

스피로피란 기반 친수성 가교제를 활용한 다중 자극 감응형 하이드로젤

정혜원^{1,*} · 김상진^{2,*} · 허은진³ · 신성규⁴ · 한사라⁵ · 정재현^{6,†}

¹송실대학교, 대학원생, ²송실대학교, 대학원생, ³송실대학교, 대학원생,
⁴송실대학교, 대학원생, ⁵송실대학교, 대학원생, ^{6,†}송실대학교, 교수
(2021년 1월 25일 접수: 2021년 2월 24일 수정: 2021년 2월 24일 채택)

Multi-responsive hydrogel cross-linked synthesized spiropyran-based hydrophilic cross-linker

Hye-Won Jeong^{*} · Sang Jin Kim^{*} · Eun-Jin Heo
Sung Gyu Shin · Sa Ra Han · Jae Hyun Jeong[†]

¹Department of Chemical Engineering, Soongsil University,
511, Sangdo-dong, Dongjak-gu, Seoul [06978], Republic of Korea
(Received January 25, 2021; Revised February 24, 2021; Accepted February 24, 2021)

요약 : 온도, pH, 빛 및 힘 등의 외부 자극에 반응하여 그 구조나 물리 화학적 특성이 변화 가능한 자극 감응형 하이드로젤에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 본 연구에서는 응력 감응형 분자인 스피로피란을 사용하여 응력 및 pH 감응형 하이드로젤을 제조하였다. 먼저, 폴리에틸렌 다이아크릴레이트(PEGDA)를 스피로피란 분자 양 끝에 접목시켜, 수용액에 쉽게 용해될 뿐만 아니라 하이드로젤 가교제 역할이 가능한 아령모양(PEG-spiropyran-PEG)의 SP-PEGDA 분자를 합성하였다. 이렇게 합성한 SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤은 팽윤에 의해 발생하는 내부 응력에 의해 노란색의 스피로피란(SP) 분자를 보라색의 메로사인(MC) 형태로 변환시켰다. 또한 pH에 따라 양성화된 메로사인(MCH) 형태로 변환하여 팽윤과 수축을 시각화 하였다.

주제어 : 자극 감응형 하이드로젤, 스피로피란, 친수성 가교제, 응력 감응형, pH 감응형

Abstract : Stimuli-responsive hydrogels are being extensively studied to alter their physiochemical properties in response to external changes such as temperature, pH, light and mechanical stress. This study reports multi-responsive hydrogel having optical change response to external stress. First, we synthesized a novel spiropyran cross-linker successfully by grafting poly(ethylene glycol) diacrylate (PEGDA) on both side of spiropyran and introduced to hydrogel. In the results, the yellow spriopyran

[†]Corresponding author
(E-mail: nfejjh@ssu.ac.kr)

* The first two authors contributed equally to this work

structure was conversed to purple merocyanine structure by internal stress during swelling of the hydrogels cross-linked with the SP-PEGDAs. Also, the hydrogel could be visualized the swelling and deswelling process in response to pH, by converting MC and protonated MC structure.

Keywords : Stimuli-responsive hydrogel, Spiropyran, hydrophilic corss-linker, mechanochromism, ionochromism

1. 서론

자극 감응형 스마트 소재는 온도, pH, 이온 세기, 빛, 전기/자기장, 화학 물질 및 기계적 응력 등에 반응하여 그 구조나 물리 화학적 특성이 가역적 또는 비가역적으로 변하는 특징을 가진다. 이러한 특징 때문에 자극 감응형 스마트 소재는 다양한 분야에 활발하게 연구되고 있다[1-4]. 그 중, 스피로피란은 두 형태의 이성질체가 서로 다른 광학적 특징을 나타내기 때문에 자극 감응형 물질로서 촉망 받고 있다. 스피로피란은 빛, 온도, 기계적 힘, pH 등에 의하여 spiro C-O 결합이 끊어지게 되고, 무색의 스피로피란(SP) 상태에서, 보라색의 메로사인(MC) 형태로 가역적인 변화를 일으키게 된다[5, 6]. 이를 이용하여, 스피로피란과 다양한 고분자와의 접목으로 외부 자극에 의한 손상 또는 변화를 감지할 수 있는 자극 감응형 물질로서 사용된다[7-15]. 하이드로젤은 가교된 친수성 고분자로 이루어진 삼차원 고분자 구조체로 많은 양의 물을 함유 할 수 있으며 상대적으로 부드러운 물성, 생체 적합성 등 생체 조직과 유사하여 바이오메디컬 분야에서 활발하게 연구되고 있으며, 자극 감응성 고분자 및 물질을 이용하여 특정 자극에 감응하는 하이드로젤을 형성할 수 있다[16-19]. 따라서 스피로피란을 도입하여 스피로피란 기반의 자극 감응형 하이드로젤에 대한 연구도 활발하게 진행되고 있다[20-25]. 일반적으로 스피로피란 분자는 펜던트 형태 또는 가교제 형태로 고분자와 결합 되어 하이드로젤에 도입되게 된다. 펜던트 형태로 하이드로젤에 도입되는 경우에는 하이드로젤에 가해지는 응력에 효과적으로 감응하지 못하게 된다. 때문에 외부에서 작용되는 응력뿐만 아니라, 팽윤에 의한 내부 응력이 스피로피란에 작용할 수 있도록 가교제 형태로 하이드로젤에 스피로피란이 도입되어야 한다[20, 21].

본 연구에서는 이러한 문제점을 해결하기 위

해, 폴리에틸렌 다이아크릴레이트(poly(ethylene glycol) diacrylate, PEGDA)를 스피로피란 분자 양 끝에 접목시켜, 수용액에 쉽게 용해될 뿐만 아니라 하이드로젤 가교제 역할이 가능한 아령모양 (PEG-spiropyran-PEG)의 SP-PEGDA 분자를 합성하였다. 이렇게 합성한 SP-PEGDA를 가교제로 사용하고 sodium acrylates를 단량체로 하여 하이드로젤을 제조하였다. SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤은 팽윤에 의해 발생하는 내부 응력에 의해 노란색의 스피로피란(SP) 분자를 보라색의 메로사인(MC) 형태로 변환시켰다. 또한 pH에 따라 하이드로젤이 팽윤과 수축을 반복할 때, MC 형태는 산성 용액의 수소 이온을 통해 UV-Vis 영역에서 다른 흡수 밴드를 가지며 노란색의 MCH로 전환되었음을 확인하였다[26]. 즉 pH에 따라 양성화된 메로사인(MCH) 형태로 변환하여 하이드로젤의 팽윤과 수축을 시각화할 수 있었다(Fig. 1).

2. 실험

2.1 스피로피란 분자 합성

5-hydroxyl-1,2,3,3-tetramethyl-3h-indolium iodide (676 mg, 2.136 equiv., HID, Advanced Chemblock Inc.) 와 2,3-dihydroxy-5-nitrobenzaldehyde (391 mg, 2.136 equiv., CH, Advanced Chemblock Inc.)을 20 mL absolute ethanol(Sigma aldrich)에 용해 한 후, 반응기에 교반시켜주었다. 그 후, 촉매인 piperidine (0.42 mL, 4.272 equiv., Sigma aldrich)을 1 mL absolute ethanol과 섞어준 후, 반응기에 실린지를 이용해 넣었다. Piperidine이 반응기 안의 용액과 섞이는 동시에 보라색으로 용액의 색이 변하게 된다. 색이 전체적으로 변한 후, 100 °C로 가열하며 질소 기체 하에 2시간 동안 환류시킨다. 그 후, 상온에서 약 1시간 동안 냉각시켰

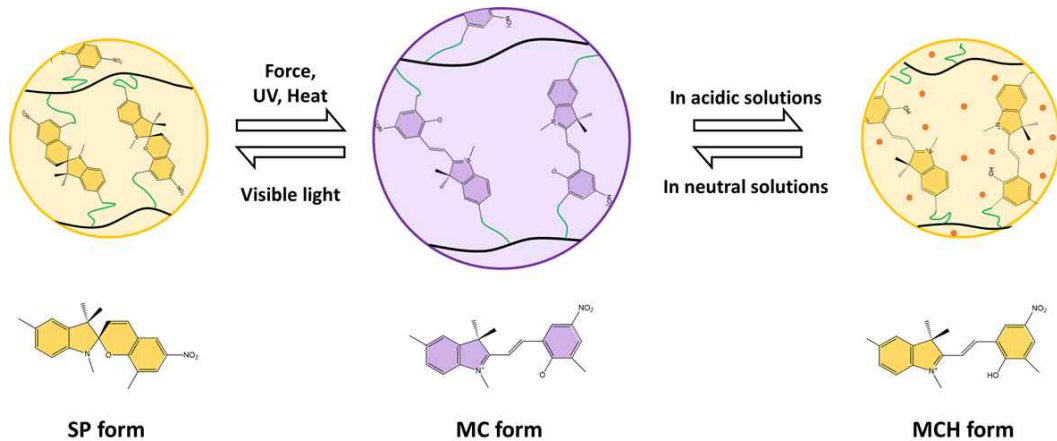


Fig. 1. Schematic description of a stimuli-responsive hydrogel cross-linked with SP-PEGDAs in response to various external stimulus.

다. 냉각 후, 합성된 용액을 실린저 필터를 이용하여 filtration을 통해 불순물을 제거해주었다. 필터 된 합성 용액을 소분한 차가운 ethanol(삼천)에 침전시켜 미반응물을 제거해주고, 검정색 파우더로서 스피로피란(SP)을 얻었다. 스피로피란의 화학 구조는 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)을 이용해 분석하였다.

2.2. 스피로피란 기반 친수성 가교제 (SP-PEGDA) 합성

AC-PEG-COOH (1 g, 2 equiv., Biochempeg)와 합성한 SP (88.5 mg, 1 equiv.), dicyclohexylcarbodiimide (206 mg, 4 equiv., Sigma aldrich), 4-(dimethylamino)pyridine (123 mg, 4 equiv., Sigma aldrich)을 20 mL dimethylformamide(DMF, Sigma aldrich)에 용해하여 24시간 동안 질소 기체 하에 상온에서 교반시켜 주며, Steglich 에스터화를 이용하여 AC-PEG-COOH를 SP에 도입하였다(Fig. 2). 24시간 후에, 합성 용액을 실린저 필터를 이용하여 부산물을 제거해주었고 필터된 용액을 rotary evaporator를 이용하여 농축시켜주었다. 농축된 합성 용액을 ethyl ether(삼천)에 침전시켜 파우더로서 얻었다. 미반응물을 제거하기 위해, 회수한 SP-PEGDA를 증류수에 용해 하여 투석하였다. 시간이 지남에 따라 증류수의 색이 자주색으로 변하게 된다. 색이 변한 증류수를 여러번 교체 해주었고, 투석을 마친 SP-PEGDA 용액은 동결

건조를 통해 파우더로서 얻어졌다. SP-PEGDA의 화학 구조는 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O)을 이용하여 분석하였다.

2.3. SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤 제조

Sodium acrylate(SA, Sigma aldrich) 단량체와 SP-PEGDA 가교제를 사용하여 다중 자극 감응형 하이드로젤을 제조하였다. 먼저, SA와 SP-PEGDA를 증류수에 각각 최종 농도 30 wt% (w/v), 10 wt% (w/v)로 조절하여 젤 용액(pre-gel solution)을 제조하였다. 이때, SP-PEGDA 용액은 사용 전 백색광을 쬐어주어 MC 형태에서 SP 형태로 전환시켜주었다. 개시제는 ammonium persulfate(APS, 삼천)를 사용하였고 촉매는 N,N,N',N'-tetramethyl ethylene diamine (TEMED, Sigma aldrich)를 사용하였고 증류수에 10 wt% (w/v) 농도로 만들었다. APS 용액에서 최종 농도 1.0 wt% (w/v)이 되도록 젤 용액에 첨가하였다. 이후 볼텍스(vortex)를 이용하여 젤 용액을 교반 시켜주었다. TEMED 용액 5 μL 를 젤 용액에 첨가하고 피펫을 이용하여 섞어준 후, 두께 1 mm의 스페이서가 끼워진 유리판 사이에 주입되었다. 젤 용액은 완벽히 SP 형태로 전환시키기 위해 백색광을 쬐어주면서 20분 동안 젤 화(gelation)시켰다. 이후, 제조된 하이드로젤은 직경 8 mm, 두께 1.0 mm의 원통형으로 규격화하였다.

2.4. SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤의 pH 변화에 따른 팽윤비 및 흡광도 측정

먼저, 증류수와 hydrochloric acid (HCl, Sigma aldrich)를 이용하여 pH7~2의 용액을 제조하였다. SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤의 pH변화에 따른 팽윤비 변화 측정을 위해, 규격화된 하이드로젤은 증류수에 최소 12시간 이상 담가 충분히 팽윤시킨 후 하이드로젤의 무게(W_0)와 증류수를 pH2 용액으로 교체하여 시간에 따른 무게(W_t)또한 측정하였고 무게의 변화가 없어진 후 이것을 다시 증류수 용액으로 교체 후 정해진 시간에 무게(W_t)를 측정하였다. 측정이 완료된 후, 60 °C 이상에서 최소 12시간 이상 건조시킨 후 무게 (W_d)를 측정하여 팽창비(swelling ratio, Q_m)를 계산하였다.

$$Q_m = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \dots\dots\dots (식 1)$$

하이드로젤의 1차원적 팽창을 비교하기 위해, 팽창비(Q_m)를 활용하여 팽윤비(S)를 계산하였다.

$$S = \left(\frac{Q_f}{Q_i}\right)^{\frac{1}{3}} - 1 \dots\dots\dots (식 2)$$

여기서 Q_i , Q_f 는 하이드로젤을 만든 직후와 정해진 시간에서의 팽윤비를 나타낸다.

SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤의 pH에 따른 팽윤비 및 흡광도를 측정하기 위해 규격화된 하이드로젤을 증류수에 12시간 이상 팽윤시켰다. 이후, pH7~2 용액에 하이드로젤의 무게에 변화가 없을 때까지 각각 담지하였고, 그때의 무게를 측정하고, UV-Vis spectrophotometer (Optizen POP, Keen Innovation Solutions)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 각 용액에 팽윤된 하이드로젤도 측정이 완료 후에 60 °C 이상에서 최소 12시간 이상 건조시킨 후 무게 (W_0)를 측정하여 팽창비(Q_m)를 계산하였고 마찬가지로 팽윤비(S)를 구하였다.

2.5. Mechanoball 제조 및 세포외기질 겔 적용

0.25 ml methyl acrylate (MA, Sigma aldrich)에 가교제인 SP-PEGDA (43.1 mg, 0.36 mol% of MA) 와 개시제인 phenylbis (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphine oxide (IAGURE

819, 2.3 mg, 0.2 mol of MA, Sigma aldrich)를 용해하였고, 이를 TWEEN 60 수용액 (1 wt%, 0.5 mL)에 섞어 균일한 에멀전을 형성하기 위해 10분 동안 볼텍스(vortex)를 이용하여 교반시켜 주었다. 시간이 지나도 에멀전이 붕괴되지 않는 것을 확인하고, AC-PEG-NHS (Biochempeg)를 에멀전 용액에 첨가하고 부드럽게 교반하였다. AC-PEG-NHS까지 넣어준 에멀전 용액을 1 mm 두께의 스페이서가 끼워진 석영 판 사이에 주입되었다. 이를 15~20분 간격으로 피펫을 이용하여 섞어 주면서 1시간 동안 365 nm UV에 쬐어 주어 중합시켰다. 광중합이 완료되면, mechanoball이 담겨져있는 용액을 회수하고, 멸균 증류수와 원심 분리기를 이용하여 반복 세척하여 미 반응물을 제거해 주었다.

콜라겐 젤은 저온(4 °C)에서 콜라겐 용액 (collagen type I, 6 mg/mL, Advance Biomatrix Inc.)에 250 μ L의 완충용액(reconstituting buffer solution)을 첨가하여 준비하였다. 여기서 RES 완충 용액은 0.26 M의 NaHCO_3 와 0.2 M의 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinethanesulfonic acid (HEPES), 0.04 M의 NaOH 혼합용액으로 준비하였다. 콜라겐 용액 1.0 mL당 HeLa 세포 5.0×10^5 cells 농도로 첨가되었으며, mechanoball은 5.0×10^7 particles 농도로 첨가되었다. HeLa 세포와 mechanoball이 첨가된 콜라겐 용액을 96-well plate에 100 μ L씩 각 well에 분배되었고, 이를 37 °C, 5% CO_2 환경에 2시간 동안 incubation 하여 제조한다. 세포와 mechanoball을 담지한 콜라겐 젤은 phosphate-buffered saline (PBS, Biowest)로 2번 세척하였고, FBS 및 PS가 첨가된 DMEM 배양액으로 37 °C, 5% CO_2 환경에서 배양하였다. 배양액은 2일 주기로 교체 하였으며, 광학현미경 (optical microscopy, Nikon Eclipse TS100)으로 mechanoball과 세포의 증식을 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 스피로피란 기반 가교제(SP-PEGDA)

합성 및 분석

스피로피란 기반 가교제인 SP-PEGDA 합성 과정과 분자 구조는 (Fig. 2)에 나타내었다. SP-PEGDA의 전구체인 SP는 HID와 CH를 piperidine을 촉매로, 100 °C에서 2시간 동안 환

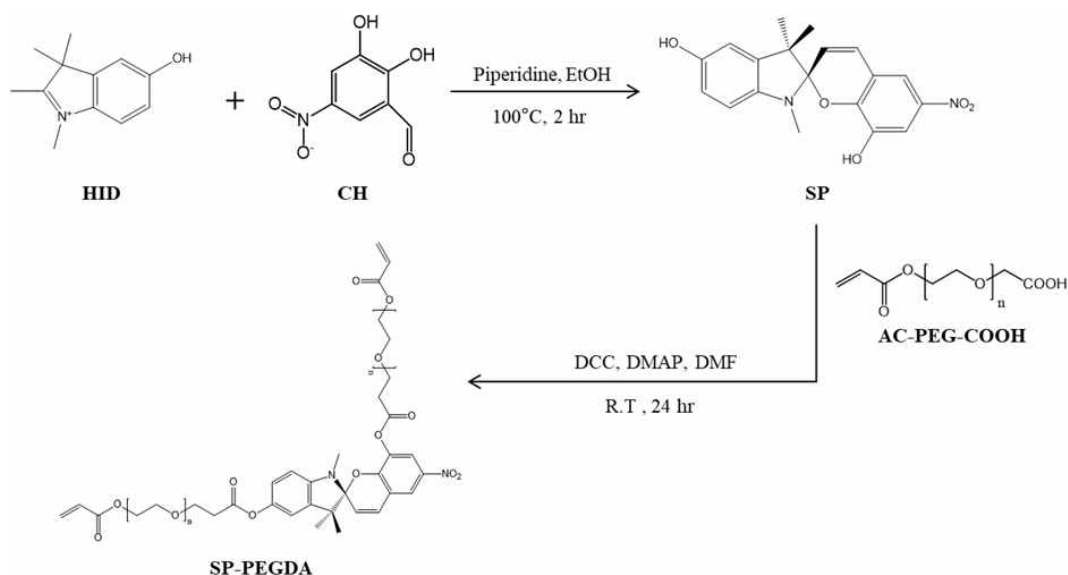


Fig. 2. The overall synthetic scheme of a dumbbell-shaped spiropyran-based hydrophilic cross-linker(PEG-SP-PEG).

류하며 반응하여 SP를 성공적으로 합성하였다. SP의 분자 구조는 $^1\text{H-NMR}$ 을 통해 확인 되었다(Fig. 3(a)). $^1\text{H-NMR}(\text{SP}, \text{DMSO-}d_6)$: $\delta = 1.0\text{--}2.3$ (3H, $-\text{CH}_3$); 4.2(3H, $-\text{CH}_3$); 6.9–7.2(1H, $-\text{CH-}$, Indole), 7.5–8.5(1H, $-\text{CH-}$, Chromene), 10.0–10.2(1H, $-\text{OH}$). Steglich 에스터화는 불안정한 산의 치환을 도모하는 반응으로, AC-PEG-COOH와 합성한 SP를 상온에서 반응하여 성공적인 접목을 할 수 있다[26]. AC-PEG-COOH의 카르복실기의 $-\text{OH}$ 와 DCC와 먼저 반응하게 되고 합성된 SP의 $-\text{OH}$ 부분과 반응하여 탈수 반응이 일어나면서 SP의 양 끝에 PEGDA가 접목되게 되어 성공적으로 SP-PEGDA를 합성하였다. SP-PEGDA의 분자 구조는 $^1\text{H-NMR}$ 을 통해 확인되었다(Fig. 3(b)). 3.5 ppm~4 ppm에서 나타나는 피크는 PEG의 methylene 양성자에 해당되며 4.5 ppm에서 나타나는 피크는 SP의 methyl기에 해당되는 피크이다. 이를 통해, AC-PEG-COOH와 SP의 결합이 성공적으로 이루어졌음을 확인 할 수 있었다. $^1\text{H-NMR}(\text{SP-PEGDA}, \text{D}_2\text{O})$: $\delta = 1.0\text{--}2.0$ (3H, $-\text{CH}_3$); 3.2–4.1(4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 4.3–4.4(3H, $-\text{CH}_3$).

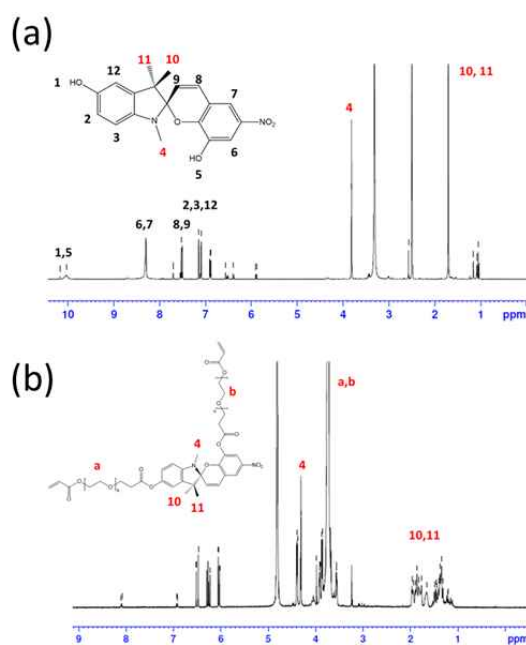


Fig. 3. $^1\text{H-NMR}$ spectra of (a) SP molecule and (b) SP-PEGDA molecule.

3.2. SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤의 자극 감응형 평가

Sodium acrylate 단량체와 합성한 SP-PEGDA 가교제를 사용하여 자극 감응형 하이드로젤을 제조하였다. 겔 용액 제조 시에, SP-PEGDA 용액은 먼저 백색광을 쬐어주어 보라색의 MC 형태에서 노란색의 SP 형태로 전환시켜 주었다. 하이드로젤이 형성되면 일정 크기로 규격화 하여 수용액에 담지시켜 팽윤을 유도하였다. 하이드로젤이 주위의 물을 흡수하여 팽윤하면 하이드로젤 가교제로 사용된 SP-PEGDA에 내부 응력이 작용하게 되고 SP는 MC 형태로 다시 전환되게 된다. 때문에 본 연구에서 제조한 SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤도 노란색에서 보라색으로 색 변화가 됨을 확인할 수 있었다. 무엇보다 이렇게 제조한 하이드로젤은 내부 응력 뿐만 아니라 수용액의 pH에 따라서도 색 변화를 띠게 된다. 본 연구에서 사용된 sodium acrylate 기반 하이드로젤은 pH 민감성 하이드로젤이기 때문에 pH에 따라 팽윤 및 수축을 반복할 수 있다. Fig. 4(a)는 수용액(pH7)에서 완전히 팽윤된 하이드로젤을 다시 산성 용액(pH2) 넣어 하이드로젤의 수축 과정을 관찰한 결과이다. 또한 이 하이드로젤을 다시 pH7 수용액에 넣었을 때 팽윤하는 거동을 팽윤비(expansion ratio) 값을 측정하여 나타내었다. 즉, 제조한 하이드로젤은 SP-PEGDA에 의해 성공적으로 가교가 되었으며 pH에 따라 팽윤과 수축을 반복할 수 있음을 확인할 수 있다. 또한 pH에 따른 하이드로젤의 팽윤비 값과 그때의 하이드로젤이 띠는 색을 흡광도 값을 측정하여 분석하였다(Fig. 4(b)). Relative absorbance at λ_{max} 는 MC 형태를 나타내는 550 nm에서의 각 샘플의 흡광도를 pH7에서 나타난 흡광도의 값으로 나눠진 값이다. pH가 낮아질수록 하이드로젤은 수축을 하고 λ_{max} 에서의 흡광도는 줄어들게 된다. 이는 증류수에 팽윤되면서 내부 응력에 의해 변환되었던 MC형태가 수소 이온에 의해 양성자화 되면서 MCH 형태로 전환됨을 뜻하며, pH가 낮을수록 하이드로젤이 수축하게 되고 MCH로 더 많이 전환된다. 즉, Fig. 5에 나타난 것처럼 pH7인 증류수에 팽윤이 되면서 SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤은 3차원적으로 변형이 이뤄지게 되고 이로 인해 SP 형태에서 MC 형태로 전환 되어 SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤의 색이 보라색으로 변하게 된다. 이를 산성 용액에 담지하면, 용액에 먼저 닿게 되는 하이드로젤 부

분부터 MC 형태가 양성자화되어 MCH 형태로 전환되어 다시 노란색을 띄게 된다. 이를 통해, 본 연구에서 제조된 SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤은 응력뿐만 아니라 pH에 따라 팽윤과 수축을 가시화할 수 있는 다중 감응형 하이드로젤임을 확인할 수 있었다.

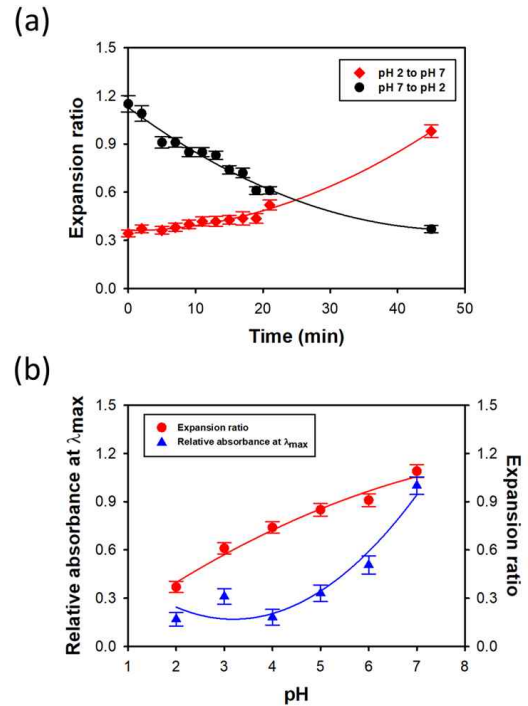


Fig. 4. (a) Cyclic time evolution of expansion ratio from the hydrogel cross-linked with SP-PEGDAs in response to pH. (b) Expansion ratio and relative absorbance at λ_{max} for varying of pH.

3.3. 스피로피란 기반 친수성 가교제의 생물학적 응용

스피로피란 기반 친수성 가교제는 일반적인 하이드로젤 뿐만 아니라 다양한 형태로 응용할 수 있으리라 기대한다. 구체적으로 본 연구에서는 세포외기질에 적용 가능할 뿐만 아니라 세포의 성장 및 증식으로 인한 견인력(traction force)을 감지할 수 있는 mechanoball을 제조하였다. Mechanoball은 에멀전 용액 안에서 공중합을 통해 제조하였다. SP의 극성에 의한 MC 변환을 감

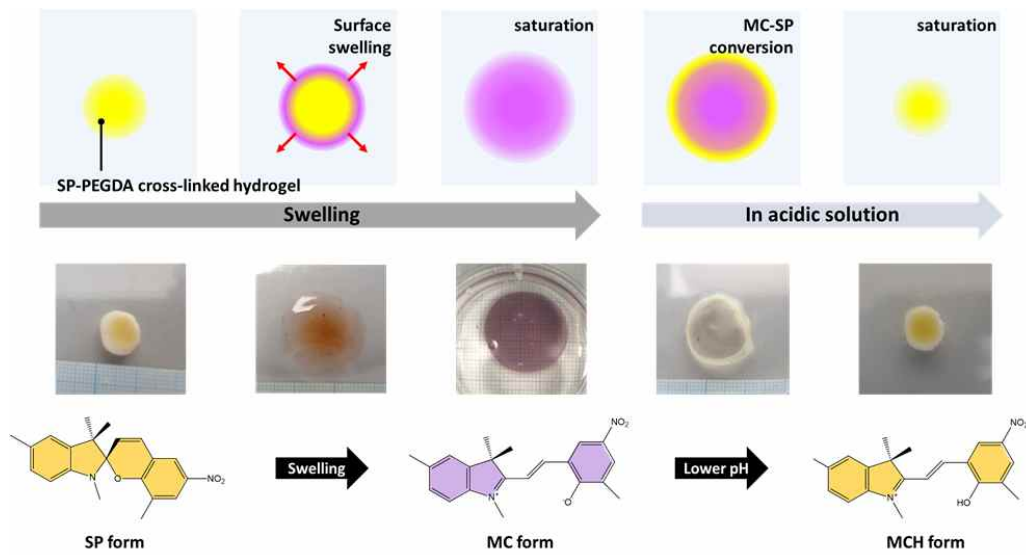


Fig. 5. Mechanochromism of the hydrogel cross-linked with SP-PEGDAs by internal stress and ionochromism by pH of environment.

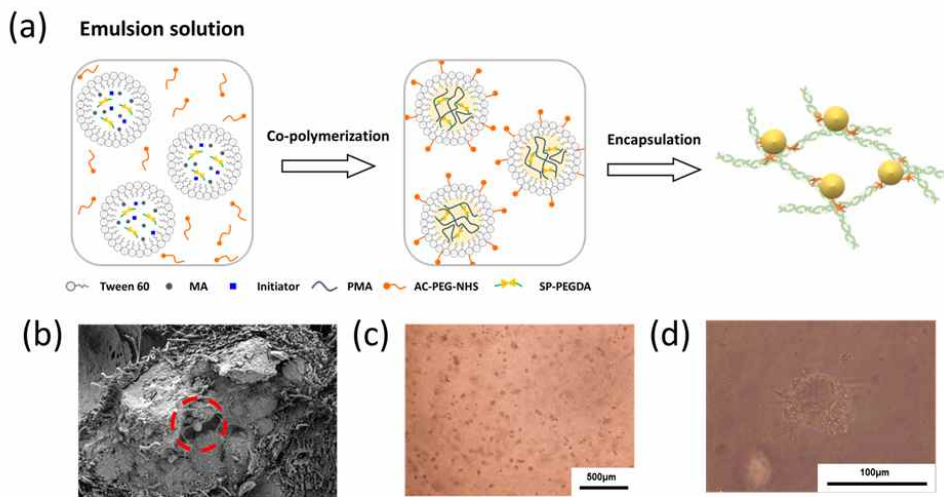


Fig. 6. (a) Preparation of mechano-ball and application to the extracellular matrix. (b) SEM image of mechano-ball encapsulating in collagen gel and (c) x40; the scale bar represents 100 μm and (d) x400; the scale bar represents 100 μm .

소하기 위해, SP-PEGDA는 MA에 용해되어 사용되었다[27]. 공중합 중에 SP-PEGDA는 poly (methyl acrylate) (PMA)를 가교하면서 PMA 마이크로스피어(microspheres)를 형성한다. 또한, AC-PEG-NHS는 PMA의 라디칼(radical)과 결

합을 통해 공중합 되면서 PMA에 연결되게 되고, 콜라겐 젤에 연결 될 수 있는 mechano-ball을 형성했다(Fig. 6(a)). Mechano-ball이 도입된 콜라겐 젤 용액이 젤화 되면서 mechano-ball 표면의 NHS가 콜라겐의 아민 그룹(amine group)과 치

환되면서 콜라겐 젤에 연결되게 된다. 콜라겐 젤에 도입된 mechanoball은 SEM 이미지를 통해 확인되었다(Fig. 6(b)). 또한, mechanoball이 도입된 콜라겐 젤에서 HeLa 세포의 성장 또한 관찰되었다(Fig. 6(c),(d)). 부착된 세포는 신축, 압력 및 견인력과 같은 기계적 응력을 생성하여 이동, 분할 등을 할 수 있다[28,29]. Mechanoball이 도입된 콜라겐 젤에서 세포가 증식 및 성장을 하게 되면, 견인력 또는 압력과 같은 힘이 콜라겐 젤에 가해져, MC 형태로 전환되었다. 본 연구에서 제조된 mechanoball은 향후 암세포 발현 및 증식을 확인하는 연구에 활용될 수 있다. 암세포가 증식할수록, 주변 세포외기질의 pH는 낮아지게 되고 mechanoball의 SP 분자가 MCH 형태로 전환되어 색변화를 통해 육안으로 암세포 증식 정도를 확인할 수 있으리라 기대된다.

4. 결론

기존의 스피로피란의 가교제의 한계점을 극복하기 위해, 본 연구에서는 아령모양의 스피로피란 기반 친수성 가교제인 SP-PEGDA를 합성하였다. SP-PEGDA로 가교된 하이드로젤의 팽윤에 의해 발생하는 내부 응력에 의해 노란색의 스피로피란(SP) 분자를 보라색의 메로사인(MC) 형태로 변환시켰으며, pH2와 pH7에서의 메로사인(MC) 형태와 양성화된 메로사인(MCH) 형태의 전환을 통해 하이드로젤의 팽윤과 수축을 시각화하였다. 이를 통해, 기계적 힘 또는 pH 차이에 의한 다중 자극 감응형 하이드로젤을 제조할 수 있으며, 외부 환경의 변화를 시각적으로 색 변화를 통해 확인할 수 있다. 또한 SP-PEGDA 분자를 세포외기질에 적용하여 세포의 성장 및 증식으로 인한 견인력을 감지할 수 있는 mechanoball을 제조하고 그 가능성을 타진하였다. 본 연구에서 개발된 친수성 스피로피란 가교제는 조직공학, 재생 의학, 약물 전달, 바이오 센싱 등의 다양한 생물학적 응용 분야에서 다중 자극 감응형 분자로 활용될 수 있으리라 기대된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부(과제고유번호: HP20C0210), 기후변화대응기술개발사업(2017M1A2A20

86515), 한국연구재단 (NRF-2020R1F1A1071004) 지원을 받아 수행된 연구임으로 이에 감사드립니다.

References

1. M. Tanaka, M. Nakahata, P. Linke, S. Kaufmann, "Stimuli-responsive hydrogels as a model of the dynamic cellular microenvironment", *Polymer Journal*, pp. 1-10 (2020)
2. N. Sood, A. Bhardwaj, S. Mehta, A. Mehta, "Stimuli-responsive hydrogels in drug delivery and tissue engineering", *Drug Delivery*, Vol. 23, No. 3 pp. 748-770 (2016)
3. S. G. Shin, S. R. Han, N. Jung, Y. Ji, J. H. Jeong, "Physiological activities of poly(amino acid)'s derivatives with β -sheet structure on the skin", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 37, No. 6 pp. 1597-1604 (2020)
4. P. Theato, B. S. Sumerlin, R. K. O'Reilly, T. H. Epps, III, "Stimuli responsive materials", *Chemical Society Reviews*, Vol. 42, No. 17 pp.7055-7056 (2016)
5. J. N. Brantley, K. M. Wiggins, C. W. Bielawski, "Polymer mechanochemistry: the design and study of mechanophores", *Polymer international*, Vol. 61, No. 1 pp. 2-12 (2013)
6. C. Weder, "Polymers react to stress", *Nature*, Vol. 459, No. 7243 pp. 45-46 (2009)
7. D. A. Davis, A. Hamilton, J. Yang, L. D. Cremer, "Force-induced activation of covalent bonds in mechanoresponsive polymeric materials", *Nature*, Vol. 459, No. 7243 pp. 68-72 (2009)
8. B. A. Beiermann, S. L. B. Kramer, J. S. Moore, "Role of mechanophore orientation in mechanochemical reactions", *ACS Macro Letters*, Vol. 1, No. 1 pp. 163-166 (2012)
9. C. K. Lee, C. E. Diesendruck, E. Lu, A. N. Pickett, P. A. May, J. S. Moore, P. V.

- Braun, "Solvent swelling activation of a mechanophore in a polymer network", *Macromolecules*, Vol. 47, No. 8 pp. 2690–2694 (2014)
10. T. A. Kim, M. J. Robb, J. S. Moore, S. R. White, "Mechanical reactivity of two different spiropyran mechanophores in polydimethylsiloxane", *Macromolecules*, Vol. 51, No. 22 pp. 9177–9183 (2018)
 11. T. A. Kim, B. A. Beiermann, S. R. White, N. R. Sottos, "Effect of mechanical stress on spiropyran–merocyanine reaction kinetics in a thermoplastic polymer", *ACS Macro letters*, Vol. 5, No. 12 pp. 1312–1316 (2016)
 12. B. A. Beiermann, D. A. Davis, S. L. B. Kramer, J. S. Moore, N. R. Sottos, S. R. White, "Environmental effects on mechanochemical activation of spiropyran in linear PMMA", *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 21, No. 23, 8443–8447 (2011)
 13. J. W. Lim, H. Kim, Y. Kim, S. G. Shin, S. Cho, W. G. Jung, J. H. Jeong, "An Active and Soft Hydrogel Actuator to Stimulate Live Cell Clusters by Self-folding", *Polymers*, Vol. 12, No. 3 pp. 583 (2020)
 14. M. Gan, T. Xiao, Z. Liu, Y. Wang, "Layered photochromic films stacked from spiropyran-modified montmorillonite nanosheets", *RSC advances*, Vol. 9, No. 22 pp. 12325–12330 (2019)
 15. S. Chen, F. Jiang, Z. Cao, G. Wang, Z. M. Dang, "Photo, pH, and thermo triple-responsive spiropyran-based copolymer nanopartilces for controlled release", *Chemical Communications*, Vol. 51, No. 63 pp. 1633–126236 (2015)
 16. D. P. Huynh, M. K. Nguyen, B. S. Pi, M. S. Kim, S. Y. Chae, K. C. Lee, B. S. Kim, S. W. Kim, D. S. Lee, "Functionalized injectable hydrogels for controlled insulin delivery", *Biomaterials*, Vol. 29, No. 16 pp. 2527–2534 (2008)
 17. J. Zhu, R. E. Marchant, "Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds", *Expert review of medical devices*, Vol. 8, No. 5 pp. 607–626 (2011)
 18. C. Sun, J. Miao, J. Yan, K. Yang, C. Mao, J. Ju, J. Shen, "Applications of antibiofouling PEG-coating in electrochemical biosensors for determination of glucose in whole blood:", *Electrochimica Acta*, Vol. 89, pp. 549–554 (2013)
 19. J. H. Jeong, J. J. Schmidt, C. Cha, H. Kong, "Tuning responsiveness and structural integrity of a pH responsive hydrogel using a poly(ethylene glycol) cross-linker", *Soft Matter*, Vol. 6, No. 16 pp. 3930–3938 (2010)
 20. Q. Wenlian, P. A. Gurr, G. G. Qiao, "Color-Switchable Polar Polymeric Materials", *ACS applied materials & interfaces*, Vol. 11, No. 32 pp. 29268–29275 (2019)
 21. H. Chen, F. Yang, Q. Chen, J. Zheng, "A Novel Design of Multi-Mechanoresponsive and Mechanically Strong Hydrogels", *Advanced Materials*, Vol. 29, No. 21 pp. 1606900 (2017)
 22. A. Garcia, M. Marquez, T. Cai, R. Rosario, Z. Hu, D. Gust, M. Hayes, S. A. Vail, C. D. Park, "Photo-, Thermally-, and pH-Responsive Microgels", *Langmuir*, Vol. 23, No. 1 pp. 224–229 (2007)
 23. Z. Sun, S. Liu, K. Li, L. Tan, L. Cen, G. Fu, "Well-defined and biocompatible hydrogels with toughening and reversible photoresponsisve properties", *Soft matter*, Vol. 12, No. 7 pp. 2192–2199 (2016)
 24. T.P. Vales, I. W. T. Badon, H. J. Kim, "Multi-responsive hydrogels functionalized with a photochromic spiropyran-conjugated chitosan network", *Macromolecular Research*, Vol. 26, No. 10 pp. 950–953 (2018)
 25. B. Wang, X. Xiao, Y. Zhang, L. Liao, "High strength dual-crosslinked hydrogels with photo-switchable color changing behavior", *European Polymer Journal*, Vol. 116, pp. 545–553 (2019)
 26. A. Abdollahih, A. Mouraki, M. H.

- Sharifian, A. R. Mahdavian, "Photochromic properties of stimuli-responsive cellulosic papers modified by spiropyran-acrylic copolymer in reusable pH-sensors", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 200, pp. 583-594 (2018)
27. G. Such, R. A. Evans, L. H. Yee, T. P. Davis, "Factors influencing photochromism of spiro-compounds within polymeric matrices", *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, Vol. 43, No. 4 pp. 547-579 (2003)
28. M. Gómez-González, E. Latorre, M. Arroyo, X. Trepas, "Measuring mechanical stress in living tissues", *Nature Reviews Physics*, Vol. 1, No. 2, pp. 300-317 (2020)
29. K. A. White, B. K. Grillo-Hill, D. L. Barber, "Cancer cell behaviors mediated by dysregulated pH dynamics at a glance", *Journal of Cell Science*, Vol. 130, No. 4 pp. 663-669 (2017)