

〈研究論文(學術)〉

생체적합성 고분자의 개발과 응용(II)

— Phosphoryl choline기를 가진 키토산 그래프트공중합체의 생체적합성 —

이미경 · 박형섭 · 김은영* · 박수민

부산대학교 공과대학 섬유공학과

* (주) 창신섬유 개발부

(1995년 5월 18일 접수)

Development and Application of Biocompatible Polymers(II)

— Biocompatibility of Chitosan Graft Copolymer with Phosphoryl Choline groups —

Mi Kyung Lee, Heung Sup Park, Eun Young Kim*, and Soo Min Park

Dept. of Textile Eng., College of Eng., Pusan National Univ., Pusan, Korea

*Chang Shin Textile Co. Ltd

(Received May 18, 1995)

Abstract — To improve the blood compatibility of chitosan membranes, 2-(methacryloyloxy)-ethyl-2-(trimethylammonium)ethyl phosphate(MTP), which is a methacrylate with phospholipid polar groups, was grafted on the surface of chitosan membranes and the biocompatibility of MTP-grafted chitosan membranes was investigated.

The permeation coefficient gradually decreased with increasing in molecular weights of biocomponents below 10^4 , and drastically decreased above 10^4 . This result corresponds with the permeability of solutes in case of hemodialysis membranes.

The MTP-grafted chitosan membranes displayed less blood cell adhesion than the chitosan membranes. This may due to the formation of biomembrane-like surface by adsorption and arrangement of phospholipid molecules from serum onto the MTP copolymer surface.

1. 서 론

천연다당류인 키토산은 우수한 생체적합성을 가지는 물질로서 탈아세틸화, schiff염기형성, 아릴화, 알킬화, 아실화, 카르바모일화, 술폰화, 할로겐화, 황산화, 인산화, 니트로화, 그래프트중합, 저분자화, 열분해, 금속착체형성, 고분자전해질복합체형성 등의 화학개질반응으로 여러가지 유도체의 형성이 가능하여 여러 분야에 응용되고 있다. 특히 의료용 분야에서는 cosmetics, bacteriostatic agents, enzyme immobilization, dialysis membranes, contact lenses, drug delivery vehicle, anticoagulants 등

에 응용되고 있으며 각각의 분야에서 우수한 성질을 나타내는 것으로 보고되고 있다.

Kinemura¹⁾은 chitosan porous beads와 이를 가교결합시킨 chitopearl을 제작하여 효소고정화시킨 후 그 활성이 오래 지속됨을 보고하였으며 bioreactor, biosensor 등에 응용할 수 있음을 시사하였다. 또 Lang²⁾은 키토산유도체들을 얻는 방법을 소개하고 이들이 응용될 수 있는 화장품분야를 나타내었다. Feng³⁾은 N-trimethyl chitosan quaternary ammonium salt를 만들어 이의 biocompatibility에 대해 고찰하였는데, hemolysis, toxicity, pyrogen test에서 우수한 저항성을 보였는데 이로

부터 체내에 외적, 내적으로 생길 수 있는 toxin에 대한 흡착제로서의 가능성이 있음을 시사하였다.

또, 혈액적합성 재료에의 응용도 이루어지고 있는데, 폴리에스테로의 봉합사표면에 키토산이나 N-아실키토산막을 형성시켜 개의 말초정맥내에 삽입하여 직접 혈액과 in vivo로 접촉시켰을 때 키토산마상에 응혈이 생기나(지혈제)⁴⁾, N-헥사노일이나 N-옥타노일 키토산마상에서는 거의 응혈이 일어나지 않아 우수한 항혈전성재료가 됨을 보고하고 있으며⁵⁾, 또, O-다황산화키토산, N,O-황산키토산은 약한 트롬빈활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다⁶⁾. 그외 체내소화성봉합사, 창상치료촉진효과를 가지는 인공피부, 혈중 콜레스테롤 및 지질치강제 등에도 응용되는 것으로 보고되고 있다.

저자 등은 전보⁷⁾에서 우수한 생체적합성을 가지는 셀룰로오즈를 모체로 하여 인지질구성기, 즉 phosphoryl choline기를 가지는 모노머(MTP)를 그래프트공중합하여 그의 생체적합성에 대해 검토하였다. 전보에 나타내었듯이 생체막은 Singer-Nicolson의 Fluid mosaic model과 같이 인지질을 주성분으로 하는 지질이중층으로 되어 있다. 따라서 생체막과 같이 인지질이 고도로 배향되어 형성된 표면은 생체막유사구조를 취하여 특히 우수한 혈액적합성을 가지리라 유추하여 cellulose-g-MTP-g-GMA membranes을 형성시켰는데 우수한 혈액적합성 및 투과특성을 가지는 것으로 고찰되었다.

본 논문에서는 의료용 분야에 다수 응용되고 있는 chitosan membranes을 모체로 하여 인지질구성기를 가지는 모노머, 2-(methacryloyloxy)ethyl-2-(trimethylammonium)ethyl phosphate (MTP)를 그래프트 공중합하여 MTP-grafted chitosan membranes을 제조하고 전혈세포 및 혈소판 접착실험을 통해 혈액적합성을 검토하였으며 생체성분의 제작막을 통한 permeability를 조사하여 MTP-grafted chitosan membranes의 인공장기재료에의 응용성을 살펴보았다.

2. 실험

2.1 시료

인지질단량체 2-(methacryloyloxy)ethyl-2-(

trimethylammonium)ethyl phosphate(MTP)는 전보⁷⁾의 합성방법에 의해 제조한 것을 이용하였다. 투과기질로 쓰인 glucose, insulin, lysozyme, bovin serum albumin(BSA), bovin serum γ -globulin은 Sigma.Co.Ltd로 부터 구입하여 이용하였다.

실험에 사용한 접촉혈액은 토끼의 동백신신혈을 채취하여 3.8% 구연산나트륨용액을 가해 Ca^{2+} 을 제거한 혈액을 전혈세포 접착실험에 이용하였다. 그리고 750rpm으로 15분간 원심분리하여 혈소판 이외의 유형성분을 침전, 제거하여 혈소판다혈장(PR)를 제조하고 이의 일부를 2800rpm으로 15분간 원심분리하여 혈소판도 제거한 혈소판빈혈장(PPP)을 제조하여 PRP를 PPP로 회색하여 혈소판농도가 $1 \times 10^8/\text{ml}$ 인 PRP를 제조하여 혈소판 접착실험에 응용하였다.

2.2 Chitosan의 합성 및 제막

키토산을 알카리 가수분해법에 의해, 즉 50% NaOH수용액에서 150°C의 온도에서 소정시간 반응시켜 분자량 380,000 및 탈아세틸화도 75.47%인 키토산을 합성하였다. 탈아세틸화도는 키토산의 흡습성때문에 ^1H NMR법을 이용하여 구하였는데 (Fig. 1), 즉 2% $\text{CD}_3\text{COOD}/\text{D}_2\text{O}$ 를 용매로 하여

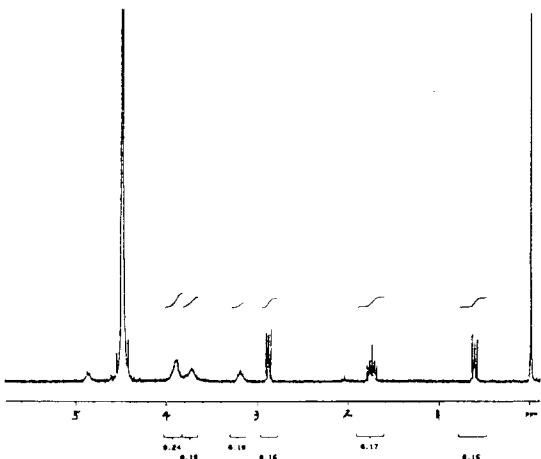


Fig. 1. ^1H NMR spectrum of chitosan ($M_w = 380,000$).

70°C에서 행하였고 그 결과 탈아세틸화도는 다음과 같은 식을 이용하여 구하였다⁸⁾.

$$D_{deac} (\%) = [1 - \{(1/3 \times I_{CH_3}) / (1/6 \times I_{H_2, H_6})\}] \times 100$$

Where, I_{CH_3} : 2.06ppm에서의 Intensity

I_{H_2} : 3.20ppm에서의 Intensity

$I_{H_3, 4, 6}$: 3.89ppm에서의 Intensity

$I_{H_6, 5}$: 3.75ppm에서의 Intensity

합성된 키토산을 1N acetic acid 수용액을 용매로 하여 glass plate에 casting하여 상온에서 solvent evaporation에 의해 제막하였다. 이렇게 제작한 막의 두께는 70~75μm였다.

2. 3 키토산막에의 MTP의 그래프트중합

키토산막 0.1g을 소정의 물에 2시간 침지한 후 과황산암모늄(APS)를 가해 전량 15ml로 한다. 여기에 MTP를 가하고 질소치환 후 1시간동안 50°C에서 그래프트중합을 행하였다. 그래프트물을 메탄올에 투입침전시키고 열아세톤에서 추출 후 순수로 세정하여 미반응의 단량체 및 단독 중합체를 제거하였다.

키토산막에 대한 MTP 그래프트 중합체의 구조는 X-ray photoelectron(XPS, Shimatzu, ESCA-750, JPN) 및 FT-IR Spectroscopy(Nicolet DX-20 U.S.A.)로서 확인하였다.

2. 4 생체성분의 투과성질

생체성분의 투과성질평가를 위한 투과장치로서 전보⁹⁾와 같이 팽윤막을 사이에 둔 2실 투과 cell을 사용하였다. Cell 1에 pH 7.4의 인산완충액 50ml의 기질투과액을 넣고 36.5°C를 유지시키면서 완충액 50ml로 충만된 cell 2에 일정 투과 시간에 따른 기질투과량을 UV spectrophotometer와 HPLC을 이용하여 측정하였다.

2. 5 혈액적합성의 평가

막을 혈액 및 혈소판과의 소정 시간 접촉 후 2.0 wt% glutaraldehyde를 함유한 식염수용액에 60분간 처리하여 점착성분을 고정시키고 인산완충

액(pH 7.4)으로 세정 후 동결건조하였다. 건조시 표면의 혈소판 및 전혈점착상태를 관찰하기 위해 금으로 코팅 후 주사형전자현미경(SEM, Comtec CSM-501)으로서 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3. 1 IR 및 ESCA분석에 의한 그래프팅의 확인

Fig. 2에 키토산막(A)과 MTP가 그래프트된 키토산막(B)의 IR spectra를 보이고 있다. 1250cm⁻¹에서 P=O, 800cm⁻¹에서 P-O-C, 970cm⁻¹에서 phosphoryl choline의 흡수피크가 관찰되었는데, 이것은 키토산막(A)에 있어서는 보여지지 않았다. 따라서 MTP가 키토산막에 그래프트되고 있음을 알 수가 있었다.

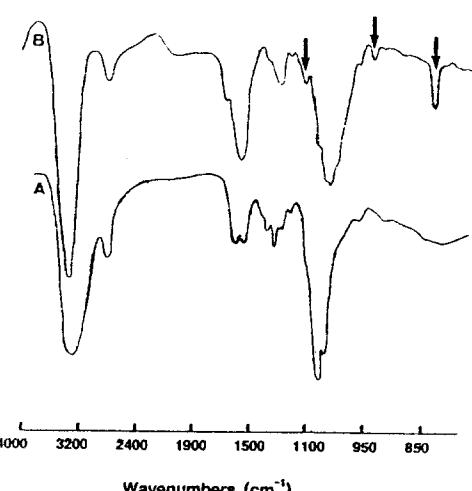


Fig. 2. IR spectra of chitosan membrane(A) and MTP-grafted chitosan membrane(B).

Fig. 3는 그래프트중합한 막의 ESCA spectra를 키토산막과 비교하고 있는데 키토산막에서는 보여지지 않는 133eV의 P peak가 관찰되고 있으며, 402eV의 N peak의 강도가 커짐으로 보아 MTP가 구조를 유지한 채 막표면에 조직적으로 그래프트되고 있음을 확인할 수 있었다.

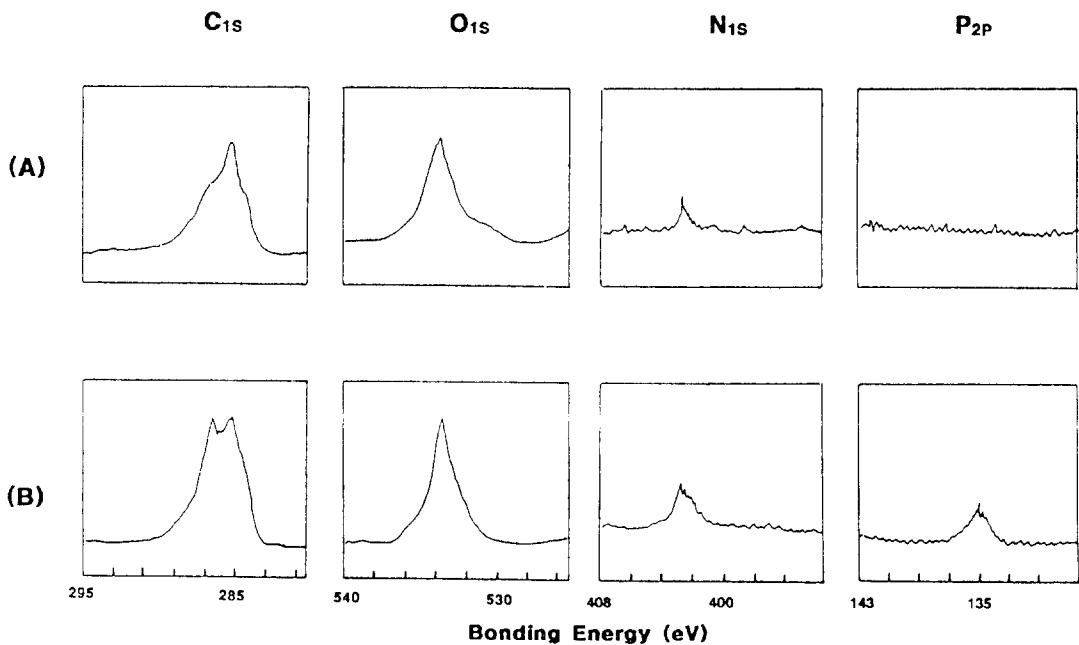


Fig. 3. X-ray photoelectron spectra of chitosan membranes(A) and MTP-grafted chitosan membranes(B).

3.2 생체성분의 투과성질

우선 투석막으로서의 가능성을 생체기질의 투과성을 검토할 필요가 있다. Fig. 4는 MTP-grafted chitosan 막을 통한 생체성분, 즉 glucose, insulin, lysozyme, albumin, γ -globulin의 투과량을 시간에 따라 plot한 것이다. 분자량이 가장 작은 갈루코오스에 있어 가장 높은 투과율을 가짐을 알 수가 있으며 분자량이 증가함에 따라 그 투과량이 감소하는 경향을 가진다. 생체성분 모두가 초기에는 다소 투과량이 적다가 시간이 지남에 따라 정상 상태에 이르며 그 가을기로부터 투과계수를 구하였다.

Fig. 5는 chitosan막과 MTP-grafted chitosan막을 통한 투과특성으로 여러 생체성분의 투과기질의 분자량과 투과계수와의 관계를 나타낸 것이다. 10^4 이하의 분자량의 투과계수는 분자량이 증가함에

따라 서서히 감소하거나 10^4 이상의 분자량에 있어서는 급격히 감소하는 경향을 나타내고 있다.

혈액투석막에 요구되는 기능중에서 용질투과성을 분자량 $2\sim 3\times 10^4$ 까지의 용질에 대한 우수한 투과성을 요구하며 이를 만족할 때 $2\sim 3$ 일간의 노폐물을 제거할 수 있는 기능을 가지게 된다. 이와 같은 사실에 바탕이 볼때 MTP-grafted chitosan막의 투과특성이 혈액투석막에서 요구되는 용질투과성과 거의 일치하며 현재 행하여지고 있는 생물모호조개 혈액투석막의 투과특성과 거의 비슷한 경향을 보임을 알 수 있다. 그리고 이미 보고된 일련의 연구결과^{21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 7510, 7511, 7512, 7513, 7514, 7515, 7516, 7517, 7518, 7519, 7520, 7521, 7522, 7523, 7524, 7525, 7526, 7527, 7528, 7529, 7530, 7531, 7532, 7533, 7534, 7535, 7536, 7537, 7538, 7539, 75310, 75311, 75312, 75313, 75314, 75315, 75316, 75317, 75318, 75319, 75320, 75321, 75322, 75323, 75324, 75325, 75326, 75327, 75328, 75329, 75330, 75331, 75332, 75333, 75334, 75335, 75336, 75337, 75338, 75339, 75340, 75341, 75342, 75343, 75344, 75345, 75346, 75347, 75348, 75349, 75350, 75351, 75352, 75353, 75354, 75355, 75356, 75357, 75358, 75359, 75360, 75361, 75362, 75363, 75364, 75365, 75366, 75367, 75368, 75369, 75370, 75371, 75372, 75373, 75374, 75375, 75376, 75377, 75378, 75379, 75380, 75381, 75382, 75383, 75384, 75385, 75386, 75387, 75388, 75389, 75390, 75391, 75392, 75393, 75394, 75395, 75396, 75397, 75398, 75399, 753100, 753101, 753102, 753103, 753104, 753105, 753106, 753107, 753108, 753109, 753110, 753111, 753112, 753113, 753114, 753115, 753116, 753117, 753118, 753119, 753120, 753121, 753122, 753123, 753124, 753125, 753126, 753127, 753128, 753129, 753130, 753131, 753132, 753133, 753134, 753135, 753136, 753137, 753138, 753139, 753140, 753141, 753142, 753143, 753144, 753145, 753146, 753147, 753148, 753149, 753150, 753151, 753152, 753153, 753154, 753155, 753156, 753157, 753158, 753159, 753160, 753161, 753162, 753163, 753164, 753165, 753166, 753167, 753168, 753169, 753170, 753171, 753172, 753173, 753174, 753175, 753176, 753177, 753178, 753179, 753180, 753181, 753182, 753183, 753184, 753185, 753186, 753187, 753188, 753189, 753190, 753191, 753192, 753193, 753194, 753195, 753196, 753197, 753198, 753199, 753200, 753201, 753202, 753203, 753204, 753205, 753206, 753207, 753208, 753209, 753210, 753211, 753212, 753213, 753214, 753215, 753216, 753217, 753218, 753219, 753220, 753221, 753222, 753223, 753224, 753225, 753226, 753227, 753228, 753229, 753230, 753231, 753232, 753233, 753234, 753235, 753236, 753237, 753238, 753239, 753240, 753241, 753242, 753243, 753244, 753245, 753246, 753247, 753248, 753249, 753250, 753251, 753252, 753253, 753254, 753255, 753256, 753257, 753258, 753259, 753260, 753261, 753262, 753263, 753264, 753265, 753266, 753267, 753268, 753269, 753270, 753271, 753272, 753273, 753274, 753275, 753276, 753277, 753278, 753279, 753280, 753281, 753282, 753283, 753284, 753285, 753286, 753287, 753288, 753289, 753290, 753291, 753292, 753293, 753294, 753295, 753296, 753297, 753298, 753299, 753300, 753301, 753302, 753303, 753304, 753305, 753306, 753307, 753308, 753309, 753310, 753311, 753312, 753313, 753314, 753315, 753316, 753317, 753318, 753319, 753320, 753321, 753322, 753323, 753324, 753325, 753326, 753327, 753328, 753329, 753330, 753331, 753332, 753333, 753334, 753335, 753336, 753337, 753338, 753339, 753340, 753341, 753342, 753343, 753344, 753345, 753346, 753347, 753348, 753349, 753350, 753351, 753352, 753353, 753354, 753355, 753356, 753357, 753358, 753359, 753360, 753361, 753362, 753363, 753364, 753365, 753366, 753367, 753368, 753369, 753370, 753371, 753372, 753373, 753374, 753375, 753376, 753377, 753378, 753379, 753380, 753381, 753382, 753383, 753384, 753385, 753386, 753387, 753388, 753389, 753390, 753391, 753392, 753393, 753394, 753395, 753396, 753397, 753398, 753399, 753400, 753401, 753402, 753403, 753404, 753405, 753406, 753407, 753408, 753409, 753410, 753411, 753412, 753413, 753414, 753415, 753416, 753417, 753418, 753419, 753420, 753421, 753422, 753423, 753424, 753425, 753426, 753427, 753428, 753429, 753430, 753431, 753432, 753433, 753434, 753435, 753436, 753437, 753438, 753439, 753440, 753441, 753442, 753443, 753444, 753445, 753446, 753447, 753448, 753449, 753450, 753451, 753452, 753453, 753454, 753455, 753456, 753457, 753458, 753459, 753460, 753461, 753462, 753463, 753464, 753465, 753466, 753467, 753468, 753469, 753470, 753471, 753472, 753473, 753474, 753475, 753476, 753477, 753478, 753479, 753480, 753481, 753482, 753483, 753484, 753485, 753486, 753487, 753488, 753489, 753490, 753491, 753492, 753493, 753494, 753495, 753496, 753497, 753498, 753499, 753500, 753501, 753502, 753503, 753504, 753505, 753506, 753507, 753508, 753509, 753510, 753511, 753512, 753513, 753514, 753515, 753516, 753517, 753518, 753519, 753520, 753521, 753522, 753523, 753524, 753525, 753526, 753527, 753528, 753529, 753530, 753531, 753532, 753533, 753534, 753535, 753536, 753537, 753538, 753539, 753540, 753541, 753542, 753543, 753544, 753545, 753546, 753547, 753548, 753549, 753550, 753551, 753552, 753553, 753554, 753555, 753556, 753557, 753558, 753559, 753560, 753561, 753562, 753563, 753564, 753565, 753566, 753567, 753568, 753569, 753570, 753571, 753572, 753573, 753574, 753575, 753576, 753577, 753578, 753579, 753580, 753581, 753582, 753583, 753584, 753585, 753586, 753587, 753588, 753589, 753590, 753591, 753592, 753593, 753594, 753595, 753596, 753597, 753598, 753599, 753600, 753601, 753602, 753603, 753604, 753605, 753606, 753607, 753608, 753609, 753610, 753611, 753612, 753613, 753614, 753615, 753616, 753617, 753618, 753619, 753620, 753621, 753622, 753623, 753624, 753625, 753626, 753627, 753628, 753629, 753630, 753631, 753632, 753633, 753634, 753635, 753636, 753637, 753638, 753639, 753640, 753641, 753642, 753643, 753644, 753645, 753646, 753647, 753648, 753649, 753650, 753651, 753652, 753653, 753654, 753655, 753656, 753657, 753658, 753659, 753660, 753661, 753662, 753663, 753664, 753665, 753666, 753667, 753668, 753669, 753670, 753671, 753672, 753673, 753674, 753675, 753676, 753677, 753678, 753679, 753680, 753681, 753682, 753683, 753684, 753685, 753686, 753687, 753688, 753689, 753690, 753691, 753692, 753693, 753694, 753695, 753696, 753697, 753698, 753699, 753700, 753701, 753702, 753703, 753704, 753705, 753706, 753707, 753708, 753709, 753710, 753711, 753712, 753713, 753714, 753715, 753716, 753717, 753718, 753719, 753720, 753721, 753722, 753723, 753724, 753725, 753726, 753727, 753728, 753729, 7537230, 7537231, 7537232, 7537233, 7537234, 7537235, 7537236, 7537237, 7537238, 7537239, 75372310, 75372311, 75372312, 75372313, 75372314, 75372315, 75372316, 75372317, 75372318, 75372319, 75372320, 75372321, 75372322, 75372323, 75372324, 75372325, 75372326, 75372327, 75372328, 75372329, 75372330, 75372331, 75372332, 75372333, 75372334, 75372335, 75372336, 75372337, 75372338, 75372339, 75372340, 75372341, 75372342, 75372343, 75372344, 75372345, 75372346, 75372347, 75372348, 75372349, 75372350, 75372351, 75372352, 75372353, 75372354, 75372355, 75372356, 75372357, 75372358, 75372359, 75372360, 75372361, 75372362, 75372363, 75372364, 75372365, 75372366, 75372367, 75372368, 75372369, 75372370, 75372371, 75372372, 75372373, 75372374, 75372375, 75372376, 75372377, 75372378, 75372379, 75372380, 75372381, 75372382, 75372383, 75372384, 75372385, 75372386, 75372387, 75372388, 75372389, 75372390, 75372391, 75372392, 75372393, 75372394, 75372395, 75372396, 75372397, 75372398, 75372399, 753723100, 753723101, 753723102, 753723103, 753723104, 753723105, 753723106, 753723107, 753723108, 753723109, 753723110, 753723111, 753723112, 753723113, 753723114, 753723115, 753723116, 753723117, 753723118, 753723119, 753723110, 753723111, 753723112, 753723113, 753723114, 753723115, 753723116, 753723117, 753723118, 753723119, 753723110, 753723111, 753723112, 753723113, 753723114, 753723115, 75372311}

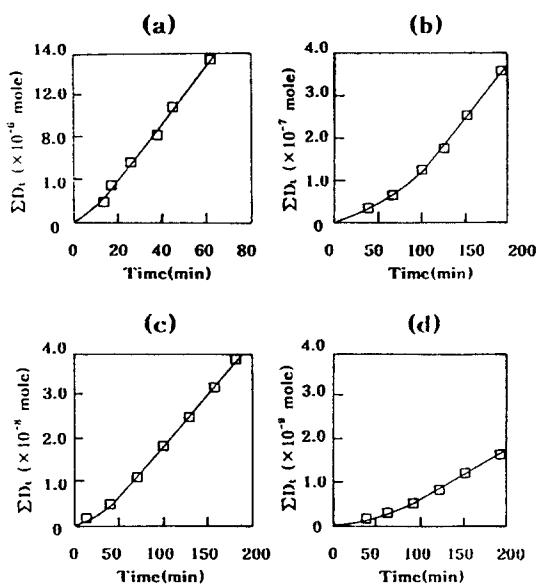


Fig. 4. Permeation of glucose(a), insulin(b), lysozyme(c), and albumin(d) through MTP-grafted chitosan membranes at 36.5°C and pH=7.4.

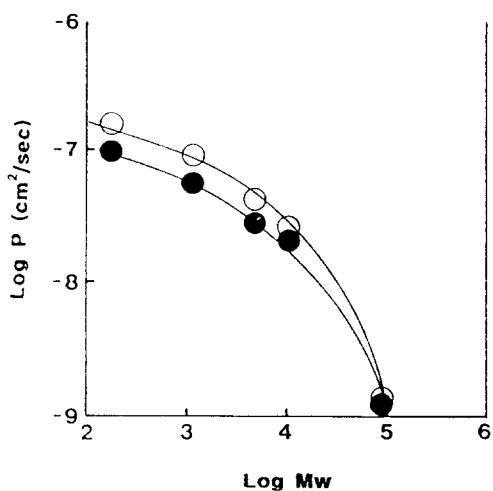


Fig. 5. Relation between biomolecular weight and permeation coefficient at 36.5°C and pH 7.4

○ Chitosan membranes
● MTP-grafted Chitosan Membranes

3. 3 항혈전성의 평가

항혈전성을 알아보기 위해 토끼의 생체혈액의 점착실험과 유출실험이 요구된다. 여기서는 토끼의 전혈과 chitosan 및 MTP-grafted chitosan막과의 혈액점착 실험결과를 Fig. 6, 7에 나타내었다. Fig. 6에서 chitosan막(A)은 30분 점착 후 많은 혈액

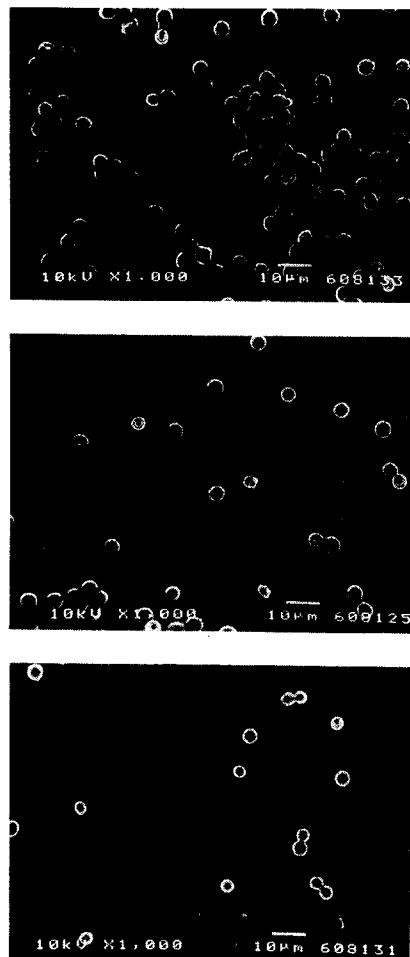


Fig. 6. SEM pictures of whole blood cell adhered on the surface of chitosan & MTP-grafted chitosan membranes (graft ratio=17.89%)

- (A) Chitosan membranes (30 mins)
- (B) MTP-grafted chitosan membranes (30 mins)
- (C) MTP-grafted chitosan membranes (60 mins)

세포가 표면에 관찰되고 있으나 MTP-grafted chitosan 막(B)에서는 그 점착이 억제되고 있음을 보여주고 있으며, 또 60분 점착(C) 후에도 그 점착율이 여전히 낮음을 보여주고 있는데 이들 (B), (C)의 그래프트율은 17.89%의 MTP-grafted chitosan 막을 사용하였다.

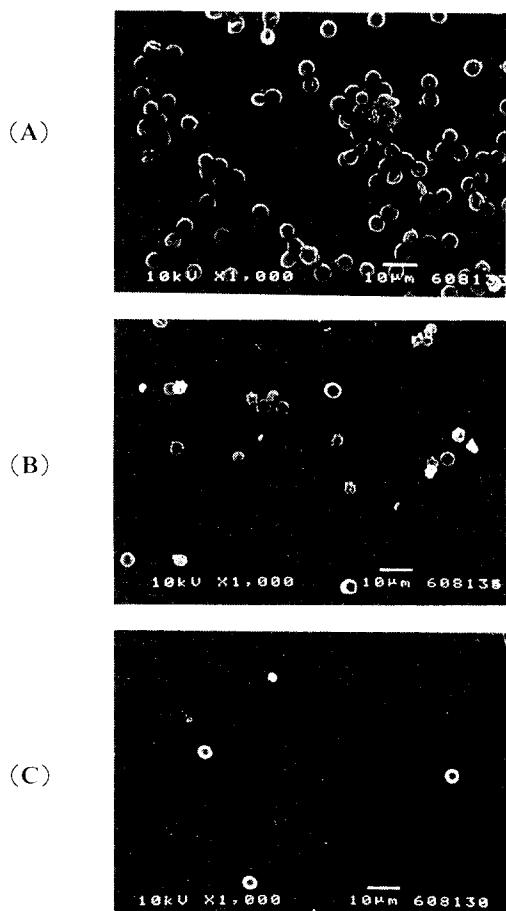


Fig. 7. SEM pictures of whole blood cell adhered on the surface of chitosan & MTP-grafted chitosan membranes(graft ratio=27.08%)
 (A) Chitosan membranes (30 mins)
 (B) MTP-grafted chitosan membranes (30 mins)
 (C) MTP-grafted chitosan membranes (60 mins)

Fig. 7에서는 그래프트율이 27.08%인 막에서의

점착결과를 보이고 있는데 그 점착이 Fig. 6과 비교해 볼때 그래프트율이 높을수록 억제됨을 관찰할 수 있었다. 이것은 그래프트율이 높으므로 인해 막표면에 인지질이 더욱 조직적으로 배향되기 때문으로 고찰되어진다.

Fig. 8에서는 PRP의 점착결과를 보이고 있는데 MTP-grafted chitosan 막에서 혈소판의 점착이 흐

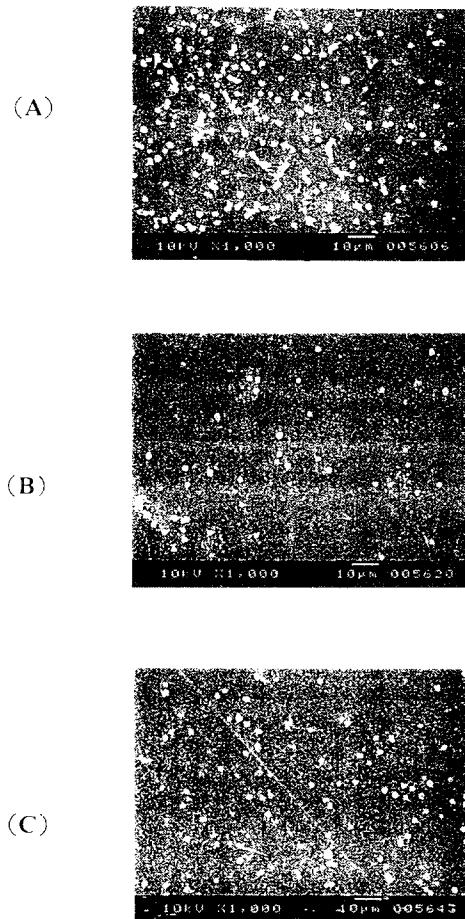


Fig. 8. SEM pictures of chitosan & MTP-grafted chitosan membranes after contacting PRP (graft ratio=17.89%)
 (A) Chitosan membranes (30 mins)
 (B) MTP-grafted chitosan membranes (30 mins)
 (C) MTP-grafted chitosan membranes (60 mins)

과적으로 억제됨을 보여주고 있으며 전혈의 실험 결과와도 잘 일치하고 있음을 보여주고 있다.

이로부터 MTP-grafted chi-tosan막의 항혈전성을 정리해보면 인지질이 배향된 chitosan막이 혈액과 접촉하면 세포나 단백질보다도 인지질과 먼저 반응하여 흡착층을 형성시킨다. 그럼으로 인해 Singer-Nicolson의 인지질이분자층의 생체막유사구조가 형성되어 단백질과 세포가 흡착되지 않고 불활성화되어 결국 항혈전성이 획득됨을 예상할 수 있었다.

4. 결 론

키토산막의 혈액적합성을 향상시키기 위해 인지질극성기, phosphoryl choline기를 가지는 모노머, 즉 2-(methacryloyloxy)ethyl-2-(trimethylammonium)ethyl phosphate(MTP)를 막에 그래프트하고 그의 성질을 고찰하였다.

10^4 을 전후로 한 투과계수의 급격한 차는 MTP-grafted chitosan막의 투과특성이 혈액투석막의 용질투과성과 유사함을 보였다. 그리고 혈액세포의 접착을 효과적으로 억제하고 있는데 이 현상은 그래프트율이 높을수록 효과적이었다. 이것은 MTP-grafted chitosan막에 생체유래의 인지질이 높은 배향을 가지면서 표면에 흡착되기 때문으로 보아진다.

이상의 결과로부터 본 논문에서 제조한 MTP-grafted chitosan막은 높은 항혈전성 및 우수한 투과성능을 가지는 물질로서 인공장기재료나 혈액투석막에의 응용가능성을 시사하였다.

감사의 글

본 연구는 1993년도 교육부 지원 한국학술진흥

재단의 자유공모과제의 학술조성비에 의하여 수행된 것으로 이에 동재단에 감사의 뜻을 표합니다.

참 고 문 헌

1. H. Seo and Y. Kinemura, *Proceedings from 4th International Conference on Chitin and Chitosan*, 585(1988).
2. G. Lang and T. Clausem, *Proceedings from 4th International Conference on Chitin and Chitosan*, 139(1988).
3. X. G. Feng, Q. B. Song, Y. Z. He, and Z. Han, "Polymers and Biomaterials", Elservier Science Publishers, 447(1991).
4. W. G. Malette, H. J. Quigley, R. D. Haines, N. D. Johnson, and W. G. Rainer, *Am. Thoracic Surg.*, 36, 55(1983).
5. S. Hirano and Y. Noishiki, *J. Biomed. Mater. Res.*, 19, 413(1985).
6. S. Hirano, Y. Tanaka, M. Hasegawa, K. Tobetto, and A. Nishioka, *Carbohydr. Res.*, 137, 205(1985).
7. M. K. Lee, M. S. Kim, S. K. Jung, and S. M. Park, *J. of Kor. Soc. of Dyers and Finishers*, 6, 324(1994).
8. A. Hirai, H. Odani, and A. Nakajima, *Polymer Bulletin*, 26, 87(1991).
9. S. M. Park, *J. Kor. Fiber Soc.*, 29, 32(1992).
10. M. K. Lee, S. G. Jung, H. D. Kim, H. H. Cho, K. H. Kim, and S. M. Park, *J. Kor. Fiber Soc.*, 30, 823(1993).