

(43) 공개일자 2024년08월29일

- 심사청구일자 2023년 02월 22일

- 특허법인도답

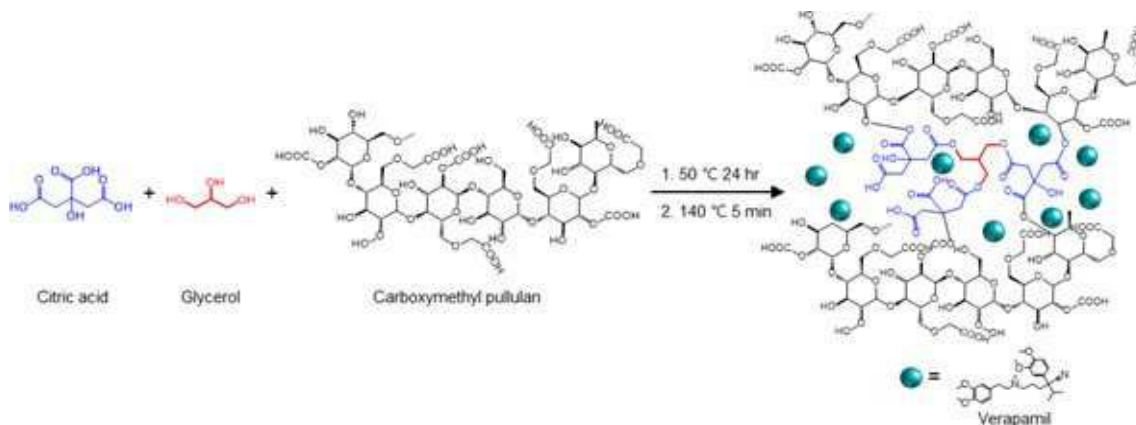
전체 청구항 수 : 총 6 항

- (54) 발명의 명칭 약물의 경피 투여를 위한 3차원 구조 하이드로젤 패치 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치에 있어서, 시트르산 및 글리세롤을 포함하는 가교제에 의해 가교화된 하이드로젤 가교체를 포함하며, 상기 하이드로젤은 풀루란(Pullulan) 유도체를 포함하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치를 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/12 (2013.01)

A61K 47/36 (2013.01)

(72) 발명자

한대원

충청남도 논산시 대림길 7, 103동 508호(부창동, 대림아파트)

정영길

대전광역시 유성구 노은서로172번길 23

이성기

대전광역시 서구 관저동로 190-14(관저동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345352622
과제번호	2017R1A6A1A03015713
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	명곡의과학연구소
기 여 율	1/2
과제수행기관명	건양대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345347549
과제번호	2018R1D1A3B07045858
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	대사성 질환 치료를 위한 TBK1 조절약물-나노복합체의 개발 및 오토파지 조절기전
연구	
기 여 율	1/2
과제수행기관명	건양대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치에 있어서,
시트르산 및 글리세롤을 포함하는 가교제에 의해 가교화된 하이드로젤 가교체를 포함하며,
상기 하이드로젤은 풀루란(Pullulan) 유도체를 포함하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 풀루란 유도체는 카르복시메틸화 풀루란을 포함하는 것을 특징으로 하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치.

청구항 3

약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치의 제조방법에 있어서,
a) 풀루란 유도체를 제조하는 단계;
b) 상기 제조된 유도체에 시트르산 및 글리세롤을 가교시키는 단계; 및
c) 상기 제조된 가교체를 경화시키는 단계를 포함하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치의 제조방법.

청구항 4

제3항에 있어서,
상기 a) 단계는,
풀루란을 카르복실화하는 것인, 3차원 구조 하이드로젤 패치의 제조방법.

청구항 5

제3항에 있어서,
상기 b) 단계는,
상기 유도체에 시트르산 및 글리세롤을 혼합한 후 40 내지 60℃에서 15시간 이상 반응시키는 1차가열 단계; 및
120 내지 180℃에서 10분 미만 반응시키는 2차가열 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치의 제조방법.

청구항 6

제5항에 있어서,
상기 유도체 100 중량부에 대하여, 시트르산 10 내지 30 중량부 및 글리세롤 5 내지 20 중량부를 혼합하는 것인, 3차원 구조 하이드로젤 패치의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치에 관한 것으로, 상세하게, 풀루란 유도체를 포함하는 하이드로젤; 및 시트르산과 글리세롤을 포함하는 가교제;를 기반으로 하는 하이드로젤 가교체를 포함하도록 구성된, 약물의 생체이용률이 개선된 3차원 구조 하이드로젤 패치 및 이의 제조방법을 제공한다.

배경 기술

- [0002] 약물 전달 시스템(Drug delivery system, DDS)은 기존의 약물의 부작용을 최소화하기 위하여 약리학적 활성 물질이 인체 내에서 원하는 부위에서 효율적으로 전달되어 효능 및 효과를 극대화시키는 기술을 말한다. 약물 전달 시스템은 투여 방식에 따라 주사형, 경구 투여형, 경피 전달형, 흡입형, 점막형으로 나뉜다. 주사형은 피하 깊숙이 약물을 전달하기 때문에 신속하게 약물의 효과를 유도할 수 있으나, 전문적인 기술이 필요하며, 환자에게 출혈, 통증, 피부 손상을 유발할 수 있으며, 주사 바늘의 오염에 따른 감염의 위험성에 노출시킬 수 있다는 단점을 가지고 있다. 또한 경구 투여형은 약물의 효율이 떨어지며, 위장에서 약물의 변성 가능성 및 약물 흡수성이 낮은 단점을 갖고 있다. 이러한 투여 방식들과 비교하였을 때, 경피 약물 전달 시스템(TDDS, Transdermal drug delivery system)은 피부를 통하여 체내로 약물을 전달하는 약물전달 시스템으로 비침습적으로 체내에 약물을 전달하기 때문에 환자의 고통과 부담이 적으며, 위장을 통하지 않아 약물이 변형되지 않는다. 이러한 장점으로 인해 현재 경피 약물 전달 시스템은 많은 주목을 받고 있다.
- [0003] 경피 약물 전달 시스템은 주로 패치 형태와 연고 형태로 적용된다. 패치와 연고는 피부를 통한 약물의 자발적인 확산을 통하여 인체 내에 전달하는 형태이다. 이 방식들은 편의성이 높으며, 약물 전달 효율성이 높은 장점이 있다. 그러나 각질층이 피부 장벽 역할을 수행하기 때문에 약물의 투과성이 떨어지게 되어 약물이 적용되는데 시간이 오래 걸린다. 또한 약물의 친수성 성질에 따라 사용이 제한되며, 원료에 따라 흡수 편차가 크다는 단점을 가지고 있다.
- [0004] 따라서 기존의 문제점을 개선하기 위해 마이크로 니들법, 이온영동법, 초음파 영동법, 레이저 전기천공법 등의 다양한 종류의 경피 약물전달 시스템이 개발되었다. 이들 중 마이크로 니들법의 연구가 가장 활발하게 진행되고 있다.
- [0005] 마이크로 니들법은 수십에서 수백 μm 크기의 미세한 바늘을 패치의 표면에 적용하고, 니들 표면에 약물을 코팅하여 체내에 적용하는 주사법과 패치법의 장점을 혼합한 약물전달 기술이다. 마이크로 니들 패치를 피부에 부착하면 미세한 바늘이 피부 각질층에 구멍을 형성하고, 이를 통해 약물을 전달하는 방식으로 통증이 기존의 방식보다 적으며, 바늘에 대한 두려움 감소, 관리의 용이성의 장점이 있다. 그러나 피부에 자극을 주기 때문에 경우에 따라서 통증, 홍반, 염증 가능성, 약물의 체내 흡수의 한계성, 넓은 부위에 적용하기 어렵다는 단점을 가지고 있다.
- [0006] 따라서 비침습적으로 통증 및 부작용 없이 경피를 통해 약물을 효율적으로 전달함으로써 해당약물의 효능을 극대화시킬 수 있는 기술의 개발이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2010-0130502호(2010.12.13)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명은 전술된 문제를 해결하기 위해 안출된 것으로서, 본 발명의 목적은 비침습적으로 통증 및 부작용 없이 경피를 통해 약물을 효과적으로 전달 가능한 하이드로젤 패치 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 또 다른 목적은 계층적으로 조직화된 비등방성 기공구조를 갖는 3차원 구조를 구현함으로써 약물의 생체이용률이 향상된 하이드로젤 패치 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치에 있어서, 시트르산 및 글리세롤을 포함하는 가교제에 의해 가교화된 하이드로젤 가교체를 포함하며, 상기 하이드로젤은 풀루란(Pullulan) 유도체를 포함하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치를 제공한다.
- [0011] 일 양태에 따르면, 상기 풀루란 유도체는 카르복시메틸화 풀루란을 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0012] 본 발명은 또한, 약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치의 제조방법에 있어서, a) 풀루란 유도체를 제조하는

단계; b) 상기 제조된 유도체에 시트르산 및 글리세롤을 가교시키는 단계; 및 c) 상기 제조된 가교체를 경화시키는 단계를 포함하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치의 제조방법을 제공한다.

[0013] 일 양태에 따르면, 상기 a) 단계는, 폴루란을 카르복실화하는 것일 수 있다.

[0014] 일 양태에 따르면, 상기 b) 단계는, 상기 유도체에 시트르산 및 글리세롤을 혼합한 후 40 내지 60℃에서 15시간 이상 반응시키는 1차가열 단계; 및 120 내지 180℃에서 10분 미만 반응시키는 2차가열 단계를 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0015] 일 양태에 따르면, 상기 유도체 100 중량부에 대하여, 시트르산 10 내지 30 중량부 및 글리세롤 5 내지 20 중량부를 혼합하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0016] 본 발명에 따른 3차원 구조 하이드로젤 패치는 비침습적으로 통증 및 부작용 없이 경피를 통해 약물을 효과적으로 전달 가능한 장점이 있다.

[0017] 본 발명에 따르면, 계층적으로 조직화된 비등방성 기공구조를 갖는 3차원 구조를 갖는 하이드로젤 패치를 구현할 수 있게 되어 약물의 화학적 구조 변형없이 지속적인 약물 전달이 가능하며 약물의 생체 이용률을 향상시킬 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)의 화학적 구조를 나타내기 위한 도면이며,

도 2는 본 발명의 실시예 1 내지 5에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대한 디지털 카메라 촬영 이미지 분석결과를 나타낸 도면이고,

도 3은 본 발명의 일 구현예에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대한 팽윤율 분석결과를 나타낸 도면으로, (a)는 실시예 1 내지 5에 따라 제조된 Vera@CLCMP에 대한 팽윤율 결과; (b)는 가교제 중 글리세롤 함량변화에 따른 팽윤율 결과를 나타낸 도면이며,

도 4는 본 발명의 실시예 1 내지 5에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대한 주사전자현미경 이미지 분석결과를 나타낸 도면이고,

도 5는 본 발명의 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대한 TGA 및 DSC 분석결과를 나타낸 도면으로, (a)는 TGA 결과; (b)는 DSC 결과이며,

도 6은 본 발명의 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대한 FT-IR 분석결과를 나타낸 도면이고,

도 7은 본 발명의 각 실시예에 따라 제조된 약물 담지 전 3차원 구조 하이드로젤 패치(CLCMP)에 대한 FT-IR 결과로, (a)는 실시예 4 및 6-8에 대한 결과; (b)는 실시예 1 내지 5에 대한 결과이며,

도 8은 본 발명의 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 전 3차원 구조 하이드로젤 패치(CLCMP)에 대한 XPS 분석결과를 나타낸 도면으로, (a)는 전체범위에서의 XPS 스펙트럼 분석결과; (b)는 특정 범위에서의 XPS 스펙트럼 분석결과이고,

도 9는 본 발명의 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대한 약물 방출 프로파일 분석결과를 나타낸 도면이며,

도 10은 본 발명의 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대한 세포독성 분석결과를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 본 발명의 특징과 장점은 첨부된 도면에 의하여 설명되는 실시 예에 의하여 보다 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

[0020] 본 발명의 실시 예에 기재되거나 도면에 도시된 구성요소들의 구성 및 배열에 의해 본 발명의 응용이 제한되는

것은 아니다. 본 발명은 다른 실시 예들로 구현될 수 있고, 다양한 방법으로 수행될 수 있다. 또한, 장치 또는 요소의 방향 등과 같은 용어들에 관하여 실시 예에 사용된 표현 및 술어는 단지 본 발명의 설명을 단순화하기 위해 사용되며, 관련된 장치 또는 요소가 단순히 특정 방향을 가져야 함을 나타내거나 의미하지 않는다.

[0021] 또한, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정하여 해석되어서는 아니되며, 발명자가 발명의 용어와 개념을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념에 입각하여 기재한 것으로 해석하여야 한다.

[0022] 따라서 본 발명은 제시되는 실시예에 한정되지 않으며, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 본 발명의 기술 사상과 아래에 기재될 특허청구 범위에 기재된 기술상의 균등한 범위 내에서 다양한 수정 및 변경이 가능하다.

[0024] 본 발명은 약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치에 있어서, 시트르산 및 글리세롤을 포함하는 가교제에 의해 가교화된 하이드로젤 가교체를 포함하며, 상기 하이드로젤은 풀루란(Pullulan) 유도체를 포함하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치를 제공한다.

[0025] 풀루란(Pullulan)은 효모와 유사한 곰팡이인 *Aureobasidium pullulans*에 의해 생성되는 천연세포의 다당류로, 무자극, 무독성, 무면역성, 생분해성, 피부 친화성, 우수한 패치 형성성 및 점착성을 가진다. 이러한 장점들이 많음에도 불구하고 풀루란의 높은 친수성 및 약한 유연성 등 문제로 널리 사용되지 못하고 있는 상황이다.

[0026] 본 발명에서는 이러한 풀루란의 유도체화된 구조를 가진 풀루란 유도체를 기본구조체를 사용함으로써 높은 수산기 함량으로 인한 화학적 변형을 효과적으로 억제하였다.

[0027] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 풀루란 유도체는 카르복시메틸화 풀루란을 포함할 수 있다.

[0028] 이러한 카르복시메틸화된 풀루란을 하이드로젤 패치의 기본구조체로 사용함으로써 상술된 화학적 변형 억제는 물론, 유연성 증가에 따른 연성 구조를 가지며 장벽 성능 및 약물의 적재 용량을 향상시키게 된다.

[0029] 하이드로젤 가교체는 상술된 풀루란 유도체 기반 기본구조체를 시트르산 및 글리세롤을 포함하는 가교제와의 에스테르화 반응을 통해 수득된다.

[0030] 구체적으로, 글리세롤의 수산기(-OH)와 시트르산의 사이클릭 무수물을 사용한 기본구조체의 에스테르화에 의해 새로운 카르복실레이트기(COO-)를 생성하며, 이 그룹은 이웃한 카르복실레이트기(COO-)와 분자 내 무수물 모이어티(Moiety)를 형성하게 된다.

[0031] 본 발명의 일 구현예에 따른 3차원 구조 하이드로젤 패치는 상기 풀루란 유도체, 즉 기본구조체 100 중량부에 대하여, 상기 시트르산 5 내지 30 중량부, 바람직하게는 10 내지 25 중량부, 보다 바람직하게는 15 내지 25 중량부; 및 상기 글리세롤 2 내지 20 중량부, 바람직하게는 5 내지 15 중량부, 보다 바람직하게는 6 내지 12 중량부를 포함하도록 구성되는 것이 유리하다.

[0032] 이러한 하이드로젤 가교체를 포함함으로써, 계층적으로 조직화된 비등방성 기공구조를 갖는 3차원 구조의 하이드로젤 패치를 구현할 수 있게 되어 이러한 패치에 담지되는 약물의 화학적 구조 변형없이 지속적인 약물 전달이 가능하며 약물의 생체 이용률을 향상시킬 수 있게 된다. 보다 상세한 내용은 후술하도록 한다.

[0033] 본 발명은 또한, 약물의 경피 투여를 위한 하이드로젤 패치의 제조방법에 있어서, a) 풀루란 유도체를 제조하는 단계; b) 상기 제조된 유도체에 시트르산 및 글리세롤을 가교시키는 단계; 및 c) 상기 제조된 가교체를 경화시키는 단계를 포함하는, 3차원 구조 하이드로젤 패치의 제조방법을 제공한다.

[0034] a) 단계는 기본구조체인 풀루란 유도체를 제조하는 단계로, 풀루란의 유도체화 과정을 수행한다.

[0035] 본 발명의 바람직한 구현예로, 상기 a) 단계는 풀루란을 카르복실화하는 과정일 수 있다.

[0036] 구체적으로, 풀루란의 메틸기를 카르복실기로 치환하기 위해 풀루란을 탈이온수에 완전히 용해시킨 후 이소프로필 알코올을 첨가하여 제1혼합액을 제조한다. 용해과정 중 응고되는 현상을 방지하기 위해 교반하에 초음파처리를 수행하는 것이 바람직하다. 이때 상기 풀루란 100 중량부에 대하여 상기 탈이온수 300 내지 500 중량부, 바람직하게는 350 내지 450 중량부; 및 상기 이소프로필 알코올 70 내지 100 중량부, 바람직하게는 80 내지 100 중량부를 포함하도록 혼합하는 것이 유리하다.

[0037] 이어서 상기 제1혼합액에 6 내지 10 M의 NaOH 용액을 첨가한 후 60 내지 80℃에서 10분 내지 20분 동안 가열한

다. 상기 제1혼합액 내 폴루란 100 중량부에 대하여, 상기 NaOH 20 내지 40 중량부를 첨가한 다음, ClCH_2COOH 및 이소프로필 알코올 존재하에 60 내지 80℃에서 3 내지 5시간동안 처리함으로써 제2혼합액을 제조한다. 한편, 상기 제1혼합액 내 폴루란 100 중량부에 대하여, 상기 ClCH_2COOH 20 내지 40 중량부 및 상기 이소프로필 알코올 30 내지 50 중량부 존재하에 반응시키는 것이 바람직하다. 이렇게 제조된 제2혼합액은 어두운 갈색을 나타내게 된다.

[0038] 제조된 제2혼합액은 MeOH을 이용하여 회수하도록 한다. 구체적으로, 상기 제2혼합액에 MeOH를 추가한 후 상청액을 제거하고 MeOH로 여러 번 세척한다. 다음, 탈이온수에 용해시키고 0.1 M HCl에 대해 4 내지 6시간 동안 투석한다. 이어서, 탈이온수에 대해 4 내지 6일 동안 투석하여 불순물 및 미반응 반응물을 제거한다. 마지막으로 MeOH로 회수한 후 진공 농축기로 건조시켜 최종 카르복시메틸화 폴루란을 수득하게 된다.

[0040] b) 단계는 가교단계로, 상기 제조된 폴루란 유도체에 시트르산 및 글리세롤을 가교시킨다.

[0041] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 폴리카르복실산은 시트르산을 포함할 수 있다.

[0042] 구체적으로, 상기 제조된 폴루란 유도체에 시트르산 및 글리세롤을 혼합한 후, 40 내지 60℃에서 15시간 이상 반응시키는 1차가열 단계; 및 120 내지 180℃에서 10분 미만 반응시키는 2차가열 단계를 수행할 수 있다.

[0043] 상기 폴루란 유도체, 즉 기본구조체 100중량부에 대하여 상기 시트르산 5 내지 30 중량부, 바람직하게는 10 내지 25 중량부, 보다 바람직하게는 15 내지 25 중량부; 및 상기 글리세롤 2 내지 20 중량부, 바람직하게는 5 내지 15 중량부, 보다 바람직하게는 6 내지 12 중량부를 혼합하여 가교시킴으로써 하이드로젤 가교체를 제조하는 것이 유리하다. 한편, 혼합과정 중에는 초음파처리를 수행함으로써 기포를 충분히 제거하도록 한다.

[0044] 상술된 과정에 따라 제조된 하이드로젤 가교체의 경우, 후술되는 경화과정을 통해 평평한 형태를 유지하되 유연성이 우수하고 팽윤 특성이 우수한 3차원 구조의 하이드로젤 패치를 제조할 수 있게 된다. 한편, 가교과정 중 시트르산 및 글리세롤의 함량이 상술된 범위를 벗어나는 경우, 약한 가교로 인해 깨지기 쉽고 평평한 형태유지가 어렵거나 유연성이 감소되는 등 문제가 발생하게 된다.

[0046] c) 단계는 상기 제조된 하이드로젤 가교체를 경화시키는 단계로, 실리콘 재질의 몰드를 이용하여 수행된다.

[0047] 구체적으로, 상기 하이드로젤 가교체를 실리콘 몰드에 옮긴 후 건조 오븐을 이용하여 40 내지 60℃에서 20시간 내지 30시간 동안 건조시킨 후 120 내지 160℃에서 2분 내지 8분 동안 경화시킨다.

[0048] 상술된 과정을 통해 제조된 하이드로젤 패치에 약물을 담지하기 위해서는 일정량의 약물을 수화되지 않은 하이드로젤 패치에 떨어뜨린 후 40 내지 60℃에서 4 내지 6시간 동안 보관 한 후 진공건조할 수 있다.

[0049] 도 1에 도시된 바와 같이, 폴루란 유도체, 시트르산 및 글리세롤 간의 에스테르화 반응에 의해 가교되어 형성된 하이드로젤 가교체에 Verapamil이 결합됨으로써 경피를 통한 약물 전달이 가능하게 된다.

[0050] 본 발명의 일 구현예에 따른 3차원 구조 하이드로젤 패치의 제조방법으로 제조된 3차원 구조 하이드로젤 패치는 비침습적으로 통증 및 부작용 없이 경피를 통해 약물을 효과적으로 전달 가능하게 된다. 특히, 규칙성과 균일성을 갖는 혈관 다발 형태의 초분자 3차원 다공성 네트워크 구조를 나타내므로 이러한 구조에 탑재되는 약물과의 불필요한 화학반응을 피할 수 있어 약물의 화학적 구조의 변형없이 안정적인 구조 유지가 가능하여 약물의 생체이용률을 향상시키는 효과를 나타낸다. 또한, 약물의 지속적인 제어방출이 가능하여 피부에 부착 시 약물을 피부각질층 및 진피를 통과하여 체순화(Systemic circulation)으로 약물을 효율적으로 전달 가능하게 된다.

[0052] 이하 본 발명의 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기의 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0054] (실시예 1)

[0055] 10 g의 폴루란(Tokyo Chemical Industry, Japan)를 탈이온수 40 mL에 완전히 용해시킨 후 이소프로필 알코올

12 ml를 첨가하였다. 이때 초음파처리와 교반을 동시에 수행하였다.

[0056] 이어서, 9 M NaOH 10 ml를 첨가하고 70℃에서 15분 동안 가열하였으며 수득된 혼합물을 3 M ClCH₂COOH 10 ml 및 이소프로필 알코올 6 ml 존재하에 70℃에서 4시간 동안 반응시켜 혼합물의 색상이 밝은 갈색에서 어두운 갈색으로 변하도록 하였다. 이러한 과정을 2회 더 반복하여 수행하였으며 각 반복과정은 동일하게 70℃에서 4시간 동안 유지하도록 하여 샘플을 수득하였다.

[0057] 상기 샘플을 MeOH 1 L에 추가하여 교반한 후 상청액을 제거하고 다시 MeOH로 여러 번 세척하였다. 세척 후 수득된 샘플을 탈이온수에 용해시키고 0.1 M HCl에 대해 5시간 동안 투석 한 후, 탈이온수에 대해 5일 동안 투석하여 정제하였다. 다음, 정제된 샘플을 다시 MeOH로 회수하고 진공 농축기에서 건조시켜 카르복시메틸화 폴루란을 제조하였다.

[0058] 제조된 카르복시메틸화 폴루란을 하기 표 1에 기재된 조건으로 탈이온수 20 ml 존재하에 상온에서 혼합시킨 후 초음파로 기포를 제거하여 하이드로젤 가교체를 포함하는 용액을 제조하였다.

[0059] 다음, 제조된 하이드로젤 가교체 용액 500 μ l를 실리콘 몰드로 옮긴 후 50℃에서 24시간 건조시키고 140℃에서 5분 동안 경화시켜 3차원 구조의 하이드로젤 패치(0.2g 중량)를 제조하였다.

[0060] 마지막으로, 상기 제조된 하이드로젤 패치에 25 mg/ml Verapamil 용액 200 μ l를 떨어뜨린 후 50℃에서 5시간 동안 보관한 후 진공건조시켜 최종 약물이 담지된 3차원 구조 하이드로젤 패치를 수득하였다.

[0062] (실시예 2~8)

[0063] 상기 실시예 1에서 하이드로젤 가교체 제조 시 사용된 시트르산 및 글리세롤의 함량을 하기 표 1에 기재된 조건으로 수행한 것을 제외하고는 동일하게 수행하여 약물이 담지된 3차원 구조 하이드로젤 패치를 제조하였다.

표 1

[0064]

	시트르산 함량(중량부)	글리세롤 함량(중량부)
실시예 1	5	10
실시예 2	10	10
실시예 3	15	10
실시예 4	20	10
실시예 5	25	10
실시예 6	20	20
실시예 7	20	30
실시예 8	20	40

[0065] (상기 표 1에서 시트르산 및 글리세롤의 함량은 제조된 폴루란 유도체인 카르복시메틸화 폴루란 100 중량부에 대한 중량부 값을 나타낸 것이다.)

[0067] 평가예 1: 디지털 카메라 이미지 분석

[0068] 상기 실시예 1 내지 5에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치에 대해 디지털 카메라 촬영 이미지 분석을 하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0069] 도 2에서 확인할 수 있듯이, 실시예 1의 경우 단단하고 깨지기 쉬우며 약한 가교로 인해 평평한 형태를 유지하지 못하고 변형되었다. 제조된 하이드로젤 패치는 시트르산의 함량이 증가함에 따라 유연성 또한 선형적으로 증가하는 것을 확인하였다.

[0071] 평가예 2: 팽윤율 분석

[0072] 상기 실시예 1 내지 5에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대해 팽윤율 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 3(a)에 나타내었다. Ehgs 가교체 중 글리세롤의 함량을 변화시켜 글리세롤 함량에 따른 팽윤율 분석을 수행하였으며 그 결과를 도 3(b)에 나타내었다. 구체적으로, 상기 하이드로젤 패치를 건조

상태에서 팽윤상태로 변화시켜 평가하였으며 하기 관계식 1을 이용하여 계산하였다.

[관계식 1]

$$\text{Swelling ratio} = \frac{W_s - W_d}{W_d}$$

(상기 관계식 1에서 W_s 는 탈이온수에서 팽윤된 후의 하이드로젤 패치의 중량(g)이며, W_d 는 팽윤 후 탈수된 하이드로젤 패치의 중량(g)를 지칭한다.)

도 3에서 확인할 수 있듯이, 시트르산 및 글리세롤의 함량이 증가할수록 팽윤율은 감소되었다.

평가예 3: 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM) 이미지 분석

상기 실시예 1 내지 5에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대해 주사전자현미경 이미지 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

도 4에서 확인할 수 있듯이, 실시예 4의 경우 실시예 1~3 및 실시예 5 대비 규칙성과 균일성을 갖는 초분자 3차원 네트워크 구조를 나타내었다. 즉, 하이드로젤 가교체 내 포함되는 시트르산 및 글리세롤의 함량에 따라 기공 구조의 규칙성 및 균일성에 차이가 발생함을 확인할 수 있었다.

평가예 4: TGA(Thermogravimetric analysis) 및 DSC(Differential Scanning Calorimeter) 분석

상기 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대해 TGA 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다. 도 5(a)는 열중량 분석결과를 나타낸 결과이며, 도 5(b)는 시차 주사 열량계 분석에 따른 열기록도 결과를 나타낸 결과이다.

구체적으로 열중량분석기(TGA-50, Shimadzu) 및 시차 주사 열량계(DSC-50, Shimadzu)를 사용하였으며, 가열속도 10 °C/min 및 온도범위 20~450°C 조건에서 분석하였다. 한편, 풀루란(Pullulan); 카복시메틸 풀루란(Carboxymethyl pullulan, CMP); 약물(Verapamil); 및 약물 담지된 카복시메틸 풀루란(Vera@CMP)에 대한 분석도 수행하여 도 5에 나타내었다.

도 5에서 확인할 수 있듯이, 24 내지 200°C에서 풀루란 중량손실의 약 3%는 흡착된 수분의 탈수에 의한 1차 중량손실인 것으로 판단된다. 또한 300 내지 500°C에서 풀루란 사슬 분해에 의한 2차 중량손실이 발생한 것으로 판단된다. 215 내지 335°C에서 약 75%의 중량손실과 함께 급속한 중량 감소가 발생하였다. 수분 탈수와 관련된 1차 중량손실은 150°C 미만에서 1.5%; 하이드로젤 패치의 열분해와 관련된 2차 중량손실은 68%를 나타내었다.

또한 약물이 탑재된 하이드로젤 패치의 경우 약물 탑재 전과 유사한 경향을 나타내었으나, 상대적으로 3% 정도 적은 중량감소를 나타내었다. 한편, 200 내지 416°C에서의 중량감소는 미반응 글리세롤의 증발 및 하이드로젤 패치의 열분해 의해 발생된 것으로 판단된다. 한편, 약물이 탑재된 하이드로젤 패치의 경우 탑재 전 대비 분해 온도(T_d)가 381°C에서 390°C로 증가하였다.

이러한 결과는 풀루란 및 하이드로젤 패치에 약물 탑재 후 T_d 피크의 이동이 있음을 알 수 있으며, 이는 약물과 제형 부형제 사이에 화학적 상호작용이 없음을 시사한다.

평가예 5: FT-IR 스펙트럼 분석

상기 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)에 대해 FT-IR 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 6에 도시하였다. 한편, 풀루란(Pullulan); 카복시메틸 풀루란(Carboxymethyl pullulan, CMP); 약물(Verapamil); 및 약물 담지된 카복시메틸 풀루란(Vera@CMP)에 대한 분석도 수행하여 도 6에 나타내었다.

또한, 상기 실시예 4 내지 6~8에 따라 제조된 약물 담지 전 3차원 구조 하이드로젤 패치(CLCMP)에 대해 FT-IR 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 7(a)에 도시하였고, 상기 실시예 1 내지 5에 대한 결과를 도 7(b)에 도시하였다.

[0092] 도 6 및 도 7에서 확인할 수 있듯이, 2655 및 2544 cm^{-1} 에서 카르복시메틸화 풀루란 기본구조체의 카르복실기에 서 유래한 O-H 스트레칭의 H-결합 이합체 피크가 나타났으며, 이량체의 카르보닐($\text{C}=\text{O}$)에 의한 피크는 1728 cm^{-1} 근처에서 관찰되었다. 또한, 3337 cm^{-1} 에서의 피크는 무수 포도당 단위 O-H 스트레칭에 기인한 반면, 2925 cm^{-1} 에서의 피크는 C-H 스트레칭에 기인한 것으로 판단된다. 대칭 카르복실레이트 그룹(COO^-)으로 인한 피크는 1416 cm^{-1} 에서 나타났으며, 756, 876, 939 cm^{-1} 근처의 3개 피크는 D-Glycosidic의 특징인 것으로 판단된다. 즉, 이러한 결과로부터 상기 제조된 3차원 구조 하이드로젤 패치가 다른 보고서와 일관성이 있음을 확인할 수 있다.

[0094] 평가예 6: XPS(X-Ray photoelectron spectroscopy) 분석

[0095] 상기 실시예 4에 따라 제조된 카복시메틸 풀루란(Carboxymethyl pullulan, CMP) 기본구조체 및 약물 담지 전 3차원 구조 하이드로젤 패치(CLCMP)에 대해 XPS 분석을 수행하였으며, 그 결과를 도 8에 도시하였다. (a)는 전체 범위에서의 CLCMP에 대한 XPS 스펙트럼 결과이며, (b)는 특정 범위에서의 카르복시메틸화 풀루란(CMP) 기본구조체 및 CLCMP에 대한 XPS 스펙트럼 결과이다.

[0096] 도 8(a)에서 확인할 수 있듯이, 탄소의 존재는 286.1eV의 대칭 피크에 의해 명확하게 입증되고 산소의 존재는 531.1eV의 피크에 의해 입증되었다. 또한, 도 8(b)에서 확인할 수 있듯이, 카르복시메틸화 풀루란(CMP) 기본구조체의 C1s 피크는 284.8° (C-C/C-H) 및 288.8(0=C-O)의 결합 에너지를 갖는 2개의 피크로 디컨볼루션되었다. 한편, 약물 담지 전 3차원 구조 하이드로젤 패치(CLCMP)의 C1s 피크는 284.6(C-C/C-H), 286.2(C-O) 및 288.8(0=C-O)에 나타나는 세 개의 피크로 디컨볼루션되었다. 특히 glycerol의 C-O 피크는 FTIR 분석과 일치하는 286.2° 에서 나타났다. 즉, 기본구조체, 시트르산 및 글리세롤 사이의 공유결합 존재를 확인할 수 있었다.

[0097] 평가예 7: 약물 방출 프로파일 분석

[0098] 상기 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)의 1일 릴리스 프로파일을 분석하였으며, 그 결과를 도 9에 나타내었다. 이때 약물 담지된 풀루란(Vera@pullulan)에 대한 분석도 수행하여 도 9에 나타내었다.

[0099] 도 9에서 확인할 수 있듯이, 확산모델과 유사한 전형적인 속도 결정단계는 1일 후에 나타나서 6일까지 지속되었다. 한편, 약물은 수상에 용해되기 때문에 약물의 방출 프로파일은 확산모델과 유사해야 한다. 그러나, 본 발명에 따른 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)의 방출 프로파일은 1일 후에 확산모델에서 용해모델로의 모델 이동을 나타내었다. 이러한 방출기간 동안의 모델 이동은 상기 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)가 기본구조체, 글리세롤로 구성되었고 시트르산이 고도로 가교결합된 하이드로젤로 존재한다는 분명한 증거이다. 즉, 실시예 4에 따른 약물 담지 3차원 구조 하이드로젤 패치(Vera@CLCMP)는 6일동안 우수한 약물 방출률을 나타냈으며, 6일 후 누적 테스트 약물의 방출은 약 95%에 달하였다.

[0101] 평가예 8: 세포독성 분석

[0102] 상기 실시예 4에 따라 제조된 약물 담지전 3차원 하이드로젤(CLCMP)의 시험관내 세포독성 평가를 수행하였으며, 그 결과를 도 10에 나타내었다.

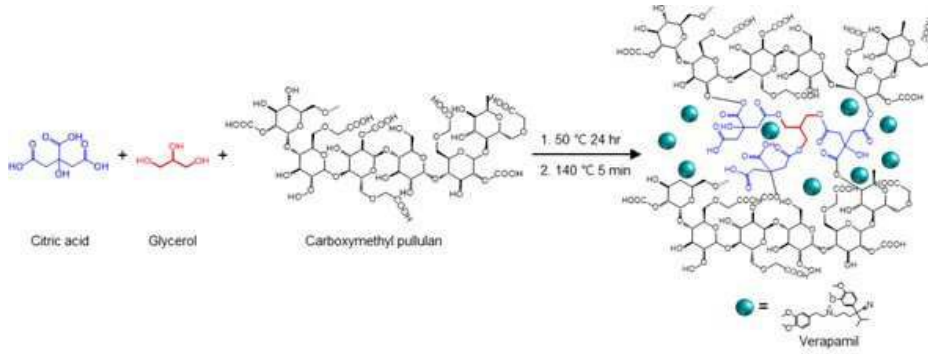
[0103] 구체적으로, a-c HepG2 세포를 지시된 농도의 3차원 구조 하이드로젤 패치로 24시간 동안 처리한 후 WST-8 분석법으로 세포 생존율을 측정하였고 그 결과를 도 10(a)에 나타내었다. 또한, HepG2 세포를 annexin V-FITC 및 PI로 염색한 다음 유세포 분석기로 세포사멸 분석을 수행하였으며 그 결과를 도 10(b)에 나타내었고 세포 사멸 HepG2 세포의 백분율은 도 10(c)에 나타내었다.

[0104] 도 10에서 확인할 수 있듯이, 농도 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 세포에 독성을 보이지 않았다.

[0106] 이상에서와 같이 본 발명의 권리는 위에서 설명된 실시예에 한정되지 않고 청구범위에 기재된 바에 의해 정의되며, 본 발명의 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 청구범위에 기재된 권리범위 내에서 다양한 변형과 개작을 할 수 있다는 것은 자명하다.

도면

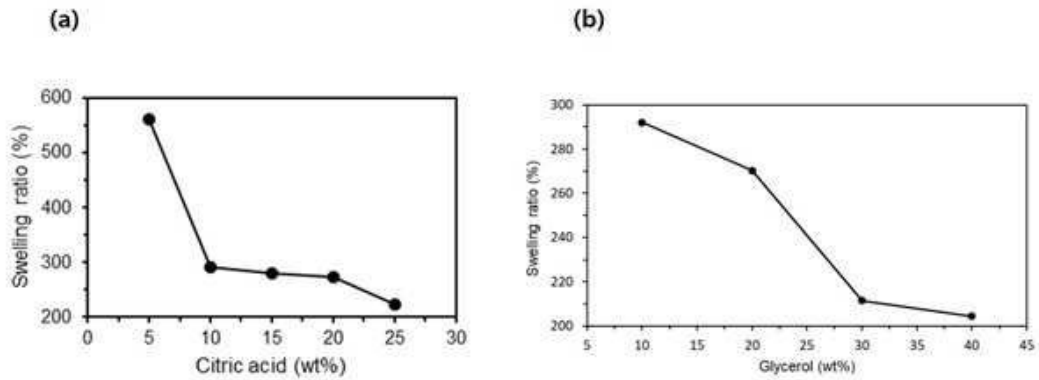
도면1



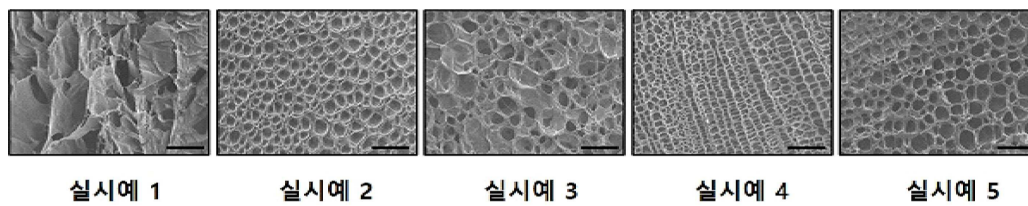
도면2



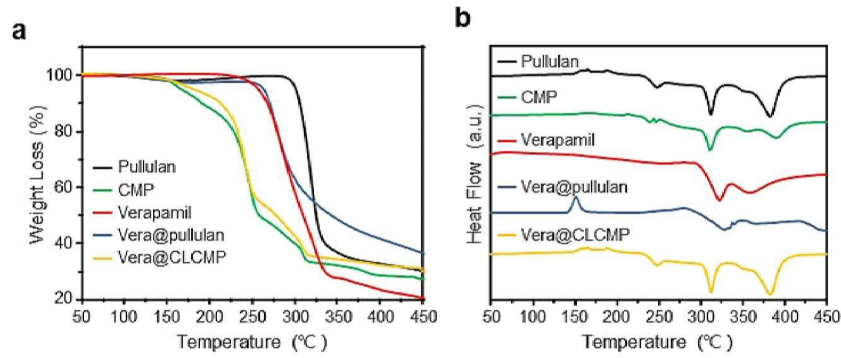
도면3



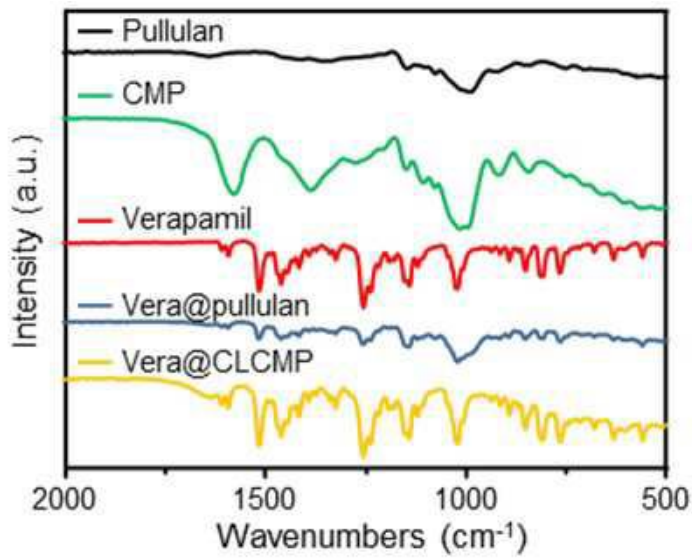
도면4



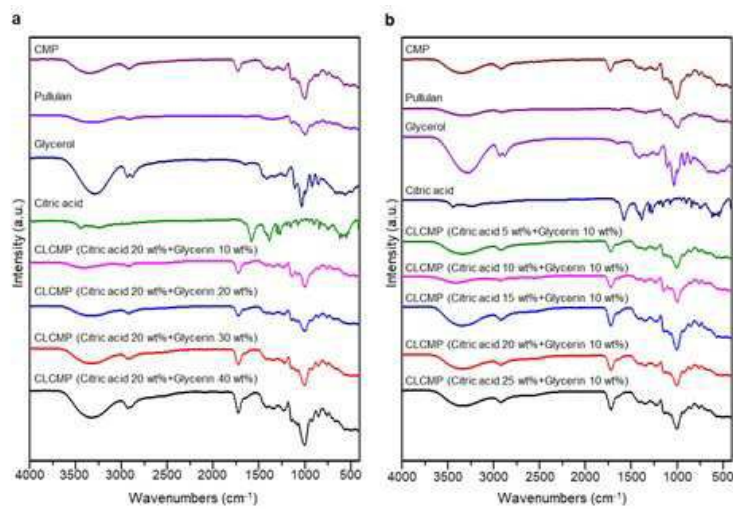
도면5



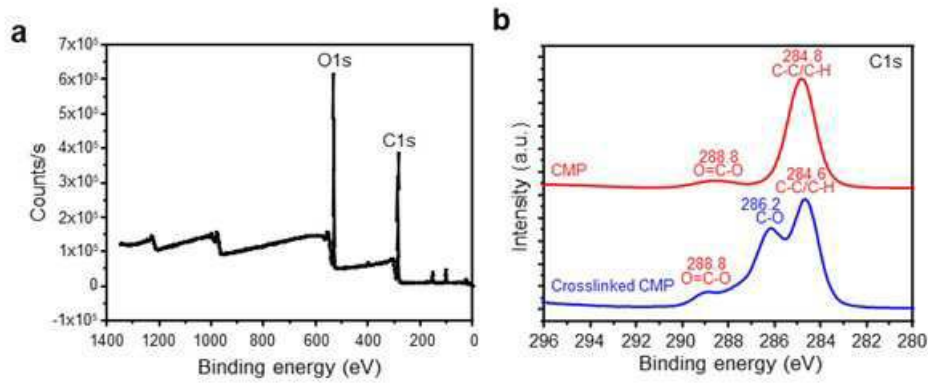
도면6



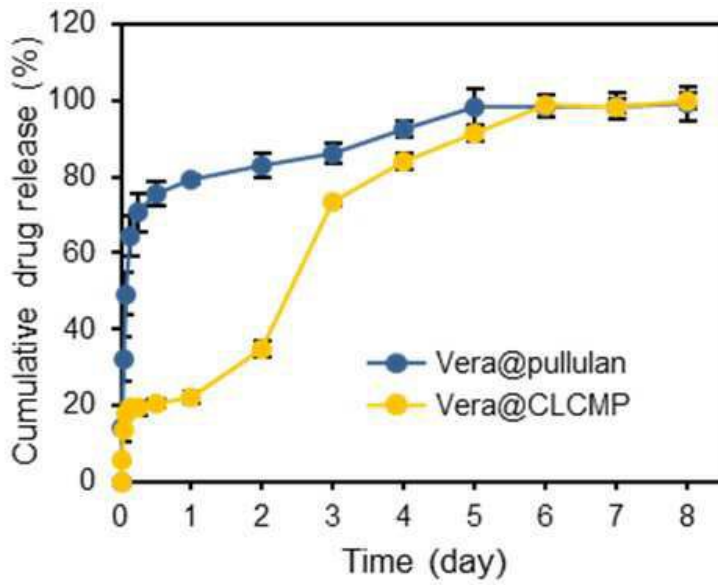
도면7



도면8



도면9



도면10

