

폴리우레탄-폴리에틸렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드 디바이스로부터의 헤파린 방출

유재권·전성주·김성호†

조선대학교 약학대학

(1988년 11월 11일 접수)

Heparin Release from Polyurethane-Polyethylene Oxide-Polypropylene Oxide Device

Jae Gwon Yoo, Sung Joo Jun and Sung Ho Kim†

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

(Received November 11, 1988)

The release of heparin from monolithic devices composed of different ratios of polyethylene oxide-polypropylene oxide (PEO-PPO) and hydrophobic polyurethane was investigated. The release rate of heparin could be controlled by varying the PEO-PPO content. The heparin release rate from the devices increased as the content of PEO-PPO in the devices increased. The release mechanism may be associated with creation of micro-channels and pores through the devices following the change in the physical structure of the polymer network. Hydrophobic polyurethane containing PEO-PPO can provide an antithrombogenic material for prolonged release of heparin from a heparin blended system.

Keywords—heparin, prolonged release, nonthrombogenic polymer, polyurethane, polyethylene oxide-polypropylene oxide

폴리우레탄의 항응혈성과 기계적 물성이 수 많은 혈액접촉장치 등에 응용되고 있으며 이 고분자는 soft segment와 hard segment에 의해서 미세상 영역을 형성하며 폴리우레탄의 혈액적합성은 표면 성질과 관련시켜 많은 연구가 진행되고 있다.¹⁻³⁾ 그리고 많은 연구자들에 의해서 고분자 재료의 구성, 성질과 항응혈성과의 관계를 다각적으로 연구함에도 불구하고 아직도 통일된 결론을 내리지 못하고 있으나 항응혈성에 밀접한 관계를 가지고 있는 재료의 요소는 표면전하, 친수성 및 소수성, 표면의 활성으로 결론짓고 있다.⁴⁾ 그러나 완전하고 이상적인 혈액적합성 재료를 개발하기 위해서는 원천적인 항응혈성 재료개발, 표면의 친수화, 생체의 유사 재료의 이용과 헤파린, 프로스타글란

딘 및 유로키나제 등의 생리적 항응혈성 약물의 고분자에의 분산,⁵⁾ 흡수,⁶⁾ 표면 이온결합,⁷⁻¹⁰⁾ 공유결합¹¹⁻¹⁶⁾을 이용하여 약물이 서서히 방출되도록 하는 것이다. 고분자 표면을 친수성으로 하면서 항응혈성 약물이 서서히 방출하면 항응혈성 효과를 얻을 수 있으나 친수성 약물을 분산시킨 소수성 고분자에서 이 약물이 방출되는 것은 어려운 문제이므로¹⁷⁾ 친수성 약물을 방출시키기 위해서는 알긴산나트륨, 염화나트륨, 글리세린, 폴리에틸렌글리콜, raffinose와 같은 수용성 물질들을 이용하여 약물의 방출을 증가시켰다.¹⁸⁻²⁴⁾

현재 의용재료로 널리 사용되고 있는 폴리우레탄은 우수한 기계적 강도와 항응혈성을 나타내고 있으나 완전한 항응혈성을 가지고 있지 않기 때문

† 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

에 원천적 항응혈성 고분자 재료의 개발을 위한 첫 단계로서 폴리우레탄에 헤파린과 폴리에칠렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드(PEO-PPO)를 분산시켜 *in vitro*에서 PEO-PPO와 헤파린의 부하량이 헤파린의 방출량과 지속적 항응혈성에 미치는 영향을 검토하였다.

실험방법

재료 및 기기

폴리우레탄(Biomer, Ethicon Co., U.S.A.), 폴리에칠렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드[PEO-PPO, 분자량 2,917(Polyscience, U.S.A.)], 디메칠아세타미드(DMAC, Fischer Chem., Co., U.S.A.) 및 헤파린나트륨[porcine intestinal mucosal heparin(Diosynth. Inc., U.S.A.)]을 사용하였으며 기기로서는 자외부 및 가시부 분광광도계(Perkin-Elmer, Lambda)를 사용하였다.

고분자 매트릭스의 제조

고분자의 입자도가 약물 방출에 영향을 미치므로²⁵⁾ 본 실험에서는 헤파린 분말을 200호체로 사과하여 입자경 $74\mu\text{m}$ 이하를 사용하였다. 헤파린, PEO-PPO, 폴리우레탄은 중량비로 혼합하여 사용하였다.

고분자 매트릭스는 헤파린과 PEO-PPO의 일정량을 디메칠아세타미드에 용해된 폴리우레탄에 균일하게 분산시킨 다음 $60\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 24시간 동안 유리판 위에서 casting하여 제조하였다. 매트릭스를 유리판에서 분리한 후에 $24\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 24시간 동안 20 mmHg에서 진공건조하였다. 이 매트릭스로부터 원판형 매트릭스(지름 1.65 cm×두께 0.24 cm)를 제조하여 실험하였다.

고분자 매트릭스로부터의 헤파린 방출

고분자 매트릭스로부터의 헤파린 방출을 측정하기 위하여 상온에서 이온교환수 6 ml를 사용하여 감속 교반기를 이용하여 1500 rpm의 일정한 속도로 교반하면서 일정한 시간 간격으로 방출액을 교환하여 주었다. 채취한 검액은 Hurts 등의 방법²⁶⁾에 따라서 조작하고 파장 655 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 실험이 진행되는 동안 시험액은 항상 sink condition이 유지되도록 하였으며

Table I—Effect of PEO-PPO Loading on Polyurethane Matrices with 5% Heparin Loading.

PEO-PPO loading (%)	Heparin fraction released (%)	Cumulative amount of heparin released (mg/cm ²)
0	1.00 ²⁴⁾	—
5	63.25	4.269×10^{-1}
10	94.75	4.558×10^{-1}
15	98.39	4.524×10^{-1}

All matrices were released in distilled water for 7 days.

모든 실험은 2회 행하였다.

실험결과 및 고찰

헤파린과 PEO-PPO를 함유한 폴리우레탄 monolithic devices(이하 UMD)로부터의 헤파린 방출을 Table I에 나타내었다.

「헤파린-UMD」에서는 매우 낮은 헤파린 방출을 보이고 있으나²⁴⁾ 수용성 고분자 PEO-PPO가 분산된 「헤파린-PEO-PPO-UMD」에서는 높은 헤파린 방출을 나타내고 있다. 5%, 10%, 15% 및 20% PEO-PPO를 함유한 디바이스의 방출을 보면 소수성 고분자에서의 친수성 약물(헤파린)의 방출에는 보용매로 작용하는 친수성 고분자의 영향을 받는다^{23,24)} PEO-PPO의 부하량에 의해서 헤파린 방출이 증가됨을 알 수 있다.

PEO-PPO를 균일하게 분산하여 제조한 「헤파린-PEO-PPO-UMD」에서 헤파린 방출의 증가에 대한 기전으로서, 시험액과 직접 접촉하는 디바이스 표면의 헤파린 분말입자 또는 수용성 고분자 PEO-PPO가 시험액에 의해 녹아 방출되어 형성된 미세관들이 내부의 헤파린 입자 자체 또는 PEO-PPO 분자들과 함께 형성된 세공들을 계속 연결함으로써 헤파린 분자는 디바이스에서 확산되며 세공들을 통하여 방출되는 것으로 생각된다. 거대분자인 polypeptide가 매트릭스 밖으로 확산되기 위해서는 초기에 매트릭스가 물을 흡수하여 polypeptide가 녹아야만 한다.²⁷⁾ 「헤파린-PEO-PPO-UMD」의 방출 초기에서, 분말형태로 존재하는 헤파린 입자는 디바이스가 물을 흡수하여

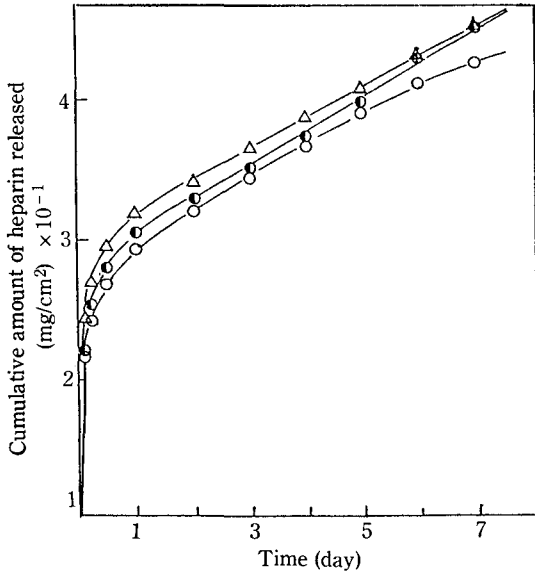


Figure 1—Cumulative amount of heparin released from polyurethane matrices containing 5% (w/w) heparin and different PEO-PPO loading.

Key: ○, 5% PEO-PPO/polyurethane; ●, 10% PEO-PPO/polyurethane; △, 15% PEO-PPO/polyurethane

녹은 다음에 확산하게 되므로 소수성 고분자인 폴리우레탄의 물 흡수와 헤파린 용해의 중요 인자로 PEO-PPO가 작용하는 것으로 생각된다.

casting 과정에서, 소수성 고분자인 폴리우레탄에 균일하게 분산되어 보충제로 작용하는 친수성 고분자인 PEO-PPO가 생성한 미세관들이나 세공들의 구조 크기는 PEO-PPO의 부하량에 의존하며, PEO-PPO 부하량에 따라서 헤파린 확산이 촉진되므로 헤파린 방출량이 증가하게 된다.

그러나 형성된 미세관의 구조가 골목되어 있는 영역 domain이 많으면 확산속도는 지연될 것이다. 또한 상온에서 액체상태로 존재하는 수용성 고분자인 PEO-PPO는 디메틸아세타미드에 용해된 폴리우레탄에 균일한 상태로 분산되며 casting 후에도 균일한 분산 상태로 존재하므로 미세관과 세공의 형성이 용이하며 이들과의 연결도 용이하게 이루어지며 부하량의 증가에 따라 확산이 용이하게 일어나면서 방출량이 증가하게 된다.

친수성 고분자인 PEO-PPO의 부하량을 20% (w/w)로 고정시키고 헤파린 부하량을 변화시켜 제조한 헤파린-PEO-PPO-UMD로부터의 헤파린

Table II—Effect of Heparin Loading on Polyurethane Matrices with 20% PEO-PPO Loading.

Heparin loading (%)	Heparin fraction released (%)	Cumulative amount of heparin released (mg/cm ²)
5	98.91	7.525 × 10 ⁻¹
10	51.66	8.198 × 10 ⁻¹
15	19.51	8.281 × 10 ⁻¹
20	14.75	8.301 × 10 ⁻¹

All matrices were released in distilled water for 7 days.

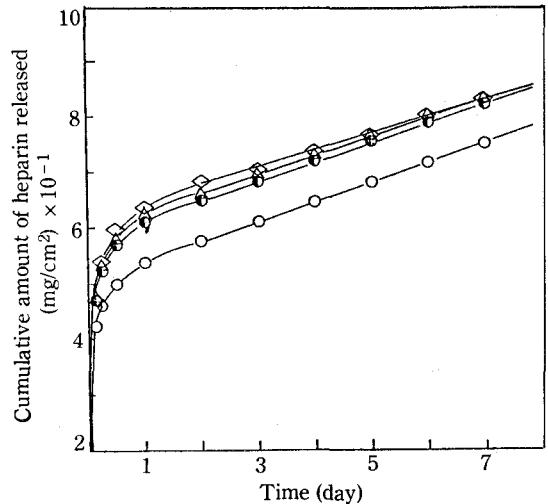


Figure 2—Cumulative amount of heparin released from polyurethane matrices containing 20% (w/w) PEO-PPO and different heparin loading

Key: ○, 5% heparin/polyurethane; ●, 10% heparin/polyurethane; △, 15% heparin/polyurethane; ◇, 20% heparin/polyurethane

방출 결과는 Table II와 같다.

「5% (w/w) 헤파린-20% (w/w) PEO-PPO-UMD]와 「10% (w/w) 헤파린-20% (w/w) PEO-PPO-UMD] 사이의 표면적당 헤파린 방출량을 비교하면 헤파린 부하량 증가에 따른 증가성을 보이고 있으나 비례관계를 나타내고 있지는 않다. 거대분자인 약물에서는 약물이 용해된 후에 확산되므로²⁷⁾ 다당류계에 속하는 헤파린의 농도가 증가하면 점도가 증가되어 확산속도가 감소되며 방출량이 낮을 것이다. 그리고 친수성 고분자인 PEO-PPO가 용해된 후에 방출되어 미세관과 세공을 형성한

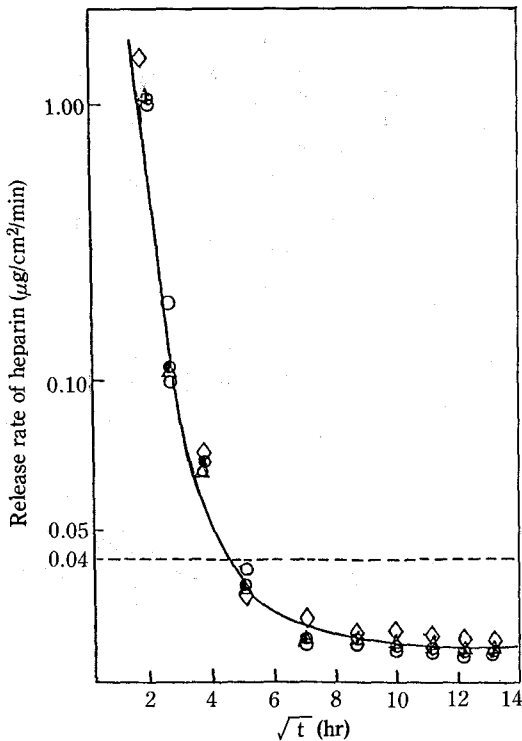


Figure 3—Release rates of heparin released from polyurethane matrices with different PEO-PPO and heparin loading.

Key: ○, 5% PEO-PPO/5% heparin; ●, 10% PEO-PPO/5% heparin; △, 15% PEO-PPO/5% heparin; ◇, 20% PEO-PPO/5% heparin

다. 헤파린 부하량과 단위면적당 헤파린 방출량과의 관계는 수용성 고분자인 PEO-PPO의 부하량에 주로 의존하고 있다. 약물 입자크기와 부하량에 의해서 약물방출이 조절되며²⁵⁾ 부하량이 적고 입자크기가 작으면 소수성 고분자에 완전히 둘러싸여 용해와 방출이 일어나지 않고 확산도 일어나지 않게 된다.²⁸⁾

casting 과정에서 헤파린 입자가 random 상태로 분산되어 헤파린 입자들 사이에 서로 연결되어 있다면 방출이 용이하므로 많은 부하량에서만 디바이스 깊숙히 분산된 입자까지도 방출될 수 있으며 특히 디바이스 표면에만 존재하는 헤파린은 시험액과 신속하게 접촉하게 되므로서 방출이 용이하여 burst effect가 일어난다. 이것은 일반적인 monolithic dispersed matrix의 특성이다.

임계항응혈농도 ($0.04 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{min}$)¹⁰⁾ 이상으

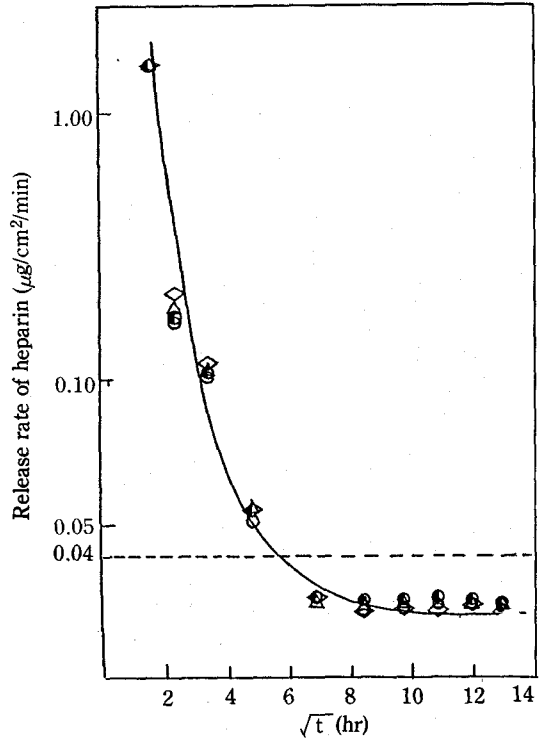


Figure 4—Release rates of heparin released from polyurethane matrices with different heparin and PEO-PPO loading.

Key: ○, 5% heparin/20% PEO-PPO; ●, 10% heparin/20% PEO-PPO; △, 15% heparin/20% PEO-PPO; ◇, 20% heparin/20% PEO-PPO

로 방출되는 결과는 Fig. 3과 4에 나타내었으며 PEO-PPO의 부하량 증가에 따르는 임계항응혈농도 이상의 방출시간을 장시간 지속시키지 못하고 있으며 헤파린 부하량 증가에서도 비슷한 결과를 나타내고 있다. 헤파린 방출에 있어서 헤파린과 PEO-PPO의 부하량에 대한 영향을 비교 검토하면 주로 PEO-PPO의 영향을 받고 있는 것으로 보인다.

친수성 고분자인 PEO-PPO 부하에 의한 디바이스의 물리적 성질이 친수성으로 변하면서 시험액에 의해서 신속하게 용해 방출되어 다공성 막을 형성하며 한편으로는 헤파린 입자 사이를 연결할 수 있는 미세관과 세공을 형성하게 되므로 헤파린 방출의 보조 인자, 즉 보충매로 PEO-PPO를 이용할 수 있는 반면에 매트릭스 표면을 친수성으로 변화시킬 수 있기 때문에 「헤파린-PEO-PPO-폴리

우레탄]계를 생체 내에서 항응혈 재료로서 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

폴리에칠렌옥사이드-폴리프로필렌옥사이드(PEO-PPO)는 소수성 고분자인 폴리우레탄에서 헤파린의 지속적 방출에 중요한 첨가제로 이용될 수 있다. 소수성 고분자에서 헤파린 방출은 주로 PEO-PPO의 부하량에 의존되며 이 PEO-PPO를 이용한 헤파린 방출은 주로 미세관이나 세공 형성에 의해서 방출되며 PEO-PPO와 소수성 고분자 매트릭스에 분산된 헤파린은 생체내 실험에서 지속적 항응혈작용이 있을 것으로 기대된다.

감사의 말씀

이 연구를 수행하는 데 협조하여 주신 미국 Utah University, Department of Pharmaceutics의 S. W. Kim 교수님께 감사드립니다.

문 헌

- 1) P.W. Heyman, C.S. Cho, J.C. McRea, D.B. Olsen and S.W. Kim, Heparinized polyurethanes: *In vitro* and *in vivo* studies, *J. Biomed. Mater. Res.*, **19**, 419-436 (1985)
- 2) 김영하, 정서영, 한동근, 조학인, 박전홍, 생체 적합성 고분자 재료 개발에 관한 연구 (III), 과학기술처, 1987
- 3) S.W. Kim, C.D. Ebert, J.Y. Lin and J.C. McRea, Nonthrombogenic polymer: pharmaceutical approaches, *ASAIO*, **6**, 76-87 (1980)
- 4) E.W. Merrill, E.W. Salzman, B.J. Lipps, E.R. Gilliland, T.P. Ashford and J. Joison, Antithrombogenic cellulose membranes for blood dialysis, *TASIO*, **12**, 139-150 (1966)
- 5) V.L. Gott, J.D. Whiffen and R.C. Datton, Heparin bonding on colloidal graphite surfaces, *Science*, **142**, 1297-1298 (1963)
- 6) W.E. Hennick, L. Dost, J. Feijen and S.W.

- Kim, Interaction of albumin-heparin conjugate preadsorbed surface with blood, *Trans. ASAIO*, **29**, 200-205 (1983)
- 7) R.I. Leininger, C.W. Cooper, R.D. Falb and G.A. Grode, Nonthrombogenic plastic surfaces, *Science*, **152**, 1625-1626 (1966)
- 8) Y. Mori, S. Nagaoka, Y. Masubuchi, M. Ito-ga, H. Tanzawa, T. Kikuchi, Y. Yamada, T. Yonaha, H. Watanabe and Y. Idezuki, The effect of released heparin from the heparinized hydrophilic polymer on the process of thrombus formation, *Trans. ASAIO*, **24**, 736-745 (1978)
- 9) R.L. Larson, M.B. Hjelte, J.C. Erikson, H.R. Lagergren and P. Olsson, The stability of glutaraldehyde stabilized heparinized surfaces in contact with blood, *Throm. Haemostas.*, **37**, 262-273 (1977)
- 10) H. Tanzawa, Y. Mori, N. Harmiya, H. Miyama, M. Hori, N. Ohshima and Y. Idezuki, Preparation and evaluation of a new nonthrombogenic heparinized hydrophilic polymer for use in cardiovascular systems, *Trans. Am. Artif. Intern. Organs*, **14**, 188-194 (1973)
- 11) G. Schmer, The biological activity of covalently immobilized heparin, *Trans. ASAIO*, **18**, 321-324 (1972)
- 12) M. Labarre and M. Jozefowicz, Properties of heparinpoly(methymethacrylate) copolymers. II., *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 283-295 (1977)
- 13) J. Lindon, R. Rosenberg, E. Merrill and E. Salzman, Inteaction of human platelets with heparinized agarose gel, *J. Lab. Clin. Med.*, **91**, 47-59 (1978)
- 14) Y. Miura, S. Aoyagi, Y. Kusada and K. Miyamoto, The characteristics of anticoagulation by covalently immobilized heparin, *J. Biomed. Mater. Res.*, **14**, 619-630 (1980)
- 15) R. Larsson, P. Olsson and U. Lindahl, Inhibition of thrombin on surface coated with immobilized heparin and heparin-like polysaccharides; A crucial nonthrombogenic principle, *Throm. Res.*, **19**, 43-54 (1980)
- 16) M.F.A. Goosen and M.V. Sefton, Properties

- of a heparinpolyvinyl alcohol hydrogel coating, *J. Biomed. Mater. Res.*, **17**, 359-374 (1983)
- 17) R. Langer and J. Folman, Sustained release of macromolecules from polymer, in: R.J. Kostlink (Ed.) *Polymeric Delivery Systems*, Midland macromolecular monographs vol. 5, Gordon and Breach Science Pub., N.Y., 1978, pp. 175-196
- 18) J.W. McGinity, L.A. Hunk and A.B. Combe, Effect of water soluble carriers on morphine-sulfate release from silicone rubber, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 662-664 (1979)
- 19) G. Dicolo, V. Carelli, E. Mannipier, M.F. Serafin, D. Vitale and F. Bottari, Effect of different water soluble additives on the sustained release of sulfanilamide from silicone rubber matrices, *Il Farmaco*, **37**, 377-389 (1982)
- 20) 김성호, 실리콘 segment device로부터의 헤파린 방출에 미치는 폴리에틸렌글리콜의 경향, *약학회지*, **29**, 70-75(1985)
- 21) 김성호, 최준식, 백채선, 유영중, 이치영, 항암제 제형개발에 관한 연구: Silicone rubber-수용성 첨가제의 Device에서 5-Fluorouracil의 용출, *약학회지*, **16**, 1-7(1986)
- 22) 김성호, 폴리에틸렌옥사이드-실리콘 Segment Device에서 헤파린 방출, *약학회지*, **30**, 306-310(1986)
- 23) 김성호, 폴리우레탄 디바이스로부터 헤파린방출, *약제학회지*, **17**, 75-78(1987)
- 24) S.H. Kim and S.W. Kim, Heparin release from hydrophobic polymer(1) *In vitro* studies, *Arch. Pharm. Res.*, **1**, 193-199 (1986)
- 25) W.D. Rhine, D.S.T. Hsieh and R. Langer, Polymer for sustained macromolecule release: Procedures to fabricate reproducible delivery systems and control release kinetics, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 265-270 (1980)
- 26) R.E. Hurt and J.M. Settine, An accurate colorimetric method of measurement of sulfaminohexose in heparin sulfates, *Ann. Biochem.*, **115**, 88-92 (1981)
- 27) R.A. Siegel and R. Langer, Controlled release of polypeptide and other macromolecules, *Pharm. Res.*, **1**, 2-10 (1984)
- 28) R. Langer, R. Siegel, L. Brown, K. Leong, J. Kost and E. Edelman, Controlled release: Three mechanism, *Chemtech. Reb.*, 108-110 (1986)