

# Glycine and/or 4-aminobutyric acid로부터 유도된 Poly(ester amide)의 생체 적합성 및 분해에 따른 형태학적 고찰

한상일, 임승순

한양대학교 응용화학공학부 섬유고분자공학과

## Study on Biocompatibility and Morphology with Hydrolysis Degradation of Poly(ester amide) derived from Glycine and/or 4-Aminobutyric acid

Sang-Il Han and Seung Soon Im

Department of Textile Engineering, Hanyang University, Seoul, Korea

### 1. 서론

합성 고분자의 생분해는 환경 보존이라는 측면에서 중요시 되고 있으며 봉합사나 bone fixation, 그리고 implant와 같은 의학적 응용면에서도 상당한 관심의 대상이 되어오고 있다. glycolic acid, L-lactic acid,  $\epsilon$ -caprolactone에 근거하는 지방족 폴리에스터는 생분해성 봉합사로서 응용되고 있으나 여전히 열적, 기계적 가공특성과 같은 적정특성들이 부족하다.<sup>1</sup> 한편 폴리아미드는 유사한 구조를 갖는 폴리에스터와 비교할 때에 상대적으로 높은 유리전이온도와 높은 용점을 가지고 있는 반면 높은 흡습성으로 인한 물성저하가 야기될 수 있다.

따라서 최근 poly(ester-amide)의 개발을 통하여 폴리에스터와 폴리아미드의 단점을 보완함과 동시에 두 고분자들의 우수한 특성인 용융 가공성, 내용매성 그리고 분해제어가 용이한 고분자를 얻고자 하는 노력이 계속되고 있다. 이러한 노력들중의 일부라 할수 있는  $\alpha$ -aminoacid 분질을 포함하는 poly(ester amide)에 관한 많은 연구가 발표되고 있다. 그 예로서 1,2-ethane diol, adipic acid와 glycine, leucine, phenylalanine과 같은 amino acid에 근거한 poly(ester amide) 시리즈들이 Saotome등에 의해 합성되었으며 Ho와 Huang은 1,6 hexanediol, sebasic acid,  $\alpha$ -amino acid(glycine, alanine, phenylalanine)으로 부터 유도된 poly(ester-amide)의 물리화학적 특성과 합성에 대하여 기술하였다.<sup>3</sup> 문헌에 의하면 poly(ester amide)는 아마이드 그룹의 형성과 더불어 수소결합으로 인한 기계적 물성의 향상을 가져올수 있으나 이러한 물성의 향상은 고분자 주쇄안에서 아마이드 분질의 분포에 의해서 크게 영향을 받는다고 보고하고 있다. 특히 랜덤 poly(ester amide)는 비록 에스터 분질과 아마이드 분질이 isomorphism을 갖는다 할지라도 homopolymer와 비교할때에 낮은 결정화

도와 낮은 결정화 속도로 인한 물성저하를 초래한다. 이러한 현상을 Van Bennekom 등은 PBT와 1,4-diaminobutane을 이용한 poly(ester amide)의 연구에서 기술하고 있다. 그들은 이러한 현상을 수소결합의 형성에 의해 용융상태에서 diamide 분절들의 self-assemble현상으로 설명하고 있다.<sup>4</sup>

이번 연구에서는 계면 중합을 통하여 glycine, 4-aminobutyric acid로 부터 메틸렌/아마이드 비율을 다양화한 alternating poly(ester amide)를 합성하였으며 가수분해 및 효소분해를 통하여 모폴로지의 변화 및 human fibroblast를 이용한 생체적합성을 관찰하였다.

## 2. 실험

### 2-1 합성

등근 플라스크안에 glycine(0.15mol), 1,6-hexandiol(0.075mol), *p*-toluenesulfonic acid monohydrate(0.15mol) 및 용매 toluene(250ml)를 부가한후 Dean-Stark장치를 이용하여 10시간동안 reflux하였다. 재결정화시켜 얻어진 단량체(0.01mol)는 protone acceptor인  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (0.02mol)와의 수용액을 제조한후 유기용매상의 sebacyl chloride용액에 부가하여 분말형태의 고분자를 얻었다.

### 2-2 분석

300MHz  $^1\text{H-NMR}$ 을 통하여 조성을 확인하였다. 용매는 trifluoroacetic acid(TFA-d)를 사용하였다. 내재점도(inherent viscosity)는  $25\pm 1^\circ\text{C}$ 의 항온조에서 Cannon-Ubbelohde 점도계를 사용하여 측정하였다. 사용된 용매는 dichloroacetic acid를 사용하였다. 시료의 열분석은 액화질소가스를 냉매로 하는 intracooler가 부착된 시차주사 열량계(DSC(TA 2100))를 사용하여 수행하였다. 각시료는  $4\pm 0.5\text{mg}$ 을 취하여 알루미늄팬에 밀폐하였으며  $0^\circ\text{C}$ 에서  $200^\circ\text{C}$ 까지  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 승온 속도로 second scan하여 관찰하였다. 각각의 합성된 공중합체의 구조적 수소결합의 특성을 관찰하기 위하여 FT-IR을 이용하였다. TEM(JEOL 2000FX)은 결정화 모폴로지 및 분해에 따른 모폴로지를 관찰하기 위하여 조사하였다. 시료는 카본코팅된 mica위에서 결정화시켰으며 Pt을 사용하여 shadowing한후 관찰하였다.

### 2-3 분해 및 생체적합성 관찰

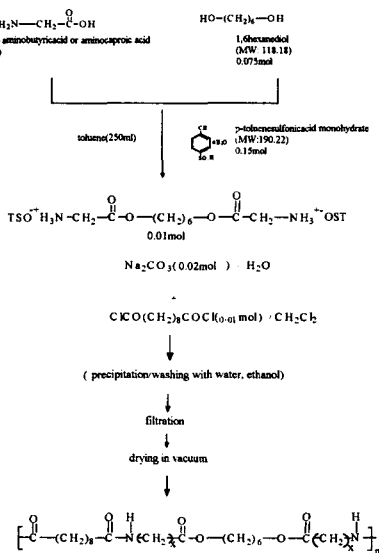
Poly(ester-amide) 구정의 가수분해는 커버글라스위에서 용융결정화하여 제조된 박막을 이용하였다.  $40^\circ\text{C}$ 의 pH 11의 완충용액하에서 가수분해를 행하였으며 주기적으로 채취하여 편광 현미경을 통하여 표면을 관찰하였고 표면의 분해에 따른 toughness를 관찰하기 위하여 AFM(Park Scientific Instrument)을 이용하였다. 이와 함께 solvent casting하여 박막을 제조한뒤 TEM을 이용하여 가수분해가 진행됨에 따라 변화되는 결정 라멜라의 morphology를 관찰하였다. Poly(ester-amide)의 효소분해는 단백질 분해효소 papain(30,000 USP-Umg<sup>-1</sup>)을 사용하였다. 효소의 활성을 위하여

Glycine and/or 4-aminobutyric acid로부터 유도된 Poly(ester amide)의 생체 적합성 및 분해에 따른 형태학적 고찰

cystein을 추가하였으며 주기적으로 효소의 regeneration을 행하였다. 생체적합성은 MEM에서 배양된 human fibroblast를 이용하여 용융압축하여 제조한 film위에서 주기적으로 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

Scheme 1은 glycine을 사용하여 합성한 poly(ester-amide)의 경우를 대표적으로 나타내었다. Table 1에서 합성된 poly(ester-amide)의 특성을 요약하였다. 고유점도값은 0.25-0.49 dl/g 범위의 값을 보였다.



Scheme 1. Synthesis of Poly(ester amide) derived from Glycine.

Figure 1은 glycine으로부터 유도된 poly(ester-amide)의 <sup>1</sup>H-NMR분석을 보인다. Figure 2는 glycine으로부터 유도된 poly(ester-amide)의 분해거동을 보이는 이미지로서 twined crystalline lamellar의 edge부분부터 분해가 일어남을 관찰하였다. 또한 Figure 3에서는 가수분해후에 구정의 분해과정을 편광현미경을 통하여 얻었다. 본 연구에서는 구조상 amino acid의 메틸렌기를 다양화함에 따라 미세구조의 변화를 관찰하였으며 분해도폴로지를 비교 분석하였다. 특히 구정의 분해는 radial 방향으로의 우선적 fragmentation되는 현상이 관찰되었다. 합성된 poly(ester-amide)의 생체적합성은 human cell을 고분자 표면위에 고착시켜 분해되가는 과정을 관찰함으로써 각각의 합성된 poly(ester-amide)의 cytotoxicity를 비교 할수 있었다.

Table 1. Thermal properties and Intrinsic viscosities of Poly(ester-amide)s

Note : a The alphabets at these codes denote the initial of start materials such as glycine,4-aminobutyric acid, 1,6-hexanediol and

Polymer Code <sup>a</sup>	T <sub>c</sub> (°C)	T <sub>m</sub> (°C)		H <sub>g</sub> (I/g)	[η] <sup>d</sup>
		first heating run <sup>b</sup>	Second heating run <sup>c</sup>		
PGHS	69.8	124.5/135.0	121.6	61.3	0.42
PGBS	105.5	120.5/136.0	123.1/138.8	33.5/13.2	0.25
PBHS	110.6	117.0/132.4	127.6	56.0	0.49
PBBS	124.3	135.0/142.0	141.1	47.8	0.34

1,4 butanediol

b T<sub>m</sub> which obtained directly from the synthesis medium

c T<sub>m</sub> which obtained from second heating after quentching at 500°C/min

d Intrinsic viscosity measured in dichloroacetic acid at 25°C

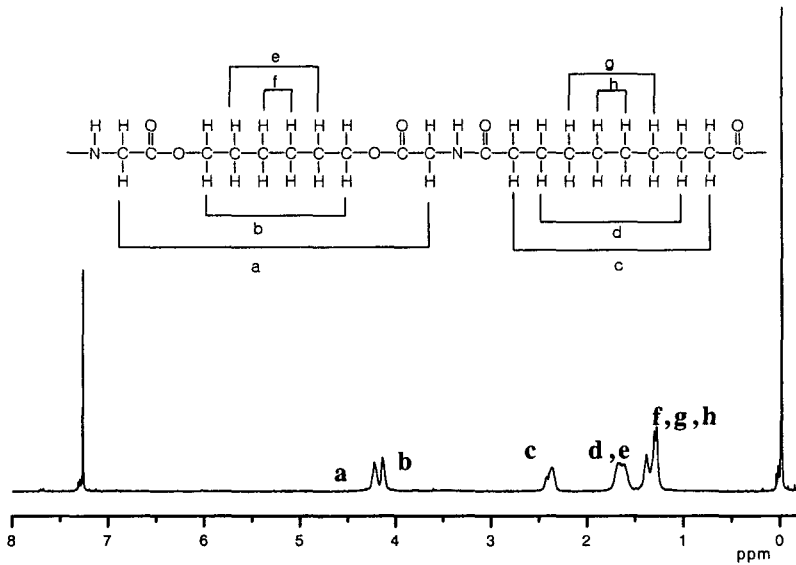


Figure 1.  $^1\text{H}$ -NMR spectra of Poly(ester-amide) derived from Glycine

(a)  $\times 30,000$ , Before degradation (b)  $\times 8,000$ , Degradation for 3 hours (c)  $\times 30,000$ , Degradation for 3 hours



Figure 2. TEM images of Poly(ester-amide) with Degradation

#### Reference

1. M. Vert, M. S. Li, G. Spenlehauer, and P. Guerin, *J. Mater. Sci. J. Mater. Med.*, **3**, 432 (1992)
2. N. PAREDES, A. RODRIGUEZ-GALAN, J. PUIGGALI, *J. Polym Sci.*, **1271-1281** (1998)
3. L. H. Ho and S. J. Huang, *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)*, **33** (2), 94 (1992)
4. Van Bennekom, A.C.M and Gaymans, R. J., *Polymer*, **38**, 657 (1997)