

## Poly $\beta$ -hydroxybutyric Acid를 이용한 약물방출 조절

나 재운·김종균·김선일  
조선대학교 공과대학 화학공학과

### Control of Drug Release by Poly $\beta$ -hydroxybutyric Acid

Jae Woon Na, Chong Kun Kim and Sun Il Kim  
Department of Chemical Engineering, Chosun University

#### ABSTRACT

Using PHB biopolymer as polymer matrix, the release mechanism of a model drug, silver sulfadiazine was studied. The release behavior actually conformed with the Higuchi's diffusion controlled model. The release rate was delayed with an increasing proportion of PHB, whereas decreased as glycerine concentration increased. The release rate was increased as the polymer matrix thickness increased.

#### 서 론

최근 생물공학의 발달과 함께 미생물 생체고분자 (biopolymer)에 대한 관심이 새로워지고 있다. 미생물이 생산하는 생체고분자는 생물분해성, 우수한 성능, 재생 가능한 기질의 사용, 그리고 구조의 다양성등의 장점을 갖고 있다.

생물분해성 고분자가 생명체내, 특히 인체의 조직내에서 분해되는 거동은 일반적인 결정성 고분자가 용해되는 현상과는 달리 수화, 장력상실, 물성상실, 물질상실 및 용해와 같은 4단계의 분해 과정을 거치게 된다(1). 생물분해성 고분자는 체내에서 아무런 해독이 없이 분해 흡수되고, 체내에 축적되지 않기때문에 체내에 사용되어, 의학의 전달체로도 각광받고 있다. 방출 조절성제형 개발에 있어서 이상적인 약물 투과기전은 약물의 투과속도가 장시간 일정하게 유지되는 것이다. 그러나 경피 흡수 제형에 있어서 약물 투과시 초기에 과량의 약물이 투과되고 이 이후로는 일정한 약물 투과속도를 나타내는 것이다(2, 3). 약물이 피부를 투과하는 초기과정에서 피부에 포화상태를 이룬 후, 혈관으로 들어감으로 약물이 초기 과량 방출현상이 필요하다. 그리고 그 이후에는

일정한 방출속도를 나타내어야 실제 혈관내로의 약물의 투과속도가 항상 일정히 유지될 수 있다(4).

본 실험에 drug carrier로 사용된 PHB(poly  $\beta$ -hydroxybutyric acid)는 의료용 재료로서 실용화 되고 있는 생물분해성 고분자로 D(-)- $\beta$ -hydroxybutyric acid를 구성 단위로 한 결정성 지방족 polyester의 일종이다. 자연 식물계에는 탄수화물이 대부분의 구성물로 되어있는 것처럼, 미생물계에는 PHB가 구성물로 되어 있으며, 1925년 Lemoigne(5)이 파리의 파스티르 연구소에서 세포로부터 처음 추출해 냈다. 이는 매우 다양한 세균들에 의하여 세포내에 합성하는 에너지 저장물질로서 식물에서의 starch나 glycogen과 같은 생물학적 기능을 가지며, 특히 원핵미생물(prokaryotes)에서만 발견되는 에너지 저장물질로 Gram양성 세균과 Gram음성 세균 모두에서 넓게 축적되는 것으로 알려졌다(6-8). 또한 에탄올(9), 메탄올(10) 및 이산화탄소(11) 등을 원료로 하여 박테리아에서 얻을 수 있으며, 최근에 와서 영국의 ICI사에서 박테리아를 이용하여 대규모의 발효공정으로 PHB를 얻게되었다(12).

본 연구에서는 경피 흡수 제형이 부착된 후 신속히 약물이 치료 유효 혈중 농도에 도달하며 또한 적절한

현충농도를 장기간 지속적으로 유지하는 이상적인 약물 투과기전을 고찰 하고자 생체 분해성 고분자 matrix를 제조하였다. 그리고 합성 고분자들과는 달리 독성이 없고 생물분해성이 있는 PHB를 기본 물질로 선택하였고, 약물로 사용된 silver sulfadiazine은 화상 치료제로서 새로운 경피 흡수 제형으로서의 개발 가능성이 있다고 사료되어 선정하였다. 제조된 고분자 matrix의 사용 가능성을 검토하기 위해 약물의 방출양식을 규명하고, 약물방출 기전에 영향을 미치는 몇가지 인자들에 관하여 연구 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 기기

본 연구에서 사용한 고분자 matrix의 재질은 생물분해성 고분자인 PHB(poly  $\beta$  hydroxybutyric acid)이고 방출 시험용 약물은 silver sulfadiazine이며 미국 Aldrich Chemical Co. 의 GR급 제품을 사용하였다. 또 방출 용매로는 sodium phosphate dibasic 12 hydrate로 조성된 pH 7.4 인산염 완충용액은 일본 Junsei Chemical Co. 의 제품을 사용하였다. 사용 기기로서 spectrophotometer(UV-210A)는 일본 Hitachi Co. 제품을, membrane filter(pore size  $0.2\mu\text{m}$ )는 Fisher Co. 제품등을 사용하였다.

### Polymer Matrix의 제조

고분자 matrix는 Gidwani(13)와 Keith(14)등의 방법을 주로 참고하여 다음과 같이 제조하였다. 즉, Table 1의 조성으로 만들어진 젤 형태의 혼합물을 전보(15)와 동일한 장치에 성형하여  $-10^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 냉동 시킨 후 상온에서 12시간동안 방치시켜 제조하였다. 이것을  $50^{\circ}\text{C}$

의 진공하에서 48시간동안 건조시켜 사용하기 전까지 황산 데시케이터에 보관하였다.

### 약물방출 속도 측정

제조된 고분자 matrix로부터의 약물방출 속도는 Fig. 1의 장치를 사용하여 다음과 같이 측정하였다. 용기에 pH 7.4 인산염 완충용액 1000ml를 사용하여 미리 온도를  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 로 조절한 다음 고분자 matrix편이 위를 향하도록

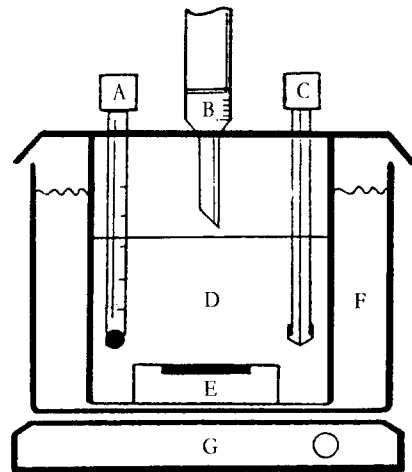


Fig. 1. Apparatus for the dissolution test. [A: digital thermometer, B: burette, C: injection, D: phosphate buffer solution (pH 7.4), E: acryltemplet / magnetic bar, F: water bath, G: stirring motor]

Table 1. Composition of polymer matrix forming solution(wt%)

TYPE	I					II			III	IV
	i	ii	iii	iv	v	vi	vii	viii	ix	x
POLY $\beta$ -HYDROXY BUTYRIC ACID	10	15	20			15			15	15
SILVER SULFADIAZINE		10				10			10	10
GLYCERINE		40		20	30	40	50	60	40	40
DIMETHYLSUL FOXIDE	40	35	30	55	45	35	25	15	35	35
POLYMER MATRIX THICKNESS(mm)		3.0				3.0			2.2	1.0

록 하여 용기 밑바닥에 잠기게 하였다. Boundary effect 를 제거하기 위하여 교반 속도는 150rpm을 유지하였으며 일정한 시간 마다 5ml의 sample 용액을 취하고 sink condition 을 유지하기 위하여 곧바로 같은 부피의 인산 염 완충용액을 첨가하였다. 채취된 시료는 membrane filter(pore size 0.2 $\mu$ m)를 통과시킨 후 UV spectrophotometer (322nm)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

**약물방출 양식**

고분자 matrix로부터의 약물방출량은 Higuchi(16)의 기전에 의하면 식(1)과 같이 시간의 제곱근에 비례하는 것으로 나타낼 수 있으며, 이때 방출속도상수K의 이론식은 식(2)와 같다(15).

$$Q=Kt^{1/2} \tag{1}$$

$$K=[D(2A-C) C]^{1/2} \tag{2}$$

Q=(시간 후에 고분자 matrix 단위 표면적당 방출된 약물의 량 (mg / cm<sup>2</sup>))

K=방출속도상수 (mg / cm<sup>2</sup> · sec<sup>1/2</sup>), t=시간 (sec)

D=고분자 matrix에서 약물의 확산 계수 (cm<sup>2</sup> / sec)

A=고분자 matrix의 단위 용적에 존재하는 약물의 량 (mg / cm<sup>3</sup>)

C=고분자 matrix에 대한 약물의 용해도 (mg / cm<sup>3</sup>)

**결과 및 고찰**

**PHB의 함유량을 변화시킨 약물방출 기전**

인산염 완충용액(pH 7.4)에서 고분자 matrix로부터의

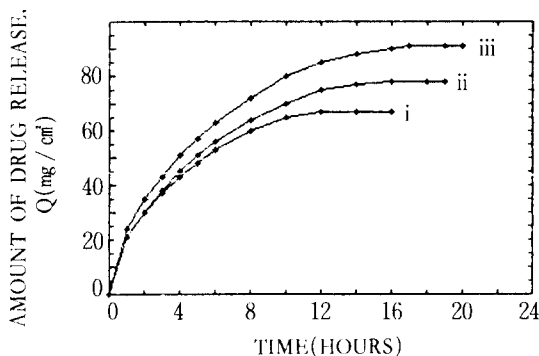


Fig. 2. Amount of drug release versus time for polymer matrix containing the different concentrations of poly  $\beta$ -hydroxybutyric acid. [ i : 10wt%, ii : 15wt%, iii : 20wt% ]

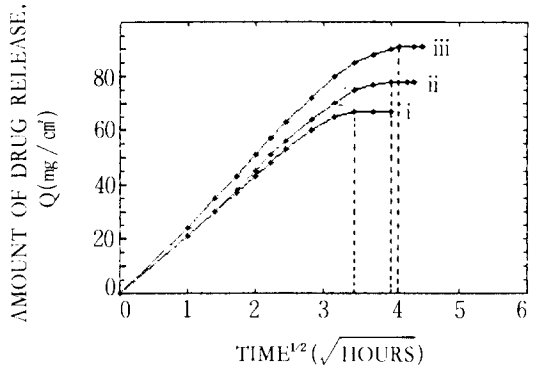


Fig. 3. Amount of drug release versus square root time for polymer matrix containing the different concentrations of poly  $\beta$ -hydroxybutyric acid. [ i : 10wt%, ii : 15wt%, iii : 20wt% ]

약물방출 현상을 고찰하였다(Type I). Fig. 2는 silver sulfadiazine을 10wt%로 하고 PHB의 량을 10wt%, 15wt% 및 20wt%로 증가시켰을 때의 누적 방출량을 시간에 대해 plot한 것이다. Fig. 3은 이를 다시 시간의 제곱근에 대해, 즉 Higuchi model에 따라 plot한 것이다. Fig. 2 및 3에서 보는 바와 같이 PHB의 함유량이 증가함에 따라 누적 방출량이 각각 12, 16 및 17시간으로 방출속도는 더 늦어졌다. 이 결과는 시간의 제곱근 t<sup>1/2</sup>과 방출된 약물의 량 Q를 plot하였을 때 양자간에 직선적 관계가 성립하여 고분자 matrix로부터의 약물방출 현상은 controlled release 형태로서 Higuchi model에 잘 일치하는 결과를 나타내었다.

**Glycerine의 함유량을 변화시킨 약물방출 기전**

가소제로서 글리세린 함유량을 20-60wt%로 변화시켰을 경우(Type II) 고분자 matrix로부터의 약물방출 거동을 나타낸 결과는 Fig. 4에서와 같이 글리세린 함유량의 증가에 따라 직선적 약물방출의 지속시간은 18, 17, 16, 12 및 10시간으로 감소하였다. 이러한 현상은 고분자 matrix내에서 글리세린의 역할은 1buricant(17, 18)로 작용하여, 형성된 matrix내에서 고분자 chain사이로 약물이 통과하는 것을 유연하게 해 주는 것으로 생각된다. 따라서 글리세린의 함유량을 변화시킴으로써 약물을 원하는 시간동안 지속적으로 방출시킬 수 있는 경피 흡수 제형을 목적에 따라 자유로이 설계할 수 있을 것으로 생각된다.

**Polymer Matrix의 두께변화에 따른 약물방출 기전**

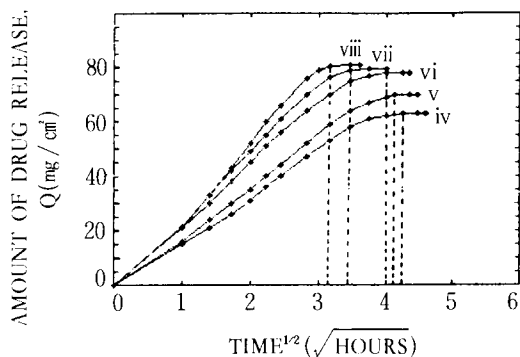


Fig. 4. Amount of drug release versus square root time for polymer matrix containing the different concentrations of glycerine. [iv: 20wt%, v: 30wt%, vi: 40wt%, vii: 50wt%, viii: 60wt%]

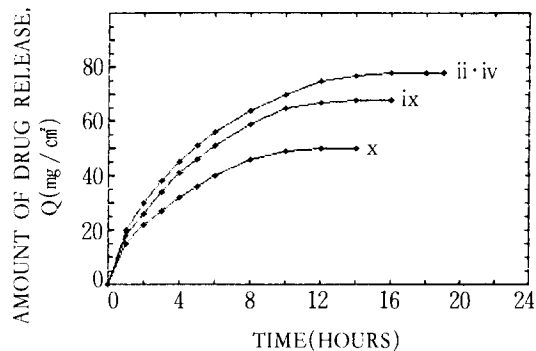


Fig. 5. Change of drug release amount according to the polymer matrix thickness. [ii·vi: 3.0mm, ix: 2.2mm, x: 1.0mm]

Fig. 5은 silver sulfadiazine과 PHB의 함유량을 각각 10wt%와 15wt%로 하고 matrix의 두께를 3.0mm, 2.2mm 및 1.0mm으로 변화시켰을 경우 고분자 matrix로부터의 약물방출 거동을 나타낸 것이다(Type III, IV). 그 결과 고분자 matrix의 두께가 증가함에 따라 약물의 방출 속도 변화도 12, 14 및 16시간으로 길어져 조절 방출형에서 요구하는 sustained release pattern을 나타내었다. 따라서 고분자 matrix의 두께비의 변화로써 실제로 인체에 적용하였을 때 신속히 약물이 치료 유효 혈중 농도에 도달할 수 있고 급속한 약물의 방출 속도 변화를 줄이면서 경피

흡수 제형으로서의 개발 가능성을 보였다.

#### 방출속도상수 K값과 Polymer Matrix 변수와의 상관관계 검토

고분자 matrix내에서 PHB의 함유량, 가소제의 함유량 및 matrix의 두께비를 변화시켰을 때의 방출속도상수 K값과의 상관관계를 검토하고자 컴퓨터 프로그램을 이용하여 누적방출량 대 시간의 제곱근에 대한 그래프의 기울기로부터 방출속도상수 K값을 산출하여 Table 2에 나타내었다. PHB의 함유량(Type I)과 가소제 함유량(Type II)이 증가함에 따라 방출속도상수 K값은 증가하였다. 또한 상관계수를 보면 0.992~1.000으로서 매우

Table 2. Release rate constant(k) and correlation coefficient(r) for the polymer matrix

CONTENTS	TYPE		RELEASE RATE		
			CONSTANT, K (mg / cm <sup>2</sup> · sec <sup>1/2</sup> )	CORRELATION COEFFICIENT, r	
POLY β-HYDROXY BUTYRIC ACID (wt%)	I	i	10	20.0972	0.9961
		ii	15	20.5771	0.9924
		iii	20	22.7598	0.9923
		iv	20	15.9798	0.9946
		v	30	17.8415	0.9969
GLYCERINE (wt%)	II	vi	40	20.5771	0.9924
		vii	50	22.8356	0.9911
		viii	60	25.7947	0.9913
POLYMER MATRIX THICKNESS(mm)	ii,vi	3.0	20.5771	0.9924	
	III,IV	ix	2.2	19.5647	0.9926
	x	1.0	15.2900	0.9947	

높은 값을 나타내었다. 이로부터 약물방출기전은 Higuchi model에 따른 확산식에 근접함을 알 수 있었다. 그리고 고분자 matrix의 두께의 비가 증가함에 따라 방출속도상수 K값도 증가하였고, 이의 상관계수도 0.992~0.995로 역시 높은 값을 보였다.

## 요 약

생물고분자인 PHB로 고분자 matrix를 제조하여 대상 약물인 silver sulfadiazine의 방출기전을 연구하였다. 고분자 matrix내의 PHB의 함유량 증가와 matrix의 두께비가 증가할수록 방출속도는 늦어졌다. 그러나 가소제량이 증가함에 따라 방출기전은 각각 18, 17, 16, 12 및 10 시간으로 감소하였다. 이 제형의 약물방출기전은 Higuchi model에 따른 확산으로 생각되었다. 결론적으로 PHB의 함유량과 가소제의 함유량 및 matrix 두께의 상관관계를 조절함으로써 특정한 약물의 방출기전을 얻을 수 있는 matrix형태의 개발 가능성을 보였다.

## 참 고 문 헌

1. R. L. Kronenthal(1974), *Polymers in Medicine and Surgery, in Polymer Science and Technology*, Vol. 8, Plenum Press, New York.
2. R. S. Langer and D. L. Wise(1984), *Medical Applications of Controlled Release*, Vol. II, 2-12, CRC Press, Florida.
3. Y. R. Byun, S. Y. Jeong and Y. H. Kim(1989), *Polymer (Korea)*, **13**, 574
4. D. T. Lowenthal et al(1986), *American Heart J.*, **112**, 893
5. M. Lemoigne(1925), *Ann. Inst. Past.*, **39**, 144
6. E. A. Dawes and P. J. Senior(1973), *Adv. Microbiol. Physiol.*, **10**, 203
7. A. C. Emeruwa and R. Z. Hawirko(1973), *J. Bacteriol.*, **116**, 989
8. A. C. Ward, B. I. Rowley and E. A. Dawes(1977), *J. Gen. Microbiol.*, **10**, 61
9. I. J. Taylor and C. Anthony(1976), *J. Gen Microbiol.*, **95**, 134
10. G. Braunegg, B. Slinnleitner and R. M. Lafferty(1978), *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **6**, 29
11. H. G. Schlegel, G. Gottschalk and R. Bartha(1961), *Nature, London*, **191**, 463
12. E. R. Wowells(1983), *Chemistry in Britan*, Oct., 808
13. R. N. Gidwani(1972), *J. Pharm. Sic.*, **61**, 985
14. A. D. Keith(1981), *Polymeric Diffusion Matrix, Method of its Preparation and Drug Delivery Device Comprising said Matrix*, Europ. Pat. No. O, 013, 606
15. J. W. Na, W. S. Cha and S. I. Kim(1991), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **5**, 377
16. T. Higuchi(1961), *J. Pharm. Sci.*, **50**, 874
17. A. Martin and J. Swarbrick(1984), *Physical Pharmacy*, Chap. 22, 29, Lea and Febiger, Philadelphia.
18. C. K. Kim and E. S. Jo(1987), *Yakhak Hoeji*, **31**, 25.

(Received; March 22, 1991, Accepted; April 30, 1991)