

PEG-PPG 블록 공중합체를 이용한 폴리(DL-락타이드-co-글리콜라이드) 나노입자의 제조

정택규 · 오유미 · 신병철[†]

한국화학연구원 화학소재부

(2003년 5월 10일 접수, 2003년 6월 25일 채택)

Preparation of Poly(DL-lactide-co-glycolide) Nanoparticles by PEG-PPG Diblock Copolymer

Taek Kyu Jung, Yu Mi Oh, and Byung Cheol Shin[†]

Advanced Materials Division, Korea Research Institute Chemical Technology,

100 Jang-dong, Yusong, Daejeon 305-606, Korea

[†]e-mail : bcshin@pado.kRICT.re.kr

(Received May 10, 2003; accepted June 25, 2003)

초록 : 나노입자의 제조 방법인 개선된 자발적 용매 확산 방법을 이용하여 폴리(DL-락타이드-co-글리콜라이드) 나노입자를 제조하였다. 고분자 용액은 물에 잘 혼합되는 유기 용매인 에탄올과 아세톤의 이중 혼합 용매를 사용하여 제조하였다. 유화제 및 안정제는 우수한 생체적합성을 갖는 PEG-PPG 블록 공중합체를 사용하였다. 최적의 나노입자 제조 조건을 얻기 위하여 나노입자 형성에 영향을 주는 인자들인 안정제의 종류 및 농도, 교반 방법, 물/오일 상의 비, 고분자의 농도 등을 고려하였다. 나노입자 제조 후, 입자의 크기 및 분산도는 광산란 입도 분석기를 이용하여 평가하였다. 제조된 나노입자는 50~200 nm의 크기와 단분산 형태의 크기분포를 보였다. 또한, 유기상과 수용액상에서 이중 혼합 용매와 고분자의 농도에 대한 적당한 조건을 조절함으로써 PLGA 나노입자의 높은 수율과 우수한 물리적 특성을 얻을 수 있었다.

ABSTRACT : Poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles were prepared by the modified spontaneous emulsification solvent diffusion method. Polymer solution was prepared by two water-soluble organic solvents, such as ethanol and acetone. Because of its biocompatible nature, PEG-PPG diblock copolymer was used as surfactant and stabilizer. The influence of several preparative variables on the nanoparticle formation, such as type and concentration of stabilizing agent, stirring methods, water/oil phase ratio and polymer concentration were investigated in order to control and optimize the process. After preparation of nanoparticles, particle size and distribution were evaluated by the light scattering particle analyzer. As results, the particle size was 50-200 nm and dispersibility was monodisperse. It was found that the appropriate selections of binary solvent mixtures and polymeric concentrations in both organic and aqueous phases could provide a good yield and favorable physical properties of PLGA nanoparticles.

Keywords : poly(DL-lactide-co-glycolide), diblock copolymer, nanoparticle, emulsification.

1. 서론

최근에, 생체 적합성이 우수하며 생체 내에서 분해되는 성질을 가지는 고분자를 이용하여 약물 전달체로 사용하기 위한 연구가 광범위하게 연구되어지고 있다.¹⁻¹¹ 특히, 최근에 이러한 고분자로 만들어진 콜로이드 입자

들을 극히 미세한 크기의 나노입자의 형태로 제조하여 약물을 봉입한 후 주사제로 활용하기 위한 연구가 진행되고 있다.^{12,13} 이러한 나노입자는 극히 작은 크기와 큰 표면적을 가지는 특성이 있으며, 선택적 약물 전달을 유용하게 할 뿐만 아니라 약물의 투과율도 향상시켜 주는 방법으로 알려져 있다.^{14,15}

폴리(DL-락타이드-co-글리콜라이드), (PLGA)는 생체 적합성이 우수하고 생체 내 분해성을 가짐으로써 지속적으로 장기간의 약물의 방출 조절이 가능한 약물 전달체로 주목을 받고 있는 고분자중 하나이다.¹⁶ PLGA를 이용한 나노입자 제조에 있어 기존에 발표된 제조 방법에는 emulsion-evaporation method,¹⁷ salting out method,¹⁸ nanoprecipitation method 등이¹⁴ 있다. 그러나, 위에서 언급한 방법들은 독성 용매의 사용, 생분해성이 없고 생체 내에서 불안정성을 갖는 유화제, 낮은 수율과 약물의 로딩 효율 등 여러 가지 문제점을 가지고 있는 것으로 보고되었다.^{19,20} 이러한 방법들의 단점을 보완하고 효과적으로 PLGA 나노입자를 얻을 수 있는, 자발적 유화 용매 확산법 (spontaneous emulsification solvent method, SESD method)이 보고된 바 있다.²¹ 이 제조방법은 고분자 용액의 용매로서 디클로로메탄과 아세톤의 이중 유기 혼합 용매를 사용하였으며, 유화과정과 용매-확산 과정을 거쳐 입자가 형성된다. 하지만, 나노입자가 형성될 때 심한 뭉침현상이 일어나 대규모로 제조하기가 어려운 단점이 있는 것으로 알려져 있다.^{22,23} 이러한 단점을 보완하기 위하여 Murakami 그룹에서는 디클로로메탄을 알코올로 대체하고 한외 여과 과정을 공정에 도입하여 안정된 수율과 대규모의 제조가 가능한 것으로 보고하였다.^{24,25} Murakami 그룹에 의하여 제안된 이 방법은 PLGA와 유화제에 대하여 서로 상반된 친화도를 갖고 있는 알코올과 아세톤을 일정한 조합으로 혼합한 용매를 사용하여 고분자 용액을 제조한 후, 유화제로 사용된 폴리(비닐 알코올), (PVAL) 수용액에 분산시켜 250 nm 내외의 입자 크기를 갖는 나노입자를 제조하였다. 그러나, 나노입자를 생체 내 전달체로 사용할 경우, 생체 막 투과율을 높이고, 선택적인 약물 운반체로 사용하기 위해서는 50~100 nm 범위의 입자 크기가 되어야 하는 것으로 보고된 바 있다.²⁶

본 연구에서는 Murakami 그룹에서 제안한 자발적 유화 용매 확산법을 개선하여 입자의 평균 크기가 100 nm 이하의 크기로 제조되는데 연구의 초점을 맞추었다. 또한, 고분자 용액과 유화제의 농도, 수용액 상의 기계적 교반 방법과 유화제의 종류 등 PLGA 나노입자 형성에 영향을 미치는 여러 가지 인자들을 변화시켜 만족할만한 크기와 성질을 갖는 나노입자를 제조하고자 하였다. 이를 위하여, 기존의 제조 방법에서 몇 가지 개선된 제조 방법을 제안하였다.

첫 번째로 수용액 상의 기계적 교반 방법의 개선으로, 기존의 기계적 교반기를 사용하지 않고 강력한 초음파를 이용하는 방법을 사용하였다. 두 번째로, 기존의 PLGA 나노입자의 안정제로 사용된 PVAL의 혈액 내에서의 불안정성을 개선하기 위하여 보다 생체 적합성이 우수한

PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제 및 안정제로 사용하였다. 또한, PVAL과 polyoxyethylene sorbitan monooleate를 유화제로 사용한 경우와 입자의 크기, 수율, 입자의 안정성 등을 비교하였다.

2. 실험

시약. 본 실험에서 나노입자를 제조하기 위하여 사용된 고분자로서, 분자량이 50000~75000이고 공동 단량체의 비율이 85/15인 PLGA (Aldrich, Milwaukee, WI, USA)를 구입하여 그대로 사용하였다. 유화제로 사용된 PEG-PPG 블록 공중합체 (BASF, Lutrol F 68, Germany), poly(vinyl alcohol) (PVAL) (Aldrich, Milwaukee, WI, USA), polyoxyethylene sorbitane monooleate (Yakuri pure chemical CO., Tween 80, Osaka, Japan)는 구입하여 그대로 사용하였다. 알코올과 아세톤 등의 유기 용매는 일반적인 시약 등급을 사용하였다.

PLGA 나노입자의 제조. PLGA 나노입자는 자발적 유화 용매 확산법에 의하여 제조하였다.²⁴

이 방법은 다음과 같은 세 단계의 과정을 통하여 진행하였다. 우선, Quasi-emulsification을 위하여 PLGA 50 mg을 아세톤과 에탄올을 6 : 4 비율로 혼합한 용매 2.5 mL에 용해시켰다. PEG-PPG 블록 공중합체 수용액 (8%, w/w) 20 mL를 ultrasonicator (Ultrasonicator, model 500, Fisher Scientific, USA)를 이용하여 강한 초음파를 조사하여 교반시켜 주면서, 주사기를 이용하여 PLGA 용액을 초음파가 발생하는 마이크로 팁의 끝 부분에 서서히 첨가하였다.

제조된 나노입자의 정제 단계는 PLGA 용액과 유화 용액을 혼합하여 제조한 에멀전 용액을 1000 mL 플라스크에 옮긴 후, 증류수 200 mL를 첨가하여 희석하였다. 이 희석 용액을 한외 여과 장치에 옮긴 후, 20 mL까지 농축하고 다시 200 mL로 희석하는 과정을 3회 반복하였다. 마지막으로, 한외 여과 과정 후, 20 mL로 농축된 용액을 여과지를 이용하여 여과한 후 동결 건조하여 나노입자 분말을 얻었다.

PLGA 나노입자의 크기 및 분포 측정. 제조된 입자의 크기와 분포도는 light scattering particle analyzer (Electrophoretic light scattering spectrophotometer, ELS-8000, OTUSKA Electronics Co., Japan)를 이용하여 측정하였다. 동결-건조 과정 전의 입자 크기는 10배로 희석된 분산 용액을 사용하여 측정하였고 동결-건조 과정 후 입자 크기는 동일한 농도로 증류수에 재 분산한 후, 측정하였다.

PLGA 나노입자의 수율 측정. PLGA 나노입자의 수율은 한외 여과 과정 후, 정제된 분산 용액을 0.22 μ m

membrane (cellulose acetate membrane, NY, Corning, USA) 을 이용하여 감압 여과하고 동결-건조 과정 후 얻어진 나노입자의 무게를 측정하여 나노입자의 수율을 평가하였다. 나노입자의 수율은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Yield}(\%) = \frac{\text{Weight of nanoparticles}}{\text{Weight of polymer formulation}} \times 100(\%)$$

PLGA 나노입자의 형태 관찰. PLGA 나노입자의 형태는 scanning electron microscope (SEM) (6700F Cold/Fe-SEM, JEOL Co., Japan)과 transmission electron microscope (TEM) (JEM-2010, JEOL Co., Japan)을 이용하여 관찰하였다.

ATR-IR 측정. PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제 및 안정제로 사용하여 제조한 PLGA 나노입자의 표면에 PEG-PPG 블록 공중합체의 코팅 여부를 확인하기 위하여 PLGA와 유화제가 코팅된 나노입자를 ATR-IR (CT-06484, Spectra-Tech Inc., USA)을 이용하여 비교 분석하였다.

PEG-PPG 블록 공중합체 함유량 측정. PLGA 나노입자의 안정성을 평가하기 위한 방법으로 PLGA 나노입자의 표면에 물리적으로 결합된 PEG-PPG 블록 공중합체의 양을 다음과 같은 방법으로 측정하였다.

먼저 동결-건조된 나노입자 200 mg에 25 mL 디클로로메탄을 첨가하고 30분 동안 교반하여 PLGA를 용해시켰다. 이 용액은 여과지를 통과시켜 여과한 후, 소량의 디클로로메탄으로 세척하였다. 디클로로메탄에 용해되지 않고 여과지에 남아있는 PEG-PPG 블록 공중합체의 양을 측정하기 위하여 여과지를 건조한 후 고분자의 무게를 측정하였다.

3. 결과 및 토론

유화제의 종류에 따른 영향. SESD 방법은 두 종류의 유기 용매에 녹아있는 PLGA가 유화제가 포함되어 있는 수용액에 분산될 때, 유기상의 PLGA와 수용상의 유화제, 두 고분자간의 코아세르베이션 과정을 이용하는 것으로 알려져 있다.²¹ 유화제는 일반적으로 유기상을 효과적으로 분산시키고, 분산된 입자의 안전성을 부여하기 위하여 사용된다. 따라서 PLGA 나노입자 제조는 유화제의 종류와 성질에 따라 입자 크기와 안정성 등에 많은 영향을 받는다.

Figure 1은 PEG-PPG 블록 공중합체와 PVAL, Tween 80을 유화제로 각각 사용하여 PLGA 나노입자를 제조한

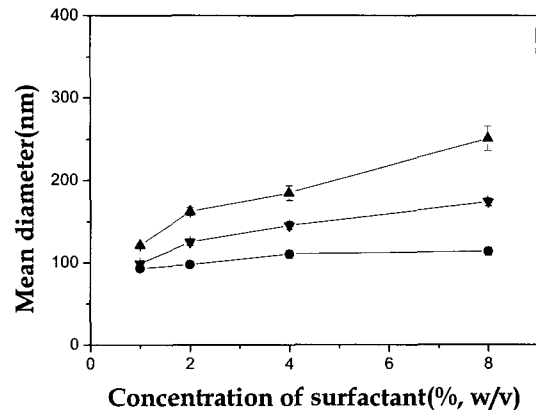


Figure 1. Mean diameters of the PLGA nanoparticles with a type of surfactant prepared in the SESD method. PLGA concentration : 2% w/v (●- PEG-PPG diblock copolymer, ▲- PVAL, ▼- polyoxyethylene sorbitan monooleate).

후 입자의 크기를 비교한 결과이다. 동일한 농도에서 나노입자를 제조하였을 때 PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제로 사용한 경우가 다른 경우에 비해 더 작은 나노입자를 형성하였다. 이 결과는 입자의 크기가 커지는 주된 원인으로 알려진 뭉침현상을 방지하는데 있어 PEG-PPG 블록 공중합체가 PVAL이나 Tween 80에 비하여 더 효과적인 것을 보여주는 결과이다. PLGA 나노입자 제조에 사용된 대표적인 유화제 중의 하나인 PVAL은 유화제와 안정제로서 PLGA 나노입자 표면에 강하게 결합되어 나노입자를 안정화하는 것으로 알려져 있다.²⁷ 하지만, PVAL은 혈액 내에서의 불안정성에 의해 약물 전달체로 사용하는 데 어려움이 있기 때문에 PVAL을 대신할 수 있고 생체적합성이 우수한 유화제를 찾는 연구가 진행되어 왔다. PVAL을 대체하기 위한 유화제로서 polyoxyethylene sorbitane monooleate, poly(vinyl pyrrolidone), dextran, poloxamer 등이 보고되었다.¹⁹ PEG-PPG 블록 공중합체는 생체 친화성이 우수한 PEG가 포함되어 있어 생체 내 약물 전달체로 사용할 경우, PVAL에 비하여 생체 적합성이 우수할 것으로 예상된다.

교반 방법에 따른 영향. Figure 2는 동일한 농도 조건에서 PLGA 나노입자를 제조할 때 교반 방법으로 자기 교반기, 혼합기, 초음파를 사용하였을 때 제조된 나노입자의 크기를 비교한 결과이다. 제조된 PLGA 입자의 크기는 자기교반기나 혼합기를 사용한 경우보다 초음파를 사용한 경우에 더 감소하였다. 또한, 유화제의 농도가 1~8% w/v 범위에서는 100 nm 내외의 나노크기의 입자들이 높은 비율로 형성됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는, PLGA 용액이 유화제가 포함되어 있는 수용액에 될 때 강한 초음파에 의해서 효과적으로 분산되어 유화

시, 보다 작은 quasi-emulsion droplet을 형성함에 따른 것으로 사료된다.

PLGA 나노입자의 크기는 PLGA 용액을 유화제가 포함된 수용액에 분산시켜 quasi-emulsion droplet을 형성할 때 교반 속도와 교반 방법에 영향을 받는다. PLGA 나노입자의 크기는 유화시의 교반 속도가 빠를수록, 교반 시간이 길수록 더 작아진다고 알려져 있다.^{7,19} 지금까지 사용된 교반 방법은 자기교반기, 혼합기 등과 같은 기계적 교반 방법을 사용하였다. 하지만, 기존의 기계적 교반 방법으로 제조한 PLGA 입자는 250 nm 내외의 입자 크기를 보였으며 고분자의 농도가 높아지게 되면 뭉침현상이 심하게 일어나는 것으로 알려져 있다.²⁴ 이러한 이유로, 본 연구에서는 고분자 용액을 강한 초음파를 사용하여 유화제가 포함된 수용액에 분산시키는 방법을 사용하였으며 100 nm 내외의 입자 크기를 얻을 수

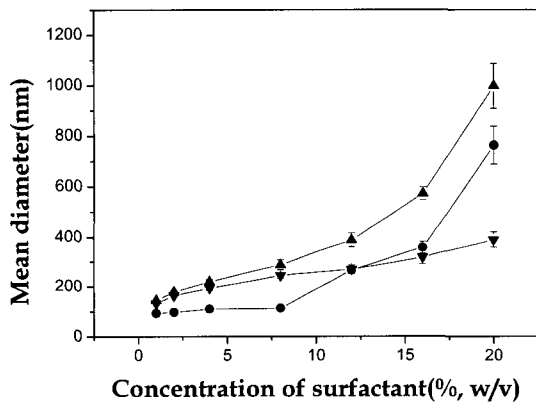


Figure 2. Mean diameters of PLGA nanoparticles prepared by a stirring method. PLGA concentration : 2% w/v (-●- ultrasonicator, -▲- homomixer, -▼- magnetic stirrer).

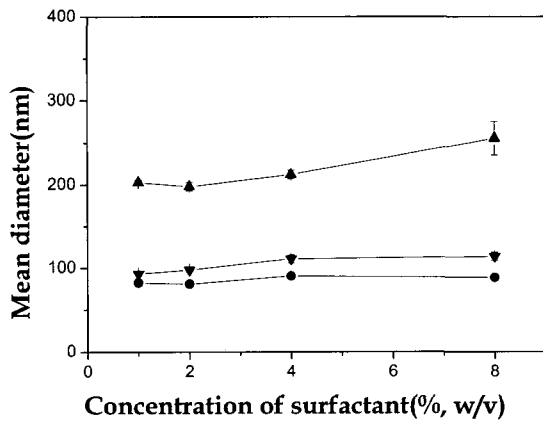


Figure 3. Mean diameters of PLGA nanoparticles with a variation of concentration of PLGA prepared by the SESD method (PLGA concentration : -●- 1, -▲- 2, -▼- 4).

있었다.

유화제 및 PLGA 농도에 따른 영향. Figure 3은 PLGA와 PEG-PPG 블록 공중합체의 농도를 변화시켜 나노입자를 제조했을 때 입자 크기의 변화를 나타낸 것이다. 제조된 나노입자는 PLGA의 농도가 1, 2, 4% w/v로 높아질수록 입자의 크기가 증가하였으며, 유화제의 농도가 1-8% w/v 범위에서는 별다른 입자의 크기 변화가 일어나지 않았다. 하지만, 16% w/v 이상의 농도에서 입자의 크기가 급격히 증가하는 것으로 나타났다. PLGA는 나노입자 제조에 있어서 유화제와 PLGA의 농도에 큰 영향을 받는 것으로 알려져 있다.⁷ 보고된 바에 따르면 유화제의 농도가 높을수록 제조된 나노입자의 크기가 작아지고 안정성도 증가하지만 일정 농도 이상에서는 오히려 PLGA 입자 주위에 유화제의 뭉침이 일어나 입자의 크기가 증가하며, 고분자 용액의 농도가 증가할수록 입자 크기도 증가하는 것으로 알려져 있다.¹⁹ Figure 3의 결과를 보면 PLGA 나노입자의 크기가 PLGA의 농도가 증가할수록 뚜렷하게 증가하는 것을 볼 수 있다. 이러한 결과는 PLGA의 농도가 증가할수록 유화제가 포함된 수용액에 분산될 때 형성된 에멀전 방울들의 밀도가 높아져서 뭉침현상이 일어나는데 기인하는 것으로 알려져 있다.²³ 반면에, 1-8% w/v 범위에서 기존 연구 결과와는 다르게 유화제의 농도에는 별다른 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 유화제로 사용된 PEG-PPG 블록 공중합체가 낮은 농도에서도 에멀전 방울의 효과적인 분산과 안정성을 확보하기 때문인 것으로 사료된다.

Figure 4는 PLGA와 유화제로 사용된 PEG-PPG 블록 공중합체의 비율 변화에 따른 입자 크기의 변화를 나타낸 결과이다. 유화제에 대한 PLGA의 비율이 40% w/w

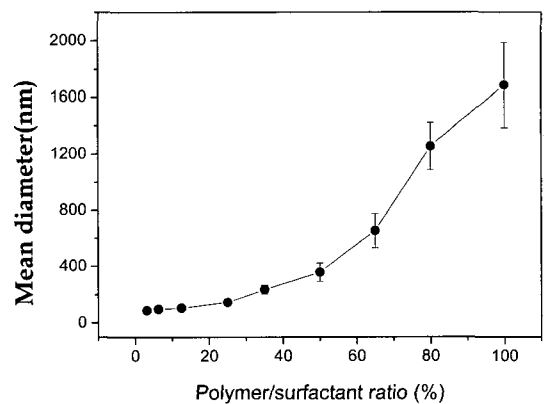


Figure 4. Effect of polymer/surfactant ratio on the mean size of the PLGA nanoparticles. solvent composition : ethanol/acetone = 6/4.

보다 낮은 조건에서 200 nm 이하의 입자 크기로 제조되었으며 유화제의 비율이 그 이상으로 증가할수록 입자의 크기는 급격히 증가하였다. 이러한 결과는 에멀전의 효과적인 분산과 안정성에 대한 유화제의 역할을 보여주는 것으로서, 100 nm 정도의 입자 크기를 얻기 위해서는 유화제에 대한 고분자의 비율이 10%이하이어야 함을 보여준다.

PLGA 나노입자의 수율. Figure 5는 2% w/v PEG-PPG 블록 공중합체 농도에서 PLGA 용액의 농도를 변화시켜 나노입자를 제조하였을 때 얻어진 나노입자의 수율 변화를 나타낸 결과이다. PLGA 용액의 농도가 증가할수록 나노입자의 수율이 감소하였다. PLGA의 농도가 2-4% w/w 범위에서는 95% 이상의 높은 수율을 보였으나 10% w/w 이상의 범위에서는 급격한 수율 감소가 나타났다. 이러한 결과는 PLGA의 농도가 증가할수록 뭉침현상이 증가하여 입자의 크기가 증가하고 10% w/w 이상의 조건에서는 급격한 뭉침현상이 일어나 대부분 침전이 일어나기 때문인 것으로 사료된다.

Figure 6은 PLGA 나노입자 제조시 유화제의 종류와 농도가 수율에 미치는 영향을 나타낸 결과로서 8% w/v의 동일한 PLGA 농도조건에서 PVAL, Tween 80과 PEG-PPG 블록 공중합체의 농도에 따른 수율의 변화를 비교하였다. PLGA 나노입자의 수율 변화는 유화제의 농도가 8% w/v 까지 서서히 증가했지만 그 이상의 농도에서는 서서히 감소하였으며, 16% w/v 이상의 농도에서는 급격히 감소하였다. 또한, PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제로 사용한 경우가 다른 유화제를 사용한 경우에 비하여 5~10% 높은 수율을 나타냈다.

우수한 나노입자의 수율을 얻기 위해서는 나노입자의 제조 과정 중이나 제조 후에 입자간의 뭉침현상으로 인

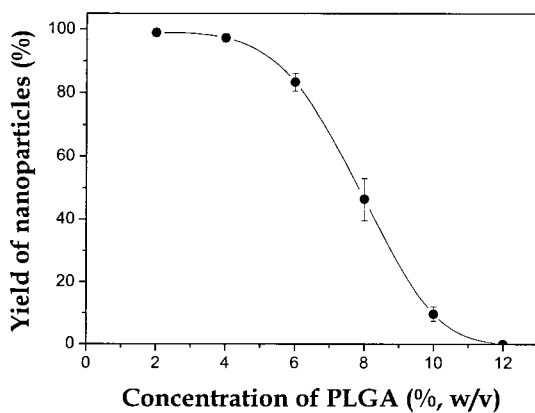


Figure 5. Effect of PLGA concentration on the yield of nanoparticles prepared with PEG-PPG diblock copolymer system. Surfactant concentration: 2% w/v.

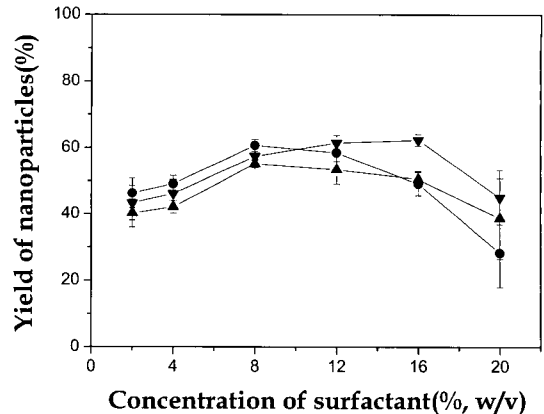


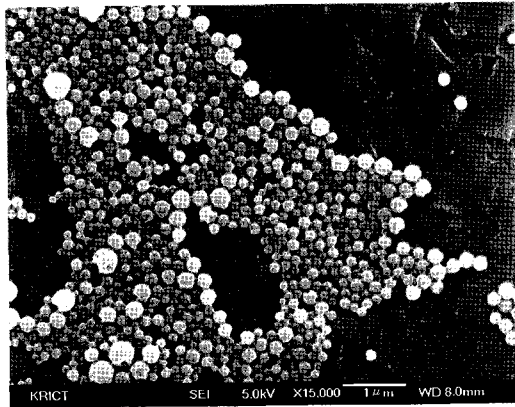
Figure 6. Effect of PEG-PPG diblock copolymer on the yield of the PLGA nanoparticles by the SEDS method. Organic solvent: ethanol/acetone mixture. PLGA concentration, 8% w/v (-●- PEG-PPG diblock copolymer, -▲- PVAL, -▼- polyoxyethylene sorbitan monooleate).

한 손실이 적어야 하며 이것은 나노입자간의 안정성에 영향을 미치는 유화제 및 안정제의 역할이 중요한 변수이다. 이와 같이 Figure 6의 결과는 유화제의 농도가 입자의 크기뿐만 아니라 안정성에도 크게 영향을 미치는 것을 보여주는 결과이며, PEG-PPG 블록 공중합체가 유화제 및 안정제로서 효과적임을 보여주는 결과이다.

PLGA 나노입자의 물리적 성질. Figure 7은 PLGA 나노입자를 에탄올/아세톤 (6/4)의 용매 조건에서 2% w/v PLGA 농도와 유화제로 8% w/v PEG-PPG 블록 공중합체의 농도에서 초음파를 사용하여 제조한 후, 동결-건조한 나노입자의 SEM과 TEM 이미지이다. 제조된 PLGA 나노입자는 구형이고, 분리된 입자로 존재하며 매끄러운 표면 형태를 가지고 있었으며 100 nm 정도의 평균 크기를 보였다.

Figure 8은 PEG-PPG 블록 공중합체가 표면에 코팅되어 있는 PLGA 나노입자의 ATR-IR 결과를 나타낸 것이다. 순수한 PLGA의 ATR-IR 스펙트럼 (a)의 경우, 1800 cm⁻¹ 부근에서 PLGA에서 특징적으로 나타나는 카르보닐 특성 피크를 보이고 있으나, 본 연구에서 제조된 PLGA 나노입자의 스펙트럼 (b)의 경우, 카르보닐 특성 피크가 약해지고 PEG-PPG 블록 공중합체의 구조에서 나타나는 특징적인 피크가 1000 cm⁻¹ 부근에서 나타나는 것으로, PEG-PPG 블록 공중합체가 PLGA 나노입자의 표면에 코팅되어 있음을 보여주는 결과이다.

Table 1은 나노입자의 동결 건조 전, 후의 입자 크기를 비교한 결과이다. PLGA 나노입자는 단분산 형태의 다분산성을 보이고 있으며, 이 결과는 동결 건조 또는 재분산에 의하여 나노입자의 성질이 크게 변하지 않음을



(a)



(b)

Figure 7. Morphology of PLGA nanoparticles prepared with a PEG-PPG diblock copolymer. (a) SEM ; (b) TEM images.

알 수 있다. 이러한 현상은 PLGA 표면에 코팅되어 있는 안정제에 의한 효과에 기인하는 것으로 보고된 바 있다.^{23,24} 따라서, PLGA 나노입자는 PLGA 표면에 코팅된 PEG-PPG 블록 공중합체의 안정화에 의하여 우수한 재분산성을 가지는 것으로 사료된다. 또한, 이러한 성질은 수용액 속에 분산되어 있을 때 발생할 수 있는 PLGA의 가수분해를 예방하며, 분말화된 PLGA로의 보관이 가능하게 한다.

Table 2는 정제 및 세척 과정으로 사용된 한외 여과를 1~8회 반복하면서 각각의 경우에 대하여 나노입자의 크기와 PLGA 나노입자에 포함되어 있는 PEG-PPG 블록 공중합체의 양을 비교한 결과이다. 이 결과는 세척 과정이 반복되어도 입자의 크기와 PEG-PPG 블록 공중합체의 함량이 변하지 않는 것을 보여주며, 이것은 입자 표면에 PEG-PPG 블록 공중합체의 층이 강하게 흡수되어 있다는 것을 보여주는 결과이다. 동결 건조 후 분말화된

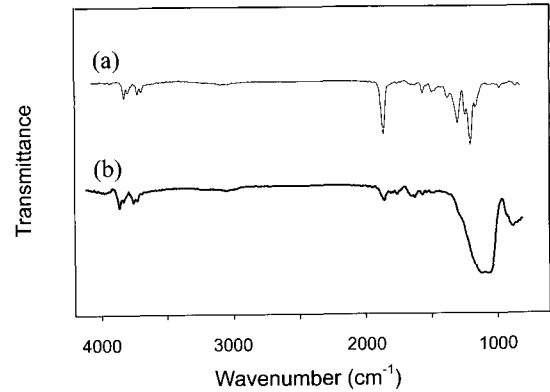


Figure 8. ATR-IR spectra of PLGA nanoparticles prepared with a PEG-PPG diblock copolymer. (a) PLGA (85/15) and (b) PLGA nanoparticles coated PEG-PPG diblock copolymer.

Table 1. Effect of Freeze-Drying Process on the Mean Diameter and Polydispersity Prepared PEG-PPG Diblock Copolymer System. PLGA Concentration: 2% w/v

concentration of surfactant(% w/v)	mean diameter(nm)		polydispersity	
	before ^a	after ^b	before	after
1	93.1	95.3	1.459e-1	1.985e-1
2	97.6	100.2	1.873e-1	2.103e-1
4	110.6	115.3	1.784e-1	2.036e-1
8	113.6	118.9	2.759e-1	2.679e-1

^a Before freeze-drying. ^b After rehydration of freeze-dried nanoparticles.

Table 2. Mean Diameter and Amount of Residual PEG-PPG Diblock Copolymer of PLGA Nanoparticles after Washing by Ultrafiltration. PLGA Concentration: 2% w/v, Surfactant Concentration: 8% w/v

number of ultrafiltration	mean diameter(nm)	PEG-PPG diblock copolymer content (%)
1	121.2	1.98
2	117.3	2.01
4	113.7	1.85
6	113.5	1.86
8	113.9	1.84

나노입자의 좋은 재분산성은 PLGA 나노입자의 표면에 강하게 흡착되어 있는 PEG-PPG 블록 공중합체의 친수성에 기인하는 것으로 사료된다.

4. 결론

본 연구에서는 PLGA 나노입자를 자발적 용매 확산 방법에 의하여 제조하였으며, PEG-PPG 블록 공중합체, PVAL, Tween 80을 유화제 및 안정제로 사용하여 제조된

나노입자의 특성을 조사하였다. PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제로 사용하여 제조한 PLGA 입자는 농도 조건에 따라서 100 nm 내외의 구형의 나노입자를 형성하였다. 제조된 나노입자의 ATR-IR 측정을 통하여 PEG-PPG 블록 공중합체가 PLGA 나노입자의 표면에 결합되어 있는 것을 확인하였으며, PLGA와 유화제의 농도, PLGA와 유화제의 비율, 유화시의 교반 방법은 PLGA 나노입자의 크기와 수율에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 제조된 PLGA 나노입자는 동결-건조 과정을 거친 후 재분산하였을 때에도 입자 크기의 변화가 거의 없었다. PLGA 나노입자 표면에 결합된 PEG-PPG 블록 공중합체의 함량은 여러 번의 세척과정을 거친 후에도 일정하게 유지됨으로써 입자 표면에 강하게 결합하여 PLGA 나노입자를 안정화시킴을 알 수 있었다.

감사의 글 : 본 연구는 과학기술부 기능성 화합물질 개발 사업으로 이루어진 것으로 이에 감사를 드립니다.

References

1. D. H. Lewis, M. Chasim, *Biodegradable Polymer as Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York, 1990.
2. T. Alexakis, D. K. Boadi, D. Quong, A. Groboillot, I. O'Neill, D. Poncelet, and R. Neufeld, *J. Appl. Biochem. & Biotechnol.*, **50**, 93 (1995).
3. W. Lu and T. G. Park, *J. Pharm. Sci. Technol.*, **45**, 13 (1995).
4. A. Kim, S. J. Park, and J. R. Lee, *J. Colloid Interf. Sci.*, **197**, 119 (1998).
5. Y. I. Jeong, Y. H. Shim, K. C. Song, Y. G. Park, H. W. Ryn, and J. W. Nah, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **23**, 1579 (2002).
6. Y. I. Jeong, J. G. Ryn, Y. H. Kim, and S. H. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **23**, 872 (2002).
7. S. J. Park, S. H. Kim, I. R. Lee, H. B. Lee, and S. K. Hong, *Polymer(Korea)*, **26**, 326 (2002).
8. G. Khang, S. A. Seo, H. S. Choi, and J. M. Lee, *Macromol. Res.*, **10**, 246 (2002).
9. J. C. Cho, G. Khang, and J. M. Lee, *Korea Polym. J.*, **7**, 79 (1999).
10. J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 80 (2000).
11. K. J. Keon, Y. I. Jeong, M. K. Jang, C. H. Lee, and J. W. Nah, *Polymer(Korea)*, **26**, 535 (2002).
12. T. Govender, S. Stolik, M. C. Garnett, L. Illum, and S. S. Davis, *J. Control. Release*, **57**, 171 (1999).
13. J. C. Cho, G. Khang, H. S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**, 728 (2000).
14. H. Fessi, Puisieux, N. Ammoury, and S. Benita, *Int. J. Pharm.*, **55**(1), R1-R4 (1989).
15. M. O. Omelozuk and J. W. McGinity, *STP Pharm. Sci.*, **5**, 181 (1995).
16. S. J. Holland, B. J. Tighe, and P. L. Gould, *J. Control. Release*, **4**, 155 (1986).
17. R. Gurny, N. A. Peppas, D. D. Harrington, and G. S. Banker, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **7**, 1(1981).
18. E. Allemann, R. Gurny, and E. Doelker, *Int. J. Pharm.*, **87**, 247 (1992).
19. S. W. Choi, H. Y. Kwon, W. S. Kim, and J. H. Kim, *Colloids Surf.*, **201**, 283 (2002).
20. D. Quintanar-Guerrero, H. Fessi, E. Allemann, and E. Doelker, *Int. J. Pharm.*, **143**, 133 (1996).
21. T. Niwa, H. Takeuchi, T. Hino, N. Kunou, and Y. Kawashima, *J. Control. Release*, **25**, 89 (1993).
22. A. Schada, T. Niwa, H. Takeuchi, T. Hino, and Y. Kawashima, *Int. J. Pharm.*, **117**, 209 (1995).
23. H. Murakami, Y. Kawashima, T. Niwa, T. Hino, H. Takeuchi, and H. Kobayashi, *Int. J. Pharm.*, **149**, 43 (1997).
24. H. Murakami, M. Kobayashi, H. Takeuchi, and Y. Kawashima, *Int. J. Pharm.*, **187**, 143 (1999).
25. H. Murakami, M. Kobayashi, H. Takeuchi, and Y. Kawashima, *Powder Technol.*, **107**, 137 (2000).
26. P. K. Gupta, *Pharm. Sci.*, **79**, 949 (1992).
27. H. Murakami, Y. Kawashima, T. Niwa, T. Hino, H. Takeuchi, and M. Kobayashi, *Int. J. Pharm.*, **149**, 43 (1997).