

단백질 약물 전달을 위한 마이크로/나노 입자의 전기분무 제조법

유지연 · 김민영 · 이종휘[†]

중앙대학교 공과대학 화학신소재공학부
(2007년 2월 2일 접수, 2007년 4월 3일 채택)

Electrospraying of Micro/Nano Particles for Protein Drug Delivery

Ji Youn Yoo, Minyoung Kim, and Jonghwi Lee[†]

Department of Chemical Engineering and Materials Science, Chung-Ang University,
221 Heukseok-Dong, Dongjak-Gu, Seoul, Korea
(Received February 2, 2007; accepted April 3, 2007)

초록 : 전기분무에서의 전기유체 역학적 힘에 의한 표면 에너지의 조절은 간단한 입자 크기 조절, 단분산성, 높은 회수율, 그리고 약한 가공조건과 같은 이점을 제공할 수 있다. 이러한 이점은 단백질 약물전달체 제조에 적절할 것으로 예상되어, 본 연구에서 전기분무법을 이용하여 단백질 약물의 나노포집을 시도하였다. 모델 단백질인 알부민을 단축 혹은 동축 전기분무로 가공하였고 키토산, 폴리카플로락톤(PCL), 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG) 등이 포집물질로 사용되었다. 효율을 최대로 높이기 위해 분무액의 전기전도도, 유속, 전기포텐셜 구배의 거리 등과 같은 가공변수들이 조사되었다. 키토산 시스템에서 입자 크기에 대한 공정 변수의 영향은 유속이 늦어질수록, 노즐과 집적부 사이의 거리가 가까울수록 입자 크기가 감소하는 것을 알 수 있었다. PCL 시스템에서는 단축 전기분무의 경우 유속이 늦어질수록, 동축 전기분무의 경우 내부와 외부 물질의 유속비가 클수록 입자 크기가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 전기분무 노즐에서 생성된 초기 입자들은 좁은 입자 크기 분포를 보였으나, 그것들이 집적부에 도달했을 때 입자들이 응집되는 경향이 있었다. 이러한 전기분무법에서 PCL, PEG, 키토산을 사용한 알부민의 효과적인 나노 포집은 12 kV 이상에서 성공적으로 이루어졌다.

Abstract : The control of the surface energy by electrohydrodynamic force provides electrospraying with various potential advantages such as simple particle size control, mono-dispersity, high recovery, and mild processing conditions. The advantages are quite helpful to improve the stability of protein drug and control its release. Herein, the nano-encapsulation of protein drugs using electrospraying was investigated. Albumin as a model protein was processed using uniaxial and co-axial electrospraying, and chitosan, polycaprolactone (PCL), and poly(ethylene glycol) (PEG) were used as encapsulation materials. The major processing parameters such as the conductivity of spraying liquids, flow rate, the distance of electrical potential gradient, etc were measured to obtain the maximum efficiency. In the chitosan systems, mean particles size decreases as flow rate and the distance between nozzle and the collecting part decreases. In the uniaxial technique of the PCL systems, mean particles size decreases as flow rate decreases. In the coaxial technique of the PCL systems, it was found that the particles size gets larger under the application of the higher ratio of inner-to-outer liquid flow rates. The primary particles formed out of an electrospraying nozzle showed narrow particle size distribution, but once they arrived to the collecting part, aggregation behavior was observed obviously. Efficient nano-encapsulation of albumin with PCL, PEG, and chitosan was conveniently achieved using electrospraying at above 12 kV.

Keywords : electrospraying, chitosan, nanoparticles, drug delivery, protein.

서 론

약물 전달 시스템에서는 생리활성 물질의 작용 기전 및 세포 특성에 따라 적합한 형태의 방출 패턴을 보이는 고분자/약물 복합

체 개발이 중요하다. 최근 단백질과 같은 불안정한 생리활성 물질을 장시간 지속적으로 체내에서 방출하거나 표면 개질 등을 통하여 특정 조직이나 장기에 선택적으로 전달하게 하는 것을 가능케 하는 약물전달체들이 개발되어 왔다. 또한, 약물 전달체의 크기에서도 넓은 범위에서의 조절이 가능해졌다. 이러한 입자 제조 방법 중 water-in-oil-in-water와 같은 double emulsion, solvent

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: jong@cau.ac.kr

extraction/evaporation 등의 방법이 고분자 매트릭스 안에 친수성 물질을 포집시키는데 개발되어 온 방법들이다.¹⁻³ 그러나, 모든 경우에서 다량의 유기용매 혹은 계면활성제의 사용이나 과도한 기계적 에너지 등을 써야 하는 방법들로 쉽게 생체활성을 잃을 수 있는 단백질 약물에 적용하는데 많은 어려움이 있어 왔다.⁴

최근에 개발되기 시작한 전기분무법(electrospraying)은 한단계의 공정으로 단백질과 같은 약물을 함유한 약물전달 입자를 제조하는 새로운 방법으로 그 가능성을 보여주고 있다.⁵⁻⁷ 이 방법은 그동안 보통 박막부착이나 코팅, 금속 나노 입자의 생성, 단백질과 DNA 같은 생화학 물질의 질량 분석이나 구조 해석 등의 분야에 이용되어져 왔다.^{8,9} 고분자 분야에서는 유사 방법인 전기방사(electrospinning)를 사용하여 나노섬유를 제조하는 연구가 널리 이루어져 있었다.¹⁰

전기분무법은 어느 정도의 전기전도도를 가지는 고분자 용액을 모세관에 주입한 후 모세관에 전기장을 가해 정전기력을 부여하여 미세입자(mist)를 발생시키는 방법이다. 전기장이 없는 노즐 출구에서 용액 표면의 압력 평형은 정수력학적인 압력과 모세 압력의 평형이 형성되지만, 전기분무의 경우는 표면 전하에 의한 정전기력에 의한 압력이 추가된다. 전압을 점차 증가시켰을 때 전기력이 점차 표면장력보다 커지게 되며, 결국 특정 전압 이상에서 전기분무가 시작된다. 이 전기분무에는 dripping 모드, cone-jet 모드 등 몇 가지 분무 모드가 조건에 따라 존재하는데, 이중 cone-jet 모드가 안정적으로 단분산 액적을 발생시키는 것으로 알려져 있다.

Cone-jet 모드의 경우에, 수직으로 위치한 모세관 끝에 분무 액적은 중력과 표면장력 사이에 평형을 이루어 반구형 방울을 형성하며 매달려 있게 되는데, 전기장이 가해질 때 이 반구형 방울 표면에 전하 또는 쌍극자 배향이 공기층과 용액 사이 계면에 유도된다. 이는 전하 또는 쌍극자 반발로 표면장력과 반대되는 힘을 발생시킨다. 따라서 모세관 끝에 매달려 있는 용액의 반구형 표면은 Taylor cone으로 알려진 원추형 모양으로 늘어나게 되고, 어떤 임계 전기장 세기에서 이 반발 정전기력이 표면장력을 극복하게 되면서 하전된 용액의 jet이 Taylor cone 끝에서 방출하게 되는데, 점도가 낮은 용액의 경우 표면장력으로 인해 이 jet은 미세 방울로 분사하게 된다.¹⁰

전기분무법은 기계적인 장치보다 노즐의 형태와 구조가 단순하여 제작하기 용이하고 발생된 입자들이 단분산 분포를 가질 수 있을뿐 아니라 수십 나노미터에서 수백 마이크로미터까지 다양한 크기의 입자를 제조하기가 매우 용이한 반면에 시스템 자체의 유량이 워낙 소량인 것에 의해 발생입자량이 작은 것이 현재 단점이다. 현재까지 진행된 대다수 연구는 액상 mist의 발생, 액체의 흐름 등에 대한 연구에 집중되어 왔고, 실질적인 응용이 가능한 입자, 특히 약물 전달체 입자에 대한 연구는 거의 없다.^{11,12}

본 연구에서는 단백질 약물의 1단계 나노포집을 위해 단축(uniaxial)과 동축(co-axial) 전기분무법을 시도하였다. 포집을 위한 고분자 물질은 수용성이며 양전하를 가지는 키토산(chitosan), 생분해성과 생체적합성을 가지고 있는 폴리카프로락톤(PCL), 그리고 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)을 사용하였으며, 모델 단백질은 소혈청 알부민(bovine serum albumin, BSA)을 사용하였다. 성공적인 약물/고분자 복합전달체의 제조를 위하여 유속, 전압, 전

기에너지 사이의 거리 등과 같은 가공변수들이 조사되었다.

실 험

시약. 트리폴리포스페이트(tripolyphosphate, TPP), 소 혈청 알부민(bovine serum albumin, BSA, Mw 65000), 하이드로프로필 셀룰로오스(hydropropyl cellulose, HPC, Mw 10000), 폴리 카프로락톤(polycaprolactone, PCL, Mw 10,000/42500), 폴리(에틸렌 글리콜)(poly(ethylene glycol), PEG, Mw 5000), 폴리(비닐 알코올)(Poly(vinyl alcohol), PVA, Mw 70000-100000), 키토산(chitosan, medium molecular weight)은 Sigma-Aldrich Chem(St. Louis., MO, USA)에서 구입하였다. Sodium dodecyl sulfate(SDS)는 Fisher Scientific(Pittsburgh, USA)에서 구입하였으며, 아세톤, 메탄올, 메틸렌클로라이드는 Duksan Pure Chemical Co.(Ansan, Gyeonggi, South Korea), 그리고 아세트산(99.5%)은 Samchun Pure Chemical Co.(Pyongtack, Gyeonggi, South Korea)에서 구입하였다. 물은 HPLC급(J. T. Baker)을 정제 없이 사용하였다.

마이크로/나노 입자 제조.

전기분무 실험 장치: 전기분무 시스템의 실험 장치는 Figure 1에서 보여주고 있다. 단축 전기분무 시스템은 전기분무 용액을 5 mL 주사기(노즐 26 게이지; 내경 0.21 mm) 안에 넣은 후 그 노즐에 DC 고전압부(0~35 kV/5mA, ConvertTech, NT_{SEE}, Gwangju, South Korea)를 연결시키고, 접지부와 연결된 구리판이 장착되어 있는 집적부(collecting bath)인 250 mL 비이커를 노즐 아래에 놓는다. 이 때 주사 펌프(KDS 100 model, kdScientific, Holliston, MA)는 고분자 용액을 정해진 유량으로 공급하기 위해 사용되었다. 또한 동축 전기분무 시스템은 노즐(19 게이지; 내경 0.6 mm) 내부에 또 다른 노즐(26 게이지; 내경 0.21 mm)을 같은 축으로 넣고 외부 노즐에 DC 고전압부를 연결시키고 그 외는 단축 실험의 경우와 동일하다.

단축 전기분무법을 이용한 마이크로/나노 입자 제조.

키토산 입자와 BSA를 함유한 키토산 입자 제조: 주사 물질은

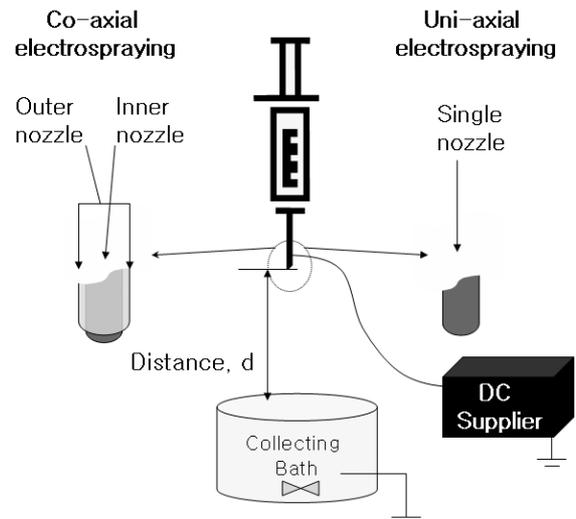


Figure 1. Schematic diagram of electro spraying apparatus.

0.9 wt% 아세트산 용액에 용해시킨 1 wt% 키토산 용액, 그리고 그 키토산 용액과 0.1 wt% BSA 용액을 1:1 부피비로 섞은 BSA를 함유한 키토산 용액이다. 키토산 입자 고휘화 용액은 음전하를 가지는 TPP 수용액 혹은 유기용매인 메탄올을 사용하였는데, TPP는 증류수에 다양한 농도(0.2/0.02/0.002/0.0002/0.00002 wt%)로 용해시켰으며, 유기용매인 메탄올에는 안정제인 HPC를 1 wt% 농도가 되도록 용해시켰다. 위 주사물질을 고휘화 용액에 가공 변수를 다양하게 변화시키며 한 시간 동안 분무하였다.

PCL 입자 제조 : 메틸렌클로라이드(methylene chloride, MC)에 용해시킨 2%(w/v) PCL(Mw 42500 g/mol) 용액을 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4) 용액에 다양한 유속으로 한 시간 동안 분무하여 입자를 제조하였다.

동축 전기분무법을 이용한 마이크로/나노 입자 제조 내부 물질로는 증류수에 용해시킨 3 wt% PEG 용액, 이 PEG 용액과 증류수에 용해시킨 0.1% BSA 용액을 1 : 1 부피비로 혼합한 용액을 사용하였다. 그리고 외부물질로는 메틸렌클로라이드에 용해시킨 1 wt% PCL(Mw 10000 g/mol) 용액을 사용하였고, 분산제 또는 고휘화 용액은 1 mM의 SDS 용액과 0.5 wt% PVA 용액을 사용하였다. 다양한 내부와 외부물질의 유속비로 한 시간 동안 분무하여 BSA/PEG를 함유한 PCL 입자를 제조하였다.

입자 분석. 입자 크기 분포는 LA 910(Horiba, Kyoto, Japan) 레이저 광산란기(Mie & Fraunhofer, Relative Refraction Index= 1)를 사용하여 수성 조건에서 측정하였다. 입자 크기 분석 시 사용된 초음파 분산기의 분해 전력은 40 W(39 kHz)이고 교반 속도와 순환 속도는 340 mL/min이다. 제조된 입자의 모폴로지를 관측하기 위해 유리판 위에 입자가 분산된 용액을 한 방울 떨어뜨린 후 24 시간 동안 진공 건조시켰다. 그 위에 백금-팔라듐을 6.7 nm/min 속도로 120초간 코팅하여 4 kV 조건하에서 주사 전자 현미경인 S-4700(HITACHI, Tokyo, Japan)을 사용하여 조사하였다.

BSA 포집률(Entrapment Efficiency). 전기분무로 제조된 마이크로/나노 입자 내 BSA의 포집률을 알아보기 위해, BCA (bichoninic acid) assay법을 이용하였다. 이 과정은 Cu⁺²가 Cu⁺¹로 바뀌는 biuret reaction을 거쳐 Cu⁺¹이 BCA와 화합물을 형성하여 보라색을 내고 562 nm에서 흡수가 일어난다. 먼저 BSA 표준 샘플(0~40 µg/mL)을 제조하고, 전기분무로 제조된 마이크로/나노 입자는 15000 rpm, 20 °C에서 3시간 동안 원심분리한 후 그 상등액을 채취하였다. 위 샘플을 microplate에 150 µL씩 넣고 25 : 24 : 1의 비율로 혼합 제조한 micro BCA 시약 A, B, C를 150 µL씩 첨가한 후 알루미늄 호일에 싸고 37.5 °C에서 2시간 동안 넣어두었다. 이 microplate를 microplate reader(GENios, Tecan, Switzerland)에 넣고 595 nm에서 측정하였다. BSA 포집 효율은 다음과 같이 계산되었다.

$$BSA\ Encapsulation\ Efficiency\ (\%) = \frac{A - B}{A} \times 100$$

여기서 A는 사용된 BSA의 총 양, B는 입자 내 함유되지 않은 BSA의 양이다.

결과 및 토론

키토산 마이크로/나노 입자의 제조. 알부민을 함유한 키토산 마이크로/나노 입자는 단축 전기분무법에 의해 다양한 가공 조건에서 분무하여 성공적으로 제조되었다. Table 1은 공정 변수들의 키토산 평균 입자 크기에 대한 영향을 정리한 것이다. TPP 용액에 의한 고휘화의 경우 키토산 용액의 공급 속도(flow rate)에 따른 입자 크기의 차이는 뚜렷한 상관 관계가 없는 것으로 보인다. 공급속도가 1 mL/hr일 때를 제외하고는 유사한 입자 크기를 보이고 있다. Table 1에서 집적부(TPP 용액)와 노즐 사이의 거리(distance)가 줄어들수록 키토산 평균 입자 크기가 감소하는 것을 확인할 수 있다. 이는 키토산 용액이 정전기적 힘에 의해 분무된 후 이를 고휘화시키며 회수하는 집적부에 빨리 도달할 수록 미세 액적들이 응집될 확률이 줄어들기 때문인 것으로 사료된다. 가해주는 전압의 경우 8에서 14kV로 증가함에 따른 체계적인 입자 크기의 변화가 없는 것으로 보인다. 일단 분무의 조건이 Taylor cone이 형성될 수 있는 전기분무의 영역 내에 들어오면 그 입자의 크기는 주로 고휘화되는 조건이나 액적들의 궤도에 영향을 받는 것으로 보인다. 이러한 결과들은 전기분무되어 노즐을 떠나는 상태에서의 일차 입자(primary particle)들의 크기가 아닌 그들의 응집형태의 입자 크기를 측정하고 있음을 암시한다.

용매(methanol)에 의한 고휘화의 경우 키토산 용액의 공급 속도

Table 1. Effect of Processing Parameters on the Mean Particle Sizes of the Chitosan Systems

Electro-sprayed materials(wt%)	Dispersants (wt%)	Flow rate (mL/hr)	Voltage (kV)	Distance (d, cm)	Mean particle size(S.D.)(µm)
Chitosan (1 wt%)	TPP (0.5 wt%) in water	0.2	10	3	1.3(0.5)
		0.4	10	3	1.6(8.0)
		0.6	10	3	1.8(2.6)
		0.8	10	3	1.8(0.7)
		1	10	3	13.4(7.4)
	TPP (0.02 wt%) in water	0.2	10	0.5	2.75(4.3)
		0.2	10	3	8.94(7.9)
		0.2	10	5	18.2(15.6)
		0.2	10	7	19.4(9.6)
		0.2	8	3	4.43(6.3)
		0.2	10	3	8.94(7.9)
		0.2	12	3	5.17(7.0)
	HPC (1 wt%) in methanol	0.2	14	3	2.56(4.2)
		0.1	12	3	3.52(2.0)
		0.5	12	3	3.11(2.4)
		1	12	3	8.99(4.3)
		1.5	12	3	9.87(4.7)
		2	12	3	10.6(4.7)
0.5		12	3	3.11(2.4)	
0.5		12	5	7.99(3.5)	
0.5	12	7	14.7(7.0)		
0.5	12	9	18.4(10.0)		
0.5	4	3	8.00(3.4)		
0.5	8	3	5.71(2.4)		
0.5	12	3	3.11(2.4)		
0.5	16	3	10.8(4.8)		

가 늦어질수록 평균 입자 크기가 줄어들고, 입도분포 또한 unimodal에서 bimodal의 분포로 바뀌는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 경향은 TPP에 의해 고형화시킬 경우 그 속도가 느려 응집이 일어날 충분한 시간이 있는데 반해 메탄올을 사용한 경우 고형화 시간이 짧아 분무된 초기 입자 입자의 상태를 보다 많이 반영한 결과라고 생각된다. 그러나 이러한 개념은 상대적인 시간 개념으로 한 시스템내에서 고형화와 응집의 속도의 경쟁을 통해 얻어진 결과라 생각되며 절대적 시간 개념으로서의 차이는 아닌 것으로 보인다. 그 이유는 입자의 절대적 크기가 오히려 메탄올을 사용한 경우에 더 크다는 사실에서 추측할 수 있다.

집적부인 메탄올과 노즐 사이의 거리가 가까워질수록 평균 입자 크기가 감소하는 것으로 보아 분무되는 거리가 길어질수록 입자들의 응집 현상이 많이 일어나는 것으로 판단된다. 이 결과는 TPP 용액을 사용한 경우와 동일하다. 집적부와 노즐 사이의 조건은 둘 다 동일함으로 예측할 수 있는 결과라고 할 수 있다. 그러나 지나치게 가까운 거리에서 분무할 수 없는 이유는 지나치게 가까울 경우 Taylor cone 자체가 충분히 발달할 수 없거나, 정전기가 액체 표면에 집적될 수 없는 상황이 될 수 있어 현 실험에서 실시한 거리보다 가까운 거리에서의 분무는 실질적으로 이용할 수 없었다.

메탄올을 사용한 경우도 역시 노즐에 걸리는 전압의 크기가 평균 입자 크기에 큰 영향을 끼치지 않는 것으로 파악되었다. 즉, 4~16 kV 사이의 전압에서 충분한 Taylor cone이 발달하는 것을 관찰

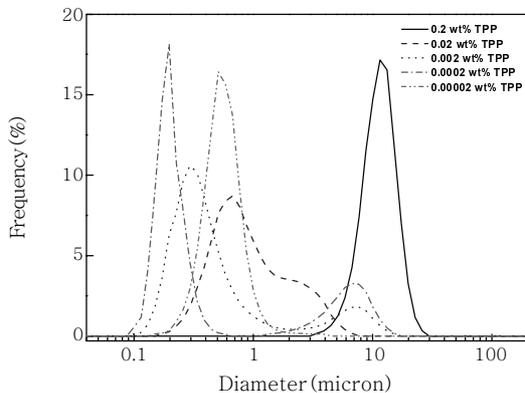


Figure 2. Effect of TPP concentration on the particle size distribution of chitosan.

할 수 있었는데 이 영역 내에서는 전압의 차이가 입자의 크기와 연결되지는 않았다.

Figure 2는 TPP 용액의 농도에 따른 키토산의 입도분포도를 나타낸 것으로 TPP 용액의 농도가 감소할수록 큰 차이는 아니지만 입자 크기가 마이크로 크기에서 나노 크기로 감소하였고, 특히 2×10^{-5} wt%인 경우 나노 크기 영역에서 unimodal의 입도분포를 나타내었다. 다른 농도에서는 전체적으로 bimodal의 입도분포가 나타나는 것으로 보아 나노 크기의 입자 입자가 시간이 지남에 따라 서로 응집되기 때문인 것으로 추측된다. 0.2 wt%인 경우에는 10 마이크로 정도에서 unimodal 분포를 보여 모두 응집된 거대한 입자들로만 구성되어진 것으로 보인다. 결과적으로 입자 입자들이 모여 있는 거대 입자체를 원하는 응용 분야를 위해서는 TPP의 농도를 높여야 하며, 반대로 입자 입자에 가까운 모폴로지를 원하는 경우에는 TPP의 농도를 최대한 낮추는 것이 유리한 것으로 보인다.

PCL 마이크로/나노 입자의 제조. 알부민을 함유한 PCL 마이크로/나노 입자는 단축 또는 동축 전기분무법에 의해 공정변수를 다양하게 하여 분무함으로써 성공적으로 제조되었다. Table 2는 PCL의 평균 입자 크기에 대한 공정변수의 영향을 나타낸 것이다. 단축 전기분무법에 의해 PBS 용액에 분무된 PCL의 평균 입자 크기는 유속과 반비례의 관계를 나타냈다. 이는 Table 1에서 보여준 경향과는 조금 상이한데, 이는 분무 상태도 많은 차이가 있는 이유로 얻어진 결과로 보인다. 즉 PCL 분무의 경우는 MC를 용매로 사용하여 전기전도도가 크게 낮으며 이로 인해 표면의 정전기가 PBS 용액에 닿으면서 바로 중성화되는 과정을 겪는다. 이로 인해 집적부 표면에서 많은 응집현상이 일어나 Table 2에서 볼 수 있는 상대적으로 큰 입자가 얻어지는 것으로 보인다.

동축 전기분무법에 의해 SDS 용액에 분무된 PCL의 평균 입자 크기는 내부의 PEG 용액과 외부의 PCL 용액의 공급 속도의 비가 증가함에 따라 커지는 것을 알 수 있다. 그리고 bimodal의 입도분포를 보이지만, 큰 크기의 입자는 초음파 분산 시간에 따라 급격하게 줄어드는 것으로 보아 100~200 nm 입자의 응집으로 인한 이차 입자인 것으로 판단된다. 성공적인 core shell 형태의 입자가 적절한 공급 속도 비에서 얻어질 수 있음을 알 수 있다. 공급 속도의 비에 대한 이해는 단순하지 않아, 각 용액의 전기전도도 외에도 점도, 증발 속도 및 집적부에서의 거동 등이 영향을 미칠 수 있는 복잡한 과정으로 보인다.

Table 2. Effect of Processing Parameters on the Mean Particle Sizes of the PCL Systems

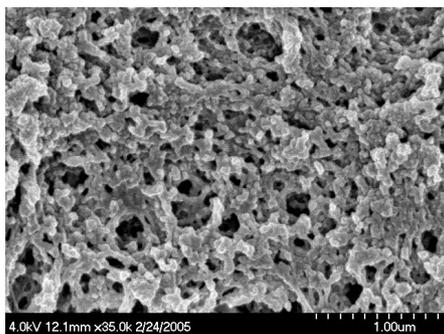
Electrosprayed materials (Uniaxial)		Dispersants	Flow rate (mL/hr)	Voltage (kV)	Distance (d, cm)	Mean particle size (S.D.) (µm)
PCL (Mw 42500) 2% w/v		PBS (pH 7.4) buffer solution	0.1	10	3	22.5 (11.0)
			0.2	10	3	18.9 (9.40)
			0.4	10	3	11.4 (8.60)
Electrosprayed materials (Coaxial)		Dispersants	Flow ratio (In./Out.) (mL/hr)	Voltage (kV)	Distance (d, cm)	Mean particle size (S.D.) (µm)
Inner nozzle	Outer nozzle					
PEG (Mw 5000) 3 wt%	PCL (Mw 10000)	SDS (1 mM) aq. solution	0.25 (0.5/2)	10	3	0.12 (0.1)
	1 wt%		0.5 (1/2)	10	3	0.17 (0.2)
			1 (0.5/0.5)	10	3	0.28 (0.2)
			3 (3/1)	10	3	0.70 (0.4)

전기분무 후 입자 분석. 단축 전기분무법에 의해 제조된 키토산 입자의 SEM 사진을 Figure 3에 나타내었는데, 입도 분석 결과에서 나타난 마이크론 크기의 입자는 100~300 nm 크기인 일차 입자가 서로 응집되어 형성된 것으로 판단된다. 광산란법을 통한 입자 크기 측정에서는 얻을 수 없었던 일차 입자의 크기는 SEM 사진을 통해서 비교 관찰이 가능하였다. 집적부의 용액의 차이에 따른 일차 입자의 크기 차이를 뚜렷하게 관찰할 수 있었는데, Figure 3에서 TPP 용액을 사용하였을 경우가 메탄올의 경우보다 훨씬 작은 일차 입자를 얻었다.

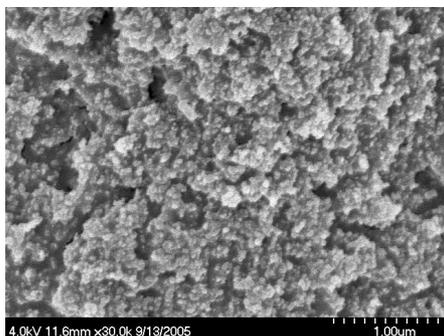
Figure 4는 단축 또는 동축 전기분무법에 의해 제조된 PCL 입자들의 SEM 사진이다. 키토산의 입도 분석 결과와 마찬가지로 100~200 nm 크기의 일차 입자가 만들어졌음을 확인할 수 있었다. SDS 용액을 집적부에 사용한 경우에는 일차 입자의 분산이 더 좋은 것으로 파악된다.

Figures 3과 4의 SEM 관찰에서 주의할 점이 있다. 샘플의 준비를 입자가 분산된 부유물을 한방울 떨어뜨린 후 건조시켜 준비하였으므로, 보이는 입자들의 응집 상태는 건조 동안 유도된 응집과 집적부내에서 발생한 응집을 분리하여 관찰할 수 없다. 또한 용액 내에 고분자가 녹아있는 메탄올 실험의 경우 다량의 고분자가 건조시 석출되어 입자 주위에 다량 존재하여 용액 상태에서의 입자 모폴로지와는 상이한 모습을 보이게 할 수 있다.

입자 내 BSA 포집 효율. Figure 5는 전기분무법에 의해 제조된 고분자 입자 내 BSA 포집 효율을 나타낸 것이다. 키토산 시스템에서는 동축 전기분무법에 의해 제조된 것이 약 80%로 단축 분



(a)

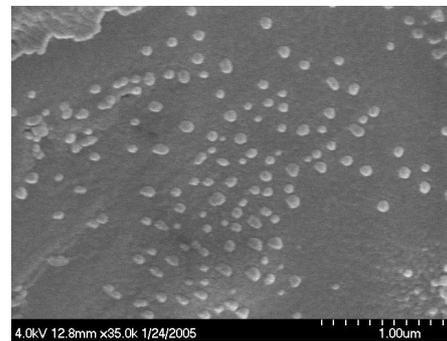


(b)

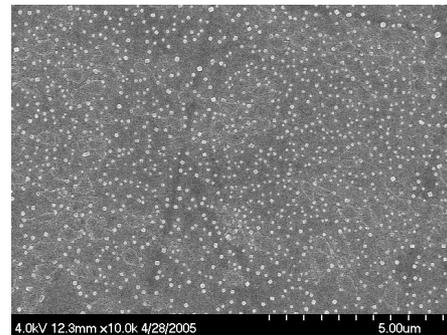
Figure 3. SEM micrographs of the micro/nano particles of chitosan: (a) BSA-loaded chitosan particles prepared by TPP solution and (b) BSA-loaded chitosan particles prepared by methanol.

무법에 의해 제조된 것보다 훨씬 높은 포집 효율을 나타낸 반면 PCL 시스템에서는 약 15% 정도의 전체적으로 다소 낮은 포집 효율을 나타내었다. 두 경우 모두 동축 전기분무가 포집 효율을 향상시킬 수 있는 것으로 파악된다. 아울러 후속 실험에서 동축 전기분무의 내부와 외부 물질의 유속비가 클수록 더 높은 포집 효율을 나타내는 것을 관찰할 수 있었다.

동축 전기분무의 경우 안쪽 노즐로 분무되는 BSA가 보다 더 효율적으로 포집되어 외부 노즐에 분무되는 물질 안에 놓이게 되는 것으로 보인다. 이 결과는 액적의 표면에 정전기를 가한 경우에도 처음 분무시 주입한 액체의 상대적 위치에는 큰 변화가 없는 상태



(a)



(b)

Figure 4. SEM micrographs of micro/nano particles of PCL: (a) BSA-loaded PCL nanoparticles prepared by uniaxial electro-spraying and (b) BSA-loaded PCL nanoparticles prepared by coaxial electro-spraying.

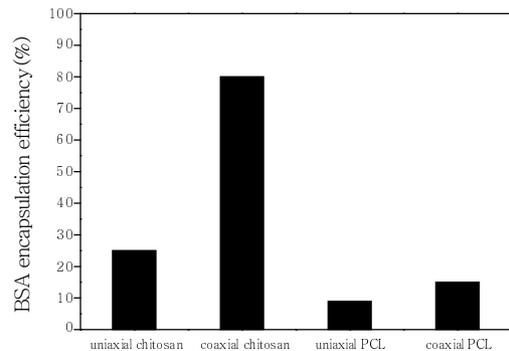


Figure 5. BSA encapsulation efficiency of the particles prepared by electro-spraying.

로 미세한 액적으로 분해되는 것을 의미하며, 이는 전기분무에 대한 기존의 보고와 일치한다.⁷ 그 효과는 유기용매를 사용한 PCL 경우에는 크게 감소하였는데, 이는 유기용매와 물을 동시에 분무하는 경우에는 두 액체의 상대적 위치가 변경되어 질 수도 있음을 의미한다. 그 이유는 쉽게 파악할 수 없는데, 두 액체의 전기전도도의 큰 차이와, 용해도 차이에서 기인할 수도 있는 등 다양한 원인을 살펴볼 수 있다. 결과적으로 동축 분무의 경우 효과적인 포집을 위해서는 적절한 용액의 선택이 필수적임을 알 수 있다.

결 론

BSA를 함유한 키토산과 PCL의 마이크로/나노 입자는 전기분무법을 이용하여 성공적으로 제조되었다. 키토산 시스템에서 입자 크기에 대한 공정 변수의 영향은 유속이 늦어질수록, 노즐과 집적부 사이의 거리가 가까울수록 입자 크기가 감소하는 것을 알 수 있었다. 또한 전압은 입도변화에 큰 영향을 끼치지 않으며, 4~16 kV 사이의 전압에서 입자가 성공적으로 형성되는 것을 알 수 있었다. 이는 TPP 용액에 의한 고형화나 용매에 의한 고형화에서 유사하게 나타났다. PCL 시스템에서는 단축 전기분무의 경우 유속이 늦어질수록, 동축 전기분무의 경우 내부와 외부 물질의 유속비가 클수록 입자 크기가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 전체적으로 입자 분포가 bimodal임을 알 수 있으며, 이는 나노 크기의 일차 입자가 시간이 지남에 따라 서로 응집되기 때문인 것으로 판단된다. 입자 내 BSA 포집 효율은 키토산 시스템에서는 단축 전기분무로 제조된 것보다 동축 전기분무로 제조된 것이 훨씬 더 높은 포집 효율을 나타냈으나, 상대적으로 PCL 시스템에서는 약 15% 정도의 낮은 포집 효율을 나타냈다.

감사의 글 : 본 연구는 2006년도 중앙대학교 학술연구비(일반 연구비) 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Y. Ogawa, M. Yamamoto, H. Okada, T. Yashiki, and T. A. Shimamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1095 (1988).
2. R. Alex and R. Bodmeier, *J. Microencapsul.*, **7**, 347 (1989).
3. R. Langer, *Nature*, **392**, 5 (1998).
4. A. Lamprecht, N. Ubrich, M. H. Perez, C. M. Lehr, M. Hoffman, and P. Maincent, *Int. J. Pharm.*, **184**, 97 (1999).
5. B. G. Amsden and M. F. A. Goosen, *J. Control. Release*, **43**, 183 (1997).
6. S. M. Kuo, G. Niu, S. J. Chang, C. H. Kuo, and M. S. Bair, *J. Appl. Polym. Sci.*, **94**, 2150 (2004).
7. I. G. Loscertales, A. Barrero, I. Guerrero, R. Cortijo, M. Marques, and A. M. Ganan Calvo, *Science*, **295**, 1695 (2002).
8. K. Tang and A. Gomez, *J. Aerosol Sci.*, **25**, 1237 (1994).
9. J. C. Ijseart, K. B. Geerse, J. M. Marijnissen, J. W. J. Lammers, and P. Zanen, *J. Appl. Polym. Sci.*, **94**, 2150 (2004).
10. D. H. Reneker and I. S. Chun, *Nanotechnology*, **7**, 216 (1996).
11. D. O. Kim, D. H. Lee, S. S. Yoon, S. A. Lee, and J. D. Nam, *Polymer(Korea)*, **30**, 90 (2006).
12. S. J. Park, Y. S. Kang, H. Y. Kim, Y. J. Ryu, and D. R. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 360 (2002).