

아스타잔틴을 이용한 Buccal Mucosa 패치 개발

이진우*, 임종호*, 윤지현*, 허소윤*, 홍영기*

*건양대학교 의료신소재학과

ymhong@konyang.ac.kr

Development of Buccal Mucosa Patch using Astaxanthin

Jinu Lee*, Jong-Ho Lim*, Ji-Hyeon Yun*, So-Yun Heo*, Young-Ki Hong*

*Dept. of Biomedical Materials, Konyang University

요약

본 연구에서는 구강 전암성 병변(OPL) 치료를 위한 아스타잔틴(ASX) 함유 이중층 구조의 점막 부착 패치를 개발하였다. 폴리카프로락톤(PCL)을 주 재료로 사용하고, 젤라틴(GT)과 알긴산나트륨(SA)을 첨가제로 활용하여 전기방사법으로 패치를 제작하였다. 방사 용액의 점도, 섬유의 형태학적 특성, 친수성, 점착성, 그리고 약물 방출 특성을 평가하였다. 결과적으로, 40-65 cP 범위의 점도에서 안정적인 섬유 형성이 가능했으며, GT 함량 증가에 따라 섬유 두께가 증가하고 친수성이 향상되었다. Ball-TACK 측정 결과, GT 함량 증가에 따라 점착 능력이 향상되었다. UV-vis 분광광도계 분석을 통해 165 분 경과 후 ASX의 방출이 완료되는 것을 확인하였다.

1. 서론

구강 전암성 병변(Oral Precancerous Lesion, OPL)은 암이 발생하기 전 단계의 병태로 병변 진단 빈도가 높아지고 있다. OPL을 치료하기 위한 방법으로는 주로 스테로이드계 약물을 사용하고 있다. 하지만, 장기간 사용 시 치명적인 부작용이 발생할 수 있고, 구강 점막의 특성상 전신전달로 이어질 수 있어 예상치 못한 부작용을 수반할 가능성이 있다.[1, 2]

아스타잔틴(Astaxanthin, ASX)은 OPL 치료제로 최근 연구되고 있는 비 스테로이드계 약물이다. 그러나 고도로 공액된 이중결합 구조로 불안정하여 생체 이용률이 낮고 사용이 제한적이지만 ASX를 캡슐화하면 화학적 안정성이 크게 향상되며, 환부에 약물을 효과적으로 전달이 가능하다.[3-5]

전기방사는 고압의 전류를 이용해 용매를 기화시켜 폴리머를 섬유화하는데 사용되는 방법으로 섬유가 얇게 방사되어 단면적이 늘어나면 약물방출에 효과적이다.[5-8]

본 연구에서는 ASX의 캡슐화 및 섬유화 소재로 생체 적합성이 높은 폴리카프로락톤(Polycaprolactone, PCL)을 이용한다. PCL의 소수성으로 인한 낮은 점막 점착성을 보완하기 위해 첨가제로 젤라틴(Gelatin, GT)과 알긴산나트륨(Sodium Alginate, SA)을 이용한 이중층 구조로 방사하여, 첨가제의 함량에 따른 점착성 증가를 통해 약물을 효과적으로 전달하는 이중층 패치 제조에 연구 목적을 두고 있다.

2. 실험 및 방법

2.1 시약 및 재료

본 연구에서는 OPL 치료용 점막점착패치 개발을 위해 6-Caprolactone polymer(Polycaprolactone Polymer, Solid, Beads, average Mn 80,000, Sigma Aldrich)를 구입하여 사용하였다. 전기방사 용매로는 Trichloromethane(Chloroform solution, Liquid, Assay Assay \leq 99.0 %, WAKO)과 Acetic acid(Acetic anhydride, Liquid, Assay \leq 97.0 %, Samchun Chemicals)를 사용하였다. 점막 부위의 점착성 확보를 위한 첨가제로는 Gelatin(Gelatin for porcine skin, Type A, Solid, Powder, Gel strength 300, Sigma Aldrich)와 Sodium Alginate(Sodium Alginate, Solid, Powder, 12,000~40,000 Da, Sigma Aldrich)를 사용하였으며, 환부의 치료를 위해 3,3'-dihydroxy- β,β -carotene-4,4'-dione(Astaxanthin, Solid, Power, Assay \leq 97.0 %, Sigma Aldrich)을 첨가하였다.

2.2 방사용액 제조

Basal층 방사 용액은 Chloroform을 용매로 한 10 wt%의 PCL solution을 24 시간, 100 rpm, RT 하에 제작하였다.

Release층 방사 용액은 10 wt% PCL solution, Acetic acid와 함께 첨가제로 SA, GT를 표 1과 같이 첨가하여 23 시간, 100 rpm, RT하에 교반 후 ASX 0.01 g을 첨가하여 1 시간 추가 교반하였다.

[표 1] 각 샘플의 조성 및 첨가제 함량

| Sample No. | Basal(B) Release(R) | PCL (g) | Chloroform (g) | Acetic acid (g) | SA (g) | GT (g) | ASX (g) |
|------------|---------------------|---------|----------------|-----------------|--------|--------|---------|
| SB.0 | B | 3 | 27 | - | - | - | - |
| SP.3 | R | 3 | 22 | 5 | - | - | 0.01 |
| SP.5 | R | 3 | 13.5 | 13.5 | - | - | 0.01 |
| SG.4 | R | 3 | 20 | 7 | 0.2 | 0.4 | 0.01 |
| SG.6 | R | 3 | 20 | 7 | 0.2 | 0.6 | 0.01 |
| SG.8 | R | 3 | 20 | 7 | 0.2 | 0.8 | 0.01 |
| SG.10 | R | 3 | 20 | 7 | 0.2 | 1 | 0.01 |

2.3 전기방사 방법

제작된 Basal층 방사 용액을 전기방사용 주사기에 담아 + 13 kV, 0.85 ml/h, 23 Gauge needle, 방사거리 15 cm로 방사하여 실온조건에서 회전하는 포집기에 알루미늄 호일을 감아 상온에 20 시간 방사를 진행하였다.

제작된 Release층 방사 용액을 전기방사용 주사기에 담아 Basal층과 동일 조건에서 21 Gauge needle로 변경한 다음 포집기에 알루미늄 호일과 호일 표면에 Basal층을 10 cm × 10 cm로 재단하여 표면에 붙인 후 상온에 20 시간 방사를 진행하였다.

[표 2] 전기방사 조건

| Class | Voltage | Spinning speed | Needle size | Spinning distance | Spinning time |
|---------|---------|----------------|-------------|-------------------|---------------|
| Basal | + 13 kV | 0.85 ml/h | 23 G | 15 cm | 20 hr |
| Release | + 13 kV | 0.85 ml/h | 21 G | 15 cm | 20 hr |

2.4 점도평가

전기방사를 진행함에 있어 needle 끝에 taylor cone이 일정 형태로 형성되는 조건을 알아보기 위해 방사 전 용액을 점도계(Viscometer, LVDV-II+P, BROOKFIELD)를 이용하여 5 rpm, RT 하에 점도평가를 실시하였다.

2.5 SEM 평가

Scanning electron microscope(SEM, EM-30P, COXEM)을 활용하여 Basal층과 Release층에 방사된 섬유의 형태학적 관찰 및 분석을 진행하였다.

2.6 접촉각 평가

접촉각 측정기(Phoenix10, S.E.O)를 사용하여 접촉각을 측정하였다. 50 mm × 50 mm 로 재단한 샘플의 표면 물기를 제거한 후 떨어지는 물방울의 양을 6 μ l로 설정하여 샘플별 5회 측정한 후 평균값을 구하여 분석을 진행하였다.

2.7 Ball-TACK 평가

패치가 접막에 충분히 접촉하는지 분석하기 위해 Ball-TACK 분석법을 사용하여 100 mm × 50 mm 로 재단한 각 샘플에 인공 타액을 분무한 후 210 mm 길이에 5° 경사면 끝에서 지름 6 mm 쇠구슬을 굴러, 30 회씩 거리를 측정하여 평균값을 구하여 분석을 진행하였다.

2.8 약물 방출 평가

패치가 약산성의 구강에서 약물방출이 원활하게 이루어지는지 확인하기 위하여 인공 타액에 Citric acid를 첨가하여 pH 5.5로 적정한 용액에서 15 분, 100 rpm, RT 하에 교반 후 15 분 간격으로 샘플용액을 채취하여 UV-vis 분광광도계(UV-Visible Spectrophotometer, UV-2450, SHIMADZU)로 474 nm 파장의 흡광도 분석을 진행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 점도평가

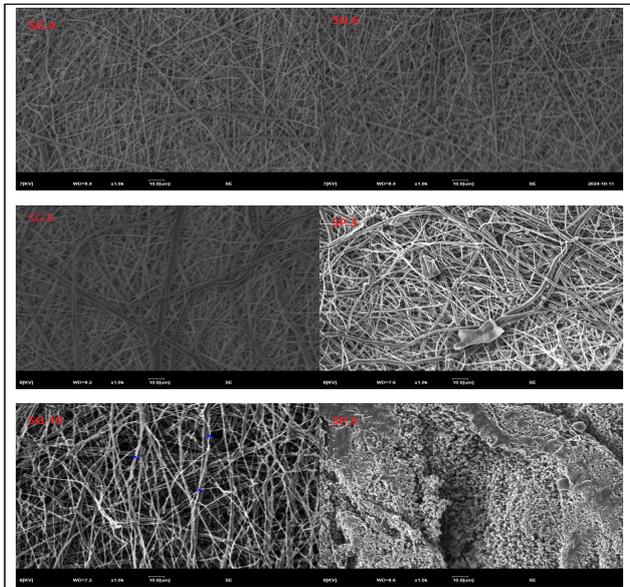
방사 용액의 점도가 너무 높거나 낮으면 taylor cone이 맺히지 않아 섬유화 되지 못한 채로 beads상으로 사출되거나, needle 끝에서 용액의 고체화로 인해 방사를 진행할 수 없기 때문에 방사 전 용액의 점도를 측정해본 결과, 표 3과 같이 점도계에 40~65 cP사이에서 안정적으로 방사가 진행된다는 것을 확인할 수 있었다.

[표 3] 각 샘플의 첨가제 함량에 따른 방사 성공 여부

| Sample No. | Viscosity (cP) | Spinning (O/X) |
|------------|----------------|----------------|
| SB.0 | 45.3 | O |
| SP.3 | 24.8 | X |
| SP.5 | 4.8 | X |
| SG.4 | 49.7 | O |
| SG.6 | 58.5 | O |
| SG.8 | 62.3 | O |
| SG.10 | 98.2 | X |

3.2 형태학적 관찰

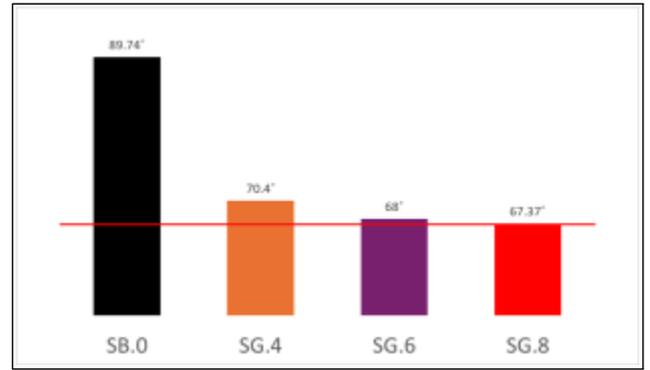
SEM을 이용해 샘플의 표면을 관찰한 결과 GT의 함량과 점도에 따라 그림 1과 같이 섬유 두께가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 방사가 원활하게 이루어지지 않은 샘플의 경우 섬유가 SG.10처럼 불균일하거나 SP.3이나 SP.5와 같이 섬유 형태 아닌 비정형의 pore형태로 사출되고, 고정력이 낮아 쉽게 패치에서 이탈한다는 단점이 있다. 이후의 관찰에서는 섬유가 일정하게 분포된 SG.4, SG.6, SG.8 샘플을 기준으로 분석을 진행하였다.



[그림 1] Release층의 각 샘플별 표면 SEM 이미지

3.3 접착각 및 친수성 관찰

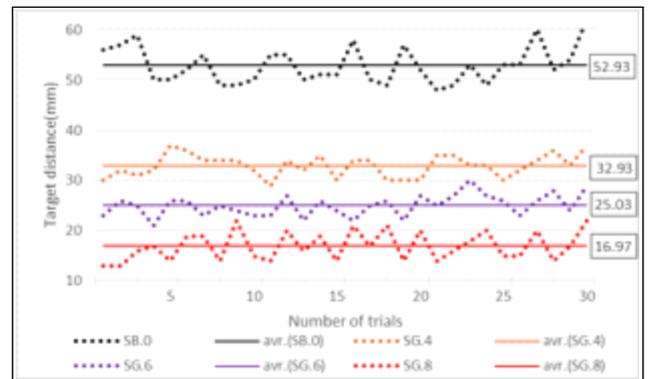
접착각 측정기를 통해 시험편의 표면의 접착각을 측정된 결과 그림 2와 같이 PCL 단일 소재인 SB.1의 접착각이 89.74°로 소수성이 도드라지는 반면 GT의 함량이 증가할수록 친수성이 증가한다는 것을 확인할 수 있었다.



[그림 2] 각 샘플별 접촉각 평균

3.4 점착 능력 관찰

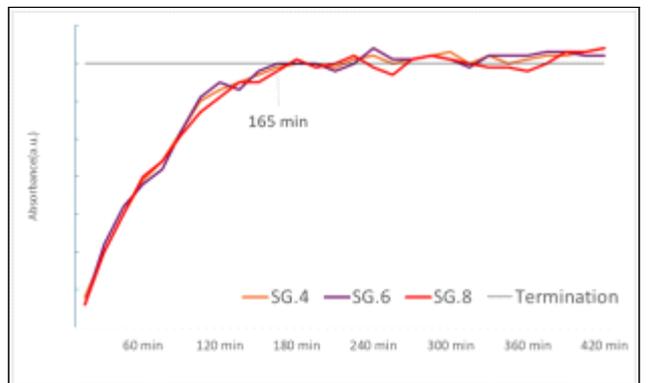
Ball-TACK 측정기는 측정 샘플 표면의 점착력이 높을수록 이동 거리가 감소한다. 이를 활용하여 각 샘플을 측정된 결과, GT의 함유량증가는 그림 3과 같이 점착 능력과 정비례 한다는 것을 확인할 수 있었다.



[그림 3] 각 샘플별 Ball-TACK 평가에 따른 이동거리

3.5 약물방출 관찰

UV-vis 분광광도계를 이용하여 ASX의 고유 흡광과장인 474 nm에서 각 샘플별 ASX의 방출속도를 확인해본 결과, 그림 4와 같이 165 분에서 ASX방출이 종결되는 것을 확인할 수 있었다.



[그림 4] 각 샘플별 474 nm a.u.에서의 약물방출 거동

4. 결론

본 연구에서는 생체 적합성 고분자인 PCL을 이용하여 OPL에 유망한 치료제인 ASX를 캡슐화하여 효과적으로 구강 내 협착 점막에 부착되어 약물을 방출하는 치료용 패치 제작을 목적으로 두고 있다.

1. PCL을 사용한 방사용액의 점도가 40~65 cP 사이에서 방사가 가장 안정적이고 균일한 섬유 형성이 가능하다는 것을 확인하였다.
2. GT의 함량이 증가함에 따라 친수성이 증가하며 Ball-TACK 분석법을 통해 점착력이 증가한다는 것을 확인하였다.
3. UV-vis 분광광도계 분석을 통해 165 분 경과 시점부터 ASX 방출이 종결되는 것을 확인하였다.

본 연구에서는 OPL 치료에 사용되는 스테로이드계 약물을 대신하여 국소부위에 안정적이고 효과적으로 약물을 전달할 수 있는 이중층 패치를 제작하였다. 향후 연구를 통해 생체 내 효능 및 안전성 평가, 장기 보관 안정성 테스트, 그리고 다양한 구강 질환에 대한 적용 가능성과 ASX 외 다른 약물들과의 복합 사용 가능성 및 방출 속도 조절을 위한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

- [1] Zhang, H., Ji, Y., Yuan, C., Sun, P., Xu, Q., Lin, D., ... & Deng, J. (2022). Fabrication of astaxanthin-loaded electrospun nanofiber-based mucoadhesive patches with water insoluble backing for the treatment of oral premalignant lesions. *Materials & Design*, 223, 111131.
- [2] Lee, D. K., Kim, J. Y., Min, Y. W., Lee, H., Min, B. H., Lee, J. H., ... & Kim, J. J. (2022). The effects of oral steroid duration on stricture prevention after extensive endoscopic submucosal dissection for superficial esophageal cancer. *Journal of Thoracic Disease*, 14(6), 2061.
- [3] Abdol Wahab, N. R., Meor Mohd Affandi, M. M. R., Fakurazi, S., Alias, E., & Hassan, H. (2022). Nanocarrier system: state-of-the-art in oral delivery of astaxanthin. *Antioxidants*, 11(9), 1676.
- [4] Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G. (2014). Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—A review. *Marine drugs*, 12(1), 128-152.
- [5] Shaikh, R., Singh, T. R. R., Garland, M. J., Woolfson, A. D., & Donnelly, R. F. (2011). Mucoadhesive drug

delivery systems. *Journal of pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(1), 89-100.

- [6] Böncü, T. E., & Ozdemir, N. (2022). Effects of drug concentration and PLGA addition on the properties of electrospun ampicillin trihydrate-loaded PLA nanofibers. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 13(1), 245-254.
- [7] 김정호, 최창경, & 이성혁. (2023). 전기방사의 작동 조건에 따른 젤라틴 나노섬유의 형태 및 직경에 관한 연구. *대한기계학회 춘추학술대회*, 323-323.
- [8] Azari, A., Golchin, A., Maymand, M. M., Mansouri, F., & Ardeshiryajimi, A. (2022). Electrospun polycaprolactone nanofibers: Current research and applications in biomedical application. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 12(4), 658.