

## 강제유화에 의한 Poly(3-hydroxy butyrate-co-3-hydroxy valerate) 미립자의 제조

이기창<sup>†</sup> · 이성은 · 서형주

경상대학교 고분자공학과 & 생산기술연구소

(1998년 11월 4일 접수)

## Preparation of Poly(3-hydroxy butyrate-co-3-hydroxy valerate) Microspheres by Emulsification Process

Ki-Chang Lee<sup>†</sup>, Sung-Eun Lee, and Hyeong-Joo Seo

Department of Polymer Sci. & Eng., R11, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>†</sup>e-mail : kcleee@nongae.gsnu.ac.kr

(Received November 4, 1998)

요약: 서방성 의약제 지지체로서 사용할 poly(3-hydroxy butyrate-co-3-hydroxy valerate) [poly(3HB-co-3HV)] 미립자 및 미립자덩어리를 다양한 강제유화 조건과 용매증발법에 의해 제조하였다. 이온계 계면활성제인 HTMAB와 SLS를 입자안정제로 사용한 경우 ultrasonication과 homogenizer 유화장치하에서 0.2~0.3  $\mu\text{m}$ 의 입자경을 갖는 우유와 같은 poly(3HB-co-3HV)와 PHB라텍스가 제조되었다. 일반적으로 유화제농도와 교반속도 및 교반시간이 증가함에 따라 입자경은 감소하였으며 고분자용액의 농도와 점도가 증가함에 따라 입자경은 증가하였다. 반면에 비이온계 계면활성제인 gelatine과 PVA를 입자안정제로 사용했을 경우 교반속도에 따라 다양한 입자 크기와 입자형태의 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자가 제조되었다. 즉, 600~900 rpm의 3 blade propeller 교반기를 사용하였을 경우 각각 4~385  $\mu\text{m}$ 과 8~242  $\mu\text{m}$  입자경 범위의 둥근 입자가 생성하였으며 6000~10000 rpm의 Omni mixer를 사용할 경우 각각 0.6~60  $\mu\text{m}$ 과 1~67  $\mu\text{m}$  범위의, sub-micron 크기의 둥근 입자들의 회합에 의해 생성한 입자덩어리가 생성되었다.

**ABSTRACT:** In order to prepare poly(3HB-co-3HV) microspheres as polymeric supports for the uses of controlled drug delivery, various artificial emulsifications with solvent evaporation were carried out. In case of using HTMAB or SLS as an ionic surfactant under ultrasonication and homogenizer, milky-white poly(3HB-co-3HV) and PHB latices with average particle diameter of 0.2~0.3  $\mu\text{m}$  were made. In general, average particle diameter decreased with increasing concentration of surfactant, agitation speed, agitation time, and increased with increasing concentration of polymer solution and its viscosity. On the other hand, in case of using gelatine or PVA as a nonionic surfactant, various sizes and types of poly(3HB-co-3HV) D600G particles were prepared depending on the agitation speed, that is, spherical particles of diameter ranges of 4~385  $\mu\text{m}$  and 8~242  $\mu\text{m}$ , respectively, were formed at 600~900 rpm using 3 blade propeller, and particle-aggregates, consisting of aggregation of sub-micron size particles, of diameter ranges of 0.6~60  $\mu\text{m}$  and 1~67  $\mu\text{m}$ , respectively, were formed at 6000~10000 rpm when using Omni mixer.

**Keywords:** controlled drug release, poly(3HB-co-3HV), artificial emulsification, particle-aggregates, ionic and nonionic surfactant.

## 서 론

미생물에 의한 생합성으로 제조되는 폴리에스테르 즉 poly(hydroxy alkanate) (PHA)는 생분해성 고분자이면서 무독성인 장점을 갖고 있기 때문에 이에 대한 대량생산 합성법과 용도개발에 대한 연구가 선진국을 중심으로 활발히 진행되고 있다.<sup>1-5</sup> 특히, 영국 ICI사와 미국 Monsanto사에서는 *Alcaligenes eutrophus* 균주를 이용하여 poly[3HB-co-3HV (3-hydroxy butyrate-co-3-hydroxy valerate)]를 대량 생산할 수 있는 공정을 개발하여 "Biopol"이라는 상품명으로 시판하고 있다.<sup>6</sup> 이들 PHB와 poly(3HB-co-3HV) 필름들은 대체적으로 기체투과성이 올레핀계 수지보다 우수하여 포장재료로서의 응용이 우선적으로 적용되고 있으나, 향후에는 우수한 혈액 및 조직 적합성, 느린 분해속도, 가공의 용이성, 방출 조절의 용이성 때문에 서방성 의약제 (controlled drug release)를 위한 고분자 미립자 지지체 제조, 외과용 수술봉합사, 상처피복제 및 implantation 등의 다양한 의학적 목적으로서의 사용이 기대되고 있다.<sup>5</sup>

서방성 의약제는 선택적으로 신체의 필요한 부분에 약물을 공급하면서 방출속도와 시간을 효율적으로 극대화함을 목표로 한다.<sup>7,8</sup> 특히, 서방성 의약제를 위한 고분자 지지체는 생분해되어 궁극적으로 몸밖으로 안전하게 배출되어야 하기 때문에 생분해성이면서 무독성을 지녀야 한다. 서방성 의약제는 경구투입 뿐만 아니라 주사를 통한 혈액, 혈청, 근육, 피하 및 세포조직에 공급해야 하므로 가능한 비체적과 입자내부 형태가 다양하고 사용 효율이 뛰어난 다양한 입자경 범위 (0.1~200  $\mu\text{m}$ )의 고분자 미립자 제조에 대한 연구는 중요성을 갖는다.<sup>9-16</sup> 미생물 생합성 폴리에스테르는 미생물에 의한 생합성된 축합고분자이기 때문에 인위적인 방법으로 강제유화하여 고분자 라텍스를 제조해야 한다.<sup>17,18</sup> 현재까지 알려진 서방성 의약제를 위한 생분해성 고분자 지지체는 대부분이 poly(glycolic acid)(PGA), poly(lactic acid)(PLA)와 이들 공중합체로서<sup>9-14</sup> poly(hydroxy alkanate)(PHA)를 이용한 예는 별로 알려진 바가 없다.<sup>16</sup>

본 연구에서는 약물의 서방성 연구에 사용할 다양한 입자경과 입자형태를 갖는 PHB와 poly(3HB-co-3HV) 고분자 미립자를 제조할 수 있는 강제유화

조건을 조사하기 위하여 입자안정제로서 이온계와 비이온계 계면활성제를 사용하여 다양한 교반속도에 따른 입자경과 입자형태를 관찰하였다.

## 실 험

시 약. 본 실험에서 사용한 poly(3HB-co-3HV)는 Monsanto사의 D300G, D400G, D600G이며 500 MHz <sup>1</sup>H NMR 스펙트럼에 의한 HV의 함량분석치는 각각 5, 10, 15 mol%이었다.<sup>6</sup> PHB는 *Alcaligenes eutrophus* 박테리아를 mono-와 dicarboxylic acid의 탄소원 하에서 실험실적으로 배양하여<sup>19</sup> 생합성한 시료를 사용하였으며 고유점도 ( $[\eta]$ )는 3.93 dL/g이었다 (chloroform, 30 °C).

이온 계면활성제로는 hexadecyl trimethyl ammonium bromide (HTMAB, Sigma)와 sodium lauryl sulfate (SLS, Junsei)를 정제함이 없이 그대로 사용하였다. 비이온 계면활성제로서 poly(vinyl alcohol)(PVA)은 일본 Kuraray사 제품으로 검화도가 88%인 K-217 (중합도 : 1700)을 사용하였으며, gelatine은 Sigma사 제품으로 알칼리 처리된 225 bloom을 사용하였다. 이밖에 Triton X-100 (Rohm and Haas), Triton X-405 (Union Carbide), PVP K-30 (Sigma), Pluronic F-67 LF, F-87 Prill, P-85, P-87 Prill (BASF)의 비이온 계면활성제를 정제함이 없이 사용하였다. 참고로 본 연구에서 사용한 이온 및 비이온계 입자안정제의 HLB값은<sup>20</sup> Table 1과 같다. 용제 및 분산매로는 chloroform과 dichloromethane (덕산화학), 탈이온 증류수를 사용하였다.

고분자 미립자 제조. 본 실험에서 사용한 강제유화법은 용매증발법으로서<sup>14</sup> Fig. 1과 같은 공정을 이용하여 고분자 미립자를 제조하였으며, 사용한 강제유화 장치는 ultrasonication (Fisher sonic, 20 KHz, 200 W), homogenizer (CAT X-1030D, 12500 min<sup>-1</sup>), Sorvall® Omni mixer (DuPont instrument, maximum rpm : 16000), 3 blade propeller를 갖춘 교반기 (500~1000 rpm)이었다.

계면활성제 종류에 따라 다음과 같은 유화공정을 사용하여 고분자 미립자를 제조하였다.

이온계 계면활성제를 사용한 강제유화: 0.0067~

**Table 1. HLB Values of Ionic and Nonionic Particle Stabilizers**

	stabilizer	HLB <sup>20</sup>
ionic	HTMAB	-
	SLS	40
	gelatine	-
	PVA K-217	-
	triton X-100	13.5
nonionic	triton X-405	17.9
	PVP K-30	-
	pluronic F-67LF	30.5
	pluronic F-87 prill	24.5
	pluronic P-85	16.0
	pluronic P-87 prill	15.0

0.134 g의 HTMAB (양이온 계면활성제) 또는 SLS (음이온 계면활성제)를 35 mL의 탈이온 증류수에 용해한 후 2.5~10 wt%의 poly(3HB-co-3HV) D600G/chloroform 또는 dichloromethane 용액 2.5~16 g을 부가하여 위에서 언급한 유화장치를 이용하여 5~30분간 강제유화하였다. 생성된 O/W 에멀전을 실온에서 50 mL 비이커에 옮겨 2 cm 크기의 자석봉을 갖춘 자석교반기 위에 위치한 후 170 rpm의 교반속도로 24시간 교반하여 chloroform 또는 dichloromethane 용제를 제거하였다.<sup>18</sup>

비이온계 계면활성제를 사용한 강제유화: 1~3 wt%의 비이온계 계면활성제 수용액 35 mL에 2.5~5.0 wt%의 poly(3HB-co-3HV) D600G/dichloromethane 용액 6 g을 부가한 후 homogenizer, Sorvall® Omni mixer, 3 blade propeller를 갖춘 교반기 등의 유화장치를 이용하여 강제유화하였다. 강제유화 시간은 각각 15분, 15분, 30분을 사용하였

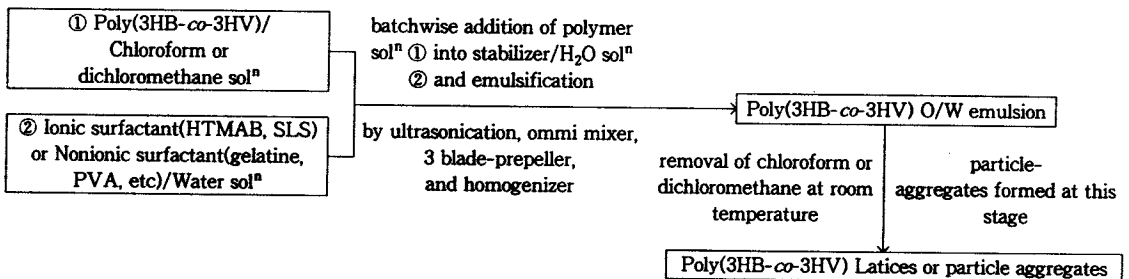
다. 생성된 O/W 고분자 미립자를 실온에서 50 mL 비이커에 옮겨 2 cm 크기의 자석봉을 갖춘 자석교반기 위에 위치한 후 170 rpm의 교반속도로 24시간 교반하여 dichloromethane 용제를 제거하였다.

**입자경 및 입자형태 결정.** 제조한 고분자 미립자의 입자경 측정과 입자형태 관찰은 sub-micron size analyser (Nicomp 370C)와 주사전자현미경 (SEM, Jeol Jsm 4600)을 사용하였다. SEM 사용시 충분히 건조한 고분자 미립자 시료를 알루미늄 stud에 접착한 cover glass 위에 위치하고 금분으로 sputter-coating한 후 5~15 kV 하에서 관찰하였다.

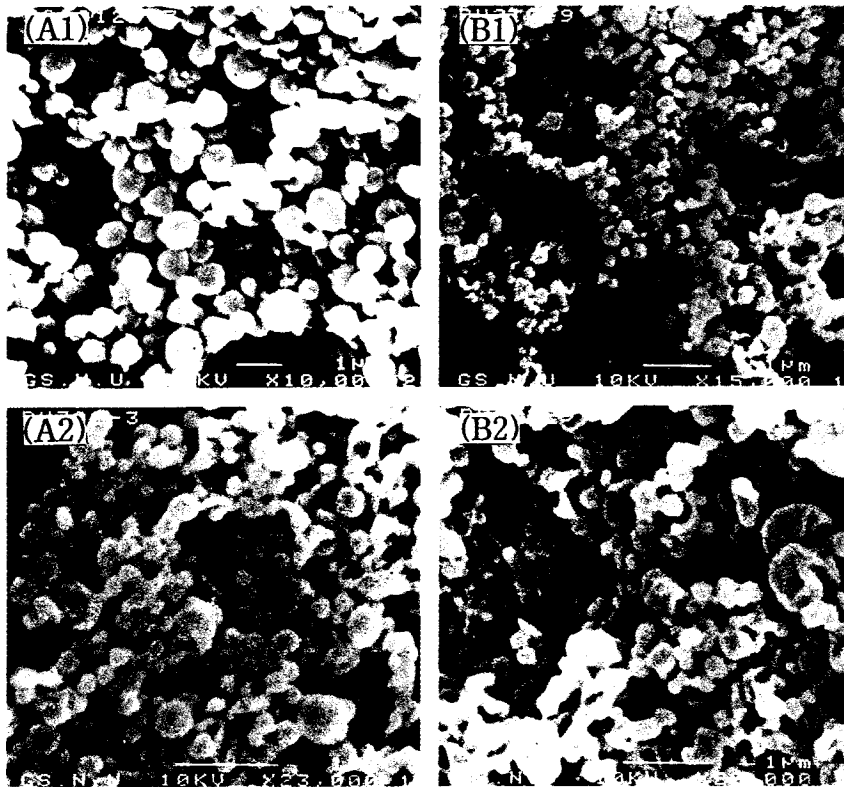
**고형분 및 Coagulum 량 결정.** 제조한 라텍스를 100 mesh 스테인레스 망으로 걸러 60 °C 건조기에서 24시간 방치한 후 중량법에 의해 고형분 및 coagulum 량을 측정하였다.

**결과 및 고찰**

이온계 계면활성제를 사용한 강제유화. Table 2와 3은 poly(3HB-co-3HV) D600G에 대해 양이온 계면활성제인 HTMAB와 음이온 계면활성제인 SLS를 각각 사용하여 위에서 언급한 3가지 다른 유화장치 하에서 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 라텍스의 평균입자경을 나타낸다. 이들 유화제 농도범위 하에서 비교적 다분산성의 0.2~0.5 μm의 평균입자경과 0.3~1.2%의 고형분을 갖는 우유와 같은 상태의 라텍스가 제조되었다. Fig. 2에 이들 이온 계면활성제를 사용하여 2가지 다른 유화장치 하에서 제조한 라텍스의 SEM 사진을 나타내었다. 일반적으로 유화제 농도가 증가함에 따라 평균입자경과 생성한 coagulum



**Figure 1.** Schematic procedure for preparation of poly(3HB-co-3HV) latices and particle-aggregates by emulsion process.



**Figure 2.** SEM photographs of poly(3HB-co-3HV) D600G particles prepared by 2 different emulsification methods in the presence of HTMAB or SLS as a surfactant. (A1) by ultrasonication, 5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6 g/HTMAB 0.04 g/DDI-water 35 g, (B1) by Omni mixer, 5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6 g/HTMAB 0.04 g/DDI-water 35 g, (A2) by ultrasonication, 5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6 g/SLS 0.04 g/DDI-water 35 g, (B2) by Omni mixer, 5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6 g/SLS 0.04 g/DDI-water 35 g.

**Table 2. Effect of Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide (HTMAB) Concentration**

emulsification method	HTMAB (g)	int. size (nm) <sup>a</sup>
A	0.0067 → 0.134	252 → 224
B	0.0067 → 0.134	336 → 307
C	0.0067 → 0.134	486 → 327

A: ultrasonication (Fisher sonic, ×0.6, 5 min), B: homogenizer (CAT X-1030D, 12500 min<sup>-1</sup>, 15 min), C: Omni mixer (10000 rpm, 15 min). 5% P(3HB-co-3HV) D600G-chloroform solution 6g/deionized distilled water 35g chloroform was removed from the emulsion by stirring in air (24 hrs).

<sup>a</sup> Determined by Nicomp 370C particle size analyser.

**Table 3. Effect of Sodium Lauryl Sulfate (SLS) Concentration**

emulsification method	SLS (g)	int. size (nm) <sup>a</sup>
A	0.0067 → 0.134	291 → 232
B	0.0067 → 0.134	220 → 217
C	0.0067 → 0.134	309 → 242

A: ultrasonication (Fisher sonic, ×0.6, 5 min), B: homogenizer (CAT X-1030D, 12500 min<sup>-1</sup>, 15 min), C: Omni mixer (10000 rpm, 15 min). 5% P(3HB-co-3HV) D600G-chloroform solution 6g/deionized distilled water 35g chloroform was removed from the emulsion by stirring in air (24 hrs).

<sup>a</sup> Determined by Nicomp 370C particle size analyser.

량은 감소하는 경향을 보였다. 특히, 양이온 계면활성제인 HTMAB를 사용한 강제유화 라텍스의 경우 음이온 계면활성제인 SLS를 사용한 경우에 비해 co-

agulum 생성량이 적고 보다 높은 고형분을 나타내었다.

강제유하시 고분자용액의 점도에 대한 영향을 알아보

**Table 4. Effect of Amount of Poly(3HB-co-3HV) D600G**

emulsification method	wt (g) <sup>e</sup>	int. size (nm) <sup>f</sup>
A	4.0 <sup>a</sup> → 16.0 <sup>d</sup>	277 → 334
B	6.0 <sup>b</sup> → 12.0 <sup>c</sup>	233 → 262
C	4.0 <sup>a</sup> → 16.0 <sup>d</sup>	295 → 378

A: ultrasonication (Fisher sonic, × 0.6, 5 min), B: homogenizer (CAT X-1030D, 12500 min<sup>-1</sup>, 15 min), C: Omni mixer (10000 rpm, 15 min).

<sup>a</sup> HTMAB: 0.027 g. <sup>b</sup> HTMAB: 0.040 g. <sup>c</sup> HTMAB: 0.080 g. <sup>d</sup> HTMAB: 0.107 g. chloroform was removed from the emulsion by stirring in air (24 hrs). <sup>e</sup> 5% P(3HB-co-3HV) D600G-chloroform solution/DDI-water 35 g. <sup>f</sup> Determined by Nicomp 370C particle size analyser.

기 위하여 poly(3HB-co-3HV) D600G량을 3g으로 일정하게 유지하면서 poly(3HB-co-3HV) D600G/chloroform 용액의 농도의 변화 (2.5~10.0 wt%)에 따르는 점도를 변화시켜 위에서 언급한 세가지 다른 유화장치하에서 제조한 라텍스의 콜로이드 물성을 조사해 본 결과 일반적으로 고분자용액의 점도가 증가함에 따라 평균입자경과 coagulum량은 증가하였고 고형분은 감소하는 경향을 보였다. 한편, poly(3HB-co-3HV) D600G 라텍스의 고형분을 높일 목적으로 5 wt% poly(3HB-co-3HV) D600G/chloroform 용액 4~16 g을 사용하여 Table 4와 같이 제조해 본 결과 0.6~2.7%의 고형분을 갖는 라텍스를 제조할 수 있었으며 poly(3HB-co-3HV) D600G량이 증가함에 따라 평균입자경, 고형분 및 coagulum량 모두 증가하는 경향을 보였다. 이들 실험에서 제조된 poly(3HB-co-3HV) D600G 라텍스의 평균입자경은 모두 0.23~0.38 μm의 sub-micron 범위를 나타내었다. 또한, 3가지 다른 유화장치를 이용한 외부 전단응력의 세기와 전단응력의 적용시간의 증가에 (5~30분) 따르는 생성한 라텍스의 입자경과 입자경분포를 조사해본 결과 전반적으로 감소하는 경향을 보였다. 그러나, 이 실험을 통해 단분산성의 poly(3HB-co-3HV) D600G 라텍스는 제조할 수 없었다.

Table 5와 6은 3가지 다른 유화장치를 사용하여 poly(3HB-co-3HV) D600G를 비롯한 D300G, D400G, PHB수지를 chloroform용매에 용해한 후 용매증발하여 제조한 라텍스의 평균입자경을 나타내었다. 특히, poly(3HB-co-3HV) D600G 수지의 경

**Table 5. Preparation of Poly(3HB-co-3HV) Latices**

emulsification method	P(3HB-co-3HV) <sup>a</sup>	int. size (nm) <sup>c</sup>
A	D300G	268
	D400G	272
	D600G	261
	D600G <sup>b</sup>	288
B	D300G	236
	D400G	223
	D600G	262
	D600G <sup>b</sup>	233
C	D300G	258
	D400G	253
	D600G	274
	D600G <sup>b</sup>	261

<sup>a</sup>A: ultrasonication (Fisher sonic, ×0.6, 5 min), B: homogenizer (CAT X-1030D, 12500 min<sup>-1</sup>, 15 min), C: Omni mixer (10000 rpm, 15 min). <sup>a</sup> 5% P(3HB-co-3HV)-chloroform solution 6g/DDI-water 35g/HTMAB 0.040 g. <sup>b</sup> 5% P(3HB-co-3HV)-dichloromethane solution 6g/DDI-water 35g/HTMAB 0.040 g. chloroform and dichloromethane were removed from the emulsion by stirring in air (24 hrs). <sup>c</sup> determined by Nicomp 370C particle size analyser.

**Table 6. Preparation of PHB<sup>a</sup> Latex**

emulsification method	HTMAB (g)	int. size (nm) <sup>b</sup>
A	0.040	166
B	0.040	279
C	0.040	311

A: ultrasonication (Fisher sonic, × 0.6, 5 min), B: homogenizer (CAT X-1030D, 12500 min<sup>-1</sup>, 15 min), C: Omni mixer (10000 rpm, 15 min).

<sup>a</sup> 1% PHB-chloroform solution 6g/DDI-water 35 g. chloroform was removed from the emulsion by stirring in air (24 hrs). <sup>b</sup> Determined by Nicomp 370C particle size analyser.

우 양용매로 알려진 chloroform과 dichloromethane을 각각 사용하였다.<sup>2</sup> Dichloromethane의 경우 chloroform에 비해 비점이 낮기 때문에 강제유화후 용제 제거가 용이하였다. 대부분의 경우 무시할 정도의 coagulum이 생성되었고 외관이 양호한 0.22~0.49 μm의 평균입자경 크기를 갖는 라텍스가 제조되었다.

비이온계 계면활성제를 사용한 강제유화. 비이온계면활성제를 사용한 poly(3HB-co-3HV) D600G의 강제유화에서는 생분해성 고분자인 PLA, PGA, 그리고 이들 공중합체 등을 이용한 서방성 의약제용 고분자 미립자제조에 널리 사용되고 있는 gelatine과

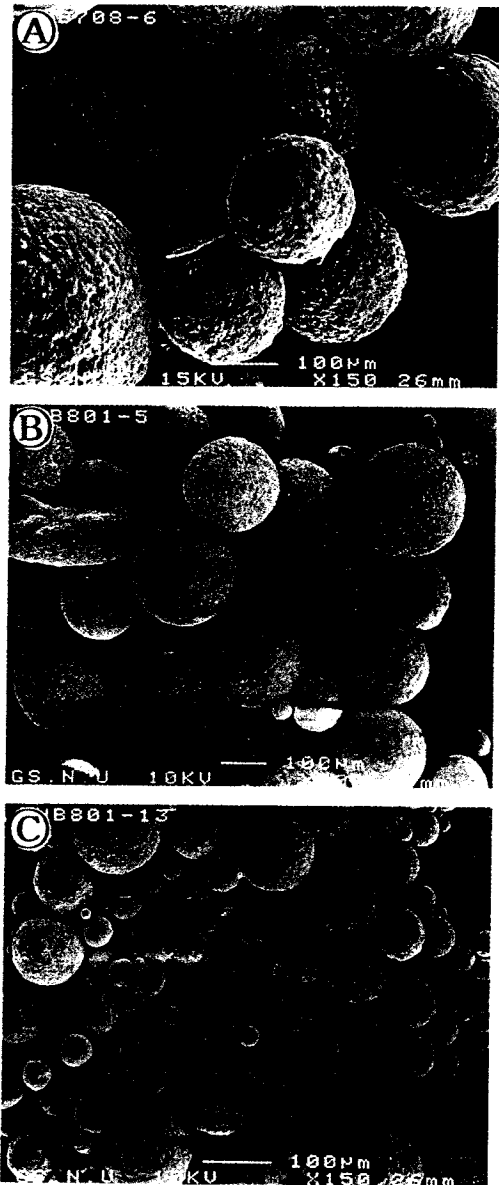
**Table 7. Preparation of Poly(3HB-co-3HV) D600G Particles with Gelatine by 3 Blade Propeller(3-BP), Omni Mixer, and Homogenizer**

agitation condition	rpm	conc. of polymer soln (%) <sup>a</sup>	particle size ( $\mu\text{m}$ ) <sup>d</sup>		
			1% gelatine <sup>b</sup>	2% gelatine <sup>b</sup>	3% gelatine <sup>b</sup>
3-BP	600	2.5	67-295	27-146	22-108
		5.0	54-385	47-235	27-131
	900	2.5	31-112	20-87	4-53
		5.0	85-239	42-175	6-37
omni mixer	6000	2.5	4-24	1-28	4-24
		5.0	7-60	2-33	4-42
	10000	2.5	0.6-6 <sup>c</sup>	1-10	1-8
		5.0	0.6-10 <sup>c</sup>	1-13	2-17
homogenizer 12500 <sup>e</sup>	2.5	1-22	1-18	1-8	
	5.0	1-35	1-20	1-22	

<sup>a</sup> Poly(3HB-co-3HV) D600G/dichloromethane solution. <sup>b</sup> Gelatine/DDI-water 35 g. <sup>c</sup> Unstable in preparation of particle-aggregates. <sup>d</sup> Determined by SEM. <sup>e</sup> min<sup>-1</sup>.

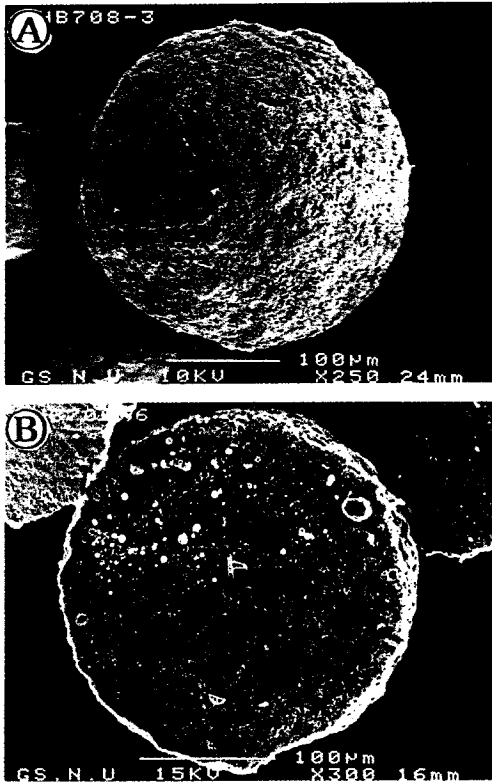
poly(vinyl alcohol)를 우선적으로 입자 안정제로 사용하였다.<sup>7</sup> Gelatine 존재하에 3 blade propeller 교반기를 사용하여 Table 7과 같은 강제 유화조건에 따라 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자는 4~385  $\mu\text{m}$  범위의 등근 입자로서 전반적으로 다분산 분포를 나타내었다. Gelatine의 농도가 1%에서 3%로 증가함에 따라 전반적으로 평균입자경이 감소하였으며 최대입자경과 최소입자경의 차(입자경 범위)도 함께 감소함을 보임으로서 gelatine이 poly(3HB-co-3HV) D600G의 입자생성 및 안정에 지대한 역할을 하고 있음을 보여준다. 즉, gelatine의 량이 증가함에 따라 입자표면에 흡착하여 안정화할 수 있는 표면적은 증가하여 많은 수의 입자생성이 일어나며 궁극적으로 생성입자의 입자경은 감소함과 동시에 좀 더 균일한 입자분포를 보였다. 또한 교반속도가 증가함에 따라 입자경은 감소하였으며 poly(3HB-co-3HV) D600G의 농도가 증가함에 따라 입자경은 증가하였다.

Fig. 3과 4는 각각 1~3 wt%의 gelatine 수용액 35 mL에 5.0 wt%의 poly(3HB-co-3HV) D600G/dichloromethane 용액 6g을 부가하여 600 rpm의 교반속도하에서 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자들의 SEM 사진과 입자표면 및 입자단면에 대한 SEM 사진이다. Gelatine 농도가 증가함에



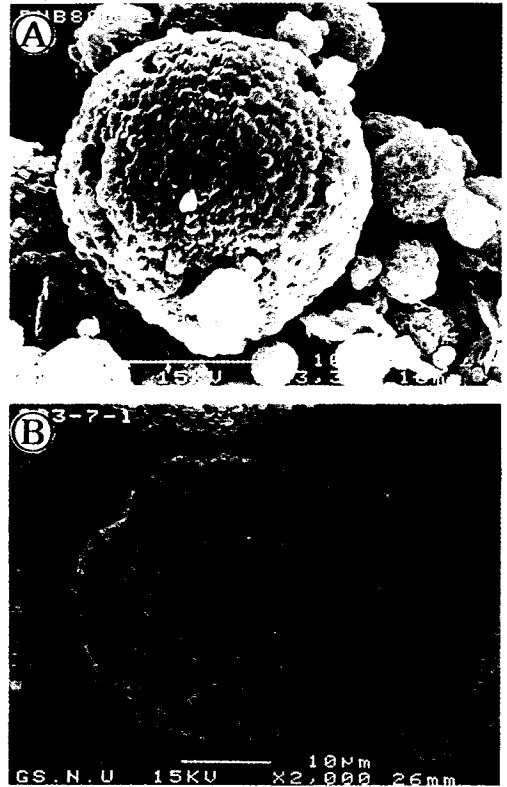
**Figure 3.** SEM photographs of poly(3HB-co-3HV) D600G particles prepared at 600 rpm using 3 blade propeller. (A) 5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6g/1% gelatine-DDI-water solution 35 g, (B) 5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6g/2% gelatine-DDI-water solution 35 g, and (C) 5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6g/3% gelatine-DDI-water solution 35 g.

따라 입자경이 감소함을 보여준다. 입자표면을 살펴보면 거친주름과 함께 미세기공이 입자표면 전체에 분포



**Figure 4.** SEM photographs on (A) poly(3HB-co-3HV) D600G particle prepared at 600 rpm using 3 blade propeller and (B) its microtomed section (5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6g/1% gelatine-DDI-water solution 35 g).

하고 있으며 입자가운데를 절단한 단면을 살펴보면 입자내부도 미세기포가 전반적으로 존재하는 cellular 구조를 갖고 있다. 이와 같은 입자형태를 살펴볼 때 입자형성 기구는 교반력에 의해 우선 poly(3HB-co-3HV) D600G/dichloromethane 용액이 자그마한 입자로 입자화하면서 동시에 주위에 녹아있는 입자안정제인 gelatine이 입자표면에 흡착하면서 비교적 안정한 라텍스를 형성한다. 이때 생성한 입자들은 dichloromethane에 용해되어 있는 기름과 같은 상태로 비교적 작은 점도를 갖고 있어 비점이 낮은 dichloromethane은 입자내부로부터 쉽게 공기중에 방출되어진다. 이때 dichloromethane이 입자내부로부터 입자의외부로 방출하는 과정에서 미세기공의 긴터널이 입자내외부 전반에 걸쳐 생성하며 용제인



**Figure 5.** SEM photographs on (A) poly(3HB-co-3HV) D600G particle-aggregates prepared at 6000 rpm using Omni mixer and (B) its microtomed section (2.5% poly(3HB-co-3HV) D600G 6g/2% gelatine-DDI-water solution 35 g).

dichloromethane이 입자내부로부터 사라짐에 따라 입자수축이 일어나 울퉁불퉁한 입자표면이 생성된다. 궁극적으로 입자내에 존재하는 용제가 전부 사라졌을 때는 Fig. 3과 4와 같이 표면이 거칠고 cellular 구조의 단단한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자가 생성된다.

또한, gelatine 입자안정제를 사용하여 Omni mixer하에서 각각 6000 rpm과 10000 rpm의 교반속도하에 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자는 0.6~60 µm 범위의 입자경을 나타내며 이들은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 sub-micron 크기의 입자들이 회합에 의해 생성한 입자덩어리로서 전반적으로 다분산 분포를 나타내고 있으며 gelatine의 농도 변화에 따르는 생성한 입자덩어리의 입자경 및 입자경

분포도의 변화는 발견할 수 없었다. 그러나 교반속도가 증가함에 따라 입자경은 감소하였으며 poly-(3HB-co-3HV) D600G의 농도가 증가함에 따라 입자경은 증가하였다. Fig. 5는 2 wt%의 gelatine 수용액 35 mL에 2.5 wt%의 poly(3HB-co-3HV) D600G/dichloromethane 용액 6 g을 추가하여 6000 rpm의 교반속도하에서 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자들의 입자표면 및 입자단면에 대한 SEM 사진이다. 입자덩어리 가운데를 절단한 단면을 살펴보면 입자내부 전반에 걸쳐 큰 구멍들이 존재하며 sub-micron 크기의 입자들의 회합에 의해 생성한 입자덩어리임을 보여주고 있다. 이와 같은 입자형태를 살펴볼 때 입자덩어리 형성기구에는 Omni mixer에 의한 강한 교반력(6000~10000 rpm)에 의해 우선 poly(3HB-co-3HV) D600G/dichloromethane 용액이 미립자화하면서 주위에 녹아있는 입자안정제인 gelatine의 도움을 받아 비교적 안정한 sub-micron 크기의 라텍스를 생성한다. 이때 생성한 입자들은 dichloromethane에 용해되어 있는 상태로 입자표면은 gelatine분자들에 의해 흡착되어 있다. 이와같은 sub-micron크기의 입자들은 교반기를 교체하는 과정에서 약 30초간 교반이 정지된 상태에서 지체한 후 170 rpm의 자석교반기로 옮겨 비점이 낮은 dichloromethane을 제거하게 된다. 이때 입자내에 존재하는 dichloromethane은 입자표면을 거쳐 분산매인 증류수를 통해 공기중에 방출되어진다. 입자표면에 흡착 또는 위치하고 있는 gelatine 분자와 poly-(3HB-co-3HV)는 dichloromethane의 증발 전과정에 걸쳐 dichloromethane에 노출되어 있는 상태로 입자표면은 비교적 연질이며 끈적거리는 성질을 가질 것이다. 이때 교반이 정지하거나 원활하지 않을 때는 입자들이 불안정하여 쉽게 입자들의 회합이 일어날 것이다. 특히 교반기를 교체하는 과정에서 교반이 정지하는 동안 입자의 회합이 지배적으로 일어나 입자덩어리를 이룬다. 입자내부로부터 dichloromethane이 입자의외부로 방출하는 과정에서 미세기공의 긴 터널이 입자내부 전반에 걸쳐 생성됨과 동시에 입자덩어리 내부와 입자표면에도 큰기공이 생성된다. 궁극적으로 입자내에 존재하는 용제가 전부 사라졌을 때는 Fig. 5에서 보는바와 같이 입자표면이 거칠고 구멍이 존재하는 입자덩어리가 생성된다. 한편,

**Table 8. Preparation of Poly(3HB-co-3HV) D600G Particles with PVA K-217 by 3 Blade Propeller(3-BP), Omni Mixer, and Homogenizer**

agitation condition	rpm	conc. of polymer soln (%) <sup>a</sup>	particle size (μm) <sup>c</sup>		
			1% PVA <sup>b</sup>	2% PVA <sup>b</sup>	3% PVA <sup>b</sup>
3-BP	600	2.5	39-139	31-115	12-100
		5.0	58-242	69-169	80-124
	900	2.5	27-100	15-69	8-54
		5.0	35-154	35-139	18-82
omni mixer	6000	2.5	6-47	1-15	2-18
		5.0	7-67	1-15	3-50
	10000	2.5	1-10	1-12	2-11
		5.0	1-15	1-10	2-21
homogenizer	12500 <sup>d</sup>	2.5	1-10	1-9	1-8
		5.0	1-22	1-19	1-14

<sup>a</sup> Poly(3HB-co-3HV) D600G/dichloromethane solution. <sup>b</sup> PVA K-217/DDI-water 35 g. <sup>c</sup> Determined by SEM. <sup>d</sup> min<sup>-1</sup>.

12500 min<sup>-1</sup>의 homogenizer를 이용한 경우 Omni mixer의 경우와 유사하게 1~35 μm 입자경 범위의 입자덩어리가 생성하였다.

Table 8은 PVA K-217 입자안정제 존재하에 3 blade propeller 교반기와 Omni mixer를 사용한 강제유화조건에 따라 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자들의 입자경 범위를 나타낸다. 600~900 rpm 교반속도의 3 blade propeller로부터 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자는 8~242 μm 입자경 범위의 둥근 입자로서 전반적으로 다분산 분포를 나타내었다. PVA K-217의 농도가 1%에서 3%로 증가함에 따라 전반적으로 입자경이 감소하였으며 최대입자경과 최소입자경의 차(입자경 범위)도 함께 감소함을 보임으로서 PVA K-217이 poly-(3HB-co-3HV) D600G의 입자생성 및 안정에 지대한 역할을 하고 있음을 보여준다. 전반적으로 교반속도가 증가함에 따라 입자경은 감소하였으며 poly-(3HB-co-3HV) D600G의 농도가 증가함에 따라 입자경은 증가하였다. PVA K-217 입자안정제와 3 blade propeller 교반기하에서 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자들의 입자표면 및 입자단면에 대한 SEM사진을 살펴보면 입자표면이 비교적 거칠고 미세기공이 분포하고 있으며 입자내부도 미세기공이 전반적으로 존재하는 cellular 구조를 갖고 있어 gelatine 입자안정제와 3 blade propeller 교반기하



에서 제조한 입자사진인 Fig. 3과 4와 유사하였다.

한편, PVA K-217 입자안정제를 사용하여 6000~10000 rpm의 Omni mixer와 12500 min<sup>-1</sup>의 homogenizer 교반조건하에서 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자는 각각 1~67 μm과 1~22 μm 범위의 입자경을 갖는 입자덩어리로서 Fig. 5와 같이 sub-micron 크기의 입자들이 회합에 의해 생성한 입자덩어리와 같은 형태를 나타내었다. 전반적으로 PVA K-217의 농도와 poly(3HB-co-3HV) D600G의 농도 변화에 따르는 생성한 입자덩어리의 입자경 및 입자경 분포도의 영향은 발견할 수 없었다. 그러나 교반속도가 증가함에 따라 입자경은 감소하였다. 이밖에 Triton X-100, Triton X-405, PVP K-30, Pluronic F-67 LF, F-87 Prill, P-85, P-87 Prill 등의 비이온계 입자안정제를 사용하여 강제유화를 시도하였으나 유화가 불가능하였고 궁극적으로 고분자 미립자 생성이 불가능하였다.

## 결 론

본 연구에서는 우수한 혈액 및 조직 적합성, 느린 분해속도, 방출조절의 용이성 때문에 서방성 의약제를 위한 고분자 미립자 지지체로서의 사용이 기대되고 있는 poly(3HB-co-3HV)를 다양한 강제유화 조건에 의해 0.2~0.3 μm 입자경을 갖는 poly(3HB-co-3HV) 미립자 및 미립자 덩어리를 제조할 수 있었다. 위에서 언급한 다양한 강제유화 조건하에서 이온계 계면활성제인 HTMAB와 SLS를 입자안정제로 사용하였을 경우 모두 sub-micron 크기의 입자경을 갖는 라텍스가 제조되었다. 일반적으로 유화제 농도와 교반속도 및 시간이 증가함에 따라 입자경은 감소하였으며 고분자 용액의 농도와 점도가 증가함에 따라 입자경은 증가하였다. 반면에 비이온계 계면활성제인 gelatine과 PVA K-217을 입자안정제로 사용했을 경우 강제유화 조건에 따라 다양한 입자크기와 입자형태의 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자가 제조되었다. 즉, 600~900 rpm의 3 blade propeller 교반기를 사용하였을 경우 각각 4~385 μm과 8~242 μm 입자경 범위의 다분산 분포의 둥근 입자가 생성하였다. 생성한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자들은 입자표면에 거친 주름과 함께 미세기공이 전반적으로

분포하고 있으며 입자내부도 미세기공이 전반적으로 존재하는 cellular 구조를 갖고 있다. Gelatine과 PVA K-217의 농도가 1%에서 3%로 증가함에 따라 전반적으로 입자경과 입자경 분포가 감소함을 보였다. 일반적으로 교반속도가 증가함에 따라 입자경은 감소하였으며 poly(3HB-co-3HV) D600G의 농도가 증가함에 따라 입자경은 증가하였다. 한편, gelatine과 PVA K-217 입자안정제 존재하에서 6000~10000 rpm의 Omni mixer와 12500 min<sup>-1</sup>의 homogenizer를 사용하여 제조한 poly(3HB-co-3HV) D600G 미립자들은 1~67 μm 범위의 입자경을 나타내며 이들은 sub-micron 크기의 둥근 입자들이 회합에 의해 생성한 입자덩어리상을 나타내었다. Gelatine과 PVA K-217의 농도변화에 따르는 입자덩어리의 입자경 및 입자경 분포도의 변화는 발견할 수 없었으며 일반적으로 교반속도가 증가함에 따라 입자경은 감소하였고 poly(3HB-co-3HV) D600G의 농도가 증가함에 따라 입자경은 증가하였다.

감사의 글: 본 연구는 한국과학재단 연구비지원 (과제번호: 97-04-01-03-01-3)하에 이루어진 것으로 이에 감사를 드립니다.

## 참 고 문 헌

1. Y. Doi and C. Abe, *Macromolecules*, **23**, 3705 (1990).
2. Y. Doi, "Microbial Polyesters", VCH Publishers, Inc., U. S.A, 1990.
3. Y. H. Lee, *Polymer Science and Technology*, **2**(5), 319 (1991).
4. D. H. Lee, *Polymer Science and Technology*, **2**(5), 332 (1991).
5. R. M. Lafferty, B. Korsatko, and W. Korsatko, "Microbial Production of Poly( $\beta$ -hydroxybutyric acid)", in "Biotechnology(A Comprehensive Treatise)", eds. by H.-J. Rehm and G. Reed, vol. 6b, VCH Publishers, Inc, Federal Republic of Germany, 1988.
6. "Properties and Processing of Biopol", Monsanto Plc, 1996.
7. P. D. Scholes, A. G. A. Coombes, M. C. Davies, L. Illum, and S. S. Davis, "Particle Engineering of Biodegradable Colloids for Site-Specific Drug Delivery", in "Controlled Drug Delivery", ed. by K. Park,

- ACS Professional Reference Book, Washington, DC, 1997.
8. R. V. Sparer, C. S. Shih, C. D. Ringeisen, and K. J. Himmelstein, *Journal Controlled of Release*, **1**, 23 (1984).
  9. K. Makino, M. Arakawa, and T. Kondo, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**(3), 1195 (1985).
  10. R. Jalil and J. R. Nixon, *J. Microencapsulation*, **7**(3), 297 (1990).
  11. B. Conti, F. Pavanetto, and I. Genta, *J. Microencapsulation*, **9**(2), 153 (1992).
  12. H. Yoshikawa and Y. Ikada, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**(3), 802 (1989).
  13. R. Arshady, *Journal of Controlled Release*, **17**, 1 (1991).
  14. T. Niwa, H. Takeuchi, and Y. Kawashima, *Journal of Controlled Release*, **25**, 89 (1993).
  15. N. Ammoury and S. Benita, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **79**(9), 763 (1990).
  16. K. Juni, M. Nakano, and M. Kubota, *Journal of Controlled Release*, **4**, 25 (1986).
  17. M. S. El-Aasser, "Latex Preparations by Direct Miniemulsification of Polymer Solutions and Polymerization of Monomer Miniemulsions" in "Advances in Emulsion Polymerization and Technology", ed. by M. S. El-Aasser(Lehigh University), Emulsion Polymers Institute, Bethelehem, 1990.
  18. D. M. Horawitz and J. K. M. Sanders, *J. Am. Chem. Sci.*, **116**(7), 2695 (1994).
  19. J. Song, Y. Shin, and S. Yoon, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **3**(2), 123 (1993).
  20. McCutcheon's, "Emulsifiers and Detergents", vol. 1, North American Edition, MC Publishing Co., NJ, U.S. A, 1996.