

아미노산 공중합체/난용성 약물 나노입자의 제조: 고분자 특성 및 가공변수

유지연 · 이수정** · 안철희** · 최지연* · 이종휘†

중앙대학교 공과대학 화학신소재공학부

*세종대학교 공과대학 나노공학과, **서울대학교 공과대학 재료공학부

(2005년 4월 4일 접수, 2005년 8월 24일 채택)

Preparation of Amino Acid Copolymers/Water-insoluble Drug Nanoparticles: Polymer Properties and Processing Variables

Ji Youn Yoo, Soo-Jeong Lee**, Cheol-Hee Ahn**, Ji-Yeun Choi*, and Jonghwi Lee†

Department of Chemical Engineering Materials Science, Chung-Ang University,

221 Heukseok-Dong, Dongjak-Gu, Seoul 156-756, Korea

*Department of Nano Science and Technology, Sejong University,

98 Gunja-Dong, Gwangjin-Gu, Seoul 143-747, Korea

**School of Materials Science and Engineering, Seoul National University,

San 56-1, Sillim-Dong, Gwanak-Gu, Seoul 151-742, Korea

(Received April 4, 2005; accepted August 24, 2005)

초록 : 입자크기 감소에 의한 약물의 표면적 증가는 불용성 약물의 생체이용률 즉, 약물의 흡수량과 속도를 향상시켜 주는 효과적인 방법으로 알려져 있다. 그 동안 약물 나노제제 공정 동안 약물 나노입자가 응집되는 것을 방지하기 위한 안정제 또는 분산제로서 한정된 수의 부형제만 사용되어 공정의 개선에 제약이 되었다. 본 연구에서는 *N*-카복시안 하이드라이드 단량체의 개환 중합으로 합성한 소수성과 친수성을 가진 아미노산 공중합체가 불용성 약물인 나프록센 나노입자를 안정화시키기 위한 새로운 물질로서 사용되었다. 합성된 아미노산 공중합체로 안정화된 나프록센 나노입자는 60분간 습식 분쇄 공정에 의해 200~500 nm의 크기로 제조되었고, 공중합체의 소수성 부분이 적어도 10 mol% 이상이어야 효과적인 크기 감소를 볼 수 있으며, 공중합체의 모폴로지와 분자량은 입자 크기 감소를 결정하는 중요 요소가 아니었다. 또한 제조된 약물 나노입자 크기는 눈에 띄는 응집없이 14일까지 안정한 것을 알 수 있었다.

Abstract: An increase in the surface area of drugs by reducing particle sizes from microns to nanometers has been known as an efficient method to improve the bioavailability of water-insoluble drugs. To prevent drug nanoparticles from aggregation during the processes of drug formulation, a limited number of pharmaceutical inactive ingredients such as hydroxypropyl cellulose has been employed as stabilizers or dispersants. In this study, copolymers of hydrophilic and hydrophobic amino acids were synthesized by the ring opening polymerization of their *N*-carboxyanhydride monomers and evaluated as novel candidates to stabilize the nanoparticles of a water insoluble drug, naproxen. Naproxen nanoparticles stabilized by synthesized amino acid copolymers were successfully prepared in the size of 200 ~ 500 nm in 60 min by a wet comminution process. Particle size analysis showed that the effective stabilization performance of copolymers required the hydrophobic moiety content to be higher than 10 mol%. However, the molecular weight and morphology of copolymers was not the critical parameters in determining the particle size reduction. Their particle size was found to be stable up to 14 days without significant aggregation.

Keywords: amino acid copolymers, water-insoluble drug, nanoparticles, particle size, drug delivery.

1. 서론

약물의 입자 크기 감소는 다양한 복용 형태의 새로운 제제 기회를 열었다. 특히 낮은 용해도로 인해 제한되는 난용성 약물의 생체 이용률은^{1,2} 나노 제제 기술의 발달로 향상된다. 마이크로 크기에서 나노미터의 입자 크기 감소는 용해도를 급격히 증가시키는데, 이는 전형적인 Noyes-Whitney 식으로부터 계산될 수 있다.¹

따라서 지난 수 십 년간 약물 결정입자를 나노크기로 감소시키는 기술이 많은 진전이 있었다. 나노입자 제조를 위해 이미 일부 이용되고 있는 기술들로는 분쇄, 고압 혼합 및 초음파 유체 공정 등이 있다.^{1,9} 이들 제조공정들에서는 대부분 안정화 과정과 동시에 나노입자화가 진행된다. 물에서의 나노입자 제조시에 약물 표면 위에 흡착하여 입자의 표면 안정 효과를 일으키는 고분자 안정화제를 주로 사용한다. 적당한 제조 시간 내에 성공적으로 입자 안정화를 이루기 위해서는 강하고 빠른 흡착과 긴 탈착 시간이 필요한데, 고분자 안정화제가 습식 분쇄 공정에 사용될 때, 나노입자가 얻어지는 메커

†To whom correspondence should be addressed. E-mail: jong@cau.ac.kr

니즘은 그리 단순하지 않다. 고분자의 확산, 흡착, 탈착과 용해가 모두 결정의 기계적 파쇄와 함께 동시에 일어날 수 있다.^{10,12} 따라서 결정 표면의 물리화학적 성질과 고분자의 용액내의 특성이 고분자 사슬의 확산, 흡착, 탈착과 입자 사이 반발 등을 결정하는데 중요하다.

현재 이용 가능한 약물전달 형태들을 습식 나노입자 가공에 적용하기 위해 사용될 수 있는 다양한 기술들이 있는데, 이 기술들과 약물전달 형태들의 차이는 각각 다른 특성을 가진 고분자 안정화제를 필요로 한다. 고분자의 특성에 따라 약물 결정 표면의 특성이 달라지는데, 나노입자 가공에 이용할 수 있는 고분자의 종류가 제한되어 있기 때문에, 고분자의 물리적 성질을 특정 제제에 적절하게 조절하는 것은 쉬운 일이 아니다. 그러므로 특정 약물에 적합한 고분자 안정화제를 찾는 것은 매우 어려우면서도 약물의 성공적인 나노제제를 위해서 중요하다.

이런 나노입자 가공의 한계점을 해결하기 위한 방법으로 새로운 고분자 안정화제를 개발하는 것이 효과적이는데, 생체적합성과 다양성을 고려했을 때, 아미노산 공중합체는 우수한 후보물질이다. 우선 20종 이상의 아미노산의 종류와 그 조성에 따라 특정 제제에 적합한 공중합체의 물리화학적 성질을 쉽게 조절할 수 있다. 다양한 정도의 소수성을 가진 아미노산을 사용하여 얻어진 공중합체의 전체적인 소수성 및 친수성의 비율과 소수성 각 부분의 구조 변화에 관하여도 다양한 조절이 가능하다.^{13,22} 본 연구에서는, L-라이신(K), 폴리에틸렌글리콜(PEG), L-페닐알라닌(F) 및 L-류신(L)을 기초로 한 랜덤 공중합체와 블록 공중합체를 고리 개환 중합을 통해 제조하고, 나노입자 제조에 사용되었다.^{23,27} 나노입자 제조 공정에서 공중합체의 모폴로지와 조성의 효과, 그리고 두 아미노산 F, L의 소수성 효과를 연구하였다. 아울러 가공 변수에 따른 입자크기 감소 효과를 연구하였다. 나프록센은 난용성 약물 모델로 선택되었으며, 공중합체 수용액에서 습식 분쇄하는데 사용되었다.

2. 실험

2.1 시약

트리포스젠(98.0%), *n*-헥실아민(99.0%), 수소화 브롬(30 wt% 초산 용액)은 Aldrich Chem Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. *N*^ε-카르벤질록시-L-라이신(*N*^ε-CBZ-L-lys)은 Bachem AG(Bubendorf, Switzerland)에서 구입하였다. F와 L은 TCI America(New York, USA)에서 구입하였다. 디에틸아민(98.0%)은 Yakuri Pure Chemical Co.(Japan)에서 얻었으며 *N,N'*-디메틸포름아마이드(DMF, 99.5%)은 Junsei(Tokyo, Japan)에서 얻었다. 테트라하이드로퓨란(THF, 99.0%), *n*-헥산(95%)과 디에틸에테르(97.0%)는 Daejung Chemicals and Metals Co.(Shiheung, Gyeonggi, South Korea)에서 구입하였다. THF, *n*-헥산과 디에틸에테르는 Na로 환류시켰고 사용 전에 새롭게 증류시켰다. 디에틸아민과 *n*-헥실아민은 CaH₂로 증류시켰으며 분자 체 위에 저장하였다. 모든 다른 화학물질은 표준으로 사용하였다.

습식 분쇄의 모델 약물로서 Merck & Co., Inc.(NJ, USA)에서 생산된 나프록센을 사용하였고, 폴리스티렌비드(Performance Ceramics, 500 μm diameter)와 HPLC급 물은 정제없이 사용되었다.

2.2 아미노산 *N*^ε-카복시아나이드라이드(NCAs)의 합성

N^ε-CBZ-L-lys, F, L은 전에 보고됐던 것과 같이 NCAs로 전환되었다. α-아미노산 NCAs의 고리 개환 중합은 폴리펩티드 합성을 위한 빠르고 효과적인 방법이다.^{21,23} 기본 물질이 K인 폴리아미노산 공중

합체는 아미노산과 트리포스젠을 사용한 아미노산 NCA를 통해 고리 개환 중합에 의해 합성되었다.^{24,25}

N^ε-CBZ-L-lys, F, L은 무수물 THF(10 wt%)로 현탁시켰고 반응온도는 55 °C까지 증가시켰다. 무수물 THF에 용해된 트리포스젠의 반응 혼합물은 한 방울씩 첨가되었고 반응이 시작되어 현탁 혼합물이 형성되었을 때 투명한 용액이 되었다. 고리 형성을 확인하기 위해서, 반응 혼합물은 추가적으로 1시간 동안 강하게 교반시켰다. 반응 혼합물은 응축시켰으며 아미노산 NCAs를 침전시키기 위해 무수물 *n*-헥산 10배 초과량을 부었다. 아미노산 NCAs는 여과하여 48시간 동안 진공 건조시켰으며 ¹H NMR로 특성화시켰다. 그 chemical shift는 다음과 같다. *N*^ε-CBZ-L-lysine NCA(DMSO-*d*₆): δ 7.34(m, 5H, ArH in CBZ), δ 5.03(s, 2H, ArCH₂O), δ 4.40(t, 1H, α-CH), δ 2.99(m, 2H, ε-CH₂), δ 1.77-1.62(m, 2H, β-CH₂), δ 1.43-1.15(m, 4H, -CH₂). L-phenylalanine NCA(DMSO-*d*₆): δ 7.30(m, 5H, ArH), δ 4.79(t, 1H, α-CH), δ 3.04(d, 2H, ArCH₂CH). L-leucine NCA(DMSO-*d*₆): δ 4.45(t, 1H, α-CH), δ 1.74(m, 2H, CHCH₂CH), δ 1.57 (m, 1H, CH₂CH(CH₃)₂), δ 0.89 (t, 6H, CH(CH₃)₂).

2.3 아미노산 공중합체의 합성

적당량의 아미노산 NCAs를 100 mL 2구 둥근바닥 플라스크에 넣고 질소 기체 하에 무수물 DMF(10 wt%)로 용해시켰다.²⁵ 이전에 고리 개환 중합을 시작하기 위해 무수물 DMF에 희석시켜 새롭게 증류한 *n*-헥실아민이 용액에 첨가되었다. K와 L 공중합의 경우에, 디에틸아민이 ¹H NMR로 공중합체의 분자량 측정을 위한 개시제로 사용되었다.

NCAs가 모두 소모되도록 실내온도에서 72시간 동안 중합하였고 그 결과로 얻어진 약간의 점성용액은 20배 초과량 물에 침전 후 여과하여 진공 건조시켰다. 탈보호 전에 공중합체의 분자량은 ¹H NMR로 측정되었다. 공중합체의 보호기(L-lysine 겔 사슬 내 CBZ기)는 HBr을 사용해서 제거하였다. 탈보호 반응 종료 후, 이산화탄소의 방출과 함께 공중합체는 침전되었다. 30분 후, 10배 초과량의 무수물 디에틸에테르를 반응 혼합물에 첨가하여 여과한 후 디에틸에테르로 세척했다. 건조 후, 탈이온화수에 재용해시킨 합성체는 투석막(MWCO = 500)으로 2일 동안 탈이온수로 투석하였다. 아미노산 공중합체는 3일 동안 동결 건조하였다. 공단분자의 조성과 중합도는 ¹H NMR로 측정하였다.

2.4 습식 분쇄

나프록센 입자는 1.3 mL 병에 물, 고분자 안정화제(1.33 wt%)와 폴리스티렌비드(500 μm, 0.354 g)를 실내온도에서 4800 rpm 고속 교반으로 혼합하여 나노현탁물을 생성시켰다. Slurry (API + 중합 안정화제 + 물)의 양은 3.75 g, 수분 내 나프록센 농도는 8 wt%이었고 고분자 안정화제 농도는 1.33 wt%이며 분쇄 시간은 60분이었다.

2.5 분쇄 후 분석

입자 크기 분포는 ELS-8000(Otsuka Electronics Co., Osaka, Japan)인 전기영동 광산란기를 사용하여 수성 조건에서 측정하였다. 입자 크기 분석시 사용된 초음파 분산기의 분해 전력은 70 W(39 kHz)이다. 약물의 결정도를 확인하기 위하여 사용한 시차 주사 열량계(DSC)로는 Perkin Elmer DSC-7(Perkin Elmer Co., MA, USA)을 사용하였으며, 측정은 질소 기체 하에 이루어졌다. 분석에 사용된 고체 분말의 샘플은 Micro 17k Centrifuge(한일과학산업, 인천, 서울)를 사용해 1시간 동안 17000 rpm에서 원심 분리하여 제조하였다. 샘플은 1분당 5 °C의 승온 속도로 50 에서 200 °C까지 온도를 증가시키며 측정하

였고, 1차 승은 측정은 나노결정의 녹는점과 용해열을 측정하기 위해 기록되었다.

약물 나노입자의 모폴로지를 관측하기 위해, 주사 전자 현미경(SEM, S-4700, HITACHI Ltd., Tokyo, Japan)을 사용하여 건조된 약물 입자의 표면을 조사하였다.

3. 결과 및 토론

3.1 아미노산 공중합체의 제조

아미노산은 블록과 랜덤 공중합체로 공중합되었다(Figure 1). 그들의 명칭과 기본성질은 Table 1에 나타내었다. K와 F, K와 L 랜덤 공중합체는 K-r-F, K-r-L로 각각 명칭하였다. 블록 공중합체 경우에는 K-b-F의 문자 'b'를 'r' 대신 사용해서 표기하였다.

공중합체의 분자량, 중합도(DP)와 조성은 ^1H NMR로 측정하였다. 개시제의 초기 농도와 NCA 단분자의 초기 농도비로 조절된 중합도는 반복단위에서 아미노산의 피크에 대한 개시제의 특정 피크의 적분비를 기초로 계산했다. *N*-헥실아민(DMSO- D_6)으로 시작된 중합의 경우, 0.83 ppm(t, 3H, $-\text{RNCH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$)에서의 개시제 피크를 CBZ 보호기를 가진 K side기는 4.99 ppm(s, 2H, ArCH_2O), F는 7.17 ppm(m, 5H, ArH)에서의 피크와 비교하였다. 디에틸아민으로 시작된 중합(DMSO- D_6)의 경우, 1.11 ppm(s, 6H, $-\text{RN}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$)에서의 피크를 4.99 ppm에서 K 피크(s, 2H, ArCH_2O), 0.80-0.90 ppm에서의 L 피크(m, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$)와 비교하였다. 그 결과를 Table 1에 요약했다. *N*-헥실아민으로 시작한 중합에서, DP는 초기 개시제에 대한 초기 단분자의 비와 거의 같다. 그러나, 디에틸아민으로 시작한 공중합체의 DP는 이전에 보고된 것과 같은 경향으로 초기 농도비로 예상된 것보다 두

Table 1. Designations and Properties of Amino Acid Copolymers

Designations of amino acid copolymers	Morphology (Random or Block Copolymer)	K content (mol%)	Molecular weight (Mw) (g/mole)	Degree of polymerization (DP)
K-r-F-1	Random	100	4800	28
K-r-F-2	Random	100	8400	66
K-r-F-3	Random	93	23500	182
K-r-F-4	Random	88	13300	102
K-r-F-5	Random	84	12600	96
K-r-F-6	Random	83	26800	204
K-r-F-7	Random	81	10100	77
K-r-F-8	Random	77	6300	48
K-r-F-9	Random	73	13300	100
K-r-F-10	Random	68	14000	105
K-r-F-11	Random	60	15200	112
K-r-F-12	Random	60	17500	129
K-r-F-13	Random	50	14700	107
K-b-F-1	Block	66	7500(4700~2800)	37~19
K-b-F-2	Block	64	9800(6000~3800)	47~26
K-b-F-3	Block	62	25200(14500~10700)	113~73
K-b-F-4	Block	60	4800(2700~2100)	21~14
K-b-F-5	Block	58	18000(9900~8100)	77~55
K-b-L-1	Block	67	8800(5900~2900)	-
K-b-L-2	Block	69	10700(7400~3300)	-
PEG-b-F-1	Block	59	8500(5000~3500)	113~21
PEG-b-F-2	Block	53	9400(5000~4400)	113~32
PEG-b-L-1	Block	59	8500(5000~3500)	113~27
PEG-b-L-2	Block	56	9900(5000~4900)	113~45

배 더 높았다.²⁵ 공중합체의 아미노산 조성은 아미노산 NCAs의 초기 농도비로 조절되었다.

3.2 다양한 아미노산

분쇄 자체의 기계적 파쇄 에너지는 나노입자의 표면 에너지를 상쇄할 수 없기 때문에 안정한 나노입자를 생성할 수 없다. 그러나 고분자 안정화제 존재 하의 약물의 습식 분쇄는 효과적인 크기 감소 효과를 볼 수 있다.¹⁹ 그것은 고분자 안정화제가 상대적으로 소수성 부분을 가지고 있기 때문에 소수성 약물 표면에 흡착하는 성질과 관련이 있다. 흡착되어 고정된 고분자 사슬은 고분자 특성에 의해 입체 또는 이온 안정화가 가능하다. 고분자가 흡착하지 않으면 안정화 효과는 기대하기 어렵고, 나노입자 또한 습식 분쇄로 얻어지지 않는다.

사용된 공중합체의 친수성 부분은 K와 PEG 부분이다. 이러한 친수성 때문에, 그 부분은 소수성 약물 대신 물을 향해 위치하려는 경향이 있다. 이는 약물 나노입자에 대한 효과적인 입체 안정화와 이온 안정화를 제공할 수 있을 것이다. K와 PEG가 공중합체의 친수성 부분으로 사용되었을 때, F와 L 두 아미노산은 소수성 부분으로 작용한다. 각 아미노산의 소수성 정도가 다르기 때문에, 다른 아미노산을 사용하면 결과물인 아미노산 공중합체가 다른 소수성을 가지게 된다. 친수성 부분의 함량, 고분자 모폴로지 등과 같은 모든 다른 인자가 같다면, 합성한 공중합체의 소수성은 K-r-F가 K-r-L보다 크다. 대체로 소수성 부분의 양이 증가할수록 공중합체의 흡착이 강화된다고 예상된다.

공중합체의 모폴로지 즉, 고분자 사슬을 따라 소수성 부분의 분포 또한 매우 중요한 인자일 수 있다. 모폴로지 효과를 확인하기 위해, 소수성 아미노산의 물분율이 같은 블록과 랜덤 공중합체들을 비교

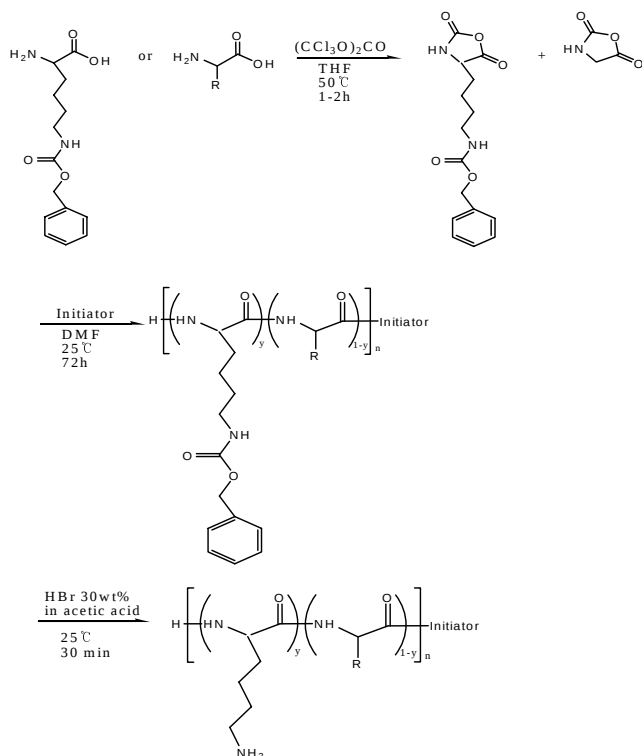


Figure 1. Reaction schemes of amino acid copolymers.

했다(Tables 2 및 3). 랜덤 공중합체 경우에서 소수성 아미노산 함유량이 10 mol% 이상(K 함량 90 mol% 이하)일 때 평균 입자 크기는 400 nm 이하로 감소된다는 것을 알 수 있다(Table 2). 소수성 부분이 10 mol% 이하에서는 500~1000 nm의 넓은 입자 범위에 이르는 반면 10 mol% 이상의 증가에서는 눈에 띄는 평균 입자 크기 변화는 관찰되지 않았다. 공중합체 사슬을 약물 입자 표면에 붙이는데 필요한 소수성 부분의 함량은 10 mol% 정도가 충분하며 이는 안정한 물리적 흡착을 가능케 하는 것으로 파악된다.

랜덤 공중합체는 소수성 아미노산이 불규칙하게 분포되어 있지만, 블록 공중합체에서는 한쪽 부분에 위치해 있다. 이것은 소수성 약물 입자 표면에 고분자 사슬의 다중 부착이 블록 공중합체보다 랜덤 공중합체의 경우가 더 쉽다는 것을 뜻하는데, Tables 2 및 3에서의 평균 입자 크기는 흡착된 공중합체 사슬 배열에 따른 효과를 보이지는 않는다. 즉 공중합체의 모폴로지는 입자 크기 감소 조절에 결정적인 인자는 아닌 것으로 추측된다.

Table 2는 아미노산 공중합체의 분자량 효과를 보여주는데 분자량은 입자 크기 감소에 그리 큰 영향을 끼치지 않는다는 것을 알 수 있다. 많은 경우 입체 장애에 의한 척력은 고분자 사슬의 길이에 의존하는 것으로 알려져 있다. Table 3은 고분자 종류에 따른 입자 크기 변화를 보여준다. K-b-F와 PEG-b-F의 경우 같은 물분율을 가진

아미노산 공중합체를 비교했을 때 입자 크기는 대체적으로 PEG 계열보다는 K 계열 고분자가 더 좋은 안정제 역할을 하는 것을 알 수 있다.

3.3 가공 변수 효과

Figure 2는 습식 분쇄 시간의 효과를 보여준다. 분쇄 시간이 길어질수록 평균 입자 크기가 감소함을 알 수 있는데, 입자 크기는 한 시간 안에 안정된 값에 도달하는 것으로 파악된다. 이것은 약물입자의 크기를 수백 나노미터로 줄이는 기계적 파쇄와 입자 주위의 공중합체가 생성된 소수성 표면을 안정화시키는 것이 이 정도의 공정시간 내에 충분히 일어날 수 있다는 것을 의미한다. 특히 고분자 확산과 흡착을 통한 입자의 안정화가 60분 내에 일어날 수 있는 것으로 보인다. 이것은 하이드록시프로필 셀룰로오스(HPC)와 같은 일반 셀룰로오스계 고분자의 경향과 유사하다.⁹ 셀룰로오스계 고분자는 상대적으로 높은 점성때문에 가공의 어려움이 흔히 생기는데, 본 실험에서 사용한 상대적으로 분자량이 낮은 아미노산 공중합체를 사용하면 이런 어려움이 없을 것으로 예상되어 나노입자 제조를 위한 안정제로서 우위에 있다고 판단된다.

Figure 3은 60분 가공 후의 평균입도에 대한 아미노산 공중합체의 농도 효과를 보여준다. 블록 공중합체나 랜덤 공중합체의 농도가 높아질수록 입자 크기가 보다 더 감소하는 것을 알 수 있다. 그러나, 지나치게 높은 농도는 점도의 향상을 일으켜 가공성의 저하를 가져올 수 있다.

3.4 습식 분쇄 후 입자분석

아미노산 공중합체 존재 하에 제조된 나노입자의 SEM 사진을

Table 2. The Effect of Molecular Weights of Random Copolymers on Mean Particle Size

Amino Acid copolymers	K Content (mol%)	M_w (g/mole)	Mean particle size (nm)
K-r-F-1	100	4800	856
K-r-F-2	100	8400	583
K-r-F-3	93	23500	423
K-r-F-4	88	13300	256
K-r-F-5	84	12600	178
K-r-F-6	83	26800	282
K-r-F-7	81	10100	319
K-r-F-8	77	6300	280
K-r-F-9	72	16700	294
K-r-F-10	68	14000	254
K-r-F-11	60	15200	170
K-r-F-12	60	17500	327
K-r-F-13	50	14700	120

Table 3. Various Different Block Copolymers Produces Differences in Mean Particle Size

Amino acid Copolymers	K Content (mol%)	M_w (g/mole)	Mean particle size(nm)
K-b-F-1	66	7500 (4700~2800)	856
K-b-F-2	64	9800 (6000~3800)	160
K-b-F-3	62	25200 (14500~10700)	583
K-b-F-4	60	4800 (2700~2100)	423
K-b-F-5	58	18000 (9900~8100)	241
K-b-L-1	67	8800 (5900~2900)	258
K-b-L-2	69	10700 (7400~3300)	272
PEG-b-F-1	59	8500 (5000~3500)	> 10 μ m
PEG-b-F-2	53	9400 (5000~4400)	> 1 μ m
PEG-b-L-1	59	8500 (5000~3500)	> 10 μ m
PEG-b-L-2	56	9900 (5000~4900)	> 10 μ m

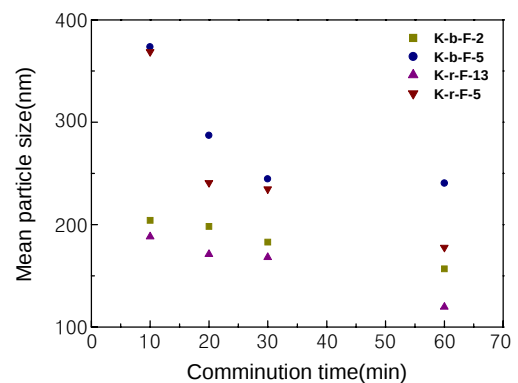


Figure 2. Effect of comminution time on mean particle size.

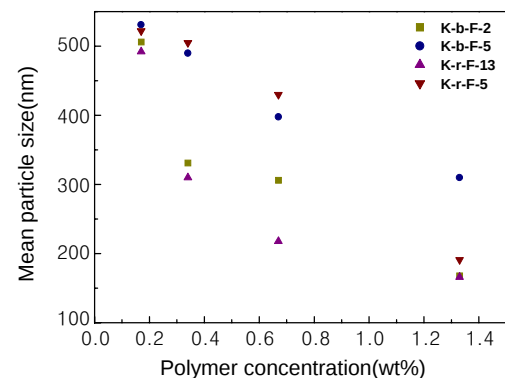


Figure 3. Effect of polymer concentration on mean particle size.

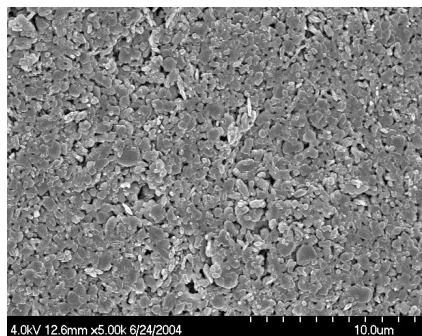


Figure 4. SEM micrograph of drug nanoparticles prepared with using an amino acid copolymer (K-r-F-9).

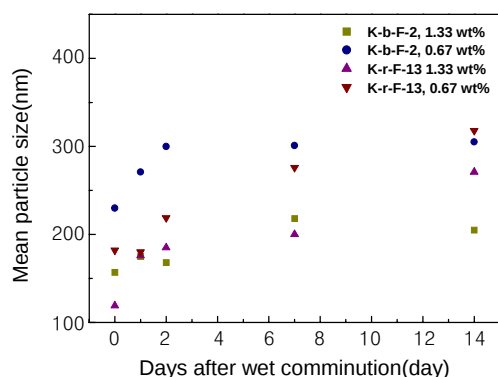


Figure 5. Plot of mean particle size versus time shows the physical stability of drug nanosuspensions at room temperature after wet comminution.

Figure 4에 나타내었다. 입자의 모습은 그 결정성을 유지하고 있어서 구형에서 조금 벗어난 조금 각진 모습을 보이고 있다.

수성에서 제조된 나노입자 크기의 물리적 안정성을 알아보기 위해, 실온도에서 14일까지 적당한 시간 간격으로 약물의 평균 입자 크기를 측정하였다. Figure 5는 14일 동안 나노현탁물의 평균 입자 크기에 큰 변화가 없음을 보여준다.

이러한 결과는 최근에 활발히 연구되고 있는 미세입자형 약물 전달체의^{28,29} 한가지 종류로서 효과적인 약물전달이 가능하다는 것을 보여준다. 특히 위에서 본 입자 크기 감소를 기초로 예측할 수 있는 생체 이용률 향상이나 공중합체의 펩티드 결합의 성질에 기인한 경구 생체 적합성 등은 양친매성 아미노산 공중합체가 약물 나노결정의 제제를 위한 효과적인 물질이라는 것을 뒷받침 해준다.

4. 결론

5000~30000 g/mol의 분자량을 가지는 양친매성 아미노산 공중합체를 사용하여 난용성 약물의 나노입자를 200~500 nm 크기로 제조할 수 있었다. 이는 양친매성 아미노산 공중합체가 습식 분쇄 동안 약물 나노입자를 안정화할 수 있다는 것을 말한다. 또한 이것은 HPC를 사용하였을 때와 유사한 성능이며, HPC와 관련된 점도에 의한 가공상의 어려움이 없을 것으로 예상되어 나노입자 가공을 위한 안정제로서 우위에 있다고 사료된다. 공중합체의 친수성 부분으로 K와 PEG가 사용되었고 L과 F는 소수성 부분으로 사용되었다. PEG 계열보다는 K 계열이 더 좋은 안정제 역할을 하며, K와 다른 두 소수성 아미노산의

공중합체는 약물의 소수성 표면에 안정한 고분자 흡착을 일으킴으로 나노입자 형성에 효과적인 것을 알았다. 소수성 부분의 몰분율이 적어도 10 mol% 이상이어야 효과적인 크기 감소를 볼 수 있으며, 공중합체의 모폴로지와 분자량은 입자 크기 감소를 결정하는 중요 요소가 아니었다. 적절한 아미노산 공중합체 존재 하에 습식 분쇄는 약물 나노입자를 형성하며, 그 입자 크기는 눈에 띄는 응집없이 14일까지 안정한 것을 알 수 있었다.

감사의 글 : 본 연구는 산업자원부 차세대 신기술개발사업(Grant number 10010884)의 지원을 통해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. R. W. Lee, J. Mckhane, J. M. Shaw, and R. W. Wood, "Particle size reduction", in *Water-insoluble Drug Formation*, R. Liu, Editor, Interpharm Press, Buffalo Grove, 2000.
2. A. T. M. Serajuddin, *J. Pharm. Sci.*, **88**, 1058 (1999).
3. G. G. Liversidge and P. Conzention, *Int. J. Pharm.*, **125**, 309 (1995).
4. G. G. Liversidge and K. Cundy, *Int. J. Pharm.*, **125**, 91 (1995).
5. E. Merisko-Liversidge, P. Sarpotodor, J. Bruno, S. Hajj, L. Wei, N. Peltier, J. Rake, J. M. Shaw, S. Pugh, L. Pollin, J. Jones, T. Corbett, E. Cooper, and G. G. Liversidge, *Pharm. Res.*, **13**, 272 (1996).
6. M. J. Grau, O. Kayser, and R. H. Muller, *Int. J. Pharm.*, **196**, 155 (2000).
7. T. Yamada, N. Saito, and T. Imai, *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1311 (1999).
8. J. Y. Zheng and H. W. Bosch, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **23**, 1087 (1997).
9. J. Lee, *J. Pharm. Sci.*, **92**, 2057 (2003).
10. K. D. Berglund, T. M. Przybycien, and R. D. Tilton, *Langmuir*, **19**, 2705 (2003).
11. K. D. Berglund, T. M. Przybycien, and R. D. Tilton, *Langmuir*, **19**, 2714 (2003).
12. H. Evertsson and S. Nilsson, *Macromolecules*, **30**, 2377 (1997).
13. J. R. Hernandez and H-A. Klok, *J. Polym. Sci.; Part A: Polym. Chem.*, **41**, 1167 (2003).
14. Y. Iizuka, C. Uchida, K. Wakamatsu, and M. Oya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **66**, 1269 (1993).
15. C. H. Chiang and M. K. Yeh, *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **4**, 323 (2003).
16. T. J. Deming, *Nature*, **390**, 386 (1997).
17. T. J. Deming, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **54**, 1145 (2002).
18. A. P. Nowak, V. Breedveld, L. Pakstis, B. Ozbas, D. J. Pine, D. Pochan, and T. J. Deming, *Nature*, **417**, 424 (2002).
19. S. S. Santosoa, S. Vauthey, and S. Zhang, *Current Opin. Colloid Interf. Sci.*, **7**, 262 (2002).
20. R. Szabo, G. Mezo, F. Hudecz, and L. Kohidai, *J. Bioactive Compatible Polymers*, **17**, 399 (2002).
21. I. -K. Kang, D. -R. Kwon, and Y. K. Sung, *Polymer(Korea)*, **15**, 481(1991).
22. C. -S. Cho, J. -W. Park, J. -K. Kwon, B. -W. Jo, K. -C. Lee, K. -Y. Kim, and Y. -K. Sung, *Polymer(Korea)*, **15**, 27 (1991).
23. T. J. Deming, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, **38**, 3011 (2000).
24. T. J. Deming, *Adv. Mater.*, **9**, 299 (1997).
25. H. R. Kricheldorf, *α -Amino Acid N-carboxyanhydrides, and Related Heterocycles*, Springer-Verlag, Berlin, 1987.
26. W. N. E. van Dijk-Wolthuis, L. van de Water, P. van de Wetering, M. van Steenberghe, J. J. Kettenes-van den Bosch, W. Schuyt, and W. E. Hennink, *Macromol. Chem. Phys.*, **198**, 3893 (1997).
27. W. H. Daly and D. Poche, *Tetrahedron Lett.*, **29**, 5859 (1988).
28. M. K. Jang, C. Y. Choi, and W. S. Kim, *Polymer(Korea)*, **28**, 291 (2004).
29. Y. S. Park, H. D. Han, and S. W. Hong, *Polymer(Korea)*, **28**, 59 (2004).