエート、コハク酸ペルオキシド(別名:サクシニルペルオキシド)、グルタルペルオキシド、サクシニルペルオキシグルタレート、t-ブチルペルオキシマレート、t-ブチルペルオキシピバレート、ジ-2-エトキシエチルペルオキシカーボネート、3-ヒドロキシ-1, 1-ジメチルブチルペルオキシピバレート等が挙げられる。

過硫酸化物としては、過硫酸アンモニウム、過硫酸カリウム、過硫酸ナトリウム等が挙げられる。

これらのラジカル重合開始剤は、単独で用いても混合物で用いてもよい。重合開始剤の使用量は、単量体組成物100質量部に対して通常0.001~10質量部、好ましくは0.01~5.0質量部である。

[0042] 上記単量体組成物の重合反応は、溶媒の存在下で行うことができる。該溶媒としては、単量体組成物を溶解し、単量体組成物が重合開始剤添加前に反応しないものが使用できる。例えば、水、アルコール系溶媒、ケトン系溶媒

、エステル系溶媒、エーテル系溶媒、含窒素系溶媒が挙げられる。アルコール系溶媒としてはメタノール、エタノール、*n*-プロパノール、イソプロパノール等、ケトン系溶媒としてはアセトン、メチルエチルケトン、ジエチルケトン等、エステル系溶媒としては酢酸エチル等、エーテル系溶媒としてはエチルセロソルブ、テトラヒドロフラン等、含窒素系溶媒としてはアセトニトリル、ニトロメタン、*N*-メチルピロリドン等が挙げられる。好ましくは、水、アルコールまたはそれらの混合溶媒が挙げられる。

重合反応時の温度は、使用する重合開始剤や溶媒の種類によって、また所望の分子量によって適宜適した温度を選択すればよいが、40～100℃の範囲が好ましい。

[0043] (本発明の表面処理剤、架橋体の形成方法)

本発明の表面処理剤は、0.01wt%～5wt%、好ましくは0.1wt%～2.5wt%、より好ましくは0.1wt%～1.0wt%の本発明の共重合体を含む。

本発明の表面処理剤は、本発明の共重合体を含有し、本発明の共重合体が溶解可能な適当な溶媒、例えば、水、生理食塩水、各種緩衝液（リン酸緩衝液や炭酸緩衝液など）、エタノール、メタノール、プロパノール、イソプロパノール、もしくはこれらを混合したものを含んでもよい。

本発明の架橋体の形成方法としては、本発明の表面処理剤を基材表面にコーティングした後、該基材表面に光照射して、該基材表面に架橋体を形成させる。

本発明の表面処理剤のコーティングは、本発明の共重合体を溶解した溶媒（本発明の表面処理剤）を、目的の基材上に塗布すればよい。好ましくは共重合体を0.01mg/cm²（基板表面当り）以上存在させるのがよい。架橋体を基材表面上に形成させるため、共重合体が塗布された基材に200nmから360nmの紫外光を照射すればよい。さらに好ましくは、約254nmの光を照射するのがよい。

[0044] ここで用いられる基材としては、水素原子を引き抜くことができるものが

好ましく、例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリメチルメタクリレート、ポリエチレン、環状ポリオレフィン、ポリジメチルシロキサン、ポリエステル、ポリウレタンなどの各種プラスチック素材がよい。さらに、これら基材の形状は、その使用目的に応じた形状を有する。例えば、板状、チューブ状、シャーレ形状、多数の穴を持つ形状、精密な流路が形成された形状といった形状を持つ。

[0045] (本発明の架橋体、医療用具)

本発明の共重合体から形成された架橋体は、高分子鎖間が架橋された三次元網目構造を有し、生体適合性、親水性、含水性、構造柔軟性、物質吸収性等に優れており、特に生体適合性に優れる。したがって、本発明の架橋体を基材表面に形成させることにより、生体適合性を該基材に付与することができる。一般的に、ホスホリルコリン基が示す生体適合性は血液適合性であり、これは基材表面に蛋白質や細胞が吸着・接着しないことを特長としている。そして、これらの性質を利用することで、架橋体の薬物の徐放担体や細胞の足場、表面修飾材料や、止血剤等の創傷治癒促進剤などの医療用具に好適に用いることができる。

本発明の医療用具の具体例としては、例えば、コンタクトレンズ、人工臓器、移植細胞の足場として機能する基材、創傷部被覆剤、創傷治癒促進剤、止血剤、薬物除放材、表面修飾材料、止血剤等、イムノクロマト、ELISAなどの診断薬用基材、シャーレ、マイクロプレート、フラスコ、バッグなどの細胞培養用基材、マイクロ流路、セル等を例示することができる。

[0046] 本発明は、重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが、

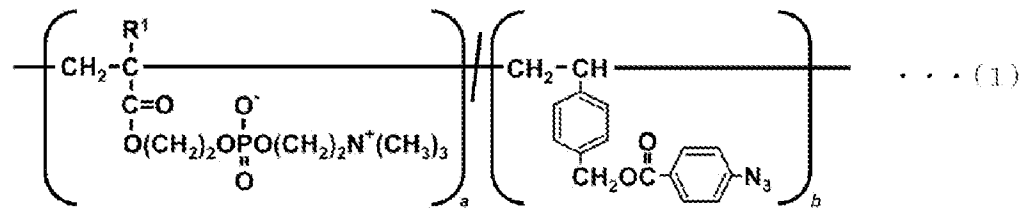
$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である共重合体を使用する表面処理方法も対象とする。

[0047]

[化21]



(上記式(1)中、 R^1 は、水素原子またはメチル基を示す。)

[0048] 本発明は、重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

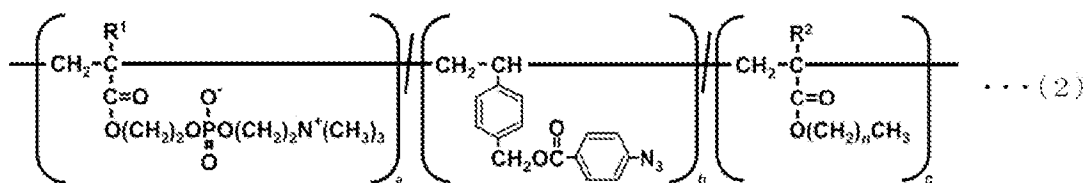
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である共重合体を使用する表面処理方法も対象とする。

[0049] [化22]



(上記式(2)中、 R^1 、 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 $n = 3 \sim 17$ である。)

[0050] 本発明は、重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが、

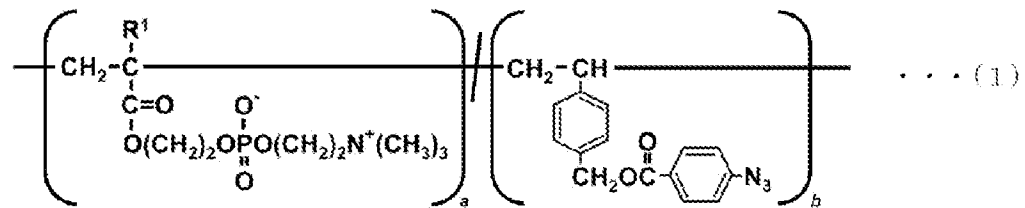
$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である表面処理用共重合体も対象とする。

[0051]

[化23]



(上記式(1)中、 R^1 は、水素原子またはメチル基を示す。)

[0052] 本発明は、重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

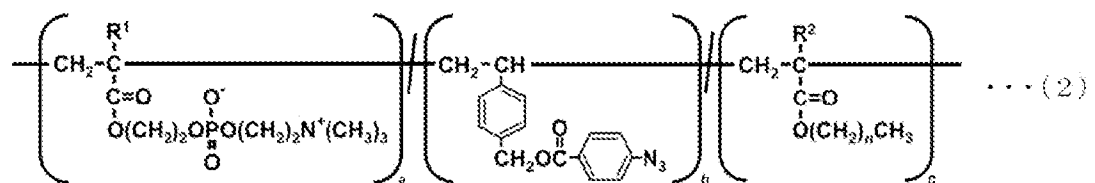
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である表面処理用共重合体も対象とする。

[0053] [化24]



(上記式(2)中、 R^1 、 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 $n = 3 \sim 17$ である。)

[0054] 本発明は、重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが、

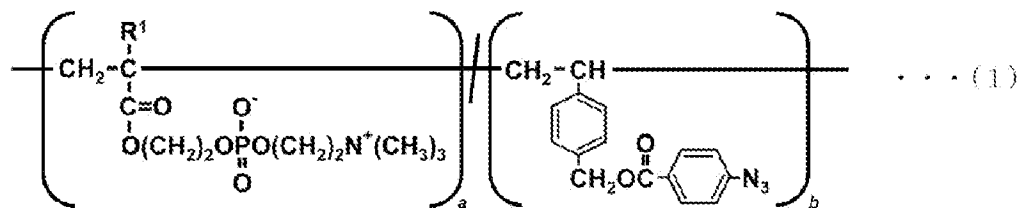
$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である共重合体を表面処理剤の製造としての使用も対象とする。

[0055]

[化25]



(上記式(1)中、 R^1 は、水素原子またはメチル基を示す。)

[0056] 本発明は、重量平均分子量が10,000~1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

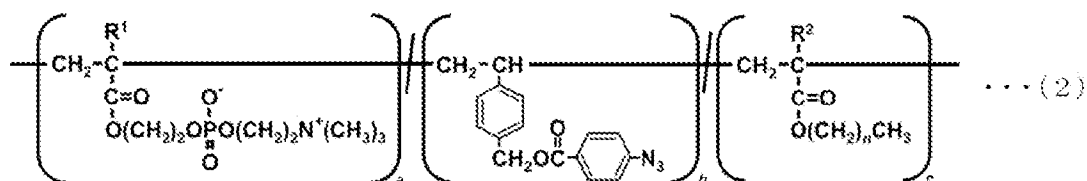
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である共重合体を表面処理剤の製造としての使用も対象とする。

[0057] [化26]



(上記式(2)中、 R^1 、 R^2 は、水素原子またはメチル基を示す。 $n = 3 \sim 17$ である。)

実施例

[0058] 以下、実施例に基づき本発明をより詳細に説明する。なお、実施例中の各種測定は以下に示す方法に従って実施した。

<重量平均分子量の測定>

得られた共重合体5mgを、0.1mol/L硫酸ナトリウム水溶液1gへ溶解し、GPC(ゲル浸透クロマトグラフィー)により重量平均分子量を測定する。測定条件は以下の通りである。

装置：RI-8020、DP-8020、SD-8022、AS-802

O (以上、東ソー (株) 製)、865-CO (日本分光 (株) 製)、カラム: Shodex OHpak (昭和電工 (株) 製)、移動相: 0.1 mol/L 硫酸ナトリウム水溶液、標準物質: プルラン、検出: 視差屈折率計、重量平均分子量 (Mw) の算出: 分子量計プログラム (SC-8020 用 GPC プログラム)、流速 1.0 ml/分、カラム温度: 40°C、試料溶液注入量: 100 μ L、測定時間: 30 分間。

[0059] < ^1H -NMR 測定>

得られた共重合体 20 mg を、0.98 g の重水へ溶解し、 ^1H -NMR を測定した。

装置: JNM-ECS400 (日本電子 (株) 製)

溶媒: 重水

測定温度: 60°C

緩和時間: 15 s

積算回数: 32 回

<赤外線吸収 (IR) 測定>

得られた共重合体 20 mg を、0.98 g のメタノールへ溶解し、NaCl 板に数滴滴下し、乾燥後、測定した。

装置: FT/IR-6600 (日本分光 (株) 製)

積算回数: 16 回

[0060] 1. 共重合体の合成

[4-(4-アジドベンゾイルメチル) スチレン (AzSt) の合成]

200 mL ナスフラスコにアジド安息香酸 6.42 g (0.039 mol)、ジメチルスルホキシド 64 g を秤量し、50°C に昇温し溶解させた。炭酸カリウム 2.72 g (0.020 mol) を加え、30 分間攪拌した。経時後、クロロメチルスチレン 5.46 g (0.036 mol) を加え、8 時間反応させた。8 時間後、酢酸エチル 193.15 g を加え、飽和食塩水 63.95 g で 5 回、有機層を洗浄し、分液抽出した。硫酸ナトリウムを用いた脱水後、濃縮し、AzSt 17.8 g (収率: 89% (50 wt% 酢酸エ

チル溶液)) を得た。

これにより、クロロメチルスチレンとアジド安息香酸の反応により $AzSt$ を合成することができた。さらに、該合成では、ハロゲン溶媒や酸塩化物を使用する必要がなく、工業スケールにおいても安定に供給可能な方法で光反応性アジド基含有共重合体を合成できる。

[0061] [実施例1の共重合体の合成]

2-メタクリロイルオキシエチル-2-トリメチルアンモニオエチルホスフェート (MPC) 38.10 g (0.129 mol)、4-(4-アジドベンゾイルオキシメチル) スチレン ($AzSt$) の50 wt %酢酸エチル ($EtOAc$) 溶液3.80 g (6.80 mmol) を1-プロパノール (nPA) 152.24 g に溶解し、温度計と冷却管を付けた300 mLの4つ口フラスコに入れて30分間窒素を吹き込んだ。その後、60℃でアゾビスイソブチロニトリル ($AlBN$) の10 wt % nPA 溶液を5.90 g (3.59 mmol) 加えて4時間重合反応後、70℃に昇温し、さらに2時間反応させ共重合体を得た。反応終了後、ジエチルエーテルで沈殿精製した。得られた共重合体について、 ^1H-NMR 、IR、重量平均分子量の測定を行った。重量平均分子量の測定結果を表1に示す。

[0062] <実施例1の共重合体の合成確認>

(^1H-NMR)

0.70-1.60 ppm ($-CH_3$)、1.60-2.70 ppm ($-CH_2-C$ 、 $-CH_2-CH$ (Ar) -)、3.30-3.85 ppm ($-N^+(CH_3)_3$)、3.85-4.15 ppm ($-CH_2-N^+(CH_3)_3$)、4.15-5.00 ppm ($-P-O-CH_2-$ 、 $-C(O)-O-CH_2-CH_2-$ 、 $-O-CH_2-CH_2-O-P-$)、5.20-6.10 ppm ($-Ar-CH_2-$)、7.00-8.00 ppm ($-CH-ArH-CH_2-$ 、 $-O-C(O)-ArH$)、8.00-8.80 ppm ($-O-C(O)-ArH$)

(IR)

2957 cm^{-1} (C-H)、2124 cm^{-1} ($-N_3$)、1722 cm^{-1} (C=O)、1235 cm^{-1} (P=O)、1085 cm^{-1} ($-OPOCH_2-$)

)、 968 cm^{-1} ($-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$)

[0063] [実施例2の共重合体の合成]

MPCとAzStの仕込み組成を表1に示すように変更し、実施例1と同様の手順で合成した。重量平均分子量の測定結果を表1に示す。

[0064] [実施例3の共重合体の合成]

MPC 18.17 g (0.0615 mol)、AzStの50 wt %酢酸エチル溶液 5.74 g (0.0103 mol)、メタクリル酸ブチル (BMA) 18.96 g (0.133 mol) を nPA 151.27 g に溶解し、温度計と冷却管を付けた 300 mL の 4 つ口フラスコに入れて 30 分間窒素を吹き込んだ。その後、60℃で AIBN の 10 wt % nPA 溶液を 5.90 g (3.59 mmol) 加えて 4 時間重合反応後、70℃に昇温し、さらに 2 時間反応させ共重合体を得た。反応終了後、ジエチルエーテルで沈殿精製した。得られた共重合体について、 $^1\text{H-NMR}$ 、IR、重量平均分子量の測定を行った。重量平均分子量の測定結果を表1に示す。

[0065] <実施例3の共重合体の合成確認>

($^1\text{H-NMR}$)

0.70-1.60 ppm ($-\underline{\text{CH}_3}$)、1.60-2.70 ppm ($-\underline{\text{CH}_2}-\text{C}$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}(\text{Ar})-$)、3.30-3.85 ppm ($-\text{N}^+(\underline{\text{CH}_3})_3$)、3.85-4.15 ppm ($-\underline{\text{CH}_2}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$)、4.15-5.00 ppm ($-\text{P}-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_2}-\text{O}-\text{P}-$)、5.20-6.10 ppm ($-\text{Ar}-\underline{\text{CH}_2}-$)、7.00-8.00 ppm ($-\text{CH}-\underline{\text{ArH}}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\underline{\text{ArH}}$)、8.00-8.80 ppm ($-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\underline{\text{ArH}}$)

(IR)

2957 cm^{-1} (C-H)、 2123 cm^{-1} ($-\text{N}_3$)、 1722 cm^{-1} (C=O)、 1235 cm^{-1} (P=O)、 1086 cm^{-1} ($-\text{OPOCH}_2-$)、 967 cm^{-1} ($-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$)

[0066] [実施例4～7の共重合体の合成]

MPC、AzSt、BMAの仕込み組成を表1に示すように設定し、実施例3と同様の手順で合成した。重量平均分子量の測定結果を表1に示す。

[0067] [実施例8の共重合体の合成]

実施例3におけるBMAをメタクリル酸ステアリル(SMA)に変更した以外、実施例3と同様の手順で合成した。重量平均分子量の測定結果を表1に示す。

[0068] [比較例1の共重合体の合成]

MPC 40.00 g (0.136 mol) を EtOH 155.11 g に溶解し、温度計と冷却管を付けた 300 mL の 4 つ口フラスコに入れて 30 分間窒素を吹き込んだ。その後、65℃で AIBN の 10 wt % EtOH 溶液を 4.90 g (2.98 mmol) 加えて、6 時間重合反応させることで単量体仕込み組成からなる重合体を得られた。反応終了後、ジエチルエーテルで沈殿精製した。得られた重合体について、重量平均分子量の測定を行った。重量平均分子量の測定結果を表2に示す。

[0069] [比較例2の共重合体の合成]

MPC 35.94 g (0.122 mol)、BMA 4.06 g (0.0286 mol) を EtOH 155.11 g に溶解し、温度計と冷却管を付けた 300 mL の 4 つ口フラスコに入れて 30 分間窒素を吹き込んだ。その後、65℃で AIBN の 10 wt % EtOH 溶液を 4.90 g (2.98 mmol) 加えて 6 時間重合反応させることで単量体仕込み組成からなる共重合体を得られた。反応終了後、ジエチルエーテルで沈殿精製した。得られた共重合体について、重量平均分子量の測定を行った。重量平均分子量の測定結果を表2に示す。

[0070] [比較例3の共重合体の合成]

MPC 18.20 g (0.0616 mol)、ベンゾフェノン基を有しないアミノエチルメタクリレート(AEMA) 1.20 g (7.25 mmol) をイオン交換水(PW) 80.00 g に溶解し、温度計と冷却管を付けた 300 mL の 4 つ口フラスコに入れて 30 分間窒素を吹き込んだ。その後、

60℃で2, 2'-アゾビス(2-メチルプロピオンアミジン)二塩酸塩(V-50)を0.15g(0.550mmol)加えて8時間重合反応させることで単量体仕込み組成からなる共重合体を得られた。反応終了後、透析精製した。得られた共重合体について、重量平均分子量の測定を行った。重量平均分子量の測定結果を表2に示す。

[0071] 2. 共重合体の評価

上記の本発明の共重合体および本発明以外の(共)重合体について、次の方法にて評価を行った。結果は、実施例の共重合体について表1に、比較例の(共)重合体について表2について示す。

[蛋白吸着率の評価]

各共重合体をエタノールに0.5wt%となるように溶解し、ポリスチレン製96ウェルプレート(ワトソン社製)にウェル底面に対して、所定の共重合体量c(単位:mg/cm²)となるように共重合体被膜を形成させた後に、DNA-FIX((株)アトー科学機器製)を用いて254nmの光を7分間照射した。光照射後、エタノールを200μL/well加え、室温にて3時間静置した。その後、エタノールを除去し、新たなエタノールを200μL/well加え、除去するという洗浄工程を3回行った。エタノールによる洗浄後、リン酸緩衝液で24000倍希釈した西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼ標識IgG(BioRad社製)を100μL/well加え、室温にて1時間静置した。1時間後、ウェル内のHRP標識IgG溶液を除去し、0.05%Tween 20の入ったリン酸緩衝液を200μL/well加え、除去する洗浄工程を4回繰り返した。洗浄後に、ペルオキシダーゼ用発色液(KPL社製)を100μL/well加え、室温にて10分間反応させた。10分後に2N硫酸を50μL/well加えることで反応を停止させ、マイクロプレートリーダーにて450nmの吸光度を測定することでウェル内に吸着したペルオキシダーゼ(蛋白質)を検出した。

コントロールとして、共重合体のエタノール溶液の代わりに、水を用いて、上記と同様の操作を行い、比較例4とした。

蛋白吸着率は、ウェル底面の共重合体量 $c = 0.06$ 、 0.24 、 0.36 mg/cm^2 の3水準にて評価を行った。共重合体被膜のないウェル（比較例4）の吸光度を蛋白質吸着率100%として、各実施例および比較例についての蛋白質吸着率を算出した。

[0072] 〔細胞接着率の評価〕

各共重合体をエタノールに0.5wt%となるように溶解し、ポリスチレン製の24ウェルプレート（Nunc社製）のウェル底面に対して、所定の共重合体量 c （単位： mg/cm^2 ）となるように共重合体被膜を形成させた後に、DNA-FIX（（株）アトー科学機器製）を用いて254nmの光を7分間照射した。光照射後、エタノールを400 μL /well加え、室温にて15時間静置した。その後、エタノールを除去し、新しいエタノールを400 μL /well加え、除去するという洗浄工程を3回行った。その後、クリーンベンチ内にて、滅菌済みのダルベッコリン酸緩衝生理食塩水（以下D-PBSとする）を400 μL /wellを加え、除去するという洗浄工程を3回行った。

[0073] 10%コウシ血清とペニシリン-ストレプトマイシンを含むダルベッコ改変イーグル培地（以下3T3用培地とする）にて培養したマウス胎児由来繊維芽細胞（NIH3T3細胞）を10000cells/well（400 μL /well）播種し、37℃のCO₂インキュベーター内で3日間培養した。3日後、上清を除去し、D-PBSを400 μL /well加え、除去するという洗浄工程を2回行った。洗浄後、WST-8（キシダ化学製）と3T3用培地を1対9で混合したものを400 μL /well加え、37℃のCO₂インキュベーター内で3時間培養した。3時間後に上清150 μL をポリスチレン製の平底96ウェルプレート（Nunc社製）に回収し、マイクロプレートリーダーにて570nmの吸光度を測定することによりウェル底面に接着している細胞を検出した。

コントロールとして、共重合体のエタノール溶液の代わりに、水を用いて、上記と同様の操作を行った（比較例4）。

細胞接着率は、ウェル底面の共重合体量 $c = 0.01$ 、 0.10 、 0.25 、 0.50 mg/cm^2 の4水準にて評価を行った。共重合体被膜のないウェル（比較例4）の吸光度を細胞接着率 100% として、各実施例および比較例についての細胞接着率を算出した。

[0074]

[表1]

共重合体の合成成分		実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7	実施例8
単量体 (g)	A	MPQ	38.10	32.35	18.17	28.60	32.50	34.80	31.70
	B	AzSt	1.90	7.65	2.87	4.51	7.30	2.06	0.42
	C	BMA	~	~	18.96	6.89	0.20	3.14	4.06
		SMA	~	~	~	~	~	~	4.55
溶媒 (g)	その他	AEMA	~	~	~	~	~	~	~
		nPA	157.55	151.76	156.58	154.90	152.11	157.36	155.66
		EtOH	~	~	~	~	~	~	~
		PW	~	~	~	~	~	~	~
開始剤 (g)	その他	EtOAc	1.90	7.65	2.87	4.51	7.30	2.06	0.42
		AlBN	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
		V-50	~	~	~	~	~	~	~
		a	0.95	0.80	0.30	0.60	0.80	0.80	0.80
各構成単位 のモル比率	その他	b	0.05	0.20	0.05	0.10	0.19	0.05	0.10
		c	0	0	0.65	0.30	0.01	0.15	0.19
		その他	0	0	0	0	0	0	0
		重畳平均分子量 (Mw)	72,000	63,000	12,000	25,000	50,000	49,000	28,000
共重合体の評価結果	蛋白吸着率 [%] ()内は吸光度 (450nm)	[c=0.06]*	16.7 (0.289)	15.2 (0.262)	14.1 (0.244)	5.7 (0.099)	5.4 (0.093)	3.8 (0.065)	9.4 (0.162)
		[c=0.24]*	14.6 (0.253)	11.7 (0.202)	11.5 (0.198)	3.8 (0.066)	4.2 (0.073)	3.6 (0.062)	8.6 (0.146)
		[c=0.36]*	14.0 (0.241)	10.3 (0.178)	9.7 (0.167)	3.5 (0.060)	3.1 (0.053)	2.8 (0.049)	8.2 (0.142)
		[c=0.01]*	2.1 (0.070)	1.7 (0.056)	0.8 (0.026)	1.1 (0.036)	0.6 (0.019)	0.9 (0.029)	0.8 (0.028)
	細胞接着率 [%] ()内は吸光度 (570nm)	[c=0.10]*	2.0 (0.065)	0.9 (0.029)	1.0 (0.033)	0.5 (0.018)	1.0 (0.032)	1.8 (0.060)	1.0 (0.032)
		[c=0.25]*	1.3 (0.042)	1.2 (0.038)	1.5 (0.048)	0.8 (0.025)	0.8 (0.028)	1.7 (0.056)	1.0 (0.034)
		[c=0.50]*	0.8 (0.028)	1.1 (0.035)	1.7 (0.056)	0.8 (0.028)	0.8 (0.025)	1.1 (0.035)	0.9 (0.030)

[0075] [表2]

				比較例1	比較例2	比較例3	比較例4	
(共)重合体の合成成分	単量体 (g)	A	MPC	40.00	35.94	18.20	共重合体を用 いず、水溶 液として水を使 用	
		B	AzSt	-	-	-		
		C	BMA	-	4.06	-		
			SMA	-	-	-		
		その他	AEMA	-	-	1.20		
	溶媒 (g)	nPA	-	-	-			
		EtOH	159.52	159.52	-			
		PW	-	-	80.00			
	開始剤 (g)	EtOAc	-	-	-			
		AIBN	0.49	0.49	-			
	各構成単位 のモル比率	V-50	-	-	0.15			
a		1.00	0.81	0.89				
b		0	0	0				
c		0	0.19	0				
その他		0	0	0.11				
(共)重合体の評価結果	重量平均分子量 (Mw)			188,000	138,000	800,000	100	(1.727) [c=0]*
	蛋白吸着率 [%] ()内は吸光度 (450nm)	[c=0.06]*	93.8 (1.620)	90.0 (1.554)	96.0 (1.658)			
		[c=0.24]*	95.5 (1.650)	88.7 (1.532)	94.5 (1.632)			
		[c=0.36]*	92.1 (1.590)	84.5 (1.460)	93.3 (1.612)			
	細胞接着率 [%] ()内は吸光度 (570nm)	[c=0.01]*	96.6 (3.185)	97.0 (3.198)	98.7 (3.254)	100	(3.296) [c=0]*	
		[c=0.10]*	96.6 (3.183)	96.6 (3.185)	96.6 (3.183)			
		[c=0.25]*	97.7 (3.220)	94.7 (3.120)	96.6 (3.185)			
[c=0.50]*		98.9 (3.259)	93.6 (3.085)	95.8 (3.156)				

[0076] *表中のcは、共重合体量 (mg/cm²) を示す。

表1、2の蛋白吸着率の結果から明らかなように、実施例1～8の共重合体から得られた架橋体を基材表面に形成させ、光を照射することにより、蛋白質(西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼ標識IgG)の吸着を抑制する基材表面を形成できたことを確認した。

一方、比較例1(ホスホリルコリン構成単位を有するが、光反応性構成単位および疎水性構成単位を有しない重合体)、比較例2(ホスホリルコリン構成単位および疎水性構成単位を有するが、光反応性構成単位を有しない共

重合体) および比較例 3 (ホスホリルコリン構成単位およびアミノ基のある構成単位を有するが、光反応性構成単位および疎水性構成単位を有しない共重合体) においては、光照射により、基材表面に共重合体架橋体が形成されないために、蛋白質が接着してしまう結果となった。

以上の結果より、本発明の表面処理剤は、基材表面への塗布と光照射により、基材表面に生体適合性 (蛋白質が吸着できない性能) を付与できることを確認した。

[0077] さらに、表 1、2 の細胞接着率の結果から明らかなように、実施例 1～8 の共重合体から得られた架橋体を基材表面に形成させ、光を照射することにより、マウス胎児由来繊維芽細胞の接着を抑制する基材表面を形成できたことを確認した。

一方、比較例 1 (ホスホリルコリン構成単位を有するが、光反応性構成単位および疎水性構成単位を有しない重合体)、比較例 2 (ホスホリルコリン構成単位および疎水性構成単位を有するが、光反応性構成単位を有しない共重合体) および比較例 3 (ホスホリルコリン構成単位およびアミノ基のある構成単位を有するが、光反応性構成単位および疎水性構成単位を有しない共重合体) においては、光照射により、基材表面に共重合体架橋体が形成されないために、マウス胎児由来繊維芽細胞が接着してしまう結果となった。

以上の結果より、本発明の表面処理剤は、基材表面への塗布と光照射により、基材表面に生体適合性 (細胞が吸着できない性能) を付与できることを確認した。

[0078] 以上の結果より、本発明の架橋体には、蛋白質、細胞等が接着しないことを確認した。これにより本発明の表面処理剤と架橋体を含む医療用具は、高い生体適合性を有する。

産業上の利用可能性

[0079] 医療材料用途に用いられるに十分な生体適合性を有する共重合体と該共重合体を用いて基材表面に生体適合性を付与する架橋体形成方法を提供することができる。

請求の範囲

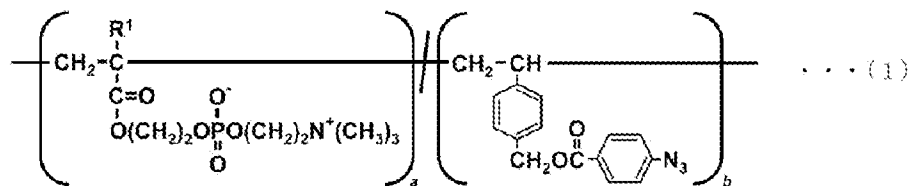
[請求項1] 重量平均分子量が10,000～1,000,000であり、式(1)で表される構造を有し、式(1)中の各構成単位のア、bが、

$$a / (a + b) = 0.75 \sim 0.99、$$

$$b / (a + b) = 0.01 \sim 0.25$$

である共重合体。

[化1]



(上記式(1)中、R¹は、水素原子またはメチル基を示す。)

[請求項2] 重量平均分子量が10,000～1,000,000であり、式(2)で表される構造を有し、式(2)中の各構成単位のア、b、cが、

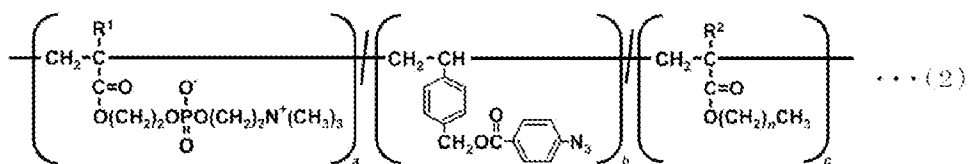
$$a / (a + b + c) = 0.30 \sim 0.98、$$

$$b / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.25、$$

$$c / (a + b + c) = 0.01 \sim 0.69$$

である共重合体。

[化2]



(上記式(2)中、R¹、R²は、水素原子またはメチル基を示す。

n = 3～17である。)

[請求項3] 2-メタクリロイルオキシエチル-2-トリメチルアンモニオエチルホスフェートに基づく構成単位および4-(4-アジドベンゾイル

オキシメチル) スチレンに基づく構成単位を含む、請求項 1 に記載の共重合体。

[請求項4] 2-メタクリロイルオキシエチル-2-トリメチルアンモニオエチルホスフェートに基づく構成単位、4-(4-アジドベンゾイルオキシメチル) スチレンに基づく構成単位およびメタクリル酸ブチルに基づく構成単位を含む、請求項 2 に記載の共重合体。

[請求項5] 2-メタクリロイルオキシエチル-2-トリメチルアンモニオエチルホスフェートに基づく構成単位、4-(4-アジドベンゾイルオキシメチル) スチレンに基づく構成単位およびメタクリル酸ステアリルに基づく構成単位を含む、請求項 2 に記載の共重合体。

[請求項6] 請求項 1～5 のいずれか 1 に記載の共重合体を含む表面処理剤。

[請求項7] 蛋白質吸着抑制用表面処理剤である請求項 6 に記載の表面処理剤。

[請求項8] 細胞接着抑制用表面処理剤である請求項 6 に記載の表面処理剤。

[請求項9] 請求項 1～5 のいずれか 1 に記載の共重合体または請求項 6～8 のいずれか 1 に記載の表面処理剤を、基材表面にコーティングした後、該基材表面に光照射して、該基材表面に架橋体を形成することを特徴とする架橋体の形成方法。

[請求項10] 請求項 9 に記載の架橋体の形成方法により得られた架橋体。

[請求項11] 請求項 1～5 のいずれか 1 に記載の共重合体または請求項 6～8 のいずれか 1 に記載の表面処理剤に光照射して得られる架橋体。

[請求項12] 請求項 10 または請求項 11 に記載の架橋体を含む医療用具。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/023654

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08F230/02(2006.01)i, A61L33/06(2006.01)i, C09D143/02(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08F230/00-230/10, C08F220/00-220/70, A61L33/00-33/18, C09D133/00-133/26, C09D143/00-143/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAplus/REGISTRY(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	WO 2017/047680 A1 (NOF Corp.), 23 March 2017 (23.03.2017), claims (Family: none)	1-12
A	Tomohiro Konno, Hirokazu Hasuda, Kazuhiko Ishihara, Yoshihiro Ito, Photo-immobilization of a phospholipid polymer for surface modification, Biomaterials, 2005.04, Vol.26, No.12, Page.1381-1388	1-12
A	JP 2010-59367 A (The University of Tokyo), 18 March 2010 (18.03.2010), claims (Family: none)	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 August 2017 (15.08.17)

Date of mailing of the international search report
29 August 2017 (29.08.17)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/023654

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2010-59346 A (The University of Tokyo), 18 March 2010 (18.03.2010), claims (Family: none)	1-12
A	WO 2009/066746 A1 (The University of Tokyo), 28 May 2009 (28.05.2009), claims & US 2011/0059176 A1 claims & EP 2226075 A1	1-12
A	Nadia Poilane, Madoka Takai, Kazuhiko Ishihara, WELL DEFINED SURFACE PREPARATION WITH PHOSPHOLIPID POLYMERS FOR HIGHLY SENSITIVE IMMUNOASSAYS, The 55th Symposium on Macromolecules Yokoshu, 2006.09.05, Vol.55, No.2, Disc1, 2Pb126(5065-5066)	1-12

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C08F230/02(2006.01)i, A61L33/06(2006.01)i, C09D143/02(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C08F230/00-230/10, C08F220/00-220/70, A61L33/00-33/18, C09D133/00-133/26, C09D143/00-143/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
P, A	WO 2017/047680 A1 (日油株式会社) 2017.03.23, 請求の範囲 (ファミリーなし)	1-12
A	Tomohiro Konno, Hirokazu Hasuda, Kazuhiko Ishihara, Yoshihiro Ito, Photo-immobilization of a phospholipid polymer for surface modification, Biomaterials, 2005.04, Vol.26, No.12, Page.1381-1388	1-12

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15.08.2017

国際調査報告の発送日

29.08.2017

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

佐藤 のぞみ

4 J

4513

電話番号 03-3581-1101 内線 3457

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2010-59367 A (国立大学法人 東京大学) 2010. 03. 18, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-12
A	JP 2010-59346 A (国立大学法人 東京大学) 2010. 03. 18, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-12
A	WO 2009/066746 A1 (国立大学法人 東京大学) 2009. 05. 28, 請求の 範囲 & US 2011/0059176 A1 (特許請求の範囲) & EP 2226075 A1	1-12
A	Nadia Poilane, Madoka Takai, Kazuhiko Ishihara, WELL DEFINED SURFACE PREPARATION WITH PHOSPHOLIPID POLYMERS FOR HIGHLY SENSITIVE IMMUNOASSAYS, 第 55 回 高分子討論会予稿集, 2006. 09. 05, Vol. 55, No. 2, Disc1, 2Pb126 (5065-5066)	1-12