

## 생분해성 가교 공중합에스테르의 분자설계 및 특성 연구

성용길<sup>†</sup> · 한승준

동국대학교 이과대학 화학과

(2000년 12월 19일 접수)

### Molecular Design and Characterization of Biodegradable Crosslinked Copolyesters

Yong Kiel Sung<sup>†</sup> and Seung Jun Han

Department of Chemistry, College of Natural Sciences, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

<sup>†</sup>e-mail : yksung@dgu.edu

(Received December 19, 2000)

**요약:** Krebs회로 산인 L-malic acid와 glycerol의 -OH와 -COOH의 물비를 달리하면서 가교공중합체 poly(glycerol-co-malate)s를 합성하였다. 단량체 및 합성된 가교공중합체를 적외선흡수분광기법에 의하여 확인하였으며, pH에 따른 수팽윤도를 측정하였다. 용액의 pH가 증가함에 따라 그 공중합체 수화젤의 수팽윤도는 증가하였으며, 각 pH에서 가교공중합체는 -COOH에 대한 -OH기의 물비가 증가할수록 수팽윤도가 감소하였다. 용액의 pH 변화에 따른 가교공중합체의 가수분해도를 37 °C에서 조사한 결과 용액의 pH가 증가함에 따라 가수분해는 빨리 진행되었다. 모델 약물로는 diclofenac monosodium salt를 사용하여 pH에 따른 약물방출 거동을 조사한 결과 약물의 방출은 pH가 증가할수록 더 빨리 방출되었고, 합성된 가교공중합 에스테르는 미반응 카복실기와 하이드록실기로 인해 pH에 의해 크게 영향을 받음을 확인하였다.

**ABSTRACT:** Crosslinked poly(glycerol-co-malate)s were synthesized from L-malic acid in Krebs cycle and glycerol. The synthesized polymer was identified by FT-IR spectroscopy. Swelling degrees of the copolymer hydrogels were increased with an increase in pH of the aqueous solution. Hydrolytic behaviors of the crosslinked copolymers were investigated in various pH buffer solutions at 37 °C. The hydrolysis of the copolymers proceeded faster with increasing pH of the aqueous solution. Releasing behaviors of the model drug such as diclofenac monosodium salt were also measured in various pH aqueous solutions at 37 °C. The release concentration of diclofenac monosodium salt from the hydrogel systems was increased with increasing pH. These facts indicate that the unreacted carboxyl and hydroxyl groups in the copolymers are greatly affected by pH in the conditions.

**Keywords:** crosslinked poly(glycerol-co-malate), Krebs cycle acids, swelling degree, hydrolysis, drug release, diclofenac monosodium salt.

## 서 론

약물의 방출조절 시스템이란 적절한 고분자 전달 지지체를 통하여 의약 및 농약 등의 생리활성 물질들을 보다 효과적이며 안전하게 목적물에 전달할 수 있

도록 개발된 약물전달 방법이다. 기존의 약물들은 의약이 투여되면 유효농도 이상으로 유지되다가 시간이 경과되어 최소 유효농도 이하로 떨어질 때 다시 약효를 유지하기 위하여 반복투여가 불가피한 점이 있었다. 그러나 약품의 방출조절 시스템은 종래의 약품을

## 실 험

전달 방법과는 달리 일정한 약물방출 정도를 적절하게 유지할 수 있다는 장점이 있다.<sup>1-3</sup> 이러한 약물전달에 주로 사용되는 생분해성 고분자로는 polyester, polyanhydride, polyphosphazene, poly( $\alpha$ -amino acid), 콜라젠 및 키토산 등과 같은 생분해성 고분자들이 있다.<sup>4-9</sup> 이러한 고분자의 생체분해성에 영향을 미치는 인자로는 수화, 온도, pH, 고분자의 구조, 모폴로지, 입체 배향, 인장강도, 소수성 및 친수성의 정도 등이 있다.

최근에 진행되고 있는 생분해성 polyester 개발에 관한 연구들을 살펴보면 lactone을 이용하여 고분자를 합성하는<sup>9,10</sup> 것과 체내대사에 존재하는 Krebs cycle acid 유도체들을 이용하는 연구<sup>11-13</sup> 및 Krebs cycle acid와 lactone으로부터 공중합체를 합성하는 연구 등이 있다.<sup>14,15</sup>

Sung 등은<sup>9,16-18</sup> 아세틸 Coenzyme A의 아세틸 부분이 CO<sub>2</sub>와 H<sub>2</sub>O로 완전히 산화되는 과정인 Krebs 회로의 산 유도체인 succinic anhydride를 1,4-butanediol과 공중합시켜 새로운 선형 폴리에스테르인 poly(butylene succinate)를 합성하였다. 또한 1,4-butanediol 양말단에 lactic acid를 도입한 poly(butylene dilactate)를 합성하였고, succinic anhydride와의 공중합체인 poly(butylene dilactate-co-succinate)를 합성하였다, Krebs회로의 산인 L-malic acid의 OH기를 치환한 2-acetoxy succinate와 1,4-butanediol dilactate와의 공중합체인 poly(butylene dilactate-co-2-acetoxy succinate)를 합성하여 가열속도, 냉각속도, 재가열 속도 및 분자량에 따른 중합체의 결정화 현상과 냉결정화 현상 등에 대해 조사하였으며, 개량된 ASTM 법에 의한 곰팡이, 방선균 및 세균 등의 미생물에 의한 생분해거동 등을 연구하여 발표한 바 있다.<sup>16,17</sup>

본 연구에서는 Krebs 회로 산인 L-malic acid와 glycerol의 몰비를 조절하여 공중합시킴으로써 고분자 망상구조의 크기가 다르고 가교정도가 다른 생분해성 가교공중합체를 합성하였다. 합성된 가교공중합체에 대한 온도와 pH 변화에 따른 물리적 가교가 중합체의 수팽윤도와 가수분해 및 약물방출 거동에 미치는 영향 등을 조사 고찰하였다.

시약 및 기기. 가교공중합체의 합성을 위해 glycerol (Aldrich Co.)과 L-malic acid (Aldrich Co.)를 사용하였으며, 촉매로는 *p*-toluenesulfonic acid (Sigma Co.)를 사용하였다. 용매로는 특급 톨루엔과 에탄올을 정제하여 사용하였다. 완충용액 제조에는 potassium chloride, hydrochloric acid, citric acid monohydrate, sodium citrate dihydrate, sodium phosphate, dibasic monohydrate 및 sodium phosphate, monobasic dihydrate (Aldrich Co.)를 사용하였다. 합성된 중합체들을 Bomen 100 FT-IR Spectrophotometer를 이용하여 확인하였고, 수팽윤도 및 가수분해 실험에는 JEIO-TECH SB-20 항온 순환 수조를 이용하였다. 방출되는 약물의 양은 Hewlett Packard 8452A UV Spectrophotometer로 정량하였다.

중합체의 합성. L-Malic acid와 glycerol의 몰비 (-COOH : -OH)를 달리 해가면서 dean-stark trap 및 온도계가 장치된 반응조에 넣고, 촉매인 *p*-toluenesulfonic acid를 톨루엔에 녹여 투입한 후 150 °C 기름중탕 용기에서 환류 교반시켰다. 반응이 끝난 후 톨루엔에 팽윤된 중합체를 에탄올을 용매로 Soxhlet 장치를 이용하여 24시간 동안 정제하여 사용하였다. 정제된 중합체는 진공오븐에서 7일간 건조하였다.

중합체의 수팽윤도 측정. 단량체의 작용기의 비를 달리해 가면서 합성된 중합체들을 각종 pH 완충용액에 담근 후 37 °C의 온도에서 일정 온도로 고정된 교반 항온 수조에서 24시간 동안 팽윤시켰다. 24시간이 지난 후 팽윤된 중합체를 완충용액에서 꺼내어 중합체를 표면에 묻은 물을 여과지를 이용하여 제거하고 무게를 측정하였다. 중합체의 팽윤도는 건조된 겔의 무게에 대한 수화된 물의 양을 측정하여 백분율로 계산하였다.

가수분해 측정. 일정량의 각 중합체들을 각종 pH 완충용액에 담지한 후 37 °C 항온조에 미리 결정된 기간 동안 보관하였다. 24시간이 지난 후 완충용액에서 시료를 꺼내어 항량이 될 때까지 진공 건조하여 무게를 측정하였다. 가수분해도는 처음 무게에 대한 분해된 무게의 백분율로 계산하였다.

pH 변화에 따른 모델약을 방출실험. 합성된 공중합체를 5×5 mm 크기의 시편으로 제작한 후 에탄올에 녹인 약물 diclofenac sodium salt 용액에서 6시간 동안 팽윤시킨 후 용액으로부터 꺼내어 여과지를 이용하여 표면의 용액을 닦은 후 40 °C의 진공오븐에서 7일간 건조하였다. 건조한 시료를 각종 pH의 완충용액에 담그어 시간에 따른 지시약 방출정도를 UV spectrophotometer로 측정하였다. 이때 약물방출 실험전 diclofenac monosodium salts 약을 각 pH 완충용액에 농도를 달리하면서 녹여 각 pH에서 농도에 따른 흡광도변화를 측정하여, 점진곡선을 그린 후 pH변화에 따른 약물방출 실험의 정량에 이용하였다.

## 결과 및 고찰

중합체의 합성 확인. Table 1에 보이는 바와 같이 가교된 공중합체 poly(glycerol-co-malate)는 malic acid와 glycerol을 이용하여 -COOH와 -OH의 물비를 달리하면서 합성하였다. Figure 1에 나타난 그림은 -COOH와 -OH의 기능기의 물비가 1:1로 하여 기능기가 전부 반응에 참여하였을 때의 이상적인 반응 모식도를 나타낸 것이다. 합성된 중합체를 에탄올을 용매로 하여 Soxhlet장치로 정제한 결과 -COOH와 -OH기의 물비가 1:1이상의 경우에는 물 및 알코올류, 톨루엔, 에틸아세테이트, THF, DMSO 등의 상용 유기용매에 녹지 않는 고분자를 얻었으나 물비가 1:1 미만인 경우에는 Soxhlet장치를 이용한 정제과정 중에 에탄올에 녹는 고분자를 얻을 수 있었다.

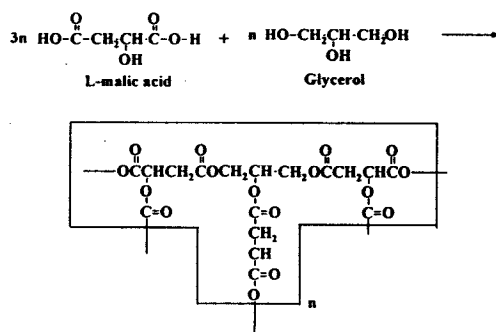
**Table 1. The Synthetic Condition of Crosslinked Poly(glycerol-co-L-malate)**

| polymers | functional group ratio <sup>a</sup> |     | mole% of catalyst <sup>b</sup> | reaction time | residue after purification |
|----------|-------------------------------------|-----|--------------------------------|---------------|----------------------------|
|          | -COOH                               | -OH |                                |               |                            |
| XL-PGM06 | 1.0                                 | 0.6 | 0.9                            | 8             | -                          |
| XL-PGM08 | 1.0                                 | 0.8 | 0.9                            | 8             | -                          |
| XL-PGM10 | 1.0                                 | 1.0 | 0.9                            | 8             | observed                   |
| XL-PGM12 | 1.0                                 | 1.2 | 0.9                            | 8             | observed                   |
| XL-PGM14 | 1.0                                 | 1.4 | 0.9                            | 8             | observed                   |

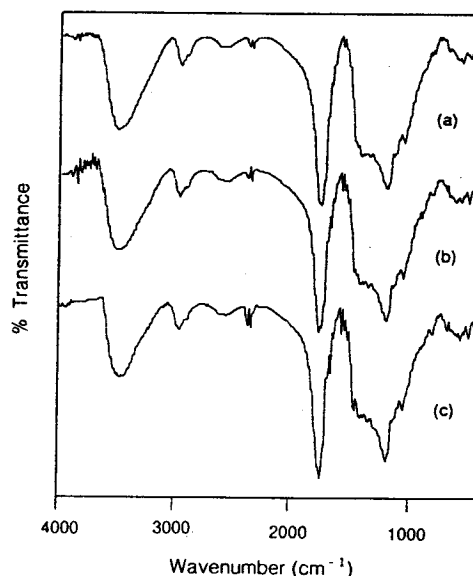
<sup>a</sup> Mole ratio. <sup>b</sup> Catalyst: *p*-toluenesulfonic acid versus malic acid.

합성에 사용한 단량체들과 합성된 중합체들의 FT-IR 스펙트럼 결과를 Figure 2에 나타내었다. 고분자가 합성됨에 따라 L-malic acid의 -COOH의 이합체 형성에 의하여 1700 cm<sup>-1</sup>에서 나타났던 신축진동 피크가 사라지며 1737 cm<sup>-1</sup>에서 -C=O의 피크가 이동하여 나타났고, 1180 cm<sup>-1</sup>에서 -C=O에 의한 피크가 나타났다.

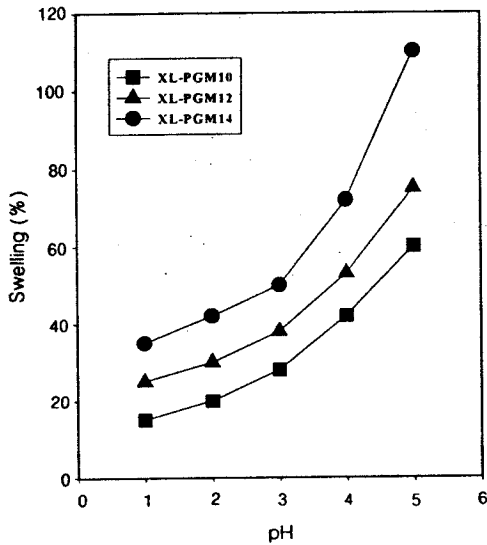
또한 3400 cm<sup>-1</sup> 부근에서 나타났던 -COOH 및



**Figure 1.** The ideal synthetic scheme of poly(glycerol-co-malate) crosslinked copolyesters.



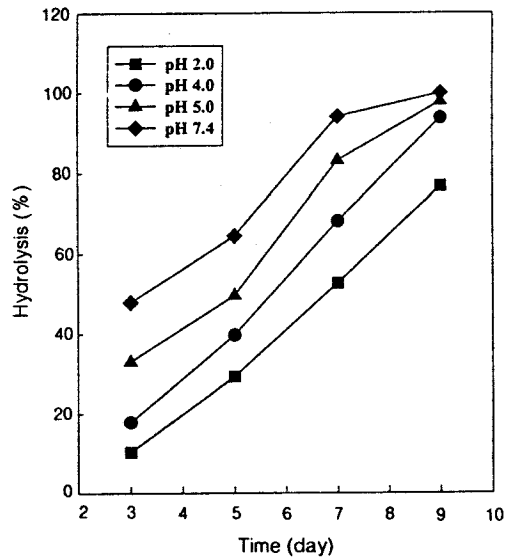
**Figure 2.** The FT-IR spectra of poly(glycerol-co-L-malate). (a) XL-PGM10, (b) XL-PGM12, and (c) XL-PGM14.



**Figure 3.** Equilibrium swelling ratios of poly(glycerol-co-malate) crosslinked copolymers as a function of pH at 37 °C. ■: XL-PGM10, ▲: XL-PGM12, ●: XL-PGM14.

-OH 피크는 중합체가 합성됨에 따라 감소하였다. 이러한 현상으로부터 중합체의 합성을 확인할 수 있었고 3400  $\text{cm}^{-1}$  부근의 피크는 미반응 물의 -COOH 및 -OH 피크들이 나타내는 것으로 생각된다.

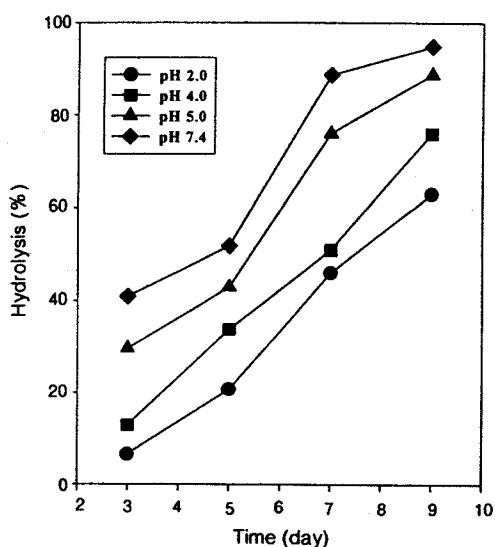
가교공중합체의 수팽윤도. L-Malic acid와 glycerol을 -COOH : -OH기를 달리하여 합성한 가교공중합체 XL-PGM10, XL-PGM12 및 XL-PGM14를 각 종 pH 완충용액에 1시간 동안 팽윤시켜 건조된 겔의 무게에 대한 수화된 겔의 무게로 구한 수팽윤도를 Figure 3에 나타내었다. 각 가교공중합체의 수팽윤도는 완충용액의 pH가 증가함에 따라 증가하여 pH에 영향을 받았음을 보여주었고, XL-PGM10 > XL-PGM12 > XL-PGM14의 순으로 나타나 가교도가 증가할수록 수팽윤도는 감소하였다. Figure 2의 FT-IR 데이터에 의하면 3400  $\text{cm}^{-1}$ 에서 나타났던 COOH기와 OH기의 피크가 -COOH에 대한 -OH의 비가 증가할수록 감소하는 것을 확인할 수 있었는데, 이는 미반응의 -COOH가 -OH의 증가에 따라 감소한다는 것을 나타내는 것이다. 이러한 현상은 공중합체 합성시 가지화의 형태로 성장하던 고분자 사슬이 겔화가 일어나면서 일부는 가교되었으나 일부는 그물구조 사



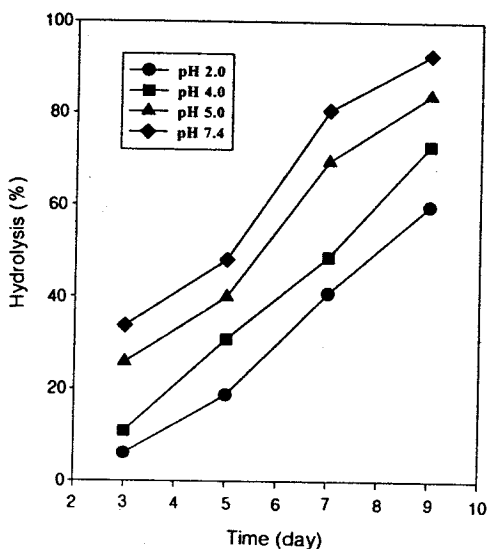
**Figure 4.** The hydrolytic behaviors of XL-PGM10 copolymers in various pH buffer solution at 37 °C. ●: pH 2.0, ■: pH 4.0, ▲: pH 5.0, ◆: pH 7.4.

슬의 말단에 -OH기와 -COOH기의 상태로 존재한다. 따라서 pH가 낮을 때는 완충용액 내에서 -OH와 -COOH간의 수소결합으로 인해 고분자 자체의 가교에 의한 1차 그물구조 외에 2차적인 가교결합을 형성하여 보다 조밀한 망상구조를 이루므로 인해 낮은 수팽윤도를 보이다가 용액의 pH가 증가하면서 -COOH기의 양성자가 해리되어 -COO<sup>-</sup> 형태로 음전하가 비편재화됨에 따라 수소결합이 끊어져 중합체내의 가교도가 감소하였다. 따라서 망상구조의 크기가 커지기 때문에 수팽윤도가 증가하는 것으로 평가된다.

가교된 공중합체의 가수분해. L-Malic acid와 glycerol을 -COOH : -OH기를 달리하면서 합성한 가교공중합체 XL-PGM10, XL-PGM12 및 XL-PGM14을 37 °C에서 pH 2.0, 4.0, 5.0, 7.4 완충용액에서 가수분해시킨 결과를 Figure 4~6에 각각 나타내었다. -COOH : -OH기의 비가 1 : 1인 XL-PGM10의 경우에는 3일이 지났을때 pH 2.0에서는 10%, pH 4.0에서는 17%, pH 5.0에서는 33%, 그리고 pH 7.4에서는 47%의 가수분해도를 나타냈으며, 9일이 경과된 후에는 pH 5.0과 pH 7.4에서 모두가수분해가 일어남을 확인하였다. 또 -COOH : -OH기의 비가 1 : 1.2인 XL-PGM 12의 경우에는 3



**Figure 5.** The hydrolytic behaviors of XL-PGM12 copolymers in various pH buffer solution at 37 °C. ●: pH: 2.0, ■: pH 4.0, ▲: pH 5.0, ◆: pH 7.4.



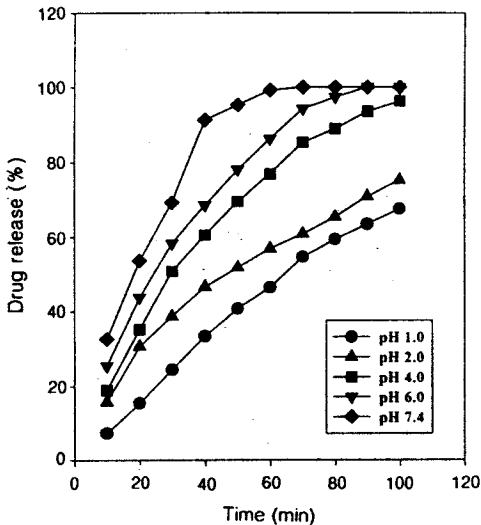
**Figure 6.** The hydrolytic behaviors of XL-PGM14 copolymers in various pH buffer solution at 37 °C. ●: pH: 2.0, ■: pH 4.0, ▲: pH 5.0, ◆: pH 7.4.

일이 지났을 때 pH 2.0에서는 6%, pH 4.0에서는 12%, pH 5.0에서는 29%, 그리고 pH 7.4에서는 40%의 가수분해도를 나타냈으며, 9일이 경과된 후에

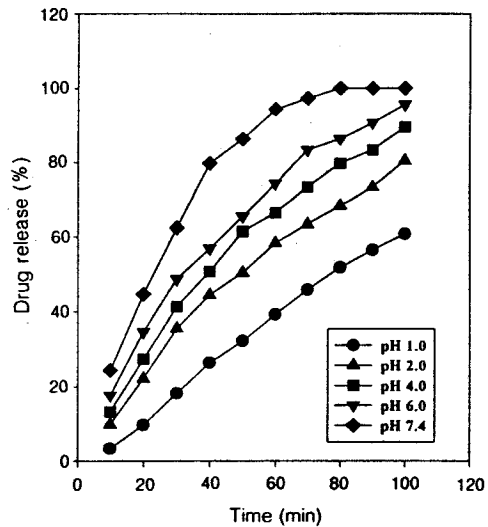
는 XL-PGM10과는 달리 pH 5.0은 88%, pH 7.4는 94%의 가수분해도를 나타내었다.  $-\text{COOH} : -\text{OH}$  기의 비가 1 : 1.4인 XL-PGM14의 경우에는 3일이 지났을 때 pH 2.0에서는 5%, pH 4.0에서는 10%, pH 5.0에서는 25%, 그리고 pH 7.4에서는 33%의 가수분해도를 나타냈으며, 9일이 경과된 후에는 XL-PGM 10과는 달리 pH 5.0은 83%, pH 7.4는 92%의 가수분해도를 나타내었다. 이와 같이 각 가교공중합체의 가수분해는 완충용액의 pH가 증가함에 따라 더 빨리 분해가 되었으며 XL-PGM10 > XL-PGM12 > XL-PGM14의 순으로 나타나 가교도가 증가할수록 늦게 분해가 되었음을 확인하였다. 이는 고분자의 가수분해가 수화에 의해 장력상실이 일어나고 분해되므로 수행윤도 실험에서 나타난 결과에서와 같이 산성용액에서는 수소결합이 상당히 안정되어 고분자의 망상구조의 크기가 작아졌기 때문에 수행윤도가 적었으나 용액의 pH가 증가함에 따라 분자쇄간 응집력이 약해져 수행윤도가 증가한 결과 공중합체들이 가수분해가 쉽게 일어난 것으로 생각되었다.

**약물방출.** 단량체의 기능기의 비를 달리하여 합성한 XL-PGM10, XL-PGM12 및 XL-PGM14를  $5 \times 5$  mm 크기의 시편으로 제작한 후 에탄올에 녹인 진통제의 일종인 diclofenac monosodium salt을 모델약물로 6시간 동안 팽윤시킨 공중합체를 37 °C에서 여러 pH 완충용액에 담그어 약물방출 거동을 조사하였다. 각 pH에서 농도를 달리한 diclofenac monosodium salt 용액을 제조한 후 농도에 따른 흡광도를 측정하여 검정곡선을 구하고, 시간에 따른 방출약물의 농도 계산에 이용하였다. 측정된 흡광도는 농도로 환산하여 전체 약물 농도에 대한 누적백분율로 나타냈다. 약물을 담지한 중합체를 준비된 완충용액에 넣은 직후 흡광도를 측정하여 구한 초기 방출량을 일정시간 후 방출된 양으로부터 빼줌으로써 중합체 표면에 묻었던 약물로 인한 효과는 최대한 제거하여 보정하여 측정된 결과를 Figure 7~9에 나타냈다.

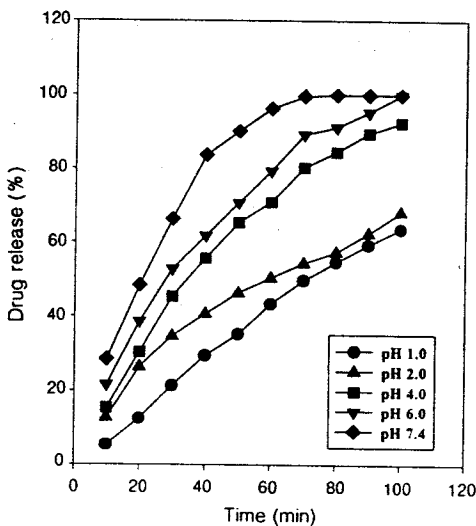
XL-PGM10인 경우에는 pH 7.4에서는 70분 후에 100%의 약물방출을 나타내었고, pH 1.0에서는 100분 후에도 67%의 약물이 방출됨을 확인할 수 있었다. XL-PGM12인 경우에는 pH 7.4에서는 80분 후에 100%의 약물방출을 나타냈고, pH 1.0에서는 100분 후에도 63%의 약물이 방출됨을 확인할 수



**Figure 7.** Diclofenac monosodium salt release profile from XL-PGM10 copolymers in various pH buffer solutions at 37 °C. ●: pH 1.0, ▲: pH 2.0, ■: pH 4.0, ▼: pH 6.0, ◆: pH 7.4.



**Figure 9.** Diclofenac monosodium salt release profile from XL-PGM14 copolymers in various pH buffer solutions at 37 °C. ●: pH 1.0, ▲: pH 2.0, ■: pH 4.0, ▼: pH 6.0, ◆: pH 7.4.



**Figure 8.** Diclofenac monosodium salt release profile from XL-PGM12 copolymers in various pH buffer solutions at 37 °C. ●: pH 1.0, ▲: pH 2.0, ■: pH 4.0, ▼: pH 6.0, ◆: pH 7.4.

었다. 또한 XL-PGM14인 경우에는 pH 7.4에서는 80분 후에 100%의 약물방출을 나타냈고, pH 1.0

에서는 100분 후에도 60%의 약물이 방출됨을 확인할 수 있었다. 이와 같이 약물방출은 pH가 증가함에 따라 더 빨리 진행되었다.

## 결론

Krebs 회로 산인 L-malic acid와 glycerol을 이용하여  $-COOH : -OH$ 의 물비를 달리하면서 가교된 공중합체 poly(glycerol-co-malate)로 가교된 정도가 다른 XL-PGM10, XL-PGM12 및 XL-PGM14 등을 합성하고, 적외선 분광기법을 이용하여 중합되었음을 확인한 후 수팽윤도, 가수분해 및 약물방출 거동을 측정된 결과, 가교공중합체들의 수팽윤도는 온도와 pH에 영향을 받아 각 pH와 온도에서 수팽윤도는  $XL-PGM10 > XL-PGM12 > XL-PGM14$ 의 순으로 나타나 가교도가 증가할수록 수팽윤도는 감소하였다. 가교공중합체들의 가수분해는 pH에 영향을 받았으며, pH가 증가할수록 가수분해가 더 빨리 일어났다. 각 pH에서 가수분해도는 가교된 정도에 따라  $XL-PGM10 > XL-PGM12 > XL-PGM14$ 의 순으로 가수분해가 나타나 고분자 내의 미반응 작용기로 인한 pH의 영향이 나타났다. 합성된 가교공중합체들의 약물방

출 특성은 용액의 pH 변화에 따라 영향을 크게 받았으며, 산성에서보다 염기성에서 더 빠르게 방출되었다.

감사의 글: 본 연구는 동국대학교 전문학술지 논문 게재연구비 지원으로 이루어졌음에 이에 감사드린다.

## 참 고 문 헌

1. Y. K. Sung and S. W. Kim, *Korea Polym. J.*, **8**, 199 (2000).
2. B. Jeong, Y. K. Choi, Y. H. Bae, G. Zentner, and S. W. Kim, *J. Control. Rel.*, **62**, 109 (1999).
3. T. Minko, P. Kopeckova, and P. Kopeck, *J. Control. Rel.*, **59**, 133 (1999).
4. E. Nyilas, U. S. Patent 4, 481, 353 (1984).
5. C. C. Chu and D. F. Williams, *J. Biomed. Mater. Res.*, **17**, 1029 (1983).
6. F. Charbot, M. Vert, S. Chapelle, and P. Granger, *Polymer*, **24**, 53 (1983).
7. A. M. Reed and D. K. Gilding, *Polymer*, **22**, 494 (1981).
8. R. M. Ginde and R. K. Gupta, *J. Appl. Polym. Sci.*, **33**, 2411 (1987).
9. D. K. Song and Y. K. Sung, *J. Appl. Polym. Sci.*, **56**, 1381 (1995).
10. D. K. Song and Y. K. Sung, *Polym. Sci. Tech.*, **5**(6), 551 (1994).
11. K. Imasaka, T. Nagai, H. Fukuzaki, M. Asano, and M. Kumakura, *Eur. Polym. J.*, **26**, 831 (1990).
12. H. Fukuzaki, M. Yoshida, M. Asano, M. Kumakura, K. Imasaka, T. Nagai, T. Mahimo, H. Yuua, K. Imai, and H. Yamanaka, *Eur. Polym. J.*, **26**, 1273 (1990).
13. D. Pramanick and T. T. Ray, *Polym. Bull.*, **19**, 365 (1988).
14. A. Caon, C. Braud, C. Bunel, and M. Vert, *Polymer*, **31**, 1797 (1990).
15. T. Ouchi, H. Kobayashi, and T. Banba, *British Polym. J.*, **23**, 221 (1990).
16. Y. K. Sung and D. K. Song, *Macromol. Symp.*, **118**, 559 (1997).
17. Y. K. Sung, J. S. Sung, I. K. Kang, and Y. M. Lee, *J. Kor. Soc. Med. Biol. Eng.*, **16**, 9 (1995).
18. Y. K. Sung and S. J. Han, *Kor. Polym. J.*, **7**, 1 (1999).