

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

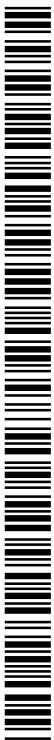
(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014年10月2日(02.10.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/157186 A1

- (51) 国際特許分類:
C08G 65/329 (2006.01) C08L 71/02 (2006.01)
C08G 81/00 (2006.01) A61L 27/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/058249
- (22) 国際出願日: 2014年3月25日(25.03.2014)
- (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 2013-068409 2013年3月28日(28.03.2013) JP
- (71) 出願人: 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: 酒井 崇匡 (SAKAI Takamasa); 〒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 Tokyo (JP). 鄭 雄一 (TEI Yuichi); 〒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 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 小野 誠, 外 (ONO Makoto et al.); 〒1070051 東京都港区元赤坂一丁目2番7号 赤坂Kタワー アンダーソン・毛利・友常法律事務所 Tokyo (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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, 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, 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:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))



WO 2014/157186 A1

(54) Title: NOVEL LOW-SWELLING-DEGREE HYDROGEL CONTAINING TEMPERATURE-RESPONSIVE POLYMER

(54) 発明の名称: 温度応答性ポリマーを含む低膨潤度の新規ハイドロゲル

(57) Abstract: [Problem] To provide a novel hydrogel composition which exhibits a controlled swelling degree in water and therefore can keep the as-made original shape at the temperature of a human body and which exhibits a high breaking strength. [Solution] A hydrogel composition which comprises, as constituents, both a tetra-armed polymer having a polyethylene glycol skeleton and a temperature-responsive tetra-armed polymer having a phase transition temperature and in which the polymers are crosslinked at the terminals through covalent bonds to form a network structure.

(57) 要約: 【課題】 水中におけるゲルの膨潤度を制御することによって、生体温度において作製当初の形状を維持し、かつ高い破断強度を有する新規なハイドロゲル組成物を提供することを課題とする。【解決手段】 ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマー、及び相転移温度を有する温度応答性の四分岐型ポリマーを構成成分として含み、当該ポリマーの末端が共有結合で架橋した網目構造を有する、ハイドロゲル組成物。

明 細 書

発明の名称：

温度応答性ポリマーを含む低膨潤度の新規ハイドロゲル

技術分野

[0001] 本発明は、温度応答性ポリマーを含むハイドロゲルであって、溶液中における膨潤を抑え、その形状や力学特性を維持できる新規なハイドロゲルに関する。

背景技術

[0002] 近年、網状構造の親水性ポリマーを含むゲル状の材料であるハイドロゲルが注目されている。ハイドロゲルは、優れた保水能力及び生体適合性等の特性を有することから、シーリング、癒着防止、ドラッグデリバリー、コンタクトレンズなどの医療目的だけでなく、センサーや表面コーティングなどの多様な用途への応用が期待されている材料である（例えば、特許文献1及び2、非特許文献1）。しかしながら、優れた特性の一方で、ハイドロゲルはその体積の大部分が水で占められた開放系の物質であるため、水中ではゲル内部と外部環境の濃度差から生じる浸透圧によって膨潤してしまい、十分な力学的強度が得られないという問題があった。

[0003] 特に、軟骨部位等の低侵襲医療への応用において、注射によって患部内で直接ゲルを形成させるインジェクタブルゲルの開発も広く行われつつあるが、ここでも、軟骨等の生体内の環境は閉鎖系ではないため、ゲルは外界との濃度勾配から膨潤してしまう。すなわち、軟骨部位で用いるためには高い破断強度が求められるが、当該部位ではゲルの膨潤によって内圧がかかるだけでなく、時間の経過とともに、ゲル化時の形状は崩れ、さらには力学的強度の低下が生じる。従って、軟骨の置換を指向した際には、インジェクタブルであることに加えて、そのような膨潤による形状変化や力学的強度の低下を生じないハイドロゲルの開発が望まれている。

先行技術文献

特許文献

- [0004] 特許文献1：特開平11-189626号公報
特許文献2：特開2005-60570号公報

非特許文献

- [0005] 非特許文献1：Sakaiら、Macromolecules、Vol.41、No.14、pp.5379-5384、2008

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明は、上記ハイドロゲルにおける強度や持続使用性の問題点を解消するため、水中におけるゲルの膨潤度を制御することによって、生体温度において作製当初の形状を維持し、かつ高い破断強度を有する新規なハイドロゲル組成物を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者らは前記課題を解決すべく鋭意検討の結果、ハイドロゲルを形成し得るポリエチレングリコール骨格を有するポリマーと、相転移温度を有する温度応答性ポリマーを組み合わせ、これらを架橋させて網目構造を有するハイドロゲルを作成することによって、溶液中における当該ゲルの膨潤度を制御できることを見出した。これらの知見に基づき、本発明を完成するに至ったものである。

- [0008] すなわち、本発明は、一態様において、

(1) ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマー、及び相転移温度を有する温度応答性の四分岐型ポリマーを構成成分として含み、当該ポリマーの末端が共有結合で架橋した網目構造を有する、ハイドロゲル組成物に関する。

- [0009] また、本発明のハイドゲル組成物の好ましい態様は、

(2) 前記温度応答性の四分岐型ポリマーにおける前記相転移温度が、下限臨界溶液温度(LCST)である、上記(1)に記載のハイドゲル組成物

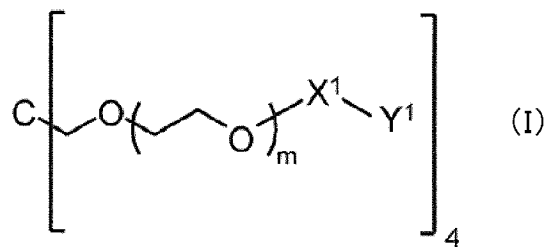
;

(3) 前記温度応答性の四分岐型ポリマーにおける前記相転移温度が、水中において5～40℃の範囲である、上記(1)に記載のハイドゲル組成物

;

(4) 前記ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマーが、下記式(1)で表されるポリマー

[化1]



(ここで、式(1)中、

各mは、それぞれ同一又は異なり、25～250の整数であり、

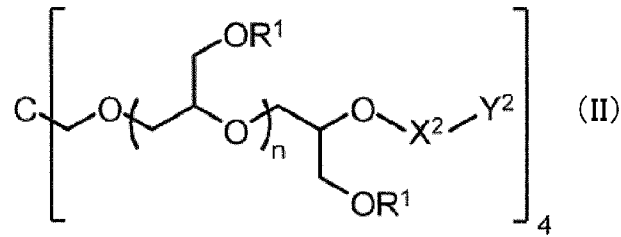
各X¹は、それぞれ同一又は異なり、C₁～C₇アルキレン基、C₂～C₇アルケニレン基、-NH-R^a-、-CO-R^a-、-R^b-O-R^c-、-R^b-NH-R^c-、-R^b-CO₂-R^c-、-R^b-CO₂-NH-R^c-、-R^b-CO-R^c-、又は-R^b-CO-NH-R^c-を示し、ここで、R^aはC₁～C₇アルキレン基を示し、R^bはC₁～C₃アルキレン基を示し、R^cはC₁～C₅アルキレン基を示し、及び

各Y¹は、アミノ基、-SH、及び-CO₂PhNO₂よりなる群から選択される求核性官能基；又は、N-ヒドロキシースクシンイミジル(NHS)基、スルホスクシンイミジル基、マレイミジル基、フタルイミジル基、イミダゾール基、及びニトロフェニル基よりなる群から選択される求電子性官能基である。)

であり、及び、

前記温度応答性の四分岐型ポリマーが、下記式(11)で表されるポリマー

[化2]



(ここで、式(11)中、

各 n は、それぞれ同一又は異なり、25~250の整数であり、

各 R^1 は、それぞれ同一又は異なり、 C_1-C_5 アルキル基であり、

各 X^2 は、それぞれ同一又は異なり、 C_1-C_7 アルキレン基、 C_2-C_7 アルケニレン基、 $-NH-R^a-$ 、 $-CO-R^a-$ 、 $-R^b-O-R^c-$ 、 $-R^b-NH-R^c-$ 、 $-R^b-CO_2-R^c-$ 、 $-R^b-CO_2-NH-R^c-$ 、 $-R^b-CO-R^c-$ 、又は $-R^b-CO-NH-R^c-$ を示し、ここで、 R^a は C_1-C_7 アルキレン基を示し、 R^b は C_1-C_3 アルキレン基を示し、 R^c は C_1-C_5 アルキレン基を示し、及び

各 Y^2 は、アミノ基、 $-SH$ 、及び $-CO_2PhNO_2$ よりなる群から選択される求核性官能基；又は、 N -ヒドロキシースクシンイミジル(NHS)基、スルホスクシンイミジル基、マレイミジル基、フタルイミジル基、イミダゾール基、及びニトロフェニル基よりなる群から選択される求電子性官能基である。)

である、上記(1)に記載のハイドロゲル組成物；

(5) 前記式(11)で表される温度応答性の四分岐型ポリマーが、 R^1 がメチルであるモノマー成分と、 R^1 がエチルであるモノマー成分との組み合わせよりなる共重合体である、上記(4)に記載のハイドロゲル組成物；

(6) 前記 R^1 がメチルであるモノマー成分と、前記 R^1 がエチルであるモノマー成分のモル比が、1:9~4:6である、上記(5)に記載のハイドロゲル組成物；

(7) 各 Y^1 が、 N -ヒドロキシースクシンイミジル(NHS)基、スルホ

スクシンイミジル基、マレイミジル基、フタルイミジル基、イミダゾール基、及びニトロフェニル基よりなる群から選択される求電子性官能基であり、及び、

各 Y^2 が、アミノ基、 $-SH$ 、及び $-CO_2PhNO_2$ よりなる群から選択される求核性官能基である、

上記（４）乃至（６）のいずれか１に記載のハイドロゲル組成物；

（８） Y^1 が N -ヒドロキシースクシンイミジル（ NHS ）基であり、 Y^2 がアミノ基である、上記（７）に記載のハイドロゲル組成物；

（９） 水溶液中、 $30\sim 40^\circ C$ の範囲における前記ハイドロゲル組成物の体積が、ゲル作成時の体積に対して $0.8\sim 1.5$ の体積変化の範囲の膨潤度である、上記（１）乃至（８）のいずれか１に記載のハイドロゲル組成物；

（１０） $60MPa$ 以上の圧縮破断強度を有する、上記（１）乃至（９）のいずれか１に記載のハイドロゲル組成物；

（１１） 前記ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマーと、前記温度応答性の四分岐型ポリマーのモル比が、 $10:90\sim 90:10$ である、上記（１）乃至（１０）のいずれか１に記載のハイドロゲル組成物に関する。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、ハイドロゲルの膨潤度を制御することによって従来のハイドロゲルにおける強度や持続使用性の問題点を解消することができ、生体条件・体液浸漬環境下に導入した場合であっても、生体温度において作製当初の形状を維持しつつ、人間の軟骨に匹敵する高い破断強度を有する新規なハイドロゲル組成物を提供することができる。

[0011] 具体的には、本発明のハイドロゲル組成物では、ゲルの構成セグメントとして、相転移温度を有する温度応答性ポリマーを導入することによって、一定温度以上において、当該温度応答性ポリマーが収縮してゲルの膨張を妨げ、かつ、他の親水性ポリマーセグメントのにおける膨潤も抑え、ゲル全体の

膨潤を抑制できるという効果を奏する。また、導入する温度応答性ポリマーの比率を適宜変更することによって、或いは相転移温度が異なる温度応答性ポリマーを用いること等によって、所望の用途に応じて、ハイドロゲル全体の膨潤度・収縮率を制御することが可能となる。

[0012] 上述のように、生体内の、特に軟骨等のような過重部においてゲルを応用する場合には、高い力学特性及び形態維持能が必要となるが、本発明は従来にはない発想で当該課題を解決するものであり、高分子ゲルの実用化において極めて有益である。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]図1は、ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型の親水性ポリマーと温度応答性の四分岐型ポリマーよりなる本発明のハイドロゲル組成物の構造、及びゲル中の温度応答性ポリマー成分が温度に応じて収縮することによる膨潤抑制の機構を示す模式図である。

[図2]図2は、本発明のハイドロゲル組成物における体積変化（膨張度）の温度依存性を比率をプロットしたグラフである。

[図3]図3は、本発明のハイドロゲル組成物における応力-ひずみ曲線の測定結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0014] 以下、本発明の実施形態について説明する。本発明の範囲はこれらの説明に拘束されることはなく、以下の例示以外についても、本発明の趣旨を損なわない範囲で適宜変更し実施することができる。

[0015] 本発明のハイドロゲル組成物は、a) ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型の親水性ポリマー、及び、b) 相転移温度を有する温度応答性の四分岐型ポリマーを構成成分として含み、当該ポリマーの末端が共有結合で架橋した網目構造を有するものである。

[0016] (1) ポリエチレングリコール骨格を有する親水性ポリマー成分

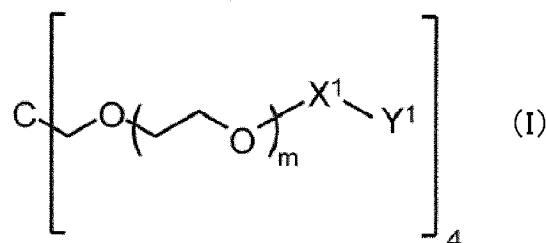
本発明のハイドロゲル組成物において用いられる親水性ポリマー成分は、ポリエチレングリコール骨格を有し、その末端において当該親水性ポリマー

どうし、及び／又は後述の温度応答性ポリマーと架橋することによって網目構造を有するものである。好ましくは、水を含むことによって、ハイドロゲルを形成し得る親水性ポリマーである。ここで、「ハイドロゲル」とは、多量の水を含んだ親水性の高分子を含むゲル状の物質であり、「ゲル」とは、一般に、高粘度で流動性を失った分散系をいう。

[0017] そのようなハイドロゲルを形成し得るポリマーとして、4つのポリエチレングリコール分岐を有するポリマー成分が、互いに架橋して均一な網目構造ネットワークを形成するものが挙げられる。かかる四分岐型のポリエチレングリコール骨格よりなるゲルは、一般に、Tetra-PEGゲルとして知られており、それぞれ末端に活性エステル構造等の求電子性の官能基とアミノ基等の求核性の官能基を有する二種の四分岐高分子間のAB型クロスエンドカップリング反応によって網目構造ネットワークが構築される。Tetra-PEGゲルは、これまでの研究から、200nm以下のサイズ領域で高分子網目に不均一性がなく、理想的な均一網目構造を有することが報告されている(Matsunagaら、Macromolecules、Vol.42、No.4、pp.1344-1351、2009)。また、Tetra-PEGゲルは各高分子溶液の単純な二液混合で簡便にその場で作製可能であり、ゲル調製時のpHやイオン強度を調節することでゲル化時間を制御することも可能である。そして、このゲルはPEGを主成分としているため、生体適合性にも優れている。

[0018] 本発明のハイドロゲル組成物において用いられるポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型の親水性ポリマーは、一態様において、以下の一般式(1)で表される構造を有する化合物である。

[化3]



[0019] 上記式(1)中、各 m は、それぞれ同一でも又は異なってもよい。各 m の値が近いほど、均一な立体構造をとることができ、高強度となる。このため、高強度のゲルを得るためには、同一であることが好ましい。各 m の値が高すぎるとゲルの強度が弱くなり、各 m の値が低すぎると化合物の立体障害によりゲルが形成されにくい。そのため、各 m は、25~250の整数値があげられ、35~180が好ましく、50~115がさらに好ましく、50~60が特に好ましい。そして、その分子量としては、 $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ Daがあげられ、 $7.5 \times 10^3 \sim 3 \times 10^4$ Daが好ましく、 $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ Daがより好ましい。

[0020] 上記式(1)中、各 X^1 は、官能基とコア部分をつなぐリンカー部位である。各 X^1 は、それぞれ同一でも異なってもよいが、均一な立体構造を有する高強度なゲルを製造するためには同一であることが好ましい。各 X^1 は、 C_1-C_7 アルキレン基、 C_2-C_7 アルケニレン基、 $-NH-R^a-$ 、 $-CO-R^a-$ 、 $-R^b-O-R^c-$ 、 $-R^b-NH-R^c-$ 、 $-R^b-CO_2-R^c-$ 、 $-R^b-CO_2-NH-R^c-$ 、 $-R^b-CO-R^c-$ 、又は $-R^b-CO-NH-R^c-$ を示す。ここで、 R^a は C_1-C_7 アルキレン基を示し、 R^b は C_1-C_3 アルキレン基を示し、 R^c は C_1-C_5 アルキレン基を示す。

[0021] ここで、「 C_1-C_7 アルキレン基」とは、分岐を有してもよい炭素数が1以上7以下のアルキレン基を意味し、直鎖 C_1-C_7 アルキレン基又は1つ又は2つ以上の分岐を有する C_2-C_7 アルキレン基（分岐を含めた炭素数が2以上7以下）を意味する。 C_1-C_7 アルキレン基の例は、メチレン基、エチレン基、プロピレン基、ブチレン基である。 C_1-C_7 アルキレン基の例は、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-(CH(CH_3))_2-$ 、 $-(CH_2)_2-CH(CH_3)-$ 、 $-(CH_2)_3-CH(CH_3)-$ 、 $-(CH_2)_2-CH(C_2H_5)-$ 、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_2-C(C_2H_5)_2-$ 、及び $-(CH_2)_3C(CH_3)_2CH_2-$ などが挙げられる。

[0022] 「 C_2-C_7 アルケニレン基」とは、鎖中に1個若しくは2個以上の二重結合を有する状又は分枝鎖状の炭素原子数2~7個のアルケニレン基であり、

例えば、前記アルキレン基から隣り合った炭素原子の水素原子の2～5個を除いてできる二重結合を有する2価基が挙げられる。

[0023] 本明細書において、アルキレン基及びアルケニレン基は任意の置換基を1個以上有していてもよい。該置換基としては、例えば、アルコキシ基、ハロゲン原子（フッ素原子、塩素原子、臭素原子、又はヨウ素原子のいずれであってもよい）、アミノ基、モノ若しくはジ置換アミノ基、置換シリル基、アシル基、又はアリール基などを挙げることができるが、これらに限定されることはない。アルキル基が2個以上の置換基を有する場合には、それらは同一でも異なってもよい。アルキル部分を含む他の置換基（例えばアルキルオキシ基やアラルキル基など）のアルキル部分についても同様である。

[0024] また、本明細書において、ある官能基について「置換基を有していてもよい」と定義されている場合には、置換基の種類、置換位置、及び置換基の個数は特に限定されず、2個以上の置換基を有する場合には、それらは同一でも異なってもよい。置換基としては、例えば、アルキル基、アルコキシ基、水酸基、カルボキシ基、ハロゲン原子、スルホ基、アミノ基、アルコキシカルボニル基、オキソ基などを挙げることができるが、これらに限定されることはない。これらの置換基にはさらに置換基が存在していてもよい。

[0025] 各 Y^2 は、上述のように、共有結合による架橋反応であるA B型クロスエンドカップリング反応によって網目構造ネットワークを形成させるためのものであり、求核性官能基又は求電子性官能基から選択される。典型的には、ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型の親水性ポリマーは末端に求電子性官能基を有し、その場合、後述の温度応答性の四分岐型ポリマーの Y^2 は求核性官能基である。例えば、親水性ポリマーの末端がアミノ基であり、温度応答性ポリマーの末端がN-ヒドロキシースクシンイミジル（NHS）を含むエステル構造である場合には、各ポリマーの末端は、アミド結合によって架橋してゲルを形成する。しかしながら、合成の容易さ等の観点から、逆の組み合わせであることも可能である。さらに、親水性ポリマーと温度応答性ポリマーを等量以外で含む態様においては、末端が求核性官能基である親

水性ポリマーと求電子性官能基である親水性ポリマーを混在して用いることもでき、これによって、ハイドロゲル組成物中における親水性ポリマー成分と温度応答性ポリマー成分の比率を適宜変更することができる。

[0026] 当該親水性ポリマーの末端が求核性官能基である場合には、アミノ基が好ましい。しかし、高強度な立体構造になる架橋を得られれば、当該官能基は、アミノ基以外の求核性官能基を用いることもできる。このような求核性官能基として、 $-SH$ 、又は $-CO_2PhNO_2$ (Ph は、 $o-$ 、 $m-$ 、又は $p-$ フェニレン基を示す)などがあげられ、当業者であれば公知の求核性官能基を適宜用いることができる。当該官能基は、それぞれ同一であっても、異なってもよいが、同一である方が好ましい。官能基が同一であることによって、架橋反応の対象となる求核性官能基との反応性が均一になり、均一な立体構造を有する高強度のゲルを得やすくなる。

[0027] また、当該親水性ポリマーの末端が求電子性官能基である場合には、 N -ヒドロキシースクシンイミジル (NHS) 基が好ましい。しかし、求電子性を有する他の活性エステル基を用いてもよい。このような活性エステル基としては、スルホスクシンイミジル基、マレイミジル基、フタルイミジル基、イミダゾール基、又はニトロフェニル基などがあげられ、当業者であれば公知の活性エステル基を適宜用いることができる。当該官能基は、それぞれ同一であっても、異なってもよいが、同一である方が好ましい。官能基が同一であることによって、架橋反応の対象となる求核性官能基との反応性が均一になり、均一な立体構造を有する高強度のゲルを得やすくなる。

[0028] (2) 温度応答性ポリマー成分

本発明のハイドロゲル組成物において用いられる温度応答性ポリマー成分は、溶液中で相転移温度を有するポリマーであって、上記親水性ポリマー成分と架橋することによってハイドロゲルを形成することができるポリマーである。

[0029] そのような相転移温度を有するポリマーとしては、下限臨界溶液温度 ($LCST$) 又は上限臨界溶液温度 ($UCST$) を有する高分子 (天然物及び合

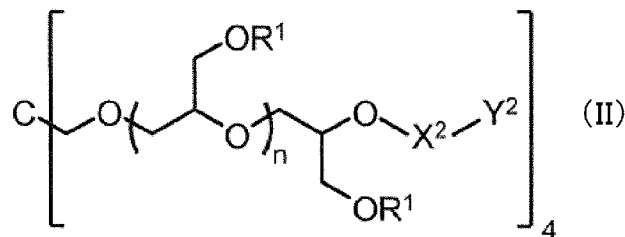
成高分子のいずれをも含み得る)であることが好ましい。ここで、「下限臨界溶液温度を有する高分子」は、ある温度以下では水等の溶媒に可溶化するが、ある温度以上では、可逆的に分子内で収縮して或いは分子間で凝集して当該溶媒に不溶化し、相分離を示す性質を有するものである。これとは逆に、「上限臨界溶液温度を有する高分子」は、ある温度以上では水等の溶媒に可溶化するが、ある温度以下では、可逆的に分子内で収縮して或いは分子間で凝集して当該溶媒に不溶化し、相分離を示す性質を有するものである。

[0030] 温度応答性ポリマー成分における相転移温度は、水中において5～40℃、好ましくは、10～35℃である。特に、相転移温度が下限臨界溶液温度である場合、当該温度は、10～35℃、より好ましくは、25～35℃である。ハイドロゲル組成物の膨張を抑制するという観点からは、当該温度は、ハイドロゲルを使用する温度において、当該ゲル中における温度応答性ポリマー成分が収縮する状態となることが好ましい。

[0031] 上記親水性ポリマー成分が式(1)で表されるような四分岐型のポリマーである場合には、温度応答性ポリマー成分もまた四分岐型のポリマーであることが、均一な網目構造ネットワークのハイドロゲルを構成するために好ましい。

[0032] 本発明のハイドロゲル組成物において用いられる相転移温度を有する温度応答性の四分岐型ポリマーは、一態様において、以下の一般式(II)で表されるポリアルキルグリシジルエーテル骨格の構造を有する化合物である。

[化4]



[0033] 上記式(II)中、各R¹は、それぞれ同一又は異なってもよい、C₁

—C₅アルキル基であり、好ましくはメチル又はエチルである。より好ましくは、式(11)表される温度応答性の四分岐型ポリマーが、R¹がメチルであるモノマー成分と、R¹がエチルであるモノマー成分との組み合わせよりなる共重合体である。かかる共重合体におけるR¹の比率を調節ことによって、温度応答性ポリマー全体の相転移温度を所望のものに変更することが可能となる。ここで、R¹がメチルであるモノマー成分と、R¹がエチルであるモノマー成分のモル比は、好ましくは、1:9~3:7であり、好ましくは2:8である。

[0034] 上記式(11)中、n、X²、及びY²の定義は、上記式(1)におけるm、X¹、及びY¹の定義とそれぞれ同様である。

[0035] (3) 本発明のハイドロゲル組成物

上述のように、本発明では、ハイドロゲルを形成し得る親水性ポリマー成分とともに、温度応答性ポリマー成分を用いてゲルを形成させることで、最終的なハイドロゲル組成物における膨潤度を制御することができる。例えば、親水性ポリマー成分として式(1)のTetra-PEGゲルを用い、その一部を式(11)の温度応答性ポリマー成分で置換することで、従来のTetra-PEGゲルが有する均一な網目構造を維持したまま、ゲルに温度応答性を付与することができる。

[0036] 図1に示すように、ゲル中の温度応答性ポリマー成分が温度に応じて収縮することで、ゲル全体としての体積相転移が生じ、これによって、ゲル全体の膨潤を抑制することができ、当該膨張による形状変化及び力学的強度の低下を回避することが可能となる。ここで重要なのは、網目構造に親水性PEG相が均一に分散して存在すること、すなわち、両親媒性の温度応答性ポリマー成分のセグメントは、常に親水性ポリマー成分のセグメントで囲まれることである。そのため、ゲルの収縮の際には、収縮が進行している相の周囲に、常に水の透過経路が確保されることになり、従来のゲルで生じていたような、ゲルの表面において水を透過できない脱水層であるスキン層の形成を抑制することができる。従って、Tetra-PEGゲルへの温度応答性が

リマー成分の導入量を調節し、或いは適切な相転移温度の温度応答性ポリマー成分を用いることで、収縮状態のゲルの膨潤度の調節が可能となるのである。

[0037] このような温度応答性ポリマー成分の収縮によってゲル全体の膨張が抑制されることによって、好ましくは、水溶液中、30～40℃の範囲における前記ハイドロゲル組成物の体積が、ゲル作成時の体積に対して0.85～1.5の体積変化の範囲の膨潤度となる。より好ましくは、0.9～1.2の膨潤度である。これによって、生体条件・体液浸漬環境下に導入した場合であっても、膨潤による形状変化や強度の低下を回避し、生体温度において作製当初の形状及び強度を維持可能なハイドロゲル組成物を得ることができる。

[0038] 温度応答性ポリマー成分の導入量については、所望の膨潤度に応じて適宜調整することができるが、好ましくは、前記ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマーと、前記温度応答性の四分岐型ポリマーのモル比が、10：90～90：10、より好ましくは30：70～70：30である。かかるモル比の範囲は、上述のように、親水性ポリマーと温度応答性ポリマーにおける末端の官能基を調整することで適宜変更することができる。例えば、（末端が求核性官能基である親水性ポリマー）：（末端が求電子性官能基である親水性ポリマー）：（末端が求電子性官能基である温度応答性ポリマー）を50：10：40とすることによって、親水性ポリマー成分と温度応答性ポリマー成分を60：40とするハイドロゲル組成物を得ることができる。

[0039] 本発明のハイドロゲル組成物は、10～100MPa、好ましくは、生体軟骨を超える10MPa以上、より好ましくは60MPa以上の圧縮破断強度を有することが好ましい。このような圧縮破断強度を有するハイドロゲルを用いることで、高い負荷がかかる骨欠損分や骨変形部において好適に用いることができる。圧縮破断強度は、公知の測定機器を用いて、公知の方法で調べることができる。圧縮破断強度測定機器としては、たとえば、Sun

Scientific社製の圧縮試験機（Rheo Meter:CR-500DX-S11）があげられる。圧縮破断強度とは、ゲル試料に圧縮荷重を加えた時に、ゲル試料が破断する最大応力のことをさす。圧縮破断強度は、円柱状のゲル試料に対して、1軸荷重をかけた時の圧縮力をその軸に垂直な断面積で割った値で表わすことができる。

[0040] 本発明のハイドロゲル組成物は、上述のポリマーを用いて、当該技術分野において公知の方法により作製することができる。

[0041] 上記式（I）の親水性ポリマー成分及び式（II）の温度応答性ポリマー成分からハイドロゲルを得る方法としては、式（I）のポリマー成分と適切な緩衝液（「第1の緩衝液」）を含む溶液（「第1の溶液」）と、式（II）のポリマー成分と適切な緩衝液（「第2の緩衝液」）を含む溶液（「第2の溶液」）とを混合する方法が好ましい。この場合、第1の緩衝液のpHが5～9、及び濃度が20～200mMであり、第2の緩衝液のpHが5～9、及び第2の緩衝液の濃度が20～200mMである。ここで、末端がアミノ基であるポリマーを含む溶液のpHは、末端が求電子性官能基である他の溶液のpHよりも高くする必要がある。これにより、式（I）及び（II）のポリマー成分の間でアミド結合の形成反応が起こり、均一な網目構造を有するハイドロゲルを製造することができる。以下、式（I）の親水性ポリマー成分の末端がアミノ基であり、式（II）の温度応答性ポリマー成分の末端がN-ヒドロキシースクシンイミジル（NHS）である場合を例として、述べる。

[0042] 酸性溶液中では、第1の溶液のアミノ基がカチオンの状態となりやすく、互いに反発しやすくなり、そして、カチオン状態のアミノ基は、もう一方のポリマー成分の官能基（N-ヒドロキシースクシンイミジル（NHS））との反応性が低下する。一方、第1の溶液のpHが高くなる（アルカリ性側に傾く）と、式（I）のポリマー成分のアミノ基が $-NH_3^+$ から $-NH_2$ へと移りやすくなるので、式（II）のポリマー成分との反応性が高くなる。しかし、式（II）のポリマー成分は、溶液のpHが7以上になると、エステル

結合が分解されやすくなり、式(1)のポリマー成分との反応性が低下してくる。そのため、ゲル強度が弱くなってしまふ。従って、第1及び第2の緩衝液のpHを調節する必要がある。

[0043] 混合前の第2の溶液のpHは5~6.5であることが好ましい。また、混合後の溶液においては、不均一な混合を防ぐために、式(1)のポリマー成分の95~99%は式(11)のポリマー成分との結合能を有する非カチオン性のアミノ基の状態で存在することが好ましい。このような工程を経るためには、混合直後の溶液のpHは6~8であることが望ましい。このため、第1の溶液のpHは、第2の溶液のpHよりも高い方が好ましい。溶液のpHは、市販のpHメーターを用いるなど公知の方法で測定することができる。このように、混合後のpHを6~8に保ち、NHSと反応可能な非カチオン性のアミノ基を5%以下に保つことにより、均一で強固なハイドロゲルを製造することが可能になる。

[0044] また、緩衝液濃度が低すぎると、溶液中のpH緩衝能が低下し、高強度のハイドロゲルを製造することができず、逆に、緩衝液濃度が高すぎても、式(1)のポリマー成分と式(11)のポリマー成分の混合を阻害するために、高強度のハイドロゲルを製造することができない。よって、上記のように、緩衝液の濃度を20mM~200mMとすることで、均一構造を有する高強度なハイドロゲルを製造することができる。

[0045] 用いられる緩衝液としては、例えば、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、クエン酸・リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、酒石酸緩衝液、トリス緩衝液、トリス塩酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水、又はクエン酸・リン酸緩衝生理食塩水があげられる。第1の緩衝液と第2の緩衝液は、同じでも異なってもよい。また、第1の緩衝液及び第2の緩衝液は、それぞれ2種以上の緩衝液を混合して用いてもよい。

[0046] 式(1)及び式(11)のポリマー成分の溶液中濃度は、10mg/mL~500mg/mLがあげられる。四分岐型ポリマーの濃度が、低すぎるとゲルの強度が弱くなり、四分岐型ポリマーの濃度が高すぎるとハイドロゲル

の構造が不均一になりゲルの強度が弱くなる。そのため、20～400 mg/mLが好ましく、50 mg/mL～300 mg/mLがより好ましく、100～200 mg/mLがさらに好ましい。

[0047] 式(1)及び式(11)のポリマー成分は各々求核性、求電子性の末端官能基を有するが、求核性官能基と求電子性官能基のモル比が0.5:1～1.5:1となるように混合すればよい。当該ポリマー成分の官能基はそれぞれ1:1で反応して架橋し得るので、混合モル比は1:1に近いほど好ましいが、高い強度のハイドロゲルを得るためには0.8:1～1.2:1が特に好ましい。

[0048] 上記の混合工程としては、親水性ポリマーと温度応答性ポリマーにおける末端の官能基が各々1種類の場合（例えば、末端が求核性官能基である親水性ポリマーと末端が求電子性官能基である温度応答性ポリマーの2成分系である場合）には、第1の溶液に第2の溶液を添加して混合する工程、第2の溶液に第1の溶液を添加して混合する工程、第1の溶液と第2の溶液とを等量ずつ混合する工程があげられる。第1の溶液又は第2の溶液の添加速度、混合速度は特に限定されず、当業者であれば適宜調整することができる。また、親水性ポリマーと温度応答性ポリマーにおける末端の官能基のいずれか又は両方が2種類である場合（例えば、末端が求核性官能基である親水性ポリマー、末端が求電子性官能基である親水性ポリマー、及び末端が求電子性官能基である温度応答性ポリマーの3成分系である場合）における各溶液の添加も同様に、順次添加する工程、又は求核性官能基と求電子性官能基が所望の比率となるように溶液を混合する工程を用いることができる。

[0049] 本発明の混合工程は、たとえば国際公開WO2007/083522号パンフレットに開示されたような二液混合シリンジを用いて行うことができる。混合時の二液の温度は、特に限定されず、ポリマー成分がそれぞれ溶解され、それぞれの液が流動性を有する状態の温度であればよい。温度が低すぎると化合物が溶解されにくく、または溶液の流動性が低くなり、均一に混ざり難くなる。一方、温度が高すぎると第1の四分岐型ポリマーと第2の四分

岐型ポリマーのの反応性を制御し難くなる。そのため、混合するときの溶液の温度としては、 1°C ～ 100°C が挙げられ、 5°C ～ 50°C が好ましく、 10°C ～ 30°C がより好ましい。二液の温度は異なってもよいが、温度が同じである方が、二液が混合されやすいので好ましい。

[0050] 当該混合工程によって得られる混合溶液は、塩濃度が $0\sim 1\times 10^2\text{mM}$ であることが好ましく、 $1\times 10^{-1}\sim 1\times 10^2$ であってもよい。そのため、混合溶液の塩濃度は、 100mM 以下であることが好ましく、 50mM 以下であることがさらに好ましい。

[0051] また、本発明のハイドロゲル組成物は、溶液のpHを調整することで、ゲル化までの時間を調節することができるので、導入部に適合した形状を作りやすい。そのため、膝軟骨手術や椎間板手術など、生体において荷重負荷がかかる骨、軟骨、又は椎間板の整形外科的手術において、骨、軟骨、若しくは椎間板の欠損部補填物質、又は骨、軟骨、若しくは椎間板の変性部補填物質として好適に用いることができる。整形外科手術において、本発明のハイドロゲル組成物は、上記した二液混合シリンジを用いて、患部に直接投与してもよいし、あらかじめ導入する部位の型に合わせてハイドロゲルを形成して形成後のハイドロゲルを患部に導入してもよい。

実施例

[0052] 以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらによって限定されるものではない。

実施例 1

[0053] 温度応答性の四分岐型ポリマー成分の合成

温度応答性の四分岐型ポリマー成分である、ポリエチルグリシジルエーテル (PEGE) の四分岐モジュール (Tetra-PEGE)、及び、エチルグリシジルエーテル (EGE) とメチルグリシジルエーテル (MGE) の共重合体よりなる四分岐モジュール (Tetra-P (EGE-co-MGE)) を以下のとおり合成した。

[0054] 以下の実験では、 ^1H NMRスペクトルは、日本電子のJNM-ECS4

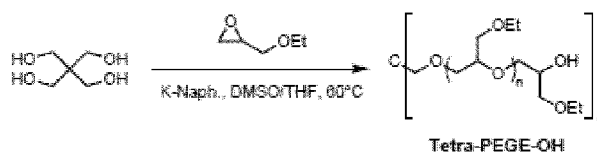
00(400MHz)を用いて解析した。重水素化クロロホルムを溶媒として用い、テトラメチルシランを内部標準とした。分子量はブルカーダルトニクスの質量分析計Ultraflex IIIのリニアポジティブイオンモードを用いて決定した。

[0055] 1) Tetra-PEGEモジュールの合成

1-1 Tetra-PEGE-OHの合成

ペンタエリトリールを重合起点として、EGEを開環重合させることで、末端にヒドロキシ基を有する四分岐ポリエチルグリシジルエーテルであるTetra-PEGE-OHを合成した。

[化5]



ペンタエリトリール (0.208 g, 1.52 mmol) が溶解している 90 mL の DMSO と THF の混合溶媒 (v/v = 3/2) に、0.3 M のカリウムナフタレン (3.56 mL) をゆっくりと添加した。アルコキシドが形成されると共に、カリウムナフタレンの緑色が黄色に変化した。EGE の添加によって重合を開始させ、その後 60°C で攪拌した。質量分析計で高分子の成長を観察しながら、目的の分子量に達するまで EGE の添加を続けた。添加した EGE (44.1 mL, 410 mmol) が完全に消費されたことを確認した後、5 N の塩酸を用いて重合を停止させた。THF をロータリーエバポレータで減圧留去した後、残渣を過剰量のジエチルエーテルに溶解させ、DMSO を取り除くために食塩水で洗浄した。さらに、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過した後に濃縮した。ナフタレンを除去するため、得られた液体を -20°C のヘキサン中に沈殿させ、デカンテーションを行った。この操作を更に二回繰り返した。粗精製物を減圧乾燥することで、黄色の液体 Tetra-PEGE-OH (39.4 g, 94%) を得た。

。

質量分析: $M_n = 22,000$ 。ゲル濾過クロマトグラフィー: $M_w/M_n = 1.02$ 。

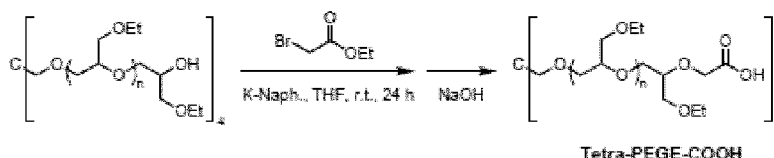
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): $\delta 3.3-3.75$ (m, 1506H, $-\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$ およびEGE), $\delta 1.17$ (t, 642H, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$)

。

[0056] 1-2 Tetra-PEGE-COOHの合成

Tetra-PEGE-OHに対してブromo酢酸エチルを付加した後、エステル部位を脱保護することで末端にカルボキシル基を有するTetra-PEGE-COOHを得た。

[化6]



二口フラスコ中でTetra-PEGE-OH (4.00g, 0.182 mmol) をTHF (120 mL) に溶解させた。得られた溶液に、0.3 Mのカリウムナフタレン (24.32 mL) をゆっくりと滴下し、攪拌した。30分後も溶液が緑色であったことから、ヒドロキシ基の脱プロトン化が完全に進行したことを確認した。溶液を0°Cに冷却し、ブromo酢酸エチル (1.61 mL, 14.6 mmol) をシリンジで添加したところ、溶液の色が黄色に変化した。その後、反応系を室温に戻し、24時間攪拌した。白色の沈殿物が見られる反応液を濾過した後、ロータリーエバポレーターを用いてTHFと過剰のブromo酢酸エチルを除去した。ナフタレンを除去するため、得られた液体を-20°Cのヘキサン中に沈殿させ、デカンテーションを行った。この操作を更に二回繰り返した。粗精製物を1 Nの水酸化ナトリウムと1,4-ジオキサン混合溶液 (v/v = 1/1) の中で生成物を80°Cで24時間攪拌することでエステルの脱保護を行った。5 Nの塩酸を用いて

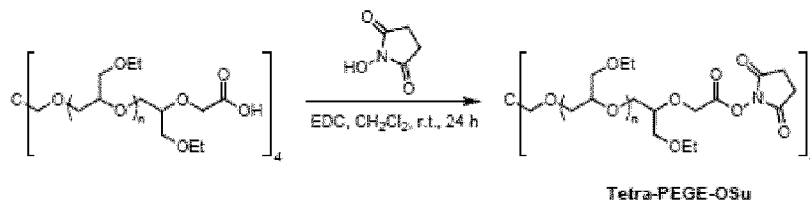
反応液のpHを1にした上で、クロロホルムで抽出し、水と食塩水で洗浄を行った。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過した後、クロロホルムを減圧留去した。ナフタレンを除去するため、得られた液体を -20°C のヘキサン中に沈殿させ、デカンテーションを行った。この操作を更に二回繰り返した。粗精製物を減圧下で乾燥させることで、黄色がかった液体Tetra-PEGE-COOHを得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl₃) : δ 4. 27 (s, 8H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), δ 3. 3-3. 75 (m, 1506H, $-\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-$ およびEGE), δ 1. 17 (t, 642H, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$)。

[0057] 1-3 Tetra-PEGE-OSuの合成

Tetra-PEGE-COOHに、縮合剤EDCを用いてN-ヒドロキシスクシンイミドを付加させることで、末端にスクシンイミジル基を有するTetra-PEGE-OSuを得た。

[化7]



Tetra-PEGE-COOH (1. 00 g, 0. 0455 mmol) とN-ヒドロキシスクシンイミド (0. 419 g, 3. 64 mmol) を二口フラスコに量りとり、その中にジクロロメタン (30 mL) を加えた。その容器へ、ジクロロメタン (20 mL) に溶かしたEDC (0. 565 g, 3. 64 mmol) を 0°C でゆっくりと滴下した。室温で24時間攪拌した後、ロータリーエバポレータで溶媒を留去した。得られた液体を酢酸エチルに溶解させ、濾過した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、食塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させた後、濾過し、減圧乾燥することで、粘性がある液体Tetra-PEGE-OSuを得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl₃) : δ 3. 3-3. 75 (m, 1506H, $-\text{C}-$

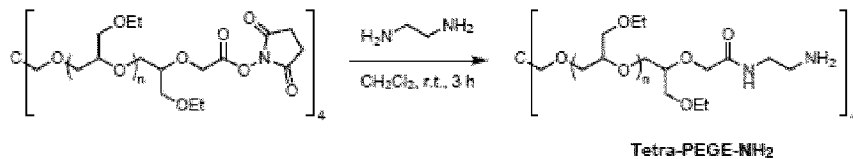
CH₂-O-and EGE), δ 2.84 (m, 16H*, -O-CH₂-COOSu), δ 1.17 (t, 642H, -O-CH₂CH₃).

なお、得られた¹H NMRスペクトルを元に、Tetra-PEGE-OSuの末端スクシンイミジル化率はおおよそ100%であると見積もった。

[0058] 1-4 Tetra-PEGE-NH₂の合成

Tetra-PEGE-OSuにエチレンジアミンを付加させることで、末端にアミノ基を有するTetra-PEGE-NH₂を得た。

[化8]



Tetra-PEGE-OSu (1g) をジクロロメタン (40 mL) に溶解させた。高分子溶液に対してジクロロメタン (10 mL) に溶解させたエチレンジアミン (1.215 mL, 18.2 mmol) をゆっくりと滴下した。混合液を室温で3時間攪拌した後、水と食塩水で洗浄した。最後に硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、ジクロロメタンを減圧下で留去することで、薄い黄色の液体Tetra-PEGE-NH₂を得た。

¹H NMR (CDCl₃) : δ 4.14 (s, 6.5H*, -O-CH₂-CO-NH-), δ 3.3-3.75 (m, 1506H, -C-CH₂-O-, -CO-NH-CH₂-およびEGE), δ 2.82 (t, 7H*, -CH₂-CH₂-NH₂), δ 1.17 (t, 642H, -O-CH₂CH₃).

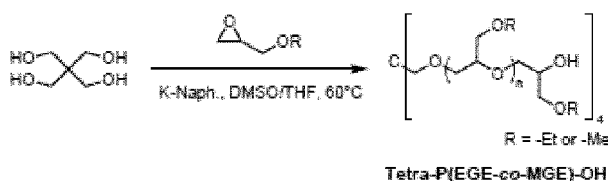
なお、得られた¹H NMRスペクトルを元に、Tetra-PEGE-NH₂の末端アミノ化率は81~88%程度であると見積もった。

[0059] 2) Tetra-P (EGE-co-MGE) モジュールの合成

2-1 Tetra-P (EGE-co-MGE) -OHの合成

ペンタエリトリールを重合起点として、EGEとMGEを開環重合させることで、末端にヒドロキシ基を有するEGEとMGEの四分岐コポリマーであるTetra-P (EGE-co-MGE) -OHを合成した。

[化9]



ペンタエリトリール (0.208 g, 1.53 mmol) が溶解している 90 mL の DMSO と THF の混合溶媒 (v/v = 3/2) に、0.3 M のカリウムナフタレン (4.05 mL) をゆっくりと添加した。アルコキシドが形成されると共に、カリウムナフタレンの緑色が黄色に変化した。EGE と MGE の混合液 (EGE/MGE = 0.8/0.2) を添加することで重合を開始させ、その後 60°C で攪拌した。質量分析計で高分子の成長を観察しながら、目的の分子量に達するまでモノマーの添加を続けた。添加した EGE (41.6 mL, 387 mmol) と MGE (8.61 mL, 96.8 mmol) が完全に消費されたことを確認した後、5 N の塩酸を用いて重合を停止させた。THF をロータリーエバポレータで減圧留去した後、残渣を過剰量のジエチルエーテルに溶解させ、DMSO を取り除くために食塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過した後に濃縮した。ナフタレンを除去するため、得られた液体を -20°C のヘキサン中に沈殿させ、デカンテーションを行った。この操作を更に二回繰り返した。粗生成物を減圧乾燥することで、黄色の液体 Tetra-P(EGE-co-MGE)-OH (41.68 g) を得た。

質量分析: $M_n = 22,500$ 。ゲル濾過クロマトグラフィー: $M_w/M_n = 1.02$ 。

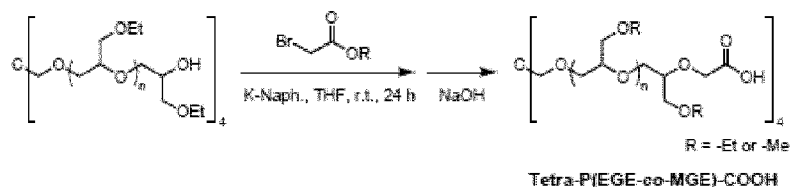
$^1\text{H NMR}$ (CDCl₃): δ 3.3–3.75 (m, 1595 H, -C-CH₂-O-, EGE および MGE), δ 1.17 (t, 546 H, -O-CH₂CH₃)。

[0060] 2-2 Tetra-P(EGE-co-MGE)-COOH の合成

Tetra-P(EGE-co-MGE)-OH に対してブromo酢酸エチ

ルを付加した後、エステル部位を脱保護することで末端にカルボキシル基を有する Tetra-P (EGE-co-MGE)-COOH を得た。

[化10]



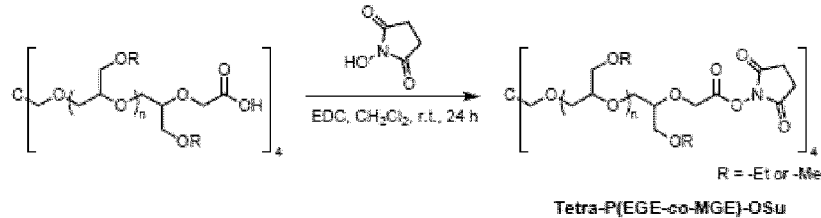
二口フラスコ中で Tetra-P (EGE-co-MGE)-OH (20 g, 0.889 mmol) を THF (600 mL) に溶解させた。得られた溶液に、0.3 M のカリウムナフタレン (123.2 mL) をゆっくりと滴下し、攪拌した。30分後も溶液が緑色であったことから、ヒドロキシ基の脱プロトン化が完全に進行したことを確認した。溶液を 0°C に冷却し、ブromo酢酸エチル (7.635 mL, 73.70 mmol) をシリンジで添加したところ、溶液の色が黄色に変化した。その後、反応系を室温に戻し、24時間攪拌した。ロータリーエバポレーターを用いて THF と過剰のブromo酢酸エチルを除去し、残渣を過剰のジエチルエーテルに溶解させた後、白色の沈殿物を濾過して取り除いた。ナフタレンを除去するため、ジエチルエーテルを減圧留去し、得られた液体を -20°C のヘキサン中に沈殿させ、デカンテーションを行った。この操作を更に二回繰り返した。粗精製物を 1 N の水酸化ナトリウムと 1,4-ジオキサンの混合溶液 (v/v = 1/1) の中で生成物を 80°C で 24時間攪拌することでエステルの脱保護を行った。5 N の塩酸を用いて反応液の pH を 1 にした上で、クロロホルムで抽出し、水と食塩水で洗浄を行った。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過した後、減圧下で乾燥させることで、黄色がかった液体 Tetra-P (EGE-co-MGE)-COOH を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl₃) : δ 4.27 (s, 8H, -O-CH₂-COOH), δ 3.3-3.75 (m, 15.95H, -C-CH₂-O-, EGE および MGE), δ 1.17 (t, 5.46H, -O-CH₂CH₃)。

[0061] 2-3 Tetra-P (EGE-co-MGE) -OSuの合成

Tetra-P (EGE-co-MGE) -COOHに、縮合剤EDCを用いてN-ヒドロキシスクシンイミドを付加させることで、末端にスクシンイミジル基を有するTetra-P (EGE-co-MGE) -OSuを得た。

[化11]



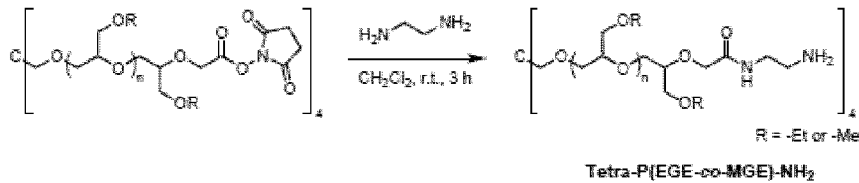
Tetra-P (EGE-co-MGE) -COOH (17 g, 0.756 mmol) とN-ヒドロキシスクシンイミド (6.96 g, 60.48 mmol) を二口フラスコに量りとり、その中にジクロロメタン (510 mL) を加えた。その容器へ、ジクロロメタン (340 mL) に溶かしたEDC (9.39 g, 60.48 mmol) を0℃でゆっくりと滴下した。室温で24時間攪拌した後、ロータリーエバポレータで溶媒を留去した。得られた液体を酢酸エチルに溶解させ、濾過した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で二回、食塩水で一回洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで乾燥させた後、濾過し、減圧乾燥することで、粘性がある液体Tetra-P (EGE-co-MGE) -OSuを得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl₃) : δ 3.3-3.75 (m, 1595H, -C-CH₂-O-, EGEおよびMGE), δ 2.84 (m, 16H, -O-CH₂-COOSu), δ 1.17 (t, 546H, -O-CH₂CH₃)。

[0062] 2-4 Tetra-P (EGE-co-MGE) -NH₂の合成

Tetra-P (EGE-co-MGE) -OSuにエチレンジアミンを付加させることで、末端にアミノ基を有するTetra-P (EGE-co-MGE) -NH₂を得た。

[化12]



Tetra-P(EGE-co-MGE)-OSu (10 g, 0.444 mmol) をジクロロメタン (400 mL) に溶解させた。高分子溶液に対してジクロロメタン (100 mL) に溶解させたエチレンジアミン (58.86 mL, 889 mmol) をゆっくりと滴下した。混合液を室温で3時間攪拌した後、ロータリーエバポレータでジクロロメタンを減圧留去した。残渣をメタノールに溶解させ、濾過した後、メタノールを外液に透析を行った。透析で精製された溶液を減圧乾燥することで、薄い黄色の液体 Tetra-P(EGE-co-MGE)-NH₂ を得た。

¹H NMR (CDCl₃): δ 4.14 (s, 7.5H*, -O-CH₂-CO-NH-), δ 3.3-3.75 (m, 1595H, -C-CH₂-O-, -CO-NH-CH₂-および EGE), δ 2.82 (t, 7H*, -CH₂-CH₂-NH₂), δ 1.17 (t, 546H, -O-CH₂CH₃)。

なお、得られた ¹H NMR スペクトルを元に、Tetra-P(EGE-co-MGE)-NH₂ の末端アミノ化率は 88~94% 程度であると見積もった。

実施例 2

[0063] ハイドロゲル組成物の作成

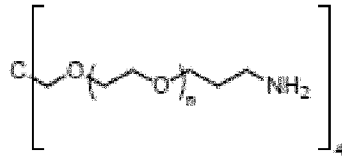
上記で得た温度応答性ポリマー成分及び親水性ポリマー成分を用いて、以下の手順で本発明のハイドロゲル組成物を調製した。

1) Tetra-PEG-PEGEゲルの調製

Tetra-PEG-NH₂ および Tetra-PEG-OSu を、それぞれ別の容器に 10 mM の濃度になるよう、シクロヘキサノン中に溶解させた。ここで、Tetra-PEG-NH₂ は、市販のものをそのまま用いた (S

UNBRIGHT PTE-100PA、 $M_n = 10,000$ 、日油)。

[化13]



得られた二液を同量ずつ取り、別の容器で混合させ、さらにボルテックスミキサーを用いて良く攪拌した。ゲル化が始まる前に、混合液を素早く直径 $640\mu\text{m}$ のキャピラリーに移し取り、乾燥を防ぐために両端を粘土でキャップした上で、室温で24時間静置した。得られたゲルをキャピラリーから丁寧に取り出した後、ゲル化反応の副生成物であるN-ヒドロキシスクシンイミドを取り除くため、シクロヘキサノン中で 10°C 以下の環境で24時間静置した。次に、ゲルをシクロヘキサノンとメタノールの混合液(シクロヘキサノン/メタノール=0.75/0.25)に浸し、さらにメタノールの比率を0.5、0.75、1.0と増加させていくことで、ゲルの溶媒をメタノールへと置換した。同様の手順で、さらにゲルをメタノールと水の混合液(メタノール/水=0.75/0.25)に漬け、水の混合比を0.5、0.75、1.0と増加させていき、最終的に水で膨潤したTetra-PEG-PEGEハイドロゲルを得た。

[0064] 同様の手順を用いて、末端にアミノ基を有するTetra-PEG-NH₂とTetra-PEGE-NH₂および末端にスクシンイミジル基を有するTetra-PEG-OSu、Tetra-PEGE-OSuの4種類のポリマーを異なる比率で混合させることで、温度応答性ポリマー成分の導入比が異なるTetra-PEG-PEGEハイドロゲルを得た。ここで、Tetra-PEG-OSuは、市販のものをそのまま用いた(BRIGHT PTE-100HS、 $M_n = 10,000$ 、日油)。得られた各種Tetra-PEG-PEGEハイドロゲルをその組成とともに、表1に示す。

[表1]

	Tetra-PEG -OSu	Tetra-PEG -NH ₂	Tetra-PEGE -OSu	Tetra-PEGE -NH ₂	PEGE 導入率 %PEGE
サンプル1	10	10	-	-	0
サンプル2	7	10	3	-	0.15
サンプル3	5	10	5	-	0.25
サンプル4	3	10	7	-	0.35
サンプル5	-	10	10	-	0.50
サンプル6	-	7	10	3	0.65
サンプル7	-	5	10	5	0.75
サンプル8	-	3	10	7	0.85
サンプル9	-	-	10	10	1.0

[0065] 2) Tetra-PEG-P (EGE-co-MGE) ゲルの調製

Tetra-PEG-OSu、Tetra-PEG-NH₂、Tetra-P (EGE-co-MGE) NH₂の3種類のポリマー成分を用いて、EGE = MGE 共重合体の温度応答性ポリマー成分を含むハイドロゲルを調製した。ここで、Tetra-PEG-OSu及びTetra-PEG-NH₂は、分子量20,000の市販品を用いた（それぞれ、SUNBRIGHT PTE-200HS、SUNBRIGHT PTE-200PA、いずれも日油）。Tetra-PEG-OSuおよびTetra-PEG-NH₂は温度に寄らず水溶性であり、Tetra-P (EGE-co-MGE) NH₂は10℃以下の環境で水に易溶であるため (>135 g/L)、水中でのハイドロゲル調製が可能である。ここで、上記のように、四分岐型ポリマー間のスクシンイミジル基とアミノ基の反応速度を制御することで、ゲル化時間を制御すると共に最終ゲル化反応率を向上させることが出来るため、ここでも反応場として、クエン酸-リン酸緩衝液(CPB)およびクエン酸-リン酸緩衝液(PB)を用いた。緩衝液は0.2Mのリン酸二水素ナトリウム(19.0mL)と0.2Mのリン酸水素二ナトリウム(81.0mL)を混合することでPBとし、0.1Mのクエン酸(19.7mL)と0.2Mのリン酸水素二ナトリウムを混合することで、CPBとした。pHは、それぞれ5.8及び7.4であった。ここでは調製段階の高分子溶液の相分離を防ぐために、以下の作業は全て10℃以下の環境で行った。

[0066] Tetra-PEG-OSuをCPB、Tetra-PEG-NH₂をPB、及び、Tetra-P(EGE-co-MGE)NH₂をPBに、それぞれ高分子濃度が6mMになるように溶解させた。調製した三液を最終モル比がTetra-PEG-OSu:Tetra-PEG-NH₂:Tetra-P(EGE-co-MGE)NH₂=10:2:8になるように混合し、ボルテックスミキサーを用いてよく攪拌した後、キャピラリーおよび円筒型ゲル枠にそれぞれ流し込み成形を行った。反応液を24時間静置することで、Tetra-PEG-P(EGE-co-MGE)ゲルを得た。得られたゲルを水中に24時間漬けておくことで、ゲル化反応の副生成物であるN-ヒドロキシスクシンイミドを取り除いた。

実施例 3

[0067] 本発明のハイドロゲルにおける膨潤度の測定

実施例2で得たTetra-PEG-P(EGE-co-MGE)ゲルを用いて、膨潤度を測定した。具体的には、直径640 μ mのキャピラリーで作製した円筒状のTetra-PEG-P(EGE-co-MGE)ゲルを、水中で3 $^{\circ}$ Cで2時間膨潤させ、ゲルが平衡膨潤状態にあることを確認した上で、恒温槽の温度を上昇させながら、各温度でゲルが平衡膨潤状態になるまで待機した後にゲルの直径を記録した。ゲルが等方的に変形すると仮定して、各温度での直径を体積に換算し、各温度でのゲルの体積をVとして、各温度における体積変化を得た。結果を図2に示す。

[0068] 図2は、ゲル作製時の体積をV₀とし、各温度での体積をVとしたとき、このゲルの温度に依存する体積変化の比率をプロットしたものである。V/V₀が1の場合には、ゲル作製状態を維持し、すなわちほとんど膨潤していないことを意味している。図の結果から、おおよそ35~40 $^{\circ}$ Cの領域では、水中でもゲル作製時の状態を保持していることが分かる。人間の体温の平均が36.5 $^{\circ}$ Cであるから、この結果は、本発明のTetra-PEG-P(EGE-co-MGE)ゲルでは、生体環境においてゲルの膨潤を抑制できることを実証するものである。また、当該温度は、水中におけるTetra-

P (EGE-co-MGE) ポリマーの相転移温度である10℃に対応するものであり、ここで得られたゲルの膨潤抑制の効果は、ゲル中の網目構造におけるTetra-P (EGE-co-MGE) ポリマーのセグメントが当該相転移温度以上で収縮するという構造変化に起因するものといえる。

実施例 4

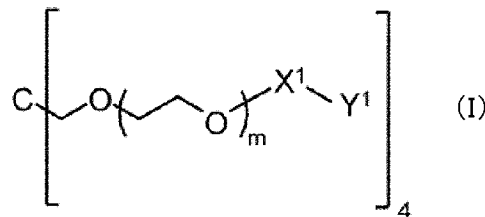
[0069] 本発明のハイドロゲルにおける破断強度の測定

次に、Tetra-PEG-P (EGE-co-MGE) ゲルの破断強度の評価を行った。ゲルの圧縮試験には、3365卓上型万能試験機(インストロン)を用いた。高さ7.5mmで直径9.0mmの円筒型の鋳型で作製したゲルを37℃の水中に2時間浸漬し、そのサイズを測定したところ、ゲル作製時のものから変化が無いことを確認した。その後、水中からゲルを取り出し、10mm/分の速度で圧縮試験を行い、応力-ひずみ曲線を得た。得られた結果を図3に示す。

[0070] 図3の結果より、今回調整されたTetra-PEG-P (EGE-co-MGE) ゲルは、長時間水中で静置された後でも60MPaを超える高い破断強度を有することが明らかになった。当該結果は、温度応答性ポリマー成分であるTetra-P (EGE-co-MGE) ポリマーのセグメントがゲル中に組み込まれたことで、ゲルの膨潤が抑制され、それによってゲル作製時の高分子体積分率を維持することができ、高い破断強度が得られたものと考えられる。人間の軟骨の破断強度は数MPa程度であることを考慮すると、本発明のTetra-PEG-P (EGE-co-MGE) ゲルは、軟骨を置換する用途においても必要十分な高い力学的強度を有しているといえる。

請求の範囲

- [請求項1] ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマー、及び相転移温度を有する温度応答性の四分岐型ポリマーを構成成分として含み、当該ポリマーの末端が共有結合で架橋した網目構造を有する、ハイドロゲル組成物。
- [請求項2] 前記温度応答性の四分岐型ポリマーにおける前記相転移温度が、下限臨界溶液温度（LCST）である、請求項1に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項3] 前記温度応答性の四分岐型ポリマーにおける前記相転移温度が、水中において5～40℃の範囲である、請求項1に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項4] 前記ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマーが、下記式（1）で表されるポリマー
- [化1]



（ここで、式（1）中、

各 m は、それぞれ同一又は異なり、25～250の整数であり、

各 X^1 は、それぞれ同一又は異なり、 C_1 ～ C_7 アルキレン基、 C_2

～ C_7 アルケニレン基、 $-\text{NH}-R^a-$ 、 $-\text{CO}-R^a-$ 、 $-\text{R}^b-\text{O}$

$-\text{R}^c-$ 、 $-\text{R}^b-\text{NH}-\text{R}^c-$ 、 $-\text{R}^b-\text{CO}_2-\text{R}^c-$ 、 $-\text{R}^b-\text{CO}$

$-\text{NH}-\text{R}^c-$ 、 $-\text{R}^b-\text{CO}-\text{R}^c-$ 、又は $-\text{R}^b-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}^c-$

を示し、ここで、 R^a は C_1 ～ C_7 アルキレン基を示し、 R^b は C_1

～ C_3 アルキレン基を示し、 R^c は C_1 ～ C_5 アルキレン基を示し、及び

及び

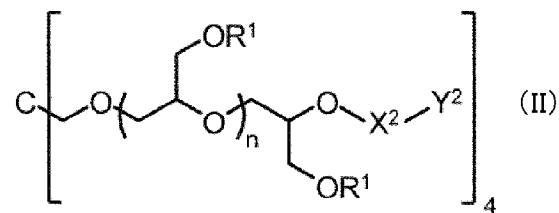
各 Y^1 は、アミノ基、 $-\text{SH}$ 、及び $-\text{CO}_2\text{PhNO}_2$ よりなる群か

ら選択される求核性官能基；又は、N-ヒドロキシースクシンイミジル（NHS）基、スルホスクシンイミジル基、マレイミジル基、フタルイミジル基、イミダゾール基、及びニトロフェニル基よりなる群から選択される求電子性官能基である。）

であり、及び、

前記温度応答性の四分岐型ポリマーが、下記式（I I）で表されるポリマー

[化2]



（ここで、式（I I）中、

各 n は、それぞれ同一又は異なり、25～250の整数であり、

各 R^1 は、それぞれ同一又は異なり、 C_1-C_5 アルキル基であり、

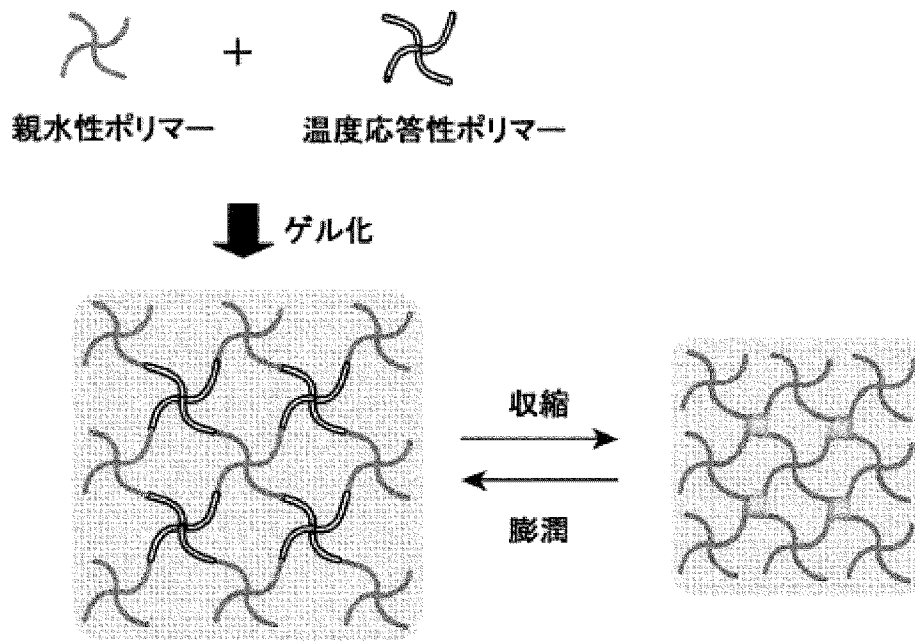
各 X^2 は、それぞれ同一又は異なり、 C_1-C_7 アルキレン基、 C_2-C_7 アルケニレン基、 $-NH-R^a-$ 、 $-CO-R^a-$ 、 $-R^b-O-R^c-$ 、 $-R^b-NH-R^c-$ 、 $-R^b-CO_2-R^c-$ 、 $-R^b-CO_2-NH-R^c-$ 、 $-R^b-CO-R^c-$ 、又は $-R^b-CO-NH-R^c-$ を示し、ここで、 R^a は C_1-C_7 アルキレン基を示し、 R^b は C_1-C_3 アルキレン基を示し、 R^c は C_1-C_5 アルキレン基を示し、及び

各 Y^2 は、アミノ基、 $-SH$ 、及び $-CO_2PhNO_2$ よりなる群から選択される求核性官能基；又は、N-ヒドロキシースクシンイミジル（NHS）基、スルホスクシンイミジル基、マレイミジル基、フタルイミジル基、イミダゾール基、及びニトロフェニル基よりなる群から選択される求電子性官能基である。）

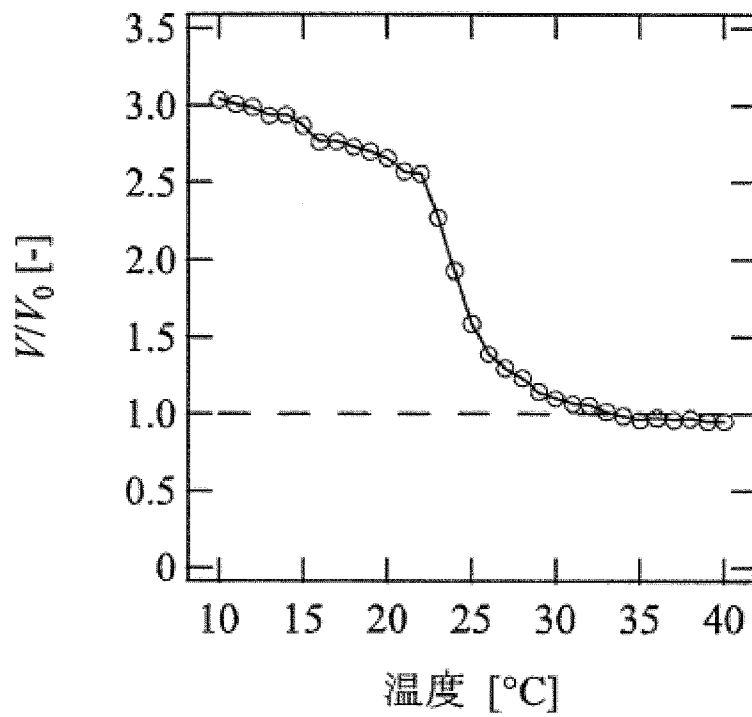
である、請求項1に記載のハイドロゲル組成物。

- [請求項5] 前記式(11)で表される温度応答性の四分岐型ポリマーが、 R^1 がメチルであるモノマー成分と、 R^1 がエチルであるモノマー成分との組み合わせよりなる共重合体である、請求項4に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項6] 前記 R^1 がメチルであるモノマー成分と、前記 R^1 がエチルであるモノマー成分のモル比が、1:9~5:5である、請求項5に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項7] 各 Y^1 が、N-ヒドロキシースクシンイミジル(NHS)基、スルホスクシンイミジル基、マレイミジル基、フタルイミジル基、イミダゾール基、及びニトロフェニル基よりなる群から選択される求電子性官能基であり、及び、
各 Y^2 が、アミノ基、-SH、及び $-CO_2PhNO_2$ よりなる群から選択される求核性官能基である、
請求項4乃至6のいずれか1項に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項8] Y^1 がN-ヒドロキシースクシンイミジル(NHS)基であり、 Y^2 がアミノ基である、請求項7に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項9] 水溶液中、30~40°Cの範囲における前記ハイドロゲル組成物の体積が、ゲル作成時の体積に対して0.8~1.5の体積変化の範囲の膨潤度である、請求項1乃至8のいずれか1項に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項10] 60MPa以上の圧縮破断強度を有する、請求項1乃至9のいずれか一項に記載のハイドロゲル組成物。
- [請求項11] 前記ポリエチレングリコール骨格を有する四分岐型ポリマーと、前記温度応答性の四分岐型ポリマーのモル比が、10:90~90:10である、請求項1乃至10のいずれか一項に記載のハイドロゲル組成物。

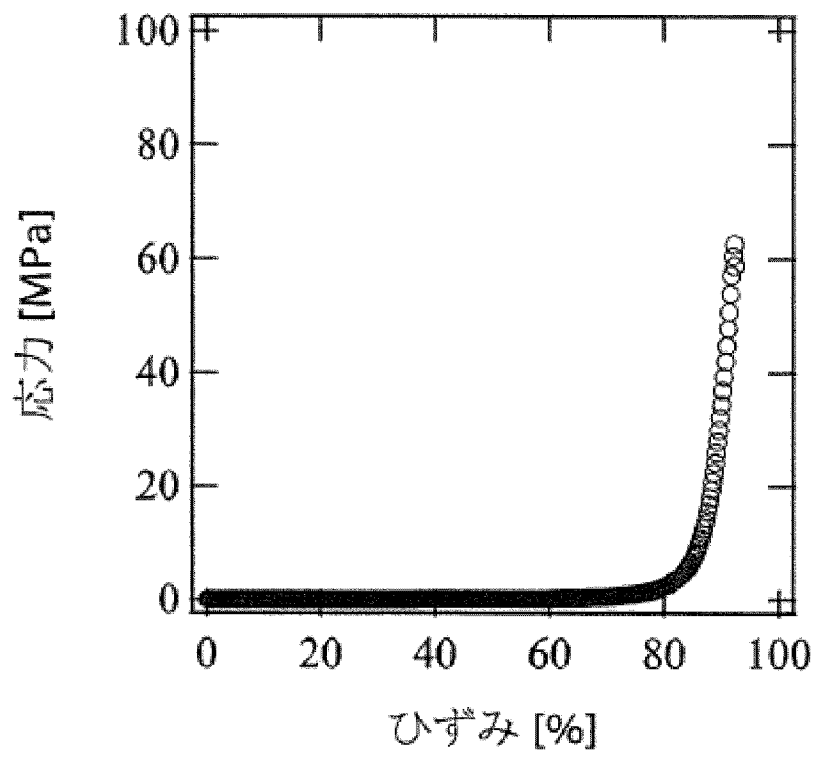
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2014/058249

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C08G65/329(2006.01)i, C08G81/00(2006.01)i, C08L71/02(2006.01)i, A61L27/00(2006.01)n

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)
C08G65/00-67/04, C08G81/00-85/00, C08L1/00-101/14, C08J3/00-3/28, C08J99/00, A61L15/00-33/00

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	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JST7580(JDreamIII), CPlus/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	Kamata H. et al., Anomalous volume phase transition in a polymer gel with alternative hydrophilic-amphiphilic sequence, <i>Soft Matter</i> , 2012, Vol.8, p.2876-2879	1-4, 7-11 5-6
A	Weinhart M. et al., Switchable, biocompatible surfaces based on glycerol copolymers, <i>Chemical Communications</i> , 2011, Vol.47, p.1553-1555	1-11
A	WO 2010/070775 A1 (Kabushiki Kaisha Next21), 24 June 2010 (24.06.2010), claims; examples & US 2012/0122949 A1	1-11

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 27 May, 2014 (27.05.14)	Date of mailing of the international search report 03 June, 2014 (03.06.14)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/058249

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Huynh C.T. et al., pH/temperature-sensitive 4-arm poly(ethylene glycol)-poly(amino urethane) copolymer hydrogels, <i>Polymer</i> , 2010, Vol.51, p.3843-3850	1-11
A	JP 2009-029967 A (Kansai University), 12 February 2009 (12.02.2009), claims; examples (Family: none)	1-11
A	US 5736174 A (Cooper C.F. et al.), 07 April 1998 (07.04.1998), claims; examples(example 8) (Family: none)	1-11
A	Takao AOYAGI et al., "Molecular Design of Novel Polymers and Hydrogels Containing Sensitive Temperature-Response", <i>Network Polymer</i> , 1999, vol.20, no.3, pages 36 to 43	1-11
P,X	Hiroyuki KAMATA et al., "Takai Dansei Henkeino o Yusuru Hi-Bojun Hydrogel", <i>Dai 22 Kai Polymer Zairyo Forum Yokoshu</i> , 13 November 2013 (13.11.2013), page 32	1-11
P,X	Kamata H. et al., "Nonswellable" Hydrogel Without Mechanical Hysteresis, <i>Science</i> , 2014. 02.21, Vol.343, p.873-875	1-11

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C08G65/329(2006.01)i, C08G81/00(2006.01)i, C08L71/02(2006.01)i, A61L27/00(2006.01)n</p>											
<p>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. C08G65/00-67/04, C08G81/00-85/00, C08L1/00-101/14, C08J3/00-3/28, C08J99/00, A61L15/00-33/00</p>											
<p>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</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2014年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2014年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2014年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2014年	日本国実用新案登録公報	1996-2014年	日本国登録実用新案公報	1994-2014年	
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2014年										
日本国実用新案登録公報	1996-2014年										
日本国登録実用新案公報	1994-2014年										
<p>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/JST7580(JDreamIII), CAplus/REGISTRY (STN)</p>											
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>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</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X A</td> <td>Kamata H. et al., Anomalous volume phase transition in a polymer gel with alternative hydrophilic-amphiphilic sequence, Soft Matter, 2012, Vol.8, p.2876-2879</td> <td>1-4, 7-11 5-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>Weinhart M. et al., Switchable, biocompatible surfaces based on glycerol copolymers, Chemical Communications, 2011, Vol.47, p.1553-1555</td> <td>1-11</td> </tr> </tbody> </table>			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	X A	Kamata H. et al., Anomalous volume phase transition in a polymer gel with alternative hydrophilic-amphiphilic sequence, Soft Matter, 2012, Vol.8, p.2876-2879	1-4, 7-11 5-6	A	Weinhart M. et al., Switchable, biocompatible surfaces based on glycerol copolymers, Chemical Communications, 2011, Vol.47, p.1553-1555	1-11
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									
X A	Kamata H. et al., Anomalous volume phase transition in a polymer gel with alternative hydrophilic-amphiphilic sequence, Soft Matter, 2012, Vol.8, p.2876-2879	1-4, 7-11 5-6									
A	Weinhart M. et al., Switchable, biocompatible surfaces based on glycerol copolymers, Chemical Communications, 2011, Vol.47, p.1553-1555	1-11									
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>											
<p>* 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</p>											
<p>国際調査を完了した日 27.05.2014</p>	<p>国際調査報告の発送日 03.06.2014</p>										
<p>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</p>	<p>特許庁審査官（権限のある職員） 松本 淳</p>	<table border="1"> <tr> <td>4 J</td> <td>4 6 7 5</td> </tr> </table>	4 J	4 6 7 5							
4 J	4 6 7 5										
<p>電話番号 03-3581-1101 内線 3457</p>											

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	WO 2010/070775 A1 (株式会社ネクスト 2 1) 2010. 06. 24, 特許請求の範囲、実施例 & US 2012/0122949 A1	1-11
A	Huynh C. T. et al., pH/temperature-sensitive 4-arm poly(ethylene glycol)-poly(amino urethane) copolymer hydrogels, Polymer, 2010, Vol. 51, p. 3843-3850	1-11
A	JP 2009-029967 A (学校法人 関西大学) 2009. 02. 12, 特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)	1-11
A	US 5736174 A (Cooper C. F. et al.) 1998. 04. 07, Claims, Examples(Example 8) (ファミリーなし)	1-11
A	青柳 隆夫 他, 鋭敏な温度応答性を有する新規高分子とハイドロゲルの分子設計, ネットワークポリマー, 1999, Vol. 20, No. 3, p. 36-43	1-11
P, X	鎌田宏幸 他, 高い弾性変形能を有する非膨潤ハイドロゲル, 第 2 2 回ポリマー材料フォーラム予稿集, 2013. 11. 13, p. 32	1-11
P, X	Kamata H. et al., "Nonswellable" Hydrogel Without Mechanical Hysteresis, Science, 2014. 02. 21, Vol. 343, p. 873-875	1-11