

## 키토산과 가교 키토산을 이용한 경피흡수치료 시스템 개발

나 재 운<sup>†</sup>

순천대학교 공과대학 고분자공학과  
(1998년 4월 2일 접수, 1998년 5월 19일 채택)

### Development of Transdermal Therapeutic Systems using Crosslinked Chitosan and Chitosan

Jae-Woon Nah<sup>†</sup>

Department of Polymer Science and Engineering, College of Engineering, Sunchon National University,  
#315, Maegok-Dong, Suncheon, Chonnam 540-742, Korea  
(Received 2 April 1998; accepted 19 May 1998)

#### 요 약

천연고분자인 chitin은 인체에 무해무독하며 생분해성이 있는 것으로 알려져 있다. 이 chitin을 탈아세틸화시켜 chitosan을 얻었다. Chitin을 epichlorohydrin과 반응시켜 가교 chitin을 합성하고, C<sub>2</sub> 위치의 아세트아미드기를 탈아세틸화하여 가교 chitosan을 얻었다. 약물 carrier(chitosan과 가교 chitosan)를 각각 증류수에 팽윤시킨 다음 글리세린과 silver sulfadiazine을 가하여 고분자 matrix를 제조하였다. 이렇게 제조된 matrix로부터 약물방출 양상을 고찰하기 위해 pH 7.4 인산염 완충용액에서 silver sulfadiazine의 함유량, 글리세린의 농도 및 matrix 두께 변화에 미치는 인자들에 관하여 연구 검토하였다. 고분자 matrix내의 silver sulfadiazine의 함유량과 matrix의 두께가 증가할수록 약물방출 지속 시간은 지연되었다. 그러나 글리세린의 농도가 증가함에 따라 약물방출 지속 시간은 오히려 감소하였다. 또한 겔보기 방출속도상수(K) 값에 있어서는 silver sulfadiazine의 함유량과 글리세린의 농도에 따라 비례하였으나, matrix 두께가 증가함에 따라서는 거의 일정하였다. 가교 chitosan matrix에서의 약물방출 속도는 chitosan matrix에서보다도 더 지연되었다. 이상과 같이 chitosan과 가교 chitosan은 방출 조절형 carrier로서의 사용 가능성을 나타냈다.

**Abstract**—Chitin, the natural polymer has been known as harmless and innocuous material to human and been also known to be biodegradable. Chitosan was prepared by the deacetylation of chitin. The crosslinked chitosan was prepared from chitin after reaction with epichlorohydrin followed by deacetylation at C<sub>2</sub>-position. Epidermal releasing polymeric matrix was prepared after swelling drug carriers(chitosan and crosslinked chitosan) with distilled water, and adding silver sulfadiazine and glycerine. The release behavior of drug from polymeric matrix was studied in pH 7.4 phosphate buffer solution by varying the silver sulfadiazine content, glycerine concentration, and the thickness of the matrix. The drug release time was delayed by increasing the content of silver sulfadiazine and the thickness of the matrix, whereas decreased as glycerine concentration increased. The apparent constant(K) of release rate was independent upon the matrix thickness, but was proportional to the content of drug or glycerine. Thus the drug release rate at the crosslinked chitosan matrix was more delayed than at the chitosan matrix. These results indicated that the drug carriers matrix showed some potential as drug delivery systems for transdermal therapeutic applications.

Key words : Chitosan, Crosslinked Chitosan, Polymeric Matrix, Silver Sulfadiazine, Drug Delivery System

#### 1. 서 론

1811년 프랑스의 Braconnot[1] 학자에 의해 발견된 chitin은 해양 무척추동물 특히 새우나 게와 같은 갑각류, 연체동물인 갑 오징어의 뼈, 거미, 그리고 육지에서 서식하는 곤충류 등의 겔 껍질 성분으로서 자연계에 cellulose 다음으로 많이 존재하고 있다. 1859년에 Rouget

[2]에 의해 보고된 chitosan[poly β-(1→4)-2-amino-2-deoxy-D-glucan]은 chitin[poly β-(1→4)-2-acetamide-2-deoxy-D-glucan]의 C<sub>2</sub> 위치에 있는 아세트아미드기 중에 아세틸기를 제거시킴으로써 얻어지는 천연 polysaccharide이며, 모든 성질이 chitin과는 다르다. Chitin과 chitosan의 분자구조는 cellulose와 매우 유사하다. 즉 pyranose 고리의 C<sub>2</sub> 위치에, cellulose는 hydroxyl group(-OH), chitin은 acetyl amino group(-NHCOCH<sub>3</sub>), chitosan은 amino group(-NH<sub>2</sub>)이 각각 결합하고 있을 뿐, 그 외의 부분은 같은 구조를 갖는다(Fig. 1). 그렇지만 이들

<sup>†</sup>E-mail : jwnah@sunchon.sunchon.ac.kr

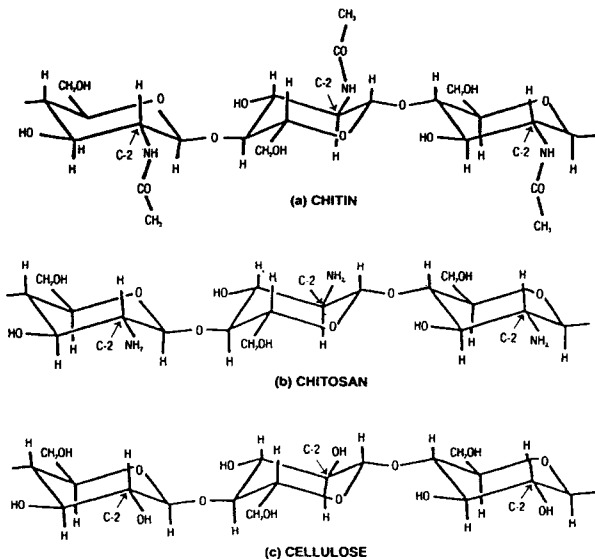


Fig. 1. Structural similarities of chitin, chitosan, and cellulose.

의 작용기 차이로 인해 응집구조 및 결정구조가 다르므로 각각의 용도는 매우 광범위하다[3]. Chitin 유도체들은 무독성, 무공해성, 생분해성 등[4]의 특성이 있어 약물 전달체, 혈액 응고제 및 식품 첨가제 등[5, 6]의 여러 분야에서 응용되고 있다. 특히 약물방출 특성에 대한 연구에서 Miyazaki 등[7, 8]은 건조된 chitosan gel에 indomethacin 및 papaverine hydrochloride를 분산시켜 chitosan 과립을 조제하여 방출 지속성 제제를 개발하였으며, Sawayanagi 등[9-12]은 약물을 tablet로 만들 때 chitosan이 mannitol, lactose 또는 potato starch와 혼합하여 부형제로 사용될 수 있음을 제시하였다.

본 연구에서는 chitin 유도체들이 인공피부의 재료[13, 14]와 상처치료 촉진 효과[15]가 있다는 점에 착안하여, 화상(burn)에서 가장 문제가 되는 *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas maltophilia*균에 강력한 살균력을 지닌 silver sulfadiazine(AgSD)을 모델 약물로 선택하여, 화학적으로 안정하고 광범위한 pH영역에서 사용할 수 있는 고분자 matrix를 제조하였다. 이렇게 제조된 고분자 matrix로부터 약물방출 양상을 규명하기 위해 pH 7.4 인산염 완충용액(phosphate buffer solution, PBS) 중에서 약물의 함유량, 글리세린의 농도 및 matrix 두께 변화에 미치는 인자들에 관하여 연구 검토하였다.

## 2. 실험

### 2-1. 시약 및 기기

Glycerine, epichlorohydrin은 Aldrich Chemical Co.의 GR급 제품을, sodium phosphate dibasic 12 hydrate와 sodium phosphate monobasic dihydrate는 Junsei Chemical Co.의 1급 시약을 사용하였다. 기타의 시약들은 GR급 또는 1급을 그대로 사용하였다. 그리고 silver sulfadiazine은 Polysciences Inc. 제품이며, chitin은 Fluka Chemical Co.의 crab shell을 구입하여 사용하였다.

Chitin 유도체의 구조를 확인하기 위하여 FT-IR spectrophotometer (Bruker, IFS 66), elemental analysis(Carlo-Erba, Mod.1108)를 사용하였다. 그리고 diffusion cell(Sibata Mod. 6031-02), UV-VIS spectrophotometer(Hitachi, Mod. 210A), millipore filter(Fisher, pore size 0.2  $\mu$ m) 등은 약물방출 특성 실험에 사용하였다.

### 2-2. Chitin의 전처리

Chitin의 분리정제는 이미 알려진 방법[16, 17]을 이용하여 다음과 같이 처리하였다. Chitin을 ball-mill로 분쇄한 후 180-250  $\mu$ m 크기의 입자만을 선별한 다음, 상온에서 2N-HCl 수용액에 12시간 동안 침적시켜 crab shell 중의 석회질과 기타 무기물을 제거하고, 1N-NaOH로 단백질을 제거하여 얻었다. 이 chitin분말에 2%-KMnO<sub>4</sub>를 가하여 표백 처리를 하고, 1%-oxalic acid하에서 잔존하는 KMnO<sub>4</sub>와 MnO<sub>2</sub>를 제거하였다. 원심 분리후 증류수, 에탄올, 에테르의 순으로 세척하고, 70  $^{\circ}$ C에서 진공 건조하여 백색 분말 형태의 정제된 chitin을 얻었다.

### 2-3. Chitosan의 제조

Chitin 분말시료 30 g을 47%-NaOH 300 mL 수용액으로 110  $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 탈아세틸화 반응을 행하여 chitosan을 제조하였고, 탈아세틸화도를 향상시키기 위하여 위와 같은 반응을 4회 반복하였다. 반응후 생성물을 증류수로 수회 씻어 알칼리를 제거한 다음, 에탄올, 에테르 순으로 세척하여 진공 건조(60  $^{\circ}$ C, 4 mmHg)시켜 백색 분말의 chitosan을 얻었다.

### 2-4. 가교 chitosan의 합성

Chitin 분말시료 30 g에 7N-NaOH 수용액 180 mL를 가하고 저온 항온조내에서 24시간 동안 일정속도로 교반한 후 epichlorohydrin 5.78 mL를 가하고 같은 조건에서 48시간 동안 가교반응을 행하였다. 반응 생성물은 증류수와 에탄올로 씻어서 알칼리와 미반응의 epichlorohydrin을 제거하고, 0.1N-NaOH 수용액으로 3회 교대로 반복처리하여 증류수, 에탄올 및 에테르의 순으로 씻은 후 70  $^{\circ}$ C에서 진공 건조시켜 가교 chitin(이하 c.chitin으로 칭함)을 제조하였다. Chitin의 가교 상태는 가교 반응물 중의 일부를 47%-NaOH 수용액 중에서 150  $^{\circ}$ C로 2시간 동안 가열하여 탈아세틸화한 시료의 10%-초산 수용액에 대한 용해성을 조사하여 검토하였다. 위와 같은 가교상태 시험에서 불용성인 c.chitin 분말시료 10 g에 47%-NaOH 수용액 100 mL를 가하고 일정속도로 교반하면서 110  $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 탈아세틸화 반응을 행하고 생성물을 증류수로 씻은 후 탈아세틸화 반응을 4회 반복처리하였다. 반응 생성물을 증류수로 충분히 씻고 0.1N-HCl과 0.1 N-NaOH 수용액으로 3회 교대로 반복처리한 다음, 증류수, 에탄올 및 에테르의 순으로 씻어서 진공 건조(60  $^{\circ}$ C, 4 mmHg)시켜 가교 chitosan(이하 c.chitosan으로 칭함)을 얻었다.

### 2-5. Chitin 유도체의 분석 및 특성

#### 2-5-1. 적외선흡수 스펙트럼 측정

Chitin은 0.7%-무수 포르산에 용해하여 얇은 필름으로 만든 다음 필름 내부에 잔존하는 포르산을 제거하기 위하여 0.1N-NaOH 수용액에 6시간동안 담그었다가 증류수에 8일간 방치한 후 건조시켜 적외선흡수 스펙트럼(Infrared spectrophotometer, IR)로 확인하였고, chitosan은 0.7%-무수 초산에 용해하여 chitin과 같은 방법으로 필름을 제조하여 확인하였다. 또한 c.chitin과 c.chitosan은 KBr법으로 분석하였다.

#### 2-5-2. 탈아세틸화도 및 가교도 측정

Chitosan은 알칼리처리에 의해 chitin으로부터 얻어지는 독특한 특성을 가지고 있으므로 chitin의 탈아세틸화의 정도에 따라서 용해도 특성이 다르다. Chitin의 탈아세틸화도는 toluidine blue 지시약을 이용한 콜로이드 적정법[18]을 사용하여 다음 식 (1)로부터 탈아세틸화도(degree of deacetylation, DAc)를 계산하였다. Chitosan 1.0 g을 증류수 100 mL, 0.4M-acetate buffer(pH 4.0) 100 mL 혼합용액에 용해시킨다. 용해된 chitosan 콜로이드 용액 1.0 g을 채취하여 증류수 30 mL와 혼용하고 toluidine blue 지시약 2방울을 떨어뜨린다. 1/400

N-potassium polyvinylsulfate solution(PVSK)으로 적정하여 용액의 색깔이 푸른색에서 보라색으로 변하는 점을 적정점으로 하였다. 여기서 V는 적정액의 부피(mL)이다.

$$DAc = \frac{100}{\left(\frac{50}{4.30V} - 1\right) 0.793 + 1} \quad (1)$$

그리고 c.chitin과 c.chitosan의 탈아세틸화도와 가교도(degree of cross-linking)는 Noguchi 등[19]의 방법으로 원소분석기를 사용하여 C, H, N 원소의 함량을 조사하고 Kjeldahl법에 의하여 질소 분석치로 추정된 분자식으로부터 결정하였다.

#### 2-5-3. 고유점도 및 평균분자량 측정

Chitosan의 평균분자량은 0.2M  $\text{CH}_3\text{COOH}$ -0.1M  $\text{NaCl}$ -4M  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (1:1:1, v/v) 혼합용액에 chitosan 분말을 각각 0.05, 0.1, 0.15 및 0.2%가 되도록 용해하고 냉암소에 1일 동안 방치하였다.  $25.0 \pm 0.05^\circ\text{C}$ 의 항온조내에서 Ubbelohde(Kimax No. 100) 점도계를 사용하여 모세관 통과 시간을 측정, 고유점도를 계산하고 다음 식 (2)로부터 분자량을 구하였다[20]. 여기서  $[\eta]$ 는 고유점도,  $M_v$ 는 점도 평균분자량을 나타낸다.

$$[\eta] = 8.93 \times 10^{-4} M_v^{0.71} (\text{dL/g}, 25.0 \pm 0.05^\circ\text{C}) \quad (2)$$

#### 2-5-4. 팽윤도 측정

일정무게( $X_1$ )의 chitosan과 c.chitosan을 각각  $25.0^\circ\text{C}$ 의 증류수에 48시간 동안 침적시킨후 실온에서 glass filter(G-4)와 aspirator를 사용하여 동일한 시간동안 함께 감압건조하여 무게( $X_2$ )를 측정하고 그 무게로부터 다음 식 (3)에 의하여 팽윤비(%)를 구하였다.

$$\text{팽윤비 (\%)} = \frac{X_2 - X_1}{X_1} \times 100 \quad (3)$$

#### 2-6. 고분자 matrix의 제조

고분자 matrix는 Fig. 2에 도시된 바와 같이 Gidwani[21]와 Keith 등[22]의 방법을 주로 참고하여 제조하였으며, 고분자 matrix의 제조에 사용된 고분자 용액의 조성은 Table 1에 나타내었다. Chitosan과 c.chitosan을 각각 증류수에 팽윤시킨 다음 글리세린을 가하여 교반하고 물중탕에서 서서히 가열하여  $70^\circ\text{C}$ 에 이르러 2시간 동안 유지시킨다. 그 다음 온도를 낮추면서 이 고분자 용액에 약물 AgSD를 가하여  $50^\circ\text{C}$ 에서 30분 동안 교반시켜 diffusion cell에 성형하여  $-10^\circ\text{C}$

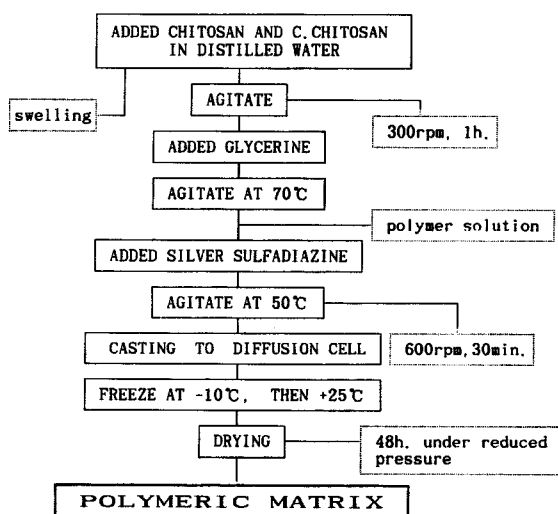


Fig. 2. Preparation of polymeric matrix.

Table 1. Composition of polymeric matrix forming solution(wt%)

Formula	Drug carriers* I, II	Silver sulfadiazine	Glycerine	Distilled water	Matrix thickness(mm)
A	(a) 10	5	40	45	$4.48 \pm 0.02$
	(b) 10	10	40	40	$4.48 \pm 0.01$
	(c) 10	20	40	30	$4.48 \pm 0.02$
B	(d) 10	10	20	60	$4.48 \pm 0.02$
	(e) 10	10	40	40	$4.48 \pm 0.01$
	(f) 10	10	60	20	$4.48 \pm 0.02$
C	(g) 10	10	40	40	$4.48 \pm 0.01$
	(h) 10	10	40	40	$2.24 \pm 0.02$
	(i) 10	10	40	40	$1.31 \pm 0.01$

\*Drug carriers; I: chitosan, II: c.chitosan.

에서 1시간 동안 동결시킨 후, 상온에서 12시간 동안 방치시켜 제조하였다. 이때 노출된 matrix의 면적은  $9.26 \text{ cm}^2$ 이었다. 이것을 48시간 동안 실온에서 감압 건조( $4 \text{ mmHg}$ )시킨 후 사용하기 전까지  $\text{P}_2\text{O}_5$ 가 들어있는 데시케이터에 보관하였다. 완성된 고분자 matrix의 두께는 중앙부분을 digimatic micrometer로 측정하여 두께 편차가 5% 이하의 matrix를 약물방출 실험에 사용하였다.

#### 2-7. 약물방출 속도 측정

제조된 고분자 matrix로부터의 약물방출 속도는 Fig. 3의 장치를 사용하여 다음과 같이 측정하였다. 용기에 pH 7.4 PBS 1,000mL를 사용하여 미리 온도를  $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 조절한 다음 matrix 면이 위를 향하도록 하여 용기 밑바닥에 잠기게 하였다. 교반 속도를 100rpm으로 회전시키면서 일정한 시간마다 방출액 5mL를 취하고 즉시 동량의 pH 7.4 PBS를 보충하여 전체의 부피를 일정하게 유지시켰다. 채취된 시료는 millipore filter를 통과시킨 후 UV-VIS spectrophotometer를 사용하여 273nm의 흡수 극대 파장에서 pH 7.4 PBS를 대조로 하여 그 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량선으로부터 방출된 약물을 정량하였다. 방출량은 3회 이상 시험을 실시하여 얻은 평균치를 사용하였다.

#### 2-8. 약물의 방출조절 메카니즘

고분자 matrix로부터 약물의 방출에 대한 일반적인 모델은 확산이 matrix 상을 통해 일어날 때 만들어진 것으로 matrix 경계층 모델은 Higuchi[23, 24]에 의해 소개되었다. Higuchi의 확산식은 여러 matrix system으로부터의 약물방출에 대해서도 적용되었다[25-27].

고분자 matrix로부터의 약물방출 속도는 식 (4)와 같이 Higuchi의 확산식으로 나타낼 수 있다.

$$Q = \{D(2A - C_s)C_s t\}^{1/2} \quad (4)$$

Q는 t시간 후에 고분자 matrix 단위 표면적당 방출된 약물의 양(mg/

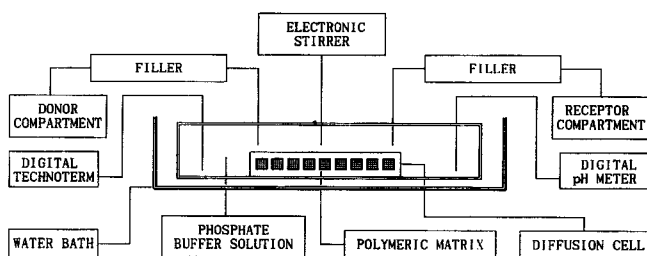


Fig. 3. Schematic diagram of the apparatus for determining release rate.

$\text{cm}^2$ ), D는 고분자 matrix에서 약물의 확산계수( $\text{cm}^2/\text{sec}$ ), A는 고분자 matrix의 단위 용적에 존재하는 약물의 양( $\text{mg}/\text{cm}^3$ ),  $C_s$ 는 고분자 matrix에 대한 약물의 용해도( $\text{mg}/\text{cm}^3$ )이다. 식 (4)를 변형하면 약물방출이 시간의 제곱근에 비례하는 식 (5)가 얻어진다.

$$Q = K \cdot t^{1/2} \quad (5)$$

여기에서 K는 겉보기 방출속도상수(apparent release rate constant)라 불리우는데 식 (4)에 대해서는  $K = \{D(2A - C_s)C_s\}^{1/2}$ 로 표시된다. 따라서 상기 식에서 보는 바와 같이 고분자 matrix로부터의 Q와  $t^{1/2}$  간에는 직선관계가 성립되며 그 기울기 값으로부터 겉보기 방출속도상수(K)를 구할 수 있다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3-1. Chitin 유도체의 특성 규명

Chitin은 내산성이 좋은 편이고, chitosan은 내알칼리성이 우수한 천연고분자이지만, chitosan은 pH 5 이하의 산성 수용액에서는 용해하여 사용에 부적합하다. 본 연구에서는 화학적으로 안정하고 광범위한 pH영역에서 사용할 수 있는 고분자 matrix를 제조할 목적으로 chitin을 강알칼리로 탈아세틸화시켜 chitosan을 제조하였다. 또한 chitin을 epichlorohydrin으로 처리하여 3차원 망상구조의 c.chitin을 합성하고,  $C_2$  위치의 아세트아미드기를 탈아세틸화시켜 c.chitosan을 합성하였다. Chitin 유도체들의 구조를 확인하기 위하여 Fig. 4에 IR 스펙트럼을 나타내었다. Sigma 제품을 표준시료로 한 chitin의 특성 band인  $3,447$ 과  $3,264 \text{ cm}^{-1}$  부근에서 OH와 NH 결합 신축진동에 의한 흡수 peak가,  $2,878 \text{ cm}^{-1}$  부근에서는  $\text{CH}_2$ 의 신축진동에 기인되는 흡수 peak가 강하게 나타났다. 그리고 N-acetyl기에 귀속되는 흡수 peak는  $1,650 \text{ cm}^{-1}$  부근에서, N-H 굽힘진동과 C-N 신축진동에 의한 강한 흡수 peak는  $1,550$ 과  $1,310 \text{ cm}^{-1}$ 에서 각각 관측되었으나, 탈아세틸화된 chitosan의 경우는 amide 특성 peak가 거의 없어지고  $1,590 \text{ cm}^{-1}$ 에서  $\text{NH}_2$  흡수 peak를 확인할 수 있었다. Epichlorohydrin으로 가교된 c.chitin의 IR 스펙트럼은 chitin의 경우와 큰 차이는 없었으나,  $2,878 \text{ cm}^{-1}$ 에서  $\text{CH}_2$  신축진동에 기인되는 흡수가 더 강하고,  $1,024 \text{ cm}^{-1}$ 에서의 1차 OH기에 귀속되는 흡수가 조금 약하게 관측되었다. C.chitosan의 경우는  $3,264 \text{ cm}^{-1}$ 에서 N-H 결합 신축진동에 의한 특성 흡수 peak가 c.chitin 보다 매우 약해졌다. 이러한 현상은 C=O와 N-H 결합 사이에 작용하는 수소 결합력이 c.chitin과 다르기 때문인 것으로 생각된다. 또한  $1,650 \text{ cm}^{-1}$ 에서 N-acetyl기의 C=O 신축진동에 귀속되는 흡수 peak가 약화되었고,  $1,550 \text{ cm}^{-1}$ 의 amide II 흡수 peak만 남아 있었다. 이 흡수 peak는 N-H 굽힘의 흡수 peak이며, c.chitin의 경우에는  $1,310 \text{ cm}^{-1}$ 에서 amide III 흡수 peak가 나타났지만 c.chitosan의 경우는 매우 약하게 축소되었기에 단지  $\text{CH}_2$  wagging에 의한 흡수 peak가

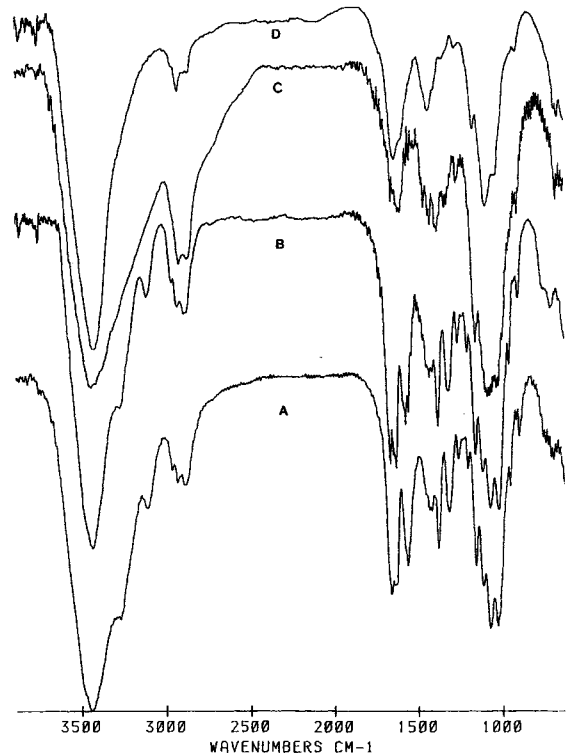


Fig. 4. FT-IR spectra of (A) chitin, (B) crosslinked chitin, (C) cross-linked chitosan, and (D) chitosan.

관측되어 탈아세틸화 반응이 진행되었음을 알 수 있었다.

Chitin과 epichlorohydrin의 가교반응은 chitin의  $\text{NH}_2$ 기에는  $\text{CH}_3\text{CO}$ 기가 결합되어 보호기로 작용하고 pyranose ring의  $C_6$  위치의 OH기가  $C_2$  위치의 OH기보다 반응성이 크므로,  $C_6$  위치의 OH기 중의 일부가 가교반응에 관여할 것으로 생각된다. Noguchi 등[19]은 chitin과 동중량의 epichlorohydrin을 반응시킨 후 탈아세틸화하여 제조한 c.chitosan의 glucosamine 잔기 100개당 35개의 epichlorohydrin 분자가 결합된 구조임을 원소분석치로부터 추정하였다. 본 실험의 가교 반응조건으로 합성된 c.chitin의 원소분석치로부터 추정된 가교도는 0.161이었다. Chitosan의 탈아세틸화도와 팽윤도는 각각 84.0 %, 35.7 %였으나, c.chitosan은 가교효과 등의 요인 때문에 탈아세틸화도와 팽윤도가 낮아 각각 60.0 %, 15.9 %이었다(Table 2). 그리고 chitosan의 고유점도 $[\eta]$ 는 5.16 dl/g였으며, 평균분자량( $M_n$ )은 약  $1.4 \times 10^5$ 이었다.

#### 3-2. 약물 방출 특성

Table 2. Presumed molecular formula and elemental analysis of chitin derivatives

Drug carrier	Formula		C(%)	H(%)	N(%)	C/N	N*(%)	Degree of deacetylation	Degree of crosslinking**	Degree of swelling(%)
Chitin	$[(C_8H_{13}O_5N)_n]$	Calc'd	47.29	6.40	6.90	6.85	6.915			
		Found	47.40	6.37	6.93	6.84				
Chitosan	$[(C_8H_{13}O_5N)_{0.16}(C_6H_{11}O_4N)_{0.84}]_n$	Calc'd	45.22	6.80	8.35	5.416	8.358	0.84	-	35.7
		Found	45.14	6.76	8.40	5.374				
C.chitin	$[(C_8H_{13}O_5N)_{0.616}(C_6H_{12}O_5N)_{0.384}(C_3H_5O)_{0.161}]_n$	Calc'd	45.65	6.74	6.90	6.616	6.908	-	0.161	-
		Found	45.63	6.74	6.90	6.613				
C.chitosan	$[(C_8H_{13}O_5N)_{0.284}(C_6H_{11}O_4N)_{0.426}(C_8H_{12}O_5N)_{0.116}(C_6H_{10}O_4N)_{0.174}(C_3H_5O)_{0.161}]_n$	Calc'd	46.76	6.72	7.49	6.243	7.508	0.60	-	15.9
		Found	46.77	6.72	7.50	6.236				

\*Determined by Kjeldahl method. \*\*Epichlorohydrin units per N-acetylglucosamine residue.

Fig. 5와 7은 약물의 함유량을 각각 5, 10 및 20 wt%로 변화시켰을 때의 누적 방출량(Q)을 시간에 대해 plot한 것이며, Fig. 6과 8은 이를 다시 시간의 제곱근에 대해, 즉 Higuchi model에 따라 plot한 것이다. 그래프에서 보는 바와 같이 약물의 함유량이 증가함에 따라 약물방출 지속 시간이 chitosan matrix의 경우에는 12.0, 13.8 및 15.5 일, c.chitosan matrix의 경우에는 17.0, 18.2 및 19.0일로 증가함을 알 수 있었다. 또한 시간의 제곱근( $t^{1/2}$ )에 대한 약물 누적방출량(Q)은 chitosan matrix의 경우에는 69.0, 80.0 및 89.0 mg/cm<sup>2</sup>이었으며, c. chitosan matrix의 경우에는 37.5, 46.0 및 60.0 mg/cm<sup>2</sup>로서 약물 방출

량(Q)의 증가가 선형성을 나타내는 것은 고분자 matrix로부터의 약물방출이 controlled release이라는 것을 의미하고 있으며, Table 1의 formula A로 제조된 고분자 matrix내에서의 약물방출 pattern은 Higuchi식에 잘 부합됨을 알 수 있었다.

글리세린의 농도를 5 wt%에서부터 시작하여 60 wt%까지 변화시켜 고분자 matrix를 제조하였다. 그러나 10 wt% 이하의 글리세린이 들어갔을 때에는 matrix가 형성되지 않았으므로 약물방출 실험은 formula B와 같은 조성에서 시행하였다. Fig. 9와 11은 글리세린의 함유량을 20, 40 및 60 wt%로 변화시켰을 때 고분자 matrix로부터의

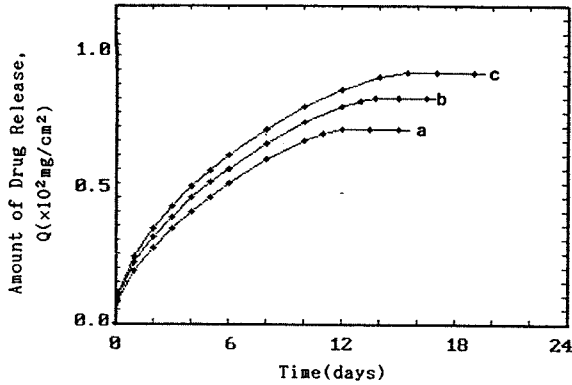


Fig. 5. Amount of drug release versus time for chitosan containing different concentrations of silver sulfadiazine: [a] 5 wt%, [b] 10 wt%, [c] 20 wt%].

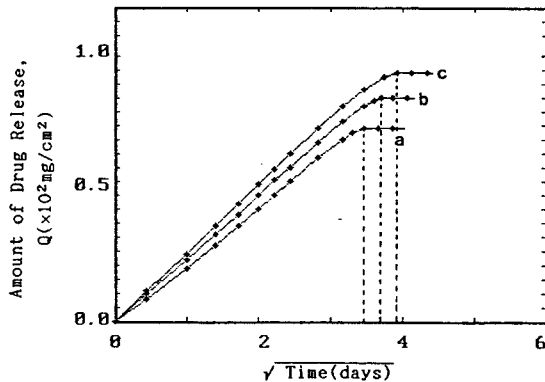


Fig. 6. Amount of drug release versus square root time for chitosan containing different concentrations of silver sulfadiazine: [a] 5 wt%, [b] 10 wt%, [c] 20 wt%].

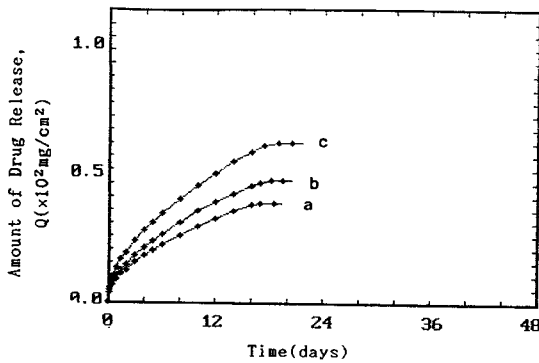


Fig. 7. Amount of drug release versus time for crosslinked chitosan containing different concentrations of silver sulfadiazine: [a] 5 wt%, [b] 10 wt%, [c] 20 wt%].

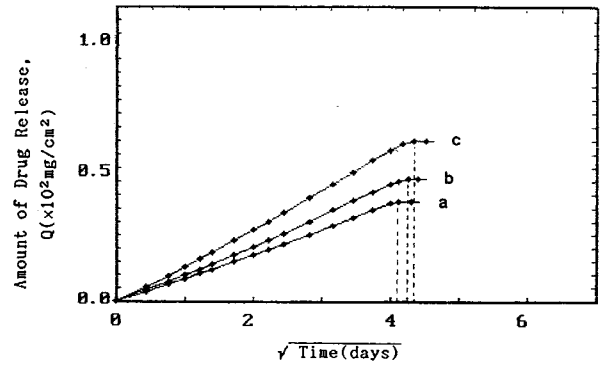


Fig. 8. Amount of drug release versus square root time for cross-linked chitosan containing different concentrations of silver sulfadiazine: [a] 5 wt%, [b] 10 wt%, [c] 20 wt%].

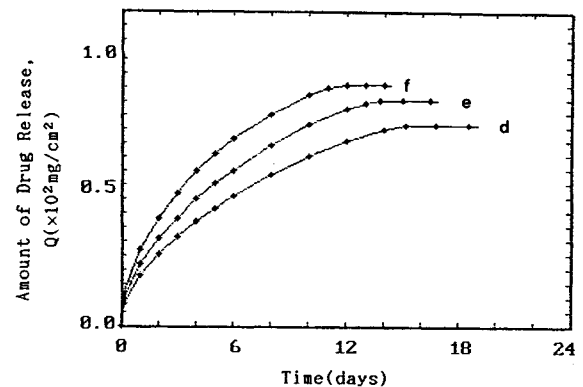


Fig. 9. Amount of drug release versus time for chitosan containing different concentrations of glycerine: [d] 20 wt%, [e] 40 wt%, [f] 60 wt%].

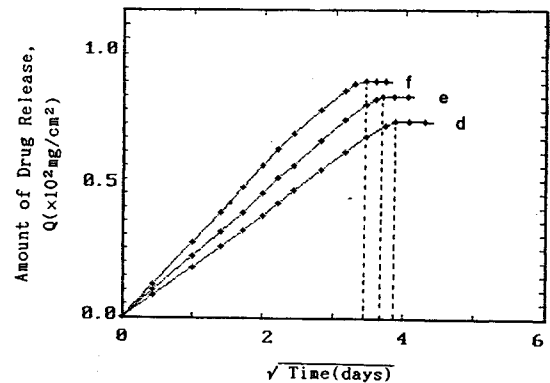


Fig. 10. Amount of drug release versus square root time for chitosan containing different concentrations of glycerine: [d] 20 wt%, [e] 40 wt%, [f] 60 wt%].

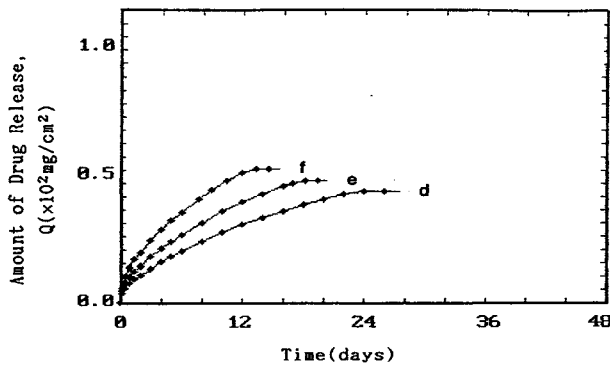


Fig. 11. Amount of drug release versus time for crosslinked chitosan containing different concentrations of glycerine: [d] 20 wt%, [e] 40 wt%, [f] 60 wt%].

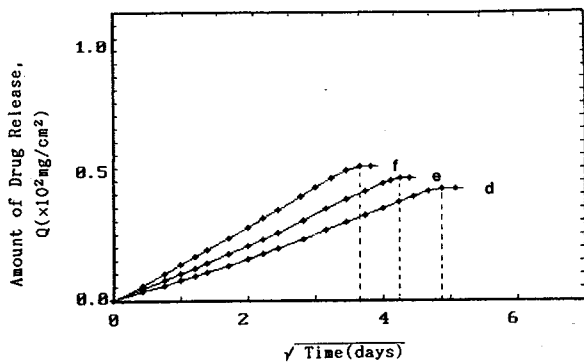


Fig. 12. Amount of drug release versus square root time for crosslinked chitosan containing different concentrations of glycerine: [d] 20 wt%, [e] 40 wt%, [f] 60 wt%].

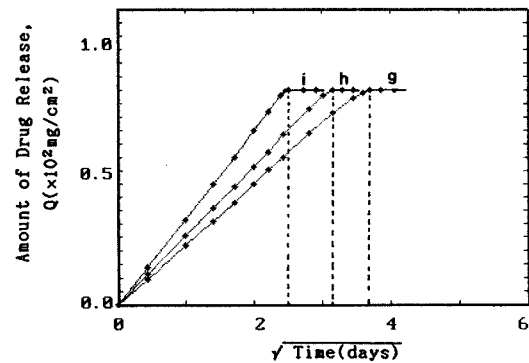


Fig. 13. Amount of drug release versus square root time for chitosan with different thickness: [g]  $4.48 \pm 0.01$  mm, [h]  $2.24 \pm 0.02$  mm, [i]  $1.31 \pm 0.01$  mm].

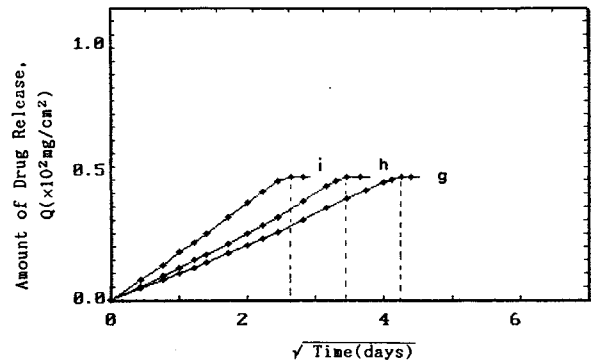


Fig. 14. Amount of drug release versus square root time for crosslinked chitosan with different thickness: [g]  $4.48 \pm 0.01$  mm, [h]  $2.24 \pm 0.02$  mm, [i]  $1.31 \pm 0.01$  mm].

약물방출 거동을 누적 방출량(Q) 대 시간에 대해 plot한 것이며, Fig. 10과 12는 이를 다시 시간의 제곱근에 대해, 즉 Higuchi model에 따라 plot한 것이다. 그래프에서 보는 바와 같이 글리세린의 함유량이 20, 40 및 60 wt%로 증가함에 따라 선형적 약물방출 지속 시간이 chitosan matrix의 경우에는 15.2, 13.8 및 12.0일로 감소하였으며, c.chitosan matrix의 경우도 각각 24.0, 18.2 및 13.5일로 감소하였다. 약물의 누적 방출량(Q)에 있어서는 글리세린의 함유량이 증가함에 따라 chitosan matrix의 경우에는 71.0, 80.0 및 85.5 mg/cm<sup>2</sup>로 증가하였으며, c.chitosan matrix의 경우에도 42.0, 46.0 및 50.7 mg/cm<sup>2</sup>로 증가하였다. 글리세린의 농도를 변화시켜 제조된 matrix의 종류에 따라 약물방출 지속 시간이 감소되어지는 현상은 고분자 matrix내에서 글리세린이 lubricant[28]로 작용하여 matrix내의 고분자 chain이 유연하게 되어 약물이 용이하게 통과하는 것으로 생각된다.

약물의 방출속도에 미치는 matrix 두께의 영향을 고찰하기 위해 AgSD와 약물 carrier의 함유량을 각각 10 wt%로, 증류수와 글리세린의 함유량을 각각 40 wt%로 동일하게 하고, matrix의 두께를 각각 1.31, 2.24 및 4.48 mm로 변화시켰을 때 약물방출 거동은 약물의 방출조절 메커니즘에서 식 (4)를 간략화한  $Q = K \cdot t^{1/2}$ 으로부터 알 수 있는 바와 같이 matrix 두께와는 무관하다. 그러나 matrix 두께는 약물방출 기간을 결정하므로 약물의 누적 방출량(Q) 대 시간의 제곱근( $t^{1/2}$ )에 대하여 Fig. 13과 14에 plot하였다. 그 결과 chitosan으로 제조한 고분자 matrix의 두께가 증가함에 따라 11.3, 12.0 및 13.8일, c.chitosan으로 제조한 고분자 matrix의 경우도 7.0, 12.0 및 18.2일로 약물방출 지속 시간이 길어져 조절 방출형에서 요구되는 pattern을 나타내었다.

고분자 matrix내에서 약물의 함유량, 글리세린의 함유량 및 matrix의 두께를 변화시켰을 때 겔보기 방출속도상수(K)와의 상관관계를 검토하였다. 약물의 누적 방출량(Q) 대 시간의 제곱근( $t^{1/2}$ )에 대한 그래프의 기울기로부터 겔보기 방출속도상수(K)를 산출하여 Table 3에 나타내었다. 약물의 함유량(formula A)과 글리세린의 함유량(formula B)이 증가함에 따라 겔보기 방출속도상수(K)값도 증가하였으며, 이들의 상관계수를 보면 chitosan matrix의 경우 0.9974-0.9994 값을, c.chitosan matrix의 경우도 0.9987-0.9996으로 매우 높은 값을 나타내었다. 그러나 고분자 matrix의 두께(formula C)가 증가함에 따라 겔보기 방출속도상수(K)값은 거의 일정하였고, 이들의 상관계수

Table 3. Apparent release rate constant(K) and correlation coefficient(r) for polymeric matrix

Formula		Apparent release rate constant, K(mg/cm <sup>2</sup> · days <sup>1/2</sup> )		Correlation coefficient r	
		Chitosan	C.chitosan	Chitosan	C.chitosan
A	(a)	20.6191	9.2891	0.9994	0.9995
	(b)	22.0522	11.1335	0.9993	0.9992
	(c)	23.3562	14.2634	0.9983	0.9996
B	(d)	18.7502	8.9262	0.9994	0.9987
	(e)	22.0522	11.1335	0.9993	0.9992
	(f)	25.3620	14.2309	0.9974	0.9996
C	(g)	22.0522	11.1335	0.9993	0.9992
	(h)	22.2210	11.3770	0.9993	0.9986
	(i)	22.6255	11.0289	0.9997	0.9992

**Table 4. Linearly released time range from plotting the cumulative amount of drug released versus square root time**

Formula	Linearly released time range(days)	
	Chitosan	C.chitosan
A	③	0.2-12.0
	④	0.2-13.8
	⑤	0.2-15.5
B	⑥	0.2-15.2
	⑦	0.2-13.8
	⑧	0.2-12.0
C	⑨	0.2-13.8
	⑩	0.2-12.0
	⑪	0.2-11.3
		0.2-7.0

도 chitosan matrix의 경우가 0.9993-0.9997값을, c.chitosan의 경우도 0.9986-0.9992로 높은 값을 나타내었다. 또한 본 실험에서 제조된 고분자 matrix의 약물방출 거동은 Higuchi식에 따르는 것으로 생각되었고, chitosan으로 제조한 matrix보다는 c.chitosan으로 제조한 matrix의 경우가 약물 carrier로서 우수한 역할을 하고 있음을 알 수 있었다. Table 4는 고분자 matrix가 약물의 누적 방출량(Q)과 시간의 제곱근( $t^{1/2}$ )간에 profile은 모두 양호한 직선관계가 성립하는 시간의 범위로서 Higuchi model의 확산식에 따른 약물방출 실험의 세 가지 결과를 정리한 것이다.

따라서 본 실험에서 제조한 고분자 matrix에 항균제인 AgSD를 담지시켜, 글리세린의 함유량을 변화시킴으로서 약물을 원하는 시간 동안 지속적으로 방출시킬 수 있는 경피흡수용 고분자 matrix를 목적에 따라 자유로이 설계할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 4. 결 론

천연 polysaccharide인 chitin의 C<sub>2</sub>의 아세틸아미노기를 탈아세틸화하여 chitosan을 제조하였다. Chitin을 epichlorohydrin과 반응시켜 3차원 망상구조의 c.chitin을 합성하였고, 이것을 강알칼리로 탈아세틸화시켜 c.chitosan을 제조하였다. 이렇게 합성된 chitosan과 c.chitosan을 각각 증류수에 팽윤시킨 다음 글리세린을 첨가하였다. 이 고분자 용액에 화상 치료제로 널리 쓰이는 AgSD를 모델 약물로 선택하여 경피흡수용 고분자 matrix를 제조하였다. 제조된 고분자 matrix로부터 약물방출 양상을 관찰하기 위해 pH 7.4 PBS에서 AgSD의 함유량, 글리세린의 농도 및 matrix 두께 변화에 미치는 인자들에 관하여 연구 검토하였다.

고분자 matrix내의 AgSD의 함유량과 matrix의 두께가 증가할수록 약물의 방출시간은 더 지연되었다. 그러나 글리세린의 농도가 증가함에 따라 약물방출 시간은 오히려 감소하였다. 이러한 현상은 고분자 matrix내에서 글리세린이 lubricant로 작용하여 matrix내의 고분자 chain이 유연하게 되어 약물이 용이하게 통과하는 것으로 생각된다. 또한 겔보기 방출 속도상수(K)값과 고분자 matrix 변수와의 상관관계에 있어서 AgSD의 함유량과 글리세린의 농도에 따라 비례하였으나, matrix의 두께가 증가함에 따라서는 거의 일정하였다. 이들의 상관계수도 0.9986-0.9997로 매우 높은 값을 보였다. 가교 chitosan matrix에서의 약물방출 속도는 chitosan matrix에서보다도 더 지연되었다. 이상과 같이 chitosan과 c.chitosan은 화학적으로 안정하고

광범위한 pH영역에서 사용할 수 있는 약물방출 조절형 carrier로서 우수한 역할과 고분자 matrix로서의 사용 가능성을 나타냈으며, 약물방출 거동은 Higuchi model에 따른 확산으로 생각되었다.

#### 감 사

이 논문은 1997년도 순천대학교 공과대학 학술재단 연구비에 의하여 수행되었으며 연구비를 지원하여 주신 순천대학교에 감사드립니다.

#### 참고문헌

1. Braconnot, H.: *Ann. Chi. Phys.*, **30**, 265(1811).
2. Rouget, C.: *Comp. Rend.*, **48**, 792(1859).
3. Rudall, K. M. and Kenchington, W.: *Biol. Rev.*, **49**, 597(1973).
4. Nishimura, S. and Tokura, S.: *J. Biol. Macromol.*, **9**, 225(1987).
5. Nishimura, S., Nishi, N. and Tokura, S.: *J. Biol. Macromol.*, **7**, 100(1985).
6. Tsugita, T. and Sakamoto, K.: *Food Chem.*, **2**, 45(1995).
7. Hou, W. M., Miyazaki, S., Takada, M. and Komai, T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3986(1985).
8. Miyazaki, S., Ishii, K. and Nodai, T.: *ibid.*, **29**, 3067(1981).
9. Sawayanagi, Y., Nambu, N. and Nagi, T.: *ibid.*, **30**, 4216(1982).
10. Sawayanagi, Y., Nambu, N. and Nagi, T.: *ibid.*, **31**, 2064(1983).
11. Sawayanagi, Y., Nambu, N. and Nagi, T.: *ibid.*, **31**, 2507(1983).
12. Sawayanagi, Y., Nambu, N. and Nagi, T.: *ibid.*, **30**, 2935(1982).
13. Hillyard, I. W., Doczi, J. and Kierman, P. B.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **115**, 1108(1964).
14. Sugano, M., Fujikawa, T. and Hasegawa, Y.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 787(1980).
15. Vahoun, G. V., Satchithanadam, S., Cassidy, M. M., Lightfoot, F. B. and Furda, I.: *ibid.*, **38**, 278(1983).
16. Hackman, R. H.: *Aust. J. Biol. Sci.*, **7**, 168(1954).
17. Reid, J. D. and Ogrydziak, D. M.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 664(1981).
18. Meda, M., Murakami, H., Ohta, H. and Tajima, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 427(1992).
19. Noguchi, J., Arato, K. and Komai, T.: *J. Chem. Soc. Japan Ind. Chem. Sect.*, **72**, 796(1969).
20. Rutherford III, F. A. and Austin, P. R.: *Proc. 1st Int. Conf. Chitin /Chitosan*, 182(1978).
21. Gidwani, R. N.: *J. Pharm. Sci.*, **61**, 985(1972).
22. Keith, A. D.: *Eur. Patent* 0,013,606(1972).
23. Higuchi, T.: *J. Pharm. Sci.*, **50**, 874(1961).
24. Higuchi, T.: *ibid.*, **52**, 1145(1963).
25. Desai, S. J., Simonelli, A. P. and Higuchi, W. I.: *ibid.*, **54**, 1459(1965).
26. Lapidus, H. and Lordi, N. G.: *ibid.*, **55**, 840(1966).
27. Desai, S. J., Singh, P., Simonelli, A. P. and Higuchi, W. I.: *ibid.*, **55**, 1224(1966).
28. Martin, A. and Swarbrick, J.: "Physical Pharmacy", Lea & Febiger, Philadelphia, 22(1984).