

얼음입자추출법을 이용한 알부민 함유 PLGA 담체의 제조 및 방출 거동

홍금덕 · 서광수 · 김순희* · 김선경* · 강길선***,† · 신형식** · 김문석*** · 이해방***

전북대학교 고분자 · 나노공학과, *전북대학교 유기신물질공학과,

전북대학교 화학공학부, *한국화학연구원 나노생체재료고분자팀

(2005년 1월 28일 접수, 2005년 3월 29일 채택)

Preparation and Release Behavior of Albumin-Loaded PLGA Scaffold by Ice Particle Leaching Method

Keum Duck Hong, Kwang Su Seo, Soon Hee Kim*, Sun Kyung Kim*,

Gilson Khang****,†, Hyung Sik Shin**, Moon Suk Kim***, and Hai Bang Lee***

Department of Polymer · Nano Science and Technology, Chonbuk National University, 664-14, Dukjin, Jeonju 561-756, Korea

*Department of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University, 664-14, Dukjin, Jeonju 561-756, Korea

**Department of Chemical Engineering, Chonbuk National University, 664-14, Dukjin, Jeonju 561-756, Korea

***Nanobiomaterials Laboratories, Korea Research Institute of Chemical Technology,

P. O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea

(Received January 28, 2005; accepted March 29, 2005)

초록 : 조직공학적 장기재생에 있어서 필수적 요소인 생분해성 담체를 제조하기 위하여 새로운 방법인 얼음입자추출법을 사용하였다. 형광이 결합된 소 혈청 알부민(bovine serum albumin-fluorescein isothiocyanate, FITC-BSA)과 락타이드-글리콜라이드 공중합체(PLGA)를 균일하게 혼합한 후에 제조된 얼음입자를 각각 다른 양을 첨가하여 다공성의 담체를 제조하였다. 모델 약물로 이용한 알부민의 방출 실험은 pH 7.4 인산염완충액을 사용하여 37 °C, 100 rpm 조건으로 항온조에서 28일 동안 수행하였다. 알부민의 방출은 형광 분광기를 통하여 FITC의 강도에 의해 결정되었으며 알부민의 방출 거동에 따른 담체의 형태학적 변화는 전자주사현미경을 이용하여 관찰하였다. 담체를 알부민이 용해된 용액에 단순히 함침시킨 방법에 비해 알부민을 함유하여 제조한 담체의 경우에 초기 방출량이 적고 일정한 방출거동을 보였다. 또한 알부민의 농도에 따른 실험에서 농도가 증가하여도 초기 방출량은 증가하지 않음을 확인할 수 있었다. 본 실험을 통해 PLGA를 이용하여 얼음입자 추출법으로 제조한 담체는 단백질 약물의 서방화가 훌륭하여 생체조직공학적 담체로서 응용 가능성을 확인하였다. 또한, 물 등에 의한 다공물질 추출 과정이 없기 때문에 사이토카인 등과 같은 수용성 인자들의 포집이 용이하여 조직공학적 바이오장기 재생에 유효할 것으로 사료된다.

Abstract: A novel ice particle leaching method for fabrication of porous and biodegradable PLGA scaffold has been proposed for the application to tissue engineering. After uniform mixing of poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA) and bovine serum albumin-fluorescein isothiocyanate (FITC-BSA), the FITC-BSA loaded scaffold was fabricated by adding various ratio of ice particle. The release profiles of FITC-BSA were examined using pH 7.4 PBS for 28 days at 37 °C. The release amount was determined by fluorescence intensity by using the fluorescence spectrophotometer and the morphological change of the scaffolds was observed by scanning electron microscope. The release initial burst of BSA containing scaffolds was lower than that of simple dipping scaffolds resulting in constant release aspect. Although the BSA concentration increased, the initial burst was not increased. As a result of this study, it can be suggested that ice particle leaching method for the tissue engineered scaffold might be very useful and it is possible to impregnate with water soluble factors like cytokine. We suggest that ice particle leaching method may be useful to tissue engineered organ regeneration.

Keywords: ice particle leaching method, PLGA scaffold, FITC-BSA, constant-release, organ regeneration.

1. 서론

조직공학적 바이오장기의 재생의 필수적 세 요소는 장기의 형태를 갖는 담체와 신경세포, 골세포, 연골세포와 같은 다양한 세포,

이에 수반되는 성장인자들과 같은 생체활성물질이다. 이 세 가지 요소들이 조화되어 이식 후 일정 시간이 지나 새로운 조직이나 기관으로 재생된 것을 조직공학적 인공장기라 한다. 최근 생분해성 고분자는 체내 또는 체외에서 세포와 조직배양을 위한 여러 형태의 기질로 널리 사용되고 있는데 이들의 기능은 대부분 세포의 특징인 기질에 달라붙어서 성장하는 세포의 부착, 이동 및 성장을 할 수 있는 장소를 제공한다.¹⁻³

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: gskhang@chonbuk.ac.kr

고분자 재료가 조직공학에 응용되기 위해서는 인체 내에서의 생체적합성이 매우 중요하게 된다. 생분해성 다공성 담체를 사용하여 제조된 삼차원의 인공조직을 체내에 이식할 시 예상되는 장점은 체내 이식 초기에는 이식된 조직 세포들이 신체 내에서 사멸하지 않고 본래의 기능을 유지하는 기반을 제공하는 것이다. 그리고 시간이 경과함에 따라서 생분해성 고분자는 점차 분해하고 신체 내부에 충분히 적응한 이식 세포만으로 구성된 자연 조직과 동일한 형태와 기능을 지닌 인공 조직을 형성할 수 있게 된다.⁴⁹

현재 가장 많이 사용되고 있는 생분해성 고분자 중의 하나인 폴리(α -하이드록시산) 계열은 폴리락타이드(PLA), 폴리글리콜라이드(PGA), 및 락타이드 글리콜라이드 공중합체(PLGA)이다.^{10,21} 이러한 생분해성 고분자는 분자량과 화학적 구성 성분을 조절함으로써 분해기간을 조절할 수 있는 장점을 가지고 있으며,^{13,22} 생체적합성이 우수하다. 또한 미국의 식품의약품안전국에서 허가된 유일한 생분해성 고분자이기도 하다.²³ 조직공학에 필수 불가결한 요소인 다공성 지지체는 용매 캐스팅/염 추출법,^{24,25} 유화동결건조법,²⁶ 상 분리법,²⁷ 폴리글리콜라이드 부직포,²⁸ 파라핀 추출법 등의²⁹ 방법으로 제조되고 있다. 일반적으로 용매 캐스팅/염 추출법이 제조 공정이 가장 간단하고, 원하는 다공도 및 다공크기를 비교적 용이하게 조절할 수 있는 장점이 있지만, 단점으로서 수용성 약물, 단백질 및 성장인자 등을 함유한 다공성 지지체의 경우에는 염의 추출 과정에서 이와 같은 활성인자의 손실이 일어날 수 있다. 유화동결건조법은 수용성 인자를 함유하기는 용이하지만, 다공도 및 다공크기를 조절하기가 힘들며 표면에 막이 생기는 단점이 있다.^{30,35} 또한, 미리 제조된 담체를 수용성 약물, 단백질 및 성장인자가 용해되어 있는 용액에 침지시킨 후 방출할 경우 초기 방출량이 많기 때문에 서방형 전달을 위한 방법으로 부적합하다.

본 연구에서는 이러한 기존 방법을 보완하고자 얼음입자추출법을 이용하여 다공성 지지체를 제조하였으며^{37,38} 혼합하는 얼음입자의 양을 조절하면서 담체의 특성 변화를 관찰하였다. 제조된 담체는 주사전자현미경(SEM)으로 표면과 단면의 다공 형태의 변화 및 크기를 관찰하였다. 수은다공도계로 다공도와 다공분포도를 측정하였으며 다공 생성 메커니즘 등을 고찰하였다. 모델 약물로 형광이 결합된 소 혈청 알부민(BSA)을 사용하여 담체를 제조한 후 방출 거동을 확인하였고 방출 전후의 담체 단면을 SEM을 통해 관찰함으로써 담체로서의 영향을 확인하였다.

2. 실험

2.1 시약 및 재료

PLGA(락타이드/글리콜라이드 몰비, 75/25, Resomer® RG 756, Boehringer Ingelheim Chem. Co. Ltd., Germany)는 평균 분자량이 90000 g/mole인 것을 사용하였다. 메틸렌클로라이드(MC, Tedia Co. Inc., USA)와 이외의 모든 화학 약품과 유기용매는 HPLC 등급을 사용하였다. 얼음입자제조를 위한 증류수(Milli-Q, Millipore, France)는 18.2 M Ω -cm의 순수한 것을 사용하였다. 모델 약물로서 사용한 형광물질인 FITC가 결합된 소 혈청 알부민(FITC-BSA, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)은 빛을 차단한 후 냉장 보관하였다.³⁶

2.2 얼음입자추출 담체의 성형

얼음입자추출법을 이용한 다공성 담체의 제조를 위해 액체 질소에 증류수를 분무하여 얻어진 얼음입자들을 선별하여 직경 180~

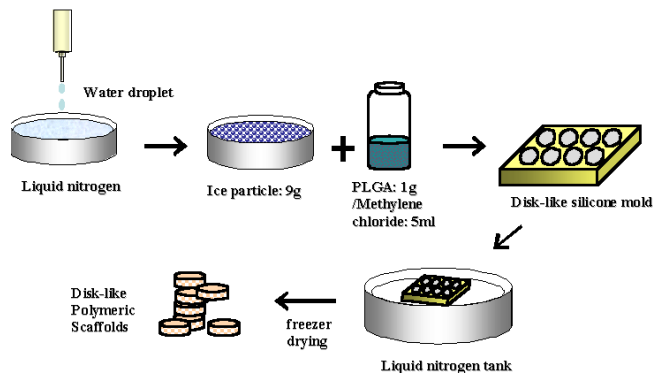


Figure 1. Schematic diagram of the ice particle leaching method to fabricate PLGA scaffold.

Table 1. Preparation of PLGA Scaffolds With Various Ratios

Sample	Porosity(%)	Total pore area(m ² /g)	Median pore diameter(μ m)
PLGA:Ice=0.5:9.5	93.6	1164.0	27.9
PLGA:Ice=1.0:9.0	99.7	575.1	51.1
PLGA:Ice=2.0:8.0	99.1	196.1	37.1
PLGA:Ice=3.0:7.0	89.1	127.9	36.0

250 μ m인 입자들을 얻었다. PLGA 0.1 g을 메틸렌클로라이드 0.5 mL에 용해시킨 후 얼음입자와 교반기를 이용하여 균일하게 혼합하였다. 자체 제작한 직경 8 mm, 두께 5 mm 크기의 실리콘 몰드에 넣은 후 급속 동결하여 잔류 용매 및 얼음입자추출을 위해 8 mTorr, -55 $^{\circ}$ C 조건에서 48시간 동안 동결 건조하였다. 얼음 입자가 액상으로 변화하는 것을 방지하기 위하여 모든 과정은 액체 질소 위에서 실시하였다. 이들의 제조 모식도를 Figure 1에 나타내었다. 다공의 크기 및 다공도를 조절하기 위하여 얼음입자와 PLGA의 함량을 변화시켜서 담체를 제조하였다(Table 1).

2.3 모폴로지 분석

제조된 다공성 PLGA 담체의 표면, 측면 및 내부의 다공형태를 SEM(S-2250N, Hitachi, Japan)을 통해 관찰하였다. 담체를 5 $\times$ 5 $\times$ 1 mm의 크기로 절단하고 양면테이프를 이용하여 샘플 폴더에 고정시키고 플라즈마 스퍼터(Emitech, K575, UK)를 이용하여 200 $^{\circ}$ C 두께로 백금 코팅하여 촬영한 사진으로 다공의 형태 및 크기를 확인하였다.

2.4 수은 다공도계 분석

상기의 여러 방법들을 사용하여 제조한 다공성 PLGA 담체의 다공 크기 분포, 비다공면적, 평균 다공직경 및 다공도를 측정하기 위하여 수은다공도계(Micromeritics Co., Model AutoPore II 9220, USA)를 이용하였다. 사용된 PLGA 담체의 질량, 측정수은체적, 수은압력 및 최대압력은 각각 0.1 g, 6.7~7.3 mL, 3.4 KPa 및 414 MPa 이었다. 수은압력 P 와 구멍 반지름 r 의 관계는 다음의 Washburn 식

$$r = -2 \gamma \cos \theta \cdot P \quad (1)$$

에 의해서 정의된다. 여기서 γ 는 수은표면장력으로 485 dyne/cm를 사용하였으며 θ 는 수은과 PLGA 표면의 접촉각인데 접촉각 측정기(Model 100-0, Rame-Hart Inc., USA)를 이용하여 실측한 결과 160 $^{\circ}$ 이었다.^{11,15,29}

다공도 ε 는 다음의 식

$$\varepsilon = \frac{V_i}{V_i + \frac{1}{\rho}} \quad (2)$$

에 의해서 정의된다. 여기서 V_i 는 전체 침투 체적이며 ρ 는 밀도를 나타낸다.

2.5 FITC-BSA를 함유한 담체 성형

생분해성 단백질 전달체를 제조하기 위하여 두 가지 방법을 이용하였다. 첫 번째 방법은 얼음입자추출법을 이용하여 제조된 PLGA 담체를 수용성 단백질인 FITC-BSA 용액에 단순히 함침시키는 것이고 두 번째 방법은 PLGA를 용해시킨 메틸렌클로라이드와 FITC-BSA를 용해시킨 PBS를 균일 혼합하여 담체를 제조하는 것이다. 미리 제조된 PLGA와 얼음입자의 함량비가 1 : 9인 담체를 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 알부민 용액에 24시간 동안 함침시킨 후 동결 건조하여 함침법에 의한 담체를 제조하였다. 단백질과 고분자의 혼합형 담체는 PLGA 1 g을 메틸렌클로라이드 5 mL에 용해시킨 용액과 FITC-BSA 1 mg을 PBS 5 mL(200 $\mu\text{g/mL}$)에 용해시킨 용액을 초음파 분쇄기(Power Sonic 510, Hwashin, Korea)를 이용하여 혼합하고 직경 180~250 μm 의 얼음입자 9 g(PLGA 용액과 얼음입자의 함량비=1 : 9)을 첨가하여 혼합하였다. 직경 8 mm, 두께 5 mm 크기의 실리콘 몰드에 넣은 후 급속동결하여 8 mTorr, -55 $^{\circ}\text{C}$ 조건에서 48시간 동안 잔류 용매 및 얼음입자추출을 위하여 동결 건조하였다. 얼음 입자가 액상으로 변화하는 것을 방지하기 위하여 모든 과정은 액체 질소 위에서 실시하였다. 이들 두 가지 방법으로 생분해성 담체를 각각 제조하여 방출 거동을 비교하였다(Figure 5).

2.6 생체 외 방출 거동

얼음입자추출법을 이용하여 제조된 담체의 FITC-BSA의 방출거동을 확인하기 위하여 10 mL의 인산염완충용액(PBS, pH 7.4)에 침지시키고 항온조(37 $^{\circ}\text{C}$)에서 100 rpm의 속도로 교반시키면서 정해진 시간마다 1 mL의 분석시료를 취하였고, 동일한 양의 용출액을 보충해주었다. 약물의 방출량 결정을 위한 분석시료는 분석시까지 빛을 차단하여 냉장보관 후 형광 분광기(F-4500, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 여기 490 nm, 방출 520 nm의 조건에서 발산 강도를 통하여 정량분석을 실시하였다.

2.7 담체의 형태 관찰

단백질의 약물 방출 전후의 표면의 형태 변화를 SEM을 이용하여 관찰하였다. SEM 분석을 위해서 방출 실험 전의 담체는 냉동 보관한 시료를 그대로 관찰하였으며, 방출 실험 후의 담체는 수분을 제거하고 동결건조기를 이용하여 건조시킨 후 금속판에 양면테이프를 부착하고 그 위에 샘플을 고정시킨 후 플라즈마 스퍼터를 이용하여 백금으로 진공 증착하였다.

3. 결과 및 토론

3.1 담체의 성형 및 특성 분석

생분해성 단백질 전달체로 이용 가능한 담체의 최적 물성을 확인하기 위해 얼음입자추출법을 사용하여 제조하였다. 제조된 담체의 외형적 형태는 직경 8 mm, 두께 5 mm의 실리콘 몰드의 빈 공간과 똑같은 디스크 형태로 얻어졌으며(Figure 2), 수축, 부풀림, 불규칙한 크기의 구멍 및 여타 결함이 없는 것으로 관찰되었다. 제조한 다공성

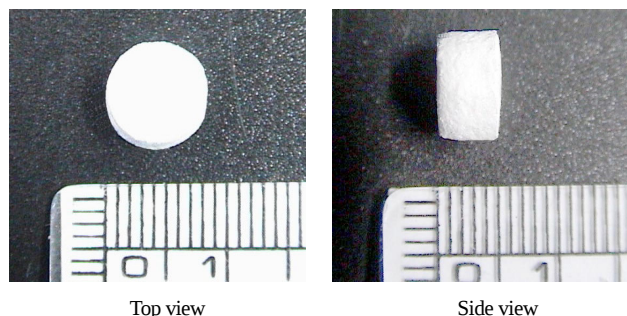


Figure 2. Gross pictures of PLGA Scaffold.

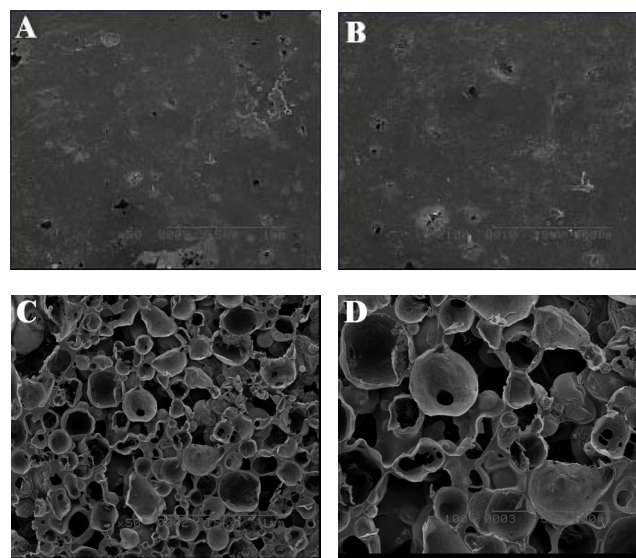


Figure 3. SEM micrographs of PLGA scaffolds by means of ice-particle leaching method; (A) surface 50 $\times$, (B) surface 100 $\times$, (C) cross section 50 $\times$, and (D) cross section 100 $\times$.

PLGA 담체의 SEM 사진은 Figure 3에 나타내었다. 담체의 내부, 측면의 다공 형태는 얼음입자와 같이 둥근 모양으로 나타났으며 50~200 μm 의 다공형태가 얻어졌다. 다공 구조는 다공과 다공 사이의 연결이 양호하고 대부분이 열린 셀 구조를 하고 있는 것으로 나타났다. 그러나, 담체 표면은 일반적으로 동결건조 방법으로 제조한 여타 담체와 같은 형태인 막힌 구조로 나타났다.²⁶ 그 이유는 담체의 내부 및 옆면과는 달리 표면은 몰드에서 받는 직접적인 압력으로 인해 다공이 약간 눌린 듯한 모양이 나타났다.

얼음입자추출법을 이용하여 원하는 형태의 담체 제조가 가능하였으며, 일정한 크기의 다공도 얻을 수 있었다. 얼음입자의 크기와 양을 조절함으로써 담체의 다공크기 및 다공도를 조절할 수 있다. 다공크기와 다공도를 조절하기 위하여 얼음입자와 PLGA의 함량을 Table 1과 같이 제조하였다.

수는 다공도계로 분석한 결과(Figure 4) 다공크기 및 다공도는 PLGA와 얼음입자와의 비로써 조절할 수 있으며 PLGA와 얼음입자의 함량비가 1 : 9일 경우 가장 높게 나타났다(Table 1). 따라서 약물 방출 경향을 확인하기 위해 PLGA와 얼음입자의 함량비를 1 : 9로 고정하여 단백질 함유 담체를 제조하고 이의 방출 경향을 관찰하였다.

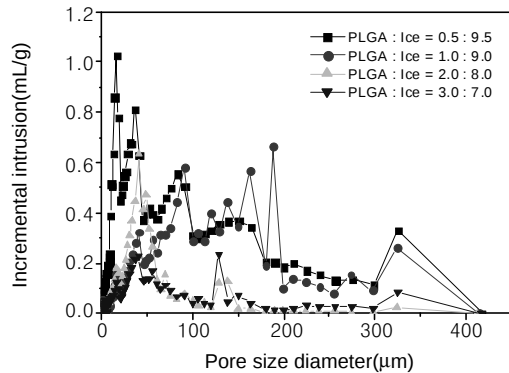


Figure 4. Effect of ratio of ice particle weight and PLGA on porosity of PLGA scaffold.

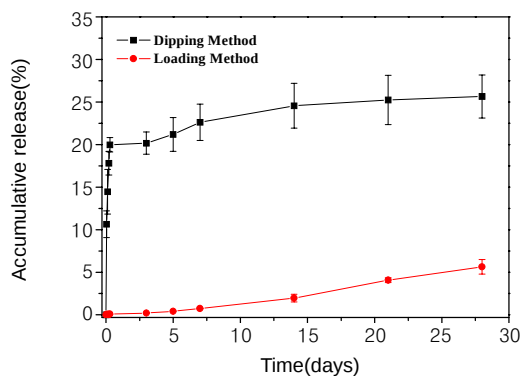


Figure 5. Comparison of FITC-BSA release profiles according to dipping method(■) and loading method(●) scaffolds.

3.2 FITC-BSA를 함유한 담체의 성형 및 방출 경향

Figure 5는 약물 방출형 담체의 제조 방법에 따른 방출 경향을 비교한 것을 나타내었다. 미리 제조된 담체를 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 알부민 용액에 침지시켜서 얻은 담체의 경우 초기 버스트가 크고 약물의 방출률이 점점 감소하는 것을 관찰할 수 있다. 이는 담체의 표면에 존재하는 단백질이 용출액에 용해되어 초기 버스트가 일어나게 되고 1일 후에는 담체 내부로 용출액이 침투함에 의해서 담체 내부에 존재하는 약물이 용해되면서 내부와의 채널을 형성하게 되고 이러한 채널 형성 속도에 따라서 약물의 방출이 순차적으로 이루어지게 된다. 반면에 약물과 고분자를 균일하게 혼합하고 담체를 제조한 경우의 방출률은 초기의 급격한 방출이 거의 없으며 0차에 가까운 약물의 방출이 이루어짐을 확인할 수 있었다. 이는 침지시켜서 제조한 담체보다 표면에 있는 약물이 적으며 담체 내에 약물의 적절한 분포에 의해 일정한 속도로 물의 흡수를 통하여 약물의 초기 버스트가 적고 0차 방출이 이루어짐을 관찰할 수 있다.

염추출법을 이용한 약물의 서방형 담체를 제조하기 위한 많은 연구가 이루어지고 있다.^{11,15,24,25} 그러나, 수용성 약물을 이용할 경우 염을 추출하는 과정에서 염이 빠져나오면서 수용성 약물도 함께 빠져나오게 된다. 또한, 약물을 함유하지 않은 담체를 제조한 후 약물의 용액에 담체를 침지시킬 경우 초기 방출량이 많기 때문에 약물의 서방형 전달을 위한 담체의 제조 방법으로서 염추출법은 부적합하다. 또한 PLGA 용액과 PBS에 포함된 FITC-BSA가 혼합되었을 때

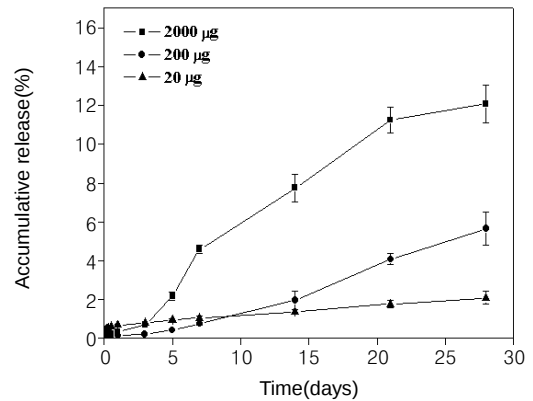


Figure 6. Release profiles according to the amounts of FITC-BSA. (■) 2000 μg , (●) 200 μg , and (▲) 20 μg of FITC-BSA.

유화된 용액의 안정성에도 큰 영향을 받는다. Whang 등은 유상과 수상의 혼합 시에 호모게나이저로 혼합하였는데 이들 담체의 평균 기공 크기는 15~35 μm 이었으며 300 μm 이상의 것도 존재한다고 보고하였다.³¹ 그러나 본 실험에서는 호모게나이저보다도 강력한 초음파 분쇄기를 사용함으로써 각 유화상태의 크기가 더욱 미세하게 형성되었다. 미세한 유화상태는 열역학적으로 불안정한 상태에서는 침전과 응집 현상이 일어날 수 있지만^{30,32} BSA가 계면활성제 역할을 하여 유화상태가 안정하게 되어 BSA의 농도가 증가할수록 담체가 더욱 안정하게 될 것으로 예측된다.

이러한 결과로부터 약물 전달체로 사용하기 위한 담체 내에 약물을 고분자와 균일 혼합하여 제조함으로써 약물의 방출 기간을 조절할 수 있음을 확인하였다.

3.3 FITC-BSA의 함량에 따른 방출 경향

약물의 함량에 따른 방출 경향을 확인하기 위하여 서방형 방출 경향을 보이는 경우 즉, 약물과 고분자를 혼합하여 제조한 담체의 방출 경향을 확인하였다. Figure 6은 20, 200 및 2000 μg 알부민을 함유한 PLGA 담체에서 28일간의 약물 방출 경향을 나타낸 것이다. FITC-BSA의 함유량에 따라 방출 경향이 다르며 모두 초기 방출이 크지 않음을 확인하였다. 약물의 양이 가장 적은 20 μg 의 경우 초기 방출이 다른 경우보다 크지만 28일 후에는 약물의 양이 증가할수록 방출률은 증가하였다. 또한, 각기 다른 약물 함유량을 가진 담체 모두 서방형의 방출 경향을 보였다. 28일 이후의 알부민 방출량은 각각 2(20 μg), 6(200 μg) 및 12%(2000 μg)임을 확인하였다.

3.4 담체의 형태 관찰

약물 방출 후의 담체의 형태변화를 관찰하기 위하여 SEM을 통해 방출전과 방출 28일 후의 담체의 단면을 관찰하였다(Figure 7). 얼음입자에 의한 다공뿐만 아니라 BSA 농도에 따른 유화상태의 안정에 의해 형성된 다공이 관찰된다. BSA의 농도가 증가할수록 유화상태가 안정되어 다공의 크기가 작고 단핵형의 형태를 확인할 수 있었다. 이를 통해 BSA의 농도가 20 μg 의 경우 초기 방출이 다른 경우에 비해 큰 것과, 그에 비해 200 및 2000 μg 일 경우는 초기 방출률이 낮고, 약물이 서방화되는 결과를 설명할 수 있다.

방출 전의 경우에는 다공구조를 확인할 수 있지만 방출 후에는 다공의 형태가 상당 부분 사라진 것을 확인할 수 있었다. 이는 담체 내부로 용출액이 침투하여 물성을 변화시켰을 뿐만 아니라 FITC-BSA가 용해되어 담체 밖으로 방출되었음을 의미한다. 다공 표면에 존

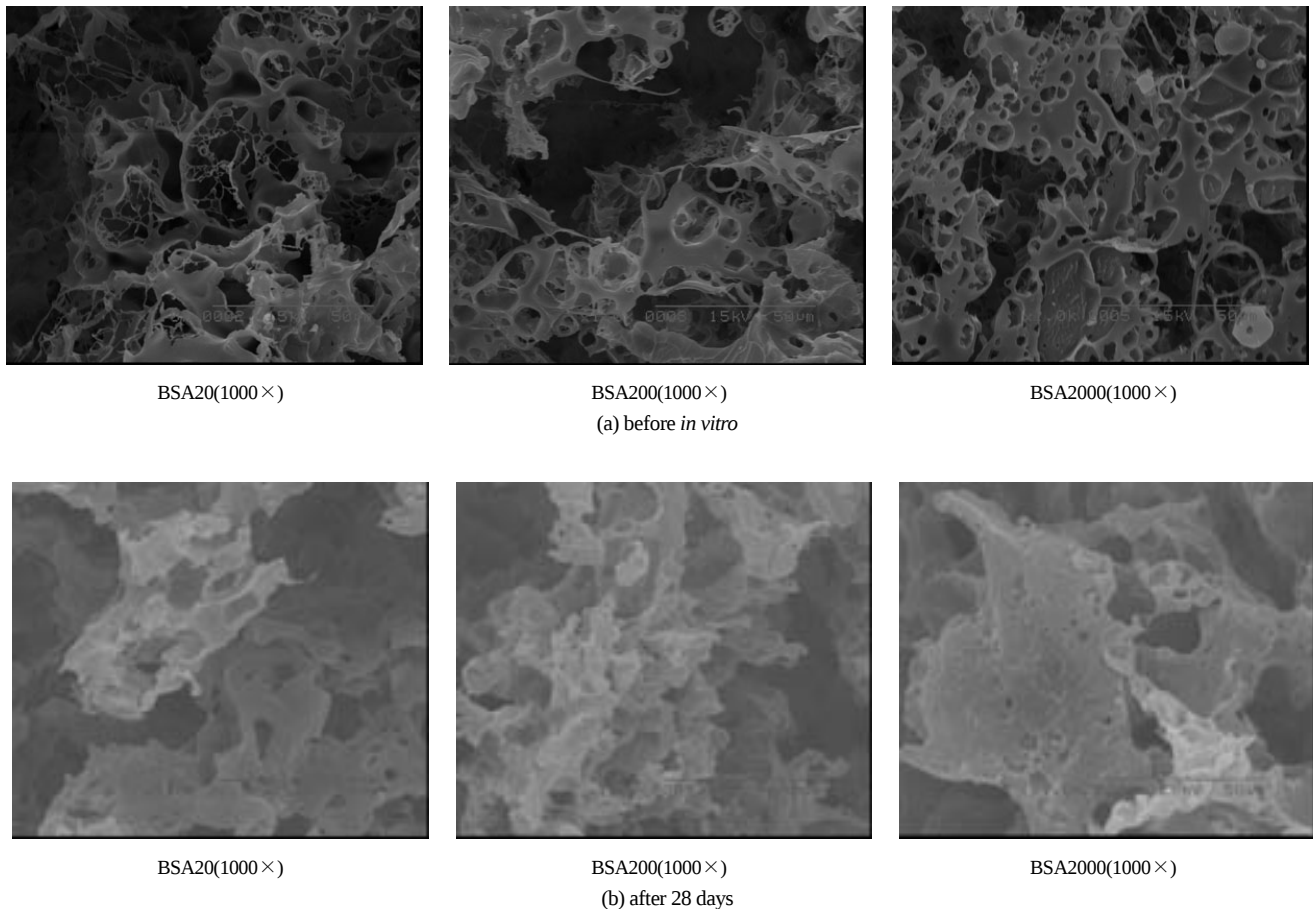


Figure 7. SEM microphotographs of BSA-loaded PLGA scaffold; (a) before *in vitro* and (b) after 28 days.

재하는 약물은 내부로 용출액이 침투되었을 때 바로 빠져나올 수 있다. 그러나 고분자 사이에 존재하는 약물은 농도차로 인한 확산에 의해 용출액이 침투되거나 고분자의 분해에 의하여 생긴 공간으로 용출액이 침투되어야 진정한 의미의 방출이 가능하다. SEM 사진을 통해서 알 수 있듯이 수난용성 고분자인 PLGA의 물성이 변화하였음을 확인할 수 있다. 이는 PLGA의 용해가 아닌 약간의 분해 현상임을 예상할 수 있으며, 다공표면에 존재하는 약물뿐만 아니라 고분자 사이에 존재하는 약물 역시 방출이 가능함을 확인하였다. 동시에 다공크기 및 다공도에 따라 약물을 담지할 수 있는 특성의 차이가 있을 것으로 예상할 수 있다.

4. 결론

캡타이드와 단백질의 서방형 전달체로서의 가능성을 확인하고자 수행한 본 연구에서는 약물 방출 전달체로서 생분해성 고분자인 PLGA를 이용하여 얼음입자추출법으로 담체를 제조하였고, 모델 약물로 형광이 결합된 소 혈청 알부민(FITC-BSA)을 사용하여 담체를 제조하고 제조방법과 약물량에 따른 BSA의 방출 경향을 확인하였다. 약물의 서방형 담체의 제조방법인 염추출법에 비해 얼음입자추출법을 이용하여 제조한 담체는 수용성 단백질을 함유시킬 수 있는 장점을 가지고 있으며, 얼음입자를 조절하여 다공 크기 및 다공도를 조절

함으로써 수용성 단백질의 서방형 담체로서의 가능성을 확인하였다. 담체의 제조에 많은 시간이 걸리지 않으며 저온조건만 잘 유지하면 제조방법도 매우 간단하다. 함침방법으로 제조된 담체의 경우 초기 방출이 크며 방출 기간을 조절할 수 없었으나 약물과 고분자를 균일하게 혼합하여 제조한 담체의 경우 초기 방출이 크지 않았으며 0차 방출을 보임으로써 초기 방출 및 방출 속도를 조절할 수 있음을 확인하였다. 이러한 결과로부터 담체의 제조가 용이하고 치료부위에 국소적으로 약물을 전달할 수 있으며 또한 약물 방출 기간을 조절할 수 있는 생분해성 고분자를 사용하여 투여 경로에 따른 생체이용률의 문제점을 가지고 있는 펩티드나 단백질, 섬유아세포성장인자(FGF), 인슐린유사성장인자(IGF), 혈소판유래성장인자(PDGF), 신경성장인자(NGF), 전환성장인자(TGF) 등과 같은 성장인자 및 수용성 약물을 지지체 내에 함유하여 골, 연골, 신경, 근육, 및 혈관 등의 조직공학적인 장기 재생에서의 다공성 담체로서 유용하게 사용할 수 있을 것이라고 추측된다. 현재 다양한 첨가제에 대한 서방화 실험과 세포 배양 실험 등을 수행중이다.

감사의 글 : 본 연구는 세포응용연구사업단(SC3100)과 KMOST(2004-01352)의 지원으로 이루어졌기에 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. G. Khang and H. B. Lee, "Cell-synthetic Surface Interaction : Physicochemical Surface Modification", in *Methods of Tissue Engineering*, A. Atala and R. Lanza, Editors, Academic Press, San Diego, California, Chap. 67, pp 771-780 (2001).
2. S. J. Lee, G. Khang, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **13**, 197 (2002).
3. G. Khang, S. J. Lee, M. S. Kim, and H. B. Lee, "Scaffolds : Tissue engineering", in *Webster's Biomedical Engineering Handbook*, S. Webster, Editor, John & Wiley Press, New York, *in press* (2005).
4. G. Khang, M. S. Kim, S. H. Cho, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **1**, 9 (2004).
5. G. Khang, S. K. Kim, K. D. Hong, W. Y. Jang, C. W. Han, I. Lee, and H. B. Lee, *Tissue Eng., Regen. Med.*, **1**, 136 (2004).
6. S. P. Baldwin and W. M. Saltzman, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **33**, 71 (1998).
7. G. Khang, S. J. Lee, C. W. Han, J. M. Rhee, and H. B. Lee, "Preparation and Characterization of Natural/Synthetic Hybrid Scaffolds", in *Advances in Experimental Medicine and Biology*, M. Elcin, Editor, Kluwer-Plenum Press, London, Vol **657**, Chap. 17, pp 235-245 (2003).
8. C. W. Patrick, Jr., S. Kukreti, and L. V. McIntire, *Exp. Neurol.*, **138**, 277 (1996).
9. G. Khang and H. B. Lee, *Biomedical Polymers*, Korean Chemical Society Press, Munundang, Seoul, 2001.
10. G. Khang, J. M. Rhee, J. K. Jeong, J. S. Lee, M. S. Kim, S. H. Cho, and H. B. Lee, *Macromol. Res.*, **11**, 207 (2003).
11. G. Khang, C. S. Park, J. M. Rhee, S. J. Lee, Y. M. Lee, I. Lee, M. K. Choi, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **9**, 267 (2001).
12. G. Khang, M. K. Choi, J. M. Rhee, S. J. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **9**, 107 (2001).
13. S. J. Lee, G. Khang, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **13**, 197 (2002).
14. G. Khang, C. W. Choe, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *J. Appl. Polym. Sci.*, **85**, 1253 (2002).
15. G. Khang, P. Shin, I. Kim, B. Lee, S. J. Lee, Y. M. Lee, H. B. Lee, and I. Lee, *Macromol. Res.*, **10**, 158 (2002).
16. Y. Iwasaki, S. Sawada, N. Nakabayashi, G. Khang, H. B. Lee, and K. Ishihara, *Biomaterials*, **23**, 3877 (2002).
17. S. A. Seo, J. H. Kim, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *J. Microencapsulation*, **20**, 569 (2003).
18. G. Khang, E. K. Jeon, J. M. Rhee, I. Lee, S. J. Lee, and H. B. Lee, *Macromol. Res.*, **11**, 334 (2003).
19. S. K. Kim, K. D. Hong, J. W. Jang, S. J. Lee, M. S. Kim, C. W. Han, G. Khang, I. Lee, and H. B. Lee, *Tissue Eng., Regen. Med.*, **1**, 149 (2004).
20. H. S. Choi, G. Khang, H. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
21. S. A. Seo, H. S. Choi, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **239**, 93 (2002).
22. M. Penco, S. Marchioni, P. Ferruti, S. D'antone, and P. Deghenghi, *Biomaterials*, **17**, 1583 (1996).
23. S. J. Holland, B. J. Tighe, and P. L. Gould, *J. Controlled Release*, **4**, 155 (1986).
24. L. E. Freed, J. C. Marquis, A. Nohria, J. Emmanuel, A. G. Mikos, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 27 (1993).
25. J. W. Jang, B. Lee, C. W. Han, I. Lee, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **27**, 226 (2003).
26. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **23**, 3 (1999).
27. J. H. Aubert and R. L. Clough, *Polymer*, **26**, 2047 (1985).
28. D. J. Mooney, C. L. Mazzoni, C. Breuer, K. McNamara, D. Hern, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **17**, 115 (1996).
29. I. Y. Kim, J. W. Jang, B. Lee, S. J. Lee, J. H. Choe, H. B. Lee, and G. Khang, *Macromol. Chem. Symp.*, **15**, 141 (2002).
30. K. Whang, T. K. Goldstick, and K. E. Healy, *Biomaterials*, **21**, 2545 (2000).
31. K. Whang, C. H. Thomas, and K. E. H. Nuber, *Polymer*, **36**, 837 (1995).
32. K. Whang, K. E. Healy, D. R. Elenz, E. K. Nam, D. C. Tsai, C. H. Thomas, G. W. Nuber, F. H. Glorieux, and R. Travers, *Tissue Eng.*, **5**, 35 (1999).
33. N. Moriah and S. Lonnie, *J. Biomed. Mater. Res.*, **59**, 349 (2002).
34. A. M. Ambrosio, J. S. Sahota, Y. Khan, and C. T. Laurencin, *J. Biomed. Mater. Res.*, **58**, 295 (2001).
35. A. P. Marques, R. L. Reis, and J. A. Hunt, *Biomaterials*, **23**, 1471 (2002).
36. K. S. Seo, M. S. Kim, K. Kim, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 328 (2004).
37. G. Chen, T. Ushida, and T. Tateishi, *Mater. Sci. Eng. C*, **17**, 63 (2001).
38. G. Chen, T. Ushida, and T. Tateishi, *Biomaterials*, **22**, 2563 (2001).