

생분해성을 갖는 초다공성 수화젤의 제조 및 특성분석

육균영 · 최유미 · 박정숙* · 김소연** · 박기남*** · 허강무†

충남대학교 고분자공학과, *충남대학교 약학대학,

충남대학교 공업교육학부, *퍼듀대학교 약학대학

(2009년 5월 2일 접수, 2009년 5월 30일 수정, 2009년 6월 2일 채택)

Preparation and Characterization of Biodegradable Superporous Hydrogels

Kun Young Yuk, You Mee Choi, Jeong-Sook Park*, So Yeon Kim**, Kinam Park***, and Kang Moo Huh†

Department of Polymer Science and Engineering,

Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea*

***Division of Engineering Education, College of Engineering,*

Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

****Purdue University, Departments of Pharmaceutics and Biomedical Engineering,*

School of Pharmacy, West Lafayette, IN 47906, USA

(Received May 2, 2009; Revised May 30, 2009; Accepted June 2, 2009)

초록: 본 연구에서는 속팽윤성과 고흡수성을 갖는 초다공성 수화젤의 제조과정에서 생분해성 가교제를 이용하여 생분해성 초다공성 수화젤을 제조하고 특성분석을 수행하였다. 친수성 고분자인 poly(ethylene glycol)의 양말단에 D,L-lactide를 개환 중합시켜 PLA-PEG-PLA 삼중공중합체를 합성한 뒤, 양 말단에 비닐기를 도입하여 생분해성 가교제를 합성하였다. 조성이 다양한 초다공성 수화젤을 제조하여 각각의 팽윤도, 팽윤속도 및 생분해성을 비교하였다. 중합된 고분자의 화학적 조성을 $^1\text{H-NMR}$, GPC, FT-IR 측정을 통해 확인하였고, 수화젤 표면 및 내부의 SEM 분석을 통해 수 백 μm 크기의 공극들로 생성된 열린 채널구조의 초다공성 구조를 관찰하였다. 수는 다공도계로 수화젤의 기공크기와 다공도를 측정하였고, 조성에 따라 물리화학적 성질이 조절될 수 있음을 알 수 있었으며, MTT분석에 의해 낮은 세포독성을 나타냄을 확인하였다.

Abstract: In this study, biodegradable superporous hydrogels (SPHs) with fast swelling and superabsorbent properties were prepared using biodegradable crosslinkers and their physicochemical properties were characterized. A biodegradable crosslinker (PLA-PEG-PLA DA) was synthesized by a ring opening polymerization of D,L-lactide (LA) using hydrophilic poly(ethylene glycol) as a macroinitiator, followed by diacrylation of the end groups for the introduction of polymerizable vinyl groups. Various kinds of hydrogels with different chemical compositions were prepared and characterized in terms of swelling ratio, swelling kinetics, and biodegradation properties. The synthetic results were confirmed by $^1\text{H-NMR}$, FT-IR and GPC measurements, and the porous structures of the prepared SPHs and their porosities were identified by a scanning electron microscope and mercury porosimetry, respectively. The physicochemical properties of SPHs could be controlled by varying their chemical compositions and their cytotoxicity were found to be very low by MTT assay.

Keywords: biodegradable hydrogel, fast swelling, superabsorbent, superporous hydrogel, PLA-PEG-PLA.

서 론

수화젤(또는 하이드로젤)은 친수성고분자가 가교되어져 만들어진 3차원 망상구조를 가지며, 수성환경 하에서 가교구조에 의해 용해되지는 않으나 고유의 친수성으로 인해 많은 양의 물을 흡수하며 팽윤

하는 성질을 가진다.^{1,2} 또한, 구성성분과 제조방법에 따라 다양한 형태와 성질을 가진 수화젤이 만들어질 수 있으며 일반적으로 다량의 수분을 함유하고 있으므로 액체와 고체의 중간 성질을 갖는 것이 특징이다. 이러한 특성으로 초창기에는 주로 흡수성을 기반으로 하는 위생용품에의 응용을 시작으로 현재에는 약물전달시스템, 생체재료, 조직공학, 및 의료기기 등 다양한 의약학적 응용에서 산업적 응용에 이르기까지 매우 광범위한 분야에서 유용하게 이용되고 있다.

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: khuh@cnu.ac.kr

일반적으로 수화젤은 확산현상에 의해서만 팽윤하기 때문에 건조 상태(dried state, xero-gel 상태)에서 물을 흡수하기 시작하여 더 이상 팽윤되지 않는 완전한 평형 팽윤상태에 이르기까지 그 크기와 모양에 따라 짧게는 수 시간에서 길게는 수일 이상의 긴 팽윤시간이 필요하다. 이러한 느린 팽윤거동이 실제로 많은 응용 분야에서 유용한 성질로 이용되는 한편, 빠른 흡수성 내지는 팽윤성이 요구되는 분야에서는 그 사용이 크게 제한받게 된다.³ 따라서, 고흡수성 고분자의 경우처럼 비표면적이 큰 작은 입자형태로 가공하여 빠른 흡수능(또는 팽윤성)을 요하는 곳에 응용되기도 하지만, 이러한 흡수능을 유지하기 위해서는 입자의 크기와 형태에 제약이 따르고 있다. 최근 다양한 자극 즉, 온도, pH, 광원, 전기장, 기타 생체활성물질 등의 외부 자극에 대해 반응하는 자극 감응형 수화젤(stimuli-responsive hydrogel)이 많은 분야에서 연구되고 있다. 이러한 재료는 주어진 자극에 대해 빠르고 민감하게 반응하는 것이 중요하며, 특히 대부분의 경우에서 반응의 주요 요소가 수화젤의 팽윤거동과 밀접한 관련이 있으므로 빠른 팽윤성의 구현이 응용성의 핵심이라 할 수 있겠다.

수화젤은 제조 및 가공 방법에 따라 다양한 공극 구조 및 크기를 생성할 수 있으며 이에 따라 팽윤속도와 팽윤도 또한 크게 의존하게 된다.⁴⁻⁶ 수화젤은 내부 공극 구조에 따라 크게 non-porous 수화젤, macroporous 수화젤, 초다공성(superporous) 수화젤로 나눌 수 있다. 일반적인 수화젤은 내부에 공극이 존재하지 않고, macroporous 수화젤은 공극이 존재하나 공극과 공극이 일부만 연결되어 있는 반면, 초다공성 수화젤의 경우는 내부에 존재하는 수 백 μm 정도의 공극들이 서로 연결되어 열린 채널구조를 형성하고 있다.² 다공성은 확산거리를 짧게 하고 일반 수화젤보다 수백 배의 표면적을 제공하며 열린 채널구조를 통한 모세관 현상으로 물이 빠르게 유입될 수 있게 하여 수화젤의 모양과 크기에 상관없이 빠르게 팽윤하는 속팽윤성을 나타낸다.^{7,8} 이와 같은 속팽윤성 수화젤은 팽윤된 상태에서 높은 함수율로 인해 물성이 취약하다는 단점이 있었으나, 최근 하이브리드형 구조의 수화젤의 제조를 통해 높은 함수율을 유지하면서도 기계적 물성이 크게 개선될 수 있었다.⁹⁻¹² 초다공성 수화젤은 속팽윤성과 고흡수성을 특징으로 위장제류장치, 약물전달시스템, 조직공학 등 여러 분야에서 연구되어지고 있다.¹³⁻¹⁵

한편, 지금까지의 초다공성 수화젤에 대한 개발연구는 수성환경 하에서 속팽윤성과 기계적 물성의 향상에 초점이 맞추어져 왔다. 의학학적 응용분야에서 생분해성 고분자의 사용은 기능성이나 안전성 측면에서 그 중요성이 부각되어져 왔으나, 아직 초다공성 수화젤의 경우 생분해성 수화젤이 제조된 바가 없다.¹⁶⁻¹⁸ 따라서, 본 연구에서는 기존의 속팽윤성과 고흡수성을 유지하면서 생분해성을 보이는 수화젤을 제조하고자 하였다. 생분해성 수화젤의 제조를 위해 생체적합성이 우수하고 대표적인 생분해성 고분자로 알려진 poly(ethylene glycol) (PEG)과 poly(D,L-lactide) (PLA)의 삼중공중합체를 합성한 후 개질하여 생분해성 가교제로 사용하였다. 다양한 조성비에서 제조된 초다공성 수화젤의 물리화학적 특성들을 비교하여 분석하였다.

실 험

시약 및 시료. Poly(ethylene glycol) (PEG, $M_n=2000$), stannous octoate ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$), toluene (99.8%), triethylamine, acryloyl

chloride, benzene (99.8%), acrylic acid (AA), ammonium persulfate (APS, 99.9%), N,N' -methylenebisacrylamide (BIS, 99%), N,N,N',N' -tetramethylethylenediamine (TEMED), sodium bicarbonate는 Sigma-Aldrich에서 구입하였다. Diethyl ether (99.0%), ethanol (95.0%), ethyl acetate는 Samchun Pure Chemicals에서, acrylamide (AAM), 8 N-sodium hydroxide, Pluronic® F127, methylene chloride는 Fluka, Duksan pharmaceutical, Kumkang Chemical, J. T. Baker에서 각각 구입하였다. D,L-lactide (LA)는 Polysciences사에서 구입하였고, ethyl acetate에서 1회 재결정하여 사용하였으며 이 외의 다른 시약들은 별도의 정제과정 없이 사용하였다.

PLA-PEG-PLA 삼중공중합체의 합성. PEG 10 g (5 mmol)을 two-neck 둥근바닥 플라스크에 넣고 수분을 제거하기 위해 80 °C에서 24시간 진공 건조시킨다. 건조시킨 PEG에 반응 개시를 위해 toluene에 희석시킨 stannous octoate (20 wt%) 0.8 mL을 넣고 110 °C에서 15분 가열한다.¹⁹ 가열 후 실온으로 온도를 식힌 다음 LA 7.2 g (0.05 mol)을 넣고 진공펌프를 사용하여 5분 동안 2구 플라스크 안의 공기를 제거하고 질소를 5분 동안 들여보내어 플라스크 안의 수분을 제거한다. 이와 같은 과정을 3회 반복하고 마지막은 진공상태로 만들어준다. 진공상태의 2구 플라스크를 140 °C에서 교반하며 5시간 동안 반응시킨다. 반응 후 실온으로 식힌 다음 methylene chloride 30 mL로 용해시키고 차가운 ether에 침전시킨다. 침전 후 침전용액을 감압 여과하여 실온에서 하루동안 진공 건조시킨다.

PLA-PEG-PLA Diacrylate 합성. PLA-PEG-PLA 삼중공중합체 5 g을 질소 기류 하에서 two-neck 둥근바닥 플라스크에 넣고 benzene 35 mL로 녹인다. 완전히 녹인 후 triethylamine 0.744 mL (5.34 mmol)과 benzene 15 mL에 희석시킨 acryloyl chloride 0.43 mL (5.34 mmol)을 넣어준다. 80 °C에서 3시간 반응시킨 후 여과지로 triethylamine hydrochloride를 걸러낸다. 걸러진 반응용액을 차가운 ether에 침전시키고 침전용액을 감압 여과하여 걸러진 반응물을 실온에서 하루동안 진공 건조시켜 diacrylated PLA-PEG-PLA (PLA-PEG-PLA DA)를 제조하였다(Figure 1).

속팽윤성 수화젤의 제조. 증류수에 단량체인 AA (10 wt%), AAM (15 wt%), 계면활성제인 Pluronic® F127 (0.5 wt%), 적당량의 BIS

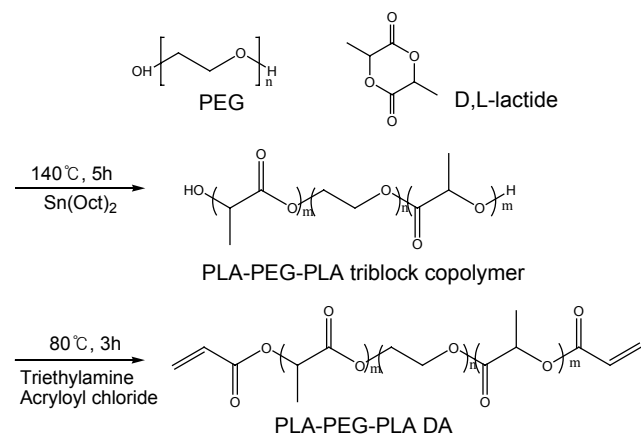


Figure 1. Synthetic scheme for diacrylated PLA-PEG-PLA triblock copolymer.

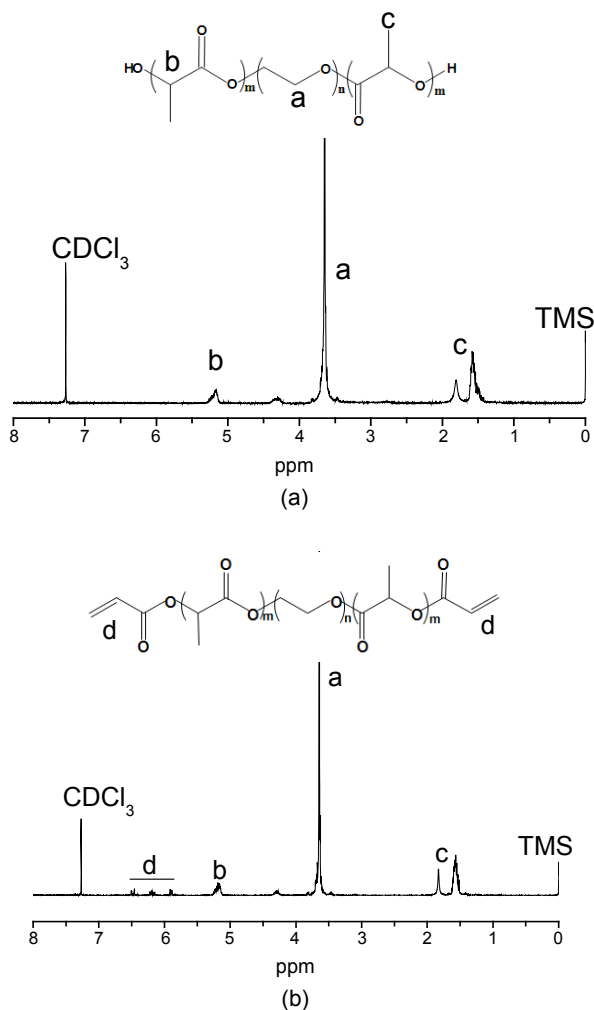


Figure 2. ^1H -NMR spectra of PLA-PEG-PLA triblock copolymer (a); diacrylated PLA-PEG-PLA triblock copolymer (b).

또는 생분해성 가교제인 PLA-PEG-PLA DA를 넣고 녹인다. 가교제의 양에 따른 특성분석을 위해 PLA-PEG-PLA DA의 양을 5 wt% (1.6 mmol), 20 wt% (6.4 mmol), 30 wt% (9.6 mmol)로 다르게 수화젤을 합성하였다. 각각을 녹여 준비된 반응 용액은 8 N sodium hydroxide를 사용하여 pH를 4.75로 적정한 후 50 mL conical centrifuge tube (30×115 mm size)에 8 mL로 담고 반응 개시를 위해 redox개시제인 APS (0.6 wt%)와 TEMED (0.4 wt%)를 넣고 흔들어 섞어 준다. 개시제를 넣고 3분 30초 후에 sodium bicarbonate 0.4 g (5 wt%)을 넣어서 거품을 발생시키고 동시에 휘저어준 다음 중합이 완료되도록 30분 이상 실온에 놓아둔다. 중합 완료 후 먼저 70% ethanol을 넣어 미반응 단량체를 포함한 불순물을 제거한 후 100% ethanol에 담가 탈수를 시켜준다. 이때 물이 충분히 빠져 나갈 수 있도록 ethanol을 30분 간격으로 4~5회 갈아준다. 탈수과정이 끝난 후 진공오븐에 하루동안 건조한다 (Figure 2).

생분해성 가교제의 특성분석. 합성된 PLA-PEG-PLA 삼중공중합체와 diacrylated PLA-PEG-PLA의 화학적조성과 수평균분자량, 치환율은 ^1H -NMR (JNM-AL400 spectrometer, Jeol Ltd,

Akishima, Japan)로 분석하였다. 샘플의 용매로는 CDCl_3 를 사용하였다. 또한, 합성 전과 후의 분자결합의 구조적 변화를 살펴보기 위하여 FT-IR (MAGNA 560 spectrometer)을 이용하여 분석하였다. KBr pellet법으로 시편을 만들었으며 $400\text{--}40000\text{ cm}^{-1}$ 범위에서 측정하였다. 고분자의 분자량 및 분포는 GPC (Agilent 1100 series-RI detector)를 통하여 분석하였다. 사용된 GPC는 두 개의 컬럼 (pLgel 5 μm MIXED-D & E columns), RI 탐지기, quaternary 펌프가 장착되어 있으며 PEG를 기준으로 하여 1 mL/min의 유속으로 측정하였다. 이동상 용매는 HPLC용 THF를 사용하였고, 시료를 0.3 wt%로 녹여 샘플을 만들었으며 컬럼과 탐지기의 온도는 모두 40°C 를 유지하였다.

수화젤의 특성분석. 가교제의 양을 달리하여 합성한 초다공성 수화젤의 친수성 변화를 살펴보기 위해 접촉각 측정을 하였다. 기기는 Sessile drop 방법을 이용한 접촉각 분석기 (drop shape analyzer, DSA 100, Krüss, Germany)를 이용하였다. 합성된 속팽윤성 수화젤의 표면 및 내부 공극구조는 SEM (S-2460N, Hitachi, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. 샘플은 2~3 mm 두께의 디스크 모양으로 잘라서 Ion-sputter (E-1010, Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하여 합금으로 코팅한 뒤 측정하였다. 수은 다공도계 (Autopore III 9420, Micromeritics Instrum. Corp., USA)로는 수화젤의 평균 기공크기와 다공도를 측정하였다. 사용한 수화젤의 질량, 수은압력, 표면장력 및 접촉각은 각각 0.1 g, 3.8~3.9 kPa, 485 dynes/cm^2 , 140° 이었다.

팽윤 및 분해 실험. 건조된 원통형의 속팽윤성 수화젤을 2 mm 두께로 잘라 디스크모양의 샘플을 얻을 수 있었다. 샘플을 증류수와 PBS에 각각 담가 팽윤도를 측정하였다. 담그기 전에 건조된 샘플무게를 재고 담근 후에는 주기적인 시간 간격을 두고 무게를 측정하였다. 측정은 실온에서 진행되었으며 팽윤비는 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{Swelling ratio} = (W_s - W_d) / (W_d)$$

W_s : 팽윤된 superporous hydrogel의 무게

W_d : 건조된 superporous hydrogel의 무게

$$\% \text{ Swelling} = (S_t / S_{eq}) \times 100$$

S_t : 특정시간에서의 swelling ratio

S_{eq} : 평형상태에서의 swelling ratio

무게를 젤 때는 팽윤된 속팽윤성 수화젤 표면과 내부에 과잉으로 축적되어 건져 올렸을 때 흘러내리는 물은 제거하고 측정하였으며 샘플은 각각 3개를 사용하여 평균을 구하였다. 생분해성 실험은 온도조절이 가능한 수조 안에 수화젤이 담긴 비이커를 넣고 수 개월간 진행되었다. 온도는 37°C 를 유지하였고 증류수와 PBS (Ph 7.4)에 담가 분해되는 정도를 팽윤비의 변화를 통해 비교 측정하였다.

세포독성 실험. 사람 간암 세포주인 HepG2 세포 (Korean cell line bank, 서울, 한국)를 사용하여 수화젤의 세포독성을 측정하였다. 세포주는 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin 10000 U/mL (Gibco BRL), streptomycin 10 mg/mL (Gibco BRL)을 함유하는 DMEM 배지를 사용하여 plastic culture dish에서 37°C , 5% CO_2 의 조건에서 24시간 동안 배양하였다. 수화젤을 25 mg/mL의 농도로, 10% FBS를 함유한 배지 20 mL에 7일간 용출시킨 후, 배지로

희석하여 0.125, 0.25, 1.25, 2.5, 12.5, 25 mg/mL의 용출시험액을 제조하였으며 배양한 HepG2 세포주를 96-well plate에 1×10^4 cells/well로 주입한 후 하루정도 배양하였다. 세포위의 배지를 제거하고 수화젤이 용출된 시료를 넣어준 후 24시간 동안 37 °C에서 배양하고 배지를 제거한 뒤 MTT 용액을 넣고 4시간 방치 후, MTT를 녹인 다음 570 nm에서 흡광도를 측정하여 처리하지 않은 대조세포군에 대해 세포독성을 평가하였다. 각 실험은 모두 3번 반복 수행하였으며 흡광도를 측정한 후 다음의 식을 이용하여 세포생존율을 계산하여 세포 독성을 판정하였다.

$$\text{세포생존율}(\%) = (Abs_{\text{test}}/Abs_{\text{control}}) \times 100$$

결과 및 토론

생분해성 가교제의 합성. 본 연구에서는 생분해성 가교제로 PLA-PEG-PLA DA를 사용하였다. PLA-PEG-PLA 삼중블록 공중합체는 거대개시제인 PEG에 의해 LA를 개환중합함으로써 합성하였다. 초다공성 수화젤의 제조가 수성환경하에서 이루어지므로, 친수성 고분자인 PEG에 대해 소수성을 갖는 PLA 블록의 길이를 상대적으로 작게 조절하여 필요한 충분한 수용성을 확보하였다. 또한, 가교제로서의 역할을 위해 고분자의 양 말단그룹을 비닐그룹으로 치환시켜 PLA-PEG-PLA DA를 합성하였다. 일련의 합성과정을 Figure 1에 나타내었고, Table 1에 합성결과를 정리하였다.

Figure 2에 PLA-PEG-PLA와 PLA-PEG-PLA DA의 $^1\text{H-NMR}$ 분석결과를 나타내었다. PEG의 에틸렌($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, a) 피크는 $\delta=3.39\sim3.84$ ppm에서 관찰되었고 PLA의 메틸렌($-\text{CH}_2-$, b) 피크는 $\delta=5.18$ ppm, 메틸($-\text{CH}_3$, c) 피크는 $\delta=1.55$ ppm에서 확인되었으며 분자량 계산은 PEG의 CH_2 에 대한 LA의 CH 피크의 proton 면적비를 비교하여 계산하였다. 양말단에 치환된 비닐기(d)는 $\delta=5.8\sim6.5$ ppm에 작은 세 개의 피크를 통해 치환되었음을 확인하였고 PEG의 CH_2 와 아크릴레이트 그룹의 비닐기 피크의 proton 면적비를 비교하여 치환율이 85% 이상임을 확인할 수 있었다.²⁰ 합성된 고분자의 분자량 분포는 GPC분석을 통하여 1.02~1.07의 좁은 분산도를 가짐을 확인하였으며 $^1\text{H-NMR}$ 로 분석된 분자량과 거의 비슷한 값을 가짐을 알 수 있었다.

FT-IR 분석결과(Figure 3)를 살펴보면 PEG에서는 볼 수 없었던 PLA의 카보닐 결합($\text{C}=\text{O}$)의 파장이 1572 cm^{-1} 에서 나타났으며 PLA-PEG-PLA DA의 경우에는 양 말단에 치환된 비닐기의 흡수 파장이 1555 와 816 cm^{-1} 에서 나타남으로써 가교제가 잘 합성되었음을 확인하였다.

속팽윤성 수화젤의 제조. 초다공성 구조는 gas blowing 방법으

Table 1. Synthetic Results of PLA-PEG-PLA Triblock Copolymer and Diacrylated PLA-PEG-PLA

Copolymer	Molecular weight			PDI ^a	Yield (%)
	M_n^a	M_w^a	M_n^b		
1 PLA-PEG-PLA	2750	2950	2810	1.07	88
2 PLA-PEG-PLA DA	2740	2960	2930	1.07	70

^aDetermined by GPC measurements. ^bCalculated from the peak integration of $^1\text{H-NMR}$ spectra.

로 만들었으며, 겔화 시간과 거품의 발생 시점을 적절하게 조절하여 실린더 모양의 속팽윤성 수화젤을 합성할 수 있었다. Gas blowing 방법은 단량체와 거품안정제, 발포제, 가교제가 모두 물에 녹아야 하는데 합성한 생분해성 가교제는 PLA와 PEG의 조성비를 조절함으로써 용해도를 조절해 사용할 수 있었다. 합성 후 만들어진 초다공성 구조를 제조과정에서 유지시키기 위해서는 중합이 끝난 수화젤을 에탄올에서 탈수시킨 후에 건조시켰다. 탈수과정을 거치지 않고 건조시키면 중합시 함유하게 된 물이 건조과정에서 빠져나가면 초다공성 구조가 물의 표면장력으로 균일하게 형성되기 어렵기때문에 표면장력이 낮은 에탄올로 치환시킴으로써 다공구조가 잘 유지하도록 하였다. Table 2에 초다공성 수화젤의 조성비와 특징을 정리하였다.

제조된 수화젤의 초다공성 구조를 SEM으로 분석한 결과를 Figure 4에 나타내었다. 일반적으로 다공성은 발포제와 산, 거품안정제의 양이 많을수록 증가하지만 본 연구에서는 일정량을 사용하였기 때문에 공극들의 크기가 $200\text{ }\mu\text{m}$ 에서 크게는 $400\text{ }\mu\text{m}$ 로 생성이 거의 비슷하게 나타났으며 공극과 공극이 서로 연결되어 열린 채널을 형성하고 있었다. 또한, 생분해성 가교제를 사용하여 합성한 속팽윤성 수화젤의 경우에도 열린 채널을 형성한 초다공성의 공극 구조를 확인할 수 있었다.

수은 측정법을 이용한 속팽윤성 수화젤의 다공도 측정 결과를 Table 2에 나타내었다. Table 2의 (A),(B),(C)는 acrylic acid와 acrylamide를 단량체로 사용하고 PLA-PEG-PLA DA를 가교제로 사용하여 만든 속팽윤성 수화젤로 약 $160\sim170\text{ }\mu\text{m}$ 범위의 median pore diameter를 나타내었다. 사용된 가교제 양의 변화에 따른 기공

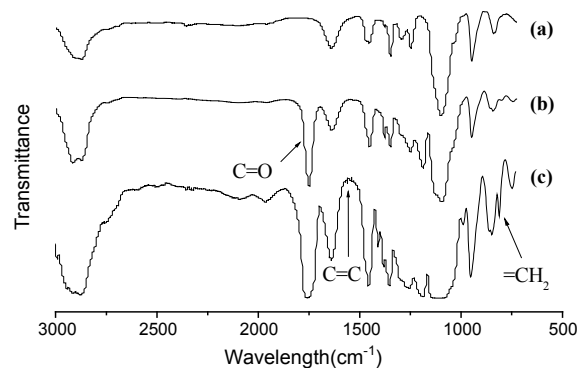


Figure 3. FT-IR analysis of PEG(Mw=2000) (a); PLA-PEG-PLA triblock copolymer(b); diacrylated PLA-PEG-PLA(c).

Table 2. Chemical Composition for the Preparation of Superporous Hydrogels

Sample	Acrylic acid (wt%)	Acrylamide (wt%)	Crosslinker ^a (wt%)	S_{eq}^b	Median pore diameter (μm)	Porosity (%)
A	10	15	5	2920	171.2	78.25
B	10	15	20	230	163.9	75.3
C	10	15	30	110	160.9	57.9
D	10	-	30	100	161.7	85.9

The other chemicals were fixed as the following Pluronic® F127=0.5 wt%, APS=0.6 wt%, TEMED=0.4 wt%, sodium bicarbonate=5 wt%.

^aDiacrylated PLA-PEG-PLA triblock. ^bEquilibrium swelling ratio in distilled water.

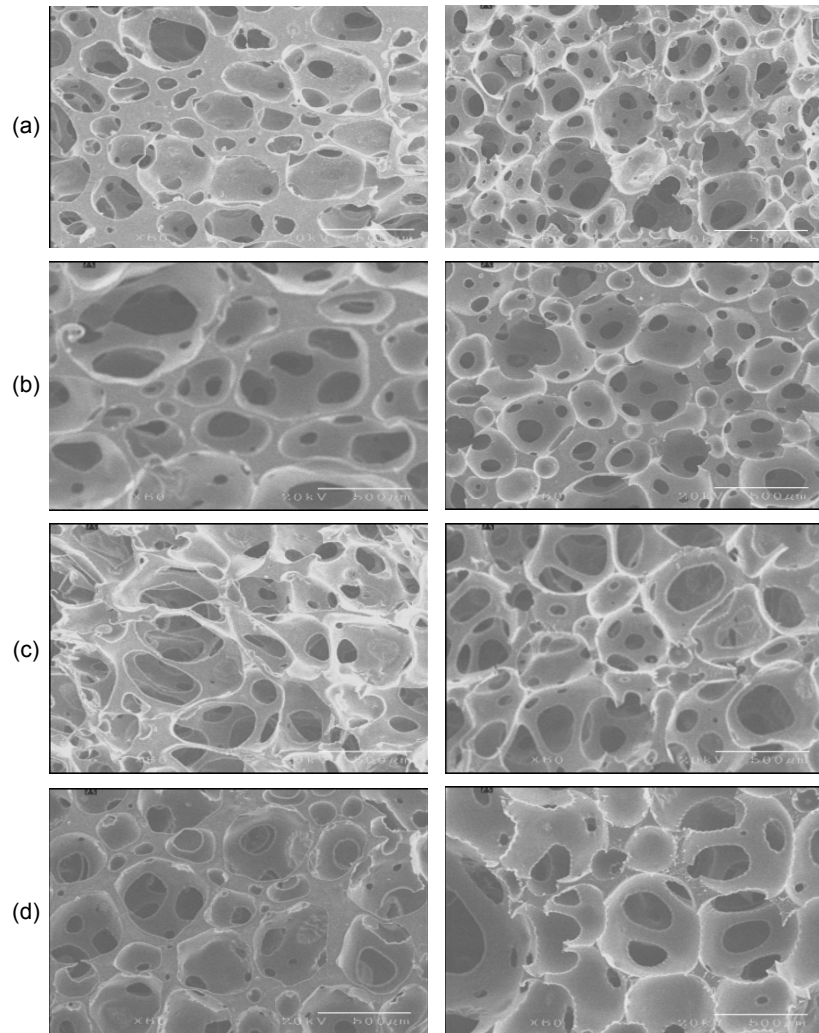


Figure 4. Scanning electron micrographs of the conventional superporous hydrogels(a); biodegradable superporous hydrogels (Sample A, B, C) (b~d); left-surface, right-inside.

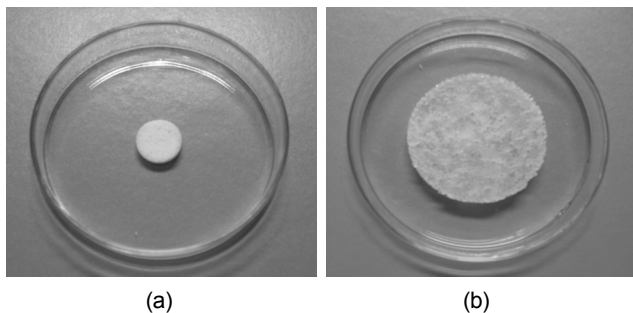


Figure 5. Images of biodegradable superporous hydrogel at dried(a); swollen(b) state.

크기의 변화는 크지 않지만 사용된 PLA-PEG-PLA DA 가교제의 양이 5, 20, 30 wt%로 증가할수록 수화젤 내부의 밀도증가에 의해 다공도가 각각 78, 75, 57%로 점차 감소하는 경향을 나타내었다. Table 2의 (D)는 사용된 가교제의 양은 샘플 (C)와 동일하지만 단량체로 10 wt% acrylic acid 만으로 이루어진 수화젤로 사용된 단량체

양의 감소로 porosity는 85.9% 정도로 상당히 증가됨을 관찰할 수 있었다.

팽윤거동. 실온의 증류수와 PBS(pH 7.4)에서 수화젤의 팽윤 거동을 조사하였다. Figure 5은 생분해성 초다공성 수화젤의 건조된 샘플의 모습과 물에서 팽윤한 뒤의 모습을 나타낸 사진이다. 팽윤되었을 때 건조된 상태의 크기보다 훨씬 크게 팽윤되고, 그 모양을 그대로 유지하였으며, 다시 건조했을 것을 원래의 모습과 크기로 돌아가는 전형적인 화학적 젤(chemical gel)의 특성을 확인할 수 있다. 샘플(A)의 경우 높은 함수율로 인해 물성이 너무 약해 무게의 반복적인 측정이 어려워 일정시간이 지난 후 팽윤 평형상태일 때만을 측정하였다. Figure 6에 나타나 있듯이 샘플 (B)와 (C)의 경우 증류수와 PBS에서 모두 약 20~30초 만에 평형상태에 도달하는 우수한 속팽윤성을 보였다. 팽윤도는 PBS에서보다 증류수에서 높게 나오는데, 이는 PBS 용액에서보다 증류수에서 수화젤의 삼투압이 크게 작용하기 때문이다. 팽윤도는 수화젤의 가교밀도와 반비례하는 경향이 있으므로, 가교제의 양이 많을수록 평형상태에서의 팽윤도가 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 고분자 가교제의 양이 증가할수록 가교도가 높아지고, 밀도도 높아지므로,

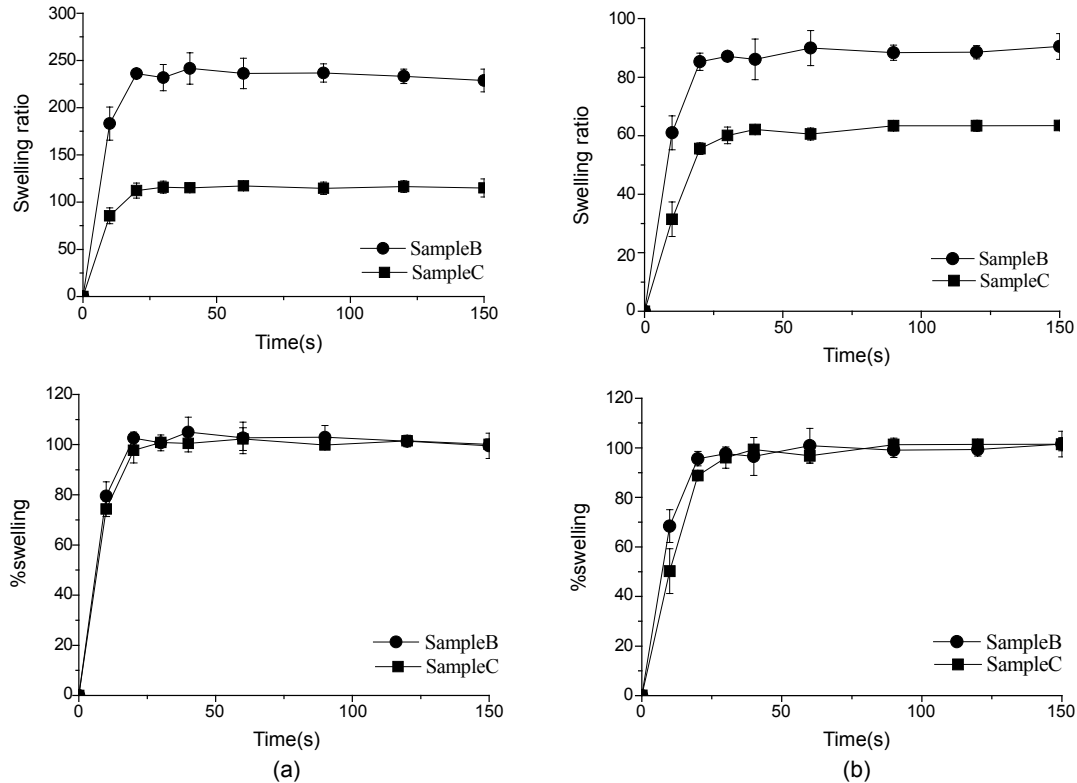


Figure 6. Swelling kinetics of biodegradable superporous hydrogels in distilled water (a); PBS (pH 7.4) (b) at room temperature.

고분자 사슬의 유동성을 감소시켜 이완을 방해하기 때문에 수화젤의 크기가 감소하고 팽윤도 또한 감소하는 것으로 사료된다.

한편, 가교제의 양이 많을수록 팽윤속도가 빨라지는 것을 관찰할 수 있었는데, 이는 가교제로 사용한 삼중공중합체가 친수성인 PEG와 소수성인 PLA로 이루어져 가교제의 양이 늘어나면서 친수성 고분자인 PEG의 함유량도 함께 늘어나 전체적으로 수화젤 내부구조의 친수성도가 증가하기 때문일 것으로 사료된다. 또한, 삼중공중합체가 계면활성을 띠는 구조이므로 계면장력을 낮춰줌으로써 물의 유입이 보다 빨라졌을 것이라 사료된다. 가교제의 양에 따른 수화젤의 표면 친수성 정도를 알아보기 위하여 접촉각을 측정하였다. 접촉각 측정은 초다공성 구조를 갖는 수화젤의 경우 직접 측정이 불가능하므로, 똑같은 화학적 조성을 가지나 발포과정을 거치지 않아 비다공성을 갖는 수화젤을 필름형태로 제조하여 측정에 이용하였다. Figure 7에서 보여 지는 바와 같이 생분해성 가교제가 들어가지 않은 일반적인 수화젤이 87.0으로 가장 높았으며, 생분해성 가교제가 들어간 수화젤의 경우 각각 49.1, 43.4, 34.4로 측정되어 생분해성 가교제가 많이 들어갈수록 접촉각도 낮아짐을 알 수 있었다. 모세관현상은 기질표면의 친수성과 직접적인 관련이 있으므로, 기존의 상대적으로 친수성이 낮은 일반적인 초다공성 수화젤의 팽윤속도보다 훨씬 빠르게 팽윤된다는 것을 알 수 있었다. 팽윤도에 있어서는 일반적인 수화젤과 비교하여 상대적으로 낮게 나타나는데, 이는 내부적으로 소수성 PLA 블록의 존재와 고분자 가교제를 사용하여 분자간 얽힘과 같은 물리적인 가교요인의 증가가 원인일 것으로 사료되고, 그럼에도 불구하고 일반적인 수화젤과 비교할 때 높은 팽윤도를 보인다.

분해거동. 생분해성 수화젤의 분해실험은 37 °C의 증류수와 PBS

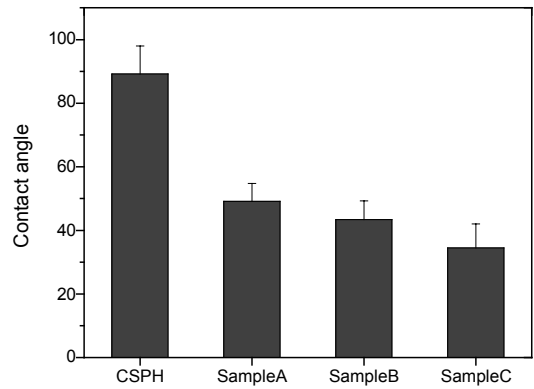


Figure 7. Contact angles of conventional superporous hydrogels and biodegradable superporous hydrogels.

(pH 7.4)에서 각각 진행하였고 Figure 8에 나타냈다. 속팽윤성 수화젤이 완전히 분해되어 용액상태까지 되는데 걸리는 시간은 가교제의 함량에 따라 50~105일 정도가 걸렸고, PBS에서는 10~32일이 걸렸다. 가교제의 양이 증가할수록 분해시간은 길어짐을 알 수 있었다. 속팽윤성 수화젤은 팽윤하여 평형상태까지 이른 후에 분해과정에서 무게가 다시 늘어나 2차 팽윤이 일어나게 된다. 이는 생분해성 가교제가 분해되면서 가교밀도가 낮아지고, 수화젤 내부의 친수성이 점차 증가하기 때문이다. 수화젤 샘플들은 가수분해로 인해 시간에 따라 부피팽창과 함께 팽윤도가 증가하지만, 일정 시간이 지나면서 가교사슬들이 완전히 끊어져 수용해되는 부분이 생기면 오히려 무게가 감소하고, 마지막 단계에서는 모든 샘플이 수용해되어 형체가 사라지면서 수용액상

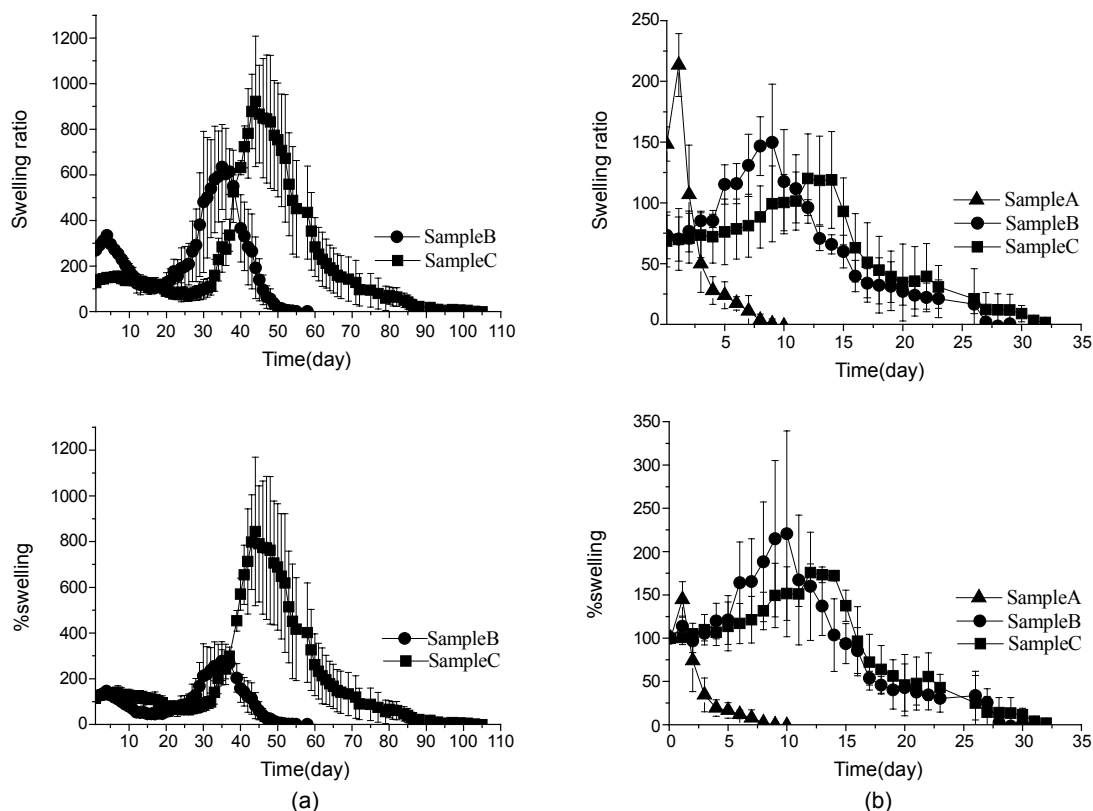


Figure 8. Degradation kinetics of biodegradable superporous hydrogels in distilled water (a); PBS (pH 7.4) (b) at 37 °C.

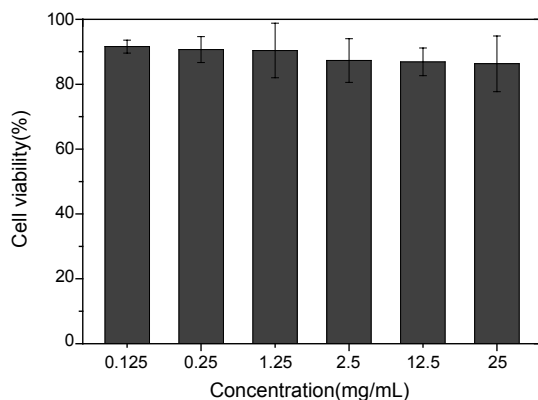


Figure 9. Cytotoxicity of biodegradable superporous hydrogel in HepG2 cells for 24 hr using MTT assay (n=3).

태로 전환되어 진다. 분해과정이 완전히 끝나 측정가능한 수화젤의 무게가 0이 되어 완전히 물이 녹아있는 형태가 될 때 분해가 완료된 시점으로 간주하였다. PBS에서는 용액내 이온들과 염들의 존재로 가수분해가 증류수보다 가속화되어 더 빨리 분해가 이루어졌다.

세포독성. 제조한 생분해성 수화젤의 세포독성 결과를 Figure 9에 나타냈다. 이는 용출액 200 μ L의 원액 또는 원액을 적정 농도로 희석한 시험액을 세포에 가하여 얻은 결과이다. 구체적인 시험 방법은 Geever (2008)의 논문을 참조하였으며,²¹ ISO 10993-5를 기준으로 세포독성을 평가하였다. 저농도에서는 높은 세포생존율을 나타내었고, 2.5 mg/mL의 농도에서 $87.3 \pm 6.7\%$ 의 세포생존율을 나타내는 등 전반적

으로 실험범위의 모든 농도에서 세포독성이 매우 낮은 것으로 나타났다.

결론

수화젤은 친수성 고분자의 3차원 망상구조로 물속에서 팽윤하나 녹지는 않으며 친수성과 생체적합성으로 인하여 생체재료분야나 약물전달시스템에서 널리 연구되어 왔다. 본 연구에서는 기존의 속팽윤성과 고흡수성을 갖는 수화젤의 제조에서 나아가 생분해성을 부여한 생분해성 초다공성 수화젤을 제조하였다. 합성된 PLA-PEG-PLA 삼중공중합체가 초다공성 수화젤의 제조시 생분해성 가교제로 효과적으로 사용될 수 있었고, 가교제의 양의 증가에 따라 팽윤도와 생분해 속도를 조절할 수 있었다. 생분해성 공중합체의 조성비는 합성조건에 의해 변환이 가능하다는 점에서 다양한 조성의 생분해성 가교제를 사용할 경우 보다 넓은 범위에서 팽윤성과 생분해성이 조절가능하리라 기대된다. 본 실험에서 합성한 생분해성 초다공성 수화젤은 속팽윤성, 고흡수성, 생분해성, 및 낮은 세포독성 등의 특징들을 갖고 있고, 다양한 고분자 재료를 이용하여 수화젤의 공극크기, 가교제의 친수성/소수성 비의 조절을 통해 여러 물리화학적 특성들을 조절함으로써 앞으로 더욱 다양한 의학학 분야에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글: 본 논문은 2008년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(08142의료기372)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. K. Park, W. S. W. Shalaby, and H. Park, *Biodegradable hydrogels for drug delivery*, Technomic Publishing Co., Lancaster, 1993.
2. H. Omidian, J. G. Rocca, and K. Park, *J. Control. Release*, **102**, 3 (2005).
3. K. M. Huh, N. Baek, and K. Park, *J. Bioact. Compat. Pol.*, **20**, 231 (2005).
4. K. Kabiri, H. Omidian, S. A. Hashemi, and M. J. Zohuriaan-Mehr, *Eur. Polym. J.*, **39**, 1341 (2003).
5. N. Kato and S. H. Gehrke, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **38**, 191 (2004).
6. K. Park and H. Park, U.S. Patent 5,352,448 (1998).
7. J. Chen, H. Park, and K. Park, *Biomed. Mater. Res.*, **44**, 53 (1999).
8. S. K. Bajpai, M. Bajpai, and L. Sharma, *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.*, **43**, 507 (2006).
9. K. L. Spiller, S. J. Laurencin, D. Charlton, S. A. Maher, and A. M. Lowman, *Acta Biomater.*, **4**, 17 (2008).
10. K. Kabiri and M. J. Zohuriaan-Mehr, *Macromol. Mater. Eng.*, **289**, 653 (2004).
11. L. Yin, L. Fei, F. Cui, C. Tang, and C. Yin, *Biomaterials*, **28**, 1258 (2007).
12. H. Omidian, J. G. Rocca, and K. Park, *Macromol. Biosci.*, **6**, 703 (2006).
13. K. Park, *Drug Deliv. Technol.*, **2**(5), July/August (2002).
14. J. Chen, W. E. Blevins, H. Park, and K. Park, *J. Control. Release*, **64**, 39 (2000).
15. F. A. Dorkoosh, J. C. Verhoef, G. Borchad, M. Rafiee-Tehrani, J. H. M. Verheijden, and H. E. Junginger, *Int. J. Pharm.*, **247**, 47 (2002).
16. S. J. Im, Y. M. Choi, E. Subramanyam, K. M. Huh, and K. Park, *Macromol. Res.*, **15**, 363 (2007).
17. J. H. Ha, S. H. Kim, S. Y. Han, Y. K. Sung, Y. M. Lee, I. K. Kang, and C. S. Cho, *J. Control. Release*, **49**, 253 (1997).
18. W. E. Hennink and C. F. van Nostrum, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **54**, 13 (2002).
19. J. H. Im, Y. Lee, and K. M. Huh, *Polymer(Korea)*, **32**, 143 (2008).
20. G. He, L. L. Ma, J. Pan, and S. Venkatraman, *Int. J. Pharm.*, **334**, 48 (2007).
21. L. M. Geever, C. C. Cooney, J. G. Lyons, J. E. Kennedy, M. J. D. Nugent, S. Devery, and C. L. Higginbotham, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **69**, 1147 (2008).