

Poly(ϵ -carboboxy L-lysine)/Poly(ethylene oxide)/Poly(ϵ -carboboxy L-lysine) 블록 공중합체 미립자에서 Cytarabine의 방출특성

조종수¹ · 권중근² · 조병욱³ · 이강춘^{4†} · 성용길⁵

¹전남대학교 고분자공학과, ²조선대학교 공업전문대학 화공과,
³조선대학교 화학공학과, ^{4†}성균관대학교 약학과, ⁵동국대학교 화학과
(1992년 11월 17일 접수)

Release of Cytarabine from Poly(ϵ -carboboxy L-lysine)/Poly(ethylene oxide)/Poly(ϵ -carboboxy L-lysine) Block Copolymer Microspheres

Chong Su Cho¹, Joong Kuen Kwon², Byung Wook Jo³, Kang Choon Lee^{4†}, Yong Kiel Sung⁵

¹Department of Polymer Engineering, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea,
²Department of Chemical Engineering, Junior College of Chosun University, Kwangju, 501-759, Korea,
³Department of Chemical Engineering, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea,
^{4†}Department of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea,
⁵Department of Chemistry, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea
(Received November 17, 1992)

Poly(ϵ -carboboxy L-lysine)/poly(ethylene oxide)/poly(ϵ -carboboxy L-lysine) (LEL) block copolymers containing poly(ϵ -carboboxy L-lysine) (PCLL) as the A component and poly(ethylene oxide) (PEO) as the B component were investigated as drug delivery matrix. PCLL homopolymer and LEL block copolymer microspheres containing anticancer drug, cytarabine, were prepared by a solvent evaporation process and the release patterns of cytarabine from the microspheres were investigated *in vitro*. The size of PCLL homopolymer and LEL block copolymer microspheres was ranged from 0.2 μ m to 1 μ m in diameter and the shape of the microspheres was almost round. The release pattern of cytarabine from the block copolymer microspheres was dependent on the mole % of PEO of the block copolymers.

Keywords—Copolymer, Poly(ϵ -carboboxy L-lysine), Poly(ethylene oxide), Microspheres, Cytarabine, Drug release.

최근 생체분해성 고분자를 이용한 새로운 약물수송시스템 개발연구가 활발히 진행되고 있으며, 빈용되고 있는 생체분해성 고분자로서는 polyester계로서 poly(glycolic acid) (PGA),¹⁾ poly(lactic acid) (PLA),²⁾ PGA/PLA 공중합체²⁾ 등과 poly(caprolactone)과 poly(dioxanone)³⁾이 사용되고, polypeptide계 고분자에 관한 응용연구는 poly(glutamic acid) (PGLA)⁴⁻⁶⁾을 위시하여 PGLA/leucine 공중합체,⁷⁾ poly(aspartic acid)/leucine 공중합체⁸⁾ 등이 중점적

으로 검토되었으며 겔가지에 -OH기를 갖는 poly(hydroxypropyl glutamine)계^{9,10)}와 poly(hydroxyethyl aspartamide)계¹¹⁾ 고분자와 약물의 공유결합체 관련연구도 보고되고 있다. 기타 생체분해성 고분자로서는 poly(alkyl 2-cyanoacrylate)계,¹²⁾ hydroxy-alkyl cellulose 등의 다당류계,¹³⁾ poly(ethylene oxide) 등과 같은 수용성 고분자¹⁴⁻¹⁶⁾ 등이 검토되었으며 그밖에도 무기 고분자인 polyphosphagene계,¹⁷⁾ polyamide계,¹⁸⁾ polyanhydride계,¹⁹⁾ collagen,²⁰⁾

† 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

gelatin²¹⁾ 등도 생체분해성 고분자로서 시도된 바 있다.

본 연구에서는 polypeptide계인 소수성 poly(ϵ -carbobenzoxy L-lysine) (PCLL)을 A블록으로 하고 친수성인 poly(ethylene oxide) (PEO)를 B블록으로 하는 ABA형 블록 공중합체 poly(ϵ -carbobenzoxy L-lysine)/poly(ethylene oxide)/poly(ϵ -carbobenzoxy L-lysine) (LEL)를 새로운 약물수송체로서 검토하기 위해 항암제인 cytarabine을 함유한 PCLL 단일 중합체와 PEO 함량이 상이한 LEL 블록 공중합체의 미립자를 제조하여 이들 미립자로부터 cytarabine의 용출특성을 비교 검토하였다.

실험 방법

시약 및 재료

항암제인 cytarabine은 Sigma(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였고 chloroform, n-hexane, tetrahydrofurane 및 1,4-dioxane은 Fisher(Fair Lawn, NJ, USA) 제품을 사용하였다. Poly(ϵ -carbobenzoxy L-lysine) (PCLL)과 LEL-L 및 LEL-H 등의 2종의 LEL 블록 공중합체는 Cho 등에 의해 합성되고 그 구조학적 연구가 보고된 시료를 사용하였으며,²²⁾ 그들의 화학구조와 특성은 Fig. 1 및 Table I에 각각 표시한 바와 같다.

항암제 함유 미립자 제조

Cytarabine을 함유한 PCLL과 LEL 블록 공중합체

미립자를 상온에서 solvent evaporation 방법으로 제조하였다. 5 mg의 cytarabine을 chloroform과 trifluoroacetic acid(1 : 1) 혼합액에 녹인 1% 고분자용액 2 ml에 넣어 용해시킨 다음, 이 용액을 1% polyvinyl alcohol(분자량 88,000, 검화도 99.5%, Hayashi, Japan) 수용액 30 ml에 가한 다음 sonicator(VS 300, Nihoseiki, Japan)를 이용하여 60 W에서 5분간 유회시킨다. 유기용매가 완전히 제거될 때까지 상온에서 이 액을 교반하여 준 후 원심분리하여 고화된 고분자 미립자를 취하고 감압하에서 건조하였다.

주사 전자현미경의 관찰

고분자 미립자의 크기와 형태를 관찰하기 위하여 미립자를 금(Au)으로 코팅한 후 주사 전자현미경(JSM 840A, Jeol, Japan)으로 관찰하였다.

항암제의 용출실험

10 mg의 고분자 미립자를 5 ml의 phosphate buf-

Table I—Characterization of PCLL Homopolymer and LEL Block Copolymers

Poly- mers	Content of monomeric units in mole %		Molecu- lar wt.	- $[\theta]_{222}^c$	$[\theta]_{222}^{c222}$	Tg (°C)
	PEO	PCLL				
PCLL	0	100	—	32900	1.00	47
LEL-L	50.1	49.9	13,800	16100	0.49	-21.41
LEL-H	74.8	25.2	6,000	6400	0.20	-23.40

^{a)} $[\theta]_{222}^c$: ellipticity of the block copolymers

$[\theta]_{222}^c$: ellipticity of the PCLL homopolymer

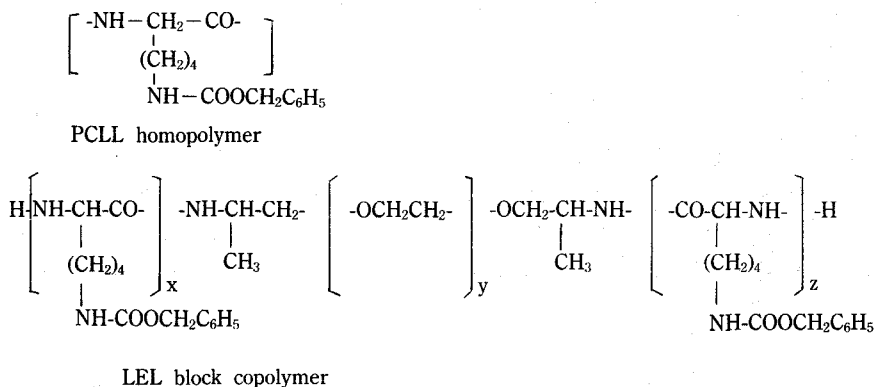


Figure 1—Chemical structure of poly(ϵ -carbobenzoxy L-lysine) (PCLL) and poly(ϵ -carbobenzoxy L-lysine)/poly(ethylene oxide)/poly(ϵ -carbobenzoxy L-lysine) block copolymer.

fer saline(pH 7.4)에 분산시킨 후 37°C 에서 shaker가 달린 항온조에서 약물방출 실험을 행하였다. 일정한 시간 후에 각 vial을 12,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 고분자미립자를 제거한 다음, 미립자에서 방출된 약물의 양을 UV spectrophotometer(Lambda 5, Perkin Elmer, USA)를 사용하여 cytarabine의 최대 흡수 파장인 270 nm에서의 흡광도를 측정하고 표준곡선을 이용하여 산출하였다.

결과 및 고찰

사용된 고분자의 특성은 Table I에 나타난 바와

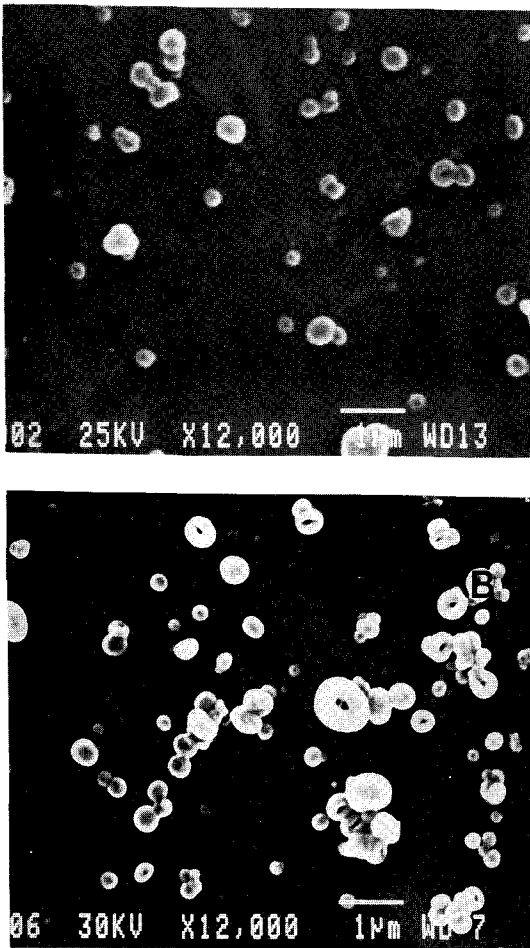


Figure 2—Scanning electron micrograph of PCLL homopolymer and LEL-L block copolymer microspheres containing cytarabine.
A: PCLL homopolymer, B: LEL-L block copolymer.

같이 α -helix 구조를 갖고 있으며 PEO의 함량이 증가함에 따라 분자량은 감소하고, 블록 공중합체의 비결정성은 증가되었다.²²⁾

Solvent evaporation 방법으로 제조된 PCLL homopolymer와 LEL-L블록 공중합체의 미립자들을 주사 전자현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 그림에 나타난 바와 같이 고분자에 따라 미립자의 크기와 형태의 차이는 관찰할 수 없었으며, 대체로 직경이 0.2 μ m에서 1 μ m의 크기로 원형임을 보여 주었다. 그러나 약물방출 18일 후에 미립자의 형태는 원래 원형의 형태에서 상당히 일그러진 형태를 나타내었다.

고분자 미립자에 loading된 cytarabine의 양은 PCLL, LEL-L 및 LEL-H 사이에 커다란 차이를 보이지 않았으며 각각 11.0, 12.7 및 13.0%이었다.

고분자 미립자에서 항암제인 cytarabine의 시간에 따른 방출량을 18일간에 걸쳐 시험하였으며 Fig. 3에 표시하였다. PCLL homopolymer에 비하여 LEL 블록 공중합체의 경우 방출속도의 증가현상을 볼 수 있었으며, 특히 LEL 블록 공중합체 미립자에서는 블록 공중합체중 PEO의 함량이 적은 LEL-L보다

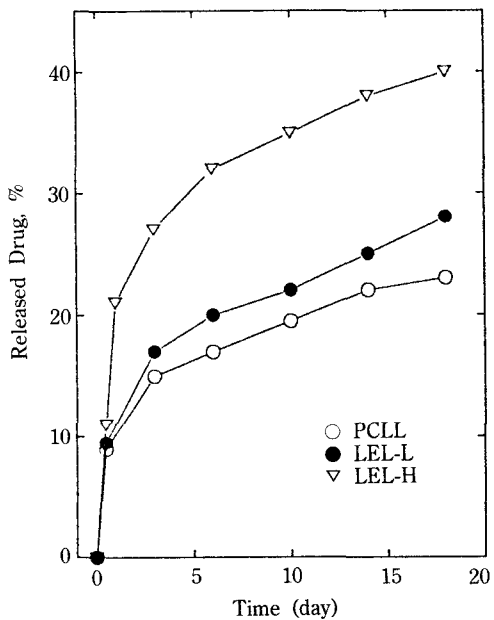


Figure 3—Release pattern of cytarabine from PCLL homopolymer and LEL block copolymer microspheres containing cytarabine in saline solution (pH 7.4, 37°C).

PEO 함량이 상대적으로 큰 LEL-H 미립자에서 cytarabine의 용출율이 증가하였다. 이러한 결과는 PCLL에 도입된 PEO의 함량이 증가됨에 따라 공중합체의 분자량이 감소하고 비결정성의 증가와 더불어 친수성이 증가되었기 때문으로 사료되며 Cho 등²³⁾이 검토한 poly(ϵ -benzyl L-glutamate) (PBLG)/poly(ethylene oxide) (PEO)/PBLG 블록 공중합체에서 검토한 PEO 함량의 증가로 친수성이 증가되고 있다는 결과와도 일치하는 경향을 보이고 있다.

감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단 연구비 지원(KOSEF 89-04-05-05)에 의해 이루어졌으며 이에 감사한다.

문 헌

- 1) E.J. Frazza and E.E. Schmitt, *J. Biomed. Mater. Res.*, **1**, 43 (1979).
- 2) D.K. Gilding and A.M. Reed, *Polymer*, **20**, 1459 (1979).
- 3) R.K. Chang, J.C. Price and C.W. Whitworth, *Pharm. Technol.*, **10**, 29 (1986).
- 4) K. Kovacs, A. Kotai and I. Szabo, *Nature (London)*, **185**, 266 (1960).
- 5) T. Miyama, S. Mori and Y. Takeda, U.S. Patent, 3,371,069 (1968).
- 6) G.F. Rowland, G.J. O'Neill and D.A.L. Davies, *Nature (London)*, **255**, 487 (1975).
- 7) J.M. Anderson, D.F. Gibbones, R.L. Martin, A. Hiltner and R. Woods, *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, **5**, 197 (1974).
- 8) K.W. Marck, R.H. Wildevu, W.L. Sederel, A. Bantjes and J. Feijen, *J. Biomed. Mater. Res.*, **11**, 405 (1977).
- 9) N. Negishi, D.B. Bennett, C.S. Cho, S.Y. Jeong, W.A.R. Van Heeswijk, J. Feijen and S.W. Kim, *Pharm. Research*, **4**, 305 (1987).
- 10) J. Feijen, D. Gregonis, C. Anderson, R.V. Peterson and J. Anderson, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 871 (1980).
- 11) P. Neri, G. Antoni, F. Benvenuti, F. Cocola and G. Gazzei, *J. Med. Chem.*, **16**, 893 (1973).
- 12) S.J. Douglas, S.S. Davis and L. Illum, *Int. J. Pharm.*, **34**, 145 (1986).
- 13) M.G. Wirick, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **46**, 512 (1974).
- 14) J.B. Brown, *Ann. Surg.*, **152**, 534 (1960).
- 15) A.H. Knectal, *Perfum. J.*, **78**, 95 (1963).
- 16) D.K. Gilding, Biocompatibility of Clinical Implant Materials, Vol.II, CRC series, D.F. Williams, d., 214 (1983).
- 17) H.R. Allcock, T.X. Neenan and W.C. Kossa, *Macromolecules*, **15**, 693 (1982).
- 18) E. Roggendorf, *J. Biomed. Mater. Res.*, **10**, 123 (1976).
- 19) H. Rosen, J. Chang, G. Wnek, R. Linhardt and R. Langer, *Biomaterials*, **4**, 131 (1983).
- 20) A. Stemberger, K.H. Sorg, R. Ascherl, M.A. Scherer, W. Ergardt, K. Machka, R. Kotitschke, F. Lechner, G. Blmel and H. Schlemmer, *Polym. Mater. Sci. Eng.*, **59**, 817 (1988).
- 21) K.C. Lee and I.B. Koh, *Arch. Pharm. Res.*, **10**, 42 (1987).
- 22) C.S. Cho and J.K. Kwon, submitted for publication in *Makromol. Chem.*
- 23) C.S. Cho, J.W. Park, J.K. Kwon, B.W. Jo, K.C. Lee, K.Y. Kim and Y.K. Sung, *Polymer (Korea)*, **15**, 27 (1991).