

생분해성 고분자의 부식속도 측정

박은석[†] · 지상철

성균관대학교 약학부
(2000년 11월 25일 접수)

Determination of Erosion Rate of the Biodegradable Polymer

Eun-Seok Park[†] and Sang-Cheol Chi

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea
(Received November 25, 2000)

ABSTRACT—A new method to evaluate erosion of biodegradable polymer, polyanhydrides, was developed. The polymer devices were prepared with the melt-casting method and weight loss was accurately measured after agitating the devices in buffers (pH 1-9), and removing the device at selected time intervals and freeze-drying the device. The erosion rate was estimated from the plot of the weight loss(%) of device as a function of time. The freeze-drying technique used in this study is particularly useful for estimating the erosion rate of biodegradable polymer.

Keywords—Erosion, Biodegradable polymer, Polyanhydrides, Freeze-drying

지난 수십년 동안 효율적인 약물 전달을 위하여 다양한 천연 또는 합성 중합체(polymer)들을 이용한 약물송달체 개발 연구가 활발히 진행되어 왔다.¹⁻³⁾ 특히 생분해성 고분자들은 체내에서 분해되어 소실되는 특징 때문에 이식제형을 포함한 다양한 약물송달체의 개발 연구에 응용되어 왔다.^{4,5)} 중합체의 부식 유형은 크게 전체부식(bulk erosion)과 표면부식(surface erosion)으로 나눌 수 있는데 표면부식 중합체를 이용한 약물송달체의 경우 중합체의 부식속도(erosion rate)가 봉입한 약물의 방출을 조절할 수 있는 중요한 인자가 된다. 폴리안히드로 공중합체((polyanhydride copolymer)가 이러한 표면부식의 특징을 나타내는 대표적인 중합체이다.

폴리안히드로 공중합체는 소수성 단량체 또는 중합체들이 불안정한 안히드로(anhydride) 결합을 하고 있으며 수분에 노출되었을 경우 안히드로 결합의 가수분해 속도가 수분이 내부로 침투되는 속도보다 빨라 표면에서만 부식이 발생하는 특징을 갖는다. 약 10년 전에 지방산 이량체와 세바신산으로 구성된 폴리안히드로 공중합체가 소개된 이후 이를 이용한 생분해성 이식제형 개발에 관한 연구가 꾸준히 진행되어 왔다.⁶⁻⁸⁾ 특히 생분해성 중합체로 제조한 이식제형은 사용 후에 제거할 필요가 없는 장점을 갖는데 그 지속적 사용

의 보장을 위해서는 약물 방출의 정확한 조절이 매우 중요하다. 또 이 공중합체는 단량체 또는 단일 중합체들이 소수성을 나타내고 표면부식의 물성 때문에 수분의 내부 유입이 억제될 수 있어 특히 수분에의 노출에 불안정한 펩타이드 및 단백질 약물의 송달체 개발에 매우 유용하게 사용할 수 있다.⁹⁾ 특히 단백질 약물의 경우 대부분의 약물송달체에서 약물의 불완전한 방출이 문제로 지적되고 있기 때문에 표면부식의 특성을 이용하여 약물의 물성에 관계없이 중합체의 분해 속도에 의해서만 봉입된 약물의 방출을 조절할 수 있는 약물송달체의 개발은 매우 매력적인 시도가 될 수 있을 것이다. 이 경우에도 중합체의 부식속도를 정확히 측정하는 것이 매우 중요하다.

생분해성 중합체의 부식속도 측정방법에는 동결건조법을 이용한 device의 중량 감소 측정, GPC를 이용한 공중합체의 분자량 측정, HPLC 등을 이용한 분해산물 정량, IR을 이용한 결합의 세기 측정 등의 다양한 방법이 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 이중 동결건조법은 중량감소를 직접 측정하는 방법으로서 쉽고 간편하며 morphological 특성을 확인할 수 있는 장점을 갖는다. 하지만 재현성 및 정확성 확보를 위해서는 미세한 중량 변화를 감지할 수 있는 수단과 잔존 수분의 완전한 제거를 위한 방법이 확보되어야 한다. 본 연구에서는 생분해성 중합체인 폴리안히드로 공중합체의 부식속도 측정에 동결건조법을 이용하고자 공정에 대한 validation을 시도하였다.

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 031)290-7715, E-mail : espark@yurim.skku.ac.kr

실험방법

시약

지방산 이량체(fatty acid dimer, 이하 FAD라 함)와 세바신산(sebacic acid, 이하 SA라 함), poly(FAD/SA 50/50)(이하 PFS라 함)는 Nova Pharmaceutical Corp. (Baltimore, MD, U.S.A.)로부터 제공받아 사용하였으며 그 외의 시약은 특급을 사용하였다. 증류수는 실험실에서 역삼투수를 정제하고 여과하여 사용하였다.

원판형 고분자 device의 제조

일정한 부피 및 표면적을 갖는 원판형 고분자 device는 melt-casting method를 이용하여 제조하였다. 먼저 중합체를 테프론 처리된 유리판에서 hot plate를 사용하여 63°C에서 녹인 후 이 용융된 고분자를 0.1 cm 두께의 틀로 둘러싼 후 다른 테프론 처리된 유리판으로 덮은 후 두 유리판을 압착하면서 온도를 자연 상태에서 실온으로 떨어뜨려 내부의 용융되었던 고분자를 고형화시키고 형성된 고분자 필름을 원형으로 잘라냈다. 각 batch의 device의 무게, 반경 및 두께를 마이크로메타를 사용하여 측정하였으며 이들의 평균값(±표준편차)은 각각 28.67(±0.22) mg, 0.41(±0.004) cm, 0.10(±0.003) (n=10)이었으며 device의 평균 부피 및 표면적은 각각 0.053 cm³ 및 1.314 cm²이었다.

원판형 고분자 device의 부식속도 측정

모든 실험은 실온(22~25°C)에서 pH 값이 각각 1, 3, 5, 7.4 및 9인 0.1 M 완충액에서 실행하였다. 먼저 그 무게를 사전에 정확하게 측정된 각각의 중합체 device를 완충액 5 ml 씩을 함유하고 있는 바이알에 넣고 진탕기를 이용하여 100 rpm으로 실험의 전 과정 동안 진탕하였다. Device는 정해진 시간 간격으로 바이알에서 제거하였으며 시료 채취 시 나머지 바이알의 완충액을 전량 새로운 완충액으로 교체하여 sink condition을 유지하였다. 바이알에서 꺼낸 중합체 device는 증류수로 행구어 표면에 흡착되어 있는 완충염들을 제거하고 동결건조한 후 그 무게를 측정하였다. 먼저 -50°C로 급속 냉동시킨 후 압력을 110 μmHg로 유지하며 2시간 동안 동결과정을 지속하였다. 2시간 후 압력을 유지한 채 냉동기의 작동을 중지시켜 실온까지 온도를 서서히 올려 일차 건조공정을 실행하고 건조를 가속화시키기 위하여 계속하여 30°C까지 온도를 올려 6시간 동안 2차 건조 공정을 수행하였다. 건조된 device의 무게를 측정하여 초기 무게에 대하여 상실한 중량을 시간의 함수로 나타내고 그 기울기를 구하여 각 pH 조건에서 device의 부식속도를 평가하였다.

동결건조 공정의 validation

중합체 device의 미세한 중량변화를 측정함으로써 그 부식속도를 평가하는 실험이기 때문에 device 표면에 흡착된 완충염들을 완전히 제거하는 것과 표면에 흡착된 또는 내부에 침투한 물을 device 또는 바이알에 대한 손상이 없이 완전히 제거하는 것이 무엇보다 중요하다. 이런 이유로 상기한 조건의 동결건조 공정이 device의 표면 또는 내부에 존재하는 물을 완전히 제거할 수 있는지에 대한 확인을 하였다. 미리 무게를 측정된 device 5개를 각각 증류수에 30초간 담근 후에 역시 미리 그 무게를 측정된 각각의 바이알에 넣고 상기의 조건으로 동결건조 시킨 후 건조된 device 및 전체(device + 바이알)의 무게를 측정하여 원래의 무게와 비교하였다. 이때 대조군으로서 미리 무게를 측정된 6개의 바이알에 0.5 ml씩의 증류수를 넣고 동일한 조건으로 동결건조하여 바이알 내의 물이 완전히 제거되었는지 여부와 바이알 무게의 변화를 관찰하였다. 각 실험은 3번씩 반복하여 수행하였다. 실험 결과 device와 바이알 무게의 변화 백분율은 모두 0.05% 이하를 나타내어 위 조건의 동결건조 공정이 바이알 또는 device에 대한 손상이 없이 첨가한 수분을 완전히 제거함을 알 수 있었다.

결과 및 고찰

Mettler H51AR 분석용 저울을 사용하여 원판형 폴리안히드로 device의 감소된 중량을 측정함으로써 중합체의 부식속

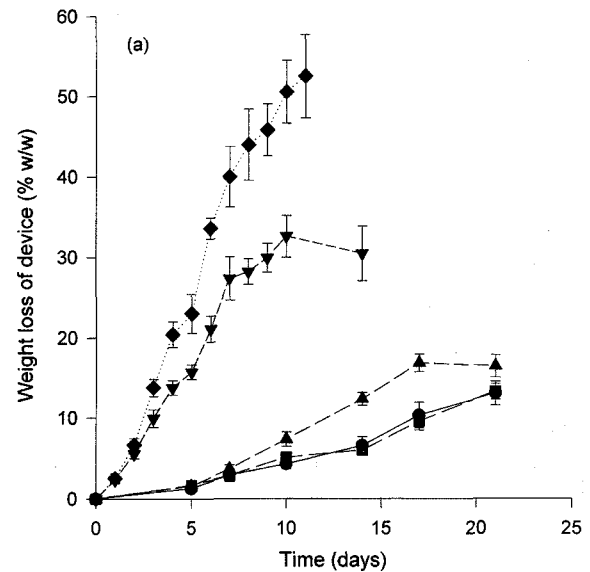


Figure 1—Erosion profiles of P(FAD/SA 50/50) devices at various pH conditions at room temperature. Each point represents Mean ± S.D. (n=3). Key: ●; pH 1, ■; pH 3, ▲; pH 5, ▼; pH 7.4, ◆; pH 9.

Table I—Erosion Rate Constants of Disk Shaped Poly-anhydride (P(FAD/SA 50/50)) Devices at Various pH Conditions at Room Temperature (n=3, Mean ± S.D.)

pH	Erosion Rate (%/day)
1	0.639 ± 0.08
3	0.617 ± 0.01
5	0.846 ± 0.05
7.4	3.517 ± 0.257
9	5.329 ± 0.067

도를 평가하였다. 각 pH 조건에서의 device의 중량 감소%를 시간에 대한 함수로 하여 Figure 1에 나타내었다. 이 플롯의 직선부분의 기울기로부터 각 pH 조건에서의 device의 부식속도를 계산하여 Table I에 나타내었다. pH 7.4 및 9에서 부식속도는 각각 3.517±0.257, 5.329±0.067%/day로서 pH 1~5에 비하여 각각 약 5.5배 및 8.3배 정도의 부식속도를 보여주었다. 이는 알칼리성 pH 조건에서 폴리안히드로의 가수분해 산물들인 diacid들이 이온 상태로 존재하기 때문에 산성 pH 조건에 비하여 더 빨리 분해가 된다는 사실과 일치하고 있다.^{3,13)} 3회의 실험 결과는 최고 10% 이하의 표준편차를 나타내 매우 뛰어난 재현성을 보여줌으로써 동결건조법을 이용한 원판형 폴리안히드로 device의 부식속도 측정법이 유의성이 있음을 보여주고 있다.

Domb과 Maniar,⁷⁾ Stephens 등⁵⁾은 PFS의 분해산물인 SA를 HPLC로 정량하여 PFS의 가수분해 속도를 구하였다. 하지만 이 방법은 정량되는 단량체의 비율이 공중합체의 부식을 비례적으로 나타낼 수 있어야 하는데 정량법의 감도, 용액의 sink condition 유지 여부, 공중합체 조각의 물리적 이탈 등의 상황에 따라 그 정확성에 문제가 있을 수 있다. 하지만 이러한 문제점은 동결건조법 역시 포함하고 있다.

즉, 본 실험에 사용한 공중합체인 PFS는 가수분해에 의하여 비교적 가용성인 SA가 유리되면 최종적으로 난용성 FAD만이 남아 잔존 무게를 나타내게 된다. 그러므로 SA의 용해도 관점에서 볼 때 sink condition 유지 여부에 따라 중합체의 부식속도가 감소될 수 있으며 또한 FAD의 SA에 대한 상대적인 용해도가 무시할 수 없을 정도로 클 경우 device의 중량 감소분을 보정없이 부식속도 평가에 직접 이용하는 것에는 그 정확성에 문제가 될 수 있다. 실제 pH 9에서 device의 부식비율은 이론적으로 최대값인 50%를 넘었으며 이는 SA 및 FAD의 상대적인 용해도에 더하여 진탕에 의해 발생하는 device의 물리적인 손실이 원인이 될 수가 있겠다. 또한 동결건조법도 재현성 및 정확성 확보를 위

해서는 미세한 중량 변화를 감지할 수 있는 수단을 확보해야 하고, 잔존 수분을 완전히 제거할 수 있어야 한다. 하지만 그 편리성과 단순성으로 인하여 그 자체로 또는 다른 방법들과 병용함으로써 중합체의 부식 속도 측정에 매우 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

- 1) J.Heller, Polymers for controlled parenteral delivery of peptides and proteins, *Adv. Drug Del. Rev.*, 163-204 (1993)
- 2) R.S. Langer and N.A. Peppas, Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems, *Biomaterials*, **2**, 201-214 (1981)
- 3) M. Chasin, A. Domb, E. Ron, E. Mathiowitz, R. Langer, K. Leong, C. Laurencin, H. Brem and S. Grossnab, Polyanhydrides as Drug Delivery Systems: In Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems, M. Chasin and R. Langer (Ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 43-70 (1990)
- 4) C. Shih, T. Higuchi and K.J. Himmelstein, Drug delivery from catalysed erodible polymeric matrices of poly(orthoester)s, *Biomaterials*, **5**, 237-240 (1984)
- 5) D. Stephens, L. Li, D. Robinson, S. Chen, H.-C. Chang, R.M. Liu, Y. Tian, E.J. Ginsburg, X. Gao and T. Stultz, Investigation of the in vitro release of gentamicin from a polyanhydride matrix, *J. Control. Rel.*, **63**, 305-317 (2000)
- 6) A. Domb, A. Shimon, J. Shah and M. Maniar, Degradable polymers for site specific drug delivery, *polym. Adv. Tech.*, **3**, 279-292 (1992)
- 7) A. Domb and M. Maniar, Absorbable biopolymers derived from dimer fatty acids, *J. Polymer Sci.*, **31**, 1275-1285 (1993)
- 8) E.-S. Park, M. Maniar and J. Shah, Water uptake in to polyanhydride devices: kinetics of uptake and effects of model compounds incorporated, and device geometry on water uptake, *J. Control. Rel.*, **40**, 55-65 (1996)
- 9) H.L. Jiang and K.J. Zhu, Pulsatile protein release from a laminated device comprising of polyanhydride and pH-sensitive complexes, *Int. J. Pharm.*, **194**, 51-60 (2000)
- 10) L. Shieh, J. Tamada, I. Chen, J. Pang, A Domb and R. Langer, Erosion of a new family of biodegradable polyanhydrides, *J. Biomed. Mater. Res.*, **28**(12) 1465-1475 (1993)
- 11) H. Akbari, A.D'Emanuele, D. Attwood, Effect of geometry on the erosion characteristics of polyanhydride matrices, *Int. J. Pharm.*, **160**, 83-89 (1998)
- 12) C.A. Santos, B.D. Freedman, K.J. Leach, D.L. Press, M. Scarpulla and E. Mathiowitz, Poly(fumaric-co-sebacic anhydride) A degradation study as evaluated by FTIR, DSC, GPC and X-ray diffraction, *J. Control. Rel.*, **60**, 11-22 (1999)
- 13) E.-S. Park and S.-C. Chi, Determination of the water uptake Rate into Biodegradable Polymer, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **25**(3), 223-226 (1995)