

## 락타이드로 가교시킨 히아루론산 막의 특성

권지영 · 정성일<sup>†</sup>

한남대학교 나노생명화학공학과

(2005년 9월 28일 접수, 2005년 10월 25일 채택)

### Characterization of Hyaluronic Acid Membrane Cross-linked with Lactide

Ji Young Kwon and Seong Ihl Cheong<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering and Nano-Bio Technology, Hannam University,

133 Ojeong-dong, Daeduk-gu, Daejeon 306-791, Korea

(Received September 28, 2005; accepted October 25, 2005)

**초록 :** 생체적합성이 우수한 히아루론산과 생분해성이 우수한 폴리락타이드의 이량체인 락타이드를 결합하여 인체 내에서 분해속도를 조절할 수 있는 생체적합성이 우수한 생체재료를 제조하였다. 냉동 건조법을 이용하여 히아루론산과 락타이드를 가교제 1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl) carbodiimide(EDC)로 가교시켰다. 생성된 막을 핵자기 공명 분광법으로 분석하여 젖산기 반응도와 EDC 반응도를 결정하였다. 히아루론산에 대한 락타이드의 몰비가 5부터 13까지 증가함에 따라 젖산기 반응도와 EDC 반응도는 증가하였다. 몰비가 커서 젖산기가 많이 첨가되면 팽윤도는 감소하고 취성이 강해졌다. 또 가교제 농도를 증가시키거나 가교 온도를 감소시키면 젖산기가 더욱 첨가되어 팽윤도는 감소하고 탄성률은 증가하였다. 서로 다른 가교도를 가진 막에 대해 약물 방출 실험을 한 결과 막의 가교도가 증가함에 따라 약물의 투과도는 감소하였다. 몰비가 커 젖산기가 많이 첨가된 고분자일수록 늦게 분해되었다. 몰비, 온도, 가교제 농도 등의 운전 변수를 조절하여 막의 기계적 물성과 분해 속도가 적절히 조절될 수 있었다.

**Abstract:** The hyaluronic acid (HA) with excellent biocompatibility has been combined with lactide, the ester dimer of polylactide, with good biodegradability to produce biocompatible materials which can control the period of degradation in a human body. By freeze drying method, HA and lactide were crosslinked with crosslinking agent, 1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl) carbodiimide (EDC). Degree of lactide and EDC reaction was determined by the analysis of nuclear magnetic resonance spectroscopy. Both lactyl group and EDC conversion increased as the mole ratio of lactide to HA increased from 5 to 13. The membrane swelled less and became more brittle with the more addition of lactyl group resulting from the higher mole ratio of lactide to HA. Swelling ratio decreased and tensile modulus increased due to the more addition of lactyl group as the EDC concentration increased or reaction temperature decreased. Drug release experiment from various membranes with different degree of crosslinking showed that permeability decreased with increasing degree of crosslinking. The degradation became slower with the more addition of lactyl group. Mechanical property and degradation rate of the synthesized membrane were shown to be controlled through adjusting operation parameters such as mole ratio, temperature, and crosslinking agent concentration.

**Keywords:** hyaluronic acid, lactide, crosslinking, swelling, degradation.

### 1. 서론

히아루론산(HA)은 조직 내의 간질에 광범위하게 분포되어 있는 천연 무코다당류로서 세포간 분자의 3차원 가교 역할을 하고, 점도가 높아 연골사이에서 연골을 보호하며, 세포 운동성과 세포증식을 증진시키는 역할을 한다.<sup>1</sup> 히아루론산은 천연 생체 고분자이므로 인체 내에서 혈액, 체액 및 생체 조직과 접촉하였을 때 우수한 생체적합성을 갖는다. 또 그 독특한 화학적 특성으로 인해 필요에 따라 다양한 분자량을 갖도록 할 수 있으며, 생체 내에서 효소적으로 재구성 가능하고, 관능기의 조절 및 가교화, 수화젤 형태로의 재구성이 용이하다. 요즘은 이러한 히아루론산의 우수한 물리 화학적 성

질을 이용하기 위해 히아루론산을 개조하여 조직공학, 약물전달계, 인체 보형물 등에 적용되는 생체 재료물질을 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>2,6</sup> 히아루론산을 알코올과의 에스테르화에 의해 가교시키면 조직공학과 약물전달계에 응용할 수 있으며,<sup>3,7,9</sup> 히아루론산을 설폰화하여 폴리에틸렌에 코팅하여 얻어진 필름은 혈액 적합성이고 혈전생성을 억제하는 효과가 있다.<sup>10</sup> 히아루론산을 포름알데하이드하에서 단백질 처리하여 제조된 제품은 연골조직을 보호하고 그 손상이 진행되는 것을 예방하는 성질이 있으며,<sup>11</sup> 히아루론산과 카복실산 고분자와의 블렌딩에 의해 얻어진 막은 혈액에서의 안정성이 우수하여 수술 후 조직과의 유착을 감소시키는 보호막으로 사용되는 등의 응용연구 결과가 발표되었다.<sup>12</sup> 그러나 히아루론산은 생체와 유사한 환경 하에서 효소작용 혹은 가수분해 반응에 의해서 신속히 분해되는 특징을 가지고 있어 그 응용이 제한되었다.<sup>13,14</sup> 이

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed. E-mail: suho@hannam.ac.kr

러한 문제점을 개선하기 위해 히아루론산에 존재하는 친수성기인 카복실기를 변형시키면 생체적합적 성질은 그대로 유지하면서 그것의 분해 속도를 지연시킬 수 있다.

폴리락타이드(PLA)는 1962년 수술용 봉합사로 사용된 이래 널리 사용되는 합성 생체고분자 재료로서 신체의 손상된 조직이나 기관의 치유에 사용될 경우 생체 내에서 신진대사를 통해 서서히 분해되므로 별도의 수술이 필요치 않은 생체분해성이 우수한 고분자이다.<sup>15</sup> PLA는 반복단위에 존재하는 손대칭 중심으로 인해 여러 가지 이성질체가 존재하는데 이를 조절함으로써 분해속도를 조절할 수 있으며,<sup>16,17</sup> PLA의 올리고머도 D/L형 이성질체의 비율 및 분자량에 따라 분해속도가 달라진다.<sup>18</sup> 이와 같은 PLA의 분해속도 조절 능력을 생체재료에 도입하기 위하여 PLA 혹은 그 단량체인 젖산을 히아루론산에 가교시켜 생체 내에서 분해 능력을 조절할 수 있는 새로운 고분자를 제조하려는 연구가 진행되었다.<sup>19</sup> 이 연구에 의하면 가교제로 1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl) carbodiimide(EDC)를 사용할 경우 고분자인 PLA와는 가교가 일어나지 않았으나 단량체인 젖산과는 가교반응이 진행됨을 확인하였다. 이 때 가교된 고분자는 히아루론산에 비해 기계적 물성이 개선되었으나 여전히 친수성이 너무 크고 분해 속도가 빨라 생체재료나 세포 배양용으로 사용하는데 문제점이 있었다. 이러한 단점을 개선하기 위해 소수성이 더 큰 젖산의 무수 환형 이량체인 락타이드를 사용하여 가교시키면 소수성을 크게 하고 생체 분해 속도를 지연시킬 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구에서는 냉동 건조법을 이용하여 가교제 EDC로 히아루론산과 락타이드를 가교시켜 새로운 유도체를 개발하려고 하였다. 히아루론산과 락타이드의 혼합 물비, 가교 온도, 가교제 농도 등의 반응 조건이 반응성에 미치는 영향을 살펴보았다. 제조된 새로운 물질의 고분자가 가교됨을 확인하기 위하여 핵자기 공명 분광 분석기(NMR)로 분석하였고, 이 물질이 생체재료로서의 사용 가능성을 살펴보기 위해 팽윤도, 인장 강도, 생분해성, 약물 방출성 등을 측정하였다.

2. 실험

2.1 실험 재료

히아루론산은 평균분자량 2×10<sup>6</sup> Da인 Fulllongchem사(Changzhou, China)의 의약품 제품을 사용하였다. 락타이드, 에탄올, indomethacin과 가교제로 쓰인 EDC는 씨그마 알드리치(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.

2.2 막의 제조

1 wt% 히아루론산 수용액에 히아루론산 기준으로 락타이드를 5~13 몰비로 첨가하여 상온에서 4시간 교반하였다. 히아루론산과 락타이드의 혼합 용액을 캐스팅 판에 부어 Gardner 값을 이용하여 균일한 두께로 캐스팅한 후 -80 °C에서 2시간 동결시켰다. 이것을 꺼내 -80 °C, 1 Pa하의 동결건조기에서 24시간 동결 건조하였다. 제조된 막은 15~28 °C에서 에탄올에 대한 EDC 가교제를 5~20 wt% 비율로 섞은 혼합액에 담가 가교제가 막 속으로 충분히 침투시킨 상태에서 24시간 자석 젓개를 교반시키면서 가교시켰다. 가교 후 막은 초음파 세척기로 5분간 3회 세척하여 가교제를 완전히 제거한 후 건조기에서 건조시켰다.

2.3 물성 연구

2.3.1 기기분석

제조된 막의 가교됨을 확인하기 위해 NMR을 사용하여 관능기를 확인하였고 이를 기초로 락타이드 반응도와 가교제 EDC의 반응도를 결정하였다. NMR은 D<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 용매로 하여 Bruker AMX 500 MHz(Karlsruhe, Germany)로 측정하였다. Universal testing machine (Shimadzu, Kyoto, Japan)을 사용하여 76.2×3.15×1.0 mm 크기로 제조된 막의 인장 강도를 측정하였다.

2.3.2 팽윤도

막을 일정한 크기로 잘라 물속에 침전시킨 후 막이 평형에 완전히 이를 수 있도록 24시간 정도 상온에 보관하였다. 이 막을 꺼내 표면의 물을 제거한 후 무게를 측정한 다음 건조기에 넣어 수분을 완전히 제거한 후 건조된 막의 무게를 측정하였다. 시료에 대한 팽윤도는 식 (1)에 의해 결정하였다.

$$\text{팽윤도}(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100(\%) \tag{1}$$

(W<sub>s</sub> = 젖은 시료의 무게, W<sub>d</sub> = 건조된 시료의 무게)

2.3.3 투과도 측정

약물 투과 실험은 Figure 1과 같이 확산 셀을 이용하여 측정하였다. 방 A에는 인도메타신 용액을 35 mL, 방 B에는 pH 7 완충용액을 250 mL 채웠다. 두 방 사이에 가교된 막을 집게를 이용하여 고정하고 증발을 막기 위해서 밀봉하였다. 이때 사용된 막의 유효면적은 7.0 cm<sup>2</sup> 이었다. 실험시 농도구배를 최소화하기 위하여 교반시켜 주었으며 온도를 37 °C로 일정하게 유지시켜 주기 위해 항온조에서 실행하였다. 투과도는 방 B에서 일정한 시간마다 시료를 채취하여 파장 270 nm에서 자외선 분광광도계(SMART T PLUS SP-1900PC, Youngwoo, Seoul, Korea)를 사용하여 농도를 측정하고 이를 이용하여 결정하였다. 투과계수는 식 (2)에 의해 계산되었다.<sup>20</sup>

$$P = \frac{-d}{A(1/V_A + 1/V_B)t} \ln\left[\left(1 + \frac{V_A}{V_B}\right) \frac{C_t}{C_0} - \frac{V_A}{V_B}\right] \tag{2}$$

여기서 P: 투과계수(cm<sup>2</sup>/s), V<sub>A</sub>, V<sub>B</sub>: 방 A, 방 B의 부피(cm<sup>3</sup>), C<sub>0</sub>: 초기용액의 인도메타신 농도(mg/L), C<sub>t</sub>: 시간 t에서 방 B에서의 인도메타신 농도(mg/L), d: 막의 두께(cm), A: 막의 유효면적(cm<sup>2</sup>) 이다.

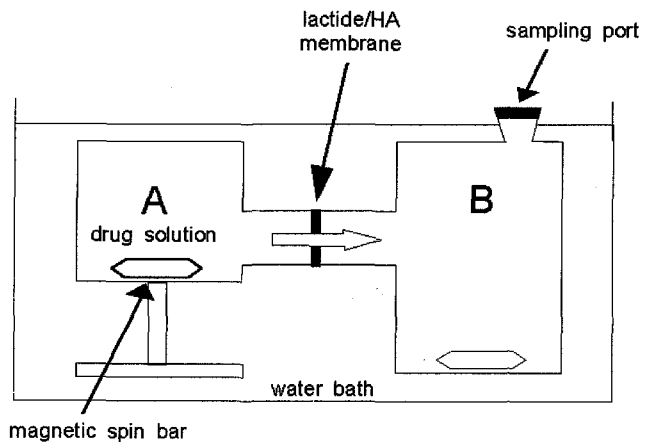


Figure 1. Experimental setup for drug release.

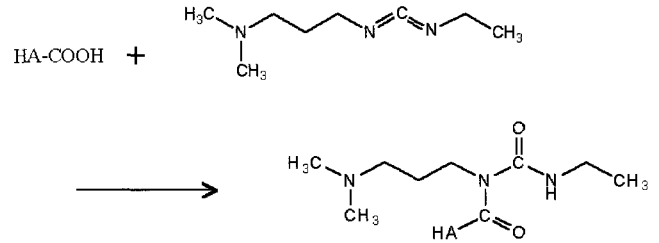
2.3.4 막의 가수분해

제조된 막을 다른 효소없이 증류수에 침전시킨 후 37 °C에서 분해가 얼마나 이루어지는지 살펴보았다. 시료는 일정한 크기로 잘라 50 mL 병에 넣어 37 °C에서 가수분해시키면서 정해진 시간에 꺼내어 세척한 후 37 °C 건조기에서 24시간 건조한 후 시료의 무게를 재어 분해 정도를 측정하였다. 동일한 조건에서 3회 반복하여 평균 값을 취하였다.

3. 결과 및 토론

히아루론산과 락타이드에 존재하는 히드록시기와 카복실기가 반응하여 얻어진 가교된 고분자는 물에 녹지 않는 성질을 가지므로 이를 관찰함으로써 가교반응의 유무를 일차적으로 관찰하였다. 가교반응에 의해서 형성된 에스테르기는 락타이드가 말단기로 존재하는 형태(α)와 완전히 가교된 형태(β)로 존재할 수 있다. 이 두 가지 형태의 분자 구조를 Figure 2에 보였다. 완전히 가교된 형태는 기계적 강도를 증가시키지만, 말단기로 존재하는 경우 이온한 히아루론산과 완전히 가교가 되지 않아 기계적 강도를 증가시키는데 한계가 있다. 따라서 두 경우를 구분할 수 있다면 우수한 물성의 고분자를 합성하는데 유익한 정보로 활용될 수 있다. 두 경우 연결된 메틸기의 구조가 다른 점에 주목하여 말단기로 존재하는 에스테르기에 연결되어 있는 메틸기와 가교된 상태로 존재하는 에스테르기에 연결된 메틸기가 분리되는지를 살펴보았다. 관능기의 구조를 확인하기 위하여 NMR로 분석하였으며 대표적인 도표의 하나를 Figure 3에 보였다. 도표를 분석한 결과 두 종류의 메틸기(α, β)가 1.7 ppm 부근 (a)에서 중첩하여 나타나 말단기로 존재하는 형태와 완전 가교된 메틸기를 구분할 수 없었다. 그러나 이 피크는 젯산기가 히아루

론산과 가교반응에 참가하여 형성된 피크이므로 반응에 참여한 젯산기의 양으로 볼 수 있다. 한편 순수한 히아루론산도 아미드기에 연결되어 있는 메틸기가 존재하므로 NMR로 확인한 결과 2.1 ppm 부근 (b)에서 완전히 분리된 피크가 나타남을 확인하였다. 또 EDC는 히아루론산의 카복실기와 반응하여 아래와 같은 분자구조를 형성하는 것으로 알려져 있다.<sup>21</sup>



그런데 EDC 구조에도 메틸기가 존재하여 이것의 위치를 NMR로 확인한 결과 1.3 ppm(c)에서 나타났다. 이로써 Figure 3의 NMR 도표로부터 반응에 참가한 젯산기에 존재하는 메틸기(a), 히아루론산에 존재하는 메틸기(b), 반응에 참가한 EDC 분자에 존재하는 메틸기(c) 등 3가지의 메틸기가 각각 1.7, 2.1, 1.3 ppm의 서로 다른 위치에 존재함을 확인하였다. 히아루론산에 존재하는 메틸기는 반응에 참여하지 않으므로 반응 전후에 그 농도가 일정하게 유지된다. 이 사실에 기초하여 2.1 ppm에서의 피크의 면적에 대한 1.7 ppm에서의 피크 면적비를 젯산기 반응도, 2.1 ppm에서의 피크 면적에 대한 1.3 ppm에서의 면적비를 가교제 EDC 반응도로 간주하였다.

고분자의 물성은 가교 온도, 가교제 농도, 물비 등의 운전 조건에 따라 변화하므로 이러한 운전 변수가 물성에 미치는 영향을 관찰하

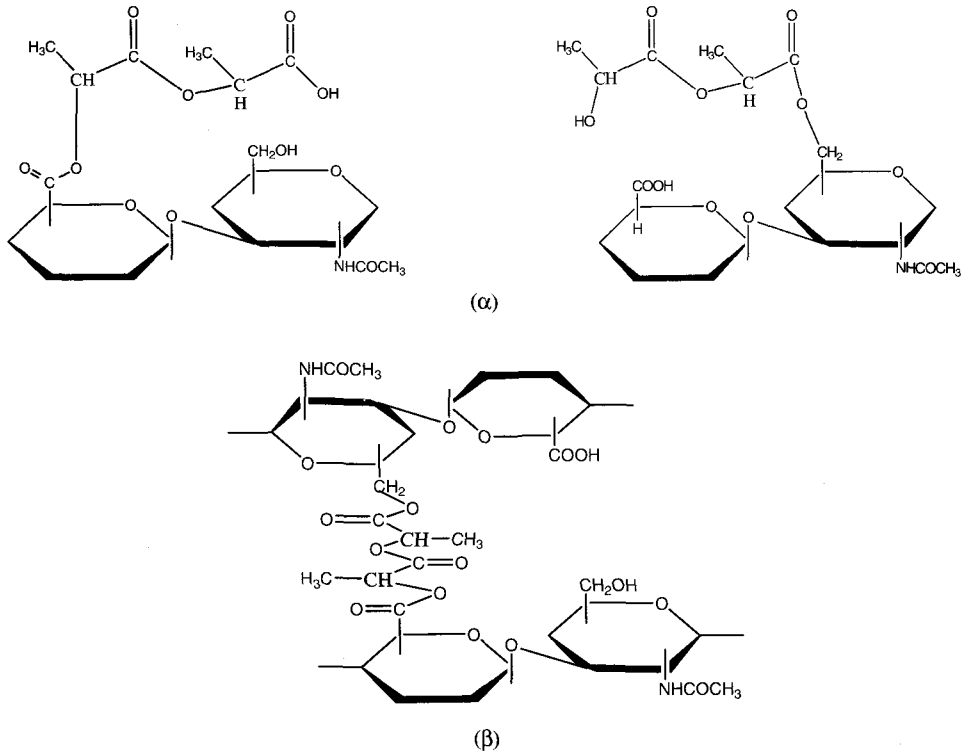


Figure 2. Structure of ester group : (α) connected to lactide end group and (β) crosslinked to HA.

고자 하였다. Figure 4에서 막의 두께 1.5 mm, 가교제 농도 10 wt%, 가교 온도 15 °C에서 젯산기 몰비를 증가시키면서 반응시켜 얻어진 막의 NMR 도표로부터 계산한 젯산기 반응도와 가교제 EDC 반응도를 보였다. 몰비가 증가함에 따라 젯산기 반응도와 EDC 반응도 모두 증가하였다. 본 실험실에서 동일한 반응 조건에서 젯산을 사용하여 반응한 결과와<sup>19</sup> 비교하기 위해 x축은 히아루론산에 대한 젯산기의 몰수를 기준으로 하여 Figure 4에 함께 표시하였다. 즉 젯산의 경우 1 몰당 젯산기가 1 몰 존재하고, 젯산기의 무수 이량체인 락타이드의 경우 1 몰당 젯산기가 2 몰 존재하는 것으로 간주하였다. Figure에서 왼 기호는 젯산기 반응도, 네모 기호는 EDC 반응도를 나타내고, 실선은 락타이드, 점선은 젯산을 원료로 실험하여 얻은 결과이다. 젯산을 사용한 경우도 락타이드를 사용한 것과 동일하게 몰비가 증가할수록 락타이드 반응도와 EDC 반응도가 증가하였으나 외삽하여 비교하면 동일 몰비에서 락타이드를 사용한 경우에 비해 젯산기 반응도는 2배 이상 떨어지는 것으로 나타났다. 이를 근거로 젯산기가 더 많이 붙어있는 것이 젯산기 농도를 높게 하는 것으로 보아 중합도가 5인 올리고머를 사용하여 반응시켜 보려 하였으나 올리고머가 물에 녹지 않아 반응시키지 못했다. 앞의 반응식에서 보는 바와 같이 히아루론산과 EDC와의 반응으로 카복실기가 소실되면 소수성이 증가하고, 히아루론산과 락타이드의 가교반응으로 젯산기가 부가되면 소수성이 증가하고 기계적 강도가 커지게 된다. 제조된 고분자의 소수성과 기계적 강도를 알아보기 위해

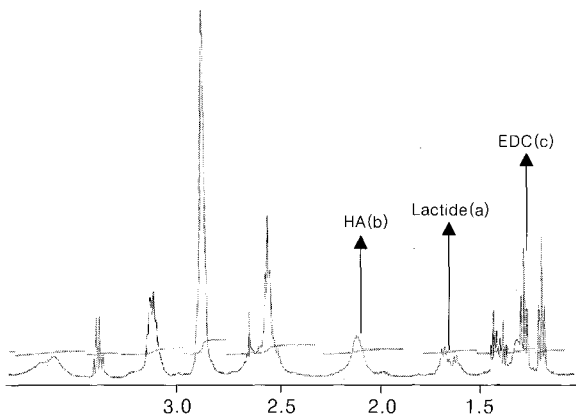


Figure 3. <sup>1</sup>H-NMR spectra with various types of methyl group (a) in HA, (b) in reacted lactyl group, (c) in reacted EDC.

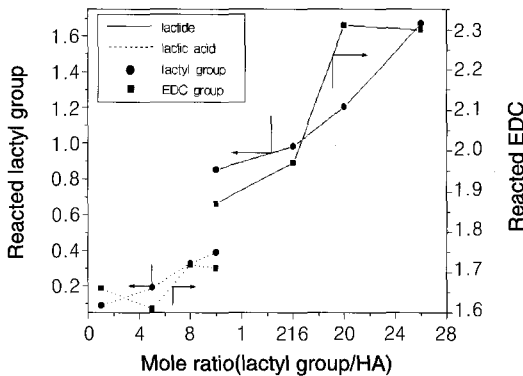


Figure 4. Effect of mole ratio of lactyl group to HA on reactivity.

팽윤도와 인장 강도를 측정하였다.

Figure 4에서 사용한 시료의 팽윤도를 측정된 결과를 Figure 5에 보였다. 몰비가 증가하면 젯산기 반응도가 커져 히아루론산과의 반응에 의해 가교도가 증가한다. 일반적으로 가교도가 증가하면 3차원적인 망상구조가 많아져 물을 함유할 수 있는 체적이 줄어들어 팽윤도는 감소하는 경향을 보인다.<sup>22,24</sup> 몰비가 증가할수록 EDC와의 반응에 의한 수산기의 감소, 젯산기 첨가에 의한 가교도 증가로 팽윤도는 감소하는 경향을 보였다.

Figure 4에서 사용한 시료를 사용하여 인장강도를 측정하였고 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 몰비가 증가함에 따라 인장강도와 탄성률은 증가하였으나 인장률은 감소하였다. 예상한 바와 같이 몰비가 증가하여 젯산기가 많이 첨가될수록 취성이 강하게 나타났다. 여기서 얻어진 인장강도 값이 가교된 히아루론산 고분자 혹은 고분자 수화겔과 유사한 크기의 값을 가지나<sup>24,25</sup> 일반적인 필름형태의 고분자 막보다 작은 값을 보이고 있는 것은 동결건조에 의해 제조된 막이 내부에 형성된 기공에 의해 필름의 강도가 약해진 것으로 사료된다.

몰비 10, 가교제 농도 10 wt%, 막의 두께 1.5 mm에서 가교 온도를 15~28 °C로 변화시키면서 반응에 미치는 영향을 관찰한 결과를 Figure 6, 기계적 물성에 미치는 영향을 관찰한 결과를 Table 2에 나타내었다. Figure 6에서 반응 온도가 감소함에 따라 젯산기 반응도, EDC 반응도 모두 증가하였다. 온도가 감소할수록 친수성기인 카복실기의 감소와 가교에 의한 3차원적 구조가 발달함으로 팽윤도가 감소하였다. 온도가 더 낮아져도 이러한 경향이 유지되는지를 살펴보기 위해 0 °C 근처까지 낮추어 실험하였으나 수용액이 동결되어 반응시킬 수 없었다. 일반적으로 고분자 가교 반응은 온도가 감소할수록 반응성이 감소하는 경향을 보이는데 여기서는 그와 대조되는 모습을 보이고 있어 이에 대한 연구는 추후 계속 진행할 예정이다. 또 Table 2에서 온도가 감소할수록 인장

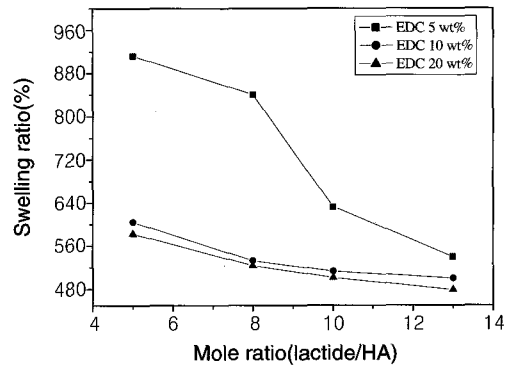


Figure 5. Effect of mole ratio of lactyl group to HA on swelling ratio for HA membranes crosslinked at different EDC concentration.

Table 1. Tensile Properties of HA Polymers with Mole Ratio of Lactide to HA(Temperature: 15 °C, EDC Concentration: 10 wt%)

Mole ratio (lactide/HA)	Tensile strength (kg/mm <sup>2</sup> )	Young's modulus (kg/mm <sup>2</sup> )	Elongation (%)
5	0.14	2.67	9.21
8	0.20	3.07	9.19
10	0.22	4.03	7.99
13	0.43	7.97	7.73

강도와 탄성률이 커지고 인장률은 감소하는데 이는 락타이드와의 반응이 증가하여 취성이 강한 젯산기가 더욱 많이 첨가된 것에 기인한 것으로 사료된다.

락타이드 몰비 10, 가교 온도 15 °C, 막의 두께 1.0 mm에서 가교제 농도를 5~20 wt%로 변화시키면서 반응에 미치는 영향을 관찰한 결과를 Figure 7, 기계적 물성에 미치는 영향을 관찰한 결과를 Table 3에 나타내었다. Figure 7에서 가교제 농도가 증가하면 젯산기 반응도, EDC 반응도 모두 증가하였으나 농도가 10 wt% 이상 증가할 경우 가교도가 증가하는 모습은 둔화되었다. 한편 여기서 얻은 결과는 막의 두께가 1.0 mm인 시료를 사용하여 얻은 것으로 Figure 4의 동일한 몰비인 10에서의 결과와 다른데 이는 Figure 4의 결과는 막의 두께가 다른 1.5 mm인 시료로부터 얻어진 결과이기 때문이다. 즉 동일한 실험 조건이라 해도 막의 두께가 1 mm에서보다 2.5 mm에서 반응이 더 잘 진행되어 막의 두께에 따라 반응성이 차이가 남을 보였다. Table 3에서는 가교제 농도가 증가할수록 인장 강도와 탄성률이 커지고 인장률은 감소하는데 가교제 농도가 10 wt% 이상에

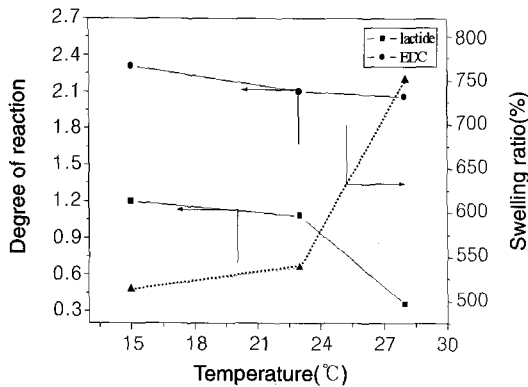


Figure 6. Effect of temperature on reactivity and swelling ratio.

Table 2. Tensile Properties of HA Polymers with Temperature(Mole Ratio: 10, EDC Concentration: 10 wt%)

Temperature (°C)	Tensile strength (kg/mm <sup>2</sup> )	Young's modulus (kg/mm <sup>2</sup> )	Elongation (%)
15	0.22	4.03	7.99
23	0.16	2.52	8.74
28	0.15	2.04	10.44

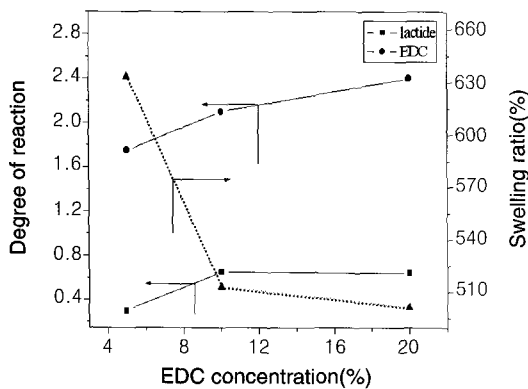


Figure 7. Effect of EDC concentration on reactivity and swelling ratio.

서도 이러한 경향이 나타나 가교도가 증가됨을 뒷받침하였다.

제조된 고분자가 드레싱, 수술 후 유착 방지용, 의약 피복용으로 사용될 수 있으려면 용도에 맞는 약물 방출 현상의 이해가 필수적이다. 약물 방출 현상은 고분자 재료의 성질, 약물의 성질, 약물과 고분자간의 인력, 주변 환경(pH, 온도, 용제) 등에 의해 영향을 받는다.<sup>26,27</sup> 모델 약물로서 관절염 치료제로 사용되는 인도메타신을 사용하여 25 °C의 증류수에서 시간에 따른 약물 투과도를 측정된 결과를 Figure 8에 나타내었다. y축은 평형 농도에 대한 농도비의 백분율로 나타내었다. 초기에는 급격히 약물이 방출되나 시간이 지남에 따라 그 속도가 서서히 줄어드는 거동으로 일반적인 히아루론산 유도체와 동일한 모습을 보였다.<sup>26,28</sup> 또 몰비가 증가함에 따라 약물이 늦게 방출되었다. 몰비가 증가하여 가교가 잘 되면 3차원적 구조가 발달하게 되어 약물 분자가 막을 빠져 나가기 힘들기 때문이다. 이로부터 가교도가 투과도와 직접적인 상관관계를 가질 것으로 예상하여 서로 다른 가교도를 가진 막에 대해 약물 방출 실험을 하고 투과계수를 구하는 식으로부터 투과계수를 구한 후 젯산기 반응도와 투과계수의 상관관계를 Figure 9에 보였다. 젯산기 반응도가 증가함에 따라 투과계수가 감소하여 젯산기 반응도와 투과계수가 직접적인 상관관계를 갖는 모습을 보여주고 있다. 이처럼 약물 방출 속도는 약물의 용도와 목적에 맞도록 온건변수(몰비, 가교 온도, 가교제 농도 등)를 조절하여 고분자의 가교도를 적절하게 설계함으로써 조절 가능함을 알 수 있었다.

생성된 고분자의 생체 내에서 분해 능력을 살펴보기 위해 생체와 유사한 조건에서 생분해성을 살펴보았다. 폴리락티드의 분자사슬 절단은 에스테르기의 가수분해에 의해 진행되는 것으로 알려져 있다.<sup>23</sup> 가수분해 반응은 고분자의 분자량, pH, 용매의 종류, 분해 효소의 농도 등에 의해 영향을 받으므로 동일한 조건에서 실험하는 것이 중요하다. Figure 10에서 동일한 분자량의 히아루론산으로부터 가교된 고분자를 증류수에 침전시킨 후 37 °C, pH 7.4에서 시간에 따른

Table 3. Tensile Properties of HA Polymers with EDC Concentration (Mole Ratio: 10, Temperature: 15 °C)

EDC concentration (wt%)	Tensile strength (kg/mm <sup>2</sup> )	Young's modulus (kg/mm <sup>2</sup> )	Elongation (%)
5	0.17	2.22	10.54
10	0.22	4.03	7.99
20	0.41	6.09	6.85

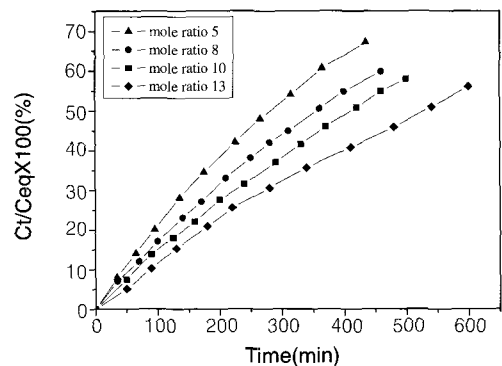


Figure 8. Release profiles of indomethacin from HA membranes cross-linked at different mole ratio of lactide to HA.

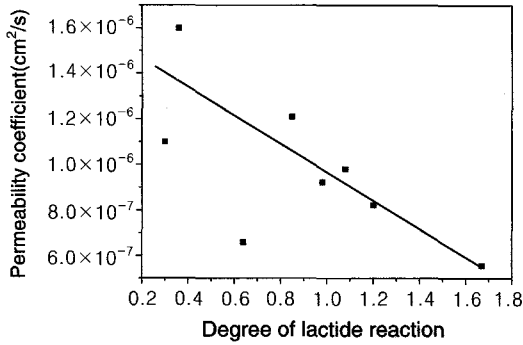


Figure 9. The relationship between permeability and lactide conversion.

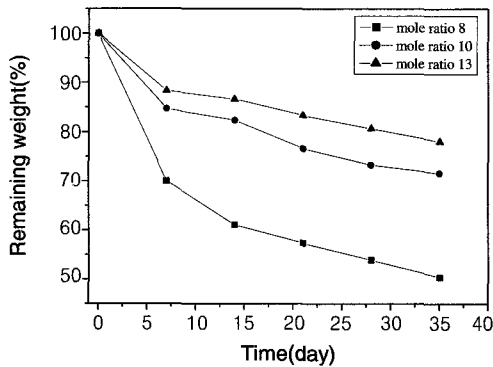


Figure 10. Degradation profiles of HA membranes crosslinked at different mole ratio of lactide to HA.

분해 거동을 살펴보았다. 시간이 지남에 따라 모든 종류의 고분자가 분해하였으며 몰비가 커 락타이드가 많이 첨가된 고분자일수록 분해 속도가 느렸다. 락타이드와 히아루론산의 몰비를 조절함으로써 인체 내에서 분해 속도를 조절할 수 있으리라 예상되었다.

4. 결론

냉동 건조법을 이용하여 히아루론산과 락타이드 수용액을 가교제 EDC로 가교시켜 불용성 박막을 제조하였다. 생성된 고분자 박막을 NMR로 분석하여 락타이드와 EDC가 히아루론산과 결합한 구조를 확인하였고 이로부터 반응도를 결정하였다. 히아루론산에 대한 락타이드의 몰비를 증가시키면서 가교시킨 결과 젖산기 반응도와 EDC 반응도가 증가하였다. 몰비가 증가하여 젖산기가 많이 첨가될수록 팽윤도는 감소하고, 기계적 강도는 증가하였다. 또 가교제 농도가 증가할수록, 가교 온도가 감소할수록 반응성이 증가하여 팽윤도는 감소하고 기계적 강도는 증가하였다. 서로 다른 가교도의 막으로 약물 투과도를 측정한 결과 젖산기 반응도가 증가함에 따라 약물 투과도는 감소하였다. 몰비가 커 젖산기가 많이 첨가된 고분자일수록 늦게 분해되었다.

감사의 글 : 본 연구는 2005년 산업자원부의 지역전략산업 석박사 연구인력 양성사업의 연구결과로 수행되었음.

참고문헌

1. Y. D. Park, N. Tirelli, and J. A. Hubbell, *Biomaterials*, **24**, 893 (2003).
2. G. D. Prestwich, D. M. Marecak, and J. F. Marecek, *J. Control. Rel.*, **53**, 93 (1998).
3. Y. Luo, K. R. Kirker, and G. D. Prestwich, *J. Control. Rel.*, **69**, 169 (2000).
4. S. N. Park, H. J. Lee, K. H. Lee, and H. Suh, *Biomaterials*, **22**, 1205 (2002).
5. S. N. Park, H. J. Lee, K. H. Lee, and H. Suh, *Biomaterials*, **24**, 1631 (2003).
6. H. S. Nam, J. H. Kim, J. H. An, and D. J. Jung, *Polymer(Korea)*, **25**, 476 (2001).
7. J. A. Hunt, H. N. Joshi, V. J. Stella, and E. M. Topp, *J. Control. Rel.*, **12**, 159 (1990).
8. L. Benedetti, R. Cortivo, T. Berti, A. Berti, F. Pea, M. Marzzo, M. Moras, and G. Abatangelo, *Biomaterials*, **14**, 1154 (1993).
9. J. Aigner, J. Tegeler, P. Hutzler, D. Campoccia, A. Pavesio, C. Hammer, E. Kastenbauer, and A. Naumann, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42**, 172 (1998).
10. G. P. Chen, Y. Ito, Y. Imanishi, A. Magnani, S. Lamponi, and R. Barbucci, *Bioconjugate Chem.*, **8**, 730 (1997).
11. N. E. Larsen, E. A. Leshchiner, E. G. Parent, and E. A. Balazs, *Cosmetic and Pharmaceutical Applications of Polymer*, Plenum Press, New York, 1991.
12. J. W. Burns, L. Burgess, K. Skinner, M. J. Colt, R. Rose, and M. P. Diamond, *Fertil. Steril.*, **66**, 814 (1996).
13. Y. Tokita and A. Pkamoto, *Eur. Polym. J.*, **32**, 1011 (1996).
14. S. P. Zhong, D. Campoccia, P. J. Doherty, R. L. Williams, L. Benedetti, and D. F. Williams, *Biomaterials*, **15**, 359 (1994).
15. J. S. Lee, D. J. Choo, S. H. Kim, and Y. H. Kim, *Polymer(Korea)*, **22**, 880 (1998).
16. C. Grandfils, P. Flandroy, and R. Jerome, *J. Control. Rel.*, **38**, 109 (1996).
17. H. Fukuzaki, M. Yoshida, M. Asano, and M. Kumakura, *Eur. Polym. J.*, **25**, 1019 (1989).
18. S. Li, M. Tenon, H. Garreau, C. Braud, and M. Vert, *Polym. Degrad. Stab.*, **67**, 85 (2000).
19. J. Y. Kwon and S. I. Cheong, *Membrane J.(Korea)*, **15**, 8 (2005).
20. J. H. Kim, J. Y. Kim, Y. M. Lee, and K. Y. Kim, *Polymer(Korea)*, **15**, 695 (1991).
21. J. W. Kuo, D. Swann, and G. D. Prestwich, *Bioconjugate Chem.*, **2**, 232 (1991).
22. K. R. Park, D. Kim, and Y. C. Nho, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **12**, 718 (2001).
23. L. F. Miranda, A. B. Lugao, L. D. B. Machado, and L. V. Ramanathan, *Radia. Phys. Chem.*, **55**, 709 (1999).
24. E. K. Choi, H. I. Kim, K. R. Park, and Y. C. No, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**, 505 (2003).
25. E. Milella, E. Brescia, C. Massaro, P. A. Ramires, M. R. Miglietta, V. Fiori, and P. Aversa, *Biomaterials*, **23**, 1053 (2002).
26. Y. L. Luo, K. R. Kirker, and G. D. Prestwich, *J. Control. Rel.*, **69**, 169 (2000).
27. E. Payan, J. Y. Jouzeau, F. Lapique, K. Bordji, and P. Netter, *J. Control. Rel.*, **34**, 145 (1995).
28. T. Coviello, M. Dentini, G. Rambone, P. Desideri, and F. Alhaique, *J. Control. Rel.*, **55**, 57 (1998).