Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society
Vol. 18, No. 12 pp. 329-334, 2017

https://doi.org/10.5762/KAIS.2017.18.12.329
ISSN 1975-4701 / eISSN 2288-4688

멘톨, 치몰, 유칼립톨, 메틸살리실레이트를 함유하는 구강청결용 과립의 제조와 특성 연구

김동욱
청주대학교 제약공학과

Preparation and physicochemical characterization of mouthwash granules containing menthol, thymol, eucalyptol and Methyl salicylate

Dong-Wook Kim
Department of pharmaceutical Engineering, Cheongju University

요 약 본 논문은 새로운 과립형태의 구강청결제 개발에 있어 동등한 항균력을 가지면서 고형상에서 주성분간의 공융혼합물 생성에 따른 과립의 흐름성 부족을 개선하기 위해 과립의 표면을 흡착시키는 Magnesium aluminometasilicate (Neusilin)이라는 물질을 활용하여 흐름성을 개선하고 부가적으로 구강에서의 붕해시간 및 잔물감이 적은 특성을 가지는 새로운 과립형태의 구강청결제를 제조하였다. 제조된 과립의 흐름성, 밀도, 건조감량 등의 과립특성에 대한 확인을 통해 Neusilin의 양이 전체 과립양 대비 10%이상이 투입되었을 경우 과립의 특성이 개선되는 결과를 확인하였다. 또한 인공타액에서의 붕해시험 및 사람의 구강에서 붕해시간과 잔여물시험 등의 관능시험을 진행하여 보다 개선된 붕해특성 및 관능시험 결과를 확인할 수 있었으며 항균시험을 통해서 이미 시장에서 판매중인 액제형 구강청결제와 동등한 항균력을 보여주는 것으로 확인하였다. 본 연구를 통해 제조된 과립형태의 구강청결제 조성물은 공융혼합물로서 유사한 특성을 가지는 서로 다른 약물을 동시에 함유하는 의약품의 개발에 활용될 수 있어 제약산업의 의약품 개발에서 유용할 것으로 사료된다.

Abstract In this study, a new granular type mouthwash with equivalent antibacterial activity to marketed liquid type mouthwash was developed using a material called magnesium aluminometasilicate (Neusilin). This material adsorbs the surface of granules to improve the flowability of granules due to the formation of a eutectic mixture of the main constituents, which have improved flow properties and rapid disintegration time and little residue in the oral cavity. The characteristics of the granules were improved when the amount of Neusilin was 10% or more according to measurements of the granule properties, such as flowability. In addition, a disintegration test in artificial saliva and a sensory test in the human oral cavity were carried out to confirm the improved disintegration characteristics and sensory test results. The antimicrobial test confirmed similar antibacterial activity to that of the liquid oral cleanser already sold in the market. The granular oral cleanser composition prepared in this study can be used for the development of pharmaceuticals containing different drugs with similar characteristics as eutectic mixtures at the same time, which is considered to be useful in the development of medicines in the pharmaceutical industry.

Keywords : mouthwash, granule, flowability, neusilin, eutetic mixture

1. 서론

치아우식증의 주 원인균으로서 치아 면에 부착, 증식하며 젖산을 생성하여 치아우식증을 유발하는 균으로 S. mutans가 일반적으로 잘 알려져 있다.[1] 구강청결제는 의약외품의 일종으로 구강 내에서 S. mutans와 같은 미생물의 양을 감소시키기 위한 목적으로 사용되는 소독제로서 일반적으로는 구강 내부를 씻어낼 수 있는 물약형

이 논문은 (2016.03.01~2018.02.28)학년도에 청주대학교 산업과학연구소가 지원한 특별연구과제에 의해 연구되었음
*Corresponding Author : Dong-Wook Kim(Cheongju Univ.)
Tel: +82-43-229-7984 email: Pharmengin@gmail.com
Received September 6, 2017 Revised (1st October 12, 2017, 2nd November 3, 2017)
Accepted December 8, 2017 Published December 31, 2017

태로 투여된다. 이러한 구강청결용 제제는 chlorhexidine과 같은 다양한 항균성물질 중 하나를 포함하는 것부터 식물의 추출물이나 다당류를 결합한 형태에 이르기까지 수년간 꾸준히 진화되어 왔다[2]. 식물의 추출물 중 항균성을 가지는 페놀관련 정유물질로서 L-menthol, thymol, eucalyptol, Methyl salicylic acid 등은 치석막을 통과하여 잇몸질환을 유발하는 미생물을 사멸하는 것으로 알려져 있다[3]. 또한 세균의 세포벽 형성을 저해하고 효소의 활성을 낮춰주며 세균의 군집형성을 통한 확산을 방지한다.[4, 5] 특히 정유물질의 넓고 비특정적인 항균활성은 생체 외, 생체 내 연구를 통해 입증되었으며 약 30초 내외의 구강세정을 통해 그람음성균, 그람양성균, 기회감염성 세균, 효모균 등을 사멸하는 것으로 보고되었다[6]. 이러한 물질들은 기존의 물약형태의 구강청결제에서 주로 사용되는 것으로 고체상태에서는 공융혼합물형성을 통해 상온에서 각각 구성성분의 녹는점보다 낮은 온도에서 액상으로 변하는 특성을 가지게 되어 서로 혼합하여 과립으로 제조할 경우 낮은 녹는점으로 인해 과립간의 표면이 서로 부착하는 현상이 발생한다. 따라서 과립형태로 제조 하는 경우 과립특성상 생산공정 상에서의 흐름성이 확보되지 않게 되어 함량균일성 측면이나 포장단위로의 분포공정에서의 중량편차 등이 발생할 수 있으므로 흐름성의 개선이 필요하게 된다. 이러한 흐름성의 개선에 사용될 수 있는 물질로서 고형제의 제조에 있어 다양한 기능을 가지고 약전에 수재된 물질인 합성규산염에 대한 약제학적 적용이 관심을 받고 있으며 특히 무정형으로 넓은 표면적($300m^2/g$)을[7] 가지면서 다공성인 과립으로 제조한 분무건조 합성 Magnesium aluminometasilicate (Neusilin)의 경우 1일 최대복용량이 4g으로 매우 안전하며[8] 이러한 특성을 활용하여 공융혼합물 형태의 표면에 흡착하여 과립간의 부착을 방지하는 등 물리적 특성을 개선시키는 목적으로 사용 한다.

이에 본 연구에서는 기존의 물약형태를 개량하여 휴대 및 보관이 간편하고 사용하기 쉽도록 구강에서 쉽게 용해되는 과립형 구강청결제에 대한 개발을 위해 새로운 고형형태의 제제조성을 설계하고 이에 대한 평가를 진행하였으며 판매중인 대표적인 액제형 구강청결제와 비교하여 구강질환을 일으킬 수 있는 구강 내 세균의 증식을 억제할 수 있는지에 대한 평가도 진행하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 시약 및 기기

주성분으로서 L-menthol(Hwail, Korea), thymol (Hwail, Korea), eucalyptol(Tien Yuan, Singapore), Methyl salicylic acid(Hwail, Korea)은 대한약전(KP)규격을 사용하였고 시약으로는 Tryptic Soy Broth (BDTM, USA), Magnesium aluminometasilicate(Fuji, Japan), Xanthan gum(C.E. Roeper, Germany), Xylitol (Roquette, USA), KH_2PO_4(Daejung, Korea), Na_2HPO_4 (Daejung, Korea), $KHCO_3$(Daejung, Korea), NaCl (Daejung, Korea), $MgCl_2$(Daejung, Korea), citric acid(Daejung, Korea), $CaCl_2$(Daejung, Korea)를 사용하였으며 미생물 균주로서 Streptococcus mutans(KCTC, Korea)를 사용하였다.

2.1 제조방법

주성분인 L-menthol, thymol, eucalyptol, Methyl salicylic acid와 Xylitol를 혼합한 후 물을 결합제로 습식으로 유발 유봉 및 체를 이용하여 과립을 제조하고 60호체(0.25mm)를 사용하여 일정한 습식과립을 만들었다. 제조된 습식과립은 약 60℃에서 1시간 정도 건조한 후 60호체를 사용하여 일정한 크기의 건조된 과립을 제조하였으며 최종적으로 Neusilin을 투입한 후 비닐백에서 혼합하였다. 제조과정에서 사용된 주성분 및 첨가제의 양은 Table 1.에 표시하였다.

Table 1. Formulation of Mouthwash granules (mg/unit)

ingredient \ Code		G0	G1	G2	G3	G4
API	L-menthol	8.4				
	Thymol	12.8				
	Eucalyptol	18.4				
	M. salicylate	12.0				
Excipients	Neusilin	-	51.6	103.2	154.8	206.4
	Xylitol	948.4	896.8	845.2	793.6	742.0
Total		1000.0				

2.2 과립시험

안식각, 밀도, 건조감량과 같은 과립시험을 통한 과립의 흐름성 개선으로 생산공정 상 소분 및 원활한 공정진행가능여부를 평가하기 위해 진행하였다.

2.2.1 안식각 측정

각 과립의 안식각은 배출구의 직경이 8mm인 깔대기에 20g의 과립을 채운 후 바닥에 과립을 떨어뜨린 후 원뿔모양 과립의 쌓인 각도를 각도기를 사용하여 육안으로 측정하였다.

2.2.2 밀도

각 과립의 겉보기 밀도(bulk density)는 100mL의 메스실린더를 기울여 과립이 압축되지 않도록 20g의 과립을 채운 후 부피를 측정하여 중량 값을 부피 값으로 나누어 계산하였고 탭 밀도(tapped density)는 겉보기 밀도를 측정한 후 메스실린더를 100회 가볍게 두드려 메스실린더에서 과립을 다진 후 부피를 측정하여 중량 값을 부피 값으로 나누어 계산하였다. 계산된 겉보기 밀도와 탭 밀도는 과립의 흐름성을 평가하는데 활용되는 Carr's index(CI)[9] (Eq. 1)와 Hausner ratio(HR)[10](Eq. 2)의 계산에도 사용되었다.

$$CI = \frac{\rho_{tap} - \rho_{bulk}}{\rho_{tap}} \times 100 \quad (1)$$

$$HR = \frac{\rho_{tap}}{\rho_{bulk}} \quad (2)$$

2.2.2 건조감량

각각의 과립 3g을 알루미늄 접시에 골고루 편 후 할로겐 램프를 이용하여 105℃에서 10분간 가열한 후 무게를 측정하여 감소된 무게의 비율을 계산하여 백분율로 나타내었다.

2.3 붕해시험

in vitro 붕해시험, in vivo 관능시험을 포함한 붕해시험을 통해 제형의 투여에 따른 적절한 환자순응도를 가질 수 있는지를 평가하였다

2.3.1 in vitro 붕해시험

참고문헌에 따라 KH_2PO_4, Na_2HPO_4, $KHCO_3$, NaCl, $MgCl_2$, Citric acid,$CaCl_2$를 구성성분으로 하는 인공타액을 제조하고 pH 6.7로 맞추었다[4]. 만들어진 인공타액은 petri-dish에 일정 양을 채운 뒤 각각의 제조된 구강청결제 과립들을(G0-G4) 넣고 10초마다 과립의 붕해상태를 육안으로 관찰하면서 사진을 촬영하였다.

2.3.2 in vivo 관능시험

각각의 제조된 구강청결제 과립들을(G0-G4) 5분이상의 시간차이를 두고 각각 물 없이 구강에 투여한 후 과립의 느낌이 없어질 때까지의 시간을 측정하였으며 각 과립들의 붕해시간과 잔류물의 유무에 대해 1에서 5사이에서 붕해시간이 느릴수록 잔물감이 클수록 높은 척도값을 상대적으로 선택하는 방법으로 5회 측정한 값들의 평균값을 계산하였다. 연구대상은 건강한 20대 남녀 5명으로 진행하였다.(n=5)

2.4 항균시험

구강청결제로서 판매중인 대표적인 액제형 구강청결제와 비교하여 항균 효력을 측정하기 위해 그람양성균인 S.mutans을 brain heart infusion 액체배지에 배양시킨 후 배양된 세균을 희석하여 초기 세균수가 104 – 106 CFU/mL이 되도록 조정하여 시험에 사용하였다. 시험용액은 시험물질의 농도가 0.5% (v/v) 가 되도록 Tryptic Soy Broth를 사용하여 조제하였다. 각각의 농도로 조제된 시험용액 20ml에 시험균액을 접종하고 혼합한 후 37℃ water bath에서 blank로하고 여기에 각각 시험군으로서 과립특성 및 관능시험 결과가 우수한 G3과립과 대조제로서 시판중인 가그린 메디칼액을 처리하여 2시간 동안 배양한 후 생균수에 대한 세균 감소율을 알아보았다. 모든 실험의 최초 희석 단계에서는 D/E Neutralizing Broth를 이용하여 중화시키는 과정을 거쳐 시험을 실시하였으며, 배지에서 세균이 증식한 경우, 배지상의 균수에 희석 배수를 곱하여 산출하였고, 배지에서 세균이 증식하지 않은 경우는 중화단계에서 이루어진 희석배수를 곱하여 10 미만(<10)으로 표시하였다.

3. 결론

3.1 구강청결용 과립 제조

Neusilin의 혼합전 과립의 흐름성이 좋지 않은 이유를 확인하기 위해 L-mentol과 thymol의 중량비에 따른 혼합성을 확인한 결과 Fig. 1과 같이 두 물질사이에 공융혼합물이 형성되는 현상을 확인하였으며 이로 인해 표면에서 보다 큰 마찰력이 발생하여 흐름성에 영향을 주는 것으로 판단하였고 이를 개선하기 위해 Neusilin의 추가를 통해 과립의 흐름성이 개선되는 효과에 대한 실험을

진행하였다.

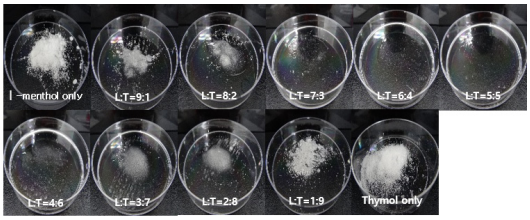

Fig. 1. Eutectic mixtures of weight ratios of L-mentol and thymol at 25℃;10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10, respectively.

구강청결용 과립은 약 100㎛이하의 크기로 제조되었으며 Neusilin양의 증가에 따라 표면에서의 흡착량이 증가된 것을 Fig. 2와 같이 SEM을 통해 확인할 수 있었다.

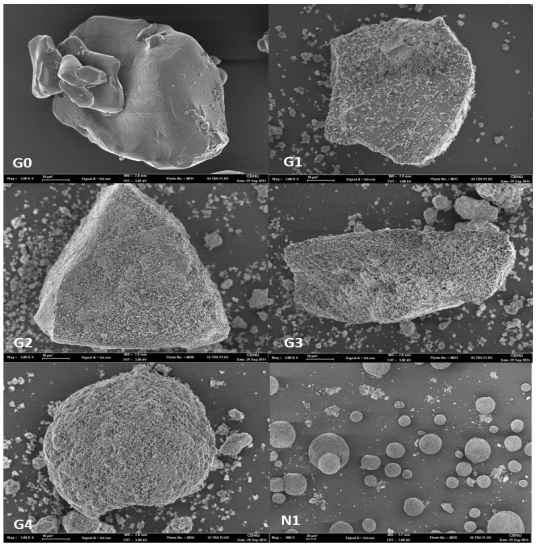

Fig. 2. SEM pictures of mouthwash granules containing Neusilin : (G0) Neusilin 0%; (G1) Neusilin 5%; (G2) Neusilin 10%; (G3) Neusilin 15%; (G4) Neusilin 20%; (N1) Neusilin. Magnification for all samples was 500X.

3.2 구강청결용 과립 특성

제조된 구강청결용 과립의 특성을 확인하기 위해 Table 2.와 같이 안식각, 겉보기 밀도, 탭 밀도, Carr's index, Hausner ratio, 건조감량 등을 측정하였으며 Neusilin의 양이 10%이상에서 과립의 특성이 개선되는 결과를 얻을 수 있었고 실제 과립을 취급하면서 ej 흐름성이 개선된 특성을 확인할 수 있었다. 안식각의 경우, 일반적으로 40°이하의 값을 보이는 경우 제조에 적합하며 50°을 초과하는 경우 부적합한 것으로 판단하는데 [11] Neusilin의 양이 10%에서 안식각이 38°로 가장 좋은 특성을 보여주는데 반해 15~20%에서는 오히려 약간 감소하는 결과 값을 확인할 수 있었다. 이는 과량의 Neusilin이 투입될 경우 Neusilin자체의 미분 함량이 증가하여 나타나는 특성으로 인해 오히려 흐름성이 낮아지는 경향을 보이는 것으로 판단된다. 그러나 흐름성을 나타내는 또 다른 지표로서 과립의 density결과를 통해 확인할 수 있는 Carr's index, Hausner ratio를 측정하였으나 안식각과 같이 개선되는 결과 값을 확인할 수 없었는데 이는 이러한 지표 값이 밀도 값뿐만 아니라 입자의 크기, 입자의 모양, 입자의 표면적, 흡습량, 물질의 점착력 등에 동시에 영향을 받기 때문에 본 연구에서 제조된 과립에서는 이러한 지표를 통해 흐름성을 예측하는데 부적합하기 때문인 것으로 판단된다.

Table 2. Micromeritic properties of Mouthwash granules

Properties \ Code	G0	G1	G2	G3	G4
Angle of repose (°)	56	38	48	44	47
Bulk density (g/ml)	0.5	0.7	0.6	0.5	0.5
Tapped density(g/ml)	0.5	0.8	0.7	0.6	0.6
Carr's index (%)	5	20	13	16	14
Hausner ratio	1.1	1.1	1.1	1.2	1.2
Loss on Drying (%)	4.5	5.0	5.4	6.7	8.5

3.3 구강청결용 과립 붕해특성

제조된 구강청결용 과립의 인공타액에서의 붕해특성을 Fig. 3과 같이 확인 결과 모든 실험군에서 매우 빠른 붕해시간을 보여주었다. 그러나 Neusilin이 추가된 경우 붕해 이후에 일부 잔유물을 확인할 수 있었으며 이러한 잔유물의 실제구강에서의 붕해시간에 대한 영향 및 잔유물에 대한 잔물감을 확인하기 위해 실제 사람의 구강에서의 붕해시간 및 잔유물에 대한 실험을 진행하였다. 구강에서의 붕해시간의 경우 Fig. 4와 같이 Neusilin이 포함된 과립의 붕해시간이 유의적으로 낮아졌으며 Neusilin의 양이 증가할수록 빠른 붕해시간을 보여주는 경향을 나타내었다. 특히 one-way ANOVA, Tukey 사후검정을 통하여 $p<0.05$ 수준에서 G0과 G3가 유의적인 차이를 보였다. 이는 Neusilin에 의해 각 과립이 분리되어 뭉치

는 부분이 최소화되기 때문인 것으로 판단된다. 구강에서의 붕해 후 잔물감의 경우도 Fig. 5와 같이 붕해시간과 유사한 경향을보였으며 특히 one-way ANOVA, Games-Howell 사후검정을 통하여 $p<0.05$ 수준에서 G0와G4,G3와G4 사이에서 유의적인 차이를 보였다. 이는 인공타액에서의 붕해시험 결과와 다른 부분은 이물감을 느끼지 않을 수준의 입자크기로의 붕해시간이 Neusilin의 양이 많아질수록 빨라지는 경향을 보이기 때문인 것으로 판단된다.

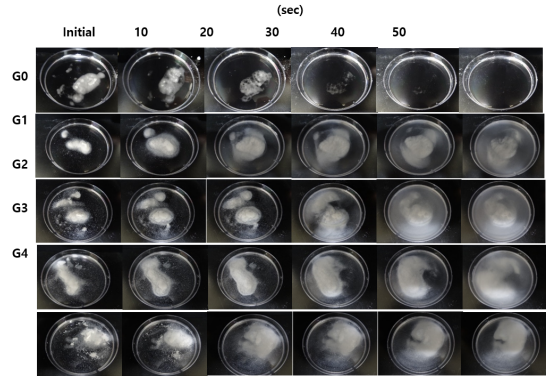

Fig. 3. Artificial Oral cavity disintegration of Mouthwash granules, (G0) Neusilin 0%; (G1) Neusilin 5%; (G2) Neusilin 10%; (G3) Neusilin 15%; (G4) Neusilin 20%, photo taken every 10 second in artificial saliva medium.

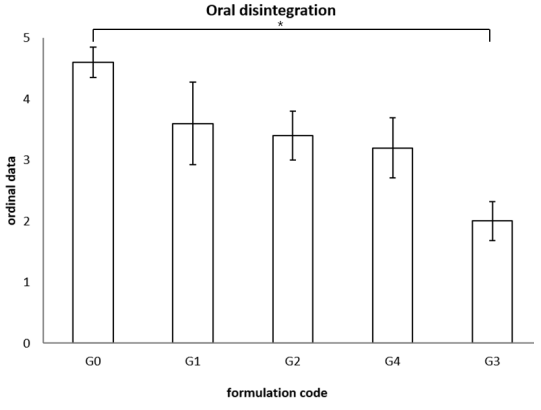

Fig. 4. Sensory evaluation of Mouthwash granules for Oral disintegration (*p <0.05). Values are mean ± SD (n=5)

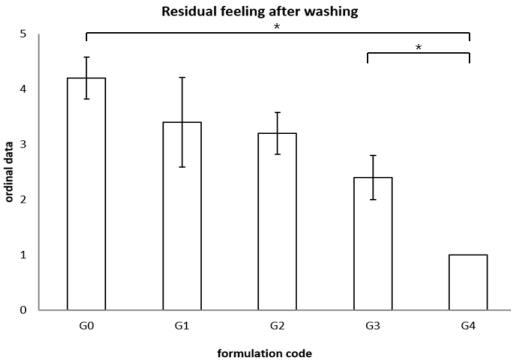

Fig. 5. Sensory evaluation of Mouthwash granules for residual feeling of refreshment (*p <0.05). Values are mean ± SD (n=5)

3.4 구강청결용 과립의 항균특성

제조된 구강청결용 과립의 항균력 시험에 대한 결과는 Fig. 6과 같이 액체형태로 시판중인 구강청결제와 시험군으로서 약 15%의 Neusilin이 포함된 과립형태의 시험약에서 각각 동등한 10미만의 결과를 보여 동등한 항균력을 가지는 것을 확인할 수 있었다.

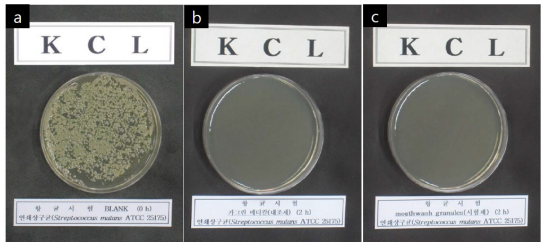

Fig. 6. Anti-microbiological evaluation of Mouthwash granules (a) Blank; (b) Garglin Medical; (c) Mouthwash granules

본 연구는 항균력시험을 통해 확인한 동등한 항균력을 가지면서 고형상에서 주성분간의 공융혼합물 생성에 따른 영향으로 인한 과립의 흐름성 부족을 개선하기 위해 각 주성분의 표면을 흡착시키는 물질인 Neusilin을 활용하여 생산공정 상 소분 및 원활한 공정진행이 가능할 것으로 판단되는 과립의 흐름성을 개선에 대해 안식각 측정을 통해 확인할 수 있었으며 부가적으로 Neusilin의 양에 따른 구강에서의 붕해시간감소 및 잔물감이 줄어드는 특성을 확인하여 새로운 과립형태의 구강청결제를 제조하고 평가할 수 있었다. 그러나 붕해시

간 및 잔물감측면에서는 액제형태의 구강청결제에 비해 환자의 순응도를 위한 추가적인 개선이 필요하다.

본 연구를 통해 제조된 과립형태의 구강청결제 조성물은, 종래 액제형태의 시판중인 제품에 비해 고형상태로 제조 및 유통이 용이하며 휴대가 간편하고 일반적인 제조과정을 통해 생산이 가능해 관련 제품의 개발에 널리 활용될 수 있다. 일부 생약추출물을 활용한 과립형태의 구강청결제가 있으나 본 연구의 경우 공융혼합물의 특성을 가지는 액상의 구강청결제를 과립형태로 제형화한 의의가 있으며, 공융혼합물로서 유사한 특성을 가지는 서로 다른 약물을 동시에 함유하는 의약품의 개발에도 활용될 수 있어 제약산업의 의약품 개발에서 유용할 것으로 사료된다.

References

[1] Chi, Bo-Ram, et al., "The Effect on Growth Inhibition of S. mutans by Lotus Leaf and Dandelion Extracts," *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 12.12, pp. 5773-5778, 2011. DOI: http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2011.12.12.5773

[2] Ahmadi, Amirhossein, "Potential prevention: Aloe vera mouthwash may reduce radiation-induced oral mucositis in head and neck cancer patients." Chinese journal of integrative medicine 18.8, pp. 635-640, 2012.

[2] Farah, Camile S., Lidija McIntosh, and Michael J. McCullough, "Mouthwashes," Issues 1, 2009.

[3] Fine, D. H., et al., "In vivo antimicrobial effectiveness of an essential oil containing mouth rinse 12 h after a single use and 14 days' use," *Journal of clinical periodontology,* 32.4, pp. 335-340, 2005. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2005.00674.x

[4] Fine DH, Furgang D, Barnett ML, et al., Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse on plaque and salivary Streptococcus mutans levels, *J Clin Periodontol 27*, pp. 157-161, 2000.

[5] Overholser CD, Meiller TF, DePaola LG, Minah GE, Niehaus C., Comparative effects of 2 chemotherapeutic mouthrinses on the development of supragingival dental plaque and gingivitis, *J Clin Periodontol 17*, pp. 575–579, 1990. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1990.tb01108.x

[6] Arvidson, K.; Johansson, E. G., "Galvanic currents between dental alloys in vitro," *European Journal of Oral Sciences,* 93.5, pp. 467-473, 1985. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1985.tb01341.x

[7] Neusilin Product information, Fuji Chemical Industries, 2009, http://www.neusilin.com/product, 2017.11.02

[8] Sander, Camilla, and Per Holm. "Porous magnesium aluminometasilicate tablets as carrier of a cyclosporine self-emulsifying formulation," *AAPS PharmSciTech,* 10.4, p. 1388, 2009.

[9] Carr, Ralph L., "Evaluating flow properties of solids," *Chem. Eng.*, 72, pp. 163-168, 1965.

[10] Hausner, H. H., Friction conditions in a mass of metal powder, Polytechnic Inst. of Brooklyn. Univ. of California, Los Angeles, 1967.

[11] Geldart, D., et al., "Characterization of powder flowability using measurement of angle of repose," China Particuology, 4. 3-4, pp. 104-107, 2006.

김 동 욱(Dong-Wook Kim) **[정회원]**

- 1997년 2월 : 경희대학교 약학과 (약학사)
- 1999년 2월 : 경희대학교 약학대학원 약학과 (약학석사)
- 2012년 8월 : 성균관대학교 약학대학원 약학과 (약학박사)
- 2014년 3월 ~ 현재 : 청주대학교 제약공학과 교수

<관심분야>
약물전달 시스템, 의약품 제조, 의약품 제형설계, 복합제