

## 소결공정에 의한 Poly(hydroxypropyl methacrylate) Membrane 제조와 그의 투과특성에 관한 연구

심정섭·이동권·홍재민

서울대학교 공과대학 공업화학과 서울시 관악구 신림동 151-742  
(1990년 11월 27일 접수)

### Preparation of Poly(hydroxypropyl methacrylate) Membrane by Sintering Method and Its Permeation Characteristics

Jyong-Sup Shim, Dong-Kweon Lee, and Jae-Min Hong

Department of Chemical Technology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea  
(Received November 27, 1990)

#### 요 약

소결공정에 의하여 tertiary amine 을 함유하는 hydroxypropyl methacrylate 고분자막을 제조하였다. 이 막의 함수율은 수용액의 pH 가 감소함에 따라 증가하였다. 인슐린의 투과도 역시 수용액의 pH 가 감소함에 따라 증가하였다. 이 막의 투과도는 소결 압력이 증가함에 따라 감소하였다. 이 막에 당산화효소를 고정화시킨 acryl amide 막을 부착하여 복합 matrix device 를 제조하였다. 이 막의 인슐린 투과도는 glucose 의 농도가 증가함에 따라 증가하였다.

**Abstract :** Poly(hydroxypropyl methacrylate) membranes and matrix devices having tertiary amine moiety were prepared by sintering method, and their permeation characteristics were investigated. The water content of this membrane was increased with decreasing the pH of the medium. The permeability of this membrane was increased with decreasing the sintering pressure. Using sintered matrix device 'burst effect' was found at the early stage, and initial insulin release of glucose oxidase immobilized matrix device could be controlled by glucose concentration of the solution.

#### 1. 서 론

당뇨병 치료를 위해 사용되는 전통적인 insulin 투약방법인 daily injection 은 blood glucose levels 의 심한 변동을 가져와 합병증을 유발하게 되는 부작용이 있다[1]. 이를 해결한 insulin infusion pump 는 glucose 농도를 감지하여 그에 따라 insulin 방출을 조절할

수 있으나 insulin 을 보충해줘야 하는 점이 불편하고 몸에 부착하여 사용해야 하므로 행동에 제한이 따르고 가격이 비싸다. 최근들어 고분자 물질을 이용하여 작은 부피에 많은 양의 drug, 살충제 또는 다른 생활성 작용물(bioactive-agent) 등을 농축시켜 일정기간 동안 치료 등의 효과를 줄 수 있는 일정농도로 방출시키는 controlled release system 에 관한 연구가 활발하다.

그러나 insulin 과 같은 거대분자의 release system 에 대한 연구는 70 년대 중반이후 활성화 되었으나 아직도 극히 미비한 형편이다[2]. Brownlee 등은 Concanavalin A 와 Glycosylated insulin 의 결합 화합물이, 용액의 glucose 양에 따라 glucose 와 Glycosylated insulin 의 치환이 경쟁적으로 일어남을 발견하고, 이를 이용한 self-regulating insulin delivery system 의 가능성을 제시하였다[3]. 또한 tertiary amine 을 함유하는 고분자가 medium 의 pH 값이 감소하면 protonation 되어 친수성이 증가된다는 사실이 보고된 바 있으며[4], Ishihara 등이 양쪽성(amphiphilic) 고분자 막을 통과하는 insulin 의 투과 속도가 막의 함수율에 따라서 조절될 수 있다고 보고하였다[5]. 본 연구에서는 앞에서 제시된 기존의 연구보고를 바탕으로 하여 당뇨병 치료에 사용되는 insulin 의 투약방법을 개선하기 위하여, biocompatibility 와 biostability 가 좋은 hydrogel 의 일종인 hydroxypropyl methacrylate 와 tertiary amino group 을 가지는 diethylaminoethyl acrylate 를 공중합하여 막을 제조하였다. 그런데, 일반적인 제막 방법인 solvent casting 방법은 습도, 용매 등에 의해 막의 성능이 민감하게 영향을 받으며 장시간의 용매 증발 시간이 요구되는 등의 문제점들이 있으므로 소결공정(sintering method) 에 의하여 막을 제조하여 insulin 의 투과특성을 관찰하였다. 또한 insulin 을 직접 공중합체에 분산시켜 만든 matrix device 의 방출 특성도 관찰하였다. Glucose Oxidase 를 poly(acrylamide) gel 에 고정화시킨 다음[6], 이를 matrix device 에 coating 시킨 뒤에 glucose 농도에 따른 insulin 방출 특성도 관찰하였다.

## 2. 실 험

### 2. 1. 시 약

Hydroxypropyl methacrylate(HPMA) 는 Fluka 의 1 급 시약에 hydroquinone monoethylether 와 hydroquinone 을 각각 0.5g/ℓ 씩 첨가한 후, 질소 기류하에서 2 회 감압 증류(1.5 torr, 60 °C) 하여 사용하였다. diethylaminoethyl acrylate(DEAEA) 는 Fluka 의 1 급 시약에 hydroquinone 을 1g/ℓ 씩 첨가한 후, 질소 기류하에서 2 회 감압 증류(1.5 torr, 54 °C) 하여 사용하였다. N, N'-azobisisobutyro nitrile(AIBN) 는 Junsei Chemical 의 특급시약을 methanol 에서 재결정한 후,

감압건조하여 사용하였다. DMF 는 Junsei Chemical 의 1 급 시약을 ninhydrin 을 첨가하여 감압증류한 후 molecular sieve 4A 를 넣어 수분을 제거하여 사용하였다. Acrylamide(AAm) 는 Fluka 의 1 급 시약을 acetone 에 녹인 다음 서서히 냉각하여 재결정하고, 감압건조하여 사용하였다. Insulin 은 녹십자 제약의 crystalline Beef Insulin 을 -70 °C 에서 보관하여 사용하였다. Glucose Oxidase(GOD) 는 Sigma Chemical Co. 의 Type II Glucose Oxidase 를 사용하였다. Peroxidase 도 Sigma Co. 의 Type II 를 사용하였다. 그 밖에 N, N, N', N'-tetramethyl ethylene diamine, N, N'-methylene bisacrylamide, methanol, acetone 등은 시판 특급이나 1 급 시약들을 그대로 사용하였다.

### 2. 2. 기기분석

합성한 고분자들의 원소 분석에는 Yanaco 사의 MT-2 형 CHN corder 를 사용하였다. 합성한 시료들의 유리전이온도(Tg) 는 DSC(Perkin Elmer DSC-4) 를 사용하여 측정하였다. 이때 측정용 시료는 10.00±0.01mg 의 알루미늄팬에 넣고 20 °C/min 의 속도로 승온시키면서 측정하였다. Insulin 을 정량하기 위하여 Shimadzu 사의 UV-200S 를 사용하여 280nm 에서의 UV 흡수를 측정하였다.

### 2. 3. 막의 제조

200ml 의 마개달린 삼각 플라스크에 정제한 HPMA, DEAEA, DMF 들을 주입한 후 자력 교반하면서, 20 분간 질소를 bubbling 하여 용존산소를 제거하였다. 이를 60±0.1 °C 로 유지되는 항온조에 장치하고 용액의 온도가 일정하게 유지된 후 개시제인 AIBN 을 첨가하였다. Phototachometer 로 교반속도 500rpm 을 유지하면서 3 시간정도 반응시켜 viscous 한 투명액체를 얻었다. 생성된 공중합물을 water/ice bath 에서 급냉시킨 후 과량의 methylene chloride(MC) 에 적하시켜 흰색의 침전을 얻었다. 침전된 공중합물을 감압건조기에서 3일 이상 건조시킨 후 다음 실험에 사용하였다. 반응조건을 Table 1 에 나타내었다.

3g 의 공중합체를 100ml 의 액체질소가 담긴 막자 사발에 넣고 5 분동안 막자로 간 다음 다시 액체질소를 100ml 가량 넣은 뒤 막자로 갈아 고운 분말로 만들었다. 이를 감압건조기에서 3 시간 동안 건조시킨 뒤 0.5g 의 분말을 100 °C 를 유지하는 mold 에 옮긴 후

Table 1. Recipe of Polymerization<sup>a, b</sup>

Copolymer	initial composition			
	HPMA(ml)	DEAEA(ml)	AIBN(g)	DMF(ml)
PHD 1	33.3	2.3	0.04	47.0
PHD 2	29.8	6.9	0.04	47.0
PHD 3	36.3	10.5	0.04	47.0
PHD 4	19.3	19.3	0.04	47.0

a ; reaction temperature : 60,  
b ; reaction time : 3 hr

압력을 0kg/cm<sup>2</sup> 에서 50kg/cm<sup>2</sup> 까지 1 분동안 서서히 증가시키고 1 시간 동안 유지한 뒤, 1 시간 후 원하는 최고압력(100kg/cm<sup>2</sup>, 150kg/cm<sup>2</sup>, 200kg/cm<sup>2</sup>)까지 올린 후 1 시간 방치하였다. 1 시간 뒤 압력을 풀고 slab 형태가 된 것을 petri-dish 에 보관하거나, tris-buffer solution 에 보관하여 사용하였다.

2. 4. 함수율의 측정

압력을 달리하여 sintering method 에 의해 얻은 membrane 을 pH 가 6.49 인 tris-buffer solution 에 일주일간 팽윤시켜 완전히 평형에 도달한 뒤 표면의 물기를 거름종이로 닦아내고 무게를 측정하였다. 이것을 감압건조기에서 일정한 무게를 보일 때까지 감압건조시킨 뒤 함수율을 계산하였다. 이때 완충용액은 tris buffer 을 사용하였는데, 이 용액은 생물학적인 실험에 많이 이용되고 있다. tris-buffer solution 은 70 °C 에서 tris(hydroxymethyl) aminomethane 을 감압건조시킨 뒤 CO<sub>2</sub>-free water 에서 0.01M 농도로 제조한 것이다. 함수율(H) 은 다음식으로 부터 계산하였다.

$$H = \frac{(wt. \text{ of swollen membrane}) - (wt. \text{ of dry membrane})}{(wt. \text{ of swollen membrane})}$$

2. 5. Poly(HPMA-co-DEAEA) 막에의 insulin 투과

Membrane 을 tris-buffer solution(pH 6.49) 에서 팽윤시킨 뒤, 이 membrane 을 silicone rubber 로 packing 시켜 permeation cell 에 고정시켰다(Fig. 1). 이 cell 의 투과면적은 4.84cm<sup>2</sup> 이었으며, 각 cell 에는 50 ml 의 0.01M tris-buffer solution 을 넣고, 농도의 분극이나 boundary resistance 등을 방지하기 위하여 300 rpm 으로 자력 교반하였다. 한쪽의 cell 에 insulin 6.6 mg 을 넣은 후 일정시간 마다 양쪽 cell 의 용액 일부를

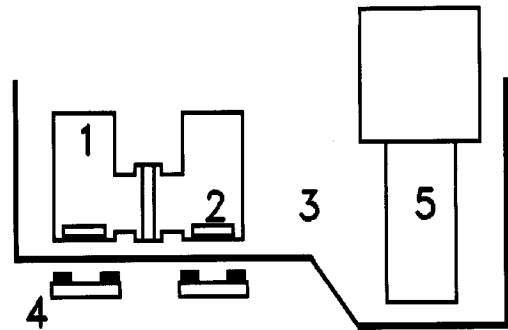


Fig. 1. Permeation cell.

- 1. Cell 2. Magnetic Bar 3. Bath
- 4. Rotating Magnets 5. Circulator

채취하여 280nm 에서의 UV 흡수를 측정하여 정량하였다. 시간에 따른 농도 변화를 측정하여 다음식에 의하여 겔보기 막투과계수를 구하였다[7].

$$P(t) = \frac{1}{(V_1^{-1} + V_2^{-1})} \ln \frac{C_1 + C_2}{C_1 - C_2}$$

- V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> : 각 cell 의 부피(cm<sup>3</sup>)
- C<sub>1</sub> : t 초 후의 concentrate solution 농도
- C<sub>2</sub> : t 초 후의 dilute solution 농도

위의 P(t) 를 t 에 대해 도시하여, 이 기울기를 S(cm<sup>3</sup>/sec) 라 하면 이때 막투과계수 P 와 S 는 다음의 관계가 있으므로 이에 의해 막투과계수 P(cm<sup>2</sup>/sec) 를 구하였다.

$$P = S \times L / A$$

- L : 막의 두께 (cm)
- A : 막의 면적 (cm<sup>2</sup>)

2. 6. Matrix device 제조

DEAEA 함량이 약 20%인 PHD2 를 전술한 방법으로 고운 분말을 만든 뒤 이를 감압 건조기에서 3 시간 건조시킨 후 0.1g 의 분말을 액체질소하에서 잘 섞었다. 액체질소가 다 날아간 다음 여기에 5mg 의 insulin 을 넣어 spatula 로 잘 섞은 뒤 100 °C 를 유지하는 mold 에 넣고 전술한 소결 공정으로 matrix device 를 제조하였다.

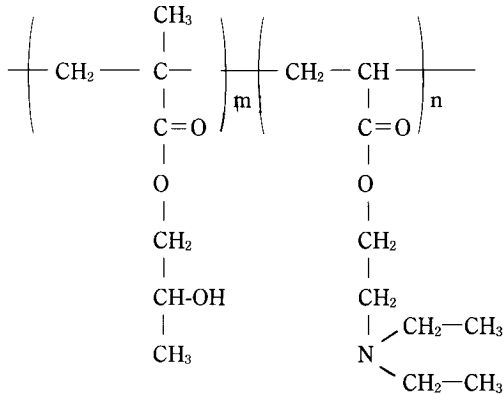
2. 7. 복합 matrix device 제조와 insulin 방출 실험

1.31g 의 acrylamide, 65.3mg 의 N, N'-methylene bisacrylamide 와 0.09ml 의 N, N, N', N'-tetramethylethylene diamine 을 6.5ml 의 증류수에 녹인 후 10mg 의 GOD 를 넣고 완전히 녹을 때까지 교반하였다. 여기에 25mg 의 ammonium persulfate 를 1ml 의 증류수에 녹인 용액을 넣고 잘 교반하였다. 깨끗한 유리판에 2.00mm 두께의 silicone rubber ring 을 장치한 후 이 용액을 1.0mm 두께로 붓고 중합하였다. Gel 이 형성된 후 진술한 matrix device 를 gel 중심에 올려 놓은 뒤, 다시 acrylamide 용액을 1.0mm 두께로 부어 poly(acrylamide) gel 로 coating 된 matrix device 를 얻었다. 이것을 β-D-Glucose 를 첨가한 pH 가 7.3 인 0.01M tris-buffer solution 100ml 에 넣고 insulin 의 투과를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3. 1. Poly(HPMA-co-DEAEA)

생성된 poly(HPMA-co-DEAEA) 의 구조는 다음과 같다.



생성된 중합물의 원소분석결과와, 질소의 분석결과에 따른 각 고분자의 조성을 Table 2 에 나타내었다.

3. 1. 소결정공에 의해 제조된 막의 특징

Solvent casting method 와 비교하여 sintering method 는 여러가지 장점을 가지고 있다. Sintering me-

Table 2. Result of Elemental Analysis

Copolymer	Result (wt %)			Composition of DEAEA(%)
	N	C	H	
PHD 1	0.75	56.46	8.17	8.3
PHD 2	1.73	55.5	8.31	19.6
PHD 3	2.25	55.43	8.44	25.7
PHD 4	3.34	55.72	8.53	41.4

thod 는 용매를 사용하지 않으므로, 앞에서 본 것처럼 제조된 막의 투과특성, 기계적 성질 등이 용매의 선택에 영향을 받는 것을 방지할 수 있다. 또한 용매를 사용하지 않으므로 감압건조 같은 공정이 필요 없으므로 경제적으로 이익이며, 공정시간이 줄어든다. 용매가 증발하는데 아세톤이 2-3 일, 메탄올이 3-5 일, DMF 가 10-15 일 정도 시간이 걸리는데 비heat sintering method 는 5 시간 정도면 film 을 만들 수 있으므로 경제적이다.

DSC 로 각 고분자의 Tg 를 측정된 결과, PHD1 이 160 °C, PHD2 가 93 °C, PHD3 가 84 °C 였다. 이는 amine 이 bulky group 이므로 amine 의 함량이 클수록 packing 의 정도가 감소되어 micro Brownian motion 이 용이하게 되는 영향으로 생각할 수 있으며 이외에 블록 공중합체의 상분리에 의한 영향도 있을 것으로 생각된다.

3. 2. 압력의 영향

Fig. 2 는 소결공정으로 PHD2 막을 제조할 때의 압력변화에 따른 투과도의 변화를 나타낸 것이다. 압력이 감소함에 따라 투과성이 증가하였으며, 이는 막에 pore 들이 존재하기 때문으로 생각되어 제막후 전자현미경 사진을 측정하였으나, 모든 막이 pore 가 없는 dense 한 구조임을 확인할 수 있었다. 따라서 이는 압력이 높아짐에 따라 고분자의 packing 이 증가되고 고분자의 밀도가 증가되어 나타난 현상으로 생각할 수 있다. 즉 압력이 증가하면 고분자 particle 간의 거리가 짧아지고 용융된 고분자 chain 간의 혼합이 잘 이루어지므로 고분자 particle 간의 결합이 강화되어 조밀한 막이 형성된다. 이는 팽윤된 상태에서의 막의 기계적 성질을 측정된 결과에서도 확인할 수 있었다. 높은 압력에서 제조한 막의 물성이 낮은 압력에서 제조한 막의 그것보다 더 우수하였다. 압

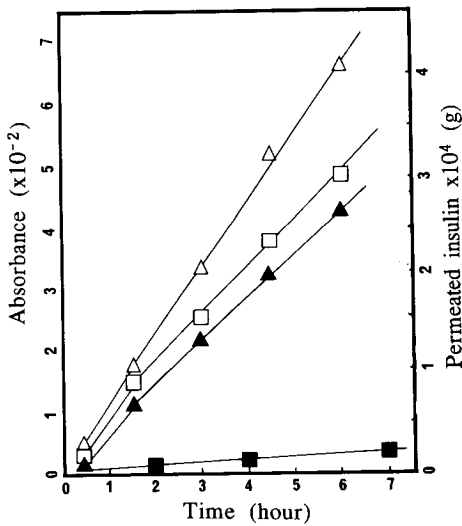


Fig. 2. Permeation profiles of insulin through PHD2 membranes prepared by sintering method with various pressure.  
 (△) 100kg/cm<sup>2</sup> (□) 150kg/cm<sup>2</sup>  
 (▲) 200kg/cm<sup>2</sup> (■) 250kg/cm<sup>2</sup>

력이 250kg/cm<sup>2</sup> 인 경우는 투과도가 현저하게 감소한 것을 볼 수 있는데, 이는 200kg/cm<sup>2</sup> 과 250kg/cm<sup>2</sup> 의 사이에서 고분자가 완전히 용융됨을 시사하고 있다. 소결 공정시에는 고분자 분말의 크기와 형태 또한 그의 분포가 중요할 것으로 생각되나 본 실험에서는 제한된 여건으로 인하여 이에 대한 고찰은 하지 못하였으며 분쇄한 분말을 체를 이용하여 걸러서 사용하여 이들의 영향을 무시할 수 있도록 하였다. 또한 insulin 은 생활성 물질이므로 본 실험의 실험조건인 100 °C 에서는 그 활성이 감소한 것으로 생각되며 따라서 보다 낮은 T<sub>r</sub> 를 보이는 고분자의 선택이 필요한 것이다. 차후 이에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

3. 3. Amine 함량의 영향

Fig. 3 은 소결공정에 의해 제조한 막의 투과도를 나타낸 그림이다. Solvent-cast film 은 amine 의 함량이 증가할수록 protonation 될 확률이 커져서 투과성이 증가되는 현상을 보여주고 있으나[14] 소결공정에 의해 제조된 막은 amine 함량이 가장 큰 PHD3 의 투과도가 가장 작았다. PHD3 은 유리전이온도가 상

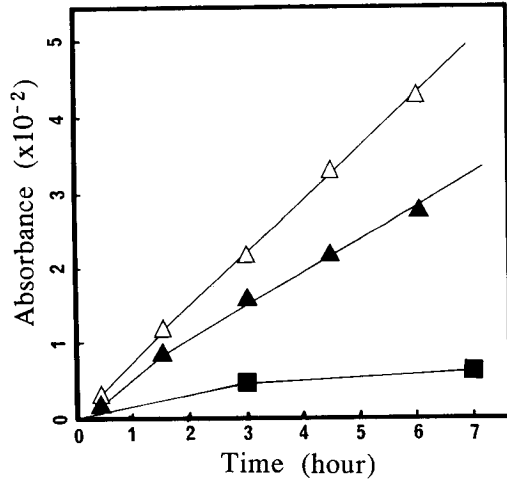


Fig. 3. Permeation profiles of insulin thru sintered PHD membranes.  
 (□) PHD3 (△) PHD2 (▲) PHD1

대적으로 낮으므로 소결공정시에 점도가 가장 낮은 상태가 된다. 따라서 더욱 치밀한 막이 형성되어 투과도가 감소한 것으로 생각된다. 그러나 PHD2 가 PHD1 의 투과성보다 큰 것은 두 막의 밀도에 대한 영향보다 amine 함량에 의한 영향이 더욱 크기 때문인 것으로 생각할 수 있다.

Fig. 4 에 막의 함수율과 투과도와의 관계를 나타

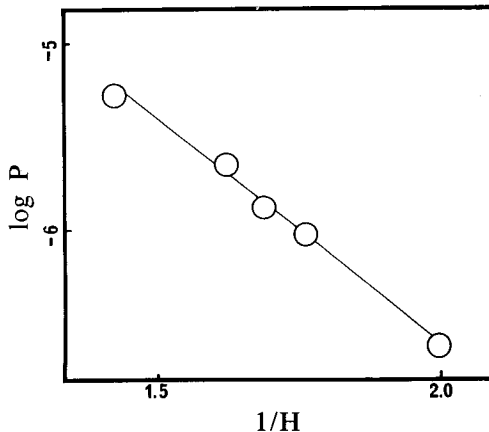


Fig. 4. Relation of permeation coefficient and water content.

내었다. 친수성 고분자내에서 free water 를 통하여 용질이 이동하고, 고분자 사슬들과 반응이 없다면, 투과상수의 logarithm 과 함수율의 역수는 직선적관계다. 이 이론을 Yasuda[8] 등이 제시하였는데, Fig. 4는 이 이론과 잘 일치하고 있다.

3. 4. Matrix device 의 방출특성

용액의 pH 가 낮아질수록, 공중합체에 치환된 tertiary amine 이 protonation 되어 친수성이 커지게 되어 함수율이 증가된다. 함수율과 pH 의 관계를 Fig. 5 에 나타내었다. pH 7.5 부터 7.0 까지는 함수율이 크게



Fig. 5. pH Dependence of water content. Sintered PHD2 matrix device at 200kg/cm<sup>2</sup>

변하였고 그 이후는 pH 의 감소에 따라 서서히 증가하는 양상이다. 실제로 Ishihara 등[9]의 실험에서 함수율이 시간에 따라서 변하는 pH 에 따라서 같이 가역적으로 변한다고 보고하였다. 따라서 pH 에 의존하는 이 가역적인 system 에서 pH 의 변화로 insulin 의 방출량을 조절할 수 있다.

Fig. 6은 각기 다른 pH 에서 matrix device (slab 형태)의 투과성을 시간에 대해 도시한 것이다. pH 가 작을수록 투과성이 커지는 것을 볼 수 있다. 방출 초기에는 건조한 막에 물이 팽윤됨에 따라 물과의 경계면이 rubbery 한 상태가 되어 농도가 급격히 증가되는 burst effect 를 관찰할 수 있으며, 이후 정상 상태가 되면 방출속도가 점차 감소하게 된다[13]. 많은 실험에서 matrix device 의 방출속도는 t<sup>1/2</sup>의 kinetics 임을 보였다[10, 11]. 즉 'zero-order' 속도가 어느정도 계속되다가 시간 t<sup>1/2</sup>에 대해서 직선적으로

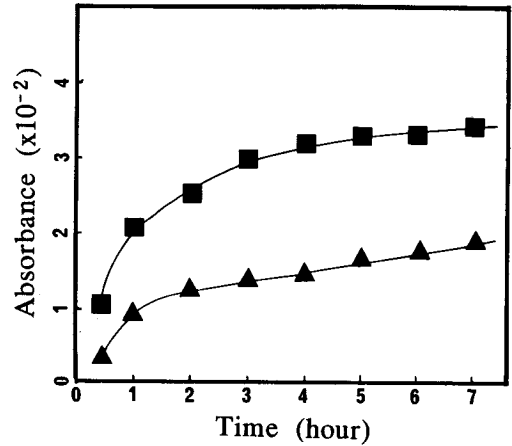


Fig. 6. Release of insulin from PHD2 matrix device at various pH. (■) pH 6.49 (▲) pH 7.3

서서히 감소하는 kinetics 이다. 본 실험에서도 거의 비슷한 양상을 관찰할 수 있었다.

3. 5. 복합 matrix device 의 방출특성

Fig. 7은 용액의 glucose 농도를 변화시켰을 때의 복합 matrix 의 insulin 투과를 나타낸 그림이다. Glucose 농도가 증가함에 따라 방출되는 insulin 양은 증가하였는데, 이것은 GOD 와 glucose 사이의 효소 반응에 의해 유도되는 함수를 변화 때문이다. 즉 glucose 가 GOD 의 효소작용으로 gluconic acid 가 생기

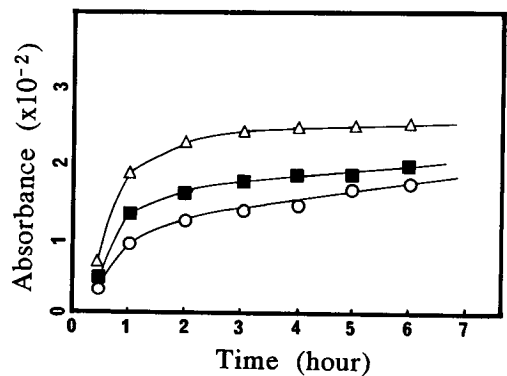
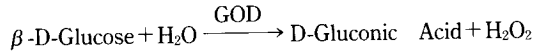


Fig. 7. Release of insulin from sintered PHD2 matrix device at various glucose concentrations. (Δ) 0.3M (■) 0.1M (○) control

고, 이로 인해 pH 가 감소되어 tertiary amine group 이 protonation 되고 이로 인한 친수성증가에 의해 흡수율이 증가하게 되어 방출되는 insulin 양이 증가하였다. 이때 glucose 에 대한 GOD 의 효소작용은 다음과 같다[12].



투과 초기 30 분 뒤에 burst effect 로 인하여 insulin 방출량이 급격히 증가하였으며 이후 방출량이 감소하다가 1시간쯤 뒤에는 거의 같은 방출속도를 보인다. 이와 같이 복합 matrix device 의 insulin 방출은 glucose 농도에 의해 조절될 수 있다.

#### 4. 결 론

Tertiary amine 을 포함하는 hydroxypropyl methacrylate 고분자막과 matrix device 에서 흡수율, insulin 투과 등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

Sintering method 에 압력의 증가에 따라, 동일한 pH 에서 흡수율과 투과도는 감소하였다. 소결공정에 의해 제조된 matrix device 의 insulin 방출특성은 초기에 심한 'burst effect' 를 보였고, 이후 급격하게 방출량이 감소함을 알 수 있었다. GOD 를 고정화시킨 matrix device 는 용액내 glucose 농도에 따라 초기 insulin 의 방출량을 조절할 수 있었다.

#### 참 고 문 헌

1. J. L. Chiasson, F. Ducros, *Diabetes Care*, **7**, 4, 331, (1984).
2. H. M. Creque, R. Langer, and J. Folkman, *Diabetes*, **29**, 37, (1980).
3. M. Brownlee and A. Cerami, *Science*, **206**, 1190, (1979).
4. F. Alhaique, M. Marchetti, F. M. Riccieri, and E. Santucci, *J. Pharamcol.*, **33**, 413, (1981).
5. K. Ishihara, M. Kobayashi, and I. Shinohara, *Polym. J.*, **16**, 647, (1984).
6. G. D. Hicks, S. J. Updike, *Analytical Chemistry*, **38**, 726, (1966).
7. Y. Saka, H. Tanazawa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **22**, 1805, (1978).
8. H. Yasuda, C. E., Lamaze, and L. D. Ikenberry, *Makromol. Chem.*, **118**, 19, (1968).
9. R. Langer, and N. A. Peppas, *Macromol. Sci.*, **23**, 61, (1983).
10. C. R., Robert, P. A. Buri, and N. A. Peppas, N. A. *J. Appl. Polymer Sci.*, **30**, 301, (1985).
11. N. M. Franson, and N. A. Peppas, *J. Appl. Polymer Sci.*, **28**, 1299, (1983).
12. S. J. Updike, M. Schultz, *Diabetes Care*, **5**, 207, (1982).
13. N. A. Peppas, P. Buri, E. Doekler, *Int. J. Pharm.*, **15**, 25, (1983).
14. 홍재민 · 심정섭, "공업화학" **2**, (1) (1991).