

## 페녹시기와 카르복시레이토펜옥시기가 함께 치환된 포스파젠 고분자를 이용한 당뇨병 진단막의 제조

권 석 기<sup>†</sup>

홍익대학교 과학기술대학 바이오화학공학과  
(2017년 3월 15일 접수, 2017년 3월 31일 수정, 2017년 4월 4일 채택)

### Preparation of Diabetic Diagnostic Membranes with Phenoxy-Carboxylatophenoxy Cosubstituted Polyphosphazenes

Suk-Ky Kwon<sup>†</sup>

Department of Biological and Chemical Engineering, Hongik University, Seoul 121-791, Korea  
(Received March 15, 2017, Revised March 31, 2017, Accepted April 4, 2017)

**요약:** 새로운 형태의 페녹시-카르복시레이토펜옥시기가 함께 치환된 포스파젠 고분자를 여러 치환율을 가지고 합성하였다. 이러한 형태의 포스파젠 고분자를 이용해 당뇨병 진단막을 제조하여 혈액 속의 글루코오스의 농도를 변화시켜가며 680 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 기본적으로 흡광도가 시간에 따라 변화하는 양(K/S)과 글루코오스의 농도가 직선적인 관계를 가지는 것으로 나타났다. 소수성기인 페녹시기와 친수성기인 카르복시레이토펜옥시기의 치환율이 글루코오스 농도 측정에 미치는 영향을 조사하였다. 친수성기의 치환율이 10% 이하인 경우에는 글루코오스의 침투속도가 너무 느려 글루코오스의 농도 측정이 어려웠다. 그러나 친수성기의 치환율이 10% 이상으로 증가함에 따라 글루코오스의 농도와 K/S의 기울기 값(Dose-Response Slope : DRS)이 점차 증가하였다. 하지만 친수성기의 치환율이 30% 이상일 경우에는 글루코오스가 너무 빨리 침투하여 DRS가 급격히 증가하였다.

**Abstract:** The new types of phenoxy-carboxylatophenoxy cosubstituted polyphosphazene were synthesized with various substitution rates. Diabetic diagnostic membranes were prepared with these types of polyphosphazenes and final absorbances at 680 nm through these membranes were measured at various concentrations of glucose in blood. Basically, the end-point results of varying absorbance values according to time (K/S) had a linear relationship to the glucose concentration. The effects of substitution rates with hydrophilic carboxylatophenoxy groups and hydrophobic phenoxy groups on the glucose concentration measurements were examined. It was very difficult to measure glucose concentration in less than 10% of the hydrophilic substitution rates, because the glucose penetration rate was too slow. But dose-response slope (DRS) values between glucose concentration and K/S values increased as the hydrophilic substitution rates increased in more than 10% of the hydrophilic substitution rates. However, in more than 30% of the hydrophilic substitution rates, DRS value was too rapidly increased, because glucose penetration rate was too fast.

**Keywords:** *phenoxy-carboxylatophenoxy, polyphosphazene, diabetic, diagnostic, membranes*

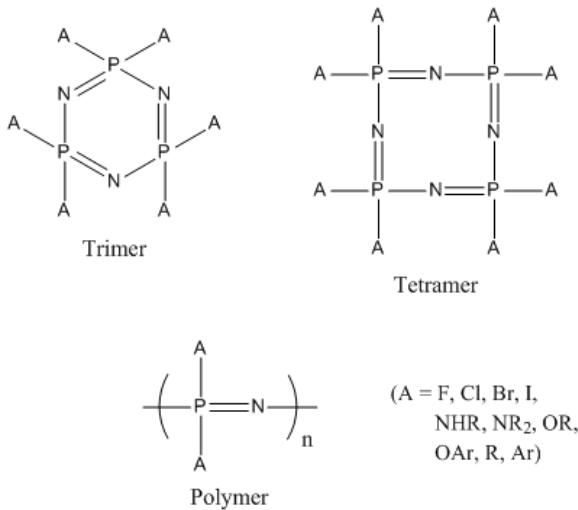
#### 1. 서론

포스파젠은 인과 질소가 교대로 연결되어 있는 화합물을 총칭한다. 주로 세 가지 형태의 포스파젠 화합물이 가장 많이 쓰이는데, 세 개의 기본단위로 되어있는 삼량

체, 네 개 형태의 사량체, 그리고 인과 질소의 단위가 연속적으로 구성되어 높은 분자량을 가진 고분자 형태가 있다. 위에서 언급한 구조들을 Fig. 1에서 표시하였다[1].

Fig. 1에서 볼 수 있는 것처럼 포스파젠의 치환체인 A는 할로젠, 아미노기, 알콕시기, 아릴록시, 알킬기, 아

<sup>†</sup>Corresponding author(e-mail: [smchurch@hongik.ac.kr](mailto:smchurch@hongik.ac.kr), <http://orcid.org/0000-0003-3884-5431>)

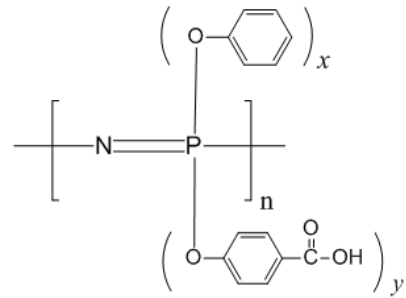


**Fig. 1.** The chemical structures of phosphazene trimers, tetramers, and polymers.

릴기 등 다양하게 변화시킬 수 있고, 또 포스파젠은 치환체에 따라 화학적 물리적 성질이 달라지는 좋은 특성을 가지고 있다[2]. 그러나 가장 많이 사용되는 포스파젠 고분자의 경우 기본이 되는 할로젠이 치환되어 있는 고분자가 공기 중에서 쉽게 분해되어 사용에 어려움이 많았으나 Harry Allcock이 유기 및 무기 치환체를 도입하여 공기 중에서 아주 안정한 포스파젠 고분자를 합성한 후 다양한 분야에서 사용되어 왔다[3-5]. 특별히 포스파젠 고분자는 화학적으로 안정하고, 기계적으로 강도가 높으며, 필름 형성이 용이하여 분리막으로서 사용될 수 있고 [6-7], 또 아주 좋은 생체적합성을 가지고 있어 생유기성 고분자 재료로 사용되기에 아주 좋은 재질이다[8-9].

현대 사회가 복잡해지면서 많은 사람들에게 다양한 질병들이 나타나고 있다. 암이나 에이즈 같은 무서운 질병도 있으나 잘 인식하지 못하다가 서서히 나타나는 여러 가지 만성적 질병도 있다. 그중 당뇨병은 지금 가장 많은 사람들이 고통을 당하는 가장 대표적인 만성적 질병이다[10]. 당뇨병은 건강관리를 잘하여 질병에 안 걸리는 것이 가장 좋지만 그렇지 못하다면 당뇨병을 빨리 진단하여 관리를 하는 것이 그 다음으로 중요하다. 당뇨병은 혈액 속의 글루코오스의 농도가 높아져 합병증을 유발하는 아주 심각한 질병이다. 그러므로 당뇨병 진단막을 이용한 혈당 검사를 수시로 하여 그에 맞는 관리를 하는 것이 매우 중요하다[11].

당뇨병 진단막으로는 여러 가지 고분자를 이용한 진단막이 사용되어 왔다[12-14]. 특히 포스파젠 고분자를



**Fig. 2.** The chemical structure of phenoxy-carboxylatophenoxy cosubstituted polyphosphazenes.

이용한 당뇨병 진단막에 관한 연구도 이미 여러 번 이루어져 왔다[15-16]. 이미 발표된 논문에서 볼 수 있듯이 당뇨병 진단막으로 사용하기 위해서는 포스파젠 주 사슬의 구성 원소인 인에 좋은 물리적 성질을 가진 소수성기와 글루코오스의 침투를 도와주는 좋은 친수성기가 함께 붙어 있어야 한다[16]. 소수성기로는 삼불소화에톡시기 또는 페녹시기가 주로 사용되었고, 친수성기로는 메톡시에톡시에톡시기 또는 메틸아미노기가 주로 사용되었다[17-18]. 삼불소화에톡시기는 기계적 화학적 물성은 너무 좋으나 너무 소수성이 강해 글루코오스 침투가 다소 느려지는 단점이 있고[17], 친수성기로는 사용되는 메톡시에톡시에톡시기와 같은 치환기는 친수성도 좋고 화학적으로 안정하나 기계적 강도가 약하고 쉽게 팽윤되는 단점이 있고[18], 친수성기인 메틸아미노기는 친수성도 좋고 물리적 성질도 좋으나 기체를 사용해야 하는 합성 과정에 어려움이 있는 단점이 있다[19].

그래서 본 연구에서는 물리적 화학적 성질이 우수한 페녹시기를 소수성기로 사용하였는데 페녹시기는 우선 소수성이 높고, 필름 형성이 용이하며, 포스파젠 주 사슬에 치환하기가 쉬우며, 페닐기에 붙어 있는 치환기에 따라 물성이 쉽게 변하는 장점이 있으며, 또한 페닐기에 붙어 있는 치환기는 포스파젠 주사슬의 인과 질소의 결합에 영향을 주지 않아 다양한 합성에 용이한 장점이 있다. 또한 친수성이 있으나 물리적인 성질도 우수한 카르복시레이트페녹시기를 친수성기로 사용하고 페녹시기와 함께 치환된 포스파젠 고분자를 이용하여 새로운 형태의 당뇨병 진단막을 제조하고자 하였다[20]. Fig. 2에서는 본 연구에서 사용된 포스파젠 고분자의 구조를 보여주고 있다. Fig. 2에서 볼 수 있듯이 x와 y의 비율을 변화시켜 가며 여러 형태의 포스파젠 고분자

를 얻었고 그 고분자들을 다양한 분석 방법을 통해 그 구조를 확인하였다. 합성된 여러 형태의 포스파젠 고분자를 필름으로 만든 후 효소 등이 들어 있는 용액을 이용해 활성화시키고, 활성화된 필름을 가지고 진단막을 제조하였다[21]. 제조된 진단막을 가지고 다양한 농도의 글루코우즈 용액과 반응시켜 얻은 색을 분석하여 용액 속의 글루코우즈의 농도를 측정하고자 하였다[22]. 또한 치환율이 글루코우즈 농도 측정에 미치는 영향을 조사하여 가장 최적의 포스파젠 고분자 진단막을 찾아내었다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약

포스파젠 합성에 사용되는 용매로는 dioxane과 tetrahydrofuran (THF)을 주로 사용하였는데 두 용매 모두 나트륨 또는 sodium hydride와 벤조페논을 넣어 흑청색으로 바꾼 후 증류하여 사용하였다. 염화포스파젠은 유기치환 반응을 시키기 전에는 공기 중의 수분과 쉽게 반응할 수 있기 때문에 모든 합성은 모두 질소 분위기 하에서 이루어졌다. 삼량체인 hexachlorocyclotriphosphazene (1)(Aldrich, m.p. 110°C-112°C)은 삼량체-사량체 혼합물을 hexane에서 분별 결정시킨 후 60°C (0.5 Torr)에서 진공 분별 승화시키고, 이러한 과정을 세 번 반복한 후 아주 정제된 상태로 사용했다. 분자량이 높은 고분자인 poly(dichlorophosphazene)(2)은 고리형 염화 삼량체(1)를 250°C에서 열에 의한 고리 개환 중합시켜서 얻었다[23]. Potassium tert-butoxide (t-BuOK), p-toluenesulfonic acid, sodium spheres, sodium hydride, phenol, methylene chloride, tetra-n-butylammonium bromide, hexane, methanol 등은 Aldrich에서 구입해 정제 없이 사용하였다. Ethyl 4-hydroxybenzoate는 Aldrich에서 구입한 후 methylene chloride와 hexane으로부터 재결정하여 사용하였다. Hydrochloric acid, sodium phosphate, polyethylene imine (PEI), PIPES (Na salt), NAD (Sigma Type V-C), Triton X-100, poly(vinyl alcohol), Olin 10G, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (EDAC) 등은 Sigma로부터 구입해 정제 없이 사용하였다.

Sigma로부터 구입한 diaphorase와 glucose dehydrogenase (GDH)가 효소로 사용되었는데 이 효소들과 글루코우즈의 반응을 통해 염료이며 Sigma로부터 구입한 2-(p-iodophenyl)-3-nitrophenyl-5-phenyl tetrazolium chloride

(INT)가 환원되어 나타내는 색을 680 nm에서 측정하여 글루코우즈의 농도를 측정하였다. 이 메카니즘은 2016년 발표된 논문에 자세히 표시되어 있다[16]. TiO<sub>2</sub> (325 mesh size, anatase)는 분리막 배경 전반에 희게 잘 분포하여 환원된 INT의 색을 측정할 때 흡광도가 잘 얻어질 수 있도록 도와주기 위해 사용하였는데 Aldrich에서 구입해 정제 없이 사용하였다. 진단막을 제조하기 위해 사용된 poly(ethylene terephthalate)(PET)는 Bayer에서 구입하였고, 특별히 PET는 플라즈마를 사용해 표면처리한 후 사용하였다.

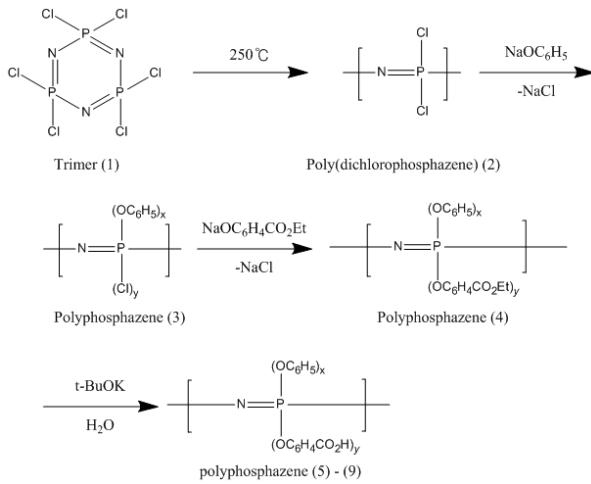
### 2.2. 장치

고리형 포스파젠 삼량체(1)를 이용해 높은 분자량의 포스파젠 고분자(2)를 얻기 위해서 250°C로 조절되는 오븐 속에서 기계적 장치를 통해 계속적으로 고리형 삼량체(1)를 함유한 파이렉스 튜브를 흔들며 주는 중합시스템을 사용하였다. 파이렉스 튜브 안에서 중합된 고분자는 질소기류 하의 glove box에서 꺼내 승화기에 넣고 미 반응 고리형 염화 삼량체(1)를 제거한 후 필요한 양만큼 플라스크에 들어 있는 용매에 녹여 치환반응에 사용하였다. 또한 고분자 치환 반응 시 교반을 위해서는 교반속도 변환이 가능한 Talboys T-102 교반기를 사용하였다. Varian Gemini-2000 핵자기 공명 분광기를 이용한 <sup>31</sup>P-NMR 스펙트럼에 나타나는 형태에 따라 포스파젠의 치환정도를 얻어낼 수 있었으며 이때 인의 화학적 이동은 85% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 수용액에서 얻어지는 인을 기준 값으로 해서 측정하였다. 적외선 분광 스펙트럼은 Bio-Rad FTS-165 적외선 분광기(FT-IR)를 사용하였고, 원소분석은 Carlo Erba EA1108 원소분석기(EA)를 사용하였다. 분자량은 polystyrene gel column을 이용한 Spectra-Physics P1000 PL (GPC)를 사용하여 측정하였다.

Enzyme, TiO<sub>2</sub>, INT, polymer solution 등을 교반하는 데는 Talboys에서 제작한 T-Line mechanical stirrer를 사용하였다. 얻어진 용액의 점도는 Brookfield 점도계로 측정하였다. 글루코우즈의 농도에 따른 INT의 색 변화는 Shimadzu사의 UV-2101PC 자외선/가시광선 흡광 분석기를 사용하여 분석하였다. 항온조는 Johnson JS-WBP-170P 모델을 사용하였다.

### 2.3 Poly(dichlorophosphazene)(2)의 제조

승화 과정을 통해 미리 정제된 고리형 염화 삼량체(1)를 파이렉스 튜브에 넣고 진공상태에서 불꽃을 이용



**Fig. 3.** The reaction sequences for the synthesis of phenoxy-carboxylatophenoxy cosubstituted polyphosphazenes.

해 밀봉하였다. 밀봉되어진 튜브에 철사 망을 입힌 후 중합 오븐에 넣고 250°C에서 기계적 장치를 통해 흔들며 주면서 서서히 중합반응을 시켰다. 튜브 속의 점도가 매우 높아졌을 때 오븐에서 꺼내 중합에서 얻어진 큰 분자량의 포스파젠 고분자(2)를 질소 기류 하에서 파이렉스 튜브로부터 분리하고 승화장치를 이용해 50°C에서 미 반응된 고리형 염화 삼량체(1)를 제거하여 정제하였다[24].

**2.4. [NP(OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>1.49</sub>(OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>Et)<sub>0.51</sub>]<sub>n</sub>(4)의 합성**  
 다양한 치환율을 가진 페녹시기와 카르복시레이트페녹시기이 함께 치환된 포스파젠 고분자들의 합성은 같은 방식의 합성과정을 통해 만들어졌다. 이러한 합성의 개요를 Fig. 3에 나타내었다. 먼저 염화 포스파젠 고분자(2)(5 g, 0.043 mol)를 미리 정제된 용매인 dioxane (200 mL)에 균일하게 녹인다. 그 다음 phenol (6.12 g, 0.065 mol)을 100 mL의 dioxane 속에 용해시킨 다음 과량의 sodium hydride를 첨가하여 sodium phenoxide를 만든다. 25°C에서 5시간 동안 반응시킨 후 질소 하에서 용액을 거른 다음 걸러진 맑은 용액을 이미 dioxane에 녹아 있는 고분자(2)의 용액에 첨가한다. Phase-transfer catalyst인 tetra-n-butylammonium bromide (0.3 g)을 넣어준 후 24시간 동안 반응이 진행되도록 가열한 상태에서 계속해서 저어 준다. Sodium spheres (1.95 g, 0.08 mol)를 150 mL의 정제된 dioxane에 첨가한다. Ethyl 4-hydroxybenzoate (17.9 g, 0.108 mol)을 30 mL의 정제된 dioxane에 녹이고 그 용액을 sodium spheres

가 들어 있는 용액에 잘 저어 주면서 천천히 첨가한다. 반응 용액을 reflux시키면서 10시간 반응시킨다. 앞에서 페녹시기가 부분적으로 치환되어 있는 고분자(3)의 용액을 ethyl 4-hydroxybenzoate의 sodium salt 용액에 천천히 저어 주면서 첨가한다. 다시 반응 용액에 phase-transfer catalyst인 tetra-n-butylammonium bromide (0.5 g)을 넣어준 후 48시간 동안 계속해서 저어 주면서 반응이 완결할 수 있도록 reflux 시킨다. 최종 얻어진 포스파젠 고분자(4)의 <sup>31</sup>P NMR spectrum으로부터 -19.3 ppm에서의 단일 피크를 얻었다. 반응 용액을 서서히 냉각시킨 후 물에 침전시켜 분리한다. 얻어진 하얀 색의 고분자를 다시 THF에 녹인 후 물에 3번, hexane에 2번 재침전시킨다.

**2.5. [NP(OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>1.49</sub>(OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>H)<sub>0.51</sub>]<sub>n</sub>(8)의 합성**  
 앞에서 얻어진 포스파젠 고분자(4)(1 g, 3.73 mmol)를 미리 정제된 THF (50 mL)에 용해시킨다. 잘 용해시킨 용액을 t-BuOK (8 g, 0.08 mol)와 0.4 mL (0.022 mol)의 물이 들어 있는 200 mL의 THF의 용액에 천천히 첨가한다. 처음 5분 동안은 얼음으로 냉각시킨 다음 상온에서 40시간 동안 저어 주면서 가수분해 시켜서 potassium salt 상태인 [NP(OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>1.49</sub>(OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>K)<sub>0.51</sub>]<sub>n</sub>를 얻는다. 반응 후 과량의 얼음 물(500 mL)를 가하면 가수분해된 고분자가 침전되어 나온다. 침전된 포스파젠 고분자를 다시 THF에 녹인 후 물에서 3번 hexane에서 2번 재침전 시켜 순수한 고분자를 얻는다. Potassium salt 상태로 얻어진 고분자를 hydrochloric acid로 처리하여 최종 [NP(OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>1.49</sub>(OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>H)<sub>0.51</sub>]<sub>n</sub>(8)를 얻는다.

## 2.6. 포스파젠 고분자 진단막의 제조

당뇨병 진단막을 제조하는 과정은 앞에서 발표한 논문에서 사용한 것과 같은 방법을 사용하였다[25]. 합성된 포스파젠 고분자를 코팅하기 위해서는 K-coater와 150 μ blade를 사용한 블레이드 코팅법을 사용하였다. 물을 사용해 coagulation시킨 후 건조하여 얻은 분리막을 우선 TiO<sub>2</sub> Dip에 담근 후 꺼내어 건조 오븐에서 건조시킨다. 그 다음 염료인 INT를 함유한 Incator Dip에 담근 후 건조 오븐에서 건조시킨다. 세 번째로는 효소가 들어 있는 용액에 담근 후 오븐에서 건조시킨다. 네 번째로는 얻어진 색이 균일하게 나타내기 위해 고분자 (PEI) 용액으로 처리하는 과정이고, 마지막으로 첨가된 시약들이 잘 탑재될 수 있도록 경화제인 EDAC로

**Table 1.** Characterization of the Polyphosphazenes (5)-(9)

| Polymer  | <sup>31</sup> P NMR <sup>a</sup> (ppm) | FT-IR (cm <sup>-1</sup> )                       | Mw <sup>b</sup> (GPC) |
|--|--|---|-----------------------|
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.79</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.21</sub> ] <sub>n</sub> (5) | a singlet<br>at -18.5                  | 1650 (C=O)<br>2500-3400 (O-H)<br>1240 (P=N/P-O) | 1.3 × 10 <sup>6</sup> |
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.67</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.33</sub> ] <sub>n</sub> (6) | a singlet<br>at -18.7                  | 1670 (C=O)<br>2500-3400 (O-H)<br>1240 (P=N/P-O) | 5.5 × 10 <sup>5</sup> |
| [NP(CO <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.58</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.42</sub> ] <sub>n</sub> (7) | a singlet<br>at -19.1                  | 1640 (C=O)<br>2500-3400 (O-H)<br>1240 (P=N/P-O) | 9.3 × 10 <sup>5</sup> |
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.49</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.51</sub> ] <sub>n</sub> (8) | a singlet<br>at -19.3                  | 1670 (C=O)<br>2500-3400 (O-H)<br>1240 (P=N/P-O) | 7.8 × 10 <sup>5</sup> |
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.38</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.62</sub> ] <sub>n</sub> (9) | a singlet<br>at -19.8                  | 1680 (C=O)<br>2500-3400 (O-H)<br>1240 (P=N/P-O) | 1.2 × 10 <sup>6</sup> |

<sup>a</sup>Chemical shift positions were relative to aqueous 85% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

<sup>b</sup>Polystyrene was used as standard sample.

처리하는 과정이다. 이와 같은 다섯 가지 용액을 사용하여 포스파젠 분리막을 활성화 시킨다. 활성화된 포스파젠 진단막을 1 cm × 1 cm 크기로 잘라 가로 직경 0.5 cm, 세로 직경 0.8 cm, 두께 0.2 cm인 타원형의 샘플 흡입용 플라스틱(PET) 2장 사이에 넣고 높은 온도에서 열처리한 후 노출된 부분을 절제하여 측정용 샘플을 제조하였다.

### 2.7. 포스파젠 고분자 진단막의 글루코우즈 농도 측정 시험

먼저 혈액 100 mL에 각 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg의 글루코우즈를 넣어 잘 교반시켰다. 앞에서 제조한 포스파젠 진단막 위에 미리 제조한 각각의 글루코우즈 용액 한 방울 씩을 떨어뜨려 글루코우즈와 진단막 속에 내재된 효소의 반응으로 매 순간 생성되는 formazan의 농도변화를 680 nm에서의 흡광도를 통해 얻어내었다.

Formazan의 농도는 처음 10초 간 급격히 증가하다가 40초 이후에 최대치를 형성한 후 최종 평형 값을 갖는 것으로 나타났다. 안정적으로 60초에서의 흡광도를 통해 형성된 formazan의 농도를 시간으로 나눈 값을 K/S로 정의하고 이 값과 대응하는 각각의 글루코우즈의 농도를 나타내었다. 최종적으로 그래프 상의 여러 가지 글루코우즈의 농도와 K/S와의 기울기 값을 얻어 내었는데 이 값을 Dose-Response Slope (DRS)라고 정의하였다[16].

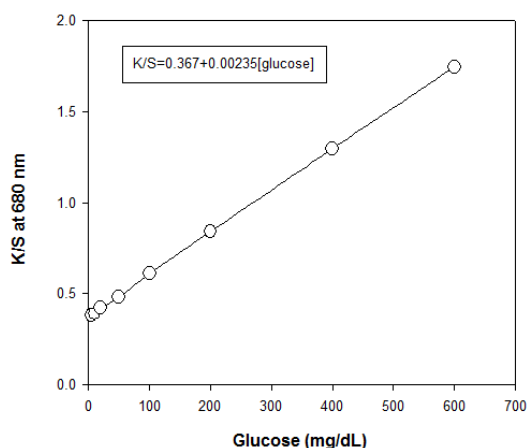
## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 합성된 포스파젠 고분자의 분석

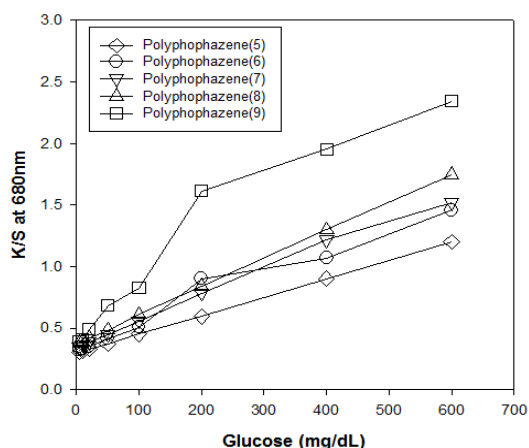
높은 분자량의 염화 포스파젠 고분자(2)는 염화 포스파젠 삼중체(1)를 진공으로 처리해 밀봉한 파이렉스 튜브 안에 넣고 250°C의 온도를 유지하면서 열 개환 중합을 통해 얻었다. 고분자(2)는 공기 중에 노출되면 경화 또는 분해가 일어날 수 있기 때문에 질소 분위기 하에서 보관시킨다. 잘 용해된 고분자(2)를 용매에 잘 용해시킨 후 적당한 치환율 x에 해당하는 sodium phenoxide를 넣고 반응시킨다. 적당한 시간 후 <sup>31</sup>P NMR spectrum을 이용해 치환된 정도를 확인한다. 미반응 염소를 함유한 인을 완전히 치환시키기 위해 과량의 ethyl 4-hydroxybenzoate의 sodium salt를 첨가해 충분히 반응시킨 후 반응 정도를 <sup>31</sup>P NMR spectrum을 이용해 확인한다. 반응이 완결되면 <sup>31</sup>P NMR spectrum상에 깨끗한 singlet가 얻어진다. 또 FT-IR spectrum을 통해 carbonyl기, ethyl기, hydroxy기의 특성 peak도 확인할 수 있다. 얻어진 고분자들의 분자량은 Spectra-physics P1000 PL을 통해 얻었는데 대부분이 5.5 × 10<sup>5</sup>에서 1.34 × 10<sup>6</sup>의 높은 분자량을 가진 것으로 나타났다. 합성해서 얻어진 고분자들을 분석해서 얻어진 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1에 나타난 고분자(5)의 x = 1.79, y = 0.21, n = 5411이고, 고분자(6)의 x = 1.67,

**Table 2.** Elemental Microanalysis Date for the Polyphosphazenes (5)-(9)

| Polyphosphazenes   |       | %C    | %H   | %N   |
|--|-------|-------|------|------|
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.79</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.21</sub> ] <sub>n</sub> (5) | calcd | 60.99 | 4.16 | 5.83 |
|  | found | 60.78 | 4.18 | 5.89 |
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.67</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.33</sub> ] <sub>n</sub> (6) | calcd | 60.26 | 4.07 | 5.70 |
|  | found | 59.89 | 4.02 | 5.65 |
| [NP(CO <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.58</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.42</sub> ] <sub>n</sub> (7) | calcd | 59.74 | 4.01 | 5.61 |
|  | found | 59.71 | 3.99 | 5.45 |
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.49</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.51</sub> ] <sub>n</sub> (8) | calcd | 59.23 | 3.95 | 5.52 |
|  | found | 59.17 | 3.92 | 5.54 |
| [NP(OC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>1.38</sub> (OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H) <sub>0.62</sub> ] <sub>n</sub> (9) | calcd | 58.63 | 3.87 | 5.42 |
|  | found | 58.45 | 3.82 | 5.43 |

**Fig. 4.** Relationship between K/S values and blood glucose concentration with polyphosphazene (8).

$y = 0.33$ ,  $n = 2240$ 이고, 고분자(7)의  $x = 1.58$ ,  $y = 0.42$ ,  $n = 3727$ 이고, 분자(8)의  $x = 1.49$ ,  $y = 0.51$ ,  $n = 3078$ 이고, 고분자(9)의  $x = 1.38$ ,  $y = 0.62$ ,  $n = 4646$ 이었다. 또 고분자(5)의 친수성기 치환율은 10.5%이고, 고분자(6)의 친수성기 치환율은 16.5%이고, 고분자(7)의 친수성기 치환율은 21.0%이고, 고분자(8)의 친수성기 치환율은 25.5%이고, 고분자(9)의 친수성기 치환율은 31.0%로  $y$ 의 값이 증가할수록 친수성기 치환율도 증가하였다. Table 1에 나타난  $^{31}\text{P}$  NMR의 대한 결과를 분석하면 우선 singlet가 얻어졌다는 것은 주 사슬에 있는 모든 P-Cl 결합이 모두 P-OPh 결합으로 치환되었음을 나타낸다. 또한 chemical shift가 점점 downfield로 이동하는 경향은 페닐기에 붙은 전자 끌개기인 카르복실기가 붙은 치환체가 점점 많아지는 것을 나타낸다. 최종적으로, 합성을 통해 얻어진 고분자들을 Carlo Erba EA1108 원소분석기를 이용해 각각의 성분을 확

**Fig. 5.** Relationship between blood glucose concentration and K/S values with several different polyphosphazenes (5)-(9).

인하였고 그 결과를 Table 2에 나타내었다.

### 3.2. 제조된 포스파젠 진단막을 이용한 글루코우즈 농도 측정 결과

앞에서 합성하고 확인된 [NP(OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>1.49</sub>(OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CO<sub>2</sub>H)<sub>0.51</sub>]<sub>n</sub>(8)을 진단막의 형태로 제조한 후 혈액 속에 녹아 있는 글루코우즈의 농도를 측정하기 위해 먼저 여러 가지 용액으로 활성화시켰다. 활성화된 포스파젠 진단막을 가지고 글루코우즈 농도 측정용 샘플을 만들었다. 제조된 측정용 샘플을 가지고 글루코우즈의 농도를 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 600 mg/dL로 변화시켜 가면서 얻어진 K/S 결과치를 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 볼 수 있는 것처럼 K/S 결과치와 글루코우즈의 농도가 직선적인 관계를 갖고 있음을 알 수 있다.

**Table 3.** DRS Values of Varous Diabetic Diagnostic Membranes (DDM)

| Kinds of DDM  | DRS values |
|---|------------|
| Urethane DDM (10)   | 0.00223    |
| Acrylonitrile DDM (11)  | 0.00256    |
| $[\text{NP}(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_{1.41}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{C}_3)_{0.59}]_n$ (12) | 0.00248    |
| $[\text{NP}(\text{OC}_6\text{H}_5)_{1.56}(\text{NHCH}_3)_{0.44}]_n$ (13)  | 0.00218    |
| $[\text{NP}(\text{OCH}_6\text{H}_5)_{1.49}(\text{OC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{H})_{0.51}]_n$ (8)                   | 0.00235    |

### 3.3. 포스파젠 고분자의 치환율에 따른 K/S 측정결과의 비교

포스파젠 고분자 중 인에 치환되어 있는 친수성기의 치환율이 글루코오스 농도 측정에 미치는 영향을 조사하였다. 앞에서 합성한 다섯 가지의 포스파젠 고분자 (5)-(9)를 각각 진단막으로 제조한 후 앞에서 사용했던 것과 같은 방법으로 여러 농도의 글루코오스 농도에서의 K/S 결과치를 구했다. Fig. 5에는 각각의 포스파젠 진단막으로부터 얻은 글루코오스 농도 변화에 따른 K/S 결과치를 나타내었다. Fig. 5에서 나타난 것처럼 친수성기인 카르복시레이트페녹시기의 치환율이 10% 이하인 경우에는 글루코오스의 침투가 너무 느리게 진행되어 매우 낮은 DRS 결과치를 나타내었다. 카르복시레이트페녹시기의 치환율이 증가함에 따라 DRS 결과치도 증가하여 카르복시레이트페녹시기의 치환율이 25%인 경우에 글루코오스 농도를 측정하기에 가장 적절한 값을 가짐을 알 수 있었다. 그러나 카르복시레이트페녹시기의 치환율이 30%를 넘어가면 글루코오스의 침투가 너무 빨리 이루어져 DRS가 너무 급격히 증가하였으므로 30% 이상의 치환율을 가진 포스파젠 진단막의 경우 혈당 측정에 적합하지 않음을 확인할 수 있었다.

### 3.4. 새롭게 제조된 포스파젠 진단막과 기존의 진단막들과의 비교

본 연구에서 제조된 포스파젠 당뇨병 진단막을 가지고 혈당 측정을 하는데 있어 기존의 diabetic diagnostic membrane (DDM)들과 어떤 차이점을 보이는가를 조사하였다. 앞에서 발표된 우레탄 진단막과 아크릴로니트릴 진단막도 본 연구에서 사용된 제조 방법과 같은 방법으로 제조되었다[12,25]. 가장 많이 사용되어 지고 있는 우레탄 고분자를 이용한 DDM(10), 또 아크릴로니트릴 고분자를 이용한 DDM(11), 그리고 앞에서 사용했던 삼불소화에톡시기와 메톡시에톡시에톡시기가 함께 치환된 고분자를 이용한 DDM(12) 그리고 페녹시기

와 메틸아미노기가 함께 치환된 포스파젠 고분자를 이용한 DDM(13)에서 얻었던 DRS의 값들을 비교하여 Table 3에서 나타내었다. Table 3에서 볼 수 있는 것처럼 모든 진단막에서 얻어진 DRS가 거의 비슷한 값을 가지고 있어 혈당 측정에 적합한 것으로 나타났다. 다만 분리막의 재질 등이 다소 다른 점을 나타내고 있는데, 우레탄이나 아크릴로니트릴계 고분자 진단막의 경우 소수성이 다소 강해 글루코오스의 침투가 다소 느리게 나타났다. 포스파젠 고분자 진단막의 경우 메톡시에톡시에톡시기를 함유한 경우 그 물리적인 강도가 다소 약하고 쉽게 팽윤되는 단점이 있다. 메틸아민기를 함유한 진단막은 좋은 물리적 물성을 가졌으나 메틸아민이 기체여서 합성과정에 다소의 어려움이 있다는 단점이 있다. 그러나 본 연구에서 사용된 페녹시 계열의 포스파젠 고분자는 그 물리적 기계적 물성이 우수하고 합성에 어려움이 없으며 소수성기와 친수성기의 치환율을 조정하는 것도 어렵지 않아 미래의 당뇨병 진단막의 좋은 재질로 사용하기에 매우 적합해 보인다.

## 4 결 론

페녹시기와 카르복시레이트페녹시기가 함께 치환된 포스파젠 고분자를 새로이 합성하여 당뇨병 진단막으로서 사용 가능한지를 조사하고 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 카르복시레이트페녹시기의 치환율이 10.5%에서 31%인 다섯 가지의 phenoxy-carboxylatophenoxy co-substituted polyphosphazenes를 합성하였고  $^{31}\text{P}$  NMR, FT-IR, GPC, EA와 같은 분석기기들을 이용해 그 구조와 치환율을 확인하였다.

2)  $[\text{NP}(\text{OC}_6\text{H}_5)_{1.49}(\text{OC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{H})_{0.51}]_n$ (8)을 이용해 제조된 포스파젠 진단막과 혈액 속에 녹아 있는 여러 농도의 글루코오스와 반응시킨 결과 680 nm에서 얻어진

K/S 결과치가 글루코우즈의 농도와 직선적인 관계를 가지고 있는 것으로 나타났다.

3) 소수성기인 폐색시기의 치환율이 90% 이상인 경우에는 글루코우즈의 침투속도가 너무 느려 글루코우즈의 농도 측정이 어려웠지만, 폐색시기의 치환율이 감소함에 따라 글루코우즈의 농도와 K/S의 기울기 값 (Dose-Response Slope : DRS)이 점차 증가하였다.

4) 그러나 친수성기인 카르복시레이토펜색시기의 치환율이 30% 이상일 경우에는 글루코우즈가 너무 빨리 침투하여 DRS가 급격히 증가하였다.

5) 포스파젠 진단막들과 기존의 우레탄 진단막, 아크릴로니트릴 진단막들과 혈당 측정 후 나타난 결과를 비교하였으나 모두 혈당 측정에 적합한 DRS 결과치를 나타내었고 다만 물리적인 물성에서나 합성과정에서 다소의 차이점을 보였다.

## 감 사

본 연구는 2017년도 홍익대학교 학술연구진흥비에 의하여 연구되었기에 감사드립니다.

## Reference

- H. R. Allcock, "Controlled synthesis of organic-inorganic polymers that possess a backbone of phosphorous and nitrogen atoms", *Makromol. Chem. Suppl.*, **4**, 3 (1981).
- H. R. Allcock and F. Lampe, "Contemporary polymer chemistry", pp 259-269, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey (2003).
- R. E. Singler, G. L. Hagnauer, N. S. Schneider, B. R. Laliberte, R. E. Sacher, and R. W. Matton, "Synthesis and characterization of polyaryloxyphosphazenes", *J. Polym. Sci.*, **12**, 433 (1974).
- H. R. Allcock and S. Kwon, "Glyceryl polyphosphazenes: synthesis, properties, hydrolysis", *Macromolecule*, **21**, 7 (1988).
- S. Kwon, "Synthesis of water-soluble methoxyethoxy-aminoaryloxy cosubstituted polyphosphazenes as carrier molecules for bioactive agents" *Bull. Kor. Chem. Soc.*, **21**, 10 (2000).
- S. Kwon and B. Lee, "A Study on the preparation of ion-exchange membranes with polyphosphazenes", *Appl. Chem. Eng.*, **9**, 3 (1998).
- H. R. Allcock, M. Gebura, S. Kwon, and T. X. Neenan, "Amphiphilic polyphosphazenes as membrane materials: influence of side group on radiation crosslinking, semipermeability, and surface morphology", *Biomaterials*, **9**, 500 (1988).
- H. R. Allcock and S. Kwon, "Covalent linkages of proteins to surface-modified poly(organophosphazenes): Immobilization of glucose-6-phosphate dehydrogenase and trypsin", *Macromolecules*, **19**, 1502 (1986).
- S. Kwon and S. J. Eum, "Enzyme immobilization with polyphosphazene hydrogels", *Appl. Chem. Eng.*, **5**, 2 (1994).
- S. Kwon and S. J. Eum, "Basic studies on the preparation of diagnostic membranes by using multi-layered gelatin films to measure blood glucose level of diabetics", *Membr. J.*, **8**, 1 (1998).
- S. Kwon and M. O. Choi, "The preparation of polyacrylonitrile diagnostic membranes for blood glucose measurements(2) : Effects of blood constituents on the measurements of glucose concentration", *Membr. J.*, **18**, 4 (2008).
- S. Kwon, "Studies on the polyurethane diagnostic membrane for diabetes(2): Effects of additives in membrane formulations for the measurement of urine glucose", *Polymer (Korea)*, **18**, 6 (1994).
- S. Kwon and J. W. Yu, "The preparation of polyacrylonitrile diagnostic membranes for blood glucose measurements(3) : Effects of storage environments on the measurements of glucose concentration", *Membr. J.*, **19**, 3 (2009).
- S. Kwon, "Studies on the multi-layered gelatin diagnostic membranes for diabetes(2): Effects of interferents in blood on the diffusion-controlled rates of glucose", *Membr. J.*, **9**, 4 (1999).
- S. Kwon, "Preparation of polyphosphazene diagnostic membranes for blood glucose measurements", *Membr. J.*, **21**, 4 (2011).
- S. Kwon, "Effects of temperature and humidity on the glucose measurements with phenoxy-methyl-



- amino phosphazene diagnostic membranes”, *Membr. J.*, **26**, 3 (2016).
17. S. Kwon, “Effects of interferents in blood on the blood glucose measurements by using polyphosphazene diagnostic membranes”, *Membr. J.*, **23**, 4 (2013).
  18. H. R. Allcock, S. Kwon, G. H. Riding, R. J. Fitzpatrick, and J. L. Bennett, “Hydrophilic polyphosphazenes as hydrogels: Radiation crosslinking and hydrogel characteristics of poly[bis(methoxyethoxy)phosphazene]”, *Biomaterials*, **9**, 509 (1988).
  19. S. Kwon, “Preparation of phenoxy-methylamino cosubstituted polyphosphazene diagnostic membranes for blood glucose measurement”, *Membr. J.*, **24**, 4 (2014).
  20. H. R. Allcock and S. Kwon, “An ionically cross-linkable polyphosphazene: Poly[bis(carboxylatophenoxy)phosphazene] and its hydrogels and membranes”, *Macromolecules*, **22**, 75 (1989).
  21. S. Kwon and B. Lee, “A study on the preparation of ion-exchange membrane with polyphosphazenes”, *Appl. Chem. Eng.*, **9**, 3 (1998).
  22. S. Kwon, I. Park, and D. Yoon, “Studies on the preparation of polyurethane diagnostic membranes for blood glucose measurements(5) : Effects of temperature and humidity on the measurements of glucose concentration”, *Membr. J.*, **17**, 1 (2007).
  23. H. R. Allcock R. J. Ritchie, and P. J. Harris, “Synthesis of alkylphosphazene high polymers via the polymerization of monoalkylpentachlorocyclotriphosphazenes”, *Macromolecules*, **13**, 6 (1980).
  24. S. Kwon and C. Jun, “Studies on polyphosphazenes-bound Wittig reactions”, *Appl. Chem. Eng.*, **5**, 5 (1994).
  25. S. Kwon, I. Park, and D. Yoon, “The preparation of polyacrylonitrile diagnostic membranes for blood glucose measurements(1): Effects of temperature and humidity on the measurements of glucose concentration”, *Membr. J.*, **17**, 4 (2007).
  26. S. Kwon and B. Lee, “A study on the preparation of metal-ion separation membrane with hydrophilic polyphosphazene”, *Appl. Chem. Eng.*, **10**, 3 (1999).