

알긴산나트륨 매트릭스로부터 플루오로우라실의 제어 방출

김성호* · 정용재 · 하정현

조선대학교 약학대학

(1992년 6월 3일 접수)

Controlled Release of Fluorouracil from Sodium Alginate Matrices

Sung Ho Kim, Yong Jae Jung and Chung Hun Ha

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

(Received June 3, 1992)

The applicability of sodium alginate as a carrier of 5-fluorouracil as an oral delivery system was investigated. Hydrophobicity of sodium alginate was controlled by introducing cetyl group to this polymer. The effects of degree of esterification for *n*-cetyl partial ester on the rate of release of 5-fluorouracil in artificial gastric juice and artificial intestinal juice were examined. The release rate of the drug in the gastric juice was mainly affected by the diffusion of the drug. The release rate of the drug in the intestinal juice could be controlled by the degree of esterification. The alginate matrices may be a valuable addition as the carrier of 5-fluorouracil for an oral delivery system.

Keywords—Ester of sodium alginate, oral delivery system, 5-fluorouracil

플루오로우라실(5-FU)은 여러 종류의 암치료에 널리 사용되고 있으나 암세포 내에서도 일반 정상세포 내에서 효소에 의하여 fluoro- β -alanine, 탄산가스, 암모니아 및 요소로 쉽게 분해되며 생체 반감기가 매우 짧다($t_{1/2} = 10 \sim 20$ 분).¹⁾ 따라서 이 약물은 비교적 다량을 정맥 또는 경구적으로 투여하며 연속 투여할 경우에는 골수독성 또는 위장장해를 나타낸다. 이러한 독성이나 부작용을 줄이기 위해서 근래에 많은 5-FU의 prodrug이 개발되고 있으며²⁻⁴⁾ 고분자를 이용한 조절 방출 연구도 진행되고 있다.⁵⁻⁹⁾ 제약공업과 식품공업 또는 상처를 치료하는데 국소 용으로 이용되고 있는 다당류의 일종인 알긴산나트륨(α -L-glucuronic acid와 β -D-mannouronic acid의 1-4 glycosidic결합)는 친수성을 가지고 있으며 물을 흡수하여 3차원적 ionotropic 히드로겔 매트릭스를 형성하므로 이를 이용한 항암제의 제어 방출에 대하여 연구된 바 있다.¹⁰⁾ 본 연구에서는 5-FU을 알긴산나트륨에 분산시킨 겔을 제조하여 5-FU의 경

구용 제어방출 전달체로서의 알긴산나트륨의 적합성과 그 부분적 에스테르 화합물에 있어서 장용성 약물 전달체로서의 응용성 등을 검토하였다.

고분자의 주쇄 또는 측쇄에 작용기를 도입하여 소수성을 조절하는 방법¹¹⁾을 사용하여 세탄올과 부분적으로 에스테르화된 알긴산을 합성하였고 여기에 5-FU을 혼합함으로써 pH 의존성 약물 전달체를 만들어 장용성 조절방출 제제로서의 사용 가능성에 대한 기초적 실험을 행하였다.

실험 방법

재료 및 기기

알긴산나트륨(Junsei Chem. Co.)과 세탄올(Yakuri Chem. Co.)을 건조한 후에 사용하였으며 약물로서 5-FU(Sigma Chem. Co.)을 사용하였다. 기타 시약 및 용매는 일급 또는 특급 시약을 사용하였다. 기기로서는 FT-IR(IFS-66 type, Bruker)과 자외부-가

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

시부 분광광도계(Shimadzu. UV-1201, Shimadzu)를 사용하였다.

알긴산나트륨의 에스테르화

분말상태의 알긴산나트륨에 과량의 세탄올을 넣고 소량의 진한 염산을 촉매로 하여 에스테르화 반응을 진행시켰다. 반응온도는 $80 \pm 1^\circ\text{C}$, 반응시간은 8시간으로 조절하였으며 반응 수율을 높이기 위해서 반응중에 생성된 물을 deanstark trap으로 분리하였다. 이때 분리된 물의 양으로 에스테르화의 진행정도를 예측하여 에스테르화가 70% 이상이 되도록 반응시켰으며 고온에서 알긴산나트륨의 변질을 막기 위해서 감압하에서 반응시켰다. 이와 같이 합성된 에스테르화물은 FT-IR에 의하여 확인하였으며 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 이에서 보는 바와 같이 1620 cm^{-1} 부근에서의 유리산의 피크가 현저히 감소되었고 1740 cm^{-1} 부근에서 새로운 에스테르 피크를 확인할 수 있었다.

마트릭스의 제조

합성된 알긴산 부분 에스테르화물은 불용성이므로 수산화나트륨의 양을 정량적으로 가하여 에스테르기를 부분적으로 가수분해하여 에스테르 정도를 조절하였으며 이에 따라 수용성 알긴산을 얻을 수 있었다. 알긴산세틸 수용액에 5-FU를 5w/w%로 분산시켜 막의 형태로 제조한 다음 진공 건조기 속에서 24시간 동안 상온에서 감압 건조시켜 매트릭스(넓이: 6.3 cm^2 , 두께: $1.0\sim 1.1\text{ mm}$)를 제조하였다.

고분자의 용해시간 변화에 대한 pH의 영향

알긴산세틸의 용해도를 알기 위해서 막을 제조하여 (넓이: 6.3 cm^2 , 두께: $1.0\sim 1.1\text{ mm}$) 감압하에서 24시간 동안 건조한 후 pH 1.2~8까지의 완충액에 넣어 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 100 rpm 속도로 교반하여 완전히 용해되는 시간을 측정하였다. 알긴산세틸의 용해속도를 측정하기 위해서 인공장액 10ml에 넣고 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 100 rpm 속도로 교반하면서 검액을 일정한 시간 간격으로 교환한 다음 Dubois method¹²⁾로 파장 481 nm에서 용해된 알긴산세틸을 정량하였다.

방출시험

경구 투여된 약물은 위장관내에서의 체류시간을 고려하여¹³⁾ 제조된 매트릭스를 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지되는 인공위액(pH 1.2) 및 인공장액(pH 6.8) 속에서 연속적

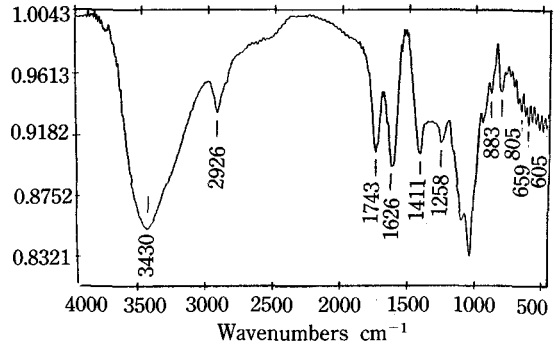


Figure 1-IR spectrum of cetyl alginate.

으로 방출하는 5-FU 양을 측정하였다. 매트릭스 표면에 부착된 이물질 제거하기 위해서 증류수로 세척한 다음 인공위액(10 ml)에서 용출시험을 행하고 그 매트릭스를 그대로 인공장액(10 ml)에 옮겨서 용출시험을 다시 행하였다. 인공위액에서 취한 검액은 파장 255 nm, 인공장액에서 취한 검액은 파장 267 nm에서 흡광도를 측정하여 용출된 5-FU의 양을 정량하였다. 모든 실험을 3회 시행하였다.

결과 및 고찰

pH에 따른 알긴산세틸의 용해성

알긴산나트륨 막은 pH 1.2에서는 녹지 않지만 pH 5.0에서는 완전히 용해되는데 105분이 소요되었고 pH가 증가함에 따라 용해되는 시간이 감소하였다. 알긴산세틸도 마찬가지로 낮은 pH에서는 용해되지 않았으며 pH가 증가할수록 용해시간이 감소하였다. 그러나 pH 7~8에서 용해되는 시간이 70분 이상으로 알긴산나트륨막에 비해 천천히 용해되었다(Fig. 3, Table D). 이와 같은 결과는 methyl-vinyl ether-maleic anhydride 공중합체의 부분에스테르화물에 대한 연구결과¹¹⁾와 일치하고 있다.

인공위액(pH 1.2)에서의 5-FU의 방출

pH 1.2에서 5-FU의 방출속도를 나타낸 것으로서 에스테르화도가 증가함에 따라 방출량이 감소하며 방출되어진 시간도 짧아지는 것을 보이고 있다(Fig. 4). 인공위액에 넣기 전에는 매트릭스가 염의 형태로 존재하고 있으나 인공위액에서는 매트릭스 자체가 비헤리 형태로 되어 불용성 매트릭스로 변환된다. 따라서 이와 같은 상태에서 방출이 일어나게 됨으로

Table I—Dissolution Time of Alginate Matrices in Various Buffered pH Solutions at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$

Matrix	Dissolution time (min)		
	Gastric juice (pH 1.2)	Intestinal juice (pH 6.8)	Phosphate buffer solution (pH 8.0)
70% Cetyl alginate	insoluble	70	70
Sodium alginate	insoluble	25	25

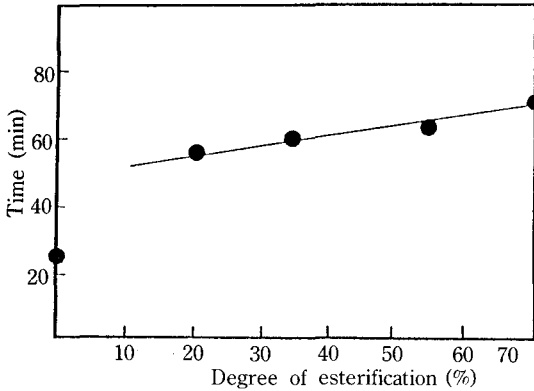


Figure 2—Effects of degree of cetyl esterification on dissolution of sodium alginate matrices on 0.2 M phosphate buffer solution (pH 7.0) at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

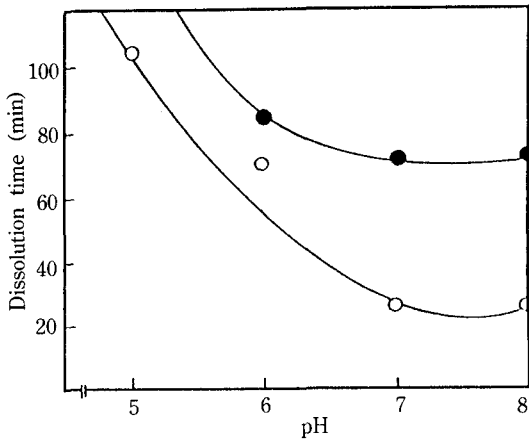


Figure 3—Effects of pH on dissolution time of alginate matrices

Key: ○, sod. alginate; ●, 70% cetyl alginate

인공위액에서의 5-FU의 방출은 약물분자 자체의 확산에 의한 것으로 생각된다. 에스테ルの 도입으로 인하여 방출속도가 감소되는 것은 에스테ル화도가 증가함에 따라 매트릭스의 소수성이 증가되어 5-FU의 확산속도가 감소되기 때문인 것으로 생각된다.

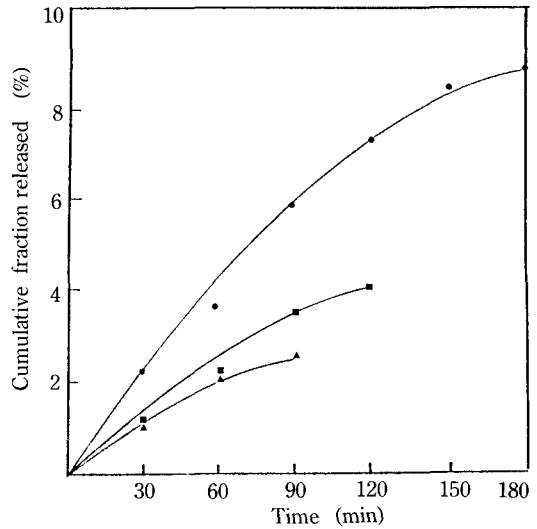


Figure 4—Effects of degree of cetyl esterification of sodium alginate on the cumulative fraction released of 5-FU in artificial gastric juice at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Key: ●, sod. alginate; ■, 35% cetyl alginate; ▲, 70% cetyl alginate

인공장액(pH 6.8)에서의 5-FU 방출

낮은 pH에서 매트릭스는 불용성인 산의 형태로 존재하나 pH가 증가함에 따라 염의 형태로 바뀌면서 가용화된다. 인공위액에서는 매트릭스의 카르복실기가 비해리형으로 존재하여 매트릭스가 불용성으로 되면서 5-FU의 방출속도를 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 4) 인공장액에서는 인공위액과는 대조적으로 5-FU의 방출속도가 현저하게 증가하는데 이것은 매트릭스가 카르복실기의 이온화에 의해 가용성으로 변형되는 것이라고 생각된다.

pH 6.8의 인공장액에서 알긴산나트륨은 20분만에 매트릭스가 완전히 용해되어 5-FU의 방출을 완료하였고 70% 에스테ル화된 알긴산세틸은 40분 동안 5-FU의 방출을 지속하였다(Fig. 5). 에스테ル화도가 증가할수록 매트릭스의 소수성 증가로 인하여 매트릭

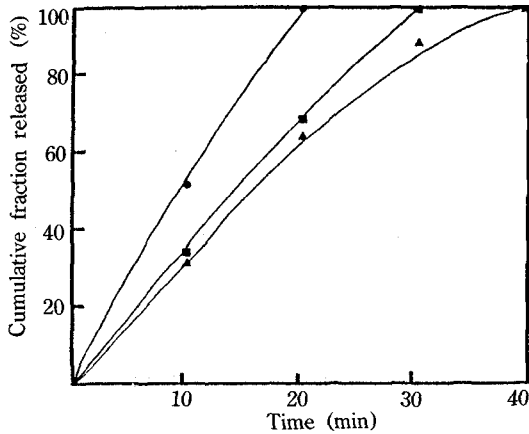


Figure 5—Effects of degree of cetyl esterification of sodium alginate on the cumulative fraction of 5-FU in artificial intestinal juice at $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

Key: ●, sod. alginate; ■, 35% cetyl alginate; ▲, 70% cetyl alginate

스가 용해되는 시간이 길어짐에 따라 방출속도는 감소되는 것으로 나타났다.

알긴산세틸 매트릭스에서의 방출은 인공위액에서는 매트릭스가 불용성이므로 확산에 의해서 방출이 일어나며 표면에서의 초기 방출속도가 큰 것은 매트릭스 표면에 노출되어 있는 5-FU의 신속한 용해 및 확산에 의한 것으로 사료된다.

그러나 불용성 매트릭스가 인공장액 중에서 해리되어 다시 수용성 매트릭스로 변형된다. 이러한 상태에서 방출이 일어나기 때문에 5-FU의 방출은 확산에 의한 것보다는 매트릭스의 분해속도에 주로 의존할 것으로 사료된다(Fig. 6). 따라서 알긴산나트륨을 장용성 담체로 이용하기 위해서는 pH 1.2 영역인 위에서는 5-FU의 확산을 제한할 필요가 있으며 pH 6.8 영역인 장에서는 세탄올에 의한 에스테르화 정도를 변화시켜 매트릭스의 소수성을 조절함으로써 분해 시간을 조절해 주는 것이 필요하였다.

결 론

친수성 다당류인 알긴산의 pH 의존성에 근거하여 에스테르화에 의한 소수성을 조절함으로써 장용성 전달체인 알긴산세틸을 얻을 수 있었다.

1. 인공위액(pH 1.2)에서 5-FU의 방출량을 효율적으로 제한시킬 수 있었고 알긴산의 에스테르화에

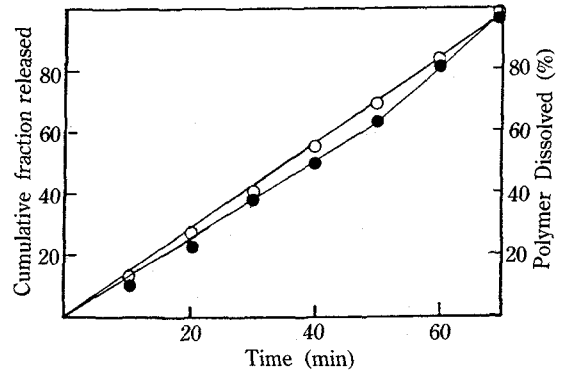


Figure 6—Rate of polymer dissolution and release of 5-FU from the partial cetyl ester of sodium alginate containing 5 wt% drug at pH 6.8 ($37 \pm 0.5^\circ\text{C}$)

Key: ○, 5-FU release; ●, polymer dissolution

따라서 매트릭스의 녹는 시간을 조절함으로써 5-FU의 방출속도를 조절할 수 있었다.

2. 알긴산나트륨의 부분 에스테르 화합물이 세틸기의 도입에 따라 소수성과 친수성의 정도가 조절됨으로서 매트릭스의 분해도를 조절할 수 있는 것으로 보아 경구용 방출제 매트릭스의 재료로 사용될 수 있을 것으로 기대되었다.

감사의 말씀

본 연구는 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모 과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었으며 이에 깊이 감사드립니다.

문 헌

- 1) S.D. Kaufman and S. Weitzman, The clinical pharmacology of anticancer drugs, Radiation-Drug interaction in the treatment of cancer, (Ed.) G.H. Sokol and R.P. Maikel, 1980, John Willey and Sons.
- 2) S. Ozaki, Y. Watanabe, H. Mizuno, K. Ishikawa, and H. Mori, 5-Fluorouracil derivatives IV. Synthesis of antitumor active acyloxyallyl-5-fluorouracil, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 733-738 (1984).
- 3) H. Lee, P.S. Chang, J.W. Kim, K.H. Jung, S.H. Shin, H.S. Shin and S.B. Jung, Synthesis of

- 5-fluorouracil-fat conjugates and evaluation of their *in vitro* cytotoxic activity, *Yakhak Hoeji*, **34**, 395-400 (1990).
- 4) Y. Ohya, T.Z. Huang, T. Ouch, K. Hasegawa, J. Tamura, K. Kadowaki, T. Matsumoto, S. Suzuki and M. Suzuki, Synthesis and anti-tumor activity of α -1,4-polygalactosamine and N-acetyl- α -1,4-polygalactosamine immobilized 5-fluorouracils through hexamethylene spacer groups via urea, urea bonds, *J. Control. Rel.*, **17**, 259-266 (1991).
 - 5) S. Miyazaki, K. Ishi, K. Sugibayashi, Y. Morimoto and M. Takada, Antitumor effect of ethylene-vinyl acetate copolymer matrices containing 5-fluorouracil on Elarlich ascites carcinoma in mice, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3770-3775 (1982).
 - 6) S. Miyazaki, S. Takeuchi, M. Sakamoto and M. Takada, Controlled release of 5-fluorouracil from hydrophilic ethylene-vinyl alcohol polymer matrices, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3707-3713 (1983).
 - 7) C.G. Gebelin and R.R. Hartsough, The controlled release of 5-fluorouracil from polymeric system, *Inter. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **11**, 65-66 (1984).
 - 8) Y.F. Ma and J. Heller, Controlled release of 5-fluorouracil from linear poly(ortho esters), *J. Control. Rel.*, **13**, 11-19 (1990).
 - 9) R. Jeyanthi and K.P. Rao, Controlled release of anticancer drugs from collagen-poly (HEMA) hydrogel matrices, *J. Control. Rel.*, **13**, 91-98 (1990).
 - 10) M. Balkoo, S. Woorly and R. Duncan, Release of antibiotics and antitumor agents from alginate and gellan gum cell, *Inter. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **18**, 441-442 (1991).
 - 11) J. Heller and R.W. Backer, Theory and practice of controlled drug delivery from biodegradable polymer, Controlled release of bioactive materials, R. Baker(Ed.), 1980, Academic Press, pp.1-17.
 - 12) M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956).
 - 13) N.k. Jain and S.U. Naik, Design of slow-release capsule using laser drilling, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1806-1811 (1984).