

덱사메타손 21-아세테이트를 함유한 콘드로이틴 설페이트/젤라틴 마이크로스피어의 제조 및 평가

용철순[†] · 김영주 · 오두만*

영남대학교 약학대학[†], 대구효성가톨릭대학교 약학대학*
(1996년 8월 31일 접수)

Preparation and Evaluation of Chondroitin Sulfate/Gelatin Microspheres Containing Dexamethasone 21-Acetate

Chul Soon Yong[†], Young Ju Kim, and Doo-Man Oh*

[†]College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea

*College of Pharmacy, Taegye Hyosung Catholic University,
Hayang, Kyungbuk, 713-702, Korea

(Received August 31, 1996)

Chondroitin sulfate/gelatin microspheres containing dexamethasone 21-acetate were prepared by complex coacervation method and their release patterns were examined *in vitro*. Microspheres prepared with a small amount of crosslinking agent had smooth surface and few pores, but those with a large amount of crosslinking agent were more porous and less spherical. *In vitro* release patterns were varied by changing polymer/drug weight ratio and amount of crosslinking agent. The release rate of dexamethasone 21-acetate in the presence of collagenase was faster than that in the absence of collagenase. Anti-inflammatory effect of dexamethasone 21-acetate microspheres was more efficient than that of dexamethasone 21-acetate solution in carrageenan-induced arthritis in the rat. On the basis of the above results, we might expect the degradation and drug release rate of these microspheres to be regulated by the degree of crosslinking and the level of enzymes. In patients with severe rheumatoid arthritis who have high concentration of collagenase, more drug would be released from the microspheres. An intra-articular injection therapy of rheumatoid arthritis with desired release kinetics could be developed to enhance patient compliance and therapeutic index.

Keywords—Chondroitin sulfate, Gelatin, Dexamethasone 21-acetate, Microsphere, Collagenase, Rheumatoid arthritis

제어 방출 시스템은 최적의 혈중농도를 일정하게 유지할 수 있고 예측이 가능하고 재현성 있는 방출 속도를 지속적으로 유지하며, 반감기가 짧은 약물의 작용 지속시간을 연장시키고 부작용, 잦은 약물 투여, 약물 손실을 막을 수 있고 최적화된 치료로 환자의 약물복용 순응도를 높일 수 있는 장점이 있다. 제어 방출 시스템의 적용이 필요한 약물로, 투여기간이 긴 약물, 안정성이 낮은 약물 및 작용부위 이외의 조직에 대해서 부작용이 큰 약물 등을 들 수 있다.

만성질환중의 하나인 류마티스 관절염은 관절 활막

이 거대한 조직으로 증식하여 세포의 기질을 침범하여 관절이 점점 파괴되고 심하면 기형, 불구가 되는 만성 염증성 질환이다.¹⁾ 관절연골의 세포의 기질은 콜라겐, 프로테오글리칸, 기질 단백질 및 히아루로네이트로 구성되어 있으며 망상의 콜라겐(II형 콜라겐)은 연골이 압력에 견딜 수 있는 역할을 하는 프로테오글리칸 집합체를 포함하고 있어 연골의 구조를 유지시킨다.²⁻³⁾ 관절결합조직 특히, 연골의 파괴는 활액막 주위 세포와 연골세포에서 분비되는 단백분해효소에 의해 매개된다.⁴⁾ 관절활막에 염증이 생기면 이러한 단백분해효소가 현저히 증가한다.⁵⁻⁶⁾

류마티스 관절염의 치료에 있어서 약물요법은 단지

[†] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

일부분을 차지하고 있지만 그 비중은 매우 크다. 코티코스테로이드의 전신 투여는 류마티스 관절염 치료에 큰 효과가 없으나 국소 주사는 매우 유용하다. 스테로이드를 관절내로 주사하는 가장 큰 이유는 통증을 경감시키는 것이며, 염증성 활막염이 한 두개의 관절에만 심한 환자나, 대부분의 관절은 치유가 되었으나 한 두개의 관절이 여전히 염증이 심하고 통증이 있는 환자에게 효과적으로 투여될 수 있다.

수용성 약물을 관절내에 주사할 때의 가장 큰 단점은 전신 순환계로 신속하게 소실되는 것이므로⁷⁾ 지용성이 작은 스테로이드를 관절내로 주사할 경우 약물이 신속하게 제거되어 약효 지속시간이 짧고, 치료효과를 얻기 위해서는 많은 양의 약물을 주사해야 하므로 전신작용이 나타날 수 있다.^{8,9)} 예를 들어 코티코스테로이드를 관절내에 주사한 후 혈장 코티솔이 억제되었으며, 순환하는 호산구가 감소된 경우도 보고되었다.¹⁰⁾

코티코스테로이드를 관절내로 투여하면 염증 부위로부터 2상의 소실경로를 통해 신속하게 소실되므로 약물이 최대 효과를 나타내지 못한다는 것이 보고되었다.^{11,9)} Wallis와 Simkin¹²⁾은 첫번째 상이 관절강내에서의 분포와 관련이 있고 두번째의 느린 상은 진정한 관절강 외부와의 교환이라고 하였다. 그러므로 약물을 적당한 운반체에 봉입하여 약물 소실을 지연시켜 더 나은 치료효과를 얻을 수 있다고 보고하였다.¹³⁾

관절강내에서 스테로이드가 머무는 시간을 증가시키기 위해 3급 부틸 아세테이트 같은 수용성이 작은 에스테르와 트리암시놀론 아세토니드 같은 미소결정체제를 사용하는 등의 시도가 있었다.¹⁰⁾ 방사성 관절절단을 위해 198Au와 90Y를 관절내로 주사한 후 체류하는 시간을 증가시키기 위해 콜로이드제가 사용될 수 있다. 또한 Dingle 등¹⁴⁾은 메토티렉세이트와 코티솔 팔미테이트의 지속시간을 증가시키기 위해 리포솜을 사용하였다. 코티솔 팔미테이트의 경우, 리포솜의 이용으로 스테로이드의 주사량은 감소되었으나 리포솜으로부터 스테로이드가 빠르게 방출되어 항염증 효과는 단지 가토에서는 3-4일, 사람에서는 14일 동안 지속되었다.^{15,16)}

Ratcliffe 등¹⁷⁾과 Lewis 등¹⁸⁾은 항염증 약물의 관절강내 주사시에 약물의 방출을 지연시키기 위해 약물의 운반체로 알부민을 사용하여 microspheres를 제조하였다. 제조방법으로 열안정화법과 글루타르알데히드로 가교시키는 방법을 이용하였으며, 열안정화법이 훨씬 더 약물의 방출을 지연시켰으나 열에 안정한 물질만 이용할 수 있다는 단점이 있었다. 그러나 이러한 mi-

crosphere를 사용하여도 약물의 방출이 너무 신속하게 진행되어 임상에 적용할 수는 없었다. Azhari 등¹⁸⁾은 류마티스 관절염 치료를 위해 보체 수용체 단백질인 젤라틴과 콘드로이틴 설페이트에 봉입시켜 방출을 조절하였다. 스테로이드의 관절강내 주사는 투여가 곤란하고 주사할 때 감염의 위험이 있고 일단 감염되면 치명적이므로 자주 주사하지 못하는 단점이 있다. 따라서 스테로이드를 중합체에 봉입하여 관절강내에서 약물을 서서히 방출되게 하여 그 약효를 지속시키는 것이 필요하다. 전술한 바와 같이 현재까지 스테로이드를 관절강내에 주사할 경우 그 방출을 지연시키기 위한 여러 시도가 있었으나 큰 성과를 얻지 못하였다.

따라서 본 실험에서는 코티코스테로이드 중에서 저용량으로 큰 효과를 갖는 덱사메타손의 유도체인 덱사메타손 21-아세테이트를 microencapsulation에 의해 생체분해성을 나타내는 젤라틴과 콘드로이틴 설페이트의 microspheres에 봉입시켜 그 방출을 지연시키고 염증의 정도에 따라 변화하는 collagenase의 농도에 따라 덱사메타손 아세테이트의 방출속도를 제어하는 것을 실험하였다. 젤라틴은 관절의 성분인 콜라겐이 변성된 유도체이고 콘드로이틴 설페이트도 관절의 성분이므로 생체적합성을 가진다. 젤라틴은 양전하를 띠고 콘드로이틴 설페이트 나트륨염은 음전하를 띠므로 이온결합을 할 수 있다. 여러 조건에서 제조한 microspheres로부터의 약물 방출경향을 고찰하고 약물방출에 대한 collagenase의 영향을 알아보기 위해 collagenase의 유무에 따른 약물방출 경향을 비교하였다. 또한 dexamethasone 21-acetate 함유한 microspheres의 항염증작용을 carrageenan으로 관절염이 유도된 백서를 사용하여 dexamethasone 21-acetate solution과 비교 평가하였다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

Dexamethasone 21-acetate, gelatin(type A, 60bloom), chondroitin sulfate C sodium salt, collagenase(Type VII, V), ethanolamine은 Sigma 사로부터 구입하였고 glutardialdehyde(25% 수용액)와 KH_2PO_4 는 Merck(Darmstadt, F.R. Germany) 사로부터 구입하였다. Calcium chloride 무수물은 Shinyo Pure Chemicals Co., Ltd.(Osaka, Japan)의 제품을, sodium chloride는 Duksan

Pharmaceutical Co., Ltd.(Korea), potassium chloride는 Hayashi Pure Chemical Industries Ltd.(Osaka, Japan), Na₂HPO₄는 Kanto Chemical Co., Ltd.(Tokyo, Japan), phosphoric acid는 Yakuri Pure Chemicals Co., Ltd.(Osaka, Japan)의 제품을 사용하였다. Filter membrane은 Alltech (IL, USA)에서 구입한 nylon 66(pore size 0.2 μm)제품과 Gelman Science Inc.(MI, USA)의 cellulose nitrate (supor-200, pore size 0.2 μm)제품을 사용하였으며 이외의 모든 시약은 특급 혹은 일급품을 사용하였다.

본 연구 수행에 이용된 주요 기기와 기구는 magnetic stirrer(Corning, USA), optical eyepiece micrometer disc(Nikon, MBM12100)를 장착시킨 microscope(Nikon Alphaphot-2 YS2, Japan), plastic filter holder(Gelman Sciences Inc., USA), SEM(ISI SS-130, Hitachi-Akashi, Japan), shaking water bath(KMC-1205SW1, Vision Co., Ltd., Korea), spectrophotometer(Shimadzu UV-1201, Japan), water bath(WB-30D, Jeio Tech Co., Ltd.(Korea) 등이다.

Chondroitin sulfate/gelatin microsphere의 제조

Azhari 등¹⁹⁾의 complex coacervation법을 이용하여 다음과 같이 제조하였다. 5% gelatin 수용액(0.25 g/5 ml)을 0.2% chondroitin sulfate 수용액(0.01 g/5 ml)과 dexamethasone 21-acetate의 혼합액을 sonication하여 균일하게 현탁시킨 액에 넣고 30분간 교반시켰다. 0°C에서 교반하면서 냉각시킨 후 25% 글루타르알데히드 용액을 넣고 1시간동안 교반시키고 NaOH용액을 사용하여 pH9로 맞춘 후 ethanolamine(pH9)용액 6 ml를 넣고 0°C에서 1시간동안 교반하였다. 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 침전을 증류수 10 ml에 현탁시키고 다시 원심분리한 침전을 진공건조 하였다.

현미경을 이용한 microsphere의 관찰

제조한 microsphere의 형태와 입자의 크기를 결정하기 위하여 광학 현미경을 사용하여 관찰하였다. 입자로 관찰한 microsphere의 입자 크기를 ocular micrometer를 이용하여 측정하고 지름을 구하였다. Microsphere의 표면 특성을 관찰하기 위하여 ion coater(Model 1B-3, Eiko Engineering Co., Japan)를 이용하여 백금으로 코팅시킨 후 주사 전자현미경으로 관찰하였다.

Microsphere 내 약물 함량의 결정

Dexamethasone 21-acetate microsphere 10 mg을 methanol 5 ml에 넣고 하루동안 추출한 후 20배 희석하여 membrane filter로 여과한 다음 UV spectrophotometer로 237 nm에서 흡광도를 측정하였다. 약물을 함유하지 않은 microsphere로 공실험을 행하였다.

In vitro 에서의 약물 방출 실험

Microsphere 10 mg을 PBS 20 ml에 넣고 shaking water bath 에서 37°C, 100 cpm으로 incubation하였다. 일정 시간 간격으로 500 μl 씩 시료를 채취하여 PBS 500 μl와 혼합하여 242 nm에서 흡광도를 측정하였다. 채취한 분량만큼의 실험액을 보충하였으며, 약물을 함유하지 않은 microsphere로 공실험을 행하였다.

Collagenase 함유 방출액에서의 약물 방출 실험

Dexamethasone 21-acetate를 함유한 microsphere 10 mg을 PBS 20 ml에 넣고 collagenase 300 units를 넣고 shaking water bath 에서 37°C, 100 cpm으로 incubation하였다. 일정 시간 간격으로 500 μl씩 시료를 채취하여 PBS 500 μl와 섞은 후 242 nm에서 흡광도를 측정하였다. 채취한 분량만큼의 실험액을 보충하였으며, 약물을 함유하지 않은 microsphere로 공실험을 행하였다.

In vivo 에서 microsphere의 항염증작용

Carrageenan 유발 관절염증은 Winter 등²⁰⁾의 방법을 약간 변경하여 1%(w/v) λ-carrageenan 50 μl를 백서의 관절강내에 주사하여 염증을 유발시켰다. Carrageenan으로 관절염이 유발된 백서에 대한 dexamethasone 21-acetate 용액과 dexamethasone 21-acetate함유 microsphere의 항염증작용을 비교 관찰하기 위하여 다음과 같이 4 군으로 나누어 실험하였다. 정상의 백서, carrageenan으로 관절염이 유발된 백서, carrageenan으로 관절염을 유발시키고 dexamethasone 21-acetate 용액(100 μg/300 g) 50 μl를 투여한 백서, carrageenan으로 관절염을 유발시키고 dexamethasone 21-acetate함유 microsphere 현탁액(100 μg/300 g) 50 μl를 투여한 백서로 실험하였으며, dexamethasone 21-acetate함유 microsphere 현탁액은 주사용 증류수 2 ml에 microsphere(약물함량 12%) 32 mg, D-mannitol 100 mg, carboxymethyl-cellulose-Na 10 mg 및 polysorbate 2 mg을 가하여 제조하였다. Microsphere의 지속적인 항염증작용을

관찰하기 위하여 dexamethasone 21-acetate 용액과 dexamethasone 21-acetate 함유 microsphere 현탁액을 먼저 투여한 다음 carrageenan을 투여하여 항염증작용을 비교 관찰하였으며 이때의 실험조건은 전술한 방법과 동일하였다.

조직학적 병변을 관찰하기 위한 sample의 처리과정은 다음과 같다. 관절염을 유발시킨 관절면이 포함되도록 대퇴골과 경골을 적당한 크기로 함께 절개한 다음 formaldehyde solution 100 ml, 2차 증류수 900 ml, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 4 g 및 Na_2HPO_4 6.5 g을 함유한 10% 중성포르말린 고정액에 7일 이상 고정시켰다. 그 후 골조직을 formic acid 5ml, formalin원액 5ml 및 증류수 90 ml의 비율로 제조한 탈회액에 5일 이상 넣어 탈회시켰다. 이때 탈회액은 매일 한번씩 갈아주었다. 탈회 완료후 탈회액을 중화하기 위하여 5% 유산나트륨액에 24시간 넣어 중화시킨 다음 10시간 흐르는 물에 잘 세척하고 관절면이 잘 관찰되도록 반으로 절개하여 일반적인 조직의 처리방법으로 파라핀 포매기(Fisher, Histomatic Tissue Processor, 166A)에 포매하여 로타리 마이크로톰(AO Rotary Microtome)을 사용하여 $5 \mu\text{m}$ 절편을 만들어 hematoxylin과 eosin으로 염색한다음 photomicroscopy를 이용하여 synovial tissue를 비교 관찰하였다.

결과 및 고찰

Microsphere의 현미경 관찰

Dexamethasone 21-acetate를 함유한 microsphere의 형태 및 표면의 특성을 관찰하기 위해 SEM 사진을 찍었으며 그 결과를 Figure 1에 나타내었다. 제조된 microsphere는 구형을 나타내었고 표면이 상당히 매끄러웠으며 pore의 수가 작았으나 가교제의 양을 많이 사용할수록 표면이 거칠고 pore의 수가 많았다.

Microsphere의 크기는 $6-16 \mu\text{m}$ 정도였으며(Table I), 제조 과정중 글루타르알데히드의 양, 중합체와 약물간의 비율등이 microsphere의 지름에 큰 영향을 미치지 않았다.

가교제 및 중합체와 약물간의 비율이 약물 봉입률에 미치는 영향

중합체와 약물간의 비율을 5:1로 하고 25% 글루타르알데히드의 부피를 각각 $50 \mu\text{l}$, $200 \mu\text{l}$, $400 \mu\text{l}$, $1000 \mu\text{l}$ 로 하여 microsphere를 제조하였을 때 Table II에서 보듯이 글루타르알데히드의 양을 증가시키면

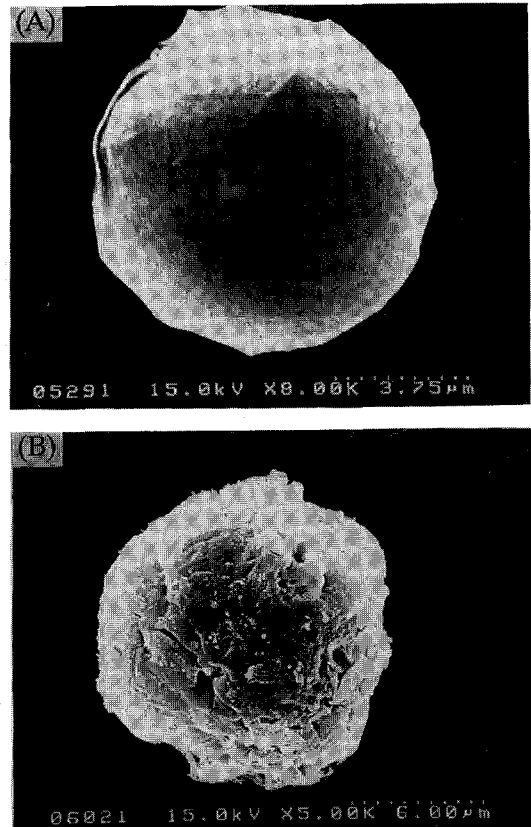


Figure 1—Scanning electron microscopy of chondroitin sulfate/gelatin microspheres containing dexamethasone 21-acetate: polymer/drug=5/1, 25% glutaraldehyde solution $50 \mu\text{l}$ (A), 25% glutaraldehyde solution 1 ml(B)

Table I—Size of Microspheres Containing Dexamethasone 21-Acetate

Polymer/drug ratio (w/w)	Diameter (Mean \pm S.D., μm)
20/1	8.5 ± 2.42
15/1	10.25 ± 2.75
10/1	11.1 ± 4.77
5/1	8.6 ± 2.01

Prepared by using 25% glutaraldehyde solution $50 \mu\text{l}$

약물봉입률은 감소하는 경향을 보였다. 봉입률이 감소하는 이유는 Figure 1에서 보여지듯이 글루타르알데히드의 양이 증가할수록 microsphere에 pore가 많이 형성되기 때문인 것으로 사료된다.

Table III에서 보듯이 글루타르알데히드의 양을 $50 \mu\text{l}$ 로 하고 중합체와 약물간의 비율을 변화시켜본 결과 봉입률과는 뚜렷한 상관성이 없었으며 중합체에 대한

Table II—The Effect of Amount of Crosslinking Agent on Drug Incorporation Efficiency

Amount of 25 % (v/v) glutaraldehyde solution (μl)	Drug incorporation efficiency (%)
50	63.1
200	45.5
400	41.4
1000	45.4

Prepared by employing polymer : drug ratio as 5 : 1
 Drug incorporation efficiency = $\frac{\text{actual incorporation (W/W\%)}}{\text{theoretical incorporation (W/W\%)}} \times 100$

Table III—The Effect of Polymer/Drug Ratio on Drug Incorporation Efficiency

Polymer : drug ratio (w/w)	Drug incorporation efficiency (%)
20 : 1	70.1
10 : 1	76.7
5 : 1	63.1

Prepared by employing glutaraldehyde 50 μl

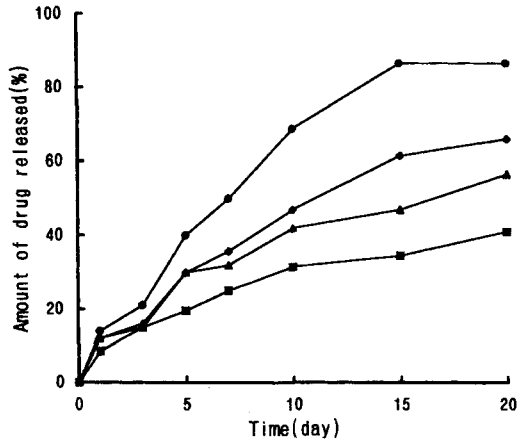


Figure 2—In vitro release profile of dexamethasone 21-acetate from microspheres into phosphate buffered saline (pH 7.4, 37°C) containing 0.38 mM CaCl₂ as a function of the amount of 25% glutaraldehyde solution. ■: 100 μl, ▲: 200 μl, ◆: 400 μl, ●: 1 ml ; Polymer/drug ratio of 5/1.

약물비가 10:1에서 봉입률이 가장 높았다.

In vitro 에서의 약물 방출 실험

Figure 2에서 보이는 바와 같이 중합체와 약물간의 비율을 5 : 1로 하고 25% 글루타르알데히드의 양을 100 μl 에서 1000 μl 까지 변화시킨 결과 글루타르알데히드의 양이 증가하면 microsphere에 pore가 많이 생기므로 방출속도가 증가하였다.

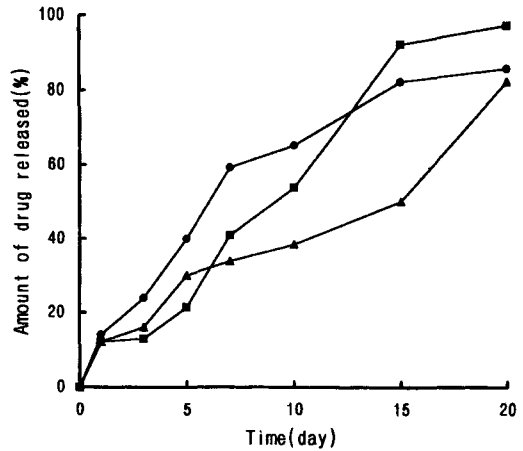


Figure 3—In vitro release profile of dexamethasone 21-acetate from microspheres into phosphate buffered saline (pH 7.4, 37°C) containing CaCl₂ as a function of polymer/drug ratio. ■: 20/1, ▲: 10/1, ●: 5/1 ; 25% glutaraldehyde solution 50 μl.

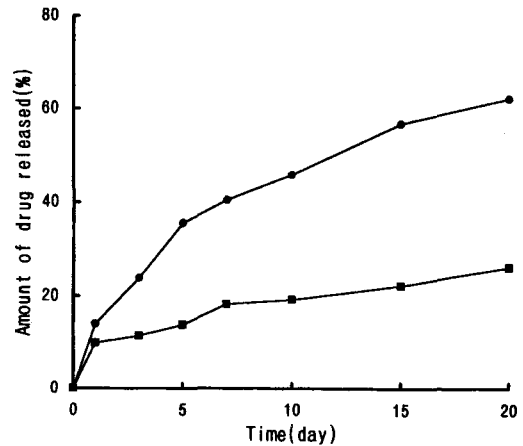


Figure 4—In vitro release profile of dexamethasone 21-acetate from microspheres into 37°C, pH 7.4 phosphate buffered saline containing 0.36 mM calcium chloride without collagenase (■) and collagenase type VII 300units (●) ; polymer/drug=5/1, 25% glutaraldehyde solution 50 μl.

또한 Figure 3은 글루타르알데히드 50 μl를 사용하고 중합체와 약물간의 비율을 변화시켜 제조한 microsphere의 약물 방출경향으로서, 중합체와 약물간의 비율과 일정한 상관성을 나타내지는 않았다.

Collagenase 함유 방출액에서의 약물 방출 실험

Figure 4에서 보듯이, 약물의 방출 속도는 collagenase를 함유한 시험액에서 collagenase를 함유하지 않은 시험액에서 보다 현저하게 증가하였다. 이것은 chondroitin sulfate/gelatin microsphere가 collagen-

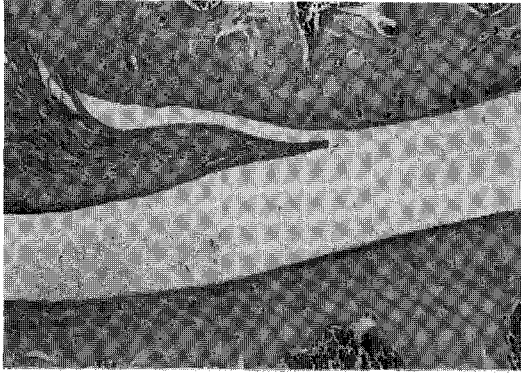


Figure 5—Normal articular surface of femur in the rat

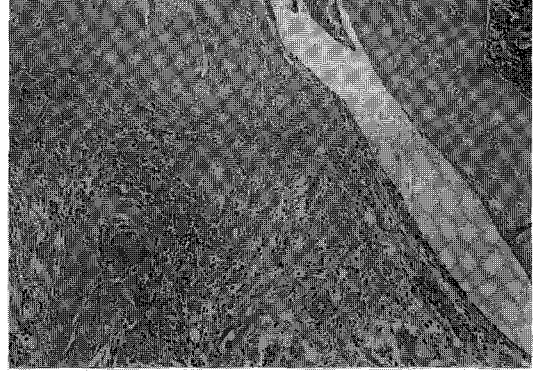


Figure 7—Articular surface treated with dexamethasone 21-acetate solution after carrageenan treatment in the rat

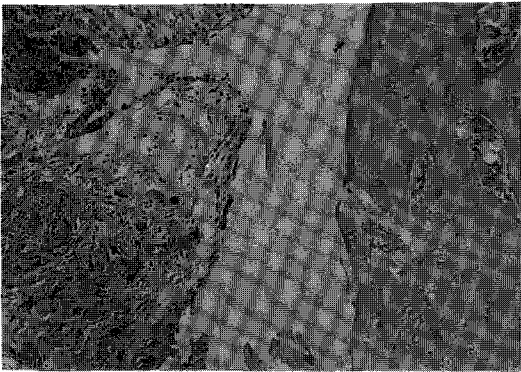


Figure 6—Articular surface lesion in arthritis induced by carrageenan in the rat

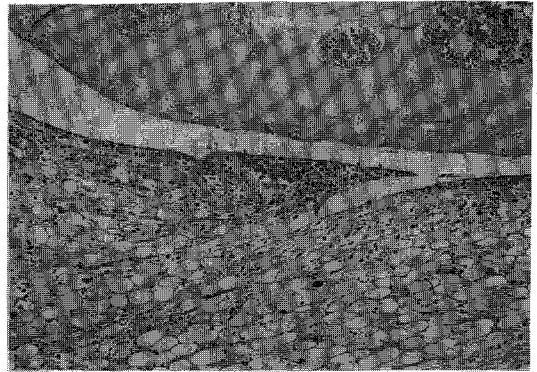


Figure 8—Articular surface treated with dexamethasone 21-acetate microspheres after carrageenan treatment in the rat

ase에 의해 분해되어 약물이 방출되는 것을 나타낸다.

***In vivo* 에서 microsphere의 항염증작용**

Figure 5는 정상적인 백서의 관절조직을 나타내며 대퇴골과 경골의 양단끝 부위의 관절연골이 잘 관찰되고 윤활층에 어떠한 이상도 관찰되지 않았다. Figure 6은 carrageenan으로 유발된 관절의 조직으로서, 관절 연골면에 뚜렷한 이상은 잘 관찰되지 않았으나, 윤활층에 있어서는 층의 부종, 염증세포의 침윤, 괴사 및 소육아종성 병변이 관찰되었다. Carrageenan으로 관절염이 유발된 백서에 대한 dexamethasone 21-acetate solution과 dexamethasone 21-acetate 함유 microsphere 현탁액의 항염증작용을 비교 관찰한 것이 Figure 7과 8이며, Figure 7은 carrageenan으로 염증을 유발시킨 후 dexamethasone 21-acetate solution을 투여한 결과로서, 관절 연골면에 뚜렷한 이상은 잘 관찰되지 않았으나, 윤활층에 있어서는 층의 부종, 염증세포의 침윤이 관찰되었다. Figure 8은 car-

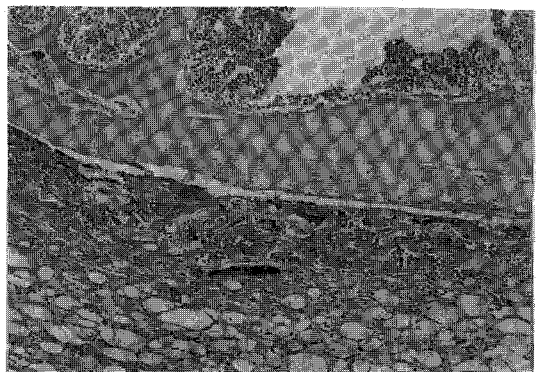


Figure 9—Articular surface in arthritis induced by carrageenan at three day after injection of dexamethasone 21-acetate solution in the rat

rageenan으로 염증을 유발시킨 후, dexamethasone 21-acetate 함유 microsphere 현탁액을 주사한 경우로, 관절연골면에 뚜렷한 이상은 잘 관찰되지 않

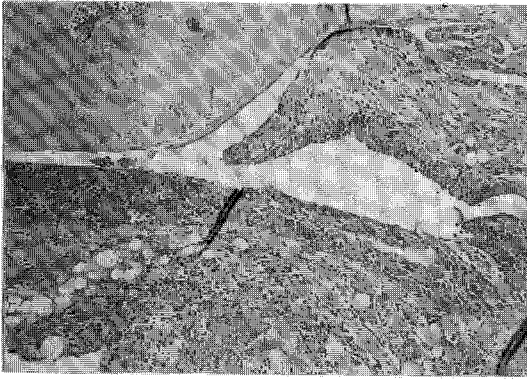


Figure 10—A Articular surface in arthritis induced by carrageenan at three day after injection of dexamethasone 21-acetate microsphere in the rat

았으며, 윤활층 표면에는 단핵구를 중심으로 하는 세포의 집락소가 관찰되었으나 그 밖의 뚜렷한 병변은 관찰되지 않았다. 또한 지속적인 항염증작용을 비교 관찰하기 위하여 dexamethasone 21-acetate solution과 dexamethasone 21-acetate 함유 microsphere 현탁액을 먼저 투여한 후 carrageenan으로 염증을 유발시킨 것이 Figure 9와 10이며, dexamethasone 21-acetate solution을 투여한 3일 후에 carrageenan으로 염증을 유발시킨 것이 Figure 9로, 윤활층에 있어서 고도의 염증세포의 침윤, 괴사 및 석회화가 관찰되었다. Figure 10은 dexamethasone 21-acetate 함유 microsphere 현탁액을 주사한 3일 후에 carrageenan으로 염증을 유발시킨 경우로, 윤활층에 염증세포의 침윤 및 소육아중성 병변이 약간 나타났으나 관절연골면에 뚜렷한 이상이 관찰되지는 않았다. 이 결과는 dexamethasone 21-acetate 함유 microsphere가 dexamethasone 21-acetate solution에 비해 관절에 주사된 3일 후에도 지속적으로 항염증작용을 나타내는 것으로 사료된다.

결 론

Complex coacervation method에 의해 dexamethasone 21-acetate를 함유한 chondroitin sulfate/gelatin microsphere를 제조하여 in vitro에서의 약물 방출 경향을 관찰하였다. Dexamethasone 21-acetate microsphere는 표면이 매끈하였고 pore의 수가 적었으며 글루타르알데히드를 많이 사용할 수록 생성되는 microsphere는 원형성이 떨어지고 pore도 많아졌다. 글루타르알데히드의 양, 중합체와 약물간의 비율

을 변화시켜 다양한 약물 함량과 6-16 μm 의 크기를 가진 microsphere를 얻었다.

중합체와 약물간의 비율을 변화시킬 경우 in vitro에서 약물 방출은 일관된 경향을 나타내지는 않았고 글루타르알데히드의 양을 증가시키면 pore의 수도 증가하므로 약물 방출 속도가 빨라지는 경향을 나타내었다. 또한 collagenase가 존재할 경우 collagenase가 없는 경우보다 dexamethasone 21-acetate의 방출 속도가 현저하게 증가하였다. 이것은 chondroitin sulfate/gelatin microsphere로부터의 약물 방출이 collagenase에 의해 영향을 받음을 시사하고 있다. In vivo에서의 항염증작용은 dexamethasone 21-acetate solution에 비해 dexamethasone 21-acetate 함유 microsphere 현탁액이 지속적이고 효과적이었다. 이상의 실험 결과로 볼 때 dexamethasone 21-acetate를 함유한 chondroitin sulfate/gelatin microsphere를 류마티스 관절염 환자의 관절강내로 주사하는 경우, 증상이 심하면 collagenase의 농도가 증가하므로 증가된 collagenase에 의해 microsphere가 분해되어 약물 방출량이 증가하고 증상이 완화되면 collagenase의 농도 감소로 약물 방출량도 감소하여 과다한 약물 노출에 의한 부작용을 피할 수 있을 것으로 기대된다. 즉 효소에 의해 조절되고 방출이 지연된 약물전달 시스템으로 개발될 가능성이 있다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단 핵심전문 연구비(951-0710-041-1) 지원으로 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

문 헌

- 1) C.E. Brinckerhoff, Retinoids and rheumatoid arthritis : Modulation of extracellular matrix by controlling expression of collagenase, *Methods in Enzymology*, **190**, 175-188(1990).
- 2) C.J. Handley, D.J. McQuillan, D.A. Lowther, The structure and synthesis of proteoglycans of articular cartilage, *Cell Biol. Int.*, **9**, 753-782(1985).
- 3) C.M. Kielty, S.P. Whittaker, M.E. Grant, C. A. Shuttleworth, Type VI collagen microfibrils : Evidence for a structural as-

- sociation with hyaluronan, *J. Cell Biol.*, **118**, 979-990(1992).
- 4) S.M. Krane, Heberden Oration 1980-Aspects of the cell biology of the rheumatoid synovial lesion, *Ann. Rheum. Dis.*, **40**, 433(1981).
 - 5) J.M. Dayer, S.M. Krane, R.G.G. Russell, D. R. Robinson, Production of collagenase and prostaglandins by isolated adherent rheumatoid synovial cells., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 945-949(1976).
 - 6) J.M. Dayer, R.G.G. Russell, S.M. Krane, Collagenase production by rheumatoid synovial cells : stimulation by a human lymphocyte factor, *Science*, **195**, 181-183(1977).
 - 7) S.M. Wigginton, B.C.F. Chu, M.H. Weisman, S.B. Howell, Methotrexate pharmaceuticals after intra-articular injection in patients with rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.*, **23**, 119-122(1980).
 - 8) E.J. Goetzl, N.E. Bianco, J.S. Alpert, C.B. Sledge, P.H. Schur, Effects of intra-articular corticosteroids in vivo on synovial fluid variables in rheumatoid arthritis., *Ann. Rheum. Dis.*, **33S**, 62-66(1974).
 - 9) J.L. Hollander, D.J. McCarty, *Arthritis and allied conditions*, Lea & Febiger, Philadelphia, U.S.A., pp 517-534(1972).
 - 10) H.A. Bird, E.F.G. Ring, P.A. Bacon, A thermographic and clinical comparison of three intra-articular steroid preparations in rheumatoid arthritis, *Ann. Rheum. Dis.*, **38**, 36-39(1979).
 - 11) J.A. Winter, A. Sandberg, Disposition and metabolism of intra-articular injected radiolabelled cortisol in rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.*, **10**, 352-356(1967).
 - 12) W.J. Wallis, P.. Simkin, Antirheumatic drug concentrations in human synovial fluid and synovial tissue, *Clin. Pharmacokin.*, **8**, 496-522(1981).
 - 13) J. Saunders, S.S. Davis, C.G. Wilson, A. Smith, Effect of uptake of albumin microspheres on cellular activity of mouse peritoneal macrophages, *Int. J. Pharm.*, **68**, 265-270(1991).
 - 14) J.T. Dingle, J.L. Gordon, B.L. Hazleman, C. G. Knight, D.F. Page-Thomas, N.C. Phillips, I.H. Shaw, F.J.T. Fildes, J.E. Oliver, G. Jones, E.H. Turner, J.S. Lowe, Novel treatment for joint inflammation, *Nature*, **271**, 372-373(1978).
 - 15) I.H. Shaw, C.G. Knight, D.F. Page-Thomas, N.C. Phillips, J.T. Dingle, Liposome-incorporated corticosteroids : I. The interaction of liposomal cortisol palmitate with inflammatory synovial membrane, *Br. J. Exp. Pathol.*, **60**, 142-150(1979).
 - 16) M. De Silva, B.L. Hazleman, D.F. Page-Thomas, P. Wraight, Liposomes in arthritis : a new approach, *Lancet*, **i**, 1320-1322(1979).
 - 17) J.H. Ratcliffe, I.M. Hunneyball, C.G. Wilson, A. Smith, S.S. Davis, Albumin microspheres for intra-articular drug delivery : investigation of their retention in normal and arthritic knee joints of rabbits, *J. Pharm. Pharmacol.*, **39**, 290-295(1987).
 - 18) D.A. Lewis, W.N. Field, K. Hayes, H.O. Alpar, The use of albumin microspheres in the treatment of carrageenan-induced inflammation in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 271-274(1992).
 - 19) R. Azhari, D.T. Fearon, K.W. Leong, Enzymatically-triggered release of recombinant soluble complement receptor 1 (sCR1) from chondroitin sulfate/gelatin microspheres., *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **19**, 152-153(1992).
 - 20) C.A. Winter, E.A. Risley, G.W. Nuss, Carrageenan-induced oedema in hindpaw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111**, 544-547(1962).