

계면활성제를 사용하지 않는 Poly(DL-lactide-co-glycolide) 나노입자로부터의 Norfloxacin 방출과 생분해 특성

권중근* · 정영일** · 장미경 · 이창형*** · 나재운†

순천대학교 공과대학 고분자공학과, *조선이공대학 화공환경과,

전남대학교 의과학연구소, *식품의약품안전청 의료기기평가부

(2002년 4월 9일 접수, 2002년 5월 31일 채택)

Norfloxacin Release from Surfactant-Free Nanoparticles of Poly(DL-lactide-co-glycolide) and Biodegradation

Kweon Jung Keon*, Young-Il Jeong**, Mi-Kyeong Jang, Chang Hyeong Lee***, and Jae-Woon Nah†

Department of Polymer Science & Engineering, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea

*Department of Chemical & Environment Engineering,

Chosun College of Science & Technology, Gwangju 501-744, Korea

**The Research Institute of Medical Science, Chonnam National University, Gwangju 501-746, Korea

***Department of Medical Devices & Radiation Health, Korea Food & Drug Administration,

5, Nokbeon-dong, Eunpyung-gu, Seoul 122-704, Korea

†e-mail: jwnah@sunchon.ac.kr

(Received April 9, 2002; accepted May 31, 2002)

요약 : 투석법을 이용하여 계면활성제를 사용하지 않는 poly(DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) 나노입자를 제조하고 다양한 용매에 따른 입자 크기, 약물 함유량, 생분해도 등과 같은 물리·화학적 특성을 조사하였다. Dimethylacetamide (DMAc), dimethylformamide (DMF), dimethylsulfoxide (DMSO)로 제조된 PLGA 나노입자의 크기는 acetone으로 제조한 입자보다 적었다. 또한, 약물 함유량은 DMAc > DMF > DMSO = acetone 순서였다. PLGA 나노입자는 scanning electron microscopy (SEM)과 transmission electron microscopy (TEM)의 측정으로 구형임을 알 수 있었다. 계면활성제를 사용하지 않는 나노입자에 봉입된 norfloxacin (NFx)은 X-ray diffraction 분석을 통하여 입자 표면에 약물을 가지지 않는 좋은 약물 봉입 효율을 가짐을 알 수 있었다. 모델약물로 사용된 NFx의 방출속도는 약물 함유량뿐만 아니라 입자크기에 의해 좌우된다. 또한 PLGA 나노입자의 분해속도는 아세트산보다 DMF를 사용하였을 때 더 빠르며 이는 PLGA 나노입자의 생분해도 입자크기에 좌우된다는 것을 알 수 있었다.

ABSTRACT : We have prepared the surfactant-free nanoparticles of poly(DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) by dialysis method and their physicochemical properties such as particle size and drug contents were investigated against various solvent. The size of PLGA nanoparticles prepared by using dimethylacetamide (DMAc), dimethylformamide (DMF), and dimethylsulfoxide (DMSO) was smaller than that from acetone. Also, the order of drug contents was DMAc > DMF > DMSO = acetone. These phenomena could be expected from the fact that solvent affects the size of nanoparticles and drug contents. The PLGA nanoparticles have a good spherical shapes as observed from scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). Also, surfactant-free nanoparticles entrapping norfloxacin (NFx) have a good drug loading capacity without free-drug on the surface of nanoparticles confirmed by the analysis of X-ray powder diffraction. Release kinetics of NFx used as a model drug was governed not only by drug contents but also by particle size. Also, the biodegradation rate of PLGA nanoparticles prepared from DMF was faster than that prepared from acetone, indicating that the biodegradation of PLGA nanoparticles is size-dependent.

Keywords : poly(DL-lactide-co-glycolide), surfactant-free nanoparticles, dialysis method, norfloxacin, biodegradation.

서 론

생체내의 특정 부위에 약물을 전달함으로써 항암치료, 유전자치료, 바이러스성 질병, 박테리아 감염과 같은 수많은 질병의 치료에 효과적으로 이용되는 나노입자에 대한 관심이 최근 증가되고 있다.¹⁻³ 나노입자는 10~1000 nm에 해당하는 크기의 입자를 말하며 다른 시스템에 비해 크기가 작기 때문에 주사제로 많이 이용되고 있다.⁴ 나노입자를 체내에 주사했을 경우 나노입자의 체내 분산은 대부분 생물학적 환경과 입자크기, 나노입자의 표면 전하, 형태, 친수성과 같은 물리 화학적 성질과의 상호작용에 의해 영향을 받는다.^{5,6} 이러한 약물 전달체를 이용함에 있어서 약물이 방출된 후에 전달체인 고분자가 체내에 오랜 기간 존재하거나 분해산물이 독성을 일으켜서는 안 되므로 생체에 적합하고 생체내에서 분해되는 고분자를 이용하게 되었다. 이 중 poly(α -hydroxy acid) 계열의 poly(DL-lactide) (PLA), poly(glycolide) (PGA)와 그들의 공중합체인 poly(DL-lactide-co-glycolide) (PLGA)는 생분해성 고분자로 체내에서 젖산의 형태로 분해되어 제거되며 미국 식품의약품안전청(FDA)의 인가를 받았다.⁷ 또한, 체내에 투입하기 좋은 형태로 가공이 가능하고, 생분해 기간을 자유자재로 조절할 수 있다는 이점을 가지고 있다.⁸

나노입자의 제조는 제조방법이 복잡하고 수율이 낮으며 크기조절이 어려워 효율적인 약물 전달을 위해 새로운 제조방법이 활발히 연구되어지고 있다. 이제까지 PLGA를 이용하여 나노입자나 미립자를 만들기 위해 유화용매증발법(emulsion solvent evaporation)을 가장 많이 사용하였다.⁹⁻¹¹ 이 방법은 분산된 입자를 안정화시키기 위해 Span계나 Tween계, poly(ethylene oxide) (PEO), poloxamer (PEO-poly(propylene oxide) block copolymer) 등과 같은 과량의 계면활성제를 필요로 하며 안정화제로 poly(vinyl alcohol) (PVA)를 많이 사용한다. 그러나, PVA가 미립자나 나노입자 표면에 남아있어 제거하기가 힘들고 생분해성과 약물 방출 거동을 변화시키는 것으로 알려져 있다. 또한, 이러한 방법들은 용매의 제거가 힘들고 그들이 지닌 독성, 낮은 입자 회수율, 제조공정 단계의 복잡성, 작은 크기의 구형 입자를 제조하기 위해 다량의 계면활성제가 필요하다는 단점이 있다.^{12,13}

최근 리포솜이나 고분자 미셀과 같은 약물 전달체를 제조하기 위한 투석법이 보고되었다. 이 방법은 블록이나 그래프트 공중합체, 양친매성 물질을 이용하여 적고 균일한 입자크기 분포를 가진 나노입자를 제조하는 간단하면서도 효과적인 방법으로 알려져 있다.¹⁴⁻¹⁷ 일반적으로 폴리에스터 계통 고분자들의 생분해속도는 분자량, 분자량 분포, 무정형/결정성 모폴로지, 소수성/친수성 등에 따라 결정된다.^{18,19}

본 연구에서는 여러 가지 용매를 사용하여 계면활성제를 사용하지 않고 PLGA 나노입자를 제조하는 방법과 요로염의 치료제로 사용되는 norfloxacin (NFx)의 약물 방출 거동을 살펴보고자 하였다. 또한, 약물 전달체로서의 가능성과 약물 봉입량, 봉입효율, 약물 봉입 후 PLGA 나노입자의 물리 화학적 성질과 생분해성 등을 여러 가지 용매에 대해 조사하였다.

실 험

시 약. Lactide와 glycolide 비가 85:15, 75:25, 50:50인 PLGA 공중합체와 NFx은 미국 시그마에서 구입하였다. PLGA 85:15, 75:25, 50:50의 분자량은 아래에 제시된 것과 같이 GPC로 측정된 결과 48400, 48500, 48070 이었다. 용매로는 Junsei Chemical Co.로부터 구입한 dimethylformamide (DMF), dimethylacetamide(DMAc), dimethylsulfoxide (DMSO), acetone를 정제없이 1급 시약을 사용하였다.

Gel Permeation Chromatography(GPC) 측정. PLGA 분자량은 1 mL/min의 흐름 속도로 Waters StyragelTM HR1, HR2, HR4 컬럼을 사용하여 Waters 410 Differential Refractometer와 조합한 Waters LC system으로 측정하였다. 평균 분자량은 단분산 polystyrene(PS)을 표준물질로 한 환산치를 사용하였다.

PLGA 나노입자의 제조와 약물 봉입 방법. PLGA 나노입자는 계면활성제를 사용하지 않고 투석법에 의해 다음과 같이 제조하였다. PLGA 20 mg을 각각의 용매 10 mL에 용해시킨다. 그 용액을 분획분자량(MWCO)이 12000 g/mol인 투석막에 넣고 3~4시간 간격으로 증류수를 교체하면서 24시간 투석 후 동결 건조하였다. 약물봉입과정은 다음과 같다.

PLGA 20 mg을 각각의 용매 10 mL에 용해시킨 후 20 mg의 NFx을 첨가시키고 실온에서 교반시킨

다. 이 용액을 MWCO가 12000 g/mol인 투석막에 넣고 3~4시간 간격으로 증류수를 교체하면서 24시간 투석후 동결 건조하였다. 약물 봉입량을 측정하기 위해 NFx이 봉입된 PLGA 나노입자를 메탄올에 분산시키고 3시간 동안 교반시킨 후 15분 동안 초음파 (sonication) 시켰다. 최종 용액을 20분 동안 12000 ×g로 원심 분리시키고 상등액을 UV spectrophotometer (Shimadzu UV 1201)를 이용하여 약물 농도를 측정하였다.

PLGA 나노입자의 표면관찰과 특성. 나노입자의 형태는 scanning electron microscopy (SEM) (JEOL, JSM-5400, Japan)와 transmission electron microscopy (TEM) (JEOL, JEM-2000 FX-II, Japan)을 이용하여 관찰하였고, 크기는 photon correlation spectroscopy (PCS) (Zetasizer 3000, Malvern Instruments, England)를 이용하여 측정하였다. 먼저 SEM 측정을 위해 분산된 나노입자를 graphite 표면에 떨어뜨리고 건조 후에 Ion Sputter를 이용하여 gold/palladium으로 4분 동안 20 mA로 코팅한 후 25 kV로 관찰하였다. 그리고 TEM 측정은 0.01% phosphotungstic acid를 함유한 분산된 나노입자를 copper grid에 떨어뜨린 후 80 kV로 관찰하였으며 나노 입자의 크기는 25 °C, 633 nm (He-Ne laser beam)에서 측정하였으며, 측정 샘플은 투석법으로 제조된 나노입자를 여과하지 않고 그대로 측정하였다. 또한 NFx이 봉입된 PLGA 나노입자의 결정성을 밝히기 위하여 X-ray diffractometer를 측정하였고 X-ray diffractogram은 Rigaku D/Max-1200 모델을 이용하였으며 Ni-filtered CuKα radiation (35 kV, 15 mA)를 사용하였다.

In vitro 에서의 방출실험. NFx가 봉입된 PLGA 나노입자 7 mg을 바타입의 초음파기기로 30초 동안 15 W로 2 mL phosphate buffered saline (PBS, 0.1 M, pH 7.4)에서 분산시키고 투석막에 넣었다. 이 투석막을 100 mL 비이커에 넣고 50 mL PBS로 채운 다음 37 °C, 100 rpm의 속도로 교반시키면서 방출실험을 진행하였다. 약물의 포화를 방지하기 위하여 특정 시간 간격으로 전체 medium (50 mL)을 새로운 동량의 PBS로 교체한다. NFx의 방출 농도를 측정하기 위하여 322 nm에서 UV spectrophotometer로 측정한다. 약물 함유량과 봉입 효율을 다음 식에 의

해 계산하였다.

$$\text{Loading content} = \frac{(\text{weight of remained drug in the nanoparticles})}{(\text{weight of remained drug in the nanoparticles} + \text{polymer weight})} \times 100$$

$$\text{Loading efficiency} = \frac{(\text{amount of remained drug in the nanoparticles})}{(\text{initial feeding amount of drug})} \times 100$$

In vitro 에서의 생분해성 실험. In vitro에서 생분해성 실험은 위의 방출실험과 같은 조건에서 실행하였다. PLGA 50:50 20 mg을 두가지 용매 (DMF, acetone) 10 mL에 각각 용해시킨 후 MWCO가 12000 g/mol인 투석막에 넣고 증류수로 3시간 동안 투석시키고 24시간 동안 3~4시간 간격으로 증류수를 교체하였다. 이 투석막을 200 mL 비이커에 넣고 100 mL의 PBS (0.1 M, pH 7.4)를 넣은 후 100 rpm, 37 °C에서 incubation시키고 incubation하는 동안 매일 동량의 PBS로 교체하였다. 특정일 간격으로 투석막을 꺼내어 6시간 동안 증류수로 투석한 후 동결 건조시켜 GPC로 분자량을 측정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 계면활성제를 사용하지 않고 투석법에 의해 제조한 PLGA 나노입자의 제조에 있어서 용매의 효과, in vitro에서의 NFx의 방출특성, 그리고 생분해성을 알아보고자 하였다. 용매의 효과를 평가하고자 물과 혼입되는 여러 가지 용매를 사용하여 계면활성제를 사용하지 않고 투석법에 의해 PLGA 나노입자를 제조하였다. 이러한 나노입자의 생성여부를 알아보고자 PCS를 통하여 입자크기를 분석하였고, TEM과 SEM을 통하여 입자의 형태를 관찰하였다.

DMF로 제조된 PLGA 85:15 (a), 75:25 (b), 50:50 (c) 나노입자의 TEM 사진 (Figure 1)과 DMSO로 제조된 PLGA 50:50 나노입자 (Figure 2 (a))와 DMAc로 제조된 PLGA 50:50 나노입자 (Figure 2 (b))의 TEM 사진을 Figure 1과 2에 나타내었다. 또한 DMF (a)와 acetone (b)으로 제조된 PLGA 50:50의 SEM사진은 Figure 3에 나타내었다.

Figure 1~3에서 알 수 있듯이 PLGA 나노입자는 계면활성제와 유화제를 사용하지 않고도 투석법에 의해 쉽게 제조됨을 알 수 있었다. SEM 사진을 통하

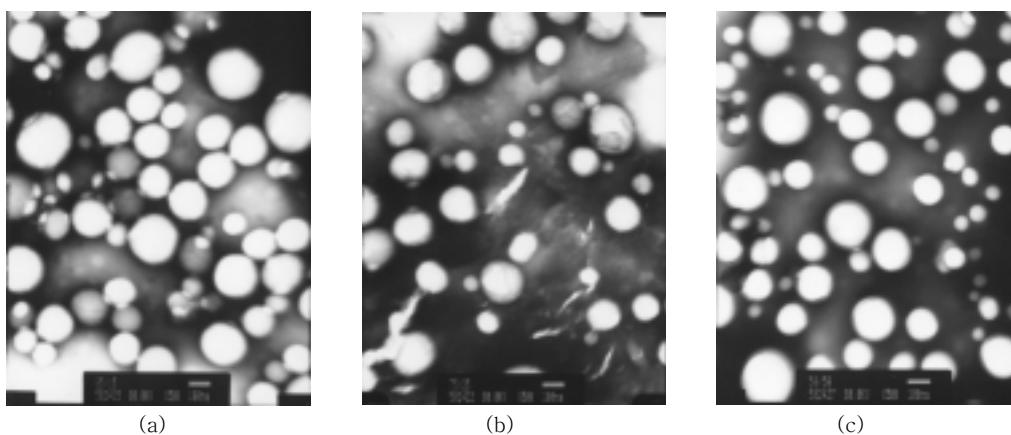


Figure 1. TEM of PLGA 85:15 (a), 75:25 (b), 50:50 (c) nanoparticles prepared from DMF (bar=100 nm) as an initial solvent.

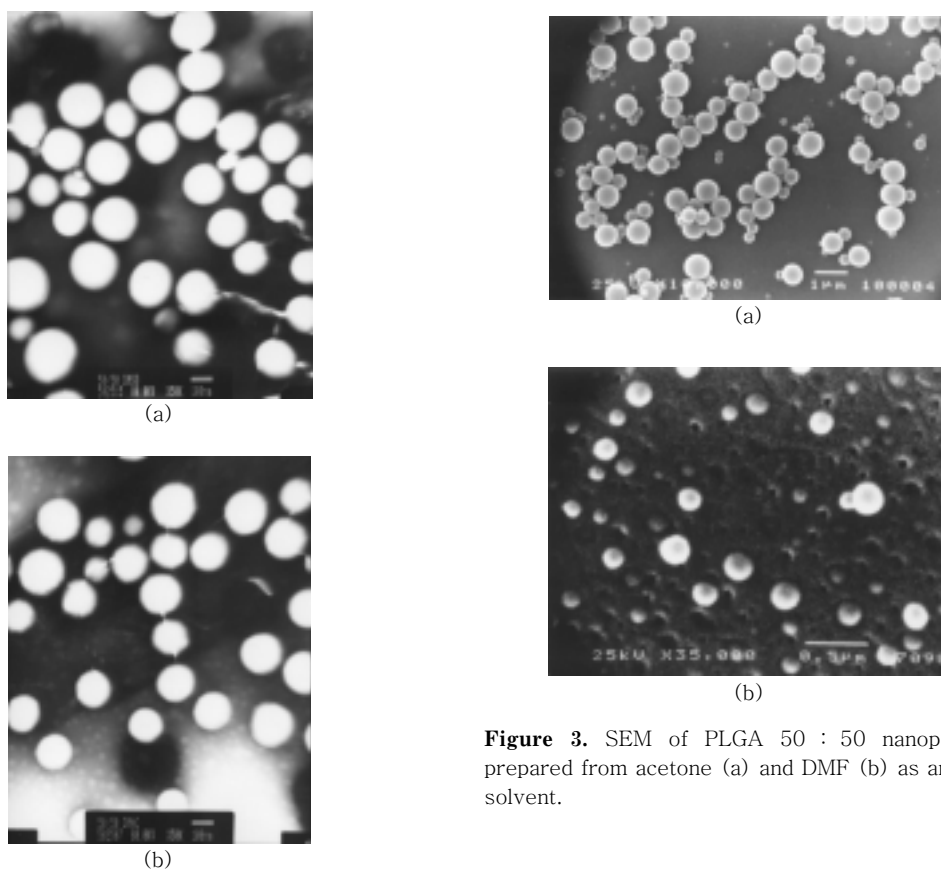


Figure 2. TEM of PLGA 50 : 50 nanoparticles prepared from DMSO (a) and DMAc (b) (bar=100 nm) as an initial solvent.

Figure 3. SEM of PLGA 50 : 50 nanoparticles prepared from acetone (a) and DMF (b) as an initial solvent.

여 DMF (Figure 2 (a))로 제조된 PLGA 나노입자는 200~400 nm이며 구형임을 알 수 있었고 이는 TEM의 결과로도 알 수 있었다. 그러나 나노입자를 제조하기

위한 용매로 acetone (Figure 2 (b))을 사용한 경우, 입자크기는 500~1000 nm로 증가하였고 이 또한 구형을 띠고 있었다. 이와 같이 acetone으로 제조된 입자크기가 차이가 나는 것은 용매에 대한 고분자의 용해도 차이, 용매와 고분자의 점도, 용매와 물과의 혼화도 차이와 같은 다양한 물리 화학적 특성에 기인한 것으로 사료된다.

Table 1과 2는 PLGA 나노입자의 입자크기와 공중합체 조성과 사용된 용매에 따른 PLGA 나노입자로부터의 NFx 봉입량을 나타낸 것이다. 아세톤으로 제조된 PLGA 나노입자의 크기는 다른 용매의 입자보다 상대적으로 컸으며 DMAc, DMSO, DMF로 제조한 PLGA 나노입자는 아세톤으로 제조하였을 때보다 좀더 투명하였다. 계면활성제를 사용하지 않는 나노입자의 약물 봉입량은 우리가 예상했던 것보다 상대적으로 낮았다. 이는 소수성 약물인 NFx이 강한 소수성 (NFx의 용해도는 25 °C 물에 대해 0.28 mg/mL)을 띠지 않았고 용매를 제거하기 위해 너무 오랜 시간 동안 투석한데 그 이유가 있는 것으로 사료된다. 또

한 적은 크기의 나노입자를 만들기 위해 본 연구에서는 고분자와 약물을 10 mL의 용매에 용해시켰으며 용매와 봉입되지 않는 약물을 완전히 제거하기 위해 다른 논문의 보고보다 더 오랜 시간 투석하였다.^{20,21} 약물 함유량은 사용한 용매에 따라 다르며 약물 함유량은 DMAc > DMF > DMSO = acetone 순서이다. 아세톤으로 제조한 나노입자가 큰 사이즈로 인하여 약물 함유량도 높을 것으로 예상하였으나 실제로는 달랐다. 그리고, 약물 함유량과 봉입 효율은 lactide/glycolide 비에 따르며 lactide 비가 클수록, 약물 함유량과 봉입 효율은 커졌다. 이와 같은 현상은 고분자, 약물, 용매사이의 용해도와 혼화도, 또는 나노입자의 크기와 봉입량에 영향을 미치는 물과 용매의 차이라고 사료된다. 일반적으로, 블록이나 graft 공중합체를 이용한 core-shell 타입의²² 나노입자와 고분자 미립자와¹⁵ 같은 자기 회합하는 나노입자계에서 입자에 소수성 약물이 봉입되는 공정은 약물과 고분자 사이의 소수성작용에 의한 것으로 사료된다. 현재, 계면활성제를 사용하지 않는 나노입자 형성의 메카니즘은 충분히 밝혀지지 않았으며, PLGA 나노입자는 각각의 고분자 사슬사이의 소수성 작용에 의해 형성되는 것으로 사료된다. 게다가 PLGA 나노입자의 표면에 전하를 띤 그룹이 있어 안정하게 된다.²³

Figure 4는 NFx이 봉입된 PLGA 나노입자와 NFx 그자체와 NFx이 봉입되지 않은 PLGA 나노입자 (empty PLGA 나노입자)를 물리적으로 혼합한 것을 비교한 X-ray 회절 scans이다. NFx는 결정성이 매우 높은 약물이며 PLGA는 결정성이 매우 낮은 고분자이다. 즉 물리적 혼합상에서 강하게 나타나는 NFx의 피크가 NFx이 봉입된 나노입자상에서는 거의 나타나지 않는 것으로 보아 NFx이 입자내에서 분산상태로 존재함을 알 수 있으며 계면활성제를 사용하지 않고도 나노입자가 형성되며 약물이 나노입자에 잘 봉입되는 것을 알 수 있었다. 이는 Span series, Tween series, Poloxamer와 같은 계면활성제나 PVA를 사용하여 O/W나 W/O/W 유화증발법에 의한 PLGA 나노입자 제조 시스템과 같은 약물 전달체로 계면활성제를 사용하지 않는 PLGA 나노입자의 가능성을 보여주었다.

Figure 5는 사용된 용매 (a)와 공중합체 조성 (b)에 따른 PLGA 나노입자로부터 NFx의 방출을 나타

Table 1. Effect of Various Initial Solvents on the Particle Size Distribution of PLGA Nanoparticles

PLGA	used initial solvent	particle size (nm)		
		intensity average	volume average	number average
50:50	DMSO	236.5±148.1	248.1±232.9	195.6±112.9
50:50	DMF	185.8±35.6	185.8±68.8	183.0±70.6
		(80.8%)	(52.4%)	(95.0%)
		516.5±97.7	480.5±195.6	471.2±183.0
		(19.2%)	(47.6%)	(5.0%)
50:50	DMAc	304.2±129.1	322.8±181.6	306.4±178.2
50:50	acetone	634.0±263.5	679.7±333.8	663.7±342.7
75:25	DMF	241.0±116.5	246.5±121.7	242.7±97.7
85:15	DMF	287.7±109.5	307.4±157.8	287.5±147.6

Table 2. NFx Loading Contents and Loading Efficiency

PLGA	used initial solvent	drug contents (wt%)	loading efficiency (wt%)
50:50	DMSO	7.7	8.4
50:50	DMF	9.7	10.8
50:50	DMAc	13.0	14.9
50:50	acetone	7.7	8.4
75:25	DMF	10.8	12.0
85:15	DMF	12.2	13.9

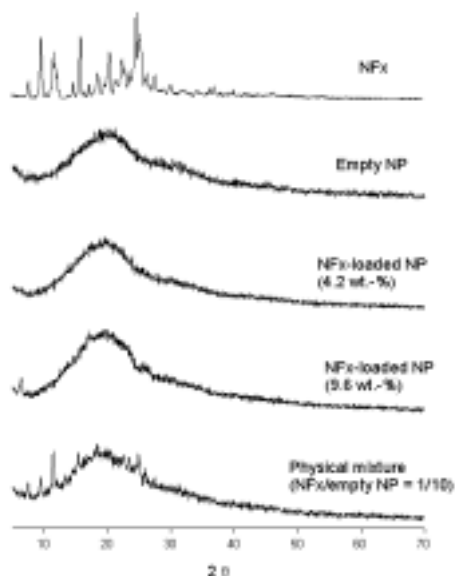


Figure 4. X-ray diffractometer patterns of PLGA 50:50 nanoparticles. NFx, PLGA nanoparticles (empty), NFx loaded PLGA nanoparticles (drug loading contents : 4.2 wt%), NFx loaded PLGA nanoparticles (drug loading contents : 9.6 wt%), and physical mixture of NFx/empty PLGA nanoparticles (weight ratio of NFx/polymer=1/10), respectively.

내었다. 일반적으로 나노입자로부터의 약물방출은 크기가 적고 표면적이 크기 때문에 다른 미립자보다 상대적으로 빠른 것으로 알려져 있다. Figure 5에서처럼 대부분 초기 3~4시간 동안 약물의 과잉방출이 일어나고 12시간에서 24시간 동안 일정하게 약물이 방출되었다. 이중 DMAc의 경우가 약물 봉입량이 가장 컸으며 4시간 동안 약물 과잉 방출이 일어나고 24시간 동안 약물이 일정하게 방출되었다. DMSO의 경우에는 약 초기 1~2시간 동안 과잉 방출이 일어나고 12시간 동안 일정하게 약물이 방출되었다. 이러한 약물 방출 속도는 아세톤의 경우를 제외하고 DMSO > DMF > DMAc 순서를 보였다. 이러한 결과로 약물 함유량이 클수록, 약물 방출이 느려짐을 알 수 있었다. 이러한 현상은 많은 저자에^{14,17,22} 의해서도 보고 되었으며 소수성 약물이 나노입자 내부에서 결정화를 일으키고 약물 함유량이 많을 때 상분해가 일어나며 약물의 부분 결정화를 야기시킨다. 이러한 현상은 입

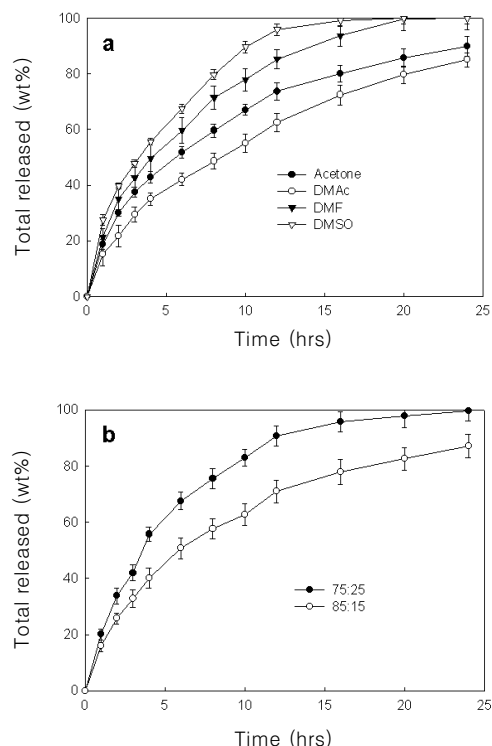


Figure 5. NFx release from PLGA nanoparticles against initial solvents (a) and copolymer composition (b).

자크기가 클수록, 높은 약물 함유량, glycolide segments보다 소수성인 lactide segments사이에서 강한 소수성 작용에 기반하는 것으로 사료된다. 나노입자에 봉입된 소수성 약물은 약물 함유량이 클수록 천천히 방출되며 친수성인 약물과는 다른 특성을 보인다. 이러한 결과는 높은 약물 함유량을 가진 나노입자로부터 NFx 방출이 느림을 알 수 있었다.^{14,24}

낮은 약물 함유량에서 NFx는 상대적으로 나노입자의 내부에 분산상태를 나타낸다.¹⁴ 이는 Figure 4의 XRD 패턴에서도 제시하였듯이 낮은 약물 함유량일 때, XRD 패턴은 거의 약물이 없는 나노입자와 비슷하며 약물 결정 피크가 나타나지 않는데 반해 높은 약물 함유량일 때는 나노입자에서 결정화된 약물 피크가 증가되었음을 알 수 있었으며 약물 함유량이 높을 때는 나노입자 내부에서 약물이 결정화되기도 하고 또한 나노입자의 표면에도 약물이 흡착되어서 나

타나는 결과인 것으로 사료된다. 결정화된 약물은 분산되어있을 때보다 외부 수용액상으로 좀더 천천히 용해되고 분산된다. 낮은 약물 함유량에도 불구하고 아세톤으로 제조된 PLGA 나노입자는 Figure 3 (b)와 Table 1에서 보여진 큰 입자크기를 가지며 DMSO와 DMF보다 느린 방출속도를 나타낸다. 같은 약물 함유량일 경우, 큰 나노입자로부터 약물 방출 속도는 나노입자의 크기가 적을 때보다 느린 것으로 보고되어있다.^{3,25} 흥미롭게도, 아세톤으로 제조된 PLGA 나노입자는 DMF로 제조된 것보다 약물 함유량이 적으나 아세톤으로 제조된 PLGA 나노입자로부터의 약물의 방출속도는 DMF 때보다 느리다. 이는 입자크기의 차이가 약물 전달 시스템에서 나노입자의 약물 방출속도를 조절하는 중요한 요소임을 알 수 있다. 그러나, 아세톤으로 제조된 PLGA 나노입자로부터의 약물 방출속도가 DMAc로 제조된 것보다 느리지 않았으며 이는 아세톤으로 만든 것과 DMAc로 만든 PLGA 나노입자의 입자크기 차이가 DMF나 DMSO로 만든 것보다 상대적으로 작기 때문에 기인하는 것으로 사료된다. 또한 아세톤으로 만든 것과 DMAc로 만든 것 사이의 약물 함유량이 차이가 크기 때문인 것으로 사료된다. 즉, DMAc로 제조된 PLGA 나노입자의 약물 함유량이 아세톤으로 제조하였을 때보다 상대적으로 크며 이와 같은 결과로 계면활성제를 사용하지 않는 PLGA 나노입자로부터의 약물방출은 약물 함유량이 크게 차이가 나지 않을 때 그 입자의 크기차이에 의해 속도가 조절됨을 알 수 있었다. 그러나 약물 함유량이 크게 차이가 날때는 PLGA 나노입자의 약물 방출속도는 상대적으로 입자크기보다는 약물 함유량에 의해 지배되는 것으로 사료되었다. 결과적으로 외부 수용액 상태의 약물 분자의 확산의 차이 때문에 약물 방출속도는 약물 함유량뿐만 아니라 나노입자 크기에 의해 영향을 받는 것으로 사료된다.

마지막으로 Table 3은 *in vitro* 상에서 PLGA 50:50 나노입자의 생분해성을 측정한 결과이다. 일반적으로 PLGA 나노입자의 분해는 분자량, lactide/glycolide 비, 입자의 내 외부 모폴로지, 제조방법과 계면활성제 등에 영향을 받는다. 초기의 분자량이 48070 이었으나 10일 경과후 DMF로 제조한 나노입자는 40000, 아세톤으로 제조한 나노입자는 41400으로 생분해가 진행되었음을 알 수 있었으며 아세톤으로 제조한 것

Table 3. *In Vitro* Biodegradation of PLGA 50:50 Nanoparticles against Initial Solvent

time (day)	DMF		acetone	
	M_n	degradation ratio (%)	M_n	degradation ratio (%)
0	48070	0	48070	0
3	46240	3.8	47400	1.4
5	41030	14.6	46700	2.9
10	40000	16.8	41400	13.9
17	35900	25.3	38150	20.6
19	35530	26.1	37900	21.2
30	28140	41.5	30000	37.6

보다는 DMF로 제조한 나노입자의 생분해 비가 더 큰 것으로 보아 생분해성 또한 입자크기에 영향을 받는 것으로 사료된다.

결과적으로, 약물방출 속도의 제어는 사용된 고분자의 화학적 성질, 약물 함유량, 사용된 용매, 나노입자의 크기에 의해 달라지는 것으로 사료된다.

결 론

계면활성제를 사용하지 않는 PLGA 나노입자를 투석법에 의해 다양한 용매를 사용하여 제조하였으며 그들의 물리화학적 성질을 조사하였다. DMAc, DMF, DMSO로 제조된 PLGA 나노입자 크기는 아세톤으로 제조된 입자보다 적었다. 공중합체를 용해시키기 위해 사용된 용매는 나노입자의 크기와 약물함유량에 크게 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. PLGA 나노입자는 SEM과 TEM의 측정에서 구형임을 알 수 있었다. X-ray 회절 경향의 분석으로 계면활성제를 사용하지 않는 PLGA 나노입자가 약물 전달체로서의 가능성을 확인하였다. 모델 약물로 사용된 NFx의 방출속도는 약물 봉입량뿐만 아니라 입자 크기에도 관계가 있었다. 또한 PLGA 나노입자의 분해속도는 아세톤보다는 DMF를 사용하였을 때 더 빠르며 이는 PLGA 나노입자의 생분해성도 입자 크기에 좌우된다는 것을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. P. Couvreur, E. Fattal, and A. Andreumont, *Pharm. Res.*, **8**, 1079 (1991).

2. P. Couvreur, E. Fattal, H. Alphandary, F. Puisieux, and A. Andremont, *J. Controlled Release*, **19**, 259 (1992).
3. J. C. Leroux, E. Allemann, F. D. Jaeghere, E. Doelker, and R. Gurny, *J. Controlled Release*, **39**, 339 (1996).
4. E. Allemann, R. Gurny, and E. Doelker, *Eur. J. Pharm.*, **39**(5), 173 (1993).
5. S. S. Davis, *Pharmaceut. Technol.*, **5**, 71 (1981).
6. B. Seijo, E. Fattal, L. Roblot-Treupel, and P. Couvreur, *I. J. Pharm.*, **62**, 1 (1990).
7. S. J. Holland, B. J. Tighe, and P. L. Gould, *J. Controlled Release*, **4**, 155 (1986).
8. G. Khang, J. H. Jeon, J. W. Lee, S. C. Cho, and H. B. Lee, *Bio-med. Mater. Eng.*, **7**, 357 (1997).
9. K. Ciftci, H. Suheyli Kas, A. Atilla Hincal, T. Meral Ercan, O. Guven, and S. Ruacan, *I. J. Pharm.*, **131**, 73 (1996).
10. H. Jeffery, S. S. Davis, and D. T. OHagan, *I. J. Pharm.*, **77**, 169 (1991).
11. P. D. Scholes, A. G. A. Coombes, L. Illum, S. S. Davis, M. Vert, and M. C. Davies, *J. Controlled Release*, **25**, 145 (1993).
12. B. Sjostrom, Br. Kronberg, and J. Carlfors, *J. Pharm. Sci.*, **82**, 579 (1993a).
13. C. Witschi, and E. Doelker, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **43**, 215 (1997).
14. Y. I. Jeong, J. B. Cheon, S. H. Kim, J. W. Nah, Y. M. Lee, Y. K. Sung, T. Akaike, and C. S. Cho, *J. Controlled Release*, **51**, 169 (1998).
15. G. S. Kwon, M. Naito, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, and K. Kataoka, *Pharm. Res.*, **12**, 192 (1995).
16. D. D. Lasic, *Nature*, **355**, 279 (1992).
17. J. W. Nah, Y. I. Jeong, and C. S. Cho, *J. Polym. Sci. B: Polym. Phys.*, **36**, 415 (1998).
18. Y. Ogawa, H. Okada, M. Yamamoto, and T. Shimamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2576 (1988).
19. B. P. Lisa, *I. J. Pharm.*, **116**, 1 (1995).
20. S. B. La, T. Okano, and K. Kataoka, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 85 (1996).
21. S. Y. Kim, I. G. Shin, and Y. M. Lee, *Biomaterials*, **20**, 1033 (1999).
22. R. Gref, Y. Minamitake, M. T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, and R. Langer, *Science*, **263**, 1600 (1997).
23. T. Govender, S. Stolnik, M. C. Garnett, L. Illum, and S. S. Davis, *J. Controlled Release*, **57**, 171 (1999).
24. M. T. Peracchia, R. Gref, Y. Minamitake, A. Domb, N. Lotan, and R. Langer, *J. Controlled Release*, **46**, 223 (1997).
25. E. Alleman, R. Gurny, and E. Doelker, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **39**, 173 (1993).