

# ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)の合成と生体適合性

中島 智\*<sup>1</sup>・奥 正敬\*<sup>1</sup>・長瀬 裕\*<sup>2</sup>・岩崎 泰彦\*<sup>3</sup>・石原 一彦\*<sup>4</sup>

## Preparation and biocompatibility of poly(urethane-urea) containing phosphorylcholine moiety

by

Satoru NAKAJIMA\*<sup>1</sup>, Masataka OKU\*<sup>1</sup>, Yu NAGASE\*<sup>2</sup>,  
Yasuhiko IWASAKI\*<sup>3</sup>, Kazuhiko ISHIHARA\*<sup>4</sup>

(Received on 30 September 2004, accepted on 22 December 2004)

### Abstract

In order to improve the biocompatibility of segmented polyurethane which has been widely used as a biomedical material, the synthesis of poly(urethane-urea) containing phosphorylcholine (PC) moiety was carried out using an aromatic diamine compound with a PC unit as a monomer. The obtained poly(urethane-urea) was soluble in aprotic polar solvents such as *N*-methylpyrrolidinone (NMP), *N,N*-dimethylformamide (DMF) and dimethylsulfoxide (DMSO), but insoluble in water, alcohols and acetone. Water-contact-angle analysis showed that these polymers with high PC content rearranged themselves to minimize their interfacial tension after coming into contact with an aqueous environment, where the concentration of PC units increased on the surface of polymer films. In addition, it was confirmed from the results of blood contacting experiments that the polymer exhibited the excellent biocompatibility, even though the PC content was approximately 10 mol%, as compared with polyurethane without PC units.

*Keywords: Biocompatibility, Segmented polyurethane, Phospholipid polymer, Phosphorylcholine, Poly(urethane-urea).*

## 1. 緒言

医療材料は、人工骨・関節に用いられるような硬い材料から、人工心臓・血管などに用いられる柔らかい材料まで多岐にわたる。また、材質にしても人工関節で用いられている金属やセラミックス、輸血バッグ、採血用器具で用いられるポリエステルやポリ塩化ビニルのような高分子材料ならびにそれらの複合材料とあらゆる種類のものが使用されている。中でも医用材料として用いられている素材の多くは合成高分子材料である。<sup>1)</sup> 上記に記したものだけではなくシリコーンゴム、ポリアミド、ポリテトラフルオロエチレンなどがあげられる。これは、高分子材料が加工性に優れていることと、分子設計の自由度が大きいことによるためである。一方、医療用として使用される材料は、

必ず生体組織または血液などの体液と直接接触することとなる。生体外で、しかも短期間に限って使用される医用器具では特に大きな問題はないが、人工の材料が長期にわたる治療や埋め込み型として使用する際には材料自体の変質はもちろん、生体にとって異物であると認識されることで血液凝固を引き起こすなど材料が生体にどのような影響を与えるかは重要な問題である。そのため、医療用材料としてまず考えなければならないのが材料の生体適合性である。

ポリウレタンは比較的生体適合性の材料と言われており、分子設計の自由度が大きく可塑剤や添加物を用いなくても様々な物性のものが容易に得られることから、医療用材料として注目されている。ポリウレタンは、基本的には多官能イソシアナートと多官能アルコールの重付加反応によって得られるポリマーであるが、一般的には、ウレタン結合を含む広い範囲のポリマーの総称になっている。このうち、医療用材料として用いられるポリウレタンは、ほとんどが非発泡エラストマーであり、ポリオールとよばれる末端水酸基を有する二官能のオリゴマーと、ジイソシアナートを反応させたプレポリマーを、低分子量のジオールまたはジアミンで鎖延長したものである。このようなタ

\* 1 工学研究科工業化学専攻博士前期課程  
\* 2 工学部応用化学科教授  
\* 3 東京医科歯科大学生体材料工学研究所助教授  
\* 4 東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻教授

イブのポリウレタンは、主としてポリオールからなるソフトセグメントと、ジイソシアナートおよび鎖延長剤からなるハードセグメントを有し、セグメント化ポリウレタンと言われており、バルク状態では各セグメントがマイクロに相分離した特徴的な構造をとる。<sup>2)</sup>

医療用材料に求められる性質は使用される目的により大きく異なるため一概には言えないが、ポリウレタンの生体適合性と機械的特性に優れた点は医療用材料として魅力的な特徴である。しかしながら、ポリウレタンの生体適合性は、長期にわたり体内に移植するという場合には十分なものではない。それは、タンパク質から放出される酸素ラジカルによってポリエーテル鎖からなるソフトセグメントが分解されることにより生体適合性が低下してしまうからである。<sup>3,4)</sup> それゆえに、長期間の使用または体内に移植を可能とするためには生体適合性の改善が必要となる。

一方で、生体適合性をもつ表面として理想的で、模範となるものは血管内皮(生体膜)表面である。正常な内皮細胞上では、血液細胞の粘着はもとよりタンパク質の吸着、活性化は生起しない。この細胞膜の構造を表面に構築できれば、新しい生体適合性材料が得られる。現在では、その生体膜成分のリン脂質極性基(ホスホリルコリン基)を有する2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC ポリマー)<sup>5-10)</sup>が合成され、生体適合性材料として高く評価されている。

そこで、本研究では、優れた生体適合性を有するリン脂質成分のホスホリルコリン基を先に述べたポリウレタンに導入したポリマーが合成できれば、ポリウレタンの力学的長長を維持しつつ生体適合性のさらなる改善につながるのではないかと考えた。ポリウレタンの主鎖構造としては、比較的分子量の高いポリエーテルグリコールをソフトセグメントとして、4,4'-ジフェニルメタンジイソシアナートとの重付加反応から得られる機械的強度の高いポリウレタン構造を選び、ホスホリルコリン基を有する新規ジアミン化合物を合成して鎖延長剤として用いることで側鎖にホスホリルコリン基を有する高分子量のポリ(ウレタン-ウレア)を合成することを試みた。さらに、得られたポリマーの生体適合性を評価すると共に、ホスホリルコリン基の導入がポリウレタンの溶解性、耐熱性、機械的強度および生体適合性などにどのような影響を与えるのかについて検討した。

## 2. 実験

### 2.1 ホスホリルコリン基含有ジアミンモノマーの合成

#### 2.1.1 3,5-ジニトロ安息香酸2-ヒドロキシエチル(A)の合成

アルゴン雰囲気下、滴下ロート内に3,5-ジニトロ安息香酸クロリド(10.0g, 43.4mmol)を入れTHF(150ml)に溶解し、一方三ツ口フラスコ内でトリエチルアミン(TEA)(60.0ml)およびエチレングリコール(24.0ml, 434mmol)をTHF(340ml)に溶解し、氷水浴中にて滴下ロート内の溶液をゆっくり滴下後一晩反応させた。反応後、反応溶液を過剰の蒸留水に注ぎ込みクロロホルムで抽出した。有機相を回収後、硫酸ナトリウムで脱水し、ろ過後減圧下溶媒を溜去した。次に、その溶液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒: 酢酸エチル/ヘキサン=1:1)にて精製後、ジニトロ化合物(A)を黄色固体として得た。

収量: 8.06g、収率: 72.1%

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3328 (O-H), 3045, 2880(C-H), 1724 (C=O), 1627 (N-O), 1541(C=C), 1458, 1078, 845, 779, 530.

<sup>1</sup>H-NMR,  $\delta$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 1.86 (1H, t,  $J=5.74\text{Hz}$ ), 4.06 (2H, m), 4.62 (2H, m), 9.20 (1H, d,  $J=2.40\text{Hz}$ ), 9.25 (1H, t,  $J=2.59\text{Hz}$ ).

#### 2.1.2 2-[2-(3,5-ジニトロフェニルカルボニルオキシ)エチル]2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン(B)の合成

アルゴン雰囲気下、三ツ口フラスコ内にてジニトロ化合物(A)(32.3g, 126mmol)およびTEA(35.0ml)をTHF(600ml)に溶解し、氷水浴中で攪拌しながら2-クロロ-2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン(23.6ml, 252mmol)をシリンジを使ってゆっくりと滴下し、滴下後室温で2時間反応させた。次に、得られた沈殿物をろ別後、過剰のクロロホルムに溶解させ少量の蒸留水で水洗し、クロロホルム相を減圧下溜去したところ、ホスホリルコリン基含有ジニトロ化合物(B)を黄色固体として得た。

収量: 23.0g、収率: 51.0%

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3107, 2974 (C-H), 1720 (C=O), 1587 (N-O), 1550 (C=C), 1360, 1290 (P=O), 1164, 1060, 931, 721, 611.

<sup>1</sup>H-NMR,  $\delta$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm): 4.49-4.53 (6H, m), 4.69 (2H, m), 9.23 (1H, t,  $J=2.01\text{Hz}$ ), 9.26 (2H, d,  $J=1.95\text{Hz}$ ).

#### 2.1.3 2-(3,5-ジニトロフェニルカルボニルオキシ)エチルホスホリルコリン(C)の合成

アルゴン雰囲気下、ホスホリルコリン基含有ジニトロ化合物(B)(22.8g, 63.0mmol)をナスフラスコ中で乾燥アセトニトリル(340ml)に溶解し、この溶液を-60°Cの冷媒浴中に浸した。次に、乾燥トリメチルアミン(9.75ml, 63.0mmol)を加え、容器を密封して60°Cで一晩反応させた。反応終了後、溶液を常温に戻してから得られた沈殿物をろ別後真空乾燥させ、ホスホリルコリン基含有芳香族ジニトロ化合物(C)を黄色固体として得た。

収量: 13.6g、収率: 51.3%

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3400, 2893 (C-H), 1718 (C=O), 1602 (N-O), 1535(C=C), 1353,1230 (P=O), 1076 (N-CH<sub>3</sub>), 856, 773, 731.

<sup>1</sup>H-NMR,  $\delta$  (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , ppm): 3.18 (1H, s), 3.75 (2H, d,  $J=4.88\text{MHz}$ ), 4.15 (4H, s), 4.55 (2H, t,  $J=4.64\text{Hz}$ ), 9.01 (2H, d,  $J=0.73\text{Hz}$ ), 9.09 (1H, t,  $J=2.08\text{Hz}$ )

#### 2.1.4 2-(3,5-ジアミノフェニルカルボニルオキシ)エチルホスホリルコリン(D)の合成

ホスホリルコリン基含有ジニトロ化合物(C)(1.40g, 3.32mmol)をナスフラスコ中でエタノール(63.0ml)に溶解させ、この溶液に5%パラジウムカーボン粉末(0.14g)を加え、アセトン・ドライアイス浴で-80°Cに冷却した系内で雰囲気を水素ガスに置換し、室温で一晩反応させた。反応終了後、反応溶液に適量のテトラヒドロフランを加えセライトを通してろ過し、減圧下溶媒を溜去後、熱真空乾燥させホスホリルコリン基含有ジアミン化合物(D)を黄色固体として得た。

収量: 1.00g、収率: 83.3%

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3197 (N-H), 1718 (N-H), 1533 (C=C), 1473, 1228 (P=O), 1085 (N-CH<sub>3</sub>), 968, 738 (-NH<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H-NMR,  $\delta$  (400Hz,  $\text{DMSO}-d_6$ , ppm): 3.15 (9H, s), 3.53 (2H,

t,  $J=4.04$ ), 4.00 (2H, m), 4.10 (2H, m), 4.43 (2H, t,  $J=4.64\text{Hz}$ ), 7.79 (2H, d,  $J=16.8\text{Hz}$ ), 8.03 (1H, s), 8.98 (2H, s), 9.13 (2H, s).

## 2.2 ポリウレタン (PU) の合成

アルゴン雰囲気下、4,4'-ジフェニルメタンジイソシアナート、ジラウリン酸ジブチルスズ (IV) (DBTDL) (0.20ml) およびポリエチレングリコール (PEG) またはポリテトラメチレンオキシド (PTMO) を乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その溶液を 50℃にて 18 時間反応させた。反応終了後、反応溶液を過剰のジエチルエーテル/メタノール (体積比: 7:3) 混合溶媒に注ぎ込みポリマーを沈殿させ、ろ過後、減圧下で乾燥し、白色のポリウレタンを得た。

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3315 (N-H), 2850 (C-H), 1710 (C=O), 1596 (C-H), 1590 (Arom. C-H), 1537 (C=C), 1305 (C-O), 1018, 767 (C-N)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  (400Hz, DMSO- $d_6$ , ppm): 3.78 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 4.31 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 7.07 (d, -Ph-), 7.34 (d, -Ph-), 9.62 (bs, -NH-)

## 2.3 ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア) (PUU) の合成

アルゴン雰囲気下、4,4'-ジフェニルメタンジイソシアナート、ジラウリン酸ジブチルスズ (IV) (DBTDL) (0.20ml) およびポリエチレングリコール (PEG) またはポリテトラメチレンオキシド (PTMO) を乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その溶液を 50℃にて 2.5 時間反応させた。その後、ホスホリルコリン基含有ジアミンモノマー (D) を乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その溶液をシリンジからゆっくりと滴下し、50℃にて 18 時間反応させた。反応終了後、反応溶液を過剰のジエチルエーテル/メタノール (体積比: 7:3) 混合溶媒に注ぎ込みポリマーを沈殿させ、ろ過後、減圧下で乾燥し、白色のホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)を得た。

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3315 (N-H), 1708 (C=O), 1596 (C-H), 1590 (Arom. C-H), 1537 (C=C), 1508, 1305 (C-O), 1240 (P=O), 969 (N- $\text{CH}_3$ ), 771 (C-N), 740

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  (400Hz, DMSO- $d_6$ , ppm): 3.20 (s, N- $\text{CH}_3$ ), 3.79 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 4.05 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 4.45 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 7.07 (d, -Ph-), 7.34 (d, -Ph-), 9.62 (bs, -NH-)

## 2.4 セグメント化ポリウレタン (SPU) の合成

アルゴン雰囲気下、4,4'-ジフェニルメタンジイソシアナート、ジラウリン酸ジブチルスズ (IV) (DBTDL) (0.20ml)、ジオール (エチレングリコールまたは 1,4-ブタンジオール) を三口フラスコ内で乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その溶液を 50℃にて 2.5 時間反応させた。反応終了後、その溶液にポリエチレングリコール (PEG) またはポリテトラメチレンオキシド (PTMO) を乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その溶液をゆっくりと滴下し、滴下終了後、その溶液を 50℃にて 18 時間反応させた。反応終了後、反応溶液を過剰のジエチルエーテル/メタノール (体積比: 7:3) 混合溶媒に注ぎ込みポリマーを沈殿させ、ろ過後、減圧下で乾燥し、白色のセグメント化ポリウレタンを得た。

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3315 (N-H), 2850 (C-H), 1710 (C=O), 1596 (C-H), 1590 (Arom. C-H), 1541 (C=C), 1309 (C-O), 1066, 767 (C-N)

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  (400Hz, DMSO- $d_6$ , ppm): 3.60 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 3.79 (s,  $-\text{CH}_2-$ ), 7.06 (d, -Ph-), 7.35 (d, -Ph-), 9.60 (bs, -NH-)

## 2.5 ホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア) (SPUU) の合成

アルゴン雰囲気下、三口フラスコ内に 4,4'-ジフェニルメタンジイソシアナート、ジラウリン酸ジブチルスズ (IV) (0.20ml)、ジオール (エチレングリコールまたは 1,4-ブタンジオール) を三口フラスコ内で乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その溶液を 50℃にて 2.5 時間反応させた。反応終了後、その溶液にポリエチレングリコール (PEG) またはポリテトラメチレンオキシド (PTMO) を乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その後、ゆっくりと滴下し、滴下終了後、その溶液を一時間反応させた。次に、反応溶液内にホスホリルコリン基含有ジアミンモノマー (D) を乾燥 *N*-メチルピロリジノンに溶解させ、その溶液をシリンジを使ってゆっくりと滴下し、滴下終了後 50℃にて 18 時間反応させた。反応終了後、反応溶液を過剰のジエチルエーテル/メタノール (体積比: 7:3) 混合溶媒に注ぎ込みポリマーを沈殿させ、ろ過後、減圧下で乾燥しホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)を得た。

IR,  $\nu$  (KBr, neat,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3315 (N-H), 2850 (C-H), 1710 (C=O), 1596 (C-H), 1590 (Arom. C-H), 1541 (C=C), 1306 (C-O), 1240 (P=O), 969 (N- $\text{CH}_3$ ), 767 (C-N), 505

$^1\text{H-NMR}$ ,  $\delta$  (400Hz, DMSO- $d_6$ , ppm): 3.30 (s, N- $\text{CH}_3$ ), 3.60 (m,  $-\text{CH}_2-$ ), 3.79 (s,  $-\text{CH}_2-$ ), 4.30 (s,  $-\text{CH}_2-$ ), 7.06 (d, -Ph-), 7.35 (d, -Ph-), 9.60 (bs, -NH-)

## 2.6 キャラクターゼーション

$^1\text{H-NMR}$  スペクトルは、日本電子 (株) 製 NM-TH5SK 400MHz FT-NMR を用いて測定した。赤外吸収 (IR) スペクトルは、島津製作所製フーリエ変換赤外分光光度計 FTIR-8400 を用いて測定した。ポリマーの分子量は、東ソー (株) 製ゲルパーミエーションクロマトグラフィー (GPC) システム (ポンプ: CCPD、カラム: TSK gels Multipore HXL-M x 3 本、カラムオープン: CO-8010、示差屈折率計: RI-8010) を用い、*N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) を溶媒として標準物質として標準ポリスチレンを用い測定した。ポリマーの熱物性は、セイコー電子工業 (株) DSC-6200 示差走査熱量測定 (DSC) を用いて行った。

## 2.7 水の接触角測定

得られたポリマー (50.0mg) を、*N,N*-ジメチルホルムアミド (7.00ml) に溶解させて濃度 1.5wt%の溶液を作成し、この溶液にポリエチレンテレフタレート (PET) 基板 (直径: 14mm、厚さ: 0.2mm) を 30 分間浸した。その後、60℃の熱をかけ 1 時間乾燥した。以上の手順を 2 回繰り返しコーティングを行った。ポリマーをコーティングした PET 基板を蒸留水 (0.2ml) に浸した後に PET 基板を乾燥させ水の表面接触角を測定した。

## 2.8 血液接触試験およびタンパク吸着試験

水接触角測定と同様の方法でコーティングした PET 基板をリン酸緩衝溶液 (PBS) 2ml に一晩浸した後、PBS を取り除き、ヒトの血液から採取したヒト血小板多量漿 (PRP) および全血 0.7ml を 37℃で 1~3 時間接触させた。接触後、PBS で 4 回洗

浄し、1mlのグルタルアルデヒド水溶液にて2時間固定化し、さらに蒸留水で5回洗浄を行った後、凍結乾燥をした。その後、PET基板表面を金蒸着し、その表面を走査型電子顕微鏡(SEM、JEOL製 TSM-5200)で観察した。

また、タンパク吸着試験においては同様の方法でコーティングしたPET基板にヒトの血液から採取したヒト血漿タンパク質(PPP) 0.7mlを37°Cで1~2時間接触させた。接触後、PBSで5回洗浄したPET基板をドデシル硫酸ナトリウム 1.0mlに浸し超音波洗浄を行いPET基板に吸着した血漿タンパク質をPET基板から分離させ、分離した血漿タンパク質量を測定した。

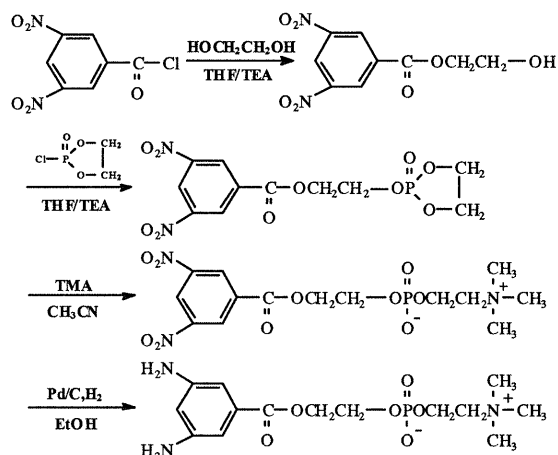
### 3. 結果および考察

#### 3.1 ホスホリルコリン基含有ジアミンモノマーの合成

Scheme 1 にホスホリルコリン基含有ジアミンモノマーの合成経路を示す。まず、3, 5-ジニトロベンゾイルクロリドとエチレングリコールとのエステル化反応によりヒドロキシ基含有芳香族ジニトロ化合物(A)を得た。次に、ヒドロキシ基含有芳香族ジニトロ化合物(A)と2-クロロ2-オキソ1, 3, 2-ジオキサホスホランとのエステル化反応により芳香族ジニトロ化合物(B)を得た。ここで得られた目的物の収率は50%前後であった。その要因として、水や熱に不安定な環状の化合物である2-クロロ2-オキソ1, 3, 2-ジオキサホスホランの取り扱いが困難なことで、生成物も同様に不安定であることが考えられる。さらに、芳香族ジニトロ化合物(B)とトリメチルアミンとの開環反応によりホスホリルコリン基含有芳香族ジニトロ化合物(C)を得、最後に(C)を5%パラジウムカーボンを触媒とした水素化置換により目的物とするホスホリルコリン基含有芳香族ジアミンモノマーを合成することができた。

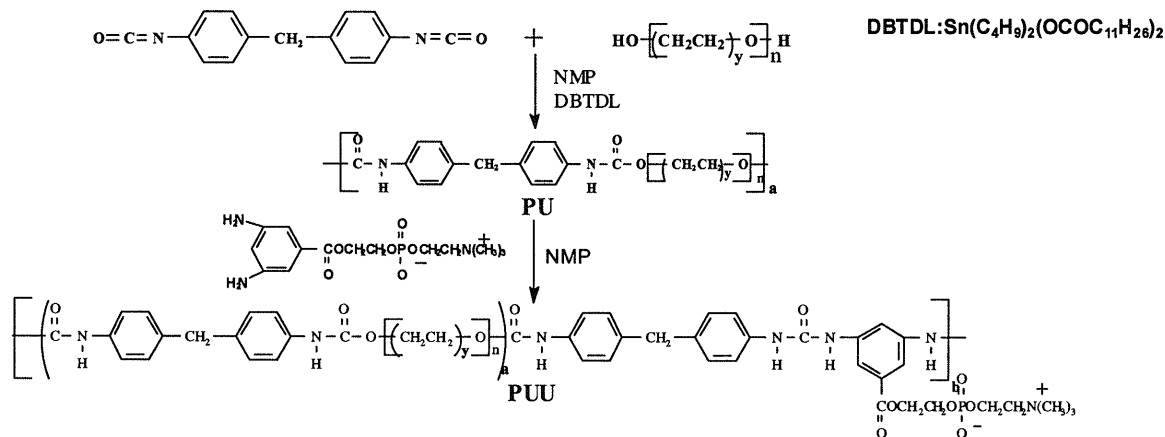
#### 3.2 ホスホリルコリン基含有ポリマーの合成と溶解性

ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)の合成経路をScheme 2に示す。Scheme 2に示すように、4,4'-ジフェニルメタンジイソシアナートとポリオールとの重付加反応によりプレポリマーを合成し、反応系内にScheme 1で得たホスホリルコリン基含有ジアミンモノマーを鎖延長剤として加えホスホリル

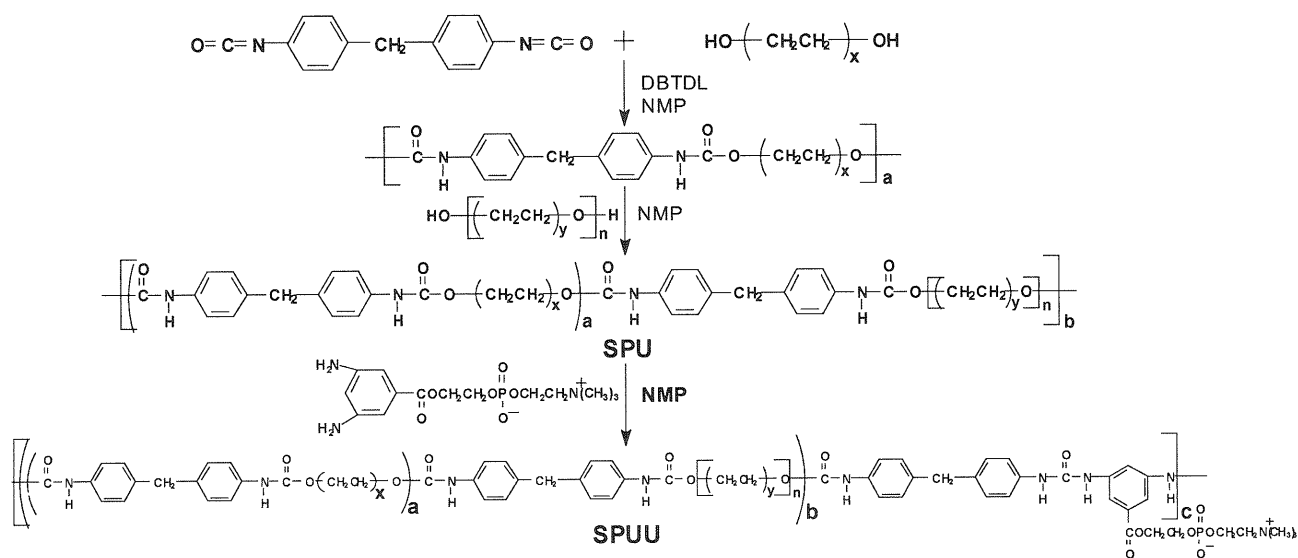


Scheme 1 Preparation of diamine monomer with PC.

コリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)を合成した。この重合の際にポリオールとしてポリエチレングリコール、ポリテトラメチレンオキドを用いることで二種類のホスホリルコリン基含有ポリウレタン-ウレアを得た。また、比較としてホスホリルコリン基を含有していないポリウレタンをそれぞれ合成した。得られたポリマーの合成結果をTable 1に示す。Table 1から判るように、得られたポリウレタンはいずれも高分子量体であり、重合の際にジラウリン酸ジブチルスズ(IV)を触媒として用いることにより、アミン系触媒よりも劇的に分子量の向上が見られた。これは、金属触媒はイソシアナートとアルコールの双方に相互作用するのに対してアミン系触媒はイソシアナートだけに作用して反応を高めるためと考えられる。<sup>11)</sup>ホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア)の合成経路はScheme 3に示した。4, 4'-ジフェニルメタンジイソシアナートに鎖延長剤としてエチレングリコールまたは1, 4-ブタンジオールを用いて重合を行った。エチレングリコールを用いた場合はポリオールにエチレングリコールを使用し、鎖延長剤に1, 4-ブタンジオールを用いた場合にはポリオールにポリテトラメチレンオキドを使用した。その後、それぞれの反応系内にホスホリルコリン基含有ジアミンモノマーを加えホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア)を合成した。



Scheme 2 Preparation of PUU.



また、比較としてホスホリルコリン基を含有していないセグメント化ポリウレタンをそれぞれ合成した。得られたポリマーの重合結果を Table 1 に示す。Table 1 から判るように、得られたポリマーの数平均分子量 (Mn) は、鎖延長剤に 1, 4-ブタンジオールを用いてポリテトラメチレンオキシドでセグメント化させたセグメント化ポリウレタン②が最も高い値となり約 90,000 を示した。得られたポリマーの溶解性は、Table 2 に示すように、医療現場で使用される水やエタノールだけではなく多くの有機溶媒に不溶であり、非プロトン系極性溶媒にのみ可溶であった。特定の溶媒に可溶なためコーティングや成型加工を行う際に有効であると考えられる。一方で、多くの溶媒に不溶なため耐久性に優れたデバイスとなりうると考えられる。ポリウレタン②に限って、ホスホリルコリン基を導入することで溶解性に変化が見られた。得られたポリマーは、溶媒キャスト法により容易に膜を作製することができた。溶媒キャスト時に DMF を溶媒として用いると、膜の強度が弱く割れやひびが生じた。そのため、溶媒は NMP に変え製膜を行ったところ、それぞれのポリマーからしなやかで丈夫な膜を作製することができた。したがって、得られたポリマーは、有機溶媒に対して耐溶剤性に優れ、溶媒キャスト法による製膜が可能のため機械的強度に優れた加工性に富む材料となり得る。

### 3.3 水の表面接触角測定結果

ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)膜表面の水接触角測定結果を Fig. 1 に示す。Fig. 1 から判るように、全てのポリマー膜は表面に水を接触させることで水の接触角が低下した。中でもホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)は、水を 1 時間接触させることで急激な接触角の低下が見られた。これは、膜表面に水を作用させることで高い親水性を示すホスホリルコリン基が表面に濃縮されることによりこのような水ぬれ性の向上が見られたと考えられる。一方、ホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア)の水接触角測定結果も先ほどと同様に、ポリマー膜表面を水で処理することで水の接触角が低下し、ホスホリルコリン基を含有したものは水処理 1 時間において急激な接触角の低下が見られた。中でも

ホスホリルコリン基を 7.34mol % 含有した SPUU①に比べホスホリルコリン基を 15.0mol % 含有した SPUU①' は有意に水ぬれ性の向上が見られた。このように、ホスホリルコリン基の含有量が増加するにつれて水ぬれ性が高くなる傾向が見られた。しかし、ホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア)② (SPUU②) においてはホスホリルコリン基の含有量を増加させても水接触角において大きな変化が見られなかった。今後ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)の表面物性を詳細に検討する必要があると考えている。

### 3.4 血液接触試験結果

血液接触試験は、得られたポリマーをポリエチレンテレフタレート (PET) 基板にコーティングさせ、その PET 基板にヒトの血液から採取したヒト血小板多血漿 (PRP) および全血を接触させて行った。接触後、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察を行った。

Fig. 2 には、ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)およびポリウレタンを 1 時間 PRP と接触させた後の膜表面の SEM 写真を示す。Fig. 2 から判るように、ポリウレタン① (PU①)、ポリウレタン② (PU②) には多くの血液成分である血小板の粘着が観察されたが、ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)① (PUU①)、ホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)② (PUU②) には、血小板の粘着が観察されなかった。また、ホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア)に 2 時間 PRP を接触させた SEM 写真を Fig. 3 に示す。Fig. 3 より、セグメント化ポリウレタン② (SPU②) には多くの血小板の粘着が観察されたのに対して SPU②にホスホリルコリン基を導入したホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア)② (SPUU②) には血小板の粘着がほとんど見られないことが判る。さらに、SPUU②よりも約 2 倍のホスホリルコリン基を含有したホスホリルコリン基含有セグメント化ポリ(ウレタン-ウレア)②' (SPUU②') (Table 1 参照) は SPUU②に比べより血小板の吸着が減少した。

以上の結果から、ポリウレタンおよびセグメント化ポリウレタンにホスホリルコリン基を導入することにより血液成分であ

Table 1 Composition and characteristics of polyurethane with different compositions.

Sample code	X	Y	MDI / EG or BD / PEG or PTMO / Diamine monomer with PC <sup>(A)</sup>	Yield(%)	X (mol%) <sup>(B)</sup>	Mn × 10 <sup>4(C)</sup>	Mw / Mn <sup>(C)</sup>	Tg <sup>(D)</sup>
PU①	1	1	1 / 1 / 0 / 0	99.6	0	1.53	2.15	-
PU②	2	2	1 / 1 / 0 / 0	97.2	0	1.66	2.11	-38
PUU①	1	1	1.1 / 1 / 0 / 0.1	85.5	4.05	2.24	2.32	-
PUU②	1	1	1.1 / 1 / 0 / 0.1	83.4	3.72	2.89	2.43	-40
SPU①	2	2	3 / 2 / 1 / 0	98.1	0	8.92	2.20	-
SPU②	2	2	3 / 2 / 1 / 0	97.5	0	6.67	2.10	-37
SPUU①	1	1	1.2 / 1 / 0.1 / 0.1	95.5	7.34	7.31	2.12	-
SPUU①'	1	1	3 / 1 / 1 / 1	96.9	15.0	5.55	2.57	-
SPUU②	2	2	1.2 / 1 / 0.1 / 0.1	97.7	6.79	4.43	2.70	-42
SPUU②'	2	2	3 / 1 / 1 / 1	93.5	14.2	3.97	2.45	-45

- (A) Mole ratio for segment CSPUPC, in which MDI stands for diphenylmethane diisocyanate, EG stands for ethylene glycol, PEG stands for polyethylene glycol(1000,n=22.5), PTMO stands for poly(tetramethylene oxide)(1000,n=13.5) and Diamine monomer with PC stands for 2-(3,5-diaminophenylcarbonyloxy)ethylphosphorylchlorine.  
 (B) Average degree of polymerization of polyurethane segment in copolymer, determined by <sup>1</sup>H-NMR.  
 (C) Determined by GPC based on polystyrene standards.  
 (D) The glass transition temperature (Tg) was observed by DSC.

Table 2 Solubility of polyurethane in various organic solvents. (○ : soluble, × : insoluble)

Polymer	H <sub>2</sub> O	EtOH	Acetone	CHCl <sub>3</sub>	THF	DMF	NMP
PU①	×	×	×	×	×	○	○
PU②	×	×	×	○	○	○	○
PUU①	×	×	×	×	×	○	○
PUU②	×	×	×	×	×	○	○
SPU①	×	×	×	×	×	○	○
SPU②	×	×	×	×	×	○	○
SPUU①	×	×	×	×	×	○	○
SPUU②	×	×	×	×	×	○	○

る PRP の吸着が効果的に抑制された。すなわち、ホスホリルコリン基を含有することによりポリウレタンの生体適合性が向上したと考えられる。また、セグメント化ポリウレタン① (SPU①) においてはホスホリルコリン基を含有していても血小板の粘着が観察されなかった。今後、血小板の吸着が観察されなかった SPU①に各種血液成分を接触させて血液凝固反応に与えるホスホリルコリン基の効果を詳細に検討する。

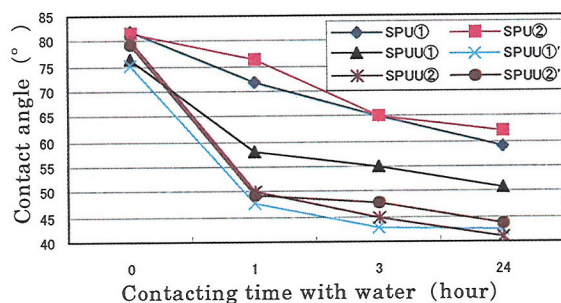
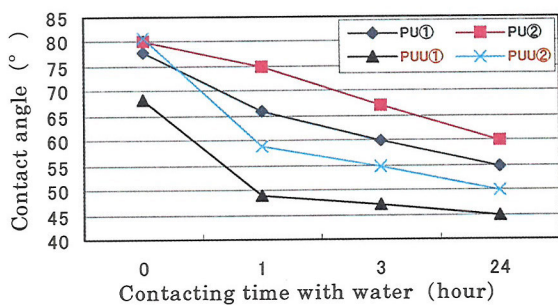


Fig. 1 The change of contact of water on the surface of polymer films after treatment with water.

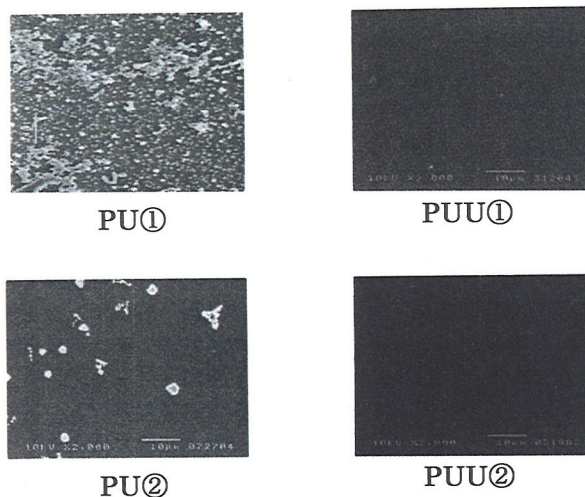


Fig. 2 SEM pictures of polymer surfaces after contact with human PRP for 60 min.

### 3.5 タンパク質吸着試験

タンパク質吸着試験は、血液接触試験方法と同様に各種ポリマーをPET基板にコーティングし、そのPET基板にヒトの血液から採取した血漿タンパク質 (PPP) を一時間接触させ、これに含まれる血漿タンパク質の吸着量を定量した。PU、PUUのタンパク吸着試験結果を Fig. 4 に示す。Fig. 4 から判るように、ホスホリルコリン基を含有していない PU①および PU②と比較するとホスホリルコリン基を含有した PUU①、PUU②は劇的にタンパク質吸着量の減少が見られた。また、PUU①と PUU②を比較すると PUU①の方がタンパク質吸着量が少なかった。これは、水接触試験結果 (Fig. 1) より、PUU①が4種類のポ

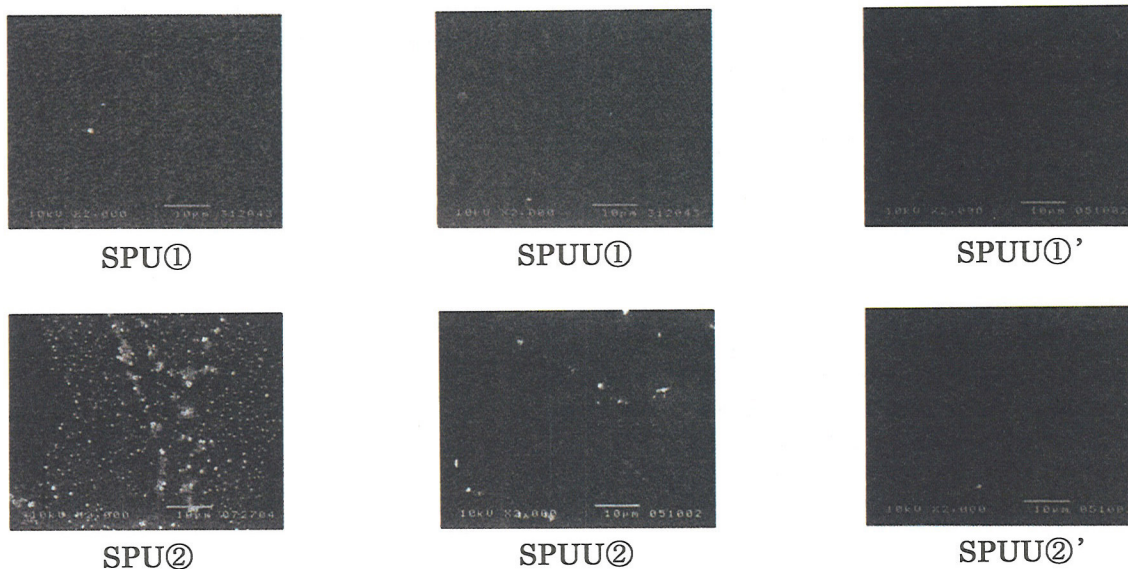


Fig. 3 SEM pictures of polymer surfaces after contact with human PRP for 120 min

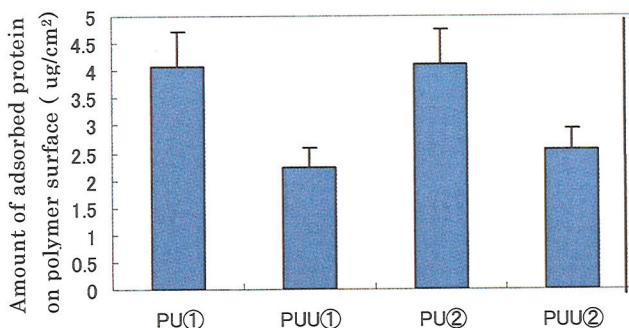


Fig. 4 Amount of adsorbed protein on polymer surfaces from human PPP

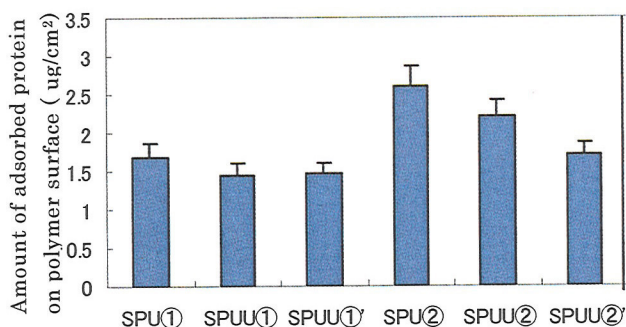


Fig. 5 Amount of adsorbed protein on polymer surfaces from human PPP

リマーの中で最も水ぬれ性が高いことから表面に親水性であるホスホリルコリン基が多く存在していると考えられ、その結果、血漿タンパク質の吸着を効果的に抑制したと考えられる。Fig. 5 には、各種 SPU および SPUU のタンパク吸着試験結果を示

す。SPU②のタンパク質吸着量に対してホスホリルコリン基を含有した SPUU②には PPP 吸着量の減少が見られたが、より多くホスホリルコリン基を含有した SPUU②' のタンパク質吸着量は更なる減少が見られた。SPU①においては、血液接触試験同様にホスホリルコリン基を含有していないにも関わらずタンパク質の吸着量が少なかった。SPU①にホスホリルコリン基を含有した SPUU①および SPUU①' は、SPU①に比べわずかながらのタンパク質吸着量の減少が見られた。また、ホスホリルコリン基を含有していない PU と SPU を比較するとタンパク質吸着量は SPU の方がはるかに少なかった。これは、SPU がハードセグメントとソフトセグメントを有しているため、これらがマイクロドメイン構造を形成し生体適合性を発現すると考えられている<sup>7)</sup> ことから SPU の方がタンパク質吸着量が少なかったものと考えられる。以上の結果から、ホスホリルコリン基を導入することによりタンパク質の吸着を効果的に抑制されたと考えられる。今後、実験で用いたタンパク質だけではなく様々なタンパク質を接触させホスホリルコリン基の影響を詳細に検討する予定である。

#### 4. 結論

生体適合性の発現に有効なホスホリルコリン基を含有した芳香族ジアミンモノマーを新たに合成し、それを用いてホスホリルコリン基含有ポリ(ウレタン-ウレア)を合成した。得られた各種ポリマーの溶解性は、医療現場で用いられる水やエタノールだけではなく多くの有機溶媒に不溶であり、非プロトン系極性溶媒にのみ可溶であった。特定の溶媒にのみ可溶なためコーティングや製膜などの成型加工を行う際に有効であり、一方で、多くの溶媒に不溶なため耐溶剤性に優れた材料となりうると考えられる。PU②に限っては CHCl<sub>3</sub> や THF に溶解したがホスホリルコリン基を導入することによりそれらの溶媒には溶解せず、非プロトン系極性溶媒にのみ可溶となった。それ以外の

ポリマーはホスホリルコリン基を導入しても溶解性に変化が見られなかった。耐熱性に関しては、得られたポリマーは、200℃までの温度に耐えられるものであった。よって、バイオマテリアルとして重要な室温、体温、滅菌の際の加熱においても安定であることが判った。また、生体適合性の評価においては、生体適合性に乏しいPU①、PU②そしてSPU②には多くの血液成分の吸着が見られたがホスホリルコリン基を導入することによりそれらの現象が有意に抑制された。よって、ホスホリルコリン基を導入することにより効果的にポリウレタンの生体適合性が改善されたと結論できる。

しかしながら、本稿で述べたようにポリウレタンにホスホリルコリン基を導入することで生体適合性の改善は捉えられたものの、本来のポリウレタンの優れた機械的強度がホスホリルコリン基を導入することでどのような影響を与えるかまでは明らかにすることはできておらず、さらなる物性解析が必要である。今後、引張り測定等を行いポリウレタンの機械的性質に与えるホスホリルコリン基の影響を明らかにしていく予定である。

**謝辞：**本研究の一部は、文部科学省平成15-18年度科学研究費補助金（基盤研究C、No.15550110）の助成を受けて行ったものである。

#### 参考文献

- 1) 松尾仁、国井宜明、田部清士、機能性ポリウレタン、シーエムシー（1989）
- 2) 高柳弘、高倉輝夫、岡部憲昭、ポリウレタン応用技術、シーエムシー（1999）
- 3) 石原一彦、畑中研一、山岡哲二、大矢裕一、バイオマテリアルサイエンス、東京化学同人（2003）
- 4) K. Ishihara, and Y. Iwasaki, Biocompatible elastomers composed of segmented polyurethane and 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer, Polym. Adv. Technol., **11**, 626-634 (2000)
- 5) 中林宣男、石原一彦、岩崎泰彦、バイオマテリアル、コロナ社（1999）
- 6) T. Uchiyama, J. Watanabe, and K. Ishihara, Pressure-induced change in permeation of insulin through a polymer alloy membrane for an implantable insulin pump, Journal of Membrane Science, **210**, 423-431 (2002)
- 7) K. Ishihara, S. Tanaka, N. Furukawa, K. Kurita, and N. Nakabayashi, Improved blood compatibility of segmented polyurethanes by polymeric additives having phospholipid polar groups. I. Molecular design of polymeric additives and their functions, J. Biomed Mater Res., **32**, 391-399 (1996)
- 8) T. Moro, Y. Takatori, K. Ishihara, T. Konno, Y. Takigawa, t. Matsushita, U. Chang, K. Nakayama, and H. Kawaguchi, Surface grafting of artificial joints with a Biocompatible polymer for preventing periprosthetic osteolysis, Nature materials, **3**, 829-836(2004)
- 9) L-Y. L. Yung, and S. L. Cooper, Neutrophil adhesion on phosphorylcholine-containing polyurethanes, Biomaterials, **19**, 31-40 (1998)
- 10) N. Morimoto, A. Watanabe, Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, and

K. Ishihara, Nano-scale Surface modification of a segmented polyurethane with a phospholipid polymer, Biomaterials, **25**, 5353-5361 (2004)

11) 飯田弘忠、有機合成化学、培風館（1993）