

BCNU 를 함유한 생분해성 PLGA 웨이퍼의 특성분석

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

전북대학교 유기신물질공학과, *한국화학연구원 생체고분자연구실

삼천당제약 중앙연구소, *카톨릭의대 신경외과

(2002년 7월 5일 접수, 2002년 9월 10일 채택)

Characteristics of BCNU-loaded PLGA Wafers

Tae Kun An, Hui Jung Kang, Jin Soo Lee, Hasoo Seong*,

Je Kyo Jeong**, Gilson Khang, Yongkil Hong***, 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,

Yongdeungpo, Seoul 150-037, Korea

***Department of Neurosurgery, Catholic University Medical School,

505 Banpo Dong, Seocho Ku, Seoul 137-040, Korea

†e-mail : hblee@kriect.re.kr

(Received July 5, 2002; accepted September 10, 2002)

요 약 : 항암제가 함유된 생분해성 고분자 디바이스를 이용한 국소전달요법은 종양 부위에 고농도로 약물을 전달시킬 수 있는 이유로 약물의 효율성을 증가시킬 수 있다. 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitro-sourea (BCNU, carmustine)는 뇌종양 치료를 위하여 가장 일반적으로 사용되는 화학요법적 약물이다. 표적 부위까지 항암제를 효과적으로 전달하기 위한 이식제의 설계는 중요한 인자이다. 본 연구에서 약물의 방출경향을 조절하기 위해서 생분해성 웨이퍼의 첨가제와 다양한 제형 변화로부터 BCNU의 방출 패턴을 조사하였다. 각각 3.85, 10, 20 및 30%의 BCNU를 함유한 PLGA 웨이퍼를 다양한 형태 (직경 3, 5 및 10 mm, 두께 0.5, 1 및 2 mm)로 직접 압축성형법에 의해 제조하였다. 생체의 방출실험에서 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼로부터 약물 방출거동은 웨이퍼의 초기 약물 함유량, 무게, 직경, 두께, 부피, 표면적 및 PLGA 분자량뿐만 아니라 첨가제의 종류와 같은 다양한 변수로 조절됐다. 웨이퍼로부터 약물의 방출은 BCNU 함유량 및 염화나트륨 (NaCl)과 폴리엔비닐피롤리돈 (PVP)이 증가할수록 촉진되었다. 또한, BCNU가 함유된 PLGA 웨이퍼의 무게와 형태변화에 대한 조사를 통하여 다양한 기하학적 인자들과 첨가제의 효과를 고찰하였다.

ABSTRACT : Interstitial therapy using biodegradable polymeric device loaded with anticancer agent can deliver the drug to the tumor site at high concentration, resulting in an increase of therapeutic efficacy. 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU, carmustine) is most commonly used as chemotherapeutic agent for brain tumors. The design of implantable device is regarded as an important factor for the efficient delivery of antitumor agent to targeting site. In order to control the release profile of drug, the release pattern of BCNU with the changes of various dimension and additives was investigated. The PLGA wafers containing 3.85, 10, 20 and 30% of BCNU were prepared in various shape (diameter of 3, 5 and 10 mm, thickness of 0.5, 1 and 2 mm) by direct compression method. *In vitro* drug release profile of BCNU-loaded PLGA wafers could be controlled by changing the dimension of the wafers such as initial drug content, weight, diameter, thickness, volume and surface area of wafers, as well as PLGA molecular weight and additives. Drug release from BCNU-loaded PLGA wafers was facilitated with an increase of BCNU-loading amount or presence of poly(*N*-vinylpyrrolidone) (PVP) or sodium chloride (NaCl). The effects of various geometric factors and additives on the BCNU release pattern were confirmed by the investigation of mass loss and morphology of BCNU-loaded PLGA wafers.

Keywords : brain tumor, BCNU, PVP, NaCl, wafers.

서 론

뇌종양 치료법은 외과적 수술, 방사선 치료, 전신적 화학요법 등으로 대별되는데 치료약물을 전신적으로 투여하여 뇌에 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.^{1,2} 따라서 혈뇌장막을 파괴하거나 우회하는 방법 등 여러 방법을 통하여 약물을 전달하기 위한 많은 연구들이³⁻⁸ 시도되었으나 이들 중 전신적 화학요법이 아닌 항암제가 함유된 생분해성 고분자 디바이스를 이용한 국소전달요법은 종양부위에 고농도로 약물을 전달시킬 수 있는 이유로 약물의 효율성을 증가시킬 수 있어 많은 연구가 진행되고 있다.⁹⁻²¹ 이는 전통적인 치료법들과 비교할 때 약물이 BBB를 통과해야 하는 문제가 없을 뿐 아니라 높은 생체이용율과 전신부작용을 최소화할 수 있다는 장점이 있다. 실제로 카뮈스틴, 탁솔, 시스플라틴, 그리고 5-플루오로우라실 등의 항종양제를 함유한 고분자 디바이스들이 치료효과와 안정성 등에²²⁻²⁵ 많은 장점이 있어 인간의 재발성 신경교종의 치료에 이용되어 왔다.^{26,27} 현재까지 가장 주목할 만한 연구성과로는 카뮈스틴 (BCNU)이라고 불리는 항암제를 국소에 적용할 수 있도록 서방화하고 이를 이식형으로 체형화한 폴리안하이드라이드 웨이퍼가 있으며 1996년에 FDA로부터 신경교종 절제술에서 보조적인 치료로서 사용하는 것을 허가받아 현재 Gliadel 이라는 상품명으로 길포드사가 독점적으로 공급, 임상에서 이용되고 있다.^{1,28}

전보에서²⁹⁻³¹ 친수성 고분자를 함유하고 있는 BCNU 함유 poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) 웨이퍼들의 방출 거동과 BCNU의 방출 경향에서 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼 내에 포접된 폴리엔비닐피롤리돈 (PVP) 또는 폴리에틸렌옥사이드 (PEO) 와 같은 친수성 고분자들에 대한 효과를 보고하였다. 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 경

향과 분해 거동에서 친수성 고분자의 함량이 증가할수록 BCNU의 초기방출량과 방출속도는 증가됨을 확인하였다. 생체외 방출실험 기간 동안 웨이퍼의 형태 변화와 무게변화를 측정함으로써 친수성 고분자의 함량이 증가할수록 PLGA의 수화와 분해가 촉진됨을 관찰하였다.^{16,17}

이를 바탕으로 본 연구에서는 악성 뇌종양까지 항암제를 효과적으로 전달하기 위한 웨이퍼의 설계에 있어서 중요한 인자로 간주되는 웨이퍼의 무게, 직경, 두께, 체적 및 표면적과 같은 웨이퍼의 다양한 치수 변화에 따른 방출 경향을 조사하였을 뿐만 아니라 염화나트륨 (NaCl) 과 PVP를 첨가하여 제조한 웨이퍼에 대한 효과를 살펴보았다. 또한, 전보에서 장기간 동안 약물을 방출하고자 생분해성 고분자 PLGA 20000과 90000 g/mole이 서방성 약물전달체에 이용되었다. 본 실험에서는 단기간에 걸쳐 약물을 전달할 필요성이 있는 약물전달기구에 응용하기 위하여 PLGA 8000 g/mole을 도입하여 단기제형을 위한 생분해성 고분자의 분자량별 방출경향을 비교하였다.

첨가제로 사용된 NaCl과 PVP는 서방성 제제에서 다공성과 채널형성에 영향을 주며 삼투압을 유도하는 물질로 사용되고, 따라서 미세캡슐로부터 약물의 방출을 조절할 수 있다. NaCl은 물과 더불어 생명활동에 깊이 관여하여, 침투압의 조절이라는 생명유지에 없어서는 안될 구실을 한다. 또한 PVP는 서방화 약물전달체로 수용액에서 pH에 거의 영향을 받지 않으면서 오랜시간 동안 안정한 특성으로 인하여 인공혈액 등으로 이용되어온 생체적합성 고분자이며 무정형 고분자로서 고분자 지지체로부터 난용성 약물의 방출을 향상시킬 수 있다고 보고되었다. 생체외 방출실험에서는 BCNU가 함유된 PLGA 웨이퍼로부터 약물의 방출경향을 HPLC로 분석하였다. 웨이퍼의 무게, 형태 변화에 대한 조사를 통하여 다양한 기하학적 인자들과 첨가제의 효과를 고찰하였다.

실 험

시약 및 재료. BCNU (순도 98%이상, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)는 -20 °C에서 보관하여 사용하였으며 본 실험에서 이용한 생분해성 고분자 재료는 PLGA로서 평균분자량이 각각 8000,

20000과 90000 g/mole (락타이드/글리콜라이드 몰비, 50/50, 75/25 및 75/25, Resomer RG 502 H, 752, 및 756, Boehringer Ingelheim, Germany)인 것을 사용하였다. 첨가제로 사용한 PVP (K-30, ISP Technologies INC., USA)는 평균분자량이 50000 g/mole 인 것을 사용하였으며 NaCl (Showa Chem. Co.)과 함께 약물의 방출시간을 조절하기 위한 수용성 첨가제로써 사용되었다. 생체의 방출실험시 이용한 물은 Milli-Q 정화 시스템 (Millipore, Molsheim, France)을 이용, 정제하여 사용하였다. 메틸렌클로라이드 (MC, Tedia, Japan), 메틸알콜 (Junsei, Japan) 및 기타 시약들은 HPLC 등급을 사용하였다.

BCNU 함유한 PLGA 웨이퍼 제조. 생분해성 고분자인 PLGA와 약물 BCNU는 물리적 혼합에 의해 균일한 미분말을 얻었으며, 얻은 미분말을 가지고 조건별로 직접 압축성형법을 이용하여 웨이퍼를 제조하였다. PLGA에 BCNU를 섞은 미분말을 웨이퍼의 두께, 직경, 초기 약물함유량 그리고, 첨가제 함량 및 종류에 따른 영향 등을 변수로 하여 프레스 (MH-50Y CAP 50 tons, Japan)를 이용하여 상온에서 20 Kg/cm²의 압력에서 5초 동안 가압하여 제조하였다 (Table 1). 제조한 웨이퍼는 형태분석 및 생체의 방출실험 전까지 0 °C에서 보관하였다. BCNU 함유 PLGA 미분말의 결정성은 X선회절분석기 (X-ray diffractometer, XRD, D/Max-III B, Rigaku, Japan)를 사용하여 5°/min의 속도로 2θ의 값을 5~60°의 범위에서 측

정하였다.

생체의 방출실험. 생체의 약물 방출실험을 위하여 조건별로 제조한 각각의 웨이퍼를 20 mL의 인산염 완충 용액 (PBS, pH 7.4)에 침지하고 37 °C로 유지되는 항온조에서 일정기간 동안 60 rpm의 속도로 교반하였다. BCNU는 PBS 및 수용액내에서 반감기가 매우 짧은 약물이므로 방출실험 기간 동안 PBS내로 방출된 BCNU의 양을 검출하는 것은 불가능하다. 따라서 일정시간 방출이후 웨이퍼를 2 mL의 MC에 넣어 고분자와 약물을 녹이고 18 mL의 메탄올로 BCNU가 섞여있는 PLGA를 침전시킨 후 상부의 맑은 용액 1 mL를 취하여 원심 분리한 후 상층액 100 μL를 취하여 HPLC로 분석하였고, 방출실험 이후 웨이퍼에 잔존하는 BCNU의 양을 조사하여 PBS내로 방출된 BCNU의 양을 산출하였다. 생체의 방출실험에서 BCNU의 포접량 및 방출량은 3회 실험한 평균값으로 하였다. HPLC 분석은 UV 검출기 (UV-1000, Thermo Separation Products, Ferment, CA, USA), 펌프 (P-2000, Thermo Separation Products), 자동시료 주입기 (AS-3000, Thermo Separation Products)로 구성된 HPLC를 사용하였다. 컬럼은 μ-Bondapak C₁₈ (3.9×300 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고 이동상은 메탄올을 사용하였고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. 컬럼온도는 상온을 유지하였고 검출파장은 237 nm를 선택하였으며 시료주입량은 20 μL로 하였다.

웨이퍼의 생분해성. BCNU 함유 PLGA 웨이퍼의 분해거동을 관찰하기 위하여 생체의 방출실험과 동일한 조건에서 일정기간 동안 시료를 취한 다음 무게변화를 관찰하였다. 제형의 초기무게를 측정한 후 생체의 방출실험을 실시하였으며, 일정시간 경과 후 수집한 시료를 진공 하에서 24시간 이상 수분을 제거하고 무게의 변화를 측정하였다. 웨이퍼의 무게변화는 각각 다음과 같은 식에 의해서 계산되었다.

$$\text{Percent Remaining (\%)} = W_d / W_0 \times 100 \quad (1)$$

여기에서, W_0 는 웨이퍼의 초기무게이고, W_d 는 일정 방출기간이 경과한 웨이퍼를 건조시킨 후의 무게이다.

웨이퍼의 형태변화는 생체의 방출실험 기간 동안 일

Table 1. List of the Preparation Conditions of BCNU-loaded PLGA Wafers (n=3)

batch	PLGA (g/mole)	drug (%)	weight (mg)	thickness (mm)	diameter (mm)	additives
1	8000	3.85	25	1.0	5	-
2	8000	10	25	1.0	5	-
3	8000	20	25	1.0	5	-
4	8000	30	25	1.0	5	-
5	8000	10	12.5	0.5	5	-
6	8000	10	50	2.0	5	-
7	8000	10	10	1.0	3	-
8	8000	10	100	1.0	10	-
9	20000	10	100	1.0	10	-
10	90000	10	100	1.0	10	-
11	8000	10	50	2.0	5	PVP 40%
12	8000	10	50	2.0	5	NaCl 40%

정시간이 지난 후 PBS로부터 웨이퍼를 추출하고 일정중량이 될 때까지 건조하고 SEM으로 관찰하였다. 생체의 방출실험의 초기와 후기의 웨이퍼의 형태는 전자주사현미경 (scanning electron microscope, SEM, S-2250 N, Hitachi, Japan)을 사용하여 관찰하였다. 양면테이프를 부착한 금속판 위에 시료를 고정하고 후플라즈마 스퍼터 (SC 500K, Emscope, UK)를 이용하여 아르곤 분위기 하에서 90초 동안 코팅하였다. 생체의 방출실험 1일째와 6일째 웨이퍼는 동결건조기를 이용하여 건조한 후 관찰하였다.

결과 및 고찰

약물과 고분자 혼합물의 물리화학적 특성. Figure 1에서 본 실험에서 사용한 BCNU, PLGA 및 PVP 구조를 나타내었다. BCNU는 신경종양의 치료를 위해 개발되어온 나이트로소우레아 유도체의 일종으로 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea 화학구조를 가진 화학요법제이다. 일반적으로 BCNU는 종양 세포의 DNA나 RNA를 알킬화하여 항종양성을 나타내는 것으로 알려져 있으나 다른 알킬화제와 상호작용을 일으키지 않는다.³⁵ BCNU는 수용액에서 가수분해되며 강산성이나 pH 7 이상의 수용액에서 반감기가 매우 짧고 pH 4에서 가장 안정하며 생체의 조건 및 체

내 혈장에서의 반감기는 각각 20분과 15분으로 매우 짧다. 또한 30~32 °C의 비교적 낮은 용융점을 가지고 있으며 열이나 빛에 매우 불안정하다고 알려져 있다.³⁶ 또한, NaCl은 무색 또는 백색의 결정 또는 결정성 가루로 물에 잘 녹고, 에탄올에서는 매우 녹기 어려우며, 에틸렌에서는 거의 녹지 않는다.³⁷

Figure 2에서는 고분자 매트릭스인 PLGA와 약물의 물리적 혼합에 따른 결정성의 변화와 NaCl의 효과를 알아보기 위하여 XRD를 이용하여 시료를 분석하였다. 그 결과, 그림에서와 같이 BCNU는 결정성이 매우 높은 약물로 10~30° 영역에서 결정피크가 나타났고, 여기에 결정성이 매우 낮아 결정영역이 거의 없는 무정형 고분자인 PLGA와 물리적 혼합의 결과로써 결정성이 감소하는 현상을 관찰하였다. 또한 결정성이 매우 높은 NaCl이 첨가된 웨이퍼의 경우 첨가제의 결정피크가 30~35°에서 나타났다. 일반적으로 생분해성 고분자를 이용하여 제조한 제형에서 약물 방출거동은 고분자 지지체 내에서 약물의 확산과 물로 인한 고분자의 침식에 의한 분해의 두가지 공정에 의해 영향을 받는다. 본 실험을 통해 제작된 웨이퍼에서는 고분자 지지체의 결정성과 다공성이 큰 구조일수록 단순확산에 의한 약물 초기 방출량이 증가하였다. 따라서, 약물을 함유한 생분해성 고분자지지체의 결정영역의 변화는 약물의 방출거동과 단기제형

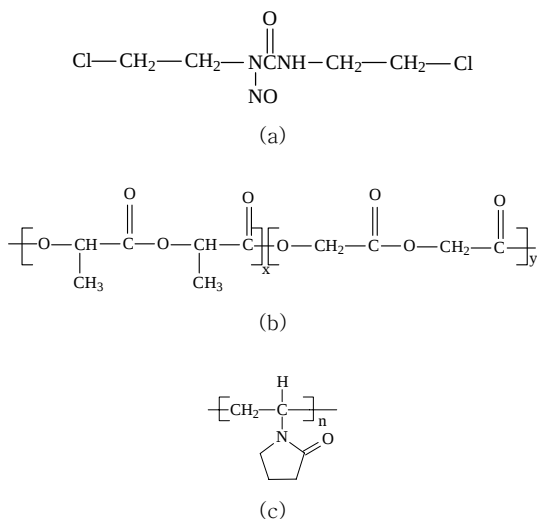


Figure 1. Chemical structures of (a) BCNU, (b) PLGA, and (c) PVP.

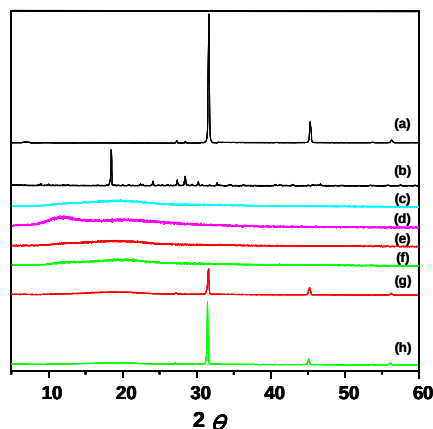


Figure 2. X-ray diffraction patterns of BCNU, PLGA, and BCNU-loaded PLGA particles; (a) NaCl, (b) BCNU, (c) PLGA, (d) PVP, (e) BCNU 3.85%, (f) BCNU 10%, (g) BCNU 3.85% with NaCl 40%, and (h) BCNU 10% with NaCl 40%.

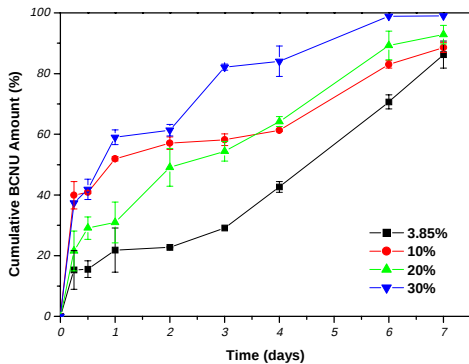


Figure 3. Effect of drug loading ratio on BCNU release profiles (1.0 mm thickness and 5.0 mm diameter wafer).

을 제조하는데 있어서 많은 영향을 미칠 것으로 사료된다.

초기 약물함유량에 따른 방출 경향. Figure 3은 초기 약물함유량의 변화에 따른 약물 방출거동을 나타낸 그림이다. 각각의 웨이퍼들은 초기 약간의 burst를 보이고, 이후 거의 영차에 가까운 방출경향을 나타내며 총 방출기간은 약 1주일 정도였다 (Batches 1, 2, 3 및 4). 그림에서 알 수 있듯이 생체외 방출실험 6일째에서 BCNU 30% 웨이퍼는 100%의 방출을 보인 반면 BCNU 3.85% 웨이퍼는 약 70.6%만이 방출되었다. 약물의 초기 함유량이 3.85%에서 30%로 증가할수록 약물의 방출기간이 짧아지고 방출량이 증가함을 알 수 있었다. 난용성 약물인 BCNU는 물에 의한 침식과 채널을 통한 확산에 의해 약물이 방출되기 때문에 초기 burst의 감소와 선형에 가까운 방출거동은 약물함유량의 조절과 약물을 고분자지지체 내에 균일하게 분산시킴으로써 얻을 수 있다고 사료된다.^{17,19,20}

제형의 두께에 따른 방출 경향. 제형의 두께에 따른 BCNU의 방출거동을 Figure 4에 도식화하였다. 초기함유량이 10%인 BCNU/PLGA 웨이퍼의 두께가 각각 0.5, 1.0, 및 2.0 mm의 방출기간은 4일에서 14일 내에 있었다 (Batches 2, 5 및 6). 웨이퍼의 두께가 두꺼워질수록 방출기간은 길어지고 방출속도가 점차 감소함을 보였다. 두께가 0.5 mm인 웨이퍼의 경우에는 4일째에는 약물이 약 100%가 방출이 일어난 반면, 두께가 2 mm인 웨이퍼의 경우에는 4일 동안

50.5%로 감소한 약물 방출량을 나타내었다. 또한, 초기 burst 효과도 웨이퍼의 두께가 2 mm일 때 0(zero)차에 가까운 방출을 보임을 관찰하였다. 이것은 제형의 두께가 두꺼워질수록 용매와 고분자 사이에서 팽윤과 확산에 의한 약물의 방출이 감소한다는 것을 의미한다.³⁰ 위의 결과로부터 약물의 방출을 웨이퍼의 두께를 조절함으로써 원하는 기간을 조절할 수 있다고 사료된다.

직경에 따른 방출 경향. Figure 5는 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼의 직경에 따른 BCNU의 방출거동을 나타낸 그림이다. 초기 함유량이 10%이고 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼의 직경이 각각 3, 5, 및 10 mm의 방출기간은 4일에서 21일 내에 있었다 (Batches 2,

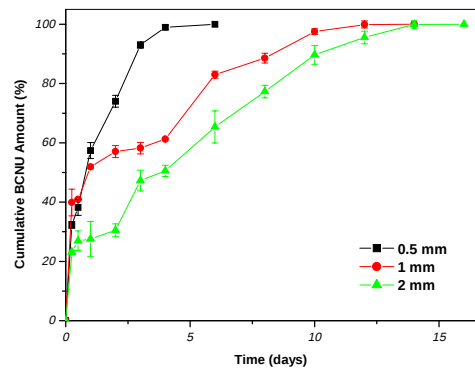


Figure 4. Effect of wafer thickness on BCNU release profiles (10% initial drug loading and 5.0 mm diameter wafer).

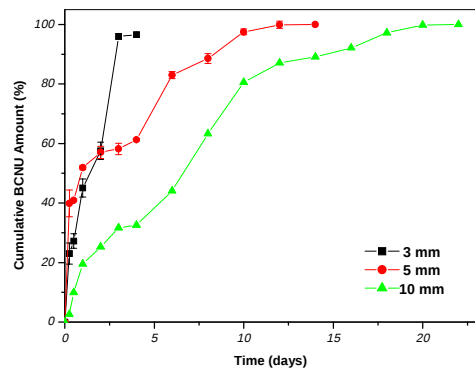


Figure 5. Effect of wafer diameter on BCNU release profiles (10% initial drug loading and 1.0 mm thickness wafer).

7 및 8). 웨이퍼의 직경이 커질수록 방출기간은 길어지고 방출속도가 점차 감소함을 보였다. 생체외 방출 실험기간 동안 직경이 3 mm인 웨이퍼의 경우에 4일째에서 약물이 약 100%가 방출이 일어난 반면, 직경이 10 mm인 웨이퍼의 경우에는 4일 동안 29.1%의 약물 방출량을 나타내었다. 또한, 초기 burst 효과도 웨이퍼의 직경이 커짐에 따라 점차 감소하여 거의 0차에 가까운 방출을 보임을 관찰하였다. 이것은 웨이퍼의 직경이 커질수록 용매와 고분자 사이에서 팽윤과 확산에 의한 약물의 방출이 줄어든다는 것을 의미한다.¹⁷ 위의 결과를 통해 약물의 방출을 웨이퍼의 직경을 조절함으로써 방출기간을 원하는대로 조절할 수 있다는 사실을 증명할 수 있다.

분자량에 따른 방출 경향. Figure 6은 고분자 지지체로 사용된 PLGA의 분자량에 따른 약물의 방출거동을 비교한 그림이다. 초기 함유량이 10%인 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼의 분자량이 각각 8000, 20000 및 90000 g/mole의 방출기간은 20~70일이었다 (Batches 8, 9 및 10). 단기간 방출시스템을 확립하고자 도입된 PLGA 8000 g/mole은 PLGA 분자량 20000과 90000 g/mole을 사용한 웨이퍼에 비해 더 빠른 방출기간을 보였으며 lag time 없이 단순확산에 의한 약물의 방출이 이루어짐으로 인해 보다 0차에 가까운 선형의 방출을 보였다. 분자량이 작으면 분자 사슬이 끊어지기 쉽고, 미디어의 침투에 의한 채널의 형성이 쉽기 때문에 분자량이 감소할수록 초기 방출량이 많고, 방출속도는 빨라져 분자량이 큰 것보다

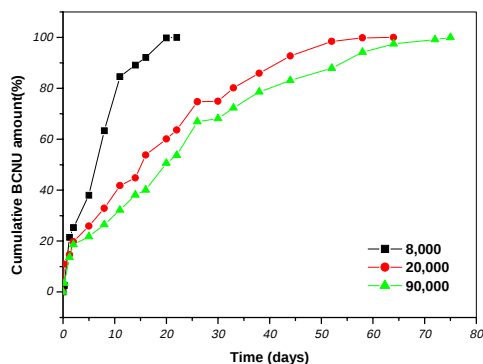


Figure 6. Effect of PLGA molecular weight on BCNU release profiles (1.0 mm thickness and 10.0 mm diameter wafer).

단기간에 방출되었다고 사료되며¹⁵ 위의 결과로부터 분자량을 조절함으로써 단기 방출 및 장기 방출제형을 제조할 수 있다.

첨가제에 따른 방출 경향. Figure 7은 BCNU의 농도를 10%로 고정하고, 첨가제인 PVP와 NaCl을 각각 40%씩 첨가한 웨이퍼의 약물 방출거동을 나타낸 그림이다. 첨가제 없이 BCNU와 PLGA만으로 제조된 웨이퍼의 경우 초기 약간의 burst를 보이고 이후 거의 0차에 가까운 방출 경향을 보이며, 총 방출기간은 약 2주 정도였다 (Batches 6, 11 및 12). 이 경우 약물 방출거동은 물에 의한 침식과 채널을 통한 확산에 의한 일반적인 방출로 사료되었다. PVP가 40% 첨가된 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼는 총 방출기간이 약 10일 정도였다. 친수성 고분자인 PVP의 영향으로 인해 초기 약간의 burst를 줄일 수 있었고 거의 0차에 가까운 방출 경향을 나타냈으며 약물 방출속도가 BCNU와 PLGA만으로 제조된 웨이퍼 경우보다 방출속도가 더 빠르고 따라서 방출기간도 4일 더 단축되었음을 알 수 있었다. 첨가된 PVP는 친수성 고분자로서 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. 웨이퍼의 모양을 변형시키지 않은 채 방출속도를 증가시킬 수 있는 방법은 웨이퍼에 미세채널을 형성시켜 방출속도를 증가시키는 것이다.

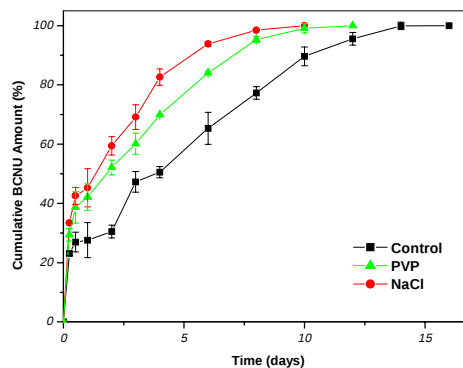


Figure 7. Effect of additives on BCNU release profiles (2.0 mm thickness and 5.0 mm diameter wafer).

NaCl이 40% 첨가된 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼는 초기 약간의 burst를 보이고 이후 거의 0차에 가까운 방출 경향을 보이며 총 방출기간은 8일 정도였다. NaCl이 첨가된 웨이퍼의 방출 경향은 PVP가 첨가된 웨이퍼보다 방출속도가 더 빠르고 따라서 방출기간도 다른 웨이퍼에 비해 더 짧았다. NaCl은 PVP보다 물에 대한 용해 속도가 더 빠르고 약물에 영향을 미치지 않는 것으로 판단하였다. NaCl을 함유하고 있는 웨이퍼에 물이 접촉되면 NaCl의 경우 쉽게 물에 용해되어 PBS내로 방출된다. 이후 물은 웨이퍼 안으로 확산되고, 따라서 약물은 확산에 의한 방출이 이루어진다. 위의 결과를 통해 첨가제의 선택과 이의 함유량을 조절함으로써 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼에서 약물의 방출을 원하는 형태로 조절할 수 있음을 확인할 수 있었다.³⁸⁻⁴²

웨이퍼의 분해거동. Figure 8은 BCNU 함량을 달리하여 제조한 웨이퍼의 방출기간 동안의 무게 변화를 나타낸 것이다. 웨이퍼의 무게 변화를 관찰한 결과, 무게가 점차 감소되어 방출이 완료된 후에 22~41.8%의 무게감소가 일어났음을 알 수 있다. 약물의 함량이 증가할수록 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.²⁰ 따라서 웨이퍼 내부에 존재하는 약물이 더 빨리 밖으로 빠져 나오게 된다. 이러한 이유로 BCNU의 함량이 증가할수록 무게가 감소되는 양이

많아진다고 사료된다.

Figure 9는 BCNU의 농도를 10%로 고정하고 첨가제인 PVP와 NaCl을 각각 40%씩 첨가한 PLGA 웨이퍼의 방출기간 동안의 무게 변화를 비교한 그림이다 (Batches 6, 11 및 12). BCNU와 PLGA만으로 제조된 웨이퍼는 무게가 점차 감소되어 8일째에 14%의 무게감소가 일어난 반면 첨가제가 함유된 웨이퍼의 경우 36~39%의 무게 감소가 일어났다. BCNU와 PLGA만으로 제조된 웨이퍼와 비교하여 첨가제가 함유된 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼는 첨가제가 PBS에 신속히 용해되기 때문에 수분의 침투와 약물의 방출 통로로 이용될 수 있는 미세채널이 더욱 빨리 형성됨으로 인하여 채널을 통한 물의 흡수가 쉬어진다. 따라서 웨이퍼 내부에 존재하는 약물이 더 빨리 밖으로 빠져 나오게 되고, 또한 소수성 고분자인 PLGA의 분해를 촉진시키게 된다. 이러한 이유로 BCNU와 PLGA만으로 제조된 웨이퍼 경우보다 첨가제가 함유된 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼의 무게가 감소되는 양이 많아진다고 사료된다.

Figure 10은 생체의 방출실험 기간 동안 PBS내에서 웨이퍼에 함유된 약물의 영향과 첨가제의 영향에 의한 웨이퍼의 형태변화를 나타낸 그림이다. 방출 초기의 웨이퍼의 표면은 매끄럽고 약물이 고분자지지체 내부에 일정하게 분산되어 있다가 방출실험 6일째에는 약물이 분포해 있던 공간을 중심으로 미세채널이 크게 형성되어 있음을 관찰할 수 있다. 이것은 초기 약물의 방출이 웨이퍼에 수분의 침투와 약물의 방출

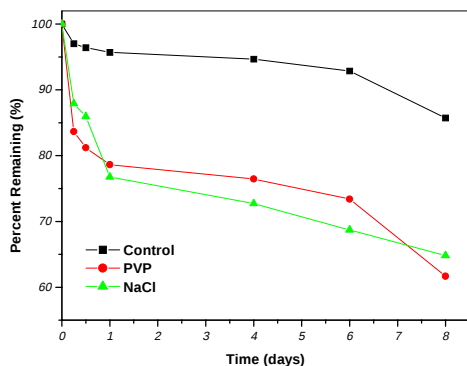


Figure 8. Mass loss of BCNU/PLGA wafer (2.0 mm thickness, 5.0 mm diameter wafer and PLGA 8000 g/mole).

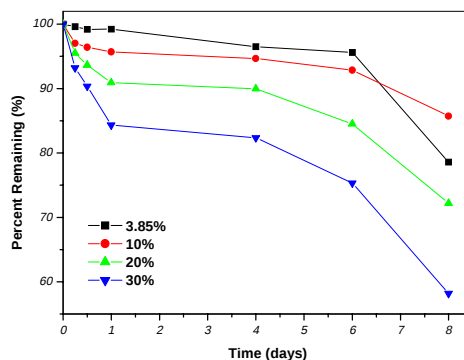


Figure 9. Mass loss of BCNU/PLGA wafer containing additives (2.0 mm thickness, 5.0 mm diameter wafer and PLGA 8000 g/mole).

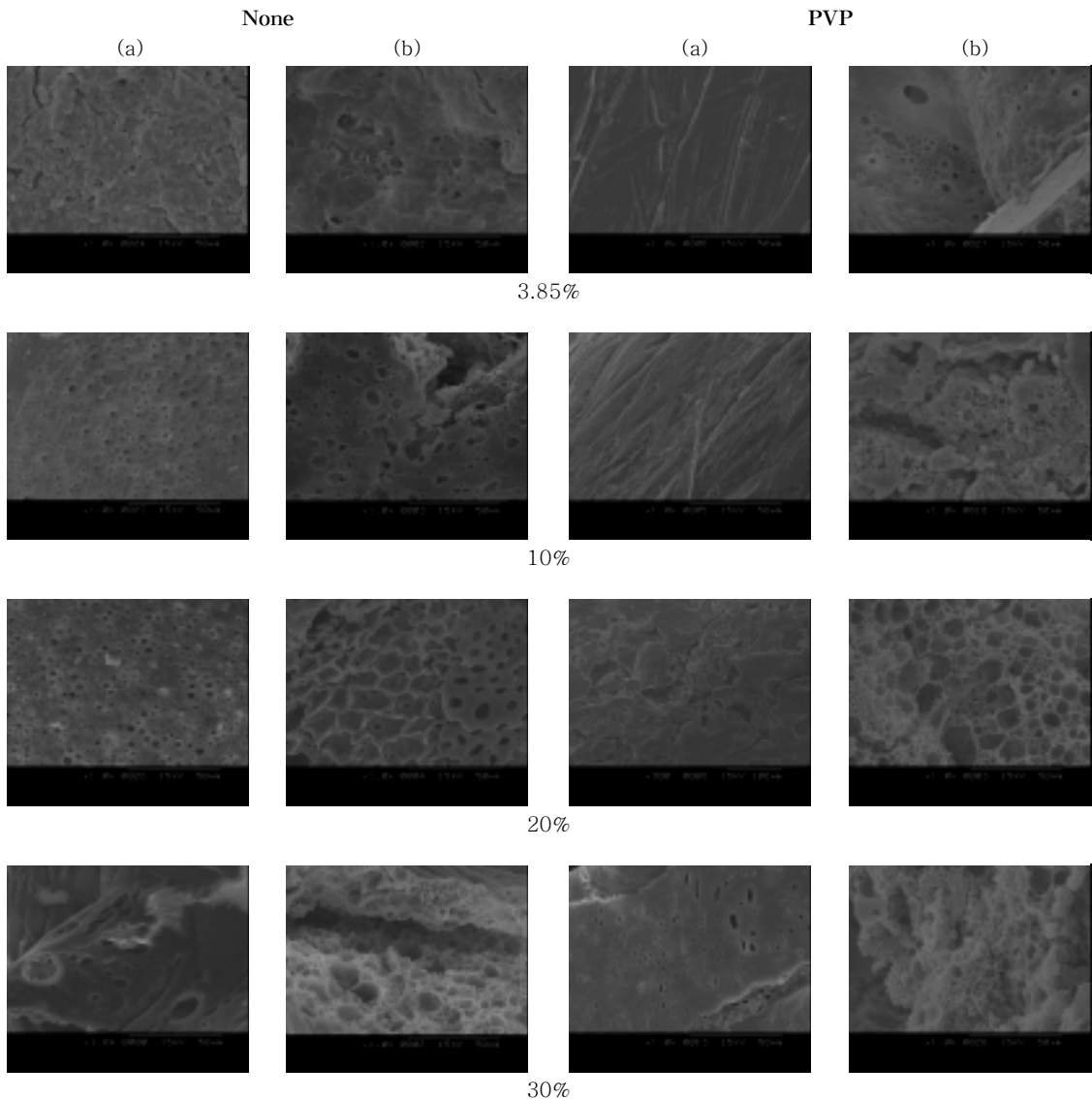


Figure 10. SEM micrographs of BCNU-loaded PLGA wafers with or without PVP; (a) after 1 day and (b) after 6 days release.

통로로 이용될 수 있는 미세채널을 통한 확산에 의한 것임을 말해주는 것이다. 따라서, 약물 함유량이 증가할수록 다공성이 증가하였고, 이로 인해 약물의 방출을 증가시키는 작용을 하였다고 판단된다. 이를 통해 단기제형에서 저분자량의 PLGA 웨이퍼에서 약물의 방출은 PLGA의 분해에 의한 방출보다는 수분의 침투에 의해 형성된 채널에 의한 방출이 보다 지배적이

라고 사료된다.^{15~17,29~31} 따라서, 약물의 함량과 첨가제에 따라서 제형의 제조조건을 조절한다면, 입자들의 회합현상을 배제하고 약물을 고분자지지체 내부에 골고루 분산시켜 방출속도를 일정하게 제어할 수 있을 것으로 사료된다.

결론

본 실험에서는 뇌종양치료제로써 항암제인 BCNU를 원하는 기간 동안 방출시키기 위해서 생분해성 웨이퍼를 직접 성형압축법에 의해 제조하였다. 또한, 생체의 방출실험을 통해서 효과적이고 정확한 방출을 조절함으로써 생체내 방출실험을 할 수 있는 계기를 마련하였다.

1. 미분말을 웨이퍼로 성형하고 생체의 방출거동을 살펴본 결과 PVP와 NaCl의 함량이 증가할수록 웨이퍼의 방출기간이 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼보다 더욱 빠른 방출기간을 보였다.

2. XRD와 SEM 관찰 결과로부터, 본 실험에서 제조된 웨이퍼가 약물이 고분자 매트릭스 내에 고루 분포되어 있는 분자상태의 구조를 형성했음을 확인하였고, 이것은 BCNU의 방출거동에 많은 영향을 주었다.

3. 본 연구에서 웨이퍼의 실험에 사용한 PLGA 분자량이 8000 g/mole으로 time lag 없이 단순확산에 의한 약물의 방출이 이루어짐으로 인해 거의 0차에 가까운 선형의 방출을 보였다. 생체의 방출 경향은 초기에 고분자 매트릭스의 채널을 통한 확산에 의한 방출거동과 함께 물의 흡수에 따른 팽윤과 침식에 의한 방출이 일어났다.

4. 방출시험 기간 동안 BCNU 함유 PLGA 웨이퍼의 무게 변화를 관찰한 결과를 통하여 BCNU의 방출은 약물의 함량이 증가할수록 무게 손실이 촉진됨을 알 수 있었다.

5. BCNU 함유 PLGA 웨이퍼에서 약물 방출거동은 초기 약물 함유량, 웨이퍼의 두께 및 직경, 첨가제의 종류와 같은 다양한 변수에 따라 달라진다. 약물의 방출은 생체의 방출실험에서 원하는 기간 동안 방출되었다. 이상의 실험 결과로부터 이러한 일정한 방출을 제어할 수 있는 시스템들은 국부 투여를 통해 주사나 경구적인 약물의 투여보다 더 좋은 항암효과를 제공할 것으로 사료된다.

현재 본 연구에서 제안된 웨이퍼의 방출개선 및 악성뇌종양 세포(Rat 9L gliosarcoma, mouse leukemia L1210 및 XF-498 human CNS 암세포주)에 대한 상기 웨이퍼들의 약물감수성시험과 종양동물모델에 관한 연구를 수행중이다.

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

참고문헌

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. G. Khang and H. B. Lee, "Biomedical Polymer", Korean Chemical Society Press, Munundang, Seoul, Korea, 2001.
10. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **7**, 79 (1999).
11. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 49 (1999).
12. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, *Polymer Preprints*, **40**, 288 (1999).
13. G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 80 (2000).
14. J. C. Cho, G. Khang, H. S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**, 728 (2000).
15. W.-I. Son, D. I. Yun, G. Khang, B.-S. Kim, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 92 (2000).
16. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 136 (2000).
17. S.-A. Seo, H. S. Choi, D. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 884 (2001).
18. S.-A. Seo, H. S. Choi, J. C. Cho, G. Khang, J.

- M. Rhee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **5**, 35 (2001).
19. H. S. Choi, G. Khang, H. C. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
20. S.-A. Seo, H. S. Choi, J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **239**, 93 (2002).
21. 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. M. Rnsy, p. 385, ACS Symp. Series 752, ACS Washington D.C., 2000.
22. R. J. Tamargo, J. S. Mysers, J. I. Epstein, M. B. Jang, M. Chasin, and H. Brem, *Cancer Res.*, **53**, 329 (1993).
23. 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).
24. K. O. Lillehei, Q. Kong, S. J. Withrow, and B. Kleinschmidt, *Neurosurgery*, **39**, 1191 (1996).
25. P. Minie, M. Boisdron-Cler, A. Croue, G. Guy, and J. P. Benoit, *Neurosurgery*, **39**, 117 (1996).
26. 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).
27. H. Brem, M. G. Ewend, S. Piantadosi, J. Greehott, P. C. Burger, and M. Sisti, *J. Neuro-Oncol.*, **26**, 111 (1995).
28. G. Khang, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **12**, 4 (2001).
29. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **14**, 95 (2001).
30. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
31. 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).
32. M. Iwata and H. Ueda, *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **22**, 1161 (1996).
33. W. G. Lu, Y. Zhang, Q. M. Xiong, Y. C. Bao, and Q. H. Chen, *Chin. Pharm. J.*, **30**, 24 (1995).
34. K. P. Chowdary and K. V. Ramesh, *Indian Drugs*, **32**, 477 (1995).
35. T. L. Loo, R. L. Dixon, R. L. Dixon, and D. P. Rall, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 492 (1966).
36. K. Fredrikson and P. Lundgren, *Acta Pharm. Scand.*, **23**, 115 (1986).
37. S. Leigh, J. E. Carless, and B. W. Burt, *J. Pharm. Sci.*, **56**, 888 (1967).
38. I. S. Moussa and L. H. Cartilier, *Int. J. Pharm.*, **149**, 139 (1997).
39. P. Shivan and O. L. Sprockel, *Int. J. Pharm.*, **158**, 83 (1997).
40. S. Trikkonen and P. Paronen, *Int. J. Pharm.*, **88**, 39 (1992).
41. S. Trikkonen and P. Paronen, *Int. J. Pharm.*, **92**, 55 (1993).
42. C. McDonald and C. Richardson, *J. Pharmacol.*, **33**, 38 (1981).