

선형 및 분지 구조의 폴리(에틸렌 글리콜)/폴리카프로락톤 공중합체의 합성 및 특성 검토

현 훈 · 김문석* · 강길선† · 이종문 · 이해방*

전북대학교 유기신물질공학과, *한국화학연구원 나노생체재료연구팀

(2005년 12월 22일 접수, 2006년 3월 8일 채택)

Synthesis and Characterization of Linear and Branched Copolymers of Poly(ethylene glycol) and Poly(ϵ -caprolactone)

Hoon Hyun, Moon Suk Kim*, Gilson Khang†, John M. Rhee, and Hai Bang Lee*

Department of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University, 664-14, Dukjin Ku, Jeonju 561-756, Korea

*Nanobiomaterials Laboratories, Korea Research Institute of Chemical Technology, P. O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-506, Korea

(Received December 22, 2005; accepted March 8, 2006)

초록 : 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)과 생분해성 폴리에스터 그룹의 폴리카프로락톤(PCL)으로 이루어진 선형 및 분지 구조의 공중합체를 합성하고 분지 구조에 따른 다양한 특성을 비교하였다. 선형 및 분지 구조의 1-arm-PEG-PCL, 2-arm-PEG-PCL, 4-arm-PEG-PCL 및 8-arm-PEG-PCL 공중합체는 단량체 활성화제로서 HCl · Et₂O의 존재 하에 상온에서 카프로락톤(ϵ CL)의 개환중합에 의해 합성하였다. 합성된 선형 및 분지 구조의 공중합체는 ¹H-NMR, GPC, DSC 및 XRD의 측정을 통해 특성을 분석하였다. 그 결과 공중합체의 가지 수에 따라 열적 특성 및 결정성이 다르게 나타나는 것을 확인하였다. 그리고 각 공중합체의 수용액상에서의 미셀 특성은 ¹H-NMR, 광산란기, 원자 현미경 및 형광 측정기를 이용하여 확인하였다. 공중합체의 가지 수가 증가할수록 임계 미셀 농도 값과 미셀의 직경이 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한 원자 현미경을 통해 관찰된 미셀의 형태는 선형 및 분지 구조의 공중합체 모두 구형으로 존재함을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 분자 설계를 통해 선형 및 분지 구조의 공중합체를 합성하여 각 공중합체의 분지 구조에 따른 다양한 특성을 비교하였으며 수용액상에서 형성된 미셀의 거동을 검토하여 소수성 약물 전달체로서의 가능성을 확인하였다.

Abstract : Linear and branched copolymers consisting of poly(ethylene glycol) (PEG) and poly(ϵ -caprolactone) (PCL) were prepared to compare the characterization of star-shaped copolymers with various molecular architecture. Linear and branched PEG-PCL (1-arm, 2-arm, 4-arm, and 8-arm) copolymers were synthesized by the ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone in the presence of HCl · Et₂O as a monomer activator at room temperature. The synthesized copolymers were characterized with ¹H-NMR, GPC, DSC, and XRD. As a result of the DSC and XRD, each copolymers showed different thermal properties and crystallinity according to the number of arms. The micellar characterization of linear and branched copolymers in an aqueous phase was carried out by using NMR, dynamic light scattering, AFM, and fluorescence techniques. The critical micelle concentration (CMC) and diameters of micelles depended on the number of arms. Most micelles exhibited a spherical shape in AFM. In this study, we characterized star-shaped PEG-PCL copolymers and investigated their molecular architecture effect on the various properties. Furthermore, we confirmed that the micelles formed with linear and branched PEG-PCL copolymers have possibility as a potential hydrophobic drug delivery vehicle.

Keywords : linear, branched, PEG, PCL, ring-opening polymerization, micelle.

서 론

분지형 고분자의 독특한 성질 때문에 이에 관한 연구가 점점 관심을 받고 있다.^{1,2} 비닐 단량체로부터 분지형 고분자의 중합은 리빙 양이온 중합과 음이온 중합 그리고 최근에는 라디칼 중합법을 이용하여 연구되고 있다. 일반적으로 분지형 고분자는 코어를 중심으로 다작용기를 가진 개시제의 사슬에 단량체를 중합하여 분지형으로 만

드는 방법과^{3,4} 선형 고분자 개시제의 말단기에 반응 활성기를 도입하여 가지 수를 늘리고 단량체를 가교 결합시켜 분지형으로 만드는 방법이 있다.^{5,11} 이러한 다양한 분지형 고분자는 이미 의료 분야 및 공학 등의 여러 분야에서 적용이 보고되고 있다.¹²⁻¹⁹

폴리에스터 계열의 생분해성 고분자 중에서 카프로락톤(CL)로부터 중합되는 폴리카프로락톤(PCL)은 생분해 특성과 생체적합성 때문에 약물전달체 및 다양한 의료용 분야의 연구에 응용되고 있다.^{20,26} 이러한 특성을 가진 PCL을 이용한 선형 및 분지형 고분자는 생체적용 물질로서의 잠재적인 적용 가능성이 대단히 크다.^{27,28} 또한 현재까지 널리 사용되고 있는 생체적합성 고분자 중 하나인 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)

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

은 물과 유기 용매에 대한 높은 용해도를 가지며 비독성이고 면역 작용에 거부감이 없다.^{29,35} PEG는 친수성이며 결정성 고분자로서 용액과 고체 상태에서의 거동이 매우 흥미롭기 때문에 PEG를 함유한 선형 및 분지형 고분자에 대한 연구가 활발히 진행 중이다.^{36,39} 이러한 친수성의 PEG와 소수성의 PCL을 이용한 선형 및 분지 구조의 공중합체는 양친성을 가지게 되어 약물 전달 시스템에 적용될 수 있으며,^{40,2} 이들 공중합체의 독특한 분자 구조로 인해 수용액상에서 미셀을 형성할 수 있다. 미셀은 소수성의 내부 구조를 가지기 때문에 소수성 약물을 선택적으로 포접하여 약물 전달체로서의 잠재적인 가능성이 매우 크다.⁴³

본 연구에서는 분지 구조의 분자 설계를 위해 다양한 분자 구조로 만들어진 생체적합성이며 친수성인 PEG를 개시제로 하고 생분해성 폴리에스터 그룹의 PCL을 단량체로 하여 개환 중합을 통해 선형 및 분지 구조의 공중합체를 합성하였다. 그리고 각각의 합성된 공중합체의 분자 구조에 따른 다양한 특성을 비교하였으며 수용액상에서 형성된 미셀의 거동을 검토하여 약물 전달체와 같은 생체재료로의 응용 가능성을 확인하고자 하였다.

실 험

시약 및 재료 개시제로서 메톡시 PEG(MPEG, Aldrich, Milwaukee, WI, USA), PEG(Aldrich), 4-arm-PEG(Nof Co., Japan) 및 8-arm-PEG(Nof Co., Japan)는 평균분자량 2000 g/mole을 사용하였고 반응 단량체로서 CL(Aldrich)은 칼슘하이드라이드(CaH₂, Aldrich)하에서 감압 정제하여 사용하였다. CL의 중합촉매로서 HCl · Et₂O(Aldrich)는 정제과정 없이 사용하였으며 MPEG-PCL, PCL-PEG-PCL, 4-arm-PEG-PCL 및 8-arm-PEG-PCL의 반응용매로서 사용된 메틸렌클로라이드(CH₂Cl₂, Jin Chem. Pharm. Co. Ltd., Korea)는 연속적으로 칼슘클로라이드(CaCl₂, Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 칼슘하이드라이드에서 질소기류 하에서 정제하였다. 반응 후 고분자의 침전을 위하여 헥산(Junsei chemical Co., Ltd., Japan)은 고성능 액체 크로마토그래피 등급을 사용하였다. 분자량과 분자량분포를 확인하기 위한 젤투과크로마토그래피(GPC) 분석은 이동상으로 클로로포름(Fisher Scientific Korea Ltd., Korea)을 사용하였고, 표준시료로서 폴리스티렌(Showa Denko, Japan)을 사용하였다. 합성된 각각의 공중합체의 임계 미셀 농도를 측정하기 위하여 형광 물질로서 파이렌(Aldrich)을 사용하였다.

MPEG-PCL의 합성. 분자량 4000 g/mole의 공중합체를 합성하기 위하여 다음과 같은 과정을 실시하였다. 개시제인 MPEG 2 g(1 mmol) 및 톨루엔 80 mL을 잘 건조된 100 mL 등근 플라스크에 넣고 딘 스타트 트랩을 사용하여 5시간 동안 130 °C에서 공기 증류를 실시하였다. 증류 후 톨루엔을 모두 제거하고 MPEG를 실온으로 냉각시킨 후 미리 정제된 CL 2 g(17.5 mmol)을 주사기를 이용하여 넣은 후 반응용매로서 미리 정제된 메틸렌클로라이드를 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 500 mL의 헥산에 반응물을 서서히 떨어뜨리면서 침전시켜주었다. 침전물은 메틸렌클로라이드에 녹여 거름종이로 거른 후 회전 증발기를 통하여 용매를 제거하고 감압 하에서 건조시켰다. MPEG-PCL의 중합식은 Figure 1(a)에 나타내었다.

PCL-PEG-PCL, 4-arm-PEG-PCL 및 8-arm-PEG-PCL의 합성. MPEG-PCL 블록공중합체의 합성 과정에서 사용된 방법으로 중합을 실시하였다. 각 공중합체의 중합식은 Figure 1(b), (c) 및 (d)에 나

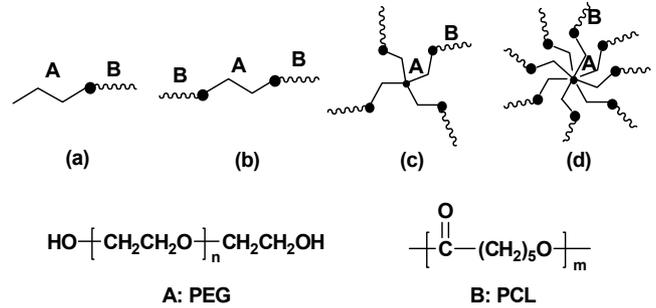


Figure 1. Polymerization scheme and molecular architectures of linear and branched PEG-PCL copolymers. (a) 1-arm, (b) 2-arm, (c) 4-arm, and (d) 8-arm (A : PEG block, B: PCL block).

타내었다.

블록 공중합체의 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 물 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, PCL-PEG-PCL, 4-arm-PEG-PCL 및 8-arm-PEG-PCL의 선형과 분지 구조에 따른 열적 특성을 관찰하기 위하여 DSC(TA Instrument DSC 3100, Dupont, USA)를 이용하여 5 °C/min의 승온 속도로 -50~150 °C의 범위에서 T_g와 T_m을 결정하였다. 또한, 결정 형태의 변화를 관찰하기 위하여 XRD(D/MAX-IIIb, Rigaku, Japan)를 사용하여 5 °/min의 속도로 2 θ의 값 0~40°의 범위에서 결정성을 확인하였다. 각 공중합체의 임계 미셀 농도를 결정하기 위하여 형광 측정기(F-4500 FL Spectrophotometer, Iex 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 수용액상에서 형성된 미셀의 직경을 측정하고자 광산란기(ELS-8000, Otsuka Electronics, Japan)를 이용하여 측정하였다. 그리고 각 공중합체의 수용액상에서 형성된 미셀의 형태를 관찰하기 위하여 원자 현미경(Nanoscope IV instrument, Digital Instruments Inc.)을 이용하여 이미지를 측정하였다.

임계 미셀 농도의 결정. 합성된 각 공중합체의 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 1.2×10⁶ M의 파이렌 용액을 제조하였다. 또한 각각의 고분자 20 mg을 증류수 10 mL에 녹여서 2.0 mg/mL의 고분자 용액을 만든 후 1.0×10⁷ 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 스펙트럼에 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 블록 공중합체의 수용액상에서 형성된 미셀 직경의 측정과 형태를 관찰하기 위하여 블록 공중합체를 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

블록 공중합체의 합성. 선형 및 분지 구조의 다양한 분자 구조를 가지는 개시제를 사용하여 각각의 특성을 비교 분석하기 위하여 친수성의 MPEG, PEG, 4-arm-PEG 및 8-arm-PEG와 소수성의 PCL로 구성된 선형과 분지 구조의 공중합체를 합성하였다. MPEG, PEG, 4-arm-PEG 및 8-arm-PEG ($\bar{M}_n = 2000$ g/mole)을 고분자 개시제로 하여 다양한 분자 구조의 공중합체를 Table 1에 나타낸 것과 같이 개환 중합을 이용하여 98~99%의 수율로 합성하였다. 각 공중합체의 합성은 산 촉매를 사용하여 실온에서 중합을 실시하였다.^{44,45} 합성된 각 공중합체의 분자량 분포를 확인하기 위해 GPC를 통한 분석 결과 1.14~1.31의 범위로 분산도를 가짐을 확인하였다. 또한 분자 구조에 따른 GPC 상의 분자량과 분자량 분포의 변화를 분석하기 위하여 중합 전의 PEG와 중합 후의 공중합체를 비교하였다. 그 결과 Table 2와

Table 1. Synthesis of PEG-PCL Linear and Branched Copolymers

No.	$[\epsilon\text{-CL}]/[\text{PEG}]$	\bar{M}_n calculated	Yield(%) ^b	\bar{M}_n NMR ^c	\bar{M}_w/\bar{M}_n ^d
1-arm ^a (MPEG-PCL)	17.52	2000-2000	98	2000-2060	1.14
2-arm ^a (PCL-PEG-PCL)	17.52	2000-2000	98	2000-2100	1.24
4-arm ^a (4-arm-PEG-PCL)	17.52	2000-2000	99	2000-2060	1.22
8-arm ^a (8-arm-PEG-PCL)	17.52	2000-2000	99	2000-2090	1.31

^a $[\text{HCl}]/[\text{PEG}]=2$, temperature=room temperature, time=24 h. ^b n-Hexane insoluble part. ^c Determined by ¹H NMR. ^d Determined by ¹H NMR. ^e Measured by GPC (based on standard polystyrene).

Table 2. The GPC Properties of Molecular Structure

No.	Initiator		Synthesis	
	\bar{M}_n	PDI ^a	\bar{M}_n	PDI ^a
1-arm	2116	1.09	3868	1.14
2-arm	1891	1.11	3732	1.24
4-arm	1493	1.10	3381	1.22
8-arm	618	1.14	1448	1.31

^a Measured by GPC (based on standard polystyrene).

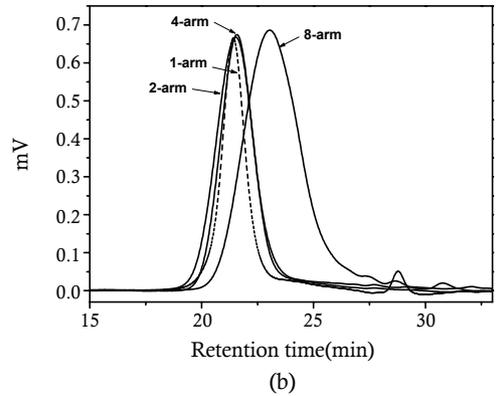
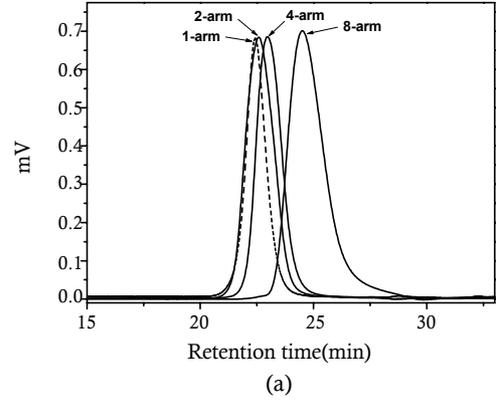


Figure 2. GPC curve of 1-arm, 2-arm, 4-arm and 8-arms in variation with (a) initiator and (b) synthesis.

Figure 2에 나타낸 것과 같이 개시제인 PEG가 모두 2000 g/mole의 분자량을 가지고 있더라도 분자 구조에 따라 \bar{M}_n 의 차이를 보였으며, 중합 전의 PEG와 중합 후의 공중합체에서 모두 1-arm에서 8-arm으로 가지가 증가할수록 \bar{M}_n 의 값이 감소하는 경향을 보였다. 이는 4-arm과 8-arm처럼 가지가 많은 분자 구조는 GPC 상에서 수력학적 부피가 작아 다공성 관의 다공 내부에서 머무르는 시간이 길어져 선형 구조인 1-arm과 2-arm에 비해 상대적으로 분자량이 작게 측정되는 것으로 보인다. 또한 다분산도 값의 경우에서도 1-arm은 중합 전의 PEG와 중합 후의 공중합체에서 큰 차이를 보이지 않는 반면, 8-arm에서는 중합 후의 공중합체에서 상대적으로 큰 차이를 보였다. 그리고 얻어진 고분자는 ¹H-NMR 분석을 통해 PCL의 특정 피크를 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 각 공중합체는 MPEG, PEG, 4-arm-PEG 및 8-arm-PEG를 개시제로 사용하여 단량체의 개환 중합으로 합성된 것을 확인할 수 있었다.

블록 공중합체의 특성 분석. 합성된 선형 및 분지 구조의 공중합체의 열적 특성과 결정성을 확인하기 위하여 시차주사열량계와 X-선 회절기를 사용하여 특성을 결정하였다. 블록 공중합체의 열적 특성으로는 Table 3에 나타낸 것처럼 PEG 블록의 경우에는 1-arm과 2-arm의 T_m 은 약 19 °C, 4-arm과 8-arm의 T_m 은 약 14 °C 부근에서 발열 피크를 확인할 수 있었고, ΔH_m 값은 1-arm과 2-arm에서는 2.7~5.6 J/g이며 4-arm과 8-arm에서는 54~57 J/g의 값을 보여 1-arm과 2-arm이 비슷한 T_m 과 ΔH_m 값을 보이고 또한 4-arm과 8-arm이 비슷한 T_m 과 ΔH_m 값을 보였다. 이 결과로 PEG 블록에서는 선형 구조의 1-

Table 3. The Thermal Properties and Degree of Crystallinity for 1-Arm, 2-Arm, 4-Arm and 8-Arm

No.	PEG Block		PCL Block		χ_c^b
	$T_m(^{\circ}\text{C})^a$	$\Delta H_m(\text{J/g})^a$	$T_m(^{\circ}\text{C})^a$	$\Delta H_m(\text{J/g})^a$	
1-arm	19.2	2.7	49.3	137.8	44.1
2-arm	19.6	5.6	40.1	101	39.7
4-arm	14.4	57	31.3	33.5	21.1
8-arm	14.1	54	20.6	10	10.7

^aMeasured by DSC. ^bDetermined by X-ray diffraction.

arm과 2-arm, 분지 구조의 4-arm과 8-arm이 각각 비슷한 열적 특성을 보이는 것을 알 수 있었다. 반면 PCL 블록의 경우에는 1-arm에서 8-arm으로 가기가 증가할수록 T_m 은 49.3~20.6 °C의 범위로 감소하였으며 ΔH_m 값 또한 137.8에서 10 J/g으로 감소하였다. 이는 1-arm의 고분자 사슬에는 단량체의 수가 균일하게 공중합되어 단량체들 간의 밀집 상태가 강해 상대적으로 높은 T_m 과 ΔH_m 값을 갖지만 2-arm, 4-arm 및 8-arm으로 가기의 수가 증가하면서 PEG 가지에 공중합된 단량체들 간의 밀집 상태가 약해져 T_m 과 ΔH_m 값을 감소시키는 것으로 보인다. 이를 통해 각 공중합체의 PEG 블록에서는 선형 구조와 분지 구조에 따라 다른 열적 특성을 보이지만 PCL 블록에서는 가지 수의 변화에 따라 다른 열적 특성을 가짐을 확인할 수 있었다. 그리고 X-선 회절기를 이용하여 선형 및 분지 구조의 공중합체의 결정성을 확인하였다. 마찬가지로 Table 3에 나타난 것과 같이 선형 구조인 1-arm과 2-arm의 결정화도는 각각 44.1%와 39.7%로 1-arm이 2-arm보다 높은 결정성을 보였으며 분지 구조인 4-arm과 8-arm의 결정화도는 각각 21.1%와 10.7%로 4-arm이 8-arm보다 높은 결정성을 보였다. 이를 통해 선형 구조가 분지 구조보다 결정화도가 높은 것을 확인하였으며 가지 수가 증가할수록 결정성이 낮아지는 것을 알 수 있었다. 이러한 경향은 가지 수가 증가할수록 T_m 과 ΔH_m 값이 감소하는 열적 특성과 일치하였다. 이는 높은 결정성을 가지는 PCL이 선형 구조에서는 일정하게 밀집되어 결정성이 유지되지만 분지 구조의 공중합체에서는 PCL이 여러 개의 가지에 랜덤하게 공중합되면서 결정성을 감소시키는 것으로 보인다. 이러한 결과를 통해 선형 구조와 분지 구조, 그리고 가지 수의 변화에 따라 열적 특성과 결정화도가 달라지는 것을 확인하였다.

NMR을 이용한 공중합체의 미셀 형성 측정. 각 공중합체가 수용액상에서 미셀을 형성함을 ¹H-NMR 스펙트럼을 통해 확인하였다. Figure 3에 나타난 것처럼 CDCl₃과 D₂O를 용매로 하여 4-arm의 구성 성분을 분석한 결과 CDCl₃에 용해시켜 측정한 공명 피크에서는 PEG 부분과 PCL 부분의 피크가 모두 확실하게 관찰된 반면 D₂O에 용해시켜 측정한 스펙트럼에서는 PCL 부분의 피크가 완만하게 관찰되었다. 이것은 4-arm 공중합체가 수용액상에서 미셀을 형성하여 소수성의 PCL 부분은 미셀의 내부에 위치하면서 미셀의 외부에 위치하는 친수성의 PEG 부분과 비교하면, PCL 부분은 물과 PEG 부분에 의해 분자 운동이 제한을 받게 되어 NMR 스펙트럼의 공명 피크가 완만하게 관찰되는 것으로 보인다. 이를 통해 선형 및 분지 구조의 공중합체가 수용액상에서 미셀을 형성함을 확인할 수 있었다.

임계 미셀 농도의 결정. 각각의 합성된 공중합체가 수용액상에서 형성한 미셀의 선형 및 분지 구조에 따른 임계 미셀 농도의 결정을 위하여 파이렌 용액을 제조하고 합성된 고분자를 녹여서 다양한 농도로 희석시킨 후 상온에서 형광 측정기를 이용하여 미셀 내부에 포집된 파이렌의 형광 강도를 측정하였다. 미셀 농도를 인식하는 형광

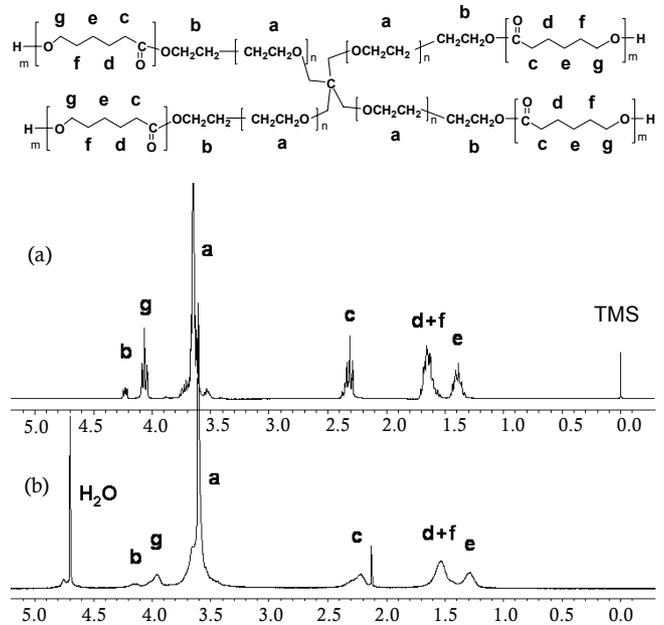


Figure 3. ¹H-NMR spectra of PEG-PCL branched copolymer (4-arm) in (a) CDCl₃ and (b) D₂O.

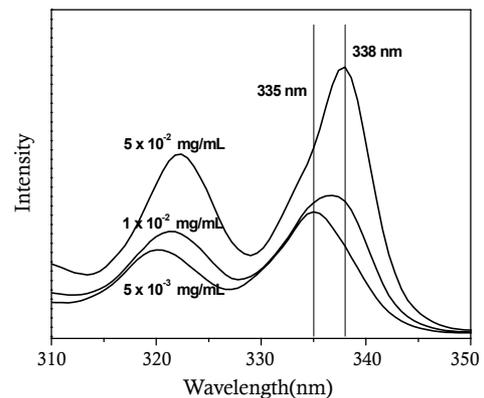


Figure 4. Excitation spectra of pyrene as a function of MPEG-PCL (1-arm) concentration in water at room temperature.

물질로서 파이렌을 사용한 형광 측정으로 임계 미셀 농도를 결정하였다. 각 공중합체를 수용액상에 용해시키면 친수성기의 PEG 부분은 외부에 위치하고 소수성기의 PCL 부분은 내부에 위치하여 미셀을 형성하게 된다. 파이렌은 소수성 분자로서 미셀 내부에 선택적으로 분포되어 미셀의 농도에 따라 포집되는 파이렌의 양도 달라지게 되어 인식되는 형광 특성이 공중합체마다 다르게 나타난다.

Figure 4에 나타난 것과 같이 335~338 nm의 파장에서 파이렌의 여기 스펙트럼이 미셀의 농도에 따라 이동하는 것을 볼 수 있었다. 이는 소수성기의 미셀 내부에 파이렌이 부분적으로 포집되어 있다는 것을 의미한다. 미셀 농도에 따른 스펙트럼의 이동을 통해 임계 미셀 농도를 결정할 수 있었다. Table 4와 Figure 5는 1-arm, 2-arm, 4-arm 및 8-arm의 임계 미셀 농도 값을 나타낸 것이다. Figure 5에서 보는 것처럼 335 nm와 338 nm의 강도 비율이 각 공중합체마다 특정 농도 값 이상에서 증가하는 것을 볼 수 있는데, 이는 미셀의 형성이 시작되는 농

Table 4. Critical Micelle Concentration (CMC) and Mean Hydrodynamic Diameters of Micelles Formed by PEG-PCL Linear and Branched Copolymers

No.	\bar{M}_n, NMR	CMC $\times 10^3$ ^a (mg/mL)	Diameter ^b (nm)
1-arm	2000-2060	1.26	154
2-arm	2000-2100	2.51	319
4-arm	2000-2060	3.98	465
8-arm	2000-2090	5.62	864

^aMeasured by the fluorescence technique. ^bMeasured by dynamic light scattering (the micelles prepared with 1% concentration of PEG-PCL linear and branched copolymers).

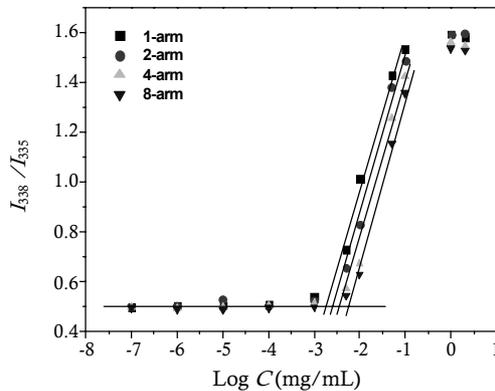


Figure 5. Plot of I_{338}/I_{335} (from pyrene excitation spectra) versus Log C for concentration (C) of 1-arm, 2-arm, 4-arm, and 8-arm.

도를 의미한다. 증가하기 시작하는 부분에 두 직선을 그어 교차하는 지점에서의 농도 값으로 임계 미셀 농도를 결정하였다.

1-Arm의 임계 미셀 농도 값은 1.26×10^3 mg/mL이고 2-arm은 2.51×10^3 mg/mL로 같은 선형 구조의 공중합체에서는 2-arm이 1-arm보다 임계 미셀 농도가 더 크게 나타났으며, 4-arm과 8-arm의 임계 미셀 농도 값은 각각 3.98×10^3 , 5.62×10^3 mg/mL로 같은 분지 구조의 공중합체에서는 8-arm이 4-arm보다 임계 미셀 농도가 더 크게 측정되었다. 이 결과를 통해 같은 분자 구조 내에서 가지 수가 증가할수록 임계 미셀 농도 값이 증가하는 것을 알 수 있었고, 또한 선형 및 분지 구조를 비교하면 역시 가지 수가 많은 분지 구조의 임계 미셀 농도 값이 큰 것을 확인할 수 있었다.

이는 Figure 6에 나타난 것처럼 선형 및 분지 구조의 공중합체가 수용액상에서 미셀을 형성하는데 있어 분자 구조와 미셀의 모식도에 따라 선형 구조의 공중합체는 소수기들이 서로 만나기가 분지 구조에 비해 쉬운 반면 분지 구조인 공중합체의 경우 소수기들이 모여서 미셀을 형성할 때 친수성 부분인 PEG 사슬의 구조가 중심점을 축으로 가지가 뻗어있는 형태를 가지고 있어서 가지 수가 많을수록 가지마다 랜덤하게 공중합되어 있는 소수기들이 서로 만나기가 어려워 임계 미셀 농도 값이 선형 구조에 비해 상대적으로 크게 나타나는 것으로 보인다. 이러한 결과를 통해 선형 및 분지 구조에 따라 수용액상에서 형성되는 임계 미셀 농도 값이 다르게 나타나는 것을 알 수 있었고, 합성된 공중합체의 가지 수가 증가할수록 임계 미셀 농도 값이 크게 나타남을 확인하였다.

미셀의 직경 측정과 형태 관찰. 각 공중합체의 수용액상에서 형성된 미셀의 직경을 광산란기를 이용하여 측정한 결과 Table 4에 나타

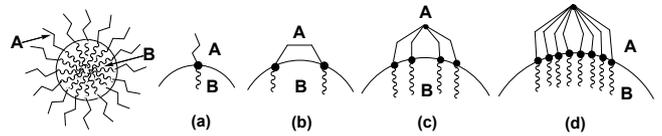


Figure 6. Micelle structures of PEG-PCL linear and branched copolymers. (a) 1-arm, (b) 2-arm, (c) 4-arm, and (d) 8-arm (A : PEG block, B: PCL block).

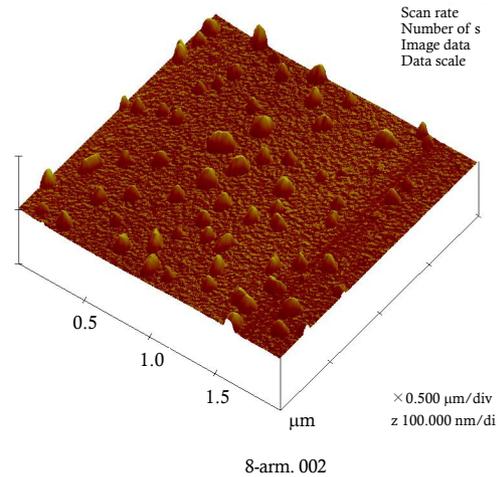


Figure 7. AFM image of micelle prepared with 8-arm-PEG-PCL copolymer (8-arm).

낸 것처럼 154~864 nm의 범위에서 측정되었다. 1-arm의 경우 154 nm로 가장 작은 값이 측정되었고, 8-arm의 경우 864 nm로 가장 큰 값이 측정되었다. 이 결과는 임계 미셀 농도 측정에서 나타난 경향과 일치하는 것으로 선형 및 분지 구조를 가지는 친수성 부분의 PEG 사슬 형태가 미셀의 크기에 영향을 주는 것으로 보인다. PEG 사슬에 공중합되어 있는 소수성의 PCL 부분이 서로 만나서 형성하는 미셀의 크기가 가지가 많아질수록 점차 커지는 것을 확인하였다. 또한 수용액상에 용해되어 분산된 각각의 공중합체를 보면 1-arm의 경우 투명하게 용해되었으며 2-arm, 4-arm 및 8-arm으로 가지 수가 증가할수록 불투명해지는 정도가 증가하는 것을 볼 수 있었다. 그리고 각 공중합체의 수용액상에서 형성된 미셀의 형태를 원자현미경을 통해 관찰한 결과 Figure 7에 나타난 것처럼 1-arm, 2-arm, 4-arm 및 8-arm의 각 경우에서 모두 구형의 형태를 관찰하였으며, 원자현미경을 통해 관찰된 미셀의 크기도 1-arm에서 8-arm으로 가지 수가 증가할수록 커지는 것을 확인하였다.

결론

본 연구에서는 선형 및 분지 구조의 PEG를 개시제로 하여 생분해성 폴리에스터 계열인 CL의 개환중합을 통해 1-arm-PEG-PCL, 2-arm-PEG-PCL, 4-arm-PEG-PCL 및 8-arm-PEG-PCL 공중합체를 합성하여 분자 설계를 통해 선형 및 분지 구조에 따른 특성을 비교하고자 하였다. 각각의 선형 및 분지 구조의 공중합체는 산 촉매를 사용하여 실온에서 중합하였으며, 합성된 각 공중합체의 열적 특성 및 결정성을 분석한 결과 1-arm에서 8-arm으로 가지 수가 증가할수록 T_m 과 ΔH_m 값이 낮아졌으며 결정성 역시 감소하는 것을 확인하였다. 그리고 각

공중합체의 수용액상에서의 미셀 특성을 측정하고 비교한 결과 1-arm에서 8-arm으로 가지 수가 증가할수록 임계 미셀 농도 값이 증가하였으며 이 결과와 일치하는 경향으로 미셀의 직경 또한 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 선형 및 분지 구조의 PEG-PCL 공중합체의 분자 디자인을 통해 분자 구조의 변화에 따라 다양한 특성이 나타나는 것을 관찰할 수 있었고 또한 미셀 내부에 선택적으로 소수성의 약물을 분포시킬 수 있으므로 잠재적인 소수성 약물 전달체로서의 가능성을 확인하였다.

감사의 글 : 본 연구는 보건복지부(0405-BO01-0204-0006) 및 세포응용사업단(SC3100)의 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- S. B. Kharchenko and R. M. Kannan, *Macromolecules*, **36**, 407 (2003).
- T. Furukawa and K. Ishizu, *Macromolecules*, **36**, 434 (2003).
- J. Ueda, M. Kamigaito, and M. Sawamoto, *Macromolecules*, **31**, 6762 (1998).
- S. Angot, K. S. Murthy, D. Taton, and Y. Gnanou, *Macromolecules*, **31**, 7218 (1998).
- N. Hadjichristidis, M. Pitsikalis, S. Pispas, and H. Iatrou, *Chem. Rev.*, **101**, 3747 (2001).
- J. P. Kennedy and S. Jacob, *Acc. Chem. Res.*, **31**, 835 (1998).
- X. Zhang, J. H. Xia, and K. Matyjaszewski, *Macromolecules*, **33**, 2340 (2000).
- J. H. Xia, X. Zhang, and K. Matyjaszewski, *Macromolecules*, **32**, 4482 (1999).
- K. Baek, M. Kamigaito, and M. Sawamoto, *Macromolecules*, **34**, 215 (2001).
- A. W. Bosman, A. Heumann, G. Klaerner, D. Benoit, J. M. J. Frechet, and C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 6461 (2001).
- A. W. Bosman, R. Vestberg, A. Heumann, J. M. J. Frechet, and C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 715 (2003).
- R. P. Lanza, R. Langer, and W. L. Chick, *Principles of Tissue Engineering*, R. G. Landes/Academic Press, Austin, TX, 1997.
- B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. E. Lemons, *Biomaterials Science : An Introduction to Material in Medicine*, Academic Press, San Diego, CA, 2000.
- N. A. Peppas and R. Langer, *Science*, **263**, 1715 (1994).
- L. Christenson, A. G. Mikos, D. F. Gibbons, and G. L. Picciolo, *Tissue Eng.*, **3**, 71 (1997).
- J. L. Hernandez-Lopez, R. E. Bauer, W. S. Chang, G. Glasser, D. Grebel-Koehler, M. Klapper, M. Kreiter, J. Leclair, J. P. Majoral, S. Mittler, K. Mullen, K. Vasilev, T. Weil, J. Wu, T. Zhu, and W. Knoll, *Mater. Sci. Eng.*, **C23**, 267 (2003).
- M. J. Cloinger, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **6**, 742 (2002).
- R. Van Heerbeek, P. C. J. Kamer, P. W. N. M. Van Leeuwen, and J. N. H. Reek, *Chem. Rev.*, **102**, 3717 (2002).
- M. A. Carnahan, C. Middleton, J. Kim, T. Kim, and M. W. Grinstaff, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 5291 (2002).
- K. M. Huh and Y. H. Bae, *Polymer*, **40**, 6147 (1999).
- H. Qian, J. Bei, and S. Wang, *Polym. Degrad. Stab.*, **68**, 423 (2000).
- J. K. Kim, D. Park, M. Lee, and K. J. Ihn, *Polymer*, **42**, 7429 (2001).
- H. Tsuji and K. Ikarashi, *Biomaterials*, **25**, 5449 (2004).
- G. S. Chae, J. S. Lee, J. K. Jeong, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 335 (2004).
- G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 80 (2000).
- K. S. Seo, S. K. Jeon, M. S. Kim, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 232 (2004).
- J. Du and Y. Chen, *Macromolecules*, **37**, 3588 (2004).
- Y. K. Choi, Y. H. Bae, and S. W. Kim, *Macromolecules*, **31**, 8766 (1998).
- I. Bakker-Woudenberg, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **19**, 299 (2002).
- V. P. Torchilin, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, 235 (2002).
- A. S. Hoffman, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, 3 (2002).
- E. W. Merrill and E. W. Salzman, *J. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **6**, 60 (1983).
- J. H. Lee, J. Kopecek, and J. D. Andrade, *J. Biomed. Mater. Res.*, **23**, 351 (1989).
- L. Zhang, C. C. Chu, and I. H. Loh, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 1425 (1993).
- M. Strock, K. H. Orend, and T. Schmitzrixen, *Vasc. Surg.*, **27**, 413 (1993).
- S. Y. Park, D. K. Han, and S. C. Kim, *Macromolecules*, **34**, 8821 (2001).
- S. Foster and E. Kramer, *Macromolecules*, **32**, 2783 (1999).
- L. F. Hancock, S. M. Fagan, and M. S. Ziolo, *Biomaterials*, **21**, 725 (2000).
- X. S. Feng and C. Y. Pan, *Macromolecules*, **35**, 4888 (2002).
- H. Ge, Y. Hu, X. Jiang, D. Cheng, Y. Yuan, H. Bi, and C. Yang, *J. Pharm. Sci.*, **91**, 1463 (2002).
- M. H. Huang, S. Li, D. W. Huttmacher, J. T. Schantz, C. A. Vacanti, C. Braud, and M. Vert, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **69**, 417 (2004).
- H. S. Kang, M. S. Shin, J. D. Kim, and J. W. Yang, *Polymer Bulletin*, **45**, 39 (2000).
- 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).
- M. S. Kim, K. S. Seo, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Rapid Commun.*, **26**, 643 (2005).
- 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).