



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학 석사학위논문

Methotrexate의 제어방출을 위한  
멜라닌 함유 셀룰로오스 기반의  
분자각인 필름

전남대학교 대학원  
바이오메디컬공학협동과정

김 예 슬

2021년 2월

# Methotrexate의 제어방출을 위한 멜라닌 함유 셀룰로오스 기반의 분자각인 필름

이 논문을 공학 석사학위 논문으로 제출함

전남대학교 대학원  
바이오메디컬공학협동과정

김 예 슬

지도교수 이 창 문

김예슬의 공학 석사 학위논문을 인준함

심사위원장 윤 순 도 (인)

심 사 위 원 황 민 진 (인)

심 사 위 원 이 창 문 (인)

2021년 2월

## 목차

List of Figures .....	iii
List of Schemes .....	iv
국문초록 .....	v
1. 서론 .....	1
가. 연구배경 .....	1
1) 경피약물전달시스템 .....	1
2) 외부자극 반응성 약물전달시스템 .....	2
3) 분자 각인 고분자 .....	2
나. 연구목적 .....	5
2. 재료 및 방법 .....	7
가. 시약 및 재료 .....	7
나. MIP film 제조 .....	7
다. MIP film 특성평가 .....	8
1) 주사전자현미경&에너지 분산 X선 분광기 .....	8
2) 푸리에 변환 적외선 분광기 .....	8
라. MTX에 대한 MIP film의 선택적 흡착 평가 .....	9
마. MIP film의 광열효과 평가 .....	10
1) 광열효과 .....	10
2) 광열안정성 .....	10
바. 광열효과에 의한 MIP film으로부터 MTX 방출 평가 .....	10
사. 통계 분석 .....	10
3. 결과 및 고찰 .....	11
가. MIP film 특성평가 .....	11
1) 주사전자현미경&에너지 분산 X선 분광기 .....	11
2) 푸리에 변환 적외선 분광기 .....	14
나. MTX에 대한 MIP film의 선택적 흡착 평가 .....	16

다. MIP film의 광열효과 평가 .....	18
1) 광열효과 .....	18
2) 광열안정성 .....	18
라. 광열효과에 의한 MIP film으로부터 MTX 방출 평가 .....	21
4. 결론 .....	26
5. 참고문헌 .....	27
영문초록 .....	32

## List of Figures

Figure 1. SEM images for surface morphology of (a) CMC film, (b) NIP film, and MIP film (c) before and (d) after MTX recognition.	12
Figure 2. EDS spectra of (a) MIP film and (b) MIP@MTX film. ....	13
Figure 3. FT-IR spectra of (a) CMC film, MAA, EGDMA, MIP film, (b) MTX, MIP film and MIP@MTX film. ....	15
Figure 4. Selective adsorption of MTX or FA with different MIP film and NIP film (n=3, *** $p < 0.001$ ). ....	17
Figure 5. (a) IR thermal images and (b) temperature change curves of MIP film with 808 nm NIR laser irradiation at 0.5, 0.7, and 0.88 W/cm <sup>2</sup> for 10 min. ....	19
Figure 6. Temperature change curve of MIP film with 808 nm NIR laser irradiation at 0.7 W/cm <sup>2</sup> over five laser on/off cycles. ....	20
Figure 7. IR thermal images of MIP film with after 808 nm NIR laser irradiation at 0.7 W/cm <sup>2</sup> for 10 min in Franz diffusion cell. ...	22
Figure 8. Release profiles of MTX from MIP@MTX film with 808 nm NIR laser irradiation at 0.7 W/cm <sup>2</sup> for 10 min in pH 7.4 or pH 5.5 PBS buffer (n=3, ** $p < 0.01$ , ** $p < 0.001$ ). ....	23
Figure 9. Release profiles of MTX from MIP@MTX film with 4 times irradiation of 808 nm NIR laser at 0.7 W/cm <sup>2</sup> for 10 min in (a) pH 7.4 or (b) pH 5.5 PBS buffer (n=3, ** $p < 0.01$ ). ....	24
Figure 10. (a) SEM image and (b) EDS spectra of MIP@MTX film after NIR laser irradiation at 0.7 W/cm <sup>2</sup> for 10 min. ....	25

## List of Schemes

- Scheme 1. Schematic illustration of the principle of molecularly imprinted polymer. .... 4
- Scheme 2. Schematic illustration for (a) release of MTX from MIP film by 808 nm NIR laser irradiation and (b) synthesis of the MIP film containing melanin for MTX release. .... 6

# Methotrexate의 제어방출을 위한 멜라닌이 함유된 셀룰로오스 기반의 분자 각인 필름

김 예 슬

전남대학교대학원 바이오메디컬공학협동과정

(지도교수 : 이창문)

(국문초록)

본 연구에서는 methotrexate(MTX)의 방출을 제어할 수 있는 경피 약물전달 시스템(transdermal drug delivery system: TDDS)의 개발을 위해 광열 제제인 멜라닌을 함유한 셀룰로오스 기반의 분자 각인 필름(molecularly imprinted polymer film: MIP film)을 제조하고 TDDS로서의 가능성을 평가하였다. 기능성 모노머인 methacrylic acid(MAA)를 carboxymethyl cellulose(CMC)에 그래프트 시킨 후 주형분자인 MTX를 MAA에 수소 결합 시켰다. 그 다음 가교제인 ethylene glycol dimethacrylate(EGDMA)를 이용하여 가교 시킨 후 MTX를 제거함으로써 MTX가 각인된 MIP를 제조하였다. 제조한 MIP 용액에 멜라닌을 분산시킨 후 casting method를 통해 최종적인 MIP film을 제조하였다. 성공적으로 제조된 MIP film의 표면은 MTX가 각인되지 않은 film과 비교해 볼 때 균일한 크기의 기공이 발견되었으며 그 기공에 존재하는 기능기가 MTX를 재인식 하였다. MIP film의 MTX에 대한 선택적 인식을 확인하기 위해 MTX와 유사한 화학 구조를 가진 folic acid(FA)을 사용하여 인식 실험을 수행하였다. 그 결과 MIP film은 FA보다 MTX를 선택적으로 인식하였다. 808 nm 파장의 근적외선 레이저를 0.7 W/cm<sup>2</sup> 세기로 10분 동안 조사한 후 MIP film의 온도는 69°C까지 상승하였고, MTX는 MIP film으로부터 pH 7.4와 pH 5.5에서 각각 73.81±9.85% 및 90.06±8.69% 12시간 동안 방출되었다. 또한, 레이저를

추가적으로 조사 시 약물 방출 속도는 순간적으로 증가하였다. 이러한 결과로부터 MIP film은 약물의 제어방출을 위한 TDDS의 제제로서의 가능성을 기대해 볼 수 있다.

# 1. 서론

가. 연구배경

## 1) 경피약물전달시스템

대부분의 질병 치료는 질병을 초기에 진단하여 최소한의 외과적인 수술 혹은 약물 투여를 통해 치료 효과를 최대화하는 것을 목표로 한다. 이 때, 투여되는 약물의 방출 속도를 조절하거나 약물을 목표 부위에 효율적으로 전달하여 치료의 부작용을 줄이고 효능을 극대화할 수 있다. 이를 약물전달시스템(drug delivery system: DDS)이라고 한다[1]. 대표적으로 경구(oral), 주사(injection), 경피(transdermal) 등을 통한 투여가 있다. 이 중 경구 투여를 통한 DDS는 위장관의 효소 및 pH에 의한 약물의 비활성화 및 낮은 흡수와 관련된 문제를 가지고 있다. 패치와 같은 경피약물전달시스템(transdermal drug delivery system: TDDS)은 비침습적 약물 투여 경로로서 경구 투여를 통해 발생하는 문제를 해결할 수 있는 대안으로 사용되고 있다[2]. 이는 일정한 혈장 농도를 위한 투여 횟수 감소, 지속적인 약물 전달, 초회통과 대사를 피함으로써 부작용을 감소시키고 환자의 순응도를 개선한다는 이점을 가지고 있다[3,4].

많은 연구자들은 TDDS를 통하여 약물을 효과적으로 전달하기 위해 일반적으로 천연 및 생분해성 고분자 백분을 변형 및 개질시켜 패치 등을 제조해왔다. 그 중 자연에서 생산되는 가장 풍부한 생체재료로서 다당류인 셀룰로오스(cellulose)는 수백에서 수천 개의 D-glucose 단위체들이  $\beta(1\rightarrow4)$  글리코사이드 결합으로 연결된 구조를 가지고 있어 사슬을 단단하게 하고 기계적으로 안정적이다. 또한, 생체적합성과 생분해성이 뛰어나고 무독성이며 저비용 및 재생 가능하다는 이점을 가지고 있다. 따라서 효과적인 TDDS를 위해 고분자 백분으로서 셀룰로오스의 사용은 적합한 선택이다[5,6]. 특히, 제어 가능한 약물방출을 위해 친수성 매트릭스로 제조된 셀룰로오스는 유망한 생체 재료이며 그 예로 하이드록시 프로필 셀룰로오스(hydroxypropyl cellulose), 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스(hydroxypropyl methyl cellulose)와 카르복시메틸 셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC) 등이 있다[7].

## 2) 외부자극 반응성 약물전달시스템

약물의 특이성과 효율성을 높이고 잠재적인 부작용과 독성을 최소화하기 위해 외부 자극, 즉 빛, pH, redox, 열 반응성 생체재료를 이용하여 특정 부위에서 약물 방출을 제어할 수 있는 방법은 지속적으로 모색되어왔다[8-10].

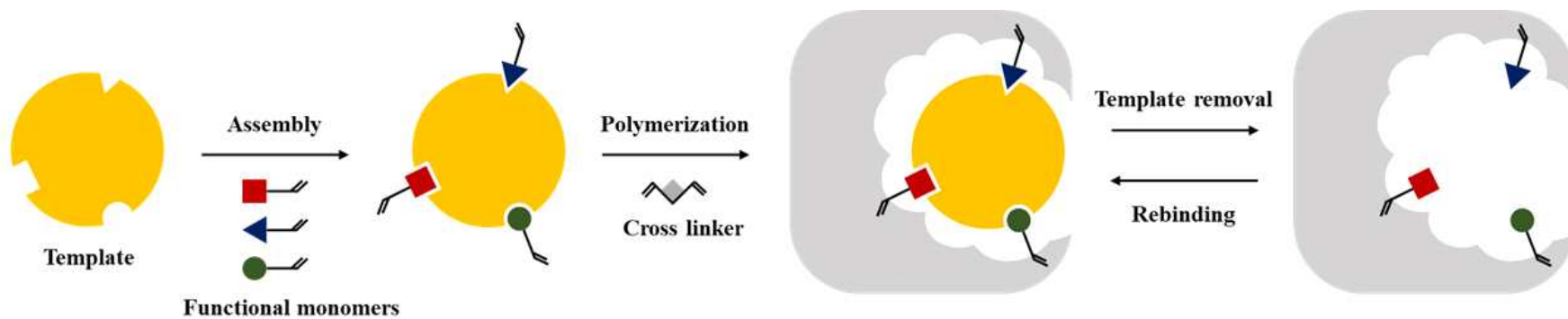
다양한 자극 중에서 빛은 비침습적이고 시간적 및 공간적으로 제어 가능하여 표적 부위에서 작용을 증가시키고 전신 독성을 감소시키는 장점을 가지고 있어 빛에 반응하는 생체재료는 약물 방출을 위해 많이 사용되고 있다. 현재 사용되고 있는 광원에는 다양한 파장의 자외선(ultra violet), 가시광선(visible)과 근적외선(near infrared: NIR) 등이 있다. 하지만 가시광선 및 자외선은 부적절한 조직 투과 능력으로 인해 인체 적용이 제한되기 때문에 750-1300 nm 파장의 NIR 빛을 가장 많이 사용하고 있다[11]. 빛을 이용한 기술 중 하나로 NIR 조사 하에 열이 발생하는 광열효과(photothermal effect)를 이용하여 약물 방출을 유도할 수 있다. 빛을 흡수하여 열을 방출시키는 광열 제제로는 탄소나노튜브(carbon nanotube), 그래핀(graphene)과 골드나노입자(gold nanoparticle) 등이 있다[12-14]. 하지만 이러한 물질들은 독성을 유발하는 문제점이 있다. 따라서 생체 적합한 광열제제의 개발이 필요하다.

피부색을 결정하는 멜라닌(melanin)은 생물체의 피부 및 눈 속의 멜라노사이트(melanocyte)에 의해 멜라노제네시스(melanogenesis) 작용으로 생성되는 어두운 색소로 잘 알려져 있다[15]. 또한 생체 내에서 생성되고 분해되는 물질이기 때문에 생체적합성과 생분해성이 우수한 생체재료이다. 특히, 멜라닌은 발색단(chromophore)을 가져 넓은 범위의 빛을 효과적으로 흡수하여 열로 전환시키는 특성을 가지고 있다[16,17]. 따라서 멜라닌을 TDDS에 적용하여 생성된 열은 약물 방출을 촉진할 수 있다.

## 3) 분자 각인 고분자

분자 각인 기술은 주형분자(template), 기능성 단량체(functional monomer), 가교제(cross linker) 및 개시제(initiator)를 사용하여 주형분자에 대한 선택적 인식 능력을 가진 분자 각인 고분자(molecularly imprinted polymer: MIP)를 제조하는 방법이다. 일반적인 MIP의 제조는 다음과 같다. (i) 공유 또는 비공유

결합(예: 수소 결합, 쌍극자-쌍극자, 이온,  $\pi$ - $\pi$ , 소수성 상호 작용 등)을 통해 형성된 주형 분자와 기능성 단량체(예: methacrylic acid(MAA), 4-vinylpyridine 등)의 복합체를 제조한다. (ii) 개시제(예: 2,2'-azobis(isobutyronitrile) 등)를 이용한 열 중합법 또는 UV 개시법 통해 제조된 복합체를 가교제(예: ethylene glycol dimethacrylate(EGDMA))와 함께 공중합시킨다. (iii) 화학 반응 또는 추출에 의해 주형분자를 제거하여 최종적인 MIP를 제조한다. 제조된 MIP는 기능성 단량체의 주형분자에 상보적인 결합 부위가 노출되어 높은 선택성으로 주형분자와 다시 결합할 수 있다(Scheme 1)[18,19]. 또한 높은 선택성, 안정성, 상대적인 제조 용이성, 저렴한 비용 및 광범위한 표적 분자에 대한 적용과 같은 이점을 가지고 있어 생화학적 센서, 크로마토그래피 고정상, 수용체, 항체 및 효소 모방체와 생체분석(체외진단 및 치료) 등과 같은 광범위한 응용 분야에서 사용되고 있다[20-22]. 특히, 분자 각인 기술은 주변 환경 특성(예: 빛, pH, 열 등)에 민감하게 반응하여 주형분자를 빠르게 방출할 수 있는 플랫폼을 제공할 수 있기 때문에 최근 몇 년 동안 약물전달시스템 및 여러 약물의 제어 방출 장치를 위한 MIP의 사용은 적합하다고 보고되고 있다. 필요에 따라 MIP는 모놀리스(monoliths), 멤브레인(membrane) 및 입자(particle)와 같은 다양한 형식으로 제조할 수 있다[23].

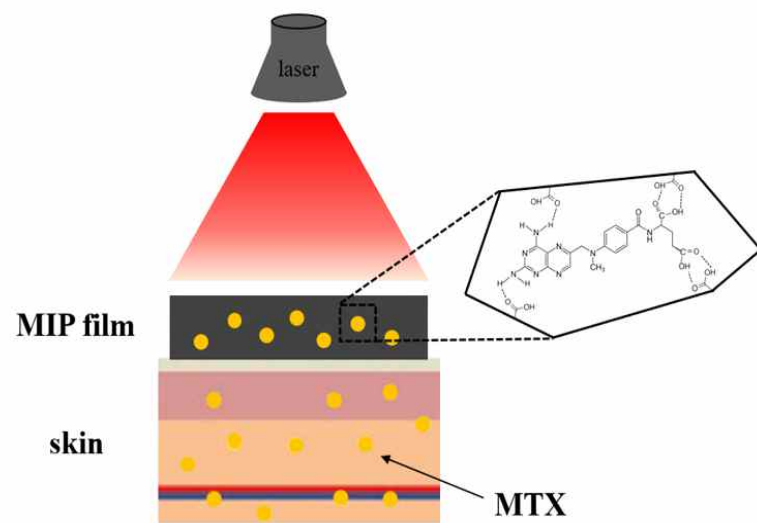


Scheme 1. Schematic illustration of the principle of molecularly imprinted polymer.

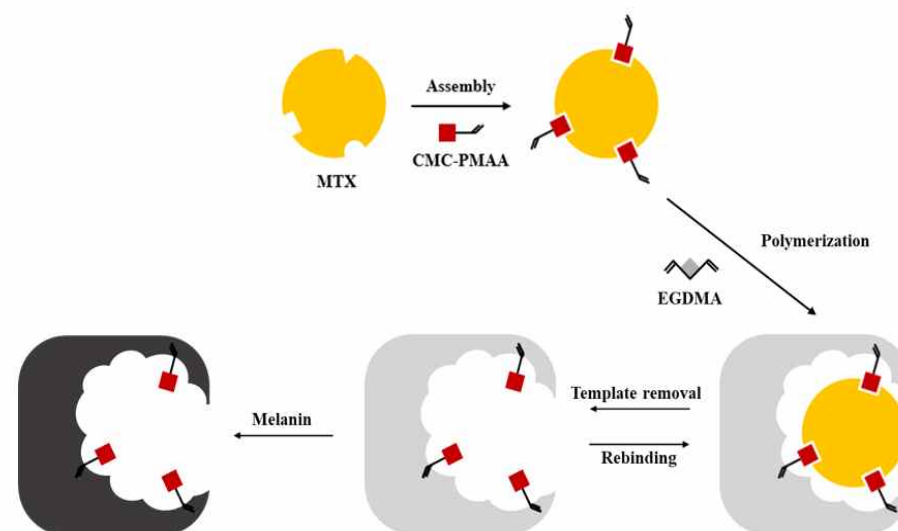
## 나. 연구목적

본 연구에서는 효과적인 TDDS의 개발을 위해 멜라닌을 함유한 셀룰로오스 기반 분자 각인 필름(MIP film)을 제조하여 NIR 레이저 조사 하에 methotrexate (MTX)의 방출 속도를 증가하고자 하였다(Scheme 2a). MIP film은 기능성 단량체로서 MAA를 CMC에 공중합하여 주형분자인 MTX와 함께 수소 결합을 통해 고분자 중합체를 제조하였다. 그 다음 가교제로서 EGDMA를 사용하여 가교한 후 MTX를 제거하고 멜라닌을 함유시켜 제조하였다(Scheme 2b). 주사 전자현미경, 에너지 분산 X선 분광기, 푸리에 변환 적외선 분광기를 이용하여 제조된 MIP film의 물리화학적 특성을 평가하였다. MIP film의 MTX에 대한 선택적 흡착은 MTX와 구조적으로 유사한 folic acid(FA)를 사용하여 평가하였다. 또한 MIP film의 광열 전환 특성을 평가하기 위하여 NIR 레이저를 다양한 세기로 조사하여 온도 변화를 관찰하였다. 마지막으로 NIR 레이저 조사에 의한 약물 방출 거동을 pH 7.4와 pH 5.5에서 평가하였다.

(a)



(b)



**Scheme 2.** Schematic illustration for (a) release of MTX from MIP film by 808 nm NIR laser irradiation and (b) synthesis of the MIP film containing melanin for MTX release.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시약 및 재료

Carboxymethyl cellulose(CMC,  $M_w$  90,000 Da), potassium persulfate(KPS), methacrylic acid(MAA), methotrexate(MTX), ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA), melanin, acetonitrile과 folic acid(FA)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Ethyl alcohol(EtOH)과 dimethyl sulfoxide (DMSO)는 DUKSAN-REAGENTS(Ansan, Korea)에서 구입하였으며 phosphate buffer saline(PBS) 는 LONZA(Basel, Switzerland)에서 구입하였다.

### 나. MIP film 제조

MTX가 각인된 MIP film은 이전에 보고된 연구에서 변형된 자유라디칼 중합 방법을 이용하였으며 두 단계를 거쳐 제조하였다[24]. 먼저 60°C로 조정된 교반기에서 CMC(62.5 mg)를 증류수(5 ml)에 용해한 후 degassing을 하였다. 교반기의 온도를 70°C로 다시 조정하여 KPS 용액(0.25 mg/ml, 5 ml)과 MAA (91.6 mg)를 차례대로 첨가한 후 용액이 불투명해질 때 까지 충분히 교반하였다. 반응에 참여하지 않은 KPS 및 MAA를 제거하기 위해, 위의 반응물을 3일 동안 투석막(MWCO 12,000 Da, Sigma-Aldrich, st. Louis, MO, USA)을 이용하여 투석시킨 후 동결건조(freeze dryer, Ilshinbiobase Co., Ltd., Dongducheon, Korea)하여 CMC에 MAA가 중합된 CMC-PMAA를 제조하였다. 건조된 CMC-PMAA(62.5 mg)를 증류수(5 ml)에 용해하고 MTX(5 mg)를 첨가한 후 MTX와 MAA의 pre-assembly를 위해 충분한 시간 동안 water bath sonicator(NXP- 1002, Hansol tech Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 sonication 하였다. 혼합물을 degassing 한 후 가교를 위해 EGDMA(2.1 mg)를 첨가한 후 1시간 동안 교반하였다. 반응에 참여하지 않은 MTX 및 EGDMA를 제거하기 위해서 위의 반응물을 3일 동안 투석하였다. Melanin(1 mg)을 투석한 용액에 분산시킨 후 40°C로 조정된 오븐에서 casting method를 통해 건조하여 film을 형성하였다. 마지막으로 주형분자인 MTX를 제거하기 위해서 분광광도계

(T60U, PG Instruments Limited, UK)를 이용하여 345 nm 파장에서 MTX가 검출되지 않을 때까지 EtOH 및 acetonitrile 혼합 용액(8:2, v/v)에 film(0.5×0.5 cm<sup>2</sup>)을 담가 최종적인 MTX가 각인된 MIP film을 제조하였다. 대조군으로서 MTX가 각인되지 않은 film(non-imprinted polymer film: NIP film)은 동일한 방법으로 제조 되었으나 MTX 첨가를 생략하였다.

#### 다. MIP film 특성 평가

MIP film의 합성 및 MTX 인식 부위를 확인하기 위해 주사전자현미경, 에너지 분산 X선 분광기, 푸리에 변환 적외선 분광기를 실시하였다.

##### 1) 주사전자현미경&에너지 분산 X선 분광기

CMC film, MIP film, MTX가 재인식된 film(MIP@MTX film) 및 NIP film의 표면을 주사전자현미경(scanning electron microscope: SEM, sigma 500, Carl ZEISS Co., Ltd., Oberkochen, Germany)을 통해 관찰하였다. CMC film은 CMC (62.5 mg)을 증류수(5 ml)에 용해하여 40℃로 조정된 오븐에서 casting method를 통해 건조하여 제조하였으며 MIP@MTX film은 DMSO에 용해된 MTX(1 mg/ml) 용액에 담가 12시간 동안 셰이커에서 흔들여 준비하였다. 다음으로 MIP film 및 MIP@MTX film에 존재하는 탄소(C) 및 산소(O)와 같은 주요 화학 성분을 에너지 분산 X선 분광기(energy dispersive X-ray spectroscopy: EDS, sigma 500, Carl ZEISS Co., Ltd., Oberkochen, Germany) 스펙트럼을 통해 관찰하였다. MIP@MTX film은 MTX-DMSO 용액 (1 mg/ml)에 담가 12시간 동안 셰이커에서 흔들여 준비되었다.

##### 2) 푸리에 변환 적외선 분광기

CMC film, MAA, EGDMA, MIP film, MTX, MIP@MTX film의 화학 구조와 작용기는 푸리에 변환 적외선 분광기(fourier transform infrared spectroscopy: FT-IR, VERTEX70, Bruker Co., Ltd., MA, USA)를 이용하여 얻어진 4500-500 cm<sup>-1</sup> 범위에서 스펙트럼 데이터를 통해 확인하였다. CMC film은 CMC(62.5 mg)를 D.W(5 ml)에 용해한 후 40℃로 조정된 오븐에서 casting

method를 통해 건조하여 제조하였으며 MIP@MTX film은 MTX-DMSO 용액 (1 mg/ml)에 담가 12시간 동안 셰이커에서 흔들어 준비하였다.

라. MTX에 대한 MIP film의 선택적 흡착 평가

MIP film의 선택적 흡착을 확인하기 위해 다양한 농도의 MTX-DMSO 용액 (0.02-0.8 mg/ml)에 MIP 및 NIP film(0.5×0.5 cm<sup>2</sup>)을 담가 12시간 동안 셰이커에서 흔들어 MTX를 흡착시켰다. 또한 MTX와 화학적 구조가 비슷한 FA를 사용하여 MIP film의 흡착을 추가적으로 확인하였다. 다양한 농도의 FA-DMSO 용액(0.02-0.8 mg/ml)에 MIP 및 NIP film(0.5×0.5 cm<sup>2</sup>)을 담가 12시간 동안 셰이커에서 흔들어 FA를 흡착시켰다. MIP 및 NIP film을 각 용액에서 건져 DMSO를 이용하여 물리적으로 흡착된 MTX 및 FA를 제거한 후 EtOH 및 acetonitrile 혼합 용액(8:2, v/v)을 이용하여 흡착된 MTX 및 FA를 제거하였다. 그 후, EtOH 및 acetonitrile 혼합 용액을 오븐에서 증발시킨 후 남아있는 MTX 및 FA를 PBS에 재분산시켜 분광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하였다( $\lambda_{\text{MTX}}$ : 345 nm,  $\lambda_{\text{FA}}$ : 280 nm). 흡착량(Q, mg/g)은 아래와 같은 식 (1)을 통해 계산하였다[25].

$$Q = (C_0 - C_e) V / m \quad (1)$$

이 때,  $C_0$ 와  $C_e$ (mg/ml)는 각각 MTX 및 FA의 초기 농도와 standard curve을 이용하여 계산한 흡착된 MTX 및 FA의 농도이며  $V$ (ml)는 반응용액의 총 부피,  $m$ (g)은 MIP 및 NIP film의 질량이다. 또한 imprinting factor(IF)는 아래와 같은 식 (2)을 통해 계산하였다[26].

$$IF = Q_m / Q_n \quad (2)$$

이 때,  $Q_m$ 와  $Q_n$ (mg/ml)은 각각 MTX 및 FA에 대한 MIP film 및 NIP film의 흡착된 양이다.

#### 마. MIP film의 광열효과 평가

##### 1) 광열효과

MIP film의 광열효과를 확인하기 위해 MIP film( $0.5 \times 0.5 \text{ cm}^2$ )을 홀더에 고정시킨 후 5 cm 거리에서 808 nm 파장대의 NIR 레이저(LDH840-30-3, Laserlab Co., Ltd., Seoul, Korea)를 다양한 세기(0.5, 0.7와  $0.88 \text{ W/cm}^2$ )로 10분 동안 조사하였다. 시간에 따른 온도 변화는 적외선 카메라(C2, FLIR System Inc., Sweden)를 이용하여 관찰하였다.

##### 2) 광열안정성

MIP film의 광열안정성을 확인하기 위해 MIP film( $0.5 \times 0.5 \text{ cm}^2$ )을 홀더에 고정시킨 후 5 cm 거리에서 808 nm 파장대의 NIR 레이저를  $0.7 \text{ W/cm}^2$  세기로 5번 on-off cycle(on: 10 min, off: 5 min)에 걸쳐 조사하였다. 각 cycle 동안의 온도 변화는 적외선 카메라 이용하여 관찰하였다.

#### 바. 광열효과에 의한 MIP film으로부터 MTX 방출 평가

MIP film의 광열효과에 의해 유도되는 약물 방출을 확인하기 위해 변형된 Franz diffusion cell 방법을 이용하여 실험을 진행하였다[26]. 투과 장벽으로서 사용된 낮은 분자량 물질을 투과할 수 있는 투석막은  $0.5 \times 0.5 \text{ cm}^2$  크기의 필름이 위치한 donor와 pH 7.4 또는 pH 5.5의 PBS(10 ml)로 채워진 acceptor 구획 사이에 고정시켰다. MIP film에 808 nm 파장대의 NIR 레이저를  $0.7 \text{ W/cm}^2$  세기로 10분 동안 조사(1번 또는 4번)하거나 조사하지 않은 후 acceptor 구획에 채워진 PBS를 50 rpm으로 교반시켰다. 일정 시간 간격으로 분광광도계를 이용하여 345 nm 파장에서 acceptor 구획의 PBS(1 ml)의 흡광도를 측정하였으며 MTX standard curve를 통해 방출된 약물의 양을 계산하였다.

#### 사. 통계 분석

이 연구 결과들은 반복적인 실험을 통해 얻어졌으며 통계적 유의성은 t-test를 사용하여 평가하였다. 결과는 평균  $\pm$  standard deviation(SD)로 표시하였다.

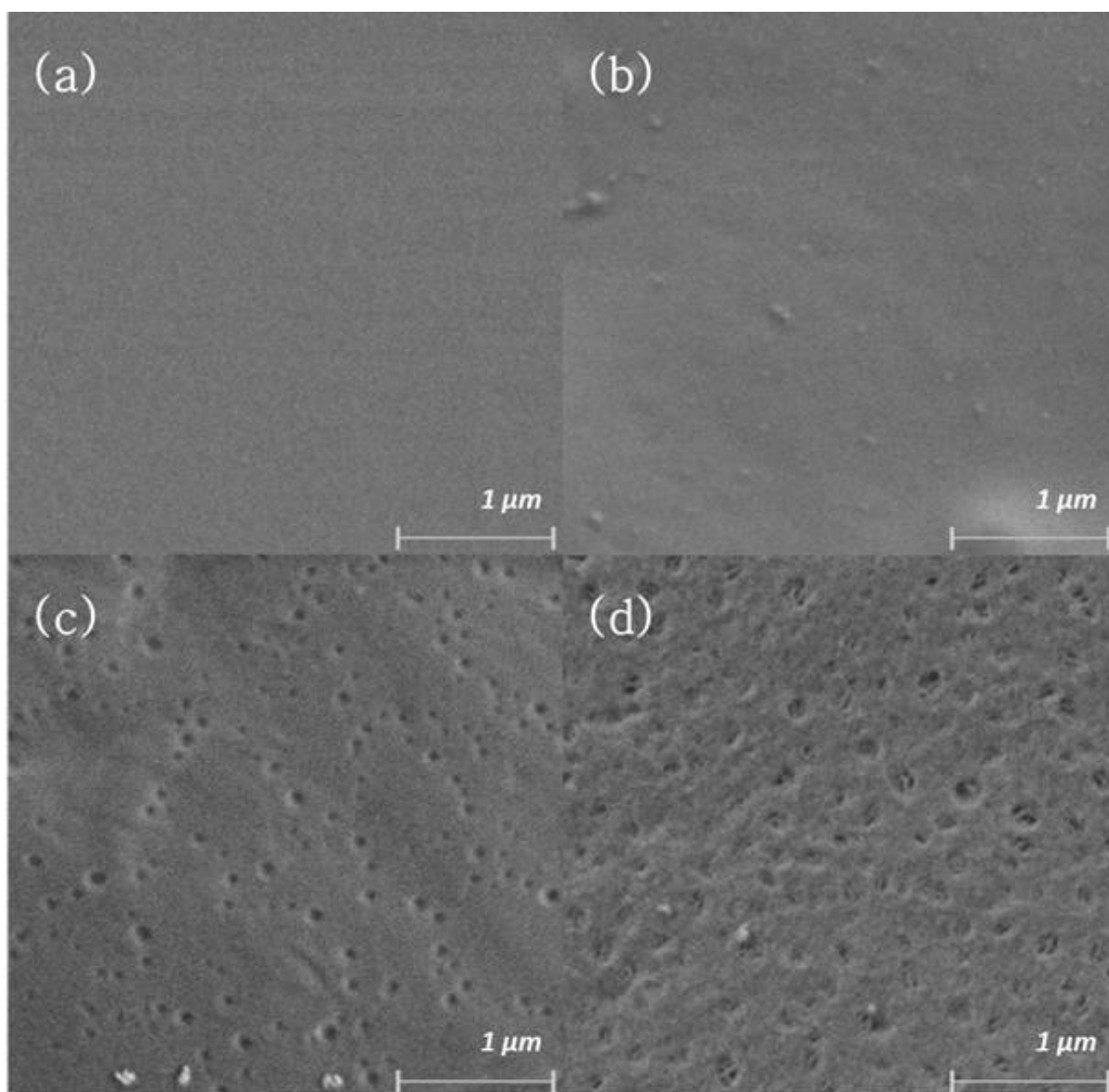
### 3. 결과 및 고찰

가. MIP film 특성 평가

#### 1) 주사전자현미경 & 에너지 분산 X선 분광기

MIP film의 표면 형태는 SEM을 이용하여 관찰하였다. CMC film과 NIP film은 매끄럽고 균일한 표면이 관찰되었다(Figure 1a, b). 반면에, MIP film의 표면에서는 비슷한 크기의 기공들이 관찰되었다(Figure 1c). 이는 주형분자인 MTX의 제거 후에 인식 부위가 형성된 것으로 판단된다[5,27]. Figure 1d는 MTX가 재인식된 MIP@MTX film 표면의 SEM 이미지이다. MIP film 표면의 기공들과 비교하여 MIP@MTX film 표면의 기공들이 채워져 있음을 볼 수 있다. 이는 MIP film 인식 부위에 MTX 분자들의 흡착으로 인한 것으로 생각된다.

MIP film에 주형분자인 MTX가 성공적으로 흡착됨을 입증하기 위해 EDS 스펙트럼을 통해 MIP film 및 MIP@MTX film의 주요 화학 성분을 비교하였다. Figure 2a는 MIP film의 EDS 스펙트럼으로 CMC, MAA, EGDMA 등의 주요 화학 성분인 탄소(C) 및 산소(O)등의 시그널이 관찰되었다. 반면에 MIP@MTX film의 EDS 스펙트럼에서는 탄소(C) 및 산소(O) 등의 시그널뿐만 아니라 MTX가 가지고 있는 질소(N)의 시그널이 추가로 관찰되었다(Figure 2b). 이러한 결과들을 통해 주형 분자인 MTX가 성공적으로 제거되고 MTX의 인식 부위가 형성되었으며 MTX가 흡착 할 수 있는 MIP film이 성공적으로 제조됨을 확인할 수 있었다[28].



**Figure 1.** SEM images for surface morphology of (a) CMC film, (b) NIP film, and MIP film (c) before and (d) after MTX recognition.

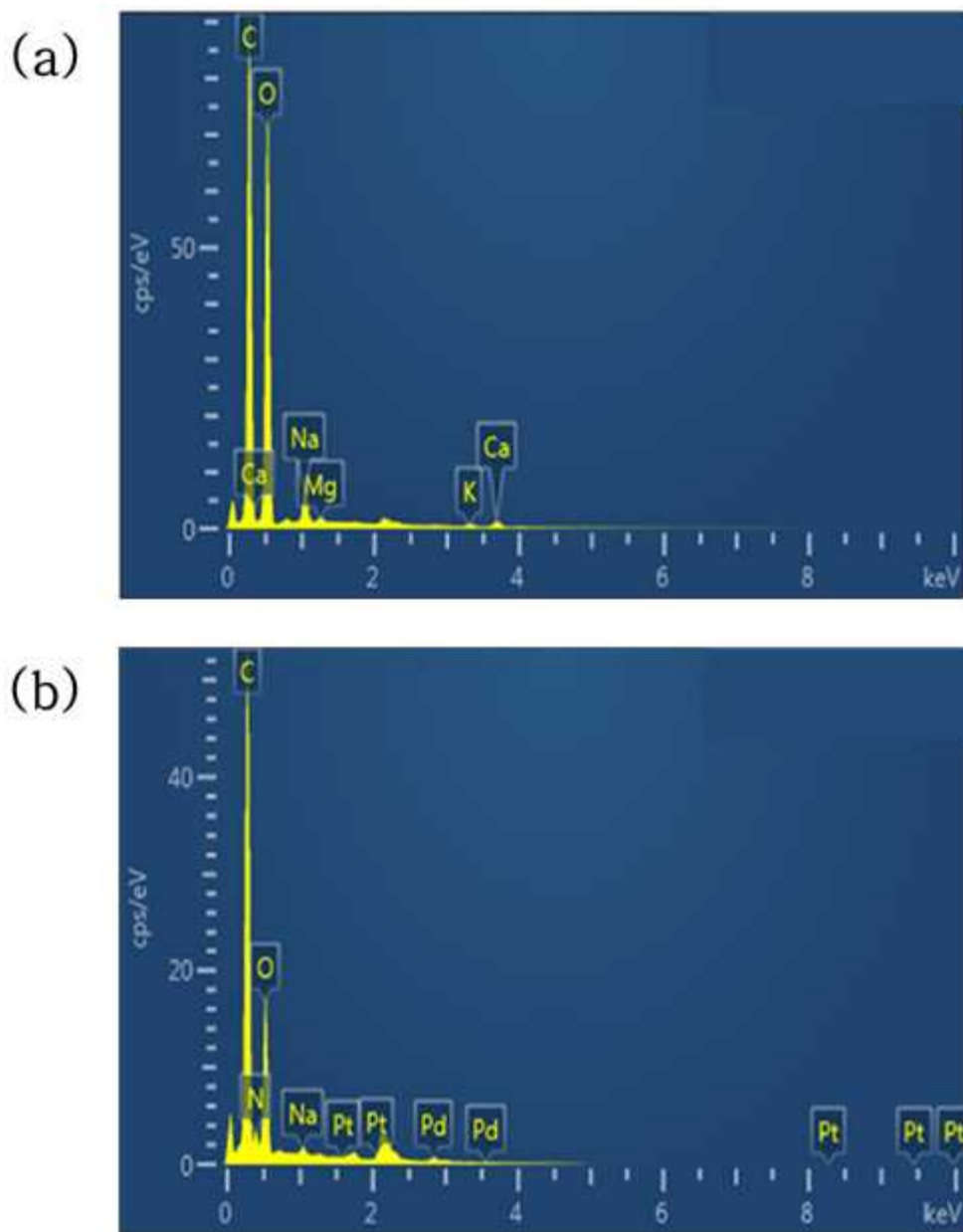


Figure 2. EDS spectra of (a) MIP film and (b) MIP@MTX film.

## 2) 푸리에 변환 적외선 분광기

MIP film 내의 화학적 기능기를 FT-IR 스펙트럼을 통해 확인하였다. 화학 구조는 IR 스펙트럼에서 구조의 흡수 밴드의 모양, 사라짐, 위치, 모양과 강도의 변화에 의해 결정될 수 있다. 이를 통해 MIP film의 구성 및 MIP film과 MTX 사이의 결합을 확인할 수 있다[29]. 그림 Figure 3a는 CMC film, MAA, EGDMA와 MIP film의 스펙트럼을 보여준다. CMC에서  $1096\text{ cm}^{-1}$ ,  $1675\text{ cm}^{-1}$  및  $3488\text{ cm}^{-1}$  피크는 각각 -C-O-stretching, -C=O stretching, -O-H stretching을 보여준다[30]. 기능성 단량체인 MAA에서  $1202\text{ cm}^{-1}$ ,  $1632\text{ cm}^{-1}$  및  $1690\text{ cm}^{-1}$  피크는 각각 -C-O stretching, -C=C- stretching 및 -C=O stretching을 나타낸다. 가교제인 EGDMA에서  $1145\text{ cm}^{-1}$ ,  $1637\text{ cm}^{-1}$ ,  $1716\text{ cm}^{-1}$  및  $2959\text{ cm}^{-1}$  피크는 각각 -C-O stretching, -C=C- stretching, -C-H bending을 나타낸다. 이들 대부분 피크는 MIP film에서도 볼 수 있으며 특히 MTX와 수소결합을 할 수 있는 MAA의 카르복시기와 관련된 피크가 존재함을 볼 수 있다. 반면에 -C=C- stretching과 관련된 피크는 중합 과정 중 사라짐을 볼 수 있다. 이러한 결과들을 통해 MIP film이 자유라디칼 중합에 의해 성공적으로 제조되었으며 미반응 기능성 단량체 및 가교제가 존재하지 않음을 확인할 수 있다[29,31].

MIP film이 주형분자인 MTX를 흡착시킬 수 있는지 확인하기 위해 MIP film과 MIP@MTX film의 FT-IR 스펙트럼을 비교하였다. Figure 3b의 MTX에서 관찰되는  $1644\text{ cm}^{-1}$ ,  $2953\text{ cm}^{-1}$  및  $3394\text{ cm}^{-1}$  피크는 각각 -C=O stretching, -C-H bending, 하이드록시기 및 아미노기 bending을 나타낸다[32]. 이러한 피크는 MIP@MTX film에서도 관찰되었다. 하지만 MIP@MTX film 하이드록시 피크가 MTX 하이드록시기의 피크보다 낮은 주파수 영역으로 이동하고 MIP film의 하이드록시기의 피크보다 더 높은 주파수 영역으로 이동함을 볼 수 있다. 이러한 결과는 MIP film과 MTX를 사이에 수소 결합이 형성되어 흡착됨을 보여준다[33].

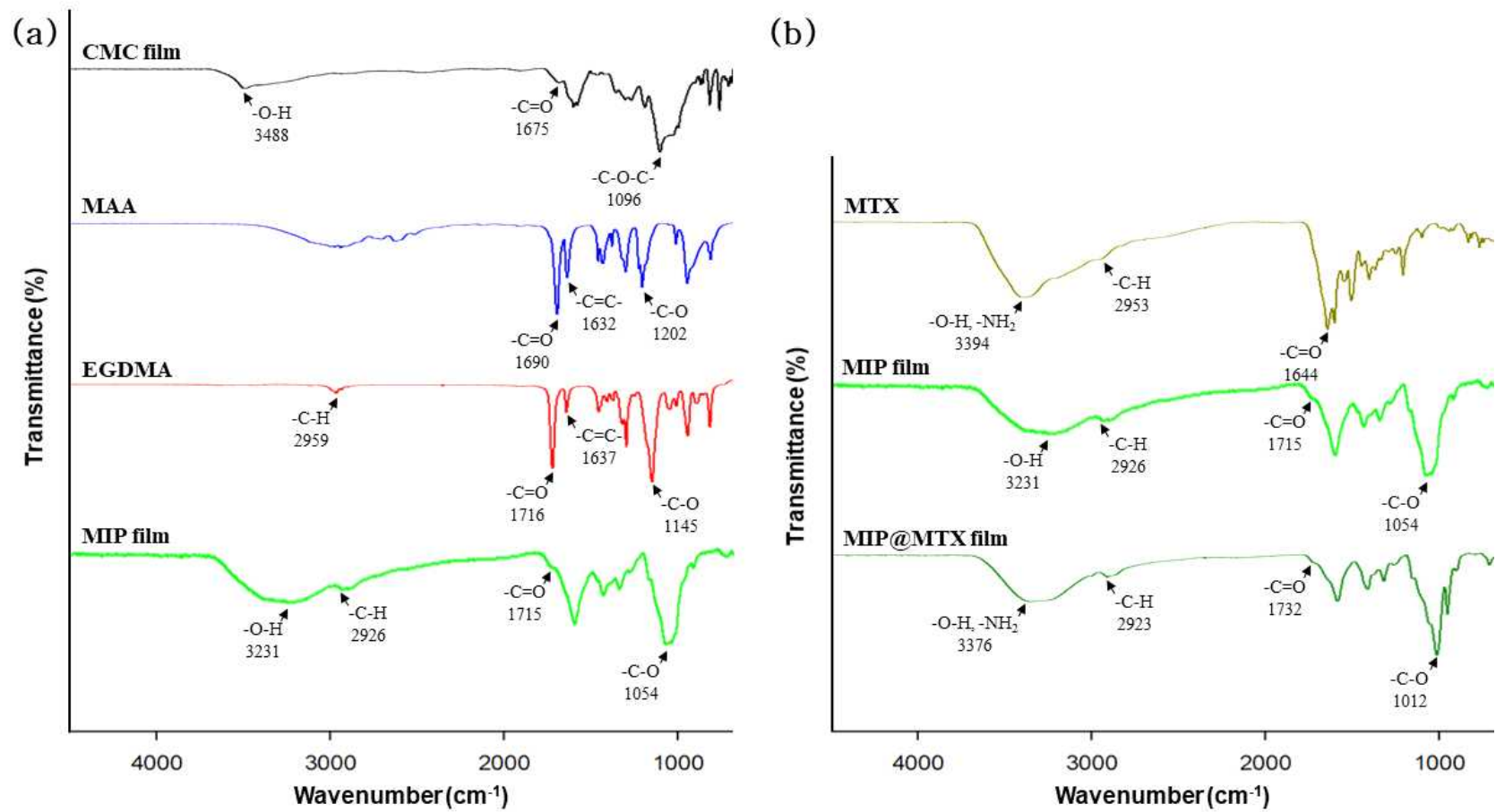
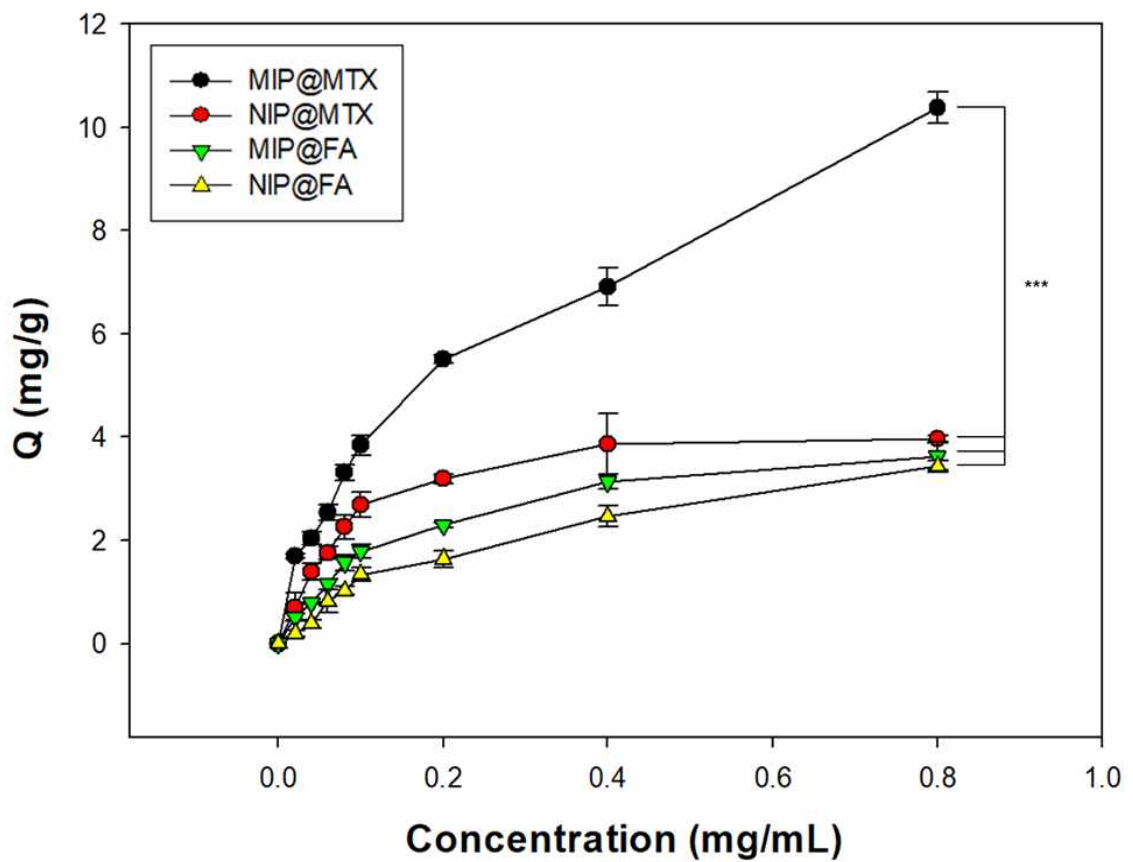


Figure 3. FT-IR spectra of (a) CMC film, MAA, EGDMA, MIP film, (b) MTX, MIP film and MIP@MTX film.

나. MTX에 대한 MIP film의 선택적 흡착 평가

수소결합은 MIP가 주형분자를 효율적으로 인식하기 위한 결합 메커니즘 중 하나이다. MIP film에는 기능성 단량체인 MTX에 대한 MAA의 상보적인 결합 부위가 노출되어있기 때문에 MTX를 선택적으로 흡착시킬 수 있다. 이를 확인하기 위해 MIP film의 MTX 흡착 정도를 확인하였다. DMSO에 대한 MTX의 용해도는 대부분의 다른 용매보다 우수하기 때문에 특정 농도의 MTX-DMSO 용액을 사용하여 실험을 진행하였다. MTX를 제거한 MIP film은 초기 농도( $C_0$ )가 0.02-0.8 mg/ml인 MTX-DMSO 용액에 첨가되었다. Figure 4는 MIP 또는 NIP film의 MTX 흡착량(Q)을 보여준다. NIP film의 경우 농도가 증가하여도 Q값이 크게 증가하지 않는 반면 MIP film의 경우 농도가 증가함에 따라 Q값이 꾸준히 증가할 뿐만 아니라 NIP film에서의 Q값과 유의한 차이를 보였다( $p < 0.001$ ). 추가적으로 MIP film이 MTX만을 선택적으로 흡착할 수 있는지 확인하기 위해 화학적 구조가 비슷한 FA를 사용하여 흡착 정도를 확인하였다. MTX를 제거한 MIP film은 초기 농도( $C_0$ )가 0.02-0.8 mg/ml인 FA-DMSO 용액에 첨가되었다. MIP 및 NIP film의 두 경우 모두 농도가 증가하여도 Q값이 크게 증가하지 않을 뿐만 아니라 MIP film의 MTX Q값과 유의한 차이를 보였다( $p < 0.001$ ). 이러한 Q값들을 이용하여 계산된  $IF_{MTX}$  및  $IF_{FA}$ 는 2.62 및 1.06이었다. 이러한 MTX에 대한 MIP film의 흡착 정도를 통해 MIP film에 MTX가 선택적으로 흡착되었으며 각인부위가 존재함을 확인할 수 있다[34].



**Figure 4.** Selective adsorption of MTX or FA with different MIP film and NIP film (n=3, \*\*\* $p < 0.001$ ).

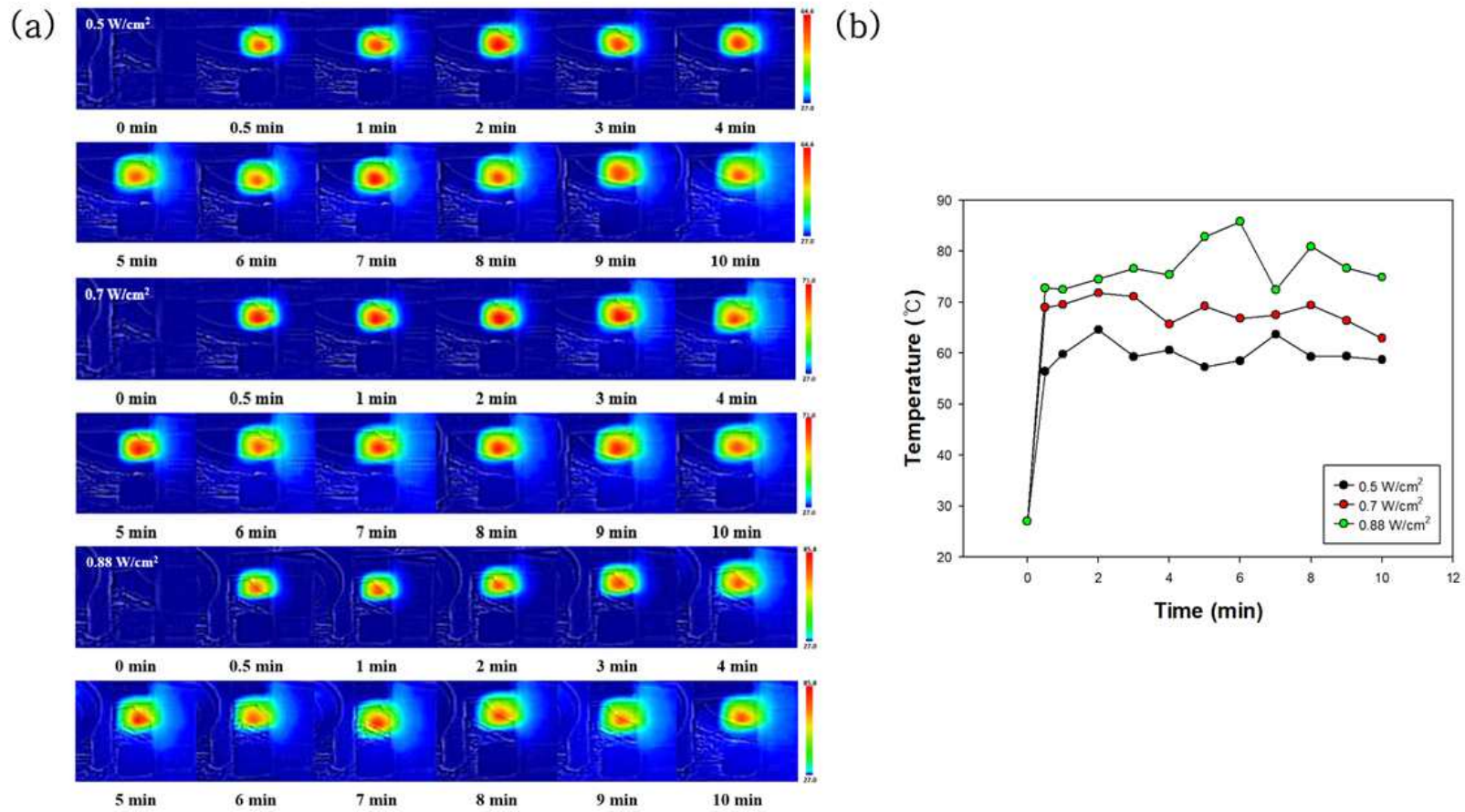
## 다. MIP film의 광열효과 평가

### 1) 광열효과

MIP film의 광열전환 특성은 808 nm 파장의 레이저를 다양한 세기(0.5, 0.7과 0.88 W/cm<sup>2</sup>)로 조사하여 온도 변화를 통해 평가하였다. Figure 5a, b는 각각 시간에 따른 열 생성을 적외선 카메라로 확인한 이미지와 온도 변화를 보여준다. 레이저 조사 전 온도는 27°C로 고정되었으며 레이저를 조사하여 시간별로 확인한 결과 모든 세기에서 온도가 크게 상승함을 볼 수 있다. 레이저 조사 후에 0.5, 0.7과 0.88 W/cm<sup>2</sup> 세기로 조사한 MIP film 표면은 각각 56.4, 69.0와 72.8°C에 도달하였다. 이러한 결과를 통해 멜라닌의 광열 특성으로 인해 MIP film은 효과적인 온도 상승을 보였으며 멜라닌이 필름 내에 함유되어도 고유한 특성을 잃지 않고 광열효과가 유지됨을 알 수 있다. 약물 방출 실험에서는 수소 결합이 약해지는 온도인 60°C에 도달할 수 있는 최소한의 세기인 0.7 W/cm<sup>2</sup>를 선택하여 실험을 진행하였다[35].

### 2) 광열안정성

레이저 조사에 의한 약물 방출의 제어를 위해 반복적인 레이저 조사에 의해 광열효과가 일정하게 유지되어야 한다[36]. 따라서 MIP film의 광열안정성을 확인하기 위해 5번의 레이저 조사 on/off 과정을 통해 일정한 온도 상승을 확인하였다. 앞의 실험 결과에 따라 레이저는 0.7 W/cm<sup>2</sup> 세기로 조사하였다. MIP film 표면 온도는 각 주기 간의 통계적 차이를 보이지 않았다(Figure 6). 반복적인 레이저 조사 후 MIP film은 처음에 도달한 온도에 비해 크게 증가 또는 감소하지 않았다. 이러한 결과를 통해 MIP film는 레이저 조사 후 열 전환 효과가 안정함을 알 수 있다.



**Figure 5.** (a) IR thermal images and (b) temperature change curves of MIP film with 808 nm NIR laser irradiation at 0.5, 0.7, and 0.88 W/cm<sup>2</sup> for 10 min.

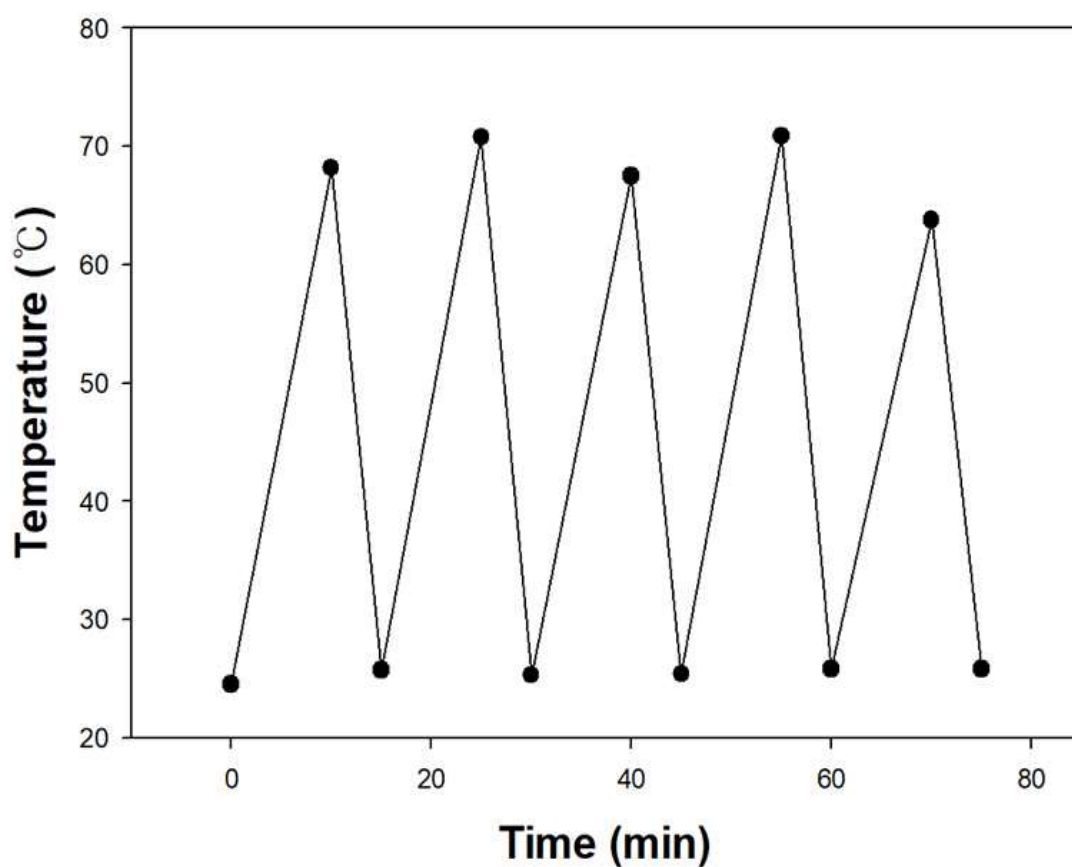


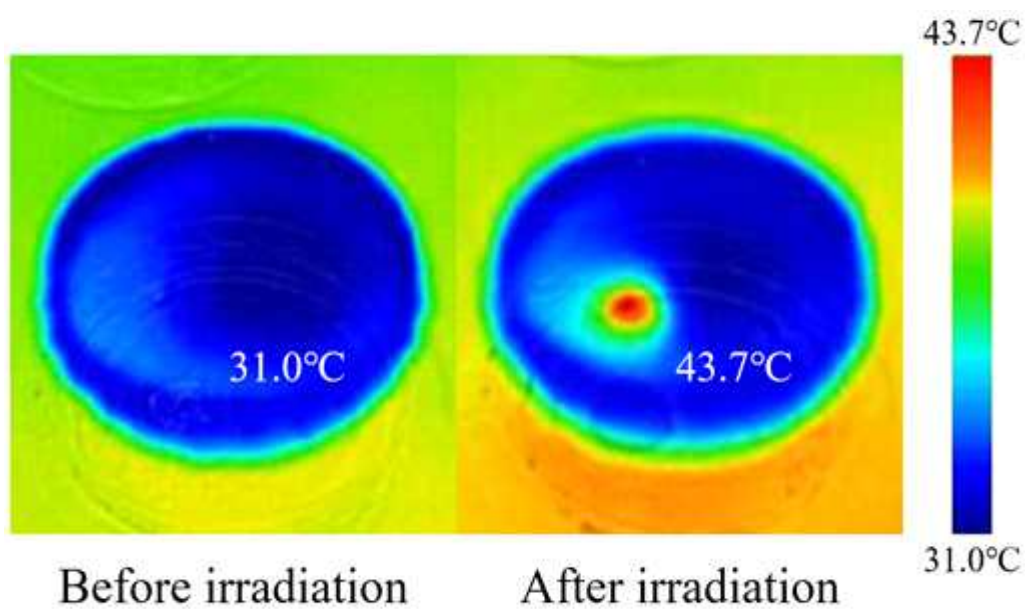
Figure 6. Temperature change curve of MIP film with 808 nm NIR laser irradiation at  $0.7 \text{ W/cm}^2$  over five laser on/off cycles.

라. 광열효과에 의한 MIP film으로부터 MTX 방출 평가

약물 방출 평가를 진행하기 전에 Franz diffusion cell에서 808 nm 파장의 레이저를  $0.7 \text{ W/cm}^2$ 로 세기로 조사하여 MIP film의 온도 변화를 먼저 확인하였다. Figure 7에서 볼 수 있듯이 레이저 조사 10분 후 MIP film의 온도는  $43.7^\circ\text{C}$ 에 도달함을 볼 수 있다. 이는 수소 결합이 약해지는 온도인  $60^\circ\text{C}$ 에 미치지 못하는 온도지만 필름 내부의 온도는 실제로 더 높을 것으로 예상되며 생체 적용을 고려해 볼 때 적합한 온도이다[37,38]. 광열효과에 의한 MIP film으로부터 MTX의 방출을 레이저 유무에 따라 평가하였으며, pH 7.4와 pH 5.5 버퍼에서 방출 거동을 평가하였다. Figure 8와 같이, 12시간 후 레이저를 조사하지 않은 그룹은 pH 7.4 및 pH 5.5에서 약물의 방출량은 각각  $45.96 \pm 6.96\%$  및  $59.89 \pm 6.96\%$ 로 측정되었으며 레이저를 조사한 그룹은 pH 7.4 및 pH 5.5에서 약물의 방출량은  $73.81 \pm 9.85\%$  및  $90.06 \pm 8.69\%$ 로 측정되었다. pH 5.5에서 레이저를 조사한 그룹의 약물의 방출은 나머지 그룹과 유의한 차이를 보였다. 이러한 결과는 앞에서 말했듯이 수소 결합은  $60^\circ\text{C}$  이상 온도에서 약해지기 때문이다. 또한 산성 pH에서는 MAA 내 카르복시기 이온화가 억제되어 MAA와 MTX 사이의 결합을 부분적으로 파괴하기 때문이다 [39].

MIP film으로부터 MTX 방출이 광열효과에 의해 유도되는지 확인하기 위해 레이저를 추가적으로 조사(4번)하여 약물방출 거동을 확인하였다. Figure 9에서 볼 수 있듯이, pH 7.4 및 pH 5.5 버퍼에서 모두 레이저를 1, 2와 3시간째에 추가로 조사 시 약물 방출의 속도는 순간적으로 빨라짐을 볼 수 있다.

MTX의 방출로 인한 필름의 형태와 화학성분의 변화를 확인하기 위해 SEM 및 EDS 분석을 추가로 진행하였다. SEM 결과로부터, MTX 흡착 후 채워져 있던 기공들이 MTX 방출로 인해 비워져 있는 형태로 관찰되었다(Figure 10a). 또한 EDS 결과 분석 결과, CMC, MAA, EGDMA 등의 주요 화학 성분인 탄소(C) 및 산소(O) 등의 시그널이 관찰되는 반면에 질소(N)의 시그널이 관찰되지 않음을 볼 수 있다(Figure 10b). 이러한 결과들은 레이저 조사로 인해 MIP film으로부터 MTX가 방출되었음을 확인할 수 있다.



**Figure 7.** IR thermal images of MIP film with after 808 nm NIR laser irradiation at  $0.7 \text{ W/cm}^2$  for 10 min in Franz diffusion cell.

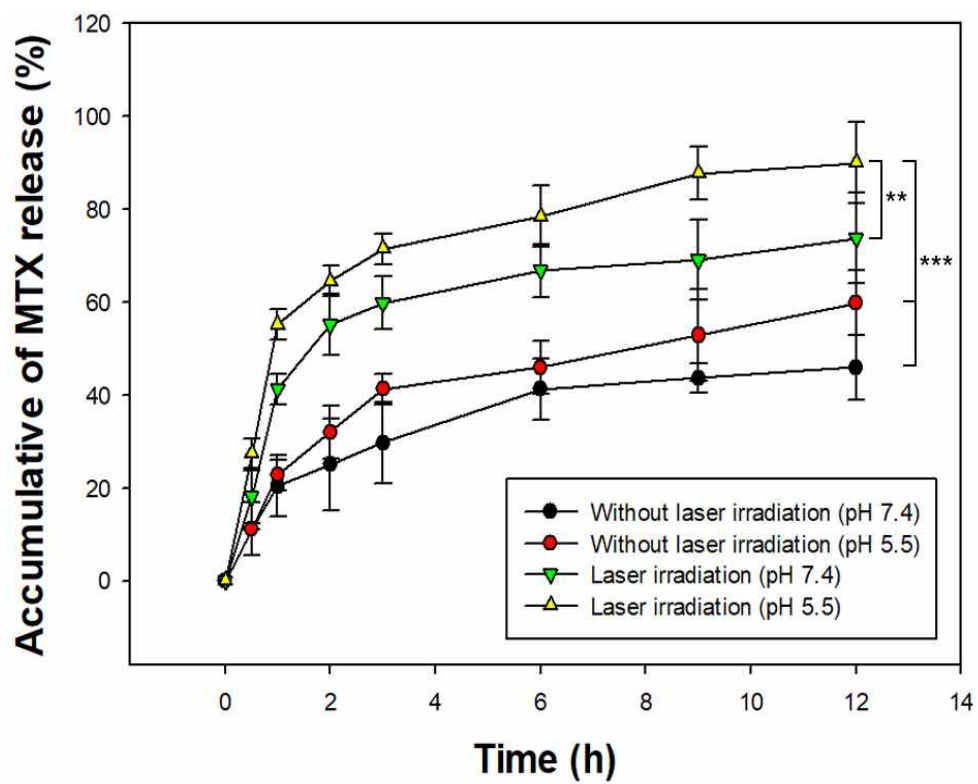
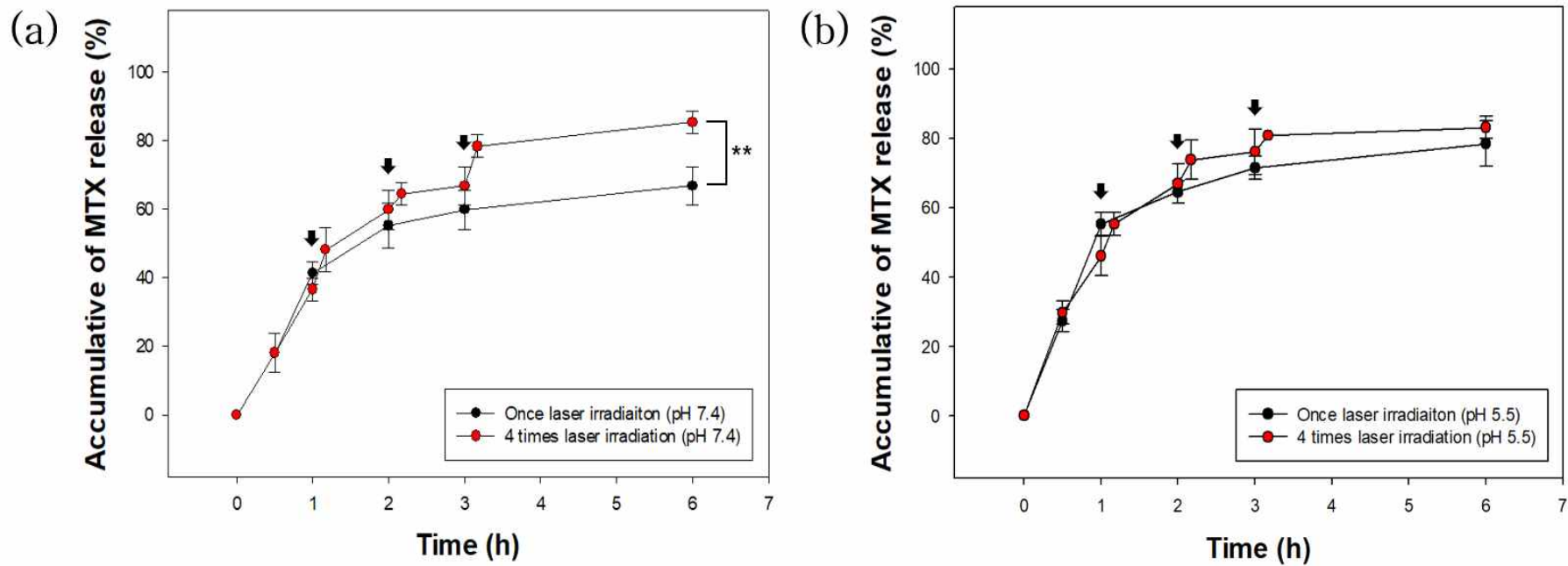


Figure 8. Release profiles of MTX from MIP@MTX film with 808 nm NIR laser irradiation at 0.7 W/cm<sup>2</sup> for 10 min in pH 7.4 or pH 5.5 PBS buffer (n=3, \*\**p*<0.01, \*\*\**p*<0.001).



**Figure 9.** Release profiles of MTX from MIP@MTX film with 4 times irradiation of 808 nm NIR laser at  $0.7 \text{ W/cm}^2$  for 10 min in (a) pH 7.4 or (b) pH 5.5 PBS buffer ( $n=3$ ,  $**p<0.01$ ).

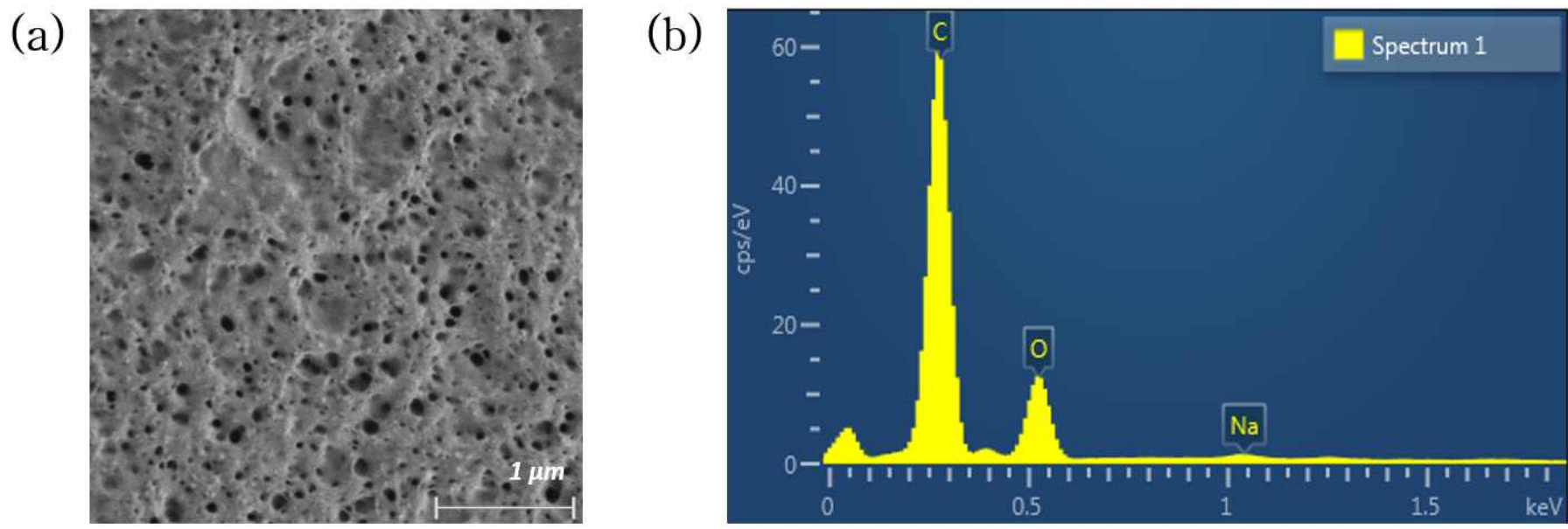


Figure 10. (a) SEM image and (b) EDS spectra of MIP@MTX film after NIR laser irradiation at 0.7 W/cm<sup>2</sup> for 10 min.

## 4. 결론

본 연구에서는 MTX의 제어방출을 위해 멜라닌을 함유한 셀룰로오스 기반의 분자 각인 필름(MIP film)을 제조하였다. 먼저 CMC와 MAA의 중합체(CMC-PMAA)는 개시제인 KPS를 사용하여 자유 라디칼 중합에 의해 제조하였다. MIP film은 MTX를 주형분자로, 제조된 CMC-PMAA를 기능성 단량체로, EGDMA를 가교제로 사용하는 열 중합법에 의해 성공적으로 합성하였다. 제조된 MIP film은 MTX가 제거되어 일정한 크기의 기공을 가지고 MTX를 재흡착 할 수 있음을 SEM 및 EDS를 통해 확인하였다. 또한 MIP film이 성공적으로 중합됨을 FT-IR을 이용하여 확인하였다. 다양한 농도의 MTX 및 FA 용액을 사용해 각인된 인식 부위에 재흡착함으로써 인식 효과를 확인하였으며, MIP film에 의해 결합된 MTX의 양은 각인 되지 않은 NIP film과 비교해 볼 때 현저하게 높았으며 MTX에 대해 높은 결합 및 선택성을 보였다. 약물 방출을 유도하기 위한 MIP film의 광열전환 특성은 808 nm 파장의 레이저를 다양한 세기(0.5, 0.7과 0.88 W/cm<sup>2</sup>)로 조사하여 평가하였으며 온도가 성공적으로 상승함을 확인하였다. 또한 반복적인 레이저 조사로 MIP film이 광열 안정성을 가짐을 확인하였다. 마지막으로 TDDS 필름으로써 적용 가능성을 확인하기 위해 레이저 (0.7 W/cm<sup>2</sup>) 조사 유무 및 pH 7.4, pH 5.5 버퍼에서 MIP film으로부터 MTX의 약물 방출 거동을 관찰하였다. 그 결과 레이저 조사 하에 낮은 pH에서 방출 속도가 빨라짐을 확인하였다. 또한 방출 속도는 레이저를 추가적으로 조사 시 순간적으로 약물 방출 속도가 빨라졌다. 이러한 결과로부터 MIP film은 MTX 약물의 제어방출을 위한 TDDS의 제제로서의 가능성을 기대해 볼 수 있다.

## 5. 참고문헌

- [1] Jeong, G. W.; Nah, J. W.; Park, J. K. Application of various hydrophobic moiety-modified chitosan nanoparticle as a drug delivery carrier. *Appl. Chem Eng.* 2017, 28, 404-409.
- [2] Monica, R.; Vijay, S.; Sayali, K.; Mayuri, M.; Abhishek, Z.; Pooja, K. Design of transdermal patch of ketoprofen by full factorial design for treatment of rheumatoid arthritis. *J. Drug Delivery Ther.* 2019, 9, 197-205.
- [3] Huang, D.; Sun, M.; Bu, Y.; Luo, F.; Lin, C.; Lin, Z.; Weng, Z.; Yang, F.; Wu, D. Microcapsule-embedded hydrogel patches for ultrasound responsive and enhanced transdermal delivery of diclofenac sodium. *J. Mater. Chem B* 2019, 7, 2330-2337.
- [4] Hardainiyan, S.; Kumar, K.; Nandy, B. C.; Saxena, R. Design, formulation and in vitro drug release from transdermal patches containing imipramine hydrochlorid as model drug. *Int. J. Pharm Pharm Sci.* 2017, 9, 220-225.
- [5] Fareghi, A. R.; Moghadam, P. N.; Khalafy, J. Synthesis and characterization of a cellulose-based molecularly imprinted polymer in aqueous solution: The study of furosemide slow release. *Starch/Stärke* 2017, 69, 1700002.
- [6] Ma, J.; Li, X.; Bao, Y. Advances in cellulose-based superabsorbent hydrogels. *RSC Adv.* 2015, 5, 59745-59757.
- [7] Esuendale, D.; Gabriel, T. Cellulosic on transdermal drug delivery system: A review. *Drug Delivery Ther.* 2016, 6, 57-64.
- [8] Wells, C. M.; Harris, M.; Choi, L.; Murali, V. P.; Guerra, F. D.; Jennings, A. Stimuli-responsive drug release from smart polymers. *J. Funct. Biomater.* 2019, 10, 34.

- [9] Li, R.; Peng, F.; Cai, J.; Yang, D.; Zhang, P. Redox dual-stimuli responsive drug delivery systems for improving tumor-targeting ability and reducing adverse side effect. *Asian J. Pharm Sci.* 2020, *15*, 311-325.
- [10] Karimi, M.; Zangabad, P. S.; Ghasemi, A.; Amiri, M.; Bahrami, M.; Malekzad, H.; Asl, H. G.; Mahdieh, Z.; Bonzorgomid, M.; Ghasemi, A.; Boyuk, M. R. R. T.; Hamblin, M. Temperature-responsive smart nanocarriers for delivery of therapeutic agent: Application and recent advances. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2016, *8*, 21107-21133.
- [11] Zan, M.; Li, J.; Huang, M.; Lin, S.; Luo, D.; Luo, S.; Ge, Z. Near-infrared light-triggered drug release nanogels for combined photothermal-chemotherapy of cancer. *Biomater. Sci.* 2015, *3*, 1147-1156.
- [12] Singh, R.; Torti, S. V. Carbon nanotubes in hyperthermia therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2013, *65*, 2045-2060.
- [13] Wu, J.; Li, Z.; Li, Y.; Pettitt, A.; Zhou, F. Photothermal effects of reduced graphene oxide on pancreatic cancer. *Technol. Cancer Res. Treat.* 2018, *17*, 1533034618768637.
- [14] Yao, C.; Zhang, L.; Wang, J.; He, Y. Gold nanoparticle mediated phototherapy for cancer. *J. Nanomater.* 2016, *4*, 1-29.
- [15] Slominski, R. M.; Zwski, M. A.; Slominski, A. T. The role of melanin pigment in melanoma. *Exp. Dermatol.* 2015, *24*, 258-259.
- [16] Eom, T.; Woo, K.; Shim, B. S. Melanin: A naturally existing multifunctional material. *Appl. Chem. Eng.* 2016, *27*, 115-122.
- [17] Riley, P. A. Melanin. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1997, *29*, 1235-1239.
- [18] Kamel, A. H.; Mohammad, S. G.; Awwad, N. S.; Mohammed, Y. Y. Survey on the integration of molecularly imprinted polymers as artificial receptors in potentiometric transducers for pharmaceutical

- drugs. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2019, *14*, 2085–2124.
- [19] Ensafi, A. A.; Nasr-Esfahani, P.; Rezaei, B. Simultaneous detection of folic acid and methotrexate by an optical sensor based on molecularly imprinted polymers on dual-color CdTe quantum dots. *Anal. Chim. Acta* 2017, *15*, 64–73.
- [20] Yang, J. C.; Shin, H. K.; Hong, S. W.; Park, J. Y. Lithographically patterned molecularly imprinted polymer for gravimetric detection of trace atrazine. *Sens. Actuators, B* 2015, *216*, 476–481.
- [21] Zheng, X. F.; Lian, Q.; Yang, H.; Wu, H. X.; Cheng, C.; Yin, G.; Zhang, W. Preparation and characterization of temperature-memory nanoparticles of MIP-CS-g-PMMA. *RSC Adv.* 2016, *6*, 110722–110732.
- [22] Parisi, O. I.; Ruffo, M.; Scrivano, L.; Malivindi, R.; Vassallo, A.; Puoci, F. Smart bandage based on molecularly imprinted polymer (MIPs) for diclofenac controlled release. *Pharmaceuticals* 2018, *11*, 92.
- [23] Zheng, L.; Wang, H.; Cheng, X. Molecularly imprinted polymer nanocarriers for recognition and sustained release of diclofenac. *Polym. Adv. Technol.* 2018, *29*, 1360–1371.
- [24] Mandal, B.; Rameshbabu, A. P.; Dhara, S.; Pal, S. Nanocomposite hydrogel derived from poly(methacrylic acid)/carboxymethyl cellulose/AuNPs: A potential transdermal drugs carrier. *Polymer* 2017, *30*, 9–19.
- [25] Jia, C.; Zhang, M.; Zhang, Y.; Ma, Z. B.; Xiao, N. N.; He, X. W.; Li, W. Y.; Zhang, Y. K. Preparation of dual-template epitope imprinted polymers for targeted fluorescence imaging and targeted drug delivery to pancreatic cancer BxPC-3 cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2019, *11*, 32431–32440.
- [26] Devi, V. K.; Saisivam, S.; Maria, G. R.; Deepti, P. U. Design and

- evaluation of matrix diffusion controlled transdermal patches of Verapamil hydrochloride. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2003, *29*, 495–503.
- [27] Liu, Y.; Wei, M.; Hu, Y.; Zhu, L.; Du, J. An electrochemical sensor based on a molecularly imprinted polymer for determination of anticancer drug mitoxantrone. *Sens. Actuators, B* 2018, *255*, 544–551.
- [28] He, H.; Gan, Q.; Feng, C. Preparation and application of Ni(II) ion-imprinted silica gel polymer for selective separation of Ni(II) from aqueous solution. *RSC Adv.* 2017, *7*, 15102–15111.
- [29] Ruela, A. L. M.; Figueiredo, E. C.; Pereir, G. R. Molecularly imprinted polymers as nicotine transdermal delivery systems. *Chem. Eng. J.* 2017, *248*, 1–8.
- [30] Ning, J.; Luo, X.; Wang, F.; Huang, S.; Wang, J.; Liu, D.; Liu, D.; Chen, D.; Wei, J.; Liu, Y. Synergetic sensing effect of sodium carboxymethyl cellulose and bismuth on cadmium detection by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Sensors* 2019, *19*, 5482.
- [31] Hande, P. E.; Samui, A. B.; Kulkarni, P. S. A molecularly imprinted polymer with flash column chromatography for the selective and continuous extraction of diphenyl amine. *RSC Adv.* 2015, *5*, 73434–73443.
- [32] Rozalen, M.; Sanchez-Polo, M.; Fernandez-Perales, M.; Widmann, T. J.; Rivera-Utrilla, J. Synthesis of controlled-size silver nanoparticles for the administration of methotrexate drug and its activity in colon and lung cancer cells. *RSC Adv.* 2020, *10*, 10646–10660.
- [33] Zhang, L.; Su, T.; He, B.; Gu, Z. Self-assembly polyrotaxanes nanoparticles as carriers for anticancer drug methotrexate delivery. *Nano-Micro Lett.* 2014, *6*, 108–115.
- [34] Song, X.; Wang, J.; Zhu, J. Effect of porogenic solvent on selective

- performance of molecularly imprinted polymer for quercetin. *Materials Research* 2009, *12*, 299–304.
- [35] Li, Y.; Ding, J.; Zhu, J.; Tian, H.; Chen, X. Photothermal effect-triggered drug release from hydrogen bonding-enhanced polymeric micelles. *Biomacromolecules* 2018, *19*, 1950–1958.
- [36] Carcamo-Martinez, A.; Dominguez-Robles, J.; Mallon, B.; Raman, M. T.; Cordeiro, A. S.; Bell, S. E. J.; Larraneta, E.; Donnelly, R. F. Potential of polymeric films loaded with gold nanorods for local hyperthermia applications. *Nanomaterials* 2020, *10*, 582.
- [37] Wang, J.; Liu, Y.; Ma, Y.; Sun, C.; Tao, W.; Wang, Y.; Yang, X.; Wang, J. NIR-activated supersensitive drug release using nanoparticles with a flow core. *Adv. Funct. Mater.* 2016, *26*, 7516–7525.
- [38] Haine, A. T.; Koga, Y.; Hashimoto, Y.; Higashi, T.; Motoyama, K.; Arima, A.; Niidome, T. Enhancement of transdermal protein delivery by photothermal effect of gold nanorods coated on polysaccharide-based hydrogel. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2017, *119*, 91–95.
- [39] Omran, N. H.; Wagdy, H. A.; Abdel-Halim, M.; Nashar, R. M. E. Validation and application of molecularly imprinted polymers for SPE/UPLC-MS/MS detection of gemifloxacin mesylate. *Chromatographia* 2019, *82*, 1617–1631.

# Cellulose-based molecularly imprinted film containing melanin for controlled drug release of methotrexate

Ye Seul Kim

Department of Biomedical Engineering  
Graduate School Chonnam National University  
(Supervised by Professor Chang-Moon Lee)

(Abstract)

The aim of this study is to induce and control release and permeation of methotrexate (MTX) from cellulose-based molecularly imprinted transdermal film containing melanin (MIP film) using near infrared (NIR) laser for transdermal delivery system (TDDS). For MIP film, methacrylic acid (MAA) as functional monomer was grafted carboxymethyl cellulose through free radical polymerization. The MTX, template molecule, was recognized by hydrogen bonding to MAA. After the MTX was extracted from MIP film, approximately equal-sized pore was observed than non-imprinted film. To confirm selective recognition of MTX, folic acid (FA) with chemical structure similar to MTX was used. The MIP film recognized selectively MTX more than FA. After melanin, photothermal agent, was added into MIP film, the surface temperature of MIP film rose above 60 degrees after 808 nm NIR laser irradiation at 0.7 W/cm<sup>2</sup> for 10 min. The release and permeation rate of MTX from MIP film increased rapidly after the NIR laser irradiation. These results indicate that the MIP

film is expected to be useful as a transdermal film for transdermal delivery system (TDDS).