

생체적합성 고분자를 사용한 다층 조립 구조 캡슐의 제조와 특성

전우홍*** · 김광연* · 김규현*** · 하창식*†

*부산대학교 고분자공학과
609-735 부산시 금정구 장전동 산 30
**한국의류시험연구원 부산지원
612-020 부산시 해운대구 우동 1470
***동서대학교 에너지/생명공학부
617-716 부산광역시 사상구 주례2동 산 69-1번지
(2009년 11월 4일 접수, 2009년 11월 28일 채택)

Preparation and Characterization of Multilayer Microcapsules using Biocompatible Polymers

Woohong Jeon***, Gwang Yeon Kim*, Gue-Hyun Kim*** and Chang-Sik Ha*†

*Department of Polymer Science and Engineering, Pusan National University, 30 Jangjeon-dong, Geumjeong-gu, Busan 609-735, Korea

**Korea Apparel Testing and Research Institute, 1470 U-dong, Haeundae-gu, Busan 612-020, Korea

***Energy and Bio Engineering, Dongseo University, San 69-1, Churye-2-dong, Sasang-gu, Busan 617-716, Korea

(Received 4 November 2009; accepted 28 November 2009)

요 약

본 논문에서는 생체적합성 고분자들의 자기 조립 특성을 이용하여 마이크로 단위의 캡슐을 제조하여, 캡슐 내부에 단백질을 넣고 시간과 pH에 따른 방출 거동을 고찰하였다. 본 연구에서는 키토산과 헤파린 그리고 알지네이트를 사용하여 동공(hollow) 캡슐을 제조하였다. 멜라민과 포르말데히드를 일정 비율로 혼합하여, 표면에 전하를 가지는 마이크로 단위의 core를 제조한 후, 음전하를 가지는 헤파린 혹은 알지네이트를 core 위에 흡착시키고, 양전하를 띠는 키토산을 흡착시킨 후, core 위에 교대로 흡착시켜 Multilayer를 형성시켰다. 4 층을 쌓은 후에 HCl을 이용하여 pH 2로 조절하면, core는 제거되고 속이 비어 있는 캡슐을 제조할 수 있었다. 동공 캡슐은 투과전자현미경, 표면주사현미경 및 광학현미경으로 관찰하였다. 이러한 캡슐은 pH에 따라서 각기 다른 거동을 보이는데, 본 연구에서는 내부에 FITC-albumin을 넣어 UV분광기로 방출되는 상대적인 양을 관찰한 결과, 키토산-헤파린 캡슐과 키토산-알지네이트 캡슐은 각기 다른 pH에서 개폐됨을 알 수 있었다.

Abstract – The aim of this work is the fabrication of polyelectrolyte microcapsules composed of biocompatible polymers such as chitosan, heparin and alginate, to encapsulate the fluorescein isothiocyanate(FITC)-albumin, and to investigate the protein release behavior therefrom. Polyelectrolyte capsules with 4-layer structures could be prepared with biocompatible materials by oppositely charged adsorption using melamin-formamide as a template. Transmission electron microscope(TEM), scanning electron microscope(SEM) and optical microscope confirmed hollow capsule structures. Protein release before and after encapsulation was monitored with a UV-Vis spectrometer. Microcapsules have different behaviors depending on the kind of polyelectrolyte polymers, chitosan-heparin capsules or chitosan-alginate capsules. In conclusion, the polyelectrolyte multilayer shells can be switched between an open and closed state by means of tuning the pH value.

Key words: Microcapsule, Biocompatible, Polyelectrolyte Multilayer, pH, Chitosan, Heparin, Alginate

1. 서 론

최근 들어 고분자전해질 다층구조로 이루어진 마이크로 미터 및 그 이하 크기의 캡슐이 많은 주목을 받고 있다[1,2]. 기본적으로 이

방법은, 다가이온들의 흡착이 포화를 이루게 되면, 그에 따라 각 층이 적층된 후 박막 최종 표면의 전하성질이 바뀌지게 되는 원리를 응용한다. 이 방법은 1 nm의 분자 조성보다 더 나은 정밀도로 초박막 다층구조의 설계를 가능하게 한다. 이를 위해 나노미터 크기 혹은 마이크로미터 크기의 여러 가지 주형(template)(0.1~5 마이크로 미터의 콜로이드 입자, 즉, 라텍스 구(sphere), 지방질 튜브, 미세결정, 생체 세포 및 기타 콜로이드 등)이, 고체 담지체 위에 다층구조를 축조하

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: csha@pnu.edu

‡이 논문은 KAIST 김상돈 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

는 공정들에 적용되어져 왔다. 이러한 캡슐들은 주로 콜로이드 주형입자들의 표면에 반대전하를 가진 고분자전해질을 적층 구조로 흡착시키고 나중에 주형의 중심부위를 제거하는 방법으로 제조되어 왔다[3,4].

콜로이드의 중심 부분을 분해시키게 되면 동공의(hollow) 고분자 전해질 캡슐이 얻어지게 되는데[5-10], 캡슐의 크기는 주로 콜로이드 중심부의 크기로 결정된다. 캡슐은 지름이 0.1~10 μm 범위로 만들어졌다. 벽의 두께는 층수에 의존하고 나노미터 범위로 조절할 수 있다. 다층 물질의 양은 표면의 미터 제곱 당 밀리그램으로 조절되어질 수 있다. 캡슐의 중요한 성질 중 하나로 분자량이 500보다 큰 것은 고분자전해질 다층들을 투과할 수는 없지만, 반면에 작은 분자량과 이온들은 확산을 통해 투과가 가능하다[5,6].

캡슐은 껍질 성분으로 다양한 물질을 사용하여 제조하게 된다. 천연 혹은 합성 고분자전해질, 단백질, 핵산, 무기나노입자, 염료 그리고 지질들이 동공 캡슐을 만드는데 연구되었다. 그리고 일정한 수준의 분자들의 투과성과 나노미터 범위에서의 두께와 같은 껍질의 성질은 우리가 바라는 껍질의 특징에 잘 맞게 조절할 수 있다[11]. 이러한 캡슐들은 다양한 범위의 분자로 채워질 수 있다. 특히, 캡슐 안쪽뿐만 아니라 바깥쪽에 위치한 고분자전해질은 캡슐 껍질을 가로지르는 pH-구배의 원인이 되기도 한다[5,12].

다층(multilayers)들은 대부분, 양으로 대전된 poly(allylamine) hydrochloride(PAH) 또는 음으로 대전된 poly(sodium styrene sulfonate)(PSS)를 교대로, 정전기적인 흡착 방법으로 자기 조립시켜 만든다[13]. 그렇지만 PSS와 PAH는 생체적합성이 없는 것으로 알려져 있다. 그런 까닭에 본 논문에서는, 나중에 제조된 캡슐이 인체에 무해한 약물방출시스템 등으로 응용가능하게 하기 위해 생체적합성 캡슐을 제조하였다. 다가양이온(polycation) 층으로 키토산, 그리고 다가음이온(polyanion) 층으로 헤파린을, 생체적합성 고분자로 사용했다. 음전하 물질로는 알지네이트를 사용했다.

본 논문의 목적은 FITC-알부민을 피막 형성시킨 생체적합성 고분자 즉, 키토산, 헤파린 그리고 알지네이트로 구성된 고분자전해질 캡슐을 제조하고 그 단백질 방출 거동을 연구하는 것이다.

2. 실험

2-1. 시약 및 방법

2-1-1. 시약

주형(Template)으로 사용된 Melamine(Mw 126.12)과 formaldehyde(Mw 30.03, 37% solution)는 Sigma Aldrich에서 구입하였다. Chitosan(Mw 30,000)은 Showai Chemical Co.에서 구입하였다. 높은 분자량 때문에 물에 용해되어지지 않기 때문에 분자량 감소를 위해 전처리를 수행했다. Heparin(Mw 15,000), alginic acid sodium salt(Mw 15,000) 그리고 fluorescein isothiocyanate(FITC)-labeled albumin은 Aldrich에서 구매하였다. Sodium nitrite(NaNO₂) 및 sodium borohydride(NaBH₄)는 각각 Junsei Chemical Co.) 및 Wako Pure Chemical Industries에서 구입하였다. 위에서 열거한 모든 시약들은 추가 세정 없이 그대로 사용했다.

2-1-2. 주형(Template)

Melamine(6.3 g, 0.05 mol)과 formaldehyde(7.5 g, 0.25 mol)는 진동 속도 400 rpm으로 유지하며 혼합하였고, 반응 온도는 80에서 85 °C 정도로 유지하였다. 반달 타입의 교반기를 갖춘 4구의 동근 플라스크 500 mL, 온도계 그리고 작은 용결기를 갖춘 반응기를 사용

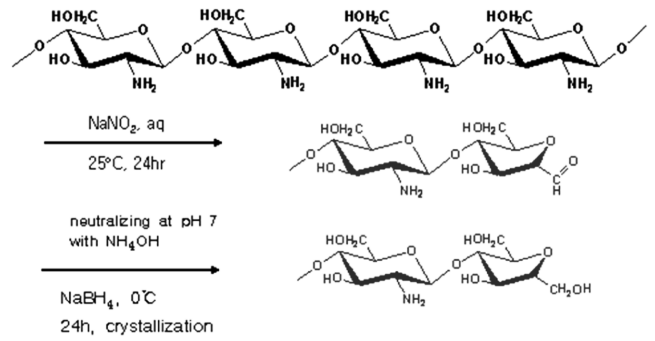


Fig. 1. Depolymerization process of chitosan.

하였다. 물에 녹여진 혼합물의 pH는 1 N NaOH를 사용해 8~9로 조정하였다. 100~120분 정도 반응을 진행시킨 후, 10%의 citric acid 용액을 추가하여 혼합물의 pH를 다시 4~6으로 조정하였다[13].

2-1-1-2. 다가 양이온(Polycation)

양으로 대전된 물질로는 키토산을 사용했다. 키토산은 비 독성, 비면역원성, 생분해성, 그리고 생체적합성인 고분자이다. 낮은 분자량의 키토산은 Fig. 1과 같이 준비하였다.

0~4 °C에서 물(50 ml)에 녹인 NaNO₂(0.488 g, 7.08 mmol) 용액을 일정한 교반과 함께 5%의 수용성 아세트 산(100 ml)에 녹인 키토산(0.5 g) 용액에 추가하였다. 이 혼합물을 0~4 °C에서 9시간 교반했고, 그리고 농축된 수용성 암모니아로 중화시켰다. NaBH₄를 추가한 용액을, 실내 온도(23 °C)에서 하루정도 교반한 뒤 최종 다가양이온으로 사용하였다.

2-1-1-3. 다가 음이온(Polyanion)

본 연구에서는 항혈전성 고분자인 헤파린과 천연고분자, 알지네이트 나트륨을, 음으로 대전된 생체적합성 고분자로 선택하였다.

알지네이트는 수용성 용액에서 이가 양이온을 첨가하면 이온 교가 된다. 알지네이트는 단백질, 폴리펩타이드 그리고 합성 고분자를 포함하는 다가양이온(polycation)들에 의해 강한 복합체를 형성하는 것으로 잘 알려져 있다[14].

2-2. 캡슐 제조

Fig. 2는 키토산/헤파린 캡슐을 제조하는 과정을 나타낸 것이다. 먼저 물(10 ml)에 키토산(20 mg, 2.0×10⁻³ mmol)과 헤파린(20 mg, 1.3×10⁻³ mmol)을 녹였다. 음으로 대전된 고분자 용액 10 mL에 5

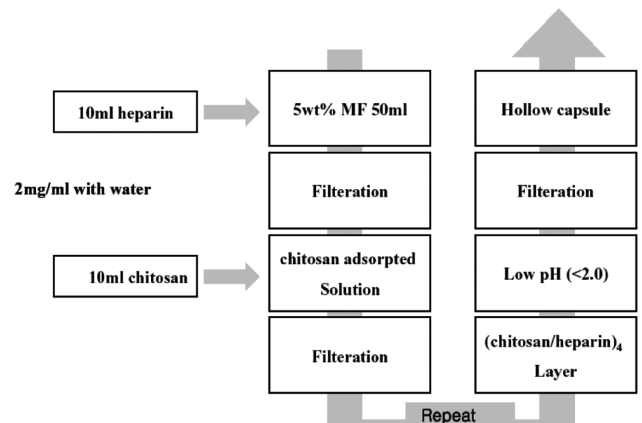


Fig. 2. Preparation of (chitosan/heparin)₄ multilayer capsules.

wt% Melamin-Formaldehyde(MF)-입자 용액(50 mL)을 추가하고, 흡착 침투를 위해 15분 동안 둔 후, 여과를 통해 반응되지 않은 다가음이온을 제거했다. 그런 다음 증류수로, 개질된 입자를 세척하였다. 두 번째 단계로, MF 입자에서 음으로 대전된 고분자와 함께 수용성 키토산을 추가 흡착시키고, 과잉의 다가양이온은 여과로 제거시켰다. 같은 절차를 반복하여, 키토산/헤파린 4층으로 된 껍질(shell)을 형성시켰다. 그 후, 용액의 pH 값을 2로 떨어뜨린 후, MF-입자를 용해시킨 뒤, 빈 껍질인 MF-찌꺼기를 제거하기 위해 물로 세척하여 최종의 원하는 동공 캡슐을 얻을 수 있었다[3].

2-3. FITC-라벨된 알부민의 캡슐화

0.2 ml 캡슐을 물에 분산시키고, 용액 pH가 2에 도달될 때까지 0.1 M HCl 용액을 추가하였다. 다음 0.2 ml의 fluorescein isothiocyanate (FITC)-라벨된 알부민 용액(1 mg/1 ml)을 4층의 고분자전해질 캡슐과 혼합하였다. 이 혼합물을 실내 온도에서 15분 정도 놓아두었다가 물로 세 번 세척하여 최종 캡슐을 얻었다.

2-4. 측정

HITACHI사의 H-7500 80 kV 투과전자 현미경을 사용하여 TEM 사진을 얻었다. TEM 촬영용 시편은, 초음파 파동 진동에 의해 물에 분산시킨 뒤 침전된 것을, 구리 격자 구멍이 있는 carbon file에서 건조시켜 준비하였다. 2,000X 배율로 촬영을 하였다.

최종 생성물의 형태는 15 kV 전압으로 작동된 HITACHI사의 S-4200 Scanning electron microscopy(SEM)으로 관찰하였다. SEM 측정에 앞서, 시료는 glassy carbon으로 만들어진 carrier 위에 올려진 뒤 금으로 코팅하였다.

캡슐의 사진은 BX51, OLMPUS 편광 현미경으로 얻었다. 1.4 구경을 가진 100× 오일 잠금 장치가 사용되었다.

전해질 캡슐 내에 담긴 FITC-라벨된 알부민 방출의 연구는 농도 측정에 의해 가능했다. 캡슐화하기 전 후의 단백질 방출은 Kontron Instrument Uvikon 860 분광광도계로 측정하였다. 마이크로캡슐로부터의 FITC-라벨된 알부민의 방출은 490 nm의 UV 흡광도로 측정하였다. 0.2 ml 캡슐을 물에 분산시킨 후, 용액 pH가 2에 도달될 때까지 0.1M HCl 용액을 추가하였고, 0.2 ml의 fluorescein isothiocyanate (FITC)-라벨된 알부민 용액(1 mg/1 ml)을 4층의 고분자전해질 캡슐과 함께 혼합하였다. 이 혼합물을 실내 온도에서 15분 정도 두었다가, 여과작업을 통해 과잉의 라벨된 알부민 용액을 제거하였다. 라벨된 알부민을 담은 캡슐은 물로 3회 세척하였고, 다시 여과작업을 통해 최종 캡슐을 얻었다.

각기 다른 pH의 용액에서 FITC-라벨된 알부민 방출량의 측정을 위해, 얻어진 캡슐은 0.1 M HCl로 pH 2와 8로 조절된 용액에 각각 분산시켰으며, 시간에 따른 FITC-라벨된 알부민의 방출량을 측정하였다. 시간은 최초 1시간 내에서는 10분 간격으로 측정하였으며, 1시간 이후는 20분 간격으로 측정하였다. 또한, pH에 따른 FITC-라벨된 알부민 방출량을 알기 위해, 0.1 M HCl 용액을 추가하였고 pH를 0.5 단위로 조절하였으며, 각 pH에서 FITC-라벨된 알부민의 농도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 공동 캡슐의 형태

과잉의 고분자전해질은 침전시키고, MF core는 낮은 pH의 수용

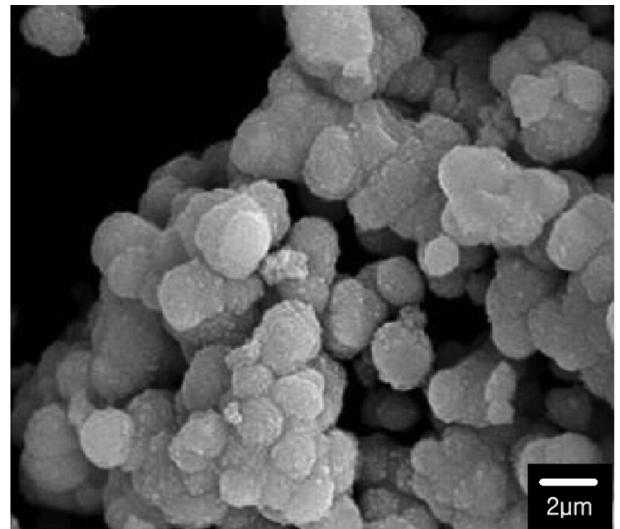


Fig. 3. SEM image of (chitosan/heparin)₄ layer capsules after removing the MF core.

성 용액에 노출시키면 쉽게 제거된다. 만약 모든 물질을 강산에서 녹인다면, 캡슐은 존재하지 않을 것이다. 캡슐들의 크기는 처음 지지체인 MF의 크기로 조절이 가능하다. MF의 크기는 멜라민과 포름알데히드의 반응시간에 따라 크기 조절이 가능하다. 캡슐의 벽두께는 양이온과 음이온의 적층 과정을 몇 회 반복하는가에 따라 결정된다. 적층 과정의 반복이 많아질수록 두께는 두꺼워질 것이다.

즉, 주형(template)인 MF의 제조시 반응시간을 달리하면, 다양한 크기의 지지체를 만들 수 있고, MF에 다가 양이온과 다가 음이온의 적층 횟수에 따라 캡슐의 크기가 결정된다. Fig. 3은 캡슐의 SEM 사진인데, 주형 제거 후의 마이크로다층 캡슐이 명확하게 관찰된다. SEM을 측정한 이유는 캡슐의 생성여부와 형태(morphology) 관찰을 위해서이다. SEM 측정을 위해서는 시료의 용매를 없애야 하고, 용매가 사라지면서 캡슐들이 aggregate된 이미지로 나타난다. Fig. 4는 속이 빈 캡슐과 그렇지 않은 캡슐의 TEM 사진을 나타낸다. Fig. 4(a)는 pH 7의 물에 불용인 MF 입자를 포함한 캡슐을 나타내고, 반면 Fig. 4(b)는 pH 2의 수용액에 MF 입자를 녹인 후의 동공의 캡슐을 나타낸 것이다. 캡슐의 안쪽 색을 비교해보면 MF를 포함한 것보다 동공의 캡슐 색이 더욱 더 밝음으로서 쉽게 그 차이를 확인할 수 있

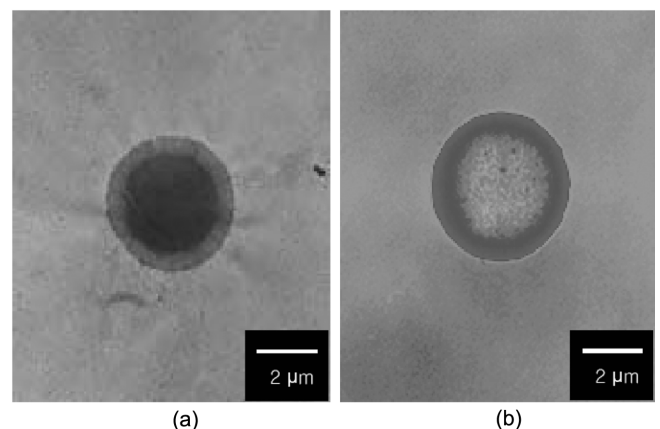


Fig. 4. TEM image of a MF containing capsule (a) and a MF dissolved capsule (b).

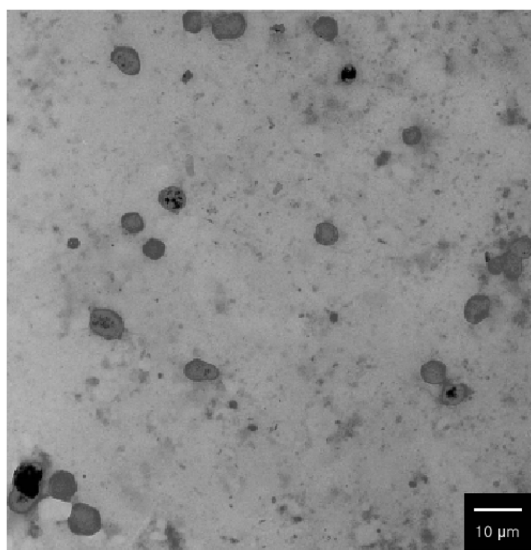


Fig. 5. TEM image of (chitosan/heparin)₄ hollow capsules.

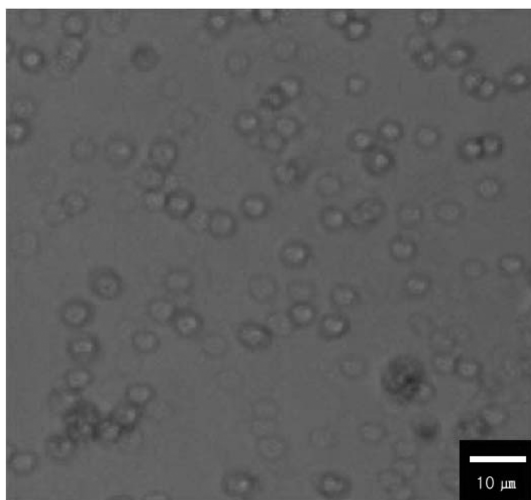


Fig. 6. Optical microscope image of (chitosan/heparin)₄ hollow capsules.

다. Fig. 5는 많은 동공 캡슐의(chitosan/heparin)₄ 복합체의 TEM 사진을 나타낸 것이다.

TEM 사진과 함께, 동공의 크기와 동공 캡슐의 형태를 확인하기 위해 광학 현미경을 이용하였다. Fig. 6과 같이 많은 캡슐이 관찰된다. Fig. 5의 TEM 이미지와 Fig. 6의 광학현미경 사진에서 볼 수 있듯이 캡슐들은 용매 안에서는 분산되어 있다. 각각의 캡슐들은 양전하를 가지는 키토산이 마지막 층으로 캡슐을 둘러싸고 있어, 전기적으로 aggregate되는 것을 방지한다.

이 제조공정의 첫 단계는 생체적합성 고분자로 만들어진 다층 고분자전해질을 준비하는 것이다. 다층 고분자전해질 구조와 성질은 용액의 물리 화학적 파라미터에 크게 의존한다. 겹질 두 개의 고분자전해질 성분 각각은 용액의 조건이 변할 때 구조 또는 성질 변화로 대응한다. 가장 널리 사용된 고분자전해질 쌍 중 하나는, 강한 다가음이온으로서 poly(sodium styrene sulfonate)(PSS)와 상대적으로 약한 다가양이온으로서 poly(allylamine hydrochloride)(PAH)로써, 고분자전해질 내에서의 상호작용의 영향으로 pH 변화에 민감하다 [15,16]. 이 고분자전해질 쌍은 편평하고 콜로이드적인 표면을 가진 다층들의 제조를 위해 광범위하게 사용되었다[17]. 캡슐 벽의 투과

성은 pH에 의해 조절할 수 있고, 동공의 PSS-PAH 고분자전해질 캡슐에서의 고분자 피막형성은 다양한 pH 조절에 의해 가능해 질 수 있다[18].

지금까지 동공 고분자전해질 겹질은 대부분 PSS와 PAH와 함께 M-F를 주형으로 사용하여 제조되었다. 본 논문에서도 같은 방법을 사용하되, 생체 적합성고분자로서, 다가양이온층으로 chitosan, 그리고 다가음이온층으로 heparin을 사용했다. PSS-PAH 계와 같은 비 생체적합성 고분자 캡슐을 본 연구에서는 생체 적합성 고분자로 대체하였지만, SEM, TEM 그리고 광학현미경 사진으로부터 캡슐이 성공적으로 제조될 수 있음을 확인할 수 있었다.

3-2. 고분자전해질 마이크로 캡슐로부터의 단백질 방출

고분자전해질 다층 캡슐은 pH 값의 조율에 의해 개폐되어질 수 있다. 이것은 국소 지점에 나타난 벽의 전하효과에 기인된다. 고분자는 낮은 pH에서 캡슐 안으로 침투한다. 그러나 8보다 높은 pH에서는 들어갈 수가 없게 된다. 이러한 변화는 가역적이며, 이전에 열렸던 캡슐은 입구 위의 간단한 pH 상승에 의해 닫혀 질 수 있다. 이러한 성질은 일반적인 조건하에서 몇 분 내에 다른 물질을 피막 형성시키기 위한 기회를 제공한다[18].

전해질 캡슐 내에 담긴 FITC-라벨된 알부민 방출의 연구는 농도 측정에 의해 가능하다. 단백질 피막형성과 방출은 UV-Vis 분광계로 측정하였다. 마이크로캡슐로부터 FITC-라벨된 알부민의 방출은 490 nm의 UV 흡광도로 측정하였다. 기록시간 간격은 몇 초에서 몇 분 또는 몇 시간까지 다양했다.

캡슐외부에 흡착된 단백질의 양과 내부에 들어간 양을 구별하기는 쉽지 않다. 다만, FITC-라벨된 알부민을 마이크로캡슐 내부에 넣은 후 세정작업 시, 세정시간과 횟수를 늘여 캡슐 외부의 단백질을 최소화하는 것이 바람직할 것으로 생각된다. 이에 대해서는 차후 보완연구를 수행하고자 한다.

Fig. 7은 마이크로캡슐에서 FITC-알부민의 방출을 나타낸다. 이 결과 pH 값이 8인 용액 안에 있을 때 키토산-헤파린 마이크로캡슐은 적은 양의 단백질 밖에 방출되지 않음을 보여줬다. 이것은 아마 캡슐 밖의 층에서 단백질 흡착이 일어나기 때문인 것으로 생각된다. 그렇지만, 마이크로캡슐 현탁액이 HCl 용액에 의해 pH 값이 2인 용액으로 변화되었을 때, 대부분의 단백질은 5시간 내에 방출되었다. 대부분의 캡슐은 수용성 산성 용액에서 pH 값이 6 이상일 때 열려있는 상태로 남아있다. 그러나 90%보다 더 많은 대부분의 캡슐은 pH 값이 8과 그 이상이면 닫혀졌다.

알지네이트는 mucoadhesive한 성질을 가지기 때문에 장 계통, 약물의 이동에 의한 mucodal 약물 전달 운반체로서 성공적으로 작용되어 질 수 있다[13]. 따라서 본 연구에서도 알지네이트를 캡슐로 이용한 연구를 수행하였다. 앞에 설명한 바와 같이, MF 입자를 주형으로 사용하여 (chitosan-alginate)₄ 4층 구조의 전해질 층을 제조하였다. Fig. 8은 키토산-알지네이트 다층 캡슐의 형태(morphology)를 나타낸 것이다.

pH-조절된 피막형성과 수 마이크론 지름의 고분자전해질 캡슐로부터의 고분자의 방출을 연구한 Sukhorukove 등의 논문에 의하면, 5.2 μm의 MF 입자 core를 주형으로 사용하고 8층의 PAH-PSS 캡슐을 제조한 뒤, FITC-라벨된 dextran(분자량 75,000)에 대해 연구한 결과, pH 값이 6 아래에선 캡슐이 열렸고 pH 값이 8 이상일 때에는 닫혔다[13]. 그들의 다른 연구에 의하면, urease 분자는 pH 8 이상에서 캡

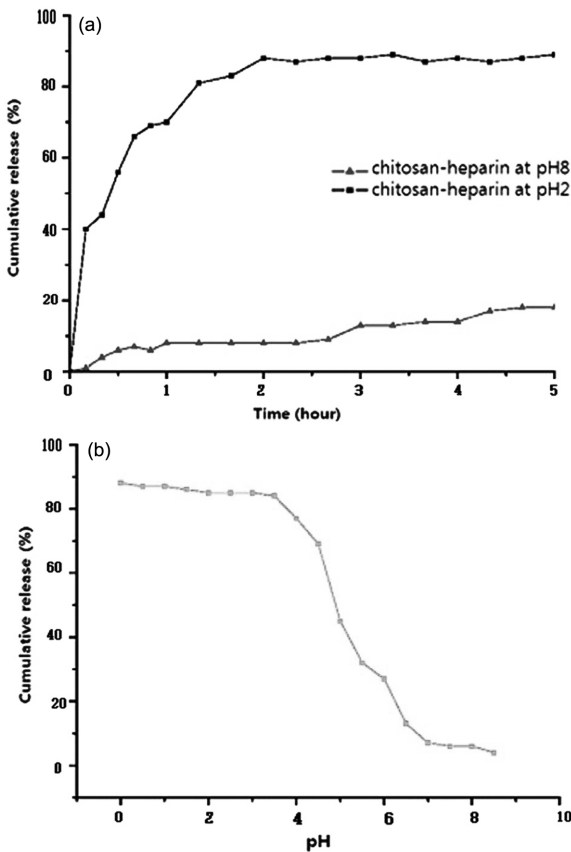


Fig. 7. Release profile of albumin from microcapsules according to the time (a) and pH (b).

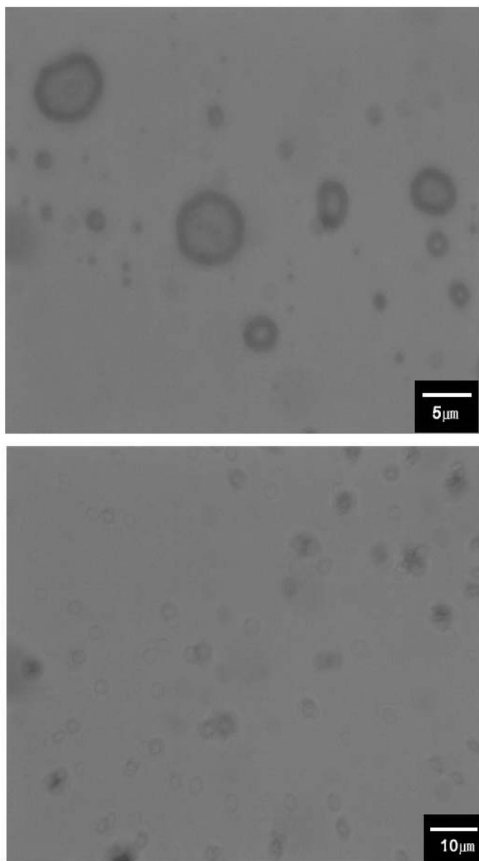


Fig. 8. Optical image of (chitosan-alginate)₄ capsules.

슐을 유지했고 pH 6 아래에서는 열렸다[3].

Antipov 등은 MF 표면에 반대로 대전된 고분자전해질의 layer-by-layer 흡착에 의해 캡슐을 제조한 뒤, core 이동에 따른 CdCO₃ 입자의 움직임에 대해 연구하였다. 그들은 캡슐의 pH 값이 8과 그 이상에서는 닫혔고, 고분자가 캡슐내부에 투과되었을 때는 pH 값이 6보다 이하일 때 열렸다고 보고하였다[18].

이러한 캡슐들과, 키토산-헤파린 캡슐은 비슷한 거동을 보였다. 다층 마이크로캡슐은 pH 값이 6 이하일 때, FITC-라벨된 알부민에 대해 열렸고 pH 값이 8 이상에서는 닫혔다. Fig. 9(a)는 키토산-헤파린 캡슐과 키토산-알지네이트 캡슐에 의한 알부민 방출거동을 비교한 그림이다. 앞서 언급한 바와 같이, 키토산-헤파린 캡슐의 단백질 방출 거동에 따르면, 캡슐 안의 단백질이 pH 8일 때는 방출되어지지 않았고, 반면에 pH 2일 때는 방출되었음을 나타낸다. 대조적으로, Fig. 9(a)에서 알 수 있는 바와 같이, 단백질이 pH 2인 용액에서는 키토산-알지네이트 캡슐로부터 방출이 일어나지 않는다. 그렇지만, 키토산-알지네이트 캡슐이 pH 8인 용액으로 이동되었을 때, 단백질은 방출되었다.

Fig. 9(b)는 pH에 따라 캡슐이 개폐됨을 나타낸다. 키토산-헤파린 캡슐 현탁액의 pH 값이 2로 되었을 때, 캡슐은 pH 2에서 단백질을

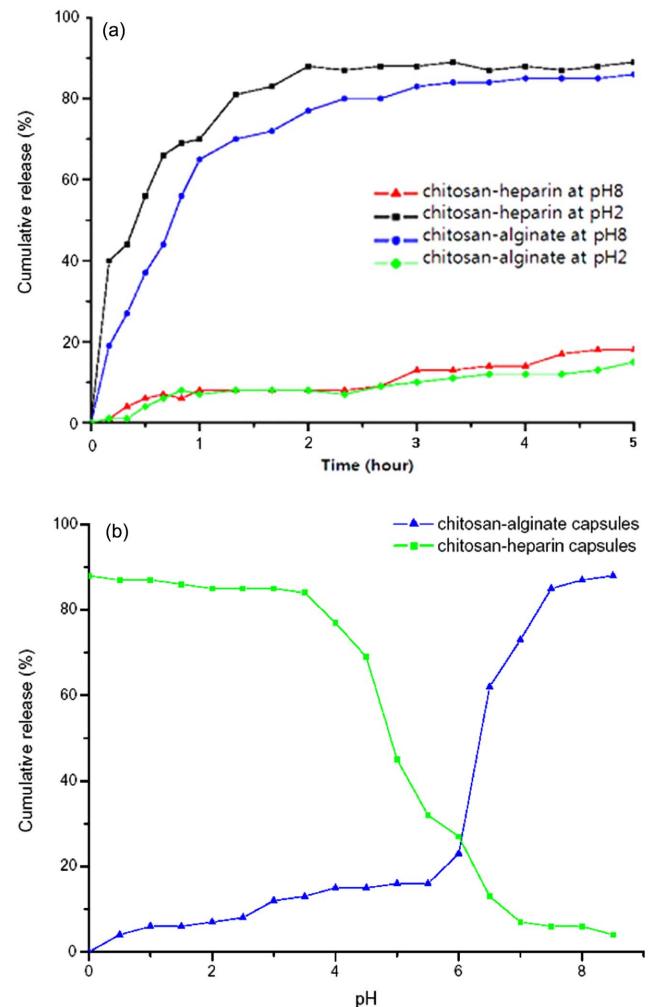


Fig. 9. Comparison of the release profile of the albumin loaded into chitosan-heparin capsules and chitosan-alginate capsules according to time (a) and pH (b).

방출한다. 반대로, 키토산-알지네이트 캡슐 내부의 pH 값이 6일 때 까지는 단백질을 보유하고 있지만 대부분의 단백질은 pH 값이 8과 그 이상일 때는 방출되었다.

캡슐내부에 들어가는 물질의 분자량은 적정 pH에서 캡슐이 열렸을 경우 본 연구에서 사용된 캡슐 벽 구성물질인 키토산, 헤파린, 알지네이트 외에 다른 물질을 사용하여 벽을 구성하고 적층 수를 달리 한다면, 보다 다양한 크기의 분자량을 가진 단백질도 캡슐내부에 담았다가 방출할 수 있을 것이라 생각된다.

이는 마이크로캡슐이 고분자전해질 고분자의 종류에 따라 다른 거동을 가진다는 것을 의미한다. 특히, 본 논문에서 다가음이온 변화에 의해, 다층 캡슐은 pH 값에 의존하여 다른 거동을 가짐을 확인할 수 있다.

약물 전달의 다른 일반적인 방법과 비교해 볼 때, 본 연구에서 수행한 방법은 아래와 같은 이점을 가진다. (i) 마이크로캡슐의 벽두께와 지름은 나노미터의 정밀도로 다양해 질 수 있다; (ii) 캡슐 벽은 다양한 방법에 의해 축조가 가능하고 고분자, 지질, 효소, DNA, 그리고 나노미터 크기의 미립자를 포함할 수 있다[19-22]. (iii) 항원 또는 항체의 흡착은 캡슐의 약물 표적화(targeting)를 가능하게 할 수 있다[23]. (iv) 캡슐로의 주입을 위해 캡슐 사용을 고려한다면 지름이 1 μm 보다 작게 만들 수 있다. 그리고 (v) Coacervate 전달 시스템을 기본으로 한 고분자와 비교해 볼 때, 더욱 적은 'ballast' 물질이 피막 형성 시 요구된다[24].

4. 결 론

본 논문에서는, FITC-알부민을 피막 형성시킨 생체적합성 고분자, 즉, 키토산, 헤파린 그리고 알지네이트로 구성된 고분자전해질 캡슐을 제조하고 그 단백질 방출 거동을 연구하였다.

캡슐의 형태는 TEM, SEM 그리고 광학현미경 사진으로 확인하였다. 이 사진들은 속이 빈 캡슐이 잘 구현되어진 것을 증명하였다. 피막형성 전후의 단백질 방출은 UV-Vis 분광계로 측정하였다. 마이크로캡슐은 고분자전해질 고분자의 종류에 따라 다른 거동을 보였다. 특히 다가음이온(polyanion)으로 다층 캡슐을 제조할 때 pH에 따라 단백질의 방출 거동이 다르게 나타났다. 고분자전해질 다층 껍질은 pH 값의 조절에 의해 다른 개폐 성질을 보여주었다. pH 값이 8인 용액 안에 있을 때 키토산-헤파린 마이크로캡슐은 적은 양의 단백질밖에 방출되지 않음을 보였지만 대부분의 캡슐은 수용성 산성 용액에서 pH 값이 6 이상일 때 열려있는 상태로 남아있었다. 키토산-헤파린 다층 마이크로캡슐의 경우, pH 값이 6 이하일 때, FITC-라벨된 알부민에 대해 열렸고 pH 값이 8 이상에서는 닫혔다. 단백질이 pH 2인 용액에서는 키토산-알지네이트 캡슐로부터 방출이 일어나지 않는다. 그렇지만, 키토산-알지네이트 캡슐이 pH 8인 용액으로 이동되었을 때, 단백질은 방출되었다.

본 연구결과는 새로운 약물 전달체 제조를 위해 효과적으로 응용되어 질 수 있을 것으로 기대된다.

감 사

본 연구는 교육과학기술부가 지원하는 도약연구지원 사업(No. 2009-0078791; 한국연구재단), 한-중 공동연구센터사업(K20807000001-09B1200-00110), 두뇌 한국 21사업 연구비 및 지식경제부 소재원

천기술개발사업의 연구비 지원으로 수행하였으므로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. Sukhorukov, G. B., Donath, E., Davis, S., Lichtenfeld, H., Caruso, F., Popov, V. I. and Mohwald, H., "Stepwise Polyelectrolyte Assembly on Particle Surfaces: a Novel Approach to Colloid Design," *Polym. Adv. Technol.*, **9**, 759-767(1998).
2. Radtchenko, I. L., Sukhorukov, G. B., Leporatti, S., Khomutov, G. B., Donath, E. and Mohwald, H., "Assembly of Alternated Multivalent Ion/Polyelectrolyte Layers on Colloidal Particles. Stability of the Multilayers and Encapsulation of Macromolecules into Polyelectrolyte Capsules," *J. Coll. Interf. Sci.*, **230**, 272-280(2000).
3. Lvov, Y., Antipov, A. A., Mamedov, A., Mohwald, H. and Sukhorukov, G. B., "Urease Encapsulation in Nanoorganized Microshells," *Nano Lett.*, **1**(3), 125-128(2001).
4. Sukhorukov, G. B., Donath, E., Lichtenfeld, H., Knippel, E., Knippel, M., Budde, A. and Mhwald, H., "Layer-by-layer Self Assembly of Polyelectrolytes on Colloidal Particles," *Coll. Surf. A*, **137**, 253-266(1998).
5. Sukhorukov, G. B., Brumen, M., Donath, E. and Mohwald, H., "Hollow Polyelectrolyte Shells: Exclusion of Polymers and Donnan Equilibrium," *J. Phys. Chem. B*, **103**, 6434-6440(1999).
6. Sukhorukov, G., Donath, E., Moya, S., Susha, A. S., Voigt, A., Hartmann, J., Mhwald, H., "Microencapsulation by means of Stepwise Adsorption of Polyelectrolytes," *J. Microencap.*, **17**(2), 177-185(2000).
7. Donath, E., Sukhorukov, G. B., Caruso, F., Davis, S. A. and Mhwald, H., "Novel Hollow Polymer Shells by Colloid-Templated Assembly of Polyelectrolytes," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 2201-2205(1998).
8. Moya, S., Sukhorukov, G. B., Auch, M., Donath, E. and Mhwald, H., "Microencapsulation of Organic Solvents in Polyelectrolyte Multilayer Micrometer-Sized Shells," *J. Coll. Interf. Sci.*, **216**, 297-302(1999).
9. Voigt, A., Lichtenfeld, H., Sukhorukov, G. B., Zastrow, H., Donath, E., Baumler, H. and Mhwald, H., "Membrane Filtration for Microencapsulation and Microcapsules Fabrication by Layer-by-Layer Polyelectrolyte Adsorption," *Ind. Eng. Chem. Res.*, **38**, 4037-4043(1999).
10. Sukhorukov, G. B., Dahne, L., Hartmann, J., Donath, E. and Mhwald, H., "Controlled Precipitation of Dyes into Hollow Polyelectrolyte Capsules Based on Colloids and Biocolloids," *Adv. Mater.*, **12**, 112-115(2000).
11. Sukhorukov, G. B., Mobius, D. and Miller, R(Eds.), "Novel Methods to Study Interfacial Layers, Chapter Designed Nano-Engineered Polymer Films on Colloidal Particles and Capsules," Elsevier, Amsterdam, 384(2001).
12. Radtchenko, I. L., Giersig, I. M. and Sukhorukov, G. B., "Inorganic Particle Synthesis in Confined Micro- sized Polyelectrolyte Capsules," *Langmuir*, **18**(21), 8204-8208(2002).
13. Sukhorukov, G. B., Antipov, A. A., Voigt, A., Donath, E. and Mhwald, H., "pH-Controlled Macromolecule Encapsulation in and Release from Polyelectrolyte Multilayer Nanocapsules," *Macromol. Rapid. Commun.*, **22**, 44-46(2001).

14. Tiourina, O. P. and Sukhorukov, G. B., "Multilayer Alginate/Protamine Microsized Capsules: Encapsulation of α -Chymotrypsin and Controlled Release Study," *Int'l. J. Pharm.*, **242**, 155-161(2002).
15. Kabanov, V. and Zezin, A., "Soluble Interpolymeric Complexes as a New Class of Synthetic Polyelectrolytes," *Pure Appl. Chem.*, **56**, 343-354(1984).
16. Philipp, B., Dautzenberg, H., Linow, K. J., Kotz, J. and Dawydof, W., "Polyelectrolyte Complexes - Recent Developments and Open Problems," *Prog. Polym. Sci.*, **14**, 91-174(1989).
17. Decher, G., "Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites," *Science*, **277**, 1232-1237(1997).
18. Antipov, A., Sukhorukov, G. B., Loporatti, S., Radchenko, I., Donath, E. and Moehwald, H., "Electrolyte Multilayer Capsule Permeability Control," *Coll. Surf., A*, **198**, 535-541(2002).
19. Caruso, F., Caruso, R. and Moehwald, H., "Nanoengineering of Inorganic and Hybrid Hollow Spheres by Colloidal Templating," *Science*, **282**, 1111-1114(1998).
20. Qiu, X., Loporatti, S., Donath, E. and Moehwald, H., "Studies on the Drug Release Properties of Polysaccharide Multilayers Encapsulated Ibuprofen Microparticles," *Langmuir*, **17**, 5375-5380(2001).
21. Lvov, Y., Ariga, K., Ichinose, I. and Kunitake, T., "Assembly of Multicomponent Protein Films by Means of Electrostatic Layer-by-Layer Adsorption," *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 6117-6123(1995).
22. Fang, M., Grant, P., McShane, M., Sukhorukov, G. B., Golub, V. and Lvov, Y., "Magnetic Bio/Nanoreactor with Multilayer Shells of Glucose Oxidase and Inorganic Nanoparticles," *Langmuir*, **18**, 6338-6344(2002).
23. Ichinose, I., Tagawa, H., Lvov, Y. and Kunitake, T., "Formation Process of Ultrathin Multilayer Films of Molybdenum Oxide by Alternate Adsorption of Octamolybdate and Linear Polycations," *Langmuir*, **14**, 187-192(1998).
24. Ai, H., Jones, S., de Villiers, M. and Lvov, Y., "Nanoencapsulation of Furosemide Microcrystals for Controlled Drug Release," *J. Control. Rel.*, **84**, 59-66(2003).