

골 재흡수 치료를 위한 파미드로네이트를 함유한 이식형 생분해성 PLGA 웨이퍼의 제조와 특성결정

유제영* · 김상욱** · 강길선*** · 성하수***
정제교**** · 김형중***** · 이정식**** · 이해방****†

* 전북대학교 유기신물질공학부, ** 전북대학교 고분자공학과, *** 한국화학연구원 생체의료고분자팀,
**** 삼천당제약 중앙연구소, ***** 한림대학교 의과대학 이비인후과
(2002년 6월 20일 접수, 2002년 8월 16일 채택)

Preparation and Characterization of Pamidronate-loaded PLGA Wafer for the Treatment of Bone Resorption

Je-Young Yoo*, Sang Wook Kim**, Gilson Khang***, Ha Soo Seong***,
Je Kyo Jeong****, Hyung Jong Kim*****, Jung Sik Lee****, and Hai Bang Lee****†

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

**Department of Polymer Science and Technology, Chonbuk National University,
664-14, Dukjin, Chonju 561-756, Korea

***Biomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P.O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-600, Korea

****Research Center, Samchondang Pharm. Co. Ltd., P.O. Box 289,
Youngdeungpo, Seoul 105-037, Korea

*****Department of Otorhinolaryngology, Hanlim University, College of Medicine,
896, Pyungchon, Anyang 431-070, Korea

†e-mail : hblee@pado.kriict.re.kr

(Received June 20, 2002; accepted August 16, 2002)

요약 : 골 재흡수 치료를 목적으로 파미드로네이트를 지속적으로 방출하는 제형으로 제조하기 위하여 락타이드-글리콜라이드 공중합체 (PLGA, 락타이드 : 글리콜라이드 몰비=75 : 25, 분자량 20000 g/mole 및 90000 g/mole)를 이용하여 직접압축 성형방법으로 생분해성 웨이퍼를 제조하였다. 약물과 고분자의 함량비, 웨이퍼의 두께, PLGA 분자량 등을 조절하여 PLGA 웨이퍼를 제조하였고, 이들의 형태학적 특성과 방출거동 및 분해거동을 살펴보았다. 웨이퍼의 제조는 혼합된 분말을 웨이퍼 제작용 몰드에 넣은 후 프레스를 이용하여 일정 압력으로 일정시간 동안 상온에서 가압하여 제조하였다. 제조된 웨이퍼는 약물의 초기함량이 증가할수록 방출속도가 빠르게 나타났으며, 제형의 두께가 두꺼워질수록 시간이 경과함에 따라 약물의 방출속도가 증가하였다. 또한 고분자의 분자량이 큰 것이 작은 것에 비해 상대적으로 초기 약물 방출량이 적고 방출되는 속도 또한 느려져, 저분자보다 오랫동안 약물이 방출되었다. 이러한 약물전달 시스템은 압축성형방법에 의해 제조하므로 제조가 간단하고, 약물방출속도를 정확하게 제어할 수 있으므로 이식을 위한 제형으로 제조시 유용하게 쓰일 것으로 예상되었다.

ABSTRACT : Implantable biodegradable wafers were prepared with pamidronate-loaded poly(L-lactide-co-glycolide) (PLGA, 75 : 25 mole ratio by lactide to glycolide, molecular weight ; 20000 and 90000 g/mole) by direct compression method for the sustained release of pamidronate to investigate the possibility for the treatment of bone resorption. Pamidronate-loaded PLGA powders were prepared by means of physical mixing and spray drying with the control of formulation factors and characterized by scanning electron microscope and X-ray diffractometer. The pamidronate-loaded PLGA powders fabricated into wafers by direct compression under the constant pressure and time at room temperature. These wafers were also observed for their structural characteristic, release pattern, and degradation pattern. The release rate of pamidronate increased with increasing their initial loading ratio as well as increasing wafer thickness. The molecular weight of PLGA affects the release pattern ; the higher molecular weight of PLGA, the faster release rate. It can be explained that the higher viscosity of high molecular PLGA solution at same concentration tends to aggregate PLGA and pamidronate resulting in unstable pharmaceutical dosage form. This system had advantages in terms of simplicity in design and obviousness of drug release rate and may be useful as an implantable dosage form for the treatment of aural cholesteatoma.

Keywords : pamidronate, PLGA wafers, implantable dosage form.

서 론

파미드로네이트는 파이로포스페이트의 유도체인 비스포스포네이트의 하나로서 3-amino-1-hydroxy-propylidene-1,1-bisphosphonate (APD)라고도 불리며 파골 세포의 골 재흡수 작용을 억제하여 악성 종양에 의한 고칼슘 혈증, 골 용해성 골 전이, 파렛씨 병의 치료에 사용되고 있다. APD는 골파괴에 의해 중대한 합병증을 초래하는 중이 진주종에서 골흡수 억제제로서 사용되며 치료기전은 APD가 골 기질에 있는 수산화인회석에 결합하여 APD가 고농도일 경우 직접 파골 세포의 세포막을 손상시킴으로써 파골 세포의 골재흡수기능을 억제하고 반면, 저농도일 경우 파골 세포의 전구체가 골 기질에 결합하는 것을 막아 파골 세포가 성숙되는 것을 억제하는 것으로 알려져 있다.¹⁻³

APD의 일반적인 투여는 중증도의 고칼슘혈증 (보정치 3.0~3.4 mmol/L)에는 4~24시간 동안 60~90 mg을 1회 정맥주사로 투여하고, 심한 고칼슘혈증 (> 3.4 mmol/L)에는 90 mg을 4~24시간 동안 1회 정맥 투여하게 된다. APD는 경구 투여시 생체 이용률이 0.15~3%정도로 매우 낮아서⁴ 경구투여시 300 mg/day, 정맥 주사로 90 mg/day 까지 적용된다.⁵ 또한 정맥주사로 APD를 투여했을 때 동물 실험에서는 투여량의 50%가 뼈에 분포하며 간, 신장, 비장에 소량의 양이 축적되고 대사되지 않는다.⁶

본 연구의 대상인 중이 진주종은 우리 나라 인구의 약 0.5%의 유병율을 보이는 비교적 흔한 만성 질환으로⁷ 주변 조직을 파괴하며 심각한 합병증을 초래할 수 있어 반드시 수술적 방법으로 제거하여야 하는 질환 중의 하나이다. 대부분의 중이 진주종에 의한 합병증은 주변 골 조직의 파괴에 기인하므로 이 과정을 차단할 수 있으면 병변을 수술적 방법으로 제거하지 않더라도 심각한 합병증으로부터 위협받지 않는 상태를 유지할 수 있을 것이다. 그러나 이러한 진주종의 치료를 목적으로 APD를 전신적으로 투여하였을 때 발생할 수 있는 부작용, 즉 일시적으로 발생하는 발열,⁸⁻¹¹ 정맥주사시 특히 파렛씨병 환자에게서 권태감, 투여부위의 혈전성 정맥염, 저인산혈증, 투여초기의 골통증의 증가가 나타나며,^{10,12-14} 경구투여시에는 용량 의존적으로 오심, 복통 그리고 일시적인 백혈구 감

소증 등이 발생한다.¹⁵ 이 때문에 전신적 부작용을 최소화하고, 중이의 국소 병변에서 약물의 농도를 높게 유지하기 위하여 국소 지향성 약물 전달 체계를 이용한 시도의 당위성이 제시되어 오고 있다.¹⁶⁻²⁰

약물전달에 적합한 서방성 의약 제제에 사용되는 고분자는 생체 내에서 완전히 분해되어 몸밖으로 안전하게 배출되어야 하므로, 생분해성이면서 무독성이어야 한다. 또한 약물을 장기간 동안 방출시켜야 하기 때문에 락타이드-글리콜라이드 공중합체 (PLGA)를 약물 운반체로 사용하였는데 이는 미국 식품의약청으로부터 약물 전달체²¹⁻³⁵ 및 조직공학용 담체로³⁶⁻⁴¹ 사용을 허가받은 유일한 합성고분자이기 때문이다.

본 연구에서는 국소 부위에서 영차로 약물을 방출할 수 있는 이식형 제제로 서방성 약물 방출 제형을 제조할 목적으로 APD를 함유한 웨이퍼를 직접 압축 성형 방법으로 제조하였다. 이러한 방법은 저분자량의 약물의 방출을 제어하는데 용이하고, 열이나 유기용매를 사용하지 않기 때문에 불안정한 펩타이드나 단백질 약물 등에 응용할 수 있다. 제형의 약물방출과 분해거동 및 약물과의 상호작용을 관찰하기 위하여 APD와 PLGA의 균일한 혼합물의 제조방법, APD의 함유량과 웨이퍼의 두께, PLGA 분자량을 달리하여 이러한 요인들이 약물의 방출에 어떠한 영향을 미치는가를 조사하였다.

실 험

시료 및 시약. 본 실험에서 사용한 PLGA는 분자량 20000과 90000 g/mole (Resomer® RG 752 및 RG 756)로 Boehringer Ingelheim (Ingelheim, Germany)에서 구입하였으며, APD는 Gador사 (Milwaukee, USA)에서 구입하여 사용하였고 이들의 화학구조를 Figure 1에 나타내었다. 내부 표준물질 (internal standard, IS)로 사용한 알렌드로네이트는 Gemino Co. Ltd. (Mumbai, India)에서 구입하여 사용하였다. UV 흡광 및 형광 물질인 1-나프틸이소시아네이트 (NITC)와 과산화수소, 트리에틸아민, 테트라부틸암모늄-브로마이드는 Sigma Chem. Co. (St. Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 물은 Milli-Q 정화장치 (Millipore, Molsheim, France)를 이용, 정제하여 사용하였고, 그 외 모든 화학약품과 유기용매

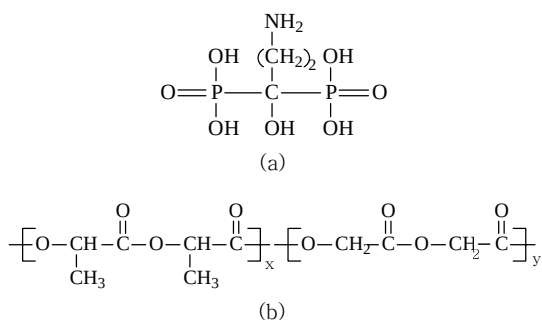


Figure 1. Structures of (a) pamidronate and (b) PLGA.

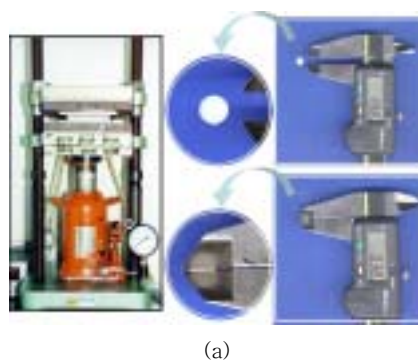
는 HPLC 등급을 사용하였다.

APD와 PLGA의 균일한 혼합물의 제조. 본 연구에서는 PLGA에 결정성이 큰 수용성 약물인 APD를 함유한 웨이퍼를 제조하기 위해 직접 압축성형법을 사용하였으며, 약물이 균일하게 분포된 APD/PLGA 혼합물을 얻기 위해 다음과 같은 두 가지 방법을 사용하였다.

물리적인 혼합 : 분말형태로 된 APD와 PLGA를 균일하게 혼합하기 위해 막자사발에 이용한 물리적인 혼합을 실시하였다. APD 분말을 막자사발에 넣고 입자를 곱게 분쇄시킨 후, 다시 PLGA를 넣고 함께 막자로 혼합하여 APD/PLGA 혼합물을 얻었다.

분무건조법을 이용한 방법 : 정제된 물에 APD를 10% (w/v)의 농도로 용해시키고, PLGA를 10% (w/v)의 농도로 염화메틸렌에 용해시켰다. 용해된 두 용액을 혼합하고, 초강력 초음파분쇄기를 이용하여 에멀전을 형성시켰다. 형성된 에멀전으로부터 상분리가 일어나지 않도록 하기 위해 계속해서 마그네틱바를 이용해서 교반시키면서 형성된 에멀전을 분무건조기 (fluidized bed coater ; top spray method : Uniglatt, Glatt Co., Germany)를 이용하여 유입되는 공기의 온도 50~75 °C에서 유속 5 mL/min의 속도로 분사시키면서 물과 유기용매를 증발시켰다.^{29,32}

APD/PLGA 웨이퍼의 제조 및 함량분석. 위와 같은 방법으로 얻어진 두 종류의 APD/PLGA 혼합물을 직접 압축법을 이용하여 웨이퍼를 제조하였다. 우선, 각 혼합물을 웨이퍼 제작용 몰드에 넣은 후 프레스(MH-50Y CAP 50 tons, Japan, Figure 2)를 이용하여 상온에서 40 kg/cm²의 압력으로 10분간 가압하여 각



(a)



(b)

Figure 2. Photographs of (a) press and prepared wafer and (b) mold for APD-loaded PLGA wafer.

각의 웨이퍼를 제조하였다.^{26,28,30,33} APD를 함유한 PLGA 서방성 제형은 APD와 PLGA의 혼합 방법, 제형의 두께, 초기 약물의 함유량 및 고분자의 분자량별로 제조하였다. (Tables 1 및 2) 얻어진 APD/PLGA 혼합물의 분산정도를 조사하기 위하여 각각 두 가지의 경우에 대해 시료를 채취하여 (n = 5) 약물의 함량을 측정하였다. 시료는 각각 10 mg씩 취하였으며, 채취한 시료를 1 mL 염화메틸렌에 녹인 후 20 mL의 물을 다시 넣어서 약물을 추출하였다. 다시 이것을 원심분리하여 상층의 수용액의 약의 농도를 분석하였다.

시료의 전처리. 모든 시료는 UV 흡광 및 형광 물질인 NITC를 화학적으로 결합시키기 위한 전처리 과정을 거친 후 분석하였으며 Figure 3에 간략히 도식화하였다.^{42,43} 우선 APD가 녹아있는 시료 200 µL를 1.5 mL 튜브에 넣고, 약물의 관내 벽에 흡착을 방지하기 위해 1 mg/mL 농도의 에티드르네이트 용액 20 µL, 트리에틸아민 30 µL, 그리고 피리딘에 20 mg/mL의

Table 1. List of the Variables of Formulation of Physical Mixing Method (Molecular Weight ; 20000 g/ mole)

	initial loading amount of APD (%)	APD (mg)	PLGA (mg)
P-1	10	0.8	9.2
P-2	20	2.4	7.8
P-3	40	4.0	6.0

Table 2. List of the Variables of Formulation of Spray Drying Method

	polymer concentration (%)	initial loading amount of APD (%)	H ₂ O (mL)	drug content (%±SD)
SD-1	5	20	12	109.2±10.2
SD-2	10	20	12	117.6±7
SD-3	10	20	-	65.76±11.6
SD-4	10	40	-	116.1±5.5
SD-5	5	20	-	58.6±5.6
SD-6	5	40	-	76.6±12.8

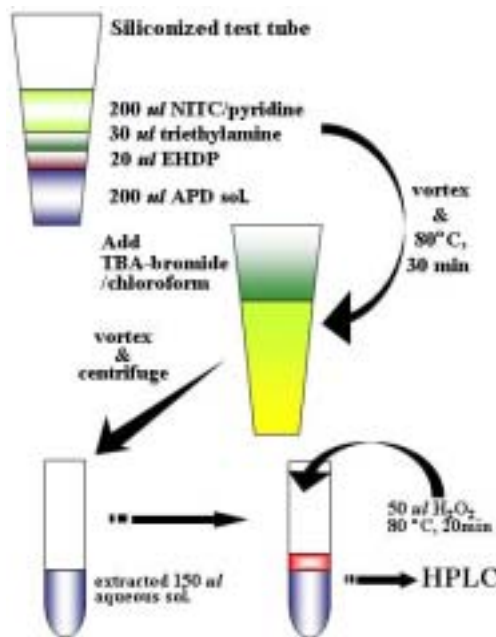


Figure 3. Schematic diagram of NITC tagging procedure.

농도로 녹인 NITC 용액 200 μ L를 차례로 넣고, 각각의 단계마다 투명한 상태가 될 때까지 보텍스 혼합

(Max MixII, Thermolyne, USA)과정을 거쳤다. 투명한 용액은 80 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시키고, 이온착화 화합물인 테트라부틸암모늄-브로마이드를 10 mg/mL의 농도로 클로로포름에 녹인 용액 800 μ L를 넣고, 보텍스 혼합과 10,770 g의 원심 분리과정을 거친 후 유기층을 분리해내고, 상층의 수용액 150 μ L를 얻었다. 150 μ L의 수용액에 0.2% 과산화수소 50 μ L를 넣고 보텍스 혼합 후 다시 80 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응 과정을 거침으로써 카바밀 유도체로의 전환을 억제하고 안정한 치오카바밀아미노 (비스)포스포네이트로 불안정한 시료를 안정하게 하였다.^{42,44} 이렇게 얻어진 200 μ L의 용액 중 50 μ L를 주입하여 분석을 실시하였다.

제형의 형태학적 특성 및 물리화학적 특성 관찰. 제조된 APD/PLGA 혼합물 및 웨이퍼의 표면 및 내부 형태를 전자 주사현미경 (SEM, S-2250N, Hitachi, Japan)을 이용하여 관찰하였다. SEM 사진을 찍기 위해 양면 테이프를 붙인 금속판 위에 충분히 건조한 샘플을 고정시킨 후 플라즈마 스퍼터 (K575, Emitech, Germany)를 이용하여 아르곤 분위기 하에서 90초 동안 백금으로 코팅하였다. 또한 웨이퍼의 표면 및 단면을 관찰하기 위해 샘플을 액화질소에 넣어 동결시켜 단면을 얻었으며 결정학적 구조는 X선 회절 분석기 (XRD, D/MAX III, Rigaku, Japan)를 40 kV의 전압과 25 mA의 전류에서 분당 4 $^{\circ}$ 의 각도로 2 θ 값을 1.5~50 $^{\circ}$ 의 범위에서 분석하여 각각의 제형을 분석하였다.

생체의 방출 실험. 제조된 웨이퍼로부터 APD의 방출 경향을 조사하기 위하여 웨이퍼를 50 mL vial에 40 mL 인산완충용액 (PBS, pH 7.4)에 넣어 방출 실험을 실시하였다. 시료 vial은 37 $^{\circ}$ C, 항온 항습기에서 일정한 속도로 흔들며 주면서 일정기간 동안 정해진 시간에 분석시료를 주기적으로 채취하였으며, 채취한 양만큼의 PBS를 보충하여 주었다.

HPLC를 이용한 약물의 정량분석. 생체의 시료의 APD의 정량분석은 자동주입기가 장착된 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)를 이용하였고, 분석장치는 UV 흡광 검출기 (UV 1000, Spectra System, USA)와 형광 검출기 (8450 Fluorescence, Bischoff, USA)를 병용하여 수행하였다. 사용된 칼럼은 Nova-Pak C₁₈ (3.9 $\times$ 150 mm Column, Waters)칼럼을 사용하

였으며 분당 1 mL의 유속으로 20분간 이루어 졌다. UV 흡광 검출기의 검출 파장은 285 nm이고, 형광 검출기의 검출 파장은 방출파장과 여기파장을 각각 285 nm와 390 nm로 하였으며, 이동상은 pH 7.5의 20 mM PBS에 테트라부틸암모늄-브로마이드 1.612 g, 에티드로네이트 1.03 g을 첨가한 후, 이 용액과 아세트나이트릴과 75:25의 부피비로 혼합한 후 탈 가스 과정을 거쳐 사용하였다.^{42,44}

결과 및 고찰

고분자와 약물 혼합물의 물리화학적 특성. 본 연구에서는 APD와 PLGA의 혼합물을 얻기 위해 물리적 혼합법과 분무건조법을 이용하였다. Figure 4는 각각의 방법에 의해 얻어진 APD/PLGA 혼합물의 XRD 패턴을 보인 것이다. 모델 약물인 APD는 고유의 매우 높은 결정성을 나타내었고, 매트릭스 물질로 사용

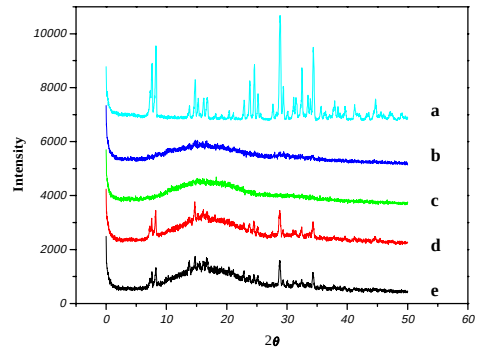
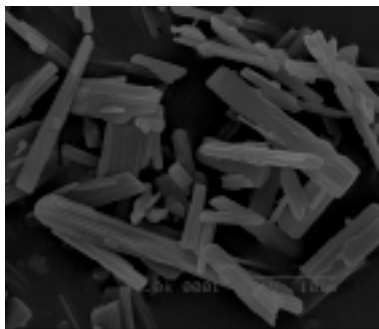


Figure 4. X-ray diffraction of (a) pamidronate, (b) PLGA, (c) spray drying (75 °C), (d) spray drying (50 °C), and (e) physical mixing for PLGA (molecular weight 20000 g/mole) and initial drug loading amount 20%, respectively.

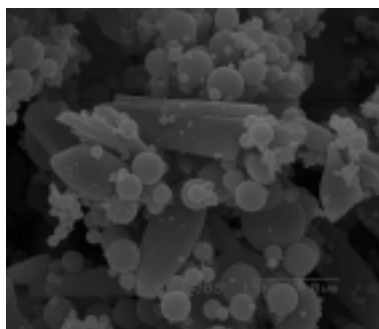
된 PLGA는 비결정성을 나타냄을 보여주고 있다. 또한 분자량 20000 g/mole의 PLGA에 물리적 혼합의



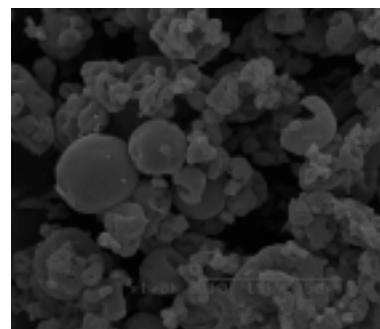
(a)



(b)



(c)



(c)

Figure 5. SEM photographs of crystalline for (a) pamidronate disodium ($\times 1000$) (b) physical mixing (20%, $\times 3000$), (c) spray drying at 50 °C (20%, $\times 3000$), and (d) spray drying at 75 °C (20%, 75 °C, $\times 1000$).

경우 APD의 결정성 피크가 여전히 보이는데, 이는 APD/PLGA 혼합물이 물리적으로 단순한 혼합상태에 있어, 약물이 PLGA에 의해 포접되지 못하였기 때문이다.³⁰

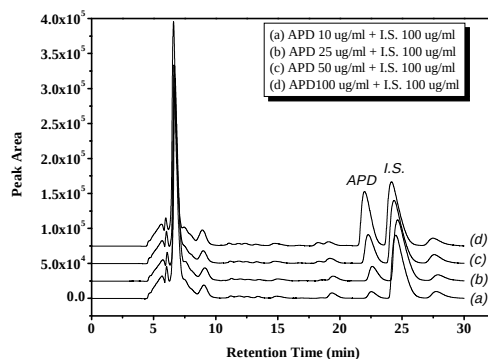
분무건조를 한 경우는 APD의 결정성 피크가 나타나는 경우 (Figure 4(c))와 나타나지 않는 경우 (Figure 4(d))가 관찰되었다. 이는 분무건조를 하기 전 용액의 상태 차이 때문인 것으로 사료된다. Figure 4(c)의 경우는 약물과 고분자를 각각 물과 MC에 용해시킨 후 혼합하여 유화용액 상태로 분무건조하였고, 사용된 물을 증발시키기 위해 온도를 75 °C까지 상승시킨 반면 Figure 4(d)는 PLGA/MC 용액에 APD를 단순 분산시켰기 때문에 온도를 50 °C로 하였다. 때문에 Figure 4(c)의 경우는 형성된 유화용액의 용매인 물과 MC가 증발되면서 APD 입자가 PLGA입자에 포접되어 미립구 형태를 띠면서 잘 혼합된 상태에서 석출되었으며, Figure 4(d)의 경우는 APD 입자가 크고, 골고루 분산이 이루어지지 않았으며, 포접이 완전하게 이루어지지 않으므로 인해 약물의 결정성이 그대로 나타나게 되었다.²⁶

APD, PLGA 그리고 각각의 방법으로 제조된 혼합물의 형태를 SEM을 이용하여 관찰하였다. Figure 5(a)는 APD의 SEM 사진으로 막대 형태로 높은 결정성 입자의 형태를 하고 있음을 알 수 있다. Figure 5(b)는 물리적 혼합법으로 얻어진 것으로 막대모양의 APD가 PLGA와 더불어 뚜렷하게 보이고, Figure 5의 (c)와 (d)는 분무건조법을 사용하여 얻은 혼합물의 SEM 사진이다. (c)의 경우는 APD를 물에 녹이지 않고 PLGA 용액 속에 고체상태로 분산시킨 것을 분무건조한 것으로 입자 자체의 형태를 그대로 유지한 채로 PLGA 알갱이와 혼합되어 있는 것을 볼 수 있다. (d)의 경우는 APD와 PLGA를 각각 물과 MC에 녹인 후 유화용액을 형성시켜서 분무건조한 것이다. 사용된 물을 제거하기 위해 온도를 50 °C에서 75 °C로 상승시켰으며, 얻어진 형태는 결정성 약물입자가 완전히 사라지고, APD와 PLGA가 골고루 혼합된 채로 분산되어 건조된 미립구 형태를 띄고 있음을 알 수 있어 Figure 4의 XRD 분석과 동일하게 측정된다. 이러한 미립구의 형태학은 약물의 방출 패턴에도 영향을 미치게 된다.^{28,32}

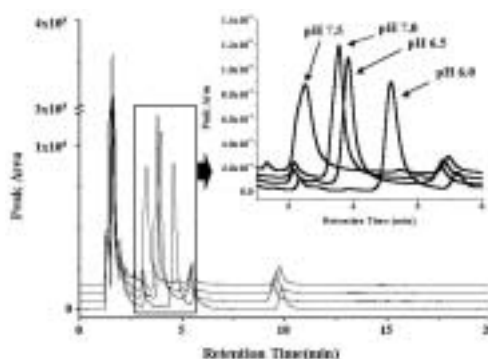
결과적으로 APD와 PLGA를 혼합하기 위해 사용된 두가지 방법 중에서 APD와 PLGA를 각각 물과

MC에 녹여서 유화용액을 만든 후 75 °C에서 분무건조를 한 혼합물의 형태가 가장 적합하였다.

APD의 HPLC 분석. PBS에서의 APD의 검출을 위해 Nova-Pak C₁₈ (3.9×150 mm Column, Waters) 칼럼을 이용하여 약물 분석을 실시하였다. 표준시료의 농도는 10~250 µg/mL로 하였다. 그 결과 APD는 약 4~5분 정도에서 특성 피크가 출현하였다(Figure 6). 내부 표준물질은 알렌드로네이트를 100 µg/mL의 농도로 50 µL를 첨가하여 주었고, 그 결과는 Figure 6(a)와 같다. 그림에서 보듯이 내부 표준 물질과 APD의 특성 피크가 겹치지 않고 잘 분리됨을 알 수 있다.³⁰ 또 이동상의 pH 변화에 따라 약물 특성 피크의 이동 양상을 관찰하기 위해 이동상의 pH를 6.0, 6.5, 7.0, 그리고 7.5로 각각 변화시켜 분석을 실시하였다. 그 결과 pH가 낮아질수록 APD의 특성 피크의 출현



(a)



(b)

Figure 6. Chromatograms of (a) pamidronate disodium and alendronate sodium trihydrate (IS) and (b) effect of pH of mobile phase on peak retention time.

시간이 늦어짐이 관찰되었다(Figure 6(b)). 이는 PLGA가 분해하면서 동반되는 pH 변화에 대한 약물의 분석에 중요할 것으로 사료된다.

초기약물 함유량에 따른 경향. 물리적 방법으로 혼합하여 얻은 APD /PLGA 혼합물로 제조한 웨이퍼로 37 °C PBS에서 생체의 방출 실험을 실시하였다. 약물은 각각 10, 20 및 40%가 함유되어 있으며, 방출 패턴은 Figure 7에 나타나 있다. 약물의 초기함량이 많을수록 방출속도가 빠르게 나타나며, 100%의 방출도 빠르게 일어남을 알 수 있다. 이는 약물이 많을수록 상대적으로 초기에 PBS에 노출되는 양이 많고, 또한 채널을 형성하기가 그만큼 용이해지기 때문이다. 또한 초기방출 후 며칠 동안 약물의 방출량이 적음을 볼 수 있는데 이는 이 기간 동안은 표면의 약물이 모두 녹아 없어지고 고분자 매트릭스 내부로 물이 침투하여 채널을 형성하는 기간으로 사료되고 약물의 함유량이 적을수록 채널 형성을 위한 지연시간이 길며, 여러번 나타남을 알 수 있다.²⁸ Figure 8은 물리적 혼합방법으로 제조된 웨이퍼의 생체의 방출 실험 전과

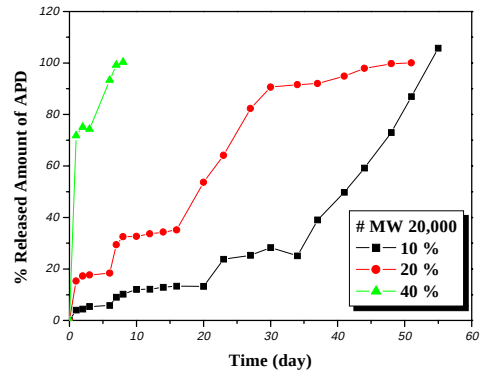


Figure 7. Percent release profiles of APD from APD/PLGA wafers (diameter = 5 mm, thickness = 0.4 mm) with different loading amount by physical mixing method.

후의 SEM 사진이다. 방출전의 매끄러운 표면과 약물의 흔적이 12일간의 방출 후에는 기공이 생기고, 내부 모습 또한 높은 다공도를 보였다. 또한 8주 후에는 기계적 강도가 거의 없고, 스폰지처럼 부풀어 있

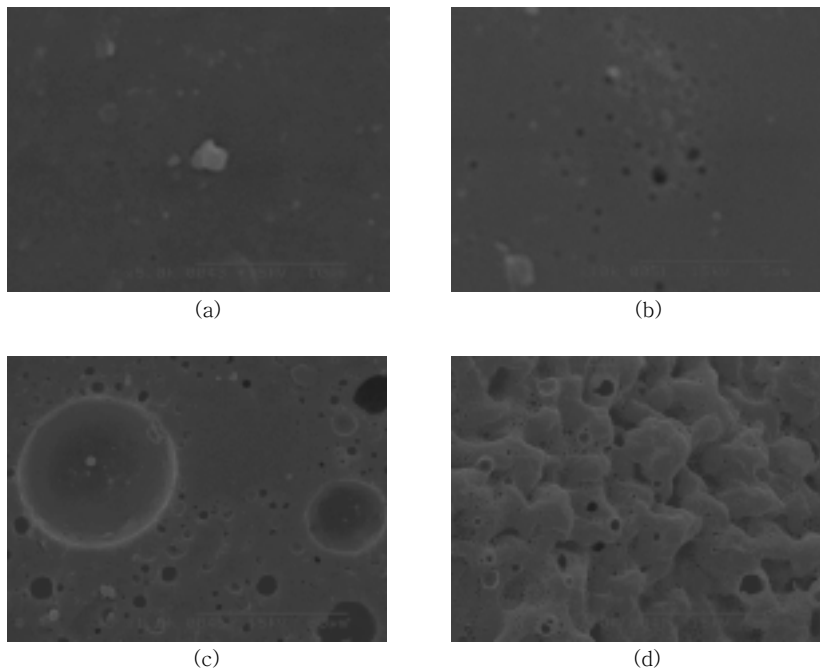


Figure 8. SEM microphotographs of APD/PLGA wafers. (a) Surface (before in vitro release, ×1000), (b) surface (after 12 days, ×1000), (c) cross-section (after 12 days, ×1000), and (d) surface (after 8 weeks, ×1000).

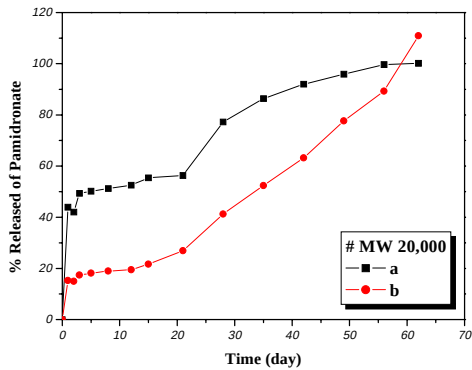


Figure 9. Effect of mixing methods as (a) physical mixing, and (b) spray drying on the pattern of release profiles of APD from APD/PLGA wafers. (diameter = 5 mm, thickness = 0.4 mm, initial drug amount = 20 %).

었으며, 표면 또한 매우 높은 다공도를 보였다. 이를 통해 PLGA 웨이퍼의 약물 방출은 PLGA의 분해에 의한 방출보다는 미디어의 침투에 의해 형성된 채널에 의한 방출이 보다 지배적임을 예측할 수 있다.^{27,30,34}

APD와 PLGA 혼합물의 제조에 따른 방출 경향. 물리적인 방법에 의한 혼합물과 분무건조에 의한 혼합물을 이용한 웨이퍼의 방출경향은 Figure 9에 나타난 바와 같이 약물의 함량이 각각 20 %의 경우 물리적인 방법에 의한 혼합물의 경우보다 분무건조에 의한 혼합물로 제조한 웨이퍼의 방출경향이 비교적 영차방출에 가까운 경향을 보였다. 이는 물리적인 방법에 의해서 제조된 웨이퍼의 경우 약물이 고분자에 포접되지 못하였으며, 분무건조에 의해 제조된 웨이퍼의 경우 고분자가 약물을 잘 포접하여 약물이 일정하게 방출되는데 영향을 미쳤으리라 사려되며, 이는 Figure 4의 XRD의 분석과 Figure 5의 SEM에서도 관찰되었다.

제형의 두께에 따른 방출 경향. 0.2, 0.4, 0.8 및 2.0 mm의 두께 (직경: 5 mm)로 분무건조 혼합물을 각각 웨이퍼로 제조하고, 방출 실험을 실시하였다. 웨이퍼의 두께가 두꺼워 짐에 따라 초기 방출속도가 감소함을 알 수 있었으며 (Figure 10), 또한 두께와 관계없이 초기에 방출되는 APD의 양은 거의 유사하나, 시간이 지날수록 방출되는 약물의 양이 증가함을 알

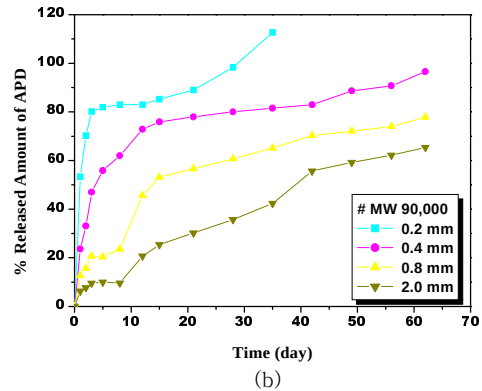
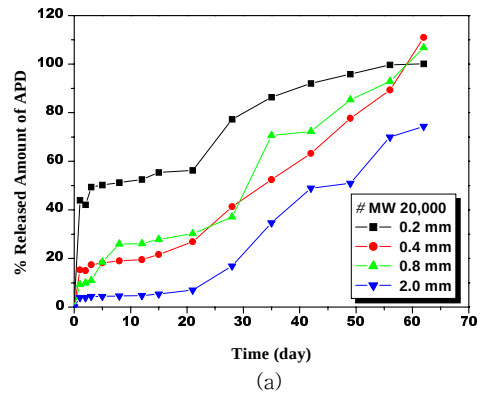


Figure 10. Effect of wafer thickness on release profiles of APD from APD/PLGA with (a) 20000 and (b) 90000 g/mole of PLGA by spray drying method.

수 있고, 두께가 두꺼워질수록 채널 형성을 위한 지연시간 이후 약물이 방출되는 속도가 급격히 빨라짐을 알 수 있었다. 이는 제형이 두꺼워짐에 따라 웨이퍼 개당 함유된 약의 양은 직선적으로 증가하여 총 함유량은 증가하나 비 표면적은 1 이하의 유리수 배로 증가하므로 초기에 미디어에 의해 용해되어 나오는 표면에 분포하는 약물의 양은 크게 변화하지 않기 때문이다. 그리고 제형의 두께가 두꺼워질수록 시간이 경과함에 따라 약물이 방출되는 양이 증가하는데 이는 미디어가 침투하여 약물이 방출될 수 있는 채널이 상대적으로 증가하기 때문인 것으로 생각된다.³³

분자량에 따른 방출 경향. Figure 11은 분자량에 따른 약물의 방출 패턴을 보인 것이다. 일반적으로 분자량이 크면 분자 사슬이 끊어지기 어렵고 미디어의 침투에 의한 채널의 형성이 어렵기 때문에 분자량

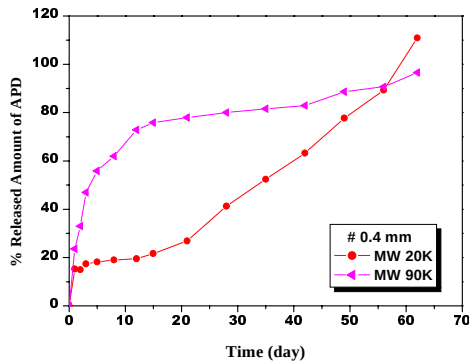
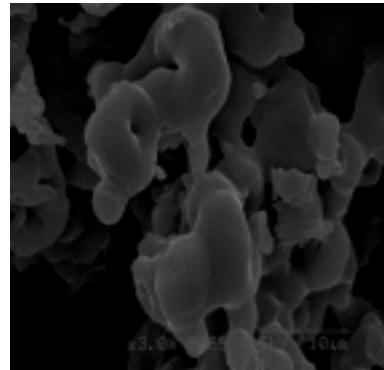


Figure 11. Effect of molecular weight on released amount of APD from APD/PLGA wafers (drug load – ing amount = 20 %).

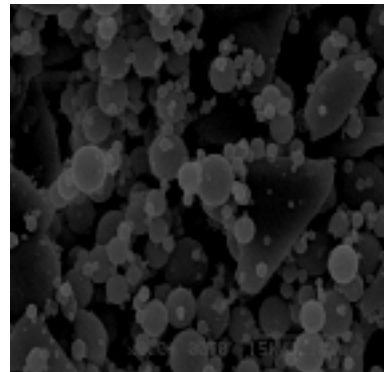
이 증가할수록 초기 방출량이 적고, 방출되는 속도 또한 느려져, 저분자 보다 오랫동안 약물이 방출된다.²¹ 이러한 일반적인 방출 경향과는 반대로 본 실험의 결과는 두께의 변화에 관계없이 분자량이 높은 고분자가 낮은 고분자에 비해 방출속도가 빨랐다. 이는 분무건조법에 의해 얻어진 APD/PLGA 혼합물의 형태학을 관찰함으로써 설명될 수 있다. Figure 12는 분무건조법에 의해 얻어진 APD/PLGA 혼합물의 SEM 사진을 보인 것이다. 분자량이 상대적으로 작은 20000 g/mole의 경우에는 약물의 결정 형태가 보이지 않고, 미립구 형태를 띄고 있다. 이에 비해 분자량 90000 g/mole의 경우는 높은 분자량으로 인한 고분자 용액의 높은 점도로 인해 입자가 엉겨 붙은 형태를 띄고 있다. 때문에 미디어에 의해 약물이 용해되고, 채널을 형성하여 방출되는데 있어서 미립구 형태로 보다 안정하게 존재할 수 있는 분자량 20000 g/mole의 웨이퍼가 분자량 90000 g/mole의 웨이퍼보다 서서히 방출되어진 것으로 사료된다.

결 론

중이 진주층은 비교적 발생 빈도가 높은 질환으로서 종양의 성장에 의한 골의 재흡수와 청각 장애를 일으킬 수 있으며, 장기간 치료를 요구한다. 이러한 질환을 치료하기 위해서는 반드시 외과적인 수술을 통해서 병변을 제거하고 2차적인 치료노력이 계속되어야 한다. 그러나 생분해성 고분자인 PLGA를 이용하여 약물을 함유한 이식형 제형을 제조하고, 간단하



(a) MW 90000 g/mole



(b) MW 20000 g/mole

Figure 12. SEM photographs of spray dried APD/PLGA powder (a) 90000 and (b) 20000 g/mole of PLGA.

게 환부에 이식함으로써 1차적으로 종양을 제거하기 위한 큰 수술을 피할 수 있으며, 2차적으로는 한번 이식함으로써 약 8주 동안 환부에만 높은 약물 농도를 유지할 수 있으므로 최대의 치료 효과를 발휘할 수 있다. 또한 사용된 PLGA는 생체적합성이면서 생분해성 고분자로서 치료 후 물과 이산화탄소로 분해되어 생체 내에서 흡수되므로 웨이퍼 제거를 위한 2차적인 수술이 필요 없다는 이점이 있다.

본 연구에서는 분해속도를 일정하게 제어할 수 있는 대표적인 생체적합성 PLGA를 이용하여 수용성 약물을 서서히 방출하는 제형을 제조하였고, 생체외에서 이들 제형의 방출거동을 관찰하였다. 실험결과에서 논의한 바와 같이 약물의 함유량과 제조 조건을 달리하여 여러 가지 형태의 방출패턴을 얻을 수 있었

다. 본 실험에서 이용된 PLGA는 분자량이 20000 g/mole과 90000 g/mole인 고분자를 사용하였는데 채널을 통한 확산에 의한 단순확산에 이어 고분자 매트릭스의 분해에 의한 약물방출이 이루어졌다. 이러한 생분해성 고분자를 이용한 직접 성형방법은 유기 용매와 접촉하지 않으므로 잔류용매에 의한 단점이 없고, 미립구 등의 용매증발법으로 제조하는데 제한이 있는 약물과 펩타이드와 단백질 약물같이 불안정한 약물을 서방형으로 전달하는 제형을 제조하는데 유리하다.

이를 기반으로 분자량별 서방성 기구 관찰과 실험 동물을 통한 생체내의 실험을 통해 중이 진주종에 의한 골 재흡수 치료에 효과를 기대하고 있다.

참 고 문 헌

1. K. Adachi and R. A. Chole, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, **99**, 738 (1990).
2. A. C. Richardson, S. P. Tinling, and R. A. Chole, *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, **109**, 623 (1993).
3. G. A. Rodan and H. A. Fleisch, *J. Clin. Invest.*, **97**, 2692 (1996).
4. D. J. Dodwell, A. Howell, and J. Ford, *Br. J. Cancer*, **61**, 123 (1990).
5. S. J. Gallacher, S. H. Ralston, U. Patel, and I. T. Boyle, *Lancet*, **2**, 42 (1989).
6. J. C. Cal and P. T. Dalzy-Yates, *Toxicology*, **65**, 179 (1990).
7. C. S. Kim, H. W. Hong, B. H. Nam, S. H. Oh, and I. T. Kim, *Korean J. Otolaryngol.*, **36**, 459 (1993).
8. A. R. Moron, J. A. Cantril, A. E. Craig, A. Howell, and M. Davies, *Br. Med. J.*, **296**, 811 (1988).
9. S. H. Ralson, S. J. Gallacher, U. Patel, F. J. Dryburgh, and W. D. Fraser, *Lancet*, **2**, 1180 (1989).
10. H. J. Kim, I. S. Park, and J. L. Lim, *Korean J. Otolaryngol.*, **41**, 307 (1998).
11. W. B. Frijink, O. L. M. Bijvoet, J. Te Velde, and G. Heynen, *Lancet*, **1**, 799 (1988).
12. S. H. Ralston, M. D. Gardner, F. J. Dryburgh, and A. S. Jenkins, *Lancet*, **2**, 907 (1989).
13. J. den Jartigh, R. Langebrook, and P. Vermeji, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **11**, 977 (1993).
14. C. A. Mautalen, C. A. Casco, D. Gonzalez, G. R. Ghiringhelli, and C. Massironi, *Br. Med. J.*, **288** (1984).
15. A. Fitton and D. McTavish, *Drugs*, **41**, 289 (1991).
16. G. Khang, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **12**, 4 (2001).
17. G. Khang and H. B. Lee, "Biomedical Polymer", Korean Chemical Society Press, Munundang, Seoul, 2001.
18. D. S. Moon, G. Khang, H. S. Seong, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 107 (2000).
19. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, "Controlled Drug Delivery : Designing Technologies for the Future", ACS Symp. Series 752, eds. by K. Park and R. J. Mersny, p. 385, ACS Washington D.C., 2000.
20. G. Khang, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polym. Sci. Tech.*, **12**, 239 (2001).
21. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **7**, 79 (1999).
22. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 49 (1999).
23. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, *Polymer Preprints*, **40**, 288 (1999).
24. G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 80 (2000).
25. J. C. Cho, G. Khang, H. S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**, 728 (2000).
26. G. Khang, H. S. Choi, J. M. Rhee, S. C. Yoon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 253 (2000).
27. W.-I. Son, D. I. Yun, G. Khang, B. S. Kim, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 92 (2000).
28. H. S. Choi, S. W. Kim, D. I. Yun, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 334 (2001).
29. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **4**, 95 (2001).
30. S. A. Seo, H. S. Choi, D. H. Lee, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 884 (2001).
31. H. S. Choi, G. Khang, H. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
32. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **4**, 95 (2001).

- Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
33. S. A. Seo, H. S. Choi, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **239**, 93 (2002).
34. T. K. An, H. J. Kang, D. S. Moon, J. S. Lee, H. S. Seong, J. K. Jeong, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 670 (2002).
35. S. A. Seo, H. S. Choi, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Macromol. Res.*, **10**, in press (2002).
36. G. Khang and H. B. Lee, in "Methods of Tissue Engineering", eds. by A. Atala and R. Lanza, section II, chap. 67, p. 771, Academic Press, New York, 2001.
37. G. Khang, I. Jo, J. H. Lee, I. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 640 (1999).
38. G. Khang, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **10**, 732 (1999).
39. G. Khang, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **12**, 527 (2002).
40. S. J. Lee, G. Khang, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **13**, 197 (2002).
41. G. Khang, C. S. Park, J. M. Rhee, S. J. Lee, Y. M. Lee, I. Lee, M. K. Choi, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **9**, 267 (2001).
42. R. W. Sparidans, J. den Hartigh, J. J. Beijnen, and P. Vermeij, *J. Chromatogr. A*, **782**, 211 (1997).
43. R. W. Sparidans, J. den Hartigh, J. H. Beijnen, and P. Vermeij, *J. Chromatogr. B*, **696**, 137 (1997).
44. R. W. Sparidans, J. den Hartigh, J. H. Beijnen, and P. Vermeij, *J. Chromatogr. B*, **705**, 331 (1998).