

일반 논문

메톡시 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리에스테르 블록공중합체의 합성 및 미셀 특성 비교

현 훈 · 양재찬 · 김문석* · 이해방* · 강길선†

전북대학교 BK-21 고분자 BIN 융합연구팀, *한국화학연구원 생체분자전달제어연구팀 (2005년 11월 10일 접수, 2006년 9월 19일 채택)

Synthesis of Methoxy Poly(ethylene glycol)/Polyesters Diblock Copolymers and Evaluation of Micellar Characterization as Drug Carrier

Hoon Hyun, Jae Chan Yang, Moon Suk Kim*, Hai Bang Lee*, and Gilson Khang†

BK-21 Polymer BIN Fusion Research Team, Chonbuk National University, 664-14, Dukjin Ku, Jeonju 561-756, Korea

*Medicinal Science Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, P. O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea

(Received November 10, 2005; accepted September 19, 2006)

초록 : 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜) (MPEG) 과 생분해성 폴리에스테르 계열의 폴리ε-프로락톤 (PCL), 폴리발레로락톤 (PVL), 폴리락타이드 (PLLA) 및 폴리(락타이드-co-글리콜라이드) 공중합체 (PLGA) 로 이루어진 블록공중합체의 합성 및 특성을 비교하였다. MPEG-PCL 과 MPEG-PVL 블록공중합체는 단량체 활성화제로서 HCl · Et2O 의 존재 하에 상온에서 ε-프로락톤 (ε-CL) 과 발레로락톤 (δ-VL) 의 개환중합에 의해 합성하였으며, MPEG-PLLA 와 MPEG-PLGA 블록공중합체는 Sn(Oct)2 의 존재 하에 130 °C 에서 락타이드 (L-LA) 와 PLGA 의 개환중합에 의해 합성하였다. 합성된 블록공중합체는 1H-NMR, GPC, DSC 및 XRD 의 측정을 통해 특성을 분석하였다. 합성된 MPEG-폴리에스테르 블록공중합체의 수용액 상에서의 미셀 특성은 1H-NMR, 광산란기, 원자 현미경 및 형광 측정기를 이용하여 확인하였다. 원자 현미경을 통해 관찰된 미셀의 형태는 대부분의 블록공중합체에서 구형으로 존재함을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 미셀의 특성 비교를 통해 폴리에스테르 블록의 종류에 따라 열적 특성, 결정화도, 임계 미셀 농도 및 미셀의 직경이 다르게 나타남을 확인할 수 있었으며, MPEG-폴리에스테르 블록공중합체의 미셀 내부에 선택적으로 소수성의 약물을 분포시킬 수 있으므로 소수성 약물 전달체로서의 가능성을 확인하였다.

Abstract : Diblock copolymers consisting of methoxy poly(ethylene glycol) (MPEG) and poly(ε-caprolactone) (PCL), poly(δ-valerolactone) (PVL), poly(L-lactide) (PLLA), or poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) were prepared to compare the characterization of diblock copolymers as a drug carrier. MPEG-PCL, MPEG-PVL, MPEG-PLLA, and MPEG-PLGA diblock copolymers were synthesized by the ring-opening polymerization of ε-caprolactone or δ-valerolactone in the presence of HCl · Et2O as a monomer activator at room temperature and by the ring-opening polymerization of L-lactide or a mixture of L-lactide and glycolide in the presence of stannous octoate at 130 °C, respectively. The synthesized diblock copolymers were characterized with 1H-NMR, GPC, DSC, and XRD. The micellar characterization of MPEG-polyester diblock copolymers in an aqueous phase was carried out by using NMR, dynamic light scattering, AFM, and fluorescence techniques. Most micelles exhibited a spherical shape in AFM. Thus, we confirmed that the micelles formed with MPEG-polyester diblock copolymers have possibility as a potential hydrophobic drug delivery vehicle because a hydrophobic drug could be preferentially distributed in the micelle core.

Keywords : MPEG-polyester, PCL, PVL, PLLA, PLGA, ring-opening polymerization, micelle.

서 론

폴리(에틸렌 글리콜) (PEG) 을 함유한 다양한 생체재료의 발전

은 생체의료 연구에 요구되고 있다.^{1,2} 약물 전달 분야에서 많은 장점을 가지고 있는 약물 전달체로서의 PEG는 약물을 쉽게 포접, 방출할 수 있으며 물과 유기 용매에 높은 용해도를 가지며 비독성이고 면역 작용에 거부반응이 없다. 또한 PEG는 친수성 고분자들 중에서 단백질 흡착 억제 효과가 가장 크고 혈액 접촉 물질의 생체적

†To whom correspondence should be addressed. E-mail: gskhang@chonbuk.ac.kr

합성을 향상시키기 때문에 생체재료로서 많은 연구가 이루어지고 있다.³⁻⁹ 하지만 PEG를 함유한 생체재료들을 사용하는 동안 생분해가 일어나지 않는 문제점이 야기되었다. 이러한 문제는 PEG에 생분해성 물질의 결합을 통해 해결할 수 있다. 생분해성 물질로는 지방족 폴리에스테르 계열의 고분자가 가장 적합하다. 왜냐하면 인체 내에서 용해, 화학적 가수분해, 그리고 효소에 의한 분해 등을 통하여 생물학적 대사산물로 분해가 되기 때문이다.¹⁰ 또한 이러한 생분해성 고분자는 분자량과 화학적 구성성분을 조절함으로써 분해기간을 조절할 수 있는 장점을 가지고 있다. 따라서 PEG에 폴리 카프로락톤 (PCL), 폴리락타이드 (PLLA), 폴리글리콜라이드 (PGA), 그리고 폴리(락타이드-co-글리콜라이드) 공중합체 (PLGA)와 같은 생분해성 폴리에스테르를 공중합시킨 다양한 생체재료들이 연구되고 있다.¹¹⁻²³ 이러한 블록공중합체와 같은 양친성의 고분자들은 약물 전달 시스템이나 자가 회합 시스템에 적용하기 위한 관점에서 광범위하게 조사되고 있다.²⁴⁻²⁶ 이들 블록공중합체의 독특한 분자 구조는 수용액 상에서 나노 크기의 미셀 구조를 형성할 수 있다. 블록공중합체의 소수성 부분은 미셀의 내부 구조를 형성하고 친수성 부분은 외부 껍질을 형성한다. 따라서 이러한 미셀은 소수성의 생분해성 내부 구조가 소수성 약물의 저장소 역할을 하고 친수성의 PEG 껍질과 공유적으로 연계되어 생물학적 환경에서 미셀의 안정성을 매우 증가시킬 수 있으므로 잠재적인 약물 전달체로서의 가능성이 대단히 크다.²⁷

본 연구에서는 생체적합성이며 친수성인 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜) (MPEG)을 개시제로 하고 생분해성 폴리에스테르 그룹의 단량체를 개환중합을 통해 블록공중합체를 합성하였다. 그리고 각각의 합성된 블록공중합체들의 특성을 비교하였으며 수용액 상에서의 임계 미셀 농도를 결정하고 형성된 미셀의 형태를 관찰하여 약물 전달체로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

실 험

시약 및 재료. 개시제로서 MPEG (Aldrich, Milwaukee, WI, USA)는 평균분자량 2000 g/mole을 사용하였고 반응 단량체로서 CL, VL (Aldrich)은 칼슘하이드라이드 (Aldrich)하에서 감압 정제하여 사용하였다. LA, GA (Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co., KG, France)는 에틸아세테이트 (Merck, Germany)에서 2차 재결정하여 진공 건조하여 사용하였다. CL, VL의 중합 촉매로서 HCl·Et₂O (Aldrich)는 정제과정 없이 사용하였고, LA, GA의 중합촉매로서 스테노우스 옥토에이트 (Sn(Oct)₂, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan)는 24시간 동안 감압한 후 0.1 M의 농도로 정제된 톨루엔으로 희석하여 사용하였다. MPEG-PCL, MPEG-PVL의 반응용매로서 사용된 메틸클로라이드 (Jin Chem. Pharm. Co. Ltd., Korea)는 연속적으로 칼슘클로라이드 (Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 칼슘하이드라이드에서 질소기류 하에서 정제하였다. MPEG-PLLA, MPEG-PLGA의 반응용매인 정제된 톨루엔 (Fisher Scientific Korea Ltd., Korea)은 4 Å 분자체 (Junsei Chemical Co., Ltd., Japan)에 보관하였다. 반응 후 고분자의 침전을 위하여 헥산 (Junsei)과 에틸에테르 (Jin Chem.)는 HPLC 등급을 사용하였다. 분자량과 분자량분포를 확인하기 위

한 젤투파크로마토그래피 (GPC) 분석은 이동상으로 클로로포름 (Fisher Scientific Korea)을 사용하였고, 표준시료로서 폴리스티렌 (Showa Denko, Japan)을 사용하였다. 합성된 각각의 블록공중합체의 임계 미셀 농도를 측정하기 위하여 형광 물질로서 파이렌 (Aldrich)을 사용하였다.

MPEG-PCL의 합성. 분자량 3700 g/mole의 공중합체를 합성하기 위하여 다음과 같은 과정을 실시하였다. 개시제인 MPEG 2 g (1 mmol) 및 톨루엔 80 mL을 잘 건조된 100 mL 둥근 플라스크에 넣고 딥 스탭 트랩을 사용하여 5시간 동안 130 °C에서 공비 증류를 실시하였다. 증류 후 톨루엔을 모두 제거하고 MPEG를 실온으로 냉각시킨 후 미리 정제된 CL 1.7 g (14.9 mmol)을 주사기를 이용하여 넣은 후 반응용매로서 미리 정제된 MC 30 mL를 넣은 다음 중합 촉매로서 HCl·Et₂O를 2 mL 투여하여 24시간 동안 실온에서 교반시켜 주었다. 모든 과정은 고순도 질소 하에서 실시하였다. 반응 후 미반응 단량체나 개시제를 제거하기 위하여 400 mL의 헥산에 반응물을 서서히 떨어뜨리면서 침전시켜 주었다. 침전물은 MC에 녹여 거름종이로 거른 후 회전 증발기를 통하여 용매를 제거하고 감압 하에서 건조시켰다. MPEG-PCL의 중합식은 Figure 1(a)에 나타내었다.

MPEG-PVL의 합성. MPEG-PCL 블록공중합체의 합성 과정에서 사용된 방법으로 VL을 사용하여 중합을 실시하였다. MPEG-PVL의 중합식은 Figure 1(b)에 나타내었다.

MPEG-PLLA의 합성. Sn(Oct)₂의 존재 하에서 MPEG-PLLA와 같은 3700 g/mole 분자량을 합성하기 위하여 개시제인 MPEG 2 g (1 mmol) 및 톨루엔 80 mL를 잘 건조된 100 mL 둥근 플라스크에 넣고 딥 스탭 트랩을 사용하여 5시간 동안 130 °C에서 공비 증류를 실시하였다. 증류 후 30 mL의 톨루엔을 남기고 나머지는 모두 제거하였다. 정제된 LA 1.7 g (11.8 mmol)을 넣은 후 촉매인 0.1 M Sn(Oct)₂ 2 mL를 넣은 다음 115 °C에서 15시간 동안 교반시켜 주었다. 반응 후 헥산 320 mL와 에틸에테르 80 mL의 용매에 침전시킨 후 얻어진 고분자는 감압 하에서 건조시켰다. MPEG-PLLA의 중합식은 Figure 1(c)에 나타내었다.

MPEG-PLGA의 합성. MPEG-PLLA 블록공중합체의 합성 과정에서 사용된 방법으로 LA와 GA의 함량 비율을 각각 80 : 20과 60 : 40으로 달리하여 중합을 실시하였다. MPEG-PLGA의 중합식은 Figure 1(d)에 나타내었다.

블록공중합체의 특성분석. 개시제와 합성된 고분자의 분자량분포와 분자량은 두 개의 칼럼 (Shodex K-802 and Shodex Asahipak GF-510, Japan)을 가진 Futecs GPC 시스템 (Shodex RI-71 detector, Japan)을 통하여 이동상으로 클로로포름을 이용하여 0.6 mL/min의 유속으로 측정하였다. 각각의 구성 고분자의 몰 비에 대한 분자량은 내부 기준시료인 0.05 wt%의 테트라메틸실란 (TMS)을 포함한 CDCl₃ (Merck, Germany)과 D₂O (Aldrich)를 용매로 하여 ¹H-NMR (Bruker 300, 500 MHz, USA)를 통하여 분석하였다. MPEG-PCL, MPEG-PVL, MPEG-PLLA, 및 MPEG-PLGA의 다양한 폴리에스테르 그룹에 따른 열적 특성을 관찰하기 위하여 DSC (TA Instrument DSC 3100, Dupont, USA)를 이용하여 5 °C/min의 승온 속도로 -100~150 °C의 범위에서 T_g와 T_m을 결정하였다. 또한, 결정 형태의 변화를 관찰하기 위하여 XRD

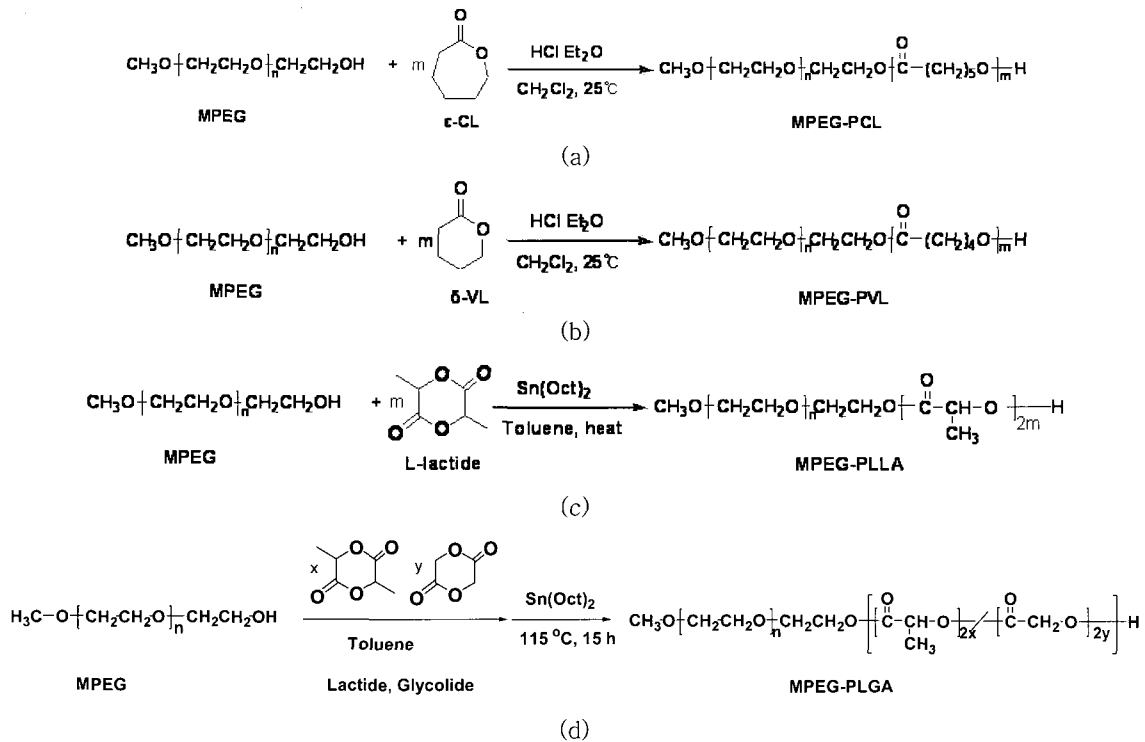


Figure 1. Polymerization scheme of (a) MPEG-PCL, (b) MPEG-PVL, (c) MPEG-PLLA, and (d) MPEG-PLGA.

(D/MAX-III B, Rigaku, Japan)를 사용하여 5 %/min의 속도로 2θ 의 값 0~40°의 범위에서 결정성을 확인하였다. 각 블록공중합체의 임계 미셀 농도를 결정하기 위하여 형광 측정기(F-4500 FL Spectrophotometer, λ_{ex} 338 nm, Hitachi Co. Ltd., Japan)를 사용하여 240 nm/min의 속도로 여기 파장 200~400 nm의 범위에서 미셀 중심부에 포접되어 있는 파이렌의 형광 강도를 측정하였다. 또한 수용액 상에서 형성된 미셀의 직경을 측정하고자 광산란기(ELS-8000, Otsuka Electronics, Japan)를 이용하여 측정하였다. 그리고 각 블록공중합체의 수용액 상에서 형성된 미셀의 형태를 관찰하기 위하여 원자 현미경(Nanoscope IV instrument, Digital Instruments Inc., USA)을 이용하여 이미지를 측정하였다.

임계 미셀 농도의 결정. 합성된 블록공중합체의 임계 미셀 농도 측정을 위해 파이렌 0.01214 g을 THF 50 mL에 녹인 후 1 mL를 취하여 증류수 1000 mL와 섞고 2시간 동안 30 °C에서 회전 증발기를 통해 THF를 제거하여 1.2×10^{-6} M의 파이렌 용액을 제조하였다. 또한 각각의 고분자 20 mg을 증류수 10 mL에 녹여서 2.0 mg/mL의 고분자 용액을 만든 후 1.0×10^{-7} mg/mL의 농도까지 다양한 농도로 희석시켰다. 그리고 희석된 각 고분자 용액의 양만큼 파이렌 용액을 섞어주었다. 5 : 5의 비율로 균일 분산된 고분자 용액과 파이렌 용액의 평형을 유지하기 위해 하루 동안 4 °C에서 냉장 보관하였다. 미셀 내부에 파이렌이 포접된 다양한 농도의 용액을 형광 측정기를 이용하여 방사와 여기의 슬릿 간격은 2.5 nm로 하고 240 nm/min의 속도로 여기 파장 200~400 nm의 범위에서 파이렌의 형광 강도를 측정하였다. 여기 스

펙트럼에 대하여 방사 파장은 373 nm로 고정하였다. 임계 미셀 농도 값의 계산은 파이렌의 335 nm와 338 nm 파장에서 형광 강도의 비율 대비 다양한 농도 값을 로그값으로 변환하여 구하였다.

미셀의 직경 측정과 형태 관찰. 각각의 블록공중합체의 수용액 상에서 형성된 미셀 직경의 측정과 형태를 관찰하기 위하여 블록공중합체를 1%의 농도로 증류수에 용해시킨 후 균일 분산된 고분자의 평형을 유지하기 위해 하루 동안 4 °C에서 냉장 보관하였다. 형성된 미셀의 직경을 측정하고자 광산란기를 이용하여 측정하였다. 또한 원자 현미경을 통해 미셀의 형태를 관찰하기 위한 시편을 제조하기 위해 실리콘 웨이퍼를 가로 5 mm, 세로 5 mm의 크기로 자른 후 메탄올로 세척하고 건조시킨다. 완전히 건조된 실리콘 웨이퍼 위에 1% 농도의 고분자 용액을 한 방울 떨어뜨린다. 그리고 -75 °C의 냉동실에 하루 동안 냉동시킨 후 동결건조기에 넣고 2일 동안 건조시켰다. 건조된 시료를 원자 현미경을 이용하여 미셀의 형태를 관찰하였다.

결과 및 토론

블록공중합체의 합성. 다양한 폴리에스테르 그룹을 단량체로 하여 각각의 특성을 비교 분석하기 위한 고분자로서 친수성의 MPEG와 소수성의 PCL, PVL, PLLA 및 PLGA로 구성된 블록 공중합체를 합성하였다. MPEG($\bar{M}_n = 2000$ g/mole)을 고분자 개시제로 하여 다양한 조성의 블록 공중합체를 Table 1에 나타낸 것과 같이 개환중합을 이용하여 82~96%의 수율로 합성하였다. MPEG-

Table 1. Synthesis of MPEG-Polyester Diblock Copolymers

No.	[M] _{ratio} (LA/GA)	[M]/[MPEG] ^c	\overline{M}_n , ^d calcd	Yield ^d (%)	\overline{M}_n , ^e NMR	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$ ^f
PC1 ^a (MPEG-PCL)	—	12.9	2000-1500	96 ^{dl}	2000-1700	1.20
PV2 ^a (MPEG-PVL)	—	14	2000-2000	84 ^{dl}	2000-1700	1.21
PL3 ^b (MPEG-PLLA)	100/0	12.1	2000-1750	95 ^{dz}	2000-1720	1.21
PLG4 ^b (MPEG-PLGA)	80/20	9.7/3	2000-1750	83 ^{dz}	2000-1600	1.23
PLG5 ^b (MPEG-PLGA)	60/40	7.3/6	2000-1750	82 ^{dz}	2000-1550	1.17

^a[HCl]/[MPEG] = 2, temperature = room temperature, time = 24 h. ^b[Sn(Oct)₂]/[MPEG] = 0.6, temperature = 115 °C, time = 15 h.
^cMPEG : \overline{M}_n = 2000 g/mol ($\overline{M}_w/\overline{M}_n$ = 1.17). ^d*n*-hexane insoluble part. ^e*n*-hexane/ethyl ether (4 : 1) insoluble part. ^fDetermined by ¹H NMR. ^gMeasured by GPC (based on standard polystyrene).

Table 2. Thermal Properties and Degree of Crystallinity for MPEG, PC1, PV2, PL3, PLG4, and PLG5

No.	MPEG Block		Polyester block ^a		χ^c
	T_m (°C) ^b	ΔH_m (J/g) ^b	T_m (°C) ^b	ΔH_m (J/g) ^b	
MPEG ^d	50.4	191.4	—	—	22.3
PC1	25.7	5.3	45.2	140	33.9
PV2	17.7	1.9	49.6	131.2	24.9
PL3	45.5	78	130	17	51.3
PLG4	46.9	98	83	7	37.7
PLG5	47.3	102.4	—	—	28.7

^aPCL, PVL, PLLA and PLGA block. ^bMeasured by DSC.
^cDetermined by X-ray diffraction. ^dMPEG : \overline{M}_n = 2000 g/mol.

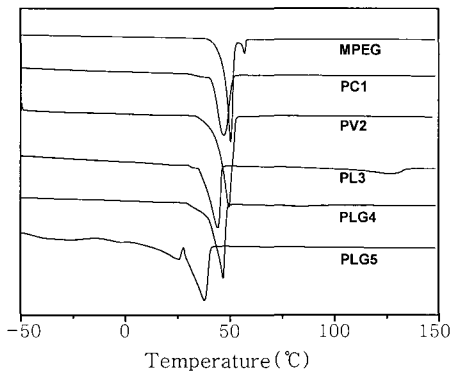


Figure 2. DSC thermograms of MPEG, PC1, PV2, PL3, PLG4, and PLG5.

PCL, MPEG-PVL 합성의 경우에는 산 촉매를 사용하여 실온에서 중합하였고 반면, MPEG-PLLA, MPEG-PLGA는 Sn(Oct)₂를 사용하여 115 °C의 온도에서 중합을 실시하였다.^{28,29} 분자량 분포를 확인하기 위해 GPC를 통한 분석 결과 1.17-1.23의 좁은 분산도를 가짐을 확인하였다. 얻어진 고분자는 ¹H-NMR 분석을 통해 PCL, PVL, PLLA 및 PLGA의 특정 피크를 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 블록공중합체는 MPEG를 개시제로 사용하여 단량체의 개환 중합으로 합성된 것을 확인할 수 있었다.

블록공중합체의 특성 분석. 합성된 고분자의 열적 특성과 결정성을 확인하기 위하여 시차주사열량계와 X-선 회절기를 사용하여 특성을 결정하였다. 블록공중합체의 열적 특성으로는 Table 2와 Figure 2에서 나타난 것처럼 MPEG는 약 50.4 °C에서 발열 피크

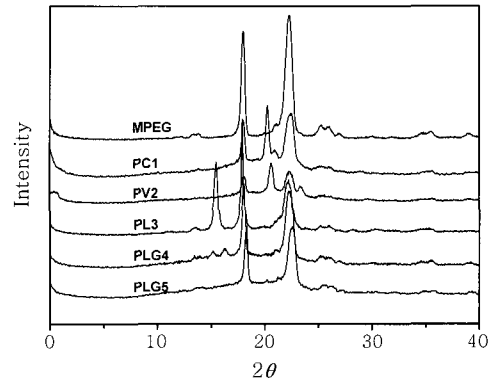


Figure 3. X-ray diffraction diagrams of MPEG, PC1, PV2, PL3, PLG4, and PLG5.

를 확인할 수 있었고 ΔH_m 는 191.4 J/g의 값을 보였다. MPEG의 T_m 과 ΔH_m 값을 PC1, PV2, PL3, PLG4 및 PLG5 블록공중합체의 MPEG 블록과 비교하면 T_m 은 17.7~46.9 °C, ΔH_m 는 1.9~98 J/g으로 MPEG 보다 모두 낮게 측정된 것을 확인할 수 있었다. 이는 MPEG 블록에 폴리에스테르 그룹이 공중합되면서 MPEG 블록의 T_m 과 ΔH_m 값이 감소한 것으로 보인다. 그리고 각각의 블록공중합체의 열적 특성을 비교해보면 PC1의 MPEG 블록과 폴리에스테르 블록의 ΔH_m 값은 PV2 보다 높게 나왔으며, PL3, PL4 및 PL5의 폴리에스테르 블록은 PLLA에 PGA의 함량이 증가할수록 T_m 이 감소하는 경향을 보인다. 이는 T_m 이 높은 PLLA에 PGA가 랜덤하게 섞이면서 T_m 을 감소시키며 PGA의 함량이 증가할수록 T_m 을 더욱 감소시키는 것으로 생각된다. 또한 XRD를 통한 결정화 분석에 있어서 폴리에스테르 그룹의 각각의 특정 피크를 확인할 수 있었다(Figure 3). MPEG의 결정화도는 22.3%로 MPEG 블록에 폴리에스테르 블록이 공중합되면서 결정화도는 증가하는 것을 확인하였다. PC1은 33.9%의 결정화도를 보여 PV2의 결정화도 보다 높은 것을 알 수 있었다. 그리고 PL3, PLG4 및 PLG5의 결정화도를 비교해 보면 PL3은 51.3%, PLG4는 37.7%, PLG5는 28.7%로 PLLA에 PGA의 함량이 증가할수록 결정화도는 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Table 2). 이는 높은 결정성을 가지는 PLLA에 PGA가 80 : 20과 60 : 40의 일정한 비율 내에서 서로 랜덤하게 섞이면서 상분리 현상이 일어나 PGA의 함량이 증가할수록 결정화도가 감소하고 T_m 또한 감소하는 것으로 사료된다.³⁰ 이를 통해 MPEG에 공중합되는 각각의 폴리에스테르

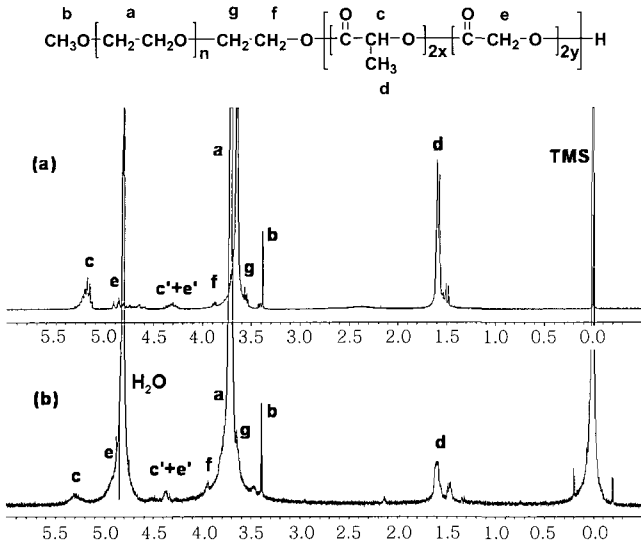


Figure 4. ¹H-NMR spectra of MPEG-PLGA diblock copolymer (PLG4) in (a) CDCl₃ and (b) D₂O.

블록에 따라 열적 특성과 결정화도가 달라지는 것을 확인하였다. NMR을 이용한 블록공중합체의 미셀 형성 측정. 각각의 블록공중합체가 수용액 상에서 미셀을 형성함을 ¹H-NMR 스펙트럼을 통해 확인하였다. Figure 4에 나타난 것처럼 CDCl₃과 D₂O를 용매로 하여 PLG4의 구성 성분을 분석한 결과 CDCl₃에 용해시켜 측정할 공명 피크에서는 MPEG 블록과 PLGA 블록의 피크가 모두 확실하게 관찰된 반면 D₂O에 용해시켜 측정할 스펙트럼에서는 PLGA 블록의 피크가 완만하게 관찰되었다. 이것은 PLG4가 수용액 상에서 미셀을 형성하여 소수성의 PLGA 블록은 미셀의 내부에 위치하면서 미셀의 외부에 위치하는 친수성의 MPEG 블록과 비교하면, PLGA 블록은 물과 MPEG 블록에 의해 분자 운동이 제한을 받게 되어 NMR 스펙트럼의 공명 피크가 완만하게 관찰되는 것으로 보인다.

임계 미셀 농도의 결정. 각각의 합성된 블록공중합체의 폴리에스테르 블록에 따른 임계 미셀 농도의 결정을 위하여 파이렌 용액을 제조하고 합성된 고분자를 녹여서 다양한 농도로 희석시킨 후 상온에서 형광 측정기를 이용하여 미셀 내부에 포접된 파이렌의 형광 강도를 측정하였다. 미셀 농도를 인식하는 형광 물질로서 파이렌을 사용한 형광 측정으로 임계 미셀 농도를 결정하였다. 블록공중합체를 수용액상에 용해시키면 친수성기의 MPEG 블록은 외부에 위치하고 소수성기의 폴리에스테르 블록은 내부에 위치하여 미셀을 형성하게 된다. 파이렌은 소수성 분자로서 미셀 내부에 선택적으로 분포되어 미셀의 농도에 따라 포접되는 파이렌의 양도 달라지게 되어 인식되는 형광 특성이 블록공중합체마다 다르게 나타난다. Figure 5에 나타난 것과 같이 335~338 nm의 파장에서 파이렌의 여기 스펙트럼이 미셀의 농도에 따라 이동하는 것을 볼 수 있었다. 이는 소수성기의 미셀 내부에 파이렌이 부분적으로 포접되어 있다는 것을 의미한다. 미셀 농도에 따른 스펙트럼의 이동을 통해 임계 미셀 농도 값을 결정할 수 있었다. Table 3과 Figure 6은 PC1, PV2, PL3, PLG4, 및 PLG5의 임계 미셀 농도 값을 나

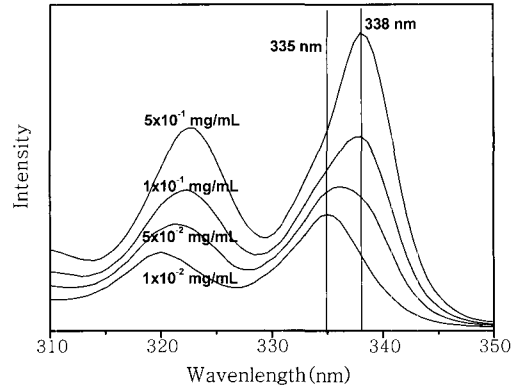


Figure 5. Excitation spectra of pyrene as a function of PC1 concentration in water at room temperature.

Table 3. Critical Micelle Concentration (CMC) and Mean Hydrodynamic Diameters of Micelles Formed by MPEG-Polyester Diblock Copolymers

No.	\bar{M}_n , NMR	CMC $\times 10^{-3}$ ^a (mg/mL)	Diameter ^b (nm)
PC1	2000-1700	5.77	107
PV2	2000-1700	5.26	144
PL3	2000-1720	25.3	376
PLG4	2000-1600	6.59	314
PLG5	2000-1550	3.19	216

^aMeasured by the fluorescence technique. ^bMeasured by dynamic light scattering (the micelles prepared with 1% concentration of MPEG-Polyester diblock copolymers).

타낸 것이다. Figure 6에서 보는 것처럼 335 nm와 338 nm의 강도 비율이 각 블록공중합체마다 특정 농도 값 이상에서 증가하는 것을 볼 수 있는데, 이는 미셀의 형성이 시작되는 농도를 의미한다. 증가하기 시작하는 부분에 두 직선을 그어 교차하는 지점에서의 농도 값으로 임계 미셀 농도를 결정하였다. PC1의 임계 미셀 농도 값은 5.77×10^{-3} mg/mL이고 PV2는 5.26×10^{-3} mg/mL으로 두 값이 큰 차이를 보이지 않았는데 이는 소수성 블록인 PCL과 PVL의 소수성 정도가 비슷하기 때문에 임계 미셀 농도 값도 유사하게 나타난 것으로 보인다. 또한 PL3, PLG4 및 PLG5의 임계 미셀 농도 값은 각각 2.53×10^{-2} , 6.59×10^{-3} 및 3.19×10^{-3} mg/mL로 측정되었으며 이 값을 통해 PLLA에 PGA의 함량이 증가하면서 소수성 블록의 소수성 정도가 증가하여 임계 미셀 농도 값이 작아지는 것임을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 폴리에스테르 블록에서 각각의 소수성 블록이 가지는 소수성의 정도에 따라 수용액 상에서 형성되는 임계 미셀 농도 값이 다르게 나타나는 것을 확인하였다.

미셀의 직경 측정과 형태 관찰. 각 블록공중합체의 수용액 상에서 형성된 미셀의 직경을 광산란기를 이용하여 측정할 결과 Table 3에 나타난 것과 같이 107~376 nm의 범위에서 측정되었다. 임계 미셀 농도 값에서 큰 차이를 보이지 않은 PC1과 PV2의 경우 미셀의 직경은 각각 107 nm와 144 nm로 역시 비슷한 직경 크기가 측정되었으며 PL3, PLG4 및 PLG5와 비교하면 상대적으

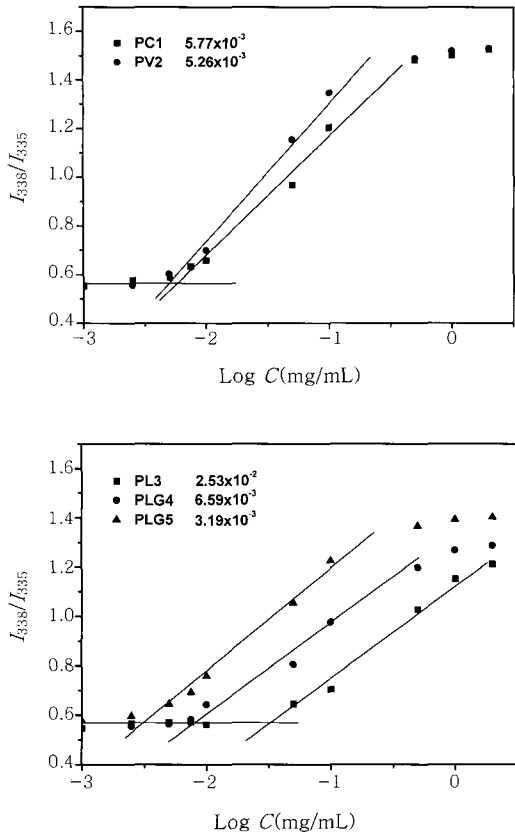


Figure 6. Plot of I_{338}/I_{335} (from pyrene excitation spectra) versus $\text{Log } C$ for concentration (C) of PC1, PV2, PL3, PLG4, and PLG5.

로 작게 나타났다. 또한 PL3의 경우는 376 nm로 측정되었고 PLG4와 PLG5는 각각 314 nm, 216 nm로 PGA의 함량이 증가할수록 미셀의 직경이 작아지는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 임계 미셀 농도 값에서 나타난 경향과 일치하였으며 PL3, PLG4 및 PLG5의 비교를 통해 PLGA 블록에서 PGA의 함량이 증가할수록 임계 미셀 농도 값과 미셀의 직경이 감소함을 알 수 있었다. 그리고 각 블록공중합체의 수용액 상에서 형성된 미셀의 형태를 원자 현미경을 통해 관찰한 결과 Figure 7에 나타난 것과 같이 PC1, PV2, PL3, PLG4, 및 PLG5의 각 경우에서 모두 구형의 형태를 가짐을 확인하였으며, 막대 형태와 같은 비구형의 미셀은 관찰되지 않았다. 이를 통해 각 블록공중합체가 수용액 상에서 형성하는 미셀의 내부에 소수성 약물을 분포시킬 수 있는 약물 전달체로서의 가능성을 확인하였다.

결론

본 연구에서는 MPEG ($\bar{M}_n = 2000 \text{ g/mole}$)를 개시제로 하여 생분해성 폴리에스테르 계열의 ϵ -CL, δ -VL, L-LA 및 PLGA의 개환중합을 통해 MPEG-PCL, MPEG-PVL, MPEG-PLLA 및 MPEG-PLGA 블록공중합체의 수용액 상에서의 미셀 특성을 비교하고자 공중합체를 합성하였다. PC1과 PV2 합성의 경우에는 산

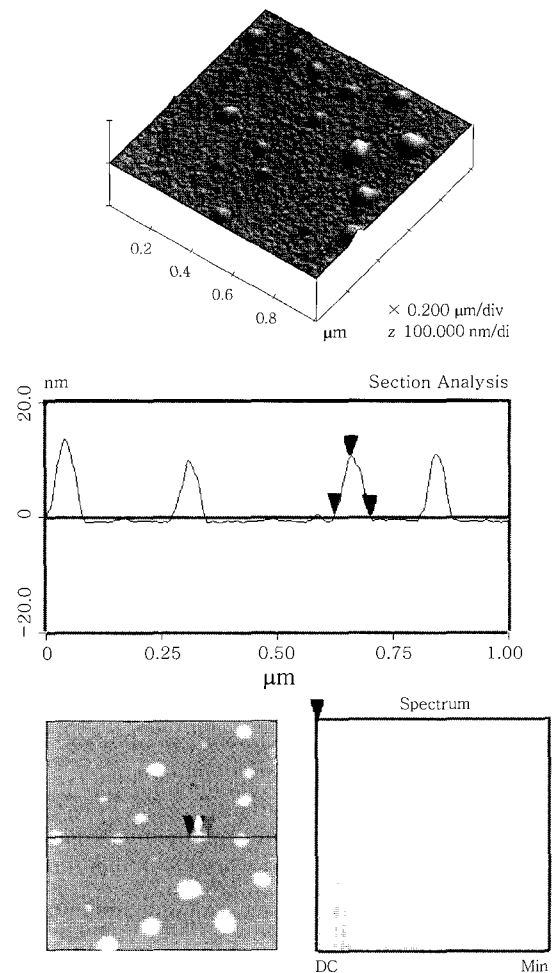


Figure 7. AFM image of micelle prepared with MPEG-PCL diblock copolymer (PC1).

촉매를 사용하여 실온에서 중합하였고 반면, PL3, PLG4, 및 PLG5는 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ 촉매를 사용하여 115 °C에서 15시간 동안 중합하였다. 합성된 각각의 블록공중합체의 특성을 분석한 결과 PC1과 PV2의 경우 열적 특성은 큰 차이가 없지만 결정화도에서는 PC1이 PV2보다 높은 것을 알 수 있었고, PL3, PLG4, 및 PLG5의 경우 PL3에서 높은 결정성과 T_m 을 관찰할 수 있었으며 PLLA와 PGA가 공중합되면서 PGA의 함량이 증가할수록 결정성은 낮아지고 T_m 또한 감소하는 것을 확인하였다. 그리고 각 블록공중합체의 수용액 상에서의 미셀 특성을 측정하고 비교한 결과 PC1과 PV2의 임계 미셀 농도 값은 큰 차이가 없었으며 미셀 직경은 PL3, PLG4, 및 PLG5에 비해 상대적으로 작게 측정되었다. 또한 PL3, PLG4, 및 PLG5에서의 임계 미셀 농도 값과 미셀의 직경은 PL3에서 가장 크게 측정되었고 PLGA 블록에 PGA의 함량이 증가할수록 소수성 정도가 증가하여 임계 미셀 농도 값과 미셀의 직경이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 MPEG-폴리에스테르 블록공중합체의 미셀 내부에 선택적으로 소수성의 약물을 분포시킬 수 있으므로 소수성 약물 전달체로서의 가능성을 확인하였다.

감사의 글 : 본 연구는 세포응용사업단(SC3100)의 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. D. E. Discher and A. Eisenberg, *Science*, **297**, 967 (2002).
2. B. M. Discher, Y. Y. Won, D. S. Ege, J. C. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, and D. A. Hammer, *Science*, **284**, 1143 (1999).
3. I. Bakker-Woudenberg, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **19**, 299 (2002).
4. V. P. Torchilin, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **54**, 235 (2002).
5. A. S. Hoffman, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **54**, 3 (2002).
6. E. W. Merrill and E. W. Salzman, *J. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **6**, 60 (1983).
7. J. H. Lee, J. Kopecek, and J. D. Andrade, *J. Biomed. Mater. Res.*, **23**, 351 (1989).
8. L. Zhang, C. C. Chu, and I. H. Loh, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1425 (1993).
9. M. Strock, K. H. Orend, and T. Schmitzrixen, *Vasc. Surg.*, **27**, 413 (1993).
10. Y. H. Cho, H. Hyun, J. H. Lee, S. C. Jeong, I. B. Song, B. Lee, M. S. Kim, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Reg. Med.*, **2**, 368 (2005).
11. B. M. Jeong, S. W. Kim, and Y. H. Bae, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **54**, 37 (2002).
12. S. K. Kim, S. H. Kim, H. R. Lee, M. H. Cho, M. S. Kim, G. Khang, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Reg. Med.*, **2**, 388 (2005).
13. S. K. Kim, K. D. Hong, J. W. Jang, S. J. Lee, M. S. Kim, G. Khang, I. W. Lee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Reg. Med.*, **1**, 149 (2004).
14. F. Yao, Y. Bai, Y. Zhou, C. Liu, H. Wang, and K. Yao, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, **41**, 2073 (2003).
15. M. H. Cho, S. K. Kim, H. Hyun, Y. N. Shin, M. S. Kim, B. Lee, J. S. Lee, G. Khang, H. B. Lee, and I. Lee, *Tissue Eng. Reg. Med.*, **3**, 46 (2006).
16. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
17. T. K. An, H. J. Kang, D. S. Moon, J. S. Lee, H. S. Seong, J. K. Jeong, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 670 (2002).
18. H. S. Choi, G. Khang, H. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
19. H. Suh, B. Jeong, R. Rathi, and S. W. Kim, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42**, 331 (1998).
20. S. W. Choi, S. Y. Choi, B. Jeong, S. W. Kim, and D. S. Lee, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, **37**, 2207 (1999).
21. M. H. Kang and Y. H. Bae, *Polymer*, **40**, 6147 (1999).
22. Y. X. Li, V. Christian, and T. Kissel, *J. Control. Rel.*, **32**, 121 (1994).
23. Y. K. Sung and S. W. Kim, *Korea Polym. J.*, **8**, 199 (2000).
24. H. Ge, Y. Hu, X. Jiang, D. Cheng, Y. Yuan, H. Bi, and C. Yang, *J. Pharm. Sci.*, **91**, 1463 (2002).
25. M. H. Huang, S. Li, D. W. Hutmacher, J. T. Schantz, C. A. Vacanti, C. Braud, and M. Vert, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **69**, 417 (2004).
26. H. S. Kang, M. S. Shin, J. D. Kim, and J. W. Yang, *Polymer Bulletin*, **45**, 39 (2000).
27. M. S. Kim, H. Hyun, Y. H. Cho, K. S. Seo, W. Y. Jang, S. K. Kim, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer Bulletin*, **55**, 149 (2005).
28. M. S. Kim, K. S. Seo, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Rapid. Commun.*, **26**, 643 (2005).
29. M. S. Kim, K. S. Seo, G. Khang, S. H. Cho, and H. B. Lee, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, **42**, 5784 (2004).
30. K. Shimizu, H. Wang, Z. Wang, G. Matsuba, H. D. Kim, and C. C. Han, *Polymer*, **45**, 7061 (2004).