

셀룰로스 섬유 농도에 따른 PCL/젤라틴 지지체의 생체적합성 및 물리적 특성

정유정, 최예빈, 박종서, 정다연, 이득용*

대림대학교 의공융합과¹

Effect of cellulose fiber concentration on biocompatibility and physical properties of electrospun PCL/gelatin scaffolds incorporated with cellulose fibers

Yujeong Jeong, Yebin Choi, Jongseo Park, Dayeon Jeong, Deuk Yong Lee*

Department of Biomedical Engineering, Daelim University, Korea

*duke1208@gmail.com

Abstract

A porous poly(ϵ -caprolactone)/gelatin/cellulose fiber (P/g/CF) scaffold was electrospun using a common solvent of diluted acetic acid and ethyl acetate to evaluate the effect of cellulose fiber addition on the biocompatibility and physical properties, such as tensile strength, moisture vapor transmission rate (MVTR), water uptake capacity (WUC), cytotoxicity, and cell proliferation of the scaffold. CF-loaded P/g scaffolds favored hydrogen (H) bonds between cellulose (hydroxyl (-OH) and methylol ($\text{NH}_2 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$) groups) and gelatin (carboxyl (-COOH) and amine groups (- NH_2)). Large amounts of CF may be detrimental to PCL crystallinity due to the favorable interaction between CF and gelatin. Excellent MVTR ($2450 \text{ g}/10\text{cm}^2 \cdot 24\text{h}$), WUC (716%), tensile strength ($4.8 \pm 0.8 \text{ MPa}$), and cell viability (114%) are observed in the P/g/2% CF scaffold, suggesting that the scaffolds are highly suitable for wound dressing applications.

1. 연구 배경

합성 및 천연고분자로 구성된 생체고분자 지지체(scaffold)는 적절하게 연결된 기공 네트워크, 구조적 결합력, 수분 흡수량 (water uptake capacity, WUC), 수증기 투과율(MVTR), 생체적합성 및 생분해율로 인해 조직공학에서 중요한 역할을 한다 [1-4]. 전기방사된 천연-합성 고분자 조합은 천연 및 합성고분자를 모두 용해시키는데 사용 가능한 공통용매로 인하여 제한적이다. 특정 비율의 젤라틴(gelatin)과 PCL (polycaprolactone)로 구성된 g/P 지지체는 세포 부착 및 증식에서 자연조직과 유사한 기계적 특성, 우수한 MVTR, 수분 흡수능력 및 생물학적 기능을 보여준다. 불소계 알코올(hexafluoro-2-propanol 및 trifluoroethanol)이 주로 용매로 사용되지만 고가이면서 독성이 있어 사용에 제약이 되어왔다 [2,3]. 천연고분자인 키토산과 젤라틴 같은 천연고분자용 용매로 무독성 수성용매인 아세트산과 개미산이 사용된다. P/g 전구체 용액은 클로로포름/메탄올 용매의 PCL과 아세트산 용매의 젤라틴을 용해한 후 적절한 비로 혼합하여 얻어진다. P/g 지지체는 저가이면서 친환경적인 아세트산과 에틸 아세테이트 공통 용매를 이용하여 제조가능하다 [1].

P/g 지지체는 아세트산, 에틸 아세테이트, 증류수로 구성된 공통용매를 이용하여 18wt% 고분자 농도와 7/3 P/g 비율에서 성공적으로 전기방사하였다 [1]. 최근에는 셀룰로스(cellulose fiber, CF)를 아세트산, 포름산 및 에탄올로 구성된 용매를 이용하여 파괴인성은 증가하고 분해도는 감소한 특성을 가진 10wt% P/g 지지체가 제조되었다 [4]. P/g 지지체에 CF를 첨가함에 따라 화학적, 기계적, 생물학적 측면에서 자연조직과(natural tissue) 유사하며 조직공학 분야에 적합하였다 [1,4].

본 연구에서는 공통용매를 이용하여 7/3 P/g 스캐폴드에 CF를 첨가하여 CF 첨가량에 따른 P/g/CF 지지체의 기계적 특성 및 생체적합성을 조사하였다.

2. 연구 방법

PCL($M_w=80,000$), 젤라틴(porcine skin), CF는 Sigma-Aldrich

사에서 구입하였다. 아세트산(99.5%), 에틸아세테이트(99.5%), 수산화나트륨(98%) 시약은 삼전화학에서 구입하였다. 아세트산, 에틸 아세테이트 및 증류수의 혼합물(부피비: 3/2/1)이 공통 용매로 사용되었다.

젤라틴을 공통용매에 45도에서 4시간 교반하였다. 젤라틴이 용해된 후 PCL을 첨가하고 상온에서 24시간 교반하여 P/g의 중량비가 7/3이 되도록 하였다. CF는 에탄올에서 분산을 위하여 30분이상 초음파 하였다. 건조된 CF 섬유는 7/3 P/g 용액에 첨가하고 10분간 탈포(degassing) 공정을 통해 균일하게 분산된 P/g/CF 전구체 용액을 얻었다.

P/g/CF 스캐폴드는 전기방사법을 이용 제조하였다. 주사기 펌프(KDS-200, Stoelting Co., USA), 22 게이지 금속바늘, 고전압장치(ES30P-5W, Gamma High Voltage Research Inc. USA)로 구성된 전기방사장치를(그림 1) 사용하였다. 직경 9cm, 250rpm 금속 드럼을 컬렉터로 사용하였고, 에미터(emitter) 주사바늘은 X-방향으로 60cm/min 변위속도를 유지하였다. 5시간 방사하여 0.04mm 두께의 스캐폴드를 얻었으며 40도 진공오븐에서 건조한 후 0.1N NaOH 용액으로 중화반응 후 증류수를 이용 세번 세척공정을 수행하였다. 스캐폴드는 EO 가스를(HS-4313EO, Hanshin Medical, Korea) 이용하여 멸균하였다. 점도, 전기전도도, 섬유직경, MVTR, WUC, FT-IR, 세포독성, 세포증식 등 자세한 실험방법은 참고문헌에 자세히 기술되어 있다 [1,5-8].

실험결과는 Window용 IBM SPSS 소프트웨어 버전 23.0을 사용하여 통계적 분석을 수행하였다. 일원분산분석(ANOVA)에 이어 Tukey 테스트에 의해 분석되었고 실험값은 평균±표준편차로 표시하였고, $p < 0.05$ 는 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다 [7].

3. 연구 결과

CF 첨가량에 따른 P/g/CF 지지체의 인장강도 변화는 그림 2에 도시되어 있다. CF 양이 0, 1, 2wt% 증가함에 따라 인장강도 값은 $2.2 \pm 0.3 \text{ MPa}$, $3.9 \pm 0.5 \text{ MPa}$, $4.8 \pm 0.8 \text{ MPa}$ 로 증가하였다. 하지만, CF 양이

3%로 증가함에 따라 강도값은 2.1 ± 0.5 MPa로 감소하였다. 강도값의 저하는 CF의 불균일한(non-uniform)분산으로 인한 젤라틴과 CF의 수소결합으로 PCL의 결정도가 감소되어 일어난 것으로 사료된다 [4]. 비슷한 실험결과로 CF 양이 2%일 때 최고의 인장강도값이(3.24 ± 0.22 MPa) 관찰된다고 발표되었다.

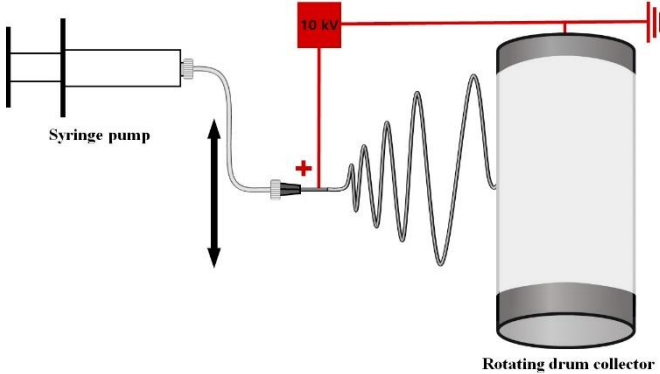


그림 1. 전기방사장치 모식도

인장강도, 생체적합성이 관찰되어 wound dressing으로 사용하기에 적합하였다.

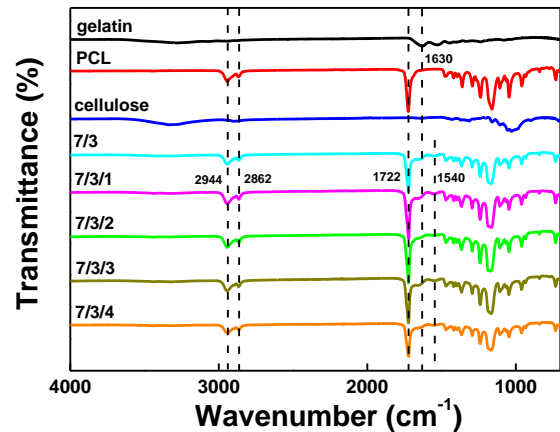


그림 3. 젤라틴, PCL, CF, P/g/CF 지지체의 FT-IR spectra

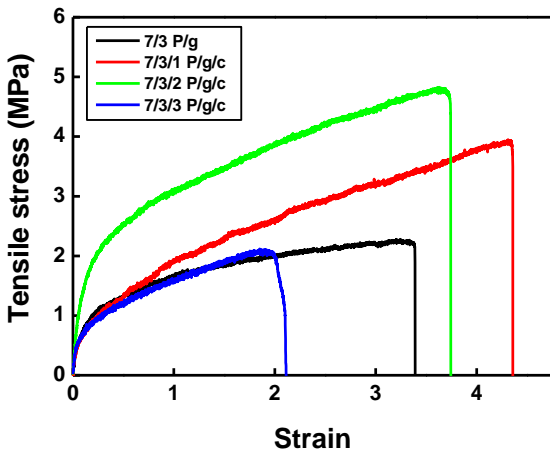


그림 2. P/g/CF 지지체의 인장강도

그림 3의 FT-IR 실험결과, P/g/CF 지지체에서 CF(수산화기 -OH와 methylol기 $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$)와 젤라틴(카르복실기 -COOH와 아민기- NH_2) 간의 수소(H)결합이 선호하는 것이 관찰되었다. 하지만, CF 첨가량이 증가함에 따라 CF와 젤라틴 간의 결합의 증가로 인장강도에 중요한 PCL의 결정도(crystallinity)가 감소하는 문제점이 관찰되었다.

MVTR과 WUC값은 CF 양이 0에서 2wt%로 증가함에 따라 $2240 \text{ g}/10\text{cm}^2\cdot 24\text{h}$ 에서 $2450 \text{ g}/10\text{cm}^2\cdot 24\text{h}$, 588%에서 716%로 각각 증가하였다. 하지만, CF 양이 2%에서 4%로 증가함에 따라 MVTR과 WUC는 $1956 \text{ g}/10\text{cm}^2\cdot 24\text{h}$, 517%로 각각 감소하였다. 실험적으로 CF 첨가량은 2%일 때 최적의 조건이었다.

세포독성 실험결과, 세포생존률은 CF 양이 0~4%로 증가함에 따라, 음성대조군과 비교하면 130%, 121%, 114%, 135%, 136%로 세포독성은 관찰되지 않았다. 또한, 세포증식 실험결과, L-929세포는 CF 첨가량에 상관없이 48시간까지 세포가 지속적으로 증식하는 결과가 관찰되었다. P/g/CF 지지체에서 CF 첨가량이 2%일 때, 최적의 MVTR, WUC,

4.참고 문헌

- [1] Y. Song, B. Kim, D. Yang, and D.Y. Lee. "Poly(ϵ -caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for wound dressing." *Applied nanoscience*, in press, 2022
- [2] L. Ghasemi-Mobarakeh, M.P. Prabhakaran, M. Morshed, M. Nasr-Esfahani, S. Ramakrishna. "Electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering." *Biomaterials*, Vol. 28, p. 4532-39, 2008
- [3] S. Gautam, A.K. Dinda, N.C. Mishra. "Fabrication and characterization of PCL/gelatin composite nanofibrous scaffold for tissue engineering applications by electrospinning method." *Materials science and engineering C*, Vol 33, p.1228-35, 2013
- [4] Z.M. Goudarzi, T. Behzad, L. Ghasemi-Mobarakeh, M. Kharaziha, M.S. Enayati. "Structural and mechanical properties of fibrous PCL/gelatin nanocomposite incorporated with cellulose nanofibers." *Polymer bulletin*, Vol 77, p.717-40, 2020
- [5] J. Shin, D.Y. Lee, B. Kim, and J.I. Yoon. "Effect of polyethylene glycol molecular weight on cell growth behavior of PVA/CMC/PEG hydrogel." *Journal of applied polymer science*. Vol 137, p.49568, 2020
- [6] J. Shin, D.Y. Lee, J.I. Yoon, and Y. Song. "Effect of CMC concentration on cell growth behavior of PVA/CMC hydrogel." *Macromolecular research*, Vol 28, p813-819, 2020
- [7] J. Longhao, K. Park, Y. Yoon, H.S. Kim, H.J. Kim, J.W. Choi, D.Y. Lee, H.J. Chun, and D.H. Yang. "Visible light-cured antibacterial collagen hydrogel containing water-solubilized triclosan for improved wound healing." *Materials*, Vol 14, p2270, 2021
- [8] S. Kim, D.Y. Lee, B. Kim, and J.I. Yoon. "Characteristics and cell growth behavior of gelatin/PVA porous scaffolds." *Science of advanced materials*, Vol 13, p883-888, 2021