

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05598

研究課題名(和文) 高分子ブレンドによるアミノ酸系低分子ハイドロゲルの特性評価

研究課題名(英文) Effect of polymer on physical properties of supramolecular hydrogel formed by L-amino acid-based hydrogelators

研究代表者

鈴木 正浩 (Suzuki, Masahiro)

信州大学・学術研究院繊維学系・教授

研究者番号：30334915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本課題における研究、低分子ゲルにおよぼす高分子の添加効果、低分子ハイドロゲル化剤の高分子鎖への担持法の探究、カルシウムイオンで誘起する低分子ハイドロゲル形成、およびスピリンとジクロフェナクを有するL-リシン型低分子ゲル化剤の形成する低分子ハイドロゲルから、酸をトリガーとした薬物放出系におよぼす高分子の添加効果について検討した。高分子の添加によって低分子ゲルの物性を変化させることができることがわかった。また、高分子へ低分子ゲル化剤セグメントを導入した化合物は、今までの低分子ゲルにない特性を示すことがわかった。さらに、室温で低分子ゲルを形成できる新規システムの開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低分子ハイドロゲルは、再生医療、ドラッグデリバリーなどへの応用が期待されている材料である(一部使われている)。しかしながら、幅広く利用される高分子ハイドロゲルに比べて物性面で劣る場合が多く、応用範囲に限られていた。本研究成果は、そのような低分子ゲルの弱点を高分子の添加という簡単な方法で克服できることを見出した。さらなる詳細な研究は必要であるが、一つの方向性を示すことができたことと確信している。

研究成果の概要(英文)：We studied the effects of polymer additives [especially, poly(vinyl alcohol) (PVA)] on the physical properties of low-molecular-weight (LMW) hydrogels based on L-lysine derivatives. It was found that the physical properties (such as the gelation ability and gel strength) of the LMW hydrogels were controllable by molecular weight, saponification, and concentration of PVA. In addition, the addition of PVA to the drug-containing LMW hydrogels improved their stability in vivo environment. The next, we synthesized the polymer-LMW gelator in which L-lysine gelator was bound to PVA through an urethane bond (PVA-OCONH-gelator) or an ester bond (PVA-OCO-gelator). The PVA-OCONH-gelators were water-insoluble, while they formed a hydrogel by swelling water. The PVA-OCO-gelators were also water-insoluble, but they were soluble in other organic solvents. Finally, we found that the new LMW-hydrogelation system using a bola-typed L-lysine derivative and Ca<sup>2+</sup>.

研究分野：超分子化学

キーワード：低分子ゲル化剤 ゲル 分子集合 アミノ酸誘導体 ナノファイバー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

アミノ酸や核酸といった生物由来の材料を基にした低分子ゲル化剤ならびにそれらの低分子ゲルの研究は、世界的に活発に行われている。特に、バイオマテリアルへの応用が検討されている。この分野では、高分子ハイドロゲルを使った研究の主流になるが、低分子ハイドロゲルは、再生医療、ドラッグデリバリーなどへの応用が期待されている材料である。申請者は、アミノ酸系低分子ハイドロゲルを使って、細胞培養基材や DDS 材料への応用に成功してきた。また、高分子ハイドロゲルに関する知見は、非常に多く報告されているため、基礎的な情報は数多く存在する。例えば、高分子ハイドロゲルにおいて、2種の共有結合性高分子の混合などによりハイドロゲルの特性が飛躍的に向上した例が多くある。一方で、共有結合性高分子と非共有結合性の超分子ポリマー(低分子ゲル)との組み合わせに関する研究は、あまり報告がない。

### 2. 研究の目的

本研究では、高分子を添加(ブレンド)することによって低分子ハイドロゲルの物性(レオロジー特性、熱的特性など)を向上させることができる低分子ハイドロゲルと高分子との組み合わせを見出し、その詳細なメカニズムを機器分析により解明することを目的とする。低分子ゲル網目を構築している超分子ポリマーと高分子との相互作用に着目し、低分子ハイドロゲル網目と高分子間の相互作用の種類や強さがハイドロゲルの特性に与える影響を検討した。ここでは、比較的弱い非共有結合性の相互作用から強い共有結合性相互作用をする系を構築して、系統的に調査した。

### 3. 研究の方法

本研究は、以下の手順で行う。

- [1]ゲル化剤の合成・同定
- [2]高分子水溶液のゲル化テスト(最小ゲル化濃度の測定)
- [3]ナノ構造解析(電子顕微鏡・X線解析・共焦点レーザー顕微鏡・AFM)
- [4]ハイドロゲルの物性評価(レオロジー、ゲル強度、ゲル融解温度)
- [5]ハイドロゲル形成のメカニズム解明(NMR・IR・CD)。

### 4. 研究成果

#### (1) 低分子ゲルにおよぼす高分子の添加効果

正電荷を持つ低分子ゲル化剤(A)、負電荷をもつ低分子ゲル化剤(B)および電荷を持たない低分子ゲル化剤(C)を用いて、種々の高分子水溶液のゲル化特性を調査し、高分子の添加効果について検討した。使用した高分子は、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン・ポリエチレングリコール・カルボキシメチルセルロース・DNA・ゼラチン。

正電荷を有するゲル化剤A、負電荷を有するゲル化剤B、ノニオン性のゲル化剤Cの各種高分子水溶液に対するゲル化テストの結果、これらのゲル化剤は、高分子水溶液を2 wt%以下でゲルすることがわかった。また、多くの場合、高分子を添加するとより少量のゲル化剤添加で低分子ゲルを形成した。電子顕微鏡や原子間力顕微鏡観察から、これらの低分子ゲル化剤が、高分子水溶液中においても超分子ナノファイバーが絡みあった3次元網目構造を形成

していることがわかった。

一方、形成した低分子ゲルのゲル強度ならびにゲルゾル相転移温度について検討したところ、ポリビニルアルコール (PVA) の影響が顕著であることがわかった。そこで、PVA の分子量効果およびけん化度の効果について検討を行った。

A 及びB はPVA の添加によって最小ゲル化濃度が小さくなったが、目視で確認した形成するゲルの透明性に対するPVA 添加効果は見られなかった。また、添加するPVA の分子量または添加量が増加すると、最小ゲル化濃度が減少する傾向が見られた。特にB では、低分子量PVAと高分子量PVAの違いにより最小ゲル化濃度が2~3倍程度変化し、高分子量PVAを用いると0.001 wt%とごく少量の添加においても添加前の4分の1 程度のゲル化剤濃度でゲル化可能である。以上より、電荷を有するゲル化剤のゲル化能に対してはPVA 添加量(濃度)、分子量共に効果が見られたが、分子量の影響が顕著であった。

次に、形成したゲルの物性評価を行うために周波数依存レオロジー測定を行った。PVA の添加によりゲルの貯蔵弾性率( $G'$ )が大幅に増加した。添加するPVAの分子量について注目すると、分子量増加と共に $G'$ も増加する傾向がみられた。 $G'$ はPVA の添加量によっても変化したことから、ゲル化剤とPVA 共に少量の範囲内でハイドロゲルの機械的強度を調節可能であることが分かった。また、PVA の添加がゲル化剤によるゲル形成の駆動力に与える影響を調査するため、重水ゲルのFT-IR スペクトルを測定した。アミド結合のカルボニル伸縮振動に帰属されるピークはPVAの添加によりシフトを伴いブロード化した。これにより、PVAを添加すると、ゲル化剤分子間の分子間水素結合様式が変化し、ゲル化剤の自己組織化形態に影響を与えていることが示唆された。

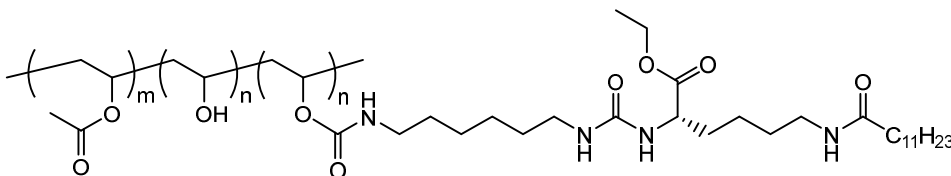
以上より、低分子ゲル化剤A 及びB に対して添加するPVA の分子量や添加量を変えることでゲル化能や機械的強度を調整可能であることが示された。ゲル物性の変化は、PVA の添加によってゲル化剤が形成する繊維状会合の形態が変化するためであると推察できる。

## (2) 低分子ハイドロゲル化剤の高分子鎖への担持

本研究では、低分子ゲル化剤をPVA へ担持した化合物の合成や物性について検討した。

PVA へ低分子ゲル化剤を導入するために、末端にイソシアネート基およびカルボキシ基を有する低分子ゲル化剤を合成した。新規ゲル化剤として、ゲル化特性などを詳細に調査した。

まず、イソシアネート基を持つゲル化剤から、以下の化合物を合成した。

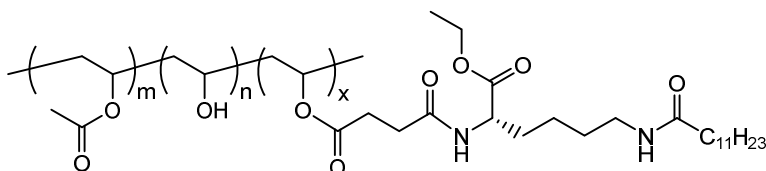


ここでは、0.3-3 mol%の割合でゲル化剤を導入したが、いずれの場合も水に不溶となった。一方で、これらの乾燥した化合物を水溶液中に浸けておくと、膨潤して廃ごるゲルを形成することを見出した。そこで、上記化合物の水の膨潤について検討を行った。

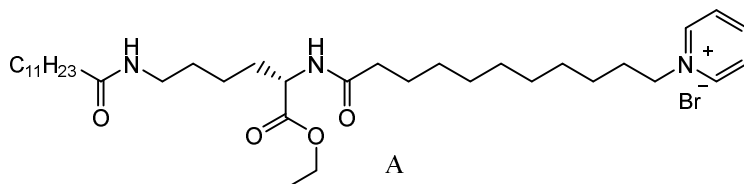
完全けん化 PVA へ 0.6 mol%以上のゲル化剤部位を導入すると、水溶性が大きく低下し、水に対して膨潤はするが、ほとんど溶解しなくなった。また、どの割合においても、温度の上昇に伴って吸水率が増加する傾向が観測された。温度によって異なる IDLE の比に吸水率の極大値を示すことも特徴的であった。PVA はゲル化剤セグメントの割合が大きいほど、膨潤しにくくなり、質量吸水率が約 14 倍から 2 倍まで変化した。ゲル強

度試験の結果からは、PVA 濃度増加に伴って、ゲル強度も増加することが示された。また、ゲル化剤部位が 0.9 mol% を超えると急激に強度が増加した。これらのことから、アルキル鎖を有するゲル化剤セグメントの割合が増加すると、PVA-gelator の分子間疎水性相互作用がより強くなることが示され、分子間、または分子内で、物理的な架橋が生じている可能性を間接的に示した。また、十分な強度を有するゲル化剤セグメントの比が 3.0 mol% の完全けん化 PVA を用いて、粘弾性挙動を調査した。測定した領域において周波数依存性が無く、安定したゲルである。また損失正接 ( $\tan \delta$ ) の値は、0.1 付近であり、典型的なゲルの挙動を示した。温度依存粘弾性測定からは、温度の上昇とともに弾性率が低下していき、 $\tan \delta$  が増加していった。ハイドロゲルの SEM 観察からは、繊維状の三次元網目構造を微細構造に持ち、純粋な PVA からなるものとは異なる微細構造であることが分かった。その際、温度変化によって孔の大きさが変化することも示された。したがって、PVA-gelator ハイドロゲルの機械的性質は温度依存性があることがわかった。

次に、エステル基によって PVA ヘゲル化剤を導入した以下の化合物を合成した。



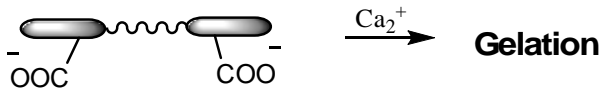
合成した PVA- $C_{3}OH$  の蒸留水と各種有機溶媒への溶解性を調査した結果、ゲル化剤セグメントが 2.5mol% 含む化合物は、水に溶解したが、4mol% 以上導入した化合物は、水に不溶となった。しかし、先のウレタン結合で導入した化合物とは違った物性を示し、膨潤によるハイドロゲル形成はしなかった。また、4mol% 以上導入した化合物は、メタノールやエタノールあるいはクロロホルムに可溶となった。




次に、水への溶解性を示した導入率 2.5% ( $m=300, n=42, x=8$ ) の PVA-gelator を用いて、濃度 10 mg/mL の高分子水溶液を調製し、低分子ゲル化剤 A が形成する低分子ゲルの物性におよぼす効果について検討したところ、ゲル-ゾル相転移温度はほとんど影響されなかった。一方、ゲル強度には影響することがわかった。A が形成する低分子ハイドロゲルのゲル強度は、A の濃度増加にともなって減少するが、PVA-gelator 水溶液中では、逆に著しく増加することがわかった。これは、PVA-gelator 中のゲル化剤セグメントと A との相互作用によって起こるものと予想されるが、現時点でそれを証明する実験データはない。今後の詳細な機器分析解析が必要となる。

### (3) カルシウムイオンで誘起する低分子ハイドロゲル形成

本研究では、双頭型の L-リシン誘導体を含む水溶液へ、 $Ca^{2+}$  を添加による室温での低分子ハイドロゲルを形成する系の構築に関する研究結果を示す。下記に、ゲル化のスキームを示した。



 : L-Lysine deriv.

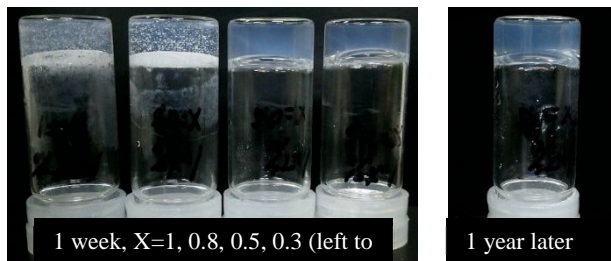


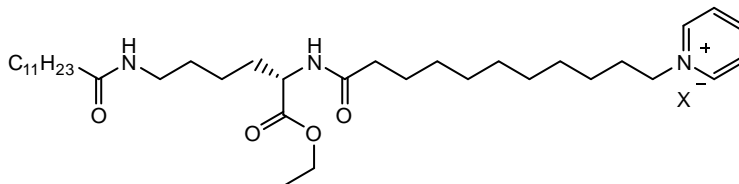
Figure 4. Low-molecular-weight hydrogel prepared by  $\text{Ca}^{2+}$ -induced hydrogelation at room temperature.

双頭型 L-リシン誘導体は、室温で水にととてもよく溶ける。その水溶液へ、塩化カルシウム水溶液を加えて、十数秒激しく攪拌した後放置すると、低分子ハイドロゲルを形成した。そのハイドロゲルは少なくとも 1 年は安定であった。加えて、得られた低分子ハイドロゲルは、チキソトロピー

性を持ち注射可能なゲルであった。今後、ドラッグデリバリーシステムの担体や再生医療等への応用が期待できる。

#### (4) 低分子ゲルを用いたドラッグデリバリーシステムの構築と高分子の添加効果

ここでは、薬物を有する L-リシン型低分子ゲル化剤の形成する低分子ハイドロゲルから、酸をトリガーとした薬物放出系におよぼす高分子の添加効果について検討した。以下に示す低分子ゲル化剤を合成した。ここで X はアスピリンとジクロフェナクである。



実験方法は、低分子ゲルを形成後、人工胃液に 2 時間晒したのち、人工腸液への薬物放出挙動を調査した。種々の高分子の中から、効果があった PVA について述べる。

薬物含有ハイドロゲルに PVA を添加すると、最小ゲル化濃度が減少し、ゲル化特性の向上が見られた。また、ゲル強度やゲル-ゾル相転移温度などの機械的および熱的安定性が改善され、体内環境などにおけるゲルの安定性が向上した。これらのことから、薬物含有ハイドロゲルに PVA を添加すると、ハイドロゲルの機械的または熱的安定性の制御を可能にすることが確認された。

一方で、酸をトリガーとした薬物放出において、放出挙動に PVA の添加は影響しなかった。唯一、ジクロフェナクを持つ低分子ゲルの場合、はじめのバースト放出が抑制されることがわかった。したがって、PVA の添加は薬物放出にはあまり影響を与えることなく、ゲルの機械的または熱的安定性を用途に合わせて制御することが可能であることがわかった。よって、PVA が添加された薬物含有低分子ハイドロゲルは経口投与だけでなく、よりゲルの安定性が必要な経皮投与などにも利用が期待できると考えられる。詳細なメカニズムに関しては今後検討する必要がある。

以上の結果から、低分子ゲルへ高分子を添加することは、低分子ゲルの応用範囲を広げるだけでなく、ハイドロゲルの新規な使用用途の開発に利用できるものと確認できた。特に、低分子ゲル化剤セグメントを有する高分子の開発が重要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 鈴木正浩	4. 巻 20
2. 論文標題 医薬品・医療分野におけるゲル化・増粘剤の活用とその安定維持	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PHARMSTAGE	6. 最初と最後の頁 68-72
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木正浩
2. 発表標題 ゲル化・増粘剤の基礎と設計・調製・物性コントロールの進め方
3. 学会等名 株式会社テックデザインWebセミナー（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木正浩
2. 発表標題 ゲル化・増粘剤を活用するための総合知識
3. 学会等名 株式会社サイエンス&テクノロジー（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木正浩
2. 発表標題 ゲル化・増粘剤の基礎と設計・調製・物性コントロールの進め方
3. 学会等名 株式会社テックデザインWebセミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大木場祐一・鈴木正浩
2. 発表標題 2価カチオンによって誘起される室温での超分子ハイドロゲル形成
3. 学会等名 第50回中部化学関係学協会支部連合秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大木場祐一・鈴木正浩
2. 発表標題 水溶性L-リシン誘導体と塩化カルシウム混合によるチキソトロピー性ハイドロゲルの調製
3. 学会等名 第9回CSJ化学フェスタ2019
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関