

측쇄에 에스테르기를 갖는 폴리우레탄의 표면개질 및 혈액적합성

최 명 석 · 강 인 규[†] · 김 교 한* · 이 영 무** · 성 용 길***

경북대학교 고분자공학과, *치과재료학교실, **한양대학교 공업화학과, ***동국대학교 화학과

(1997년 4월 10일 접수)

Surface Modifications of Polyurethane Containing Ester Groups in the Side Chain and Their Blood Compatibility

Myung Seok Choi, Inn-Kyu Kang[†], Kyo Han Kim*, Young Moo Lee**, and Yong Kiel Sung***

Department of Polymer Science and *Department of Dental Materials,

Kyungpook National Univ., Taegu 702-701, Korea

**Department of Industrial Chemistry, Hanyang Univ., Seoul 133-791, Korea

***Department of Chemistry, Dongguk Univ., Seoul 100-715, Korea

(Received April 10, 1997)

요 약: 폴리테트라메틸렌글리콜 (PTMG)과 메틸렌디페닐디이소시아네이트 (MDI)로부터 폴리우레탄 prepolymer를 합성한 다음 에틸히드록시메틸프로피오네이트 (EDHMP)로 사슬연장하여 폴리에테르우레탄 (PU)을 합성하였다. PU필름을 화학적으로 개질하여 표면에 카복시기 (PU-C), 폴리에틸렌옥사이드 (PU-PEO), 및 헤파린 (PU-C-Hep, PU-PEO-Hep)을 도입하였으며 이들의 *in vitro* 혈액적합성을 조사하였다. 헤파린이 고정화된 PU-C-Hep와 PU-PEO-Hep의 경우 1시간 동안 혈액과 접촉하였을 때 생성된 혈전이 각각 38%, 35%로 가장 적었다. 또한 헤파린 고정화 표면에서는 갑속재침가 응고시간 (PRT)과 부분활성화 트롬보플라스틴 시간 (APTT)이 다른 표면보다 길게 나타나 혈장단백질의 활성화가 억제됨을 알 수 있었다. 한편 헤파린 고정화 표면에 점착한 혈소판의 양은 다른 표면에서보다 상대적으로 적은 값을 나타내었고, 이들 결과는 주사형 전자현미경으로 관찰한 결과와 일치하였다.

ABSTRACT: Polyetherurethane (PU) was synthesized by reaction of 4,4'-diphenylmethane diisocyanate (MDI) and polytetramethylene glycol (PTMG) followed by chain extension reaction with ethyl 2,2-dihydroxymethylpropionate (EDHMP). PU films were chemically modified to obtain carboxylic acid-introduced PU (PU-C), polyoxyethylene-grafted PU (PU-PEO) and heparin-immobilized PU (PU-C-Hep, PU-PEO-Hep) and their *in-vitro* blood compatibility were examined. PU-C-Hep (38%) and PU-PEO-Hep (35%) showed relatively low thrombus formation when they contacted with blood for 1 h. Plasma recalcification time (PRT) and activated partial thromboplastin time (APTT) were increased by heparin immobilization, showing the suppression of the activation of plasma proteins. These results were consistent with those obtained by the observation of scanning electron microscope (SEM).

Keywords: polyetherurethane, EDHMP, surface modification, *in-vitro* blood compatibility.

서 론

합성고분자를 이용하여 생체내 장기의 기능을 수행할 수 있는 인공장기의 개발이 활발히 진행되고 있

다. 특히 폴리우레탄은 다른 범용고분자에 비해 비교적 우수한 혈액적합성과 기계적 성질을 가지고 있어서 혈액에 접촉시 탄성이 요구되어지는 인공심장, 인공혈관 등의 재료로서 주목되고 있다.^{1,2}

폴리우레탄은 polyol과 diisocyanate의 반응에 의해 합성되어진 prepolymer를 저분자량의 diol 혹은 diamine으로 사슬연장시킴으로써 얻을 수 있다. 또한 soft segment 영역인 polyol과 hard segment 영역인 diisocyanate 및 사슬연장제가 서로 상분리된 불균질 구조로 되어 있으며³ 이들의 분자량, 화학특성, 사슬연장제의 종류에 따라 물리적, 화학적 성질이 좌우된다.⁴ 1967년 Boretos 등은 인공심장용 롤러형 펌프에 Lycra (상품명)를 응용하였고, 1971년에는 폴리우레탄 블록공중합체인 Avcothane을 개발하였다. 1972년에는 폴리테르우레탄을 동물에 이식하여 *in-vivo* 실험을 행함으로써 혈액적합성이 우수하다는 것이 밝혀졌다.⁵ 지금까지 의료용재료로 상품화된 폴리우레탄은 Ethicon Inc.의 Biomer, Kontron Inc.의 Cardiothane, Upjohn Chemical사의 Pellethane 그리고 Thermomedics의 Tecoflex 등을 들 수 있다.

재료의 혈액적합성은 항혈전성과 혈액성분을 손상시키지 않는 성질로 크게 나눌 수 있다. 전자는 재료 표면과 혈관내에서 혈전형성을 제어하는 성질이고, 후자는 적혈구의 파괴, 혈소판의 기능저하, 그리고 보체의 활성화 등을 감소시키는 성질이다. 이와 같은 혈액적합성은 인공심장이나 인공혈관 등에 필수적으로 요구되어진다. 폴리우레탄이 의료용으로 광범위하게 응용되기에는 아직 혈액적합성이 만족스럽지는 못하다. 일반적으로 혈액이 이물질과 접촉하면 혈소판이나 혈장 중의 여러 응고인자의 활성화에 의해 혈액응고가 진행되는데, 최종적으로 활성트롬빈에 의해 피브리노겐이 피브린으로 가수분해되고 이것이 3차 망상구조를 형성하여 적혈구나 백혈구와 같은 혈구를 점착시켜 혈전이 생성된다. 이때 트롬빈의 활성을 억제하여 혈액응고를 저지시켜 주는 항응고제로서는 천연 헤파린이나 poly(vinyl sulfonate)와 같은 헤파린 유사고분자 그리고 MD-805 (상품명) 등과 같은 트롬빈 inhibitor가 있다.⁶ 이 중에서 헤파린을 고정화한 폴리우레탄막이 가장 우수한 혈액적합성을 나타내는 것으로 보고되고 있다.⁷⁻⁹

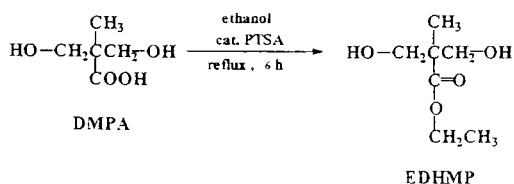
Park 등은¹⁰ 톨루엔디이소시아네트와 폴리에틸렌옥시드(PEO)를 반응시킨 후 이들을 폴리우레탄튜브 내부에 표면반응시켜 항혈전성을 향상시켰고, 특히 분자량 4000의 PEO를 space로 사용한 경우 높은 항혈

전성을 나타냈다고 보고하였다. 또한 Han 등은¹¹ 폴리우레탄 주쇄의 우레탄기에 헥사메틸렌디이소시아네이트를 반응시켜 직접 또는 폴리에틸렌옥시드를 space로 사용하여 헤파린을 결합시켰다. 그결과 PEO를 space로 사용하여 헤파린을 고정화한 경우가 보다 나은 혈액적합성을 나타냈다고 보고하였다.¹²

기존의 연구에서 폴리우레탄 주쇄에 이소시아네트를 반응시키는 경우 디메틸아세트아미드,¹⁰ 톨루엔¹¹ 등 유기용매를 사용하였는데, 본 연구에서는 측쇄에 에스테르기를 갖는 사슬연장제를 이용하여 폴리우레탄을 합성함으로써 유기용매를 배제한 수용액상에서 폴리우레탄의 표면반응을 행하였다. 즉 dihydroxymethylpropionic acid (DMPA)로부터 ethyl 2,2-dihydroxymethylpropionate (EDHMP)를 합성하고, 이것을 사슬연장제로 이용하여 폴리우레탄 prepolymer와 반응시킴으로써 측쇄에 에스테르기를 갖는 폴리우레탄을 합성하였다. 또한 폴리우레탄막 표면의 에스테르기를 카복시기로 전환시키고, 폴리에틸렌옥시드를 그래프트한 다음 헤파린을 공유결합하였다. 그리고 얻어진 표면개질된 폴리우레탄들의 *in vitro* 혈액적합성을 조사하였다.

실험

시약. 4,4'-Diphenylmethane diisocyanate (MDI)는 일본 Wako사의 제품을 사용하였으며, 폴리테트라메틸렌글리콜 (PTMG)은 Polyscience사의 제품으로 분자량 1000인 것을 사용하였다. 디메틸포름아미드는 감압정제하여 사용하였고 DMPA와 에탄올 그리고 말단에 아미노기를 갖는 폴리에틸렌옥시드 (PEO)는 Sigma사의 제품으로 분자량 3350인 것을 사용하였다. 헤파린나트륨염 (187.5 I.U./mg)은 Nacalai 제품을 사용하였고, toluidine blue는 Fluka제를 사용하였다. 수용성 카르보디이미드 (WSC)와 트롬빈은 Sigma사의 제품을 사용하였으며 초산은 Junsei사의 제품을 사용하였고, 혈액실험에 사용된 sodium citrate dihydrate는 Shinyo사의 1급 시약을 D-glucose anhydrous와 citric acid monohydrate는 영국의 Avondale사 제품을 그대로 사용하였다. Potassium dihydrogen phosphate는 Kanto사의 제품을 사용하였으며, disodium hydrogen



Scheme 1. Synthesis of ethyl 2,2-dihydroxymethylpropionate.

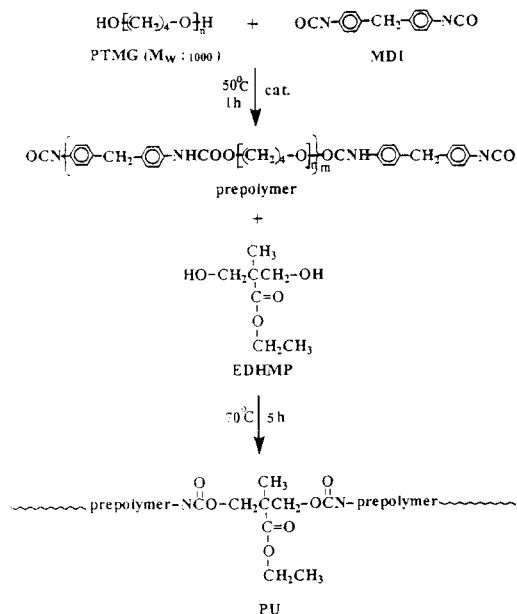
phosphate anhydrous는 Wako사의 제품을 그대로 사용하였다.

EDHMP의 합성.¹³ 삼구플라스크에 에탄올 600 mL을 넣고 dihydroxymethyl-propionic acid 10 g을 녹인 후 *p*-toluenesulfonic acid 14.3 g을 넣고 80 °C에서 6시간 동안 환류하여 에스테르화 반응을 진행시켰다. 반응 종결 후 회전증발기로 에탄올을 제거한 다음 NaHCO₃ 포화수용액 100 mL를 넣어 희석시키고 에틸아세테이트로 추출하였다. 위 반응을 Scheme 1에 나타내었다. 추출액을 농축한 뒤 0.1 torr, 90 °C에서 감압정제하여 무색의 액체인 ethyl 2,2-bishydroxymethylpropionate를 얻었다. 수율은 약 50%였다.

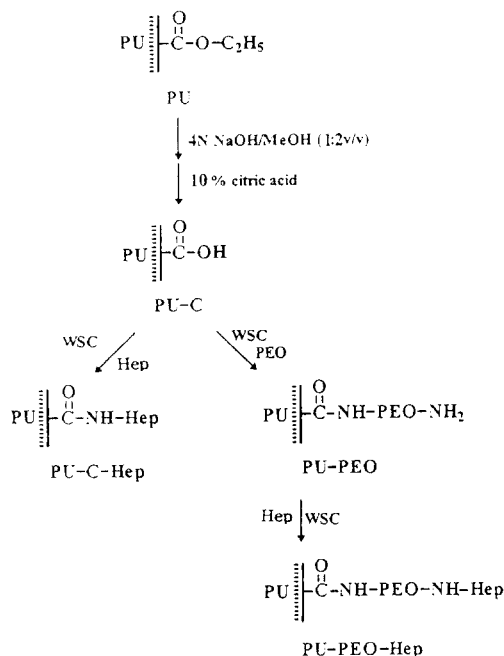
폴리우레탄 (PU)의 합성.¹⁴ MDI와 PTMG의 볼비를 달리하여 질소기류 하에 DMF에 녹인 후 di-*n*-butyltin dilaurate를 촉매로 하여 prepolymer를 제조하였다. 그 후 EDHMP를 첨가하고 사슬연장 반응을 행하여 촉매에 에스테르기를 갖는 PU를 얻었다. PU의 수평균 분자량은 폴리스티렌 표준검정곡선을 이용하고 THF를 용매로 사용하여 겔투과 크로마토그래피 (GPC, Millipore, Waters 150-C)로 분석하였다 (Scheme 2).

표면개질. PU 필름을 4 N NaOH/MeOH (1:2 v/v)의 혼합용액에 30분간 담근 후 10% 구연산 수용액에 3시간 방치하여 표면에 카르복시기를 도입한 PU-C 필름을 제조하고, WSC를 사용하여 말단에 아미노기를 갖는 PEO와 PU-C를 반응시켜 PU-PEO를 합성하였다. 또한 PU-C와 PU-PEO를 헤파린과 반응시켜 PU-C-Hep 및 PU-PEO-Hep 필름을 각각 제조하였다 (Scheme 3).

표면관능기의 정량. PU-C 표면의 카르복시기의 정량은 rhodamine를¹⁵ 사용했고, PU-PEO 필름의 경우는 ninhydrin를¹⁶ 사용하였다. 그리고 PU-C-



Scheme 2. Synthesis of polyetherurethane.



Scheme 3. Surface modification of PU films.

Hep과 PU-PEO-Hep 필름표면의 헤파린 정량에는 toluidine blue를¹⁷ 사용하였다.

표면분석. 개질된 필름의 표면을 분석하기 위해 ATR-FTIR (Mattson, Gallxy 7020 A) 및 electron spectroscopy for chemical analysis (ESCA, VG Microtech NT 500/1)를 사용하였다. 표면의 적심성은 물방울과 표면이 이루는 접촉각을 측정하여 조사하였다. 즉 필름표면 위에서 작은 물방울이 이루는 접촉각을 contact angle goniometer (Erma, G-1)를 사용하여 측정하였고, 각 시료마다 $20 \pm 3^\circ\text{C}$ 에서 5번 이상 위치를 바꾸어서 측정하여 그 평균값을 물의 접촉각으로 사용하였다.

혈전형성.¹⁸ 37°C 의 항온조에 200 mL 비이커를 준비하였다. 비이커 위에 시계접시를 올려놓고, 그 위에 샘플 필름 ($3 \times 3\text{ cm}^2$)을 반듯이 붙인 후 증류수를 필름 위에 약 5 mL 도입하여 30분간 필름표면을 팽윤시켰다. 그 후 물기를 닦아내고 시계접시의 밑부분이 2/3 정도 물에 잠기도록 한 후 10분간 방치하였다. 건강한 청년으로부터 채취한 혈액을 ACD와 10:1로 혼합하였다. 이 혈액 200 μL 를 샘플 위에 도입하고 0.1 M CaCl_2 용액 50 μL 를 중심 부위에 도입하여 조심스럽게 섞고 응고반응을 개시하였다. 10, 20, 40, 60분이 경과되면 각각의 샘플 위에 5 mL의 증류수를 첨가하여 혈액응고 반응을 정지시켰다. 5분 후 응고된 혈전을 분리한 후, 37% 포름알데히드 수용액에 10분간 담구어서 혈전을 고정화하였다. 혈전을 다시 증류수에 담구어 5분간 세척한 후 tissue paper로 수분을 제거하여 24시간 동안 진공 건조시켰다. 그 후 각 혈전의 무게를 측정하였다.

칼슘재침가 응고시간 (PRT).¹⁹ ACD를 함유하는 혈액을 4°C 에서 1200 rpm으로 20분간 원심분리하여 platelet-rich-plasma (PRP)를 얻고, PRP를 새로운 원심튜브에 옮긴 후 다시 5000 rpm에서 20분간 원심분리하여 platelet-poor-plasma (PPP)를 얻었다. PPP 300 μL 를 미리 팽윤시킨 각각의 필름 위에 도입하고, 0.025 M 칼슘용액 300 μL 를 첨가한 후부터 응고될 때까지의 시간을 측정하였다.

부분활성화 트롬보플라스틴 시간 (APTT).²⁰ 각 필름들을 반경 4 cm, 깊이 1.5 cm의 유리 반구에 붙인 후 37°C 의 항온조에 밑부분이 2/3가 잠기도록 세팅한 다음 표면에 5 mL의 증류수를 도입하여 팽윤시켰다. 필름 위에 PRP 0.1 mL 및 부분활성화 트롬보플라스틴 수용액 0.1 mL를 가하여 5분간 방치하고, 0.025

M 염화칼슘용액 0.1 mL를 필름 위에 가한 후 응고할 때까지의 시간을 측정하였다.

혈소판의 점착량.²¹ 각 필름은 30분간 팽윤시키고, 37°C 에서 PRP 200 μL 를 필름 위에 접촉시켰다. 30분 및 60분이 경과한 뒤 미점착된 혈소판을 제거하고 PBS 300 μL 로 필름을 가볍게 세척하였다. 그리고 PBS에 Triton X-100 (계면활성제)를 1 v/v %로 녹인 용액 300 μL 를 넣어 필름 위에 점착된 혈소판을 용해하였다. 이 용액 300 μL 에 pyruvic acid 2 mL와 NADH 용액 1 mL를 넣어 340 nm에서의 UV 흡광도를 측정하고 시간에 따른 흡광도의 감소속도를 측정하여 혈소판 점착량을 계산하였다.

점착혈소판의 형태학적 관찰.^{22,23} PRP 100 μL 를 각 필름 위에 도입하고 30분 및 60분이 경과한 후에 PBS 2 mL를 도입하여 필름 위를 가볍게 세척하였다. 그 후 용고액에 30분간 침적시켜 표면에 점착한 혈소판을 고정화시키고, 50, 70, 90, 100% 에탄올/증류수 혼합액에 1분씩 차례로 담구어 탈수하였다. 상온에서 24시간 건조한 필름을 금코팅하여 주사형 전자현미경 (SEM, Model S2000, Shimadzu Co., Japan)으로 점착혈소판의 형태를 관찰하였다.

결과 및 고찰

폴리우레탄의 합성. EDHMP의 합성은 이전에 보고된 바 있으나¹³ IR 및 NMR에 의한 자세한 분석데이터는 밝혀지지 않았으므로 본 연구에서는 이들을 측정하여 보고한다. Fig. 1에는 EDHMP의 IR 스펙트럼을 나타내었다. 카르복시기에 에스테르기로 전환되면서 $2000 \sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 에서의 broad한 피크가 사라지고, 1700 cm^{-1} 에서의 $\text{C}=\text{O}$ 피크가 에스테르의 특성피크인 1730 cm^{-1} 로 이동된 것으로부터 합성을 확인하였다. Fig. 2에는 EDHMP의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼을 나타내었다. 화학적 이동, 분열 피크의 수 및 적분비로부터 4 ppm 부근에서 c, 3.7 ppm에서 b, 1.2~1.4 ppm에서 d, 1.1 ppm에서 a의 수소 피크가 나타난 것을 알 수 있었다.

폴리우레탄 prepolymer를 EDHMP로 사슬연장하여 얻은 PU의 수평균 분자량은 84000이었고 다분산지수는 1.68이었다. 합성된 폴리우레탄을 10 wt%가 되도록 DMF에 녹여 casting함으로써 $6 \times 6\text{ cm}^2$, 두

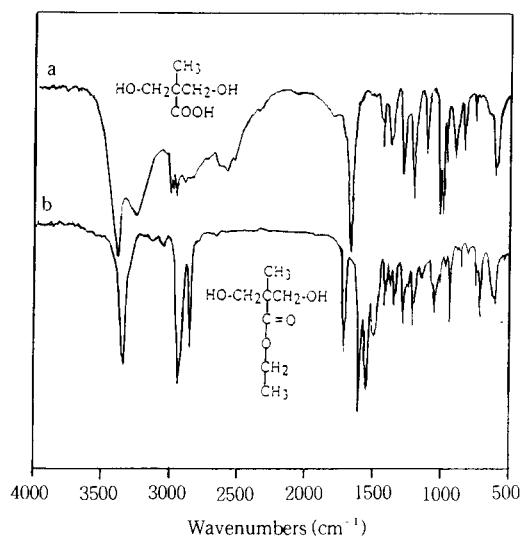


Figure 1. FTIR spectra of (a) dihydroxymethylpropionic acid (DMPA) and (b) ethyl 2,2-dihydroxymethylpropionate (EDHMP).

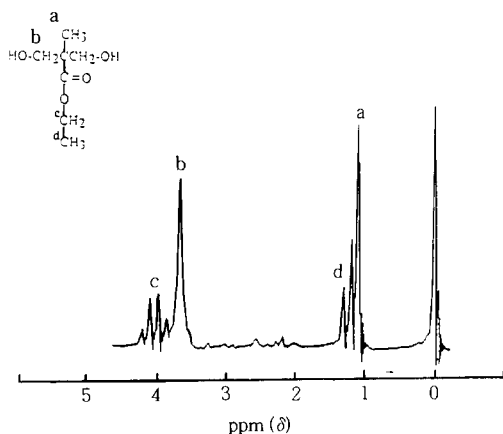


Figure 2. ^1H -NMR spectrum of ethyl 2,2-dihydroxymethylpropionate in D_2O .

께 0.1 mm의 PU 필름을 얻었다.

표면개질. 폴리우레탄 필름을 알칼리 처리할 경우 주사슬의 우레탄기의 가수분해로 인한 기계적 물성의 저하가 예상된다. 따라서 알칼리 처리의 최적시간을 결정하기 위해 PU 필름의 알칼리 처리시간을 달리 했을 때의 기계적 물성을 측정하여 Table 1에 나타 내었다. 그 결과 30분까지의 알칼리 처리로는 그다지 큰 물성의 저하는 없었으나 그이상 처리한 경우는

Table 1. Mechanical Properties of PU Film after Alkali Treatment

sample*	Young's modulus (kgf/mm ²)	stress at break (kgf/mm ²)	strain at break(%)
PU-0	0.81±0.08	4.38±0.57	654±15
PU-2	0.77±0.07	4.34±0.45	608±17
PU-10	0.73±0.03	4.16±0.81	601±18
PU-30	0.71±0.05	3.89±0.62	580±25
PU-60	0.54±0.06	3.17±0.51	543±11
PU-120	0.55±0.04	2.59±0.51	481±35
PU-600	0.49±0.12	1.49±0.38	449±21

* Sample was treated with 4N NaOH/MeOH (1 : 2 v/v) for different time in minute (n=5).

Table 2. Amount of Carboxylic Acid, PEO, and Heparin Immobilized on PU Films

sample	amount of carboxyl group (nmol/cm ²) ^a	amount of PEO (nmol/cm ²) ^b	amount of heparin (μg/cm ²) ^c
PU-C	53	-	-
PU-PEO	-	2.5	-
PU-C-Hep	-	-	1.6±0.03
PU-PEO-Hep	-	-	1.3±0.05

^a Determined by rhodamine 6G method.

^b Determined by ninhydrin method.

^c Determined by toluidine blue method.

기계적 물성이 크게 떨어짐을 알 수 있었다. 따라서 실험에 사용한 PU 필름의 알칼리 처리시간을 30분으로 고정하였다. Table 2에는 표면에 도입된 관능그룹 및 헤파린의 양을 나타내었다. Rhodamine 법으로 분석한 카르복시기의 농도는 53 nmol/cm²이었고, ninhydrin 법으로 분석한 PEO의 농도는 2.5 nmol/cm²이었다. 한편 toluidine blue 법으로 고정화 헤파린의 양을 조사한 결과 폴리우레탄 표면의 COOH (PU-C)와 헤파린 중의 NH₂의 반응으로 1.6 μg/cm²의 헤파린이 고정화되었고, 폴리우레탄 표면의 NH₂ (PU-PEO)와 헤파린 중의 COOH의 반응으로는 1.3 μg/cm²의 헤파린이 고정화되었다. 헤파린의 COOH 함량이 NH₂ 함량보다 훨씬 많이 존재함에도 불구하고 PU 표면의 COOH와 헤파린 중의 NH₂와의 반응에 의해 더많은 헤파린이 도입된 원인 중의 하나는 PU-C 표면의 COOH 농도 (52 nmol/cm²)가 PU-PEO 표면의 NH₂ 농도 (2.5 nmol/cm²)보다 훨씬 큰데 기

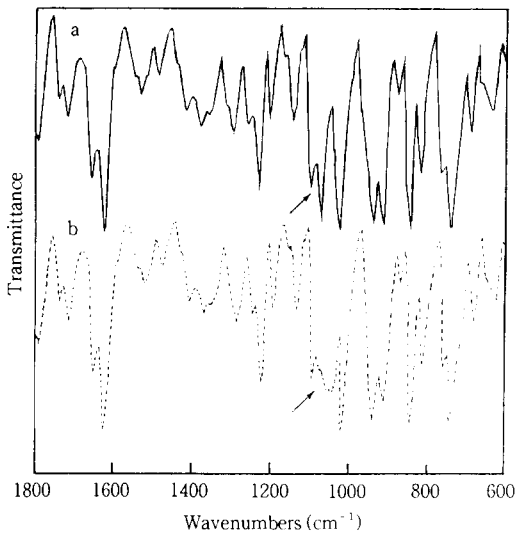


Figure 3. ATR-FTIR spectra of (a) PU-C and (b) PU-C-Hep.

인하는 것으로 생각된다. Ito 등은¹³ EDHMP를 이용하여 합성한 PU를 알칼리 처리하고 헤파린을 공유 결합으로 고정화했을 때, 표면에 도입된 헤파린은 $24.5\text{--}40\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 이었다고 보고하였다. 본 연구에서의 헤파린 고정화 양이 상대적으로 적게 나타난 원인의 하나는 헤파린 고정화 필름의 세척방법에 기인하는 것으로 생각된다. 즉 본 연구에서는 증류수와 계면활성제를 사용한 초음파처리로 세척하였고 Ito 등은 이온교환수로만 세척하였다. 헤파린 고정화 필름이 세척방법에 따라 그 표면의 헤파린 농도가 달라진다는 것은 이전에 보고한 바 있다.²⁴

표면분석. Fig. 3은 PU-C와 PU-C-Hep의 ATR-FTIR spectra를 나타내고 있다. PU-C에 비해 헤파린 고정화 표면에서는 $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ 에서 새로운 피크가 나타나고 있는데, 이것은 헤파린의 cyclic ether (C-O-C)와 S=O의 대칭신축진동에 기인하는 것으로 생각된다.²⁵ Table 3에는 ESCA survey scan spectra로부터 구한 샘플표면의 원소조성을 나타내었다. PU-C의 경우 측쇄의 에스테르기가 가수분해되어 산소함량이 증가했고, 계속해서 PEO가 도입됨에 따라 산소의 함량은 더욱 증가하였다. 그러나 산소함량은 헤파린이 도입됨으로써 다시 낮아졌으며 또한 유황성분이 검출됨으로써 헤파린의 도입이 확인되었다. 플라즈마 중합법을 이용하여 폴리우

Table 3. Chemical Composition of the Modified PU Surfaces Calculated from ESCA Survey Scan Spectra

sample	atomic percent (%)			
	C	O	N	S
PU	83.62	14.8	1.58	
PU-C	80.11	17.88	2.01	
PU-PEO	74.53	22.40	3.07	
PU-C-Hep	84.84	11.93	3.16	0.07
PU-PEO-Hep	83.76	12.68	3.50	0.06

Table 4. Water Contact Angle of PU and Surface Modified PU Films

sample	water contact angle ($^{\circ}$) ^a
PU	75 ± 2
PU-C	55 ± 3
PU-PEO	54 ± 4
PU-C-Hep	55 ± 2
PU-PEO-Hep	53 ± 3

^a Measured by water drop method.

레탄 표면에 아크릴산을 중합시킨 후 헤파린을 고정화한 이전의 연구에서는 유황성분이 0.1%이었다.²⁵ 본 연구에서는 유황의 성분이 0.06-0.07%이었으며, 이것은 플라즈마 중합법 (0.1%)의 경우보다는 적은 값이다. Table 4에는 각 개질필름들의 물접촉각을 나타내었다. PU의 접촉각 (75°)은 카르복시기, PEO 및 헤파린을 도입함으로써 $53\text{--}55^{\circ}$ 로 낮아졌으며, 이것은 표면이 친수성으로 바뀌었음을 의미한다.²⁶

혈전형성. 필름과 같이 평활한 시료에 대한 혈전형성 평가법으로 Imai-Nose법이¹⁸ 알려져 있다. 표면 개질 폴리우레탄에 혈액을 접촉시켜 incubation time을 달리했을 때의 혈전형성율을 Fig. 4에 나타내었다. 접촉시간을 60분으로 하였을 때 PU의 경우는 약 75%, PU-C는 73%, PU-PEO는 53%, PU-C-Hep는 38%, PU-PEO-Hep는 35%의 혈전형성율을 나타내었다. 이들 결과로부터 헤파린이 도입된 PU-C-Hep과 PU-PEO-Hep은 비교적 항혈전형성이 우수함을 알 수 있었다.

혈장단백질과의 상호작용. 혈액이 재료표면과 접촉하여 혈전을 형성하는 과정은 일반적으로 두가지로 설명되고 있다. 첫번째는 혈액에 존재하는 혈장단백질의 활성화에 의해 가교상의 피브린을 형성하는 과정이고 두번째는 혈소판이 활성화되어 응집을 유발

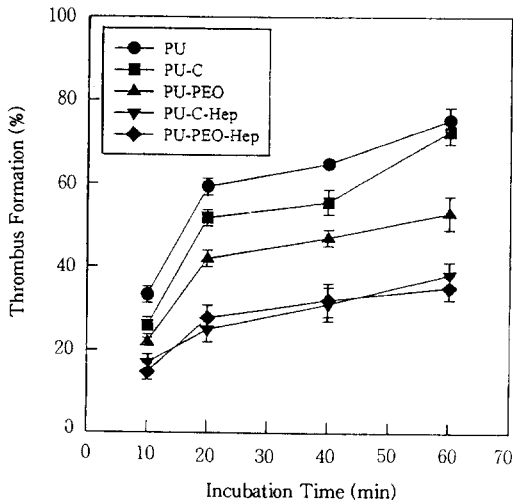


Figure 4. Thrombus formation on surface-modified PU films as a function of incubation time.

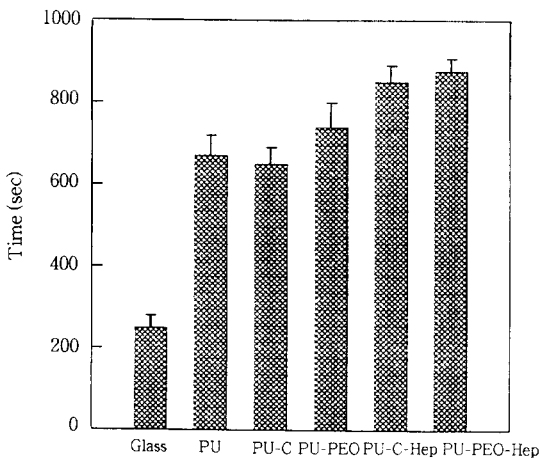


Figure 5. Plasma recalcification time of PU and modified PU films.

하는 과정이다. Fig. 5는 혈장단백질에 의한 혈액응고 시간을 측정하기 위해 각 시료에 PPP를 접촉시키고 칼슘용액을 첨가한 후 피브린이 형성될 때까지의 시간을 측정한 결과를 나타내고 있다. 유리표면에서의 혈장단백질의 응고시간은 약 250초를 나타내는 반면, PU는 670초, PU-COOH는 650초, PU-C-Hep는 850초, PU-PEO-Hep는 877초를 나타내었다. 따라서 헤파린이 도입된 필름이 혈장단백질의 응고를 가장 잘 억제함을 알 수 있었다.

PPP에 부분활성 트롬보플라스틴 (APT)을 넣으

Table 5. Activated Partial Thromboplastin Time of PU and Surface-Modified PU Films

sample	APTT (sec)
glass	27 ± 1
PU	37 ± 1
PU-C	32 ± 1
PU-PEO	42 ± 2
PU-C-Hep	52 ± 2
PU-PEO-Hep	56 ± 1

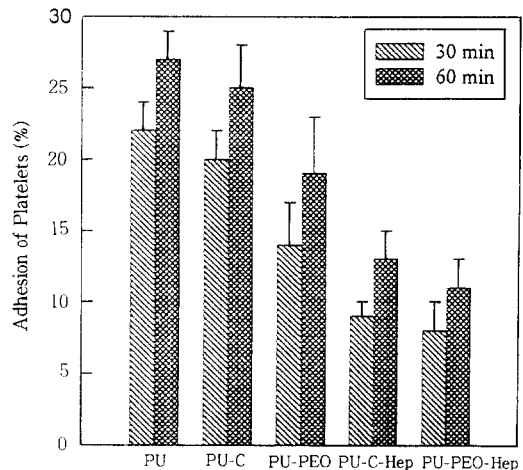


Figure 6. Adhesion of platelets on surface-modified PU films determined by lactate dehydrogenase (LDH) method.

면 내인제 응고인자의 활성화가 일어나고, 여기에 Ca^{2+} 를 가하면 혈액트롬보플라스틴이 생성되고 이 혈액트롬보플라스틴이 응고인자와 반응하여 일련의 응고반응을 거치며 혈장 중에 존재하는 프로트롬빈 및 피브리노겐이 그의 작용을 받아 응고하게 된다. Table 5에는 APT와 칼슘을 혈장에 넣고 응고할 때까지의 시간을 나타내었다. 그 결과 PU는 37초, PU-C는 32초, PU-PEO는 42초를 나타내었다. 한편 헤파린이 도입된 PU-C-Hep와 PU-PEO-Hep는 각각 52초와 56초를 나타내었다. 헤파린이 고정화된 필름표면이 보다 긴 APTT를 나타낸 것은 고정화 헤파린이 antithrombin과 착물을 형성하여 thrombin의 활성을 억제하였기 때문이다.¹⁴

혈소판과의 상호작용. 개질고분자 표면의 혈소판 점착량을 알아보기 위해 lactate dehydrogenase (LDH) 법을 이용하였고, 점착혈소판의 형태는 주사

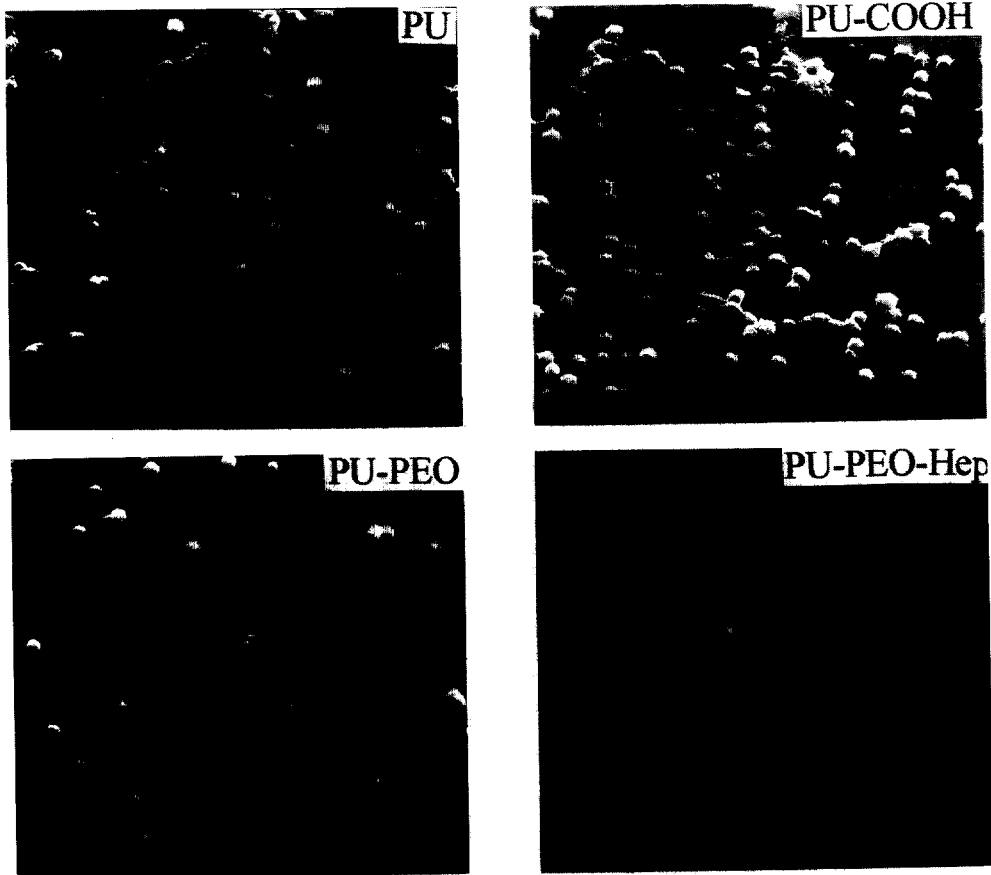


Figure 7. SEM photographs of platelets adhered on PU and surface-modified PU films after 30 min incubation.

형 전자현미경으로 관찰하였다. Fig. 6에는 LDH법으로 분석한 각 표면에서의 혈소판 점착량을 나타내었다. 30분 접촉시켰을 경우, PU는 22%, PU-C는 20%, 그리고 PU-PEO는 15%를 나타내었다. 한편 헤파린이 도입된 PU-C-Hep과 PU-PEO-Hep은 8% 및 5%를 나타내어 혈소판 점착을 잘 억제함을 알 수 있었다. Fig. 7은 PRP를 재료표면에 30분간 접촉시켰을 때의 형태변화를 나타낸 결과이다. Fig. 7에서 알 수 있듯이 PU 및 PU-C상에서는 혈소판이 다소 위축을 나타내고 있는 반면, PU-PEO 및 PU-PEO-Hep상에서는 형태변화가 적어 활성화가 어느 정도 억제되고 있음을 시사하고 있다. 혈소판의 점착 및 활성화는 헤파린이 이온결합한 PU 표면상에서 잘 억제된다는 보고가 있다.^{27,28} 이것은 공유결합에 의해 고정화된 헤파린보다 이온결합에 의해 고정화된

헤파린이 높은 생리활성을 나타내기 때문이다. PEO를 PU 표면에 그래프트시키면 항혈전성이 향상된다는 것은 잘 알려져 있다.¹¹ 본 연구에서는 PU에 PEO를 그래프트시키므로써 혈액적합성이 어느정도 향상되었고, 계속해서 헤파린을 고정화하므로써 더욱 향상되었다.

결 론

EDHMP를 사슬연장제로 사용하여 폴리우레탄 필름을 제조하고 이들을 표면개질하여 헤파린을 고정화 하였으며 개질 폴리우레탄의 *in-vitro* 혈액적합성을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 측쇄에 에스테르기를 갖는 PU필름을 4 N NaOH/MeOH로 30분간 처리하므로써 필름의 기계

적 물성을 유지한 상태에서 카르복시기를 도입할 수 있었다.

2) 표면의 카르복시기 및 spacer로 PEO를 사용하여 1.3-1.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 헤파린을 도입할 수 있었다.

3) 표면의 카르복시기에 헤파린을 결합한 PU-C-Hep 및 PEO를 spacer로 사용하여 헤파린을 도입한 PU-PEO-Hep은 혈장단백질의 활성화를 억제하였다. 그러나 PEO spacer의 효과는 관찰되지 않았다.

4) PU-C-Hep 및 PU-PEO-Hep은 다른 기질(PU, PU-C, PU-PEO)에 비해 혈소판의 점착을 억제하였고, 결과적으로 우수한 혈액적합성을 나타내었다.

감사의 글: 본 연구는 1996년도 교육부 신소재분야 연구비의 지원으로 진행되었기에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. K. Iwata, "Handbook of Polyurethane Resin", Nikankokyo Shinbunsha, p. 620, 1987.
2. M. Szycher, "High Performance Biomaterials", Technomic Publishing Company, Inc., 1991.
3. M. J. Han and Y. H. Kwon, *Polymer(Korea)*, **2**, 204 (1978).
4. T. O. Ahn, S. Y. Lee, and S. W. Lee, *Polymer(Korea)*, **14**, 497 (1990).
5. Y. Imanishi, "Biomedical Polymers", Kyoritsu Shupan, p. 19, 1986.
6. Y. Ito, Y. Iguchi, and Y. Imanishi, *Biomaterials*, **13**, 131 (1992).
7. N. Yui, K. Sanui, N. Ogata, K. Kataoka, T. Okano, and Y. Sakurai, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 929 (1986).
8. R. Shibuta, M. Tanaka, M. Sisido, and Y. Imanishi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 971 (1986).
9. Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 1139 (1986).
10. K. D. Park, T. Okano, C. Nojiri, and S. W. Kim, *J. Biomed. Mater. Res.*, **22**, 977 (1988).
11. D. K. Han, K. D. Park, K. D. Ahn, S. Y. Jeong, and Y. H. Kim, *J. Biomed. Mater. Res., : Appl. Biomater.*, **23**, 87 (1989).
12. D. K. Han, S. Y. Jeong, and Y. H. Kim, *J. Biomed. Mater. Res., Appl. Biomater.*, **23**, 211 (1989).
13. Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 1157 (1986).
14. I. -K. Kang, O. H. Kwon, M. K. Kim, Y. M. Lee, and Y. K. Sung, *Biomaterials*, **18**, 1099 (1997).
15. I. I. Sinser, D. W. Kawka, S. Scott, and R. A. Munford, *J. Cell Biol.*, **104**, 573 (1987).
16. S. Moore, *J. Biol. Chem.*, **243**, 281 (1968).
17. P. K. Smith, A. K. Mallia, and G. T. Harmanson, *Anal. Biochem.*, **109**, 466 (1980).
18. Y. Imai and Y. Nose, *J. Biomed. Mater. Res.*, **6**, 165 (1972).
19. Y. Ito, K. Iwata, I. -K. Kang, M. Sisido, and Y. Imanishi, *Int. J. Biol. Macromol.*, **10**, 169 (1988).
20. M. D. Lelah, T. G. Grasel, T. A. Pierce, and S. L. Cooper, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 433 (1986).
21. H. W. Jung, J. H. Lee, and I. -K. Kang, *Polymer(Korea)*, **19**, 117 (1995).
22. T. Okano, S. Nishiyama, I. Shinohara, T. Akaike, Y. Sakurai, K. Kataoka, and T. Tsuruta, *J. Biomed. Mater. Res.*, **35**, 393 (1981).
23. T. M. Ko and S. L. Cooper, *J. Appl. Polym. Sci.*, **47**, 1601 (1993).
24. I. -K. Kang, O. H. Kwon, K. H. Byun, and Y. H. Kim, *J. Mater. Sci., Mater. Med.*, **7**, 135 (1996).
25. I. -K. Kang, O. H. Kwon, Y. M. Lee, and Y. K. Sung, *Biomaterials*, **17**, 841 (1996).
26. I. -K. Kang, B. K. Kwon, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Biomaterials*, **14**, 787 (1993).
27. Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **23**, 191 (1989).
28. Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 227 (1989).