

Block Copoly(dimethylsiloxane-L-leucine)의 혈액적합성과 표면특성

장성욱 · 김정학 · 박창규 · 성용길* · 조종수** · 김계용
한양대학교 공과대학 공업화학과 · *동국대학교 화학과 · **전남대학교 고분자공학과
(1988년 10월 7일 접수)

Blood Compatibility of Block Copoly(dimethylsiloxane-L-leucine) and Surface Properties

S. W. Jang, J. H. Kim, C. K. Park, Y. K. Sung*, J. S. Cho**, and K. Y. Kim

Dept. of Industrial Chemistry, College of Eng., Hanyang Univ., Seoul 133-791, Korea

**Dept. of Chemistry, Dongguk Univ., Pil-dong, Jung-gu, Seoul 100-715, Korea*

***Dept. of Polymer Eng., Chonnam National Univ., Kwangju 500-757, Korea*

(Received October 7, 1988)

요약 : Dimethylsiloxane과 L-leucine으로 합성한 공중합체, blendmer, 단일 중합체의 혈액 적합성과 표면현상을 검토해 보았다. Polydimethylsiloxane은 n-butyllithium을 개시제로 hexamethylcyclotrisiloxane을 개환중합으로 합성하였다. 공중합체는 클로로포름중에서 아민말단 polydimethylsiloxane으로 L-leucine N-carboxyanhydride (NCA)를 개환중합하여 합성하였다. 혈액 적합성 실험은 microsphere column법과 Lee-White법으로 하였다. 고분자 표면에서의 혈소판 거동을 주사전자현미경으로 관찰하였으며 유출된 잔류 혈소판수를 Coulter Counter로 측정하였다.

Abstract : Blood compatibility and surface property has been studied for copolymer, blendmer and homopolymer composed of dimethylsiloxane and L-leucine. Polydimethylsiloxane was synthesized by ring opening polymerization of hexamethylcyclotrisiloxane with n-butyllithium as an initiator. Block copolymer was prepared by ring opening polymerization of L-leucine NCA with amine terminated polydimethylsiloxane in chloroform. The microsphere column method and Lee-White method were used for the evaluation of blood compatibility. The behavior of platelet on the polymer surface was investigated by SEM, and the average number of eluted platelet through the column was measured by Coulter Counter.

서 론

인간생활이 윤택해지고 과학이 발달함에 따라 보다 편리하고 효율적인 여러가지 소재개발에 많은 연구가 진행되고 있다. 이 중에서도 주목되는

것은 고분자 소재를 이용한 의료용 재료의 개발이다. 의료용 고분자 재료는 의료장치 및 인공장기로서 사용되고 있는데 현재 많이 사용되고 있는 재료로는 항혈전성이 양호한 실로콘 고무, 기계적 성질이 우수한 폴리우레탄, 생체 유사물질

인 젤라틴등이 있다. 이 중에서도 우레탄과 실리콘의 단일중합체 또는 이들의 공중합체는 항혈전성이 우수하므로 생체적합성 재료를 개발하는 연구의 대상물질이 되고 있다.^{1,2}

본 실험에서는 실리콘계 모노머와 생체구조 성분인 L-leucine을 사용하여 블록 공중합체, 이들의 단일 중합체를 합성하고 단일 중합체를 혼합한 blendmer에 대한 항혈전성을 비교 검토하였다. 재료의 표면특성과 혈액응고와의 관계를 고찰하기 위해 재료의 임계표면장력을 측정하였으며 재료 표면에서 혈소판의 모폴로지를 주사전자현미경으로 관찰하였다.

실 험

시 약

D₃(hexamethylcyclotrisiloxane)는 Petrach System Inc. 제품을 그대로 사용하였으며, GAPTSS (γ -aminopropyltriethoxysilane)는 동경화성(일본) 제품을 그대로 사용하였다. L-leucine은 일본 이화학약품 제품을 사용하였고, 다른 시약들은

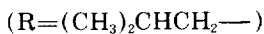
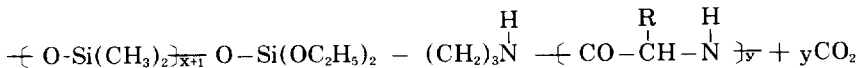
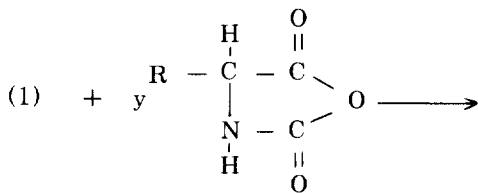
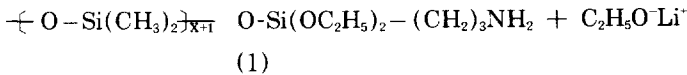
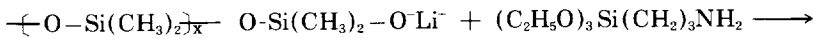
일반적인 방법으로 탈수 정제하여 사용하였다.

공중합체의 합성

Amine-terminated polydimethylsiloxane과 L-leucine N-carboxyanhydride (NCA)는 전보³와 같은 방법으로 합성하였다. 공중합체는 L-leucine NCA와 amine-terminated silicone을 균일계 용매인 클로로포름중에서 공중합하였으며 이때 실리콘말단의 아민기가 NCA의 개시제 역할을 한다. 비교적 일정한 분자량을 가진 아민말단 실리콘을 사용하여 실온에서 약 100시간 L-leucine NCA와 반응함으로써 단분산에 가까운 블록 공중합체를 얻었다. 합성한 블록 공중합체는 메탄올에 침전시켜 분리하였다. 또한 단일 펩티드는 Soxhlet 장치를 이용하여 벤젠을 용매로 추출하였다. 합성식은 reaction scheme과 같다.

항혈전성 평가 실험

각 재료에 대한 혈소판의 점착능을 검토하기 위한 microsphere column법⁴, 재료 표면에서 혈액이 응고되는 시간을 측정하기 위한 Lee-White 법을 이용하여 전보³와 같은 방법으로 측정하였다.



Reaction scheme

임계 표면장력 측정

재료의 임계 표면장력을 측정하기 위해 접촉각을 측정하였다. 접촉각은 일본 Erma 광학사의 model G-1을 이용하여 전보³와 같은 방법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

공중합체의 확인

Fig.1(a)는 polydimethylsiloxane, Fig.1(b)는 공중합체의 FTIR 스펙트럼이다. Fig.1(b)에서 1020cm⁻¹와 1100cm⁻¹ 사이에서 실록산의 흡수띠가 확인되었고 1250cm⁻¹에서는 Si-C 흡수띠가 확인되었다. 또한 1650cm⁻¹에서 amide I 흡수띠와

1550cm⁻¹에서 amide II 흡수띠를 확인할 수 있었으며, 3300cm⁻¹ 부근에서 N-H기의 신축 진동 흡수띠를 확인하였다. 일반적으로 α-helix 구조는 amide I 흡수띠가 1650cm⁻¹, amide II 흡수띠가 1550cm⁻¹에서 관찰되며, random coil 구조는 amide I 흡수띠가 1656cm⁻¹, amide II 흡수띠가 1535cm⁻¹에서 관찰되므로 이상의 결과로서 공중합체중의 펩티드는 α-helix 구조임을 알 수 있었다.⁵ Mark-Houwink의 점도식⁶으로 부터 구한 silicone의 분자량은 9,400 정도였으며, NMR을 이용해 공중합체중의 silicone:펩티드가 1:1.8의 비율로 되어 있는것을 확인하였다. 따라서 공중합체의 분자량은 약 25,000이다. Blendmer는 분자량 9,400의 silicone과 사까모도식⁷으로 측정된 분자량 30,000의 폴리펩티드를 1:1(w/w)로 하여 제조하였다.

점착 혈소판수 측정

본 실험에서는 *in vitro* 평가법으로 항혈전성 실험을 하였다. *in vitro* 평가법으로 가장 많이 사용되고 있는 것은 Lee-White 법이며, 이것의 단점은 혈액이 공기와 접촉하기 때문에 혈액응고가 촉진되어 정확한 평가를 할 수 없다는 것이다. 따라서 본 실험에서는 Lee-White법과 Lee-White 법, film depositing법 등의 *in vitro*법을 개량하여

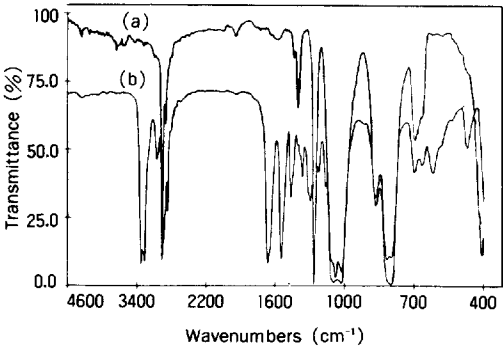


Fig. 1 Infrared spectra of polydimethylsiloxane(a) and copoly(dimethylsiloxane-L-leucine) (b).

Table 1. Clotting Time Ratio and Ratio of Attached Platelets in the Column

Sample	Clotting Time Ratio	Ratio of Attached Platelets (%)
Glass	1.0	.
Blendmer	1.2	22.8
Copolymer	3.2	10.5
PLL	2.9	15.4
Silicone	3.0	.

PLL : poly(L-leucine), ratio of attached platelets in the column (RAP)

$$RAP(\%) = \frac{\text{number of platelets in the column}}{\text{number of platelets in the fresh blood}}$$

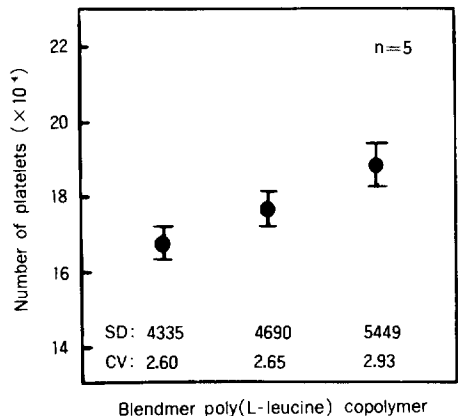


Fig. 2. Number of platelets passed through the microsphere column. SD:standard deviation, CV:coefficient variance.

혈액이 공기와 접촉하지 않도록 고안한 *microsphere column*법을 이용하였다. Lee-White법에 의한 혈액응고 시간을 Table 1에 나타내었으며, *microsphere column*법으로 측정된 잔류혈소판수를 Fig.2에 나타내었다. 그리고 각 재료의 점착능을 Table 1에 표시하였다.

주사전자현미경에 의한 점착혈소판의 관찰

합성한 블록 공중합체, 실리콘, Poly(L-leucine) (PLL) 그리고 *blendmer* 표면에서의 혈소판의 점착거동을 살펴보기 위한 주사전자현미경 사진을 Fig.3에 나타내었다. Fig.3에서 보면 1분 30초 동안 혈액을 통과시켰을 때 (A)의 *blendmer*의 경우에는 완전히 혈소판이 파괴된 것을 확인할 수 있었으며, (B)의 PLL 경우에는 어느정도 일그러진 형태의 혈소판을 관찰할 수 있었고, 실리콘(C)과 블록 공중합체(D)의 경우에는 파괴되지 않은 혈소판을 관찰할 수 있었다. 혈소판의 모폴로지 관찰 결과 블록 공중합체가 *blendmer*

나 단일중합체 보다 항혈전성이 다소 우수한 것을 알 수 있었다.

임계표면장력 측정

각 시료의 임계표면장력을 측정된 결과 *blendmer* 18.6dyn/cm, PLL 21dyn/cm, 실리콘 17.2dyn/cm, 블록 공중합체 23.7dyn/cm의 값을 나타내는 것을 알 수 있었다. 이들 값중 블록 공중합체의 경우에 Leninger등⁸이 주장하는 좋은 항혈전성을 나타내는 재료의 임계표면장력 범위인 25dyn/cm 부근의 값을 나타내는 것을 알 수 있었으며, 혈소판의 모폴로지 관찰과도 일치하고 있는 것을 확인할 수 있었다.(Fig. 4)

현재 의료용 재료에 대한 많은 연구가 진행되고 있고 그 중에서도 중요한 인자로 제기되는 것이 생체적합성과 항혈전성이다. 본 실험은 이 두가지 요소중에 항혈전성에 관해서 검토해 보았다. 그러나 실험실적인 *in vitro* 실험에는 한계가 있고, 우리가 여기서 검토한 항혈전성은 여러가

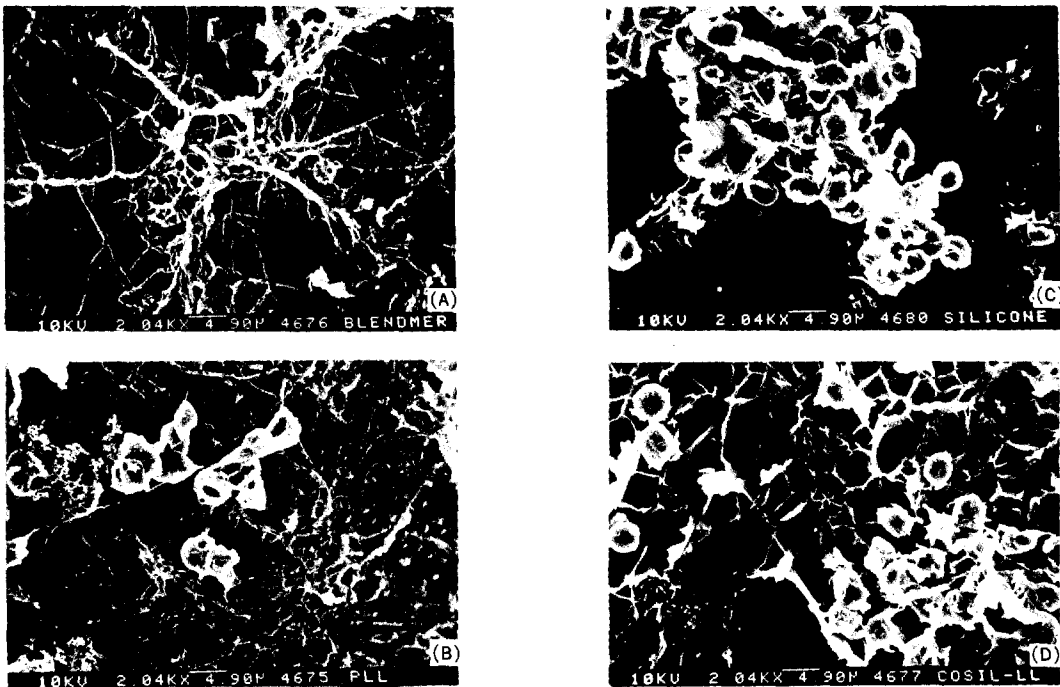


Fig. 3. Appearance of adhered platelets on the various polymer surfaces. A) *blendmer*, B) PLL, C) silicone, D) copolymer.

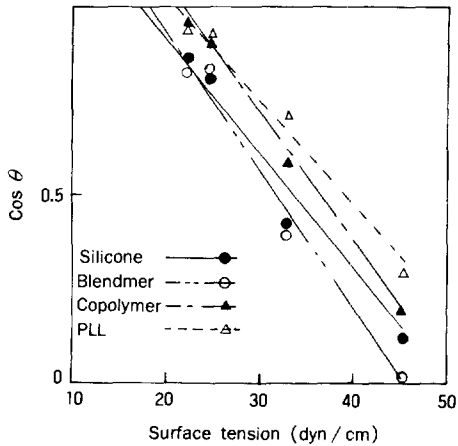


Fig. 4. Critical surface tensions of polymer surfaces by Zisman plot.

지 의용재료 실험인자중 몇가지에 불과한 것이며 또한 장기간 사용시에는 체내의 여러 물질과의 반응으로 인한 물성의 저하, 개체의 차이에서 발생하는 성능의 차이점등 그 인자는 아주 복잡하며, 이들 영향을 모두 실험한다는 것은 불가능하다. 그러므로 여기서는 일반적인 체외 실험에 한정하여 그 결과를 살펴보았다.

여기서 사용된 실리콘과 펩티드 공중합체도 전보⁴에서 처럼 공중합체의 용해성과 기계적 성질에 문제가 있었는데, 본 실험에서도 이 문제를 완전히 해결하지 못하였다. 합성한 공중합체의 용매가 좋은 용매가 아니어서 코팅된 유리구슬 표면의 불균일성 때문에 항혈전성이 약간 저하된 값을 나타낸 것으로 생각된다. 앞으로 좋은 용매를 찾아내면 좀더 좋은 결과를 얻을 것으로 생각된다.

공중합체가 다소 향상된 항혈전성을 나타내는 것은 항혈전성이 좋은 실리콘이 무정형을 형성하고, 생체 유사물질인 펩티드는 분자내의 수소결합을 갖는 α-helix 형성에 의한 불균일 구조에 기인되는 것으로 생각된다. 현재 이러한 상분리 구조를 이용하여 만든 의용 재료로는 Pellethane, Biomer, Avcothane등^{1,2}이 있다. 임계표면장력과 관계에 있어서는 Leninger 등이 항혈전성이

좋다고 주장한 25dyne/cm 부근의 값을 갖는 블록 공중합체가 다른 재료보다 항혈전성이 우수한 결과를 나타내고 있지만 이 범위를 만족하는 재료가 꼭 항혈전성이 우수하다고 말할 수는 없다.

결 론

본 연구에서는 dimethylsiloxane과 L-leucine을 단일 중합, 블록중합 및 단일 중합체의 blendmer를 만들어 항혈전성을 측정된 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Copoly(dimethylsiloxane-L-leucine)이 homopoly peptide인 PLL이나 실리콘 그리고 blendmer보다 항혈전성이 우수한 것을 알 수 있었다.
2. 임계표면장력이 25dyn/cm 부근의 값을 갖는 블록 공중합체가 실험에 사용된 다른 재료보다 항혈전성이 우수함을 알 수 있었다.

본 연구는 한국과학재단과 문교부학술 연구비의 보조로 이루어졌으므로 이에 감사드리는 바입니다.

참 고 문 헌

1. J. W. Boretos, et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, **9**, 327(1975).
2. E. Nylas, et al., *J. Biomed. Mater. Res Symp.*, No. 3, 129(1973).
3. K. Y. Kim, et al., *Polymer (Korea)*, **5**, 44 (1981).
4. K. Y. Kim, et al., *Polymer (Korea)*, **9**, 156 (1985).
5. N. Minoura and T. Nakagawa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **23**, 2729(1979).
6. A. J. Barry, *J. Appl. Phys.*, **17**, 1020(1946).
7. 坂元, 第19回 高分子學會 年次大會要旨集, p. 382, 1970.
8. R. I. Leninger, et al., *TASAIO*, **19**, 188(1973).