

신규 Capsaicin 유도체 DA-5018을 함유한 외용진통제의 제제설계 I : 평가법 확립 및 외용크림제의 설계

차봉진 · 이응두 · 김원배[†] · 이민화*

동아제약연구소, *서울대학교 약학대학

(1997년 1월 13일 접수)

Formulation of Topical Analgesic Preparation for a New Capsaicin Derivative Analgesic, DA-5018 (I) : Establishment of Skin Penetration Evaluation System and Formulation of Topical Cream

Bong Jin Cha, Eung Doo Lee, Won Bae Kim[†] and Min Hwa Lee*

Research Laboratories, Dong-A Pharmaceutical Co. Ltd.,

47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Yongin-si, Kyunggi-do 449-900, Korea

*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-741, Korea

(Received January 13, 1997)

To formulate the topical analgesic preparation of a new capsaicin derivative, DA-5018, a skin penetration evaluation system was established and the effect of composition of formulation on skin penetration using this system was evaluated. The effect of massage on hairless mouse skin penetration and inter-day variation of this effect were investigated using test formulations (cream). In massage group, compared with non-massage group, absolute penetration amount of DA-5018 increased and this experimental system was found to be reproducible. The effects of pH of water phase, ratio of oil/water and the concentration of active ingredient in cream on skin penetration were investigated. The permeation of DA-5018 from the cream increased with increasing pH of water phase to 9. But at pH 10, the permeation of DA-5018 decreased, because of the physical instability of the cream. The permeation of DA-5018 from the cream increased with increasing the ratio of oil/water of the cream. The increase of the content of DA-5018 to 0.3 % increased the permeation of DA-5018, but at high concentration(1.0%), the permeation of DA-5018 decreased, due to the instability of the cream.

Keywords—Capsaicin derivative, Topical analgesic preparation, Formulation, Skin penetration, Inter-day variation, pH, Ratio of oil/water

DA-5018(N-{3-(3,4-Dimethylphenyl)propyl}-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxy phenyl acetamide, Figure 1)은 새로운 capsaicin 유도체로서, 기존의 capsaicin 함유 외용제는 투여초기의 강한 자극성 때문에 사용이 제한되고 있는 실정이나¹⁻³⁾, DA-5018은 capsaicin보다 진통효과는 뛰어나고, 피부자극성은 적기 때문에 외용진통제로 설계하였을 때 기존의 capsaicin 함유 제제보다 우수한 약효를 기대할 수 있을 것으로 기대된다. 현재 capsaicin 유도체의 경피흡수에 대한 연구는 국외에서 폭 넓게 진행되고 있는 실정이며^{4,6)}, 피부 각질층의 투과정도가 매우 중요하다고 생

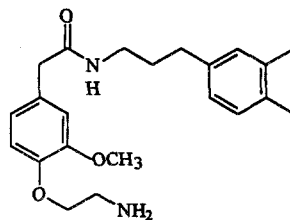


Figure 1—Chemical structure of DA-5018.

각된다.⁷⁾ 본 실험에서는 새로운 capsaicin 유도체 DA-5018의 외용진통제 설계를 위하여, 제제설계에 영향을 미치는 조성을 평가하고자 피부투과실험을 하였다.

[†] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

시약 및 재료

시험물질인 DA-5018은 동아제약연구소에서 합성한 것을 사용하였으며, 개량 Franz cell은 제작(면적: 4.7 cm², receptor phase 용량: 17.5 ml)하여 사용하였고, 외용 진통제의 제제설계를 위한 이소프로필미리스테이트(Aldrich), 프로필렌글리콜(Duksan), 세토스테아릴알콜(Henkel), 바셀린(Duksan) 및 세토마크로콜 1000(Emulgin B2®, Henkel)는 시약급을 사용하였고, 기타 다른 시약들은 시약급 또는 HPLC급을 사용하였다. Hairless mouse는 Charles River Co.(Atsugi, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

시험제제 제조

본 실험에 사용한 시험제제는 세토스테아릴알콜을 함유한 크림제이며, 제조방법은 크림제 제조방법중 응용법을 응용하여 교반기를 이용하여 제조하였다. 따로 기본조성 및 제조조건은 Table 1과 Figure 2에 나타내었다. 먼저 피부에 대한 시험제제의 마사지효과 및 재현성을 검토하기 위하여 시험제제로 피부투과시험을 행하였다. DA-5018의 피부투과에 대한 수상의 pH가

Table I The Composition of the Cream Tested

Ingredient		Composition(%)
Drug	DA-5018	0.1-1.0
Oil phase	Cetostearyl alcohol	9.2
	Vaseline	10-15
	Isopropyl myristate	5-10
Emulsifier	Emulgin B2	1.8
Water phase	Propylene glycol	6
	Buffer	q.s.
Total		100

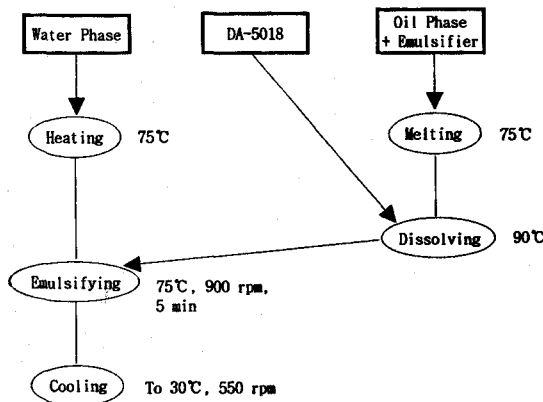


Figure 2—Schematic diagram of manufacturing process for the DA-5018 cream.

미치는 영향을 평가하기 위하여 10% 프로필렌글리콜을 함유한 pH 5.0, 7.0 및 9.0 USP 완충액에 DA-5018을 포화시켜, 이용액을 피부에 직접 적용하여 피부투과시험법에 따라 투과시험을 행하였으며, 또한 여러 pH의 완충액을 함유한 시험제제를 만들어 피부투과시험을 행하였다. 유수상비의 피부투과에 대한 영향을 검토하기 위하여 유수상비가 2/8 및 3/7인 제제를, 주약의 농도에 따른 피부투과도를 살펴보기 위하여 0.1, 0.3 및 1.0 %를 함유한 시험제제(수상 pH:7.0, o/w=3/7)를 제조하여 피부투과 실험을 행하였다.

피부투과시험 및 정량

실험에 필요한 피부는 실험당일에 5-7주령의 웅성 hairless mouse를 치사시켜, 등 피부를 얻었고, 피부 안쪽의 피하지방을 제거한 후 1시간 이내에 사용하였다. 본 실험에서 사용한 diffusion chamber는 변형된 Franz cell로®, receptor phase로는 생리식염수를 사용하였으며, 37°C로 유지시켜 주었다. 크림의 경우는 피부면에 고르게 분포할 수 있도록, 먼저 donor compartment에 닿는 등피부면에 일정면적(4.7 cm²)을 표시한 다음, 일정량의 크림(0.1 g)을 그 지점에 적용하고 손가락을 사용하여 1분간 동심원상으로 120회 회전하여 마사지한 후 크림이 발라져 있는 등피부를 donor compartment와 receptor compartment사이에 넣었다. 그 다음에 충분한량의 크림(약 2 g)을 donor compartment에 보충한 다음, 과도한 건조를 막기 위하여 parafilm으로 밀폐하였다(n=3). 정해진 시간에 receptor phase 100 µl를 취해 HPLC에 직접 주입하여 투과된 약물을 정량하였다. HPLC 조건은 Shim 등의 논문에 발표한 조건을 응용하였으며, 다음과 같은 조건을 사용하였다.⁹⁾ 이동상은 5 mM 메탄설포산 나트륨을 함유한 10 mM 인산이수소칼륨용액(30% 인산으로 pH 2.5로 조정)/아세트니트릴=7/3으로 제조하여 사용하였고, 칼럼은 Inertsil-ODS II(4.6 mm ID×150 mm L, GL Science)를 사용하였으며, 유속은 1.0 ml/min로 유지시키고(L-6000 pump, Hitachi), 검출은 형광검출기(Ex. 270 nm, Em. 330 nm, Fluor LC304, LinearTM)를 사용하여 실온에서 정량하였다. 검출한계는 10 ng/ml이었다.

경피흡수 파라미터 분석

단위시간당 투과도(flux)는 편의상 제제간 단순비교를 하기 위하여, 시간-투과곡선에서 마지막 네점에 대하여 시간 대 축적투과량을 least square method로부터 구한 기울기로부터 구하였다. 투과지연시간(lag

time)은 기울기를 x축에 외삽한 x절편으로부터 구하였다.

결과 및 고찰

실험법의 확립 및 재현성 확립

본 실험에서 사용한 시험제제는 모두 크림제로, 피부에 마사지하는 것이 실제 적용방법에 가깝고, 손가락의 체온 및 마사지의 마찰열로 인하여 크림이 반고형상에서 액상화되므로, 피부면에 크림이 완전하면서도 고르게 접촉되므로써 약물의 투과에 영향을 미칠 것으로 생각되어, 사용한 시험제제는 모두 피부에 1분간 120회 동심원상으로 회전하여 마사지를 하였다. 따로 비마사지군에 대하여 피부투과시험을 행하여 마사지 효과에 대하여 비교하였으며, 그 결과는 Figure 3와 Table 2에 나타내었다. 마사지군에서는 비마사지군과 비교해 절대투과량 및 단위시간당 투과량이 증가하였다. 또한 마사지 효과의 재현성을 검토하기 위하여 시험제제를 서로 다른 실험일에 3회에 걸쳐 실험을 행하였는데, 그 결과는 Figure 4와 Table 3에 나타내었다. 3회의 반복실험에서 투과지연시간과 단위시간당 투과량은 통계적으로 유의성 있는 차이(유의수준 : $p(0.05)$)를 보이지 않았다. 이와 같은 결과를 바탕으로 이 마사지의 효과를 충분히 살펴볼 수 있었고, 재현성도 매우 우수하여, 다른 모든

시험제제는 이와 같이 마사지를 하여 실험을 행하였다.

수상의 pH가 피부투과에 미치는 영향

DA-5018은 Figure 1에서 본 바와 같이 말단에 아미노기를 가지고 있어, 수상의 pH에 따라 유수분배계수가 달라지리라고 생각된다($pK_a=9.35$). 실제로 pH 4, 7, 9 및 10.5에서의 유수분배계수(K_{ow})는 각각 4.54, 68.8, 123 및 403으로, pH가 상승함에 따라 분배계수가 증가하는 경향을 나타내었고, 또한 pH 3, 5, 7 및 9에 대한 용해도는 각각 0.95, 0.37 0.14 및 0.049 mg/ml으로, 산성에서 용해도가 증가하였다.¹⁰⁾ 본 실험에 사용한 시험제제는 모두 크림제로 수상이 제제 구성성분의 대부분을 차지한다. 그러므로 수상의 pH가 시험제제의 피부투과도에 많은 영향을 미치리라고 판단된다. 이러한 판단을 뒷받침할 실험으로 우선 10%의 프로필렌글리콜을 함유한 pH 5, 6, 7 및 9 완충액에 DA-5018을 포화시켜, 피부투과실험을 행하였는데, 그 결과는 Figure 5에 나타내었다. Figure 5에 나타난 바와 같이 피부투과도는 pH에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과로부터 유수분배계수와 피부투과도는 상관관계가 있음을 알 수 있었다. pH 5, 7, 9 및 10 완충액을 함유한 시험제제에서도 이와 같은 결과가 예상되어져, 직접 제제를 제조해 피부 투과시험을 행하였으며, 그 결과는 Figure 6와 Table 4에 나타내

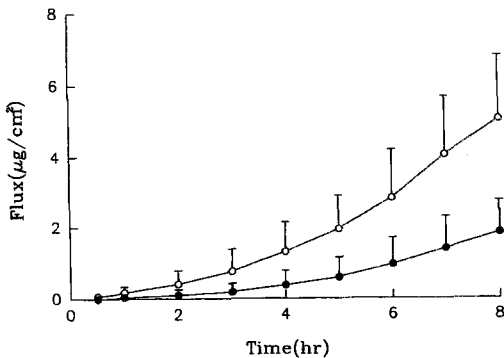


Figure 3—Massage effect on the skin penetration (mean±SD) from the DA-5018 cream(n=3). Key : ○ : massage group and ● : non-massage group

Table II—In vitro Skin Flux and Lag time(mean±SD) When Massaged or Non-massaged

	Flux(µg/cm ² /hr)	Lag time(hr)
massage group	1.10±0.387	3.28±1.08
non-massage group	0.422±0.129	3.88±0.927

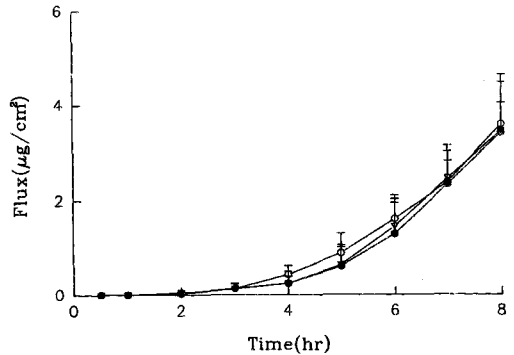


Figure 4—Inter-day variation of skin penetration (mean±SD) from the DA-5018 cream(n=3). Key : ○ : first day, ● : second day and ▽ : third day

Table III—In vitro Skin Flux and Lag time(mean±SD) When Repeated Experiments Three times(inter-day variation)

	Flux(µg/cm ² /hr)	Lag time(hr)
1	0.889±0.157	4.14±0.187
2	0.948±0.197	4.52±0.372
3	0.942±0.0786	4.22±0.325

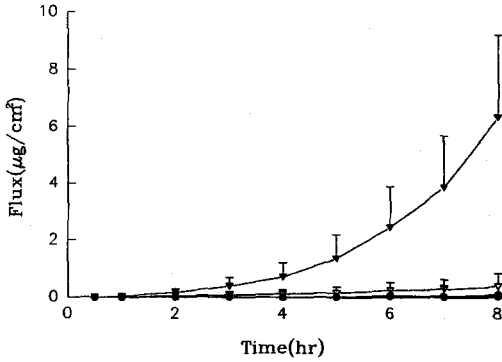


Figure 5—Effect of pH on the skin penetration(mean±SD) from the DA-5018 solution(n=3). Key : ○ : pH 5, ● : pH 6, ▽ : pH 7 and ▼ : pH 9

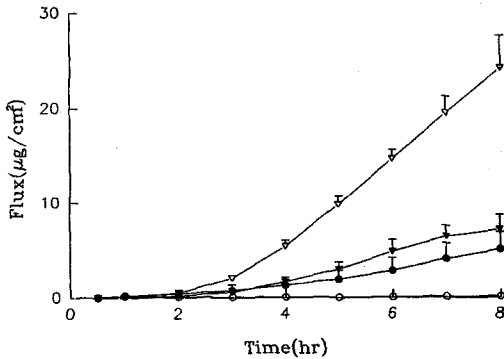


Figure 6—Effect of pH on the skin penetration (mean±SD) from the DA-5018 cream(n=3). Key : ○ : pH 5, ● : pH 7, ▽ : pH 9 and ▼ : pH 10

Table IV—Effect of pH of Water phase on In vitro Skin Flux and Lag time(mean±SD) from cream

	Flux(µg/cm ² /hr)	Lag time(hr)
pH 5	nd ^a	nd
pH 7	1.10±0.387	3.28±1.08
pH 9	4.71±0.828	2.85±0.369
pH 10	1.40±0.221	2.71±0.268

^anot determined

었다. pH 5, 7 및 9 완충액을 함유한 시험제제는 pH가 증가함에 따라 피부 투과도가 증가하는 경향을 나타내었으나, pH 10 완충액을 함유한 시험제제는 오히려 피부 투과도가 감소하였다. 이는 pH 10 완충액을 함유한 시험제제는 물리적으로 매우 불안정하여 크림상태를 제대로 유지하지 못하였으며 따라서 피부투과도가 낮은 것으로 판단된다. 이와 같은 결과로부터 크림상 제제의 피부투과도는 크림의 물리적 안정성에 의해서도 영향을 받는 것임을 알 수 있었다.

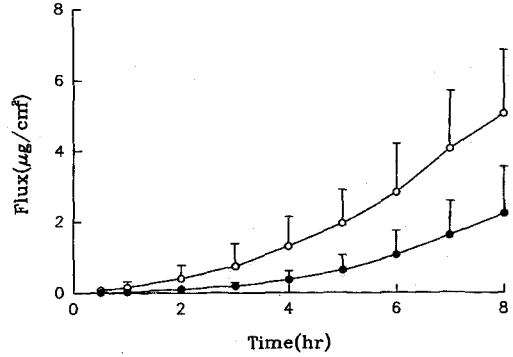


Figure 7—Effect of oil/water ratio on the skin penetration(mean±SD) from the DA-5018 cream(n=3). Key : ○ : o/w=3/7 and ● : o/w=2/8

Table V—Effect of Ratio of Oil/Water on In vitro Skin Flux and Lag time(mean±SD) from cream

	Flux(µg/cm ² /hr)	Lag time(hr)
o/w=3/7	1.10±0.387	3.28±1.08
o/w=2/8	0.537±0.312	3.97±0.614

유수상비가 피부투과에 미치는 영향

DA-5018의 크림제중 유상 및 수상의 조성비가 피부 투과도에 어떠한 영향을 미치는 가를 관찰하기 위하여 유수상비가 2/8 및 3/7인 시험제제를 만들어 피부투과 시험을 행한 결과(Figure 7와 Table 5)는 유상이 늘어날수록 피부투과도는 증가하는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 pH 7.0 및 9.0 완충액에 비하여 이 완충액을 사용하여 만든 크림에서 피부투과도가 더욱 증가한 것으로도 뒷받침할 수 있다(Figure 5와 6). 이와 같은 결과의 이유로는 유상에서의 DA-5018의 용해도가 수상에 비하여 높은 것과, 본 논문에서는 그 효과를 나타내지 않았지만 DA-5018의 피부 투과 촉진효과가 확인되었던 유상중의 한 성분인 이소프로필미리스테이트의 피부투과 촉진효과¹¹⁾가 증가한 것에 기인한 것으로 판단된다. 그러므로 DA-5018의 크림제중 피부투과도에 대한 기여도는 유상이 수상보다 크다는 것을 알 수 있었다.

주약의 농도가 피부투과도에 미치는 영향

주약의 농도가 피부투과도에 미치는 영향을 판단하기 위하여 주약의 농도가 0.1, 0.3 및 1.0%인 시험제제에 대하여 피부투과시험을 행한 결과는 Figure 8과 Table 6에 나타내었다. 주약의 농도가 0.3%인 제제는 0.1%인 제제보다 높은 투과량을 나타내었다. 그러나 주약의 농도가 1.0%인 제제는 오히려 0.3%인 제제보다 낮은 투과량을 나타내었다. 이와 같은 결과는 pH

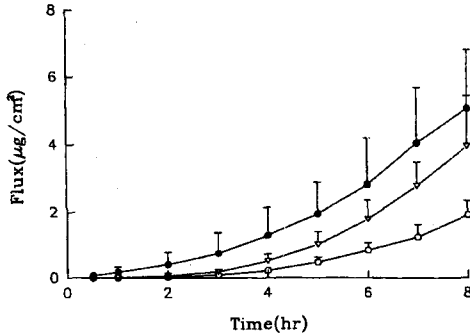


Figure 8—Effect of concentration of DA-5018 on the skin penetration(mean±SD) from the DA-5018 cream (n=3). Key : ○ : 0.1%, ● : 0.3% and ▽ : 1.0%

Table VI—Effect of Concentration of DA-5018 on In vitro Skin Flux and Lag time(mean±SD) from cream

	Flux(µg/cm ² /hr)	Lag time(hr)
0.1%	0.476±0.106	4.15±0.235
0.3%	1.10 ±0.387	3.28±1.08
1.0%	0.982±0.356	4.02±0.370

10 완충액을 함유한 시험 제제와 비슷한 원인에 의한 것으로 판단된다. 왜냐하면, 주약 1.0%를 함유한 제제도 상이 깨어진 것을 현미경 관찰에 의하여 판단할 수 있었기 때문이다. 주약 1.0%를 함유한 크림제의 경우, 크림중 DA-5018의 용해도^{10,11)}(유상중 이소프로필리스테이트에서의 DA-5018의 용해도는 0.517 mg/ml 이고 수상인 pH 7.0 완충액에서의 용해도는 0.14 mg/ml)를 넘는 과잉의 주약이 크림의 안정성을 파괴하여 제제가 불안정한 것으로 판단된다.

결 론

1. Franz cell을 이용한 hairless mouse 피부투과 실험제에 대해 외용제의 피부에 대한 마사지 효과를 검토한 결과, 마사지군에서는 비마사지군에 비하여 절대투과량 및 단위시간당 투과량이 증가하였다.

2. 시험제제 수상의 pH가 상승함에 따라 피부투과량이 증가하였으며, 이는 DA-5018의 유상으로의 분배가 증가하여 피부투과가 증가한 것으로 판단되며, pH 10이상에서는 크림상이 깨어져 오히려 피부투과가 줄어들려는 경향을 나타내었다.

3. 시험제제의 유수상비가 증가함에 따라 피부투과가 증가하였으며, 이로부터 피부투과에 대한 유상의 기여도가 수상보다 크다는 것을 알 수 있었다.

4. 주약의 농도에 따른 피부투과는 0.3%까지는 증

하다가 고농도(1.0%)에서는 제제의 크림상이 깨어져 피부투과가 감소하였다.

문 헌

- 1) C.P. Watson, L.K. Tyler, D.R. Bickers, L.E. Millican, S. Smith and E. Coleman, A randomized vehicle-controlled trial of topical capsaicin in the treatment of postherpetic neuralgia., *Clin. Ther.*, **15**, 510-526 (1993).
- 2) R. Tandan, G.A. Lewis, P.B. Krusinski and T.J. Fries, Topical capsaicin in painful diabetic neuropathy. Controlled study with long-term follow-up., *Diabetes Care*, **15**, 8-14 (1992).
- 3) P. Donofrio(The capsaicin study group), Treatment of arthritis with topical capsaicin : double-blind trial, vehicle-controlled study., *Arch. Intern. Med.*, **151**, 2225-2229 (1991).
- 4) 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**, 719-730 (1994).
- 5) 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 base : in vitro formulation evaluations in pigs and in vivo bioengineering methods in human., *Int. J. Pharm.*, **130**, 121-135 (1996).
- 6) 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 base : skin erythema test and non-invasive surface recovery technique in humans., *Int. J. Pharm.*, **131**, 143-151 (1996).
- 7) 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**, 562-565 (1994).
- 8) R.F. David, In vitro skin permeation technique., *J. Control. Rel.*, **18**, 235-248 (1992).
- 9) H.J. Shim, J.J. Lee, S.D. Lee, W.B. Kim, J. Yang, S.H. Kim and M.G. Lee, Determination of a new non-narcotic analgesic, DA-5018, in plasma, urine and bile by high-performance liquid chromatography., *J. Chromatogr.* (in press)
- 10) H.J. Kim, J.J. Lee, E.D. Lee, H.J. Shim, S. D. Lee, K.D. Ok, B.J. Cha and W.B. Kim, submitted for publication in *J. Kor. Pharm. Sci.*
- 11) B.J. Cha, E.D. Lee, W.B. Kim and M.H. Lee, submitted for publication in *J. Kor. Pharm. Sci.*