

Polyethyleneimine-*g*-Pluronic과 Polyethyleneimine-*g*-Poly(ethylene Glycol)의 합성과 특성분석

최상민, 조창기

한양대학교 섬유고분자공학과, 기능성 고분자 신소재 연구센터

Synthesis and Charaterization of Polyethyleneimine-*g*-Pluronic and Polyethyleneimine- *g*-Poly(ethylene glycol)

Sang Min Choi and Chang Gi Cho

Department of Fiber and Polymer Engineering, Hanyang University, Seoul, Korea

Center for Advanced Functional Polymers, Teajon, Korea

1. 서론

최근 유전자 치료에 대한 관심이 높아지면서 생물학적 위험성이 존재할 뿐 아니라, 경제성이 낮은 바이러스를 대신할 유전자 전달체로 polyethyleneimine(PEI), polylysine, polyamidinoamine 등과 같은 양이온성 고분자들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 고분자들은 양전하를 띤 상태에서 음전하를 띤 DNA phosphate 기와 정전기적인 상호작용으로 복합체를 형성하며, 수용액 상에서 DNA를 압축한 상태로 존재하게 된다. 특히 PEI의 경우 다량의 양전하를 지니고 있어 DNA와의 복합체 형성이 용이해 유전자 전달체로의 개발이 가시화 되고있다. 하지만 이러한 단일 양이온성 고분자의 경우 대부분이 수용액상에서의 용해도와 안정성이 낮고, 혈청 단백질과의 상호작용 등의 문제점을 가지고 있어 전달효율이 바이러스에 비해 매우 낮은 실정이다. 최근에는 이러한 점들을 해결하여 전달효율을 높이기 위한 방법으로 poly(ethylene glycol)(PEG)와 같은 비이온성 친수성 고분자와 양이온성 고분자가 결합된 블록이나 그래프트 공중합체가 개발되어지고 있다.

본 연구에서는 PEI의 용해도와 안정성 문제를 해결하기 위해 PEI와 Pluronic 또는 PEI와 PEG의 그래프트 공중합체를 합성하고 이를 분석할 목적으로 그래프트 정도를 달리한 여러 종류의 PEI-*g*-Pluronic과 PEI-*g*-PEG를 합성하였다. 기존 합성법의 경우 사용목적에 따른 정제방법이 까다로워 이러한 점을 개선하고자 하였다. 제조된 그래프트 공중합체들은 GPC, LS 그리고 NMR 등으로 특성을 분석하였다.

2. 실험

2.1. 시료 및 시약

양이온성 고분자로 polyethyleneimine (Aldrich, MW 2,000, 25,000, 750,000)을 사용하였으며 비이온성 친수성 고분자로 methoxy poly(ethylene glycol) (Aldrich, MW 5,000)과 Pluronic F127 (Sigma, MW 12,000), Pluronic F68(Sigma, MW 8,350)을 사용하였다. PEG와 Pluronic 말단의 수산화기를 활성화시킬 재료로는 *p*-toluenesulfonyl chloride(Aldrich)와 1,1'-carbonyldiimidazole(Aldrich)을 사용하였다.

2.2. PEG와 Pluronic의 활성화

우선 *p*-toluenesulfonyl chloride로 PEG와 Pluronic 말단의 수산화기를 활성화하는 경우, PEG와 Pluronic의 수분을 완전히 제거한 후 methylene chloride를 용매로 0 °C에서 *p*-toluenesulfonyl chloride와 1:1.2의 몰비로 24시간동안 반응하였다(Scheme 1). 반응 혼합물에 물을 가해 추출한 다음 ethyl ether에 침전시켰다.

또한 1,1'-carbonyldiimidazole로 PEG와 Pluronic 말단의 수산화기를 활성화하는 경우, 마찬가지로 PEG와 Pluronic의 수분을 완전히 제거한 후 anhydrous acetonitrile을 용매로 40 °C에서 1,1'-carbonyldiimidazole과 1:0.6의 몰비로 3시간동안 반응하였다. 그런 다음 반응 혼합물은 50% ethanol에서 24시간 투석하여 미 반응물들을 제거하고 진공하에서 건조하였다.

2.3. PEI-*g*-Pluronic, PEI-*g*-PEG의 합성

첫 단계로 PEI를 methylene chloride를 용매로 sodium hydride와 25 °C에서 3시간 반응시켜 양전하를 띤 상태로 만든 후 *p*-toluenesulfonyl chloride로 활성화된 PEG, Pluronic 등과 25 °C에서 24시간동안 반응하였다(Scheme 1).

반면 1,1'-carbonyldiimidazole로 활성화된 PEG와 Pluronic의 경우 methanol을 용매로 PEI와 25 °C에서 24시간동안 반응하였다.

그런 다음 각각의 반응 혼합물들을 50% ethanol에서 24시간동안 투석하여 미 반응물을 제거하고 진공하에서 완전히 건조하였다.

3. 결과 및 토의

3.1. 활성화된 PEG와 Pluronic

먼저 *p*-toluenesulfonyl chloride로 활성화된 PEG, Pluronic의 경우 FT-IR을 이용하여 PEG, Pluronic 말단의 수산화기(3480 cm^{-1})가 없어진 것을 확인한 후(Fig. 1. (1)), $^1\text{H-NMR}$ 을 통해 이를 검증하였다. 또한 1,1'-carbonyldiimidazole로 PEG, Pluronic을 활성화하는 경우에도 FT-IR을 이용하여 carbonyl기(1750 cm^{-1})가 나타난 것을 확인한 후(Fig. 1. (2)), $^1\text{H-NMR}$ 을 통해 이를 검증하였다.

3.2. PEI-*g*-PEG, PEI-*g*-Pluronic의 분석

완전히 건조한 공중합체를 25 °C에서 chloroform을 용매로 각각의 고유점도를 측정할 결과 MW 25,000의 PEI와 MW 5,000의 PEG의 고유점도가 각각 약 0.144 dL/g,

0.210 dL/g인데 비해 PEI-g-PEG의 점도는 각각 0.218 dL/g(PEI와 PEG의 반응몰비 1:5)과 0.263 dL/g(PEI와 PEG의 반응몰비 1:10)으로 점점 증가되는 것으로 확인되었다. 이것은 PEI에 PEG가 그래프트 되면서 나타난 결과라고 여겨진다.

또한 이 공중합체들은 Shodex KB-800 column을 이용한 GPC와 LS(Wyatt, Down-Dsp)장치를 통해 각각의 분자량을 측정하였으며 그래프트 정도를 결정하기 위해 $^1\text{H-NMR}$ 을 이용하여 PEG, Pluronic의 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ 와 PEI의 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 적분비를 분석하였다(Fig. 2.).

4. 참고문헌

1. A. V. Harpe, H. Petersen, Y. Li and T. Kissel, *Journal of Controlled Release*, 69, 309~, 2000.
2. H-K nguye, P. Lemieux, S. V. Vinogradov, C. L. Gebhart, N. Guerin, G. Paradis, T. K. Bronich, V. Y. Alakhov and A. V. Kabanov, *Gene Therapy*, 7, 126~, 2000.
3. S. V. Vinogradov, E. Batrakova and A. Kabanov, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 16, 291~, 1999.
4. W. T. Godbey, Kenneth K. Wu and A. G. Mikos, *Journal of Controlled Release*, 60, 149~, 1999.
5. S. V. Vinogradov, T. K. Bronich and A. V. Kabanov, *Bioconjugate Chem.*, 9, 805~, 1998.
6. C. O. Beauchamp, S. L. Gonias, D. P. Menapace and S. V. Pizzo, *Analytical Biochemistry*, 131, 25~, 1983.

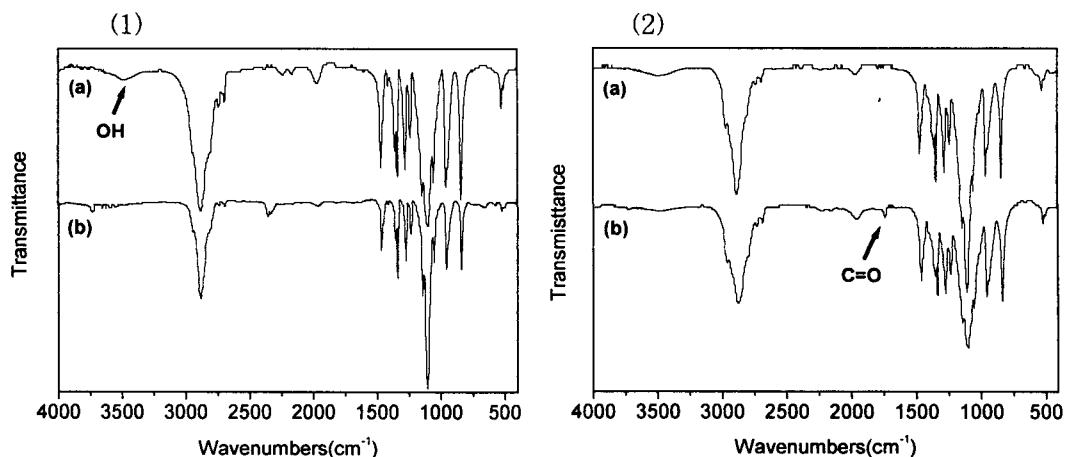


Fig. 1. 활성화된 PEG 와 Pluronic의 FT-IR spectrum.

(1): (a)PEG, (b)*p*-Toluenesulfonyl chloride로 활성화 된 PEG

(2): (a)Pluronic F127, (b)1,1'-Carbonyldiimidazole로 활성화 된 Pluronic F127

