

효소촉매를 이용한 펄스계 고분자의 중합과 응용

김영진 · Hiroshi Uyama · Takashi Tsujimoto

1. 서론

최근 효소의 특이한 촉매기능을 살림으로써 종래의 방법으로는 얻을 수 없었던 신소재가 새로이 만들어 지고 있다. 천연자원으로부터의 고성능 도막재료, 기능성 폴리페놀, 생분해성 폴리에스테르 등의 고분자 신재료의 합성이 환경친화형 공정에 의해서 달성되고 있다. 생체 내의 중요한 생체고분자인 핵산, 단백질, 다당류는 모두 효소의 촉매 작용에 의해서 만들어지며, 자연계에서는 모든 생물이 자신의 생존을 위해서 효소를 생산하고 있다. 유기합성반응에 있어서 효소의 촉매작용은 화학촉매와 비교할 때 높은 촉매활성, 온화한 반응조건, 높은 입체·위치 및 관능기 선택성, 부반응의 억제, 효소반응계의 무독성 등 많은 이점이 있으므로 다양한 산업분야에서 이용되고 있고 점차 그 이용분야가 확대되고 있다. 이는 산화환원반응, 전이반응, 가수분해반응, 이탈 및 부가반응, 이성화반응 등을 촉매하는 일반적인 기능은 물론이고, 고온, 고압, 유기용매 등의 특수한 반응조건에서도 촉매역할을 수행할 수 있는 특성을 가지고 있기 때문이다. 이와 같은 특징 때문에 효소를 이용하는 물질 생산에 대한 관심이 높아졌고 현재 식품 및 제약 산업에서 비교적 활발한 활용을 보이고 있는 효소촉매 기술이 가까운 장래 또는 장기적인 관점에서 정밀화학 및 고분자 산업에서도 매우 활발하게 적용될 것으로 전망하고 있다.¹

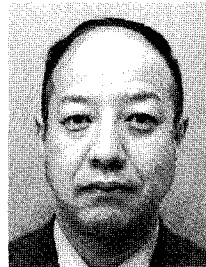
최근 들어 효소를 적극적으로 중합촉매로 사용하는 고분자합성에 대한 연구가 일본 교토대학의 Shiro Kobayashi 그룹과 오사카대학의 Hiroshi Uyama 그룹, 미국 Polytechnic University의 Richard

A. Gross 그룹을 중심으로 체계적으로 진행되어 왔다.²⁻⁵ 효소촉매 중합(enzymatic polymerization)이란 '효소를 촉매로 사용한 비생합성 경로에 의한 *in vitro* 중합반응'을 말한다. 근래에는 기능성 고분자 재료 개발에 있어서 정밀 구조제어의 필요성이 높아지고 있고, 여기에 대응할 수 있는 고분자합성의 새로운 수법으로써 효소촉매중합이 관심을 끌고 있다.

효소는 일반적으로 6종류로 분류되며 지금까지 3종류의 효소군에 의한 중합촉매작용이 보고되고 있다. 표 1에 각각의 효소군에 의해 얻어진 고분자에 대해서 예시하였으며, 효소촉매중합으로 합성할 수 있는 고분자는 다당류(polysaccharides), 아미노산 중합체(poly(amino acid)s), 폴리에스테르, 폴리카보네이트, 방향족 고분자, 비닐계 고분



김영진
 1996 경북대학교 고분자공학과(학사)
 1998 경북대학교 고분자공학과(석사)
 2002 (주)벤티리 기술연구소 선임연구원
 2004 교토대학 재료화학과(박사)
 2005 오사카대학 선단과학이노베이션센터 특별연구원
 2007 (재)대구테크노파크 나노부품실용화센터 선임연구원
 2007~ 현재 대구가톨릭대학교 의공학과 조교수



Hiroshi Uyama
 1985 Kyoto University, Department of Synthetic Chemistry (B.S.)
 1987 Kyoto University, Department of Synthetic Chemistry (M.S.)
 1988 KAO Co., Researcher
 1991 Tohoku University, Department of Applied Chemistry (Ph. D.)
 1997 Tohoku University, Department of Applied Chemistry, Assistant Professor
 2000 Kyoto University, Department of Materials Chemistry, Assistant Professor
 2004 Kyoto University, Department of Materials Chemistry, Associate Professor
 2004~ 현재 Osaka University, Department of Applied Chemistry, Professor



Takashi Tsujimoto
 2000 Kyoto University, Department of Industrial Chemistry (B.S.)
 2002 Kyoto University, Department of Materials Chemistry (M.S.)
 2005 Kyoto University, Department of Materials Chemistry (Ph.D.)
 2007 Ryukoku University, Department of Materials Chemistry, Assistant Professor
 2007~ 현재 Osaka University, Department of Applied Chemistry, Assistant Professor

Enzymatic Synthesis of Phenolic Polymers and Their Applications

대구가톨릭대학교 의공학과 (Young-Jin Kim, Department of Biomedical Engineering, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea) e-mail : yjkim@cu.ac.kr

오사카대학 응용화학과 (Hiroshi Uyama and Takashi Tsujimoto, Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University, Suita 565-0871, Japan)

표 1. 효소의 분류 및 효소촉매중합 생성물

Enzymes	Typical Polymers
Oxidoreductases	Polyphenols, polyanilines, vinyl polymers
Transferases	Polysaccharides, cyclic oligosaccharides, polyesters
Hydrolases	Polysaccharides, polyesters, polycarbonates, poly(amino acid)s
Lyases	
Isomerases	
Ligases	

자 등이 있다. 많은 경우에 종래의 합성법으로는 합성이 곤란한 고분자가 효소촉매 작용에 의해 합성되고 있다. 또한, 효소촉매중합은 온화한 조건 하에서의 높은 촉매활성으로 인한 에너지 절약형 특성, 독성이 높은 금속촉매를 사용하지 않는 반응계의 무독성, 많은 경우 천연자원을 출발물질로 활용하는 경우가 많아 생성된 고분자가 생분해성 등 지구환경에 친화적인 고분자 소재의 특성뿐만 아니라 효소를 활용한 중합은 자연계의 물질순환계에서 얻어지기 때문에 그린고분자 화학으로 분류된다. 특히, 최근에는 템플레이트 고분자의 사용에 의한 유기용매를 전혀 사용하지 않는 효소촉매중합법이 소개되었고, 이들 템플레이트 고분자의 사용에 의해 최종생성물의 위치선택성도 현저히 개선되었다.^{6,7} 또한, 일반적인 효소촉매를 이용한 폴리페놀의 중합계에서는 반응 도중에 침전물을 형성하기 때문에 고분자량의 폴리페놀을 얻기가 어려우나 템플레이트 고분자를 사용할 경우 분자량 수백만의 폴리페놀의 합성이 가능하게 되었다.⁸

본 특집에서는 지금까지 폭넓게 연구가 진행되어 온 산화환원효소를 이용한 페놀계 고분자의 중합뿐만 아니라 천연물에서 추출한 식물성 폴리페놀의 개질법에 대해서 알아보겠다.

2. 본론

2.1 페놀 유도체의 산화중합

2.1.1 Peroxidase를 이용한 페놀 유도체의 산화중합

페놀성 화합물이 산화에 의해서 고분자를 생성하는 것은 자연계에서도 발생하는 현상으로 peroxidase, oxidase, oxygenase와 같은 효소에 의해서 lignin, melanin과 같은 페놀계 고분자가 형성된다. 1980년대부터 horseradish peroxidase(HRP)를 이용하여 다양한 종류의 페놀 유도체를 산화시켜 페놀성 고분자를 합성하는 연구가 활발하게 진행되어 왔다.⁹ 이러한 산화효소들은 페놀로부터 자유라디칼을 생성하는데 효과적이었으나 라디칼 상호간의 결합반응을 제어할 수는 없었다. 그러나, 페놀류의 효소촉매중합은 독성이 높은 포르말린을 사용한 기존 페놀수지(노블락수지, 레졸수지)를 대신할 수 있는 환경친화적인 페놀수지 합성법으로써 주목을 받고 있다. 효소를 이용한 페놀계 고분자의 중합에는 촉매로서 HRP를 중심으로 산화환원효소가 이용되고 있다. Peroxidase는 과산화수소를 산소 공여체로서 이용하여 다양한 물질의 산화반응을 촉매한다. 이러한 peroxidase에 의한 중합반응의 메카니즘은 이미 알려져 있으며, 특히 HRP와 soybean peroxidase(SBP)는 반응 활성부위에 철을 함유하는 porphyrin을 가지고 있는 hemeprotein의 일종으로 과산화수소를 산화제로 이용하여 페놀 또는 아닐린 계열의 기질을 산화시키고 물분자를 방출한다(그림 1). 페놀 유도체의 경우 phenoxy 라디칼이 생성되며 이들 라디칼의 결합반응에 의해 고분자중합이 진행된다.

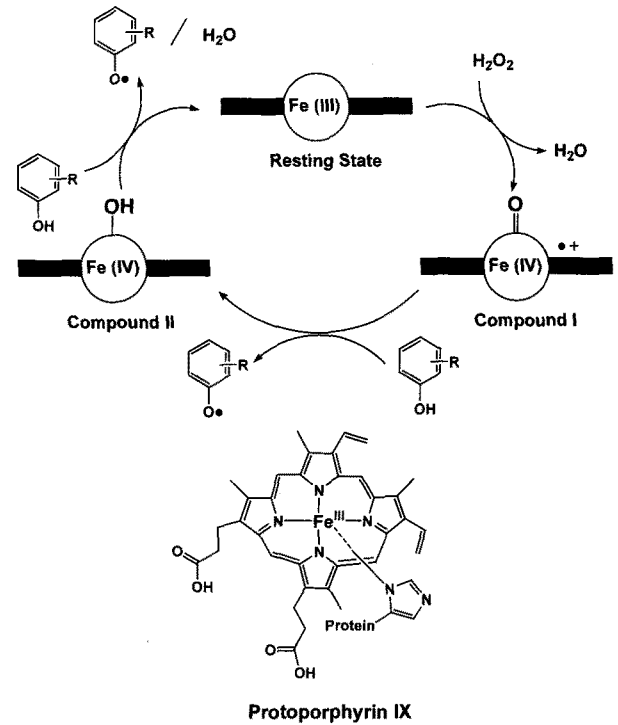


그림 1. Peroxidase에 의한 페놀성 화합물의 산화반응 메카니즘 및 활성부위의 구조.

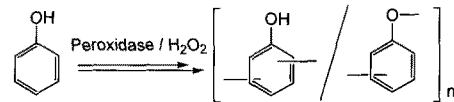


그림 2. Peroxidase를 촉매로 이용한 페놀의 산화중합.

페놀성 화합물 중에서 산업적으로 가장 많이 이용되며 가장 간단한 구조를 가지고 있는 페놀은 산화중합에 있어서 4개의 반응점을 가지므로 일반적인 촉매로는 구조제어가 어려워 가용성의 고분자를 얻기가 어려웠다.⁹ 예를 들어 산화중합의 대표적인 촉매인 구리-아민 촉매를 사용할 경우 불용성의 고분자만 얻어진다. 한편, 유기용매를 함유하는 수용액 상에서 peroxidase를 촉매로 사용할 경우 분말형태의 열적 특성이 우수한 고분자가 얻어지며, 이들 고분자는 페닐렌과 옥시페닐렌 단위의 혼합체이다(그림 2).^{10,11} HRP나 SBP를 촉매로 사용하여 완충액과 1,4-dioxane의 혼합용매에서 고분자를 중합하면 *N,N*-dimethylformamide(DMF)나 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 일부만 녹는 용해도가 낮은 고분자를 얻게 된다.¹⁰ 그러나, 메탄올과 완충액을 반응매질로 사용한 중합에서는 분자량 2,100~6,000의 가용성 고분자가 높은 수율로 합성되었다.¹¹

효소촉매를 이용한 폴리페놀의 중합거동 및 특성은 단량체의 구조, 용매의 조성 및 효소의 종류에 의존한다. 메타 위치에 알킬기가 치환된 페놀류로부터도 효소촉매중합에 의해서 가용성의 고분자가 얻어졌다.¹² 메탄올과 포스페이트 완충용액(pH 7.0)의 혼합용매에서 HRP를 촉매로 사용할 경우 메탄올, 아세톤 및 DMF와 같은 극성용매에 잘 용해되며, 유리전이온도가 200 °C 이상인 poly(*m*-cresol)이 중합되었다. 특히, 메타 위치에 알킬기가 치환된 페놀의 중합거동은 효소의 종류에 큰 영향을 받았으며 치환된 알킬기의 크기가 작을수록 HRP를 촉매로 사용하는 것이 반응 수율이 높았고, 치환된 알킬기가 클 경

우 SBP를 촉매로 사용하는 것이 생성물의 수율이 높아진다고 보고되었다. 또한, 비스페놀-A도 SBP 촉매 하에서 분자량 수천의 가용성 고분자가 얻어졌고, 이들 고분자는 150~200 °C 범위에서 열경화 특성을 보이고 있음이 발견되었다.¹³

Peroxidase를 촉매로 이용한 페놀성 화합물의 산화중합은 대부분 유기용매와 완충액을 반응매질로 사용하고 있다. 중합 전에는 단량체와 효소가 반응매질에 용해되어 있지만 과산화수소를 첨가함에 따라 중합이 진행되어 반응계에서의 용해성이 감소되어 고분자가 석출되기 때문에 중합 후에 여과나 원심분리 등에 의해 간단하게 생성된 고분자를 회수할 수 있다. 반응은 실온에서 진행되기 때문에 효소를 촉매로 이용한 페놀성 화합물의 중합은 온화한 조건에서의 간단한 고분자 합성법이다. 그러나, peroxidase 촉매에 의한 폴리페놀의 중합은 자유라디칼 메커니즘으로 진행되기 때문에 구조제어는 용이하지 않으며, 메탄올과 완충용액의 용매조성을 변화시킴으로써 일정범위에서 구조제어가 가능함이 증명되었다.

최근, 산화환원효소의 일종인 laccase를 촉매로 사용한 페놀성 화합물의 중합도 보고되었다.¹⁴ Peroxidase를 촉매로 사용하는 중합에서는 산화제로서 과산화수소가 필요하지만 laccase를 촉매로 사용할 경우에는 공기 중의 산소가 산화제로 작용하기 때문에 공기의 유입 이외에 산화제를 필요로 하지 않는 장점이 있다. 중합거동은 peroxidase를 촉매로 사용하는 경우와 매우 유사하며 용매조성의 변화에 의한 구조의 정밀제어도 가능하다고 보고되었다.

2.1.2 효소를 이용한 위치선택적 산화중합

효소를 중합촉매로 이용한 추가적인 특징으로는 다른 금속 촉매로는 얻을 수 없는 선택적으로 산화되는 페놀고분자를 합성할 수 있다는 점이다. Poly(phenylene oxide) (PPO)는 우수한 화학적 물리적 특성을 보임으로 인해 광범위하게 이용되고 있는 엔지니어링 플라스틱이며, 2,6-dimethylphenol 단량체와 구리/아민 촉매 시스템을 이용하여 처음으로 중합되었으며,¹⁵ 2,6-dimethylphenol과 HRP 효소 촉매를 사용한 중합반응에서도 oxy-1,4-phenylene 단위로 이루어진 고분자가 생성됨이 확인되었다.¹⁶ 또한, 그림 3에서 볼 수 있는 것처럼 4-phenoxyphenol 또는 2,5-dimethylphenol과 효소촉매로 tyrosinase를 이용한 중합반응에서도 결정성 PPO 유도체가 얻어졌으며,^{17,18} 이는 치환기가 없는 ortho 위치에서 라디칼 결합반응이 일어나지 않기 때문이다. 이들 생성물은 구리/아민 촉매 시스템에서는 얻을 수 없으며, 특히 2,5-dimethylphenol을 이용하여 중합한 PPO 유도체는 녹는점이 300 °C가 넘는 고내열성 엔지니어링 플라스틱이다.

HRP, SBP 및 laccase는 4-hydroxybenzoic acid 유도체인 3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoic acid (syringic acid)와 3,5-dimethyl-4-hydroxybenzoic acid의 산화중합을 촉매하며, 그 결과 선형의 PPO 유도체를 얻을 수 있었다(그림 4).¹⁹ 이 반응에서 단량체

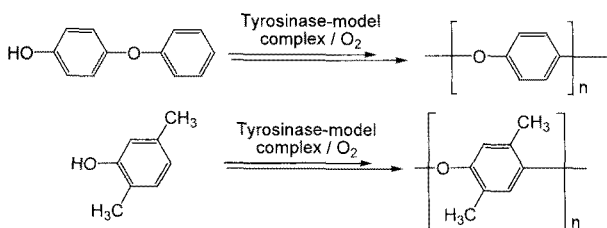


그림 3. Tyrosinase를 촉매로 이용한 PPO 유도체의 위치선택적 중합.

로부터 이산화탄소와 수소가 제거되면서 분자량 13,000 이상의 선형의 고분자가 얻어진다. 그러나, 치환기를 가지지 않는 4-hydroxybenzoic acid는 같은 반응조건에서 중합체를 얻기 위한 고분자반응이 진행되지 않았다.

효소촉매를 이용할 경우 경화성 폴리페놀의 합성도 가능하다. Peroxidase를 촉매로 사용한 비스페놀-A의 고분자 반응에서 150~200 °C에서 열경화가 가능한 폴리페놀이 얻어졌으며,¹³ 에폭시 수지와와의 열경화 반응에 의해 열적 안정성이 크게 개선된 불용성 고분자 네트워크가 형성됨을 알 수 있었다. 또한, methacryloyl기를 가지는 페놀 유도체의 위치선택적 중합이 HRP를 촉매로 이용한 반응에서 이루어졌다(그림 5).²⁰ 고분자 중합반응에서 단지 페놀기만 중합반응에 참여하고 결사슬에 있는 methacryloyl기는 중합반응에 전혀 참여하지 않는 것이 밝혀졌다. 그 결과 열이나 자외선을 이용한 경화가 가능한 고분자가 생성되었다.

Cashew nut shell liquid (CNSL)를 열처리해서 얻어지는 cardanol은 meta 위치에 이중결합이 1개에서 3개가 있는 불포화 탄화수소 사슬을 가지는 천연물 유래 페놀 유도체로서 기존에는 포름알데히드 또는 헥사메틸렌테트라아민을 이용하여 단독 또는 다른 페놀과의 공중합체를 형성시켜 여러 가지 공업적 용도로 이용하였다. 최근 그림 6에서 볼 수 있는 것처럼 SBP를 촉매로 이용하고 아세트 수용액을 반응매질로 이용한 반응에서 분자량 수 천의 가용성 cardanol 고분자가 합성되었다.²¹ 이 반응에서 SBP는 meta 위치의 불포화 이중결합을 손상시키지 않는 상태로 고분자를 형성하였다. 그러나, 이러한 고분자 반응은 용매조건에 크게 영향을 받는 것으로 나타났으며, 극성 용매에서는 중합반응이 진행되지만 비극성 용매에서는 중합반응이 진행되지

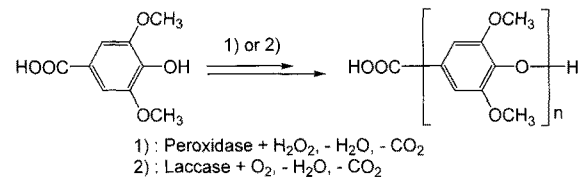


그림 4. 효소촉매를 이용한 4-hydroxybenzoic acid 유도체의 고분자 중합.

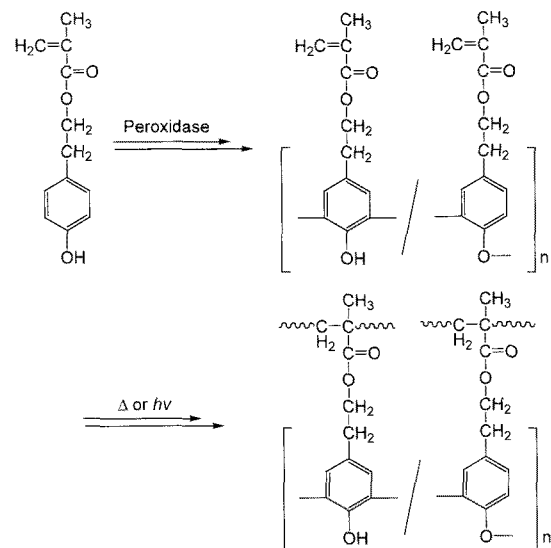


그림 5. 결사슬에 methacryloyl기를 가지는 폴리페놀의 위치선택적 중합.

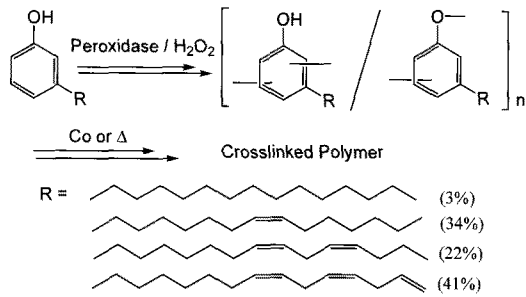


그림 6. Cardanol 고분자의 효소촉매중합 및 가교 반응.

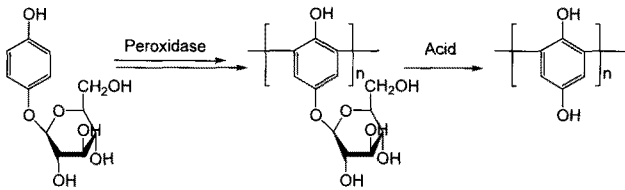


그림 7. 알부틴의 위치선택적 중합반응.

않았다. 얻어진 cardanol 고분자는 촉매로 cobalt naphthenate를 이용하여 가교시키면 고풍택의 표면을 가진 필름이 얻어진다. 또한, 미백 화장품의 핵심원료로 이용되고 있는 천연물 유래 페놀 유도체인 알부틴은 완충액을 반응매질로 이용하고 peroxidase를 촉매로 이용할 경우 2,6-phenylene 단위만을 가지고 있으며 물에 가용성인 고분자가 위치선택적 산화중합에 의해서 얻어진다(그림 7).²² 이때 얻어진 고분자를 산성 조건하에서 탈글리코실화 반응을 진행시키면 C-C 결합만을 가지는 가용성 poly(hydroquinone)이 생성되며, 최종 생성물은 산화환원 특성이 우수하므로 글루코스 센서로서도 적용이 가능하다.

2.1.3 효소촉매중합에서의 폴리페놀의 형태 제어

효소촉매에 의해 중합되는 폴리페놀의 형태는 제한된 조건 하에서 제어가 가능하였다. 1,4-Dioxane과 포스페이트 완충용액의 혼합용매를 이용하고 poly(vinyl methyl ether)를 안정제로 사용한 페놀의 분산중합에서 HRP를 촉매로 사용할 경우 입자 크기가 수 μm 인 단분산성 폴리페놀 입자가 생성되었다.²³ 또한, *m*-cresol과 *p*-phenylphenol도 분산중합에 의해 폴리페놀 입자를 형성하였으며, 입자 크기는 고분자 안정제의 농도와 용매의 조성비에 의해 영향을 받았다. 이들 입자는 열처리를 할 경우 균일한 탄소 입자를 형성하였다.

효소촉매를 이용한 폴리페놀의 중합반응은 단일상 용매에서 뿐만 아니라 미셀, 역미셀과 같은 계면반응계 및 이상(biphasic)의 반응계에서도 진행되었다. *p*-Phenylphenol은 1,4-dioxane 수용액에서보다 계면활성제를 사용한 수용액에서 더 좁은 분자량분포를 가지는 고분자가 중합되었다.²⁴ 역미셀 반응계도 페놀 유도체의 고분자 반응에 이용되었으며, bis(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate (AOT)-물-isooctane으로 이루어진 삼상분계 용매에서 HRP를 촉매로 이용한 *p*-ethylphenol의 고분자 중합에서는 구형의 폴리페놀 입자가 정량적으로 얻어졌다.²⁵ 두 개의 비혼합성 용매(isooctane과 물)를 사용한 이상(biphasic) 반응계에서도 효소촉매를 이용한 중합반응이 진행되었다. 이 반응계를 이용한 *p*-alkylphenol의 고분자 중합에서는 알킬기의 탄소수가 증가할수록 고분자의 분자량이 증가하였다.²⁶

2.2 템플레이트 고분자를 이용한 페놀의 효소촉매 중합

Poly(*m*-phenylene)은 같은 분자량의 선형 poly(*p*-phenylene)

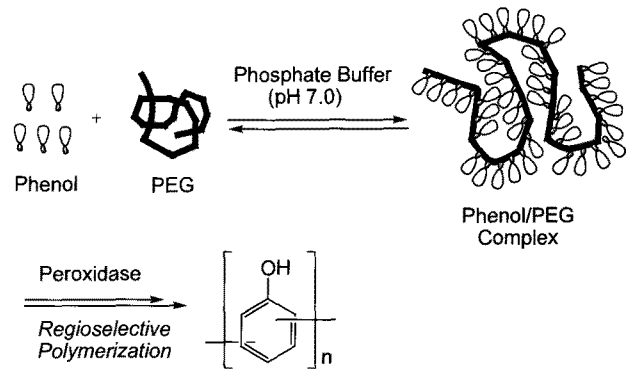


그림 8. PEG를 템플레이트로 이용한 폴리페놀의 중합.

에 비해서 유기용매에 대한 용해도가 뛰어나며, broken conjugation 구조에 기인하는 유기 고분자 자성체로서 매우 유용한 물질이다.²⁷ 일반적으로 poly(*m*-phenylene)은 방향족 이염화물을 니켈 촉매를 이용하여 중합하며, 이들 고분자는 주사슬에 broken conjugation 구조를 가지므로 청색과 자외선을 방출한다.

일반적으로 유기용매와 완충액의 혼합용매계에서 페놀성 화합물의 효소촉매중합으로는 phenylene 단위와 oxyphenylene 단위의 혼합물로 구성된 폴리페놀이 얻어지며, 이들 고분자에는 phenylene 단위가 40~70%의 비율로 섞여있다.³⁻⁵ 또한, 환경친화적인 고분자 중합반응계의 개발에 있어서도 유기용매는 가능하면 사용하지 않는 것이 좋다. 따라서, 유기용매를 전혀 사용하지 않는 효소촉매 중합반응계가 교토대학의 Shiro Kobayashi 그룹에 의해서 개발되었다.^{6,7,28} 수용성 고분자를 템플레이트로 이용함에 의해 유기용매를 전혀 사용하지 않고 포스페이트 완충액만을 반응매질로 이용한 효소촉매 중합반응계에서 높은 수율로 폴리페놀을 중합할 수가 있었다. 특히, 템플레이트 고분자로 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 사용할 경우 phenylene 단위가 90% 이상인 poly(*m*-phenylene)이 중합되었다.^{6,28} 그림 8에서 볼 수 있는 것처럼 이 반응계에서는 효소촉매에 의한 고분자 중합반응이 개시되기 전에 템플레이트 고분자인 PEG와 페놀이 수용액 상에서 수소결합에 의한 복합체를 형성하였으며, 반응이 종결된 후에도 PEG와 폴리페놀의 복합체로서 생성물이 얻어졌다.

수용성 고분자를 템플레이트로 사용한 폴리페놀의 효소촉매중합에서는 수용성 고분자의 구조에 중합반응이 많은 영향을 받았다.²⁸ 예를 들면, poly(vinyl alcohol) (PVA), poly(*N*-vinylpyrrolidone) (PVP) 및 poly(vinyl methyl ether) (PVME)와 같이 페놀 단량체와 수소결합을 이룰 수 있는 자리가 너무 많은 고분자를 템플레이트로 사용하면 중합반응 개시 전에 페놀 단량체와 템플레이트 고분자가 겔을 형성하여 중합반응이 진행되지 않거나 최종생성물이 유기용매에 전혀 녹지 않는 불용성 고분자를 형성하였다. 또한, poly(sodium-4-styrene sulfonate) (PSS)를 템플레이트 고분자로 사용하면 oxyphenylene 단위가 70% 이상인 폴리페놀이 얻어졌다. 따라서, PEG를 템플레이트로 사용한 경우에만 phenylene 단위의 비율이 높은 폴리페놀을 정량적으로 얻을 수 있었다. PEG를 템플레이트로 사용한 경우에도 PEG의 분자량과 사용량에 의해 폴리페놀의 구조가 영향을 받는 것을 알 수가 있었다.

산업분야에서 비이온계 고분자 계면활성제로 많이 이용되고 있는 poly(ethylene glycol) monododecyl ether (PEGMDE)를 템플레

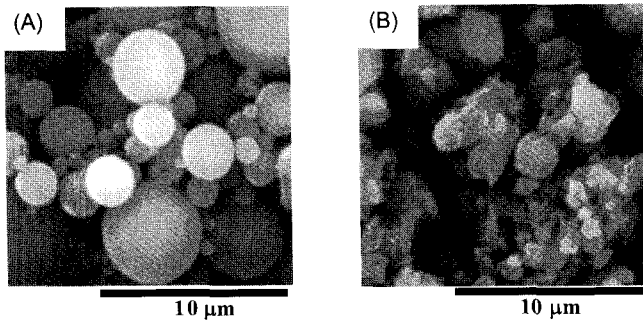


그림 9. (A) PEGMD 및 (B) PEG를 템플레이트로 이용하여 중합한 폴리페놀 입자의 SEM 사진.

이트로 사용한 폴리페놀의 효소촉매 중합에서도 PEG를 사용했을 때와 유사한 결과를 보였다.⁷ 수용액 상에서 페놀 단량체와 PEGMD는 중합반응 개시 전에 수소결합에 의한 복합체를 형성하였으며, 최종 생성물은 폴리페놀과 PEGMD의 복합체로 얻어졌다. 이 중합반응에서도 PEGMD의 사용량과 PEGMD 중의 PEG 사슬의 길이에 의해 중합반응이 영향을 받았으며, 특히 PEG 사슬의 길이가 길어질수록 폴리페놀 중의 phenylene 단위의 비율이 높아져서 최대 90%에 가까운 phenylene 단위를 가지는 폴리페놀이 얻어졌다. 그러나, 이 반응에서는 PEG를 템플레이트로 이용한 반응과는 다르게 폴리페놀-PEGMD 복합체로 이루어진 완벽한 구형을 가지는 입자가 생성되었다(그림 9).

2.3 고분자량 폴리페놀의 합성

지금까지 대부분의 페놀성 화합물의 효소촉매중합에서는 반응 도중에 생성물이 빨리 침전하기 때문에 분자량 수 천 정도의 저분자량의 폴리페놀만 중합되었다. 이는 중합반응 중에 침전이 발생하면 고분자의 전파반응(propagation reaction)이 진행되지 않기 때문이다. 그러나, Pluronic으로 알려진 PEG-poly(propylene glycol) (PPG)-PEG 삼원블럭 공중합체를 중합반응에 이용할 경우 분자량 수 백 만의 고분자량 폴리페놀의 중합이 가능하게 되었다.⁸ Pluronic은 양친매성(amphiphilic)을 보이며 분자구조와 열역학적 변수를 조절할 경우 수용액 상에서 자기조립(self-assembly)에 의해 구형, 막대형, 팬케이크 형태의 미셀 구조 등을 형성한다.²⁹

그림 10에서 나타난 것처럼 Pluronic은 수용액 상에서 자기조립에 의한 안정적인 집합체(aggregate)를 형성하였다. 집합체의 내부는 소수성인 PPG로 채워져 있고, 외부는 친수성인 PEG로 형성된 구조를 가지는 것으로 판단된다. 이러한 집합체를 형성한 이후에 페놀 단량체와 수소결합에 의한 복합체를 형성하고 중합반응이 개시된다. 중합반응 중에는 침전물이 전혀 생성되지 않았으며 반응이 종료한 이후에 메탄올에 침전시켜 고분자량의 폴리페놀을 얻을 수가 있었다.

Pluronic을 이용한 폴리페놀의 효소촉매 중합에서도 Pluronic 자체의 구조가 중합반응에 많은 영향을 끼치는 것이 확인되었다. Pluronic 중의 PEG 함량이 40% 이하에서는 분자량 수 천의 저분자량의 폴리페놀이 얻어졌고, 이들 폴리페놀은 phenylene 단위가 70% 전후였으나, PEG 함량이 80%인 Pluronic F68을 사용할 경우 절대분자량이 수 백 만인 고분자량의 폴리페놀이 얻어졌고 phenylene 단위도 PEG를 사용한 반응에서와 유사하게 거의 90%에 가까운 값을 보였다. Pluronic F68을 사용한 반응에서는 반응 중에도 전혀 침전물이 형성되지 않았으며, 반응 시간이 경과함에 따라 분자량과 생성물의 크기

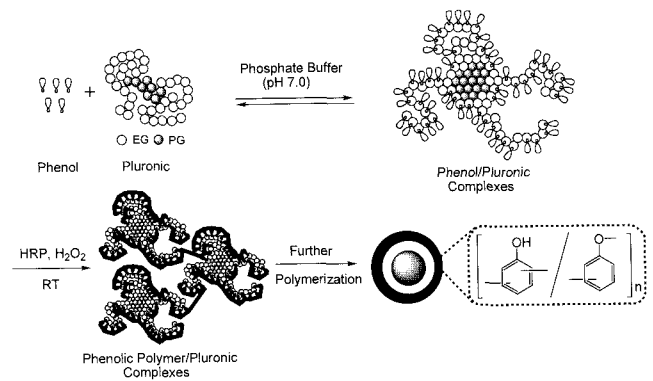


그림 10. Pluronic 존재 하의 고분자량 폴리페놀의 중합.

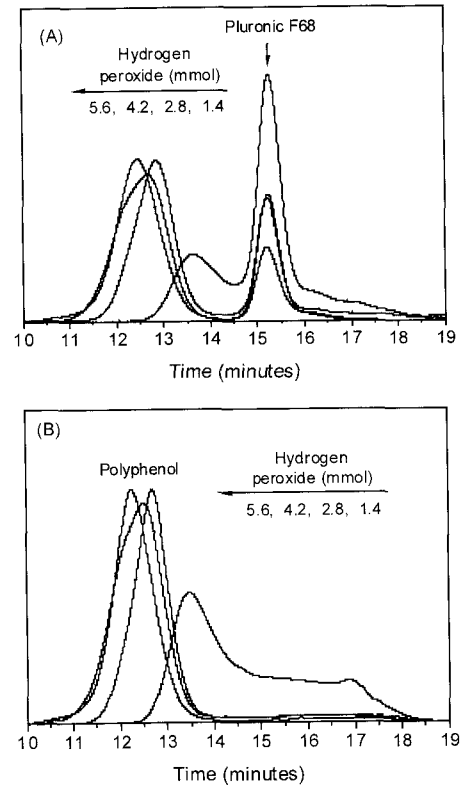


그림 11. Pluronic을 이용한 폴리페놀의 중합반응에서의 분자량 변화에 따른 GPC 그래프; (A) RI and (B) UV detector.

가 계속해서 증가되는 것이 겔 투과 크로마토그래피(GPC)와 동적 광산란(DLS)을 이용하여 확인되었다(그림 11).

2.4 카테콜 유도체의 중합

웁은 도막강도뿐만 아니라 광택, 내약품성, 절연성 및 방오특성 등이 매우 우수하여 동양에서 오랫동안 천연도료로 사용해 오고 있다. 웁의 주성분은 카테콜기에 하나 이상의 이중결합을 가지는 불포화 탄화수소가 직접 연결되어 있는 카테콜 유도체인 urushiol이다. Urushiol은 유기용매를 사용하지 않아도 상온에서 필름으로 만들 수 있으므로 웁은 환경친화적인 도료라고 할 수 있다. 또한, 웁은 아민, 에폭시, 이소시아네이트기를 가지고 있는 실란 커플링제와 아주 빠른 시간 내에 가교반응을 진행시킨다.³⁰

불포화 탄화수소를 가지는 카테콜 유도체는 laccase 존재하에서 가교반응이 진행되어 아주 우수한 물성을 보이는 필름을 형성한다.

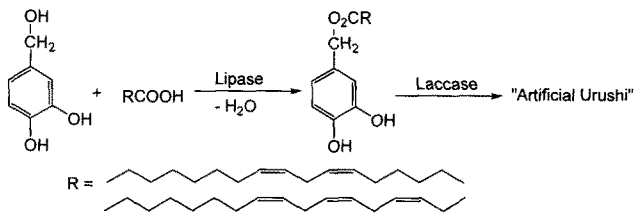


그림 12. 효소를 이용한 인공 옷의 합성.

이러한 원리를 이용하여 그림 12와 같은 합성 옷이 개발되었다.³¹ 먼저 카테콜기에 lipase를 이용하여 불포화 탄화수소를 도입하고, 유기 용매의 사용없이 친환경적인 반응조건에서 laccase를 촉매로 이용하면 고풍택의 물성이 아주 우수한 인공 옷이 형성된다. Urushiol 유도체의 가교반응은 먼저 카테콜기의 산화반응에 이은 결사슬의 불포화 탄화수소의 산화반응으로 진행되었다. 또한, peroxidase를 모델로 응용한 Fe-salen을 촉매로 이용한 urushiol 유도체의 산화중합에 의해서도 경화성 폴리페놀이 합성되었으며, 이들 폴리페놀은 온화한 조건에서도 가교반응이 진행되어 고풍택의 고분자 필름을 형성한다.^{32,33}

2.5 효소촉매를 이용한 식물성 폴리페놀의 개질

2.5.1 플라보노이드의 효소촉매 중합

식물성 폴리페놀은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물로서 광합성에 의해 생성된 식물의 색소와 쓴맛을 내는 성분이며 식물 세포의 생성 및 활성화에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.³⁴ 또한, 식물이 자외선 또는 병원균 등과 같은 외부의 침입으로부터 자신을 보호하기 위해서 방출하는 물질로 페닐알라닌(phenylalanine)과 타이로신(tyrosine)으로부터 합성되며,³⁵ 의약, 농약 등으로 직접 이용되거나 유용한 리드 화합물로서 사용되어지고 있다. 폴리페놀의 대표적인 생리활성기능은 항산화, 항암 및 발암의 과정에 관여하는 변이 원성 억제작용, 항염증작용, 항근작용 등을 들 수 있다.^{36,37}

식물성 폴리페놀의 대부분을 차지하고 있는 플라보노이드(flavonoid)는 benzo- γ -pyrone 유도체로서 페놀과 pyrane ring으로 이루어져 있으며, 플라비놀(flavanol), 플라본(flavone), 플라비논(flavanone), 칼콘(chalcone) 및 안토시아니딘(anthocyanidine)으로 분류된다. 이 중에서 플라비놀 그룹에 속하는 녹차카테킨은 다양한 생리활성을 가지고 있어 최근 많은 관심을 받고 있다. 카테킨의 효소촉매를 이용한 중합반응은 다양하게 조사되었으며, 그 중 plant polyphenol oxidase (PPO)의 산화반응에 의해 생성된 고분자는 과산화수소를 이용한 산화반응의 생성물과 동일한 구조를 보였다.³⁸ 카테킨의 효소촉매를 이용한 중합반응은 불안정한 구조체인 *o*-quinone이 먼저 생성되어 결합반응을 진행시킴에 의해 이루어진다. 이들 생성물의 여러 가지 구조체의 혼합물로 이루어져 있다(그림 13). HRP를 촉매로 이용한 카테킨의 중합반응에서 반응매질로 1,4-dioxane과 완충액을 사용하면 분자량 3,000 정도의 고분자가 30%의 수율로 얻어진다.³⁹ 그러나, 여기에 메탄올을 공용매(cosolvent)로 사용하면 생성물의 수율과 분자량이 개선될 수 있다.

2.5.2 바이오폴리머-플라보노이드 복합체의 합성

바이오폴리머의 특성을 개선시키거나 다양한 응용분야의 확대를 위해서 바이오폴리머에 플라보노이드를 도입하고자 하는 연구가 최근 다양하게 진행되고 있다. 키토산에 플라보노이드나 페놀 유도체를 도입할 경우 PPO로 가교가 가능하므로 쉽게 키토산 하이드로 겔을 합성할 수 있다.⁴⁰ 또한, 항균성이 우수하여 식품산업에서 많이

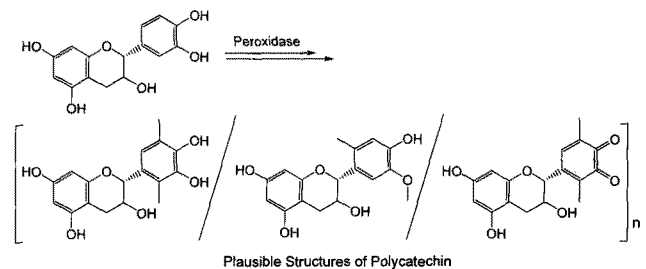


그림 13. Peroxidase를 이용한 카테킨의 중합반응.

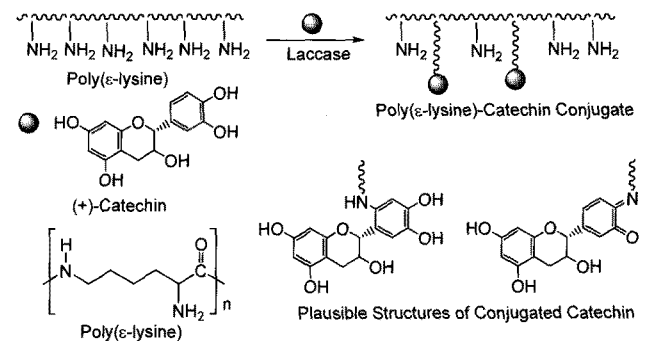


그림 14. Laccase를 이용한 poly(lysine)-카테킨 복합체의 합성.

사용되고 있는 폴리아미노산인 poly(lysine)에 laccase를 이용하여 카테킨과 같은 플라보노이드류가 도입되었다(그림 14).⁴¹ 이들 폴리 아미노산-카테킨 복합체는 세포외기질을 분해시키며, 암 또는 관절염 등과 같은 질환과 관련성이 있다고 알려진 matrix metalloproteinases (MMPs)의 저해작용이 우수한 것으로 발표되었다. 특히, 콜라겐을 가수분해시켜 얻는 수용성 단백질인 젤라틴에 카테킨을 도입한 젤라틴-카테킨 복합체는 저밀도 리포단백질(LDL)의 산화를 방지하는 성능이 아주 우수한 것으로 보고되었다. 이와 같이 효소촉매를 이용한 바이오폴리머뿐만 아니라 플라보노이드류의 개질이 가능하였으며, 이로 인해 바이오폴리머와 플라보노이드의 생리활성이 개선되었다. 또한, 이들 바이오폴리머 또는 플라보노이드의 개질에 독성이 있는 화학촉매의 사용보다 효소촉매의 사용이 안정성면에서도 우수하다고 할 수 있다.

3. 결론

효소촉매를 이용한 폴리페놀 중합반응의 특징은 독성이 있는 포르말린을 쓰지 않으며, 촉매활성이 매우 높고, 폭넓은 구조의 페놀류가 중합되어 종래의 방법으로는 중합이 곤란한 신규 구조의 폴리페놀이 얻어지며, 반응조건의 조절을 통하여 분자량이나 용해성을 제어할 수 있고, 온화한 실온 조건에서 중합이 진행되며, 조작이 간편한 점을 들 수 있다. 따라서, 천연자원으로부터 고성능 도막재료(인공 옷), 다양한 기능성 폴리페놀, 식물성 폴리페놀의 개질 등과 같은 고분자 신소재를 유독물질의 발생을 수반하지 않고 간편하고, 고수율로 제품을 생산할 수 있는 효소촉매반응은 21세기에 바람직한 환경친화적 기술이다. 특히, 환경오염의 원인이 될 수 있는 유기용매를 전혀 사용하지 않고, 템플레이트 고분자를 활용한 새로운 효소촉매 반응계와 이러한 반응계를 이용한 고분자량의 폴리페놀의 중합은 환경친화적 차세대 고분자 중합기술

로서 크게 기대된다. 또한, 식물성 폴리페놀의 효소촉매를 이용한 고분자량화 기술과 바이오폴리머에의 결합반응은 천연물 유래 고기능성 재료의 개발에 많은 도움이 될 것으로 생각된다.

최근 유럽 및 미국을 중심으로 한 화학 산업계에서는 화석원료의 고갈과 환경친화적인 공정의 요구에 부응하기 위해서 White Biotechnology(BT)를 대안으로 정하고 있다. 즉, 화석원료를 대신할 수 있는 식물 및 동물로부터 얻어지는 재생가능자원을 원료로 하고 환경친화적인 BT 공정을 적용하고자 하는 노력이 활발히 진행 중이다. 아울러, 고분자 산업에서도 효소 및 biocatalyst를 이용한 새로운 단량체, 고분자의 합성연구도 최근 들어 활발히 진행되고 있다. 그러므로, 효소촉매를 이용한 단량체 합성 및 고분자 중합반응의 개발은 환경친화적인 공정의 요구에 충분히 부응할 것으로 기대된다.

참고문헌

1. A. Schmid, F. Hollmann, J. B. Park, and B. Bühler, *Curr. Opin. Biotech.*, **13**, 359 (2002).
2. R. A. Gross, A. Kumar, and B. Kalra, *Chem. Rev.*, **101**, 2097 (2001).
3. S. Kobayashi, H. Uyama, and S. Kimura, *Chem. Rev.*, **101**, 3793 (2001).
4. H. Uyama and S. Kobayashi, *J. Mol. Catal. B. Enz.*, **19**, 117 (2002).
5. H. Uyama and S. Kobayashi, *Adv. Polym. Sci.*, **194**, 51 (2006).
6. Y. J. Kim, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **36**, 5058 (2003).
7. Y. J. Kim, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Biosci.*, **4**, 497 (2004).
8. Y. J. Kim, K. Shibata, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polymer*, **49**, 4791 (2008).
9. J. S. Dordick, M. A. Marletta, and A. M. Klibanov, *Biotechnol. Bioeng.*, **30**, 31 (1987).
10. H. Uyama, H. Kurioka, J. Sugihara, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 189 (1995).
11. T. Oguchi, S. Tawaki, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **73**, 1389 (2000).
12. H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, and M. Kubota, *Macromol. Chem. Phys.*, **200**, 2365 (1999).
13. S. Kobayashi, H. Uyama, T. Ushiwata, T. Uchiyama, J. Sugihara, and H. Kurioka, *Macromol. Chem. Phys.*, **199**, 777 (1998).
14. N. Mita, S. Tawaki, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Biosci.*, **3**, 253 (2003).
15. A. S. Hay, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **36**, 505 (1998).
16. R. Ikeda, J. Sugihara, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **29**, 8072 (1996).
17. H. Higashimura, K. Fujisawa, Y. Morooka, S. Namekawa, M. Kubota, A. Shiga, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Adv. Technol.*, **11**, 773 (2000).
18. H. Higashimura, M. Kubota, A. Shiga, M. Koderu, H. Uyama, and S. Kobayashi, *J. Mol. Catal. A*, **161**, 223 (2000).
19. R. Ikeda, J. Sugihara, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. Int.*, **47**, 295 (1998).
20. H. Uyama, C. Lohavisavapanich, R. Ikeda, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **31**, 554 (1998).
21. R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **32**, 589 (2000).
22. P. Wang, D. Martin, S. Parida, D. G. Rethwisch, and J. S. Dordick, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 12885 (1995).
23. H. Kurioka, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **30**, 526 (1998).
24. W. H. Liu, J. D. Wang, L. Ma, X. H. Liu, X. D. Sun, Y. H. Cheng, and T. J. Li, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **750**, 138 (1995).
25. A. M. Rao, V. T. John, R. D. Gonzalez, J. A. Akkara, and D. L. Kaplan, *Biotechnol. Bioeng.*, **41**, 531 (1993).
26. M. Ayyagari, J. A. Akkara, and D. L. Kaplan, *Acta Polym.*, **47**, 193 (1996).
27. L. Liao, Y. Pang, and F. E. Karasz, *Macromolecules*, **35**, 5720 (2002).
28. Y. J. Kim, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Polym. J.*, **36**, 992 (2004).
29. E. Hecht, K. Mortensen, and H. Hoffmann, *Macromolecules*, **28**, 5465 (1995).
30. K. Nagase, R. Lu, and T. Miyakoshi, *Chem. Lett.*, **33**, 90 (2004).
31. S. Kobayashi, H. Uyama, and R. Ikeda, *Chem. Eur. J.*, **7**, 4754 (2001).
32. T. Tsujimoto, R. Ikeda, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 496 (2001).
33. T. Tsujimoto, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Macromolecules*, **37**, 1777 (2004).
34. J. F. Hammerstone, S. A. Lazarus, and H. H. Schmitz, *J. Nutr.*, **130**, 2086 (2000).
35. F. Shahidi and M. Naczek, *Phenolic in Food and Nutraceuticals: Sources, Applications and Health Effects*, CRC Press, Boca Raton, FL, 2003.
36. W. Ren, Z. Qiao, H. Wang, and L. Zhang, *Med. Res. Rev.*, **23**, 519 (2003).
37. W. Huang, M. Z. Liu, Y. Li, Y. Tan, and G. F. Yang, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **15**, 5191 (2007).
38. D. E. Hathway and J. W. T. Seakins, *Nature*, **176**, 218 (1955).
39. M. Kurisawa, J. E. Chung, Y. J. Kim, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **4**, 469 (2003).
40. K. Yamada, T. Chen G. Kumar, L. Vesnovsky, L. D. T. Topoleski, and G. F. Pyane, *Biomacromolecules*, **1**, 252 (2000).
41. N. Ihara, S. Schmitz, M. Kurisawa, J. E. Chung, H. Uyama, and S. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **5**, 1633 (2004).