

超臨界二酸化炭素中で調製したエポキシ化ポリエチレン複合体表面での ホスホリルコリン単分子層の形成とその物性

Construction of phosphorylcholine monolayer on the surface of epoxidized PE prepared by scCO₂ and its surface properties

○松井祐貴¹, 星徹², 青柳隆夫²
*Yuki Matsui¹, Toru Hoshi², Takao Aoyagi²

Abstract : The epoxidized polyethylene (PE) composite was prepared by *in-situ* polymerization of methyl methacrylate and glycidyl methacrylate in the amorphous region of PE using scCO₂. The low molecular weight compound having carboxy groups and phosphorylcholine (PC) groups was prepared by thiol-ene reaction of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) and thiomalic acid. The epoxy groups on the surface of the PE composite were reacted with the carboxy groups of the low molecular weight compound to form PC monolayer. PC monolayer formation was confirmed by ATR-IR, XPS, water contact angle measurements and protein adsorption test by using FITC-BSA. The incorporated PC monolayer effectively suppressed protein adsorption.

1. 緒言

近年, 生物医学に応用される生体親和性材料の開発が飛躍的に進み, 無機材料や高分子材料が人工血管や人工股関節に用いられている^[1]. 当研究室では, 超臨界二酸化炭素(scCO₂)を用いて, PE の非晶領域内で Methyl Methacrylate(MMA) と Glycidyl Methacrylate (GMA)を *in-situ* 重合することで, 表面にエポキシ基を有する PE/Poly(MMA-co-GMA)(PE/PMG) の調製に成功した. エポキシ基はカルボキシ基と室温下, 無触媒で反応が進行するため, 機能性分子の固定化が可能である. 先行研究では, Methacrylic Acid(MAA)と 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine(MPC)から成る生体親和性を示しカルボキシ基を有する共重合体 Poly(MPC-co-MAA)を PE/PMG 表面に固定化することに成功したが, 固定化量が少ないという課題が挙げられた. そこで, 1 分子中にカルボキシ基とホスホリルコリン(PC)基を有する化合物(MPC-COOH)を PE/PMG 表面に固定化することに着目した. MPC-COOH は Poly(MPC-co-MAA)と比較して排除体積が小さく, エポキシ基とカルボキシ基の反応が進行しやすくなるため, より高密度な PC 基の導入が期待される.

本研究では, MPC-COOH を PE/PMG 表面に固定化し, ATR-FTIR 測定, XPS 測定, 接触角測定および FITC-BSA を用いたタンパク質吸着試験^[2]により表面の評価を行った.

2. 実験操作

① PE/PMG の調製

網とスターラーチップを耐圧容器内に設置し, 温度を 50 °C で一定にした後, PE シート(20 mm×20 mm×0.5 mm)をスターラーチップと触れないように耐圧容器内に設置した. 次に, モノマーの総量が 50 mmol となるように, MMA, GMA および V-70 を 80 : 20 : 1(mol 比)の割合でシリンジを用いて耐圧容器内に仕込んだ. その後, CO₂ を 8 MPa まで昇圧し, 4 時間反応させた. 反応後, 得られた複合体はソックスレー抽出器を用いてアセトン洗浄し, 減圧乾燥させた. その後, ATR-FTIR 測定により評価した.

② MPC-COOH の調製^[3]

純水 2.0 mL に MPC 1.1 mmol と Thiomalic Acid 1.0 mmol を仕込み, Ar ガスで 15 min バブリングした. 次に, Triethylamine(5 mol%)を触媒として加え, 90 °C で 3 h 反応させた. 反応後はエバポレーターで溶媒を除去した.

③ Poly(MPC-co-MAA)および MPC-COOH の PE/PMG 表面への固定化

純水 10.0 mL に, MPC-COOH および Poly(MPC-co-MAA)(MPC : MAA = 30.9 : 69.1)をカルボキシ基濃度が 10.0 mM になるように溶解した. その後, PE/PMG シートを浸漬し, 80 °C で 24 h 反応させた. 反応後, 得られたシートを純水およびメタノールで洗浄, 減圧乾燥を行い, XPS 測定, 接触角測定および FITC-BSA を用いたタンパク質吸着試験により評価した. なお, タンパク質吸着試験は 4.2 mg/mL の FITC-BSA 溶液に 37 °C, 1 h の条件でシートを浸漬させることで行った. 浸漬後のシートは蛍光顕微鏡を用いて算術平均輝度を求めることにより評価した.

1: 日大理工・院(前)・応化 2: 日大理工・教員・応化

3. 結果・考察

① PE/PMG の調製

ATR-FTIR スペクトルを Fig. 1 に示す。Fig. 1 より、PE と比較して PE/PMG の 910 cm⁻¹ に GMA 由来のエポキシ基の吸収、1730 cm⁻¹ に MMA, GMA 由来のカルボニル基の吸収がそれぞれ出現したことから、PE/PMG の調製を確認した。

② Poly(MPC-co-MAA) および MPC-COOH の PE/PMG 表面への固定化

実験条件を Table 1, XPS スペクトルを Fig. 2, 接触角測定の結果を Fig. 3, タンパク質吸着試験の結果を Fig. 4 に示す。Fig. 2 より、Poly(MPC-co-MAA) および MPC-COOH を固定化したシートの 401.4 eV 付近に 4 級アンモニウムイオン由来のピークを確認した。これにより、それぞれのシート表面に PC 基の存在を確認した。

Fig. 3 より、PE/PMG と比較して Poly(MPC-co-MAA) および MPC-COOH を固定化したシートの接触角の低下を確認した。接触角の低下は親水性である PC 基の存在が示唆される。また、Poly(MPC-co-MAA) を固定化したシートと比較して MPC-COOH を固定化したシートの接触角が低下した。この結果より、Poly(MPC-co-MAA) の固定化よりも、MPC-COOH の固定化の方がより多くの PC 基を導入できると考えられる。

Fig. 4 より、PE と比較して Poly(MPC-co-MAA) および MPC-COOH を固定化したシートのタンパク質の吸着量が減少した。これは、シート表面への PC 基の導入により、タンパク質の吸着が抑制されたことを示している。また、Poly(MPC-co-MAA) を固定化したシートと比較して MPC-COOH を固定化したシートのタンパク質吸着量が減少した。この結果は、前述した様に MPC-COOH を固定化したシート表面に多くの PC 基が導入されたためと考えられる。

以上の結果より、MPC-COOH の排除体積が小さいため、Poly(MPC-co-MAA) よりも PC 基を多く表面に固定化できたと考えられる。

4. 参考文献

[1] T. Hoshi, et al., J. Mater. Chem., 20, 4897-4904, 2010.
 [2] T. Hoshi, et al., Applied Surface Science., 255, 379-383, 2008.
 [3] H. Gao, et al., J. Chem. Sci., 132:56, 1-9, 2020.

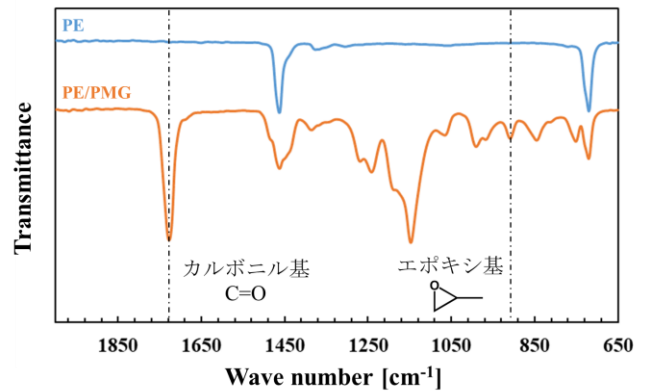


Fig. 1 ATR-FTIR spectra of PE and PE/PMG.

Table 1 Experimental conditions of each sheets.

Run	Samples	Concentration of carboxy groups[mM]
1	Poly(MPC-co-MAA)	10.0
2	MPC-COOH	

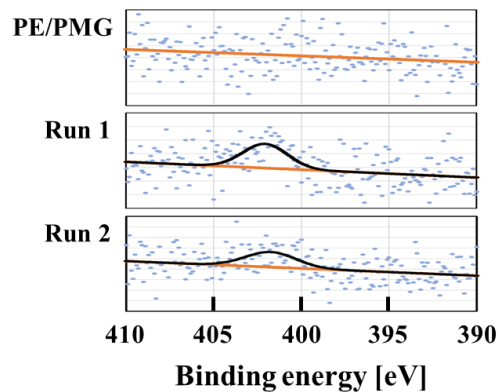


Fig. 2 N_{1s} core-level spectra of each sheets.

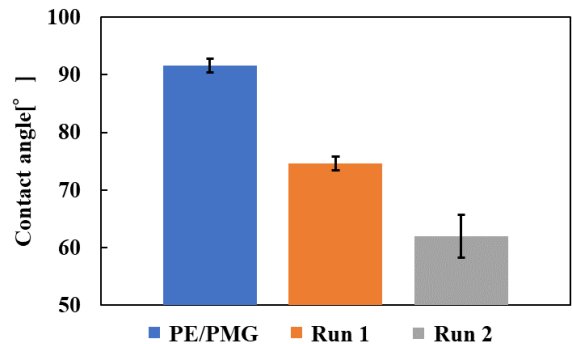


Fig. 3 Contact angle of each sheets.

(Droplet water : 5 μL)(n=5)

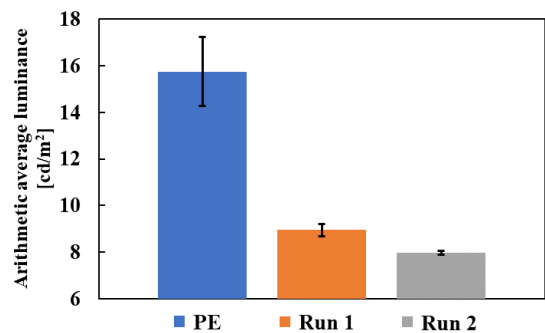


Fig. 4 Arithmetic average luminance of each sheets.(Exposure time : 8.983 ms)(n=5)