

염 추출법에 의한 폴리락틱산 다공성 지지체 가공

이지혜 · 이종록 · 강호종[†]

기능성 고분자 신소재 연구센터, [†]단국대학교 공과대학 고분자공학과
(2003년 7월 10일 접수 ; 2003년 11월 5일 채택)

Preparation of Poly(lactic acid) Scaffolds by the Particulate Leaching

Ji-hae Lee · Jong-Rok Lee · Ho-Jong Kang[†]

Center for Advanced Functional Polymers
Dept. of Polymer Sci. and Eng., Dankook University, Seoul 140-714, Korea
[†]e-mail : hjkang@dku.edu

(Received July 10, 2003 ; Accepted November 5, 2003)

Abstract : Particulate leaching method for the preparation of porous PLLA scaffolds was carried out and especially, the effect of PLLA/CHCl₃ solution concentration on the salt leaching rate and the pore structure of PLLA scaffolds were considered. It was found that maintaining lower PLLA/CHCl₃ concentration and higher CHCl₃ evaporation temperature in the preparation of PLLA/NaCl mixtures resulted in the enhancement of salt leaching rate and higher porosity. This is understood that those conditions could minimize the formation of dense PLLA layer on the surface of PLLA/NaCl mixture as well as introducing better porosity on the surface. Higher salt leaching temperature accelerated the salt leaching rate but it seems that there is no influence on the porosity of PLLA scaffolds.

Keywords : biodegradable polymers, poly(lactic acid), scaffolds, particulate leaching.

1. 서 론

조직공학에서 많이 사용되는 다공성 지지체인 scaffolds는 체외에서 조직 세포를 3차원적으로 형성시켜 이를 체내로 이식하여 손상된 장거나 조직을 재생시키는 소재로 널리 사용되고 있다[1,2]. 이러한 scaffolds는 조직세포의 흡착이 용이하고 흡착된 세포가 성장할 수 있도록 인체 내의 대사물질의 전달이 가능한 구조를 가져야

하며 동시에 일정 시간 동안 적절한 기계적 강도를 유지하다 시간이 경과함에 따라 인체에 독성 없이 흡수 소멸되는 특성을 가져야한다[3]. 이에 부합되는 생체적합소재[4]로는 poly(lactic acid) [PLLA], poly(glycolic acid) [PGA]을 비롯하여 이들의 공중합체인 poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) [PLGA]가 널리 사용되고 있다.

다공성 지지체 제조 방법으로 PGA의 부직포를 이용한 섬유 압착[5], 염 추출법[6-9], 상분리

법[10], CO₂를 이용한 고압기체 팽창법[11], 유화 동결 건조법[12], 입자 소결법[13], 3차원 인쇄법[14], 기체 발포법[15], 용융 압착법[16]을 비롯하여 이들 방법을 상호 보완한 방법[17]들이 널리 사용되고 있다. 이중 염 추출법은 제조 방법이 간단하고 염 결정의 크기 및 함량에 따라 공극의 크기 조절이 용이하여 scaffolds 제조 방법으로 널리 사용되고 있다. 하지만 염과 PLLA/클로로포름 용액의 비중 차이에 의한 염 결정 침전에 의하여 기공의 분포 및 이들의 연결성이 일정하지 못하는 문제점과 scaffold 표면에 클로로포름 증발에 따른 조밀 막 구조의 형성으로 인하여 염 추출이 용이하지 못하여 두께가 두꺼운 scaffolds를 제조하지 못하는 문제점을 가지며 이러한 문제점은 세포의 주입 및 배양을 저해하는 요인[8]으로 작용한다.

본 연구에서는 염 추출법에 의한 PLLA 다공성 지지체에 제조 시 PLLA/클로로포름 용액 조성비와 클로로포름 및 염 제거 조건이 염 추출에 미치는 영향과 이에 따른 다공성 지지체의 구조 변화에 대하여 고찰하여 보았다.

2. 실험

2.1. 재료 및 시료 제조

본 연구에 사용한 시료는 중량평균분자량 (M_w) 132000인 PLLA를 Shimadzu 사에서 구입하여 사용하였으며 sodium chloride [NaCl]는 Samchun Pure Chemical Co.에서 구입하여 자체 제작한 ball mill 과 sieve shaker를 이용하여 NaCl 입자 크기를 125 μm로 조절하여 사용하였다. 클로로포름(CHCl₃)은 Samchun Pure Chemical Co. 사의 특급 시약을 구입하여 그대로 사용하였다.

2.2. 다공성 지지체 제조

NaCl 함량이 88 wt%인 PLLA/NaCl 혼합물을 상온에서 4 시간 동안 클로로포름에 녹여 교반하여 PLLA/NaCl/CHCl₃ 용액을 제조하였다. 이때 PLLA/CHCl₃ 용액의 농도가 0.020, 0.027 및 0.035 wt%가 되도록 PLLA의 함량을 조절하였다. PLLA/NaCl/CHCl₃의 용액 점도는 RION Co. 의 Brookfield 점도계(VT-04)를 사용하여 측정하였다. 제조된 PLLA/NaCl/CHCl₃ 용액을 두께를 3 mm가 되

도록 culture dish에 붓고 이를 온도가 40-80 °C인 진공오븐 속에서 체류시켜 CHCl₃을 제거하여 PLLA/NaCl 복합체를 제조하였다. 제조된 복합체는 온도가 25-80 °C인 항온조에 침지시켜 NaCl을 제거하여 PLLA 다공성 지지체를 얻었다.

2.3. 염 추출정도 측정

PLLA/CHCl₃ 용액 농도 및 CHCl₃ 제거 온도를 다르게 하여 제조된 PLLA 다공성 지지체를 각기 다른 온도에서 7-24시간 동안 항온조에 침지시킨 후 침지 시간에 따른 무게 변화를 측정함으로써 잔류 염의 함량을 확인하고 이로부터 각기 다른 조건에서 제조된 PLLA/NaCl 복합체의 염 추출 조건에 따른 염 추출 정도를 확인하였다.

2.4. 다공의 형태 및 구조 분석

CHCl₃이 제거된 PLLA/NaCl 복합체와 염 추출법에 의하여 염이 제거된 다공성 지지체의 표면 및 내부 다공 정도와 이들의 구조를 확인하기 위하여 Hitachi Co. 의 전자주사현미경 [SEM] (S-2500C)을 사용하였다. 얻어진 SEM 사진으로부터 Media Cybernetics Co. 의 이미지 분석 프로그램(Image-pro)을 사용하여 porosity를 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. PLLA/CHCl₃ 용액의 농도에 따른 염 제거 정도 및 다공의 구조 변화

Fig. 1에 PLLA 다공성 지지체를 제조하기 위해 사용된 PLLA/NaCl/CHCl₃ 용액에 포함된 PLLA 함량에 따른 지지체의 잔류 염 함량을 염 제거 시간에 따라 나타내었다. CHCl₃의 제거 온도와 염 추출에 사용된 증류수의 온도는 각각 40 °C와 60 °C 였다. 그림에서 보는 바와 같이 PLLA의 농도가 낮을수록 동일 염 제거 시간에서 잔류 염의 함량이 감소함을 알 수 있으며 PLLA의 농도가 0.020 wt% 인 경우 24 시간 이내 90% 이상의 염이 추출됨을 확인할 수 있었다. 이러한 PLLA/NaCl/CHCl₃ 용액 농도에 따른 PLLA 다공성 지지체 내의 잔류 염 함량 차이는 PLLA 다공성 지지체를 제조하기 위한 PLLA/NaCl 복합체의 형성 과정에

서 수행되는 CHCl_3 의 제거 시, PLLA/ CHCl_3 용액과 공기의 접촉에 의한 PLLA/ NaCl 복합체 표피에 조밀 막 형성과 CHCl_3 증발에 따른 표면 다공 형성 정도와 밀접한 관계를 가질 것으로 예측된다[7,8].

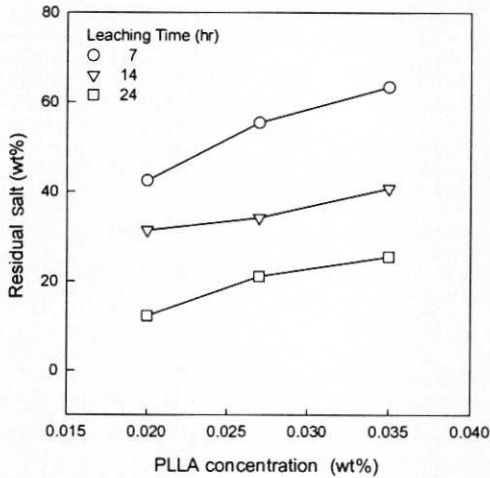


Fig. 1. Effect of PLLA concentration on the amount of residual salt in PLLA scaffolds.

Fig. 2에 각기 다른 농도를 갖는 PLLA/ CHCl_3 용액으로 제조한 PLLA/ NaCl 복합체의 염이 추출되기 전의 표면 SEM사진을 나타내었다. 이 때 배율은 1000배였다. 그림에서 보는 바와 같이 PLLA의 농도가 낮을수록 알 수 있다. 즉 PLLA의 농도가 낮을수록 용액에 포함된 CHCl_3 의 양이 많고 이들의 증발에 의하여 높은 농도에 비하여 표면에 다공이 많이 발현하게 됨을 의미한다. 이러한 표면 다공의 증가는 염 추출과정에서 증류수의 침투를 용이하게 하여 염의 추출 속도가 증가되어 빠른 시간 내에 염이 제거됨을 알 수 있다. Fig. 3에 PLLA/ CHCl_3 용액의 농도에 의하여 각기 다른 표면 특성을 가진 PLLA/ NaCl 복합체의 염 추출 과정에서 시간에 따른 PLLA 지지체 표면 기공의 변화를 porosity의 변화로 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 염 추출 전 SEM 사진에서 확인된 바와 같이 낮은 PLLA 농도를 갖는 용액에 의하여 제조된 PLLA 지지체가 가장 높은 porosity를 가짐을 알 수 있으며 염 추출이 진행됨에 따라 표면의

porosity가 증가됨을 알 수 있었다. 이러한 porosity의 증가는 저 농도 용액에서 빠른 시간 내에 이루어지는 반면 고 농도에서는 상대적으로 천천히 발현됨을 알 수 있다.

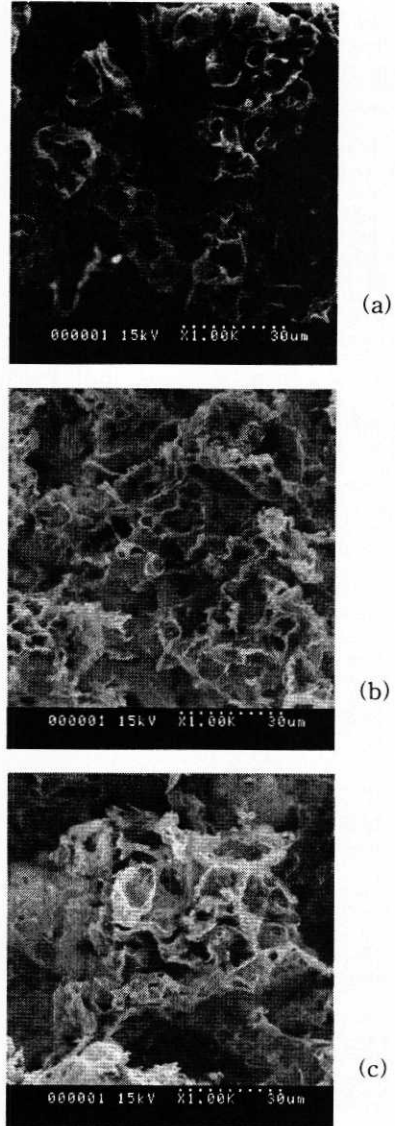


Fig. 2. SEM microphotographs of PLLA scaffolds surface as a function of PLLA/ CHCl_3 solution concentration (wt%) (a) 0.020 (b) 0.027 (c) 0.035.

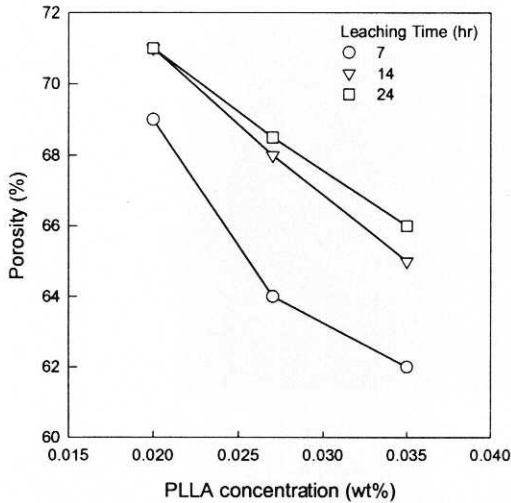


Fig. 3. Porosity of PLLA scaffolds surface as a function of PLLA concentration with various salt leaching time.

PLLA 다공성 지지체의 제조 용액 농도에 따른 염 추출 속도의 변화는 PLLA/NaCl 복합체 표면 특성과 밀접한 관계를 갖는다. Fig. 4c의 PLLA의 농도가 0.035 wt%인 PLLA/CHCl₃ 용액으로 만들어진 PLLA 다공성 지지체의 위쪽 표면을 살펴보면 낮은 농도를 갖는 용액에서 보다 CHCl₃의 증발이 천천히 이루어짐에 따라 PLLA/CHCl₃ 용액과 공기의 접촉 시간이 길어져 PLLA 지지체 표면에 조밀한 막이 형성되어 있음을 알 수 있고 그 결과, 염 제거 시 증류수의 침투를 방해하여 porosity의 증가를 둔화시킬 수 있다. 이러한 조밀 막은 PLLA의 농도가 감소할수록 사라짐을 Fig. 4의 a와 b의 위쪽 표면 SEM 사진으로부터 알 수 있다. 이는 낮은 농도의 경우 높은 농도에 비하여 CHCl₃의 제거가 빠른 시간 내에 이루어질 수 있고 그 결과, PLLA/CHCl₃ 용액과 공기의 접촉 시간이 상대적으로 감소하여 표면에 PLLA 조밀 막의 형성이 줄어들게 된다. 제조된 PLLA 지지체의 아래 표면은 PLLA/CHCl₃ 용액이 공기와 접촉되지 않으며 다만 culture dish의 표면과 접촉함에 따라 CHCl₃ 증발에 따른 조밀 막이 형성되지 않음에 따라 농도에 의한 표면 특성의 변화가 없음을 알 수 있다. Fig. 5에 각 사용 PLLA/CHCl₃ 용액 농도에 따른 PLLA 다공성

지지체의 상층 표면과 하층 표면의 porosity를 나타내었다. 그림에서 보는 바와 상층부와 하층부 모두, 낮은 농도 용액으로 제조된 PLLA 다공성 지지체가 높은 porosity를 가짐을 알 수 있다. 또한 농도에 관계없이 하층부 표면의 porosity가 높음을 알 수 있으며 상층과 하층의 porosity의 차이는 고 농도 용액에서 가장 큼을 알 수 있다. 이러한 porosity 차이는 앞에서 언급한 바와 같이 CHCl₃의 증발 시 발현되는 PLLA의 조밀 막에 의한 영향임을 다시 한번 알 수 있었다[8].

표면 porosity 차이를 유발하는 또 다른 영향으로는 PLLA/CHCl₃ 용액 점도에 따른 첨가된 NaCl의 침전 현상을 들 수 있다. Fig. 6에 농도에 따른 PLLA/CHCl₃ 용액의 점도 변화를 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 고 농도의 경우 높은 점도를 갖는 반면 저 농도에서는 낮은 점도를 가지며 그 결과, 저 농도에서 하층부의 NaCl의 함량이 증가될 것으로 예측되고 이에 따른 porosity의 증가가 예상된다. 하지만 Fig. 5에서 보는 바와 같이 농도에 관계없이 하층부의 porosity가 상층부의 porosity보다 높은 것으로 보아 본 연구에서 사용된 농도에서는 용액 농도에 따른 NaCl의 침전현상에 따른 NaCl의 분포의 변화가 크지 않으며 그 결과, 두께 방향으로의 porosity의 변화는 CHCl₃의 증발에 따른 PLLA의 조밀 막의 형성에 더 의존적임을 확인 할 수 있었다.

3.2. CHCl₃의 제거 속도가 지지체의 다공 구조에 미치는 영향

Fig. 7에 CHCl₃의 제거 온도가 염 추출 속도에 미치는 영향을 염 추출 시간에 따라 잔류 염의 함량 변화로서 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 동일 염 제거 시간에서 CHCl₃의 제거 온도가 증가함에 따라 잔류 염의 양이 감소함을 알 수 있으나 PLLA/CHCl₃ 용액의 농도 영향보다는 그 의존성이 매우 낮음을 알 수 있다. 상대적으로 높은 온도인 60 °C로 CHCl₃을 제거하는 경우 저온에 비하여 CHCl₃의 증발 속도가 빨라 PLLA/NaCl 복합체 표면의 PLLA의 조밀 막 형성이 감소되며 다공 양과 크기가 증가한다. 따라서 염 추출 과정에서 염이 상대적으로 빨리 제거됨을 알 수 있다. Fig. 8에 염이 제거된 PLLA 지지체의 porosity의 변화를 CHCl₃의 제거 온도에 따라

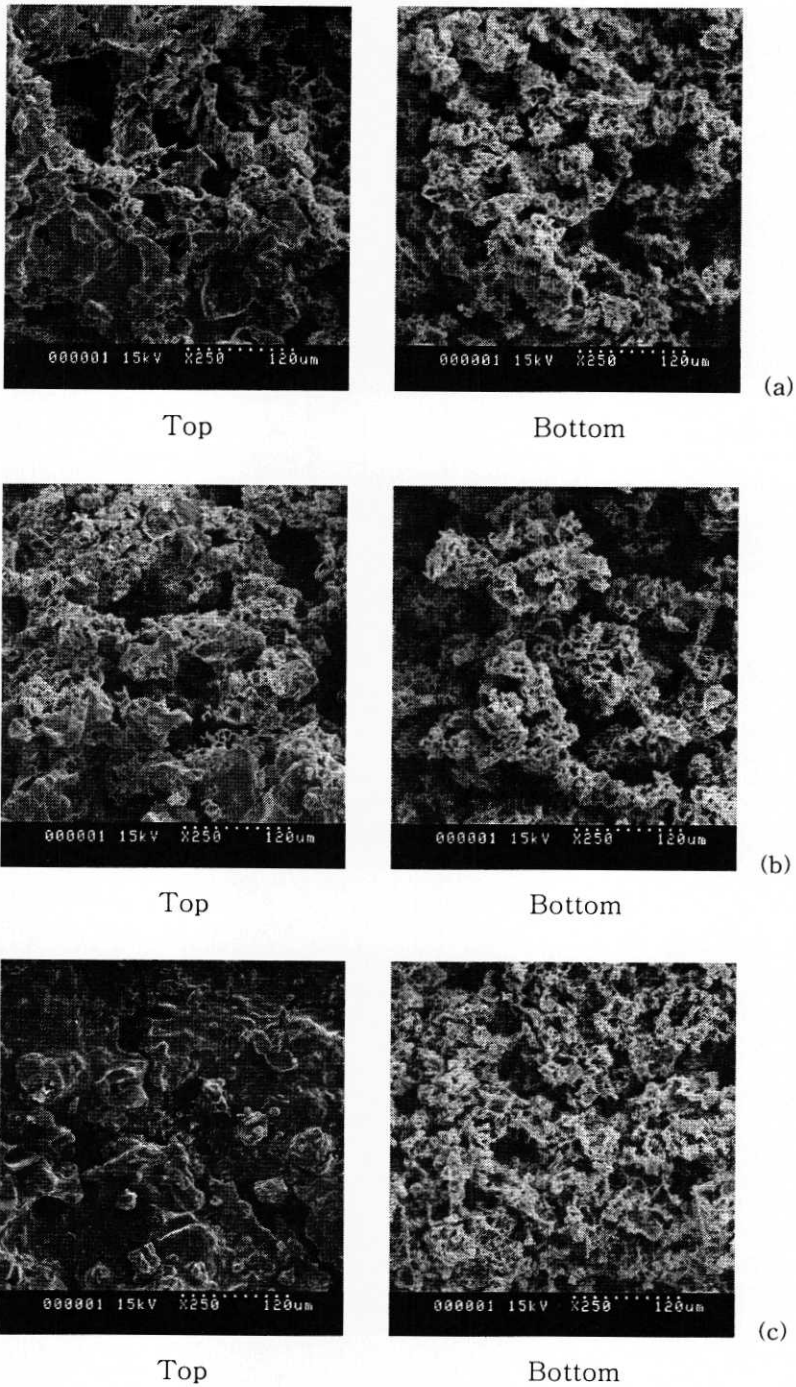


Fig. 4. SEM microphotographs of PLLA scaffolds surface after 24 hr salt leaching as function of PLLA/CHCl₃ solution concentration(wt%) (a) 0.020 (b) 0.027 (c) 0.035.

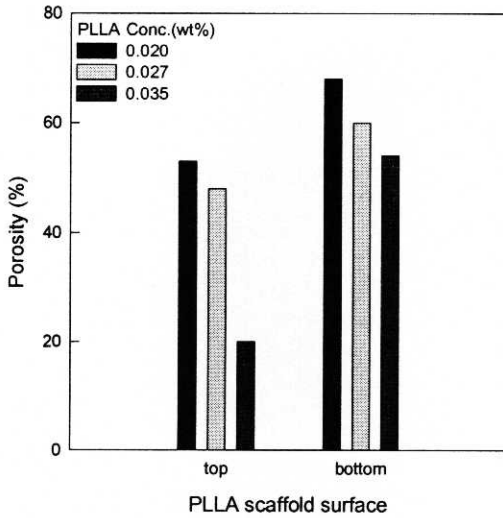


Fig. 5. Porosity for top and bottom surface of PLLA scaffolds after 24 hr salt leaching.

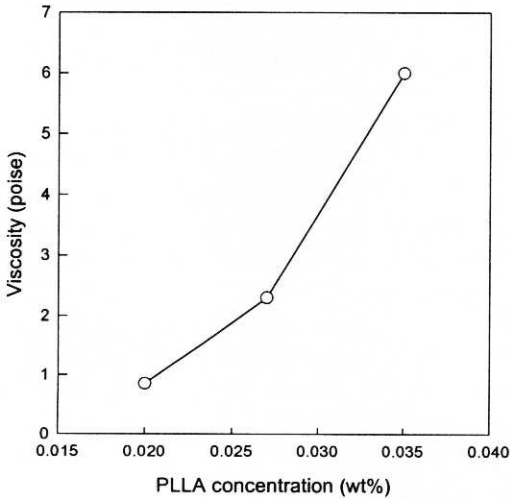


Fig. 6. Viscosity of PLLA/CHCl₃/NaCl solution with various PLLA concentration.

나타내었다. CHCl₃의 제거 온도가 높은 경우, 낮은 온도 보다 CHCl₃의 증발 속도가 빠르며 따라서 용액과 공기의 접촉이 최소화된다. 염 제거 전의 PLLA/NaCl 복합체의 상층 표면에 PLLA 조밀 막의 형성이 감소되며 동시에 pore의 크기가 증가하며 염 추출이 용이하여 porosity가 증가하게 된다. CHCl₃의 제거 온도

에 따른 porosity의 변화는 공기와 접촉에 의하여 표면 특성이 달라지는 상층부가 하층부에 비하여 CHCl₃의 제거 온도에 영향을 많이 받음을 알 수 있다. 이러한 결과로부터 PLLA 다공성 지지체의 표면 porosity는 CHCl₃의 제거 온도에 따른 다공성 지지체 표면 특성 변화에 의존적임을 확인할 수 있었다.

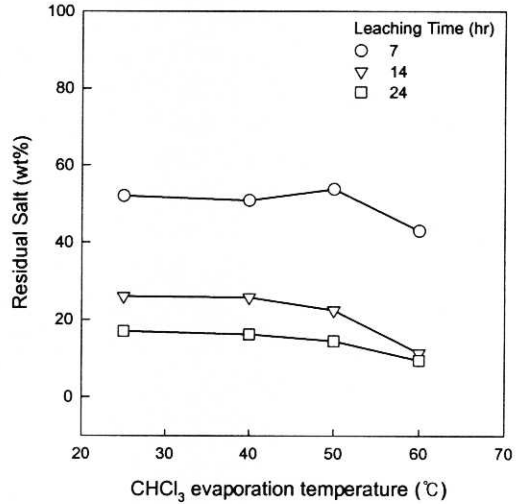


Fig. 7. Effect of evaporation temperature of CHCl₃ on the amount of residual salt.

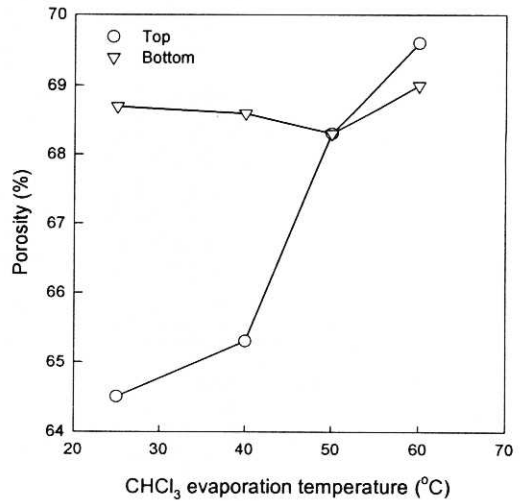


Fig. 8. Effect of evaporation temperature of CHCl₃ on the porosity of PLLA scaffolds after 24 hr salt leaching.

3.3. 염 제거 온도가 지지체의 다공 구조에 미치는 영향

Fig. 9에 염 추출 시 사용되는 증류수의 온도에 따른 잔류 염의 함량을 염 제거 시간에 따라 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 염 제거 온도가 증가함에 따라 염의 추출 속도가 빨라지는 것을 알 수 있으며 80 °C에서 염을 추출할 경우 7시간 이내에 95%이상의 염이 제거되는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 현상은 증류수의 온도가 증가됨에 따라 염의 증류수에 대한 용해도가 증가하여 급격한 용해가 일어나며 이와 함께 높은 온도에 의하여 증류수가 지지체로 확산되는 확산 속도가 빨라 염의 추출이 빨리 진행되어지는 것으로 사료된다. Fig. 10에 각 추출 온도에서 염이 제거된 다공성 지지체의 porosity의 변화를 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 동일 염 제거 시간에서의 지지체의 porosity는 염 추출 온도에 관계없이 일정함을 알 수 있다. 이는 염 추출 온도는 염 제거의 속도에만 영향을 미치며 다공성 지지체의 구조에는 영향을 미치지 않음을 의미한다.

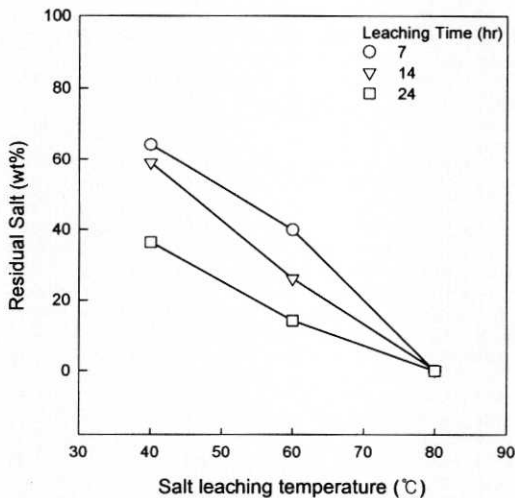


Fig. 9. Effect of salt leaching temperature on the amount of residual salt.

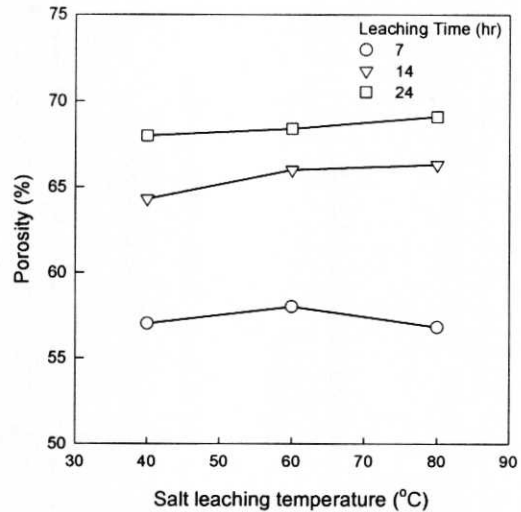


Fig. 10. Porosity of PLLA scaffolds as a function of the salt leaching temperature.

4. 결 론

본 연구에서는 염 추출법에 의한 PLLA 다공성 지지체 제조 시 PLLA/CHCl₃ 용액 조성비와 CHCl₃과 염의 제거 조건이 염 추출 공정에 미치는 영향을 살펴보고 이에 따른 PLLA 다공성 지지체의 구조 변화에 대하여 고찰하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. PLLA 함량이 적은 PLLA/NaCl/CHCl₃ 용액을 다공성 지지체 제조용 용액으로 사용하는 경우 CHCl₃의 제거 시 표면에 발현된 다공 증가와 PLLA 표면 조밀 막 형성 감소로 인하여 염 추출이 빠르게 진행되어 높은 porosity를 얻을 수 있었다.

2. 본 연구에서 사용된 PLLA/NaCl/CHCl₃ 용액의 농도 범위에서는 용액 점도에 의한 염 침전이 발현되지 않아 염의 분포에 따른 기공의 불균일성은 없음을 알 수 있었다.

3. CHCl₃의 제거 온도는 PLLA/NaCl/CHCl₃ 용액 농도에 비하여 염 추출 속도에는 커다란 영향을 주지 못하나 PLLA 지지체의 표면 특성에 영향을 주어 표면 porosity의 변화를 유발함을 알 수 있었다.

4. 염 추출 온도는 PLLA의 다공성 지지체의 다공의 크기 및 구조에는 영향을 미치지 못하나 염 추출 속도에는 직접적인 영향을 미침을 알 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 2003학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. D. W. Hutmacher, *Biotechnology*, **12**, 689 (1994).
2. R. Langer and J. P. Vacanti, *Science*, **260**, 920 (1993).
3. L. G. Cima, J. P. Vacanti, D. Ingber, D. Mooney, and R. Langer, *J. Biomech. Eng.*, **113**, 143 (1991).
4. D. L. Wise, "Biopolymeric Controlled System", Vol. 1, CRS Press, Boca Raton, Ch. 8 (1985).
5. A. G. Mikos, Y. Bae, L. G. Cima, D. Ingber, J. P. Vacanti, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 183 (1993).
6. S. Gogolewski and A. J. Pennings, *Colloid Polym. Sci.*, **261**, 477 (1983).
7. A. G. Mikos, A. J. Sarakinos, S. M. Leite, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **14**, 323 (1993).
8. A. G. Mikos, A. J. Thorsen, L. A. Czerwonka, Y. Bae, R. Langer, D. N. Winslow, and J. P. Vacanti, *Polymer*, **35**, 1068 (1994).
9. L. E. Freed, J. C. Marquis, A. Nohria, J. Emmanuel, A. Mikos, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 27 (1993).
10. Y. S. Nam and T. G. Park, *Biomaterials*, **20**, 1783 (1999).
11. L. D. Harris, B. S. Kim, and D. J. Mooney, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42**, 396 (1998).
12. K. Whang, C. H. Tomas, K. E. Healy, and G. Nuber, *Polymer*, **36**, 837 (1995).
13. K. P. Andriano, Y. Tabata, Y. Ikada, and Y. Heller, *J. Biomed. Mater. Res.*, **48**, 602 (1999).
14. A. Park, B. Wu, and L. G. Griffith, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **9**, 89 (1998).
15. D. J. Mooney, D. F. Baldwin, N. P. Suh, J. P. Vacanti, and R. Langer, *Biomaterials*, **17**, 1417 (1996).
16. R. C. Thomson, M. J. Yaszemski, J. M. Powers, and A. G. Mikos, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **7**, 23 (1995).
17. Y. S. Nam, J. J. Yoon, and T. G. Park, *J. Biomed. Mater. Res.*, **53**, 1 (2000).