

# The Surface Characteristics of Biomaterials Fixed with a Hydrophilic Membrane by Photochemical Reaction

H. J. Kim, S. M. Jeon, K. B. Lee, and B. G. Min

Institute of Biomedical Engineering and Department of Biomedical Engineering,  
College of Medicine, Seoul National University

광화학적 방법으로 친수성막이 고정화된 생체 재료의 표면특성 분석

김현정, 전성민, 이규백, 민병구

서울대학교 의과대학 의공학과, 의공학연구소

## ABSTRACT

We used the photoreactive poly(allylamine) (PPA) as the hydrophilic membrane to control the release of drug from polyurethane(PU). PPA was covalently bonded onto PU surface through the highly reactive nitrene intermediate upon UV light irradiation ( $3.3\text{mW}/\text{cm}^2$ ) at 254nm for 5min. Thus the release rate of rifampicin from PU surface was controlled. To know the characteristics of PU surface bonded with PPA, we measured the ATR-FTIR, ESCA, Static Contact Angle and SEM. From these, we suggest that PPA as a hydrophilic membrane is enable to control the release rate of a hydrophobic drug from polymer without the change of bulk property.

## INTRODUCTION

인체의 손상된 조직이나 기능을 대처하기 위하여 매우 다양하고 많은 인공 생체 재료를 인체내에 삽입하고 있으나 이는 인체의 조직과는 다르므로 여러 가지 문제점을 갖는다. 특히 혈액과 접촉하는 경우, 혈전증과 감염이 가장 큰 문제점으로 다루어진다[1]. 생체 재료는 사용되는 종류와 목적에 따라 감염률에 차이를 보이고 있는데 장기간 이식된 인공심장의 경우 90%감염이 일어나고 균혈증이나 기타의 합병증으로 사망에 이르게 된다[2]. 일반적으로 생체 재료에 감염이 잘 생기는 원인은 생체 재료들에 세균이 잘

부착되며 생체 재료 자체가 인체의 방어 기전을 약화시킴으로써 감염의 가능성을 높이기 때문이다. 또한 생체 재료를 중심으로 일어나는 세균 감염은 항균 치료에 잘 반응하지 않고 감염된 인공 구조물이나 인공 장기를 제거해야만 치료되는 경우가 대부분이다. 인공 장기를 이식받은 환자에게 수술 후 세균 감염을 방지 하기 위하여 항생제를 장기 투여하는 것은 그에 따르는 부작용이 매우 크므로 이는 감염 예방에 있어서 고려 대상이 되지 않는다. 이와 같은 이유에서 일반적으로 생체 재료의 감염 예방을 위하여 생체 재료로부터 서서히 항생제를 유리시키는 연구가 고려되어 왔다. 이때 유리되는 항생제의 농도를 장기간 일정한 수준으로 유지하려면 초기 방출을 최소화하고 약물 방출 속도를 일정하게 유지할 수 있어야 한다. 본 연구에서는 광화학 반응을 이용한 아민기를 가지는 수용성 고분자를 항생제가 혼합된 폴리우레탄 표면에 공유 결합시킴으로써 폴리우레탄 표면에 화학적 반응성이 좋은 아민기를 유도함과 동시에 항생제가 유리되는 속도를 조절하여 장기간의 감염 방지에 적합한 생체 재료를 개발하고자 한다.

## MATERIALS AND METHODS

### 표면의 친수화 확인을 위한 접촉각 측정

처리를 하지 않은 PU film을 대조군으로 사용하였고, 항생제의 농도가 다른 (Rif+PU) 시료들과 표면처리용

PPA 용액의 농도가 다른 (Rif+PU)-PPA 시료들의 표면 접촉각을 sessile drop 방법을 이용하여 정적 접촉각을 측정함으로써 표면의 친수화 정도를 측정하였다.

#### ATR-FTIR 측정

제조된 시료를 10 x 20 x 1 mm의 크기로 잘라서 45° KRS-5 결정에 압착시켜 ATR 보조기구가 장착된 Mattson Alpha Centauri FTIR 광도계를 이용하여 Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared(ATR-FTIR) 자료를 2cm<sup>-1</sup>의 해상도로 질소에서 수집하였다.

#### ESCA 측정

표면의 원자조성과 관능기의 변화를 정량하기 위하여 Electron Spectroscopy for Chemical Analysis(ESCA) 측정을 하였다. 측정을 위하여 Physical Electronic PHI 558 ESCA spectrometer 사용하였으며 Magnesium anode로부터 방출되는 10kV, 30mA의 mono chromatized X-ray beam을 사용하여 scanning을 하였다. 표면의 원소 정량은 각 원소의 peak height를 탄소의 peak height로 나눔으로써 탄소에 대한 상대적인 비로 계산하였다. Survey spectra(wide scan, 0-1000eV)는 100eV pass energy에서 획득하였으며 각 원소에 대한 high resolution scan은 20eV 범위 내에서 50eV pass energy로 획득하였다.

#### SEM 관찰

표면에 고정화된 친수성의 형태 및 두께를 관찰하기 위하여 주사전자현미경 (Scanning Electron Microscopy, 이하 SEM이라 한다.)관찰을 하였다. 모든 시료는 관찰전에 진공에서 하루 이상 건조시켰다. 시료의 단면을 관찰하기 위하여 액체질소에 시료를 담근 상태에서 파단하였다. 각각의 시료는 mounter에 부착된 전도성 테이프에 고정하여 관찰하였고 모든 시료의 양쪽면과 파단면을 관찰하였다. SEM 관찰은 S-2460N 주사전자현미경 (Hitachi, Japan) 을 사용하여 emission current 60-70uA, acceleration voltage 17KV에서 관찰하였으며 E1010 ion sputter (Hitachi, Japan)를 사용하여 진공상태로 discharge current 15mA에서 시료의 표면에 gold sputtering을 하였다.

#### ESCA 측정

ESCA 측정은 rifampicin이 20% 섞인 시료군에 한하여 측정하였다. PU control에 비하여 (20%Rif+PU) 시료에서 탄소의 비율이 높게 나타났으며 산소의 비율은 적게 나타났다. (20%Rif+PU)-PPA 시료군내에서는 PPA의 농도가 증가함에 따라 탄소의 비가 상대적으로 증가하는 것으로 나타났으며 산소의 비는 상대적으로 감소하는 것으로 나타났다. 질소 구성비의 변화는 (Rif+PU)-PPA 시료군내에서는 특별한 경향을 나타내지 않았다. 그러나 PU control시료와 (20%Rif+PU) 시료에 비하여 (20%Rif+PU)-PPA 시료군에서의 질소 구성비는 현저히 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

## RESULTS AND DISCUSSION

#### 표면의 친수화 확인을 위한 접촉각 측정

goniometer를 이용한 정적접촉각의 측정은 측정자에 의한 오차가 비교적 많은 측정방법이나 가능한 측정의 오차를 줄이기 위하여 하나의 시료에 대하여 10회씩 측정하여 그 평균값을 사용하였다.

PU control에 비하여 모든 (Rif+PU) 시료의 접촉각이 낮게 관찰된 것은 PU에 비하여 rifampicin의 친수성이 높고 rifampicin이 PU에 녹을 수 있기 때문에 접촉각에 영향을 준 것으로 생각된다. (10%Rif+PU)-PPA시료에서는 PPA 처리용액의 농도가 높아짐에 따른 접촉각의 변화가 일관성을 가지지 못하지만, (20%Rif+PU)-PPA 시료와 (30%Rif+PU)-PPA 시료에서는 PPA 처리용액의 농도가 높아짐에 따라 접촉각이 일관성 있게 낮아지는 관찰할 수 있다. 이는 PU에 비하여 PPA가 많은 일차아민기를 가지고 있어서 친수성이 매우 높기 때문에 광화학반응에 의하여 가교가 많이 되었다라도 상당히 높은 친수성을 나타내기 때문이다.

PBS내에서 방출실험에 사용되는 (Rif+PU)-PPA 시료와 (Rif+PU)-PPA 시료도 표면에 고정화된 PPA 막에 의하여 물리적 성질에 변화를 가진다. 건조된 상태에서는 PPA막이 두껍게 고정화될수록 film이 딱딱해지지만 일단 수용액에 들어가서 수분을 흡수하게 되면 film이 급격히 부드러워지는 것을

관찰할 수 있었는데, 이러한 현상도 표면에 고정화된 친수성 PPA막의 친수성과 밀접한 연관을 가지고 있으리라 사료된다.

Table 1. Static contact angle of PU disk covered with immobilized hydrophilic polymer membrane.

Sample	Mean	SD
PU control	76.7	4.56
10%Rif + PU	61.5	2.90
20%Rif + PU	69.8	2.18
30%Rif + PU	59.0	3.50
(10%Rif + PU)-PPA0.1	70.7	2.25
(10%Rif + PU)-PPA0.5	74.5	6.03
(10%Rif + PU)-PPA1.0	81.3	6.45
(10%Rif + PU)-PPA2.0	69.4	3.04
(20%Rif + PU)-PPA0.1	89.8	11.2
(20%Rif + PU)-PPA0.5	81.7	5.98
(20%Rif + PU)-PPA1.0	72.5	6.88
(20%Rif + PU)-PPA2.0	66.5	2.59
(30%Rif + PU)-PPA0.1	71.7	7.75
(30%Rif + PU)-PPA0.5	63.2	3.79
(30%Rif + PU)-PPA1.0	62.8	3.16
(30%Rif + PU)-PPA2.0	56.7	3.95

#### ATR-FTIR 측정

ATR-FTIR 측정은 시료의 표면에 존재하는 화합물에 의한 적외선 흡광성을 측정하는 방법으로서 시료의 표면으로부터 수 m 깊이의 범위에 있는 화합물의 구성을 알아내는 방법이다. 본 연구에서 항생제가 섞인 시료의 경우 2000cm<sup>-1</sup> 이상의 wavenumber 범위에서 noise가 심한 원인을 정확히 알수는 없으나 측정에 사용된 시료의 두께가 비교적 두꺼웠고 항생제가 matrix내에서 입자형태로 분포하였기 때문에 wavenumber가 증가하고 파장이 짧아짐에 따라 적외선의 난반사가 일어나서 발생했을 것으로 생각된다.

각기 다른 농도의 rifampicin이 섞인 (Rif+PU) film간의 ATR-FTIR spectra가 별 차이를 나타내지 않는 것은 PU내에 다양한 관능기가 존재하며 rifampicin에 있는 관능기의 종류가 PU 내에 있는

관능기와 비슷한 것이 많기 때문인 것으로 생각된다. 다른 관능기가 존재하여도 그 수가 비교적 적기 때문에 ATR-FTIR의 spectra에 영향을 미치지 못하였을 가능성이 크다.

PU 고분자를 구성하는 여러 가지 원자들사이의 결합은 C-C 공유결합이외에 carbamate 결합(-NHCOO-), ether결합(-C-O-C-), ester(-COO-) 결합 등으로 이루어져 있다. 따라서 (20%Rif+PU)-PPA 시료에서 PPA 농도가 증가함에 따라 C=O 관능기의 stretching vibration에 의한 1700cm<sup>-1</sup>에서의 적외선 흡광도가 감소하는 것은 PU의 기본결합인 carbamate 결합과 ester 결합 그리고 rifampicin의 ester 결합에 존재하는 C=O 관능기가 PPA 처리전에는 많이 검출되지만 표면에 고정화되는 PPA의 농도가 높아질수록 PPA를 이루는 관능기 즉 C-C 결합과 일차아민기의 검출 비중이 상대적으로 커지기 때문인 것으로 생각된다. 1105cm<sup>-1</sup> 주변에 나타나는 ether group의 C-O stretching vibration에 의한 적외선 흡수가 감소하는 것도 이와 유사한 원인에 의한 것으로 해석된다. 1524cm<sup>-1</sup> 주변에서 aryl 관능기의 sp<sup>2</sup>-hybridized carbon에 의한 적외선 흡수의 감소는 PU의 hard segment를 구성하는 주요성분인 methylene diphenyl isocyanate(MDI)의 표면 조성이 PPA처리에 따라 감소하여 나타나는 것을 생각된다. 이러한 결과들로부터 표면에 PPA가 고정화 되었다는 것을 확인할 수 있었다.

#### ESCA 측정

ESCA는 고분자 표면으로부터 수십Å 범위내의 원자 조성을 관찰 방법이다. ESCA의 측정 결과에서 PU control의 표면조성이 PU polymer의 조성 과 매우 다르게 나타났는데 이는 PU film에 존재하는 여러 가지 불순물을 제거하기 위하여 methanol로 extraction하였기 때문에, methanol을 진공건조하여 모두 제거하였어도 extraction시 표면의 분자배열이 바뀌어서 표면의 원자조성이 PU polymer 자체의 원자 조성 과 많이 다르게 나타났을 것으로 생각된다.

(20%Rif+PU)-PPA 시료군내에서 질소 구성비가 6% 내외로 시료군간에 큰 차이를 보이지 않는 것은 ESCA의 측정깊이가 표면으로부터 수십Å 범위밖에

되지 않기 때문에 나타나는 현상으로 생각된다. 탄소와 산소의 조성은 (20%Rif+PU)-PPA 시료군내에서 PPA 처리용액의 농도가 증가함에 따라 탄소의 비는 증가하고 산소의 비는 감소하는 것으로 나타났는데 이러한 현상이 나타나는 정확한 원인은 알 수가 없으며 아마도 광화학반응시의 반응조건과 연관이 있을 것으로 생각된다.

**SEM 관찰**

항생제의 부과량이 증가함에 따라 항생제 PU matrix내에서 관찰되는 항생제 입자의 크기가 증가하는 현상은 다음과 같이 해석된다. rifampicin이 혼합된 경우에는 THF에 PU와 rifampicin이 같이 녹아있다가 THF가 증발하여 PU와 rifampicin의 농도가 점차 높아짐에 따라 PU matrix에 녹지 못하는 잉여의 rifampicin에 의하여 상분리가 되면서 rifampicin 분자들끼리 모이게 되는데 이때 rifampicin의 농도가 높아질수록 하나의 core를 중심으로 모일 수 있는 단위 체적당 rifampicin분자의 수가 증가하므로 입자의 크기와 수가 증가하였을 것으로 생각된다. rifampicin의 부과량이 30%에 이르면 미량의 THF 증발에도 rifampicin이 석출되어 커다란 결정을 형성할 수 있을 것으로 생각된다.

rifampicin의 혼합된 PU film의 표면에 고정화된 PPA 막이 비교적 균일한 이유는 (Rif+PU) film내에 rifampicin이 전반적으로 고르게 분포하여 표면의 소수성이 부위별로 큰 차이를 가지지 않기 때문인 것으로 생각된다. 친수성인 PPA 용액이 소수성인 PU film 표면에 고르게 분포하려면 표면에서 부위별 소수성의 차이가 크지 않아야 한다.

PPA도 일종의 고분자이므로 PPA 용액의 농도가 증가할수록 점도가 증가한다. 따라서 높은 농도의 PPA용액으로 표면을 처리한 경우에는 비교적 균일하게 표면에 분포될 수 있으며 PPA막의 두께도 증가하게 된다.

표면에 고정화된 PPA막의 두께가 증가함에 따라 막에 생기는 crack의 크기와 깊이가 증가하는 것은 광화학반응과정에서 PPA 고분자사이의 가교도가 증가하는 것과 연관이 있을 것으로 생각된다. 표면에 고정화된 PPA 막은 다소 요철을 가지고 있는 것으로

나타났는데 이는 spray 방법으로 PPA 수용액을 PU 표면에 뿌려주는 데서 기인한 것으로 생각된다.

**REFERENCES**

[1] F. Bozetti, Surg. Gynecol. Obstet., 161, 293-301, 1985  
 [2] A. G. Gristina, J. J. Dobbins, B. Giammara, J. A. M. A., 259, 870, 1988

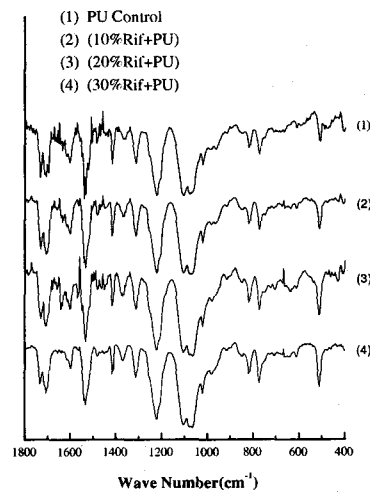


Fig 1. ATR-IR spectra of PU disks mixed with different amount of rifampicin. No specific change of spectrum is not observed with increase of rifampicin loading.

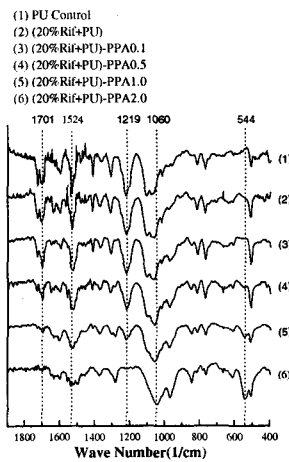


Fig 2. ATR-IR spectra of (20%Rif+PU) disks covered with photochemically immobilized polyallyamine membrane in different thickness. The dotted lines indicates the changing peaks of IR spectra as the thickness of immobilized membrane increases.

Characteristic absorption peaks by the stretching of carbonyl groups, by the  $sp^2$ -hybridized carbons of the aryl groups and by the C-O stretching of ether groups disappear at  $1700\text{cm}^{-1}$ ,  $1524\text{cm}^{-1}$ ,  $1105\text{cm}^{-1}$  respectively as the membrane thickness increases.

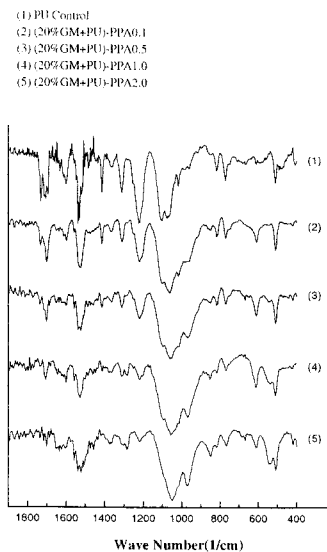


Fig 3. ATR-IR spectra of (20%GM+PU)-PPA disks covered with photochemically immobilized polyallyamine membrane in different thickness. Characteristic absorption peaks by the stretching of carbonyl groups, by the  $sp^2$ -hybridized carbons of the aryl groups and by the C-O stretching of ether groups disappear at  $1700\text{cm}^{-1}$ ,  $1524\text{cm}^{-1}$ ,  $1105\text{cm}^{-1}$  respectively as the membrane thickness increases, as is the case of (Rif+PU)-PPA disks.

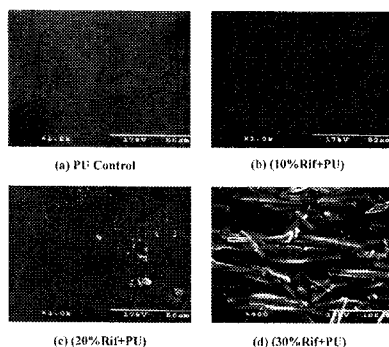


Fig 4. Surface morphology of (Rif+PU) film with different rifampicin loading, observed by SEM. As the the rifampicin loading increases, the number of particles of rifampicin on the surfaces of the films increases. Numerous crystals of rifampicin is observed beneath the surface of (30%Rif+PU) film.

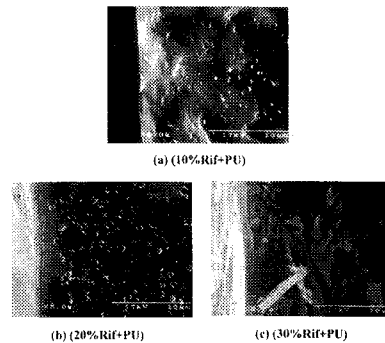


Fig 5. Cross sectional morphology of (Rif+PU) disks observed by SEM. Rifampicin exists as separated domains in the PU matrix, however the distribution is very even in the case of (10%Rif+PU) disk and (20%Rif+PU) disk. As the load of rifampicin increases, the size of antibiotic particles increases and the distance of particles decreases. In the (30%Rif+PU) disk, the rifampicin particles exists as large lumps and are connected among them.

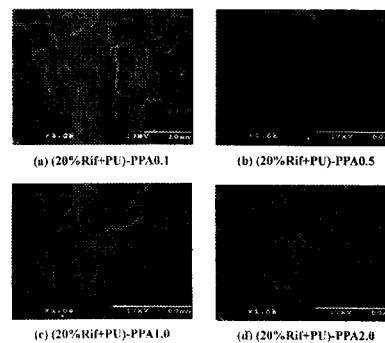


Fig 6. Surface morphology of (Rif+PU)-PPA films covered with photochemically immobilized hydrophilic membrane by spraying photoreactive polyallyamine solutions of different concentration, observed by SEM.

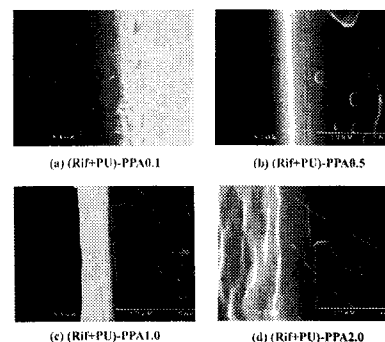


Fig 7. Cross sectional morphology of (Rif+PU)-PPA disks covered with photochemically immobilized hydrophilic membrane by spraying photoreactive polyallyamine solutions of different concentration, observed by SEM.