

Pioglitazone 가용화를 위한 PEG-PLA(PLGA) 고분자 미셀의 제조 및 특성분석

임정혁 · 이용규* · 허강무†

충남대학교 바이오응용화학부 고분자공학 전공, *충주대학교 화공생물공학
(2007년 12월 11일 접수, 2008년 1월 15일 채택)

Preparation and Characterization of PEG-PLA(PLGA) Micelles for Solubilization of Pioglitazone

Jeong Hyuk Im, Yong-kyu Lee*, and Kang Moo Huh†

School of Applied Chemistry and Biological Engineering,
Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

*Department of Chemical and Biological Engineering,

Chungju National University, Chungbuk 380-702, Korea

(Received December 11, 2007; Accepted January 15, 2008)

초록 : 생체적합성을 가진 친수성 poly(ethylene glycol) (PEG) 블록과 생분해성 고분자인 poly(D,L-lactide) (PLA) 또는 poly(lactide-co-glycolide) (PLGA)를 소수성 블록으로 하는 양친성 이중 블록공중합체를 합성하여 난용성 당뇨병 치료제인 pioglitazone의 가용화를 위한 고분자 미셀을 제조하였다. PEG 말단으로부터 LA의 개환중합에 의해 합성된 고분자의 화학적 조성과 분자량은 반응액 내 당량비로 조절하였고, 합성된 고분자는 수용액 상에서 10~30 nm 크기인 구형의 자기조립 미셀을 형성하였다(CMC=0.001~0.0076 mg/mL). 투석법과 고체분산법을 이용하여 약물을 봉입한 후 AFM, DLS, HPLC 분석을 통하여 미셀의 특성을 비교하였다. 결론적으로 PEG-PLA (또는 PLGA) 공중합체를 이용한 고체분산법을 통해 pioglitazone을 효과적으로 가용화시킬 수 있었다.

Abstract : We synthesized PEG-PLA(or PLGA) amphiphilic di-block copolymers, which consist of PEG as biocompatible and hydrophilic block and PLA(or PLGA) as biodegradable and hydrophobic block, by ring opening polymerization of LA in the presence of methoxy PEG as a macroinitiator. The compositions and the molecular weights of the copolymers were controlled by changing the feed ratio of LA (and GA) to PEG initiator. The di-block copolymers could self-assemble in aqueous media to form micellar structure. A hydrophobic model drug, pioglitazone, was loaded into the polymer micelle using solid dispersion and dialysis methods, and the drug-loaded micelles were characterized by AFM, DLS and HPLC measurements. The drug loading capacity and *in vitro* release studies were performed and evaluated under various conditions. These results indicated that the amphiphilic di-block copolymers of PEG-PLA (or PLGA) could solubilize pioglitazone by solid dispersion method and the drug release was modulated according to micellar chemical compositions.

Keywords : PEG-PLA(PLGA) diblock copolymer, polymer micelle, pioglitazone, solid dispersion method.

서 론

약물들의 부작용을 최소화하고 효과를 높이기 위한 새로운 고분자 합성 및 고분자제제들이 각광을 받고 있다. 특히, 낮은 수용해도로 인하여 제형화가 어렵고 낮은 생체흡수율을 보이는 소수성 약물들이 수용액상에서 잘 분산될 수 있는 가용화시스템이 계속해서 개발되고 있는 가운데, 최근 고분자 미셀시스템이 난용성 약물의 가용화를 위한 제형으로서 관심이 높아지고 있다.¹⁻¹² 고분자 미셀은 수용액 상에서 양친성 고분자의 자기집합으로 형성되며 이들의 독특한 core-shell

구조는 고분자 미셀을 이용하는데 있어 많은 장점을 지니고 있다.^{6,13,14} 양친성 고분자란 소수성인 성질을 가지는 블록과 친수성인 성질을 가지는 블록을 함께 가지고 있는 고분자를 말한다. 소수성 고분자블록은 소수성 상호작용으로 수용액상에서 물과의 접촉을 최소화하기 위해 스스로 뭉치려는 경향을 보이며 이는 자유에너지의 안정화에 기인한다. 이렇게 뭉쳐진 소수성 집합체 내에는 미세 core를 형성하고, 친수성 shell에 의해 둘러싸여 있어 분자간 물리적 결합을 하고 있는 고분자 미셀을 형성하여 전체적인 수용액에 대한 용해도를 증가시키게 된다. 때문에 소수성 약물은 그들 고유의 용해도 이상의 농도로 소수성 코어 구조 안으로 봉입될 수 있으며, 수십에서 수백 나노미터 크기로 형성된 미셀 구조체를 유지한 상태로 수용액상에서 용

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: khuh@cnu.ac.kr

해될 수 있는 특징을 갖고 있다.¹⁵⁻²⁰

ACTOS[®]라 불리는 당뇨병 치료제로서의 피오글리타존(Pioglitazone · HCl)은 2002년에 시판되어 말초 조직의 인슐린 감수성을 개선하는 Glitazone계 약제 중 하나이다.²¹ 이 약은 인슐린의 저항성을 감소시키고 인슐린 분비세포를 보존시킴으로 당뇨병의 근본적인 치료를 가능하게 하는 제 2형 경구용 혈당강하제이다.^{22,23} 이러한 효능, 효과 면에서 우수한 약리학적 특성을 가지고 있음에도 불구하고 난용적 특성 때문에 체내 흡수율의 감소뿐만 아니라 체제화에 큰 어려움을 겪고 있으며 낮은 생체이용률로 매일 1회 투여해야 지속적인 효과를 볼 수 있다. 이러한 피오글리타존의 생체 이용률을 개선시키기 위하여 다양한 체제화 방법이 연구되고 있다.²⁴

본 연구에서는 소수성 모델약물인 피오글리타존의 가용화를 위한 생분해성 고분자 미셀의 제조를 위해 생분해성 고분자 원료인 락타이드(LA), 글리콜라이드(GA)와 생체적합성 고분자인 폴리에틸렌 글라이콜(PEG)을 이용하여 양친성 이중블록공중합체를 합성하였다. PEG를 거대개시제로 하여 LA(또는 GA)를 개환중합하였고 합성된 고분자들을 nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR), fourier transform infrared spectrometer (FT-IR), gel permeation chromatography (GPC), differential scanning calorimeter (DSC) 측정을 통하여 그 특성을 확인하였다. 또한, 합성된 고분자들이 수용액 상에서 자기조립을 통하여 미셀구조를 형성함을 확인하였고 투석법과 고체분산법을 이용하여 소수성 약물인 피오글리타존을 미셀 내부에 봉입시킨 후 atomic force microscope (AFM), dynamic light scattering (DLS), high performance liquid chromatography (HPLC) 분석을 통하여 물리화학적 특성, 가용화능, 및 생체 외 방출거동을 평가하였다.

실 험

시약 및 재료. 본 실험의 거대 개시제로서 methoxy poly(ethylene glycol) (PEG, $M_n=2000$)과 반응 촉매로서 stannous octoate ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$)는 Sigma-Aldrich에서 구입하여 사용하였다. 공중합 단량체로서 D,L-lactide (LA)와 glycolide (GA)는 Polyscience에서 구입하였고 ethyl acetate (Samchun, HPLC 등급)에 1회 재결정한 후 사용하였다. 모델약물인 피오글리타존(Pioglitazone · HCl)은 (주)동우신테크에서 제공받아 사용하였다. 기타 사용된 모든 용매는 HPLC 등급을 사용하였으며, 그 외 시약들은 정제하지 않고 그대로

사용하였다.

양친성 블록공중합체의 합성. PEG-PLA(또는 PLGA) 이중 블록공중합체는 거대개시제로서 PEG와 촉매인 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ 존재하에 LA 또는 GA의 개환중합에 의하여 합성된다(Figure 1). 일정량의 PEG를 two-neck 둥근바닥 플라스크에 넣고 12시간 이상 80 °C에서 진공건조시킨다. 건조된 PEG를 반응기에 위치시키고 질소를 기류시킨 뒤 온도를 110 °C 이상으로 올린 후 toluene에 희석된 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ (PEG의 0.4 wt%)를 넣는다. 다양한 분자량을 얻기 위해 PEG 대비 다양한 몰비의 LA와 GA를 넣어준 뒤 감압과 질소기류를 3회 이상 반복하면서 남아있는 산소와 수분을 제거해준다. 마지막으로 진공상태에서 140 °C로 5시간 동안 가열하여 중합하였다. 중합된 혼합물은 적당량의 dichloromethane에 녹인 뒤 과량의 차가운 에테르에 침전시켰다. 침전물은 여과 및 분리하였고 24시간 이상 진공건조하여 최종 생성물인 PEG-PLA(또는 PLGA) 이중 블록공중합체를 합성하였다(Yield : $\geq 70\%$).

고분자 및 미셀의 특성분석. 합성된 PEG-PLA(또는 PLGA)의 화학적 조성은 ¹H-NMR(JNM-AL400, Jeol Ltd, Akishima, Japan)을 통하여 분석하였다. 또한 합성 전과 후의 분자결합의 구조적인 변화를 살펴보기 위하여 FT-IR(MAGNA 560 spectrometer, USA)을 이용하여 분석하였다. KBr pellet법으로 시편을 만들었으며 400~4000 cm^{-1} 범위에서 측정하였다. 고분자의 분자량 및 분자량 분포는 GPC(Agilent 1100 series, USA)를 통하여 분석하였다. 두 개의 컬럼(pLgel 5 μm MIXED-D & E columns), RI 탐지기, quaternary 펌프를 장착했으며, PEG를 기준 시료로 하여 1 mL/min의 유속으로 측정하였다. 이동상 용매는 THF를 이용하였으며 컬럼과 탐지기의 온도는 모두 40 °C를 유지하였다. 그리고 합성된 고분자와 약물 봉입 미셀의 열적 특성을 알아보기 위하여 DSC(Pyris 6, PerkinElmer, USA)를 측정하였다. Aluminum pan에 약물봉입 미셀의 pioglitazone의 함량은 1 mg으로 하였고 마찬가지로 건조된 고분자와 pioglitazone 함량은 동일한 조건으로 준비하였다. 20 mL/min의 질소가류 하에 승온 속도는 10 °C/min로 하였고 0~240 °C의 범위 내에서 측정하였다.

임계 미셀 농도 측정. 합성된 양친성 공중합체의 수용액상에서의 미셀이 형성되는 농도를 확인하기 위하여 형광측정기(JASCO FP-6500)를 이용하여 분석하였다. Pyrene(Sigma-Aldrich)을 형광물질로 사용했으며 6.0×10^{-7} M의 농도로 소량의 THF에 녹인 pyrene 용액을 2차 증류수에 희석하여 사용하였다. Pyrene용액 안의 THF

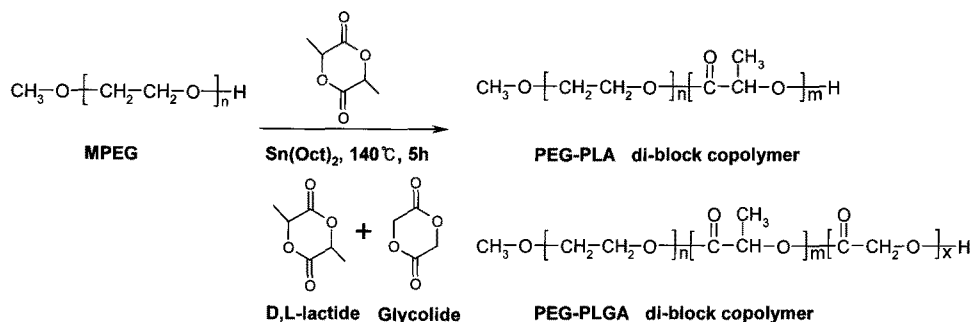


Figure 1. Synthetic scheme of PEG-PLA (or PLGA) di-block copolymers.

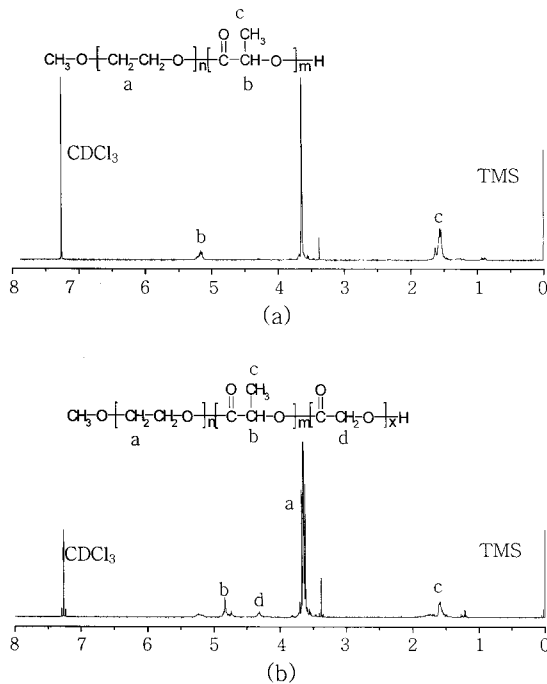


Figure 2. $^1\text{H-NMR}$ spectra of PEG-PLA (a) and PEG-PLGA (b) di-block copolymers.

의 제거를 위하여 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 3시간 열을 가해 주었으며 2차 증류수에 희석된 고분자용액에 pyrene 용액을 1 : 1 (v/v)로 넣어주었다. 또한, pyrene의 안정화를 위하여 측정된 sample은 상온에서 24시간 유지하였다. 고분자의 농도는 $5.0\sim 5\times 10^{-5}\text{ mg/mL}$ 의 범위로 하였고 pyrene의 방출 파장은 $350\sim 500\text{ nm}$ 범위에서 측정하였다.

미셀의 형태 및 크기. PEG-PLA (또는 PLGA) 미셀의 구조적인 특성을 AFM(XE-100, PSIA Inc, Santa Clara, CA) 측정을 통하여 알아보았다. Ultralever non-contact mode tip (PSIA Inc.)과 티타늄 cantilever가 장착되어 있으며 proscan 1.9와 image analysis 2.1을 이용하여 모폴로지를 관찰하였다. 또한, DLS (zeta sizer 3000, Malvern Instruments, Worcestershire, UK)를 이용하여 수용액 상에서 고분자 미셀과 약물이 봉입된 미셀의 평균 크기 및 크기 분포를 측정하였다.

고체 분산법과 투석법을 이용한 약물 봉입 미셀의 제조. Pioglitazone이 5, 10% (w/w)이 함유하도록 일정량의 PEG-PLA (또는 PLGA)와 함께 one-neck 플라스크에 넣고 혼합용매 (methanol/ acetonitrile = 2/1, v/v)에 녹인다. 잘 녹지 않을 경우에는 약간의 열을 가해 주었으며 완전히 투명해질 때까지 녹으면 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 에서 감압하에 농축시켜 젤과 같은 필름상으로 만든 후, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 로 예열한 3차 증류수를 넣고 미셀이 고르게 분산되도록 온화하게 저어준다. 이 미셀 용액에서 봉입되지 않은 약물은 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ syringe filter를 이용해 걸러주었다. 걸러진 용액은 곧바로 냉각시켜 3일 이상 동결건조하여 약물이 함유된 분말상 미셀 입자를 얻었다. 다음으로 투석법에 의한 방법은 5, 10% (w/w)의 pioglitazone과 고분자를 1.0 wt%의 농도로 같은 혼합용매에 녹인 뒤 투석막 (Spectra/Por[®] Biotech, Cellulose Ester Type, MWCO : 1000)을 이용하여 다량의 증류수에 24시간 동안 온화하게 저어주었고 증류수를 8시간마다 교체하였으며, 봉입

되지 않은 약물은 위의 방법으로 걸러주었고 동결건조 후 분말상의 입자를 얻었다.²⁵

Pioglitazone의 봉입률 및 방출률 측정. 약물이 봉입된 고분자 미셀의 약물 봉입률과 방출률을 알아보기 위하여 HPLC (NS-3000i, Futecs) 측정을 통하여 분석하였다. 자동 샘플주입기 (NS-6000A, Futecs)와 Prontosil C18-ace-EPS 컬럼 ($250\times 4.6\text{ mm}$, $5.0\text{ }\mu\text{m}$, Bischoff)이 장착되어 있으며 이동상과 고정상 용매로 acetonitrile : 0.1 mol/L ammonium acetate : acetic acid (25 : 25 : 1)를 사용하였다. Pioglitazone의 UV-흡수파장 269 nm 에서 1 mL/min의 유속으로 상온에서 측정하였다.

생체 외 약물 방출. Pioglitazone이 함유된 고분자 미셀의 생체 외 방출거동을 알아보기 위하여 pH 7.4인 인산완충용액 (PBS)에 넣은 후 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 의 항온수조 안에서 시간에 따른 방출량을 HPLC 분석을 통하여 측정하였다. 0.5 mg의 약물이 함유된 고분자 미셀을 PBS 용액에 녹인 뒤 투석막 (MWCO : 1000)을 이용하여 40 mL의 PBS 용액이 담긴 conical 튜브에 넣었다. 정해진 시간마다 새로운 PBS 용액으로 교체해 주면서 얻은 샘플들로부터 방출된 약물의 농도를 분석하였다.

결과 및 토론

PEG-PLA (또는 PLGA)의 특성. 본 연구에서는 친수성 PEG ($M_n = 2000$)와 소수성 PLA (또는 PLGA) 그룹의 반응액내 당량비를 조절하여 다양한 조성의 블록 공중합체를 합성하였다. 거대개시제인 PEG에 의해 LA (또는 GA)의 개환중합으로 합성된 PEG-PLA (또는 PLGA) 양친성 고분자는 $^1\text{H-NMR}$ 분석을 통하여 중합된 블록 공중합체의 특정 관능기에 해당하는 분자 구조를 분석하였다 (Figure 2). PEG의 에틸렌 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, a) 피크는 $\delta = 3.65\sim 4.23\text{ ppm}$ 에서 관찰되었고 메톡시 그룹 ($-\text{CH}_3$) 피크는 $\delta = 3.4\text{ ppm}$ 에서 확인되었다. PLA의 메틸렌 ($-\text{CH}-$, b) 피크는 $\delta = 5.23\text{ ppm}$, 메틸 ($-\text{CH}_3$, c) 피크는 $\delta = 1.62\text{ ppm}$ 에서 확인되었고 PGA의 메틸렌 ($-\text{CH}_2-$, d) 피크는 $\delta = 4.83\text{ ppm}$ 에서 확인되었다. $^1\text{H-NMR}$ 분석을 통한 PLA의 분자량 계산은 PEG의 에틸렌에 대한 PLA의 메틸 피크의 proton 면적비를 비교하여 계산하였고, PLGA의 분자량 계산은 PEG의 에틸렌에 대한 PLA의 메틸 피크와 PGA의 메틸렌 피크의 proton 면적비를 비교하여 계산하였다. 합성된 고분자의 분자량 분포 (M_w/M_n)는 GPC 분석을 통하여 1.07~1.29의 좁은 분산도를 가짐을 확인하였으며 $^1\text{H-NMR}$ 계산 값과 거의 유사한 GPC 분자량 값을 가짐을 확인할 수 있었다. 합성된 고분자의 화학적 조성을 Table 1에 요약하였다. 또한 Figure 3의 FT-IR 분석을 통하여 합성된 고분자는 PEG에서는 볼 수 없었던 카보닐 그룹 ($\text{C}=\text{O}$)의 파장을 PLA는 1756 cm^{-1} , PLGA는 1762 cm^{-1} 에서 각각 확인할 수 있었으며 $2750\sim 3029\text{ cm}^{-1}$ ($-\text{OH}$), $2850\sim 2990\text{ cm}^{-1}$ ($-\text{CH}_3, -\text{CH}_2-$), 1456 cm^{-1} ($-\text{CH}_3$), $1070\sim 1280\text{ cm}^{-1}$ ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$)의 각각의 파장영역에 해당되는 고분자의 특정시슬결합이 존재함을 확인하였다.

임계미셀 농도 (CMC). PEG-PLA (또는 PLGA) 양친성 블록공중합체는 pyrene을 이용한 형광분석을 통하여 임계미셀 농도를 측정하였다. Pyrene의 흡수파장의 첫번째와 세번째 형광 강도값인 I_{370} 과 I_{381} 의 비 (I_{370}/I_{381})가 급격히 변화하는 구간에서 직선을 그어 그

교차점을 임계미셀 농도로 결정하였다. Table 1과 Figure 4에서 볼 수 있듯이 PEG2K-PLA1K의 경우 1.7×10^{-3} mg/mL에서 임계미셀 농도임을 확인하였고, PEG2K-PLA2K는 1.0×10^{-3} mg/mL, PEG2K-PLGA 0.8K는 7.6×10^{-3} mg/mL, PEG2K-PLGA1.4K는 3.0×10^{-3} mg/mL로 측정되었다. 이러한 결과들로부터 소수성이 보다 큰 PLA블록의 경우 PLGA블록보다 임계미셀 농도가 상대적으로 작은 값을 갖음을 알 수 있고 같은 고분자블록인 경우 소수성 블록고분자의 분자량 크기에 반비례하여 임계미셀 농도는 작아지는 경향을 볼 수 있었다. 이는 블록의 소수성 그룹이 증가함에 따라 소수성 상호작용 힘에 의해 사슬간 자기집합이 더 낮은 농도에서도 이루어 질 수 있으므로 수용액 내 콜로이드 안정성이 보다 높을 것으로 기대된다.

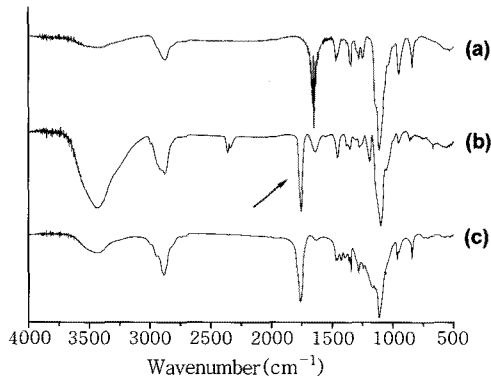


Figure 3. FT-IR spectra of PEG (a), PEG-PLA (b), and PEG-PLGA (c) di-block copolymers.

Table 1. Characteristics of PEG-PLA (or PLGA) Di-Block Copolymers

Copolymers	Molecular weight		PDI ^a	CMC ^c (mg/mL)	Yield (%)
	M_n^a	M_n^b (PEG : PL(G)A)			
1 PEG2K-PLA1K	3000	2000 : 1140	1.16	0.0017	74
2 PEG2K-PLA2K	3740	2000 : 2140	1.29	0.001	70
3 PEG2K-PLGA0.8K	2290	2000 : 760	1.07	0.0076	84
4 PEG2K-PLGA1.4K	2520	2000 : 1380	1.13	0.003	82

^aDetermined by GPC measurements. ^bCalculated from the peak integration of ¹H-NMR spectra. ^cDetermined by fluorescence measurement.

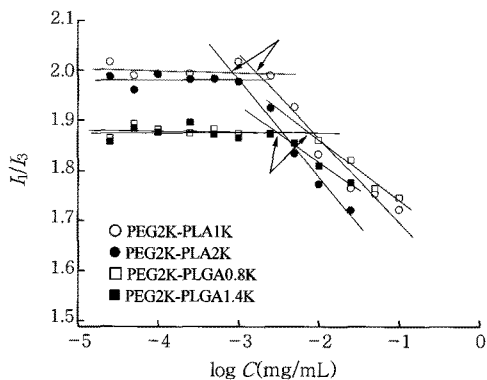


Figure 4. Intensity ratios (I_{570}/I_{381}) of pyrene emission spectra by fluorescence measurements.

고분자 미셀의 열적 특성. 합성된 고분자와 약물함유된 미셀의 열적 거동을 알아보기 위하여 시차주사 열량계(DSC)를 통하여 분석하였다(Figure 5). PEG2K의 경우 T_m 은 58 °C, PEG2K-PLA1K는 53 °C, PEG2K-PLA2K는 47 °C, PEG2K-PLGA0.8K는 48 °C, PEG2K-PLGA1.4K는 45 °C에서 결정성 PEG의 용융점을 확인할 수 있었다. 이는 순수한 PEG 그룹에 PLA(또는 PLGA)블록이 결합하면서 결정성을 다소 감소시키는 원인이 되었고, 또한 분자량이 증가함에 따라 더욱 T_m 이 감소함을 알 수 있었다. 그리고 약물이 공중합체 내부에 봉입된 미셀과 봉입하지 않고 임의적으로 혼합된 시료의 DSC 결과를 Figure 5(c),(d)에 나타내었다. Pioglitazone의 T_m 은 201 °C에서 관찰되었고 PEG-PLA(또는 PLGA)와 약물을 임의적으로 혼합된 시료에서는 PEG와 pioglitazone의 T_m 피크가 모두 관찰되는 반면에 동일한 양의 약물이 봉입된 미셀을 측정할 시료에서는 미셀 표면을 둘러싸고 있는 PEG의 T_m 피크만 관찰될 뿐 pioglitazone의 특성 용융피크는 관찰되지 않았다. 그 이유는 약물이 미셀 내부에 봉입되어 소수성 PLA(또는 PLGA)와 함께 무정형 상태를 이루어 혼합되어 있음을 확인할 수 있었다.

미셀의 입자 크기 및 형태. 수용액 상에서 형성된 블록공중합체 또는 약물봉입 미셀의 크기는 광산란기(DLS)에 의하여 측정되었다. PEG-PLA 이중 블록공중합체는 PLA분자량에 따라 미셀 크기의 차이를 보이며 PEG2K-PLA1K인 경우 17.7 nm, -PLA2K는 14.0 nm이며 약물을 봉입한 고분자 미셀의 크기는 PEG2K-PLA1K인 경우 19.8 nm, -PLA2K는 55.2 nm로 측정되었다. 이는 소수성 PLA 그룹이 더 클수록 미셀 코어 내부에 약물을 담지할 수 있는 영역도 크게 되어 더 많은 약물을 함유할 수 있을 것으로 사료된다(Figure 6). PEG-PLA(또는 PLGA) 고분자 미셀의 수용액 내에서의 형태는 원자현미경(AFM)을 통해 확인되었고 Figure 7에서 볼 수 있듯이 형성된 입자는 구형의 형태를 가지며 미셀의 응집이나 풀림 없이 균일하게 수용액 내에서 안정한 형태를 취하고 있음을 관찰하였다. 또한 AFM을 통해 관찰된 고분자 미셀의 크기분포 역시 광산란기에서 분석된 결과와 유사함을 알 수 있었다.

약물 봉입률. Pioglitazone을 봉입하기 위한 방법으로 고체분산법과 투석법이 사용되었으며 약물과 고분자의 무게비를 1 : 9, 1 : 19로 하여 실험하였다. 약물이 봉입된 고분자 미셀은 동결건조 처리된 고체상 입자형태로 일정량을 고정상 용매에 녹인 뒤 HPLC분석을 통하여 함유된 pioglitazone의 농도를 측정하였고 봉입률과 약물함

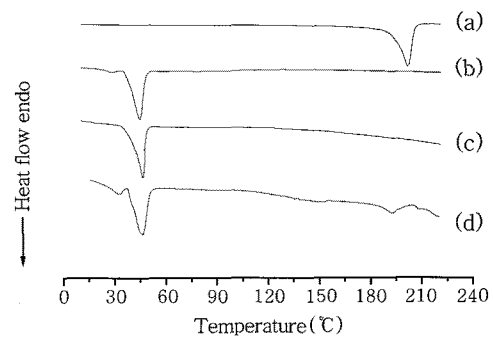


Figure 5. DSC thermograms of pioglitazone (a), PEG-PLA di-block copolymer (b), pioglitazone loaded micelle (c), and a mixture of PEG-PLA di-block copolymer and pioglitazone (d).

량은 다음 식을 이용하여 결정하였다(식 (1), (2)).

$$\text{Drug loading content (\%)} = \frac{\text{measured amount of drug}}{\text{total amount of drug loaded micelle}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Drug loading efficiency (\%)} = \frac{\text{measured concentration of drug}}{\text{initial concentration of drug}} \times 100 \quad (2)$$

Table 2에서 볼 수 있듯이 PEG2K-PLA1K, PEG2K-PLA2K의 봉입 미셀인 경우에 투석법은 0.07±0.05%의 약물 함량이 함유된 반면에 고체분산법에서는 2.93±0.76%로 약물 함량이 보다 우수함을 알 수 있었다. 봉입 효율 역시 1.06±0.6%에서 42.5±16%로 투석법보다는 고체분산법에서 약물 봉입률이 더욱 향상됨을 확인하였다. 또한, PEG2K-PLGA0.8K, PEG2K-PLGA1.4K에서는 약물 함량이 PEG-PLA에서 보다 증가된 5.67±1.0%이었고, 봉입

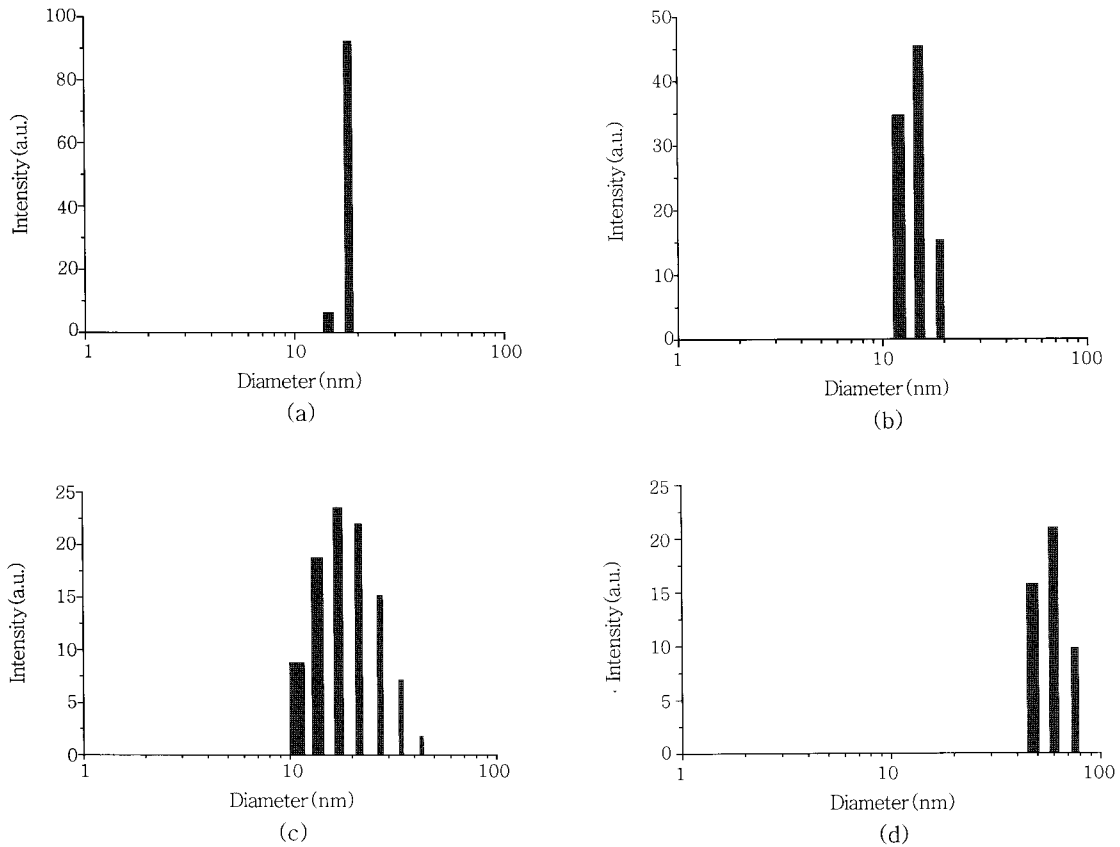


Figure 6. Particle size distributions of PEG2K-PLA1K micelles (a), PEG2K-PLA2K micelles (b), pioglitazone loaded PEG2K-PLA1K micelles (c), and pioglitazone loaded PEG2K-PLA2K micelles (d) by DLS measurement.

Table 2. Results of Drug Loading with PEG-PLA (PLGA) Micelles

	Pio.-loaded micelle	Pio. : Polymer (g)	Yield (%)	Loading content (%)	Loading efficiency (%)	Method
1	Pio-PEG2K-PLA1K	1 : 9	62	0.033	0.33	Dialysis
2	Pio-PEG2K-PLA1K	1 : 19	63	0.052	1.07	Dialysis
3	Pio-PEG2K-PLA2K	1 : 9	62	0.120	1.20	Dialysis
4	Pio-PEG2K-PLA2K	1 : 19	63	0.082	1.64	Dialysis
5	Pio-PEG2K-PLA1K	1 : 9	94	3.695	36.95	Solid dispersion
6	Pio-PEG2K-PLA1K	1 : 19	80	2.367	47.34	Solid dispersion
7	Pio-PEG2K-PLA2K	1 : 9	75	2.725	27.25	Solid dispersion
8	Pio-PEG2K-PLA2K	1 : 19	69	2.928	58.56	Solid dispersion
9	Pio-PEG2K-PLGA0.8K	1 : 9	89	6.369	63.69	Solid dispersion
10	Pio-PEG2K-PLGA0.8K	1 : 19	91	4.510	90.20	Solid dispersion
11	Pio-PEG2K-PLGA1.4K	1 : 9	87	6.667	66.67	Solid dispersion
12	Pio-PEG2K-PLGA1.4K	1 : 19	94	5.143	102.86	Solid dispersion

률도 $80.86 \pm 22.0\%$ 의 높은 값을 가짐을 확인할 수 있었다. 이는 LA와 GA의 공중합체인 PLGA가 PLA보다 약물과의 분자간 상호작용이 보다 좋아 같은 조건에서 약물 봉입효율이 더 높은 것으로 사료된다.

생체의 약물방출. 약물이 봉입된 PEG-PLA(또는 PLGA) 고분자 중에서 약물함량이 다소 비슷한 샘플들을 선택하여 pH 7.4인 PBS 용액에서 생체 외 방출거동을 관찰하였다. 방출된 약물의 농도를 확인하기 위하여 HPLC측정을 하였으며 그 결과는 Figure 8에 나타내었다. 일반적으로 미셀을 이루는 고분자의 소수성 블록 길이가 증가할수록 약물 방출거동이 느려지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 소수성 블록길이가 증가하면서 미셀 코어의 소수성 또한 증가하여 확산에 의한 약물의 방출속도가 느려진 것으로 사료된다. 약물 봉입효율이 적은 PLA 사슬에서는 PLGA 사슬보다 더 빠른 방출거동을 가진다. 약물의 방출은 전체적으로 30일 가량 지속적 방출이 이루어지다가 다소 지연되는 경향을 보인다. 이는 약물 봉입된 고분자 미셀이 수용액내에서 시간의 경과(8~24시간)에 따라 상호응집으로 인한 침전현상이 원인으로 작용한 것으로 보여진다. PEG-PLA의 경우 PLA의 블록이 더 큰 경우 약물방출이 전체적으로 보면 더 빠른 것처럼 보이지만, 초기 방출기간(~2일 까지)에서는 PLA의 길이가 짧은 경우가 좀더 빨리 나오는 경향을 보였고 침전이 현격히 일어나면서 이

러한 경향이 퇴색된 것으로 사료된다. 이러한 고분자 미셀의 수용액 내 불안정성은 이미 파클리탁솔과 같은 다른 소수성 약물의 미셀 제제에서도 보고된 바 있는데 pioglitazone에서도 비슷한 결과가 나오는 것으로 확인되었다.³ 이러한 미셀의 수용액 내 불안정성은 비환원성 당질인 트레할로스과 같은 냉동보호제(cryoprotectant)를 동결 건조 전에 첨가하거나 보다 안정한 콜로이드 성질을 갖도록 고분자 구조를 설계함으로써 극복할 수 있을 것으로 사료된다.^{26,27} 따라서, 약물이 봉입된 고분자 미셀의 수용액 내 안정성이 보다 오랫동안 지속될 수 있는 제형화 연구를 현재 진행 중에 있다.

결론

당뇨병 치료제인 pioglitazone을 가용화하기 위하여 생체적합성, 생분해성 특징을 지닌 PEG-PLA(또는 PLGA) 양친성 이중 블록공중합체를 합성하였다. 합성된 고분자는 소수성 블록과 친수성 블록을 모두 함유하고 있어 수용액 상에서 수십 나노 크기의 자기조립 미셀 구조를 형성할 수 있었다. PLGA로 이루어진 소수성 core를 갖는 미셀의 봉입률이 PLA core보다 높았으며, 투석법보다는 고체분산법이 보다 효과적으로 약물을 가용화시킬 수 있었다. 결과적으로 고분자의 화학적 조성 변화를 통해 약물 봉입률을 극대화할 수 있고, 방출속도 또한 제어 가능할 수 있음을 보여주었다. 효과적인 가용화 방법과 함께 약물 함유 미셀의 안정성이 보다 오래 지속될 수 있도록 하는 제형화 또한 중요하므로 관련 연구가 진행 중에 있다.

감사의 글 : 본 논문은 2007년도 산업자원부 지역산업기술개발사업(과제번호 10027102) 연구비 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. E. Blanco, E. A. Bey, Y. Dong, B. D. Weinberg, D. M. Sutton, D. A. Boothman, and J. Gao, *J. Control. Release*, **122**, 365 (2007).
2. S. C. Kim, D. W. Kim, Y. H. Shim, J. S. Bang, H. S. Oh, S. W. Kim, and M. H. Seo, *J. Control. Release*, **72**, 191 (2001).
3. K. M. Huh, S. C. Lee, Y. W. Cho, J. Lee, J. H. Jeong, and K. Park, *J. Control. Release*, **101**, 59 (2005).
4. A. Lavasanifar, J. Samuel, and G. S. Kwon, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **54**, 169 (2002).
5. R. T. Liggins and H. M. Burt, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **54**, 191 (2002).
6. J.-P. Xu, J. Ji, W. -D. Chen, and J. -C. Shen, *J. Control. Release*, **107**, 502 (2005).
7. Y. Yamamoto, K. Yasugi, A. Harada, Y. Nagasaki, and K. Kataoka, *J. Control. Release*, **82**, 359 (2002).
8. Y. W. Cho, J. Lee, S. C. Lee, K. M. Huh, and K. Park, *J. Control. Release*, **97**, 249 (2004).
9. K. Na, K. H. Lee, D. H. Lee, and Y. H. Bae, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **27**, 115 (2006).
10. J. Zhang, W. Jiang, X. Zhao, and Y. Wang, *Tsinghua Science & Technology*, **12**, 493 (2007).

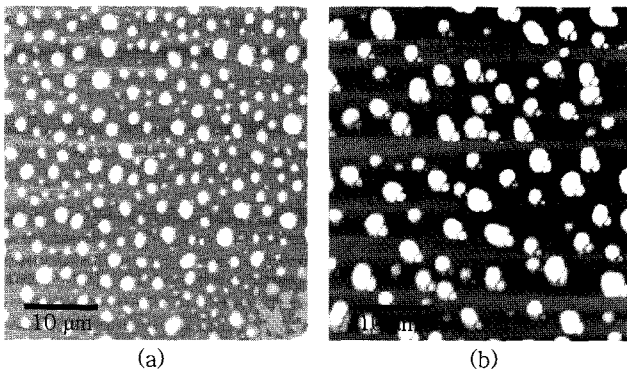


Figure 7. AFM images of PEG2K-PLA1K micelle (a) and pioglitazone loaded PEG2K-PLA1K micelle (b).

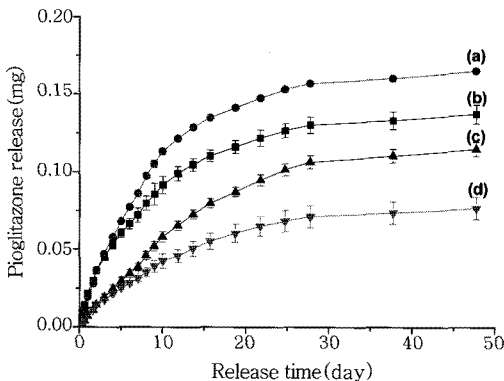


Figure 8. *In vitro* release tests of Pio-PEG2K-PLA2K-10 wt% (a), Pio-PEG2K-PLA1K-10 wt% (b), Pio-PEG2K-PLGA0.8K-5 wt% (c), and Pio-PEG2K-PLGA1.4K-5 wt% (d) in PBS (pH=7.4); the loading amounts of drug were fixed to 0.5 mg for all samples.

11. T. Ooya, K. M. Huh, M. Saitoh, E. Tamiya, and K. Park, *Science and Technology of Advanced Materials*, **6**, 452 (2005).
12. G. S. Kwon and K. Kataoka, *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, **16**, 295 (1995).
13. G. S. Kwon and T. Okano, *Adv. Drug. Deliver. Rev.*, **21**, 107 (1996).
14. G. Gaucher, M.-H. Dufresne, V. P. Sant, N. Kang, D. Maysinger, and J. -C. Leroux, *J. Control. Release*, **109**, 169 (2005).
15. T. G. Park, W. Lu, and G. Crotts, *J. Control. Release*, **33**, 211 (1995).
16. L. Hongbo, J. Anna, G. Jian, and E. U. Kathryn, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, **37**, 703 (1999).
17. Y. H. Bae, K. M. Huh, Y. Kim, and K. -H. Park, *J. Control. Release*, **64**, 3 (2000).
18. K. M. Huh and Y. H. Bae, *Polymer*, **40**, 6147 (1999).
19. A. Lavasanifar, J. Samuel, and G. S. Kwon, *J. Control. Release*, **77**, 155 (2001).
20. S. K. Agrawal, N. Sanabria-DeLong, J. M. Coburn, G. N. Tew, and S. R. Bhatia, *J. Control. Release*, **112**, 64 (2006).
21. A. K. Rai and D. K. Rai, *Spectrochim. Acta*, **59**, 1673 (2003).
22. T. Radhakrishna, D. Sreenivas Rao, and G. Om Reddy, *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.*, **29**, 593 (2002).
23. P. Sripalakit, P. Neamhom, and A. Saraphanchotiwitthaya, *J. Chromatogr. B*, **843**, 164 (2006).
24. Y. J. Xue, K. C. Turner, J. B. Meeker, J. Pursley, M. Arnold, and S. Unger, *J. Chromatogr. B*, **795**, 215 (2003).
25. H. M. Burt, X. Zhang, P. Toleikis, L. Embree, and W. L. Hunter, *Colloid. Surface B*, **16**, 161 (1999).
26. M. L. Adams, D. R. Andes, and G. S. Kwon, *Biomacromolecules*, **4**, 750 (2003).
27. M. L. Adams and G. S. Kwon, *J. Control. Release*, **87**, 23 (2003).