

β -Cyclodextrin 과의 복합체 형성에 의한 Tiaprofenic Acid 의 용출증가

全仁九 · 朴仁淑

동덕여자대학 약학과

(1986년 5 월 8 일 접수)

Dissolution Enhancements of Tiaprofenic Acid by β -Cyclodextrin Complexation

In Koo Chun and In Sook Park

Department of Pharmacy, Dongduck Women's University

(Received May 8, 1986)

Inclusion complexation of tiaprofenic acid (TPA) with cyclodextrins (α -, β -, γ -CyDs) in aqueous solution and in solid phase was investigated by solubility method, measurement of partition coefficient, ultra-violet, circular dichroism, infrared spectroscopies, powder X-ray diffractometry and differential scanning calorimetry.

Investigations were made to prepare inclusion complexes of TPA with β -CyD in solid powdered form by coprecipitation, freeze-drying, spray-drying and co-pulverization methods. The coprecipitation, freeze-drying and spray-drying methods were successful in obtaining inclusion complexes. The results showed that the latter two methods might be originally superior to the former in obtaining powdered inclusion complexes. Especially, it was shown by powder X-ray diffractometry that spray-dried β -CyD alone, TPA-spray-dried β -CyD physical mixture, and spray-dried TPA- β -CyD complex were amorphous.

The dissolution behaviours of TPA- β -CyD systems prepared by above four methods were compared with those of TPA alone and TPA- β -CyD physical mixture, and the rates of dissolution of TPA in pH 1.2 buffer were greatly enhanced by inclusion complexation and copulverization.

cyclodextrin (CyD) 은 분자중에 소수성의 cavity 를 갖고 있는 단분자 host 화합물로 그 cavity 내에 적당한 크기와 모양을 갖는 분자가 포접되어 포접화합물을 형성하는 특성이 있다^{1,2}. 이와 같이 CyD와 포접복합체를 형성함으로써 guest 분자의 물리화학적 성질에 영향을 미치며^{3,4} 근년에는 여러 약물들과의 복합체 형성을 이용하여 약물의 가용화⁵ 및 용출속도 증가⁶⁻¹⁰, 안정화¹¹⁻¹⁴, 광안정성의 향상^{15,16}, 맛의 개선^{8,14,16}, 휘산성의 억제^{9,15}, 액상물질의 분체화^{17,18}, 생약성분의 추출효율증대¹⁵, 함량 균일성의 확보¹⁹, 위장장애의 감소²⁰, 주사시의

용혈억제 및 자극성 개선^{21,22}, 단백결합물의 감소¹³, 좌제에의 응용^{23,24} 및 생체이용율의 향상^{19,23,25,26} 등 제제에의 응용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 더욱 최근에는 약물방출 조절^{23,27,28} 및 drug delivery system 에로의 응용²⁹도 검토되고 있다.

본 연구에서는 난용성이며 비스테로이드성 소염 진통제로 사용되고 있는 tiaprofenic acid (α -5-benzoyl-2-thienylpropionic acid, TPA)^{30,31}를 선택하여 수용액중 및 고체상태에서 CyD와의 상호작용을 검토하였다. 또 TPA와 β -CyD 간의 고체복합체를 조제함에 있어서 일반

적으로 널리 쓰이는 공침법, 동결건조법 등은 대량생산에 다소의 문제점이 있음에 착안하여 산업적으로 적용할 수 있는 분무건조법 및 혼합분쇄법의 응용을 시도하여 고체복합체를 조제하고 이로부터 TPA의 용출특성을 비교 검토하였다.

실험방법

재료 및 시약

tiaprofenic acid (Roussel Uclaf 사), α -, β -, γ -cyclodextrin (특급품, Tokyo Kasei.), glucose (시약일급, Kokusan Chemical Works, Ltd.), pH 1.2 KCl-HCl 완충액 (USP XXI) 을 사용하였으며 기타 시약류는 시판특급품을 사용하였다.

기기

UV-Visible spectrophotometer (model 25 spectrophotometer, Beckman), spectropolarimeter (20 A, Jasco), infrared spectrophotometer (735 B, Perkin Elmer), differential scanning calorimeter (Du Pont Instrument 910 Du Pont Instrument 990 thermal analyzer), powder X-ray diffraction scanner (model D/MAX-III A, Rigaku), dissolution tester (model 27-6-A, model 390 spectrophotometer, Hanson), freeze-dryer (type DC-35, Yamato), spray-dryer (Buchi 190 mini spray-dryer), pulverizer (type 630, Alpine Augsburg), pH meter (Nova 303) 를 사용하였다.

용해도 측정

TPA 일정과량을 삼각 flask에 넣고 여러 농도의 CyD ($1 \sim 10 \times 10^{-3} M$) 을 수용액 및 pH 1.2 완충액에 녹인 용액을 첨가하여 용해평형에도 달할 때까지 15, 25 및 35°C 에서 48~72 시간 진탕하였다. 이 용액을 Millipore filter (0.45 μm , type HV) 로 여과한 후 적절히 희석하여 306 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선으로부터 용해도를 산출하였다.

안정도정수의 산출

Higuchi 등³²⁾의 방법에 따라 용해도상도의 초기상승직선부분의 구배 및 절편으로부터 겉보

기 안정도정도 K'를 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$K' = \frac{[St - S_0]}{[St - (St - S_0)][Lt - (St - S_0)]}$$

$$= \frac{\text{slope}}{\text{intercept} (1 - \text{slope})}$$

이 식에서 St, Lt은 각각 약물 및 CyD의 첨가 농도, S₀은 약물단독의 용해도, slope 및 intercept는 각각 相圖의 초기상승직선부분의 구배 및 절편의 값을 나타낸다.

분배계수의 측정

물 10 ml 및 $1 \times 10^{-2} M$ 의 α -, β - 및 γ -CyDs가 첨가된 수용액 10 ml에 $1 \times 10^{-2} M$ 의 TPA가 함유된 n-octanol 용액 10 밀리리터를 정확히 넣어 37°C에서 24시간 진탕하여 방치한 다음 수층을 물로 적절히 희석하여 306 nm에서 흡광도를 측정한 후 검량선으로부터 수층중 TPA의 양을 산출하고 분배계수를 계산하였다.

자외부(UV)^{33,34)} 및 Circular Dichroism (CD)³⁵⁾ 흡수스펙트라 측정

UV 스펙트라는 $3.84 \times 10^{-5} M$ TPA 용액 단독 및 이것에 $3 \times 10^{-3} M$, $5 \times 10^{-3} M$ 및 $10 \times 10^{-3} M$

COPRECIPITATION METHOD

$3 \times 10^{-3} M$ TPA in
20 ml of ethyl ether

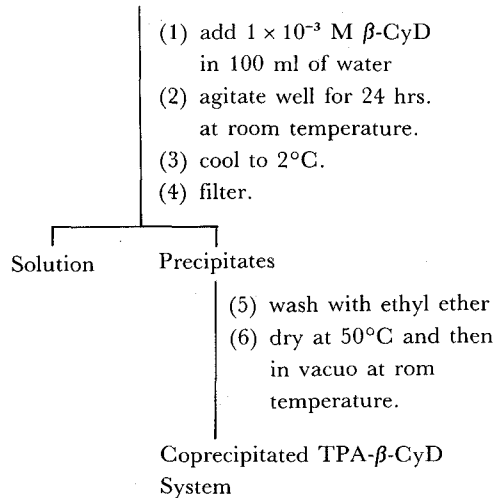


Chart 1 — Method for preparation of inclusion complexes of TPA with β -CyD by coprecipitation method.

농도로 β -CyD가 함유되도록 첨가하여 흡수 스펙트라를 측정하였다.

CD 스펙트라는 상기의 방법과 같이 3.84×10^{-5} M TPA 용액 단독 및 이것에 5×10^{-3} M 및 10×10^{-3} M 농도가 되도록 β -CyD를 첨가한 용액에 대하여 CD 스펙트라를 측정하였다. 이 때의 조건은 spectral band width; 1 nm, time constants; 4 seconds, scale; 1로 하였다.

공침법에 의한 고체복합체의 조제

수중의 β -CyD와 ethyl ether 중의 TPA를 mole 비 1 : 3으로 혼합하여 24시간 진탕한 후 석출하는 침전을 여취하여 ethyl ether로 씻고 50°C에서 5시간 건조한 다음 실온에서 진공건조하여 조제하였다(Chart 1).

동결건조법에 의한 고체복합체의 조제

Kurozumi 등³⁶⁾의 방법에 따라 동 mole 비의 TPA와 β -CyD를 5% ammonia수 중에 넣어 교반용해 후 동결건조하였다. 이를 50°C에서 5시간 더 건조한 다음 ethyl ether로 씻고 실온에서 진공건조하였다(Chart 2).

분무건조법에 의한 고체복합체의 조제^{36,37)}

TPA와 β -CyD를 1 : 2.5 몰비로 0.1N NaOH 50 ml에 용해한 후 1N HCl로 pH 3.0까지 중화하고 다시 1N NaOH로 pH 7.0으로 조절한다. 이 액을 분무건조하여 분말화하였다.

분무건조는 흡기온도 110°C, 배기온도 57~

FREEZE-DRYING METHOD

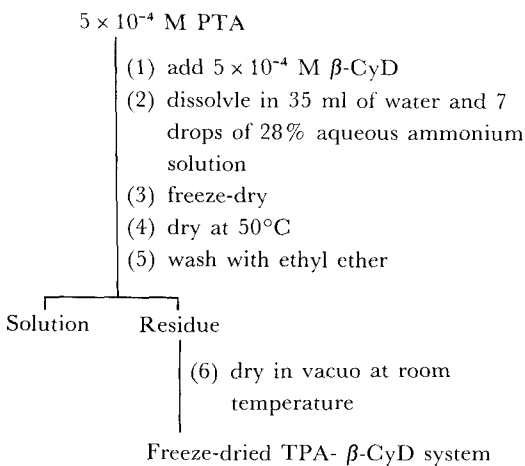


Chart 2 — Method for preparation of inclusion complexes of TPA with β -CyD by freeze-drying method.

SPRAY-DRYING METHOD

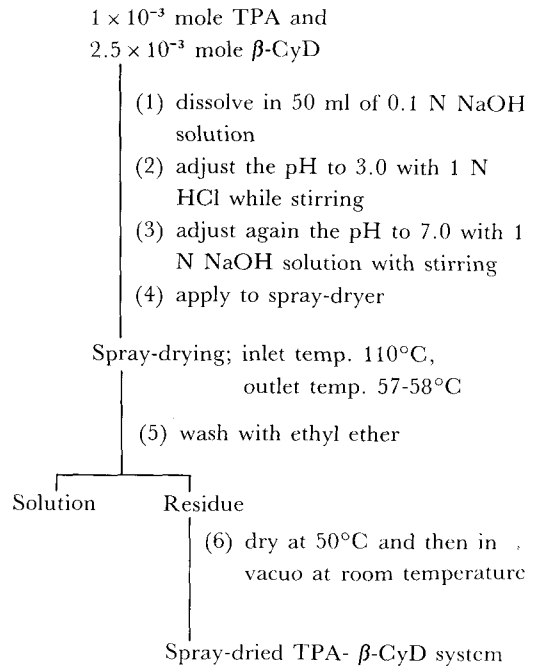


Chart 3 — Method for preparation of inclusion complexes of TPA- β -CyD by spray-drying method.

58°C로 행하였다(Chart 3).

혼합분쇄법에 의한 고체복합체의 조제¹⁴⁾

TPA와 β -CyD를 1 : 2.5 mole 비로 미분쇄기로 34000 U/min.의 조건에서 4회 cycling하여 혼합분쇄한 것을 시료로 하였다(Chart 4).

고체복합체중 TPA의 함량측정

TPA 50 mg을 정밀히 달아 methanol 100 ml

CO-PULVERIZATION METHOD

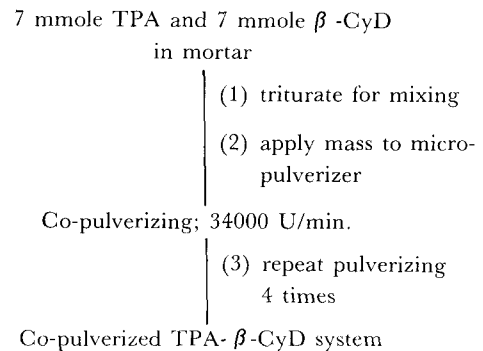


Chart 4 — Method for preparation of co-pulverized TPA- β -CyD system.

에 용해시키고 이를 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 희석하고 306 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였다. 다음 복합체 50 mg을 정밀히 취하여 50% methanol 100 ml에 용해시키고 적절히 희석하여 306 nm에서 흡광도를 측정하고 검량선으로부터 각 조제법에 따른 TPA의 함량을 산출하였다.

분해산물의 확인

고체복합체의 조제시 TPA의 분해여부를 확인하기 위하여 TPA 10 mg에 해당하는 복합체를 취하여 50% methanol 10 ml에 녹이고 이액을 precoated Kiesel-gel 60 GF₂₅₄ plate에 점적하고 n-butyl acetate·chloroform·formic acid의 혼합액(6:4:2)을 전개용매로 하여 전개 후 단파자외선(254 nm) 및 요오드증기를 사용하여 반점을 확인하고 Rf값을 계산하고 분해여부를 확인하였다.

적외흡수스펙트라 측정

고체복합체 시료를 가지고 KBr disk method로 측정하였다.

분말 X 선회절 분석

Cu-target, Ni-filter, 30 KV, 15 mA, 4000 cps의 조건으로 회절각 2θ , 4~40° 범위에서 주사속도 4°/min.로 측정하였다.

示差走査 열량 측정

TPA 3mg에 해당하는 시료로 10°C/min.의 승온속도로 25~300°C의 범위에서 측정하였다.

용출시험

고체시료의 용출속도는 분말법에 의하여 측정하였다. 100~200 mesh의 시료로부터 TPA 25 mg 해당량을 정밀히 취하여 용출 vessel에 넣고 용출용매로서 pH 1.2 KCl-HCl 완충액 500 ml를 사용하여 37.0±0.1°C로 유지하면서 paddle 법으로 75 rpm에서 용출시험을 시행하였다. 일정시간마다 306 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선으로부터 분말시료의 누적용출량을 산출하였다.

실험결과 및 고찰

TPA의 용해도에 미치는 CyDs의 영향

TPA와 α -, β - 및 γ -CyD 간의 각 혼합계의

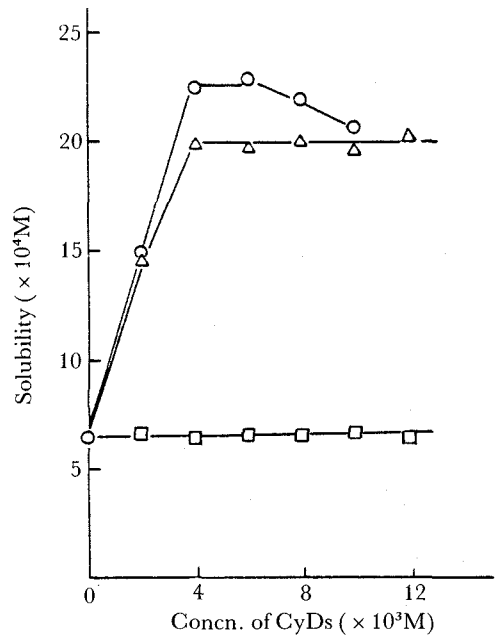


Figure 1 — Phase solubility diagrams of TPA-CyD systems in water at 15°C.

Key: \square , α -CyD; Δ , β -CyD; \circ , γ -CyD

용해도상도는 Fig. 1과 같이 TPA- β -CyD계 및 TPA- γ -CyD계는 Higuchi등³²⁾의 분류에 의한 전형적인 Bs type을 나타낸 반면 α -CyD는 TPA의 용해성을 향상시키지 않았다. 이는 α -CyD의 cavity size가 작아 TPA와의 상호작용이 일어나지 않는 것으로 생각된다. TPA- β -CyD계 및 TPA- γ -CyD계의 용해도상도에서 초기의 용해도가 β - 및 γ -CyD의 첨가에 따라 직선적으로 증가하므로 묽은 수용액에서는 1:1 몰비의 복합체가 형성되는 것으로 생각된다. 또한 물과 pH 1.2 KCl-HCl 완충액에서 β -CyD농도증가에 따른 TPA의 용해성을 15, 25 및 35°C에서 검토한 용해도상도는 각각 Fig. 2 및 3과 같다. 이에서 보면 물과 pH 1.2 완충액에서의 TPA의 용해도는 25°C에서 약물 단독의 용해도보다 β -CyD의 첨가로 각각 4배 및 7배 향상되었다.

이와 같은 β -CyD 첨가에 의한 용해도 변화는 약물과 β -CyD와의 complex 형성에 기인하는 것으로 사료된다. 또한 용해도상도의 해석으로부터 산출한 약물단독의 용해도(S_0) 및 K'는 Table I과 같다.

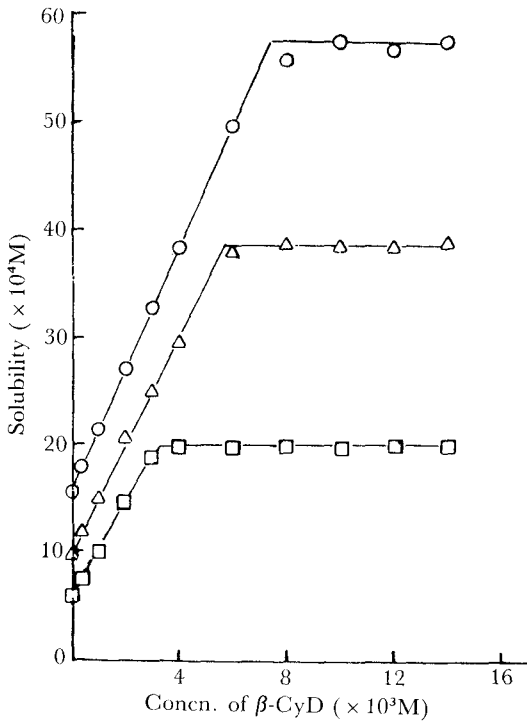


Figure 2 — Phase solubility diagrams of TPA- β -CyD system in water at various temperatures. Key: \square ; 15°C, Δ ; 25°C, \circ ; 35°C

이에서 보면 K' 는 온도가 상승함에 따라 그 값은 저하되었으며 물에서의 K' 값에 비하여 pH 1.2에서의 K' 값은 2배이상 컸다. 이는 산성영역에서 약산성약물인 TPA의 해리가 억제되어 소수성이 증대함으로써 소수성 상호작용이 보다 유리하여진 때문이라 생각되며³⁸⁾ 산성과 중성에서는 TPA와 β -CyD간의 포접양상이 다른 것으로 추정된다. 또한 15°C에서의 K' 값이 TPA- γ -CyD계가 1,310, TPA- β -CyD계가 1,231로 나타난 점과 α -CyD가 아무런 상호작용도 나타내지 않는 점으로 미루어 보아 K' 에는 cavity size에 의존하는 host-guest 상호작용의 특유한 입체의존성과 소수결합의 영향이 반영된 것으로 생각된다³⁵⁾.

열역학적 파라미터

TPA와 β -CyD간의 복합체형성에 따른 열역학적 변화를 고찰하기 위하여 물 및 pH 1.2KCl-HCl 완충액에서 온도변화를 시켜 K' 를 산출하고 이의 온도의존성으로부터 다음 식에 따라 열역학적 파라미터를 산출하였다.

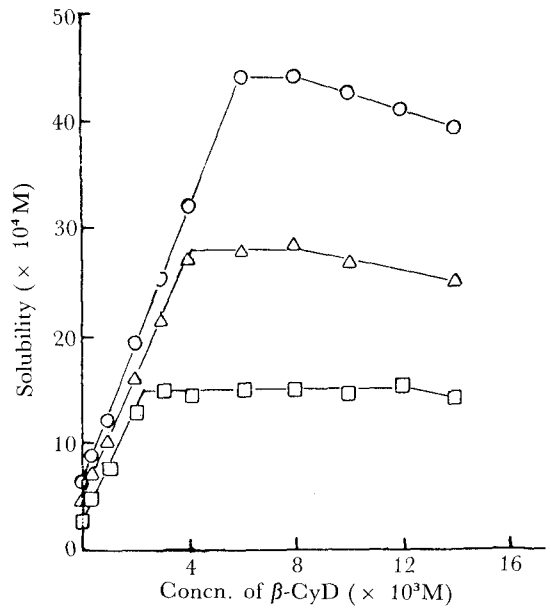


Figure 3 — Phase solubility diagrams of TPA- β -CyD system in pH 1.2 KCl-HCl buffer at various temperatures. Key: \square ; 15°C, Δ ; 25°C, \circ ; 35°C

$$\Delta F = -2.303 RT \log K' \tag{1}$$

$$\log K'_2 / K'_1 = \frac{\Delta H}{2.303 R} \left(\frac{T_2 - T_1}{T_1 T_2} \right) \tag{2}$$

$$\Delta F = \Delta H - T \Delta S \tag{3}$$

Fig. 4에서 보는 바와 같이 van't Hoff plots는 15~35°의 범위에서 양호한 직선관계를 나타낸다.

Table I — Apparent Stability Constants (K' , M^{-1}) and Types of Solubility Curves of TPA- β -CyD Complex Systems Determined by Solubility Method at Various Temperatures.

Temperature, °C	Medium	Solubility, S_0 (M)	Type ^{a)}	Apparent stability constant, K'
15	Water	6.0×10^{-4}	Bs	1,231
	pH 1.2 buffer ^{b)}	2.81×10^{-4}	Bs	2,854
25	Water	9.83×10^{-4}	Bs	1,163
	pH 1.2 buffer	4.42×10^{-4}	Bs	2,346
35	Water	1.56×10^{-3}	Bs	857
	pH 1.2 buffer	6.75×10^{-4}	Bs	2,088

^{a)}The types of phase solubility diagram were defined according to Higuchi *et al.* ^{b)}KCl-HCl buffer was used.

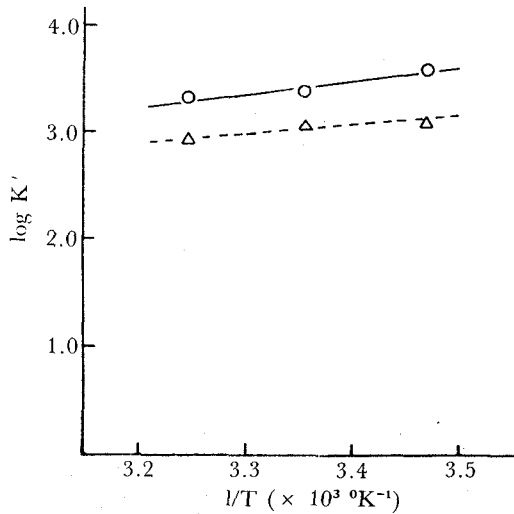


Figure 4 — Typical van't Hoff plots for stability constants of TPA- β -CyD complexes.

Key: O, pH 1.2 KCl-HCl buffer; Δ , water

타냈으며 이의 직선의 기울기로부터 enthalpy의 변화(ΔH)를 산출하였다. (1), (2), (3) 식에 따라 각종 열역학적 변화율을 산출하여 Table II에 표시하였다. 여기에서 ΔH 는 TPA의 결정격자간의 견고한 결합이 끊어지면서 외부에 행한 일과 복합체를 형성하면서 방출하는 energy의 차이로 생각할 수 있으며 이 때 free energy의 변화(ΔF)는 ΔH 의 값이므로 자발적 발열 반응임을 나타낸다. 또 entropy 변화(ΔS)는 TPA의 결정격자간의 결합이 끊어지면서 단분자상으로 해방될 때의 ΔS 와 복합체형성으로 다시 질서를 얻었을 때 생기는 ΔS 와의 차이로

Table II — Thermodynamic Parameters for Complex Formation of TPA- β -CyD Complexes in Water and pH 1.2 KCl-HCl Buffer

Medium	Temperature, °K	Apparent stability constant, K'	ΔF (kcal/mole)	ΔF (kcal/mole)	ΔS (cal/deg/mole)
Water	288	1,231	-4.07		3.03
	298	1,163	-4.18	-3.2	3.18
	308	857	-4.13		3.03
pH 1.2 KCl-HCl buffer	288	3,854	-4.73		-2.35
	298	2,346	-4.60	-5.4	-2.71
	308	2,088	-4.68		-2.35

Table III — Effects of CyDs on Partition Coefficients of TPA at 37°C.

Systems	Pc ^{a)}
TPA alone	68.57
TPA- α -CyD	66.95
TPA- β -CyD	34.38
TPA- γ -CyD	28.12

^{a)} Partition coefficients of TPA between n-octanol and water

생각할 수 있으며 물에서는 +의 값을, pH 1.2 액에서는 -의 값을 나타낸 것은 액성에 따라 복합체형성으로 인한 주위의 물분자 배열의 질서도가 다르게 나타난 때문으로 추정되며 TPA- β -CyD간의 복합체 형성에는 소수성 상호작용이 지배적인 것으로 생각된다.

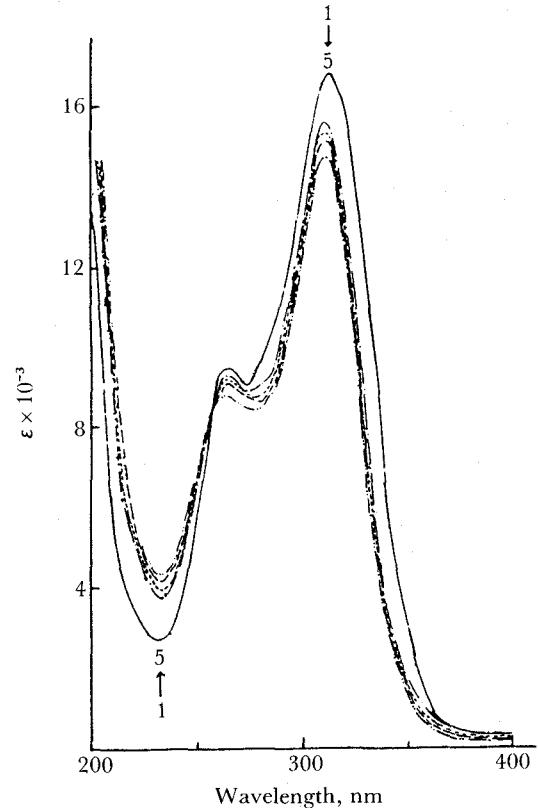


Figure 5 — UV absorption spectra of TPA ($3.84 \times 10^{-4} M$) and its β -CyD systems in water.

Key: 1, TPA alone; 2, TPA + β -CyD ($3 \times 10^{-3} M$); 3, TPA + β -CyD ($5 \times 10^{-3} M$); 4, TPA + β -CyD ($7 \times 10^{-3} M$); 5, TPA + β -CyD ($10 \times 10^{-3} M$)

CyDs가 TPA의 n-Octanol 및 물 사이의 분배계수에 미치는 영향

$1 \times 10^{-2} M$ 의 α -, β - 및 γ -CyD 수용액 각각과 $1 \times 10^{-2} M$ TPA의 n-octanol 용액을 동용량으로 섞고 37°C에서 24시간 흔들어 분배평형에 도달시킨 다음 수층중의 약물을 정량하여 분배계수를 측정 한 결과는 Table III과 같다. 분배계수의 감소는 수용액중 복합체형성에 의한 것임을 의미하며 유리의 약물이 장관흡수에 주로 관여한다^{23,27)}는 점을 고려할 때 β - 또는 γ -CyD와의 복합체화에 의하여 약물의 용해성을 크게 향상시킴과 동시에 약물방출을 조절할 수 있는 carrier로서의 응용성이 있음을 시사한다²⁹⁾

UV 및 CD 스펙트라에 의한 검토

수용액중에서 TPA의 UV 스펙트럼에 미치는 β -CyD의 영향을 검토한 결과 Fig.5에서와 같이 β -CyD의 첨가량이 증대함에 따라 흡수극대파장이 blue shift함과 동시에 흡수강도도 hypochromic shift하였다. 이는 β -CyD의 cavity 내에 TPA분자가 포접됨으로써 TPA의 전자운동이 속박되는 것으로 생각된다. 또한 252 nm에서 명백히 나타난 등흡수점과 Fig. 2의 용해

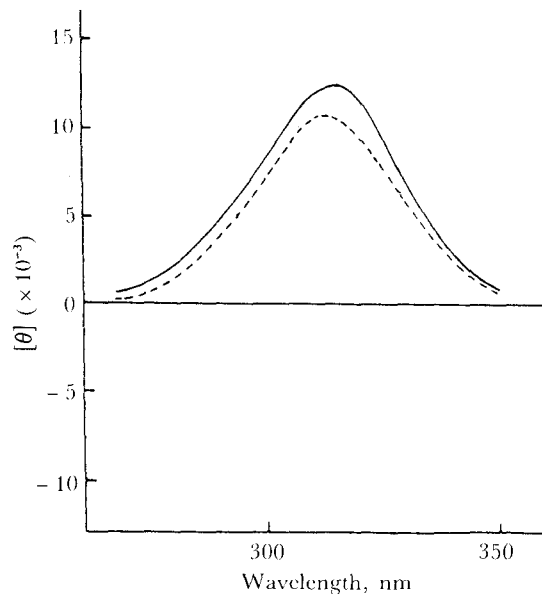


Figure 6 — Circular dichroism spectra of TPA ($3.84 \times 10^{-5} M$)- β -CyD ($5 \times 10^{-3} M$) and TPA- β -CyD ($10 \times 10^{-3} M$) systems in water.
Key: —, $5 \times 10^{-3} M$ β -CyD; ---, $10 \times 10^{-3} M$ β -CyD

Table IV — Amount of TPA Included by β -CyD by Coprecipitation, Freeze Drying and Spray Drying Method.

Method	Molar ratio of TPA to β -CyD		Inclusion ratio of TPA (%)
	Before procedure	After procedure	
Coprecipitation	3	0.32	10.7%
Freeze-drying	1	0.83	83.0%
Spray-drying	0.4	0.37	92.5%

도의 직선적 증가로 볼 때 TPA와 β -CyD 간에 1 : 1의 복합체를 형성함을 알 수 있다. Fig. 6은 수용액중에서 TPA의 CD 스펙트럼에 미치는 β -CyD의 영향을 검토한 결과이다. β -CyD의 존재시 TPA는 CD 스펙트럼에 있어서 TPA의 UV 흡수영역인 315 nm에서 positive peak를 나타내었다. β -CyD 자체의 intrinsic cotton effect는 220 nm이하에서 나타나므로 220 nm이상에서 나타난 optical activity는 β -CyD와의 포접복합체 형성에 따른 상호작용으로 생긴 TPA의 induced cotton effect라 할 수 있다. 또한 β -CyD의 농도가 높아짐에 따라 molar ellipticity가 감소하고 흡수극대파장이 단파장 쪽으로 약간 shift하였으므로 보아 명백한 상호작용이 있음을 알 수 있다.

TPA의 포접량

공침법, 동결건조법 및 분무건조법에 따라 조제한 고체복합체중 TPA의 물비를 구한 결과는 Table IV와 같다.

공침법에 의한 포접복합체는 타방법에 비하여 쉽게 얻어지는 반면 수득율면에서는 저조하였으나 재현성은 매우 높았다. 동결건조법의 경우 TPA 및 β -CyD에 대하여 continuous variation plot를 시행한 결과 흡광도 최대감소는 $[TPA] / \{ [TPA] + [\beta-CyD] \}$ 가 0.5에서 나타나 1 : 1 몰비로 복합체가 형성됨을 확인하였으므로 1 : 1의 몰비 조건으로 동결건조하였다. 공침법에 비하여 포접율이 매우 높았다. 분무건조법으로 얻은 복합체의 포접율은 92.5%로 가장 양호하게 나타났다. 본법은 최근에 보고된 방법으로 중화법¹⁰⁾과 같은 조작을 하여 이를 spray-dryer를 사용하여 건조시키는 방법으로 지금

까지의 포접방법과는 달리 대규모적인 생산이 간단히 이루어지며 입자의 균일성 및 양호한 유동성 등으로 인하여 제제에의 응용이 매우 좋은 것으로 생각된다. 그러므로 본법은 앞으로 C-yD와의 복합체 제조에 많은 응용이 기대된다.

분해산물의 확인

TPA 및 각 복합체에 대하여 thin layer chromatography를 시행한 결과 Rf값은 0.68로

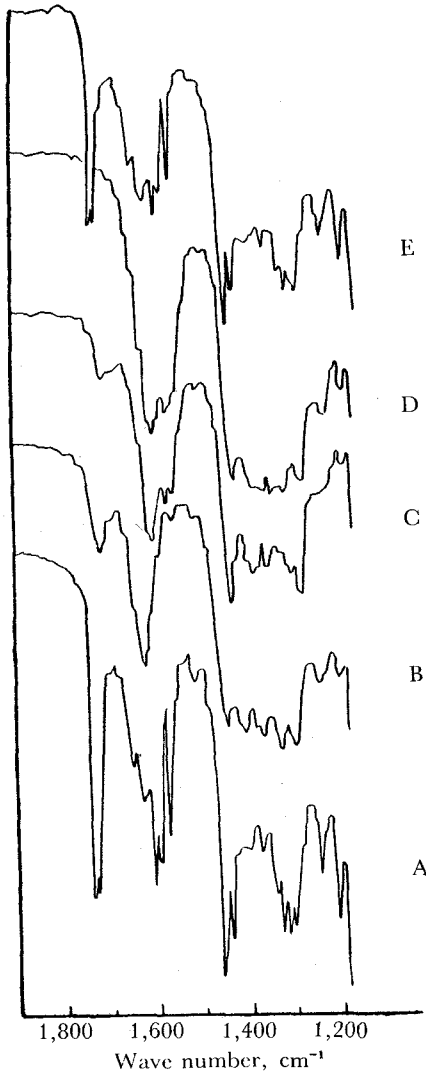


Figure 7 — IR absorption spectra of TPA/ β -CyD according to KBr disk method.

Key: A, TPA- β -CyD physical mixture (1:1 molar ratio); B, coprecipitated TPA- β -CyD; C, freeze-dried TPA- β -CyD (1:1 molar ratio); D, spray-dried TPA- β -CyD (1:2.5 molar ratio); E, co-pulverized TPA- β -CyD (1:1 molar ratio)

모두 동일한 위치에서 나타났으며 분해산물의 존재는 확인할 수 없었다. 이 결과로 미루어 보아 공침, 동결건조, 분무건조 및 혼합분쇄 조작 중 약물의 분해는 없는 것으로 생각된다.

적외부 흡수 스펙트라

Fig. 7은 TPA, β -CyD와의 physical mixture 및 각 조제법에 따라 조제된 시료의 적외부 흡수 스펙트라를 나타낸 것이다. 1730 cm^{-1} 부근의 carbonyl 기의 신축진동이 TPA 단독과 physical mixture에서 명백히 나타난 반면 공침 및 동결건조시킨 시료에서는 저파수로 shift하는 한편 전체적으로 broad하여짐에 따라 carbonyl 기의 신축진동의 흡수강도가 상당히 감소되었고 분무건조법에 의해 조제된 시료에서는 1730 cm^{-1} 부근의 peak가 완전 소실되었다. 이 결과로 미루어 보아 TPA와 β -CyD 간에는 상호작용이 존재하며 TPA가 β -CyD에 의하여 full inclusion된 것으로 추정된다. 또한 저파수

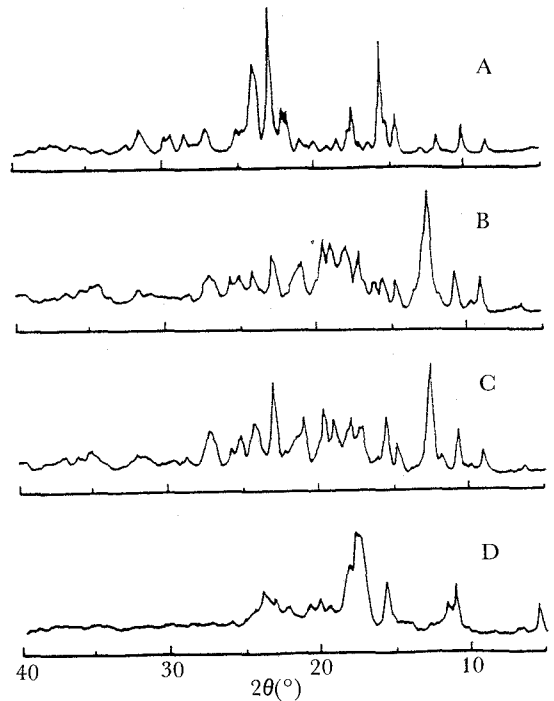


Figure 8 — Powder X-ray diffraction patterns of TPA- β -CyD systems obtained from coprecipitation method.

Key: A, intact TPA; B, intact β -CyD; C, physical mixture of TPA and β -CyD (1:1 molar ratio); D, coprecipitated TPA- β -CyD system

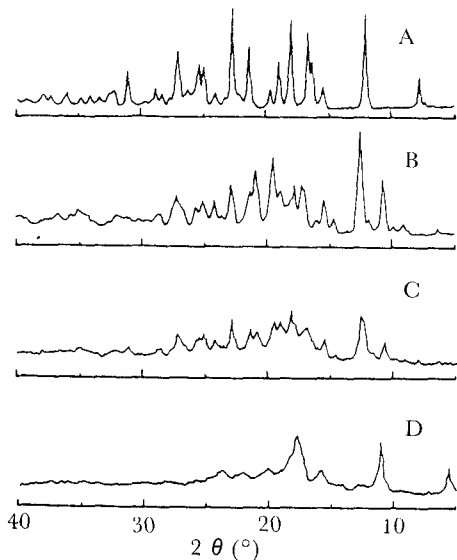


Figure 9 — Powder X-ray diffraction patterns of TPA- β -CyD systems obtained from freeze-drying method.

Key: A, freeze-dried TPA; B, freeze-dried β -CyD; C, physical mixture of freeze-dried TPA and freeze-dried β -CyD (1:1 molar ratio); D, freeze-dried TPA- β -CyD system (1:1 molar ratio)

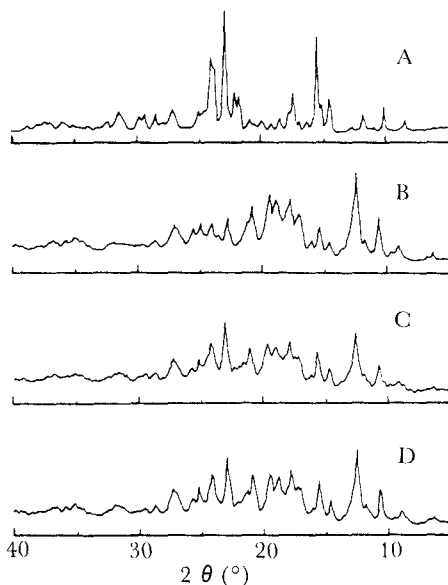


Figure 11 — Powder X-ray diffraction patterns of TPA- β -CyD systems obtained from copulverization method.

Key: A, intact TPA pulverized; B, pulverized β -CyD; C, physical mixture of pulverized TPA and pulverized β -CyD (1:1 molar ratio); D, co-pulverized TPA- β -CyD system (1:1 molar ratio)

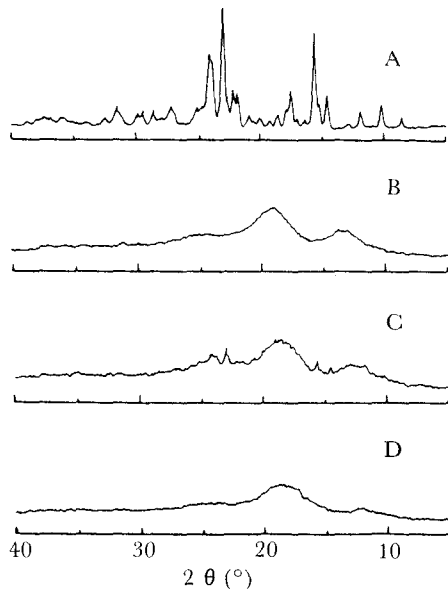


Figure 10 — Powder X-ray diffraction patterns of TPA- β -CyD systems obtained from spray-drying method.

Key: A, intact TPA; B, spray-dried β -CyD; C, physical mixture of intact TPA and spray-dried β -CyD (1:2.5 molar ratio); D, spray-dried TPA- β -CyD system (1:2.5 molar ratio)

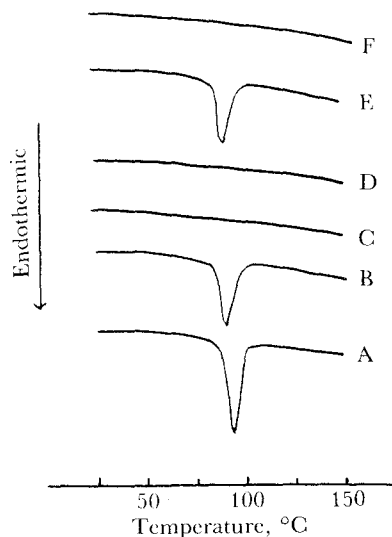


Figure 12 — DSC curves of TPA- β -CyD systems at scanning speed of 10°C/min.

Key: A, TPA alone; B, physical mixture of TPA and β -CyD; C, TPA- β -CyD system by coprecipitation method; D, TPA- β -CyD system by freeze-drying method; E, TPA- β -CyD system by co-pulverization method; F, TPA- β -CyD system by spray-drying method

로의 shift는 TPA의 carbonyl기와 β -CyD의 hydroxyl기 사이에 hydrogen bond가 형성되는 것으로 생각되며 이는 TPA- β -CyD complex가 고체상태로 얻어졌음을 명백히 나타내 준다. 반면에 혼합분쇄에 의한 시료는 TPA와 β -CyD의 physical mixture에 비하여 아무런 변화도 나타내지 않았다. 이로부터 본 연구에서 시도한 혼합분쇄 방법으로는 복합체가 형성되지 않는 것으로 생각된다.

분말 X선 회절

공침법 및 동결건조법에 의하여 제조한 복합체의 X선 회절 pattern은 Fig. 8 및 9에서와 같이 TPA, physical mixture 및 복합체의 순으로 회절 pattern이 broad해졌으며 이는 복합체의 결정성이 현저히 감소되고 비정질화가 증대된 것을 뒷받침한다. 한편 분무건조법에 의한 시료는 Fig. 10에서와 같이 TPA 단독에 비해 그 결정성이 거의 소실되어 무정형으로 얻어졌다. 또한 결정성인 β -CyD도 분무건조에 의하여 비정질화가 되었으며 이것과 결정성 TPA와의 physical mixture도 TPA의 결정성이 거의 소실되었다. 특히 분무건조한 β -CyD와 TPA와의 물리적 혼합물도 단순한 grinding에 의해

비정질화가 이루어진 것은 매우 흥미있는 일로서 보다 깊은 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다. 그러나 혼합분쇄법에 의한 시료는 Fig. 11에서와 같이 TPA 단독보다는 그 회절 pattern이 다소 broad해졌으나 physical mixture와의 비교시는 별다른 차이가 없었다. 이는 본 실험에서 적용한 혼합분쇄 방법으로는 TPA의 비정질화나 복합체형성이 일어나지 않았음을 의미한다.

示差走査 열량 분석

Fig. 12에서와 같이 TPA 단독과 physical mixture에서는 98°C 근처에서 흡열 peak가 나타났는데 반하여 공침법, 동결건조법 및 분무건조법으로 조제한 시료는 그 peak가 소실되었다. 이는 복합체형성에 의하여 TPA가 열적으로 안정화된 때문으로 생각된다. 한편 혼합분쇄법으로 조제한 시료는 physical mixture와 비슷한 peak를 나타낸 것으로 미루어 보아 복합체가 형성되지 않은 것으로 생각되며 그 밖에 각 조제법별로 얻은 TPA 단독 및 각각의 physical mixture의 흡열 peak는 각 조제법간에 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다.

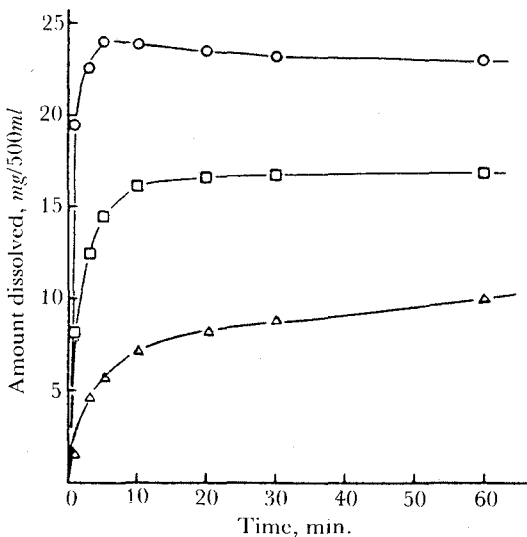


Figure 13 — Dissolution curves of TPA- β -CyD systems obtained from coprecipitation method in pH 1.2 KCl-HCl buffer at 37°C.

Key: Δ , TPA alone; \square , TPA- β -CyD physical mixture; \circ , coprecipitated TPA- β -CyD system

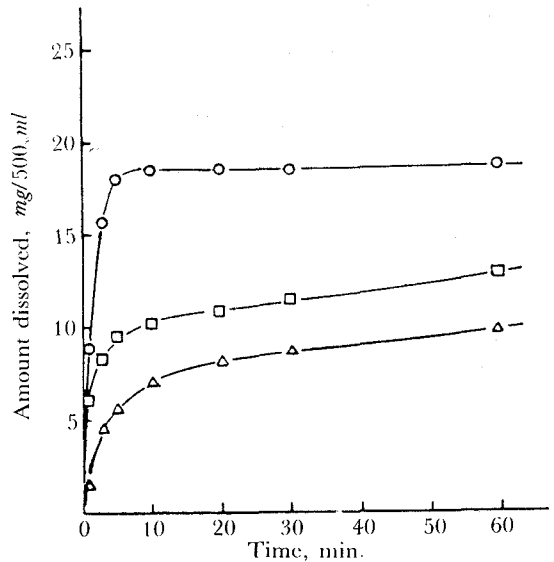


Figure 14 — Dissolution curves of TPA- β -CyD systems obtained from freeze-drying method in pH1.2 KCl-HCl buffer at 37°C.

Key: Δ , TPA alone; \square , physical mixture of TPA and freeze-dried β -CyD (1:1 molar ratio); \circ , freeze-dried TPA- β -CyD system (1:1 molar ratio)

고체복합체의 용출거동

각 조제법별로 얻은 복합체의 용출실험 결과를 보면 Fig. 13, 14, 15 및 16에서와 같이 공침법, 동결건조법, 분무건조법, 혼합분쇄법으로 조제한 시료는 모두 약물단독에 비하여 현저한 용출증가를 나타내었으나 혼합분쇄법에 의하여 조제된 시료는 physical mixture보다 별다른 변화가 없었다. Fig. 16에서 physical mixture의 경우 약물단독보다 다소 높은 용출율을 나타낸 것은 습윤성의 증가와 수용액중 빠른 복합체형성에 의한 용해속도의 증가에 기인한 것으로 생각된다. 이는 분말 X선 회절시험에서 나타난 TPA 결정상태의 비정질화 경향과 잘 일치하는 것으로 미루어 보아 용출증가 요인으로 고체복합체화 이외에 입자도 감소 및 약물의 결정상태의 변화가 크게 작용하고 있는 것으로 생각된다. 분무건조법의 경우 Fig. 15에서와 같이 physical mixture도 복합체와 거의 동등한 높은 용출율을 나타낸 것은 분무건조한 β -CyD와 TPA를 단순히 grinding함으로서 TPA의 비정질화와 복합체화가 가능함을 시사하는 것으로 추정된다. 혼합분쇄법의 경우는 혼합분쇄한 시

료와 physical mixture가 거의 같은 용출율을 나타내었는데 이는 적외흡수 스펙트라 DSC 및 분말 X선 회절의 결과로부터 고체복합체가 형성되지 않은 사실과 잘 일치되고 있다. 또 TPA와 glucose를 1:7 몰비로 혼합분쇄한 시료와 동 mole비의 physical mixture도 동등한 용출율을 나타내었고 약물단독보다는 약간 높은 용출율을 보여 주었다. 이는 단순한 습윤성의 증대로 생각된다. 그러나 β -CyD와의 혼합분쇄물이 glucose와의 혼합분쇄물보다 훨씬 높은 용출율을 나타내었는데 이것은 β -CyD에 의한 단순한 습윤성 증대 이외에 수용액중 포접화에 의한 TPA의 용해속도 증대가 크게 작용한 것으로 추정된다. 이상과 같이 4종의 제법에 따라 얻은 시료의 용출양상을 비교한 결과 Fig. 17에서와 같이 공침, 분무건조, 동결건조 및 혼합분쇄로 얻은 시료는 모두 높은 율을 보여 주었다. 또한 모든 경우에 있어서 약물단독이나 시판정제를 분말화한 시료보다 훨씬 높은 용출율을 나타내었다. 이러한 결과는 제약공업

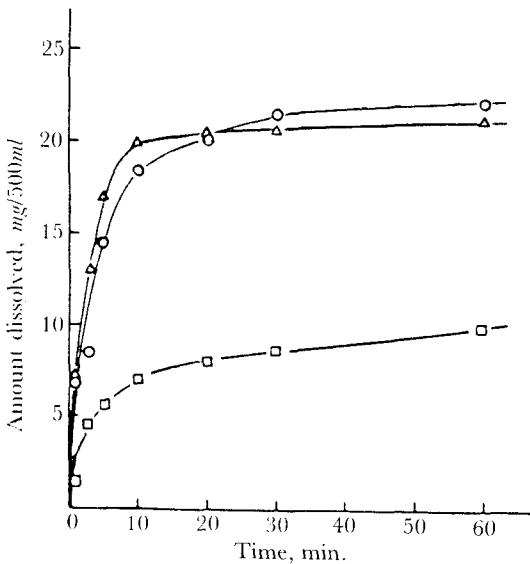


Figure 15 — Dissolution curves of TPA- β -CyD systems obtained from spray-drying method in pH 1.2 KCl-HCl buffer at 37°C. Key: \square , TPA alone; Δ , physical mixture of TPA and spray-dried β -CyD (1:2.5 molar ratio); \circ , spray-dried TPA- β -CyD system (1:2.5 molar ratio)

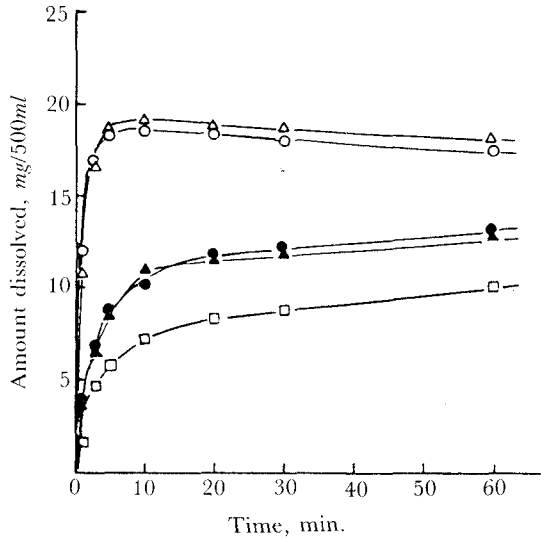


Figure 16 — Dissolution curves of TPA- β -CyD systems obtained from pulverization method in pH 1.2 KCl-HCl buffer at 37°C. Key: \square , TPA alone; \blacktriangle , physical mixture of TPA and glucose (1:7 molar ratio); \bullet , co-pulverized TPA-glucose system (1:7 molar ratio); Δ , physical mixture of pulverized TPA and pulverized β -CyD (1:1 molar ratio); \circ , co-pulverized TPA- β -CyD system (1:1 molar ratio).

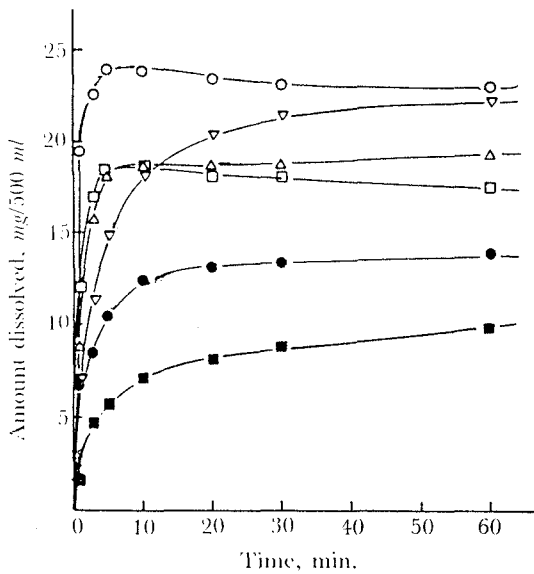


Figure 17 — Dissolution curves of TPA- β -CyD systems obtained from various methods in pH 1.2 KCl-HCl buffer at 37°C.

Key: ■, TPA alone; ●, ground commercial tablets; □, co-pulverized TPA- β -CyD system (1:1 molar ratio); △, freeze-dried TPA- β -CyD system (1:1 molar ratio); ▽, spray-dried TPA- β -CyD system (1:2.5 molar ratio); ○, coprecipitated TPA- β -CyD system

적인 측면에서 생산성 및 경제성을 고려할 때 고체상태의 포접복합체를 제조함에 있어서 분무건조법이 매우 유용한 수단으로 활용될 수 있음을 의미한다.

결 론

1. 수용액중에서 TPA와 CyD 간의 상호작용을 용해도법, UV, CD로 확인한 결과 α -CyD를 제외한 β - 및 γ -CyD와는 복합체를 형성하였다.

2. TPA와 β -CyD를 공침, 동결건조, 분무건조, 혼합분쇄법에 의하여 시료를 조제하고 분말 X 선 회절분석, 적외흡수 스펙트라, 示差走査열량 분석으로 확인한 결과 혼합분쇄를 제외한 타 방법에 의해서는 고체복합체가 형성되었으며 포접수율은 공침법보다 동결건조법과 분무건조법이 훨씬 양호하였다.

3. 상기 네가지 방법으로 조제한 시료로 용출시험을 행한 결과 모두 TPA 단독 및 physi-

cal mixture에 비하여 현저한 용출증가를 보여주었다.

문 헌

- 1) K. Uekama, *Yakugaku Zasshi*, **101**(10), 857 (1981)
- 2) 上釜兼人, 化学と薬学の教室, **59**, 43 (1978)
- 3) N. Nambu, M. Shimoda, H. Ueda and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2952 (1978)
- 4) M.L. Bender, M. Komiyama, *Cyclodextrin Chemistry*, Springer-Verlag, New York, 1978
- 5) K. Ikeda, K. Uekama and M. Otagiri, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**(1), 201 (1975)
- 6) Y. Hamada, N. Nambu and T. Nagai, *ibid.*, **23**(6), 1205 (1975).
- 7) K. Uekama, N. Matsuo, F. Hirayama, T. Yamaguchi, Y. Imamura and H. Ichibagase, *ibid.*, **27**(2), 398 (1979).
- 8) K. Uekama, Y. Ikeda, F. Hirayama, M. Otagiri and M. Chibata, *Yakugaku Zasshi*, **100**(1), 994 (1980)
- 9) K. Uekama, K. Oh, F. Hirayama, M. Otagiri, M. Shibata, Y. Ohtani, Y. Yamada and Y. Sugiyama, *ibid.*, **102**(12), 1141 (1982)
- 10) T. Tokumura, H. Ueda, Y. Tsushima, M. Kasai, M. Kayano, I. Amada and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**(10), 4179 (1984)
- 11) J. L. Lach, T.-F. Chin, *J. Pharm. Sci.*, **53**, 69 (1964)
- 12) T. Hoshino, Y. Tagawa, F. Hirayama, M. Otagiri and K. Uekama, *Yakugaku Zasshi*, **102**(12), 1984 (1982)
- 13) K. Arimori, R. Iwaoku, M. Nakano, Y. Uemura, M. Otagiri and K. Uekama, *ibid.*, **103**(5), 553 (1983)
- 14) K. Fujioka, Y. Kurosaki, S. Sato, T. Noguchi, T. Noguchi and Y. Yamahira, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**(7), 2416 (1983)
- 15) Y. Ikeda, K. Matsumoto, K. Kunihiro, T. Fuwa and K. Uekama, *Yakugaku Zasshi*, **102**(1), 83 (1982)
- 16) T. Hibi, M. Tatsumi, M. Hanabusa, R.

- Higuchi, T. Imai, M. Otagiri and K. Uekama, *ibid.*, **104**(9), 990 (1984)
- 17) K. Kurozumi, N. Nambu and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**(12), 3062 (1975)
- 18) K. Uekama, F. Hirayama, Y. Yamada, K. Inaba. and K. Ikeda, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1059 (1979)
- 19) K. Uekama, T. Fujinaga, M. Otagiri, H. Seo and M. Tsuruoka, *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 726 (1981)
- 20) N. Nambu, K. Kikuchi, T. Kikuchi, Y. Takahashi, H. Ueda and T. Nagai, *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3069 (1978)
- 21) K. Uekama, T. Irie, M. Sunada, M. Otagiri and K. Tsubaki, *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 142 (1981).
- 22) Y. Sato, H. Matsumaru, T. Irie, M. Otagiri and K. Uekama, *Yakugaku Zasshi*, **102**(9), 874 (1982)
- 23) 上釜兼人, 松尾直樹, 平山文俊, 一番ヶ瀬尚, 有森和彦, 椿 健一, 佐竹健三, *薬学雑誌*, **100**, 903 (1980)
- 24) R. Iwaoku, K. Arimori, M. Nakano and K. Uekama, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1416 (1982)
- 25) 鶴岡道雄, 橋本 強, 瀬尾 量, 一政清一, 上野 宰, 藤永稔夫, 小田切優樹, 上釜兼人, *薬学雑誌*, **101**, 360 (1981)
- 26) K. Uekama, M. Otagiri, Y. Uemura, T. Fuginaga, K. Arimori, N. Matsuo, K. Tasaki and A. Suggi, *J. Pharm. Dyn.*, **6**, 124 (1983)
- 27) K. Juri, M. Nakano and T. Arita, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2807 (1977)
- 28) 上釜兼人, 藤崎二郎, 平山文俊, *薬学雑誌*, **100**, 1087 (1980)
- 29) 上釜兼人, *月刊薬事*, **22**, 1858 (1980)
- 30) A. Camp, *Rheumatol. Rehabil.*, **20**, 181 (1981)
- 31) R. Deraedt, J. Benzoni and F. Delerallée, *Rheumatology*, **7**, 78 (1982)
- 32) T. Higuch and K.A. Connors, *Adv. Anal. Chem. Inst.*, **4**, 117 (1965)
- 33) O. Shirakura, N. Nambu and T. Nagai, *Yakuzaigaku*, **45**(1), 27 (1985)
- 34) K. Uekama, M. Otagiri, Y. Kanie, S. Tanka and K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**(7), 1421 (1975)
- 35) A. L. Thakkar, P. B. Kuehn, J.H. Perrin and W. L. Wilham, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 1841 (1972)
- 36) H. Seo, M. Tsuruoka, T. Hashimoto, T. Fujinaga, M. Otagiri and K. Uekama, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**(1), 286 (1983)
- 37) T. Tokumura, Y. Tsushima, K. Tatsuishi, M. Mayano, Y. Machida and T. Nagai, *Yakuzaigaku*, **45**(1), 1 (1985)
- 38) K. Uekama, M. Otagiri, Y. Kanie, S. Tanaka and K. Ikeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**(7), 1421 (1975)
- 39) Y. Nakai, S. Nakajima, K. Yamamoto, K. Terada and T. Konno, *ibid.*, **28**(5), 1552 (1980)
- 40) Y. Nakai, K. Yamamoto, K. Terada and K. Akimoto, *ibid.*, **32**(2), 685 (1984)