

Core-Corona형 Poly(methacryloyloxymethyl-5-FU) Prodrug 미립자의 제조 및 항암활성

조석형[†] · 김공수 · 강종구* · 조병호

충북대학교 공업화학과, *충북대학교 수의학과

(1994년 7월 12일 접수)

Preparation and Antitumor Activities of Core-Corona Type Poly(methacryloyloxymethyl-5-FU) Prodrug

Suk Hyeong Cho[†], Kong Soo Kim, Jong Koo Kang*, and Byung Ho Cho

Department of Industrial and Engineering Chemistry, Chungbuk National University,

Cheongju 360-763, Korea

*College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

(Received July 12, 1994)

요약: 고분자 prodrug을 제조하기 위하여 약물이 결합된 모노머 methacryloyl oxymethyl-5-FU(MAOFU)를 합성하였으며 이를 안정제로 사용한 acryloyl terminated polyethylene glycol macromonomer(AtPEGM)와 침전중합함으로써 미립자의 고분자 prodrug을 얻었다. 합성한 prodrug의 입자크기는 $0.2 \sim 0.25 \mu\text{m}$ 로서 다분산성이었으며, morphology는 core-corona형이었다. 또한 고분자 prodrug은 완충용액중에서 수분산 안정성이 우수하였다. 합성한 prodrug의 *in vitro* 실험결과 매우 느린 약물방출을 나타내었고 MAOFU 단독으로 중합한 경우보다 친수성 모노머인 acrylamide(AAm)와 공중합한 경우가 약물의 방출속도는 비교적 빨랐으며, 약물방출속도는 prodrug 입자의 친수성에 의존한다. 또한 복수압 유발 마우스에 고분자 prodrug을 투여한 결과 낮은 독성과 생체적합성을 나타냈으며 sarcoma(S)-180 종양세포에 대한 항암활성에서 친수성 모노머가 중합된 prodrug이 비교적 항암활성을 나타낸 반면 MAOFU 단독으로 중합한 것은 항암활성을 나타내지 않았다.

Abstract: In order to prepare prodrug, methacryloyloxymethyl-5-FU(MAOFU) monomer was synthesized and the poly(MAOFU) prodrug particles were prepared by precipitation polymerization of MAOFU using acryloyl terminated polyethylene glycol macromonomer (AtPEGM) as a stabilizer. The size of prodrug was $0.2 \sim 0.25 \mu\text{m}$, and the particle size distribution is polydisperse. The particles have morphology of core-corona type and were dispersible in buffer solution. The release rate of drug from the prodrug copolymerized with acrylamide(AAm) was relatively faster than that of prodrug itself and release rate of drug depends on hydrophilicity of polymer prodrug. The antitumor activity of prodrugs against sarcoma(S)-180 tumor cell in mice was demonstrated and the polymer particles itself showed low toxicity and good biocompatibility when they were administered into mice.

Keywords: antitumor activity, poly(methacryloyloxymethyl-5-FU), prodrug, S-fluoracil.

서 론

5-fluorouracil(5-FU)은 암치료제로서 위장관, 유방, 췌장, 머리, 목 등의 선암에 대한 화학요법제로 오랜 기간동안 널리 사용되어 왔다.^{1~2} 이 물질은 활성물질로 된 후에 DNA 합성을 저해하거나 RNA 내에 삽입되어 RNA 대사 또는 기능상에 손상을 가져오기 때문에 세포의 증식을 억제하거나 죽인다. 반면 장기간 약물을 투여할 때 골수억제작용과 위장관 적막염등의 부작용이 많이 나타난다. 최근에는 이러한 독성을 경감시키기 위하여 약물을 고분자에 담지함으로써 고분자화 약물, 즉 prodrug화에 의한 약물의 서방성을 증가시키거나 prodrug 그 자체로 endocytosis됨으로써 효력을 증대시키는 연구가 많이 진행되고 있다.^{3~4}

그 방법으로 5-FU에 1-carbamoyl-⁵, 1-acetoxyalkyl-⁶, 1-alkylthio-⁷, 1-alkoxyalkyl-⁸ 등을 갖는 유도체를 합성하여 단백질과 같은 천연고분자에 결합시키거나,^{9~11} acryloyl 형이나 methacryloyl 형으로 약물을 갖는 모노머를 합성하고 이를 중합하여^{12~13} 투여함으로써 높은 효과를 나타내었다. 그러나 이들 prodrug는 소수성이 강하기 때문에 물에 녹지 않는 것이 대부분이어서 체내에 투여하기 어려울 뿐만 아니라 혈액내에서 침전 또는 혈액응고를 일으키게 된다.

따라서 수용성 모노머 등과 공중합하여 수용성의 prodrug을 만들어 투여하게 되지만^{14~15} 이 경우 충분한 양의 약물을 담지하기가 어렵다. Yokoyama 등^{16~17}은 이러한 문제점을 해결하기 위하여 prodrug에 적합한 물리화학적 성질을 제어하는 부분과 약물결합 부분을 분리시켜 PEG/poly(aspartic acid) 블록공중합체를 제조하고 항암제인 adriamycin(ADR)을 결합시키고 이를 다시 단분산성 고분자 미셀로 형성시킴으로써 혈중의 안정성 뿐 아니라 충분한 양의 약물을 담지시킨 새로운 형태의 prodrug에 대한 연구를 행한 바 있다.

본 연구에서는 혈중안정성 및 생체적합성이 우수할 뿐만 아니라 충분한 양의 약물을 담지한 고분자

prodrug을 제조하기 위하여 소수성을 갖는 약물(5-FU)을 도입한 모노머를 합성하고 polyethyleneglycol(PEG)의 한 쪽 말단에 acryloyl기를 결합시킨 AtPEGM¹⁸과 에탄올 속에서 침전중합함으로써 미립자의 고분자 prodrug를 합성하였다. 또한 미립자 prodrug의 입자크기 및 morphology을 전자현미경(SEM, TEM) 등으로 관찰하였으며 항암활성(antitumor activity)을 조사하기 위하여 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 행하였다.

실 험

시약 및 실험동물. AtPEGM는 전보¹⁸와 같이 합성하여 사용하였으며, AAm은 아세톤에 재결정하여 사용하였고, N,N'-methylene-bis-acrylamide(MBAAm)는 메탄올에 재결정하여 사용하였다. methacrylic acid(MAAc)는 40°C에서 진공증류하여 사용하였으며 dicyclohexylcarbodiimide(DCC), 5-FU 등의 약품은 시판제품 그대로 사용하였다. 에탄올등의 알콜류, 아세토니트릴, 벤젠 등의 용매는 증류정제 후 사용하였다.

항종양성 시험에 이용한 실험동물은 SPF-ICR Mice 6주령의 수컷 중 체중이 30~40g의 것을 사용하였다.

Methacryloyloxymethyl-5-FU(MAOFU)

모노머의 합성. 50ml 삼구플라스크에 5-FU(20mmol, 2.6g)를 넣고 포름알린(44mmol, 3.56g)을 첨가하여 65°C 이하에서 45분간 반응시켜 dihydroxymethyl화 한 후 감압증류하여 물, 메탄올 등 불순물을 제거하면 점성의 액체를 얻을 수 있다. 여기에 다시 MAc(20mmol, 1.72g)와 DCC(22mmol, 4.9g)를 넣고 아세토니트릴 속에서 12시간 반응시킨 후 반응물중에 석출된 dicyclohexyl urea를 여과하고 회전증발기로 증류하여 생성물을 얻었다. 이것을 다시 디에틸에테르로 여러번 씻고 진공 건조하여 모노머로 사용하였으며 이 모노머의 구조는 IR 스펙트라로 확인하였다.

Poly(MAOFU) prodrug 입자의 제조. Poly

(MAOFU) prodrug는 모노머인 MAOFU, AtPE-GM 및 AAm의 농도를 변화시키면서 에탄올 속에서 BPO를 개시제로 사용하여 65°C에서 8시간 동안 침전중합을 행하여 반응 혼합물을 얻었다. 이 혼합물을 원심분리하여 에탄올로 3번 씻고 다시 디에틸에테르로 두 차례 세척하여 상온에서 진공건조하여 prodrug 입자를 얻었다.

전자현미경 관찰. 분말로 된 고분자 prodrug을 grid에 얇게 펼친 후 금으로 진공증착하여 전자주사현미경(scanning electron micrographs, SEM; Hitachi S-530)으로 관찰하여 입자의 크기 및 분포를 추정하였다. 또한 prodrug의 morphology를 관찰하기 위하여 prodrug의 PEG 부분을 OsO₄로 착색하여 관찰하였다. 즉 prodrug을 물 속에 분산시킨 후 10 wt% OsO₄ 용액을 한 두방울 떨어뜨려 12시간 방치한 뒤 염색된 prodrug 용액을 carbon film으로 코팅된 copper grid 위에 한방울 떨어뜨려 25°C에서 서서히 건조하고 전자투과현미경(transmission electron microscope, TEM; Hitachi H-600)으로 관찰하였다.

고분자 prodrug의 안정성 측정. 고분자 prodrug의 안정성을 검토하기 위하여 0.2M-KH₂PO₄ 완충용액에 prodrug을 0.1wt%로 분산시키고, UV/Vis 분광광도법으로 500nm에서 투과도의 변화를 측정하였다.

약물방출 실험.

in vitro 실험: 50mg의 고분자 prodrug 미립자를 0.2M-KH₂PO₄ 완충용액 5ml에 분산시킨 다음, 셀로판 튜브에 넣어 봉입한 후 약물방출 실험 장치의 용기에 넣는다. 여기에 pH 6.8 또는 pH 7.4 완충용액 50ml을 가하고 37°C에서 교반해 주면서 일정시간 간격으로 1.5ml씩 취하여 265nm에서 UV/Vis 분광광도법으로 5-FU를 정량하였다.

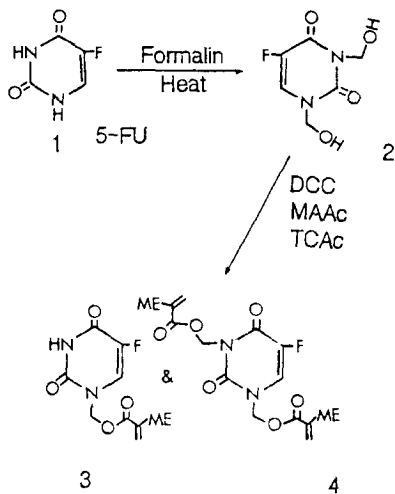
in vivo 실험: ① Sarcoma-180 종양 세포배양. 종양세포주는 충북대학교 수의과 대학 실험동물의 학교실에서 ICR 마우스의 복강내에 1주일 간격으로 이식하여 보존하고 있는 sarcoma(S)-180 종양세포를 실험용 세포로 사용하였다. 즉 이식 8일

째 복수가 충만한 쥐를 에테르 마취하에 도살방혈시킨 후 S-180종양세포와 복수를 함께 무균적으로 채취하여 0.83% NH₄Cl-Tris 완충용액을 가해 잘 섞은 다음 적혈구를 용혈시켰다. 그리고 1200rpm에서 7분간 원심분리하여 상청액을 버린 다음 pellet을 잘 분산시킨 후 RPMI1640 배지를 넣어 다시 2회 원심분리하여 잘 세척하고 적당한 농도로 잘 분산시켰다. 이 때 분리된 종양세포는 trypan blue exclusion법¹⁹에 의하여 viability를 확인하고 총 세포수를 hemocytometer로 산출하였다.

② 담암 마우스에 대한 항암활성 평가. 복수암 유발 마우스의 실험군은 제 1군으로 증류수 투여 대조군, 제 2군은 5-FU 투여군, 제 3군은 Run 1 투여군, 제 4군은 Run 2 투여군, 제 5군은 Run 3 투여군, 제 6군은 Run 4 투여군, 제 8군은 Run 5 투여군으로 하여 각 군당 10 마리씩 배치하고 모든 군에는 S-180 종양세포를 마우스당 1×10^6 개/0.2ml의 농도로 조정하여 복강투여 하였고, 검체는 종양세포투여 48시간 후 부터 체중 kg당 200mg의 농도(200mg/kg)로 4일 간격으로 3회 복강투여하였고, 생존일수중양치(MST, median survival time) 및 복수암의 진행에 따른 체중의 증가를 관찰하였다. 또한 항암활성은 대조군의 MST(C)에 대한 처치군의 MST(T) 비율, T/C(%)로 평가하였다.

결과 및 고찰

Methacryloyloxymethyl-5-FU(MAOFU)의 합성. 50ml 삼구플라스크에 항암제인 5-FU(1)를 넣고 포르말린 일정량을 첨가하여 65°C 이하에서 45분간 dihydroxymethyl화 한 후 감압증류하여 물, 메탄올등 불순물을 제거하여 점성의 dihydroxymethyl-5-FU(2)를 얻었다. 여기에 다시 MAc와 DCC를 넣고 아세토니트릴 속에서 12시간 반응시켜 methacryloyloxymethyl-5-FU(MAOFU)(3, 4)를 합성하였으며 이 화합물을 컬럼분리하였을 때 화합물 (3)과 (4)의 비율은 99:1 정도



Scheme 1. Synthesis of methacryloyloxymethyl-5-FU.

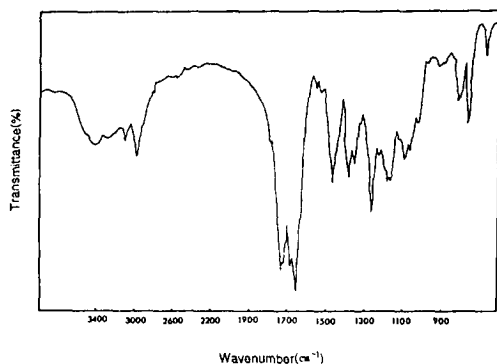
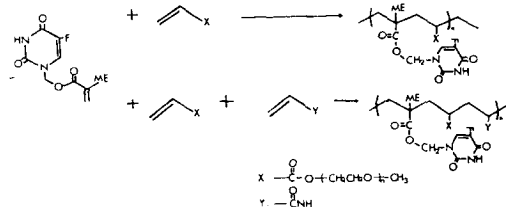


Fig. 1. IR spectra of methacryloyloxymethyl-5-FU.

였고² 합성단계는 Scheme 1과 같다. Fig. 1은 MAOFU의 IR 스펙트라로서 1620cm⁻¹의 비닐기와 1740 cm⁻¹의 카르보닐기에 의한 흡수띠가 나타난 것으로 보아 MAOFU가 합성되었음을 알 수 있다.¹²

Poly(MAOFU) 미립자 prodrug의 합성 및 특성.

MAOFU의 침전중합 : MAOFU 단독 또는 MAOFU에 AtPEGM을 안정제로 사용하거나 MAOFU, AAm 및 AtPEGM을 에탄올 속에서 BPO를



Scheme 2. Preparation of polymer prodrug particles.

개시제로 사용하여 60℃에서 8시간 동안 Scheme 2과 같이 합성하였으며 그 결과는 Table 1과 같다.

Table 1와 Fig. 2의 SEM 사진에서 보는 바와 같이, 합성한 고분자 prodrug은 AtPEGM과 공중합 시키지 않고 MAOFU 단독으로 중합한 경우에는 응결이 일어남을 알 수 있으며 AtPEGM을 사용한 경우에는 구상입자로 얻어지지만 전보¹⁸에서 합성한 폴리아크릴아미드 microgel과는 다르게 다분산성의 microgel이 생성되는 것을 알 수 있다. 전보¹⁸에서 AtPEGM을 안정제로 사용하여 폴리아크릴아미드 microgel을 제조하였을 때 균일한 입자로 얻을 수 있다는 것을 보고한 바 있다.

이 시스템에서도 역시 AtPEGM이 안정제로서 잘 작용한다는 것을 알 수 있다. 또한 입자의 크기는 0.2~0.25μm로서 매우 작았다.

또한 고분자 prodrug 미립자의 구조형태를 관찰하기 위하여 PEG 부분을 O₈O₄로 염색하였고 TEM으로 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다.

그림에서 보는 바와 같이, core 부분(흰 부분)은 poly(MAOFU)이고 corona 부분(검은 부분)은 PEG로서 그 형태는 core-corona형임을 알 수 있다.

미립자 prodrug의 안정성 : 고분자 prodrug는 표적세포(target cell)나 표적조직(target organ)에 도달할 때까지 단백질 등의 흡착을 최대한 억제하여야 하며 혈액중에서의 응결침전을 일으키지 말아야 한다. 따라서 혈액과 같은 pH에서 고분자의 미립자 prodrug의 안정성은 매우 중요하다.

Table 1. Precipitation Polymerization of Acrylamide and MAOFU in Ethanol

Run No.	Feed($\times 10^{-2}$ mol/l)				Yields (%)	5-FU Content (%)	Particle size (μ m)
	AtPEGM	MAOFU	AAm	MBAAm			
1	1.0	-	18.2	0.8	41.2	-	0.13
2	0.6	-	19.6	0.8	80.8	-	0.18
3	0.5	9.5	-	-	43	68	0.20
4	0.5	6.5	2	1	55	51	0.22
5	0.5	4.5	4	1	64	42	0.25

[BPO]= 4.0×10^{-3} mol/l.

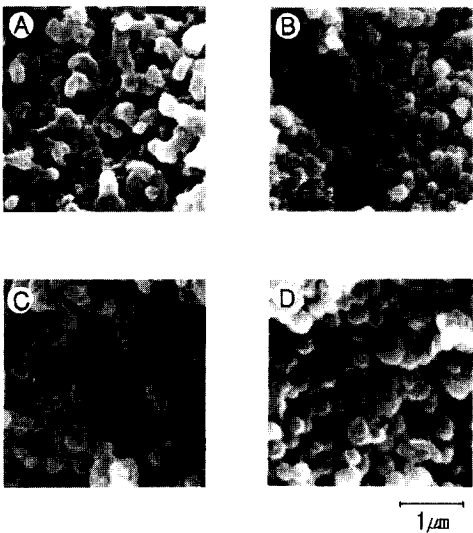


Fig. 2. Scanning electron microgrphs of poly (MAOFU) produg.

(AtPEGM/MAOFU/AAm/MBAAm $\times 10^2$ mol/l=
A : 0.5/0/0.0, B : 0.5/9.5/0/0,
C : 0.5/6.5/2/1, D : 0.5/4.5/4/1)

본 연구에서는 pH 7.4에서 미립자 produg의 안정성을 조사하였으며 그 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같이, pH 7.4의 완충용액중에서 매우 안정함을 보여 주었다. 이것은 미립자의 corona부의 PEG가 안정제로 작용하기 때문이라고 생각한다.

본 실험에서 합성한 미립자 produg은 혈중에서의 안정성을 잘 유지할 수 있을 뿐 아니라 충분한 양의 약물을 담지할 수 있는 새로운 시스템임을 알 수 있다.

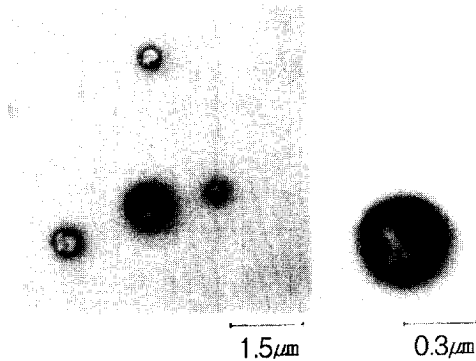


Fig. 3. Transmission electron micrographs of poly (MAOFU) produg.

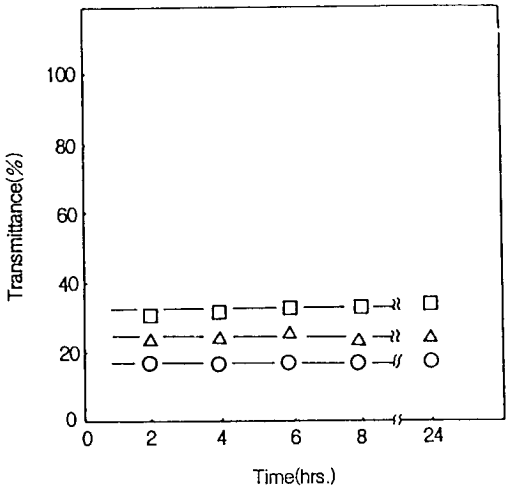


Fig. 4. Stabilities of poly(MAOFU) produgs in buf-fer solution of pH 7.4.

(AtPEGM/MAOFU/AAm/MBAAm $\times 10^2$ mol/l=
○:0.5/9.5/0/0, △:0.5/6.5/2/1, □:0.5/4.5/4/1)

Poly(MAOFU) 미립자 prodrug의 약물방출.

특성 및 항암활성: *in vitro*. 합성한 5-FU의 prodrug를 가지고 *in vitro*에서 약물의 방출실험을 행한 결과는 Fig. 5, 6과 같다. 그림에서 보는 바와 같이, prodrug 미립자로부터의 약물방출은 8일이 경과한 후 방출량이 약 50% 정도으로써 매우 서서히 방출됨을 알 수 있다. 이것은 prodrug 미립자가 매우 치밀하기 때문에 완충용액의 침투속도가 느리기 때문일 뿐 아니라 화학결합에 의해 결합된 약물이 완충용액의 가수분해작용에 의해서 방출이 일어나기 때문이다. 또한 그림에서 보는 바와 같이, MAOFU만 중합된 prodrug의 경우 보다 MAOFU가 친수성 모노머와 공중합된 경우가 약물방출속도가 빠르다는 것을 알 수 있다. 이것은 친수성 모노머인 AAm이 많이 공중합됨으로써 완충용액에 잘 팽윤되고 완충용액의 침투가 용이하기 때문이라고 생각한다.

또한 두 그림으로 부터 pH가 높은 쪽이 낮은 쪽보다 방출이 잘 일어난다는 것을 알 수 있으며, 이

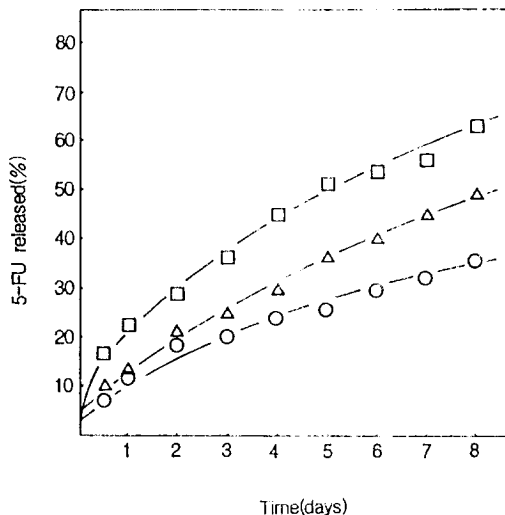


Fig. 5. Release pattern from poly(MAOFU) prodrugs in buffer solution of pH 6.8.

(AtPEGM/MAOFU/AAm/MBAAm $\times 10^{-4}$ mol/l =
○:0.5/9.5/0/0, △:0.5/6.5/2/1, □:0.5/4.5/4/1)

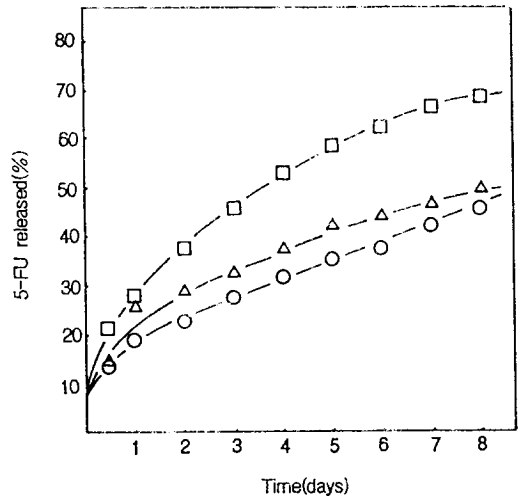


Fig. 6. Release pattern from poly(MAOFU) prodrugs in buffer solution of pH 7.4.

(AtPEGM/MAOFU/AAm/MBAAm $\times 10^{-4}$ mol/l =
○:0.5/9.5/0/0, △:0.5/6.5/2/1, □:0.5/4.5/4/1)

것은 pH가 높은 용액에서 에스테르 결합의 가수분해가 잘 일어날 뿐 아니라 약물결합기 근처에 공중합되어 있는 AAm의 아미드기의 친핵성이 증가하여 가수분해를 촉진하기 때문에 방출속도가 증가한다고 생각한다.

이상으로부터 고분자 prodrug의 경우 장기간 투여한 경우 약물의 지방성에 의하여 약물의 독성에 의한 부작용을 억제시킬 수 있으며, PEG가 결합되어 있음으로써 투여 후 혈액의 응고나 단백질 응고에 의한 응결을 억제할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 기존의 연구에서 약물의 소수성 때문에 약물을 많이 결합시킬 수 없는 것에 비하여 작은 크기의 입자로 제조하기 때문에 많은 약물을 담지할 수 있으므로 항암활성도 좋을 것으로 기대된다.

in vivo 및 *in vivo*에서 약물방출 특성을 검토하기 위하여 sarcoma(S)-180 종양세포를 6 주령 ICR 마우스수컷의 복강내에 이식한 후 시료인 5-FU, Run 1, Run 2, Run 3, Run 4, Run 5를 종양세포 투여 48시간 후부터 쥐의 체중 kg당 200mg의 농도(200mg/kg)로 4일 간격으로 3회 투여하

였다. *in vivo*에서 사용한 prodrug는 *in vitro*에서 매우 낮은 약물방출 속도를 보이고 있어서(Fig. 6) 항암활성은 효과를 내지 못하거나 일반적 효과를 기대할 수 있다. 그러나 본 실험에서 두가지 상황을 고려할 수 있다. 첫째, 효소적 분해가 일어나지 않아서 prodrug에서의 방출에 의한 원래의 약물(parents)로 환원되지 않음으로서 활성을 나타내지 못하는 것과, 둘째, 체내에 단백질이나 지질등이 존재하기 때문에 *in vitro*에서의 방출양상이 *in vivo*에서 그대로 반영이 되지 않을 수 있다.^{20,21}

Table 2와 Table 3은 복수암이 유발된 마우스의 체중변화와 항암활성효과를 나타낸 것으로서 약물을 담지하지 않은 경우(Run 1, 2)에서는 대조군인 증류수 투여군에 비하여 효과를 나타내지 않고 있지만 5-FU 투여군은 대조군에 비하여 47% 증가되었고, 본 실험에서 합성한 prodrug인 Run 3은 대조군에 비하여 연명효과가 보이지 않고 친수성기가 공중합된 Run 4, Run 5는 대조군에 비하여 14.7%의 연명효과가 관찰되었다.

이것은 *in vitro*의 결과(Fig. 6)에서 예측할 수 있듯이 친수성기가 도입되지 않은 경우에는 방출속

Table 2. Changes of Body Weight in Mice Injected with Various Drugs

Treatment	Body Weight(g)			Weight Change (g/mouse)
	7days	10days	15days	
control	36.5±2.3	45.0±3.9	55.3±6.3	+18.2
5-FU	35.5±2.8	35.2±3.3**	34.1±5.0**	- 1.4
Run 1 ^{a)}	35.0±4.2	42.2±5.9	53.3±7.1	+18.0
Run 2 ^{a)}	34.3±4.2	44.2±5.0	54.3±6.3	+20.0
Run 3 ^{a)}	35.2±2.1	44.5±7.9	57.0±6.6	+21.8
Run 4 ^{a)}	34.7±3.5	41.2±7.4	55.1±8.9	+20.4
Run 5 ^{a)}	36.0±2.2	45.4±2.6	57.9±3.1	+21.9

Mean±S.D

Significantly different from control group(**: P<0.01, *: P<0.05)

a) Polymerization: AtPEGM/MAOFU/AAm/MBAAm×10⁻²=

Run 1 : 0.5/0/9.1/0.4, Run 2 : 0.3/0/9.3/0.4

Run 3 : 0.5/9.5/0/0, Run 4 : 0.5/6.5/2/1

Run 5 : 0.5/4.5/4/1

Table 3. Effect of Various Drugs against S-180 Tumor-Bearing Mice

Treat-ment	No. of Surviving mice/group					MST	T/C (%)
	7days	10days	15days	18days	21days		
Control	10/10	8/10	4/10	0/10	0/10	5.85	100
5-FU	10/10	10/10	10/10	5/10	5/10	8.60	147
Run 1 ^{a)}	10/10	8/10	4/10	4/10	0/10	6.15	105
Run 2 ^{a)}	10/10	6/10	2/10	0/10	0/10	5.35	85
Run 3 ^{a)}	10/10	8/10	4/10	0/10	0/10	5.85	100
Run 4 ^{a)}	10/10	9/10	6/10	2/10	1/10	6.70	114.5
Run 5 ^{a)}	10/10	10/10	6/10	2/10	0/10	6.70	114.5

a) Polymerization: AtPEGM/MAOFU/AAm/ABAAm×10⁻²=

Run 1 : 0.5/0/9.1/0.4, Run 2 : 0.3/0/9.3/0.4,

Run 3 : 0.5/9.5/0/0, Run 4 : 0.5/6.5/2/1,

Run 5 : 0.5/4.5/4/1

도가 매우 느려 혈중의 약물 농도가 치료의 수준까지 다다르지 못하기 때문에 항암효과가 나타나지 않은 것이라고 생각하며, 또한 앞서 설명한 바와 같이 *in vitro*에서의 방출양상이 *in vivo*에서 그대로 반영되지 않기 때문이라고 사료되었다. 그러나 친수성 모노머가 공중합된 prodrug(Run 4, Run 5)의 경우는 약물방출이 비교적 잘 일어나기 때문에 항암활성을 나타내는 것으로 판단된다.

또한 5-FU만을 투여한 군에 있어서는 항암활성은 비교적 높게 나타나고 있지만 Table 2에서 보는 바와 같이 체중이 감소하는 것을 알 수 있고, 이것은 5-FU의 독성에 의한 부작용 때문에 체중의 감소가 일어나는 것으로 생각된다. 반면 prodrug을 투여한 경우는 체중의 증가하는 것으로 미루어 보아 독성은 나타나지 않는 것으로 예측할 수 있다.

복수암 마우스에 대한 Run 1, Run 2의 영향을 보면, Run 1은 AtPEGM이 몰비율로 5%가 공중합된 경우이고, Run 2는 AtPEGM이 몰비율로 3%가 공중합된 경우로써 Run 1은 대조군의 생존일수와 거의 같게 나타났다. 그러나 Run 2는 대조군 보다 연명율이 약 15%정도 떨어지는 것으로 보아, PEG가 적게 결합된 경우는 생체 적합성이 떨어지고, 그에 반해 PEG가 많이 결합된 경우는

낮은 독성과 생체적합성이 있는 것으로 판단된다.

이상에서 보는 바와 같이, 본 prodrug 시스템에서 DDS의 목적적인 부작용에 따른 정상세포에 대한 독성을 없애거나 감소시킬 수 있었고, 또한 약물방출의 지속성 효과를 어느 정도 달성할 수 있었으나, *in vitro*에서 예상했던 만큼의 항암효과가 *in vivo*에서 실제적으로 나타나고 있지는 않았다. 그러나 많은 양의 prodrug을 투여할 경우 항암활성이 증대할 것으로 기대된다.

결 론

본 연구에서는 AtPEGM을 안정제로 사용하여 고분자 prodrug 입자를 침전중합에 의하여 합성하였으며 그의 특성 및 약물전달체로서의 이용 가능성에 대하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 고분자 prodrug은 에탄올속에서 AtPEGM을 안정제로 사용하여 $0.2 \sim 0.25 \mu\text{m}$ 정도의 미립자를 얻을 수 있었으나, 단분산성이 아닌 다분산성이었고 입자형태는 core-corona 형이었으며 PEG의 영향으로 수분산성이 우수하였다.

2. *in vitro* 실험 결과, 친수성 모노머와 공중합한 것이 방출속도가 빠르고, pH 6.8에서 보다 pH 7.4에서 비교적 빨리 약물이 방출되었으며, 8일 동안 방출실험을 한 결과 50% 정도로 매우 낮은 방출거동을 나타내었다.

3. 항암활성을 복수암 유발 마우스를 사용하여 *in vivo* 실험 결과 5-FU만을 투여한 것보다는 항암활성 효과가 비교적 낮게 나타났으나 부작용에 의한 독성을 나타내지 않았다. 또한 많은 양의 고분자 prodrug을 투여할 경우 약물이 서서히 방출되기 때문에 장기간 동안 보다 큰 항암활성 효과를 나타낼 것으로 기대한다.

감사의 글 : 본 논문은 1993년 교육부 신소재 분야 연구비 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. A. Hoshi, M. Inomata, F. Kanzawa, M. Iigo, and K. Kureitani, *J. Pharmacobio-Dxn.*, **3**, 208 (1982).
2. S. Ahmad, S. Ozaki, T. Nagase, M. Iigo, and A. Hoshi, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4137 (1987).
3. M. Hashida, A. Sato, T. Kojima, S. Muranishi, H. Sezaki, N. Tanigawa, K. Satomura, and Y. Hikasa, *Jpn. J. Cancer Res.*, **72**, 226 (1981).
4. H. Onishi, T. Gawaguchi, and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3370 (1987).
5. S. Ozaky, Y. Ike, H. Mizuno, K. Ishikawa, and H. Mori, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**, 2406 (1977).
6. S. Ozaki, Y. Watanabe, T. Hoshiko, H. Mizuno, K. Ishikawa, and H. Mori, *Bull. pharm.*, **32**, 733 (1984).
7. S. Ozaki, Y. Watanabe, T. Ogasawara, Y. Yamauchi, K. Fujiwara, A. Hoshi, and M. Iigo, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2832 (1985).
8. Y. Kita, Y. Imaki, and K. Takemoto, *J. Polym. Chem. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **18**, 427 (1980).
9. H. Lee, H. S. Shim, M. G. Lee, M. K. Park, and C. K. Kim, *Yakhak Hoeji*, **33**, 267 (1989).
10. F. Yang and R. Zhuo, *Polymer J.*, **22**, 572 (1990).
11. Y. Tsukuda, K. Ohkawa, and N. Hibi, *Cancer Res.*, **47**, 4293 (1987).
12. S. Ozaki, J. Ohnishi, Y. Watanabe, T. Nohda, T. Nagase, T. Akiyama, N. Uehara, and A. Hoshi, *Polymer J.*, **21**, 955 (1989).
13. Y. Kita, Y. Imaki, and K. Takemoto, *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **18**, 427 (1980).
14. N. Endo, N. Umemoro, Y. Kato, and T. Hara, *J. Immunol. Methods*, **104**, 253 (1987).
15. S. Ozaki, J. Ohnishi, T. Akiyama, T. Nagase, N. Uehara, and A. Hoshi, *Polymer J.*, **22**, 689 (1990).
16. M. Yokeyama et al, *J. Control. Rel.*, **11**, 269 (1989).
17. M. Yokeyama et al, *Cancer Res.*, **50**, 1695 (1990).
18. S. H. Cho, K. S. Kim, and Y. J. Kim, *Polymer J.*, **25**, 847 (1993).
19. A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, "Cell and Tissue Culture", 4B; 52, John Willy and Sons, Porton Down; Salisbury, United

- Kingdom, 1993.
20. T. Gawaguchi, A. Tsugane, and K. Higashide, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 508 (1992).
21. T. Seki, T. Gawaguchi, and H. Endoh, *Pharm. Res.*, **5**, 741 (1988).