

염산피밤피실린의 마이크로캡셀에 관한 藥劑學的 研究

李琬夏 · 智雄吉* · 李暎煥 · 金祥麟

成均館大學校 藥學大學 · *忠南大學校 藥學大學

Pharmaceutical Studies on Microencapsulated Pivampicillin Hydrochloride

Wan Ha Lee, Ung Kil Jee*, Young Hwan Lee and Sang Rin Kim

(Received March 10, 1985)

Pivampicillin hydrochloride is a kind of broad spectrum antibiotics with bactericidal action, and is used in many countries, although it has bitter taste, unpleasant odour and side effects of irritating gastric mucosa, nausea, penicillin allergy, etc.

For the improvement of such side effects of pivampicillin hydrochloride, microcapsules, with wall of ethylcellulose, have been prepared by coacervation method.

The shape was observed through the scanning electron microscope, the release of the drug into an aqueous medium was studied and the effects of core: ethylcellulose ratio were interpreted as well as making sensory evaluation of taste and odour. There was decreasing trend in dissolution rate of the drug with the increase of core: ethylcellulose ratios, and the smaller microcapsules released their contents more rapidly. A linear relationship was established between the amount of ethylcellulose and the time for 60% release of the drug, and the release pattern was found to have similar characteristics to the release of the drug from an insoluble porous matrix. The release of the drug in the artificial intestinal fluids (pH 6.8) was found to be similar to that in water, while the release in the artificial gastric juice (pH 1.2) was slightly slower.

Bioavailability of microcapsule was compared with that of pivampicillin hydrochloride in rabbits using serum concentration and urinary excretion measurements. Microcapsule gave showed slightly higher serum level than pivampicillin hydrochloride from 2 hours after administration, while no significant difference was observed in the accumulated urinary excretion rate between pivampicillin hydrochloride

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

*College of Pharmacy, Chung Nam National University

and microcapsule.

The ulcer index of pivampicillin hydrochloride administered group was 2.6, and microcapsule administered group was 1.5, while control group was 0.8. Therefore it may be concluded that microencapsulation of pivampicillin hydrochloride is a useful pharmaceutical approach to protect the gastrointestinal tract from being injured by direct contact of pivampicillin hydrochloride without any significant difference of bioavailability.

Pivampicillin은 D- α -aminobenzyl penicillin의 pivaloyl oxymethyl ester화합물로서, ampicillin의 prodrug이며¹⁾, 엽산염이 주로 경구용 광범위항생제로 사용되고 있다.

Pivampicillin hydrochloride(이하 PIVA)는 자극성 냄새와 쓴 맛이 있으며, 물에 대단히 잘 녹는 백색 결정성 분말로서 공기중에서 흡습되는 경향이 있고, 산성용액에서는 비교적 안정하나 중성용액에서는 ester이 서서히 가수분해 되는 성질이 있으며, 경구로 투여되었을 때 위와 소장 상부에서 신속하게 흡수되는 동시에 혈청 및 조직액에 존재하는 nonspecific esterase에 의하여 pivalic acid를 분리시키면서 불안정한 hydroxymethyl ester로 되고 이것이 다시 가수분해되어 ampicillin으로서 항균활성을 나타낸다^{2,3)}.

한편 Berg등⁴⁾과 Danø등⁵⁾은 PIVA의 부작용으로서 소화불량, 구기, 위장관에 대한 자극 penicillin allergy등이 있는 것으로 보고하였다. 이러한 PIVA의 부작용중 특히 위장관에 대한 자극 및 자극성 냄새와 쓴 맛을 제거하기 위하여 film coating을 실시한 제제도 있다.

본 연구에서는 PIVA의 문제점인 자극성 냄새와 쓴 맛, 위장관 자극등을 개선할 목적으로 microencapsulation시켜, rat에 대한 위궤양 발생에 따른 ulcer index를 측정 비교하고, 용출시험 및 가토의 혈중농도 측정과 뇨중누적배설량을 측정하여 bioavailability를 검토한 결과 얻은 약간의 지견을 보고하는 바이다.

實 驗 方 法

試藥 및 機器—PIVA는 항생물질제제기준에 적합한 것 중에서 함습도 1.5%이하인 것을 40 mesh체로 사과하여 사용하였고, ethylcellulose는 Dow Chemical사의 10cps의 것을 사용하였다.

機器로는 scanning electron microscope (Hitachi S 405 A), dissolution tester (Toyama, NTR-5S3), life tester (Freund, LT 10)을 사용하였다.

Microencapsulation—Jalsenjak등⁶⁾과 Alpar등⁷⁾의 방법을 이용하여 cyclohexane용액중에서 ethylcellulose로 microencapsulation시켰으며, PIVA 12g에 대하여 ethylcellulose를 각각 6g(1:0.5), 12g(1:1), 18g(1:1.5), 24g(1:2)을 사용하였다. 이렇게 첨가하여 제조된 microcapsule을 각각 A, B, C, D로 구분하여 실험하였다.

Rat의 위궤양발생시험—Rat 10마리를 1군으로 하여 PIVA 3.5g/kg과 sample C중에서 입

도가 $613\mu\text{m}$ 이상 $975\mu\text{m}$ 이하의 microcapsule 8.75g/kg을 각각 경구투여한 다음, 위점막벽을 확대경으로 관찰하였다. ulcer index의 기준은 Robert등⁸⁾이 0에서 3까지 위궤양의 경중을 구분한 방법을 응용하여 0에서 7까지 등급을 구분하여 판정하였다.

용출시험—Microcapsule을 20mesh체와 30mesh체를 사용하여 구분하였으며, 30mesh체를 통과한 것을 s, 20mesh체는 통과하고 30mesh체를 통과하지 못한 것을 m, 20mesh체를 통과하지 못한 것을 l로 하였고, sample A, B, C, D 각각에 대하여 구분하였다. 각 입도별로 구분된 microcapsule을 각각 1g씩 정확히 달아 KP IV용출시험법중 회전검체통법에 의하여 용출 시험을 실시하였으며 20, 40, 60, 80, 100, 120분 간격으로 5ml씩 채취하여 항생물질제제기준중 요오드적정법에 의하여 PIVA의 함량을 정량하였다. 상기 용출 시험용매는 물을 사용한 반면 비교실험으로서 sample C에 대하여 인공위액(pH 1.2) 및 인공장액(pH 6.8)을 사용하여 용출시험을 하였다.

家兎의 혈중농도측정—家兎 10마리를 1군으로 하여 체중 kg당 100mg의 PIVA와 이에 대응하는 microcapsule sample C 250mg 및 PIVA가 흡수되어 ampicillin으로서 작용하므로 이에 대한 대조 실험으로서 ampicillin trihydrate 80mg을 각각 경구투여한 후 30, 60, 120, 180, 240, 300분마다 귀정맥으로부터 각각 채혈하여 항생물질제제기준중 원통평판법에 의하여 ampicillin의 혈중농도를 측정하였다.

家兎의 뇨중누적배설량 측정—혈중농도를 측정하면서 동시에 뇨중누적배설량을 측정하기 위하여 경구투여한 다음 2, 4, 6, 8시간마다 뇨량을 취하여 ampicillin의 함량을 측정하였다.

實驗結果 및 考察

Microencapsulation의 확인—주사전자현미경으로 관찰한 결과 Fig.1에서와 같이 구형의 microcapsule들이 확인되었으며, core에 대한 벽막물질의 첨가비율이 커질수록 벽막이 치밀하게 입혀졌음을 볼 수 있었으며 microcapsule C에 함유되어 있는 PIVA의 함량을 측정한 결과, 함유량이 $100 \pm 1.7\%$ 이었다.

Rat의 위궤양발생시험—Ulcer index는 Table I에 나타난 바와 같이 microcapsule은 1.5, PIVA는 2.6으로서 control에 비하여 microcapsule은 약 2배의 ulcer index를 나타냈으나 PIVA의 3.2배 보다는 훨씬 적은 수치로서 microcapsule화 한 것이 PIVA보다 위점막에 대한 자극이 감소되었음을 알 수 있었다. 이를 비교하여 보면 Fig.2와 같다.

용출시험—Microcapsule을 입도별로 구분한 결과는 Table II에 나타난 바와 같다. Sample A에서는 입도가 작은 A-s가 38.4%였으며, B-s는 25.9%, C-s는 21.5%, D-s는 17.2%로서 core에 대한 벽막물질의 첨가 비율이 증가할수록 작은 입도군의 비율은 감소한 반면, 큰 입도군의 비율은 증가함을 알 수 있었다.

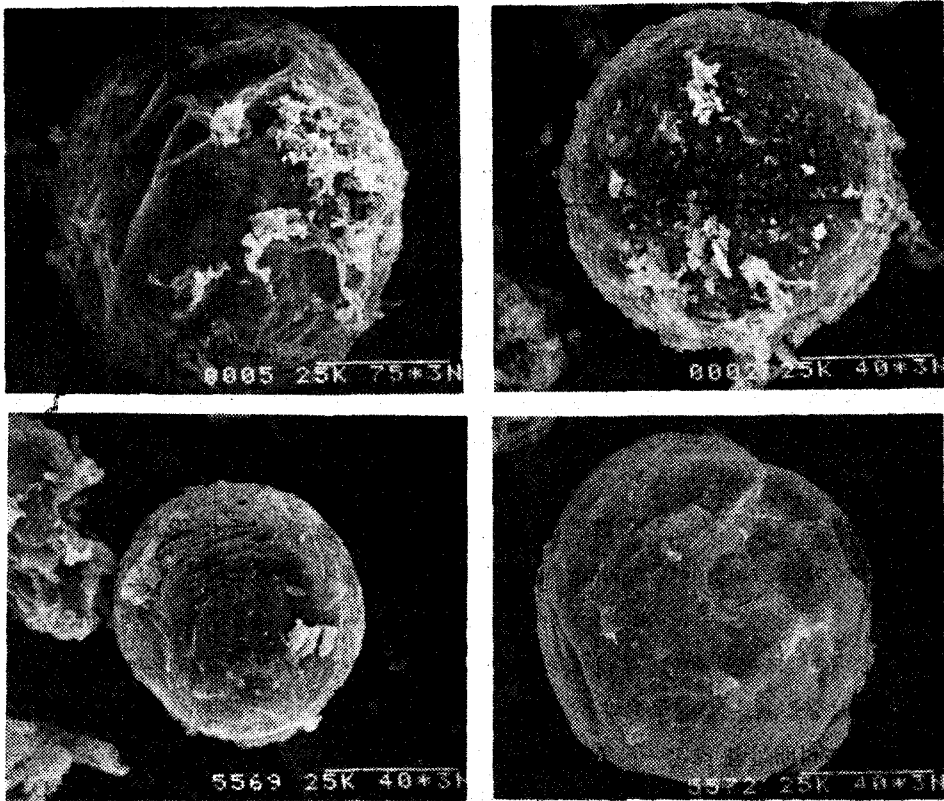


Figure 1—Scanning electron microscopic feature of pivalpicillin HCl microencapsulated with ethylcellulose(EC).

Key : A, PIVA : EC=1 : 0.5 ; B, PIVA : EC=1 : 1 ;
C, PIVA : EC=1 : 1.5 ; D, PIVA : EC=1 : 2

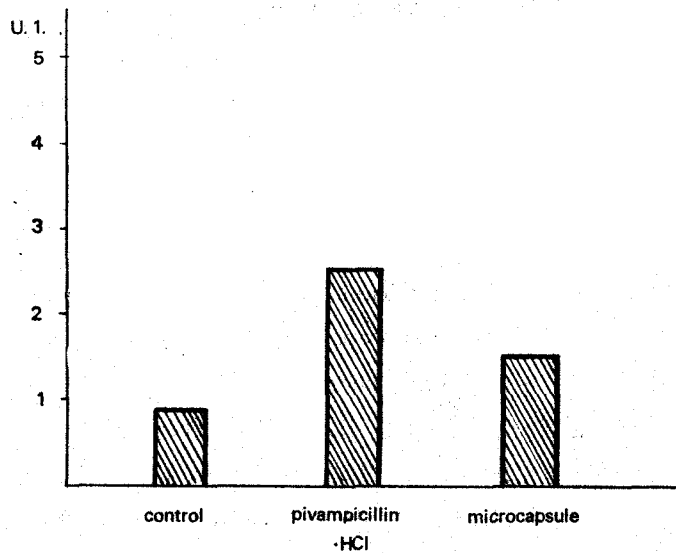


Figure 2—The average ulcer indexes of pivalpicillin HCl and microcapsule coated with ethylcellulose compared with control after oral administration in rats.

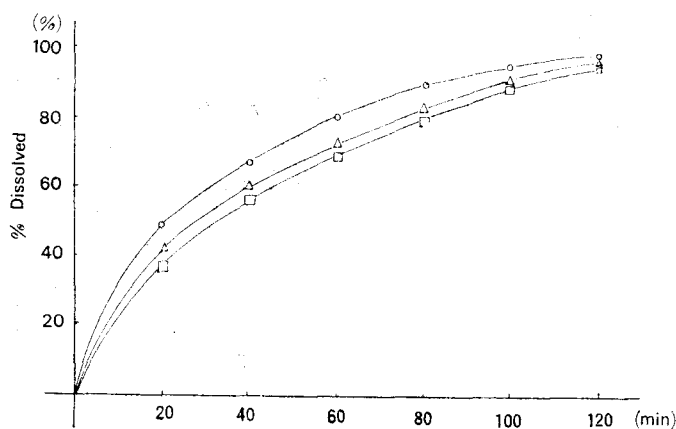
Table I—The Ulcer Indices of Pivampicillin HCl and Microcapsule Coated with Ethylcellulose Compared with Control after Oral Administration in Rats.

Rat No.	Control	Pivampicillin·HCl	Microcapsule
1	2 small ulcerations *(2)	8 small ulcerations (3)	congestion (1)
2	no lesion (0)	congestion (1)	no lesion (0)
3	congestion (1)	1 large ulceration and 6 small ulcerations (4)	desquamation (1)
4	no lesion (0)	7 small ulcerations (3)	1 small ulceration (2)
5	no lesion (0)	9 focal hemorrhages (2)	4 focal hemorrhages (2)
6	3 focal hemorrhages (2)	6 small ulcerations (3)	no lesion (0)
7	no lesion (0)	congestion (1)	desquamation (1)
8	2 small ulcerations (2)	12 small ulcerations (2)	11 focal hemorrhages (3)
9	congestion (1)	11 focal hemorrhages (3)	1 small ulceration (2)
10	no lesion (0)	3 focal hemorrhages and 2 small ulcerations (2)	3 small ulcerations (3)
U.I. mean	0.8	2.6	1.5

()*, Ulcer index(U.I.)

Table II—Size Distribution of Pivampicillin HCl Microcapsules

Sample	Size range μm	% Sieve fraction for a PIVA core to ethylcellulose ratio			
		A 1:0.5	B 1:1	C 1:1.5	D 1:2
s	<613	38.4	25.9	21.5	17.2
m	613—975	38.7	46.8	45.5	36.6
l	>975	22.9	27.3	33.0	46.2

**Figure 3**—Dissolution profile of pivampicillin HCl microcapsules coated with ethylcellulose (PIVA : EC=1 : 1.5) in water
Key : \circ , C-s ; Δ , C-m ; \square , C-l

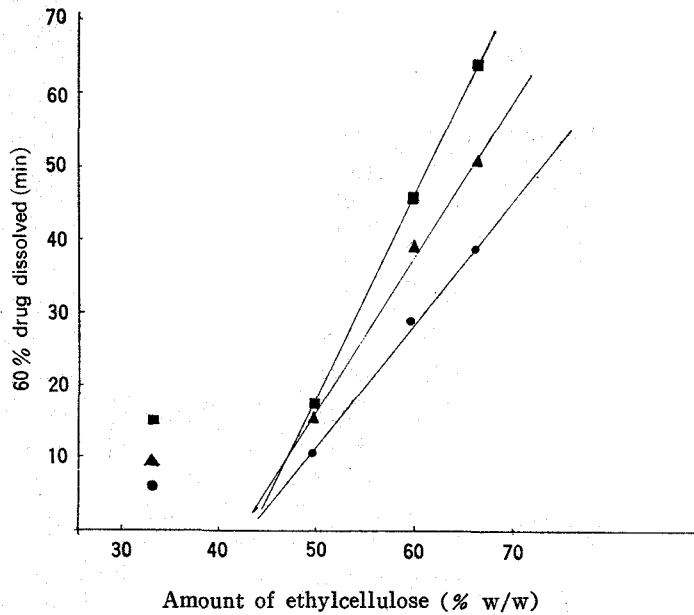


Figure 4—Effect of increasing ethylcellulose on the time for 60% release of pivampicillin HCl.

Key : ●, <math><613\mu\text{m}</math> ; ▲, $613-975\mu\text{m}$; ■, >math>975\mu\text{m}</math>

Core에 대한 벽막물질의 첨가 비율에 따른 입도별 용출시험을 행한 결과, A-s는 20분만에 90% 이상이 용출되었고, A-m은 40분에 A-s와 거의 일치되었으며, A-l은 60분에 90%가 용출되었다. 그리고 B-s는 40분에 90% 이상이 용출되었고, B-m과 B-l은 60분에 95%가 용출되었으며 80분에는 용출율이 98%가 되었다. C-s는 90%의 용출시간이 80분이었고 C-m은 100분이 되었으며, C-l은 120분에 95%가 용출되었다(Fig. 3). 또한 D-s는 100분에 90%가 용출되었고, D-m은 120분에 90%를 나타냈으며, D-l은 120분에 80%가 용출되었다. 이상의 결과로 보아 core에 대한 벽막물질의 첨가비율이 증가함에 따라서 용출율은 저하되고 같은 비율에서는 입도가 클수록 감소되었다.

그리고 Alpar 등⁷⁾의 실험에 의하면, 벽막물질의 첨가량과 용출율의 상관관계를 plot할 때 직선을 나타낸다고 보고하였는 바, 본 실험에서도 t_{60} 에 대한 용출시간 및 벽막물질의 제조비율을 plot한 결과 Fig. 4에서와 같이 core에 대한 벽막물질의 중량비율이 1:0.5인 sample A는 직선상에서 벗어난 상태인데 이는 microencapsulation이 완전하지 않은 것으로 생각할 수 있으며, sample B, C, D는 직선을 이루고 있음을 볼 수 있다.

또한 인공위액에서의 용출시험은 Fig. 5와 같이 60분에 C-s는 65% 이상이고, C-m은 60%이며, C-l은 55%를 나타냄으로써 증류수에서의 용출율보다 약 10~15%의 감소를 보였다. 그리고 인공장액에서의 용출시험은 Fig. 6에서와 같이 60분에 C-s는 약 80%, C-m은 70%이며, C-l은 65% 정도로서 증류수에서의 용출율과 거의 비슷하였다. 이 실험의 결과에 의해서

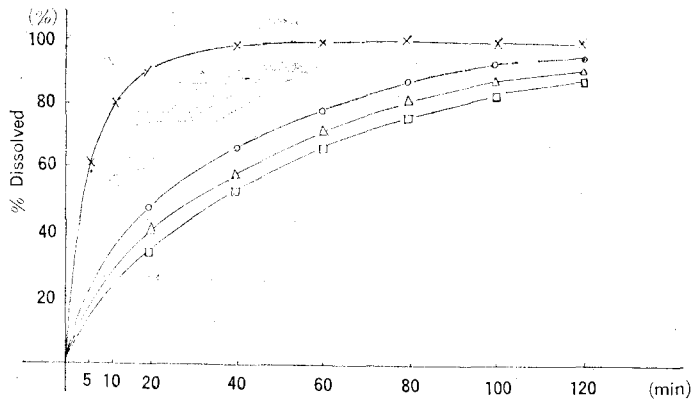


Figure 5—Dissolution profile of pivampicillin HCl microcapsules coated with ethylcellulose (PIVA : EC=1 : 1.5) in the artificial gastric juice (pH 1.2).

Key : x, pivampicillin HCl ; o, C-s ; Δ, C-m ; □, C-1

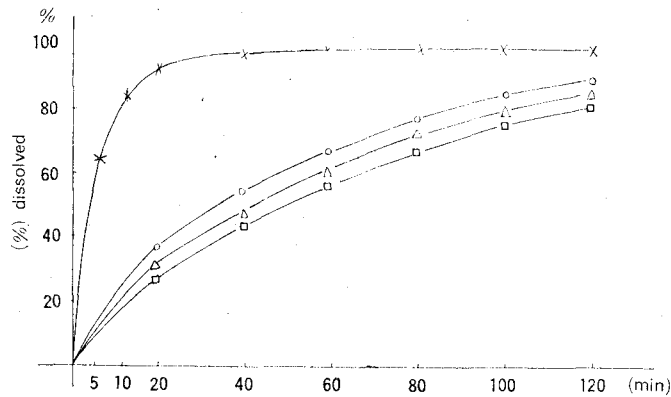


Figure 6—Dissolution profile of pivampicillin HCl microcapsules coated with ethylcellulose (PIVA : EC=1 : 1.5) in the artificial intestinal fluid (pH 6.8).

Key : x, pivampicillin HCl ; o, C-s ; Δ, C-m ; □, C-1

microcapsule은 인공위액보다는 인공장액에서 용출율이 높음을 알 수 있었다.

Higuchi등^{10,11)}과 Schwartz등¹²⁾은 matrix로부터의 약물방출은 diffusion process에 의하며 시간과 방출량은 first order kinetics에 의한 직선관계를 나타낸다고 말하였고, Jalsenjak 등⁶⁾, Deasy등¹³⁾은 ethylcellulose에 의한 microcapsule중 약물의 방출이 Higuchi등^{10,11)}의 확산이론과 같이 시간의 평방근에 대한 용출율의 plot가 직선을 나타냄을 보고하였는 바 본 실험에서도 Fig.7에 나타난 바와 같이 직선 관계를 나타냄으로써 microcapsule로부터의 PIVA의 방출은 확산작용에 의한 것임을 확인할 수 있었다.

가트의 혈중농도—경구투여 후의 혈중농도를 측정된 결과는 Table III에 나타난 바와 같다. PIVA는 30분에 $3.8\mu\text{g/ml}$ 이고 60분에서 $4.7\mu\text{g/ml}$ 를 나타냈고 120분에서는 $2.2\mu\text{g/ml}$ 를 나

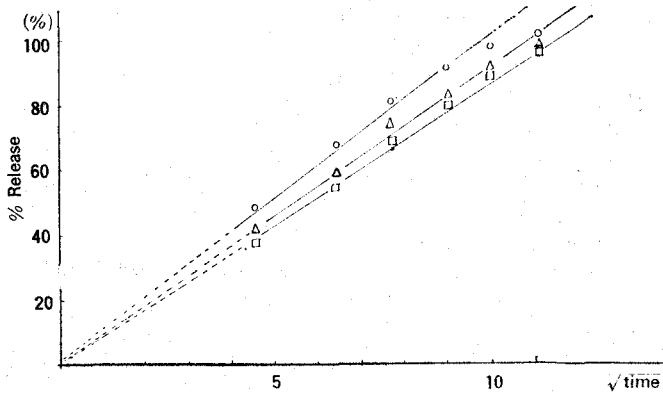


Figure 7—The release of pivampicillin HCl microcapsules coated with ethylcellulose (PIVA : EC=1 : 1.5) as a function of $\sqrt{\text{time}}$.

Key : ○, <613 μm ; △, 613—975 μm ; □, >975 μm

Table III—Serum Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$) of Ampicillin after Oral Administration of 100mg/kg of Pivampicillin HCl, Microcapsule Coated with Ethylcellulose, and Ampicillin Trihydrate in Rabbits.

Sample	30(min)	60(min)	120(min)	180(min)	240(min)	300(min)
Pivampicillin HCl	33.8* \pm 1.01**	4.7 \pm 0.85	2.2 \pm 0.82	1.0 \pm 0.34	0.6 \pm 0.14	0.4 \pm 0.15
C-s	2.3 \pm 1.33	4.2 \pm 1.29	3.4 \pm 1.29	1.5 \pm 0.76	0.8 \pm 0.48	0.5 \pm 0.18
C-m	1.3 \pm 0.78	3.2 \pm 1.38	3.7 \pm 1.17	2.3 \pm 1.57	1.1 \pm 0.39	0.7 \pm 0.38
C-l	0.8 \pm 0.37	2.4 \pm 0.94	3.9 \pm 1.29	3.1 \pm 0.89	1.8 \pm 0.90	1.2 \pm 0.52
Ampicillin trihydrate	0.2 \pm 0.11	0.9 \pm 0.43	1.5 \pm 0.79	0.7 \pm 0.30	0.4 \pm 0.24	0.3 \pm 0.15

*, means from 10 rabbits.

** , \pm S.E.

타냄으로써 급속히 감소되었고, 180분에서는 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 감소된 이후로는 완만한 감소율을 나타냈다. Sample C-s는 30분에서 2.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로서 PIVA에 비하여 약 60%를 나타냈고, 60분에서는 4.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로서 PIVA에 비하여 약 90%를 나타냈으며, 120분에는 3.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로서 PIVA보다 약 1.5배의 높은 수치를 나타낸 이후 계속 PIVA보다 높은 혈중농도를 유지하였다. Sample C-m은 30분에 1.31 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 60분에 3.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로서 C-s에 비하여 각각 56%, 76%를 나타냈고, 120분에는 3.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로서 C-s보다 약 10%정도 상승된 상태로 계속 유지되었다. Sample C-l은 30분, 60분에서는 가장 낮은 혈중농도를 나타냈으나, 120분에서는 3.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로서 다른 sample에 비하여 높은 혈중농도를 나타낸 후 300분까지 계속 높은 혈중농도를 유지하였다. 이때 PIVA에 대한 대조 실험으로 ampicillin trihydrate를 투여한 것의 혈중농도를 측정할 결과, 120분에서 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 나타내는 등 sample C그룹에 [비하여 매우 낮은 혈중농도를 유지하였다.

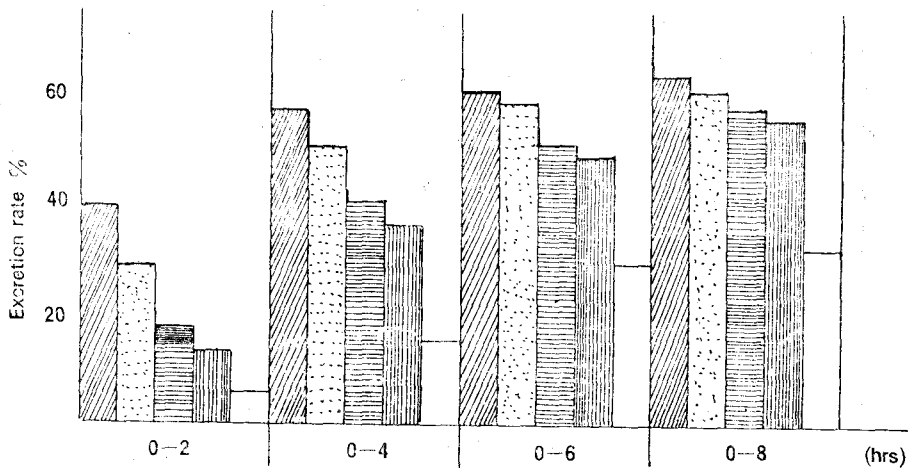


Figure 8—Accumulated urinary excretion rate of ampicillin after oral administration of 100mg/kg of pivampicillin HCl, microcapsule coated with ethylcellulose, and ampicillin trihydrate in rabbit.

Key : ▨, pivampicillin HCl ; ▩, C-s ; ▪, C-m ; ▫, C-l ; □, ampicillin trihydrate

가토의 뇨중누적배설량— 뇨중누적 배설량을 측정된 결과는 Fig.8 에 나타난 바와 같다. PIVA 는 흡수가 빠른 반면 배설도 빠른 경향을 나타내었으며, microcapsule 의 흡수는 PIVA 에 비하여 약간 지연 되고 배설 또한 서서히 이루어지는 양상을 나타내었으나 뇨중누적배설량은 거의 비슷하였다. 이러한 사실로 보아 PIVA와 microcapsule 간에 전체적인 약물의 흡수량은 큰 차이가 없는 것으로 사료된다.

結 論

1. PIVA 의 microencapsulation 은 core 와 벽막물질이 1 : 1.5 이상에서 완전히 이루어졌다.
2. Core 에 대한 벽막물질의 비율이 증가할수록 용출율은 저하되고, 같은 비율일 때는 입도가 클수록 저하되었다. 이들은 벽막물질의 양과 용출율을 plot 할 때 직선관계를 나타냈다.
3. 인공위액에서의 용출율은 증류수에서보다 약간 감소되었고 인공장액에서는 비슷하였다.
4. Rat 에 대한 위궤양발생시험에서 ulcer index 가 control group 은 0.8이고 PIVA 는 2.6이며 microcapsule 은 1.5이었다.
5. 가토의 혈중농도는 60분에서는 PIVA 보다 microcapsule 이 낮았으나 120분부터는 높은 수치를 나타내었다.
6. 뇨중누적배설량은 2시간까지는 PIVA 보다 microcapsule 이 낮았으나 4시간 이후부터는 비슷한 양상을 나타내었다.

文 獻

- 1) U.S. Patent, 3,660,575 (1972)
- 2) Daehne, *et al.*, *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 430 (1970)
- 3) Daehne, *et al.*, *J. Medicinal Chemistry*, **13**, 607 (1970)
- 4) Berg, K.J., *et al.*, *Chemotherapy*, **18**, 130 (1973)
- 5) Danø, P., *et al.*, *Chemotherapy*, **18**, 63 (1973)
- 6) Jalsenjak, I., *et al.*, *J. Pharm. Pharmac.*, **28**, 912 (1976)
- 7) Alpar, H. Oya., *et al.*, *J. Pharm. Pharmac.*, **33**, 419 (1981)
- 8) Robert, A., *et al.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **98**, 9 (1958)
- 9) Litchfield, J.T., and Wilcoxon, F., *J. Pharmac. Exp. Ther.*, **96**, 99 (1949)
- 10) Higuchi, T., *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **50**, 874 (1961)
- 11) Higuchi, T., *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **52**, 1145 (1993)
- 12) Schwartz, J.B., *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 274 (1968)
- 13) Deasy, P.B., *et al.*, *J. Pharm. Pharmac.*, **32**, 15 (1980)