

## 카페인의 비강 분무액의 제제설계 및 점막 투과 증진

노은선 · 전인구<sup>†</sup>

동덕여자대학교 약학대학

(2004년 4월 1일 접수 · 2004년 4월 18일 승인)

### Formulation of Caffeine Nasal Sprays and Its Enhanced Permeation through Rabbit Nasal Mucosa

Eun Sun Noh and In Koo Chun<sup>†</sup>

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

(Received April 1, 2004 · Accepted April 18, 2004)

**ABSTRACT**—This study was aimed to investigate the feasibility of nasal delivery of caffeine for the elimination of sleepiness. The effects of various vehicles, solubilizers, and enhancers on the permeation of caffeine through rabbit nasal mucosa was observed. The permeation study was carried out using a Franz-type permeation system at 37°C, and the amount of caffeine permeated through the rabbit nasal mucosa was determined by a validated HPLC. The apparent solubility and physicochemical stability of caffeine in various nasal formulations were determined. The effect of hydrotropes and modified cyclodextrins on the solubility of caffeine in water was determined by equilibrium solubility method. The solubility of caffeine in water was 29 mg/mL at 30°C. The addition of sodium benzoate and nicotinamide at 10% improved the solubility of caffeine (115 and 132 mg/mL, respectively) in aqueous solution. The flux of caffeine through the nasal mucosa from aqueous solution was  $2.1 \pm 0.26$  mg/cm<sup>2</sup>/hr. The addition of sodium benzoate reduced its permeation ( $1.4 \pm 0.01$  mg/cm<sup>2</sup>/hr), but sodium benzoate with 5% 2HP $\beta$ CD and 0.03% monoterpenes increased its permeation ( $2.4 \pm 0.04$  mg/cm<sup>2</sup>/hr) markedly. The addition of nicotinamide also increased its permeation ( $2.5 \pm 0.36$  mg/cm<sup>2</sup>/hr). As the concentration of caffeine in nasal formulation increased, the permeation flux increased linearly. Caffeine was stable physicochemically and enzymatically in the nasal mucosa extract at 37°C. These results suggest that caffeine can be efficiently delivered nasally and the development of nasal formulation will be feasible.

**Key words**—Caffeine, Solubilization, Nasal permeation, Stability

카페인은 크산틴계의 중추신경 및 심장에 작용하는 약물로 파킨슨 병과 같은 퇴행성신경장애에 관여하는 아데노신 수용체 A<sub>2A</sub> 길항제로 작용하여 수면을 억제하는 효과를 나타내고, 내인성 카테콜아민을 유리시켜 현저하게  $\beta$ -1,  $\beta$ -2 수용체를 자극하여 이뇨작용 및 강심작용을 나타낸다.<sup>1)</sup> 경구 섭취시 거의 대부분 흡수되며 분포용적은 0.7~0.8 L/kg이다. 카페인 130 mg을 경구 투여시 혈장 중 최고혈중농도는  $4.07 \pm 1.01$   $\mu$ g/ml, 최고혈중농도 도달시간은 30~45분이며 반감기는 3.5~5시간으로 보고되어 있다.<sup>2)</sup> 카페인은 1일 50~200 mg 복용하는 것이 효능과 부작용간의 균형을 유지하는데 최적의 용량인 것으로 알려져 있고 과량 섭취 시 불안초조, 행동항진, 자극과민성, 불면, 부정맥, 오심, 구토 및 두통 등이 나타날 수 있다.<sup>3)</sup>

카페인은 용해도계수(log P<sub>oct/water</sub>)와 분배계수가 각각 -0.07 및 0.7로 유층으로의 분배가 낮은 것으로 보고되어 있다.<sup>4,5)</sup> 그러나 Huang 등<sup>6)</sup>에 의하면 바르바탈류의 분배계수가 50배 차이가 나더라도 비강 흡수에서는 4배 정도만의 차이를 나타내어 비강 점막이 친수성 약물을 어느 정도 투과시킨다고 하였다. 4급 암모늄 화합물인 clofilium tosylate를 경구투여하면 거의 흡수되지 않으나 비강으로 투여하면 정맥주사에 필적할 만한 혈중농도를 얻을 수 있는 것으로부터 비강 점막은 다른 부위에 비해 이온형 약물도 현저히 투과시킬 수 있고,<sup>7)</sup> Fisher 등<sup>8)</sup>은 수용성 화합물들은 비점막의 수성 channel을 통해 투과가 일어난다고 추정하였다. 더욱 비강 경로는 약물이 olfactory bulb를 통하여 직접 뇌척수액과 뇌로 송달된다는 점에 주목을 받고 있다.<sup>9,10)</sup> 비강 투여시 펩타이드류, 진통제 및 알츠하이머 질환 치료제 등의 약물에 있어서 중추작용을 발휘하는데 충분한 농도에 도달하며 혈중 약물농도의 상승을 낮춤으로써 위장장애나 전신적인 부작용을

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 02)940-4523, E-mail : ikchun@dongduk.ac.kr

경감시킬 수 있다.<sup>11)</sup> Hussain 등<sup>12)</sup>은 온단세트론을 흰쥐에 비강 또는 정맥 투여한 결과 비강 점막을 통해 빠르게 흡수되어 10분 내에 최고 혈장중농도에 도달하였으며, 두 가지 투여경로 간에 혈장 중 약물 프로파일과 소실 반감기가 유사하여 비강투여는 경구투여보다 우월하고 정맥주사에 필적한다고 하였다.

비강 투여제제는 그 주성분이 물에 대한 적절한 용해성이 확보되어 25~150  $\mu$ 의 용량에 원하는 투여량이 녹아야 하고, 적절한 비강 흡수성이 있어야 하며 약물이 비강을 자극하지 않아야 한다. 또한 비강 투여형태가 신속한 약작용 등 치료적으로 부합해야 하며 1회 투여량이 일반적으로 25 mg 이하이어야 할 필요가 있고 비강을 자극하거나 독성이나 불쾌한 냄새가 없어야 하며 적절한 안정성을 지니고 있어야 한다.<sup>13)</sup>

따라서 이 연구에서는 졸음제거용 저용량 카페인의 비강 흡수 분무제를 설계하고자 여러 용제 중 카페인의 용해 특성을 조사하여 카페인의 고농도 용액을 확보하고 비점막 투과성이 양호한 조성물을 검토함으로써 카페인의 비강 투여 시스템을 개발하고자 하였다. 카페인의 비강 투여용 분무건조 조성물의 제조와 microparticle의 특성에 관해서는 검토된 바 있지만<sup>14)</sup> 비강 점막 투과나 흡수에 대해서는 보고된 바 없다. 따라서 카페인의 용해성을 개선시키고자 수성 및 비수성의 여러 용제에서의 용해 특성을 조사함과 동시에 수식화된 시클로덱스트린류와의 포접복합체 형성<sup>15)</sup> 및 hydrotropes<sup>16)</sup>를 통한 가용화를 모색하였다. 또 토끼의 비강 점막 추출액에서 카페인의 안정성을 검토하였으며 토끼의 비강 점막을 적출하여 여러 용제, 농도변화, 첨가제들이 카페인의 비강 투과에 미치는 영향을 조사하였으며 비강투여 조성물의 안정성을 검토하였다.

## 실험 방법

### 실험동물

십이지장, 공장, 비강 점막 투과 실험용으로 한림실험동물연구소(경기도 화성군)에서 구입한 체중 3.0 kg의 건강한 New Zealand White계 암토끼를 사용하였다.

### 재료 및 시약

재료로 사용한 카페인은 Sigma Chemical Co.(USA)로부터 구입한 것을 사용하였다. 용제로는 Gattefosse사(France)제의 디에칠렌글리콜모노에틸에테르(DGME, Transcutol® P), 프로필렌글리콜라우레이트(PGL, Lauroglycol® FCC), 프로필렌글리콜모노카프릴레이트(PGMC, Capryol® 90), 프로필렌글리콜모노라우레이트(PGML, Lauroglycol® 90), 폴리에틸렌

글리콜-8 글리세릴리놀리에이트 linoleate(LBF 2609, Labrafil® 2609), 폴리에틸렌글리콜디카프릴로카프레이트(LBF PG, Labrafac® PG), 카프릴로카프로일마кро폴-6 글리세리드(LBS, Labrasol®), 약전급의 폴리에틸렌글리콜(PEG) 200, 300, 400 및 600, 프로필렌글리콜(PG), 에탄올, 글리세린 등을 사용하였다. 아세토니트릴 및 메탄올은 HPLC 급을 사용하였다. 가용화 목적으로는 2-히드록시프로필- $\beta$ -시클로덱스트린(2HP $\beta$ CD, Cargill, Inc., USA),  $\beta$ -시클로덱스트린설포부틸에테르 7나트륨(SBCD, 치환도 7, Captisol®, CyDex, Inc., USA), 코폴리비돈(유럽약전, Kollidon VA 64, 비닐피롤리돈-초산비닐 공중합체, BASF, Germany), 포비돈(Kollidon 30, BASF, Germany), 니코틴산아미드 및 안식향산나트륨(시약급) 등을 사용하였다. 모노테르펜류인  $\alpha$ -피넨, *l*-멘톨 및 치몰은 Sigma Chemical Co.(USA)에서 구입한 것을 사용하였으며 기타 시약은 시판 시약급을 사용하였다. 물은 정제수를 가지고 초순수제조장치(Elgastat, London)를 통과시켜 18 M $\Omega$  이상인 것을 사용하였다.

### 기기 및 장치

액체크로마토그래프 (HPLC, SCL-100 Samsung Intelligent pump, 검출기로 Perkin-Elmer LC 90 UV detector 및 기록장치로 Varian model 4290 integrator 장착), Franz 셀 (FCDS-900C, Labfine Instruments, Korea), 항온순환기 (Brookfield EX-200, USA), 항온 진탕 수욕장치 (D-6072, Karl Kolb model 171-100, Germany, 정밀도 0.2°C), 미량고속원심분리기(Vision Scientific) 등을 사용하였다.

### 카페인의 분석

HPLC pump 및 detector (LC 90 UV spectrophotometric detector), 데이터 처리장치(Varian 4290 integrator)를 사용하고, 칼럼으로는 Radial Pak insert(C18, Waters)가 장착된 Luna C18(5  $\mu$ m, 4.6  $\times$  150 mm, Phenomenex®)을, 이동상으로는 0.01 M 초산나트륨 완충액 (초산으로 pH 4.5로 조정) : 아세토니트릴 (88 : 12 v/v)로 혼합하여 유속 1.2 ml/min로 유출시켜 파장 275 nm의 조건에서 얻은 크로마토그램의 피크면적비로부터 정량하였다. 주입량은 20  $\mu$ l이었고, 내부표준물질로는 테오피린 (20  $\mu$ g/ml)을 사용하였다.

### 여러 용제 중 카페인의 용해도 측정

바이알에 여러 종류의 용제 1 ml를 넣고 카페인 일정 과량 넣은 다음 밀전하여 30°C로 유지시킨 항온 진탕 수욕장치(D-6072, Karl Kolb model 171-100, Germany, 정밀도 0.2°C)에 장치하고 용해 평형에 도달할 때까지 48시간 이상

진탕한 후 정치하고 상정액을 공경 0.45  $\mu\text{m}$ 의 멤브레인필터 (PVDF, Whatman)로 여과하였다. 그 여액 100  $\mu\text{l}$ 를 취하여 물 10 ml를 넣어 희석한 후 이 액 100  $\mu\text{l}$ 를 취하여 물을 넣어 1 ml로 희석하고, 필요에 따라 다시 이 액 100  $\mu\text{l}$  취하여 물로 1 ml 되게 희석하여 HPLC로 분석하였다. 용제로는 물, 생리식염수, 에탄올, PG, PEG 200, PEG 300, PEG 400, PEG 600, DGME, LBS, PGMC, PGML, PGL을, 공용제로는 50% PEG 200, 300, 400, 600, 50% PG 및 50% 글리세린 수용액을 사용하였다. 또한 0.02 M 인산염완충액에 묽은 인산을 넣어 pH를 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9.0으로 조정하여 pH가 카페인의 용해도에 미치는 영향을 검토하였다.

**수종의 가용화제가 카페인의 용해도에 미치는 영향**

수용액 중 카페인의 용해도를 증가시키고자 2HP $\beta$ CD, SB $\beta$ CD, 안식향산나트륨 및 니코틴산아미드를 각각 40~300 mM되게 제조한 수용액 및 5, 7, 10% 되도록 제조한 안식향산나트륨 및 니코틴산아미드 수용액, 코폴리비돈, 포비돈의 농도를 1, 3 및 5%로 한 수용액을 사용하여 카페인의 용해도를 위와 같이 측정하였다. 또한 5% 2HP $\beta$ CD 용액에 안식향산나트륨 및 니코틴산아미드를 각각 40~300 mM 및 5, 7, 10% 되게 첨가한 용액 중에서의 카페인의 용해도를 위와 같은 방법으로 측정하였다.

**비강 투여 조성물 중 카페인의 침전 형성 관찰**

카페인의 고농도 비강 투여 용액 중 카페인의 물리적 안정성을 검토하였다. 5, 7 및 10% 안식향산나트륨 용액과 각각에 코폴리비돈을 5% 첨가한 액, 5, 7, 10% 니코틴산아미드 용액과 각각에 코폴리비돈을 5% 첨가한 액을 조제한 후 바이알에 1 ml씩 넣고 카페인 50 mg을 넣어 용해한 후, 4°C에 보관하면서 경시 침전 형성 여부를 육안으로 관찰하였다.

**비강 점막 추출액 중 카페인의 효소적 안정성**

신선하게 적출한 토끼의 비강 점막을 37°C를 유지시킨 Franz-type 투과시스템에 마운팅하고 donor cell과 receiver cell에 pH 7.4 등장인산염완충액 5 ml를 기포가 생기지 않도록 넣고, 37°C 항온을 유지하면서 8시간 동안 magnetic bar로 교반하여 추출하였다. 추출액은 마개가 달린 시험관에 모아 냉장 보관하였다. 카페인을 pH 7.4 등장인산염완충액에 녹인 액(200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 100  $\mu\text{l}$ 와 비강 점막 추출액 900  $\mu\text{l}$ 를 바이알에 넣어 섞고 60 rpm으로 흔들면서 37°C에서 incubation 하였다. 1, 3 및 5시간 간격으로 100  $\mu\text{l}$ 씩을 취하여 내부표

준용액 (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  테오필린 용액) 100  $\mu\text{l}$ 와 섞은 후, 그 20  $\mu\text{l}$ 를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 카페인의 잔존량을 산출하였다.

**비강, 십이지장 및 공장 점막을 통한 카페인의 투과**

토끼의 귀 정맥에 5 ml 정도의 공기를 주입하여 치사시키고 정중선을 따라 개복한 다음 십이지장 및 공장을 적출하고 생리식염수로 가볍게 씻은 후 각각 3조각으로 나누었다. 비강 점막은 코의 정중선을 따라 절개한 후 비강 연골의 상단, 기저 및 하단 부위를 수술용 칼(#10)로 잘라내고 엄지손가락 끝으로 연골에 부착된 점막을 조심스럽게 박리하였다. 적출 및 절제 조작은 토끼를 치사시킨 후 30분 이내에 완료하고 적출된 점막은 생리식염수로 가볍게 씻어 이물을 제거하였다. 이들 점막을 곧 Franz-type의 투과시스템에 마운팅하고 donor cell을 고정시켰다. Receptor cell 내부에는 pH 7.4 등장인산염완충액 5 ml를 기포가 생기지 않도록 넣었다. Donor cell에는 여러 종류의 첨가제가 투과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 Table I과 같은 카페인 조성물을 제조하고 그 200  $\mu\text{l}$  넣은 후 4시간 동안 magnetic bar를 이용하여 교반하면서 37°C 항온을 유지하였다. 비강점막 투과는 5, 10, 20, 30, 60, 120 및 180분 간격으로, 십이지장 및 공장은 10, 30, 60, 120, 180 및 240분 간격으로 receptor 액 100  $\mu\text{l}$ 를 취하여 물로 10배 희석하였다. 필요에 따라 다시 2배 희석한 후, 그 100  $\mu\text{l}$  취하여 내부표준액 (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  테오필린 수용액) 100  $\mu\text{l}$ 와 섞은 후 이 액 20  $\mu\text{l}$ 를 HPLC에 주입하였다. 카페인의 donor 농도 변화가 비강 점막 투과에 미치는 영향을 관찰하기 위해 [물 + CMC-Na (0.1%) + 염화벤잘코늄 (0.01%) + 안식향산나트륨 (5%) + 2HP $\beta$ CD (5%) + 모노테르펜류 (0.03%)]인 액에 카페인의 농도가 10, 30, 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이 되도록 조제하여, 이 액 200  $\mu\text{l}$ 를 투과시스템 donor cell에 넣고 위에서와 같이 3시간 동안 교반하면서 위에서와 같이 시험하여 카페인의 누적 투과량을 구하였다.

**안정성 시험**

FN-I의 비강 조성물을 바이알에 1.5 ml씩 넣어 밀전하고 4, 35, 45 및 60°C에 보존하였다. 경시적으로 검액 100  $\mu\text{l}$ 를 취하여 물로 적절히 희석하고 위의 HPLC 법으로 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**카페인의 분석조건**

이 연구의 용해도 측정 및 투과시험 등에 적용한 HPLC

Table I—Nasal Formulations for Caffeine

Ingredients	Formulations								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Caffeine (mg)	300	300	300	300	300	100	500	1000	1000
1% Benzalkonium chloride (mg)	— <sup>1)</sup>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
CMC-Na (mg)	—	10	10	10	10	10	10	10	10
Sodium benzoate (mg)	—	—	500	—	500	500	500	500	1000
Nicotinamide (mg)	—	—	—	500	—	—	—	—	—
2HPβCD (mg)	—	—	—	—	500	500	500	500	500
1% α-Pinene (ml)	—	—	—	—	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
1% l-Menthol (ml)	—	—	—	—	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
1% Thymol (ml)	—	—	—	—	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Water	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Total (ml)	10	10	10	10	10	10	10	10	10
pH	6.1	5.7	7.7	6.4	7.3	7.8	7.9	7.9	8.3

<sup>1)</sup>Not added

Table II—Solubility of Caffeine in Various Pure Vehicles at 30°C

Vehicles	Solubility (mg/ml)
Water	29.5 ± 0.7
PG	32.0 ± 0.3
DGME	28.9 ± 0.6
Ethanol	42.2 ± 0.1
PEG 200	16.1 ± 0.2
PEG 300	34.1 ± 1.2
PEG 400	14.2 ± 0.9
PEG 600	17.2 ± 1.0
0.9 % Saline	32.1 ± 3.6
PGMC	21.4 ± 0.7
PGML	18.6 ± 0.6
PGL	6.0 ± 0.4
LBF 2609	4.8 ± 0.3
LBF PG	5.0 ± 0.8
LBS	11.6 ± 0.5

Data were expressed as the mean ± S.D.

법은 내부표준물질(테오필린)이 약 3.1분, 카페인을 약 5.0분에 양호하게 분리되었으며 투과액 중의 타 성분들의 방해는 없었다. 카페인의 농도를 1~20 µg/ml로 변화시켜 얻은 크로마토그램에서 내부표준물질의 피크면적에 대한 카페인의 피크면적비를 가지고 작성한 검량선은 양호한 직선성 ( $y=0.0444x+0.0041$ ,  $R^2=0.9999$ )을 나타내었다. 1일 5회 반복시험을 하여 얻은 정확성은 평균 3.5% 및 정밀성은 평균 1.8%를 나타내었고, 5일간에 걸쳐 분석하여 얻은 정확성 및 정밀성은 모두 평균 2.0%를 보여 주어 양호한 분석법임을

확인하였다.

#### 여러 용제 중 카페인 용해도

비강 한 쪽에 분무할 수 있는 용량은 보통 100 µl이다.<sup>13)</sup> 따라서 비강 조성물을 설계하기 위해서는 우선 이 용적 중에 충분한 양의 약용량을 녹일 수 있는 용제나 가용화제의 검토가 필요하다. 수종의 단일 용제 중 카페인의 용해도를 측정하여 그 결과를 Table II에 나타내었다. 수성 및 비수성 용제 중 카페인의 용해도는 대체적으로 에탄올 > PEG 300 > 생리식염액 > PG > 물 > DGME > PGMC > PGML > PEG 600 > PEG 200 > PEG 400 > LBS > PGL > LBF PG > LBF 2609의 순서로 용해도가 감소하였다. 카페인의 용해성이 가장 높은 에탄올이라 하더라도 100 µl 중 카페인을 약 4.2 mg밖에 녹이지 못하므로 보다 용해력이 높은 용제의 검색이 필요하다. 이를 위해 원충 수용액의 pH를 2.0에서 9.0으로 변화시켜 카페인의 용해성을 검토하였으나 시험한 pH 범위에서 약 28 mg/ml 정도의 일정한 용해도를 나타내었다. 또한 물에 PEG 200, PEG 300, PEG 400, PEG 600, PG 및 DGME를 첨가하여 50%가 되도록 제조한 여러 종류의 공용제를 가지고 카페인의 용해도를 검토하였으나 물에서의 용해도 이상의 증가는 나타나지 않았다.

#### 수종의 첨가제류가 카페인의 용해도에 미치는 영향

카페인이 수용액에서 약 30 mg/ml의 용해도를 나타내는 하지만 저장 시 온도의 저하와 등장화를 위한 염류의 첨가 필요성 등을 고려하면 물에서의 용해도 이상으로 충분히 가용화된 조성물을 확보할 필요가 있다. 따라서 수용성 고분

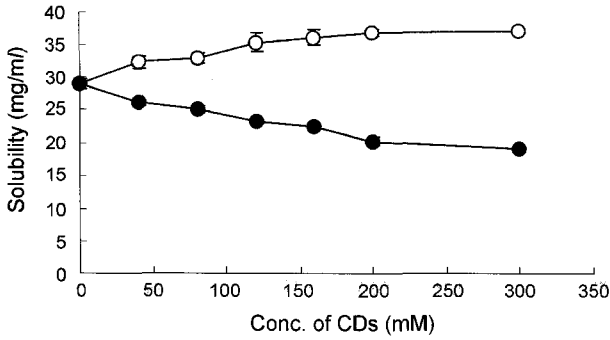


Figure 1—Phase-solubility diagrams of caffeine-CD complexation in water at 30°C.

Key: ○, 2HPβCD; ●, SBCD

자로 포비돈과 코폴리비돈, 포접복합체 형성에 의한 가용화제로 알려진 시클로덱스트린 유도체 및 hydrotropic agent로 사용되는 안식향산나트륨 및 니코틴산아미드를 사용하고 이들의 농도변화가 카페인의 용해도에 미치는 영향을 검토하였다. 5% 포비돈 및 코폴리비돈 수용액 중 카페인의 용해도는 물에서의 용해도에 비해 각각 6.7 및 9.5%의 증가밖에 나타내지 못하였다. 시클로덱스트린 유도체들이 카페인의 가용화에 미치는 용해도 상도를 Figure 1에 나타내었다. 2HPβCD는 그 첨가농도가 증가할수록 카페인의 용해도가 증대되었지만 SBCD의 경우는 오히려 난용성 복합체를 형성하는 것으로 나타났다. 300 mM 2HPβCD 수용액 중 카페인의 용해도는  $37.2 \pm 0.3$  mg/ml로 불과 26.1% 밖에 증가시키지 못하였다.

한편 안식향산나트륨과 니코틴산아미드는 Figure 2에서와 같이 농도 의존적으로 카페인의 용해도를 현저히 증가시켜 300 mM 농도에서 각각 2.2 및 2.4배 향상시켰으며 10% 농도에서는 각각 4.0 ( $116.9 \pm 2.5$  mg/ml) 및 4.5 ( $132.2 \pm 1.0$  mg/ml) 배 증대시켰다. 또한 5% 2HPβCD 수용액 중 안식향산나트륨과 니코틴산아미드를 각각 10%로 첨가하였을 때

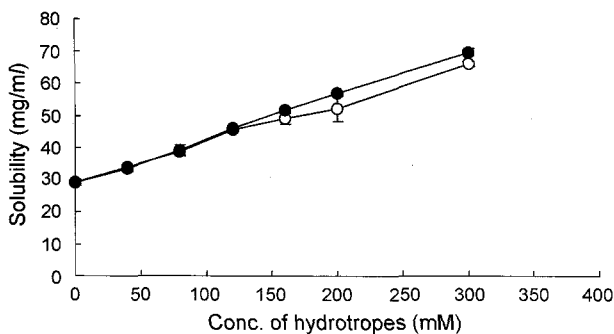


Figure 2—Effect of hydrotropes (40–300 mM) on the solubility of caffeine at 30°C.

Key : ○, sodium benzoate; ●, nicotinamide

카페인의 용해도는 각각  $109.5 \pm 1.2$  및  $129.2 \pm 4.5$  mg/ml로 별다른 변화는 없었다.

**카페인의 경시침전 관찰**

경시 보존 중 침전형성은 비강 분무제 보틴의 세공을 막을 우려가 있고, 분무 후 약물 입자의 용해, 흡수가 지연되므로 침전 형성이 전혀 없는 조성물의 설계가 필요하다. 따라서 가용화 효과가 뛰어난 안식향산나트륨과 니코틴산아미드를 5, 7 및 10%로 첨가하고 카페인의 농도를 5% (5 mg/100 μl)로 일정하게 하여 녹인 가용화 조성물에 코폴리비돈을 5% 농도로 녹인 액을 4°C에 보존하면서 경시적으로 침전 형성을 관찰하였다. 어떤 조성물에서도 2개월 후까지 아무런 침전 형성을 보이지 않았다. 한편, 코폴리비돈은 수용액 중 난용성인 비페닐디메틸카르복실레이트의 과포화로 인한 침전형성을 현저히 억제하였다고 보고되었으나<sup>17)</sup> 이들 hydrotropic류의 높은 가용화 효과로 인하여 코폴리비돈의 침전형성 억제효과는 관찰할 수 없었다.

**토끼의 비강 점막 추출액 중 카페인의 효소적 안정성**

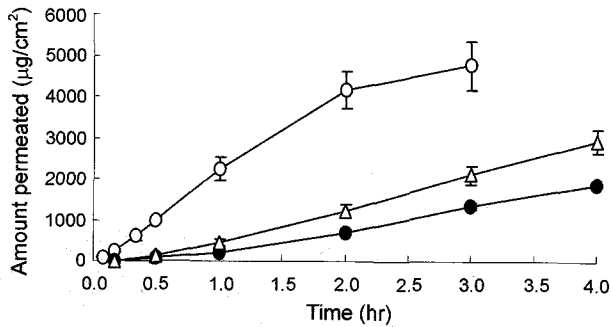
약물이 점막 부위에 적용될 경우 흡수부위에서 물리화학적 및 효소적으로 안정해야 한다. 카페인이 비강 내에서 안정한지를 검토하기 위하여 비강 점막 추출액에 카페인을 20 μg/ml 되게 넣고 37°C를 유지하면서 5시간 동안 인큐베이션하였다. 5시간 후 카페인의 잔존율은  $102.9 (\pm 0.8\%)$ 를 보여 주어 비강 점막 추출액에서 별 다른 분해가 관찰되지 않았다. 이로 보아 투여부위인 비강 점막에서 효소적으로나 물리화학적으로 안정함을 알 수 있었다.

**비강, 십이지장 및 공장 점막을 통한 카페인의 투과**

비강 점막과 위장관 점막 간의 카페인의 투과성을 비교하기 위하여 donor 용액으로 카페인 수용액 (30 mg/ml)을 사용하여 토끼의 비강, 십이지장 및 공장 점막을 통한 카페인의 투과속도를 측정하여 그 결과를 Figure 3에 나타내었다. 이에서 보는 바와 같이 비강 점막을 통한 flux는  $2.37 \pm 0.26$  mg/cm<sup>2</sup>/hr이었으며 십이지장 ( $0.26 \pm 0.03$  mg/cm<sup>2</sup>/hr) 및 공장 ( $0.52 \pm 0.09$  mg/cm<sup>2</sup>/hr)에 비하여 각각 9배 및 4.5배 높았다. 또 비강 점막에서는 5분대에 약 82 μg/cm<sup>2</sup>의 높은 투과속도를 보여 위장관에 비해 비강 점막은 카페인의 신속한 흡수를 위한 투여경로로 매우 유망하다고 생각된다.

**첨가제류가 카페인의 비강 점막 투과에 미치는 영향**

비강 투여 액상 조성물의 처방구성에 있어서 분무 후 비강내 약물의 체류시간을 연장시키기 위한 점막 부착성 고분



**Figure 3**—Comparison of permeation rates of caffeine through various mucosae of rabbit. Donor dose was 200  $\mu$ l of caffeine solution (30 mg/ml). Data points represent the mean  $\pm$  S.D. (n=3). Key:  $\circ$ , nasal;  $\bullet$ , duodenal;  $\triangle$ , jejunal

자, 보존제, 가용화제 및 투과 촉진제 류 등의 검토가 필요가 하며 이들의 첨가시 약물의 투과에 미치는 영향을 고려할 필요가 있다.

**CMC-Na 및 염화벤잘코늄의 배합이 점막 투과에 미치는 영향**—비강 분무액의 점성은 분무 액적의 입자경, 침착 및 섬모운동 등에 영향을 미쳐 생체이용률을 향상시킬 수 있으므로 최적 농도의 메칠셀룰로오스, 키토산, 폴리아크릴산 등과 같은 증점제의 사용이 제시되어 왔다.<sup>18,19)</sup> 이 연구에서는 점도 증가와 섬모운동의 억제 목적으로 CMC-Na<sup>13)</sup>을 사용하였다. [물 + CMC-Na (0.1%) + 염화벤잘코늄 (0.01%)]인 액에 카페인 농도가 30 mg/ml이 되도록 조제한 액 (FN-B)과 카페인을 단순히 물에 녹여 30 mg/ml가 되도록 조제한 액 (FN-A)을 가지고 비강 점막 투과 시험을 행하였다. 그 결과 FN-A와 FN-B의 1 시간대의 투과량은 각각  $2.24 \pm 0.28$  및  $1.96 \pm 0.19$  mg/cm<sup>2</sup>로 점막 부착성 고분자로 CMC-Na과 보존제로 염화벤잘코늄<sup>13)</sup>을 함께 첨가하여도 카페인의 비강 점막 투과에 유의성 있는 차이를 나타내지 않음을 알 수 있었다.

**니코틴산아미드 및 안식향산나트륨이 점막 투과에 미치는 영향**—[물 + CMC-Na (0.1%) + 염화벤잘코늄 (0.01%)]의 조성물 (FN-B)에 안식향산나트륨(5%) 또는 니코틴산아미드(5%)를 첨가하여 카페인 농도가 30 mg/ml가 되도록 조제한 액 (FN-C 및 D)을 가지고 비강 점막 투과 시험을 행하였다. FN-B에서는 카페인의 비강 점막 투과 플럭스가  $2.11 \pm 0.20$  mg/cm<sup>2</sup>/hr인데 비해 니코틴산아미드를 5%로 첨가한 것 (FN-D)의 플럭스는  $2.40 \pm 0.36$  mg/cm<sup>2</sup>/hr으로 14%의 투과 증가를 보여 주었으나 유의성 있는 차이는 없었다. 그러나 FN-B에 안식향산나트륨을 5% 농도로 첨가한 것 (FN-C)의 플럭스는  $1.43 \pm 0.007$  mg/cm<sup>2</sup>/hr으로 32% 정도 감소하였다. 이는 카페인 주변에 회합된 안식향산나트륨이 카페인의 확산을 지연시켰기 때문으로 생각된다. 그러나 FN-B의 조성물에

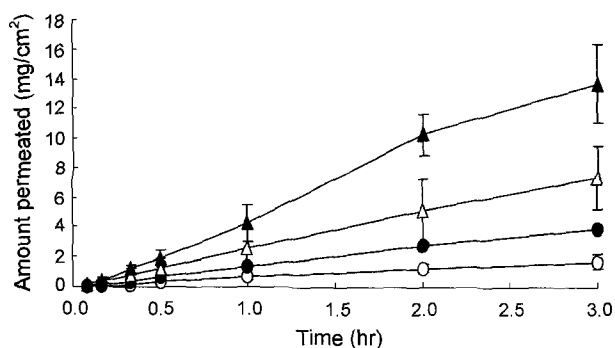
카페인의 농도를 100 mg/ml로 하고 2HP $\beta$ CD (5%) 및 모노테르펜류(0.3%)를 첨가한 조건에서는 안식향산나트륨을 5 및 10%로 배합한 것들(FN-H 및 FN-I) 간에는 투과 플럭스가 각각  $5.37 \pm 0.03$  및  $5.10 \pm 0.35$  mg/cm<sup>2</sup>/hr로 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다.

**2HP $\beta$ CD 및 모노테르펜류의 배합이 카페인의 점막 투과에 미치는 영향**—시클로덱스트린류는 비강 점막에서 콜레스테롤, 인지질 등의 막지질과 포접복합체를 형성하여 추출해 내므로 점막 상피의 막 기능을 감소시킬 수 있어 흡수촉진 작용이 있는 것으로 보고되어 왔다.<sup>20)</sup> 그러나 2HP $\beta$ CD는 초산부세렐린의 비강 흡수에 별다른 영향이 없었고<sup>21)</sup> 프로게스테론의 셀룰로오스 막 투과를 억제하였다.<sup>15)</sup> 따라서 이 연구에서의 2HP $\beta$ CD는 흡수촉진제로서의 용도보다는 카페인 가용화 및 결정형성 억제 목적으로 사용하였다. 피넨, 테르피네올, 카르비올, 카르본, 피페리톤, 멘톤, 시클로헥센 옥사이드, 리모넨 옥사이드, 피넨 옥사이드, 시클로펜텐 옥사이드, 아스카리돌, 리모넨, 멘톨 및 신네올 등의 테르펜류는 경피 흡수촉진제로 종종 이용되어 왔다.<sup>22)</sup> 아직 비강 점막 투과에 있어 모노테르펜류의 투과촉진 작용에 관한 보고는 별로 알려져 있지 않다. 그러나 피넨, 멘톨, 치몰 등의 모노테르펜류는 강한 자극성의 방향으로 인하여 졸음을 제거하는 효과가 있으며 비강 투여제제의 설계에 있어 모노테르펜류의 영향을 검토하였다.

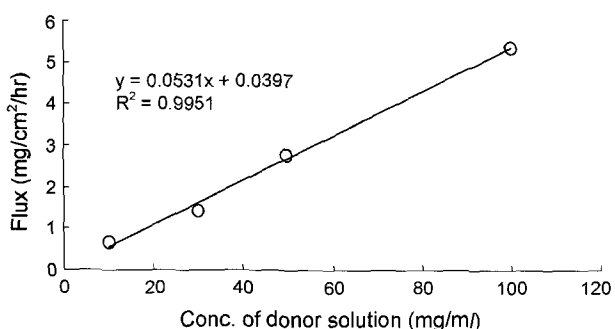
[물 + CMC-Na (0.1%) + 염화벤잘코늄 (0.01%) + 안식향산나트륨 (5%)]의 조성물(FN-C)에 2HP $\beta$ CD 5% 및 모노테르펜류 0.03%를 첨가하여 카페인 농도가 30 mg/ml이 되도록 조제한 액(FN-E)을 가지고 비강 점막 투과시험을 한 결과 FN-C로부터 카페인의 플럭스가  $1.43 \pm 0.007$  mg/cm<sup>2</sup>/hr이었던 것에 비해 FN-E의 플럭스는  $2.39 \pm 0.04$  mg/cm<sup>2</sup>/hr로 68% 증가하였다. 보통 2HP $\beta$ CD는 약물을 포접하면 투과 플럭스를 감소시키는 것으로 알려져 있다.<sup>15)</sup> 그러나 카페인의 막투과 플럭스가 현저하게 증가한 것은 모노테르펜류의 투과 촉진효과가 2HP $\beta$ CD의 투과 억제효과보다 훨씬 컸기 때문으로 생각된다.

#### 카페인의 Donor 농도 변화가 비강 점막 투과에 미치는 영향

위의 첨가제가 투과에 미치는 영향으로부터 [물 + CMC-Na (0.1%) + 염화벤잘코늄 (0.01%) + 안식향산나트륨 (5%) + 2HP $\beta$ CD (5%) + 모노테르펜류 (0.03%)]가 카페인의 비강 점막 투과에 양호한 조성물임을 확인하였기 때문에 카페인의 농도를 10(FN-C), 30(FN-F), 50(FN-G) 및 100 mg/



**Figure 4**—Effect of donor doses on the permeation of caffeine through the nasal mucosa from nasal formulations as a function of time. The nasal formulation was composed of CMC-Na (0.1%), benzalkonium chloride (0.01%), sodium benzoate (5%), 2HPβCD (5%), and monoterpenes (0.03%). Data points represent the mean ± S.D. (n=3).  
Key : ○, 10 mg/ml (FN-F); ●, 30 mg/ml (FN-C); △, 50 mg/ml (FN-G); ▲, 100 mg/ml (FN-H)



**Figure 5**—Relationship of donor dose and flux in the permeation of caffeine through the nasal mucosa.

ml(FN-H)로 변화시켜 비강 점막 투과시험을 행하였다. 그 투과 프로파일을 Figure 4에 나타내었다. 투과 플럭스는 donor dose가 10, 30, 50 및 100 mg/ml인 경우 각각  $0.693 \pm 0.16$ ,  $1.43 \pm 0.007$ ,  $2.76 \pm 1.27$  및  $5.37 \pm 0.03$  mg/cm<sup>2</sup>/hr으로 카페인의 농도가 증가할수록 비강 점막 투과 플럭스도 직선적으로 증가하여 농도 의존적인 수동확산에 의해 투과됨을 알 수 있었다(Figure 5).

### 비강 분무액 중 카페인의 안정성

위의 연구를 통하여 카페인의 비강 투여용 조성물로 적합하다고 생각되는 10% 카페인을 함유하는 FN-I를 4, 35, 45 및 60°C에 보존하면서 경시적인 분해와 이에 따른 잔존량을 측정하였다. 그 결과 4°C에 20일간 보존한 경우 침전 형성은 일어나지 않았으며 맑고 투명하였다. 또한 35, 45 및 60°C에 보존한 경우 20일 후의 잔존율은 각각  $95.0 \pm 5.0$ ,  $87.1 \pm 3.4$  및  $83.0 \pm 4.1\%$ 이었다. 1차식에 따른 분해 반감기는 각각 304, 101 및 67일로 나타났으며 아르헨니우스 식으

로부터 구한 활성화에너지는 11.7 kcal/mole로 산출되었다. 이 비강 분무 조성물(pH 8.30)은 충분한 안정성을 나타내지는 않았지만 액성을 비강 자극을 피하고 비강 분비액 중의 라이소자임을 안정하게 하며 미생물의 증식을 억제할 수 있는 약산성(pH 4.5~6.5)<sup>13)</sup>으로 조절함으로써 보존 안정성을 더욱 향상시킬 수 있다고 생각된다.

## 결론

이상의 연구 결과 얻은 주된 결론은 다음과 같다.

1. 카페인의 물에서의 용해도는 29 mg/ml이었으며 여러 용제들의 용해력은 에탄올(42.2 mg/ml) > PEG 300 > 생리 식염주사액 > PG > 물 > DGME > PGMC > PGML > PEG 600 > PEG 200 > PEG 400 > PGL > LBF PG > LBF 2609의 순서로 용해도가 감소하였다. 완충 수용액에서 카페인의 용해도에 미치는 pH의 영향은 거의 없었다.
2. 카페인에 대한 가용화 효과는 니코틴산아미드 ≥ 안식향산나트륨 > 2HPβCD > copolyvidone > Kollidon 30으로 나타났으며, SBCD는 오히려 카페인의 용해도를 감소시켰다. 10% 안식향산나트륨 또는 니코틴산아미드 용액은 카페인을 10% 이상 용해시켰으며 침전형성을 억제하였다.
3. 카페인은 비강 점막에서 안정하였으며, 점막을 통한 투과( $2.37 \pm 0.26$  mg/cm<sup>2</sup>/hr)가 신속하였고 십이지장 및 공장 점막보다 9배 및 4.5배 높았다. 비강 조성물에 첨가한 CMC-Na과 염화벤잘코늄, 니코틴산아미드는 카페인의 투과에 유의성 있는 영향을 미치지 않았다. 안식향산나트륨(5%)은 카페인의 플럭스를 약 32% 감소시켰으나 이의 농도 증가는 투과 플럭스를 유의성 있게 변화시키지 않았다. 모노테르펜류(0.03%)의 첨가는 카페인 용액(30 mg/ml)의 투과 플럭스를 약 68% 증가시켰으며 비강 조성물 중 카페인 농도를 10~100 mg/ml로 변화시켜 얻은 투과 플럭스는 양호한 직선성( $R^2=0.9951$ )을 나타내었다. 조성물 FN-I(카페인 100 mg/ml)는 냉장 조건에서 침전형성이 없었으며 고온 보존시에도 비교적 안정하였다.

## 문헌

- 1) J.F. Chen, K. Xu, J.P. Petzer, R. Staal, Y.H. Xu, M. Beistein, P.K. Sonsalla, K. Castagnoli, N. Castagnoli and M.A. Schwarzschild, Neuroprotection by caffeine and A<sub>2A</sub> adenosine receptors inactivation in an model of Parkinson's disease, *J. Neurosci.*, **21**, 1-6 RC143 (2001).
- 2) S.E. O'Connell and F.J. Zurzola, Rapid quantitative liquid chromatographic determination of caffeine levels in plasma after oral dosing, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1009-1011 (1984).

- 3) J.E.F Reynolds, K. Parfitt, A.V. Parsons and S.C. Sweetman, Ed., *Martindale, The Extra Pharmacopoeia*, 29th Edition, The Pharmaceutical Press, 1989, pp. 1522-1524.
- 4) G. Potard, C. Laugel, A. Baillet, H. Schaefer and J.P. Marty, Quantitative HPLC analysis of sunscreens and caffeine during *in vitro* percutaneous penetration studies, *Int. J. Pharm.*, **189**, 249-260 (1999).
- 5) F.P. Bonina, V. Carelli, G. Di Colo, L. Montenegro and E. Nannipieri, Vehicle effects on *in vitro* skin permeation of and stratum corneum affinity for model drugs caffeine and testosterone, *Int. J. Pharm.*, **100**, 41-47 (1993).
- 6) Huang, C., Kimura, R., Nasser, R. and Hussain, A.A., Mechanism of nasal absorption of drugs I : physicochemical parameters influencing the rate of *in-situ* nasal absorption of drugs in rats. *J. Pharm. Sci.*, **74**, 608-611 (1985).
- 7) K.S.E. Su, K.M. Campanale and C.L. Gries, Nasal drug delivery system of a quaternary ammonium compound: clofilium tosylate, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1251-1254 (1984).
- 8) A. Fisher, K. Brown, S. Davis, G. Parr and D.A. Smith, The effect of molecular size on the nasal absorption of water-soluble compounds in the albino rat, *J. Pharm. Pharmacol.*, **39**, 367-362 (1987).
- 9) T. Sakane, M. Akizuki and M. Yoshida, Transport of cephalexin to the cerebrospinal fluid directly from the nasal cavity, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 449-451 (1990).
- 10) T. Sakane, M. Akizuki, S. Yamashida, T. Nadia, M. Hashida and H. Sezaki, The transport of a drug to the cerebrospinal fluid directly from the nasal cavity: the relation to the lipophilicity of the drug, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2456-2458 (1991).
- 11) L. Illum, Nasal drug delivery: possibilities, problems and solutions, *J. Control. Rel.*, **87**, 187-198 (2003).
- 12) A.A. Hussain, A. Dakkuri and S. Itoh, Nasal absorption of ondansetron in rats : an alternative route of drug delivery, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **45**, 432-434 (2000).
- 13) C.R. Behl, H.K. Pirnplaskar, A.P. Sileno, J. deMeireles and V.D. Romeo, Effects of physicochemical properties and other factors on systemic nasal delivery. *Adv. Drug Del. Rev.*, **29**, 89-116 (1998).
- 14) C. Sacchetti, M. Artusi, P. Santi and P. Colombo, Caffeine microparticles for nasal administration obtained by spray drying, *Int. J. Pharm.*, **242**, 335-339 (2002).
- 15) H.J. Choi and I.K. Chun, Complexation of progesterone with cyclodextrins and design of aqueous parenteral formulations. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **31**, 151-160 (2001).
- 16) H.J. Kim and I.K. Chun, Design and evaluation of biphenyldimethyl dicarboxylate injections, *Yakhak Hoeji*, **44**, 263-271 (2000).
- 17) J.H. Moon and I.K. Chun, Enhanced dissolution and permeation of biphenyl dimethyl dicarboxylate using solid dispersions, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **29**, 227-234 (1999).
- 18) A.S. Harris, E. Svensson, Z.G. Wagner, S. Lethagen and I.M. Nilsson, Effect of viscosity on particle size, deposition, and clearance of nasal delivery systems containing desmopressin, *J. Pharm. Sci.*, **77**, 405-408 (1988).
- 19) T.J. Aspden, J.D.T. Mason, N.S. Jones, J. Lowe, O. Skaugrud and L. Illum, Chitosan as a nasal delivery system: the effect of chitosan solutions on *in vitro* and *in vivo* mucociliary transport rates in human turbinates and volunteers, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 509-513 (1997).
- 20) C.R. Behl, H.K. Pirnplaskar, A.P. Sileno, W.J. Xia, W.J. Gries and J.C. deMeireles, Optimization of systemic nasal delivery with pharmaceutical excipients, *Adv. Drug Del. Rev.*, **29**, 117-133 (1998).
- 21) K. Matsubara, K. Abe, T. Irie and K. Uekama, Improvement of nasal bioavailability of luteinizing hormone-releasing hormone agonist, buserelin, by cyclodextrin derivatives in rats, *J. Pharm. Sci.*, **84**, 1295-1300 (1995).
- 22) B.W. Barry and A.C. Williams, Terpenes as Skin Penetration Enhancers : In K.A. Waters and J. Hadgraft, Ed., *Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement*, Marcel Dekker, Inc., 1993, pp. 95-111.