(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0072041
(43) 공개일자 2025년05월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08B 37/08 (2006.01) *A61K 47/61* (2017.01)
A61K 48/00 (2006.01) *C08L 5/08* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C08B 37/003 (2013.01)
A61K 47/61 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2023-0158764
(22) 출원일자 2023년11월16일
심사청구일자 2023년11월16일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
허강무
대전광역시 유성구 어은로 57, 131동 1503호 (어은동, 한빛아파트)
이영주
대전광역시 서구 대덕대로 150, 110동 506호 (갈마동, 큰마을아파트)
김성은
대전광역시 유성구 대학로75번길 52-10, 304호 (궁동)
(74) 대리인
특허법인 천지

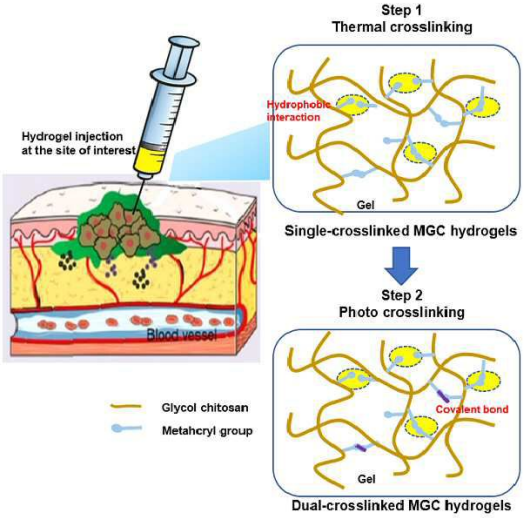
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **이중 가교가 가능한 글리콜 키토산 유도체**

(57) 요 약

본 발명의 글리콜 키토산 유도체 수용액은 21-54° C 범위에서 열 가역적 졸-겔 전이를 나타냈으며, 겔화 온도는 폴리머 농도와 치환 정도에 의해 제어될 수 있었다. 글리콜 키토산 유도체 하이드로젤에 자외선을 이용한 광가교를 수행하여 기계적 특성이 향상된 화학적으로 가교된 하이드로젤을 만들 수 있었다. 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 써모젤은 2-6 wt% 농도 범위에서 온도감응성 졸-젤 전이 특성을 보여주었다. 화학적으로 가교된 써모젤은 온도감응 특성에 추가적으로 다양한 광가교 시간, 고분자의 농도, 치환율에 따라 다양한 물성 범위를 가질 수 있어, 다양한 바이오메디컬 응용에 유용할 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 48/0041 (2013.01)
C08L 5/08 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711191588
과제번호 2022R1A4A1028372
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 집단연구지원
연구과제명 바이오액티브 써모겔 설계응용 기초연구실
기 여 율 1/2
과제수행기관명 충남대학교
연구기간 2022.06.01 ~ 2025.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711179508
과제번호 00040240
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 (재단)범부처재생의료기술개발사업단
연구사업명 범부처재생의료기술개발사업
연구과제명 맞춤형 3차원 스페로이드 기반 혈관화 복합 조직체 제작을 통한 골격계 조직 재생 및 분석 기술 개발
기 여 율 1/2
과제수행기관명 한양대학교산학협력단
연구기간 2022.04.01 ~ 2026.12.31

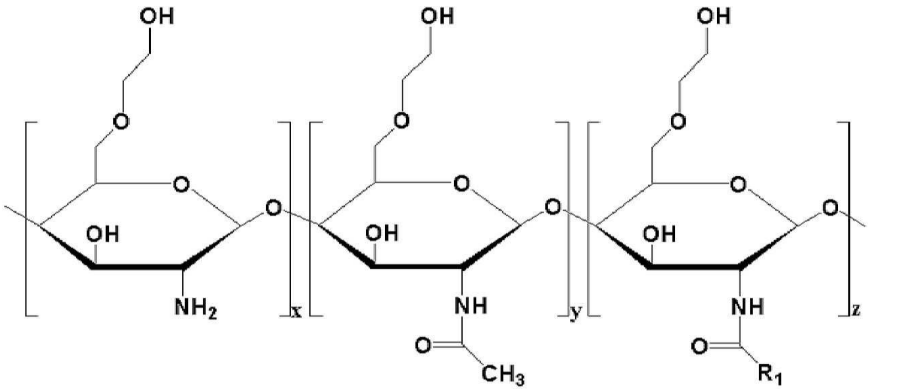
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 구조를 갖는 열에 의한 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 이중결합 반응기를 갖는 글리콜 키토산 유도체:

[화학식 1]



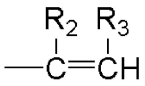
(상기 화학식 1에서,

상기 R_1은 탄소수 1 내지 18의 알케닐기, 탄소수 1 내지 18의 할로알케닐기, 탄소수 3 내지 8의 사이클로알케닐기 및 탄소수 1 내지 8의 알케닐카르보닐기로 이루어진 군에서 선택된 1종을 포함하고,

상기 x, y, z로 수식되는 세가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고,

상기 x, y, z는 각 단량체의 평균 몰 분획으로서, $0.1 \leq x \leq 0.7$, $0.1 \leq y \leq 0.5$, 및 $0.1 \leq z \leq 0.7$이고, $x + y + z = 1$ 임)

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 R_1은  이고, 상기 R_2 및 R_3는 각각 독립적으로 H, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 또는 OH인 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 R_2는 $-CH_3$이고, 상기 R_3는 H인 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체.

청구항 4

제1항에 있어서, $0.46 \leq z \leq 0.53$인 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체.

청구항 5

제1항에 있어서, 광가교 반응 후 30% 내지 75%의 가교도를 갖는 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체.

청구항 6

제1항에 있어서, 광가교 반응 후 37% 내지 72%의 가교도를 갖는 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체.

청구항 7

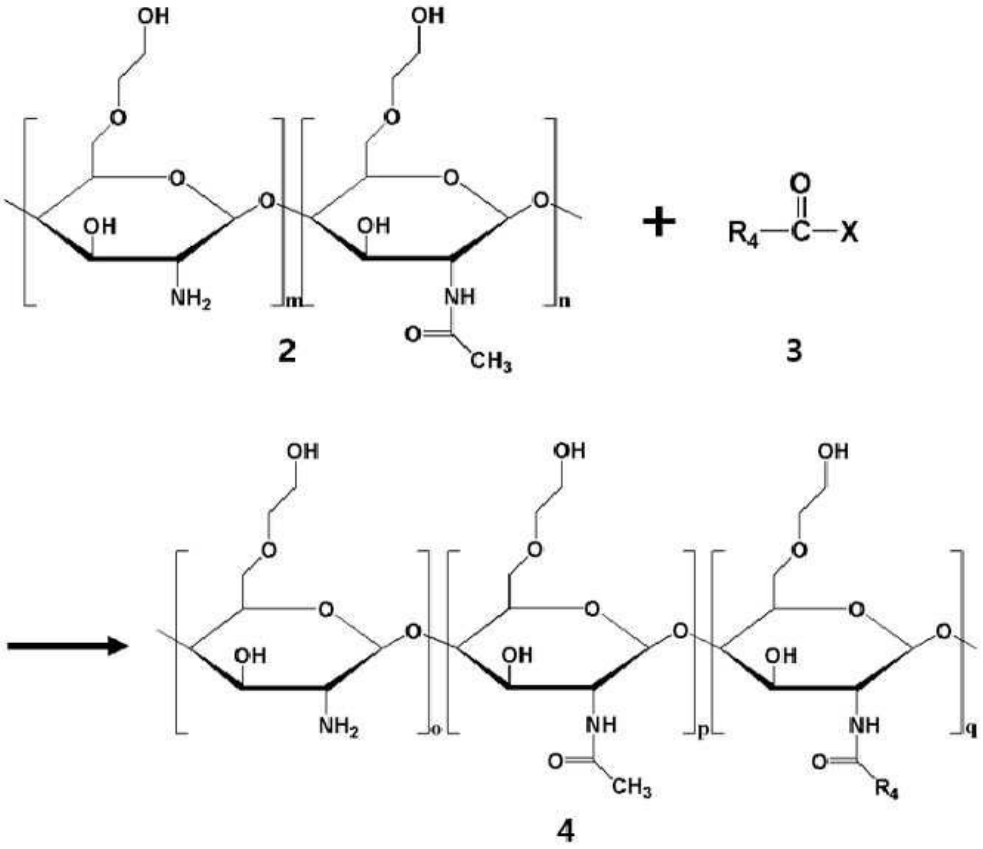
제1항에 있어서, 중량평균분자량이 200 내지 5,000,000인 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체.

청구항 8

하기 반응식 1로 표시되며,

화학식 2의 N-아세틸화된 글리콜 키토산 유도체와 화학식 3의 R_4COX 유도체를 반응시켜 화학식 4와 같이 열에 의한 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 이중결합 반응기를 갖는 글리콜 키토산 유도체를 제조하는 방법:

[반응식 1]



(상기 반응식 1에서,

상기 R_4는 탄소수 1 내지 18의 알케닐기, 탄소수 1 내지 18의 할로알케닐기, 탄소수 3 내지 8의 사이클로알케닐기 및 탄소수 1 내지 8의 알케닐카르보닐기로 이루어진 군에서 선택된 1종을 포함하고,

상기 X는 이탈기이고,

상기 m, n으로 수식되는 두가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고,

상기 m, n은 상기 화학식 2의 각 단량체의 평균 몰 분획으로서, $0.1 \leq m \leq 0.7$, $0.3 \leq n \leq 0.9$이고, $m + n = 1$이고,

상기 o, p, q로 수식되는 세가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고,

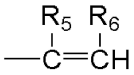
상기 o, p, q는 상기 화학식 4의 각 단량체의 평균 몰 분획으로서, $0.1 \leq o \leq 0.7$, $0.1 \leq p \leq 0.5$, 및 $0.1 \leq q \leq 0.7$이고, $o + p + q = 1$ 임)

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 X는 하이드록시기; 할로젠 치환기; 탄소수 1 내지 4의 알콕시기; 또는 -O-C(=O)-R_4인 것

을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체를 제조하는 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 R_4는  이고, 상기 R_5 및 R_6은 각각 독립적으로 H, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 또는 OH인 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체를 제조하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 R_5는 $-CH_3$이고, 상기 R_6는 H인 것을 특징으로 하는 글리콜 키토산 유도체를 제조하는 방법.

청구항 12

제1항의 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 약물 및 세포 전달체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 이중 가교가 가능한 글리콜 키토산 유도체에 관한 것으로, 구체적으로 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 알케닐기를 포함하는 글리콜 키토산에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 하이드로젤은 수십 년 동안 다양한 연구 분야에서 큰 관심을 받아왔다. 생체 적합성, 높은 수분 함량, 조정 가능한 물리화학적 특성, 자극 민감성 등의 유망한 특성을 가지고 있기 때문이다. 하이드로젤 중에서도 수성 매질에서 열에 민감한 졸-겔 전이를 겪는 열 겔화 폴리머는 주사 가능한 전달 시스템으로 많은 관심을 받고 있다. 이러한 하이드로젤은 졸 상태로 세포나 약물을 쉽게 캡슐화할 수 있고, 주사를 통해 표적 부위에 직접 전달할 수 있으며, 체온에 의한 열 유도 겔화를 통해 더 오래 지속된다. 임상 응용 분야에서 주사용 하이드로겔은 특히 불규칙한 모양의 조직 부위를 치료하는 데 적합하므로 맞춤형 스캐폴드 설계가 필요없다. 주사용 하이드로겔은 사용되는 다양한 재료에 따라 자외선 조사, 이온 교차 결합, pH 또는 온도 변화에 의해 형성될 수 있다. 알긴산, 히알루론산, 덱스트란, 키토산과 같은 천연 고분자로서의 다당류는 생분해성과 생체 적합성으로 인해 생물의학적 목적으로 제안되어 왔다. 특히 키토산은 항균성, 생분해성, 생체적합성, 점접착성 특성으로 인해 약물 전달, 세포 캡슐화 및 조직 공학용으로 널리 연구되고 있다.

[0003] 그러나 생리적 조건에서 키토산 자체의 낮은 수용성은 하이드로겔 재료로 광범위하게 사용되는 데 있어 주요 단점 중 하나이다. 수용성 키토산 유도체인 글리콜 키토산은 글리콜 기능기로 인해 생리학적 조건에서 물에 쉽게 용해되며, 키토산의 유리한 무독성 및 생분해성 특성을 유지하여 제약 및 바이오메디컬 응용 분야에 적합하다. 글리콜 키토산(HGC)의 단순 *N*-헥사노일로 합성한 글리콜 키토산 기반 써모젤 고분자가 보고된 바 있다. 기존의 써모젤 고분자는 합성 블록공중합체 구조에 기반한 반면, 해당 써모젤 고분자는 화학적 가교제와 접목 또는 블렌딩 시스템 없이도 체온(~37℃) 주변에서 온도 감응성을 나타낼 수 있는 유일한 다당류 기반 고분자이다. HGC는 낮은 폴리머 농도의 수용액에서 열 가역적인 졸-겔 전이 거동을 보여준다. 그러나 글리콜 키토산 기반 써모젤과 같은 기존의 열경화성 폴리머는 기계적 특성이 약하고 생리학적 환경에서 빠르게 분해되어 임상용으로 실제 적용하는 데 한계가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 열경화성뿐만 아니라 화학적 기능성을 나타낼 수 있는 새로운 기능성 써모젤 플랫폼으로 글리콜 키토산 유도체를 제공하는 것이다. 글리콜 키토산 유도체의 알케닐기는 소수성을 띄어 소수성 상호작용에 의한 물리적 가교가 가능하며, 이중결합으로 인해 자외선 가교가 가능하다. 이중 가교가 가능한 글리콜 키토산 유도체의 화학적, 물리적 특성은 열경화성 및 자외선 가교를 위해 미세하게 조정되었다.

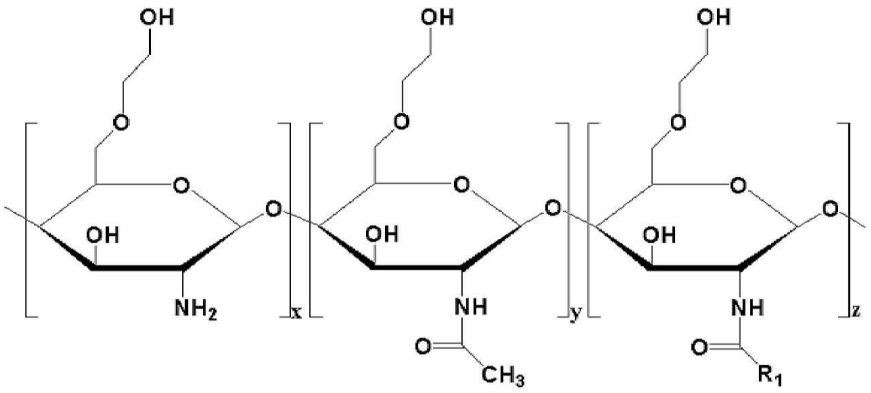
주사용 전달 시스템 및 조직 공학과 같은 바이오메디컬 응용 분야를 위해 물리화학적 및 생물학적 특성을 조사했다.

[0005] 다만, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 상기 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 하기의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

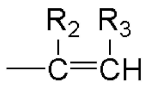
[0006] 본 발명의 일 실시상태는 하기 화학식 1의 구조를 갖는 열에 의한 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 이중결합 반응기를 갖는 글리콜 키토산 유도체를 제공한다:

[0007] [화학식 1]



[0008] .

[0009] (상기 화학식 1에서, 상기 R_1은 탄소수 1 내지 18의 알케닐기, 탄소수 1 내지 18의 할로알케닐기, 탄소수 3 내지 8의 사이클로알케닐기 및 탄소수 1 내지 8의 알케닐카르보닐기로 이루어진 군에서 선택된 1종을 포함하고, 상기 x, y, z로 수식되는 세가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고, 상기 x, y, z는 각 단량체의 평균 몰분획으로서, $0.1 \leq x \leq 0.7$, $0.1 \leq y \leq 0.5$, 및 $0.1 \leq z \leq 0.7$이고, $x + y + z = 1$ 임)

[0010] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_1은  이고, 상기 R_2 및 R_3는 각각 독립적으로 H, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 또는 OH일 수 있다.

[0011] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_2는 $-CH_3$이고, 상기 R_3는 H일 수 있다.

[0012] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, $0.46 \leq z \leq 0.53$일 수 있다.

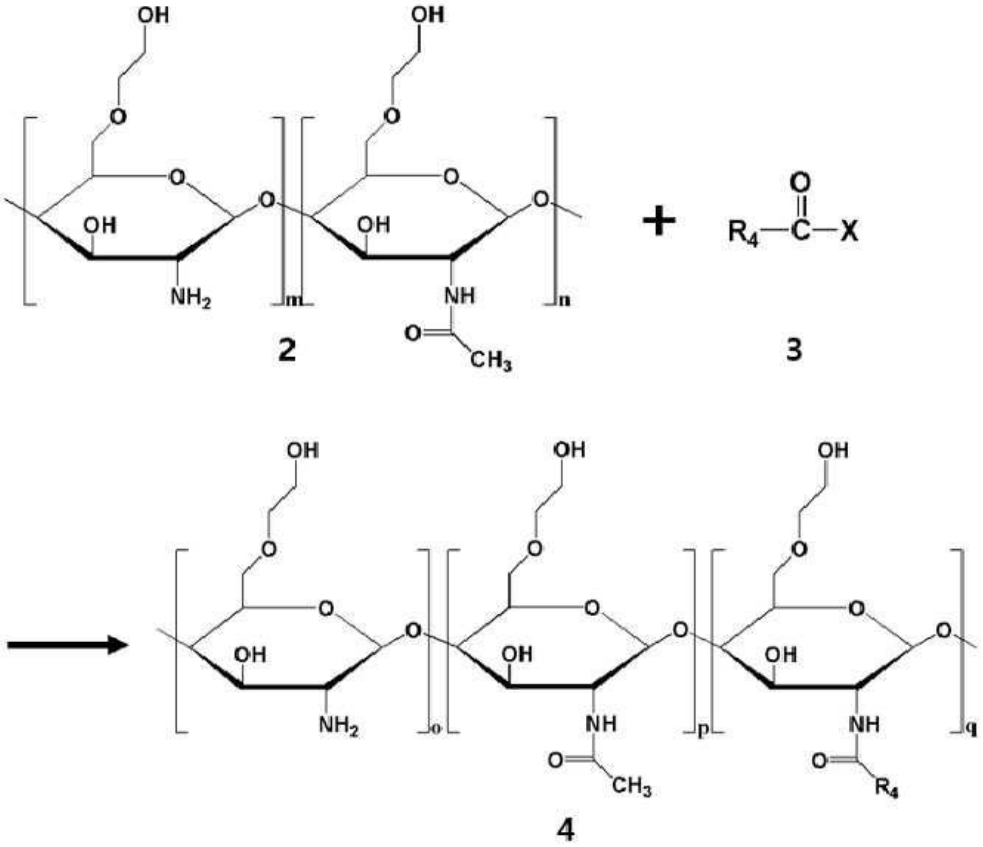
[0013] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 광가교 반응 후 30% 내지 75%의 가교도를 가질 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 광가교 반응 후 37% 내지 72%의 가교도를 가질 수 있다.

[0015] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 중량평균분자량이 200 내지 5,000,000일 수 있다.

[0016] 본 발명의 일 실시상태는 하기 반응식 1로 표시되며, 화학식 2의 N-아세틸화된 글리콜 키토산 유도체와 화학식 3의 R_4COX 유도체를 반응시켜 화학식 4와 같이 열에 의한 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 이중결합 반응기를 갖는 글리콜 키토산 유도체를 제조하는 방법을 제공한다:

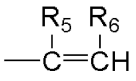
[0017] [반응식 1]



[0018]

[0019] (상기 반응식 1에서, 상기 R_4는 탄소수 1 내지 18의 알케닐기, 탄소수 1 내지 18의 할로알케닐기, 탄소수 3 내지 8의 사이클로알케닐기 및 탄소수 1 내지 8의 알케닐카르보닐기로 이루어진 군에서 선택된 1종을 포함하고, 상기 X는 이탈기이고, 상기 m, n으로 수식되는 두가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고, m, n은 상기 화학식 2의 각 단량체의 평균 몰 분획으로서, $0.1 \leq m \leq 0.7$, $0.3 \leq n \leq 0.9$이고, $m + n = 1$ 이고, 상기 o, p, q로 수식되는 세가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고, 상기 o, p, q는 상기 화학식 4의 각 단량체의 평균 몰 분획으로서, $0.1 \leq o \leq 0.7$, $0.1 \leq p \leq 0.5$, 및 $0.1 \leq q \leq 0.7$이고, $o + p + q = 1$ 임)

[0020] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 X는 하이드록시기; 할로젠 치환기; 탄소수 1 내지 4의 알콕시기; 또는 -O-C(=O)-R_4인 것일 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_4는  이고, 상기 R_5 및 R_6은 각각 독립적으로 H, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 또는 OH인 것일 수 있다.

[0022] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_5는 $-CH_3$이고, 상기 R_6는 H인 것일 수 있다.

[0023] 본 발명의 일 실시상태는 상기 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 약물 및 세포 전달체를 제공한다.

발명의 효과

[0024] 본 발명의 글리콜 키토산 유도체 수용액은 21-54° C 범위에서 열 가역적 졸-겔 전이를 나타냈으며, 겔화 온도는 폴리머 농도와 치환 정도에 의해 제어될 수 있었다. 글리콜 키토산 유도체 하이드로젤에 자외선을 이용한 광가교를 수행하여 기계적 특성이 향상된 화학적으로 가교된 하이드로젤을 만들 수 있었다. 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 써모젤은 2-6 wt% 농도 범위에서 온도감응성 졸-젤 전이 특성을 보여주었다. MTT와 Live&Dead 분석법을 사용한 세포 독성 연구에서 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 하이드로젤은 세포 독성이 없는 것으로 나타났다.

도면의 간단한 설명

[0025] **도 1**은 MGC 써모젤의 이중 가교 시스템을 나타낸다.

도 2는 메타크릴 글리콜 키토산의 합성 과정을 나타낸다.

도 3은 GC 및 MGC의 ^{1}H-NMR 스펙트럼과 ATR-FTIR 스펙트럼을 나타낸다.

도 4는 튜브 반전법으로 얻은 MGC 용액의 졸-겔전이 상 다이어그램과 메타크릴산 무수물의 공급 몰 비율에 따른 메타크릴화 정도(DM)를 보여준다.

도 5는 (a) MGC39, (b) MGC46, (c) MGC50, (d) MGC53, (e) MGC59의 온도 의존적 유변학적 거동을 나타낸다.

도 6은 MGC50 농도 (a) 3 wt%, (b) 4 wt%, (c) 5 wt%, (d) 6 wt%에서의 온도 증가에 따른 점탄성 특성

도 7은 광가교 MGC 하이드로젤에 대한 ATR-FTIR 스펙트럼의 변화를 나타낸다.

도 8은 메타크릴기의 흡수 대역에 대한 디컨볼루션을 나타낸다.

도 9는 주파수 변화에 따른 광가교된 MGC 하이드로젤의 탄성률 변화를 나타낸다.

도 10은 MGC 하이드로젤과 광가교된 MGC50-30 및 MGC50-60 하이드로젤의 물리적 안정성 및 생분해성을 확인하기 위한 테스트 결과를 나타낸다.

도 11은 동결 건조된 하이드로겔 샘플의 내부 구조를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

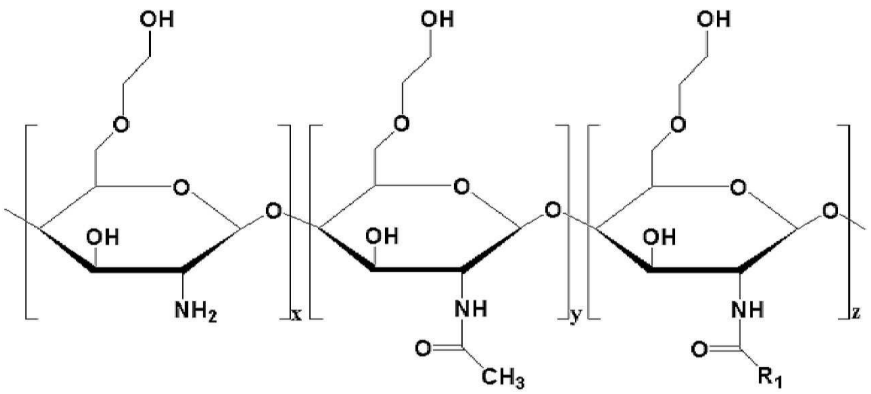
[0026] 본 명세서에 있어서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0027] 본원 명세서에서, "A 및/또는 B"는 "A 및 B, 또는 A 또는 B"를 의미한다.

[0028] 이하, 본 발명에 대하여 더욱 상세하게 설명한다.

[0029] 본 발명의 일 실시상태는 하기 화학식 1의 구조를 갖는 열에 의한 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 이중결합 반응기를 갖는 글리콜 키토산 유도체를 제공한다:

[0030] [화학식 1]

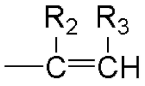


[0031]

[0032] (상기 화학식 1에서, 상기 R_1은 탄소수 1 내지 18의 알케닐기, 탄소수 1 내지 18의 할로알케닐기, 탄소수 3 내지 8의 사이클로알케닐기 및 탄소수 1 내지 8의 알케닐카르보닐기로 이루어진 군에서 선택된 1종을 포함하고, 상기 x, y, z로 수식되는 세가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고, 상기 x, y, z는 각 단량체의 평균 몰분획으로서, $0.1 \leq x \leq 0.7$, $0.1 \leq y \leq 0.5$, 및 $0.1 \leq z \leq 0.7$이고, $x + y + z = 1$ 임)

[0033] 일 실시상태는 상기 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 써모젤을 제공한다. 본 발명의 글리콜 키토산 유도체는 이중 가교가 가능한 것으로, 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 것일 수 있다. 상기 물리적 가교는 열가교일 수 있고, 상기 화학적 가교는 광가교일 수 있다. **도 1**은 본 발명의 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 써모젤의 이중 가교 시스템을 나타낸다. 열가교에 의하여 소수성 상호작용이 증가하고, 광가교에 의하여 알케닐기간에 공

유결합이 발생한다.

[0034] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_1은  이고, 상기 R_2 및 R_3는 각각 독립적으로 H, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 또는 OH일 수 있다.

[0035] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_2는 $-CH_3$이고, 상기 R_3는 H일 수 있다.

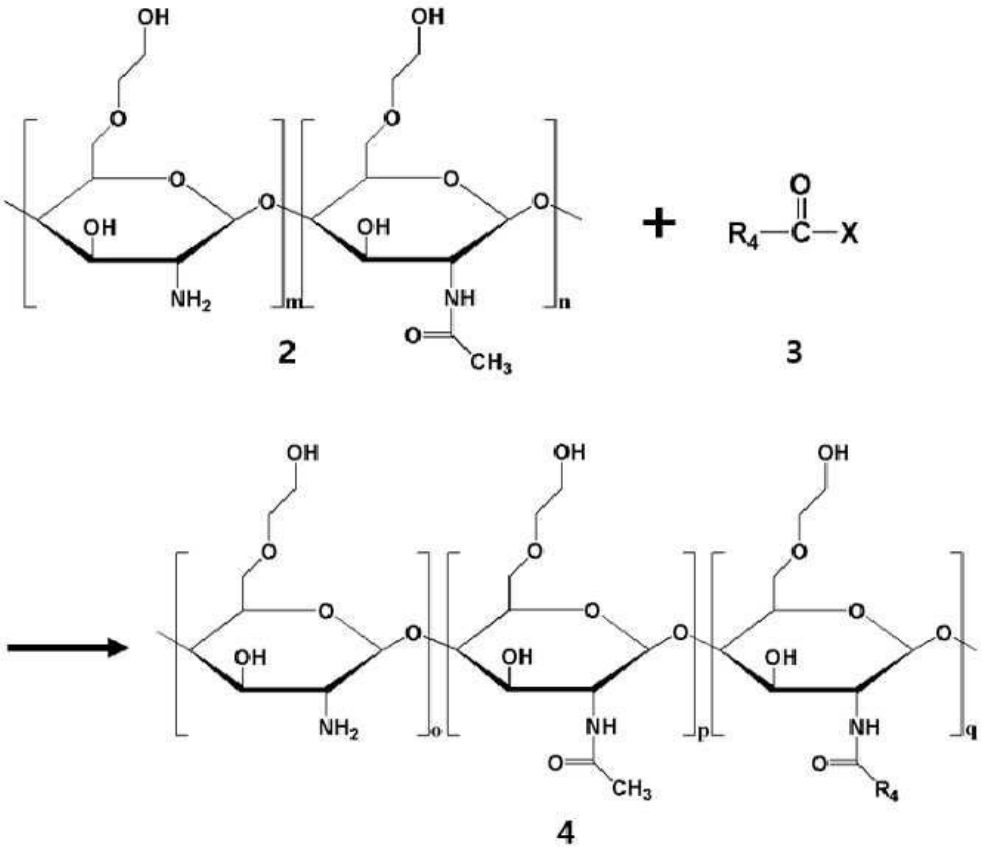
[0036] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 z는 $0.46 \leq z \leq 0.53$일 수 있다. 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 z는 0.30, 0.31, 0.32, 0.33, 0.34, 0.35, 0.36, 0.37, 0.38, 0.39, 0.40, 0.41, 0.42, 0.43, 0.44, 0.45, 0.46, 0.47, 0.48, 0.49 또는 0.50 이상이거나, 0.50, 0.51, 0.52, 0.53, 0.54, 0.55, 0.56, 0.57, 0.58, 0.59, 0.60, 0.61, 0.62, 0.63, 0.64, 0.65, 0.66, 0.67, 0.68, 0.69 또는 0.70 이하일 수 있다. 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 z는 0.39, 0.46, 0.50, 0.53 또는 0.59일 수 있다.

[0037] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 광가교 반응 후 30% 내지 75%의 가교도를 가질 수 있다. 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 광가교 반응 후 37% 내지 72%의 가교도를 가질 수 있다. 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 광가교 반응 후 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44% 또는 45% 이상의 가교도를 갖거나, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% 또는 75% 이하의 가교도를 가질 수 있다.

[0038] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 중량평균분자량이 200 내지 5,000,000일 수 있다.

[0039] 본 발명의 일 실시상태는 하기 반응식 1로 표시되며, 화학식 2의 N-아세틸화된 글리콜 키토산 유도체와 화학식 3의 R_4COX 유도체를 반응시켜 화학식 4와 같이 열에 의한 물리적 가교 및 화학적 가교가 가능한 이중결합 반응기를 갖는 글리콜 키토산 유도체를 제조하는 방법을 제공한다:

[0040] [반응식 1]



[0041]

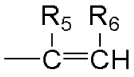
[0042] (상기 반응식 1에서, 상기 R_4는 탄소수 1 내지 18의 알케닐기, 탄소수 1 내지 18의 할로알케닐기, 탄소수 3 내지 8의 사이클로알케닐기 및 탄소수 1 내지 8의 알케닐카르보닐기로 이루어진 군에서 선택된 1종을 포함하고,

상기 X는 이탈기이고, 상기 m, n으로 수식되는 세가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고, m, n은 상기 화학식 2의 각 단량체의 평균 몰 분획으로서, $0.1 \leq m \leq 0.7$, $0.3 \leq n \leq 0.9$이고, $m + n = 1$ 이고, 상기 o, p, q로 수식되는 세가지 단량체는 무작위적으로 배열되어 있고, 상기 o, p, q는 상기 화학식 4의 각 단량체의 평균 몰 분획으로서, $0.1 \leq o \leq 0.7$, $0.1 \leq p \leq 0.5$, 및 $0.1 \leq q \leq 0.7$이고, $o + p + q = 1$ 임)

[0043] 출발물질로 N-아세틸화된 글리콜 키토산 유도체는 5번 위치의 아민기의 일부가 N-아세틸화가 된 것으로, 공지된 방법을 이용하여 직접 제조하거나 시판되는 것을 구입하여 사용한다. 직접 제조할 경우, 글리콜 키토산을 아세틸화제와 반응시켜 N-아세틸화된 글리콜 키토산 유도체를 제조한다. 상기 아세틸화제로는 아세트산 무수물 및 아세트산 클로라이드 중에서 선택 사용할 수 있으며, 바람직하기로, 아세트산 무수물을 사용한다.

[0044] 이때 반응은 -10 내지 60 ℃이며, 바람직하게는 15 내지 50 ℃이고, 반응시간은 10 내지 50 시간이며, 바람직하게는 18 내지 30 시간 동안 수행한다.

[0045] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 X는 하이드록시기; 할로젠 치환기; 탄소수 1 내지 4의 알콕시기; 또는 $-O-C(=O)-R_4$인 것일 수 있다.

[0046] 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_4는  이고, 상기 R_5 및 R_6은 각각 독립적으로 H, 탄소수 1 내지 5의 알킬기 또는 OH인 것일 수 있다. 본 발명의 일 실시상태에 있어서, 상기 R_5는 $-CH_3$이고, 상기 R_6는 H인 것일 수 있다.

[0047] 본 발명의 일 실시상태는 상기 글리콜 키토산 유도체를 포함하는 약물 및 세포 전달체를 제공한다. 상기 약물 전달체는 약물을 포접 후 방출하는 것일 수 있다.

[0048] 본 발명에 따른 글리콜 키토산 유도체는 열감응 및 광감응 특성으로 인해 의약 분야, 바이오 분야, 및 전자 분야 등에 다양하게 적용할 수 있다. 예를 들어, 약물을 포접하고 전달하는 약물 전달체, 세포를 배양, 지지 및 전달하기 위한 세포 전달체, 조직 공학용 지지체, 가스 저장체, 가스 여과체, 화학반응용 촉매 담지체, 온도감응 센서 등의 다양한 분야에 적용이 가능하다.

[0049] 구체적으로, 대부분의 약물이 소수성 및 난용성인 것을 고려할 때 본 발명의 글리콜 키토산 유도체는 유도체 내 소수성기로 인해 상기 소수성 및 난용성의 약물을 용이하게 포접할 수 있다. 특히, 소수성기가 존재하는 소수성 블록에 의해 자기 집합체를 이루어 수용액 내에서 마이셀을 형성하여 소수성 및 난용성의 높은 함량으로 포접이 가능하다. 또한, 졸-겔 전이 특성을 가짐으로써, 약물을 포접 후 온도 조절에 의해 겔 상태로 전환 후 다시 온도 조절에 의해 졸 상태로 전이함으로써 약물을 방출할 수 있어, 효과적인 약물 전달체로서 사용이 가능하다.

[0050] 이때 본 발명의 유도체는 친수성기(아민기, 글리콜기)를 또한 포함하여 친수성 약물 또한 용이하게 포접이 가능하다.

[0051] 사용 가능한 친수성, 소수성 및 난용성 약물은 본 발명에서 특별히 한정하지 않으며, 이 분야에서 공지된 약물이면 어느 것이든 가능하다. 대표적으로, 수용성 약물로는 인산베타메사존, 인산덱사메타존, 인산프레드니졸론, 숙신산프레드니졸론, 숙신산히드로코르티존, 반코마이신, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 숙신산클로람페니콜, 라타목세프, 세프피롬, 카루모남, 인산클린다마이신 및 아바카비르 등이 있고, 소수성 및 난용성 약물로는 에난트산테스토스테론, 프로피온산테스토스테론, 테스토스테론, 에스트라디올, 발레르산에스트라디올, 벤조산에스트라디올, 아세트산덱사메타존, 베타메타존, 디프로피온산베타메타존, 발레르산베타메타존, 아세트산프레드니졸론, 시클로스포린, 타크롤리무스, 파클리탁셀, 염산이리노테칸, 시스플라틴, 메소트렉세이트, 카르모푸르, 테가푸르, 독소루비신, 클라리스로마이신, 아즈트레오남, 세프니딜, 날리딕스산, 오플록사신, 노르플록사신, 케토프로펜, 플루르비프로펜, 플루르비프로펜악세틸, 클로로프로마진, 다이아제팜, 니페디핀, 염산니카르디핀, 베실산아무로디핀, 칸데사르탄실렉세틸, 아시클로비르, 비다라빈, 에파비렌즈, 알프로스타딜, 디노프로스톤, 유비데카레논, 비타민 A (레티놀), 비타민 D, 비타민 E 및 비타민 K 등이 있다.

[0052] 본 발명에 따른 소수성 치환기를 갖는 글리콜 키토산 유도체는 생체적합성 및 양친성 특성 뿐만 아니라 온도에 따라 가역적인 졸-겔 전이를 조절할 수 있어, 세포 전달체와 같은 바이오 분야에도 적용할 수 있다.

[0053] 본 발명에 따른 유도체의 양친성으로 인해 친수성 또는 소수성을 갖는 세포가 지지되며, 이때 졸-겔 임계 온도를 벗어나도록 온도를 조절할 경우 상기 유도체의 졸-겔 전이로 인해 지지된 세포가 탈착될 수 있어 세포 전달

체로서 사용될 수 있다. 또한, 상기 유도체의 하이드로겔 특성으로 인해 다양한 세포의 배양에도 사용이 가능하다.

[0054] 사용 가능한 세포는 본 발명에서 특별히 한정하지 않으며, 이 분야에서 공지된 바의 어떤 세포, 성장인자, 펩타이드 등이 사용이 가능하고, 일례로 상피세포, 섬유아세포, 골아세포, 연골세포, 간세포, 인간 유래 제대혈 세포 및 인간 골수유래 중간엽 줄기세포등이 가능하며, 바람직하기로 인간 골수 유래 중간엽 줄기세포가 사용될 수 있다. 또한, 성장인자로는 변환성장인자(transforming growth factor-β, TGF), 인슐린-유사 성장인자(insulin-like growth factor, IGF), 표피 성장인자(epidermal growth factor, EGF), 신경세포 성장인자(nerve growth factor, NGF), 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF), 섬유아세포 성장인자 (fibroblast growth factor, FGF), 간세포 성장인자(hepatocyte growth factor, HGF), 혈소판유래 성장인자(platelet-derived growth factor, PDGF) 및 골형성단백질(bone morphogenetic protein, BMP)이 가능하다.

[0055] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명에 따른 실시예들은 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 기술하는 실시예들에 한정되는 것으로 해석되지 않는다. 본 명세서의 실시예들은 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0057] **실시예**

[0058] 재료

[0059] 글리콜 키토산(GC)(DP≥400)은 Fujifilm(일본)에서 구입하였다. 메타크릴산 무수물(Methacrylic anhydride)(97%), 리소자임(Lysozyme)(63,564 units/mg), 디메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide (DMSO)), 그리고 2-히드록시-2-메틸프로피오페논(2-hydroxy-2-methylpropiophenone)은 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)(St. Louis, MO, 미국)에서 구입하였다. 용매인 PBS는 Gibco™(Thermo Fisher Scientific, 미국)에서 구입한 Dulbecco's phosphate buffered saline를 사용하였다. 합성 과정을 위해 사용한 유기 용매인 메탄올과 아세톤은 (주)삼전화학(한국)에서 구입하였다. 물은 3차 증류수를 사용하였고, 그 외 다른 시약들은 별도의 정제 과정 없이 사용하였다. 투석막(molecular weight cutoff:12-14kDa)은 Spectrum Laboratories(미국) 제품을 사용하였다.

[0061] **실시예 1. 메타크릴 글리콜 키토산(MGC)의 합성 및 특성 분석**

[0062] 메타크릴 글리콜 키토산(MGC)은 온화한 조건에서 GC의 메타크릴화에 의해 합성되었다. **도 2**는 메타크릴 글리콜 키토산의 합성 과정을 나타낸다. GC 1g을 증류수 100mL에 용해하고 40mL의 메탄올로 희석했다. 사전에 정해진양의 메타크릴산 무수물을 질소 분위기에서 마그네틱 교반을 통해 GC용액에 첨가했다. 40℃에서 24시간 동안 연속 교반한 후 아세톤에 침전시켜 폴리머를 수집했다. 그런 다음 폴리머를 투석막(molecular weight cutoff:12-14kDa)을 사용하여 2일 동안 증류수에 대해 투석한 후 동결 건조시켰다. 동결 건조된 폴리머를 최종적으로 수집하여 사용할 때까지 냉장고(4° C 이하)에 보관했다. MGC의 화학적 조성은 600MHz에서 AVANCE III 600 분광기(브루커, 독일)를 사용하여 양성자 NMR 분광법으로 분석했다. GC와 MGC를 각 튜브에 1.0wt% 농도의 D_2O에 용해했다. 4.85ppm의 D_2O 피크를 기준 피크로 설정했다. MGC의 화학적 조성은 또한 Nicolet iS 5 (Thermo Scientific, 미국)를 사용한 ATR-FTIR 특성 분석에 의해 확인되었다. GC 및 MGC의 ATR-FTIR 스펙트럼은 4000-750cm^{-1}의 주파수 범위에서 4 cm^{-1} 해상도의 32 스캔을 사용하여 기록되었다.

[0063] 온화한 조건에서 한 단계 반응 절차를 통해 글리콜 키토산으로부터 다양한 정도의 N-메타크릴레이트를 가진 MGC를 합성했다. 반응의 한 단계에서 메타크릴산 무수물은 아미드 결합 형성을 통해 글리콜 키토산의 아민 그룹과 반응하여 MGC를 형성했다. GC와 MGC의 화학 구조는 ^{1}H-NMR 및 ATR-IR 스펙트럼 분석을 통해 특성화되었다. **도 3**의 A는 글리콜 키토산 백본에 메타크릴기가 성공적으로 도입되었음을 확인할 수 있는 GC 및 MGC의 ^{1}H-NMR 스펙트럼을 보여준다. 4.65ppm의 D_2O 피크가 기준 피크로 사용되었다. 3-4ppm의 중첩된 피크는 위치 2-8(H-2~H-8)에 있는 글루코피라노실(glucopyranosyl) 고리의 양성자에 기인한다. 2.6ppm의 피크는 1차 아민 잔기의 양성자에서 발생한다. 메타크릴레이트 유도체에서는 글리콜 키토산에 접합된 메타크릴레이트 모이어티의 알케닐 이중 결합

을 나타내는 5.4 및 5.6 ppm에서 추가 피크가 나타난다. 또한 메타크릴 글리콜 키토산의 스펙트럼에 나타난 1.84ppm의 추가 피크는 메타크릴기의 $-CH_3$ 때문이다. 키토산 글루코사민 양성자(δ=3.0-3.8 ppm)에 대한 메타크릴레이트 그룹의 양성자 피크(δ=5.4-5.6 ppm)의 평균 강도의 비율은 하기 수학식 1에 따른 메타크릴화 정도를 제공한다:

[0064] [수학식 1]

$$\text{메타크릴화 (\%)} = \frac{\text{integral of methacrylate protons at 5.4\&5.6ppm/2}}{\text{integral of H2} - \text{H8 protons/10}} \times 100\%$$

[0065]

[0066] **도 3**의 B에 제시된 바와 같이 GC 및 MGC의 화학 구조는 ATR-FTIR 분광법으로도 확인되었다. 3400 cm^{-1}의 광대역은 수산기의 연신 진동에 할당되었으며, 이는 동일한 영역에서 N-H 연신 진동과 겹쳤다. 2890 cm^{-1} 에서의 흡수 피크는 CH_2 그룹에 기인한다. 1596 cm^{-1} 에서의 흡수 피크는 GC의 아미노 굽힘 진동에 기인한다. 1596 cm^{-1}에서 아미노 진동 밴드가 사라지고 메타크릴화 후 1555 cm^{-1}에서 아미드 II 밴드가 나타나는 것은 MGC가 성공적으로 합성되었음을 보여준다. 또한 1700 cm^{-1}에서의 흡수 피크는 메타크릴화 후 메타크릴레이트 탄소 대 탄소 이중 결합에 기인한다. 하기 표 1과 같이 메타크릴산 무수물의 공급 몰 비율을 변화시켜 39%에서 59%까지 메타크릴화 정도를 조절하여 일련의 MGC를 합성했다(수율: 72-76%).

[0067] [표 1]

샘플	메타크릴산 무수물/ 글루코사민 잔기	DM(%)	졸-겔 전이(℃)		수율(%)
			T_{gel}^{a} (℃)	T_{gel}^{b} (℃)	
MGC39	0.7	39	- (Sol)	- (Sol)	75
MGC46	1.0	46	54	43	72
MGC50	1.2	50	33	36	75
MGC53	1.4	53	21	23	74
MGC59	2.0	59	- (Gel)	- (Gel)	76

[0068]

[0069] MGC의 메타크릴화 정도(DM)는 메타크릴산 무수물의 공급 몰 비율에 따라 39%, 46%, 50%, 53%, 59%로 증가했다(**도 4**의 B). T_{gel}^{a}는 4 wt%에서 튜브 반전법을 통하여 측정된 것이고, T_{gel}^{b}는 유변학 장비를 사용하여 측정된 것이다. 가장 낮은 DM(39%)을 가진 MGC인 MGC39는 눈에 띄는 열에 민감한 겔화 거동을 보이지 않았는데, 이는 소수성 메타크릴기의 함량이 낮기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 가장 높은 DM(59%)을 가진 MGC인 MGC59는 과도한 양의 메타크릴기를 도입하여 소수성이 증가함에 따라 4℃ 이하에서 겔화되었다. 따라서 다음 단계의 실험에서 MGC46, MGC50, MGC59에 대한 추가 조사를 진행했다.

[0071] **실시예 2. 온도감응성 졸-젤 전이 거동 연구**

[0072] MGC 용액의 열에 민감한 졸-겔 전이 거동을 0.2℃/min의 가열 속도로 튜브 반전법을 사용하여 조사했다. 폴리머 용액은 4℃에서 PBS 용액(pH 7.4, 0.01 M)에 MGC를 용해하여 3.6-5.0 wt% 농도로 제조되었다. 용액-겔 전이 온도는 튜브를 60초 동안 뒤집은 상태에서 유동 또는 비유동 기준으로 측정했으며, 각 데이터 값은 세 번의 측정에서 얻은 표준편차(SD)를 포함한 평균을 나타낸다. 이 방법을 사용하여 얻은 졸-겔 전이 상 다이어그램은 ±1℃의 정밀도를 갖는 것으로 알려져 있다. MGC의 졸-겔 전이 온도는 레오미터(Waters TA Instruments, 미국 매사추세츠주 밀포드)로도 조사했다. MGC 수용액을 직경 20mm, 간격 1000㎛의 평행 플레이트 사이에 배치했다. 주파수는 주파수 스윕 실험을 사용하여 결정한 대로 1Hz로 최적화되었다. 측정에는 25 Pa의 일정한 응력이 사용되

었다.

[0073] 튜브 반전법, 점도 측정 및 유변학을 사용하여 MGC 용액의 열에 민감한 졸-겔 전이 특성을 조사했다. **도 4**의 A는 튜브 반전법으로 얻은 MGC 용액의 졸-겔전이 상 다이어그램을 보여준다. 39~59% 범위의 DM을 가진 MGC를 PBS 용액(pH 7.4, 0.01M)에 2~6wt% 농도 범위로 용해하여 다양한 MGC 용액을 제조했다. MGC 용액의 졸-겔 전이 온도는 DM 및 MGC 농도를 변화시킴으로써 19~54° C로 잘 제어할 수 있었다. DM 또는 폴리머 농도가 증가함에 따라 졸-겔 전이 온도가 감소하는 것으로 관찰되었는데, 이는 아마도 MGC의 메타크릴 그룹 간의 향상된 소수성 상호작용에 의해 형성된 더 높은 물리적 가교 밀도로 인한 것일 수 있다.

[0074] 10-45℃의 온도 변화에서 유변학 실험을 통해 MGC39, MGC46, MGC50, MGC53, MGC59의 점탄성 특성, 저장 탄성률(G') 및 손실 탄성률(G'')을 연구했다. **도 5**의 a 내지 e는 각각 (a) MGC39, (b) MGC46, (c) MGC50, (d) MGC53, (e) MGC59의 4 wt% 수용액에서의 온도 의존적 유변학적 거동을 나타낸다. 이 유변학적 분석은 튜브 반전법에 비해 더 재현성 있고 정량적인 결과를 도출했다. 온도가 증가함에 따라 겔화가 진행됨에 따라 저장 탄성률탄성(G')과 손실 탄성률(G'')이 모두 증가했으며, 특히 G'의 상승 속도가 G''의 상승 속도보다 훨씬 빨랐다. G'와 G''의 상승률 차이는 교차점(겔화점으로 정의)을 생성하며, 이는 점성이 우세한 액체상에서 탄성 특성이 우세한 고체상으로의 전환을 나타낸다(Journal of Rheology, 30(2), 367-382). MGC39, MGC46, MGC50, MGC53의 G' 값은 초기에는 G''보다 낮았으나 온도가 증가함에 따라 G' 값이 급격히 증가했다. G'값과 G''값이 교차하는 지점은 튜브 반전 방법의 이전 결과와 유사하다. MGC59의 경우, 초기에 G''이 G'보다 높기 때문에 10℃ 이하에서 졸-겔 상전이가 일어난 것으로 추정된다.

[0075] **도 6**은 MGC50 농도 (a) 3 wt%, (b) 4 wt%, (c) 5 wt%, (d) 6 wt%에서의 온도 증가에 따른 점탄성 특성을 나타낸다. MGC50의 농도가 높을수록 크로스오버 포인트가 낮아지는 것을 볼 수 있다. MGC50의 농도가 높을수록 소수성 부분이 많아지기 때문에 소수성 상호작용이 증가하여 졸-젤 상전이 온도가 낮아지는 것을 알 수 있다. 이러한 이유로 MGC50(6wt%)은 졸-젤 상전이 온도 23℃로 가장 낮다.

[0077] **실시예 3. MGC의 광가교**

[0078] 광개시제 I2959(0.05 wt%)를 함유한 인산 완충 식염수(PBS, pH 7.4, 4.0 wt%)의 MGC 수용액을 원통형 실리콘 몰드(직경10mm×두께2mm)에 부었다. 그런 다음 용액을 자외선(365nm, 20mW/cm^2)에 30~60분 동안 노출하여 화학적으로 가교된 MGC 하이드로젤을 준비했다. MGC의 광가교 반응은 ATR-FTIR 측정을 통해 추적하여 자외선 조사 시간의 함수로서 메타크릴레이트 그룹에 해당하는 특성 피크의 변화를 관찰했다.

[0079] MGC 수용액은 체온과 비슷한 37℃ 이하의 온도에서 응고되어 흐르지 않는 투명한 겔을 형성할 수 있다. MGC 써모겔은 화학적으로 가교된 탄성 하이드로젤을 얻기 위해 UV 가교를 통해 추가로 변형되었다. 써모겔을 자외선에 각각 30분, 60분 동안 노출시키고, 메타크릴레이트 그룹을 확인하여 자외선 조사 시간에 따른 가교 반응도를 확인했다. 광가교 MGC 하이드로젤에 대한 ATR-FTIR 스펙트럼의 변화는 **도 7**에 나와 있다. 1650 cm^{-1} 에서의 진동 대역의 감소는 메타크릴기의 전환에 기인한다.

[0080] 가교 반응에 대한 동역학 연구를 위해 탄소 대 탄소 이중 결합 밴드에 해당하는 단일 가우시안 곡선을 얻기 위해 디컨볼루션 프로세스를 수행했다. **도 8**은 메타크릴기의 흡수 대역에 대한 디컨볼루션을 나타낸다. 서로 다른 시간에 1650 cm^{-1}에서 흡수 대역의 적분값 A를 사용하여 하기 수학식 2에 따라 가교도(DC)를 계산할 수 있다:(Macromolecules, 35(16), 6377-6383). **도 8**의 MGC 50은 자외선 조사가 되지 않은 것이고, MGC 50-30, MGC 50-60, MGC 50-90, MGC 50-120은 각각 30분, 60분, 90분, 120분에 대한 흡수를 나타낸다.

[0081] [수학식 2]

$$\text{degree of crosslinking(DC)} = 1 - \frac{A_t}{A_0}$$

[0082]

[0083] MGC50에 대한 연구 결과, 시간이 지남에 따라 자외선 조사 시 이중 결합 피크가 점차 감소하는 것으로 나타났다. MGC 50-30, MGC 50-60, MGC 50-90, MGC 50-120은 각각 37%, 45%, 72%, 69%의 가교도(DC)를 보였다. 임계 시간은 90분(가교도=72%)으로 확인되었다.

[0085] **실시예 4. 유변학적인 분석**

[0086] 20mm 티타늄 병렬 플레이트가 있는 HR10 레오미터(Waters TA Instruments, 미국 밀포드)를 사용하여 37℃에서 주파수 스윕을 측정하기 위해 레오미터를 사용하여 MGC 하이드로젤 및 광가교 MGC 하이드로젤의 유변학적 거동을 조사했다. 레오미터에 MGC 용액(4 wt%, PBS)을 도포하고 상판을 500㎛의 측정 간격 크기로 낮춘 후 저장 탄성률(G')과 손실 탄성률(G'')을 주파수의 함수로서 측정했다. 같은 방식으로 자외선 조사 후 광가교 MGC 하이드로젤에 대한 주파수 스윕을 연구했다. 하이드로젤에 대한 주파수 스윕은 0.01% 변형률에서 0.01~10Hz로 수행되었다.

[0087] 37℃에서 진동 유변학 실험을 통해 물리적으로 가교된 MGC와 화학적으로 가교된(광가교된) MGC 하이드로젤의 기계적 특성을 조사하고 비교했다. 탄성 네트워크의 형성을 나타내는 저장 탄성률은 모든 하이드로겔 그룹에 대해 측정되었다. **도 9**의 G' 성분은 37℃에서 주파수 스윕의 함수로서 결정되었다. 광가교 MGC 하이드로젤은 강한 공유 결합을 통한 견고한 네트워크 구조 형성으로 인해 전체 주파수 범위에서 물리적으로 가교된 MGC 써모젤보다 훨씬 더 높은 G' 값을 보였다. 또한 MGC50-60 하이드로젤의 G'가 MGC50-30 하이드로젤보다 약간 더 높은 것으로 확인되었는데, 이는 메타크릴레이트기의 함량이 많아 가교 네트워크가 더 촘촘하게 형성되어 탄성이 더 높다는 것을 나타낸다. 결과를 요약하면, 화학적으로 가교된 하이드로겔은 물리적으로 가교된 하이드로겔에 비해 저장 탄성률이 상당히 높으며, 장시간 자외선을 조사하면 하이드로겔의 가교 밀도가 더 높아질 수 있다는 것을 알 수 있다.

[0089] **실시예 5. *In vitro* 겔 안정성 및 효소 생분해**

[0090] *In vitro*에서 라이소자임 유무에 따른 배양 중 MGC 하이드로젤의 무게 변화를 측정하여 MGC50 하이드로젤과 광가교된 MGC50 하이드로젤의 생분해를 조사했다. MGC50 용액(PBS, 1mL, 4wt%)을 5mL 바이알에 넣고 37° C에서 15분간 수조(시리즈 BS-21, 랩 컴패니언, 한국)에서 배양하여 겔을 형성했다. 광개시제 I2959(중량 대비 0.05 %)를 함유한 MGC50 용액(PBS, 1mL, 4wt%)을 준비한 다음 원통형 실리콘 몰드(직경 10mm x 두께 2mm)에 부어 넣었다. 그런 다음 용액을 30~60분 동안 자외선(365nm, 20mW/cm^2)에 노출하여 화학적으로 가교된 MGC 하이드로젤을 준비했다. 이 하이드로젤은 라이소자임이 없거나 5mg/mL 라이소자임을 함유한 2mL PBS 용액에서 배양되었다. 하이드로젤의 무게를 미리 정해진 시간 간격으로 측정하고 다시 신선한 PBS에 담갔다. 모든 실험은 삼중으로 수행되었다. 잔류 하이드로겔 무게의 백분율은 하기 수학식 3을 사용하여 계산했다:

[0091] [수학식 3]

[0092] $$\text{Residual weight (\%)} = (W_s - W_i)/W_i \times 100(\%)$$

[0093] 여기서 W_i는 하이드로젤의 초기 무게이고, W_s는 시간의 함수에 따른 하이드로젤 샘플의 무게이다.

[0094] MGC 하이드로젤과 광가교된 MGC50-30 및 MGC50-60 하이드로젤의 물리적 안정성을 확인하기 위해 PBS 용액에서 안정성 테스트를 수행했다. **도 10**의 A와 같이 MGC는 최대 2일 동안 초기 부종으로 인해 점진적인 무게 증가를 보였다. 그러나 3일 이후에는 MGC 하이드로겔의 질량 손실로 인해 잔류 무게가 급격히 감소했다. 반면, 광가교 MGC 하이드로겔은 **도 10**의 A에 표시된 바와 같이 배양 50일 동안 MGC50-30 및 MGC50-60 모두에서 유의미한 질량 손실을 보이지 않았다. 결론적으로 광가교 MGC 하이드로겔이 우수한 물리적 안정성을 나타냄을 확인했다.

[0095] MGC 하이드로젤과 광가교 MGC50-30 및 MGC50-60 하이드로젤의 시험관 내 생분해성을 조사하기 위해 하이드로젤 샘플을 37℃에서 라이소자임(5mg/mL)이 포함된 PBS 용액에서 배양했다. **도 10**의 B는 생분해성 조사를 위한 MGC 하이드로젤과 광가교 MGC50-30 및 MGC50-60 하이드로젤의 시간에 따른 중량 변화를 나타낸다. MGC 하이드로겔은 매우 빠른 용해 거동을 보여 1일 이내에 총 질량의 100%를 잃은 반면, 광가교 MGC50-30 및 MGC50-60 하이드로겔의 경우 지속적인 질량 손실률이 관찰되었다. 가교 밀도가 더 높은 MGC50-60 하이드로젤은 MGC50-30 하이드로젤보다 분해가 더 느린 것으로 나타났다. MGC 하이드로겔과 비교하여 MGC50-60 및 MGC50-30 하이드로겔의 지속적인 질량 손실 프로파일은 광가교 시스템의 도입이 화학 결합 네트워크 형성에 의한 입체 장애 효과의 증가로 인해 분해를 지연시킬 수 있음을 나타낸다. 따라서 하이드로젤의 가교도를 조절하여 하이드로젤의 효소 분해를 조절할 수 있다. MGC 하이드로젤의 이러한 조절 가능한 특성은 약물 전달 시스템 및 조직 공학과 같은 다양한 바이오메디컬 응용 분야에 유용할 수 있다.

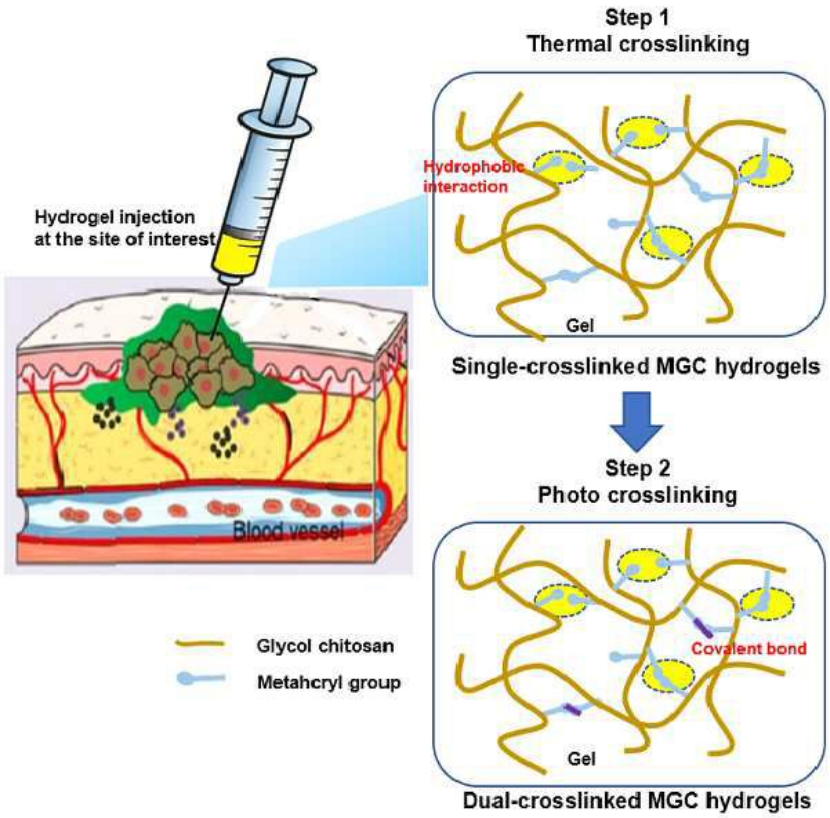
[0097] **실시예 6. 형태학적 연구**

[0098] MGC 하이드로젤의 형태 구조는 작동 전압이 10kV인 전계 방출 투과 전자 현미경(FE-SEM; S-4800, 일본 히타치)을 사용하여 시각화했다. 하이드로겔 샘플을 액체 질소에 얼린 후 빠르게 파쇄하여 내부 구조를 드러낸 다음 4일 동안 동결 건조했다. 모든 샘플은 60초 동안 백금으로 코팅되었다.

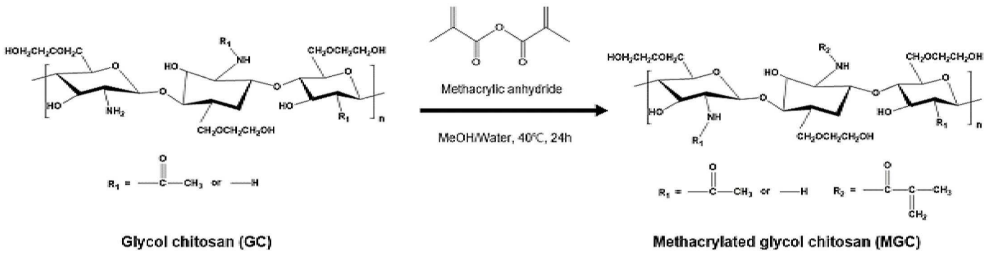
[0099] MGC50 하이드로젤의 형태학적 특성을 조사하기 위해 동결건조된 하이드로젤 샘플의 단면 형태를 FE-SEM을 사용하여 관찰했다. **도 11**은 동결 건조된 하이드로겔 샘플의 내부 구조를 보여준다. **도 11**의 A, B, C는 각각 MGC50, 광가교된 MGC50-30, 광가교된 MGC50-90을 나타낸다. MGC50 하이드로겔은 불규칙한 기공 크기를 가진 미세 다공성 구조가 관찰되었다. 광가교 전의 써모겔에 비해 광가교 하이드로겔에서는 비교적 규칙적인 크기와 모양을 가진 잘 발달된 기공 구조가 관찰되었다. 광가교 후 MGC50-30 및 MGC50-90 하이드로젤은 각각 20-25 및 10-15 μm의 기공 크기를 가진 스펀지와 같은 미세 다공성 구조를 보였다. 기공은 서로 연결되어 3차원 네트워크에서 개방형 채널 구조를 형성했다. SEM 이미지에서 관찰된 바와 같이 MGC50-90의 기공 크기는 MGC50-30의 기공 크기보다 작았다. 이러한 기공 구조의 차이는 화학적 가교의 도입과 가교 밀도의 차이로 인해 발생할 수 있다. 광가교 MGC-90 하이드로겔의 상대적으로 높은 가교 밀도는 기공 크기를 감소시킬 수 있다.

도면

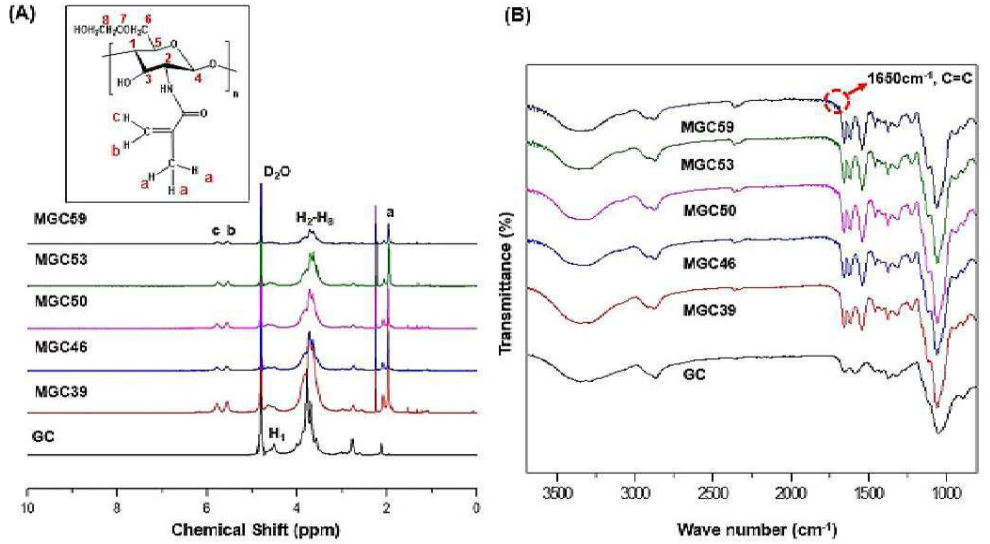
도면1



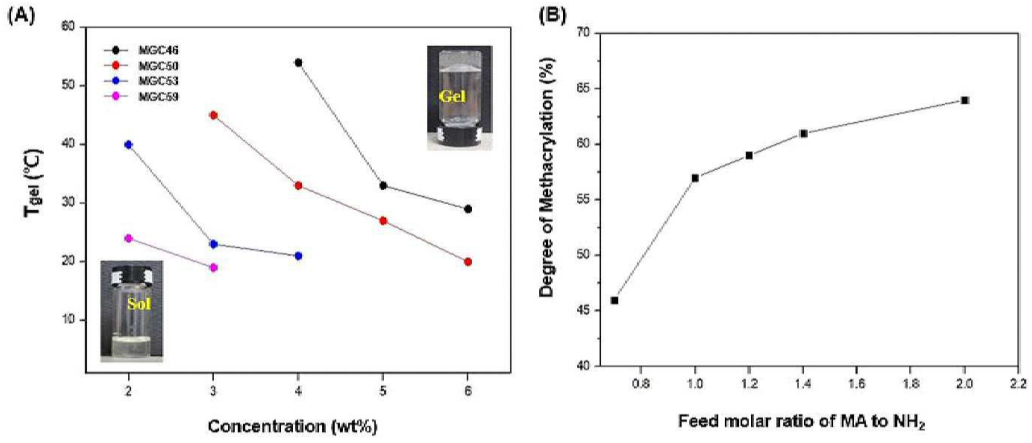
도면2


Methacrylic anhydride
MeOH/Water, 40℃, 24h
Glycol chitosan (GC)
Methacrylated glycol chitosan (MGC)

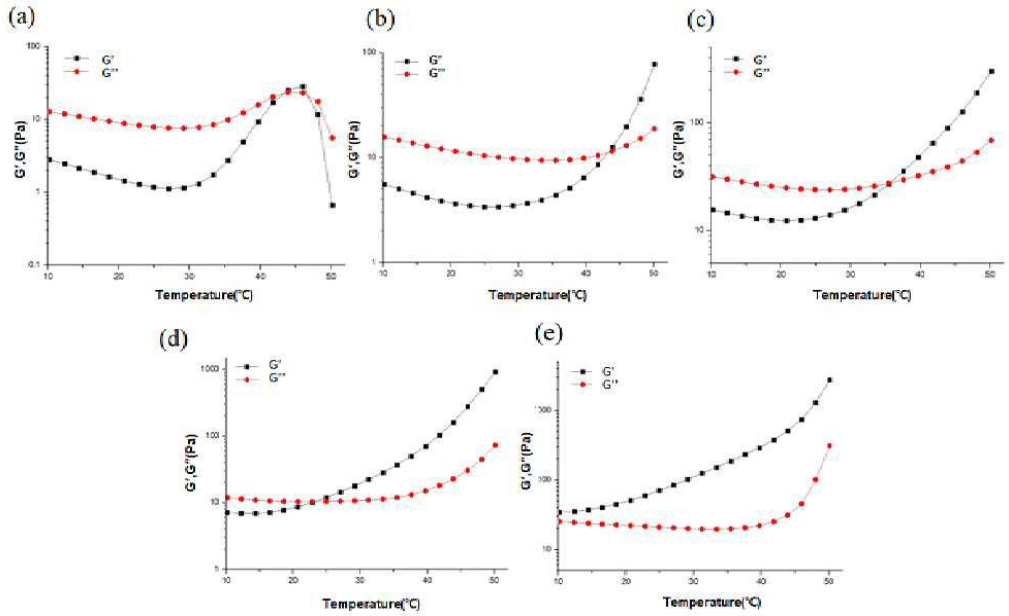
도면3


(A)
(B)
MGC59
MGC53
MGC50
MGC46
MGC39
GC
D2O
H2-H5
H1
Chemical Shift (ppm)
1650cm-1, C=C
Transmittance (%)
Wave number (cm-1)

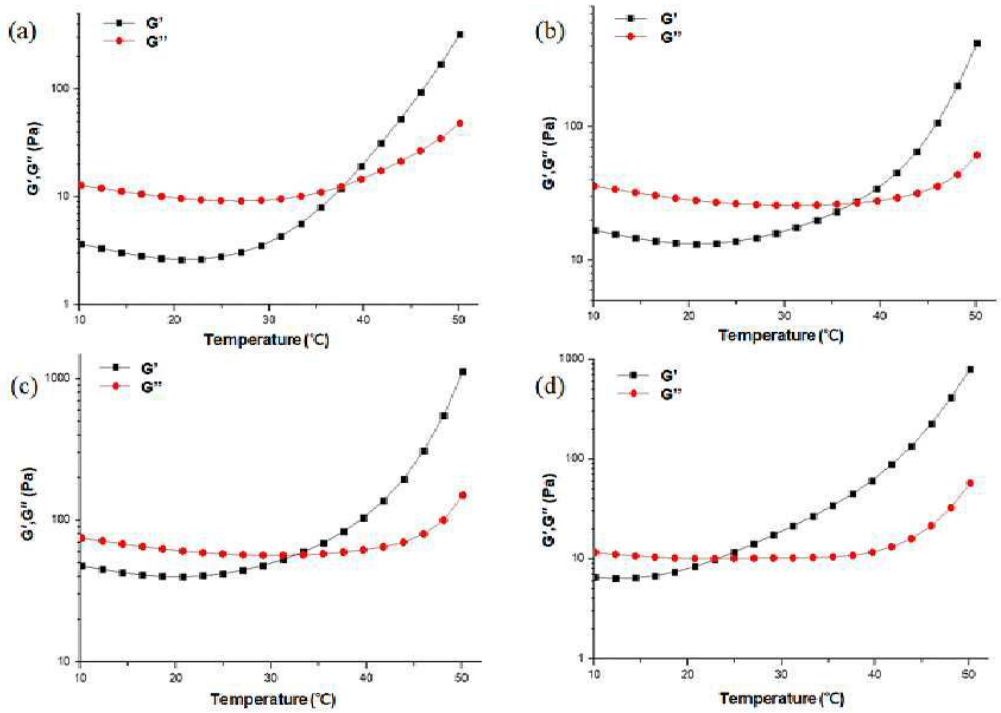
도면4


(A)
(B)
MGC46
MGC50
MGC53
MGC59
Gel
Sol
Tgel (℃)
Concentration (wt%)
Degree of Methacrylation (%)
Feed molar ratio of MA to NH2

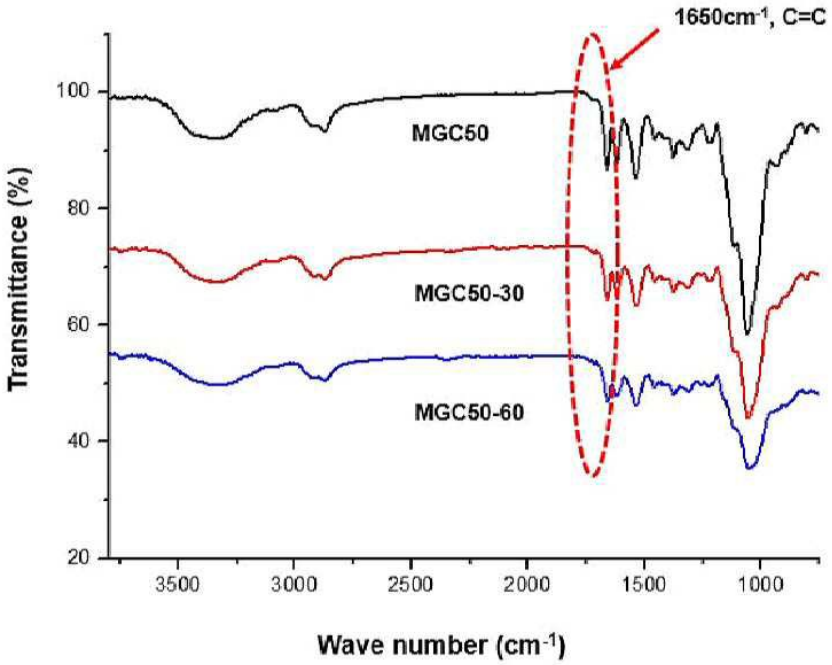
도면5



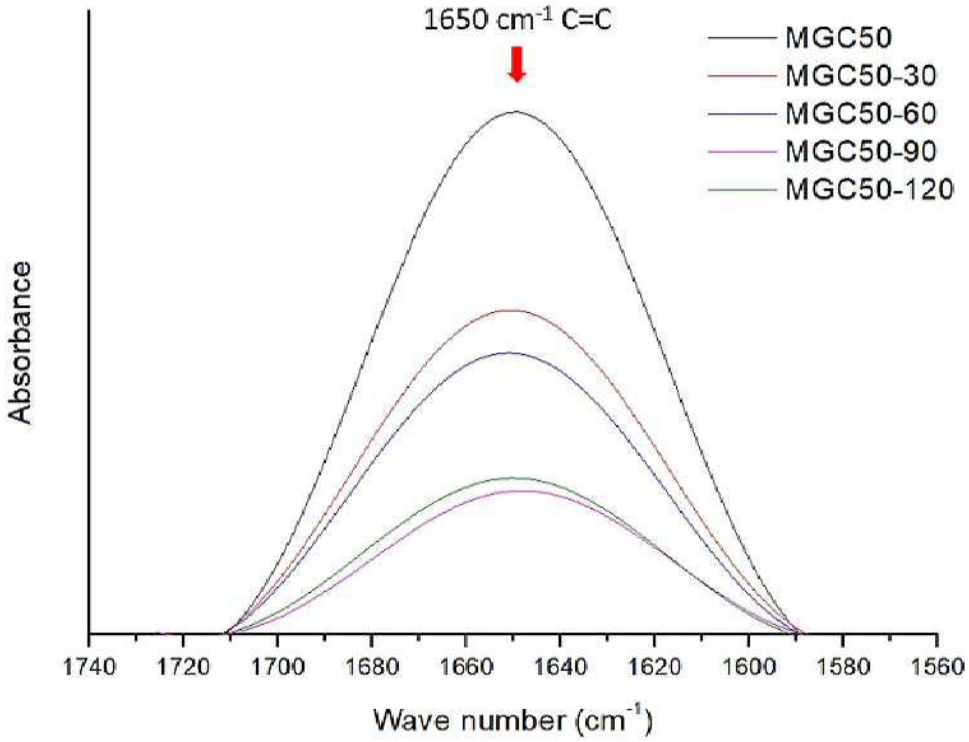
도면6



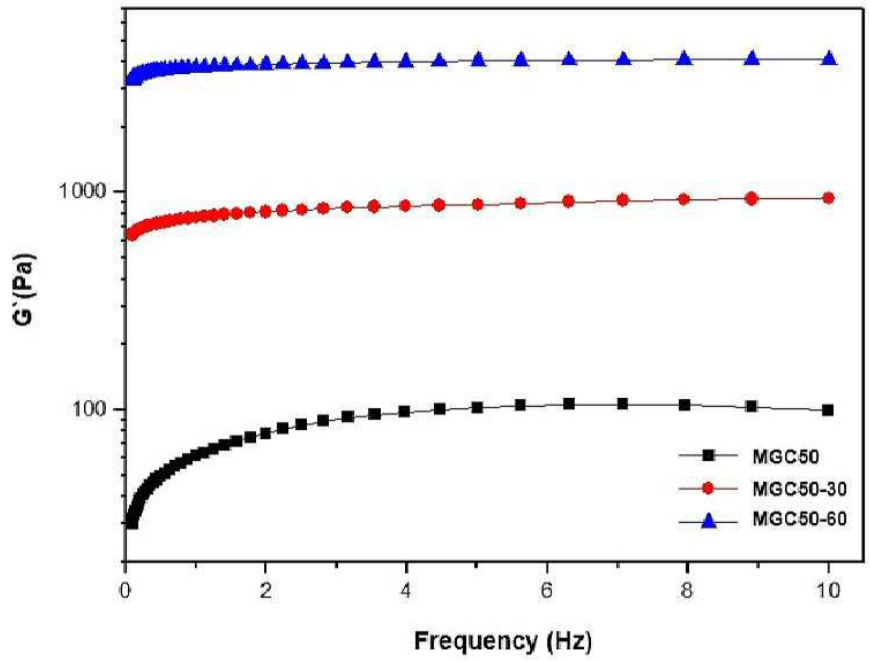
도면7


1650cm-1, C=C
MGC50
MGC50-30
MGC50-60
Transmittance (%)
100
80
60
40
20
3500
3000
2500
2000
1500
1000
Wave number (cm-1)

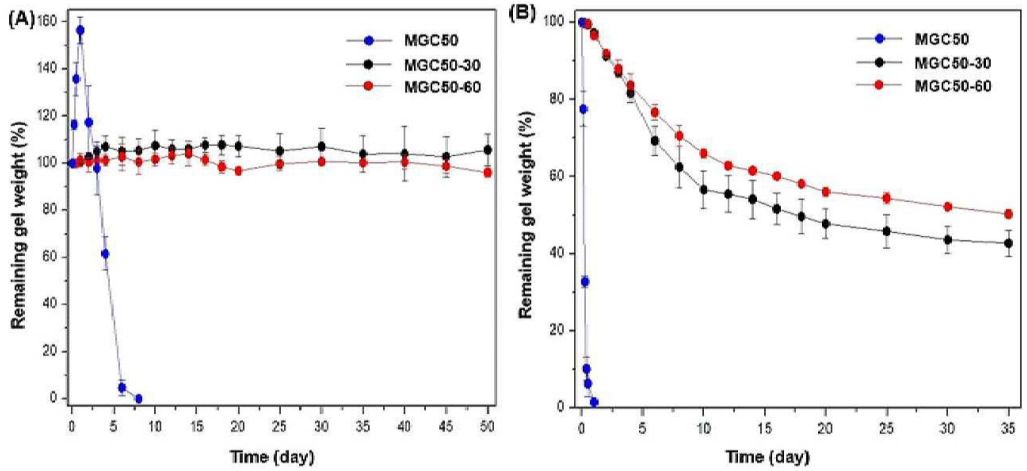
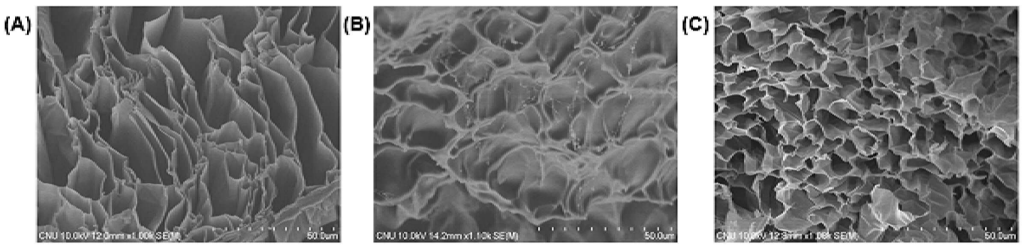
도면8


1650 cm-1 C=C
MGC50
MGC50-30
MGC50-60
MGC50-90
MGC50-120
Absorbance
1740
1720
1700
1680
1660
1640
1620
1600
1580
1560
Wave number (cm-1)

도면9



도면10



도면11