

비페닐디메틸디카르복실레이트 연질캡셀제의 설계 및 제제학적 평가

전인구* · 광혜선 · 문지현

동덕여자대학교 약학대학

Design and Pharmaceutical Evaluation of Biphenyl Dimethyl Dicarboxylate Soft Elastic Capsules

In Koo CHUN*, Hye Sun GWAK and Jee Hyun MOON

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

(Received November 27, 1996; accepted December 20, 1996)

Abstract—To solubilize practically insoluble biphenyl dimethyl dicarboxylate (DDB), which has been used for the treatment of chronic hepatitis as tablets or hard capsules, the solubilities of DDB in various hydrophilic, oily and hydrocarbon vehicles, and aqueous surfactant solutions were measured by high performance liquid chromatography. It was found that, among the vehicles studied, polyethylene glycol (PEG) 300 revealed the best solvency, and the solubility reached 17.6 mg/ml at 37°C. The addition of glycyrrhizic acid ammonium salt (GAA) to DDB-PEG 300 solution (5-20 mg/g) inhibited the formation of precipitates, and at the concentration of 10 mg/g, any precipitation was not observed even after 2 years at 4°C. Furthermore, GAA markedly enhanced the permeation of DDB through the rabbit duodenal mucosa in a concentration dependent manner. The addition of copolyvidone (ca. 1.0%) to DDB-GAA-PEG 300 system (1: 0.5 : 97.5 w/w) was most effective in preventing the considerable precipitation of DDB-PEG 300 solution (7.5 mg/750 mg) when mixed with water of 300-900 ml at 37°C. GAA showed a synergistic effect in the prevention of precipitate formation. This finding suggests that this DDB formulation may form less precipitation when DDB soft capsules disintegrate and diffuse into the gastrointestinal fluid, resulting in improving the bioavailability. Dissolution rate of DDB (7.5 mg) from soft elastic capsules of DDB-GAA-PEG 300 system was rapid. The supersaturation state was maintained for 2 hr at the concentration of 7.35 ± 3.3 mg in 900 ml of water without precipitation. The total amount of DDB dissolved from this new formulation was 5.3 and 6.1 times higher, when compared to marketed DDB tablets (25 mg) and capsules (7.5 mg), respectively.

Keywords □ biphenyl dimethyl dicarboxylate, solubilization, polyethylene glycol 300, glycyrrhizic acid ammonium salt, copolyvidone, soft capsules, dissolution, prevention of precipitates, permeation enhancement

새롭게 창출된 물질이나 기존의 약물 중에는 물에 난용성인 것들이 매우 많다. 이들 물질이 의약품으로 제제화되기 위해서는 용해성, 용출성, 안정성 및 유수분배계수의 측정 등 preformulation study를 행하고 이의 자료가 제형 및 제제 설계에 반영될 필요가 있다. 더욱 액상제제나 주사제의 개발에 있어서는 약물의 용해성 확보가 필수적인 전제조건이 된다. 난용성 약물의 가용화 수단에는 계면활성제, 공용매 및 복합체 형성에 의한 수단이 있으며 화학적인 방법으로는 염이나 유도체를 만드는 방법을 들 수 있다(Yalkowski, 1981). 종래 제제화수단에 의한 난용성 약물의 가용화 및 용출증가는 시클로덱스트린류와의 복합체형성(Chun 등,

1990; Chun과 Park, 1993; Chun과 Yun, 1993; Loftsson과 Brewster, 1996), 수용성 담체(고분자)류와의 고체분산체 형성(Chiou와 Regelman, 1971; Chun 등, 1976; Fernandez 등, 1993), 혼합분쇄(Choudhari와 Sanghavi, 1993) 및 용매침착법 (Choi와 Yong, 1985) 등이 응용되어 왔다.

Biphenyl dimethyl dicarboxylate(DDB)는 오미자 성분의 합성 유도체로 1977년 중국의학원에서 개발된 약물로 혈청 트랜스아미나제, 특히 SGPT값을 저하시켜 만성지속성간염의 치료에 쓰이는 약물이다. 국내외의 여러 임상연구에 의하면 바이러스에 의한 급성 및 만성 간염환자, 만성 간질 환과 약물독성에 의해 간손상을 받은 환자의 상승된 혈청 트랜스아미나제 수치를 현저하게 개선시키는 것으로 보고 되어 왔으며 저용량(22.5 mg/day)의 DDB를 단기간 투여함

* To whom correspondence should be addressed.

으로써 만성 간염환자의 상승된 SGPT 및 SGOT를 저하시키는 것으로 보고되었다(Yu 등, 1987; Kim과 Kang, 1993). 그러나 이 약물은 물에 매우 난용성으로 용출성이 매우 저조하며 현탁액 또는 정제를 경구투여한 경우 생체이용률이 약 20-30%인 것으로 알려져 있다.

이러한 DDB의 용출성을 개선시키고자 Gu 등(1989; 1990)은 폴리에틸렌글리콜(PEG) 6000, 포비돈 및 요소를 사용하여 공침물을 제조하여 용출률을 개선하는 한편 PEG 6000과의 공침물을 환제의 형태로 투여하여 생체이용률을 현저히 향상시켰다고 하였다. Hyun과 Chun(1994)은 물에 거의 녹지 않는 DDB의 용출성을 향상시키고자 PEG 6000, PVP, 가용화제 및 흡수제로 쓰이는 플록사머 407(Pluronic F-127), 담즙산염인 데옥시콜린산나트륨, 시클로덱스트린류 및 레시틴 등을 이용하여 여러 무게비로 제조한 2성분 또는 3성분계의 고체분산체를 이용하여 용출성을 현저히 증대시킬 수 있음을 보고하였다. 또한 Lee 등(1996)은 플록사머와 고체분산체를 제조하여 DDB가 solid solution 상태로 존재하고 있음을 확인하고 용출률을 현저히 향상시켰다고 하였다. Lee 등(1996)은 PEG 6000과 고체분산체를 제조하여 첨가제류와 혼합하고 타정하여 용출시험을 행한 결과 시판정제보다 1.2-1.8배 용출률을 향상시켰다고 하였다. Kim 등(1994)은 인지질과 우르소데옥시콜린산나트륨과의 혼합미셀계에서 DDB의 용해도를 약 400 µg/ml로 증가시켰고 이를 경구투여한 경우 전혀 흡수가 인정되지 않은 반면 십이지장 투여시는 흡수가 관찰되었다고 하였다. 다른 한편 Sohn 등(1996)은 8종의 DDB 결정다형을 얻어 용출시험을 행하였으나 이들 다형간에는 용출률에 있어서 별다른 차이가 없었다고 하였다.

Ham 등(1996)은 DDB의 에스테기를 아미노 에스테기로 변환시켜 유도체화하고 염산염 또는 옥살레이트염으로 하여 물에 가용화함으로써 정맥주사제로서 개발 가능성이 있음을 보고하였다. Park 등(1996)은 PEG 400-글리세린 혼합액(95:5)에서 DDB의 용해성을 확보하고 이 용액을 경질캡셀에 충전하여 용출시험을 행한 결과 용출률을 현저히 향상시킬 수 있었다고 하였다. 그러나 DDB 용액의 농도, 경시침전형성 등 제제학적 품질특성에 관해서는 아직 보고된 바 없다.

따라서 이 연구에서는 난용성인 DDB의 연질캡셀화에 필요한 농도 이상의 가용화를 목적으로 이의 가용화 수단을 폭넓게 모색하고자 수성 및 유성 용제, 가용화제 함유 수용액 및 공용매(co-solvent) 중에서의 용해성을 측정하였다. 또한 가용화한 여러 DDB 비수성용액의 경시침전형성, 수용액과 혼합시 용해상태 유지, 토끼의 십이지장투과 특성, DDB 연질캡셀제 제조 및 용출특성 등을 검토하였다.

실험방법

재료 및 시약

DDB는 태평양제약으로부터 제공받은 것을 썼고 시판 정제 및 경질캡셀제는 시중에서 구입하여 썼다. 인지질로 Lipoid S 75, S 45 및 E 80(포스파티딜콜린 75 및 45% 함유 soybean lecithin, 및 80% 함유 egg lecithin, Lipoid KG, Germany)를 썼다. 투과촉진제로 글리실리진산암모늄(GAA, Sigma Chemical Co.)을 썼으며 비수성 용제로는 글리세린, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜(PEG)류를 사용하였다. 유성용제로는 propylene glycol dicaprylate/dicaprate(Captex 200, Karlshamns, USA)와 glyceryl dicaprylate/dicaprate(Captex 300, Karlshamns, USA), 옥틸도데칸올, 유동파라핀, 옥수수기름, 콩기름 및 참기름은 시판품을 쓰고 계면활성제로는 poloxamer F-127(BASF), 폴리소르베이트 80은 시판 제약금을 사용하였다. 시약으로는 HPLC 용 메탄올, 아세트오니트릴 및 물을 썼고 기타 시약은 시판 시약금을 사용하였다.

실험동물

New Zealand White계 토끼의 암컷(1.5-2.5 kg)을 서울대학교 의과대학 동물실에서 구입하여 본 대학 동물실에서 1주일 이상 적응시킨 것을 썼다.

기기 및 장치

자외분광광도계(Perkin-Elmer Lambda 4A), 고속액체크로마토그래프(Perkin-Elmer series 410), 항온진탕수욕장치(정밀도 0.2°, Karl Kolb model 171-100), pH 측정기(Fisher, Accumet 925) 및 Valia-Chien 투과시스템(Crown Bio Scientific, Inc.) 등을 사용하였다.

수종 용제, 가용화제 및 공용매에 의한 DDB의 가용화 시험

비수성 및 유성 용제, 5% 가용화제 용액 및 공용매 1.5 ml에 DDB 일정 과량을 넣어 25 또는 37°C에서 용해평형에 도달할 때까지 72시간 이상 진탕하여 0.45 µm 멤브레인필터(Gelman Sciences, Acrodisc)로 여과하고 여액 200 µl를 정확히 취하여 메탄올 10.0 ml를 넣어 희석하였다. 유성 용액의 경우는 클로로포름으로 희석하였다. 이 액 200 µl를 프레드니솔론의 메탄올 용액(10 µg/ml, 내부표준액) 200 µl와 섞어 이 혼합액 20 µl를 HPLC에 주입하였다. 따로 DDB 메탄올 용액 200 µl와 내부표준액 200 µl를 혼합한 액을 표준액으로 하여 얻은 피크면적으로부터 검액중 DDB의 농도를 산출하였다. HPLC 장치로 Perkin-Elmer series 410 pump, LC 90 UV 검출기(Perkin-Elmer), Varian 4290 데이터 처리장치를 사용하였다. 칼럼으로는 guard 칼럼(Ultrasphere C₈, 4.6×45 mm)이 부착된 µBondapak C 18(10 µm, 3.9×300 mm)을 사용하고 이동상으로는 아세트오니트릴·메탄올·물 혼합액(28 : 38 : 34 v/v)을 써서 유속 1.0 ml/min으로 유출시켜 파장 254 nm(attn : 32)에서 검출하였다.

DDB 용액의 침전 관찰

PEG 300중 GAA의 첨가가 4°C에서 DDB의 용액의 침전 형성에 미치는 영향을 경시적으로 관찰하였다. PEG 300 10 g에 DDB를 각각 50, 100, 150 및 200 mg을 달아 가온하여 녹이고 다른 한편으로는 각각에 GAA를 50 mg씩 넣어 녹여 전체 8개 시료로 하여 경시침전여부를 관찰하였다. 13개월 경과후 상정액을 취하여 용액중의 함량을 위의 HPLC 조건으로 정량하여 초기량으로부터 침전분을 구하였다.

DDB 용액의 수용액중 침전 형성 시험

PEG 300 10 g에 DDB 200 mg을 달아 가온하여 녹인 것, PEG 300과 Lipoid S 75의 비율 9.5 : 0.5, 9 : 1 및 8 : 2(w/w)로 하여 녹인 액 10 g에 DDB를 200 mg씩을 넣어 가온하여 녹인 액을 제조하였다. 이 액으로부터 DDB로서 10 mg에 해당하는 양을 autopipette으로 각각 취하여 37°C로 유지된 물 900 ml에 넣고 대한약전 용출시험법 제2법(paddle 법)에 따라 100 rpm으로 교반하면서 경시적으로 시료를 취하였다. 피펫 끝에 탈지면을 달아 이를 통과시켜 취한 시료 1 ml는 즉시 0.45 µm 멤브레인필터로 여과하였다. 여액 200 µl를 내부표준물질인 프레드니솔론(IS)의 메탄올 용액(10 µg/ml) 800 µl와 섞은 후 20 µl를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 피크면적비를 구하여 표준점량선으로부터 약물의 용해량을 산출하였다. 또한 PEG 300 단독, PEG 300-GAA 용액, PEG 300-Kollidon K-30 및 PEG 300-GAA-Kollidon VA 64 용액에 각각 DDB를 녹인 용액(10 mg/g)의 여러 조성물을 가지고 DDB로서 7.5 mg 해당량을 취하여 경질 공압셀에 충전하고 이를 sinker에 넣고 37°C의 300, 500 또는 900 ml의 물에 넣은 즉시 100 rpm으로 회전시키면서 경시적으로 점액 3.0 ml를 취하였다. 점액을 0.45 µm 멤브레인필터를 통하여 여과하고 여액 200 µl와 내부표준액 200 µl를 넣어 섞은 다음 20 µl를 HPLC에 주입하여 용해된 DDB의 양을 측정하였다.

토끼의 십이지장 점막 투과시험

하룻밤 절식시킨 토끼의 십이지장을 적출하여 Valia-Chien 투과시스템(개구부 면적 : 0.64 cm²)에 마운팅하고 donor cell에 pH 7.2 생리 등장 인산염완충액 3.5 ml 및 여러 종류의 DDB 용액(20 mg/g) 50 mg(DDB로서 1.0 mg)를 넣어 현탁상태를 유지하고 receptor cell에는 pH 7.4 인산염완충액 또는 40% PEG 300 수용액 3.5 ml 넣었다. 37°C에서 600 rpm으로 star-head magnetic bar로 10시간에 걸쳐 양측 셀을 교반하면서 receptor cell로부터 경시적으로 100 µl씩 시료를 취하여 IS를 10 µg/ml의 농도로 함유한 메탄올 용액 200 µl와 섞고 그 20 µl를 HPLC에 주입하여 DDB의 투과량을 산출하였다. 3회 투과시험을 행하고 그 평균값을 투과량으로 하였다. 또한 투과촉진효과를 검토하기 위해 receptor 용액의 영향, GAA 첨가농도의 영향 등을 검토하

였다.

DDB 용액의 연질캡셀, 시판 정제 및 캡셀의 용출시험

DDB 용액의 연질캡셀은 PEG(300) 4,925 mg에 DDB 50 mg 및 GAA 25 mg을 넣어 가온하여 녹인 액을 캡셀 1개당 750 mg씩 충전한 연질캡셀을 태평양제약(주)로부터 시험 제조 의뢰하여 공급받아 사용하였다. 시판 정제 각 1개(캡셀은 모두 DDB로서 7.5 mg 해당량, 정제는 DDB로서 25 mg 해당량) 씩을 취하여 37°C로 유지된 물 900 ml에 넣고 대한약전 용출시험법 제2법(paddle 법)에 따라 100 rpm으로 교반하면서 경시적으로 시료를 취하였다. 면진 피펫으로 취한 시료 1 ml는 즉시 0.45 µm 멤브레인필터로 여과하고 여액 200 µl를 내부표준물질로 프레드니솔론의 메탄올 용액(10 µg/ml) 200 µl와 섞고 그 20 µl를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 피크면적비를 구하여 표준액의 그것과 비교하여 용출량을 산출하였다.

결과 및 고찰

DDB의 가용화

DDB는 물에 거의 녹지 않는 것으로 보고되어 있다(Hyun과 Chun, 1994). Table I은 극히 난용성인 DDB를 가용화하기 위하여 비수성 및 유성 용제, 가용화제 함유 수용액 및 공용매(co-solvent) 중에서의 용해성을 측정된 결과이다. 이에서 보는 바와 같이 비수성 용제 중에서 DDB 용해도는 PEG 400 > 메탄올 > 에탄올 > 프로필렌글리콜의 순으로 PEG 400에서의 용해도가 가장 컸으며 25 및 37°C에서 PEG 400 중에서의 용해도는 각각 2.76 및 5.09 mg/ml이었다. 그러나 이러한 결과는 DDB 캡셀의 1회 용량이 7.5 mg이라는 점과 연질캡셀에 충전될 수 있는 용량을 1 ml로 가정할 경우 더욱 가용화할 수 있는 수단이 모색되어야 함을 나타낸다. 한편 여러 식물유와 탄화수소류 용제에서는 DDB의 용해도가 184.5-692.4 µg/ml로 나타나 물에서의 용해도보다는 현저히 증가되었으나 PEG 400보다는 용해력이 낮았다. 또한 Lipoid E 80, L 75 및 L 100과 같은 인지질류 및 계면활성제류의 5% 수용액 중에서는 DDB의 용해성 향상이 미약하였다.

따라서 여러 용제 중에서 PEG 400이 DDB를 가장 많이 가용화시켰기 때문에 PEG류의 평균분자량 200-600의 범위에서 DDB의 용해도에 미치는 영향을 검토하였다. 그 결과 PEG 200, 300, 400 및 600중 DDB의 용해도(37°C)는 각각 8.7, 17.6, 11.4 및 10.2 mg/ml로 나타나 PEG 300이 가장 우수한 가용화효과를 나타내었다. 한편 Table II는 PEG 300-물 공용매에서의 DDB의 용해성을 나타낸 결과로 PEG 300중 물의 농도가 높아짐에 따라 지수적으로 감소하였다. 그러나 PEG 300과 메탄올 간의 공용매에서는 메탄올의 농도 증대에 따라 DDB의 용해도가 완만하게 감소하

는 경향을 나타내었다. 이러한 결과로 볼 때 PEG 300에 물이나 다른 친수성 용제의 첨가는 DDB의 용해성을 감소시켜 PEG 300을 단독으로 사용하는 것이 바람직한 것을 알 수 있었다.

DDB의 PEG 300 용액과 물과의 혼합시 침전형성 및 용존량

DDB 용액이 투여될 경우 위장관 내용액과 접촉하게 되며 수성인 위장관 내용액에 난용성인 DDB가 침전으로 석출될 우려가 있다. 분자상태로 녹아 있는 약물이 흡수에 관여되므로 Lipoid S 75의 첨가 비율이 다른 여러 가지 PEG

300의 DDB 수성용액(20 mg/g)을 DDB로서 10 mg 해당량을 취하여 37°C 물에 첨가하고 100 rpm으로 회전시키면서 검액을 취하였다. Lipoid S 75가 첨가된 경우는 모두 유탁상태로 분산되었다. 검액은 0.45 µm 멤브레인필터를 통하여 여과하고 여액에 대해 HPLC를 행하여 경시적인 잔존 용해량을 용출시험법에 따라 검토하였다. 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. PEG 300 단독, Lipoid S75를 각각 5, 10, 20% 첨가한 경우 모든 DDB 용액이 물에 첨가되어 분산된 후 서서히 침전이 생성되어 수용액중 잔존량이 30분 경과 후 각각 85.0, 84.1, 91.6 및 82.9%를 나타내었고 2시간 경과후는 각각 66.8, 80.7, 86.1 및 73.2%를 나타내었다. 이로 볼 때 PEG 300에 Lipoid S 75를 첨가한 것과 첨가하지 않은 것 간에는 수용액중 DDB의 침전생성 억제에 현저한 차이가 없었으나 PEG 300 단독에 DDB를 녹인 경우에는 물에서의 침전생성 속도가 인지질을 첨가한 것보다 다소 빠른 것으로 나타났고 인지질의 첨가농도 영향은 10%일 때가 침전생성억제효과가 가장 크게 나타났다. 한편 PEG 300중 인지질(Lipoid S 75)의 첨가농도가 0, 10, 20, 30, 40 및 50%(w/w)로 증가할수록 DDB의 용해도(37°C)는 각각 17.6, 14.8, 13.7, 9.9, 7.7 및 5.3 mg/ml로 점차로 감소하였다. 이는 Lipoid S 75가 첨가된 DDB의 PEG 300 용액이 위장관 내에서 침전형성의 억제효과가 있다 하더라도 이것이 충전된 연질캡슐중에서는 장기 보존시 DDB가 석출될 우려가 있음을 나타낸다. 또한 PEG 300에 Lipoid S 75 등 여러 인지질을 분산 용해시키는 데에 가열처리가 요구되었고 제조 후 서서히 인지질이 석출되는 경향을 나타내었다.

Table III은 인지질의 사용을 피하고 PEG 300에 GAA 등을 첨가한 여러 가용화 조성물을 나타낸다. 또 Table IV는 이들 조성물을 충전한 캡셀에 대하여 물에서의 용출과정중 DDB의 경시 침전 및 용존량을 검토한 결과이다. 첨가제를 사용하지 않은 경우(FN-1) 시험액의 용량이 900 ml에서

Table I. Effects of various vehicles and additives on the solubilities of DDB at 25°C

Additives	Solubility (µg/ml)
Hydrophilic vehicles	
Water	0.45
Ethanol	484.47
Methanol	1,475.29
Propylene glycol	358.17
Polyethylene glycol 400	2,762.45
Vegetable oils and hydrocarbon	
Captex 200	334.67
Captex 300	692.36
Octyl dodecanol	746.30
Corn oil	184.47
Sesame oil	250.32
Soybean oil	334.09
Liquid paraffin	337.22
Captex 200 + Lipoid S 45 (1 : 1 v/v)	101.64
Captex 200 + Lipoid S 75 (1 : 1 v/v)	764.82
5% Aqueous solubilizers	
Lipoid E 80	10.02
Lipoid S 75	139.76
Lipoid S 100	27.68
Poloxamer F-127	5.46
Polyethylene glycol 6000	1.95
Polysorbate 80	25.77

Table II. Effects of co-solvents on the solubilities of DDB at 37°C

Co-solvents	Solubility (µg/ml)
PEG 300 : Water=0 : 100	2.7
PEG 300 : Water=20 : 80	15.2
PEG 300 : Water=40 : 60	87.3
PEG 300 : Water=60 : 80	1,161.3
PEG 300 : Water=80 : 20	2,560.8
PEG 300 : Water=100 : 0	17,628.4
PEG 300 : MeOH=0 : 100	1,475.0
PEG 300 : MeOH=20 : 80	2,924.6
PEG 300 : MeOH=40 : 60	5,673.0
PEG 300 : MeOH=60 : 40	10,652.1
PEG 300 : MeOH=80 : 20	13,473.2
PEG 300 : MeOH=100 : 0	17,628.4

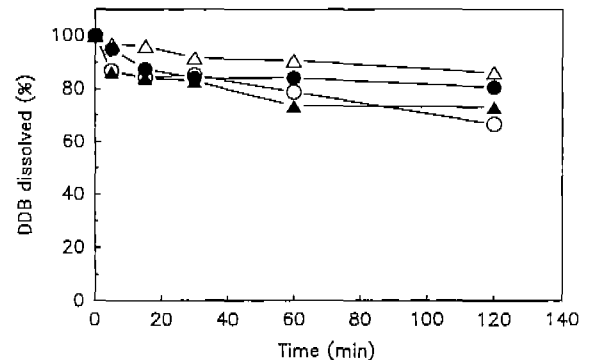


Fig. 1. Dissolution rates of DDB-PEG 300 solutions as a function of Lipoid S 75 in water at 37°C. ○ : PEG 300 alone, ● : 5% (w/w) Lipoid S 75 in PEG 300, △ : 10% (w/w) Lipoid S 75 in PEG 300, ▲ : 20% (w/w) Lipoid S 75 in PEG 300.

Table III. Formulations of various DDB solutions

Ingredients	Quantity added (mg)								
	FN-1	FN-2	FN-3	FN-4	FN-5	FN-6	FN-7	FN-8	FN-9
DDB	100	100	100	100	100	100	100	100	100
GAA		50	100					50	100
Kollidon VA 64				50	100	200		100	100
Kollidon K-30							100		
PEG 300	9,900	9,850	9,800	9,850	9,800	9,700	9,800	9,750	9,700

GAA : glycyrrhizic acid ammonium salt, Kollidon VA 64 : copolyvidone, Kollidon K-30 : povidone K-30

Table IV. Prevention of DDB precipitates as a function of GAA, povidone and copolyvidone when various PEG 300 solutions were mixed with water at 37°C

Formulation No.	Volumes tested (ml)	Amount (mg) of DDB dissolved					
		5	10	30	60	90	120 min
FN-1	900	6.59 (0.04)	7.38 (0.20)	6.85 (0.18)	6.68 (0.15)	6.87 (0.15)	6.73 (0.03)
	500	6.26 (0.09)	6.39 (0.48)	6.56 (0.04)	6.36 (0.71)	5.81 (0.71)	5.49 (0.89)
	300	6.55 (0.38)	6.43 (0.03)	5.46 (0.74)	3.69 (0.93)	2.89 (0.66)	2.16 (0.45)
FN-2	900	6.84 (0.22)	7.32 (0.27)	7.02 (0.20)	6.90 (0.00)	7.39 (0.26)	6.94 (0.00)
	500	6.43 (0.03)	6.76 (0.30)	6.94 (0.08)	6.77 (0.36)	6.52 (0.66)	6.02 (1.02)
	300	6.94 (0.46)	6.65 (0.18)	6.15 (0.76)	4.54 (1.05)	3.69 (1.06)	2.78 (0.73)
FN-3	300	6.72 (0.45)	6.51 (0.18)	5.04 (0.35)	3.18 (0.91)	2.31 (0.51)	1.83 (0.41)
FN-4	300	7.01 (0.16)	6.94 (0.23)	6.29 (0.54)	5.68 (0.35)	5.38 (0.43)	4.98 (0.44)
FN-5	300	6.81 (0.72)	6.60 (0.43)	6.23 (0.42)	6.66 (0.93)	5.81 (0.65)	5.54 (0.59)
FN-6	300	7.12 (0.33)	7.25 (0.27)	6.84 (0.05)	6.72 (0.21)	6.44 (0.39)	6.15 (0.27)
FN-7	300	6.77 (0.29)	6.97 (0.49)	5.78 (0.14)	4.35 (0.14)	3.51 (0.23)	2.78 (0.14)
	900	6.98 (0.08)	7.26 (0.13)	7.14 (0.08)	7.01 (0.11)	7.37 (0.23)	7.27 (0.06)
FN-8	500	6.96 (0.15)	6.79 (0.04)	7.48 (0.13)	7.18 (0.31)	7.35 (0.18)	7.51 (0.27)
	300	7.05 (0.44)	6.85 (0.32)	7.02 (0.11)	6.72 (0.12)	6.78 (0.47)	6.64 (0.16)
FN-9	300	6.87 (0.07)	6.52 (0.61)	6.31 (0.54)	6.00 (0.80)	6.00 (0.64)	6.12 (0.61)

Values in parentheses represent the standard deviations of three determinations.

300 ml로 줄어들수록 2시간에 걸쳐 침전 형성이 급격히 증가하였다. 이는 시험액의 양이 줄수록 과포화도가 상대적으로 커지기 때문이다. 시험액의 용량에 따라 침전형성이 달라지는 것은 경구투여시 복용하는 음료수나 위장관 수분의 양에 따라 용해상태를 유지하는 DDB의 양에 차이가 있음을 나타내고 이는 곧 흡수에 이용될 수 있는 양과 직결됨을 고려할 때 적은 시험액에서의 고농도의 용해상태 유지가 필수적인 기술이라고 판단된다. 따라서 첨가제류가 용출과정중 DDB의 용해상태 유지량에 미치는 영향을 검토한 결과 GAA는 첨가농도 0.5 및 1.0%(FN-2 및 FN-3)에 관계없이 별다른 침전생성억제 효과가 없었다. 또한 Kollidon K-30(FN-7)도 현저한 효과는 관찰되지 않았다. 그러나 Kollidon VA 64는 첨가농도 0.5~2.0% 범위(FN-4, FN-5, FN-6)에서 현저한 침전생성억제 효과가 있었으며 농도의존성이 있었다. 1.0%에서 2시간후 300 ml중 DDB의 용존율이 약 74%이었으며 GAA(0.5%)를 함께 첨가한 경우는 약 89%의 용존량을 나타내었다. 따라서 DDB 비수성 용액이 수성액과 혼합될 때 생기는 침전을 GAA와 Kollidon VA 64를 첨가하여 방지함으로써 고농도의 용해상태 유지가 가

능한 조성물을 얻을 수 있었다.

DDB 비수성용액 및 연질캡셀제의 경시 침전 형성

Table V는 PEG 300중 GAA의 첨가가 냉장고(4°C)에서 여러 DDB 수성용액의 침전형성에 미치는 영향을 1년 이상 보존하면서 육안 및 상징액중 함량을 측정하여 관찰한 결과이다. 이에서 보면 DDB의 함유농도가 그람당 10 mg 이상으로 높아질수록 경시적인 침전이 현저하였으며 GAA가 첨가되지 않은 경우는 그람당 15 mg 이상에서 침전이 관찰되었고 그 침전량도 현저히 적었다. 또한 투명한 상징액중 DDB의 함량도 육안관찰과 상관성 있게 나타나 그람당 20 mg을 함유하게 만든 DDB 액은 GAA를 함유하지 않은 경우 62.2%인 것에 비해 GAA 함유시는 78.5%이었다. GAA가 첨가된 경우 20개월 후 전혀 침전이 관찰되지 않은 DDB 농도는 그람당 10 mg이었고 15 mg인 경우도 침전량이 매우 적었다. 또한 수용액 중에서 GAA의 첨가농도가 0, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 및 2.0%로 증가할수록 DDB의 용해도도 각각 2.7, 5.5, 7.4, 9.1, 14.0 및 21.8 µg/ml로 증가되었다. 이러한 점으로부터 GAA(5 mg/g)는 PEG 300 중에서 DDB의 가용화효과와 침전형성 억제작용이 있고 수용액 중에서

Table V. Precipitation of various DDB solutions and supernatant DDB contents in the absence and presence of GAA at 4 °C

Formulation No.	Formula ^a (mg)	Precipitation		DDB content (%) after 13 months
		1 month	19 months	
A-0	DDB 200	+1 ^{b)}	+20	62.2
A-1	DDB 200 GAA 50	- ^{c)}	+14	78.5
B-0	DDB 150	-	+5	91.7
B-1	DDB 150 GAA 50	-	+1	94.1
C-0	DDB 100	-	+3	97.3
C-1	DDB 100 GAA 50	-	-	99.7
D-0	DDB 50	-	-	99.5
D-1	DDB 50 GAA 50	-	-	100.2

^aPEG 300 was used to make total weight of 10 g.

^bNumerical plus values indicate the relative extent of crystal formation.

^cNo precipitation.

도 가용화효과가 다소 있음을 알았다. 또한 DDB 경질캡셀 1캡셀당 함량이 7.5 mg인 점을 고려할 때 GAA 함유 DDB의 PEG 300 용액(10 mg/g) 750 mg을 연질캡셀에 충전함으로써 새로운 연질캡셀제의 제조 가능성을 보여 주었다. Fig. 2는 실제로 이러한 조성물(Table III의 FN-2)을 가지고 제조한 연질캡셀제를 나타내며, 이에서 보는 바와 같이 투명하였고 냉장고에 8개월간 보관 후에도 침전형성은 전혀 관찰되지 않았다.

DDB의 십이지장 점막 투과에 미치는 수증 첨가제의 영향

Table VI에는 donor cell에 pH 7.2 등장인산염완충액을 넣고 receptor cell에는 pH 7.4 등장인산염완충액을 넣은 다음 여러 종류의 DDB 용액을 DDB로서 1.0 mg에 해당하는 양을 넣어 8시간에 걸쳐 투과시험을 행하고 receptor cell로 투과된 양($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)을 나타내었다. DDB를 클로로포름-메탄을 혼합액(1:4)에 녹인 용액을 donor cell에 첨가한 경우 DDB의 침전이 생성되어 기벽에 침착하였으며 30분대에 $7.47 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 투과속도를 보인 후 서서히 감소되는 경향을 보여 주었다. PEG 300에 DDB를 녹인 용액과 이것에 Lipoid S 75를 5, 10, 20% 첨가하여 만든 용액들을 첨가한 경우도 백색의 침전이 생성되었고 Lipoid S 75가 함유된 용액의 경우는 인지질이 유탁상태로 분산되었다. 투과량 면

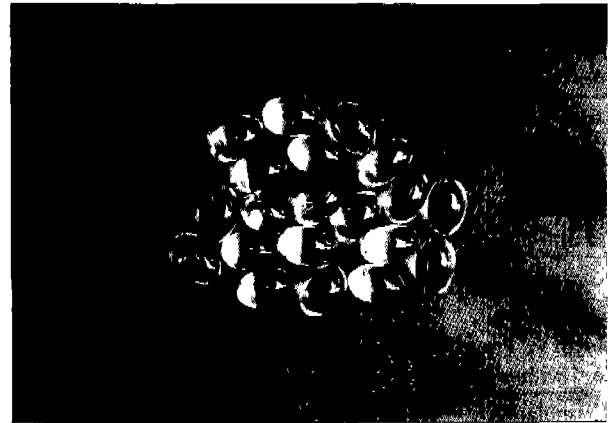


Fig. 2. Photograph of DDB soft elastic capsules.

에서는 Lipoid S 75의 농도가 증가할수록 DDB의 투과량이 증가하는 경향을 보여 주었으나 유의성 있는 차이는 없었다. 경시적으로 보면 30분대에 일반적으로 투과량이 높고 그 이후 증가하거나 감소하는 등 불균일한 투과량을 나타내었다. 이는 각 시료별로 투과액중 최대농도가 포화용해도 값의 28-48%에 접근하고 있어 non-sink condition에 해당하고, donor solution중 DDB도 경시적으로 침전으로 석출하여 용존상태를 유지하는 DDB의 농도가 포화용해도 이하로 감소한 때문으로 보인다. 한편 DDB의 PEG 300 용액에 인지질(5%)과 GAA를 첨가한 경우 투과속도가 30분대에 $17.49 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 로 투과시험후 신속히 포화용해도에 도달한 것을 알 수 있다. GAA가 첨가된 경우는 첨가되지 않은 동일한 DDB 용액에 비하여 30분대에 투과량을 약 9.4배 증가시켰다. 즉, GAA의 첨가로 DDB의 용해도가 약 $6.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 증가되었다는 점과 GAA 자체의 투과촉진효과에 기인하여 투과량이 증가되었다고 생각된다. 이로 볼 때 DDB의 용해상태가 확보되어 있는 한 십이지장 점막 투과는 매우 신속한 것으로 생각되며 GAA는 투과촉진효과가 매우 크다는 것을 알 수 있다.

앞에서 고찰한 것처럼 receptor cell에 완충액을 넣은 경우 투과된 DDB를 충분히 수용할 수 없었으므로 sink 상태를 유지하기 위하여 receptor solution으로 40% PEG 300(DDB의 용해도 : $87.3 \mu\text{g}/\text{ml}$)을 3.5 ml 첨가하고 donor solution으로는 pH 7.2 인산염완충액을 사용하여 투과시험을 행하였다. Table VII에서 보면 DDB를 클로로포름-메탄을 혼합액(1:4)에 녹인 용액과 PEG 300에 녹인 용액을 각각 DDB로서 1.0 mg 해당량을 첨가한 경우와 GAA를 donor solution(pH 7.2 등장인산염완충액)에 5 mM 농도로 첨가하고 DDB의 PEG 300 용액을 가한 경우 모두 30분대에 $19.8-20.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 투과속도를 나타내어 pH 7.4 완충액을 receptor solution으로 사용한 경우에 비해 8시간까지 현저한 투과증가를 관찰할 수 있었다. 따라서 DDB 용액의

종류와 GAA의 유무에 따른 차이는 없는 것으로 나타났다. 이는 donor solution중 DDB의 용존농도가 침전석출로 포화용해도 이하로 감소되더라도 receptor solution의 높은 용해성으로 인하여 많은 보다 많은 양을 수용할 수 있기 때문으로 생각되며 DDB의 십이지장 점막 투과는 매우 빠르다는 것을 뒷받침한다.

Table VIII은 donor solution중 DDB의 침전석출이 투과에 미치는 영향을 배제하기 위하여 40% PEG 300을 donor solution으로 하고 receptor solution으로는 40% PEG 300을

사용하여 GAA가 DDB의 십이지장 점막 투과에 미치는 영향을 검토한 결과이다. DDB의 PEG 300 용액(1.0 mg/g)을 DDB로서 175 µg 해당량을 취하여 GAA 0, 1 및 5 mM 함유하는 donor solution에 첨가한 경우 GAA의 첨가농도의 증가에 따라 4시간에 걸쳐 투과 플럭스가 현저히 증가되어 GAA의 투과촉진효과를 확인할 수 있었다.

DDB 연질캡셀의 용출특성

이 연구에서 제조한 DDB 용액의 연질캡셀, 시판 경질캡셀 및 정제에 대해 용출시험을 행한 결과를 Fig. 3에 나타

Table VI. Permeation rates ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) of DDB (1.0 mg/3.5 ml donor phase) through rabbit duodenal mucosa into receptor solution (pH 7.4 buffer)

DDB solutions	Time (hr)						
	0.5	1	2	4	6	8	10
DDB solution in CHCl_3 -MeOH (1 : 4 v/v)	7.47(1.23) ^{a)}	6.07(0.97)	7.00(2.28)	3.56(3.38)	6.88(0.88)	3.67(0.08)	4.16(2.49)
DDB solution in PEG 300	2.80(0.76)	2.80(1.19)	2.33(1.98)	3.26(2.76)	4.58(1.99)	5.21(1.15)	6.61(2.96)
DDB solution in 95% PEG 300 and 5% Lipoid S 75	1.87(0.65)	2.10(0.26)	2.33(0.45)	2.22(0.93)	2.84(1.48)	3.09(1.07)	4.70(1.11)
DDB solution in 90% PEG 300 and 10% Lipoid S 75	3.38(0.87)	4.67(1.33)	3.97(0.69)	2.93(1.88)	3.03(1.46)	2.33(0.17)	4.78(1.53)
DDB solution in 80% PEG 300 and 20% Lipoid S 75	5.48(3.09)	4.47(2.74)	5.29(4.02)	5.79(3.77)	6.57(3.96)	- ^{b)}	7.82(3.38)
DDB solution in 95% PEG 300, 5% Lipoid S 75 and 5mM GAA	17.49(2.16)	16.44(2.65)	14.81(3.71)	13.88(3.28)	15.97(2.44)	-	18.19(3.14)

Isotonic phosphate buffer solution (pH 7.2) was used as a donor phase. The DDB solution equivalent to 1.0 mg as DDB was added to the donor phase

^{a)}Data were expressed as the mean \pm S.D. (n = 3).

^{b)}Not determined.

Table VII. Permeation rates ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) of DDB (1.0 mg/3.5 ml donor phase) through rabbit duodenal mucosa into receptor phase containing 40% PEG 300

DDB solutions	Time (hr)					
	0.5	1	2	4	6	8
DDB solution in CHCl_3 -MeOH (1 : 4 v/v)	20.55(0.75) ^{a)}	22.08(3.17)	18.88(1.58)	17.31(2.41)	18.72(2.81)	21.60(4.69)
DDB solution in PEG 300	19.76(1.44)	21.70(4.94)	20.94(1.63)	20.46(1.39)	20.62(1.99)	19.32(3.37)
DDB solution in PEG 300 and 5 mM GAA	20.46(1.91)	21.51(0.39)	21.77(0.28)	21.86(9.58)	18.71 (2.16)	23.04(1.60)

Isotonic phosphate buffer solution (pH 7.2) was used as a donor phase.

^{a)}Data were expressed as the mean \pm S.D. (n=3).

Table VIII. Effect of PEG 300 and GAA on permeation rate ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) of DDB (175 $\mu\text{g}/3.5$ ml donor phase) through rabbit duodenal mucosa into receptor phase

DDB solutions	Time (hr)						
	0.25	0.5	1	2	4	6	8
DDB solution in PEG 300	3.97(3.04) ^{a)}	3.53(3.01)	3.80(3.11)	5.62(3.39)	6.90(3.16)	10.21(4.12)	12.41(1.92)
DDB solution in PEG 300 and 1 mM GAA	3.97(0.64)	5.73(4.83)	6.35(2.50)	8.43(4.64)	10.43(2.41)	10.92(2.23)	11.61(6.75)
DDB solution in PEG 300 and 5 mM GAA	9.25(0.82)	11.11(0.01)	12.07(1.65)	15.60(3.09)	18.10(3.13)	19.92(3.40)	21.48(1.45)

40% PEG 300 was used as the vehicle for both the donor and receptor phases.

^{a)}ata were expressed as the mean \pm S.D. (n=3).

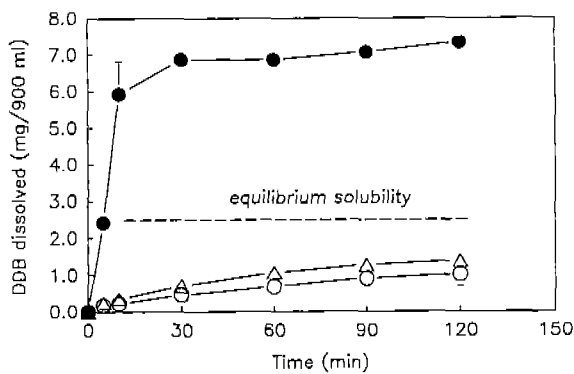


Fig. 3. Comparison of dissolution rates of marketed DDB tablets and hard capsules with soft capsules in water at 37°C. ○: hard capsules (7.5 mg), ●: soft capsules (7.5 mg), △: tablets. Each point represents the mean \pm S.D. of three determinations.

내었다. 2시간 후의 용출률을 보면 7.5 mg을 함유하는 연질 캡셀이 98.0%로 같은 양을 함유하는 경질캡셀(16.0%) 보다 약 6.1배 높았으며, 25 mg 함유 시판 정제의 용출률(5.5%) 과 비교하면 17.8배 높았다. 용출량면에서도 연질캡셀이 7.35 \pm 0.33 mg으로 경질캡셀(1.20 \pm 0.14 mg) 및 정제(1.39 \pm 0.03 mg)보다 6.1-5.3배 높았다. 연질캡셀은 약 3분대에 완전히 분해되어 내용물이 시험액과 급속히 혼합됨에 따라 초기에 빠른 용출특성을 보여 준 반면 경질캡셀은 캡셀이 연화 및 개구되어 내부의 구형 환이 연질의 캡셀피막에 붙어 전체적인 분산이 지연됨으로써 느리고 낮은 용출률을 보여 주었다. 시험액 900 ml중 용출농도 면에서 연질캡셀은 DDB의 포화용해도(약 1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$)를 훨씬 상회하였으나 정제와 경질캡셀은 2시간대에 포화용해도 아래에 머물렀다.

이러한 결과는 DDB가 매우 난용성이기는 하지만 GAA 및 Kollidon VA 64를 단독 또는 함께 처방화합으로써 처방량을 100% 용출시킬 수 있는 우수한 제제를 설계하였음을 나타낸다. 또한 본 연구의 연질캡셀제 1 캡셀(7.5 mg 함유)은 시판 DDB 경질캡셀이나 정제보다 생체이용률 면에서

현저히 우수할 것으로 기대되며 연질캡셀화하거나 내복 액상제제로 할 경우 투여용량의 감소도 기대된다.

결론

이상의 실험결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 간장질환 치료제로 물에 극히 난용성인 biphenyl dimethyl dicarboxylate(DDB)를 가용화시키기 위하여 여러 비수성용제, 식물유와 탄화수소류, 인지질 및 계면활성제류, 분자량이 다른 여러 폴리에틸렌글리콜(PEG)류의 가용화효과를 검토한 결과 PEG 300이 가장 양호한 가용화효과를 나타내었다.

2. 글리실리진산암모늄염(GAA)은 PEG 300 중에서 DDB의 가용화효과와 침전석출억제효과가 있었다. PEG 300의 1g에 GAA를 5 mg 첨가시킴으로써 DDB 10 mg을 가용화시킨 액은 4°C에서 2년 이상 침전이 형성되지 않았으며 이 액을 1캡셀당 7.5 mg의 DDB가 함유되도록 연질캡셀화한 것도 4°C에서 8개월 이상 침전이 형성되지 않았다.

3. Kollidon VA 64가 첨가된 PEG 300중 DDB 용액은 300-900 ml의 수용액과 혼합시 DDB의 침전형성억제효과가 탁월하였으며 GAA와의 병용은 더욱 효과적이었다.

4. DDB의 십이지장 투과는 용존농도의 의존적으로 매우 신속히 일어났으며 GAA는 투과촉진제로서의 효과가 있었다.

5. 본 연구의 DDB 연질캡셀(7.5 mg), 시판 경질캡셀(7.5 mg) 및 정제(25 mg)의 용출특성을 비교한 결과 용출량은 연질캡셀 >> 정제 \geq 경질캡셀의 순으로 연질캡셀이 시판 정제나 경질캡셀보다 월등하였다.

이상과 같은 연구결과는 새로운 DDB 연질캡셀제나 내복용 액상제 개발에 기초적인 자료가 된다고 생각된다.

감사의 말씀

이 연구는 1995년도 동덕여자대학교 지원 교비연구비에

의해 이루어졌다. 이에 감사드린다.

참고문헌

- Chiou, W. L. and Riegelman, S. (1971). Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *J. Pharm. Sci.* **60**, 1281-1301.
- Choi, B. K. and Yong, J. I. (1985). Studies on dissolution rates of flurbiprofen from solvent deposition systems. *J. Kor. Pharm. Sci.* **15**, 100-112.
- Choudhari, K. B. and Sanghavi, N. M. (1993). Dissolution behavior and characterization of diazepam-Pullulan co-ground mixtures. *Int. J. Pharm.*, **89** 207-211.
- Chun, I. K., Lee, M. H. and Kim, S. K. (1976). Dissolution characteristics of hydrophobic drug-soluble carrier coprecipitates (III). Dissolution behaviour of indomethacin from several fast release solid dispersions of indomethacin. *J. Kor. Pharm. Sci.* **6**, 58-69.
- Chun, I. K. and Park, I. S. (1993). Solubilization and dissolution enhancement of benzimidazole antelmintic drugs by cyclodextrin complexation. *Yakhak Hoeji* **37**, 216-227.
- Chun, I. K., Shin D. W. and Kim, Y. I. (1990). Solubilization and dissolution enhancement of fenticonazole nitrate by cyclodextrin and dimethyl-β-cyclodextrin complexations. *J. Dongduk Women's University* **20**, 453-471.
- Chun, I. K. and Yun, D. S. (1993). Inclusion complexation of hydrocortisone butyrate with cyclodextrins and dimethyl-β-cyclodextrin in aqueous solution and in solid state. *Int. J. Pharm.* **96**, 91-103.
- Fernández, M., Margarit, M. V., Rodríguez, I. C. and Cerezo, A. (1993). Dissolution kinetics of piroxicam in solid dispersions with polyethylene glycol 4000. *Int. J. Pharm.*, **98**, 29-35.
- Gu, S. J., Gao, W. W., Qiao, P. X., Wang, A. G. and Qiang, Z. Y. (1989). The dissolution rate and physical dispersion state of preparations of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *Acta Pharmaceutica Sinica* **24**, 859-864.
- Gu, S. J., Wang, X. L., Gao, W. W., Qiao, P. X., Wang, A. G., Qiang, Z. Y. and Song, Z. Y. (1990). Bioavailability studies on the preparations of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *Acta Pharmaceutica Sinica* **25**, 215-219.
- Gupta, R. L., Kumar, R. and Singla, A. K. (1991). Enhanced dissolution and absorption of trimethoprim from coprecipitates with polyethylene glycols and polyvinylpyrrolidone. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **17**, 463-468.
- Hyun, J. and Chun, I. K. (1994). Dissolution characteristics of biphenyl dimethyl dicarboxylate from solid dispersions and permeation through rabbit duodenal mucosa. *J. Kor. Pharm. Sci.* **24**, 57-65.
- Kim, D. W. and Kang, B. K. (1993). Clinical study for low dose and short-term therapy of biphenyl dimethyl dicarboxylate (DDB) in the chronic hepatitis patients with elevated serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase levels. *Kor. J. Clin. Pharm.*, **3**, 45-53.
- Lee, J. W., Park, E. S. and Chi, S. C. (1996). Physicochemical characterization of DDB solid dispersion. *Program of the 26th Annual Academic Convention of the Korean Society of Pharmaceutics* p. 76.
- Lee, S. A., Song, K., Park, E. J., Sohn, D. H., Go, G. i. and Kim, J. B. (1996). Enhancement of dissolution properties through formulations of insoluble drug biphenyl dimethyl dicarboxylate. *J. Kor. Pharm. Sci.* **26**, 23-28.
- Loftsson, T. and Brewster, M. E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.* **85**, 1017-1025.
- Park, G. B., Chung, C. K. and Lee, K. P. (1996). Solubilization and formulation as soft gelatin capsule of biphenyldimethyldicarboxylate. *J. Kor. Pharm. Sci.* **26**, 1-11.
- Sohn, Y. T., Park, M. S. and Kwon, S. K. (1996). Polymorphism of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *J. Kor. Pharm. Sci.* **26**, 193-199.
- Yalkowsky, S. H. (1981). Ed., Techniques of Solubilization of Drugs. Marcel Dekker, Inc.
- Yu, H. Q., Yang, X. U. and Shi, J. Z. (1987). Biphenyl-dimethyl dicarboxylate in treating and preventing hepatitis due to drug poisoning, *Chinese Medi. Journal* **100**, 122-123.
- 김성남, 심창구, 이민화, 김신근. (1994). 혼합미셀계를 이용한 DDB의 경구투여 제형 개발. 제43회 대한약학회 총회 및 학술대회 요지집, PB39, p. 124.
- 함태진, 김양경, 양희선, 이치호. (1996). 수용성 DDB 유도체의 주사제 개발에 관한 연구. '96 한국응용약물학회 춘계학술대회 초록집, IV-P-1, p. 267.