

Copoly (γ -methyl-L-glutamate-L-leucine) 膜의 物性과 透過성에 對한 研究

김형중 · 인교진 · 이영무 · 김계웅

漢陽大學校 工科大学 工業化學科

(1982년 12월 1일 접수, 1983년 1월 19일 심사완료)

要 約: Copoly (γ -methyl-L-glutamate-L-leucine) 膜의 透水性, 血液適合性 그리고 機械的性質을 檢討하였다. 各各의 아미노산을 포스겐화하여 合成한 NCA로 1,2-dichloroethane, benzene 中에서 triethylamine을 開始劑로 하여 다른 組成을 가지는 共重合體들을 均一하게 合成하였다. 合成한 共重合體들을 1,2-dichloroethane 혹은 trifluoroacetic acid에 녹인 다음 유리판 위에서 流延하여 膜을 製造하였다. 合成한 共重合體膜의 引張強度는 L-leucine 함량의 증가에 비례하여 커지는데 그 값은 $80 \sim 170 \text{ kg/cm}^2$ 였다. 그리고 hydraulic permeability로부터 계산한 活性化에너지 값은 이들의 단독중합체막의 값보다 컸으며 그 값은 $9 \sim 14 \text{ kcal/mole}$ 이다. 한편 分子量이 20,000인 용제의 제거율은 90% 이상이었다.

1. 序 論

플라즈마막에 대한 研究는 材質 자체가 人體 構成物質인 蛋白質과 類似性이 있기 때문에 多方面으로 應用하려는 노력이 꾸준히 推進되고 있다. 特히 醫療用 高分子膜으로서의 透過性和 溶質分離性 외에도 血液適合性和 機械的強度가 우수해야 하므로 플라즈마막의 이제까지 알려진 製法에 비추어 그의 活用性은 높다 하겠다.

플라즈마막으로서 homopolymer에 대한 研究는 多數 있으나 Copolymer에 대하여는 Copoly (γ -benzyl-L-glutamate-L-leucine)과 Poly- γ -benzyl-L-glutamate¹와 Polybutadiene의 ABA triblock copolymer² 등 少數에 지나지 않는다.

本 研究는 疎水性인 側鎖를 가지며 α -helix를 形成하는 L-leucine과 γ -methyl-L-glutamate를 random 공중합하여 이에 대한 透過性和 溶質分離性 實驗을 하였고 血液適合性을 檢討해 보기 위해 接觸角測定에 의한 臨界表面張力を 求하고

直接血液과 作用시켜 血液凝固時間(clotting time)을 測定하였다.

2. 實驗方法

2.1 試藥

L-leucine 및 L-glutamic acid는 特級試藥을 微粉碎하고 赤外線燈 下에서 12時間以上 減壓乾燥한 後 使用하였다. 또한 테트라히드로푸란(THF), 디옥산, n-헥산, 초산에틸, 1,2-디클로로에탄등을 一般精製法에 의해 充分히 脫水한 後 使用하였다. 其他 試藥은 一級 또는 特級을 그대로 使用하였다.

2.2 重合體 合成

γ -methyl-L-glutamate (γ -MLG)는 前報³와 같은 方法으로 合成하였다. 모노머인 γ -MLG 및 L-leucine의 N-carboxyanhydride (NCA) 역시 前報^{1,3}와 같은 方法으로 合成하였다. γ -MLG-NCA는 1,2-디클로로에탄으로 溫度差에 의한 再結晶 方法으로 3회以上 精製하였고, L-leucine NCA는

n-헥산, 초산에틸系로 3회以上 再結晶하여 重合에 使用하였다. γ -MLG-NCA는 白色鱗片狀結晶이었고 L-leucine NCA는 白色針狀結晶 혹은 無晶形이었다.

2.3 重合

精製된 各各의 NCA를 Table I과 같은 mole比로 調整한 뒤 벤젠, 1,2-디클로로에탄 및 벤젠-1,2-디클로로에탄 混合溶媒에 3%로 녹여 0.1M 트리에틸아민 용액으로 重合度(A/I)를 100으로 한 다음 3日 동안 30°C에서 重合하였다. 重合溶液은 메탄올에 침전시켜 精製한 뒤 乾燥하였다. 合成한 共重合體에 대한 特性데이터는 Table I과 같다. 固有粘度는 디클로로아세트산 또는 트리플루오로아세트산(TFA)으로 25°C에서 Übbelohde粘度計를 使用하여 測定하였다. Conformation 確認은 赤外線分光光度計 Bechmann model 18-A를 使用하였다. 共重合體는 전부 α -helix 구조로 되어있었다.

2.4 製膜 및 分離實驗

製膜은 PGL 1-9를 벤젠에 나머지는 TFA로 3%용액을 만들어 테이프를 일정한 두께로 조정 한 유리판 위에 流延한 後 常溫에서 一部 溶媒를 蒸發시키고 다시 60°C에서 溶媒를 소정 時間 蒸發시킨 다음 常溫의 물에 沈漬시켜 膜을 分離하였다. 이 膜을 다시 60°C로 12時間以上 減壓乾燥하여 얻은 膜의 두께는 약 15 μ m였다.

透過實驗 및 溶質分離實驗은 前報⁴와 같은 方法으로 하였다. 分離實驗에 使用한 試料濃度는 폴리에틸렌글리콜(PEG) 1540, 4000, 6000 및 20

000은 3%로 타이소자임은 1%로 하였다. 壓力은 3氣壓으로 加壓하여 water flux가 實常狀態에 到達했을 때의 透過液을 取하여 濃度를 測定하였다.

2.5 接觸角 測定

유리판 위에 試料를 塗布한 뒤 60°C에서 12時間以上 減壓乾燥하였다. 얻어진 試片 위에 여러 가지 液體를 少量 滴下하여 液과 高分子表面과의 接觸角을 Contact angle meter로 測定하였다. 使用한 Contact angle meter는 日本 Erma 光學株式會社 model G-1이었다.

2.6 血液 凝固時間(C.T) 測定

血液凝固時間 測定은 前報에서와 同一한 Lee-White法으로 測定하였다. 抗血栓性에 알부민이 미치는 效果가 뚜렷하다는 報告⁵에 의해 pH 7.4로 조정 한 인산緩衝溶液에 egg알부민을 넣어 0.1% 溶液으로 만든 후 각 試料를 塗布한 試驗管에 이 溶液을 0.5時間, 3時間 및 6時間동안 담그어 알부민 處理를 하였다. 다시 이 試驗管을 pH 7.4인 인산緩衝溶液으로 洗滌한 다음 72時間以上 減壓乾燥한 뒤 같은 方法으로 血液凝固時間을 測定하였다.

2.7 機械的 強度 測定

機械的 強度를 測定하기 위해 이미 製造한 膜을 길이 8cm 너비 1.5cm로 切斷하여 試片을 만든 후 이 試片으로 引張強度와 elongation을 測定하였다. 使用한 機器는 日本精密株式會社の Rheometer이다. 測定한 膜의 有効길이는 4cm였다.

3. 結果 및 考察

3.1 透水性

PGL 1-9부터 FGL 9-1까지 5種類의 膜에 對하여 溫度和 壓力을 變化시키면서 water flux, Jw를 측정한 結果, 一般의으로 壓力이 上昇함에 따라 Jw가 直線的으로 증가하는 傾向을 나타내는 것으로 보아 膜에 대한 壓密化效果는 없는 것으로 간주된다. 서로 PGL 1-9의 실험결과를 Fig. 1에 圖示하였다. 그리고 共重合體중의 모노머單位の 조성비에 따른 透水性을 比較檢討하기 위하여 Fig. 2에 30°C에서의 壓力變化에 대한 Jw를

Table I. Composition and Characteristics of Copolypeptides.

Sample No.	γ -me-L-glu. : leu. (mole ratio of NCA)	Polymerization Solvent	Conformation	$[\eta]$
PGL-9-1	90 : 10	DCE	a	1.17 ^b
PGL-3-1	75 : 25	"	a	1.13 ^b
PGL-1-1	50 : 50	"	a	1.68 ^b
PGL-1-3	25 : 75	Bz : DCE = 1 : 1	a	3.18 ^b
PGL-1-9	10 : 90	Benzene	a	1.15 ^c

a) Confirmed by IR spectra, α -helical Structure.

b) Measured in DCA. at 25°C

c) Measured in TFA. at 25°C

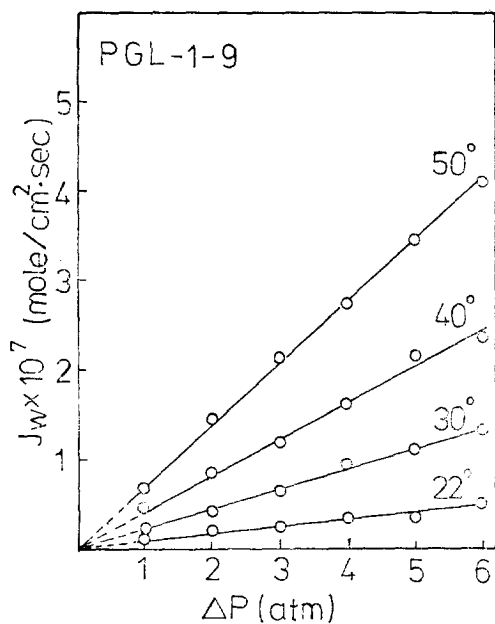


Fig. 1. Water flux vs. applied pressure at different temperatures.

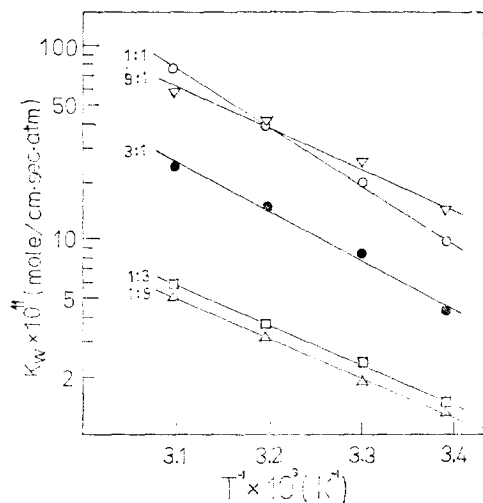


Fig. 3. Temperature dependence of copolypeptide membranes on hydraulic permeability K_w .

圖示하였다. 一般적으로 γ -MLG의 含量이 증가할수록 Water flux가 증가함을 알 수 있으나 PGL 1-3의 경우는 flux가 가장 작은 값을 나타내고 있는데 이와같은 現象은 膜의 構造狀 特性

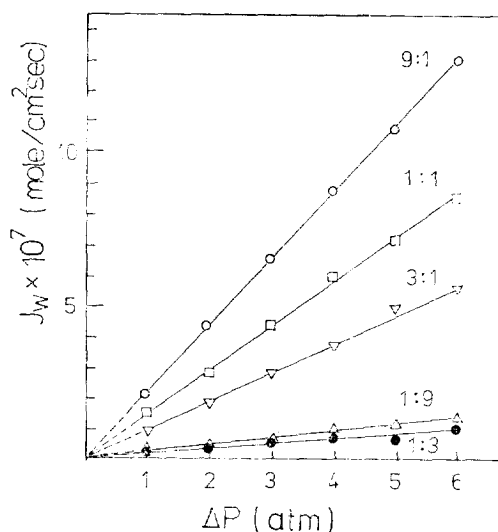


Fig. 2. Water flux vs. applied pressure at 30°C for copolypeptide membranes.

Table II. Permeability Data of Copolypeptide Membranes.

Sample No.	Permeability constant $K_w \times 10^{11}$ at 30°C (mole/cm. sec. atm)	Degree of Hydration, H	Activation energy, E (kcal/mole)
PGL-9-1	25	0.011	9.29
PGL-3-1	8.95	0.02	11.74
PGL-1-1	20.2	0.034	13.65
PGL-1-3	2.4	0.014	9.53
PGL-1-9	1.8	0.014	9.45

때문인 것으로 생각된다.

壓力勾配가 $\Delta p/\Delta x$ 일때 膜에 인접한 용액이 純粹한 물이면 hydraulic permeation은 다음과 같은 式으로 表示된다.

$$J_w = K_w \frac{\Delta p}{\Delta x}$$

여기서 Δp 는 操作壓力, Δx 는 膜의 두께이고 K_w 는 hydraulic permeability이다. 이 式은 膜內의 水分含量 즉 水和度가 적고 어떠한 bulk flow도 없을 때만 有用하다. 實驗에 使用한 膜의 水和度는 Table II에서와 같이 적은 값을 나타내므로 이 式을 適用할 수 있다. 實驗結果로부터 구한 K_w 를 溫度에 따라 Arrhenius plot하면 Fig. 3과 같은 直線이 얻어지는데 그 直線의 기울기로

Table III. Separation of Water Soluble Solutes Through Copolypeptide Membranes.

Solute	M.W.	PMLG	PGL-9-1	PGL-3-1	PGL-1-1	PGL-1-3	PGL-1-9
PEG 20,000 ^a	20,000	80.4	85	88	82	90	92
Lysozyme ^b	14,400	75	74	76	68	78.4	82
PEG 6,000 ^a	6,000	68	65	67	59.2	69	68
PEG 4,000 ^a	4,000	60.4	61	58	61	58	60
PEG 1,540 ^a	1,540	54.2	48	51.2	34	52	51

a) Initial concentration; 3%

b) Initial concentration; 1%

부터 膜의 活性化 energy를 구할 수 있다.

各 膜의 活性化 energy값과 30°C에서 K_w 값을 Table II에 表示하였다. K_w 값은 대체로 γ -MLG가 많을수록 증가함을 알 수 있었다. 측쇄에 이소부틸기를 가진 L-leucine의 含量이 많을수록 水和度가 떨어질 것으로 예상되었으나 PGL 1-3과 PGL 1-9가 가장 적었으며 PGL 1-1이 가장 큰 값을 나타내고 있다. 이 結果로부터 水和度와 透過性이 比例함을 알 수 있었다. 活性化 energy는 poly-L-leucine膜⁴의 6.64kcal/mole, poly- γ -benzyl-L-glutamate膜⁶의 6.20kcal/mole, copoly(γ -benzyl-L-glutamate-L-leucine)(1:1 重合體)膜¹의 6.00kcal/mole보다 큰 값이다. PGL 1-1의 경우 poly- γ -methyl-L-glutamate膜의 9.16 kcal/mole보다 4.54kcal/mole정도 더 큰 값을 나타내고 있다.

3.2 水溶性 溶質의 分離

水溶性 溶質의 分離實驗結果를 Table III에 나타내었다. 溶質의 分子量이 클수록 排除率¹이 증가함을 알 수 있다. 그러나 PGL 1-1의 경우 PEG 1540의 排除率¹이 34% 정도이다. 이 점은 실제 醫療用分離膜으로 人工腎臟透折膜에 要求되는 分子量이 500~5,000 사이의 中分子量 物質의 透過性이 우수해야 하는 것⁷과 10,000以上の 高分子物質의 排除率¹이 커야된다는 점을 감안할 때 좋은 分離性能을 가지고 있다고 생각된다.

3.3 臨界面張力과 血液凝固時間

3.3.1 臨界面張力

臨界面張力은 試料에 對한 여러가지 液體의 接觸角을 測定하여 Zisman⁸ 등의 方法으로 구하였다. Zisman은 液體와 物質과의 接觸角 θ 의 $\cos$ 값과 그 液體의 表面張力간에는 直線關係가 있

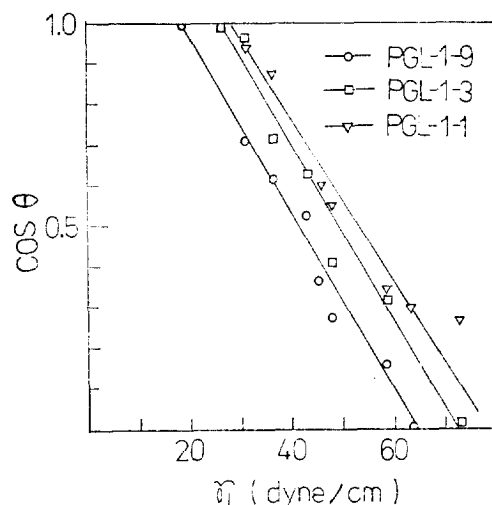


Fig. 4. Zisman plot of copolypeptides to obtain the critical surface tension.

Table IV. Surface Tension and Clotting Time of Copolypeptides.

Sample	γ_c (dyne/cm)	CT (min)	a CT-0.5 (min)	b CT-3 (min)	c CT-6 (min)
PGL-9-1	25.5	18.5	20.3	24.5	24.5
PGL-3-1	29.1	28	26.5	28.6	30.7
PGL-1-1	28.1	29.5	28.9	31	32.0
PGL-1-3	25.3	25.5	25.5	27.2	30.3
PGL-1-9	18.9	21.5	22.5	23.2	29.5

Dipping the copolypeptides in 0.1% albumin solution for a) 30 minutes b), hours, and c) 6 hours before drying in vacuum oven for more than 72 hours.

음을 밝히고 이 直線을 $\cos \theta = 1$ 까지 外插하여 얻는 表面張力값을 臨界面張力(Critical surface tension) γ_c 라 하였다. 일부 시료의 Zisman plot

Table V. Mechanical Properties of Copolypeptide Membranes.

Sample No.	Tensile strength (kg/cm ²)	Elongation at break (%)
PGL-10-0	78.8	1.846
PGL-9-1	84.5	2.24
PGL-3-1	95.5	2.432
PGL-1-1	148	3.8
PGL-1-3	149	4.11
PGL-1-9	165	4.6
Cuprophane	236.5	—

를 Fig. 4에 나타냈다. Zisman plot로 부터 얻은 γ_c 값을 Table IV에 나타내었다. Bayer⁹ 등은 血液適合性이 좋은 材料의 臨界面張力값은 20~30dyne/cm 범위 內에 있다고 發表한 바 있다. PGL 1-9를 제외하고 本 實驗에서 얻은 共重合體는 대체로 이 범위내에 들고 있다.

3.3.2 血液凝固時間의 測定

血液凝固時間의 測定結果를 Table IV에 表示하였다. PGL 1-1이 29.5분으로 가장 우수함을 알 수 있다. 알부민處理 試驗管은 處理時間이 길수록 血液이 凝固되는 時間도 길어짐을 알 수 있었다. PGL 1-9의 경우 最高로 8분이량이 길어졌으며 특히 PGL 1-1에 있어서 알부민處理한 것은 32분으로 알부민處理를 하지 않은 것과 마찬가지로 處理한 것 중 가장 긴 凝固時間을 가지고 있어 注目할 만 하다.

最近 岡野¹⁰ 등은 親水性和 疎水性이 교대로 重合된 共重合體들이 血液適合性이 뛰어난 效果를 가져온다고 發表하였다. PGL 1-1이 親水-疎水 側鎖를 가진 모노머를 同量으로하여 重合하였으므로 위의 研究結果와 일치한다고 推論할 수 있겠다. 그러나 이에 대한 確實한 理論은 좀더 구체적인 研究가 進行되어야 할 것으로 생각된다.

3.4 機械的 強度

引張強도와 elongation(%)의 測定結果는 Table V와 같다. 現在 醫療用分離膜으로 사용되는 Cuprophane膜의 引張強度인 236.5kg/cm²과 比較하면 전반적으로 낮은 값을 나타내고 있으나 L-leucine의 含量이 많을수록 機械的強度는 향상됨을 알 수 있다. 機械的強度面에서 볼 때 實用化를 위해서는 좀더 引張強度가 보강되어야 할

必要가 있다고 생각된다.

4. 結 論

以上の 結論을 綜合해 보면 다음과 같은 結論을 내릴 수 있다.

1. 溶媒인 물의 透過性은 γ -MLG의 含量이 커질수록 전반적으로 증가하는 경향을 나타내고 있다.

2. 活性化 energy값은 이미 發表된 폴리펩티드膜보다 큰 값을 가지고 있고 純粹한 물의 毛細管흐름에서 얻은 活性化 energy값 4kcal/mole보다 커서 膜內의 물의 透過가 毛細管에 의한 粘性흐름이 아님을 알 수 있다.

3. 溶質分離性에 있어 分子量이 20,000以上일 때 85~92%의 良好한 溶質排除率을 보이고 있으며 특히 PGL 1-1의 경우에는 分子量이 1540인 PEG의 排除率이 34%밖에 안되므로 人工腎臟用膜으로 使用이 기대된다.

4. 臨界面張力은 大部分이 20~30dyne/cm 사이의 값에 있고 抗血栓性이 우수한 편이다. 또 알부민 處理한 것이 하지 않은 것보다 凝固時間이 긴 것으로 보아 알부민이 血液凝固에 重要한 因子로 作用함을 알 수 있다.

5. 機械的強度는 그리 우수하지는 못하나 다른 材質과의 複合使用으로 향상될 수 있을 것으로 생각된다.

引 用 文 獻

1. K.Y. Kim and J.H. Koh, *Polymer (Korea)*, **5**, 1, 44 (1981).
2. A. Nakajima et al., *Macromolecules*, **12**, 5, 840 (1979).
3. K.Y. Kim and H.J. Kim, *Polymer (Korea)*, **5**, 5 (1981).
4. K.Y. Kim and Y.M. Lee, *Polymer (Korea)*, **3**, 4, 260(1979).
5. T. Beugeling, *Journal of Polym. Sci. Polymer Symposia* **66**, 419 (1979).
6. K.Y. Kim Y.M. Lee and J.H. Koh, *Polymer (Korea)*, **4**, 6, 499 (1980).
7. 小村育男 et al, 高分子論文集, **37**, 6, 413 (1980).

8. H.W. Fox and W.A. Zisman, *J. Colloid Sci.*, **7**, 109 (1952).
9. R.E. Baier, *NY Acad. Med.*, **48**, 257
10. 岡野 光夫, 西山 聖二, 篠原 功, 赤池 敏宏, 櫻井 靖久, 高分子論文集, Vol. 36, 4, 209. (1972).

Properties and Permeability of Copoly (γ -methyl-L-glutamate-L-leucine) Membrane

H.J. Kim, K.J. In, Y.M. Lee, and K.Y. Kim,

Department of Industrial Chemistry, Hanyang University, Seoul 133 Korea

(Received December 1, 1982; Accepted January 19, 1983)

Abstract: Water permeation, blood compatibility and mechanical properties of copoly(γ -methyl-L-glutamate-L-leucine) membranes were investigated. The copolymers with different compositions were synthesized in 1,2-dichloroethane or in benzene by phosgenation of each amino acid's NCA by triethylamine as an initiator. Thus prepared copolymers were dissolved in 1,2-dichloroethane or trifluoroacetic acid, and cast on the glass plate to prepare the membranes. The tensile strength of membranes are increased with increasing L-leucine content, of the range of 80—170kg/cm², and activation energies were calculated from hydraulic permeabilities were greater than those of homopolypeptides, being in the range of 9—14kcal/mole. The rejection rates of solute having molecular weight of 20,000 through these membranes were more than 90%.