

Block Copoly (glutamic acid-leucine)膜의 水溶性 溶質의 透過에 관한 研究

曹洙一 · 李奎玟 · 金啓用

漢陽大學校 工業化學科

(1984년 1월 13일 접수, 1984년 3월 16일 심사완료)

要約: 親水性部分과 疎水性部分을 블록구조로 갖는 펩티드膜의 透水性 및 水溶性溶質의 分離性能을 검토하였다. p-phenylenediamine을 開始劑로 L-leucine N-carboxyanhydride (NCA)를 1次 중합시킨 후 중합된 폴리머에 γ -benzyl-L-glutamate (γ -BLG) NCA를 2次 중합시켜 block copolypeptide를 얻었으며 이 block copolypeptide를 33% HBr/Acetic acid (AcOH) 용액으로 debenzylation하여 측쇄에 親水性基(-COOH)를 도입하였다. Poly-L-leucine-L-glutamate (PLG)의 3% 벤젠용액과 debenzylated poly-L-leucine-L-glutamate (d-PLG)의 3% 디메틸프름아미드용액을 각각 유리판에 流延하여 製膜하였다. 透水性을 測定한 결과 water flux, J_w 및 hydraulic permeability, K_w 는 透過溫도와 透過壓力가 높아질에 따라 증가하였으며 PLG膜에 비해 親水性基인 -COOH基가 도입된 d-PLG膜의 J_w 및 K_w 가 더 증가하였다. 水溶性溶質의 分離實驗결과 알코올의 Taft number(σ^*) 및 acidity(ΔV_s)가 커짐에 따라 溶質排除率은 감소하였으며 PLG膜에 비해 極性基인 -COOH基가 도입된 d-PLG膜의 溶質排除率이 더 높을 수 있었다. 한편, 臨界表面張力은 PLG가 27 dyne/cm, d-PLG가 34 dyne/cm이었다.

1. 序 論

α -아미노산을 원료로 한 펩티드합성법이 Leuch¹에 의해 발견된 이래 펩티드나 高分子量의 蛋白質을 합성하여 生體材料로서의 構造, 物性, 機能 등 기초적인 연구와 응용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다^{2,3}. 한편, 生體의 構成成分과 같은 蛋白質의 유사물질인 폴리펩티드가 生體適合성이 우수하다는 점 이외에 構成 아미노산의 종류에 따른 構造特性 때문에 여러가지 機能性材料로서 이용하려는 연구도 활발하게 진행되고 있다.

Takizawa⁴은 poly-n-alkyl-L-glutamate 膜에 대한 生體適合성을 검토하였으며 Klein⁵은 hydrogel狀의 poly- γ -methyl-L-glutamate膜에 대한 물 및 알코올의 透過성을 검토한 바 있다.

특히 親水性基와 疎水性基가 블록으로 공존하는 高分子材料가 生體適合성이 우수하다는 것이 발표되어 있다⁶.

膜透過에 의한 分離現象은 화학공업, 식품공업 및 의학분야에서 관심의 대상이 되어있는데 최근에는 능동수송성과 선택투과성 등 特殊機能을 가진 膜을 개발하려는 연구가 활발하다.

나선구조를 갖는 폴리펩티드膜에서는 측쇄부분을 통해서 물질이 透過되므로 그 透過特性은 측쇄에 있는 作用基에 크게 영향을 받는다고 Yoshida⁷에 의해 研究된 바 있다⁷.

本 實驗에서는 親水性部分으로 L-glutamic acid와 疎水性部分으로 L-leucine을 블록구조를 갖는 펩티드膜을 합성하여 透過溫度, 透過壓力 등을 변화시키면서 water flux, J_w 및 hydraulic

permeability, K_w 등을 測定하였으며 膜과 透過 物質간의 상호작용을 검토하기 위하여 몇가지의 水溶性 알코올을 시료로 透過實驗을 실시하였다.

2. 實 驗

2-1. Block copolymer의 合成

L-leucine 및 L-glutamic acid는 日本 純正化學株式會社 製品 특급시약을 미분쇄한 다음 高壓 釜에 封入하여 사용하였다.

테트라히드로푸란을 비롯한 각종 용매류도 일반 탈수방법으로 완전 脫수한 후 증류하여 사용하였다.

γ -benzyl-L-glutamate(γ -BLG)는 L-glutamic acid와 벤질알코올을 진한 황산촉매하에서 에스테르화하여 합성하였다⁸.

γ -BLG N-carboxyanhydride (NCA)와 L-leucine NCA는 각각 phosgene법으로 합성하였다⁹.

L-leucine NCA를 均一系 용매인 벤젠중에서 二次 아민인 p-phenylenediamine을 개시제로 사용하여 30°C에서 3일간 一次 중합시킨 다음 二次 중합 도노머인 γ -BLG NCA와 디메틸포름아미드를 주입하여 均一系로 二次 중합시켰다. 중

합물을 에틸알코올에 넣어 중합체를 침전시킨 다음 에틸에테르로 수회 세척하고 高壓 釜에 封入하여 PLG를 얻었다. 중합도는 중합시 발생하는 CO_2 를 Patchornik 등의 적정방법¹⁰으로 정량하여 구하였다.

Block copolymer의 L-leucine과 γ -BLG의 중합도는 각각 25와 100이었다.

2-2. Block copolymer의 debenzoylation

이 브롬과 테트라린을 반응시켜 발생하는 HBr가스를 아세트산에 흡수시킨 용액을 사용하여 debenzoylation하였다¹¹⁻¹³. 이때 사용한 HBr/AcOH 용액의 농도는 33%이다.

Poly-L-leucine-L-glutamate (PLG)를 아세트산으로 50°C에서 2시간동안 팽윤시킨 후 33% HBr/AcOH 용액을 넣고 1시간정도 반응시켰다. 반응이 완료된 용액에 5배량의 에틸에테르를 주입하여 debenzoylation된 폴리머를 석출시켰다. 이 용액을 여과하고 에틸에테르로 세척한 다음 폴리머를 디메틸포름아미드에 녹였다. 이때 폴리머와 반응하지 않은 HBr를 제거하기 위해 침전이 생기지 않을 정도로 물을 소량 주입한다. 다시 이 용액에 에틸에테르를 주입하여 폴리머를

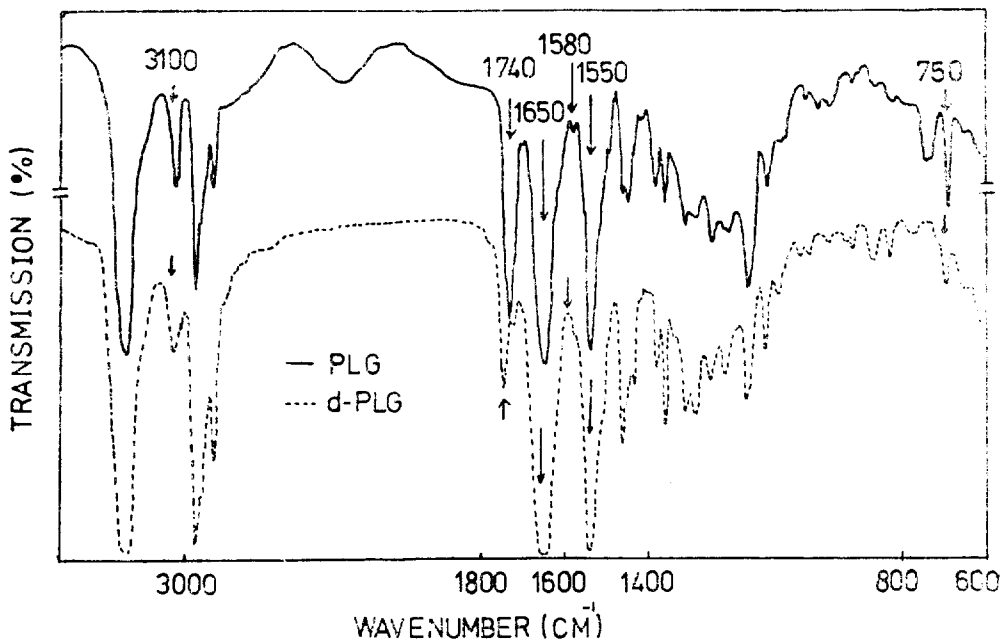


Fig. 1. IR spectra of PLG and d-PLG.

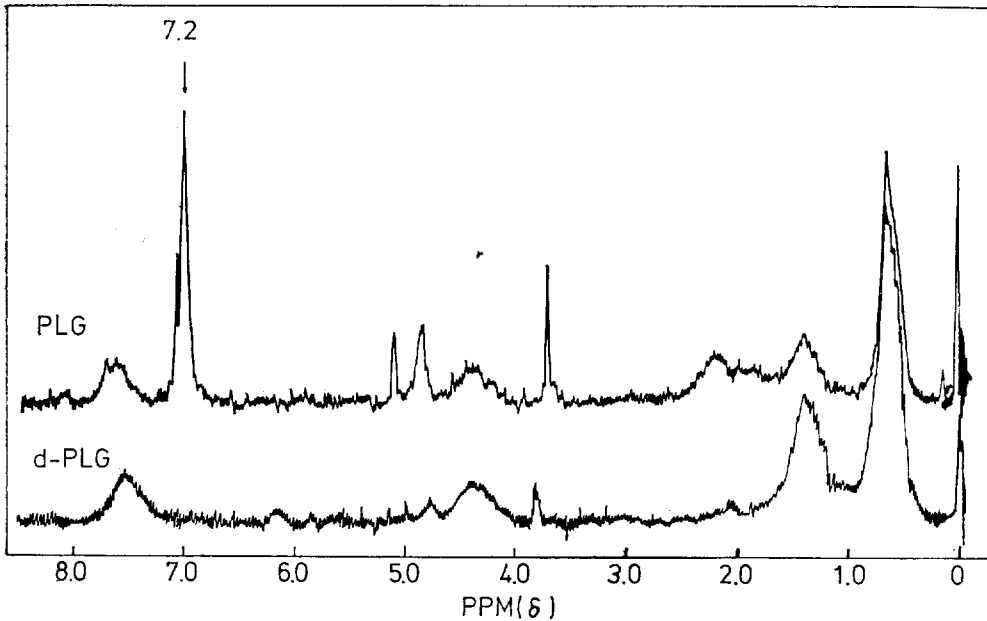


Fig. 2. NMR spectra of PLG and d-PLG.

사용하였다. 透過溫度는 20°C에서 50°C까지 변화시켰으며 透過壓力은 질소가스를 사용하여 1기압에서 5기압까지 변화시키면서 實驗을 실시하였다. water flux, J_w 는 透過速度가 정상상태에 도달한 이후의 透水量을 測定하여 다음식으로부터 계산하였다.

$$J_w = \frac{\text{透水量(mole)}}{\text{有効膜面積(cm}^2\text{)} \times \text{透過時間(sec)}}$$

또한 膜과 透過物質間의 상호작용을 검토하기 위하여 物性이 다른 水溶性 알코올을 사용하여 溶質分離實驗을 실시하였다^{16,17}. 透過實驗에 사용된 알코올 수용액의 농도는 0.518 g·mol/l ~ 0.32 g·mol/l의 범위로 하였다. 透過速度가 정상상태에 도달한 후의 透過液을 채취한 다음 Gas-Chromatograph Varian-4,600 CDS-410 data system을 사용하여 농도를 測定하였다. 透過溫度는 20°C, 透過壓力은 3 atm으로 하였다.

한편 溶質排除率(R)은 다음식으로부터 계산하였다.

$$R = \frac{C_s - C_s'}{C_s} \times 100 \quad (\%)$$

이때 C_s 와 C_s' 는 각각 알코올수용액과 透過된 알코올 수용액의 농도이다. 本實驗에 사용된 水溶性 알코올의 物性を Table 1에 나타내었다. Table에서 σ^* 은 알코올의 極性を 나타내는 값이며 ΔV_s 는 acidity를 나타내는 값이다.

接觸角의 測定은 日本 Erma光學株式會社の Model G-1을 사용하였다¹⁸.

3. 結果 및 考察

3-1. Water flux, J_w 및 hydraulic permeability, K_w

PLG 및 d-PLG膜의 water flux, J_w (mole/cm²·sec)와 透過壓力 Δp (atm)와의 관계를 온도에 따라 測定한 결과는 Fig.3 및 4에 나타내었으며 透過溫度는 20°C~50°C까지 변화시키면서 측정하였다. J_w 는 壓力과 溫度가 높아짐에 따라 직선적으로 증가하였으므로 이 壓力범위에서는 膜의 壓密化現象이 일어나지 않는 것으로 생각된다.

Spiegler¹⁹와 Kedem^{20,21}등은 壓力구배가 $\Delta p / \Delta x$ 일 때의 water flux, J_w 을 다음과 같이 나타내었다.

Table 1. Properties of Alcohols

SUBSTANCE	MOL. WT.	σ^* , Lat Number	ΔV_s (cm ³) (Acidity)
t-C ₄ H ₉ OH	74.12	-0.3	123
s-C ₄ H ₉ OH	74.12	-0.21	137
i-C ₃ H ₇ OH	60.09	-0.19	135
n-C ₄ H ₉ OH	74.12	-0.13	145
i-C ₄ H ₉ OH	74.12	-0.2	140
n-C ₃ H ₇ OH	60.09	-0.115	141
C ₂ H ₅ OH	46.07	-0.1	143
CH ₃ OH	32.04	0	149
C ₆ H ₅ CH ₂ OH	108.13	0.215	156
C ₆ H ₅ OH	94.11	0.6	288

$$J_w = \frac{S_w \cdot C_w \cdot V_w}{f_{wm}} \times \frac{\Delta p}{\Delta x} \dots\dots\dots(1)$$

이때 S_w 는 막과 용액사이의 물의 分配係數 (mole/mole)이나 근사적으로는 막의 水和度(膜內의 물의 分配分率)와 같게 된다. 또한 C_w 는 막에 인접한 용액에서의 물의 몰농도이고 V_w 는 물의 몰탈용적, f_{wm} 은 물과 막사이의 몰랄 마찰계수, Δp 는 操作壓力, Δx 는 막두께를 나타낸다. 그런데 이 경우 막에 인접한 용액이 물이므로 $C_w \cdot V_w = 1$ 이 되며 (1)식은 다음과 같다.

$$J_w = \frac{S_w}{f_{wm}} \cdot \frac{\Delta p}{\Delta x} = K_w \cdot \frac{\Delta p}{\Delta x} \dots\dots\dots(2)$$

여기서 K_w 는 hydraulic permeability이다.

Fig.3에서 PLG의 J_w 는 壓力과 溫度에 비례하여 증가하였으며 透過溫度가 40°C, 透過壓力이 3atm일 때 homopolypeptide인 poly-L-leucine 막¹⁵ 및 poly- γ -benzyl-L-glutamate 막²²의 J_w 가 각각 1.5×10^{-6} (mole/cm²·sec), 2.2×10^{-6} (mole/cm²·sec)인데 비해 PLG의 J_w 는 2.5×10^{-6} (mole/cm²·sec)의 값을 나타내었다. 따라서 homopolypeptide보다 block copolypeptide의 J_w 가 더 클 수 있었다.

Fig.4에서도 PLG와 마찬가지로 d-PLG의 J_w 는 壓力과 溫度에 비례하여 증가하였으며 동일 조건하에서 PLG의 J_w 에 비해 d-PLG의 J_w 가 약 3~4배 증가하였는데 이는 측쇄에 親水性基인 -COOH 基가 도입된 결과라 생각된다.

Hydraulic permeability, K_w 의 온도의존성을

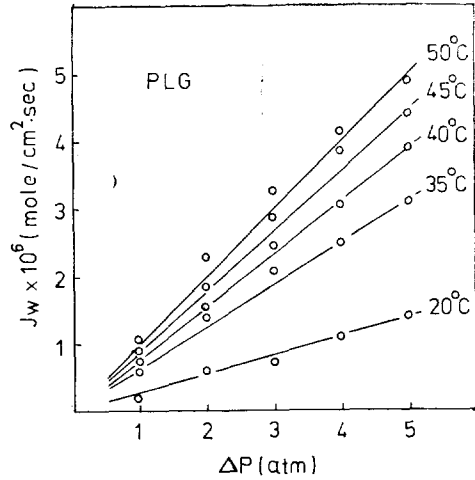


Fig. 3. Water flux of PLG vs.applied pressure at different temperature.

검토하기 위해 (2)식으로 부터 K_w 를 구한 다음 Arrhenius plot하여 Fig.5에 나타내었다. 온도가 증가함에 따라 PLG 및 d-PLG의 K_w 는 증가하였으며 동일온도조건하에서 d-PLG의 K_w 가 PLG의 K_w 에 비해 2~5배 증가하였는데 이 결과도 역시 측쇄에 있는 親水性基(-COOH)가 透過에 영향을 미친 것이라고 생각된다.

接觸角으로 부터 구한 臨界表面張力에 대한 연구는 Zisman등에 의해 발표된 바 있다²³.

즉 臨界表面張力, γ_c 의 測定은 表面張力を 아는 여러가지 액체시료가 高分子 表面에서 나타내는 接觸角 θ 의 $\cos\theta$ 값으로부터 구할 수 있다. Fig.6에서 각 점들이 이루는 직선을 外插하여 $\cos\theta=1$ 인 곳에서의 表面張力(γ_L) 값이 펩티드막의 臨界表面張力, γ_c 이다.

측정결과 d-PLG의 γ_c 값이 PLG에 비해 큰 값을 나타내었는데 이는 측쇄에 -COOH基가 도입된데 기인하는것으로 생각된다. 한편 Baier등은²⁴ 臨界表面張力이 20~30dyne/cm인 재료가 抗血全性이 우수하다고 주장하고 있다. 本 實驗에서 합성한 PLG막의 臨界表面張力은 27dyne/cm이지만 d-PLG막의 臨界表面張力은 34dyne/cm으로 약간 그 범위를 벗어나고 있다.

3-2. 膜과 透過物質間의 相互作用

PLG膜과 d-PLG膜에 대한 溶質排除率과 aci-

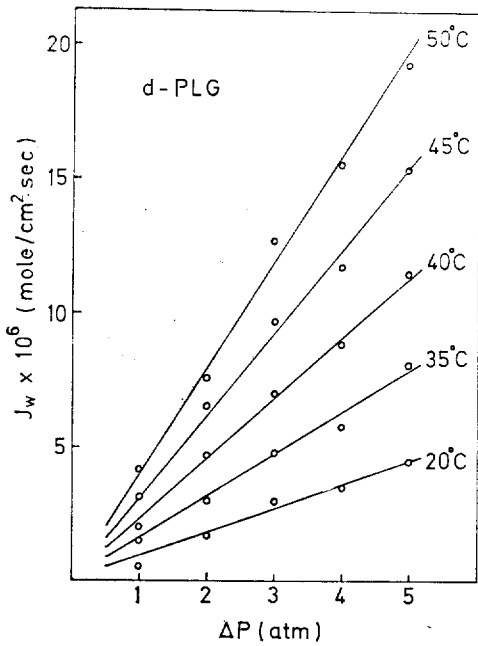


Fig. 4. Water flux of d-PLG vs. applied pressure at different temperature.

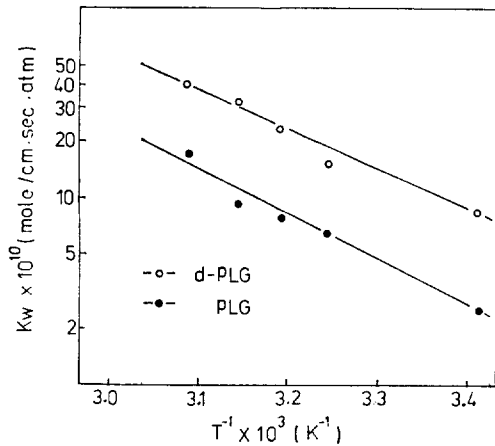


Fig. 5. Temperature dependence of PLG and d-PLG on hydraulic permeability K_w .

dity와의 관계를 Fig.7에 나타내었다. acidity, $\Delta V_s(\text{cm}^{-1})$ 는 알코올을 에테르에 녹인 용액을 시료로 하여 測定한 IR스펙트럼의 $3,000\text{cm}^{-1}$ 와 $3,500\text{cm}^{-1}$ 에 나타나는 $-\text{OH}$ 基의 신축진동의 강도를 정량적으로 계산하여 얻은 값으로서 이 값은 알코올의 水素結合能力의 척도가 된다. aci-

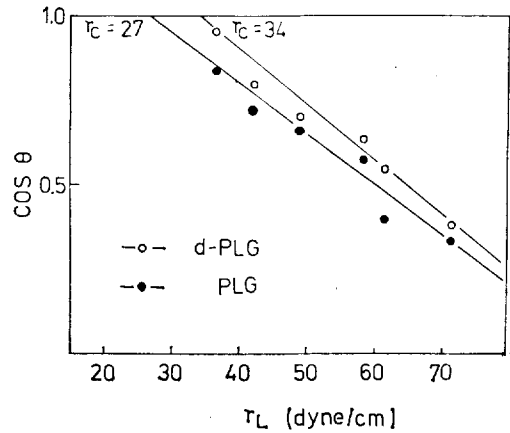


Fig. 6. Zisman plot of PLG and d-PLG to obtain the critical surface tension.

dity가 커질수록 알코올의 水素結合能力이 증가되어 알코올과 물 間의 cluster형성이 용이하게 된다. 따라서 물과 알코올이 함께 膜을 통해 透過되므로 溶質排除率은 감소하는 경향을 나타내고 있다. 그리고 d-PLG膜은 측쇄에 도입된 $-\text{COOH}$ 基에 의해 PLG膜보다 물에 대한 친화력이 커지므로 透水性이 증가할 것으로 생각된다. 實驗結果, PLG膜에 비해 d-PLG膜의 溶質排除率이 20~30% 커졌다.

PLG膜과 d-PLG膜에 대한 溶質排除率과 Taft number, σ^* 와의 관계를 Fig.8에 나타내었다. Taft number, σ^* 는 分子의 치환기에 의해 나타나는 極性效果²⁵로서 알코올의 極性を 표시하는 값이다.

$$\log\left(\frac{K}{K_0}\right) = \sigma^* \cdot \rho^* + \delta \cdot E_s$$

이때 K 및 K_0 는 加水分解에 의한 해리상수, σ^* 는 Taft number, E_s 는 立體因子, ρ^* 및 δ 는 비례상수이다. 實驗結果, 알코올의 Taft number, σ^* 가 커질수록 極性が 증가하므로 溶質의 透過量이 증대되어 溶質排除率은 감소하였다. 한편, PLG膜에 비해 極性基($-\text{COOH}$)가 도입된 d-PLG膜의 화학적성질이 水溶液中の 溶質은 반발시키고 물을 먼저 吸收하게 되므로 膜표면에는 溶質의 농도가 묽은 순수한 물층이 형성되어 溶質排除率이 20~30% 증가한 것으로 생각된다. 또한

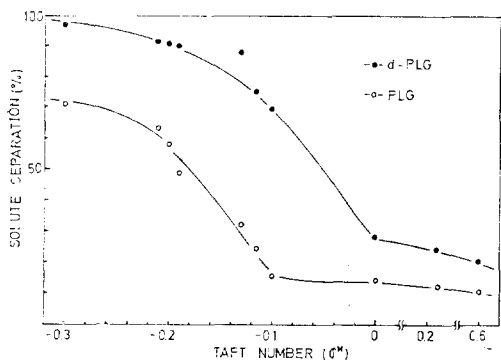


Fig. 7. Solute separation of PLG and d-PLG as a function of acidity at 3 atm and 20°C.

σ^* 값이 순수($\sigma^*=0.49$)에 근접할 수록 膜과 溶液 사이에 preferential sorption이 일어나므로 溶質 排除率은 급격히 감소하였으며 σ^* 값이 -0.1 이상의 범위에서는 溶質 排除率이 거의 일정하였다.

따라서 $\sigma^* < -0.1$ 의 범위에서는 極性 效果만이 영향을 미치는 반면 $\sigma^* \geq -0.1$ 의 범위에서는 極性 效果뿐만 아니라 非極性 效果도 영향이 미치므로 이같은 結果가 나타난 것으로 생각된다. 또한 分子量이 같은 알코올류(부탄올류, 프로판올류의 경우 구조의 변화에 따라 $t \rightarrow s \rightarrow i \rightarrow n$ 순으로 溶質 排除率이 감소하였다. 이는 立體 效果에 의한 結果라 생각된다.

4. 結 論

以上の 結果로 부터 다음의 結論을 얻었다.

1. PLG膜에 비해 d-PLG膜의 water flux, J_w 및 hydraulic permeability, K_w 가 동일조건하에서 약 3~4배 증가하였는데 이는 측쇄에 親水性 基인 $-COOH$ 基가 도입되어 透水性이 증가된 結果이다. 한편 homopolypeptide에 비해 block copolypeptide의 透水性이 큼을 알 수 있었다.

2. Taft number, σ^* 와 acidity, ΔV_s 가 증가할 수록 溶質 排除率은 감소하였으며 PLG膜에 비해 측쇄에 $-COOH$ 基가 도입되어 親水性 및 極性을 갖는 d-PLG膜의 溶質 排除率이 20~30% 증가하였다. 한편 $\sigma^* < -0.1$ 범위에서는 極性 效果만이 溶質 分離에 영향을 미치는 반면 $\sigma^* \geq -0.1$ 범위에서는 極性 效果뿐만 아니라 非極性 效果도 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

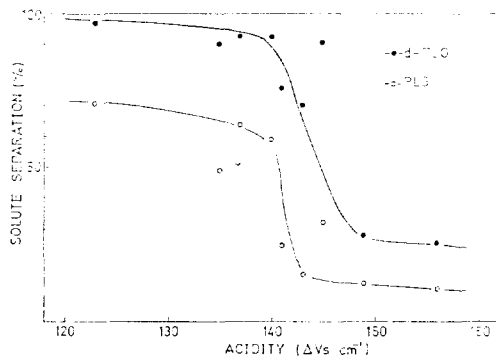


Fig. 8. Solute separation of PLG and d-PLG as a function of Taft number at 3 atm and 20°C.

3. PLG膜과 d-PLG膜의 臨界 表面張力이 각각 27 dyne/cm, 34 dyne/cm였다.

References

1. H. Leuches. Ber, **39**, 857 (1906)
2. L. Pauling and R. B. Corey, Proc. Natl. Acad. Sci. US, **37**, 729 (1951).
3. D. Doty and A. M. Holtzer, et al., J. Am. Chem. Soc. **76**, 4493 (1954).
4. A. Takizawa, et al., J. Macromol. Sci. Phys., **B 13**, 2, 203 (1977).
5. E. Klein, P. D. May, J. K. Smith and N. Leger, Biopolymer, **10**, 647 (1971).
6. 岡野光夫, 高分子論文集, **36**, 209 (1979).
7. T. Yoshida, A. Takizawa and Y. Tsujita, J. Appl. Polym. Sci., **22**, 279 (1978).
8. J. P. Greenstein "Chemistry of the Amino Acid", J. P. Greenstein Ed. John Wiley and Sons, Inc, New York, **2**, 943 (1961).
9. R. B. Woodward and C. H. Schram, J. Am. Chem. Soc., **69**, 1551 (1947).
10. A. Patchornik and Y. Shalitin, Analytical Chem., **33**, 13, 1887 (1961)
11. 中森一誠, "實驗化學講座" 日本化學會編, **7** (1973).
12. D. B. Ishai and A. Berger, J. Org. Chem., **19**, 1564 (1954).

13. M. Idelson and E.R. Brout, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 4631 (1958).
14. N. Minours and T. Nakagawa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **23**, 2729 (1979).
15. K. Y. Kim and Y. M. Lee, *Polymer(Korea)* **3**, 260 (1979).
16. T. Matura and S. Sourirajan., *J. Appl. Polym. Sci.*, **15**, 2905 (1971).
17. T. Matura, P. Blais, M. Dickson and S. Sourirajan., *J. Appl. Polym. Sci.*, **18**, 3671 (1974).
18. 角田光雄, 小石眞純, *工業材料*, **28**, 100 (1980).
19. K. S. Spiegler, *Trans. Faraday Soc.*, **54**, 1508 (1958).
20. O. Kedem and A. Katchalsky, *J. Gen. Physiol.*, **45**, 143 (1960).
21. K.S. Spiegler and O. Kedem, *Desalination*, **1**, 311 (1966).
22. K. Y. Kim and K. H. Toh, *Polymer (Korea)* **5**, 34 (1981)
23. H. W. Fox and W. A. Zisman, *J. Colloid. Sci.*, **7**, 109 (1952).
24. R. E. Baier, *Bull. Ny Acad. Med.*, **43**, 257 (1972).
25. R. W. Taft, "Steric Effect in organic Chemistry", Wiley, New York, 556 (1956).

Permeation of Water-Soluble Alcohols through Membranes of Amphiphilic Block Copolypeptides of Glutamic Acid and Leucine

Soo-Il Cho, Kyu-Hyun Lee and Kea-Yong Kim

Dept. of Industrial Chemistry, College of Engineering, Han Yang University, Seoul, 133, Korea

(Received January 13, 1984 ; Accepted March 16, 1984)

Abstract: Permeation of water and aqueous solute separation through block copolypeptide membranes which were composed by hydrophilic part and hydrophobic part were investigated. The block copolypeptides were synthesized by L-glutamic acid and L-leucine. Using p-phenylenediamine as an initiator, at first L-leucine NCA was polymerized homogeneously, then γ -benzyl-L-glutamate NCA was polymerized homogeneously. Debenzylation of the obtained block copolypeptides were carried out with 33% HBr/AcOH solution. Poly-L-leucine-L-glutamate (PLG) membrane and debenzylated poly-L-leucine-L-glutamate (d-PLG) membrane were prepared by dissolving polymers in benzene and DMF, respectively. Water flux (J_w) and hydraulic permeability (K_w) of d-PLG membrane which have a hydrophilic group with in side chain were significantly improved compared with those of PLG membrane. From the result of water soluble alcohols separation, the amount of separated solute decreased with increasing Taft number (σ^*) and acidity (ΔV_s) of alcohols. The solute separation ability of d-PLG membrane was better than that of PLG membrane. The critical surface tension of PLG and d-PLG membrane were 27(dyne/cm) and 34(dyne/cm), respectively.