

전기방사 공정을 이용한 새로운 약물전달 시스템에 관한 연구

New Drug Delivery System using an Electrohydrodynamics Process

*윤현¹, 안승현¹, 전호준¹, 이형진¹, 정나리², 박윤경², 이민석³, 박길문¹, 이형남¹, #김근형¹
 *H. Yoon¹, S.H. Ahn¹, H.J. Jeon¹, H.J. Lee¹, N.R. Jeong², Y.K. Park², M.S. Lee³, G.M. Park¹, H.N. Lee¹,
 #G.H. Kim(gkim@chosun.ac.kr)¹

¹ 조선대학교 기계공학과, ²조선대학교 단백질 연구센터, ³비오켄과학

Key words : DDS, Drug, nanofiber, electrospinning

1. 서론

최근 신약들의 특허의 대부분이 만료되고 이에 따라 특허를 연장하기 위해 새로운 약물전달시스템 (drug delivery system)을 개발하여 약물을 인체에 투여하는 기술의 개발이 이슈가 되고 있다. 또한 새로운 약물전달시스템은 기존의 약물투여 방식에 비해 약물 방출의 농도 및 시간 등을 조절할 수 있는 기능을 제공한다.

전통적인 약물전달은 경구 또는 정맥(intravenous)주사 등을 통해서 이루어 졌으며 이에 따라 혈액내의 약물 농도가 필요 이상으로 높아지거나 필요 이하로 낮아지게 됨을 반복하여 부작용이 발생하게 되며, 지속적인 약물의 투여가 필요하게 되는 등 많은 문제점이 발생하고 있다. 약물전달시스템의 초기 기술은 반복투여 횟수를 줄이기 위한 방법으로 고안된 지속방출 시스템(sustained release)이 그 모델이었다. 그러나 이러한 약물의 방출속도 제어만으로는 다양한 제형 및 약물들이 적합한 약물 농도를 유지하는 데는 많은 어려움이 있었다. [1]

현재는 이러한 단점을 보완하기 위한 많은 방법들의 약물 전달 시스템이 개발 되고 있으며 미국과 일본을 중심으로 신약개발의 리스크를 줄이면서도 신약과 같은 과급효과를 일으킬 수 있는 신규 약물전달시스템 개발에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 또한 마이크로 및 나노 입자를 이용한 약물전달 시스템이 활발히 연구되고 있다.

미세가공기술은 다양한 형태의 이식용, 구강용 약물전달장치의 제작을 가능하게 하였지만 이러한 대부분의 약물 전달 장치들은 실리콘을 기반으로 하고 있으며[1], 이는 자연 분해되지 않기 때문에 외과적인 수술을 통하여 제거해야 하는 단점이 있다. 그러나 현재는 생체 적합성 고분자를 이용하여 적정 시간 및 농도를 유지하며 약물을 방출하는 약물 전달 시스템의 연구가 활발히 진행되고 있으며 이러한 생분해성 고분자를 기반으로 하는 제작 기술에는 복제 기술(replication technique), 쾌속 조형 기술(rapid prototyping technique), 레이저 미세 가공(laser micro-machining) 등이 있다. [1]

본 연구에서는 poly ε(-caprolactone)(PCL) 과 poly ethylene oxide (PEO)를 고분자 물질로 사용하는 전기방사 공정을 이용하여 만든 나노 섬유에 peptide를 같이 방사하여 in vitro로 상태에서 시간이 경과함에 따라 나노 섬유가 용해되고 그로인해 peptide가 release되는 양을 확인하였으며 전기 방사의 시간, 적층수 및 두께 등을 조절함으로써 peptide의 release 속도를 조절할 수 있었다. 또한 이렇게 방사된 peptide는 전기 방사 후에도 활성도를 전혀 잃지 않았으며 이러한 나노 섬유를 이용한 peptide release는 중요한 약물 전달 시스템으로 이용될 것으로 생각된다.

2. 실험

재료 본 연구에서는 PCL (Mw=80,000 Aldrich)과 PEO (Mw=900,000 Aldrich), Rhodamine B (Mw=479.02 Fluka) 를 사용하였으며 DMF (N,N-dimethyl formide, Junsei Chemical co.), MC (Methylene chloride, Junsei Cematic co.) 및 3rd Distilled Water를

용매로 사용하였다. HPA3NT3 (amino acid sequence : FKRLKKLF KKIWNWK) 항생제 단백질(antibacterial peptide)은 조선대학교 단백질 센터로부터 받았으며 전기방사에 이용 후 활성도 측정도 하였다.

전기 방사를 위한 고분자 용액은 8 wt% PCL, 73.55 wt% MC, 18.45 wt% DMF를 사용하였고 2 wt% PEO와 0.01 wt% Rhodamine B, 98 wt% 3rd DW를 혼합하여 사용하였다.

실험 조건 및 장비 기본적인 전기방사장치의 구성 요소로는 고전압공급장치(high voltage power supply, HVPS, SHV200 40kV/5mA, Converttech), 시린지 펌프(syringe pump, model 781100, KDScience), 노즐(nozzle), 콜렉터(collector)를 사용하였으며 노즐의 위치는 콜렉터로부터 150 mm 떨어진 곳에서 지면과 수직으로 방사하였고 각각의 고분자를 일정 시간동안 방사하여 적층하는 방식을 사용하였다.

분석 나노 섬유의 직경을 측정하기 위하여 sputter(E-1030, Hitachi)를 사용하여 15 mA로 60초 동안 7 nm의 백금(pt)코팅을 하였으며 주사전자현미경(SEM, S-4800, Hitachi)을 사용하였으며 release되는 Rhodamine B의 양을 측정하기 위해 spectrophotometer를 사용하여 543 nm의 빛으로 측정하였다.

Antibacterial activity assay 방사된 peptide의 활성도를 측정하기 위해 *E.coli*를 1x10⁶ cfu/ml 이용하여 37 °C에서 trypticase soy broth(TSB) agar 배지에 24시간 동안 bacteria를 배양하였으며 colony의 형성을 관찰하였다.

3. 결과

나노 섬유의 방사 각각의 적층 조건(A, B)에 따른 적층 시간 및 순서는 다음과 같으며 PEO의 적층 시간을 달리함으로써 release 되는 양을 조절할 수 있었다.

적층시간(분) / 나노 섬유 샘플	PCL	PEO/RM	PCL	PEO/RM	PCL
A	10	3	10	3	10
B	10	5	10	5	10

(RM : Rhodamine B)

Table 1 나노 섬유들의 방사 적층 시간

이렇게 만들어진 나노 섬유는 SEM을 이용하여 확인하였으며 B의 경우가 A보다 섬유 직경이 균일한 것으로 확인되었다.

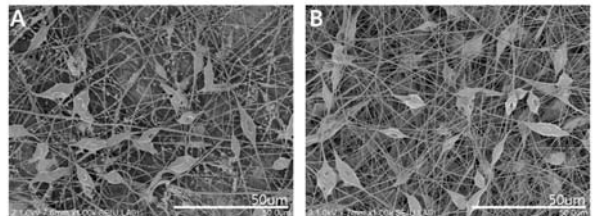


Fig. 1 Rhodamine을 포함하는 나노 섬유.

A=10/3/10/3/10, B=10/5/10/5/10

적층 조건 A의 경우 PEO/Rhodamine의 적층량이 적기 때문에 release가 많이 되지 않았으나 B의 경우는 많은 양의 PEO/Rhodamine이 release 되는 것을 알 수 있었다. 즉 나노섬유의 두께를 조절함으로써 peptide가 release되는 양을 조절할 수 있음을 알 수 있다.

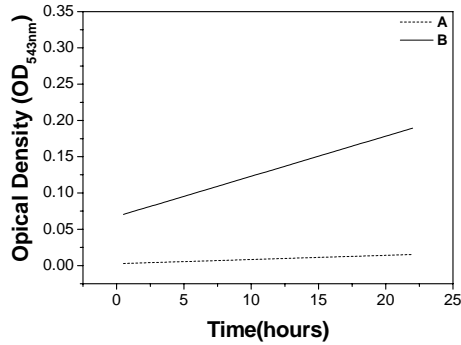


Fig. 2 나노 섬유층의 적층 두께에 따른 Rhodamine 방출량.

Rhodamine을 peptide로 바꾸어 방사를 하여 peptide가 release 되는 실험을 하였고 방사 조건은 다음과 같이 하였다.

적층시간(분)	PCL	PEO/peptide	PCL
나노 섬유	1	10	1

Table 2 나노 섬유의 방사 조건

그림 3의 결과는 시간에 따라 peptide가 release되지만 그 시간이 매우 짧았으며 약 2시간 경과 후 peptide가 더 이상 release 되지 않았다. Rhodamine에 비해 비교적 빠른 시간에 방사가 되었으며 그 이유로는 PCL의 방사 시간이 상대적으로 짧았기 때문일 것으로 생각된다.

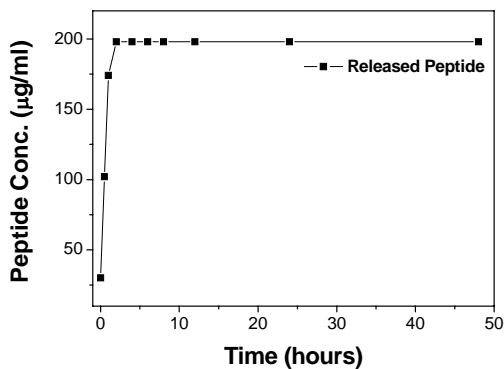


Fig. 3 peptide의 시간대별 방출된 양.

release 된 peptide의 활성을 측정하기 위하여 E. coli 박테리아를 이용하여 peptide의 항생제 활성도를 측정하였다. peptide의 투여량은 다음과 같으며 A는 peptide를 처리하지 않은 배지에 세포를 배양 것이며 B와 C는 normal peptide를 처리하여 세포를 배양한 것이며 D와 E는 released peptide를 처리하여 세포를 배양한 것이다.

	control	peptide		release peptide	
	A	B	C	D	E
	0	12.5	6.25	12.5	6.25
		(peptide ug/ml)			

Table 3 활성도 측정에 사용된 peptide의 농도

E. coli를 이용한 활성도 실험에서 방사 전의 peptide와 방사후의 release 된 peptide의 활성도를 비교 하였을 때 방사후의 release 된 peptide도 전기 방사 과정에 의해 활성도가 낮아지거나 문제가 되지 않는 것으로 확인되었다.

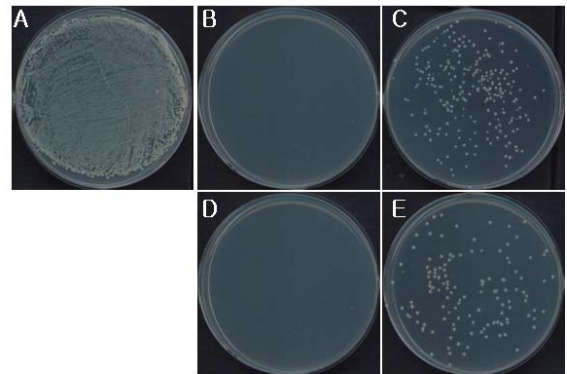


Fig. 4 E. coli를 이용한 peptide 활성도 실험

4. 결론

실험 결과 release 된 후 peptide의 활성도가 전혀 감소되지 않았으며 PCL의 적층수 및 적층 시간에 따라 peptide의 release 양을 조절할 수 있을 것으로 예상된다. 이를 이용하여 원하는 농도, 시간에 따라 약물을 release 시킬 수 있는 새로운 약물 전달 시스템의 매개체로 사용할 수 있을 것으로 예상된다. 본 실험 결과를 이용하여 약물을 포함하는 패치 형태의 나노섬유는 약물 전달 시스템에 있어서 용이하게 적용될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 조선대학교 RIC 센터의 지원을 받아 연구되었습니다.

참고문헌

1. 추원식, 김성근, 안성훈, 하원식, 지상철, “마이크로/나노 기술을 적용한 약물전달시스템”, 한국 정밀공학회지, Vol. 23, No. 12, December 2006
2. 허강무, "조직공학을 위한 약물전달시스템의 적용", Tissue Engineering and Regenerative Medicine, Vol. 5, No. 2, pp 145-146 (2008)
3. S. A. Hagan, A. G. A. Coombes, M. C. Garnett, S. E. Dunn, M. C. Davies, L. Illum, and S. S. Davis. "Polylactide-Poly(ethylene glycol) Copolymers as Drug Delivery Systems. 1. Characterization of Water Dispersible Micelle-Forming Systems", Langmuir 1996, 12, 2153-2161
4. El-R. Kenawy, F.I. Abdel-Hay, M.H. El-Newehy, G.E. Wnek, "Controlled release of ketoprofen from electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibers", Materials Science and Engineering A 459 (2007) 390-396
5. K. Lin, K.N. Chua, G.T. Christopherson, S. Lim, H.Q. Mao, "Reducing electrospun nanofiber diameter and variability using cationic amphiphiles", Polymer 48 (2007) 6384-6394