

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2016-183434

(P2016-183434A)

(43) 公開日 平成28年10月20日(2016.10.20)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>DO6M 15/59 (2006.01)</b>	DO6M 15/59	4C076
<b>A61K 39/00 (2006.01)</b>	A61K 39/00	H 4C077
<b>A61P 35/00 (2006.01)</b>	A61P 35/00	4C085
<b>A61P 37/04 (2006.01)</b>	A61P 37/04	4H045
<b>A61K 9/70 (2006.01)</b>	A61K 9/70	4L033

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-65153 (P2015-65153)  
 (22) 出願日 平成27年3月26日 (2015. 3. 26)

(出願人による申告) 平成24年度、独立行政法人科学技術振興機構、戦略的イノベーション創出推進プログラム 革新的医療を実現するためのバイオ機能材料の創製、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

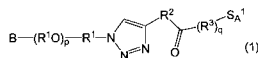
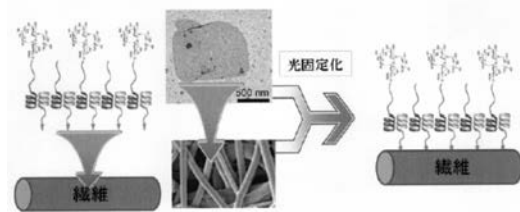
(71) 出願人 504132272  
 国立大学法人京都大学  
 京都府京都市左京区吉田本町36番地1  
 110000796  
 (74) 代理人 特許業務法人三枝国際特許事務所  
 (72) 発明者 木村 俊作  
 京都府京都市左京区吉田本町36番地1  
 国立大学法人京都大学内  
 Fターム(参考) 4C076 AA71 BB32 CC07 CC27 CC41  
 EE03 EE41 EE50 EE59  
 4C077 AA09 PP01 PP07  
 4C085 AA02 BB01 CC31 EE01 EE05  
 4H045 BA60 DA86 EA34 FA81  
 4L033 AA05 AB07 AC15 CA02 CA55

(54) 【発明の名称】 表面修飾基材

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 生理活性物質等を基材に固定する際に好適に使用でき、特に基材表面に抗原を担持させることによって、免疫の賦活化等の幅広い用途に好適に使用できる新規な表面修飾基材及びその製造方法を提供する。

【解決手段】 基材(繊維質材料)、反応ユニット及び集合体形成ポリマーユニット1を有する基材結合ポリマー、並びに表面修飾ユニット及び集合体形成ポリマーユニット2を有する表面形成ポリマーの混合物に紫外線を照射することにより表面修飾基材を製造する方法。前記表面修飾基を含む免疫賦活化材料。基材結合ポリマーが式(1)で表される化合物である表面修飾基材。



【選択図】 図3

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

- 1) 基材、
- 2) 反応ユニット及び集合体形成ポリマーユニット 1 を有する基材結合ポリマー、並びに
- 3) 表面修飾ユニット及び集合体形成ポリマーユニット 2 を有する表面形成ポリマーを含む表面修飾基材。

## 【請求項 2】

前記基材が、繊維質材料である、請求項 1 に記載の表面修飾基材。

## 【請求項 3】

前記集合体形成ポリマーユニット 1 及び 2 が、共にステレオコンプレックスを形成している、  
請求項 1 又は 2 に記載の表面修飾基材。

10

## 【請求項 4】

前記表面修飾ユニットが、Lewis Y である、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の表面修飾基材。

## 【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 に記載の表面修飾基材を含む、免疫賦活化材料。

## 【請求項 6】

基材、基材結合ポリマー及び表面形成ポリマーを混合し、紫外線を照射する工程を含む、請求項 1 ~ 4 に記載の表面修飾基材の製造方法。

20

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、表面修飾基材に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

基材はその用途に応じて、種々の特性が要求される。その要求に応えるため、汎用の基材を表面修飾することで、その表面に様々な特性を付与し、その用途に適した基材を開発する方法が多く研究されている。

## 【0003】

従来、不織布等の繊維基材を表面修飾する方法として、繊維表面からグラフト鎖を伸張させ、繊維表面を修飾する方法が知られている。該方法は、繊維表面上に固定化された開始剤からの重合反応により表面を修飾する方法（グラフトフロム法）及び予め合成したポリマーと繊維表面上に固定化した官能基とを反応により繋ぐ方法（グラフトツー法）に大別される。これらの方法のうち、特にグラフトフロム法は、ポリマーブラシ構造を繊維表面に形成できる点に特色を有している。

30

## 【0004】

例えば、不織布にハロアセトアミノアルカン化剤を用いたリンカーを介して、繊維表面に抗体を担持する方法が報告されている（特許文献 1）。

## 【0005】

しかしながら、これらの方法では、表面修飾が繊維表面での重合反応又は修飾用ポリマー（グラフト鎖となるポリマー）と繊維表面との固定化反応に依存しているため、修飾膜の厚み及び構造が不均一になることを回避できない。

40

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0006】

【特許文献 1】特許第 4953295 号明細書

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0007】

50

本発明は、新規な表面修飾基材及びその製造方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者等は、上記目的を達成すべく、鋭意研究を重ねた結果、所定の分子を組織化する手法を用いることで、表面を極めて均質に修飾できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0009】

即ち、本発明は下記項1～8に記載の態様を包含する。

【0010】

項1.

10

- 1) 基材、
- 2) 反応ユニット及び集合体形成ポリマーユニット1を有する基材結合ポリマー、並びに
- 3) 表面修飾ユニット及び集合体形成ポリマーユニット2を有する表面形成ポリマーを含む表面修飾基材。

【0011】

項2.

前記基材が、繊維質材料（好ましくは不織布）である、前記項1に記載の表面修飾基材。

【0012】

項3.

20

前記集合体形成ポリマーユニット1及び2が、共にステレオコンプレックスを形成している、  
前記項1又は2に記載の表面修飾基材。

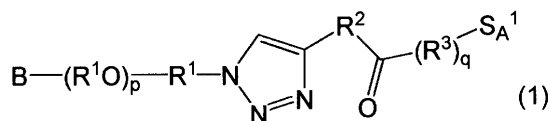
【0013】

項4

前記基材結合ポリマーが、下記一般式(1)：

【0014】

【化1】



30

(式中、 $R^1$ 及び $R^2$ はアルキレン基を示し、 $R^3$ は基： $-N(\text{アルキル})-CH_2CO-$ を示す。 $p$ は1～10の整数を示し、 $q$ は5～50の整数を示す。 $S_A^1$ は前記集合体形成ポリマーユニット1であり、 $B$ は前記反応ユニットである。)

で表わされる化合物である、前記項3に記載の表面修飾基材。

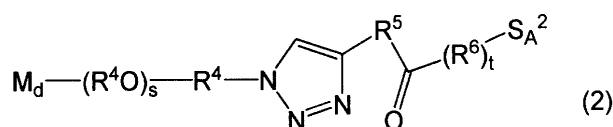
【0015】

項5.

前記表面形成ポリマーが、下記一般式(2)：

【0016】

【化2】



40

(式中、 $R^4$ 及び $R^5$ はアルキレン基を示し、 $R^6$ は基： $-N(\text{アルキル})-CH_2CO-$ を示す。 $s$ は1～10の整数を示し、 $t$ は5～50の整数を示す。 $S_A^2$ は前記集合体形成ポリマーユニット2であり、 $M_d$ は前記表面修飾ユニットである。)

で表わされる化合物である、前記項3又は4に記載の表面修飾基材。

50

## 【 0 0 1 7 】

項 6 .

前記表面修飾ユニットが、Lewis Yである、前記項 1 ~ 5 のいずれかに記載の表面修飾基材。

## 【 0 0 1 8 】

項 7 .

前記項 1 ~ 6 のいずれかに記載の表面修飾基材を含む、免疫賦活化材料。

## 【 0 0 1 9 】

項 8 .

基材、基材結合ポリマー及び表面形成ポリマーの混合物に、紫外線を照射する工程を含む、前記項 1 ~ 6 のいずれかに記載の表面修飾基材を製造する方法。

10

## 【 発明の効果 】

## 【 0 0 2 0 】

本発明の表面修飾基材は、表面の修飾膜が集合体により形成されている。そのため、表面は集合体の特性に応じて極めて均質であり、修飾膜の厚み及び構造が著しく均一である。従って、本発明の表面修飾基材は、生理活性物質等を基材に固定する際に好適に使用でき、特に基材表面に抗原を担持させることによって、免疫の賦活化等の幅広い用途に好適に使用できる。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 2 1 】

20

【 図 1 】 参考例 6 で得られた集合体の写真である。

【 図 2 】 実施例 1 における操作の概念図である。

【 図 3 】 実施例 1 で得られた表面修飾不織布の概念図である。

【 図 4 】 試験例 2 の結果を示すグラフである。

【 図 5 】 試験例 2 により求められる修飾基の導入量と水中接触角との相関を示すグラフである。

【 図 6 】 試験例 3 で得られた蛍光写真である。

【 図 7 】 試験例 4 の結果を示すグラフである。

## 【 発明を実施するための形態 】

## 【 0 0 2 2 】

30

### 1. 表面修飾基材

本発明の表面修飾基材は組織化した集合体により表面が修飾されている。本発明の表面修飾基材は、1) 基材、2) 基材結合ポリマー、及び3) 表面形成ポリマーを含む。好ましくは、本発明の表面修飾基材は、実質的には、1) 基材、2) 基材結合ポリマー及び3) 表面形成ポリマーから成る。

## 【 0 0 2 3 】

前記基材結合ポリマー（以下、「 $S_A^1 - B$ 」とも表す）は、集合体形成ポリマーユニット 1 ( $S_A^1$ ) 及び反応ユニット (B) を有する。基材結合ポリマーは、その反応ユニット (B) が繊維表面と反応することで繊維表面に結合する（好ましくは化学結合により結合する）ことができる。これにより、基材結合ポリマーは繊維表面と表面形成ポリマーとを繋ぎ止める役割を果たす。

40

## 【 0 0 2 4 】

前記表面形成ポリマー（以下、「 $S_A^2 - M_d$ 」とも表す）は集合体形成ポリマーユニット 2 ( $S_A^2$ ) 及び表面修飾ユニット ( $M_d$ ) を有する。表面修飾ユニットは集合体形成ポリマーユニット 2 ( $S_A^2$ ) を有し、基材結合ポリマーの集合体形成ポリマーユニット 2 ( $S_A^1$ ) と共に組織化することで、基材上に間接的に繋ぎ止めることができる。

## 【 0 0 2 5 】

### 2. 基材結合ポリマー ( $S_A^1 - B$ )

前記基材結合ポリマーは、集合体形成ポリマーユニット 1 ( $S_A^1$ ) 及び繊維表面との反応ユニット (B) を有する。

50

## 【0026】

前記集合体形成ポリマーユニット1 ( $S_A^1$ ) は、表面形成ポリマー中の集合体形成ポリマーユニット2 ( $S_A^2$ ) と共に組織化する。好ましくは、集合体形成ポリマーユニット1及び2はステレオコンプレックスを形成して、組織化する。

## 【0027】

集合体形成ポリマーユニット1 ( $S_A^1$ ) としては、例えば、集合体形成ポリマーユニット2 ( $S_A^2$ ) とステレオコンプレックスを形成する配列を含んだペプチドを用いることができる。集合体形成ポリマーユニット1 ( $S_A^1$ ) としては、ステレオコンプレックスを形成することが知られている配列を含むペプチドであれば、特に限定されない。

## 【0028】

具体的には、集合体形成ポリマーユニット1 ( $S_A^1$ ) は、繰り返し配列としてロイシン (Leu) - アミノ - イソブタン酸 (Aib) を含むペプチドが好ましい。ここでロイシンは一部アラニン (Ala) と置き換えることができる。Leu - Aib配列の繰り返しの数としては、通常、2以上であり、好ましくは3~8であり、より好ましくは5~7である。繰り返し配列中のロイシンはL - 体又はD - 体のいずれも用いることができる。ただし、集合体形成ポリマーユニット1 ( $S_A^1$ ) の繰り返し配列中のロイシンは全てL - 体であるか、又は全てD - 体であることがステレオコンプレックスを形成する点で好ましい。

## 【0029】

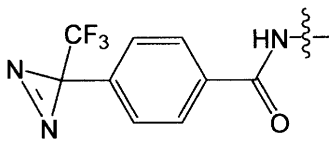
前記反応ユニット (B) は、繊維上に結合する (好ましくは化学結合をもって結合する) 基を含む。繊維上に結合することが可能な基であれば、反応ユニット (B) は特に限定されない。例えば、ジアジリンを有する置換基は、紫外線 (好ましくは波長: 340~400nmの紫外線) を照射することによって、カルベンを生じるため、繊維中の炭化水素基等と化学結合を形成する。紫外線の照射時間は特に限定されず、通常、1~10分である。

## 【0030】

合成が容易な点で、反応ユニット (B) は下記構造式:

## 【0031】

## 【化3】



を含むことが好ましい。

## 【0032】

基材結合ポリマーは、前記集合体形成ポリマーユニット1 ( $S_A^1$ ) 及び反応ユニット (B) 以外の構造を有することができる。好ましくは、例えば、集合体形成ポリマーユニット1 ( $S_A^1$ ) と反応ユニット (B) との間にリンカーユニット1 ( $L^1$ ) をさらに有する。リンカーユニット1は特に限定されず、水溶性を付与する観点より、親水性のリンカーを含むことが好ましい。具体的には、親水性ペプチド、ポリアルキレングリコール (例えば、ポリエチレングリコール) 等を親水性リンカーとして挙げることができる。組織化の観点から、親水性リンカーとしては、親水性ペプチドが好ましく、N - メチルグリシン (サルコシン)、N - エチルグリシン等のN - アルキルグリシンの繰り返し (好ましくは5~50の繰り返し、より好ましくは20~30の繰り返し) からなる親水性ペプチドが特に好ましい。また、リンカーユニット1は、基材結合ポリマーの製造を容易にする観点より、アゾ基とアセチレン基との反応により容易に形成することが可能なトリアゾール環を含むことが好ましい。

## 【0033】

本発明の好ましい態様として、前記基材結合ポリマーは下記一般式 (1) :

10

20

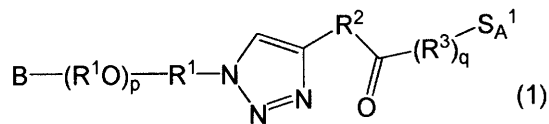
30

40

50

【 0 0 3 4 】

【 化 4 】



(式中、 $R^1$  及び  $R^2$  はアルキレン基を示し、 $R^3$  は基： $-N(\text{アルキル})-CH_2CO-$ を示す。 $p$  は 1 ~ 10 の整数を示し、 $q$  は 5 ~ 50 の整数を示す。 $S_{A^1}$  は前記集合体形成ポリマーユニット 1 であり、 $B$  は前記反応ユニット  $B$  である。)

で表わされる化合物である。

【 0 0 3 5 】

アルキレン基としては、炭素数 1 ~ 6 (好ましくは炭素数 2 ~ 4) のアルキレン基を挙げることができる。具体的には、メチレン、エチレン、プロピレン、トリメチレン等を挙げることができる。

【 0 0 3 6 】

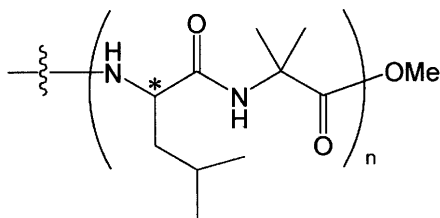
$R^3$  で示される  $-N(\text{アルキル})-CH_2CO-$  は、炭素数 1 ~ 6 のアルキル基を窒素原子上に有するグリシル基である。具体的には、 $N$ -メチルグリシル、 $N$ -エチルグリシル等を挙げることができる。

【 0 0 3 7 】

$S_{A^1}$  は、上述の集合体形成ポリマーユニット 1 であり、既に例示したものを好適に用いることができる。具体的には、 $S_{A^1}$  は下記構造式：

【 0 0 3 8 】

【 化 5 】



(式中、 $n$  は 2 以上の整数であり、 $*$  は不斉炭素を示す。 $Me$  はメチル基を示す。)

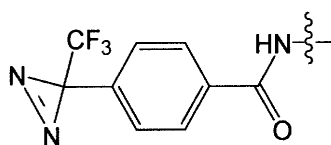
を含む (より好ましくは当該構造式から成る) ことが好ましい。より好ましくは、式中の不斉炭素は全て同一の光学不斉体である (すなわち、当該構造式中のロイシンは全て  $L$ -体であるか、又は全て  $D$ -体である)。  $n$  は 3 ~ 8 であることが好ましく、5 ~ 7 であることがより好ましい。

【 0 0 3 9 】

$B$  は、上述の反応ユニットであり、既に例示したものを好適に用いることができる。より具体的には、例えば、 $B$  は下記構造式：

【 0 0 4 0 】

【 化 6 】



である。

【 0 0 4 1 】

前記一般式 (1) で表わされる化合物は、反応ユニット ( $B$ ) を有する下記式 (3) の化合物と集合体形成ポリマーユニット 1 ( $S_{A^1}$ ) を有する下記式 (4) の化合物とを下

10

20

30

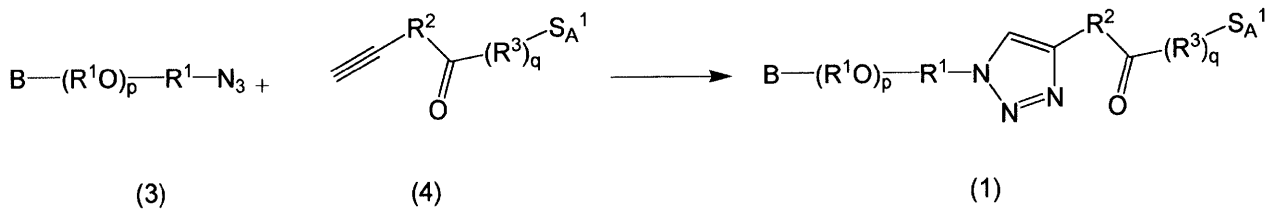
40

50

記反応式に示す反応により製造することができるため、簡便な手法により製造可能である。

【0042】

【化7】



10

(式中、 $\text{R}^1$ 、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$ 、 $p$ 、 $q$ 、 $\text{S}_{\text{A}^1}$ 及び $\text{B}$ は前記に同じ。)

当該反応は、適当な溶媒中、酢酸銅(I)等の銅触媒の存在下に行うことができる。

【0043】

前記式(3)の化合物及び式(4)の化合物は、公知の化合物であるか、公知の化合物から容易に製造できる化合物である。例えば、ペプチド合成における常法により製造することが可能である。

【0044】

### 3. 表面形成ポリマー( $\text{S}_{\text{A}^2}$ - $\text{M}_d$ )

前記表面形成ポリマーは集合体形成ポリマーユニット2( $\text{S}_{\text{A}^2}$ )及び表面修飾ユニット( $\text{M}_d$ )を有する。

20

【0045】

前記集合体形成ポリマーユニット2( $\text{S}_{\text{A}^2}$ )は、表面形成ポリマー中の集合体形成ポリマーユニット1( $\text{S}_{\text{A}^1}$ )と共に組織化する。好ましくは、集合体形成ポリマーユニット1及び2はステレオコンプレックスを形成して、組織化する。

【0046】

集合体形成ポリマーユニット2( $\text{S}_{\text{A}^2}$ )としては、集合体形成ポリマーユニット1( $\text{S}_{\text{A}^1}$ )とステレオコンプレックスを形成する配列を含んだペプチドを用いることができる。集合体形成ポリマーユニット1( $\text{S}_{\text{A}^1}$ )としては、ステレオコンプレックスを形成することが知られている配列を含むペプチドであれば、特に限定されない。

30

【0047】

具体的には、集合体形成ポリマーユニット2( $\text{S}_{\text{A}^2}$ )は、前記集合体形成ポリマーユニット1( $\text{S}_{\text{A}^1}$ )に例示したものが好適に使用できる。より具体的には集合体形成ポリマーユニット1( $\text{S}_{\text{A}^1}$ )の光学異性体であることが好ましい。すなわち、前記集合体形成ポリマーユニット1( $\text{S}_{\text{A}^1}$ )中にL-体のロイシンが含まれる場合、集合体形成ポリマーユニット2( $\text{S}_{\text{A}^2}$ )中のロイシンはD-体であることが好ましく、 $\text{S}_{\text{A}^1}$ 中のロイシンがD-体であれば、 $\text{S}_{\text{A}^2}$ 中のロイシンはL-体であることが好ましい。

【0048】

前記表面修飾ユニット( $\text{M}_d$ )は特に限定されず、基材に導入したい特性によって、適宜、選択することができる。具体的には、表面修飾ユニットに抗原を採用することで、得られる表面修飾基材に免疫賦活化の特性を付与することができる。抗原としては、公知の抗原を用いることができ、例えば、Lewis Y等の腫瘍関連糖鎖抗原(TACA)を挙げることができる。

40

【0049】

表面形成ポリマーは、前記集合体形成ポリマーユニット2( $\text{S}_{\text{A}^2}$ )及び表面修飾ユニット( $\text{M}_d$ )以外の構造を有することができる。好ましくは、例えば、集合体形成ポリマーユニット2( $\text{S}_{\text{A}^2}$ )と表面修飾ユニット( $\text{M}_d$ )との間にリンカーユニット2( $\text{L}^2$ )をさらに有する。リンカーユニット2は特に限定されず、水溶性を付与する観点より、親水性のリンカーを含むことが好ましい。具体的には、親水性ペプチド、ポリエチレングリコール等を親水性リンカーとして挙げることができる。組織化の観点から、親水性リン

50

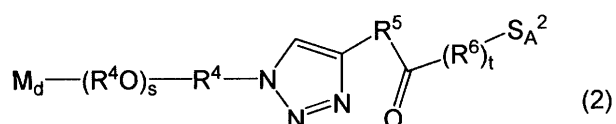
カーは親水性ペプチドが好ましく、N - メチルグリシン (サルコシン)、N - エチルグリシン等のN - アルキルグリシンの繰り返し (好ましくは5 ~ 50の繰り返し、より好ましくは20 ~ 30の繰り返し) からなる親水性ペプチドが特に好ましい。また、リンカーユニット1は、基材結合ポリマーの製造を容易にする観点より、アゾ基とアセチレン基との反応により容易に形成することが可能なトリアゾール環を含むことが好ましい。

【0050】

本発明の好ましい態様として、前記表面形成ポリマーは下記一般式(2)：

【0051】

【化8】



10

(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>はアルキレン基を示し、R<sup>6</sup>は基：-N(アルキル)-CH<sub>2</sub>CO-を示す。sは1~10の整数を示し、tは5~50の整数を示す。S<sub>A</sub><sup>2</sup>は前記集合体形成ポリマーユニット2であり、M<sub>d</sub>は前記表面修飾ユニットである。) で表わされる化合物である。

【0052】

アルキレン基及び-N(アルキル)-CH<sub>2</sub>CO-は、前記一般式(1)において例示したとおりである。

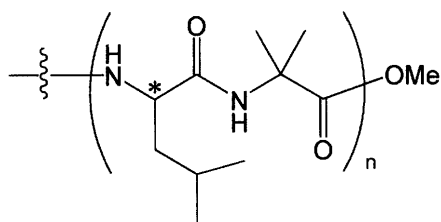
20

【0053】

一般式(2)におけるS<sub>A</sub><sup>2</sup>は、上述の集合体形成ポリマーユニット2であり、既に例示したものを好適に用いることができる。好ましくは、S<sub>A</sub><sup>2</sup>は下記構造式：

【0054】

【化9】



30

(式中、nは2以上の整数であり、\*は不斉炭素を示す。Meは前記に同じ。) を含む (より好ましくは当該構造式から成る) ことが好ましい。より好ましくは、式中の不斉炭素は全て同一の光学不斉体であり (すなわち、当該構造式中のロイシンは全てL - 体であるか、又は全てD - 体であり)、かつS<sub>A</sub><sup>1</sup>における光学不斉とは異なることが好ましい。nは3~8であることが好ましく、5~7であることがより好ましい。

【0055】

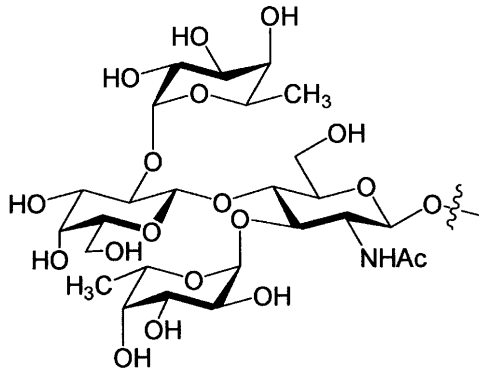
一般式(2)におけるM<sub>d</sub>は、前記表面修飾ユニットであり、既に例示したものを好適に用いることができる。より具体的には、例えば、M<sub>d</sub>は下記構造式：

40

【0056】



## 【化 1 0】



10

で表わされる Lewis Y である。

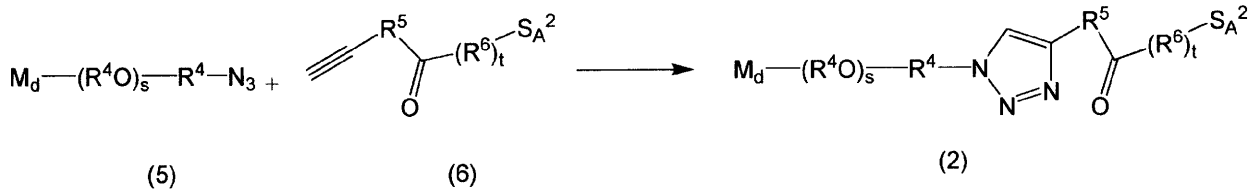
## 【 0 0 5 7】

前記一般式 (2) で表わされる化合物は、表面修飾ユニット ( $M_d$ ) を有する下記式 (5) の化合物と集合体形成ポリマーユニット 2 ( $S_A^2$ ) を有する下記式 (6) の化合物とを下記反応式に示す反応により製造することができ、簡便な手法により表面形成ポリマーを製造することができる。

## 【 0 0 5 8】

## 【化 1 1】

20



(5)

(6)

(2)

(式中、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、 $s$ 、 $t$ 、 $S_A^2$  及び  $M_d$  は前記に同じ。)

当該反応は、適当な溶媒中、酢酸銅 (I) 等の銅触媒の存在下に行うことができる。

## 【 0 0 5 9】

前記式 (6) の化合物は、公知の化合物であるか、公知の化合物から容易に製造できる化合物である。例えば、ペプチド合成における常法により製造することが可能である。

30

## 【 0 0 6 0】

前記式 (5) の化合物は、表面修飾ユニット ( $M_d$ ) を適宜製造した後、基： $-(R^4O)_s-N_3$  を公知の手法により導入することで製造することができる。例えば、 $M_d$  が Lewis Y である場合、実施例に記載の反応により、Lewis Y を得た後、基： $-(R^4O)_s-N_3$  を導入することで、前記式 (5) の化合物を得ることができる。

## 【 0 0 6 1】

## 4. 基材

本発明では、基材が繊維質材料であってもその繊維表面を修飾することができるため、本発明の基材としては、公知の繊維質材料を広く用いることができる。具体的には、本発明の基材には、不織布、織物、組物等の繊維質材料を用いることができる。

40

## 【 0 0 6 2】

本発明の基材の材質としては、基材結合ポリマー中の反応ユニット (B) と化学的に反応する部位を有するものである限り特に限定されない。例えば、上述のジアジリンと紫外線照射により結合を形成することができる点で、脂肪族炭化水素基を含む材質が好ましい。具体的には、ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレート等を挙げることができる。

## 【 0 0 6 3】

## 5. 表面修飾基材の製造

本発明の表面修飾基材は、前記基材結合ポリマーと前記表面形成ポリマーとを適当な溶媒中混合することで、組織化させ集合体を得た後、集合体を含む溶液又は分散液と前記基

50

材とを触れ合わせた状態で反応ユニット（B）と基材とを反応させることにより製造することができる。

【0064】

集合体を含む溶液又は分散液と前記基材とを触れ合わせる手法としては、例えば、当該溶液又は分散液を前記基材に塗布する、当該溶液又は分散液に前記基材を浸漬又は含浸させる等の手法を用いることができる。

【0065】

反応ユニット（B）と基材との反応は、反応ユニットの種類によって、適切な手法を採用することができる。例えば、反応ユニット（B）がジアジリンを含む場合、基材と集合体の混合物に紫外線を照射すればよい。照射する紫外線の波長は、通常340～400nmであり、照射時間は、通常1～10分である。

10

【0066】

前記集合体を含む溶液又は分散液と基材とを触れ合わせ、得られた混合物に紫外線を照射する操作は、複数回繰り返し行うことができる。当該操作を複数回繰り返し行うことにより、基材表面への集合体の導入量を向上させることができる。

【0067】

#### 6. 免疫の賦活化

本発明の表面修飾基材は、上述のように集合体を基材の（繊維）表面に結合させる手法により得られる。この手法では、表面修飾基材の表面修飾された部位において、基材結合ポリマーと表面形成ポリマーとの集合体の構造が反映されるため、表面修飾ユニット（M<sub>d</sub>）の導入間隔が極めて均等であり、かつその表面密度も著しく高い。また、基材の（繊維）表面からの厚みも極めて均一である。表面修飾ユニットの導入量は、溶液又は分散液中の集合体の濃度を調整することで調節することができる。さらに、本発明の手法に依れば、表面修飾ユニットを効率的に行うことが可能であるため、修飾に用いる化合物の使用量を低減することが可能である。

20

【0068】

従って、高い修飾基の表面密度を要求される場合、修飾基の導入量の調整が必要である場合等では、本発明の表面修飾基材は格段に優れた基材である。

【0069】

例えば、本発明の表面修飾基材は、基材表面に抗原を導入し、当該抗原修飾基材とB細胞とを接触させることで、免疫を賦活化する用途に用いることができる。

30

【0070】

具体的には、

生体内に本発明の表面修飾基材を腹腔、脾臓等に縫合する方法、B細胞を含む体液を体内より取り出し、本発明の表面修飾基材に当該体液を通過させ、体内に戻す方法（体外循環法又は体外での免疫賦活化法）等を挙げることができる。

【0071】

Lewis Yは腫瘍関連糖鎖抗原（TACA）として知られており、TACAに対して免疫応答を引き起こすことができれば、癌細胞を排除できると考えられている。そのため、表面修飾ユニットにLewis Yを用いることで、癌に対する免疫を賦活化する免疫賦活化材料として有用である。

40

【実施例】

【0072】

以下に実施例を示して、本発明を具体的に説明する。ただし、本発明は実施例に限定されるものではない。

【0073】

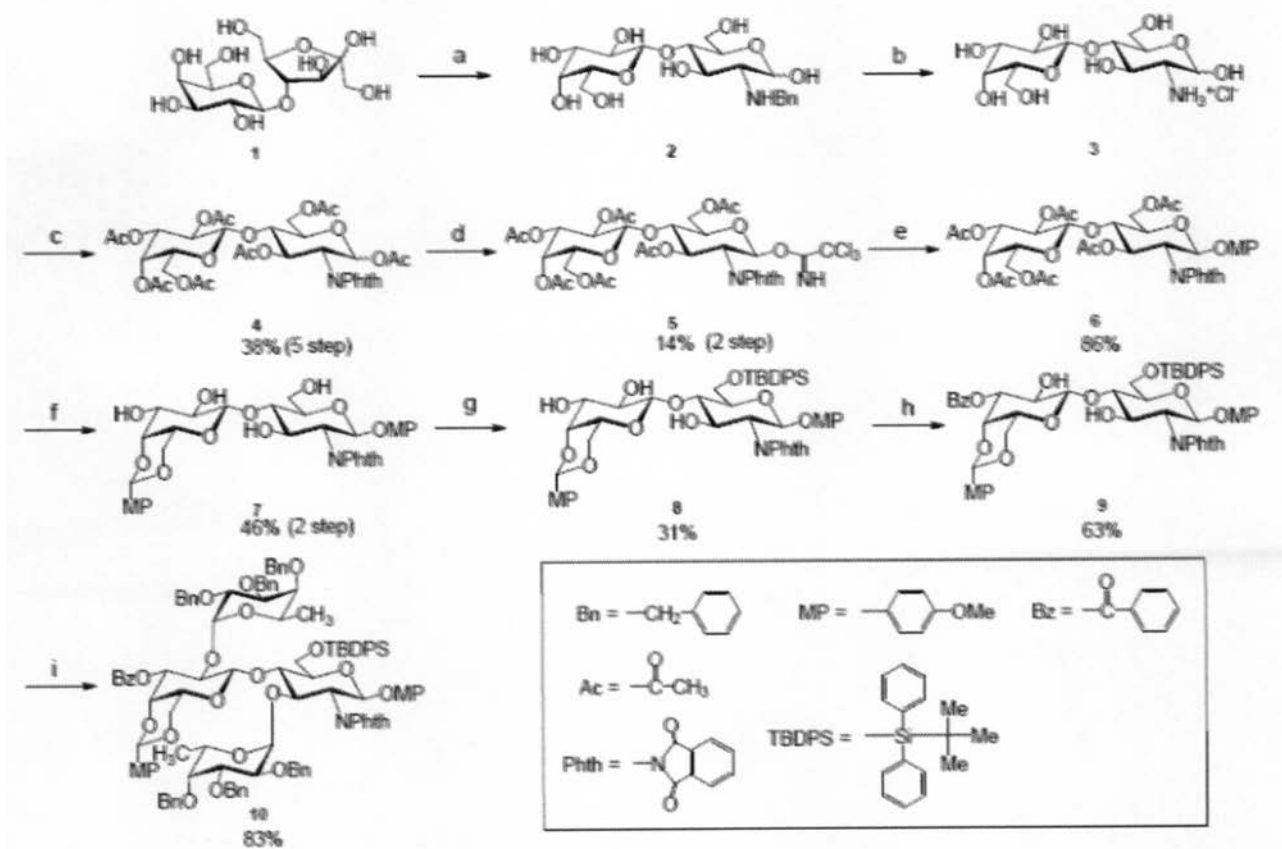
#### 参考例 1

#### Lewis Yの製造

【0074】

50

## 【化 1 2】



10

20

30

(式中、 $\text{DBU}$ は1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン、 $\text{Et}$ はエチル基、 $\text{Ph}$ はフェニル基、 $\text{DMF}$ はジメチルホルムアミド、 $\text{DMAP}$ はジメチルアミノピリジン、 $\text{Fuc}$ はフコース、 $\text{NIS}$ は*N*-ヨードスクシンイミド、 $\text{Tf}$ はトリフルオロメシル基を示す。)

Lewis Y 10の合成は、*Chemistry Letters*、2013、42(10)、1168-1169を参考に行った。

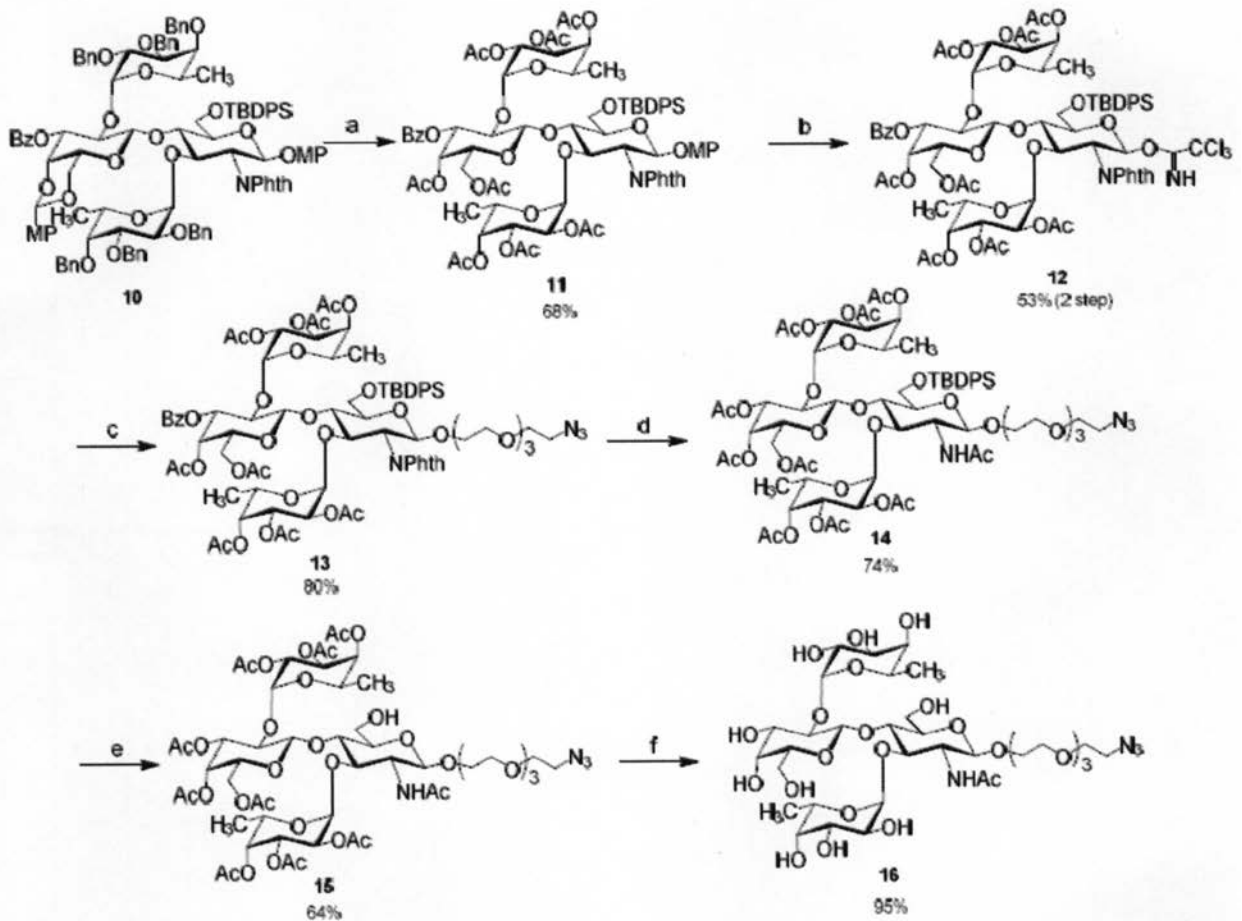
## 【0075】

4-メトキシフェニル-2,3,4-トリ-O-アセチル-L-フコピラノシル-(1,2)-3-O-ベンゾイル-4,6-O-アセチル-D-ガラクトピラノシル-(1,4)-3-O-(2,3,4-トリ-O-アセチル-L-フコピラノシル)-6-O-tert-ブチルジフェニルシリル-2-デオキシ-2-フタルイミド-D-グルコピラノシド11の製造

40

## 【0076】

## 【化 1 3】



(a) 1)  $\text{Pd}(\text{OH})_2\text{-C}$ ,  $\text{H}_2$  / THF-MeOH, r.t. 2)  $\text{Ac}_2\text{O}$  / pyridine, (b) 1) CAN /  $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ , 2)  $\text{CCl}_3\text{CN}$ , DBU /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ , (c) 1) HO-PEG- $\text{N}_3$ , TMSOTf /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-50^\circ\text{C}$  (d) 1) MeONa / MeOH, 2)  $\text{NH}_2\text{NH}_2$  / EtOH,  $90^\circ\text{C}$ , 3)  $\text{Ac}_2\text{O}$  / pyridine, (e)  $\text{Et}_4\text{N}^+\text{F}^-$  / THF, (f) MeONa / MeOH.

(式中、Bn、Mp、Phth、TBDPS、Ac、Bz、DBU及びEtは前記に同じ。THFはテトラヒドロフラン、PEGはポリエチレングリコール、CANは硝酸アンモニウムセリウム(IV)を示す。)

Lewis Y 10 (1000 mg、0.53 mmol) を溶かしたテトラヒドロフラン (10 mL) 及びメタノール (10 mL) の混合溶液に、 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$  (0.25 g、1.78 mmol) を加え、混合溶液を水素雰囲気下、室温で11時間攪拌した。その後、混合溶液をセライトベッドを通して、減圧下混合溶液を濃縮した。残留物をピリジン (10 mL) に溶解し、得られた溶液に無水酢酸 (1.0 mL、10.6 mmol) 及びジメチルアミノピリジン (64 mg、0.53 mmol) を加えた。乾燥雰囲気下、室温で24時間攪拌した後、過剰量の試薬をクエンチするためにメタノールを加えた。クエンチ後、反応混合物を減圧下で濃縮し、さらに減圧下トルエンと共沸させた。残留物を  $\text{CHCl}_3$  に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムにより乾燥させ、セライトベッドを通した。得られた有機層を減圧下濃縮し、粗生成物を得た。組成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出液 ヘキサン：酢酸エチル = 1：2 (容量比)、0.5% トリエチルアミン含有) により精製し、化合物 11 (562 mg、0.36 mmol、68%) を得た。

## 【0077】

化合物 11 の理化学的性質は下記のとおりである。

$[\alpha]_D^{25} -85.8^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (ppm) : 7.88 (4H, d, -OBz,  $J = 7.2$  Hz), 7.79 (2H, br

10

20

30

40

50

, phth), 7.77-7.75 (4H, m, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub>) 7.68 (2H, d, phth, J = 6.8 Hz), 7.60 (1H, t, -OBz, J = 7.6 Hz), 7.46-7.19 (6H, m, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub>), 6.82-6.74 (2H × 2, d × 2, -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OMe, J<sub>o,m</sub> = 9.2 Hz), 5.51-5.50 (1H, m, H-4'), 5.45 (1H, d, H-1, J<sub>1,2</sub> = 8.4 Hz), 5.40 (1H, m, H-4''), 5.25-5.09 (7H, m, H-1''', H-4''', H-3''', H-3', H-1', H-2''', H-5'''), 4.96 (1H, d, H-1''', J<sub>1',2'</sub> = 3.6 Hz) 4.94-4.84 (3H, m, H-3''', H-2''', H-3), 4.59 (1H, t, H-2, J<sub>2,3</sub> = 8.4 Hz, J<sub>1,2</sub> = 8.4 Hz), 5.52-4.42 (3H, m, H-4, H-6a', H-5'''), 4.41 (1H, dd, H-6'b, J<sub>6'a,6'b</sub> = 8.4 Hz, J<sub>6'b,5'</sub> = 3.2 Hz), 4.19 (2H, m, H-6a,b), 3.92 (1H, t, H-2', J<sub>2',3'</sub> = 9.2 Hz, J<sub>1',2'</sub> = 9.2 Hz), 3.83 (1H, m, H-5', J = 7.2 Hz), 3.45 (1H, d, H-5, J = 9.6 Hz), 2.15-1.87 (3H × 8, s × 8, -OCOCH<sub>3</sub> × 8), 1.26 (6H, m, H-6'', H-6'''), 1.16 (9H, s, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub>)

10

LRMS (FAB, positive ion mode, NBA) m/z = 1571[M+Na]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>78</sub>H<sub>89</sub>NO<sub>30</sub>SiNa.

【0078】

2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル - (1 2) - 3 - O - ベンゾイル - 4, 6 - O - アセチル - D - ガラクトピラノシル - (1 4) - 3 - O - (2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル) - 6 - O - tert - ブチルジフェニルシリル - 2 - デオキシ - 2 - フタルイミド - D - グルコピラノイミデート 1 2 の製造

化合物 1 1 (562 mg、0.36 mmol) をアセトニトリル (8 mL) 及び水 (2 mL) の混合溶媒に溶解した後、得られた溶液に硝酸アンモニウムセリウム (IV) (CAN) (592 mg, 1.08 mmol) を加えた。混合溶液を室温で 2 時間混合した後、反応混合物を CHCl<sub>3</sub> により抽出し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び食塩水を用いて洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムにより乾燥させ、セライトベッドを通した。得られた有機層を減圧下濃縮し、粗生成物を得た。組成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出液 CHCl<sub>3</sub>:メタノール = 30:1 (容量比)、0.5% トリエチルアミン含有) により精製し、中間体 (440 mg) を得た。

20

【0079】

得られた中間体 (440 mg) を乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) に溶かした溶液に、CCl<sub>3</sub>CN (290 μL, 2.90 mmol) を加え、アルゴン雰囲気下 0 ° で 15 分間攪拌した。その後、この混合溶液に 1, 8 - ジアザピシクロ [5.4.0] - 7 - ウンデセン (12.9 μL, 87 μmol) を加え、4 時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出液 CHCl<sub>3</sub>:酢酸エチル = 3:1、0.5% トリエチルアミン含有) により精製し、化合物 1 2 (314 mg、0.20 mmol、化合物 1 1 基準の収率 53%) を得た。

30

【0080】

化合物 1 2 の <sup>1</sup>H - NMR は以下のとおりである。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (ppm): 8.58 (1H, s, CNH), 7.88 (4H, d, -OBz, J = 7.2 Hz), 7.84-7.81 (2H, m, phth), 7.77-7.74 (4H, m, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub>) 7.67 (2H, d, phth, J = 6.8 Hz), 7.60 (1H, t, -OBz, J = 7.6 Hz), 7.48-7.26 (6H, m, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub>), 5.45 (1H, d, H-1, J<sub>1,2</sub> = 8.8 Hz), 5.50 (1H, d, H-4', J = 3.6 Hz), 5.39 (1H, m, H-4''), 5.25-5.10 (7H, m, H-1''', H-4''', H-3''', H-3', H-1', H-3''', H-5'''), 4.99-4.84 (4H, m, H-2''', H-1''', H-3, H-2'''), 4.63 (1H, t, H-2, J = 9.2 Hz), 5.52-4.37 (3H, m, H-4, H-6'a, H-5'''), 4.31-4.18 (3H, m, H-6'b, H-6a,b), 3.92 (1H, t, H-2', J<sub>2',3'</sub> = 8.0 Hz, J<sub>1',2'</sub> = 8.0 Hz), 3.77 (1H, t, H-5', J = 6.8 Hz), 3.59 (1H, d, H-5, J = 10 Hz), 2.12-1.71 (3H × 8, s × 8, -OCOCH<sub>3</sub> × 8), 1.27-1.24 (6H, m, H-6'', H-6'''), 1.16 (9H, s, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub>).

40

【0081】

PEG<sub>3</sub> - アジド 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル - (1 2) - 3 - O - ベンゾイル - 4, 6 - O - アセチル - D - ガラクトピラノシル - (1 4) - 3 - O - (2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル) - 6 -

50

O - t e r t - ブチルジフェニルシリル - 2 - デオキシ - 2 - フタルイミド - D - グルコピラノシド 1 3 の製造

化合物 1 2 ( 3 1 4 m g 、 0 . 2 0 m m o l ) 及び A z i d o - d P E G ( 登録商標 ) 4 - アルコール ( 6 5 m g 、 0 . 3 0 m o l ) を乾燥  $C H _ 2 C l _ 2$  ( 5 m L ) に溶かした溶液に活性化モレキュラーシーブを加えた。混合物をアルゴン条件下、 - 5 0 にて数分間攪拌した。トリメチルシリルトリフルオロメタンスルホナート ( 1 0 . 6  $\mu$  L 、 5 9  $\mu$  m o l ) を混合物に加えた。 - 5 0 で 3 0 分間混合物を攪拌した後、過剰量の試薬をクエンチするためにトリエチルアミンを加え、次いで、反応混合物を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び食塩水を用いて洗浄した。洗浄後の有機層を硫酸マグネシウムを用いて乾燥させ、セライトベッドを通した。得られた有機層を減圧下で濃縮し、粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( 溶出液 n - ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 2 、 0 . 5 % トリエチルアミン含有 ) により精製し、化合物 1 3 ( 2 6 2 m g 、 1 5 9  $\mu$  m o l 、 8 0 % ) を得た。

【 0 0 8 2 】

P E G <sub>3</sub> - アジド - 2 , 3 , 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル - ( 1 2 ) - 3 , 4 , 6 - O - アセチル - D - ガラクトピラノシル - ( 1 4 ) - 3 - O - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル ) - 2 - アセトアミド - 6 - O - t e r t - ブチルジフェニルシリル - D - グルコピラノシド 1 4 の製造

化合物 1 3 ( 2 6 2 m g 、 1 5 9  $\mu$  m o l ) のメタノール ( 5 m L ) 溶液に  $N a O C H _ 3$  / メタノール ( 2 5 % ) ( 3 2  $\mu$  L 、 1 5 9  $\mu$  m o l ) を加えた。反応混合物を室温で 2 時間攪拌した後、中和するために反応混合物に D O W E X 5 0 W を加え、ろ過した後、減圧下濃縮することで白色固体 ( 2 0 3 m g ) を得た。

【 0 0 8 3 】

得られた白色固体 ( 1 6 4 m g 、 1 3 6  $\mu$  m o l ) のエタノール ( 4 m L ) 溶液をピラジニン水和物 ( 3 3  $\mu$  L 、 6 8 1  $\mu$  m o l ) を加えた。9 0 で 1 3 時間反応混合物を攪拌した後、反応混合物を減圧下濃縮した。残留物をピリジン ( 5 m L ) に溶解させ、過剰量の試薬をクエンチするためにメタノールを加えた。その後、減圧下、トルエンと共沸した。残留物を  $C H C l _ 3$  に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、セライトを通した。得られた有機層を減圧下濃縮し、粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( 溶出液  
メタノール : 酢酸エチル = 1 : 3 0 、 1 % トリエチルアミン含有 ) により精製し、化合物 1 4 ( 1 5 1 m g 、 1 0 1  $\mu$  m o l 、 7 4 % ) を得た。

【 0 0 8 4 】

化合物 1 4 の理化学的性質は以下の通りである。

<sup>1</sup>H NMR ( 400 MHz,  $C D C l _ 3$  ) ( ppm ) : 7.38-7.72 ( 4H, m, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub> ) 7.42-7.34 ( 6H, m, -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub> ), 6.15 ( 1H, d, NHAc, J = 8.8 Hz ), 5.34-5.38 ( 2H, m, H-1' ', H-4' ' ), 5.24 ( 1H, dd, H-3' ', J<sub>2' ', 3' '</sub> = 8.0 Hz, J<sub>3' ', 4' '</sub> = 3.2 Hz ), 5.17 ( 1H, s, H-4' ' ) 5.06-4.91 ( 6H, m, H-2' ' ', H-2' ' ', H-5' ' ', H-1, H-3' ' ' ), 4.61 ( 1H, d, H-1' ', J<sub>1' ', 2' '</sub> = 7.8 Hz ), 4.47-4.43 ( 1H, m, H-6' a ), 4.30-4.25 ( 3H, m, H-4, H-6' b, H-5' ' ' ), 4.11-4.09 ( 2H, t, H-6a, H-6b ), 3.91-3.88 ( 2H, m, H-2, H-2' ), 3.73-3.62 ( 16H, m, H-5' ', H-3, PEG ), 3.41 ( 2H, m, -CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub> ), 3.14 ( 1H, d, H-5, J = 9.6 Hz ), 2.12-1.71 ( 3H x 10, s x 10, -OCOCH<sub>3</sub> x 10 ), 1.15 ( 3H, m, H-6' ' ), 1.09-1.06 ( 12H, s, H-6' ' ' ', -OSiPh<sub>2</sub>CMe<sub>3</sub> )。

HRMS (ESI, positive ion mode) m/z = 1510.6196[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>68</sub>H<sub>96</sub>N<sub>4</sub>O<sub>31</sub>Si<sub>1</sub>+NH<sub>4</sub>, 1510.6166。

【 0 0 8 5 】

P E G <sub>3</sub> - アジド 2 , 3 , 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル - ( 1 2 ) - 3 , 4 , 6 - O - アセチル - D - ガラクトピラノシル - ( 1 4 ) - 3 - O - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - アセチル - L - フコピラノシル ) - 2 - アセトアミド - D - グルコピラノシド 1 5 の製造

化合物 14 (150.9 mg、101  $\mu\text{mol}$ ) をテトラヒドロフラン (3 mL) に溶解させ、酢酸 (11  $\mu\text{L}$ 、202  $\mu\text{mol}$ ) 及びテトラブチルアンモニウムフルオライド (404  $\mu\text{L}$ 、404  $\mu\text{mol}$ ) を加えた。反応混合物をアルゴン雰囲気下室温で5日間攪拌した。その後、反応混合物を減圧下濃縮し、 $\text{CHCl}_3$  により抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び食塩水により洗浄し、無水硫酸マグネシウムにより乾燥させ、セライトベッドを通した。有機層を減圧条件下濃縮させ、粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出液 メタノール : 酢酸エチル = 1 : 30、1% トリエチルアミン含有) により精製し、化合物 15 (81.5 mg、64.9  $\mu\text{mol}$ 、64%) を得た。

## 【0086】

10

化合物 15 の  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルは下記の通りである。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (ppm) : 6.15 (1H, d, NHAc), 5.38-5.33 (4H, m, H-4', H-1', H-1', H-4'), 5.28 (1H, m, H-4'), 5.21-5.16 (2H, m, H-3', H-3'), 5.07-4.99 (4H, m, H-3', H-5', H-2', H-2'), 4.73 (1H, d, H-1',  $J = 8.4$  Hz), 4.72 (1H, d, H-1',  $J = 8.0$  Hz), 4.49-4.43 (2H, m, H-6'a, H-5''), 4.29 (1H, m, H-6'b), 4.06-3.99 (2H, t, H-6a, H-4), 3.90-3.80 (5H, m, H-5', H-3, H-6b, H-2, H-2'), 3.74-3.61 (14H, m, PEG), 3.42 (2H, t,  $-\text{CH}_2\text{N}_3$ ,  $J = 4.8$  Hz), 3.22 (1H, d, H-5), 2.31 (1H, s, -OH), 2.15-1.95 (3H  $\times$  10, s  $\times$  10,  $-\text{OCOCH}_3 \times 10$ ), 1.18-1.15 (6H, m, H-6'', H-6''').

HRMS (ESI, positive ion mode)  $m/z = 1272.4993[\text{M}+\text{Na}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{129}\text{H}_{157}\text{NO}_{32}\text{Si}_2\text{N}$  a, 1272.4988.

20

## 【0087】

PEG<sub>3</sub>-アジド-L-フコピラノシル-(1,2)-D-ガラクトピラノシル-(1,4)-3-O-(L-フコピラノシル)-2-アセトアミド-D-グルコピラノシド 16 の製造

化合物 15 (12 mg、9.56  $\mu\text{mol}$ ) の乾燥メタノール (1 mL) 溶液に NaOCH<sub>3</sub>/メタノール (25%) (1  $\mu\text{L}$ 、5  $\mu\text{mol}$ ) を加えた。混合物を室温で2時間攪拌した後、中和のため反応混合物に DOWEX 50W を加え、濾過し、減圧下濾液を濃縮し、白色固体の粗生成物を得た。粗生成物を Sephadex LH 20 カラムを用いたカラムクロマトグラフィー (溶出液 メタノール) により精製することで化合物 16 (8 mg、9.12  $\mu\text{mol}$ 、95%) を得た。

30

## 【0088】

化合物 16 の理化学的性質は以下の通りである。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (ppm) : 5.16-5.15 (1H, m, H-1'), 5.02 (1H, d, H-1',  $J = 3.6$  Hz), 4.83 (1H, m, H-5'), 4.51-4.49 (2H, m, H-1, H-1'), 4.18 (1H, q, H-5',  $J = 6.8$  Hz), 3.94-3.60 (30H, m, PEG, H-2, H-2', H-2'', H-3, H-3', H-3'', H-3''', H-4, H-4', H-4'', H-4''', H-5', H-6a, H-6b, H-6'a, H-6'b'), 3.45 (1H, m, H-5), 3.82 (2H, t,  $-\text{CH}_2\text{N}_3$ ,  $J = 4.8$  Hz), 3.32 (1H, m, H-2'), 1.96 (3H, s, -NHAc), 1.28-1.22 (6H, m, H-6'', H-6''').

LRMS (FAB, positive ion mode, DTT: 1-Thioglycerol=1:1)  $m/z = 899 [\text{M}+\text{Na}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Na}$ .

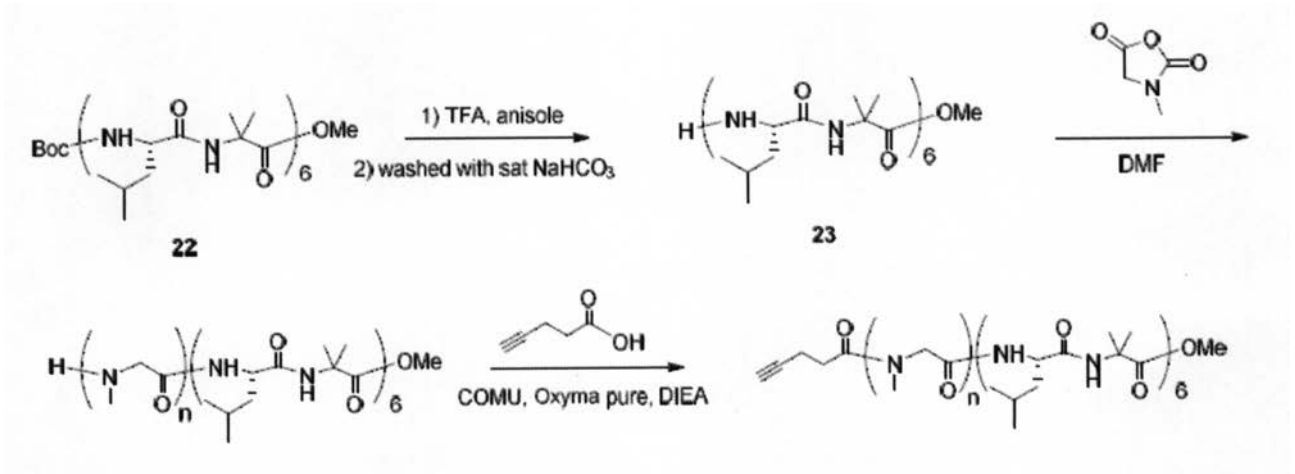
40

## 【0089】

参考例 2集合体形成 L-ポリマーの製造

## 【0090】

## 【化 1 4】



10

30

(式中、Bocはt-ブチルオキシカルボニル基、TFAはトリフルオロ酢酸を示す。COMU及びDIEAは前記に同じ。)

上記反応式の方法により、集合体形成L-ポリマーを得た。

## 【0091】

アルゴン雰囲気下、サルコシン-N-カルボン酸無水物(sar-NCA、122mg、1.23mmol)の蒸留ジメチルホルムアミド(2mL)溶液に、ペプチド23(30mg、24.6μmol)の蒸留ジメチルホルムアミド(2mL)溶液を加え、混合溶液を室温で16時間攪拌した。4-ペンチン酸(16.9mg、172.2μmol)、(1-シアノ-2-エトキシ-2-オキソエチリデンアミノオキシ)ジメチルアミノ-モルホリノ-カルベニウムヘキサフルオロリン酸塩(110.6mg、258.3μmol)、Oxyma pure(36.7mg、258.3μmol)及びジイソプロピルエチルアミン(60μL、344.4μmol)を混合溶液に加え、アルゴン雰囲気下、0で30分攪拌した。その後、アルゴン雰囲気下、混合溶液を室温で20時間攪拌した。反応混合物から溶媒を留去し、粗生成物を得た。粗生成物をメタノールに溶解し、Sephadex LH 20カラムを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製することで集合体形成L-ポリマー(50mg、16%)を得た。

## 【0092】

集合体形成L-ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRスペクトルは以下の通りである。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (ppm) 7.82-7.52 (m, 12H, LeuNH, AibNH), 4.22-3.99 (m, 103H, LeuCH, SarCH<sub>2</sub>), 3.64 (s, 3H, OMe), 3.02-2.91 (m, 155H, SarCH<sub>3</sub>), 2.63-2.46 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.97 (s, 1H, CCH), 1.65-1.48 (m, 59H, LeuCH, LeuCH<sub>2</sub>, AibCH<sub>3</sub>), 0.89-0.86 (m, 36H, LeuCH<sub>3</sub>)。)

## 【0093】

## 参考例 3

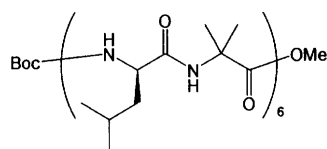
## 集合体形成D-ポリマーの製造

原料ペプチドとして、下記ペプチド：

40

## 【0094】

## 【化 1 5】



(式中、Bocは前記に同じ。)

を用いた以外は、前記参考例2と同様にして集合体形成D-ポリマー

## 【0095】

50



## 【化16】



を得た。

## 【0096】

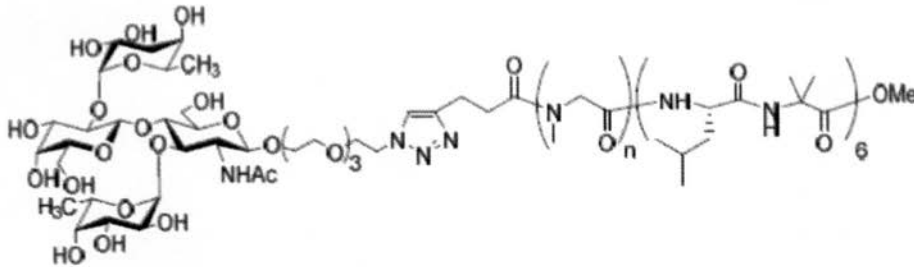
## 参考例4

## Lewis Y担持表面形成ポリマーの製造

## 【0097】

10

## 【化17】



塩化ビニリデン (CH<sub>2</sub>CCl<sub>2</sub>) 及びメタノールをアルゴンガスにより45分間バブリングを行った。前記参考例2で得られた集合体形成L-ポリマー(20mg、4.1 μmol)を塩化ビニリデン及びメタノール混合溶媒(1:1(容積比)、1mL)に溶解した。得られた溶液に、前記参考例1で得られたLewis Y(4.3mg、4.9 μmol)及び酢酸銅(I)(606 μg、4.9 μmol)を加えた。得られた混合溶液をアルゴン雰囲気下6時間撹拌した。得られた反応混合物から溶媒を留去し、減圧下乾燥した。乾燥後、得られた残留物をメタノールに溶解し、Sephadex LH 20カラムを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製することでLewis Y担持表面形成ポリマー(24mg)を得た。

20

## 【0098】

得られたLewis Y担持表面形成ポリマーの<sup>1</sup>H-NMRは以下の通りである。

30

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): (ppm) 7.82-7.52 (m, 13H, LeuNH, AibNH, C=CH), 5.16-5.15 (1H, m, H-1'), 5.02 (1H, d, H-1', J = 3.6 Hz), 4.83 (1H, m, H-5'), 4.51-4.49 (2H, m, H-1, H-1'), 4.18 (1H, q, H-5', J = 6.8 Hz), 4.22-3.99 (m, 120H, LeuCH, SarCH<sub>2</sub>), 3.94-3.60 (33H, m, PEG, H-2, H-2', H-2'', H-3, H-3', H-3'', H-3''', H-4, H-4', H-4'', H-4''', H-5', H-6a, H-6b, H-6'a, H-6'b', OMe), 3.45 (2H, t, -CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>, J = 4.8 Hz), 3.45 (1H, m, H-5), 3.32 (1H, m, H-2'), 3.02-2.91 (m, 180H, SarCH<sub>3</sub>), 2.63-2.46 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.96 (3H, s, -NHAc), 1.65-1.48 (m, 59H, LeuCH, LeuCH<sub>2</sub>, AibCH<sub>3</sub>), 0.89-0.86 (m, 36H, LeuCH<sub>3</sub>)。

## 【0099】

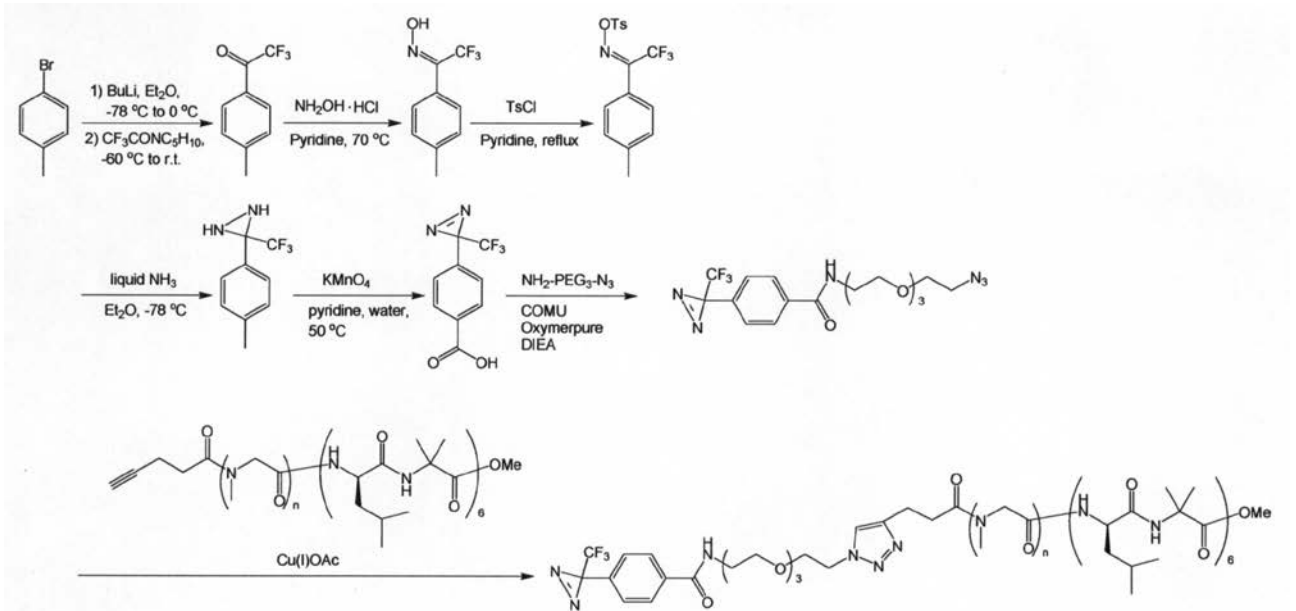
## 参考例5

## 基材結合ポリマーの製造

40

## 【0100】

## 【化 1 8】



10

(式中、B u はブチル基、E t はエチル基、T s はトルエンスルホニル基、P E G はエチレングリコール基、C O M U は ( 1 - シアノ - 2 - エトキシ - 2 - オキシエチリデンアミノオキシ ) ジメチルアミノ - モルホリノ - カルベニウムヘキサフルオロリン酸塩、D I E A はジイソプロピルエチルアミン、A c はアセチル基を示す。)

20

## 【0101】

上記反応式に従って、基材結合ポリマーを合成した。

## 【0102】

トリフルオロアセチルトルエンの製造

3.42 g (20 mmol) の p - ブロモトルエンを 100 mL の脱水ジエチルエーテルに溶かし、1.1 当量の n - ブチルリチウム (15% ヘキサン溶液) を -40 で添加した。0 で 3 時間攪拌し、-60 で 3.62 g (20 mmol) の N - トリフルオロアセチルピペリジンを加え、-60 で 3 時間攪拌した。塩化アンモニウム水溶液を加え、有機層を 5 回塩化アンモニウム水溶液で洗浄した。その後、水で 3 回洗浄した。有機層を濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (n - ヘキサン : クロロホルム = 4 : 1) で精製し、トリフルオロアセチルトルエン 2.41 g (12.8 mmol, 64% 収率) を得た。

30

## 【0103】

2, 2, 2 - トリフルオロ - 1 - (4 - メチルフェニル) - 1 - エタノンオキシムの製造

ヒドロキシルアミン塩酸塩 2.77 g (39.9 mmol) 及び水酸化ナトリウム 1.60 g (39.9 mmol) を無水エタノール 150 mL に懸濁し、これをトリフルオロアセチルトルエン 2.5 g (13.29 mmol) の無水エタノール (20 mL) 溶液に加え、24 時間還流させた。その後、反応混合物を濃縮し、残留物にジエチルエーテル及び水を加え、有機層を 0.01 M 塩酸と水で 3 回洗浄した。有機層を濃縮し、2, 2, 2 - トリフルオロ - 1 - (4 - メチルフェニル) - 1 - エタノンオキシム 3.01 g (14.8 mmol, quant) を得た。

40

## 【0104】

2, 2, 2 - トリフルオロ - 1 - (4 - メチルフェニル) - 1 - エタノン O - (p - トリルスルホニル) オキシムの製造

2, 2, 2 - トリフルオロ - 1 - (4 - メチルフェニル) - 1 - エタノンオキシム 1.8 g (8.86 mmol) を無水ピリジン 30 mL に溶かし、p - トルエンスルホニルクロライド 2.53 g (13.29 mmol) を加えて 3 時間還流した。その後

50

、反応混合物を濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（*n*-ヘキサン：クロロホルム = 2 : 1）により精製し、2, 2, 2-トリフルオロ-1-(4-メチルフェニル)-1-エタノン *O*-(*p*-トリルスルホニル)オキシム 1.35 g (3.77 mmol, 43% 収率) を得た。

【0105】

3-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)ジアジリジンの製造

2, 2, 2-トリフルオロ-1-(4-メチルフェニル)-1-エタノン *O*-(*p*-トリルスルホニル)オキシム 255 mg (713 μmol) の乾燥ジエチルエーテル溶液に、-78 で液体アンモニウム 約 3 mL を加え、室温で 6 時間攪拌した。反応混合物を濃縮し、ジエチルエーテルと水を加えて洗浄した。有機層を濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム 100%）により精製し、3-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)ジアジリジン 93 mg (460 μmol, 63%) を得た。

10

【0106】

4-[3-(トリフルオロメチル)-3*H*-ジアジリン-3-イル]安息香酸の製造

3-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)ジアジリジン 93 mg (460 μmol) をピリジン (2.5 mL) 及び水 (2.5 mL) の混合溶液に溶かし、これに過マンガン酸カリウム 291 mg (1.84 mmol) を加え、50 で一晩攪拌した。その後、1*N* 硫酸を加え、反応混合物を pH 2 に調製した後、1% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 水溶液を加えた。さらにジエチルエーテルを加え、有機層を水及び 0.01*N* 水酸化ナトリウム水溶液で洗浄した。有機層に 1*N* 硫酸を加えて pH 2 に調製し、ジエチルエーテルで抽出を行った。得られた有機層を濃縮して、4-[3-(トリフルオロメチル)-3*H*-ジアジリン-3-イル]安息香酸 168 mg を得た。

20

【0107】

*N*-(PEGアジド)-4-[3-(トリフルオロメチル)-3*H*-ジアジリン-3-イル]ベンズアミドの製造

4-[3-(トリフルオロメチル)-3*H*-ジアジリン-3-イル]安息香酸 50 mg (217 μmol) のジメチルホルムアミド溶液に PEGアジドアミン 57 mg (260 μmol)、COMU 139 mg (326 μmol)、Oxymapure 46 mg (326 μmol) 及びジイソプロピルエチルアミン 75 μL (434 μmol) を加え、室温にて 4 時間攪拌した。反応混合物を濃縮し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール = 10 : 1）により精製し、*N*-(PEGアジド)-4-[3-(トリフルオロメチル)-3*H*-ジアジリン-3-イル]ベンズアミド 57 mg (132 μmol, 61% 収率) を得た。

30

【0108】

基材結合ポリマーの製造

*N*-(PEGアジド)-4-[3-(トリフルオロメチル)-3*H*-ジアジリン-3-イル]ベンズアミド 8 mg (19 μmol) のジクロロメタン及びメタノールの混合溶液（容量比 1 : 1）に、集合体形成 D-ポリマー 20 mg (6 μmol) を加え、さらに酢酸銅 (I) 2 mg (6 μmol) を加えた。室温で攪拌し、反応が完了した後、反応混合物を濃縮した。残留物を Sephadex LH 20 カラムを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製することで基材結合ポリマー 24 mg (5.6 μmol, 93% 収率) を得た。

40

【0109】

参考例 6

集合体分散液の製造

参考例 4 で得られた Lewis Y 担持表面形成ポリマー及び参考例 5 で得られた基材結合ポリマーを 1 : 1 (モル比) の割合で水に加えたところ、水中で組織化し集合体を形成した。動的光散乱により、集合体を確認したところ、1 μm サイズのシート状の集合体であった (図 1)。

50

## 【0110】

実施例 1

参考例 6 と同様の手法により、集合体分散液をそれぞれ 0.125 mg/mL、0.25 mg/mL 又は 0.5 mg/mL の濃度で得た。ガラス基板上に不織布（旭化成株式会社製、ポリプロピレン、1 cm x 2 cm 角）を置き、その上に各集合体分散液を乗せ、さらに上からガラス基板を被せることで、集合体分散液を不織布に浸した。集合体分散液を浸した状態で、不織布に紫外線（Xe ランプ）を 5 分間照射した。斯かる操作の模式図を図 2 に示す。この操作を 1、2 又は 3 回繰り返し、表面修飾不織布を製造した。

## 【0111】

なお、図 3 に表面修飾不織布の概念図を示す。

10

## 【0112】

試験例 1滑水角度の測定

実施例 1 で得られた表面修飾不織布と未処理の不織布のそれぞれに水滴を乗せ、水滴が滑り落ちる角度を測定した。未処理の不織布では約 45 度の傾斜時に水滴が滑り落ちたが、実施例 1 で得られた表面修飾不織布では、約 180 度まで傾けても（反転させても）水滴は不織布表面上に保持され、滑り落ちなかった。

## 【0113】

試験例 2水中接触角の測定

実施例 1 で得られた表面修飾不織布の水中に沈め、気泡を水中の表面修飾不織布に接触させることで、水中接触角を測定した。集合体分散液の濃度及び導入回数から集合体の導入量を算出した。水中接触角の測定結果を図 4 に示し、導入量と水中接触角との関係を示すグラフを図 5 に示す。

20

## 【0114】

試験例 3

蛍光標識としてフルオレセインイソシアネートを担持させた IgM - FITC 及び Lewis Y 抗体を含む水溶液を準備した。

## 【0115】

実施例 1 で得られた表面修飾不織布と未処理の不織布のそれぞれに IgM - FITC 水溶液を浸し、蛍光（励起波長 470 - 490 nm）の有無を確認した。結果を図 6 に示す。

30

## 【0116】

実施例 1 で得られた表面修飾不織布では、不織布の繊維に添って蛍光が観測され、繊維表面に Lewis Y が担持されていることが分かる。

## 【0117】

試験例 4

実施例 1 で得られた表面修飾不織布を 1 時間オートクレーブで滅菌した。マウス（BALB/c CrSlc；雄；9 週齢（包埋時））の皮下（10 mm x 10 mm）、腹内（10 mm x 10 mm）又は脾臓（5 mm x 5 mm）にボンドで滅菌後の表面修飾不織布（2 又は 4 枚）を付着した。ホッチキスを用いて、マウスの腹部を接合し、一週間後に採血を行い、血中の抗体を ELISA（抗体は HRP Goat anti-mouse IgM 抗体（Southern Biotech、US）を用い、プレートリーダーには SPECTRA MAX 250（Molecular Devices、US）を使用した）により測定した。測定結果を図 7 に示す。

40

## 【産業上の利用可能性】

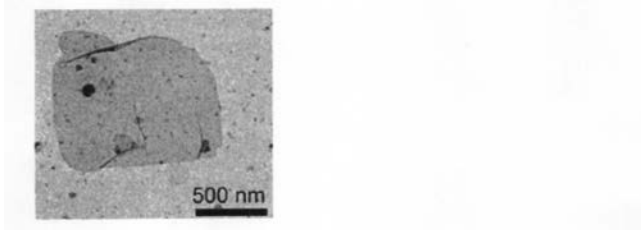
## 【0118】

本発明の表面修飾基材は、組織化を用いているため、極めて均質な表面を有しており、種々の用途において、基材により効率的に新たな特性を付与することが期待される。また、本発明の表面修飾基材では、生理活性物質等を基材に固定する際に有用であり、免疫の

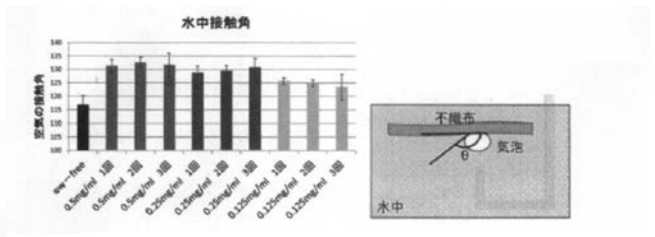
50

賦活化等の用途が期待される。

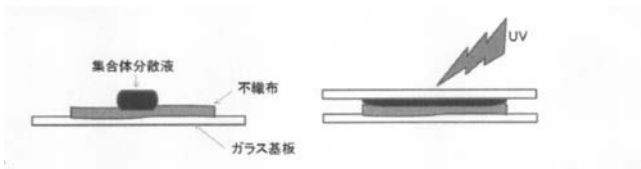
【 図 1 】



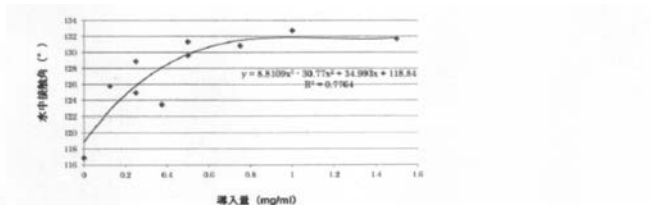
【 図 4 】



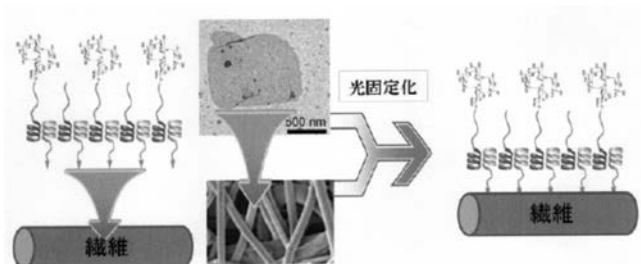
【 図 2 】



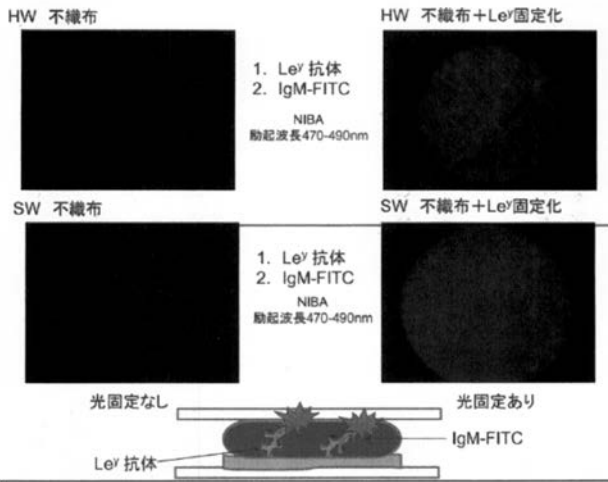
【 図 5 】



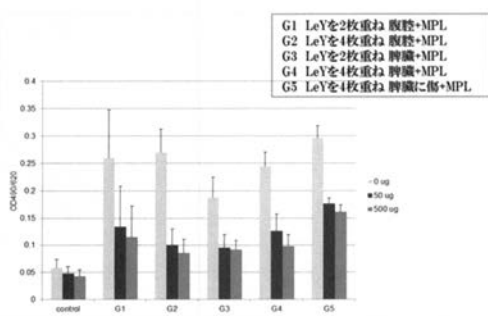
【 図 3 】



【 図 6 】



【 図 7 】



---

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
<b>A 6 1 K</b>	<b>47/48</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K	47/48		
<b>A 6 1 M</b>	<b>1/36</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 M	1/36	5 5 3	
<b>C 0 7 K</b>	<b>17/08</b>	<b>(2006.01)</b>	C 0 7 K	17/08		