

## 무스콘의 $\beta$ -시클로덱스트린 포접 복합체의 제조 및 평가

곽은선 · 조인숙 · 이계원 · 지용길<sup>1</sup> · 박대규\*

충남대학교 약학대학, \*조선 무약

(1997년 7월 8일 접수)

### Preparation and Evaluation of Inclusion Complex of Muscone with $\beta$ -Cyclodextrin

Eun Sun Kwack, In Sook Cho, Gye Won Lee, Ung Kil Jee<sup>1</sup> and Dae Kyu Park\*

College of Pharmacy, Chungnam National University

\*CHOSEON Trading & Pharmacy Co.

(Received July 8, 1997)

An inclusion complex of muscone with  $\beta$ -cyclodextrin (CD), as a solid form of muscone, was prepared to increase the solubility of muscone. The molar ratio of muscone to  $\beta$ -CD in complex was in the range of 1:1~1:5 when prepared by freeze-drying method. The interaction of muscone with  $\beta$ -CD in solid state was investigated by Infrared (IR) spectroscopy and differential scanning calorimetry (DSC). IR and DSC studies between muscone- $\beta$ -CD inclusion complex and physical mixture showed that muscone- $\beta$ -CD inclusion complex was prepared stably. From the amount of muscone incorporated in the inclusion complex, it was found that the molar ratio of muscone :  $\beta$ -CD was 1:1. Relative spatial position of muscone and  $\beta$ -CD was observed by Hyperchem molecular modelling program.

**Keywords**—Muscone,  $\beta$ -Cyclodextrin, Inclusion complex, Solid state

무스콘(3-methylcyclopentadecanone, scheme 1)은 사향에 함유된 성분의 하나로 그 함량은 약 1~2%이다. 사향 함유 생약 제제로서는 현재 환제와 액제가 시판되고 있고 muscone은 사향 대체 물질로서의 개발이 시도되고 있다. 무스콘은 진정, 혈압 강하<sup>1)</sup> 등의 약리 작용을 가지고 있다. 무스콘의 성상은 특이한 향을 가진 미황색의 기름상으로 물에는 매우 녹기 어렵고 알코올에는 잘 녹는다. 이러한 이유 때문에 제제화를 목적으로 할 경우 물에 대한 용해도를 높일 필요가 있으며 기름상이므로 분말상으로 변화시켜 사용할 필요가 있다. 용해도를 높이고 기름상의 액체를 고형화하기 위하여  $\beta$ -시클로덱스트린( $\beta$ -CD)를 이용한 포접 복합체를 제조하고자 이 연구를 시도하였다.

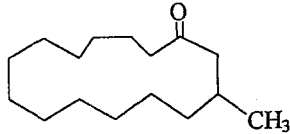
CD유도체를 이용한 포접 복합체에 관한 연구는 광범위하게 진행되고 있는데 그 중  $\beta$ -CD는 전분에 cyclodextrin transferase를 작용시켜 얻어지는 7개의

글루코스로 구성된 환상의 말토올리고당이다. CD류는 분자내에 소수성의 공동을 갖고 있어 host 분자로서 작용하여 공동안으로 guest 분자가 들어가서 포접 복합체를 형성한다.<sup>2-4)</sup> 이러한 포접 복합체는 의약품의 안정화, 용해도의 조절, 생체내 이용율의 향상 등의 효과를 얻을 수 있다.<sup>5,6)</sup>

포접 복합체를 제조하는 방법은 포화 수용액법, 혼연법, 동결건조법, 분무 건조법, 혼합 분쇄법등이 있으며 이 중 동결건조법은 함수물 중의 수분을 동결된 상태에서 액상을 거치지 않고 승화시켜 저함수물인 건조물을 얻는 조작으로서 동결 건조를 통해 얻은 제품은 내부의 물리적 구조 및 화학적 구조가 변하지 않으며 다공성 조직을 가진 건조물이기 때문에 물을 가하면 빨리 그리고 거의 완전하게 건조 전의 상태로 되돌아갈 수 있고<sup>7)</sup> 외관상 원형 그대로를 유지할 수 있다.

이에 저자는 물에 난용성이며 기름상인 무스콘에 대해 동결 건조법을 이용하여  $\beta$ -CD와의 포접 복합체를 제조하여 액상인 무스콘을 고형화하고 물에 대한 용해

<sup>1</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로



Scheme 1—Structure of muscone(Mw. 238.40)

도를 증대시키고자 하였다.

## 실험 방법

### 시약 및 기기

실험 시료는 (dl)-무스콘(조선무약)과  $\beta$ -CD(미원식품)를 사용하였고 기타 시약들은 특급 또는 일급을 사용하였다. 기기로는 동결건조기(FDU-506, Rikaikai Co. Ltd., Tokyo, Japan), 시차주사열량계(DSC-50, Shimadzu, Japan), 적외분광광도계(JASCO Report-100, JASCO, Japan), 가스크로마토그래프(HP 5890 SERIES II, Hewlett Packard Inc., USA), HYPERCHEM molecular modelling program(Hypercube Inc., USA), 자외 및 가시분광광도계(JASCO V-550, JASCO, Japan)을 사용하였다.

### 포접복합체의 제조

Takahashi 등<sup>8)</sup>의 방법에 따라 무스콘과  $\beta$ -CD를 몰비로 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 그리고 1:5가 되도록 칭량하여 50% 에탄올에 용해시켰다. 이것을 25°C에서 24시간 동안 교반시킨 후 감압하에 증류하여 에탄올을 제거하고 이를 동결 건조하였다.

### 적외선 흡수 스펙트럼(IR)의 측정

제조한 포접복합체를 확인하기 위하여 적외선 흡수 스펙트럼을 측정하였다.<sup>9-11)</sup> 검체로 무스콘 단독, 무스콘과  $\beta$ -CD의 물리적 혼합물 및 포접 복합체에 대하여 IR 흡수 스펙트럼을 측정하여 비교하였다. 무스콘은 액막법으로 측정하였으며 그외의 시료는 브롬화칼륨 정제법으로 IR 흡수 스펙트럼을 측정하였다.

### 시차주사열량 분석(DSC) 측정

무스콘과  $\beta$ -CD에 대하여 각각의 물질과 이들을 사용한 포접복합체에 대하여 DSC를 측정하였다. 시료의 처리 과정과 측정 조건은 다음과 같다. 각각의 시료 약 2~3mg을 취하여 알루미늄 접시에 넣은 후 가온 속도는 10°C/min으로 하여 0~300°C의 범위에서 측정하였다.

### 포접복합체의 분자 모델링

Hypercube사에서 개발한 분자간의 화학결합 및 구조를 평가할 수 있는 Hyperchem 시뮬레이션 프로그램

램을 사용하여 무스콘과  $\beta$ -CD의 구조를 입력한 후 결합 가능한 분자 구조를 파악하여 포접복합체의 형성 가능성과 포접복합체 형성시 나타날 수 있는 분자적 결합 양상을 추정하였다.

### 포접 복합체 중 무스콘의 정량 및 포접 비율 측정

제조한 포접복합체를 에탄올에 녹여 용액중에 존재하는 무스콘의 양을 가스크로마토그래프(GC)으로 정량하였다. 제조한 포접복합체 5mg을 칭량하여 100  $\mu$ l의 에탄올에 현탁한 다음 상징액을 취해 0.45  $\mu$ m Milipore 멤브레인 필터로 여과하였다. 여액 5  $\mu$ l를 취해 검액으로 하고 다음의 조건에서 가스크로마토그래피를 행하였다. 가열부의 초기 온도는 170°C로 설정하였으며 온도 상승속도는 분당 8°C로 하여 최종 온도 250°C에서 10분간 가열하였으며, 이러한 조건으로 분석할 때 무스콘의 유지시간은 12~13분으로 나타났으며 양호하게 분리되었다. 이와 같이 정량한 무스콘의 양을 기준으로 적절한 포접 비율을 설정하였다.

\*칼럼: HP 102, 주입구 온도: 280°C, 캐리어 가스: N<sub>2</sub> gas, 검출기: 수소염이온화검출기, 유속: 0.5 ml/min, 검출기 온도: 280°C

### 투과도 측정

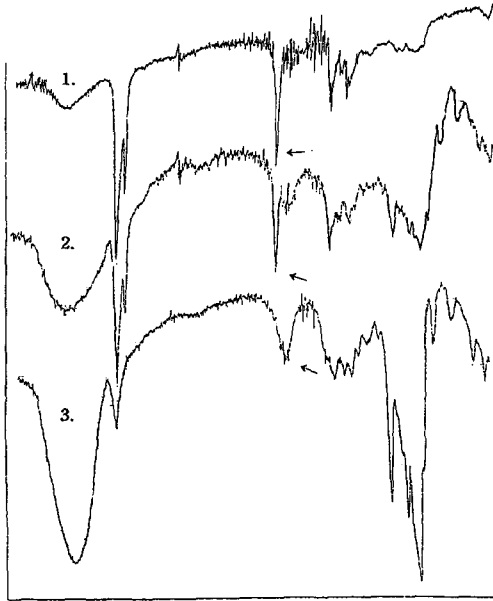
무스콘과  $\beta$ -CD 포접 복합체(몰비 1:1)에 대한 용해성을 측정하기 위하여 인산염 완충액 pH 6.8, pH 7.4 그리고 증류수에 포접 복합체를 소량씩 가하면서 25°C, 300 rpm으로 교반시키면서 48시간 동안 용해시킨 다음 그 투과도를 평가하기 위하여 파장 850 nm에서 투과도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

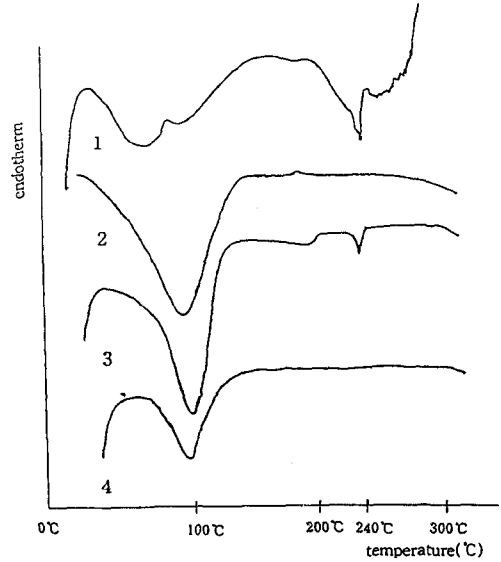
### 적외선 흡수 스펙트럼(IR)에 의한 확인

무스콘과  $\beta$ -CD 단독 물질과 이들의 물리적 혼합물 및 동결건조법을 사용하여 제조한 포접복합체의 적외선 흡수 스펙트럼을 측정한 결과 1700 cm<sup>-1</sup>의 C=O 피크의 변화로부터 포접복합체가 형성되었음을 확인할 수 있었다.

Figure 1은 무스콘,  $\beta$ -CD 단독, muscone과  $\beta$ -CD의 물리적 혼합물 및 포접복합체의 IR 스펙트럼을 나타낸 것이다. 이들 흡수 스펙트럼을 비교해 보면 무스콘에 존재하는 C=O의 1700 cm<sup>-1</sup> 피크가 무스콘 단독 및  $\beta$ -CD와의 물리적 혼합물에서는 나타났으나 무스콘- $\beta$ -CD의 포접복합체에는 나타나지 않았다. 이와 같은 확인 방법은 HATAKANA, K. F. Nelson에 의



**Figure 1**—IR absorption spectra of muscone- $\beta$ -CD inclusion complex. key: 1. muscone alone, 2. physical mixture of  $\beta$ -CD and muscone, 3. freeze-dried muscone- $\beta$ -CD inclusion complex



**Figure 2**—DSC thermograms of muscone,  $\beta$ -CD and their physical mixture and inclusion complex. key: 1. muscone alone, 2.  $\beta$ -CD alone, 3. Physical mixture of  $\beta$ -CD with muscone, 4. Freeze-dried muscone- $\beta$ -CD Inclusion complex

한 발표에서 IR 피크가 사라졌다는 보고와 일치함을 알 수 있었다. 따라서 포접복합체가 형성됨을 알 수 있었으며 무스콘에 존재하는 C=O기가 있는 부분이  $\beta$ -CD의 공동속으로 포접되어 복합체를 형성하는 것으로 추정할 수 있었다.

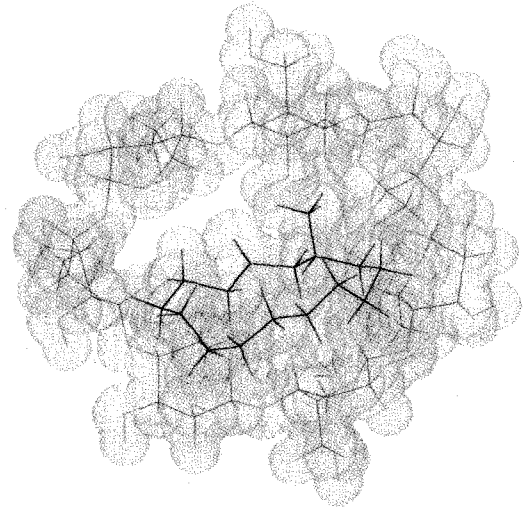
**시차 주사 열량 분석(DSC)에 의한 확인**

Figure 2는 무스콘과  $\beta$ -CD 단독, 이들의 물리적 혼합물 그리고 제조한 포접복합체의 DSC 분석 결과를 나타낸 것으로서 무스콘은 240°C에서 흡열 피크가 나타나는 반면 무스콘- $\beta$ -CD 포접 복합체에서는 이 피크가 사라졌으며 무스콘과  $\beta$ -CD의 물리적 혼합물에서는 동일한 온도에서 무스콘의 흡열 피크가 나타났다. 이로 보아 무스콘이  $\beta$ -CD와 포접 복합체를 형성함을 확인할 수 있었다.

Muscone- $\beta$ -CD 포접 복합체의 DSC 커브가  $\beta$ -CD의 DSC 커브와 유사한 양상으로 바뀌어진 것을 볼 수 있으며 이는 포접 복합체에서는 muscone이  $\beta$ -CD내로 포접되어 muscone단독에서 나타나는 흡열 피크가 사라졌다고 할 수 있었다.

**포접복합체의 분자 모델링에 의한 평가**

무스콘과  $\beta$ -CD의 포접복합체의 상호작용과 포접복합체의 분자 구조를 살피기 위하여 Hypercube사의



**Figure 3**—Relative position of muscone and  $\beta$ -CD analysed by Hyperchem molecular modelling program (side view). key-left: muscone, right:  $\beta$ -CD, black: carbon, red: oxygen, green: hydrogen

Hyperchem 프로그램을 사용하여 시뮬레이션을 평가하여 Figure 3과 같은 결과를 얻었다. Figure 3과 Figure 4에 의하면  $\beta$ -CD의 공동으로 무스콘에 존재하는 C=O기가 인접하여 있고 메틸기는 약간 바깥쪽으로 나와 있음을 알 수 있었다. 이는 IR 스펙트럼에서도 확인한 바와 같은 결과를 나타낸다고 볼 수 있었다.

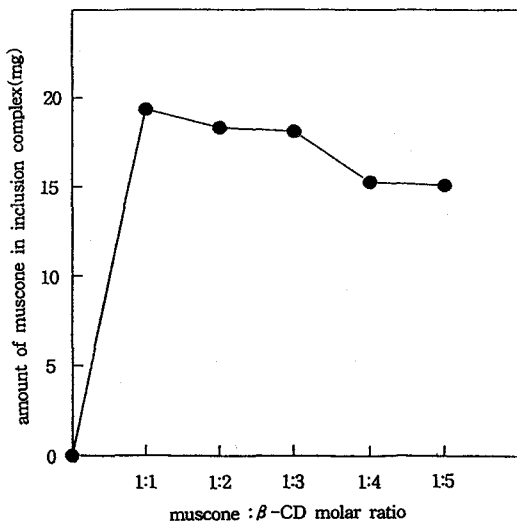


**Figure 4**—Relative spatial position of muscone and  $\beta$ -CD analysed by Hyperchem molecular modelling program. key - in : muscone, out :  $\beta$ -CD

즉 IR 스펙트럼에서는 물리적 혼합물의 C=O기가 강력한 흡수대를 나타내고 있는 반면 포접화합물에서는 이 흡수대가 변화됨을 확인할 수 있었다. 그러나 Figure 3의 시뮬레이션 결과에서는 수소결합의 존재가 보이지 않음으로 미뤄 수소결합보다는 주로 소수성 상호작용에 의해 포접이 이루어진 것으로 생각된다.

**포접 복합체중 무스콘의 정량 및 포접 비율 결정**

가스크로마토그래피를 사용하여 포접복합체 중에 존재하는 무스콘의 양을 정량한 결과를 Figure 5에 나타



**Figure 5**—Amount of muscone incorporated in the muscone- $\beta$ -CD inclusion complex.

내었다. 무스콘과  $\beta$ -CD의 비율이 몰비로서 1:1일 때 포접된 무스콘의 양이 96.83%로 가장 많으며  $\beta$ -CD의 양이 증가하여 몰비로 1:2 이상이 되면 오히려 포접된 muscone의 양이 감소함을 보임으로서 Higuchi의 용해도 상도에서 B형 상도를 나타내는 것으로 관찰되었다. 그러므로  $\beta$ -CD를 사용하여 무스콘의 포접복합체를 제조할 경우 guest가 되는 약물과 host인 포접 물질의 적절한 비율은 몰비로서 1:1이라고 추정된다.

**투과도 측정**

무스콘과  $\beta$ -CD 포접 복합체(몰비 1:1)의 용해도 정도를 평가하기 위하여 850 nm에서 투과도를 측정한 결과 각각의 용액에 대한 투과도는 인산염 완충액 pH 6.8에서는 98.68%, pH 7.4에서는 97.45%이며 증류수에서는 97.75%로서 약 98%의 투과도를 나타내었으며 이 때의 각각의 용액의 muscone 함량을 GC로 측정한 결과 pH 6.8용액은 muscone의 함량이 0.23 mg/ml, pH 7.4용액은 0.16 mg/ml이고 증류수 용액은 0.15 mg/ml로서 pH 6.8인산염 완충액에서 용해도가 가장 높았으며 이 농도보다 높았을 때는 투과도가 급격히 떨어졌다.

**결 론**

동결건조법을 이용하여 무스콘과  $\beta$ -CD의 포접 복합체를 제조한 후 IR 스펙트럼 및 DSC를 측정하여 포접복합체를 형성함을 확인할 수 있었으며  $\beta$ -CD를 사용하여 무스콘의 포접복합체의 형성은 용해도 상도에서 B형 상도를 나타내었으며 알맞은 몰비는 무스콘 :  $\beta$ -CD가 약 1:1이었다. 시뮬레이션 프로그램과 IR 스펙트럼의 결과를 종합하여 고려할 때  $\beta$ -CD와 무스콘의 포접은 주로 소수성 상호작용에 의해 이루어지는 것으로 사료된다.

따라서 기름상인 무스콘을  $\beta$ -CD의 포접 복합체를 제조하므로써 분체화를 이룰 수 있었고 물에 대한 용해도를 상승시키므로서 사향 대체 물질로서의 제제화에 그 이용성이 클 것으로 사료된다.

**감사의 말씀**

본 연구는 조선무약의 연구 영역의 협조로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

**문 헌**

- 1) Journal medical & pharmaceutic society for

- WAKAN-WAKU, **1**, 218~221 (1984).
- 2) W. Saenger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, 344 (1980).
  - 3) S. Li and W.C. Purdy, Cyclodextrins and their applications in analytical chemistry., *Chem. Rev.*, **92**(6), 1457~1470 (1992).
  - 4) J.Szejtli, Cyclodextrins in drug formulations: part I., *Pharm. Technol.*, 36~44 (1991).
  - 5) Gee-Bae Park, Improvement of solubility and Dissolution of ketoconazole by inclusion with cyclodextrin, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **24**(2), 85~94 (1994).
  - 6) K. Uekama, K. Arimori, A.sakai, K. Masaki, T. Irie and M. Otagiri, Improvement in percutaneous absorption of prednisolone by  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrin complexations. *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 2910 (1987).
  - 7) S. A. Goldblith, L. Rey, and W. W. Rothmayr: Freeze Drying and Advanced Food Technology, Academic Press (1975).
  - 8) Y. Takahashi, T. Tsukuda, C. Izumi, K. Ikemoto, K. Kokubun, N. Yagi, and M. Takada, Preparation of solid dispersion systems of di-sopyramide with polyvinylpyrrolidone and  $\gamma$ -cyclodextrin. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**(7), 2708~2710 (1988).
  - 9) M. Guyt, F. Fawaz, J. Bildet, F. Bonini and A. Lagueny, Physicochemical characterization and dissolution of norfloxacin/cyclodextrin inclusion compounds and PEG solid dispersions. *Int. J. Pharm.*, **123**, 53~63 (1995).
  - 10) Hisakatsu Hatanaka, Fusao Komada, Mutaka Mishima and Katsuhiko Okumura, Improved bioavailability of para-boronophenylalanine by cyclodextrin complexation. *Jour. Pharm. Sci.*, **82**(9~12) 1054~1057 (1993).
  - 11) S. Chondhury and K. F. Nelson, Improvement of oral bioavailability of carbamazepine by inclusion in 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* **85**(1), 175~182 (1992).