



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2023년 2월

박사학위 논문

생체모방형 공중합체를 갖는
접착 소재의 제조 및 특성

朝鮮大學校 大學院

尖端素材工學科

羅 行 堯

생체모방형 공중합체를 갖는 접착 소재의 제조 및 특성

Preparation and Characterization of Adhesive Materials
based on Biomimetic Copolymers

2023年 2月 24日

朝鮮大學校 大學院

尖端素材工學科

羅 行 堯

생체모방형 공중합체를 갖는 접착 소재의 제조 및 특성

指導教授 孫 廷 瑄
共同指導教授 金 俊 燮

이 論文을 工學博士學位 申請 論文으로 提出함

2022年 10月

朝鮮大學校 大學院

尖端素材工學科

羅 行 堯

羅行堯의 博士學位論文을 認准함

委員長	朝鮮大學校 教授	<u>조 훈 (인)</u>
委員	湖南大學校 教授	<u>노 선 균 (인)</u>
委員	朝鮮大學校 教授	<u>김 호 중 (인)</u>
委員	朝鮮大學校 教授	<u>김 준 섭 (인)</u>
委員	朝鮮大學校 教授	<u>손 정 선 (인)</u>

2023年 1月

朝鮮大學校 大學院

목 차

List of Tables
 List of Schemes
 List of Figures
 Abstract

제1장 Synthesis of DOPA derivative copolymers

제1절 서론

1.1 의료용 접착제	1
1.2 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)	4
1.3 혼합 접착 메커니즘	6
1.4 기술개발 현황	8
1.5 생체모방 기술	9
가. 의료용 소재	9
나. 조직 공학용 소재	10
1.6 본 연구의 목적	11

제2절 실험

2.1 시약 및 기기	12
가. 시약	12
나. 기기	12
2.2 단위체의 합성	13
2.3 공중합체의 합성	14

가. Poly(DMA-co-MEA)의 합성	14
나. Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)의 합성	15
다. Poly(DMA-co-HEMA)의 합성	16

제3절 결과 및 고찰

3.1 단량체의 합성	17
3.2 공중합체의 합성	20
가. Poly(DMA-co-MEA)의 합성	20
나. Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)의 합성	23
다. Poly(DMA-co-HEMA)의 합성	26

제4절 결론	29
--------------	----

제2장 Complex coacervate with DOPA derivative copolymers

제1절 서론

1.1 Coacervate의 정의	30
1.2 Coacervate의 일반적 특성 및 응용 분야	32
1.3 Cation- π 상호작용	34
1.4 본 연구의 목적	36

제2절 실험

2.1 시약 및 기기	37
가. 시약	37
나. 기기	37

2.2 생체모방 공중합체를 갖는 complex coacervate의 제조	38
2.3 생체모방 공중합체를 갖는 complex coacervate의 일반적 특성 평가	40
2.4 DLS-zetasizer	40
2.5 접착 특성 평가	41
2.6 접촉각	42
2.7 Morphology	43

제3절 결과 및 고찰

3.1 Complex coacervate의 일반적 성질	44
3.2 DLS-Zetasizer	50
3.3 Complex coacervate의 접착 특성	52
3.4 접촉각	60
3.5 Morphology	63

제4절 결론	65
--------	----

제3장 IPN hydrogels based on DOPA derivative copolymers

제1절 서론

1.1 Tissue engineering	66
1.2 지지체의 재료	68
가. 천연고분자	68
나. 합성고분자	69
1.3 Hydrogel	71

1.4 Interpenetrating polymer network(IPN)	73
1.5 Hydrogel의 조직공학적 응용	74
가. 약물 전달체	74
나. 바이오 접착제	74
다. 액츄에이터	75
1.6 본 연구의 목적	77

제2절 실험

2.1 시약 및 기기	78
가. 시약	78
나. 기기	78
2.2 Hydrogel의 제조	79
2.3 Hydrogel의 일반적 성질	80
가. Hydrogel의 함수율	80
나. Hydrogel의 겔 분율(Gel fraction)	81
다. Hydrogel의 인장강도	81
라. Hydrogel의 열적 특성	81
마. Hydrogel의 접촉각	82
2.4 Hydrogel의 접착 특성평가	83
2.5 Hydrogel의 Morphology	83
2.6 Hydrogel의 생체적합성 평가	84
가. CCK-8 assay	84
나. Live/Dead assay	84

제3절 결과 및 고찰

3.1 Hydrogel의 제조	85
------------------------	----

3.2 Hydrogel의 일반적 성질	86
가. Hydrogel의 함수율	87
나. Hydrogel의 겔 분율(Gel fraction)	88
다. Hydrogel의 인장강도	91
라. Hydrogel의 열적 특성	93
마. Hydrogel의 접촉각	95
3.3 Hydrogel의 접착 특성	97
3.4 Hydrogel의 Morphology	102
3.5 생체적합성 평가	103
가. CCK-8 assay	103
나. Live/Dead assay	105
제4절 결론	106
참고문헌	108

List of Tables

Table 1-1. Classification of bio-material.	2
Table 1-2. Classification and characteristics of medical adhesives.	3
Table 1-3. Mussel foot proteins in the plaque and characteristics.	5
Table 2-1. Applications of complex coacervate.	33
Table 2-2. Blend ratio of complex coacervate solution.	39
Table 2-3. Size distribution by DLS-zetasizer.	51
Table 2-4. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:cations (blend ratio 1:1:1:1). ...	54
Table 2-5. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:2:1:1). ...	54
Table 2-6. Adhesion strength of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1:1). ..	56
Table 2-7. Adhesion strength of PDM:PDMC:PDH:EPE:cations (blend ratio 1:2:1:1:1). ..	56
Table 2-8. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1). ..	58
Table 2-9. Adhesion strength of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1:1).	59
Table 2-10. Contact angles of PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1).	61
Table 2-11. Contact angles of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1:1). ..	62
Table 3-1. Application of biomaterials to tissue and organ.	70
Table 3-2. Relationships between hydrogel structures and effect on the properties of hydrogel.	72
Table 3-3. Materials of hydrogel actuator.	76
Table 3-4. Equilibrium moisture contents and gel fraction of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.	90
Table 3-5. Maximum stress and strain at break of the PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.	92
Table 3-6. TGA results of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.	94
Table 3-7. Contact angle of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.	96
Table 3-8. Adhesion strength of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers on various substrates.	99
Table 3-9. Adhesion strength for different condition (Air/Water).	101

Table 3-10. Cell viability of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers (CCK-8 assay). **104**

List of Schemes

Scheme 1. Synthesis of Dopamine methacrylate (DMA)	13
Scheme 2. Synthesis of Poly(DMA-co-MEA) (PDM)	14
Scheme 3. Synthesis of Poly(DMA-co-MEA-co-ECA) (PDMC)	15
Scheme 4. Synthesis of Poly(DMA-co-HEMA) (PDH)	16
Scheme 5. Preparation of IPN hydrogel based on DOPA derivatives copolymers	79

List of Figures

Figure 1-1. (a) Attachment of mussel to other mussel using byssal threads and plaque, (b) Chemical structure of L-3,4-dihydroxyphenylalanine and catechol.	5
Figure 1-2. Mechanism of DOPA for underwater surface adhesion and cohesion. 7	
Figure 1-3. FT-IR spectrum of Dopamine methacrylamide(DMA) (KBr powder). 18	
Figure 1-4. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Dopamine methacrylamide(DMA) (DMSO-d_6).	18
Figure 1-5. FT-IR spectrum of Poly(DMA-co-MEA)(PDM) (KBr powder).	21
Figure 1-6. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Poly(DMA-co-MEA)(PDM) (DMSO-d_6).	21
Figure 1-7. FT-IR spectrum of Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC) (KBr powder). 24	
Figure 1-8. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC) (CDCl_3).	24
Figure 1-9. FT-IR spectrum of Poly(DMA-co-HEMA)(PDH) (KBr powder).	27
Figure 1-10. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Poly(DMA-co-HEMA)(PDH) (DMSO-d_6).	27
Figure 2-1. Conceptual figure of complex coacervate.	31
Figure 2-2. Various interactions of peptide-base coacervate.	31
Figure 2-3. Aqueous cation- π interaction (a) Effect of aromatic groups on cation- π interaction, (b) Effect of hydrated cations on cation- π interaction, (c) Chemical structure of L-Tyrosine and L-Tryptophan, and (d) Chemical structure of cationic polymers[52].	35
Figure 2-4. Preparation of complex coacervate solution with DOPA derivative copolymers and various cations.	39
Figure 2-5. Preparation of lap-shear test for epoxy substrate by UTM.	41
Figure 2-6. Schematic of the sessile drop technique with a liquid droplet. 42	
Figure 2-7. Complex coacervate solution (a) PDM:PDMC:EPE: Mg^{2+} , (b) PDM:PDMC:EPE: Ca^{2+} , (c) PDM:PDMC:EPE: Fe^{3+} , and (d) PDM:PDMC:EPE: V^{5+}	44
Figure 2-8. Optical microscopy images of complex coacervate solution with various cations (a) PDM:PDMC:EPE, (b)PDM:PDMC:EPE: Mg^{2+} , (c) PDM:PDMC:EPE: Ca^{2+} , (d) PDM:PDMC:EPE: Fe^{3+} , and (e) PDM:PDMC:EPE: V^{5+} (Blend ratio 1:1:1:1).	46
Figure 2-9. Optical microscopy images of complex coacervate solution with various cations (a) PDM:PDMC:PDH:EPE, (b) PDM:PDMC:PDH:EPE: Mg^{2+} , (c) PDM:PDMC:PDH:EPE: Ca^{2+} , (d) PDM:PDMC:PDH:EPE/ Fe^{3+} , and (e) PDM:PDMC:PDH:EPE: V^{5+} (Blend ratio 1:1:1:1:1).	46

Figure 2-10. FT-IR spectra of complex coacervate solution with various cations and concentrations (a) PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (b) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (d) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺. **48**

Figure 2-11. UV-vis absorption spectra of blended DOPA derivative copolymers with different types of cations (a) PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (b) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (d) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺ (Blend ratio 1:1:1:1). **49**

Figure 2-12. Size distribution by DLS (a) DOPA derivatives copolymers and EPE with Mg²⁺, (b) DOPA derivatives copolymers and EPE with Ca²⁺, (c) DOPA derivatives copolymers and EPE with Fe³⁺, and (d) DOPA derivatives copolymers and EPE with V⁵⁺ (PDM:PDMC:EPE:Cations 1:1:1:1(red), PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations 1:1:1:1(blue)). **51**

Figure 2-13. Adhesion strength of blended DOPA derivative copolymers with different types of cations (a) PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1), and (b) PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:2:1:1). **54**

Figure 2-14. Adhesion strength of blended DOPA derivative copolymers with different types of cations (a) PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (1:1:1:1:1), and (b) PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (1:2:1:1:1). ... **56**

Figure 2-15. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1). **58**

Figure 2-16. Adhesion properties of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1:1). **59**

Figure 2-17. Contact angles of PDM:PDMC:EPE:Cations (a) PDM:PDMC:EPE, (b) PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (d) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (e) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺(blend ratio 1:1:1:1). **61**

Figure 2-18. Contact angles of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (a) PDM:PDMC:PDH:EPE, (b) PDM:PDMC:PDH:EPE:Mg²⁺, (c) PDM:PDMC:PDH:EPE:Ca²⁺, (d) PDM:PDMC:PDH:EPE:Fe³⁺, and (e) PDM:PDMC:PDH:EPE:V⁵⁺ (blend ratio 1:1:1:1:1). **62**

Figure 2-19. SEM images of cross-section of PDM:PDMC:EPE:Cations (a) PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (b) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (d) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺(blend ratio 1:1:1:1). **63**

Figure 2-20. SEM images of cross-section of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (a) PDM:PDMC:PDH:EPE:Mg²⁺, (b) PDM:PDMC:PDH:EPE:Ca²⁺, (c) PDM:PDMC:PDH:EPE:Fe³⁺, and (d) PDM:PDMC:PDH:EPE:V⁵⁺ (blend ratio 1:1:1:1:1). **64**

Figure 3-1. Chemical structure of natural polymer (Dextran, Hyaluronic acid). **68**

Figure 3-2. Chemical structure of synthetic polymer (PVA, PCL). **69**

Figure 3-3. Structure of inter penetrating polymer networks(IPN). **73**

Figure 3-4. Schematic representation of hydrogel actuator that mimics an earthworm[139].	76
Figure 3-5. IPN hydrogel with PAAm/DOPA derivatives copolymers.	85
Figure 3-6. FT-IR spectra of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.	86
Figure 3-7. Equilibrium water contents of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers in PBS buffer(pH 7.4) for 24 hrs.	89
Figure 3-8. Gel fraction of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers in PBS buffer(pH 7.4) for 48 hrs.	89
Figure 3-9. Stress-strain curves of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.	92
Figure 3-10. (a) TGA curves of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers, (b) TGA curves of degradation temperature ranges.	94
Figure 3-11. Contact angle of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers (a) PAAm hydrogel, (b) PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, (c) PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, and (d) PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel.	96
Figure 3-12. Adhesion properties of IPN hydrogel based on DOPA derivative copolymers on the various substrates.	97
Figure 3-13. Adhesion strength of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers on various substrates (a) PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, (b) PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, and (c) PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel.	99
Figure 3-14. Adhesion strength of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers for different condition (Air/Water).	101
Figure 3-15. SEM images of hydrogels (a) PAAm hydrogel, (b) PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, (c) PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, (d) PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel.	102
Figure 3-16. Cytotoxic test(CCK-8 assay) for PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers (#1. PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, #2. PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, and #3. PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel).	104
Figure 3-17. Live/Dead assay PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers.	105

ABSTRACT

Preparation and Characterization of Adhesive Materials based on Biomimetic Copolymers

by Na, Haeng-Yo

Advisor : Prof. Sohn, Jeong-Sun, Ph.D.

Co-Advisor : Prof. Kim, Joon-Seop, Ph.D.

Department of Advanced Materials Engineering,
Graduate School of Chosun University

Tissue adhesives, hemostatic agents and tissue sealants are used as bio-adhesives for wound closure, hemostasis, and tissue sealants. Bio-adhesives have been intensively studied and developed as an alternative to sutures and staples for wound closure and hemostasis due to potential advantages including ease of use, and minimal tissue damage. However, there are many challenges that still must be overcome, and as such there are no bio-adhesives that are suitable for practical applications. Because it has many problems such as leaving scars and difficult to maintain adhesion on wet surfaces, cytotoxic, and probability for infection. Recently, several bio-adhesives have been studied to overcome these problems, including mussel-inspired adhesives, nanoparticle solutions, tough-adhesive hydrogel, ultraviolet(UV)-curable tissue adhesive glues.

Marine mussels are mediated by the byssus, a proteinaceous holdfast that is formed by secretion and solidification of unique adhesive proteins. One of the unique structural differences of mussel foot proteins(Mfps), is the presence of L-3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA), that contains two hydroxy groups, called catechol. The catechol groups can physically interact with various substrates through π - π stacking, cation- π interaction, and hydrogen bonding. These are recognized for their properties of adhesion and cohesion.

Generally, it is well known that the complex coacervate can form on mixing oppositely charged polyelectrolytes in aqueous solutions, due to electrostatic attraction between the oppositely charged polymers. However, the strong short-range cation- π interactions induce the like-charged coacervate by overcoming repulsive electrostatic interactions. This often leads to liquid-liquid phase separation, called complex coacervation, that is the appearance of a dense polyelectrolyte-rich liquid phase (coacervate phase) and a more dilute solution phase (aqueous phase) without dissolving. Interestingly, the cation- π interaction could serve as a driving force for the formation of complex coacervate in mussel adhesion proteins, which aromatic and cationic residues coexist. The cation- π interactions can lead to complex coacervation with low interfacial energy underwater, it is due to this that they have been studied and applied in biomedical applications such as cell encapsulant, emulsifiers, and bio-adhesives.

The objection of this study is to prepare and characterize the bio-adhesion materials based on DOPA biomimetic copolymers in relation to the adhesive mechanics of marine mussels. In this study, the DOPA-modified derivatives are chemically synthesized by various acrylic monomers, which methacrylate, 2-ethylcyanoacrylate, and 2-hydroxyethyl methacrylate, via free radical polymerization for improving their adhesion properties. Cation- π interaction was induced by blending with different types and different blend ratio of cations (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+}) into the synthesized DOPA derivatives copolymer and PEO-PPO-PEO triblock copolymers solutions. They have been prepared by solution blending in order to induce the formation of complex coacervate. The complex coacervate was characterized and evaluated by various analytical methods such as FT-IR, Universal technical machine(UTM), Contact angle, and SEM. Considering the results from these studies, the complex coacervate between DOPA derivatives and various type of cation showed that adhesion strength is effectively increased even in wet conditions.

Hydrogels are three-dimensional network structures, which consists hydrophilic polymer networks with high water content without dissolving and a structural resemblance to extra matrix cellular(ECM). Therefore, hydrogel is used as scaffolds for tissue engineering such as drug delivery vehicles, actuators, and wound healing. However, most hydrogels do not exhibit with both adequate high stretchability and adhesive properties. Numerous attempts have been made to overcome the problems of poor mechanical properties and adhesive property, such as nanocomposite hydrogels, macromolecular microsphere composite hydrogels, polyampholyte hydrogels, and interpenetrating polymer network(IPN) hydrogel. Among them, IPN hydrogel is known to be the most promising.

The IPN have been studied extensively to improve the mechanical properties of general hydrogels. IPN hydrogels brought distinct benefits compared to single network hydrogels like more widely controllable physical properties, and it provides better thermal stability, mechanical properties, and chemical resistance. Also, it consists of two (or more) polymer networks, at least one of them being synthesized physically/chemically crosslinked.

In this work, bio-inspired adhesive IPN hydrogels were prepared by the L-3,4-dihydroxyphenylalanine derivatives and Polyacrylamide(PAAm) that can be efficiently and rapidly activated with an initiator and a cross-linker without the external stimuli such as UV, pH, and temperature. Also, the high elasticity and adhesive hydrogels were prepared with Polyacrylamide(PAAm) and bio mimetic copolymers, that catechol moieties can form strong covalent bonds in the hydrogel networks via the IPN. The IPN hydrogels were characterized and evaluated by various analytical methods such as FT-IR, UTM, Thermal gravimetric analysis(TGA), Contact angle, and SEM. IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers endow the hydrogel with strong adhesion on various substrates including rough surfaces, smooth surfaces, and porcine skin even wet condition.

The cytotoxicity of IPN hydrogels were evaluated by the CCK-8 assay. The

results of cell viability of IPN hydrogels were over 100%. These results suggest that the IPN-structured PAAm/DOPA inspired copolymer hydrogels are promising functional materials in the field of biomedical engineering. This study not only offers a promising adhesive materials for bio-material with superior performances but also, advances the understanding of adhesion mechanism of DOPA for the development of future bio-adhesives underwater.

Keywords : Biomimetic, marine mussel, mussel foot protein(Mfp), DOPA, catechol, complex coacervate, cation- π interaction, bioadhesive, IPN hydrogel, tough hydrogel, adhesive hydrogel

제1장 Synthesis of DOPA derivative copolymers

제1절 서론

1.1 의료용 접착제

우리나라는 2025년이면 65세 이상 고령 인구의 비율이 20% 이상인 초고령화 사회로 진입이 예상된다. 고령 인구의 증가와 더불어 외과적 수술을 요하는 암, 혈관계 질환 등도 증가하고 있으며, 의료기기나 의료용 보조 기구에 대한 의존도도 빠르게 증가할 것으로 예상되고 있다. 외과적 수술시 사용되는 의료기기로는 봉합사, 스킨 스테이플러 및 의료용 접착제 등이 있다. 봉합사의 경우 가격이 싸다는 장점이 있으나 수술 시 시간이 많이 소모되며, 스킨 스테이플러는 짧은 시간에 봉합할 수 있지만, 제거 시 통증이 동반된다. 의료용 접착제의 경우 봉합사와 스킨 스테이플러보다 상대적으로 통증과 흉터가 적고, 조직 반응이 우수하여 외과적 수술뿐만 아니라 다양한 의료 분야에서 주목받고 있다.

의료용 접착제는 생체에 사용되는 생체 재료(bio-material)로서 생체 내에서 혈액, 체액 또는 주변 조직과의 접촉 시 거부 반응 없이 의료용 목적으로 생체 기능을 보완 또는 대체 하기 위한 재료로 정의할 수 있다[1]. Table 1-1 에 생체 재료를 기능별로 분류하였다. 생체 재료로서 의료용 접착제는 아래와 같은 기능이 요구된다.

- 1) 독성, 조직 위해성이 없고 생체적합성이 충족되어야 함.
- 2) 체액, 혈액 등과 같은 수중환경에서 적용할 수 있어야 함.
- 3) 사용, 조작이 간편하고 신속한 접착이 가능해야 함.
- 3) 충분한 기계적 물성을 유지해야 함.
- 4) 생분해성이 우수해야 함.
- 5) 경화한 접착제가 치유에 방해가 되지 않아야 함.
- 6) 멸균이 가능해야 함.

Table 1-1. Classification of bio-material.

기능	재료
생체조직대체	경조직 : 인공뼈, 인공관절, 인공치근 연조직 : 인공혈관, 인공힘줄, 인공피부
생체조직보충	의치, 치과용 충전재, 골격 손부 충전재
생체조직보조	골 고정재, 봉합사, 접착제
생체기능대행	인공장기용 재료

현재 상용화되고 있는 의료용 생체 접착제 소재는 합성재료와 천연 재료로 구분된다[2,3]. Table 1-2에 의료용 접착제 소재별 특징을 나타내었다. 대표적인 합성 접착제인 시아노아크릴계 접착제는 봉합용 순간접착제로 개발 당시 메틸 2-시아노아크릴레이트가 많이 사용되었으나 체내에서 포름알데히드로 분해되면서 독성이 유발되어 현재는 사용이 중지되었다. Dermabond는 시아노아크릴레이트를 상용화한 대표적인 의료용 접착제로 옥틸시아노 아크릴레이트가 주성분이며 상처 봉합용 국소 피부 접착제로 사용된다. Dermabond는 Ethicon 사가 한국을 포함한 미국, 유럽, 일본 등 50여개의 국가에서 판매하고 있으며, 사용이 편리할 뿐 아니라 지혈, 항균 효과에도 우수한 특징을 갖는다[4].

천연물을 이용한 접착제인 피브리린 글루는 피브리노겐, 트롬빈, 염화칼슘으로 구성되며, 피브리노겐이 트롬빈에 의해서 피브리린으로 변환되는 원리를 이용하여 제조한 조직 접착제이다. 피브리린 글루는 지혈, 조직 재생성 등이 우수하지만 시아노아크릴레이트계 접착제에 비해 접착 강도가 낮고, 인체의 혈장으로부터 분리되어 제조하기 때문에 바이러스 감염 위험성이 높다는 단점을 갖는다. 상용화된 피브리린 글루 제품으로는 Haemacure가 출시한 Hemassee[®]이 1998년 FDA 승인을 받았으며, Tisseel[®](Baxter Healthcare Corporation, USA)은 처음으로 심장 우회로 수술, 대장수술, 외상 등에 사용되도록 허가되었다. 국내에서는 1996년 녹십자에서 개발한 지혈제 겸용 조직 접착제인 Greenplast[®]가 개발되었다. 또 다른 생체 유래 접착제인 단백질 글루는 젤라틴, 콜라겐, 알부민 등이 연구되고 있으며, 피브리린 글루의 대체물로서 젤라틴(G)과 레소씨놀(R)을 포름알데히드(F)로 가교시킨 GRF 접착제가 1966년에 개발되었다. 하지만, GRF 접착제는 높은 조직 접착성을 나타내지만 가교

제로 사용된 포름알데히드가 암을 유발할 가능성이 있는 것으로 알려져 미국을 제외한 나라에서 대동맥 박리 수술과 탈장 수술에 한정적으로 사용된다[5]. 정형외과적 수술 또는 치과 치료용으로 사용되는 경조직용 생체 접착제는 메타크릴레이트계 접착제가 주로 사용되나 접착 강도가 비교적 낮고, polymethacrylate(PMMA) 중합 시 발열 및 독성에 의해 생체적합성이 낮다는 단점이 있다[6].

대부분 생체 접착제로 사용되는 접착제들은 연조직용이며, 치아나 정형외과적 수술을 위한 경조직용 생체 접착제의 개발은 미비한 실정이다. 최근에는 생체모방 기술을 이용하여 생체적합성이 뛰어나고, 수중환경에서도 접착력 및 물성이 우수한 홍합과 같은 해양생물을 기반으로 하는 의료용 접착제를 개발하기 위한 연구가 다양하게 진행되고 있다.

Table 1-2. Classification and characteristics of medical adhesives.

의료용 접착제 소재	특징
시아노아크릴레이트	<ul style="list-style-type: none"> - 단시간에 실온에서 개시제 없이 수분에 의해 경화됨 - 외관이 투명하며 접착 강도가 우수함 - 충격에 약하고, 내열성 내수성이 떨어짐 - 경화한 고분자의 가수 분해에 의해 독성 물질인 포름알데히드 생성됨
폴리우레탄계	<ul style="list-style-type: none"> - 내수성이 우수하여 조직과의 밀착이 뛰어나며 - 물과 반응 시 수 분 이내에 경화됨 - 경화시 유연성을 가짐 - 합성 원료인 디이소시아네이트(diisocyanate)에 의한 독성이 우려됨
피브린 글루	<ul style="list-style-type: none"> - 열이나 물리적 압력 없이 접착 속도가 우수함 - 접착 부위의 수분에 영향을 적게 받음 - 조직 적합성이 우수함 - 접착 강도가 약함 - 타인의 혈액 성분으로 인한 감염의 위험성이 있음
단백질 글루(GRF)	<ul style="list-style-type: none"> - 조직 접착성이 뛰어나며 - 가교제로 사용한 포름알데히드에 의한 독성이 유발됨

1.2 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)

다양한 해양 수산 자원들은 수중환경에서 수중 기저에 단단하게 부착되어 살아간다. 특히 홍합은 접착력을 가지는 생물 중 가장 강력한 접착력을 가진 생물로 생체 접착제로서의 활용이 주목받으면서 연구가 진행 중이다[3,7]. Figure 1-1(a)와 같이 홍합은 물질의 표면에서 가느다란 실인 족사와 족사 끝의 플라그(plaque)를 분비하여 수중환경에서도 강한 접착력을 유지할 수 있다.

홍합의 족사와 플라그는 Mussel foot protein(Mfp)이라는 단백질로 구성되어 있으며, 이를 Table 1-3에 나타내었다[8-12]. 특히 플라그에는 물질의 표면에서 계면 접착제 역할을 하는 Mfp-3 와 Mfp-5 단백질이 존재한다. 이러한 접착 단백질은 L-3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)를 높은 비율로 포함하고 있다. 플라그 내부에 존재하는 단백질인 Mfp-1, Mfp-2, Mfp-4, Mfp-6는 다른 종류의 콜라겐과 함께 내부결합에 참여하고 있다[9-13]. Figure 1-1 (b),(c)에 나타낸 DOPA의 구조를 살펴보면 DOPA의 말단에 존재하는 카테콜(catechol)은 친수성 표면에서 강한 수소결합을 형성할 수 있고, 금속 이온과의 배위결합 형성, 이온결합, 쿨롱결합과 같은 다양한 상호작용이 가능하여 여러 표면에서 가역적-비가역적 접착이 가능하다. 또한, DOPA의 산화/환원 능력에 의해 DOPA가 DOPA 퀴논으로 산화되면 반응성이 좋아져 아민, 알코올, 싸이올과 같은 중성의 친핵체와 상호작용이 가능해 계면 접착은 감소한다. 하지만, 홍합 접착 단백질 분자들이 서로 가교를 이룰 수 있어 강한 내부 결합(cohesion)을 유지하는 것으로 보고되었다[14-16]. 이러한 이유로 홍합의 단백질을 이용한 다양한 산업적, 생체 소재로의 활용이 주목받고 있다.

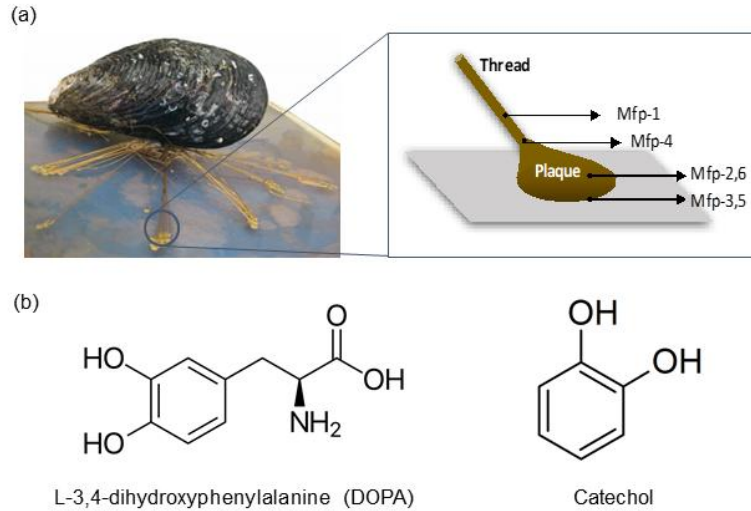


Figure 1-1. (a) Attachment of mussel to other mussel using byssal threads and plaque, (b) Chemical structure of L-3,4-dihydroxyphenylalanine and catechol.

Table 1-3. Mussel foot proteins in the plaque and characteristics.

Protein	Location (Role)	Molecular weight (kDa)	Modifications (%)
Mfp-1	Cuticle (Cohesion)	~115	10-15
Mfp-2	Plaque matrix (Cohesion)	45	2-3
Mfp-3	Plaque interface (Adhesion)	4-7	20-25
Mfp-4	Plaque/thread junction (Cohesion)	90	4
Mfp-5	Plaque interface (Adhesion)	11	30
Mfp-6	Plaque matrix (Cohesion)	12	4

1.3 혼합 접착 메커니즘

혼합 족사 단백질의 가장 중요한 특징은 수중환경에서 우수한 접착력을 유지하기 위해 DOPA를 사용한다는 것이다. DOPA의 접착 메커니즘은 DOPA의 말단에 존재하는 카테콜의 산화, 환원 반응에 의해 계면 접착과 내부 응집이 가역적으로 가능하며, 산화, 환원 조건에 따라 결합 형태가 변하여 다습한 환경에서도 다양한 계면에서 접착을 용이하게 한다[16,17]. Figure 1-2에 DOPA에 의한 계면 접착, 내부결합 메커니즘을 나타내었다. DOPA는 여러 표면에서 산화, 환원 조건에 따라 다른 결합 형태로 접착에 영향을 줄 수 있다. 일반적으로 환원된 DOPA의 카테콜 작용기는 접착 표면에서 바이덴테이트 수소 결합을 이루며, 산화된 카테콜은 퀴논 형태로 금속 또는 산화 금속 표면에서 금속 산화물을 형성하여 표면과 배위 결합을 이끌어 계면 접착(adhesion)에 영향을 미친다[18-20]. 또한, DOPA의 카테콜 작용기가 산화되어 퀴논 형태가 되면, 카테콜 작용기에 비해 계면에서의 접착력은 감소하지만, DOPA-metal complexation, cation- π 상호작용, π - π stacking 등 고분자 사슬 내부에서 다양한 상호작용이 가능해 내부 응집(cohesion)에 중요한 역할을 한다. 따라서, DOPA의 전체 접착력은 계면 접착과 내부 응집 사이의 균형이 매우 중요한 요소이다[21-24]. 이러한 이유로 DOPA를 활용한 접착제는 DOPA의 산화, 환원 특성을 활용하여 다양한 계면에서 우수한 접착력을 가지는 것으로 주목받고 있으며, 이 외에도 선박용 방오 코팅제와 같은 표면 처리에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[25].

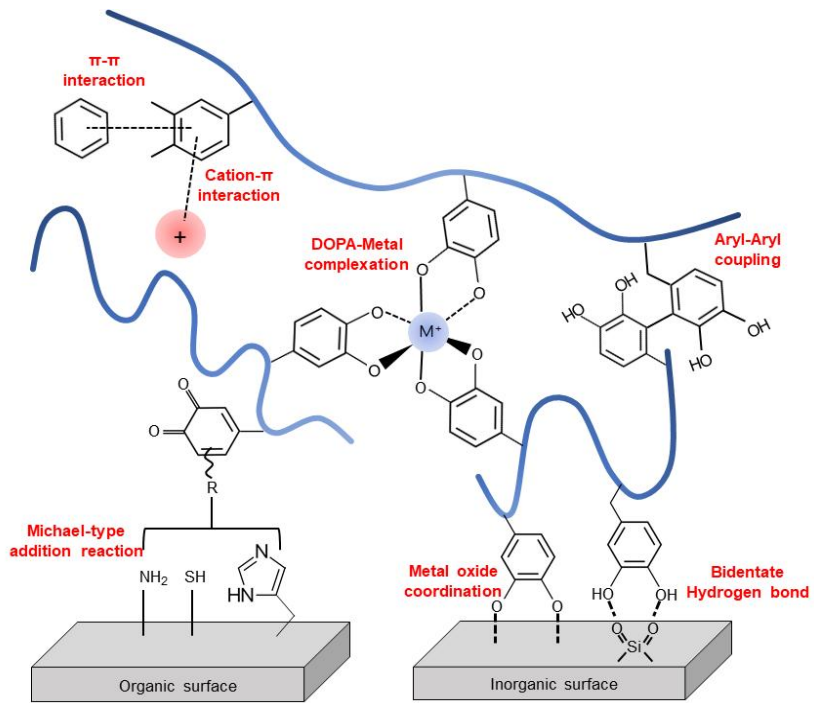


Figure 1-2. Mechanism of DOPA for underwater surface adhesion and cohesion.

1.4 기술개발 현황

다습한 환경에서도 우수한 접착특성을 가진 홍합 접착 단백질은 다양한 응용 분야를 가지고 있음에도 불구하고, 생산이 매우 한정적이라는 단점을 가지고 있다.

현재 상업적으로 이용 가능한 홍합 접착 단백질은 단백질 추출 공정으로 제품화한 Corning™ 사의 Cell-Tak®이며, 홍합 접착 단백질 1 g을 얻기 위해 수 천마리의 홍합이 필요하며, 10 mg 당 1,500 USD 정도로 고가로 용도가 제한되어 조직 배양 접착제로만 사용되고 있다[18,24,26,27].

이후, 홍합 접착 단백질의 낮은 수득률을 보완하기 위한 연구로 유전자 재조합 기술이 도입되었으며[21-24,28], 유전자 재조합 기술은 DOPA의 접착 단백질의 유전자를 찾아 대장균, 효모, 식물을 벡터로 하여 목표 단백질을 합성하는 기술이다. 하지만, 세포 배양과 같은 공정의 어려움과 원하는 단백질을 얻기까지 많은 정제 과정으로 인한 비용 증가, 낮은 생산성으로 인해 실용화까지는 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다.

1.5 생체모방 기술

생체모방 기술(Biomimetics)는 생명체를 뜻하는 ‘Bios’ 와 모방을 의미하는 ‘Mimesis’ 의 합성어로 1950년대, Otto Schmitt에 의해 최초로 사용 되었다[29]. 생체모방 기술은 자연계에 존재하는 생명체의 구조만을 모방하는 것이 아니라 특수한 기능을 모방하고, 이를 응용하는 연구를 의미한다. 이러한 생체모방 기술은 신소재, 건축, 디자인 및 IT 분야에 이르기까지 다양하게 적용할 수 있다.

최근에는 나노 기술의 발전으로 생명체의 미세 구조를 모방하는 연구 개발 또한 활발하다[30,31]. 실제 일정한 나노 구조를 갖는 연잎 표면은 초 소수성이며, 자기 세정 기능이 있다고 알려져 있다. 이를 생체모방하여 발수 페인트, 자동차용 유리 등의 제품에 활용되고 있으며[32,33], 미세 돌기구조를 갖는 상어 비늘을 모방하여[34] 물의 저항을 최소화시키는 전신 수영복이 개발되었다. 생체모방 기술을 적용하여 생체 재료를 개발하게 되면 기존의 생체 재료로 사용되고 있는 무기물이나 합성고분자가 가지고 있는 생체 독성, 면역 반응과 같은 문제를 해결할 수 있어 다양한 가능성을 보여준다.

가. 의료용 소재

게코 도마뱀의 발바닥은 마이크로/나노 섬모 구조로 이루어져 있다. 이러한 구조는 다양한 표면에서 별도의 전처리 없이 분자 간 인력만으로 접착과 점착이 가능하다. 게코 도마뱀의 마이크로/나노 섬모 구조를 생체모방하여 건식 접착 패치에 응용되고 있으며[35,36], 건식 접착 패치는 재사용 시에도 접착 표면이 오염되지 않고 쉽게 떼어낼 수 있다는 장점이 있어 각종 의료용 패치로 응용 가능성이 기대되고 있다.

거미의 거미줄은 천연고분자 재료 중 하나로 강철보다 20배, 케블라 섬유보다 4배 더 우수한 기계적 강도와 연신율을 가지고 있다고 알려져 있다. 거미줄을 이루고 있는 분자 구조를 생체모방하여 2008년 영국의 orthox 사는 거미줄로부터 생체모방한 인공 연골을 개발하였다. 전기방사 방법을 통해 개발된 나노 크기를 갖는 나노 섬유는 전기 방사 방법을 통하여 봉합사 또는 봉합 시트 형태로 제조하여 의료용 소재로의 응용이 가능하다[37-39].

나. 조직 공학용 소재

조직 공학은 신체의 기능을 유지하거나 손상된 조직 또는 장기를 재생하는 것을 목적으로 인공장기, 인공 피부, 인공 뼈에 이르기까지 다양한 생체 조직을 인공적으로 제작하여 생물학적 조직을 대체하는 방안을 연구하는 학문을 뜻한다. 생체 조직이나 장기를 효과적으로 형성하기 위해서는 세포의 부착이 가능하고, 세포 성장을 유도할 수 있는 3차원 구조를 갖는 세포 지지체(scaffold)가 필요하다[40,41]. 단백질로 이루어진 세포외기질(Extracellular matrix, ECM)은 세포 주위를 둘러싸고 있는 3차원 구조로 세포에 의해 합성되고, 조직 또는 장기의 구조를 유지할 뿐만 아니라 세포의 부착, 성장 속도 조절과 같은 다양한 역할을 할 수 있다[42]. 따라서 조직이나 장기의 효과적인 재생을 위해 세포외기질을 생체모방하는 3차원 세포 지지체에 관한 연구가 진행 중이다. 최근 인체조직으로부터 추출한 세포외기질을 조직공학용 소재로 응용하기 위한 연구가 진행중이며[31,43], 바이오프린팅과 같은 기술을 활용하여 세포외기질을 모방한 세포 지지체를 제작하는 연구도 활발히 진행되고 있다[44,45].

1.6 본 연구의 목적

고령화 시대에 진입함에 따라 외과적 수술을 요하는 질병의 비율도 함께 증가하고 있다. 특히 기존의 외과적 수술에 사용되는 스킨 스테이플러와 봉합사 대신 통증과 흉터가 적은 의료용 접착제의 사용이 주목받고 있다. 의료용 접착제는 생체 적합성이 우수하고, 체액 또는 혈액과 같은 다습한 환경에서도 접착 강도가 요구된다. 하지만 기존의 생체 접착제는 대부분 연조직 접착용이며, 접착 강도가 낮은 단점을 가지고 있다. 이를 위하여 흉합 접착 단백질을 생체모방하여 다습한 환경에서도 접착이 가능한 의료용 생체 접착제의 연구가 활발히 진행되고 있다.

해양 수산 자원 중 흉합은 다양한 표면의 수중환경에서도 단단하게 부착하여 살아간다. 흉합의 접착 원인에는 플라그에 존재하는 아미노산 중 DOPA의 역할이 크다고 알려져 있다. DOPA는 티로신(tyrosin, Y)에서 수산화된 아미노산으로 말단에 카테콜을 포함하고 있으며, 산화, 환원 조건에 따라 수소 결합, 배위 결합, cation- π 상호작용 및 π - π stacking 등 여러 종류의 상호작용을 가능하게 한다. 현재 상업적으로 이용 가능한 흉합 접착 단백질은 단백질 추출 공정으로 제품화한 Corning™ 사의 Cell-Tak®으로 낮은 경제성과 생산성으로 이용이 제한되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 DOPA의 구조를 화학적으로 생체모방하였다. 수득률을 높이고, 다양한 표면에서 접착 강도를 향상시키기 위하여 합성 조건을 최적화하는데 초점을 맞추었다. DOPA의 구조를 생체모방하여 고분자를 합성하고, 카테콜기를 포함하는 DOPA의 말단에 의료용 접착제로 사용되는 3가지의 아크릴 유도체 2-Methoxy ethylacrylate(MEA), 2-ethyl cyanoacrylate(ECA) 및 2-hydroxyethyl methacrylate(HEMA)를 자유 라디칼 중합 방법을 이용해 공중합 하였다.

제2절 실험

2.1 시약 및 기기

가. 시약

본 연구에 사용된 시약은 다음과 같다. Dopamine hydrochloride, methacrylic anhydride 및 2-ethyl cyanoacrylate는 Sigma Aldrich 사의 제품을 사용하였으며, 2-hydroxyethyl methacrylate와 2-methoxyethyl methacrylate는 안정제가 포함된 monomethyl ether hydroquinone(MEHQ)를 제거하기 위하여 inhibitor remover column으로 정제하여 사용하였다. 용매인 N,N-dimethyl formamide는 JUNSEI 사 제품, methanol 및 tetrahydrofuran(THF)은 Aldrich 사 제품을 사용하였고, 모두 HPLC 등급으로 별도의 정제 없이 사용하였다.

나. 기기

본 연구에서 실험과 분석을 위해 사용된 기기는 다음과 같다.

Rotary evaporator : R-205 (BÜCHI Labortechnik, Switzerland)

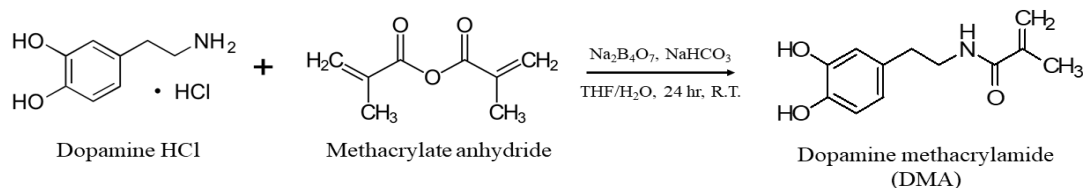
Vacuum dry oven : HB-501VS (HANBAEK Co.Korea)

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR spectrometer) : Nicolet6700 (Thermo, Inc. USA)

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ($^1\text{H-NMR}$ spectrometer) : JNM-AL300 (JEOL, Inc. USA)

2.2 단위체의 합성

본 연구에서 사용된 단위체는 dopamine methacrylamide(DMA)이다. Dopamine HCl 과 methacrylic anhydride를 반응시켜 말단을 vinyl group으로 만들어 DOPA 유도체를 합성하였다[25,26,46]. 상온에서 아르곤 가스로 퍼징한 반응기에 sodium tetraborate 0.013 mol과 sodium hydrogen carbonate 0.02 mol을 넣고 deionized water 20 mL와 격렬하게 3 시간 교반 한다. 완전히 섞인 용액에 dopamine HCl 0.0015 mol을 넣고 교반시키면서, dropping funnel을 이용하여 tetrahydrofuran 12.5 mL에 methacrylic anhydride(0.015 mol)를 녹인 용액을 천천히 적하시킨다. 적하와 동시에 1 M NaOH 용액으로 반응물의 pH를 8-9 정도로 조절하면서 24시간 반응시킨다. 반응 후 미 반응물은 여과하고, 깨끗한 여액만을 회수하여 6 M HCl로 pH를 강산성으로 조절한다. pH가 조절된 용액을 ethyl acetate로 3 회 추출하여 유기 용매 층만을 회수하고, magnesium sulfate anhydrous로 반응물 내의 수분을 제거한다. 반응물을 회전증발기를 이용하여 농축시킨 뒤 차가운 hexane에 떨어뜨려 침전물을 얻는다. 최종 생성물은 갈색의 고운 파우더 형태로 12시간 동안 상온의 진공 오븐에서 건조한다.



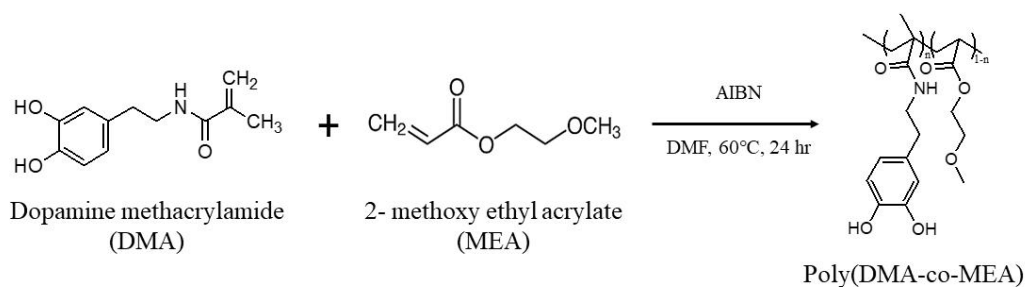
Scheme 1. Synthesis of Dopamine methacrylate (DMA)

2.3 공중합체의 합성

홍합 접착 단백질의 접착특성을 갖는 DOPA의 구조를 생체모방하여 vinyl group 을 갖는 단위체인 dopamine methacrylate(DMA)에 3 가지의 아크릴 유도체를 선택 하여 이들을 자유 라디칼 중합 방법(free radical polymerization)으로 공중합 하였다. 이 반응을 통해 공중합 된 공중합체는 고분자 사슬 내에 단량체들의 순서가 무작위인 랜덤 공중합체가 형성되었다.

가. Poly(DMA-co-MEA)의 합성

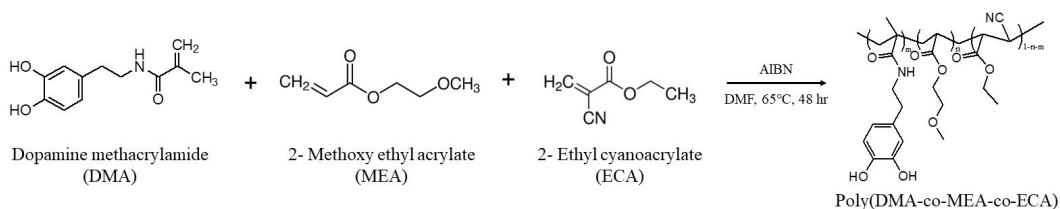
Poly(DMA-co-MEA)(PDM)은 DMA와 2-methoxy ethylacrylate(MEA)를 자유 라디칼 중합 반응을 이용하여 공중합하였다[26,29]. 아르곤 분위기로 만들어준 반응기에 dopamine methacrylate 0.009 mol과 N,N-dimethylformamide 30 mL를 넣은 후 dopamine methacrylate를 녹여준다. 용액을 교반시키며 2-methoxy ethylacrylate 0.046 mol을 넣고 개시제인 N,N-azobisisobutyronitrile 63 mg (7.715×10^{-4} mol)을 넣은 후 24시간, 68°C에서 반응시켜준다. 반응 종료 후, 반응물을 실온으로 식혀, methanol을 소량 첨가하여 반응물을 묽혀준다. 차가운 diethyl ether를 강하게 교반시키며, 묽혀진 반응물을 침전시킨다. 침전물만 회수하여 methylene chloride로 묽힌 후 차가운 diethyl ether를 강하게 교반하며 묽혀진 반응물을 다시 침전시켜 반응물을 회수하여 상온에서 24시간 진공건조 한다.



Scheme 2. Synthesis of Poly(DMA-co-MEA) (PDM)

나. Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)의 합성

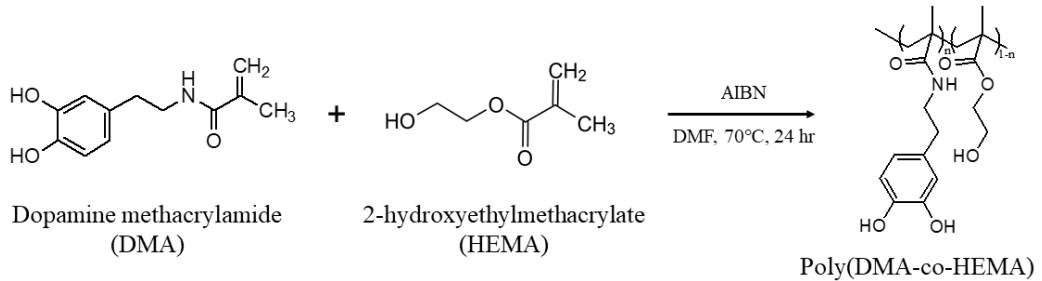
Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC)는 DMA, 2-methoxy ethylacrylate 와 2-ethyl cyanoacrylate를 자유 라디칼 중합을 이용하여 공중합하였다[26]. 아르곤 분위기로 만들어준 반응기에 dopamine methacrylate 0.01 mol과 13 mL의 N,N-dimethylformamide를 넣은 후 2-methoxy ethylacrylate 0.01 mol, 2-ethyl cyanoacrylate 0.02 mol을 차례로 넣어 교반시킨다. 개시제인 N,N-azobis-isobutyronitrile 8.2 mg (5.024×10^{-4} mol)을 넣은 뒤 48시간 반응시켜준다. 반응 종료 후 반응물을 차가운 diethyl ether에 천천히 침전시켜 준 뒤, 반응물만을 회수하여 상온에서 24 시간 진공 건조한다.



Scheme 3. Synthesis of Poly(DMA-co-MEA-co-ECA) (PDMC)

다. Poly(DMA-co-HEMA)의 합성

Poly(DMA-co-HEMA)(PDH)는 DMA, 2-hydroxyethyl methacrylate(HEMA)를 자유 라디칼 중합을 이용하여 공중합 했다. 아르곤 분위기로 만들어준 반응기에 dopamine methacrylate 0.01 mol과 2-hydroxyethyl methacrylate 0.02 mol에 13 mL의 N,N-dimethylformamide를 넣어 교반 시켜준 뒤, N,N-azobis-isobutyronitrile 0.122 g (7.42×10^{-4} mol)의 개시제를 넣은 후 24시간 동안 반응시킨다. 최종 반응물은 차가운 diethyl ether에 천천히 떨어뜨려 주면서 침전시켜 준 뒤 진공 오븐에서 건조 시켜준다. 건조 후 회수한 반응물은 methanol에 용해시킨 뒤 차가운 deionized water를 격렬하게 교반 시키며 반응물을 침전시켜준다. 침전된 반응물만을 회수하여 24시간 동안 상온에서 진공 건조한다.



Scheme 4. Synthesis of Poly(DMA-co-HEMA) (PDH)

제3절 결과 및 고찰

앞서 언급한 대로 홍합의 주요 접착 기능을 갖는 단백질 분자로 알려진 DOPA의 카테콜 구조를 화학적으로 생체모방하여 단량체인 DMA를 합성하였다. 이 DOPA 유도체에 3가지의 아크릴 작용기를 가진 고분자를 선택하여 이들을 자유 라디칼 중합 방법을 이용하여 공중합 하였으며 합성 여부를 FT-IR, $^1\text{H-NMR}$ 로 확인하였다.

3.1 단량체의 합성

자유 라디칼 중합으로 합성한 단위체인 DMA는 짙은 갈색의 파우더로 약 87%의 수득률을 얻었다. 합성된 단량체의 합성 여부는 FT-IR과 $^1\text{H-NMR}$ 을 통해 확인하였으며, Figure 1-3과 1-4에 나타내었다. FT-IR 분석 결과 $3200\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ 에서 hydroxyl(-OH) 작용기와 amide(-NH) 작용기를 나타내는 특징적인 IR 밴드가 나타났으며, $3033\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ 에서 아크릴 작용기의 특성 밴드인 aliphatic C-H의 신축 진동과 1749 cm^{-1} 에서 아크릴 작용기의 C=O 작용기를 나타내는 특정 밴드를 나타내고 있어 성공적으로 단량체가 합성되었음을 알 수 있다. 또한 카테콜의 benzene ring의 proton을 나타내는 NMR 피크가 6.40-6.63 ppm 영역에서 관찰되었으며, meta 위치의 $\text{CH}_{3(a)}$ proton 1.83 ppm 및 이중결합 $\text{CH}_{2(d)}$ 의 proton 5.28 ppm과 5.61 ppm에서 피크들의 적분비를 통해 단량체의 구조를 확인할 수 있다.

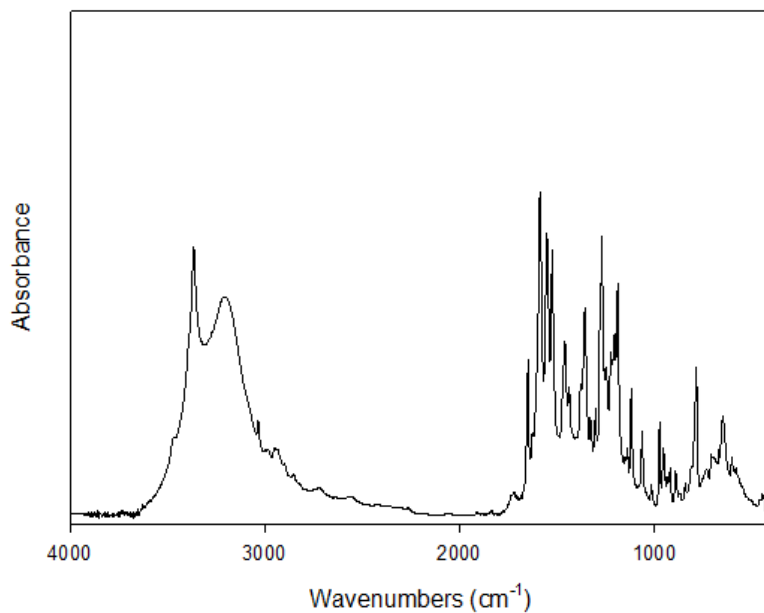


Figure 1-3. FT-IR spectrum of dopamine methacrylamide(DMA) (KBr powder).

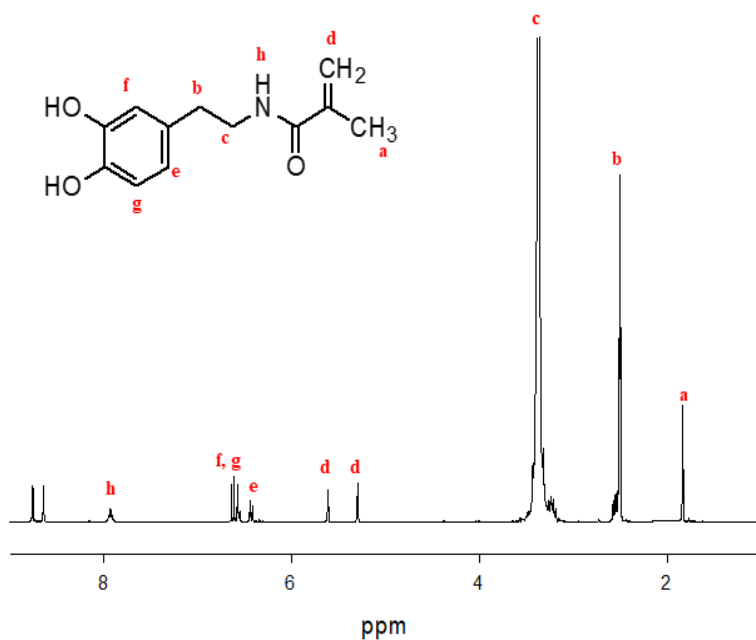


Figure 1-4. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of dopamine methacrylamide(DMA) (DMSO-d_6).

FT-IR spectrum (KBr):

1750 cm^{-1} (C=O stretching)

3033–2900 cm^{-1} (C-H stretching)

3200 cm^{-1} (N-H stretching)

3200–3400 cm^{-1} (-OH stretching)

$^1\text{H-NMR}$ spectrum (DMSO-d_6):

δ 7.93–7.93 ppm (t, NH, 1H)

δ 6.63–6.60 ppm (d, H_g, 1H)

δ 6.57–6.56 ppm (s, H_f, 1H, J=6, 10 Hz)

δ 6.43–6.40 ppm (d, H_e, 1H, J=6, 10 Hz)

δ 5.61 ppm (s, H_d, 2H, trans)

δ 5.28 ppm (s, H_d, 2H, cis)

δ 3.25–3.18 ppm (m, H_c, 2H)

δ 2.91–2.50 ppm (m, H_b, 2H)

δ 1.83 ppm (s, H_a, 3H)

3.2 공중합체의 합성

가. Poly(DMA-co-MEA)의 합성

DMA와 2-methoxy ethylacrylate(MEA)를 공중합한 poly(DMA-co-MEA)(PDM)의 최종 생성물은 끈적이는 질은 갈색의 반고체 상태이며, 약 57%의 수득률을 얻었다. FT-IR 분석 결과를 Figure 1-5에 나타내었다. 단량체인 DMA 특성 밴드인 3200 cm^{-1} 에서 amide(-NH) 작용기가 관찰되었고, 아크릴 작용기의 특성 밴드인 $3033\text{--}2760\text{ cm}^{-1}$ 에서 aliphatic C-H의 신축진동 밴드를 확인하였다. 그리고 아크릴 작용기의 C=O 신축진동에 의한 밴드가 1750 cm^{-1} 에서 1639 cm^{-1} 으로 이동한 것을 확인하였다. 또한, MEA에 의한 C=O 밴드가 1732 cm^{-1} 에서 새롭게 관찰되었다. 공중합체의 구조를 $^1\text{H-NMR}$ 로 분석 하였다(Figure 1-6). 그 결과 카테콜의 benzene ring의 proton에 의한 NMR 피크인 6.58-6.79 ppm와 meta 위치의 $\text{CH}_3(\text{d})$ 의 proton을 1.92 ppm에서 그리고 $\text{CH}_2(\text{b,c})$ 의 proton을 1.68 ppm에서 확인할 수 있었다. Acryl 작용기 근처의 $\text{CH}_2(\text{h})$ 가 3.56 ppm에서, methoxy 작용기 근처의 $\text{CH}_2(\text{g})$ 가 3.34 ppm에서 확인되었고 이들 proton의 적분비를 통해 PDM의 구조를 분석하였다.

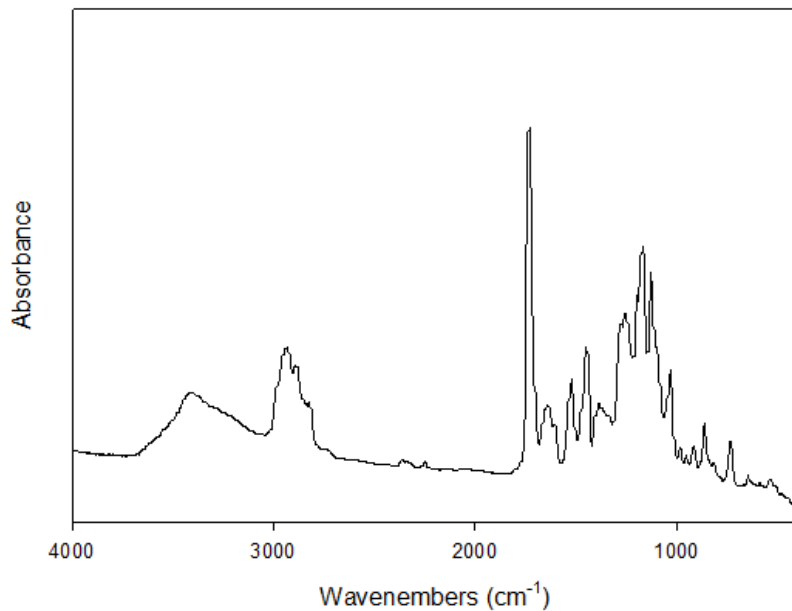


Figure 1-5. FT-IR spectrum of Poly(DMA-co-MEA)(PDM) (KBr powder).

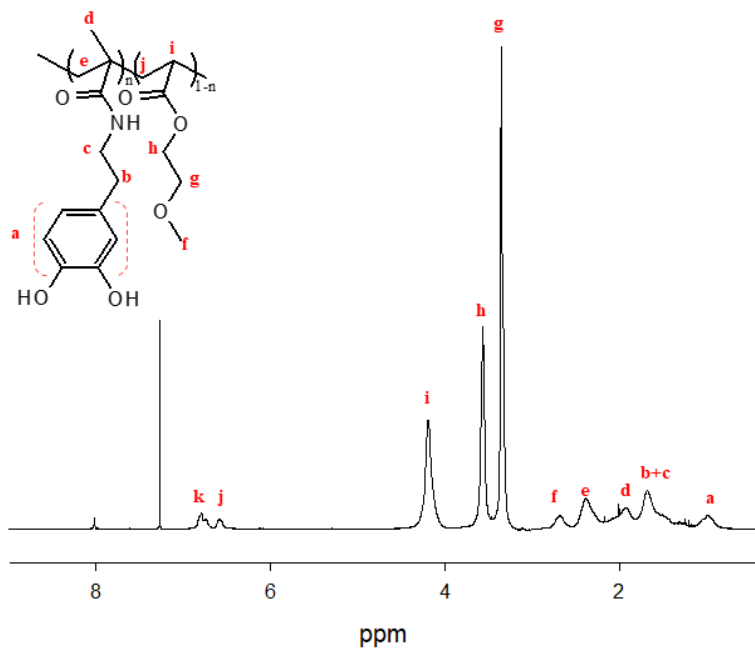


Figure 1-6. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Poly(DMA-co-MEA)(PDM) (DMSO-d_6).

FT-IR spectrum (KBr):

- 1639 cm^{-1} (amide C=O stretching)
- 1732 cm^{-1} (ester C=O stretching)
- 3033–2760 cm^{-1} (sp^3 C-H stretching)
- 3200 cm^{-1} (N-H stretching)
- 3200–3400 cm^{-1} (-OH stretching)

$^1\text{H-NMR}$ spectrum (DMSO-d_6):

- δ 6.79–6.74 ppm (m, H_k , 2H)
- δ 6.58 ppm (s, H_j , 1H)
- δ 4.19 ppm (s, H_i , 2H)
- δ 3.56 ppm (d, H_h , 2H)
- δ 3.34 ppm (s, H_g , 2H)
- δ 2.69 ppm (s, H_f , 3H)
- δ 2.38 ppm (m, H_e , 1H)
- δ 1.92 ppm (m, H_d , 2H)
- δ 1.68 ppm (s, $\text{H}_{b,c}$, 4H)
- δ 0.98 ppm (s, H_a , 3H)

나. Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)의 합성

Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC)는 DMA, 2-methoxy ethylacrylate와 2-ethyl cyanoacrylate를 자유 라디칼 중합 반응을 통해 공중합하였다. 최종 생성물은 끈적이는 질은 갈색의 반고체이며 89%의 수득률을 얻었다.

합성된 공중합체의 합성 여부를 FT-IR과 $^1\text{H-NMR}$ 을 통해 확인하였으며, 해당 스펙트럼을 각각 Figure 1-7과 1-8에 나타내었다. DMA의 특성 작용기인 amide(-NH)와 hydroxyl(-OH) 작용기를 나타내는 전형적인 IR 밴드가 $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ 에서 관찰되었고, MEA의 C=O 신축진동에 의한 IR 밴드는 1746 cm^{-1} 에서 확인할 수 있었다 (Figure 1-7). Ethyl-2-cyanoacrylate에 의한 cyano(-CN) 작용기는 2252 cm^{-1} 에서 특성 밴드를 나타내었다. 합성된 공중합체의 구조는 $^1\text{H-NMR}$ 로 분석하였다 (Figure 1-8). 그 결과 카테콜의 benzene ring의 proton은 6.63-6.86 ppm에서 그리고 catechol 작용기 근처의 $-\text{CH}_{2(b)}$ proton은 2.72 ppm에서 특성 피크를 나타내었다. 공중합 후 acryl 작용기 근처의 $-\text{CH}_{2(f,h)}$ proton에 의한 피크는 4.22-4.20 ppm에서 확인하였다.

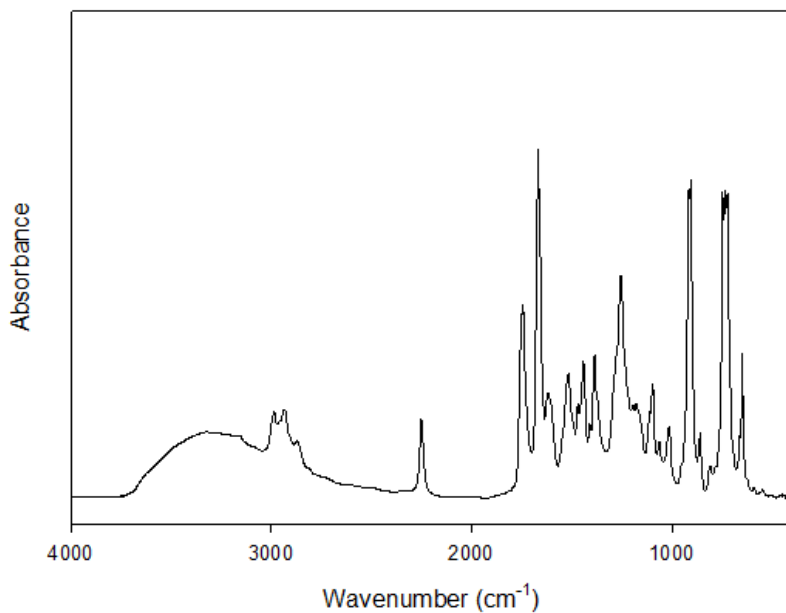


Figure 1-7. FT-IR spectrum of Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC) (KBr powder).

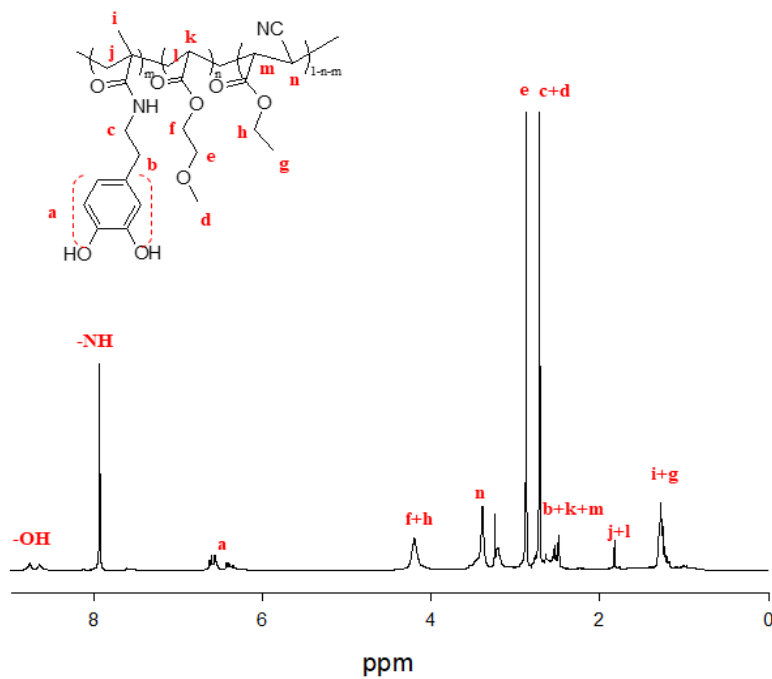


Figure 1-8. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC) (CDCl_3).

FT-IR spectrum (KBr):

- 1620 cm^{-1} (amide C=O stretching)
- 1669 cm^{-1} (ECA, ester C=O stretching)
- 1746 cm^{-1} (MEA, ester C=O stretching)
- 2252 cm^{-1} (cyano CN stretching)
- 3033–2760 cm^{-1} (sp^3 C-H stretching)
- 3200–3400 cm^{-1} (NH, -OH stretching)

$^1\text{H-NMR}$ spectrum (CDCl_3):

- δ 6.63–6.56 ppm (m, H_a , 2H)
- δ 6.42 ppm (s, H_a , 1H)
- δ 4.22–4.20 ppm (m, $\text{H}_{f,h}$, 4H)
- δ 3.56 ppm (s, H_n , 1H)
- δ 3.26 ppm (s, H_e , 2H)
- δ 2.88 ppm (s, $\text{H}_{c,d}$, 4H)
- δ 2.72 ppm (m, H_b , 2H)
- δ 2.54–2.5 ppm (m, $\text{H}_{k,m}$, 2H)
- δ 1.83 ppm (s, $\text{H}_{j,l}$, 4H)
- δ 0.98 ppm (t, $\text{H}_{i,g}$, 6H)

다. Poly(DMA-co-HEMA)의 합성

Poly(DMA-co-HEMA)(PDH)는 DMA, 2-hydroxyethyl methacrylate(HEMA)를 자유 라디칼 중합을 이용하여 공중합하였다. 최종 생성물은 갈색의 반짝이는 고체이며 59%의 수득률을 얻었다. 합성된 공중합체의 합성 여부를 FT-IR 통해 확인하였으며, Figure 1-9에 나타내었다. DMA의 amide(-NH) IR 밴드를 3200 cm^{-1} 에서 확인할 수 있었으며, $3033\text{--}2760\text{ cm}^{-1}$ 에서 아크릴 작용기의 특성 밴드인 aliphatic C-H의 신축진동에 의한 IR 밴드를 그리고 1655 cm^{-1} 에서 C=O 신축진동에 의한 IR 밴드를 확인하였다. HEMA에 의한 ester C-OH 신축진동이 1074 cm^{-1} 에서 관찰되었다. 합성된 공중합체의 구조는 $^1\text{H-NMR}$ 로 분석하였다(Figure 1-10). 카테콜의 benzene ring의 proton에 해당하는 NMR 피크가 6.58–6.79 ppm에서 확인되었고, HEMA에 의한 $\text{CH}_{2(e)}\text{-CH}_{2(d)}\text{-OH}$ 3.89 ppm, 3.56 ppm에서의 proton들의 적분비를 통해 PDH의 구조를 분석하였다.

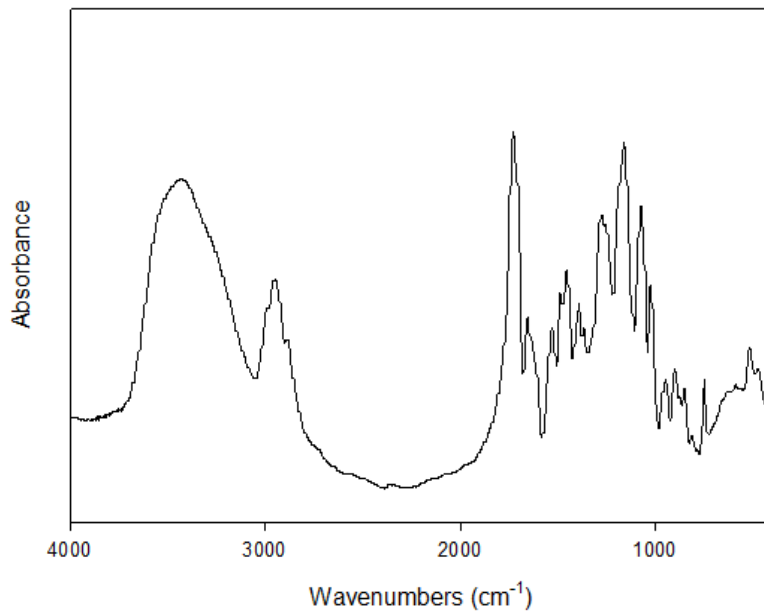


Figure 1-9. FT-IR spectrum of Poly(DMA-co-HEMA)(PDH)(KBr powder).

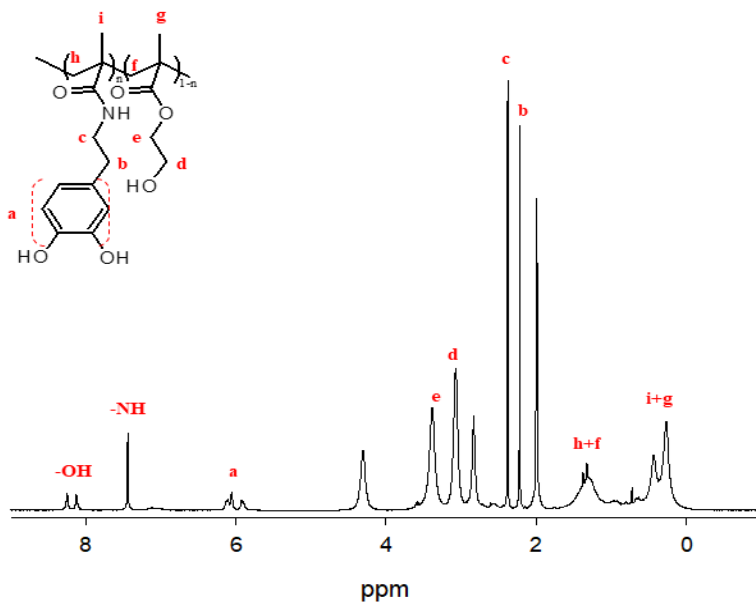


Figure 1-10. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of Poly(DMA-co-HEMA)(PDH) (DMSO-d_6).

FT-IR spectrum (KBr):

- 1158 cm^{-1} (amide C-O-H stretching)
- 1074 cm^{-1} (ester C-O-H stretching)
- 1655 cm^{-1} (amide C=O stretching)
- 1728 cm^{-1} (ester C=O stretching)
- 3033-2760 cm^{-1} (sp^3 C-H stretching)
- 3200-3500 cm^{-1} (NH, -OH stretching)

$^1\text{H-NMR}$ spectrum (DMSO-d_6):

- δ 6.63-6.43 ppm (m, H_a , 3H)
- δ 3.89 ppm (s, H_e , 2H)
- δ 3.58 ppm (s, H_d , 2H)
- δ 2.88 ppm (s, H_c , 2H)
- δ 2.72 ppm (s, H_b , 2H)
- δ 1.88-1.83 ppm (d, $\text{H}_{h,f}$, 4H)
- δ 0.94-0.77 ppm (d, $\text{H}_{i,g}$, 6H)

제4절 결론

1. 홍합의 주요 접착 기능을 갖는 단백질 분자로 알려진 DOPA(L-dihydroxyphenyl alanine)의 카테콜기에 vinyl group를 도입하여 DOPA 유도체인 dopamine methacrylate(DMA)를 성공적으로 합성하였다.
2. DMA와 의료용 접착제의 요건을 충족하는 3가지 아크릴 유도체인 methacrylate, 2-ethylcyanoacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate를 각각 자유 라디칼 중합 방법으로 공중합하여, 생체모방 구조를 갖는 공중합체를 성공적으로 합성하였다.
3. Poly(DMA-co-MEA)(PDM)는 DMA와 2-methoxy ethylacrylate(MEA)를 자유 라디칼 중합 반응을 통해 공중합하였다. 최종 생성물은 끈적이는 질은 갈색의 반고체로 수득률은 57%이다. 공중합체의 합성 여부는 FT-IR과 ¹H-NMR을 통해 확인하였다.
4. Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC)는 DMA와 2-methoxy ethylacrylate(MEA)에 합성 접착제로 사용되는 cyanoacrylate 작용기를 가진 2-ethyl cyanoacrylate를 자유 라디칼 중합 반응을 통해 공중합하였다. 최종 생성물은 끈적이는 질은 갈색의 반고체로 수득률은 89%이다. 공중합체의 합성 여부 및 구조를 FT-IR과 ¹H-NMR을 통해 확인하였다.
5. Poly(DMA-co-HEMA)(PDH)는 DMA에 2-hydroxyethyl methacrylate(HEMA)를 자유 라디칼 중합 반응을 이용하여 공중합 하였다. 최종 생성물은 갈색의 반짝이는 고체로 수득률은 59%이다. 공중합체의 합성 여부는 FT-IR을 통해 확인하였으며 ¹H-NMR로 작용기의 형성을 확인하였다.

제2장 Complex coacervate with DOPA derivative copolymers

제1절 서론

1.1 Coacervate의 정의

해양생물 중 홍합은 바닷속에서 다양한 표면에 단단히 붙어있고, 갯지렁이 (sandcastle worm)는 젖은 모래알을 이용하여 집을 지을 수 있다. 이들이 수중 환경에서 분해되지 않고 우수한 접착을 유지하는 성질은 coacervation과 밀접한 관련이 있으며[47], coacervation으로부터 홍합의 접착 메커니즘에 관한 응용 연구가 주목받고 있다[16,48-51].

1930년대 de Jong과 Kruyt에 의해 단백질과의 상호작용에 의한 액체-액체 상분리 현상으로부터 코아서베이트(coacervate)라는 용어가 최초로 정립되었으며[52,53], Oparin에 의해 원시 생명체의 기원이 되는 물질이라고 알려져 있다[54]. 코아서베이트는 원시 해양생물의 세포 내에서 단백질, 핵산과 같은 유기물들의 상호작용에 의해 서로 응집되면서 고밀도의 액체-액체 상 분리 현상이 일어나는 자발적인 형성 과정이다[55,56]. Figure 3-1에 코아서베이트가 형성되는 과정을 나타내었으며, 액체-액체 상 분리 중 농도가 높은 콜로이드를 코아서베이트라고 한다. 무질서한 영역을 갖는 대부분의 단백질은 전하의 상호작용, 쌍극자-쌍극자, 수소 결합, cation- π 및 π - π 상호작용 등에 의하여 상 분리가 유도된다(Figure 3-2).

코아서베이트는 단순 코아서베이트(simple coacervate)와 복합 코아서베이트(complex coacervate)로 구분된다. 단순 코아서베이트는 단일 고분자 전해질과 상대적으로 작은 분자를 포함하는 수용액에서 발생하며, 복합 코아서베이트는 서로 반대 전하를 가지는 고분자 사슬이 정전기적 인력에 의해 상 분리가 발생한다.

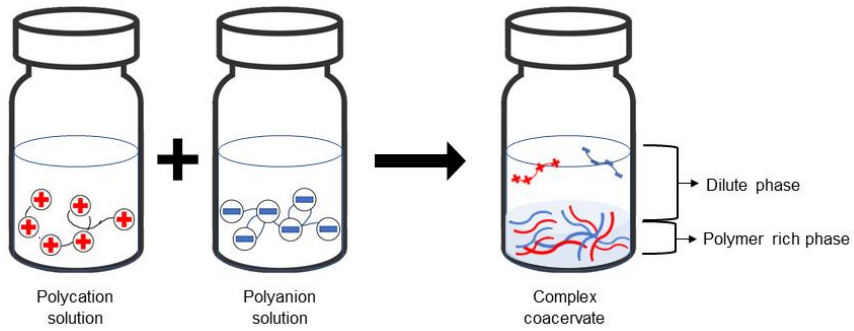


Figure 2-1. Conceptual figure of complex coacervate.

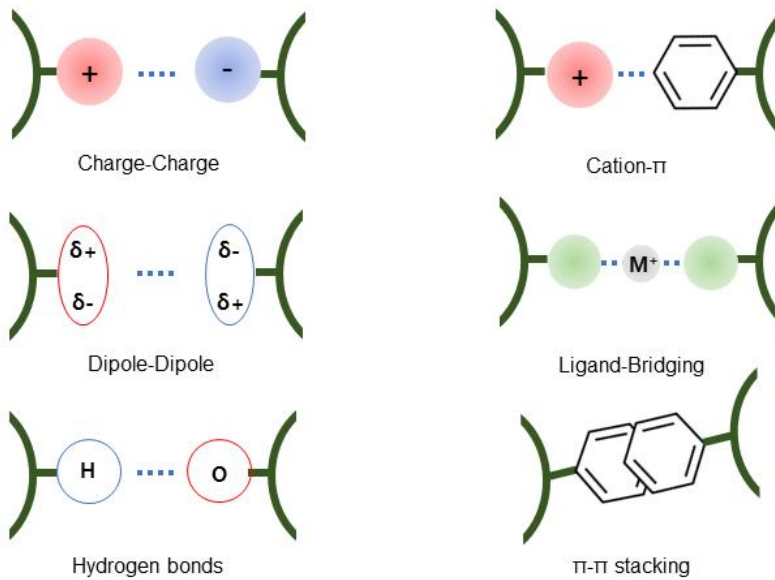


Figure 2-2. Various interactions of peptide-base coacervate.

1.2 Coacervate의 일반적 특성 및 응용 분야

복합 코아서베이트(complex coacervate)는 2종류 이상의 반대 전하를 띤 고분자 전해질에 의해 액체-액체 상 분리되는 과정을 의미한다. 복합 코아서베이트는 정전기적 상호작용으로 상대적으로 약한 가역반응이며, 외부에서 특정 조건(고분자의 농도, 분자량, 이온 세기, pH, 온도 등)에 따라 형성과 해리가 영향을 받을 수 있다[57]. 복합 코아서베이트는 반대 전하를 띤 고분자에 의해 농축된 고분자 상(polymer rich phase)과 희석상(dilute phase)으로 자발적인 상 분리가 일어난다. 농축된 고분자 상은 마이셀(micelle) 구조를 이루고 있으며, 복합 코아서베이트에 의해 분리된 2 개의 상은 서로 섞이지 않고, 매우 낮은 계면 에너지를 가진다 [58].

앞서 언급한 갯지렁이나 홍합과 같은 해양생물이 수중환경에서도 우수한 접착력을 유지하는 것은 복합 코아서베이트의 형성에 의한 것이며, 이와 같은 원리를 이용해 의료용 접착제 개발의 응용 및 연구가 활발히 이루어지고 있다. 일반적인 의료용 접착제는 독성 및 수중환경에서의 낮은 접착력이 단점으로 꼽히고 있으나, 생물에서 분비되는 단백질을 생체 모방하여 개발한 의료용 접착제는 수중에서도 접착력을 유지하고, 계면 장력이 낮아 사용이 편리한 장점을 갖는다[59]. 복합 코아서베이트는 물을 기반으로 형성되기 때문에 독성이 낮고, 구조체를 이룰 수 있어 약물이나 생체 활성 물질을 포함할 수 있다. 코아서베이트 기반의 운반체를 사용하여 MRI 촬영 시 해상도를 높이기 위해 사용되는 gadolinium(III), europium(III)을 쉽게 함유할 수 있을 뿐만 아니라 고르게 분포할 수 있도록 한다[60,61]. 또한, 코아서베이트의 낮은 계면 장력을 활용한 식품 유화제, 점도 개선제 등으로의 응용 가능성이 주목받고 있다[56,61-64]. 이 외에도 복합 코아서베이트의 활용 분야에 대해 Table 2-1에 나타내었다.

Table 2-1. Applications of complex coacervate.

Application	Target materials	Objectives
Bio-materials	- Adhesive	Bio-mimetic adhesive
Food industry	- Food oil - Milk fat - Food ingredient	Micro-encapsulation
Pharmaceutics and cosmetics	- Lipophilic drugs - Antibiotics - Drugs - Insecticide - Cosmetic oil	Micro-encapsulation
Bio-process engineering	- Proteins	Purification of macromolecules Stabilization of- macromolecules

1.3 Cation- π 상호작용

Cation- π 상호작용이란 비공유 상호작용의 한 유형으로 해양 유기체의 접착 단백질
 백질을 포함하여 많은 생물학적 분자의 자가 조립과 응집을 유도하여 복잡한 생물
 학적 분자의 구조와 기능에 영향을 미친다[65-70]. 일반적으로 Cation- π 상호작용
 은 정전기적인 인력으로서 양이온과 전자가 풍부한 π 궤도 사이에서 발생하며, 양
 이온이 방향족 고리 평면에 수직일 때 더 강한 cation- π 결합이 일어난다(Figure
 2-3 (a),(b)). 흥미롭게도 Cation- π 상호작용은 공기 중에서 비공유 결합보다 수
 중에서 더 강한 것으로 알려져 있고, 방향족 고리는 소수성이지만 양이온의 수화
 정도에 따라 선택적으로 양이온과 결합할 수 있어 칼륨 채널 차단과 같은 살아있
 는 유기체에서 생리활성에 필수적이다[71].

홍합, 갯지렁이 및 따개비를 포함하는 해양 유기체의 접착 단백질 안에는 전자
 가 풍부한 π 시스템(Phe, Tyr, Trp)을 가지고 있고 인접한 양이온(Lys, Arg)과의
 강한 상호작용이 가능하여 수중 접착에 기여 한다[72-74]. 이들의 화학적 구조를
 Figure 2-3의 (c),(d)에 나타내었다. Cation- π 상호작용은 홍합 접착 메커니즘 중
 하나라고 알려진 복합 코아서베이트를 음이온이 없는 상황에서 유도할 수 있어 수
 중에서 접착력 향상에 기여 할 수 있다. 따라서 양전하를 띤 단백질 사이에서 전
 기적 반발력을 이겨내고 강한 결합을 할 수 있는 cation- π 상호작용은 생체 거대
 분자의 자가 조립, 신호 전달 및 분자 센싱과 같은 원리를 이용하여 탄소 기반 에
 너지 재료 또는 유기물 코팅 등 다양하게 응용될 수 있다.

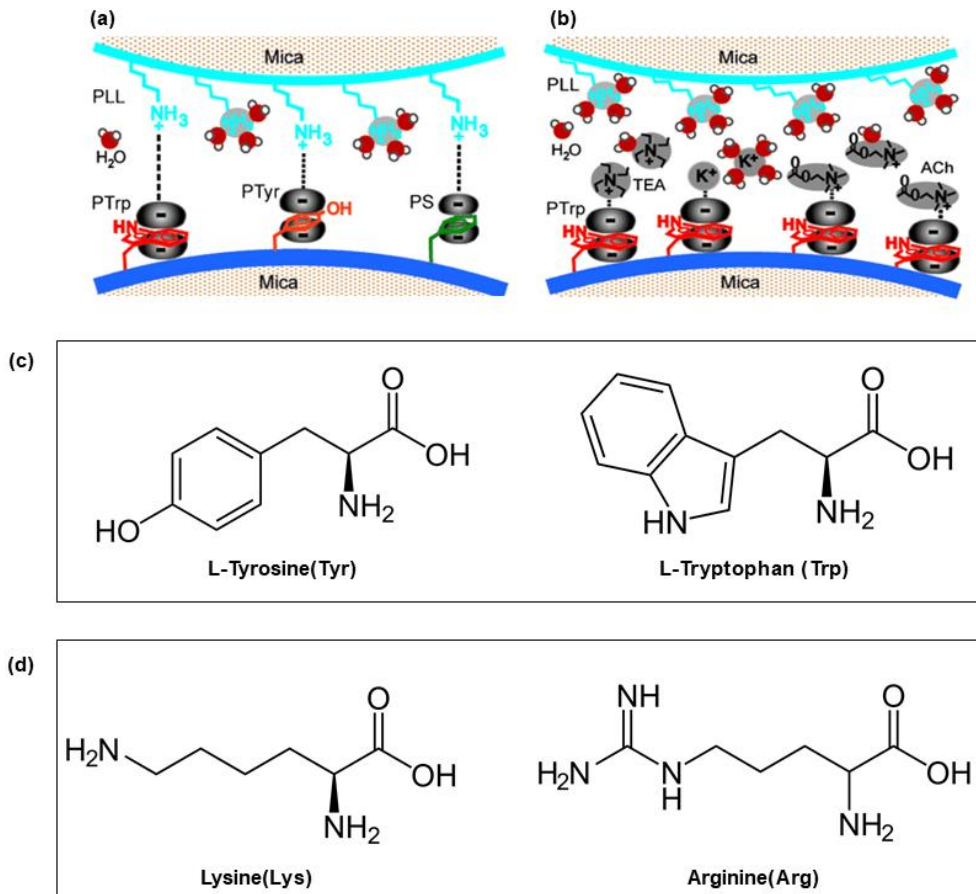


Figure 2-3. Aqueous cation- π interaction. (a) Effect of aromatic groups on cation- π interaction, (b) Effect of hydrated cations on cation- π interaction, (c) Chemical structure of L-Tyrosine and L-Tryptophan, and (d) Chemical structure of cationic polymers[52].

1.4 본 연구의 목적

수중에서 강한 접착을 유지하는 홍합은 여러 표면에서의 수소 결합, 금속 이온과의 배위 결합 등 다양한 상호작용이 가능하여 가역적-비가역적 접착을 가능하게 한다. 홍합 접착 단백질은 구조적으로 양이온과 π 전자가 풍부한 아미노산 잔기에 의하여 분자 내부에서 특이한 정전기적 상호작용인 cation- π 상호작용을 형성한다. Cation- π 상호작용에 의해 유도된 복합 코아서베이트는 홍합 접착 단백질이 수중환경에서도 용해되지 않고 내부 응집력을 증가시켜 강한 접착을 이룰 수 있다고 알려져 있다. 본 연구에서는 DOPA의 카테콜을 화학적으로 생체모방한 생체모방 공중합체인 PDM, PDMC, PDH와 생체적합성 양친매성 블록 공중합체인 Pluronic F-127를 함께 블렌드하여 수소 결합과 같은 고분자 사슬과 분자 간 상호작용을 유도하여 계면 접착력을 높이고자 하였다. 또한 cation- π 상호작용 및 금속 이온과의 킬레이션 유도하기 위하여 4 가지 금속 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 선택하고, 효과적인 복합 코아서베이트를 유도하여 내부 응집력을 증가시켜 접착 강도를 향상하는 데 초점을 두었다.

생체모방 공중합체와 다양한 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})으로부터 유도된 cation- π 상호작용에 의해 생성된 복합 코아서베이트의 특성을 optical microscopy, UV-visible spectroscopy, zeta-sizer 등으로 분석하였고, 다양한 표면에서의 접착특성을 universal testing machine(UTM)으로 평가하였다.

제2절 실험

2.1. 시약 및 기기

가. 시약

본 연구에 사용된 시약은 다음과 같다. Pluronic[®] F127은 Sigma 사의 제품을 정제 없이 그대로 사용하였다. Calcium chloride, magnesium sulfate anhydrous는 JUNSEI 사, iron(III) nitrate, sodium metavanadate 는 Sigma Aldrich 사의 제품을 사용하였다.

나. 기기

본 연구에서 실험과 분석을 위해 사용된 기기는 다음과 같다.

Optical microscopy : Eclipse E100 (Nikon, Japan)

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR spectrometer) : Nicolet6700 (Thermo, Inc. USA)

UV/VIS-NIR microspectrometer : Cary 5000(Agilent Tech, USA)

Universal Testing Machine(UTM) : GS-10kNX (Shimadzu. Co. Japan)

Contact Angle Analyzer : Phoenix-MT(M) (SEO. Co. Korea)

Dynamic Light Scattering (DLS) : Nano-S (Malvern inc. UK)

2.2. 생체모방 공중합체를 갖는 complex coacervate의 제조

본 연구에서 사용된 주요 공중합체인 PDM, PDMC, PDH는 1장에서 DOPA의 구조를 생체모방하여 다양한 아크릴 유도체(2-methoxy ethylacrylate, 2-ethyl cyanoacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate)를 자유 라디칼 중합 방법으로 합성한 공중합체이다. 이 공중합체들의 용액 블렌드를 위하여 다양한 용매에 대한 용해도를 평가한 결과 PDM, PDH는 methanol에서 쉽게 용해되었고, PDMC는 methanol에 용해되지 않아 공용매인 dimethylformamide를 이용하여 용해 하였다. 각 공중합체는 20 w/v%로 용해 하여 준비하였고, 양친매성 블록 공중합체는 용매를 methanol로 하여 생체모방형 공중합체와 같은 농도로 용해 하였다. 4가지의 금속 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})은 모두 3차 증류수를 사용하여 농도별(0.1, 1.0, 3.0 w/v%)로 준비하였으며, 이들을 물리적으로 블렌드하여 복합 코아서베이트를 유도 하였다. Figure 2-4에 복합 코아서베이트 용액의 제조 방법을 나타냈고, Table 2-2의 조성으로 용액 블렌드하였다.

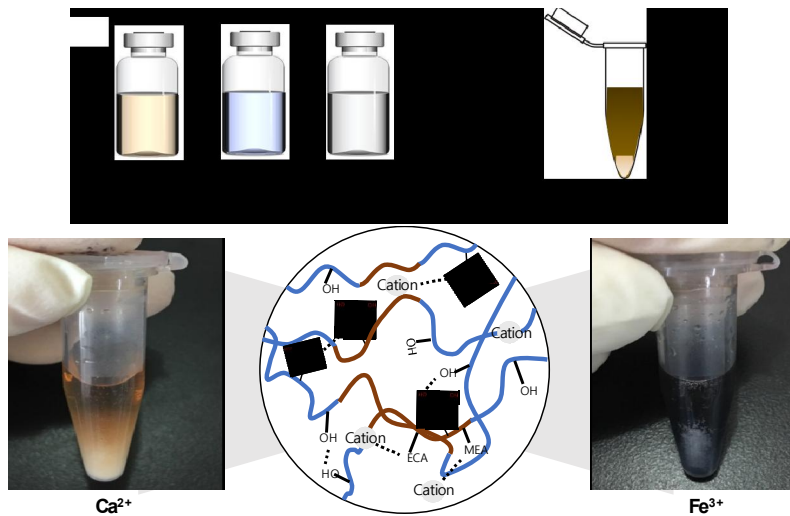


Figure 2-4. Preparation of complex coacervate solution with DOPA derivative copolymers and various cations.

Table 2-2. Blend ratio of complex coacervate solution.

No.	PDM	PDMC	PDH	EPE	Cations	
1-1					Mg ²⁺	
1-2					Ca ²⁺	
1-3	1	1	-	1	Fe ³⁺	1
1-4					V ⁵⁺	
2-1					Mg ²⁺	
2-2					Ca ²⁺	
2-3	1	2	-	1	Fe ³⁺	1
2-4					V ⁵⁺	
3-1					Mg ²⁺	
3-2					Ca ²⁺	
3-3	1	1	1	1	Fe ³⁺	1
3-4					V ⁵⁺	
4-1					Mg ²⁺	
4-2					Ca ²⁺	
4-3	1	2	1	1	Fe ³⁺	1
4-4					V ⁵⁺	

2.3 생체모방 공중합체를 갖는 complex coacervate의 일반적 특성 평가

생체모방 공중합체인 PDM, PDMC, PDH와 양친매성 블록공중합체, 4가지의 금속 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 Table 2-2에 나타난 블렌드 비율로 용액 블렌드하여 cation- π 상호작용으로부터 유도된 복합 코아서베이트의 특성을 Optical microscopy, FT-IR, UV-Vis spectrometer로 분석하였다.

PDM, PDMC, PDH와 양친매성 블록 공중합체가 블렌드 된 용액에 금속 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 블렌드하여 복합 코아서베이트의 형성을 유도하였고, 이렇게 형성된 복합 코아서베이트는 마이셀 구조를 갖는 것으로 알려져 있다. 복합 코아서베이트의 형성 유, 무를 확인하기 위하여 복합 코아서베이트 용액을 20 μ L 취하여 커버글라스에 도포하고, 3 일 동안 상온에서 충분히 건조 시켜 다양한 배율에서 optical microscopy로 분석하였다. 또한, 생체모방형 공중합체와 양이온과의 상호작용에 의한 카테콜의 산화에 따른 구조적인 변화를 FT-IR, UV-Vis spectrometer로 확인하였다.

2.4 DLS-zetasizer

동적 광산란 방법(Dynamic Light Scattering, DLS)은 1.0×10^{-9} m 미만에서 1.0×10^{-6} m 이하 범위의 입자 및 고분자의 크기를 측정하는 방법이다. 단백질, 고분자, 마이셀, 나노입자, 콜로이드 및 에멀전 같은 액체에서 부유하는 입자로 구성된 시료를 측정할 수 있으며, 원리는 다음과 같다.

부유하는 입자는 용매 분자 사이에서 브라운 운동(Brownian motion)을 하는데 불규칙한 브라운 운동을 하는 입자에 레이저를 조사하면, 입자와 부딪힌 빛의 경우는 산란을 일으키고, 그렇지 않은 빛은 투과된다. 동적 광산란 법은 브라운 운동을 이용하여 현탁액에서 시간에 따라 산란되는 광의 세기를 측정하고, 산란되는 광의 세기 변동을 분석하여 입자의 크기 분포를 분석할 수 있다. 본 연구에서는 양이온의 종류별로 복합 코아서베이트가 유도되었을 때 생성되는 콜로이드 크기를 측정하고자 하였다.

실험 방법은 다음과 같다. 생체모방 공중합체인 PDM, PDMC, PDH와 카테콜 그룹과의 수소결합을 유도하기 위해 양친매성 블록 공중합체인 PE0-PP0-PE0 triblock

copolymer를 블렌드하였고, 4 가지의 서로 다른 양이온 (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})의 농도를 3.0 w/v%로 하여 복합 코아서베이트를 유도하여 샘플을 준비하였다. 10 분 방치하여 코아서베이트를 안정화하였고, 상 분리가 일어난 복합 코아서베이트 용액의 고농도의 고분자 상만을 50 μL 취하여 각 샘플을 100 배 희석하여 준비하였다. 30분간 초음파 파쇄기를 이용하여 완전히 분산시켜 1.5 mL의 용액을 취해 disposable cell에 넣은 뒤 particle analyzer(Zetasizer Nano S, Malvern, UK)를 이용하여 양이온 종류별로 복합 코아서베이트에 의해 생성된 콜로이드 사이즈를 측정하였다.

2.5 접착 특성 평가

주요 공중합체들과 금속 양이온을 블렌드하여 얻은 복합 코아서베이트 용액의 접착 특성을 측정하기 위하여, Figure 2-5의 방법으로 용액을 준비하고, Universal Testing Machine(UTM)으로 이들의 접착 특성을 평가하였다.

공중합체의 농도는 20 w/v%로 하였으며, 4가지 금속 양이온 (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 농도별(0.1, 1.0, 3.0 w/v%)로 하여 substrate에 100 μL 씩 도포 후, 80°C에서 20 시간 건조하여 용매를 충분히 제거한 후 1.0 mm/min으로 Lap-Shear strength[MPa]를 측정하였다.

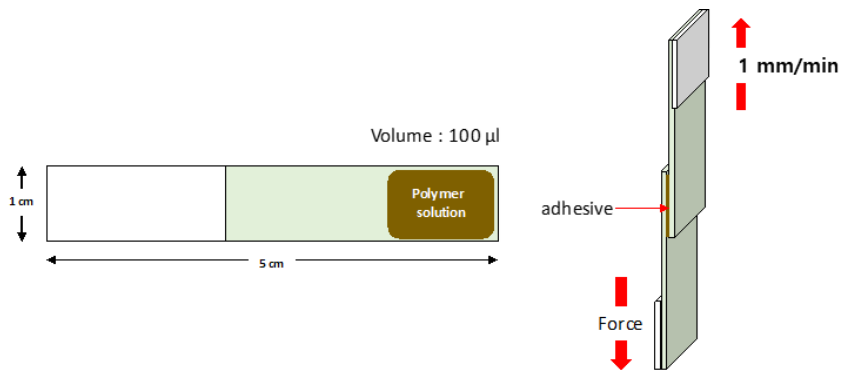


Figure 2-5. Preparation of lap-shear test for epoxy substrate by UTM.

2.6 접촉각

접촉각은 고체, 액체와 기체의 경계면에서 고체 표면과 액적이 이루는 각도를 나타낸 것으로 고체 표면과 액체 간의 젖음성을 나타내는 척도이다. 접촉각은 고체, 액체, 기체가 만나는 한 점에서 액적의 끝과 고체 표면과의 접점으로 측정할 수 있다. 따라서 액적과 표면과의 접점으로부터 각도를 측정했을 때, 0° 이상 90° 미만이면 친수성, 90° 이상 180° 미만이면 소수성을 의미한다. Figure 2-6에 이를 나타내었다.

본 연구에서는 생체모방 공중합체(PDM, PDMC, PDH)와 양친매성 블록공중합체(PEO-PPO-PEO), 4가지 금속 양이온(Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 블렌드하여 유도된 복합 코아서베이트의 계면 장력을 분석하고자 접촉각을 측정하였다. 접촉각 측정 방법은 sessile drop 법을 적용하여 분석하였다.

생체모방 공중합체와 블록 공중합체는 각각 20 w/v%로 용매에 녹여 준비하였고, 4 가지 금속 양이온은 3 w/v%로 제조하였다. 생체모방 공중합체와 양친매성 블록 공중합체 용액, 양이온 용액은 같은 부피 비로 블렌드하여 복합 코아서베이트를 유도하였다.

Cation- π 상호작용에 의해 유도된 복합 코아서베이트 용액을 슬라이드 글라스에 동일한 양을 도포 하고, 상온에서 3일간 충분히 건조 시킨 뒤, 초순수 액적을 같은 높이에서 한 방울 떨어뜨려 5번 반복하여 접촉각을 측정하였다.

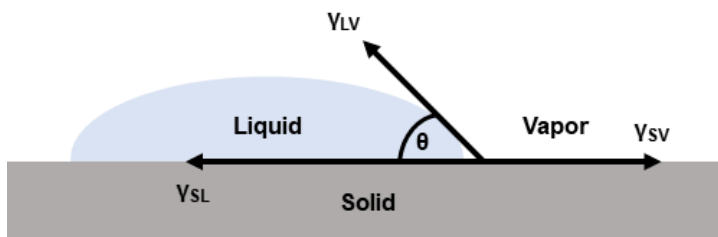


Figure 2-6. Schematic of the sessile drop technique with a liquid droplet.

2.7 Morphology

생체모방 공중합체(PDM, PDMC, PDH)와 양친매성 블록공중합체(PEO-PPG-PEO), 4 가지 금속 양이온(Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 블렌드하여 복합 코아서베이트를 유도한 후 접착면을 관찰하기 위하여 주사 전자 현미경(scanning electron microscopy, SEM)을 사용하여 분석하였다.

접착 후 탈착된 표면 구조를 확인하기 위하여 epoxy 시편에 복합 코아서베이트 용액을 동일한 농도로 준비하여 100 μL 씩 도포하고, 80 $^{\circ}\text{C}$ 진공 오븐에서 24 시간 건조하여 용매를 충분히 제거하였다. 후에 10 kN의 UTM으로 접착면을 분리하고, 접착 표면을 백금 코팅하여 다양한 배율에서 접착면을 관찰하였다.

제3절 결과 및 고찰

3.1 Complex coacervate의 일반적 성질

생체모방 공중합체(PDM, PDMC, PDH)와 양이온에 의해 cation- π 상호작용이 유도되고, 복합 코아서베이트가 형성되어 상분리가 일어나는 것을 Figure 2-7에 나타내었다.

Table 2-2와 같은 비율로 생체모방 공중합체와 양친매성 블록 공중합체를 블렌드하여 수소 결합과 같은 고분자 사슬 간 상호작용을 유도하고, 양이온에 의한 cation- π 상호작용에 따라 복합 코아서베이트가 유도된다. 그 결과 수 초 내로 액체-액체 상분리가 일어나는 것을 확인할 수 있었다. E. Kizilay et al.에 의하면 복합 코아서베이트가 형성되면 농축된 고분자 상(polymer rich phase)과 희석상(dilute phase)으로 액체-액체 상 분리 현상이 관찰되며, 분리된 2개의 상은 서로 섞이지 않는다고 알려져 있다[57]. 또한 농축된 고분자 상은 마이셀 구조를 이루고 있으며 이를 복합 코아서베이트라 한다.

따라서, 본 연구에서는 Figure 2-7과 같이 상 분리가 일어난 복합 코아서베이트 용액의 아랫부분에 있는 농축된 고분자 상만을 취하여 광학현미경으로 복합 코아서베이트에 의해 생성된 콜로이드를 관찰하였다[52,55].

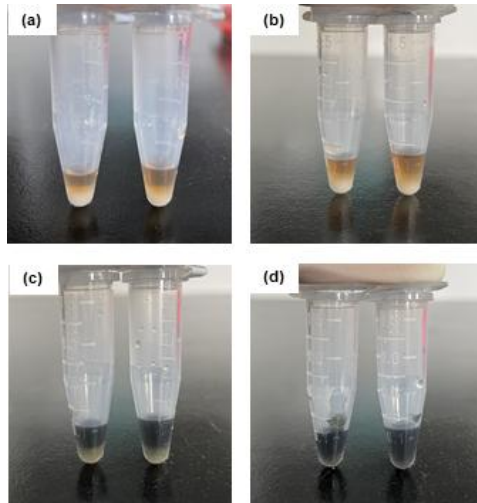


Figure 2-7. Complex coacervate solution (a) PDM:PDMC:EPE: Mg^{2+} , (b) PDM:PDMC:EPE: Ca^{2+} , (c) PDM:PDMC:EPE: Fe^{3+} , and (d) PDM:PDMC:EPE: V^{5+} .

PDM:PDMC:EPE를 1:1:1의 비율로 블렌드하여 고분자 사슬 간 상호작용을 유도하였고, 이 용액에 3.0 w/v%의 4 가지 양이온(Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 같은 비율로 각각 블렌드하여 복합 코아서베이트를 유도한 결과 Figure 2-7에서처럼 상분리가 관찰되었다. 복합 코아서베이트가 생성된 고분자 상만을 취하여 광학 현미경으로 관찰한 결과를 Figure 2-8에 나타냈다. Figure 2-8(a)는 공중합체와 양친매성 블록 공중합체만을 블렌드하여 고분자 사슬 간의 상호작용을 유도한 결과로, 상 분리가 관찰되지 않았으며, 콜로이드가 생성되지 않은 것을 확인하였다. Figure 2-8(b), (c), (e)는 각각 3.0 w/v %의 Mg^{2+} , Ca^{2+} , V^{5+} 양이온에 의해 복합 코아서베이트가 유도되어 농축된 고분자 상만을 취해 광학현미경으로 관찰한 결과로 약 4-7 μm 크기의 작은 콜로이드가 생성되었다. Figure 2-8(d)는 Fe^{3+} 양이온을 갖는 코아서베이트에 대한 결과로 Fe^{3+} 에 의해 카테콜과 양이온 사이에서 강한 상호작용으로 인해 DOPA-metal complexation이 형성되어 콜로이드가 뭉치는 현상을 발견하였다. 이는 사슬 내부에서 cation- π 상호작용에 의해 강한 내부 응집이 발생하며, 이 영향으로 생성된 복합 코아서베이트에 의한 자가 조립(self assembly)현상으로 사료된다.

Figure 2-9에서는 PDM:PDMC:PDH:EPE를 1:1:1:1의 비율로 블렌드한 결과로 Figure 2-8과 동일한 방법으로 광학현미경을 이용해 복합 코아서베이트에 의해 생성된 콜로이드를 관찰하였다. 생체모방 공중합체와 양친매성 블록 공중합체(PDM:PDMC:PDH:EPE)만을 블렌드한 경우에는 Figure 2-8(a)와 동일하게 상 분리 및 콜로이드 생성이 나타나지 않았고, 이 용액에 3.0 w/v %의 4가지 양이온(Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 블렌드 했을 때, Figure 2-9 (b),(c),(d) 및 (e)와 같이 복합 코아서베이트에 의한 콜로이드가 생성된 것을 확인할 수 있었다. 다만, Figure 2-9는 Figure 2-8보다 콜로이드의 뭉침을 더 많이 관찰할 수 있었는데, 이는 말단에 하이드록실 그룹을 가진 PDH에 의해 고분자 사슬 내부에서의 상호작용이 증가하고, 카테콜의 함량이 증가하면서 더 많은 cation- π 상호작용이 유도되면서 카테콜과 금속 양이온의 금속 양이온-리간드 배위 결합에 의해 응집이 일어나 고분자 사슬 내부 응집력이 영향을 받았을 것이라 사료된다.

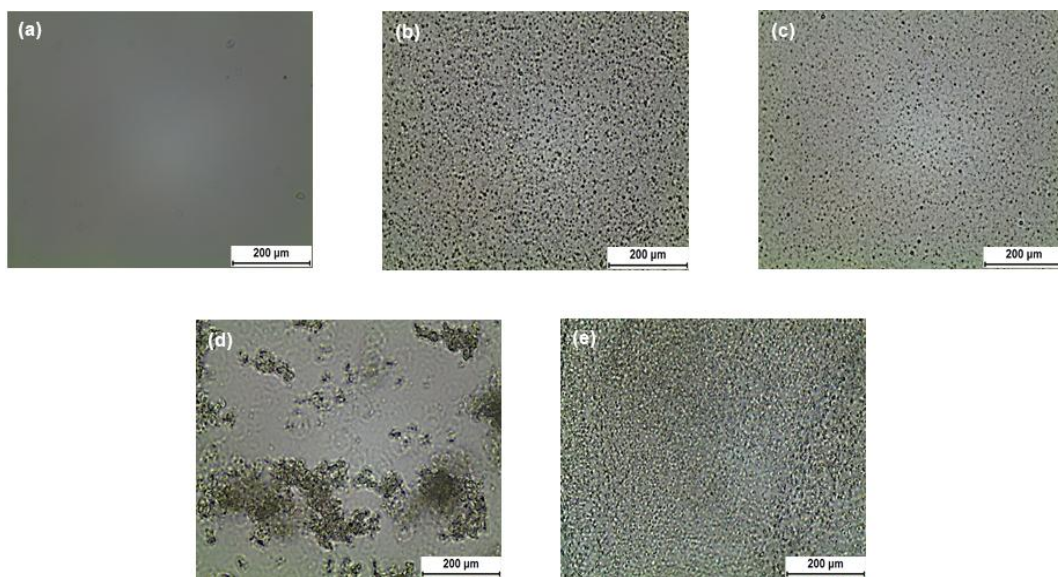


Figure 2-8. Optical microscopy images of complex coacervate solution with various cations (a) PDM:PDMC:EPE, (b) PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (d) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (e) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺ (Blend ratio 1:1:1:1).

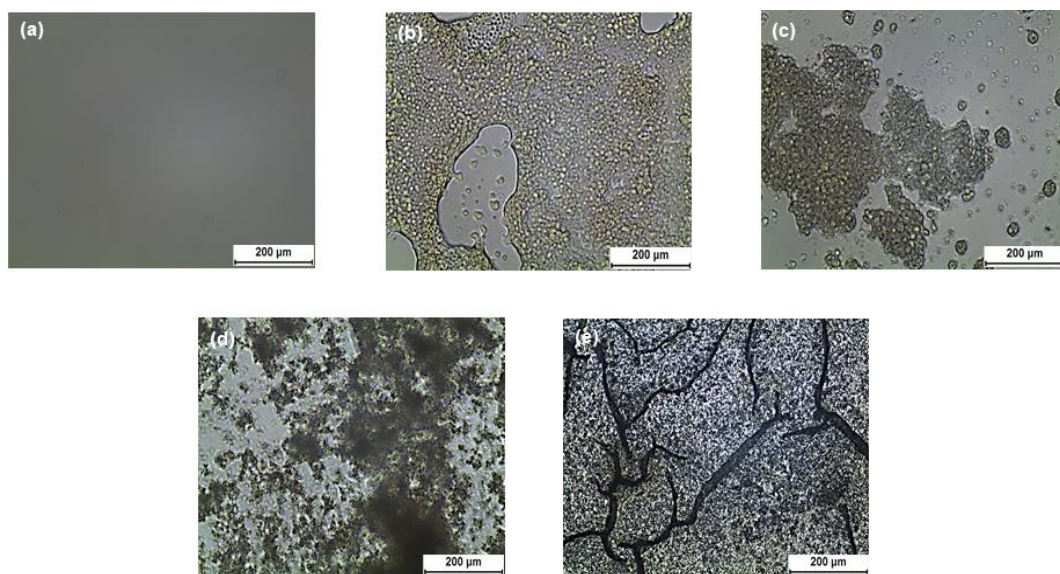


Figure 2-9. Optical microscopy images of complex coacervate solution with various cations (a) PDM:PDMC:PDH:EPE, (b) PDM:PDMC:PDH:EPE:Mg²⁺, (c) PDM:PDMC:PDH:EPE:Ca²⁺, (d) PDM:PDMC:PDH:EPE/Fe³⁺, and (e) PDM:PDMC:PDH:EPE:V⁵⁺ (Blend ratio 1:1:1:1:1).

4가지 양이온(Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})에 의해 cation- π 상호작용 유도되면 양이온에 의해 DOPA-metal chelation, 카테콜의 산화-환원 반응 같은 구조적인 변화가 일어나게 된다. 따라서 양이온의 농도에 따라 복합 코아서베이트가 형성되었을 때, 카테콜의 구조적인 변화를 확인하기 위하여 FT-IR과 UV-Visible을 통해 복합 코아서베이트의 형성 및 유무를 분석하였다. 이에 관한 결과를 Figure 2-10과 2-11에 나타내었다.

FT-IR 스펙트럼(Figure 2-10)에서 양이온에 의해 cation- π 상호작용이 유도된 경우 카테콜 작용기가 퀴논 형태로 산화되면서 알콕시 작용기가 갖는 1100 cm^{-1} 특징적인 IR 밴드와 1340 cm^{-1} 에서 phenol C-O 작용기를 나타내는 특성 밴드가 확인되었다. 특히 양이온의 농도가 0.1 w/v%에서 3.0 w/v%로 증가할수록 밴드의 이동이 확인된 것으로 보아 양이온에 의한 복합 코아서베이트가 유도되면서 금속 양이온과 카테콜의 배위결합에 의한 금속 양이온과 카테콜과의 metal chelation이 형성되었을 것이라 사료된다.

또한, Figure 2-11(a), (b), (c)의 UV-Visible 스펙트럼 분석 결과, 323 nm에서 새로운 피크가 관찰되었는데 이는 금속 이온과 카테콜과의 상호작용에 의한 카테콜의 산화로 metal-chelation이 형성되면서 생성된 피크라고 판단된다. 또한, 400 nm에서 산화된 카테콜의 퀴논 형태가 넓은 형태의 피크로 확인되었다. 다만, Figure 2-11(d)는 PDM:PDMC:EPE에 V^{5+} 을 블렌드한 결과로 π 전자가 풍부한 카테콜과 양이온 사이에서 cation- π 상호작용에 의해 금속과의 킬레이션이 강하게 형성되었고, 리간드에서 금속으로의 전하 이동이 일어나면서 630 nm에서 넓은 피크가 관찰되었다[75].

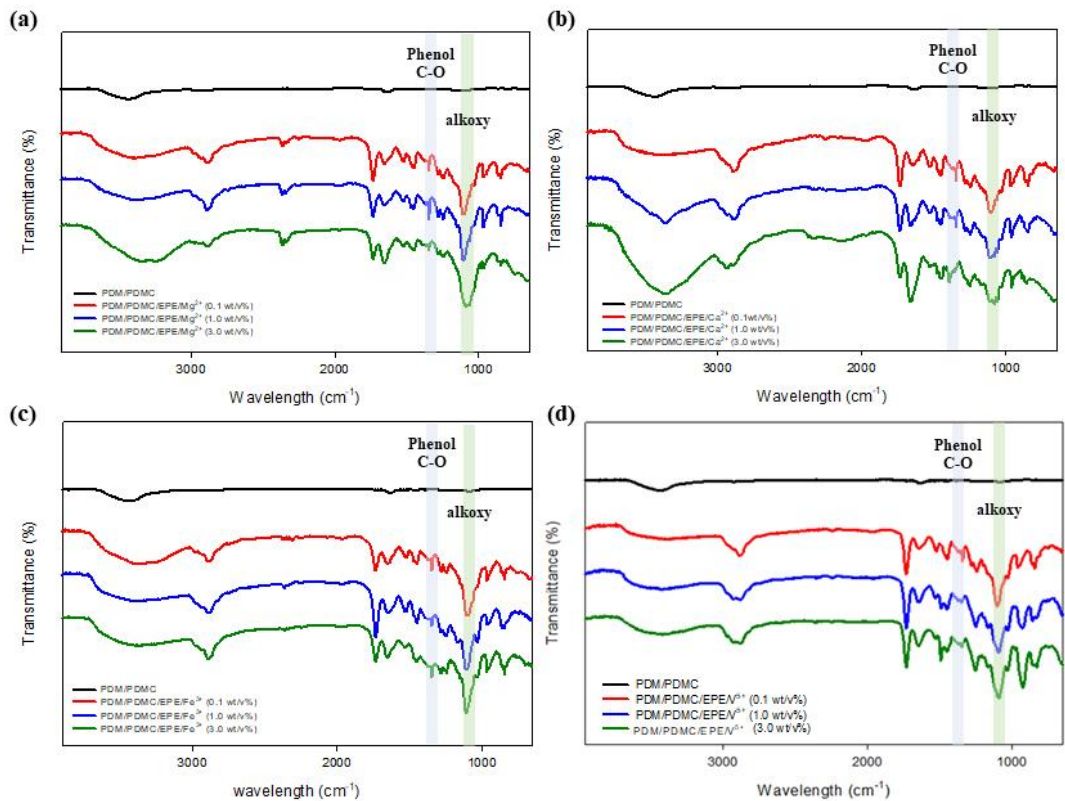


Figure 2-10. FT-IR spectra of complex coacervate solution with various cations and concentrations (a) PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (b) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (d) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺.

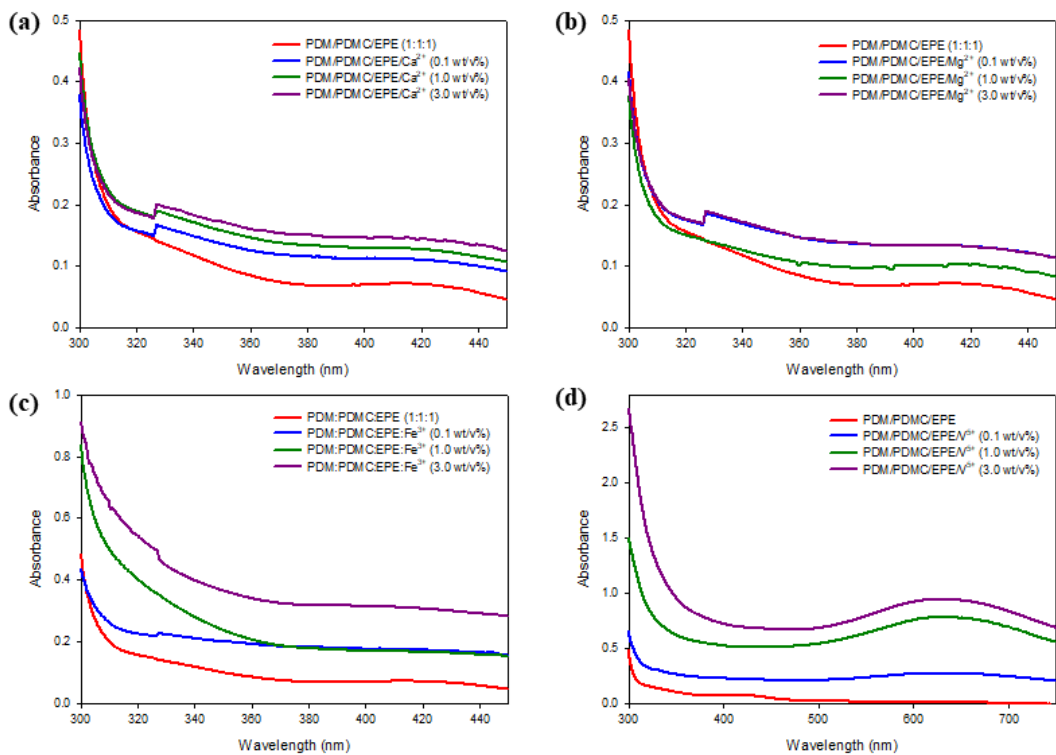


Figure 2-11. UV-vis absorption spectra of blended DOPA derivative copolymers with different types of cations (a) PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (b) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (d) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺ (Blend ratio 1:1:1:1).

3.2 DLS-Zetasizer

Figure 2-12는 생체모방 공중합체에 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+} 4가지의 금속 양이온을 3.0 w/v%로 준비하여 복합 코아서베이트를 유도하고 블렌드 비율과 양이온 종류에 따라 생성된 콜로이드 크기를 zetasizer로 측정된 결과이다. 생체모방형 고분자는 양이온을 띠고 있어 일반적으로 복합 코아서베이트의 형성이 어렵다고 알려져 있다. 하지만, 앞서 언급하였듯이 양이온과의 특이한 상호작용인 cation- π 상호작용에 의해 복합 코아서베이트가 형성되면서 액체-액체 상분리가 일어난다.(Figure 2-7). 액체-액체 상분리가 일어나면 액적의 아랫부분에 고밀도의 고분자가 응집되어 마이셀 구조를 이루고, 계면 에너지가 낮아져 콜로이드 크기가 감소 된다고 알려져 있다[55,56].

Zetasizer를 이용해 콜로이드 크기를 측정한 결과를 Figure 2-12에 나타내었으며, 공중합체인 PDH가 함께 블렌드 되었을 때, 전체적으로 콜로이드의 크기가 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table 2-3). 복합 코아서베이트 용액의 구성에 생체모방형 공중합체인 PDH가 추가되면 PDH의 말단에 있는 하이드록실 작용기가 고분자 사슬 내부에서 수소결합과 같은 상호작용을 증가시키고, 사슬 내부의 카테콜 함량이 PDM:PDMC:EPE 보다 증가하게 된다. 따라서 고분자 사슬 내부에서 양이온과 상호작용 할 수 있는 카테콜 함량이 증가하여 cation- π 상호작용이 보다 더 많이 유도되어 안정화된 metal-complexation가 생성된다. 그 결과, 사슬 내부가 정전기적으로 안정해지면서 복합 코아서베이트가 형성되어 낮은 계면 에너지에 의해 콜로이드 크기를 감소시켰을 것이라 설명할 수 있다.

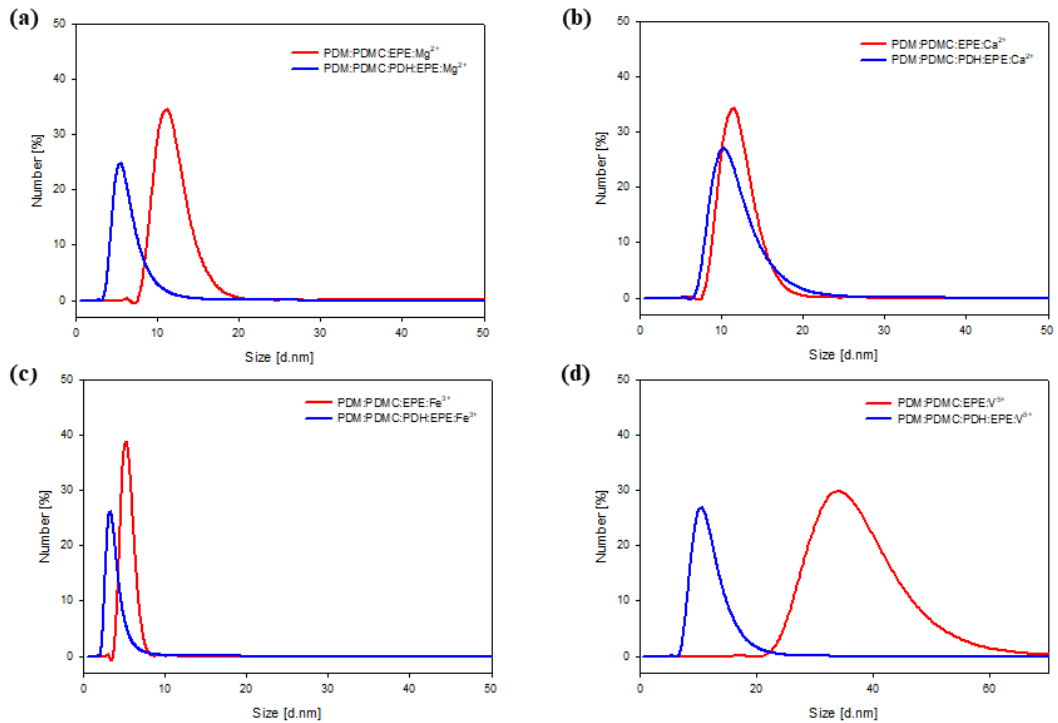


Figure 2-12. Size distribution by DLS (a) DOPA derivatives copolymers and EPE with Mg^{2+} , (b) DOPA derivatives copolymers and EPE with Ca^{2+} , (c) DOPA derivatives copolymers and EPE with Fe^{3+} , and (d) DOPA derivatives copolymers and EPE with V^{5+} (PDM:PDMC:EPE:Cations 1:1:1:1(red), PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations 1:1:1:1(blue)).

Table 2-3. Size distribution by DLS-zetasizer.

Cations	Size (d.nm)	
	PDM:PDMC:EPE:Cations (1:1:1:1)	PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (1:1:1:1:1)
Mg^{2+}	11.58	5.615
Ca^{2+}	11.78	11.70
Fe^{3+}	5.330	3.120
V^{5+}	36.14	10.10

3.3 Complex coacervate의 접착 특성

생체모방형 공중합체인 PDM, PDMC, PDH와 복합 코아서베이트를 유도하기 위하여 4 가지의 서로 다른 양이온 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+} 을 용액 블렌드 하고, 이들의 접착 특성을 Universal Testing Machine(UTM)을 사용하여 측정하였다. 인장강도 측정식은 다음과 같다.

$$\sigma_t = \frac{W_{\max}}{A_0}$$

σ_t : 인장강도 [MPa]

W_{\max} : 최대 인장 하중 [N]

A_0 : 시편의 단면적 [mm^2]

Figure 2-13은 PDM, PDMC, EPE 및 cation을 블렌드한 경우이다. Cyanoacrylate가 포함된 PDMC의 블렌드 비율을 1배, 2배로 변화하고, 양이온을 농도별로 블렌드하여 인장강도를 측정한 결과를 나타내었다.

EPE는 polyethyleneoxide-polypropyleneoxide-polyethyleneoxide(PEO-PP0-PE0)의 삼중 블록 공중합체로 친수성과 소수성을 모두 포함하고 있다. DOPA의 카테콜과 PEO가 상호작용하여 양 끝에 카테콜을 고정할 수 있고, PP0는 일반적으로 페놀 작용기와 수소 결합을 유도할 수 있다. 따라서 PEO-PP0-PE0의 양친매성 블록 공중합체는 고분자 사슬 내의 카테콜 그룹과의 상호작용을 유도해 점착력(cohesion) 향상을 도모하였다[12].

4 가지 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})의 농도를 0.1, 1.0, 3.0 w/v%로 증가시키며 cation- π 상호작용을 유도하여 형성된 복합 코아서베이트의 접착 특성을 시편을 epoxy로 하여 측정하였다(Figure 2-13). 생체모방 공중합체 PDM, PDMC와 양친매성 공중합체인 EPE만을 1:1:1의 비율로 블렌드하여 점착력을 측정한 결과 0.219 MPa의 점착력을 확인하였다. PDMC를 2배로 블렌드 하였을 때의 점착력은 0.338 MPa로 cyanoacrylate를 포함하는 PDMC가 증가하면 점착력이 증가하는 결과를 보였다.

Figure 2-13(a)에서 양이온의 농도가 0.1, 1.0, 3.0 w/v%로 증가하면 점착력이

향상된 것을 확인할 수 있었으며, 양이온 농도가 3.0 w/v%일 때, PDM:PDMC:EPE 만을 블렌드한 대조군의 접착력인 0.219 MPa보다 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+} 에서 각각 174 %, 307 %, 508 %, 859 %의 접착력 증가를 보였다.

Figure 2-13(b)는 PDMC의 블렌드 비율을 2배로 증가시켜 접착력을 측정한 결과이다. 양이온의 농도가 0.1, 1.0, 3.0 w/v%로 증가할수록 접착력이 증가하는 것을 확인할 수 있었으나, Fe^{3+} 농도가 3.0 w/v% 일 때, 1:1:1:1의 비율로 블렌드 된 Fe^{3+} 의 접착력은 1.329 MPa이고, 1:2:1:1의 비율로 블렌드 된 Fe^{3+} 의 접착력은 0.740 MPa로 접착력이 감소하였다. 이는 PDMC가 2배로 증가하면서 양이온과 상호작용 할 수 있는 카테콜의 함량도 증가하게 되고, cation- π 상호작용이 더 많이 유도되며 카테콜과 금속 양이온인 Fe^{3+} 사이에서 강한 metal-chelation에 의해 표면에서의 접착보다 고분자 사슬 내부의 응집이 더 우수하게 되어, 접착 시스템에서의 접착과 점착의 균형이 깨져 전체적인 접착력을 감소시켰을 것이라 설명할 수 있다.

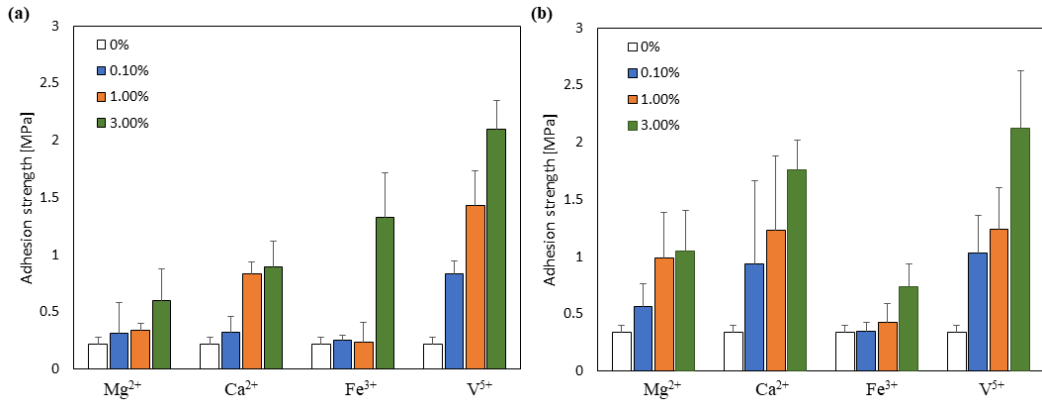


Figure 2-13. Adhesion strength of blended DOPA derivative copolymers with different types of cations (a) PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1), and (b) PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:2:1:1).

Table 2-4. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1).

Sample name	Adhesion strength [MPa]			
	Concentration of cations (w/v%)			
	0.0	0.1	1.0	3.0
PDM:PDMC:EPE:Mg ²⁺		0.316	0.343	0.600
PDM:PDMC:EPE:Ca ²⁺	0.219	0.327	0.833	0.891
PDM:PDMC:EPE:Fe ³⁺		0.254	0.240	1.329
PDM:PDMC:EPE:V ⁵⁺		0.830	1.431	2.096

Table 2-5. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:2:1:1).

Sample name	Adhesion strength [MPa]			
	Concentration of cations (w/v%)			
	0.0	0.1	1.0	3.0
PDM:PDMC:EPE:Mg ²⁺		0.566	0.399	1.048
PDM:PDMC:EPE:Ca ²⁺	0.338	0.940	1.230	1.761
PDM:PDMC:EPE:Fe ³⁺		0.349	0.426	0.740
PDM:PDMC:EPE:V ⁵⁺		1.034	1.241	2.127

Figure 2-14에서는 PDM, PDMC, PDH, EPE 공중합체 블렌드 용액에 서로 다른 양이온 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+} 을 농도별로 블렌드하여 접착력을 측정된 결과를 나타내었다. PDM, PDMC, PDH, EPE 공중합체 블렌드 용액에 PDMC가 1배에서 2배로 블렌드 되면 0.310 MPa에서 0.556 MPa로 접착력이 향상되었으며 이는 Figure 2-13에서의 접착력 결과에서 언급하였듯이 cyanoacrylate의 접착 특성에 의한 접착력 향상의 결과로 판단된다. 하지만 PDM, PDMC, PDH, EPE 공중합체 블렌드 용액에 양이온을 첨가한 경우, V^{5+} 을 제외하고 일정 농도 이상에서 접착력이 감소하였다. 이는 사슬 내부에서 PDM, PDMC, PDH 와 EPE 고분자 사슬 내부에서의 수소 결합에 의한 응집력이 증가할 뿐만 아니라 양이온과 상호작용할 수 있는 전자가 풍부한 π 시스템이 증가하여 사슬 내부의 응집력이 접착 계면과의 접착력보다 우세하여 접착력이 감소하는 경향을 보인 것으로 설명할 수 있다. 이 결과는 앞서 언급한 콜로이드 뭉침 현상이 관찰된 광학현미경 결과(Figure 2-9)와도 일치한다.

전자를 더 많이 필요로 하는 V^{5+} 은 전자가 풍부한 π 시스템과 강한 상호작용을 할 수 있어 카테콜을 퀴논의 형태로 산화시켜 강한 metal-cation complexation이 형성되어 정전기적 반발을 이겨내고 접착력이 향상하는 결과를 보인다. 따라서, cation- π 상호작용에 의해 유도된 복합 코아서베이트의 접착력은 전자가 풍부한 π 시스템과 상호작용할 수 있는 양이온이 균형을 이루어야 하며, 접착 시스템 내에서 너무 많은 전하가 포함되면 전기적 반발력으로 인해 접착 표면과의 접착력보다 내부 응집이 더 강하게 일어나 접착력을 감소시키는 것으로 판단된다.

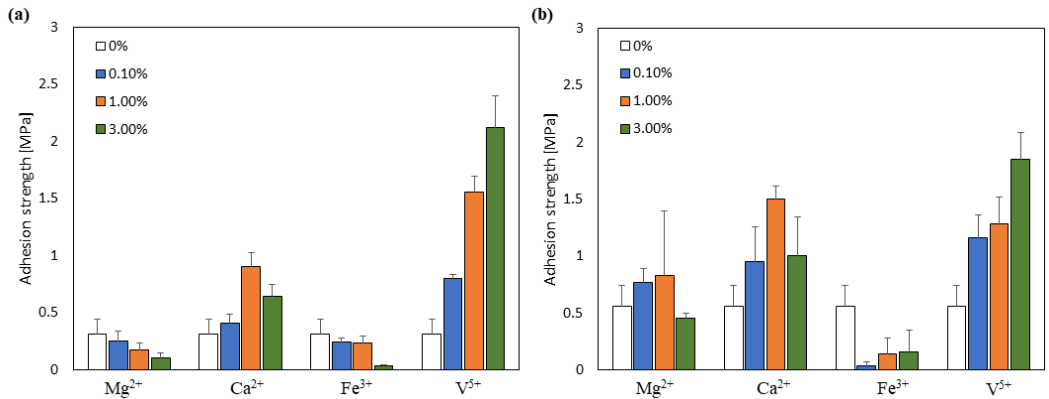


Figure 2-14. Adhesion strength of blended DOPA derivative copolymers with different types of cations (a) PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (1:1:1:1:1), and (b) PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (1:2:1:1:1).

Table 2-6. Adhesion strength of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1:1).

Sample name	Adhesion strength [MPa]			
	Concentration of cations (w/v%)			
	0.0	0.1	1.0	3.0
PDM:PDMC:EPE:Mg ²⁺		0.252	0.175	0.107
PDM:PDMC:EPE:Ca ²⁺		0.406	0.479	0.640
PDM:PDMC:EPE:Fe ³⁺	0.310	0.246	0.231	0.033
PDM:PDMC:EPE:V ⁵⁺		0.797	1.552	2.122

Table 2-7. Adhesion strength of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (blend ratio 1:2:1:1:1).

Sample name	Adhesion strength [MPa]			
	Concentration of cations (w/v%)			
	0.0	0.1	1.0	3.0
PDM:PDMC:EPE:Mg ²⁺		0.767	0.831	0.990
PDM:PDMC:EPE:Ca ²⁺		0.954	1.135	1.324
PDM:PDMC:EPE:Fe ³⁺	0.556	0.036	0.136	0.161
PDM:PDMC:EPE:V ⁵⁺		1.160	1.282	1.849

Figure 2-15, 2-16은 양이온의 종류에 따른 수중 접착력을 측정한 결과이다. 수중 환경에서의 복합 코아서베이트의 접착력을 측정하기 위해 4 가지 양이온 (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})의 농도는 3.0 w/v%로하여 복합 코아서베이트를 유도하였고, 수중에서 epoxy 시편에 복합 코아서베이트가 유도된 용액을 200 μ L씩 도포 하여 60분, 180분 후의 접착력을 lap-shear test 방법으로 측정하였다.

대조군은 cyanoacrylate계 접착제로 위와 동일한 방법으로 접착력을 측정하였으며, air-condition에서의 접착력은 1.718 MPa로 높은 접착력을 나타내었지만, 수중에서는 180분 뒤 접착력이 0.414 MPa로 약 75%의 급격한 접착력 감소가 나타났다. Cation- π 상호작용에 의해 유도된 복합 코아서베이트 실험군에서는 시간이 지나면 대조군과 마찬가지로 접착력의 감소가 나타나긴 하였지만, PDM:PDMC:EPE: Mg^{2+} 는 49%, PDM:PDMC:EPE: Ca^{2+} 는 29%, PDM:PDMC:EPE: V^{5+} 는 59%의 접착력 감소만을 보였다. 하지만, PDM:PDMC:EPE: Fe^{3+} 는 수중에서 가장 큰 접착력 감소를 보였는데, 이는 양이온에 의한 복합 코아서베이트 형성으로 고분자 사슬 내 응집력이 커져 접착과 점착의 균형이 깨지며 전체적인 접착력의 감소에 영향을 미쳤을 것이라 판단된다.

Figure 2-16은 PDM:PDMC:PDH:EPE를 1:1:1:1 부피비로 블렌드하고, 양이온 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+} 의 농도는 3.0 w/v%로 하여 복합 코아서베이트를 유도하여 위와 동일한 방법으로 수중에서의 접착력을 측정하였다. 180분 후 접착력 측정 결과 PDM:PDMC:PDH:EPE: Ca^{2+} 는 47%, PDM:PDMC:PDH:EPE: Fe^{3+} 는 26%의 감소만을 보였으며, PDM:PDMC:PDH:EPE: Mg^{2+} 와 PDM:PDMC:PDH:EPE: V^{5+} 에서는 180분 후에도 접착력을 유지하고 있는 것을 확인하였다. 이는 HEMA의 말단에 존재하는 hydroxyl group과 극성을 띠는 epoxy 접착 표면이 상호작용하여 PDM:PDMC:EPE:Cations보다 상대적으로 계면 점착이 증가하였고, 양이온에 의한 복합 코아서베이트가 유도되면서 사슬 내부에서 강한 응집력이 형성됨으로써 수중에서도 용해되지 않고, 접착력을 유지할 수 있었을 것이라 사료된다.

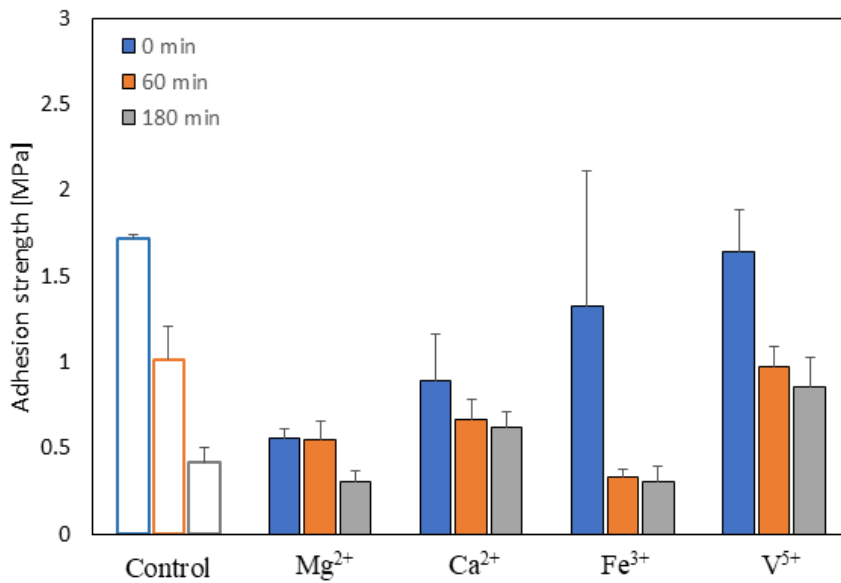


Figure 2-15. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1).

Table 2-8. Adhesion strength of PDM:PDMC:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1).

Sample name	Adhesion strength [MPa]		
	0 min	60 min	180 min
Control(Cyanoacrylate)	1.718	1.019	0.414
PDM:PDMC:EPE:Mg ²⁺	0.556	0.550	0.308
PDM:PDMC:EPE:Ca ²⁺	0.891	0.664	0.624
PDM:PDMC:EPE:Fe ³⁺	1.329	0.336	0.304
PDM:PDMC:EPE:V ⁵⁺	1.641	0.979	0.855

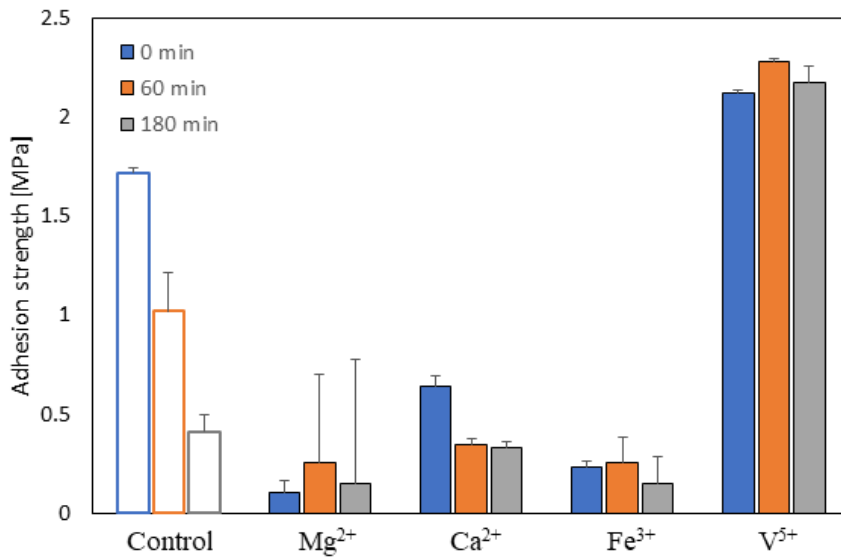


Figure 2-16. Adhesion strength of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1:1).

Table 2-9. Adhesion strength of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations under water (blend ratio 1:1:1:1:1).

Sample name	Adhesion strength [MPa]		
	0 min	60 min	180 min
Control (Cyanoacrylate)	1.718	1.019	0.414
PDM:PDMC:PDH:EPE:Mg ²⁺	0.107	0.259	0.148
PDM:PDMC:PDH:EPE:Ca ²⁺	0.640	0.344	0.334
PDM:PDMC:PDH:EPE:Fe ³⁺	0.033	0.257	0.148
PDM:PDMC:PDH:EPE:V ⁵⁺	2.122	2.281	2.169

3.4 접촉각

접촉이 형성되기 위해서는 접착제와 계면 사이에서 결합을 형성해야 하며, 분자 내 상호작용을 유도하기 위해서는 충분한 젖음성이 필요하다고 알려져 있다. 특히 접착제에서 좋은 젖음성이란 접착제가 접촉하려는 표면에서 면적이 확대되어 얇은 접착층을 형성하는 것으로 접착제와 피착제 사이에서 분자 간 상호작용이 유도되면 접촉이 용이해진다. 또한, 접착제를 생체 내에 적용했을 때 접착제와 체액과의 표면 에너지가 낮아야 한다. 따라서 생체모방 공중합체(PDM, PDMC, PDH)와 양친매성 블록 공중합체(PEO-PPG-PEO)에 4가지 양이온 (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 블렌드하여 cation- π 상호작용을 통해 형성된 복합 코아서베이트 용액의 접착제로서의 가능성을 파악하고, 복합 코아서베이트가 형성된 경우 계면 에너지가 낮아지는 것을 확인하기 위하여 접촉각 측정기 (Phoenix-MT(M), SEO. Co.)를 사용하여 분석하였다. Figure 2-17과 Table 2-10에 4 가지 양이온에 의해 형성된 복합 코아서베이트의 평균 접촉각 측정 결과를 나타내었다. 공중합체만을 블렌드한 경우는 60.8° 의 접촉각을 보였으나 양이온을 첨가한 경우 접촉각이 감소 되었다. 이는 복합 코아서베이트에 의해 계면 에너지가 낮아져 접촉각의 감소에 영향을 미쳤을 것이라 설명 된다. Figure 2-18과 Table 2-11에 PDM, PDMC, PDH, EPE 와 양이온을 블렌드하여 복합 코아서베이트를 유도하고 이에 따른 평균 접촉각 측정 결과이다. PDM:PDMC:EPE와 PDM:PDMC:PDH:EPE의 접촉각이 각각 60.8° 과 33.9° 의 결과를 보였다. PDH가 블렌드 된 생체모방 공중합체 블렌드 용액은 PDH가 포함되지 않은 생체모방 공중합체 블렌드 용액보다 약 2배 정도 낮은 접촉각을 보였다. 이는 PDH의 말단에 있는 2-hydroxyethyl methacrylate(HEMA)에 의해 초순수 액적과의 수소결합으로 인해 친수성을 띠고 있어 접촉각이 감소 되었다. 양이온을 첨가하여 복합 코아서베이트가 형성된 경우, 접촉각이 증가하는 경향을 보였는데 이는 고분자 사슬 내에 cation- π 상호작용에 의해 내부 응집력이 커지면 젖음성이 떨어지는 것으로 판단된다. 하지만 복합 코아서베이트가 유도된 시험군 모두 접촉각이 90° 이하로 모두 친수성을 나타내고 있어 접착제와 계면 사이에서의 충분한 젖음을 통한 상호작용이 가능하다고 할 수 있다. 따라서 양이온에 의한 cation- π 상호작용으로부터 유도된 복합 코아서베이트는 계면 장력을 낮춰 접촉각이 감소하지만, 고분자 사슬 내부에서 응집력이 증가하면 접촉각이 영향을 받는 것으로 판단된다.

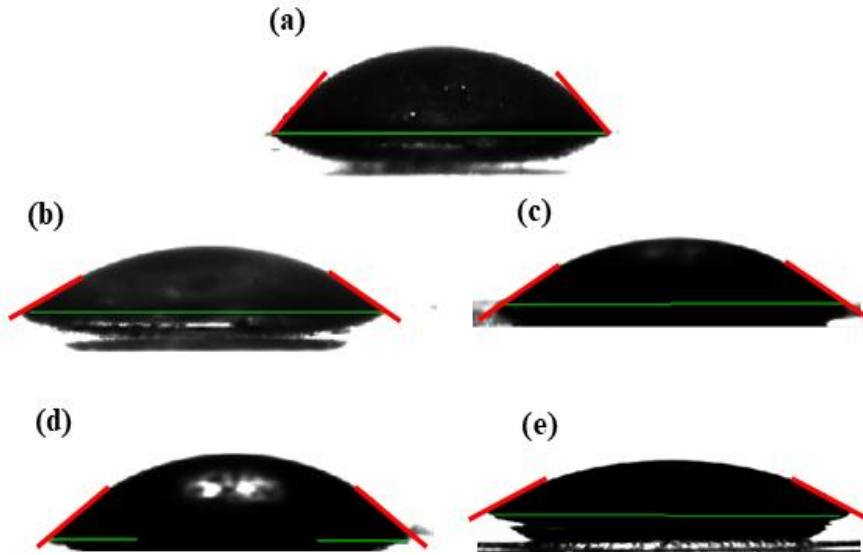


Figure 2-17. Contact angles of PDM:PDMC:EPE:Cations (a) PDM:PDMC:EPE, (b)PDM:PDMC:EPE:Mg²⁺, (c) PDM:PDMC:EPE:Ca²⁺, (d) PDM:PDMC:EPE:Fe³⁺, and (e) PDM:PDMC:EPE:V⁵⁺(blend ratio 1:1:1:1).

Table 2-10. Contact angles of PDM:PDMC:EPE:Cations (blend ratio 1:1:1:1).

Cations	PDM	PDMC	EPE	Average contact angle (Deg. °)
-	1	1	1	60.8
Mg ²⁺	1	1	1	37.6
Ca ²⁺	1	1	1	38.0
Fe ³⁺	1	1	1	48.4
V ⁵⁺	1	1	1	32.0

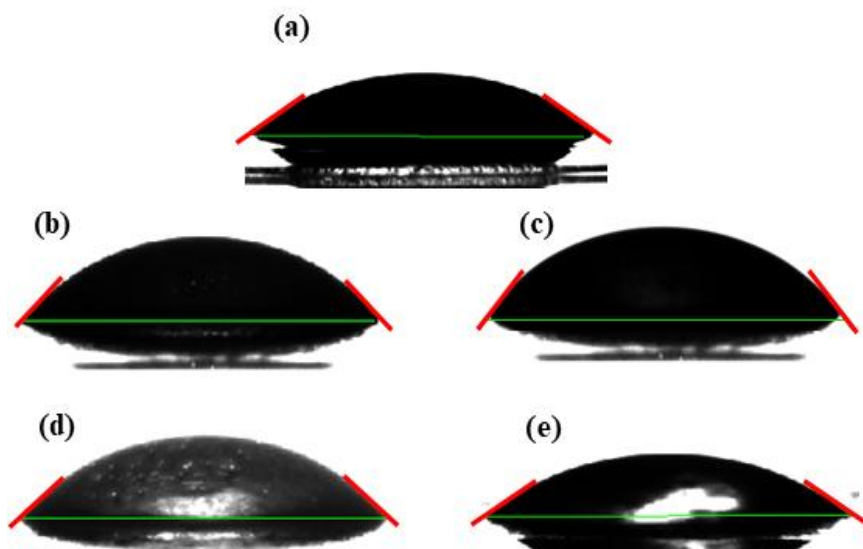


Figure 2-18. Contact angles of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations (a) PDM:PDMC:PDH:EPE, (b) PDM:PDMC:PDH:EPE:Mg²⁺, (c) PDM:PDMC:PDH:EPE:Ca²⁺, (d) PDM:PDMC:PDH:EPE:Fe³⁺, and (e) PDM:PDMC:PDH:EPE:V⁵⁺ (blend ratio 1:1:1:1:1).

Table 2-11. Contact angles of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations(blend ratio 1:1:1:1:1).

Cations	PDM	PDMC	PDH	EPE	Average contact angle (Deg. °)
-	1	1	1	1	33.9
Mg ²⁺	1	1	1	1	50.7
Ca ²⁺	1	1	1	1	52.7
Fe ³⁺	1	1	1	1	49.4
V ⁵⁺	1	1	1	1	33.3

3.5 Morphology

Figure 2-19, 2-20는 PDM:PDMC:EPE, PDM:PDMC:PDH:EPE를 1:1:1, 1:1:1:1로 블렌드한 생체모방 공중합체 용액에 농도가 3.0 w/v%인 4가지 양이온 Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+} 을 블렌드하여 복합 코아서베이트를 유도한 후 접착한 표면의 단면을 주사 전자 현미경(scanning electron microscopy, SEM)으로 관찰한 결과이다.

Epoxy에 접착 후 표면의 탈착 모폴로지를 확인하기 위하여 epoxy 시편에 복합 코아서베이트 용액을 100 μ L씩 도포 하고, 60 $^{\circ}$ C 진공 오븐에서 24시간 건조 후에 10 kN의 UTM으로 접착면을 분리하였다. 접착 후 탈착된 epoxy 표면을 백금 코팅하여 구조를 관찰하였다. 특히 Figure 2-19(d)와 Figure 2-20(d)는 가장 접착력이 뛰어난 V^{5+} 에 의한 복합 코아서베이트 용액의 접착 후 탈착 모폴로지로서 접착 표면과 굴곡 없이 밀착되어 표면의 형태가 그대로 확인되었으며, 상분리가 관찰되지 않았다.

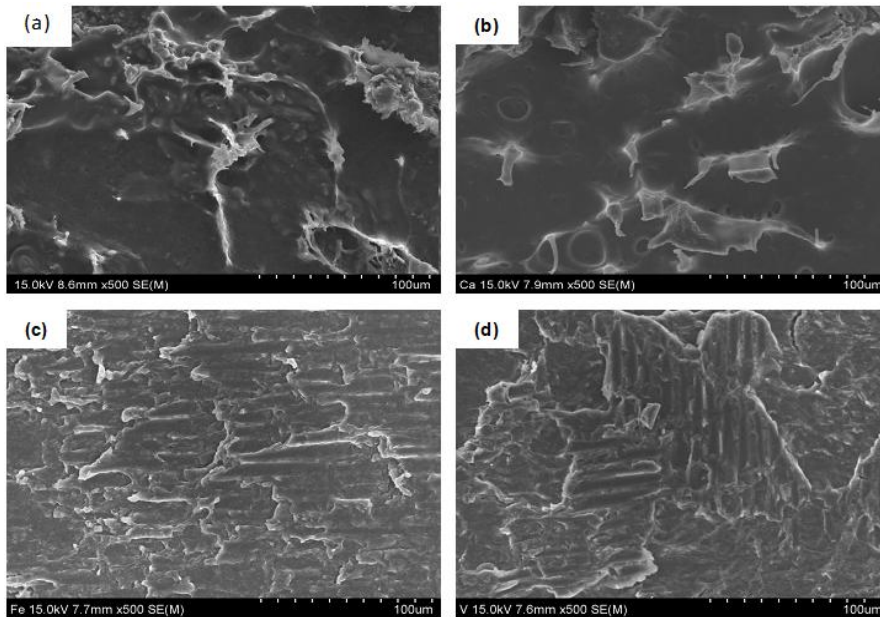


Figure 2-19. SEM images of cross-section of PDM:PDMC:EPE:Cations (a) PDM:PDMC:EPE: Mg^{2+} , (b) PDM:PDMC:EPE: Ca^{2+} , (c) PDM:PDMC:EPE: Fe^{3+} , and (d) PDM:PDMC:EPE: V^{5+} (blend ratio 1:1:1:1).

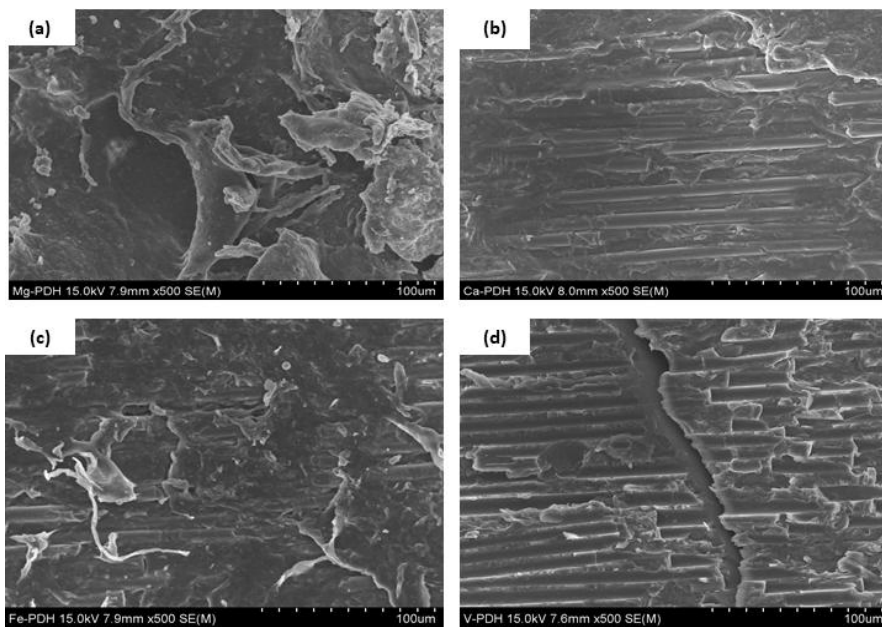


Figure 2-20. SEM images of cross-section of PDM:PDMC:PDH:EPE:Cations
 (a) PDM:PDMC:PDH:EPE:Mg²⁺, (b) PDM:PDMC:PDH:EPE:Ca²⁺, (c) PDM:PDMC:
 PDH:EPE:Fe³⁺, and (d) PDM:PDMC:PDH:EPE:V⁵⁺ (blend ratio 1:1:1:1:1).

제4절 결론

1. DOPA의 생체모방 구조를 갖는 생체모방형 공중합체의 접착 메커니즘을 응용하여 접착력을 향상시키고자 4가지의 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+})을 선택하여 복합 코아서베이트를 유도하였다.
2. 복합 코아서베이트가 유도되면 수 초 내로 액체-액체 상분리가 관찰되며, 4-7 μm 의 콜로이드가 형성되었다.
3. 생체모방형 공중합체와 양친매성 블록 공중합체가 블렌드 된 용액에 4가지 양이온을 농도별로 블렌드하여 lap-shear test를 통해 접착특성을 평가하였으며, 양이온의 농도가 증가할수록 접착력이 증가하였다.
4. 4가지의 양이온(Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , V^{5+}) 중 V^{5+} 에 의해 형성된 복합 코아서베이트의 접착력이 생체모방형 공중합체만을 블렌드 한 용액의 접착력 0.219 MPa 보다 약 10배 이상의 높은 접착력 증가를 보였다.
5. 수중환경에서 접착력을 측정한 결과, 대조군인 cyanoacrylate 계 접착제의 접착력은 처음 1.718 MPa에서 180 분 뒤 0.414 MPa 로 75% 이상의 급격한 접착력 감소를 보였으나, 양이온에 의한 코아서베이트가 유도된 실험군에서는 180분 후에도 용해되지 않고, 접착력이 유지되었다.
6. 생체모방형 공중합체와 4가지 양이온을 블렌드하여 복합 코아서베이트를 유도하여 접촉각을 측정한 결과 90° 이하의 접촉각을 나타내었고 이로써 친수성임을 확인하였다.
7. 생체모방형 공중합체와 4가지 양이온을 블렌드하여 접착 후 단면의 모폴로지를 SEM으로 확인한 결과, epoxy 표면과 잘 밀착되어있음을 확인하였다.

제3장 IPN hydrogels based on DOPA derivative copolymers

제1절 서론

1.1 Tissue engineering

의료기술의 발달로 인간의 평균 수명이 늘며 초고령사회가 도래함에 따라 조직 또는 장기의 손상 및 기능 상실과 같은 질병을 치료하기 위해 조직 공학(tissue engineering)적 접근과 연구의 중요성이 증가하고 있다.

조직공학(tissue engineering)이란 신체의 기능을 유지하거나 복원하는 것을 목적으로 인공 피부, 인공 뼈, 인공 장기, 각막, 연골에 이르기까지 다양한 생체 조직뿐만 아니라 자가이식이나 동족 이식 시 새로운 생체 조직을 효과적으로 형성하기 위한 세포 지지체(scaffold)를 포함한다. 다양한 생체 조직뿐만 아니라 새로운 생체 조직을 대체하는 방안을 연구하는 학문으로 세포나 재료가 가진 특성, 생화학적, 물리 화학적 요인 등 여러 요소를 고려해야 한다[76-78].

세포는 인간을 구성하는 구조적, 기능적 기본 단위로 각각의 조직에 따라 세포의 종류와 역할이 달라 치료 부위에 따라 다른 세포를 선택해야 한다. 손상 부위에 새로운 조직을 대체하기 위해서는 손상 부위에 이식하기 위한 세포뿐만 아니라 효과적인 세포 이식을 위해 세포를 증식 또는 생존시킬 수 있는 세포 지지체도 중요한 기술 중 하나이다[79].

조직공학에서 사용되는 세포 지지체는 인체와 같은 민감하고 생물학적인 복합체에 이용되기 때문에 생체적합성 및 생분해성이 필수이며, 최소한의 면역 및 염증 반응, 높은 기계적 성질 등이 요구된다. 세포 지지체는 조직에 따라 하이드로겔, 스펀지, 비드, 필름 등의 요구조건에 맞는 지지체를 사용해야 한다. 연골이나 피부와 같은 유연한 조직에는 하이드로겔을 주로 사용하며, 뼈와 같은 경조직에는 경화시킨 스펀지 형태의 지지체를 사용한다. 이외에 피부, 각막과 같은 조직에는 필름 형태의 지지체를 사용하기도 한다[80,81]. 지지체는 주로 3차원 구조를 갖고, 다공성을 가지고 있다. 다공성 구조는 시간이 지나면 완전한 분해가 가능하며, 구조적 특성상 세포가 성장하기 위해 필요한 물질의 수송이 용이하다[82,83].

생체적합성 및 생분해성을 가져야 하는 지지체는 주로 고분자를 사용하여 제조되며, 고분자는 세부적으로 합성 고분자와 천연고분자로 분류할 수 있다. 천연고분

자의 경우 생체적합성이 우수하지만, 가공성이 떨어지고, 기계적 물성이 낮다는 단점을 가진다. 지지체로 사용되는 천연고분자의 종류는 단백질 계, 다당류 계가 주로 사용된다. 합성 고분자는 천연고분자보다 물리 화학적 특성을 조절하기가 쉽고, 가공성이 뛰어나며 동일한 물성으로 다량의 고분자를 생산할 수 있지만, 체내에서 분해하는 시간이 길다는 단점을 가진다[82].

1.2 지지체의 재료

지지체로 사용하기 위한 생체 재료는 생체적합성 및 생분해성을 가져야 하며, 안정적인 기계적 강도가 요구된다. 지지체의 제작을 용이하게 하기 위하여 고분자가 사용되며 자연으로부터 얻는 천연고분자와 합성으로부터 얻는 합성 고분자로 구분된다.

가. 천연고분자

천연고분자는 자연물, 동물, 인체에서 유래한 고분자로서 생체적합성이 우수하지만, 기계적 강도가 낮아 뼈나 연골 같은 높은 하중을 견뎌야 하는 경조직에서 활용이 어렵고, 가공성이 낮아 다양한 형태와 특성을 갖는 지지체 개발이 어렵다고 알려져 있다. 천연고분자는 크게 단백질계열과 다당류계열로 나뉜다. Figure 3-1에 대표적인 천연고분자인 dextran과 hyaluronic acid의 화학적 구조를 나타내었다. 단백질계열의 고분자는 조직이나 장기의 주성분으로 실크, 콜라겐, 젤라틴, 피브리노겐등이 있으며, 이러한 고분자는 면역 반응이 거의 일어나지 않고, 뛰어난 세포 접착성과 성장인자와의 높은 결합력 등의 특징을 갖는다. 다당류계열의 고분자는 자연상에서 다양한 형태로 분포되어 있으며, 일반적으로 글리코시드 결합에 의해 10개 이상의 단당류로 이루어져 있다. 다당류계열의 고분자는 생물학적 분자 구조가 유사하며, 셀룰로오스, 덱스트란, 플루란, 히알루로산, 키토산 등이 있다[84].

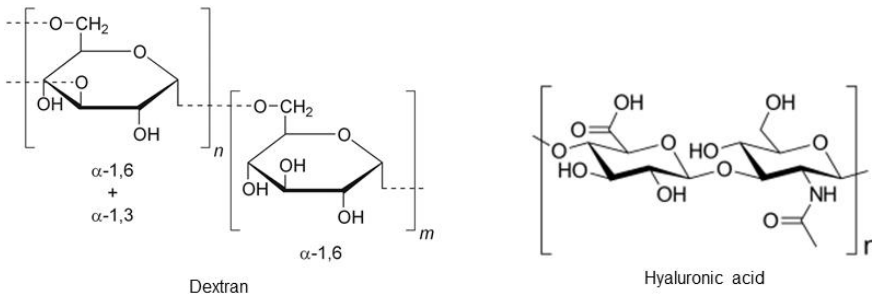


Figure 3-1. Chemical structure of natural polymer (Dextran, Hyaluronic acid).

나. 합성고분자

합성고분자는 가공성이 뛰어나고, 천연고분자에 비해 물성 조절이 쉽다는 장점을 갖는다. 조직공학에서 합성고분자는 체내에서의 분해 여부에 따라 생분해성 고분자와 비 생분해성 고분자로 분류된다. Table 3-1에 조직과 장기에 적용되는 생체 재료를 분류하였다. 비 생분해성 고분자란 생체 내에서 분해되어 무해 하게 흡수 또는 배출되며, 배출되는 고분자는 생체와의 반응을 최소화하여 이식 이후에도 최초의 물성이 유지된다. 비 생분해성 합성 고분자는 폴리비닐알코올(poly(vinyl alcohol), PVA), 폴리하이드록시에틸메타크릴레이트(poly(hydroxyethyl methacrylate), PHEMA), 폴리-N-이소프로필아크릴아마이드(poly(N-isopropylacryl amide, PNIPAm) 등이 있다. 생분해성 고분자란 생체 내 또는 자연환경에서 분해되는 고분자로 주로 의료용으로 사용된다. 생분해성 합성 고분자는 폴리글리콜라이드(poly(glycolide), PGA), 폴리락타이드(poly(lactide), PLA), 폴리카프로락톤(Polycaprolactone, PCL) 등이 있다. Figure 3-2에 대표적인 합성고분자인 PVA와 PCL의 화학적 구조를 나타내었다. 이러한 생분해성 합성 고분자는 생체적합성이 높아 다양한 분야에서 널리 사용되고 있다[85,86].

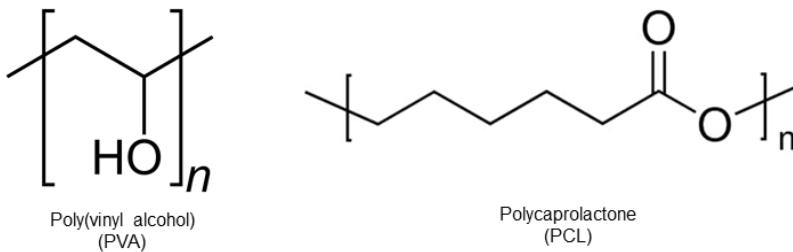


Figure 3-2. Chemical structure of synthetic polymer (PVA, PCL).

Table 3-1. Application of biomaterials to tissue and organ.

Tissue/Organ	Biomaterials
Bone	- PLA - Fibrin/PLGA - Alginate - Fibrin - Gelatin
Cardiovascular (Heart and vessel)	- PGA/PLA/Collagen - Collagen - Alginate
Cartilage	- PGA - Collagen
Muscle	- Collagen
Periodontal Tissue	- Collagen - PLGA
Skin	- Chitosan
Tendon	- Collagen/PGA
Stomach	- Silk/collagen - PGA/HA

1.3 Hydrogel

하이드로겔(Hydrogel)은 친수성 고분자가 공유결합 또는 수소결합, 이온결합, 반데르발스 상호작용 등에 의해 가교되어 3차원 네트워크 구조를 가진다[87-89]. 하이드로겔의 네트워크는 $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, $-CONH_2$, $-CONH$, SO_3H 와 같은 친수성 그룹이 존재하지만[90,91], 물에 용해되지 않으며 액체와 고체의 중간 성질을 가지고 있다[87,92,93]. 이러한 특성으로 일반적인 하이드로겔은 원래의 형태를 유지하면서 다량의 수분을 흡수할 수 있고, 유연한 강도를 가지고 있다[92,94].

하이드로겔이 생체적합성을 갖는 중요한 특징은 다음과 같다. 첫째, 일반적으로 하이드로겔은 구조적으로 세포외기질(Extracellular matrix, ECM) 과 유사하고, 많은 수분을 함유할 수 있어 생리학적 유체와 조직 주위에 대해 낮은 표면 장력을 가져 단백질의 흡수나 세포의 정착을 최소화할 수 있다. 둘째, 하이드로겔은 유연하고, 고무와 같은 탄성을 가질 수 있어 조직 내에 사용 시 주변 조직과의 마찰을 감소시킬 수 있고, 주변의 살아있는 조직에 손상을 주지 않아 염증, 혈전을 최소화한다[95-97]. 마지막으로, 가교 정도에 따라 하이드로겔의 다공성을 조절할 수 있으며, 다공성 구조를 갖는 하이드로겔은 분자들의 통과 및 방출을 할 수 있어 약물 전달 분야에서 방출 속도 조절을 가능케 한다.

생체적합성이 뛰어난 하이드로겔은 상처 치료용 드레싱, 콘택트렌즈, 인공 장기, 약물 전달 시스템 등 다양한 의학적, 산업적 응용에 이르기까지 폭넓은 분야에서 각광 받고 있다. 하지만, 일반적인 하이드로겔은 과량의 수분을 포함하고 있어 기계적 강도가 낮아 사용이 제한되고 있다[88,91,98-100].

하이드로겔의 고유한 특성은 하이드로겔 네트워크를 구성하는 고분자의 성질에 따라 달라진다. 고분자가 특정 자극(온도, pH, 빛)에 반응하여 물리 화학적 거동이 변화하면 물리적 성질이 변할 수 있는 하이드로겔이 형성된다. 하이드로겔의 형성 및 특성에 영향을 주는 요소는 고분자가 종류 외에도 가교 방식에 따라 특성이 달라진다.

화학적 겔은 고분자 사슬 사이에 공유결합이 존재하며, 가교제를 이용하여 단량체 혹은 두 개 이상의 작용기를 갖는 고분자의 가교 반응을 통해 하이드로겔을 형성한다. 화학적 겔의 경우 물리적으로 결합된 하이드로겔에 비해 고분자 사슬 사이의 공유결합에 의해 가교 되므로 고온 또는 높은 응력과 같은 외부 환경의 변화

에도 하이드로겔의 구조가 안정적이다[101,102]. 하지만 한번 가교가 이루어지면 변형이 어렵고, 제조 과정 시 가교제, 개시제, 촉매를 사용하기 때문에 생체 독성을 유발할 수 있다. 물리적 가교에 의해 형성되는 겔은 가역적인 비공유 결합(수소결합, 정전기적 상호작용 등)으로 형성되며, 무질서한 3차원 구조로 외부 환경에 의해 모양을 쉽게 바꿀 수 있다. 화학적 겔과 달리 유기 용매나 반응성이 높은 물질을 사용하지 않아 생체 재료로서의 관심을 받고 있다. Table 3-2에 하이드로겔의 구조에 따른 하이드로겔의 특성에 대해 나타내었다.

하이드로겔을 구성하는 고분자들로는 천연고분자인 콜라겐, 젤라틴, 히알루로닉산, 키토산 등을 생체 유래 물질들을 사용하며, 합성고분자로는 Poly(vinyl alcohol) (PVA), 2-hydroxyethyl methacrylate(HEMA), poly(ethylene glycol) (PEG) 등을 사용하여 연구되고 있다[103-109].

Table 3-2. Relationships between hydrogel structures and effect on the properties of hydrogel.

Structural Parameter	Effect on the properties of hydrogel
Cross-link density	Swelling property
	Elasticity modulus and strength
	Permeability
Hydro-philicity	Swelling property
Hydrophobic monomer	Swelling property
	Mechanical property
Charge	Swelling property
	Charged solute binding capacity

1.4 Interpenetrating polymer network(IPN)

수용성 고분자로 이루어진 일반적인 하이드로겔은 대체로 기계적 강도가 약해 적용 범위가 제한되어왔다. 최근 이러한 단점을 보완하기 위하여 하이드로겔의 기계적 강도를 향상 시키면서, 합성 방법이 간단한 상호 침투 고분자 망상구조(interpenetration polymer network, IPN)가 이에 대한 대안으로 주목받고 있다[110-113]. IPN 이란 고분자 블렌드의 일종으로 두 가지 이상의 독립적인 고분자가 물리적으로 혼합되어 있지만, 고분자 네트워크 간의 화학 결합은 존재하지 않아 고분자 블렌드라고도 할 수 있다[114-116].

IPN 구조를 갖는 하이드로겔을 설계하기 위해서 초기에는 2개의 고분자를 공유 결합하여 가교 네트워크를 형성하였으나, 변형이 생기면 공유결합이 영구적으로 끊어져 반복적 사용이 불가능한 단점이 있다. IPN 하이드로겔은 물리적으로 얽혀 있는 복합물이지만 높은 가교 밀도를 가지고 있어 인장강도뿐만 아니라 기계적 강도가 뛰어나 일반적인 하이드로겔의 물성을 보완할 수 있다[110,117]. 특히 SIPN(Semi-inter penetrating polymer network)은 단순히 2개 이상의 단량체 또는 고분자가 혼합되어 있을 때, 완전히 가교를 이루지 않은 경우를 말한다[107,118-120]. 이러한 구조는 각각의 단량체 또는 고분자의 주요 장점을 유지하여 다기능을 가질 수 있으며, 이 구성 요소들을 조절하여 물리적 특성을 조절할 수 있다는 장점을 갖는다[119,121,122]. Figure 3-3에 IPN 하이드로겔의 구조에 대해 나타내었다. 최근에는 고분자 사슬 내부에서 수소 결합 또는 이온결합 같은 물리적 결합을 통한 IPN 구조의 하이드로겔에 대한 연구가 소개되었다[123-126].

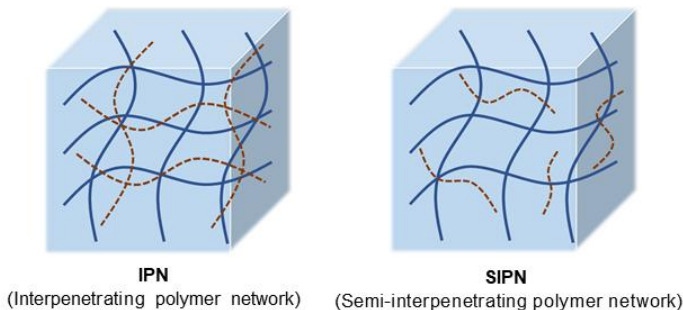


Figure 3-3. Structure of inter penetrating polymer networks(IPN).

1.5 Hydrogel의 조직공학적 응용

하이드로겔은 생체 조직과 유사한 물성을 가지고 있어 조직 공학 분야에서 유용한 생체 재료로 응용되고 있다. 다음은 약물전달체, 바이오 접착제 및 액츄에이터로 사용되는 하이드로겔의 활용에 대해 설명하였다.

가. 약물 전달체

약물 전달 시스템(Drug delivery system)이란 약물 투여시 일어나는 부작용을 최소화하고, 치료 효과를 극대화 시키기 위한 약물 제형 및 전달체 개발 기술을 의미한다. 일반적인 약물 전달 시스템은 생체 내 약물 투여 시 초기 방출에 의한 부작용이나 효소작용에 의한 빠른 분해로 약물효과의 지속성이 중요한 요소이다. 기존에는 약물 자체의 화학적 개질을 통해 약물의 용해도, 체내 지속 시간을 조절하는 연구가 대부분이었으나 약물 효과의 저하나 독성 문제 같은 부작용이 보고되고 있다[127]. 하이드로겔을 이용한 약물 전달 시스템은 하이드로겔의 다공성 구조 및 강도 조절이 가능하여 약물 방출 시간을 조절할 수 있고, 생체 친화적 고분자를 기반으로 할 수 있어 안정성이 뛰어난 장점을 갖는다[128]. 또한 항암제와 같은 체내 흡수가 어려운 난용성 약물을 친수성 고분자와 소수성 고분자의 특성을 동시에 갖는 양친매성 블록 공중합체를 사용하여 하이드로겔을 형성한다. 대표적인 양친매성 블록 공중합체로는 폴리에틸렌옥사이드(polyethylene oxide, PEO)와 폴리프로필렌옥사이드(polypropylene oxide, PPO)로 이루어진 PEO-PPO-PEO 또는 폴리에틸렌글라이콜(polyethylene glycol, PEG)와 폴리락티에시드(poly L-lactic acid, PLLA)로 이루어진 PEG-PLLA-PEG 등이 있다[129, 130].

나. 바이오 접착제

생체 조직의 유실 및 상처를 치료를 위해 사용하는 생체 접착제는 생체 적합성이 충족되어야 하며 체액, 혈액 등과 같은 수중환경에서도 접착력 및 강도를 유지해야 한다. 하이드로겔은 바이오 접착제 분야에서 뛰어난 생체적합성으로 각광 받고 있다. 주로 고분자 사슬 특성을 이용하거나 고분자 사슬에 특정 작용기를 개질하여 하이드로겔의 접착성을 향상시킨다. 특히 홍합의

카테콜 특성을 이용하여 하이드로겔을 가교 시켜 접착성을 갖는 하이드로겔이 개발되었다[131]. 이외에도 히알루론산과 같은 천연고분자에 생체모사형 작용기를 접합시켜 세포의 활성을 향상 시키는 하이드로겔이 개발되었다[131].

다. 액츄에이터

최근 다양한 형태의 소프트 로봇에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 소프트 로봇틱스는 일반적인 강체 기반의 로봇이 아닌 유연하고 부드러운 소재를 활용하는 로봇에 대한 연구로, 의료 및 재활, 웨어러블 장치 등에 적용이 가능하다. 소프트 로봇에 대한 관심과 수요가 증가하면서 하이드로겔기반의 액츄에이터에 대한 연구도 큰 관심을 받고 있다[132-134]. 액츄에이터란 외부로부터 가해진 물리적, 화학적, 또는 열 에너지를 제어 가능한 기계적 운동으로 변환시키는 재료를 의미한다. 액츄에이터는 빠른 응답 속도, 큰 작동 변위 및 구동력, 높은 변형 효율 등이 요구된다. 따라서 살아있는 세포와 같이 유연하면서도 충분한 강도를 갖는 생체 재료인 하이드로겔에 움직임을 발생시킬 수 있는 여러 외부 자극 요인(빛, 자기장, 전기장, 열, pH)이 필요하다. 일반적인 하이드로겔 액츄에이터는 하이드로겔의 불규칙적인 가교 특성과 물의 흡수와 방출로 구동되기 때문에 근육과 같은 빠르고 방향성 있는 움직임을 구현하기 어렵다. 이런 단점을 보완하기 위하여 하이드로겔에 나노 재료를 첨가하여 방향성을 부여하는 연구가 진행중이다[135]. Table 3-3에 하이드로겔 액츄에이터를 구성할 수 있는 나노 재료를 나타냈고, 나노 재료의 종류는 금 나노입자, 산화철 나노입자, 폴리도파민 나노입자, 탄소 나노 튜브 등이 있다. 금 나노입자와 산화철 나노입자는 표면 플라즈몬 공명에 의한 광열 현상에 의해 특정 파장대의 빛을 조사하면 열을 발생시킨다[136,137]. 이러한 특성은 하이드로겔의 변형을 구동력으로 활용한다[138]. Poly(N-siopropylacrylamide) (PNIPAAm)은 대표적인 열 감응성 고분자로 PNIPAAm에 티타늄 나노시트를 도입하고, 광열 현상을 유발할 수 있는 금 나노 파티클을 첨가하여 빛을 조사해 지렁이의 연동 운동과 유사한 움직임을 구현한 액츄에이터가 개발되었다(Figure 3-4)[139]. 하이드로겔 액츄에이터는 인공 근육 및 장기, 웨어러블 헬스케어, 소프트 로봇 등 의료 산업 등 응용범위가 다양하다.

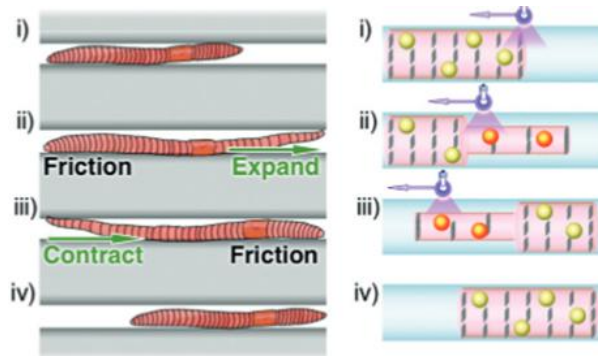


Figure 3-4. Schematic representation of hydrogel actuator that mimics an earthworm[139].

Table 3-3. Materials of hydrogel actuator .

Materials	Characteristics
Gold nanoparticle (AuNP)	광열 현상 유발
Iron oxide nanoparticle (IONP)	광열 현상 유발
Carbon nanotube (CNT)	근적외선 파장의 빛을 흡수 높은 전기전도성
polydopamine nanoparticle (PDA-NP)	광열 현상 유발
Graphene oxide (GO)	전기전도성
Titanium nanosheet(TiNS)	높은 표면 전하 밀도에 의한 강한 정전 기계 반발력

1.6 본 연구의 목적

수용성 고분자로 이루어진 일반적인 하이드로겔은 구조적으로 세포외기질 (Extracellular matrix, ECM)과 유사하고, 유연성 및 고무와 같은 탄성을 가질 수 있어 조직 내에 사용 시 주변 조직과의 마찰을 감소시킬 수 있다. 이런 특성 때문에 하이드로겔은 상처 치료용 드레싱, 콘택트렌즈, 인공 장기, 약물 전달 시스템 등 다양한 의학적, 산업적 응용에 이르기까지 다양한 분야에서 각광 받고 있다. 하지만, 일반적인 하이드로겔은 과량의 수분을 포함하고 있어 기계적 강도가 낮아 사용이 제한되고 있다. 이러한 단점을 보완하기 위해 기계적 강도를 향상시키면서, 합성 방법이 간단한 상호 침투 고분자 망상구조(interpenetration polymer network, IPN)가 대안으로 주목받고 있다. 다양한 생체 재료로 사용되는 하이드로겔은 바이오 접착제 분야로도 응용되는데 고분자 특성 또는 고분자 사슬에 특정 작용기를 개질하여 하이드로겔의 접착성을 향상시키는 연구가 진행중이며, 특히 홍합의 카테콜 특성을 이용하여 하이드로겔을 가교 시켜 접착성을 갖는 하이드로겔이 개발되었다.

본 연구에서는 일반적인 하이드로겔의 낮은 물리적 강도를 개선하고 접착성을 부여하기 위해 친수성 고분자인 polyacrylamide와 DOPA의 카테콜을 생체모방한 생체모방형 공중합체(PDM, PDMC, PDH)를 사용하여 IPN 구조를 갖는 하이드로겔을 제조하였고, 접착 특성을 갖는 IPN 하이드로겔의 물성 및 생체적합성 등을 조사하였다.

제2절 실험

2.1 시약 및 기기

가. 시 약

본 연구에서 사용된 시약의 다음과 같다.

Polyacrylamide, bis-acrylamide, 개시제로 사용된 ammonium persulfate(APS), 촉매로 사용된 tetramethylethylenediamine(TEMED)는 Sigma Aldrich 사의 제품을 정제 없이 사용하였다.

나. 기 기

본 연구에서 실험과 분석을 위해 사용된 기기는 다음과 같다.

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR spectrometer) : Nicolet6700 (Thermo, Inc. USA)

UTM (Universal Testing Machine) : GS-10kNX (Shimadzu. Co. Japan)

Contact Angle Analyzer : Phoenix-MT(M) (SEO. Co. Korea)

Thermogravimetric Analyzer (TGA) : TGA2050 (TA. Co. USA)

Scanning Electron Microscope (SEM) : S-4800 (HITACHI. Co. Japan)

Centrifuge : Centrifuge 5910R (Eppendorf, Germany)

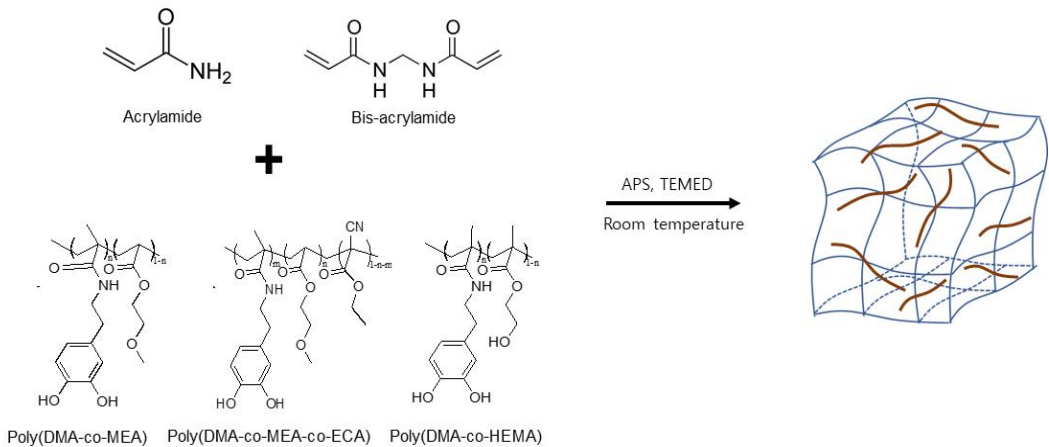
Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) : Micro-plate reader (VersaMax, USA)

Confocal laser scanning microscope : Leica TCS STED CW (Leica Camera AG, Germany)

2.2 Hydrogel의 제조

본 연구에서는 생체모방 공중합체의 IPN을 유도하기 위하여, 주 사슬이 되는 고분자로 polyacrylamide(PAAm)를 사용하였고, bis-acrylamide로 가교 정도를 조절하였다. 또한 카테콜과의 IPN을 유도하기 위하여 제1장에서 합성한 생체모방 공중합체 PDM, PDMC, PDH를 사용하였다. 생체모방 공중합체와 polyacrylamide(PAAm) IPN 하이드로겔은 PAAm/PDM/PDMC, PAAm/PDM/PDH, PAAm/PDMC/PDH로 제조 방법은 다음과 같다(Scheme 5).

PAAm 40 w/v%, bis-acrylamide 2 w/v%로 3차 증류수에 각각 녹여 준비한다. 생체모방 공중합체 PDM, PDMC, PDH는 10 w/v%로 하여 PAAm과 bis-acrylamide 용액에 일정한 부피비로 vortexing mixer를 이용해 충분히 블렌드 하고, 개시제인 ammonium persulfate(APS)와 tetramethylethylenediamine(TEMED)를 촉매로 하여 몰드에서 캐스팅하고 상온에서 반응시킨다.



Scheme 5. Preparation of IPN hydrogel based on DOPA derivatives copolymers

2.3 Hydrogel의 일반적 성질

홍합 접착 단백질인 DOPA의 카테콜 작용기를 생체모방한 DOPA 유도체에 3가지 아크릴 유도체인 methacrylate, 2-ethylcyanoacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate acryl 작용기가 공중합되어있는 PDM, PDMC, PDH를 PAAm과 IPN을 유도하여 제조된 하이드로겔에 대하여 FT-IR로 관능기의 변화를 확인하였다.

가. Hydrogel의 함수율

IPN 하이드로겔의 팽윤 거동 및 가교 특성을 조사하기 위해 평형 함수율 (Equilibrium moisture contents, EMC)을 중량 측정법으로 조사했다. 하이드로겔은 37°C의 PBS buffer (pH 7.4)에서 24 시간 침지시키고, 수화된 하이드로겔의 표면 물기를 가볍게 닦아 무게(W_s)를 측정한다. 수화된 하이드로겔을 60°C 오븐에서 24시간 건조 시킨 후, 건조된 하이드로겔 무게(W_d)를 측정하여 평형 함수율을 구하였다. 평형 함수율 측정식은 다음과 같다.

$$EMC(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_s} \times 100$$

EMC : 평형 함수율 (%)

W_s : 수화된 hydrogel 무게 (g)

W_d : 건조된 hydrogel 무게 (g)

나. Hydrogel의 겔 분율(Gel fraction)

하이드로겔 네트워크에서 가교 정도를 측정하기 위하여 겔 분율을 측정하였다. 겔 분율 측정을 위하여 하이드로겔을 60°C 오븐에서 24시간 건조시켜 무게(W_i)를 측정하고, 하이드로겔 제조 시 미반응된 고분자를 제거하기 위하여 37°C의 PBS buffer(pH 7.4)에 24 시간 이상 충분히 침지시켜준다. 다시 60°C 진공 오븐에서 24 시간 건조하여 무게(W_d)를 측정하여 겔 분율을 구하였다. 겔 분율 계산은 다음과 같다.

$$Gel\ fraction(\%) = \frac{W_i}{W_d} \times 100$$

W_i : 초기 hydrogel 무게

W_d : 건조후 hydrogel 무게

다. Hydrogel의 인장강도

하이드로겔의 기계적 강도를 측정하기 위해 만능시험기(Universal testing machine, UTM)으로 신율을 측정하였다. 하이드로겔 시편 크기는 두께 2 mm, 폭 10 mm, 길이 50 mm이며, 표점 거리는 20 mm이다. 응력과 변형률에 대한 계산은 식 (1), 식 (2)와 같다.

$$Stress(\sigma, MPa) = \frac{Force(N)}{Area(mm^2)} \quad \dots \quad (1)$$

$$Strain(\epsilon, \%) = \frac{\Delta L}{L_0} \times 100\% \quad \dots \quad (2)$$

라. Hydrogel의 열적 특성

중량 분석기인 TGA를 이용하여 하이드로겔의 열분해 거동과 열 안정성을 조사하였다. 하이드로겔의 열적 특성을 평가하기 위하여 하이드로겔은 60°C 진공 오븐에서 24 시간 충분히 건조하여 준비하였다. TGA 분석은 질소 분위기 하에서 진행하였고, 상온 25°C 부터 450°C 까지 10°C/min의 승온 속도로 측정하였다.

마. Hydrogel의 접촉각

하이드로겔의 친수성을 결정하는 요소 중 하나인 젖음성을 측정하기 위하여 SEO사의 접촉각 측정기(phoenix-MT(M))를 사용하여 drop sessile 방법으로 접촉각을 측정하였다. 상온에서 24 시간 건조 시킨 하이드로겔 샘플에 평균 10 μL 이하의 초순수 액적을 같은 높이에서 떨어뜨려 최소 5회 이상 반복 측정하였고 단시간 내에 측정하여 하이드로겔 표면 건조를 최소화하였다.

2.4 Hydrogel의 접착 특성평가

혼합접착 단백질인 DOPA의 카테콜 작용기를 생체모방한 DOPA 유도체에 3가지 아크릴 유도체인 methacrylate, 2-ethylcyanoacrylate, 2-hydroxyethyl methacrylate acryl 작용기가 공중합 되어있는 PDM, PDMC, PDH를 PAAm과 일정한 부피 비율로 블렌드하여 IPN을 유도하였다. 유도된 IPN인 PAAm/PDM/PDMC, PAAm/PDM/PDH, PAAm/PDMC/PDH 하이드로겔의 접착 특성을 확인하기 위해 UTM으로 lap-shear strength[MPa]를 평가하였다. 하이드로겔 시편은 두께 5 mm, 폭 10 mm, 길이 10 mm로 준비하였고, 하이드로겔을 다양한 substrate에 부착하여 60°C 진공 오븐에서 6 시간 건조 시켰다. 실험에 사용된 substrate는 epoxy, glass, titanium, 봉합실험용 porcine skin을 사용하였고, 다양한 표면에서의 접착력을 측정하였다.

하이드로겔의 수중에서의 접착 특성 평가는 하이드로겔의 두께 5 mm, 폭 10 mm, 길이 10 mm로 준비하여 epoxy에 접착시킨 뒤 37°C의 수조에서 180 분 방치 후 UTM을 사용하여 인장 속도 10 mm/min 로 인장강도를 측정하였다.

2.5 Hydrogel의 morphology

PAAm과 일정한 부피 비율로 블렌드하여 유도된 IPN 하이드로겔인 PAAm/PDM/PDMC, PAAm/PDM/PDH, PAAm/PDMC/PDH 하이드로겔의 모폴로지는 분절된 시편의 단면을 Scanning Electron Microscopy(SEM)을 사용하여 관찰하였다. 하이드로겔의 모폴로지 측정을 위한 샘플 제조 방법은 다음과 같다. 하이드로겔을 12 시간 PBS buffer(pH 7.4)에 수화시킨 뒤 24 시간 60°C 진공 오븐에서 건조하고, 이를 액화 질소로 급냉하여 분절시켜 파단면을 얻었다. 파단면을 백금 코팅하여 파단면의 구조를 다양한 배율로 관찰하였다,

2.6 Hydrogel의 생체적합성 평가

가. CCK-8 assay

하이드로겔의 생체적합성 평가를 위해 CCK-8 assay로 분석하였다. 하이드로겔의 용출액을 이용하여 평가를 진행하였으며, 대조군은 Positive control(PC)(medium + PBS buffer solution)과 Negative control(NC)(15% DMSO)로 하여 비교 실험하였다. 생체적합성 평가를 위해 mouse fibroblast 일종인 NIH-3T3 cell line 세포를 2.0×10^3 cells/well로 37°C, 5% CO₂ 배양기 안에서 72 시간 동안 배양한다. 하이드로겔 용출액은 70% 에탄올에 넣어 3 시간 UV(254 nm) 하에서 멸균하였고, DPBS 용액으로 2회, DMEM 배지로 3 일 동안 헹궈주고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24 시간 방치하여 준비한다. 하이드로겔 용출액을 NIH-3T3 세포가 들어있는 96 well에 넣어 37°C, 5% CO₂ 배양기 안에서 72 시간 동안 배양한다. 세포의 생존율을 평가하기 위하여 CCK-8 시약을 첨가하여 3 시간 incubation 한 뒤, 흡광도를 Enzyme Linked Immunosorbent Assay(ELISA)를 이용하여 측정하였다.

나. Live/Dead assay

하이드로겔의 세포 증식 및 생존을 평가하기 위하여 Live/Dead assay(Invitrogen, USA)를 이용하여 관찰하였다. Calcein-acetoxymethyl(녹색), Ethyidium homodimer(적색)을 균일하게 혼합하고, 샘플에 처리하여 30 분 동안 incubation 하여준다. Confocal laser scanning microscope (Leica TCS STED CW, Leica Camera AG, Germany)를 이용하여 세포의 생존과 사멸을 관찰하였다.

제3절 결과 및 고찰

3.1 Hydrogel의 제조

일반적인 하이드로겔은 친수성 고분자로 이루어져 있어 다량의 수분을 흡수할 수 있고, 세포외기질(ECM)과 유사하여 생체 재료로 관심을 받고 있다. 하지만 대부분의 하이드로겔은 기계적 강도가 약해 적용 범위가 제한된다. 이에 대한 대안으로 상호침투 고분자 망상구조(IPN)가 주목받고 있다. 본 연구에서는 DOPA의 카테콜을 포함하고, 접착 특성을 갖는 아크릴 작용기가 공중합된 생체모방 공중합체 PDM, PDMC, PDH를 친수성 고분자인 polyacrylamide(PAAm)와 IPN을 유도하여 기계적 물성을 향상시키고, 동시에 접착 특성을 갖는 하이드로겔을 제조하고자 하였다. PDM, PDMC, PDH는 10 w/v%로 하여 PAAm, bis-acrylamide 용액에 일정한 부피비로 용액 블렌드하고, ammonium persulfate(APS), tetramethylethylenediamine(TEMED)를 각각 가교제와 촉매로 사용하여 상온에서 반응시켜 3종류(PAAm/PDM/PDMC, PAAm/PDM/PDH, PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔)의 IPN hydrogel을 제조하였다. 그 결과 끈적하고 투명한 갈색의 하이드로겔이 성공적으로 제조되었으며 제조된 하이드로겔을 Figure 3-5에 나타내었다. 이들은 접착특성과 강한 연성을 갖는 것을 확인할 수 있었다.

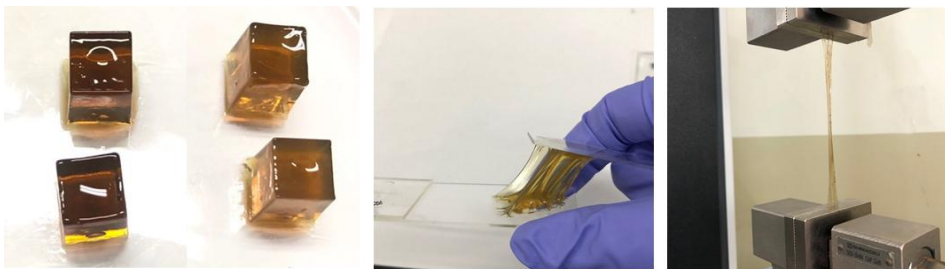


Figure 3-5. IPN hydrogel with PAAm/DOPA derivatives copolymers.

3.2 Hydrogel의 일반적 성질

IPN 에 의하여 제조된 하이드로겔의 구조와 IPN 에 의한 기본적인 관능기의 변화를 확인하기 위하여 FT-IR로 분석 하였다(Figure 3-6).

PAAm 하이드로겔은 3200 cm^{-1} 에서 넓은 O-H 신축진동 밴드가 나타났으며, 아마이드에 의한 C=O 작용기와 N-H 신축진동을 나타내는 특정밴드가 각각 1650 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} 에서 관찰되었다. 생체모방형 공중합체와 IPN 된 하이드로겔의 스펙트럼은 단일 PAAm 하이드로겔의 주요 작용기를 나타내는 IR 밴드와 유사한 파장에서 관찰되지만, 유효 작용기들의 IR 밴드 이동이 나타났으며 생체모방형 공중합체가 가지고 있는 카테콜 작용기의 C=C 피크가 1400 cm^{-1} 에서 관찰되었다. 이는 물리적으로 가교된 구조를 갖는 IPN 하이드로겔은 각각의 고분자들이 독립적으로 존재하기 때문에 PAAm 단일 하이드로겔과의 스펙트럼 합으로 나타난다.

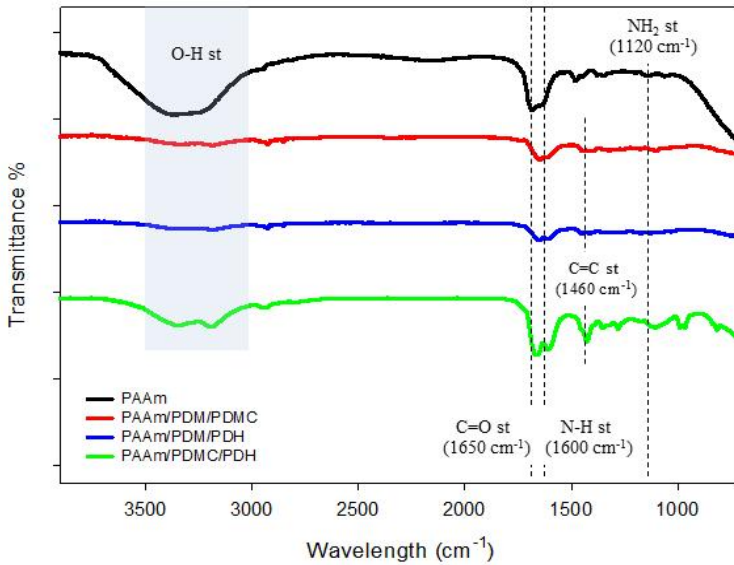


Figure 3-6. FT-IR spectra of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.

가. Hydrogel의 함수율

DOPA의 카테콜을 포함하고, 접착 특성을 갖는, 아크릴 작용기가 공중합 된 생체 모방 공중합체 PDM, PDMC, PDH를 친수성 고분자인 polyacrylamide(PAAm)와 함께 IPN을 유도하였고, 제조된 IPN 하이드로겔의 팽윤 거동 및 가교 특성을 조사하기 위해 평형 함수율(Equilibrium moisture contents, EMC)을 중량 측정법으로 조사했다.

$$EMC(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_s} \times 100$$

EMC : 평형 함수율 (%)

W_s : 수화된 하이드로겔의 무게 (g)

W_d : 건조된 하이드로겔의 무게 (g)

측정된 IPN 하이드로겔의 모든 평형 함수율은 위의 식으로 계산되었고, 이를 Figure 3-7과 Table 3-4에 나타내었다. 생체모방 공중합체와 IPN된 하이드로겔인 PAAm/PDM/PDHC IPN 하이드로겔의 경우 PAAm 단일 하이드로겔에 비해 약 2배 이상 높은 함수율을 보였다. 이는 하이드로겔의 고분자 사슬 내 친수성 작용기에 의한 함수율 증가뿐만 아니라, 고분자 사슬끼리 물리적으로 얽혀 있어 자유 부피가 증가 되어 함수율의 증가를 나타냈을 것이라 사료된다. IPN 하이드로겔 중 PAAm/PDHC/PDH IPN 하이드로겔은 단일 PAAm 하이드로겔에 비해 낮은 함수율을 보였다. 이는 생체모방형 공중합체인 PDHC, PDH가 가지고 있는 아민기, 하이드록시와 같은 친수성 작용기가 PAAm 단일 하이드로겔 네트워크와의 수소 결합을 형성할 수 있어[11, 12], 가교 밀도의 증가로 함수율이 감소하는 결과를 보인 것으로 사료된다. 이렇듯 뛰어난 함수율을 가진 하이드로겔은 약물 전달 지지체로 사용할 수 있으며 이외에도 창상 치료제, 콘택트렌즈 등으로도 활용할 수 있다.

나. Hydrogel의 겔 분율(Gel fraction)

하이드로겔 네트워크에서 IPN에 의해 형성된 가교 정도를 비교하기 위하여 겔 분율을 조사하였다.

$$Gel\ fraction(\%) = \frac{W_i}{W_d} \times 100$$

W_i : 초기 하이드로겔 무게

W_d : 건조후 하이드로겔 무게

하이드로겔의 겔 분율은 위의 식으로 계산했으며, Figure 3-8에 나타내었다. PAAm 단일 하이드로겔이 약 35%로 가장 높은 겔 분율을 나타냈고, 생체모방형 공중합체와 IPN 된 PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔은 16.55%, PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔은 15.98%, PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔은 14.91%로 PAAm 단일 하이드로겔보다 겔 분율이 2배 낮은 값을 보였다. 이는 PAAm 하이드로겔 네트워크 내에서 생체모방형 공중합체의 고분자 사슬과 물리적으로 얽혀 있는 구조를 갖기 때문에 결과적으로 낮은 겔화율을 보이는 것으로 사료된다. 또한, 겔화율이 감소하면 가교 밀도가 감소하기 때문에 팽윤도와 반비례하는 특징을 갖는다. 따라서 낮은 겔 분율은 낮은 가교 밀도를 의미하며, 가교 밀도가 낮으면 하이드로겔의 인성(toughness)이 증가하여 높은 기계적 강도를 가질 수 있다.

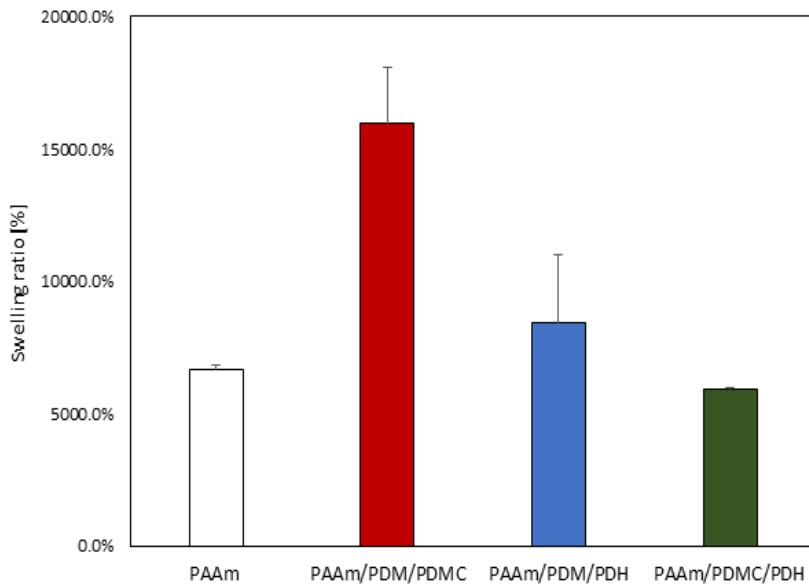


Figure 3-7. Equilibrium moisture contents of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers in PBS buffer(pH 7.4) for 24 hrs.

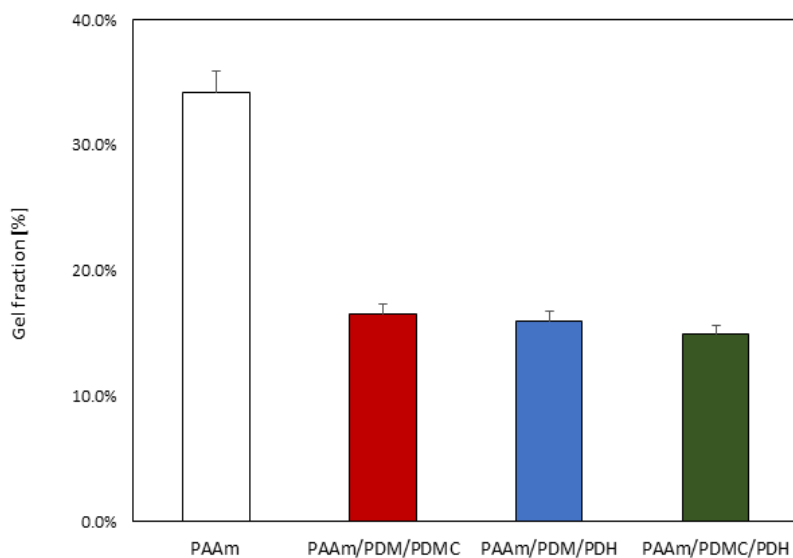


Figure 3-8. Gel fraction of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers in PBS buffer(pH 7.4) for 48 hrs.

Table 3-4. Equilibrium moisture contents and gel fraction of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.

Hydrogel	Equilibrium moisture contents [%]	Gel fraction [%]
PAAm	6652.10 %	34.23 %
PAAm/PDM/PDMC	15972.20 %	16.55 %
PAAm/PDM/PDH	8453.21 %	15.98 %
PAAm/PDMC/PDH	5933.30 %	14.91 %

다. Hydrogel의 인장강도

일반적인 하이드로겔의 낮은 기계적 강도를 보완하고자 생체모방 공중합체와 PAAm 사이에서 IPN을 유도하여 가교 정도를 조절하였고, 하이드로겔 기계적 강도를 측정하기 위해 만능시험기(Universal testing machine, UTM)으로 변형률을 측정하였다. 하이드로겔의 stress-strain curve를 Figure 3-9에 나타내었고, 변형률은 최대점의 응력과 변형 거리로부터 계산하였다.

그 결과, PAAm 하이드로겔은 높은 변형율을 보였지만, 응력은 거의 나타나지 않았다. 하지만, PAAm과 생체모방형 공중합체가 IPN되어 가교 밀도가 증가한 PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔은 50%의 변형이 일어날 때 응력이 0.4 MPa로 급격하게 증가한다. 또한 항복점을 지나면서 107%의 변형이 일어날 때 0.64 MPa로 3개의 IPN 하이드로겔 중 가장 높은 응력을 보였다. PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔은 152%의 변형이 일어날 때 응력이 0.46 MPa로 항복점을 지나고, 221%까지 변형율이 증가했을 때 파단점이 나타났다. PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔의 경우에는 63%의 변형이 일어날 때 0.29 MPa로 항복점을 지나며, 변형율 146%에서 0.53 MPa의 응력을 확인할 수 있었다. Figure 3-9에서 PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔은 파단점에서의 응력이 가장 높았고, 가장 취성이 높은 특성을 보였다. IPN 하이드로겔 중 PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔이 가장 연성이 컸고, 파단점에서의 응력 또한 0.53 MPa로 높은 응력을 갖는 것으로 나타났다. 이는 하이드로겔의 주 사슬이 되는 PAAm 하이드로겔 내부에서 생체모방 공중합체와의 물리적인 가교결합에 의해 가교 밀도가 과도하게 증가하면 하이드로겔 내부의 유연성을 감소시켜 신율의 감소를 유발하였을 것이라 판단된다.

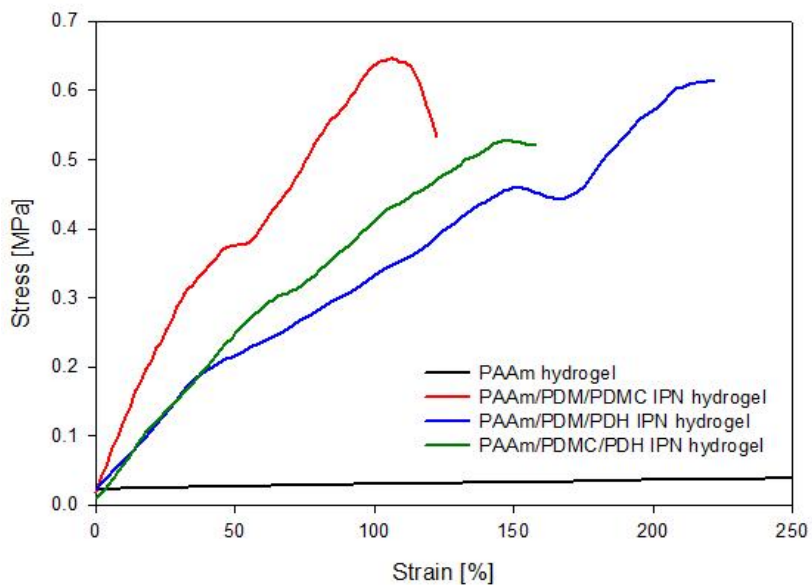


Figure 3-9. Stress-strain curves of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.

Table 3-5. Maximum stress and strain at break of the PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.

Hydrogels	Maximum Stress [MPa]	Strain at break (%)
PAAm	0.0356	249.695
PAAm/PDM/PDMC	0.6490	107.346
PAAm/PDM/PDH	0.6158	221.144
PAAm/PDMC/PDH	0.5314	146.522

라. Hydrogel의 열적 특성

Figure 3-10은 열 중량 분석기인 TGA(TGA2050)를 사용하여 IPN 하이드로겔의 열 분해 거동과 열 안정성을 조사한 결과이다. 본 실험은 질소 분위기 하에서 진행하였고, 상온 25°C 부터 450°C 까지 10°C/min의 승온 속도로 측정하였다. Table 3-6에 온도 변화에 따른 무게 변화량을 나타내었다. 150°C 이하에서 중량손실은 하이드로겔에 포함된 수분의 증발로 인한 영향으로 설명된다. 220°C 부근에서 PAAm 단일 하이드로겔 뿐 만 아니라 IPN 하이드로겔도 분해가 일어나는데 이는 아크릴아마이드가 아마이드 결합으로 가교 되어있는 하이드로겔 네트워크에서 -NH₂ 작용기가 분해되면서 이에 의한 중량 감소가 일어난 것으로 판단된다. 아마이드 결합이 끊어지면서 발생하는 열중량 감소 구간인 220°C부터 250°C까지의 TGA 분석 결과를 Figure 3-10(b)에 나타냈고, PAAm 단일 하이드로겔의 급격한 열분해와 달리, 생체모방 공중합체가 IPN된 하이드로겔은 완만하고 낮은 열분해가 나타났다. PAAm 단일 하이드로겔의 경우 분해 온도 범위가 219.78°C에서 245.06°C로 약 22%의 중량 감소가 나타났다. 반면에 PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔은 220.81°C에서 299.31°C로, PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔은 221.42°C에서 266.74°C로, PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔은 231°C에서 308.28°C로 분해가 일어나며, 약 10-15%의 중량 감소가 나타났다. 이는 수소결합과 같은 가역적인 공유결합으로 얽혀 있는 IPN 하이드로겔의 구조적 영향으로 하이드로겔 네트워크의 급격한 분해가 억제되어 PAAm 단일 하이드로겔보다 온도 분해 범위가 넓고, 중량 감소가 낮은 것으로 설명할 수 있다. 따라서 생체모방 공중합체가 IPN 된 하이드로겔이 단일 PAAm 하이드로겔보다 열 안정성이 높은 것이라 할 수 있다.

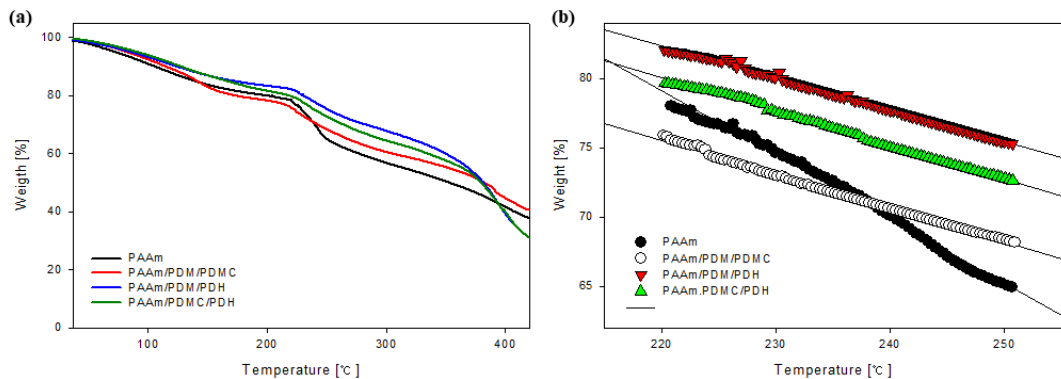


Figure 3-10. (a) TGA curves of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers, (b) TGA curves of degradation temperature ranges.

Table 3-6. TGA results of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.

Hydrogel	^a T _{onset} (°C)	^b T _{peak} (°C)	^c W (%)	^d W _{residue} (%)
PAAm	219.78	245.06	78.45	66.96
PAAm/PDM/PDMC	220.81	299.31	75.87	60.53
PAAm/PDM/PDH	221.42	266.74	82.17	72.15
PAAm/PDMC/PDH	228.99	308.28	78.45	63.56

^a The onset temperature of the decomposition

^b Thermal degradation peak temperatures of the decomposition

^c Mass loss

^d Mass remained after the decomposition process

마. Hydrogel의 접촉각

하이드로겔의 친수성을 결정하는 요소 중 하나인 젖음성을 측정하기 위하여 SEO사의 접촉각 측정기(phoenix-MT(M))를 사용하여 drop sessile 방법으로 접촉각을 측정하였다. 상온에서 24 시간 건조 시킨 하이드로겔에 평균 10 μL 이하의 초순수 액적을 같은 높이에서 떨어뜨려 최소 5회 이상 반복 측정하였고, 단 시간내에 측정하여 하이드로겔 표면 건조를 최소화하였다. Figure 3-11에 하이드로겔의 접촉각 측정 결과를 나타냈다. PAAm 하이드로겔의 접촉각은 37.29° 로 낮은 젖음성을 가지는 것을 확인하였다. PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔은 35.27° , PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔은 35.55° , PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔은 33.08° 의 접촉각을 확인하였다. PAAm 단일 하이드로겔의 접촉각과 비교하여 IPN 되어도 접촉각이 거의 변하지 않은 것으로 보아 IPN에 의한 자유 부피 증가에도 습윤성이 거의 변하지 않았음을 알 수 있었다. 또한, IPN 하이드로겔의 표면 친수성은 생체모방형 공중합체가 포함하고 있는 하이드록시기에 의해 표면 친수성에 영향을 주었을 것이라 해석할 수 있다.

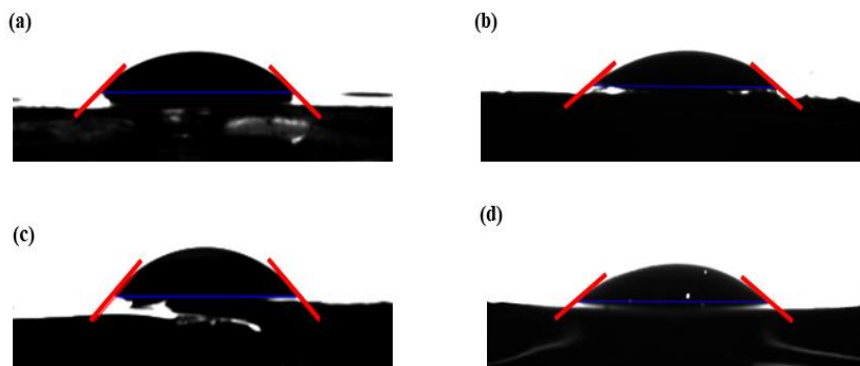


Figure 3-11. Contact angle of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers (a) PAAm hydrogel, (b) PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, (c) PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, and (d) PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel.

Table 3-7. Contact angle of PAAm hydrogel and IPN hydrogels based on PAAm with DOPA derivative copolymers.

	PAAm	PAAm/PDM/PDMC	PAAm/PDM/PDH	PAAm/PDMC/PDH
Contact angle [Deg,°]	37.29	35.27	35.55	33.08
Drop volume [μL]	6.61	6.53	7.25	5.88
Work of Adhesion [mM/m]	130.7	128.0	132.0	133.8

3.3 Hydrogel의 접착 특성

DOPA는 카테콜의 산화, 환원에 의해 다양한 표면에서의 접착이 가능하다고 알려져 있다[18-20]. DOPA의 구조를 생체모방하고 접착력을 향상시키고자 3가지의 아크릴 작용기를 포함하는 생체모방 공중합체 PDM, PDMC, PDH를 친수성 고분자 PAAm과의 IPN을 유도하여 기계적 물성이 우수하고, 접착력을 가지는 하이드로겔을 제조하였고, 이들의 접착 특성을 다양한 표면에서 조사하였다.

Figure 3-12는 다양한 표면에서 IPN된 하이드로겔의 접착이 가능함을 보여준다.

접착 특성평가 시 사용한 하이드로겔 시편은 두께 5 mm, 폭 10 mm, 길이 10 mm로 준비하였고, 이 하이드로겔을 다양한 substrate(epoxy, glass, porcine skin 및 titanium)에 부착하여 60°C 진공 오븐에서 6시간 건조 시켰다. UTM으로 인장강도를 측정하였으며 1 mm/min의 속도로 lap-shear test를 진행하였고, 샘플 당 최소 10회 이상 측정하였다.

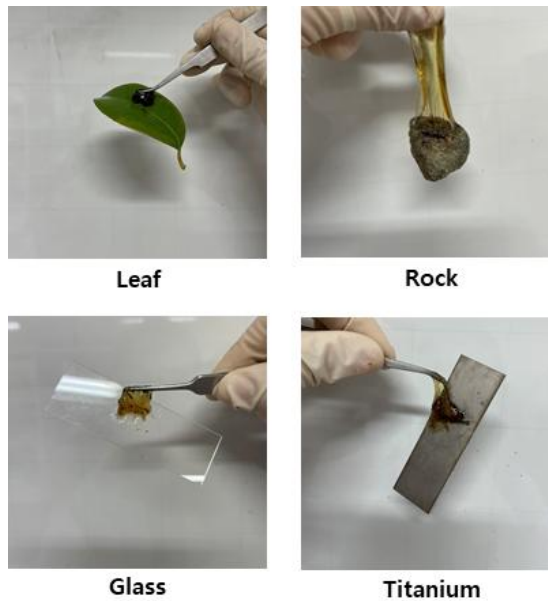


Figure 3-12. Adhesion properties of IPN hydrogel based on DOPA derivative copolymers on the various substrates.

하이드로겔의 접착 특성은 epoxy, glass, porcine skin 및 titanium에서 접착력을 측정하였다(Figure 3-13). 단일 PAAm 하이드로겔은 표면과의 접착이 잘 이루어지지 않아 epoxy에서만 접착력을 측정하였다. IPN 하이드로겔 중 상대적으로 낮은 겔분율을 나타내었던 PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔의 접착력이 모든 substrate에서 높은 값을 보였다. 이는 하이드로겔의 주 사슬을 이루고 있는 PAAm 네트워크 안에서 접착력을 가지고 있는 생체모방 공중합체들이 물리적으로 얽힘 구조를 이루고 있어 접착 특성을 잃지 않고 우수한 접착력을 보였을 것이라 사료된다. 또한, 세 가지 IPN 하이드로겔 모두 표면이 극성을 나타내는 epoxy substrate에서 뛰어난 접착 특성을 나타내었다. 이는 극성을 나타내는 epoxy 표면이 생체모방 공중합체의 카테콜과 바이덴테이트 수소 결합을 이룰 수 있어 다른 substrate보다 더 높은 접착력을 나타냈을 것이라 설명할 수 있다.

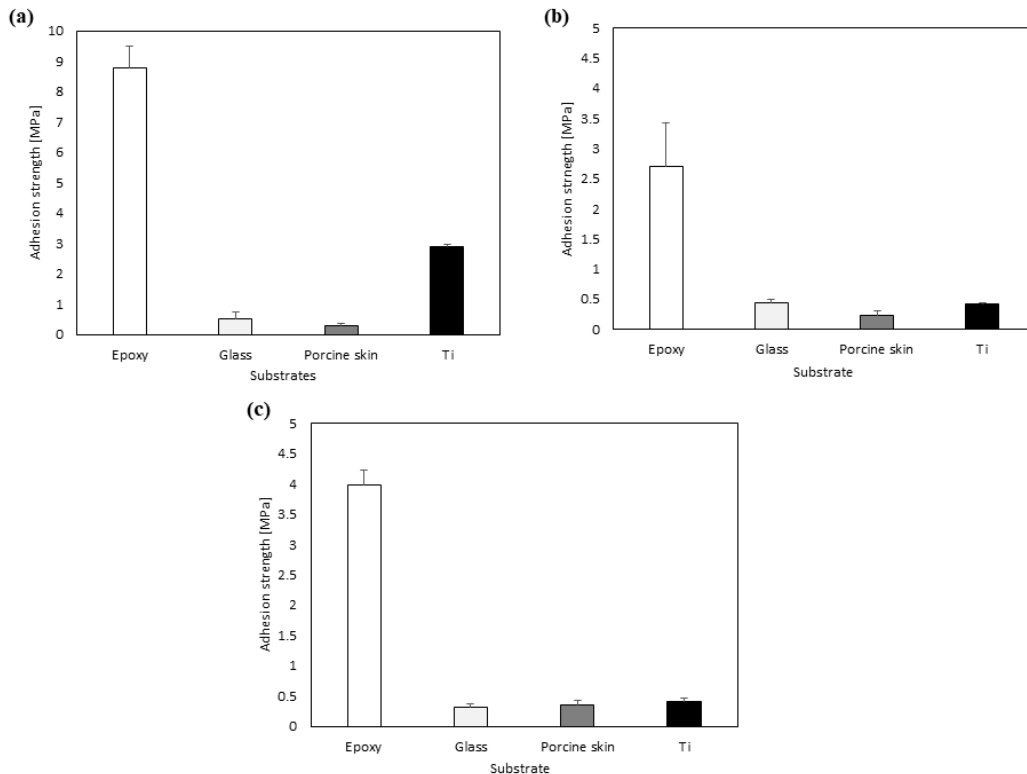


Figure 3-13. Adhesion strength of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers on various substrates (a) PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, (b) PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, and (c) PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel.

Table 3-8. Adhesion strength of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers on various substrates.

substrate	Adhesion strength [MPa]			
	PAAm	PAAm/PDM/PDMC	PAAm/PDM/PDH	PAAm/PDMC/PDH
Epoxy	0.867	8.793	2.702	3.977
Glass	–	0.531	0.437	0.306
Porcine skin	–	0.296	0.233	0.346
Titanium	–	2.904	0.418	0.403

이를 바탕으로 수중환경에서의 하이드로겔의 접착력을 확인하기 위하여 수중 접착력 평가도 같은 방법으로 진행하였으며, 대조군은 PAAm 하이드로겔로 하여 substrate는 epoxy만을 사용해 접착력을 측정하였다. 이를 Figure 3-14와 Table 3-9에 나타내었다. Air 환경에서의 PAAm 하이드로겔의 접착력은 0.867 MPa이었으나 수중환경에서는 180분 후 0.320 MPa로 63%의 급격한 접착력 감소를 보였다. PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔은 51%의 접착력 감소를 보였고, PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔은 53%, PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔은 60%의 접착력 감소가 나타났다. 이는 하이드로겔의 높은 함수율에 의한 하이드로겔의 팽윤으로 인한 접착력 감소인 것으로 사료되나 수중에서도 PAAm 하이드로겔에 비해 접착력 유지가 가능함을 확인하였다. 이는 IPN hydrogel 내부에 존재하는 생체모방 공중합체의 접착 특성 때문인 것으로 설명 할 수 있다. 특히 PDM/PDM/PDMC IPN 하이드로겔의 경우 팽윤도가 15972.20%로 높은 편임에도 불구하고 수중에서의 접착력이 우수한 것으로 보아 IPN에 의해 사슬 내부의 자유 부피가 증가하였어도 생체모방 공중합체가 갖는 접착 특성과 같은 주요 장점을 유지하면서 다기능을 갖는 것으로 판단된다.

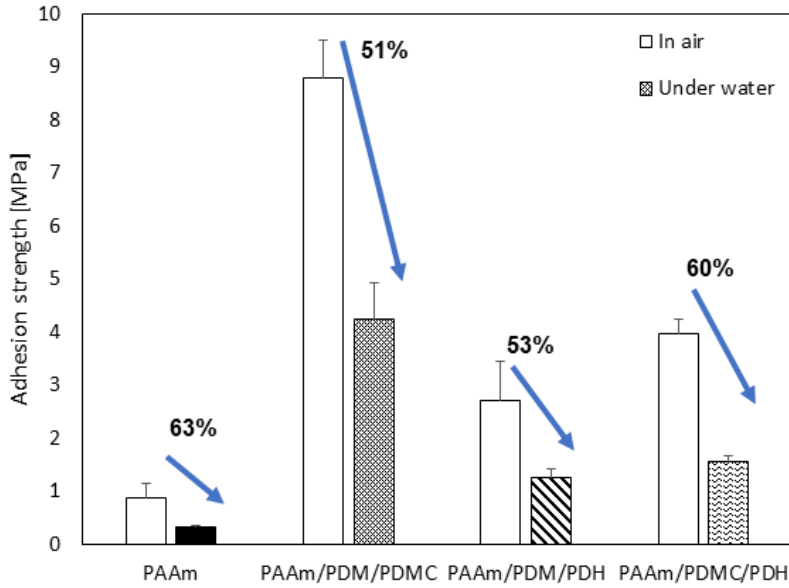


Figure 3-14. Adhesion strength of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers for different condition(Air/Water).

Table 3-9. Adhesion strength for different condition (Air/Water).

Hydrogel	Adhesion strength[MPa]	
	In air	Under-water
PAAm	0.867	0.320
PAAm/PDM/PDMC	8.793	4.233
PAAm/PDM/PDH	2.702	1.248
PAAM/PDMC/PDH	3.977	1.568

3.4 Hydrogel의 Morphology

IPN 하이드로겔의 morphology는 분절된 시편의 단면을 Scanning Electron Microscopy(SEM)을 사용하여 관찰하였다. 액체질소로 급랭한 하이드로겔의 파단면을 다양한 배율로 구조를 관찰하였고, 이를 Figure 3-15에 나타내었다. Figure 3-15(a)에 나타난 PAAm 하이드로겔의 파단면은 불규칙한 다공성 구조가 관찰되었다. PAAm에 생체모방형 공중합체가 IPN 된 하이드로겔의 경우 하이드로겔 단면의 모양에서 변형이 관찰되었다. PAAm에 PDM, PDMC가 IPN 된 하이드로겔(Figure 3-15(b))의 경우 층상 구조를 이루고 있으며, 층상구조를 나타내는 것은 높은 함유율과 관련되어있다[140]. PDH가 포함되어있는 PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔, PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔은 상대적으로 PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔보다 수소 결합을 더 많이 이룰 수 있어 PAAm 주사슬과의 가교 밀도 증가로 규칙적인 미세 다공성 구조를 나타내었다[141,142](Figure 3-15 (c),(d)).

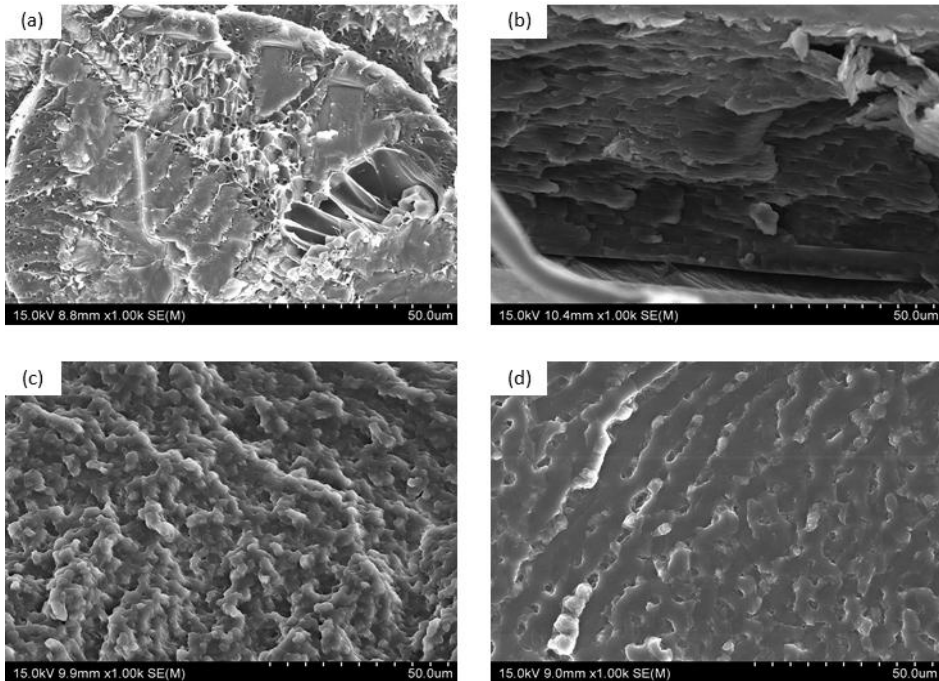


Figure 3-15. SEM images of hydrogels (a) PAAm hydrogel, (b) PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, (c) PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, and (d) PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel.

3.5 생체적합성 평가

가. CCK-8 assay

생체모방형 공중합체를 포함하는 IPN 하이드로겔의 세포 독성 및 생체적합성을 평가하기 위하여 CCK-8 assay로 분석하였고, 세포의 생존율은 다음 식으로 계산하였다.

$$Cell\ viability(\%) = \frac{A_{obs}}{B_{obs}} \times 100$$

A_{obs} : 실험군의 흡광도

B_{obs} : 대조군의 흡광도

Figure 3-16은 CCK-8 assay 결과이다. 하이드로겔의 세포 독성 및 생체적합성 평가를 위해 하이드로겔의 용출액에 대하여 평가하였으며, NIH-3T3 cell line 세포를 사용하여 분석하였다. 생체모방형 공중합체 PDM, PDMC, PDH를 포함하는 실험군 #1(PAAm/PDM/PDMC IPN 하이드로겔), #2(PAAm/PDM/PDH IPN 하이드로겔), #3(PAAm/PDMC/PDH IPN 하이드로겔)은 100% 이상의 높은 세포 성장률을 보였고, 생체모방형 공중합체가 포함되지 않은 실험군인 PAAm 단일 하이드로겔은 47%의 세포 성장률을 보였다.

S. H. Ku et al.에 의하면 amine과 thiol 같은 친핵체를 포함하는 구조는 친핵체들이 세포의 부착 및 증식에 영향을 미친다고 보고하고 있다[143]. 그 결과, DOPA를 생체모방하고 아크릴 작용기를 도입한 생체모방 공중합체 PDM, PDMC, PDH를 포함하는 IPN 하이드로겔은 화학적 가교가 아닌 물리적 가교로 이루어져 있으므로 하이드로겔 네트워크 안에 amine과 카테콜 같은 친핵체를 다량으로 포함하고 있다. 따라서 세포 독성 평가에서 세포의 부착 및 증식을 증가시켜 PAAm 단일 하이드로겔보다 우수한 생체적합성을 나타낸 것으로 사료된다[113, 143-146].

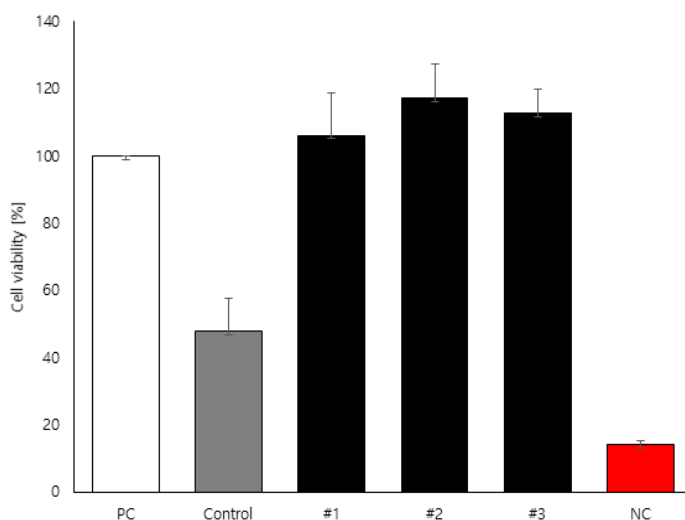


Figure 3-16. Cytotoxic test(CCK-8 assay) for PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers (#1. PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel, #2. PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel, and #3. PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel).

Table 3-10. Cell viability of PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers(CCK-8 assay).

No.	Sample name	Cell viability [%]
PC	Positive control	100 %
Control	PAAm hydrogel	47.75 %
#1	PAAm/PDM/PDMC hydrogel	106.12%
#2	PAAm/PDM/PDH hydrogel	117.05%
#3	PAAm/PDMC/PDH hydrogel	112.56%
NC	Negative control	14.03 %

나. Live/Dead assay

IPN 하이드로겔의 세포 독성 및 생체적합성을 평가하기 위하여 Live/Dead assay를 진행하였고, 이 결과를 Figure 3-17에 나타내었다. 살아있는 세포는 calcein acetoxymethyl에 의하여 초록색으로 염색되며, 사멸한 세포는 ethidium homodimer에 의해 붉은색으로 염색되었다. CCK-8 assay 결과와 동일하게 생체모방형 공중합체 PDM, PDMC, PDH를 포함하는 하이드로겔인 실험군 #1(PAAm/PDM/PDMC IPN hydrogel), #2(PAAm/PDM/PDH IPN hydrogel), #3(PAAm/PDMC/PDH IPN hydrogel)에서 세포 증식을 확인할 수 있었다. 따라서 생체모방형 공중합체가 포함된 IPN 하이드로겔은 PAAm 단일 하이드로겔보다 세포의 성장 및 분화에 우수한 영향을 미친다는 결론을 도출하였다.

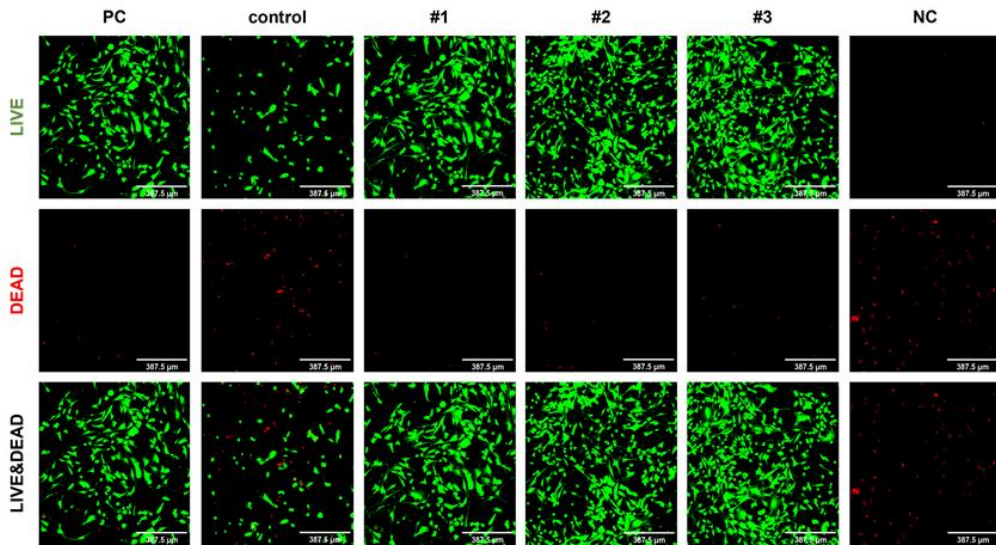


Figure 3-17. Live/Dead assay PAAm hydrogel and IPN hydrogel based on PAAm with DOPA derivative copolymers.

제4절 결론

1. 수용성 고분자 Poly(Acrylamide)(PAAm)에 접착 특성을 갖는 생체모방형 공중합체인 Poly(DMA-co-MEA)(PDM), Poly(DMA-co-MEA-co-ECA)(PDMC), 및 Poly(DMA-co-HEMA)(PDH)를 상호침투 가교(IPN) 하여 하이드로겔을 성공적으로 제조하였다.
2. IPN에 의한 가교 구조를 확인하기 위하여 FT-IR로 관능기의 변화를 분석하였다. 물리적 블렌드로 이루어진 IPN 구조에 의하여 각각의 고분자들이 독립적으로 존재하고 있으므로 PAAm의 특성 밴드와 생체모방형 공중합체의 특성 밴드를 각각 확인할 수 있었다.
3. 하이드로겔의 평형 함수율과 가교 정도를 확인하기 위하여 gel fraction을 분석하였다. PAAm 단일 하이드로겔의 평형 함수율은 6652.10%이며, IPN 하이드로겔의 평형 함수율은 PAAm 단일 하이드로겔보다 대체로 더 높은 함수율을 보였다. Gel fraction은 PAAm 단일 하이드로겔보다 2배 정도 낮은 결과를 보였다. 이는 고분자 사슬이 물리적으로 얽혀 있어 자유 부피의 증가로 인해 함수율은 증가하고 가교 밀도가 감소 되었기 때문이다.
4. 하이드로겔은 220℃에서 열분해로 인한 중량손실이 관찰되었고, 생체모방형 공중합체가 블렌드 된 IPN 하이드로겔의 경우 약 10% 정도의 중량 감소만을 보였다. 이러한 결과는 생체모방형 공중합체가 IPN에 의해 수소 결합과 같이 가역적인 공유결합으로 얽혀 있는 하이드로겔의 구조에 의한 것으로 설명될 수 있으며, 이러한 하이드로겔의 구조는 급격한 열분해를 억제하였다.
6. 하이드로겔의 친수성 여부는 접촉각으로 분석하였으며, 대조군인 PAAm 단일 하이드로겔과 생체모방 공중합체를 갖는 IPN 하이드로겔 모두 친수성임을 확인하였다.

7. 하이드로겔의 접착 특성을 확인하기 위하여 UTM으로 4가지 substrate(epoxy, glass, porcine skin, titanium)에서 Lap-shear strength를 측정하였다. 다양한 substrate 중 극성 표면을 갖는 epoxy에서의 접착력이 가장 우수하였으며, PDM/PDMC/PDH IPN 하이드로겔이 가장 뛰어난 접착 특성을 보였다.
8. 하이드로겔의 파단면 모폴로지를 SEM으로 확인하였다. PAAm 단일 하이드로겔은 불규칙한 다공성 구조를 보였으나, 생체모방형 공중합체를 갖는 IPN 하이드로겔은 층상구조를 갖거나 규칙적인 다공성 구조를 보였다.
9. 하이드로겔의 생체 독성을 CCK-8 assay와 Live/Dead assay로 분석하였다. 생체 모방형 공중합체가 포함된 IPN 하이드로겔은 대조군인 PAAm 단일 하이드로겔에 비해 우수한 cell viability를 보였으며, 더 낮은 생체 독성을 확인하였다.

참고문헌

- [1] T. Matsumoto, *Tissue adhesives in surgery*. Medical Examination Publishing Company, 1972.
- [2] T. K. Hunt and C. GRUENWALD JR, "FUNDAMENTALS OF WOUND MANAGEMENT IN SURGERY; WOUND HEALING; DISORDERS OF REPAIR," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 61, no. 5, p. 771, 1978.
- [3] J. H. Waite, "Nature's underwater adhesive specialist," *International Journal of Adhesion and Adhesives*, vol. 7, no. 1, pp. 9-14, 1987.
- [4] M. Takaoka *et al.*, "Novel sutureless keratoplasty with a chemically defined bioadhesive," *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 50, no. 6, pp. 2679-2685, 2009.
- [5] J. Passage, H. Jalali, R. K. Tam, S. Harrocks, and M. F. O'Brien, "BioGlue surgical adhesive—an appraisal of its indications in cardiac surgery," *The Annals of thoracic surgery*, vol. 74, no. 2, pp. 432-437, 2002.
- [6] S. L. Tao, M. W. Lubeley, and T. A. Desai, "Bioadhesive poly (methyl methacrylate) microdevices for controlled drug delivery," *Journal of controlled release*, vol. 88, no. 2, pp. 215-228, 2003.
- [7] J. H. WAITE, "Adhesion in byssally attached bivalves," *Biological Reviews*, vol. 58, no. 2, pp. 209-231, 1983.
- [8] J. H. Waite, "Evidence for a repeating 3, 4-dihydroxyphenylalanine-and hydroxyproline-containing decapeptide in the adhesive protein of the mussel, *Mytilus edulis* L," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 258, no. 5, pp. 2911-2915, 1983.
- [9] D. R. Filpula, S. M. Lee, R. P. Link, S. L. Strausberg, and R. L. Strausberg, "Structural and functional repetition in a marine mussel adhesive protein," *Biotechnology progress*, vol. 6, no. 3, pp. 171-177, 1990.
- [10] L. M. Rzepecki, K. M. Hansen, and J. H. Waite, "Characterization of a cystine-rich polyphenolic protein family from the blue mussel *Mytilus edulis* L," *The Biological Bulletin*, vol. 183, no. 1, pp. 123-137, 1992.
- [11] V. V. Papov, T. V. Diamond, K. Biemann, and J. H. Waite, "Hydroxyarginine-containing Polyphenolic Proteins in the Adhesive Plaques of the Marine Mussel *Mytilus edulis* (*)," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 270, no. 34, pp. 20183-20192, 1995.
- [12] J. H. Waite and X. Qin, "Polyphosphoprotein from the adhesive pads of *Mytilus edulis*," *Biochemistry*, vol. 40, no. 9, pp. 2887-2893, 2001.

- [13] J. H. Waite, "Mussel adhesion—essential footwork," *Journal of Experimental Biology*, vol. 220, no. 4, pp. 517-530, 2017.
- [14] M. Yu and T. J. Deming, "Synthetic polypeptide mimics of marine adhesives," *Macromolecules*, vol. 31, no. 15, pp. 4739-4745, 1998.
- [15] M. Yu, "Role of L-3, 4-dihydroxyphenylalanine in mussel adhesive proteins," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 121, pp. 5825-5826, 1999.
- [16] P. Kord Forooshani and B. P. Lee, "Recent approaches in designing bioadhesive materials inspired by mussel adhesive protein," *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, vol. 55, no. 1, pp. 9-33, 2017.
- [17] J. J. Wilker, "Redox and adhesion on the rocks," *Nature Chemical Biology*, vol. 7, no. 9, pp. 579-580, 2011.
- [18] Q. Ye, F. Zhou, and W. Liu, "Bioinspired catecholic chemistry for surface modification," *Chemical Society Reviews*, vol. 40, no. 7, pp. 4244-4258, 2011.
- [19] J. Yu *et al.*, "Adaptive hydrophobic and hydrophilic interactions of mussel foot proteins with organic thin films," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 110, no. 39, pp. 15680-15685, 2013.
- [20] P. Das and M. Reches, "Revealing the role of catechol moieties in the interactions between peptides and inorganic surfaces," *Nanoscale*, vol. 8, no. 33, pp. 15309-15316, 2016.
- [21] H. H. Wong, Y. C. Kim, S. Y. Lee, and H. N. Chang, "Effect of post-induction nutrient feeding strategies on the production of bioadhesive protein in *Escherichia coli*," *Biotechnology and bioengineering*, vol. 60, no. 3, pp. 271-276, 1998.
- [22] D. S. Hwang, Y. Gim, and H. J. Cha, "Expression of functional recombinant mussel adhesive protein type 3A in *Escherichia coli*," *Biotechnology progress*, vol. 21, no. 3, pp. 965-970, 2005.
- [23] H. J. Cha, D. S. Hwang, and S. Lim, "Development of bioadhesives from marine mussels," *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, vol. 3, no. 5, pp. 631-638, 2008.
- [24] B.-U. Kang, J.-S. Lee, and K.-S. Oh, "Brief Review on Mussel Adhesives by Evaluating Its Adhesion and Cohesion Mechanisms," *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, vol. 35, no. 1, pp. 141-150, 2018.
- [25] Y.-S. Choi, H. Kang, D.-G. Kim, S.-H. Cha, and J.-C. Lee, "Mussel-inspired dopamine-and plant-based cardanol-containing polymer coatings for multifunctional filtration membranes," *ACS applied materials & interfaces*, vol. 6, no. 23, pp. 21297-21307, 2014.
- [26] S. H. Jo and J. S. Sohn, "Biomimetic adhesive materials containing cyanoacryl group for medical application," *Molecules*, vol. 19, no. 10, pp.

- 16779-16793, 2014.
- [27] D. Morgan, "Two firms race to derive profits from mussels glue: despite gaps in their knowledge of how the mollusk produces the adhesive, scientists hope to recreate it," *Scientist*, vol. 4, p. 1, 1990.
- [28] A. J. Salerno and I. Goldberg, "Cloning, expression, and characterization of a synthetic analog to the bioadhesive precursor protein of the sea mussel *Mytilus edulis*," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 39, no. 2, pp. 221-226, 1993.
- [29] J. F. Vincent, O. A. Bogatyreva, N. R. Bogatyrev, A. Bowyer, and A.-K. Pahl, "Biomimetics: its practice and theory," *Journal of the Royal Society Interface*, vol. 3, no. 9, pp. 471-482, 2006.
- [30] C. Sanchez, B. Julián, P. Belleville, and M. Popall, "Applications of hybrid organic–inorganic nanocomposites," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 15, no. 35-36, pp. 3559-3592, 2005.
- [31] L. Flynn, "The use of decellularized adipose tissue to provide an inductive microenvironment for the adipogenic differentiation of human adipose-derived stem cells," *Biomaterials*, vol. 31, no. 17, pp. 4715-4724, 2010.
- [32] Z. Z. Gu *et al.*, "Structural color and the lotus effect," *Angewandte Chemie*, vol. 115, no. 8, pp. 922-925, 2003.
- [33] A. Marmur, "The lotus effect: superhydrophobicity and metastability," *Langmuir*, vol. 20, no. 9, pp. 3517-3519, 2004.
- [34] B. Dean and B. Bhushan, "Shark-skin surfaces for fluid-drag reduction in turbulent flow: a review," *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 368, no. 1929, pp. 4775-4806, 2010.
- [35] K. Autumn *et al.*, "Adhesive force of a single gecko foot-hair," *Nature*, vol. 405, no. 6787, pp. 681-685, 2000.
- [36] L. F. Boesel, C. Greiner, E. Arzt, and A. Del Campo, "Gecko-inspired surfaces: a path to strong and reversible dry adhesives," *Advanced Materials*, vol. 22, no. 19, pp. 2125-2137, 2010.
- [37] I. Agnarsson, A. Dhinojwala, V. Sahni, and T. A. Blackledge, "Spider silk as a novel high performance biomimetic muscle driven by humidity," *Journal of Experimental Biology*, vol. 212, no. 13, pp. 1990-1994, 2009.
- [38] X. Zhang, M. R. Reagan, and D. L. Kaplan, "Electrospun silk biomaterial scaffolds for regenerative medicine," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 61, no. 12, pp. 988-1006, 2009.
- [39] M. Cetinkaya, S. Xiao, B. Markert, W. Stacklies, and F. Gräter, "Silk fiber

- mechanics from multiscale force distribution analysis," *Biophysical journal*, vol. 100, no. 5, pp. 1298-1305, 2011.
- [40] M. Peters and D. Mooney, "Synthetic Extracellular Matrices for Cell Transplantaton," in *Materials science forum*, 1997, vol. 250: Trans Tech Publ, pp. 43-52.
- [41] S. V. Murphy and A. Atala, "3D bioprinting of tissues and organs," *Nature biotechnology*, vol. 32, no. 8, pp. 773-785, 2014.
- [42] H. Shin, S. Jo, and A. G. Mikos, "Biomimetic materials for tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 24, no. 24, pp. 4353-4364, 2003.
- [43] Y. C. Choi, J. S. Choi, B. S. Kim, J. D. Kim, H. I. Yoon, and Y. W. Cho, "Decellularized extracellular matrix derived from porcine adipose tissue as a xenogeneic biomaterial for tissue engineering," *Tissue Engineering Part C: Methods*, vol. 18, no. 11, pp. 866-876, 2012.
- [44] A. Skardal *et al.*, "A hydrogel bioink toolkit for mimicking native tissue biochemical and mechanical properties in bioprinted tissue constructs," *Acta biomaterialia*, vol. 25, pp. 24-34, 2015.
- [45] H.-W. Kang, S. J. Lee, I. K. Ko, C. Kengla, J. J. Yoo, and A. Atala, "A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity," *Nature biotechnology*, vol. 34, no. 3, pp. 312-319, 2016.
- [46] H. Lee, B. P. Lee, and P. B. Messersmith, "A reversible wet/dry adhesive inspired by mussels and geckos," *Nature*, vol. 448, no. 7151, pp. 338-341, 2007.
- [47] R. J. Stewart, C. S. Wang, and H. Shao, "Complex coacervates as a foundation for synthetic underwater adhesives," *Advances in colloid and interface science*, vol. 167, no. 1-2, pp. 85-93, 2011.
- [48] S. L. Perry, Y. Li, D. Priftis, L. Leon, and M. Tirrell, "The effect of salt on the complex coacervation of vinyl polyelectrolytes," *Polymers*, vol. 6, no. 6, pp. 1756-1772, 2014.
- [49] S. L. Perry *et al.*, "Chirality-selected phase behaviour in ionic polypeptide complexes," *Nature Communications*, vol. 6, no. 1, pp. 1-8, 2015.
- [50] S. Kim *et al.*, "Complexation and coacervation of like-charged polyelectrolytes inspired by mussels," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 113, no. 7, pp. E847-E853, 2016.
- [51] B. Yang, C. Lim, D. S. Hwang, and H. J. Cha, "Switch of surface adhesion to cohesion by dopa-Fe³⁺ complexation, in response to microenvironment at the mussel plaque/substrate interface," *Chemistry of Materials*, vol. 28, no. 21, pp. 7982-7989, 2016.
- [52] H. B. de Jong and H. Kruyt, "Coazervation (separation of colloidal systems

- into two liquid phases)," *Kolloid Z*, vol. 50, pp. 39-48, 1930.
- [53] H. B. De Jong and H. Kruyt, "Colloid science," *R. Kruyt (ed.), Elsevier, Amsterdam*, 1949.
- [54] C. Bailey, "The origin of life (oparin, ai)," ed: ACS Publications, 1938.
- [55] K. A. Black, D. Priftis, S. L. Perry, J. Yip, W. Y. Byun, and M. Tirrell, "Protein encapsulation via polypeptide complex coacervation," *ACS Macro Letters*, vol. 3, no. 10, pp. 1088-1091, 2014.
- [56] B.-c. Wu, B. Degner, and D. J. McClements, "Soft matter strategies for controlling food texture: formation of hydrogel particles by biopolymer complex coacervation," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 26, no. 46, p. 464104, 2014.
- [57] E. Kizilay, A. B. Kayitmazer, and P. L. Dubin, "Complexation and coacervation of polyelectrolytes with oppositely charged colloids," *Advances in colloid and interface science*, vol. 167, no. 1-2, pp. 24-37, 2011.
- [58] S. Lim, D. Moon, H. J. Kim, J. H. Seo, I. S. Kang, and H. J. Cha, "Interfacial tension of complex coacervated mussel adhesive protein according to the Hofmeister series," *Langmuir*, vol. 30, no. 4, pp. 1108-1115, 2014.
- [59] H. J. Kim, B. H. Hwang, S. Lim, B.-H. Choi, S. H. Kang, and H. J. Cha, "Mussel adhesion-employed water-immiscible fluid bioadhesive for urinary fistula sealing," *Biomaterials*, vol. 72, pp. 104-111, 2015.
- [60] H. As, A. Keizer, M. A. Cohen Stuart, and J. der Gucht, "Controlled mixing of lanthanide (III) ions in coacervate core micelles," *Chemical Communications*, vol. 49, no. 36, pp. 3736-3738, 2013.
- [61] N. Bourouina, M. A. C. Stuart, and J. M. Kleijn, "Complex coacervate core micelles as diffusional nanoprobe," *Soft Matter*, vol. 10, no. 2, pp. 320-331, 2014.
- [62] A. Madene, M. Jacquot, J. Scher, and S. Desobry, "Flavour encapsulation and controlled release—a review," *International journal of food science & technology*, vol. 41, no. 1, pp. 1-21, 2006.
- [63] D. J. McClements and Y. Li, "Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components," *Advances in colloid and interface science*, vol. 159, no. 2, pp. 213-228, 2010.
- [64] C. E. Sing, "Development of the modern theory of polymeric complex coacervation," *Advances in colloid and interface science*, vol. 239, pp. 2-16, 2017.
- [65] J. P. Gallivan and D. A. Dougherty, "Cation- π interactions in structural biology," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 96, no. 17, pp. 9459-9464, 1999.

- [66] J. C. Ma and D. A. Dougherty, "The cation- π interaction," *Chemical reviews*, vol. 97, no. 5, pp. 1303-1324, 1997.
- [67] A. S. Mahadevi and G. N. Sastry, "Cation- π interaction: Its role and relevance in chemistry, biology, and material science," *Chemical reviews*, vol. 113, no. 3, pp. 2100-2138, 2013.
- [68] D. S. Hwang, H. Zeng, Q. Lu, J. Israelachvili, and J. H. Waite, "Adhesion mechanism in a DOPA-deficient foot protein from green mussels," *Soft matter*, vol. 8, no. 20, pp. 5640-5648, 2012.
- [69] Q. Lu, D. X. Oh, Y. Lee, Y. Jho, D. S. Hwang, and H. Zeng, "Nanomechanics of cation- π interactions in aqueous solution," *Angewandte Chemie*, vol. 125, no. 14, pp. 4036-4040, 2013.
- [70] S. Kim, A. Faghijnejad, Y. Lee, Y. Jho, H. Zeng, and D. S. Hwang, "Cation- π interaction in DOPA-deficient mussel adhesive protein mfp-1," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, no. 5, pp. 738-743, 2015.
- [71] R. Wu and T. B. McMahon, "Investigation of cation- π interactions in biological systems," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 130, no. 38, pp. 12554-12555, 2008.
- [72] H. Shao and R. J. Stewart, "Biomimetic underwater adhesives with environmentally triggered setting mechanisms," *Advanced materials*, vol. 22, no. 6, pp. 729-733, 2010.
- [73] B. P. Lee, P. B. Messersmith, J. N. Israelachvili, and J. H. Waite, "Mussel-inspired adhesives and coatings," *Annual review of materials research*, vol. 41, p. 99, 2011.
- [74] K. Kamino, M. Nakano, and S. Kanai, "Significance of the conformation of building blocks in curing of barnacle underwater adhesive," *The FEBS journal*, vol. 279, no. 10, pp. 1750-1760, 2012.
- [75] M. Loizou, I. Hadjiadamou, C. Drouza, A. D. Keramidis, Y. V. Simos, and D. Peschos, "Vanadium (V) Complexes with Siderophore Vitamin E-Hydroxylamino-Triazine Ligands," *Inorganics*, vol. 9, no. 10, p. 73, 2021.
- [76] D. W. Hutmacher, "Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage," *Biomaterials*, vol. 21, no. 24, pp. 2529-2543, 2000.
- [77] T. C. Grikscheit and J. P. Vacanti, "The history and current status of tissue engineering: the future of pediatric surgery," *Journal of pediatric surgery*, vol. 37, no. 3, pp. 277-288, 2002.
- [78] S. Safinsha and M. M. Ali, "Composite scaffolds in tissue engineering," *Materials Today: Proceedings*, vol. 24, pp. 2318-2329, 2020.
- [79] G. Chen, T. Ushida, and T. Tateishi, "Scaffold design for tissue engineering," *Macromolecular Bioscience*, vol. 2, no. 2, pp. 67-77, 2002.

- [80] A. Subramanian, U. M. Krishnan, and S. Sethuraman, "Development of biomaterial scaffold for nerve tissue engineering: Biomaterial mediated neural regeneration," *Journal of biomedical science*, vol. 16, no. 1, pp. 1-11, 2009.
- [81] F. J. O'brien, "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering," *Materials today*, vol. 14, no. 3, pp. 88-95, 2011.
- [82] S. Li, J. R. De Wijn, J. Li, P. Layrolle, and K. De Groot, "Macroporous biphasic calcium phosphate scaffold with high permeability/porosity ratio," *Tissue engineering*, vol. 9, no. 3, pp. 535-548, 2003.
- [83] M. Lebourg, R. Sabater Serra, J. Más Estellés, F. Hernández Sánchez, J. Gómez Ribelles, and J. Suay Antón, "Biodegradable polycaprolactone scaffold with controlled porosity obtained by modified particle-leaching technique," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 19, no. 5, pp. 2047-2053, 2008.
- [84] P. Nilani, P. Raveesha, B. R. N. N. Kasthuribai, B. Duraisamy, P. Dhamodaran, and K. Elango, "Formulation and evaluation of polysaccharide based biopolymer-an ecofriendly alternative for synthetic polymer," *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 2, no. 3, p. 178, 2010.
- [85] R. Chandra and R. Rustgi, "Biodegradable polymers," *Progress in polymer science*, vol. 23, no. 7, pp. 1273-1335, 1998.
- [86] L. S. Nair and C. T. Laurencin, "Biodegradable polymers as biomaterials," *Progress in polymer science*, vol. 32, no. 8-9, pp. 762-798, 2007.
- [87] A. M. Mathur, S. K. Moorjani, and A. B. Scranton, "Methods for synthesis of hydrogel networks: A review," *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, vol. 36, no. 2, pp. 405-430, 1996.
- [88] I. M. El-Sherbiny and M. H. Yacoub, "Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges," *Global Cardiology Science and Practice*, vol. 2013, no. 3, p. 38, 2013.
- [89] E. M. Ahmed, "Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review," *Journal of advanced research*, vol. 6, no. 2, pp. 105-121, 2015.
- [90] H. Omidian, J. G. Rocca, and K. Park, "Advances in superporous hydrogels," *Journal of controlled release*, vol. 102, no. 1, pp. 3-12, 2005.
- [91] J. Li and D. J. Mooney, "Designing hydrogels for controlled drug delivery," *Nature Reviews Materials*, vol. 1, no. 12, pp. 1-17, 2016.
- [92] F. Ganji, F. S. Vasheghani, and F. E. VASHEGHANI, "Theoretical description of hydrogel swelling: a review," 2010.
- [93] N. V. Gupta and H. Shivakumar, "Preparation and characterization of superporous hydrogels as gastroretentive drug delivery system for

- rosiglitazone maleate," *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 18, no. 3, p. 200, 2010.
- [94] L. Brannon-Peppas, "Preparation and characterization of crosslinked hydrophilic networks," in *Studies in polymer science*, vol. 8: Elsevier, 1990, pp. 45-66.
- [95] W. Wang and A. Wang, "Synthesis and swelling properties of pH-sensitive semi-IPN superabsorbent hydrogels based on sodium alginate-g-poly (sodium acrylate) and polyvinylpyrrolidone," *Carbohydrate Polymers*, vol. 80, no. 4, pp. 1028-1036, 2010.
- [96] M. T. Wolf *et al.*, "A hydrogel derived from decellularized dermal extracellular matrix," *Biomaterials*, vol. 33, no. 29, pp. 7028-7038, 2012.
- [97] M. T. Spang and K. L. Christman, "Extracellular matrix hydrogel therapies: In vivo applications and development," *Acta biomaterialia*, vol. 68, pp. 1-14, 2018.
- [98] K. Deligkaris, T. S. Tadele, W. Olthuis, and A. van den Berg, "Hydrogel-based devices for biomedical applications," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 147, no. 2, pp. 765-774, 2010.
- [99] A. S. Hoffman, "Hydrogels for biomedical applications," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 64, pp. 18-23, 2012.
- [100] Q. Chai, Y. Jiao, and X. Yu, "Hydrogels for biomedical applications: their characteristics and the mechanisms behind them," *Gels*, vol. 3, no. 1, p. 6, 2017.
- [101] T. Nakajima, H. Furukawa, Y. Tanaka, T. Kurokawa, Y. Osada, and J. P. Gong, "True chemical structure of double network hydrogels," *Macromolecules*, vol. 42, no. 6, pp. 2184-2189, 2009.
- [102] N. A. Peppas and A. G. Mikos, "Preparation methods and structure of hydrogels," in *Hydrogels in medicine and pharmacy*. CRC press, 2019, pp. 1-26.
- [103] W. F. Lee and Y. J. Chen, "Studies on preparation and swelling properties of the N-isopropylacrylamide/chitosan semi-IPN and IPN hydrogels," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 82, no. 10, pp. 2487-2496, 2001.
- [104] H. K. Ju, S. Y. Kim, S. J. Kim, and Y. M. Lee, "pH/temperature-responsive semi-IPN hydrogels composed of alginate and poly (N-isopropylacrylamide)," *Journal of applied polymer science*, vol. 83, no. 5, pp. 1128-1139, 2002.
- [105] Y. A. Han, E. M. Lee, and B. C. Ji, "Mechanical properties of semi-interpenetrating polymer network hydrogels based on poly (2-hydroxyethyl methacrylate) copolymer and chitosan," *Fibers and Polymers*, vol. 9, no. 4, pp. 393-399, 2008.

- [106] Y. Liu and M. B. Chan-Park, "Hydrogel based on interpenetrating polymer networks of dextran and gelatin for vascular tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 30, no. 2, pp. 196-207, 2009.
- [107] L. Pescosolido *et al.*, "Hyaluronic acid and dextran-based semi-IPN hydrogels as biomaterials for bioprinting," *Biomacromolecules*, vol. 12, no. 5, pp. 1831-1838, 2011.
- [108] L. Pescosolido *et al.*, "In situ forming IPN hydrogels of calcium alginate and dextran-HEMA for biomedical applications," *Acta biomaterialia*, vol. 7, no. 4, pp. 1627-1633, 2011.
- [109] F. Wahid, X.-H. Hu, L.-Q. Chu, S.-R. Jia, Y.-Y. Xie, and C. Zhong, "Development of bacterial cellulose/chitosan based semi-interpenetrating hydrogels with improved mechanical and antibacterial properties," *International journal of biological macromolecules*, vol. 122, pp. 380-387, 2019.
- [110] Q. Tang, X. Sun, Q. Li, J. Wu, and J. Lin, "Fabrication of a high-strength hydrogel with an interpenetrating network structure," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 346, no. 1-3, pp. 91-98, 2009.
- [111] M. A. Haque, T. Kurokawa, and J. P. Gong, "Super tough double network hydrogels and their application as biomaterials," *Polymer*, vol. 53, no. 9, pp. 1805-1822, 2012.
- [112] Q. Chen, H. Chen, L. Zhu, and J. Zheng, "Engineering of tough double network hydrogels," *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol. 217, no. 9, pp. 1022-1036, 2016.
- [113] X. Liu, W. Yang, and C. Xiao, "Self-healable and pH-sensitive high-strength water-soluble chitosan/chemically cross-linked polyvinyl alcohol semi-IPN hydrogel," *International journal of biological macromolecules*, vol. 138, pp. 667-672, 2019.
- [114] C. Roland, "Interpenetrating Polymer Networks (IPN Q1): Structure and Mechanical Behavior," *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany*, 2013.
- [115] E. S. Dragan, "Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review," *Chemical Engineering Journal*, vol. 243, pp. 572-590, 2014.
- [116] F. Ullah, M. B. H. Othman, F. Javed, Z. Ahmad, and H. M. Akil, "Classification, processing and application of hydrogels: A review," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 57, pp. 414-433, 2015.
- [117] A. Vashist, Y. Gupta, and S. Ahmad, "Interpenetrating biopolymer network based hydrogels for an effective drug delivery system," *Carbohydrate*

- Polymers*, vol. 87, no. 2, pp. 1433-1439, 2012.
- [118] J.-T. Zhang, R. Bhat, and K. D. Jandt, "Temperature-sensitive PVA/PNIPAAm semi-IPN hydrogels with enhanced responsive properties," *Acta biomaterialia*, vol. 5, no. 1, pp. 488-497, 2009.
- [119] H. Suo, D. Zhang, J. Yin, J. Qian, Z. L. Wu, and J. Fu, "Interpenetrating polymer network hydrogels composed of chitosan and photocrosslinkable gelatin with enhanced mechanical properties for tissue engineering," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 92, pp. 612-620, 2018.
- [120] M. Wang *et al.*, "Flexible and low temperature resistant semi-IPN network gel polymer electrolyte membrane and its application in supercapacitor," *Journal of Membrane Science*, vol. 597, p. 117740, 2020.
- [121] J. Xue, L. Liu, J. Liao, Y. Shen, and N. Li, "Semi-interpenetrating polymer networks by azide-alkyne cycloaddition as novel anion exchange membranes," *Journal of Materials Chemistry A*, vol. 6, no. 24, pp. 11317-11326, 2018.
- [122] Z. Dai *et al.*, "Living fabrication of functional semi-interpenetrating polymeric materials," *Nature communications*, vol. 12, no. 1, pp. 1-9, 2021.
- [123] J. P. Gong, Y. Katsuyama, T. Kurokawa, and Y. Osada, "Double-network hydrogels with extremely high mechanical strength," *Advanced materials*, vol. 15, no. 14, pp. 1155-1158, 2003.
- [124] Q. M. Yu, Y. Tanaka, H. Furukawa, T. Kurokawa, and J. P. Gong, "Direct observation of damage zone around crack tips in double-network gels," *Macromolecules (Print)*, vol. 42, no. 12, pp. 3852-3855, 2009.
- [125] K. J. Henderson, T. C. Zhou, K. J. Otim, and K. R. Shull, "Ionically cross-linked triblock copolymer hydrogels with high strength," *Macromolecules*, vol. 43, no. 14, pp. 6193-6201, 2010.
- [126] B. Yang, S. Jin, Y. Park, Y. M. Jung, and H. J. Cha, "Coacervation of interfacial adhesive proteins for initial mussel adhesion to a wet surface," *Small*, vol. 14, no. 52, p. 1803377, 2018.
- [127] K. Peng, I. Tomatsu, and A. Kros, "Light controlled protein release from a supramolecular hydrogel," *Chemical communications*, vol. 46, no. 23, pp. 4094-4096, 2010.
- [128] M. Lutolf and J. Hubbell, "Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering," *Nature biotechnology*, vol. 23, no. 1, pp. 47-55, 2005.
- [129] T. Fujiwara, T. Mukose, T. Yamaoka, H. Yamane, S. Sakurai, and Y. Kimura, "Novel thermo-responsive formation of a hydrogel by stereo-complexation between PLLA-PEG-PLLA and PDLA-PEG-PDLA block copolymers," *Macromolecular Bioscience*, vol. 1, no. 5, pp. 204-208, 2001.

- [130] Y. Huang, H. Cai, T. Yu, X. Sun, B. Tu, and D. Zhao, "Highly Ordered Mesoporous Carbonaceous Frameworks from a Template of a Mixed Amphiphilic Triblock-Copolymer System of PEO-PPO-PEO and Reverse PPO-PEO-PPO," *Chemistry-An Asian Journal*, vol. 2, no. 10, pp. 1282-1289, 2007.
- [131] J. Shin *et al.*, "Tissue adhesive catechol-modified hyaluronic acid hydrogel for effective, minimally invasive cell therapy," *Advanced Functional Materials*, vol. 25, no. 25, pp. 3814-3824, 2015.
- [132] A. J. Ijspeert, A. Crespi, D. Ryczko, and J.-M. Cabelguen, "From swimming to walking with a salamander robot driven by a spinal cord model," *science*, vol. 315, no. 5817, pp. 1416-1420, 2007.
- [133] H. Banerjee, Z. T. H. Tse, and H. Ren, "Soft robotics with compliance and adaptation for biomedical applications and forthcoming challenges," *International Journal of Robotics and Automation*, vol. 33, no. 1, pp. 69-80, 2018.
- [134] S. Coyle, C. Majidi, P. LeDuc, and K. J. Hsia, "Bio-inspired soft robotics: Material selection, actuation, and design," *Extreme Mechanics Letters*, vol. 22, pp. 51-59, 2018.
- [135] I. K. Han, T. Chung, J. Han, and Y. S. Kim, "Nanocomposite hydrogel actuators hybridized with various dimensional nanomaterials for stimuli responsiveness enhancement," *Nano Convergence*, vol. 6, no. 1, pp. 1-21, 2019.
- [136] A. K. Gupta and M. Gupta, "Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications," *biomaterials*, vol. 26, no. 18, pp. 3995-4021, 2005.
- [137] A. H. Lu, E. e. L. Salabas, and F. Schüth, "Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 46, no. 8, pp. 1222-1244, 2007.
- [138] M. Osada *et al.*, "High- κ dielectric nanofilms fabricated from titania nanosheets," *Advanced Materials*, vol. 18, no. 8, pp. 1023-1027, 2006.
- [139] Z. Sun *et al.*, "An Anisotropic Hydrogel Actuator Enabling Earthworm-Like Directed Peristaltic Crawling," *Angewandte Chemie*, vol. 130, no. 48, pp. 15998-16002, 2018.
- [140] W. Gao *et al.*, "Nanocomposite hydrogel incorporated with polymerizable liquid crystal surfactant: Shape transition from layered to honeycomb pore structure and thermo/swelling behavior," *Reactive and Functional Polymers*, vol. 102, pp. 53-61, 2016.
- [141] C.-J. Wu, A. K. Gaharwar, B. K. Chan, and G. Schmidt, "Mechanically tough pluronic F127/laponite nanocomposite hydrogels from covalently and physically cross-linked networks," *Macromolecules*, vol. 44, no. 20, pp.

8215-8224, 2011.

- [142] D. Zhao, M. Feng, L. Zhang, B. He, X. Chen, and J. Sun, "Facile synthesis of self-healing and layered sodium alginate/polyacrylamide hydrogel promoted by dynamic hydrogen bond," *Carbohydrate Polymers*, vol. 256, p. 117580, 2021.
- [143] H. Lee, J. Rho, and P. B. Messersmith, "Facile conjugation of biomolecules onto surfaces via mussel adhesive protein inspired coatings," *Advanced materials*, vol. 21, no. 4, pp. 431-434, 2009.
- [144] S. H. Ku and C. B. Park, "Human endothelial cell growth on mussel-inspired nanofiber scaffold for vascular tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 31, no. 36, pp. 9431-9437, 2010.
- [145] S. H. Ku, J. Ryu, S. K. Hong, H. Lee, and C. B. Park, "General functionalization route for cell adhesion on non-wetting surfaces," *Biomaterials*, vol. 31, no. 9, pp. 2535-2541, 2010.
- [146] W.-B. Tsai, W.-T. Chen, H.-W. Chien, W.-H. Kuo, and M.-J. Wang, "Poly (dopamine) coating of scaffolds for articular cartilage tissue engineering," *Acta biomaterialia*, vol. 7, no. 12, pp. 4187-4194, 2011.

감사의 글

먼저, 본 논문이 완성되기까지 연구자로서 많이 부족한 저에게 아낌없는 조언과 따뜻한 격려로 지도해주신 손정선 교수님께 깊은 감사의 말씀을 올립니다. 바쁘신 와중에도 저의 부족한 논문을 심사해주신 조훈 교수님, 김준섭 교수님, 김호중 교수님, 호남대학교 노선균 교수님께도 감사드립니다. 그리고 학부 시절부터 많은 도움을 주신 최재곤 교수님께도 진심으로 감사의 마음을 전합니다.

또한, 대학원 생활 동안 많은 도움을 주신 김의진 박사님과 대학원 선후배님들에게도 아울러 감사드립니다. 그리고 늘 옆에서 격려와 응원을 아끼지 않았던 사랑하는 보은, 수희, 나영, 지원, 현아에게도 이 글을 통해 고마운 마음을 전합니다.

마지막으로 언제나 저를 믿고, 제 곁에서 든든한 버팀목이 되어 주시는 존경하는 아빠, 엄마 그리고 동생 인지에게도 사랑과 감사의 마음을 담아 이 논문을 드립니다.