

자기조합형 세리신-PEG 나노입자의 합성과 특성

조광용³, 문재유³, 김진국¹, 정의수², 엄상용², 이용우⁴, 이광길⁴, 여주홍⁴, 조종수⁵.

¹(주)바이오랜드 생명공학연구소, ²(주)참존 중앙연구소, ³서울대학교 생명자원공학부,
⁴농촌진흥청 잠사곤충부, ⁵서울대학교 농생명공학부.

요약

세리신은 누에고치의 고치실에서 추출되는 천연 단백질로서 많은 수산화기를 가지고 있어 뛰어난 보습성을 가진다. 이에 화장품에의 응용이 기대되나, 물에 잘 녹지 않는 특성을 가지고 있어서 화장품 원료로 사용하기에 어렵다는 단점이 있다. 본 연구에서는 친양쪽성 화합물인 poly(ethylene glycol)(PEG)을 세리신에 도입하여 수용성이며 자기조합형(self-assembled) 세리신-PEG 결합체를 합성하였다. 세리신내의 tyrosine 잔기의 방향족 수산화기가 반응사이트임을 ¹H-NMR 분석으로 알 수 있었으며, IR과 CD 측정으로 PEG 사슬의 도입으로 세리신의 구조가 불규칙한 coil구조에서 β -sheet구조로 구조적 변화가 일어남을 알 수 있었다. 또한 DSC 분석에서 세리신-PEG결합이후 각각의 녹는점이 떨어지는 것을 확인하여 상호 결정성에 영향을 주는 것을 확인하였다. 세리신-PEG 결합체는 자기조합하여 소수성 상호작용을 통해 200-400nm의 구형 나노입자를 이루며 투석 방법을 통하여 얻을 수 있었다. 또한, 세리신-PEG 나노입자는 세리신자체보다 더 높은 보습력을 가지는 것을 확인하였다. 세리신-PEG 결합체의 cytotoxicity는 MTT assay에 의해 독성이 없음을 확인하였으며, 동물실험에 의한 독성도 전혀 나타내지 않음을 알 수 있었다. 나노입자의 특성과 세리신의 보습성, 세리신-PEG의 친양쪽성 특성으로 세리신-PEG결합체 나노입자는 그 자체로도 원료로 사용 될 수 있을 뿐 아니라 생리 활성성분의 운반체로의 개발이 기대되어 진다.

1. 서론

입자크기가 1 마이크로미터 이하로 수 나노미터에서 수백 나노미터의 크기를 가진 콜로이드 상의 불균일 분산입자를 나노입자라 하는데, 나노입자는 단백질의 분리, 조직학적인 연구, 임상진단방법, 약물전달, 화장품 같은 생명과학의 여러 분야에 다양하게 응용이 되어지고 있다.^(1,2,3) 이처럼 나노입자가 다양한 분야에 응용이 이루어지고 있는 것은 나노입자가 정제 및 제균이 쉽고, 약물의 목표에 대한 효과적인 작용, 지속적인 약물 방출거동 등의 이점을 가지고 있기 때문이다.⁽⁴⁾ 본 연구에서는 고분자 미셀에 근거한 투석제조 과정을 통해 나노입자를 제조하였는데 이 방법은 제조과정이 간단하고 높은 수율에 작은 구형의 입자를 형성하며 집합체를 이루지 않는 나노입자를 제조할 수 있는 장점을 가지고 있다고 알려져 있다.⁽⁵⁾

세리신은 피브로인과 함께 누에고치의 고치실을 구성하는 주성분으로서 누에고치 무게의 20~30%를 차지하며 아미노산을 주성분으로 한다. 피브로인은 누에고치의 degumming 처리에 의해 제거되고 세리신만 남게 된다. 세리신은 분자내의 아미노산 극성기와 아미노기들이 물 분자와 친수성 결합을 하기 때문에 우수한 보습성을 나타내지만⁽⁶⁾, 물에 잘 녹지 않는 성질로 인하여 화장품에 직접 응용이 어렵다는 단점이 있다. 친수성을 띄는 활성화된 poly(ethylene glycol)(actPEG)를 세리신에 도입하면 수용성인 세리신-PEG 나노입자의 합성이 가능한데, 이러한 나노입자를 합성하기 위해서는 우선적으로 세리신의 pegylation이 요구되어진다. 단백질에 PEG를 도입하는 방법에는 thiol specific pegylation, N-terminal pegylation, non-terminal amine pegylation 등이 보고되어져 있다^(7,8,9,10). PEG는 친양쪽성화합물로서 물과 유기용매에 모두 잘 녹으며, 독성과 면역성이 없는 물질로 알려져 있다⁽¹¹⁾.

본 연구에서는 수용성이며 화장품 활성성분의 운반체로의 사용이 가능하리라 예상되어지는 자기조합형 세리신-PEG 나노입자의 제조 및 특성 그리고 독성에 관한 연구결과를 보고하고자 한다.

2. 실험 방법

시약

Methoxy poly(ethylene glycol)(PEG-OMe, MW 5,000), cyanuric chloride, 투석막

(MW cut-off 12,000)은 sigma 제품을 구입 사용하였으며, 그 외 사용한 모든 시약들은 시약등급을 사용하였다.

측정기기

¹H-NMR은 AVANCE 600 spectrometer를 이용하였고, FT-IR은 M series (MIDAC CORPORATION)을 사용하였다.

CD spectra는 J-715 spectrometer를 사용하였으며, 10mm pathlength의 quartz cell을 사용하였다.

DSC는 DSC 2910을 사용했고, 가열속도는 10°C/min으로 하여 측정하였다.

activated PEG(actPEG)의 합성

10g의 무수 sodium carbonate를 분산시킨 400mL의 무수벤젠에 5.5g의 cyanuric chloride과 19g의 PEG-5000을 가하여 실온에서 24시간동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후 반응액을 여과하여 600mL의 petroleum ether에 침전시킨 다음 침전물을 여과하였다. 여과하여 얻은 고체를 400mL의 벤젠에 용해하고 petroleum ether에 재침전을 시키는 과정을 2회 실시하여 actPEG를 얻었다.⁽¹²⁾

세리신의 제조

누에고치 고치실을 단백질 분해효소인 actinase로 55°C에서 3시간동안 처리하여 세리신을 제조하였다.

세리신-PEG결합체의 합성

135.37mg의 actPEG(MW 5,000)를 12mL의 0.1%(w/v)세리신을 포함한 0.1M sodium borate(pH 9.4)수용액에 가하고 4°C에서 24시간 동안 반응시켰다. 반응 종료 후 증류수에서 투석막(MW cut-off 12,000)을 이용하여 48시간 동안 투석시켜 세리신-PEG 결합체를 얻었다.

세리신-PEG 나노입자의 제조

세리신-PEG 결합체 10.6mg을 4mL 에탄올에 녹인 후 증류수에서 투석막(MW cut-off 12,000)을 이용하여 48시간 동안 투석시켜 나노입자를 얻었다.

입자크기의 측정

입자의 크기는 ELS-8000(Otsuka Electronics)로 측정하였다.

SEM observation

흑연표면에 나노입자 현탁액 한방울을 떨어뜨리고, 공기 중에서 건조한 뒤 Ion sputter를 이용 금 코팅을 하여 얻은 시료를 JSM 5410 LV를 이용하여 촬영하였다.

세리신-PEG 나노입자의 보습력측정

세리신-PEG의 피부보습력은 CORNEOMETER CM825를 사용하여 측정하였으며, 세리신, 정제수와 비교하였다.

세리신-PEG 나노입자의 독성측정

MTT assay를 이용하여 세포독성을 측정하였으며. 토끼와 기니피그를 이용하여 피부자극 시험, 급성경피독성시험, 피부감작시험을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

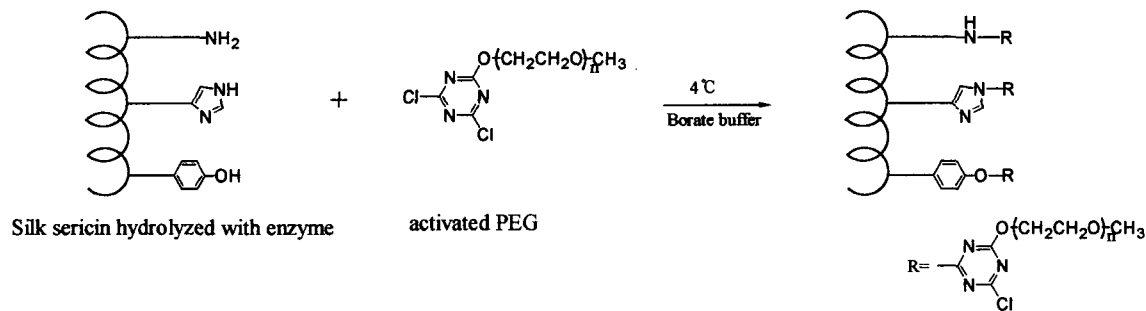
세리신의 제조

단백질 분해효소인 actinase로 처리하여 얻은 세리신은 용해성이 95% 이상이었고, 97%의 수율로 제조되었으며, 평균분자량이 7,800~10,500으로 확인되었다.

세리신-PEG 결합체의 합성

그림. 1은 세리신-PEG결합체의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum으로서, 세리신-PEG 결합체의 NMR 결과를 보면 tyrosine 잔기의 피크가 7.09와 7.26 ppm에서 관찰되는데, 세리신 단독일 경우 나타나는 6.68과 6.96 ppm 에 비하여 downfield로 이동되는 변화를 확인할 수 있다. 이는 tyrosine 잔기가 개질에 의하여 분자의 환경이 달라져 있다는 것을 보여주고 있으며, tyrosine 잔기가 triazine ring에 가리워져 있기 때문이다⁽¹³⁾. 이런 변화는 PEG의 triazine ring이 전자를 끌어당기는 효과를 나타내어 방향족 고리에 있는 수소 주위의 전자 밀도가 줄어들어 나타난 결과로서 반응 사이트가 세리신의 tyrosine임을 확인시켜주는 결과이다. cyanuric chloride는 amino, imino, 그리고 수산화기와 같은 친핵성 기들과 반

응하므로^(14,15) 세리신의 lysine 잔기의 아미노기와 histidine 잔기의 imidazole 기가 actPEG와 반응할 수 있을 것이다. 그렇지만, 세리신의 imidazole기와 lysine 잔기의 아미노기는 매우 낮은 함량비를 가지고 있어서 silk sericin의 isoelectric point 이상의 pH값에서 actPEG와 반응할 수 없기 때문에 NMR 측정에서 이 잔기들의 피크를 검출할 수 없었다.



Scheme 1. Reaction site of sericin

세리신-PEG 결합체에서 세리신의 구조변화

그림. 2는 세리신, 세리신-PEG, PEG, 그리고 세리신/PEG 혼합물의 IR spectra를 나타내고 있다. 세리신-PEG의 spectrum의 경우 세리신 단독에 비해 2883과 1114cm⁻¹에서 새로운 bands가 나타나는데, 이는 PEG의 -CH₂- stretching⁽¹⁶⁾ 과 C-O-C stretching⁽¹⁷⁾로서 PEG chains이 성공적으로 세리신에 도입되었음을 확인시켜 준다. 세리신 단독의 경우는 불규칙한 coil의 2차 구조를 가지고 있어 1665 (amide I), 1535 (amide II), 669cm⁻¹ (amide V)에서 bands가 나타나며, 세리신-PEG의 경우는 1646 (amide I), 1527 (amide II), 669cm⁻¹ (amide V)에서 나타나 β-sheet 구조를 가짐을 알 수 있다. 그림. 2에는 세리신과 PEG 혼합물의 spectrum도 있는데, amides I, II, 그리고 V가 각각 1646, 1530, 669에서 나타나고 있다. 이 결과에서 세리신안에서 PEG 분자가 공존함으로써 불규칙한 coil구조가 β-sheet 구조로 구조변화가 일어났음을 IR분석을 통해 확인할 수 있다.

그림. 3은 수용액에서 세리신과 세리신-PEG의 CD spectra로서 세리신 단독의 경우 200nm에서 아래로 볼록한 모습을 보이는데, 이는 불규칙한 coil의 구조를 나타내주고 있다. 반면에 세리신-PEG의 경우에는 200nm 뿐만 아니라 220nm에서도 아래로 볼록한 모습을 보이고 있는데, 이는 불규칙한 coil 구조를 포함한 β-sheet 구조를 나타내고 있는 것

이다^(9,18). 위의 결과에서 PEG 도입이후 세리신의 구조가 불규칙한 coil구조에서 β -sheet 구조로 구조적 변화가 일어났다고 말할 수 있다.

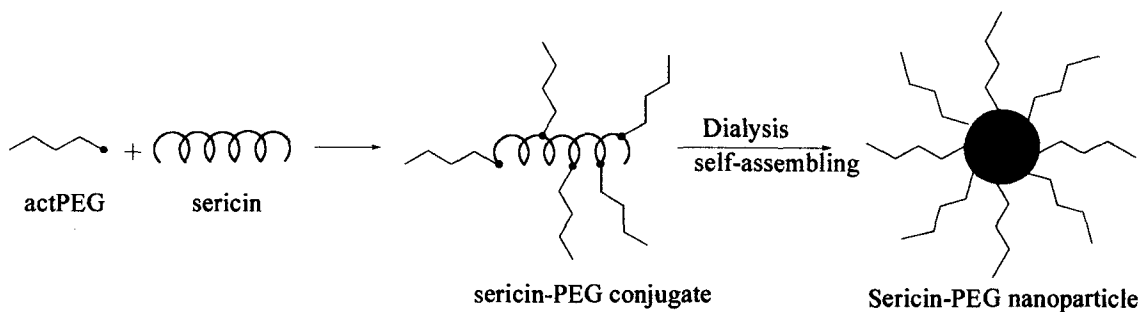
세리신-PEG의 열적 성질

그림. 4는 PEG, 세리신 그리고 세리신-PEG의 DSC 곡선으로 세리신 단독의 경우 200-220°C에서 분해가 시작됨을 확인할 수 있다. 그러나 세리신-PEG의 경우 52.44와 196에서 두개의 흡열 피크가 관찰되어진다. PEG의 녹는점이 56-59°C임은 이미 보고되어져 있다⁽⁹⁾. 그러므로 세리신-PEG의 52.44°C에서의 흡열 피크는 세리신-PEG중 PEG가 녹기 때문이라 할 수 있는데, 이 것은 세리신과 PEG가 결합한 후 PEG의 결정성이 떨어졌기 때문이라 말할 수 있다. 세리신의 열분해온도(198°C)도 세리신-PEG에서는 196°C로 변함으로서 서로 상호 작용하여 결정성에 영향을 준다는 것을 확인할 수 있다. 또한 세리신-PEG에서 162°C정도에서는 발열 피크가 나타나 있는데, 이는 불규칙한 coil구조에서 β -sheet 구조로 변화가 일어나고 있음을 보여주고 있다.

세리신-PEG 나노입자의 합성

투석에 의해 형성된 나노입자의 크기는 표. 1에 나타나 있는데, 나노입자의 평균크기가 204.3nm이다. 자기조합형 나노입자는 세리신이 소수성부분으로 PEG가 친수성부분으로 이루어진 세리신-PEG결합체로부터 만들어진 것으로 고려된다.

그림. 5는 세리신-PEG 나노입자의 SEM 사진으로서, 나노입자의 모양이 대부분 구형이며 크기는 200-400nm임을 알 수가 있다.



Scheme 2. Formation of sericin-PEG nanoparticle

세리신-PEG 나노입자의 보습력

세리신-PEG 나노입자의 보습력시험 결과를 그림. 6에 나타내었다. 세리신-PEG 나노입자는 세리신 자체보다도 높은 보습력을 가지고 있음을 알 수 있는데, 이것은 수용성인 PEG가 세리신에 결합됨으로서 더 높은 수분 유지력을 가지는 것으로 해석할 수 있다.

세리신-PEG 나노입자의 세포독성시험

그림. 7은 MTT assay에 의한 세포독성 결과를 보여주고 있다. 사람 섬유아세포를 10% FBS(fetal bovine serum)를 함유하는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) 100 μ l로 증폭된 10⁴ cell/well의 밀도를 가진 96 well plate에 놓았다. 그리고 24 시간동안 배양하였다(37°C, 5% CO₂). 샘플을 첨가한 후, 세포들은 또 48시간 동안 배양하였다. 세포들의 생존과 증식은 MTT assay에 의해 측정되었다. MTT 용액 (100 μ l)은 각 wells에 첨가되었고 4시간 동안 배양하였다⁽¹⁹⁾. 16시간 후, 10% SDS를 함유하는 0.01M HCl 100 μ l를 첨가했다. 형성된 formazan은 ELISA reader 를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 읽음으로 측정하였다.

동물실험에 의한 세리신-PEG 나노입자의 독성시험

표2,3,4는 토끼와 기니픽에 의한 동물 실험 결과로서 독성이 없음을 확인할 수 있다. 피부자극시험은 시험물질의 현탁액에 대한 피부자극시험을 수컷 토끼를 이용하여 식품의약품안전청 고시 제 96-8호 “의약품의 독성시험기준 (1996. 4. 16 제정)”에 준하여 시험물질 1mL/head (0.5mL/site)로 경피 적용하여 시험한 결과 일반증상, 체중변화 등에서 본제에 의해 기인된 것으로 생각되는 특이 병변은 관찰되지 않았으며, 홍반 및 가피, 부종 등의 피부자극반응은 “0”으로 “비자극 물질”로 판정되었다^(20,21,22). 급성경피독성시험은 시험물질의 현탁액이 토끼에 대한 급성경피독성 여부를 조사하기 위하여, 식품의약품안전청 고시 제 96-8호 “의약품의 독성시험기준 (1996. 4. 16 제정) 및 OCED(organization for economic cooperation and development) 독성시험 가이드라인의 급성경피독성시험법에 의거하여, 본 제제를 2% 수용액으로 하여 설정한 최대 용량인 체중 kg당 2mL를 경피에 일회 적용하여 14일간 관찰하였다. 그 결과 모든 실험군의 일반적인 임상증상에서 아무런 이상이 발견되지 않았으며, 체중변화는 물론 어떠한 이상도 관찰되지 않았다. 따라서 LD₅₀치는 토끼에서 체중 kg당 2mL 이상인 것으로 판단되었다^(20,23,24). 피부감작성시험은 시험물질의 현탁액이 생체에 대한 접촉 알러지 유무를 검색하기 위하여 기니픽에 있어서

본 제제의 피부감작에 의한 접촉 알러지 유무를 Maximization법에 따라 수행한 결과, 본 제제는 접촉 알러지 급수에 있어서 무반응으로 반응빈도에 있어서도 0%로 나타나 등급1로 판정되어 시험물질은 기니픽에 있어서 어떠한 접촉 알러지를 유발하지 않아 안전한 것으로 판정되었다^(24,25,26,27).

4. 결론

PEG와 cyanuric chloride의 반응에 의해 합성된 actPEG와 세리신의 반응으로 세리신-PEG 결합체를 얻을 수 있었으며, 반응사이트로는 세리신내의 tyrosine 잔기의 phenolic 수산화기임을 ¹H-NMR을 통해서 확인할 수 있었다. IR과 CD 측정으로부터는 PEG chains의 도입으로 세리신의 구조가 불규칙한 coil구조에서 β -sheet구조로 구조적 변화가 일어남을 알아 낼 수 있었으며, 세리신-PEG의 DSC thermogram에서 세리신-PEG에서 세리신 chains이 PEG의 결정성에 영향을 주는 것을 확인하였다. 세리신-PEG 나노입자는 투석방법을 통해서 합성할 수 있었으며, 자기조합한 세리신-PEG 나노입자의 모양은 구형이며 그 크기는 200-400nm임을 SEM 측정을 통하여 확인하였다. 세리신에 수용성인 PEG를 도입함으로써 세리신-PEG나노입자의 보습력이 세리신보다 더 높아짐을 확인하였다. 합성된 세리신-PEG 나노입자는 MTT assay에 의한 세포독성시험에서 독성이 없음이 판정되었으며, 토끼와 기니픽에 의한 피부자극시험, 극성경피독성시험, 피부감작성시험에서도 아무런 독성이 없음을 확인하였다. 본 연구에서 제조된 세리신-PEG 나노입자는 의약품 및 화장품 원료로서 그 사용 가능성이 높음을 알 수 있었고 이 나노입자를 이용하여 그 자체의 기능성뿐만 아니라 생리활성 물질의 전달 및 효과에 대한 연구도 구체적으로 진행되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

- (1) Cho, C. S., Cheon, J. B., Jeong, Y. I., Kim, S. H., Akaike, T.(1997) Novel core-shell type thermo-sensitive nanoparticles composed of poly (γ -benzyl L-glutamate) as the core and poly(N-isopropylacrylamide) as the shell, *Macromol. Rapid Commun.*18, 361-369.
- (2) Jeong, Y.I., Cheon, J. B., Kim S. H., Nah J. W., Lee, Y, M., Sung, Y, K., Akaike, T., Cho, C. s.(1998) Clonazepam release from core-shell type nanoparticles in vitro, *journal of controlled Release* .51,169-178.
- (3) Cho, C. S., Jeong, Y.I., Ishihara, T., Ttkei, R., Park J. U., Park K. H., Maruyama, A. and Akaike, T.(1997) Simple preparation of nanoparticles coated with carbohydrate-carrying polymers, *Biomaterials* 18,323-326.
- (4) Jeong, Y. I., Nah J. W., Lee, H. C., Kim, S, H., and Cho, C. S. (1999) Adriamycin release from flower-type polymeric micelle based on star-block copolymer composed of poly(γ -benzyl L-glutamate) as the hydrophobic part and poly(ethylene oxide) as the hydrophilic part, *Int. J.Pharm.*188,49-58.
- (5) Gref, R., Minamitake, Y., Peracchia, M. T., Trubetskoy, V., Torchilin, V., and Langer, R. (1994) Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres, *Science* 263,1600-1603.
- (6) Nomura, M., and Yamada, H. (1992) Sericin/protein Powder S, *Sen-i Gakkaishi* 48, p-305-306.
- (7) Harris, J. M. (Ed.)(1992). *poly(ethylene glycol) chemistry: Biotechnical and biomedical application*, pp 118-216, Plenum Press, New York.
- (8) Gotoh, Y., Tsukada, M. and Minoura, N. (1993) Chemical modification of silk fibroin with cyanuric chloride-activated poly(ethylene glycol): Analyses of reaction site by ^1H -NMR spectroscopy and conformation of the conjugates, *Bioconjugate chem.* 4, 554.
- (9) Gotoh, Y., Tsukada, M. and Minoura, N. and Baba, T. (1997) Physical properties and structure of poly(ethylene glycol)-silk fibroin conjugate films, *Polymer* 38, 487-490

- (10) Jackson, C. J., Charlton, J. L., Kuzminski, K., Lang, G. M., Schon A. H.(1987) Synthesis, Isolation, and Characterization of conjugates of ovalbumin with monomethoxypolyethylene glycol using cyanuric chloride as the coupling agent, *Analytical Biochemistry* 165,114-127.
- (11) Kodera, Y, Matsushima, A., Hiroto, M., Nishimura, H., Ishii, A., Ueno,7. and Inada, Y, (1998) Pegylation of proteins and bioactive substances for medical and technical applications, *Prog. Polym. Sci* 23,1233-1271.
- (12) Abraham, A., Theo V. E., Nicholas. C., Palczuk., and Frank. F. D., (1977) Issue of June 10. Vol. 252, No.11, pp3578-3581
- (13) Jackman, L. M. and Sternhell, S. (1969) Theory of chemical shift, Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry 2nd ed., pp 61-113, Pergamon Press, Oxford.
- (14) Vallee, B. L. and Riordan, J. F. (1969) Chemical approaches to the properties of active sites of enzymes, *Annu Rev. Biochem.* 38,733-793.
- (15) Tanford, C. and Hauenstein, J. D. (1956) Hydrogen ion equilibria of ribonuclease, *J. Am. Chem. Soc.* 78, 5297-5291.
- (16) Nakanishi. K, Solomon, P, H.,and Furutachi, N. (1990) *Infrared Absorption Spectroscopy* 25thed., pp 17-20, Nankodo, Tokyo.
- (17) Nakanishi, K, Solomon, P, H., and Furutachi, N. (1990) *Infrared Absorption Spectroscopy* 25thed., pp 35-36, Nankodo, Tokyo.
- (18) Gotoh, Y., Tsukada, M., Minoura, N. (1996) Chemical modification of the arginyl residue in silk fibroin: 2. Reaction of 1,2-cyclohexanedione in aqueous alkaline medium, *International Journal of Biological Macromolecules* 19, 41-44
- (19) Gay R. Swiderek M, Nelson D, Ernesti A (1992) : The living skin equivalent as a model in vitro or ranking the toxic potential of dermal irritant. *Toxicol in vitro* , 6, pp303-315
- (20) 식품의약품안전청 고시 제 96-8호 (1996. 4. 16 제정) : 의약품등의 독성시험 기준
- (21) Draize J. H.(1959) : Dermal toxicity. Assoc. Food and drug officials, U.S. Appraisal of the safety of chemicals in food, drugs and cosmetics. pp46-59, texas state Dept. of health, Austin, texas.

- (22) Federal Register (1973) : Method of testing primary irritant substances. 38, 187, pp1500-1541
- (23) OECD 毒性試験, 藥業時報社, 東京, 1991
- (24) Ronald J, Tallarida Rodney B. Murry.(1987) : Manual of pharmacologic calculation with computer programs. pp153-166. Springer-Verlag.
- (25) Magnusson, B and Kling, A. M.,(1969) : The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test. *J. invest. Dermatol.*, 52, 26-276.
- (26) Draize J. H., Woodard G., and Calvery H. O.(1944) : Methods for the study of irritation and toxicity of substance applied topically to the skin and mucous membranes. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 82, 377.
- (27) Bueher E. V. (1965) : Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig. *Arches. Derm.*, 91, 171-177.

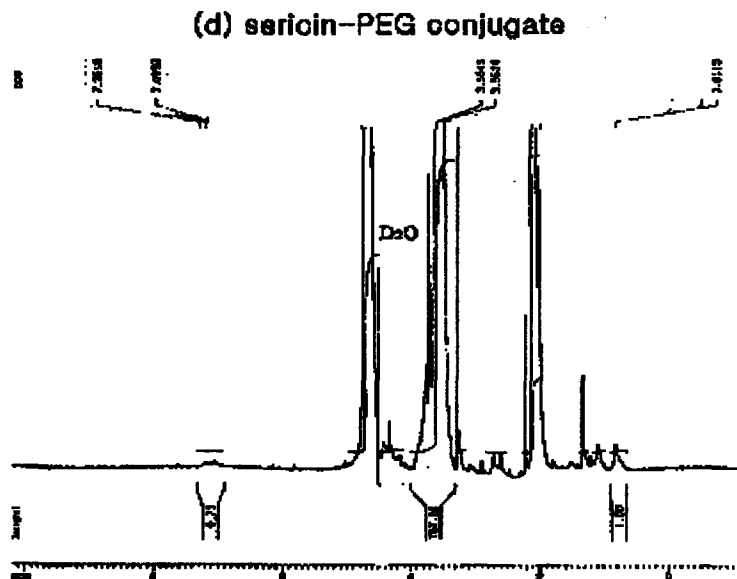
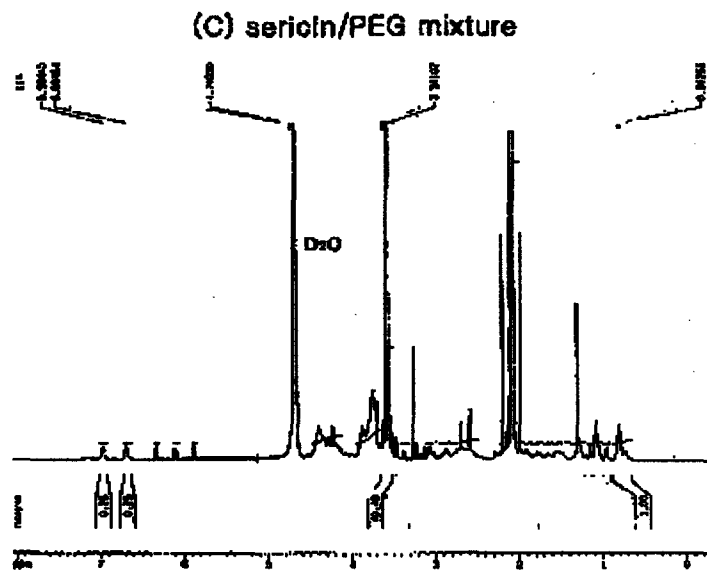


그림 1. (a) 세리신, (b) PEG, (c) 세리신/PEG, (d) 세리신-PEG 결합체의 $^1\text{H-NMR}$ spectra

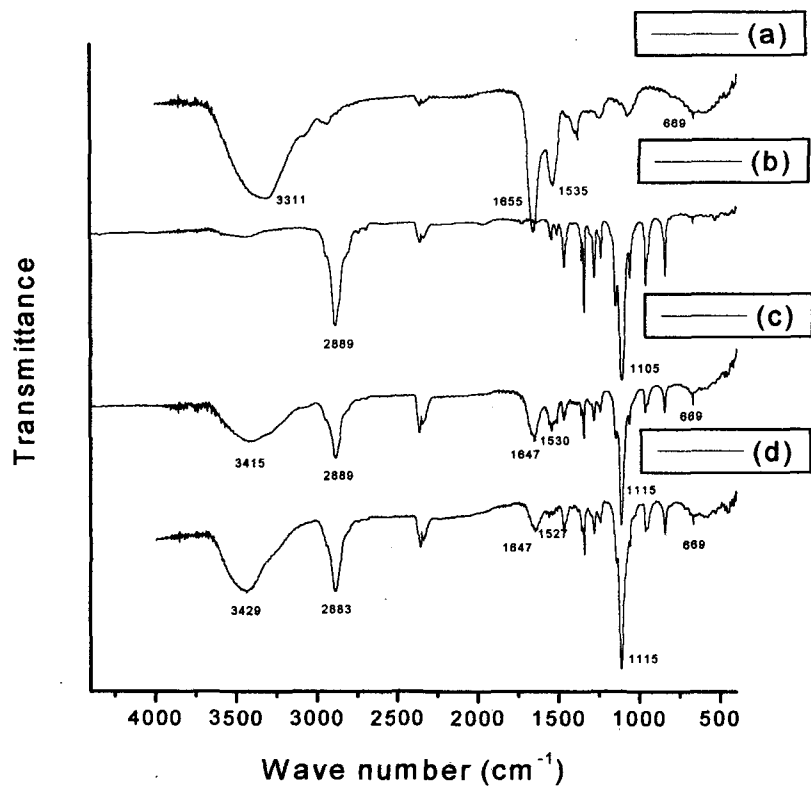


그림 2. (a) 세리신, (b) PEG, (c) 세리신/PEG, (d) 세리신-PEG결합체의 IR spectra

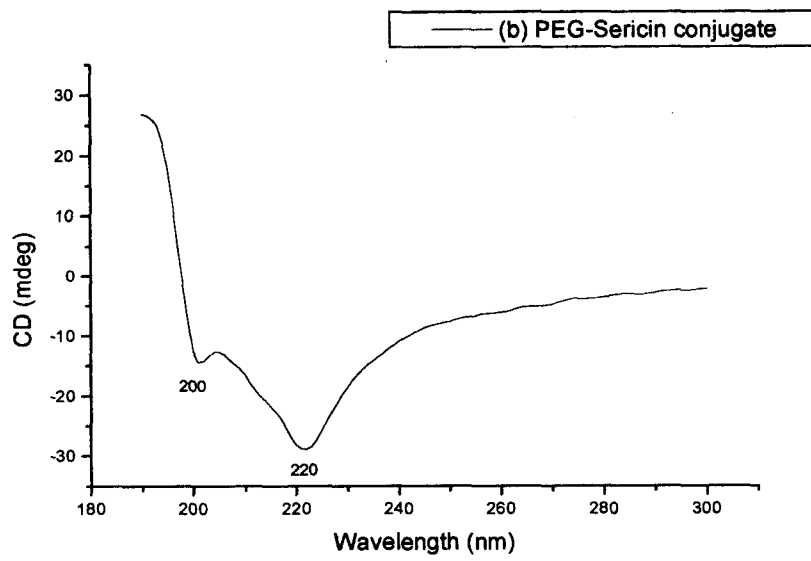
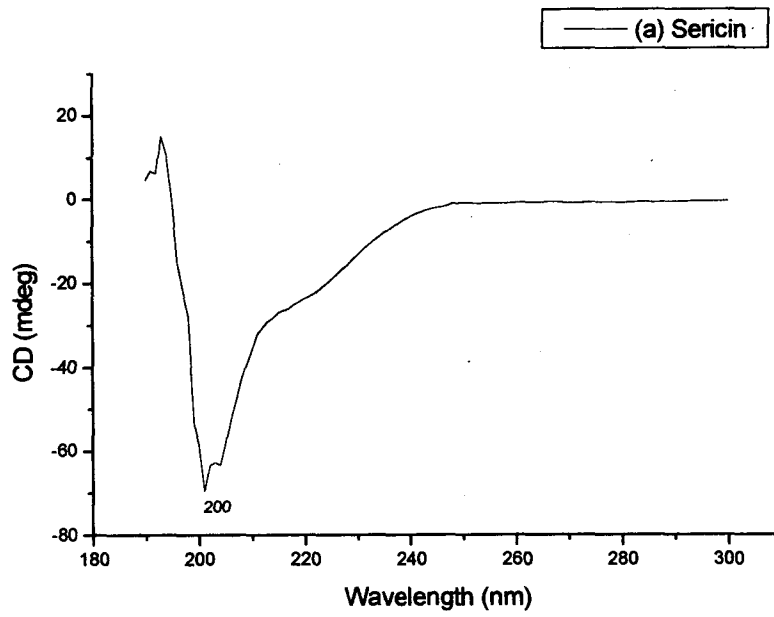


그림 3. (a) 세리신, (b) 세리신-PEG 결합체의 CD spectra

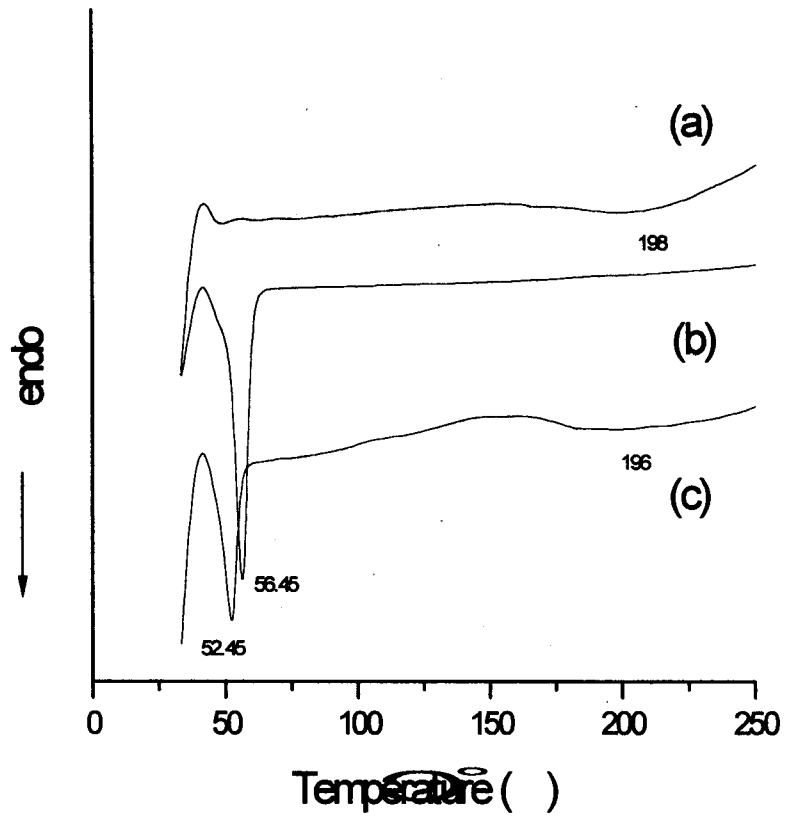


그림 4. (a) 세리신, (b) PEG, (c) 세리신-PEG 결합체의 DSC thermograms

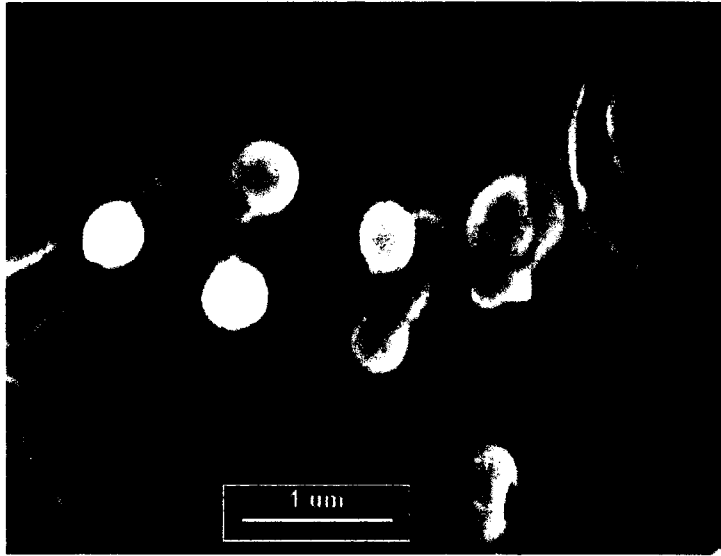


그림 5. 세리신-PEG 나노입자의 SEM photograph

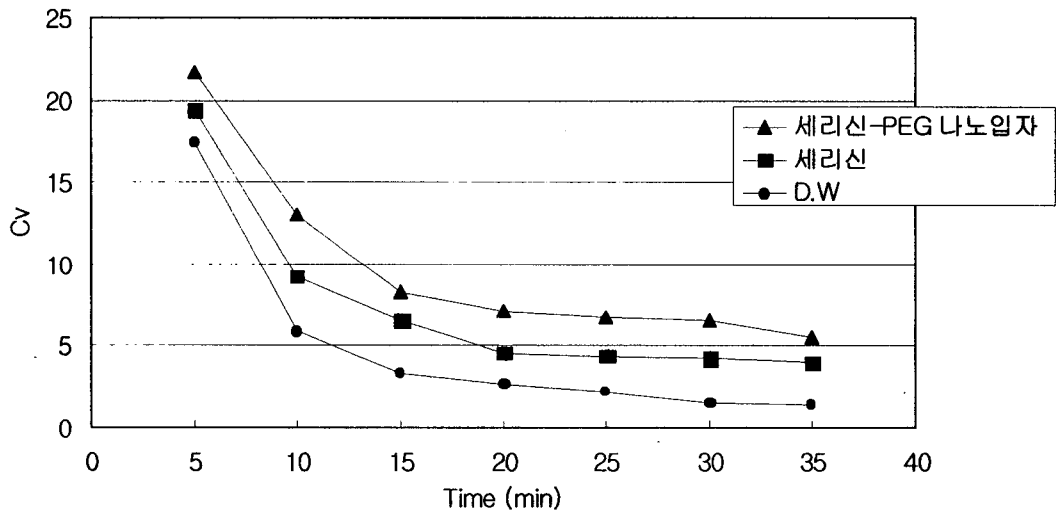


그림 6. 세리신-PEG 나노입자의 보습력

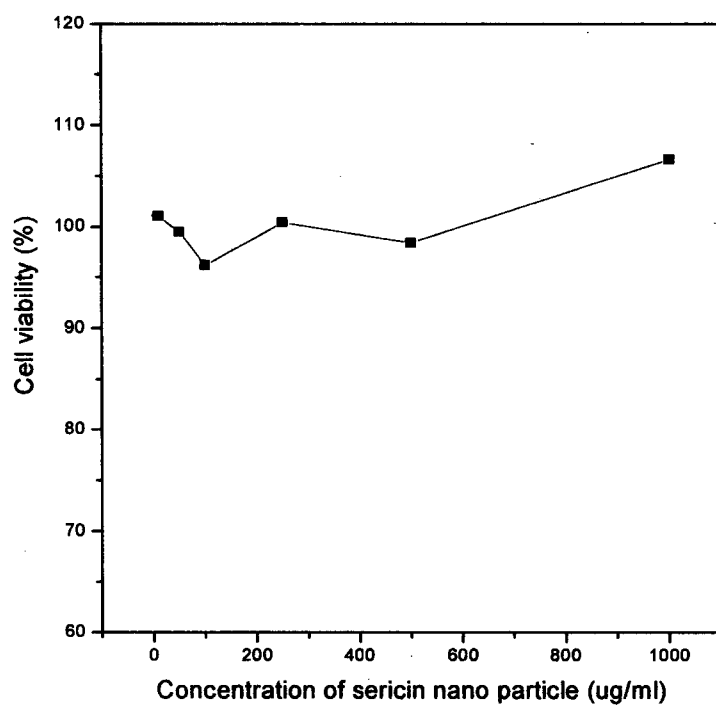


그림 7. 세리신-PEG 나노입자의 세포독성

표 1. 나노입자의 입자크기

Sample	Particle size (nm)		
	Intensity avg.	Number avg.	Weight avg.
세리신-PEG conjugate	197.3±46	149.0±28.8	168.8±38.2

표 2. 동물실험에 의한 피부자극시험 결과

Time description	24hrs	48hrs	72hrs
Erythema	0	0	0
Edema	0	0	0
Newzealand white rabbit (10 to 15 weeks, male : 2.1±0.3kg)			

표 3. 동물실험에 의한 급성경피독성시험 결과

Dose (mL/kg)	Mortality	LD ₅₀ (mL/kg)
2	0/10	>10
Newzealand white rabbit (10 to 15 weeks, male : 2.0±0.3kg)		

표 4. 동물실험에 의한 피부감작성시험 결과

Sensitization score	sensitization rate (%)
0	0
guinea pig (9 to 10 weeks, male : 190±10g)	