

Malic acid 함유 공중합체의 합성 및 필름표면의 RGD 고정화

이찬우[†] · 송경헌^{*}

호서대학교 공과대학 첨단산업기술전공, ^{*}배재대학교 의류학부
(2001년 8월 2일 접수, 2002년 3월 14일 채택)

RGD Fixation of Film Surface and Synthesis of Copolymer Comprising Malic acid

Chan Woo Lee[†] and Kyung Hun Song^{*}

Department of Innovative Industrial & Technology, Hoseo University, Asan-City 336-795, Korea

^{*}Department of Clothing & Textiles, Paichai University, Seo-gu, Daejeon 439-6, Korea

[†]e-mail : cwlee@office.hoseo.ac.kr

(Received August 2, 2001; accepted March 14, 2002)

요약 : 본 연구에서는 세포접착성에 관한 영향을 검토하기 위하여 L-malic acid (L-MA)와 glycolic acid (GA)의 복합단위로 된 3-(S)-[(dodecyloxycarbonyl)methyl]-1,4-dioxane-2,5-dione (DMD)의 합성 및 DMD와 L-lactide의 공중합을 촉매로서 tin (II) octanoate를 사용하여 행하였다. 얻어진 공중합체를 필름으로 제작하여 RGD고정화를 실시한 결과, 필름표면에 세포접착성 펩티드를 고정화할 수 있었고, MA단위의 도입량의 증가에 따라 RGD의 고정화량이 증가하는 것을 확인하였으며, glycolic acid- β -dodecylmalate-lactic acid (D-PGML)는 서서히 분해되어 장기간에 있어 잔류 및 축적이 발생하지 않아 생체재료로서 크게 기대된다.

ABSTRACT : To study the effect of polymer compositions on the cell adhesion, copolymers of 3-(S)-[(dodecyloxycarbonyl)methyl]-1,4-dioxane-2,5-dione (DMD) and L-lactide were made, where DMD was synthesized from L-malic acid (L-MA) and glycolic acid. Furthermore, the copolymerization of DMD and L-lactide was performed using tin(II) octanoate as a catalyst. As a result of fixing RGD on the copolymer films, the cell adhesive peptide was fixable on the surface of the film. It was found out that the amount of fixation of RGD also increases by the increase in the amount of MA unit introduction. Since it is gradually decomposed over a long period and neither remains nor accumulation occurs, glycolic acid- β -dodecylmalate-lactic acid (D-PGML) is greatly expected as a potential biomaterial with improved slow degradability.

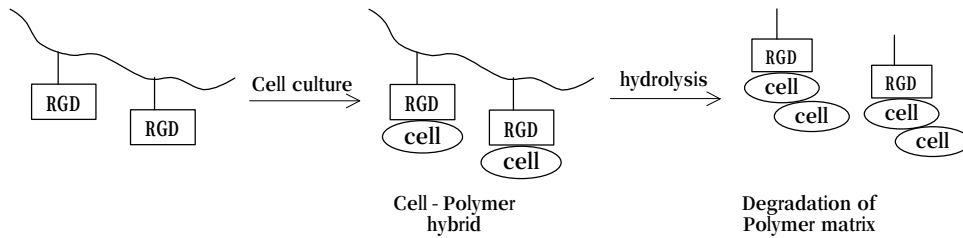
Keywords : cell adhesion, copolymerization, RGD fixation, degradability.

서론

생체흡수성 고분자 재료로써 poly(α -hydroxy acid)인 poly(L-lactic acid) (PLLA) 및 poly(glycolic acid) (PGA)가 가장 넓게 이용되고 있다.¹⁻⁴ 이와 같은 1성분계 지방족 폴리에스테르는 기계적 강도 등의 역학적 성질이 뛰어난 반면, 소수성으로 인한 결정화도가 지나치게 높아 물성제어 및 가수분해의 제어가 곤

란하고 화학수식(修飾) 가능한 측쇄를 가지고 있지 않는 등의 문제점이 지적되고 있다.^{5,6} 그 때문에 친수성과 기능성의 부여를 목적으로 한 새로운 고분자 재료의 개발이 요망되어지고 α -hydroxy acid의 하나인 malic acid (MA)의 이용에 주목을 집중시키고 있다.⁷

MA는 분자내에 2개의 carboxyl기를 가지고 있으며 수산기에 대하여 α 위치의 carboxyl기가 에스테르 결합한 고분자 (a 형)와 b 위치의 carboxyl기가 에



Scheme 1. Copolymerization of cyclic diester monomers.

스테르 결합한 고분자 (b형)의 2종류가 있다. 두 고분자 모두 측쇄에 carboxyl기를 가지고 있기 때문에 이것에 의한 친수성의 향상과 기능성의 부여가 가능할 것으로 생각된다.⁸ MA단위를 포함한 새로운 생체흡수성 고분자의 개발은 최근 Kimura 등에^{9,10} 의해 MA의 *b*-carboxyl기를 benzyl기로 보호한 *a*-MA ester와 glycolic acid (GA)의 복합단위로부터 된 환상 diester 단량체, 3-(S)-[(benzyloxycarbonyl)methyl]-1,4-dioxane-2,5-dione (BMD) 및 ethyl기로 보호한 3-(S)-[(ethoxycarbonyl)methyl]-1,4-dioxane-2,5-dione (EMD)가 합성되었으며 본 연구에서는 dodecyl기로 보호된 3-(S)-[(dodecylloxycarbonyl)methyl]-1,4-dioxane-2,5-dione (DMD)를 합성하여 그들의 단독중합 및 lactide와의 공중합에 의해 MA단위를 함유하는 poly(α -hydroxy acid)를 얻었다. 이와 같이 측쇄를 dodecyl기로 보호한 DMD와 lactide의 공중합체는 가수분해에 의해 dodecyl alcohol이 유리되지만 생체에 대한 독성이 극히 낮아 생체내에서의 사용에 적합할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 세포접착성에 대한 영향을 검토하기 위해 측쇄에 Arg-Gly-Asp (RGD) 트리펩티드의 화학고정화를 검토하였다. RGD트리펩티드는 피브로넥틴속에 존재하는 세포접착활성을 가진 최소의 필수 아미노산 단위인 것이 Pierschbacher에¹¹ 의해 발견되었고, RGD트리펩티드를 고정화함으로써 비교적 세포접착성이 결핍한, 지방족 폴리에스테르의 세포접착성이 향상될 것으로 생각된다. 이와 같이 세포접착성이 향상된 흡수성재료를 생체조직, 세포의 토대로써 사용함에 의해 조직재생을 촉진시키고 동시에 재생 후 빠른 분해·흡수를 요하는 치료용 재료기술이 얻어질 것으로 생각된다. 이와 같은 기술은 guided tissue regeneration technique (GTR법)라고 불리는 생

체재료의 이상적 기법으로써 주목되고 있다 (Scheme 1).

실 험

시 약. MA($[\alpha]_D = -2.21^\circ$)는 扶桑化學工業(株)(일본)로부터 제공받았으며, 염화브롬아세틸, 트리에틸아민, 에테르, 톨루엔은 Nacalai(일본)로부터 구입하여 증류, 정제 후 사용하였다. 다른 용매, 시약은 Nacalai(일본)로부터 구입하여 그대로 사용하였다. 촉매는 tin(II) octanoate를 Nacalai(일본)로부터 구입하여 증류, 정제 후 일정농도의 톨루엔용액 (0.1 g/mL)으로 조제하여 중합촉매로써 사용하였다. L-lactide는 이전 보고된 방법¹² 의해 합성한 후, 반복하여 ethyl acetate로 재결정화시켜 정제하였으며 RGD (Arg-Gly-Asp)는 BACHEM (스위스)로부터 구입한 초산염을 사용하였다.

측 정. GPC측정은 島津製作所(주)(일본)의 送液unit (LC-10A)장치를 사용하여 column온도를 35 °C에 설정한 후, 분자량 및 분자량분포는 단분산 polystyrene (PS)을 표준물질로 한 환산치를 사용하였다. ¹H-NMR 분석은 Varian사 XL-200 (200 MHz) 핵자기공명장치로 CDCl₃ 용매를 사용, 내부기준으로는 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다. DSC측정은 Mac Science사 (일본)의 DSC3100을 사용, 질소기류 중에서 시료량 3.5 mg, 승온온도 10 °C/min의 조건에서 행하였다. IR스펙트럼은 JASCO FT/IR-5300장치를 사용하여 액막법 KBr정제법에 의하여 측정하였다. 접촉각 측정은 協和界面化學(株)(일본) 표면장력계 CBVP-AI를 사용하여 Wilhelmy의 평판법에 의한 접촉각 측정법을 사용하여 20 °C의 항온실에서 측정하였다.

합 성.

5-Carboxymethyl-2-trichloromethyl-1,3-dioxolan-4-one [2]

의 합성 : 플라스크에 L-malic acid (L-MA) ① 67 g (0.5 mol)과 chloral hydrate [$\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$] 99 g (0.6 mol)을 넣어 얼음분위기 속에서 교반하면서 황산 125 mL을 서서히 적하시킨 후, 실온에서 약 4시간 정도 교반을 계속함에 의해 반응계가 백탁(白濁)되었다. 그것을 대량의 얼음물에 넣어 분액깔데기를 사용하여 클로로포름으로 수회 추출했다. 얻은 클로로포름 추출액을 증류수로 세정한 후, 황산나트륨으로 건조했다. 그 후, 클로로포름을 제거하여 백색고체를 얻었다. 그것을 대량의 헥산으로 세정 후, 감압건조하여 백색분말상의 생성물 ②를 얻었다. (수율: 67%); $^1\text{H-NMR}$ δ 3.09(m, CH_2CO , 2H), 4.94(m, CHCH_2 , H), 5.92(s, CCl_3CH , H).

5-Dodecyloxycarbonylmethyl-2-trichloromethyl-1,3-dioxolan-4-one ④의 합성 : 80 g (0.31 mol)의 ②를 플라스크에 넣어 질소치환 후, 오염화인(PCl_5) 63.4 g (0.31 mol)을 넣어 교반하였다. POCl_3 의 생성에 의해 반응계가 액화된 후, 소량의 benzene을 넣어 교반하였다. 반응종료 후, 벤젠, POCl_3 을 감압하에서 제거한 후, 백색분말상의 5-chlorocarbonylmethyl-2-trichloromethyl-1,3-dioxolan-4-one ③을 얻었다. ③에 dodecanol 84 g (0.4 mol)을 첨가하여 70 $^\circ\text{C}$ 에서 가열, 20시간 반응을 계속하여 액상의 생성물 ④를 얻었다. (수율: 58%); $^1\text{H-NMR}$ δ 0.88(t, CH_2CH_3 , 3H), 1.27(s, $(\text{CH}_2)_{10}$, 20H), 3.02(m, CH_2CO , 2H), 4.14(t, OCH_2 , 2H), 4.87(m, CHCH_2 , H), 5.92(s, CCl_3CH_2 , 2H). 이 생성물을 그대로 다음의 반응에 사용하였다.

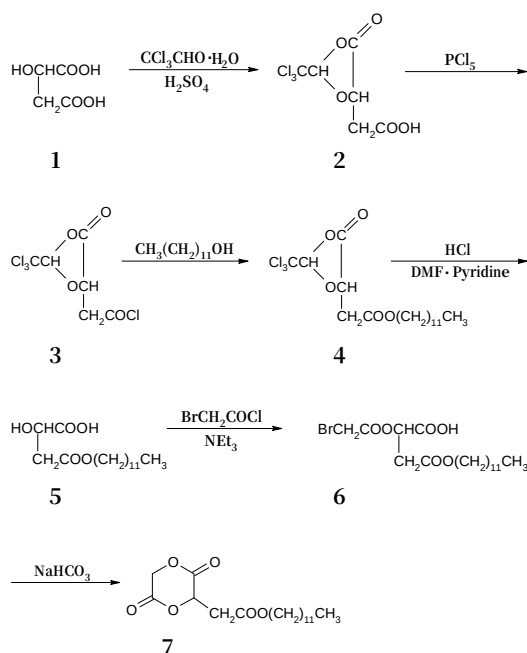
β -Dodecyl malate ⑤의 합성 : 전항에서 얻은 ④를 포함한 반응용액 약 57 g을 DMF/pyridine(50/50 wt%)의 혼합용액 500 mL에 혼합시켜, 12 N-HCl 100 mL을 서서히 적하시켰다. 그때의 용액온도는 60 $^\circ\text{C}$ 이하를 유지하도록 했다. 적하종료 후, 실온에서 6시간 교반하고 재차 12 N-HCl 100 mL을 적하하였다. 이와 같은 적하, 교반을 5회 반복하였다. 반응용액을 얼음물속에 넣고 계속하여 염화암모늄을 첨가하여 포화시킨 후, 분액깔데기에 넣어 에테르로 수회 추출했다. 얻은 에테르 추출액을 황산나트륨으로 건조시키고 황산나트륨을 여과하여 분류 후, 에테르 용액을 소량의 탄산수소칼륨 수용액으로 추출하였고, 추출수용액이 염기성으로 될 때까지 추출을 수회 계속

했다. 추출액을 증류수로 세정한 후, 전과 같이 황산나트륨으로 건조했다. 황산나트륨을 여과하여 분류 후, 초산에틸을 감압 제거하여 백색분말상 생성물 ⑤를 얻었다. 이 생성물을 에테르로 세정하고 건조하여 다음 단계의 반응에 사용하였다. (수율: 39%); $^1\text{H-NMR}$ δ 0.88(t, CH_2CH_3 , 3H), 1.27(s, $(\text{CH}_2)_{10}$, 20H), 2.92(m, CH_2CO , 2H), 4.14(t, OCH_2 , 2H), 4.87(m, CHCH_2 , H).

O-(Bromoacetyl)malic acid β -dodecylester ⑥의 합성 : 질소분위기 하에서 19 g (63 mmol)의 ⑤와 염화브롬아세틸 12.9 g (82 mmol)을 에테르 200 mL에 용해하였다. 이 용액을 5 $^\circ\text{C}$ 이하로 유지하면서 트리ethyl아민 7.0 g (69 mmol)을 포함한 에테르용액을 약 30분간에 걸쳐 적하한 후, 실온에서 6시간 교반을 계속했다. 반응종료 후, 트리ethyl아민의 염산염을 여과하고, 여과액에 증류수를 첨가하여 수회 세정했다. 얻은 에테르용액을 황산나트륨으로 탈수한 후, 에테르를 감압 제거하여 담황색 액체상의 생성물 ⑥을 얻었다. (수율: 90%); $^1\text{H-NMR}$ δ 0.88(t, CH_2CH_3 , 3H), 1.27(s, $(\text{CH}_2)_{10}$, 20H), 2.96(m, CH_2CO , 2H), 3.90(m, BrCH_2 , 2H), 4.23(t, OCH_2 , 2H), 5.57(t, CHCH_2 , H), IR(liquid) 3500-2800(ν_{OH}), 2950-2900(ν_{CH} , ν_{CH_2}), 1740-1700($\nu_{\text{C=O}}$), 1400-1360(δ_{CH_3} , δ_{CH_2}), 1250-1100($\delta_{\text{C-O-C}}$) cm^{-1} . 이것을 그대로 다음 단계의 환화반응에 사용하였다.

DMD ⑦의 합성 : 탄산수소나트륨 5.4 g (64 mmol)을 DMF에 혼합시켜 실온에서 교반하면서 18 g (43 mmol)의 ⑥을 포함한 DMF용액 100 mL을 약 8시간에 걸쳐 적하시켰다. 적하종료 후, 같은 온도에서 12시간 교반을 계속하여 불용의 백색침전(미반응의 탄산수소나트륨을 포함)을 분류하고, DMF를 감압에 의하여 제거했다. 얻은 백색침전물을 아세톤에 용해시켜 불용물(브롬화나트륨)을 제거한 후, 아세톤을 감압하에서 제거하고 이소프로판올 500 mL로 재결정하여 생성물 ⑦을 얻었다. (수율: 42%); $^1\text{H-NMR}$ δ 0.88(t, CH_2CH_3 , 3H), 1.26(s, $(\text{CH}_2)_{10}$, 20H), 3.13(d, CH_2CO , 2H), 4.14(t, OCH_2 , 2H), 5.06(q, OCH_2CO , 2H), 5.29(t, CHCH_2 , H), IR (liquid) 2980-2900(ν_{CH} , ν_{CH_2}), 1760-1730($\nu_{\text{C=O}}$), 1420-1360(δ_{CH_3} , δ_{CH_2}), 1260-1160($\delta_{\text{C-O-C}}$) cm^{-1} (이상 Scheme 2).

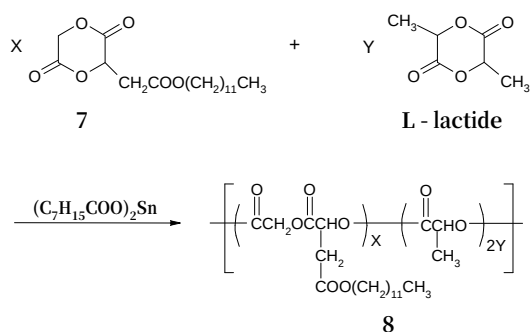
Malic acid 함유 공중합체의 합성 및 필름표면의 RGD 고정화



Scheme 2. Guided tissue regeneration technique.

DMD와 L-lactide의 공중합 : 500 mL의 둥근 플라스크에 소정량의 DMD와 L-lactic acid를 첨가하여 감압건조 후, 질소치환 하였다. 이것을 160 °C로 가열하여 용융혼합 후, 단량체 전체의 량에 대하여 촉매량이 0.1 mol%가 되도록 앞의 tin(II) octanoate용액을 첨가했다. 상압하에서 10분 정도 교반한 후, 반응계를 서서히 감압하여 100 mmHg에 고정하여 160 °C에서 2시간 중합을 시행하였다. 그 후, 생성물을 실온까지 냉각시킨 후, 클로로포름에 용해시켜 다량의 에테르에 재침전시켰다. 침전물을 여과 후, 감압건조하여 백색분말상의 glycolic acid-β-dodecyl-malate-lactic acid 공중합체 (D-PGML)을 얻었다 (Scheme 3). (수율: 90%); ¹H-NMR δ 0.88(t, CH₂CH₃, 3H), 1.26(t, (CH₂)₁₀, 20H), 1.58(d, CHCH₃, 3H), 2.98(m, CHCH₂, 2H), 4.20(q, CH₂CH₃, 2H), 4.11(m, COOCH₂, 2H), 4.77(q, OCH₂CO, 2H), 5.17(q, CHCH₃, H), 5.60(m, CHCH, H).

D-PGML필름의 제작 : 전향에서 얻은 공중합체 ⑧을 클로로포름용액에 용해(농도 : 150 mg/mL)시켜 시판의 폴리에스테르 필름위에 cast하여 공기중에 방치 고화시킨 후, 충분히 감압건조하여 필름으로 제작하



Scheme 3. Preparation of DMD (7).

였다(두께 : 약 60 ~ 80 mm).

D-PGML필름표면의 가지사슬 탈보호 : 소정의 필름을 3.75 N NaOH 수용액 중에 소정시간 침지한 후, 0.01 N HCl과 증류수로 세정 후, 감압건조했다.

필름표면에 대한 RGD Peptide의 고정화 : 전향에서 얻은 필름을 1 cm × 4 cm의 크기로 잘라 얼음으로 냉각시킨 이소프로판올 중에 침지하여 소정량의 dicyclohexyl carbodiimide (DCC)를 첨가한 후, 얼음냉각하에서 5분, 실온에서 1시간 반응시켰다. 이 DCC-활성화 필름을 이소프로판올로 수회 세정한 후, 소정량의 RGD를 용해한 70% 이소프로판올 수용액 중에 침지하여 실온에서 2일간 놓아둠으로써 고정화시켰다. 반응 후, 필름을 증류수로 수회 세정하고 감압건조했다.

Ninhydrine반응에 의한 Peptide 고정화량의 정량 : 얻은 고정화 필름을 1 cm × 1 cm의 크기로 잘라 증류수 0.3 mL, PBS(-) 1.54 mL, 4 N HCl 0.93 mL의 혼합용액 중에 침지하여 autoclave 속에서 124 °C로 45분간 가열하여 RGD를 가수분해 처리했다. 처리 후, 3.75 N NaOH 1.0 mL를 첨가하여 중화시키고, ninhydrine용액 1.0 mL를 질소분위기하에서 첨가했다. 120 °C의 autoclave 속에서 1분간 가열한 후, 냉각시켜 얻은 용액의 UV스펙트럼을 측정, 570 nm의 흡광도로부터 아미노산의 정량을 구했다.

결과 및 고찰

DMD 및 D-PGML의 합성. L-malic acid (L-MA)와 glycolic acid (GA)의 복합단위로된 DMD의 합성 및 DMD와 L-lactide의 공중합은, 앞의 실험항에서 설

명한 것과 같은 방법에 의해 실시하였다. 촉매로써는 이전부터 경험에 의해 독성이 상당히 낮은 것이 알려진 tin(II) octanoate를 사용하였으며, DMD와 L-lactide는 tin(II) octanoate의 존재하에서 같은 정도의 중합성을 가지기 때문에, 단량체의 첨가비를 변화 시킴으로써 공중합 조성을 제어할 수 있다. 먼저, 각 종의 첨가비로 공중합의 검토를 행하였다. 중합온도를 120 °C이상으로 함에 의해 중합이 개시됨과 동시에 중합계가 균일하게 진행되었다. 생성된 고분자의 분자량과 수율은 중합온도의 상승에 따라 증가하고 160 °C가 최대가 되어 170 °C 정도가 되면 생성물에 변색이 관찰되어 중합온도를 160 °C로 하였다. 중합온도를 160 °C로 유지하면서 촉매량을 0.1 mol%로 하였을 때, 고분자의 수율은 반응시간에 따라 증가하고 2시간 정도에 최대에 달하였고, 그 이상 반응시켜도 변화는 관찰되지 않으므로 반응시간은 2시간으로 하였다. 이상의 검토결과에 의해 최적 중합조건은 중합 온도 160 °C, 반응시간 2시간, 촉매량 0.1 mol%로 결정하였다.

Table 1에 이와 같은 조건에서 행한 대표적인 공중합 결과를 나타내었다. DMD의 첨가비가 5 wt%까지는 생성 고분자의 ^1H -NMR의 적분비에 의해 구한 값과 거의 일치하여 DMD의 전량이 공중합에 참여하는 것을 알았다. 또한 재침전 후 회수한 에테르용액에 용해된 생성물을 GPC, ^1H -NMR로 분석한 결과 L-lactide가 소량 포함되어 있을뿐 DMD는 검출되지 않았다. 그러나 수율이 90% 이상에 머무르고 있는 것은, 중합 도중 승화에 의한 손실로 생각된다. DMD/L-lactide의 공중합 조성비가 3/97인 D-PGML-3은 수평균 분자량이 감소함을 알 수 있다. 각 단계의 ^1H -

Table 1. Typical Results of Copolymerization^a of DMD and L-lactide

Run No.	feed ratio DMD/L-lactide	yield (%)	unit ratio ^b DMD/L-lactide	M_n^c ($\times 10^{-4}$)	T_m^d (°C)
1	0/100	98	0/100	8.2	175
2	3/97	93	3/97	3.5	160
3	5/95	90	5/95	2.6	154
4	10/90	87	10/90	1.8	141

^a At 160 °C for 2 h with 0.1 mol% of tin(II) octanoate.

^b By ^1H -NMR spectra.

^c By GPC with chloroform as the eluent.

^d By DSC curves.

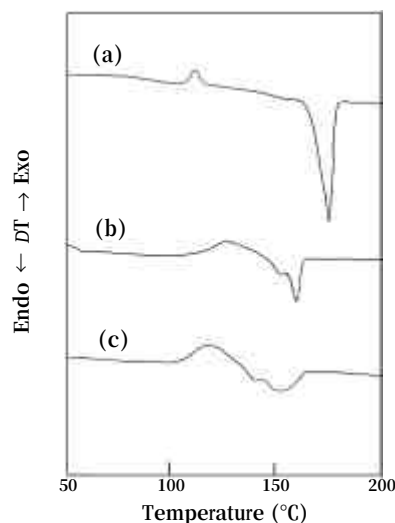


Figure 1. DSC curves of D-PGML (8). (a) PLLA, (b) DMD/Lac=3/97, and (c) DMD/Lac=5/95.

NMR과 IR피크의 귀속은 실험항에 나타내었다.

Figure 1에 각 공중합체의 DSC곡선을 나타내었다. 110 °C부근에 PLLA단위에 유래하는 결정화 피크 (T_c), 170 °C부근에는 그의 결정융해피크(T_m)가 관찰되었다. 후자는 DMD의 조성비가 증가함에 따라 크게 저하하는 경향을 나타내었으며, 피크의 형태도 DMD의 피크가 현저하게 나타나고 PLLA단위에 유래하는 결정화 피크가 폭이 넓게 나타나는 것을 알 수 있다.

필름표면의 가지사슬 탈보호 D-PGML-3에서는 그 MA단위의 가지사슬 카복실기가 dodecyl기로 보호되어져 있기 때문에 필름을 알칼리 처리하여 표면의 가지사슬 탈보호를 행하여 D-PGML-3(H)필름을 얻었다. 장사슬 알킬의 dodecyl기는 소수성을 나타내기 때문에 알칼리 처리에 의해 표면만이 반응이 일어나고 필름내부는 반응하지 않는다. 알칼리 가수분해 시간은, 필름의 물에 대한 접촉각을 측정하여 결정했다. 필름의 접촉각측정의 결과를 Figure 2에 나타내었다.

알칼리처리 전의 필름의 접촉각은 약 85°였으나 가수분해 5분 후에 약 70°가 되고 그 후는 거의 변함이 없었다. 이와 같은 결과로부터 필름표면에는 친수성이 증가되어 있는 것으로 추측할 수 있다. 따라서 주사슬의 절단과 dodecyl malate 단위의 가지사

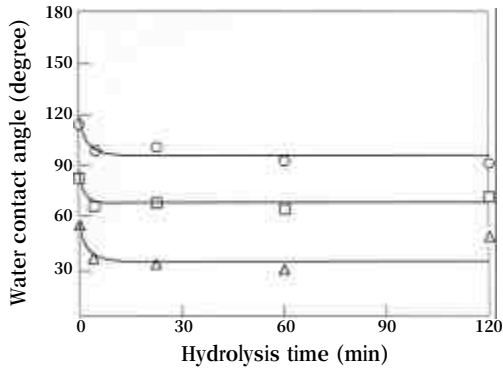


Figure 2. Changes in contact angle to water as a function of hydrolysis time for D-PGML-3 films. (○ : advancing, △ : receding, □ : contact angle).

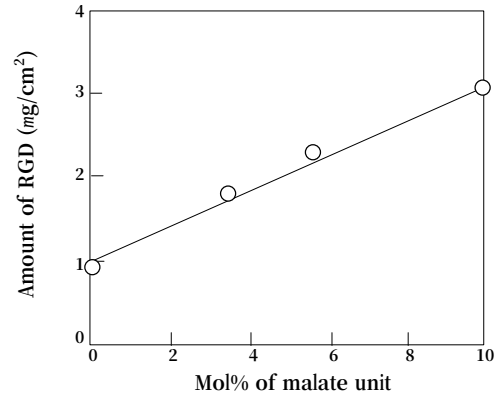


Figure 3. Amount of immobilized RGD on various films as a function of mol% of malate unit.

슬의 탈보호에 의한 free의 carboxyl기가 표면에 발생하였다고 생각된다. 이 결과로 본 연구에서는 필름의 가수분해 시간을 20분으로 하였다.

필름표면에 대한 RGD의 고정화. 알칼리 가수분해로 생긴 카르복실기를 DCC에 의해 활성화하는 단계에서 최적 반응시간이 약 45분으로 널리 알려져 있으나 본 연구에서는 DCC에 의한 활성화시간을 60분간, DCC첨가농도 200 mg/mL, 용매는 이소프로판올을 사용했다. 또 활성화한 카르복실기에 대한 RGD고정화 반응시간은 고정화량이 최대에 달하는 48시간으로 했다.

본 연구에서 사용한 RGD는 아미노말단이 초산염의 형태를 취하고 있으므로 트리에틸아민을 첨가함으로써 아미노산을 활성화시켰다. 그 결과 1.70 mg/cm²의 RGD를 D-PGML-3의 필름표면에 고정화한 D-PGML-3(R)필름을 얻었다. 대조실험으로써 행한 PLLA 필름에서는 0.93 mg/cm²의 고정화량인 것으로 보아 3 wt%의 DMD성분의 도입에 의한 효과를 알 수 있었다. 또한, 5 wt% 도입한 D-PGML-5 및 10 wt% 도입한 D-PGML-10 필름에서는 각각 2.09 mg/cm², 3.0 mg/cm²의 RGD가 고정화 되어있는 결과를 Figure 3에 나타내었다. 즉 MA 단위의 도입량의 증가에 따라 RGD의 고정화량이 증가하는 것을 잘 나타내었다.

D-PGML-3필름의 장기가수분해. D-PGML-3필름을 사용하여 배양액 중에서 필름의 가수분해속도 평가를 하였다. 각 시료필름의 중량잔존율을 Figure 4에 나타내었다. D-PGML-3 및 그것을 표면가수분

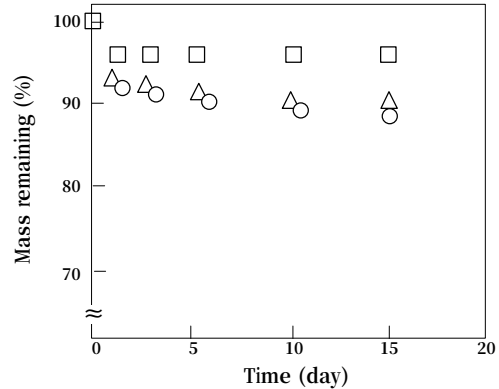


Figure 4. Changes in mass as a function of incubation time in medium for the various films. [○ : D-PGML-3, △ : D-PGML-3(H), □ : D-PGML-3(R)].

해시킨 D-PGML-3(H)는 거의 비슷한 분해거동이 관찰되었으나, RGD를 고정화한 D-PGML-3(R)에서는 중량감소 속도가 상당히 늦은 것을 알 수 있었으며, 모든 필름에 있어 이 시간범위 내에서는 큰 분해가 일어나지 않은 것으로 보아 분해까지는 3~6개월 정도가 필요한 것으로 추측된다.

결론

Malic acid단위의 가지사슬을 dodecyl기로 보호한 D-PGML-3를 합성하여, 그 필름을 3.75 N NaOH 중에 침적시켜 탈보호를 행하였다. 침적시간 5분만에 필름은 물에 대한 접촉각이 약 70°로 일정해졌고 이

필름을 RGD고정화한 결과, 1.70 mg/cm^2 의 RGD를 고정화시켰다. 또한, 15일간의 인큐베이션 후에도 필름의 열화는 관찰되지 않고 중량도 크게 변화하지 않았다. 이상의 결과로부터 D-PGML 필름은 필름표면에 세포접착성 펩티드를 고정화할 수 있고, D-PGML은 서서히 분해되는 것이 관찰되어 장기간에 있어서는 잔류 및 축적이 발생하지 않을 것이 확인된다. 따라서 RGD고정화한 D-PGML은 생체재료의 이상적기법인 GTR법으로의 적용이 기대된다.

감사의 글 : 본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (R02 - 2000 - 00384) 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. M. Vert, S. Li, and H. Garreau, *J. Controlled Release*, 16, 15 (1991).
2. M. Vert, J. Mauduit, and S. Li, *Biomaterials*, 15, 1209 (1994).
3. F. W. Cordewener, F. R. Rozema, R. R. Bos, and G. Boering, *J. Mate. Sci. Mater. Med.*, 6, 211 (1995).
4. T. S. Leenstra, J. C. Maltha, and A. M. Kuijpers - Jagtman, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 6, 445 (1995).
5. D. A. Barrear, E. Zylstra, P. T. Lansburg, and R. Langer, *Macromolecules*, 28, 425 (1995).
6. P. J. A. I. Veld, P. J. Dijkstra, and J. Feijen, *Makromol. Chem.*, 193, 2713 (1992).
7. C. W. Lee and Y. Kimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 69, 1787 (1996).
8. D. B. Johns, R. W. Lenz, and M. Vert, *J. Bioact. Compat. Polym.*, 1, 47 (1986).
9. Y. Kimura, K. Sirotani, H. Yamane, and T. Kitao, *Makromol. Chem.*, 21, 3338 (1988).
10. Y. Kimura, K. Sirotani, H. Yamane, and T. Kitao, *Polymer*, 34, 1741 (1993).
11. M. D. Pierschbacher and E. Ruoslahti, *Nature*, 309, 30 (1984).
12. W. H. Carothers, G. L. Dorougy, and F. J. V. Natta, *J. Am. Chem. Soc.*, 54, 761 (1932).