

Fabrication and characterization of block copolymer (PCL/PCL-PEG) nanofibers binding with collagen by electrospun

Jin Woo Lee and Kuk Ro Yoon[★]

*Department of Chemistry, College of life Science and Nano Technology, Hannam University,
461-6 Jeonmin-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Korea*

(Received August 27, 2014; Revised September 29, 2014; Accepted September 30, 2014)

콜라겐 코팅된 블록공중합(PCL/PCL-PEG) 나노섬유의 제조 및 특성분석

이진우 · 윤국로[★]

한남대학교 생명나노과학대학 화학과

(2014. 8. 27. 접수, 2014. 9. 29. 수정, 2014. 9. 30. 승인)

Abstract: Electrospun polymeric nanofibers have been extensively studied for biomedical materials because of their unique structures and relatively easy fabrication with biocompatible polymers. The amount of surface exposed amine groups increases as the blend ratio of block copolymer increases. Cell attachments on the nanofibers change according to the ratio of the block copolymer ((Poly(ϵ -caprolactone, PCL), Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(ethylene glycol-NH₂)) in the blend. We assume that the PEG and amine moiety plays a significant role in biocompatibility of nanofiber surfaces. Collagen was used as a grafting material on the composite nanofibers to enhance the cell adhesion because the collagen is a major constituent of connective tissue.

요약: 전기방사된 나노섬유는 구조 및 비교적 손쉬운 제조공정으로 의료용 재료분야의 활용이 늘어나고 있다. 제조된 나노섬유는 블록공중합체의 PCL-PEG diamine block copolymer의 혼합 비가 높을수록 말단에 결합된 아민기의 비가 높아진다. 생분해성 고분자인 폴리(ϵ -카프로락톤(Poly(ϵ -caprolactone, PCL)과 폴리(ϵ -카프로락톤-폴리에틸렌글리콜-아민(Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(ethylene glycol-NH₂))의 블록공중합체를 혼합한 비율을 조절하여 전기방사법으로 방사함으로써, 세포와의 친화도를 조절하였다. PEG and amine의 비율과 콜라겐의 영향으로 손상된 세포의 성장을 촉진시키는 효과를 기대할 수 있는 생분해성 복합 나노섬유를 제작 및 특성 분석하였다.

Keywords: Block copolymer (PCL/PCL-PEG), Nanofiber, collagen, biocompatibility, cell adhesion

[★] Corresponding author

Phone : +82-(0)42-629-8827 Fax : +82-(0)42-629-8811

E-mail : kryoon@hannam.ac.kr

1. 서 론

섬유를 나노크기의 구조로 얻기 위해서 현재까지 사용된 방법으로 가장 유용한 방사공정은 전기방사법이다.^{1,2} 1795년 Bose는 표면장력에 의해 모세관 끝에 매달려있는 물방울에 고전압을 부여하면 물방울 표면에서 미세 필라멘트가 방출되는 현상을 발견하였다. 1914년 Zeleny는 고전기장하에서 액체방울이 불안정해져 cone을 형성하게 되고, 임계전압 이상에서는 방울의 여러 곳에서 스프레이 되는 현상을 발견하였다.^{3,4} 이러한 정전 스프레이는 좁은 크기 분포의 서브마이크론 방울로 이루어진 에어로졸을 얻을 수 있었으므로 학술적으로 많은 연구가 이루어졌다. 방사노즐의 모세관 끝에 있는 고분자 용액은 중력과 표면장력 사이에 평형을 이루며 반구형 방울을 형성하며 매달려 있게 되는데, 여기에 전기장이 부여되면 이 반구형 방울 표면에 전하 또는 쌍극자 배향이 공기층과 용액의 계면에 유도되고, 전하 또는 쌍극자 반발로 표면장력과 반대되는 힘을 발생시킨다. 따라서 모세관 끝에 매달려 있는 용액의 반구형 표면은 원추형 모양으로 늘어나게 되고, 어떤 임계전기장 세기에서 이 반발 정전기력이 표면장력을 극복하게 되면서 하전된 고분자 용액은 노즐 끝에서 방출 된다. 용액 분출 시에는 점도가 낮은 용액의 경우 표면장력 때문에 미세 방울로 붕괴된다.^{5,6} 그러나 점도가 높은 용액의 경우 붕괴되지 않고 집전판을 향하여 공기 중을 날아가면서 용매가 증발하게 되고 집전판에는 하전된 고분자가 연속상 섬유 형태로 쌓이게 된다. 사용된 고분자의 분자량 및 점도 수준에 따라 나노 수준의 섬유를 얻을 수 있다. 전기방사 공정을 통해 얻은 나노섬유는 일반적으로 부드러운 촉감, 넓은 비 표면적, 가벼운 중량, 우수한 신도 및 탄성 회복률, 우수한 투습 방수성, 높은 통기성, 형태 제어 용이성, 방균성 및 표면특성 제어(친수성/소수성)용이성 등의 우수한 특성을 나타낸다.^{7,8}

2. 실험방법

2.1. Materials

폴리카프로락톤(ϵ -caprolactone, Mw:70000), 폴리카프로락톤[poly(ϵ -caprolactone), Mw:65000], collagen은 알드리치사(Aldrich)에서 구입하였다. PEG-(amine) (Mw:3400)는 SunBio(Korea)에서 구입하였다.

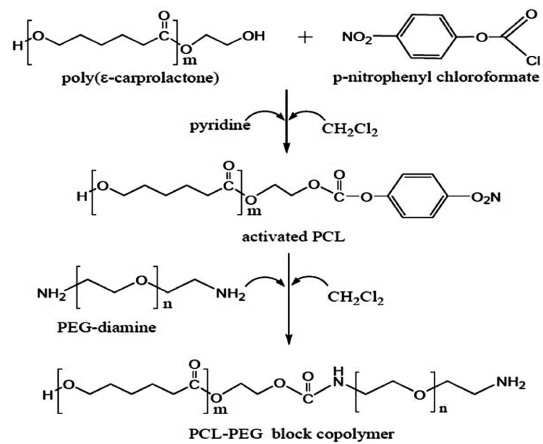
2.2. Measurements

¹H-NMR 스펙트럼은 Varian NMR (300 MHz)을,

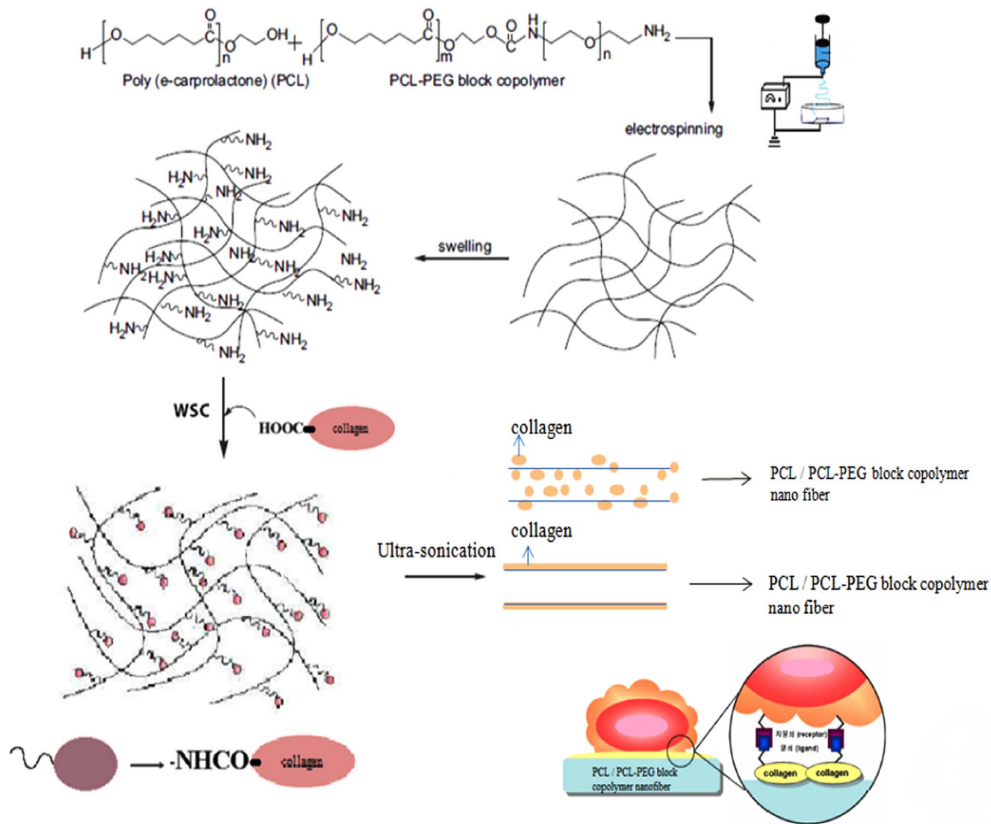
UV 흡수 스펙트럼은 Perkin Elmer 사의 Lambda 14 모델을 사용하여 측정하였다. 전기 방사장치의 구성은 정량실린지 펌프(Model100, NanoNC, Korea), 바늘 tip (nozzlesize=20 G, ID=0.584 mm), 전압발생기(SHV200, NanoNC, Korea), 회전속도 100 rpm 집전판(S8KA90B, d=21.5 cm, stainless steel, NanoNC, Korea)로 구성되어 있으며 전압과 전류 및 바늘 tip과 집전판 사이의 거리조절이 가능 할 수 있도록 구성되었다. 이들 장치 중 고전압 발생기는 전압을 0~40 kV로 변화시켜 전압 인가가 가능 하도록 되어 있다.

2.3. PCL-PEG diamine block copolymer

폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜 블록 공중합체 (PCL-PEG diblock copolymer)는 Scheme 1의 방법으로 제조하였다. 3 g PCL을 30 mL 디클로로메탄(dichloromethane)에 녹였다. 그 후 계속 교반을 해주면서 15 mg 피리딘(pyridine)과 19 mg p-니트로페닐 클로로포르메이트(p-nitrophenyl chloroformate)를 첨가시켜 주었다. PCL, p-nitrophenyl chloroformate 그리고 pyridine의 몰비는 1:2:4이다. 상온에서 3 시간 동안 더 반응을 시켜주었다. 침전시키기 전에 유기용제(solvent)를 2/3 가량 날려주고, 반응이 끝난 PCL을 iced-diethyl ether에 침전 시키고 진공상태에서 하룻밤(overnight) 동안 건조시켰다. 상기 침전 반응은 한번 반복 해주면서 활성화된 PCL를 제작하였다. 0.595 g PEG과 2.29 g 활성화된 PCL를 각각 디클로로메탄(dichloromethane)에 녹인다(PEG와 PCL의 몰비는 5:1이다). PEG용액에 PCL용액을 천천히 떨어뜨려준다. 이때, 교반기(stirrer)를 빠르게 돌려서 균일하고 전체



Scheme 1. Synthesis of PCL-PEG block copolymer.



Schemes 2. The conceptual depiction for the fabrication of collagen coated nanofiber.

적으로 섞이게 해주었다. 상온에서 24 시간 동안 반응을 시켜준 후, iced-ethanol에 침전시켜준다.

침전된 PCL-PEG는 40 °C, 진공 상태에서 건조시켜 주었다. 이렇게 합성한 고분자는 건조 후 냉장 보관하였다.

Scheme 2에서 보는 것과 같이 아미노기가 도입된 나노섬유를 24 시간 건조시킨다.

콜라겐 0.1 g과 아세트산 0.2 mL 및 3 차수 20 mL를 첨가한 용액을 만들고 3 차 증류수에 대하여 1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl)Carbodiimide (EDC) 0.05 g, N-Hydroxy-Succinimide (NHS) 0.05 g인 용액과 1:1의 비율로 투입한 반응조를 24 시간 동안 얼음이 있는 ice bath에서 교반하여 콜라겐의 표면을 활성화한다. 이후, 아미노기가 도입된 PCL-PEG block copolymer 나노섬유를 콜라겐 활성화한 용액에 5 시간 침지시켜 PCL-PEG block copolymer 나노섬유의 표면에 콜라겐을 고정화시킬 수 있다.

2.4. Ultrasonication treatment

나노섬유 매트릭스를 증류수 등의 용액에 담그고, 초음파 변환기를 이용하여 나노섬유 매트릭스가 잠긴 용액에 초음파를 인가한다. 나노섬유 매트릭스가 잠긴 용액에 초음파를 인가하면 용액의 분자가 진동하여 나노섬유 사이의 공간으로 침투하고, 나노섬유 사이의 공간에서 진동하는 용액의 분자는 나노섬유에 힘을 가하여 서로 엉켜있는 나노섬유를 성기게 한다. 이에 의해 나노섬유 사이의 공극이 커지면서 나노섬유 매트릭스가 부풀게 되며, 이러한 초음파 처리를 통해 나노섬유 매트릭스의 다공도 및 두께를 증가시킬 수 있다.

3. 결과 및 고찰

Fig. 1은 전기 방사법으로 만들어진 나노섬유 매트릭스를 초음파 처리(ultrasonication)하여 조직재생용 3 차원 나노섬유 지지체를 제조하는 과정을 나타낸 개

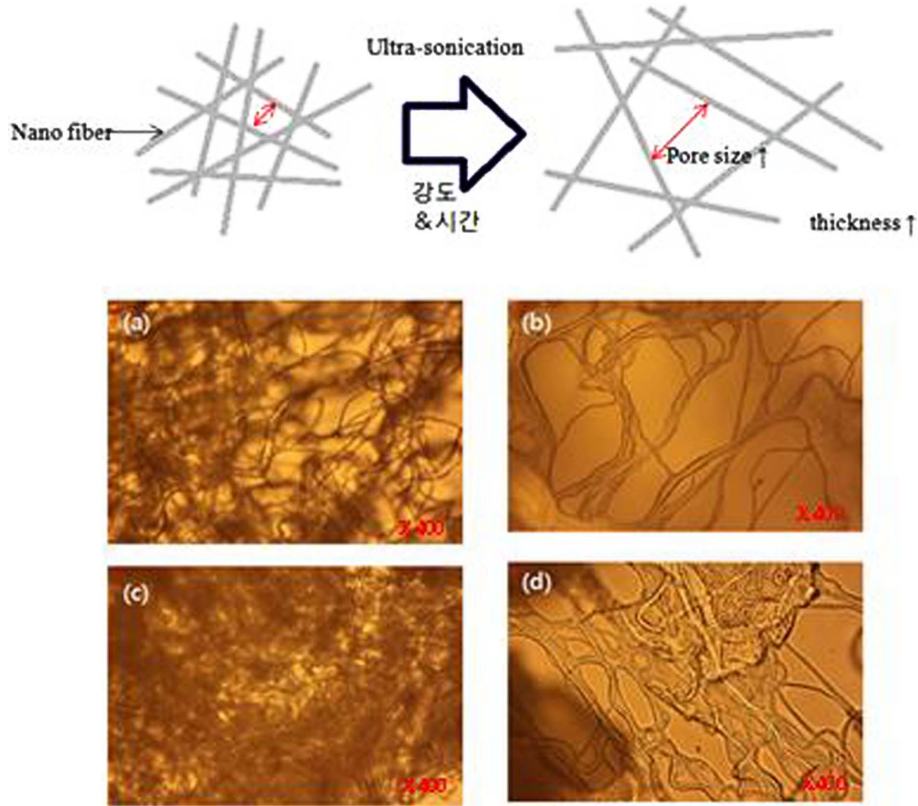


Fig. 1. Optical microscopy image of (a), (c) scaffold and (b), (d) scaffold by ultrasonication (1 min).

락도이다. 조직재생용 3 차원 나노섬유 지지체는 다수의 나노섬유가 무작위적으로 얽혀 두께를 갖는 3 차원 구조체를 형성한 것이다. 이러한 조직재생용 3 차원 나노섬유 지지체는 전기방사방법으로 나노섬유 매트릭스를 만들고, 만들어진 나노섬유 매트릭스를 초음파 처리하여 공극을 확장시키고 다공도와 두께를 증가시켜 만들어진 모습을 확인 할 수 있다.

Fig. 2의 (a)는 제조된 폴리카프로락톤과 폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜-아민 블록 공중합체의 나노섬유의 주사전자현미경 사진이며, (b)는 제조된 폴리카프로락톤과 폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜-아민 블록 공중합체의 나노섬유에 콜라겐의 코팅이 된 모습의 주사전자현미경 사진이다. 또한 폴리카프로락톤과 폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜-아민 블록 공중합체의 나노섬유 이미지인 (c)와는 다르게 폴리카프로락톤과 폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜-아민 블록 공중합체의 나노섬유에 콜라겐의 코팅이 된 (d)이미지 에서는 광택이 나는 현상을 육안으로 확인

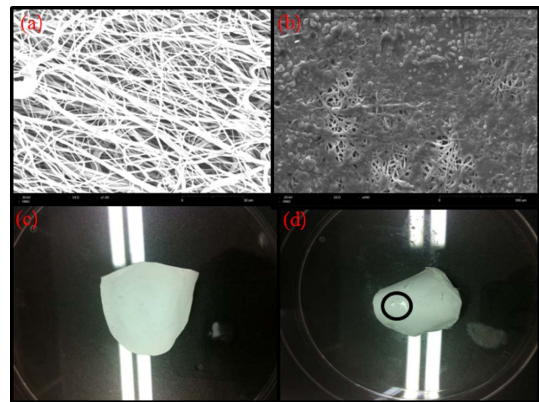


Fig. 2. FE-SEM image of (a)nanofiber and (b)collagen coated nanofiber.

할 수 있다.

Fig. 3은 각기 다르게 제작된 나노섬유 scaffold에 접촉각을 측정하여 테이블로 나타내었다. (b)와 같이

PCL-PEG diblock copolymer섬유보다 콜라겐의 표면 코팅을 통한 PCL-PEG diblock copolymer섬유는 열 안정성의 증가를 확인하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 생분해성 고분자인 폴리카프로락톤 (Poly(ϵ -caprolactone, PCL)과 폴리카프로락톤-폴리에틸렌글리콜-아민Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(ethylen glycol-NH₂)의 블록 공중합체를 이용하여 전기방사법으로 방사함으로써, 나노섬유의 친수성 정도를 조절 하였다. 나노섬유를 구성하는 폴리에틸렌글리콜이 수상으로 뻗어 나오면서 이의 말단에 결합된 아민기가 노출되어 다양한 성장인자로 사용 가능한 콜라겐에 있는 카르복실기와 화학적 결합으로 코팅하였다. 드레싱재에 적용할 경우 손상된 세포의 성장을 촉진시키는 효과를 기대할 수 있는 생분해성 복합 나노섬유를 제작 하였다. 또한 섬유의 삼차원 pore사이즈를 증가시키기 위해 초음파 처리를 하였으며, 광학현미경, 주사전자 현미경과 접촉각을 측정하여 확인 하였다.

감사의 글

This work was supported by Hannam University research fund in 2014.

참고문헌

1. J. S. Choi and H. S. Yoo, *Bioactive and Compatible Polymers*, **22**, 508-524 (2007).
2. S. H. Yun, Y. J. Kim, and O. H. Kwon, *Medicine*, **5**, 835-841 (2008).
3. K. S. Rho, L. Jeong, G. Lee, and B. M. Seo, *Biomaterials*, **27**, 1452-1461 (2006).
4. G. Khang, S. H. Kim, and M. S. Kim, *Tissue Eng. Regen. Med.*, **4**, 441-470 (2007).
5. X. Kang, Y. Xie, and H. M. Powell, *Biomaterials*, **28**, 450-458 (2007).
6. B. M. Min, G. Lee, and S. H. Kim, *Biomaterials*, **25**, 1289-1297 (2004).
7. X. M. Mo, C. Y. Xu, and M. Kotaki, *Biomaterials*, **25**, 1883-1890 (2004).
8. H. S. Yoo and T. G. Park, *Control Release*, **70** 63-70 (2001).