

단백질 전달체로서 천연 및 합성재료의 첨가에 따른 PLGA와 PCL 웨이퍼로부터 알부민의 방출거동

현 훈 · 이재호 · 서광수* · 김문석* · 이종문 · 이해방* · 강길선[†]

전북대학교 고분자 · 나노공학과, *한국화학연구원 나노생체재료팀

(2005년 5월 23일 접수, 2005년 7월 19일 채택)

The Release of Albumin from PLGA and PCL Wafers Containing Natural and Synthetic Additives for Protein Delivery

Hoon Hyun, Jae Ho Lee, Kwang Su Seo*, Moon Suk Kim*, Jhon M. Rhee, Hai Bang Lee*, and Gilson Khang[†]

Department of Polymer · Nano Science and Technology,

Chonbuk National University, 664-14, Dukjin Ku, Jeonju 561-756, Korea

*Nanobiomaterials Laboratories, Korea Research Institute of Chemical Technology,

P. O. Box 107, Yuseong, Daejeon 305-506, Korea

(Received May 23, 2005; accepted July 19, 2005)

초록 : 약물 전달체로서 카비톨에 의해 개시된 PLGA와 PCL은 락타이드, 글라이콜라이드, 그리고 카프로락톤의 개환 중합에 의해서 합성되었다. 이들 합성고분자를 이용한 이식형 웨이퍼는 합성고분자와 모델 단백질 약물로서 소혈청알부민의 물리적 혼합 후에 성형 압축법에 의해서 간단히 제조되었다. 웨이퍼로부터 알부민의 방출량은 형광측정기를 사용하여 형광 강도에 의해서 측정되었다. 또한 웨이퍼에서 알부민의 방출거동은 콜라겐, 소장점막하조직, 폴리비닐피롤리돈, 그리고 폴리에틸렌글리콜과 같은 첨가제를 통해 조절되었다. PLGA와 PCL로만 준비된 웨이퍼에서의 알부민의 방출은 30일 동안 10% 미만의 느린 방출거동을 보였다. 그러나 첨가제를 함유한 웨이퍼는 첨가제 함량에 따라서 다양한 서방형의 방출거동을 보였다. 더욱이 콜라겐과 소장점막하조직과 같은 천연재료를 함유한 웨이퍼는 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌글리콜과 같은 합성재료를 함유한 웨이퍼보다 0차 방출의 거동을 보였다. 이러한 이식형 웨이퍼로부터 알부민의 방출은 천연재료의 첨가를 통해 쉽게 조절할 수 있음을 확인하였다.

Abstract: PLGA and PCL copolymers initiated by carbitol as drug carriers were synthesized by ring-opening polymerization of L-lactide (LA), glycolide (GA), and ϵ -caprolactone (ϵ -CL). Implantable wafers were simply fabricated by direct compression method after physical mixing of copolymers and bovine serum albumin-fluorescein isothiocyanate (BSA-FITC) as a model protein drug. The release amounts of BSA-FITC from wafers were determined by fluorescence intensity using the fluorescence spectrophotometer. Also, the release behavior of BSA-FITC on wafers was controlled by adding the additives such as collagen, small intestinal submucosa (SIS), poly(vinyl pyrrolidone) (PVP), and poly(ethylene glycol) (PEG). The wafer prepared by PLGA and PCL exhibited slow release within 10% for 30 days. But, those prepared by a variety of additives exhibited the controlled BSA release patterns with a dependence on the additive contents. Furthermore, the wafers containing natural materials such as collagen and SIS showed more zero-order release profile than that with synthetic materials such as PVP and PEG. It was confirmed that the release of BSA from implantable wafers could be easily controlled by adding natural additives.

Keywords: PLGA, PCL, wafer, additives, BSA.

1. 서론

지난 20여년 동안 서방형 약물 전달 분야는 치료제의 지속적인 0차 방출을 위하여 삼투압 펄프, 팽윤형 매트릭스, 확산, 분해 속도, 다층 매트릭스 등의 기술을 통해 지속적인 연구가 이루어졌다.¹⁻⁸ 다양한 기술을 통한 약물의 전달은 약물 전달체의 재료에 의해 많은 영향을 받게 되는데 특히 생분해성 고분자를 이용한 약물 전달체는 약물 전달 과정과 전달 후에 단순한 화학반응이나 효소의 작용에 의

해 분해되어 이러한 분해산물은 신진대사나 신장에 의해 제거될 수 있다.⁹

생분해성 고분자의 사용은 제약 분야에서 다양한 펩타이드와 단백질의 서방형 전달체로서 펩티드나 단백질은 경구 투여시 낮은 생체이용률을 가지고 있고 생체 내 반감기가 짧기 때문에 약효 발현을 위해 비경구적인 경로를 통해 투여한다.¹⁰ 이러한 생분해성 고분자를 이용하여 펩타이드나 단백질의 전달은 주사 제형이나 외과적 수술에 의한 이식제형이 있는데 미립구나¹¹⁻¹⁵ 수화젤¹⁶⁻¹⁸ 형태의 주사 제제가 연구되고 있으며, 또한 웨이퍼 형태의 이식형 제제를^{19,20} 통한 연구도 진행되고 있다. 그중에서 이식형제제는 치료부위에 국

[†]To whom correspondence should be addressed. E-mail: gskhang@chonbuk.ac.kr

소적으로 약물을 전달할 수 있을 뿐만 아니라 제도가 용이하다. 또한 생분해성 고분자를 사용하여 이식 후에도 부차적인 제거 수술이 필요가 없다. 현재 이러한 이식형 제제는 항암 부위의 약물 전달이나 성장인자의 전달체로서 많은 연구가 이루어지고 있다.

이러한 이식형 제제에 사용되는 대표적인 고분자로는 폴리락타이드(PLA), 락타이드 글라이콜라이드 공중합체(PLGA)²¹⁻²⁵ 그리고 폴리 카프로락톤(PCL)으로서^{26,27} 위와 같은 합성된 생분해성 폴리에스터는 비교적 우수한 생체 적합성 물질로 약물 전달용 등에 다양한 연구가 진행되고 있는데, 이러한 고분자로 약물의 확산을 조절하는 매트릭스로서 역할을 하고 인체 내에서 가수분해에 의해서 분해가 되어 약물의 방출 거동과 속도를 조절할 수 있기 때문에 많은 연구가 진행되고 있다.²⁸⁻³⁰ 또한, 약물 방출을 조절하는 첨가제로서 합성재료와 천연재료가 사용되어지는데 합성재료 중에 폴리에틸렌글리콜(PEG)은 물과 유기 용매에 높은 용해도를 가지며 비독성이고 면역 작용에 거부반응이 없다. 소수성 고분자 재료와의 물리적 또는 화학적 결합을 통한 PEG 도입은 약물이나 단백질 전달을 위한 매트릭스 물의 유입을 증가시키고, 생분해성 고분자 매트릭스의 분해 기간을 조절할 수 있다.^{31,32} 그리고 PEG는 친수성 고분자들 중에서 단백질 흡착 억제 효과가 가장 크고 혈액 접촉 물질의 생체 적합성을 향상시키기 때문에 생체재료로서 많은 연구가 이루어지고 있다.³³ 또한 합성재료 중에 폴리비닐피롤리돈(PVP)은 서방화 약물 전달체로 수용액에서 pH에 거의 영향을 받지 않으면서 오랜 시간 동안 안정한 특성으로 인하여 인공혈액 등으로 이용되어 왔으며 생체 적합성 고분자이며 무정형의 고분자로서 약물의 방출 향상을 위한 고분자 재료로 응용되고 있다.³⁴

천연재료로 사용되는 첨가제 중에서 돼지 소장에서 채취한, 세포가 거의 존재하지 않는 조직인 소장점막하조직(SIS)은 90% 이상의 수분 흡수 능력과 세포 성분이 제거되었기 때문에 면역학적 거부 반응이 없으며 생분해성 기질로서 다양한 조직 재생에 응용되고 있다.³⁵ 또한 콜라겐도 생체 적합성과 생분해 특성을 가지고 있는 천연 고분자로서 약물 전달 시스템에서 약물 방출 조절 인자로서 많은 연구가 진행되고 있다.

본 연구에서는 생분해성 고분자인 PLGA와 PCL을 합성하였고, 단백질 약물 전달체로서 이식형 제제인 웨이퍼를 제조하여 첨가제로서 합성재료인 PEG와 PVP, 그리고 천연재료인 SIS와 콜라겐을 이용하여 약물 방출거동을 확인하였다. 이는 생분해성 고분자를 이용하여 단백질 전달체로 사용하기 위한 기존의 여러 방법들과의 차이로 이식형 제제인 웨이퍼에 약물 방출을 조절하기 위한 첨가제로서 합성재료 뿐만 아니라 천연재료도 첨가하여 두 재료의 방출거동을 비교하였으며, 생체 적합성과 생분해성의 천연재료인 SIS를 도입하여 우수성을 확인하고자 하였다.

2. 실험

2.1 시약 및 재료

PLGA와 PCL의 개시제로서 분자량이 134 g/mole인 카비톨(TCI, Tokyo, Japan)을 사용하였고, PLGA의 반응 단량체로서 L-락타이드(LA)와 글라이콜라이드(GA, Boehringer Ingelheim Pharma. GmbH & Co., KG, France)는 에틸아세테이트(Merck, Germany)에서 2회 재결정하여 진공 건조하여 사용하였다. LA와 GA의 중합촉매로서 스테노우스 옥테이트(Sn(Oct)₂, Wako Pure Chem. Ind., Ltd., Japan)는 24시간 동안

감압한 후 0.1 M의 농도로 정제된 톨루엔으로 희석하여 사용하였다. PLGA의 반응용매인 정제된 톨루엔(Fisher Sci. Korea Ltd., Korea)은 4 Å 분자체(Junsei chemical Co., Ltd., Japan)에 보관하였다. 또한, PCL의 반응 단량체로서 ϵ -카프로락톤(CL, Aldrich, Milwaukee, WI, USA)은 칼슘하이드라이드(Aldrich) 하에서 감압 정제하여 사용하였다. CL의 중합촉매로서 HCl · Et₂O(Aldrich)는 정제과정 없이 사용하였고, 반응 용매로서 사용된 이염화탄소(MC, Jin Chem. Pharm. Co. Ltd., Korea)는 연속적으로 염화칼슘(Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 CaH₂에서 질소기류 하에서 정제하였다. 반응 후 고분자의 침전을 위하여 헥산(Junsei Chem. Co., Ltd., Japan)과 에틸에테르(Jin Chem. Pharm. Co. Ltd., Korea)는 HPLC 등급을 사용하였다. 분자량과 분자량분포를 확인하기 위한 겔투과크로마토그래피(GPC) 분석은 이동상으로 클로로포름(Fisher Sci., Korea)을 사용하였고, 표준시료로서 폴리스티렌(Showa Denko, Japan)을 사용하였다. 단백질 방출거동에 대한 방출거동을 확인하기 위하여 모델 약물로서 사용한 형광물질인 FITC가 결합된 소혈청알부민(FITC-BSA, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)은 빛을 차단한 후 냉장 보관하였다. 또한 첨가제에 따른 방출거동을 확인하고자 천연재료인 소장점막하조직(SIS), 콜라겐 및 합성재료인 PEG와 PVP는 Sigma-Aldrich에서 구입하여 사용하였다.

2.2 PLGA의 합성

카비톨을 개시제로 하여 분자량 8000 g/mole의 PLGA 공중합체를 LA와 GA의 비율 8:2로 합성하기 위하여 사슬말단 활성화 메커니즘에³⁶ 의해서 다음과 같은 과정을 실시하였다. 개시제 카비톨 0.081 g(0.604 mmol) 및 톨루엔 80 mL을 잘 건조된 100 mL 둥근 플라스크에 넣고 딥 스탭 트랩을 사용하여 5시간 동안 130 °C에서 공비 증류를 실시하였다. 증류 후 톨루엔 40 mL을 제거하고 실온으로 냉각하여 미리 정제된 L-LA 3.96 g(27.48 mmol)와 GA 0.79 g(6.87 mmol)을 넣은 후 촉매인 0.1 M Sn(Oct)₂ 0.3 mL를 넣은 다음 130 °C에서 24 시간 동안 교반시켰다. 모든 과정은 고순도 질소 하에서 실시하였다. 반응 후 미반응 단량체나 개시제를 제거하기 위하여 반응 후 헥산 320 mL와 에틸에테르 80 mL의 용매에 침전시킨 후 얻어진 고분자는 MC에 녹여 거름종이를 이용하여 거른 후 회전 증발기를 이용하여 용매를 제거하고 진공펌프를 통해 감압 하에서 건조시켰다.

2.3 PCL의 합성

카비톨을 개시제로 하여 분자량 8000 g/mole의 공중합체를 합성하기 위하여 단량체 활성화 메커니즘에³⁷ 의해 HCl · Et₂O를 사용하여 다음과 같은 과정을 실시하였다. 개시제 0.081 g(0.604 mmol) 및 톨루엔 80 mL을 잘 건조된 100 mL 둥근 플라스크에 넣고 딥 스탭 트랩을 사용하여 5시간 동안 130 °C에서 공비 증류를 실시하였다. 증류 후 톨루엔을 모두 제거하고 카비톨을 실온으로 냉각시킨 후 미리 정제된 CL 4.751 g(41.62 mmol)을 주사기를 이용하여 넣은 후 반응용매로서 미리 정제된 MC 47 mL를 넣은 다음 중합 촉매로서 HCl · Et₂O를 1.2 mL 주입 후 24시간 동안 실온에서 교반시켜 주었다. 모든 과정은 고순도 질소 하에서 실시하였다. 반응 후 미반응 단량체나 개시제를 제거하기 위하여 400 mL 헥산에 반응물을 서서히 떨어뜨리면서 침전시켜 주었다. 침전물은 거름종이를 통하여 거른 후 MC에 녹여 회전 증발기를 통하여 용매를 제거하고 감압 하에서 건조시켰다.

2.4 특성분석

개시제와 합성된 고분자의 분자량분포와 분자량은 두 개의 칼럼(Shodex K-802 and Shodex Asahipak GF-510, Japan)을 가진 Futecs GPC

시스템(Shodex RI-71 detector, Japan)을 통하여 이동상으로 클로로포름을 이용하여 0.6 mL/min의 유속으로 측정하였다. 각각의 구성 고분자의 물 비에 대한 분자량은 내부 기준시료인 0.05 wt%의 테트라메틸실란(TMS)을 포함한 CDCl_3 (Merck, Germany)를 용매로 하여 $^1\text{H-NMR}$ (Bruker 300, 500 MHz, USA)를 통하여 분석하였다.

2.5 BSA와 첨가제를 함유한 블록 공중합체 웨이퍼 성형

수용성 단백질인 FITC-BSA를 함유한 웨이퍼를 제조하기 위하여 직접 압축성형법을 사용하였다. Table 1과 같이 고분자와 단백질 및 첨가제의 균일 혼합을 위하여 동결분쇄기(SPEX 6750, NJ, USA)를 사용하여 1%의 FITC-BSA를 함유한 혼합물을 균일 분산 혼합하였고, 10 mg의 혼합체를 직경이 3 mm인 몰드에 주입하고 Carver 프레스(MH-50Y Cap, 50 tons, Japan)를 이용하여 상온에서 20 Kg/cm^2 의 압력에서 5초 동안 가압하여 $3.0 \times 1.0 \text{ mm}$ 의 웨이퍼를 제조하였다.

Table 1. Preparation of Wafers Loading Albumin

	PLGA								PCL		
	99	94	89	89	89	89	84	99	94	89	84
Polymer	99	94	89	89	89	89	84	99	94	89	84
Albumin	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1
SIS	-	5	10	-	-	-	15	-	5	10	15
Collagen	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
PEG	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-
PVP	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-

2.6 생체 외 방출실험

블록 공중합체 웨이퍼를 통한 FITC-BSA의 방출거동을 조사하기 위하여 동일한 제형을 3개씩 제조하여 각각의 웨이퍼를 10 mL의 인산완충용액(PBS, pH 7.4)에 넣어 37°C 에서 100 rpm의 속도로 교반시켜주면서 정해진 시간간격에 1 mL의 분석시료를 취하였고, 동일한 양의 인산완충용액을 보충해 주었다. 분석시료는 분석 시까지 빛을 차단하여 냉장보관 후 형광 분광기(F-4500, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 정량분석을 실시하였다. 또한 방출기간 동안의 웨이퍼의 pH 변화를 관찰하기 위하여 일정시간에 인산완충용액의 pH를 관찰하였다.

2.7 웨이퍼의 형태관찰

알부민을 함유한 웨이퍼의 형태를 디지털 카메라와 SEM(S-2250 N, Hitachi, Japan)을 사용하여 관찰하였다. SEM 분석을 위해서 금속판에 양면테이프를 부착하고 그 위에 샘플을 고정시킨 후 플라즈마 스퍼터(SC 500K, Emscope, UK)를 이용하여 아르곤 분위기 하에서 90초 동안 백금으로 진공 증착하였다. 방출 실험전의 웨이퍼는 냉동 보관한 시료를 관찰하였고, 방출 실험후의 웨이퍼는 수분을 제거하고 동결건조기를 이용하여 건조한 후 관찰하였다.

3. 결과 및 토론

3.1 블록 공중합체의 합성

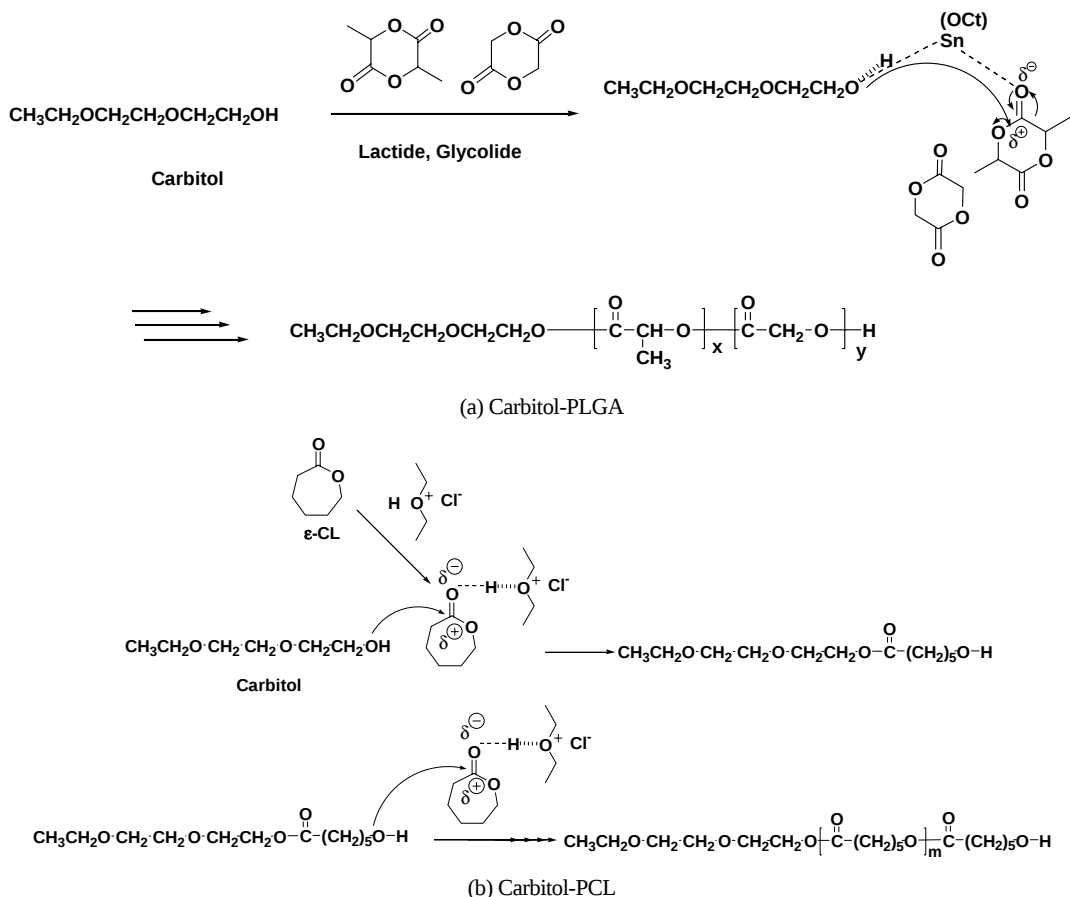


Figure 1. Schematic diagram of (a) carbitol-PLGA; active chain end mechanism and (b) carbitol-PCL; activated monomer mechanism.

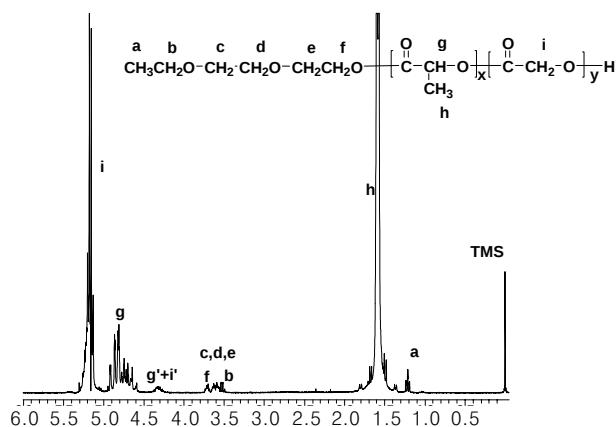
생분해성 고분자를 이용한 이식형 단백질 전달체를 제조하고자 카비톨을 개시제로 하여 LA, GA, 그리고 CL의 개환중합을 통하여 PLGA와 PCL의 공중합체를 합성하였다. 분자량을 8000 g/mole로 설계하고 PLGA는 사슬말단 활성화 메커니즘(Figure 1(a))을 통하여 Sn(Oct)₂을 이용하여 130 °C에서 중합하였다. PCL은 단량체 활성화 메커니즘(Figure 1(b))을 통하여 실온에서 HCl을 이용하여 Table 2와 같이 합성하였다. PLGA는 LA와 GA의 비를 8:2로 설계하여 중합반응후 헥산과 에틸 에테르 4:1 용액에 침전시켜서 건조후 무게 변화를 통해 88.2%의 수율을 확인하였고, PCL은 개시제 대비 CL의 비율을 68.9로 설계후 헥산에 침전하여 건조후 93.4%의 수율을 얻을 수 있었다. GPC 분석을 통하여 PLGA의 경우 1.54, PCL의 경우 1.24의 분자량분포를 확인하였고, Figure 2에 나타난 것과 같이 ¹H-NMR 분석을 통하여 분자량을 확인하였고, 이론적 분자량과 유사한 공중합체를 얻을 수 있었다.

Table 2. Synthesis of PCL and PLGA

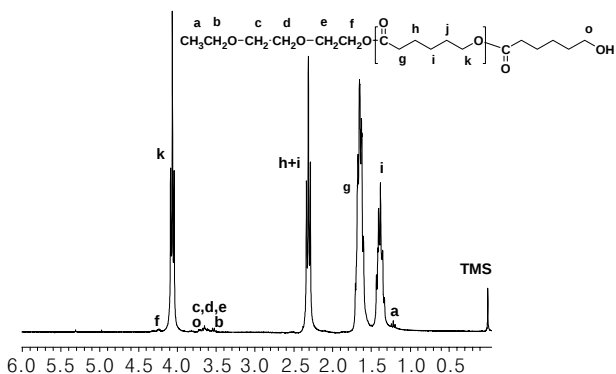
No.	[M]/[Initiator]	$\bar{M}_{n, \text{calculated}}$	Yield(%)	$\bar{M}_{n, \text{NMR}}^c$	$\bar{M}_w/\bar{M}_n^d$
PCL	68.9	134-7900	93.4 ^a	134-8400	1.24
PLGA	66.8	134-7900	88.2 ^b	134-7600	1.54

^a *n*-hexane insoluble part. ^b *n*-hexane/ethyl ether (4:1) insoluble part.

^c Determined by ¹H NMR. ^d Measured by GPC (based on standard polystyrene).



(a) Carbitol-PLGA

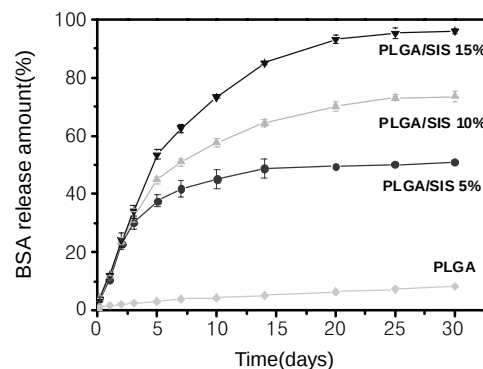


(b) Carbitol-PCL

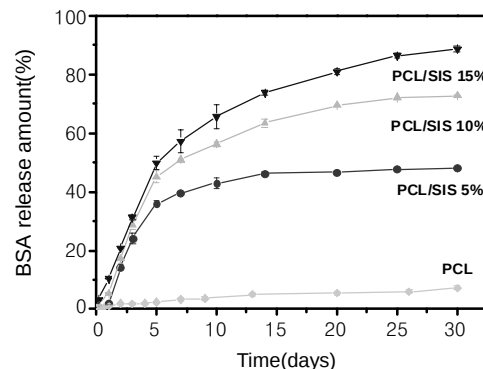
Figure 2. ¹H-NMR spectrum of (a) carbitol-PLGA and (b) carbitol-PCL copolymers in CDCl₃.

3.2 SIS를 함유한 웨이퍼로부터 알부민의 방출거동

천연재료로서 돼지의 소장점막하 조직인 SIS는 90% 이상의 수분 흡수 능력을 가지며, 세포 성분이 제거되었기 때문에 면역학적 거부반응을 보이지 않고, 60~90일간의 분해기간을 보이는 생분해성 기질로서 본 실험에서는 약물 방출을 조절하는 첨가제로서 사용하였다. PLGA와 PCL 공중합체에 알부민 1%와 0~15%의 SIS를 함유한 웨이퍼로부터 시간에 따른 알부민의 방출에 대한 그래프가 Figure 3에 나타나 있다. Figure 3에서처럼 SIS를 함유하지 않은 PLGA와 PCL 웨이퍼에서의 30일간 알부민의 방출은 10% 미만의 아주 느린 방출을 보이고 있다. 그러나 SIS의 함량이 5~15%로 증가됨에 따라 초기 방출이 향상되고 30일후 알부민의 방출량이 PLGA와 PCL 웨이퍼 모두에서 50~95%까지 증가함을 확인하였다. 이러한 결과는 PLGA와 PCL로만 구성된 웨이퍼는 생분해성 고분자이지만 소수성의 특성을 가지고 있기 때문에 물이 웨이퍼 내부에 침투가 어려워지고 친수성 약물일지라도 약물의 확산속도가 느려지게 되는 것이다. 그러나 SIS를 함유한 웨이퍼는 SIS의 뛰어난 물 흡수성 때문에 매트릭스 사이에 존재하는 SIS 섬유들이 매트릭스 내부로 물을 흡수하게 되고 이렇게 형성된 채널을 통해 약물이 용해되며 확산에 의한 약물 방출이 이루어지는 것이다. 그래서 일정한 SIS의 함량 조절을 통해서 원하는 기간의 약물 방출을 이룰 수 있다. 그러나 SIS의 함량이 15% 이상으로 증가하게 되면 매트릭스 자체의 물리적 강도가 감소하게 되어 웨이퍼의 균열에 의한 붕괴 현상이 일어나게 됨으로 첨가제의 함량 조절이 약물 방출에 중요한 요소로 작



(a) PLGA/SIS



(b) PCL/SIS

Figure 3. Albumin release behavior from wafers (a) PLGA/SIS and (b) PCL/SIS.

용함을 확인하였다.

알부민의 방출 동안 웨이퍼의 분해를 통한 인산염완충용액의 pH 변화를 확인하였다(Figure 4). SIS를 함유하지 않은 웨이퍼는 초기 7.4의 pH 값에서 30일 동안 약 0.2 정도의 pH 값의 감소를 보였으나 SIS가 첨가된 웨이퍼는 7.0~6.6까지 pH가 감소됨을 확인하였다. 이는 PLGA와 PCL 모두 생분해성 고분자이지만, 높은 소수성 때문에 물과의 접촉이 적어 표면 분해가 서서히 일어나는 반면, SIS를 함유한 웨이퍼는 SIS 섬유가닥들을 통해 매트릭스 내부로까지 물의 침투가 이루어지면서 웨이퍼의 표면 및 벌크 분해가 동시에 이루어지기 때문에 SIS가 없는 웨이퍼보다 큰 pH 감소가 이루어지는 것으로 사료된다.

3.3 첨가제에 따른 알부민의 방출거동

Figure 5는 알부민의 함량을 1%로 고정하고 첨가제로서 합성재료인 PEG와 PVP, 천연재료로서 SIS와 콜라겐을 10%씩 첨가한 웨이퍼의 알부민 방출거동을 확인한 그림이다. (b) PLGA/PEG과 (c) PLGA/PVP는 약간의 초기 버스트만 보이고 첨가제가 없는 (a) PLGA 웨이퍼와 마찬가지로 14일 동안 10% 내외의 느린 방출을 보이고 있다. 그러나 천연재료인 (d) SIS를 사용할 경우에는 초기 버스트가 작고 거의 0차에 가까운 방출 경향을 나타냈으며, (e) 콜라겐을 사용한 경우에는 초기 버스트는 작지만 2일 이후에 웨이퍼의 균열에 의해 급속한 약물 방출 경향을 보여주고 있다. 이러한 결과는 합성재료로 사용된 PEG와 PVP는 친수성 고분자로서 방출시험액에 의해 신속히 용해되어 빠져나가게 되어 약물이 방출할 수 있는 채널을 형성하지만, 소수성 고분자인 PLGA의 함량이 많기 때문에 매트릭스

스 내부로까지 채널의 연속성이 없어서 지연된 방출을 보이는 것으로 사료된다. 그러나 천연재료인 SIS와 콜라겐은 수분흡수력은 뛰어나지만, 물에 대한 용해성이 없다. 그래서 섬유조직들이 매트릭스

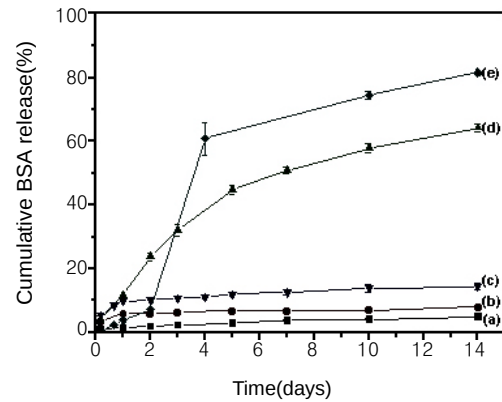
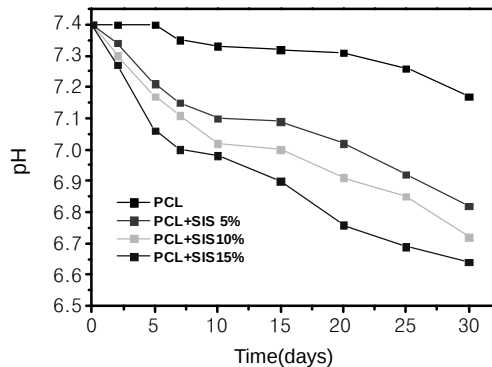
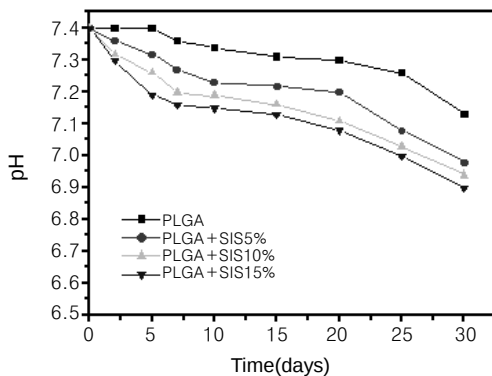


Figure 5. Albumin release behavior from wafers according to additives; (a) PLGA, (b) PLGA/PEG, (c) PLGA/PVP, (d) PLGA/SIS, and (e) PLGA/collagen.



(a) PCL/SIS



(b) PLGA/SIS

Figure 4. The change of pH in (a) PCL/SIS and (b) PLGA/SIS wafers.

Before release

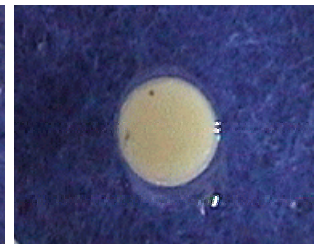


(a) before release

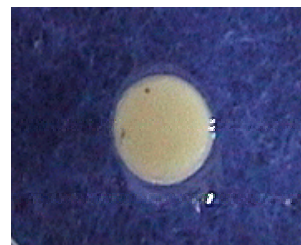
After release (30 days)



(b) PLGA



(c) PLGA/SIS 5%



(d) PLGA/SIS 10%



(e) PLGA/SIS 15%

Figure 6. Photograph of wafers; (a) before release, (b) PLGA, (c) PLGA/SIS 5%, (d) PLGA/SIS 10%, and (e) PLGA/SIS 15%.

내부에 존재하며 용출시험액을 지속적으로 빨아들여 이러한 내부로 침투한 물에 의해 약물이 용해 후 지속적인 방출이 일어나는 것으로 사료된다.

3.4 제형의 형태관찰

Figure 6은 알부민 방출 전후의 PLGA와 PLGA/SIS 웨이퍼의 형태 변화를 관찰한 사진이다. (a)에서처럼 1%의 알부민을 함유한 웨이퍼는 FITC-BSA의 특성인 노란색의 형태를 보이고 있다. 그러나 30일 동안의 방출 후에 웨이퍼는 첨가제가 없는 (b)의 경우 약간의 노란색이 남아있지만, SIS를 함유한 웨이퍼의 경우에는 SIS 함량이 증가할 수 약물의 노란색이 거의 나타나지 않음을 확인하였다. 이러한 그림을 통해 간접적인 약물 방출의 양을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 SEM을 통한 표면과 단면의 그림을 통하여 확인할 수 있다.

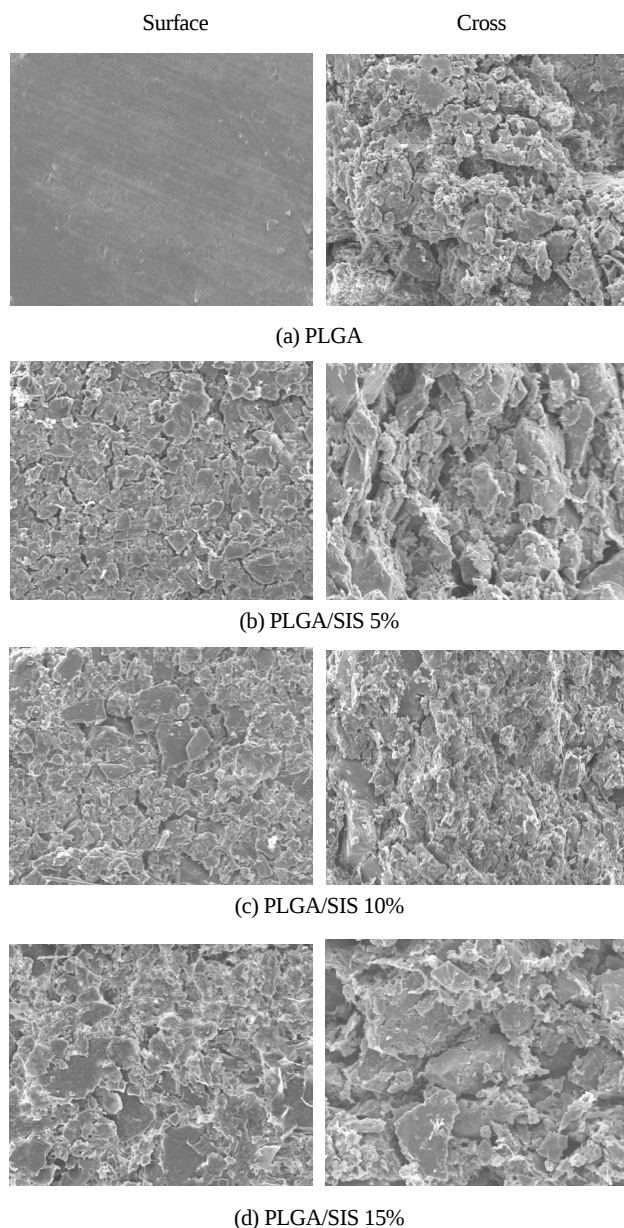


Figure 7. SEM images of wafers; (a) PLGA, (b) PLGA/SIS 5%, (c) PLGA/SIS 10%, and (d) PLGA/SIS 15%.

Figure 7에서 30일간 방출후 PLGA와 PLGA/SIS 웨이퍼의 표면과 단면 그림에서처럼 SIS가 첨가되지 않은 웨이퍼의 경우에는 매끄러운 표면과 균열이 없고 단면도 기공이 존재하지 않고 단단한 구조를 관찰할 수 있다. 그러나 SIS의 함량이 증가할수록 표면의 거칠도가 증가하고 균열이 발생함을 확인할 수 있었다. 또한 내부의 형태변화에서 볼 수 있듯이 SIS의 첨가를 통해 물이 통과할 수 있는 채널이 형성됨을 확인할 수 있다. 이러한 첨가제에 의한 웨이퍼의 다양한 기공형성을 통해 약물의 방출을 조절할 수 있고 고분자 매트릭스의 분해성을 조절할 수 있을 것이라 사료된다.

4. 결론

생분해성 고분자를 이용하여 서방형의 단백질 전달체를 준비하고자 PLGA와 PCL을 매트릭스로 하여 모델 약물로 FITC-BSA를 사용하여 이식형 제제를 제조하였고, 약물의 방출을 조절하기 위한 요소로서 합성재료인 PEG와 PVP를 사용하였고, 천연재료로 SIS와 콜라겐을 사용하여 약물의 방출을 조절하기 위한 첨가제로 사용되었다. 위 결과에서 보여진 것처럼 합성재료인 PEG와 PVP를 첨가제로 사용한 웨이퍼보다 생체 적합성이면서 생분해성인 천연재료인 SIS와 콜라겐을 사용한 웨이퍼가 초기 버스트가 작고 0차에 가까운 약물 방출을 보였으며 첨가제의 함량에 따라서 약물의 방출 기간을 조절할 수 있음을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 SIS를 함유한 PLGA와 PCL 웨이퍼의 분해성을 검토하고 동물 실험과 임상 적용하기 위한 가능성을 확인코자 세포 적합성에 대한 실험이 수행 중이다.

감사의 글 : 본 연구는 보건복지부 KMOHW(0405-BO01-0204-0006) 및 세포융합사업단(SC3100)에 의해 지원되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. M. V. Sefton, *Biomed. Eng.*, **14**, 201 (1987).
2. U. Conte and L. Maggi, *J. Control. Rel.*, **64**, 263 (2000).
3. E. S. Lee, S. W. Kim, J. R. Cardinal, and H. Jacobs, *J. Membr. Sci.*, **7**, 293 (1980).
4. L. Yang and R. Fasshi, *J. Control. Rel.*, **44**, 135 (1997).
5. P. Hildgen and J. N. McMullen, *J. Control. Rel.*, **34**, 263 (1995).
6. S. Lu and K. Anseth, *J. Control. Rel.*, **57**, 291 (1999).
7. S. Lu, F. Ramirez, and K. Anseth, *J. Pharm. Sci.*, **89**, 45 (2000).
8. Y. Qui, N. Chidambaram, and K. Flood, *J. Control. Rel.*, **51**, 123 (1998).
9. D. H. Lewis and M. Chasin, *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems*, R. Langer, Editor, Marcel Dekker, New York, 1990.
10. D. Mallarde, F. Boutignon, F. Moine, E. Barre, S. David, H. Touchet, P. Ferruti, and R. Deghenghi, *Int. J. Pharm.*, **261**, 69 (2003).
11. J. L. Cleland, *Pharm. Biotechnol.*, **10**, 1 (1997).
12. R. Jain, C. T. Rhodes, A. M. Railkar, A. W. Malick, and N. H. Shah, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 257 (2000).
13. G. Zhu, S. R. Mallery, and S. P. Schwendeman, *Nature Biotech.*, **18**, 52 (2000).
14. Y. Yeo and K. Park, *J. Control. Rel.*, **100**, 379 (2004).
15. C. Berkland, A. Cox, K. Kim, and D. W. Pack, *J. Biomed. Mater. Res.*, **70**, 576 (2004).
16. R. Jain, N. H. Shah, A. W. Malick, and C. T. Rhodes, *Drug Dev. Ind.*

- Pharm.*, **24**, 703 (1998).
17. K. Kono, K. Yoshino, and T. Takagishi, *J. Control. Rel.*, **80**, 321 (2001).
 18. K. Y. Lee and D. J. Mooney, *Chem. Rev.*, **101**, 1869 (2001).
 19. N. J. Medlicott and I. G. Tucker, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **38**, 139 (1999).
 20. S. Sershen and J. West, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, 1225 (2002).
 21. 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).
 22. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **4**, 95 (2001).
 23. H. S. Choi, G. Khang, H. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
 24. 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).
 25. J. Y. Yoo, S. W. Kim, G. Khang, H. S. Seong, J. K. Jeong, H. J. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 680 (2002).
 26. J. Mergaert, K. Ruffieux, C. Bourban, V. Storms, W. Wagemans, E. Wintermantel, and J. Swings, *J. Polym. Environ.*, **8**, 17 (2000).
 27. D. R. Chen, J. Z. Bei, and S. G. Wang, *Polym. Degrad. Stab.*, **67**, 455 (2000).
 28. E. U. Kathryn, M. C. Scott, S. L. Robert, and M. S. Kevin, *Chem. Rev.*, **99**, 3181 (1999).
 29. L. Robert, *Science*, **260**, 920 (1993).
 30. B. M. Jeong, Y. H. Bae, D. S. Lee, and S. W. Kim, *Nature*, **388**, 860 (1997).
 31. A. G. Coombes, M. K. Yeh, E. C. Lavelle, and S. S. Davis, *J. Control. Rel.*, **52**, 311 (1998).
 32. K. S. Seo, J. S. Park, M. S. Kim, S. H. Cho, H. B. Lee, and G. Khang, *Polymer(Korea)*, **28**, 211 (2004).
 33. E. W. Merrill and E. W. Salzman, *J. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **6**, 60 (1983).
 34. M. Iwata and H. Ueda, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **22**, 1161 (1996).
 35. E. N. Lamme, H. J. de Vries, H. van Veen, G. Gabbiani, W. Westerhof, and E. Middelkoop, *J. Histochem. Cytochem.*, **44**, 1311 (1996).
 36. G. Pruckmayr and T. K. Wu, *Macromolecules*, **11**, 265 (1978).
 37. M. S. Kim, K. S. Seo, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Rapid Comm.*, **26**, 643 (2005).