

Oligosaccharide를 측쇄에 함유하는 공중합체의 합성과 이의 혈액적합성 검토

한혜주 · 정동준[†]

성균관대학교 공과대학 고분자공학과

(1998년 4월 28일 접수)

Synthesis of Novel Blood Compatible Copolymers Containing Pendant Oligosaccharide Group

Hye Joo Han and Dong June Chung[†]

Department of Polymer Science and Engineering, SungKyunKwan University, Suwon 440-746, Korea

[†]e-mail : djchung@yurim.skku.ac.kr

(Received April 28, 1998)

요약: 혈액적합성 재료에 응용할 목적으로 친수성/소수성 영역을 갖는 comb type 공중합체를 합성하였다. 친수성 부분으로는 합성한 oligosaccharide 함유 macromonomer를 사용하였고, 소수성 부분으로는 시판의 PPG-allylate 혹은 octadecyl acrylate를 사용하였다. 공중합은 radical 개시제를 사용하여 수행되었으며, 생성된 공중합체는 FT-IR, NMR 분석으로 구조를 확인하였고, 공중합체 중의 단량체 조성비는 각각의 성분에 기인하는 NMR특성 피크의 면적비로써 산출하였다. 공중합체의 표면 특성은 DCA (동적 접촉각 측정장치)를 이용하여 평가하였다. 공중합체 중의 친수성 부분의 물분율이 증가할수록 표면은 친수성을 나타내었으며, 다양한 공중합체의 단량체 조성비를 갖는 시료 중에서 소수성 부분의 비율이 일정치를 초과하지 않을 경우에는 공중합체의 물에 대한 안정성이 저하됨을 알 수 있었다. 공중합체의 혈액적합성을 평가하기 위하여, 공중합체를 glass bead와 기계적 특성이 우수한 PU 필름에 각각 코팅한 후, in vitro 혈액적합성 실험을 실시하여, glass bead 상의 공중합체에 점착된 혈소판의 수를 hemacytometer로, PU상의 공중합체에 점착한 혈소판의 모폴로지를 SEM으로 관찰하였다. 결과로부터, 공중합체 중 친수성 부분의 비율이 증가함에 따라 혈소판의 점착수가 감소하며, 혈소판의 활성화도 억제됨이 밝혀졌다. 따라서 본 연구에서 합성한 공중합체를 혈액과 접촉하는 고분자 재료에 코팅하여 사용하면 향상된 혈액적합성이 기대된다.

ABSTRACT: The randomly micro separated hydrophobic/hydrophilic copolymers containing oligosaccharide moieties have been developed in this research. PPG-allylate (or octadecyl acrylate) and *N*-(*p*-vinylbenzyl)-[*O*- α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]_{n-1}-D-glucosamide were used for hydrophobic and hydrophilic moieties respectively. Various copolymers were synthesized with different molar feeding ratios of two macromonomers by general radical polymerization methods. Characteristic and chemical structure of synthesized copolymers were confirmed by FT-IR, NMR, and DSC. Especially surface energy characteristics of copolymers were examined by DCA (dynamic contact angle) measurement. It was revealed that the content of hydrophilic moieties in the surface of copolymers were deeply related with surface hydrophilicity of copolymers. From in vitro platelet adhesion test results and evaluation data of SEM photos, copolymers containing much oligosaccharide moieties showed lower platelet adhesion than copolymer surfaces containing low contents of oligosaccharides. Such results suggest the usefulness of copolymers as coating materials to improve the blood compatibility for medical devices.

Keywords: blood compatibility, biomimetic structure, anti-thrombogenic adhesion, hydrophilic/hydrophobic surface, oligosaccharide containing copolymers.

서 론

인공장기 등에 사용되는 여러 가지 인공재료가 체 내에 삽입되어 혈액과 접촉하게 되면, 수분이내에 혈액 내에 있는 단백질들이 인공 재료 표면에 강하게 흡착하고 그 다음 혈소판, 백혈구 그리고 적혈구의 순으로 점착이 일어난다. 즉, 혈소판, 백혈구 및 적혈구들의 초기점착은 처음에 흡착된 단백질 층의 특성과 조성에 의하여 영향을 받는다. 이 현상이 혈액적합성 재료의 특성을 좌우할 정도로 중요하며, 단백질을 포함한 혈액 구성성분들이 잘 흡착되지 않는 표면이 창출되면 이는 직접적으로 혈액과 접촉이 불가피한 인공장기용 재료로 적용가능하게 될 것이다. 나아가서 전술한 기능을 모두 겸비하기 위해서는 인체내의 모든 세포조직과 유사한 물리적, 생물학적 특성을 갖는 재료의 합성이 이상적이다.

지금까지는 수용액 상태에서 독특한 용액 물성과 분자 형태를 가지며 또한 high surface mobility와 steric stabilization 효과도 가지고 있는 poly(ethylene oxide) (PEO)에 대해서 많은 연구가 수행되어졌다.¹ 그중에 PEO를 다른 고분자 기질에 그라프트 중합,² 다른 단량체와의 PEO 블록 공중합체,³ PEO를 함유하는 제면활성제를 흡착시키는 방법,⁴ 음이온 전하를 띤 술폰산화 PEO를 폴리우레탄 공중합체에 그라프트 중합과⁵ 같은 응용연구들이 항혈전성에 기여하는 PEO의 효과를 기술하고 있다. 한편으로 triblock 또는 segmented block 공중합체들이 나타내는 미세 상분리 구조가 생체조직 구조와 유사한 것에 착안하여 합성된 HEMA-styrene,⁶ HEMA-dimethylsiloxane과⁷ 같은 ABA 형태의 공중합체들 또한 항혈전성을 나타내는 것으로 보고되어져 있다. 최근에 이르러서는 생체막과 유사한 표면구조를 형성 가능한 고분자 재료와 phospholipids로 이루어진 생체재료들의 개발에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. Nakabayashi 등은⁸ methacrylate 단량체에 phospholipid 관능기를 도입시킨 2-methacryloyloxy ethyl phosphorylcholine (MPC)을 합성하고 이를 methyl methacrylate와 공중합하여 이들의 우수한 혈액적합성을 보고하였다.

본 연구에서는, 생체막과 유사한 성분을 갖는 micro separated surface가 공중합법으로 합성되면

이는 우수한 혈액적합성을 표출할 것이라고 예상되어, 여러종류의 생체막 구성성분들을 모방한 각종 친수성/소수성 단량체들을 이용하여 공중합체를 합성하였다. 친수성 부분으로는 oligosaccharide group을 이용하였고, 소수성 부분으로는 lipid와 유사한 long alkyl chain을 이용하여 oligosaccharide group을 함유하고 있는 comb-type의 공중합체를 합성한 후, in vitro 혈액실험을 행하여 oligosaccharide를 함유한 공중합체들의 혈액적합성을 평가하고자 하였다. 최종적으로 합성한 공중합체들을 코팅과 같은 간단한 방법으로 재료 표면에 도입시켜 뛰어난 혈액적합성을 표출하는 생체재료를 개발함을 목표로 하였다.

실 험

친수성 단량체의 합성. Oligosaccharide는 glucoside 반복단위가 4~7인 maltodextrin (MW ; 987, Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, USA))을 정제 없이 사용하였다. Iodine (I₂)은 덕산약품 공업주식회사 (Ahnsan, Korea)에서, potassium hydroxide (KOH)는 Daejung Chemicals & Metals Co., LTD (Seoul Korea)에서, Amberlite IR-120B (H⁺)은 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, USA)에서, ethyl ether은 동양화학 (Inchon, Korea)에서 각각 구입하여 사용하였다.

일정한 중합도 (DP=4~7)를 가지는 상기의 maltodextrin을 상온에서 potassium hypiodite로 물속에서 산화시킨 다음 Amberlite IR-120 (H⁺)로 충전된 column을 통과시켜 중화시켰다. 이 solution을 투석으로 미 반응물을 제거시킨 다음, 동결건조하여 lactone type의 maltodextrin 생성물을 얻었다.

생성된 oligosaccharide를 ethylene glycol에 녹여 같은 몰비의 *p*-vinylbenzylamine (Gabriel synthesis 방법에 의해 *p*-vinylbenzyl chloride로부터 합성)과⁹ 함께 70 °C에서 8-13시간동안 가열하였다. 반응수료 후 얻어진 물질을 acetone에서 침전시킨 후 silica gel (eluent : acetone/methanol/water = 8/3/2(v/v/v)) column으로 분리 정제한 후 동결건조를 거쳐 흰색 분말상의 생성물 (*N*-(*p*-Vinylbenzyl)-[O- α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]_{n-1}-D-glucamide (VM7A))을 얻었다(Fig. 1).

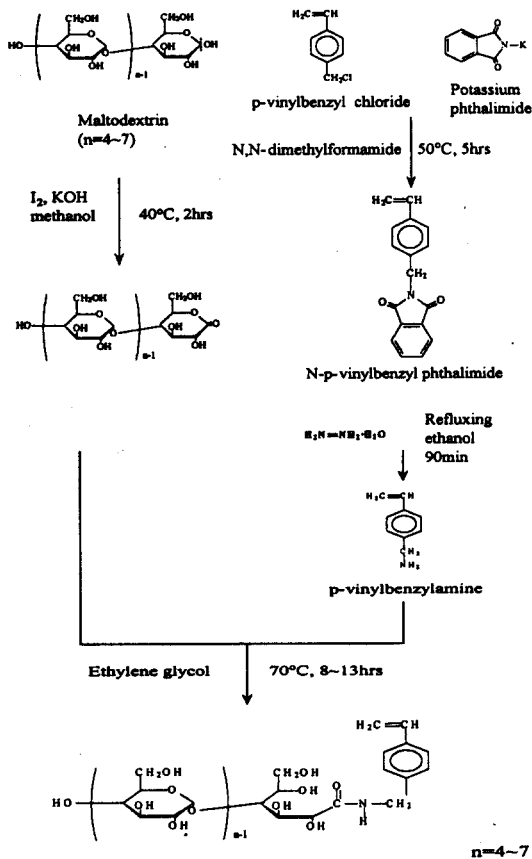


Figure 1. Synthetic scheme for oligosaccharide containing macromonomer VM7A.

친수성/소수성 공중합체의 합성 및 분석. 소수성 부분의 단량체는 시판의 octadecylacrylate (OA, MW ; 324, Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, USA))와 poly(propylene glycol)allylate (APPG, MW ; 1500, UNISAFE PKA-5014, NOF Co., Tokyo, Japan)를 정제없이 사용하였다. 중합개시제로 사용한 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN)은 Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, USA)에서 구입하여 acetone에서 재결정 과정을 거쳐 정제하여 사용하였다. 중합용매로 사용한 dimethyl sulfoxide (DMSO)는 덕산화학 공업주식회사 (Ahnsan, Korea)에서 구입한 후, 진공증류법으로 정제하여 중합에 사용하였다.

친수성 단량체 VM7A와 소수성 단량체 OA, APPG를 사용하여 각각 1:20, 1:15, 1:10, 1:9,

2:8, 3:7, 4:6, 5:5의 단량체 몰비로 하고 중합용매 중의 전체 단량체 비율이 15 wt%로 조정하여, poly[*N*-(*p*-vinylbenzyl)-[*O*- α -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]_{n-1}-*D*-gluco amide-*co*-octadecylacrylate] [poly(VM7A-OA)라 지칭], poly[*N*-(*p*-vinylbenzyl)[*O*- α -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]_{n-1}-*D*-gluco amide-*co*-poly(propylene glycol allylate)] [poly(VM7A-APPG)라 지칭]의 친수성/소수성 공중합체를 다음의 방법으로 공중합하였다.

Fig. 1에 나타난 반응모식도와 같이 먼저 친수성 단량체와 소수성 단량체를 전술한 몰비로 N₂ inlet, 온도계, condenser가 장착된 500 mL 3구 둥근바닥 플라스크에 넣고 여기에 dimethyl sulfoxide/dimethyl formamide를 첨가하여 질소 가스로 30분동안 bubbling하여 용매 중의 용존산소를 제거시킨 다음, 개시제인 AIBN을 친수성 단량체의 0.6 wt%로 반응용액에 첨가하여 73 °C에서 48-52시간동안 서서히 교반시키면서 공중합시켰다. 중합반응 후 rotary vacuum evaporator를 사용하여 solvent를 제거시키고 얻어진 생성물을 methanol (MeOH)에 서서히 적하시켜 poly(VM7A-OA)와 poly(VM7A-APPG)의 친수성/소수성 공중합체들을 얻었다. 용매가 제거된 공중합체들을 여과한 후 상온에서 진공 건조시켰다. 이를 다시 재침전시키는 과정을 수회 반복하여 정제하였다. 중합 후 얻어진 친수성/소수성 공중합체들의 화학 구조들을 Fig. 2에 나타내었다.

공중합체들의 구조 분석. Fourier transformed infrared spectrometer (Mattson 5000, Wisconsin, USA)로 IR spectrum을 얻어 oligosaccharide를 함유하는 친수성/소수성 공중합체의 구조를 확인하였다. 합성한 oligosaccharide를 함유하는 친수성/소수성 공중합체들을 각각 D₆-DMSO에 녹여 proton nuclear magnetic resonance spectrometer (¹H-NMR, Varian Unity Inova, 500 MHz, Germany)로 ¹H-NMR spectrum을 얻어 공중합체의 구조 및 친수성 부분과 소수성 부분의 실제 조성비를 확인하였다.

친수성-소수성 랜덤 공중합체들의 물에 대한 안정성 분석. 합성된 공중합체들을 각각 증류수 10 mL가 담긴 vial에 0.1 g씩 넣고 37 °C로 유지되는 교반기로 24시간동안 교반시킨 다음 물에 대한 용해성을 평가하였다.

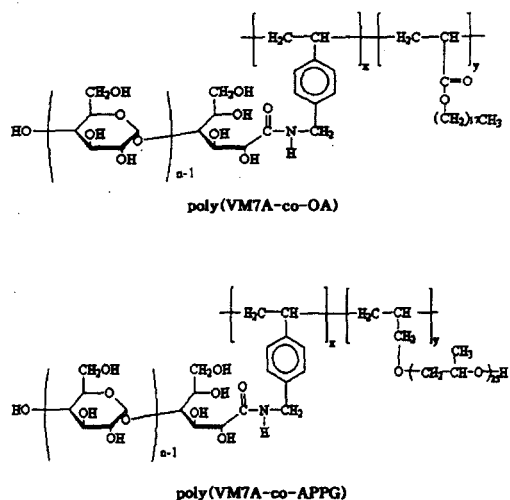


Figure 2. Chemical structures of synthesized oligosaccharide containing copolymers.

공중합체들의 열적 안정성 분석. 각 중합체들의 열 분석은 질소 분위기 하에서 10 °C/min으로 승온시키면서 differential scanning calorimeter (DSC, TA Instrument, Delaware, USA)를 사용하여 DSC thermogram을 얻어 분석하였다.

랜덤 공중합체를 이용한 PU의 표면 처리 및 표면 분석.

공중합체로 개질한 표면의 제조: 합성된 친수성/소수성 공중합체 중에서 물에 불용성으로 확인된 1:9, 2:8, 3:7, 4:6의 단량체 몰비로 중합한 poly(VM7A-OA)-4, poly(VM7A-OA)-5, poly(VM7A-OA)-6, poly(VM7A-OA)-7과 1:15, 1:10, 1:9으로 중합한 poly(VM7A-APPG)-2, poly(VM7A-APPG)-3, poly(VM7A-APPG)-4의 공중합체를 DMSO에 녹여 1 wt%의 용액을 만들었다. 접촉각 측정용 시료의 제조는 미리 chromic acid (증류수 35 mL에 potassium dichromate를 녹여 포화용액으로 만든 후 여기에 sulfuric acid를 첨가하여 1 L가 되도록 혼합)로 표면을 처리한 slide glass에 폴리우레탄 (PU) 필름을 코팅한 다음 공중합체를 녹인 용액을 3회 반복하여 코팅한 후 상온에서 진공 건조하여 사용하였다. 여기서 사용한 slide glass는 Superior Co. 제품 (두께: 0.9~1.1 mm, 75×25 mm)으로 25×10 mm의 크기로 절단하여

chromic acid에서 4시간이상 처리한 후 증류수와 ethanol (EtOH)의 혼합용액으로 여러번 세척하여 사용하였으며, 후술하는 glass bead (size(Φ): 150~212 μm, Sigma Co.)도 같은 방법으로 처리하여 실험에 사용하였다. 한편 기재로 사용되는 PU 필름은 Pellethane 2363-80AE (Dow Chemical Co., USA)을 사용하였으며, PU 펠렛 내에 잔존해 있는 processing agent와 low molecular weight component를 제거하기 위해 펠렛을 *N,N*-dimethylacetamide (DMAc)용액에 녹인 후 MeOH에 떨어뜨려 침전물을 얻은 다음, 다시 fresh MeOH로 여러번 세척하는 전처리 과정을 거쳐 사용하였다. 정제한 펠렛을 다시 DMAc에 녹여 16 wt% 용액으로 만든 다음 유리판에 casting하여 45~50 °C로 유지되는 건조 오븐에서 1주일동안 DMAc를 휘발시켜 혈액적합성 실험용 기저필름을 제조하였다.

혈액적합성 평가용 시료는 PU 필름에 합성한 공중합체를 같은 방법으로 코팅하여 사용하였다.

개질된 표면의 분석: 동적 물 접촉각 측정은 고분자 표면의 습윤성 (wettability) 또는 친수성/소수성 정도 (hydrophilicity/hydrophobicity)를 평가하는데 매우 중요한 척도이다.

본 실험에서 합성한 친수성/소수성 공중합체 중에서 물에 불용성으로 확인된 시료 중 poly(VM7A-OA)-4, poly(VM7A-OA)-5, poly(VM7A-OA)-6, poly(VM7A-OA)-7, poly(VM7A-APPG)-2, poly(VM7A-APPG)-3, poly(VM7A-APPG)-4의 공중합체를 DMSO에 녹여 1%(w/w)의 공중합체 용액을 만든 후 각각 slide glass에 코팅하였다. 각각의 필름을 dynamic contact angle apparatus (DCA 322, Cahn Instrument Inc., Germany)로 측정하였다. 필름 한쪽 끝을 electrobalance와 연결된 hook에 고정시키고 증류수 (surface tension = 72.6 dyne/sec) 속으로 서서히 하강, 상승 (150 mm/sec)시키면서, 이때 시료의 함수 정도에 따른 immersion depth와 sample weight 변화를 측정하여 wetting curve를 얻어내고, 이 curve에 의해서 advancing, receding angle과의 상관관계를 검토하였다.

이를 이용하여 각 표면의 친수성 (또는 high energy), 소수성 (또는 low-energy) 정도를 산출하였다.

또 측정이 완료된 필름들을 하룻동안 물에 침적시킨 후 다시 접촉각을 측정하여 흡수에 의한 재료표면에서의 oligosaccharide moiety들의 재배열 거동을 고찰하였다.

In vitro 혈액 적합성 평가.

혈소판 점착 실험: 혈액원에서 구입한 인간의 PRP (platelet rich plasma)를 동일한 PPP (platelet poor plasma)로 희석하여 적당한 농도가 되도록 한 다음 실험에 사용하였다. 재료들과 접촉하지 않은 희석된 혈액을 현미경을 통해 hemacytometer (Marienfeld Co. Ltd., Germany)를 사용하여 혈소판의 개수를 측정하였다. 미리 PU가 코팅된 glass bead를 사용하여 poly(VM7A-OA)-4, poly(VM7A-OA)-5, poly(VM7A-OA)-6, poly(VM7A-OA)-7, poly(VM7A-APPG)-2, poly(VM7A-APPG)-3, poly(VM7A-APPG)-4의 공중합체들을 PU상에 코팅하여 진공건조시켰다. 전술의 glass bead를 0.2 g씩 주사기에 투입한 후 여기에 PBS 용액 2 mL를 각각 첨가하여 1시간동안 수화시킨 다음, 주사기로부터 PBS (phosphate buffered solution for saline)를 제거하고 적당한 농도로 희석한 혈장용액을 0.5 mL씩 취하여 주사기에 넣고 37 °C로 유지되는 shaking incubator (Daeil Engineering Co., Ltd., Korea)에서 각각 0분, 5분, 15분, 30분, 60분, 120분동안 incubation시킨 뒤, 코팅된 glass bead와 반응하고 남은 혈액을 분리하여 hemacytometer와 Nikon Inverted Microscope (DIPHOT-MD, Pola 4.0/0.55, ph3DL, Tokyo, Japan)를 사용하여 혈장용액 중에 있는 혈소판의 수를 측정하였다. 이때 공중합체가 코팅된 glass bead가 없는 주사기 속에 존재하는 혈소판의 수를 전체 혈소판의 개수 (a)로, 공중합체가 코팅된 glass bead와 접촉한 혈장 중에 남아 있는 혈소판의 개수 (b)로 하면, 이들 제곱값들의 차이로부터 공중합체가 코팅된 glass bead에 점착된 혈소판의 수 (c)가 산출된다.

혈소판의 형태 관찰: 공중합체가 코팅된 표면에 흡착한 혈소판의 형태를 관찰하기 위해 poly(VM7A-OA)-4, poly(VM7A-OA)-5, poly(VM7A-OA)-6, poly(VM7A-OA)-7, poly(VM7A-APPG)-2, poly(VM7A-APPG)-3, poly(VM7A-APPG)-4의 공중합체를 DMSO에 녹여서 PU 필름 (1×1 cm²) 위

에 코팅하여 주사기에 넣고, 적정 농도로 희석된 혈액을 각각 0.5 mL를 가하여 37 °C로 유지되는 shaking incubator에서 120분간 incubation시킨 다음, 필름들을 주사기에서 꺼내 PBS로 수세한 후 2% glutaraldehyde 용액에 24시간동안 침지시켜 세포를 고정시킨 다음, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% EtOH 수용액으로 수회 반복하여 탈수시키고 임제점 건조기 (Hitachi HCP-2, Tokyo, Japan)로 건조시켜 SEM (Hitachi S-2200, Tokyo, Japan)을 이용하여 공중합체가 코팅된 필름들에 흡착된 혈소판의 형태를 관찰하였다.

결과 및 고찰

친수성/소수성 공중합체의 합성.

FT-IR에 의한 공중합체의 구조분석: 본 실험에서는 사용한 친수성 단량체인 VM7A와 소수성 단량체인 OA와 APPG의 FT-IR spectra를 측정하고, 소정의 물비로 공중합하여 얻은 poly(VM7A-OA)-4, poly(VM7A-OA)-5, poly(VM7A-OA)-6, poly(VM7A-OA)-7, poly(VM7A-APPG)-2, poly(VM7A-APPG)-3, poly(VM7A-APPG)-4의 FT-IR spectra를 측정하여 친수성/소수성 공중합체의 구조를 확인하였다.

공중합체들의 FT-IR data들을 해석하면 아래와 같고, 이 피크들로부터 각각의 공중합체들이 생성되었음을 알 수 있었다.

1110 cm⁻¹ ; C-O stretching for OA, APPG

1700 cm⁻¹ ; C=O stretching for OA

Left side of 3000 cm⁻¹ ; aliphatic C-H of copolymers

3500 cm⁻¹ ; -OH stretching and aromatic ring for APPG and VM7A respectively

¹H-NMR에 의한 공중합체의 구조분석: 친수성 단량체와 소수성 단량체들을 각각의 물비로 공중합시켜 얻은 poly(VM7A-OA)와 poly(VM7A-APPG) 공중합체들의 ¹H-NMR을 측정하여 공중합체들의 구조를 확인하였고, 공중합체에 존재하는 실제의 친수성 부분과 소수성 부분에 기인하는 피크들의 적분치 비

Table 1. Experimentally Determined Monomeric Compositions in Various Synthesized Copolymers in relation to Monomer Feeding Ratios

copolymers		molar monomer compositions in feed	monomer compositions in synthesized copolymer
series	sample No.		
poly(VM7A-OA)	7	4:6(1:1.5)	1:3.2
	6	3:7(1:2.3)	1:3.55
	5	2:8(1:4)	1:5.1
	4	1:9	1:5.8
poly(VM7A-APPG)	4	1:9	1:3
	3	1:10	1:4
	2	1:15	1:9

율을 계산하여¹¹ 공중합체 중에 존재하는 소수성과 친수성 부분의 조성비를 Table 1에 나타내었다.

공중합체의 물성 측정.

물에 대한 용해성: 합성한 poly(VM7A-OA), poly(VM7A-APPG)의 친수성/소수성 공중합체들을 모두 각각 10 mL 증류수가 들어있는 vial에 0.1 g씩 넣고 37 °C에서 24시간 교반하여 물에 대한 용해도를 조사하였다. 그 결과 poly(VM7A-OA)-1, poly(VM7A-OA)-2, poly(VM7A-OA)-3, poly(VM7A-OA)-4, poly(VM7A-OA)-5, poly(VM7A-OA)-6, poly(VM7A-OA)-7, poly(VM7A-APPG)-1, poly(VM7A-APPG)-2, poly(VM7A-APPG)-3, poly(VM7A-APPG)-4의 공중합체들이 물에 불용으로 나타나 물에 대한 안정성이 있음을 알 수 있었다(Table 2).

DSC: 친수성 단량체로 VM7A, 소수성 단량체로 OA를 사용하여 공중합시킨 각각의 공중합체들의 DSC diagram들을 Fig. 3에 나타내었다. 합성한 poly(VM7A-OA)의 열적 특성 결과로부터, poly(VM7A-OA)-4, 5, 6시료의 경우에는 OA의 moiety에 기인하는 T_g 피크가 30 °C 부근에서 나타나고, 50 °C 부근에서 또 하나의 T_g 피크가 나타나는 것으로 보아 이들 공중합체는 완벽하게 랜덤공중합체로 형성되지는 않았음을 알 수 있다. 한편 공중합체 중의 두 성분의 조성비가 1:3인 poly(VM7A-OA)-7 시료의 경우에는 50 °C 부근에서 하나의 T_g 피크를 나타내고 있다. 이는 OA와 VM7A가 공중합체 중에 골고루 분포하고 있는 랜덤공중합체가 형성 되었음을

Table 2. Solubilities of Various Oligosaccharide Containing Copolymers in Water

monomer feeding mole ratio (VM7A:OA or APPG)	copolymers	
	poly(VM7A-OA)	poly(VM7A-APPG)
sample 8, 5:5	soluble	soluble
sample 7, 4:6	insoluble	soluble
sample 6, 3:7	insoluble	soluble
sample 5, 2:8	insoluble	soluble
sample 4, 1:9	insoluble	insoluble
sample 3, 1:10	insoluble	insoluble
sample 2, 1:15	insoluble	insoluble
sample 1, 1:20	insoluble	insoluble

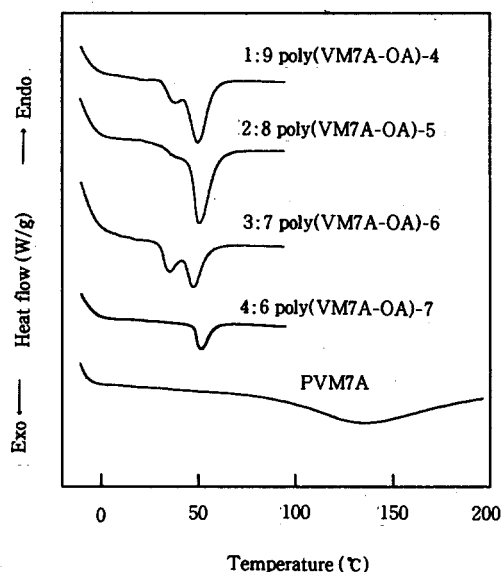


Figure 3. DSC diagrams of synthesized copolymers; poly(VM7A-OA). The numbers in sample name are related to the monomer composition ratios(VM7A : OA) in synthesized copolymers as follows. Poly (VM7A-OA)-4; 1:5.8, poly(VM7A-OA)-5; 1:5.1, poly (VM7A-OA)-6; 1:3.55, poly(VM7A-OA)-7; 1:3.2.

시사하고 있다. Poly(VM7A-APPG) 공중합체의 경우에도 APPG와 VM7A의 공중합체 내에서의 조성비가 3:1인 시료에서 랜덤공중합체가 형성되는 유사한 경향을 나타냄을 알 수 있었다.

공중합체로 개질한 표면의 특성.

접착각 측정: 본 실험에서 합성한 공중합체, poly

(VM7A-OA)와 poly(VM7A-APPG)의 친수성/소수성 공중합체들을 slide glass에 코팅한 다음 이 필름들을 DCA (dynamic contact angle)로 측정하여 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 결과로부터 poly(VM7A-OA)와 poly(VM7A-APPG)를 코팅하여 만든 필름 모두 monomer feeding ratio 중의 친수성 부분의 비율이 증가할수록 receding angle이 낮아져 표면의 친수성이 증가됨을 알 수 있었다. 한편, poly(VM7A-APPG) 시료의 경우, poly(VM7A-OA) 시료에 비해 더욱 친수성 표면을 가짐이 밝혀졌는데 이는 APPG분자의 결사슬 말단이 OH기로 되어 있기 때문으로 사료된다. 이와 같은 화학구조적 특성으로부터, poly(VM7A-APPG) 시료는 소수성을 띠는 long alkyl chain이 측쇄에 존재함에도 불구하고 물에 대한 용해성이 poly(VM7A-OA) 시료에 비해 양호한 결과 (Table 2)를 나타내는 것과도 연관성이 있음을 알 수 있다.

DCA로 측정한 각각의 공중합체들이 코팅된 필름들을 3차 중류수에 24시간동안 침적시킨 후 건조시켜 다시 DCA 측정한 결과, poly(VM7A-OA)와 poly(VM7A-APPG)의 친수성/소수성 공중합체들을 코팅한 필름 모두 24시간동안 수화시킨 후 측정된 receding angle이 24시간 수화 전과 유사한 값으로 관찰되었다. 이는 코팅층에 있는 공중합체들의 친수성 부분의 사슬들이 짧은 시간 내에도 충분히 수화되어, 공중합체 중의 친수성 부분의 고분자 사슬이 코팅표면에서 재배열될 뿐 아니라 구조 또한 안정적으로 유지됨을 시사하고 있다.

Table 3. DCA Data for Surface Characteristics of Various Oligosaccharide Containing Copolymers

samples	monomer composition in feed	advancing angle	receding angle
PU control	-	99.98 ± 2.69	57.30 ± 0.60
slide glass	-	68.59 ± 14.17	46.44 ± 5.43
poly(VM7A-OA)-7	4:6	74.61 ± 10.95	39.07 ± 5.69
-6	3:7	71.41 ± 12.67	33.43 ± 2.17
-5	2:8	92.43 ± 3.35	44.42 ± 2.97
-4	1:9	100.07 ± 7.76	45.78 ± 4.61
poly(VM7A-APPG)-4	1:9	58.77 ± 3.43	54.76 ± 2.37
-3	1:10	63.90 ± 6.99	53.33 ± 1.63
-2	1:15	61.14 ± 1.48	56.64 ± 1.80

In vitro 혈액적합성 평가.

혈소판 점착 실험: DCA 분석 결과를 토대로 하여, 각 친수성/소수성 공중합체들 중에서 물에 대한 안정성이 있고 친수성이 비교적 큰 poly(VM7A-OA)-4, poly(VM7A-OA)-5, poly(VM7A-OA)-6, poly(VM7A-OA)-7, poly(VM7A-APPG)-2, poly(VM7A-APPG)-3, poly(VM7A-APPG)-4를 미리 PU가 코팅된 glass bead에 코팅을 하여 혈액적합성 평가를 실시하였다.

그 결과를 고찰해보면 첨가한 공중합체 중의 VM7A의 양이 증가할수록 혈소판의 점착이 감소함을 알 수 있었다. 또 poly(VM7A-OA)와 poly(VM7A-APPG)를 비교해보면, 동일한 공중합체 중의 조성비를 갖는 시료에 있어서, OA 사슬보다 APPG 사슬이 있는 공중합체가 코팅된 표면에 혈소판이 더 적게 점착되어 혈액적합성이 더 증가함을 알 수 있었다 (Figs. 4, 5). 이는 OA의 경우, 화학구조로부터 추정되는 결사슬의 길이가 VM7A와 유사하므로 OA에 비해 3배정도 더 긴 측쇄를 갖는 APPG에 비해 양호하게 미세 분리된 친수성/소수성 표면

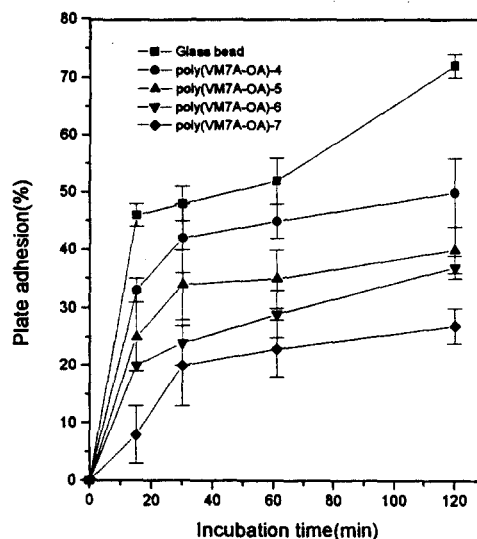


Figure 4. Platelet adhesion behaviors on PU films coated with Poly(VM7A-APPG). The numbers in sample name are related to the monomer composition ratios(VM7A:APPG) in synthesized copolymers as follows. Poly(VM7A-APPG)-2; 1:9, poly(VM7A-APPG)-3; 1:4, poly(VM7A-APPG)-4; 1:3.

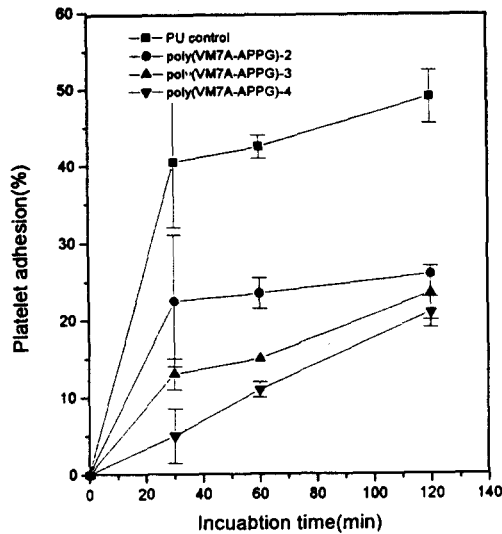


Figure 5. Platelet adhesion behaviors on PU films coated with poly(VM7A-OA). The numbers in sample name are related to the monomer composition ratios (VM7A:OA) in synthesized copolymers as follows. Poly(VM7A-OA)-4; 1:5.8, poly(VM7A-OA)-5; 1:5.1, poly(VM7A-OA)-6; 1:3.55, poly(VM7A-OA)-7; 1:3.2.

을 나타내어 효과적으로 혈소판의 흡착을 저해할 것으로 예상되었으나, APPG가 함유된 표면에 존재하는 긴 APPG 결사슬이 혈소판의 접근을 방해하는 효과가 추가되어 초기 (30분 이내)에 흡착되는 혈소판의 수가 감소한 것으로 나타났다.

혈소판의 형태 변화: 점착한 혈소판의 형태의 변화를 확인하기 위해 정제한 PU 필름 ($1 \times 1 \text{ cm}^2$)에 poly(VM7A-OA)와 poly(VM7A-APPG)의 친수성/소수성 랜덤공중합체들을 미리 3회 반복하여 코팅한 후 혈액적합성 평가방법과 동일한 방법으로 실험하였다. 각 필름들을 혈액과 120분간 접촉시키고 난 후 일련의 고정화, 건조 과정을 거쳐 SEM으로 측정하였다. Fig. 6에 보인 바와 같이 공중합체들이 코팅된 필름에 점착된 혈소판의 수를 control과 비교해보면 친수성/소수성 랜덤공중합체를 코팅한 재료에서는 control 필름 (PU)에 비해 현저히 적은 양의 혈소판이 점착되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 한편 control 필름 (PU)에서는 대부분의 점착된 혈소판에서 변형이 관찰되었으나, 공중합체가 코팅된 필름에서는 혈소판의 활성화에 기인하는 변형이 억제되

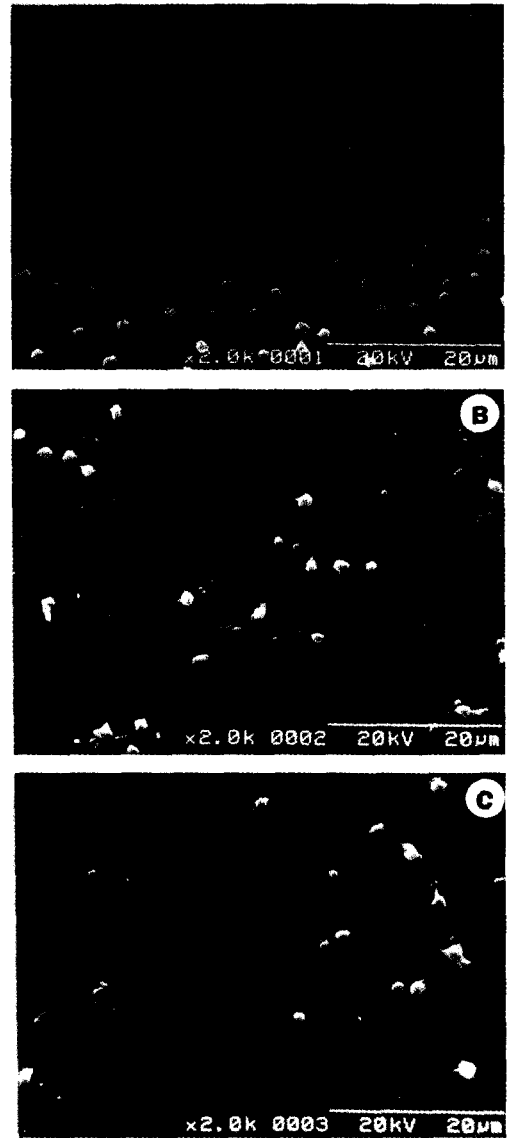


Figure 6. SEM photographs of platelet adhesion on (A) PU control film, (B) and (C) PU surface coated with poly(VM7A-APPG)-2 and poly(VM7A-APPG)-4 copolymers respectively.

었음을 알 수 있었다.

결론

이상의 결과들로부터, 합성한 공중합체들의 경우,

도입된 여러 관능기들의 특성에 기인하는 친수성/소수성 표면들이 공중합체들의 혈액적합성을 개선하였음을 알 수 있고, 이들 재료는 용이한 가공성 (코팅 등)으로 인하여 인공장기용 기초재료로서 적용 가능하다.

감사의 글: 본 연구는 1996년도 보건복지부 보건 의료기술개발사업 연구지원비 (과제번호: HMP-96-E-4-0009)로 수행되었으며, 이에 감사의 뜻을 표합니다.

참 고 문 헌

1. K. D. Park, and S. W. Kim, "Biomedical Application of Polyethylene Glycol Chemistry", Ed. by M. Harris, p. 283, Plenum Publ., N. Y., 1992.
2. J. H. Lee, J. Kopecek, and J. D. Andrade, *J. Biomed. Mater. Res.*, **23**, 351 (1989).
3. C. Nojiri, T. Okano, H. Jacobs, K. D. Park, S. F. Feijen, and S. W. Kim, *J. Biomat. Sci., Polymer Ed.*, **1**, 299 (1990).
4. D. K. Han, S. Y. Jeong, A. D. Ahn, Y. H. Kim, and B. G. Min, *J. Biomater. Sci., Polymer Ed.*, **4**, 579 (1993).
5. T. Okano, S. Nishiyama, H. Tahara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka, and T. Tsuruta, *J. Biomed. Mater. Res.*, **15**, 393 (1981).
6. M. Shimada, M. Kiyahar, H. Tahara, I. Shinohara, T. Okano, K. Kataoka, and Y. Sakurai, *Polymer J.*, **15**, 649 (1983).
7. M. D. Lelah and S. L. Cooper, Eds., "Polyurethane in Medicine", CRC Press, Boca Raton, FL, 1986.
8. K. Ishihara, H. Oshida, Y. Endo, T. Ueda, A. Watanabe, and N. Nakabayashi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26**, 203 (1992).
9. J. March, "Advanced Organic Chemistry: Reaction, Mechanisms and Structure", 4th ed., p. 42, John Wiley and Sons, NY, 1992.
10. K. Ishihara, H. Nomura, T. Mihara, K. Kurita, Y. Iwasaki, and N. Nakabayashi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **39**, 323 (1998).
11. H. J. Lee, K. D. Park, D. K. Han, Y. H. Kim, and I. Cho, *Polymer(Korea)*, **21**(6), 1045 (1997).