

친수성 고분자가 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼로부터 BCNU의 방출에 미치는 효과

안태군 · 강희정 · 문대식 · 이진수 · 성하수* · 정제교** · 강길선 · 이해방*†

전북대학교 유기신물질공학과, *한국화학연구원 생체고분자연구실, **삼천당제약 중앙연구소
(2002년 6월 3일 접수, 2002년 8월 16일 채택)

Effect of Hydrophilic Polymers on the Release of BCNU from BCNU-loaded PLGA Wafer

Tae Kun An, Hui Jung Kang, Dae Sik Moon, Jin Soo Lee, Hasoo Seong*,
Je Kyo Jeong**, Gilson Khang, and Hai Bang Lee*†

Department of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University,
664-14, Dukjin Ku, Chonju 561-756, Korea

*Biomaterials Laboratories, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P. O. Box 107, Daejeon 305-340, Korea

**Research Center, Samchundang Pharm. Co. Ltd., P.O. Box 289, Youngdeungpo,
Seoul 150-037, Korea

†e-mail : hblee@pado.krict.re.kr

(Received June 3, 2002; accepted August 16, 2002)

요약 : 1, 3-bis[2-chloroethyl]-1-nitrosourea (BCNU, carmustine)는 악성 뇌종양 치료를 위하여 화학요법적 임상에서 널리 사용되는 약물이다. 또한, poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA, 분자량: 20000 g/mole, 락타이드와 글리콜라이드 몰비 75 : 25)는 약물전달시스템을 위한 약물 전달체로써 사용되어지는 잘 알려진 생분해성 고분자이다. 본 연구에서 폴리비닐피롤리돈 (PVP) 또는 폴리에틸렌옥사이드 (PEO)를 함유하고 있는 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼들의 BCNU 방출거동과 웨이퍼에 포접된 친수성 고분자의 효과를 조사하였다. 친수성 고분자의 첨가 또는 첨가 없이 BCNU 함유 PLGA 미분말은 분사건조법에 의해 제조하였으며, 제조된 BCNU 함유 PLGA 미분말은 압축성형법에 의해 웨이퍼형태로 제조하였다. 친수성 고분자가 첨가된 BCNU 함유 PLGA 미분말의 포접율은 85~97%였고, PLGA에 포접된 BCNU의 결정성은 현저히 감소하였다. 약물 방출 경향과 분해 거동에서 친수성 고분자의 함량이 증가할수록 BCNU의 초기방출량과 방출속도는 증가됨을 확인하였다. 방출시험 기간동안 웨이퍼의 형태변화와 무게변화를 측정함으로써 친수성 고분자의 함량이 증가할수록 PLGA의 수화와 분해가 촉진됨을 관찰하였다.

ABSTRACT : 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU, carmustine) is one of the effective chemotherapeutic agents which has been used clinically for treating malignant glioma. Poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA, molecular weight: 20000 g/mole, mole ratio of lactide to glycolide 75 : 15) is a well known biodegradable polymer used as a drug carrier for drug delivery system. In this study, we investigated the BCNU release behaviour of BCNU-loaded PLGA wafers containing poly(N-vinylpyrrolidone) (PVP) or polyethylenoxide (PEO) and the effect of hydrophilic polymers incorporated in the wafers. BCNU-loaded PLGA microparticles with or without hydrophilic polymers were prepared by a spray drying method and fabricated into wafers by direct compression. Encapsulation efficiency of BCNU-loaded PLGA microparticles containing PVP and PEO was 85~97% and crystallinity of BCNU encapsulated in PLGA decreased significantly. Initial release amount and release rate of BCNU increased with the increasing PVP or PEO amount. Morphological change and mass loss of wafers during the release test were confirmed that hydration and degradation of PLGA would be facilitated with an increase of hydrophilic polymers.

Keywords : brain tumor, BCNU, hydrophilic polymers, PLGA, microparticles, wafers.

서 론

뇌종양은 외과적 수술, 방사선 치료, 전신적 화학요법 등 많은 치료 요법의 진보에도 불구하고 치료가 매우 어려운 중추신경계 질환으로서 환자들의 평균 생존률은 대략 1년 정도이다.^{1,2} 화학요법제를 전신적으로 투여하였을 때 중추신경계에 전달하기 어려운 가장 큰 이유는 많은 약물들이 생체내 혈뇌장막(blood brain barrier, BBB)을 구성하는 뇌 모세 상피세포벽을 통과하지 못함으로 인해서 약물이 혈액으로부터 뇌로 전달되지 못하고 배출되기 때문이다. 다시 말해서 혈뇌장막은 세균이나 다른 이물질로부터 뇌를 보호하는 훌륭한 장벽이지만 한편으로는 머리에 있는 종양이나 염증을 치료하기 위한 항암제나 항생제가 쉽게 들어갈 수 없는 장애물이기도 하다. 따라서 혈뇌장막을 파괴하거나 우회하는 방법을 통하여 약물을 전달하기 위한 많은 연구들이 시도되었으나³⁻⁸ 이러한 여러 가지 약물 전달 방법들은 근본적으로 순환계를 통하여 수송된 약물들의 중추신경계로의 투과를 향상시키는 것을 목적으로 하기 때문에 투여된 약물이 전신으로 전달되며 따라서 종종 원하지 않는 전신적 부작용을 일으킨다.

현재, 뇌종양 치료의 새로운 접근방향은 심혈관계에 의존하지 않고 약물을 중추신경계에 전달하는 방법으로서 약물을 함유한 고분자 디바이스를 뇌의 원하는 부위에 직접 이식하는 방법으로써 전통적인 치료법들과 비교할 때 약물이 BBB를 통과해야 하는 문제가 없을 뿐 아니라 높은 생체이용률과 전신부작용을 최소화할 수 있다는 장점이 있다. 실제로 카뮈스틴, 탁솔, 시스플라틴, 그리고 5-플루오로우라실 등의 항종양제를 함유한 고분자들의 치료효과와 안정성 등이 동물 뇌종양모델에서 평가되어 왔으며⁹⁻¹² 최근 인간의 재발성 신경교종의 치료에 이용되어 왔다.^{13,14}

현재까지 가장 주목할 만한 연구성과로는 카뮈스틴이라고 불리는 항암제 1, 3-bis[2-chloroethyl]-1-nitrosourea (BCNU)를 국소에 적용할 수 있도록 서방화하고 이를 이식형으로 제형화한 폴리안하이드라이드 웨이퍼가 있으며 수많은 전임상 및 임상시험을 거쳐 1996년에 FDA로부터 신경교종 절제술에서 보조적인 치료로 사용하는 것을 허가받았으며 현재 Gliadel® 이라는 상품명으로 길포드사가 독점적으로 공

급, 임상에서 이용되고 있다.^{1,15} Gliadel®에 이용된 생분해성 고분자인 폴리안하이드라이드는 표면분해성이라는 좋은 특성을 가지고 있는 것으로 알려졌으나 최근 폴리안하이드라이드의 가수분해거동에 관한 깊이 있는 연구들을 통하여 폴리안하이드라이드가 전적으로 표면분해에 의해 가수분해가 진행되는 것이 아니라 벌크분해 거동도 나타나고 있음이 밝혀졌으며 가수분해속도가 상당히 빠르기 때문에 장기간에 걸쳐 약물을 전달해야 하는 필요성이 있는 약물전달기구에는 응용이 어렵다는 것이 밝혀졌다.¹⁶ 따라서 장기간 동안 약물을 방출시키기 위해 제형을 설계하는 경우 분해속도가 빠른 폴리안하이드라이드로 매트릭스를 제조하면 매트릭스의 크기가 매우 커져야 하는 단점이 있다.¹⁷⁻¹⁹

전보에서^{20,21} 폴리안하이드라이드보다 분해속도가 낮은 생분해성 고분자인 락타이드-글리콜라이드 공중합체 (PLGA)를 약물 운반체로 한 새로운 서방성 웨이퍼를 보고하였다. 그 이유는 최근 연구에서 폴리락타이드 (PLA)와 PLGA가 주로 사용되어지고 있으며, 생체분해성이 우수하고, 조직적합성도 상대적으로 우수하며 또한, 미국 식품의약청으로부터 약물전달체 및 조직공학용 담체로 사용을 허가받은 유일한 합성 고분자이기 때문이다.²²⁻³⁴ 약물 방출속도, 방출기간 및 초기방출량은 PLGA의 분자량과 약물의 함량에 의존하였으며 약 60~80일의 약물 방출기간을 나타내어 Gliadel®의 약물 방출기간이 3~5일인데 반하여 방출기간이 약 20배 이상 약물이 지속적으로 방출됨을 확인하였다. 또한, 약물 방출속도와 PLGA의 분해거동에 관한 고찰을 통하여 약물담체로 사용된 고분자의 수화 및 분해를 촉진함으로써 약물 방출거동을 제어할 수 있음을 확인하였다. 따라서 이를 바탕으로 본 연구에서는 생체적합성의 공통적 특성을 가지면서 상이한 결정성을 나타내는 친수성 고분자인 폴리비닐피롤리돈 (poly(*N*-vinylpyrrolidone), PVP)과 폴리에틸렌옥사이드 (polyethylene oxide, PEO)가 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼로부터의 BCNU 방출 특성에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

서방화 약물전달체로 응용되는 친수성 고분자인 PVP는 수용액에서 pH에 거의 영향을 받지 않으면서 오랜시간 동안 안정한 특성으로 인하여 인공혈액 등으로 이용되어온 생체적합성 고분자이며 무정형 고분

자로서 고분자 지지체로부터 난용성 약물의 방출을 향상시킬 수 있다고 보고되었다.³⁵⁻³⁷ 한편, PEO는 비이온성 단독 공중합체이며 우수한 팽윤성과 점막부착성 등의 특성으로 약제의 부형제와 의료용구 코팅재료로서 응용되어온 결정성 고분자이며 서방성 팽윤지지체로서 널리 사용되고 있다.³⁸⁻⁴⁰ 따라서, 소수성이 강한 PLGA에 친수성 고분자인 PVP 또는 PEO를 혼합하여 첨가함으로써 고분자 매트릭스의 수화와 분해를 신속히 유도할 수 있도록 제형을 설계할 수 있다.

본 연구에서 PVP와 PEO를 첨가한 각각의 BCNU 함유 PLGA 미립구를 분사건조법으로 제조하고 이를 웨이퍼로 제형화하여 생체의 조건에서의 약물방출 특성을 조사하였다. 또한, 미분말의 물리화학적 특성, 미분말의 크기와 크기분포, 생체의 방출실험 전후의 특성변화 등을 관찰하여 약물 방출거동과 PLGA의 분해거동과의 관계에 있어서 친수성 고분자와의 관계를 고찰하였다.

실 험

시약 및 재료. BCNU (순도 98%이상, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)는 -20°C 에서 보관하여 사용하였으며 PLGA (lactide/glicolide mole ratio, 75/25, Resomer RG 752, Boehringer Ingelheim, Germany)는 평균분자량이 20000 g/mole인 것을 사용하였다. 첨가제로 사용한 친수성 고분자인 PVP (K-30, ISP Technologies INC., USA)는 평균 분자량이 50000 g/mole인 것을 사용하였으며 PEO (Aldrich Chem. Co., USA)는 평균 분자량이 100000 g/mole인 것을 사용하였다. 메틸렌클로라이드 (MC, Tedia, Japan), 메틸알콜 (Junsei, Japan) 및 기타 시약들은 HPLC 등급을 사용하였다.

친수성 고분자를 함유한 BCNU/PLGA 미분말 및 웨이퍼의 제조. MC에 일정량의 PLGA와 BCNU 그리고 PVP 혹은 PEO를 함께 용해시킨 후 분사건조기 (Fluidized bed coater; Top spray method; Uniglatt, Glatt Co., Binzen, Germany)를 이용하여 분사건조하여 미분말을 제조하였다. BCNU의 초기 약물 함유량은 PLGA에 대하여 10%로 고정하였고 PLGA의 농도는 10% (w/v)로 고정하여 미분말을 제조하였다. PVP와 PEO 용액의 농도는 PLGA 농도에 대하여 5~30%

로 조절하였다. 분사건조의 조건은 유입공기온도 $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 분사공기압은 30 ± 4 psi 그리고 용액유입속도는 7 ± 2 mL/min으로 하였다. 분사건조시 모든 실험조건에서 빛을 차단하여 BCNU의 광에 의한 분해를 최소화하였다. 제조된 미분말을 동결건조기 (35 mtorr, -78°C)를 사용하여 일정중량이 될 때까지 건조하였으며 사용 전까지 0°C 에 보관하였다. 동결건조한 미립구 100 mg을 직경 10.0 mm의 주형에 주입하고 프레스 (MH-50Y CAP 50 tons, Japan)를 이용하여 상온에서 20 Kg/cm^2 의 압력에서 5초 동안 가압하여 두께 1.0 mm의 웨이퍼를 제조하였으며 분석 및 생체의 방출실험 전까지 0°C 에서 보관하였다.

미분말과 웨이퍼의 특성분석. 생체의 방출실험 전후의 미분말의 크기와 형태는 전자주사현미경 (scanning electron microscope, SEM, S-2250N, Hitachi, Japan)을 사용하여 관찰하였다. 양면테이프를 부착한 금속판 위에 시료를 고정한 후 플라즈마 스퍼터 (SC 500K, Emscope, UK)를 이용하여 아르곤 분위기 하에서 90초 동안 코팅하였다. 방출실험 전의 미분말과 웨이퍼는 냉동 보관한 시료를 관찰하였고 방출실험 이후의 웨이퍼는 동결건조기를 이용하여 건조한 후 관찰하였다. BCNU 함유 미분말의 결정성은 X선회절 분석기 (X-ray diffractometer, XRD, D/Max-IIIB, Rigaku, Japan)를 사용하여 $5^{\circ}/\text{min}$ 의 속도로 2θ 의 값을 $5 \sim 60^{\circ}$ 의 범위에서 측정하였으며, 미분말의 열적 성질은 시차 주사 열량분석기 (differential scanning calorimeter, DSC, TA Instrument DSC 3100, DuPont, USA)를 이용하여 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 의 승온 속도로 $0 \sim 100^{\circ}\text{C}$ 의 범위에서 측정하였다.

포접율 및 생체의 방출실험. 제조된 미분말의 BCNU 포접율을 조사하기 위하여 조건을 달리하여 제조된 100 mg의 미분말을 2 mL의 MC에 넣어 PLGA와 약물을 녹이고, 18 mL의 메탄올을 첨가하여 PLGA를 침전시키고 상등액 1 mL를 취하여 원심 분리한 후 상층액 100 μL 를 취하여 HPLC분석하였다. HPLC 분석은 UV 검출기 (UV-1000, Thermo Separation Products, Fermont, CA, USA), 펌프 (P-2000, Thermo Separation Products), 자동시료주입기 (AS-3000, Thermo Separation Products)로 구성된 HPLC를 사용하였다. 컬럼은 μ -Bondapak C₁₈ (3.9×300 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고 이

동상은 메탄올을 사용하였고, 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. 컬럼온도는 상온을 유지하였고 검출과장은 237 nm를 선택하였으며 시료주입량은 20 μ L로 하였다. 생체의 약물 방출실험을 위하여 조건별로 제조한 100 mg의 웨이퍼를 20 mL의 인산염 완충 용액 (PBS, pH 7.4)에 침지하고 37 $^{\circ}$ C로 유지되는 항온조에서 일정기간 동안 60 rpm의 속도로 교반하였다. BCNU는 인산염 완충 용액 및 물에서 반감기가 매우 짧은 약물이므로 방출 실험기간 동안 인산염 완충 용액으로 방출된 BCNU의 양을 검출하는 것은 불가능하다. 따라서 일정시간 이후 웨이퍼를 MC에 녹이고 메탄올로 BCNU를 포집하고 있는 PLGA, PVP 및 PEO를 침전시켜 제거함으로써 방출실험 이후 웨이퍼에 잔존하는 BCNU의 양을 조사함으로써 PBS내로 방출된 BCNU의 양을 산출하였다. 생체의 방출실험에서 BCNU의 포집량 및 방출량은 3회 실험한 평균값을 자료로 사용하였다.

웨이퍼의 생분해성. 친수성고분자를 첨가한 BCNU/PLGA 웨이퍼의 분해거동을 관찰하기 위해 생체의 방출실험과 동일한 조건에서 일정기간 동안 시료를 취해 무게변화를 관찰하였다. 제형의 초기무게를 측정 한 후 생체의 방출실험을 실시하였으며, 일정시간 경과 후 수집한 시료를 진공 하에서 24시간 이상 수분을 제거하였고 무게의 변화를 측정하였으며, 무게의 변화는 각각 다음과 같은 식에 의해서 계산되었다.

$$\text{Mass Loss (\%)} = (W_0 - W_t) \times 100 / W_0 \quad (1)$$

여기에서, W_0 는 웨이퍼의 초기무게이고, W_t 는 일정 방출기간이 경과한 웨이퍼를 건조시킨 후의 무게이다. 웨이퍼의 형태변화는 생체의 방출 실험기간 동안 일정시간이 지난 후 PBS로부터 웨이퍼를 추출하고 일정증량이 될 때까지 건조하고 SEM으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

미분말 및 웨이퍼의 형태와 특성. 본 실험에서 사용한 BCNU, PLGA, PVP 및 PEO의 구조를 Figure 1에 나타내었다. BCNU는 신경종양의 치료를 위해 개발되어온 nitrosourea 유도체의 일종으로 1,3-bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea 화학구조를 가진 화학

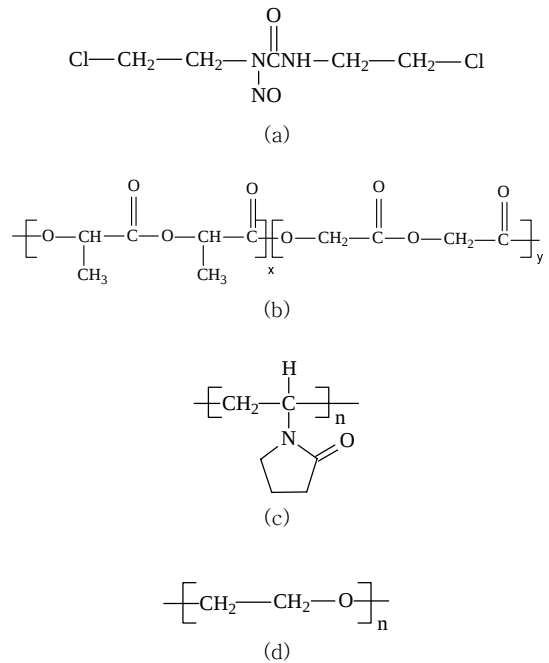


Figure 1. Chemical structures of (a) BCNU, (b) PLGA, (c) PVP, and (d) PEO.

요법제이다. 일반적으로 BCNU는 종양 세포의 DNA나 RNA를 알킬화하여 항종양성을 나타내는 것으로 알려져 있으나 다른 알킬화제와 상호작용을 일으키지 않는다.⁴¹ BCNU는 수용액에서 가수분해되며 강산성이나 pH 7 이상의 수용액에서 반감기가 매우 짧고 pH 4에서 가장 안정하며 생체의 조건 및 체내 혈장에서의 반감기는 각각 20분과 15분으로 매우 짧다. 또한 30~32 $^{\circ}$ C의 비교적 낮은 용융점을 가지고 있으며 열이나 빛에 매우 불안정하다고 알려져 있다.⁴²

BCNU를 함유한 PVP/PLGA 미분말과 PEO/PLGA 미분말은 분사건조법으로 제조하였으며, 친수성 고분자의 농도에 변화를 주어 제조한 미분말의 포집율을 Table 1에 나타내었다. 10% BCNU 초기함량에서 PVP와 PEO의 농도를 각각 5~40% (Batches 2, 3, 4, 5 및 6)와 5~10% (Batches 7 및 8)로 변화를 주어 분사건조한 미분말은 94~99%와 85~89%의 높은 BCNU 포집율을 나타냈다. 또한, 친수성 고분자의 함량증가에 따른 BCNU 포집율은 일정한 경향을 보이지 않아 미분말 제조시 BCNU 포집율은 친수성 고분자의 농도에 크게 의존하지 않음을 알 수 있었다.

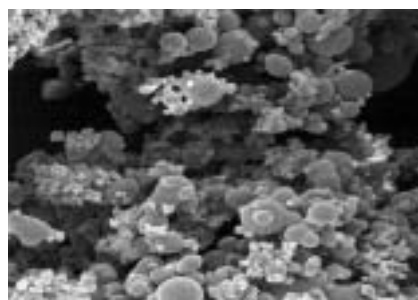
Table 1. Preparation Condition of BCNU-loaded PLGA Microparticles Containing PVP and PEO (PLGA 20000 g/mole)

batch No.	PVP (%)	PEO (%)	initial BCNU loading (%)	EE ^a (%)
1	—	—	10	99
2	5	—	10	95
3	10	—	10	94
4	20	—	10	95
5	30	—	10	97
6	40	—	10	94
7	—	5	10	89
8	—	10	10	85

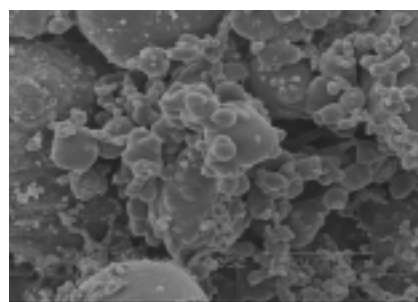
^aEE: Encapsulation efficiency.

분사건조법에 의해 제조된 BCNU를 함유한 PVP/PLGA 미분말과 PEO/PLGA 미분말을 SEM으로 관찰한 결과를 Figure 2에 나타내었다 (Batches 1, 3 및 8). 친수성 고분자를 함유하지 않은 BCNU/PLGA 미분말 (a)은 서로 회합되지 않고 미세한 미립구 형태를 나타내었으나 PVP가 첨가된 분말 (b)은 대부분 회합된 미립구의 형태로 존재하는 것을 관찰할 수 있다. 또한 PEO가 첨가된 경우 (c) 미립구의 형태로 존재하나 대부분 심하게 회합되어 PVP의 경우보다 미립구의 크기가 매우 커져 있음을 관찰할 수 있었다. 이것은 PVP와 PEO의 분자량이 각각 50000 g/mole과 100000 g/mole로서 같은 농도에서 용액의 점도가 PEO의 경우에서 더 높아 분산이 어렵기 때문인 것으로 사료된다.

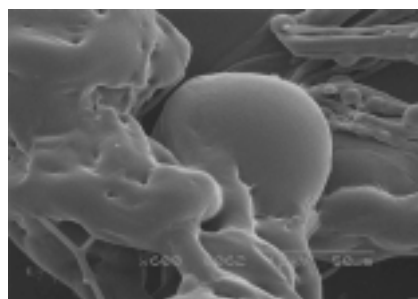
Figure 3은 BCNU, PLGA, PVP, PEO, BCNU/PLGA 그리고 친수성 고분자인 PVP와 PEO를 각각 10%씩 첨가하여 제조한 미립구의 결정성을 XRD를 사용하여 관찰한 것이다. 그림에 나타난 바와 같이 BCNU는 결정성이 매우 높은 약물로 10~30° 영역에서 결정피크가 나타남을 알 수 있으며 BCNU의 포장에 사용한 PLGA는 결정성이 매우 낮아 결정영역이 거의 없는 무정형을 나타내었다. PVP는 결정성을 가지고 있지 않는 무정형 고분자인 반면 PEO는 결정성이 매우 높은 고분자로 10~30° 영역에서 결정피크가 존재함을 알 수 있다. 친수성 고분자인 PVP 또는 PEO를 첨가하여 제조한 미분말은 결정성 피크를 나타내지 않았다. 따라서, 친수성 고분자인 PVP와 PEO가 PLGA와 대부분 균일하게 분산되고 또한 BCNU



(a)



(b)



(c)

Figure 2. SEM microphotographs of BCNU-loaded PLGA microparticles containing PVP and PEO. (a) BCNU 10%/PLGA ($\times 600$), (b) BCNU 10%/PVP 10%/PLGA ($\times 600$), and (c) BCNU 10%/PEO 10%/PLGA ($\times 600$).

가 고분자와 균일한 고체용액상태를 이루고 있음을 알 수 있었다. 또한 XRD패턴에서의 차이점들로 나타난 것처럼 BCNU/PVP/PLGA와 BCNU/PEO/PLGA에서 BCNU 결정구조들은 BCNU/PLGA에서 BCNU의 결정구조와 차이가 있음을 알 수 있었다.

Figure 4는 BCNU, PLGA, PVP, PEO, BCNU/PLGA 그리고 BCNU/친수성 고분자 PVP와 PEO/

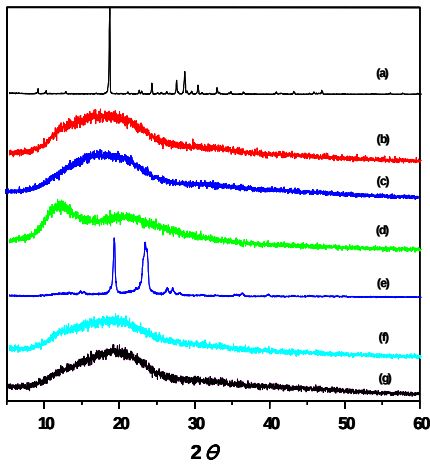


Figure 3. X-ray diffraction patterns of BCNU, PLGA, and BCNU-loaded PLGA microparticles containing PVP and PEO. (a) BCNU, (b) PLGA, (c) BCNU/PLGA, (d) PVP, (e) PEO, (f) BCNU 10%/PVP/PLGA, and (g) BCNU 10%/PEO/PLGA.

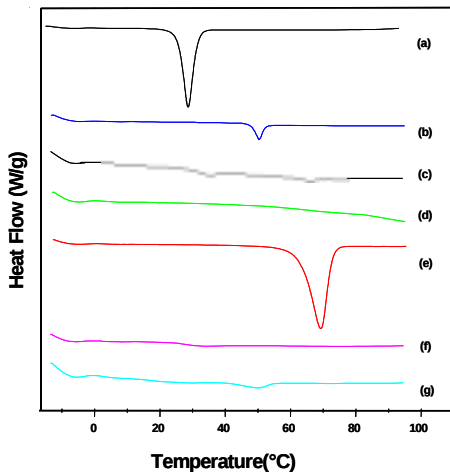


Figure 4. DSC thermograms of BCNU, PLGA, and BCNU-loaded PLGA microparticles containing PVP and PEO. (a) BCNU, (b) PLGA, (c) BCNU/PLGA, (d) PVP, (e) PEO, (f) BCNU 10%/PVP/PLGA, and (g) BCNU 10%/PEO/PLGA.

PLGA를 각각 10%씩 첨가시킨 미분말의 DSC를 나타낸 그림이다. BCNU의 용융온도 (T_m)와 PLGA의 유리전이온도 (T_g)는 문헌에 보고된 것과 일치하였으며⁴³ BCNU의 경우는 높은 결정성으로 인해 매우 강한 흡열피크를 갖는 것으로 나타났다. 친수성 고분자

Table 2. Thermal Properties of BCNU, PVP, PEO, PLGA, BCNU-loaded PLGA Microparticles and BCNU-loaded PLGA Microparticles Containing PVP and PEO

batch No.	sample	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	T_g (°C)	ΔH_g (J/g)
1	BCNU	28.19	114.3	—	—
2	PLGA	—	—	50.01	7.439
3	BCNU/PLGA	33.23	21.63	62.85	1.352
4	PVP	—	—	—	—
5	PEO	63.37	174.6	—	—
6	BCNU/PVP/PLGA	—	—	—	—
7	BCNU/PEO/PLGA	42.91	3.523	—	—

인 PEO는 결정성으로 인해 ΔH_m 의 값이 174.6 J/g 이었다. 친수성 고분자인 PVP와 PEO가 첨가된 BCNU 함유 PLGA 미분말 경우에는 BCNU와 PEO에 대한 중간부분인 42.9 °C에서 T_g 를 보였다. 그리고, BCNU가 PLGA/친수성 고분자인 PVP와 PEO가 첨가된 미분말에 포접됨으로써 BCNU의 용융온도는 증가하는 경향을 나타내었다. Table 2는 각각의 열특성 자료 정리하여 나타낸 것으로서 BCNU의 용융엔탈피 (ΔH_m)는 PLGA에 포접된 경우 BCNU자체의 ΔH_m 에 비하여 현저히 감소하여 결정성이 감소하였음을 알 수 있었다. 한편, PLGA의 유리전이온도도 상승하였으며 유리엔탈피 (ΔH_g) 값은 감소하는 경향을 나타내어 PLGA의 결정성이 감소함을 알 수 있었다. XRD와 DSC의 결과들로부터 BCNU가 포접된 PLGA는 고체 용액상태로 존재하면서 각각의 전이온도를 변화시키고 결정성을 감소시키는 작용을 한다고 추측할 수 있다. 약물을 함유한 생분해성 고분자지지체의 결정 영역의 변화는 약물의 포접 및 방출거동에 많은 영향을 미칠것으로 사료된다.^{30,32}

생체의 방출거동. Figure 5는 BCNU의 농도를 10%로 고정하고 친수성 고분자인 PVP와 PEO를 각각 10%씩 첨가한 PLGA 웨이퍼로부터 BCNU의 방출량을 나타낸 그림이다. BCNU/PLGA 만으로 제조된 웨이퍼는 초기 약 25% 정도의 burst를 보이고 이후 거의 0차에 가까운 방출경향을 나타내며 총 방출 기간은 약 8주 정도이었으며, 친수성 고분자를 첨가하지 않은 제형은 물에 의한 침식과 채널을 통한 확산에 의한 일반적인 방출로 사료되었다. PVP가 10%첨가된 BCNU/PLGA 웨이퍼는 총 방출기간이 약 4주

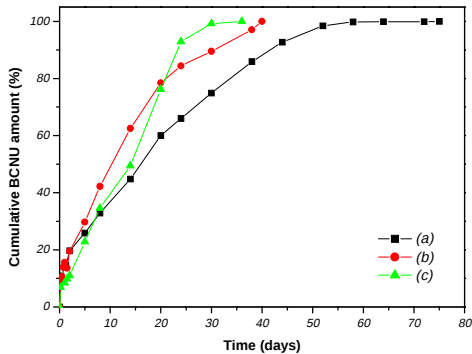


Figure 5. Effect of additives on BCNU release from PLGA wafers containing (a) none, (b) PEO 10%, and (c) PVP 10%.

정도였다. 초기 약간의 burst를 보이고 거의 0차에 가까운 방출 경향을 나타냈으며 약물 방출속도가 BCNU/PLGA 만으로 제조된 웨이퍼 경우보다 방출속도가 더 빠르고 따라서 방출기간도 4주 더 단축되었음을 알 수 있었다. PEO가 10% 첨가된 BCNU/PLGA 웨이퍼는 초기 약 20% 정도의 burst를 보이고 이후 거의 0차에 가까운 방출경향을 보이며 총 방출기간은 약 6주 정도였다. PEO가 첨가된 웨이퍼의 방출경향은 PVP가 첨가된 웨이퍼보다 20일 이전에서는 방출속도가 더 빠르고 따라서 방출기간도 다른 웨이퍼보다 더 짧을 것으로 예상되었으나 약 20일 이후부터 PVP가 첨가된 BCNU/PLGA 웨이퍼보다 방출속도가 더 느린 경향을 보였다. 친수성 고분자로 사용된 PVP의 영향으로 인하여 초기 burst를 줄일 수 있었다. PEO의 경우 PEO를 함유하고 있는 웨이퍼에 물이 접촉되면, Figure 1의 구조식에서 예상할 수 있듯이 수용성이며, 수소결합의 힘, 즉 인력의 힘이 PEO와 물 사이에서 시작된다.⁴⁴ PEO와 물의 높은 친화력 때문에 이들의 힘들은 고분자와 고분자의 상호작용보다 더욱 선호된다. 고분자를 서로 잡고 있는 힘들은 감소됨과 동시에, 물은 웨이퍼 안으로 확산되고, 고분자는 웨이퍼 안에서 팽윤된다. 따라서 약물은 확산에 의한 방출이 이루어진다.^{45,46} 따라서, 친수성 고분자를 선택함으로써 약물 방출기간을 조절할 수 있음을 확인하였다.^{30,32}

Figure 6에 PVP의 농도를 달리하여 제조한 웨이퍼로부터의 10% BCNU 방출 경향을 나타내었다. PVP

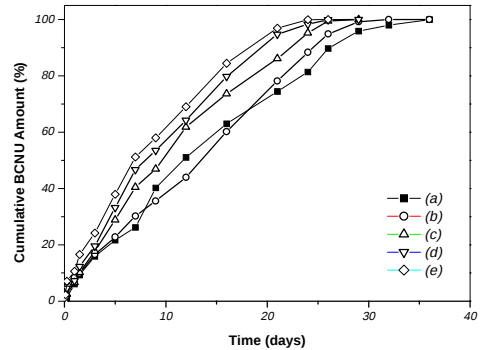


Figure 6. Effect of PVP amount on BCNU release from PLGA containing (a) PVP 5%, (b) PVP 10%, (c) PVP 20%, (d) PVP 30%, and (e) PVP 40%.

농도를 5~40%로 달리하여 약물 방출거동을 살펴본 결과 PVP의 함량이 증가할수록 방출속도가 빨라지고 따라서 방출기간도 단축됨을 알 수 있으며 총 약물방출기간은 약 20~35일이었다. PVP 농도가 5%와 40%인 웨이퍼의 약물 방출거동을 비교해보면 PVP 농도가 40%인 웨이퍼의 방출기간이 PVP 농도가 5%인 웨이퍼의 방출기간에 비해 약 2주 정도 단축되었음을 알 수 있다. 또한, 0차에 가까운 방출경향을 보이고 있다. PLGA만을 사용한 웨이퍼의 약물 방출기간이 60~80일 정도인 것과 비교할때 약물 방출기간이 매우 단축되었음을 알 수 있었다. 따라서, PVP가 함유된 약물 방출거동은 PEO와 같이 PVP의 함유량이 증가할수록 약물 방출속도가 증가함을 확인하였다. 첨가된 PVP는 친수성 고분자로서 수소결합을 할 수 있고 방출시험액에 의해 신속히 용해되며 이는 약물이 방출될 수 있는 채널을 빨리 형성하고 미세채널을 통해 매트릭스 내부로 침투하는 물의 양을 증가시켜 PLGA의 분해를 촉진시키고, 궁극적으로 약물의 방출속도가 증가하여 약물 방출기간이 단축되었다고 사료된다.

Figure 7에 PEO의 농도를 달리하여 제조한 웨이퍼로부터의 10% BCNU 방출을 나타내었다. PEO농도를 5~10%로 달리하여 약물 방출거동을 살펴본 결과 PEO의 함량이 증가할수록 방출속도가 빨라지고 따라서 방출기간도 단축됨을 알 수 있으며 총 방출기간은 약 40~44일이었다. PEO농도가 5%와 10%인 웨이퍼의 약물 방출거동을 비교해보면 PEO농도가 10%인 웨이퍼의 방출기간이 PEO농도가 5%인

친수성 고분자가 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼로부터 BCNU의 방출에 미치는 효과

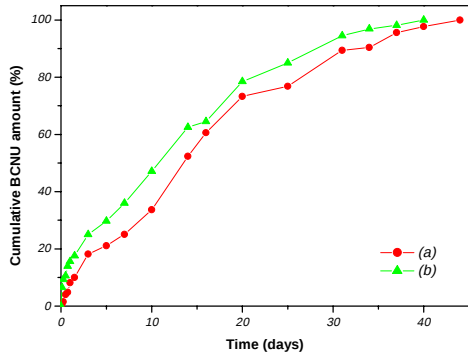


Figure 7. Effect of PEO amount on BCNU release from PLGA containing (a) PEO 5% and (b) PEO 10%.

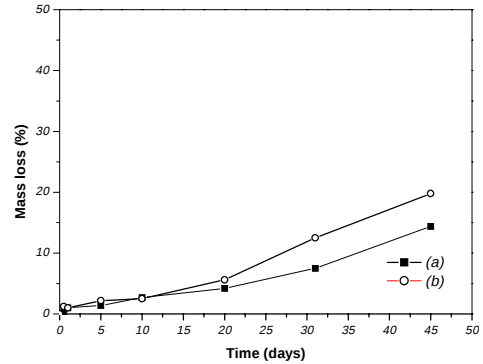


Figure 8. Mass loss profiles of BCNU/PEO/PLGA wafer. (a) PEO 5% and (b) PEO 10%.

웨이퍼의 방출기간에 비해 2~3일 단축되었음을 알 수 있다. 또한, 0차에 가까운 방출경향을 보이고 있다. 따라서, PVP의 경우와 유사하게 PEO가 함유된 약물 방출거동은 PEO의 함유량이 증가할수록 약물 방출속

도가 커짐을 알 수 있다.

웨이퍼의 분해거동. Figure 8은 PEO 함량을 달리하여 제조한 웨이퍼 (a, b)의 방출기간 동안의 무게 변화를 나타낸 것이다. 웨이퍼의 무게 변화를 관찰한 결

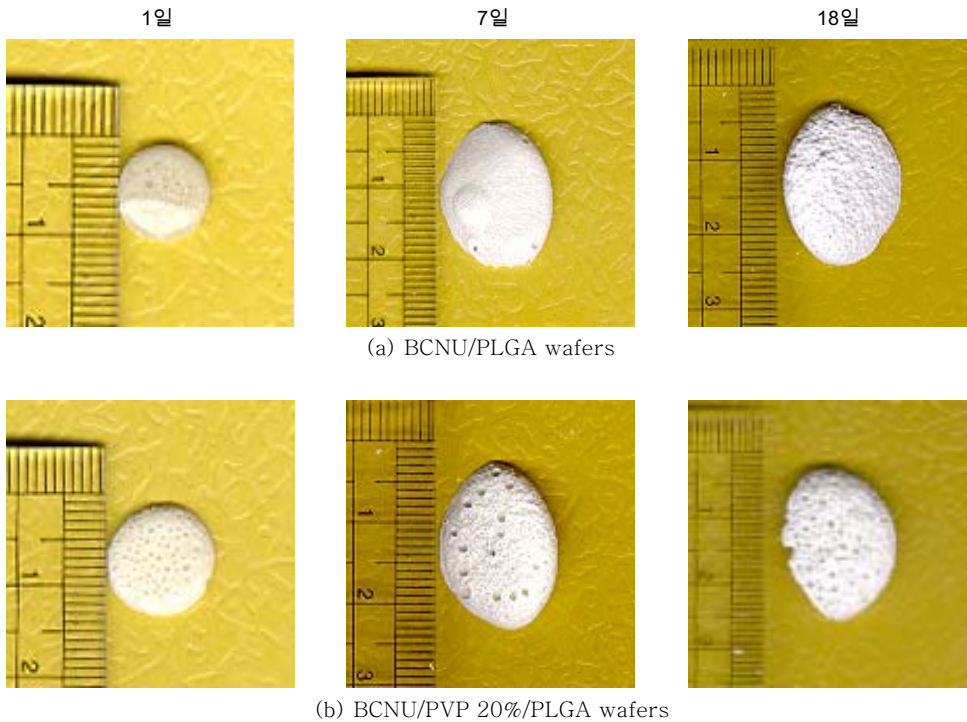


Figure 9. Photographs of surface of 10% BCNU-loaded PLGA wafers with or without PVP. (a) BCNU/PLGA wafers and (b) BCNU/PVP 20%/PLGA wafers.

과, 무게가 점차 감소되어 45일의 방출이 완료된 후에 13~18%의 무게감소가 일어났음을 알 수 있다. 친수성 고분자인 PEO의 함량이 증가할수록 물과의 높은 친화력 때문에 수분의 침투와 약물의 방출통로로 이용될 수 있는 미세채널이 더욱 빨리 형성되어 있음을 알 수 있었고 이로 인하여 채널을 통한 물의 흡수가 쉬어지고, 이에 따라 약물의 방출도 상대적으로 증가한다. 따라서 웨이퍼 내부에 존재하는 약물이 더 빨리 밖으로 빠져나오게 되고, 또한 소수성 고분자인 PLGA의 분해를 촉진시키게 된다. 이러한 이유로 PEO의 함량이 증가할수록 무게가 감소되는 양이 많아진다고 사료된다.

생체의 방출 시험기간 동안 방출시험액내에서 웨이퍼에 함유된 PVP 영향에 의한 웨이퍼의 형태변화를 Figure 9에 나타내었다. 그림에서 관찰되듯이 초기의 웨이퍼에 비하여 일정기간이 지난 웨이퍼에서는 모두 수화에 의해 팽윤된 상태로 관찰되었으며 방출시험 웨이퍼에 수분의 침투와 약물의 방출통로로 이용될 수 있는 미세채널이 형성되어 있음을 알 수 있었고, 더욱 뚜렷한 변화로써 균열들이 많이 관찰되었다. 방출시험 1일이 경과한 웨이퍼의 형태를 비교할 때 PVP가 첨가된 웨이퍼가 PLGA만을 사용한 웨이퍼에 비해 초기 팽윤정도가 크고 표면에 많은 기공이 생성되었으며 방출 시험시간이 경과할수록 PVP가 함유된 웨이퍼에서 균열들과 공극들이 더욱 뚜렷하게 나타나고 또한 이들은 더욱 거칠고 불규칙적인 표면으로 변형되었다. 이는 친수성 고분자인 PVP가 첨가된 웨이퍼에서 PVP가 빠른 속도로 용해되어 웨이퍼 내부로의 물의 침투속도를 증가시키며, 더욱 빠른 팽윤현상과 PLGA의 분해시간을 촉진시키는 것으로 사료된다. 따라서, 친수성 고분자로 웨이퍼 안에서 약물의 방출속도를 조절할 수 있었다.¹⁵

결 론

뇌종양치료제인 BCNU를 생분해성 고분자인 PLGA와 친수성 고분자인 PVP와 PEO에 포접시키기 위하여 분사건조법에 의해 미분말을 제조하였다. 이를 웨이퍼로 성형하고 생체의 방출 시험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 분사건조에 의해 제조된 미분말은 미립구의 형

태를 나타내었으며 BCNU의 포접율은 PVP가 함유된 BCNU/PLGA 미분말의 경우 94~97%, 그리고 PEO가 함유된 BCNU/PLGA 미분말의 경우 85~89%이었다.

2. BCNU, BCNU 함유 PLGA 미분말 그리고 PVP와 PEO가 함유된 BCNU/PLGA 미분말의 XRD분석 결과를 통하여 결정성 약물인 BCNU가 PLGA에 포접되어 결정성이 감소하였음을 확인하였고 DSC분석 결과 각각의 열적특성을 나타내는 피크들의 이동과 전이엔탈피의 감소로부터 친수성 고분자와 약물의 결정성에 서로 영향을 미치고 있음을 확인하였다.

3. 미분말을 웨이퍼로 성형하고 생체의 방출거동을 살펴본 결과 PVP와 PEO의 함량이 증가할수록 BCNU의 방출속도는 증가하였다. PVP와 PEO를 함유하고 있는 BCNU/PLGA 웨이퍼의 방출기간이 BCNU/PLGA 웨이퍼보다 더욱 빠른 방출기간을 보였다.

4. 방출 시험기간 동안 PEO가 첨가된 BCNU/PLGA 웨이퍼의 무게변화를 관찰한 결과를 통하여 BCNU의 방출은 PEO함량이 증가할수록 PLGA의 수화와 분해가 촉진됨을 알 수 있었다.

현재 악성뇌종양 세포들에 대한 상기 웨이퍼들의 약물감수성시험과 종양동물모델에 관한 연구를 수행 중이다.

감사의 글 : 본 연구는 산업자원부의 중기거점 사업(B49-990-5411-05-1-3)에 의해 지원되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. D. S. Moon, G. Khang, H. S. Seong, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 107 (2000).
2. P. M. Black, *N. Eng. J. Med.*, **324**, 1471 (1991).
3. R. E. Harbaugh, R. L. Sanders, and R. F. Reeder, *Neurosurgery*, **23**, 693 (1988).
4. R. D. Penn, M. M. York, and J. A. Paice, *J. Neurosurg.*, **83**, 215 (1995).
5. J. Kreuter, R. N. Alyautdin, D. A. Kharkevich, and A. A. Ivanov, *Brain Res.*, **674**, 171 (1995).
6. U. Bickel, T. Yoshikawa, and W. M. Pardridge, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **10**, 205 (1993).

7. O. Lindvall and A. Bjorklund, *Acta Neurol. Scand.*, **126**, 197 (1989).
8. F. H. Gage, J. A. Wolff, M. B. Rosenberg, L. Xu, J. K. Yee, C. Shults, and T. Friedmann, *Neuroscience*, **23**, 795 (1987).
9. R. J. Tamargo, J. S. Myseros, J. I. Epstein, M. B. Jang, M. Chasin, and H. Brem, *Cancer Res.*, **53**, 329 (1993).
10. K. A. Walter, M. A. Cahan, A. Gur, B. Tyler, J. Hilton, O. M. Colvin, P. C. Burger, A. Domb, and H. Brem, *Cancer Res.*, **54**, 2207 (1994).
11. K. O. Lillehei, Q. Kong, S. J. Withrow, and B. Kleinschmidts, *Neurosurgery*, **39**, 1191 (1996).
12. P. Minie, M. Boisdron-Ciller, A. Croue, G. Guy, and J. P. Benoit, *Neurosurgery*, **39**, 117 (1996).
13. H. Brem, M. S. Mahaley, N. A. Vick, K. L. Black, S. C. Schold, T. W. Ellier, J. W. Cozzens, and J. N. Kenealy, *J. Neurosurg.*, **74**, 441 (1991).
14. H. Brem, M. G. Ewend, S. Piantadosi, J. Greehoo, P. C. Burger, and M. Sisti, *J. Neuro-oncol.*, **26**, 111 (1995).
15. G. Khang, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **12**, 4 (2001).
16. K. A. Walter, R. J. Tarmargo, A. Olivi, P. C. Burger, and H. Brem, *Neurosurgery*, **37**, 1129 (1995).
17. K. W. Leong, P. D' Amore, M. Marletta, and R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **20**, 51 (1986).
18. H. Akbari, A. D'Emanuele, and D. Attwood, *Int. J. Pharm.*, **160**, 83 (1998).
19. A. J. Domb, Z. H. Israel, O. Elmalak, D. Teomim, and A. Bentolia, *Pharm. Res.*, **16**, 762 (1999).
20. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **14**, 95 (2001).
21. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
22. G. Khang and H. B. Lee, "Biomedical Polymer", Korean Chemical Society Press, Munundang, Seoul, 2001.
23. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **7**, 79 (1999).
24. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 49 (1999).
25. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, *Polymer Preprints*, **40**, 288 (1999).
26. G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 80 (2000).
27. J. C. Cho, G. Khang, H. S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**, 728 (2000).
28. W.-I. Son, D. I. Yun, G. Khang, B.-S. Kim, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 92 (2000).
29. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 136 (2000).
30. S.-A. Seo, H. S. Choi, D. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 884 (2001).
31. S.-A. Seo, H. S. Choi, J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **5**, 35 (2001).
32. H. S. Choi, G. Khang, H. C. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
33. S.-A. Seo, H. S. Choi, J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **239**, 93 (2002).
34. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, "Fentanyl-loaded PLGA Microspheres for Local Anesthesia," in "Controlled Drug Delivery; Designing Technologies for the Future", eds. by K. Park and R. J. Murnsny, p. 385, ACS Symp. Series 752, ACS Washington D.C., 2000.
35. M. Iwata and H. Ueda, *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **22**, 1161 (1996).
36. W. G. Lu, Y. Zhang, Q. M. Xiong, Y. C. Bao, and Q. H. Chen, *Chin. Pharm. J.*, **30**, 24 (1995).
37. K. P. Chowdary and K. V. Ramesh, *Indian Drugs*, **32**, 477 (1995).
38. A. E. Royce, U.S. Patent 5,273,758 (1993).
39. C. J. Kim, *J. Pharm. Sci.*, **84**, 303 (1995).
40. C. J. Kim, *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **24**, 645 (1998).
41. T. L. Loo, R. L. Dixon, R. L. Dixon, and D. P. Rall, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 492 (1966).
42. K. Fredrikson and P. Lundgren, *Acta Pharm. Scand.*, **23**, 115 (1986).
43. T. Painbeni, M. C. Venier-Julienne, and J. P. Benoit, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **45**, 31 (1998).
44. L. S. C. Wan, P. W. S. Heng, and L. F. Wong, *Int. J. Pharm.*, **73**, 111 (1991).
45. R. S. Harland, A. Gazzaniga, M. E. Sangalli, P. Colombo, and N. A. Peppas, *Pharm. Res.*, **5**, 488 (1998).
46. A. Apicella, B. Capello, M. A. Del Nobile, M. I. La Rotonda, G. Mensitieri, and L. Nicolas, *Biomaterials*, **14**, 83 (1993).