



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0111604
(43) 공개일자 2011년10월12일

(51) Int. Cl.

A61K 9/06 (2006.01) C08B 31/18 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0030756

(22) 출원일자 2010년04월05일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전 유성구 궁동 220 충남대학교

(72) 발명자

허강무

대전광역시 유성구 궁동 220 충남대학교 고분자공학과

백은정

대전광역시 유성구 궁동 220 충남대학교 고분자공학과

광가

대전광역시 유성구 궁동 220 충남대학교 고분자공학과

(74) 대리인

박창희, 김종관, 권오식

전체 청구항 수 : 총 10 항

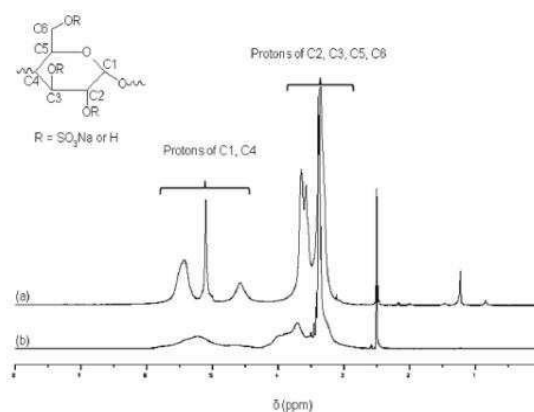
(54) 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 생분해성 초다공성 하이드로젤에 관한 것으로, a) 수용성 황산화 전분을 제조하는 단계; b) 상기 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하는 단계; 및 c) 상기 비닐기가 도입된 수용성 황산화 전분을 가스 블로잉법에 의해 가교하여 공극이 형성된 초다공성 하이드로젤을 제조하는 단계를 포함하는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤은 다양한 바이오 분야에 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2009-0630

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관

연구사업명 일반연구자지원사업

연구과제명 속팽윤성과 고흡수성을 지닌 천연고분자계 초다공성 하이드로젤의 제조

기여율

주관기관 한국연구재단

연구기간 2009년 5월 1일~2011년 4월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

- a) 수용성 황산화 전분을 제조하는 단계;
 b) 상기 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하는 단계; 및
 c) 상기 비닐기가 도입된 수용성 황산화 전분을 가스 블로잉법에 의해 가교하여 공극이 형성된 초다공성 하이드로젤을 제조하는 단계;
 를 포함하는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 a)단계는 반응용매에 전분을 첨가한 후, 삼산화황 피리딘에 의해 술폰화 반응시켜 수용성 황산화 전분을 제조하는 것인 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 b)단계는 반응용매에 수용성 황산화 전분을 첨가하고, 아크릴로일 클로라이드를 첨가하여 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하는 것인 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 c)단계는 비닐기가 도입된 수용성 황산화 전분에 발포안정제, 발포제, 및 반응 개시제를 첨가하여 가스 블로잉법에 의해 10 ~ 300 μ m의 공극을 형성하는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 c)단계는 아크릴산을 더 첨가하는 것을 특징으로 하는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법.

청구항 6

제 4항에 있어서,

상기 반응 개시제는 암모늄 퍼설페이트인 것을 특징으로 하는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법.

청구항 7

제 4항에 있어서,

상기 c)단계는 중탄산 나트륨을 더 첨가하는 것을 특징으로 하는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법.

청구항 8

제 1항 내지 제 7항에서 선택되는 어느 한 항의 제조방법으로 제조된 생분해성 초다공성 하이드로젤.

청구항 9

제 1항 내지 제 7항에서 선택되는 어느 한 항의 제조방법으로 제조된 생분해성 초다공성 하이드로젤을 약물 담체로 사용한 약물전달제.

청구항 10

제 1항 내지 제 7항에서 선택되는 어느 한 항의 제조방법으로 제조된 생분해성 초다공성 하이드로젤을 이용한 의료기기.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법에 관한 것으로, 빠른 팽윤성과 고흡수성을 동시에 가질 뿐만 아니라 하이드로젤 제조 시 생체적합성 고분자인 전분을 사용함으로써 생분해 특성을 갖는 초다공성 하이드로젤의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 하이드로젤(hydrogel)은 친수성 고분자의 화학적 또는 물리적 가교를 통해 제조된 3차원 망상구조를 말하며, 상당한 양의 물을 흡수하여 평형상태에 도달할 때까지 팽윤할 수 있고, 물을 보유할 수 있는 특성을 갖고 있기 때문에 기질의 확산이 다른 물질에 비해 상대적으로 유리하다는 특징을 갖고 있다. 또한 상기 하이드로젤의 팽윤하는 특성은 약물 전달 시스템, 조직 공학을 포함한 다양한 바이오 메디칼 분야에서 매우 유용하게 이용되고 있다.

[0003] 그러나 상기 하이드로젤은 건조 상태의 하이드로젤(xerogel)에서 완전한 팽윤에 이르기까지 오랜 시간이 걸린다는 단점을 가지고 있어, 빠른 팽윤 속도를 요하는 다양한 응용 분야에 있어서는 많은 제약을 받고 있다.

[0004] 한편, 종래 개발된 하이드로젤로서 한국공개특허 제1995-0000033호에는 γ -조사에 의해서 제조된 팽윤성 하이드로젤을 이용한 위내 체류형 장기 지속성 경구투여 정제의 제조방법이 개시되어 있다. 또한, 미국특허 제 6,602,952호에는 키토산과 다관능성 PEG, 예컨대 폴리(에틸렌 글라이콜) 또는 관련 중합체를 다양하게 반응 및 가교시켜 하이드로젤을 제조하고, 이를 약물전달을 위해 사용하는 방법에 대해서 기재되어 있다. 또한, 미국특허 제5,904,927호에는 키토산과 폴리에틸렌옥사이드(PEO)가 상호침투 네트워크를 형성하여 제조된 pH-의존 팽윤성을 갖는 하이드로젤을 제조하고, 이를 약물전달에 사용하는 방법에 대해서 기재되어 있다.

[0005] 그러나, 종래에 개발된 하이드로젤 제형은 생분해성 또는 생체적합성이 낮거나 없으며, γ -조사 등을 사용하기 때문에 제조가 용이하지 않고, 물성이 약하며, 경우에 따라서는 목적하는 팽윤 속도를 나타내지 못하는 단점을 갖는다.

[0006] 일반적으로 다공성 하이드로젤을 제조하게 되면 확산 속도가 한층 더 빨라지게 되는데, 이러한 다공성 하이드로젤(porous hydrogel)을 제조하기 위한 방법으로는 포로젠(porogen)을 이용하여 기공(pore)을 형성하는 방법이 널리 활용되고 있다. 이는 포로젠(porogen)과 전구용액(precursor solution)을 혼합하여 하이드로젤을 제조한 후 포로젠을 물리, 화학적으로 제거하여 기공을 만드는 방법으로 구성된다. 이미 1999년 일본 kansai 대학의 Takashi Miyata 외 2인이 항원(antigen)과 항체(antibody)를 하이드로젤 안에 고정화하여 생물의학응용 기술을 선보인 바 있으며[nature vol 399 : 766 ~ 769, 1999], 같은 해 Texas A&M 대학의 Micheal V. Pishko 그룹에서 덱스트란(dextran)과 organophosphorus hydrolase(OPH) 효소를 하이드로젤 안에 화학적으로 고정하여 형광을 이용한 바이오센서로의 응용 가능성을 보여주기도 했다.

[0007] 그러나 상기 공지된 다공성 하이드로젤은 세공의 구조가 하이드로젤 막 전체를 관통하지 못할 뿐만 아니라 그 분포가 불규칙하여 유효 비표면적이 한정적이라 그 사용이 제한적이었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상기와 같은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 하이드로젤 제조를 위한 고분자 제형의 골격으로 천연고분자인 전분을 사용함으로써 생분해 특성 및 생체 적합성을 갖는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법을 제공하는데 목적이 있다.

[0009] 보다 구체적으로 본 발명은 전분을 이용한 화학적 개질을 통해 수용성 황산화 전분을 제조하고, 황산염(sulfate)기와 반응성을 가질 수 있도록 상기 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하여 3차원 가교 구조를 형성함으로써 종래의 하이드로젤 대비 내구성 및 기계적 강도가 뛰어난 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법을 제공하는데 목적이 있다.

[0010] 또한 본 발명은 상기와 같이 종래 하이드로젤의 불규칙한 세공 구조와 느린 팽윤성 및 제조 공정 상의 문제를 개선하기 위하여 가스 블로잉법을 이용하였으며, 상기 가스 블로잉법으로 라디칼을 형성하여 가교 반응을 통해 하이드로젤 내부에 공극들이 연결된 열린 다공을 형성함으로써 빠른 팽윤성과 고흡수성을 동시에 갖는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여 안출된 것으로, 빠른 팽윤성과 고흡수성을 동시에 가질 뿐만 아니라 하이드로젤 제조 시 생체적합성 고분자인 전분을 사용함으로써 생분해 특성을 갖는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법을 제공한다.

[0012] 이하 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다.

[0013] 이때, 본 발명에서 사용되는 기술 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.

[0014] 본 발명은 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법에 관한 것으로,

[0015] a) 수용성 황산화 전분을 제조하는 단계; b) 상기 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하는 단계; c) 상기 비닐기가 도입된 수용성 황산화 전분을 가스 블로잉법에 의해 가교하여 공극이 형성된 초다공성 하이드로젤을 제조하는 단계;를 포함한다.

[0016] 전분(starch)은 수많은 D-글루코스(포도당)가 축합반응을 일으키면서 길게 연결되어 만들어지는 다당류로서 아밀로오스(amylose)와 아밀로펙틴(amylopectine)의 혼합물이다. 전분은 저렴한 가격, 풍부함, 생체 적합성, 생분해성 그리고 화학적인 도입이 가능한 여러 기능기 등의 특성들로 인해 바이오 메디칼 분야에서 널리 사용가능한 물질이다.

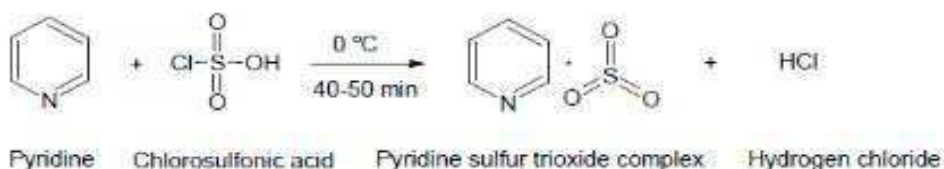
[0017] 본 발명에서는 하이드로젤 제조를 위한 고분자 제형의 골격으로 천연고분자인 옥수수 전분을 사용함으로써 생분해 특성 및 생체 적합성을 갖는 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법을 제공한다.

[0018] 먼저, a) 수용성 황산화 전분을 제조하는 단계;를 진행한다.

[0019] 보다 구체적으로 상기 a)단계는 반응용매에 전분을 첨가한 후, 삼산화황 피리딘에 의해 술폰화 반응시켜 수용성 황산화 전분을 제조할 수 있다.

[0020] 상기 삼산화황 피리딘은 하기 반응식 1에 나타난 바와 같이 피리딘과 염화술폰산(chlorosulfonic acid)의 반응에 의해 생성된다.

[0021] [반응식 1]

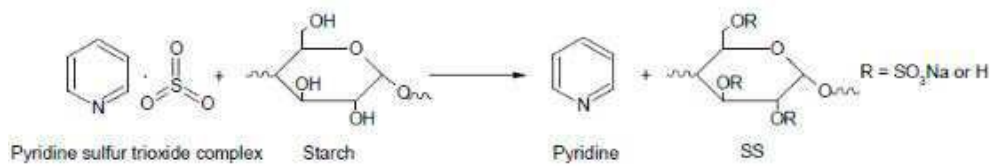


[0022]

[0023] 상기 a)단계에서 사용가능한 반응용매로는 다이메틸폼아마이드(Dimethylformamide, DMF) 등이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0024] 본 발명의 a)단계에 기재된 수용성 황산화 전분(starch sulfate, SS)을 제조하기 위한 술폰화 반응은 하기 반응식 2와 같이 진행되며, 전분에 친수성인 황산염(sulfate)기를 도입함으로써 전분의 화학적 개질을 가능하게 할 수 있다.

[0025] [반응식 2]



[0026]

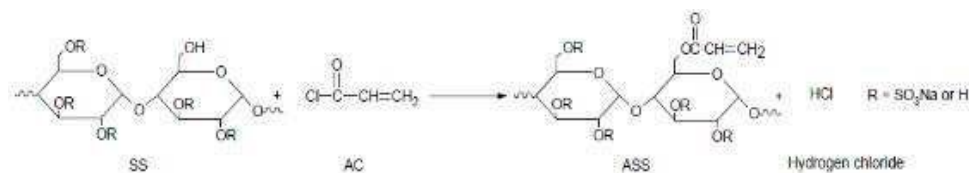
[0027] 또한 상기 술폰화 반응은 60 ~ 80 ℃의 온도에서 반응이 진행되며, 상기 온도 범위에서 옥수수 전분은 뚜렷한 분해 없이 효과적으로 단위체로 분해될 수 있으며, 화학적 개질 반응을 촉진시켜 산(acid)기의 활성을 증가시킬 수 있다.

[0028] 이 후 b) 상기 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하는 단계;를 진행한다.

[0029] 일반적으로 상기 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하는 에스터(ester)화 반응은 쉽지 않으며, 그 주된 이유는 천연 전분(native starch)이 갖는 비용해성과 상기 반응 중에서 전분이 분해되는 양이 상당하다는 데에 있다.

[0030] 따라서 본 발명에서는 수용성 황산화 전분에 비닐기를 도입하기 위한 공정으로 하기 반응식 3과 같이 반응용매에 수용성 황산화 전분을 첨가하고, 아크릴로일 클로라이드를 첨가하여 아크릴로일옥시 황산화 전분(acryloyloxy starch sulfate, ASS)을 제조하는 방법을 제공한다.

[0031] [반응식 3]



[0032]

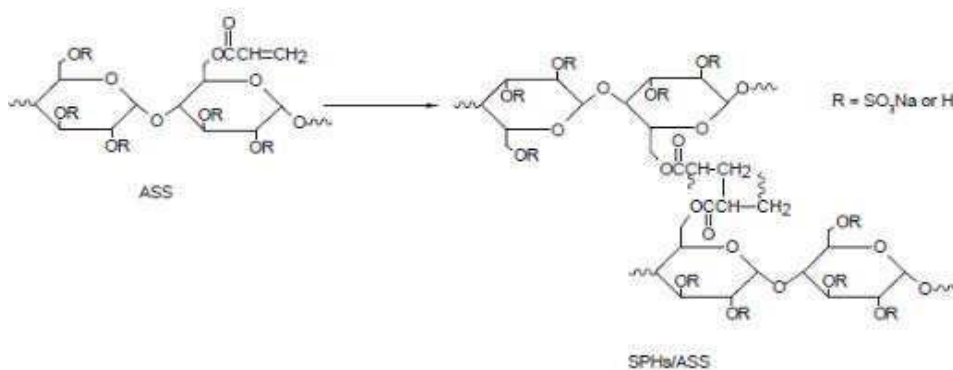
[0033] 상기 b)단계에서 사용가능한 반응용매로는 다이메틸폼아마이드(Dimethylformamide, DMF) 등이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0034] 또한 상기 b)단계 반응 중 반응을 촉진시키는 염기로서 피리딘을 더 첨가할 수 있다.

[0035] 마지막으로 c) 상기 비닐기가 도입된 수용성 황산화 전분을 가스 블로잉법에 의해 가교하여 공극이 형성된 초다공성 하이드로젤(superporous hydrogels, SPHs)을 제조하는 단계;를 진행한다.

[0036] 상기 c)단계는 비닐기가 도입된 수용성 황산화 전분에 발포안정제, 발포제 및 반응 개시제를 첨가하여 가스 블로잉법에 의해 10 ~ 300μm의 균일한 공극을 형성할 수 있으며, 이 반응은 하기 반응식 4와 같이 진행된다.

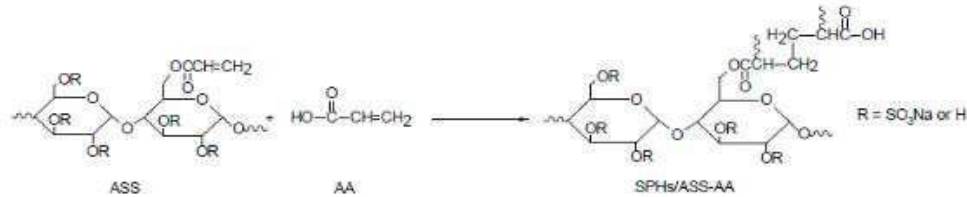
[0037] [반응식 4]



[0038]

[0039] 또한 상기 c)단계는 가교 반응 촉진을 위해 단량체를 더 첨가할 수 있으며, 가장 바람직하게는 아크릴산(acrylic acid, AA)이 더 첨가될 수 있다. 단량체로 아크릴산이 더 첨가되는 경우, 이 반응은 하기 반응식 5와 같이 진행된다.

[0040] [반응식 5]



[0041]

[0042] 본 발명에 따른 초다공성 하이드로젤은 가스 방울이 있는 상태에서 단량체의 가교에 의해 합성된다. 초다공성 하이드로젤이 합성될 때 고분자 사슬은 많은 공극들에 의해 상분리 되어진다. 공극들은 열린 채널 형태로 모두 연결되어 있으며, 그로 인해 확산뿐만 아니라 모세관 채널을 통한 내부의 모세관 현상으로 더 빠르게 많은 양의 물을 흡수하여 팽윤할 수 있다. 초다공성 구조는 또한 일반적인 다공성 구조에 비해 수백 배의 넓은 표면적을 제공하고, 매우 짧은 확산거리를 갖게 한다. 따라서 초다공성 하이드로젤의 팽윤속도는 일반적인 하이드로젤에 비해 수백 배나 빠른 속도를 갖는다.

[0043] 또한 본 발명에 따른 초다공성 하이드로젤은 크기와 모양에 상관없이 빠르게 팽윤하는 성질에 의해 크기와 팽윤 속도에 의한 제한을 완벽히 극복할 수 있으며, 여기에 충분히 견딜 만한 물리적 강도를 더하여 내구성 및 기계적 강도가 우수한 생분해성 초다공성 하이드로젤을 제공할 수 있다.

[0044] 앞서 기재한 열린 채널은 하이드로젤 내부의 공극들이 서로 연결된 구조를 형성한다는 것을 말하며, 열린 채널을 통한 모세관 현상에 의해 물은 매우 빠른 속도로 공극들에 의해 전달되어 하이드로젤 내부로 이동하게 된다. 상기 공극들은 또한 하이드로젤의 물에 대한 표면적을 넓게 함으로써 용매의 확산거리를 최소화 시킨다.

[0045] 상기 생분해성 초다공성 하이드로젤을 합성하기 위해서는 젤이 형성되는 시점과 발포 과정이 적절하게 조화를 이루어야 한다.

[0046] 상기 c)단계의 가스 블로잉법에 대해 보다 구체적으로 설명하면, 상기 비닐기가 도입된 수용성 황산화 전분에 반응 개시제의 첨가에 의한 중합이 시작되면 이 후 발포안정제 및 발포제를 첨가한다. 상기 발포제의 첨가에 의해 거품이 일어났고 동시에 pH 상승에 의해 중합속도 또한 가속화 된다. 상기 발포제는 용액 내의 산 성분과 반응하여 CO₂ 가스를 형성함과 동시에 pH 상승을 유발하는 OH기를 생성한다. 발포안정제에 의해 발포 과정이 유지되는 동안 중합이 완료되어야 초다공성의 열린 채널을 형성하는 하이드로젤을 합성할 수 있다.

[0047] 상기 발포제의 양에 따라 공극의 크기를 조절 할 수 있는데, 발포제의 양이 많아질수록 일반적으로 큰 공극을 생성할 수 있다.

[0048] 상기 c)단계에서 사용되는 반응 개시제는 암모늄 퍼설페이트(ammonium persulfate, APS) 등이 사용가능하나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0049] 또한 상기 c)단계에서 가교 반응 촉진을 위해 중탄산 나트륨을 더 첨가할 수 있으며, 상기 중탄산 나트륨을 첨가함으로써 하이드로젤 내에 균일한 공극 구조를 형성할 수 있다.

[0050] 본 발명의 제조방법으로 제조된 생분해성 초다공성 하이드로젤은 약물전달제의 약물 담체로 사용가능하며, 그 밖에 의료기기에도 사용가능하다.

발명의 효과

[0051] 본 발명에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 제조방법은 하이드로젤 제조를 위한 고분자 제형의 골격으로 천연고분자인 전분을 사용함으로써 생분해 특성 및 생체 적합성을 가지며, 황산염(sulfate)기와 반응성을 가질 수 있도록 전분에 비닐기를 도입하여 3차원 가교 구조를 형성함으로써 종래의 하이드로젤 대비 내구성 및 기계적 강도가 뛰어난 생분해성 초다공성 하이드로젤을 제조할 수 있다.

[0052] 또한 본 발명은 상기와 같이 종래 하이드로젤의 불규칙한 세공 구조와 느린 팽윤성 및 제조 공정 상의 문제를 개선하기 위하여 가스 블로잉법을 이용함으로써 하이드로젤 내부에 공극들이 연결된 열린 다공을 형성하고, 빠른 팽윤성과 고흡수성을 동시에 가지며, 효소 존재 하에서 완전히 생분해되는 생분해성 초다공성 하이드로젤을 제조하는데 효과가 있다.

[0053] 본 발명에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤은 다양한 바이오 분야에 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0054] 도 1은 (a)전분과 (b)SS의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 2는 (a)전분, (b)SS 및 (c)ASS의 FT-IR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 3은 (a)SS와 (b)ASS의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 4는 실시예 1 내지 실시예 10에 따른 건조된 상태의 생분해성 초다공성 하이드로젤 사진을 나타낸 것이다.

도 5는 실시예 6에 따른 초다공성 하이드로젤의 상태 변화에 따른 사진을 나타낸 것이다.

도 6은 실시예 1 내지 실시예 10에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 SEM 사진을 나타낸 것이다.

도 7의 (a) 및 (b)는 실시예 1 내지 실시예 5에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 팽윤도를 나타낸 것이다.

도 9의 (a) 및 (b)는 실시예 1 내지 실시예 10에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 생분해성 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055] 이하, 본 발명은 하기의 실시예에 의하여 보다 더 잘 이해될 수 있으며, 하기의 실시예는 본 발명의 예시 목적을 위한 것으로서 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0056] [시험예]

[0057] 1) $^1\text{H-NMR}$ 분석

[0058] Proton nuclear magnetic resonance($^1\text{H-NMR}$, JNM-AL400 spectrometer, Jeol Ltd, Akishima, Japan) 공명 분석으로 DMSO-d₆ 용매를 사용하여 SS의 화학적 조성을 확인하였다. 또한 하기 식 1과 같이 ASS(용매로 D₂O를 사용)에 아크릴로일기가 치환된 정도(DA)를 계산하였다.

[0059] [식 1]

[0060] $DA = 5x / 3y$

[0061] 상기 식 1에서 x는 아크릴로일(acryloyl) 결합의 프로톤 피크 면적이며, y는 무수글루코오스(anhydroglucose) 고리의 프로톤 피크 면적이다.

[0062] 2) 원소 분석(Elemental analysis)

[0063] Elemental analysis(Flash EA 1112 series, Thermo Fisher Scientific International Inc.)으로 SS에서 황산염기가 치환된 정도(DS)를 확인하였으며, DS는 하기 식 2와 같이 계산 할 수 있다.

[0064] [식 2]

$$DS = \frac{162 [S]}{3200 - 102 [S]}$$

[0065]

[0066] 상기 식 2에서 [S]는 원소 분석으로부터 얻은 SS의 sulfur 비(%)를 말한다.

[0067] 3) FT-IR 분석

[0068] SS와 ASS는 Fourier transform infrared spectroscopy(FT-IR, Magna 560 spectrometer, Nicolet, USA)로 특성 분석하여 비교하였으며, 샘플은 pressing법으로 KBr disc를 만들어 사용하였다.

[0069] 4) 형태 분석

[0070] 건조 상태인 초다공성 하이드로젤의 표면 및 내부의 공극 구조는 Scanning electron microscope(SEM, S-2460N,

Hitachi, Tokyo, Japan)으로 100배 확대하여 관찰하였다.

[0071] 5) 접촉각 측정

[0072] 초다공성 하이드로젤 표면의 친수성도를 확인하기 위하여 Sessile drop법을 통해 drop shape analyzer(DSA 100, Kr, Germany)로 접촉각 측정을 하였다.

[0073] 공극 구조로 인하여 초다공성 하이드로젤의 직접적인 접촉각 측정은 불가능하기 때문에 발포과정을 뺀 동일한 화학적 조성을 가진 하이드로젤을 필름 형태로 만들어서 접촉각 측정에 사용하였다.

[0074] 6) 팽윤도 측정(swelling ratio measurement)

[0075] 초다공성 하이드로젤 샘플을 디스크 모양(지름 12mm, 두께 2mm)으로 자르고, 실온 하에서 24시간 동안 진공 건조시켰다. 탈이온수(DI water)에 담근 뒤에 일정시간마다 꺼내어 표면에 묻은 과다한 물을 여과지에 부드럽게 닦아낸 후 무게를 측정하였다. 초다공성 하이드로젤의 swelling ratio(S)는 하기 식 3을 이용하여 계산하였다.

[0076] [식 3]

$$[0077] S = (W_s - W_d) / W_d$$

[0078] 상기 식 3에서 W_d 는 건조된 상태의 초다공성 하이드로젤의 무게이고, W_s 는 물에 담근 뒤 일정 시간마다 측정된 초다공성 하이드로젤의 무게이다.

[0079] 7) 생분해성 시험

[0080] 생분해성 시험은 1g의 SPHs 당 280개의 α -amylase 단위를 가진 SPHs를 Phosphate Buffered Saline solution(PBS, 1000 mL, pH = 7.4, including 0.1 g/L calcium chloride as an enzymatic stabilizer and activator)에 담가 37℃를 유지한 상태에서 측정하였다. 팽윤된 초다공성 하이드로젤의 무게 감소량을 일정시간마다 관찰하였으며 분해되는 정도는 하기 식 4와 같이 계산하였다.

[0081] [식 4]

$$[0082] \text{Mass loss}(\%) = W_t / W_{eq} \times 100$$

[0083] 상기 식 4에서 W_t 는 분해가 진행되었을 때의 초다공성 하이드로젤의 무게이고, W_e 는 팽윤되어 평형상태에 도달하였을 때의 초다공성 하이드로젤의 무게이다.

[0084] [실시에 1 ~ 실시에 10]

[0085] 수용성 황산화 전분(water-soluble starch sulfate, SS)의 합성

[0086] 500mL 크기의 two neck 둥근 바닥 플라스크에 응축기(condensator) 및 마그네틱 교반기(magnetic stirrer)를 설치하고, 응축기의 끝부분에 off-gas absorption equipment를 고정시킨다. 기기 전체는 ice-water bath 안에 설치하였다. 플라스크에 피리딘(pyridine) 15mL를 넣고, 마그네틱 바를 천천히 회전시키는 가운데 염화술포산(chlorosulfonic acid) 12.3mL를 플라스크에 천천히 떨어뜨린 후 40분 반응시켜 삼산화황 피리딘(sulfur trioxide pyridine) 혼합물을 제조하였다. 상기 삼산화황 피리딘 혼합물을 DMF 70mL에 완전히 녹여 노란색의 sulfating agent 용액을 제조하였다.

[0087] 드로핑 펀넬(dropping funnel), 응축기(condensator) 및 온도계가 설치된 1,000mL 크기의 three neck 둥근 플라스크에 DMF 60mL를 넣고, 옥수수 전분(corn starch) 30g을 첨가하여 분산시켰다. 기기 전체는 oil-bath 안에 설치하였다. 상기 혼합물을 마그네틱 바로 회전시키면서 70℃까지 온도를 올렸다. 그 후 sulfating agent 용액을 1시간 동안 천천히 떨어뜨려 추가하고, 혼합물을 1시간 동안 교반하였다. 반응 후 생성된 용액을 냉각 탈이온수(iced DI water) 100mL에 넣고, 2.5 mol/L의 NaOH 용액으로 pH 7.0~7.4가 되도록 적정하였다. 침전이 일어나면 에탄올(ethanol)로 세척하고, 침전물은 24시간 동안 실온에서 진공건조 시킨 후 다시 탈이온수(DI water)에 녹였다. 투명한 상층액(supernatant)을 원심분리(10000 rpm, 10 min)를 통해 얻었다. 얻은 용액을 48시간 동안 분리막으로 걸러낸 후 동결 건조하여 최종생성물로 흰 가루인 SS를 얻었다.

[0088] 아크릴로일옥시황산화 전분(acryloyloxystarch sulfate, ASS)의 합성

[0089] 드로핑 펀넬(dropping funnel)과 응축기(condensator)가 설치된 250mL 크기의 two neck 둥근 플라스크에 DMF 40mL를 넣고, 수용성 SS 1g을 첨가하여 분산시켰다. 기기 전체는 oil-bath 안에 설치하였다. oil-bath의 온도를 60℃로 높이고, 플라스크 안에 피리딘과 아크릴로일 클로라이드(acryloyl chloride, AC)를 넣고, 60℃에서 30분

동안 교반시켜 반응시켰다. 이 후 상기 혼합액에 침전물이 생성되면 아세톤으로 침전물을 2번 반복하여 세척한 후, 진공오븐에서 40℃의 온도로 24시간 동안 건조시켰다. 얻어진 생성물을 탈이온수(DI water)에 녹인 후 원심 분리(3500 rpm, 10 min)시켜 투명한 상층액(supernatant)을 얻었다. 얻은 용액을 48시간 동안 분리막으로 걸러낸 후 동결 건조하여 흰색 가루 상태의 수용성 ASS를 얻었다.

[0090] **초다공성 하이드로젤(superporous hydrogels, SPHs)의 합성**

[0091] 초다공성 하이드로젤은 comonomer로서의 아크릴산(acrylic acid, AA)의 존재 혹은 결핍 하에 가스 블로잉(gas blowing)법으로 가교 하여 얻을 수 있다.

[0092] 반응기에 ASS를 넣고, PF127 0.5w/v%와 아세트산(acetic acid, AA)을 각각 발포안정제와 발포제로서 사용하였다. 가교반응은 APS 0.6 w/v%와 TEMED 0.4w/v%의 첨가로 개시되었으며, 중탄산 나트륨(sodium bicarbonate) 5w/v%을 더 첨가하여 반응을 촉진하였다. 상기 초다공성 하이드로젤 제조를 위한 각 조성들의 함량은 하기 표 1에 나타내었다. gelation과 foaming 반응 시간은 25~60초 사이에서 조절하였다. 중탄산 나트륨은 용액 내의 산 성분과 반응하여 CO₂를 형성하며, 중합 반응은 빠르게 진행되고 반응 혼합용액은 시간이 흐를수록 점성이 생기게 된다. 30분 동안 반응 후 반응이 종결되면 합성된 초다공성 하이드로젤을 에탄올로 탈수 및 세척하여 12시간 동안 진공 건조시켜 생분해성 초다공성 하이드로젤을 제조하였다.

[0093] [표 1]

No.	Samples	ASS(w/v%)	DA(%)	Acetic acid(w/w%)	AA(w/v%)	T ^a (sec)	S _{eq} ^b
실시예 1	SPHs/ASS01	35	5.33	15	-	60	87
실시예 2	SPHs/ASS02	35	2.16	15	-	60	70
실시예 3	SPHs/ASS03	35	6.84	15	-	60	65
실시예 4	SPHs/ASS04	45	5.33	15	-	300	50
실시예 5	SPHs/ASS05	55	5.33	15	-	440	34
실시예 6	SPHs/ASS-AA01	6	5.33	-	30	60	215
실시예 7	SPHs/ASS-AA02	6	2.16	-	30	80	189
실시예 8	SPHs/ASS-AA03	6	6.84	-	30	100	173
실시예 9	SPHs/ASS-AA04	12	5.33	-	30	100	176
실시예 10	SPHs/ASS-AA05	18	5.33	-	30	120	140

a: 팽윤 균형을 위한 필요 시간

b: 팽윤비

[0094]

[0095] 도 1은 (a)전분과 (b)SS의 ¹H-NMR 스펙트럼을 나타낸 것으로, 하기 도 1에서 보는바와 같이 자연적으로 얻어지는 전분의 ¹H-NMR 스펙트럼을 보면 전분의 무수글루코오스 단위체 중 C2, C3, C5 및 C6 위치에 해당하는 프로톤을 3.2 ~ 4.0ppm에서 확인할 수 있으며, 적도 방향(equatorial) 프로톤의 이동은 4.6 ~ 5.5ppm에서 확인할 수 있었다(2.5ppm과 3.3ppm에 해당하는 피크는 용매인 DMSO-d₆와 H₂O의 것이다). SS와 비교해보면, 전분의 C2, C3, C5 및 C6 위치에 황산염(sulfate)기가 잘 나타나 있으며, 프로톤 피크는 전자밀도가 증가되어 높은 진동수로 인해 downfield 쪽으로 상당히 이동함을 확인할 수 있다. 또한 공명 진동수(resonance frequency)가 3.5 ~ 5.5ppm으로 낮아진 것은 전분의 -OH기가 부분적으로 OSO₃Na기로 치환되었음을 보여준다. 또한 무수글루코오스 고리의 말단부분이 감소됨으로 인해 α-아노머(anomer) 탄소(5.27ppm)와 β-아노머(anomer) 탄소(4.68ppm)에 해당하는 프로톤(proton) 피크는 사라진 것을 볼 수 있으며, 이를 통하여 OH기가 OSO₃Na로 치환된 것을 확인할 수 있었다.

[0096] SS의 원소 분석 결과는 하기 표 2에 나타내었으며, 전분의 무수글루코오스 단위체 한 개에 OH기가 어렵지 않게 황화 되며, 세 개의 위치(C2, C3 및 C6)에 존재한다. SS의 원소 조성 결과는 무수글루코오스 단위체 100개 당 69개의 황산염(sulfate)기가 붙어있음을 보여주었다.

[0097] 또한 0.69의 DS값을 갖는 SS는 물에도 잘 용해될 뿐만 아니라 DMF에도 완전히 용해된다는 것을 확인하였다. 그러므로 DMF는 에스터화시키는 과정에 있어서 SS의 동질의 용액을 만드는데 적합하게 사용될 수 있다. SS는 전분의 분해(depolymerization) 현상에 의하지 않고도 낮은 온도에서 직접적이며 효과적으로 ASS가 될 수 있다.

[0098] [표 2]

원소 조성	탄소(%)	수소(%)	황(%)	DS
평균값	25.47	4.43	9.59	0.69

[0099]

[0100] 도 2는 (a)전분, (b)SS 및 (c)ASS의 FT-IR 스펙트럼을 나타낸 것으로, 하기 도 2에서 보는 바와 같이 SS와 ASS를 보면 S=O와 S-O의 stretching band는 각각 1247cm^{-1} 와 819cm^{-1} 에서 측정되었으며, 이는 SS가 성공적으로 합성되었음을 확인시켜준다. 또한 3400cm^{-1} 에 보이는 무수글루코오스 고리의 -OH 결합 흡수강도는 하이드록실기 부분이 황산염(sulfate)기로 치환되어서 감소되었음을 보여준다.

[0101]

또한 도 2의 스펙트럼 (c)를 보면 ASS의 흡수 피크가 1725cm^{-1} 에서 강한 카보닐(C=O) 피크가 생겼으며, 1635cm^{-1} 의 탄소 이중결합(C=C) 부분과 차이가 나서 두 부분의 피크가 확연하게 변화된 것을 확인할 수 있었다. 또한 아크릴로일 클로라이드(acryloyl chloride, AC)의 결핍은 1770cm^{-1} 위치에 흡수 피크가 없는 것으로 확인할 수 있었다. 이는 SS와 AC사이에서 에스테르화 반응이 일어났음을 확인시켜주며, 성공적인 아크릴로일화 반응이 일어난 후에 아크릴로일기의 탄소 이중결합이 self-polymerising 없이 SS에 붙었음을 알 수 있었다.

[0102]

도 3은 (a)SS와 (b)ASS의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼을 나타낸 것으로, 하기 도 3에서 보는 바와 같이 5.92ppm, 6.14ppm 및 6.36ppm에서 보여지는 피크는 아크릴로일기의 불균질 프로톤에 의해 나타난 것이다. 4.5 ~ 4.7ppm에 위치한 피크는 $\text{D}_2\text{O}(\text{HOD})$ 의 프로톤과 중수소가 바뀌어 공명이 일어난 결과이다. 또한 SS의 3.2 ~ 4.2ppm 부분이 에스테르화된 후에 낮은 진동수로 인해 upfield 쪽으로 이동되었는데 이는 무수글루코오스 고리의 아크릴로일기가 전자와 shielding되고, 공명 진동수가 변화되었기 때문이다.

[0103]

또한 식 1과 같이 DA는 ASS의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼 피크의 면적으로 계산할 수 있다. 앞에서도 언급했듯이 DA는 gluco-pyranoside 고리(3.2 ~ 4.2ppm) 프로톤의 피크 면적과 대비되는 acryloylated bonds(5.8 ~ 6.5ppm)의 프로톤 피크 면적으로 알 수 있다.

[0104]

도 4는 실시예 1 내지 실시예 10에 따른 건조된 상태의 생분해성 초다공성 하이드로젤 사진을 나타낸 것이고, 도 5는 실시예 6에 따른 초다공성 하이드로젤의 상태 변화에 따른 사진을 나타낸 것으로 (a)는 건조된 상태, (b)는 건조된 상태의 단면, (c)는 팽윤된 상태를 나타낸 것이다.

[0105]

도 6은 실시예 1 내지 실시예 10에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 SEM 사진을 나타낸 것으로, 공극 구조와 분포 정도는 초다공성 하이드로젤의 팽윤도를 조절하는 중요한 인자이다. 균일한 크기의 공극을 가진 초다공성 하이드로젤은 모세관 현상에 의해 빠르게 팽윤하여 물을 흡수할 수 있다. 도 6에서 보이는 바와 같이 가스 블로잉법을 통해 합성한 실시예 1 내지 실시예 10에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤 모두 마이크로 단위의 많은 공극들이 성공적으로 형성되었음을 확인할 수 있었다. SPHs/ASS-AA 시스템의 경우 ASS와 AA가 co-crosslinking를 이루어 제조됨으로써 하이드로젤 내부에 더욱 균일한 공극을 형성할 수 있게 하며 더 강한 기계적 물성을 갖게 한다.

[0106]

생분해성 초다공성 하이드로젤의 친수성도를 확인하기 위해 시편을 필름형태로 만들어서 접촉각을 측정하였다. 필름 표면에 방울을 떨어트리자 재료자체의 흡수성 때문에 빠르게 물을 흡수하여 팽윤하였다. 하기 표 3에 나타난 바와 같이 서로 다른 조성비에 따라 비례적인 접촉각 값을 가짐을 확인하였다.

[0107] [표 3]

No.	Samples	접촉각(°)
실시예 1	SPHs/ASS01	18.8
실시예 2	SPHs/ASS02	18.5
실시예 3	SPHs/ASS03	19.3
실시예 4	SPHs/ASS04	17.7
실시예 5	SPHs/ASS05	11.1
실시예 6	SPHs/ASS-AA01	57.9
실시예 7	SPHs/ASS-AA02	54.8
실시예 8	SPHs/ASS-AA03	64.9
실시예 9	SPHs/ASS-AA04	50.3
실시예 10	SPHs/ASS-AA05	47.4

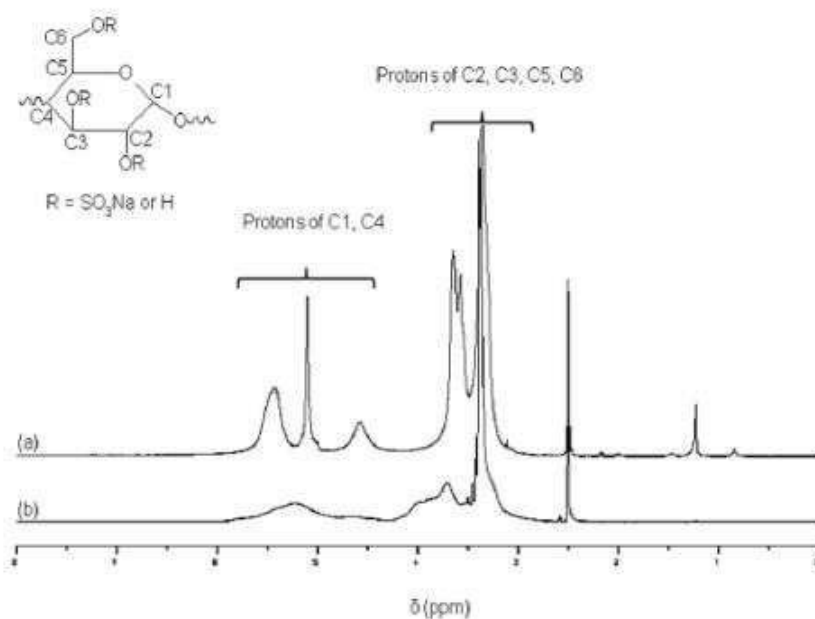
[0108]

[0109] 도 7의 (a) 및 (b)는 실시예 1 내지 실시예 5에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 팽윤도를 나타낸 것이고, 도 8의 (a) 및 (b)는 실시예 6 내지 실시예 10에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 팽윤도를 나타낸 것이다. 하기 도 7 및 도 8에서 보는 바와 같이 SPHs의 모세관 채널을 따라 물이 이동하는 거리는 모세관 현상에 의한 효과와 같다. 이런 이유로 친수성을 갖도록 변형된 전분으로 제조되며, 마이크로 크기의 공극을 갖는 SPHs는 빠르게 팽윤되며, 큰 팽윤도를 가질 수 있다. 낮은 AAS의 DA값을 갖는 생분해성 초다공성 하이드로젤은 빠르게 팽윤되며, 이는 ASS의 양이 증가할 때 높은 수용성을 갖기 때문이다. 전분의 고유한 호화(gelatinization) 성질이 작용하여 형성되는 SPHs의 공극구조는 block SPHs의 팽윤 거동에 중요한 인자로 작용하며, 적절한 공극 구조를 가지는 SPHs는 빠르게 팽윤될 수 있으며, 높은 팽윤도를 보인다.

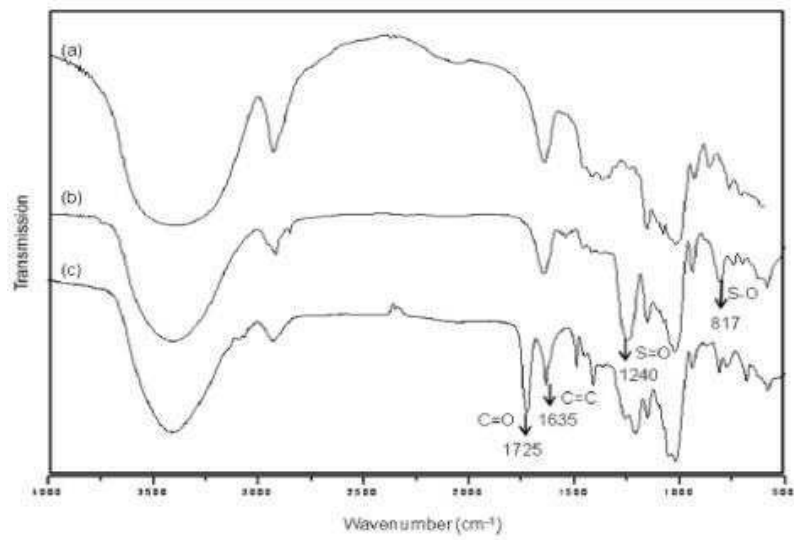
[0110] 도 9의 (a) 및 (b)는 실시예 1 내지 실시예 10에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤의 생분해성 결과를 나타낸 것이다. 생분해성 측정은 다당류(polysaccharide)로 제조한 하이드로젤을 바이오 메디칼 응용 분야에 사용하기 위해서는 필수적으로 행해져야 한다. 궁극적으로 전분은 maltose와 D-glucose로 전환된다. 하기 도 9에서 보는 바와 같이 전분으로 제조한 SPHs는 α -Amylase에 의해 완전히 분해될 수 있음을 확인할 수 있다. 또한 SPHs의 가교는 처음에는 볼록한 상태로 완화된 후 하이드로젤이 무게를 잃기 시작하여 효소 처리한 지 10시간 후 하이드로젤의 약 20%만 남았다. 따라서 높은 수용성을 갖도록 전분으로 제조된 본 발명에 따른 생분해성 초다공성 하이드로젤은 모두 물에 용해될 수 있다.

도면

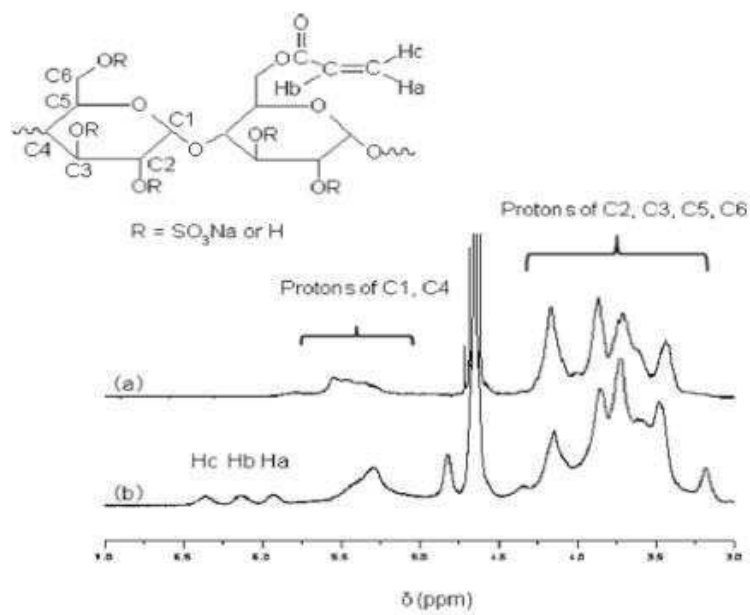
도면1



도면2



도면3



도면4

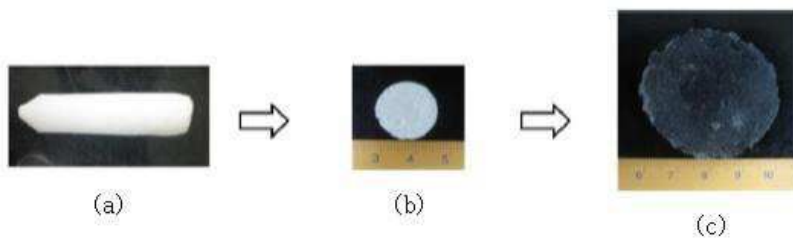


SPHs/ASS01 SPHs/ASS02 SPHs/ASS03 SPHs/ASS04 SPHs/ASS05

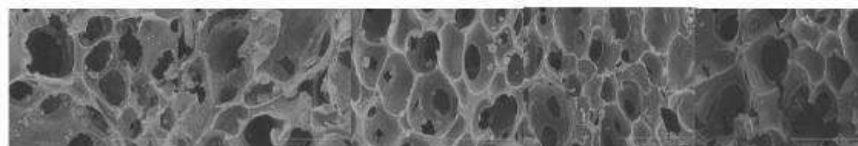


SPHs/ASS-AA01 SPHs/ASS-AA02 SPHs/ASS-AA03 SPHs/ASS-AA04 SPHs/ASS-AA05

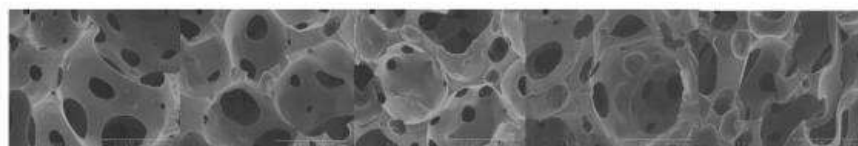
도면5



도면6

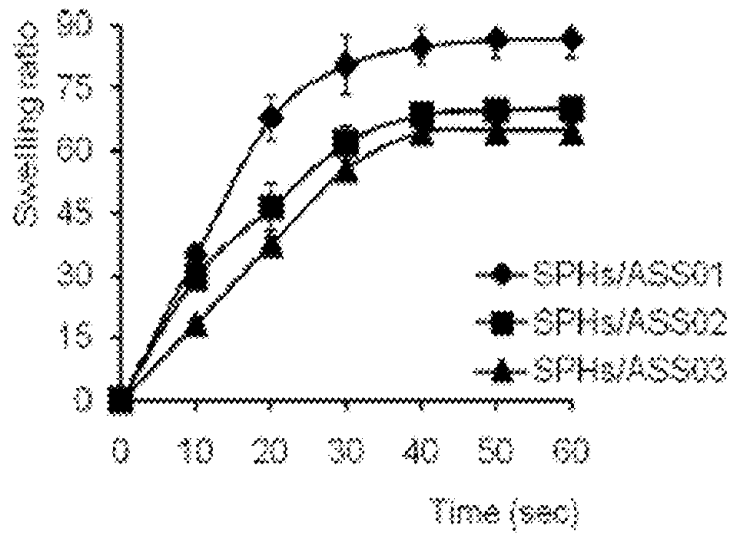


SPHs/ASS01 SPHs/ASS02 SPHs/ASS03 SPHs/ASS04 SPHs/ASS05

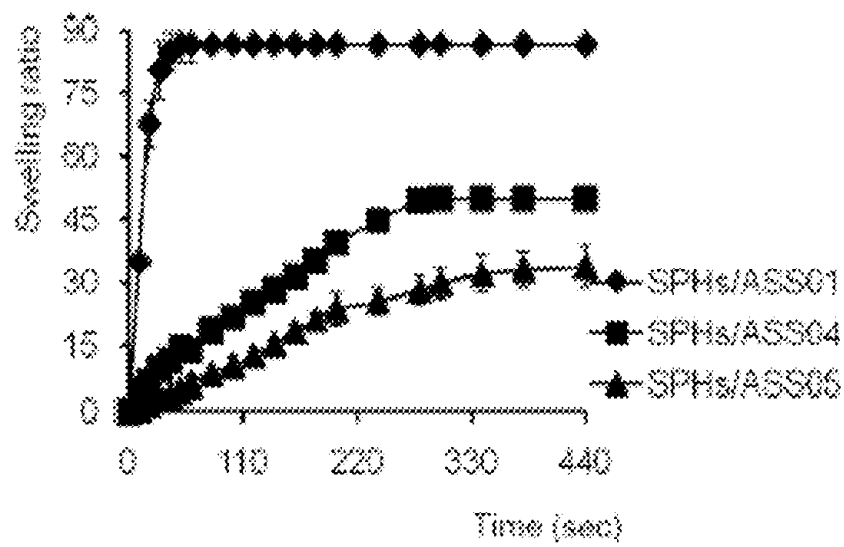


SPHs/ASS-AA01 SPHs/ASS-AA02 SPHs/ASS-AA03 SPHs/ASS-AA04 SPHs/ASS-AA05

도면7

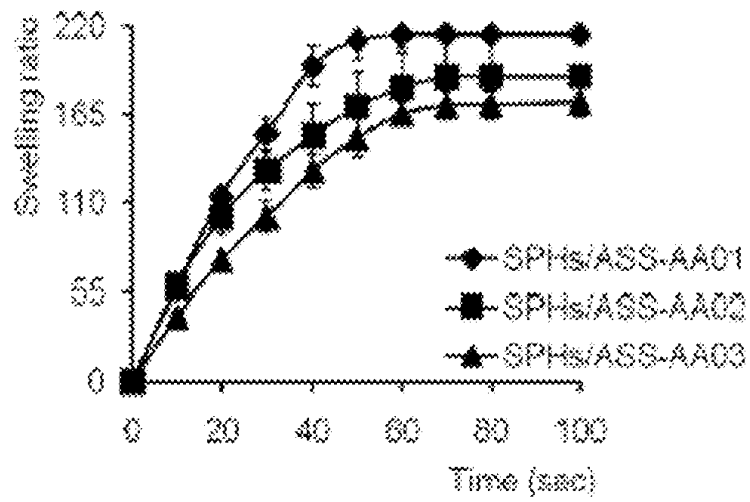


(a)

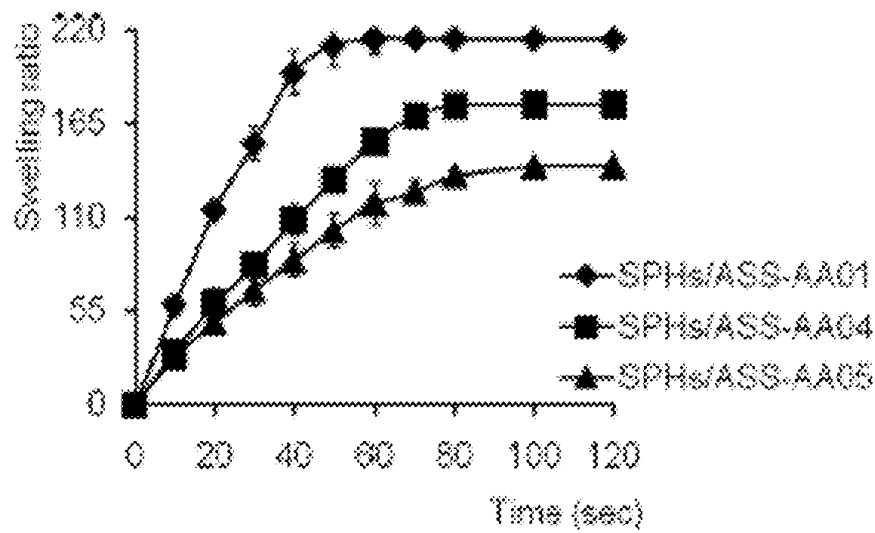


(b)

도면8

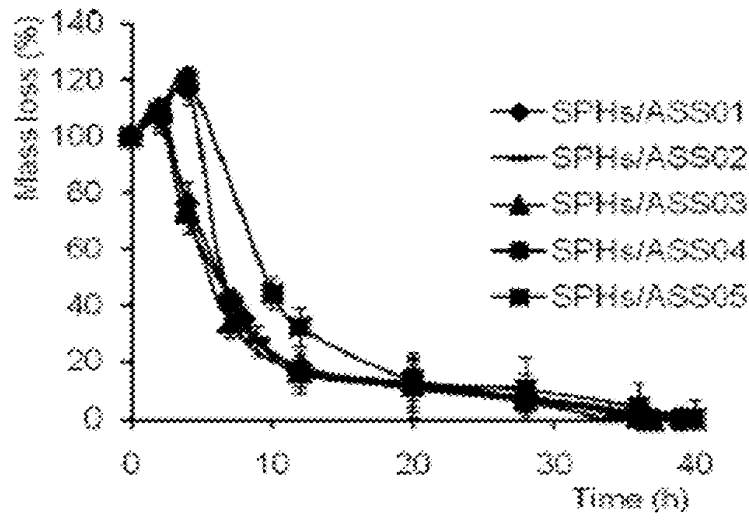


(a)

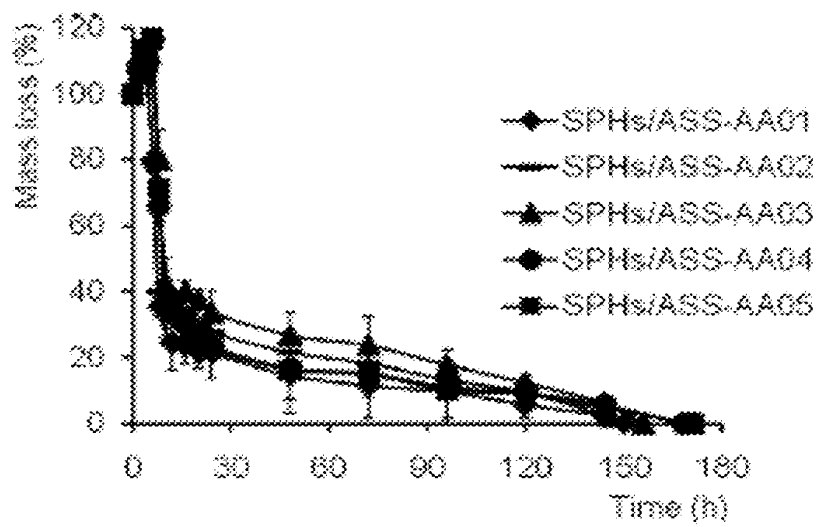


(b)

도면9



(a)



(b)