

# 분무 기술을 이용한 톨바탄 나노포집화합물의 개발 및 평가

이수환, 신이정, 남경희, 맹지현, 조영호, 이계원  
건양대학교 제약생명공학과  
e-mail:pckmon@konyang.ac.kr, micael@konyang.ac.kr

## Development and Evaluation of Tolvaptan Nano-Inclusion Complex by Spray Drying Technology

Su-Hwan Lee, I-Jeong Shin, Gyung-Hui Nam, Ji-Hyun Maeng, Young-Ho Cho and Gye-Won Lee  
Dept. of Pharmaceutics & Biotechnology, Konyang University

### 요약

톨바탄은 바소프레신 V2수용체의 선택적, 경쟁적 길항제로서 심부전증 및 저나트륨혈증 치료제로 사용되어지고 있는 BCS class IV 약물이다. 톨바탄의 낮은 용해도를 높이기 위해 분무건조기술을 이용한 나노포집화합물을 HP-β-CD, SLS 및 Soluplus®의 양을 달리하여 제조한 후, 포집형성 유무, 입자크기, 회수율, 함량 및 용해도를 평가하였다. 톨바탄은 다른성분과 양호하게 분리되어 7.14분에 검출되었으며 0.3125~40 μg/mL의 범위에서 상관계수가 0.999이상으로 양호한 직선성을 나타내었다. 톨바탄 포집화합물은 양이 증가함에 따라 용해도가 증가하는 A<sub>L</sub> type의 용해도상도를 나타내었다. 제조된 나노포집화합물의 용해도는 톨바탄보다 현저히 증가하여 처방 11(HP-β-CD:SLS=3.43:0.5, 중량비)에서 29.16±0.16μg/mL으로 가장 높았다. 분무건조기술을 이용하여 톨바탄, HP-β-CD, 및 SLS의 나노포집화합물을 9.7±0.3 μm의 크기로 균일하게 제조할 수 있었다. 결론적으로 분무건조기술을 이용하여 난용성 약물의 제제학적 문제점을 해결할 수 있는 기초 가이드 라인으로 사용할 수 있을 것으로 기대되어진다.

## 1. 서론

톨바탄(Tolvaptan, C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)은 심부전증 및 저나트륨혈증 치료제로, 바소프레신 V2 수용체의 선택적, 경쟁적 길항제이다. 톨바탄은 물에서 낮은 용해도 (<0.4 μg/mL)와 투과성으로 인해 생체이용률(40% 이하)이 낮은 BCS IV 약물이다.[1]

이러한 난용성 약물의 대부분은 낮은 용해도로 인한 생체이용률의 저하, 제제화의 어려움, 과량의 약물 복용, 경구 투여 후 생체 내 낮은 흡수율 같은 문제점을 가지고 있다. 난용성 약물의 제제화 관련 문제점들을 해결하기 위해 약물의 용해도 향상을 위한 연구가 지속적으로 수행되어져 왔으며, 이중 포집화합물과 같은 고체분산체가 가장 대표적인 방법으로 알려져 있다.[2]

포집화합물은 친수성 전달체내에 난용성 약물을 포집시켜 용해도 향상 및 방출 속도를 조절할 수 있다.[3] 포집화합물의 제조 방법에는 공침법(Coprecipitation)과 유기용매에 약물과 고분자를 동시에 녹여 유기용매를 증발시키는 용매 증발법(solvent evaporation)이 있다. [4] 용매증발법은 진공건

조, 동결건조, 분무건조 등의 방법이 있는데, 이 중 분무건조법은 균일한 분말품질과 상당한 시간과 비용을 절감하여 경제적 및 공정상의 장점을 가지고 있어 제약 및 바이오 의약품 처리를 위한 효율적인 건조 및 제형 기술로 활발히 이용되어지고 있다.[5]

따라서, 톨바탄의 낮은 용해도를 개선하여 생체이용률을 증가시키기 위하여 host 분자(HP-β-CD)와 계면활성제(SLS와 Soluplus®)의 양을 달리하여 분무건조법으로 나노 포집화합물을 제조한 후, 포집형성 유무, 입도분포, 회수율, 함량 및 절대용해도를 평가하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1 시약 및 기기

시약으로는 톨바탄(tolvaptan)은 하나제약으로부터 제공받아 사용하였다. β-시클로덱스트린(이하 β-CD로 약함), 히드록시프로필-β-시클로덱스트린(이하 HP-β-CD로 약함), 히드록시프로필메틸셀룰로오스 2208(이하 HPMC 2208로 약함)은 화원사(Korea)에서, sodium lauryl sulfate(이하

SLS로 약함)과 Soluplus<sup>®</sup>는 Basf사(Germany)에서, Gelucire<sup>®</sup> 39/01는 Gattefoss사에서(French)에서 구입하였다.

분석용 유기용매는 HPLC등급을 사용하였다.

기기로는 분무건조기(Mini spray dryer B-290, Buchi, Germany), 자외/가시선 분광광도계(Genesys 10S, Thermo, USA), 고속액체크로마토그래피 시스템( SPD 20A, Shimadzu, Japan), 시차주사 열량계(N-650, Scinco, Korea), 원심분리기(HM-150 IV, Hanil Sci. Ind., Korea), 진탕기(IST-3 075R, Jeiotech, Korea) 및 레이저회절입도 분석기(Mastersizer 3000, Malvern, )등의 기기를 사용하였다.

## 2.2 분석법 확립

ICH 가이드라인 Q2[6]에 따라 HPLC를 이용하여 특이성, 직선성 및 범위, 정확성 및 정밀성을 측정하여 평가하였다.

톨바프탄 50mg을 정밀하게 취하여 메탄올에 용해시키고 정확하게 50mL로 하여 표준원액을 제조하였다(1,000 $\mu$ g/mL). 표준원액을 메탄올로 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 및 40  $\mu$ g/mL의 표준액을 제조하여 컬럼은 Capcelpak C18(4.6\*150mm, particle size 5 $\mu$ m), 이동상은 아세토니트릴:물:인산 (470:530:1 V/V), 유속 1.0mL/min, detection 254nm의 조건으로 HPLC로 분석하여 직선성과 범위를 평가하였다.

정확성과 정밀성은 각각 0.625, 10, 및 40  $\mu$ g/mL과 12  $\mu$ g/mL에서 3회와 6회 반복 측정하여 회수율과 상대표준편차를 구하여 2%이내인 경우 적합한 것으로 하였다.

## 2.3 용해도 평가

Higuchi와 Cornnors 등의 방법[7]에 따라  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD, 또는 HP- $\beta$ -CD)에서 톨바프탄의 용해도를 측정하였다. 즉  $\beta$ -cyclodextrin( $\beta$ -CD, 또는 HP- $\beta$ -CD)을 각각 0~60mM의 농도로 제조하였다. 제조된 용액에 일정 과량의 톨바프탄을 첨가하여 37 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C에서 250 rpm으로 평형에 도달할 때까지 진탕한 후 여과하여 용해된 양 측정하여 용해도 상도 작성하여 결합 조성비 및 안정도 상수 계산하였다.

이 때 안정도 상수는 다음과 같은 의해 계산하였다.

$$KS = \text{slope}/S_0 \times (1 - \text{slope})$$

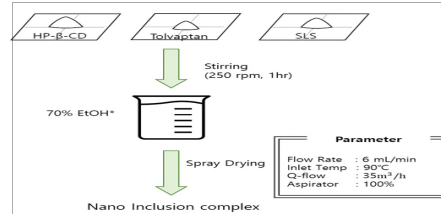
S0 : Solubility of Tolvaptan without Cyclodextrin

$$6.46 \times 10^{-7} \text{M}$$

따로 용해도가 높다고 알려진 4종의 고분자(SLS, Soluplus<sup>®</sup>, HPMC 2208, 및 Gelucire<sup>®</sup> 39/01)의 농도를 0, 1, 2, 및 4 W/V%의 농도로 제조하여 동일한 방법으로 용해도를 측정하였다.

## 2.4 톨바프탄을 함유하는 나노포접화합물의 제조

용해도 측정 결과에 따라 선택되어진 HP- $\beta$ -CD, SLS, 및 Soluplus<sup>®</sup>를 톨바프탄과 [표 2]의 처방에 따라 미리 투명하게 용해된 혼합액을 분무건조하여 톨바프탄을 함유하는 나노 포접 복합체를 제조하였다. [그림 1]



[그림 1] The process of spray drying containing tolvaptan

## 2.5 톨바프탄을 함유하는 나노포접복합체의 평가

### 2.5.1 물리화학적 평가

포접형성의 유무를 DSC를 이용하여 10 $^{\circ}$ C/min의 속도로 280 $^{\circ}$ C까지 승온시켜 측정하였다. 제조된 나노포접화합물의 입자크기는 레이저 회절입도분석기(Mastersize 3000)를 이용하여 2.0bar에서 건식법으로 3회 측정하였다.

### 2.5.2 수율, 함량 및 용해도

[표 1]의 처방에 따라 제조된 나노포접복합체의 수율, 함량 및 물에서의 용해도를 측정하였다. 이 때 용해도는 2.3의 용해도 평가와 동일한 방법으로 측정하였다.

[표 1] Formulation nano-inclusion complex containing tolvaptan prepared by spray drying technique

#	Component(g)			
	Tolvaptan	HP- $\beta$ -CD	SLS	Soluplus <sup>®</sup>
1	1	3.43		
2	1	6.86		
3	1	10.29		
4	1	13.72		
5	1	10.29	0.5	
6	1	10.29		0.5
7	1	-	1	
8	1	-		1
9	1	10.29	0.5	0.5
10	1	1.715		
11	1	3.43	0.5	
12	1	3.43	0.25	0.75

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 분석법 확립

톨바프탄은 HPLC로 분석하였을 때 다른 피크와 분리되어 7.14분에 양호한 피크를 얻을 수 있었다. 0.3125~40  $\mu$ g/mL의 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. ( $R^2 = 1.000$ )

또한 정확성과 정밀성을 측정된 결과  $99.31 \pm 0.64$ 와  $99.27 \pm 0.74\%$ 를 나타내어 2%이내의 기준에 적합하였다.[표 3]

따라서 HPLC를 이용하여 톨바탄을 분석하는 방법은 타당성이 있는 것이 확인되었다.

[표 2] Accuracy and precision of tolvaptan

	Conc.( $\mu\text{g/mL}$ )	Recovery(%)
Accuracy	40	100.02 $\pm$ 1.02
	10	98.74 $\pm$ 1.86
	0.625	99.17 $\pm$ 1.31
	Mean	99.31 $\pm$ 0.64
Repeatability	12	99.27 $\pm$ 0.74

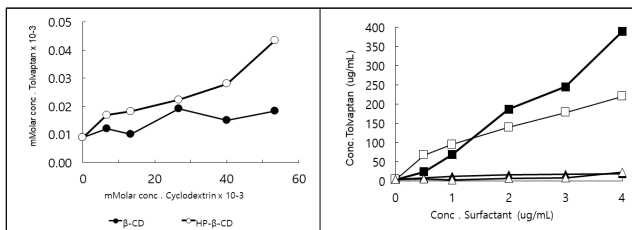
### 3.2 용해도 측정

$\beta$ -CD(또는 HP- $\beta$ -CD)를 이용하여 용해도를 측정된 결과 [표 3]과 [그림 3]에 나타내었다. 즉 모두 농도가 증가함에 따라 용해도가 증가되는 A<sub>L</sub> type을 나타내었으며 특히 HP- $\beta$ -CD에서 용해도가 더 높았을 뿐만 아니라 안정도 상수가 929.3으로 500이상의 높은 값을 나타내어 안정한 포접화합물을 제조할 수 있는 host분자로 적합한 것으로 사료되어진다. [표 4]

따로 4종의 고분자의 농도를 달리하여 용해도를 측정하였을 때 HPMC 2208과 Gelucire<sup>®</sup> 39/01에서 유의적인 변화가 없었으나 SLS와 Soluplus<sup>®</sup>에서는 농도가 증가함에 따라 용해도가 현저히 개선되는 것을 알 수 있었다.[그림 3] 특히 SLS에서 직선적으로 용해도가 증가되는 양상을 나타내어 나노포접화합물 제조에서 HP- $\beta$ -CD를 도와 용해도를 개선

[표 3] Phase solubility of tolvaptan in  $\beta$ -CD(or HP- $\beta$ -CD) (Mean $\pm$ SD, n=3)

Conc. (mM)	Solubility ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	$\beta$ -CD	HP- $\beta$ -CD
0	0.29 $\pm$ 0.20	0.29 $\pm$ 0.20
6.68	5.38 $\pm$ 1.43	7.54 $\pm$ 2.45
13.36	4.48 $\pm$ 1.00	8.17 $\pm$ 2.91
26.72	8.59 $\pm$ 2.10	10.02 $\pm$ 1.09
40.08	6.74 $\pm$ 0.44	12.58 $\pm$ 1.30
53.44	8.19 $\pm$ 2.24	19.51 $\pm$ 3.08



[그림 3] Phase diagram of tolvaptan for  $\beta$ -CD and HP- $\beta$ -CD and solubility of tolvaptan according to polymer concentration(SLS- $\blacksquare$ -, Soluplus<sup>®</sup>- $\square$ -, HPMC 2208- $\blacktriangle$ -, Gelucire<sup>®</sup> 39/01- $\triangle$ -)

시킬 수 있을 것으로 기대되어진다.

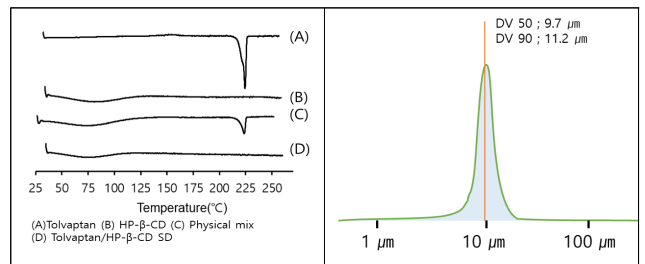
[표 4] Stability constant and slope of  $\beta$ -CD, HP- $\beta$ -CD at  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$

	S0	slope	KS( $\text{M}^{-1}$ )
HP- $\beta$ -CD	$6.46 \times 10^{-7} \text{M}$	0.0006	929.3
$\beta$ -CD		0.0002	309.7

### 3.3 톨바탄을 함유하는 나노포접화합물의 제조 및 평가

#### 3.3.1 물리화학적 특징

톨바탄, 물리적 혼합물, 및 나노포접화합물을 DSC로 측정된 결과 톨바탄의 흡열피크는 약물과 물리적 혼합물에서는  $22^\circ\text{C}$ 에서 나타났으나 제조된 나노포접혼합물에서는 없는 것으로 보아 안정하게 톨바탄을 함유하는 나노포접화합물이 제조되었음을 확인할 수 있었다. [그림 4]



[그림 4] DSC and mean particle size of nano-inclusion complex containing tolvaptan

또한 제조된 나노포접화합물의 평균입자 크기는  $9.7 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 로서 균일하게 관찰되었다.

따라서 본 연구에서는 분무건조기술을 이용하여 톨바탄, HP- $\beta$ -CD, 및 SLS로 이루어진 안정한 나노포접화합물을 제조할 수 있었다. [그림 5]



[그림 5] The picture of prepared nano-inclusion complex containing tolvaptan

#### 3.3.2 수율, 함량 및 절대용해도

HP- $\beta$ -CD, SLS, 및 Soluplus<sup>®</sup>의 양을 달리하여 나노포접화합물 제조한 후 수율, 함량, 용해도를 측정된 결과를 [표 5]에 나타내었다. 즉 수율은 처방에 따라 달랐으나 고분자의 양이 적게 들어간 처방 8을 제외한 모든 처방에서 약 70% 정도의 회수율을 나타내면서 95~105% 사이의 균일한

[표 5] Yield, content, and solubility of tolvaptan in various

nano-inclusion complex prepared by spray drying

#	Parameter		
	Yield(%)	Content(%)	Solubility( $\mu\text{g/mL}$ )
1	73.04	97.2 $\pm$ 2.3	7.4 $\pm$ 0.6
2	83.11	96.6 $\pm$ 4.3	7.0 $\pm$ 0.8
3	74.69	99.6 $\pm$ 2.1	6.7 $\pm$ 0.6
4	79.84	97.6 $\pm$ 1.8	4.1 $\pm$ 0.5
5	83.91	99.3 $\pm$ 3.7	13.0 $\pm$ 3.9
6	81.18	98.8 $\pm$ 4.7	10.6 $\pm$ 0.9
7	69.11	100.0 $\pm$ 3.9	14.9 $\pm$ 1.45
8	58.92	103.3 $\pm$ 1.9	19.6 $\pm$ 0.9
9	84.17	99.1 $\pm$ 2.9	13.6 $\pm$ 0.7
10	68.38	97.4 $\pm$ 1.8	3.59 $\pm$ 0.4
11	77.83	100.7 $\pm$ 3.4	29.16 $\pm$ 0.9
12	85.67	99.1 $\pm$ 3.1	21.76 $\pm$ 1.6

함량을 가지고 제조되었다. 또한 제조된 나노포접화합물의 용해도는 SLS가 0.5 g 들어간 처방 11에서 가장 높아 29.16 $\pm$ 0.9 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 따라서 톨밥탄을 함유하는 나노포접화합물에서 용해도를 개선하기 위해서는 시클로덱스트린과 같은 host 고분자의 역할도 중요하지만 SLS와 같은 용해보조제를 같이 첨가하는 것이 바람직한 것으로 사료되어진다.

결론적으로 분무건조 기술을 이용하여 용해도를 개선한 톨밥탄을 함유하는 나노포접혼합물(톨밥탄:HP- $\beta$ -CD:SLS=1:3.43:0.5, weight ratio)을 안정하게 제조하였다.

#### 4. 결 론

심부전증 및 저나트륨혈증 치료제로 사용되는 난용성 약물인 톨밥탄의 용해도를 증가시켜 생체이용율을 높이기 위해 분무건조법을 이용하여 나노포접화합물을 HP- $\beta$ -CD, SLS 및 Soluplus<sup>®</sup>의 양을 달리하여 제조한 후, 포접형성 유무, 입자크기, 회수율, 함량 및 절대용해도를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 톨밥탄은 7.14분에서 다른성분과 양호하게 분리되었으며 0.3125~40  $\mu\text{g/mL}$ 의 범위에서 상관계수가 0.999이상으로 양호한 직선성을 나타내었고 정확성과 정밀성은 2%이내이었다.
2. 톨밥탄 포접화합물은 양이 증가함에 따라 용해도가 증가하는 A<sub>L</sub> type의 용해도상도를 나타내었다.
3. 분무건조법을 이용하여 HP- $\beta$ -CD, SLS 및 Soluplus<sup>®</sup>를 이용하여 70%이상의 수율로 안정한 나노포접화합물을 제조할 수 있었다.
4. 제조된 나노포접화합물은 223 $^{\circ}\text{C}$ 의 톨밥탄 흡열피크가 나타나지 않아 포접여부를 확인하였다.

5. HP- $\beta$ -CD 단독으로 사용하는 것보다 SLS나 Soluplus<sup>®</sup>를 혼합하여 사용하는 경우 용해도가 현저히 증가하여 처방 11(HP- $\beta$ -CD:SLS= 3.43: 0.5 중량비)에서 29.16 $\pm$ 0.9 $\mu\text{g/mL}$ 으로 가장 높았다.

이상의 실험결과를 바탕으로 분무건조기술을 이용하여 난용성 약물의 제제학적 문제점을 해결할 수 있는 기초 가이드라인을 제시할 수 있을 것으로 기대되어진다.

#### 참고문헌

- [1] Sree Giri Prasad, B., Gupta, V.R.M., Vijaya, K., Tamilselvan, A., and Siva Subramanian, N., "Formulation and evaluation of fast dissolving tablet of tolvaptan", J. Global Trends Pharm. Sci., Vol. 6(1), pp. 2403-2410, 2015년.
- [2] Martinez, M., Amidon, G., Clarke, L., Jones, W.W., Mitra, A., and Riviere, J., "Applying the biopharmaceutics classification system to veterinary pharmaceutical products: Part II. Physiological considerations", Advanced drug delivery reviews, Vol. 56(4), pp. 825-850, 2002년.
- [3] Lina, G., Johari, G.P., and Shanker, R.M., "Structural relaxation of acetaminophen glass", Pharm. Res., Vol. 23(5), pp. 967-979, 2006년.
- [4] Van Drooge, D.J., Hinrichs, W.L.J., Visser, M.R., and Frijlink, H.W., "Characterization of the molecular distribution of drugs in glassy solid dispersions at the nano-meter scale, using differential scanning calorimetry and gravimetric water vapour sorption techniques", Int. J. Pharm., Vol. 310(1-2), pp. 220-229, 2006년.
- [5] Ziaee, A., Albadarin, A.B., Padrela, L., Femmer, T., O'Reilly, E., and Walker, G., "Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process optimization approaches", Eur. J. Pharm. Sci., Vol. 127, pp. 300-318, 2019년.
- [6] ICH Guideline Q2(R1), Validation of analytical procedures: text and methodology, 2005년.
- [7] Higuchi, T., and Connors, K.A., "Phase-solubility techniques, In: C. N. Reilly, Ed., Adv. Anal. Chem. Instrum., Vol. 4, pp. 117-212, 1965년.