

니코틴 패취제로부터 니코틴의 피부투과를 반영하는 방출시험법의 설정

이수정 · 김재근 · 윤미옥 · 김호정 · 심창구* · 제금련†

식품의약품안전청 의약품평가부, *서울대학교 약학대학

(1999년 11월 9일 접수)

Establishment of a Release Test Reflecting *in vitro* Skin Permeation of Nicotine from Commercial Patches

Su Jung Lee, Jae Keun Kim, Mi Ok Yun, Ho Jeong Kim, Chang Koo Shim* and Keum Ryon Ze†

Department of Drug Evaluation, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received November 9, 1999)

ABSTRACT—Various release test methods have been applied for the evaluation of nicotine release *in vitro* from commercial patches. However, whether and how the release data reflect the permeation of nicotine across the skin, is not fully elucidated. To predict *in vivo* bioavailability from *in vitro* release tests, correlation between *in vitro* release and *in vitro* skin permeation was assessed in the present study. Release of nicotine from three commercial patches was measured for 24 hours under nine experimental conditions which were classified depending on the apparatus (i.e., paddle over disk, cylinder and reciprocating holder) and dissolution media (i.e., phosphate buffer pH 7.4, water and the 1% phosphoric acid pH 1.5). *In vitro* permeation of nicotine from the patches across the human cadaver skin was also measured using a diffusion cell. The release of nicotine was better explained by the Higuchi's equation rather than by the first order rate equation. Correlation between the release rate and the *in vitro* skin permeation differed among the patches. However, in general, the cylinder method, in which water is used as a dissolution medium, showed the highest correlation among the nine release test conditions.

Keywords—Nicotine, Release test, *In vitro* skin permeation, Patches

신제형 신약은 신물질 신약에 비해 연구기간과 개발비가 비교적 적게 들기 때문에 많은 국내 제약 기업의 관심을 모으고 있다. 그러나 이러한 높은 관심에도 불구하고 국내에서는 아직 용어에 대한 정의나 품질관리 방법이 제대로 설정되어 있지 않는 실정이다. 본 연구에서는 신제형 신약에 관한 품질관리 방법을 수립해 나가는 연구의 일환으로, 우선 비교적 널리 사용되고 있는 경피흡수용 패취제에 대한 방출시험을 통한 품질관리 방법을 설정하고자 하였다.

패취제는 USP의 'Transdermal System'의 일종으로, 지속적으로 방출된 약물이 피부를 통하여 흡수되어 전신작용을 나타내는 것을 특징으로 한다. 따라서 패취제의 가장 중심이 되는 품질관리 시험법은 방출시험이라 할 수 있다. 현재 패취제의 방출시험법에 대하여 규격화된 시험법은 없으며 패취제 개발사에 따라 시험장치, 시험조건 등이 다르게 설정되어 있어 시험결과 상호간을 비교하기 어려운 경우가 많았다. 다만 USP에서는 Transdermal System에 대한 방출시험

법으로 Paddle Over Disk법(이하 POD), Cylinder법, Reciprocating Holder법 등을 정하고 있다.^{1,2)} Shah 등³⁻⁵⁾은 USP의 POD법, FDA에서 고안한 Paddle법 (FDA패들법) 및 각 회사에서 개발한 시험법을 시판 nitroglycerin 패취에 대해 적용한 결과, 개발사의 방출시험법은 다른 회사의 제품에 적용할 수 없는 경우가 있었으나, USP의 POD법이나 FDA의 패들법은 패취제의 모양, 크기, 방출액의 양등에 상관없이 여러 회사제품에 간편하게 적용시킬 수 있었으며 방출시험결과에도 재현성이 있었다.

패취제에 대한 방출시험의 또 하나의 목적은 패취제를 적용한 생체에서의 약물흡수 양상 또는 제제간의 생물학적 동등성을 추정하는 것이나 USP의 방출시험법은 제품간 (batch-to-batch)의 품질의 균질성을 평가하기 위한 것이다. 품질관리를 위한 방출시험법이 *in vivo*에서의 동태에 상관없이 정해지는 시점에서 *in vivo* 피부 투과에 가장 접근할 수 있는 방출시험법을 확립하기 위한 전 단계로 본 연구에서는 *in vitro* 실험계에서의 피부투과시험방법과 품질의 균질성을 평가하는 방출시험법의 상관성을 조사하였다. 이러한 목적으로 우선 국내 시판 종류가 많은 니코틴 패취 3종에 대하여 USP

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : (02)380-1716, E-mail : keumryon@kfda.go.kr

의 POD법, Cylinder법 및 Reciprocating Holder법에 따라 니코틴의 방출특성을 조사하였다. 다음으로 이 패취로부터의 니코틴의 피부투과 특성을 *in vitro* 확산셀법을 이용하여 측정하는 다음, 방출시험 결과와 피부 투과 실험 결과와의 상관성을 조사함으로써 피부투과를 반영하는 방출 시험법의 존재 가능성을 검토하고자 하였다. 나아가 이 결과를 바탕으로 각기 제조사마다 다르게 설정되어 관리되고 있는 니코틴 패취의 일반화된 방출시험법을 설정하고 방출시험법 설정의 모델을 제시하며, 패취제 개발시 방출시험법 설정 및 평가에 관한 기초 자료를 제시코자 하였다.

실험방법

재료 및 시약

니코틴 함유 패취제로는 니코덤 21 (Marion Merrell Inc., Dow, U.S.A., 니코틴 114 mg/1매, 22.0875 cm², 이하 시판품 A), 니코틴엘 TTS30 (Ciba-Gigy Ltd., Switzerland, 니코틴 52.5 mg/1매, 30 cm², 이하 시판품 B) 및 니코스탑20(삼양사, 니코틴 38 mg/1매, 21.7875 cm², 이하 시판품 C)를 구입하여 시료로 하였다. 피부 투과 시험을 할 피부로는 Human cadaver skin (Ohio valley skin & tissue center, Cincinnati, Ohio, U.S.A.)을 사용하였다. 기타 시약은 특급 또는 일급을 사용하였다.

기기

용출시험장치로는 Dissolution Test Station (Dissoette II SR-6, Hanson Reserch, Chatsworth CA., U.S.A.), Franze Cell (Ø9.9 mm, 4.5 ml), Reciprocating Release Rate Tester (Alza Index Release Rate Tester, Brinkmann Ins., Westburg, NY, USA)를, 피부투과시험 장치로는 Franze Cell (Ø9.9 mm, 4.5 ml)이 붙어 있는 Diffusion Tester (Microette, Hanson Reserch, Chatsworth, CA., U.S.A.)를 사용하였다. 방출액 및 피부투과액 중의 니코틴은 Waters의 HPLC 시스템 (510 pump, 717 plus Autosampler, 486 Tunable Absorbance Detector, 746 Data module, Milipore Co., Milford, MA., U.S.A.)을 사용하여 정량하였다.

패취제로부터 니코틴의 방출시험

시판 중인 3종 니코틴 패취의 현재 품질관리를 위한 방출 시험법에 사용하고 있는 3 종류의 시험장치와 3 종류의 방출액을 자기 조합하여 9가지 조건시험하였다. USP의 Paddle Over Disc (이하 POD), Cylinder (이하 CD) 및 Reciprocating Holder (이하 RH)를 시험장치로 하고, 32°C의 인산

염 완충액 (pH 7.4), 물, 1% 인산염 (pH 1.5)을 방출액으로 하여 3가지 패취제의 방출 특성을 측정하였다. 시험개시 1, 2, 4, 6, 12, 18, 24시간에 방출액 3 mL씩을 취하여 방출액 중 니코틴의 농도를 정량하였다.

In vitro 피부투과시험

Kligman등⁶⁾의 방법에 따라 냉동된 human cadaver skin을 실온에서 해동하고 60°C 수욕에 60~120초간 담그고 부드러운 핀셋으로 stratum corneum층을 취하여 투과막으로 하였다. 시판 패취제를 지름 9.9 mm로 원형 절단하여 stratum corneum 바깥면에 접착면을 부착하였다. Franze Cell을 시험장치로, 인산염 완충액(pH 7.4)용액을 시험액으로 하여 32°C에서 투과시험을 하였으며 유효투과면적은 3.07 cm²이었다. 1, 2, 4, 6, 12, 18, 24시간에 1 mL씩을 취하여 검액으로 하여 방출시험과 같은 방법으로 HPLC로 정량하고 피부투과량을 구하였다. 시험액을 취한 다음에는 즉시 1 mL의 신선한 인산염 완충액으로 보충하여 주었다.

방출액 및 피부투과액 중 니코틴의 정량

이⁷⁾의 방법에 따라 방출액 또는 피부투과액 중의 니코틴 농도를 HPLC로 분석하였다. 이 때 사용한 HPLC의 분석조건을 요약하면 다음과 같다. 컬럼으로는 μ -Bondapak C18 (10 μ m, 300×3.9 mm)을, 컬럼 온도는 실온을, 이동상으로는 아세트니트릴·메탄올·pH 7.4 완충액 (30:30:40)을, 이동상의 유속은 1.0 mL/min을, 감도는 0.01 auFS를, 검출 파장은 UV 260 nm을 선정하였다.

결과 및 고찰

방출시험장치 및 방출용매에 따른 방출양상 비교

시판 니코틴 패취제 3종은 모두 매트릭스 형태의 패취제로 각각 3가지 장치와 3가지 시험액의 방출시험법에 따라 방출시험한 결과 시판품 A는 시험법 및 방출액의 종류에 관계없이 비슷한 방출양상을 나타내었다 (Figure 1). 시판품 B는 인산염 완충액(pH 7.4)에서 시험장치에 따라 다른 방출양상을 나타내었으며 (Figure 2), 시판품 C는 인산염완충액 (pH 7.4) 및 1% 인산염(pH 1.5)에서 시험장치에 따라 다른 방출양상을 나타내었다 (Figure 3).

고분자 매트릭스로부터의 약물방출 양식은 아래의 Higuchi 식^{8,9)}과 같이 표시할 수 있었다.

$$Q = K_1 \sqrt{t} \quad (1)$$

여기서 Q는 t 시간 경과 후 고분자매트릭스 단위면적당

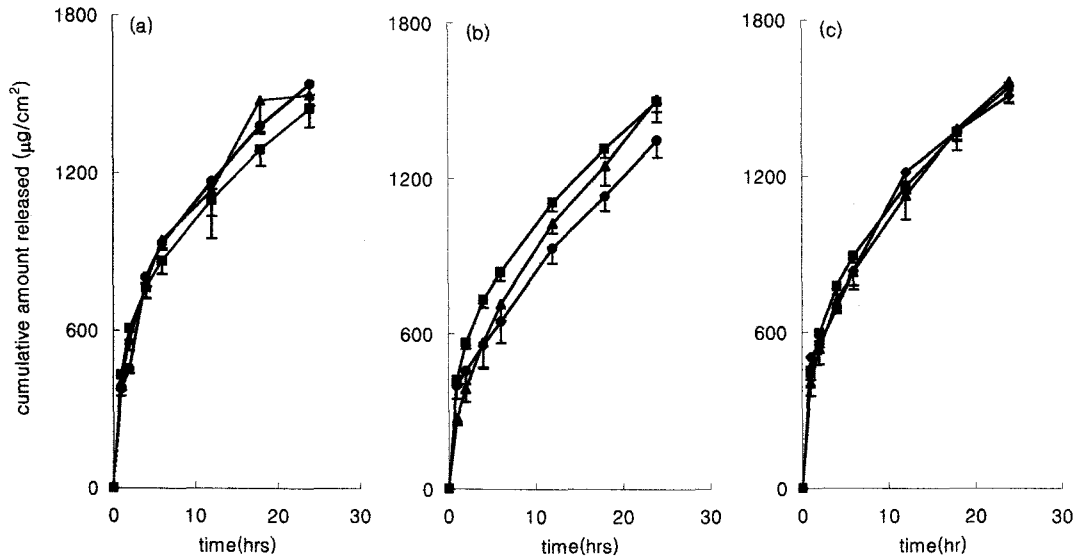


Figure 1—Release profiles of nicotine from A patch to dissolution media containing (a) phosphate buffer(pH 7.4), (b) water and (c) 1% phosphoric acid(pH 1.5). key : ●; POD, ■; Reciprocating, ▲; Cylinder.

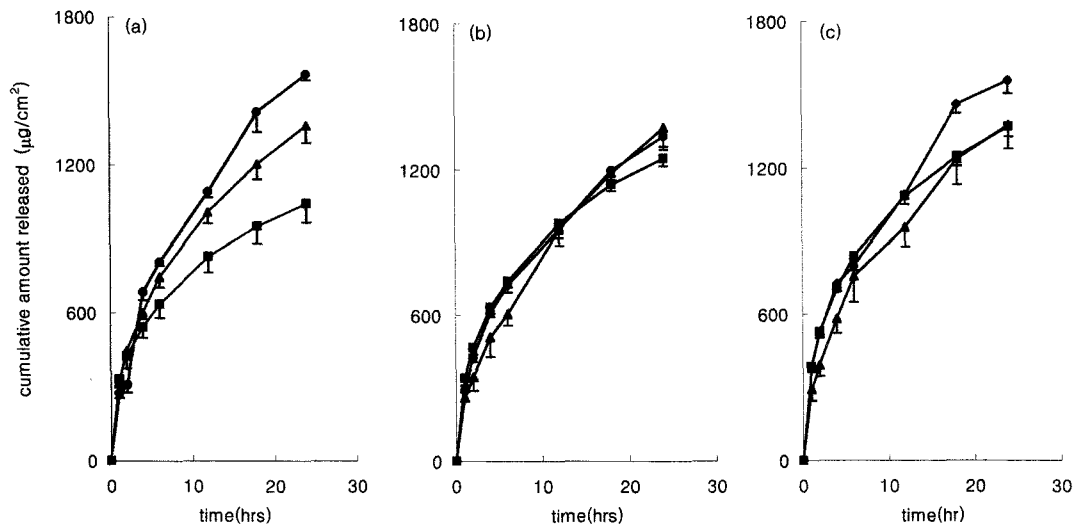


Figure 2—Release profiles of nicotine from B patch to dissolution media containing (a) phosphate buffer(pH 7.4), (b) water and (c) 1% phosphoric acid(pH 1.5). key : ●; POD, ■; Reciprocating, ▲; Cylinder.

방출된 약물의 총량을 말하며 K_1 은 겉보기방출속도정수이다.

시간의 제곱근에 대한 약물방출량을 linear regression하여 구한 속도정수를 Table I에 나타내었다. 니코틴 패취 3종의 약물방출패턴은 9가지의 방출시험법에서 Higuchi 모델에 잘 적용되었다.

피부투과도 시험

경피흡수는 확산을 기초로 하는 현상이므로 확산모델에 기초하여 피부투과를 해석하였다. 피부투과시험 결과 Fig. 4에서 보는 것처럼 시간 니코틴 패취제 A, B 및 C는 모두

확산모델에 잘 적용되었고, 투과속도 J 를 다음의 식 (2)에서 구하였을 때 각각 28.3, 14.1, 12.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ 이었다.

$$J = \frac{dQ}{A \cdot dt} \tag{2}$$

여기서 A 는 유효투과면적 t 는 시간, Q 는 receptor에서의 약물투과량을 각각 의미한다.

방출량과 피부투과량의 상관성

피부투과는 Fick의 확산식에 따르는 것으로, 또 방출은

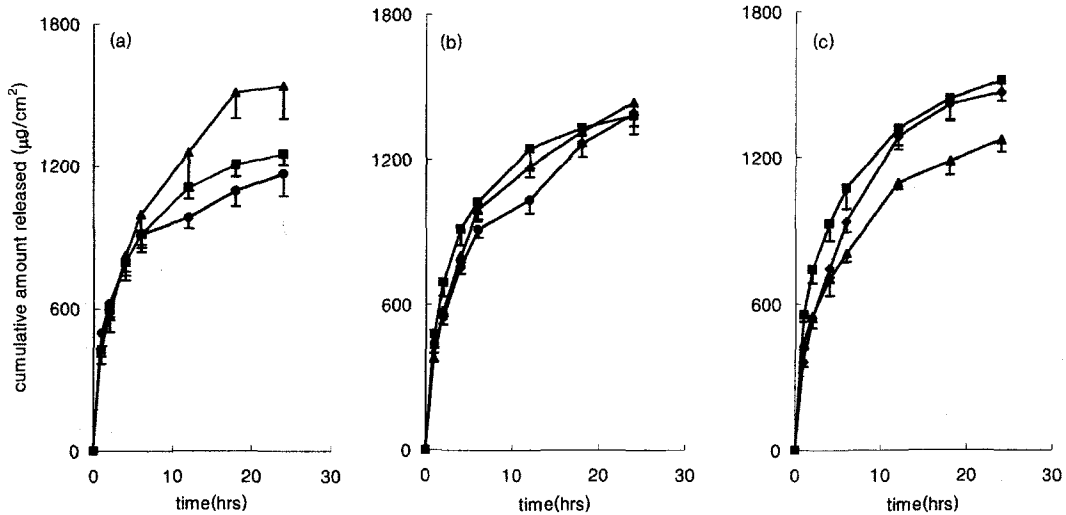


Figure 3—Release profiles of nicotine from C patch to dissolution media containing (a) phosphate buffer(pH 7.4), (b) water and (c) 1% phosphoric acid(pH 1.5). key : ●; POD, ■; Reciprocating, ▲; Cylinder.

Table I—Release Rate Constants of Nicotine from Nicotine Patches A, B and C^a and Correlation Coefficient between the Release Rate and In vitro Skin Permeation Rate of Nicotine for Each Patch and Experimental Condition

Method (medium-apparatus)	sample A		sample B		sample C	
	K ₁ (µg/cm ² · hr ^{1/2})	r ²	K ₁ (µg/cm ² · hr ^{1/2})	r ²	K ₁ (µg/cm ² · hr ^{1/2})	r ²
pH 7.4-POD 1)	314.76	0.9959	334.83	0.9468	214.36	0.8797
pH 7.4- RH 2)	279.76	0.9943	205.12	0.9237	247.79	0.9040
pH 7.4- CD 1)	310.06	0.9739	276.63	0.9545*	320.15	0.9699
water-POD	258.36	0.9830	272.88	0.9524	268.79	0.9755*
water- RH	292.73	0.9972	250.86	0.9271	271.37	0.8832
water- CD	306.63	0.9879	284.55	0.9637	288.65	0.9472
pH 1.5-POD	299.96	0.9873	317.76	0.9216	312.14	0.9419
pH 1.5- RH	301.33	0.9972*	273.60	0.9247	293.82	0.9182
pH 1.5- CD	310.03	0.9963	283.39	0.9515	251.19	0.9389

The correlation coefficient r for each formulation and experimental condition was obtained from the relationship between cumulative amount of nicotine released (Q₁²) at each sampling time (i.e., 1, 2, 4, 6, 12, 18 and 24 hr) and square of the cumulative amount permeated across the skin *in vitro* (Q₂) at each specified time point.

^a Release amounts of nicotine from nicotine patches (A, B, C) under the nine experimental conditions (Table I) were fitted to Higuchi equation.

* Indicates results obtained from the release test methods that have been approved by Korean Food and Drug Administration (KFDA) for specified patches (i.e., III-2 method for A patch, I-3 method for B patch and II-1 method for C patch).

1) Dissolution Test Station, 50 rpm, dissolution medium of 900 mL.

2) Alza Index Release Rate Tester, 30 cycle/min, amplitude 2 cm, dissolution medium of 250 mL.

Higuchi식에 따르는 것으로 나타났으므로, 각 시간 (1, 2, 4, 6, 12, 18 및 24 시간)에서의 누적 피부투과량을 횡축에, 동일 시간에서의 누적방출량의 제곱을 종축에 플롯하여 보았다. 총 7점을 직선식에 fitting하여 상관계수를 구하여 본 결과 (Table I) 시판품 A는 방출용매 (인산 완충액 pH 7.4, 물, 1% 인산 pH 1.5)와 장치 (POD, CD, RH)에 관계없이 모든 시험법에서 대체로 높은 상관성을 보였고, 시판품 B는 모든 방출용매에 대하여 CD법이, 시판품 C는 일률적이지 않았으나 특이하게 물을 이용한 POD법이 가장 높은 상관성

을 보였다. 각 시판품에 대하여 허가된 시험법 (Table I에서 *표시한 방법이 그 제품에 대하여 식약청의 허가를 받은 방법임)은 모두 높은 상관성을 보였다. 그러나 3종류의 패취제에 대하여 모든 조건에서 많은 차이를 보이지는 않아 USP에 수재된 방법이 잘 적용될 수 있음을 알 수 있었다.

피부투과계수 K' 와 방출속도정수 K₁ 간의 상관성

시판 패취제의 종류에 따라 *in vitro* 피부투과속도와 가장 상관성이 높은 방출용매와 방출장치가 다르다는 사실은 품

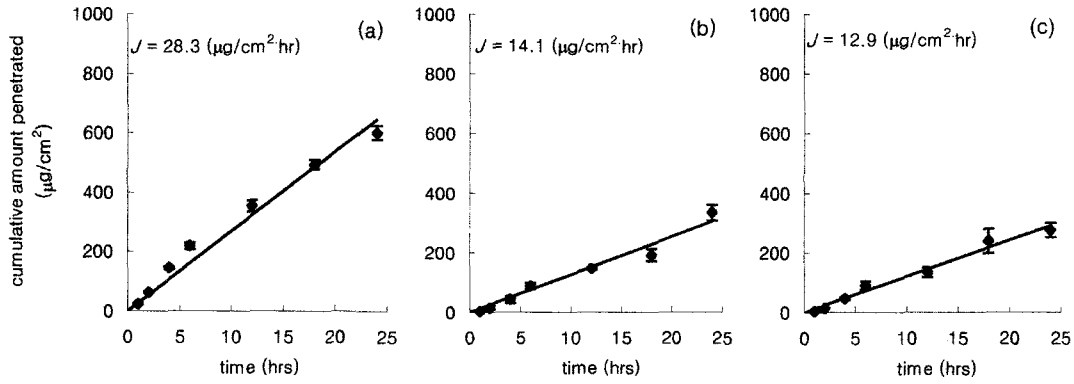


Figure 4—Temporal skin permeation of nicotine *in vitro* from (a) A, (b) B and (c) C patches.

Table II—Correlation Coefficients between the Higuchi's Release Rate Constants (K') from Three Nicotine Patches and *In vitro* Skin Permeation Rate Constants (K_1) from the Patches for Each Release Test Condition

Method(medium-apparatus)	r^2	Method(medium-apparatus)	r^2	Method(medium-apparatus)	r^2
pH 7.4-POD	0.1837	pH 7.4- RH	0.6029	pH 7.4- CD	0.0497
water- POD	0.8811	water - RH	0.6929	water- CD	0.9384
pH 1.5-POD	0.8559	pH 1.5 - RH	0.4279	pH 1.5- CD	0.7679

질관리를 목적으로 하는 방출시험법을 잘 선택하지 않으면 안 된다는 것을 의미한다. 따라서 패취제로부터 니코틴의 *in vitro* 피부투과성을 일반적으로 잘 나타낼 수 있는 방출시험 조건 (용매, 장치)을 결정하여 규격화 할 수 있는지 검토할 필요가 있다. 이를 위하여 본 시험에 사용된 3가지 시판 패취제 전체에 대하여 패취제 별로 피부투과 속도정수와 Higuchi식에서 구한 방출속도정수와 상관계수 r 을 써서 r^2 을 구하여 비교하였다 (Table II).

Table II로부터 물을 방출액으로 한 Cylinder법이 3종의 패취제 전체를 대상으로 할 때 *in vitro* 피부투과속도와 상관성이 가장 높았다. 다만 본 연구에서의 결론은 현재 국내 시판 중인 3가지 패취제에 대한 시험으로부터 얻은 것으로 이 시험조건 (물, Cylinder법)을 앞으로 개발될 모든 니코틴 패취제에 대해 적용할 수 있을 지에 대해서는 *in vivo* 실험과 더 많은 제제에 대한 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다.

결 론

국내 시판 중인 3종의 니코틴 패취의 방출시험 및 피부투과시험을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 3종의 시판 니코틴 패취제로부터 니코틴이 방출되는 기구는 Higuchi 모델에 잘 적용되었다.
2. 3종의 시판 니코틴 패취제로부터 니코틴이 피부 투과는 Fick의 확산식에 잘 적용되었다.

3. 피부투과량과 방출량의 상관성에서 시판품 A는 모든 조건에서 높은 상관성을 나타내었다. 시판품 B는 대체로 높은 상관성을 나타냈으며, 특히 Cylinder법에서 방출액에 관계없이 높은 상관성을 나타내었다. 시판품 C는 물을 방출용액, POD법에서 가장 상관성이 높았다. 그러나 모든 시험조건에서 많은 차이를 보이지는 않아 니코틴 패취에서 USP 방출시험법이 잘 적용되었다.

4. 패취제의 종류에 관계없이 *in vitro* 피부투과성과 가장 상관성이 높은 일반적인 방출시험 조건을 찾고자 검토한 결과, 물을 방출액으로 Cylinder법으로 하였을 때 가장 높은 상관성을 보임을 알았다.

5. 앞으로 니코틴 뿐만 아니라 다양한 약물을 함유한 패취제의 품질을 평가 또는 확보하기 위해서는, *in vitro* 피부투과 나아가 *in vivo*에서의 피부투과성을 가장 잘 반영해 주는 방출시험 조건을 확립할 필요가 있다고 생각된다.

문 헌

- 1) The United States Pharmacopeial Convention Inc., *USP 24th ed.*, pp. 1947 (1999).
- 2) The United States Pharmacopeial Convention Inc., *USP 24th ed.* pp. 3471-3474 (1996).
- 3) V.P. Shah, L.J. Lesko and L. Williams, *In vitro* evaluation of transdermal Drug Delivery, *Eur.J.Pharm. Biopharm*, 41, 163-167(1995).
- 4) V.P. Shah, N.W. Tymes, L.A. Yamatomo and J.P. Skelly, *In vitro* dissolution profiles of transdermal nitroglycerin patches

- using paddle method, *Int. J. Pharm.*, 32, 243-250 (1986).
- 5) V.P. Shah, N.W. Tymes and J.P. Skelly, Comparative *in vitro* release profiles of marketed nitroglycerin patches by different dissolution methods, *J. Controlled Release*, 7, 79-86 (1988).
- 6) A.M. Kligman and E. Christophers, Preparation of Isolated Sheets of Human Stratum Corneum, *Archives of Dermatology*, 88, 702-705 (1963).
- 7) 이우영, 니코틴패취의 제제설계 및 생물약제학적연구, 성균관대학교 박사학위청구논문 (1994).
- 8) T. Higuchi, Rate of Release of Medicaments from Ointment Bases containing Drugs in suspension, *J. Pharm. Sci.*, 50, 874-875 (1961).
- 9) T. Higuchi, Mechanism of Sustained-Action Medication-Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices, *J. Pharm. Sci.*, 52, 1145-1149 (1963).