

## Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate)막을 통한 아미노산의 확산 기구에 관한 연구

金宜洛\* · 鄭鳳鎭 · 李明載<sup>†</sup> · 閔廣奎

계명대학교 자연과학대학 화학과

<sup>†</sup>카톨릭대학 의학부 화학과

(1992. 5. 27 접수)

## The Study for Diffusion Mechanism of Amino Acids Through Poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate)Membrane

Ui-Rak Kim\*, Bong-Jin Jeong, Myung-Jae Lee<sup>†</sup>, and Kyung-Sub Min

Department of Chemistry, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

<sup>†</sup>Department of Chemistry, Catholic Medical College, Seoul 135, Korea

(Received May 25, 1992)

**요 약.** 2-Hydroxyethyl methacrylate(HEMA)을 중합한 P(HEMA)막을 통하여 10가지 아미노산들의 확산계수, 분배계수 및 투과도를 용액의 pH 변화 하에서 조사 연구하였다. 아미노산의 투과도는 각 아미노산들의 분자형태, 분자크기 및 전하량에 따라 다른 값을 나타냄을 확인하였으며, 특히 용액의 pH에 따라 전하량이 변화하는 각 아미노산은 P(HEMA)막을 통하여 투과시킬 때 모든 아미노산이 중성영역용액에서 가장 많이 투과되고 이때 막은 미세공막으로 작용하며, 염기성영역용액에는 산성영역용액보다 더 많이 투과되고 막은 분배막으로 작용함을 알았다.

**ABSTRACT.** The transport phenomena of ten amino acid molecules through poly(2-hydroxyethyl methacrylate), P(HEMA) membrane have been investigated in various range pH solutions. It is found that the permeability and diffusivity of the amino acids through membrane depended on the different shape, size and the charge of them are changed by the pH. The permeabilities and diffusivities of amino acids have the largest value in the neutral solution. In this case, they are diffused through free water in the P(HEMA) membrane and the diffusion mechanism is the pore type. The basic solution have larger value than the acidic it. Whether the diffusion mechanism of the core type or the partition type, it is depended on the effect of side chain of the amino acid in basic and acidic solution.

### 서 론

Poly-2-hydroxyethylmethacrylate P(HEMA)을 Wichter와 Lim<sup>1</sup>이 1960년대 처음으로 생체 적합성 합성물질로 발표한 이래, P(HEMA)가 의료용 고분자재료로서의 이용 가능성에 대하여 광범위한 연구가 진행되고 있다<sup>2-9</sup>. P(HEMA)는 소수성의  $\alpha$ -methyl기와 주사슬에서 떨어진 위치에 친수성의 수산기를 가지므로 소수성과 친수성을 동시에 나타내는 양쪽성(amphiphilic)을 가진 수화겔로서, 3차원 망

상구조를 가지며, 물에 의하여 팽윤되고, 그 구조내에 상당량의 물을 함유하고 있으며, 이들 물은 3가지 종류의 물로 나눌 수 있다고 Jhon<sup>10</sup>은 제안하였다. 즉 P(HEMA)내의 친수성기에 강하게 붙어 있는 bound water와 P(HEMA)의 분절(segment) 사이에 있는 소수성기에 붙어 있는 interfacial water와 수용액속에 존재하는 bulk water와 유사한 free water 등이다. 이들 물이 수송현상에 어떤 영향을 미치는가를 알기 위하여 Ratner와 Miller<sup>11</sup>는 P(HEMA)

수화겔 막에서 요소, NaCl, glycine 그리고 glucose의 투과를 연구한 후 요소의 특이한 투과성은 수화겔과 용질사이의 특별한 친화력에 기인하며, 요소와 NaCl 확산은 순수한 수용액과 비슷한 환경으로 되어 있는 겔 내부의 free water를 통하여 일어난다고 하였다. Lee 등<sup>12</sup>은 P(HEMA) 막에서 아미드류의 투과를 가교제 함량 변화에 대해 조사하였으며, 가교제 함량이 높은 막은 미세공막(pore membrane)으로 그리고 함량이 낮은 막은 분배막(partition membrane)으로 작용함을 지적하였으며, 분배막에서 요소의 특이한 투과성은 막과 용질사이의 수소결합에 기인한다고 하였다. Wisniewski<sup>13</sup>은 P(HEMA) 막에서 소수성 용질의 투과는 높은 물함량에서는 미세공막 메커니즘에 의존하고, 낮은 물함량에서는 분배 메커니즘에 의존하나 NaCl, sugar 및 요소와 같은 친수성 용질의 투과는 수화겔 중의 free water 영역을 통하여 일어난다고 하였다. Higuchi 등<sup>14</sup>은 poly(vinyl alcohol-co-itaconic acid) 막속에서 saccharose, NaCl 및 요소의 투과를 조사하였으며, saccharose의 투과는 bulk 영역을 통하여 일어나고, NaCl 및 요소의 투과는 bulk-like 및 bound water 두 영역 모두에서 일어난다고 보고하였으며, Park 등<sup>15</sup>은 (HEMA) 및 acrylamide 류의 공중합 막을 통하여 요소의 특이한 투과성은 bound water와 요소사이의 높은 수소결합력에 기인한다고 보고하였다.

본 연구의 목적은 P(HEMA) 막을 통하여 용액의 pH 변화시켜 가면서 투과 용질인 아미노산을 확산시켰을 때 막과 용질, 막과 용매, 용매와 용질의 상호작용을 관찰하고, 확산계수, 분배계수 그리고 투과계수를 얻어 그들의 투과메커니즘을 연구하는데 있다. 특히 용질로 사용한 아미노산은 축쇄 R의 종류에 따라 그들의 물리화학적 성질이 다르기 때문에 이들이 막내를 통과할 때 막과의 상호작용에 의한 확산, 분배 및 투과현상에 차이를 보일 것이다. 따라서 이에 대한 규명은 이 분야의 연구에 중요한 의미를 부여할 뿐 아니라, 생체내에서의 아미노산의 거동을 예측하는데 좋은 자료를 제공한다.

## 실 험

### 시약 및 기기

본 실험에서 사용된 2-hydroxyethylmethacrylate

(HEMA)은 polyscience INC.에서 구하였고, 안정제로 사용된 Hydroquinone과 불순물을 제거하기 위하여, 정제<sup>16</sup>하여 사용했으며, 아미노산은 Sigma 제품을 정제하지 않고 사용했다. 증류수는 2차증류해서 사용하였으며, 기타 시약은 Sigma와 Aldrich 제품을 사용했다. 농도변화를 측정하기 위하여 사용한 High Performance Liquid Chromatography(HPLC)는 Waters사의 HPLC Model 440를 사용하였다.

### 막의 제조

본 연구에서 사용한 Azobismethylisobutyrate (AMIB)는 Azobisisobutyronitrile(AIBN)로부터 Mortimer법<sup>17</sup>에서 합성하였다. AIBN는 약 산성하에서 가알콜분해하여, 작용기인 Nitrile group을 Imino ester 염으로 변화시킨 후 생성하는 침전을 여과한 후 가수분해하면 Imino ester기는 ester형태로 분해되며, 이것은 중합시 다시 두 개의 자유라디칼이 생성되어 단량체를 중합하게 된다.

본 실험에서 사용막 막의 조성은 HEMA와 물의 비를 5.5:4.5로 혼합한 후, 여기에 투명도를 증가시키기 위하여 10%의 ethylene glycol을 첨가하고, 중합 개시제로 AMIB을 7.84  $\mu\text{mole}/\text{ml}$ 를 넣었다. 이 용액을 30분간 진공펌프로 기체를 뽑아낸 다음, 깨끗한 두 개의 유리판 사이에 셀로판테이프를 각 테두리에 붙여 막의 두께를 조절하고 이 유리판 사이에 혼합용액을 주입한 후, 60°C에서 24시간 중합시켜 막을 만들었다. 이렇게 하여 만든 막속에 존재하는 미반응 물질과 ethylene glycol을 함께 추출하기<sup>18</sup> 위하여 증류수를 매일 갈아 주면서 3주간 담구어 둔 후 실험에 사용하였다.

### 확산실험 및 측정

본 실험에서 이용된 Glass diffusion cell은 Fig. 1과 같다.

막을 cell 중간에 끼워 놓고 용액이 새지 않도록 조절한 후, 한쪽 방(chamber)에 10종의 0.01 M 아미노산용액 160 ml를 넣고 다른 방(chamber)에는 pH가 동일한 universal buffer solution(160 ml)을 넣었다. 그리고 boundary layer effect를 제거하기 위해 synchronous motor를 부착시킨 교반기로 750 rpm으로 일정하게 교반하였다. 이때 막의 투과면적은 21.2  $\text{cm}^2$ 이고, 젖은 막의 두께는 0.16~0.17 mm 이었다. 일정한 시간마다 시료 0.5 ml를 채취한 후

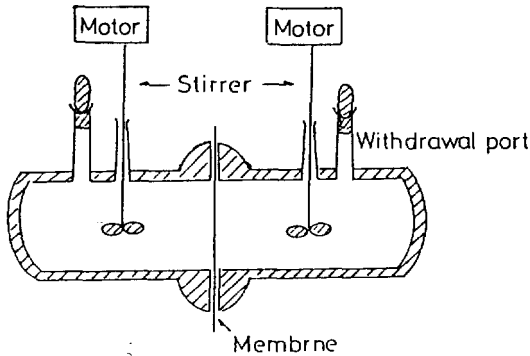


Fig. 1. The diffusion cell for measuring solute permeability.

거기에 universal buffer solution 0.5 ml을 넣어 항상 160 ml의 용량을 가지도록 하였다. 이렇게 하여 얻은 시료를 HPLC로 측정하였으며, 이때 사용된 column은 PICO.TAG column(3.9×150 mm)이고, 47 °C에서 UV 254 nm에서 측정하였으며, standard와 sample을 각각 PICO.TAG Workstation에서 건조한 후 PITC 유도체 시약(MeOH : H<sub>2</sub>O : TEA : PITC=7 : 1 : 1 : 1, v/v) 20 μl를 가하여 실온에서 20분간 방치한 후, PICO-TAG Workstation에서 완전 건조하였다. 그리고 난 다음 sample diluant 시약을 250 μl 가하여 injection하였다. 여기서 TEA는 triethylamine이고 PITC는 phenylisothiocyanate이다. 이 때 Mobile phase로 sodium acetate trihydrate 20.59 g과 TEA 600 μl를 Milli-Q를 통한 증류수 1 liter에 녹이고 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>로 pH 6.4로 맞춘 다음, 이 용액과 60% CH<sub>3</sub>CN 용액을 94 : 6(v/v)비로 섞고, 여과한 후 사용하였다. 그리고 확산량의 농도는 Fig. 2와 같은 peak의 면적을 구하여 계산하였다.

막에 대한 함수율과 아미노산의 투과계수, 분배계수, 확산계수는 다음과 같이 구하였다.

**막의 함수율 측정.** 물함량실험은 일정한 크기의 막을 진공건조기에 24시간 방치한 후 건조한 막의 무게를 측정하고 그 막을 용액에 넣고 완전히 평형에 도달하도록 한 후 막의 표면의 물을 종이(tissue)로 제거한 다음, 무게를 화학천평으로 측정하였다.

함수율(%)=

$$\left[ \frac{\text{젖은 막의 무게} - \text{건조한 막의 무게}}{\text{젖은 막의 무게}} \right] \times 100$$

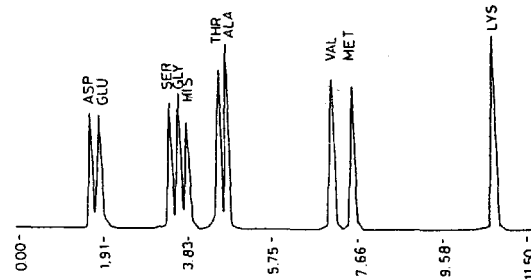


Fig. 2. Typical chromatogram of amino acids.

#### 투과계수<sup>19</sup>.

$$\ln(1 - 2C_t/C_0) = -(1/V_1 + 1/V_2)AU/l \quad (1)$$

여기서  $C_t$ 는 시간  $t$ 에서 아미노산의 확산된 농도이며,  $C_0$ 는 초기 아미노산의 농도이고,  $V_1$ 과  $V_2$ 는 각 방의 부피이며,  $A$ 는 막의 면적이고,  $l$ 은 젖은 막의 두께이며, 투과계수  $U$ 는  $\ln(1 - 2C_t/C_0)$ 와 시간  $t$  사이의 기울기로부터 구할 수 있다.

**분배계수.** 분배계수( $K_D$ )는 평형 상태에서 용액 상에 녹아있는 용질의 농도와 막내부에 녹아 들어간 용질의 농도비이다. 그러므로  $K_D$ 는 아래와 같이 정의된다.

$$K_D = (C_0 - C_t)V_s/V_m C_t \quad (2)$$

여기서  $C_0$ 는 외부용액의 최초 농도를,  $C_t$ 는 용질이 막에 흡착이 완전히 이루어진 후의 외부용액농도를 의미하며,  $V_s$ 와  $V_m$ 은 각각 용액의 부피 그리고 막의 부피이다. 측정하는데 편의를 도모하기 위하여 one-step sorption technique<sup>20</sup>으로  $K_D$ 를 구할 수 있다.

**확산계수.** 투과계수( $U$ )와 확산계수( $D$ )는 다음과 같은 관계가 있다.

$$U = D \cdot K_D/l \quad (3)$$

분배계수  $K_D$ , 투과계수  $U$ 와 막의 두께  $l$ 로부터 확산계수를 구할 수 있다.

#### 결과 및 고찰

**투과중인 아미노산의 특성.** 막을 통한 용질의 투과현상은 막의 특성, 용질의 성질 그리고 용매의 성질에 따라 막과 용질, 용질과 용매 그리고 막과 용매의 상호작용력의 차이에 의하여 투과기구를 설

Table 1. The physical and chemical properties of amino acids<sup>21</sup>

	Molecular weight	Solubility g/100g <sup>(25°C)</sup>	Isoelectric point	Partial molar volume (cm <sup>3</sup> )	Shape of R-group RCH(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )COO <sup>-</sup>
Alanine	89.09	16.65	6.00	60.50	nonpolar uncharge
Valine	117.15	8.25	5.96	90.78	
Methionine	149.21	5.6	5.74	105.35	
Glycine	75.06	25	5.97	43.19	polar uncharged
Serine	105.09	38	5.68	60.80	
Threonine	119.12	10.6	5.64	76.83	
Aspartic acid	133.1	0.5	2.77	73.83	negatively charged
Glutamic acid	147.13	0.86	3.22	85.88	
Lysine	146.19	73.3	9.74	88.53	positively charged
Histidine	155.16	4.29	7.47	98.79	

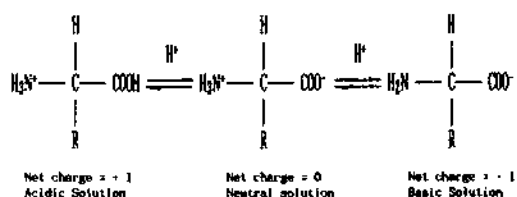


Fig. 3. Protonic equilibria of amino acids.

명하는 투과계수, 확산계수 및 분배계수가 달라진다. 본 연구에서 사용된 용질인 아미노산이 P(HEMA) 막을 통하여 투과될 때 분자량의 크기와 molar volume, 액성변화에 따른 구조 변화와 이온형태의 존재비, 수화수(number of hydration), 측쇄의 소수성의 크기 그리고 쌍극자 모멘트 등이 막과 상호작용을 할 때 영향을 미칠 것이다. 이와 같은 성질들이 용매의 종류에 따라 그 성질이 달라지므로 아미노산의 분자량, 용해도, 동전점, molar volume 및 이들의 형태를 살펴보면 Table 1과 같다.

또한 이들 아미노산의 구조적 차이를 이용하여 Lehninger는 아미노산  $\text{RCH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$ 에서 R group의 극성의 차이에 따라 비극성, 극성비전하, (+)전하 및 (-) 전하 4가지로 분류하였다<sup>22</sup>. 용액의 액성에 따라 Fig. 3과 같이 아미노산의 구조가 달라지므로, pH 변화에 따라 용액내에 존재하는 각 구조의 존재량을 알기 위하여 Henderson-Hasselbalch 식 " $\text{pH} = \text{pK}_1 + \log([\text{base}]/[\text{acid}])$ "을 이용하여 산성용액(pH 1.9), 중성용액(pH 7.2)과 염기성용액(pH

9.7)에서 각 아미노산의 양쪽성이온(zwitterion), 양이온과 음이온의 존재비를 계산하여 Table 2에서 Table 4에 각각 수록하였다.

아미노산이 수용액 속에서 존재할 때 각각의 형태에 따라 화합하는 물분자 수가 다르게 된다. Millero<sup>23</sup>와 그의 공동 연구자는 양쪽성이온일 때 수화가 가장 많이 되고, 양이온일 때 대략 3~5개의 물에 의하여 수화되며, 음이온은 거의 수화되지 않거나 극히 적은 수로 수화된다고 발표하였고 중성영역 용액에서 각 아미노산의 수화수( $n_H$ )는 Table 5와 같다.

또한 아미노산 구조내에 있는 측쇄의 소수성의 크기를 비교하기 위하여 아미노산을 유기용매로 부터 물로 옮길 때의 자유에너지 변화를 Gly을 기준으로 비교하면 Table 6과 같다<sup>24,25</sup>.

중성용액내에 존재하는 양쪽성이온의 쌍극자 모멘트(dipole moment)는 Table 7과 같으며, 17 Debye<sup>21</sup> 부근임을 알 수 있고, 각 아미노산들의 molar volume( $\Phi^\circ$ )이 액성에 따라  $\Phi^\circ(\text{NaOH}) > \Phi^\circ(\text{HCl}) > \Phi^\circ$  (water)의 순서로써, 염기성용액에서 가장 크고, 중성용액에서 가장 작다는 것을 Battacharya 등<sup>26</sup>이 보고한 바 있다. 용액의 액성에 따른 아미노산의 molar volume 크기와 투과계수의 크기가 일치하지 않으므로, 아미노산의 분자량과 molar volume 외에 아미노산의 확산을 지배하는 요소가 있다는 것을 알 수 있다.

**막의 팽윤성.** 아미노산의 P(HEMA) 막을 통한

Table 2. The percentages of the cationic, anionic and zwitterionic species existing in the source solution at pH 1.9

Net charge	Percentage of species <sup>a</sup> as				
	Cation		Zwitterion	Anion	
	+2	+1	0	-1	-2
Ala		73.81	26.18	$4.15 \times 10^{-7}$	
Val		71.99	28.01	$4.33 \times 10^{-7}$	
Met		67.12	32.87	$1.28 \times 10^{-6}$	
Gly		73.81	26.18	$5.11 \times 10^{-7}$	
Ser		67.63	32.36	$1.77 \times 10^{-6}$	
Thr		84.60	15.39	$4.44 \times 10^{-8}$	
Asp		61.6	37.44	0.96	
Glu		67.0	32.62	0.38	
Lys	67.12	32.87	$8.71 \times 10^{-8}$	$1.99 \times 10^{-14}$	
His	44.83	55.16	$4.28 \times 10^{-3}$	$3.8 \times 10^{-10}$	

Table 3. The percentages of the cationic, anionic and zwitterionic species existing in the source solution at pH 7.2

Net charge	Percentage <sup>a</sup> of species as				
	Cation		Zwitterion	Anion	
	+2	+1	0	-1	-2
Ala		$4.35 \times 10^{-6}$	99.6	0.30	
Val		$1.96 \times 10^{-5}$	98.5	1.49	
Met		$7.88 \times 10^{-6}$	99.24	0.752	
Gly		$5.47 \times 10^{-6}$	99.62	0.378	
Ser		$1.13 \times 10^{-5}$	98.93	1.060	
Thr		$1.58 \times 10^{-6}$	99.94	$5.62 \times 10^{-2}$	
Asp			$1.19 \times 10^{-4}$	99.77	0.228
Glu			$4.25 \times 10^{-4}$	99.67	0.322
Lys	$1.66 \times 10^{-5}$	88.33	1.669		
His		$6.68 \times 10^{-2}$	98.92	1.012	

<sup>a</sup>were calculated by the Handerson Hasselbalch equation.

확산기구를 규명하기 전에 용액의 액성 및 농도가 막에 미치는 영향을 살펴보면, Table 8에서와 같이 pH 변화에 따라 막내 물함량의 변화를 볼 수 있고, 용액내에 아미노산의 농도가 0~0.005 M까지는 막내의 물함량은 44% 이상이고, 0.01에서는 43.87%이며, 0.1 M에서는 38.7%로 줄어들음을 볼 수 있다. 한편 증류수나 생리식염수속에서 39~42%의 수분을

함유하지만<sup>27,28</sup> 요소와 같은 용질을 포함하는 용액속에서 담구위 두면 물의 함량이 증가하여 66.7%에 까지 이른다<sup>16</sup>. 막의 팽윤도는 고분자 매트릭스와 용매간의 상호작용에 의한 결과로써 고분자가 용매를 흡수하여 고분자의 부피가 증가하는 것으로 나타난다<sup>29,30</sup>. 따라서 막의 팽윤에 따라 구조의 변화가 일어난다.

Table 4. The percentages of the cationic, anionic and zwitterionic species existing in the source solution at pH 9.7

Net charge	Percentage of species <sup>a</sup> as				
	Cation		Zwitterion	Anion	
	+2	+1	0	-1	-2
Ala		$2.15 \times 10^{-6}$	49.52	50.5	
Val		$1.99 \times 10^{-6}$	50	50	
Met		$9.00 \times 10^{-7}$	28.47	71.52	
Gly		$9.26 \times 10^{-7}$	92.64	7.35	
Ser		$7.11 \times 10^{-7}$	21.98	78.02	
Thr		$7.17 \times 10^{-6}$	84.30	15.69	
Asp			$1.05 \times 10^{-4}$	66.61	33.38
Glu			$1.93 \times 10^{-6}$	44.26	55.73
Lys		13.41	75.42	11.15	
His		$4.79 \times 10^{-3}$	24.02	75.97	

Table 5. The hydration numbers of the amino acids at pH 7<sup>23</sup>

Amino acids	$n_H$
Alanine	3.41
Valine	3.43
Methionine	6.16
Glycine	2.63
Aspartic acid	4.85
Glutamic acid	5.41
Proline	2.89
Tryptophane	8.83
Leucine	4.96
Phenylalanine	5.22
Histidine	6.83
Arginine	5.40

Table 6. The hydration scale of the side chains in the amino acids ( $\Delta G$  kcal/mole)(25°C)<sup>24,25</sup>

Amino acids	Hydrophobicity(kcal/mole)
Alanine	+0.5
Valine	+1.5
Methionine	+1.3
Glycine	0
Serine	-0.3
Threonine	+0.4
Asparagine	0.0
Proline	+2.6
Tryptophane	+3.4
Tyrosine	+2.3
Phenylalanine	+2.5
Isoleucine	+3.0
Leucine	+1.8
Glutamine	-0.1

비극성 비전하그룹 아미노산에 대한 pH 효과. 용액의 pH가 1.9, 3.9, 7.2, 9.7 및 13.3인 용액하에서 P(HEMA) 막을 통하여 5일간 아미노산을 확산시켰을 때 결과를 Table 9에 수록하였다. 투과계수와 확산계수를 보면 전반적으로 액성이 산성에서 중성 영역으로 갈수록 커졌다가 염기성으로 변함에 따라 다시 감소하는 경향을 보인다. 이와 같이 중성영역 용액내에서 투과계수와 분배계수가 전반적으로 큰 이유는 중성영역에서 molar volume이 가장 적고<sup>26</sup>, 수화가 가장 많은 양쪽성이온<sup>23</sup>들이 Table 8에서

Table 7. Dipole moments (Debye) of amino acids<sup>21</sup>

Amino acids	Dipole moment(Debye)
Alanine	17.4
Valine	17.2
Glycine	17.0
Aspartic acid	17.4
Glutamic acid	16.8
Asparagine	17.6
Leucine	16.5
Glutamine	17.1

보는 바와 같이 P(HEMA)내에 물함량이 가장 많이 포함된(44.7%)중성영역에서 막 내에 존재하는 free water를 통하여 확산하기 때문이다.

비극성 비전하 아미노산은 pH 1.9 영역에서의 투과계수가 중성영역의 1/10 정도 밖에 되지 않는다. 이 pH 영역에서 양이온의 아미노산이 양쪽성이온보다 2~2.5배나 많이 존재하지만 이 양이온이 P

Table 8. The equilibrium water contents of P(HEMA) membrane at the various concentrations of amino acid solutions and pH solutions

Concentration <sup>a</sup>	Water content(%)
0.1 M	38.69
0.05 M	43.32
0.01 M	43.87
0.005 M	44.27
0.000 M	44.71

pH <sup>b</sup>	Water content(%)
2	38.98
5	39.16
7	44.71
9	41.55
11	39.78

<sup>a</sup>Concentration of amino acid solution (Methionine),  
<sup>b</sup>pH of solutions.

Table 9. Relative permeabilities<sup>a</sup> and diffusion coefficients for various amino acids through P(HEMA)membrane in various pHs

	pH 1.9		pH 3.9		pH 7.2		pH 9.7		pH 13.3	
	$U^b \times 10^8$	$D^c \times 10^8$	$U \times 10^8$	$D \times 10^8$	$U \times 10^8$	$D \times 10^8$	$U \times 10^8$	$D \times 10^8$	$U \times 10^8$	$D \times 10^8$
Ala	0.77	0.25	4.35	3.09	8.18	3.93	3.92	1.65	0.64	0.19
Val	0.91	0.31	3.14	2.42	8.32	2.79	7.07	2.78	3.34	0.94
Met	0.35	0.14	2.82	2.18	8.83	2.59	5.12	2.09	2.73	0.73
Gly	4.18	1.31	5.50	1.93	6.41	3.03	6.41	2.03	1.35	0.41
Ser	1.88	0.45	2.89	2.20	4.12	1.07	4.62	1.06	0.61	0.14
Thr	1.92	0.44	2.56	1.88	4.10	0.99	5.41	2.42	1.82	0.32
Asp	5.69	2.45	4.92	2.26	4.83	1.52	4.62	1.07	0.37	0.07
Glu	5.35	2.35	4.94	2.06	3.80	1.49	2.61	0.94	0.16	0.02
Lys	0.13	0.03	0.62	0.47	3.88	1.32	3.84	1.46	3.96	1.96
His	0.43	0.17	1.02	0.82	5.31	1.69	5.62	2.37	5.73	2.48

<sup>a</sup>are obtained by HPLC. <sup>b</sup> $U(\text{cm}^2/\text{sec})$  is relative permeability which expressed in  $U=D \times K_D$ , where  $K_D$  is a partition coefficient. <sup>c</sup> $D(\text{cm}^2/\text{sec})$  is a diffusion coefficient.

(HEMA)의 분절과 결합하여 용질과 막과의 상호작용을 하므로 투과계수가 중성영역보다 작게 나타나며, 그 크기가 Val>Ala>Met 순으로 줄어드는 것은 양이온 존재비가 계산에 의하면 Met이 가장 작고, 또 pH 1.9에서 물함량이 39%로, 중성영역의 44%보다 약 5% 감소하였다. 일반적으로 P(HEMA)에서 물함량이 적을수록 친수성 용질의 투과계수가 적어진다<sup>13</sup>. 그리고 중성영역에서 각 아미노산의 수화수를 비교하여 보면 Met>Val>Ala이고 molar volume이 Met>Val>Ala이다. 중성영역보다 산성영역에서는 P(HEMA)의 물함량이 적기 때문에, 많이 수화된 Met이 가장 적게 확산 되게 된다. Val이 Ala보다 투과계수가 큰 것은, 수화수가 조금크고 분자량이나 molar volume이 크지만, 측쇄의 소수성의 크기를 보면 Val>Ala이므로 P(HEMA) 막의 소수성 분절에서 Val이 Ala보다 더 많이 분배되어 확산이 크게 일어남을 알 수 있다.

pH 7.2의 중성영역에서는 산성용액이나 염기성영역보다 투과 계수가 크게 나타나고 있으며 그 크기가 Met>Val>Ala으로, 분자량의 크기나 molar volume의 크기로 보아서 Ala>Val>Met 순으로 되어야 하지만 정반대의 결과를 볼 수 있다. 그러나 이들의 수화수를 Table 5에서 비교하여 보면 Met>Val>Ala 순으로써 물함량이 가장 많은 중성영역

용액에서, 수화가 많이된 순서로 투과계수가 크게 나타나는 것은 P(HEMA)내의 불함량이 증가할수록 친수성 용질의 투과계수가 증가한다는 것과 일치하고 있다<sup>13</sup>.

염기성 용액에서 투과계수가 중성보다는 적고 산성보다는 크다. 수화수를 보면 중성>산성>염기성 용액의 순으로 되며 염기성 영역에서는 음이온으로 존재하는 아미노산은 거의 수화되지 않거나 극히 적은 수로 수화된다<sup>28</sup>. 그러므로 음이온은 소수성 용질의 성질을 가지며 또 pH 11에서 불함량이 중성 영역에서 44%이던 것이 39%로 줄어들었으므로 P(HEMA)의 구조는 더욱 촘촘한 구조를 가지게 된다. 따라서 염기성 영역에서 아미노산의 확산은 P(HEMA)의 분절에 분배되어 interfacial과 bound water를 통하여 분배막으로 확산된다는 것을 알 수 있다. 그것을 뒷받침할 수 있는 것은 측쇄의 소수성의 크기가 Val>Met>Ala 순으로 pH 9.7과 pH 13.3에서는 투과계수의 크기와 일치함을 볼 수 있다.

**극성 비전하그룹 아미노산에 대한 pH 효과.** 극성 비전하를 가지며 소수성의 크기가 거의 비슷한 Gly, Ser, Thr은 pH 7.2의 중성용액에서 99%이상 양쪽이온으로 존재한다.

분자량이나 molar volume의 크기가 Thr>Ser>Gly 순서이나 투과계수의 크기는 역순으로 분자량이나 molar volume의 크기가 적을수록 투과계수가 크게 나타난다. 이것은 용질의 분자 크기가 적을수록 투과도가 크다는 일반논리와 일치하며 분자 크기에 다른 요인이 확산에 작용하지 않음을 알 수 있으며, 수화가 가장 많이 되는 양쪽성이온들이 99% 이상 존재하고, 막 내에 불함량이 큰 중성용액에서 확산되므로 이는 순수한 수용액과 비슷한 환경으로 되어있는 막 내부의 free water를 통하여 일어나며, P(HEMA) 막은 미세공막으로 작용함을 알 수 있다.

산성용액에서 pH 3.9부근에서는 중성영역과 같이 양쪽성이온의 존재비가 대부분이고, pH 1.9부근에서는 양이온의 존재비가 Thr>Gly>Ser이고, 양쪽성 이온은 Ser>Gly>Thr이지만 투과계수는 분자크기가 적을수록 확산계수가 Gly>Ser>Thr 순서이므로, 중성영역 용액과 같이 분자의 크기에 의존하고, 막 내의 free water를 통로로 하여 확산되며, P(HEMA) 막은 미세공막으로 작용함을 알 수 있다.

한편 염기성영역 용액에서는 투과계수의 크기가 중성이나 산성용액과 달리 pH 9.7 부근에서는 Gly>Thr>Ser이고, pH 13.3에서는 Thr>Gly>Ser과 같이 달라지는 것은, 각 아미노산의 확산이 분자크기에만 관계하지 않고, 분자와 막과의 상호작용도 기여함을 알 수 있다. 이는 염기성영역에서 P(HEMA)의 불함량이 중성보다 줄어 들기 때문에 막의 성질은 소수성이 증가할 것이며, 또 pH 9.7에서 Gly, Thr과 Ser의 양쪽성이온의 존재비가 92%, 82%, 22%이고, 음이온은 7.4%, 16%, 78%이므로, Ser의 음이온의 존재비가 다른 두 아미노산 보다 5~10배 많이 존재하고 소수성의 크기를 보면 Thr은 소수성이고, Ser는 친수성이며, Gly는 그 자신을 기준으로 하였기 때문에 Thr과 Ser에 소수성이고, Ser는 친수성이며, Gly는 그 자신을 기준으로 하였기 때문에 Thr과 Ser에 비하여 소수성도 친수성도 아닌 아미노산이다. 이와 같은 측쇄들의 성질 때문에 P(HEMA) 막과 이들 아미노산 간의 상호작용이 다르게 나타난다. 그러므로 극성 비전하 아미노산 경우에는 분자의 크기도 확산에 영향을 미치고 용질과 막과의 상호작용도 고려하여야 하므로, Gly과 Thr은 free water를 통하여, Ser는 bound나 interfacial water를 통로로 하여 확산되며, P(HEMA) 막은 Ser이 측쇄의 친수성 때문에 벗어나기는 하지만 분자량의 크기에 따라 투과계수의 크기가 결정되어지므로, P(HEMA)는 미세공막으로 작용한다.

pH 13.3의 영역에서는 투과계수가 Thr>Gly>Ser 순으로 변한다. 이는 소수성의 크기와 일치하므로, 용질과 막의 상호작용으로 분자량이 가장 큰 Thr이 다른 것보다 많은 양이 투과된다는 것은 용질이 P(HEMA) 막의 분절 사이로 분배되어 확산되는 것을 의미한다. 그러므로 강한 염기성용액에서 극성 비전하 아미노산은 P(HEMA)의 bound나 interfacial water를 통로로 하여 확산되어 지며, P(HEMA)는 분배막으로 작용한다.

**음전하그룹 아미노산에 대한 pH 효과.** 음전하를 띤 Asp와 Glu는 중성영역 용액에서 99% 이상 음이온을 가지고, 수화되는 정도는 Millero<sup>23</sup>에 의하면 Glu>Asp이고, 쌍극자 모멘트는 Asp>Glu이며, 분자량과 molar volume은 Glu>Asp이므로 분자 크기가 적고 수화정도는 대략 0.5정도 차이므로 비슷



하며, 쌍극자 모멘트가 큰 Asp이 Glu보다 큰 투과계수를 가질 것이 예상되며, 이는 실험값과 일치함을 볼 수 있다.

한편, 산성영역 용액에서는 양이온과 양쪽성이온의 %가 Asp는 62대 37이고 Glu는 67대 32이므로 양이온이 양쪽성이온보다 2배나 많이 존재하므로 투과속도에 미치는 효과는 양쪽성이온 보다 양이온이 더 클 것이다. 실제로 수화가 많이된 양쪽성이온이 P(HEMA)이 free water를 통로로 하여 미세공막으로 투과되는 것보다 양이온인 용질이 P(HEMA)의 분질과의 상호작용에 의하여 막의 내부로 분배되어 투과되는 분배막의 작용이 더 우세하다. 더욱 이를 입증하는 것은 액성이 pH 7.2일 때보다 pH 3.9나 pH 1.9일 때 투과계수가 증가하는 것을 볼 수 있다. 그러므로 산성영역용액에서는 분배막의 작용으로 음이온 아미노산이 bound나 interfacial water로 확산된다. 그러나 두 아미노산이 뚜렷한 차이점을 나타내지 않은 것을 볼 수 있다.

한편, 염기성 용액에서는 pH 9.7에서 양쪽성이온은 거의 존재하지 않고, 1가음이온이 Asp는 67%, Glu이 44%이고 2가음이온은 33%이고, 56%이므로, 1가음이온보다 2가음이온이 P(HEMA)분질과 더 강하게 작용하므로, 1가음이온의 함량이 많은 Asp의 투과계수가 2가음이온이 더 많은 Glu보다 투과계수가 클 것이며, pH 13.3일 경우에 2가음이온이 전체적으로 증가하며, 두 아미노산의 투과계수가 pH 9.7보다 크게 적어졌음을 볼 수 있다. 이것은 2가음이온이 P(HEMA) 내에서 강한 결합으로 bound나 interfacial water를 통로로 투과하지 못한 결과일 것이다. 그러므로 음이온 아미노산은 염기성영역 용액의 pH 9.7부근에서는 분배막의 작용으로 확산되고 pH 13.3 부근에서는 2가음이온과 P(HEMA)막의 분질과 강한 결합력에 의하여 bound나 interfacial water를 통로로 하여 투과되는 양이 많이 줄어들게 되었다.

**양전하그룹 아미노산에 대한 pH 효과.** 양이온을 가지는 Lys와 His는 pH 7.2의 중성용액에서 양이온을 98% 가지는 Lys과, 양쪽성이온을 99% 가지는 His의 투과계수를 보면 분자량과 molar volume이 큰 His이 Lys보다 큰 투과계수를 가진다. 이는 His의 양쪽성이온이 대부분이고 수화수가 다른 아미노산

Table 10. Distribution coefficients for amino acids through P(HEMA) membrane in the various pH solutions

	pH 1.9 $K_D$	pH 3.9 $K_D$	pH 7.2 $K_D$	pH 9.7 $K_D$	pH 13.3 $K_D$
Ala	3.08	2.41	2.08	2.38	3.36
Val	2.93	2.29	2.98	2.54	3.50
Met	2.50	2.29	3.41	2.45	3.73
Gly	3.19	2.84	2.11	3.15	3.29
Ser	4.17	3.31	3.85	4.35	4.35
Thr	4.13	3.36	4.12	2.23	5.68
Asp	2.32	2.17	3.17	4.32	5.28
Glu	2.27	2.39	2.54	2.77	8.00
Lys	4.33	2.32	2.93	2.22	2.02
His	2.52	2.24	3.14	1.95	2.31

보다 크기 때문에 중성영역 용액에서 free water를 통로로 하여 많이 투과된 것이다.

pH 1.9의 산성영역에서 2가양이온이 Lys는 67%, His는 45% 그리고 1가양이온이 Lys 33%, His 55%이므로 2가양이온이 P(HEMA) 분질과 강한 결합력으로 인하여 2가양이온이 많은 Lys의 투과계수는 His보다 1/3이 적으며, 중성용액에서 Lys의 양이온이 98% 이므로 pH 3.9에서는 2가양이온과 1가양이온을 많이 포함하기 때문에 투과계수는 His보다 Lys이 감소하고 있다.

pH 9.7의 염기성영역 용액에서는 Lys는 1가양이 13.4%, 양쪽성이온이 75.4%, 1가음이온이 11%으로 나누어져 3가지의 이온이 동시에 존재하고, P(HEMA)의 몰함량이 염기성영역 용액에서 적으므로 분자량의 크기 영향과 용질과 P(HEMA) 간의 상호작용으로 투과계수는 커짐을 볼 수 있다.

**액성변화에 따른 분배계수 및 확산계수.** 한편 이들의 분배계수( $K_D$ )는 Table 10에 수록하였으며, 확산계수( $D$ )와 함께 살펴보면, 다음과 같다.

비극성 비전하 아미노산들이 pH 7.2에서 분배계수가 Met>Val>Ala의 순서이고, 확산계수는 Ala>Val>Met의 순서이다. 분자의 크기가 가장 적은 Ala의 확산이 많이 되고 분자량이 큰 Met이 적게 확산된 것은 분자의 크기가 확산에 크게 영향을 미친다는 것을 알 수 있으며, Met의 분배계수가 큰

까닭은 수화수가 가장 많으므로 몰함량이 많은 P(HEMA) 막 속에서 쉽게 분배되기 때문이다. Val은 분자량이 중간이고 수화수는 Ala과 비슷하고 소수성은 제일 크지만 P(HEMA)가 중성에서 물의 함량이 많기 때문에 소수성의 영향이 크게 관여하지 못하고, 분자의 크기가 분배계수에 기여한 것이다.

pH 1.9의 산성용액에서는 분배계수가  $Al>Val>Met$ 이고 확산계수가  $Val>Ala>Met$ 이다. 분배계수가 Ala이 크고 Met이 적은 것은 분자 크기와 관계되고, 확산계수가 Val이 가장 크고 Met이 가장 적은 것은 Val이 소수성이 가장 크고 pH 1.9에서 P(HEMA) 막의 성질이 몰함량이 적기 때문에 소수성의 성질이 커지므로 분배막을 통하여 Val이 많이 확산된 것이다.

pH 9.7에서는 분배계수가  $Val>Met>Ala$ 이고 확산계수가  $Val>Met>Ala$ 이다. 두 계수 모두가 분자량과 수화수에는 관계없음을 알 수 있으며, 소수성의 영향이 관여됨을 알 수 있다.

극성 비전하 아미노산들이 pH 7.2의 중성용액에서 분배계수가  $Thr>Ser>Gly$ 이고 확산계수는  $Gly>Ala>Thr$ 로서 분배계수가 큰 것은 중성용액에서 양쪽성이온의 존재비가  $Thr>Gly>Ser$ 이기 때문이다. Thr의 분배계수가 큰 것은 양쪽성이온으로 많이 존재할수록 P(HEMA) 막에 많이 분배될 것이고, 분배계수가 Ser이 Gly보다 큰 것은, Ser의 측쇄의 성격이 친수성이고 Gly를 소수성 척도 측정에서 기준으로 잡았기 때문에 Gly보다 친수성이므로 물의 함량이 많은 P(HEMA) 막에서 Gly보다 Ser이 더 분배될 것이다. pH 1.9에서는 분배계수의 크기가  $Ser\approx Thr>Gly$ 이고 확산계수도  $Gly>Ser\approx Thr$ 로서 분자량의 크기에 의존한다.

pH 9.7의 염기성용액 용액에서 분배계수의 크기는  $Ser>Gly>Thr$ 이고 확산계수는  $Thr>Gly>Ser$ 이다. Ser는 친수성이고 Thr은 소수성이며 Gly은 그 중간이므로 아미노산이 막에 분배되는 크기와 일치하므로 분배계수의 크기는 소수성의 크기에 의하여 영향을 받는다고 볼 수 있다. 한편, 확산계수도 소수성의 크기에 의하여 소수성이 큰 Thr이 가장 크고 친수성인 Ser이 가장 적다. 이는 막내에서 분질과 소수성의 크기에 따라 bound나 interfacial water와 결합력의 차이로 확산의 크기에 영향을 미친다.

pH 13.3에서 분배계수의 크기는  $Thr>Ser>Gly$ 이고 확산계수는  $Gly>Thr>Ser$ 이다. 확산계수는 소수성이 클수록 확산이 커짐을 알 수 있고, 분배계수는 존재비에 따라 결정된다.

양이온 아미노산은 중성영역에서 분배계수가  $His>Lys$ 이며 투과계수가  $His>Lys$ 이다. His는 수화수가 크므로 물의 함량이 큰 P(HEMA)의 내부로 분배가 일어날 것이며, 확산계수가 큰 것은 P(HEMA) 내의 free water를 통하여 수화수가 많은 His이 비록 분자량은 크지만 용이하다.

산성영역 용액에서 분배계수가  $Lys>His$ 인 것은 2가양이온의 존재비가 Lys에서 크고 His에서 적기 때문에 P(HEMA) 막의 분질에 Lys이 더 많이 분배되기 때문이며, 확산계수가  $His>Lys$ 인 것은 1가양이온이 His에서 보다 Lys에서 많기 때문에, 2가양이온은 강하게 P(HEMA) 분질에 결합되지만, 1가양이온의 확산은 커질 것이다.

pH 9.7의 염기성용액 용액에서 분배계수는  $Lys>His$ 이고 확산계수는  $His>Lys$ 이다. 양쪽성이온의 존재비가 Lys이 크기 때문에 막의 내부로 더 많은 분배가 가능하며, 확산은 His의 수화수가 많기 때문에 막을 통하여 많은 수의 His이 확산할 가능성이 있다. 음이온인 경우 중성영역 용액과 산성영역 용액에서 분배계수가  $Asp>Glu$ 이고 확산계수가  $Glu>Asp$ 이다.

중성영역 용액에서 모두 99%가 (-)이온으로 존재하고 수화수가 Glu이 크므로 Asp보다 확산계수가 크며, 분배계수가 Asp이 큰 것은 분자량이 Glu보다 작기 때문이다. pH 9.7의 염기성 영역도 중성 영역과 산성 영역과 같지만, pH 13.3인 경우  $Asp>Glu$ 인 것은 강염기성에서 2가양이온의 존재비가 크기 때문이다.

지금까지 아미노산이 P(HEMA) 막을 통하여 확산될 때 조건에 따라 다양한 결과를 나타내었다. 이와같은 현상은 생체 내의 각 조직에 따라 아미노산의 투과현상의 차이와 비교하여 붐에 따라 생체내에서 아미노산 이동현상을 규명할 수 있을 것으로 예상된다.

다시말하면 L-glutamine과 L-glutamic acid가 체내의 내장벽을 통과할 때 glutamic acid가 더 빨리 투과되고 또 L-asparagine은 L-glutamine보다 느리

게 투과될 뿐 아니라 내장벽을 통과하는 동안 aspartic acid와 암모니아로 가수분해되지만 같은 조건하에서 L-glutamine은 아무런 변화없이 내장벽을 통과하게 된다<sup>3)</sup>. 이러한 현상은 내장벽을 구성하는 생체막의 조성과 아미노산과의 상호작용을 의미한다.

여러가지 조성을 가지는 P(HEMA)을 통하여 아미노산을 투과시켜 확산기구를 규명함으로써 생체 적합성이 좋은 물질로 알려진 P(HEMA)을 생체내에서 이용할 때 생체내의 여러가지 물질과의 상호관계를 규명하는데 도움이 된다.

## 결 론

생체적합성 물질인 poly(2-hydroxyethylmethacrylate) P(HEMA) 막을 통하여, 분자형태와 크기가 다르며 pH의 변화에 따라 이온종이 다르며 또 존재비가 달라지는 아미노산을 확산시켰을 때 투과계수와 확산계수 및 분배계수를 측정하여 투과도와 확산기구를 규명하였다.

P(HEMA) 막은 용질인 아미노산의 농도와 pH 변화에 따라 물함량의 변화가 크지 않았으나, 중성영역 용액에서 물함량이 가장 컸으며 아미노산의 농도는 본 실험을 수행한 0.01M 까지는 큰 변화가 없었으나, 0.05M 이상에서는 차이가 많았다. 그리고 용질인 아미노산을 P(HEMA) 막을 통하여 확산시킬 때 전반적으로 중성용액에서 컸으며, 염기성, 산성의 순으로 되었다. 이는 아미노산의 molar volume의 크기를 비교한  $\phi_0^*(\text{NaOH}) > \phi_0^*(\text{HCl}) > \phi_0^*(\text{water})$  것과 일치하지 않으므로, 아미노산의 확산에 영향을 미치는 주요소가 분자의 크기만이 아니라는 것을 알았다. 그 결과 아미노산의 구조에 따라 나누어지는 4부류를 중심으로 그 특성을 비교하여 보면, 다음과 같다.

(1) 비극성 전하기를 갖는 아미노산은 중성영역에서 투과계수가 가장 크고 염기성, 산성영역의 순으로 작아진다. 이는 산성영역에서는 양이온이 P(HEMA) 분결과 결합하여 투과계수가 감소되고, 중성영역 용액에서는 막이 물을 가장 많이 포함하고 또 수화수가 가장 많은 양이온의 존재비가 98%이상이므로 아미노산들은 P(HEMA)의 free water를

통하여 확산되며, 막은 미세공막으로 작용함을 알았다.

(2) 극성 비전하기를 갖는 아미노산은 중성영역 용액과 산성영역에서는 수화수가 큰 양성이온으로 존재하는 존재비가 크고, 분자 크기가 작을수록 투과계수가 커지므로, 극성 비전하 아미노산은 free water를 통로로 하여 확산되고 막은 미세공막으로 작용한다. 또한 중간 정도의 염기성 용액에서 free water와 bound나 interfacial water를 통하여 확산되어지지만 강염기성 용액에서는 bound나 interfacial water로 확산한다.

(3) 음이온을 가지는 아미노산은 중성용액에서 P(HEMA)는 미세공막 안으로 free water를 통하여 확산되지만 산성용액에서는 bound나 interfacial water를 통하여 확산되고 분배막으로 작용함을 알 수 있다. 그러나 두 아미노산간에 현격한 차이는 볼 수 없었다.

(4) 양이온은 중성영역 용액에서 His는 양성이온에 의하여 bulk-like water를 통하여 확산되고, P(HEMA)막은 미세공막으로 작용하였다. 그러나 산성에서는 (+2)이온이 많은 Lys이 막과 강한 결합 작용 때문에 투과계수가 줄어들고, 염기성 용액에서는 Lys은 (+)이온, 양성이온, (-)이온이 동시에 존재하고 있으므로, 그 투과계수는 막과 상호작용 그리고 용질 스스로 투과되어 투과계수가 퍼져있다.

이상과 같이 P(HEMA)를 통하여 아미노산을 투과시켜, 확산기구를 규명함으로써 생체적합성이 좋은 물질로 알려진 P(HEMA)를 생체내에서 이용할 때 생체내의 여러가지 물질들과의 상호관계를 규명하는데 도움이 된다.

본 연구는 한국과학재단의 연구비 지원으로 수행하였으며 이에 감사를 드립니다.

## 인 용 문 헌

1. O. Wichterle and D. Lim, *Nature*, **185**, 117 (1960).
2. M. F. Refojo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **3**, 333 (1969).
3. M. Tollar, M. Stol, and K. Kliment, *J. Biomet. Mater. Res.*, **3**, 305 (1969).
4. I. Michevic and K. Kliment, *J. Biomed. Mater. Res.*, **5**, 17 (1971).

5. S. M. Lagarus, J. N. Laguerre, and H. K. Sidney, *J. Biomed. Mater. Res.*, **5**, 129 (1971).
6. D. G. Murray and J. S. Dow, *J. Biomed. Mater. Res.*, **9**, 699 (1975).
7. B. D. Ratner and A. S. Hoffman, "Hydrogels for Medical and Related Application", *ACS Symposium Series*, 31; Ed. J. D. Andrade, American Chemical Society; Washiton, D.C., pp. 1~36 (1976).
8. P. Nathan, E. J. Law, B. G. MacMillan, D. F. Murphy, S. H. Ronel, M. J. D'Andrea, and R. A. Abrahams, *Trans. Am. Soc. Artif. Int. Organs.*, **22**, 30 (1976).
9. M. F. Refojo, *Survey of Ophthalmology*, **16**, 233 (1972).
10. M. S. Jhon and J. D. Andrade, *J. Biomed. Mater. Res.*, **7**, 509 (1973).
11. E. D. Ratner and I. F. Miller, *J. Biomed. Mater. Res.*, **7**, 353 (1973).
12. K. H. Lee, J. G. Lee, M. S. Jhon, and T. K. Lee, *J. Bioeng.*, **2**, 269 (1987).
13. S. W. Kim, J. R. Cardinal, S. Wisniewski, and G. M. Zentner, "Water in Polymers", ed. by S. P. Rowland, *ACS Symposium Series*, pp. 347~359 (1980).
14. A. Higuchi and T. Ijima, *J. Appl. Poly. Sci.*, **32**, 3229 (1986).
15. Y. M. Park, U. S. Kim, and Y. K. Sung, *Polmer (Korea)*, **15**, 356 (1991).
16. B. D. Ratner and I. F. Miller, *J. Polym. Sci.*, **10**, 2425 (1972).
17. G. A. Mortimer, *J. Org. Chem.*, **30**, 1632 (1965).
18. M. F. Refojo and H. Yasuda, *J. Appl. Polymer Sci.*, **9**, 2425 (1965).
19. M. Y. Mah, Master's Thesis, Dept of Materials Science and Engineering, Univ. of Utah (1972).
20. D. J. Lyman, "Research on New Synthetic Membranes for the Dialysis of Blood", Annual Report, Contract NIH 70-2017, National Institute of health (1971).
21. Weast, R. C. Ed., *CRC Hand Book of Chemistry and Physics*, 70th ed, CRC, Boca Roton, F.C., 1989~1990.
22. A. L. Lehninger, "Principles of Biochemistry", Worth Publisher: New York (1982).
23. F. J. Millero, A. L. Surdo, and C. Shin, *J. Phys. Chem.*, **82**, 784 (1978).
24. C. Tanford, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 4240 (1962).
25. Y. Nozaki and C. Tanford, *J. Biol. Chem.*, **246**, 2211 (1971).
26. M. M. Bhattacharya and M. Sengupta, *J. Indian Chem. Soc.*, **62**, 959 (1985).
27. M. Refojo, *J. Polym. Sci.*, **10**, 5A, 3103 (1967).
28. O. Wichterle, "Hydrogels, in Encyclopedia of Polymer Science and Technology", Wiley, New York, **15**, 273 (1971).
29. P. J. Flory, "Principle of Polymer Chemistry", Ithaca, New York (1953).
30. T. Alfrey, Jr. and W. G. Lloyd, *J. Polym. Sci.*, **62**, 159 (1962).
31. L. Fridhandler and J. H. Qusstel, *Arch. Biochemn. Biophy.*, **56**, 412 (1955).