

카테콜아민의 화학치환: 홍합 모방 코팅 물질인 도파민을 넘어서

이해성 · 이해신[†]

카이스트 화학과

(2018년 08월 29일 접수, 2018년 09월 11일 수정, 2018년 09월 15일 채택)

Beyond Mussel-inspired Polydopamine Coatings: Derivatives of Catecholamines

Haesung A. Lee and Haeshin LEE[†]

Department of chemistry, KAIST

(Received August 29, 2018; Revised September 11, 2018; Accepted September 15, 2018)

요약: 홍합족사 단백질을 모방한 카테콜아민 화합물을 통한 물질 무관 코팅방법이 2007년 본 연구진에 의해 발표된 이래로, 이를 이용하고 발전시키고자 세계 유수의 연구진들이 다양한 방향으로 연구를 진행하고 있다. 이에 본 연구진은 본 지를 통해, 카테콜아민계 물질의 작용기 치환 방법을 통해 카테콜아민의 범용성을 확장시킨 사례들을 알아보고, 이를 통한 카테콜아민계 물질의 발전 가능성에 대해 기술해 보고자 한다.

Abstract: As a mussel-inspired surface independent modification chemistry using catecholamine family molecule was suggested on 2007, there are tremendous efforts being done by researchers from around the world to adjust and develop diverse applications using catecholamine family. Accordingly, we will discuss about the novel method to extend catecholamine applications, which is through the functional group substitution of catecholamine molecules.

Keywords: Polydopamine, catechol derivatives, dopamine derivatives, mussel, surface

1. 서론

홍합 모방 접착 기술, 폴리도파민 코팅

본 연구진이 개발한 홍합 족사 단백질 모사 물질 무관 표면 코팅 기법은 올해로 10주년을 맞이하였다. 젖은 바위나 암초 표면, 산호초 등의 매우 굴곡지고 거친 표면 위, 그것도 강한 파도와 풍량이 상시 몰아치는 험한 해양 환경 속에서도 적응해 서식해 나가는 홍합은 족사 (byssal thread)라고 하는 섬유 다발과 플라크 (plaque)라고 하는 접착성 패드를 통해 표면 무관하게 안정적으로 부착하게 된다고 알려져 있다. 이와 같은 특이한 접착 능력은 물리적 충격과 수분이 많은 환경에 모두 적용 가능한 내수성 접착제로의 개발 및 넓은 응용 가능성을 가지기 때문에 오랫동안 연구자들의 관심을 받아왔다. 본 연구진은 이러한 홍합 족사의 접착

특성의 유래를 파악, 대표적인 홍합 족사 단백질인 Mefp-3 (Mytilus edulis foot protein-3)과 Mefp-5 (Mytilus edulis foot protein-5)에 분포하는 특이한 amino acid인 3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine (DOPA) 홍합의 접착 능력이 DOPA라고 하는 아미노산으로부터 기인한다는 사실을 유추 하였고, 이러한 화학 구조를 모사한 가장 기초적인 단위 물질인 도파민을 이용, 점/접착 분야에 있어 획기적인 표면 무관한 코팅 기법을 개발하였다. [1-3]

2. 본론

도파민 화학 구조의 치환을 통한 화학적 특성 차이, 그리고 이에 기인한 코팅 응용 확장

홍합 족사의 모방 코팅 방법은 앞서 서술한 대로 홍합 단백질을 구성하는 아미노산의 큰 성분 함량을 차지하

[†] Corresponding author: Haeshin Lee (Haeshin@kaist.ac.kr)

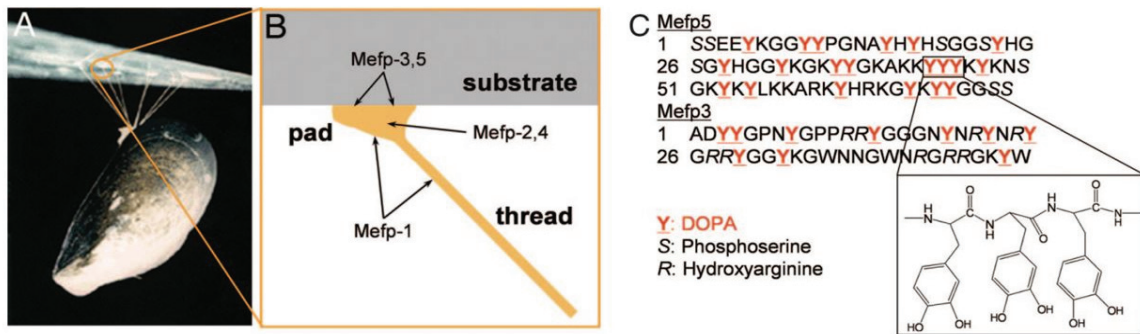


Figure 1. 족사를 이용한 혼합 집착과 혼합 집착 단백질의 아미노산 조성.

고 있는 DOPA의 화학적 구조에서 기인한다. 본 연구진은 DOPA의 카테콜 작용기와 더불어 리신, 히스티딘 등의 아미노산에 분포하는 아민 작용기와 결합에 의해 집착 특성이 발현된다는 것을 확인하고, 이를 통해 도파민으로 대표되는 카테콜아민이라는 물질을 이용하여 범용적인 코팅제를 제시한 바 있다. [4] 이 때, 이와 같은 카테콜아민계 물질은 코팅에 활용되는 카테콜과 아민 작용기를 제외한 나머지 부분에 대해 다양한 작용기를 도입하게 됨으로서, 해당 작용기가 나타내는 또 다른 특성을 부여한 새로운 표면 무관 코팅이 가능

한 물질로서 그 범위의 확장이 가능하다.

우리는 이러한 방법을 통해 만들어진 카테콜아민계 새로운 코팅 물질에 대한 연구 동향을 파악하고 그 활용에 대해 이해해보고자 한다.

2.1. 카테콜 작용기의 수소 치환

코팅 수용액 상에 녹아 있는 도파민은 폴리도파민이라는 물질이 되어 표면을 코팅하기 위해, 먼저 카테콜 작용기가 산화되어 퀴논 (quinone) 작용기로 변화된 후, 분자 내 결합을 통해 인돌 (indole) 형태의 화학구조 단위체를 형성하여 인돌의 중합 반응을 통해 폴리도파민을 형성하게 된다 (Fig 2). 따라서 일반적인 화학적 메커니즘 상으로 볼 때, 카테콜아민계 물질이 표면을 코팅하기 위해서는 인돌 형태의 단위체를 반드시 거쳐야 한다는 뜻이 된다. 이 때, 카테콜아민의 아민 작용기와 분자 내 결합을 하는 카테콜 링 구조의 6번 탄소에 결합된 수소를 다른 물질로 치환하게 되면, 카테콜아민의 분자 내 결합과 관련된 반응 속도를 조절할 수 있고, 따라서 카테콜아민의 반응 속도와 결합 능력을 조절할 수 있게 된다. 카테콜아민계의 코팅물질이 인돌 단위체를 형성하기 위해서는 산화반응을 통해 전자의 이동이 발생하게 되므로, 분자 내의 전자 분포가 매우 중요하다. 6번 탄소에 전자친화도가 매우 높은 할로젠 원소를 도입하면, 카테콜아민계 물질의 전자 분포에 큰 변화를 줄 수 있어, 결과적으로 산화 반응에 근거한 인돌 단위체 형성 속도에 영향을 미칠 수 있다. 할로젠 원소 중 불소를 치환시킨 불화도파민은 불소 자체가 가지는 매우 강한 전자친화 특성으로 인해, 도파민으로 대표되는 일반적인 카테콜아민계 물질에 비해 매우 빠른 퀴논산화반응 특성을 나타낸다. 특이한 점은 이렇게 치환을 통해 도입한 불소는 불화도파민이 분자 내 반응을 통해 인돌을 형성하게 되면서 상당량 방출하게 된다는 것이다(Fig 4). 불소의 방출을 통한 항균 코팅 방법으로서의 개발 방향을 제시한 사례라 할 수 있다. [5]

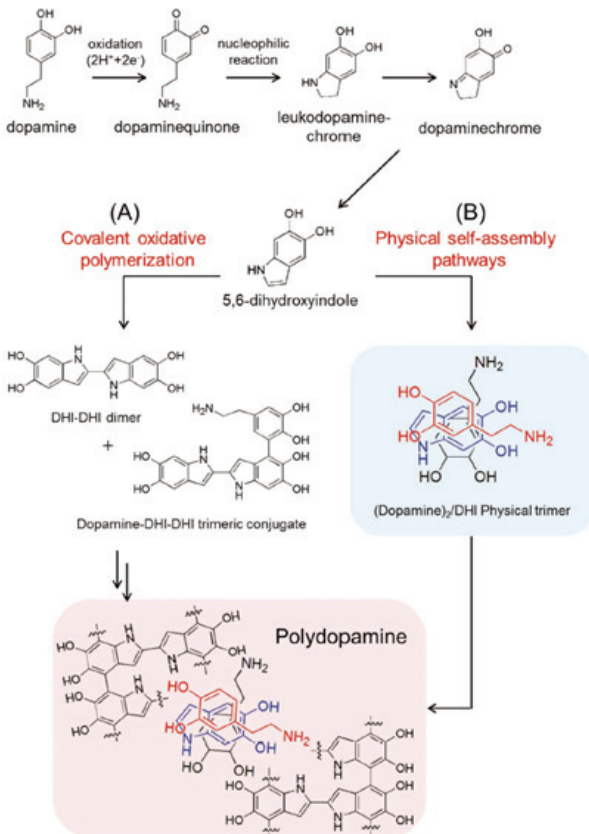


Figure 2. 산화에 의한 폴리도파민 형성과정과 구조.

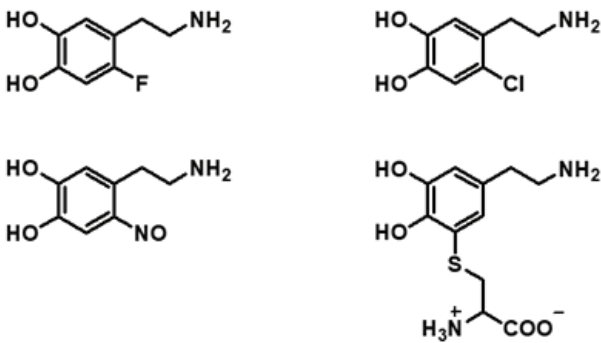


Figure 3. 카테콜 작용기 치환체의 화학구조. 불화도파민 (왼쪽 위), 염화도파민 (오른쪽 위), 질산화도파민(왼쪽 아래), 시스테인도파민(오른쪽 아래)

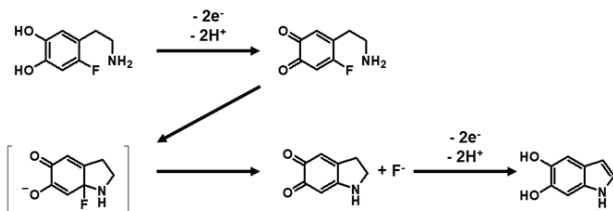


Figure 4. 불화도파민의 불소 방출 메커니즘.

염소를 치환시킨 염화도파민은, 불소와 마찬가지로 매우 큰 전자친화 특성을 지니고 있기 때문에, 일반적인 카테콜아민계 물질에 비해 좀 더 빠른 산화 반응을 진행하고자 하는 특성을 지니고 있다. 이에 따라 코팅의 반응이 좀 더 빠르게 진행된다는 장점을 가지고 있다. 불화도파민이 인돌 형성 중 불소를 방출시키는 반응 메커니즘을 보유하고 있는 반면, 염화도파민은 표면 코팅 시 폴리도파민 층에 염소가 고정되는 메커니즘을 갖고 있다. 이와 같은 코팅 방법을 통해 표면에 염소 물질을 고정시키고, 결과적으로 박테리아 등에 의한 표면 오염을 고정된 염소를 통해 방지할 수 있다는 결과의 연구 사례가 보고 되어있다. [6]

염화도파민은 폴리에틸렌글리콜 고분자와의 결합을 통해, 카테콜의 분자간 접착 특성에 기인한 고분자 하이드로겔을 만들어 일반 카테콜아민계 고분자 하이드로겔과 비교 보고한 사례가 존재한다. 일반 카테콜아민계 물질의 폴리에틸렌글리콜 결합체 역시 하이드로겔을 형성하나, 앞서 언급한 대로 화학적 매커니즘의 결합 속도 차이 등에 의해, 염화도파민은 도파민 하이드로겔과 겔 자체의 경도 및 중합 정도 등 그 특성이 매우 상이하다. 이러한 염화도파민의 빠른 산화 능력을 이용, 염화도파민과 일반 카테콜아민의 폴리에틸렌글리콜 결합을 적절히 배합하므로써, 원하는 강도와 원하는 중합 정도, 그리고 원하는 결합 속도로 하이드로겔을 튜닝 할 수 있는 시스템을 제시하였다. [7]

할로겐 원소와 더불어, 또 다른 치환기인 질산기 치환을 통해 우리는 새로운 화학적 특성을 관찰할 수 있다. 질산화도파민은 앞서 서술한 할로겐화 도파민의 특성과 같이 매우 높은 전자친화의 특성을 지니고 있음에도, 오히려 카테콜아민계의 반응 속도 보다 중합 반응이 느려지는 것이 관찰되었다. 질산기는 비록 강한 전기음성적 특성을 가져 퀴논으로의 산화반응을 촉진시키긴 하나, 염화 혹은 불화 치환에 비해 그 분자가 매우 큰 치환 반응이기 때문에, 인돌 단위체를 형성하기 위한 분자 내 반응에서 구조적 방해물로 작용하여 반응 속도를 매우 더디게 한다. 뿐만 아니라, 할로겐 치환체는 다른 인돌 단위체와 pi-pi 결합을 하는데 있어 안정성을 부여하여 층상 결합을 통한 코팅 두께 확장에 기여할 수 있는 반면, 질산 치환체는 다른 단위체와 불안정한 결합력을 가져, 단위체간의 층상 구조 형성을 막고, 결과적으로 코팅막의 확장을 방해하여 비교적 얇은 코팅을 형성한다. 질산화도파민은 앞에서 서술한 전기음성적 차이, 그리고 그 화학구조상의 크기에 의한 결합 방해 등 극단적이고 복합적인 영향으로 인해 일반적인 카테콜아민계 코팅 및 할로겐화 도파민과와 극명하게 다른 산화 반응 특성을 가진 것으로 파악되었다. 결과적으로 우리가 기존 연구 결과를 통해 상식처럼 받아들였던 인돌 형태의 중합 단위체를 형성하는 반응 메커니즘 벗어난 새로운 형태의 산화 반응 메커니즘을 가지고 있음을 확인하였다. 퀴논 형태의 산화반응까지는 일반적인 카테콜아민의 산화 반응과 그 반응 매커니즘이 유사하나, 그 이후 질산화도파민은 아민 작용기가 6번 탄소에 결합하여 우리가 아는 인돌 단위체를 형성하는 것이 아니라 2번 탄소에 결합하여 6,7-디온인돌 형태의 변형된 중간체를 만든다. 뿐만 아니라 이 변형된 중간체는 그 스스로 단위체로 중합반응이 일어나는 것이 아니라, 다시 질산화도파민과 결합하여 이합체 형태를 만들어, 기존의 상식에 벗어난 매우 특이한 형태의 중합반응을 진행함을 확인하였다(Fig 6). [8] 이러한 화학 반응 메커니즘은 에너지 측면에서 매우 불리하기 때문에, 질산화 도파민은 일반적 카테콜아민계에서 사용되는 염기 용액을 통한 산화 중합반응이 불가능하고, 산화제 조건을 이용해 강한 산화 환경을 조성하여야 한다. 우리는 카테콜아민 접착 물질이 할로겐, 질산화 치환과 같이 비교적 단순한 화학 작용기의 치환을 통해서도, 그 코팅의 화학적, 물리적 거동이 매우 극명하게 변화함을 확인하였다. 이러한 치환 카테콜아민을 적절히 조합하면 두께, 강도, 반응 시간 등을 상황에 맞게 조절이 가능한 코팅 기법을 개발 할 수 있을 것이다.

6번 탄소의 치환을 통해 우리는 산화 속도, 두께 등의 물성 조절이 가능한 새로운 개념의 카테콜아민계

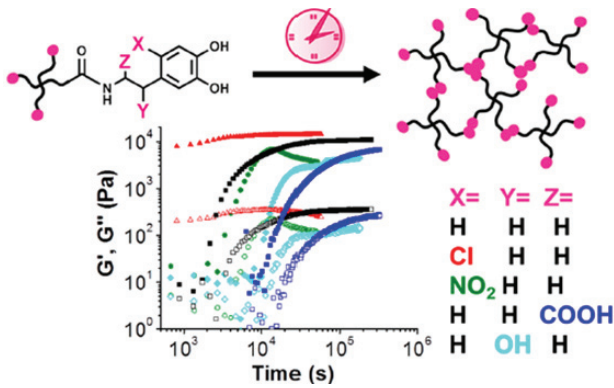


Figure 5. 다양한 도파민 치환체-폴리에틸렌글리콜 고분자결합체의 시간에 따른 하이드로겔 강도 변화의 유변학적 분석.

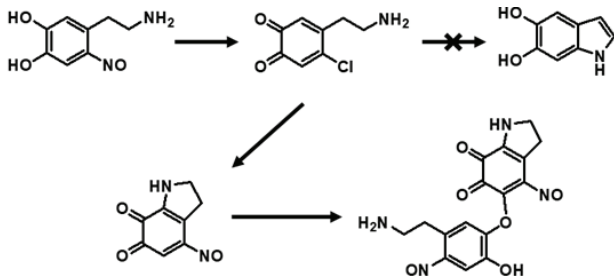


Figure 6. 질산화도파민의 산화 매커니즘.

코팅 방법을 알아보았다. 이와는 별개로 5번 탄소의 변화를 통해, 피부의 색소 물질인 멜라닌과 구조적으로 유사한 코팅 물질을 만들어 그 물질을 활용한 사례를 확인해보고자 한다. 피부의 색소 물질인 멜라닌의 한 갈래인 피오멜라닌은 홍합족사단백질에 풍부한 DOPA의 5번 탄소에 시스테인 아미노산의 티올 잔기가 결합한 5-S-cysteinylDOPA를 이용하여 멜라닌을 구성한다. 이러한 특성을 차용하여, 도파민의 5번 탄소를 시스테인 아미노산의 황과 결합한 시스테인도파민이라는 새로운 카테콜아민 치환 분자를 도입한, 카테콜아민계와는 다른 화학적 매커니즘을 가지는 표면 코팅방법이 보고되었다. 시스테인도파민은 일반적 카테콜아민계 물질과 달리 아민 작용기의 분자 내 반응을 통해 인돌 단위체로 중합 결합을 형성하지 않고, 시스테인의 아민기가 카테콜기의 히드록시기와 결합하는 새로운 분자 내 결합을 통해 벤조티아진(benzothiazine)이라는 단위체를 이용하여 중합결합을 수행한다. 카테콜아민계의 단위체인 인돌의 경우에는 산화반응에 의해 비가역적인 결합을 형성하는 반면, 벤조티아진 단위체는 가역적인 산화환원반응이 가능하다. 이렇게 만들어진 폴리시스테인도파민 필름은, 산화환원반응이 가능한 물질과 접촉하면 그 물질의 산화환원반응을 유도하며

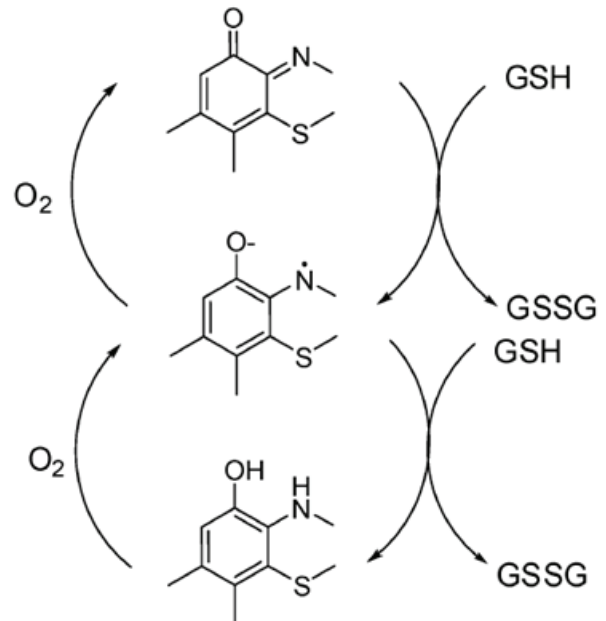


Figure 7. 시스테인도파민의 벤조티아진 단위체에 의한 글루타치온 산화반응 및 산소에 의한 벤조티아진의 산화력 복원반응.

로, 이러한 물질들을 감지할 수 있는 산화환원감지표면으로 활용의 가치가 크다 할 수 있다. [9]

도파민 분자를 치환시키지 않고, 도파민을 중합시켜 폴리도파민 코팅한 표면에 대해 시스테인을 도입하여, 폴리시스테인도파민과 유사한 표면을 만든 연구 사례도 보고된 바 있다. 이와 같은 전략을 통해 만들어진 폴리시스테인도파민 코팅은 시스테인 아미노산을 통해 양극인 아민기와 음극인 카르복시기를 표면에 노출시킬 수 있게 되어, 결과적으로 표면에 쌍성 이온(zwitterion)을 도입할 수 있다. 쌍성 이온은 박테리아 등의 생체오염원에 대해 접착성을 낮추어 표면이 오염되지 않게 하는 특성을 가지고 있다. 따라서 이러한 코팅방법은 자연친화적이면서도 생체오염을 방지하는 효율적인 코팅 방법이 될 수 있다. [10]

2.2. 아민 작용기의 치환

본 연구진은 앞서 확인한 카테콜로다닌 작용기의 단백질에 대한 선택적 인식 및 결합 특성 연구와 유사한 원리를 이용하여, 본 기능을 형광 발현 단백질 분야에 적용하여 보고하였다. 광활성 황색 단백질(Photoactive yellow protein, PYP)이라는 단백질은 69번 아미노산인 시스테인의 티올 잔기를 통해, 4-히드록시신남산(4-hydroxycinnamic acid, HCA)라는 발색단 분자의 카르복시기와 티오에스터 결합을 형성한다. 이렇게 PYP의 발색단에 결합된 HCA는 이중결합을 가지고 있어, 자외선 영역대의 빛을 받아 광감이성질체화 반응

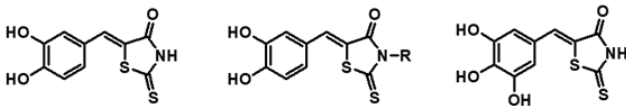


Figure 8. 아민기의 로다닌 치환을 수행한 카테콜아민계 물질. (왼쪽부터 카테콜로다닌, 카테콜로다닌에 추가적 화학 작용기를 도입한 결합체, 갈롤로다닌)

(photoisomerization)을 통해 감광하는 특성을 가지고 있다고 알려져 있다. 이 때, HCA의 히드록시기가 PYP의 Tyr42, Glu46, Thr50등의 히드록시기와 수소결합을 형성하여 안정적인 발색단 구조를 이룬다고 알려져 있다. 이러한 이유로 PYP와에서 발색단 분자와 공유 결합을 위해 필요한 69번 시스테인을 공유결합이 불가능한 글리신으로 치환하더라도, 발색단 분자는 Tyr42, Glu46, Thr50과 히드록시기와 결합 안정성에 의해 어느정도 안정적으로 해당 위치에 비공유결합 형태로 결합능력이 있다는 것이 입증되었다. 이를 통해, 69번 시스테인이 변형된 PYP기반의 새로운 단백질은 발색단분자와 가역적인 비공유결합을 통해 결합을 이룰 수 있는 특성을 가지게 되었다. 발색단분자와 PYP 단백질 비공유결합을 좀 더 안정화시키기 위해, 추가적인 화학 결합을 부여하였는데, 이를 통해 도입된 작용기가 바로 앞서 언급한 로다닌 작용기이다. 로다닌 작용기는 특정 단백질 군에 대한 선택적 결합 특성을 가지고 있다. 이러한 선택적 특성은 해당 단백질 군이 로다닌을 안정적으로 결합할 수 있는 특정한 아미노산 배열, 즉 도메인을 가지고 있기 때문에 나타나는 것으로 볼 수 있다. 로다닌이 결합된 변형 발색단분자가 PYP와 결합 할 때, 만약 로다닌에 가깝게 접촉하는 PYP의 아미노산 배열을 로다닌을 인식하는 도메인과 유사하게 변형한다면, 변형 발색단분자가 좀 더 안정적으로 PYP와 결합 할 수 있게 될 것이다. 이와 같은 가설을 토대로 PYP의 로다닌 접촉부 아미노산 배열을 무작위 돌연 변이를 통해 다양하게 변화시켜, 로다닌이 결합하기 가장 최적화된 구조로 변형된 아미노산 배열을 찾게 되었고, 이렇게 변형된 PYP 단백질을 Y-FAST라 명명하였다. 이 Y-FAST는 특이하게도 원래 형태인 PYP가 갖는 감광의 특성을 넘어, 빛을 흡수하였다가 다시 방출하는 형광 특성을 지닌다는 것을 발견하였다. 본 연구진은 이러한 형광의 발현 현상도 결국 발색단분자에서 기인하는 것임을 주목, 발색단 분자의 구조 변화를 통해 다른 색의 형광 발현이 가능할 것이라 판단하였다. 가장 간편하면서도 효과적인 구조 변화 방법은 기존 발색단이 가지고 있는 한 개의 히드록시기 작용기에서 시작하여, 추가적인 히드록시기를 도입하는 것이다. 이에, 히드록시기 2개를 가지는 분자인 카테콜로다닌, 3개를 가지는 갈롤로다닌을 새로운 발색단 분자 후

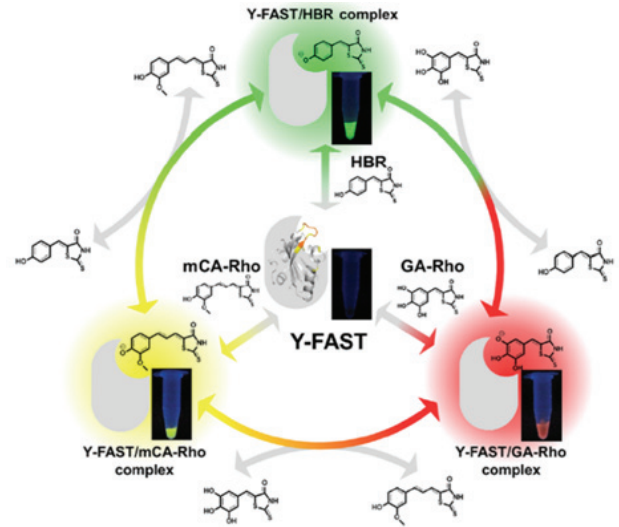


Figure 9. 카테콜로다닌과 갈롤로다닌을 이용한 다중형광 단백질-발색단 복합체.

보로 제시하여 Y-FAST와의 형광 파장 변화를 관찰하였다. 추가적인 히드록시기의 도입을 통해 발색단 분자의 전자 밀도를 고르게 넓히고, 에너지 준위를 낮추는 효과를 가져왔고, 결과적으로 초록색을 내는 원래 발색단 분자의 형광에서 적외광 영역대로 파장이 이동된 노란색과 붉은색의 형광을 얻어내었다. 혼합조사에서 유래된 카테콜아민계 물질과의 구조적 유사성을 가지는 분자가 단백질과의 결합을 통해 다양한 색의 형광을 낼 수 있는, 형광단백질의 발색단 분자로서도 기능을 할 수 있다는 데에서, 도파민의 활용 폭이 매우 광범위함을 확인 할 수 있다. [14]

3. 결론

홍합의 접착 기작을 모방한 홍합모사 접착 기술은 표면에 무관하게 적용 될 수 있는 표면 개질 기법으로서 지속적인 발전을 거듭해 왔다. 우리는 도파민을 대표로 하는 카테콜아민계 물질에 화학 작용기를 치환하는 방법을 통해, 기존의 카테콜아민계 물질과 차별화된 새로운 표면 무관 접착 물질을 디자인하고 그것을 통해 다양한 분야로 활용한 사례를 알아보았다. 화학 작용기 치환을 통한 홍합 모사 접착 물질의 개발은, 간단한 화학 작용기의 도입을 통해 접착 물질의 종류를 무궁무진하게 확장시킬 수 있다는 점에서 그 의미가 크다 할 수 있다. 이러한 화학 치환을 통한 홍합 모방 접착 물질 개발 방법은, 홍합 모사 접착 물질의 스펙트럼을 크게 확장시키고, 이를 통해 점/접착 분야를 비롯한 다양한 과학기술 분야에 폭 넓게 적용시킬 수 있는 획기적인 방법으로써 자리매김 할 것으로 보인다.

References

1. J. H. Waite, *Integr. Comp. Biol.*, **42**, 1172, (2002).
2. H. G. Silverman, and F. F. Roberto, *Mar. Biotechnol.*, **9**, 661, (2007).
3. H. Lee, N. F. Scherer, and P. B. Messersmith, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **103**, 12999, (2006).
4. H. Lee, S. M. Dellatore, M. W. Miller and P. B. Messersmith, *Science*, **318**, 426, (2007).
5. M. E. Rice, B. Moghaddam, *Anal. Chem.*, **59**, 1534-1538, (1987).
6. L. G. -Fernández, J. Cui, C. Serrano, Z. Shafiq, R. A. Gropeanu, V. S. Miguel, J. I. Ramos, M. Wang, G. K. Auernhammer, S. Ritz, A. A. Golriz, R. Berger, M. Wagner, A. del Campo, *Adv. Mater.*, **225**, 529-533, (2013).
7. J. I. Paez, O. Ustahüseyin, C. Serrano, X. -A. Ton, Z. Shafiq, G. K. Auernhammer, M. d'Ischia, A. del Campo, *Biomacromolecules*, **16**, 3811-3818, (2015).
8. J. Cui, J. Iturri, J. Paez, Z. Shafiq, C. Serrano, M. d'Ischia, A. del Campo, *Macromol. Chem. Phys.*, **215**, 2403-2413, (2014).
9. N. F. D. Vecchia, R. Marega, M. Ambrico, M. Iacomino, R. Micillo, A. Napolitano, D. Bonifazibe, M. d'Ischia, *J. Mater. Chem. C*, **3**, 6525-6531, (2015).
10. R. Shevate, M. Kumar, M. Karunakaran, M. N. Hedhili, K. -V. Peinemann, *J. Membr. Sci.*, **529**, 185-194, (2017).
11. G. Kumar, T. Banerjee, N. Kapoor, N. Surolia, A. Surolia, *IUBMB Life*, **3**, 204-213, (2010).
12. X. Ge, B. Wakim, D. S. Sem, *J. Med. Chem.*, **51**, 4571-4580, (2008).
13. C. Zinglé, D. Tritsch, C. G.-Billiard, M. Rohmer, *Bioorg. Med. Chem.*, **22**, 3713-3719, (2014).
14. J. -K. Kim, H. A. Lee, H. Lee, H. J. Chung, *Chem. Mater.*, **30**, 1467-1471, (2018).