

생체적합성과 생분해성을 갖는 폴리에스테르 중합체의 합성과 특성에 관한 연구 (Ⅱ) : Poly (1, 4-butanediol succinate)의 결정화 및 생분해성

송대경·성정석*·강인규**·이영무***·성용길

=Abstract=

Synthesis and Characterization of Biocompatible and Biodegradable Polyesters (Ⅱ) : Crystallization and Biodegradation of Poly (1, 4-butanediol succinate)

Dae Kyung Song, Jung Suk Sung*, Inn-Kyu Kang*, Young Moo Lee***, and Yong Kiel Sung

Biodegradable poly(1,4-butanediol succinate)(PBS) was synthesized from 1,4-butanediol and succinic anhydride. The glass transition temperature of poly(1, 4-butanediol succinate) was revealed at 73°C. The crystallization and cold crystallization of the polymers were investigated as a function of holding time in melt state, cooling rate, reheating, and molecular weight. Chain scission and/or crosslinking did not occur in the melt state at various holding times. Slower scanning rate can allow more times for nucleation, rearrangement, and packing of the polymer chain, so the onset temperature of crystallization from the melt was increased. PBS crystallized from the melt was found to have spherulitic structure. The degradation behavior of PBS was studied under basic conditions and with microorganisms using the modified ASTM method. In the basic solution, PBS lost up to 85% of its mass within two days. Based upon visual observation, the crystalline structure of films composed of larger molecular weight polymers retained their crystallinity longer than similar structures in low molecular weight samples.

Key words : Biocompatible, biodegradable, polyesters, crystallization, biodegradation, poly(1, 4-butanediol succinate).

서 론

생분해성 고분자 재료는 의료용 봉합사나 약물 방출용

재료 및 생분해성 혈관 이식 재료와 같은 보다 새로운 응용 분야에서 그 수요가 점차적으로 증가하고 있다¹⁻⁶⁾. 생분해성 재료로서 갖추어야 할 가장 기본적인 조건으로는

동국대학교 화학과 자연과학연구소

Department of Chemistry & Natural Sciences Research Institute, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

* 동국대학교 응용생물학과

* Department of Applied Biology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

** 경북대학교 고분자공학과

** Department of Polymer Science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

*** 한양대학교 공업화학과

*** Department of Industrial Chemistry, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

통신저자: 성용길, Tel. (02) 260-3212, Fax. (02) 268-8204

생체적합성과 분해산물의 무독성 등이다^{1, 7)}. 그밖에도 여러분야에 이용되기 위해서는 예측할 수 있는 분해속도와 적절한 기계적 강도를 가져야 한다⁸⁻⁹⁾. 이러한 조건들을 두루 갖춘 고분자는 흔치않으며, 각각의 의료용 목적에 적합한 고분자 개발을 위한 연구가 계속 진행되고 있다. 체내대사의 하나인 Krebs회로에서 생성되는 산들은 새로운 폴리에스터 개발을 위한 좋은 후보 물질들이며 이러한 산들을 이용하여 합성된 폴리에스터들은 생체적합성과 생분해성을 가지며 그 분해산물이 무독성일 것으로 예상된다고 보고된 바가 있다¹⁰⁻¹³⁾.

새로운 생분해성 폴리에스터의 합성을 위해 L-lactic acid와 1,4-butanediol을 이용하여 diol관능기를 갖는 새로운 단량체인 1,4-butanediol dilactate를 합성하고 이것과 Krebs산 유도체인 succinic anhydride 및 L-malic acid의 -OH기를 보호한 2-acetoxy succinic acid와 축중합시켜 poly(1, 4-butanediol dilactate succinate) (PBDS) 및 poly(1,4-butanediol dilactate 2-acetoxy succinate) (PBDAS)를 합성하였으며, 또한 1,4-butanediol과 succinic anhydride를 직접 축중합시킨 poly(1,4-butanediol succinate) (PBS)를 합성하였다. 합성된 단량체와 중합체들을 FT-IR 및 ¹H-NMR로써 확인하였으며 그 고분자들의 분자량과 분자량 분포는 GPC를 이용하여 측정하였다. 또한 시차주사 열량계법과 열중량 분석법을 이용하여 합성된 중합체들의 결정화 특성과 열분해성을 조사하여 보고하였다¹⁴⁾.

본 연구에서는 합성된 중합체중 결정성을 갖는 poly(1, 4-butanediol succinate)를 이용하여 가열속도, 냉각속도, 재가열속도, 용융상태에서의 유지시간 및 분자량 등이 결정화에 미치는 영향 등을 조사하였으며, 생성된 결정의 모폴로지를 편광현미경을 이용하여 관찰하였다. 또한 poly(1,4-butanediol succinate)의 생분해도를 American Standard for Testing and Materials (ASTM)방법¹⁵⁾을 이용하여 조사하였다.

실 험

1. 시료

실험에 사용한 poly(1,4-butanediol succinate)는 1,4-butanediol과 succinic anhydride를 촉매인 p-toluenesulfonic acid (0.4 mole %) 존재하에서 축합중합법으로 합성하였으며, 자세한 합성방법에 대해서는 이미 보고한 바 있다¹⁴⁾. 중합체의 GPC분석 결과를 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Molecular weight and molecular weight distribution of poly(1, 4-butanediol succinate).

Sample	Synthetic condition		GPC results		
	Reaction time (hr)	Mole % of catalyst	Mn	Mw	MWD
PBS	3.33	0.4	2,700	4,600	1.69
	4.5	0.4	3,300	6,300	1.88
	12	0.4	5,700	11,000	1.92
	17	0.4	9,400	18,000	1.91
	20	0.4	16,000	29,000	1.82

Table 2. Preparation of nutrient-salts broth

Reagents	weight
Potassium dihydrogen orthophosphate (KH ₂ PO ₄)	0.7
Magnesium sulfate (MgSO ₄ 7H ₂ O)	0.7
Ammonium nitrate (NH ₄ NO ₃)	1.0
Sodium chloride (NaCl)	0.005
Ferrous sulfate (FeSO ₄ 7H ₂ O)	0.002
Zinc sulfate (ZnSO ₄ 7H ₂ O)	0.002
Manganous sulfate (MnSO ₄ 7H ₂ O)	0.001

2. 중합체의 결정화에 영향을 미치는 인자

중합체의 결정화온도 및 용융온도를 시차주사 열량계 (Perkin-Elmer DSC-4 system)를 이용하여 측정하였다. 시차주사 열량계는 indium standard를 이용하여 검증하였으며, 사용한 시료는 150℃의 용융된 상태에서 5분간 유지시킨 후 액체질소에 담귀서 준비하였다. 가열속도, 냉각속도, 재가열속도, 용융상태에서의 유지시간 및 분자량 등이 결정화에 미치는 영향을 조사하기 위해 30℃에서 150℃까지 다양한 속도로 가열시키고 용융상태에서의 유지시간을 변화시킨 후, 다양한 속도로 30℃까지 냉각시켰다.

3. 모폴로지

중합체의 구정을 관찰하기 위하여 필름상태의 시료를 150℃의 가열판 위에서 용융시켜서 5분간 유지시킨 후 실온이 될때까지 서서히 냉각시켰다. 성장한 구정은 35mm 카메라가 장착된 Leitz Laborlux 12 Pol S 편광현미경을 이용하여 관찰하였다.

4. 분해성 시험

1) 가수분해도 측정

PBS를 37℃ 0.1N NaOH용액에 넣고 교반하다가 정해진 시간이 지난 후에 꺼내어 0.1N HCl을 이용하여 중화시킨 후 클로로포름으로 고분자를 추출하였다. 용매를 제거하고 건조한 다음 처음의 무게와 비교하여 무게감소도를 측정하였다.

2) 생분해도 시험

중합체의 생분해성을 조사하기 위해 ASTM법에서 일상적으로 사용하는 곰팡이인 *Aspergillus niger*와 *Penicillium funicularium*을 사용하였다¹⁵⁾. 사면배지에서 7일간 배양하여 수확한 포자를 증류수로 세번 세척한 후 ml당 109포자의 농도로 무기염용액에 분산시켰다. 무기염용액은 Table 2에 나타낸 시약들을 이용하여 표시된 양을 1L의 증류수에 녹여 사용하였다. 실험에 사용한 배지는 고압멸균기를 이용하여 121℃에서 20분간 멸균하였으며, 멸균 후 배지의 pH가 6.2가 되도록 0.01N NaOH용액을 이용하여 조절하였다. 0.16g/ml의 농도로 poly(1,4-butanediol succinate)를 녹인 chloroform용액을 75μl 취하여 산으로 세척한 현미경용 덮개유리(18×18mm)에 도포하였다. 가열판 위에서 용매를 제거한 후 실온까지 고분자필름을 서서히 냉각시켰으며, 이때 도포된 고분자필름의 두께는 40m이하였다. 이렇게 준비한 필름을 140℃에서 4시간동안 멸균시킨 후 agar판 위에 놓고 위에서 준비한 각각의 미생물들을 고분자필름에 접종하였다. 미생물이 접종된 고분자 시료를 28℃에서 배양하면서 정해진 시간에 따라 현미경을 이용하여 구정의 변화를 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. PBS의 유리전이온도 및 용융온도

PBS[Poly(1,4-butanediol succinate)]의 DSC열량곡선을 Fig. 1에 나타내었다. PBS를 30℃에서 150℃까지 2, 5, 10, 15, 20, 40, 60℃/min의 다양한 속도로 가열하였을 때, 73℃에서 유리전이온도가 나타났으며 다중용융현상을 보였다. 다중용융현상의 원인을 규명하기위한 많은 연구가 수행^{16~21)}되었으며, 그 결과 원래의 결정이 가열과정동안 용융, 재결정화 또는 재배열 및 재용융에 의해 다중용융현상이 일어나는 것으로 밝혀졌다. Fig. 1에 나타낸 PBS의 DSC열량곡선에서 가장 낮은 온도에서 나타나는 흡열피크는 중합체내에 존재하는 불완전 결정 또는 불순물에 의한 것이고, 그 다음에 나타나는 흡열피크는 원래 중합체에 존

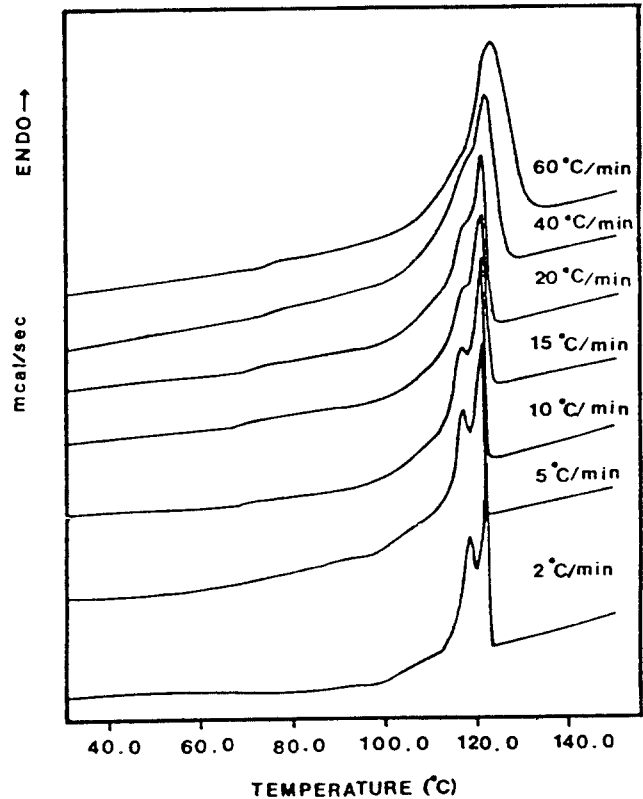


Fig. 1. DSC melting curves of poly(1,4-butanediol succinate) (Mw: 18,000) as a function of heating rate.

Table 3. The enthalpy changes and the onset and maximum temperatures of the crystallization exotherm for poly(1, 4-butenediol succinate) on cooling process from the melt in the DSC at various holding times.

Holding Time(hr)	Tc,onset (°C)	Tc,max (°C)	ΔHc (cal/g)
0.08	83.3	78.3	-20.3
0.5	82.5	77.7	-20.4
1	81.8	77.0	-20.6
4	81.1	76.5	-19.9
8	80.1	75.4	-20.4
24	80.2	75.4	-20.2
48	80.8	75.5	-20.2
100	80.6	75.3	-20.1

재하는 결정의 용융에 의해 생성된 것이고, 가장 높은 온도에서 나타나는 피크는 용융과정에서 진행, 형성되는 재배열에 의해 형성된 결정의 용융에 의한 것으로 고찰된다.

Table 4. The enthalpy changes and melting temperatures of poly(1, 4-butanediol succinate) (Mw: 1,800) on reating process in DSC at various holding time.

Holding Time (hr)	ΔH_c (cal/g)	T _m (°C)
0.08	22.3	116.1
0.5	22.5	115.9
1	22.4	115.5
4	22.1	115.3
8	22.5	115.0
24	22.4	114.8
48	22.2	114.6
100	21.8	114.2

2. 용융상태에서 유지시간의 영향

중량평균분자량이 18,000인 PBS를 150°C의 용융된 상태에서 유지시간을 다양하게 변화시킨 후 10°C/min으로 30°C까지 냉각시키고 다시 10°C/min으로 150°C까지 재가열시켰다. 용융된 상태의 중합체를 냉각시킴에 따라 결정이 생성되고 이때 나타나는 결정화 시작온도, 최대결정화 온도 및 엔탈피 변화량을 Table 3에 나타내었다. 또한 재가열과정에서 나타나는 엔탈피 변화량과 용융온도를 Table 4에 나타내었다. 냉각과정에서 나타나는 결정화 시작온도와 최대결정화 온도는 용융상태에서의 유지시간이 5분에서 8시간으로 증가함에 따라 약간 감소하였으나 8시간 이상에서는 특별한 차이가 나타나지 않았으며, 엔탈피 변화량에서는 별 차이를 관찰할 수 없었다. 재가열과정에서 나타나는 용융온도도 용융상태의 유지시간이 증가하여도 별로 감소하지 않았으며, 용융에 따른 엔탈피도 변화하지 않았다. 이러한 결과로부터 용융시키기 전에 존재하던 결정의 핵은 150°C에서 5분간 유지시키는 동안 사라졌으며, 용융상태로 유지시키는 동안 분자사슬이 끊어지거나 가교화가 일어나지 않은 것으로 고찰된다.

3. 분자량의 영향

분자량이 4,600, 6,300, 11,000, 18,000 및 29,000인 PBS를 20°C/min으로 150°C까지 가열시킨 후 그 온도에서 5분간 유지시키고 20°C/min으로 30°C까지 냉각시킨 다음 150°C까지 재가열시켰다. 냉각과정에서 나타나는 결정화 시작온도와 최대결정화 온도는 분자량이 18,000이 될 때까지 증가하였다(Fig. 2). 이러한 결과는 사슬이 길어짐에 따라 사슬 접힘이 쉬워지기 때문이며, 분자량이 29,000으로 증가하면 접도가 증가하여 사슬 접힘이 어려워져서 결정

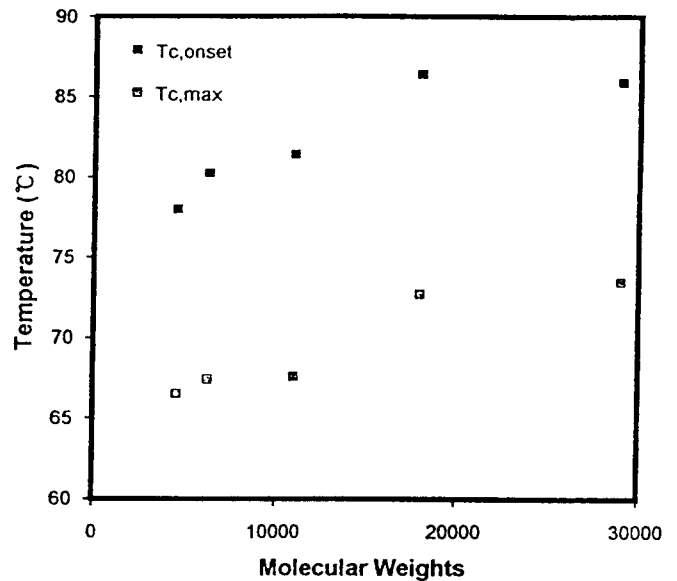


Fig. 2. The onset temperature of crystallization and maximum crystallization temperature for various molecular weights of poly(1,4-butanediol succinate).

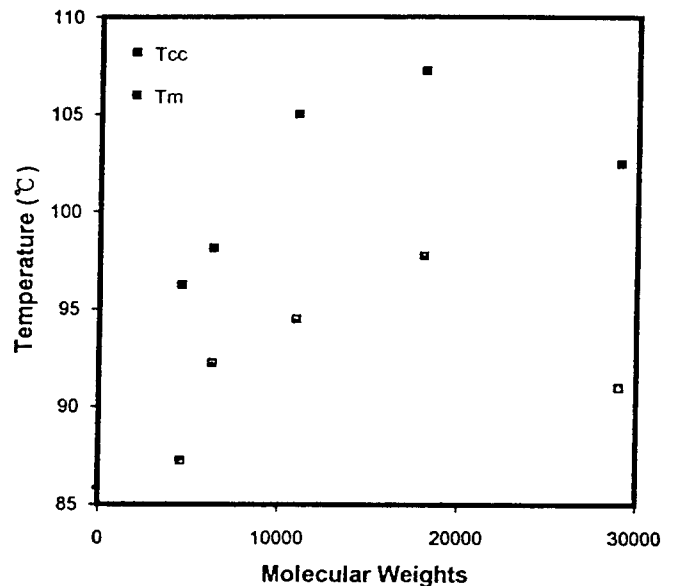


Fig. 3. Cold crystallization temperatures and melting temperatures on reheating processes as a function of molecular weights.

화 시작온도가 낮아지는 것으로 고찰된다. 재가열과정에서 나타나는 냉결정화 온도와 용융온도는 분자량이 18,000으로 증가할 때까지는 증가하다가 분자량이 29,000이 되면서 감소하였다(Fig. 3). 이러한 냉결정화 온도의 증가는 분

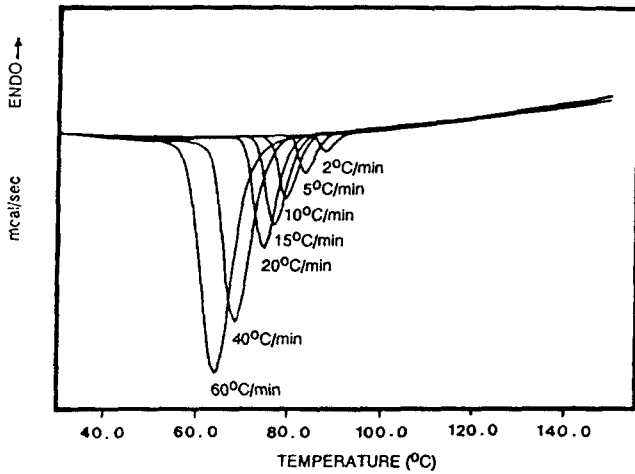


Fig. 4. DSC cooling curves of poly(1, 4-butanediol succinate) (Mw: 18,000) at various cooling rates.

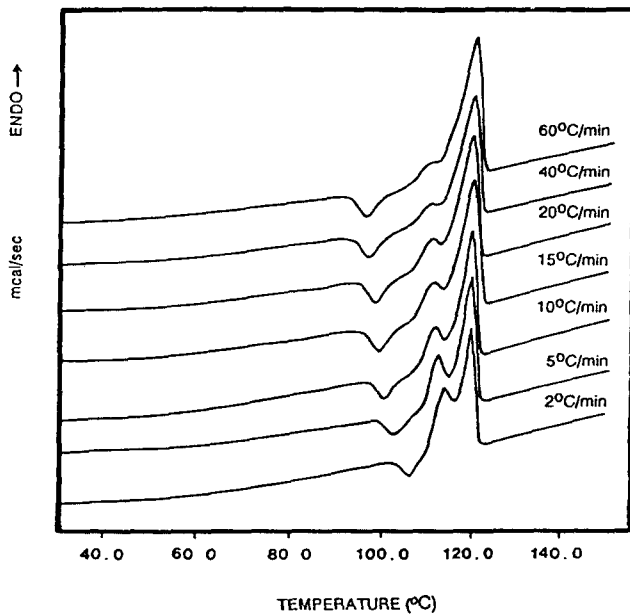


Fig. 5. DSC thermograms of poly(1, 4-butanediol succinate) (Mw: 18,000) in the reheating process; Supercooling process were accomplished prior to reheating on scan rate 10°C/min.

자량이 증가함에 따라 자유부피가 감소하기때문인 것으로 고찰된다. 이러한 결과로부터 본 실험에 사용한 다양한 분자량의 시료들 중 중량평균 분자량이 18,000인 경우가 가장 완벽한 결정구조를 갖는 것으로 고찰된다.

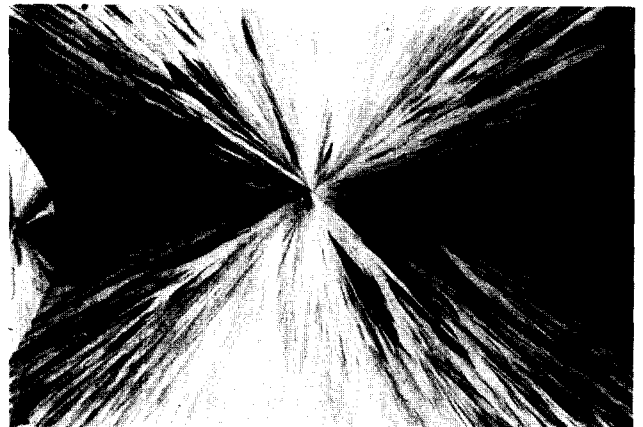
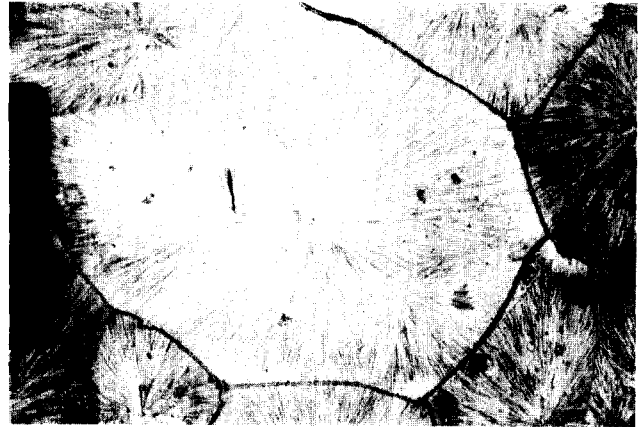


Fig. 6. Spherulites grown in the thin film of poly(1, 4-butanediol succinate).

4. 냉각속도의 영향

중량평균 분자량이 18,000인 PBS를 150°C에서 5분간 유지시킨 후, 다양한 냉각속도로 30°C까지 냉각시키고 10°C/min으로 150°C까지 재가열시켰다(Fig. 4와 Fig. 5). 용융상태로부터의 결정화 시작온도는 냉각속도가 빨라짐에 따라 낮은 온도에서 나타났으며, 재가열 과정에서의 냉결정화 온도는 용융상태에서의 냉각속도가 느려짐에 따라 높은 온도에서 나타났다. 이러한 결과는 속도가 느려짐에 따라 핵생성과 재배열 및 고분자사슬의 충전시간이 길어지기 때문인 것으로 고찰된다.

5. 모폴로지

용융상태로부터 결정화 된 PBS의 구정사진을 Fig. 6에 나타내었다. PBS구정에서 방사섬유(Fig. 6(a), x256)와 가

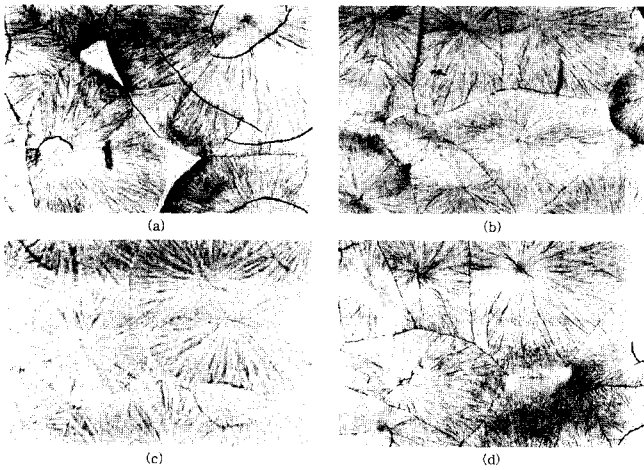


Fig. 7. Micrographs of poly(1,4-butanediol succinate) films. Films were sterilized at 140°C for four hours; (a) Mw 6,300, (b) Mw 29,000. The suspension of microorganism was inoculated on the polymer film; (c) Mw 6,300 (d) Mw 29,000

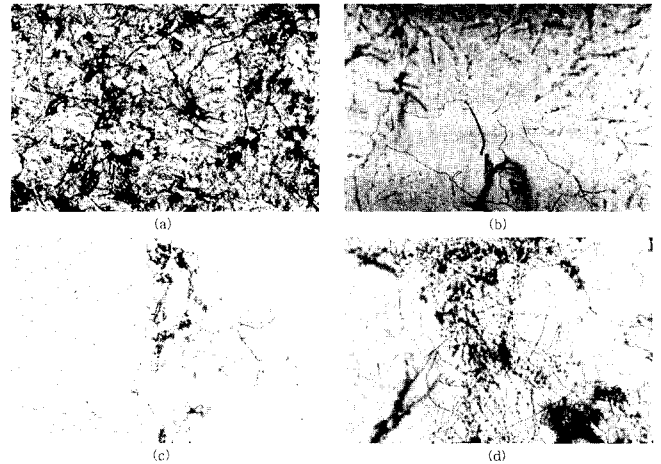


Fig. 9. Biodegradation of poly(1,4-butanediol succinate) (Mw : 6,300) by *Penicillium funicularium*. (a) one week (b) three weeks (c) seven weeks (d) ten weeks

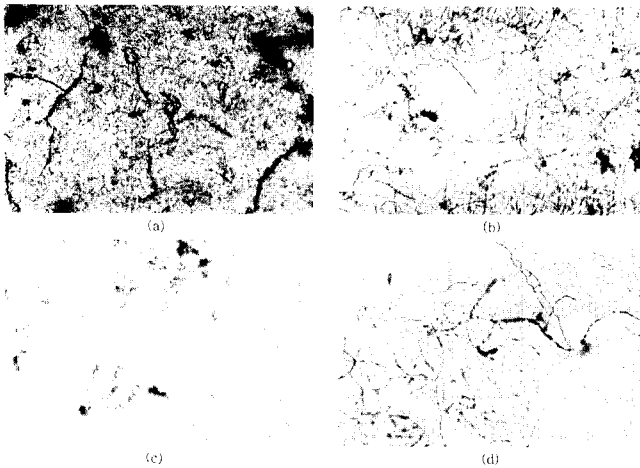


Fig. 8. Biodegradation of poly(1,4-butanediol succinate) (Mw : 6,300) by *Aspergillus niger*. (a) one week (b) three weeks (c) seven weeks (d) ten weeks

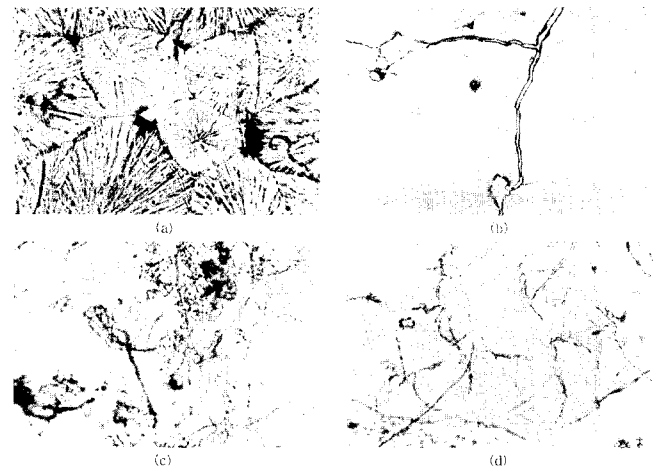


Fig. 10. Biodegradation of poly(1,4-butanediol succinate) (Mw : 29,000) by *Penicillium funicularium*. (a) one week (b) three weeks (c) seven weeks (d) ten weeks

지섬유(Fig. 6(b), x512)를 관찰할 수 있었다. PBS에서 생성된 구정은 말타십자형이었다.

6. 가수분해 시험

분말상태의 PBS를 염기성 조건하에서 일정 기간동안 담궈 놓았다가 꺼내어 건조한 다음 무게를 측정 한 후 처음 무게와 비교하여 무게 감량 %를 구하여 본 결과 2일만에 처음 무게의 85%가 감소하였다.

7. 생분해성

생분해실험을 위해 140°C에서 4시간동안 멸균시킨 PBS는 구정을 유지하고 있었다(Fig. 7). 미생물에 의해 분해된 고분자 필름의 현미경사진을 Fig. 8부터 Fig. 11에 나타내었다. 중량평균 분자량이 6,300인 경우에는 Fig. 8(a)와 Fig. 9(a)에 나타낸 바와 같이 일주일 이 지난 후에 결정구조가 곰팡이에 의해 이미 분해되었다. 삼주후에는 섬유모

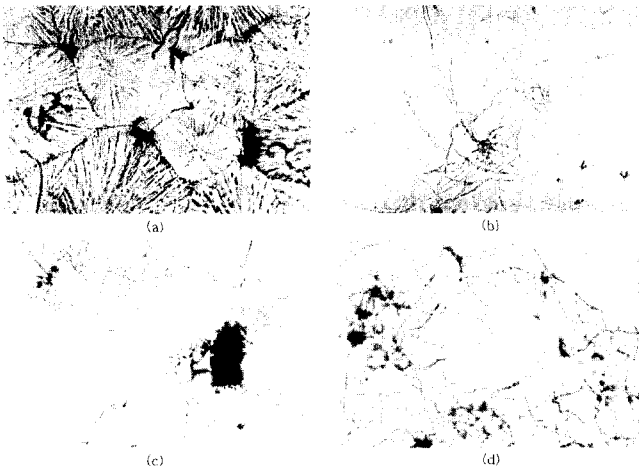


Fig. 11. Biodegradation of poly(1,4-butanediol succinate) (Mw : 29,000) by *Aspergillus niger*.
(a) one week **(b)** three weeks **(c)** seven weeks **(d)** ten weeks

양이 없어진 분해된 부분이 보였다. 칠주후에는 균사를 따라 분해된 고분자필름의 표면이 균사로 가득찬 것을 관찰할 수 있었다. 중량평균 분자량이 29,000인 경우에도 분해 경향이 저분자량(Mw: 6,300)인 경우와 비슷했으나 대체적으로 결정구조가 저분자량의 경우보다는 좀 더 오랫동안 지속되었다. 미생물에 의한 고분자의 분해는 결정화 정도에 따라 일어나며 일정한 분자량까지는 결정구조를 유지하는 것으로 고찰된다.

결 론

새로운 생분해성 고분자 개발을 위해 succinic anhydride 와 1,4-butanediol로부터 합성된 poly(1,4-butanediol succinate)에 대해 열분석해 본 결과 73°C에서 유리전이온도가 나타났고, 다중용융현상을 관찰할 수 있었다. 용융된 상태에서의 유지시간을 변화시켜도 사슬이 끊어지거나 가교화가 일어나지 않았으며, 주사속도가 느려짐에 따라 핵형성과 재배열 및 고분자사슬이 충전되는 시간이 길어져서 용융된 상태에서부터의 결정화 시작온도가 증가하였다. 본 실험에 사용한 다양한 분자량의 시료들중 중량평균 분자량이 18,000인 경우에 좀 더 완전한 결정구조를 가졌고, 용융 상태에서부터 결정화된 PBS는 구정구조를 가졌다. 생분해성에 대하여 연구해 본 결과 PBS는 곰팡이, 방선균 및 세균 등의 미생물에 의하여 결정화 정도에 따라 분해되었다.

감사: 본 연구는 1994년도 교육부 신소재분야 연구지원 (Ministry of Education Research Fund for Advanced Materials)에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. X. Zhang, M. F. A. Goosen, U. P. Wyss, and D. Pichora, *J. Macromol. Sci.-Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C33(1), 81 (1993).
2. M. Vert, F. Ohabot and P. Christel, *Makromol. Chem. Suppl.*, 5, 30 (1981).
3. A. S. Hoffmann, *J. Appl. Polym. Sci., Appl. Polym. Symp.*, 31, 313 (1977).
4. S. W. Kim, R. V. Petersen and J. Feijen, in *Drug Design*, E. J. Ariens, Ed., Academic Press, New York, USA 10, 1980, 193.
5. R. Langer and N. Peppas, *J. Macromol. Sci.-Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C23, 61 (1983).
6. K. D. Ahn, I. C. Kwon, and Y. H. Kim, *Polymer (Korea)*, 11 (2), 97 (1987).
7. G. S. Kumar, V. Kalpagam, and U. S. Nandi, *J. Macromol. Sci.-Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C22(2), 225 (1982-1983).
8. P. J. Hocking, *J. Macromol. Sci.-Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C32, 35 (1992).
9. D. Cohn and H. Younes, *J. Biomed. Mater. Res.*, 22, 99 (1988).
10. C. Braud, C. Bunel, H. Garreau, and M. Vert, *Polym. Bull.*, 9, 198 (1983).
11. A. Carou, C. Braud, C. Bunel, and M. Vert, *Polymer*, 31, 1797 (1983).
12. T. Ouchi and A. Fujino, *Makromol. Chem.*, 190, 1523 (1989).
13. T. Ouchi, H. Kobayashi, and T. Bunda, *British Polym. J.*, 23, 221 (1990).
14. D. K. Song, J. S. Lee, and Y. K. Sung, *Polymer (Korea)*, 17 (6), 710 (1993).
15. American Standards for Testing and Materials, ASTM D G21-70, 1985 *Annual Book of Standards*, American Standards for Testing and Materials, Philadelphia, Pa., 1052 (1985).
16. R. C. Roberts, *J. Polym. Sci.*, B(8), 381 (1970).
17. G. E. Sweet and J. P. Bell, *J. Polym. Sci.*, A2(10), 1273 (1972).
18. M. Todoki and T. Kawaguchi, *J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed.*, 15, 1067 (1977).
19. J. T. Yeh and J. Runt, *J. Polym. Sci. Polym. Phys.*, B2, 305 (1992).
20. M. E. Nichols and R. E. Robertson, *J. Polym. Sci. Polym. Phys.*, B(30), 305 (1992).
21. M. E. Nichols and R. E. Robertson, *J. Polym. Sci. Polym. Phys.*, B(30), 755 (1992).