

캡사이신유도체를 함유하는 폴록사머 겔제제의 물리화학적 특성

김태완 · 조청일 · 최춘영 · 이범진[†]

강원대학교 약학대학 생체리듬 및 제어방출 연구실
(2002년 7월 16일 접수 · 2002년 9월 6일 제심사 · 2002년 12월 27일 승인)

Physicochemical Properties of Poloxamer-based Gel Containing Capsaicin Analog

Tae-Wan Kim, Qing-Ri Cao, Chun-Young Choi and Beom-Jin Lee[†]

College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
(Received July 16, 2002 · Revised September 6, 2002 · Accepted December 27, 2002)

ABSTRACT—Physicochemical changes of poloxamer-based gel containing capsaicin analog (N-[3-(3,4-dimethylphenyl)propyl]-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxyphenyl acetamide) such as drug content, viscosity and surface tension were investigated during the storage conditions at three different temperatures (25, 40 and 60°C) over 90 days. No noticeable changes of color were observed when stored at 25 and 40°C. However, the color of white poloxamer gels turned yellow during storage at 60°C. The drug contents were unchanged during storage at 25°C but had tendency to decrease at 40°C. The drug contents were highly decreased over 40-50% when stored at 60°C. The viscosity of a poloxamer-based gel was unchanged during storage at 25 and 40°C but greatly increased at 60°C. The surface tension of a poloxamer-based gel was not changed at three different temperatures. The storage conditions of a poloxamer-based gel containing capsaicin analog can be considered for further clinical applications.

Key words—Capsaicin analog, Poloxamer-based gel, Physicochemical changes, Drug content, Viscosity, Surface tension

진통 소염제의 시장은 매우 광범위하며 사용성이 매우 넓어 의약학 분야에서 중요한 부분을 차지하고 있다. 현재 여러 제약회사에서 생산되고 있는 소염 진통제는 다수이나 보다 효과적이고 환자의 순응도가 높으면서 강력한 진통효과를 요하는 류마치스성 관절염, 당뇨병성 신경증 및 암환자에게서는 새로운 활성 약물의 개발이 요구되고 있다. Capsaicin의 단점을 보강하고 강력 소염 진통제로서의 치료 효과를 극대화하기 위하여 capsaicin의 4번 탄소위치에 hydroxyl 기와 alkyl chain을 변화시킨 화학구조인 N-[3-(3,4-dimethylphenyl)propyl]-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxyphenyl acetamide인 새로운 캡사이신 유도체 (이하 CA 유도체라 약칭함)를 합성한바 있다.¹⁻³⁾ 본 CA 유도체는 분자량이 370.49이며 융점은 114°C로 동정이 가능하다. Figure 1은 CA 유도체의 화학적 구조를 나타낸 것이다.

현재 CA 유도체에 대한 연구는 국내 뿐만 아니라 국외에서도 폭넓게 진행되고 있다.⁴⁻⁶⁾ 그러나 추후 CA 유도체를 효율적으로 임상에 적용하기 위해서는 적절한 제형의 필요성이 제기된다. 특히 피부부를 통한 CA 유도체의 전달시스템은

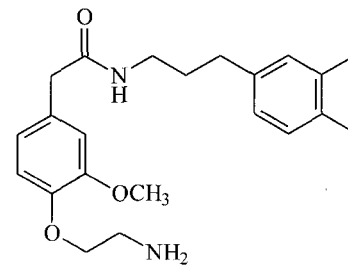


Figure 1—Chemical structure of capsaicin analog

높은 초회투과 효과 및 짧은 반감기 등의 단점을 보완할 수 있는 유용한 경로로 제시되었다.^{3,7)} 그러나 CA 유도체들은 낮은 경피흡수율을 가지고 있어 보다 효율적으로 경피흡수를 촉진하고 약물을 체내로 전달할 수 있는 시스템의 개발이 요구된다. 약물의 경피흡수를 촉진할 수 있는 방법으로 흡수촉진제가 빈번히 사용된다. 특히 용해도 증가 및 피부 흡수 증가를 위하여 ethanol 및 propylene glycol류 등이 널리 활용된다.^{8,9)} 한편 매우 난용성 약물이나 피부 투과가 어려운 약물의 경우 다양한 vehicle들이 혼합되어 사용되고 있으며 특히 지방산류 등이 다양하게 검토되고 있다.¹⁰⁻¹¹⁾

본 연구실에서는 폴록사머를 활용하여 CA 유도체를 전달할 수 있도록 경피흡수에 미치는 영향인자를 고찰하였으며

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 033-250-6919, E-mail : bjl@kangwon.ac.kr

특히 hairless mouse 피부를 사용하여 경피흡수율의 우수성을 보고한 바 있다.³⁾ 또한 본 CA 유도체에 대하여 제제설계를 위한 기초적인 물리화학적 성질 등은 이미 보고되었다.¹²⁾ 한편 폴록사머(poloxamer)는 polyoxyethylene-polyoxypropylene copolymer로 상업적으로 유용한 계면활성제이며 사용비율에 따라 여러 상업명으로 사용되고 있다. 특히 낮은 독성과 피부자극성으로 외용제의 설계에 널리 사용되고 있다.¹³⁾ 비록 폴록사머 기제를 활용한 외용제에 대한 연구보고는 많으나 본 연구의 모델 약물인 CA 유도체를 함유하는 폴록사머 겔 제제의 보존 조건에 따른 물리화학적 성상을 고찰한 연구는 많지 않다. 특히 보존중 유의성있는 함량변화가 없어야 하며, 점도 및 표면장력등 물리화학적으로 안정하여야 제품의 품질을 보증할 수 있다.

본 연구의 목적은 처방 설계된 CA 유도체를 함유하는 폴록사머 겔제제의 물리적 변화를 고찰하기 위하여 서로 다른 온도(25, 40 및 60°C)에 제제를 보관한 후 보관중의 성상, 점도, 표면장력 및 약물의 함량등 물리화학적 특성을 고찰하여 효율적인 경피투과용제제를 확립하고자 하였다.

실험 방법

시약 및 기기

약물인 capsaicin유도체, 즉 DA-5018은 동아제약으로부터 제공되었다. 폴록사머 407(BASF 한국), oleic acid(Showa, 일본), propylene glycol, isopropyl myristate, n-methyl-, n-ethyl- 및 n-propyl-p-hydroxybenzoate(Sigma, 미국), ethanol(Hayman, 미국), acetonitrile(EM Industries, 미국) 등을 사용했으며, 시약급 또는 HPLC급을 사용하였다. 실험에 사용한 HPLC 시스템은 Shimadzu사(일본) 기기를 사용하였으며 pump (Shimadzu LC-9A), fluorometric detector(Shimadzu RF 535), system controller (Shimadzu SCL-6B), sample injector, reverse phase column (Waters, Symmetry™ C18, 5 μm particle diameter, 100 Å pore diameter, 3.9×159 mm)와 integrator (Shimadzu CR4-A)로 구성되어 있다. 표면장력 측정에는 Du Nouy 표면장력계(Itoh Seisakucho Ltd, 일본), 점도 측정에는 회전점도계(Brookfield Viscometer DV-II, 미국)를 사용하였다.

CA 유도체 함유 외용제제의 제조

Lee 등³⁾이 보고한 방법에 따라 폴록사머 407을 사용하여 cold법으로 외용 겔제제를 제조하였다. 우선 20% 농도의 propylene glycol에 CA유도체(0.5%) 및 방부제인 n-methyl-p-hydroxybenzoate(0.15%)과 n-propyl-p-hydroxybenzoate (0.1

%)를 혼합한 후 20% ethanol을 완충액과 혼합하였다. 한편 총량의 30% 농도에 해당하는 폴록사머를 4°C의 냉장고에 보관하여 용해한 다음 위의 용액과 다시 혼합하고 isopropyl myristate 및 oleic acid를 각각 5% 농도가 되도록 가하여 혼합한 후 상온에 방치하여 폴록사머기제의 겔을 제조하였다.

약물의 분석

시료중 약물의 농도는 형광 detector를 부착한 HPLC를 사용하여 이전에 보고된 바와 같이 정량하였다^{3,14)}. 즉 이동상은 10 mM Sodium phosphate buffer(pH 2.5)와 acetonitrile의 혼합액(67:33 v/v %)으로 조제하였다. 0.11-2.0 μg/ml 사이에서 검량선을 잡았으며, 표준액 100 ml와 내부표준액(0.909 μg/ml, n-ethyl-p-hydroxybenzoate 수용액) 20 μl를 혼합한 후 HPLC로 분석하였다. 형광검출기의 excitation파장은 270 nm이고 emission 파장은 330 nm이었다.

외용제제의 물리화학적 변화

약 0.5%를 함유한 최적 조성의 폴록사머 겔제제를 5 ml의 주사기에 주입한 후 수분 증발을 방지하기 위하여 견고하게 밀봉한 다음 25, 40 및 60°C의 온도에 90일 동안 보관하였다. 보존 중 물리적 특성인 점도, 계면장력 및 약물의 함량 변화를 고찰하였다. 각 온도에서 제제를 보관 후 약물 함량은 5, 10, 25, 35, 45일 후에, 점도 및 계면장력은 계속해서 65 및 90일 후에 제제가 포함된 주사기를 취한 후 약 2시간 정도 방치하여 온도가 상온이 되도록 한 후 평가하였다. 약물함량은 제제 0.5 g을 정확히 취하여 삼각플라스크에 넣고 완충액을 가하여 고르게 혼합하였다. 혼합액은 여과한 후 여액을 적절히 희석하고 약물의 양을 HPLC로 정량하였다.

점도는 Brookfield 점도계(Model: DV-II, Spindle No. 4)를 사용하여 25°C의 실온에서 30 rpm으로 1분간 회전시킨 후에 측정하였으며, 표면장력은 Du-Nouy Tensionmeter를 사용하여 측정하였다. 폴록사머 겔제제를 원판에 고르게 편 후에 백금-이리듐환을 이용하여 표면장력을 측정하였다. 보정 인자는 따로 계산에 넣지 않았기 때문에 본 실험에서 측정된 표면장력은 절대 값은 아니며 상대적인 비교만 가능하다.

결과 및 고찰

본 연구에서 사용한 CA 유도체를 함유한 폴록사머 겔제제의 hairless mouse 피부를 사용한 경피 흡수 자료는 이전 논문³⁾에서 보고하였으며 간단히 소개하면 피부투과속도는 5.86 μg/cm²/hr, 지연 시간은 약 4시간이었으며 사용한 피부

모텔에 따라 차이를 나타내었다.³⁾ 본 연구에서는 25, 40 및 60°C에 약 90일 동안 보관하면서 폴록사머 겔제제의 성상, 점도, 계면장력 및 약물의 함량 변화를 경시적으로 고찰하였다.

보존중 폴록사머 겔제제의 성상은 25 및 40°C에 보관했을 때 특이할 만한 육안적 색깔의 변화를 고찰하지 못하였으나 고온인 60°C에 보관시 점차 색깔이 옅은 노란색으로 변함을 고찰하였다. 폴록사머는 수용액에서 매우 안정하기 때문에 고온에서의 색깔의 변화는 CA유도체의 분해 혹은 다른 구성 성분들에 의한 영향으로 사료된다. 특히 본 처방의 방부제로 사용된 파라벤류와의 부적합성이 문제될 수도 있다.¹³⁾

한편 외용 폴록사머 겔제제를 25, 40 및, 60°C에 약 90일 동안 보관한 후 제제 0.5 g 중에 함유되어 있는 약물의 함량 변화를 Figure 2에 나타내었다. 초기 제제 중에는 이론적으로 제제 g당 0.6%의 약물을 함유하도록 제조하였으나 실제 정량하였을 때 약 0.67%의 약물을 함유하고 있어 제제 중량당 약물의 함량은 약간 증가된 것으로 사료되었다. 한편 45일동안 보존중 폴록사머 겔제제중 약물의 함량은 25°C에서는 거의 변화가 없었으며 40°C에서는 약 20% 정도 감소하였다. 그러나 60°C에 보관한 제제에서는 약물의 함량

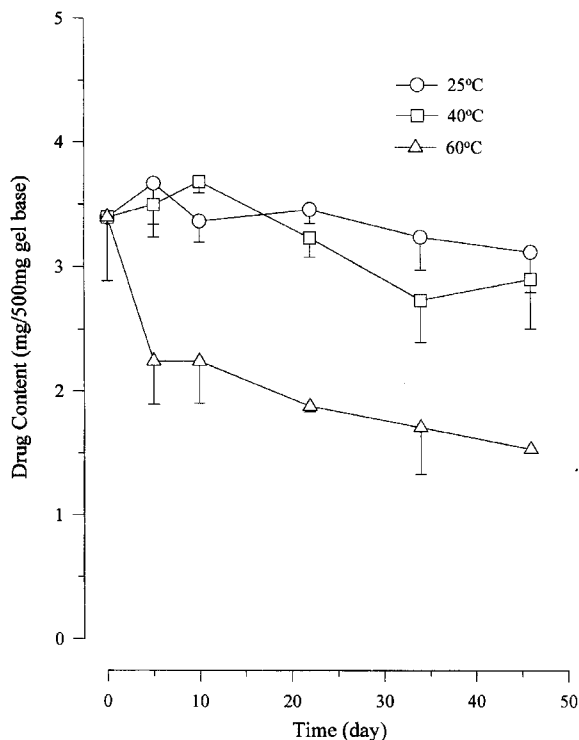


Figure 2—Changes of drug contents in poloxamer-based gel containing capsaicin analog stored at the temperature of 25 (○), 40 (□) and 60°C (△).

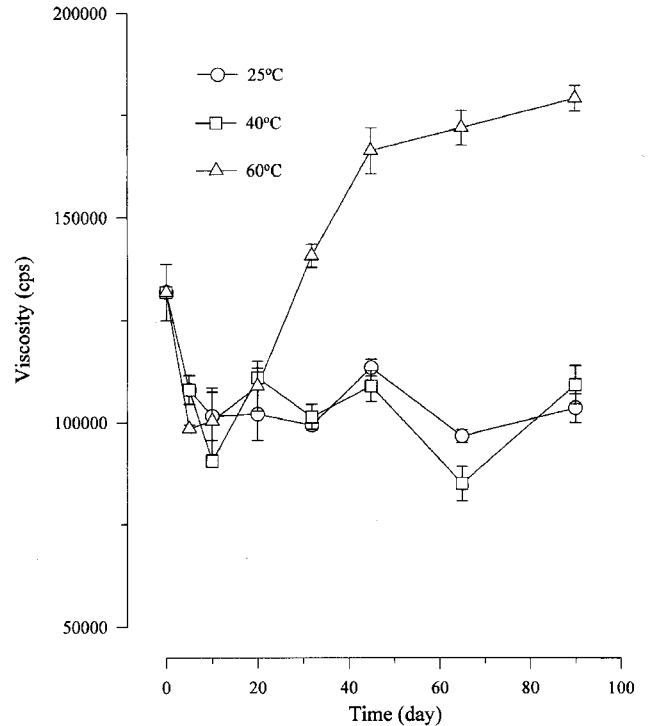


Figure 3—Changes of viscosity of poloxamer-based gel containing capsaicin analog stored at the temperature of 25 (○), 40 (□) and 60°C (△).

이 시간에 따라 약 40-50% 정도 감소하였다. 김¹²⁾ 등은 캡사이신의 경우 용액 중에서 pH에 의존성이 있으며 특히 강알칼리인 pH 13에서 60°C에 7일 보관했을 때 잔존율이 41%임을 보고하였으나 다른 pH에서는 대체로 안정하다고 보고하였다. 따라서 DA-5018의 안정성은 온도에 따른 의존성을 나타내므로 제제는 적어도 25°C 이하의 상온에서 보관하는 것이 바람직하다고 사료된다.

상온 25, 40 및 60°C에 약 90일 동안 보관하는 동안 외용 폴록사머 겔제제의 점도에 대한 경시적 변화를 Figure 3에 나타내었다. 제제의 점도는 10일 동안의 초기에는 모든 온도에서 점도가 감소하는 경향을 나타내었다. 그러나 25°C와 40°C에서는 그 이후 특이할만한 점도 변화를 보이지 않았으나 고온인 60°C의 경우 점차 증가하였다가 일정 점도를 유지하는 경향을 나타내었다.

폴록사머는 높은 농도에서, 낮은 온도에서는 상대적으로 용액상태이나 온도를 증가시키면 점차 겔화되는 특성을 가지고 있다.¹³⁾ 그러나 형성된 겔은 수용액에서 안정하나 온도 증가시에 고분자 사슬의 결합력 및 구조적 특성으로 초기 점도가 저하되나 높은 고온에서는 약물의 분해와 다른 조성물의 상호 작용으로 오히려 점도가 증가되었으나 보다 자세한 점도변화 기전은 화학적 안정성 및 물리적 변화를 동시에 고

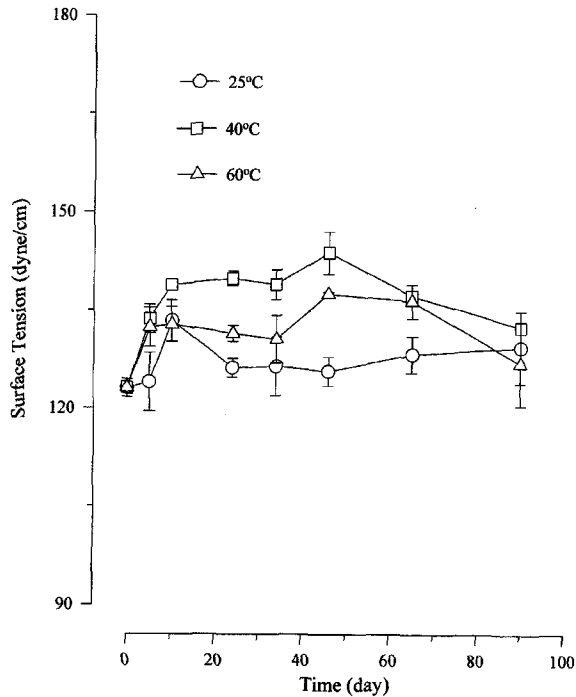


Figure 4—Changes of surface tension of poloxamer-based gel containing capsaicin analog stored at the temperature of 25 (○), 40 (□) and 60°C (△).

찰하여 연구할 필요가 있다. 한편 온도에 따른 제제의 물리적 변화를 고찰할 때, 제제중에는 다량의 물이 함유되어 있어 수분의 증발을 최소화 할 수 있도록 밀봉을 견고히 하였음에도 불구하고 높은 고온에서 저장한 경우 용기벽에 증발된 물방울이 맺혀 있는 것으로 보아 겔제제 중에 함유된 수분이 서서히 증발함으로써 점도가 증가될 수도 있다.

한편 Figure 4은 외용 폴록사머 겔제제를 25, 40 및 60°C에 약 90일 동안 보관한 후 표면장력의 경시적 변화를 나타낸 그림이다. 3개의 온도에서 제제의 표면 장력에 있어서 큰 차이는 관찰되지 않았다. 주로 0.1% 농도의 폴록사머 용액의 계면장력은 약 19.8 dyne/cm로 보고되어 있다.¹³⁾ 농도가 30%인 본 겔제제의 계면장력은 0.1%의 폴록사머 농도에 비하여 약 6배 증가하였으나 온도에 따른 큰 변화는 대체로 나타나지 않고 일정 범위를 유지함을 알 수 있었다.

이미 논문³⁾에서 보고한 본 연구의 최적 처방화된 외용 폴록사머 겔제제는 보존 온도에 따른 함량 변화, 기제인 폴록사머 농도에 따라 점도 변화를 나타내므로 용기내 수분의 증발을 방지하고 반고형의 약물이 차지하는 용적을 크게 하여 제제 내의 빈공간의 용적을 최소화할 필요가 있다. 또한 피부를 통한 임상적 응용시에 주약이 안정하고 피부에 적용할 수 있는 점도의 유지 및 피부 투포성을 유지할 수 있는 표면장력등, 반고형 겔제제의 품질을 보존할 수 있도록 포장재

료 및 용기의 선정과 제품의 보존온도 설정등에 세심한 주의를 기울일 필요가 있다고 생각한다.

결 론

CA 유도체를 함유한 외용 폴록사머 겔제제의 보존 중 물리화학적 변화를 고찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 겔제제의 성상은 25, 40°C에서는 특이할 만한 물리적 변화를 고찰하지 못하였으나 고온인 60°C에 보관시 점차 색갈이 옅은 노란색으로 변화였다.
2. 약물의 함량은 25°C에서는 거의 변화가 없었으며 40°C에서는 약 20% 정도 감소하였다. 그러나 60°C에 보관한 제제중 약물의 함량은 시간이 지남에 따라 40-50% 정도 감소하였다.
3. 겔제제의 점도는 25, 40 및 60°C에 약 90일 동안 보관했을 때 제제의 점도는 25°C와 40°C에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 고온인 60°C의 경우 점차 증가하였다가 일정 점도를 유지하는 경향을 나타내었다.
4. 표면 장력은 보존 온도에 따라 큰 차이를 나타내지 않았다.
5. 본 폴록사머 반고형 겔제제를 피부를 통한 임상적 응용시에 품질을 보존할 수 있도록 포장재료 및 용기의 선정과 제품의 보존온도 설정등에 세심한 주의를 기울일 필요가 있다고 생각한다.

감사의 말씀

본 논문은 동아제약 위탁 연구 사업의 일부 부분 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다. 또한 강원대학교 종합약학연구소의 연구기기 사용에 대한 도움에도 감사드리며 끝으로 본 연구의 실험에 많은 도움을 준 김종혁에게도 감사드립니다.

문 헌

- 1) B. Lee, J-H. Kim, N-S. Park and J-Y.Kong, KR-25018, A novel orally active analgesic with nonnarcotic properties, *Arch. Pharm. Res.*, **17**, 304-308 (1994).
- 2) Y-H. Park, E-S. You, W-B. Kim, and S-S. Lee, DA-5018, A novel vanilloid type analgesic, *Arch. Pharm. Res.*, **20**, 281-284 (1995).
- 3) B.-J. Lee, T.-S. Lee, B.-J. Cha, S.-H. Kim and W.-B. Kim, Percutaneous absorption and histopathology of a poloxamer-based formulation of capsaicin analog, *Int. J. Pharm.*, **159**, 104-114 (1997).

- 4) J.Y. Fang, P.C. Wu, Y.B. Huang and Y.H. Tsai, Percutaneous absorption of capsaicin, nonivamide and sodium nonivamide acetate from gel and ointment bases: in vitro formulation evaluations in pigs and in vivo bioengineering methods in humans, *Int. J. Pharm.*, **130**, 121-135 (1996).
- 5) J.Y. Fang, P.C. Wu, Y.B. Huang and Y.H. Tsai, In vivo percutaneous absorption of capsaicin, nonivamide and sodium nonivamide acetate from ointment bases: skin erythema test and non-invasive surface recovery technique in humans, *Int. J. Pharm.*, **131**, 143-151 (1996).
- 6) Y.H. Tsai, Y.B. Huang, J.Y. Fang and P.C. Wu, Percutaneous absorption of capsaicin and its derivatives, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **20**(4), 719-730 (1994)
- 7) T. Kawada, T., Watanabe, K. Katsura, H. Takami and K. Iwai, Formation and metabolism of pungent principle of capsaicin fruits, IV. Microdetermination of capsaicin by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *J. Chromatogr.*, **329**, 99-105 (1985).
- 8) C.K. Lee, T. Uchida, K. Kitabawa, A. Yagi, N.S. Kim and S. Goto, Skin permeability of various drugs with different lipophilicity, *J. Pharm. Sci.*, **83**(4), 562-565 (1994).
- 9) T. Hatanaka, K. Katayama, T. Koizumi, K. Sugibayashi and Y. Morimoto, Time-dependent percutaneous absorption enhancing effect of ethanol, *J. Controlled Release*, **33**, 423-428 (1995).
- 10) C.-K. Kim, J.-J. Kim, S.C. Chi and C.-K. Shim, Effect of fatty acids and urea on the penetration of ketoprofen through rat skin, *Int. J. Pharm.*, **99**, 109-118 (1993).
- 11) Y. Maitani, K. Shimada, and T. Nagai, l-Menthol, oleic acid and lauricidin in absorption enhancement of free and sodium salt of diclofenac using ethanol treated silicone membrane as model for skin, *Chem. Pharm. Bull.*, **44**(2), 403-408 (1996)
- 12) H.J. Kim, J.J. Lee, E.D. Lee, H.J. Shim, S.D. Lee, K.D. Ok and W.B. Kim, Structural and physicochemical studies on DA-5018, a new capsaicin derivative, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **27**(2), 119-123 (1997).
- 13) A.H. Kibbe, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3rd eds. Pharmaceutical Press, London, 386-388 (2000).
- 14) H.-J. Shim, J.-J. Lee, S.-D. Lee, W.-B. Kim, J. Yang, S.-H. Kim and M.G. Lee, Stability, blood partitioning and protein binding of DA-5018, a new nonnarcotic analgesic, *Res. Commun. Mol. Pathol. & Pharmacol.*, **91**, 97-108 (1996).