

Poly(L-lactic acid)와 Poly(oxyethylene-co-oxypropylene)을 포함한 생분해성 Poly(ester-ether)형 블록 공중합체의 항혈전성과 표면구조

이찬우[†] · 문성일* · 홍영기**

호서대학교 공과대학 첨단산업기술전공, *일본교토공과대학 기능성고분자학과, **(주)선진인더스트리 분리소재연구소
(2001년 2월 13일 접수)

Anti-thrombogenicity and Surface Structure of a Poly(ester-ether) Consisting of Poly(L-lactic acid) and Poly(oxyethylene-co-oxypropylene)

Chan Woo Lee[†], Sung Il Moon*, and Young Ki Hong**

Department of Innovative Industrial & Technology, Hoseo University, Asan-City 336-795, Korea

*Department of Polymer Science and Engineering, Kyoto Institute of Technology, Kyoto 606-8585, Japan

**Separation Material Lab., Sunjin, Inc., 496, Sapo-ri, Yeunsan-myun, Nonsan-city, Chungnam 320-874, Korea

[†]e-mail: cwlee@office.hoseo.ac.kr

(Received February 13, 2001)

요약: oxyethylene/oxypropylene 공중합체의 존재하에 L-lactide를 중합시킴에 의해 poly(L-lactic acid) (PLLA) (A)와 polyether (B)로 이루어진 A-B-A block copoly(ester-ether)를 합성하였으며, 이들 블록 공중합체는 세그먼트를 도입함에 의해 PLLA에 유연성이 부여되었고, 표면에서의 미세상분리 구조로 인한 항혈전성의 개질을 확인하기 위하여 AFM사진을 관찰한 결과, PLLA와 비교하여 블록 공중합체는 필름표면의 요철성이 현저하게 저하하여 매끄러운 것을 확인하였으며 따라서, 표면의 요철이 항혈전성의 증가와 깊은 관계가 있음을 확인하였다.

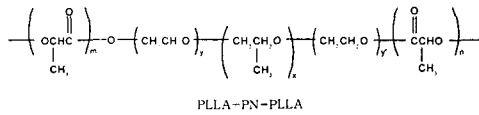
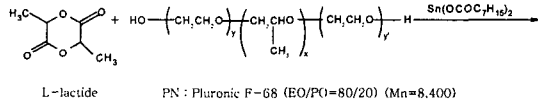
ABSTRACT: The A-B-A type block copoly(ester-ether)s consisting of poly(L-lactic acid) (PLLA)(A) and poly(oxyethylene-co-oxypropylene)(B) were prepared to improve the mechanical properties and hydrolyzability of PLLA. The block copolymers showed an improved flexibility due to the incorporation of the soft segments. Then, the same copolymer has an improved anti-thrombogenicity probably due to the specific microphase separation structure in the surface. The AFM of the film of the block copolymer revealed that the surface was quite flat in comparison with that of PLLA. Therefore, the flatness of the surface may be related with the increased anti-thrombogenicity of the copolymer film.

Keywords: block copolymer, hydrolyzability, anti-thrombogenicity, microphase separation.

서론

의학 및 약학의 주요 응용재료로서 생분해성 고분자에 관한 다양한 연구가 보고되고 있다.¹⁻⁴ 특히 poly(glycolic acid) (PGA) 및 poly(L-lactic acid) (PLLA)와 같은 poly(α -hydroxy acid)는 가수분해되어 그 조성체인 α -hydroxy acid로 남아 인간의 대사순환에 의해 배설되기 때문에 관심도가 높

아지고 있다.^{5,6} 따라서 이들은 약물담체⁷⁻⁹ 및 외과용 흡수성 봉합사로서 사용되고 있다.^{10,11} 그러나 이들 고분자는 높은 결정성과¹²⁻¹⁴ 낮은 친수성으로^{15,16} 인하여 분해속도의 제어가 곤란하고 연조직과의 적합성도 낮은 결점을 가지고 있다. 그와 같은 해결책의 하나로 친수성의 소프트 세그먼트를 블록 공중합에 의해 도입하여 물성의 제어를 시도하였다. 실제로 polyethylene glycol (PEG) 및 polypropylene gly-



Scheme 1

col (PPG)과 같은 polyether와 poly(α -hydroxy acid)의 블록 공중합이 현재까지 보고되어져 있다.¹⁷⁻¹⁹ 그러나 이들은 약제의 코팅제를 목적으로 한 저분자량 고분자의 합성이 중심이 되어 블록 공중합체의 특성을 충분하게 만족시키지 못하는 재료개발에 지나지 않았다.²⁰ 우리는 최근에 oxyethylene (EO)와 oxypropylene (PO)의 공중합체인 Pluronic™ (PN)을 사용하여 L -lactide와의 블록 공중합 및 역학적 성질과 분해성에 관하여 발표하였다.²¹⁻²³ PN은 양말단에 1급의 수산기를 가진 폴리에테르이므로 에스테르 교환반응에 의해 락톤과의 공중합은 쉽게 진행된다고 생각한다 (Scheme 1). 본 연구는 이전 보고한 방법을 기초로하여 공중합체를 합성 후 그들의 가수분해성 및 표면구조, 항혈전성, 혈소판 점착성 등을 검토하였다.

실 험

합성에 사용한 L -lactide는 이전에 보고된 방법에²⁴ 의해 합성한 후 반복해서 ethyl acetate로 재결정화시켜 정제하였고, PN은 Asashi denka (Japan)로부터 제공받은 것으로서 수평균분자량이 8400 (F-68)이며

사용전에 10^{-3} mmHg이하의 고진공에서 건조하였다. 중합촉매인 Tin (II) octanoate는 시판품을 증류, 정제한 후 그 0.1 g을 톨루엔 1 mL에 용해시켜 촉매 용액 (농도 : 0.1 g/mL)을 제조하여 사용하였다.

공중합은 4.0 g (27.8 mmol)의 L -lactide와 소정량의 PN을 50 mL의 플라스크에 넣어 수시간 진공하에서 철저히 건조 후, 질소치환하여 질소분위기에서 상술의 촉매용액 5.0 μ L (Tin (II) octanoate : 5.0 mg)을 첨가하여 실온에서 3시간 이상 반응시킨 후, 160 $^{\circ}$ C까지 가열하여 그 상태로 30분간 가열을 계속함에 의해 교반이 불가능한 상태로 되었다. 이것을 냉각 후, 20 mL의 클로로포름용액으로 용해시켜 대량의 메탄올용액중에 재침전한 후, 침전물을 여과하여 에테르로 세정한 후, 진공건조시켜 백색의 섬유상 생성물을 높은 수율로 얻었다. L -lactide에 대한 PN의 첨가비를 5~20 wt%로 변화시킴에 의해 조성이 다른 공중합체를 얻었다.

¹H-NMR 분석은 Varian사 XL-300 (300 MHz) 핵자기 공명장치를 사용하였으며 용매로는 CDCl_3 , 내부기준으로는 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다. DSC측정은 Mac Science사, Japan DSC 3100을 사용하여 질소기류중에서 시료 3.5 mg, 승온 온도 10 $^{\circ}$ C/min로 측정하였고, 분자량측정 및 분자량분포는 GPC (Shimadzu사, LC-10A Japan)를 사용하여 column온도를 35 $^{\circ}$ C에 설정한 후 단분산 폴리스티렌을 표준물질로 한 환산치를 사용하여 결정하였다.

용융방사에는 직경 1.0 mm의 mono hole형 노즐 및 직경 15.0 mm의 스크류식 압출기를 사용했다. 공급부, 압출부, 계량부의 온도를 각각 150, 180, 150 $^{\circ}$ C로 설정 후, 스크류 회전수 4 rpm, 토출량 0.15 g/

Table 1. Typical Results of the Block Copolymerization^a of L -lactide and PN (EO/PO=80/20; $M_n=8400$)

run No.	feed ratio		yield (%)	polymeric product		estimated values		T_g ($^{\circ}$ C)	T_m ($^{\circ}$ C)
	L -lactide/PN (wt/wt)	LA/EO/PO (composition)		LA/EO/PO ^b	$M_n \times 10^{-4}$ ^c (dalton)	$M_n \times 10^{-4}$ ^d (dalton)			
1	100/0	100/0/0	95	100/0/0	16.7		48	176	
2	95/5	98/1.6/0.4	96	98/1.6/0.4	14.2	16.8	45	174	
3	90/10	95/4.0/1.0	93	95/4.0/1.0	8.1	8.4	31	171	
4	80/20	89/8.8/2.2	93	89/8.8/2.2	3.9	4.2	18	162	

^a At 160 $^{\circ}$ C for 30 min with 0.1 mol% of Tin (II) octanoate relative to L -lactide. ^b By ¹H NMR spectra ^c By GPC with chloroform as the eluent. ^d Assuming that the polymerization of L -lactide took place preferentially from the terminal hydroxy groups of PN.

min의 조건으로 압출하여 권취속도 8.2 m/min으로 권취했다. 이때 용융연신배율은 7.5배이었으며 직경 0.12 mm의 섬유를 얻었다.

이와같이 하여 얻은 섬유를 20 mL의 철저히 멸균한 인산염 완충용액 (pH=7.4)에 약 10 mg의 봉합사를 침지시킨 유리병 10개를 준비하여, 이들을 37 °C의 항온수조에 일정시간 방치한 후, 섬유를 분리, 증류수로 세척 건조한 후 역학적 성질과 분자량 특성을 측정하였다.

이들 공중합체를 클로로포름에 용해시켜 캐스트필름을 제작하여 혈소판 점착성과 표면구조를 검토하였다. 필름에 대한 혈소판 점착성 실험방법은 우선, 인간의 팔굽치정맥피와 citrate로부터 혈소판수가 10^5 개/ μ L의 혈장을 조정한 후, 8×8 mm의 필름위에 200 μ L의 혈소판 함유 혈장을 적하시켜 실온에서 30 분 그대로 방치한 후, 세정액 (0.01 M의 인산완충 식염수 (pH=7.0) : 0.9, 3.8%의 citrate : 1.0)으로 2 회 정도 가볍게 세정 후, glutaric aldehyde 1% PBS용액중에 하루정도 고정시킨다. 그 후 PBS로 1 회, 증류수로 7회 세정 후, 액체질소에서 동결, 하루 밤 진공건조하여 관찰시료를 제작하였다.

결과 및 고찰

Tin (II) octanoate를 촉매로 한 *L*-lactide의 중합에 있어서는 고분자의 수산기말단이 촉매에 의해 활성화되어 락톤단량체가 부가되어 가는 메카니즘을 생각할 수 있다. 본 연구에 사용한 PN은 양말단의 EO단위에 유래한 1급의 수산기를 가지고 있기 때문에 이것을 개시점으로 *L*-lactide와의 블록 공중합이 가능하게 된다. Table 1에 각종의 혼합비로 공중합한 대표적인 결과를 나타내었다.

첨가비의 어느 경우에 있어서나 생성 고분자의 수율은 90%를 초과하는 것을 알 수 있다. 재침전 후에 회수한 메탄올용액 및 세정용액인 diethyl ether에 용해된 생성물을 GPC, ¹H-NMR로 분석한 결과, *L*-lactide가 소량 포함되어 있을 뿐 PN은 검출되지 않았다. PN은 메탄올 및 diethyl ether에 가용이기 때문에 첨가한 PN의 전량이 공중합체중에 참여한 것을 확인하였다. 따라서, *L*-lactide의 중합이 PN의 모든 말단에서 발생한 A-B-A형의 블록 공중합체가

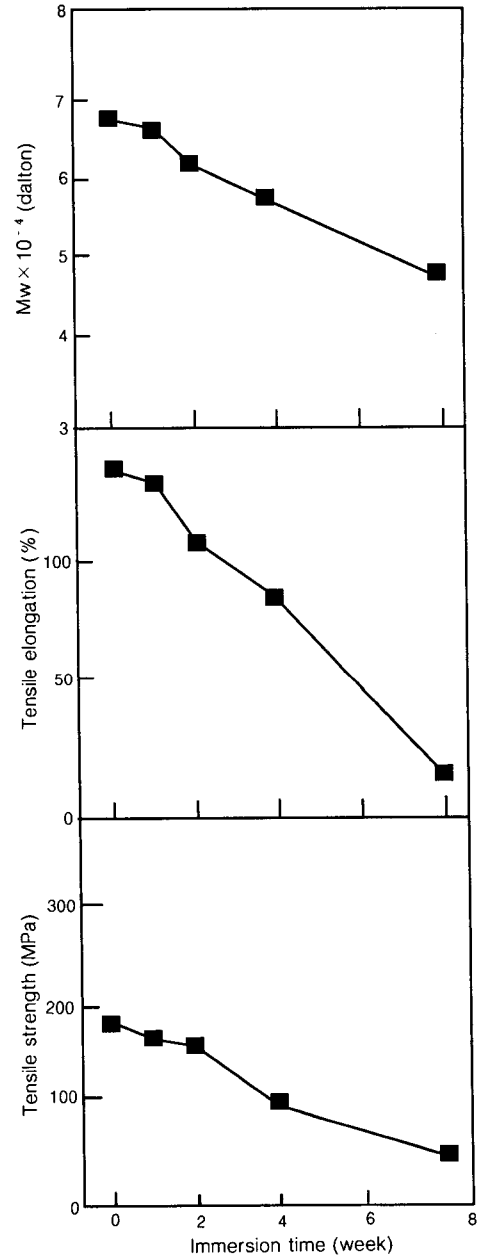


Figure 1. Tensile properties of PLLA/PN(90/10) fiber as a function of immersion time in phosphate buffer(pH=7.4) (the draw ratio of 5 at 60 °C).

형성되었다면 PLLA의 세그먼트(A)의 길이는 첨가비와 *L*-lactide의 중합율로부터 구할 수 있고, 이미 알려진 폴리에테르 세그먼트(B)의 분자량과 합하면

공중합체의 분자량을 계산으로 예측할 수 있다. 이와 같이 하여 구한 계산 분자량을 Table 1에 나타내었고, GPC 및 DSC의 분석결과, PN의 함유율이 증가함에 따라 분자량이 저하함을 보였고, T_m 및 T_g 도 저하하나 PN의 첨가비가 20 wt%인 경우는 각각 10 °C 및 30 °C 이상의 현저한 저하가 관찰되었다.

Figure 1에는 실험항에서 나타낸 조건으로 용융방사한 봉합사를 60 °C에서 5배 연신한 PLLA/PN=90/10섬유를 인산염 완충용액 (pH=7.4)중에 침적시켜 가수분해실험을 행하여 인장강도, 신도 및 분자량의 시간이 경과함에 따른 변화를 나타내었다. 60 °C에서 연신한 섬유는 침적시간이 경과함에 따라 분자량이 감소하고 그와 동시에 강도 및 신도가 서서히 감소하는 것을 확인하였으나 8주일 후에는 신도 및 강

도가 거의 없는 상태가 되어있는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 60 °C에서 연신한 섬유는 PLLA 세그먼트의 결정화가 발생하기 때문에 결정사이의 비결정부분에 PN 세그먼트가 보다 많이 분포되어 그 부분의 가수분해가 진행되어 그 결과로 강도 및 신도의 저하가 진행된 것으로 생각된다.

Figure 2에 연신섬유의 가수분해 후의 SEM사진을 나타내고 있는데 침적 2주일 후에는 외관상의 큰 변화는 관찰되지 않았으나 4주일 후에는 섬유표면으로부터 침식이 진행되고 있음을 알 수 있고 8주일 후에는 내부까지 상당히 분해가 진행되었음을 확인하였다.

Figure 3에 각 필름에 점착된 혈소판 SEM사진을 나타내고 있는데 PLLA의 단일중합체는 일반적인 고분자 필름과 같이 높은 점착성을 나타내고 있으나

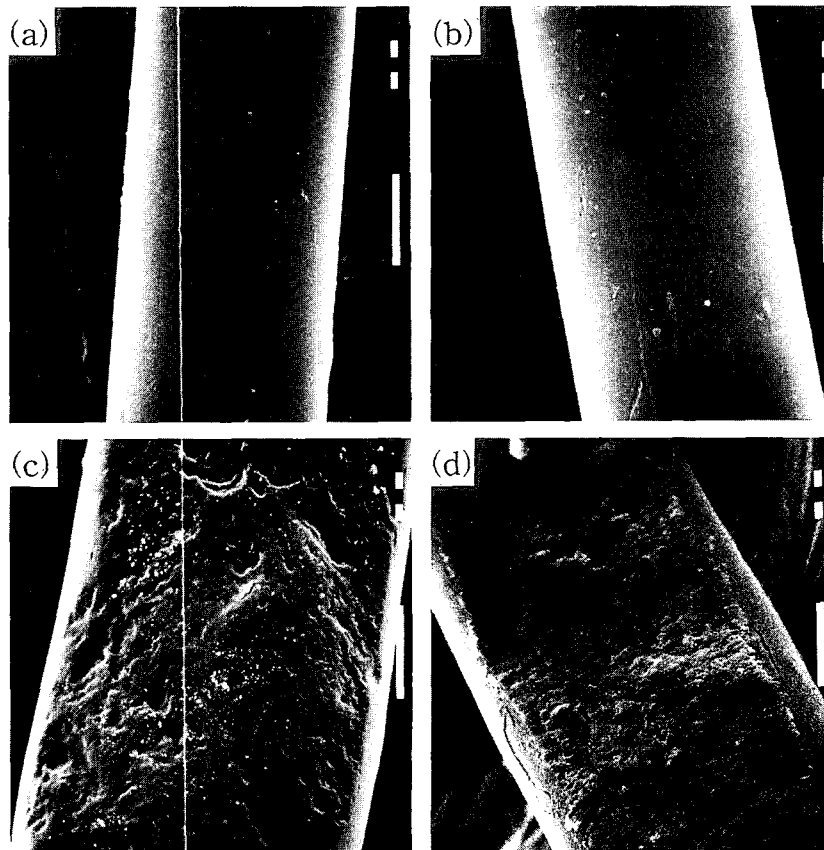


Figure 2. SEM of the PLLA/PN (90/10) fibers drawn up to 5 times at 60 °C after immersion in phosphate buffer (pH=7.4). (a) 1 week, (b) 2 weeks, (c) 4 weeks, and (d) 8 weeks. Scale bar=10 μm.

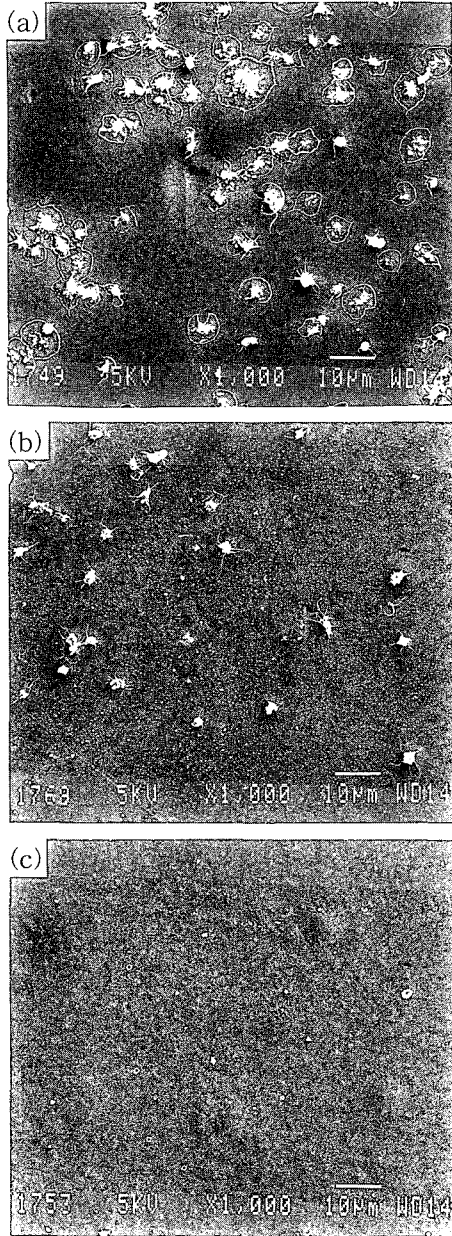


Figure 3. SEM of platelet attaching on the PLLA/PN films. (a) PLLA, (b) 90/10, and (c) 80/20.

공중합체 필름은 PLLA/PN=90/10에서 현저하게 감소되어 80/20 필름에서는 거의 0에 가까운 것을 관찰하여, 지금까지 알려진 항혈전성 재료와 같은 수준의 항혈소판 응집능력이 높은 표면이 형성되었음을

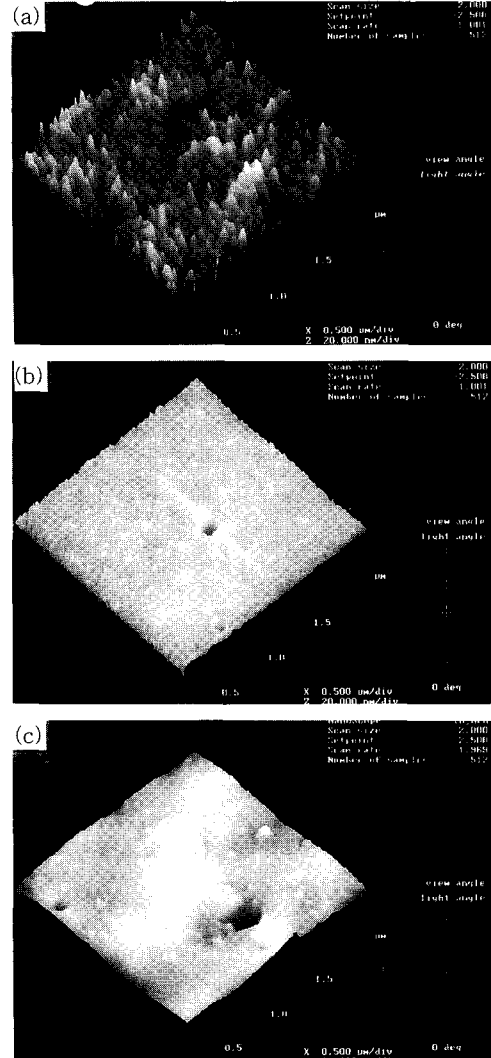


Figure 4. AFM of the flatness on the PLLA/PN films. (a) PLLA, (b) 90/10, and (c) 80/20.

확인하였다.

Figure 4에는 각 공중합체 필름의 AFM사진 관찰 결과를 나타내었다. PLLA 단일중합체와 비교하여 공중합체는 필름표면의 요철성이 현저하게 저하되어 매끄러운 표면을 가지고 있는 것을 확인하였으며, 이와 같은 요철성은 PLLA 세그먼트의 결정화에 유래한 것으로 예측되나 공중합체에서는 그 미세한 결정이 작아진 것으로 생각된다.

Figure 3, 4에 나타난 결과를 종합하여 Table 2

Table 2. Average Surface Roughness and Number of Platelets Attaching on the PLLA/PN Films

run No.	L-lactide/PN (wt)	platelet number		half width (nm)	steepness (nm)
		donor1	donor2		
1	100/0	439	-	109	20.0
2	90/10	10	7	22	2.9
3	80/20	0	2	10	0.5

에 정리하였다. 좌측에 나타낸 것과 같이 공중합체 필름에서는 혈소판 점착수가 현저하게 감소하여 거의 한자리 수임을 알 수 있으며, 도너의 차이점은 거의 없음을 알았다. 또한 우측의 결과에서도 알 수 있듯이 공중합체 표면의 거칠정도 즉, 표면의 돌기(突起)치수가 공중합체에서는 현저한 차이가 확인되었다. 이와 같이 공중합체에서는 매끄러운 표면이 형성되어 단백질 등의 흡착이 발생되지 않아 그 결과로서 혈소판의 점착성이 저하함을 확신했다.

결 론

PLLA에 PN세그먼트를 최적의 중합조건에 의해 쉽게 도입할 수 있었으며 그 결과 유연성과 친수성이 증가하였고, 60 °C에서의 연신에 의해 섬유 분해속도를 조절할 수 있었으며, 그 분해성이 우수함을 확인하였다. 또한 필름에 의한 항혈소판 점착성실험 결과, 공중합체의 필름에서는 단일중합체와 비교하여 그 능력이 현저하게 뛰어나고, 필름표면이 미세 상분리구조, 즉 매끄러워 단백질 등의 흡착이 발생하지 않음이 확인되어 그와 같은 재료로서의 응용은 폭 넓으리라 확신한다.

감사의 글: 본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(2000-1-31400-003-3)지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. E. J. Frazza and E. E. Schmitt, *Biomed. Mater. Res., Symp.*, **1**, 43 (1971).
2. D. K. Gilding and A. M. Reed, *Polymer*, **20**, 1459 (1979).
3. S. Gogolewski and A. J. Pennings, *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, **4**, 213 (1983).
4. R. J. Fredericks, A. J. Melveger, and J. Dolegiewitz, *J. Polym. Sci., Polym. Phys. Ed.*, **22**, 57 (1984).
5. H. Alexander, J. R. Parsons, I. D. Strauchler, S. F. Corcoran, O. Gona, C. Mayott, and A. B. Weis, *Orthop. Rev.*, **10**, 41 (1981).
6. E. Echeverria and J. Jimenez, *Surgery*, **131**, 1 (1970).
7. H. J. Sander, *Chem. Eng. News*, 31 (1985).
8. H. Okada, Y. Ogawa, and K. Yashiki, JP 60, 100, 516 (1985); *Chem. Abstr.*, **103**, 166162z (1985).
9. T. Iwa, M. Hirano, R. Yamashita, and M. Sakatoku, *Igaku No Ayumi*, **128**, 655 (1984); CA 101, 43491g (1984).
10. H. Dardik, I. Dardik, and H. Laufman, *Am. J. Surg.*, **121**, 656 (1971).
11. B. Eling, S. Gogolewski, and A. J. Pennings, *Polymer*, **23**, 1587 (1982).
12. K. Jamshidi, S. H. Hyon, T. Nakamura, Y. Ikada, Y. Shimizu, and T. Teramatsu, "Biological and Biomechanical Performance of Biomaterials", eds. by P. Christel, A. Meunier, and A. J. C. Lee, p. 277, Elsevier, Amsterdam, 1986.
13. B. Eling, S. Gogolewski, and A. J. Pennings, *Polymer*, **23**, 1587 (1982).
14. B. Kalb and A. J. Pennings, *Polymer*, **21**, 607 (1980).
15. C. C. Chu, "Biomaterials", eds. by G. D. Winter, D. F. Gibbons, and H. Plenk Jr., p. 781, John Wiley, New York, 1982.
16. R. A. Miller, J. M. Brady, and D. E. Cutright, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 711 (1977).
17. D. J. Casey and K. R. Huffman, US Patent 4438 253 (1984).
18. E. A. Vitalis, US Patent 2917410 (1959); *Chem. Abstr.*, **54**, 7173d (1960).
19. T. Kitao, Y. Kimura, N. Ohtani, Y. Matsuzaki, and K. Yabuuchi, *Jpn. Kokai Tokyo Koho*, **21**, 1504 (1989).
20. Y. Cha and C. G. Pitt, *Biomaterials*, **108**(111), 11 (1990).
21. C. W. Lee and Y. Kimura, *Kobunshi Ronbun Shu*, **52**, 11 (1995).
22. C. W. Lee and Y. Kimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 1787 (1996).
23. C. W. Lee and Y. Kimura, *Sen-I Gakkaishi*, **52**, 8 (1996).
24. W. H. Carothers, G. L. Dorouah, and F. J. V. Natta, *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, 761 (1932).