

이프리플라본을 함유한 생분해성 미립구의 제조와 특성분석

이진수 · 신준현* · 정제교* · 이종문 · 이해방** · 강길선†

전북대학교 유기신물질공학과, *삼천당제약 중앙연구소

**한국화학연구원 생체고분자연구실

(2002년 10월 7일 접수, 2002년 12월 4일 채택)

Preparation and Characteristics of Ipriflavone-Loaded PLGA Microspheres

Jin Soo Lee, Joon Hyun Shin*, Je Kyo Jeong*, John M. Rhee,
Hai Bang Lee**, and Gilson Khang†

Department of Advanced Organic Materials Engineering,

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

*Research Center, Samchundang Pharm. Co. Ltd.,

P.O. Box 289, Youngdeungpo, Seoul 150-037, Korea

**Biomaterials Laboratories, Korea Research Institute of Chemical Technology,

P. O. Box 107, Daejeon 305-340, Korea

†e-mail : gskhang@moak.chonbuk.ac.kr

(Received October 7, 2002; accepted December 4, 2002)

초록 : 골다공증 치료제 이프리플라본 (IP)은 조골세포의 분화와 증식을 자극하고 에스트로겐의 존재로 칼시토닌 분비를 강화한다. 조절 가능한 생분해성과 생체적합성으로 인하여 락타이드-글라이콜라이드 공중합체 (PLGA)는 약물방출조절을 연구하는데 가장 적합한 고분자중의 하나이다. 본 연구에서 IP가 함유된 PLGA 미립구는 일반적인 O/W 용매 증발법으로 제조하였으며, 미립구의 크기는 5~200 μm 의 범위에 있었다. 미립구의 형태는 SEM으로 관찰하였고, 생체외 방출실험에서 IP 방출량은 HPLC로 분석하였다. 젤라틴 및 PVA 등의 유화제 사용으로 가장 높은 약물 포접율을 얻을 수 있었다. 미립구의 형태, 크기 및 약물 방출 패턴은 PLGA의 분자량 (8, 20, 33 및 90 kg/mol), 고분자용액의 농도 (2.5, 5, 10 및 20%), 유화제의 종류 (PVA, gelatin 및 Tween 80), 초기 약물 함유량 (5, 10, 20 및 30%) 및 교반속도 (250, 500 및 1000 rpm) 등과 같은 여러 제조 변수들에 의하여 조절할 수 있음을 알 수 있었다. 생체외 방출실험에서 IP 방출은 제조조건을 조절함으로써 거의 영차방출 형태로 30일 이상으로 지속적이었다. 또한, XRD와 DSC로 IP 함유 PLGA 미립구의 물리화학적 성질을 조사하여 방출메카니즘을 고찰하였다.

ABSTRACT : Ipriflavone (IP) stimulates proliferation and differentiation of osteoblast and also enhances calcitonin secretion in the presence of estrogen. Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) due to its controllable biodegradability and relatively good biocompatibility is one of the most significant candidates for the study of drug controlled release system. In this study, IP-loaded PLGA microspheres (MSs) was prepared by using conventional O/W solvent evaporation method. The size of MSs was in the range of 5~200 μm . The morphology of MSs was characterized by SEM. And, *in vitro* release amounts of IP were analyzed by HPLC. The highest encapsulation efficiency were obtained by using gelatin and polyvinyl alcohol (PVA) as emulsifiers. The morphology, size distribution, and *in vitro* release pattern of MSs were changed by several preparation parameters such as molecular weights (8, 20, 33 and 90 kg/mol), polymer concentrations (2.5, 5, 10 and 20%), emulsifier types (PVA, gelatin and Tween 80), initial drug loading amount (5, 10, 20 and 30%) and stirring speed (250, 500 and 1000 rpm). The release of IP *in vitro* was more prolonged over 30 days, with close to zero-order pattern by controlling the preparation parameters. The physicochemical properties of IP-loaded PLGA MSs were investigated by XRD and DSC.

Keywords : Ipriflavone, PLGA, microsphere, release pattern.

1. 서론

뼈는 칼슘과 단백질로 이뤄져 있고, 살아 있는 조직이다. 몸에서 적은 양의 뼈가 파괴되고 생성되는 과정이 이뤄지는데, 이때 뼈의 칼슘이 골화되는 것보다 흡수가 더 많이 되면, 뼈의 밀도나 양이 줄게 되어, 뼈는 약해지고 쉽게 부러진다. 최근 평균 수명의 증가로 인한 골다공증(osteoporosis)의 발생은 심한 관절통증을 유발하고, 골절이 쉽게 발생하여 평생불구로 만들기도 하며 이로 인해 사망에 이를 수 있는 매우 흔하고 치명적인 질환이라고 알려져있다.^{1,2}

이프리플라본 (ipriflavone, 3-phenyl-7-isopropoxy-4H-1-benzopyrane-4-one, IP)은 노년층이나 폐경기 여성들에서 빈발하는 골다공증의 치료 및 예방제로 널리 쓰이고 있는 약물이다.¹ 약리작용기전은 직접적인 골흡수 억제 작용과 에스트로겐의 칼시토닌 분비 촉진작용 증강에 의해 조골세포의 성장을 촉진하는 것으로 알려져 있다.^{3,4} 그러나, 본 약물은 극히 난용성이어서 경구투여 시 일부만 소장 상부에서 흡수될 뿐 거의 흡수되지 않는 것으로 알려져 있으며, 매일 복용해야 하는 불편함이 있다. 이러한 약물의 흡수를 개선 및 매일 복용해야 하는 문제점을 해결하기 위해서 생분해성 또는 비생분해성 고분자를 이용하여 장기간 약물을 지속적으로 방출하는 시스템을 확립할 필요가 있다.^{2,5} 생분해성 고분자를 이용한 약물의 서방성 제제화의 연구에 있어서 폴리에스터계 고분자인 폴리락타이드 (polylactide, PLA), 폴리글리콜라이드 (polyglycolide, PGA) 및 이들의 공중합체인 락타이드-글라이콜라이드 공중합체 (PLGA)가 주로 사용된다.⁶⁻¹⁵ 이들 고분자는 생체친화적이고 분해 속도를 조절할 수 있으며 물리적 강도가 우수하고 쉽게 성형할 수 있고, 생분해 속도에서 중요한 인자인 분자량과 락타이드의 공중합시에 이들의 분율을 조정하는데 용이한 점이고 합성 고분자로서 생분해성이 있는 것으로 유일하게 미국 식품의약 안정청 (FDA)의 승인을 받았기 때문이다.¹⁶⁻²⁵

본 연구에서 골다공증 환자를 위한 서방성 미립구 제제화에 있어서 일반적인 O/W 유화 용매 증발법을 이용하여 초기 약물의 burst없이 서서히 약물이 영차로 방출할 수 있는 IP 함유 PLGA 미립구를 제조하고자 하였다.²⁶⁻²⁹ PLGA의 분자량 (8, 20, 33 및 90 kg/mol), 고분자용액의 농도 (2.5, 5, 10 및 20%), 유화제의 종류 (PVA, gelatin 및 Tween 80), 초기 약물 함유량 (5, 10, 20 및 30%) 및 교반속도 (250, 500 및 1000 rpm) 등을 변수로 하여 제조조건을 달리 하였으며, 이들 변수들이 약물의 방출거동 및 미립구의 형태에 미치는 영향을 조

사하였다. 생성된 미립구의 크기, 크기 분포, 표면 상태를 관찰하기 위해 전자주사 현미경 (scanning electron microscope, SEM)을 이용하여 관찰하였다. 제조된 미립구의 생체외에서의 방출거동을 조사하기 위하여 고성능 액체크로마토그래피 (high performance liquid chromatography, HPLC)로 측정하였다. 또한 미립구의 물리화학적 성질을 X선 회절기(X-ray diffraction, XRD)와 시차주사열량계 (differential scanning calorimeter, DSC)로 관찰하였다.

2. 실험

시약 및 재료. IP (순도 99.2%, 동방미래화학)는 상온에서 보관하여 사용하였으며, 본 실험에서 이용한 생분해성 고분자 재료는 PLGA로서 평균분자량이 각각 8, 20과 90 kg/mol (락타이드/글리콜라이드 몰비, 50/50, 75/25 및 75/25, Resomer RG 502 H, 752, 및 756, Boehringer Ingelheim, Germany)인 것을 사용하였다. 젤라틴 (Junsei Chem. Co., Japan), 폴리비닐알콜 (PVA, Junsei Chem. Co., Japan), 및 Tween 80 (Junsei Chem. Co., Japan)은 유화제로 사용하였다. 생체의 방출실험시 이용한 물은 Milli-Q 정화 시스템 (Millipore, Molsheim, France)을 이용, 정제하여 사용하였다. 메틸렌클로라이드 (MC, Tedia, Japan), 아세토니트릴 (덕산화학), 메틸알콜 (Junsei Chem. Co., Japan) 및 기타 시약들은 HPLC 등급을 사용하였다.

IP를 함유한 PLGA 미립구 제조. 약물의 초기 함량, PLGA의 분자량, PLGA의 MC내의 고분자의 농도, 교반속도 및 유화제의 종류를 각각 변수로 주어 일반적인 O/W 용매 증발법을 이용하여 미립구를 제조하였고 (Table 1),

Table 1. Preparation Condition of IP-loaded PLGA MSs

batch no.	initial drug loading (%)	PLGA MW (kg/mol)	emulsifier types	polymer conc. (wt/v%)	agitation speed (rpm)	MSs size (μ m)	EE ^d (%)
1	10	90	gelatin	10	1000	-	116
2	10	33	gelatin	10	1000	50~200	100
3	10	20	gelatin	10	1000	5~80	96
4	10	8	gelatin	10	1000	-	23.7
5	10	20	PVA	10	1000	5~80	95.3
6	10	20	Tween 80	10	1000	-	101.2
7	10	20	gelatin	20	1000	10~150	101
8	10	20	gelatin	5	1000	5~80	81.6
9	10	20	gelatin	2.5	1000	-	40.5
10	10	20	gelatin	10	250	-	91.5
11	10	20	gelatin	10	500	5~100	99.1
12	5	20	gelatin	10	1000	5~100	90.6
13	20	20	gelatin	10	1000	-	91.3
14	30	20	gelatin	10	1000	-	87.3

^dEE: Encapsulation efficiency.

제조 방법은 다음과 같다. 먼저 PLGA와 IP를 MC에 녹인 후에 유화제가 함유된 수용액 상에 부으면서 5시간 동안 교반시키면서 용매를 증발시켰다. 원심분리하여 상등액을 버린 후 0.2%의 유화 용액으로 미립구를 5회 세척하여 얻었다. 제조된 미립구를 동결건조기를 사용하여 건조시켰다 (5 mtorr, -78 °C, 24시간). 미립구는 사용 전까지 데시케이터에 보관하였다.

미립구의 특성분석. 여러 가지 변수를 주어 제조된 미립구 크기와 형태를 관찰하기 위하여 SEM (S-2250N, Hitachi, Japan)을 사용하여 관찰하였다. 양면테이프를 부착한 금속판 위에 시료를 고정한 후 플라즈마 스퍼터 (SC 500K, Emscope, UK)를 이용하여 아르곤 분위기 하에서 90초 동안 백금코팅하였다. 제조된 미립구의 결정성은 XRD (D/Max-III B, Rigaku, Japan)를 사용하여 5°/min의 속도로 2θ의 값을 0~50°의 범위에서 측정하였으며, 미립구의 열적성질의 변화는 DSC (TA Instrument DSC 3100, DuPont, USA)를 이용하여 10 °C/min의 승온 속도로 -20~180 °C의 범위에서 측정하였다.

포접율. 제조된 미립구의 IP 포접율을 조사하기 위하여 조건을 달리하여 제조된 각각의 미립구 40 mg을 2 mL의 MC에 넣어 PLGA와 약물을 녹이고, 18 mL의 메탄올을 첨가하여 PLGA를 침전시키고 상등액 1 mL를 취하여 원심분리한 후 상층액 100 µL를 취하여 HPLC 분석하였다. HPLC 분석은 UV 검출기 (UV-1000, Thermo Separation Products, Fermont, CA, USA), 펌프 (P-2000, Thermo Separation Products), 자동시료주입기 (AS-3000, Thermo Separation Products)로 구성된 HPLC를 사용하였다. 컬럼은 µ-Bondapak C₁₈ (3.9×300 mm, Waters, Milford, MA, USA)을 사용하였고 이동상은 증류수와 아세트니트릴의 혼합액 (70 : 30, v/v)을 사용하였고, 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. 컬럼온도는 상온을 유지하였고 검출과장은 250 nm를 선택하였으며 시료주입량은 20 µL로 하였다.

생체의 방출분석. 생성된 미립구로부터 난용성 약물인 IP의 생체의 방출거동을 조사하기 위해 소듐도데실설페이트 (sodium dodecyl sulfate, SDS, Sigma Chem. Co., USA)를 3% w/v 첨가한 증류수로 제조된 실험액에 10 mg의 미립구를 넣어 방출실험을 실시하였다 (USP 규격기구²³ (회전패들 방법)).³⁰ 여기서 사용된 SDS와 같은 수용액상의 계면활성제는 임계미셀농도를 초과하는 농도에서 난용성 약물의 젖음성과 용해를 증진시켜 용출을 향상시킨다. 따라서, 생체의 방출실험을 위해 수용성 계면활성제의 일종인 SDS를 첨가한 수용액을 이용하여 간단하고 정확한 방출실험을 통해 난용성 IP의 정량분석의 어려움을 해결하였다.³¹ 정확한 분석을 위해

미립구의 동일한 양을 500 mL의 용출액 (pH 7.4)에 넣어 37 °C에서 일정한 교반속도 (100 rpm)를 주어 30일 동안 정해진 시간에 분석 시료를 채취하였고, 동일한 양의 용출액을 보충해 주었다. 분석시료는 분석시까지 냉장 보관 후 포접율 측정과 마찬가지로 HPLC 분석을 통해 정량분석하였다. 검량선은 IP를 메탄올에 용해하여 저농도와 고농도 부분을 각각 1~20 µg/mL과 50~400 µg/mL로 나누어 작성하였다. IP 특성피크는 약 12분에서 정량적으로 증가하였고, 검량선은 1/x 선형회귀법을 이용하여 도식하였다.^{31,32}

3. 결과 및 토론

IP 함유 미립구의 형태와 특성. 본 실험에서 사용한 IP의 화학적 구조는 Figure 1 (a)와 같으며 난용성이며 결정성을 가진 약물이다. 생분해성 고분자인 PLGA (Figure 1 (b))는 락타이드와 글리콜라이드가 이어진 선형 구조로 되어있다.¹

생분해성 PLGA 고분자를 매트릭스로 하고, 제조 조건 (고분자의 농도, 유화제의 종류, 초기 약물 함유량, 교반속도, 온도 그리고 고분자의 분자량 등)을 달리하여 제조된 IP 함유 미립구의 크기, 포접율 등을 Table 1에 나타내었다. 약물의 포접율은 제조 조건에 따라서 23.7~116%의 범위로 나타났으며 고분자의 농도가 높은 미립구가 고분자의 농도가 낮은 것보다 포접율이 약간 좋게 나타났는데 20%의 고분자 농도로 제조된 미립구는 2.5%로 제조된 것보다는 포접율이 다소 클 수 있었다 (Batches 2, 7, 8 및 9). 이러한 경우는 고분자의 농도가 높을수록 분포상의 점도가 증가하여 분포상에 존재하는 약물이 액체상인 연속상으로 빠져나가려고 하는 것을 느리게 함으로써 약물의 함량이 증가하는 것으로 사료된다.

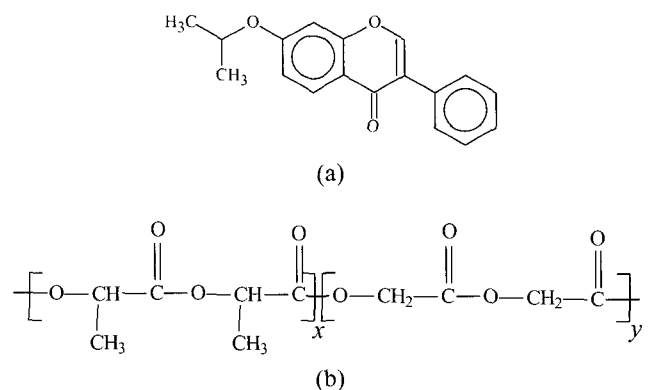
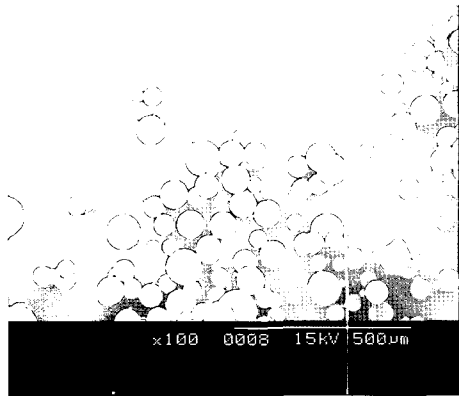


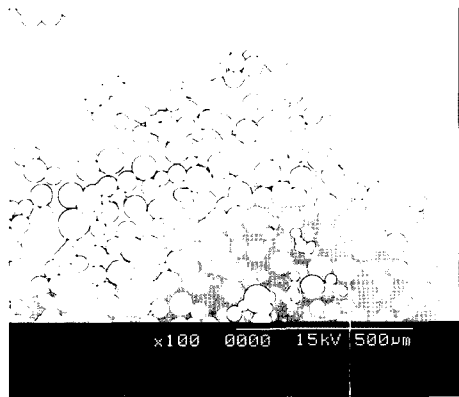
Figure 1. Chemical structures of (a) IP and (b) PLGA.

유화용매증발법에 의해 제조된 IP 함유 PLGA 미립구를 SEM으로 관찰한 결과를 Figures 2, 3 및 4에 나타내었다. 유화제의 농도를 일정하게 하고 유화제의 사용을 다양하게 하여 미립구를 제조한 결과 유화제의 종류에 따라 미립구의 형태가 다름을 관찰할 수 있었

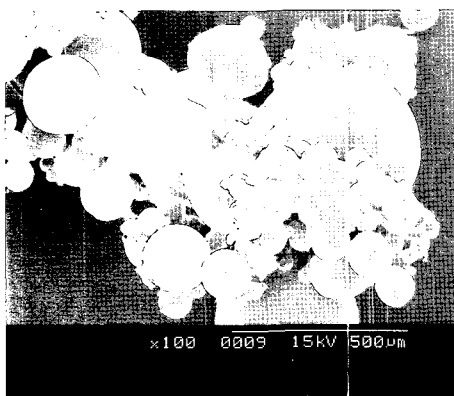
다 (Figure 2). 연속상에 사용되어진 유화제의 종류에 관계없이 각각의 포접율은 유사하였다. 젤라틴과 PVA를 사용한 미립구 (a, b)는 서로 회합되지 않고 크기 분포도가 좁은 매끈한 구형의 미세한 미립구 형태를 나타내었으나 Tween 80으로 제조된 미립구 (c)는 대부분



(a)

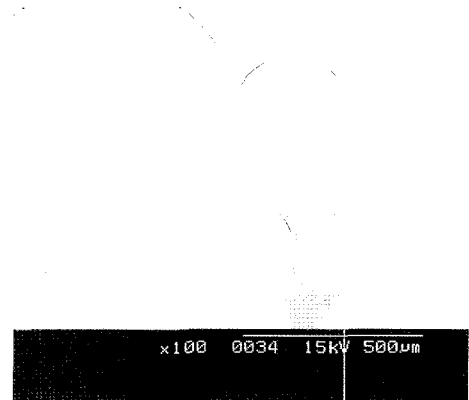


(b)

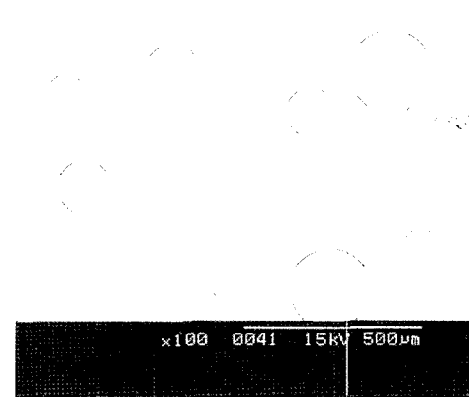


(c)

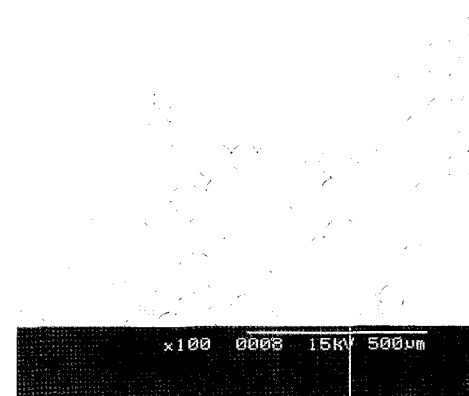
Figure 2. The surface morphology of IP-loaded PLGA MSs with different emulsifiers. (a) batch 2 (gelatin), (b) batch 5 (PVA), and (c) batch 6 (Tween 80).



(a)



(b)



(c)

Figure 3. The surface morphology of IP-loaded PLGA MSs with different stirring speeds. (a) batch 10 (250 rpm), (b) batch 11 (500 rpm), and (c) batch 2 (1000 rpm).

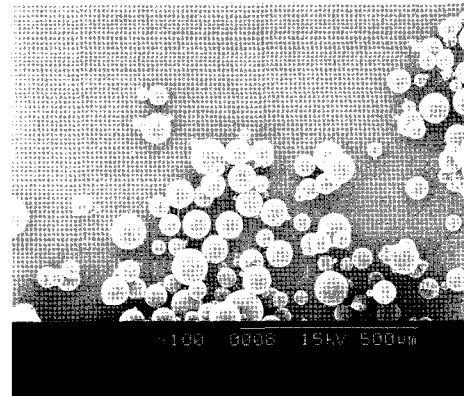
심하게 회합된 형태로 존재하는 것을 관찰할 수 있다 (Batches 2, 5 및 6). 이중 유화제를 젤라틴으로 사용하여 제조되었던 경우에는 PLGA의 분자량이 증가함에 따라 포접율이 증가하였지만 PLGA 분자량 20과 90 kg/mol의 경우에만 미립구를 형성하였다 (Batches 1, 2, 3 및 4). 유화제에 따라서 미립구의 제조 조건을 조절한다면 약물을 PLGA 내부에 골고루 분산시켜 입자들의 회합현상을 배제시킬 수 있다고 사료된다.

Figure 3은 미립구 제조시 교반속도의 영향을 관찰한 그림이다 (Batches 2, 10 및 11). 교반속도가 증가할수록 전반적으로 결정성이 큰 약물과 무정형인 고분자 매트릭스가 서로 잘 결합하여 미립구를 형성하였고, 포접율은 증가하였다.

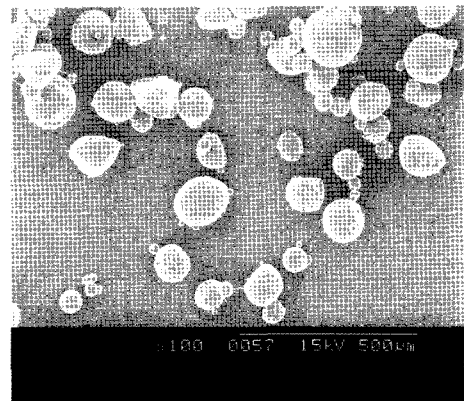
Figure 4에서는 약물의 초기 함유량을 다르게 하여 제조한 미립구의 형태를 보였다 (Batches 2, 13 및 14). 약물의 초기 함유량이 10%일 때는 매끄러운 미립구를 형성하고 있지만, 약물의 초기 함유량이 20%인 경우에는 미립구의 깨짐현상이 관찰되었다. 이러한 현상은 약물의 초기 함유량이 30% 경우에 더욱 심하고 뚜렷하게 나타남을 관찰할 수 있다. 그 이유는 약물의 초기 함유량이 증가할수록 약물의 고분자내에 차지하는 비율이 높아져 결정성이 매우 큰 약물과 무정형인 고분자 매트릭스가 서로 잘 결합하지 못하고, 포접 가능성이 작아지기 때문이다. 위의 결과들로부터, 약물의 함량과 유화제의 종류 및 교반속도 등에 따라서 제조조건을 달리한다면, 미립구의 깨짐현상과 회합현상을 배제하고 약물을 고분자지지체 내부에 고르게 분산시켜 방출속도를 일정하게 제어할 수 있을 것으로 사료된다.

Figure 5는 IP, PLGA, IP 10%/PLGA 미립구의 결정성을 XRD를 사용하여 관찰한 결과이다. 그림에서 보는 바와 같이 IP는 매우 높은 결정성을 가지고 있고 10~30° 영역에서 결정피크가 나타남을 알 수 있으며, IP를 포접하는데 사용된 PLGA의 고분자는 결정성이 매우 낮아 결정영역이 거의 없는 무정형을 보이는 것으로 나타났다. 또한, 제조된 미립구의 경우에는 결정영역이 보이지 않았고 무정형 형태로 측정되었다. 물리적인 혼합물보다는 미립구의 무정형성이 증가됨을 알 수가 있었다. 따라서, IP가 PLGA 고분자와 대부분 균일하게 분산된 고체용액 상태를 이루고 있음을 알 수가 있었다.

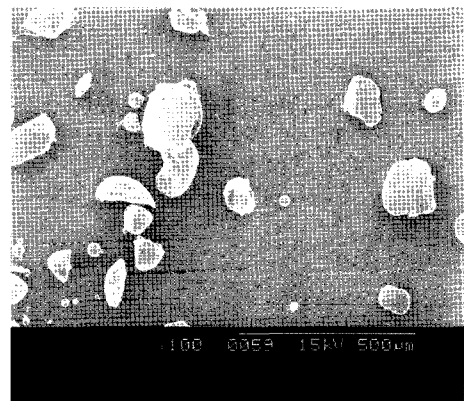
Figure 6은 IP, PLGA 20 kg/mol, IP 10%/PLGA 미립구의 용융온도 (T_m)를 나타낸 그림이다. IP의 T_m 와 PLGA 20 kg/mol의 유리전이온도 (T_g)는 문헌에 보고된 것과 일치하였으며,² IP의 경우는 높은 결정성으로 인해 매우 강한 흡열피크를 갖는 것으로 나타났다. IP의 용융엔탈피 (ΔH_m)는 PLGA에 포접된 경우 IP자체의 ΔH_m



(a)



(b)



(c)

Figure 4. The surface morphology of IP-loaded PLGA MSs with different initial drug loading ratio. (a) batch 2 (10%), (b) batch 13 (20%), and (c) batch 14 (30%).

에 비하여 현저히 감소하여 결정성이 거의 없음을 알 수 있었다. 한편, PLGA의 T_g 도 상승하였으며 유리엔탈피 (ΔH_g)값은 감소하는 경향을 나타내어 PLGA의 결정성이 감소함을 알 수 있었다. 미립구의 경우는 고분자와 약물의 중간부위에서 T_m 의 전이가 일어남을 관찰

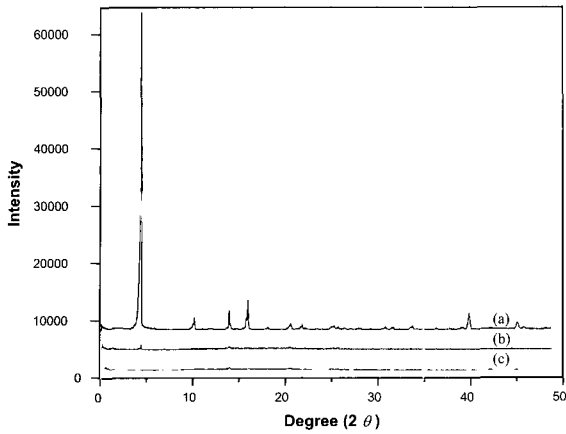


Figure 5. XRD of (a) IP, (b) PLGA, and (c) IP 10% loaded PLGA MSSs.

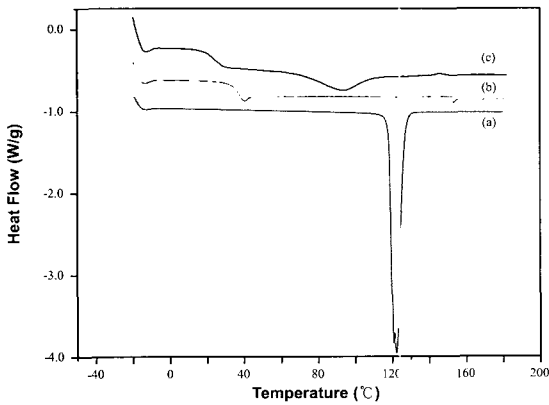


Figure 6. DSC thermograms of (a) IP, (b) PLGA, and (c) IP 10% loaded PLGA MSSs.

할 수 있었다. XRD와 DSC의 결과로부터 미립구를 제조할 때 용매의 사용으로 인한 약물의 결정성 감소와 약물의 결정성이 매트릭스인 고분자의 무정형의 영역에 포함하고 있어서 결정성이 감소됨을 알 수가 있었다.² IP가 함유된 PLGA는 고체용액 상태로 존재하면서 각각의 전이온도를 변화시키고 결정성을 감소시키는 작용을 한다고 추측할 수 있다. 약물을 함유한 생분해성 고분자지지체의 결정영역의 변화는 약물의 포집 및 방출거동에 많은 영향을 미칠 것으로 사료된다.

생체의 방출거동. Figure 7은 유화제의 종류에 따른 방출거동을 나타낸 그래프이다. 초기 10% 약물 함유, PLGA 분자량 20 kg/mol, PLGA 농도가 10%로 제조된 모든 미립구는 30일 이상 방출이 되었고 연속상에 유화제인 젤라틴으로 제조된 미립구가 포집율이 가장 높을 뿐만 아니라, 방출속도도 다른 유화제의 사용보다는 빠르게 나타났다.

Figure 8은 초기 약물 함유량에 따른 IP를 함유한 미

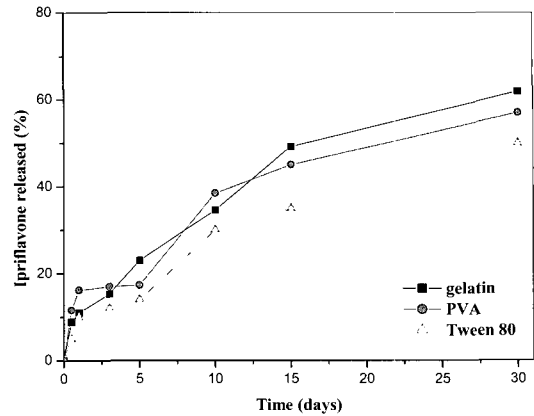


Figure 7. Effect of emulsifier types on IP release profiles. (a) batch 2 (gelatin), (b) batch 5 (PVA), and (c) batch 6 (Tween 80).

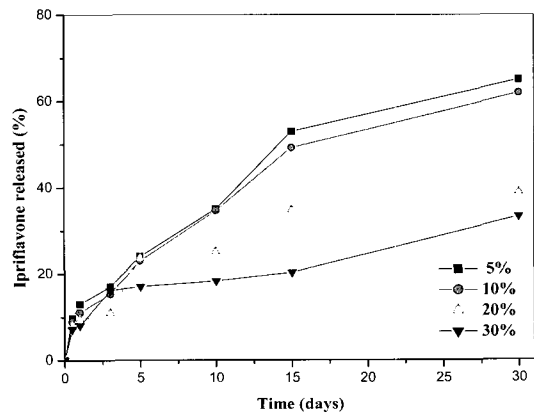


Figure 8. Effect of initial IP loading ratio on IP release profiles. (a) batch 12 (5%), (b) batch 2 (10%), (c) batch 13 (20%), and (d) batch 14 (30%).

립구의 방출거동을 나타낸 것이다. 초기 약물 함유량이 5%와 10%일 때 방출속도가 빨랐고, 20%와 30%의 약물이 함유된 미립구는 상당히 오랫동안 방출이 되어 방출기간이 지연됐음을 알 수 있다. 일반적으로 약물의 함유량이 증가할수록 약물 방출이 빠르게 진행되는 일반적인 약물 방출거동과는 달리 약물의 초기 함유량이 증가할수록 약물의 방출기간이 길어지고 방출량이 감소하는 이유는 결정성 약물의 함유량이 증가할수록 무정형 고분자 매트릭스내에서 약물이 고르게 분포하지 않고, 이에 따라 미립구들중 일부가 깨짐현상이 일어나고, 일부 미립구들은 약물의 회합현상이 일어나 초기에 형성된 채널을 통해 결정성 약물이 잘 빠져 나오지 못하는 것으로 사료된다. 약물의 함량에 따라서 미립구의 제조조건을 조절한다면, 입자들의 회합현상을 배제하고 약물을 고분자지지체 내부에 골고루 분산시켜 방출속도를 일정하게 제어할 수 있을 것으로 사료된다.

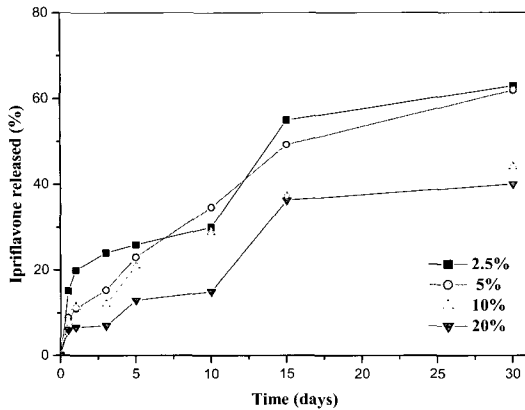


Figure 9. Effect of polymer concentrations on IP release profiles. (a) batch 9 (2.5%), (b) batch 8 (5%), (c) batch 2 (10%), and (d) batch 7 (20%).

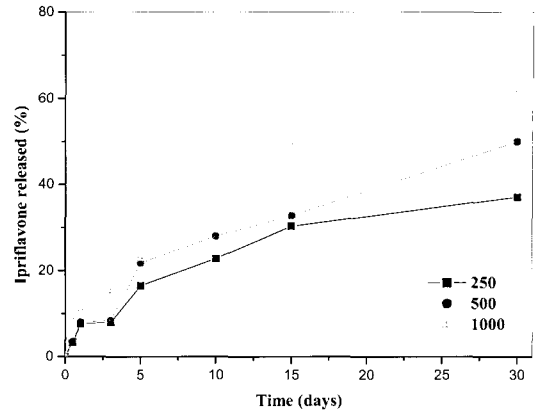


Figure 11. Effect of string speed on IP release profiles. (a) batch 10 (250 rpm), (b) batch 11 (500 rpm), and (c) batch 2 (1000 rpm).

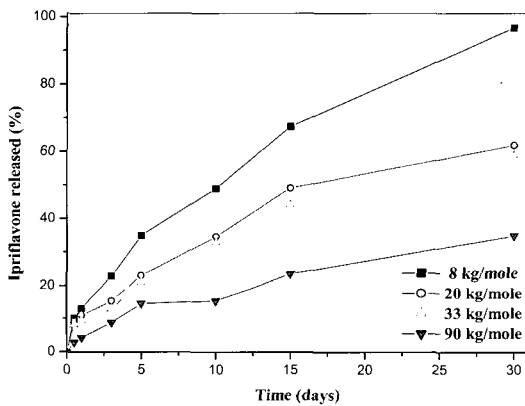


Figure 10. Effect of PLGA molecular weights using on IP release profiles. (a) batch 4 (8 kg/mol), (b) batch 3 (20 kg/mol), (c) batch 2 (33 kg/mol), and (d) batch 1 (90 kg/mol).

Figure 9는 유화제를 젤라틴으로 제조시 고분자의 농도에 따른 생체의 방출거동을 나타내었다. 고분자의 농도가 2.5%로 제조된 미립구의 방출속도가 20%로 제조된 미립구보다 더 증가하였음을 알 수 있었다. 용매의 사용감소로 인한 고분자의 농도 증가는 분포상의 점도의 증가로 인해 일정한 교반속도로 행해질 때 미립구의 크기가 커짐으로, 미립구의 크기 증가는 비 표면적이 작아지기 때문에 방출속도가 낮아짐을 알 수 있었다.

Figure 10은 고분자의 분자량을 달리하여 제조된 미립구의 생체의 방출거동을 나타낸 그래프이다. 고분자의 분자량이 클수록 제조된 미립구의 방출속도가 느림을 알 수 있었다. 분자량이 커짐에 따라 분자량이 낮은 것보다는 PLGA의 소수성이 증가하여 수용액이 미립구로의 젖음속도가 늦어져 방출속도는 늦어지게 되는 것으로 사료된다. 고분자의 분자량을 조절함으로써 조금

더 약물의 방출을 효과적으로 제어할 수 있다는 사실을 관찰하였다.

Figure 11은 제조시 교반속도를 달리하여 제조된 미립구의 생체의 방출거동을 나타낸 그림이다. 교반속도를 달리하여 제조된 모든 미립구는 대략 30일 이상 방출이 되었고 교반속도가 증가할수록 방출속도가 증가하였다 (초기 10% 약물 함유, PLGA 분자량 20 kg/mol, 및 PLGA 농도 10%). 그 이유는 교반속도가 증가함에 따라 미립구의 크기가 작아져서 약물이 방출액과 접촉할 수 있는 표면적이 넓어지고, 매트릭스에 채널생성 현상이 더 빨리 일어나 약물의 방출속도가 빨라져 방출기간이 짧아진다. 반면에 교반속도가 느려지면 반대의 현상이 일어나 방출기간이 길어짐을 알 수 있었다.

4. 결론

생분해성 고분자인 PLGA를 매트릭스로 하여 골다공증 치료제인 IP를 함유한 미립구를 제조하여 서방성 제제화를 하였고 미립구를 제조함에 있어서 제조 조건인 초기 약물 함유량, 고분자의 분자량, 고분자의 농도 및 유화제의 종류에 따라 포접율이 다른 미립구를 얻었고, 포접율과 SEM 관찰결과로부터 유화제인 젤라틴과 PVA의 사용이 약물의 포접율이 가장 좋음을 확인하였다. 또한, 약물이 고분자 매트릭스내에 고루 분포되어 직경이 5~200 μm인 미립구를 형성하였으며 형태는 매끈한 원형이었다. XRD분석 결과를 통하여 결정성 약물인 IP가 PLGA에 포접되어 결정성이 감소하였음을 확인하였고 DSC분석 결과 각각의 열적특성을 나타내는 피크들의 이동과 전이엔탈피의 감소로부터 친수성 고분자가 약물의 결정성에 영향을 미치고 있음을 확인

하였다. 생체의 방출실험에서는 연속상에 유화제인 젤라틴으로 제조된 미립구가 포접율이 가장 높을 뿐만 아니라, 방출속도도 다른 유화제의 사용보다는 빠르게 나타났다. 초기 약물 함량이 증가할수록 약물의 방출 기간은 길어지고, 초기 약물 함량이 적을수록 방출속도가 빠름을 알 수 있었다. 고분자의 농도와 PLGA의 분자량이 증가할수록 제조된 미립구의 방출속도가 느려졌고, 교반속도가 증가할수록 방출속도가 증가함을 알 수 있었다. 이들 결과로부터 미립구의 제조 조건을 조절한다면, 입자들의 회합현상을 배제하고 약물을 고분자지지체 내부에 골고루 분산시켜 약물의 방출을 효과적으로 제어할 수 있음을 확인하였다.

본 실험을 통하여 얻어진 미립구의 제조기술은 본 실험에서 적용된 약물뿐만 아니라 타 난용성 약물에도 적용 가능하다. 현재 IP 함유 미립구의 동물실험이 연구 중이다.

감사의 글 : 본 연구는 KOSEF R01-2001-00431의 지원으로 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

References

1. D. Agnusdei, F. Zancchi, S. Bigazzi, C. Cepollaro, and C. Gennari, *Drugs Exp. Clinic. Res.*, **15**, 97 (1989).
2. J. K. Jeong, G. Khang, J. M. Rhee, H. C. Shin, and H. B. Lee, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 21 (2000).
3. S. L. Lin, J. Menig, and L. Lachman, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 2143 (1968).
4. I. Rondelli, D. Acerbi, and P. Ventura, *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, **11**, 183 (1991).
5. C. K. Kim, J. Y. Choi, Y. S. Yoon, J. P. Gong, H. G. Choi, J. Y. Kong, and B. J. Lee, *Int. J. Pharm.*, **106**, 25 (1994).
6. J. C. Cho, G. Khang, H. S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**, 728 (2000).
7. G. Khang, H. S. Choi, J. M. Rhee, S. C. Yoon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 253 (2000).
8. W. I. Son, D. I. Yun, G. Khang, B. S. Kim, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 92 (2000).
9. 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).
10. G. Khang and H. B. Lee, in *Methods of Tissue Engineering*, A. Atala and R. Lanza, Editors, Academic Press, New York, Chapter 67, Section II, p 771 (2001).
11. G. Khang, I. Jo, J. H. Lee, I. Lee, and H. B. Lee, *Polym. Sci. Tech.*, **10**, 640 (1999).
12. G. Khang, J. H. Lee, and H. B. Lee, *Polym. Sci. Tech.*, **10**, 732 (1999).
13. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 49 (1999).
14. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, *Polymer Preprints*, **40**, 288 (1999).
15. G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polym. J.*, **8**, 80 (2000).
16. H. S. Choi, G. Khang, H. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
17. S. J. Lee, G. Khang, Y. M. Lee, and H. B. Lee, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, **13**, 197 (2002).
18. G. Khang, I. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polym. Sci. Tech.*, **12**, 527 (2001).
19. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Symp.*, **14**(3), 95 (2001).
20. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
21. D. S. Moon, G. Khang, H. S. Seong, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 107 (2000).
22. T. K. An, H. J. Kang, J. S. Lee, H. S. Seong, J. K. Jeong, G. Khang, Y. Hong, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 670 (2002).
23. T. K. An, J. S. Lee, P. K. Shin, H. S. Seong, G. Khang, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, in press (2002).
24. T. K. An, J. S. Lee, P. K. Shin, S. H. Cho, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Symp.*, **15**(4), 339 (2002).
25. 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**, 691 (2002).
26. S. A. Seo, H. S. Choi, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **239**, 93 (2002).
27. G. Khang, S. A. Seo, H. S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Macromol. Res.*, **10**, 246 (2002).
28. R. Bodmeier and J. W. McGinity, *Int. J. Pharm.*, **43**, 179 (1988).
29. R. Bodmeier and J. W. McGinity, *Pharm. Res.*, **4**, 465 (1987).
30. M. Guyot and F. Fawaz, *Int. J. Pharm.*, **175**, 61 (1998).
31. G. Khang, S. A. Seo, H. S. Choi, D. H. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 884 (2001).
32. R. Jalil and J. R. Nixon, *J. Microencapsulation*, **7**, 297 (1990).