

# Poly-N<sup>5</sup>-(3-hydroxypropyl glutamine)/Poly (ethylene glycol)block copolymer hydrogel의 합성과 인공피부에의 응용

조종수\* · 오상봉\*\* · 조기형\*\* · 성용길\*\*\*

= Abstract =

## Synthesis of Poly-N<sup>5</sup>-(3-hydroxypropyl glutamine)/Poly(ethylene glycol)block Copolymer Hydrogel and Its Application to the Artificial Skin

Chong-Su Cho\*, Sang-bong Oh\*\*, Ki Hyng Cho\*\* and Yong-Kiel Sung\*\*\*

ABA type block copolymers composed of poly( $\gamma$ -benzyl L-glutamate) (PBLG) as the A component and poly(ethylene glycol) as the B component were obtained by polymerization of  $\gamma$ -benzyl L-gletamate N-carboxyanhydride, initiated by amine groups at both ends of poly(ethylene glycol). From circular dichroism measurements in ethylene dichloride solution as well as from infrared spectra measurements in solid state, it was found that the polypeptide block exists in the  $\alpha$ -helical conformation, as in PBLG homopolymer.

Poly-N<sup>5</sup>-(3-hydroxypropyl glutamine)(PHPG)/poly(ethylene glycol)block copolymer hydrogel was obtained by the treatment of PBLG/PEG block copolymer with the mixture of 3-amine-1-propanol and diaminoctane. The water content of PHPG/PEG block copolymer hydrogel was about 80wt% when the concentration of crosslinking agent was below 5 mole % per polymer.

### 1. 서 론

피부는 외부환경과 생체와의 경계가되는 복잡한

기관이고, 외부의 힘으로부터 생체를 보호하고 세균의 침입을 막는 대외 보호작용을 갖는다. 화상이나 외상에 의해 피부 상처의 치료방법으로 환자 자신의 피부를 이식(자가이식), 타인의 피부를 이식(동종이식), 또한 동물의 피부를 이식(이종이식)하는 방법등<sup>1)</sup>이 있다. 이중에서도 자가이식이 가장 좋지만 피부를 채취하는 부위와 양에 제한이 있고, 채취부위가 손상부위로 남는 결점이 있다. 또한 동종이나 이종이식의 경우에도 생체내의 거부반응으로 제약을 받는다.<sup>2)</sup> 따라서 상처를 일시적으로 피복하여 치료를 촉진하고 상피가 재생되는 성능이

(접수 : 1991년 3월9일)

\*전남대학교 공과대학 고분자공학과

\*\*전남대학교 자연과학대학 화학과

\*\*\*동국대학교 이과대학 화학과

\*Dept. of Polymer eng., Chonnam National Univ.

\*\*Dept. of Chemistry., Chonnam National Univ.

\*\*\*Dept. of Chemistry., Dongguk Univ.

우수한 인공피부의 개발이 시급하다. 인공피부로서는<sup>3)</sup> 첫째, 상처부위에 수분증발량을 적당히 조절하여 과다수분 증발로 인한 탈수와 합병증을 방지하고 상처분비액의 염증형성이 없어야 한다. 둘째, 유연성 및 신축성 등의 기계적 성질을 가져야 한다. 셋째, 적당한 산소투과성이 있어야 한다. 넷째, 환부에 세균감염을 방지하여야 한다. 다섯째, 비자극성과 비항원성이 있어야 한다. 여섯째, 독성이 없으면서 생체분해성을 가져야 한다. 인공피부의 조건을 만족시키기 위하여 지금까지의 인공피부는 크게 나눠 세가지로서, 첫째는, 합성고분자형으로 poly(vinyl alcohol) (PVA), silicone막 등이 실용화되고 있으나 최근에는 조직친화성이 좋은 Polyurethane (Pu)막이 실용화되고 있다.<sup>4)</sup> 김등<sup>5)</sup>에 의해서도 표피성분으로 Pu를 진피성분으로 가교화 gelatin-PVA를 사용하여 인공피부로서의 가능성을 제시하였다. 또한 합성 Poly( $\alpha$ -amino acid)인 poly(L-leucine)중합체에 항균제를 복합시킨 인공피부가 연구되어 동물실험에서도 유효성이 인정되어 임상적검토도 행해지고 있다.<sup>6)</sup> 둘째는 천연고분자형으로서 Collagen<sup>7)</sup>외에 Chitin소재의 인공피부의 연구가 진행중에 있는데<sup>8,9)</sup> 이미 임상적검토가 시작되어 유효성이 인정되어 특히 Chitin 소재는 조직구를 유도하여 창상치유를 빨리하는 이점이 있다. 셋째는 복합형으로서 Silicone 막에 poly( $\alpha$ -amine acid)고정화 nylon 편포를 겹쳐 만든 인공피부 Biobrane 이 임상적으로 쓰이고 있으나 재생한 육아조직이 nylon 섬유와 엉겨서 합성막을 떼어내기 어려운 결점이 있다. 이러한 결점을 보완하기 위하여 nylon편포대신에 분해흡수성이 있는 poly(lactic acid)(PLA)편포를 이용하여 인공피부로 사용하고 있다.<sup>10)</sup> 또한 Yanas<sup>12)</sup> Barke등<sup>13)</sup>이 개발한 Silicone 막과 Collagen막의 2중막으로 된 인공피부가 임상적으로 검토되고 있다.<sup>11-13)</sup> 또한 heparin을 병용하면 환부의 모세혈관의 성장이 좋고, hydraulic acid 나 fibronectin을 복합화하면 섬유아세포의 성장이 좋다는 보고도 있다.<sup>4)</sup>

Collagen을 화학가교대신에 단시간열가교처리 선유화 Collagen과 열변성 Collagen의 복합층을 인공피부로 개발시험 하였더니 동물실험에서 양호한 진피층이 재생됐다는 보고도 있다.<sup>15)</sup> 위에 열거한

인공피부는 foam, film, sponge, laminate등의 여러 형태로 제조되었으나 모두 장단점을 가지고 있고 아직도 이상적인 인공피부는 존재하지 않는 실정이다.

본 연구에서는 생체내에서 분해흡수성이 있는 Poly( $\alpha$ -amino acid)의 일종인 Poly-N<sup>6</sup>(3-hydroxypropyl glutamine)(PHPG)가 생체분해속도를 조절하기 위하여 poly(ethylene glycol) (PEG)과의 block공중합체를 합성하고 만족할만한 강도와 신장율등의 기계적성질을 갖기 위하여 diaminooc-tane으로 가교시키려고 한다. 이렇게 가교된 PHPG/PEG block공중합체는 hydrogel을 형성하기 때문에 생물조직과 비슷한 물성인 첫째, 물의 함량이 많고, 둘째 두드럽고, 셋째, 낮은 표면장력의 성질등을 가지리라 기대된다.<sup>16)</sup> 이렇게 제조된 hydrogel을 인공피부로서 사용가능성을 검토하기 위한 것이 본 연구의 목적이다.

## 2. 실 험

### 2.1 시약 및 시료

Tetrahydrofuran(THF) 및 n-hexane은 특급시약을 2회증류정제하여 사용하였다. 그의 시약은 특급시약을 사용하였다.

$\gamma$ -Benzyl L-glutamate N-carboxyanhydride( $\gamma$ -BLG NCA)의 합성

$\gamma$ -BLG를 THF에 분산시킨 후 tri chloroethanechloroformate(TCF)를 넣고 60°C에서 1시간동안 반응시켜  $\gamma$ -BLG NCA를 합성하였다.

Poly( $\gamma$ -benzyl L-glutamate) (PBLG)의 합성  $\gamma$ -BLG NCA를 triethylamine을 개시제로 dioxane을 용매로 하여 25°C에서 72시간 반응시켰고, 반응물은  $\delta$ toH을 침전제로 하여 얻었다.

PBLG/PEG block공중합체의 합성

전보<sup>17)</sup>와 동일한 방법으로  $\gamma$ -BLG NCA량과 amine terminated PEG(ATPEG)량을 조절하면서  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 을 용매로 25°C에서 72시간동안 중합시켰다. 반응물은 diethyl ether로 침전시켜 얻었다.

PHPG/PEG block 공중합체 hydrogel의 합성 PBLG/PEG block 공중합체를 dimethyl formamide

(DMF)로 casting하여 만든 film을 3-amino-1-propanol량과 diaminoctane양을 조절하면서 60°C에서 소정시간 반응시킨 후 반응물을 물과 ether로 씻은 후 진공건조시켰다.

Circular dichroism(CD) spectra 측정

합성된 PBLG homopolymer와 PBLG/PEG block 공중합체의 용액상의 2차구조를 조사하기 위하여 dichloroethane을 용매로 CD를 측정하였다(JASCO J-500A형, 일본).

Infrared (IR) spectra 측정

합성된 PBLG homopolymer와 PBLG/PEG block 공중합체의 고체상의 2차구조를 조사하기 위하여 chloroform으로 casting하여 만든 film을 가지고 Shimadzu Model-43 IR spectrophotometer에 의하여 IR을 측정하였다.

팽윤도 측정

제조된 PHPG/PEG block 공중합체 hydrogel의 팽윤도를 측정하기 위하여 25°C의 증류수에 24시간동안 침지시킨 후 무게를 측정하여 다음식으로 부터 팽윤도를 계산하였다.

$$Q_w(\%) = \frac{X_2 - X_1}{X_1} \times 100$$

Q<sub>w</sub>(%) : 팽윤도

X<sub>1</sub>(g) : 건조상태의 시료무게

X<sub>2</sub>(g) : 팽윤상태의 시료무게

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 PBLG의 합성

Scheme(1)과 같이 단량체 γ-BLG NCA를 triethylamine을 개시제로 상온에서 72시간 반응시키면 다음 반응식과 같이 개환중합에 의하여 PBLG가 얻어졌으며 IR Spectrum에서 1860cm<sup>-1</sup>와 1790

Scheme 1.

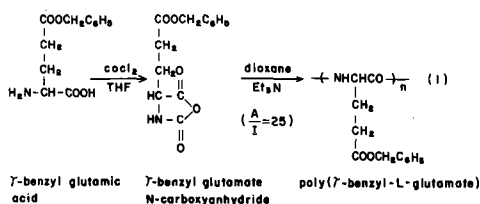


표 1 제조된 시료의 EG 함량과 분자량

Table 1 List of samples prepared

Sample	Ethylene glycol Content(Mol%)	Mw × 10 <sup>-4</sup>
PBLG	0	27.3
GEG-1	5.0	17.0
GEG-2	18.7	4.5
GEG-3	34.4	1.8

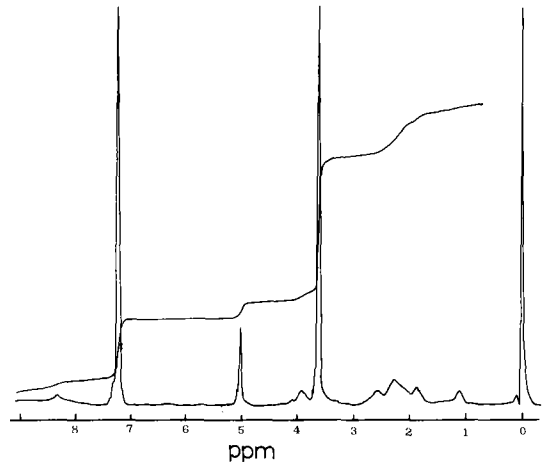
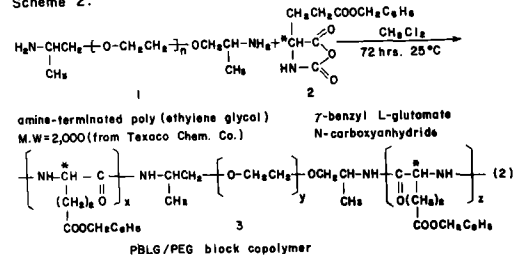


그림 1 PBLG/PEG 블록 공중합체의 NMR 스펙트럼

Fig. 1 NMR Spectrum of PBLG/PEG block copolymer.

Scheme 2.



cm<sup>-1</sup>에서 γ-BLG NCA의 코리피이크가 사라짐으로서 PBLG가 합성되었음을 확인하였다.

#### 3.2 PBLG/PEG block 공중합체의 합성

Scheme(2)와 같이 γ-BLG NCA와 ATPEG양을 조절하면서 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>을 용매로 25°C에서 72시간 동안 반응시키면 ATPEG의 양말단에 있는 amine기의 친핵성침자기구에 의하여 공중합체가 얻어졌다. 얻어진 PBLG/PEG block 공중합체 (GEG로

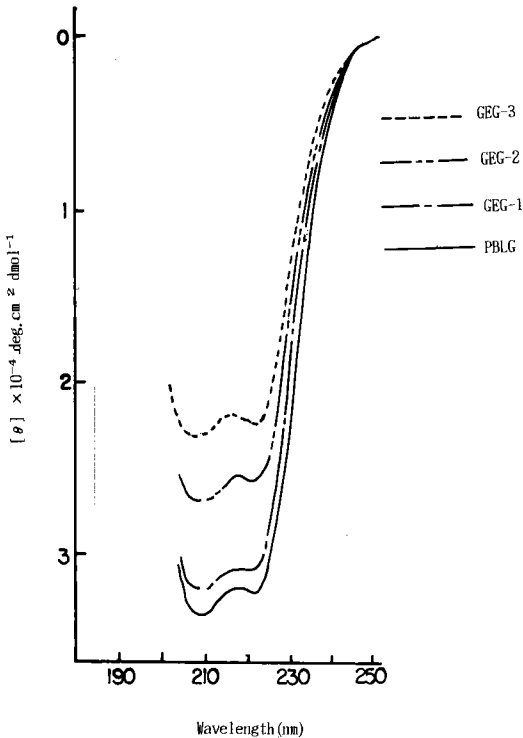


그림 2 25°C에서 EDC 용액중 PBLG/PEG 블록 공중합체와 PBLG 단일중합체의 CD 스펙트럼

Fig. 2 Circular dichroism spectra of PBLG/PEG block copolymer and PBLG homopolymer in EDC solution at 25°C

약칭)의 특성을 표 1에 나타냈는데 PEG의 함량이 많아짐에 따라서 분자량은 감소하는 경향을 나타냈다. PBLG의 분자량은 Doty등<sup>18)</sup>이 제안한 점도 식에 의하여 계산되었고, 이때 사용한 용매는 dichloroacetic acid(DCA)이었다. 또한 PEG의 성분 함량은 NMR로 산출하였다. 대표적인 block 공중합체의 NMR를 그림 1에 나타냈다.

### 3.3 PBLG/PEG block 공중합체의 구조 조사

합성된 block 공중합체의 용액구조는 1,2-dichloroethane을 용매로 CD를 측정했듯이 그림 2에 나타냈는데 그림에서 나타내는 바와 같이 PBLG나 공중합체 모두가  $n-\pi^*$  전이의 222nm와

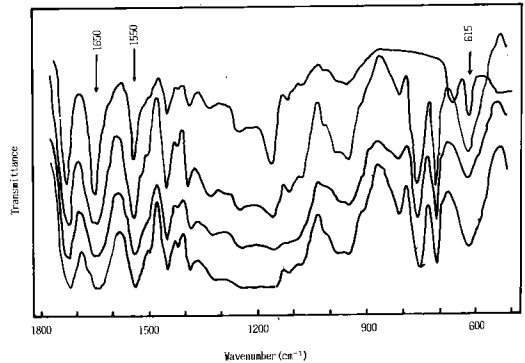


그림 3 고체필름의 IR스펙트럼;(1) PBLG, (2) GEG-1, (3)GEG-2, (4) GEG-3.

Fig. 3 Infrared spectra of unoriented solid films : (1)PBLG;(2)GEG-1 : (3)GEG-2;(4) GEG-3, cast from CF

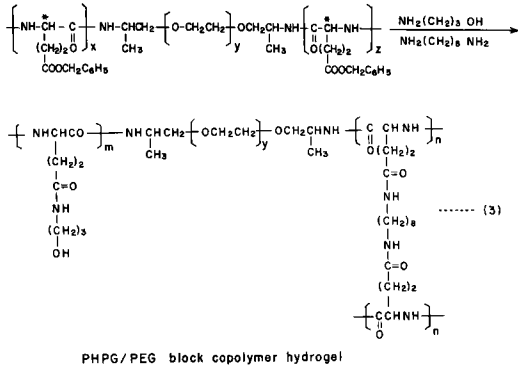
$\pi-\pi^*$  전이의 208nm에 흡수대를 나타내고 있어 이것을 전형적인  $\alpha$ -helix구조<sup>19)</sup>를 나타내고 있고, PEG함량이 증가하면 증가할 수록 양흡수대의 타원율은 감소되어  $\alpha$ -helix가 감소되고 있었다.

합성된 block 공중합체의 고체구조를 알아보기 위하여 chloroform을 용매로 casting하여 만든 film을 가지고 IR을 측정했듯이 그림 3에 나타냈는데 그림에서 나타내는 바와 같이 어느 것이나 모두 amide I 흡수대에서는  $1650\text{cm}^{-1}$ , amide II 흡수대에서는  $1550\text{cm}^{-1}$ , amide V 흡수대에서는  $615\text{cm}^{-1}$ 에서 각각 흡수 피크가 있는 것으로 보아 PBLG homopolymer와 같이  $\alpha$ -helix의 구조를 나타내고 있는것을 알았다.

### 3.4 PHPG/PEG block 공중합체 hydrogel의 합성

Scheme(3)과 같이 PBLG/PEG block 공중합체 film( $\text{GEG}^{-1}$ )을 3-amino-1-propanol용액에 가교제 diaminoctane 공존하에서 60°C에서 20시간 침지시켜 반응시키면 축쇄의 일부는 aminopro-panol의 축쇄치환반응에 의하여 PHPG가 얻어지고, 또한 축쇄의 일부는 가교제인 aminoctane에 의하여 분자간의 가교가 얻어졌다. 축쇄의 치환은 IR에 있어서 ester( $1730\text{cm}^{-1}$ )의 흡수피크의 소실에 의하여 확인되었다.

Scheme 3.



### 3·5 PHPG/PEG block 공중합체 hydrogel의 팽윤도

표 2에 PHPG/PEG block 공중합체 hydrogel의 팽윤도를 가교제의 함량에 따라서 나타낸 것으로 함유율은 가교제양에 따라서 16-86%의 값으로서 함유율이 약80%정도의 높은 함유율을 가지려면 aminopropanol이 고분자의 약 5 Mol%로서 가교제량이 5 Mol%이하가 되어야 환부에서 배출되는 삼출액을 충분히 흡수하여 체액의 고임을 방지할 수 있다고 생각된다. 그러나 aminopropanol 함량이 많아지면 함유율은 커지지만 인장강도가 감소하는 경향이 있어 인공피부로서 갖춰야 할 기본적인 물성값이 문제가 되는데 aminopropanol 함량과 diaminoctane의 함량에 따른 기본적인 물성값은 검토중에 있다.

PBLG/PEG block 공중합체 hydrogel을 이용한 in vitro에서의 항균제의 방출거동과 in vivo에서의 조직학적 평가는 현재 검토중에 있으며 다음기회에 보고할 예정이다.

표 2 Diaminoctane 농도에 의한 PHPG/PEG 블록 공중합체 수화겔의 팽윤도

Table 2 Swelling degree of PHPG/PEG block copolymer hydrogel according to the concentration of diaminoctane

Content of diaminoctane per polymer (Mol%)	Swelling degree(%)
0	16
2.5	86
5.0	75
10.0	40

### 4. 결 론

본 연구에서는 생체내에서 분해흡수성이 있는 PBLG/PEG block 공중합체 hydrogel을 합성하여 인공피부로서의 이용가능성을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

첫째, ATPEG의 양말단에 있는 amine기의 친핵성침착기구에 의하여 r-BLG NCA를 개환중합하여 PBLG/PEG block 공중합체가 얻어졌다.

둘째, 얻어진 공중합체의 용액상의 2차구조를 CD로, 고체상의 2차구조를 IR로 측정한 결과 PBLG homopolymer와 같이 r-helical구조를 취하고 r-helix함량은 PEG의 함량에 의존하였다.

셋째, 얻어진 PBLG/PEG block 공중합체에 aminopropanol과 diaminoctane을 공존시켜 반응시키면 PHPG/PEG block 공중합체의 hydrogel이 얻어졌다.

넷째, 얻어진 PHPG/PEG block 공중합체 hydrogel의 함유율은 가교제함량이 고분자의 약 5Mol% 이하에서 약 80%의 높은 함유율을 나타내고, 이로써 피부상처 부위에서의 과량의 체액손실과 삼출액의 고임을 방지할 수 있다.

### 5. 사 사

본 연구는 1990년도 산학협동재단연구비의 지원으로 진행되었기에 이에 감사를 드립니다.

### 참 고 문 헌

- 1) P.M. Neumann, J. Biomed. Mater. Res., 15, 9(1981).
- 2) I.V. Yannas and J. F. Burke, ibid, 14, 65 (1980).
- 3) G.B.Park, Biomat, Med. dev., Art, Org., 6, 1 (1978).
- 4) M.F. Jonkman, Transaction of brd World Biomatericls Congress, 218(1988).
- 5) K.Y.Kim, D.S.Kim and H.J. Chan, Polymer (korea) 11, 246(1987).
- 6) N. Kuroyanagi, Abstract of Japn Biomaterial Society, 54(1987).
- 7) Be, Aubreg Woodroof, " Burn Wound Covering", CRC Press(1980).

- 8) 禾住野太二, 日本 Biomaterial 학회예고집, 54 (1987).
- 9) K. Kifune, Transaction of 3rd World Biomaterials Congress, 216(1988).
- 10) Y. Shimamoto, 日本才 17回 醫用高分子 Symposium 강연요지집, 35(1988).
- 11) M. Shuguk, 熱傷, 13, 42(1987).
- 12) I.V. Yannas, 才35回 Collagen 研究會초록, 39(1988).
- 13) J. Burke, Jpn. J. Surg., 17, 431(1987).
- 14) H.P. Bhrlich et al. Bxp. Molecul. Pathol., 48, 244(1988).
- 15) G. Ogaki et al., 才26回日本人工臟器學會大會 초록, 15(1988).
- 16) S.D.Bruck, J. Biomed, Mater. Res., 7, 387 (1973).
- 17) C.S.Cho, S.U.Kim and T. Komoto, Makromol. Chem., 191, 981(1990).
- 18) P. Doty, J.H. Bradbury and A.M. Holtger, J. Am. Chem. Soc., 78, 947(1956).
- 19) G. Hsltgwartg and P. Doty, J. Am. Chem. Saol 87, 218(1965).