

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

台大一號心室補助器長期動物實驗及生物控制器的研發-
聚胺酯與幾丁聚醣之生醫材料合成與左心室補助器之改良製備(II)

計畫編號：NSC 89-2314-B-308-M08

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：謝國煌 教授 執行機構：國立台灣大學化學工程學系

計畫參與人員：陳松青 執行機構：國立台灣大學化學工程學研究所

一、中文摘要

本研究在合成 PU 預聚物時，引進具親水性官能基及具抗凝血效果之含磺酸鹽(-SO₃Na)官能基的短鏈雙胺類 ES-200L，且導入甲基丙烯酸-2-羧酸乙酯(HEMA)，使得 PU 分子鏈的兩端含有雙鍵，如此藉由起始劑的起始可以得到不同磺酸鹽官能基含量的水性聚胺酯(water-borne polyurethane, WPU)薄膜。另外由於幾丁聚醣具有良好的生物相容性及無毒性，故藉由起始劑的起始將其與水性聚胺酯形成交聯共聚物薄膜。

研究發現磺酸鈉鹽基多到一定程度時可以使水性 PU 分散穩定。另外研究亦發現 PEG1000 含量越多可以讓水性 PU 分散液更穩定且透明度更高。本研究利用 propane sultone 改質幾丁聚醣，合成出水溶性的磺酸化幾丁聚醣(water-soluble sulfonated chitosan)。藉由 propane sultone 與幾丁聚醣上的胺基反應來改質幾丁聚醣，改質後的幾丁聚醣因為具有親水性的磺酸基，使得幾丁聚醣在水中的溶解性質有很大的改善。此水溶性幾丁聚醣可以與水性 PU 形成均勻的交聯共聚物薄膜。研究發現此共聚物薄膜具有不錯的機械性質，且其在血液相容性方面有卓越的表現。

關鍵詞：水性聚胺酯，磺酸鹽基，水溶性幾丁聚醣，交聯共聚物

Abstract

In this study, the polyurethane prepolymer was synthesized from 4,4'-diphenylmethan diisocyanate (MDI), 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA), poly(tetramethylene oxide) (PTMO) and ES-200L, for ES-200L is a sort of short-chain diamine with sulfonate group (-SO₃Na), it has anticoagulant activity and hydrophilic

groups. The HEMA provided double bond to make polyurethane form different sulfonate groups content of water-borne polyurethane (WPU) films by initiators. Another, for chitosan has the good biocompatibility and avirulence, so we make it with WPU form cross-linking copolymer films by initiators.

The dispersion of water-borne polyurethane can be stable by enough content of sulfonate groups. In addition, it also found out the more content of PEG1000 can make the dispersion of water-borne polyurethane more stable and transparent. In this study, we synthesize water-soluble sulfonated chitosan by the modified chitosan with propane sultone. By means of propane sultone reaction with the amine groups in chitosan, the modified chitosan with hydrophilic sulfonate groups has great improvement in water solubility. The water-soluble chitosan can form a uniform cross-linking copolymer film with water-borne PU. The research found out this copolymer film possessed great mechanical property, and excellent blood compatibility.

Keywords: WPU, water-borne polyurethane, water-soluble chitosan

二、緣由與目的

文獻上有許多研究在合成生醫材料時引進離子基，此種方法可以增進血液適合性，例如將磺酸基和羧酸基等官能基接在 PU 上，使材料具有生物性材質的特性，例如抗血栓性、抗結核性、低血小板吸附和活化性等。因此本實驗在合成 PU 時引進磺酸鹽官能基來改質 PU，而引進磺酸鹽基之功用為：1. 當親水性官能基，使 PU 分子鏈可以穩定的懸浮於水中。2. 使水性 PU 有低血小板吸附，也就是不易形成血栓，即血液適合性較佳。

實驗的第一部分之目標為：

1. 在合成水性聚胺酯時，引進具親水性官能基及具抗凝血效果之磺酸鹽官能基(-SO₃Na)的短鏈雙胺類(ES-200L)，另外加入 HEMA 使 PU prepolymer 分子鏈的兩端含有雙鍵，如此藉由起始劑的起始可以得到不同磺酸鹽官能基含量的水性 PU 薄膜，評估其當作生醫材料可行性。
2. 藉由 propane sulfone 與幾丁聚糖上的胺基反應來改質幾丁聚糖，改質後的幾丁聚糖因為具有親水性的磺酸鹽基，故可以改善幾丁聚糖對於水溶解度，得到水溶性的幾丁聚糖。
3. 由於幾丁聚糖具有良好的生物相容性及無毒性，故將水溶性幾丁聚糖與水性聚胺酯藉由過硫酸鉀的起始形成交聯共聚物，以期望合成出來的材料，不但具有 WPU 優異的機械性質和血液適合性，同時又能兼具幾丁聚糖良好的生物相容性與生物裂解性，且符合環保上的要求。我們期望得到一種新的生物醫學材料。

實驗的第二部分為水性聚胺酯(WPU)及水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖交聯共聚物(WPU/SCSNa)的各項性質測試，包括物理性質、熱性質與生物適合性。在物理性質方面，聚胺酯是優良的彈性體；幾丁聚糖在乾燥狀態則硬與脆，並不容易加以利用，所以藉由聚胺酯增加幾丁聚糖的彈性和柔軟度。探討引入磺酸鈉鹽基對於各項物理性質的影響。在熱性質方面，由熱重分析儀(TGA)觀察材料的熱穩定性。血液相容性則以血小板貼附測量、纖維蛋白原吸附測量與白蛋白吸附測量來探討。在毒性測試方面，觀察各個材料的毒性。細胞相容性方面，我們培養纖維母細胞，分別觀察細胞在材料上的貼附和增生，藉以評判此種材料的生物適合性。經由材料各項性質的探討，綜合評估其做為一生物醫學材料的可行性。

三、結果討論

(一)材料的合成

在合成水性 PU 時，我們發現當 PEG1000 的含量越多時，其水分散程序越容易進行，且水性 PU 分散液之透明度越高。因為水性 PU 與水溶性幾丁聚糖均以水當溶劑，且兩者所具有之親水基均為磺酸

鈉鹽基(-SO₃Na group)，故發現兩溶液之相容性很好，且合成出來之水性 PU 與水溶性幾丁聚糖之共聚物薄膜亦相當均勻，沒有相分離的情況發生，但是若幾丁聚糖的含量較多時，則薄膜會收縮而無法形成平整之薄膜。表一為水性聚胺酯的組成。

(二)機械性質分析

表二為水性聚胺酯(WPU)的抗張強度與伸長率結果。我們發現當 PEG1000 含量增加時，水性聚胺酯(WPU)的抗張強度也會有增加的趨勢；但是當 PEG1000 增加至 0.5 當量時，則水性 PU 的抗張強度又下降了。會有這樣的情況是 PEG1000 比 PTMO1000 有較多 C-O-C 結構，且 PEG1000 有較強之極性，因此水性 PU 中 PEG1000 的量越多則分子鏈與分子鏈之間凡得瓦引力增強，故使其抗張強度增加及伸長率上升；但是當 PEG1000 的量增加至 0.5eq.時，則有較多的 C-O-C 結構與周圍的硬鏈節形成氫鍵，破壞了原來的微相分離結構，使得水性 PU 的抗張強度與伸長率下降。水性 PU 的抗張強度與伸長率以 PGHE4613 最好。

而表三為水性聚胺酯(WPU)與水溶性幾丁聚糖(CSNa)聯共聚物(WPU/SCSNa)的抗張強度與伸長率。因為水性聚胺酯為彈性體(elastomer)，具有較高的伸長率。而水溶性幾丁聚糖為硬脆物質，因此具有較高的抗張強度與較低之伸長率，但是加工不易，因此希望藉由與水性聚胺酯的共聚合可以改善其機械性質。由表三結果顯示加入越多的水溶性幾丁聚糖，交聯共聚物的抗張強度越強，而伸長率越低。

(三)接觸角的測試分析

在測試水性 PU 薄膜表面的親疏水大小時，研究發現不同 PEG1000 含量的水性 PU 薄膜之接觸角如表四所示。當 PEG1000 的含量越多時，水性 PU 薄膜的接觸角越小，即其表面越親水。各個水性 PU 薄膜的組成中具有 ES-200L 與 PEG1000 兩個親水性鏈節，其中 ES-200L 的含量均相同，組成中只有親水性的軟鏈節-PEG1000 的量改變。而若水性 PU 薄膜中 PEG1000 的含量越多，則有較小的接觸角，即材料表面親水性較佳。但是另一方面，本研究由 ESCA 測試結果發現 PGHE2813 薄膜表面

的硫(S)量為 0.32%，而 PGHE5513 薄膜之表面硫(S)含量卻高達 1.06%，這顯示雖然 PGHE2813 與 PGHE5513 兩個薄膜的磺酸鈉鹽基含量相同，但是此兩薄膜表面的磺酸鈉鹽基含量卻相差很多，因此使得 GHE2813 薄膜之接觸角比 PGHE5513 薄膜大很多。因此影響水性 PU 薄膜表面接觸角大小的因素為水性 PU 薄膜表面的磺酸鈉鹽基含量與 PEG1000 含量的多寡。水性 PU 薄膜中以 PGHE5513 薄膜表面有最小的接觸角，即其表面有最好的親水性。不論是經過 5 秒鐘或 10 秒鐘後由攝影機側面取像所測得水性 PU 薄膜表面的接觸角均有相同的趨勢。

表五顯示水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物(WPU/SCSNa)的接觸角測試結果。水性 PU-PGHE5513 與含磺酸鈉鹽基幾丁聚糖(SCSNa)表面均具有較多的親水性的磺酸鈉鹽基(-SO₃Na group)，但是由接觸角的測試結果發現水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物表面卻具有較少之親水基，這可能是因為兩者進行交聯共聚和反應後，使得磺酸鈉鹽基無法出現於共聚物的表面(本研究由 ESCA 測試得到 WPU/SCSNa=9/1 薄膜表面的硫(S)含量為 0.147%，而 WPU/SCSNa=9.5/0.5 薄膜表面的硫(S)含量為 0.29% 可以證明此推論。)因此共聚物之接觸角較水性 PU-PGHE5513 與含磺酸鈉鹽基幾丁聚糖之接觸角都來得大，故共聚物表面之親水性反而較差。

(四)化學分析電子能譜儀(ESCA)分析

本研究以 ESCA 來測量磺酸化聚胺酯薄膜表面硫(S)元素的含量，而薄膜表面硫(S)元素的含量的多寡即代表磺酸鈉鹽基出現在表面的多寡。表六為 ESCA 的測試結果。

(五)纖維蛋白原在材料上的吸附結果分析

文獻中 Okkema⁽⁸⁾等人就曾發現帶有磺酸基的聚胺酯可以減少血小板的沈積且活化時間可以更長。而由表七結果發現水性聚胺酯的纖維蛋白原吸附也很少，這是因為水性聚胺酯具有相當多的磺酸鈉鹽基，所以其表面的纖維蛋白原吸附量較少，因此有較佳的血液相容性。表八的結果得到水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物(WPU/SCSNa)的纖維蛋白原吸附量最少，

有最好的血液相容性，這是因為水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物均具有磺酸鹽基，故其共聚物有最多的磺酸鈉鹽基，因此其纖維蛋白原吸附量最少，具最佳的血液相容性。由以上的實驗結果我們得到合成出來的生醫材料上含有較多的磺酸鈉鹽基則材料的纖維蛋白原吸附較少，有較佳的血液適合性。水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物有最多的磺酸鈉鹽基，因此其纖維蛋白原吸附最少，是血液適合性優良的生醫材料。

(六)毒性測試分析

PGHE3713 及 PGHE5513 兩個水性聚胺酯薄膜放入培養箱 24 小時後，整個薄膜也會有碎裂情況發生，而這些碎裂的小分子會阻礙細胞的生長或釋放出毒性使得貼附在 PS 上的細胞死掉，因此它們在 PS 表面的細胞貼附數目較少，由表九各種不同組成之水性聚胺酯材料的毒性測試結果可以得到應證。水性聚胺酯材料中，PGHE4613 有較低之毒性。

表十為不同組成之水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物材料(WPU/SCSNa)的毒性測試結果。其中因為 WPU/SCSNa=9.5/0.5 及 WPU/SCSNa=9/1 薄膜經過 24 小時培養後亦會有破裂情況發生，故使得它們貼附在 PS 表面的細胞數目較少。而磺酸化幾丁聚糖(SCS)薄膜置入 DMEM 培養液中 24 小時後，整個薄膜就溶解在 DMEM 溶液中，因為此溶液為酸性，故使得原來貼附在 PS 上的細胞會脫水死掉。水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物材料(WPU/SCSNa)的毒性以 WPU/SCSNa=8/2 薄膜最低。

四、參考文獻

1. J.W. Boretos, W.S. Pierce, Science, 158, 1481-1482 (1967).
2. M. King, Z. Zhang, Biomaterials, 15, 621 (1994).
3. R. Guidoin, M.F. Sigot-Luirard, Biomaterials, 13, 281 (1992).
4. B. Huang, Y. Marios, Biomaterials, 13, 209 (1992).
5. A.Z. Okkema, S.A. Visser, and S.L. Cooper Lee, J. Biomed. Mater. Res., 25, 1371 (1991).
6. T.G. Grasel, S.L. Cooper, J. Biomed. Mater. Res., 23, 311-338 (1989).
7. R.W. Hergenrother, S.L. Cooper, J. Mat. Sci.: Mat. In Med., 3 313 (1992).
8. A.Z. Okkema, X-H. Yu and S.L. Cooper Lee,

Biomaterials, 12, 3-12 (1991).

9. A.Z. Okkema, S.A. Visser and S.L. Cooper Lee, J. Biomed. Mater. Res., 25, 1371-1395 (1991).
10. J.H. Silver, J.W. Marchant, and S.L. Cooper, J. Biomed. Mater. Res., 27, 1443-1457 (1993).
11. D.K. Han, S.Y. Jeong and Y.H. Kim, J. Biomed. Mater. Res., 25, 561-575 (1991).
12. D.K. Han, H.D. Park, G.H. Ryu, U.Y. Kim, B.G. Min and Y.H. Kim, J. Biomed. Mater. Res., 30, 23-30 (1996).
13. L.L. Yung, F. Lim, and S.L. Cooper, Trans. Soc. Biomater., 18, 78 (1995).
14. K.D. Park, Y.S. Kim, D.K. Han, Y.H. Kim, E.H.B. Lee, H. Suh and K.S. Choi, Biomaterials, 19, 851-859 (1998).
15. Y.S. Yoon and S.C. Kim, polymer (Korea), 23(6), 916-925 (1999).
16. Y.S. Yoon and S.C. Kim, polymer (Korea), 23(6), 926-935 (1999).

表一、水性聚胺酯的組成

WPU	MDI	PTMO1000	PEG1000	HEMA	ES-200L
PGHE2813	3	0.8	0.2	0.5	1.5
PGHE3713	3	0.7	0.3	0.5	1.5
PGHE4613	3	0.6	0.4	0.5	1.5
PGHE5513	3	0.5	0.5	0.5	1.5

註：PUBD 之當量比為 MDI/PTMO1000/PEG1000/1,4BD=3/0.8/0.2/2

表二、不同組成之水性聚胺酯 (WPU) 的抗張強度與伸長率

水性聚胺酯	PEG1000 含量 (eq.)	抗張強度 (MPa)	Elongation (%)
PGHE2813	0.2	3.46±0.23	72.39±8.60
PGHE3713	0.3	7.22±0.30	79.13±14.67
PGHE4613	0.4	9.31±0.74	174.13±19.50
PGHE5513	0.5	7.27±0.37	58.33±4.74

表三、水性聚胺酯 (WPU) 與水溶性幾丁聚糖 (SCSNa) 交聯共聚物 (WPU/SCSNa) 的抗張強度與伸長率

水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物 (WPU/SCSNa)	水溶性幾丁聚糖的含量 (wt%)	抗張強度 (MPa)	Elongation (%)
WPU/SCSNa=8/2	20	11.31±0.45	11.40±1.33
WPU/SCSNa=9/1	10	12.88±0.02	17.49±0.51
WPU/SCSNa=9.5/0.5	5	7.42±0.08	33.86±5.95
WPU-PGHE5513	0	7.27±0.37	58.33±4.74

表四、不同組成之水性 PU 薄膜在不同接觸時間下之接觸角

水性聚胺酯	Water Contact Angle (°) ^a	Water Contact Angle (°) ^b
PGHE2813	84.23±3.03	71.36±2.37
PGHE3713	83.57±0.62	67.80±2.49
PGHE4613	78.03±2.24	67.77±7.89
PGHE5513	36.70±5.88	37.77±2.29

a: 為當液滴滴於材料表面，過 5 秒鐘後經由攝影機側面取像所測得之接觸角。

b: 為當液滴滴於材料表面，過 10 秒鐘後經由攝影機側面取像所測得之接觸角。

表五、水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物的接觸角測試結果

水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物 (WPU/SCSNa)	Water Contact Angle (°) ^a	Water Contact Angle (°) ^b
SCSNa	42.03±3.28	39.1
WPU/SCSNa=8/2	95.57±1.55	86.87±2.22
WPU/SCSNa=9/1	57.60±1.34	58.95±0.45
WPU/SCSNa=9.5/0.5	97.63±1.98	91.50±2.41
WPU-PGHE5513	36.70±5.88	37.77±2.29

a: 為當液滴滴於材料表面，過 5 秒鐘後經由攝影機側面取像所測得之接觸角。

b: 為當液滴滴於材料表面，過 10 秒鐘後經由攝影機側面取像所測得之接觸角。

表六、ESCA 測試結果

磷酸化聚胺酯 (SPU)	表面之 S 含量 (atomic%)
PGHE2813	0.32
PGHE5513	1.06
WPU/SCSNa=9.5/0.5	0.29
WPU/SCSNa=9/1	0.15

表七、纖維蛋白原在水性聚胺酯材料上的吸附結果

水性聚胺酯	Fibrinogen (mg)
PGHE2813	0.2415
PGHE3713	0.2014
PGHE4613	0.2282
PGHE5513	0.1954
PUBD (不含磷酸鈉鹽基)	0.7498

表八、纖維蛋白原在 WPU 與水溶性幾丁聚糖共聚物材料表面的吸附結果

水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物	Fibrinogen (mg)
WPU/SCSNa=8/2	0.1567
WPU/SCSNa=9/1	0.1984
WPU/SCSNa=9.5/0.5	0.1567
WPU-PGHE5513	0.1954
PUBD (不含磷酸鈉鹽基)	0.7498

表九、纖維母細胞測試各種不同組成 WPU 材料的毒性之結果

水性聚胺酯 (WPU)	24 小時後 well 之細胞數目 ($\times 10^4$)
PGHE 2813	8.40±1.96
PGHE 3713	0.48±0.10
PGHE 4613	14.4±0.85
PGHE 5513	1.35±0.09
Polystyrene	29.4±0.35
Polystyrene	26.7±0.17
Polystyrene	21.2±1.47

註：1. 所用的 cell line 細胞初始密度為 5×10^4 cells/ml。

2. PGHE2813、PGHE3713、PGHE4613、PGHE5513 為不同組成之水性聚胺酯薄膜，其詳細之組成請參閱表一所示。

3. Polystyrene 為 control。

表十、利用纖維母細胞測試各種不同組成水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物材料的毒性之結果

水性聚胺酯與水溶性幾丁聚糖共聚物薄膜 (WPU/SCSNa)	24 小時後 well 之細胞數目 ($\times 10^4$)
SCS	5.35±0.26
WPU/SCSNa=9.5/0.5	3.84±0.37
WPU/SCSNa=9/1	1.55±0.09
WPU/SCS=8/2	7.93±1.33
Polystyrene	29.4±0.35
Polystyrene	26.7±0.17
Polystyrene	21.2±1.47

註：1. 所用的 cell line 細胞初始密度為 5×10^4 cells/ml。

2. SCS 為純的磷酸化幾丁聚糖，WPU/SCSNa=9.5/0.5 表示共聚物中水性 PU(WPU)與水溶性幾丁聚糖(SCSNa)之重量比為 9.5/0.5，而 WPU/SCSNa=9/1 及 WPU/SCS=8/2 以此類推。

3. Polystyrene 為 control。