

생분해성 고분자를 이용한 서방성의약제제

강길선 · 이종문 · 이정식 · 이해방

1. 서론

최근 상업화를 목표로 한 신약의 합성에 있어서 초창기의 투자비용은 36억~1300억원(300만~1000만불)에 이르고 있는 것으로 알려지고 있으나 이들 대부분의 비용이 공장화 또는 파이프라인 건설 등의 제비용이 아니라 R&D에 해당하는 것으로 나타나고 있다. 우선 생리적으로 약제학적으로 활성인 화합물인 것이 밝혀지면 이들 구조와 유사한 수천

종에서 수백 종에 이르는 유도체나 유사화합물 등이 합성되고 이들의 약리활성이 어느 정도인지 시험된다. 이들 중에서 가장 잠재력이 있는 아주 적은 수만이 다시 선택되고 최종적으로 임상단계에 적용되는 약물의 수는 수중에 불과하게 된다. 이렇듯 새로운 신약의 개발은 대단히 어렵고 천문학적 비용이 투자가 된다는 것은 이미 주지의 사실이다.

이들 대부분 개발되는 신약에 있어서 고려되어야 할 투약방법으로는 첫째로, 경구투여가 권장이 되는



강길선

1977~ 인하대학교 고분자공학과(학사)
1981
1982~ 인하대학교 고분자공학과(석사)
1985
1985~ 한국화학연구원 생체의료고분
자팀 선임연구원
1998
1991~ 미국 아이오와 주립대학교
1995 생체의료공학과(박사)
1998~ 전북대학교 고분자공학과
현재 조교수



이정식

1965~ 영남대학교 약학과(학사)
1969
1974~ 미국 Temple대학교 약물학과
1977 (석사)
1986~ 미국 Lehmann대학교 약제학과
1988 (석사)
1988~ 동진제약(주) 개발전무이사 겸
1995 중앙연구소장
1995~ 삼천당제약(주) 부사장 겸
현재 중앙연구소장



이종문

1972 전북대학교 섬유공학과(학사)
1976 전북대학교 섬유공학과(석사)
1985 경희대학교 섬유공학과(박사)
1977~ 전북대학교 섬유공학과 교수
1992
1992~ 전북대학교 고분자공학과 교수
현재



이해방

1964 동국대학교 화학과(학사)
1966 동국대학교 화학과(석사)
1974 유타대학교 재료공학과(박사)
1974~ Univ. of North Carolina
1976 치과대학 선임연구원
1976~ Milton Roy사, Lord사,
1984 Kendall사 책임연구원
1984~ 한국화학연구원 생체의료고분
자팀 책임연구원
현재

Drug Delivery Systems Using Biodegradable Polymers

전북대학교 고분자공학과(Gilson Khang and John M. Rhee, Department of Polymer Sci. Tech., Chonbuk Nat'l Univ.)

삼천당제약 중앙연구소(Jung Sik Lee, Central Res. Center, Samchundang Pharm. Co. Ltd.)

한국화학연구원 생체의료고분자팀(Hai Bang Lee, Biomaterials Lab., KRICT)

대 이 이유는 자기 자신이 투여할 수 있는 자가투여법이 시장성에 있어서 유리하기 때문이다. 두 번째로는 비경구 투여법 즉, 주사법도 적용되는데 이는 약의 생리적 반감기가 실제 도스영역에서 충분한 시간으로 유지될 때 이의 방법이 가능하다. 이 이외에도 경피, 향문좌제, 질좌제, 점비, 점이, 점안 등의 경로를 통하여 투약하는 것이 고려될 수 있다. 마지막으로 대부분이 약의 투여되는 도스와 관계되는 독성부반응은 시장성이 있는 제품의 요건에 부합되는 치료영역 내에서 분석되는 순으로 개발된 신약이 최종적으로 효과가 있는지의 여부를 판단하게 된다.

최근 이러한 신약개발의 패턴이 임의의 약물이 포접된 생분해성 고분자로 제조되어진 미립구를 이용한 서방성제제의 출현으로 변화되고 있다. 가장 큰 특징은 미립구가 단 한번의 복용이나 주사로서 수일에서 또는 수주, 수개월 동안에 걸쳐서 임의의 프로그램화된 약물방출 거동을 가질 수 있다는 점이며 따라서 미립구의 물성에 따라 약의 반감기가 아주 짧거나 반대로 아주 길거나 하는 약물도 적용 가능하게 되었다. 이러한 높은 구강활성력과 장시간의 생리적 반감기 등의 장애물이 제거됨으로 인하여, 신약개발에 있어서, 초기 R&D 투자비용을 본질적으로 줄일 수 있게 되었다.

이러한 경제적인 면과 함께 다음과 같은 기술의 진보를 동반할 수 있게 되었다. 첫째로 약물투여량을 원하는 기간 동안에 임의의 양으로 프로그램화할 수 있다. 두 번째로 인체 내에 투여되는 약물의 양이 과다하게 방출이 되는 것을 방지할 수 있어 독성부반응을 감소시킬 수 있으며, 셋째로는 주사용 미립구 약물투여법은 경구투여법의 근본적인 문제인 소화통과효과 등의 문제를 감소시킬 수 있으며, 넷째로는 이러한 생분해성 미립구는 궁극적으로 목표지향화된 화학용법의 가능성을 제시하였다.

또한, 이러한 생분해성 고분자를 이용한 미립구 DDS는 신약개발의 비용을 감소시킬 뿐만 아니라 현존하는 약물의 전달에도 효과적으로 대체할 수 있어 신약개발에 비금가는 효과를 창출할 수도 있다. 이러한 생분해성 고분자를 이용한 미립구 DDS는 지난 30여년 동안 많은 연구가 진행되어 왔다. 1970년경에는 주로 장시간 동안 조절된 방출에 관하여 연구가 진행되었는데 약학적 활성력과 반복되는 주사의 번거로움을 제거하는데 주력되었다. 응용된 약물로는 피임약, 마약길항제, 국부마취제, 항말라리아 약물, 항암제 등이었다. 1980년대 중반에는 이들의

연구방향을 세포조직배양공학과 유전공학의 발달에 힘입어 치료용 펩타이드와 단백질(예로서 호르몬, 사이토카인, 항체 및 성장인자 등) 등의 연속적이며 대량생산이 가능케 되어 최근에는 생분해성 고분자를 이용한 DDS에 이러한 펩타이드나 단백질의 약물을 응용하는 연구가 만족할만한 효율에 다다르게 되었으며 이에 따라 다양해지는 환자들의 요구에 유연하게 대처하기 위하여 심도 깊게 연구되고 있는 중이다.¹⁻¹¹ 이 중에서는 생분해성이고 경구 또는 주사로 약을 투여할 수 있는 미립구가 특별히 이상적인 방출형태로 제안이 되었는데 이 이유는 예를 들면 국부마취제가 함유된 상대적으로 크기가 큰 삼입물을 삼입해야 하는 폐단을 없애고 약물의 방출이 소진되고 난 후에 이러한 디바이스를 제거하는 단점을 피하기 위함이었다.

2. 생분해성 고분자 미립구

2.1 미립구의 형태학적인 분류

미립구는 특정한 약물을 포함한 미세한 원형구로서 일반적으로 크기가 1 mm 이하(1,000 μ m)인 것을 지칭하는데 다음 두 가지로 대별된다. (1) 약이 고분자 매트릭스 내에 용해되거나 분산되어 있는 균일상 또는 모노리틱 미립구와 (2) 약이 고분자 매트릭스내에 단핵 또는 다핵으로 둘러싸인 저장 형태의 미립구 또는 미세캡슐이다. 이때 약물은 고분자 매트릭스의 표면에 흡수 또는 화학적으로 결합되었거나 매트릭스내의 구멍이나 채널내에 포접되어 있다. 이들 미립구의 형태를 세분해 보면 다음의 6가지로 나뉘어진다(그림 1).¹²

- 가. 균일상 또는 겔 상태의 미립구
- 나. 모노리틱(매트릭스 형태) 미립구
- 다. 단핵저장형태 미립구
- 라. 다핵저장형태 미립구
- 마. 복층코어 미립구
- 바. 다층피복 미립구

이들의 형태는 약물의 물성, 약물의 원하는 방출 형태, 투여형태, 환자의 상태 등에 의해서 결정된다. 이들의 형태학적인 구조는 이들의 단독형태 또는 혼합형이 대부분이다. 일례로 하이드로코티손이나 시스플라틴과 같은 지용성 약물을 폴리락타이드(PLA)와 락타이드-글리콜라이드 공중합체(PLGA)의 고분자 매트릭스로 하는 미립구인 경우에, 일부분의 약은

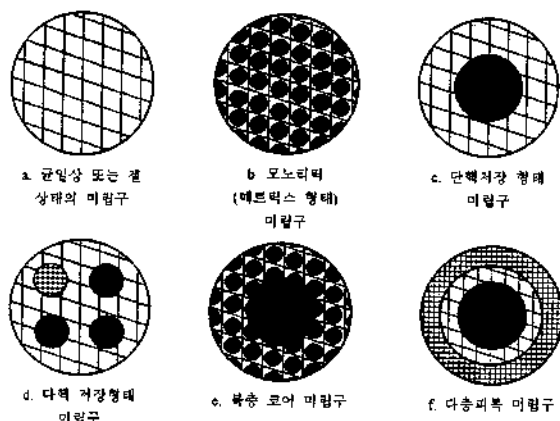


그림 1. 여러 가지 형태의 미립구.

고분자가 녹아 있으나 대부분의 약은 고분자 용액으로부터 결정석출되어 결과적으로 고분자 매트릭스 내에 고체상으로 분산이 되어있거나 미립구를 제조하는 과정에서 표면으로 석출되어 나온다. 최근에 미립구보다 더 적은 즉 나노크기(서브미크론; 1 μm 이하)의 극세미립구에 대한 연구가 널리 진행되고 있는데 이는 의약 투여방법 및 약의 종류에 따라서 적용범위가 달라진다. 이들 미세구의 제조에 사용되는 제법은 표 1에 나타내었다. 원하는 미립구의 형태, 약물의 포접 등에 의해서 가장 적절한 형태의 것을 사용하면 될 것이다.

2.2 미립구의 제조에 사용되는 생분해성 고분자

DDS를 위하여 사용되는 생분해성 고분자는 천연 고분자와 합성고분자로 나뉜다. 천연고분자로 사용되는 것으로는 폴리펩타이드, 단백질(알부민, 피브리노겐, 젤라틴, 콜라겐 등), 다당류(전분, 키토산, 히아루론산), 바이러스와 살아있는 세포들(적혈구, 섬유아세포, 근아세포)이며 합성고분자로는 PLA, PLGA, 폴리하이드록시부티릭산, 폴리카프로락톤, 폴리오쏘에스터, 폴리알킬사이아노아크릴레이트 등이 사용될 수 있다. 이들 중에서 천연고분자는 유래와 생산되는 배척될 물성 등이 유동적이며 미립구를 제조하는 과정에서 가교반응이 필요한데 이 과정에서 약물과 천연고분자의 변성이 야기되어 미립구의 물성이 일정치 않고 따라서 면역체계에 반대반응을 일으키는 경우가 종종 생긴다. 따라서 상용화된 또는 연구 진행중인 미립구의 개발에 있어서 합성고분자가 주로 사용된다.

현재 상업화된 생분해성 미립구 DDS로는 전립선암과 자궁내막종의 치료를 위한 생분해성 PLGA 제

표 1. 미립구의 제조 방법

단량체로부터의 제조	고분자 자체로부터의 제조
현탁중합	현탁가교
유화중합	용집/상분리
분산중합	용매증발/추출
침전중합	침전
	킬레이션
계면중합	용융사출
	분무건조

표 2. PLGA 미립구를 이용한 대표적 상용화 제품

상 품 명	제 조 회사	형 태
데카펩틸 ^a	부퍼-입센(프랑스) 페링(스웨덴)	미립구
루프론 데포 ^b	TAP 제약(a joint venture of Abbott and Takeda)	미립구
파로델 LA ^c	산도스(스위스)	미립구
프로스타프 SR ^d	레델(미국)	미립구
슈프레팩트 ^e	휘스트(독일)	임플란트
졸라덱스 ^f	제네카(영국)	임플란트

^a Decapeptyl[®] (트립토헤린, [D-Trp⁶]-LH-RH). ^b Lupron Depot[®] (루프로레인 아세테이트). Buserelin(2-month depot, 독일), Ramorelix(1-month depot, antagonist of LH-RH, 독일). ^c Parlodel LA[®]. ^d Prostate SR[®]. ^e Suprefact[®]. ^f Zoladex.

장형태의 주사용 LH-RH의 미립구, 즉, 루프론데포[®]과 데카펩틸[®]을 들 수 있다(표 2 참조). 루프론 데포는 근육 또는 피하로 23개 이하 주사바늘을 사용하여 체내에 주사되며 1개월 동안의 약물의 혈중농도는 영차로 약물이 방출되도록 설계되어 있다. 이러한 생분해성 미립구를 이용한 미립구를 통하여 신뢰성이 있는 치료효율, 매일 주사를 맞아야 하는 불편함과 수반되는 통증에서의 해방, 그리고 환자들의 치료환경의 개선 등을 달성할 수 있었다. 이 PLGA 약물운반 미립구는 6주 후에 주사한 곳에서 완전히 생분해된다.

2.3 PLA와 PLGA

이들의 20,000 g/mole 이하의 저분자량체는 촉매 또는 무촉매 하에서 락산 또는 글리콜산으로부터 직접 축합중합할 수 있으며 고분자량체는 락타이드 또는 글리콜라이드한 화합물에서 다이알킬 아연, 트라이알킬 알미늄, 테트라알킬 주석 등의 촉매하에서 개환중합에 의해서 얻을 수 있다. 락산은 비대칭 탄소원자의 위치에 따라 L-, D- 및 D,L-락산으로 구분이 되는데 L- 또는 D- 형태의 고분자는 결정체이

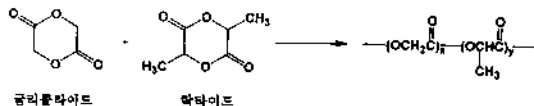


그림 2. 락타이드-글리콜라이드 공중합체의 화학구조.

고 D,L형의 고분자는 무정형이라서 더욱 빨리 분해된다(그림 2). PLA의 T_g 는 30-60 °C이다.¹³

이들 고분자의 생체적합성을 일찍이 봉합사로 사용이 되면서 우수함이 밝혀져 이들의 인체나 여타의 동물에 이물란트 되었을 때 자극 반응, 매크로파지, 거대세포와 배아세포의 침윤 등이 유도되면서 얇은 막의 인체조직에 의해서 둘러싸여지면서 결국은 몸속에서 완전 분해되어 물과 이산화탄소로 오줌과 호흡으로 배출되는 것으로 알려져 있다.¹⁴

라이신-8-바소프레신이 함유된 30 μ m 크기의 PLGA 또는 PLA 미립구를 근육주사를 하였을 때 상해한 조직세포간의 반응은 다음과 같이 보고되고 있다.¹⁵ 인체 내에 투여된 직후에는 림프세포, 형질세포, 조직구 등의 최소한의 자극 반응이 일어나고, 4일째에는 최소한도의 아급성 자극 반응이 일어나고, 마립구 주위에는 매크로파지, 거대세포, 백혈구, 배아세포, 임파구 및 형질세포 등의 축적과 함께 세포체의 콜라겐과 피브린의 얇은 연질조직 캡슐에 의하여 둘러싸여진다. 11일에서 30일 사이에는 마립구가 만성 감염세포들로 싸여지며, 30일에서 42일 사이에는 거대세포가 마립구가 생분해되면서 생성된 통로를 통하여 침투하는 것도 관찰이 되었다. 63일째에는 마립구가 완전히 분해되어 없어지는 것도 관찰이 되었다.

PLGA 미립구를 방사선멸균 조사 후에 쥐의 뇌에 주사하였다.¹⁶ 이물거대세포가 3일내에서 7일 사이에 발견되었으며 이것은 2~4주 사이에 감소됨을 볼 수 있었다. 활성화된 소신경교세포와 MHC 항원 II군의 대식세포가 주사된 부근에서 관찰이 되었으나 임파구와 배아세포들은 볼 수 없었다. PLGA 미립구의 분해물에 의한 뇌세포 조직 내에 신경독성 등은 생성치 않음도 관찰되었다. 따라서 이 모든 결과를 종합해 볼 때 PLGA 생분해성 고분자는 생체적합성이 우수하다고 판단되고 또한, 미국식품의약품청에서 허가받은 유일한 생분해성 고분자이며, 이러한 이유로 이 재료에 대한 연구와 산업화가 널리 행하여지고 있다.

3. PLGA 미립구의 서방성제제화 연구 동향

3.1 비수용성 저분자량 의약을 함유한 PLGA 미립구

표 3에는 최근까지 연구가 진행되어 온 비수용성 저분자량 미립구에 대한 제법과 *in vitro*에서 측정된 약의 방출속도를 나타내었다.¹⁷⁻⁴² 사용된 미립구의 제법은 (1) 분쇄방법, (2) 유화(o/w, o/o) 용매증발방법, (3) 용매증발 추출방법 및 (4) 분무건조방법 등이 사용되었다. 대부분의 미립구 제조법은 o/w 유화용매 증발법이 사용되고 있다.⁴³ 사용되는 의약과 생분해성 고분자는 수용액과 섞이지 않은 유기용매가 사용되며 이 유기상이 유화제가 들어 있는 수용액상에서 분산된다(o/w). 이 혼합용액을 교반하며 생성되는 미립구를 동결건조한다. 이때 사용되는 유화제는 젤라틴, 메틸셀룰로오스(MC), 폴리비닐알코올(PVA), 세틸트리메틸브롬화 암모늄(CTAB), 소듐 도데실 설페이트(SDS),⁴⁴ 소듐라우릴 설페이트(SLS), 및 소듐 올레이트⁴⁵ 등이며, 제조시 이들의 농도가 증가할수록 크기는 감소한다.⁴⁴ 또한 동일한 1%의 농도에서 미립구의 크기는 젤라틴>MC>SDS>PVA>CTAB 순으로 나타난다. PLGA의 농도가 증가하면 미립구의 크기는 증가되고 교반속도가 증가하면 미립구의 크기는 감소하고 좁은 분포도를 나타낸다. 약의 수용액에 대한 용해도는 0.02 mg/mL 이하이어야 재연성이 있고 조절된 서방성을 갖는 미립구가 제조된다.⁴⁵ 이 중에서 널리 사용되는 유화제는 PVA이다.

o/o 유화용매 증발방법은 PLGA와 의약(내부 oil 상)을 용해하는 용매로는 DCM 또는 아세토니트릴과 연속상(외부 oil 상)으로는 스펀 40과 같은 유화제를 포함하는 액체 파라핀⁴⁶ 또는 미네랄오일로⁴⁷ 되어있다. 일례로 o/o계로 제조되어진 페노바비톤의 PLA 미립구는 o/w계에 의해서 제조된 것에 비하여 높은 약의 초기 포접뿐만 아니라, 큰 미립구 크기 그리고 높은 다공성 표면을 가지고 있음이 보고되었다.⁴⁶

호르는 미네랄 오일 내에 약과 고분자가 용해된 용액의 연속적인 분무에 의해 미립구가 제조되는 유화용매 증발방법이 하이드로코티손/PLA 미립구의 제조에서 시도되었는데⁴⁷ 이의 장점은 원하는 미립구 크기, 크기분포, 약의 포접량을 조절할 수 있다는 것이다. 또한 이 제조법으로 만들어진 클라리스로마이신의 PLA 미립구가 실험용 개에 근육주사를

표 3. 비수용성 저분자량의 약을 함유한 PLGA 미립구 DDS의 예

약 물	고 분 자(조성, 분자량)	제 법	미립구크기(μm)	방출패턴	참고문헌
사이클라조신	PLA-45,000	분말화		29%/53일	17
날트렉손	PLGA(90/10), 40,000~200,000	도포화 미립구		90일	18
항말라리아제/WR-158122	PLGA(25/75)	분사건조	125	14주	19
프로세스테론	PLA-25,000	o/w	43~61	50%/1일 + 30일	20
	PLA	o/w	60~240	6개월	21
노레티스테론	PLGA(88/12)-40,000	o/w	90~106	160일	22
뷰탐벤/테트라카인	PLA-9,100~25,000	o/w	49~63		23
디뷰카인	PLA-17,000	o/w	53	17일	24
브레오마이신	PLA-25,000~45,000	o/w	200	30~45%/5일	25
아클라루비신	PLA-35,000	o/w	200	94%/16시간	26
로무스틴/프로세스테론	PLA-61,000	o/w	58~290		27
티오리다진	PLA-50,600	o/w	63~125	5일 래그 + 5일	28
하이드로코티손	PLA-33,000	o/o	250	40일	29
	PLA-60,000	o/w	100~200	40%/8시간	30
시스플라틴	PLGA(75/25)-100,000	o/w	100~200	20일	31, 32
프로스타글란딘E2	PLA-12,500~2,000	분말화 + 가열	35	68%/60시간	33
퀴니딘	PLA-120,000~2,000	o/w	45~75	4~82%/50시간	34
날트렉손	PLGA(80/20)-25,400	o/w	106~212	80%/30일	35
메피리딘	PLA-100,000	o/w	106~212	60%/3일	35
메타돈	PLA-100,000	o/w	106~212	60%/6일	35
프로메타진	PLA-100,000	o/w	106~212	60%/12일	35
프로세스테론	PLA-50,000	o/w	14~25	10~12일	36
클라리스로마이신	PLA-50,000	o/w, 분사건조	4~40	5일	37
레티노인산	PLGA(50/50) (0.2dL/g)	o/w	60	40일	38
오에스테론	PLGA-50,000	o/w	125~160	50%/7일	39
니페디핀	PLGA(75/25)-54,000	o/w	12~18	17~20일	40
아다팔렌	PLGA(50/50)	o/w	5(1%)	80%/5일	41
뷰피바카인	PLA-2,000	o/w	1~10	>1일	42
	PLGA(75/25)-15,000	o/w	1~20	>1일	

통하여 주사한 후 일반주사 방법과 비교하여 국부발진과 세포조직에 대한 피해가 적은 것으로 나타났다. 분무건조방법은 단 한번의 공정단계라서 아주 좋은 생산회수율을 보이고 있어 상용화 측면에서 많은 관심을 보이고 있다.

이 비수용성 저분자량 의약을 함유한 의약제제에 있어서 방출은 초창기에 버스트가 있는 또는 없이 영차방출의 방출거동을 보이고 있다. 이러한 지속상 방출 프로파일의 조절은 고분자 안정성,²² 미립자의 크기,^{20,22} 약의 초기포접량,^{18,24,29,30,39} 및 약물의 친수-소수성비에²³ 의해 의존된다. 이 미립자는 동물 또는 임상실험전에 방사선에 의해서 멸균을 수행한다. 그러나 이 방사선 조사는 PLGA와 약물 모두의 분해를 촉진시키며 따라서 의약의 방출을 증진시킨다.^{22,31} 일례로 이들은 PLA, PLGA의 분자량을 30~40% 감소시키며, 따라서 미립구에서 약의 방출을

70일에서 20일로 단축시키는 경우가 있으므로 유의해야 한다.

3.2 수용성 저분자량 의약을 함유한 PLGA 미립구

약물의 높은 초기포접율과 조절이 잘된 방출거동을 갖는 수용성 약을 함유하는 미립구의 제조방법은 (1) 유화법과 (2) 상분리법이다(표 4 참조).⁴⁸⁻⁵⁷ 이 o/w 유화법이 PLA, PLGA 미립구를 제조하는 방법으로는 아주 유용하고 널리 쓰이지만 수용액상으로 빠져 나오는 약의 손실 때문에 수용성 의약의 높은 포접효율을 기대하기가 어렵다. 이 단점을 개선하기 위하여 퀴니딘/PLA 미립구를 제조하는데 있어 수용성 의약의 최소 용해도를 유지하고 약의 용액상에서 포화시키기 위하여 수용액상의 pH를 10 이상으로 조절하였다.⁵⁸ 이들의 이론적인 의약물의 초기포접율은 80~90%에 이르는 것으로 나타났다. 또한 수용액상의 체적과 온도를 상승시키면 미립구

표 4. 수용성 저분자량 의약을 함유한 PLGA 미립구 DDS의 예

약 물	고 분 자	제 법	미립구크기(μm)	방출패턴	참고문헌
암피실린	PLGA(52/48)(0.58 dL/g)	PS	45~150(31%)	35%/24시간+2주	48, 49
마이토마이신 C	PLA-33,000	o/o	95(4~14%)	96~24%/20시간	50
아드리아마이신	PLLA-3,400	o/o	50~250	65%/15일	51
	PLLA-3,400	o/o	50~250	80%/14일	52
겐타마이신 설페이트	PLA(100L)	PS(s/o/o)	278~444	90%/14일	53
클로로페닐아민 말레이트	PLGA(50/50)-57,000	w/o/o	275(4%)	70~90%/4주	54
티모롤 말레이트	PLGA(50/50) (0.2 dL/g)	o/o	~100(4%)	40%/40일	55
겐타마이신 설페이트	PLA-280,000	분쇄(s/o)	~1,000(10%)	30%/1일+2달	56
이소프로테레놀	PLGA(50/50)-3,400	o/o	4.5(7%)	70%/5분+12시간	57

내에 의약물의 포접량은 각각 증가 또는 감소하는 것으로 보고되고 있다.⁵⁹

수용성 의약인 마이토마이신 C를 함유하는 PLA 미립구를 o/o 유화 방법으로 연구를 진행하였는데 다음과 같다.⁵⁰ 아세트니트릴에 용해시킨 약물과 PLA를 55℃로 예열한 다음, 스펀 65가 함유된 미네랄 오일에 분산시킨 후 일정속도로 교반시킨다. 굳어진 미립구를 여과하여 세척한다. 11.9%의 약물이 포접되었고 66%의 회수율을 보이고 있다. 이 미립구의 방출형태는 2단계 방출형태가 관찰되었는데 처음 20시간 동안은 65%가 방출이 되었고 두 번째 단계는 이 이후로 1개월 동안 방출됨을 보이고 있다.

또 다른 친수성 의약인 아드리아마이신(ADM)과 인슐린을 저분자량체(분자량: 3,200 g/mole)의 PLA에 o/o 유화방법을 사용하였는데⁵¹ 이때 약물의 포접효율은 80~90%에 이르는 높은 값을 보였고 이들의 방출거동은 초기의 버스트가 낮으며 PLA의 분자량, 포접량 등에 따라 변화가 있지만 대략 2주 이상 동안 방출됨을 보였다. ADM이 함유된 PLA 미립구를 토끼의 안내에 주사한 결과 안내막 파괴사가 전혀 관찰되지 않았고 견인망막박리가 감소함이 관찰되었다.⁵²

항생제로 널리 쓰이고 있는 황산 겐타마이신(GS)의 미립구가 상분리방법에 의하여 제조되었다.⁵³ GS를 PLGA/아세트니트릴 용액에 분산시킨 후, 과량의 미네랄 오일에 첨가시켜 약물의 입자 주위에 고분자 응집을 유도하여 미세구를 제조하였다. 이들을 헥산에 세척하고 35℃에서 10~14시간 동안 건조시킨다. 이들의 미립구 크기는 사용되는 PLGA 용액의 농도에 따라, 또는 상용되는 유화제의 농도에 따라서 조절될 수 있는데 20~400 μm 였고 약의 초기 포접율은 95% 이상이었다. 약의 방출속도는 미립구의 크기, 약의 포접율 등에 따라서 달라진다. 그

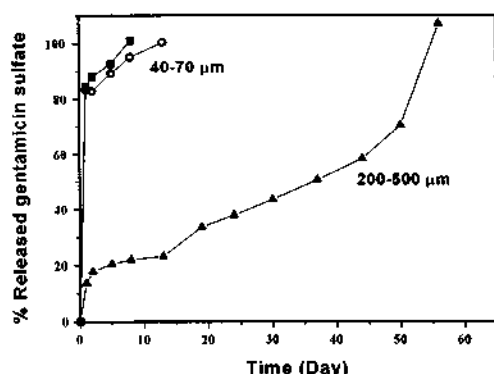


그림 3. PLGA/GS 미립구에서 방출된 GS의 양, 미립구의 크기가 클수록 초기 버스트 효과가 줄어드는 것으로 나타났으며 크기가 약 300 μm 의 것은 60일 동안 거의 영차에 가까운 방출형태를 나타내고 있다.⁶

림 3에는 GS의 *in vitro*에서 방출형태를 나타내고 있는데 미립구의 크기가 클수록 적은 것에 비하여 초기 버스트 효과가 줄어드는 것으로 나타났으며 크기가 약 300 μm 의 것은 거의 영차에 가까운 방출형태를 나타내고 있다. 그림 4에는 GS/PLGA 미립구 형태를 나타내었다.

또 다른 방법으로는 다중유화 용매증발법도 개발되었다.⁶⁰ 젤라틴과 트윈 80을 함유하고 있는 약물수용액을 알미늄 스테아레이트와 스펀 80이 들어있는 쏘이빈을 w/o 유화용액을 만들기 위해 혼합한다. 이 w/o 유화용액을 PLGA/아세트니트릴 용액에 부어 w/o/o 유화용액을 만든다. 이 두 유화용액을 좁은 노즐을 이용하여 스펀 80을 함유하고 있는 미네랄 오일에 첨가하며 계속 교반하면서 아세트니트릴을 증발시킨다. 이러한 방법을 이용하여 염화페닐아민 말레이트, 염산프로카인 아마이드, 및 염산 프로마진과 같은 수용성 의약에 높은 포접효율(80~100%)을 가진 다상 미립구를 만들 수 있었다.

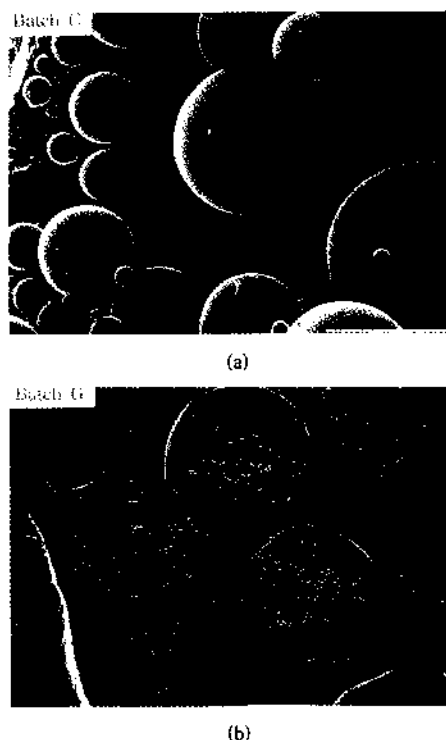


그림 4. PLGA/GS 미립구의 전자현미경사진. (a) 크기 : $300 \pm 45 \mu\text{m}$, (b) 이들의 단면사진.⁶

그림 5에는 상분리 방법으로 제조한 PLGA/AZT 미립구의 방출거동을 나타낸 것으로 제조온도에 따라서 방출패턴에 영향을 줌을 보이고 있다. 본 연구에서는 용매의 증발온도가 25 °C일때가 영차에 가까운 방출거동을 보이고 있다.

3.3 펩타이드와 단백질 의약

대부분의 펩타이드와 단백질 의약들은 물에 대단히 잘 녹으나 이들의 단점은 물, 유기용매, 고분자 매트릭스 및 체내유체 등에 의해서 변성되기가 쉬운 것이다. 또한, 대부분의 수용성 의약 등은 미립구에서 쉽게 방출이 된다. 따라서 이러한 펩타이드와 단백질 약물의 매트릭스 고분자의 분해에 의한 장시간 동안 방출은 일반적으로 얻기 어렵다. 그러나 몇몇 LH-RH와 이들의 유사화합물 등의 장기간 동안의 조절된 방출의 성공은 치료용 펩타이드들과 단백질 의약에 대한 실용화의 가능성을 보여주고 있다. 이들의 연구동향은 표 5에 나타내었다.

3.3.1 사이토카인류의 PLGA 미립구

아스파라기나제, 인슐린 및 몇몇 항원 등을 포함하는 PLA 미립구는 펩티드와 단백질에 맞는 백신으로 조절된 방출기구를 시도하기 위하여 연구가 시작

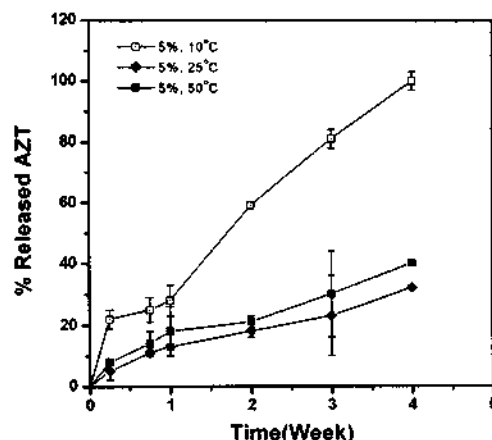


그림 5. PLGA/AZT 미립구 (5% 초기포접율) 의 방출거동. 제조온도가 25 °C일때가 거의 영차에 가까운 방출형태를 나타내고 있는 것으로 보아 제조시 온도의 영향이 있음을 알 수 있다.¹⁰

되었다.⁶¹ 인슐린의 경우 20시간 내에 약 50% 이상이 빠르게 방출되는 반면에 PLA 미립구가 분해되기에는 몇 달이 소요되었다. 1980년대 초, LH-RH를 포함하는 미립구가 상분리법과⁶⁸ w/o/w 유화용매증발법에⁷⁷⁻⁸⁰ 의하여 제조되었다. 이 방법들은 거의 동일한 시간 내에 연구가 되었으며, 그리고 1989년도에 미국에서 1개월 및 3개월 동안 방출되는 주사용 루프로레인 아세테이트 미립구를 상업화의 성공에 도달하게 하는 제조법들이었다. 호르몬의존성 질병의 치료제인 LH-RH이 과량 투여되었을 때 약물학적 효과는 “화학물질 유래거세”의 원인이 되는 뇌하수 생식선의 퇴행결과가 되기 때문에 LH-RH가 일정한 혈중농도로 지속적으로 방출되는 저장형 배합방법은 신뢰성이 있는 치료방법을 달성하기 위해서 가장 이상적인 형태로 등장하게 되었던 것이다. 게다가 이 저장형 형태가 환자들한테 아주 편리하였던 것은 우선 매일 주사투여를 피할 수 있기 때문이었다. 표 6에는 루프로레인 아세테이트의 미립구 제조법에 주로 사용되는 w/o/w 유화용매 증발법에 있어서 각각의 실험조건의 변화에 따라서 얻어지는 포접효율을 나타낸 것이다.⁶⁶

PLGA를 용융상태에서 사출하여 만든 PLGA 고세레린의 삽입물은 피하에 삽입 후에 28일 동안 계속 약물을 방출하였음이 관찰되었는데 이는 전립선암, 유방암 및 자궁근종 등의 병리에 대하여 주사시보다도 훨씬 치료효과가 좋음을 나타내었다.^{62-65,67} 그러나 이의 단점은 복막의 피하에 16게이지의 큰

표 5. 치료용 펩타이드 약물을 함유한 PLGA 미립구 DDS의 예

약 물() ^a	고 분 자	제 법	미립구크기(μ m)	방출패턴	참고문헌
인슐린(51)	PLA		50	90%/24시간	61
아스파라기나제(133 kDa)	PLA		30		61
고세렐린 아세테이트(10)	PLGA(50/50)-20,000		실린더형태(21%)	28일	62~65, 67
나파렐린 아세테이트(10)	PLGA(50/50) (0.38dl/g)	ps(w/o/o)	20~50(1%)	24일	68~70
트립토판(10)	PLGA(53/47) (0.7dl/g)	ps	50(2%)	30일	71~76
루프로레인 아세테이트	PLGA(75/25)-14,000	w/o/o	20~30(8%)	4주	77~84
	PLA-15,500	w/o/o	20~30(8%)	13주	85~87
TRH(3)	PLGA(75/25)-14,000	w/o/o	30	4주	88~90
부세렐린(9)	PLGA(50/50)			28일	91
라모렉릭스(10)	PLGA(50/50)			1-2주	92
세트롤렉릭스(10)	PLGA(51/49)	ps	45(2%)	20일	93
인슐린	PLLA-33,000	s/o/w	110~170(10%)	70%/1시간+2주	94
Lys/바소프레신	PLGA(50/50)-15,500	ps	30(1%)		15
RC-160(소마토스테인 유도제)(8)	PLGA(50/50)	ps	2~6%	30일	95
ORG-2766(ACTH 유도제)(6)	PLGA(50/50)-15,500	ps	(0.5%)	2주	96
살론 칼시토닌(32)	PGA-40,000	o/o	12~16(0.3~7.5%)	5일	97
	PLGA(50/50)-29,000	o/w	(3.5%)	4일 form+5일	98
아트리오펜틴 III(24)	PLGA(50/50)-26,000	ps	100(5%)		99
뉴트로텐신 유도제(6)	PLA-2,000	o/w	15(9%)	2주, 30일	100~102
NGF(118)	PLGA(70/30)	w/o/w	<20(0.013%)	5주	103
NGF/GMI	PLGA(70/30)	w/o/w	2.5(0.08/10%)	26일	104
사이클로스포린 A(10)	PLGA(50/50)	o/w	30	50%/28일	105
			0.3	3%/1일+50%/28일	
SOD(306) β -갈락토시다제(464 kDa)	PLLA-10,000	o/w	25~45	20%/1시간+70일	106
TNF(157)					

^a 아미노산 잔기수 또는 분자량(Da=g/mole).

주사바늘로 투여해야 하는데 이때 국부마취가 필요하다는 점이다.

수용성 펩타이드의 일종인 나파렐린을 상분리방법에 의해서 PLGA 미립구를 제조하였는데 다음과 같다.^{69,70} 나파렐린 수용액과 PLGA/DCM 용액을 높은 속도로 교반, 혼합하여 w/o 유화용액을 제조하고 PLGA와 약물의 비용매인 실라본 오일을 첨가하여 일차로 미립구를 제조하였다. 이들에 헵탄을 가하여 이들의 미립구를 고형화시킨 후 여과, 세척 후 건조하였다. 1% 나파렐린을 함유한 PLGA 미립구는 쥐에 피하주사한 결과 24일 동안 발정 주기의 계속적인 억제효과를 발현하였다. 이때 방출속도는 PLGA의 분해속도의 조절에 의해서 가능한데 이는 분자량과 공중합체의 락산/글리콜산의 비, 약물의 초기포접량 조절 등이다. 이때 주사하기 위해서는 방사선을 주사해서 멸균시키는 바 나파렐린을 함유한 PLGA의 경우 조사후 분해점도가 0.91에서 0.53 dL/g으로 감소하고, 약의 방출속도는 크게 증가되며, 약물방출 기간은 80일에서 60일로 단축된다. 이

러한 멸균방법의 효과는 초기 고분자의 분자량이 높은 것을 사용해야 된다는 관점에서 뿐만 아니라, 생체 내 울리고머의 약물방출 형태와 미립구 매트릭스의 안정성에 대하여도 고려해야 된다. 더구나 약물의 분해도 필수불가결하게 동반된다. 수 많은 그리고 복잡한 분해물과 펩타이드들의 울리고머 분해 등의 안정성이 검토가 되어야 되며, 이들의 인체에 대한 독성과 무반응 등도 체크되어야 될 사항이다.

[D-Trp⁶]-LH-RH, 트립토판(2% 포접)을 함유한 PLGA 미립구를 상분리 방법으로 제조하여 주사용으로 개발하였는데 이를 일반 피하주사와 비교한 결과 전립선암 종양의 무게가 감소하는 것과 혈청 테스토스테론 레벨이 억제되는 것에 있어서 훨씬 효과적임을 알아내었다.⁷¹ 쥐에 임상실험한 결과 단 한번의 미립구 주사로 인하여 최소한 6주 동안 혈청 약물 레벨과 생리효과가 지속됨을 확인하였다.⁷² 이 약물의 저장형태의 미립구는 직접 환자에 실험한 결과 전립선암, 조속중후군, 자궁내막증 등의 치료에 효과가 있음을 입증하였고⁷³⁻⁷⁵ 이는 프랑스에서 상업

표 6. 여러 가지 배합에 의한 LH-RH/PLGA 미립구의 초기포접을 변화⁶⁶

생분해성 고분자	내부수상(W ₁)			기름상(O)		외부수상(W ₂)	초기 포접율(%)
	약물(mg)	젤라틴(mg)	수상(mL)	고분자(g)	DCM ^a (mL)	PVA ^b soln(mL)	
PLA-50,000	200	0	2.5	2	10	100	6.7
PLA-50,000	200	0	2.5	2	10	100	5.5
PLA-73,000	200	500	2.5	2	10	100	70.4
PLA-50,000	200	500	2.5	2	10	100	70.7
PLA-50,000	200	500	2.5	2	10	100	71.5
PLA-15,000	200	500	2.5	2	10	100	54.8
PLA- 6,800	200	500	2.5	2	10	100	55.8
PLA(72/28)-10,000	200	500	2.5	2	10	100	58.3
PLA-22,500	400	400	2	4	5	200	57.8
PLA-22,500	400	200	1	4	7.5	400	70.0
PLA-22,500	400	100	0.5	4	10	400	61.8
PLA-22,500	400	100	0.5	4	20	400	23.6
PLA-22,500	400	100	0.5	4	5	400	11.0
PLGA(76/24)-13,900	450	80	0.5	4	5	1,000	99.7
PLGA(77/23)-12,100	450	80	0.5	4	5	1,000	107.7
PLGA(76/24)-13,900	450	80	0.5	4	5	1,000	95.7
PLGA(76/24)-13,900	500	80	0.5	4	5	1,000	95.9
PLGA(76/24)-13,900	500	80	0.5	4	5	1,000	94.8
PLGA(76/24)-13,900	500	80	0.5	4	5	1,000	95.9

^a DCM: 디클로로메탄. ^b PVA: 폴리비닐알코올.

화하였다.

뷰세레린의 2개월 지속방출형 저장형태의 임플란트가 PLGA를 매트릭스로 하여 독일에서 상업화되었다.⁹¹ 그리고 뷰세레린, LH-RH의 길항제인 라모렉릭스가 PLGA를 매트릭스로 하여 1개월 방출형 미립구를 제조하여 DMBA로 유도된 쥐의 유방암에 대하여도 임상실험을 실시하였다.⁹² 이들의 결과를 살펴 보면 주사투여할 수 있는 미립구가 삽입방법보다 우월함을 알 수 있는데 이는 삽입형태의 것을 제조할 때 펩타이드의 열에 의한 불활성화가 유도되기 때문이다. 그러나 삽입형태의 것의 장점은 초기 방출량에 있어서 아주 일정한 방출속도를 보이고 있는 것이다.

인슐린의 PLA 미립구가 s/o/w 유화법에 의하여 제조되었을 때 이것의 방출형태를 살펴본 결과, PLA 매트릭스 내에 섞인 인슐린 결정이 수용성 채널을 통하여 방출되는 초기의 버스트 효과가 관찰이 되었다.⁹⁴ 이것이 약 2주 동안 당뇨병이 걸린 쥐의 혈중 당농도를 지속하여 낮게 유지시켰으나 초기의 버스트 효과로부터 야기되는 저혈당 증세를 일으킬 가능성이 있어서 약의 방출속도가 좀더 정교하게 조절이 되어야 할 것이다.

소마토스타틴 유사체(RC-160)와⁹⁵ ACTH 유사

체(ORG 2766)도⁹⁶ PLGA를 매트릭스로 하여 상분리법으로 미립구를 제조하였고 갈시토닌도 동결 건조법과 o/w 유화법으로 미립구가 제조되었다.

3.3.2 단백질의약의 펄스화 미립구

성장인자, 조절인자, 호르몬 및 사이토카인과 같은 치료용 펩타이드와 단백질 등은 인체의 항상성을 유지하기 위하여 여러 종류의 인자들의 복잡한 응답시스템에 의해서 조절된다. 이러한 약물에 대한 활성력, 약물동력학, 약물속도론, 리셉터 동력학 등은 적당한 약물의 투여량과 전달시스템의 설계를 확립하기 위해서 또한 치료효과를 극대화하기 위하여 필히 결정되어야만 한다. 일례로, LH-RH에 의한 배란유도는 최대 작동 활성력을 달성하기 위하여 90분 간격의 주기적 투여(즉 시간당 1 펄스)가 필요하고 반면에 LH-RH 유사체에 의한 호르몬 의존성 질병의 억제에는 리셉터의 일정한 낮은 조절을 허용하기 위해서는 일정량의 방출이 필요하다.¹⁰⁷ 연속적인 소마토스타틴 유사체(SMS 201-005)의 주입은 선단 비대증 환자의 치료에 있어 하루 투여량이 똑같은 상태에서 하루 세 번의 정기적인 피하주사와 비교해 볼 때 GH 혈중농도의 좀더 완벽한 저하를 유도하여 미립구에 의한 투여가 유효함을 시사하고 있다. 또한 대부분의 내인성 펩타이드와 단백질들은 24시간

주기로 회귀하는 생물학적 주기를 가지고 있고, 그들의 활성력도 부여된 시간에 의존하여 변화된다. 따라서 이러한 펩타이드와 단백질 의약에 있어서는 주기적 방출 또는 어떠한 신호에 의해서 약물이 방출이 되는 시스템이 일정한 속도로 방출되는 시스템보다 더 효과적인 경우도 있음에 주의해야 한다.¹⁰⁸

3.3.3 PLGA미립구화에 의한 단백질의약품의 안정화

장시간 동안의 펩타이드와 단백질 약물전달시스템에서의 또 한가지 유의해야될 점은 약물의 안정성이다.⁹⁹ 일례로 쥐 동맥의 나트륨노 항진인자인 24개 아미노산 잔기서열인 아트리오펜틴 III에 있어서, 이들을 포함한 미립구는 40 °C에서 5일정도 경과하면 약물이 완전히 분해됨을 보였다. 이러한 약물 분해 기전은 PLGA를 축매로 하여 시작되고 교반에 의해서 가속되었다. 이와 유사한 분해기전은 소마토스타틴 PLGA 미립구에서도 관찰이 되었다.¹⁰⁹ 이와 같은 약물의 유기용매와의 접촉, 유화과정에 있어서 교반기의 전단력 및 건조시 가열 등에 의해서도 유발될 수 있음을 주의하여 제조과정을 설계해야 된다.

신경세포 성장인자(NGF) PLGA 미립구가 수분 건조 방법에 의해서 제조됨을 보고하였다.^{103,104} NGF가 4, 5주동안 계속 방출되었는데 이는 파킨슨병의 치료에 있어 부신골수조직의 생존력을 연장시켰고, 알츠하이머병의 치료에 있어, 그리고 손상된 신경세포조직의 회복과 재생에 좋은 효과를 보이고 있어 연구대상이 되고 있다.

또 다른 단백질 약물인 SOD, β -갈락토시다제 및 TNF를 함유하는 PLA 미립구가 역마이셀 용매 건조법을 제조되었을 때 유화제로는 지방산 수크로스에스터를 사용하였다.¹⁰⁶ 활성화된 SOD가 처음 1시간 내에 20% 정도의 초기 버스트 효과를 보인 후 70일 동안 효과적으로 방출됨을 확인하였다. 지용성 펩티드인 사이클로스포린 A(CyA) PLGA 미립구가 o/w 유화법에 의해서 제조되었는데 80%가 넘는 고효율의 포접율을 나타내었다.¹⁰⁵ 미립구 내에 있는 CyA의 방출거동은 단 한번의 주사 후에 이단계 형태를 나타내고 있는데, 초기의 버스트 방출에서는 치료할 수 있는 약물효과를 유도하고 28일 이상의 안정화된 방출을 보여 치료효과를 유지하는 기간을 나타내어 이 약물의 치료형태에 가장 이상적인 형태를 보이고 있다. 초기방출은 미립구의 크기를 감소 시킴에 의해서 증진시키고 또한 초기 매트릭스 고분

자의 분자량을 감소시키면 조절할 수 있다. 이후의 약물방출 거동은 매트릭스 고분자의 분자량에 따라서 의존된다.

3.4 백신용 PLGA 생분해성 미립자

장티푸스, B형간염, 일본뇌염 등과 같은 질병의 치료에 있어서는 백신제제의 주사요법이 주로 사용된다. 이들의 치료요법은 항원의 항체를 완벽하게 생성시키기 위하여 일정 기간에 걸쳐 3~4회를 연속적으로 투여하여 항체를 성공적으로 생성시키는율이 9%밖에 되지 않음이 통계적으로 발표되고 있다. 이는 주사로 인한 투여방법의 단점이 꼭 병원에 가야 되며, 간호사 등과 같은 숙련된 특정인이 필요하며, 통원치료시에 투자되는 시간, 교통비, 이들 때문에 자신 고유의 업무에 지장을 끼치는 등, 제 2차적 간접비용이 많이 사용되는 점이다.

따라서, 최근에는 이들의 단점을 개선하고, 즉, 효과적이고 효율적인 그리고 단 한번이 주사투여 또는 단 한번의 경구투여로 항체를 생성시킬 수 있는 백신용 생분해성 PLGA 미립구에 대한 연구가 진행되고 있다. 이들의 이점을 표 7에 정리하였다(그림 6참고).

백신용 PLGA 미립구 제조에 있어 단백질의 포접 효율과 미립구 제조시에 단백질 약물의 변성은 중요한 문제이다. 사람 혈청 알부민(HSA/PLGA) 미립구(포접율: 11.6%)를 o/w 유화방법으로 제조하였는데 30일 이상의 방출거동을 보였다.¹¹⁰ 이때 HSA의 PLGA 미립구 제조과정 중에 필수적으로 동반되는 유기용매와의 접촉, 아주 넓은 공기화 물체면 간의 접촉, 또는 유화시에 기계적 교반 등의 조건에 따라서 변질되는 것으로 나타났다. HSA 방출에 있

표 7. 생분해성 미립구를 통한 경구면역방법의 이점¹²⁴

1. 미립구가 경구투여에 의하여 소장내 파이어 판에 의하여 체내로 흡수
2. 미립구 내에 있는 항원들이 위 및 창자 내에서 분해되는 것을 방지
3. 여러 종류의 항원들을 미립구 내에 동시에 포접 가능
4. 면역보강제 또한 항원들과 함께 미립구 내에 포접 가능
5. 생분해성 합성고분자가 면역이 없기 때문에 미립구를 부스터 면역에 사용 가능
6. 체내흡수 후 미립구로부터 "필스화"된 방출 조절 가능
7. 파이어판을 통한 목표지향화 미립구로 체내흡수효율 증진 가능

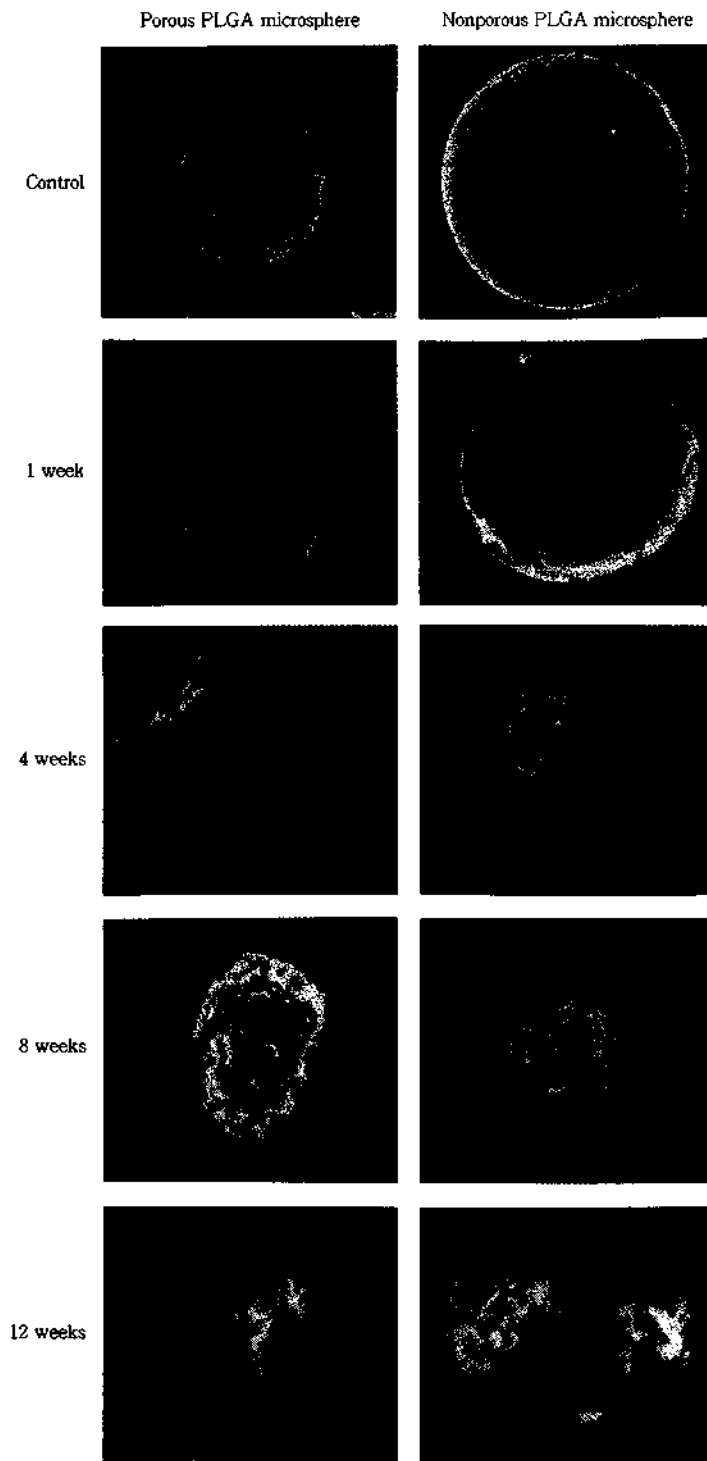


그림 6. 일본뇌염백신이 포접된 PLGA (분자량 : 20,000 g/mole) 미립구의 시간이 지남에 따라 분해되는 다공성 PLGA 미립구와 비다공성 미립구의 전자현미경사진. 12주 정도면 완전히 분해됨을 나타내고 있다. 이 미립구는 소장 내의 파이어판을 통하여 미립구 상태로 몸으로 흡수되어 항원을 생성시키는 것으로 추측되고 있다.⁷

어서 처음 18일 동안에는 HSA의 포접율이 감소 (1.7%)하는 것이 관찰이 되었으나 이것은 지용성 고분자를 통하여 큰 수용성 분자들이 빠져 나오지 못하는 것에 기인되었다. o/o, o/w 및 w/o/w 유화 방법에 의하여 제조된 BSA/PLGA 미립구의 크기는 각각 500, 25~100 및 10~20 μm 로 얻어졌으며 BSA의 방출기간은 54, 36 및 34일이었다.¹¹¹

항원의 모델 약물로 난백알부민(OVA) PLGA 미립구가 w/o/w 유화방법으로 제조되었는데 이는 10% OVA가 포접된 1~2 μm 크기로 얻어졌다.¹¹² 이들의 포접효율은 50~70%에 이르는 높은 효율을 보였는데 유화 제조시 고농도의 PVA가 용해되어 있는 외부 수용액상을 소량 사용하였고 항원과 고분자 매트릭스의 비는 1:5로 조절하였기 때문이었다. 이때 OVA의 분자량과 항원활동도는 변하지 않음이 *in vitro*에서 미립구에서 방출된 OVA의 SDS-PAGE, IEF 및 웨스턴 블롯에 의해서 확인되었다. OVA/PLGA 미립구에서 방출된 OVA에 의해서 유도된 면역에 타액 IgA와 혈청 IgA가 6~8주차에 생성됨을 확인하였는데 이때 쥐에 대하여 투여된 방법은 4주 간격으로 하루에 2~3차례 경구투여하였다. 이때 항체가 생성된 경로를 살펴보면 소장 내 파이어판(Peyer's patch)의 항원제형세포를 통로로 미립구가 통과하여 인체 내로 순환하면서 미립구 내에 포접된 항원이 서서히 방출되면서 약물의 효과를 발현하는 것으로 나타났다.^{113,114}

파상풍 백신 PLA, PLGA 미립구가 w/o/w 유화 방법에 의해서 제조되었으며 방출거동과 백신거동도 또한 관찰되었다.^{115,116} 미립구의 크기는 고분자 매트릭스의 형태에 따라서 좌우되었고 L- α -포스포티딜 콜린의 첨가에 의해서 감소되었다. 또한 파상풍 백신의 방출속도는 고분자의 물성, 백신의 조성, 포접량, 미립구의 다공도 및 미립구의 크기에 따라 영향이 있음을 관찰하였다. DCM 보다는 에틸아세테이트가 백신의 응집이 적음이 관찰되었다. 플루로닉 F68의 첨가는 동결건조 중에 독소이드의 응집을 감소시켜준다.

최근에 w/o/w 유화방법을 사용하여 디프테리아,¹¹⁷ 포도상구균 장독소,^{118,119} β OVA 및 V3BRU(HIV)의 GP120에서부터 유래된 특정 항원) 등의 PLA, PLGA 미립구 등이 예방접종을 위하여 연구되었다. 이들의 접종방법은 피하, 복막내, 경구투여 등을 통하여 이루어졌는데 항체의 생성과 유지가 효율적임이 확인되었다. 경구를 통한 체내면역에 있어서 미

립구의 크기효과에 대한 관찰이 수행되었는데 10 μm 이상 크기의 미립구 보다는 1~10 μm 크기의 미립구의 면역보강 활성도가 더 강함을 나타내었다. 백신 미립구의 경우에 있어서 w/o/w 유화방법이 약물과 고분자 매트릭스 용액, 유화 제조시에 전달력 등의 인자를 조절함으로써 높은 약물 포접 효율과 함께 미세한 입자를 갖는 미립구의 입자조절에 있어 뛰어난 제조방법이다. 또다른 방법으로 상분리 방법으로 OVA와¹²¹ 대장균,¹²² 천이증식인자 항체(CFA/I)를 함유하는 PLGA 미립구가 만들어졌고 CFA/II¹²³ 미립구가 용매추출방법으로 제조되어 항체발현 수준을 유도, 유지함으로 나타내었다. 최근 CFA/II 미립구는 임상 1단계 실험이 진행중이다. 파상풍 백신이 함유된 PLGA 미립구의 경비투여 역시 기니피그의 혈청내 항체 생성의 유도가 효과적임을 나타내고 있다.

이렇게 여러 가지 예를 들은 미립구의 투여방법 중, 경구투여에 있어 파이어판을 통한 낮은 흡수율과 중성화 항체의 유도, 독성이 있는 면역반응은 치료 단백질의 생분해성 미립구를 사용하는데 있어 체계적 효과를 최적화시키기 위하여 필히 고려되어야 된다. 또한 전술한 바와 같이 미립구 내에 함유되어 있는 백신 등의 약물이 인체 내(37 $^{\circ}\text{C}$)에서 오랫동안 머물러 있게 되는데 이때, 약의 안정성 등을 향상시켜야 된다는 문제점이 있는데 다음과 같은 방법으로 수행되어지고 있다. 대별하면 다중분발 방출시스템, 점착력이 있는 방출시스템 및 특정부위점착 방출시스템 등을 들 수 있다.¹²⁴

3.4.1 다중분발 방출시스템

최종적으로 사람에게 미립구가 투여될 때는 정이나 캡슐화 되어야 된다. 정이나 캡슐화하는 공정에 있어서 몰드에 고르게 채워지기 위해서는 좋은 분체 유동성이 있어야 되는데 이러한 물성이 결여되면 미립구가 깨지거나 따라서 서방성 성질을 손실하게 된다. 또한 압력을 가하는 동안에 미립구의 깨짐도 유의해야 된다. 이를 보호하기 위하여 키토산이나 알긴산을 이용하여 미립구 자체를 더 큰 크기의 비드에 포접하는 형태로 제조하는 방법도 연구되고 있다.

3.4.2 생체점착 방출시스템

경구투여용 외약방출 시스템에 있어서 한계로 작용하는 하나의 인자는 소장 내에서 미립구가 빨리 흡수되어야 된다는 점이다. 건강한 사람의 경우 소장엔 머물러 있을 수 있는 시간은 보통 3~4시간인데 이 한정된 시간에 미립구가 파이어판 내로 흡수

가 완벽하게 일어날 수 없다. 따라서 이러한 단점을 보완하기 위하여 장내에 장시간 머무를 수 있도록 즉, 소장벽에 생체접착한 고분자 매트릭스를 사용하는 연구가 진행중이다. 이 고분자 매트릭스로 직접 미립자를 만들거나, 이러한 고분자 매트릭스로 도포를 하는 방법이 사용된다. 이러한 고분자 매트릭스로는 폴리알킬사이아노아크릴레이트, 폴리에틸렌이민 제형의 것이 연구되고 있다.

3.4.3 특정부위 점착 방출시스템

일례로 렉틴 또는 렉틴과 같은 특정부위에 점착하는 물성을 갖는 화합물들은 장내의 어느 특정한 곳을 목표로 삼아 선택적으로 점착될 수 있는 미립구로 사용될 수 있다. 폴리스티렌(PS) 미립구($0.98 \mu\text{m}$)의 표면에 흡착된 토마토 렉틴은 *in vitro*에서 소장 세포에 점착력을 증진시킴이 확인되었다. 또다른 예는 대장균에서 생성되는 섬모를 사용하여 생체접착성질을 증가시켜 리트로바이러스 M 세포 점착 단백질을 리포솜 내에 혼입시킨면 파이어판 내에서 리포솜의 흡수가 증진됨이 관찰되었다. PS 미립구($1 \mu\text{m}$)의 표면에 도포된 토끼의 단클론성 항체는 M 세포 내에 흡수가 됨을 나타내고 있다. 따라서 목표지향 리간드는 식물, 미생물 등을 포함한 모든 자원으로 부터 얻을 수 있다.

3.5 Targeting

저분자량체 약물, 펩타이드 및 단백질 약물의 목표지향화는 치료효과의 부반응을 줄이고, 잠재력을 키울 수 있다는데 큰 매력이 있다. 이들 미립구의 크기는 대부분 200 nm 이하의 것이 사용된다. 정맥 주사 후에 60~150 nm 크기의 미립구는 골수강혈 관내피세포에 그리고 250 nm 이상의 크기의 것은 비장거대세포 내에 선택적으로 흡수된다. 또한 쥐의 경우에도 폐하주사 후에는 100 nm 이하의 크기는 임파결절에서 흡수된다.¹²⁵ 이러한 미립구의 경우 폴록사머-908과 같은 친수성 고분자를 도포하는 경우에는 혈장에 대한 흡수작용을 피할 수 있고 따라서 간 내에서 쿠퍼세포에 의한 더 빠른 흡수를 유도할 수 있다.¹²⁶ 간 내에서 이러한 미립구들이 축적되는 것을 방지하기 위하여 미립구에 폴리에틸렌글리콜을 그래프트 공중합시켰으며 실제 이들은 혈액 내에 머물러 있는 시간이 장기화되어 약물전달효과를 증진시켰다.¹²⁷

또한 PLGA와 PLA 미립구를 사용하여 지용성 유라밀 다이펩타이드¹²⁸ (MDP-B30, $2 \mu\text{m}$ 이하, 젤라틴 도포)와 MDP-L-알라닌 폴리에스테롤¹²⁹ (250 nm)

의 약효증진, 아클라루비신의 림파구 전달체에 있어서 목표 지향화 및 서방성화(14일 동안)¹³⁰ 그리고 인도메타신의¹³¹ 담즙 분비를 증진시키는 등의 목표 지향화에 연구가 진행되고 있다.

4. 결 론

이상과 같이 생분해성 고분자를 이용한 DDS의 연구 및 개발에 있어서 지난 30여년 동안 꾸준히 진행되어 왔다. 이는 미립구 뿐만 아니라 웨이퍼,¹³² 비이드,¹³³ 겔 상의 여러 가지 형태로도 고안되어 적용되는 약물과 환부의 특성에 알맞게 고안되고 있다. 최근에는 조직공학 및 그 외 생체의용공학의 발달에 힘입어 사이토킨인류 및 생리활성물질의 서방화 및 급속과 요업재료로 이루어진 임플란트에 도포화하는 등의 여러 분야에서 활발히 연구되고 있다.

본 연구의 특성상 그리고 신약합성의 기반이 구미 선진국에 비해 상대적으로 약한 기반을 가지고 있는 우리나라의 형편상 신약창출에 버금가는 효과를 나타낼 수도 있고 또한, 여타 생체의료용재료 연구와 마찬가지로 고분자재료의 연구분야와 의학연구자, 약학연구자 및 최종적으로 사람임상적용허가 및 판매허가를 관리하는 식품안전청 실무자들과의 면밀하고도 체계적인 다학제간의 연구를 필요로 하고 또한 관·산·연·학계간의 끊임없는 교류가 필수적이라 하겠다.

감사의 글: 본 총설 중 본 연구자들에 의하여 수행된 연구는 보건복지부, 산업자원부 및 과학기술부 등의 연구비에 의하여 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. R. Langer, *Science*, **249**, 1527 (1990); K. L. Smith, M. E. Schimpf, and K. E. Thompson, *Adv. Drug Del. Rev.*, **4**, 343 (1990).
2. L. M. Sander, "Controlled Delivery Systems for Peptides", in "Peptide and Protein Drug Delivery", V. H. L. Lee, ed., p. 785, Marcel Dekker, NY, 1991.
3. R. Ashardy, *J. Contr. Rel.*, **17**, 1 (1991); X. H. Zhou and W. P. A. Li, *Int. J. Pharmaceutics*, **75**, 97 (1991).
4. P. Couveur and F. Puisieux, *Adv. Drug Del. Rev.*, **10**, 141 (1993); J. Heller, *Adv. Drug Del. Rev.*, **10**, 163

- (1993)
5. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, "Fentanyl-loaded PLGA Microspheres for Long Acting Anesthesia", in "Controlled Drug Delivery: Designing Technologies for the Future", ACS Symp. Series 752, K. Park and R. J. Mersny Eds., p. 385, ACS, Washington D. C., 2000.
 6. J. C. Cho, G. Khang, J. M. Rhee, Y. S. Kim, J. S. Lee, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, **7**, 79 (1999).
 7. G. Khang, J. C. Cho, J. W. Lee, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, **9**, 49 (1999).
 8. H. B. Lee, G. Khang, J. C. Cho, J. M. Rhee, and J. S. Lee, *Polymer Preprints*, **40**, 288 (1999).
 9. J. C. Cho, G. Khang, H.-S. Choi, J. M. Rhee, and H. B. Lee, *Polymer(Korea)*, **24**, 728 (2000).
 10. G. Khang, J. H. Lee, J. W. Lee, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, **8**, 80 (2000).
 11. G. Khang, S. W. Kim, J. C. Cho, J. M. Rhee, S. C. Yoon, and H. B. Lee, *Bio-Med. Mater. Eng.*, in press (2000).
 12. R. Arshady, *J. Bioact. Compatible Polymers*, **5**, 315 (1990).
 13. D. L. Wise, "Biopolymer System Design for Sustained Release of Biologically Active Agents", in "Biopolymeric Controlled Release Systems", vol. 1, p. 3, D. L. Wise Ed., CRC, Boca Raton, 1984.
 14. J. M. Anderson and M. E. Machant, "Tissue Responses to Drug Delivery Systems", in Recent Advances in Drug Delivery Systems, J. M. Anderson and S. W. Kim Eds., p. 23, Plenum Press, NY, 1984.
 15. G. E. Visscher, R. L. Robinson, H. V. Maulding, J. W. Fong, J. E. Pearson, and G. J. Argenterii, *J. Biomed. Mater. Res.*, **19**, 349 (1985).
 16. P. Menei, V. Daniel, C. Montero-Menei, M. Brouillard, A. Pouplard-Barthelaix, and J. P. Benoit, *Biomaterials*, **14**, 470 (1993).
 17. J. H. R. Woodland, S. Yolle, D. A. Blake, M. Helrich, and F. J. Meyer, *J. Med. Chem.*, **16**, 897 (1973).
 18. A. D. Schwowe, D. L. Wise, and J. F. Hows, *Life Sci.*, **17**, 1877 (1975).
 19. D. L. Wise, G. J. McCormick, G. P. Willet, and L. C. Anderson, *Life Sci.*, **19**, 867 (1976).
 20. L. R. Beck, D. R. Cowsar, D. H. Lewis, R. J. Jr. Cosgorve, C. T. Riddle, S. L. Lowry, and T. Epperly, *Fertil. Steril.*, **31**, 545 (1979).
 21. L. R. Beck, L. A. Ramos, C. E. Flowers, G. Z. Lopez, D. H. Lewis, and D. R. Cowsar, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **140**, 799 (1981).
 22. L. R. Beck, V. Z. Pope, C. E. Flowers, D. R. Cowsar, T. R. Tice, D. H. Lewis, R. L. Dunn, A. B. Moor, and R. M. Gilley, *Bio. Reproduct.*, **28**, 186(1983).
 23. N. Wakiyama, K. Juni, and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2621 (1982).
 24. N. Wakiyama, K. Juni, and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3719 (1982).
 25. K. Junki, J. Ogata, N. Matsui, M. Kubota, and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1609 (1982).
 26. K. Junki, J. Ogata, N. Matsui, M. Kubota, and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1734 (1982).
 27. S. Benita, J. P. Benoit, F. Puisieux, and C. Thies, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1721(1984).
 28. H. V. Moulding, T. R. Tice, D. R. Cowsar, J. W. Fong, J. E. Pearson, and J. P. Nazareno, *J. Contr. Rel.*, **3**, 103 (1986).
 29. N. Leelarsamee, S. A. Howard, C. J. Malanga, L. A. Luzzi, T. F. Hogan, S. J. Kandzari, and J. K. H. Ma, *J. Microencapsulation*, **3**, 171 (1986).
 30. G. Spenhauer, M. Veillard, and J. P. Benoit, *J. Pharm. Sci.*, **75**, 750 (1989).
 31. G. Spenhauer, M. Vert, J. P. Benoit, and A. Boddaert, *Biomaterials*, **10**, 557 (1989).
 32. G. Spenhauer, M. Vert, J. P. Benoit, F. Chabot, and M. Veillard, *J. Contr. Rel.*, **7**, 217 (1988).
 33. M. X. Zhou and T. M. S. Chang, *J. Microencapsulation*, **5**, 27 (1988).
 34. R. Bodmeier, K. H. Oh, and H. Chen, *Int. J. Pharmaceutics*, **51**, 1 (1988).
 35. Y. Cha, and C. G. Pitt, *J. Contr. Rel.*, **8**, 259 (1989).
 36. P. K. Gupta, R. C. Metha, R. H. Douglas, and P. P. DeLuca, *Pharm. Res.*, **9**, 1502 (1992).
 37. P. K. Gupta, H. Johnson, and C. Allexon, *J. Contr. Rel.*, **26**, 229 (1993).
 38. G. G. Giordano, M. F. Refojo, and M. H. Arroyo, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **34**, 2743 (1993).
 39. B. V. Parikh, S. M. Upadrashta, S. U. Neau, and N. O. Nuessle, *J. Microencapsulation*, **10**, 141 (1993).
 40. P. Sandrap and A. J. Moes, *Int. J. Pharmaceut.*, **98**, 157 (1993).
 41. A. Rolland, N. Wagner, A. Chatelus, B. Shroot, and H. Schaefer, *Pharm. Res.*, **10**, 1738 (1993).
 42. P. Le Corre, P. Le Guevello, V. Gavan, F. Chevanne, and R. Le Verge, *Int. J. Pharmaceut.*, **107**, 41 (1994).
 43. P. J. Watts, M. C. Davies, and C. D. Melia, *Crit. Rev. Therapeut. Drug Carrier Syst.*, **7**, 235 (1990).
 44. H. Jeffery, S. S. Davis, and D. T. O'Hagan, *Int. J. Pharmaceut.*, **77**, 169 (1991).
 45. J. W. Fong, J. P. Nazareno, J. E. Person, and H. V. Maulding, *J. Contr. Rel.*, **3**, 119 (1986).
 46. R. Jalil, and J. R. Nixon, *J. Microencapsulation*, **6**, 473 (1989).
 47. N. Leelarasamee, S. A. Howard, C. J. Malanga, and J. K. H. Ma, *J. Microencapsulation*, **5**, 147 (1988).
 48. J. A. Setterstrom, T. R. Tice, and W. E. Myers, "Development of Encapsulated Antibiotics for Topical Administration to Wounds", in "Recent Advances in Drug Delivery Systems", S. W. Kim ed., p. 185, Plenum Press, NY., 1984.
 49. E. Jacob, J. A. Setterstrom, D. E. Bach, J. R. Heath, L. M. McNiesh, and G. Cierny, *Clin. Orthopaed. Related Res.*, **267**, 237 (1991).

50. D. C. Tsai, S. A. Howard, T. F. Hogan, C. J. Malanga, S. J. Kandzari, and J. K. H. Ma, *J. Microencapsulation*, **3**, 181 (1986).
51. R. Wada, S. H. Hyon, and Y. Ikada, *J. Pharm. Sci.*, **79**, 919 (1990).
52. T. Moritera, Y. Ogura, N. Yoshimura, Y. Honda, R. Wada, S. H. Hyon, and Y. Ikada, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **33**, 3125 (1992).
53. S. S. Sampath, K. Garvin, and D. H. Robinson, *Int. J. Pharmaceut.*, **78**, 165 (1992).
54. M. Wata and J. W. McGinity, *Pharm. Res.*, **10**, 1219 (1993).
55. C. Stureson, J. Carlfors, K. Edman, and M. Andersson, *Int. J. Pharmaceut.*, **89**, 235 (1993).
56. J. Mauduit, N. Bukh, and M. Vert, *J. Contr. Rel.*, **23**, 221 (1993).
57. Y. L. Lai, R. C. Metha, A. A. Thacker, S. D. Yoo, P. J. McNamara, and P. P. DeLuca, *Pharm. Res.*, **10**, 119 (1993).
58. R. Bodmeier and J. W. McGinity, *J. Microencapsulation*, **4**, 279 (1987).
59. R. Bodmeier and J. W. McGinity, *J. Microencapsulation*, **4**, 289 (1987).
60. M. Iwata and J. W. McGinity, *J. Microencapsulation*, **9**, 201 (1992).
61. T. M. S. Chang, *J. Bioeng.*, **1**, 25 (1976).
62. F. G. Hutchinson, *EP Appl.* 58, 481 Aug., 25 (1982).
63. F. G. Hutchinson, and B. J. A. Furr, *J. Contr. Rel.*, **13**, 279 (1990).
64. K. J. Walker, A. O. Turkes, A. Turkes, R. Zwink, C. Beacock, A. C. Buck, W. B. Peeling, and K. Griffiths, *J. Endocrinol.*, **103**, R1 (1984).
65. M. R. Williams, K. J. Walker, A. Turkes, R. W. Blamey, and R. L. Nicholson, *Br. J. Cancer.*, **53**, 629 (1986).
66. H. Toguchi, Y. Ogawa, H. Okada, and M. Yamamoto, *Yakugaku Zasshi*, **111**, 397 (1991).
67. C. P. West, J. Williamson, M. A. Lumsden, D. T. Baird, and S. Lawson, *Fertil. Steril.*, **48**, 45 (1987).
68. J. S. Kent, D. H. Lewis, L. M. Sanders, and T. R. Tice, JP 81-184342.
69. L. M. Sanders, J. S. Kent, G. I. McRae, B. H. Vickery, T. R. Tice, and D. H. Lewis, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1294 (1984).
70. L. M. Sanders, K. M. Vitale, G. I. McRae, and P. B. Mishky, "Controlled Delivery of Nafarelin, an Agonistic Analogue of LHRH, from MS of PLGA", in "Delivery Systems for Peptide Drugs", S. S. Davis, L. Illum, and E. Tomlinson, Eds., p. 125, Plenum Press, NY, 1986.
71. T. W. Redding, A. V. Schally, T. R. Tice, and W. E. Meyers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 5845 (1984).
72. R. H. Asch, F. J. Rojas, A. Bartke, A. V. Schally, T. R. Tice, H. G. Klemcke, T. M. Khodr, R. E. Bray, and M. P. Hogan, *J. Androl.*, **6**, 83 (1985).
73. H. Parmer, R. H. Phillips, S. L. Lightmen, L. Edwards, L. Allen, and A. V. Schally, *Lancet.*, 1201 (1985).
74. M. Roger, J. L. Chaussain, P. Berlier, M. Bost, P. Cantorbe, M. Colle, R. Francois, P. Garandeau, N. Lahlou, Y. Morel, and A. V. Schally, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **62**, 670 (1986).
75. J. R. Zorn, A. M. Comaru-Schally, J. Mathieson, A. V. Schally, and F. Risquez, *Fertil. Steril.*, **53**, 401 (1990).
76. V. J. Csernus, B. Szende, and A. V. Schally, *Int. J. Peptide Protein Res.*, **35**, 557 (1990).
77. US 4,652,441, and JP 83-207760.
78. JP 85-22978
79. Y. Ogata, M. Yamamoto, H. Okada, T. Yasiki, and T. Shimamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 1095 (1988).
80. H. Okada, *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **16**, 12 (1989).
81. H. Okada, T. Heya, Y. Ogawa, and T. Shimamoto, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **244**, 744 (1988).
82. H. Okada, T. Heya, Y. Igari, Y. Ogawa, H. Toguchi, and T. Shimamoto, *Int. J. Pharmaceut.*, **54**, 231 (1989).
83. Y. Ogawa, H. Ogata, T. Heya, and T. Shimamoto, *J. Pharm. Pharmacol.*, **41**, 439 (1989).
84. R. Shafari and M. Soloway, *J. Urol.*, **143**, 68 (1990).
85. H. Okada, Y. Inoue, Y. Ogawa, and H. Toguchi, *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **19**, 52 (1992).
86. H. Okada, Y. Doken, Y. Ogawa, and H. Toguchi, *Pharm. Res.*, **11**, 1143 (1994).
87. H. Okada, Y. Doken, Y. Ogawa, and H. Toguchi, *Pharm. Res.*, **11**, 1199 (1994).
88. T. Heya, H. Okada, Y. Tanigawara, Y. Ogawa, and H. Toguchi, *Int. J. Pharmaceut.*, **69**, 69 (1991).
89. T. Heya, H. Okada, Y. Ogawa, and H. Toguchi, *Int. J. Pharmaceut.*, **72**, 199 (1991).
90. T. Heya, H. Okada, Y. Ogawa, and H. Toguchi, *J. Pharm. Sci.*, **83**, 636 (1994).
91. J. Sandow, K. Stoekemann, and G. Jerabek-Sandow, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **37**, 925 (1990).
92. K. Stoekemann and J. Sandow, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **119**, 457 (1993).
93. V. J. Csernus, B. Szende, K. Groot, T. W. Redding, and A. V. Schally, *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, **40**, 111 (1990).
94. A. K. Kwong, S. Chou, A. M. Sun, M. V. Sefton, and M. F. A. Goosen, *J. Contr. Rel.*, **4**, 47 (1986).
95. M. Mason-Garcia, M. Vaccarella, J. Hovath, T. W. Redding, K. Groot, P. Orsoloni, and A. V. Schally, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 5688 (1988).
96. G. Wolterink, T. R. M. Bouwman, M. J. D. Eenink, H. DeNijis, and J. M. Van Ree, *J. Pharm. Pharmacol.*, **42**, 508 (1990).
97. K. C. Lee, E. E. Solitis, P. S. Newman, K. W. Burton, R. C. Metha, and P. P. DeLuca, *J. Contr. Rel.*, **17**, 199 (1991).

98. R. C. Metha, R. Jeyanthi, S. Calis, B. C. Thanoo, K. W. Burton, and P. P. DeLuca, *J. Contr. Rel.*, **29**, 375 (1994).
99. R. E. Johnson, L. A. Lanaski, V. Gupta, M. J. Griffin, H. T. Gaud, T. E. Needham, and H. Zia, *J. Contr. Rel.*, **17**, 61 (1991).
100. I. Yamakawa, Y. Tsushima, R. Machida, and S. Watanabe, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 808 (1992).
101. I. Yamakawa, Y. Tsushima, R. Machida, and S. Watanabe, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 899 (1992).
102. I. Yamakawa, K. Ashizawa, T. Tsuda, S. Watanabe, M. Hayashi, and S. Awazu, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 2870 (1992).
103. P. J. Camarata, R. Suryanarayanan, D. A. Turner, R. G. Parker, and T. J. Ebner, *Neurosurgery*, **30**, 313 (1992).
104. D. Maysinger, J. Filipovic-Grcic, and A. C. Cuello, *Neuro. Report*, **4**, 971 (1993).
105. A. Sanchez, J. L. Vila-Jato, and M. J. Alonso, *Int. J. Pharmaceut.*, **99**, 263 (1993).
106. Y. Hayashi, S. Yoshioka, Y. Aso, A. L. Wan Po, and T. Terao, *Pharm. Res.*, **36**, 53 (1980).
107. E. Knobil, *Recent Prog. Horm. Res.*, **36**, 53 (1980).
108. A. Hoffman, A. Nyska, A. Avramoff, and G. Golomb, *Int. J. Pharmaceut.*, **111**, 197 (1994).
109. J. W. Wyse, Y. Takahashi, and P. P. DeLuca, *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **16**, 334 (1989).
110. M. S. Hora, R. K. Rana, J. H. Nunberg, T. R. Tice, R. M. Gilley, and M. E. Hudson, *Pharm. Res.*, **7**, 1190 (1990).
111. H. T. Wang, E. Schmitt, D. R. Flanagan, and R. J. Linhardt, *J. Contr. Rel.*, **17**, 23 (1991).
112. H. Jeffery, S. S. Davis, and D. T. O'Hagen, *Pharm. Res.*, **10**, 361 (1993).
113. S. J. Challacombe, D. Rahman, H. Jeffery, S. S. Davis, and D. T. O'Hagen, *Immunology*, **76**, 164 (1992).
114. D. T. O'Hagen, D. Rahman, H. Jeffery, S. Sharif, and S. J. Challacombe, *Int. J. Pharmaceut.*, **108**, 133 (1994).
115. M. J. Alonso, S. Cohen, T. G. Park, R. K. Gupta, G. R. Siber, and R. Langer, *Pharm. Res.*, **10**, 945 (1993).
116. M. J. Alonso, R. K. Gupta, C. Min, G. R. Siber, and R. Langer, *Vaccine*, **12**, 299 (1994).
117. M. Singh, A. Singh, and G. P. Talwar, *Pharm. Res.*, **8**, 958 (1991).
118. J. H. Eldridge, J. K. Staas, J. A. Meulbroek, T. R. Tice, and R. M. Gilley, *Infect. Immun.*, **59**, 2978 (1991).
119. J. H. Eldridge, J. K. Staas, J. A. Meulbroek, J. R. McGhee, T. R. Tice, and R. M. Gilley, *Mol. Immun.*, **28**, 287 (1991).
120. M. J. B. Prieto, F. Delie, E. Fattal, A. Tartar, F. Puisieux, A. Gulik, and P. Couvreur, *Int. J. Pharmaceut.*, **111**, 137 (1994).
121. J. P. McGee, S. S. Davis, and D. T. O'Hagan, *J. Contr. Rel.*, **31**, 55 (1994).
122. R. Edelman, R. G. Russell, G. Losonsky, B. D. Tall, C. O. Tacket, M. M. Levine, and D. H. Lewis, *Vaccine*, **11**, 155 (1993).
123. R. H. Reed, E. C. Boedeker, C. E. McQueen, D. Davis, L. Y. Tseng, J. Kodak, K. Sau, C. L. Wilhelmsen, R. Nellore, P. Dalal, and H. R. Bhagat, *Vaccine*, **11**, 159 (1993).
124. D. T. O'Hagan, "Novel Delivery Systems for Oral Vaccines", p. 175, CRC, Boca Raton, 1994.
125. S. M. Moghimi, C. J. H. Porter, I. S. Muir, L. Illum, and S. S. Davis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **177**, 861 (1991).
126. S. M. Moghimi, H. Hedeman, I. S. Muir, L. Illum, and S. S. Davis, *Biochem. Biophys. Acta.*, **1157**, 233 (1993).
127. R. Gref, Y. Minamitake, M. T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, and R. Langer, *Science*, **263**, 1600 (1994).
128. Y. Tabata and Y. Ikada, *Pharm. Res.*, **6**, 296 (1989).
129. C. Morin, G. Barratt, H. Fessi, J. P. Devissaguet, and F. Puisieux, *J. Drug Target.*, **1**, 157 (1993).
130. H. Yoshikawa, Y. Nakao, K. Takada, S. Muranishi, R. Wada, Y. Tabata, S. H. Hyon, and Y. Ikada, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 802 (1989).
131. F. Fawaz, F. Bonini, M. Guyot, A. M. Lagueny, H. Fessi, and J. P. Devissaguet, *Pharm. Res.*, **10**, 750 (1993).
132. G. Khang, H.-S. Choi, J. M. Rhee, S. C. Yoon, J. C. Cho, and H. B. Lee, *Korea Polymer J.*, **8**, 253 (2000).
133. W.-I. Son, G. Khang, D. I. Yun, B.-S. Kim, and H. B. Lee, *Biomaterials Res.*, submitted (2001).