

글리콜라이드 단량체를 함유한 BICNU 함유 다중층 PLGA 웨이퍼의 제조 및 특성결정

채강수 · 이진수 · 정제교* · 조선행** · 이해방** · 강길선†

전북대학교 유기신물질공학과, *삼천당제약 중앙연구소, **한국화학연구원 나노생체재료고분자팀
(2004년 6월 4일 접수, 2004년 7월 21일 채택)

Preparation and Characterization of BICNU-loaded Multi-Layer PLGA Wafer Containing Glycolide Monomer

Gang Soo Chae, Jin Soo Lee, Je Kyo Jeong*, Sun Hang Cho**, Hai Bang Lee** and Gilson Khang †

Department of Advanced Organic Materials Engineering,

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

*Research Center, Samchundang Pharm. Co. Ltd., P.O. Box 289, Youngdeungpo, Seoul, 150-037, Korea

**Nanobiomaterials Laboratories, Korea Research Institute of Chemical

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

†e-mail : gskhang@chonbuk.ac.kr

(Received June 4, 2004; accepted July 21, 2004)

초록 : 카뮈스틴 (1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea, BICNU)은 뇌종양 치료를 위하여 임상적으로 사용되는 약물로 짧은 생물학적 반감기를 가지고 있어 장기방출에 적합하지 않다. 하지만, poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA)는 벌크 분해 특성으로 인해 약물의 장기방출에 유용하며, PLGA의 유도체인 글리콜라이드 단량체는 독성이 없고 PLGA와 유사한 생분해성을 가지고 있어 BICNU의 방출조절에 이용된다. 이 실험에서 BICNU를 함유한 PLGA 웨이퍼는 일반적인 직접압축법에 의해 제조한 후 BICNU의 방출거동과 웨이퍼의 분해속도를 전자주사현미경, 핵자기공명장치 그리고 젤투과크로마토그래피를 통해 관찰하였다. 또한, 글리콜라이드 단량체의 함량변화에 따른 다중층 웨이퍼를 제조하여 단일층 웨이퍼와의 방출거동을 비교하였다. 이러한 결과들로부터 BICNU를 함유한 PLGA 웨이퍼의 약물방출은 BICNU와 글리콜라이드 단량체의 함량이 증가할수록 증가하였고, 다중층 웨이퍼에서 외부층의 글리콜라이드 단량체와 BICNU가 약물방출 거동과 분해 속도에 영향을 미친다는 것을 확인하였다.

ABSTRACT : Carmustine (1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea, BICNU) used as antineoplastic drug for the treatment of brain tumor is not appropriate for the long term delivery, because it has short biological half life. Therefore, poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA) is useful as drug carrier for the long term delivery due to bulk erosion property. Glycolide monomer is applied to release of BICNU owing to non-toxic and monomeric components after biodegradation of PLGA. In this study, BICNU-loaded PLGA wafers with or without glycolide monomer were fabricated by conventional direct compression method for the sustained release of BICNU. These wafers were observed for their release profiles of BICNU and degradation rates by SEM, NMR, and GPC. Furthermore, we make multi-layer wafers and compare them with release profiles of conventional wafer. From these results, drug release of BICNU-loaded PLGA wafers was increased with increasing the glycolid monomer contents. We confirmed that glycolide monomer and BICNU contents in barrier-layer influenced the drug release profiles and degradation rate.

Keywords : BICNU, PLGA wafer, glycolide monomer, zero-order profile.

1. 서론

카뮈스틴은 뇌종양의 치료를 위해 사용되는 나이트로

소우레아 유도체의 일종으로 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea 화학구조를 가진 화학요법제이다. 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BICNU)의 전신투여는 일반적으로 이

용되지만 신장, 간, 및 중추신경계 등에서 조직 독성을 보이거나 BICNU의 짧은 반감기로 인해 종양조직에서의 작용기간이 매우 짧다는 단점을 가지고 있다.¹ 이러한 단점을 해결할 수 있는 대안으로 국소 투여가 이용되는데, 이는 소량의 약물로도 생체이용률을 높일 수 있고, 전신 부작용을 줄일 수 있다.² 또한, 국소투여의 이용은 뇌종양의 치료시 가장 문제시되는 혈뇌장벽 (blood brain barrier, BBB)의 투과에 대한 문제점도 동시에 해결할 수 있다. BICNU를 국소투여에 적용할 수 있도록 이식형으로 재형화한 폴리안하이드라이드 웨이퍼가 길포드사에 의해 Gliadel®이라는 상품명으로 1996년 FDA로부터 신경교종 절제술의 보조 치료제로서 사용하는 것을 허가 받아 현재 임상에서 이용되고 있다.^{3,4}

이 전 실험에서^{5,6} 생분해성 합성 고분자인 PLGA를 이용하여 BICNU를 국소투여 이식제형으로 이용하였다. PLGA는 분자량과 단량체의 비율에 따라 분해 속도를 조절할 수 있고⁷ 인체에 무해한 물과 이산화탄소로 분해되기 때문에 약물 전달체⁸⁻¹² 및 조직 공학용 담체로¹³⁻¹⁶ 사용된다. 하지만, 폴리안하이드라이드가 표면분해를 가지는 것과 달리 PLGA는 벌크분해를 나타나고 있기 때문에 느린 방출을 가지고¹⁷ 방출 기간동안 점차 방출속도가 감소하는 1차 방출을 가지는 단점을 가지고 있다. 0차 방출을 가지는 제형 설계를 위해 많은 실험자들은 매트릭스의 형태변화 (콘형, 도넛형, 반구형 등)와 분해/용출 조절, 불균일한 약물 함유, 그리고 매트릭스 막을 이용한 제형들을 이용하고 있지만,¹⁸⁻²⁷ 이들 중 일부는 제조가 어려워 실용적이지 못하다.

단순한 방출 조절 방법의 하나로 이전 실험에서 poly (D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA)를 이용한 웨이퍼의 방출 기간을 줄일 수 있도록 폴리비닐피롤리돈 (poly-N-vinylpyrrolidone, PVP), 폴리에틸렌옥사이드 (polyethylene oxide, PEO)와 같은 수용성 고분자를 이용하여 고분자 매트릭스의 수화과 분해를 촉진하여 빠른 약물방출을 유도할 수 있도록 제형을 설계하였다. 그러나 대안으로 다른 약물의 방출속도를 증진시킬 수 있는 수용성 첨가제로써 이용한 글리콜라이드 단량체는 PVP, PEO와 같은 initial burst가 비교적 적어 방출 조절에 있어서 용이함을 가지고 있고, 약물의 지지체로 이용되는 PLGA의 단량체로 PLGA와 같은 분해 산물을 가지기 때문에 체내에서 무해한 생분해성을 가질 뿐 아니라 같은 성분으로만 구성되어 있기 때문에 제작이 용이하며, 추가적인 임상실험을 받아야 하는 번거로움을 피할 수 있다. PLGA 웨이퍼의 분해거동은 웨이퍼 내부의 pH 변화로 내부의 자가촉매 반응으로 인한 분해가 촉진되고, 표면에서의 분해는 느리기 때문에 초기 방출 후 점점 느려지는 방출을 나타낸다. 반면, 글리콜라

이드 단량체는 수상에서 쉽게 용해되어 pH의 변화를 주어 PLGA 웨이퍼 표면이 빠르게 분해됨으로써 약물의 방출을 빠르게 유도할 수 있다.

이외에 장기 방출을 위한 이식제 제조에 있어 약물 방출의 조절을 위하여 층간 분해속도를 조절하여 방출 양을 조절하는 다중층을 가지는 웨이퍼가 이용되기도 한다.²⁸⁻³¹

본 연구에서는 글리콜라이드 단량체의 함량에 따른 약물 방출특성을 살펴보고, 다중층 웨이퍼의 내부 및 외부에 포함된 글리콜라이드 단량체변화를 이용하여 약물 방출 변화를 조사하였다.

2. 실험

시약 및 재료. BICNU (순도 98%이상, Sigma Chemical Co., 세인트루이스, 미주리, 미국)는 -20 °C에서 보관하여 사용하였으며 웨이퍼의 지지체로 사용되어진 생분해성 고분자로는 평균분자량이 8000 g/mole인 PLGA (lactide/glycolide mole ratio, 50/50, Resomer® RG 502, Boehringer Ingelheim, 독일)를 사용하였고, PLGA로부터의 약물 방출을 조절하기 위해 첨가제로써 PLGA의 단량체인 글리콜라이드 단량체 (Boehringer Ingelheim, 독일)를 사용하였다. 생체의 방출실험에 이용된 pH 7.4의 인산염완충용액은 Milli-Q 정화 시스템 (Millipore, 물심, 프랑스)을 이용하여 정제한 물을 사용하였으며, 분석 시 이용된 메틸렌클로라이드 (MC, Tedia, 일본), 메틸알콜 (Junsei, 일본) 및 기타 시약들은 HPLC 등급을 사용하였다.

글리콜라이드 단량체를 함유한 BICNU/PLGA 웨이퍼의 제조. 생분해성 고분자인 PLGA와 0~20%의 글리콜라이드 단량체 그리고 3.85%의 BICNU를 물리적 혼합을 통하여 미세분말을 얻었으며, 이 미세분말을 직접압축성형법을 이용하여 웨이퍼를 제조하였다. 10 mg의 미세분말을 지름 3 mm의 웨이퍼 제작용 몰드에 넣은 후 프레스 (MH-50Y CAP 50 tons, 일본)를 이용하여 상온에서 20 kgf/cm²의 압력으로 5초간 가압하여 두께 1 mm의 웨이퍼를 제조하였고, Figure 1과 같은 형태의 다중층 웨이퍼를 위와 같은 조건을 이용하여 제조하여 분해거동 및 생체의 방출 실험 이전까지 0 °C에서 보관하였다.

웨이퍼의 형태 및 특성. 생체의 방출실험 전후의 미세분말의 크기와 형태는 질량감소, 수분 흡수율과 전자주사현미경 (SEM, S-2250N, Hitachi, 일본)을 사용하여 관찰하였다. 질량감소는 제형의 초기무게를 측정 후 생체의 방출실험을 실시하였으며, 일정시간 경과 후 수집한 시료를 동결건조기 (Bondiro, Ilshin Lab Co. Ltd., 한국)를 이용하여 수분을 제거하였고 무게의 변화를 측정하

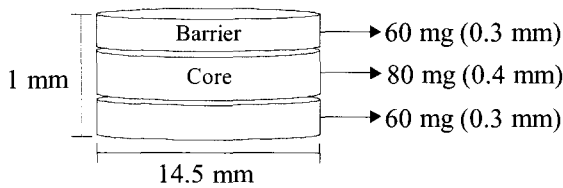


Figure 1. Multi-layer wafer: three layer system fabricated by compression.

Table 1. Formulation of the Composition in the BICNU-loaded PLGA Wafers Containing Glycolide Monomer (PLGA 8000 g/mole)

Batch No.	Glycolide monomer (%)	PLGA (%)	Initial BICNU loading (%)
1	-	96.15	3.85
2	2	94.15	3.85
3	5	91.15	3.85
4	10	86.15	3.85
5	20	76.15	3.85

였으며, 무게의 변화는 각각 다음과 같은 식에 의해서 계산되었고, 수분흡수율은 일정기간 방출 후 수집된 웨이퍼 표면의 수분을 완전히 제거한 후 무게 변화를 측정하였다.

$$\text{질량감소 (\%)} = (W_0 - W_d) \times 100 / W_0 \quad (1)$$

$$\text{수분 흡수율 (\%)} = (W_w - W_d) \times 100 / W_d \quad (2)$$

여기에서, W_0 는 웨이퍼의 초기무게이고, W_w 는 방출 실험 후 PBS에 젖은 웨이퍼의 무게, W_d 는 일정 방출기간이 경과한 웨이퍼를 건조시킨 후의 무게이다. 전지주사 현미경을 이용하기 위해 양면테이프를 부착한 금속판 위에 시료를 고정한 후 플라즈마 스퍼터 (SC 500 K, Emscope, 영국)를 이용하여 아르곤 분위기 하에서 90초 동안 코팅하였다. 방출실험 전의 미세 분말과 웨이퍼는 냉동 보관한 시료를 관찰하였고 생체의 방출실험 기간 동안 일정시간이 지난 후 동결 건조기를 이용하여 PBS를 추출한 후 관찰하였다.

웨이퍼의 분해거동. 글리콜라이드 단량체를 첨가한 BICNU/PLGA 웨이퍼의 분해거동을 관찰하기 위해 생체의 방출실험과 동일한 조건에서 일정기간동안 시료를 취해 젤투과 크로마토그래피 (GPC)와 수소핵자기공명장치 ($^1\text{H-NMR}$)를 이용하였다. 생체의 방출 전 후의 시료를 PLGA의 분자량은 RI 검출기 (Shodex RI-71, 일본)와 분자량 5000 g/mole과 300000 g/mol을 분리할 수 있는 컬럼과 가드 컬럼 (Shodex GPC K-802, Asahipak GF-510 HQ,

and GF-7M HQ)으로 구성된 GPC 장치로 실험을 실시하였다. 측정된 시료는 분자량이 1270과 1950000 g/mol 사이의 단분산성 폴리스티렌 (Shodex SM-105)을 이용하였다. GPC에 사용된 이동상은 클로로포름이 이용되었고, 유속은 0.6 mL/min으로 하였다. 웨이퍼의 분해거동을 관찰 할 수 있는 다른 방법으로, 내부 기준시료인 0.05 wt%의 테트라메틸실란 (TMS)를 포함한 CDCl_3 (Merck, 독일)를 용매로 하여 $^1\text{H-NMR}$ (Bruker 300, 500 MHz, 미국)을 이용하였다.

초기 함량 및 생체의 방출실험. 제조된 미세분말의 초기 약물의 함량을 확인하기 위하여 각각 다른 위치에 있는 10 mg의 미세분말을 채취하여 1 mL의 MC에 녹인 후, 9 mL의 메탄올을 첨가하여 PLGA를 침전시키고, 이 용액의 1 mL를 원심 분리하여 상층액을 100 μL 를 취하여 고성능액체 크로마토그래피 (HPLC)로 분석하였다. HPLC 분석은 UV 검출기 (UV-1000, Thermo Separation Products, Fermont, CA, 미국), 펌프 (P-2000, Thermo Separation Products), 자동시료주입기 (AS-3000, Thermo Separation Products)로 구성된 HPLC를 사용하였으며, 컬럼은 $\mu\text{-Bondapak C}_{18}$ (4 \times 300 mm, Grom)을 사용하였고 이동상은 메탄올을 사용하였고 유속은 1.0 mL/min으로 하였다. 컬럼 온도는 상온을 유지하였고 검출과장은 248 nm를 선택하였으며 시료주입량은 20 μL 로 하였다. 생체의 약물 방출 실험을 위하여 조건별로 제조한 각각의 웨이퍼를 9 mL의 PBS에 침지하고 37 $^\circ\text{C}$ 로 유지되는 항온조에서 일정 기간 동안 100 rpm의 속도로 교반하였다. BICNU는 PBS 및 수용액 내에서 불안정하여 짧은 반감기를 가지기 때문에 웨이퍼로부터 PBS에 용출된 약물의 양을 측정하는 방법은 적절치 않다. 따라서, 일정 시간 방출 후 웨이퍼를 MC로 녹인 후 메탄올로 PLGA를 침전시킨 후 웨이퍼 상에 남아 있는 BICNU의 잔존량을 위의 초기 함량시의 조건과 같은 HPLC로 측정함으로써 생체의 방출실험을 실시하였으며, BICNU의 방출량은 3회 실험한 평균값으로 하였다. 방출 후 얻어진 PBS의 pH는 pH meter 340 (Corning, Medfield, 미국)을 통하여 측정되었다.

3. 결과 및 토론

웨이퍼의 형태 및 특성. BICNU의 투여 방법 중 하나로 국소투여로 이용할 수 있는 웨이퍼를 이용한다. BICNU는 pH 7 이상인 수용액상에서 매우 불안정하며, 생체의 조건 및 체내에서 반감기가 15~20분으로 매우 짧다.³² Figure 2는 생체의 방출 실험에 이용된 웨이퍼 중 가장 뚜렷한 특징을 가지고 있는 글리콜라이드 단량체를 0%, 5%, 그리고 20%를 첨가한 웨이퍼에서의 수분 흡수율을

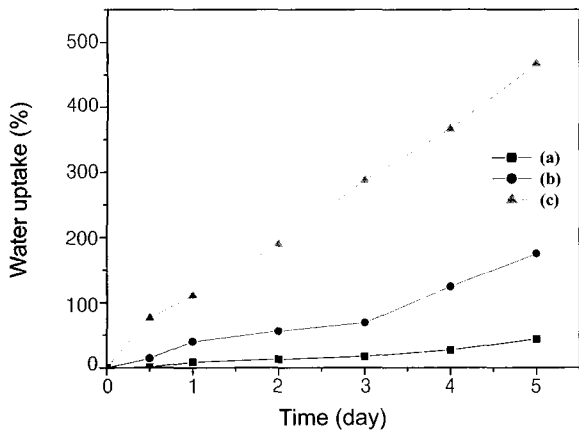


Figure 2. Water uptake of wafers containing (a) none, (b) glycolide monomer 5%, and (c) glycolide monomer 20% during *in vitro* release test.

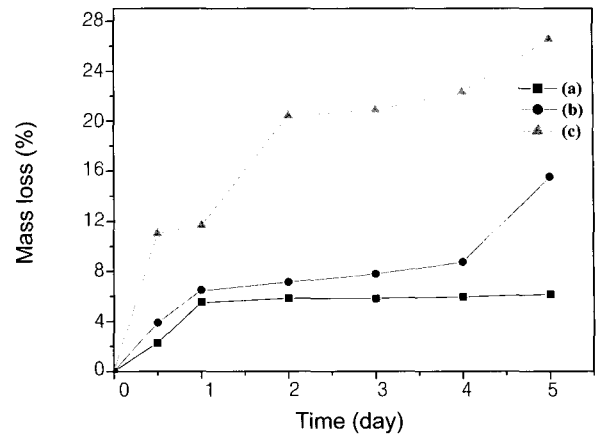


Figure 3. Mass loss of wafers containing (a) none, (b) glycolide monomer 5%, and (c) glycolide monomer 20% during *in vitro* release test.

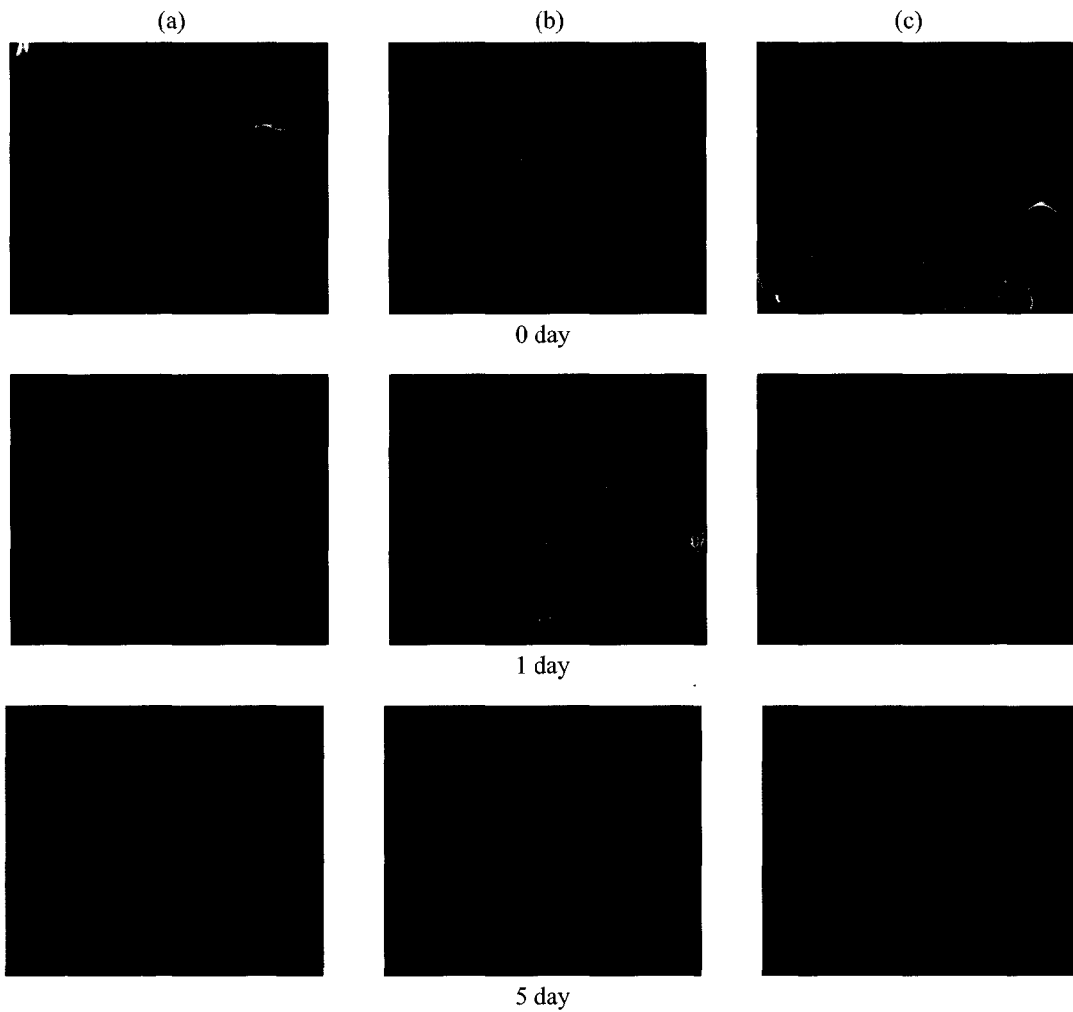


Figure 4. SEM observation of BICNU-loaded PLGA containing (a) none, (b) glycolide monomer 5%, and (c) glycolide monomer 20% after *in vitro* release test. (X500)

나타낸 그림이다. 글리콜라이드 단량체가 첨가되지 않을 경우 수분이 웨이퍼 내부로 침투할 수 있는 공간이 웨이퍼 표면의 작은 공간으로 제한되기 때문에 방출 5일 이후에도 수분이 40% 정도 밖에 침투할 수 없다는 것을 관찰할 수 있었다. 하지만, 글리콜라이드 단량체의 양을 20% 까지 증가시킬 경우 수용성인 첨가제가 수분을 끌어들이는 역할을 할 뿐 아니라 이 첨가제가 녹은 부분에 다공이 형성되어 수분의 침투가 용이해지며, 또한 웨이퍼 내에 수분이 머물 수 있는 공간이 생성되기 때문에 같은 방출 기간동안 100배가 넘는 수분 흡수율을 보이고 있다. Figure 3은 약물 방출 이후의 웨이퍼의 질량 감소율을 보여주고 있다. 글리콜라이드 단량체를 함유하고 있지 않은 BICNU 함유 PLGA 웨이퍼의 경우 실험 초기에 일정량의 질량 감소가 일어난 이후 5일 쯤까지 거의 변화가 일어나지 않지만 글리콜라이드 단량체를 함유한 웨이퍼의 경우 2일 이내에 함유하고 있는 첨가제의 양 (5~20%)만큼의 질량 감소를 보이는 것으로 보아 이 기간 동안에 대부분의 첨가제가 용해되는 것으로 사료된다. 그 이후에는 수분의 웨이퍼 내부로의 침투가 용이하며, 약물의 방출을 제어할 수 있는 매트릭스 부분이 감소되기 때문에 PLGA의 분해 및 약물의 방출은 가속화된 것으로 사료된다. Figure 4는 글리콜라이드 단량체를 0, 5% 및 20% 첨가한 BICNU 함유 PLGA 웨이퍼를 방출 후 웨이퍼의 형태변화를 관찰하였다. 글리콜라이드 단량체의 함량에 따라 초기 웨이퍼 표면에서 수분이 침투할 수 있는 공간이 넓게 형성하고 있는 것을 볼 수 있다. 공간을 통해 들어간 수분에 의해 웨이퍼의 내부에 포함되어 있는 글리콜라이드 단량체가 용해됨에 따라 PLGA의 내 외부의 pH 변화에 의해 분해가 가속화된다. 또한 방출이 진행됨에 따라 웨이퍼가 팽창되어 내부의 다공이 증가하게 되며, 방출 5일 후 글리콜라이드 단량체 20%를 함유하고 있는 웨이퍼 팽창에 의해 많은 작은 다공들이 커다란 다공을 형성하였다.

웨이퍼의 분해거동. Figures 5, 6은 GPC와 NMR을 이용하여 BICNU와 글리콜라이드 단량체를 첨가하고 있는 PLGA 웨이퍼의 분자량 변화를 살펴본 것이다. GPC를 통해 방출 전 글리콜라이드 단량체의 함량이 각각 0%, 5%, 그리고 20%인 웨이퍼에서 6시간 후에는 방출경향과 유사하게 분자량 변화의 차이가 거의 없음을 확인 할 수 있었고, 이후의 분해거동에 있어서는 첨가제의 함유량에 따라 분해가 가속화되는 것을 살펴 볼 수 있었다. Figure 6의 a, b와 b', c 그리고 d는 각각 기준 시약인 툴루엔, PLGA의 락타이드와 글리콜라이드 그리고 첨가제로 이용한 글리콜라이드 단량체를 나타내고 있으며, 방출 후 1일 후 글리콜라이드 단량체의 대부분이 방출되어 나타나지 않음

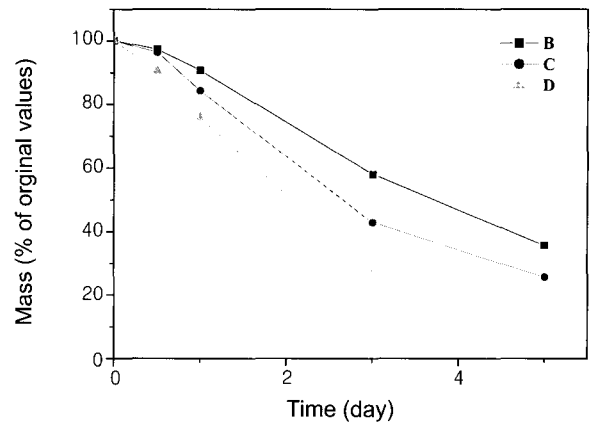


Figure 5. Molecular weight change of BICNU-loaded PLGA containing (a) none, (b) glycolide monomer 5%, and (c) glycolide monomer 20% after *in vitro* release test.

을 볼 수 있었다. Table 2는 생체의 방출 전, 후의 웨이퍼 내 성분들의 적분비를 나타내고 있다. 첨가제를 포함하고 있지 않은 웨이퍼에서는 20%의 글리콜라이드 단량체를 함유한 웨이퍼에 비해 초기 수소의 양이 적게 나타났으며, 웨이퍼의 분해기간이 길게 나타나고 있음을 확인할 수 있었다.

생체의 방출실험. Figure 7는 3.85%의 BICNU를 함유하고 있는 PLGA 웨이퍼에 수용성 첨가제인 글리콜라이드 단량체의 함량을 변화시켰을 때 방출량의 변화를 나타내는 그림이다. 수용성 첨가제를 첨가하지 않은 PLGA 매트릭스를 이용한 BICNU는 방출 1일 후 약 40%의 방출을 보이지만 이후 방출속도가 점점 감소하여 5일 후 약 70% 정도의 방출량을 보이는 것을 관찰 할 수 있었다. 이러한 방출 거동은 3 mm PLGA 웨이퍼의 분해거동과 유사하여 고분자 매트릭스가 BICNU의 방출에 큰 영향을 미치는 것으로 사료된다. 웨이퍼의 성분을 Table 2와 같은 변화를 주며 제조하여 방출실험을 실시하게 되면, 방출 속도가 변화되며 글리콜라이드 단량체를 20%까지 증가시켰을 때의 방출 후 3일 이내에 90% 이상의 약물이 방출되는 것을 확인 할 수 있었다. PLGA는 소수성 성질을 가지고 있기 때문에 이를 이용하여 웨이퍼를 제조 시 PLGA에 둘러 쌓인 약물은 확산에 의한 방출을 가지기 어렵고, 웨이퍼 사이의 미세한 다공을 통해 침투되는 물이 고분자를 팽창시키고, 분해를 가속화시키면서 약물의 방출이 일어나는 것으로 알려져 있다. 수용성 첨가제인 글리콜라이드 단량체 양의 증가와 함께 웨이퍼에 포함되어 있는 PLGA의 양이 최대 20%까지 감소하게 되어 매트릭스 내부로의 물의 침투가 용이해지며, 글리콜라이드 단량체의 용해와 함께 pH의 감소로 인한 PLGA의

분해속진, 그리고 다공의 증가와 매트릭스의 팽윤으로 인한 거대한 다공의 형성 등을 통해 첨가제 양의 증가에 따라 방출량이 증진되는 것으로 사료된다.

Figure 8은 위의 웨이퍼를 이용하여 생체외 방출 실험 후 남은 PBS를 통해 pH의 변화를 살펴 본 그림이다. 방출 실험의 결과에서 예측되었듯이 방출 양이 많은 웨이퍼

에서 더 많은 pH 변화를 나타내고 있음을 확인 할 수 있었다. PLGA는 분해시 글리콜산과 젖산으로 분해되며, pH가 낮을수록 더 빠른 분해를 보인다. 그러나 완충용액 상에서는 PLGA의 분해에 의한 pH 변화가 적기 때문에 분해속도가 느리지만, 글리콜라이드 단량체를 첨가제로 이용함으로써, 비교적 빠른 분해와 약물 방출을 이끌었

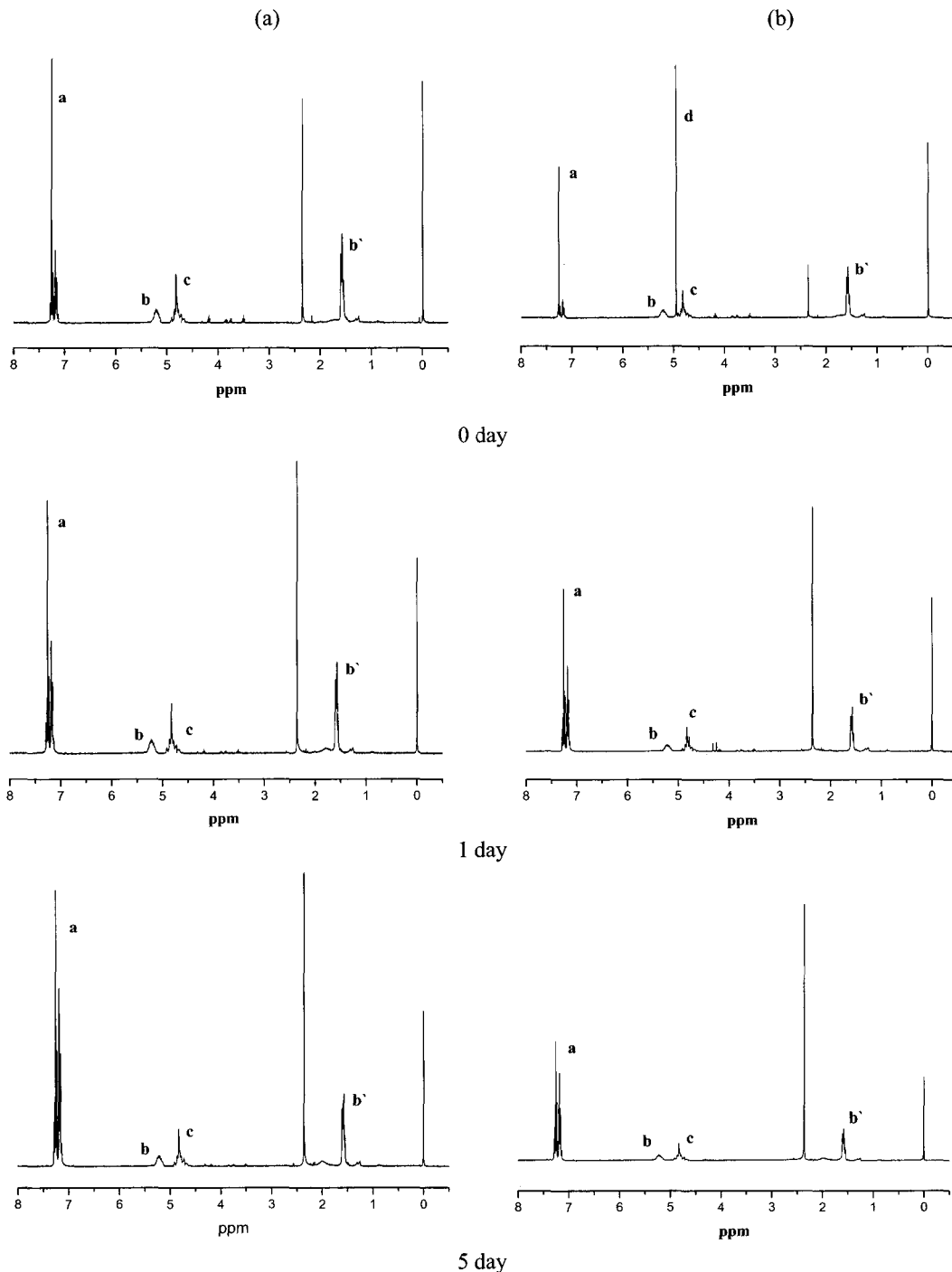


Figure 6. NMR analysis of BICNU-loaded PLGA containing (a) none, and (b) glycolide monomer 20% after *in vitro* release test.

다. 또한, 표면에서의 산도를 조절하여, PLGA에서 나타나는 벌크분해 특성을 줄임으로써 0차 방출에 가까운

Table 2. Integral ratio of components of BICNU loaded PLGA wafer containing glycolide monomer in NMR assay

Glycolide monomer	Time (days)	Components of BICNU loaded PLGA wafer in NMR assay			
		a	b	b'	c
none	0	1.0	0.4	1.2	0.7
	1	1.0	0.2	0.8	0.4
	5	1.0	0.1	0.4	0.2
20%	0	1.0	0.6	2.1	1.1
	1	1.0	0.2	0.5	0.3
	5	1.0	0.1	0.4	0.2

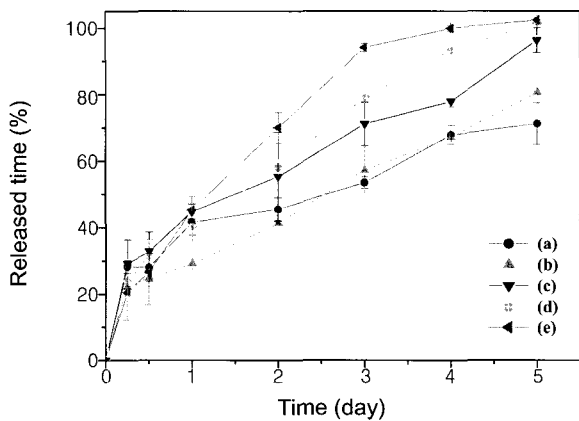


Figure 7. The effect of the amount of (a) none, (b) glycolide monomer 2%, (c) glycolide monomer 5%, (d) glycolide monomer 10%, and (e) glycolide monomer 20% on the release profiles of BICNU from PLGA wafer.

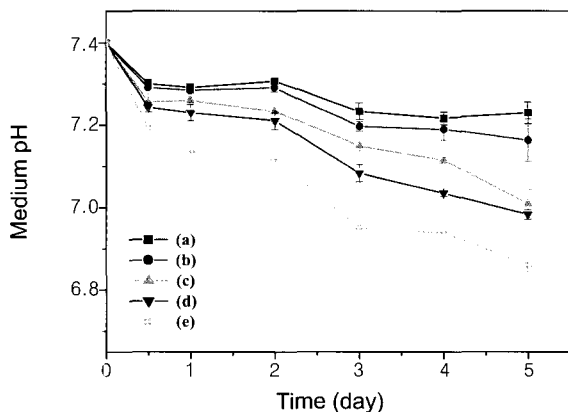
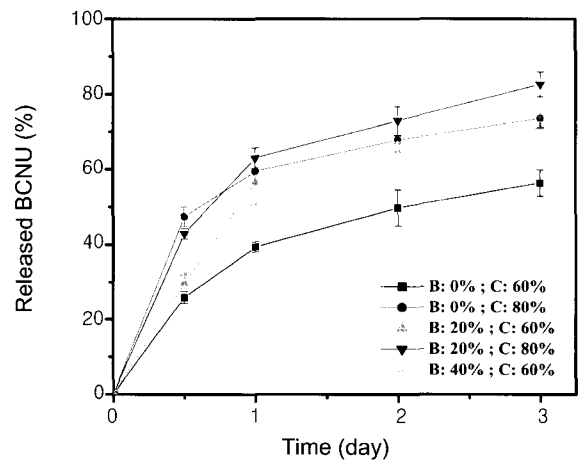


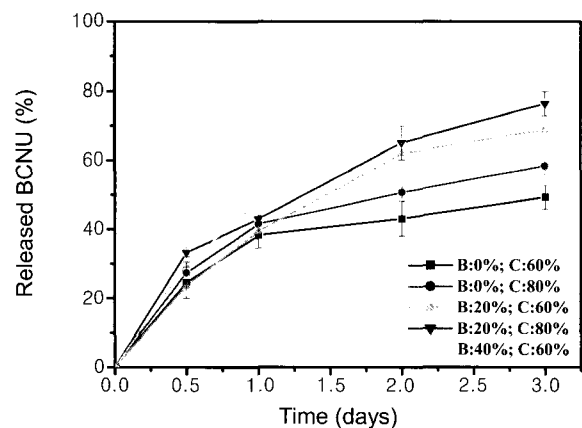
Figure 8. Change of medium pH according to contents containing (a) none, (b) glycolide monomer 2%, (c) glycolide monomer 5%, (d) glycolide monomer 10%, and (e) glycolide monomer 20%.

분해 특성을 얻을 수 있었다.

Figure 9은 지름 14.5 mm인 다중층 웨이퍼에서 BICNU의 방출 거동을 살펴 본 그림이다. (a)는 7.7 mg의 약물이 내부층에만 포함 되어있다. 이 웨이퍼에서는 1일 이내의 초기방출이 내부층에서의 첨가제의 함량에 따라 크게 변화되며, 이후의 방출은 외부층의 첨가제 함량에 영향을 미쳤다. 이 경우 0차 방출을 가지는 방출을 얻기 위해서는 내부층의 첨가제 함량을 줄여 서방성의 방출을 가지는 제형으로 이용할 수 있을 것으로 사료된다. (b)는 내부층과 외부층에 3.85 %의 약물이 함유되어진 웨이퍼이다. 이 때, 수용성 첨가제의 함량은 큰 영향을 미치지 않아 초기 방출이 감소한 것을 확인 할 수 있었다. 이는 내부층에 상대적으로 적은 양의 BICNU가 포함되어 두께가 얇은 웨이퍼에서 약물 함량에 따른 영향이 크게 감소한



(a)



(b)

Figure 9. The release profiles of BICNU from multi-layered PLGA wafer having different glycolide contents on the each layer (B: Barrier; C: Core); BICNU cont. in barrier-layer (a) 0%, and (b) 3.85%.

Table 3. Formulation of the Composition in the BICNU-Loaded Multi-layered PLGA Wafers Containing Glycolide Monomer (PLGA 8000 g/mol)

Batch No.	BICNU in barrier-layer	Core-layer	Barrier-layer
1		0	60
2		0	80
3	0 %	20	60
4		20	80
5		40	60
6		0	60
7		0	80
8	3.85 %	20	60
9		20	80
10		40	60

것으로 사료된다. (b)의 방출 거동은 (a)에서의 방출과 상당히 유사한 경향을 나타낸다. 내부층에 첨가되어진 글리콜라이드 단량체의 양에 따라 1일 이내에서의 방출 양이 결정되며, 이후에는 외부층의 첨가제 함량에 영향을 받아 방출량이 변한다. 이는 외부층의 넓은 표면에서 생성되어지는 다공의 크기 변화에 따라 방출되어지는 양이 영향을 받기 때문으로 사료된다. 외부층에 40%, 내부층에 60%의 글리콜라이드 단량체를 수용성 첨가제로 함유한 다중층 웨이퍼는 초기 방출의 억제와 이후 방출을 증진시킴으로써 일정한 양의 약물이 3일 이내에 완전히 방출되는 0차 방출 거동을 얻을 수 있었다.

4. 결론

본 실험에서는 웨이퍼의 지지체로서 이용된 생분해성 고분자인 PLGA의 단량체인 글리콜라이드 단량체를 수용성 첨가제로서 이용하여 단기 방출제형인 뇌종양 치료 제제를 제조하여 첨가제에 따른 방출과 고분자의 분해 거동을 살펴보았다.

1) 글리콜라이드 단량체를 첨가제로 이용하였을 경우 방출 1일 이내의 초기 방출량은 첨가제의 함량에 따라 큰 차이를 보이지 않지만 이후의 방출에 있어서 첨가제의 양이 증가할수록 많은 방출을 보였다.

2) 글리콜라이드 단량체는 용해시 pH에 영향을 주었고, 산성 조건에서 불안정한 PLGA의 분해속도를 증가시키는 것을 확인 할 수 있었다.

3) 생체의 방출 실험 후 관찰된 SEM 사진을 통하여 고분자의 팽윤과 수용성 첨가제에 의해 생성된 다공들은 약물의 방출속도를 증가시키는 요인임을 확인할 수 있었다.

4) 수용성 첨가제를 이용한 BICNU 함유 PLGA 웨이

퍼는 첨가제의 양에 따라 고분자의 분해속도가 증가하고 있음을 GPC와 NMR 분석을 통하여 확인 할 수 있었고, 분자량 감소에 따라 약물의 방출속도는 급격히 증가하였다.

5) 두개의 내부층과 한 개의 외부층으로 이루어진 다중층 웨이퍼에서 각 층에 함유되어진 글리콜라이드 단량체의 양에 따라 초기 방출량과 전체 방출속도를 조절 할 수 있는 제형을 얻을 수 있었으며, 내부층과 외부층에서 40%와 60%의 첨가제를 함유 하였을 때, 0차 방출을 가지는 방출 경향을 얻을 수 있었다.

현재 본 실험에서 사용된 웨이퍼를 이용하여 9L gliosarcoma 세포주에 중앙동물모델에 관한 연구를 수행중이며, 동일한 첨가제를 이용하여 웨이퍼의 크기를 증가시킨 제형에 대한 연구가 시행중이다.

감사의 글 : 본 연구는 산업자원부의 중기거점 사업 (B49-990-5411-05-1-3) 및 KOSEF (R01-2001-00431)에 의해 지원되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. C. Wang, J. Li, C. S. Teo, and T. Lee, *J. Control. Rel.*, **61**, 21 (1999)
2. T. K. An, H. J. Khang, J. S. Lee, H. S. Seong, J. K. Jeong, G. Khang, Y. G. Hong and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 691 (2002).
3. D. S. Moon, G. Khang, H. S. Seong, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Biomater. Res.*, **4**, 107 (2000).
4. G. Khang, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polym. Sci. Tech.*, **12**, 4 (2001).
5. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Macromol. Chem. Symp.*, **14**, 95 (2001).
6. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **26**, 128 (2002).
7. M. Miyajima, A. Koshika, J. Okada, A. Kusai, and M. Ikida, *Int. J. Pharm.*, **169**, 255 (1998).
8. J. den Jartigh, R. Langebrook, and P. Vermeji, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **11**, 977 (1993).
9. C. A. Mautalen, C. A. Casco, D. Gonzalez, G. R. Ghiringhelli, and C. Massironi, *Br. Med. J.*, **288** (1984).
10. A. Fitton and D. McTavish, *Drugs*, **41**, 289 (1991).
11. G. Khang, J. M. Rhee, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Polymer Sci. Tech.*, **12**, 4 (2001).
12. G. Khang and H. B. Lee, *Biomedical Polymers*, Korean Chemical Society Press, Munundang, Seoul, (2001).
13. 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).
14. H. S. Seong, D. S. Moon, G. Khang, and H. B. Lee,

- Macromol. Chem. Symp.*, **4**, 95 (2001).
15. S. A. Seo, H. S. Choi, D. H. Lee, G. Khang, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **25**, 884 (2001).
 16. H. S. Choi, G. Khang, H. Shin, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Int. J. Pharm.*, **234**, 195 (2002).
 17. K. A. Walter, R. J. Tarmargo, A. Olivi, P. C. Burger, and H. Brem, *Neurosurgery*, **37**, 1129 (1995).
 18. L. Lee, *Treatise on Controlled Drug Delivery*, Marcel Dekker Inc., New York (1992).
 19. P. Hildgen and J. N. McMullen, *J. Control. Rel.*, **34**, 263 (1995).
 20. M. P. Danckwerts, *Int. J. Pharm.*, **112**, 34 (1994).
 21. C. Kim, *Pharm. Res.*, **12**, 1045 (1995).
 22. A. Y. Benkorah and J-N. McMullen, *J. Control. Rel.*, **32**, 155 (1994).
 23. U. Conte, L. Maggi, P. Colombo, and A.L. Manna, *J. Control. Rel.*, **26**, 39 (1993).
 24. D. C. Scott and R. G. Hollenbeck, *Pharm. Res.*, **8**, 156 (1991).
 25. D. Brooke and R. J. Washkuhn, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 159 (1977).
 26. R. A. Lipper and W.I. Higuchi, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 163 (1977).
 27. W. J. Lin and H. G. Lee, *J. Control. Rel.*, **89**, 179 (2003).
 28. P. Hildgen and J.N. McMullen, *J. Control. Rel.*, **34**, 263 (1995).
 29. U. Conte and L. Maggi, *Biomaterials*, **17**, 889 (1996)
 30. B. Narasimhan and R. Langer, *J. Control. Rel.*, **47**, 13 (1997).
 31. A. Streubel, J. Siepmann, N. A. Peppas and R. Bodmeier, *J. Control. Rel.*, **69**, 455 (2000).
 32. K. Fredrikson and P. Lundgren, *Acta Pharm. Scand.*, **23**, 115 (1986).