

젠타마이신 설페이트를 서방화한 다공성 PLLA 지지체의 제조와 물성평가

최명규* · 강길선* · 이일우** · 이종문* · 이해방†

*전북대학교 고분자공학과, **가톨릭의대 신경외과, 한국화학연구소 생체의료고분자팀
(2001년 1월 5일 접수)

Fabrication and Characterization of Porous PLLA Scaffolds with Gentamicin Sulfate Release System

Myung Gyu Choi*, Gilson Khang*, Il Woo Lee**, John M. Rhee*, and Hai Bang Lee†

*Department of Polymer Science and Technology, Chonbuk National University,
664-14, Dukjin Dong 1Ga, Dukjin Ku, Chonju 561-756, Korea

**Department of Neurosurgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea
Taeheung 2-dong, Taejeon 301-723, Korea

Biomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,

P.O. Box 107, Yusung, Taejeon 305-343, Korea

†e-mail : hblee@pado.kRICT.re.kr

(Received January 5, 2001)

요약: 본 연구에서는 세포 배양시 감염방지용으로 널리 쓰이는 젠타마이신 설페이트(GS)가 서방화된 다공성 PLLA 지지체를 유화동결건조방법으로 제조하였다. 이들의 물성을 전자현미경 및 수은다공도계로 특성결정하였고, 적심성은 푸른염색 수용액으로 관찰하였으며, 방출거동은 high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 측정하였다. GS가 5, 10 및 20%가 포함된 PLLA 지지체의 다공도는 80~90%이었으며 평균다공크기 범위는 30~57 μm 그리고 가장 큰 것으로는 150 μm 이상의 것도 관찰되었다. 전체적인 다공도의 모양은 다공과 다공사이의 연결이 양호하고 대부분이 열린 셀 구조를 하고 있는 것으로 나타났다. 대조군에 비해 GS의 농도가 증가함에 따라 PLLA 지지체의 다공도가 감소하는 것으로 보아 GS내의 설페이트 부분은 친수성 역할 그리고 젠타마이신 부분은 소수성 역할을 수행하는 계면활성제의 역할에 기인한 것으로 사료된다. PLLA 지지체의 방출거동은 GS의 농도가 증가함에 따라 방출되는 양이 증가하였고, 적심성 또한 향상되어 세포배양시 긍정적 효과를 끼칠 것으로 예상되었다.

ABSTRACT: PLLA scaffold loaded with gentamicin sulfate (GS) was prepared by emulsion freeze-drying method for the prevention of infection and the improvement of wettability, i.e., the cell- and tissue-compatibility. GS-loaded PLLA scaffolds were characterized by scanning electron microscopy (SEM), mercury porosimetry and blue dye intrusion, and the GS release pattern was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). GS-loaded PLLA scaffolds with porosity above 80%, medium pore size ranging from 30 to 57 μm (with larger pore diameters greater than 150 μm), and specific pore area in the range of 35 to 75 (m^2/g) were manufactured by varying processing parameter as GS concentration. It was observed that GS-loaded PLLA scaffolds were highly porous with good interconnections between pores for allowing cell adhesion and growth. These scaffolds may be applicable for scaffold as structures that facilitate either tissue regeneration or repair during reconstructive operations.

Keywords: PLLA scaffold, gentamicin sulfate, emulsion freeze-drying method, wetting property.

서 론

현대 사회의 급격한 생활 양식 변화에 의한 각종 질환은 매년 증가 추세에 놓여 있다. 특히 이러한 질환 등은 대부분 신체의 여러 가지 장기의 손상을 유발하는 경우가 대부분이다. 또한 각종 재해 등에 의한 신체의 손상은 사회 문제로까지 야기되고 있는 실정이다. 이에 따라서 발달된 의학의 도움으로 각종 신체 장기의 이식이 활발해 지고 있으나 장기 기증자의 부족에 의한 이식 대기자의 증가는 날로 심화되고 있다. 그에 따라 대두된 분야가 생체조직공학으로서 이는 손상된 생체조직의 복원을 위하여 적절한 지지체에서 조직 세포를 체외 배양하여 실제의 장기와 유사한 구조와 기능을 가진 인공 조직을 형성하고 이를 체내에 이식하여 생체내의 결손된 장기나 조직을 재생하거나 대체하고자 하는 분야이다. 생체조직공학의 성공적인 개발을 위해서는 체내에서 분리된 조직 세포를 체외에서 삼차원 구조를 가진 조직의 형태로 재구성하기 위한 지지체가 필수적인 요소이다.^{1,2}

최근 생분해성 고분자는 체내 또는 체외에서 세포와 조직배양을 위한 여러 형태의 기질로 널리 사용되고 있는데 이들의 기능은 대부분 세포의 특징인 기질에 달라붙어서 성장하는 세포 (anchorage-dependent cell)의 부착, 이동 및 성장할 수 있는 장소를 제공한다.³⁻⁹

생체적합성의 생분해성 고분자를 사용하여 스폰지 형태의 다공성 지지체를 제조하여 조직 세포를 지지체에 포접하여 삼차원 구조의 세포/지지체 복합체를 체내에 이식하고자 하는 연구가 진행되고 있다. 이렇게 생체분해성 다공성 지지체를 사용하여 만든 삼차원의 인공 조직을 체내에 이식할시 예상되는 장점은 체내 이식 초기에는 이식된 조직 세포들이 신체내에서 사멸하지 않고 본래의 기능을 유지하는 기반을 제공한다. 그리고 시간이 경과함에 따라서 생분해성 고분자는 점차 소멸하고 신체 내부에 충분히 적용한 이식 세포만으로 구성된 자연 조직과 동일한 형태와 기능을 지닌 인공 조직을 형성할 수 있게 된다.

대부분 3차원적인 다공성 지지체 형태의 것이 조직공학의 응용에 있어서 이상적인 이유는 생체막 및 인체의 조직과 유사한 세포배양에 필요한 배양액과 세포들의 배설물의 확산이 비교적 용이하기 때문이

다. 또한 생분해성 고분자는 이식된 세포들의 일시적인 지지체가 되어 세포들로부터 세포간질 (extracellular matrix, ECM)을 분비할 수 있게 하며 결국에는 체내에서 분해되어 완전한 천연조직 대체물로의 역할을 대용하게 된다.¹⁰⁻¹³

현재 가장 많이 사용되고 있는 생분해성 고분자 중의 하나는 poly(α -hydroxy acid) 계열의 폴리락타이드 (PLLA), 폴리글리콜라이드 (PGA), 및 이들의 공중합체인 PLGA 등인데 이 이유는 생분해성 고분자로는 유일하게 미국의 식품의약품안전청에서 허가를 받았으며,¹⁴ 단량체의 조성을 조절함에 의해서 생분해 기간을 자유자재로 조절할 수 있고,¹⁵ 또한 비교적 좋은 생체적합성을 갖고 있기 때문이다.¹⁶ 이들 고분자들은 인체 내에서 가수분해 반응에 의하여 최종적으로 이산화탄소와 물로 분해되어 체외로 배출되기 때문에 이 물질이 체내에서 일으키는 여러 가지 부작용을 최소화시킨다.^{17,18} 이들은 체내 흡수성 수술용 봉합사,¹⁹ 뼈고정용판/핀²⁰ 및 펩타이드나 약물들의 지속성 약물전달용 담체, 서방성 의약제제²¹ 등에서 널리 사용되고 있다.

이상적인 지지체가 가져야 할 필수조건은 생체막 및 인체의 조직과 유사한 세포배양에 필요한 배양액과 세포들의 배설물의 확산에 필요한 다공도, 체내 하중에 견뎌내야 할 충분한 기계적 강도, 세포들의 접착 및 성장이 가능한 표면 화학적 성질, 기공의 맥크로와 마크로적인 구조, 크기 및 형태 등이다.^{1,2,10,20} 섬유아세포가 가장 잘 자라는 기공의 크기는 20 μm 내외,²¹ 피부세포 및 물렁뼈세포 등은 20~125 μm ²² 및 뼈세포는 100~250 μm 인 것으로 보고되고 있다.²³

인체조직 중에서 찾아 볼 수 있는 장기의 형태로는 여러 형태가 있는데 이들 다공성 지지체를 제조하는 방법은 PGA 부직포,²⁴ 상분리법,²⁵ 용매증발법,²⁶ 용매캐스팅/염추출법²⁷ 및 고압기체 팽창법²⁸ 등으로 제조하는 방법 등이다. 그러나 이들 방법은 접합부분의 물성이 변화되는 등의 단점이 생성되며 이들 지지체 내에 수용성 약물 (항생제, 성장인자 등)을 첨가시킬 수 없다는 점이다. 그리고 조직공학을 이용한 인공장기의 개발에 있어서 필수적 요소인 생분해성 고분자 지지체가 세포배양시 감염문제가 심각하고 또한 이들 생분해성 고분자 지지체는 소수성의 성질을 갖고 있기 때문에 배양액 및 세포 현탁액 등에 잘 젖지 않

며 이로 인하여 세포에 정착 및 배양에 있어 좋지 않은 영향을 끼친다.

조직공학적 인공장기의 제조시에는 세포를 함유하고 있는 배양액을 다공성 생분해성 고분자 지지체에 파종하여 체외 또는 체내에서 배양하게 되는데 이들 생분해성 고분자 지지체의 사용에 있어서 한가지 문제점은 이들 생분해성 고분자가 소수성의 성질을 갖고 있기 때문에 배양액, 세포 현탁액 및 세포배양에 관계되는 액 등에 잘 젖지 않는다.^{29,30} 따라서 배양액이 젖지 않은 부분에는 세포가 배양되지 못하고 대부분의 구멍이 그대로 남게 되어 장기형성이 되지 못하는 경우가 종종 생긴다. 즉, 조직공학을 이용한 세포 배양에 의한 균일한 조직의 생성을 위하여 배양액 또는 세포현탁액이 다공성 생분해성 지지체 내에서 균일한 분포를 얻는 것이 중요하다.^{31,32} 이에 Mikos 등은 에틸 알코올을 이용한 전적침 방법을 개발하여 세포배양액의 침투개선과 물렁뼈세포의 배양결과 균일한 세포분포를 나타냄이 보고되었으며 현재에도 대부분 이 방법이 널리 사용되고 있다.³³ 그러나 이 방법의 문제점은 잔류 에틸알코올의 독성과 생분해성 고분자의 표면이 여전히 소수성으로 남아있다는 점이다. 또한 Khang 등은 소수성 표면을 개질하기 위하여 물리화학적 처리방법을 통하여 친수성 표면을 개질하려 시도하였다.^{34,35}

본 연구에서는 황산겐타마이신(GS)이 서방화된 PLLA 지지체를 유화동결건조방법(emulsion freeze-drying method)으로 친수성화를 증가시키는 물론 세포 배양시 병원균으로부터 감염 방지를 목적으로 제조하였고 이들의 물성을 주사전자현미경(scanning electron microscopy, SEM), 수은다공도계(mercury porosimetry analysis), 이미지 분석(image analyzer) 및 푸른 염색 수용액으로 침투현상을 관찰하였고, 약물 방출 거동은 high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 측정하였다.

실 험

시료 및 시약. 본 실험에서 사용한 GS는 동신 제약으로부터 제공받았다(Figure 1). 생분해성 고분자인 PLLA(분자량: 110000 g/mol)는 독일의 베링

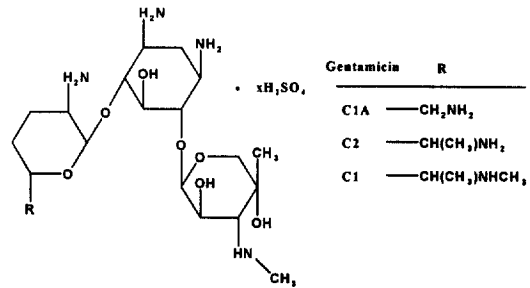


Figure 1. Chemical structure of GS.

거 잉겔하임사 제품을 구입하여 사용하였다. 메틸렌 클로라이드(MC, Tedia Co. Inc., USA)는 그대로 사용하였다. 다공성 PLLA 지지체의 침투현상을 푸른 염색 수용액(Coomassie brilliant blue dye R-250, Bio-Rab Lab., Richmond, USA)을 이용하여 확인하였다. 그 외 모든 화학약품과 유기용매는 HPLC 등급을 사용하였다.

GS를 함유한 다공성 PLLA 지지체의 제조. 유화동결건조 방법에 의한 지지체 제조 모식도 및 본 실험의 계통도를 Figure 2에 나타내었다.¹⁷ 20×40×5 mm 크기의 직사각형 형태의 몰드를 테프론과 스테인레스 강으로 제조하였다.

우선 PLLA를 MC에 임의의 농도로 용해한다. 그리고 GS를 초순수에 5, 10, 및 20 (w/v%) 농도로 용해한 후 이들을 6:4의 체적 비율로 초순수와 샘플바이알에 혼합한다. 두 비혼합상을 유화시키기 위하여 초음파 분쇄기를 사용하였는데 출력은 50 W, 그리고 15초 동안 유화시켰다. 이 유화액을 재빨리 -198 °C의 액체질소에 냉각시켜 놓은 테프론 몰드에 부어 충분히 급냉시킨 후 30 mTorr 및 -55 °C의 조건의 동결건조기(model FDU-540, EYELA®, Japan)를 사용하여 용매인 MC를 제거하기 위하여 하루동안 건조시키고, 잔류용매를 완전히 제거하기 위해 진공 오븐에 최소 일주일 이상 건조시켰다.

SEM에 의한 다공 형태와 크기 분석. 유화동결건조방법으로 제조되어진 다공성 PLLA 지지체의 내부 다공 형태를 분석하기 위하여 SEM(S-2250N, Hitachi, Japan)으로 관찰하였다. SEM 사진을 찍기 위해 샘플을 날카로운 면도칼로 측정부위를 5×5×1 mm(두께)의 크기로 절단하고 양면테이프를 이용하여 금속판 위에 충분히 건조한 샘플을 고정시킨 후

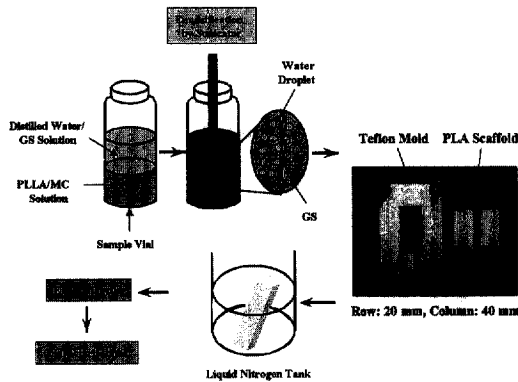


Figure 2. Schematic representation of the emulsion freeze-drying method employed to fabricate GS-loaded PLLA scaffolds.

플라즈마 스퍼터 (SC 500K, Emscope, UK)를 이용하여 아르곤 분위기하에서 1분 30초 동안 백금으로 코팅하였다. 얻어진 각 부위의 SEM 사진을 NIH 1.59 이미지 분석 프로그램을 이용하여 다공크기를 측정하였다.

수은다공도계 분석. 유화동결건조방법으로 제조되어진 다공성 PLLA 지지체의 다공 크기 분포, 비다공 면적, 평균다공 직경 및 다공도를 측정하기 위하여 수은다공도계 (Micromeritics Co., Model AutoPore II 9220, USA)를 이용하였다. 사용된 PLLA 지지체의 질량, 측정수은체적, 수은압력 및 최대압력은 각각 0.1 g, 6.7~7.3 mL, 3.4 KPa 및 414 MPa이었다. 수은압력 (P)과 구멍 반지름 (r)의 관계는 다음의 Washburn 식³⁶

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

에 의해서 정의된다. 여기서 γ 는 수은표면장력이며 485 dyne/cm를 사용하였으며 θ 는 수은과 PLLA 표면의 접촉각인데 접촉각 측정기 (Model 100-0, Rame-Hart Inc., USA)를 이용하여 실측한 결과 160° 이었다.^{32,33}

다공도 ϵ 는 다음의 식

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

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

DSC 분석. 유화동결건조방법으로 제조되어진 다공성 PLLA 지지체의 열적 성질을 알아보기 위하여 DSC (DSC 2920, TA Instruments, New Castle, USA)를 사용하였다. 결정화도를 측정하기 위해서 샘플들을 $0 \sim 250^\circ\text{C}$ 까지 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 간격으로 가열하였다. 모든 샘플들의 무게는 3.5에서 4.8 mg이었다.

결정화도 X_c 는 다음의 식

$$X_c = \Delta H_m / \Delta H_m^0 - \Delta H_c / \Delta H_c^0 \quad (3)$$

으로부터 계산되었으며, 여기서 ΔH_m 과 ΔH_c 는 각각 용융 엔탈피와 결정화 엔탈피로 측정하였다. H_m^0 과 H_c^0 은 결정성 고분자의 관련이 있는데 PLLA의 경우에는 $H_m^0 = 203.4 \text{ J/g}^{-1}$ 과 $H_c^0 = -148.5 \text{ J/g}^{-1}$ 이다.³⁷

적심성 측정. 유화동결건조방법으로 제조되어진 다공성 PLLA 지지체의 적심성 시험을 하기 위하여 0.01 w/v%의 푸른염색 수용액에 샘플을 담그고, 궤도 교반기를 30 rpm으로 교반하여 12시간 동안 샘플링하였다. 동결건조기를 사용하여 샘플을 건조한 후, 염색된 다공성 PLLA 지지체의 단면을 비디오 하이스코프 (KH-2200 Hi-Scope, Airox, Japan)를 이용하여 염색수용액의 침투성을 평가하였다.²⁸⁻³⁰

In vitro 방출 실험. 유화동결건조방법으로 제조되어진 다공성 PLLA 지지체의 GS의 방출 패턴을 관찰하기 위하여 PBS buffer 용액에 지지체를 넣어 (0.2 g 지지체/10 mL PBS) 현탁한 샘플을 항온조속에서 넣어 37°C 로 유지하였다. 용출된 약물은 100 μL 씩 일정한 간격인 1, 2, 3, 6, 7, 14, 21 및 28일 별로 얻었고 채취한 양만큼 새로운 PBS 완충 용액을 보충해주었다. 표준용액의 농도에서 나온 면적과 비교하여 상대적인 양을 측정하여 방출 거동을 분석하였다. 방출된 GS 농도는 o-phthaldehyde (OPA) 유도방법으로 분석하였고 HPLC (SD-200, Dynamax®, UV detector)를 이용하여 분석하였고, 방출거동은 방출된 GS의 양에 따라 계산되었다. 좀더 자세한 실험방법은 전보에 나타내었다.³⁸⁻⁴¹

Table 1. Processing Variables for Fabrication of Gentamicin Sulfate-Loaded PLLA Scaffolds

sample No.	PLLA conc. (w/v%)	GS conc. (%)	volume of PLLA solution to water (v/v%)	remark
1		0	60	
2	5	5	60	not formed
3		10	60	
4		20	60	
5		0	60	
6	10	5	60	formed
7		10	60	
8		20	60	
9		0	60	
10	20	5	60	too dense
11		10	60	
12		20	60	

결과 및 고찰

다공성 PLLA 지지체의 제조. GS가 서방화된 다공성 PLLA 지지체를 유화동결건조방법에 의해서 제조하였다. 조직공학에 응용하기 위하여 가장 중요한 물성중의 하나인 다공성은 PLLA 용액과 GS 용액을 혼합하여 제조되는 유화액의 조성변화에 의해 조절할 수 있다. 즉, PLLA 용액의 농도와 PLLA 용액과 GS 용액의 혼합비가 다공도, 평균다공 크기, 표면체적비 및 다공 형태에 대하여 영향을 미친다. PLLA의 농도와 PLLA 용액과 GS 용액의 체적비에 따른 다공성 지지체의 생성여부 결과를 Table 1에 나타내었다. 샘플 No. 1, 2, 3, 4 및 9, 10, 11, 12에서는 다공성 지지체가 생성되지 않음을 나타내고 있다. No. 1, 2, 3, 4인 경우에는 PLLA 농도가 너무 낮아서 가루형태의 것이 생성된 반면 No. 9, 10, 11, 12의 경우에는 PLLA 용액의 농도가 너무 높아서 열린 셀이 아닌 닫힌 셀 형태의 것이 얻어져 본 연구의 목적에 부합되지 않는 것으로 나타났다.

SEM에 의한 다공 형태와 크기 분석. Figure 3에는 본 연구에 의하여 제조된 GS가 서방화된 PLLA 지지체의 전자현미경 사진으로 No. 5, 6, 7 및 8을 나타내었다. 이들을 이미지분석기로 분석한 결과, 다공성 PLLA 지지체의 평균 다공크기는 48 ± 7.5 , 45 ± 8.1 , 27.2 ± 6.3 및 $25.5 \pm 7.8 \mu\text{m}$ 로 GS의 함량이

증가함에 따라 감소함을 관찰하였다. 외형적 형태는 테프론 몰드의 빈공간과 거의 똑같은 사각형 형태로 얻어졌으며, 수축, 부풀림, 불규칙한 크기의 구멍 및 여타 결함이 없는 것으로 관찰되었다. 전체적인 다공의 모양은 다공과 다공사이의 연결이 양호하고 대부분이 열린 셀 구조를 하고 있는 것으로 나타났다.

수은다공도계 분석. Figure 4에는 유화동결건조방법으로 제조되어진 다공성 PLLA 지지체의 수은다공도계를 이용한 다공크기 분포를 보여주고 있다. PLLA (대조군), 5% GS, 10% GS, 및 20% GS의 대부분을 차지하고 있는 다공크기는 50~55, 45~50, 30~35, 25~30 μm 인 것으로 났다. 또한 150 μm 이상의 것도 측정되고 있다. 다공크기를 조절하는 주변수는 위에서도 설명되었듯이, PLLA 농도와 물과 GS의 비로서 결정되며 또한 중요한 변수로는 PLLA 용액과 물사이, 물과 GS 사이에 혼합되었을 때 유화된 용액의 안정성에도 큰 영향을 받는다. 이러한 유화상태는 열역학적으로 불안정 상태이므로 항상 침전과 응집 현상이 일어날 수 있다. 유화상태의 안정성을 지배하는 물리적 인자로는 계면자유에너지,⁴² 상대점도 변화량,⁴³ 중력,⁴⁴ 분산입자의 확산 계수, 침전을 방해하는 자유에너지 장벽 및 입자간의 정전기 반발력 등이⁴⁵ 생각될 수 있다. 평균다공도, 평균다공크기, 및 표면체적비 (Table 2)는 각각 80~92%, 30~57 μm 및 35~75 m^2/g 으로 나타나 대조군에 비해 GS의 농도가 증가함에 따라 PLLA 지지체의 다공도가 감소하는 것으로 보아 GS내의 설페이트 부분은 친수성 역할 그리고 겐타마이신 부분은 소수성 역할을 수행하는 계면활성제의 역할에 기인한 것으로 유화 제조시 유화의 안정화보다는 불안정화가 우세하게 기여함을 알 수 있었다. 이것은 두 비혼합상을 유화시키기 위하여 초음파 분쇄기를 사용하였는데 출력을 작게 하거나 분쇄시간을 단축함으로써 다공도와 다공크기를 크게 향상시킬 수 있음을 실측할 수 있다.

DSC 분석. Table 3은 유화동결건조방법에 의하여 제조된 GS가 서방화된 PLLA 지지체의 열적 성질을 나타낸 DSC의 분석 결과이다. T_g 는 GS의 함량이 증가할수록 65.3에서 60.8 $^{\circ}\text{C}$ 로 감소하였고 결정화도 역시 0.105에서 0.052로 GS의 함량이 증가함에 따라 감소함을 나타내었다. 이 이유는 유화 제조

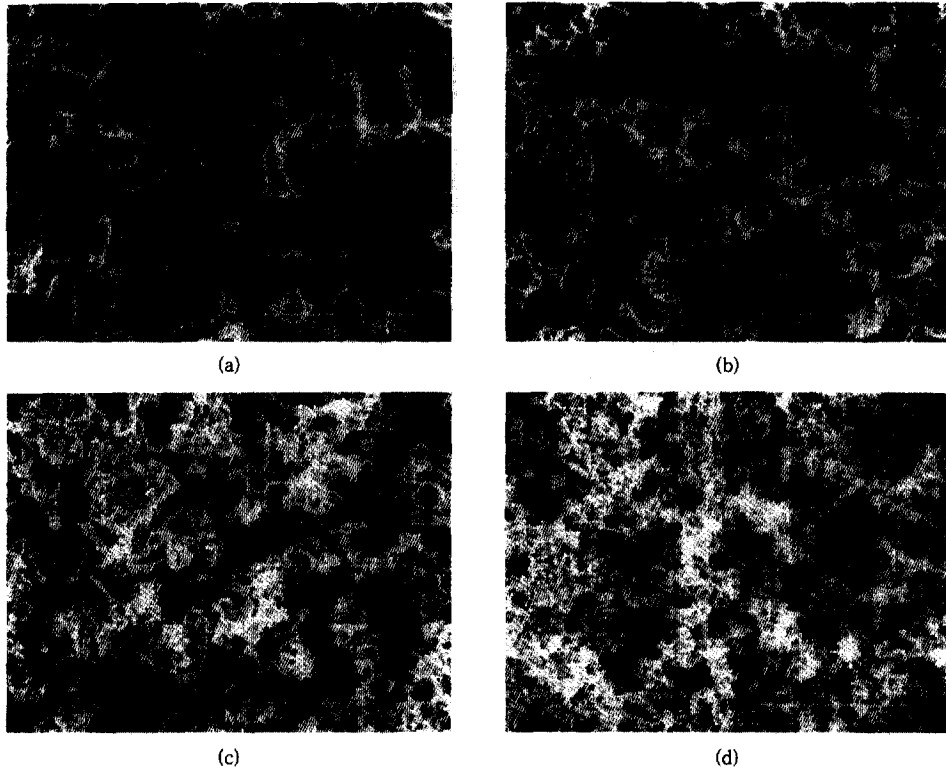


Figure 3. SEM micrographs of GS-loaded PLLA scaffolds prepared by the emulsion freeze-drying process ($\times 200$). cross-section, (a) PLLA (control), (b) 5% GS, (c) 10% GS, and (d) 20% GS.

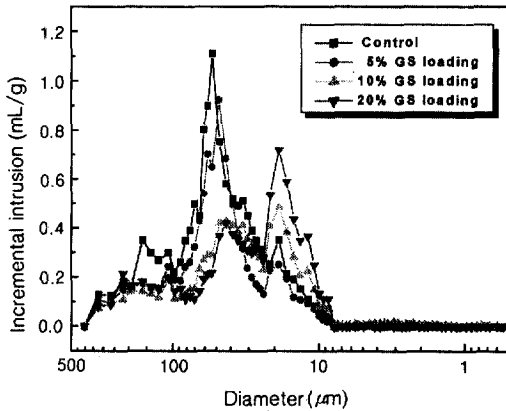


Figure 4. Pore size distributions of GS-loaded PLLA scaffolds. [■] PLLA (control), [●] 5% GS, [▲] 10% GS, and [▼] 20% GS.

과정시 GS 분자가 PLLA 분자쇄 사이로 침입하여 결정화가 감소된 것으로 사료된다.

Table 2. Results of Average Porosities, Median Pore Sizes, and Specific Pore Areas of Sample Nos. 5, 6, 7 and 8

sample No.	GS content (%)	porosity (%)	median pore size (μm)	specific pore area (m^2/g)
5	0	92	57	75
6	5	90	53	69
7	10	85	34	48
8	50	80	30	35

적심성 측정. Figure 5에는 유화동결건조방법에 의하여 제조된 GS가 서방화된 PLLA 지지체를 적심성 테스트를 위하여 0.01 w/v%의 푸른염색 수용액에 담근 후 12시간 동안 침투해 들어간 단면을 나타낸 것이다. 우선 GS가 없는 대조군지지체의 경우 12시간이 지난 후에도 지지체 표피 약간만 침투한 것으로 나타나 PLLA의 표면성질이 소수성임을 단적으로 보여주고 있다. 푸른염색 수용액의 침투속도는

Table 3. Thermal Properties of Gentamicin Sulfate-Loaded Scaffolds

sample No.	T_g (°C)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g ⁻¹)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g ⁻¹)	X_c
5	65.3	95.6	-31.7	175.8	64.8	0.105
6	62.3	94.7	-29.4	176.5	59.0	0.092
7	61.5	93.2	-27.5	176.2	54.7	0.083
8	60.8	88.7	-27.5	175.2	48.4	0.052

GS가 5<10<20% 순으로 12시간 이내에 PLLA 지지체 내에 염료가 침투됨을 보여 적십성이 향상됨을 알 수 있었다. 이것은 GS가 수용성 약물이어서 PLLA 지지체의 소수성 성질을 GS가 친수성 성질로 변화시키면서 적십성이 향상된 것으로 사료된다. PLLA 지지체의 소수성을 친수성화한 본 방법은 세포의 정착, 성장 및 분화에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 판단된다.

In vitro 방출 실험. Figure 6에는 GS의 초기 포

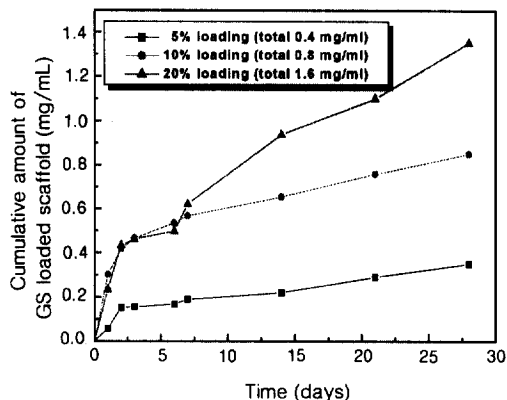


Figure 6. Cumulative amount of released GS from GS-loaded PLLA scaffolds prepared by the emulsion freeze-drying process. [■] 5% GS, [●] 10% GS, and [▲] 20% GS.

적량에 따른 GS의 방출량을 나타내었다. PLLA의 생분해에 의한 GS의 방출보다는 GS의 단순한 확산

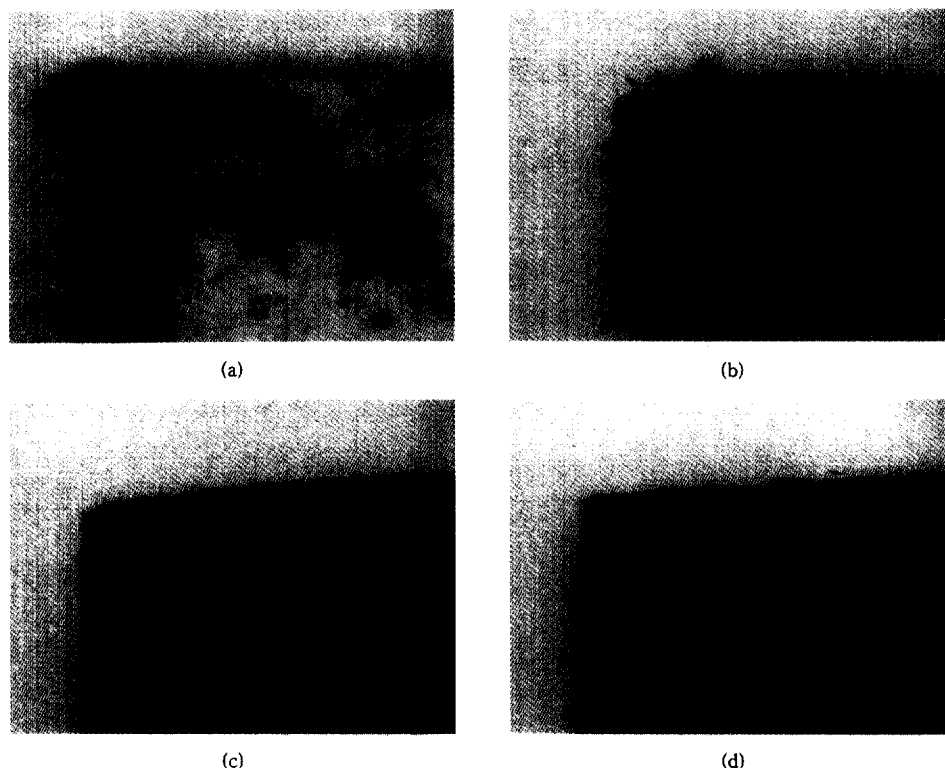


Figure 5. Wettability observations of GS-loaded PLLA scaffolds. cross-section, (a) PLLA (control), (b) 5% GS, (c) 10% GS, and (d) 20% GS.

으로 추측되는 GS의 서방화 메카니즘에 의하여 2일째까지 초기 버스트 방출을 보이다가 이 이후에는 거의 30일 동안 0차 방출을 나타내고 있고 또한 포접량이 증가할수록 방출되는 양이 증가함을 보이고 있어서 방출량을 조절할 수 있음을 알게 되었다. 따라서 본 연구에 의한 GS/PLLA 지지체의 GS의 서방화에 의하여 감염방지가 효과적으로 될 수 있음을 추측하게 해준다.

결 론

본 연구에서는 조직공학술 이용한 인공장기 재건에 있어 필수적 요소인 생분해성 지지체인 GS를 서방화한 감염방지용 다공성 PLLA 지지체를 유화동결 건조 방법에 의하여 제조하였다. 본 제조 방법에 의하여 제조된 PLLA 지지체의 다공도는 80~92%이었으며, 다공의 크기는 30~57 μm 그리고 가장 큰 것으로는 150 μm 이상의 것도 관찰되었다. 또한 비다공 면적은 35~75 (m^2/g)에 걸쳐 있었으며 다공과 다공사이의 연결은 세포가 성장하기에 적합한 연결된 구조를 가지고 있었다. 다공도, 다공의 크기 및 비다공 면적이 대조군에 비해 GS의 농도가 증가함에 따라 PLLA 지지체는 감소하는 것으로 보아 GS내의 설페이트 부분은 친수성 역할 그리고 젠타마이신 부분은 소수성 역할을 수행하는 제면활성제의 역할에 기인한 것으로 사료된다.

본 방법에 의하여 제조된 감염방지용 PLLA 지지체는 좋은 물성을 나타내며 비교적 용이하게 제조할 수 있다. 다공도와 다공의 크기가 PGA 부직포에 비하면 적은 수치이지만 비다공 면적이 크다는 장점이 있다.²⁷ 또한 본 방법은 염침출법과 같이 물에 용해시키는 과정이 없이 바로 동결건조시키므로 수용성 의약품-성장인자, 항생제 및 생체활성 의약품-을 PLLA 지지체 내에 분산시킨 뒤 서방화시켜 조직 성장의 활성화 및 유도 등을 자극시킬 수 있는 장점도 가지고 있다. 본 방법에 의하여 제조된 지지체는 두꺼운 두께(약 1 cm 이상)의 지지체도 제조할 수 있으며, 몰드의 형태에 따라서 복잡한 인체 장기의 형상을 자유자재로 제작하여 조직재생과 재건에 유용하게 사용할 수 있다.

또한 본 방법에 의하여 제조된 지지체인 GS가 서

방화된 PLLA 지지체의 경우 대조군에 비해 GS의 농도가 증가함에 따라 적십성이 향상되어 PLLA 지지체 표면을 친수화시켰으므로 조직세포 배양의 성장, 부착 및 분화에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다. 현재 이들의 *in vitro* 세포 배양 실험 및 *in vivo* 동물 실험 등이 진행 중이다.

감사의 글: 본 연구는 과학기술부(Grant No.; 99-N1-02-05-A-02)의 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
2. G. Khang and J. H. Lee, "The Properties of Biomaterials", in "Tissue Engineering: Concepts and Applications", eds. by J. J. Yoo and I. Lee, chap. 4. Korea Med. Pub. Co., Seoul, 1998.
3. J. P. Vacanti, M. A. Morse, W. M. Saltzman, A. J. Domb, A. Perez-Atayde and R. Langer, *J. Pediatr. Surg.*, **23**, 3 (1998).
4. G. Khang and H. B. Lee, *Chem. World*, **37**(3), 46 (1997).
5. G. Khang and H. B. Lee, *J. Biomed. Eng. Res.*, **20**(1), 1 (1999).
6. G. Khang, I. Jo, J. H. Lee, I. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 640 (1999).
7. G. Khang and H. B. Lee, *Bioindustry*, **22**, 32 (1999).
8. G. Khang, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 732 (1999).
9. I. Lee, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 782 (1999).
10. L. G. Cima, J. P. Vacanti, D. Ingber, D. Mooney, and R. Langer, *J. Biomech. Eng.*, **113**, 143 (1991).
11. R. Langer, L. G. Cima, J. A. Tamada, and E. Wintermantel, *Biomaterials*, **11**, 738 (1990).
12. S. J. Holland, B. J. Tighe, and P. L. Gould, *J. Controlled Release*, **4**, 155 (1986).
13. G. Khang, J. H. Jeon, J. W. Lee, S. C. Cho, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **7**, 357 (1997).
14. G. Khang, S. J. Lee, J. H. Lee, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 179 (1999).
15. D. F. Williams and E. Mort, *J. Bioeng.*, **1**, 231 (1997).
16. O. Bostaman, *J. Bone Joint Surg.*, **73A**(1), 148 (1991).
17. J. P. Singhal, H. Singh, and A. R. Ray, *Rev. Macromol.*

- Chem. Phys.*, **C28**, 475 (1988)
18. O. J. Hollinger and J. P. Schmitz, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, **45**, 594 (1987).
 19. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 46 (1999).
 20. D. J. Mooney, L. Cima, and R. Langer, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, **252**, 345 (1992).
 21. J. Klawitter and S. Hulbert, *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, **2**(1), 161 (1983).
 22. I. V. Yannas, E. Lee, D. P. Orgill, E. M. Skrabat, and G. F. Murghy, *Proc. Nat'l Acad. Sci., USA*, **86**(3), 933 (1989).
 23. M. Spector, M. J. Michon, W. H. Smarook, and G. T. Kwiatkowski, *J. Biomed. Mater. Res.*, **12**, 655 (1978).
 24. D. J. Mooney, C. Breuer, K. McNamara, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Tissue Eng.*, **1**(2), 107 (1995).
 25. J. H. Aubert and R. L. Clough, *Polymer*, **26**, 2047 (1985).
 26. S. Gogleswski and A. J. Pennings, *Macromol. Chem. Rapid Commun.*, **4**, 675 (1983).
 27. L. E. Freed, J. C. Marquis, A. Nohria, J. Emmanuel, A. G. Mikos, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 27 (1993).
 28. D. J. Mooney, D. F. Baldwin, N. P. Sub, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **17**, 1417 (1996).
 29. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Polymer (Korea)*, **23**(3), 471 (1999).
 30. G. Khang, J. H. Jeon, J. C. Cho, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **23**, 861 (1999).
 31. H. L. Wald, G. Sarakinos, M. D. Lyman, A. G. Mikos, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **14**, 270 (1993).
 32. D. M. Smith, D. W. Hua, and W. L. Earl, *MRS Bull.*, **19**(4), 44 (1994).
 33. A. G. Mikos, G. Sarakinos, S. M. Leite, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **14**(5), 323 (1993).
 34. G. Khang, S. J. Lee, J. H. Jeon, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**(6), 869 (2000).
 35. S. J. Lee, G. Khang, J. H. Lee, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**(6), 877 (2000).
 36. H. L. Ritter and L. C. Drake, *Ind. Eng. Chem.*, **17**, 782 (1945).
 37. K. Jamshidi, S. H. Hyon, and Y. Ikada, *Polymer*, **29**, 2229 (1988).
 38. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, **7**, 79 (1999).
 39. G. Khang, H.-S. Choi, J. M. Rhee, S. C. Yoon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, **8**, 253 (2000).
 40. H.-S. Choi, S. W. Kim, D.-I. Yun, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, to appear (2001).
 41. W.-I. Son, D.-I. Yun, G. Khang, B.-S. Kim, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, to appear (2001).
 42. A. W. Adamson, "Physical Chemistry of Surfaces", p. 525, John Wiley, New York, 1990.
 43. D. H. Everett, "Basic Principles of Colloid Science", p. 115, The Royal Society of Chemistry, London, 1989.
 44. L. L. Schramm, *Adv. Chem. Ser.*, **1**, 231 (1992).
 45. D. H. Everett, "Basic Principles of Colloid Science", p. 130, The Royal Society of Chemistry, London, 1989.