医药用聚氨酯相关成分的细胞毒性测试

杨 敏，黄成超，曾 涛，李 烨，林黄静*

（医药先进制造国家工程研究中心，上海现代药物制剂工程研究中心有限公司药品包装材料科研检验中心，国家药品监督管理局药包材与药物相容性研究重点实验室，上海 201203）

摘要：采用细胞毒性测试法对医药用聚氨酯（PU）配方进行测试，并评价其生物安全性。对以 4,4- 二异氰酸酯二环已基甲烷（HMDI）和聚四亚甲基醚二醇（PTMEG）为主要原料的 PU 开展细胞毒性测试，采用 MTT 法分别测试 PU 成品及其配方中各原料组分和添加剂的细胞毒性。结果表明，尽管 PU 未检出急性全身毒性，但细胞存活率小于 50%，表现出潜在的细胞毒性。该实验室按与企业产品相同的配方自制了少量 PU，测得其急性全身毒性合格，但细胞存活率仅为 8%，经丙酮清洗后细胞存活率提高至 60%。在细胞毒性测试中，含有 HMDI 及添加剂（扩链剂、抗氧剂、光稳定剂、催化剂）的配方组，细胞存活率均大于 70%，即不呈现细胞毒性；而含有 PTMEG 的配方组，细胞存活率均小于 70%，且随试验浓度提高而降低。因此，推测 PTMEG 是导致 PU 产生细胞毒性的主要原因。建议调整 PU 配方中 PTMEG 比例或更换生物安全性能更优的多元醇，并优化生产清洗工艺，以保障 PU 的生物安全性。

关键词：细胞毒性；医药用聚氨酯；聚四亚甲基醚二醇；高分子材料；生物安全性

中图分类号：R95；TQ460.69 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2025)09-1211-04

引用：杨 敏，黄成超，曾 涛，等．医药用聚氨酯相关成分的细胞毒性测试［J］．中国医药工业杂志，2025, **56**(9)：1211-1214．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.09.013

Cytotoxicity Testing of Relevant Components of Medical Polyurethane

YANG Min, HUANG Chengchao, ZENG Tao, LI Ye, LIN Huangjing*

(*NMPA Key Lab. for Compatibility Studies of Pharmaceutical Products and Packaging Materials, Pharmaceutical Packaging Material Research & Inspection Center, Shanghai Modern Pharmaceutical Engineering Research Center Co., Ltd., National Advanced Medical Engineering Research Center, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: Cytotoxicity tests were conducted to evaluate the biosafety of medical polyurethane (PU) products. In this study, cytotoxicity tests of PU products mainly composed of *bis* (4-isocyanatocyclohexyl) methane (HMDI) and poly (tetramethylene ether) glycol (PTMEG) were conducted. The cytotoxicity of the PU products, raw materials and additives in the formulations were tested respectively according to the MTT method. The results showed that PU had no acute systemic toxicity, but the cell viability of PU was less than 50%, which indicated a cytotoxic potential. This laboratory prepared a small-batch of PU samples using the same formulation as commercial products, which passed acute systemic toxicity tests but exhibited only 8% cell viability. After acetone cleaning, the cell viability increased to 60%. The cell viabilities of the formulations containing HMDI and the additives such as chain extenders, antioxidants, light stabilizers and catalysts were more than 70% in the cytotoxicity test, indicating no cytotoxicity. However, the cell viability of PTMEG-containing formulations was less than 70%, with viability decreasing as concentration increased, indicating that PTMEG might be the primary cause of PU cytotoxicity. It is recommended to adjust the proportion of PTMEG or replace it with polyols exhibiting superior biosafety performance in PU products, and optimize the cleaning process during production to ensure the biosafety of PU.

Key Words: cytotoxicity; polyurethane for medical use; poly (tetramethylene ether) glycol; polymer material; biosafety

聚氨酯（polyurethane，PU）通常是由异氰酸酯和小分子扩链剂组成的刚性链段与多元醇低聚物组成的柔性链段，通过缩聚反应形成的一种高分子材料，具有优异的力学性能、加工性能及良好的生物相容性，在药物递送载体、组织工程材料、伤口敷料、输液器具等方面有广阔的应用前景[1—3]。为了预测PU在与人体接触过程中可能导致的潜在不良反应，有必要对其进行一系列的生物学性能评价。

体外细胞毒性试验具有简便、快捷、灵敏度高等优点，可作为生物学评价的首选试验项目[4]。为了获得不同的力学强度、硬度、亲疏水性、可降解性等材料特性，PU配方中可选择不同种类和比例的异氰酸酯、多元醇为主要材料，以及扩链剂、催化剂等添加剂。

本研究拟通过对以4,4-二异氰酸酯二环己基甲烷［*bis*(4-isocyanatocyclohexyl)methane，HMDI］和聚四亚甲基醚二醇［poly(tetramethylene ether)glycol，PTMEG，又称聚四氢呋喃）］为主要原料的PU颗粒成品，以及PU配方中的原料和添加剂组分进行细胞毒性测试分析，为PU材料配方的快速筛选和生物安全性评价提供参考。

1　仪器与试药

Ts2型倒置显微镜（日本Nikon株式会社）；SpectraMax 340PC型酶标仪［美谷分子仪器（上海）有限公司］。

PU颗粒成品（PU1）、原料HMDI、原料PTMEG、扩链剂1,4-丁二醇（1,4-butanediol，BDO，记作Ⅰ）、抗氧剂（记作Ⅱ）、光稳定剂1（记作Ⅲ）、光稳定剂2（记作Ⅳ）、催化剂（记作Ⅴ），均来自于PU颗粒制备企业。PU颗粒样品A（PU2-A）、样品B（PU2-B）、样品C（PU2-C）均为自制，制备方法见“**2.1**”项。高密度聚乙烯（阴性对照品）、含二乙基二硫代氨基甲酸锌（zinc diethyldithiocarbamate，ZDEC）的PU薄膜（阳性对照品）均购自日本Hatano Research Institute公司；MEM培养基、胰蛋白酶/EDTA溶液、胎牛血清均购自法国Biosera公司；MTT（上海安谱实验科技股份有限公司）；DMSO（国药集团化学试剂有限公司），水为纯化水。

健康ICR小鼠（体质量18～22 g，雄性，购自上海必凯科翼生物科技有限公司），于恒温净化通风动物房（20.0～26.0 ℃，相对湿度40%～70%）饲养，自由进食与饮水。实验动物使用许可证号为SYXK（沪）2023-0009；动物实验伦理许可批准号为A-2024-12-04。

小鼠成纤维细胞（L929细胞）购自美国典型培养物保藏中心（American Type Culture Collection，ATCC）。

2　方法与结果

2.1　PU2各样品的制备[5]

根据企业提供的PU配方，按比例称取原料HMDI、PTMEG，以及添加剂Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ，各组分在室温条件下搅匀，于75 ℃放置过夜，得到半透明的弹性固体，即得PU2-A。取PU2-A 2.0 g，加入水100 mL清洗，倒去水，剩余物于75 ℃放置12 h，干燥后即得PU2-B。另取一部分PU2-A，加入20倍丙酮浸泡1 d，干燥即得PU2-C。

2.2　细胞毒性测试

2.2.1　试验方法

无菌条件下制备供试品浸提液，浸提温度37 ℃，浸提时间24 h，浸提介质为含10%胎牛血清的MEM培养基。空白对照为含10%胎牛血清的MEM培养基，阴性对照为高密度聚乙烯浸提液，阳性对照为含ZDEC的PU薄膜浸提液。

按照ISO 10993-5：2009《医疗器械生物学评价第5部分：体外细胞毒性试验》[6]中的MTT法进行测试，测试结果为细胞存活率大于70%时，视为合格。

2.2.2　试验结果

分别取企业提供的PU1及自制的PU2-A、PU2-B、PU2-C，按“**2.2.1**”项下方法进行试验，试验结果如表1所示。PU1细胞存活率低于50%，显示有明显细胞毒性；PU2-A的细胞存活率已低至10%以下，与PU1结果相差较大，而经过水洗的PU2-B和经过丙酮清洗的PU2-C的细胞存活率有所提高。上述结果表明，尽管二者配方一致，但由于自制品的合成工艺比成品工艺简单，合成过程中残留的有毒成分含量较高。而经过溶剂清洗，尤其是

收稿日期：2025-04-22

作者简介：杨　敏，工程师，从事药品包装材料的生物学评价检测及研究。

通信作者：林黄静，副研究员，从事药品包装材料检测及其与药物的相容性研究。

有机溶剂丙酮的清洗，能明显减少残留的有毒成分。

分别取 PU 配方中的原料 HMDI、PTMEG，以及添加剂Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ，按其在配方中的比例折算取样量，经 DMSO 溶解后再与含 10%胎牛血清的 MEM 培养基混合，按“**2.2.1**”项下方法浸提，得各组分浸提液。空白浸提液为不加样品的、含 DMSO 的 10%胎牛血清 MEM 培养基。MTT 法试验结果如表 2 和 3 所示。可见，PU 配方中所用的扩链剂、抗氧剂、光稳定剂及催化剂等添加剂均未表现出明显的细胞毒性，占比 37%的原料 HMDI 在其质量浓度高达 500 μg/mL 时亦未表现出明显的细胞毒性，而占比 50%的原料 PTMEG 即使质量浓度低至 50 μg/mL 时仍提示有细胞毒性。

2.3 急性全身毒性测试

分别取 PU1 和 PU2-A、PU2-B、PU2-C，按 ChP 2020 年版四部通则 4011 药包材急性全身毒性检查法进行试验，浸提比例分别为 0.2 g/mL（标准量）、0.6 g/mL（3 倍标准量）、1.0 g/mL（5 倍标准量），浸提温度 121 ℃，浸提时间 60 min，浸提介质为 0.9%氯化钠注射液。测试结果如表 1 所示。结果显示，即使是 PU2-A 供试品（在细胞毒性试验中的细胞存活率低至 8%），急性全身毒性试验结果仍为合格，小鼠注射后反应正常，体质量不减，毛色无变化。

表 1 PU 的细胞毒性和急性全身毒性测试结果

Tab.1 Test Results of Cytotoxicity and Acute Systemic Toxicity of PU

供试品	浸提比例 /（g·mL^{-1}）	细胞毒性（*n*=6）		急性全身毒性（*n*=6）
		细胞存活率 /%	结果判定	结果判定
空白	—	100	—	合格
阴性	0.2	100±3	—	—
阳性	0.2	0	—	—
PU1	0.2	49±4	不合格	合格
PU1	0.6	20±3	不合格	合格
PU1	1.0	11±3	不合格	合格
PU2-A	0.2	8±2	不合格	合格
PU2-B	0.2	13±1	不合格	合格
PU2-C	0.2	60±2	不合格	合格

3 讨论

已有研究[4]显示，相较于急性全身毒性检查法，基于细胞的毒性检测方法可更快速、有效地筛选出包材配方中合适、安全的添加剂。本研究进一步验证了 2 种毒性测定方法测定结果的差异性。由表 1 可见，即使 PU 表现出明显的细胞毒性，急性全身毒性结果仍符合要求。其主要原因可能在于细胞毒性试验直接作用于细胞并破坏细胞生长，药物作用速度快、所需浓度低，具有较高的灵敏度；而急性全身毒性试验主要作用于组织及器官，而影响组织和器官的功能需要更大的剂量以及更长的作用时间。因此，在筛选合适的 PU 配方及评价生物安全性时，建议优先采用细胞毒性测试法。

有研究[7]报道了合成医用 PU 弹性体时可以通过引入 PTMEG 改善材料硬度，赋予材料更强的弹性，以更好地匹配组织和器官。在本试验中，PU 成品表现出潜在的细胞毒性，因而继续对 PU 配方中的主要原料和添加剂分别开展细胞毒性测试。结果表

表 2 PU 中添加剂的细胞毒性测试结果

Tab.2 Test Results of Cytotoxicity of Additives in PU

供试品	添加剂类型	浸提比例 /（g·mL^{-1}）	细胞存活率 /%（*n*=6）	结果判定
空白	—	—	100	—
阴性	—	0.2	>100	—
阳性	—	0.2	0	—
Ⅰ	扩链剂	相当于成品 0.2	86±9	合格
Ⅱ	抗氧剂	相当于成品 0.2	100±6	合格
Ⅲ	光稳定剂	相当于成品 0.2	99±7	合格
Ⅳ	光稳定剂	相当于成品 0.2	87±7	合格
Ⅴ	催化剂	相当于成品 0.2	>100	合格

表 3 不同质量浓度的 HMDI 和 PTMEG 的细胞毒性测试结果

Tab.3 Test Results of Cytotoxicity of HMDI and PTMEG at Different Mass Concentrations

供试品	质量浓度 /（μg·mL^{-1}）	浸提比例 /（g·mL^{-1}）	细胞存活率 /%（*n*=6）	结果判定
空白	—	—	100	—
阴性	—	0.2	>100	—
阳性	—	0.2	0±0.14	—
HMDI	0.8	相当于成品 2.2×10^{-6}	>100	合格
	8.0	相当于成品 2.2×10^{-5}	>100	合格
	80.0	相当于成品 2.2×10^{-4}	91±4	合格
	500.0	相当于成品 1.4×10^{-3}	77±4	合格
PTMEG	50.0	相当于成品 1.0×10^{-4}	56±7	不合格
	150.0	相当于成品 3.0×10^{-4}	25±5	不合格
	600.0	相当于成品 1.2×10^{-3}	23±4	不合格

明，PU 配方中各添加剂在与成品保持相同的浸提比例（0.2 g/mL）进行试验时，细胞毒性试验结果均符合要求；而配方中占比 50%以上的 PTMEG 在受试质量浓度为 50 ～ 600 μg/mL（相当于成品浸提比例 1.0×10^{-4} ～ 1.2×10^{-3} g/mL）时均表现出明显的细胞毒性，且随试验浓度升高而增大；配方中占比 37%的 HMDI 在受试质量浓度为 0.8 ～ 500 μg/mL（相当于成品浸提比例 2.2×10^{-6} ～ 1.4×10^{-3} g/mL）时细胞毒性结果符合要求，但随试验浓度提高细胞存活率降低。综合上述结果分析，推测本 PU 产品的细胞毒性可能来源于 PTMEG，建议调整 PTMEG 比例或改用其他安全性更好的多元醇类低聚物。

其次，本试验结果表明 HMDI 在提高试验用量后表现出潜在的细胞毒性趋势，提示在 PU 配方筛选中同样应关注 HMDI 的比例。此外，本试验仅对扩链剂、抗氧剂、光稳定剂及催化剂等添加剂按本配方量进行试验，结果未引起细胞毒性，未进一步考察用量增加后的细胞毒性变化。而合成所用的催化剂大多为有机胺、有机锡，可能存在生物毒性、神经毒性、生殖毒性等影响[5]，在配方筛选中也应对其添加量进行安全性评估。

本试验采用简易方法自制了 PU 颗粒，其中 PU2-A 的细胞存活率仅为 8%，远低于合格限度（70%），可能是合成工艺未优化所致。经过水清洗后的 PU2-B 样品细胞存活率仍仅为 13%，几无改善，表明水洗处理无法有效减小细胞毒性。经丙酮清洗后的 PU2-C 样品细胞存活率明显提高至 60%，推测是由于PTMEG在丙酮中溶解度较高，可被清洗除去，提示在 PU 合成工艺中应设置合理的清洗工艺以减少残留单体的毒性影响。

综上所述，尽管本试验未检出 PU 具有急性全身毒性，但显示出潜在的细胞毒性。PU 作为药物递送载体、组织工程材料等医药用材料，在人体内、体表的应用日益广泛，其生物安全性考察至关重要。细胞毒性测试方法适用于快速筛选合适的医药用 PU 配方，包括配方中组成成分的类型、比例及化学合成条件等参数，同时也能初步评价生物安全性。对于 PU 配方中存在潜在毒性的 PTMEG 等成分，应在研究中测定其残留含量，并设置安全限度。目前我国尚无医药用 PU 的国家标准。随着 PU 材料应用范围的不断扩展，应尽早将医药用 PU 材料的质量控制纳入药包材国家标准的监管范围内。

参考文献：

[1] 孙　源, 辛　宇, 田　丰, 等. 生物医用聚氨酯材料用于组织再生修复替代的应用进展 [J]. 石油化工, 2024, **53**(8): 1089-1097.

[2] 邵树仁, 吴和成, 唐　林, 等. 医用聚氨酯材料的研究及应用进展 [J]. 聚氨酯工业, 2022, **37**(2): 1-6.

[3] 罗　锋, 李洁华, 谭　鸿, 等. 生物可降解医用聚氨酯及其应用 [J]. 高分子通报, 2017, (10): 128-138.

[4] 杨　敏, 曾　涛, 黄成超, 等. 输液药包材的急性全身毒性检查法和细胞毒性检查法测试结果的分析与探讨 [J]. 中国医药工业杂志, 2024, **55**(11): 1578-1582.

[5] 山西省化工研究所. 聚氨酯弹性体手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 237-239, 255.

[6] ISO. Biological evaluation of medical devices – part 5: tests for *in vitro* cytotoxicity: ISO 10993-5: 2009 [S]. Geneva: ISO, 2009.

[7] 张　亮, 段雪影, 刘　超, 等. 医用聚氨酯弹性体的制备与性能 [J]. 弹性体, 2020, **30**(2): 36-40.