

전자빔을 이용한 폴록사머 하이드로젤의 제조 및 구강 점막부착성 약물전달을 위한 특성 분석

백은정# · 신백기*# · 노영창** · 임윤목** · 박종석** · 박정숙*† · 허강무†

충남대학교 고분자공학과, *충남대학교 약학대학

**한국원자력연구원 정음방사선과학연구소 방사선공업환경연구부

(2011년 7월 8일 접수, 2011년 8월 7일 수정, 2011년 8월 11일 채택)

Preparation of Poloxamer-based Hydrogels Using Electron Beam and Their Evaluation for Buccal Mucoadhesive Drug Delivery

Eun Jung Baek[#], Baek-Ki Shin^{*#}, Young-Chang Nho^{**}, Youn-Mook Lim^{**}, Jong-Seok Park^{**},
Jeong-Sook Park^{*†}, and Kang Moo Huh[†]

Department of Polymer Science and Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

*College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute,
1266 Sinjeong-dong, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 580-185, Korea

(Received July 8, 2011; Revised August 7, 2011; Accepted August 11, 2011)

초록: 본 연구에서는 전자빔을 이용하여 폴록사머 하이드로젤을 제조하여 구강 점막부착성 약물전달체로서의 특성을 평가하고자 하였다. 온도감응성을 나타내는 폴록사머 고분자의 말단에 가교반응을 위한 비닐기를 도입한 후, 방사선 가교반응을 이용하여 하이드로젤을 제조하였다. 점착성 향상을 위한 첨가제로 점착성 고분자인 카보폴을 첨가하여 하이드로젤을 제조하였고, 카보폴이 점막부착성과 서방성 방출에 미치는 영향을 알아보았다. 결과적으로, 폴록사머 고분자의 말단 개질과 카보폴의 첨가에 의해 하이드로젤의 기계적 물성과 점막부착성이 향상되었고, 약물방출실험 결과 약물이 방출되는 속도가 지연되는 결과를 확인하였다.

Abstract: In this study, poloxamer hydrogels were prepared by electron beam irradiation and evaluated for potential application as a buccal mucoadhesive drug delivery system. Poloxamer, one of typical thermoresponsive polymers, was modified to have vinyl end groups for crosslinking reaction, and its hydrogels were fabricated by irradiation crosslinking reaction. Carbopol as a mucoadhesive polymeric additive was introduced to improve the mucoadhesive property of the hydrogels and its effect on the mucoadhesion and drug release properties was investigated. The results showed that the end group modification of poloxamer and the addition of carbopol improved mucoadhesive force and mechanical properties and led to a sustained drug release behavior.

Keywords: hydrogel, mucoadhesion, poloxamer, carbopol, sustained release.

서 론

점막부착형 약물전달기술은 점막을 통해 약물을 전달하는 시스템으로서 다른 경로를 통한 투여에 비해 체내에서 약물의 잔류시간을 증가시키고 약물이 흡수되는 막과의 접촉을 향상시킴으로써 약물의 흡수율을 개선하는 장점이 있다.¹ 또한 점막을 수단으로 한 제제의 조성을 변화시켜 약물의

방출량과 속도를 조절할 수 있으며, 경구투여와 달리 약이 체내에서 가수분해되어 소실되거나 간 초회 효과를 거치지 않기 때문에 약물분해에 의한 효율감소를 피할 수 있다.^{1,2} 점막부착성은 고분자가 점막과 접촉하면서 점막의 주성분인 뮤신과 결합이 이루어지고, 접촉면 사이에서 사슬들 간에 수소결합과 같은 약한 화학적인 결합이 일시적으로 이루어져서 형성된다.^{3,4} 따라서 고분자가 점막에 효과적인 점막부착성을 갖기 위해서는 고분자 분자 구조 내에 수소결합이 형성될 수 있도록 수산화기나 카르복실기 또는 아민기 같은 친수성 기능을 가지고 있어야 하며,⁵ 또한 고분자 사슬이 점막 내부로 확산되어 점막과 적절한 얽힘이 일어날

[#]These authors equally contributed to this work.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: khuh@cnu.ac.kr, eicosa@cnu.ac.kr

수 있도록 충분한 유연성을 가져야 한다.^{12,67} 구강, 눈, 비강, 질, 항문 및 위장관 등 신체의 다양한 부위에 분포되어 있는 여러 점막 중 구강은 자주 움직여야 하는 부위이기 때문에 구강점막은 상대적으로 각질화가 이루어지지 않은 구조이며 혈관이 풍부하기 때문에 약물의 흡수가 비교적 용이하다.² 또한 약물을 투여하거나 제형을 제거하기 쉽다는 장점이 있다.^{2,8,9} 이러한 구강점막을 통해 약물을 전달하기에 적합한 제형은 일단 입 안에 사용할 수 있을 만큼 크기가 작고 제형 자체가 부드럽고 유연해야 한다. 또한 제형의 점막 부착력이 우수하고, 사용하기 간편하며 또한 약물방출을 조절할 수 있는 제형이 바람직하다. 약물전달을 위한 제형으로는 정제, 패치, 필름, 젤, 연고제 등이 있으며, 그 중 하이드로젤은 수상환경에서 수화하는 친수성 고분자로 구성되며, 고분자의 조성 및 제조 조건에 따라 물리화학적 특성 조절이 용이하여 구강 전달용 제형으로 유용하다.¹⁰⁻¹² 또한 약물 방출을 제어할 수 있고, 하이드로젤 자체가 부드럽고 유연하여 운동성이 많은 구강점막에 이용하기 적합하다. 그러나 점막을 통한 약물 분산이 용이한 하이드로젤은 응용부위에서 부착 지속시간이 떨어진다는 단점이 있어 carbomers, chitosan, sodium alginate, cellulose 유도체 등과 같은 점착성이 우수한 고분자를 이용하여 제조함으로써 짧은 지속시간을 극복하고자 하는 연구가 진행되어 왔다.^{2,13}

Poloxamer(Pol)는 친수성 고분자인 poly(ethylene oxide) (PEO)와 소수성 고분자인 poly(propylene oxide)(PPO)로 구성된 비이온성의 PEO-PPO-PEO 삼중 블록공중합체로서 대표적인 온도감응성 하이드로젤로 알려져 있다.^{14,15} 일정 농도(약 18 wt%) 이상의 Pol 수용액은 상온에서는 낮은 점도의 용액 상태(sol)이지만, 일정 온도 이상이 되면 PPO와 물 분자와의 상대적으로 약한 수소결합이 깨지면서 PPO 블록들간의 소수성 상호작용에 의한 미셀 구조를 형성하고,¹⁶ 이러한 미셀 구조의 이차적인 회합 및 packing에 의해 젤의 형태로 변하는 가역적 졸(sol)-젤(gel) 상전이 현상을 갖는 것이 특징이다.^{14,17,18} Pol는 PEO와 PPO의 조성비와 분자량에 따라 다양하게 나뉘는데 상업적으로 사용 가능한 Pol 중에서도 poloxamer 407은 분자량이 약 12600이며 낮은 독성과 높은 용해능을 가지며 약물방출 특성이 뛰어나, 다양한 약물전달 제형의 조성물로 광범위하게 사용되고 있다.¹⁹⁻²² 온도변화에 따라 상전이 현상을 보이는 Pol 하이드로젤은 미셀이 일정하게 패키징되어 이루어진 물리적 가교구조 때문에 과량의 물이 존재할 때 쉽게 분해되는 특성이 있다.^{23,24} 뿐만 아니라 기계적인 물성이 매우 약하고, 구강에 부착했을 때 체액이나 다른 음식물 등에 의해 젤의 농도가 희석되어 용액(졸)으로 다시 상전이를 일으킬 수 있다.^{18,25} 이러한 문제점들을 극복하기 위하여 화학적인 가교를 통해 하이드로젤의 물리적 안정성과 기계적 물성을 향상시킬 필요가 있다.

일반적으로 하이드로젤은 친수성 고분자를 가교시켜 제조한다.¹⁰ 가장 많이 사용되는 화학적인 가교법으로는 가교제와 개시제를 사용하는 방법이 있으나 이 방법은 가교 후

미반응 화합물이 완전하게 제거되지 않을 수 있다는 문제점을 갖고 있다. 그러나 감마선 또는 전자선과 같은 방사선 조사를 통한 가교방법은 유해한 화학 가교제나 개시제를 사용하지 않아 미반응 잔류물질을 따로 제거할 필요가 없고, 방사선 조사 중 가교와 동시에 멸균처리가 되므로 의료용에 적합한 방법이다.^{10,26} 고분자 시료가 고체, 액체와 관계없이 가교 처리할 수 있으며, 가교하기 위한 열이 따로 필요하지 않고 냉각 상태에서도 가능하기 때문에 온도에 관계없이 조사 가능하다는 큰 장점이 있다. 또한 가교를 위해 오랜 시간 반응시켜야 하는 보통의 다른 제조방법과는 달리 상대적으로 짧은 시간 내에 가교가 이루어질 수 있다. 방사선의 조사선 세기만을 조절하여 하이드로젤의 물리적 특성을 자유롭게 조절할 수 있으며, 형태를 제한받지 않고 방사선 조사 전 주형물의 형태에 따라 자유롭게 여러 가지로 제조할 수 있기 때문에 방사선법은 의료용 재료를 합성하는 방법으로 앞으로 매우 유용하며, 현재 다양한 산업분야에서도 활용되고 있다.²⁶⁻²⁹

본 연구에서는 Pol의 점착성과 온도감응성을 기초로 한 구강점막용 점막부착성 하이드로젤 제형을 설계하고자 하였다. 물리적 가교구조의 하이드로젤이 가진 약한 물리적 안정성과 기계적 물성을 방사선 가교를 통해 극복하였으며, 또한 점막부착성을 부여하기 위해 대표적인 점착성 고분자인 카보폴을 첨가하여 점막부착성과 모델 약물인 naproxen의 방출속도에 미치는 영향에 대해 알아보았다.

실 험

시약 및 시료. Poloxamer 407(Pol, Lutrol F 127®, MW 12600)은 BASF Corp.(Seoul, Korea)에서 공급받았다. Naproxen, acryloyl chloride(AC), triethylamine(TEA)은 Sigma Aldrich에서 구입하여 사용하였다. 그 외 다른 시약들은 별도의 정제과정 없이 사용하였다.

Diacrylated Poloxamer(D-Pol)의 합성. 건조된 Pol(12.6 g, 1 mmol)를 둥근 바닥 플라스크에 넣고 수분을 제거하기 위하여 80 °C에서 24시간 진공 건조시켰다. 건조시킨 후 질소 기류 하에서 35 mL의 benzene을 넣고 완전히 녹인 후 triethylamine(0.41 mg, 4 mmol)을 용액에 조금씩 떨어뜨린 후 70 °C로 가열하였다. 충분히 섞인 후에 benzene 10 mL에 희석시킨 acryloyl chloride(0.36 mg, 4 mmol)를 넣어주었다. 75 °C에서 4시간 동안 반응시킨 후 반응용액을 원심분리기를 이용해서 triethylamine-hydrochloride를 걸러내어 제거하였다. 걸러진 반응용액을 과량의 *n*-hexane에 침전시켜 회수한 후 3일 동안 진공건조시켰다.

합성분석. 합성된 D-Pol의 화학적 조성 및 치환율은 ¹H NMR(JNM-AL400 spectrometer, Jeol Ltd, Akishima, Japan)을 통하여 분석하였다. 시료 용매로는 CDCl₃를 사용하였다. 또한 합성 전과 후의 분자결합의 구조적 변화를 살펴보기 위하여 FTIR(MAGNA 560 spectrometer, USA)을 이용하여 분석하였다. KBr pellet을 만들어 시편을 제조하였으며,

500~4000 cm⁻¹ 범위에서 측정하였다.

졸-젤 상전이 온도 측정. 다양한 농도의 Pol과 D-Pol의 수용액을 제조한 후 온도변화에 따른 졸-젤 전이성을 확인하기 위하여 inverting법으로 상전이 온도를 측정하였다. 시료는 Pol 또는 D-Pol을 18, 20, 25, 30 wt% 농도로 각각 준비하였다. 시료는 4 °C의 냉장온도에서 24시간 이상 보관하여 용액이 투명해질 때까지 충분히 용해시킨 후, 항온 수조를 이용하여 15 °C에서부터 전이 온도를 측정하였다. 상온 이상의 온도부터는 히팅 블록(Barnstead International, USA, 2000-1)으로 온도를 0.5 °C씩 올려가며 80 °C까지 확인하였으며, 한 시료에 대해 3회 측정을 통해 평균값을 제시하였다.

유변학적 거동. 고분자 수용액의 온도에 따른 유변학적 거동을 온도조절이 가능한 rotating rheometer(Bohlin Advanced Rheometer, Malvern Instruments, UK)를 이용하여 관찰하였다. 고분자 수용액의 농도를 각각 18, 20, 25, 30 wt% 수용액으로 준비하였다. 평행하게 놓인 두 개의 플레이트(20 mm)를 이용하여 10 °C에서 80 °C까지 온도를 올리며 고체적 거동의 elastic modulus(*G'*)와 액체적 거동의 viscous modulus(*G''*)를 측정하였다. Frequency는 1 Hz로 하였으며, constant stress는 25 Pa로 하였다. 또한 *G'*와 *G''*가 교차되는 지점을 수용액이 졸에서 젤로 상전이 되는 온도로 간주하였다.

점막부착성 하이드로젤의 제조. 증류수에 Pol 또는 D-Pol(20, 23 wt%)과 naproxen(0.1 wt%)을 완전히 용해시킨 후, 점착성 고분자인 카보폴의 양에 따른 특성분석을 위하여 카보폴의 양을 0, 0.5, 1, 2 wt%로 다르게 녹여서 여러 농도 조건의 시료를 준비하였으며 각 시료의 조성비는 Table 1에 나타내었다. 준비한 각 반응 용액을 petri dish(35×10 mm)에 3 mL씩 담고 뚜껑을 덮은 후 전자선 가속기(UELV-10~10S, Russia, Korea Atomic Energy Research Institute, Korea, dose rate: 0.1 kGy/s)를 이용하여 각 시료 당 25 kGy의 전자선을 조사하여 하이드로젤을 합성하였다.

하이드로젤의 팽윤 실험. 방사선 조사로 점착성 하이드로젤을 합성한 후 40 °C의 vacuum oven에서 3일간 충분히 건조시켰다. 일정한 크기의 디스크 모양의 시료를 pH 7.4의

PBS에 각각 담가 팽윤도를 측정하였다. 담그기 전에 건조된 시료의 무게를 재고 담근 후에는 주기적인 시간 간격을 두고 무게를 측정하였다. 측정은 실온에서 진행되었으며 팽윤비는 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{Swelling ratio} = (W_s - W_d) / W_d$$

W_s: 팽윤된 하이드로젤의 무게

W_d: 건조된 하이드로젤의 무게

시료를 취하였을 때 흘러내리는 물을 제거하고 무게를 측정하여 팽윤된 하이드로젤의 표면과 내부에 과잉으로 축적된 물의 무게에 의한 영향을 최대한 배제하여 하이드로젤의 무게를 측정하였다. 시료는 각 조건마다 3개씩 측정하여 무게의 평균값을 사용하였다.

점막부착성 측정. 점막부착력은 점막과 하이드로젤을 접촉시킨 후 떼어낼 때 필요한 힘인 인장강도를 측정한 값으로 평가하였다. 점막부착 실험을 위한 점막은 돼지의 구강에서 채취하여 사용하였다. Pol와 D-Pol로 제조한 여러 조성비의 시료의 부착성을 측정하였다. 또한 시료의 팽윤된 정도가 부착성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 20 wt%의 D-Pol로만 제조한 시료를 각 농도 조건마다 3가지 상태 즉, (a) 고분자의 수화가 이루어지지 않은 건조한 상태의 xerogel, (b) 수화가 진행된 상태의 하이드로젤, 그리고 (c) 충분히 수화된 상태의 하이드로젤로 분류하여 준비하였다. (a)는 방사선 조사 후 시료를 진공오븐에 5일 이상 충분히 건조시켜 준비하였고, (b)는 방사선 조사로 제조한 즉시의 상태로 사용하였다. 그리고 (c)는 시료를 증류수에 담가 평형 상태에 도달할 때까지 팽윤시켰다. 점착성 측정은 Instron (5569 premium 5800 series)을 이용하였으며 하이드로젤 시료를 스테인리스 원형 실험대에 점착시키고, 원형 실험대 위로 평행하게 놓인 고정대에 구강점막을 10 mL 일회용 syringe에 끼워 고정시킨 후 실험을 진행하였다. 이 때 초기 접촉시간은 5분으로 하였으며, 각 농도 조건마다 5번씩 측정하여 평균값으로 나타냈으며, 한번 측정했던 시료와 점막은 폐기하고 새로운 시료와 점막으로 교환한 후 측정을 진행하였다.

Table 1. Chemical Composition for the Preparation of Hydrogels

Sample	Poloxamer(wt%)	Carbopol(wt%)	Sample	Diacrylated poloxamer(wt%)	Carbopol(wt%)
Pol20	20	-	D-Pol20	20	-
Pol20/C0.5	20	0.5	D-Pol20/C0.5	20	0.5
Pol20/C1	20	1	D-Pol20/C1	20	1
Pol20/C2	20	2	D-Pol20/C2	20	2
Pol23	23	-	D-Pol23	23	-
Pol23/C0.5	23	0.5	D-Pol23/C0.5	23	0.5
Pol23/C1	23	1	D-Pol23/C1	23	1
Pol23/C2	23	2	D-Pol23/C2	23	2

The drug content for all samples was fixed at 0.1 wt%.

In Vitro 약물방출 특성 평가. 약물방출 평가를 위해 Pol과 D-Pol로 제조된 하이드로젤 제형을 molecular porous membrane tube 내에 넣고 방출 실험을 수행하였다. MWCO 3500의 membrane에 naproxen을 함유하는 하이드로젤 시료를 넣은 후 40 mL의 PBS가 든 conical tube에 준비한 membrane을 넣었다. 37 °C 항온조(SI-300, Lab Companion, 한국)에 시료를 넣고 방출시험을 수행하였다. 하이드로젤 시료는 각 20 wt%의 Pol 또는 D-Pol에 0, 0.5, 1 wt%의 카보폴로 제조하여 사용하였다. 정해진 시간 간격에 따라 약물이 들어있는 membrane을 tube에서 빼내어 새로운 PBS 40 mL가 들어있는 conical tube로 옮겨서 다음 측정 시간까지 방출 시험을 계속하였으며, 이전 conical tube의 검액을 취하여 230 nm에서 흡광도를 측정하여 약물의 방출량을 산출하였다.

결과 및 토론

Diacrylated Poloxamer(D-Pol)의 합성. Pol은 어느 온도와 농도 이상이 되면 스스로 미셀 구조를 형성하여 젤이 되고, 그 온도보다 더 높은 온도에서는 다시 풀이 되는 가역적인 온도 전이성을 가진다. 그러나 이러한 온도 전이성에 의해서만 형성된 Pol 젤을 구강점막에 붙이게 되면, 체온에 의해 일시적으로는 젤의 형태를 나타내지만 물리적 안정성이 취약하다. 따라서 본 연구에서는 안정적으로 젤의 형태를 유지할 수 있도록 화학적 가교를 유도할 수 있는 D-Pol을 사용하여 하이드로젤의 기계적 물성을 향상시키고자 하였다. Pol을 acryloyl chloride와 반응시켜 Pol의 PEO 양 말단을 비닐그룹으로 치환시켰다. FTIR로 구조 분석을 해 본 결과, Pol의 IR spectrum에서는 볼 수 없었던 acrylate의 카보닐 결합(C=O)의 흡수 파장이 1700 cm^{-1} 에서 나타난 것으로 보아 D-Pol이 잘 합성되었음을 확인할 수 있었다 (Figure 1(a)). 또한 ^1H NMR로 분석한 결과 Pol의 PPO의 메틸기(-CH₃) 피크는 약 $\delta=1.1$ ppm에서, PEO의 에틸렌(-CH₂CH₂-) 피크는 약 $\delta=3.7$ ppm에서 관찰되었으며 Figure 1(b)에 나타내었다. 개질된 Pol의 양 말단에 치환된 비닐기는 $\delta=5.8\text{--}6.4$ ppm 부근 세 개의 작은 피크를 통하여 치환을 확인하였고, PPO의 -CH₃와 acrylate 그룹의 비닐기 피크의 proton 면적비를 비교하여 치환율이 약 85% 정도임을 확인할 수 있었다.

졸-젤 상전이. 일반적으로 Pol은 수용액의 농도가 18 wt% 이상일 때 졸-젤 상전이 현상을 나타낸다. Pol과 D-Pol의 농도를 18, 20, 25, 30 wt%로 변화시켰을 때의 상전이 온도를 inverting 법으로 측정한 결과, Pol은 전 농도 영역에서 온도증가에 따라 전형적인 졸-젤 상전이 현상을 나타냄을 알 수 있었다. D-Pol의 젤화 온도는 30 wt%는 거의 차이가 없고, 25 wt%은 약 1.5 °C, 20 wt%은 3.3 °C의 차이를 보여서 반응 전후의 온도가 비슷하였으나, 다시 젤에서 졸로 되는 온도는 25 wt%은 12 °C 정도, 20 wt%은 8 °C 정도 개질 전보다 낮은 온도에서 상전이 현상을 보임을

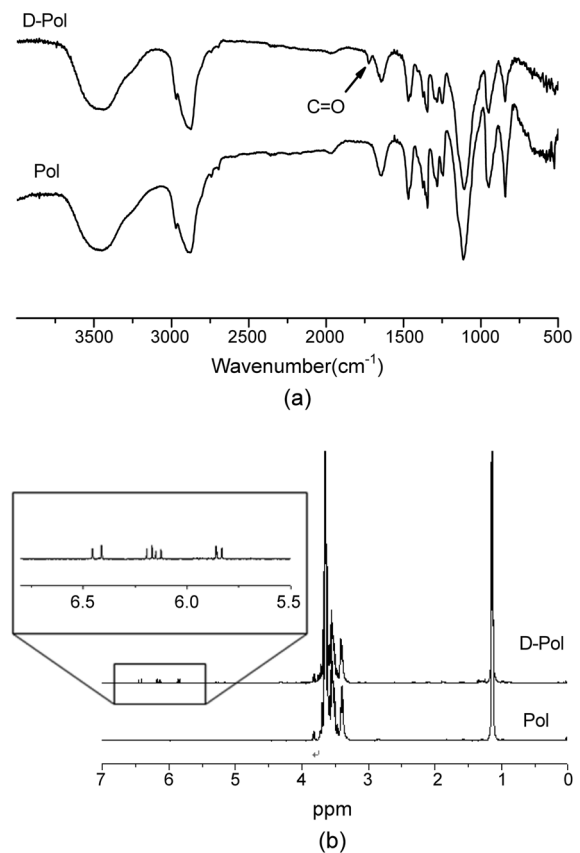


Figure 1. (a) FTIR; (b) ^1H NMR spectra of Pol and D-Pol.

알 수 있었다. 18 wt%의 D-Pol 수용액은 온도의 증가에도 불구하고 젤이 되는 상전이 현상을 보이지 않고 졸 상태를 유지하였는데, 양 말단의 acrylate 치환그룹이 미셀 구조 형성 및 packing에 영향을 주었기 때문인 것으로 사료된다. 또한 D-Pol의 30 wt% 수용액은 젤은 되었으나, 80 °C에 이르는 높은 온도에서도 풀이 되지 않고 계속 젤의 형태를 유지하였다. 이는 말단에 있는 비닐그룹이 온도 증가로 인해 발생한 열에 의해 가교구조를 형성하여 풀이 되는 온도에도 도달하기 전에 이미 화학적 젤을 형성했기 때문이라고 생각된다. Figure 2에서 알 수 있듯이 개질 전후의 상전이 현상을 비교한 결과, D-Pol이 상전이 되는 영역이 전체적으로 다소 감소하였음을 알 수 있었다.

유변학적 거동. 온도 증가에 따른 졸-젤 상전이 거동을 elastic modulus(G')와 viscous modulus(G'')로 평가하였다. 온도가 높아짐에 따라 G' 와 G'' 가 함께 서서히 증가하다가 어느 온도가 되면 G' 와 G'' 가 교차되는 지점이 생기고 그 이후 고체성 유변학적 성질인 G'' 가 더 커지게 되는 거동을 나타내었다. 또한 두 그래프의 교차 지점을 줄여서 젤로 상전이가 일어나는 온도로 평가하였다. Figure 3에서 알 수 있듯이, Pol 수용액의 농도가 18, 20, 25, 30 wt%로 증가함에 따라 상전이 온도는 32.1, 28.8, 23.9, 20.5 °C로 감소하

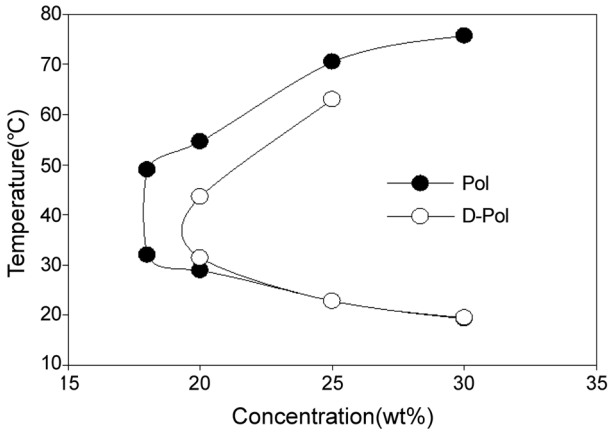


Figure 2. Sol-gel phase transition diagrams of aqueous solutions of Pol and D-Pol.

였으며, 이는 vial inverting 방법으로 측정된 졸-젤 상전이 온도 결과와 비슷한 결과를 나타내었다. 또한 개질시킨 D-Pol 수용액의 경우 같은 농도 조건에 따라 46.7, 33.4, 25.2, 21.3 °C의 상전이 온도를 나타내었으며, 상전이를 나타내는 온도가 개질 전보다 다소 상승됨을 알 수 있었다(Figure 4). 개질 후에도 온도 증가에 따른 젤 형성을 확인하였고, 개질 전 후의 온도차이가 크지 않은 것으로 보아 diacrylation이 용액의 상전이성에 큰 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

점막부착성 하이드로젤의 제조. Pol 또는 D-Pol(20,

23 wt%)와 카보폴(0, 0.5, 1, 2 wt%) 함량을 달리한 수용액에 방사선을 조사하여 화학적 가교가 유도된 하이드로젤을 제조하였다. 점착성 고분자인 카보폴의 함량이 하이드로젤의 물리적 특성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 여러 농도의 시료를 제조하고자 하였으나, 2 wt% 이상의 농도는 카보폴의 높은 점성 때문에 수용액이 물리적으로 균일하게 섞이지 않아서 카보폴 농도는 최대 2 wt%까지 준비하였다. Pol 수용액으로 제조한 젤은 방사선을 조사한 후에도 일정한 형태를 갖지 못하고 용액과 같이 흐르는 성질을 가지는 것으로 보아 화학적 가교가 제대로 이루어지지 않았음을 알 수 있었다. 이는 가교를 위한 라디칼이 형성되기 어려운 고분자 구조 때문인 것으로 보인다. 이와 달리 Pol의 말단에 비닐기를 도입시킨 D-Pol은 말단의 비닐기가 방사선에 의해 쉽게 라디칼을 발생시켜 공유결합을 형성하고¹⁰ 결과적으로 화학적 가교가 이루어져 일정한 형태를 가지며, 기계적 성질과 물성이 향상된 하이드로젤을 제조하였다. 방사선을 이용한 가교 방법은 화학적 가교제를 사용하는 방법에 비해 하이드로젤 제조과정이 비교적 간단하고, 반응을 위한 열이 필요치 않으며 단시간에 반응이 이루어지기 때문에 반응 중에 시료가 손상될 확률이 낮고, 사용하는 주형에 따라 여러 형태의 하이드로젤을 제조할 수 있었다.

팽윤 거동. 점착성 고분자인 카보폴이 하이드로젤 팽윤 거동에 미치는 영향을 알아보기 위하여 D-Pol의 농도는 20 wt%로 고정한 상태에서, 카보폴의 함량을 0, 0.5, 1, 2 wt%로 달리하여 합성한 하이드로젤을 실온의 pH 7.4의 PBS에서

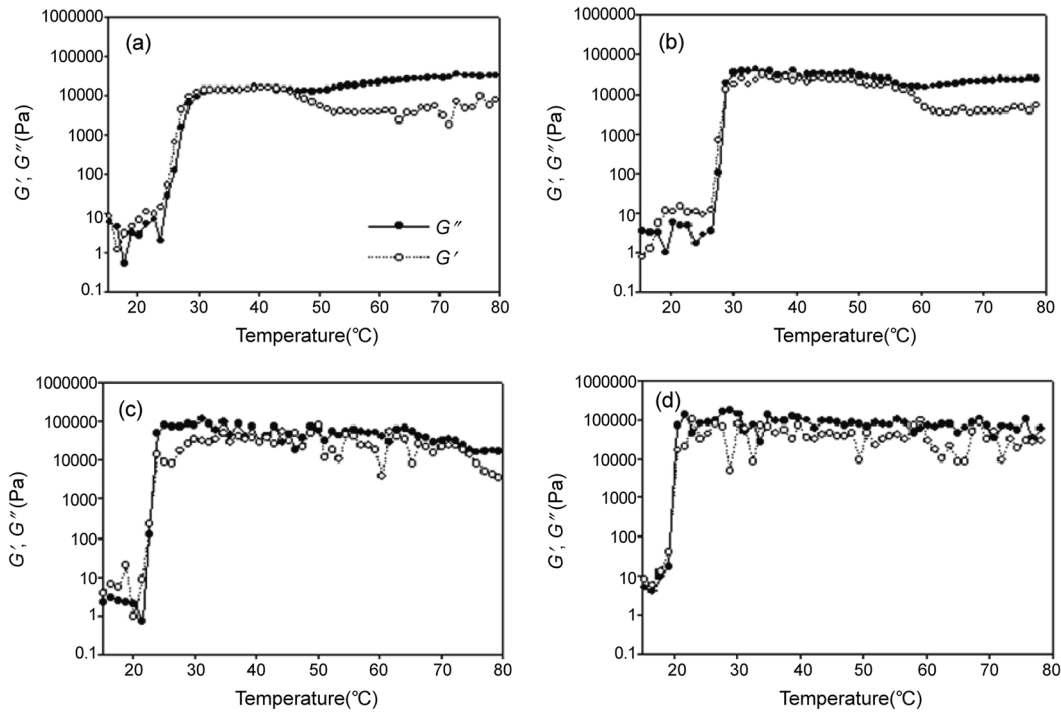


Figure 3. Temperature-responsive elastic(G') and viscous(G'') modulus changes of Pol aqueous solution with various concentrations: (a) 18; (b) 20; (c) 25; (d) 30 wt%.

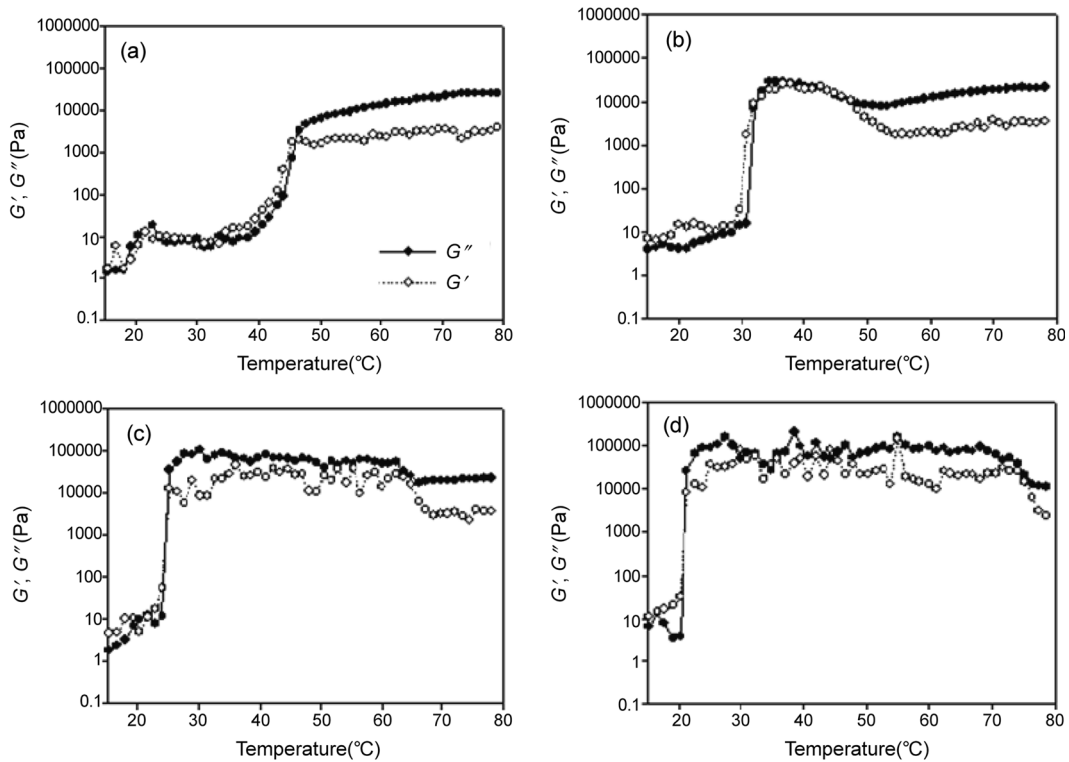


Figure 4. Temperature-responsive elastic(G') and viscous(G'') modulus changes of aqueous solutions of D-Pol with various concentrations: (a) 18; (b) 20; (c) 25; (d) 30 wt%.

팽윤 거동을 알아보았으며 그 결과를 Figure 5에 나타내었다. 측정 결과, 카보폴을 전혀 함유하지 않은 하이드로젤의 팽윤도가 17.7 정도로 가장 높았으며 카보폴을 0.5 wt% 함유한 하이드로젤도 유사한 팽윤도를 보였다. 또한 카보폴 1 wt%와 2 wt% 함유된 하이드로젤은 이보다 좀 더 낮은 팽윤도를 보였는데, 이는 카보폴의 함량이 높을수록 고분자 사슬간 얽힘(chain entanglement)이 증가하여 물리적 가교도의 증가에 따른 팽윤도 감소로 사료된다.

점막부착성 평가. 하이드로젤이 가진 점막부착성을 평가하기 위해 돼지 구강 점막에 대한 부착력을 측정하였다. Diacrylation 반응 전의 Pol과 반응 후의 D-Pol 농도를 20, 23 wt%로 고정한 후 각각의 카보폴 함량을 0, 0.5, 1, 2 wt%로 달리하여 총 16 종류 시료를 준비하였다. 개질시키기 전 Pol로 제조한 하이드로젤은 화학적 가교가 거의 형성되지 않았기 때문에 그 중 가장 큰 점착성을 보인 Pol 23 wt%, 카보폴 2 wt% 시료도 6.24 kPa의 매우 작은 값을 보였고, 하이드로젤 내에서 분리가 일어난 것을 관찰할 수 있었다. 말단 개질 후의 D-Pol로 제조한 하이드로젤의 부착성은 모두 90 kPa 이상의 점착성을 가졌으며 크기는 120 kPa까지도 보였고, 하이드로젤과 구강점막간 계면에서 분리가 일어난 것을 관찰할 수 있었다. Figure 6은 시료 16 종류에 대한 점착성 측정 결과를 나타낸 것이다. 말단을 개질함으로써 방사선에 의해 가교가 잘 형성되어 하이드로젤의 물리적 강도와 탄성이 향상되었으며, 더불어 개질 전에 비해 점

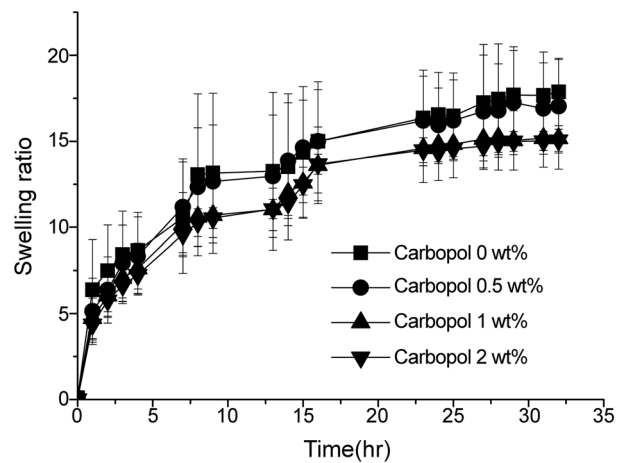


Figure 5. Swelling kinetics of carbopol containing D-Pol hydro-gels (20 wt%).

착성이 약 40배 증가된 결과로부터 점막부착성이 획기적으로 향상되었음을 확인하였다. Pol의 농도가 23 wt%인 시료는 20 wt%의 시료에 비해 약간 더 높은 경향은 보였으나 그 차이가 크지는 않았다. 또한, 카보폴의 함량이 증가할수록 카보폴의 우수한 점착성에 의해 하이드로젤의 점착성이 증가하는 경향을 확인하였다. 그러나 가장 높은 고분자 농도로 이루어져 가장 큰 점착성을 가질 것으로 예상했던

D-Pol 23 wt%, 카보폴 2 wt%로 구성된 하이드로젤은 오히려 점착성이 크게 감소된 결과를 보였는데, 이는 고농도의 D-Pol과 카보폴이 높은 점성으로 인해 용액 내에서 균일하게 섞이지 않아 불균일한 시료가 제조된 것으로 사료되므로, 점착성 향상을 위한 카보폴 함량은 2 wt% 미만인 것으로 생각된다.

또한 하이드로젤의 팽윤 정도에 따른 점착성의 변화를 알아보았다. 하이드로젤의 팽윤은 고분자의 수화와 관련 있으며, 고분자가 수화된 정도는 부착력에 있어 매우 중요한 요소이다.⁴ 이에 따라 D-Pol로 제조한 하이드로젤을 (a) 고분자의 수화가 되지 않은 건조한 상태의 xerogel, (b) 수화가 어느 정도 진행된 단계의 하이드로젤, 그리고 (c) 충분히 수화된 상태의 하이드로젤, 총 3가지 상태로 분류하여 측정하였으며 Figure 7에 나타난 바와 같이 (b)의 경우가 가장 우수한 점착성을 나타내었다. (a)의 xerogel 시료는 고분자의 수화가 전혀 이루어지지 못한 상태로, 고분자와 점막간의 상호작용이 매우 한정적이라 낮은 점막부착성을 보인 것으로 사료되고, (c)는 하이드로젤의 팽윤이 평형에 도달한 상태로서 내부와 표면의 과도한 수분이 고분자와 점막간 상호작용 및 수소결합의 형성에 방해가 되어 점막부착성이 감소된 것으로 생각된다. (b)의 경우 고분자 사슬의 수화로 유동성이 확보되어 점막과 수소결합같은 원활한 상호작용에 의해 90 kPa에서 120 kPa까지의 우수한 점막부착성을 나타내었다. 이러한 결과로부터 하이드로젤을 구강점막에 부착시킨 후 부착시간이 흐름에 따라 팽윤이 진행되며 팽윤이 어느 일정 상태에 도달하게 되면 점착성이 최대가 되고, 그 이상의 팽윤이 이루어진 후에는 과도한 고분자의 수화와 표면의 수분에 의해 점착성이 다시 점차 감소하게 될 것으로 사료된다.

약물방출 평가. Pol 또는 D-Pol의 20 wt% 수용액에 naproxen을 용해시키고 카보폴을 0, 0.5, 1 wt% 조건으로

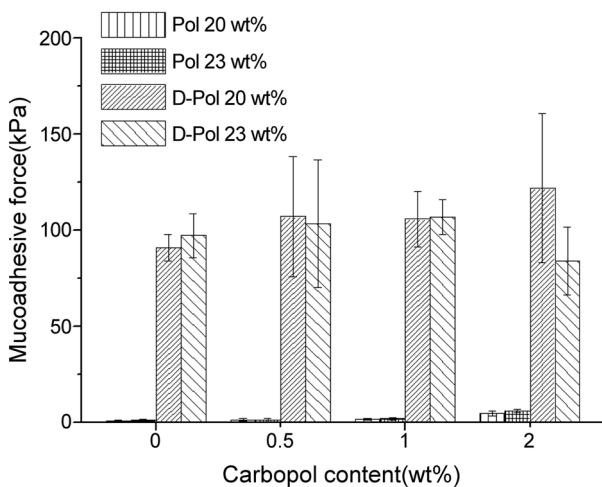


Figure 6. *In vitro* evaluation of buccal mucoadhesive force of carbopol containing hydrogels.

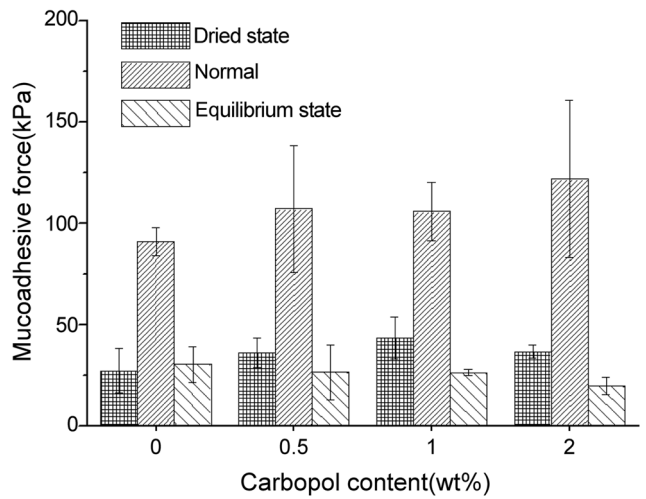


Figure 7. *In vitro* evaluation of buccal mucoadhesive force of hydrogels in dried and swollen state.

첨가하여 제조한 하이드로젤 시료로 화학적 가교와 카보폴의 첨가가 naproxen의 방출에 미치는 영향을 관찰하였다. Figure 8(a)는 Pol로 제조한 하이드로젤의 방출거동을, Figure 8(b)는 D-Pol의 하이드로젤 방출거동을 나타낸 것이다. 가교가 잘 일어나지 않은 Pol 시료와 가교된 시료인 D-Pol, 두 조건 모두 초기상태에서도 약물의 burst effect는 나타나지 않았다. 이는 Pol의 온도감응성에 의해 체온에서는 미셀 구조를 이루며 젤을 형성하는 특성에 의한 것이라 생각된다. 카보폴이 첨가되지 않은 Pol 시료는 8시간 동안 95% 이상의 약물이 방출됨을 보였으나, D-Pol 시료는 약 87%의 방출거동을 관찰할 수 있었다. Pol의 말단 개질로 인해 하이드로젤 매트릭스의 밀도가 강해졌으며, 가교구조의 강화로 인해 약물의 확산 속도가 저하되어 나타난 결과로 보인다. 또한 카보폴은 자체적인 점착성으로 인해 농도에 비례하여 약물방출을 지연시키는 효과를 나타내었다. Figure 8(b)에서 알 수 있듯이, 카보폴을 첨가하지 않은 경우 8시간 동안 약 87%의 약물이 방출되었지만, 대부분 방출은 4시간 이내에 거의 이루어졌다. 카보폴 0.5와 1 wt%를 첨가한 경우 8시간 동안의 약물방출은 각각 약 83%와 78%이었으며, 약물방출의 반감기가 3.5시간 전후로서 관찰시간 전반에 걸쳐 지속적으로 방출되었음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 카보폴의 첨가로 인해 하이드로젤 매트릭스의 밀도가 강화되었기 때문이라고 생각된다. 서방성 방출거동을 갖도록 D-Pol과 카보폴로 제조한 젤을 상처부위에 부착 후, 약 8시간 마다 반복적인 교체를 통해 약물을 투여한다면 지속적인 치료 효과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 실험 결과로부터 Pol이 온도감응성 하이드로젤로서 서방성 약물 제제의 역할을 하며, 개질을 통해 젤의 가교구조를 강화시킨 후 점착성 고분자인 카보폴을 가하여 점막 국소 제형을 설계할 경우, 약물방출 속도를 제어함으로써 적절한 방출특성을 나타내는 젤 제형을 설계할 수 있을 것으로 기대된다.

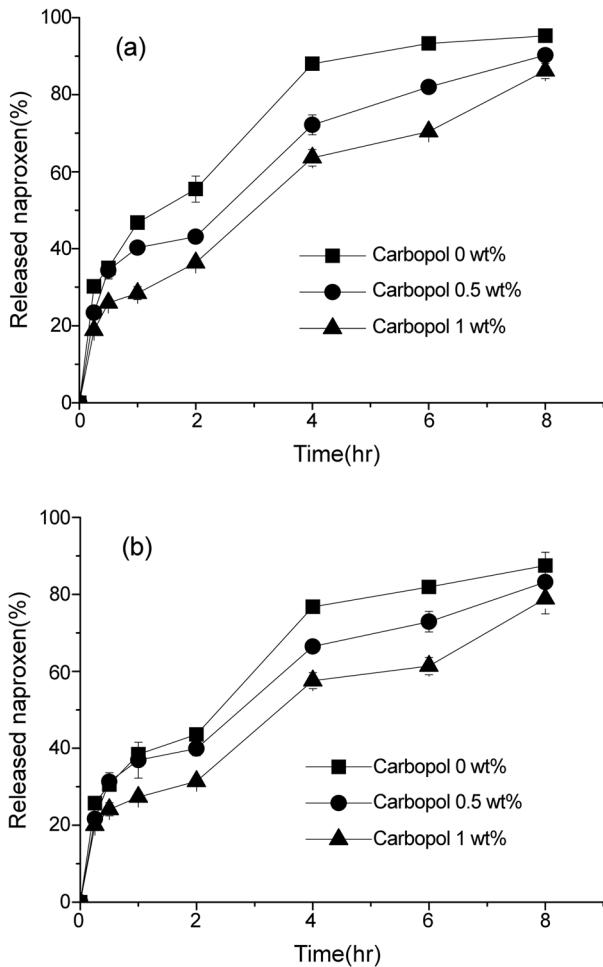


Figure 8. In vitro release profile of naproxen: (a) Pol(20 wt%) hydrogels; (b) D-Pol(20 wt%) hydrogels.

결론

본 연구에서는 효과적인 구강점막 부착형 약물전달체 개발을 위해 온도감응성 고분자인 폴록사머와 대표적인 점착성 고분자인 카보폴로 구성된 하이드로젤을 전자선 조사에 의한 가교방법을 통해 제조하였다. 폴록사머의 말단을 비닐그룹으로 개질하여 화학적 가교 구조를 도입함으로써 하이드로젤 제형의 기계적 물성 및 점막부착성을 크게 향상시킬 수 있었으며, 약물방출 특성을 제어할 수 있었다. 이러한 물리적으로 또한 화학적으로 가교된 온도 감응성 하이드로젤은 뛰어난 점막부착성과 방출 제어능을 갖는 점막부착형 제형으로 유용할 것으로 기대된다.

감사의 글: 이 논문은 2010년 교육과학기술부의 재원으로 시행하는 한국연구재단의 방사선 기술 개발 사업으로 지원받았으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. J. S. Kim and K. Han, *J. Pharm. Invest.*, **32**, 1 (2002).
2. N. Salamat-Miller, M. Chittchang, and T. P. Johnston, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **57**, 1556 (2005).
3. J. R. Robinson, M. A. Longer, and M. Veillard, *Ann. Ny. Acad. Sci.*, **507**, 307 (1987).
4. S. H. S. Leung and J. R. Robinson, *J. Control. Release*, **12**, 187 (1990).
5. H. Park and J. R. Robinson, *Pharm. Res.*, **4**, 457 (1987).
6. D. Duchene, F. Touchard, and N. A. Peppas, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **14**, 283 (1988).
7. C. Robert, P. Buri, and N. A. Peppas, *Acta Pharm. Technol.*, **34**, 95 (1988).
8. M. E. Devries, H. E. Bodde, J. C. Verhoef, and H. E. Junginger, *Crit. Rev. Ther. Drug*, **8**, 271 (1991).
9. C. A. Squier, *Crit. Rev. Oral Biol. M.*, **2**, 13 (1991).
10. W. E. Hennink and C. F. van Nostrum, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **54**, 13 (2002).
11. H. Omidian, J. G. Rocca, and K. Park, *J. Control. Release*, **102**, 3 (2005).
12. J. Kopecek, *Biomaterials*, **28**, 5185 (2007).
13. J. D. Smart, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **57**, 1556 (2005).
14. P. L. Wang and T. P. Johnston, *Int. J. Pharm.*, **113**, 73 (1995).
15. S. Fusco, A. Borzacchiello, and P. A. Netti, *J. Bioact. Compat. Pol.*, **21**, 149 (2006).
16. P. Alexandridis and T. A. Hatton, *Colloid Surface A*, **96**, 1 (1995).
17. Y. K. Han, J. W. Kwon, J. S. Kim, C. S. Cho, W. R. Wee, and J. H. Lee, *Brit. J. Ophthalmol.*, **87**, 1399 (2003).
18. H. J. Chung, Y. H. Lee, and T. G. Park, *J. Control. Release*, **127**, 22 (2008).
19. M. Malmsten, *Soft Matter*, **2**, 760 (2006).
20. K. Morikawa, F. Okada, M. Hosokawa, and H. Kobayashi, *Cancer Res.*, **47**, 37 (1987).
21. R. Bhardwaj and J. Blanchard, *J. Pharm. Sci.*, **85**, 915 (1996).
22. S. D. Desai and J. Blanchard, *J. Pharm. Sci.*, **87**, 1190 (1998).
23. J. B. Lee, K. W. Chun, J. J. Yoon, and T. G. Park, *Macromol. Biosci.*, **4**, 957 (2004).
24. K. W. Chun, J. B. Lee, S. H. Kim, and T. G. Park, *Biomaterials*, **26**, 3319 (2005).
25. H. Y. Kweon, M. K. Yoo, J. H. Lee, W. R. Wee, Y. G. Han, K. G. Lee, and C. S. Cho, *J. Appl. Polym. Sci.*, **88**, 2670 (2003).
26. A. B. Lugao and S. M. Malmonge, *Nucl. Instrum. Meth. B*, **185**, 37 (2001).
27. Y. J. Lee, J. H. Choi, Y. M. Lim, P. H. Kang, J. Shin, and Y. C. Nho, *Polymer Science and Technology*, **18**, 253 (2007).
28. S. Y. Jo, Y. M. Lim, M. H. Youn, H. J. Gwon, J. S. Park, Y. C. Nho, and H. Shin, *Polymer(Korea)*, **33**, 551 (2000).
29. I. S. Han, Y. M. Lim, H. J. Gwon, J. S. Park, and Y. C. Nho, *Polymer(Korea)*, **35**, 13 (2011).