

생체적합성과 생분해성을 갖는 Polypeptide Copolymer의 합성과 물성에 관한 연구(Ⅱ)

강 인 규 · 권 대 룡 · 조 종 수 · 성 용 길*

Synthesis and Physical Properties of Biocompatible and Biodegradable Polypeptide Copolymers(Ⅱ)

Inn Kyu Kang, Dae Ryong Kwun, Chong Su Cho, Yong Keil Sung*

- Abstract -

The physical properties and drug release behaviours of polyethylene glycol grafted poly γ -benzyl L-glutamate (PEG-g-PBLG), polyethylene glycol crosslinked poly γ -benzyl L-glutamate(PEG-c-PBLG), and PBLG homopolymer are compared. PBLG containing PEG segments showed higher wettability and larger elongation than PBLG homopolymer, but lower elastic modulus. The release rate of rhodamine is strongly influenced by the wettability of the polymer. Rhodamine is more rapidly released from PEG-c-PBLG membrane having a larger water contact angle than from other polymer having a lower water contact angle. The surfaces of PBLG derivative membranes are modified by substitution reaction using hydroxyalkylamine. The resulting polymer membranes showed higher wettability and swelling ratio than virgin membranes.

1. 서 론

생체의 구성성분인 폴리펩티드는 오래 전부터

<접수: 1989년 11월 24일>

경북대학교 고분자공학과

전남대학교 고분자공학과

*동국대학교 화학과

Department of Polymer Science,

Kyung pook National University,

Taegu 702-701, Korea

Department of Polymer Science, Chonnam National

University, Kwangju 502, Korea

*Department of Chemistry, Dongguk University

Seoul 100, Korea

의용재료로서 주목되어 왔다. 생체내에는 20여가지의 아미노산이 각각의 단량체를 이루어 수많은 단백질을 형성하고 있다. 그런데 어떤 아미노산은 측쇄그룹에 카르복실기 혹은 아미노기와 같은 극성그룹을 가지고 있어 각종 유기반응도 행할 수 있다.¹⁾ 폴리펩티드는 주쇄가 아미드 결합으로 되어 있어 강직한 성질을 나타낸다. 따라서 유연성이 좋은 실리콘이나 폴리에테르 등과 블록공중합체로 하게 되면 기계적성질이 향상될 뿐만아니라 중합체의 적심성도 조절될 수 있다.^{2,3)} Poly(γ -benzyl L-glutamate) (PBLG)를 Polydimethylsiloxane (PDMS) 혹은 Poly(oxypropylene) (POP)와 블록공중합으로 하면 상분리구조를 나타내며, 어느 조성에서 좋은 혈액적합성을 나타낸다. 이것은 흡착한

단백질이 conformation의 변화를 초래하지 않고, 그 때문에 혈소판의 점착량과 활성화가 적게 진행 되기 때문이다.^{2,3)} 또한 PBLG의 측쇄에 fluoroalkyl 혹은 실리콘을 도입하면, 중합체막이 높은 소수성을 나타내게 되어 혈액적합성이 향상된다.^{4, 5)}

본 연구에서는 PBLG 측쇄에 유연성과 친수성을 갖고 있는 폴리에틸렌글리콜을 도입하여 새로운 친수성계의 폴리펩티드를 합성하고, 이들의 물성과 약물운반체로서의 가능성을 검토 했다.

2. 실험

2-1 합 성

PBLG의 합성은 이전 보고한 방법에 따라 행했다.⁶⁾ Polyethylene glycol(PEG) - crosslinked PBLG의 합성에 대해서는 이미 보고 했다.⁶⁾ PEG-grafted PBLG의 합성은 다음과 같이 행했다. PBLG 2.0 g을 tetrahydrofuran 60ml에 녹인후 methoxypolyoxyethyleneamine (MPOE : m.w : 5,000) 2.0g을 혼합하여 60°C에서 24시간 동안 환류치환반응을 행했다. 생성물을 농축시킨 다음 메탄올에 침전시켜 미반응의 PEG를 제거했다. 그라프트중합체의 확인은 핵자기공명법 또는 적외분광법으로 행했다.

2-2 기계적 성질

중합체의 기계적성질은 길이 4cm의 균일한 필름을 작성하고, Instron 인장시험기(모델 V 2.50K)를 사용하여 인장강도, 연신율 및 탄성율을 측정 하였으며, 이때 인장속도는 2mm/min으로 하였고, 측정온도는 20°C, 상대습도는 65% 였다.

2-3 표면성질

중합체를 DMF 혹은 클로르포름에 녹여 casting 방법으로 필름을 제조하고, 에탄올아민 혹은 에탄올아민-도데실디아민의 혼합물과 치환반응을 하여 표면개질을 행했다. 이들 필름의 건조상태의 무게와 완충용액에 침적시켜 팽윤된 필름의 무게를 비교 하므로써 팽윤도를 측정했다.

2-4 약물방출

모델약물로서 rhodamine을 사용했다. rhodamine 1.25mg과 중합체 125mg을 벤젠과 클로르포름의 혼합용매에 분산시켰다. 이 용액을 테프론판에 흘려 실온에서 용매를 증발시켰다. 필름을 분리하여 하루동안 진공건조한 후 방출실험에 이용했다. 얻어진 복합sheet를 pH 7.4, 37°C의 생리식염수에 담그고 일정한 속도로 교반을 행했다. 일정한 시간마다 미량의 용액을 취하여 여과후 UV스펙트럼(552 nm)을 측정하여 방출된 약물의 농도를 결정했다.

3. 결과 및 고찰

합성된 중합체의 조성 및 표면접촉각을 Table 1에 나타내었다. PEG-g-PBLG의 경우 PEG의 도입율이 매우 적은데, 이것은 사용한 MPOE의 분자량이 크므로 입체적장해로 치환반응율이 작아졌기 때문인 것으로 생각된다. 에탄올아민과 같이 분자량이 작은 경우, PBLG와의 치환반응에서 시간이 길어질수록 도입율은 대폭 증가한다.⁷⁾ PBLG 필름의 적심성은 그다지 좋지 않지만, PEG의 함량이 증가함에 따라 개선됨을 알 수 있었다. 또한 필름표면에 하드록시기를 도입하므로써 표면적심성이 더욱 좋아지는 것을 알 수 있다 (Table 1).

Table 1. Wettability of PBLG and PEG-grafted polypeptide films.

Sample	BLG (mol%)	EG (mol%)	Water contact angles (°)	
			before treatment	after treatment ^{a)}
PBLG	100	0	68±3	55±3
PEG-g-PBLG	96	4	62±2	53±3
PEG-c-PBLG	68	32	45±2	31±3

^{a)}films were treated with ethanolamine for 60 min.

Fig. 1에는 각각의 중합체필름에 대한 기계적강도를 측정된 결과를 나타내고 있다. Stress-Strain 커브의 초기 기울기로 부터 탄성율을 계산하고 최대 Stress 점에서 장력을 구했다. Table 2에서 알 수 있듯이 유리전이점이 낮은 PEG를 도입한 중합체는 PBLG 동종중합체 보다도 낮은 탄성율을 나타냈다. 한편 PEG를 함유하는 중합체의 신도 및

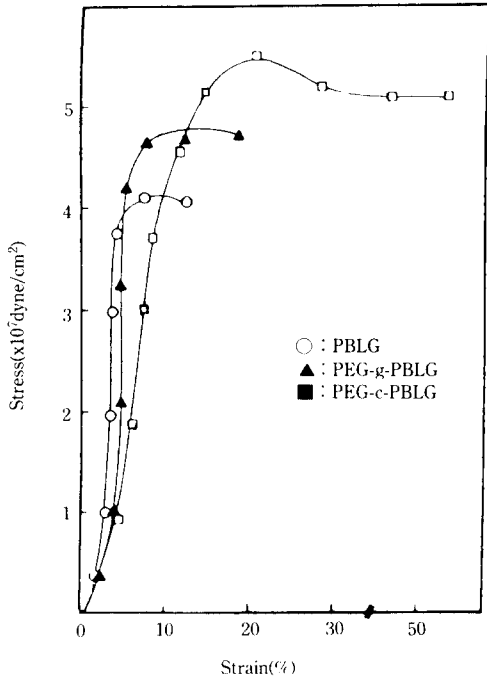


Fig. 1 Stress-strain curves for polypeptide derivatives (20mm min⁻¹)

Table 2. Mechanical properties of PBLG and PEG-grafted PBLG films.

Sample	BLG unit (mol%)	modulus (kg/mm ²)	elongation (%)	ultimate strength (x10 ⁷ dyne/cm ²)
PBLG	100	27.9	12.2	3.9
PEG-g-PBLG	96	25.2	17.7	4.6
PEG-c-PBLG	68	21.0	59.7	5.3

극한강도는 PBLG보다 큰값을 나타냈다. 이것은 도입한 PEG부분이 탄성체적인 성질을 나타냈기 때문인 것으로 생각된다. Fig. 2에는 약물을 담지한 복합체막을 생리식염수 중에 침적시켰을때, 침적 시간과 약물방출량의 관계를 나타낸 것이다. 사용한 시료 모두 초기 90시간까지 급격한 방출성을 나타내고, 그후 완만한 방출속도를 나타냈다. 또한 같은 시간에서의 방출량은 PEG 함량이 많은 친수성복합체막에 있어서 큰값을 나타냈다. 약과 고분자를 물리적으로 혼합한 계에 있어서의 약물방출속도는

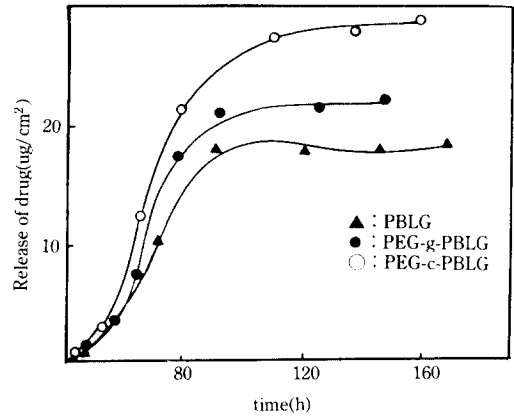


Fig. 2 Release of rhodamine from composite sheet made of polypeptides and drug in 400ml buffer solution at 37C(sheet thickness : 350μm, surface area : 1.9 cm²).

일반적으로 고분자의 친수화도에 비례한다.⁸⁾ 이것은 친수성이 클수록 물이 접근하기 쉬워져 약물이 물계로 용이하게 확산하게 되기 때문이다.

Table 3에는 중합체막의 팽윤도를 나타내고 있다. 표면처리를 하지 않은 중합체의 팽윤도는 3.6~6.9% 이었다. 그러나 이들 중합체막을 에탄올아민 혹은 에탄올아민-도데실디아민과 1시간 반응시킨 경우, 팽윤도는 최고 16.2%까지 증가했다. 이것은 막표면에 히드록시기가 도입되어 물과의 상호인력을 강하게 해주기 때문이다. 에탄올아민과 PBLG 측쇄와의 교환반응은 반응시간에 의존하는것으로 보고되고 있다.⁷⁾ 즉 초기에 에탄올아민이 벤질글루타메이트에 접근하여 치환반응을 일으키는 것이

Table 3. Degree of swelling of bulk polypeptides and surface modified polypeptide films in water.

Sample	BLG unit (mol%)	EG unit (mol%)	Degree of swelling(%)		
			virgin films	EA*	EA and DA**
PBLG	100	0	3.6	4.8	6.9
PEG-g-PBLG	96	4	4.8	11.8	13.7
PEG-c-PBLG	68	32	6.9	14.1	16.2

* Films were treated with ethanolamine(EA) for 1 h.

** Films were treated with EA/DA mixtures for 1 h.

울속단계가 되고, 일단 어느정도 반응이 진행하게 되면 에탄올아민은 막의 내부까지 확산되어 급격한 반응을 일으킨다.

Fig. 3에는 막표면에서의 치환반응시간과 팽윤도와의 관계를 나타내고 있다. 반응시간에 관계없이 PEG 함유량이 많을수록 팽윤도는 큰값을 나타냈다. 8시간 치환반응 했을때의 각 중합체막의 팽윤도는 PEG-c-PBLG가 144%, PEG-g-PBLG가 62%, PBLG가 18%를 나타냈다. 이와같이 표면개질에 의해 팽윤성이 높은 고분자막을 얻을 수 있었다.

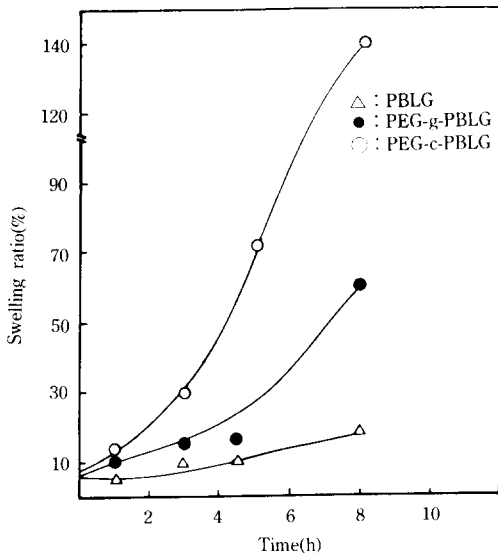


Fig. 3 The effect of reaction time of polypeptide films and ethanolamine on the swelling behavior (film thickness : 350 μ m, surface area : 10.7 cm²).

4. 결 론

본 연구를 통해 Poly r-benzyl L-glutamate에 폴리에틸렌글리콜을 그래프트 또는 가교시켜 얻은 중합체의 물성 및 약물방출 특성이 비교 검토되었다. PBLG에 PEG를 그래프트 또는 가교하므로써 탄성율은 다소 감소하나 신도는 대폭 증가함을 알 수 있었고, PEG를 함유하는 중합체는 PBLG 동중합체 보다 훨씬 좋은 적심성을 보였다. 약물모

델로서 rhodamine을 각중합체에 담지시켜 방출실험을 행한 결과, 친수성의 PEG-c-PBLG중합체가 가장 높은 방출속도를 나타냈다 이것은 PEG-c-PBLG중합체가 친수성의 PEG를 많이 함유하고 있어 물이 쉽게 접근하여 내부까지 침투해 들어가므로서 담지된 약물이 쉽게 확산되어 나오는 것으로 생각된다.

각 중합체막을 에탄올아민과 치환반응시킨 결과, 반응시간을 연장하므로써 대단히 높은 팽윤도를 갖는 막을 얻을 수 있음을 알았다. 따라서 hydroxyalkylamine은 친수성표면을 얻기위한 좋은 표면개질제라 할 수 있다.

본 연구결과를 토대로, 현재 높은 팽윤성을 지닌 PEG-c-PBLG 및 PEG-g-PBLG중합체의 생체적합성에 관한 연구를 진행중에 있다.

감사의 글 : 이 연구는 1989년도 문교부 첨단공학(신소재분야) 학술 연구 조성비에 의하여 수행되었다.

참 고 문 헌

- 1) A. Ueno, T. Ishiguro, F. Toda, K. Uno, and Y. Iwakura, "Conformational studies of poly- β -1-naphthylmethyl L-aspartate", *Biopolymers*, 14, 353(1975).
- 2) I.-K. Kang, Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, "Adsorption of plasma proteins and platelet adhesion onto polydimethylsiloxane/poly(γ -benzyl L-glutamate) block copolymer films", *Biomaterials*, 9, 138(1988).
- 3) I.-K. Kang, Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, "Synthesis, blood compatibility and gas permeability of block copolymers consisting of polydimethylsiloxane and poly(γ -benzyl L-glutamate)", *Polym. J.*, 19, 1329(1987).
- 4) I.-K. Kang, Y. Ito, M. sisido, and Y. Imanishi, "Synthesis, blood compatibility and gas permeability of copepolyptides containing fluoroalkyl side groups", *Int. J. Biol. Macromol.*, 10, 201

- (1988).
- 5) Y. Ito, K. Iwata, I.-K. Kang, M. Sisido, and Y. Imanishi, "Synthesis, antithrombogenicity and permeability of copolypeptides having silyl groups or dimethylsiloxane oligomers substituted in the side chains", *Int. J. Biol. Macromol.*, 10, 169(1988).
 - 6) 강인규, 권대룡, 조종수, 성용길 "생체적합성과 생분해성을 갖는 polypeptide copolymers의 합성과 물성에 관한 연구.(1) 폴리에틸렌글리콜을 그래프트 시킨 폴리펩티드의 합성", *대한화학회지*, 34권 2호, 인쇄중.
 - 7) T. Hayashi, K. Kakeshima, E. Kobatake, and A. Nakajima, "Synthesis and properties of poly(N-hydroxy L-glutamine)hydrogels", *J. Biomed. Mater. Res.*, 19, 863(1985).
 - 8) S.S. Shyu, Y. Kuroyanagi, and M. Seno, "Controlled drug release through poly(L-leucine) and its copolymer", *IUPAC International Symposium Seoul, Molecular Design of Functional Polymers* Preprint, p. 281-282(1989).