

물리적(Self-Assembled) 수화젤 : 온도 민감성 고분자

최보규 · 박소현 · 정병문

1. 서론

수화젤(hydrogel)은 액체와 고체의 중간 형태에 해당하는 기계적, 물리화학적 특성을 지닌다. 수화젤이 되기 위해서는 가교점이 필요한데 이는 작용기가 3개 이상인 단량체를 써서 만들어진 화학적 가교점(chemical crosslink)과, 분자간의 상호작용이 충분히 커서 실험 시간(experimental time scale) 내에 용해되지 않는 물리적 가교점(physical crosslink)으로 분류할 수 있다.

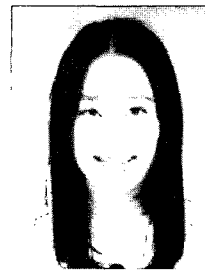
본 총설에서는 물리적 수화젤만 다를 것이다. 물리적 수화젤의 정의는 학자들마다 의견이 분분하나, 충분한 물이 존재할 때 용해되지 않고 평형에 해당하는 물을 함유하는 물질로 정의한다.¹ 이러한 정의는 동력학적(kinetic) 문제를 배제했기 때문에 논란의 쟁점이 되었다. 한 예로, 5시간 만에 용해되어 버리는 Poloxamer 젤의 경우도 수화젤의 범주에 들어가느냐 하는 문제가 있다. Complex modulus (G^*)는 elastic component (G')와 viscous component (G'')의 합으로 나타내는데($G^*=G'+iG''$), G' 값이 G'' 값보다 클 때 ($G'>G''$)를 수화젤로 정의하는 기준도 많이 사용되고 있으나, 이 기준 또한 shear thinning 또는 shear thickening이 관찰되는 고분자 수용액의 특성상, 이들이 shear rate의 함수이므로 이 기준 또한 한계를 지닌다.² $G'<G''$ 이지만 앞에서 정의한 용해 특성에 의한 수화젤의 정의를 만족시키는 물질이 많이 있다. 실제 응용의 관점에서, 어느 일정시간-즉, 일주일 또는 한 달 이상-의약전달 물질 또는 조직 배양 매트릭스로서의 역할을 한다면 이는 유용하며 그 수화젤로부터 약물 방출 속도, 수화젤의 분해속도, 조직의 생성 등의 조절은 중요한 의미를 지닌다. 따라서, 본 총설에서는 이런 수화젤을 정

의하는 기준의 애매함에 지나치게 얽매이지 않고, “수용액에서 젤로의 전이가 일어나는 물리적 수화젤”에 관하여 고찰하고자 한다. 이런 물질은 술 상태에서 약이나 세포를 섞은 후, 원하는 위치에 주사기를 통하여 주입함으로써 의약전달 또는 조직 성장의 임플란트(implant)를 만들 수 있는 장점 때문에 주목 받고 있다.³⁻⁶ 특히, 3차원 세포 및 줄기세포를 배양할 수 있는 차세대 물질로 연구가 활발히 이루어지고 있다.⁷

본 총설에서는 이런 특징을 보여주는 물질의 종류와 그 전이 메커니즘에 주안점을 두고 논의하고자 한다. 특히 Poloxamer 유도체, poly(ethylene glycol)/polyester, polyphosphazene, stereocomplex 그리고 polysaccharide와 polypeptide를 기초로 한 semi-natural 고분자에 대하여 2000년 이후, 최근 연구 결과를 소개하겠다.

2. 물리적(Self-Assembled) 수화젤

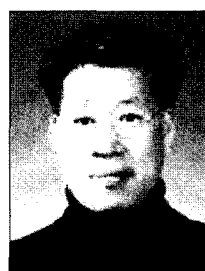
2.1 Poloxamer 유도체들



박소현
2005 이화여자대학교 화학과(학사)
2005~ 이화여자대학교 나노과학부 석사과정
현재



최보규
2003 이화여자대학교 화학과(학사)
2005 이화여자대학교 나노과학부(석사)
2005~ 이화여자대학교 나노과학부 박사과정
현재



정병문
1987 서울대학교 화학과(학사)
1989 KAIST 화학과(석사)
1999 University of Utah 약제학과(박사)
2000~ Pacific Northwest National Lab.
2002 선임연구원
2002~ 이화여자대학교 나노과학부 조교수
현재

Self-assembled Hydrogels; Temperature Sensitive Polymers

이화여자대학교 나노과학부 화학과(Bo Gyu Choi, Sohyun Park, and Byeongmoon Jeong, Department of Chemistry, Division of Nano Sciences, Ewha Womans University, 11-1, Daehyun-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-750, Korea)
e-mail: bjeong@ewha.ac.kr

2.1.1 Poloxamer

Poly(ethylene glycol) (PEG)와 poly(propylene glycol) (PPG) 삼원 블록공중합체(PEG-PPG-PEG)를 Poloxamer®(ICI) 또는 Pluronic®(BASF)이라 한다. Poloxamer는 1100에서 14000까지의 다양한 분자량과 1:9에서 8:2까지의 PEG/PPG 블록 비율을 갖는다. 이들 수용액의 물리화학적 연구 결과들에 대한 최근 총설은 Booth 등에 의해 보고 되었다.⁸

Poloxamer 수용액은 어느 농도 이상에서는 온도를 증가시키면 따라 수용액에서 수화젤로 전이가 일어난다. PEG 또는 PPG 블록의 길이에 따라, 솔-젤전이 온도, 젤이 존재하는 온도 범위, 최소 젤 형성 농도(critical gel concentration) 등을 조절할 수 있다.^{9,10} 4~30 °C에서 Poloxamer 수용액은 온도를 증가시킬 때 수화젤로 전이가 일어나는데 이는 단분자에서 미셀로의 전이가 일어나기 때문이다. F127(PEG-PPG-PEG : 4400-3770-4400)의 경우, 미셀의 분율(volume fraction)이 53% 이상이 되면 젤이 됨이 보고되었다.^{11,12} 따라서 Poloxamer 수화젤은 미셀이 일정한 구조로 packing 되어서 이루어진 구조이며 이로 말미암아 이 수화젤은 과량의 물이 존재 시에 쉽게 erosion이 되며, 이 사실은 수화젤의 지속성을 하루 이내로 짧게 하여 의약전달 시스템으로써의 효능을 제한하고 있다. 온도를 더욱 높일 때 젤에서 다시 솔로 전이가 일어나는 것은 구형의 미셀이 cubic으로 packing된 것에서 실린더 모양의 미셀이 hexagonal packing으로 전이가 일어나기 때문이다.¹³ 이러한 전이는 젤의 기하학적인 긴장도를 완화시키므로 수용액으로 전이가 일어나게 된다. P103(750-3480-750), P85(1140-2320-1140), P65(790-1680-790) 등의 수용액은 온도가 증가함에 따라 솔-젤-솔-젤의 다중의 전이가 일어남이 보고되었다.^{10,14-15} 괄호 안의 숫자는 PEG-PPG-PEG 각 블록의 분자량이다.

PPG 대신에 poly(butylene glycol) (PBG)를 사용한 블록공중합체들도 보고 되었는데, 이들은 중합 도중 propylene glycol 보다 사슬 이동(chain transfer)이 적어서 분자량 조절 등이 더 용이하다고 보고 되었다. 이들은 Poloxamer와 비슷한 솔-젤 전이를 가지나 훨씬 낮은 농도에서 젤 형성이 가능하다. PEG-PBG-PEG(920-720-920) 수용액의 경우 온도가 증가함에 따라 뿐만 아니라 농도가 증가할 때도 솔-젤-솔의 전이가 일어나는 closed-loop의 형성이 보고되었다.¹⁶

2.1.2 Poloxamer-*g*-poly(acrylic acid)(PAA): Smart Hydrogel™

Poloxamer 존재 하에서 acrylic acid를 라디칼 중합을 하면 사슬 이동 반응에 의해 그래프트 공중합체(Poloxamer-*g*-PAA)를 만들 수 있다. Polyether와 PAA 사이의 C-C 결합에 의해 만들어진 Poloxamer-*g*-PAA는 특정 농도, 온도, pH에서 미셀 같은 응집이 일어난다.¹⁷⁻²²

Poloxamer(F127)-*g*-PAA 공중합체는 polyether surfactant의 용해 능력과 polyelectrolyte의 생체 접착성(bioadhesive properties), pH 민감성 등을 모두 갖고 있다. 이들은 분자량이 크고(400000 Da), critical gel concentration이 1.0 wt% 이하이다. 그러나 이 고분자의 솔-젤 전이가 일어나는 온도는 Poloxamer와 거의 비슷하여, 상온에서는 솔이고 체온(37 °C)에서는 젤로 되는 물성을 가지고 있다. 비록 친수성 카복실산이 도입되었으나, Poloxamer가 블록 형태로 존재하여 이들의 온도 민감성이 그대로 반

영되었기 때문이다. 이런 분자 설계의 방법론은 다른 온도 민감성 고분자를 설계하는데도 중요한 단서가 될 것이다. Poloxamer-*g*-PAA 수용액은 또한 이온 강도가 증가할 때, 젤의 강도는 커지나 솔-젤 전이 온도는 거의 변하지 않는다.

2.1.3 PEG-PPG multiblock

Poloxamer는 양 끝에 히드록시기가 붙어있는 거대 단량체이다. 이들은 phosgene, diacyl chloride, dianhydride 등에 의해 축중합 방법으로 다중 블록공중합체로 만들 수 있다.²³⁻²⁴ 또한, PEG와 PPG의 불규칙 다중 블록 공중합 형태로 보고되었다.²⁵ 이들 다중 블록공중합체는 Poloxamer에 비해 젤 지속성이나, 젤 강도 등이 뛰어난 뿐만 아니라, Poloxamer가 에스터나 카보네이트 등의 가수분해가 가능한 작용기로 연결되어 있기 때문에 앞서 언급한 Poloxamer-*g*-PAA가 지닌 nonbiodegradability 문제점을 개선할 수 있다. 특히 dianhydride로 커플링한 poloxamer는 카복실산이 고분자에 남게 되어 pH에 민감한 물질이 되는데, 37 °C에서 pH가 4 이하 또는 7 이상에서는 솔 상태이나, pH가 4~6 사이에서는 수화젤로 존재하였다. 이것은 산성 용액에서는 PEG가 용해도가 커지고, 염기성 용액에서는 카복실산의 이온화로 카복실산 염 음이온이 되어 용해도가 커지기 때문인 것으로 해석되었다.²⁴ 다른 예로 P85나 F127 등은 3일 이내의 젤 지속성을 보였으나, 이들을 기초로 만들어진 다중 블록공중합체는 과량의 물이 존재할 때 37 °C에서 20일 이상 지속되었다.²⁶ 이와 같은 현상은 분자량이 큰 다중 블록공중합체 수화젤은 Poloxamer와 비교했을 때 미셀간 가

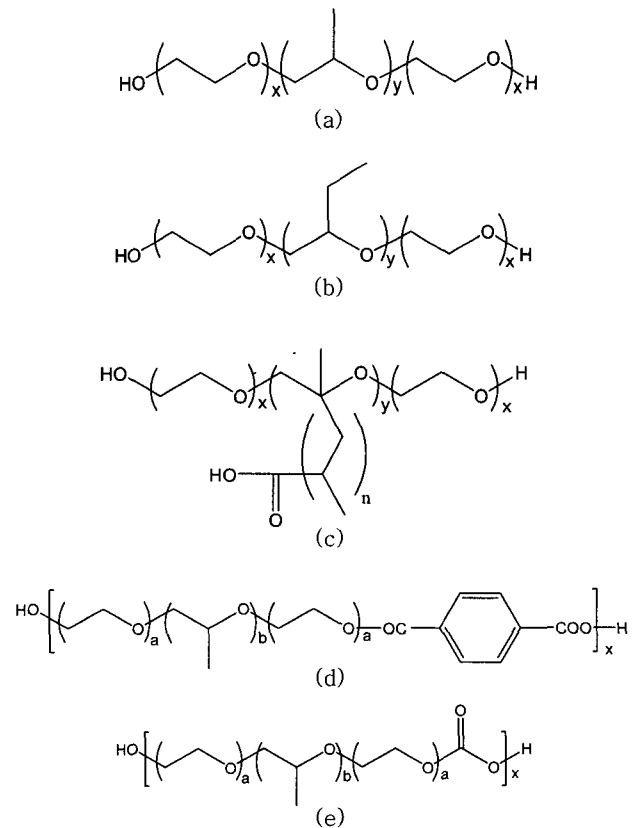


그림 1. Poloxamer와 Poloxamer 유도체의 구조. (a) PEG-PPG-PEG. (b) PEG-PBG-PEG, (c) Poloxamer-*g*-PAA, (d) Multiblock Poloxamer ester, (e) Poloxamer carbonate.

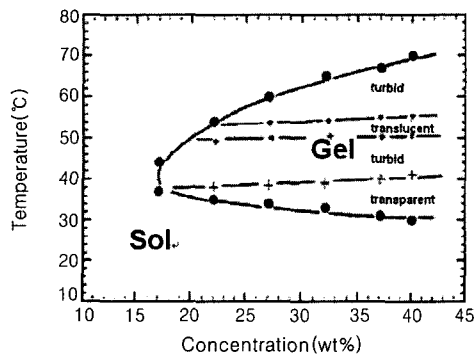


그림 2. 이 그림은 PEG-PLGA-PEG (550-2810-550) 수용액의 상도를 나타낸다. 검은 점은 솔-젤전이 온도를 가리키고 cross-bar는 투명한 젤이 뿌옇게 변하는 온도를 나타낸다. 온도가 증가함에 따라 젤은 반투명한 상태를 거쳐 결국 뿌옇게 변했다.²⁸

교(intermicellar crosslink)가 증가하고, 한 분자당 가교점이 많아지기 때문인 것으로 해석되었다.

2.2 PEG polyester (그림 5)

2.2.1 PEG/PLGA와 PEG/PCL

Poloxamer가 가진 문제점인 젤 지속 시간이 짧다는 점을 개선하고 생분해성을 도입하여, 상온에서는 수용액이나 체온에서는 수화젤이 되는 물질로 poly(ethylene glycol)-poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid)-poly(ethylene glycol) (PEG-PLGA-PEG)가 보고되었다.^{6,27} 그림 2는 PEG-PLGA-PEG (550-2810-550) 수용액의 상도(phase diagram)이다. 30 wt% 수용액의 경우 상온에서는 투명한 솔이나 체온 (37 °C)에서는 수화젤로 존재한다.²⁸

PEG-PLGA-PEG는 Poloxamer에서 소수성 PPG대신에 생분해성인 PLGA를 도입한 분자이다. Lactic acid/glycolic acid(L/G) 비율을 조절하거나 PEG/PLGA 비율을 조절함으로써 솔-젤 전이 온도 및 젤이 존재하는 온도범위(gel window)를 조절할 수 있다. PEG-PLGA-PEG 삼원 공중합체는 Poloxamer와는 달리 젤의 지속 시간을 1~2개월로 조절이 가능하고, 몸 속에서 분해가 되는 특징을 가져서 의약전달이나 조직공학용 생체재료로 주목 받고 있다.

Poloxamer가 미셀 packing에 의한 젤이라면, PEG-PLGA-PEG는 미셀 응집에 의한 젤이다.^{29,30} 솔-젤 전이 시에 미셀 크기와 미셀 하나당 분자수가 급격히 증가하며, 고분자간의 인력이 증가한다.²⁹ 이런 솔-젤 전이 메커니즘의 차이-즉, 분자간의 엉킴의 차이-가 PLGA 시스템의 수화젤로서의 안정성을 증가시켜 준 것으로 판단된다. 또한 PEG-PLGA-PEG는 분해가 진행됨에 따라 PEG-rich segment가 수화젤 밖으로 빠져 나가므로 남아 있는 수화젤은 소수성이 강한 PLGA-rich segment가 되는 것도 이 수화젤의 지속성이 길어진 것과 관계가 있다.

분자 형태(topology)를 PLGA-g-PEG와 PEG-g-PLGA로 조절함으로써, 수화젤의 지속시간을 1주~3개월로 조절할 수 있다. 가수분해 되는 PLGA가 PEG backbone에 graft된 경우 이것이 분해되면서 잘려나가고 남아 있는 젤은 PEG-rich segment로 된 친수성이 되면서 젤의 지속성이 짧아지게 된 것이다. 이들은 의약전달 시스템과 조직공학용 재료로서 유망성을 보여 주었다. 한 예로, 이 고분자 수용액으로 된 인슐린 제제를 쥐에게 1회 주사투여를 통하여 2주 정도의 혈당치의 감소가 관찰되었다.³¹

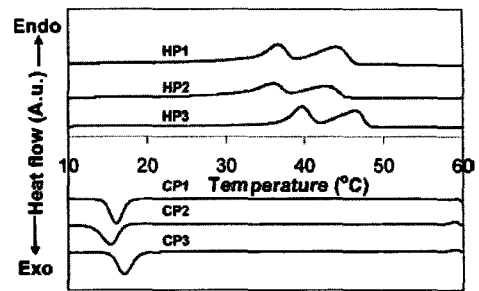


그림 3. PEG-PCL-PEG 삼원 블록 공중합체의 DSC thermogram. HP1, HP2, HP3은 PEG-PCL-PEG 삼원 블록 공중합체인 PI(550-2190-550), PII(550-2370-550), PIII(750-2500-750)의 heating curve이고, CP1, CP2, CP3은 PI, PII, PIII의 cooling curve이다. Heating과 cooling 속도는 5 °C/min 였다. 괄호 안의 숫자는 각 블록의 분자량을 나타낸다.³²

그러나 이들의 물성이 무정형의 젤 형상이어서 녹이는데 8시간 이상이 걸리고, 무게를 달거나 옮기는데 불편함이 있다. 따라서, 결정성 고분자인 poly(caprolactone)을 도입한 poly(ethylene glycol)-poly(caprolactone)-poly(ethylene glycol) (PEG-PCL-PEG) 고분자가 설계되었고, 이들 수용액은 PEG-PLGA-PEG와 마찬가지로 상온에서는 수용액이나 체온에서는 수화젤로 전이가 일어난다. 이 고분자는 녹는점이 40~50 °C 이어서 상온에서 분말형상이고 수용액의 온도를 이들 녹는점까지 올린 후 급냉함으로써, 2분 이내에 투명한 수용액으로 녹일 수 있는 물질이 되어 고분자를 녹는데 드는 시간을 획기적으로 단축시켰다(그림 3).³²

Poly(caprolactone)-poly(ethylene glycol)-poly(caprolactone) (PCL-PEG-PCL) (1000-1000-1000)은 PEG-PCL-PEG (550-2190-550)와 비슷한 상도를 보여주지만 젤 강도는 PCL-PEG-PCL(10000 Pa)이 PEG-PCL-PEG(100 Pa)보다 100 배 정도 컸다. 이것은 미셀의 구조가 PEG-PCL-PEG의 경우 단순한 미셀을 형성하지만 PCL-PEG-PCL의 경우 intermicellar bridge를 형성하므로 더 큰 젤 강도가 보여지는 것으로 생각된다. PCL-PEG-PCL 공중합체는 PEG-PCL-PEG 공중합체와 마찬가지로 분말 형상으로 lyophilization이 용이하고 쉽게 녹일 수 있다는 장점이 있으나, 솔 상태가 되었을 때 상온에서 한 시간 이내에 겔로 굳는 경향이 있다. 즉, 약(drug)과 lyophilization된 고분자에 물을 넣어 녹인 후 주사하는 방법으로는 용이하나 그 과정이 30분 이내에 실시되어야 한다. 이러한 현상은 PCL의 결정화 속도 및 결정화도가 크기 때문이다. 실제로 상온에서 형성된 PCL-PEG-PCL 수화젤을 X-ray diffraction(XRD)로 분석한 결과 PCL 결정 피크가 관찰되었다(그림 4). PCL의 결정화 정도는 PCL 분자량에 반비례하므로 PCL 중간에 kinker를 도입하여 PCL-PEG-PCL을 다중 공중합체로 제조한 결과 분말 형상과 빨리 녹일 수 있는 장점을 유지하면서 솔의 안정성을 상온에서 24시간 이상 지속시킬 수 있다.³³

2.2.2 PEG-PPF-PEG

Poly(ethylene glycol)-poly(propylene fumarate)-poly(ethylene glycol) (PEG-PPF-PEG : 550-1600-550 또는 750-1600-750)의 수용액은 온도가 증가함에 따라 상온에서는 수용액이나 체온(37 °C)이 되면 수화젤로 전이가 일어났다.³⁴ Propylene fumarate에 이중 결합이 있기 때문에 물리적 젤을 만든 후

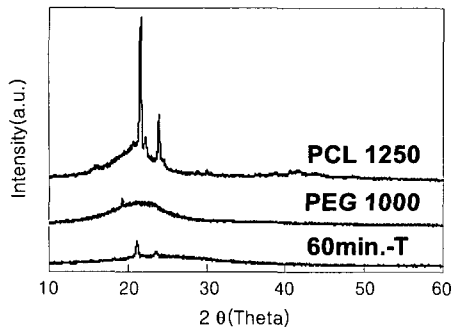


그림 4. PCL-PEG-PCL 삼중 공중합체 수용액 (20.0 wt%)을 상온에서 60분 동안 둔 뒤 형성된 수화젤(60 min.-T)의 X-ray diffraction (XRD) 패턴. PCL(MW=1250)과 PEG(MW=1000)의 XRD 패턴이 비교 자료로 첨가되어 있다.³³

post-curing 하여 젤 강도 조절이 가능하며, 조직공학재료로 많이 연구되고 있다.³⁵⁻³⁸ 세포 흡착 실험 결과 PEG 분자량이 감소할수록 소수성이 증가하였고 이에 따른 세포의 흡착 및 세포 밀도는 커졌다.

2.2.3 PEG-SA

술에서 젤로의 전이 온도가 충분히 낮다면 약물 formulation의 피하 주사 시, 빠르게 술에서 젤로 전이되기 때문에 친수성 약물의 초기 과량 방출을 막을 수 있다. 그러나, 대부분 보고된 고분자 thermogel의 경우 젤 상태에서의 점도는 고분자의 농도에 따라 100에서 10000 Pas가 되어서 젤 상태로의 주사는 매우 힘들다. 그리고 고 임계 젤 농도 이하에서는 물리적 접합이 약하기 때문에 젤이 형성되지 않는다.

Sebacic ester(SA)로 연결된 PEG-SA(PEG 분자량 600~900; PEG-SA 분자량 : 12000~19000) 수용액은 온도가 증가함에 따라 술에서 젤로의 전이가 일어난다. 이 고분자는 유연한 메틸렌 단위를 가지고 있는 SA와 친수성인 PEG로 이루어져 있기 때문에 투명한 술 상태에서 약물과 잘 섞이고 그 후 젤 상태에서도 주사 가능한 soft gel을 형성했다.

흥미로운 것은 이 고분자는 외형적으로 투명한 수용액에서 수화 젤로의 전이는 기존의 thermogelling 고분자와 비슷하나 미셀 응집에 의한 기존의 thermogelling 고분자와는 달리 물에서 미셀을 형성하지 않고, 온도 증가에 따른 unimer(단분자 : 2 nm)의 응집으로 인한 거대 분자(500 nm 이상)의 형성이 관찰되었다.³⁹ 따라서 이 고분자의 술-젤 전이는 고분자의 탈수로 인한 접합점의 형성과 이 주변의 친수성 PEG에 물이 포획되어 젤이 형성됨이 제안되었다.

2.2.4 OSM-PCLA-PEG-PCLA-OSM

온도 민감성 고분자에 pH 민감성을 도입하기 위하여 sulfamethazine oligomer-poly(caprolactone-co-lactide)-poly(ethylene glycol)-poly(caprolactone-co-lactide)-sulfamethazine oligomer(OSM-PCLA-PEG-PCLA-OSM) 블록공중합체가 제안되었다.⁴⁰ 이 물질은 암조직 주변의 pH가 약산성(pH 6~7.4)이라는 것에 착안하여, 이 범위에서 pH 민감성을 주기 위하여 pK_a가 약 7.0인 설폰아미드기를 도입하였다. OSM-PCLA-PEG-PCLA-OSM 블록공중합체는 pH 8.0 이상에서는 설폰아미드가 상당량 이온으로 해리되어 10~70 °C 온도 영역에서 수용액으로

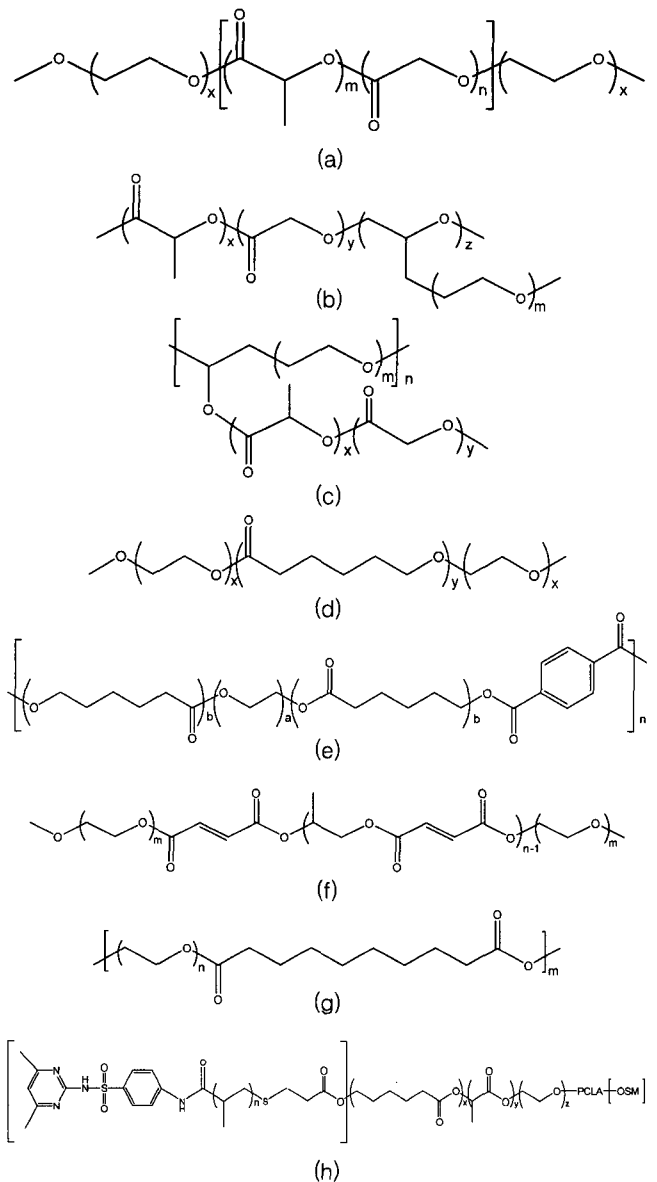


그림 5. PEG/polyester의 구조. (a) PEG-PLGA-PEG triblock copolymer, (b) PLGA-g-PEG, (c) PEG-g-PLGA, (d) PEG/PCL triblock, (e) PEG/PCL multiblock, (f) PEG-PPF-PEG, (g) PEG-SA, (h) OSM-PCLA-PEG-PCLA-OSM.

존재하나 pH 7.4에서는 어느 정도의 OSM은 중성이 되어 PCLA-OSM 블록 사이의 소수성 상호작용이 증가해서 온도를 증가시킬 때 20~55 °C에서 수화젤이 형성된다. pH가 감소하면 젤이 되는 온도 범위는 넓어지고 PCLA 블록 길이가 길어지면 젤이 되는 온도와 pH 범위가 모두 넓어진다. 이것은 기존의 thermogelling 고분자와 마찬가지로 분자의 소수성이 증가함에 따라 젤의 안정성과 젤의 window가 커지는 것을 의미한다. 이 블록공중합체는 pH와 온도 모두에 민감한 물질이다. 기존의 온도 민감성 물질은 긴 바늘이나 catheter를 이용하여 주입할 때 온도증가에 의해 젤이 되어 주입이 불가능한 단점이 있으나, pH 민감성을 도입함으로써 이 고분자 수용액은 주입할 때 젤이 되는 문제점을 해결할 수 있다.

2.3 Polyphosphazene

2.3.1 Cyclotriphosphazene

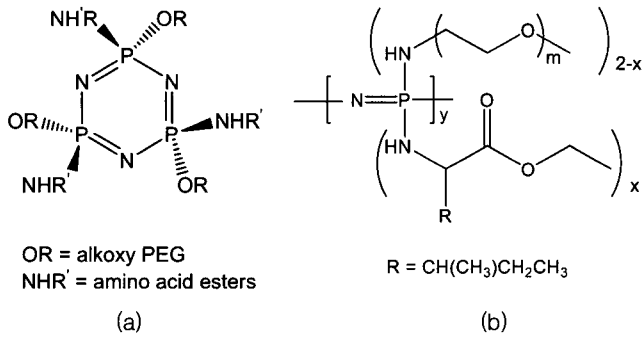


그림 6. Polyphosphazene 구조, (a) cyclotriphosphazene과 (b) poly (organophosphazene) 유도체.

일반적으로 hexachlorotriphosphazene에 유기 치환체를 치환시키면 두 가지 반응이 경쟁적으로 일어나는데, 첫 번째 경로는 S_N2 형태이며 입체 장애효과에 의해서 trimer에 치환체가 trans, nongeminal 형태로 얻어진다. 두 번째 경로는 S_N1 형태이며 정전기적 효과로 인해 일어난다. 이 경로에서는, 치환체가 인 원자에 붙어있는 두 개의 Cl 중 한 쪽에 치환된 후, 나머지 하나의 Cl이 떨어지면 다른 치환체가 들어가므로 geminal 형태가 우세하게 얻어진다. 이것은 아민류의 치환체들이 인 원자에 치환된 후 아민이 인 원자 쪽으로 전자를 강하게 주어 치환된 인 원자의 나머지 Cl이 떨어진 중간체가 안정화 되기 때문이다. 그러나 alkyl(aryl)oxy 치환체들의 경우에는 trans, nongeminal 형태가 우세하게 얻어진다. 이는 입체 장애적인 영향도 작용을 하지만 alkyl(aryl)oxy 치환체의 산소원자는 전기음성도가 커서 인 원자에 전자를 약하게 주기 때문에 S_N1 과정처럼 Cl이 떨어지는 해리 형태가 중요한 역할을 못하므로 nongeminal 형태가 우세하게 얻어진다. 따라서, 반응의 선택성을 주기 위하여 첫 번째 단계에서는 -50 °C에서 반응하고, 두 번째 단계에서는 상온에서 반응시킴으로써 입체 특이성 물질을 만들 수 있다. 특히, 올리고펩타이드를 소수성기로 도입하고, PEG를 친수성기로 도입한 고분자는 약 10 nm 크기의 미셀을 이루고, 이들은 유망한 의약전달 재료로 연구 중에 있다(그림 6).^{41,42}

2.3.2 Poly(organophosphazene)

Poly(chlorophosphazene)의 친전자성 작용기는 여러 가지 친핵체의 도입을 용이하게 하여 이들 치환체에 따라서 친수성/소수성 및 생분해성의 조절이 용이하여 중요한 생체재료로 주목 받고 있다. 최근 온도에 민감하게 솔-젤 전이가 일어나는 poly(organophosphazene) 유도체가 보고되었다. Methoxy-PEG와 amino acid esters를 치환체로 갖는 poly(organophosphazene)은 생분해성 고분자로, 25.2~98.5 °C 온도 범위에서 LCST를 나타낸다.^{43,44} α-amino-ω-methoxy-PEG와 소수성인 L-isoleucine ethyl ester를 side group으로 갖는 poly(organophosphazene)은 PEG 길이나 PEG/L-isoleucine ethyl ester 비율 등에 따라 29~61 °C 사이에서 솔-젤 전이가 가역적으로 일어난다.⁴⁵ 이들은 분해될 때 중성인 암모늄포스페이트가 만들어지기 때문에 pH의 변화가 적어서 pH에 민감한 단백질 의약이나 조직공학의 재료로 연구되고 있다.^{46,47} 그러나 무정형의 옛 형상으로 녹이는 과정에 시간이 오래 걸리는 단점이 있다.

2.4 Coordination Polymer

PEG 올리고머 4개가 결합한 디피리딘 유도체(그림 7)는 BF₄⁻

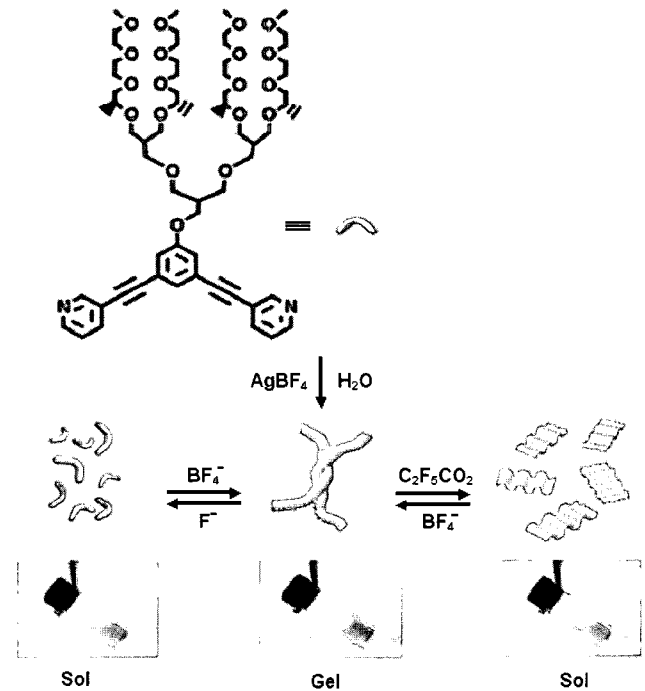


그림 7. Counter ion exchange에 따른 배위결합 사슬의 reversible polymerization과 folded와 unfolded 형태의 가역적 전환 scheme.

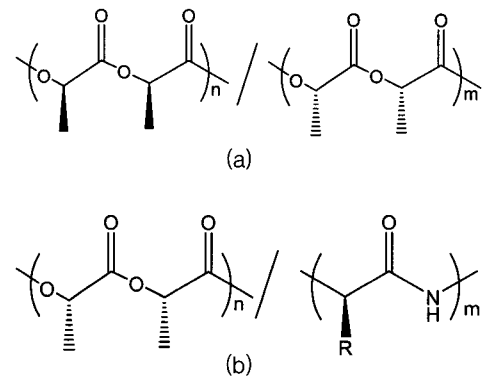


그림 8. Stereocomplexes 구조식. (a) homo-stereocomplex, (b) hetero-stereocomplex.

의 결합에 의해 수용액에서 수화젤로 전이가 일어나며 크기가 다른 F⁻나 C₂F₅COO⁻의 첨가에 의해 솔로 전이가 일어난다. 솔-젤 전이 메커니즘은 적당한 크기의 반대 이온(BF₄⁻)의 결합을 통한 분자의 2차 나선 구조가 발현이 되고 이들의 회합에 의하여 젤로의 전환이 일어난다고 제안되었다.⁴⁸

2.5 PLA Stereocomplexes

Stereocomplex(그림 8)는 키랄기를 갖는 거울상 이성질체 사이의 complex의 형성을 의미하며, poly(methyl methacrylate) 등의 고분자가 보고되어 있다.⁴⁹ 생분해성 고분자로는 L-poly(lactide) (L-PLA)와 D-poly(lactide) (D-PLA)의 stereocomplex가 많이 연구되었다.⁵⁰ Complex 형성하기 전의 poly(lactide)는 180 °C의 녹는점을 보여 주나 stereocomplex 형성 후에는 230 °C의 녹는점의 상승을 보여 준다. 또한, 인장강도, 탄성율(young's modulus) 등이 stereocomplex 형성 시에 증가했다. Stereocom-

plex 형성 과정은 각각 L-PLA 또는 D-PLA 각각의 결정화 과정과 경쟁적으로 일어난다. 따라서 stereocomplex는 D-PLA과 L-PLA의 분자량이 비슷할때 잘 형성되며 L-PLA(또는 D-PLA)의 분자량이 증가하면 homo-crystallites에 대한 stereocomplex crystallites의 비율이 감소한다. 즉, 자선끼리의 결정화되는 확률이 커진다. 또한, 각각의 올리고머(분자량 700)는 5시간 이내에 95% 이상 분해 되었으나, stereocomplex를 형성하면 4 동안에 60%의 무게 감소가 일어났다. 가수분해 속도가 stereocomplex 형성 시에 현저히 낮아짐을 알 수 있다. 또한, L-PLA-PEG-L-PLA (1300-4600-1300)와 D-PLA-PEG-D-PLA(1100-4600-1100) 삼원 공중합체의 경우, stereocomplex만 온도민감성 솔-젤 전이를 보여 주었다.⁵¹ 즉, D-form과 L-form이 섞였을 때에만 온도를 증가시킬 때 상온에서는 수용액이나 37 °C에서 겔로 전이를 보여 주었다. D-PLA를 poly(2-hydroxyethyl methacrylate), dextran 등의 고분자 골격에 도입하여 stereocomplex를 만드는 방법도 보고 되었다.^{52,53} 즉, poly([2-hydroxyethyl methacrylate-g-oligo(L-lactide)와 poly(2-hydroxyethyl methacrylate-g-oligo(D-lactide))는 stereocomplex를 만들어 수화겔을 만들 수 있다.

Stereocomplex는 한 종류의 물질뿐만 아니라 다른 고분자 사이에서도 보고 되었다. 즉, D-PLA는 L-형태의 폴리펩타이드와 stereocomplex를 형성한다. Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH), leuprolide, vapreotide, insulin 유도체 등이 D-PLA와 stereocomplex를 형성함이 보고 되었다.⁵⁴⁻⁵⁸ L-PLA와 DL-PLA는 L-폴리펩타이드와 complex를 형성하지 않았다.

2.6 Natural Polymer

2.6.1 Polysaccharide

Agarose(그림 9(a)), amylose, amylopectin, carrageen 등은 이중나선 구조를 이루며, 이들의 결정화 과정을 통하여 수화겔이 형성된다. 이 이중나선 구조의 집합점이 물리적 접합점이 된다(그림 10).⁵⁹ 특정 온도 이상(녹는점)에서는 이들이 수용으로 되며, 온도를 낮추면 수화겔이 가역적으로 형성된다. 즉, 저온에서는 수화겔이고 고온에서는 수용액(솔)이 되는 상도를 보여준다. 그러나 키토산의 경우 pK_a 는 6.5의 1차 amine을 가지고 있으므로 $pH >$

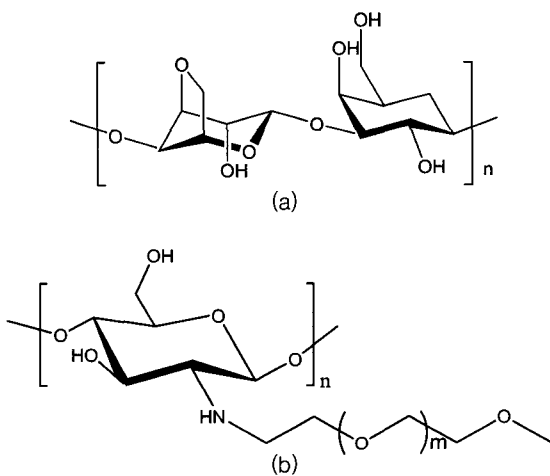


그림 9. Polysaccharide의 구조. (a) agarose, (b) chitosan-g-PEG.

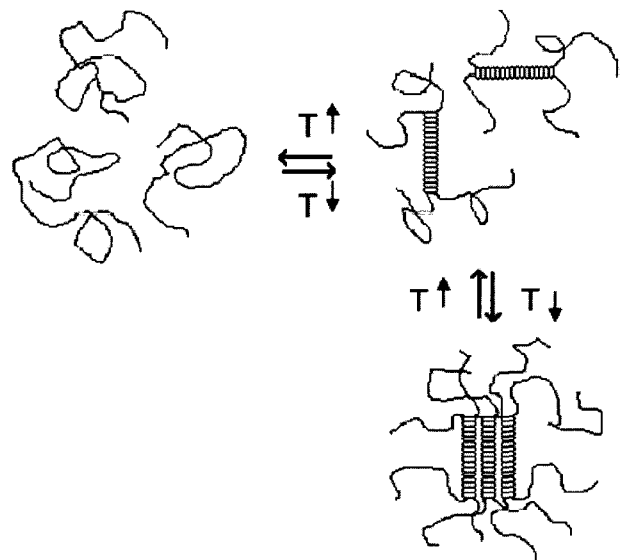


그림 10. 물에서 polysaccharide가 젤이 되는 메커니즘. Random coil이 젤의 junction zone을 형성하기 위해 subsequently aggregate하는 이중나선구조가 된다.⁵⁹

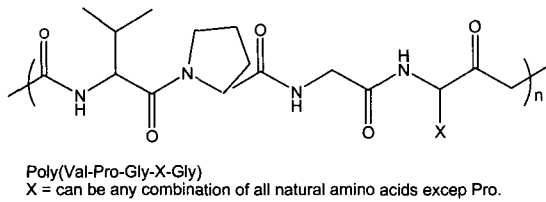
6.5 이상에서는 물에 녹지 않는다. 따라서 물에 대한 용해도를 높이기 위해서 PEG(2000 Da)을 도입한 결과(55 wt% of grafting ratio) 상온에서는 수용액이나 37 °C에서는 수화겔이 되는 thermogellation이 관찰되었다.⁶⁰

2.6.2 Polypeptide Based materials

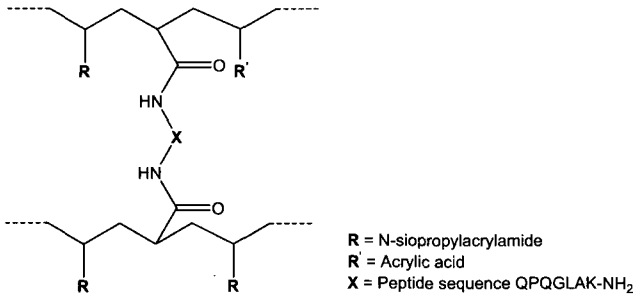
Elastin like polypeptide(ELP)는 유전자를 재조합한 폴리펩타이드를 기초로 하여 만든 온도 민감성 고분자이다. ELP는 펜타펩타이드 반복인 Val-Pro-Gly-Xaa-Gly(그림 11(a))으로 이루어진 고분자이고 Xaa는 'guest residue'로써 Pro를 제외한 모든 아미노산이 올 수 있다.⁶¹ ELP는 전이 온도 이하에서는 수용액에 녹아있고 전이온도 이상에서는 소수성이 강해지며 뭉침 현상이 일어난다.^{61,62} 온도 민감성 poly(N-isopropyl acryl amide) 고분자에 효소에 의해 분해되는 PQGLA sequence의 폴리펩타이드를 도입한 혼성시스템이 보고되었다(그림 11(b)).⁶³ Poly(L-lysine) 또는 poly(L-glutamate) 등 친수성 블록과 poly(L-Leucine) 또는 poly(L-valine) 등의 소수성 블록으로 이루어진 이원 공중합체(그림 11(c))는 0.2~2.0 wt%의 낮은 고분자 농도에도 수화겔을 형성하며 이들은 90 °C까지의 높은 온도에서도 안정성을 보였다.⁶⁴ (그림 11(d))는 hair pin 구조를 갖는 폴리펩타이드이다. 이 폴리펩타이드는 pH가 증가하면 소수성이 증가하여 젤이 되고, pH를 낮추면 lysine에 protonation으로 인한 수용액이 되어 pH에 따라 hairpin 구조의 형성으로 인한 솔-젤 전이를 가능하게 한다.⁶⁵

폴리펩타이드와 합성 고분자의 조합을 통하여 유용한 생체재료를 디자인할 수 있다. 30 °C 전후에서 coiled coil에서 random coil로 전이를 하는 폴리펩타이드를 poly(2-hydroxy propyl methacrylate) 공중합체에 histidine-Ni complex 배위결합을 통하여 도입할 수 있다. 이 혼성 고분자 수화겔은 온도에 민감하게 수축과 팽창을 하며, 이 전이 온도는 폴리펩타이드의 coiled coil에서 random coil로의 전이 온도와 일치한다(그림 12).⁶⁶

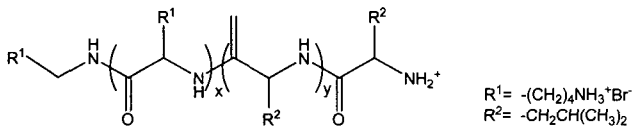
Poly(L-leucine)과 polyelectrolyte 삼원 블록공중합체는 온도가 낮을 때는 leucine zipper에 의한 helix의 회합을 통하여 수화



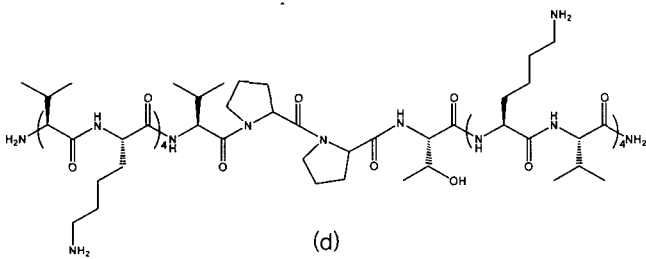
(a)



(b)



(c)



(d)

그림 11. Polypeptide based materials 구조식. (a) ELP, (b) poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid), (c) diblock copolypeptide, (d) hair pin peptide.

젤을 형성하고 온도가 증가하면 이들의 helix 회합체는 녹아 수용액이 된다. 이 전이온도는 pH에 의존하는데, 이는 glutamate와 histidine 등의 이온화도와 관계 있기 때문이다(그림 13).⁶⁷

3. 결론

본 총설에서 다룬 물리적 수화젤은 온도, pH, 이온 등의 변화에 의해 unimer-미셀 전이, 미셀의 응집, 탈수화, helix-coil transition 등의 고분자의 conformation 또는 aggregation 상태가 변화하여 솔-젤의 상전이 일어나는 특징이 있다. 이것은 분자간의 상호작용(intermolecular forces)이 자극이 변화함에 따라 변하기 때문이다. 본 총설에서는 poloxamer, poly(ethylene glycol)/polyester, polyphosphazene, coordination polymer, stereo-complex 등의 합성 고분자를 비롯하여, 폴리펩타이드를 중심으로

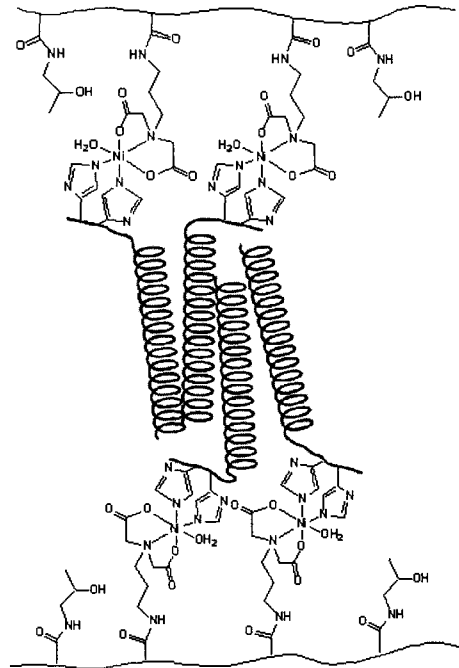


그림 12. Hydroxypropyl methacrylate(HPMA) 공중합체의 hybrid 수화젤과 coiled-coil polypeptide. 이 수화젤은 coiled-coil 단백질 domain의 cooperative conformational transition 때문에 약 40 °C에서 collapse된다. 고분자와 polypeptide는 니켈과 histidine-tagged polypeptide와 *N*-triacetic acid(NTA)를 가지고 있는 HPMA 공중합체의 coordination bond로 연결되어 있다.⁶³

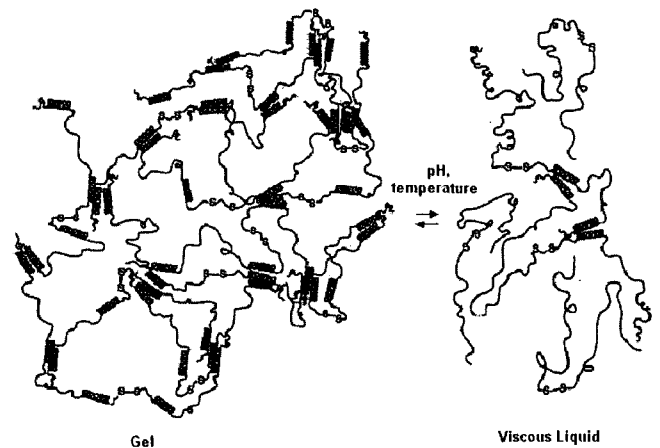


그림 13. poly(L-leucine)와 polyelectrolyte 삼원 블록공중합체가 물리적으로 젤이 되는 모습. 사슬은 COOH-terminal cysteine residue를 통해 연결된 disulfide-linked dimer로 그려졌다. Ellman's reagent로 분석한 결과 spectroscopy와 scattering 연구를 했던 조건 하에서는 free thiol이 존재하지 않음을 알 수 있었다.⁶⁷

한 semi-natural 수화젤에 관한 최근 연구 결과들을 정리 하였다. 특히, 본인이 10여년간 연구해 오고 있는 poly(ethylene glycol)/polyester를 아이디어 도입 단계부터 최적화하는 과정을 연차적으로 소개하였다. 비분해성 고분자이며 짧은 젤의 지속성을 갖는 Poloxamer를 의학적 응용에 적합하게 생분해성 도입, 젤의 지속시간 조절, 분말형상물질 개발 등, 여러 가지 물리화학적 성질을 조절해 가는 과정과, pH-민감성 또는 젤의 점도를 조절하여 주사특성을 개선할 수 있는 방법 등을 소개하였다.

또한, 폴리펩타이드가 갖는 특이적 구조제어를 기초로 하여 온도 민감성이나 pH 민감성을 도입할 수 있음을 알 수 있었고, 배위결합 고분자에 반대 이온의 크기를 조절하여 새로운 2차 구조의 발현이 가능함을 소개 하였다. 이들 물리적 수화젤은 의약전달, 조직공학, 세포 또는 줄기세포의 배양 매체로 주목 받고 있으며, 각각의 응용에 맞게 구조와 성질을 최적화 하는 것이 남은 과제라고 할 수 있다. 이를 위해 세포흡착성을 증대시키기 위하여 RGD를 도입하거나, 수화젤의 강도를 조절하여 생체와 유사한 환경으로 세포가 자랄 수 있도록 하는 연구가 진행되고 있다. 또한, 단백질 의약전달 시스템으로 솔-젤 전이 물질을 최적화하는 연구도 활발히 진행되고 있다. 많은 단백질 약물은 pH나 온도 변화에 의해 변형(denature) 될 수 있으므로, 고분자 물질의 분해 도중 중성이 되게 하는 것과 빠른 시간 내에 녹일 수 있고, 동결건조가 용이한 물질을 개발하는 것 등이 중요한 연구 과제이다. 또한, 폴리펩타이드가 갖는 특이적 2차 구조와 이의 미세조절을 통한 새로운 물리적 수화젤의 구현, 폴리펩타이드와 합성고분자의 혼성구조의 연구 등도 흥미로운 주제이다. 본 연구실에서는 이와 같은 연구를 바탕으로 새로운 구조의 물리적 수화젤을 개발하고, 이들의 전이 메커니즘을 규명하며, 특히, 단백질 의약 전달체로의 응용에 관심을 가지고 연구하고 있다.

참고문헌

- S. Nayak and L. A. Lyon, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 7686 (2005).
- H. H. Winter and M. Mours, *Adv. Polym. Sci.*, **134**, 165 (1997).
- K. Huang, B. Lee, P. D. R. Ingram, and P. B. Messersmith, *Biomacromolecules*, **3**, 397 (2002).
- C. B. Packhaeuser, J. Schnieders, C. G. Oster, and T. Kissel, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **58**, 445 (2004).
- B. Jeong and A. Gutowska, *Trends Biotechnol.*, **20**, 305 (2002).
- B. Jeong, S. W. Kim, and Y. H. Bae, *Adv. Drug Del. Rev.*, **54**, 37 (2002).
- J. M. Dang, D. D. Sun, Y. Shin-Ya, A. N. Sieber, J. P. Kostuik, and K. W. Leong, *Biomaterials*, **27**, 406 (2006)
- C. Booth and D. Attwood, *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 501 (2000).
- M. Malmsten and B. Lindman, *Macromolecules*, **25**, 5446 (1992).
- K. Sun, Y. S. Sohn, and B. Jeong, *Biomacromolecules*, submitted (2006).
- K. Mortensen and S. Pedersen, *Macromolecules*, **26**, 805 (1993).
- W. Brown, K. Schillen, and S. Hvidt, *J. Phys. Chem.*, **96**, 6038 (1992).
- S. M. King, R. K. Heenan, V. M. Cloke, and C. Washington, *Macromolecules*, **30**, 3215 (1997)
- M. J. Park and K. Char, *Macromol. Rapid Commun.*, **23**, 688 (2002).
- E. B. Jorgensen, S. Havidt, W. Brown, and K. Schillen, *Macromolecules*, **30**, 2355 (1997).
- H. Li, G. -E. Yu, C. Price, and C. Booth, *Langmuir*, **19**, 1075 (2003).
- L. Bromberg, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **37**, 4267 (1998).
- L. Bromberg, *J. Phys. Chem. B*, **102**, 1956 (1998).
- L. Bromberg, *J. Phys. Chem. B*, **102**, 10736 (1998).
- L. Bromberg, *Macromolecules*, **31**, 6148 (1998).
- L. Bromberg, *Langmuir*, **14**, 5806 (1998).
- L. Bromberg, *Langmuir*, **15**, 6792 (1999).
- D. Cohn, A. Sosnik, and A. Levy, *Biomaterials*, **24**, 3707 (2003).
- J. M. Suh, S. J. Bae, and B. Jeong, *Adv. Mater.* **17**, 118 (2005).
- A. Sosnik and D. Cohn, *Biomaterials*, **26**, 349 (2005).
- J. S. Ahn, J. M. Suh, M. Lee, and B. Jeong, *Polym. Int.*, **54**, 842 (2005).
- B. Jeong, Y. K. Choi, Y. H. Bae, G. Zentner, and S. W. Kim, *J. Controlled Release*, **62**, 109 (1999).
- B. Jeong, Y. H. Bae, and S. W. Kim, *Macromolecules*, **32**, 7064 (1999).
- B. Jeong, Y. H. Bae, and S. W. Kim, *Colloids and Surfaces: B. Biointerfaces*, **16**, 185 (1999).
- B. Jeong, L. Q. Wang, and A. Gutowska, *Chem. Commun.*, **16**, 1516 (2001).
- B. Jeong, K. M. Lee, A. Gutowska, and Y. H. An, *Biomacromolecules*, **3**, 865 (2002).
- M. J. Hwang, J. M. Suh, Y. H. Bae, S. W. Kim, and B. Jeong, *Biomacromolecules*, **6**, 885 (2005).
- S. J. Bae, M. K. Joo, Y. Jeong, S. W. Kim, W. K. Lee, Y. S. Sohn, and B. Jeong, *Macromolecules*, In Press (2006).
- E. Behraves, A. K. Shyng, S. Jo, and A. G. Mikos, *Biomacromolecules*, **3**, 153 (2002).
- K. Tanahashi and A. G. Mikos, *J. Biomed. Mater. Res.*, **62**, 558 (2002).
- K. Tanahashi and A. G. Mikos, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **67**, 448 (2003).
- E. Behraves and A. G. Mikos, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **66**, 698 (2003).
- E. Behraves, K. Zygorakis, and A. G. Mikos, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **65**, 260 (2003).
- J. Lee, M. K. Joo, H. Oh, Y. S. Sohn, and B. Jeong, *Polymer*, In press (2006).
- W. S. Shim, J. S. Yoo, Y. H. Bae, and D. S. Lee, *Biomacromolecules*, **6**, 2930 (2005).
- Y. S. Sohn, *et al.*, *Angew. Chem.*, In Press (2006).
- Y. S. Sohn, J. K. Kim, R. Song, and B. Jeong, *Polymer*, **45**, 3081 (2004).
- S. C. Song, S. B. Lee, J. I. Jin, and Y. S. Sohn, *Macromolecules*, **32**, 2188 (1999).
- S. B. Lee, S. C. Song, J. I. Jin, and Y. S. Sohn, *Macromolecules*, **32**, 7820 (1999).
- B. H. Lee, Y. M. Lee, Y. S. Sohn, and A. Song, *Macromolecules*, **35**, 3876 (2002).
- H. R. Allcock, *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems*, M. Chasin and R. Langer, Editors, Marcel Dekker, New York, pp. 163-193 (1990).
- G. D. Kang, S. H. Cheon, and S. C. Song, *Int. J. Pharm.*, In Press (2006).

48. H. -J. Kim, J. -H. Lee, and M. Lee, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 5810 (2005).
49. Y. Grohens, G. Castelein, P. Carriere, J. Spevacek, and J. Schultz, *Langmuir*, **17**, 86 (2001).
50. H. Tsuji, *Macromol. Biosci.*, **5**, 569 (2005).
51. T. Fujiwara, T. Mukose, T. Yamaoka, H. Yamane, S. Sakurai, and Y. Kimura, *Macromol. Biosci.*, **1**, 204 (2001).
52. D. W. Lim, S. H. Choi, and T. G. Park, *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 464 (2000).
53. S. J. de Jong, S. C. DeSmedt, M. W. C. Wahls, J. Demeester, J. J. Kettenes-van den Bosch, and W. E. Hennink, *Macromolecules*, **33**, 3680 (2000).
54. J. Slager, M. Glandnikoff, and A. J. Domb, *Macromol. Symp.*, **175**, 105 (2001).
55. J. Slager, Y. Cohen, R. Khalfin, Y. Talmon, and A. J. Domb, *Macromolecules*, **36**, 2999 (2003).
56. J. Slager and A. J. Domb, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **58**, 461 (2003).
57. J. Slager and A. J. Domb, *Biomacromolecules*, **4**, 1308 (2003).
58. J. Slager and A. J. Domb, *Biomacromolecules*, **4**, 1316 (2003).
59. J. M. Guenet, *Thermoreversible gelation of polymers and biopolymers*. Academic, New York, pp 112–115 (1992).
60. N. Bhattatai, F. A. Matsen, and M. Zhang, *Macromol. Biosci.*, **5**, 107 (2005).
61. D. W. Urry, *J. Phys. Chem. B*, **101**, 11007 (1997).
62. D. W. Urry, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **57**, 23 (1992).
63. S. Kim and K. E. Healy, *Biomacromolecules*, **4**, 1214 (2003).
64. A. P. Nowak, V. Breedveld, L. Pakstis, B. Ozbas, D. J. Pine, D. Pochan, and T. J. Deming, *Nature*, **417**, 424 (2002).
65. J. P. Schneider, D. J. Pochan, B. Ozbas, K. Rajagopal, L. Pakstis, and J. Kretsinger, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 15030 (2002).
66. C. Wang, R. J. Stewart, and J. Kopecek, *Nature*, **4**, 397 (1999).
67. W. A. Petka, J. L. Harden, K. P. McGrath, D. Wirtz, and D. A. Tirrell, *Science*, **281**, 389 (1998).