

## O-디에칠아미노에칠 키토산막을 통한 약물방출조절

김진홍 · 이영무<sup>†</sup>

한양대학교 공과대학 공업화학과  
(1992년 1월 28일 접수)

### Controlled Drug Delivery through O-Diethylaminoethyl Chitosan Membrane

Jin Hong Kim and Young Moo Lee<sup>†</sup>

Dept. of Industrial Chemistry, College of Engineering, Hang-Yang University, Seoul 133-791, Korea  
(Received January 28, 1992)

A novel O-diethylaminoethyl chitosan (DEAE-chitosan) was synthesized via Schiff's reaction between chitosan and benzaldehyde. C<sub>2</sub> amino group was protected via Schiff's base reaction with benzaldehyde to form N-benzylidene chitosan. After reaction with diethylaminoethyl chloride, Schiff's base was removed by reacting O-diethylaminoethyl-N-benzylidene chitosan and hydrochloric acid. Tensile strength of DEAE-chitosan was improved due to the incorporation of bulky side group in C<sub>6</sub> position of chitosan. DEAE-chitosan showed a pH-dependent swelling characteristics. Release rate of riboflavin was dependent on the water content of DEAE-chitosan that is a function of crosslinking degrees.

**Keywords**—chitosan, N-benzylidene chitosan, O-DEAE-N-benzylidene chitosan, O-DEAE chitosan, riboflavin, swelling, drug delivery.

화학반응 통한 키토산 유도체들의 합성에 대해서는 많은 연구가 보고되고 있으며 특히 키토산은 생체적합성이 우수하며 천연계에 널리 존재하고 풍부한 자원량을 가지고 있으므로 혈액투석막, 항혈전성 재료, 수술용 봉합사 및 인공피부 등 의료용 재료로서 이용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>1,2)</sup> 또한 키토산은 셀룰로오스에 비해서 반응성이 풍부한 아미노산기를 가지고 있으므로 많은 유도체들이 합성되었으나 키토산의 C<sub>2</sub> 위치의 아미노기는 반응하지 않은 채 남겨 두고, C<sub>6</sub> 위치의 수산기만을 선택적으로 반응시키는 연구는 이루어지지 않고 있다.

본 연구실에서는 키토산을 이용한 약물방출조절 시스템에 관한 연구를 진행하고 있으며, 특히 PVA/키토산 블랜드막을 이용하여 혈당농도의 변화에 따

른 인슐린 방출조절 시스템에 관하여 연구 보고한 바 있다.<sup>3)</sup> 이는 키토산이 산성용액에서 팽윤되는 성질을 이용하였는데 이는 키토산 분자중 C<sub>2</sub> 위치에 있는 아미노기의 영향이라고 생각되어 키토산 분자 내에 많은 아미노기를 도입시켜 키토산의 pH에 대한 민감성을 증가시키기 위해서 본 실험을 수행하였다. 키토산의 C<sub>2</sub> 위치에 있는 아미노기는 알데히드기와 반응하여 Schiff's base를 형성하며, Schiff's base는 묽은 염산용액에서 처리하면 선택적으로 제거된다는 점을 이용하여<sup>4)</sup> O-디에칠아미노에칠키토산(DEAE-키토산)을 초산수용액에 녹여 글루탈알데히드를 이용하여 가교된 DEAE-키토산 막을 얻었으며 가교제의 농도의 변화에 따른 기계적 물성, 팽윤도를 검토하였으며 모델 약물로서 리보플라빈을 이용하여 방출특성을 검토하였다.

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

실험 방법

시약 및 기기

키토산은 Tokyo Kasei사 제품을 사용하였으며 탈아세틸화도는 중화적정법에 의해서 76%임을 확인하였다. 키토산에 Schiff's base를 형성하는데 사용된 벤즈알데히드는 Kokusan Chemical사 제품을 감압증류하여 사용하였으며 N,N-디에칠아미노에틸 클로라이드(DEAE HCl)은 Aldrich사 제품을 사용하였다. 방출실험을 위하여 사용된 리보플라빈은 Junsei사 제품을 사용하였다.

합성된 키토산 유도체를 분석하기 위하여 infrared spectrometer(FT-IR, Nicolet Model 5-DX), X-ray diffractometer(Rikagu Denki Model RAD-C)를 이용하였다. DEAE기의 치환율을 알아보기 위하여 중화적정법을 사용하였다. 먼저 0.3 N HCl 용액에 DEAE-키토산을 일정량 녹인 후 1 N NaOH 수용액으로 중화점을 알아내고 이로부터 치환율을 구하였다. 또한 합성된 키토산 유도체들의 열적 성질을 검토하기 위하여 승온속도 20°C/min으로 differential scanning calorimeter(DSC, DuPont Model 910)를 이용하여 측정하였다. 승온속도 10°C/min으로 thermogravimetric analyzer(TGA, DuPont Model 951)를 이용하여 열적 안정성을 측정하였다. 제조된 막의 기계적 물성을 측정하기 위하여 건조 및 흡윤상태의 막을 폭 0.5 cm, 길이 3 cm로 절단하고, Instron type의 Universal Testing Machine(Toyo Baldwin, UTM-400)을 사용하여 cross head speed 4 mm/min, head간 거리 2 cm의 조건에서 측정하였다. 건조상태에서 DEAE-키토산막의 기계적 물성을 측정하기 위하여 감압 건조기에서 충분히 건조시킨 후 측정하였다. 흡윤상태에서 기계적 물성은 pH 7 인산염완충액에서 충분히 팽윤시킨 후 측정하였다.

함수를 및 투과실험

가교제의 농도를 달리해 가면서 제조한 DEAE-chitosan막을 각각 다른 pH의 완충액에 침적시키고 37°C로 유지된 항온조에서 3일간 팽윤시켜 평행에 도달한 후 표면의 물기를 제거하고 흡윤상태의 무게를 측정하였다. 이 막을 다시 감압건조기에 일정한 무게에 이를 때까지 건조시키고 건조상태의 무게를 측정하여 식(1)로부터 함수율을 구하였다.

$$\text{함수율}(\%) = (W_s - W_d) / W_d \times 100 \quad (1)$$

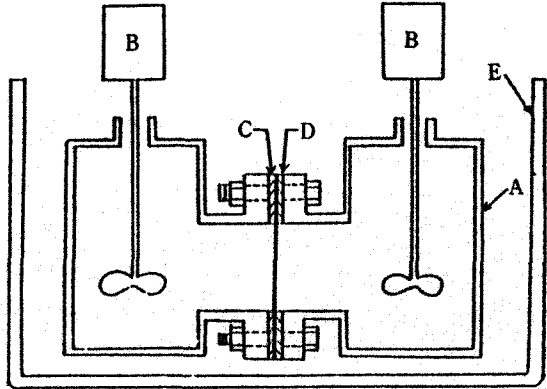


Figure 1—Apparatus for drug permeability measurement. A) glass compartment, B) mechanical stirrer, C) sealing rubber, D) membrane, E) water bath.

여기서  $W_s$ 는 흡윤상태에서,  $W_d$ 는 건조상태에서의 시료의 무게이다.

본 실험에 사용된 투과정치를 Fig. 1에 나타내었다. 각각 100 ml의 부피를 가지는 투과 cell 사이에 막을 고정하고 37°C로 유지되어 있는 항온조에서 투과실험을 행하였다. Magnetic stirrer를 이용하여 막주위에서의 농도분극이나 boundary resistance를 제거하여 주었다. 투과 cell의 한쪽에는 다른 pH의 인산염완충액 용액이나, pH 7.4의 인산염완충액에 다른 농도로 녹아 있는 glucose를 넣고, 반대쪽 cell에는 pH 7.4 인산염완충액에 리보플라빈을 넣은 다음 일정시간이 경과 후 투과된 리보플라빈의 양을 측정하였다. 투과된 리보플라빈 양은 spectrophotometer(Spectronic 21, Milton Roy Company)를 이용하여 444 nm에서 측정하여 정량하였다.

용질의 투과계수는 다음의 식 (2)에 의해서 구하였다.

$$P = \frac{-d}{A(1/V_1 + 1/V_2)t} \ln \left[ \left( 1 + \frac{V_1}{V_2} \right) \frac{C_1}{C_0} - \frac{V_1}{V_2} \right] \quad (2)$$

여기서  $V_1, V_2, A, d, C_1, C_0$ 는 각각 diluent의 용질의 부피, reservoir의 용질의 부피, 막면적(7.69 cm<sup>2</sup>), 막두께, 초기 reservoir의 농도 및 t시간이 경과된 후 reservoir의 농도이다.

O-디에칠아미노에틸키토산(DEAE-키토산)의 제조 DEAE-키토산의 합성법을 Fig. 2에 나타내었다.

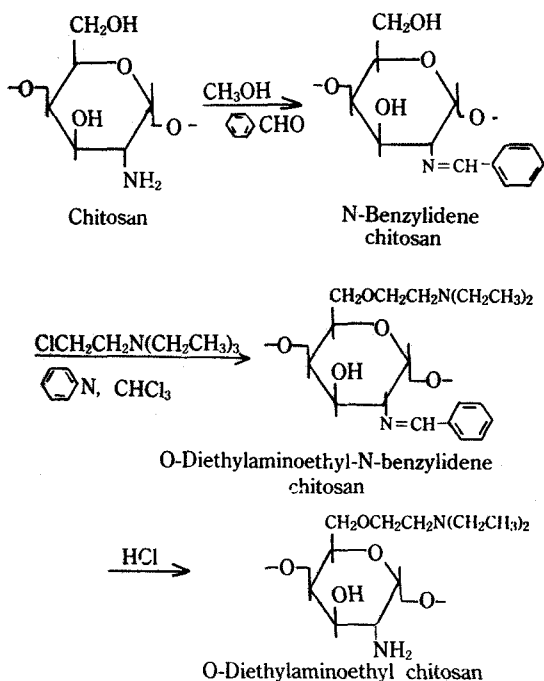


Figure 2—Reaction scheme for synthesis of O-diethylaminoethyl chitosan.

키토산 3g을 10 wt% 초산수 용액 120 ml에 균일하게 녹인 후 300 ml의 메탄올로 희석시켜 주었다. 얻어진 키토산 용액에 벤즈알데히드 15.81 g을 30분에 걸쳐서 서서히 적하시킨 후 60°C 오븐에서 24시간 동안 반응시켜 투명한 겔을 얻었다. 얻어진 겔을 잘게 부수고 미반응 벤즈알데히드를 제거하기 위하여 과량의 메탄올로 충분히 세척하여 24시간 동안 냉동건조기에서 완전히 건조시켰다. 얻어진 N-벤질리덴키토산(B-키토산) 1g을 60°C 항온조에서 피리딘/클로로포름 혼합용매를 이용하여 24시간 동안 팽윤시킨 후 N,N-디에칠아미노에칠 클로라이드 (DEAE·HCl) 3.44 g을 첨가하고 50°C에서 24시간

동안 반응시켰다. 반응을 통해서 얻어진 키토산을 아세톤에 침적시키고 미반응물을 제거하기 위하여 메탄올 용액으로 충분히 세척하고 110°C 오븐에서 건조하였다. 얻어진 O-디에칠아미노에칠-N-벤질리덴 키토산(DEAE-B-키토산) 3g을 0.25 N 염산 에탄올 용액에서 24시간 동안 분산 처리하고 상온에서 1N 수산화나트륨으로 처리하여 110 오븐에서 건조시켜 DEAE-키토산을 합성하였다.

#### DEAE-키토산막의 제조

DEAE-키토산막을 제조하기 위하여 먼저 DEAE-키토산 1.0 g을 5wt% 초산수용액에 녹여 균일한 용액으로 만든 후 불용물을 제거하기 위하여 글라스필터를 이용하여 제거하고 글루탈알데히드를 일정량 가하여 균일한 용액으로 만들었다. DEAE-키토산 용액이 겔화를 일으키기 전에 PMMA 판위에 유연하여 제막하고 40°C로 유지된 오븐에서 24시간 동안 건조하여 가교된 DEAE-키토산막을 얻었다. 얻어진 막을 1N 수산화나트륨액으로 24시간 동안 중화시켰다. 본 실험에 사용된 막의 두께는  $100 \pm 10 \mu\text{m}$  정도였으며 사용된 DEAE-키토산막의 제조에 사용한 조성과 가교제의 농도를 Table I에 나타내었다.

## 결과 및 고찰

#### FT-IR 분석

키토산과 벤즈알데히드를 60°C 오븐에서 물과 메탄올 혼합용매 하에서 24시간 반응시켜 N-벤질리덴키토산(B-키토산)을 얻었다. 얻어진 B-키토산은 투명한 겔 형태였으며 얻어진 겔은 200°C에서 10분간 가열하여도 용융되지 않았으며 대부분의 유기용매에 녹지 않았다. B-키토산을 50°C 항온조에서 피리딘/클로로포름 혼합용매 하에서 24시간 팽윤시킨

Table I—Preparation of DEAE-Chitosan Membrane.

Sample	Chitosan (g)	Benzaldehyde* (g)	DEAE** (g)	Glutaraldehyde (mol/g polymer)
DEAE	3	15.87	3.44	0
G-1	3	15.87	3.44	$1.0 \times 10^{-7}$
G-2	3	15.87	3.44	$2.5 \times 10^{-7}$
G-3	3	15.87	3.44	$5.0 \times 10^{-7}$
G-4	3	15.87	3.44	$1.0 \times 10^{-6}$

\* Benzaldehyde = 8 mol/pyranose unit

\*\* DEAE = 1.2 mol/hydroxyl unit of C<sub>6</sub> position in chitosan

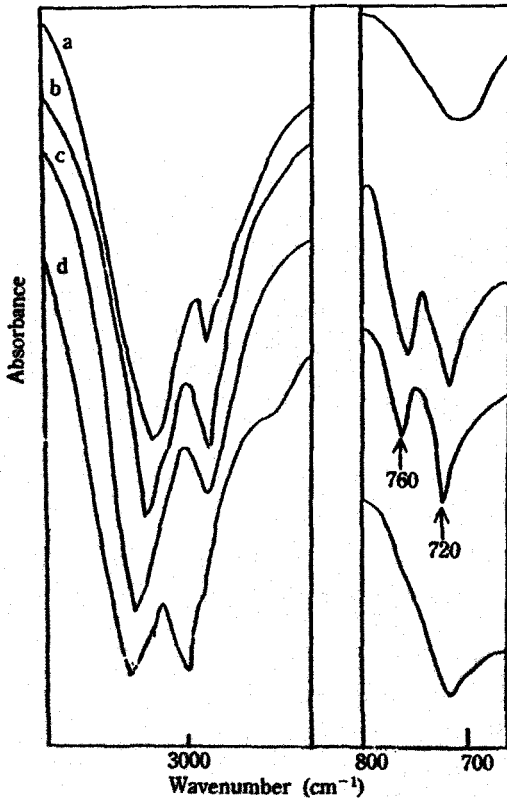


Figure 3—IR spectra of a) chitosan, b) N-benzylidenechitosan, c) O-diethylaminoethyl-N-benzylidene chitosan, and d) O-diethylaminoethyl chitosan.

후 디에칠아미노에칠클로라이드와 반응하여 O-디에칠아미노에칠-N-벤질리덴키토산(DEAE-B-키토산)을 얻었다. DEAE-B-키토산은 옅은 갈색을 띠고 일 반적인 유기용매에는 녹지 않았으며 초산수용액에는 팽윤되었다. 이 후 묽은 염산으로 처리하여 Schiff's base를 형성하고 있는 벤질리덴기를 아미노기로 환원시킨 DEAE-키토산은 초산 수용액 등 산성 수용액에서 녹았다.

Fig. 3에 본 실험에서 합성한 키토산 유도체들의 IR 스펙트럼을 나타내었다. IR 스펙트럼을 통해서 키토산 유도체 사이에는 큰 변화는 나타나지 않았으며 B-키토산의 경우에는 벤질리덴기의 방향족 C-H의 out-of-plane deformation에 기인하는 특성피크가  $760\text{ cm}^{-1}$ 와  $720\text{ cm}^{-1}$  부근에서 확인됨으로써 키토산과 벤즈알데히드간에 용이하게 반응이 일어난 것을 확인하였다. 또한 피리딘/클로로포름 혼합용매에서 반응하여 얻어진 DEAE-B-키토산의 경우에도

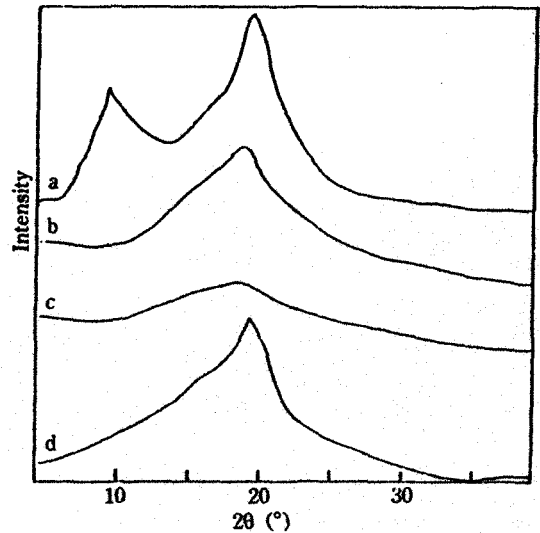


Figure 4—X-ray diffraction patterns of (a) chitosan, b) N-benzylidenechitosan, c) O-diethylaminoethyl-N-benzylidene chitosan, and d) O-diethylaminoethyl chitosan.

벤질리덴기에 해당하는 피크가 소멸되지 않고 남아 있는 것으로부터 유기혼합용매에서도 Schiff's base가 제거되지 않고 남아 있으며 키토산의  $C_2$  위치의 아미노기를 보호하고 있는 것으로 생각된다. 묽은 염산용액 하에서 처리하여 Schiff's base를 아미노기로 환원시킨 DEAE-키토산에서는 벤질기에 해당하는 특성피크를 확인할 수 없었다. 따라서 묽은 염산용액 하에서 용이하게 Schiff's base가 제거되고 아미노기가 환원된 것으로 생각되며 키토산에 비해서 매질사슬의 C-H 신축진동에 해당하는  $2850\sim 2900\text{ cm}^{-1}$ 이 특성피크의 크기가 증가한 것으로 미루어 지방족아실화키토산이 합성된 것을 확인하였다. 중화적정법을 통해서 DEAE의 치환율을 구한 결과 약 29% 정도 치환됨을 알 수 있었다.

#### X-ray 분석

Fig. 4에 키토산 유도체들의 wide angle X-ray diffraction(WAXD) 패턴을 나타내었다. 키토산의 WAXD pattern은 (001)과 (100)면을 나타내는  $2\theta$   $20^\circ$  부근의 특성피크와 (101)과 (002)면을 나타내는  $2\theta$   $20^\circ$  부근의 특성피크를 나타내었다. 반면에 B-키토산에서는  $2\theta$   $10^\circ$  부근의 특성피크는 소멸되었으며  $2\theta$   $20^\circ$  부근의 특성피크는 감소하는 것을 확인하였다. 또한 DEAE-B-키토산에서는  $2\theta$   $10^\circ$  부근의 특성피크 및  $2\theta$   $20^\circ$  부근의 특성피크는 크게

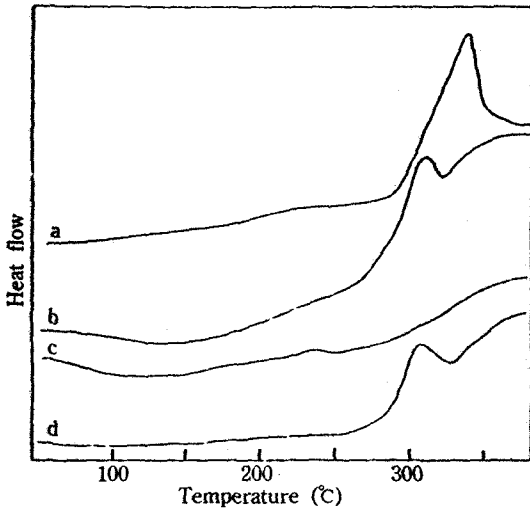


Figure 5—DSC thermograms of (a) chitosan, (b) N-benzylidene chitosan, (c) O-diethylaminoethyl-N-benzylidene chitosan and (d) O-diethylaminoethyl chitosan.

감소하였다. 이와 같이 키토산 유도체의 결정성의 감소는 키토산 분자 내에서 강한 수소결합을 형성하고 있는 수산기 및 아미노기가 벤질리덴기와 DEAE기로 치환됨에 따른 분자내 수소결합력의 감소에 따른 결과라고 생각되어진다. 반면에 Schiff's base를 아미노기로 환원시킨 DEAE-키토산에서는 20~20° 부근의 특성피크가 다시 증가되는 것을 확인하였다. 따라서 키토산의 C<sub>2</sub> 위치의 아미노기가 Schiff's base로부터 아미노기로 다시 환원됨에 따른 분자내 수소결합력의 증가에 따라 결정성이 증가한 것이라 생각된다.

**열적성질**

Fig. 5에 실험을 통해서 얻어진 키토산 유도체들의 DSC 측정결과를 나타내었다. 키토산은 330°C 부근에서 분해에 따른 발열피크를 확인하였으며, B-키토산 및 DEAE-B-키토산에서는 분해에 따른 발열피크가 크기가 크게 감소된 것을 확인하였다. 일반적으로 고분자 내에서 인접한 고분자사슬 사이에 형성된 수소원자가 알칼리 등으로 치환되면 분자내 수소결합력이 감소됨으로써 분해온도는 감소하게 된다고 알려져 있다.<sup>5)</sup> 따라서 키토산 분자 내에서 수소결합을 할 수 있는 수산기와 아미노기가 각각 벤질리덴기와 DEAE기로 치환됨으로써 분자내 수소결합력이 감소되어 분해에 따른 발열피크의 크기

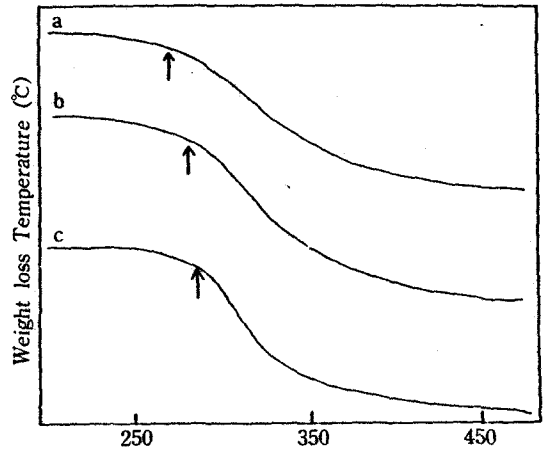


Figure 6—TGA thermograms of crosslinked DEAE-chitosan membranes; (a) G-1, (b) G-2 and (c) G-3.

Table II—Mechanical Properties of DEAE-Chitosan in Dry and in Wet State.

Sample	Tensile Strength(Kg/mm <sup>2</sup> )		Elongation(%)	
	Dry	Wet	Dry	Wet
DEAE	15.3	4.6	11.7	54
G-1	16.2	5.2	12.1	58
G-2	17.2	5.7	11.2	54
G-3	18.9	6.4	10.4	43
G-4	19.4	7.1	9.4	37
Chitosan	13.5	3.2	14.1	78

가 감소한 것으로 생각된다. 또한 DEAE-키토산은 Schiff's base가 아미노기로 환원됨에 따라 분자내 수소결합력이 증가됨으로써 분해에 따른 발열피크의 크기는 B-키토산 및 DEAE-B-키토산에 비해서 증가하였다. 반면에 키토산에 비해서 발열피크의 크기는 감소하였으며 분해에 따른 발열피크도 300°C로 낮아졌다. 이와 같은 결과는 앞에서 X-ray 측정을 통해서 얻어진 분자내 수소결합력의 변화에 따른 결정성의 변화와 일치하였다.

가교된 DEAE-키토산의 TGA 측정결과를 Fig. 6에 나타내었다. 가교도가 증가할수록 초기분해 온도는 증가하였다. 가교제의 농도가 증가할수록 분자내 가교밀도가 증가함으로써 열적 안정성이 증가한 것으로 생각된다.

**기계적 물성**

건조 및 습윤상태에서 가교된 DEAE-키토산막의 인장강도 및 신장률을 측정된 결과를 Table II에 나타내었다. 일반적으로 고분자의 사슬의 유동성은 고분자의 기계적물성에 영향을 미치며 부피가 큰 결사슬을 가지는 고분자사슬은 입체장애에 의해서 고분자 사슬 주위의 회전이 장애를 받게 되며 따라서 유리전이온도가 증가되고 고분자의 강성이 증가하게 된다고 알려져 있다.<sup>6)</sup> 본 실험을 통해서 얻어진 DAEA-키토산은 키토산에 비해서 습윤 및 건조상태에서 모두 인장강도는 증가하였으며 신장률은 감소하였다. 이와 같은 결과는 키토산의 C<sub>6</sub> 위치에 있는 수산기가 부피가 큰 DEAE기로 치환됨에 따라 고분자 사슬의 회전이 입체장애에 의해서 제한을 받음으로써 고분자의 강성이 증가하였기 때문에 생겨난 결과라고 생각된다. 또한 가교제의 농도를 변화시켜가며 인장강도와 신장률을 측정된 결과 습윤 및 건조상태에서 모두 인장강도는 증가하였으며 신장률은 감소하였다. 이는 제막시 사용한 가교제의 농도가 증가할수록 더욱 조밀한 3차원 망상구조를 이루기 때문이라고 생각된다.

#### 팽윤도

가교제의 농도를 달리해 가면서 얻어진 DEAE-키토산막의 pH에 따른 팽윤도 실험결과를 Fig. 7에 나타내었다. 가교제의 농도가 증가할수록 함수율은 감소하였다. 이는 DEAE-키토산막을 가교하기 위해서 사용한 글루탈알데히드가 키토산의 아미노기와 반응을 통해서 물과 수소결합을 할 수 있는 아미노기의 양이 감소하게 되어 물과 수소결합력이 감소됨으로써 함수율이 감소한 것으로 생각된다. 또한 완충액의 pH가 감소함에 따라 함수율은 증가하였으며 이는 키토산 분자내 C<sub>2</sub> 위치의 아미노기와 C<sub>6</sub> 위치에 치환된 DEAE기의 영향이라고 생각된다. pH가 감소함에 따라 아미노기와 DEAE기는 양전하를 띠게 되며 따라서 정전기적 반발력에 의해서 분자간의 거리는 증가되고 물분자들은 이들 빈공간을 채워줌으로써 막내의 함수율은 증가하게 된다.<sup>3)</sup> 특히 DEAE 키토산막의 함수율은 완충액의 pH가 pH 7에서 6으로 감소함에 따라 함수율은 32%정도 증가하였다. 이후 pH가 감소함에 따라 함수율은 점차 감소하였다.

키토산과 같은 입체구축성 이온성 다당류는 pH, 온도, 용매, 이온세기 등에 따라 입체구조가 변화하

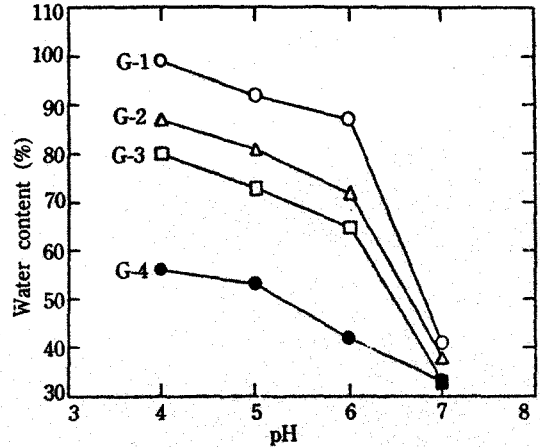


Figure 7—Effect of pH on the swelling of DEAE-chitosan membranes.

게 된다. 고분자와 이온간의 상호작용은 고분자의 결정성을 파괴시키며 고분자를 나선구조로부터 랜덤구조로 바꾸어 준다.<sup>7)</sup> 따라서 pKa가 6.2인 키토산과 pKa가 6.4인 DEAE기는 pH 7과 pH 6의 완충액 사이에서 DEAE-키토산은 전하를 띄게되어 나선구조로부터 랜덤구조로 변화시키므로 분자내에 형성된 빈공간에 물이 채워짐에 따라 함수율이 크게 증가하였으며 이후 pH가 감소함에 따라 막내의 삼투압이 증가됨으로써 함수율이 점차 증가하게 된다고 생각되어 진다. 또한 키토산에 비해서 낮은 함수율을 가지는 것은 물과 수소결합할 수 있는 키토산의 C<sub>6</sub> 위치의 수산기가 DEAE기로 치환됨으로써 키토산에 비해서 물과의 수소결합력이 감소함에 따라 생겨난 결과라고 생각된다. 반면에 키토산은 pH 7과 pH 6 사이에서 함수율이 52%에서 82%로 증가한 반면에 DEAE-키토산막의 함수율의 변화는 40%에서 82%로 증가하였다. 따라서 키토산에 비해서 pH에 따른 함수율의 변화는 다소 증가하였다. 따라서 DEAE-키토산의 치환도를 증가시켜 주게 된다면 pH에 따른 함수율의 변화가 더욱 큰 막을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

건조막 상태에서의 팽윤속도를 알아본 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 팽윤속도는 건조된 막의 무게에 대한 시간에 따른 습윤상태의 막의 무게 증가로 측정하였다. 팽윤속도는 pH가 낮은 산성 완충액에서 빠른 속도로 평형에 도달하였으며 거의 모든 시료에 대해서 60분 이내에 평형에 도달한다는 것을 알 수

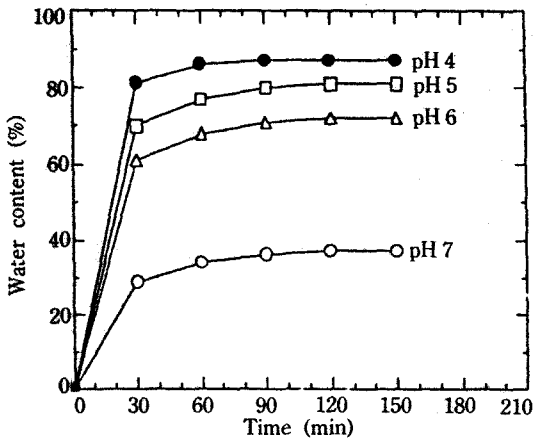


Figure 8—Swelling kinetics of G-2 membrane in dry state at different pH.

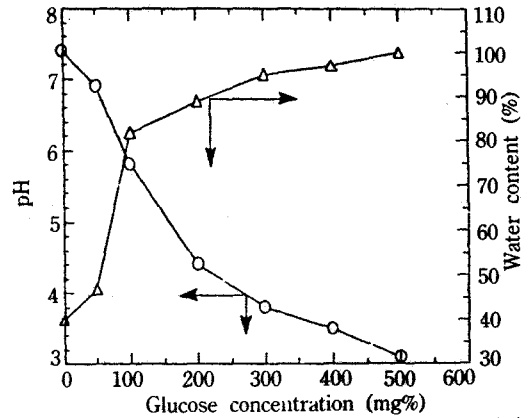


Figure 10—Change of pH (O) and water content (□) in G-2 membrane from reaction between glucose oxidase and glucose.

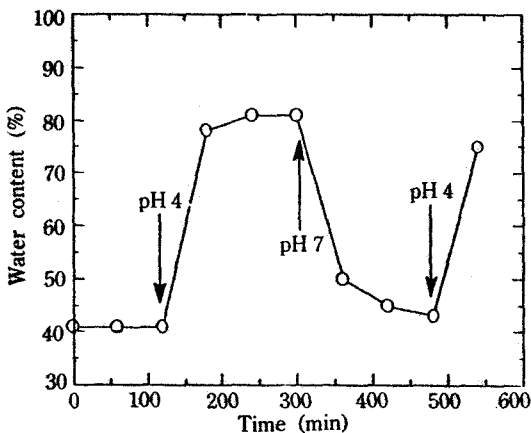


Figure 9—Swelling dynamics of G-2 membrane in wet state.

있었다.

Fig. 9에는 가역팽윤성을 알아본 결과이다. 가역 팽윤성은 DEAE-키토산막을 pH 4 완충액에서 24시간 팽윤시킨 후 막을 다시 pH 7 완충액에 옮겨 수축시키는 조작을 반복하고 이때 막내의 함수율의 변화로부터 측정하였다. 초기 30분 이내에 급격한 함수율의 변화를 나타내었으며 따라서 DEAE-키토산 막의 경우에는 pH 변화에 의해서 가역적으로 함수율이 변화하는 것을 알 수 있었으며 빠른 시간 내에 평형상태에 도달한다는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과로부터 DEAE-키토산막은 pH가 감소함에 따라서 막의 함수율이 변화하며 따라서 막을 통한 용질의 투과가 증가할 것으로 생각된다. 또한

가교제의 농도가 증가함에 따라 pH 변화에 따른 막의 팽창이 방해받아 막의 함수율은 감소하게 된다. 따라서 가교제의 농도를 변화시킴으로써 막의 함수율을 조절할 수 있을 것이다. 글루코오스의 농도변화에 따라 글루코오스 산화효소인 글루코오스 옥시다아제의 반응으로 생성되는 글루코닉산에 의해서 pH가 변화하는 것을 관찰한 결과를 Fig. 10에 나타내었다. 일정량의 글루코오스 옥시다아제가 들어 있는 pH 7.4 인산염완충액에 글루코오스를 농도를 변화하면서 첨가하고 pH의 변화를 알아 보았다. 글루코오스의 농도가 증가함에 따라 pH는 증가하였는데 이는 효소반응을 통해서 생성된 글루코닉산의 양이 글루코오스의 농도증가와 함께 점차 증가되었기 때문이라고 생각된다.<sup>8)</sup> 또한 DEAE-키토산 막의 함수율의 증가는 효소반응을 통해서 주위의 pH가 감소하게 되며 따라서 키토산의 아미노기 및 DEAE기가 양전하를 띠게 되었기 때문이라고 생각된다. 따라서 본 실험에서 사용한 DEAE-키토산막은 글루코오스의 농도변화에 의해서 막내의 함수율이 가역적으로 변화한다는 것을 알 수 있었다.

투과실험

Fig. 11에 모델 약물로서 사용한 리보플라빈의 pH의 변화에 따른 투과실험 결과를 나타내었다. DEAE-키토산 막은 pH의 변화에 따라 방출속도가 변화하였으며 pH 4에서의 방출속도가 pH 7에서의 방출속도보다 큰 값을 나타내었다. 또한 가교제의 농도가 가장 낮은 G-1막의 경우에는 가교제의 농

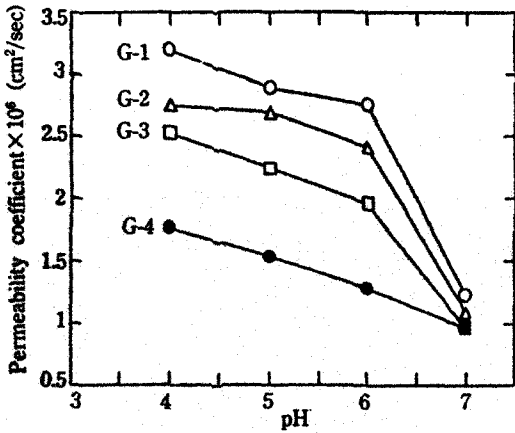


Figure 11—Effect of pH on the permeation of riboflavin through crosslinked DEAE-chitosan membranes.

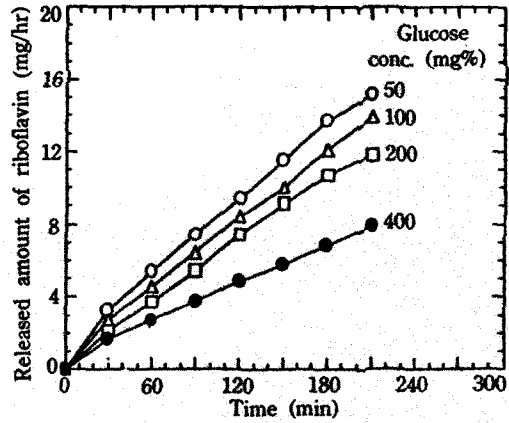


Figure 12—Release profiles of riboflavin through G-2 membrane at different glucose concentrations.

도가 가장 큰 G-4에 비해서 높은 방출속도를 나타내었다. 따라서 DEAE-키토산 막을 통한 리보플라빈의 투과는 pH가 감소할수록 가교제의 농도가 감소할수록 빠른 투과속도를 나타내었다. Fig. 12에 글루코오스의 농도를 변화시켜 가면서 DEAE-키토산 막을 통한 리보플라빈의 방출속도를 변화를 나타내었다. pH 변화에 의해서 일어난 것과 유사한 형태의 투과가 글루코오스의 농도변화에 의해서도 일어났다. 즉 글루코오스의 농도가 증가함에 따라 리보플라빈의 방출속도는 증가하였다. 또한 함수율 측정으로부터 얻어진 바와 같이 막의 함수율이 증가해 막을 통한 리보플라빈의 투과속도도 증가한다고 생각된다. 이와 같이 pH의 변화에 의해서 또는 글루코오스 농도의 변화에 의해 막의 함수율이 변화하고 투과속도가 증가하는 것으로부터 본 실험에서 사용된 DEAE-키토산 막이 pH에 민감한 약물 방출조절시스템에 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

Fig. 12에 본 실험에서 사용한 DEAE-키토산 막을 통한 리보플라빈의 투과계수의 logarithm(log P)과 함수율의 역수(1/H)가 직선관계를 나타내었다. Yasuda 등은<sup>9)</sup> 친수성 고분자막을 통한 용질의 투과가 고분자와 상호작용 없이 막내에 형성되어 있는 물의 영역을 통해서 일어난다면 투과계수의 logarithm(log P)과 함수율의 역수(1/H) 사이에는 선형관계를 나타냄을 보고한 바 있다. 따라서 본 실험에서 사용한 DEAE-키토산막을 통한 리보플라빈의 투과는 막내에 형성된 물의 영역을 통해서 일어난다고

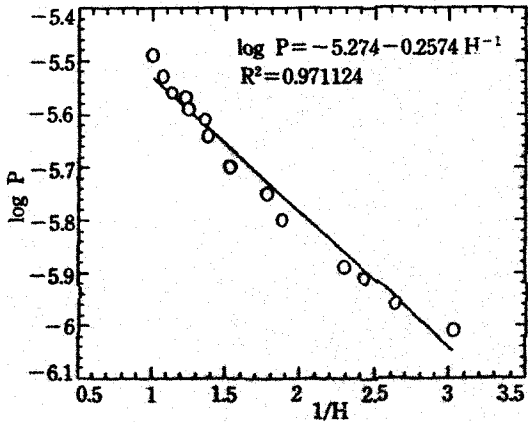


Figure 13—Relationship between log P and 1/H in DEAE-chitosan membrane system for riboflavin. (P: permeation coefficient, H: water content)

생각된다. 이와 같은 결과로부터 DEAE-키토산 막을 통한 약물의 투과속도는 막의 함수율을 바꾸어 줌으로써 조절시킬 수 있으며 막의 함수율은 가교제의 농도를 변화시킴으로써 조절할 수 있을 것으로 고찰된다.

### 결 론

키토산은 C<sub>2</sub> 위치의 아미노기와 반응하지 않고 C<sub>6</sub> 위치의 수산기만을 선택적으로 DEAE기를 도입시키기 위하여 알데히드와 키토산의 반응을 통해서 C<sub>2</sub> 위치의 아미노기를 Schiff's base를 이용하여 보호하였다. 이 후 혼합용매에서 DEAE기를 반응시킨



후 묶은 염산용액으로 처리하여 키토산의 C<sub>2</sub> 위치의 Schiff's base를 아미노기로 환원시켰다. 본 실험을 통해서 얻어진 DEAE-키토산막은 키토산의 C<sub>6</sub> 위치에 부피가 큰 DEAE기가 도입됨에 따라서 고분자 사슬주위의 회전이 장애를 받아서 막의 인장강도는 증가하였으며 신장율은 감소하였다. pH 변화에 따라 DEAE-키토산막의 함수율은 pH가 낮아지면 증가한 반면에 pH가 높아지면 감소하였다. 키토산에 비해서 함수율은 감소하였으나 pH의 변화에 따른 함수율의 변화는 증가하였다. 따라서 DEAE-키토산막에서 DEAE기의 치환도를 증가시켜 주게 되면 pH의 변화에 따른 함수율의 변화는 증가할 것으로 생각된다. 약물인 리보플라빈의 방출속도는 함수율에 비례하였으며 함수율은 가교제의 농도를 변화시켜 조절이 가능하므로 막을 통한 약물의 방출속도는 가교제의 농도변화를 통해서 조절할 수 있다. DEAE-키토산막은 pH의 변화에 따라 가역적으로 함수율이 변화하고 또한 약물의 방출속도가 가역적으로 변화하는 pH에 민감한 약물방출조절시스템으로의 이용이 가능하리라고 생각된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 1990년도 수당장학회 연구지원비에 의해서 수행된 것으로서 이에 감사드립니다.

### 문 헌

- 1) R.R.A. Muzzarelli, Chitin, Pergamon Press (1977).
- 2) R. Gross, E. Konrad, and H. Mager, Proceedings of the 2nd International Conference on Chitin and Chitosan, S. Hirano & S. Tokura, Sapporo (1982).
- 3) J.H. Kim, J.Y. Kim, Y.M. Lee, and K.Y. Kim, Controlled release of riboflavin and insulin through crosslinked poly(vinyl alcohol)/chitosan blend membrane, *J. Appl. Polym. Sci.*, in Press (1992).
- 4) S. Hikano and T. Osaka, Some O-stearoyl derivatives of chitosan preparation of via Schiff's base intermediates, *Agr. Biol. Chem.*, **47**(6), 1389 (1983).
- 5) R.D. Deanin, "Polymer Structure, Properties and Application", Cahnners Press, USA, p.311 (1972).
- 6) F. Rodriguez, Principles of Polymer Systems, McGraw-Hill Book Company USA, p.33 (1982).
- 7) M. Rinaudo, Solution properties of ionic polysaccharides, *J. Polym. Sci. Polym. Sym.*, **43**, 401 (1989).
- 8) J. Kost, T.A. Horbett, B.D. Ranter, and M. Sigh, Glucose-sensitive membranes containing glucose oxidase; Activity, swelling, permeability studies, *J. Biomed. Mat. Res.*, **18**, 1117 (1984).
- 9) H. Yasuda, C.E. Lamaze, and L.O. Ikenberry, Permeability of solutes through hydrated polymer membranes, Part I; Diffusion of sodium chloride, *Makromol. Chem.*, **118**, 19 (1968).

1) R.R.A. Muzzarelli, Chitin, Pergamon Press