

論文

복합재 약물전달 시스템의 제작 및 체외 환경 특성 평가

추원식*, 정석용*, 박정빈*, 안성훈**, 이재훈***, 지상철***

Manufacturing and in vitro Characterization of Composite Drug Delivery System (DDS)

Won-Shik Chu*, Suk-Yong Jeong*, Jeong-Bin Park*, Sung-Hoon Ahn**, Jae-Hoon Lee*** and Sang Chul Chi***

ABSTRACT

The Rapid Prototyping (RP) technology has advanced in many application areas. In this research, implantable Drug Delivery System (DDS) was fabricated by an RP system, Nano Composite Deposition System (NCDS). The DDS composite consists of 5-fluorouracil (5-FU), as drug particles, and PLGA85/15 as biodegradable polymer matrix. To have larger surface area, the DDS was fabricated in a scaffold shape, and its degradation was tested *in vitro* environment. Biocompatible Hydroxyapatite (HA) powders were added to the drug-polymer composite in order to control drug release. Test results showed a possibility of controlled release of scaffold DDS over 50 days.

초 록

쾌속 조형(Rapid Prototyping; RP) 기술은 다양한 분야에서 활용되고 있다. 본 연구에서는 RP 기술을 이용한 나노복합재 적층장치(Nano Composite Deposition System, NCDS)를 사용하여 이식가능한 약물전달시스템을 제작하였다. 약물전달시스템 복합재는 약물 입자로 5-fluorouracil (5-FU)를 사용하였으며, 생분해 고분자 매트릭스로 PLGA85/15를 사용하였다. 제작된 약물전달시스템은 넓은 표면적을 가질 수 있도록 지지체(scaffold) 형상으로 제작되었으며, *in vitro* 환경에서의 약물방출실험이 수행되었다. 약물방출제어를 위하여 생체적합재료인 수산화아파타이트(Hydroxyapatite, HA)를 약물-고분자 복합재에 첨가하였다. 약 50일간의 방출실험을 통하여 약물방출의 가능성을 보임을 확인하였다.

Key Words : 쾌속 조형(Rapid Prototyping), 지지체(Scaffold), 수산화아파타이트(Hydroxyapatite), 약물-고분자 복합재(Drug-polymer Composite)

1. 서 론

쾌속조형(Rapid Prototyping, RP) 기술은 제품 개발뿐만 아니라 제품의 시험 및 평가, 시뮬레이션, 기능성 부품 제작 등 다양한 목적으로 활용되고 있다. 나아가 쾌속조형 기술을 이용한 가상수술, 인간의 몸에 이식이 가능한 인공부품을 제작

하는 등 의학분야에 있어서 다양한 연구가 시도되고 있다 [1-3]. 이러한 연구는 단일 재료를 이용한 기존의 제작 방법에서 벗어나 다양한 재료의 사용 및 정밀도의 향상 등으로 가능하게 되었다. 다양한 재료의 사용뿐만 아니라 두 가지 이상의 재료를 복합화하여 기능성 부품의 제작이 가능해 졌으며, 이에 따라 단순한 물리적 기능만을 수행하는 재료의 제작뿐만

* 서울대학교 기계항공공학부 대학원

**+ 서울대학교 기계항공공학부, 서울대학교 정밀기계공동연구소, 교신저자(E-mail:ahnsh@snu.ac.kr)

*** 성균관대학교 약학부

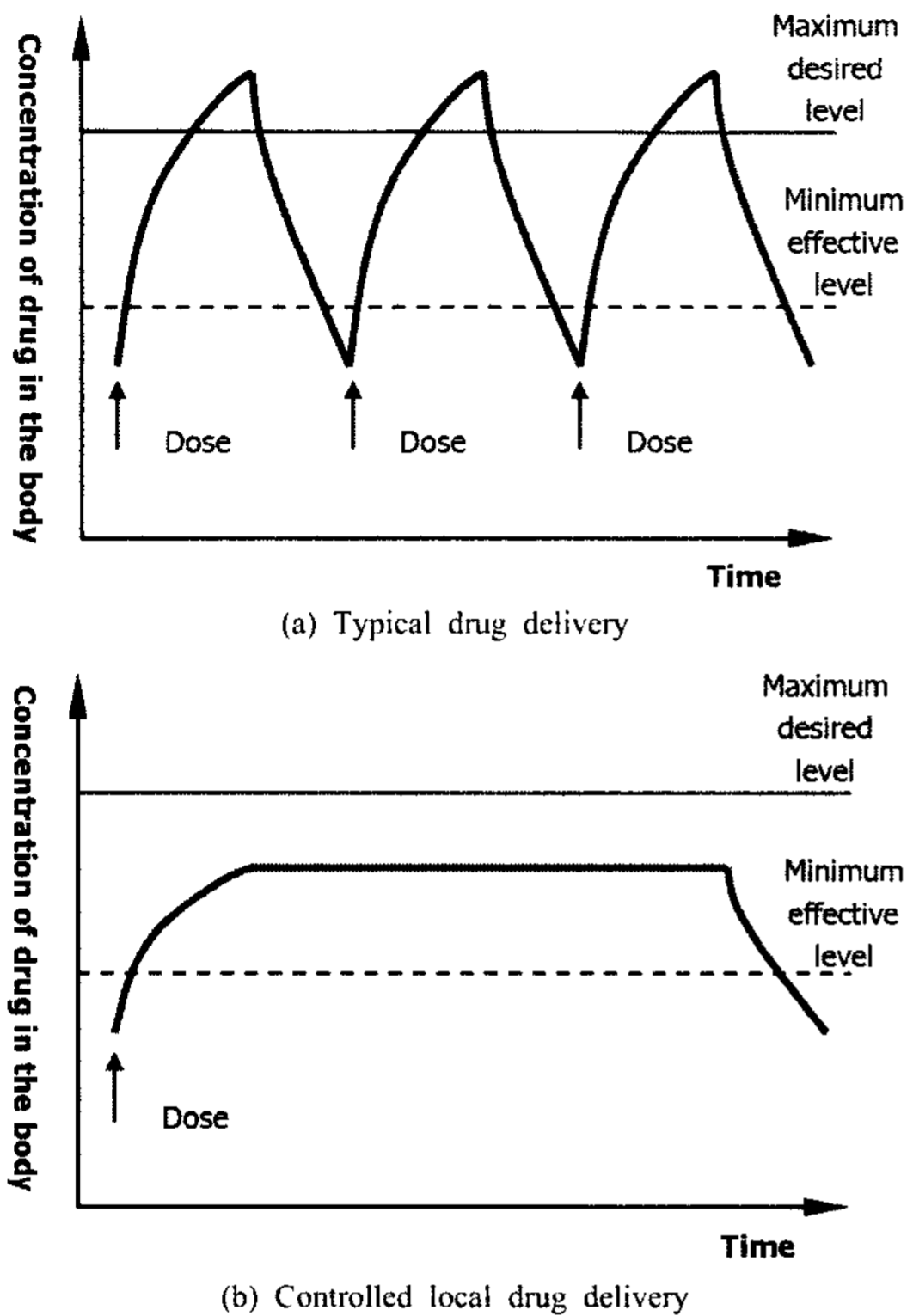


Fig. 1 Comparison of drug release curves.

아니라 기능성 제품의 제작이 가능해졌다. 최근 이슈가 되는 약물전달시스템(Drug Delivery System, DDS)의 제작도 쾌속조형기술과 마이크로제작 기술(micro fabrication technique) 등의 활용으로 가능해졌다[4-10].

약물전달시스템은 치료 부위에 약물을 효율적으로 전달하여 약물의 부작용을 줄이고 효능 및 효과를 극대화 시켜 필요한 양의 약물을 효율적으로 전달하는 시스템을 말한다. 전통적인 약물전달은 경구 또는 정맥(intravenous)주사 등을 통하게 되며, 이에 따라 약물의 농도가 필요이상으로 높아져 유독 범위(toxic level)이상이 되거나(Fig. 1(a)), 최저유효농도 이하로 떨어짐을 반복하게 된다. 반복적인 약물의 투여는 환자에게 약물의 독성에 의한 부작용을 일으킬 수 있다. 하지만 약물전달시스템은 생체 내에서 일정한 약물방출을 가질 수 있도록 해주며, 경구투입 및 이식(implant) 등을 통하여 생체 내에 위치하게 된다.

대부분의 약물전달시스템은 마이크로 제작 기술을 이용하여 제작되며, 마이크로 제작에는 PZT (lead zirconate titanate), 실리콘(silicon), 고분자 등이 사용된다. 하지만 이러한 재료를 이용하여 제작된 이식용 약물전달시스템의 대부분은 약물의 방출이 끝난 후 외과적인 수술을 통하여 제거되어야 한다[8].

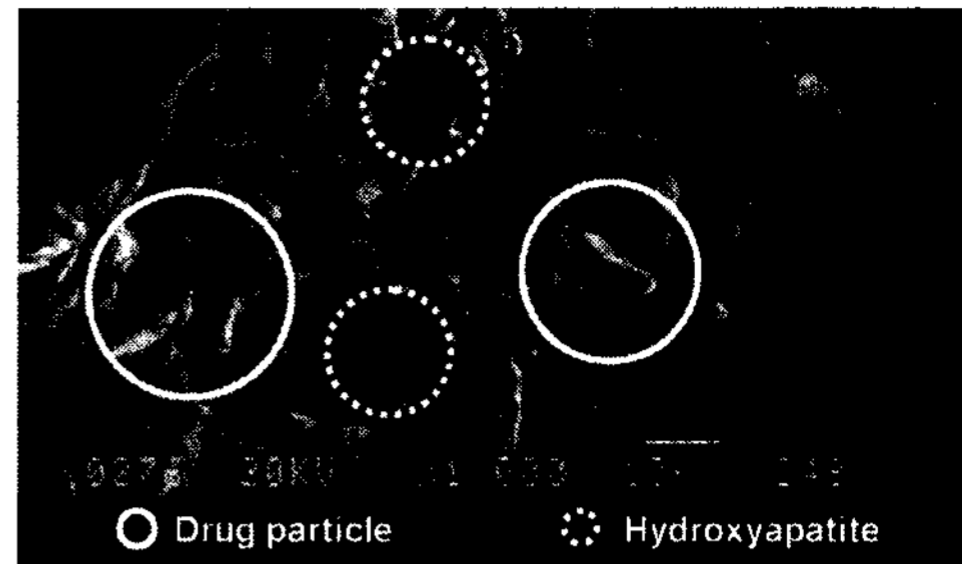


Fig. 2 SEM image of drug/HA/PLGA composite.

이러한 문제를 해결하기 위하여 인체내에서 분해되는 생분해성(biodegradable) 고분자를 사용한 약물전달시스템의 제작이 시도되고 있다[8, 11].

약물전달시스템제작을 위하여 사용되는 생분해성 고분자 중 일반적으로 많이 사용되는 재료는 Polylacticacid와 Poly(lactic/glycolic)acid (PLGA)이며 인체에 사용하기 적합한 재료이다[12]. 또한 Polycaprolactone (PCL), Aliphaticpolyester 등은 의학 분야에서 빈번하게 사용되는 고분자 재료들이다. 이러한 재료들은 복제기술(replication technique), 쾌속조형기술, 레이저 미세가공기술 등을 사용하여 적용 가능한 형태로 제작된다.

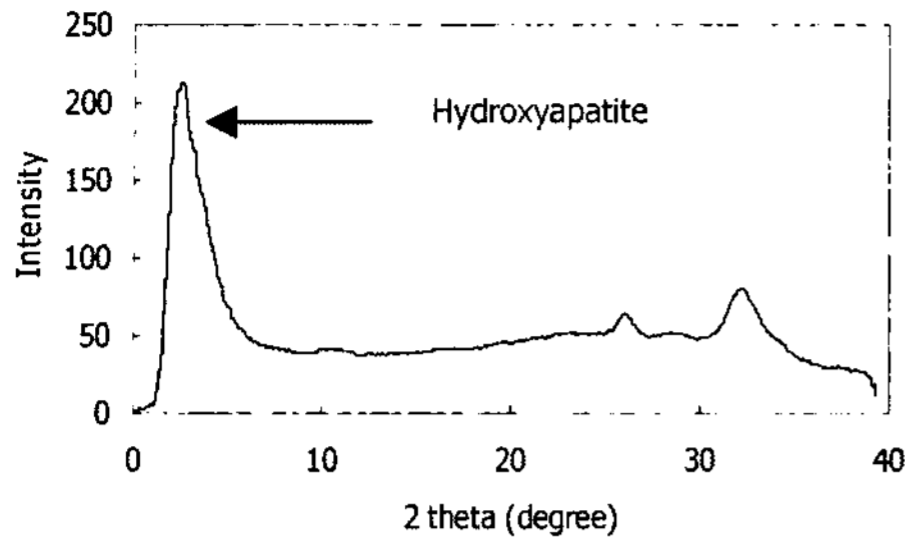
본 연구에서는 약물 입자(drug particle)와 생분해성 폴리머를 사용하며 약물-고분자 복합재를 구성하였으며, 나노 복합재 적층 시스템(Nano Composite Deposition System, NCDS)에서 이 복합재를 적층하여 약물전달시스템을 제작하였다. 약물은 항암제의 일종인 5-fluorouracil (5-FU)을 사용하였으며, 고분자는 PLGA85/15를 사용하였다. 또한 약물방출속도 제어를 위하여 첨가제로 수산화아파타이트(Hydroxyapatite, HA)를 사용하였다.

2. 재료의 구성

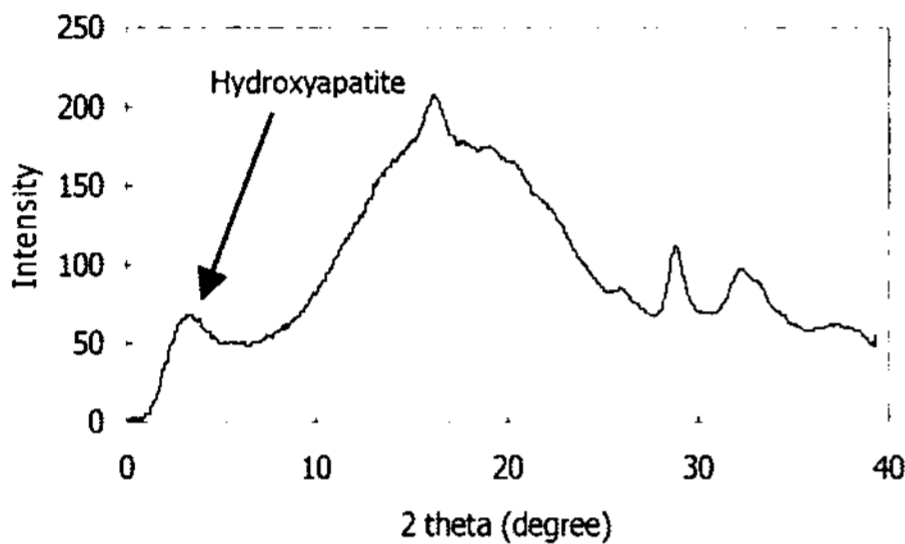
본 연구에서 사용된 5-FU는 항암제이며, 제트밀(jetmill, Model Jet-O-Mizer 000, Plumsteadville, U.S.A.)을 사용하여 수~수십 마이크로 크기를 가진 입자(particle)로 분쇄되었다(Table 1). 고분자 재료로는 PLGA85/15 (Poly(DL-lactide-co-glycolide)85/15)를 사용하였다(Table 2). 첨가 물질로 사용된 HA는 생체친화성 바이오 세라믹입자로 뼈를 구성하는 미네랄과 유사하다(Table 3).

이 세 가지 재료들을 120 °C의 온도에서 기계적밀(mill)로 혼합하여 3상(phase)의 복합재료 원료를 제작하였다. Fig. 2는 약물-고분자 복합재의 단면 사진을 나타내며, 폴리머 매트릭스 내에 약물과 HA가 위치함을 알 수 있다.

Fig. 3은 사용된 HA와 약물-고분자 복합재에 HA가 첨가된 재료에 대한 XRD (D5005, Bruker, Germany)분석을 수행한



(a) Hydroxyapatite powder



(b) Drug/HA/PLGA composite

Fig. 3 XRD results of DDS materials.

Table 1 Properties of 5-fluorouracil

Property	Value
Intratumoral Implant	Hepatomas
Melting Point (°C)	220 ~ 282
Molecular Weight	130.077
Absorption (%)	20 ~ 100

Table 2 Properties of PLGA85/15

Property	Value
Synonym	Lactel BP-0100
Inherent viscosity (dL/g (lit.))	0.15-0.25
Melting temp (°C)	60.0
Molecular Formula	$[-OCH(CH_3)CO-]_x[-OCH_2CO-]_y$

Table 3 Properties of hydroxyapatite

Property	Value
Molecular Formula	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
Density (g/cm ³)	3.16
Avg. diameter (nm)	ϕ 100 ~ 300
Application	Bone ingrowth, repair, and regeneration

결과이다. 분석 조건은 2θ 범위 0-40°, 노출시간 300초이며, 40 kV, 45 mA의 X-ray를 사용하였다. 2θ 3°는 HA를 나타내며, 복합재 내에서 HA의 값이 HA만을 측정한 값에 비해 낮음은 분산이 비교적 잘 됨을 보이는 것이다. 2θ 16°와 2θ 28°의 피크(peak)는 약물 및 폴리머를 나타낸다.

3. 약물전달 시스템 제작장치

3.1 나노복합재 적층장치(NCDS)

‘나노복합재 적층장치’는 재료를 노즐로 적층하는 적층부와 불필요한 형상을 제거 할 수 있는 마이크로 가공부로 이루어진다. 또한 경화 방법에 따라 배럴에 장착된 히터를 사용하거나 UV 광경화 시스템을 사용한다. 제작시 위치제어는 정밀도가 1 μm인 3축 정밀 마이크로 스테이지를 사용하며, 멀티 테스킹 digital signal processing (DSP) 보드를 사용하여 제작을 수행한다. Fig. 4는 나노복합재 적층장치이며, Table 4는 하드웨어의 사양을 나타낸다.

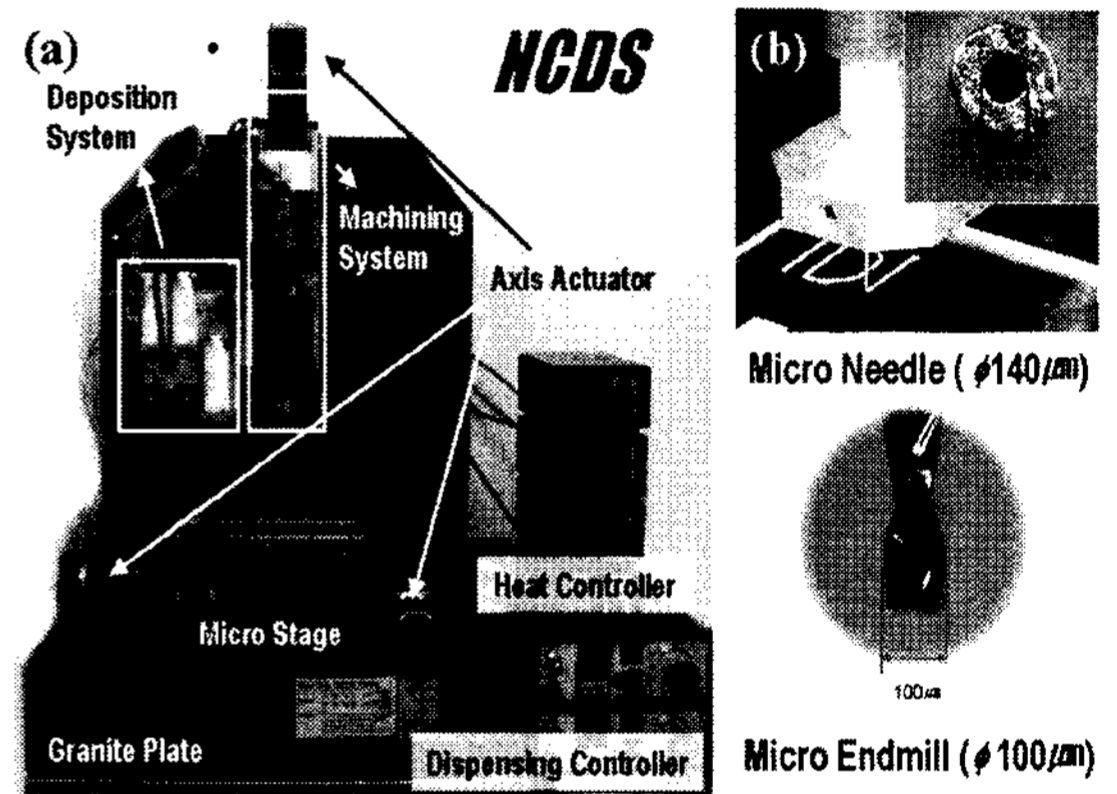


Fig. 4 Hardware system of NCDS (a) deposition system and machining system, and (b) deposition and cutting tool of NCDS [9].

Table 4 Hardware specifications of NCDS [9]

Hardware	Specification
3 Axes-stage	1 μm resolution
Pressure of Dispenser (kPa)	15 ~ 600
Inner Diameter of Micro Needle (μm)	ϕ 140 ~ ϕ 800
Diameter of Micro Tool (μm)	ϕ 50 ~ ϕ 1000
Spindle Speed (rpm)	Max. 46,000
Heater (°C)	20 ~ 200
System Controller	PMAC (Multi-tasking board)

3.2 약물전달 시스템 제작

다양한 형태의 약물전달시스템 중 특히 다공체인 지지체 (scaffold) 형상의 약물전달시스템은 생체내에 도입되었을 때 미세공극을 통해 체액의 확산을 용이하게 하며 체내 이식효과를 향상시킬 수 있다. 또한 생분해성 고분자의 분해능과 공극 및 재료 성분의 조절을 통하여 약물 방출을 조절 할 수 있다.

현재까지 알려진 지지체 형상의 약물전달시스템 제작 방법은 유화 동결건조법(emulsion freeze-drying), 고압기체팽창/염 추출법

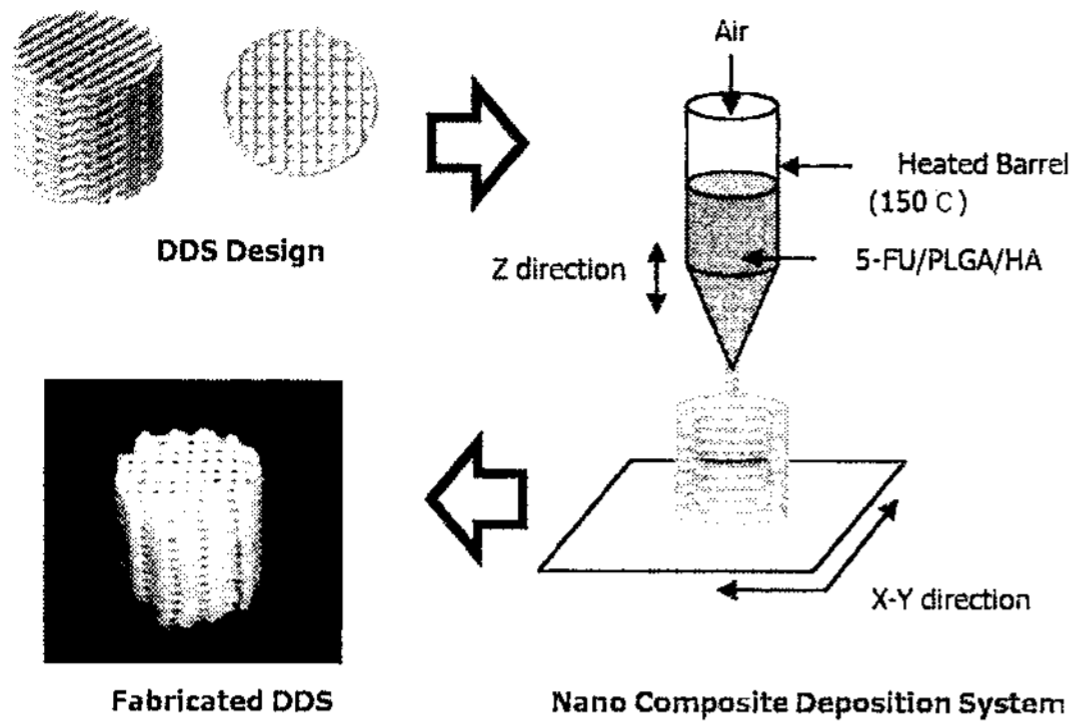


Fig. 5 Fabrication sequence of DDS using NCDS.

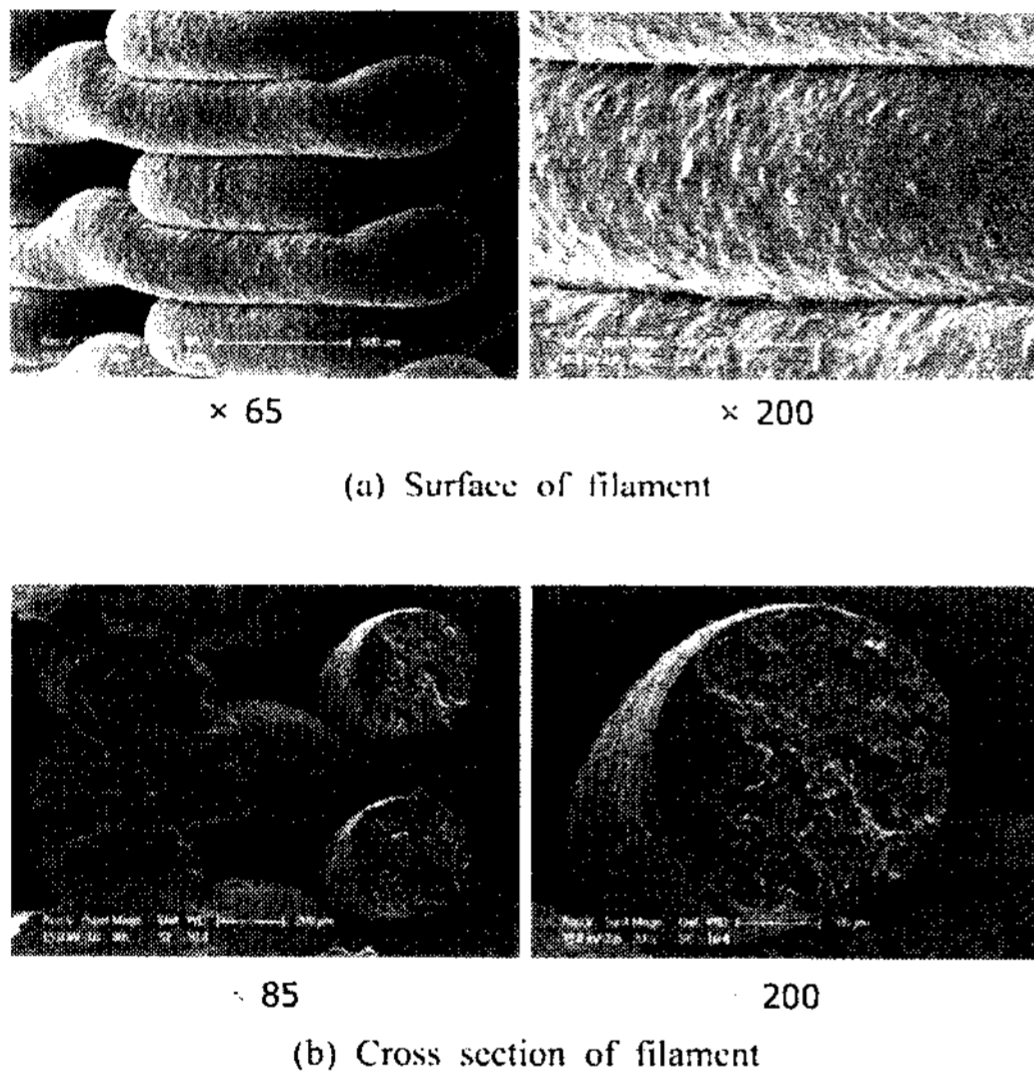


Fig. 6 SEM images of fabricated scaffold.

(high pressure gas expansion and salt leaching), 상 분리법(phase separation), 전기 제조법 등이 있다[13]. 이러한 방식을 사용하여 제작된 지지체 형상은 공극 크기 및 분포 등이 일정하지 않으며, 제한된 형상으로만 제작이 가능하다. 또한 공극의 크기를 임의로 조절하기가 힘들다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 본 연구에서는 임의의 3차원 형상을 제작할 수 있는 나노복합재 적층장치를 사용하여 약물전달시스템의 제작을 수행하였다.

Fig. 5는 나노복합재 적층장치를 사용한 약물전달시스템 제작 순서이다. 나노복합재 적층장치의 공정계획을 이용하여 설계된 지지체 형상을 제작하기 위한 컴퓨터 수치 제어(computer numerical control, CNC)코드로 전환된다. CNC코드에 따라 적층 노즐은 이동하게 되며 최종적으로 3차원 형상을 제작하게 된다. Fig. 6은 제작된 지지체 형상의 약물전달시스템을 나타낸다. 제작된 지지체의 공극률(P)은 아래와 같이 수식 (1)로 표현된다.

$$P = 1 - \frac{V_{scaffold}}{V_{cube}} = 1 - \frac{\pi d_1^2}{4 d_2 d_3} \quad (1)$$

여기서 d_1 은 필라멘트(filament)의 직경 (0.2 mm), d_2 는 필라멘트 사이의 간격(0.4 mm), d_3 는 층의 두께(0.15 mm)이다. 본 연구에서 제작된 지지체의 공극률은 47.64 %이다.

4. 실험 및 결과

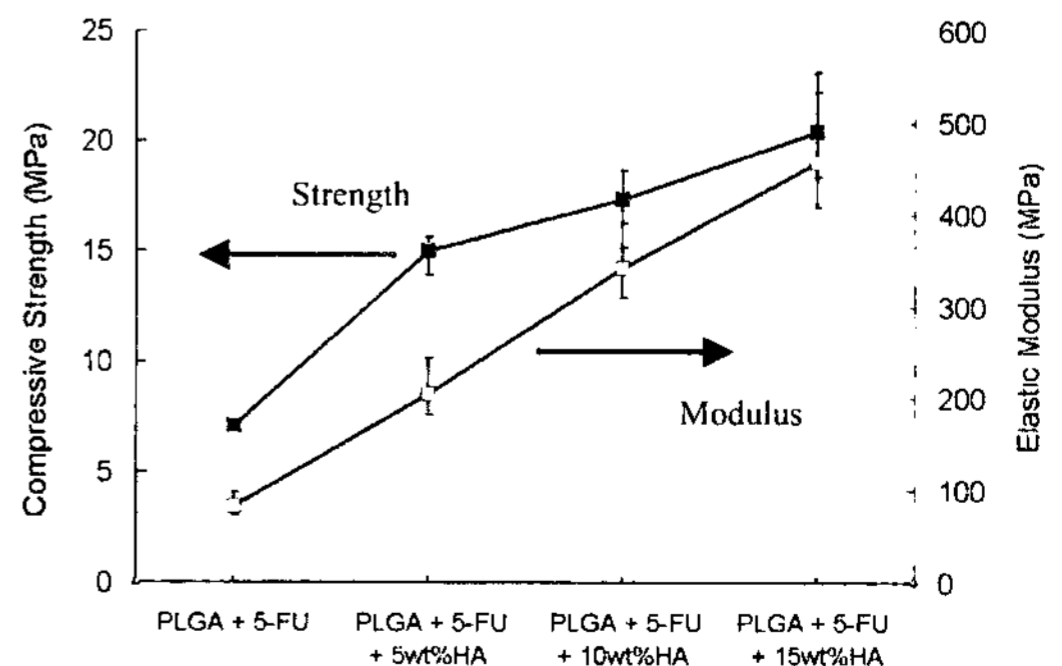
4.1 재료강도 실험

HA가 재료의 강도에 미치는 영향을 알아보기 위해 압축 시험을 수행 하였다. 실험은 Instron 5565를 사용하여, 1.0 mm/min의 하중 조건으로 원통형의 지지체 시편을 사용하여 수행되었다($\phi 5 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$). Fig. 7은 약물-고분자 복합재에 HA가 첨가된 경우 HA의 첨가량에 따라 변화되는 재료의 압축강도를 나타낸 것이다. HA의 양이 많아짐에 따라 복합재료의 압축강도 또한 높아짐을 알 수 있다.

4.2 체외실험

재료형태 유지 및 약물방출 실험 수행을 위하여 진탕탕운수조(Shaking water bath, BS-21, JEIO TECH, Korea)를 사용 하였다. 제작된 약물전달시스템 시편을 각 20 ml 유리병(vial)에 담은 후 약물 수용 매질(Phosphate buffered saline, PBS, 0.05 M, pH 7.4)을 정량 충전하였다. 유리병을 진탕탕운수조에서 온도 37 °C, 수평진동 50 rpm을 유지하며 시험 하였다.

체외(*in vitro*)환경에서 HA의 함유량에 따른 약물전달시스템의 변화를 관찰하였다. 실험은 PLGA85/15보다 강도가 낮은 PLGA50/50을 사용하였다. Fig. 8과 같이 약 20 wt%의 HA를 첨가 하더라도 형태 유지에 있어서 문제가 있었지만 40 wt%의 HA를 첨가할 경우 형태 유지가 잘 됨을 확인 할 수 있다.



*Compressive strength of human cancellous bone: 0.5 ~ 14.6 MPa

Fig. 7 Changes in compressive strength of drug-polymer-additive composite as a function of HA amount.

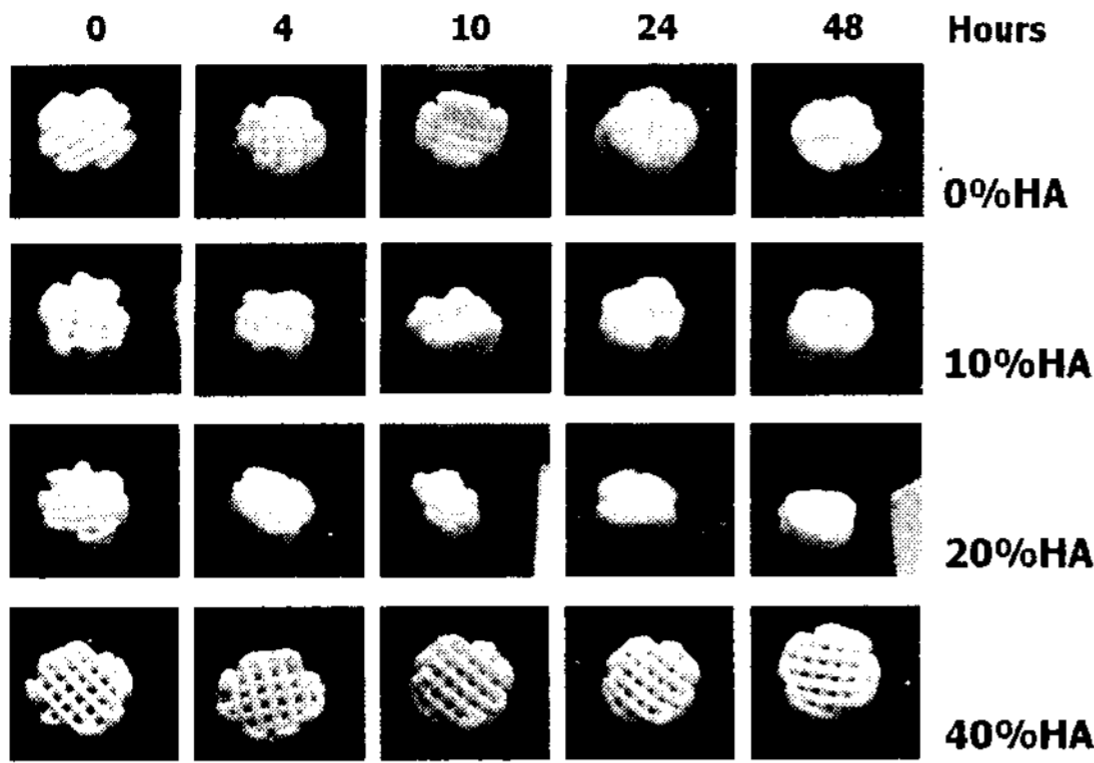


Fig. 8 Shape changes over time by different amount of HA in PLGA polymer.

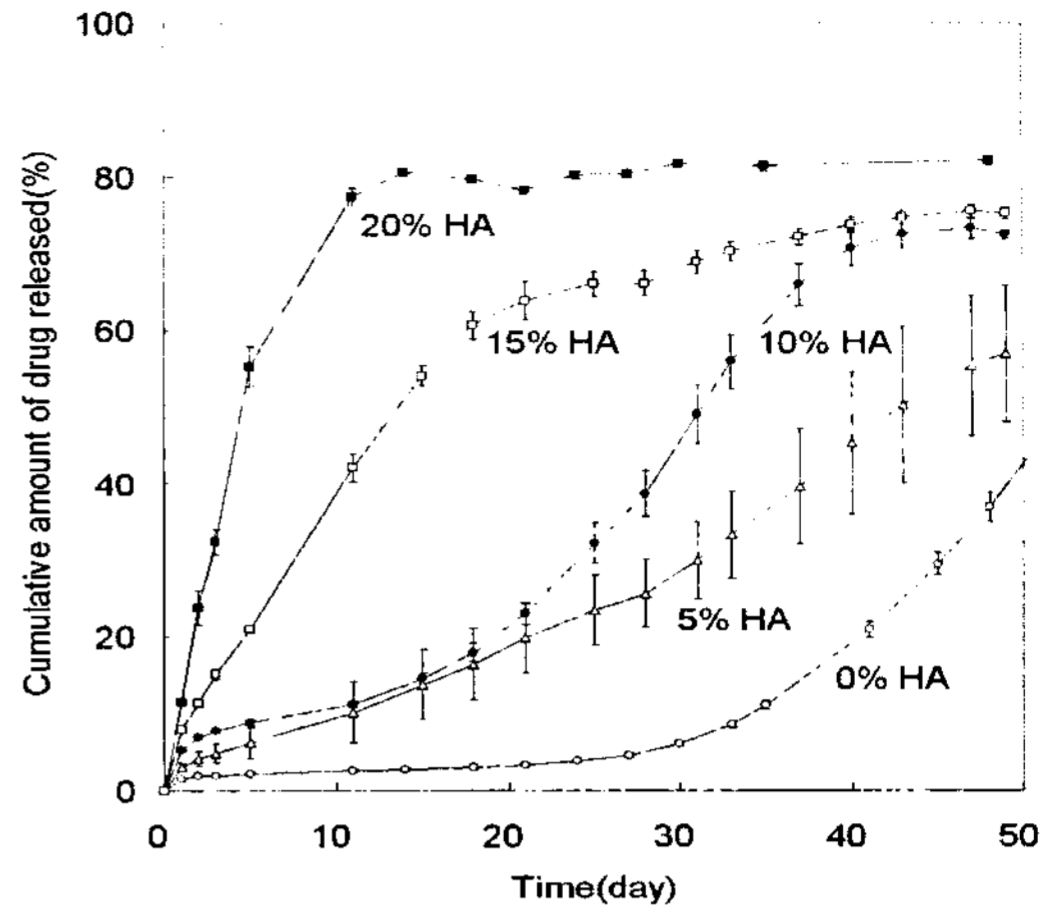


Fig. 10 Test results of drug release over 50 days [10].

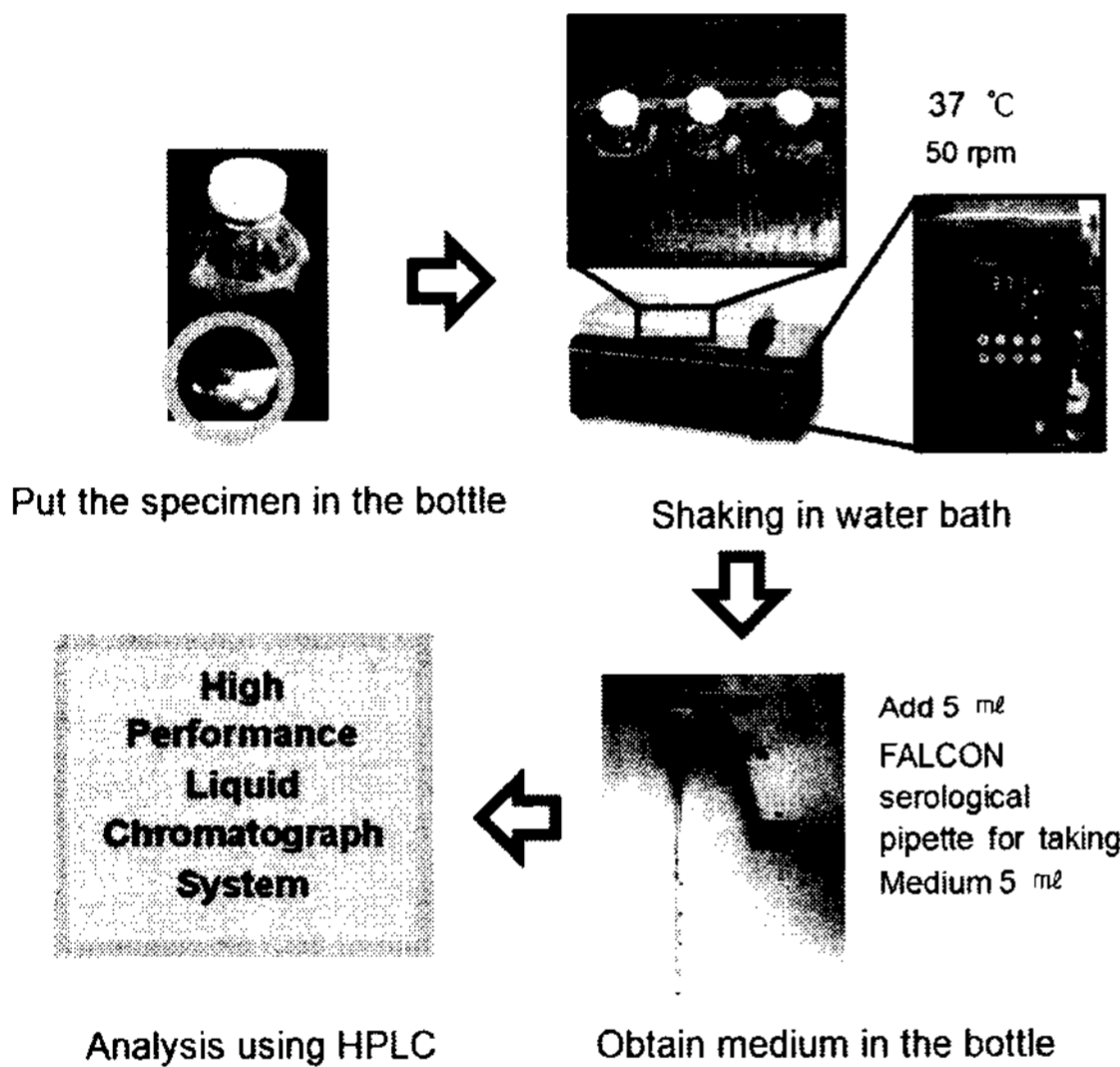


Fig. 9 Sequence of *in vitro* test.

또한 체외 환경에서 약물방출 실험을 수행하였다. 실험은 정해진 시간에 정량의 PBS를 취한 다음 적량 희석 후 HPLC (High Performance Liquid Chromatograph System, HITACHI, Japan)를 사용해 약물의 농도를 분석을 통하여 이루어졌다(Fig. 9). 시험 중 약물전달시스템의 형태안정성 평가가 동시에 수행되었으며, PLGA85/15를 사용한 약물전달시스템의 경우에는 체외 환경상에서 형상의 변화 없이 일정하게 유지되었다.

Fig. 10은 약물방출속도평가 그래프를 나타낸다. 첨가제가 포함되지 않은 약물전달시스템의 경우 약물이 50일 동안 천천히 방출되는 경향을 보이며, HA의 함유량이 증가할수록 초기약물 방출량이 증가하였다. HA의 양이 20wt%인 약물전달시스템의 경우, 약 80%의 약물이 10일 동안에 방출됨을 확인 할 수 있다. 일반적으로 약물방출은 초기에는 천천히 방출되다 점차 빨라지게 된다. 비교적 빠른 약물

방출을 보인 HA 15 wt%와 HA 20 wt%가 함유된 약물전달시스템의 경우는 선형의 약물방출을 보이나, 비교적 천천히 방출된 나머지 약물전달시스템은 일반적인 방출 패턴을 보인다.

결론

약물전달시스템제작을 위하여 약물-고분자 복합체를 구성하였으며, 약물방출속도제어를 위하여 첨가제를 이용하였다. 다양한 재료의 적용이 가능하며 정밀한 부품을 제작할 수 있는 나노복합재 적층장치를 사용하여 약물전달시스템을 제작하였으며, 체외환경에서 형태 안정성 및 약물방출 속도에 대한 평가를 수행하였다. PLGA85/15는 체외환경에서 충분한 형태 안정성을 보였으며, 바이오 세라믹의 일종인 HA를 사용하여 약물방출속도를 제어할 수 있음을 알 수 있었다. 앞으로 동물실험(*in vivo*)을 통하여 지지체 형상의 공극 크기 및 적층 패턴이 약물 방출에 미치는 영향에 대한 연구를 수행할 예정이다.

후기

본 연구는 한국과학재단 특정기초사업(R01-2006-000-10699-0), 서울대학교 ERC(Micro Thermal System Research Center)에 지원을 받아 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) J. M. Williams, A. Adewunmi, R. M. Schek, C. L. Flanagan, P. H. Krebsbach, S. E. Feinberg, S. J. Hollister,

- and S. Das, "Bone Tissue Engineering Using Polycaprolactone Scaffolds Fabricated Via Selective Laser Sintering," *Biomaterials*, Vol. 26, 2005, pp. 4817-4827.
- 2) G. Vozzi, C. Flaim, A. Ahluwalia, and S. Bhatia, "Fabrication of PLGA Scaffold Using Soft Lithography and Microsyringe Deposition," *Biomaterials*, Vol. 24, 2003, pp. 2533-2540.
- 3) C. X. F. Lam, X. M. Mo, S. H. Teoh, and D. W. Huttmacher, "Scaffold Development Using 3D Printing with a Starch-based Polymer," *Materials Science and Engineering C*, Vol. 20, 2002, pp. 49-56.
- 4) J. T. Jr. Santini, R. Langer, and M. J. A. Cima, "Microfabricated Controlled Release Device," *10th Int. Conf. on Solid-State Sensors and Actuators (Sendai, Japan) Tech. Digest*, 1999, pp. 746-747.
- 5) W. H. Ryu, "Micro-fabrication Technology for Biodegradable Polymers and Its Applications," Ph. D. Thesis, Stanford University, 2005.
- 6) W. H. Ryu, M. Vyakarnam, R. S. Greco, F. B. Prinz, and R. Fasching, "Fabrication of Multi-Layered Biodegradable Drug Delivery Device Based on Microstructuring of PLGA Polymers," *Biomedical Microdevices*, Vol. 9, No. 6, 2007, pp. 845-853.
- 7) W. H. Ryu, Z. Huang, F. B. Prinz, S. B. Goodman, and R. Fasching, "Biodegradable micro-osmotic pump for long-term and controlled release of basic fibroblast growth factor," *Journal of Controlled Release*, Vol. 123, No. 1-2, 2007, pp. 98-105.
- 8) W. S. Chu, S. G. Kim, S. H. Ahn, W. S. Ha, and S. C. Chi, "Micro/Nano Fabrication Technique in Drug Delivery System (DDS)," *Journal of Korean Society for Precision Engineering*, Vol. 23, No. 12, 2006, pp. 21-29.
- 9) W. S. Chu, S. G. Kim, W. K. Jung, H. J. Kim, S. H. Ahn, "Fabrication of Micro Parts using Nano Composite Deposition System," *Rapid Prototyping Journal*, Vol. 13, No. 5, 2007, pp. 276-283.
- 10) W. S. Chu, S. Y. Jeong, S. G. Kim, W. S. Ha, S. C. Chi, and S. H. Ahn, "Fabrication of Biodegradable Drug Delivery System With Controlled Release," *Rapid Prototyping Journal*, Submitted, 2008.
- 11) J. B. Kohn, S. Brocchini, K. James, V. Tangpasuthadol, "Copolymer Libraries, Their Production and Monomers There for," WO9952962.
- 12) N. Kunou, Y. Ogura, T. Yasukawa, H. Kimura, H. Miyamoto, Y. Honda, and Y. Ikada, "Long-term Sustained Release of Ganciclovir from Biodegradable Scleral Implant for the Treatment of Cytomegalovirus Retinitis," *Journal of Control Release*, Vol. 68, 2000, pp. 263-271.
- 13) K. A. Gross, L. M. Rodriguez-Lorenzo, "Biodegradable composite scaffolds with an interconnected spherical network for bone tissue engineering," *Biomaterials*, Vol. 25, 2004, pp. 4955-4962.