

## Levan acetate를 이용한 hydrocortisone의 방출 제어

입승, 이기영, 김동운\*, 최춘순

전남대학교 물질·생물화학공학과, 광양보건대 환경학과\*, 광주보건대 식품가공과\*\*

(062) 530-0327, FAX (062) 530-1849

## Abstract

The preparation, characterization and drug release behaviour of hydrocortisone(HC) loaded levan acetate microparticles were investigated. Hydrophobic levan acetate was prepared by chemical modification of hydrophilic levan and micro particles were made by dialysis method or solvent evaporation method. The morphology of levan acetate was observed by SEM and drug release profiles were investigated at pH 7.4 and pH 1.2. Newly synthesised levan acetate can be used for carrier of drugs.

## 서론

Controlled release(CR)는 환자의 치료효능 면에서 중요하고 부작용을 감소시켜주며 즉시 방출되는 형태의 약물에 비해 치료비용을 절감시켜 줄 수 있다<sup>1,2)</sup>. 본 논문에 사용되는 약물인 hydrocortisone(HC)은 넓은 범위의 항염증 치료제이지만 약물의 치료시 부작용이 심하고 물에 불용성인 약물이다<sup>3)</sup>. 천연고분자는 기본적으로 생분해성을 가지고 있고 인체 내에서 독성이나 알레르기 반응이 없는 생체 적합성 물질로서 간단한 수식을 통해 약물담체로 사용할 수 있는 장점을 가지고 있다<sup>4)</sup>. 본 연구에 사용된 levan은  $\beta$ -2,1로 연결된 fructose 폴리머이다<sup>5)</sup>. 수용성 폴리머를 약물전달 담체로 사용하기 위해서는 불용화할 필요성이 있으므로 본 실험에서는 levan을 acetylation을 통해 불용성 levan acetate를 제조하고 약물전달 담체로서 사용하였다. 사용된 방법은 dialysis법과 solvent evaporation법이였다.

## 재료 및 방법

## 재료 및 시약

본 실험에 사용한 levan은 생명공학연구소에서 제공받았으며 polyvinylalchol(PVA)은 Sigma Chemical Co.(USA)에서 구입하여 사용하였다. pyridine과 methylene chloride(DCM)는 대정화공에서 구입하였고, dimethylsulfoxide(DMSO)와 acetic anhydride는 덕산화학에서, formamide는 Kanto Chemical Co.(Japan)에서 구입하였다.

## Levan의 화학적 수식과 미세구의 제조

Motazato법을 수정하여 수용성 다당인 levan을 불용화하였다. 즉, levan 5 g을 formamide 100 ml에 완전히 용해한 후, 이 혼합물에 pyridine 30 ml과 acetic anhydride 50 ml을 첨가한 후 54°C에서 48시간 동안 교반 반응 후, 400 ml의 증류수로 침출시켰다. 동결건조를 통하여 건조 분말을 얻었다. 미세구의 제조는 dialysis법과 solvent evaporation법을 사용하

였으며 다음과 같다. Dialysis법에 의한 미세구의 제조는 levan acetate 50 mg을 5 ml의 DMSO에 용해 후, HC 50, 100 mg을 혼합, 교반하였다. 이 혼합액을 투석막(M.W cut-off 12,000)에 담아 증류수에서 11시간 동안 투석하였으며 초기 5시간 동안은 1시간 간격으로 나머지 6시간은 2시간 간격으로 증류수를 교체했다. 제조된 미세구의 회수는 동결건조를 사용하였다. Solvent evaporation법에 의한 미세구의 제조는 levan acetate 100 mg을 DCM 3 ml에 용해한 후, 50 mg의 약물과 0.2 ml의 메탄올을 혼합하고 교반하였다. 이 혼합액을 0.5%(w/v) PVA 수용액에 가하고 초음파분쇄기를 사용하여 30초 동안 유포시켜 O/W 유상액을 제조하였으며 50℃에서 3시간동안 교반, DCM을 증발시켜서 미세구를 제조하였으며 원심분리(12,000 rpm, 20분)와 동결건조를 사용하여 건조된 미세구를 회수하였다.

#### 미세구의 관찰과 적제된 약물량 측정

미세구의 형태는 SEM(JEOL, JSM 5400, Japan)을 통해 관찰하였으며 함유된 약물량을 측정하기 위해 HC가 함유된 levan acetate 미세구 10 mg을 메탄올 1 ml에 분산시켜 24시간동안 약물을 용해시킨 후 12,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 고형물을 침전시키고 상등액을 취하여 UV-spectrometer(Shimadzu UV-1201, Japan)로 244 nm에서 흡광도를 측정하고, 검량곡선에 의해 양을 구하였다.

#### 제조된 미세구에서의 약물방출 실험

40 mg의 levan acetate 미세구를 투석막(M.W cut-off 12,000)에 담아 100 mM의 인산 완충액(pH 7.4)을 1 ml 첨가한 후, 37℃로 조정된 동일 완충액 500 ml에서 방출을 행하였다. 일정시간 간격으로 샘플을 취한 후 동량의 새로운 완충액을 첨가하였으며, 시료 안의 약물량은 UV-spectrometer(244 nm)로 측정하여 결정하였다.

#### 결과 및 고찰

levan을 약물전달에 사용하기 위해서 -OH 그룹의 수소를 acetyl 그룹으로 치환하여 불용화시켰다. levan acetate의 생성은 FT-IR(Nicolet 520P)를 통해 확인하였으며 치환된 후의 다당에서 C=O, CH<sub>3</sub>, O-C=O 결합을 관찰할 수 있었다. Fig. 1은 dialysis법과 solvent evaporation법을 통해 만들어진 미세구의 SEM사진이다. 그림에서 알 수 있듯이 dialysis법에 의해 만들어진 levan acetate는 구형이 아니었지만 solvent evaporation법에 의해 제조된 경우 완전한 구형이었으며 그 크기는 평균 1 μm 이하였다.

Dialysis법에 의해 50:50으로 제조된 미세구의 약물 혼입량은 44.2%, 적제효율은 55.4%였고 50:100으로 제조된 경우에 약물 혼입량은 64.4%, 적제효율은 70.8%였다. solvent evaporation법으로 제조한 levan acetate 미세구들에서, 100:50으로 제조한 경우의 약물 혼입량은 25.4%였고 적제효율은 50.8%였지만 200:50으로 제조한 경우의 약물 혼입량은 15.7%, 적제효율은 55.2%였다(Table 1). dialysis법에 의해 제조된 미세구에서의 약물 방출 결과는 Fig. 2와 3에 나타내었다. 일반적으로 HC는 산성 pH에서 용해성이 증가하지만 50:100으로 제조된 미세구의 경우 pH7.4에서 15시간 동안 약 66%의 약물이 방출된 반면 pH 1.2에서는 42%가 방출되었다. 또한 50:50으로 제조된 미세구에서도 비슷한 경향을 나

타내었다. 이는 levan acetate를 사용할 경우 pH에 따라 약물방출이 조절된다는 것을 의미한다. solvent evaporation법에 의해 제조된 미세구의 경우, 약물과 levan acetate의 비율에 따라 각기 다른 방출 경향성을 보였으며 100:50으로 제조된 경우, 8시간동안 80% 이상이 방출되었지만 200:50인 경우 30%정도만이 방출되었다(Fig. 4, 5)

#### 참고문헌

1. Watt, P. J. and L. Illum, *Drug Deveop. Ind. Pharm.* 23, 893, 1997.
2. Hwang, S. J., H. Park and K. Park, *Critical Reviews in therapeutic Drug Carrier Systems*, 15, 243, 1998.
3. Greenberg, G. R., *Can. J. Gastroenterol.* 7, 127, 1993.
4. Na, K. and K. Y. Lee, *Drug Development and industrial pharmacy*, 24, 563, 1998.
5. Song, K. B., K. Y. Bae, Y. B. Lee, K. Y. Lee and S. K. Rhee, *Enzyme and microbial Technology*, 27, 212, 2000.

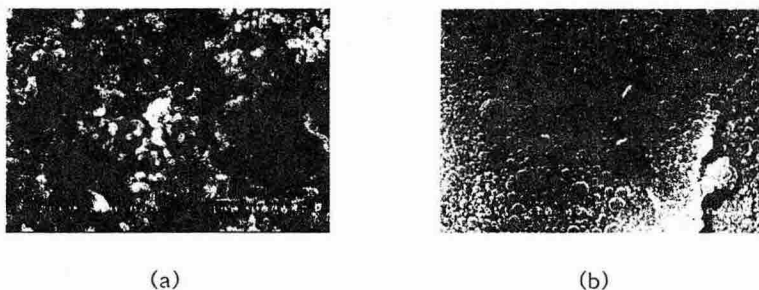


Fig. 1. SEM of levan acetate microparticles prepared by (a) dialysis method (b) solvent evaporation method (  $\times 10,000$  )

Table 1. Drug loading content and efficiencies in levan acetate microparticles prepared by dialysis method or solvent evaporation method(n=3).

Initial polymer (mg)	Initial drug (mg)	Solvent	Solvent volume (ml)	Drug loading contents (wt.-%)	Loading efficiency (wt.-%)
50	50	DMSO	5	44.2	55.4
50	100	DMSO	5	64.4	70.8
50	50	DMSO	7	42.2	48.5
50	50	DMSO	10	32.4	31.4
50	50	DMSO	15	29.8	22.9
100	50	DCM	3	25.1	50.8
150	50	DCM	3	19.5	50.3
200	50	DCM	3	15.7	55.2

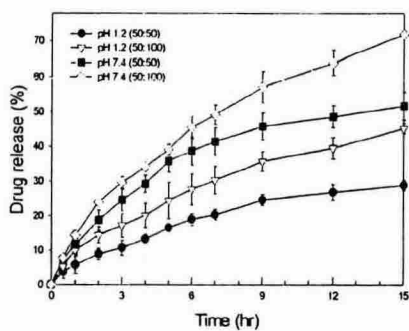


Fig. 2. Release profiles of HC from LA microparticles prepared by dialysis method at 37°C.

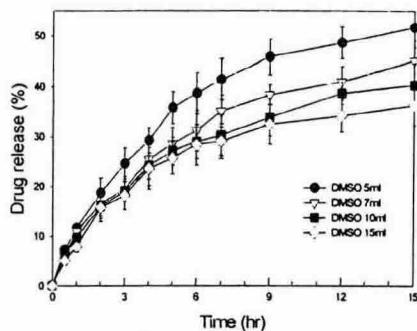


Fig. 3. Release profiles of HC from LA microparticles prepared by dialysis method with different solvent volume.

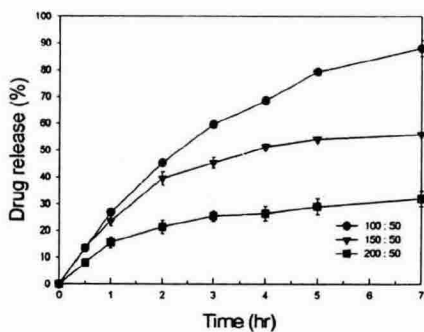


Fig. 4. Release profiles of HC from LA microspheres prepared by solvent evaporation method at 37°C.

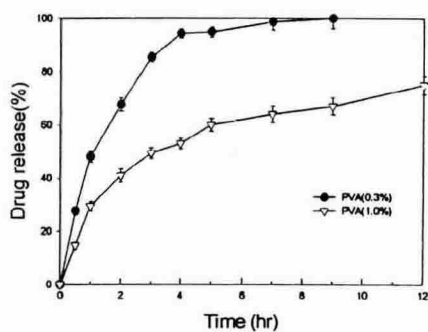


Fig. 5. Release profiles of HC from LA microspheres prepared by solvent evaporation method with different emulsifier concentration.