

## 생체적합성과 생분해성을 갖는 Polypeptide Copolymer 의 합성과 물성에 관한 연구. (1) 폴리에틸렌 글리콜을 그라프트시킨 폴리펩티드의 합성

姜仁圭<sup>†</sup> · 權大龍 · 曹鍾守\* · 成堉吉\*\*

경북대학교 공과대학 고분자공학과

\*전남대학교 공과대학 고분자공학과

\*\*동국대학교 이과대학 화학과

(1989, 8, 1 접수)

### Synthesis and Physical Properties of Biocompatible and Biodegradable Polypeptide Copolymers.

#### (1) Synthesis of Poly(ethylene glycol) grafted Polypeptides

Inn-Kyu Kang<sup>†</sup>, Dae-Ryong Kwon, Chong-Su Cho\*, and Young Kiel Sung\*\*

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

\*Department of Polymer Engineering, Chonnam National University, Kwangju 502-000, Korea

\*\*Department of Chemistry, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

(Received August 1, 1989)

**요 약.** 한쪽 말단에 히드록시 혹은 양말단에 아미노기를 갖는 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 이용한 에스테르 교환 혹은 아미노 치환반응을 행하여 PEG-grafted Poly  $\gamma$ -benzyl L-glutamate(PBLG)를 합성했다. 이들의 점도 특성은 진한 용액에서는 농도 감소에 따라 점도가 감소하다가 어느 이상 묽어지게 되면, 농도 감소에 따라 점도는 다시 증가했다. PEG를 함유하는 폴리펩티드 중합체의 젖음성은 동종 중합체보다도 향상 됐고, 이들 중합체 필름을 아미노에탄올과 표면반응시킨 결과, 물의 접촉각이 대폭적으로 작아져 표면에 수화겔이 형성됨을 알 수 있었다.

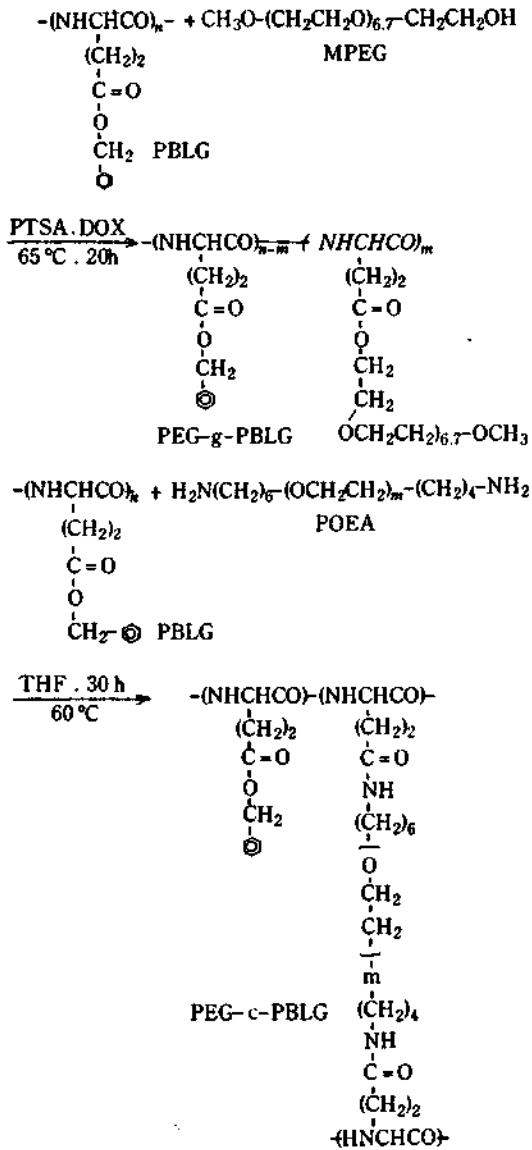
**ABSTRACT.** Polyethylene glycol (PEG) grafted poly  $\gamma$ -benzyl L-glutamate (PBLG) were prepared from esterification or substitution reaction of PBLG with PEG having hydroxyl group at one end or primary amino groups at both ends. The viscosity of these polymer solution was decreased with decrease of polymer concentration. But in more dilute solution the viscosity was increased with decrease of polymer concentration. PEG-grafted PBLG polymers showed smaller water contact angles than PBLG homopolymer, and the water contact angles of the surface of PEG-grafted PBLG polymers were largely dropped by reacting with aminoethanol, resulting in hydrogel surfaces.

#### 서 론

폴리펩티드는 생체의 구성성분이라는 관점에서 오래 전부터 의료용 재료로서 주목되어 왔다. 생체내에는 22종류의 아미노산이 각각의 단량체를

이루어 많은 단백질을 형성하고 있다. 아미노산의 기본구조에는 부재탄소가 존재하므로 이들로부터 구성되는 고분자량의 단백질은 독특한 입체구조를 갖게 된다. 즉 일정한 주기를 가지고 오른쪽으로





Scheme 2

$\gamma$ -benzyl L-glutamate( $\gamma$ BLG)를 얻었다. THF에 trichloromethyl chloroformate(TCF)를 넣고 60°C로 유지하면서 분해반응을 행하여 포스겐 가스를 생성시켰다. 그 후 온도를 40°C로 내려  $\gamma$ BLG를 넣고 반응을 시켰다. 반응용액을 일부 증발시키고 남은 농축액을 헥산에 침전시켜 백색 고체를 얻었다. 그리고 헥산-아세트산에틸계에 의한 재결정을 3회 반복하여 백색침상을 얻었다. 생성물의 확인은 적외선분광법으로 행했다.

$\gamma$ BLGNCA의 중합<sup>11</sup>. NCA 모노머를 dichloromethane에 녹이고 일정량의 TEA를 개시제로서 넣어 실온에서 개환중합을 행했다. 48시간 후 반응용액을 농축시켜 에테르에 침전시켰다. 이것을 건조하여 적외선분광법으로 반응의 진행을 확인했다.

PBLG와 PEG의 그라프트 반응. PBLG 2.0g을 THF 60ml에 녹인 후 POEA 2.2g을 혼합하여 60-70°C에서 reflux 치환반응을 행했다. 또한 PBLG 2.0g를 녹인 dioxane 용액에 MPEG 2.0g을 넣고, 촉매로서 *p*-toluenesulfonic acid 1.42g 혼합하여 60°C에서 에스테르 교환반응을 행했다. 24시간 반응 후 생성물을 농축시킨 다음 메탄올에 침전시켜 미반응의 PEG를 제거했다. 그라프트 반응의 확인은 핵자기공명법 또는 적외선분광법으로 행했다.

점도 측정. 잘 건조된 0.01g을 정확히 무게를 측정하여 8ml의 디옥산에 각각 녹인 후 25.00±0.01°C에서 Ubbelohde 점도계로 측정하였다.

중합체의 표면반응. 중합체를 DMF에 녹여 casting 방법으로 필름을 제조하고, 에탄올아민과 55°C에서 1시간 반응하여 표면개질을 행했다. 이것을 알코올과 증류수로 세척하여 건조 후 물의 표면접촉각을 측정했다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 생체적합성 혹은 생분해성을 갖는 중합체를 얻는 것을 목적으로, 한쪽 말단에 히드록시 혹은 양말단에 아미노기를 갖는 폴리ε-테트라글리콜을 이용하여, 그라프트 및 가교폴리펩티드를 합성했다. 그리고 합성한 중합체들의 점도거동표면의 젖음성, 표면개질의 효과 등을 살펴보았다.

PBLG의 합성. Scheme 1에 PBLG 동중합체의 합성반응식을 나타냈다.  $\gamma$ BLGNCA의 적외선흡수 스펙트럼에서는 1800 cm<sup>-1</sup> 부근에 5원환에 기인하는 흡수띠가<sup>12</sup> 나타났으므로 NCA 모노머가 합성됐음을 알았고, 모노머의 중합시 5원환에 기인하는 흡수띠가 완전히 소실하고 1650 cm<sup>-1</sup> 부근에 아미드(I) 및 1550 cm<sup>-1</sup> 부근에 아미드(II)의 띠가<sup>13</sup> 새로이 나타난 것으로 보아

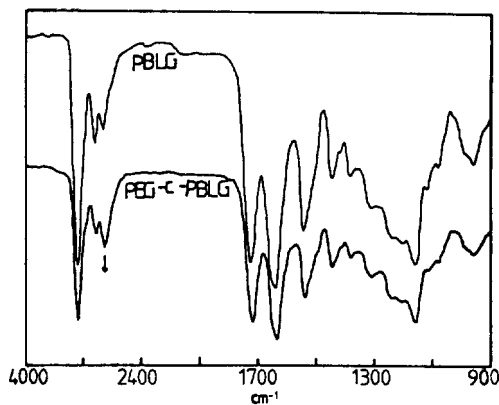


Fig. 1. Infrared spectra of PBLG and PEG-c-PBLG polymers by film method.

PBLG 동종 중합체가 얻어졌음을 확인할 수 있었다.

**혼성 중합체의 합성.** PEG 그래프트 및 가교공 중합체의 반응식을 Scheme 2에 나타냈다.

PEG의 치환반응의 확인은 IR 및 NMR에 의해 행하였고, 이들의 IR 스펙트라의 일부를 Fig. 1에 나타냈다.

PEG-crosslinked PBLG (PEG-c-PBLG)의 경우  $2490\text{ cm}^{-1}$  부근에서 PEG 중의 직쇄상의 C-H 신축진동에 의한 띠가<sup>14</sup> 대폭 증가하여 반응이 진행되었음을 알 수 있었다. PEG-grafted PBLG (PEG-g-PBLG)의 IR 스펙트럼은 PEG-c-PBLG와 동일했다. 일반적으로 PEG의 C-O-C 신축진동띠는  $1100\text{ cm}^{-1}$  부근에 강하게 나타나는 데<sup>15</sup>, PEG-PBLG 계에서는 PBLG의 에스테르기의 -C-O- 신축진동띠 ( $1000\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ )와 겹치게 되므로 확실하게는 나타나지 않았다.

한편 중합체를  $\text{CDCl}_3$ 에 녹여  $24^\circ\text{C}$ 에서 측정된 핵자기공명 스펙트럼의 일부를 Fig. 2에 보였다. 가교공중합체의 경우 약 1.3 ppm에서 PEG 중의 아미노핵실기의  $-\text{CH}_2-$ 에 기인하는 띠가 나타났고, 5 ppm 근방에서는 PBLG 측쇄의 벤질기 중의  $-\text{CH}_2-$ 에 기인하는 띠가 나타났으며 이들의 적분치로부터 PEG의 도입률을 결정했다. 또한 그 그래프트 공합체는 3.7 ppm 부근에 PEG 중의  $-\text{CH}_2-$ 에 기인하는 띠와 벤질기의  $-\text{CH}_2-$  띠가 적분치를 이용하여 PEG의 도입률을 계산했다. 그 결과를 Table 1에 나타냈다. PEG-g-PBLG의

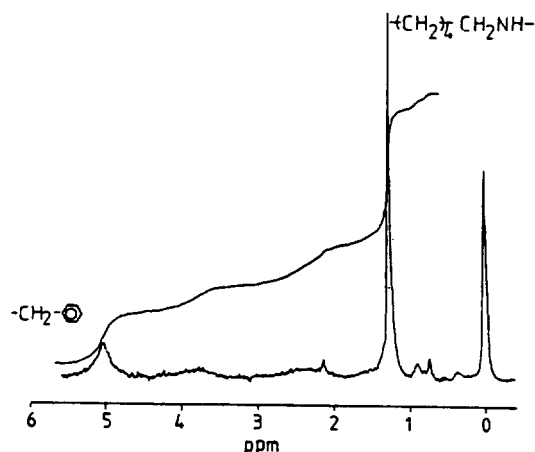


Fig. 2.  $^1\text{H}$  NMR spectrum of PEG-c-PBLG polymer in  $\text{CDCl}_3$ .

Table 1. Results of substitution reaction of poly  $\gamma$ -benzyl L-glutamate with polyethylene glycol

Sample	BLG unit (mol%)	PEG unit (mol%)	$[\eta]$
PBLG	100	0	1.34
PEG g PBLG	96	4	1.45
PEG c PBLG	68	32	1.23

<sup>a</sup>measured in dioxane at  $25 \pm 0.01^\circ\text{C}$

경우 에스테르 교환반응에 의해 약 4 mol%의 에틸렌글리콜이 도입되었고, PEG-c-PBLG의 경우는 아미노기에 의한 치환반응으로 약 32 mol%의 에틸렌글리콜이 도입되었다. PBLG 측쇄의 에스테르 교환반응은, 반응에 참여하는 알코올의 분자량에 의존하는 것으로 생각된다. PBLG와 3-(trimethylsilyl)propanol과의 반응에서는 최대 89 mol%의 교환반응이 일어났음을 이미 보고했다<sup>6</sup>. 본 연구에서 이용한 PEG의 경우는 분자량이 350이고, 히드록시기의 인접 탄소수가 두 개 뿐으로 그 친핵성이 약해 에스테르 교환반응이 떨어진 것으로 추측된다. 한편 POEA와 PBLG의 치환반응에 있어서는 32 mol%의 에틸렌글리콜이 치환되었는데, 이것은 POEA의 분자량(3500)이 큼에도 불구하고 아미노기의 반응성이 충분히 커서 치환반응이 어느 정도 진행할 수 있었다고 생각된다.

**점도 측정.** 가교중합체의 경우 장시간에 걸쳐 서야 디옥산 용매에 완전히 녹았다. 디옥산 중에

서 측정된 각 중합체들의 점도값을 Fig. 3에 나타냈다. 고농도에서는 PBLG 동종 중합체의 점도가 가장 크게 나타났고, 어느 농도(0.6g/l) 이하에서는 3종류의 중합체 모두 농도 감소에 따라 점도는 증가했다. 이러한 경향은 흔히 극성용매에 녹은 다 전해질에 있어서 나타난다. PBLG의 상대점도는 온도에 의존하며 사용 용매의 성질 및 농도에 따라 달라지는 것으로 보고되고 있다<sup>16,17</sup>. 본 연구에서의 디옥산을 용매로 한 폴리펩티드의 점도거동은, 고농도 영역에서는 농도 감소와 함께 점도는 감소했다.

이것은 고농도 영역에서는 나사선사슬들이 모여

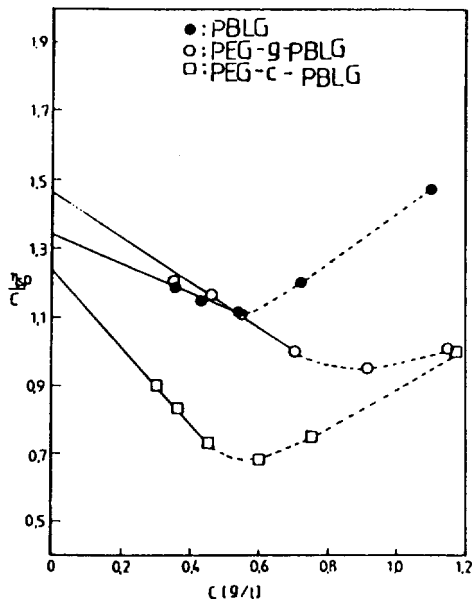


Fig. 3. Viscosity dependence upon concentration of PBLG and PEG grafted PBLG polymers in dioxane at 25 °C.

응집상태를 유발하는<sup>18~20</sup> 것이 원인일 것으로 생각된다. 또한 어느 이하의 묽은 농도가 되면 응집되어있던 나사선 사슬이 펼쳐지기 시작하므로 시료농도의 감소에 따라 점도값은 오히려 증가한 것으로 사료된다. 이와 같이 굽은 곡선을 나타내는 경우는 아주 큰 분자량을 가진 경우에 나타날 수 있으며, 그 경우 낮은 농도 영역에서의 직선부분만을 의심하여  $[\eta]$ 를 구하는 것이 일반적이다<sup>21,22</sup>. 따라서 본 연구에서는 낮은 농도에서의 직선부분을 의심하여 본성점도  $[\eta]$ 를 구했다(Table 1).

**표면성질.** 각 중합체의 젖음성을 알아보기 위해 PBLG 및 그라프트 중합체 필름 그리고 이들의 표면을 에탄올아민으로 처리한 필름에 대한 물의 접촉각을 측정하고 그 결과를 Table 2에 나타냈다. PBLG의 경우 처리전 68°이던 것이 에탄올아민으로 1시간 표면반응시킨 결과 55°로 작아졌다. 또한 PEG의 함량이 많은 PEG-c-PBLG는 45°에서 31°로 접촉각이 대폭 작아져 친수성이 향상됐음을 알았다. PBLG와 aminoalkly alcohol과의 친화반응은 폴리펩티드의 친수성을 높이기 위한 수단으로 자주 이용되고 있다<sup>23~25</sup>. 이 경우 전환율은 반응시간에 비례하고, 반응이 많이 진행할수록 막표면에 있어서의 물의 접촉각은 작아진다. 본 연구에서는 Table 2에 나타내는 바와 같이 PEG의 함량이 증가할수록 물의 접촉각은 작아지고, 또한 표면반응 후에는 접촉각이 다시 10° 정도 작아졌다. 특히 표면반응한 PEG-c-PBLG의 접촉각은 31°로서 지극히 큰 친수성을 나타냈다. 이와 같이 새로이 합성된 PEG-c-PBLG 막의 표면이 hydrogel의 성질을 나타내는 것은 생체적합성의 관점에서 대단히 흥미로우며, 현재 이들 중합체에 대한 물성과 생체적합성을 검토 중이다.

Table 2. Wettability of PBLG and PEG grafted polypeptide films

Sample	BLG unit (mol%)	PEG unit (mol%)	water contact angles(°)	
			before treatment	after treatment <sup>a</sup>
PBLG	100	0	68 ± 3	55 ± 4
PEG-g-PBLG	96	4	62 ± 3	53 ± 3
PEG-c-PBLG	68	32	45 ± 3	31 ± 3

<sup>a</sup>films were treated with ethanolamine for 60 min.

본 연구는 1988년도 문교부 첨단공학(신소재분야) 학술연구조성비에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

### 인 용 문 헌

1. C. J. T. Hoes, W. Potman, W. A. R. van Heeswijk, J. Mud, B. G. de Grooth, J. Greve, and J. Feijen, *J. Controlled Release*, **2**, 205 (1985).
2. C. Huang and I. V. Yannas, *J. Biomed. Mater. Res., Symposium*, **8**, 137 (1977).
3. T. Hayashi, K. Takeshima, E. Kobatake, and A. Nakajima, *Kobunshi Ronbunshu*, **42**, 177 (1985).
4. I. -K. Kang, Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, *Polym. J.*, **19**, 1329 (1987).
5. I. -K. Kang, Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, *Int. J. Biol. Macromol.*, **10**, 201 (1988).
6. Y. Ito, K. Iwata, I. -K. Kang, M. Sisido, and Y. Imanishi, *Int. J. Biol. Macromol.*, **10**, 169 (1988).
7. C. S. Cho and S. U. Kim, *J. Controlled Release*, **7**, 283 (1988).
8. C. S. Cho, S. U. Kim, Y. K. Sung, and K. Y. Kim, *Makromol. Chem.*, **189**, 1505 (1988).
9. D. D. Perrin and W. L. F. Armarego, "Purification of Laboratory Chemicals", 3rd Ed., A. Wheaton and Co. Ltd., Oxford, 1988.
10. E. R. Blout and R. H. Karlson, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 941 (1956).
11. 강인규, 김우식, 경북대학교 논문집 (자연과학), **47**, 275 (1989).
12. Y. Yamashita, Y. Iwaya, and K. Ito, *Macromol. Chem.*, **176**, 1207 (1975).
13. R. M. Silverstein, G. C. Bassler, and T. C. Morrill, "Spectrometric Identification of Organic Compounds", Wiley and Sons, Inc. 3rd. Ed., p.82, 1974.
14. S. J. Whicher and J. L. Brash, *J. Biomed. Mater. Res.*, **12**, 181 (1978).
15. K. Tohyama and W. G. Miller, *Nature*, **289**, 813 (1981).
16. S. Chakrabarti and W. G. Miller, *Biopolymers*, **23**, 719 (1984).
17. H. Kihara, *Polym. J.*, **9**, 443 (1977).
18. C. M. Ballik and A. J. Hopfinger, *J. Colloid Interf. Sci.*, **67**, 118 (1978).
19. A. K. Gupta, *J. Polym. Sci., Polym. Lett.*, **17**, 47 (1979).
20. W. Kern, *Z. Physik, Chem.*, **181**, 249 (1938).
21. W. Kern, *ibid*, **184**, 197 (1939).
22. T. Hayashi, Y. Tabata, and A. Nakajima, *Polym. J.*, **17**, 463 (1985).
23. I. -K. Kang, Y. Ito, M. Sisido, and Y. Imanishi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **22**, 595 (1988).
24. Y. Kuroyanagi, K. -Y. Kim, M. Seno, and T. Kawai, *Colloid and Polymer Sci.*, **22**, 591 (1983).
25. E. Yano, T. Komai, T. Kawasaki, K. Kaifu, T. Atsuta, Y. Kubo, and Y. Fujiwara, *J. Biomed. Mater. Res.*, **19**, 863 (1985).