

## 선택적 분리를 위한 분자 각인 고분자의 설계 및 응용

정수환·오창엽·서정일·박중곤  
경북대학교 공과대학 화학공학과  
(접수 : 2001. 3. 26., 게재승인 : 2001. 4. 23.)

### Design and Applications of Molecularly Imprinted Polymers for Selective Separations

Soo Hwan Cheong, Chang Yub Oh, Jeong Il Seo, and Joong Kon Park†  
Department of Chemical Engineering, Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea  
(Received : 2001. 3. 26., Accepted : 2001. 4. 23.)

Molecular imprinting has now been established as a technique which allows the creation of tailor-made binding sites for many classes of compounds. MIPs were prepared by covalent and non-covalent chemical bonding systems, by interactions between functional monomer and template. The shape of MIP is divided to particle and membrane. MIP membranes can be prepared by surface imprinting, in-situ polymerization, wet phase inversion and the dry phase inversion method. MIPs have been mainly used for analytical separation and biosensor systems to separate and detect chiral compounds and materials with similar structures. However the application of MIP by the chemical industries is still in its infancy stages. This review summarizes the preparative characteristics and applications of MIP with respect to chiral separations and biosensors.

**Key Words** : molecularly imprinted polymer, MIP membrane, chiral separation.

#### 서론

Molecular imprinting은 특별한 물질들을 인식하기 위한 선택적 친화력을 가진 고분자 매트릭스(matrix)를 새롭게 창조하기 위해서 이루어진 기술이다. 분자 인식이라는 개념에 관련된 화학 분야는 생리적 현상을 이해하기 위한 강력한 수단 이 될 수 있다. 이것은 세포의 유지와 재생이 분자인식을 기초로 하는 단순하지만 특이한 화학 반응의 조합에 의해 통제 되어 지기 때문이다. 이처럼 분자 인식은 생물학적 작용이 그 기원이기 때문에 분자인식을 할 수 있는 합성분자를 제조 하는 것은 생물 작용성 인공분자를 제조하는 것이라 할 수 있다(1). Molecular imprinting polymer(MIP)는 각인될 수 있는 분자(템플릿)와 수소결합, 전자적 상호작용, 금속이온의 배위결합에 의해 템플릿과 반응할 수 있는 기능을 가진 단위체(기능성 단분자)와 고분자 matrix를 가교 결합 할 수 있는 기능을 가진 과량의 불활성 단위체(cross-linker)의 혼합물을 중합함으로써 이루어진다. 이렇게 만들어진 고분자에서 템플릿 분자를 제거함으로써 화학적 기능과 템플릿의 3차원적인

구조가 상호 보완적으로 구성된 결합자리가 형성된다. 이 고분자를 분자인식 고분자라고 한다. 지금까지 이 기술은 아미노산, 펩티드, 단백질, 뉴클레오티드(Nucleotide)와 뉴클레오시드(Nucleoside), 탄수화물, 약물(알칼로이드, 항생제,  $\beta$ -blockers, 신경 안정제), 생리활성 물질(enkephalin, 스테로이드, 코르티스테로이드), 제초제, 살충제, 금속 이온 그리고 여러 가지 유기화합물에 맞는 선택적 친화성을 가진 물질들을 설계하기 위해서 사용되어지고 있다.

이러한 분자인식 고분자제조에 관한 연구는 1990년 이후 매우 활발히 이루어져 왔으며, 당과 아미노산 유도체에 대하여 분자인식 고분자가 개발된 이후 지금까지 약 20종류 이상의 화합물에 대한 분자인식 고분자가 제조되어 보고되었으며, Molecular imprinting polymer(MIP)가 제조된 몇몇의 화합물에 대하여 Table 1에 열거하였다. 많은 연구자들이 racemic 화합물의 분리에 집중하고 있으며, 이는 racemic 화합물 각각의 enantiomer가 다른 생리활성을 지니고 있고 기존의 기술로 분리하기에 복잡하며 효율이 낮은 단점이 있기 때문이다.

지금까지 보고된 분자인식 고분자의 응용분야는 매우 다양하다. 즉 chiral 화합물과 유사물질의 분리 매체로서 액체 크로마토그래피, 모세관 전기영동, 모세관 electrochromatography와 affinity-based solid-phase extraction에 사용되었으며, 인공 효소(13)와 바이오센서의 probe로도 사용되어 왔다(16). 특히 최근에는 분리 개념에서 환경 친화적이고 공정 단순화에 매

†Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea  
Tel : +82-53-950-5621, Fax : +82-53-950-6615  
E-mail : parkjk@knu.ac.kr

Table 1. Template classes used for MIPs.

Class of Compound	Reference
Sugars and derivatives	2
Amino acids and derivatives	3
Peptides and proteins	4
Therapeutic drugs	19, 5
Steroids	6, 7, 8, 9, 10, 11
Metal ions	12
Aromatic hydrocarbons and derivatives	13
Dyes	34
Pesticides	14

Table 2. The characteristics of covalent and non-covalent bonding systems.

Systemsc	Covalent	Non-covalent
Bonding Types	Ester Ketal Schiff-base	Hydrogen bonding Electrostatic interactions Hydrophobic interactions metal coordination
Merits	High selectivity Stable template-monomer complex	Simpler and easier procedure Separation under mild conditions
Demerits	Unfavorable use in Chromatographic separation. Limited application	Unstable template-monomer complex Formation of unfavorable binding site

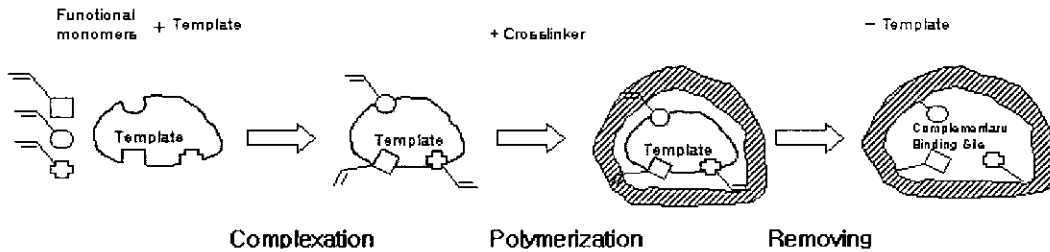


Figure 1. Schematic diagram of molecularly imprinted polymer preparation(25)

우 유리한 막 형태의 MIP가 개발되었으며, 이러한 막을 이용한 감지와 분리 시스템에 대한 많은 연구가 진행되고 있다 (17-24).

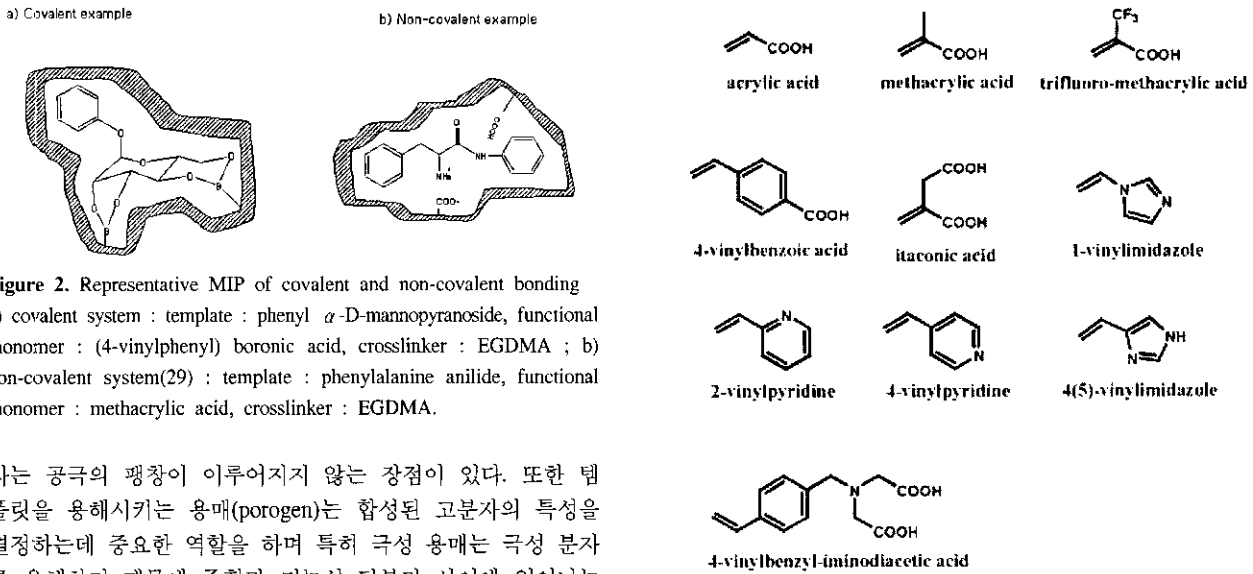
본 총설에서는 선택적 분리를 위한 여러 가지 MIP 제조원리와 방법에 대해서 살펴보고, 템플릿과 기능성 단위체의 화학적 결합 형태 및 물리적 변화에 따른 영향을 조사하여 MIP의 제조방법에 따른 목적물질의 분리 및 인식 특성을 조사하고자 한다. 지금까지 MIP가 응용된 분야에 대하여 각 분야별로 구분하여 그 특성을 조사함으로써 향후 MIP의 발전 방향을 제시하고자 한다. 특히 MIP의 선택성을 개선 할 수 있는 방법을 조사하여 실제 산업화에 적용할 수 있는 방법을 소개하고자 한다.

**MIP(Molecular Imprinted Polymer)의 제조원리**

**MIP 제조원리**

분자 인식 고분자(MIP)의 제조 절차는 Figure 1과 같다. 먼저 주형분자(템플릿)를 용매(porogen)에 용해시킨 후 주형분

자 일부분과 결합할 수 있는 작용기를 가진 중합 가능한 기능성 단위체의 복합체를 형성한다. 이 단계에서 주형분자 주위에 기능성 단위체가 결합자리에 미리 정렬되어 결합된다. 그런 다음 주형 분자와 결합된 기능성 단위체의 배열을 유지 하기 위해 과량의 가교제와 중합 개시제를 첨가하여 고분자 중합(polymerisation) 시킨다. 그런 다음 중합된 고분자에서 템플릿을 제거함으로써 주형분자와 일치하는 입체 특이적인 공극을 가진 분자인식 고분자가 합성 제조된다(6). 이때 초기 고분자 합성 반응은 열화학적(thermochemical) 혹은 광화학적(photochemical)인 방법에 의해서 합성이 진행될 수 있다. 두 합성기술의 차이는 물질 전달에서 나타나는데, 열 적으로 준비된 고분자는 느린 물질 전달이 나타날 수 있지만 어떤 입 의 온도에서는 두 방법이 거의 같은 정도의 분리 능력을 가진다. 저온에서는 빛을 이용한 방법이 열을 이용한 방법 보다 훨씬 높은 분리 능력을 지니지만 온도가 증가할수록 거의 같은 분리능력을 지니게 된다. 특히 이 과정에서 고 분자의 다공성(porosity)이 중요한 역할을 하며, 빛을 이용한 경우가 더 많은 공극 구조를 가진다. 열적으로 준비된 고분



**Figure 2.** Representative MIP of covalent and non-covalent bonding  
 a) covalent system : template : phenyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside, functional monomer : (4-vinylphenyl) boronic acid, crosslinker : EGDMA ; b) non-covalent system(29) : template : phenylalanine anilide, functional monomer : methacrylic acid, crosslinker : EGDMA.

자는 공극의 팽창이 이루어지지 않는 장점이 있다. 또한 템플릿을 용해시키는 용매(porogen)는 합성된 고분자의 특성을 결정하는데 중요한 역할을 하며 특히 극성 용매는 극성 분자를 용해하기 때문에 주형과 기능성 단분자 사이에 일어나는 결합을 파괴시킬 수도 있다. MIP를 합성할 때 작용하는 온도, 압력, 결합자리, 결합에너지(단위체-단위체, 템플릿-단위체, 템플릿-용매, 용매-단위체) 등과 같은 물리적 조건은 합성된 고분자의 강도 및 온도에 대한 안정성, 결합 자리 및 선택성에 영향을 미친다.

**기능성 단위체와 템플릿의 화학적 결합 형태**

분자 인식 고분자는 기능성 단위체와 템플릿의 결합 형태에 따라 크게 두 가지로 나누어 볼 수 있다. 먼저 템플릿과 기능성 단위체가 공유결합을 형성하여 중합된 고분자에 공간적 배열이 고정화되는 것이다. 이에 대한 대표적인 예로는 4-vinylphenyl boronic acid esters를 사용한 sugar유도체의 각 인이다. 두 번째는 일련의 비공유결합 상호작용 (수소결합, 정전기적 인력, 소수성결합)으로서 템플릿 주위에 기능성 단위체가 자동적으로 배열 형성되는 것이다 (6). 이러한 공유결합과 비공유결합의 대표적인 예를 Figure 2에 나타내었다.

공유결합에 의해 MIP를 제조하는 경우, 고분자 중합 공정 동안 템플릿과 기능성 단위체 결합이 안정하게 유지된다. 이에 높은 선택성을 지닌 분자인식 고분자를 얻기 쉬운 장점이 있다. 그러나 안정된 공유결합을 형성하는 결합 공정 때문에 제조된 분자 인식 고분자를 분광학적 분리(chromatographic separation)에 응용할 경우, 때때로 적합하지 않을 수 있으며, 다양한 템플릿에 대하여 쉽게 분리되고 재결합되는 적당한 covalent system을 찾기가 매우 어렵다. 그러므로 응용에 제한이 따르는 단점이 있다(25). 이에 비하여 비공유결합 방식은 절차 면에서 공유결합 방식에 비해 더 단순하고 쉽다. 즉 complexation step이 단순히 템플릿과 기능성 단위체의 혼합으로 이루어질 수 있으며, mild 조건하에서 템플릿을 쉽게 제거할 수 있다. 그러나 비공유결합은 결합력이 강하지 못하며 결합을 형성하는 정도는 각각의 템플릿과 기능성 단위체 간의 평형에 영향을 받기 때문에 중합조건에서 안정된 결합을 유지하고 주형분자와 단위체의 결합체를 완전하게 하기 위해서는 과량의 기능성 단위체가 필요하다는 단점이 있다 (25).

전술된 공유결합과 비공유결합의 단점을 보완하기 위해 두

**Figure 3.** Common functional monomer in MIP synthesis

가지 결합방식이 상보된 MIP 제조방법이 보고되었다(7). 공유결합으로 주형 분자와 단위체를 결합하여 중합한 다음, 제조된 고분자에서 공유결합된 템플릿과 기능성 단위체를 가수분해시켜 수소결합 형태를 가질 수 있는 MIP를 제조함으로써 흡·탈착이 비공유결합방식으로 적용되는 MIP를 제조하는 방식이다. 이렇게 제조된 MIP는 좀더 정교하며 높은 특이성과 균일한 결합 자리를 가지는 장점이 있다.

**MIP 합성 성분**

MIP 제조할 때 템플릿과 강한 상호작용을 하는 기능성 단위체를 선택하는 것이 매우 중요하다. MIP 제조에 보편적으로 사용되는 기능성 단위체는 methacrylic acid, acrylic acid, itaconic acid, vinylpyridine, vinylimidazole, N-[(4 vinyl benzyl) imido] diacetate, N,N,N-trimethyl aminoethyl methacrylate가 있으며, 이들을 Figure 3에 나타내었다. 그 중에 MAA(Methacrylic acid)가 가장 보편적으로 사용된다. 이것은 MAA가 hydrogen-donating 또는 accepting 작용기를 가진 어떤 템플릿과도 상호작용이 가능한 루이스 산과 염기의 기능을 가지고 있기 때문이다. 특히 두 가지 functionalities를 가진 분자를 템플릿으로 사용하는 경우 동시에 이중의 수소결합을 하므로 좀더 안정된 결합을 유지할 수 있기 때문이다(10).

MIP 제조시 기능성 단위체와 결합한 템플릿을 3차원 구조의 matrix에 고정화 하기 위해 기능성 단위체와 가교할 수 있는 다량의 가교제(crosslinker)를 첨가하게 되며, 여기에 주로 사용되는 가교제를 Figure 4에 나타내었다.

**MIPs(Molecular Imprinted Polymers)의 합성설계**

**In-Situ method로 제조된 imprinted polymer rods**

MIP는 고압과 다양한 유기용매에 대한 강산 내성을 가지므로 chiral 화합물나 유사구조 혼합물의 분석 혹은 분리를 위해 HPLC 칼럼에 충전되어 고정상으로 사용되기 적합하다. 그러나 이 MIP는 bulk 형태로 제조되기 때문에 column에 충

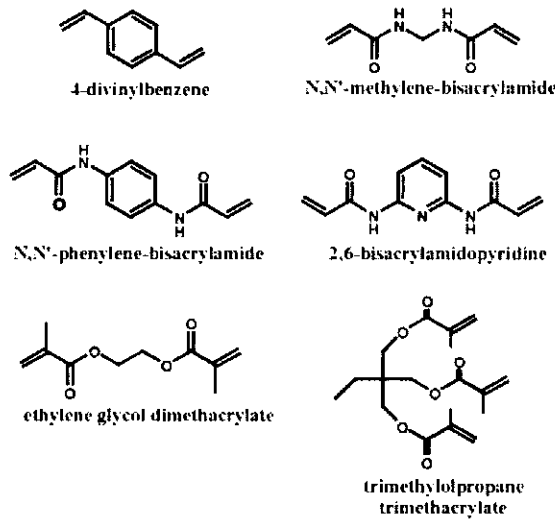


Figure 4. Common crosslinker in MIP synthesis

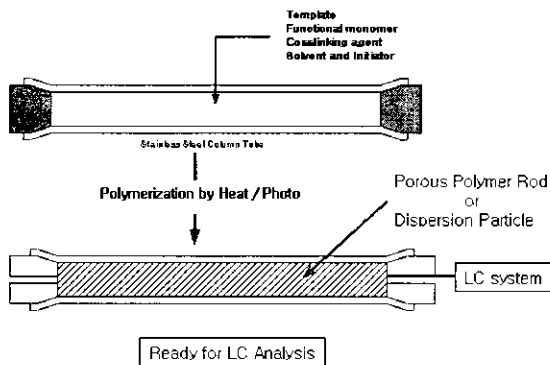


Figure 5. In-situ method for preparing molecularly imprinted stationary phase in affinity chromatography

진되기 위해 분쇄, sieving과 sizing과정을 거쳐야 하고 고분자 particle의 50%를 사용하지 못하게 되는 단점이 있다(27). 이러한 단점을 해소하기 위해 1993년 J. Matsui et al. (9)는 분자 각인에 대한 in-situ approach관한 보고를 했다. 이것은 템플릿, 기능성 단위체, porogenic solvent와 중합 개시제의 혼합물을 column tube에 넣은 다음 칼럼 내에서 중합을 진행시켜 MIP를 칼럼 내부에 충전 시키는 방법이며 Figure 5에 나타내었다.

**MIP membrane 제조방법**

선택적 투과성 막에 의한 광학분할(optical resolution)이 기존의 powder형의 MIP에 비교하여 연속적이고 간단한 조작과 우수한 에너지 효율의 장점을 가지고 있기 때문에 이에 관한 많은 연구가 진행되고 있다. 1990년에 Piletsky에 의해 제조된 L-phe 각인 막을 이용한 L-phe와 D-phe의 분리가 최초로 보고된 이후 여러 가지 기능성 단위체를 이용한 다양한 막 제조방법이 보고되고 있다(17-24).

MIP 막은 제조 방법에 따라 4가지로 구분된다. 지금까지 bead 형의 제조 방법과 동일하게 제조된 고분자를 다공성 재질의 판위에 coating하여 막을 제조하는 in situ 중합방법과 중합된 고분자를 막 형태로 만들어 물로 고화시켜 막을 제조

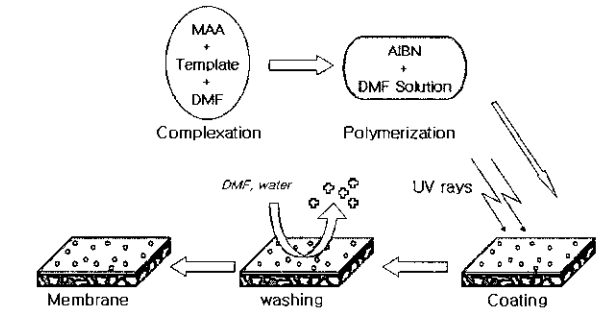


Figure 6. MIP membrane preparation by in situ polymerization.

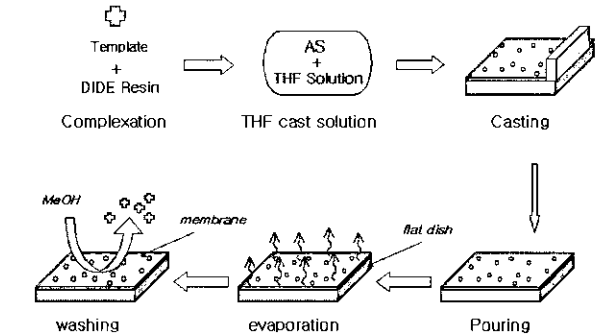


Figure 7. MIP membrane preparation by dry phase inversion.

하는 wet phase (inverse phase)법과 막 형태로 제조된 고분자를 건조시켜 막을 제조하는 dry phase법과 기존에 제조되어 있는 막에 기능성을 가진 기능기를 붙여 분자 인식 고분자 막을 제조하는 surface법으로 분류 될 수 있다.

**In-situ imprinting**

In-situ 중합 방법은 기존의 MIP를 제조하는 방법과 동일하게 템플릿, 기능성 단위체, 용매와 개시제를 혼합하여 glass filter같은 다공성의 판 위에 coating한 다음 중합하여 제조하며(17-18) Figure 6에 제조 과정을 도식하였다. 이 방법에 의하여 diethylaminoethyl methacrylate를 기능성 단위체로 하는 L-phe 각인 막을 제조하여 전기투석에서 racemic 혼합물과 유사구조 아미노산과의 선택적 투과능을 조사하면 템플릿 분자로 사용된 L-phe가 광학이성체인 D-phe보다 2배정도 flux가 크게 나타내며, 유사물질인 tyrosine과 tryptophan보다는 flux가 100배 더 큰 flux를 나타냈다. 1996년 Mathew-Krotz와 Shea(17)는 MAA을 기능성 단위체로 하고 9-ethylenadenine을 템플릿으로 하는 MIP 막을 제조하여 단일 compound와 혼합물에 대한 투과성 실험을 진행한 결과 템플릿과 템플릿 유도체 분자의 이동이 다른 유사한 구조의 분자에 비교하여 더 빨랐으며 flux는 0.5 nmol/cm<sup>2</sup>h에 달하였다. 또한 9-ethylenadenine 각인 막에서 adenine에 대한 guanosine의 선택인자(selectivity factor)값이 3.4로 가장 높은 값을 가졌다.

**Dry phase imprinting**

Dry phase는 기능성 단위체인 DIDE-resin (L-H-Asp(OcHex)-Ile-Asp(OcHex)-Glu (OBzl)-CH<sub>2</sub>)을 THF에 용해 시킨 다음 flat dish에 부어 THF를 증발시켜 막을 제조한다. Dry phase의 막을 제조하는 도식은 Figure 7에 나타내었다. Yoshikawa

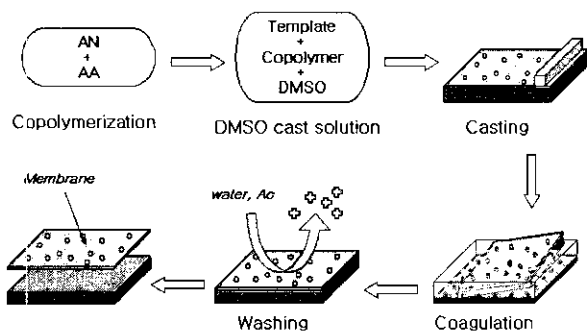


Figure 8. MIP membrane preparation by wet phase inversion.

et al.(19-21)은 소수성 side group으로 구성된 tetrapeptide를 가진 polystyrene와 템플릿을 막에서 혼합하여 complexation시킨 다음 혼합액을 주조한 후 용매를 증발하여 MIP 막을 제조하는 방법을 제시했다. DIDE-resin을 기능성 단위체로 제조된 Boc-D-Trp 각인 막은 D-L-Trp의 투과 선택성을 가지지 못한 반면, Boc-L-Trp 각인 막은 L-Trp보다 D-Trp를 더 잘 투과하였으며, 이것의 투과계수비(PD/PL(cm<sup>2</sup>/h))가 1.4이었으며 Boc-L-Trp만이 템플릿으로 사용되는 경우 MIP에 분자인식 자리를 형성함과 동시에 투과 통로를 형성하는 효과가 있었다. 1997년 Yoshikawa et al(28)의 보고에 의하면 L-amino acid로 구성된 tetrapeptide를 가진 polystyrene과 L-amino acid (Boc-L-Trp)를 사용하여 제조된 MIP와 D-amino acid로 구성된 tetrapeptide를 가진 polystyrene과 D-amino acid (Boc-D-Trp)를 사용하여 제조된 MIP 막만이 선택적 흡착능을 가졌다. 즉 동일한 형의 isomer로 제조된 MIP만이 각각의 템플릿에 대한 선택적 흡착능을 지니는 것으로 보고되었다. 또한 첨가된 템플릿의 양이 사용된 resin양의 0.5에서 5배로 증가됨으로서 MIP 막의 흡착 선택성이 1.3에서 5.9까지 증가하였다. 제조된 MIP 막이 전기 투석(electrodialysis)에 적용되는 경우 앞에서 보고된 확산에 의한 선택적 투과와 양상과 달리 템플릿으로 사용된 분자가 막을 더 잘 투과하며 이 때 그 분자의 투과 선택도는 5.9이었다.

**Wet phase imprinting**

Wet phase 방법에 의한 MIP 막은 Kobayashi et al.(22-24)이 보고한 제조 방법으로 기능성 단위체로 acrylic acid와 막 구조 물질인 acrylonitrile을 템플릿과 같이 DMSO에 용해하여 고분자액을 주조한 다음 물에서 고화 시켜 고분자를 제조하는 방법이다. 이것은 Figure 8에 도식 하였다. 기능성 단위체로서 acrylic acid(AA)와 막 형성 물질인 acrylonitrile(AN)을 공중합하여 주조한 다음 phase inversion precipitation method로 MIP 막을 제조한다. 이 막은 매우 큰 macrovoids와 분리층에 약 20-50 nm의 평균 직경의 공극을 지닌 비대칭 구조를 가지고 있다. Wang et al(22,23)은 theophylline을 템플릿으로 하여 AA와 AN이 공중합된 MIP 막을 제조하여 유사구조 물질인 caffeine과의 선택적 흡착능에 관한 보고를 했다. 낮은 온도의 주조용액(casting solution)과 침전조(precipitation bath)에서 제조된 MIP 막은 높은 온도에서 제조된 것 보다 complex 형성 효율이나 템플릿의 선택도가 우수하였다. 즉 10℃와 40℃의 온도에서 제조된 고분자는 각각 1.25와 0.26

(μmole of THO/g of membrane)의 흡착량을 나타내었다.

**Surface imprinting**

Surface Imprinting에 의한 MIP 막은 theophylline 존재 하에 acrylic acid와 N,N-methylene bis-acrylamide의 graft 공중합함으로써 최초로 제조되었다. 이것은 막을 제조하기 위해 특별히 고안된 고분자를 사용해야 하며, MIP functionalization을 가지기 위해 장시간의 반응시간이 필요하고, affinity membrane으로는 적당하지 못한 매우 낮은 투과성과 커다란 macrovoid를 가진 견고한 비 대칭성 공극 구조를 가지는 단점을 가지고 있다(29).

기존의 MIP system에서는 템플릿과 재결합이 주로 접촉하기 용이한 표면에서 이루어지므로 cavity의 크기가 공극의 직경보다 비교적 작거나, 템플릿과 상호작용이 MIP 입자의 외부 표면에 있는 cavities 내부에서 발생한다. 그러나 MIP 막은 고분자의 막을 통한 전달이 고려되어야 한다. 즉 non-porous polymer의 내부에 있는 템플릿 선택성 cavities는 템플릿과 접촉할 수 없으며, 반대로 porous polymer 막은 접촉이 용이하다. 그러므로 막 형태의 분자인식 고분자의 선택적 물질전달 메카니즘은 두 가지 형태로 나타날 수 있다. 먼저 주형분자만을 통과시키는 전달 메카니즘이다. 이것은 분자 인식 고분자의 공극을 형성하고 있는 cavity가 특이적으로 주형분자에게만 선택적으로 작용하여 주형분자만을 이동시키는 메카니즘이며, 또 하나의 메카니즘은 주형분자만 통과시키지 않는 양상의 메카니즘이다. 이것은 분자인식 고분자에서 보편적으로 나타나는 메카니즘으로 대표적인 주형분자 전달 양상이다(30).

**MIPs(Molecular Imprinted Polymers)의 응용**

**Separation**

Molecularly imprinting polymers는 화학적 결합에 의해 특정 물질만을 선택적으로 인식할 수 있는 결합자리를 구성하여 형성된 고분자로서, 이 MIPs를 이용하여 구조적으로 분석 및 분리가 어려운 물질들을 액체 크로마토그래피, 모세관 전기영동(capillary electrophoresis)와 electrochromatography와 같은 분석방법을 통해 분리비를 증가시킬 수 있었다.

템플릿과 기능성 단위체의 공유결합방식으로 가교된 고분자 내에 특이적인 결합자리를 만드는 새로운 합성방법이 도입된 이후, sugar 유도체, 아미노산 유도체, hydroxycarboxylic acids와 dialdehydes외에 몇몇 종류의 화합물이 템플릿으로서 성공적으로 적용되었다. 적혈세포, virus나 암 세포에 주로 존재하는 가장 중요한 saccharides 중의 하나인 sialic acid를 p-vinylbenzeneboronic acid, 기능성 단위체로 공유결합하여 MIP를 제조하고, 분쇄, 체질(seiving)과 sizing과정을 거쳐 HPLC 칼럼에 고정상으로 사용하면, 이동상의 pH가 8.1에서 다른 sugar에 대하여 sialic acid가 최적의 선택성을 가졌다(11).

일반적으로 MIP는 60℃에서 열 분해하는 thermal initiator (AIBN)를 사용한 중합에 의해 제조된다. 그러나 템플릿이 열 안정성이 낮은 경우에는 적용하기가 어려우며, 템플릿과 기능성 단위체 사이의 화학상호작용이 낮은 온도에서 더 강하다. 그러나 non-covalent에 주로 사용되는 기능성 단위체인

Table 3. Comparison of Molecular Imprints Prepared under Different Condions

Polymer preparation	K'D	K'L	$\alpha$	Average pore diameter (Å)	Pore volume (cm <sup>3</sup> /g)	Inner surface area (m <sup>2</sup> /g)	Swellability (g/g)
Acetonitrile 60°C	1.058	1.667	1.57	270	0.81	272	1.175
Chloroform 60°C	2.395	4.814	2.01	140	0.19	151	0.942
Acetonitrile 0°C	1.081	2.459	2.275	150	0.23	53	1.382
Chloroform 0°C	1.4	2.15	2.25	100	0.04	3	1.179

$$K'D = (t_D - t_v) / t_v, K'L = (t_L - t_v) / t_v, \alpha = K'L / K'D \quad (t_v: \text{retention time of void marker, } t_L, t_D: \text{retention time of L- and D-phe})$$

MAA (methacrylic acid)와 L-phenylalanine anilide를 0°C에서 광 개시(photoinitiation)으로 중합하면 separation factor( $\alpha$ )=2.275(acetonitrile)와 2.25(Chloroform)가 되며 이는 60°C에서 중합하는 경우보다 높다(Table 3). McNiven 등(9)은 cholesterol을 템플릿으로 사용하여 제조된 MIP의 선택성이 고분자내에 분포하는 비 특이성을 지닌 결합자리를 비활성화 시킴으로 고분자의 선택성을 증가시킬수 있음을 보고했다.

Lin et al(26)은 모세관 겔 전기영동(Capillary Gel Electrophoresis)에 chiral selector로서 MAA를 기능성 단위체로 하는 L-phenylalanine과 L-phenylalanine anilide 각인 고분자체조와 선택성에 관한 보고를 하였다. 그들은 polymer의 구성비가 20:4:1 (가교제 : 단위체 : 템플릿)일 때 최적의 분리조건을 가지고, L-phe 각인 고분자가 L-phe anilide 각인 고분자 보다 D, L-phe의 분리에 대한 선택성이 더 높음을 보고하였다. 또한 L-phe 각인 고분자가 L-phe에 대해 더 강한 수소결합이 존재하는 반면 analyte가 지나가는 공간이 상대적으로 좁기 때문에 전기영동에 의한 이동시간이 길어지며 피크가 더 넓게 나타남을 보고했다.

### Catalysis와 Microreactors

분자각인은 유기적인 기능성을 부가함으로써 결합자리를 새롭게 만들기 위한 이상적인 방법으로 적용되었다. 이 접근은 microreactors와 'designed' 촉매 자리의 생성에 응용될 수 있다. Microreactor는 imprinted cavities구성에 의해 이루어 지는데 이들은 asymmetric cyclopropanation 반응, Schiff base 형성을 촉진 그리고 regiochemistry의 조절을 위한 chiral microreactor로서 사용되고 있다. Molecularly imprinted 물질의 선택성과 금속 리간드배위의 다양성이 새로운 촉매(catalysis) 시스템을 설계 합성하기 위한 관심있는 방법으로 이용되었다. N-vinyl imidazole 과 N-protected 아미노산의 혼합물에 금속을 각인한 후 아미노산 템플릿을 제거하여 만들어진 고분자에 여러 가지 아미노산의 p-nitrophenyl esters가 수분해를 수행하면 각인된 금속 고분자의 촉매 활성이 증가되며 여러 번 사용 시에도 촉매 활성이 떨어지지 않는다. 효소와 같은 선택적인 촉매거동을 보이기 위한 imprint된 금속 혼합 고분자 겔이 Karmalkar et al(31)에 의하여 제조되었다. Hydrogel matrix에서 imidazole, carboxyl 그리고 hydroxyl groups 등을 금속이 전달되는 위치에 배치함으로써 3개의 촉매를 제조하였다. Phenylalanine-2-aminopyridine 템플릿으로서 기능화된 계면활성제를 결합한 각인 용액과 같은 inverse micellar system을 사용하여 silica 입자의 표면에 촉매 자리를 imprinting 하였으며 control polymer에 비해 약 3배 내지 10배까지 선택성이 향상되었다. 이들 각인된 촉매는 수용액 환

경에서 가장 좋은 기능을 하는 촉매항체(catalytic antibody)와 같은 단백질 촉매를 설계하는데도 응용될 수 있다.

### Sensors

지난 20년 동안 센서 기술 분야에서 수많은 활동이 이루어지고 있다. 특히 바이오센서는 예외적인 감도와 특이성으로 상당한 관심을 받아왔다. 센서의 성능은 선택성, 민감성, 안정성, 재사용성 등을 들 수 있다. 그러나 이러한 바이오센서는 효소나 항체와 같은 생물학적인 인식에 기초를 두기 때문에 저장과 안정성에 문제가 있었으며 이 문제 때문에 상업화가 이루어지기 어려웠다. 그러나 분자의 선택적 인식에 기초한 각인 기술이 보급되면서 MIPs에 기초한 biomimetic 센서 개발에 관심이 고조되기 시작하였다(8). MIP는 chiral 화합물과 유사구조물질의 분리뿐만 아니라 수용성 또는 비 수용성 환경에 존재하는 여러 가지 물질의 검출에 많은 관심이 집중되고 있다. 생물학적 화합물을 포함하는 바이오센서는 오랜 기간동안 안정성이 유지되기 어려우며, 고온과 가혹한 화학적 환경 하에서는 비가역적 실패가 발생하는 문제가 있다. 이에 반하여 MIP는 여러 가지 환경에 매우 안정적이기 때문에 바이오센서로 사용하는 것이 매우 유리하다(16). Agarose에 모르핀 각인 고분자를 고정화하여 모르핀(Morphine)의 센서로 적용하면 0.5 µg/mL의 모르핀이 4nA의 전류값을 나타낸다. 이러한 바이오센서의 검출 방법은 두 단계로 나누어진다. 먼저 모르핀을 센서내의 고분자에 선택적으로 흡착시킨 다음, 전기적으로 불활성인 competitor를 과량 첨가하여 결합된 모르핀을 떼어놓은 후 떼어진 모르핀의 amperometric method로 검출하는 것이다. 막을 바탕으로 한 sensing system에서는 covalent bonding-based 각인 고분자와 non-covalent bonding-based 각인 고분자가 서로 반대되는 감응이 관찰된다. covalent system에서는 목적 물질이 증가할수록 전도도가 감소하는 반면에 non-covalent system에서는 반대현상이 나타난다. 이러한 현상을 템플릿이 첨가될 때 MIP의 움추러드는 정도가 상이하다는 것과 두 가지 시스템에서 특이적 결합이 가능한 결합자리 수의 차이 때문에 기인한다. 즉 Covalent system은 특이적 결합이 가능한 결합자리수가 non-covalent 시스템보다 더 많고 결합자리가 좀더 균일하며, 목적 분자가 고분자에 결합 될 때 covalent bonding-based polymer가 좀더 움츠러들기 때문에 이온 전달을 기본으로 하는 전기 전도도를 감소시킬 수 있다. 최근 MIPs를 이용한 다양한 센서의 개발이 이루어지고 있으며, 이 때의 어려운 점은 결합자리에서 발생하는 신호를 전달할 수 있는 적절한 transducer를 가진 인식원소와 결합하는 것이다.

본 총설에서는 지금까지 보고된 제조방법과 형태에 따른

분리와 센서에 대한 보고서 중 일부를 소개하였다. 그러나 현재까지 보고된 내용은 대부분 분석적인 개념의 분리에 국한되었으며, 선택적 분리조건이 제한되어 있다. 이에 산업적인 적용에 유리한 다양한 형태의 MIP 제조기술과 방법이 요구되며, 좀더 범용적 적용 가능한 MIP 제조 단위체와 선택적 흡착 시스템의 개발이 요구되고 있다.

### 전망 및 적용 방향

천연계에 존재하는 대부분의 생체 구성물질들은 광학적으로 거울상을 가진 광학 이성질체로 존재하고 있으며, 이러한 각각의 이성질체는 생체 내에서 서로 다른 역할을 수행한다. 특히 약물물질의 반 이상이 비 대칭성 물질이고 이중 90% 이상이 racemic 혼합물이며, 이들 racemic 혼합물의 두 enantiomer는 약효가 서로 다르기 때문에 순수한 물질로 분리하는 것에 대한 중요성이 강조되고 있다. 이에 세계적으로 많은 연구자들이 racemic 혼합물과 유사구조 물질에 대한 분리 매체인 분자 각인 고분자의 개발과 그 응용방법에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으며, 더불어 MIP의 템플릿의 분자적 인식, 다양한 용매에 대한 안정성, 기계적 및 열적 안정성과 지속적이며 안정적인 선택능 등의 장점 때문에 바이오센서로의 응용에 많은 관심이 집중되고 있다. 그러나 이러한 MIP는 racemic 혼합물과 유사구조 물질의 분석 분리 시스템에 주로 적용되어 왔으며, 최근에 이르러 막을 이용한 연속적인 분리 시스템의 개발에 관한 연구가 되고 있다. 이에 분자 각인 기술을 응용한 MIP를 산업적 적용에 유리한 제조 방법, 형태와 기술의 개발이 요구되고 있으며, 제조용 분리 시스템(preparative separation system)의 개발이 요구되며 특히 좀더 선택성과 분리효율이 우수한 시스템의 개발이 요구되고 있다.

### 감 사

본 연구는 초정밀 생물분리 기술연구센터의 1차년도 연구비 지원의 일부로 수행되었으며, 이에 감사사를 드립니다.

### REFERENCES

- Gunter Wulff (1993), *Molecular Interactions in Bioseparations*, edited by That T. Ngo. p363, Plenum Press, New York.
- Matsui, A., J., Takeuchi, T., Yano, K., Muguruma, H., Elgersma, A. V., and Karube, I. (1995) Recognition of Sialic Acid using Molecularly Imprinted Polymer. *Anal. Lett.* **28**, 2317-2323.
- Dabulis, K. and Klivanov, A. M. (1992), Molecular Imprinting of Proteins and Other Macromolecules Resulting in New Adsorbents. *Biotechnol. Bioeng.*, **39**, 176-185.
- Kempe, M. and Mosbach, K. (1995), Separation of Amino Acids, Peptides and Proteins on Molecularly Imprinted Stationary Phase, *J. Chromatogr. A.*, **691**, 317-323.
- Kobayashi, T., Wang, H. Y., and Fujii, N. (1995), Molecular Imprinting of Theophylline in Acrylonitrile-Acrylic Acid Copolymer Membrane, *Chem. Lett.*, **10**, 927-928.
- Cheong, S. H., M. G. Suh, J. K. Park, and I. Karube (1998), Selective Separation of Testosterone using Biofunctional Polymer, *J. Kor. Ins. Chem. Eng.*, **36**, 1, 27-33
- Cheong, S. H., S. McNiven, A. Rachkov, R. Levi, K. Yano, and I. Karube (1997), Testosterone Receptor Binding Mimic Constructed Using Molecular Imprinting, *Macromolecules*, **30**, 1317-1322.
- Levi, R. S. McNiven, S. A. Piletsky, S. H. Cheong, K. Yano, and I. Karube (1997), Optical Detection of Chloramphenicol Using Molecularly Imprinted Polymers, *Analytical Chemistry*, **67**, 11, 2017-2021.
- McNiven, S., Y. Yokobayashi, S. H. Cheong, and I. Karube (1997), Enhancing the Selectivity of Molecularly Imprinted Polymers. *Chemistry Letters*, **12**, 1297-1298.
- Rachkov A. E., S. H. Cheong, A. V. El'skaya, K. Yano, and I. Karube (1998), Molecularly Imprinted Polymers as Artificial Steroid Receptors, *Polym. Adv. Technol.* **9**, 511-519.
- Cheong, S. H., A. E. Rachkov, J. K. Park, K. Yano, and I. Karube (1998), Synthesis and Binding Properties of a Noncovalent Molecularly Imprinted Testosterone-Specific Polymer *J. Polymer Science : Part A : Polymer Chemistry* **36**, 1725-1732.
- Gamez, P., Dunjic, B., Pinel, C., and Lemaire, M. (1995), "Molecular Imprinting Effect" in the Synthesis of Immobilized Rhodium Complex Catalyst (IRC cat), *Tetrahedron Lett.*, **36**, 8779-8782.
- Matsui, J., T. Kato, T. Takeuchi, M. Suzuki, K. Yokoyama, E. Tamiya, and I. Karube (1993), Molecular Recognition in Continuous Polymer Rods Prepared by a Molecular Imprinting Technique, *Anal. Chem.*, **65**, 2223-2224
- Matsui, J., Miyoshi, Y., Doblhoff-Dier, O., and Takeuchi, T. (1995), A Molecularly Imprinted Synthetic Polymer Receptor Selective for Atrazine, *Anal. Chem.*, **67**, 4404-4408.
- Wulff, G., T. Gross, and R. Schonfeld (1997), Enzyme Models Based on Molecularly Imprinted Polymers with Strong Esterase Activity, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **36**, 18, 1962-1964.
- Kriz, D., O. Ramström, and K. Mosbach (1997), Molecular Imprinting - New Possibilities for Sensor Technology, *Anal. Chem.* **69**, 345A.
- Mathew-Krotz, J. and K. J. Shea (1996), Imprinted Polymer Membranes for the Selective Transport of Targeted Neutral Molecules, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 8154-8155.
- Hong, J. M., P. E., Andersson, J. Qian, and C. R. Martin (1998), Selectively-Permeable Ultrathin Film Composite Membranes Based on Molecularly-Imprinted Polymers, *Chme. Master.* **10**, 1029-1033.
- Yoshikawa, M. J., Izumi, and T. Kitao, (1996), Enantioselective Electrodialysis of N-alpha-acetyltryptophans through Molecularly Imprinted Polymeric Membranes. *Chem. Lett.*, **8**, 611-612.
- Yoshigawa, M., J. Izumi, T. Kitao, and S. Sakamoto (1996), Molecularly Imprinted Polymeric Membranes Containing DIDE Derivatives for Optical Resolution of Amino-Acids, *Macromolecules*, **29**, 25, 8197-8203.
- Yoshigawa, M., J. Izumi, and T. Kitao, (1997), Enantioselective Electrodialysis of Amino Acids with Charged Polar Side Chains through Molecularly Imprinted

- Polymeric Membranes Containing DIDE Derivatives, *Polym. J.*, **29**, 205-210.
22. Wang, H. Y., T. Kobayashi, and N. Fujii (1996), Molecular Imprint Membranes Prepared by the Phase Inversion Precipitation Technique, *Langmuir*, **12**, 4850-4856.
  23. Wang, H. Y., T. Kobayashi, T. Fukaya, and N. Fujii (1997), Molecular Imprint Membranes Prepared by the Phase Inversion Technique. 2. influence of Coagulation Temperature in the Phase Inversion Process on the Encoding in Polymeric Membranes, *Langmuir*, **13**, 5396-5400
  24. Kobayashi, T., H. Y. Wang, and N. Fujii (1998), Molecular Imprint Membranes of Polyacrylonitrile Copolymers with Different Acrylic Acid Segments, *Anal. Chim. Acta.*, **365**, 81-88.
  25. Takeuchi T. and J. Matsui (1996), Molecular Imprinting : An Approach to Tailor Made Synthetic Polymers with Biomimetic Functions, *Acta polymer*, **47**, 471-480.
  26. Lin, J. M., et al. (1996), Molecularly Imprinted Polymer as Chiral Selector for Enantioseparation of Amino Acids by Capillary Gel Electrophoresis, *Chromatographia* **43** (11), 585-591.
  27. A. G. Mayes and K. Mosbach (1996), Molecularly Imprinted Polymer Beads: Suspension Polymerization using a Liquid Perfluorocarbon as the Dispersing Phase, *Anal. Chem.* **68**, 21, 3769-3774.
  28. M. Yoshikawa, J. Izumi, T. Kitao, and S. Sakamoto (1997), Alternative Molecularly Imprinted Polymeric Membranes from a Tetrapeptide Residue consisting of D- or L-Amino Acid, *Macromol. Rapid Commun.* **18**, 761-767.
  29. H. Y. Wang, T. Kobayashi, and N. Fujii (1997), Surface Molecular Imprinting on Photosensitive Dithiocarbamoyl-polyacrylonitrile Membranes using Photograft Polymerization, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **70**, 4, 355-362.
  30. S. A. Piletsky, T. L. Panasyuk, E. V. Piletskaya, I. A. Nicholls, and M. Ulbricht (1999), Receptor and Transport Properties of Imprinted Polymer Membranes, *J. Membrane Science.* **157**, 263-278.
  31. Karmalkar, R. N., M. G. Kulkarni, and R. A. Mashelkar. 1996. Molecularly Imprinted Hydrogels Exhibit Chymotrypsin-like Activity. *Macromol.* **29**, 4, 1366-1368.