약학회지 제30권 제 2 호 87~95 (1986)
Yakhak Hoeji Vol. 30, No. 2

클로로프로파미드와 싸이클로덱스트린과의 包接 화합물에 관한 연구

정 경 혜·김 길 수·구 영 순
이화여자대학교 약학대학

(Received April 2, 1986)

Inclusion Complexation of Chlorpropamide with Cyclodextrins

Kyeong Hye Jeong, Kil Soo Kim and Young Soon Ku
College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

Abstract—Inclusion complexation of α-cyclodextrin(α-CD), β-cyclodextrin(β-CD) and tri-O-methyl-β-cyclodextrin(tri-O-methyl-β-CD) with chlorpamide(CPA) in aqueous solution and in the solid state were studied by the solubility method, spectroscopy (UV, IR), differential scanning calorimetry (DSC) and powder *X*-ray diffractometry, and all their molar ratios were found to be 1:1. The solid complexes of CPA with three kinds of cyclodextrins were prepared by a freeze-drying method, and their dissolution behaviors were examined. As a result, the release of CPA from the inclusion complexes was significantly improved. The intrinsic dissolution rate of CPA in cyclodextrin inclusion complexes was about 51 times (α-CD inclusion complex) and 12 tmies (β-CD inclusion complex) larger than that of intact CPA.

생체에 경구투여된 난용성 약물의 위장관 흡수에 있어서 약물의 용출속도가 율속단계인 경우, 제제로부터의 약물의 용출속도는 bioavailability에 큰 영향을 미치며 따라서 난용성 약물의 용출속도 및 용해도는 약물의 제제설계에 있어서 주요 연구과제로 되고 있다.

용해도 증가는 계면활성제의 이용[1,2] 결정형의 변화[3] solid solution형성[4]이나 분산기법[5]에 의한 입자도 감소 및 화합물化 등의 방법으로 할 수 있으며 그 중 화합물化에 의해 형성되는 포접 화합물은 host분자가 가지고 있는 空洞내에 guest분자를 넣어 만든 일종의 화학적 복합체[6]이다. monomolecular 포접 화합물은 단일 host분자와 단일 guest분자의 포접 화합물을 의미하며 단일 host분자로서 수용성이며 광범위한 포접능을 갖고 있는 cyclodextrin(CD)이 많이 이용되고 있다.[7,8]

포접 화합물은 약제학적인 면에서 액상약물의 분체화,[9,10] 약효발현의 조절,[11] 의약품의 안정화,[12,13] 용해성의 개선,[14,15] 국소자극성 경감,[16,17] 矯昧·矯臭,[18] 휘발성의 감소,[19] bioavailability의 개선[20~24]등에 이용될 수 있다.

Uekama등[25~32]은 benzodiazepines, aralkylalcohols, 스테로이드 홀몬, proscillaridin, cinnamic acid 유도체, alkylparabens, 푸로스타글라딘류 및 페니토인과 CD와의 포접 화합물을 조제하고 용출속도 증대에 관한 연구보고를 하였다.

본 연구에서는 경구당뇨병치료약으로 사용되는 난용성 약물인 CPA의 용해도를 증가시킴으로써 bioavailability를 향상시킬 목적으로 CPA-α-CD계, CPA-β-CD계 및 CPA-tri-O-methyl-β-CD계를 조제하고 그 용출특성을 검토하였다.

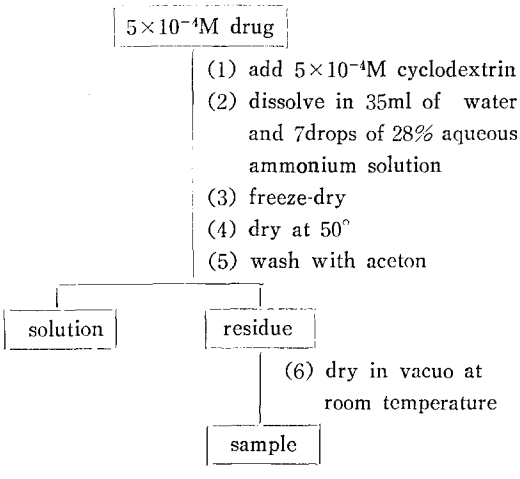
실 험 방 법

시료 및 시약—시료로는 chlorpropamide(한국화이자, USP 규격품), α 및 β-cyclodextrin(東京化成), tri-O-methyl-β-cyclodextrin(Funakoshi

약품)을 사용했으며 기타 시약은 Hayshi pure chem.의 일급시약을 사용하였다.

실험 기기—Freeze dryer (Labconco, model 7500), UV spectrophotometer(shimadzu, UV-240), pH meter(Beckman, Model 3500), Infrared spectrophotometer (Perkin Elmer, 599B), Differential scanning calorimeter (Du Pont Instruments, 910 DSC), X-ray diffractometer(Diano XRD, 8300) 및 USP XX dissolution apparatus (Erweka, DT-D)를 사용하였다.

Solid 포접 화합물의 조제—Kurozumi 등의 방법[33]에 따라 Scheme I과 같이 조제하였다. 같은 몰비로 약물과 α-CD, β-CD 및 tri-O-methyl-β-CD를 각각 5% 암모니아수 중에 넣어 용해하고 동결건조한 후, 50°C에서 건조하여 포접 고체화합물을 조제하고 여분의 약물을 아세톤으로 세척한 후 실온에서 진공건조하였다.



Scheme I-Preparation of inclusion complex by freeze-drying method.

UV Spectroscopy—Johnson등[34]의 방법에 준해서 측정했다. CPA 100.0mg을 칭량하여 0.1M 인산염완충액(pH 7.0)으로 용해하고 2, 4, 6, 8, 및 10μg/ml의 농도로 하고 228nm에서 흡광도를 측정하여 최소자승법으로 검량곡선 $Y=0.0451X$를 얻었다. 고체 화합물중의 CPA 함량은 앞에서 구한 검량곡선에 의해 구하고 CPA와 각 CD와의 결합비를 계산하였다. 또한 포접 화합물 형성시의 UV스펙트럼의 변화를 관찰하였다.

IR Spectroscopy—IR 스펙트럼은 KP IV브롬화칼륨 정제법에 따라 측정하였다.

Differential Scanning Calorinetry(DSC)—20°/min의 scanning 속도로 측정하였다.

X-ray Diffractometry—분말 X-ray 회절패턴의 조작조건은 X-ray는 Ni-filtered Cu-Kα radiation, 電壓은 30kV, 시간 상수는 2sec, scanning 속도는 10/min로 하여 측정하였다.

용출 실험—USP XX의 회전검체통법에 의해 용출용매로 900ml의 증류수를 사용하였고, CPA-tri-O-methyl-β-CD계의 경우에는 900ml의 증류수에 polysorbate 80을 2% 첨가하여 사용하였다. 그리고 회전속도는 100rpm으로 하였다. 80~100 mesh 범위의 CPA 30mg에 상당하는 시료를 검체통에 넣고 용매의 온도를 37.0±0.1°C로 유지하면서 직접 흡광도를 측정할 수 있도록 스펙트로포토메타가 부착된 용출실험기기를 사용하여 용출되는 CPA를 측정하였다. Intrinsic 용출속도정수를 구하기 위해 시료를 9,000kg/cm²의 압력으로 지름 1.3cm의 disc를 만들고 이 disc의 한면을 제외하고 shellac으로 입힌 후 검체통에 넣고 37.0±0.1°C를 유지하면서 흡광도를 측정하였다.

실험결과 및 고찰

UV 흡광도를 측정하여 구한 포접 화합물의 결합비는 Table I과 같다.

Table I-Inclusion complex ratio of chlorprolamide to cyclodextrin.

chlorpropamide : α-cyclodextrin	1 : 1
chlorpropamide : β-cyclodextrin	1 : 1
chlorpropamide : tri-O-methyl-β-cyclodextrin	1 : 1

CPA와 α-CD, β-CD 및 tri-O-methyl-β-CD는 모두 1:1의 몰비로 포접 화합물을 형성하였다.

IR spectroscopy—Fig. 1-1은 CPA, CPA와 αCD의 같은 몰비의 물리적 혼합물 및 포접 화합물의 IR 스펙트럼이다. CPA와 물리적 혼합물의 스펙트럼에서는 1,660cm^{-1}의 C=O stretching band, 1,550cm^{-1}의 N-H bending band, 1,470cm^{-1}의 CH_2 bending band, 1,345cm^{-1}의

S=O asymmetric stretching band 및 1,150cm^{-1}의 S=O symmetric stretching band를 볼 수 있으나 화합물의 스펙트럼에서는 S=O symmetric stretching band를 제외하고는 모두 소실되었고, 그림에는 나타내지 않았으나 750cm^{-1}의 1,4-치환 벤젠은 모든 IR 스펙트럼에 나타났다. 이 스펙트럼의 변화로 CPA의 $-SO_2NHCONHCH_2CH_2CH_3$가 포접된 것으로 추정된다. Fig. 1-2는 CPA, CPA와 β-CD 물리적 혼합물 및 화합물의 IR 스펙트럼을 비교한 것인데 CPA-α-CD계와 유사한 결과였다. Fig. 3은 CPA, CPA와 tri-O-methyl-β-CD의 물리적 혼합물 및 화합물의 IR 스펙트럼이다. CPA와 물리적 혼합물에 나타난 1,550cm^{-1}의 N-H bending band가 화합물의 스펙트럼에서는 소실되었고, CPA의 C=O stretching band인 1,660cm^{-1}의 피이크는 1,715cm^{-1}로 이동하였다. 이 스펙트럼의 변화로 CPA의 $-NHCH_2CH_2CH_3$가 포접된 것으로 추정되며, CPA가 tri-O-methyl-β-CD과 포접 화합물을 형성함으로써 CPA가 고형상태에서 분자간 수소결합으로 회합되어 있던 것이 CD에 포접됨으로써 단분자상태로 되고 C=O의 결합에너지가 증가되어 C=O stretching band가 high field로 shift된 것으로 추정할 수 있다.

DSC—Fig. 2-1, 2-2 및 2-3은 CPA-CD의 50~200°C에서의 DSC 곡선이다. CPA의 융점에 해당하는 125°C 부근의 endothermic peak는 혼합물이 됨으로써 공융등으로 인한 약간의 차이는 있으나 거의 비슷한 온도에서 융점을 나타내고 있다. 화합물에 있어서는 혼합물에서 나타난 endothermic peak는 완전히 소실되었으며 tri-O-methyl-β-CD인 경우에는 전혀 새로운 endo-

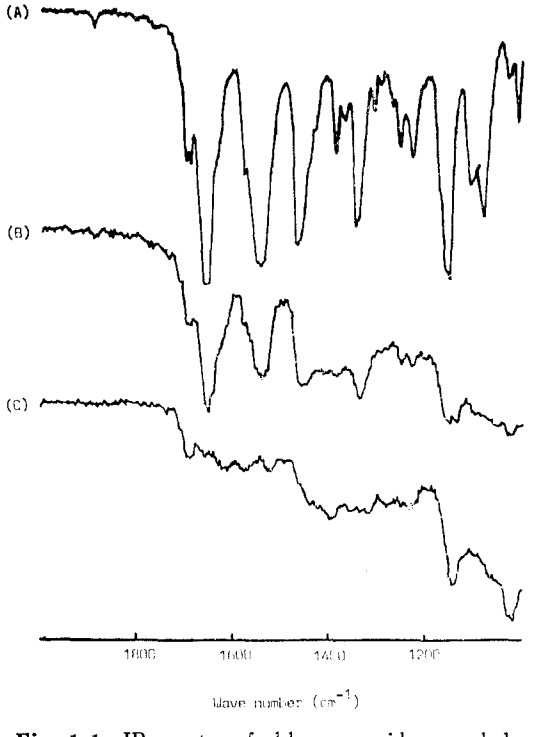


Fig. 1-1—IR spectra of chlorpropamide-α-cyclodextrin system.
(A) chlorpropamide, (B) physical mixture of chlorpropamide and α-cyclodextrin, (C) complex of chlorpropamide with α-cyclodextrin

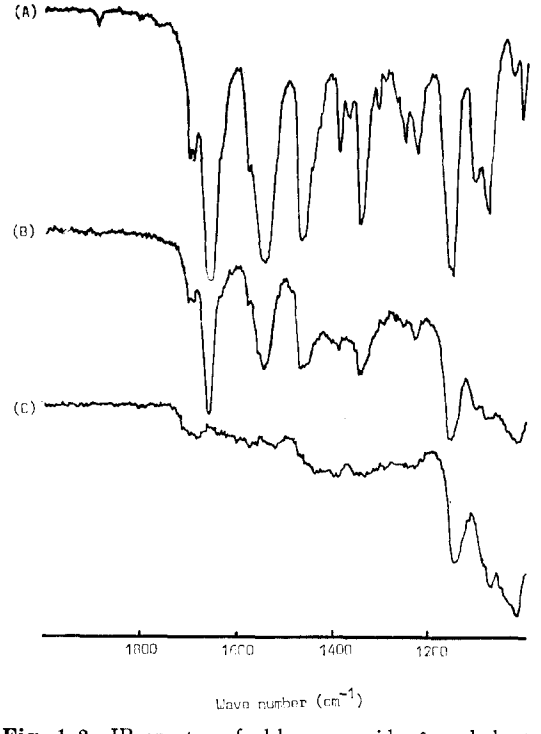


Fig. 1-2—IR spectra of chlorpropamide-β-cyclodextrin system.
(A) chlorpropamide, (B) physical mixture of chlorpropamide and β-cyclodextrin, (C) complex of chlorpropamide with β-cyclodextrin

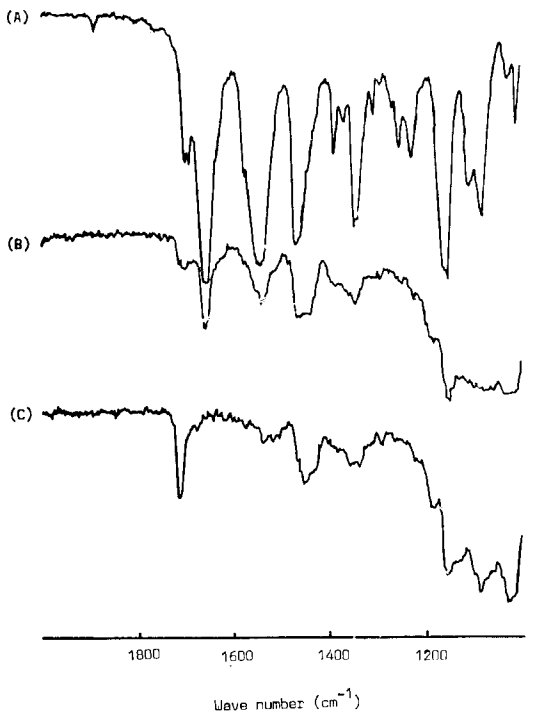


Fig. 1-3—IR spectra of chlorpropamide-tri-O-methyl-β-cyclodextrin
(A) chlorpropamide, (B) physical mixture of chlorpropamide and tri-O-methyl-β-cyclodextrin, (C) complex of chlorpropamide with tri-O-methyl-β-cyclodextrin.

thermic peak를 나타내는 것으로 보아 포접에 의해 endothermic peak가 안정화되었고 혼합물질이 아닌 결합된 물질로 단일화된 것이라 생각된다.

X-ray Diffractometry--Fig. 3-1, 3-2 및3-3은 CPA-CD계의 7-32°에서의 X-ray 회절패턴이다. Fig. 3-1은 CPA, CPA와 α-CD의 물리적 혼합물 및 화합물을 비교한 것인데 화합물의 X-ray 회절패턴은 CPA 및 물리적 혼합물의 경우와 비교할 때 결정성이 현저히 약해졌다. Fig. 3-2의 CPA-β-CD계의 경우에도 CPA-α-CD계의 결과와 유사하다. Fig. 3-3은 CPA, CPA와 tri-O-methyl-β-CD의 물리적 혼합물 및 화합물의 X-ray 굴절패턴인데 화합물은 무정형의 X-ray 굴절패턴을 보여준다. 이것은 결정의 CPA가 무정형의 CD에 포접됨으로써 결정성이

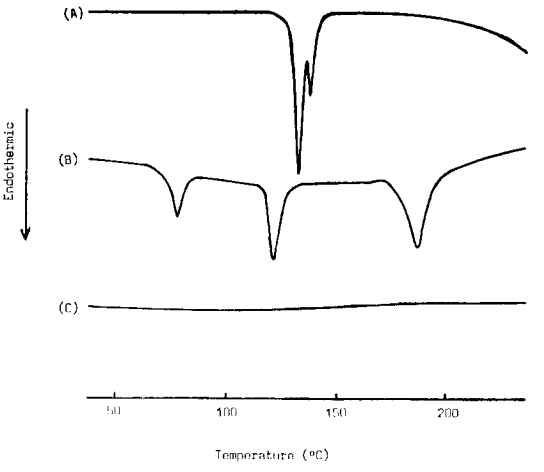


Fig. 2-1—DSC curves of chlorpropamide-α-cyclodextrin system.
(A) chlorpropamide, (B) physical mixture of chlorpropamide and α-cyclodextrin, (C) complex of chlorpropamide with α-cyclodextrin

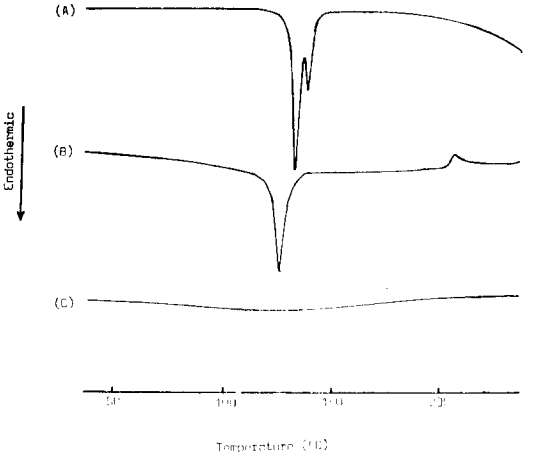


Fig. 2-2—DSC curves of chlorpropamide-β-cyclodextrin system.
(A) chlorpropamide, (B) physical mixture of chlorpropamide and β-cyclodextrin, (C) complex of chlorpropamide with β-cyclodextrin

약해지기 때문이라 생각된다.

UV Spectroscopy—용액중에서 포접 화합물을 형성할 때 UV 스펙트럼의 변화를 Fig. 4-1, 4-2 및 4-3에 나타내었다. Fig. 4-1, 4-2 및 4-3

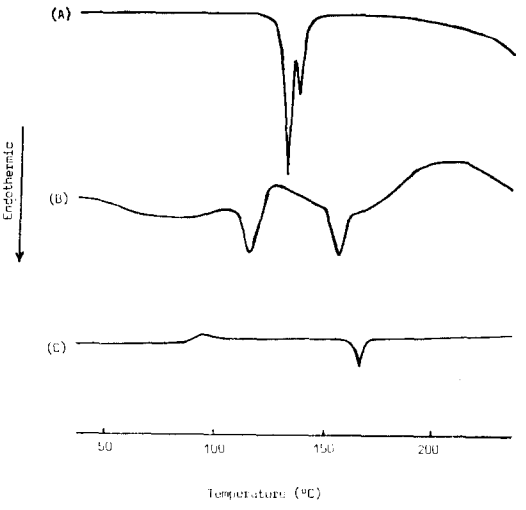


Fig. 2-3—DSC curves of chlorpropamide-tri-O-methyl-β-cyclodextrin system.
(A) chlorpropamide, (B) physical mixture of chlorpropamide and tri-O-methyl-β-cyclodextrin, (C) complex of chlorpropamide with tri-O-methyl-β-cyclodextrin

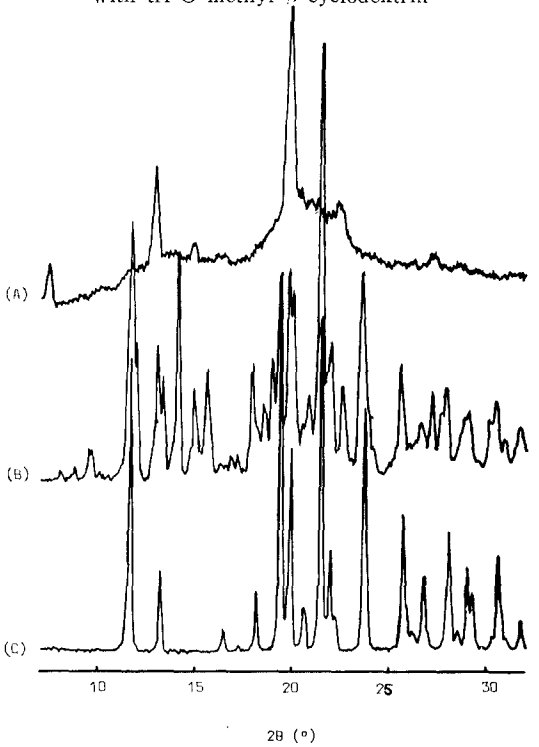


Fig. 3-1—Powder X-ray diffraction patterns of chlorpropamide-α-cyclodextrin system.
(A) complex of chlorpropamide with α-cyclodextrin, (B) physical mixture of chlorpropamide and α-cyclodextrin, (C) chlorpropamide

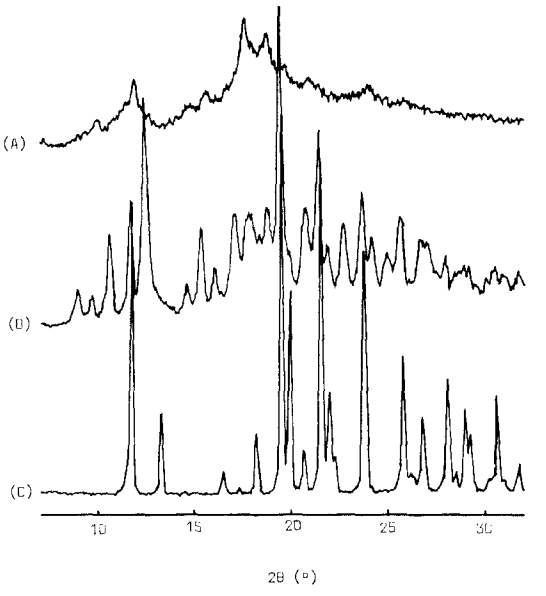


Fig. 3-2—Powder X-ray diffraction patterns of chlorpropamide-β-cyclodextrin system.
(A) complex of chlorpropamide with β-cyclodextrin, (B) physical mixture of chlorpropamide and β-cyclodextrin, (C) chlorpropamide

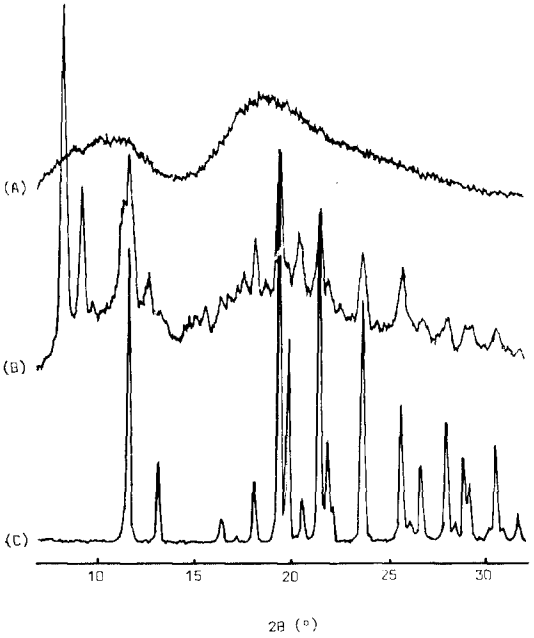


Fig. 3-3—Powder X-ray diffraction patterns of chlorpropamide-tri-O-methyl-β-cyclodextrin system.
(A) complex of chlorpropamide with tri-O-methyl-β-cyclodextrin, (B) physical mixture of chlorpropamide and tri-O-methyl-β-cyclodextrin, (C) chlorpropamide

은 각각 CPA, CPA-α-CD 화합물, CPA-β-CD 화합물 및 CPA-tri-O-methyl-β-CD 화합물의 UV 스펙트럼이다. 포접 화합물을 형성했을 때 최대 흡광도에서의 peak(228nm)는 hypsochromic shift했다. 이것은 C=O기의 결합상태에 변화가 온 것을 의미하며 IR 스펙트럼의 결과와 종합해 볼 때 CPA가 포접되면서 분자중의 C=O기가 CD와과 결합되었다고 추정할 수 있다.

용출실험—Fig. 5-1, 5-2 및 5-3은 CPA-CD계의 용출 패턴이다. Fig. 5-1, 5-2 및 5-3에서 볼 수 있는 바와 같이 α-CD, β-CD 및 tri-O-methyl-β-CD가 CPA와 화합물을 형성할 때 CPA 및 CPA와 세종류 CD와의 물리적 혼합물에 비해 용출속도가 현저히 증가하였다. Fig. 5-4는 CPA의 α-CD, β-CD 및 tri-O-methyl-β-CD과의 포접 화합물의 용출속도를 비교한 것이다. CPA-tri-O-metiyl-β-CD화합물에서의 CPA의 용출은 CPA-α-CD 화합물 및 CPA-β-CD 화합물에 비해 지연되었다. 이것은 β-CD의 hydroxyl기에 methyl기 3개가 치환되어 소수성이 증가하였기 때문이라 생각된다. CPA-α-CD 화합물 및 CPA-β-CD 화합물의 용출속도는 유사하였다. Fig. 6은 용출표면적을 일정하게 하여 행한 용출실험 결과이다.

이 결과로 구한 intrinsic 용출속도는 Table II에 나타내었다. 그 결과에서 대조에 비해 CPA

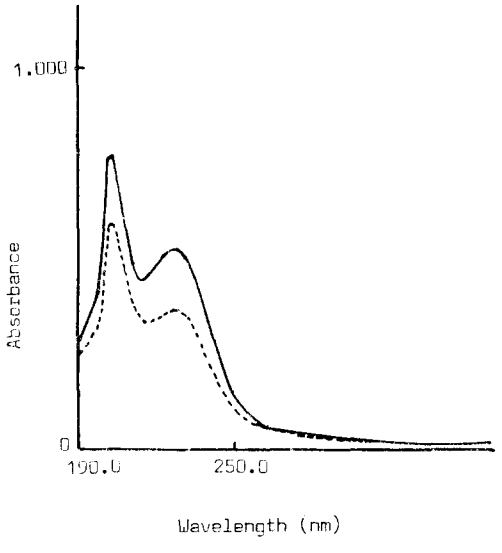


Fig. 4-1—UV absorption spectra of chlorproamide-α-cyclodextrin system.
Key:——chlorpropamide, ·····complex of chlorpropamide with α-cyclodextrin

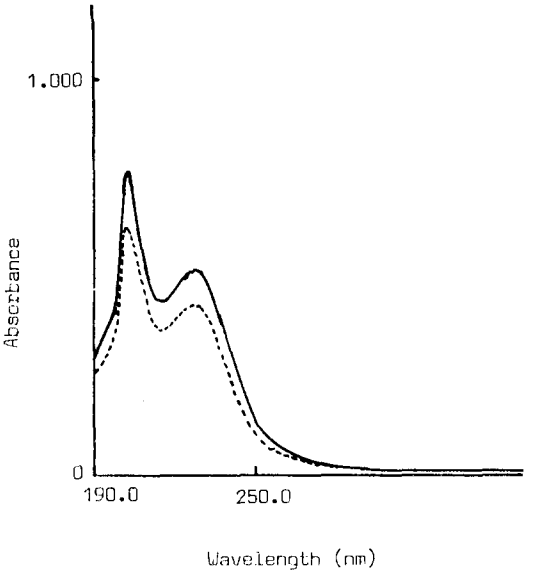


Fig. 4-2—UV absorption spectra of chlorpropamide-β-cyclodextrin system.
Key:——chlorpropamide, ·····complex of chlorpropamide with β-cyclodextrin

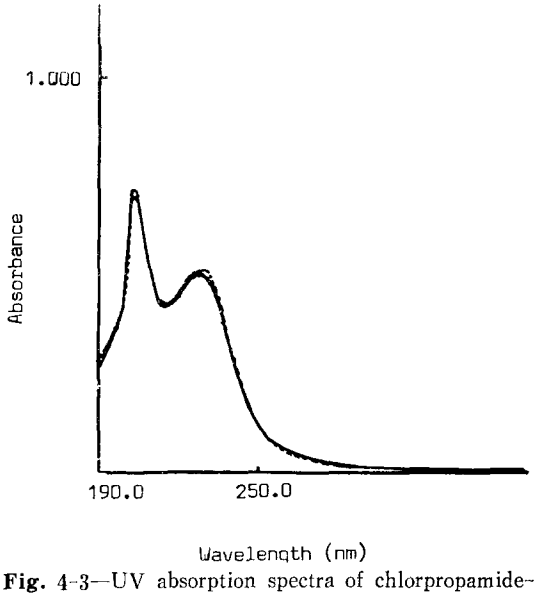


Fig. 4-3—UV absorption spectra of chlorpropamide-tri-O-methyl-β-cyclodextrin system.
Key:——chlorpropamide, ·····complex of chlorpropamide with tri-O-methyl-β-cyclodextrin

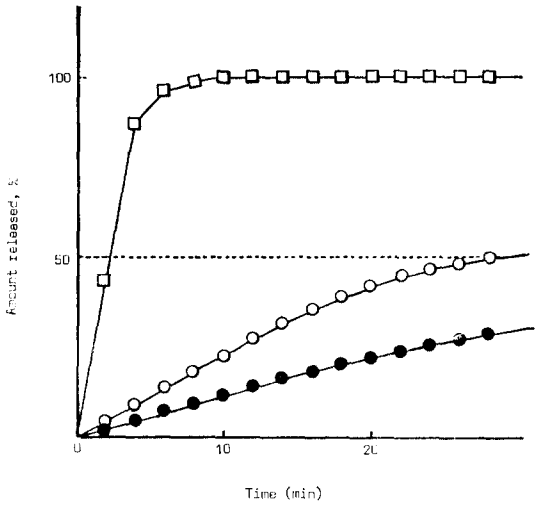


Fig. 5-1—Dissolution profiles of chlorpropabmide-α-cyclodextrin system in water at 37°C by powder method.
Key: • chlorpropamide, ○ physical mixture of chlorproamide and α-cyclodextrin, □ complex of chlorpropamide with α-cyclodextrin.

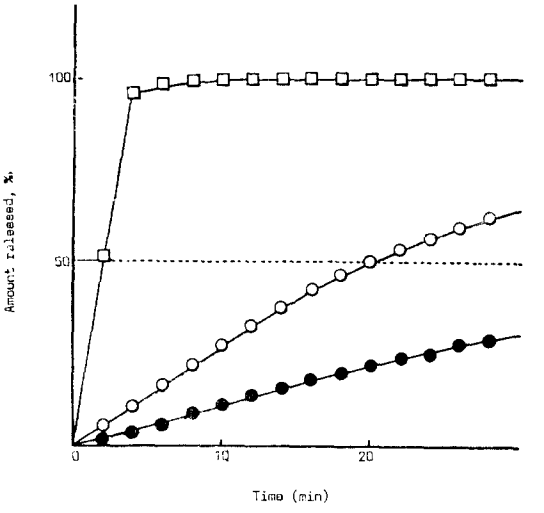


Fig. 5-2—Dissolution profiles of chlorpropamide-β-cyclodextrin system in water at 37°C by powder method.
Key: • chlorpropamide, ○ physical mixture of chlorpropamide and β-cyclodextrin, □, complex of chlorpropamide with β-cyclodextrin.

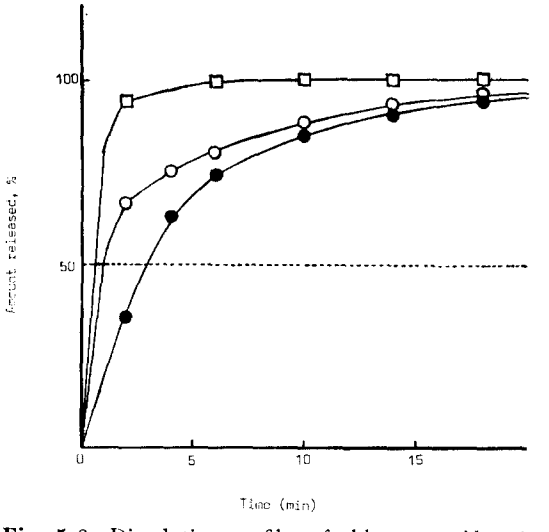


Fig. 5-3—Dissolution profiles of chlorpropamide-tri-O-methyl-β-cyclodextrin system in 2% Tween 80 aqueous solution at 37°C by powder method.
Key: • chlorpropamide, ○ physical mixture of chlorpropamide and tri-O-methyl-β-cyclodextrin, □ complex of chlorpropamide with tri-O-methyl-β-cyclodextrin

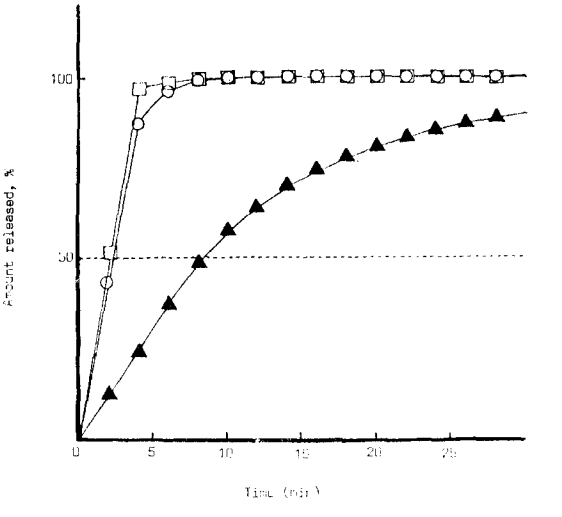


Fig. 5-4—Dissolution profiles of chlorproamide-cyclodextrin complexes in water at 37°C by powder method.
Key: ○ complex of chlorpropamide with α-cyclodextrin, □ complex of chlorpropamide with β-cyclodextrin, ▲ complex of chlorpropamide with tri-O-methyl-β-cyclodextrin

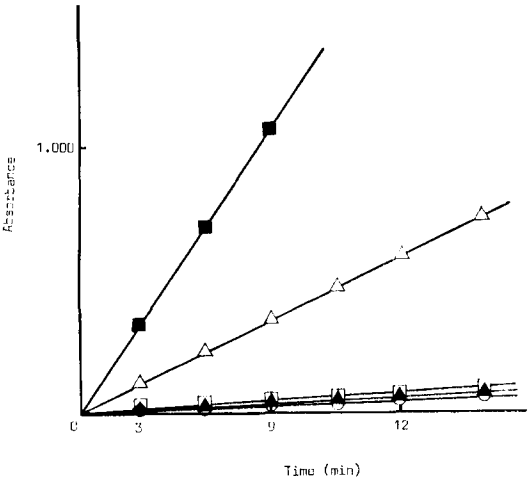


Fig. 6—Dissolution profiles of chlorpropamide-cyclodextrin systems in water at 37°C by constant surface method.
Key: ○ chlorpropamide, □ physical mixture of chlorpropamide and α-cyclodextrin, ▲ physical mixture of chlorpropamide and β-cyclodextrin, ■ complex of chlorpropamide with α-cyclodextrin, △ complex of chlorpropamide with β-cyclodextrin.

Table II—Intrinsic rate of dissolution, G at 37°C, 100rpm.

Compound	Intrinsic rate of dissolution ($mg/cm^2/min$)
chlorpropamide	8.4×10^{-3}
chloropropamide-α-cyclodextrin complex	4.3×10^{-1}
chlorpropamide-β-cyclodextrin complex	1.0×10^{-1}

-α-CD 화합물의 용출속도는 약 51배 증가하였고 CPA-β-CD 화합물은 약 12배로 증가하였다. 시료를 분말로 했을 때와 disc를 찍었을 때의 결과가 다른 점 및 시료를 분말로 했을 때의 결과가 Vekama등의 propylparaben과 CD와의 화합물 연구결과[30]와 다른 점은 앞으로 계속 연구해야 할 과제라고 생각된다.

결 론

CPA와 CD와의 포접 화합물에 관한 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. CPA와 α-CD, β-CD 및 tri-O-methyl-β-CD를 같은 몰비로 포접 화합물을 만들어 spectrescopy(UV, IR), DSC 및 X-ray 회절에 의해 검토한 결과, 1:1의 몰비로 결합한 포접 화합물을 형성함을 확인할 수 있었다.

2. 포접 화합물중의 CPA의 용출속도는 대조에 비해 현저히 증가하였다.

3. CPA-α-CD화합물, CPA-β-CD화합물 및 CPA-O-methyl-β-CD화합물의 용출속도를 비교했을 때 CPA-α-CD화합물 및 CPA-β-CD화합물에 비해 CPA-tri-O-methyl-β-CD화합물의 용출은 지연되었고 CPA-α-CD화합물과 CPA-β-CD화합물의 경우는 유사하였다.

4. intrinsic 용출속도는 대조에서 8.4×10^{-3} $mg/cm^2/min$, CPA-α-CD화합물은 $4.2\times10^{-1}mg/cm^2/min$, CPA-β-CD화합물은 $1.0\times10^{-1}mg/cm^2/min$로, 대조에 비해 CPA-α-CD화합물는 51배 증가하였고 CPA-β-CD화합물은 12배 증가하였다.

문 헌

1) Bates, T., Gibaldi, M. and Kanig, J.L.: *Nature* **210**, 1331 (1966).
2) Kakemi, K., Arita, T. and Muranishi, S.: *Chem. Pharm. Bull.* **13**, 976 (1965).
3) Mullins, J.D. and Macek, T.J.: *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* **49**, 245 (1960).
4) Goldberg, A.H., Gibaldi, M., Kanig, J.L.: *J. Pharm. Sci.* **55**, 487 (1966).
5) Mayersohn, M. and Gibaldi, M.: *ibid.* **55**, 1323 (1966).
6) Uekama, K.: *Yakugaku Zasshi* **101**, 857 (1981).
7) Frank, S.G.: *J. Pharm. Sci.* **64**, 1585 (1975).
8) Blender, M.L. and Komiyama, M.: *Cyclodextrin Chemistry*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (1978).
9) Uekama, K., Hirayama, F., Yamada, Y., Inaba, K. and Ikeda, K.: *J. Pharm. Sci.* **68**, 1059 (1979).
10) Tokumura, T., Ueda, H., Tsushima, Y., Kasai,

M., Kayano, M., Amada, I., and Nagai, T.: *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 4179 (1984).

11) Uekama, K., Matsuo, N., Yamaguchi, Y., Imamura, T. and Ichibagase, H.: *ibid.* **27**, 398 (1979).

12) Uekama, K., Narisawa, S., Hirayama, F., Otagiri, M., Kawano, K., Ohtani, Y. and Ogino, H.: *Int. J. Pharm.* **13**, 253 (1983).

13) Ikeda, Y., Matsumoto, K., Kumihiro, K., Fuwa, T. and Uekama, K.: *Yakugaku Zasshi* **102**, 83 (1982).

14) Thakkar, A.L., Kuehn, P.B., Derrin J.H., and Wilham, W.L.: *J. Pharm. Sci.* **61**, 1841 (1972).

15) Hamada, Y., Nambu, N. and Nagai, T.: *Chem. Pharm. Bull.* **23**, 1205 (1975).

16) Irie, T., Hinji, S., Otagiri, M., Uekama K., and Iwamasa, T.: *J. Pharm. Dyn.* **6**, 790 (1983).

17) Sato, Y., Matsumaru, H., Irie, T., Otagiri, M. and Uekama, K.: *Yakugaku Zasshi* **102**, 874 (1982).

18) Uekama, K., Oh, K., Otagiri, M., Seo, H. and Tsuruoka, M.: *Pharmaceutica Acta Helvetiae* **12**, 3 (1983).

19) Uekama, K., Hirayama, F., Esaki, K. and Inoue, M.: *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 76 (1979).

20) Seo, H., Tsuruoka, M., Hashimoto, T., Fujnaga, T., Otagiri, M. and Uekama, K.: *ibid.* **31**, 286 (1983).

21) Uekama, K., Otagiri, M., Uemura, Y., Fujinaga, T., Arimori, K., Matsuo, N., Tasaki, K. and Sugii, A.: *J. Pharm. Dyn.* **6**, 124 (1983).

22) Uekama, K., Fujinaga, T., Hirayama, F., Otagiri, M., Yamasaki, M., Seo, H., Hashimoto, T. and Tsuruoka, M.: *J. Pharm. Sci.*, **72**, 1338 (1983).

23) Uekama, K., Fujinaga, T., Hirayama, F., Otagiri, M., Seo, H. and Tsuruoka, M.: *I. Int. Symp. on Cyclodextrins* 399 (1981).

24) Uekama, K., Matsuo, N., Hirayama, F., Ichibagase, H., Arimori, K., Tsubaki, K. and Satake, K.: *Yakugaku Zasshi* **100**, 903 (1980).

25) Uekama, K., Narisawa, S., Hirayama F., and Otagiri, M.: *Int. J. Pharm.* **16**, 327 (1983).

26) Uekama, K., Oh, K., Hirayama, F., Otagiri, M., Shibata, M., Ohtani, Y., Yamada Y., and Sugiyama, Y.: *Yakugaku Zasshi* **102**, 1141 (1982).

27) Uekama, K., Fujinaga, T., Hirayama, F., Otagiri, M. and Yamasaki, M.: *Int. J. of Pharm.* **10**, 1 (1982).

28) Uekama, K., Fujinaga and T., Otagiri, M.: *Acta Pharm. Suec.* **20**, 287 (1983).

29) Uekama, K., Hirayama, F., Esaki, K., Inoue, M.: *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 76 (1979).

30) Uekama, K., Ikeda, Y., Hirayama, F., Otagiri, M. and Shibata, M.: *Yakugaku Zasshi* **100**, 994 (1980).

31) Uekama, K., Hirayama, F., Yamada, Y. and Ikeda, K.: *J. Pharm. Sci.* **68**, 1059 (1979).

32) Tskuruoa, M., Hashimoto, T., Seo, H., Ichimasa, S., Ueno, O., Fujinaga T., Otagiri, M. and Uekama, K.: *Yakugaku Zasshi* **101**, 360 (1981).

33) Kurozumi, M., Nambu, N. and Nagai, T.: *Chem. Pharm. Bull.* **23**, 3062 (1975).

34) Johnson C.A., and Thornton-Jones, A.D.: *Drug identification*, The Pharmaceutical Press (1966).