

造血劑에 關한 研究 II

持効性 造血劑 製造에 關한 研究

金 良 培 · 洪 文 和**

(Received September 15, 1964)

Yang Bae Kim, Moon Wha Hong : Studies on the Ferruginous Hematinics II
A study on Preparation of Sustained-Release Formed
Ferruginous Hematinics.

Sustained-release dosage form of ferruginous hematinics which can be absorbed effectively without forming "iron block" that caused by high concentration of Iron in the gastrointestinal tract, was studied. Gelatinized micropellets containing medicament were prepared according to the method of N. Tanaka *et al.* and hardened in 10% formalin-isopropanol in various time. Gelatinized micropellets were digested with artificial gastric juice and prepared a graph of iron concentration determined by Hong's method. As a result, it is assumed that gelatinized sustained-release dosage form can be a good ferruginous hematinics and it is shown that the preparation of 72-hour-hardening in 10% formalin-isopropanol has a suitable sustained release.

鐵劑造血劑는 低色素性 鐵缺乏性 貧血治療劑로서 그 種類는 數多하여 reduced iron, ferrous sulfate, ferrous carbonate, ferrous gluconate, ferrous glutamate, ferrous fumarate, ferrous lactate, ferrous chloride, ferric pyrophosphate, ferric glycerophosphate, ferric cacodylate, ferric ammonium citrate, ferrous iodide, ferric hypophosphite, soluble ferric phosphate 등^{1,2)}을 例로 들 수 있으며 그 使用形態도 tablet, capsule, elixir, pill, syrup 등^{1,2)}의 形態로 使用되고 있다.

鐵이 人體에서 吸收되는 過程을 보면 Fe^{++} 또는 Fe^{+++} 의 狀態로 攝取된 鐵이 胃腸管에서 全部 二價狀態의 鐵로 還元되어 粘膜細胞에서 apoferritin과 結合해서 ferritin이 되어 貯藏되며 一部는 糞便中에 排泄되고, 이 ferritin이, 體內에서 要求하는 量 만큼 鐵을 遊離하여 利用되는 것이다.¹⁾

그러나 上記의 tablet, capsule, elixir, pill, syrup 등으로서의 投藥은 攝取後 粘膜細胞에서 apoferritin과 作用해서 ferritin으로 吸收될 수 없을 程度로 過量의 鐵을 一時에 遊離함으로 해서 所謂 iron block(mucosal block)을 일으켜 効率의 利用되는 鐵이 적었다.

따라서 胃腸粘膜에서 ferritin으로 吸收될 수 있을 程度의 少量의 鐵을 繼續해서 遊離시킬 수 있는 鐵劑造血劑의 必要性을 느끼고 있다.

最近 N. Tanaka 氏等³⁾이 sulfanilamide와 riboflavin을 gelatin 등으로 處理해서 持効性 劑型을 만든 바 있으므로, 著者は 새로운 鐵劑 造血劑를 찾기 보다는 既存의 鐵劑 造血劑를 持

* Paper I: *Journal of Nuclear Sciences* 2, 126 (1962)

** College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea

効性 劑型化함으로써 吸收効率이 큰 造血劑를 얻으려는 意圖아래 黃酸第一鐵의 gelatin micropellet 를 만들어 10% formalin-isopropanol 로 各種時間 硬化시킨 것을 試料로 하여 人工胃液中에서 消化시켜 放出되는 鐵量을 洪⁴⁾의 方法으로 測定하여 鐵溶出曲線을 作成하여 硬化時間(hardening time)과 鐵溶出量과의 關係, 持効性 劑型化하지 않은 對照群과의 比較 등을 *in vitro* 에서 試驗한 結果, 持効性 劑型化한 鐵劑 造血劑가 緩慢한 鐵溶出曲線을 持續시킴을 알았고, 有機鐵劑인 ferrous fumarate 의 人工胃液中에서의 鐵溶出曲線 및 持効性 劑型化하지 않은 黃酸第一鐵의 鐵溶出曲線과 比較하여 봄으로써 持効性 鐵劑 造血劑의 開拓可能性을 把握하였다.

實 驗

1. 試 藥

i) gelatin micropellet 製造原料

gelatin powder(Difco Lab. 製)

liquid paraffin

isopropanol

10 v/v% formalin-isopropanol.

(formalin: isopropanol 1:9 의 比의 溶液을 使用함)

ferrous sulfate($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

ferrous fumarate

ii) 鐵 定量用

人工胃液(藥典에 準하여 製造하였다. 卽 1000 cc 中 NaCl 2g, pepsin 3.2g, 鹽酸 7.0 cc 를 含有하며 pH 1.2 로 調製한 것임)

30% hydrogen peroxide(林純藥製)

glycocoll(E. Merck 社製)

Tiron 溶液(E. Merck 社製인 brenz-catechin 3, 5-disulfon 酸의 2Na 鹽을 ion exchange resin 으로 處理한 精製水에 녹인 2% 液을 使用함)

1/50 M E.D.T.A. soln.(E. Merck 社製)

2. 實驗方法

i) 試料 micropellet 의 製造. — 試料의 製造에는 Wurster process⁵⁾에 依해서 coating 하는 方法도 있으나 著者は N. Tanaka 氏等³⁾法에 依해서 試料를 製造했다.

卽 250 ml 의 beaker 中에 gelatin powder 3g 을 販하고 10g 의 물을 加해서 膨脹시키고 여기에 微細하게 粉碎한 (徑 50μ 以下) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2g 을 加하고 steam bath 에서 용융시켜 잘 混和하여 完全히 sol 狀態로 만든다. 여기에 $50\sim 60^\circ$ 로 豫熱한 liquid paraffin 30g 을 加하고 水浴上에서 $50\sim 60^\circ$ 를 維持하면서 攪拌機로 約 5分間 攪拌하여 sol 狀의 pellet 를 만든다. 이 pellet 를 繼續해서 攪拌하면서 5° 以下の ice bath 에 옮겨 pellet 가 完全히 gel 狀이 될 때 까지 攪拌을 繼續한다. 完全한 gel 이 된 것에 5° 程度의 isopropanol 15g 을 加해서 ice bath 에서 約 5分間 攪拌하여 脫水하고 pellet 를 分離한다. 分離한 pellet 를 다시 適當量의 isopropanol 로 二回 程度 攪拌, 洗滌, 分離하여 常溫에서 通風乾燥시킨다.

이렇게 해서 얻은 pellet 中에서 4號篩를 通過하고 6號篩를 通過하지 못하는 micropellet (20 mesh~100 mesh)를 取해서 1g 당 10% formalin-isopropanol 10 ml 의 ratio 로 浸漬시켜

2~5° 의 refrigerator 에서 12 hrs, 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs, 의 各 時間 放置시켜 分離, 常溫通風乾燥한 것을 試料로 하였다.

ii) 鐵의 溶解試驗. — 各各의 試料 1 回使用量을 人工胃液中에서 消化시켜 溶存하는 鐵量을 洪⁴⁾의 方法으로 測定하여 溶存鐵濃度曲線을 作成하였다.

即 制酸劑의 動的 制酸度 測定方法인 Johnson and Duncan 氏法⁶⁾의 變法인 洪⁴⁾의 方法으로 37° 의 恒溫을 維持하는 人工胃液 200 ml 에 micropellet 1 g (1 回使用量에 相當)을 加하고 때때로 攪

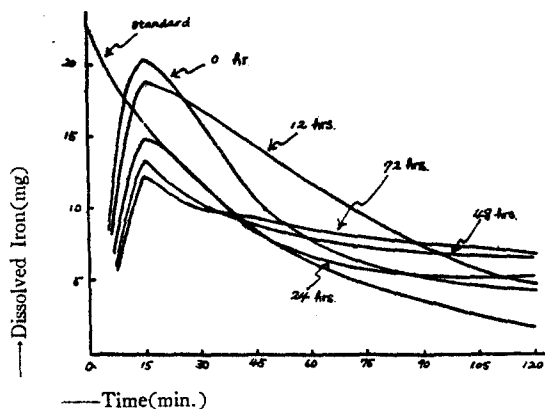


Fig. 1.—Iron release from Ferrous Sulfate and Sustained Release Dosage Forms.

拌하면서 5分마다 內容物 20 ml 을 pipette 로 取하고 人工胃液 20 ml 을 補充하였다.

iii) 鐵定量. — 上記 經時的으로 取한 20 ml 의 人工胃液中的 溶存鐵量의 定量은 爲先 5 ml 의 30% H₂O₂ 를 加하여 煮沸, 鐵을 酸化시켜 常溫으로 冷却後 glycoll 少量을 加해서 溶解시키고 約 40° 로 加溫해서 2% Tiron soln. 2 ml 을 加하고 1/50 M E.D.T.A. soln. 으로 靑色이 消失되고 黃色이 될때를 終末點으로 滴定하여 鐵을 定量하였다.

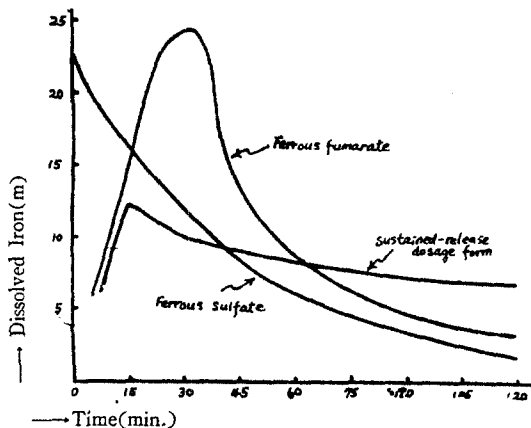


Fig. 2.—Iron release from Ferrous Sulfate, Ferrous Fumarate and Sustained Release Dosage Form.

3. 實驗結果

- i) 人工胃液中에서의 經時的 溶存鐵量 測定 : Table I, Fig. 1.
- ii) 持效性 劑型化 黃酸第 1 鐵과 對照群과의 鐵溶出量 比較 : Table II, Fig. 2.

考 察

以上の 實驗結果로써 持效性 劑型化 하지 않은 黃酸第 1 鐵의 溶存鐵濃度曲線을 standard 로 하고 持效性 劑型化해서 一定時間씩 硬化 시킨것과 硬化시키지 않은 것과를 比較해 볼때 Fig. 1에서 보는 바와 같이 硬化時間의 增加에 따라 漸次로 緩漫한 曲線이 되어 72時間 硬化시킨 것에서는 比較的 理想的인 緩漫한 曲線을 얻을수 있었다.

또 持效性 劑型化하지 않은 黃酸第 1 鐵과 ferrous fumarate 와 持效性 劑型化해서 72時間 10% formalin-isopropanol 處理한것 等 3가지의 溶存鐵濃度曲線을 比較해 볼때 Fig. 2에서 보는 바와 같이 持效性 劑型化한 것이 ferrous fumarate 나 持效性 劑型化 하지 않은 黃酸第 1

TABLE I.—Change of Iron Concentration with Time.

Sample	Time (min)																	
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165						
Fe	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.					
Ferrous Sulfate	20.0	22.2	14.6	16.2	10.7	11.9	7.8	8.7	5.7	6.3	4.1	4.5	3.0	3.3	2.2	2.4	1.6	1.8
Sustained release Dosage Form	0	0	18.5	20.3	13.0	14.4	12.0	13.3	7.0	7.8	6.0	6.6	5.0	5.5	4.0	4.4	4.0	4.4
Sustained release Dosage Form	0*	0	17.0	18.9	15.0	16.7	13.5	15.0	12.0	13.3	8.0	8.9	7.0	7.8	5.0	5.5	4.0	4.4
Sustained release Dosage Form	12	0	13.5	15.0	10.0	11.1	6.5	7.2	6.0	6.6	6.0	6.6	5.0	5.5	5.0	5.5	3.0	3.3
Sustained release Dosage Form	24	0	12.0	13.3	9.0	9.9	8.0	8.9	8.0	8.9	7.0	7.8	7.0	7.8	6.0	6.6	6.0	6.6
Sustained release Dosage Form	48	0	11.0	12.2	9.0	9.9	8.5	9.5	8.0	8.9	7.0	7.8	7.0	7.8	6.0	6.6	6.0	6.6
Sustained release Dosage Form	72	0	11.0	12.2	9.0	9.9	8.5	9.5	8.0	8.9	7.0	7.8	7.0	7.8	6.0	6.6	6.0	6.6

* Numerical numbers indicate the length of time in hours of pellet treatment with 10% formalin-isopropanol soln.

TABLE II.—Change of Iron Concentration with Time.

Sample	Time (min)																	
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165						
Fe	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.	$\frac{1}{100}M.$ E.D.T.A. ml.						
Ferrous Sulfate	20.0	22.2	14.6	16.2	10.7	11.9	7.8	8.7	5.7	6.3	4.1	4.5	3.0	3.3	2.2	2.4	1.6	1.8
Ferrous Fumarate	0	0	14.0	15.6	22.0	24.4	12.0	13.4	9.0	10.0	6.0	6.6	4.0	4.4	3.4	3.8	3.0	3.4
*Sustained Release Dosage Form	0	0	11.0	12.2	9.0	9.9	8.5	9.5	8.0	8.9	7.0	7.8	7.0	7.8	6.0	6.6	6.0	6.6

* Ferrous sulfate gelatin micropellet treated 72 hrs. with 10% formalin-isopropanol. soln.

鐵보다 顯著히 緩漫한 持續을 維持함을 알수 있어 胃腸粘膜에서 iron block 을 形成함이 없이 造血作用을 하리라고 期待된다.

그러나 이 實驗은 *in vitro* 에서의 實驗이었으므로 앞으로 動物實驗 및 臨床實驗을 거쳐서 確認되어야 할 것이며 더 나아가 Fe radio isotope 를 使用하여 吸收效率를 研究하려고 한다.

結 論

1. 黃酸第一鐵은 安價이며 普遍的인 造血劑이지만 iron block 을 일으키는 缺點이 있으므로 이 點을 改良하여 效率的인 造血劑로 하기 爲하여 gelatin micropellet 인 sustained-release dosage form 으로 만든 것이 鐵溶出曲線이 緩漫持續性을 나타내어 iron block 을 惹起치 않는 吸收效率 높은 貧血治療劑로 使用할 수 있음을 示唆한다.

2. 持效性 劑型化한 鐵劑는 10% formalin-isopropanol 中에서의 硬化時間이 길수록 鐵溶出曲線이 緩漫持續性이며 그中 72時間 處理한 것이 가장 理想的 曲線으로 溶出된다.

本 研究를 實施함에 있어 始終 實驗에 協力하여 주신 羅雲龍, 俞炳高 先生任 및 教室員 諸位께 深甚한 感謝를 드린다.

REFERENCES

1. Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* 2nd Edit. The MacMillan Co., New York, 1955
2. Roger's, *Inorganic Pharmaceutical Chemistry* 6th Edit. Lea & Febiger, 1957
3. N. Tanaka, *J. Ph. S.* **52**, 664(1963)
4. M. W. Hong, *Journal of Nuclear Sciences II.* 126, (1962). Office of Atomic Energy,
5. J. H. Wood and J. Syarto, *J. Ph. S.* **53**, 877(1964)
6. E. H., Johnson and J. Duncan, *Quart. J. Pharm. and Pharmacol.*, **18**, 251(1945)