

Poly(*N,N*-dimethylamino ethyl methacrylate)와 PEG로 이루어진 블록공중합체 합성 및 나노복합체 형성

김은정 · 최호석 · 이지나* · 박기동** · 육순홍*** · 조선행*†

충남대학교 화학공학과, *한국화학연구소 생체고분자팀, **아주대학교 분자과학기술학과, ***한남대학교 고분자공학과
(2000년 6월 28일 접수)

Synthesis of Block Copolymers Composed of Poly(*N,N*-dimethylamino ethyl methacrylate) and PEG and Formation of Nanoaggregation

Eun Jung Kim, Ho Suk Choi, Jin A Lee*, Ki Dong Park**, Soon Hong Yuk***, and Sun Hang Cho*†

Department of Chemical Engineering, Chung Nam National University, 133,
Daeduk Science Town, Taejeon 305-764, Korea

*Advanced Biomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P. O. Box 107, Yusong, Taejeon 305-343, Korea

**Department of Molecular Science and Technology, San 5 Wonchon-Dong,
Paldal-Gu, Suwon 442-749, Korea

***Department of Polymer Science and Technology, Han Nam University,
133 Ojeong Dong, Daedeog Ku, Taejeon 561-756, Korea

†e-mail : shcho@pado.krict.re.kr

(Received June 28, 2000)

요약: *N,N*-dimethylamino ethyl methacrylate (DMAEMA)와 poly(ethylene glycol) (PEG)로 이루어진 블록 공중합체를 합성하였고, 그 구조를 FT-IR, DSC, 및 ¹H-NMR로 확인하였다. 준비된 poly(DMAEMA)-PEG 블록 공중합체 수용액에 poly(ethyl acrylamide)(PEAAm)를 첨가하면 블록 공중합체의 DMAEMA와 poly(EAAm) 사이에서 일어나는 수소결합에 의해 나노복합체가 형성되었다. 나노복합체는 임계미셀농도 이상의 농도에서 이루어졌다.

ABSTRACT: The synthesis of poly(*N,N*-dimethylamino ethyl methacrylate (DMAEMA)-block-poly(ethylene glycol) (PEG)) copolymer has been carried out and the block copolymer was characterized by FT-IR, DSC, and ¹H-NMR. The formation of polymeric nanoaggregation was observed in the solution mixture of poly(DMAEMA)-block-PEG copolymer and poly(ethyl acrylamide) (EAAm) due to the intermolecular interaction via hydrogen bond between DMAEMA and poly(EAAm). The formation of polymeric nanoaggregation was observed above critical micelle concentration (CMC).

Keywords: polymeric nanoaggregation, poly(DMAEMA)-block-PEG, lower critical solution temperature (LCST), critical micelle concentration (CMC), hydrogen bond.

서론

소수성기와 친수성기로 이루어진 블록 공중합체는 계면활성제 역할을 함으로써 수용액 상에서 고분자

미셀을 형성할 수 있는 능력이 있다. 이러한 고분자 미셀은 기존의 미셀보다 안정하여 난용성 약물이나 항암제의 약물전달체계에 응용하기 위해 많은 연구가 진행되고 있다. 예를들어 친수성기인 poly(ethylene

glycol) (PEG)와 생분해성이면서 소수성기인 poly-(lactic acid),¹⁻³ poly(β -benzyl-L-aspartate),⁴⁻⁷ 그리고 poly(ϵ -caprolactone)⁸ 등으로 이루어진 블록공중합체의 연구가 진행되고 있다. 그 내용을 살펴보면 Yokoyama⁴ 등은 poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) 블록공중합체에 가장 널리 사용되고 있는 항암제인 adriamycin (ADR)를 미셀로 제조하여 *in vivo* 실험한 결과 P-388 mouse leukemia에 아주 좋은 항암 효과를 나타내었다. 또한 La 등은⁷ poly(β -benzyl L-aspartate) (PBLA)와 PEO를 사용하여 다이블록 공중합체를 만들고, 그 미셀에 indomethacin을 결합시킨 후 pH와 미셀의 소수성부분과의 상호작용에 대하여 조사하였다.

그리고 온도에 민감한 고분자인 poly(N-isopropyl acrylamide) (PNIPAAm)을 이용하여 나노복합체의 형성에 관한 연구가 보고되었다. PNIPAAm은 32 °C 정도에서 소수성 결합(hydrophobic interaction)에 의해 하한임계용액온도(lower critical solution temperature) (LCST)를 나타내 고분자가 침전되고 그 이하의 온도에서는 투명한 수용액으로 변한다. 이러한 현상을 이용하여 Cammas 등은 shell 부분에 친수성기인 PNIPAAm과 core부분에 소수성기인 poly(styrene)으로⁹ 이루어진 블록공중합체의 형성을 보고하였다. Topp 등은 shell부분에 친수성기인 PEG와¹⁰ core부분에 친수성기인 PNIPAAm으로 구성된 블록공중합체를 이용하여 온도 변화에 따른 상전이 현상에 의한 나노복합체의 형성에 관해 보고하였다.

본 연구에서는 PEG-block-PDMAEMA 공중합체를 제조하고 수용액상에서 poly(EAAm)를 첨가하여 나노복합체의 형성을 관찰하였고 지금까지 본 연구실에서 수행하여 얻은 *N,N*-dimethylamino ethyl methacrylate (DMAEMA)와 ethyl acrylamide (EAAm) 공중합체에서의 상 변화 현상을 근거로^{11,12} 나노복합체 형성 기구(mechanism)에 대하여 관찰하였다.

실 험

시약 및 재료. acryloyl chloride, ethylamine, triethylamine, azobis-isobutyronitrile (AIBN) 그

리고 DMAEMA는 Aldrich Chemical사에서 구입하였고 *N,N*-dimethylamino ethyl methacrylate (DMAEMA) 단량체는 감압 분별 증류하여 사용하였다. Poly(ethylene glycol) mono-methyl ether는 분자량이 5000으로 Polyscience사의 제품을 구입하여 사용하였으며 미 반응물을 제거하기 위해 사용된 cellulose dialysis 튜브(Spectra/Por, molecular weight cut off; 1.2×10^4)는 Spectrum Medical사에서 구입하였다.

Poly(ethyl acrylamide)의 합성. EAAm은 문헌에 명시된 방법대로 합성하였으며 합성방법은 다음과 같다.¹³ 4구 플라스크에 ethylamine (0.11 mol), triethylamine (0.12 mol), tetrahydrofuran (100 mL)을 넣고 반응기의 온도가 0 °C될 때까지 교반, 환류시킨 다음 acryloyl chloride와 tetrahydrofuran (100 mL)의 용액을 2.5시간 동안 적하시키면서 교반한 후 10 °C를 유지하면서 24시간 동안 방치하였다. 여기서 얻어진 반응 혼합물을 여과하여 triethylamine hydrochloride를 제거하고 여액을 감압하에서 증발시켜(1 mmHg, 80 °C) EAAm을 얻었다. 그리고 합성된 단량체를 이용하여 라디칼 방법으로 중합한 결과 분자량이 3.4×10^4 이었다.

PEG-block-PDMAEMA 공중합체의 합성. 4구 둥근 플라스크에 DMAEMA (0.333 mol in 100 mL water), PEG mono-methyl ether (1.0625×10^{-3} mol) 그리고 질산 (0.10 mol)을 첨가한 다음 질소 기류 하에서 반응 온도를 50 °C까지 서서히 올리면서 교반시켰다. 여기에 ceric ammonium nitrate (0.033 mol)를 1 M의 질산 수용액에 용해시키고 2시간 동안 천천히 적하시킨 다음 다시 1시간 동안 50 °C를 유지시키며 교반하였다.¹⁴ 반응 종료 후 얻어진 혼합물을 여과시키고, 미 반응물과 불순물 제거를 위하여 투석막 튜브(molecular weight cut off; 1.2×10^4)에 옮긴 다음 증류수에 함침시킨 후 일정 시간 간격으로 증류수를 교환하였다. 이렇게 얻어진 고분자 수용액을 동결 건조하게 되면 흰색 분말의 PEG-block-PDMAEMA 공중합체가 나타나고 분자량은 4.3×10^4 이었다 (Figure 1).

FT-IR Measurements. 얻어진 공중합체의 구조와 mol%비의 변화를 확인하기 위하여 FT-IR을 사용하여 기본적인 기능기를 확인하였고, 측정하여 나온 결

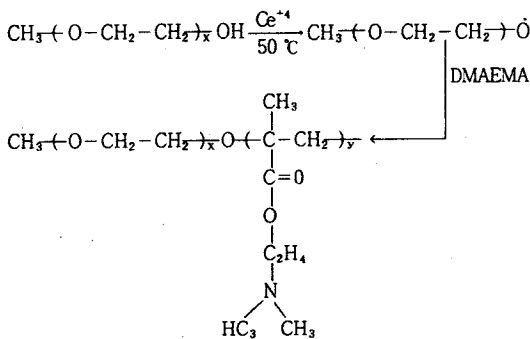


Figure 1. Synthesis of poly(*N,N*-dimethylamino ethyl methacrylate)-block-poly(ethylene glycol) [poly-(DMAEMA)-block-PEG].

과를 curve fitting을 통하여 면적을 계산하여 특정 기능기에 대하여 보다 세밀하게 분석하였다. FT-IR의 측정을 위해 우선 공중합체 필름들을 BaF₂ plates에 0.5 w% distilled-deionized water로 상온에서 casting 시켰다. 필름 속의 대부분의 물은 vacuum oven에서 50 °C에서 24시간 동안 증발시켜 제거하였다. 물을 제거한 공중합체의 FT-IR spectra는 Magna IR spectro-photometer를 사용하였고 4 cm⁻¹의 resolution으로 scan은 64로 하여 측정하였다.

DSC Measurements. 시료의 *T_m*은 시차주사열분석기(differential scanning calorimetry, DSC, General V4.1C Dupont 2100)를 이용하여 측정하였다. 약 10 mg의 시료를 취하여 10 °C/min으로 -50부터 200 °C까지 온도를 상승시키면서 흡열피크를 측정하였다.

NMR Measurements. ¹H NMR의 분석은 Bruker AM-300 NMR을 사용하였으며, PEG와 공중합체들을 1 wt%의 농도로 0.03 v/v%의 TMS [(CH₃)₄Si]와 DSS[(CH₃)₃Si(CH₂)₃SO₂-Na⁺]을 포함하는 CDCl₃와 D₂O용액에 용해시켜 측정하였다.

Atomic Force Microscopy (AFM) Measurements. PEG-block-PDMAEMA 공중합체와 PEAAm를 증류수에 무게비로 용해시킨 다음 일정한 비율로 일정한 온도에서 혼합하였다. 이때 나노복합체의 형성 여부는 광학 현미경과 AFM (Park Scientific, Inc.)으로 관찰하였다. AFM의 측정 기기는 Autoprobe CP system으로 조건은 0.12 N/m의

spring constant의 cantilever위에 silicon nitride tip을 사용하였다. 시료의 제조는 나노복합체 용액을 한 방울 떨어뜨리고 얇게 퍼트린 다음 이것을 순간적으로 급냉시켜 얼린 후 동결 건조시켰다.

결과 및 고찰

PEG-block-PDMAEMA 공중합체. 블록공중합체의 합성은 Ce⁴⁺ 금속이온의 산화 환원 방법을 이용하여 PEG의 말단에 있는 탄소를 라디칼로 만든 다음 단량체를 첨가하여 제조하였다. 단량체가 사라지는 속도는 단량체 농도의 제곱과 PEG 농도의 거듭 제곱에 영향을 받으나 금속이온이나 수소이온의 농도와는 관계가 없다. 또한 Ce⁴⁺ 이온이 사라지는 속도는 금속이온과 수소이온의 농도에 의존하나 단량체의 농도와는 관계가 없다.¹⁵

합성된 블록공중합체를 확인하기 위해서 FT-IR, DSC, ¹H NMR을 사용하였다. Figure 2는 PEG, DMAEMA 및 PEG-block-PDMAEMA 공중합체의 FT-IR 분석스펙트럼을 나타낸 것이다. PEG은 1114 cm⁻¹에서 -C-O-C- 피크가 나타났고, CH₂ 피크는 1463, 1353, 1280 cm⁻¹에 있으며, C-H 피크는 2876 cm⁻¹에서 관찰할 수 있었다. 그리고 DMAEMA 단량체의 경우 C=C 피크는 1637 cm⁻¹에 나타났으며, 이 이중결합에 붙어있는 C-H 피크는 2953 cm⁻¹에서 나타났다. 또한 C=O 피크와 C-N 피크는 각각 1700과 1180 cm⁻¹ 근처에서 관찰할 수 있었다. 위의 PEG와 DMAEMA 단량체로 합성한 블록공중합체의 스펙트럼에서는 이 두 가지 물질의 피크를 모두 관찰할 수 있었다. 그러나 블록공중합체의 IR 스펙트럼에서는 DMAEMA 단량체에 있던 탄소-탄소 이중결합이 관찰되지 않아 합성되었음을 알 수 있었다.

Figure 3은 PEG-block-PDMAEMA 공중합체와 PEG, poly(DMAEMA) 단일중합체의 열적 특성 결과이다. PEG와 poly(DMAEMA)의 *T_m*은 각각 68.33와 2.50 °C에서 나타났으며, 합성된 블록공중합체의 *T_m*은 56.87 °C에서 관찰할 수 있었다. 결정성 고분자인 PEG에 비결정성 고분자인 DMAEMA가 첨가되어 만들어진 공중합체의 *T_m*은 결정성 고분자에 비해 낮았고 비결정성 고분자에 비해 높았다. 즉

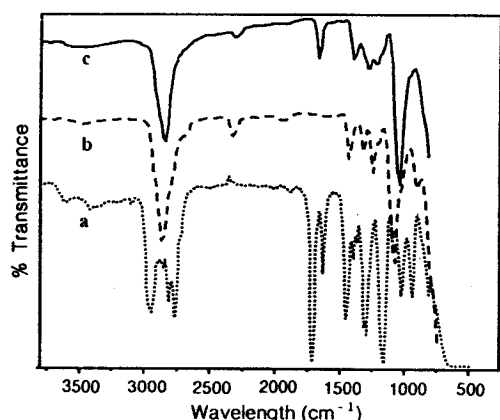


Figure 2. IR spectra of (a) DMAEMA, (b) PEG, and (c) block copolymer.

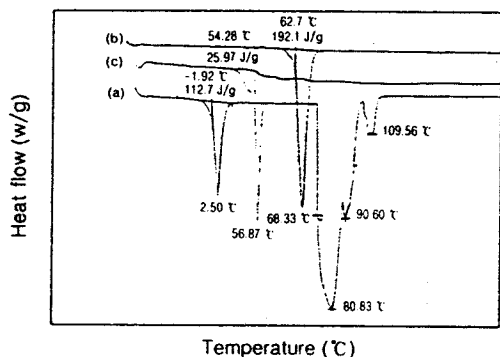


Figure 3. DSC thermogram of PDMAEMA (a), PEG mono-methyl ether (b), and PDMAEMA-block-PEG copolymer (c).

합성된 블록공중합체에 PEG의 양이 증가되면 블록공중합체의 T_m 은 증가하게 되고, DMAEMA의 양이 많아지게 되면 T_m 은 낮아지게 된다.^{16,17} 또한 블록공중합체 합성시 부산물로 poly(DMAEMA) 단일중합체가 생성될 가능성이 있으나 블록공중합체의 열적 특성 결과로 poly(DMAEMA) 단일중합체가 존재하지 않는 것을 확인할 수 있었다.

Figure 4는 PEG-block-PDMAEMA 공중합체의 ^1H -NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다. 3.5 ppm에 나타난 피크는 PEG 블록의 주사슬인 oxyethylene proton에 해당되며, poly(DMAEMA) 블록 중 2.7 ppm에서의 피크는 dimethylamino proton으로, 4.1

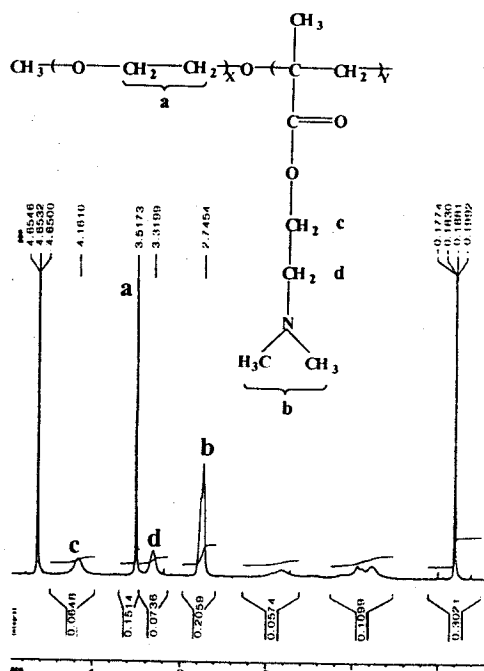


Figure 4. ^1H NMR spectrum of PDMAEMA-block-PEG copolymer.

과 3.3 ppm에 나타난 피크들은 에틸기에 해당된다.

나노복합체의 형성. Poly(DMAEMA)은 50 °C 이상의 수용액에서 상 전이가 일어나 수용액의 색이 우유 빛으로 변하면서 고분자가 침전된다. 이것은 LCST 이상에서 poly(DMAEMA)에 있는 (*N,N*-dimethylamino)ethyl기 사이의 소수성/소수성 상호작용에 기인한 것이다. 여기에 공중합을 통하여 poly(DMAEMA-*co*-EAAm)을 제조하고 고분자내에 EAAm의 양을 증가시키면 낮은 온도에서 LCST가 관찰된다. 일반적으로 LCST는 고분자 내에 친수성이 증가하면 할수록 더 높은 온도에서 관찰되지만 poly(DMAEMA-*co*-EAAm) 공중합체 내에 친수성인 EAAm를 첨가해도 LCST가 낮은 온도로 이동하는 것이 관찰되었다.^{11,12}

이는 친수성인 EAAm를 첨가하여도 LCST가 낮은 온도로 이동하는 것은 수소결합에 기인한 것으로, 이는 EAAm의 ethylamide기와 DMAEMA의 (*N,N*-dimethylamino)ethyl기를 수소결합하고 있는 물분자가 수소결합에 의해 수화를 방해하여 소수성이 증가한

Table 1. The Dependence of Polymeric Nanoaggregation Formation on Ratio of Block Copolymers and Their Concentration

block copolymer	ratio	concentration	
	PEAAm	<3 mg/mL	≥3 mg/mL
1	0.5	×	×
	1.0	×	○
	1.5	×	○
	2.0	×	○

× : Polymeric nanoaggregation was not formed.

○ : Polymeric nanoaggregation was formed.

결과로 LCST가 낮은 온도로 이동되는 것이다.^{11,12}

이 사실을 근거로 PEG-block-PDMAEMA 공중합체에 PEAAm를 첨가하였을 때 수용액상에서 어떠한 현상이 나타나는지를 알아보았다.

Table 1은 PEG-block-PDMAEMA 공중합체와 PEAAm를 증류수에 여러 종류의 농도로 혼합하여 나노복합체의 형성을 관찰한 결과이다. 수용액의 농도가 3 mg/mL미만인 경우와 혼합 비율이 1 : 0.5일 때는 나노복합체의 형성이 관찰되지 않았다. 또한 나노복합체의 형성과 온도와의 관계를 알아보기 위해서 0부터 50 ℃까지 수용액의 온도를 점차적으로 증가시키면서 나노복합체의 형성 여부와 형태를 관찰하였다. 그러나 온도에 따른 나노복합체 형성의 차이점은 관찰할 수 없었고, 나노복합체의 형성되기 위한 조건은 CMC가 3 mg/mL임을 확인할 수 있었다. AFM을 사용하여 형성된 나노복합체를 관찰하였다 (Figure 5). 구형의 나노복합체의 형성이 관찰되었고 이는 PEG-block-PDMAEMA 공중합체와 PEAAm 사이의 수소결합으로 인한 결합체의 형성으로 생각된다. Figure 6에는 이와 같은 형성을 도식화하여 표현하였다. PEG-block-PDMAEMA 공중합체의 DMAEMA와 EAAm 사이의 결합으로 엔트로피 감소에 의한 소수성의 core의 형성이 예상되며 복합체의 shell 쪽으로 PEG가 존재하여 나노복합체 형성이 유도된다고 예상할 수 있다. PEG-block-PDMAEMA 공중합체와 PEAAm의 비율에 따른 차이점을 확인하기 위해서 만들어진 나노복합체의 LCST를 측정해 보았다. 만일 PEG-block-PDMAEMA 공중합체의 DMAEMA와 PEAAm가 모두 결합하지 않았다면 EAAm의 단일중합체에서 나타나는 LCST (PEAAm의 LCST : 80 ℃)가 나타날 수 있기 때문

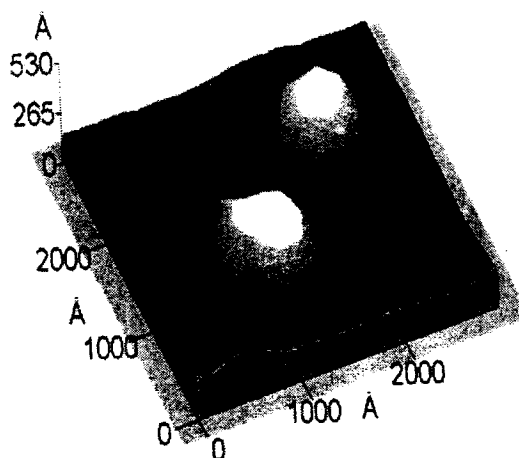


Figure 5. Atomic force microscope (AFM) image of polymeric nanoaggregation.

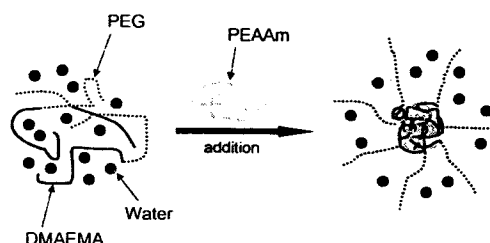


Figure 6. Schematic description of polymeric nanoaggregation formation.

이다. LCST를 측정해 본 결과 1 : 1의 비율에서는 아무런 변화가 없었으나 1 : 1.5 이상의 비율에서는 80 ℃ 근처에서 LCST가 측정되었다. 이것은 PEG-block-PDMAEMA 공중합체와 미 반응한 PEAAm가 있다는 것을 알려주었다.

결론

온도에 민감한 고분자와 생체적합성이 뛰어난 PEG의 블록공중합체를 합성하고 나노복합체를 제조해 보았다.

1. PEG mono-methyl ether와 DMAEMA를 이용하여 블록공중합체를 합성하였다. 여기서 사용된 개시제는 ceric 금속 이온으로 이루어진 산화·환원 방법을 이용하는 것이었고, 블록공중합체의 생성은 FT-IR, DSC, 그리고 ¹H-NMR을 사용하여 분석하

였다.

2. 합성된 블록공중합체와 EAAM의 단일중합체를 사용하여 나노복합체를 만들었고 이 나노복합체의 CMC는 3 mg/mL이었다.

감사의 글: 본 연구는 보건복지부 (Grant No. ; HMP-98-G-2-051-B)의 지원으로 이루어 졌음으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. E. Piskin, X. Kaitian, E. B. Denkbass, and Z. Kucukyavuz, *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, **7**, 359 (1995).
2. C. Scholz, M. Iijima, Y. Nagasaki, and K. Kataoka, *Macromolecules*, **28**, 7295 (1995).
3. R. Gref, Y. Minamitake, M. T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, and R. Langer, *Science*, **263**, 1600 (1994).
4. M. Yokoyama, G. S. Kwon, T. Okano, Y. Sakurai, T. Seto, and K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.*, **3**, 295 (1992).
5. G. S. Kwon, and K. Kataoka, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **16**, 295 (1995).
6. S. Cammas and K. Kataoka, *Macromol. Chem. Phys.*, **196**, 1899 (1995).
7. S. B. La, T. Okano, and K. Kataoka, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 85 (1996).
8. S. C. Lee, Y. Chang, J. Toon, C. Kim, I. C. Kwon, Y. Kim, and S. Y. Jeong, *Macromolecules*, **32**, 1847 (1999).
9. S. Cammas, K. Suzuki, C. Sone, Y. Sakurai, K. Kataoka, and T. Okano, *J. Control. Rel.*, **48**, 157 (1997).
10. M. D. C. Topp, P. J. Dijkstra, H. Talsma, and J. Feijen, *Macromolecules*, **30**, 8518 (1997).
11. S. H. Cho, M. S. Jhon, S. H. Yuk, and H. B. Lee, *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.*, **35**, 595 (1997).
12. S. H. Yuk, S. H. Cho, H. B. Lee, and M. S. Jhon, *ACS Symposium Series*, **728**, 14 (1999).
13. C. L. McCormic, T. Nonaka, and C. B. Johnson, *Polymer*, **29**, 731 (1988).
14. S. Nagarajan and K. S. V. Spinivasan, *J. of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, **33**, 2925 (1995).
15. S. Nagarajan and K. S. V. Spinivasan, *Eur. Polym. J.*, **1**, 113 (1994).
16. J. Huang, X. Huang, W. Hu, and W. Lou, *J. of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, **34**, 1317 (1996).
17. L. J. Suggs, R. G. Payne, M. J. Yaszemski, L. B. Alemany, and A. G. Mikos, *Macromolecules*, **30**, 4318 (1997).