

## 유화제로서 PEG-PPG 블록 공중합체를 이용한 Poly(DL-Lactide-co-Glycolide) 나노입자: 제조 및 지용성 약물의 로딩

정택규 · 김승수 · 신병철\*  
한국화학연구원 화학소재연구부  
(2003. 5. 22 접수)

### Poly(DL-Lactide-co-Glycolide) Nanoparticles Used PEG-PPG Diblock Copolymer by Surfactant: Preparation and Loading of Water Insoluble Drug

Taek Kyu Jung, Sung Soo Kim, and Byung Cheol Shin\*  
Advanced Materials Division, KRICT, 100 Jang Dong, Yusong, Taejeon 305-606, Korea  
(Received May 22, 2003)

**요 약.** 본 연구에서는 나노입자의 제조 방법인 용매 확산 방법 (emulsification diffusion method)을 이용하여 poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) 나노입자를 제조하고 지용성 vitamin A (Retinol)와 Vitamin E acetate를 담지하였다. 고분자 용액은 물에 잘 혼합되는 유기 용매인 에탄올과 아세톤의 이중 혼합 용매를 사용하여 제조하였고 유화제는 생체적합성이 우수한 polyethyleneglycol-polypropyleneglycol diblock copolymer를 사용하였다. 고분자의 농도, 유화제의 농도, 물/오일상의 비, 고분자/약물의 비 등의 인자들이 나노입자의 형성과 약물의 담지 효율에 미치는 영향을 조사하였다. 활성 성분이 로딩된 나노입자를 제조한 후, 입자의 크기와 분포도는 광산란 입도 분석기를 이용하여 측정하였고 담지 효율은 UV-visible spectroscopy를 이용하여 평가하였다. 제조된 나노입자는 50-200 nm의 크기와 단분산 형태의 크기분포를 보였으며 담지 효율은 50-60%까지 얻을 수 있었다. 또한, 유기상과 수용액상에서 이중 혼합 용매와 고분자의 농도에 대한 적당한 조건을 조절함으로써 PLGA 나노입자의 높은 수율과 우수한 물리적 특성을 얻을 수 있었다.

**주제어:** PLGA, 나노입자, 유화, 비타민

**ABSTRACT.** In this study, poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles loaded with water-insoluble vitamins such as vitamin A (Retinol) and vitamin E acetate were prepared by the emulsification diffusion method. Polymer solution was prepared by the two water-miscible organic solvent, such as ethanol and acetone. Because of its biocompatible property, polyethyleneglycol-polypropyleneglycol diblock copolymer was used as surfactant and stabilizer. The influence of some preparative variables on the nanoparticle formation and on the loading efficiency of active agents, such as the type and concentration of stabilizing agent, the stirring methods, the water/oil phase ratio and the polymer concentration were investigated in order to control and optimize the process. After preparation of nanoparticles loaded with active agent, particle size and distribution were evaluated by the light scattering particle analyzer. The loading efficiency of active agents was evaluated by the UV-visible spectroscopy. As the results, particle size were 50-200 nm and dispersibility was monodisperse. The optimum loading efficiency of active agents was observed 50-60%. It was found that the appropriate of selections of binary solvent mixtures and polymeric concentrations in both organic and aqueous phases could provide good yield and favorable physical properties of PLGA nanoparticles.

**Keywords:** PLGA, Nanoparticle, Emulsification, Vitamin

## 서 론

Poly(DL-lactide-co-glycolide)(PLGA)는 생체적합성이 우수하고 생체 내 분해성을 가짐으로써 지속적이고 장기적인 약물의 방출 조절이 가능한 약물 전달체로 주목받고 있는 고분자 중의 하나이다. 최근에, PLGA와 같은 생체 적합성이 우수하며 생체 내에서 분해 되는 성질을 가지는 고분자를 이용하여 약물 전달체로 사용하기 위한 연구가 광범위하게 연구되어지고 있다.<sup>1-7</sup> 특히, 최근에 이러한 고분자로 만들어진 콜로이드 입자들을 극히 미세한 크기의 나노입자의 형태로 제조하여 약물을 담지한 후 약물전달체로 활용하기 위한 연구가 진행되고 있다.<sup>9</sup> 이러한 나노입자는 극히 작은 크기와 큰 표면적을 가지는 특성이 있으며, 생체 장벽에 대한 우수한 투과성을 갖기 때문에 선택적 약물 전달을 유용하게 할 뿐만 아니라 담지된 약물의 보호와 방출 조절 기능의 향상으로 보다 지속적인 약물의 효과를 유지시켜 주는 방법으로 알려져 있다.<sup>10,11</sup> PLGA를 이용한 나노입자 제조에 있어 기존에 발표된 제조 방법에는 emulsion-evaporation method<sup>13</sup>, salting out method<sup>14</sup>, nanoprecipitation method<sup>10</sup> 등이 있다. 위에서 언급한 방법들은 독성 용매의 사용, 생분해성이 없고 생체 내에서 불안전성을 갖는 유화제, 낮은 수율과 약물의 담지 효율 등 여러 가지 문제점을 가지고 있는 것으로 보고 되었다.<sup>15,16</sup> 이러한 방법들의 단점을 보완한 방법으로, 자발적 유화 용매 확산법 (spontaneous emulsification solvent method, SESD method)이 보고 된바 있다.<sup>17</sup> 이 제조방법은 고분자 용액의 용매로써 디클로로메탄과 아세톤의 이중 유기 혼합 용매를 사용하였으며, 유화과정과 용매확산 과정을 거쳐 입자가 형성된다. 하지만, 나노입자가 형성 될 때 심한 뭉침현상이 일어나 대규모로 제조하기가 어려운 단점이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>18,19</sup> 이러한 단점을 보완하기 위하여 Murakami 그룹에서는 디클로로메탄을 알코올로 대체하고 ultrafiltration과정을 공정에 도입하여 안정된 수율과 대규모의 제조가 가능한 것으로 보고하였다.<sup>20,21</sup> 이 방법은 PLGA와 유화제에 대하여 서로 상반된 친화도를 갖고 있는 알코올과 아세톤을 일정한 조합으로 혼합한 용매를 사용하여 고분자 용액을 제조한 후, 유화제로 사용된 poly(vinylalcohol), (PVAL) 수용액에 분산시켜 250 nm 내외의 입자 크기를 갖는 나노입자를 제조하였다. 그러나, 나노입자를 생체 내 전달체로 사용할 경우, 생체 내 투과율을 높이고, 선택적

인 약물 운반체로 사용하기 위해서는 50-100 nm 범위의 입자 크기가 돼야 하는 것으로 보고 된바 있다.<sup>14</sup>

본 연구에서는 위에서 언급한 방법들의 단점을 보완함으로써 입자의 평균 크기가 100 nm 이하의 크기로 제조하고 vitamin A와 vitamin E acetate의 담지 효율을 향상시키는 데 연구의 초점을 맞추었다. vitamin A와 vitamin E acetate는 지용성 성분으로써 노화방지의 효과를 갖고 있으며 기능성 화장품에 많이 사용되고 있는 생리 활성 성분이다. 이러한 활성 성분은 온도 및 빛에 의한 안전성을 보완하고 피부 투과율 및 흡수율을 높이기 위하여 나노크기의 고분자 입자에 담지하는 방법이 사용되고 있다.<sup>15</sup> 유화-용매확산 방법에 의하여 제조된 PLGA 나노 입자는 나노입자의 크기, 분포, 수율 등의 입자의 물리적 성질에 대하여 여러 가지 인자에 의해 영향을 받는다. 이와 같이 입자의 물리적 성질 및 약물의 담지 효율에 영향을 주는 인자들로 유기 용매의 종류, 고분자의 분자량 및 농도, 유화제의 종류 및 농도, 물/오일상의 비와 고분자/약물의 비 등이 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 이와 같은 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 제안 하였다. 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 불안전성을 개선하기 위하여 보다 생체적합성이 우수한 polyethyleneglycol-polypropyleneglycol (PEG-PPG) 블록 공중합체를 유화제 및 안정제로 사용하였다.

## 실 험

**시약.** 본 실험에서 나노입자를 제조하기 위하여 사용된 고분자로서, 분자량이 50,000-75,000이고 공동 단량체의 비율이 85/15인 PLGA (Aldrich, WI, USA)를 구입하여 그대로 사용하였다. 유화제로 사용된 PEG-PPG diblock copolymer (BASF, Lutrol F 68, Germany), poly(vinylalcohol) (PVAL) (Aldrich, WI, USA), polyoxyethylene sorbitane monooleate (Yakuri pure chemical CO., Tween 80, Japan)는 구입하여 그대로 사용하였다. Vitamin A (trans-RETINOL, Aldrich, WI, USA)과 vitamin E acetate

(Aldrich, WI, USA)는 구입하여 그대로 사용하였다. 알코올과 아세톤 등의 유기 용매는 일반적인 시약 등급을 사용하였다.

**PLGA 나노입자의 제조 및 약물 로딩.** PLGA 나노입자는 유화-용매확산 방법에 의하여 제조하였다.<sup>20</sup> 이 방법은 다음과 같은 세 단계의 과정을 통하여 진행하였다. 우선, 첫 번째 단계로 Quasi-emulsification을 위하여 PLGA 50 mg과 일정 비율의 지용성 비타민을 아세톤과 에탄올을 6:4 비율로 혼합한 용매 2.5 ml에 용해시켰다. 제조된 고분자/약물 혼합 용액은, PEG-PPG 블록 공중합체 수용액 (8%, w/w) 20 ml에 초음파 장치 (Ultrasonicator, model 500, Fisher Scientific, USA)를 이용하여 강한 초음파를 조사하여 교반시켜 주면서, 주사기를 이용하여 초음파가 발생하는 마이크로 팁의 끝 부분에 서서히 첨가하였다. 두 번째 단계인 나노입자의 정제 단계는 PLGA 용액과 유화 용액을 혼합하여 제조한 에멀전 용액을 1000 ml 플라스크에 옮긴 후, 증류수 200 ml를 첨가하여 희석하였다. 이 희석 용액을 ultrafiltration 장치에 옮긴 후, 20 ml까지 농축하고 다시 200 ml로 희석하는 과정을 3회 반복하였다. 마지막 단계로, ultrafiltration 과정 후, 20 ml로 농축된 용액을 여과지를 이용하여 여과한 후 동결 건조하여 지용성 비타민이 로딩된 PLGA 나노입자 분말을 얻었다.

**PLGA 나노입자의 물리적 성질 규명.** 제조된 입자의 크기와 분포도는 light scattering particle analyzer (Electrophoretic light scattering spectrophotometer, ELS-8000, OTUSKA Electronics Co., Japan)를 이용하여 측정하였다. PLGA 나노입자의 형태는 scanning electronic microphotometer (SEM) (6700F Cold/Fe-SEM, JEOL Co., Japan)을 이용하여 관찰하였다.

**PLGA 나노입자의 수율 측정.** PLGA 나노입자의 수율은 ultrafiltration 과정 후, 정제된 분산 용액을 0.22 µm membrane (cellulose acetate membrane, Coming, NY, USA)을 이용하여 감압 여과하고 동결 건조 과정 후 얻어진 나노입자의 무게를 측정하여 나노입자의 수율을 평가하였다. 나노입자의 수율은 다음 식에 의해 계산하였다.

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

**지용성 비타민의 담지 효율 측정.** PLGA 나노입자에 담지된 지용성 vitamin A와 vitamin E acetate의 담지 효

율은 UV-visible spectroscopy (UV mini 1240, SHIMADZU, Japan)를 이용하여 평가하였다. Vitamin A와 vitamin E acetate를 표준물질로 하고 90% v/v 아세토나이트릴 용액을 사용하여 검정 곡선을 설정한 후, PLGA 나노입자에 포함된 지용성 비타민의 담지 효율을 측정하였다. 나노입자에 포함된 약물의 양은 나노입자 제조과정 중 ultrafiltration을 통하여 입자에 포함되지 않은 약물을 제거한 후 얻어진 분산 용액에서 400 µl를 취하고, 이 용액에 3.6 ml의 아세토나이트릴을 첨가하여 PLGA 입자와 입자에 포함된 약물을 녹인 후 UV-visible spectroscopy를 이용하여 vitamin A는 흡수파장 327.7 nm에서, vitamin E acetate는 흡수파장 283.5 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지용성 비타민의 담지 효율은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Loading efficiency (\%)} = \frac{\text{Mass of drug in nanoparticles}}{\text{Mass of drug used in formulation}} \times 100(\%)$$

## 결과 및 고찰

### 유기 용매의 영향

PLGA 나노입자를 제조하는 데 있어 기존에 사용되었던 유기 용매는 클로로포름, 디클로로메탄 등의 물과 혼합되지 않는 용매를 주로 사용하였다. 이러한 유기 용매를 사용한 방법은 용매의 독성으로 인한 문제점과 에멀전 형성 및 용매의 확산 단계에서 발생하는 뭉침현상으로 인하여 낮은 수율과 입자 크기의 증가와 같은 단점을 가지고 있었다. 본 연구에서는 물에 잘 혼합되고 독성이 비교적 적은 아세톤과 에탄올을 일정 비율로 혼합한 용매를 사용하여 PLGA 나노입자를 제조하였다. Table 1은 아세톤과 에탄올의 혼합 비율에 따라 제조된 PLGA 입자의 크기 변화를 나타낸 결과로서 에탄올의 비율이 증가할수록 입자의 크기는 감소하며 아세톤/에탄올의 혼합 비율이 6/4가 최적의 조건임을 보여준다. 이 결과는 나노입자 형성 메커니즘에서 에탄올과 아세톤의 2단계에 걸친 확산이 입자 크기에 영향을 주기 때문에 에탄올의 양이 증가할수록 입자의 크기가 감소하는 것으로 사료된다. 에탄올과 아세톤의 순차적 확산은 에탄올과 아세톤의 물에 대한 친화도의 차이에 기인하는 것으로 알려져 있다.<sup>19</sup> 고분자 용액이 유화제가 포함된 수용상과 혼합된 후 형성된 에멀전 방울의 계면에서 용매의 확산이 일어나며 물에 대한 친화도의 차이에 따

Table 1. Effect of binary organic solvent ratio on the particle size and yield of PLGA nanoparticles prepared by the emulsification-diffusion method. PLGA concentration: 2% w/v, Surfactant concentration: 8% w/v

Binary solvent ratio* (acetone/ethanol)	Particle size (nm)	Yield (%)
10/0	256.5	42.5
9/1	231.2	64.1
8/2	157.8	70.5
7/3	132.5	89.4
6/4	113.6	98.7
5/5	205.4	81.5
4/6	**	
3/7		
2/8		
1/9		
0/10		

\*Volume ratio

\*\*Nanoparticles could not be prepared in these binary solvent.

라 상대적으로 친화도가 높은 에탄올이 먼저 확산된 후 아세톤이 순차적으로 확산되는 것으로 알려져 있다.<sup>20</sup> 에탄올의 비율이 5/5 이상 증가하면 입자의 크기가 오히려 증가하고 4/6 이상의 비율에서는 나노크기의 입자가 형성되지 않았다. 이 결과는 일정 농도 이상으로 에탄올의 농도가 증가하면 PLGA에 대한 용해도가 감소하여 에멀전이 형성되기 전에 침전이 형성되는 것에 기인하는 것으로 알려져 있다.<sup>21</sup> 따라서, 최적의 혼합 비율은 침전이 형성되지 않는 용해도를 유지할 수 있는 데 까지 에탄올의 비율을 증가시키는 것이다. 침전이 형성되는 용매의 혼합 비율은 흐림점 (cloud point) 측정법을 이용하여 결정할 수 있으며 PLGA의 경우, lactide와 glycolide의 비율과 분자량에 영향을 받는 것으로 알려져 있다.<sup>22,23</sup>

**고분자 및 유화제의 영향.** 유화-용매확산 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.<sup>16</sup> 따라서, 고분자의 농도와 유화제의 종류 및 농도는 PLGA 입자의 형성과 물리적 성질에 큰 영향을 미치게 된다. Table 2는 고분자 용액의 농도를 1, 2, 4% w/v로 각각 변화시키고 유화제의 농도를 1, 2, 4, 8% w/v로 각각 변화시켜 PLGA 나노입자를 제조할 때 형성된 나노입자의 크기와 분포도를 비교한 결과이다. 형성된 나노입자의 크기는 고분

Table 2. Physical property of vitamin E acetate loaded PLGA nanoparticles prepared by the emulsification-diffusion method. Solvent composition: acetone/ethanol =6/4

Concentration of PLGA (%, w/v)	Concentration of surfactant* (%, w/v)	Particle size(nm)		Polydispersity
		Before <sup>a</sup>	After <sup>b</sup>	
1	1	82.3	89.7	1.78
	2	80.7	90.2	1.60
	4	90.3	95.4	2.19
	8	88.4	96.1	1.94
2	1	93.1	95.4	1.40
	2	97.6	98.0	1.58
	4	110.6	119.7	1.70
	8	113.6	145.2	1.99
4	1	202.9	200.7	1.84
	2	198.0	209.8	1.79
	4	212.2	225.5	2.31
	8	255.3	280.4	2.45

\*Surfactant: PEG-PPG diblock copolymer

<sup>a</sup>Before vitamin E acetate loading

<sup>b</sup>Vitamin E acetate loaded PLGA particles

자의 농도 및 유화제의 농도가 감소할수록 더 작아지는 것을 확인하였으며 입자의 분포는 단분산의 안정된 분포를 보이는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 지용성 약물의 담지로 인하여 입자의 크기가 약간 증가됨을 확인할 수 있었다. 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.<sup>17</sup> PLGA의 농도에 따른 영향을 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 일어나는 데 기인하는 것으로 알려져 있다.<sup>18</sup> 반면에, 기존 연구 결과와는 다르게 1-8% w/v 범위에서 유화제의 농도에는 별다른 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 유화제로 사용된 PEG-PPG 블록 공중합체가 낮은 농도에서도 에멀전 방울들의 효과적인 분산과 안정성을 확보하기 때문인 것으로 사료된다. Fig. 1은 PLGA와 유화제로 사용된 PEG-PPG 블록 공중합체의 비율 변화에 따른 입자 크기의 변화를 나타낸 결과이다. 유화제에 대한 PLGA의 비율이 40%

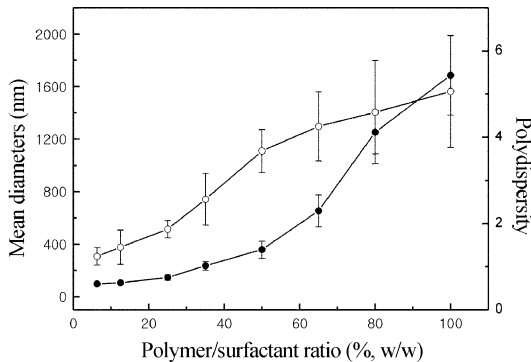


Fig. 1. Effect of polymer/surfactant ratios on the mean size of the PLGA nanoparticles. Solvent composition: acetone/ethanol=6/4 (-●-: Mean diameters and -○-: Polydispersity).

보다 낮은 조건에서 200 nm 이하의 입자 크기로 제조되었으며 유화제의 비율이 그 이상으로 증가할수록 입자의 크기는 급격히 증가하였다. 입자의 분산도 또한, 유화제에 대한 PLGA의 비율이 40% 보다 낮은 조건에서 비교적 단분산 형태로 일정한 크기의 입자가 형성됨을 알 수 있었다. 이러한 결과는 에멀전의 효과적인 분산과 안정성에 대한 유화제의 역할을 보여주는 것으로서, 100 nm 정도의 일정한 크기의 입자의 얻기 위해서는 유화제에 대한 고분자의 비율이 10% 이하이어야 함을 보여준다.

Fig. 2는 PLGA 나노입자를 에탄올/아세톤 (6/4)의 용매 조건과 2% w/v PLGA/drug 용액과 유화제로 8% w/v PEG-PPG 블록 공중합체 수용액의 조건에서 초음파를 사용하여 제조한 후, 동결-건조한 나노입자의 SEM

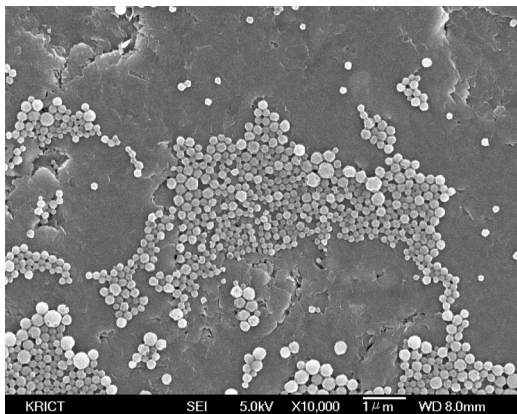


Fig. 2. Scanning electron microphotograph image of PLGA nanoparticles prepared by the emulsification-diffusion method.

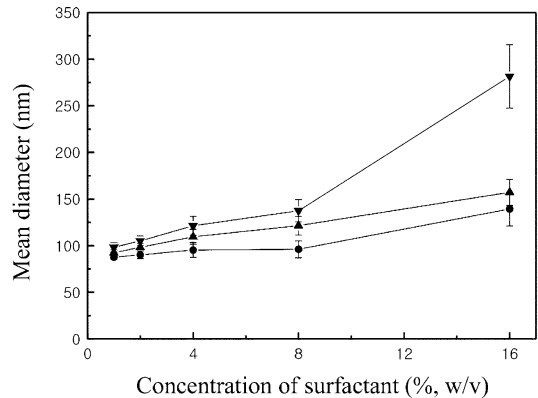


Fig. 3. The change of mean diameters of the PLGA nanoparticles with various surfactant used in the emulsification-diffusion method. PLGA concentration: 1 % w/v (-●-: PEG-PPG diblock copolymer, -▲-: PVAL and -▼-: polyoxyethylene sorbitane monooleate).

이미지이다. 제조된 PLGA 나노입자는 구형이고, 분리된 입자로 존재하며 매끄러운 표면 형태를 가지고 있었으며 100 nm 정도의 평균 크기를 보였다.

**유화제의 종류에 따른 영향.** Fig. 3은 PEG-PPG 블록 공중합체와 PVAL, Tween 80을 유화제로 각각 사용하여 PLGA 나노입자를 제조한 후 입자의 크기를 비교한 결과이다. 유화제는 Quasi-emulsification 단계에서 에멀전 방울의 응집을 방지하여 유기상을 효과적으로 분산시키고, 분산된 에멀전 방울의 안전성을 부여하기 위하여 사용된다. 동일한 농도에서 나노입자를 제조하였을 때 PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제로 사용한 경우가 다른 경우에 비해 더 작은 나노입자를 형성하였으며 16% w/v 이상에서는 PVAL에 비하여 현저하게 작은 입자를 형성하였다. 이 결과는 입자의 크기가 커지는 주된 원인으로 알려진 뭉침현상을 방지하는데 있어 PEG-PPG 블록 공중합체가 PVAL이나 Tween 80에 비하여 더 효과적인 것으로 사료된다. 또한 16% w/v 이상의 농도에서는 유화제 수용액의 점도가 PEG-PPG 블록 공중합체와 Tween 80에 비하여 PVAL 수용액이 현저히 높기 때문에 고분자 용액과 수용액이 혼합될 때 안정된 분산이 어렵기 때문인 것으로 사료된다. PLGA 나노입자 제조에 사용된 대표적인 유화제 중의 하나인 PVAL은 유화제와 안정제로서 PLGA 나노입자 표면에 강하게 결합되어 나노입자를 안정화하는 것으로 알려져 있다.<sup>23</sup> 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, polyvinylpyrrolidone, dextran, poloxamer 등이 보고되었다.<sup>16</sup> PEG-PPG 블록 공중합체는 생체 친화성이 우수한 PEG가 포함되어 있어 생체 내 약물 전달체로 사용할 경우, PVAL에 비하여 생체 적합성이 우수할 것으로 예상된다. 또한, 주로 피부에 사용되는 기능성 화장품에 있어서 PEG가 코팅된 나노입자는 PEG의 생체친화적인 성질로 인하여 피부에 대한 투과율 및 점착성이 향상될 것으로 기대된다.

**PLGA 나노입자의 수율.** Fig. 4는 1, 2, 4, 8% 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. 유화제의 농도가 2-8% w/v인 경우, PLGA의 농도가 2-4% w/v 범위에서는 95% 이상의 높은 수율을 보였으나 10% w/v 이상의 범위에서는 급격한 수율 감소가 나타났다. 특히 유화제의 농도가 1% w/v인 경우 4% w/v 이상의 PLGA 농도에서 급격한 수율의 감소가 일어남을 알 수 있었다. 이러한 결과는 PLGA의 농도가 증가할수록 뭉침현상이 증가하여 입자의 크기가 증가하고 10% w/v 이상의 조건에서는 급격한 뭉침현상이 일어나 대부분 침전이 일어나기 때문인 것으로 사료된다. 유화제의 농도가 1% w/v 이하인 경우에는 유화제의 양이 PLGA를 안정화시키는데 부족하기 때문에 PLGA의 농도가 높아질수록 급격한 뭉침현상이 일어나 수율이 감소하는 것으로 사

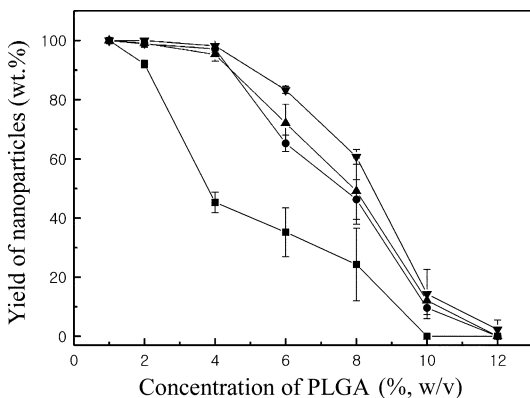


Fig. 4. Effect of PLGA and surfactant concentration on the yield of nanoparticles prepared by PEG-PPG diblock copolymer system (Surfactant concentration (% w/v): -■-: 1, -●-: 2, -▲-: 4 and -▼-: 8).

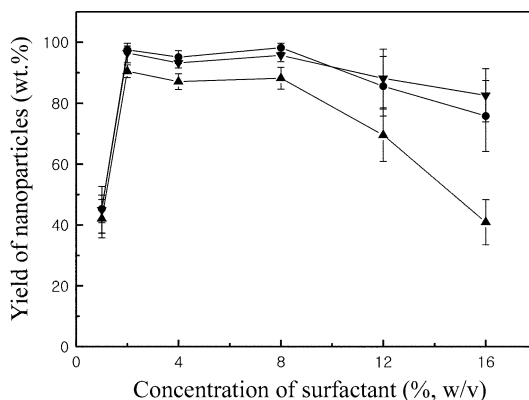


Fig. 5. Effect of PEG-PPG diblock copolymer on the yield of the PLGA nanoparticles prepared by the emulsification-diffusion method. Solvent composition: acetone/ethanol=6/4, PLGA concentration: 4% w/v (-●-: PEG-PPG diblock copolymer, -▲-: PVAL and -▼-: polyoxyethylene sorbitan monooleate).

료된다.

Fig. 5는 PLGA 나노입자 제조시 유화제의 종류와 농도가 수율에 미치는 영향을 나타낸 결과로서 6% 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/v까지 서서히 증가했지만 그 이상의 농도에서는 서서히 감소하였으며, 1% 이하의 농도와 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. 이러한 결과는 유화제의 농도가 입자의 크기뿐만 아니라 안정성에도 크게 영향을 미치는 것을 보여주는 결과이며, PEG-PPG 블록 공중합체가 유화제 및 안정제로서 효과적임을 보여주는 결과이다.

**지용성 비타민의 담지 효율.** Fig. 6은 PLGA의 농도와 유화제로 사용된 PEG-PPG 블록 공중합체의 농도 변화에 따른 Vitamin E acetate의 담지율의 변화를 나타낸 결과이다. PLGA에 대하여 10% w/w의 농도로 Vitamin E acetate를 첨가하였을 때, PLGA의 농도가 1-2% w/v의 범위에서는 농도가 증가할수록 담지율도 증가하였으나, 4% w/v 이상에서는 오히려 담지율이 감소하는 결과를 보였다. 또한 유화제의 농도가 증가할수록 담지율이 증가하는 경향이 나타났다. PLGA 농도에 의한 영향은 4% w/v 이상의 조건에서 PLGA 입자의 수율 감

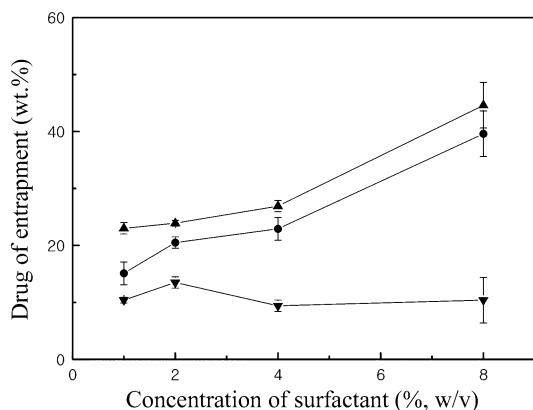


Fig. 6. The loading amount of vitamin E acetate in the PLGA nanoparticles with a variation of concentration of PLGA and surfactant prepared by the emulsification-diffusion method (PLGA concentration (% w/v) : -●- : 1, -▲- : 2 and -▼- : 4).

소가 담지물에 영향을 미친 것으로 사료된다. 4% w/v 이상의 PLGA 농도 조건에서는 입자들 간의 뭉침현상으로 인한 침전 형성으로 급격한 수율의 감소가 일어나기 때문에 Vitamin E acetate의 손실이 크게 발생하게 된다. 유화제의 농도에 의한 영향은 유화제의 농도가 증가할수록 PLGA 용액을 효과적으로 분산시키고 입자의 안정성을 증가시켜 입자의 수율을 향상시키고 이로 인해 Vitamin E acetate의 담지율을 향상시키는 것에 기인하는 것으로 사료된다.

Fig. 7은 고분자 및 유화제의 농도에 대한 최적 조건인 2% w/v PLGA 용액과 8% w/v PEG-PPG 블록 공

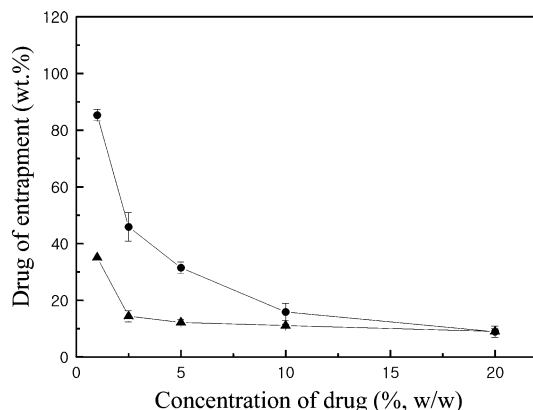


Fig. 7. The loading amount of active agent in the PLGA nanoparticles with a type and concentration of active agent prepared by the emulsification-diffusion method (-●- : Vitamin E acetate and -▲- : Vitamin A).

중합체 용액의 조건에서 PLGA 나노 입자를 제조할 때 vitamin E acetate과 vitamin A의 농도에 따른 담지율의 변화를 보여주는 결과이다. PLGA에 대한 약물의 비율이 20% 이상인 경우에는 두 가지 비타민의 담지율이 10% 내외로 유사하였으나, 10% 이하의 경우에는 vitamin A에 비하여 vitamin E acetate가 2배 이상 높은 것을 확인할 수 있었다. 또한, 담지율은 두 가지 활성 성분 모두 약물의 농도가 감소할수록 담지율이 증가하는 것으로 나타났다. 담지율은 초기 약물 사용량에 대한 나노입자에 담지된 약물의 양을 평가한 것이므로 약물의 농도가 높은 경우, 약물의 초기 사용량 또한 증가하게 되므로 담지율이 낮게 평가된 것으로 사료된다. 또한, 약물의 농도가 감소할수록 담지율이 증가하는 원인은 약물에 대한 담체 고분자의 비율이 증가할수록 입자 안에 약물이 담지될 확률이 증가하기 때문인 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구에서는 PLGA 나노입자를 유화-용매확산 방법에 의하여 제조하였으며, 생체친화적인 PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제 및 안정제로 사용하고 지용성 약물인 vitamin A(Retinol)과 vitamin E acetate를 담지하였다. PEG-PPG 블록 공중합체를 유화제로 사용하여 제조한 PLGA 입자는 농도 조건에 따라서 100 nm 내외의 구형의 나노입자를 형성하였으며 50-60%의 우수한 담지 효율을 보임을 확인할 수 있었다. PLGA와 유화제의 농도, 유화제의 종류, PLGA와 유화제의 비율 등은 PLGA 나노입자의 크기와 수율에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한 고분자와 유화제의 농도 및 약물의 비율을 조절함으로써 약물의 담지 효율을 향상시킬 수 있음을 알 수 있었다.

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

## 인용문헌

1. Lewis, D. H.; Chasim, M.; *Biodegradable polymer as drug delivery systems*; Langer, R., Ed.; Marcel Dekker: New York, U. S. A., **1990**; p 1-44.
2. Alexakis, T.; Boadi, D. K.; Quong, D.; Groboillot, A.; O'Neill, I.; Poncelet, D.; Neufeld, R. J. *Appl. Biochem. & Biotechnol.* **1995**, 50, 93.

3. Lu, W.; Park, T. G. *J. Pharm. Sci. Technol.* **1995**, 45, 13.
  4. Kim, A.; Park, S. J.; Lee, J. R. *J. Colloid Interface Sci.* **1998**, 197, 119.
  5. Jeong, Y. I.; Shim, Y. H.; Song, K. C.; Park, Y. G.; Ryn, H. W.; Nah, J. w. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2002**, 23, 1579.
  6. Jeong, Y. I.; Ryn, J. G.; Kim, Y. H.; Kim, S. H. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2002**, 23(6), 872.
  7. Park, S. J.; Kim, S. H.; Lee, I. R.; Lee, H. B.; Hong, S. K. *Polymer (Korea)* **2002**, 26(3), 326.
  8. Cho, J. C.; Khang, G.; Choi, H. S.; Rhee, J. M.; Lee, H. B. *Polymer (Korea)* **2000**, 24(5), 728.
  9. Fessi, H.; Puisieux, Ammouy, N.; Benita, S. *Int. J. Pharm.* **1989**, 55(1), R1-R4.
  10. Omelozuk, M. O.; McGinity, J. W. *STP Pharm. Sci.* **1995**, 5(3), 181.
  11. Holland, S. J.; Tighe, B. J.; Gould, P. L. *J. Controll. Rel.* **1986**, 4, 155.
  12. Gurny, R.; Peppas, N. A.; Harrington, D. D.; Banker, G. S. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **1981**, 7, 1.
  13. Allemann, E.; Gurny, R.; Doelker, E. *Int. J. Pharm.* **1992**, 87, 247.
  14. Choi, S. W.; Kwon, H. Y.; Kim, W. S.; Kim, J. H. *Colloidals and Surfaces* **2002**, 201, 283.
  15. Govender, T.; Stolik, S.; Garnett, M. C.; Illum, L.; Davis S. S. *J. Controll. Rel.* **1999**, 57, 171.
  16. Quintanar-Guerrero, D.; Fessi, H.; Allemann, E.; Doelker, E. *Int. J. Pharm.* **1996**, 143, 133.
  17. Niwa, T.; Takeuchi, H.; Hino, T.; Kunou, N.; Kawashima, Y. *J. Controll. Rel.* **1993**, 25, 89.
  18. Schada, A.; Niwa, T.; Takeuchi, H.; Hino, T.; Kawashima, Y. *Int. J. Pharm.* **1995**, 117, 209.
  19. Murakami, H.; Kawashima, Y.; Niwa, T.; Hino, T.; Takeuchi, H.; Kobayashi, H. *Int. J. Pharm.* **1997**, 149, 43.
  20. Murakami, H.; Kobayashi, M.; Takeuchi, H.; Kawashima, Y. *Int. J. Pharm.* **1999**, 187, 143.
  21. Murakami, H.; Kobayashi, M.; Takeuchi, H.; Kawashima, Y. *Powder Technology* **2000**, 107, 137.
  22. Gupta, P. K. *Pharm. Sci.* **1992**, 79, 949.
  23. Murakami, H.; Kawashima, Y.; Niwa, T.; Hino, T.; Takeuchi, H.; Kobayashi, M. *Int. J. Pharm.* **1997**, 149, 43.
-