

Donepezil을 함유하는 하이드로겔의 흡수에 미치는 초음파의 영향

김해빈, 권혜진, 김예진, 성지예, 송승은, 김영일*

*건양대학교 제약생명공학과

Preparation and evaluation of Donepezil hydrogel using ultrasound

Hye-Jin Kwon, Hae-Bin Kim, Ye-Jin Kim, Ji-Ye Seong,

Seung-Eun Song, Young-Il Kim*

*Dept. of Pharmaceutics, Konyang University

요약

도네페질은 다른 콜린에스테라제 억제제 중 상대적으로 부작용이 적어 일차 선택 약물로 많이 사용되며 이는 아세틸콜린의 분해를 억제함으로써 신경연접 내의 아세틸콜린 농도를 증가시켜 인지 기능의 향상을 유도한다. 하이드로겔은 생체 적응력이 우수하며, 약물 송달체로서의 활용성과 환자의 순응도를 높일 수 있다. 본 연구에서는 도네페질을 함유한 하이드로겔을 제조하고 이를 초음파를 이용해 피부 투과도를 확인하여 알츠하이머성 치매 치료에 최적화된 hydrogel을 제공하려 한다. 처방 A~L을 제조하여 점도, 겔화율 팽윤도를 측정하고 초음파 및 피부투과와 함량 평가를 진행하였다. 연구 결과 도네페질을 함유한 하이드로겔은 치매 환자가 이용할 치료제의 폭을 넓힐 수 있으며 기존 치매 치료제의 단점을 보완하고, 이물감이 적으며 투여가 쉬워 환자의 순응도를 높여 알츠하이머성 치매 치료에 보다 효과적인 것이라고 예상된다.

1. 서론

도네페질(Donepezil, C₂₄H₂₉N₃O₃)은 다른 콜린에스테라제 억제제보다 상대적으로 부작용이 적어 치매증상의 일차 선택 약물로서 주로 경등도에서 중등도의 알츠하이머성 치매 치료 및 혈관성 치매 증상의 개선을 위해 사용한다. 도네페질은 콜린에스테라제(AChE)의 활성을 억제하여 아세틸콜린의 분해를 억제함으로써 신경연접 내의 아세틸콜린 농도를 증가시킬 수 있고, 이로써 인지 기능의 향상을 유도한다.

도네페질 염산염의 초기 권장 용량은 5mg이며, 경구투여 시 위장관에서 흡수되고, 복용 후 3~4시간 후에 최대 혈중농도에 이르며 생체이용률은 거의 100%이다.

도네페질의 제형으로는 흔히 정제를 사용하며 이 외에도 구강붕해정, 패취제 등의 형태로 개발되고 있다. 하지만 정제는 정해진 시간에 복용해야 하며, 위에서 잘 녹지 않아 소화기 장애, 간 기능 장애 등 부작용을 일으키게 된다. 또한 구강에 적용되는 제형은 타액과 열구액에 의해 제형이 용해되고 희석되어 치료 효과가 지속되기 어려우며 패취제의 경우 장시간 부착할 시 피부발진이나 가려움 등의 부작용을 나타낸다.

따라서 본 연구에서 경구투여로 인한 부작용과 패취제의 이물감을 보완해 주며 지속적인 약물 전달이 가능한 제형인 하이드로겔(hydrogel)을 선택했다.

더 나아가 하이드로겔제의 흡수율을 높이는 초음파를 사용하여 피부 투과 정도를 알아보고 최적의 처방을 찾고자 하였다. 따라서 초음파를 이용하여 각질층의 지질 구조를 분해시켜 약물을 주입하는 방식을 선택해 직접 피부에 투과한 방법과 대조하여 실험을 진행하였다.

본 연구에서는 도네페질을 함유한 하이드로겔을 제조하여 약물을 빠르게 흡수시켜 활동에 지장을 주지 않으며, 위장관 부작용을 감소시켰다. 또한 어느 부위의 피부에도 복약이 용이해 치매 환자가 이용할 치료제의 폭을 넓힐 수 있다고 기대한다.

2. 기기 및 시약

2.1 기기

본 실험에 사용되는 기기는 호모게나이저(DIAX900, Wisd laboratory instruments), 점도 측정기(brookfield), UV/Vis Spectrophotometer(WATERS, WAT

ERS 2489,JAPAN), 피부투과기(LOGAN INSTRUMENTS CORP), HPLC(waters alliance 2695)를 사용하였다.

2.2 시약

위 연구를 위하여 Donepezil(NEULAND), NMP(DAEJUNG), Glycerol(SIGMA), Carbomer 980(DAIN), Metolose((DAEJUNG), Transcutol(SAMCHUN), Tween #20(SAMCHUN), Tween #80(SAMCHUN) 시약을 사용하였다.

3. 실험방법

3.1 겔의 제조

주성분인 Donepezil의 함량이 0.3(w/w%)가 되도록 순서대로 제조하였다. 먼저 Beaker 1에 에탄올과 점증제인 Carbomer 980과 Metolose을 첨가하여 교반 후 용해시켰다. 여기에 기포 제거를 위한 NM와 보습제인 Glycerin, 용해보조제인 Transcutol을 투입하여 팽윤•용해시켰다.

Beaker 2에는 증류수와 에탄올을 넣어 Donepezil의 맑은 용액을 제조하고 고분자가 팽윤되어 있는 Hydrogel에 투입한 후 증류수를 100ml 표선에 맞췄다. 이후 Homogenizer를 사용하여 1500rpm으로 균질화하여 맑은 겔을 제조하였다. 제조된 겔의 에탄올 함량은 40% (hydroalcoholic gel)가 되도록 각각 제조하였다.

3.2 점도측정

계면활성제로 사용되는 Tween#20, Tween#80, Cremophor를 각각 사용하여 carbomer 980, metolose의 함량을 다르게 한 하이드로겔의 점도 측정은 각각 시

료별로 Viscometer(Brookfield, LV-4)를 이용하였다. Spindle 64을 사용하였고, 1.5rpm으로 2분 동안 시료별 3회씩 측정 한 후 그 평균값을 계산하였다.

3.3 겔화율

가교 반응에 참여하지 않은 고분자를 제거하기 위해 제조된 하이드로겔을 37°C의 물에 48시간 이상 충분히 침지시킨다. 충분히 침지된 하이드로겔을 꺼내어 겔 표면의 물을 닦아낸다. 그리고 건조기에 넣어 50°C에서 48시간 건조하여 무게를 잰다. 이 때의 무게가 가교된 겔의 무게이다. 건조된 겔의 무게를 W_d 로, 처음 사용한 고분자 무게를 W_i 로 나타낸다.

건조된 겔의 무게(W_d)와 처음 사용한 고분자 무게(W_i)로부터 겔화율을 계산하였다.

3.4 팽윤도

팽윤도는 함수율로 나타낼 수 있다. 제조된 하이드로겔을 물에 48시간 이상 충분히 침지시킨다. 충분히 침지된 하이드로겔의 표면을 닦아낸 후 무게를 잰다. 이 때의 무게가 팽윤된 겔의 무게이며, 팽윤된 겔의 무게를 W_s 로, 건조된 겔의 무게를 W_d 로 나타낸다.

팽윤된 겔의 무게(W_s)와 건조된 겔의 무게(W_d)로부터 팽윤도를 계산하였다.

3.5 피부투과실험

Donepezil의 피부투과량을 관찰하기 위하여 VTC-300 Franz Diffusion Cell Drive console(LOGAN, USA) Star-M[®] Membrane Transdermal Diffusion Test Model(vertical type, dia : 25mm, EMD Millipore Corporation, USA)을 사용하였다. tlgador은 NaCl 0.9% 생리식염수를 사용하였다. Star-M[®] Membr

[표 1] Formulation of hydrogel containing Donepezil

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Donepezil	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
NMP	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Glycerol	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Carbomer 980	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5
Metolose	0.2	0.4	0.2	0.4	0.2	0.4	0.2	0.4	0.2	0.4	0.2	0.4
Transcutol	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
Tween#20	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Tween#80	-	-	-	-	1.0	1.0	1.0	1.0	-	-	-	-
Cremophor	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	1.0	1.0	1.0
Water	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.	6+q.s.
EtOH	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40

ance에 겔시료를 도포한 후 Open cap을 덮어 겔시료가 자연건조가 가능하도록 하였다. 그리고 syringe를 이용하여 채취시간마다 1mL씩 취하였다. cell 내부의 온도는 37°C를 유지하도록 하였으며 교반속도는 500rpm으로 하였다. 초음파 피부투과 실험은 초음파기계(Ultrasound Power Amplifier System, DEMS-UA1300, Korea)를 사용하여 주파수는 1.0, 3.0MHz와 각주파수별로 펄스를 Low 50 High 50으로 설정하여 피부투과 양상을 비교하였고 초음파 발생장치의 도자가 open cap에 적용될 수 있도록 별도로 유리기구를 제작하여 실험을 진행하였다.

3.6 HPLC 분석조건

이동상은 perchloric acid: acetonitrile : Water의 1:350:650의 비율로 맞추어 혼합하였다. 그리고 271nm에서 유속 11.1ml/min, column은 C₁₈ 4.6x150mm (5µm)으로 설정했다.

Donepezil 표준품 100.0mg을 정확하게 달아 sonication한 이동상을 넣어 volumetric flask로 100ml(1mg/ml)을 맞춘다. 여기에 희석액을 사용하여 농도 300, 400, 500, 600 및 700µl/ml으로 한 액을 제조한 후 0.45µm membrane filter로 여과한 것을 표준액으로 하였다.

Donepezil 검액으로는 피부투과실험에서 시간에 따라 채취한 midium으로 하였다.

4. 결과 및 고찰

4.1 하이드로겔제의 제조

Donepezil을 함유한 하이드로겔제를 표 1의 처방과 같이 제조하였으며 이물감이나 겔의 경화, 안정성 측면에서 별도의 문제가 나타나지 않는 하이드로겔로서 적합한 성상을 나타내었다.

이후 실험결과에서 좋은 결과를 보인 처방 A, E, F가 비교대상으로 선택되었다.

4.2 점도측정

하이드로겔의 점도 측정 결과는 다음 표 2에 나타내었다.

[표 2] Viscosity for hydrogel containing Donepezil (Means±S.D, n=3)

Preparation	cPs
A	258645±106883
E	176549±114063
F	306500±64964

4.3 겔화율

제조한 하이드로겔의 겔화율을 측정하기 위해 초기 하이드로겔을 각각 2.0g씩 취하여 37°C 증류수에 담기한 후 겔화시킨 뒤 48h 동안 50°C에서 열 건조한 하이드로겔의 무게를 측정하여 겔화율을 계산하여 그 결과를 표 3에 나타내었다.

[표 3] Gel fraction for hydrogel containing Donepezil (Means±S.D, n=3)

Preparation	Gel fraction(%)
A	5.09 ± 3.07
E	5.35 ± 0.54
F	4.24 ± 3.47

4.4 팽윤도

제조한 하이드로겔의 팽윤도를 측정하기 위해 초기 하이드로겔을 각각 2.0g씩 취하여 증류수에 담가 37°C에서 48h 팽윤시키고, 따로 2.0g을 취하여 37°C에서 48h 건조시켜 무게를 잰 후 팽윤도를 계산하여 그 결과를 표 4에 나타내었다.

[표 4] Degree of swelling for hydrogel containing Donepezil (Means±S.D, n=3)

Preparation	Degree of swelling(%)
A	146.19±47.67
E	178.85±26.07
F	371.25±320.71

4.5 함량평가

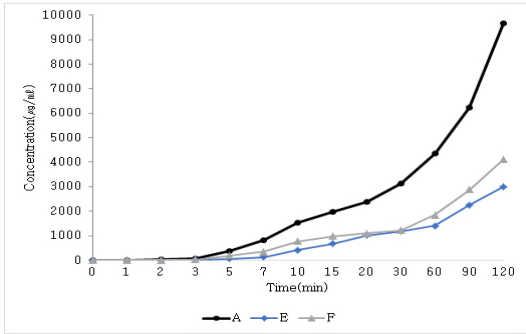
처방에 따라 제조한 하이드로겔제에서 donepezil의 함량을 측정한 결과 Tween #20은 97.2±1.5%, Tween #80은 99.5±0.9%, Cremophore는 96.3±1.1%로 우수한 함량 균일성을 나타냈으며, Tween #80이 제일 높은 함량을 보이고 있다.

[표 5] Content of hydrogel containing Donepezil (Means±S.D, n=3)

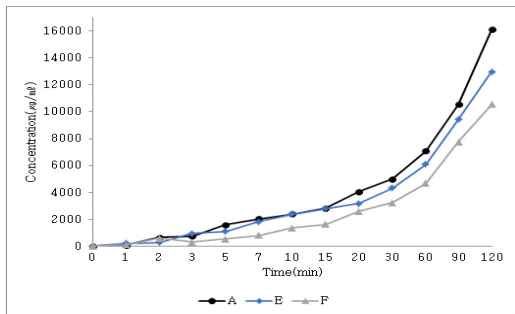
Preparation	Content(%)
A	97.2±1.5
E	99.5±0.9
F	96.3±1.1

4.6 피부투과실험

초음파를 투과했을 때의 피부투과율과 초음파를 투과하지 않았을 때의 피부투과율을 비교하기 위하여 시간을 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20분으로 설정한 후 피부투과 실험을 진행하였고 그 중 초음파를 투과하지 않았을 때 가장 좋은 투과율을 나타낸 처방 A, E, F를 선택하여 결과를 그림 1에 나타내고, 이것들의 초음파를 투과했을 때의 결과를 그림 2에 나타내었다.



[그림 1] Skin permeability of Formulation A, E and F when Ultrasonic waves are not used



[그림 2] Skin permeability of Formulation A, E and F when Ultrasonic waves are used

5. 결 론

본 연구에서 Donepezil을 함유한 Hydrogel을 제조하고 제형 평가 및 계면활성제의 종류, 초음파의 유무에 따른 피부투과율을 비교하여 보다 효과적으로 사용할 수 있는 가능성을 가진 제형을 알아보는 평가를 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 점도측정에서 처방에 사용된 계면활성제 3가지 모두 겔제로서 적합한 점도를 나타내었다.
2. 겔화율은 3가지의 계면활성제 중 Tween #80이 편차가 가장 적어 적합하다고 판단되었다.
3. 팽윤도는 3가지의 계면활성제 중 Tween #80의 결과가 편차가 가장 적어 적합하다고 판단되었다.

Cremophore의 경우 높은 팽윤도를 가졌으나 편차가 너무 크기 때문에 적합하지 않다고 판단되었다.

4. 함량평가로 제제의 함량 균일성을 확인한 결과 평균 $97.67 \pm 1.8\%$ 로 우수한 함량 균일성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

5. Cremophore를 첨가하여 제조된 하이드로겔은 피부투과평가에서 하이드로겔에 알맞은 피부투과율이 나오지 않아 적합하지 않은 제형이라 판단되었다.

6. 초음파를 투과하였을 때의 피부투과율과 초음파를 투과하지 않았을 때 피부투과율을 비교해 본 결과, 초음파를 투과하였을 때의 투과율이 더 높아졌다.

연구 결과 Donepezil을 함유한 하이드로겔은 처방 E가 가장 적합한 제제화가 진행될 수 있을 것이라 사료된다.

참고문헌

- [1] Cummings JL, G. D., Farlow M, Sabbagh M, Christensen, and D, B. P, "High-dose donepezil (23 mg/day) for the treatment of moderate and severe alzheimer's disease: Drug profile and clinical guidelines", CNS neuroscience & therapeutics, 제 19권 5호, pp. 294-301, 5월, 2013년
- [2] D.P. Reiss, "Physician's Desk Reference", Medical Economics Company, 제53판, pp. 2364-2367, 1999년
- [3] M.L. Crismon. "Pharmacokinetics and drug interaction of cholinesterase inhibitors administered in Alzheimer's disease", Pharmacotherapy, 제 18권 2P2호, pp. 47-54, 4월, 1988년
- [4] P.S. Kishnani, J.A. Sullivan, B.K. Walter, G.A. Spiridigliozzi, P.M. Doraiswamy, K.R. Krishnan, "Cholinergic therapy for Down's syndrome", The lancet, 제 353권 9158호, pp. 1064-1065, 10월, 1999년
- [5] Hyun-Gue Nam, C.Lee, Y.Shin, "Effect of skin penetration enhancer on the drug release from indomethacin-soft hydrogel", Journal of Pharmaceutical Investigation, 제 32권 1호, pp. 35-40, 2002년
- [6] Warren, David S. Warren, Sam P.H. sutherland, Jacqueline Y.Kao, Geoffrey R. Weal, Sean M. Mackay, "The Preparation and Simple Analysis of a Clay Nanoparticle Composite Hydrogel", Journal of Chemical Education, 제 94권 11호, pp. 1772-1779, 4월, 2017년
- [7] H. Choi (Ed.), Transdermal dosage form, Shinil publication, 1136-138, 1999년