

전달체로서의 덴드리머의 응용

최이락 · 임수훈 · 안철희

1. 서론

덴드리머란 중심 (core) 분자로부터 나뭇가지 모양의 단위구조가 반복적으로 뻗어 나오는 거대분자 화합물이다. 3차원적으로는 구형에 가까운 구조를 가지고 있으며 중심부는 상대적으로 낮은 밀도를 가지는 반면, 외곽으로 갈수록 가지의 밀도가 증가한다. 덴드리머는 구조적으로 잘 정의된 거대분자로써, 정확한 분자량과 구조를 예측하여 합성함으로써 나노 크기의 입자 형성이 용이하다. 덴드리머의 최외곽에 존재하는 말단기는 덴드리머의 표면 성질 및 용해도 등에 결정적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 표면의 밀집된 말단기에 다양한 유도체와 작용기 도입이 가능하다 (그림 1).¹⁻³

덴드리머의 합성법은 꾸준한 성장을 하였으며 실제적인 응용이 활발하게 연구되고 있다. 덴드리머의 응용은 의약품 운반체, 토너 보조제, 촉매 운반체 등

으로 적용되기 시작하여 현재는 전기전자 및 초분자 화합물의 특성이 부여된 화합물이 등장하고 있다.

덴드리머의 의료용 분야로의 응용은 상대적으로 밀도가 낮은 덴드리머의 내부에 게스트 (guest) 물질을 투입하거나, 말단기 밀도가 높은 최외곽 구조의 표면에 작용기를 도입하는 방법이 가장 일반적으로 이용되고 있다. 간단한 약물이나 생물학적 활성을 가지는 물질을 말단기에 화학적으로 결합시킴으로써 다양한 성질을 부여할 수 있으며, 작은 분자, 영상 기법에



임수훈

2004 인하대학교 고분자공학과 (학사)
2004~ 서울대학교 재료공학부
현재



최이락

2003 충남대학교 고분자공학과 (학사)
2003~ 서울대학교 재료공학부
현재



안철희

1992 서울대학교 섬유고분자공학과 (학사)
1994 서울대학교 섬유고분자공학과 (석사)
1998 미국 Case Western Reserve University (박사)
1998~ 일본 JAIST (Post-Doc.)
2000~ 미국 University of Utah (Post-Doc.)
2002~ 서울대학교 재료공학부 조교수
현재

Dendrimers as Delivery Carriers of Bioactive Agents

서울대학교 재료공학부 (Yi-Rac Choi, Su-Hoon Yim, and Cheol-Hee Ahn, School of Materials Science and Engineering, Seoul National University, San 56-1, Shinlim-dong, Kwanak-ku, Seoul 151-742, Korea) e-mail: chahn@snu.ac.kr

보조제로 사용되는 금속, 금속 산화물, 이온 등을 중심부분에 물리적으로 도입한 응용이 연구되고 있다.

본고에서는 덴드리머를 이용한 응용 중 유전자, 약물, 영상 진단 매체의 전달체로서의 응용에 관한 연구 동향을 다루고자 한다.

2. 덴드리머의 합성법

덴드리머는 일반적으로 divergent 합성법과 con-

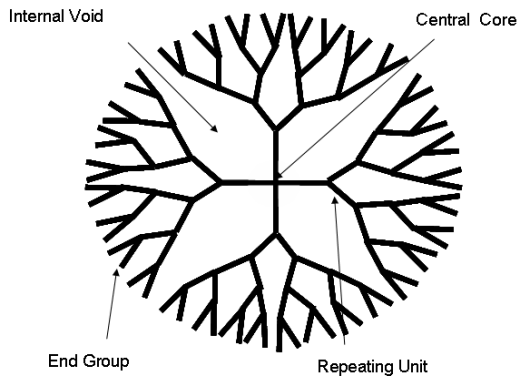


그림 1. 전형적인 덴드리머의 구조.

vergent 합성법, 두 가지 방법으로 제조된다 (그림 2).⁴

2.1 Divergent 합성법

Divergent 합성법은 한 개의 중심 분자로부터 단계적으로 활성화와 성장을 반복하여 외곽 구조를 키워 나가는 합성 방법이다.

덴드리머의 물리, 화학적 성질을 결정하는 최외곽 부분의 합성이 마지막에 이루어짐으로써, 기본적인 내부 구조를 형성한 후 도입되는 최외곽 말단기의 변화에 의해 다양한 물리, 화학적 성질을 가지는 덴

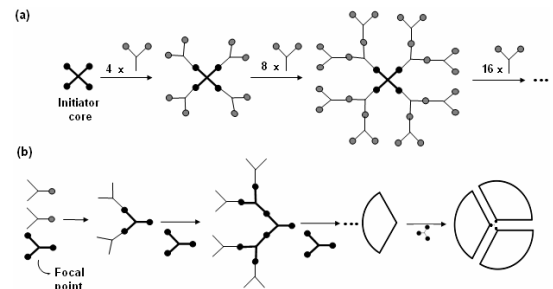


그림 2. 덴드리머의 합성법. (a) Divergent 합성법, (b) Convergent 합성법.

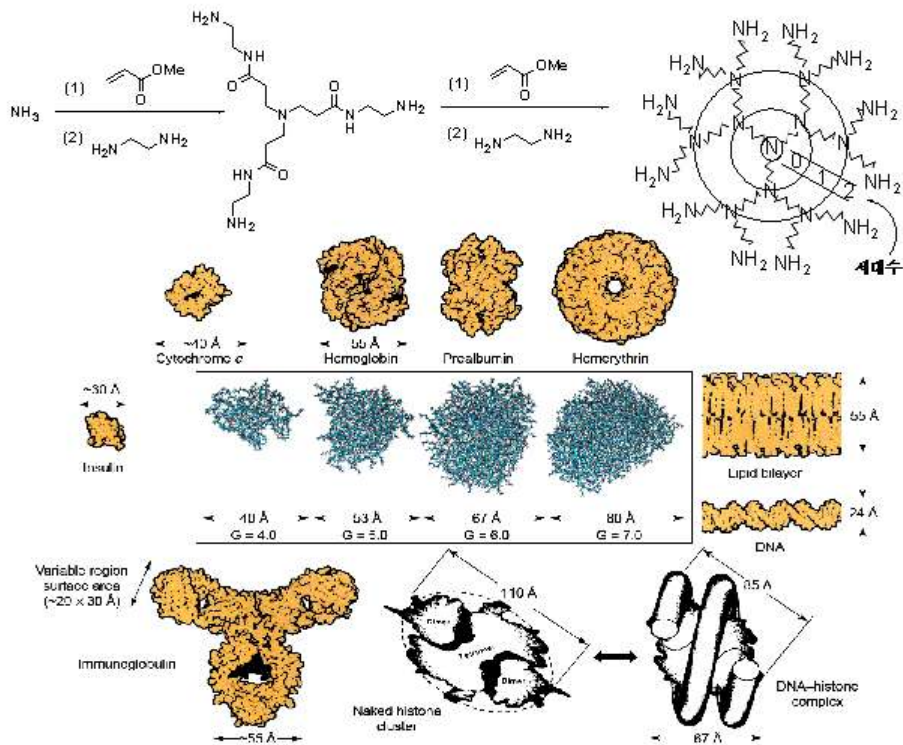


그림 3. PAMAM 덴드리머의 합성법과 세대별 크기.

드리머의 합성이 용이한 반면, 세대 수가 증가함에 따라 반응하여야 하는 말단기의 수도 함께 증가하여 구조적으로 결합을 가지는 부반응물이 생성될 가능성이 커진다는 합성적 단점을 가지고 있다.⁵

상용화된 덴드리머로서 현재 전달체로의 응용으로 다양한 연구가 진행되고 있는 poly(amido amine) (PAMAM) 덴드리머가 대표적인 divergent 합성법에 의해 제조된 덴드리머이다. 1980년대 Tomalia 그룹에서 합성된 PAMAM 덴드리머는 중심분자로 ammonia, ethylenediamine (EDA), propyldiamine과 같은 분자를 사용하였고 이를 메틸아크릴레이트와 Michael 부가반응시킨 후, EDA과의 amidation과 Michael 부가반응을 반복함으로써 합성되었다.¹ PAMAM 덴드리머는 수용성의 구형 나노 입자로서 제 10세대까지의 지름이 1 nm에서 13 nm의 크기를 가지며 세대 당 약 1 nm씩 지름이 증가한다. 최외곽의 표면 말단기는 일차 아민과 카르복실산을 선택적으로 도입할 수 있으며, 덴드리머의 내부에 약물을 봉입하여 약물전달체로의 응용과 말단 아민기의 양이온성을 이용한 유전자 전달체로서의 응용이 주로 연구되고 있다 (그림 3).

2.2 Convergent 합성법

Fréchet 그룹에서 보고된 convergent 합성법은 divergent 합성법과 반대로 덴드리머의 최외곽의 말단기로부터 중심 방향으로 활성화와 성장을 반복하여 합성해 나가는 방법이다.⁶

기본 골격에 여러 종류의 말단기의 도입으로 새로운 물리, 화학적 성질을 가지는 덴드리머의 합성이 용이한 divergent 합성법과는 달리, 최초로 합성되는 부분이 최외곽에 존재함으로써 말단기의 변화에 따른 다양한 성질의 덴드리머의 합성을 위해서는 새로운 합성법을 고안해야 하는 단점을 가지고 있지만, 반응하여야 하는 활성기의 수가 세대수의 증가와는 무관하게 일정함으로써 구조적으로 불완전한 부반응물의 생성 가능성이 세대 수와 무관하게 일정하다는 합성적인 장점이 있다.

3. 덴드리머의 응용

3.1 약물전달 시스템

덴드리머의 약물전달 시스템으로의 응용은 덴드리머의 높은 가지화 구조에 따른 밀집된 다량의 말단기와 구조적인 단분산성의 특징을 이용하여 약물의

안정성 증가와 약물전달의 선택성 증가의 측면에서 연구되고 있다. 현까지 많이 연구되어온 선형 고분자의 약물전달체로서의 응용에는 크게 두가지 방법이 있다. (1) 약물이 고분자 매트리스 안에 감싸져 있다가 고분자 매트리스의 팽창, 확산, 화학적 부식 등에 의한 물리 화학적인 변화에 의해 약물이 방출되는 형태이다. 약물이 개질 없이 사용됨으로써 약물의 화학적인 성질과 약리학적 성질이 유지된다는 장점이 있다.⁷ (2) 약물과 고분자 전달체가 서로 화학적인 공유 결합에 의해서 공액된 상태에서 전달된 후, 약물과 전달체의 공액 부분이 화학적 분해 반응이나 효소의 공격에 의해 분해되어 약물이 방출되는 것이다. 공액 고분자의 확산속도를 약물의 확산속도보다 느리게 해서 특정 계면에서의 흡수가 가능하게 할 수 있으며, 조직의 표적지향과 약물전달 제어의 가능성이 증가하지만 연결 부분의 분해 후의 약물의 약리학적 성질 유지가 요구된다.⁸

덴드리머의 경우도 선형 고분자의 경우와 유사하며 나노미터 크기 입자로의 제어가 용이함과 밀집된 말단기로의 약물, 표적 지향성 물질, 수용성 항상 물질 등의 도입의 용이함의 장점을 가지고 있다.⁹ 이상적인 덴드리틱 약물전달체의 조건은 독성이 없고 면역 반응이 없으며 생분해성의 특징을 가지며 생체적합성 성질과 조직의 표적 지향성을 갖추는 것이다 (그림 4).¹⁰

3.1.1 덴드리머 내부로의 약물의 봉입

공유결합으로 이루어진 덴드리머 구조 내부의 공동 (cavity)은 게스트 분자의 캡슐화가 가능하여 덴

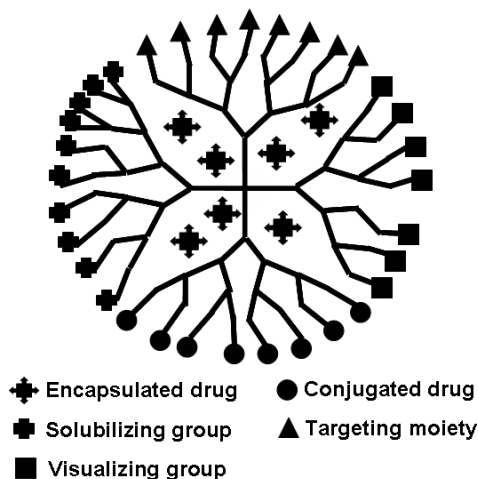


그림 4. 약물전달체 시스템에 응용되는 덴드리머의 모식도.

드리머의 게스트-호스트 시스템 (guest-host system) 특성을 나타내게 된다. 게스트-호스트 시스템은 덴드리머와 게스트 분자간에 존재하는 수소 결합이나 소수성 결합 등의 상호 작용에 의하여 가능하게 된다. 덴드리머에 공동으로 봉입된 약물은 연속적인 조절방출이 요구되는 전달체의 경우에 응용된다.¹¹⁻¹⁶

Meijer 그룹은 게스트 분자로 Rose Bengal을 사용하여 높은 세대의 poly(propylene imine) 덴드리머에 봉입하려는 시도를 하였다. 그러나, 덴드리머 말단 표면에 도입된 아미노산 유도체의 입체 장애 효과와 덴드리머 표면의 밀집도에 의하여 다량의 게스트 분자가 덴드리머 안으로 봉입되지 못하였고, 호스트인 덴드리머와 게스트인 Rose Bengal 분자 사이의 수소 결합의 존재가 아미노산의 유도체로 인한 입체장애 효과와 더불어 봉입된 게스트 분자의 외부 용액으로의 확산을 어렵게 하는 것으로 예상되었다. 캡슐화된 게스트의 확산은 분자의 구조, 크기에 따라서 공동으로부터 부분적 또는 완전한 수화조건에서 서서히 일어날 수 있다고 보고되었다.¹²⁻¹⁷

Newkome 그룹에서는 중심에 많은 수소 결합 자리를 가지는 덴드리머를 이용하여 수소 결합이 가능한 게스트의 봉입을 ¹H NMR 분석을 통하여 보고하였다.¹⁴ 동일 그룹에서 외부가 친수성이고 내부가 소수성인 단분자 미셀 (unimolecular micelle) 형태의 덴드리머도 보고하였다.¹⁵ 단분자 미셀 덴드리머는 수용액 상에서 여러 종류의 소수성 게스트 분자의 봉입이 가능함으로 약물전달체로서의 응용 가능성을 보여주고 있다. Watkins 그룹에서는 수용액상에서 소수성 중심 부분을 가지는 PAMAM 덴드리머를 이용하여 소수성 염료인 Nile Red 사이의 호스트-게스트 상호작용에 대해서 보고하였다.¹⁶

Fréchet 그룹은 사슬 말단에 친수성 카르복실기를 가지는 poly(aryl ether) 덴드리머를 합성하여 소수성인 pyrene과 같은 모델 약물의 봉입을 시도하였다.¹⁸ 덴드리머의 모델 약물 봉입 능력은 덴드리머 중심 부분과 외곽 말단 부분의 구조의 성질과 전체적인 덴드리머 크기에 의하여 조절된다고 보고되었다.

덴드리머의 약물에 대한 호스트로서의 응용은 봉입되는 약물의 매우 제한적인 용량과 밀도가 높은 외곽 구조의 탈출이라는 구조적인 제약 조건으로 인하여 약물전달 시스템으로의 사용이 제한적이다. 그러나 단분자 미셀의 특징을 가지는 덴드리머와 약물 사이의 수소 결합 또는 소수성 상호작용과 같은 비공유

결합 성질을 이용한 약물의 봉입은 관심을 끌고 있다.

수용액에서 용해도가 매우 낮은 소수성 약물의 전달은 양친성 블록 공중합체가 형성하는 미셀을 이용한 연구가 주로 이루어졌으나¹⁹⁻²¹ 블록 공중합체는 미셀임계농도 (critical micelle concentration) 이하의 농도에서는 미셀의 형태에서 각각의 고분자 사슬로의 해리가 일어난다는 단점을 가지고 있다. 체외에서 미셀을 형성한 약물 운반체가 체내의 혈관 등으로 도입되면 미셀임계농도 이하로 농도가 떨어지게 되어 형성된 미셀의 열역학적 안정성이 낮아진다. 이러한 현상은 미셀 형성 능력을 저하시켜서 사슬이 각각 자유롭게 존재하게 하며, 미셀 안에 있던 약물들은 바로 방출되게 된다. 이와는 대조적으로 덴드리머는 공유결합으로 연결된 상태에서 소수성과 친수성 부분을 동시에 가지는 단분자 미셀을 형성함으로 주변의 농도 변화에 대하여 안정하므로 미셀 형성 능력에 영향을 받지 않는다. 단분자 미셀의 형태로 체내에 도입되었을 경우, 양친성 블록 공중합체와는 달리 미셀의 형성이 유지되어 약물의 지속방출이 가능하게 된다 (그림 5).¹⁸

Kono 그룹에서는 난용성 항암제인 Methotrexate (MTX)와 Doxorubicin (DOX)을 전달하기 위하여 폴리에틸렌글라이콜 (PEG)이 말단에 도입된 3세대, 4세대 PAMAM 덴드리머 단분자 미셀을 이용하였다.¹⁷ PAMAM 덴드리머의 세대수가 증가하거나, PEG의 분자량이 증가하면 덴드리머의 몰당 약물의 봉입 효율이 높아짐을 보고하였다. UV 분광법을 통한 분석에서 MTX의 덴드리머에 대한 친화력이 DOX의 친화력보다 크다는 것을 확인하였고, 이것은 약물과 덴드리머와의 결합 능력이 덴드리머 내부의 소수성 염

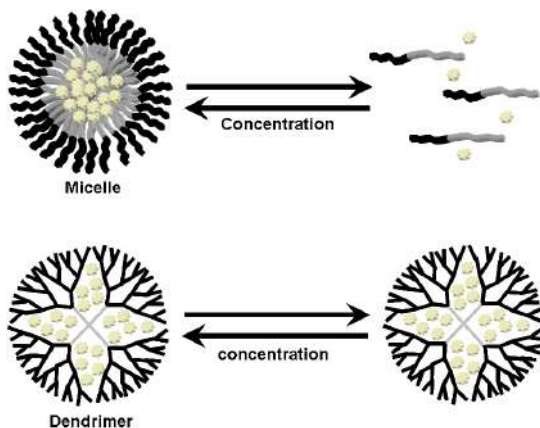


그림 5. 덴드리머와 고분자미셀의 혈액내 안정성 모식도.

기와 약물 간의 산염기 상호작용에 의해 결정되었다고 제시하였다. 이러한 상호작용은 투석 (dialysis)을 통한 확산실험 결과 MTX가 DOX보다 덴드리머 안에서 천천히 방출됨을 설명하여 주며, 덴드리머를 이용한 약물의 지속적인 방출을 가능하게 할 것으로 예상된다.

3.1.2 덴드리머와 약물의 공액

Fréchet 그룹은 초기 연구에서는 모델 약물과 용해성 그룹의 두가지 다른 표면 말단기를 함유하는 poly(arylether) 덴드리머를 디자인하였다.²² PEG는 덴드리머의 수용성과 생체 적합성을 증가시키기 위하여 도입되었고, 잔여 말단기에는 콜레스트롤, 페닐알라닌, 트립토판 등이 카보네이트, 카바메이트, 에스테르 결합 등 가수분해 속도가 다른 화학 결합을 통하여 덴드리머에 공액되었다. 덴드리머의 공액체는 성공적으로 합성되었지만, 덴드리머의 기본 구조가 방향족 화합물이 에테르 결합으로 성장한 골격으로 이루어져 있어서 독성에 대한 문제점을 가지고 있었다. 그에 대한 대안으로 생분해성과 생체적합성을 가지는 에스테르 결합으로 성장된 2,2-bis(hydroxy-methyl) propanoic acid를 기반으로 하는 덴드리머를 제시하였다.^{23,24} 이 덴드리머에 항암제인 DOX를 공액시킴으로써 생체적합성이 향상된 덴드리머 약물 전달체를 합성하였다.²⁵

Baker 그룹은 MTX와 엽산 (folic acid)을 PAMAM 덴드리머 외곽부분에 결합시켰다.²⁶ 엽산 수용체는 암세포 지향성을 가지고, 공액된 덴드리머 전달체의 세포 내 유입을 증가시켜 줌으로써, 특정 세포로의 표적 지향성이 향상된 덴드리머 전달체의 합성을 제시하였다. 세포에 들어가는 공액체의 양은 덴드리머의 말단에 함께 도입된 Fluorescein tag에 의해서 측정되었다. MTX-FA (folic acid)-덴드리머 공액체와 엽산덴드리머 공액체는 덴드리머만 들어갈 때보다 약 10% 정도 세포내 이입 효율이 높았다. PAMAM 덴드리머와 MTX는 에스테르 결합과 아마이드 결합에 의하여 결합된 두 종류의 덴드리머 공액체를 합성하였다. 에스테르 결합은 엔도솜의 낮은 pH에서 가수분해가 일어나며 MTX를 방출하여, 전달체 없이 MTX만 있을 때보다 효율이 4배나 증가된 항암 효과를 나타내었으나, 생분해성이 에스테르 결합에 비하여 떨어지는 아마이드 결합에 의한 공액체는 낮은 항암 효과를 나타내었다. 덴드리머의 공액에 의한 연구는 표적지향성 물질의 도입, 덴드리머와 공액체의 결합의 선정 등을 통한 덴드리머의 구조 개선에 기준하여 진

행되고 있다.

3.2 덴드리머를 이용한 진단시스템

자기공명영상법 (Magnetic resonance imaging, MRI)은 정자기장과 변동자기장을 이용하여 생물을 절개하지 않고 생체 세부 조직을 영상화할 수 있는 발전적인 기술이다.²⁷ MRI에 의한 영상만으로는 영상의 선명도 및 정확도가 진단에 적합한 수준에 미치지 못하기 때문에 주로 금속 물질인 Gd, Mn, Fe 등의 보조 조영제가 함께 사용되게 된다.²⁸ 그러나 보조 조영제로 사용되는 금속 물질들은 체내 독성이 무시할 수 없는 수준이며, 원하는 특정 부위가 아닌 체내 전체에 존재하는 넓은 분포도를 가지는 단점이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위하여 사용되는 보조 조영제와 저분자 킬레이트 복합체는 킬레이트 리간드에 의해 부여된 생체적합성, 일반적인 금속 염보다 낮은 독성, 높은 용해성, 금속만이 사용되었을 경우보다 적은 투과량이 요구되는 장점을 가진다. 그러나 현재 사용되고 있는 보조 조영제와 저분자 킬레이트 복합체는 낮은 분자량으로 인해서 세포 밖으로 침투되는 확산속도가 빨라서 혈액순환 시 제거되기 쉽다는 단점을 가지고 있고 이를 극복하기 위하여 상대적으로 많은 투과량과 빠른 주사속도가 요구된다. 저분자 킬레이트의 단점을 보완하기 위하여 선형 고분자인 폴리라이신이나 PEG 또는 폴리사카라이드에 붙은 저분자 조영제 킬레이트에 대한 많은 연구가 진행되었으나 이런 종류의 고분자는 복합체 형성시 대비제의 집적도가 낮고, relaxivity가 낮기 때문에 그 효과가 미미했다.

덴드리머는 앞에서 언급한 바와 같이 세대수에 대한 크기 조절이 용이하고, 덴드리머 표면의 작용기에 여러가지 분자를 공액시킬 수 있기 때문에 덴드리머 끝에 많은 수의 조영제 킬레이트를 도입할 수 있으므로 집약된 조영제와 덴드리머의 복합체를 생체 속에 투여할 수 있다. MRI에 사용되는 조영제/고분자 복합체는 암세포에서 미세맥관구조 (microvasculature)와 조직구도의 모세관 밀도에 반응하는 강력한 에이전트로 알려져 있다.²⁹⁻³¹ 각각의 덴드리머에 대한 상대적인 약물물리학 특성과 생체 내에서 성질을 평가한 Gd^{III}킬레이트와 공액된 PAMAM 덴드리머가 보고되었다 (그림 6).³²

세대수에 따른 덴드리머 공액체의 특성을 살펴 보면, 낮은 세대의 작은 크기의 덴드리머의 경우, Gd^{III}/고분자 복합체는 혈액 순환시 혈관 주변의 조직에서 연조직 (soft tissue) 속으로 분배, 확산되는 과정이

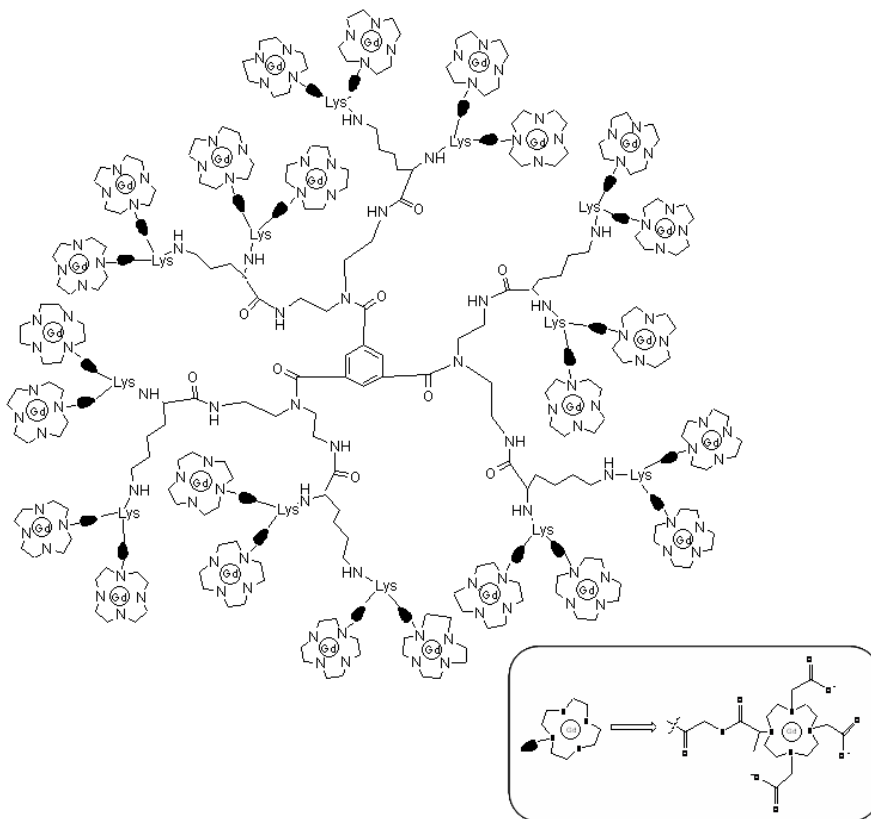


그림 6. MRI 영상진단에 사용되는 덴드리머와 Gd 결합체.

매우 빠르게 나타났다. 이와는 대조적으로 세대 수가 올라가면서 덴드리머의 크기가 커지게 되면 덴드리머는 일반적인 혈관보다 암조직의 맥관으로부터 유출되기 쉽다. 그러나 일정 크기 이상의 덴드리머의 경우 혈관으로부터 암 주위 조직으로의 유출이 거의 되지 않았다.³³⁻³⁵ 이것은 크기가 큰 덴드리머의 경우 전하를 가진 분자가 세망내피계에서 인식될 수 있을 만큼 충분히 큰 크기를 가졌기 때문에 세망내피계 (간이나 지라)에서 잡혀서 혈액 내 순환이 제거되기 때문이다.³⁶

암조직을 표적화한 영상화를 위해서는 Gd^{III} /고분자 복합체는 다음과 같은 조건을 만족해야 한다. 첫째, 덴드리머가 암으로 정확히 찾아가기 위해 리셉터를 가져야 한다. 리셉터로 단일클론항체 (monoclonal antibody)나, 펩타이드 또는 염산과 공액되어 있는 Gd-리소프 덴드리머가 여러 그룹에 의해서 보고되었다.³⁷⁻⁴⁰ 둘째, 효과적인 MRI 해상도를 얻기 위해 많은 수의 $Gd(III)$ 원자를 가져야 한다. 이 두가지 조건을 만족하는 Antibody-Avidin-2-(*p*-iso-

thiocyanatobenzyl)-6-methyl-diethylene-tri-aminepentaacetic acid(1B4M)-Gd와 공액된 대비체가 암세포를 표적지향하기 위해서 합성되었고, 이것은 암의 표적화 뿐만 아니라 MRI의 영상 대비 효과를 높여주는 결과를 나타내었다. 이런 방법으로 항체 하나에 단일분자당 많은 수의 $Gd(III)$ 이온을 수송할 수 있게 하였다.^{41,42} 높은 $Gd(III)$ 이온의 농도는 고열 중성자의 방사에 의해 gadolinium-neutron capture therapy를 가능하게 함으로써, 암세포에 표적화된 보조 조영제와 덴드리머의 복합체는 암의 진단과 동시에 치료를 가능하게 한다.

3.3 유전자 전달시스템

유전자 치료란 치료 유전자를 질병 부위에 전달하여 이상 유전자를 대체하거나 그 부위에 치료용 단백질을 생산케 하여 질병을 치료하는 새로운 치료법을 말한다. 최근 들어 유전자 치료가 암과 에이즈, 당뇨병과 같은 질병을 극복하는 새로운 돌파구로 기대를 모으고 있다. 기존의 치료방법은 정상 단백질을 외부로부터 주입시켜 단백질의 활동을 정

상화 시킴으로써 병을 치료하는 방법이었다. 그러나 단백질을 직접 몸 안에 주입시키는 방법은 지속적인 주입이 요구되며, 이에 따른 면역 체계에 의한 단백질 파괴 등의 문제점이 따르게 된다. 이러한 기존의 치료방법인 단백질 약품의 문제점을 해결하는 방안의 하나로 유전자 치료라는 새로운 개념이 탄생하였다.

유전자 치료요법에 필요한 시스템은 치료단백질이 생산되는 위치, 양, 기간들을 암호화하고 있는 유전자를 구성하는 플라스미드라고 불리는 유전자 발현계 (gene expression system)와 표적세포나 조직으로 유전자 발현계를 안전하고 효율적으로 운반하여 주는 유전자 수송계 (gene delivery system)로 대별할 수 있다.

유전자 치료요법이 인체 내에서 효과를 나타내기 위해서는 특정 세포에 대한 높은 선택성을 가져야 하고 표적 세포로의 유전자 수송 효율이 좋아야 하며, 또한 안정성을 만족시키면서 치료효과를 가지게 해야 하는데 이는 유전자 수송계의 형태와 성질에 의존적인 양상을 보인다. 유전자를 운반하는 전달체는 크게 바이러스성 전달체와 비바이러스성 전달체로 나눌 수 있다. 바이러스성 전달체는 자연에 존재하는 바이러스의 유전자를 제거하고 원하는 특정 치료 유전자 조각을 끼워 넣거나 재조합하여 사용하는 것으로써 감염세포에 대한 유전물질의 전달 효율이 비바이러스성 전달체에 비해 훨씬 높다는 장점이 있으나 상대적으로 작은 크기의 유전자만이 삽입될 수 있고 숙주면역반응을 유발할 수 있다. 또한 바이러스에 따라 다양한 형태의 세포에 전달되므로 특정세포에 특이적으로 유전자를 전달하기 어렵고 안전성, 독성 등의 문제가 제기되고 있다. 이러한 문제로 효율성은 떨어지지만 안정성에서 우수한 비바이러스성 전달체에 관한 연구가 주목을 받고 있다.

양이온성 리피드 (lipids), 리포솜 (liposomes), 양이온성 고분자와 같은 비바이러스성 유전자 전달체는 바이러스성 전달체에 비해 효율성은 떨어지지만 안정성이 우수하여 주목을 받고 있다. 고분자에 기반을 둔 유전자 전달시스템에 있어서 바이러스처럼 효율적이며, 독성과 면역반응이 없는 고분자 전달체를 만들기 위해서는 유전자를 잘 감싸고 전달 후 분해되어 독성을 최소화하는 고분자 재료의 개발, 세포내 유입 후 엔도솜 (endosome)으로부터의 탈출 효과를 증대시키는 기능의 첨가, 핵까지의 표적 지향 기능, 그리고 핵 속에서 선택적이고 효과적으로 발현되도록 하는 기능들을 모두 가지도록 고안되어야 한다 (그림 7).

덴드리머는 구조상 말단에 화학반응을 일으킬 수 있는 작용기가 많이 존재함으로써 특정 리간드나 핵막 통과를 돕는 펩티드, 그리고 엔도솜 탈출을 돕는 구조의 도입이 용이하여 세포 선택성 증가로 인한 효율성의 증가 등의 효과를 기대해 볼 수 있다.

Szoka 그룹의 연구에서 유전자 전달체로 이용된 PAMAM 덴드리머는 높은 단백질 발현 효율을 보여주었다. PAMAM 덴드리머는 말단의 일차 아민이 생체 내 pH에서 양성자화되면서 음전하를 띠는 유전자와 정전기적 상호작용에 의해 결합체를 형성하며, 세포내 유입 후에 엔도솜의 낮은 pH에서 완충 효과를 갖는 내부 삼차 아민으로 인해 엔도솜의 탈출이 용이해짐에 따라 라이소솜의 분해로부터 유전자/덴드리머 결합체를 보호할 수 있다. 단백질 발현 효율은 덴드리머의 크기와 양에 따라 달라지며 제 6세대 (약 6.8 nm)에서 가장 높은 결과를 얻었다. 선형의 양이온성 고분자로 유전자 전달체로 사용되는 선형 고분자인 폴리아민에 비해 독성이 크게 감소하였는데, 이는 PAMAM 덴드리머의 일차아민이 폴리아민에 존재하는 일차아민의 pK_a 값 (9~10) 보다 상대적

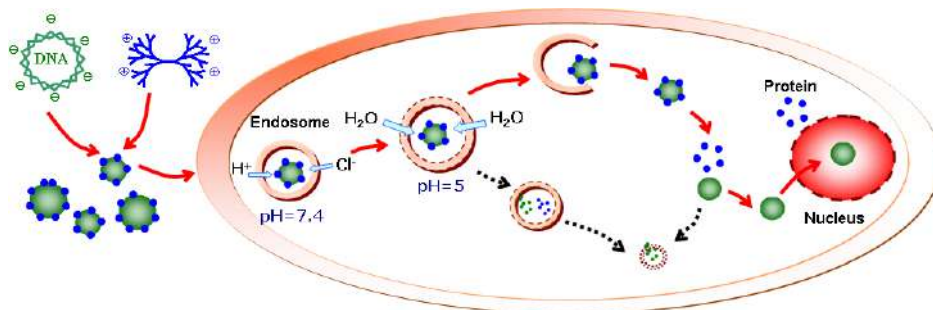


그림 7. 덴드리머를 이용한 유전자의 세포 내 도입 경로.

으로 낮은 pK_a 값 (6~9)을 가짐으로써, 생체 내 pH에서 양전하를 띠는 덴드리머 표면의 작용기의 수가 폴리라이신과 비교하여 상대적으로 적기 때문에 음전하를 띠는 세포 표면과의 상호작용을 줄일 수 있기 때문에 고려된다. 덴드리머의 전달 효율은 amphiphilic peptide인 GALA를 부분적으로 공유결합 시킴으로써 세포 내 이입 후에 엔도솜의 낮은 pH 환경에서 세포막을 불안정화시켜 결합체의 엔도솜 탈출을 용이하게 하여 줌으로써 더욱 증가함도 보고되었다.⁴³

같은 연구진에서 분해된 덴드리머의 단백질 발현 효율이 덴드리머 자체의 경우에 비하여 우수하다는 결과도 보고되었다. PAMAM 덴드리머의 아마이드 본드를 물이나 부탄올과 같은 용매에서의 열처리를 통하여 부분적으로 분해시켜 “fractured” 덴드리머를 합성하였다. Fractured 덴드리머의 전달 효율은 분해 전 덴드리머의 분자량보다는 덴드리머의 양전하와 유연성 (flexibility)에 의존하며, PAMAM 덴드리머에 비해 증가된 유연성으로 인해 유전자와 밀집된 크기의 결합체를 형성할 수 있고, 엔도솜 내에서의 pH 변화에 따른 덴드리머 크기의 변화량이 증가함에 따라 세포질 내에서 유전자와의 분리가 용이해짐에 따른 것으로 예상된다.⁴⁴

Saltzman 그룹에서는 fractured 덴드리머를 유전자 전달에 이용한 유사한 예로서, PAMAM 덴드리머의 중심부분에 PEG를 공유결합시켜 fractured 덴드리머의 장점을 나타낼 수 있는 블록 공중합체의 응용을 보고하였다. 합성된 블록 공중합체는 구조적으로는 완전한 구형의 PAMAM 덴드리머와 비교하여 fractured 덴드리머와 유사하며, 생체적합성이 우수한 PEG의 도입으로 인해 현저히 낮아진 독성을 나타내었다. PEG로 보호된 PAMAM 덴드리머 표면의 일차 아민은 음이온성 단백질의 흡착을 방지함으로써 유전자와의 결합체의 안정성을 향상시켰다. 이러한 안정화는 PEG의 밀도에 따라 달라지며, 중성의 PEG로 인해 덴드리머와 유전자의 정전기적 상호작용이 약해지면서 세포로 유입되었을 때 유전자/전달체의 결합체로부터 유전자의 해리를 용이하게 하여준다.⁴⁵

Arima 그룹은 α -, β -, γ -cyclodextrin가 결합된 PAMAM 덴드리머를 합성하여 플라스미드와 안정한 결합체를 형성하기 위한 구조에 대해 연구하였다. Cyclodextrin은 고리모양의 화합물로 수용성의 바깥 표면과 지용성의 중앙 공동을 가지며 α -D-glucopyranose가 α -1,4 결합으로 연결되어 있는 올리고당이다. 지용성 부분이 인지질과 콜레스테롤과 같은 생체막 구성성분과 결합을 이루면서 세포막을 잘 통과한 후, 엔도솜으로부터의 탈출을 용이하게 해주어, 유전자의 핵으로의 접근을 도와주는 역할을 함으로써 cyclodextrin-PAMAM 결합체의 단백질 발현 효율을 높일 수 있었다.⁴⁶

덴드리틱 폴리라이신은 Niidome 그룹에 의해 연구되었는데, 유전자와 고분자의 전하량이 동일한 경우를 기준으로 제 5세대부터 유전자와 완전한 결합체를 이루었으며, 세대 수가 증가할수록 그 능력이 증가함을 보고하였다. 제 5, 6세대의 덴드리머는 다양한 세포 내에서 효과적인 전달 효율을 보였으며 제 6세대에서의 세포 생존율은 80%로 fractured PAMAM 덴드리머에 비해 낮은 독성을 나타내었다. 덴드리틱 폴리라이신은 100 nm 미만의 안정된 결합체를 형성하였지만, 유사한 분자량의 선형 폴리라이신에 비하여는 낮은 유전자 전달 효과가 보고되었다.⁴⁷

4. 결론

앞에서 언급된 덴드리머의 약물전달 시스템, 진단 시스템, 유전자전달 시스템으로의 응용은 단분자의 분자량으로 구형에 가까운 구조를 가지고 있으며, 상대적으로 낮은 밀도를 가지는 중심부에 생물학적 활성을 가지는 물질이나 보조 조영제로 사용되는 금속의 봉입이 가능하고, 최외곽에 존재하는 말단기에 의해 결정되는 덴드리머의 물리, 화학적 성질, 외곽으로 갈수록 가지의 밀도의 증가와 함께 늘어나는 말단기로의 화학적 결합에 의한 약물 분자, 표적지향성 물질, 다른 종류의 고분자의 도입이 가능한 덴드리머의 독특한 구조적 특성을 이용하여 연구되어진 분야이다.

덴드리머의 낮은 수율과 부반응물의 제거에서 비롯되는 대량 생산의 어려움에 대한 대안으로 덴드리머의 구조적 특성과 유사한 성질을 유지하면서 간단한 합성법으로 대량 생산이 가능한 하이퍼브랜치 고분자의 개발이나, 세대의 성장에 반복적으로 요구되는 활성화와 성장 과정을 피하여 one-pot으로 덴드리머를 생산하는 합성법의 개발 측면에서 연구가 진행되고 있다. 현재의 합성법으로 얻어진 고가의 덴드리머는 그 응용이 제한적이며, 부가가치가 큰 의료용 재료 분야로의 응용이 주목을 받고 있다. 덴드리머는

구조적으로 완벽하게 조절된 새로운 기하학적 특징을 가지는 거대분자로서 기존의 고분자가 제공하지 못하였던 새로운 분야로의 응용이 기대된다.

참고문헌

1. D. A. Tomalia, A. M. Naylor, and W. A. Goddard III, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **29**, 138 (1990).
2. G. Hay, M. E. Mackay, and C. J. Hawker, *J. Polym. Sci.: Polym. Phys. Ed.*, **39**, 1766 (2001).
3. M. Seiler, *Chem. Eng. Technol.*, **25**, 237 (2002).
4. P. Hodgson, *Nature*, **362**, 18 (1993).
5. E. W. Buhleier, W. Wehner, and F. Vögtle, *Synthesis*, 155 (1978).
6. C. J. Hawker and J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 7638 (1990).
7. K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, and K. M. Shakesheff, *Chem. Rev.*, **99**, 3181 (1999).
8. J. Kohn, *Trends Polym. Sci.*, **1**, 206 (1993).
9. M. Liu and J. M. J. Fréchet, *Pharm. Sci. Technol. Today*, **2**, 393 (1999).
10. R. Duncan, S. Dimitrijevic, and E. G. Evagorou, *Stp. Pharm. Sci.*, **6**, 237 (1996).
11. A. M. Naylor, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 2339 (1989).
12. J. F. G. A. Jansen, E. M. M. de Brabander van den Berg, and E. W. Meijer, *Science*, **266**, 1226 (1994).
13. J. F. G. A. Jansen, E. W. Meijer, and E. M. M. de Brabander-van den Berg, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 4417 (1995).
14. G. R. Newkome, *et al.*, *Chem. Commun.*, 2737 (1996).
15. G. R. Newkome, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **30**, 1178 (1991).
16. D. M. Watkins, *et al.*, *Langmuir*, **13**, 3136 (1997).
17. C. Kojima, K. Kono, K. Maruyama, and T. Takagishi, *Bioconjugate Chem.*, **11**, 910 (2000).
18. C. J. Hawker, K. L. Wooley, and J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1287 (1993).
19. K. Kataoka, *et al.*, *J. Control. Release*, **24**, 119 (1993).
20. S. Y. Kim, *et al.*, *J. Control. Release*, **51**, 13 (1998).
21. S. B. La, T. Okano, and K. Kataoka, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 85 (1996).
22. M. Liu, K. Kono, and J. M. J. Fréchet, *J. Polym. Sci.: Polym. Chem. Ed.*, 3492 (1999).
23. H. R. Ihre, O. L. Padilla De Jesús, F. C. Szoka, Jr., and J. M. J. Fréchet, *Bioconjugate Chem.*, **13**, 443 (2002).
24. O. L. Padilla De Jesús, H. R. Ihre, L. Gagne, J. M. J. Fréchet, and F. C. Szoka, Jr., *Bioconjugate Chem.*, **13**, 453 (2002).
25. K. Kono, M. Liu, and J. M. J. Fréchet, *Bioconjugate Chem.*, **10**, 1115 (1999).
26. C. P. Leamon and P. S. Low, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**, 5572 (1991).
27. J. A. Peters, J. Huskens, and D. J. Raber, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **28**, 283 (1996).
28. P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurphy, and R. B. Lauffer, *Chem. Rev.*, **99**, 2293 (1999).
29. R. Brasch, C. Pham, D. Shames, T. Roberts, K. van Dijke, N. van Bruggen, J. Mann, S. Ostrowitzki, and O. Melnyk, *J. Magn. Reson. Imaging*, **7**, 68 (1997).
30. R. C. Brasch, *Magn. Reson. Med.*, **22**, 282 (1991).
31. C. F. van Dijke, *et al.*, *Radiology*, **198**, 813 (1996).
32. N. Sato, H. Kobayashi, A. Hiraga, T. Saga, K. Togashi, J. Konishi, and M. W. Brechbiel, *Magn. Reson. Med.*, **46**, 1169 (2001).
33. H. Kobayashi, *et al.*, *Magn. Reson. Med.*, **46**, 579 (2001).
34. K. Shirakawa, *et al.*, *Cancer Res.*, **62**, 560 (2002).
35. H. Kobayashi, *et al.*, *Cancer Res.*, **62**, 860 (2002).
36. H. Kobayashi, S. Kawamoto, T. Saga, N. Sato, A. Hiraga, J. Konishi, K. Togashi, and M. W. Brechbiel, *J. Magn. Reson. Imaging*, **14**, 705 (2001).
37. E. C. Wiener, S. Konda, A. Shadron, M. Brechbiel, and O. Gansow, *Invest Radiol.*, **32**, 748 (1997).
38. S. D. Konda, M. Aref, M. Brechbiel, and E. C. Wiener, *Invest Radiol.*, **35**, 50 (2000).
39. H. Gupta and R. Weissleder, *Magn. Reson. Imaging Clin. North Am.*, **4**, 171 (1996).
40. D. A. Sipkins, D. A. Cheresh, M. R. Kazemi, L. M. Nevin, M. D. Bednarski, and K. C. Li, *Nat. Med.*, **4**, 623 (1998).
41. H. Kobayashi, *et al.*, *Eur. J. Nucl. Med.*, **27**, 334 (2000).
42. H. Kobayashi, *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, **12**, 587 (2001).
43. J. Haensler and F. C. Szoka, Jr., *Bioconjugate Chem.*, **4**, 372 (1993).
44. M. X. Tang, C. T. Redemann, and F. C. Szoka, Jr., *Bioconjugate Chem.*, **7**, 703 (1996).
45. D. Luo, K. Haverstick, N. Belcheva, E. Han, and W. M. Saltzman, *Macromolecules*, **35**, 3456 (2002).
46. H. Arima, F. Kihara, F. Hirayama, and K. Uekama, *Bioconjugate Chem.*, **12**, 476 (2001).
47. M. Ohsaki, T. Okuda, A. Wada, T. Hirayama, T. Niidome, and H. Aoyagi, *Bioconjugate Chem.*, **13**, 510 (2002).