

pH-Sensitive Curdlan Acetate Microspheres를 이용한 Indomethacin의 방출 특성

이창문 · 이영진¹ · 이기영² · 최춘순³

전남대학교 의공학협동과정, ¹물질·생물화학공학과, ²응용화학공학과 및 촉매연구소,
³광주보건대 식품생명과학과
전화 (062) 530-0327, FAX (062) 530-1849

Abstract

Curdlan acetate was prepared from hydrophilic curdlan by chemical modification and it was used for pH-sensitive drug delivery system. Curdlan acetate microspheres were prepared by the solvent evaporation method. The size of the curdlan acetate microspheres was below 200 μm . The drug loading efficiency of microspheres was approximately 58.44%. In the swelling test, curdlan acetate microspheres were showed pH-sensitive behavior. The swelling capacity of microspheres at pH 7.4 was much greater than at pH 1.4. Also, Release rate of indomethacin (IND) at pH 7.4 from curdlan acetate microspheres was faster than that at pH 1.4. A pH-sensitive drug release pattern was due to the disintegrating after swelling.

서론

서방성 약물 방출에 관한 연구는 약물의 과량 복용으로 인한 약물의 독성과 부작용을 줄이고 약물의 손실을 최대한 막음으로써 효율적인 질병치료를 목적으로 한다^(1,2). 이러한 목적으로 대부분 합성 고분자가 약물의 코팅 제재와 방출조절 물질로 사용되고 있지만, 그 독성이 문제되면서 최근 천연 고분자와 같은 새로운 대체 물질에 대한 연구가 활발하다. 또한, 천연고분자가 가진 여러 가지 생리활성이 밝혀지면서 더욱 관심이 고조되고 있다^(3,4).

본 연구에서는 약물 전달계로 응용되고 있는 다당 중에서 생분해성이며 생체적합성인 커들란을 이용하여 pH 의존성 약물 전달계 개발 위한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

Curdlan acetate 제조

Curdlan acetate는 Na⁽⁵⁾등이 사용한 방법을 수정하여 사용하여 제조하였다. Curdlan 2g을 formamide 20 ml에 현탁하고 54°C에서 강력히 교반하여 용해시킨 후 pyridine 30

ml와 acetic anhydride 20 ml를 첨가하고 54°C에서 48시간 동안 반응시킨 후 증류수를 넣는다. 미반응물을 제거하기 위해 원심분리 및 투석의 반복 정제 과정을 거친 다음 동결건조하여 curdlan acetate를 얻었다. 제조한 curdlan acetate는 FT-IR spectroscopy (Nicolet 520P)를 사용하여 확인하였다.

IND이 적재된 Curdlan Acetate Microsphere 제조

Curdlan acetate 100 mg을 DCM 10 ml에 용해시킨 후 IND 30 mg을 첨가하여 용해하였다. 이 혼합 용액에 증류수 30 ml를 첨가하여 O/W emulsion을 형성하고 실온에서 DCM이 증발될 때까지 충분히 교반하였다. 용매 증발 후 여과하고 증류수로 세척 과정을 반복한 다음 실온에서 건조하였다.

Curdlan Acetate Microsphere의 SEM 관찰

SEM (Scanning Electron Microscope, Jeol)을 이용하여 제조한 Curdlan acetate microsphere의 형태와 입자의 크기를 관찰하였다.

Curdlan Acetate Microspheres에 적재된 IND 농도 측정

건조된 curdlan acetate microspheres 10 mg을 methanol 3 ml에 용해시킨 후 원심분리하여 상등액을 취하고 UV-spectrometer (Techne, Speegene, U.K.)를 이용하여 319 nm에서 흡광도를 측정하고 미리 작성한 검정곡선에 의해 IND의 농도를 계산하였다.

Curdlan Acetate Microspheres의 Swelling 측정

건조된 curdlan acetate microspheres 30 mg을 PBS buffer (pH 7.4)와 HCl-KCl buffer (pH 1.4) 30 ml가 들어 있는 tube에 넣어 37°C에서 swelling test를 행하였다. 일정시간 간격으로 microspheres를 취하여 수분을 제거하고 무게를 측정하여 다음 식에 의해 swelling 정도를 측정하였다.

$$\text{Swelling}(\%) = \frac{\text{Wet Microsphere weight} - \text{Dried Microsphere weight}}{\text{Dried Microsphere weight}} \times 100$$

Curdlan Acetate Microspheres로부터 IND의 방출

Curdlan acetate microspheres 30 mg을 각각 투석막 (M.W. cut off. 12,000)에 담아 PBS buffer (pH 7.4)와 HCl-KCl buffer (pH 1.4) 30 ml가 들어 있는 tube에 넣어 37°C에서 방출 실험을 행하였다. 일정시간마다 IND이 방출된 buffer를 취하고 새로운 buffer로 교환하였다.

결과 및 고찰

Curdlan을 이용하여 소수성인 curdlan acetate를 제조하였고, Fig. 1에 FT-IR 분석 결과를 나타내었다. 1751 cm⁻¹에서 C=O peak, 1376 cm⁻¹에서 CH₃ peak 그리고, 600 cm⁻¹에서 O-C=O peak의 증가 또는 생성을 확인할 수 있었다. 따라서, curdlan의 OH기가

acetyl기로 수식되었음을 확인하였다.

이렇게 생성된 curdlan acetate를 이용하여 미세입자를 제조하여 관찰한 결과, 대부분 매끈한 표면을 갖는 구형으로 이루어져 있었고 입자의 크기는 $200\mu\text{m}$ 이하의 크기를 가지고 있었다 (Fig. 2).

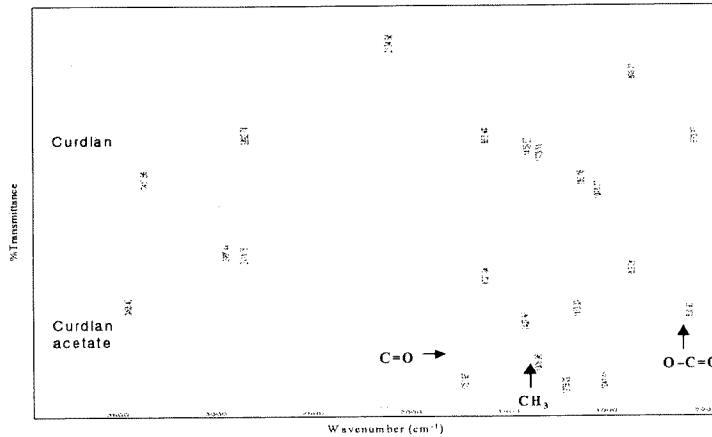


Fig. 1. FT-IR of curdlan and curdlan acetate

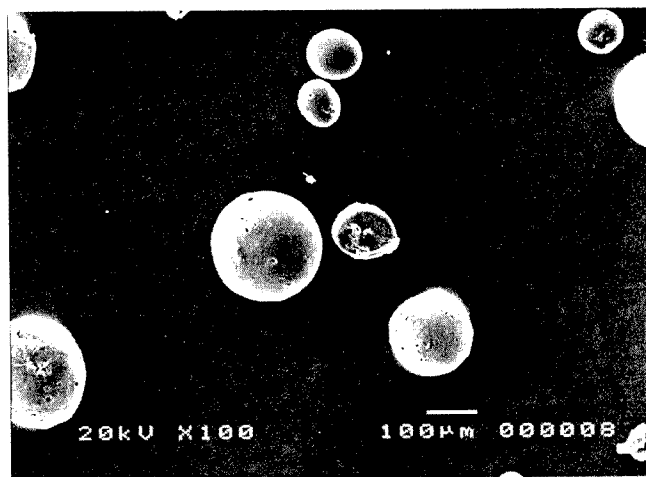


Fig. 2. SEM of curdlan acetate microspheres ($\times 100$)

Curdlan acetate microspheres에 적재된 IND의 양을 측정한 결과 drug loading efficiency (wt-%)가 58.44% 였다. 약물 방출의 주요 영향 인자인 swelling 정도를 측정한 결과, pH 1.4 보다 pH 7.4에서 높은 swelling을 보였다 (Fig. 3). 또한, Fig. 4에서는 curdlan acetate microspheres로부터 IND 방출을 행한 결과를 보여주고 있다. pH 7.4에서의 방출이 pH 1.4의 방출 보다 10배 이상 높게 나타났다. 24시간 동안 pH 7.4의 방출은 약

60% 정도 이루어진 반면, pH 1.4에서의 방출은 약 5% 정도의 방출이 이루어졌다. 이러한 결과로 curdlan acetate microspheres는 pH 의존성 방출 경향을 보이며, pH 의존성 약물 전달계에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

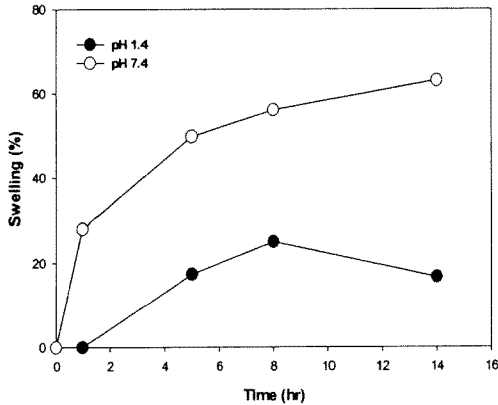


Fig. 3. Swelling of curdlan acetate microspheres at the pH 1.4 and 7.4

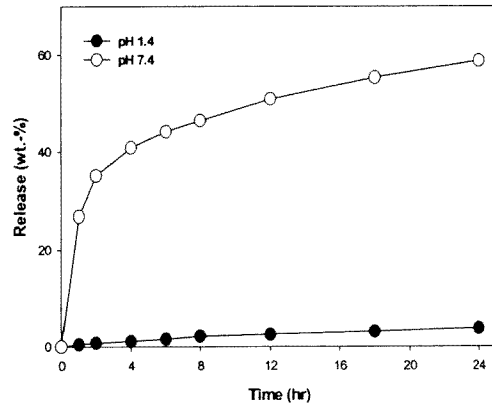


Fig. 4. Release of IND from curdlan acetate microspheres at the pH 1.4 and 7.4

요 약

생분해성인 Curdlan을 이용하여 pH 의존성 약물 전달계 개발을 위한 실험을 수행한 결과, pH 1.4에서 약물 방출 보다 pH 7.4에서 약물 방출이 10배 이상 증가하였다. 이러한 결과로 curdlan acetate microspheres는 pH 의존성 약물 전달계로 유용하다고 판단된다.

참고문헌

1. K. Na, Y.I. Jeong, and K.Y. Lee, "Release of Indomethacin from pH-sensitive Pullulan Acetate Microsphere" (1997), *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **2**, 48-52.
2. Langer, R. "New methods of drug delivery" (1990), *Science*, **249**, 1527-1533.
3. Lawrence K. Fung, W. Mark Saltzman, "Polymeric implants for cancer chemotherapy" (1997), *Advanced drug delivery reviews*, **26**, 209-230.
4. C.M. Pai, Y.H. Bae, E.J. Mack, D.E. Wilson, and S.W. Kim, "Concanavalin A microspheres for a self-regulating insulin delivery system" (1992), *J. of Pharm. Sciences*, **81**, 532-536.
5. K. Na, and K.Y. Lee, "pH sensitive release of Indomethacin using lactan-acetate microspheres" (1998), *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **24**, 563-568.