약학회지 제31권 제 3 호 182~188(1987)
Yakhak Hoeji Vol. 31, No. 3

Simple Coacervation에 의한 Beads 및 Sulfamethoxydiazine의 Albumin Microcapsule의 調製에 관한 硏究

具 永 順·金 信 玉
梨花女子大學校 藥學大學

(Received May 3, 1987)

Preparation of Albumin Microcapsule Containing Beads and Sulfamethoxydiazine by Simple Coacervation

Young Soon Ku and Shin Ok Kim
College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

Abstract—Simple coacervation of bovine serum albumin was studied to prepare biodegradable microacapsule. Albumin microcapsules were prepared by using acrylonitrilestyrene polymer (M-80) resin beads and sulfamethoxydiazine as the core materials. The albumin to beads ratio was found to be 1:2.3 and the albumin to sulfamethoxydiazine ratio to be 1:2.9. The 50% release times ($T_{50\%}$) of sulfamethoxydiazine and microencapsulated sulfamethoxydiazine were 6 min. and 73 min., respectively. The surface appearance of the microcapsule collected after release experiment was not different from those of the original microcapsule. In addition to slowing release of drug the microencapsulation process masked characteristic bitter taste of sulfamethoxydiazine.

Microencapsulation은 약제의 안정성, 용출 속도의 制御, 배합변화의 개선, 유동성과 같은 물리적 특성의 개선, 惡味·惡臭의 隱蔽등을 가능하게 하고 지속성, 서방성 제제로서의 이용을 가능하게 하여 製劑에 유용하게 응용되고 있다. Microencapsulation은 물리화학적 방법, 화학적 방법, 물리적·기계적 방법의 세 종류로 크게 분류할 수 있다.[1~6] 그 중 물리화학적 방법인 coacervation 法은 고분자 용액에서 그 고분자 물질의 濃稠한 相을 분리하는 현상으로서 Green 등[7]은 carbonless copying paper를 만들어 microcapsule을 최초로 실용화시켰고 그 뒤 각종 의약품에도 널리 응용되고 있다.[8~21]

Microcapsule을 체내 투여할 경우, 특히 주사나 이식(parenteral)투여할 경우 皮膜 물질의 biodegradability를 고려해야만 한다. 皮膜 물질로 biodegradable polymer를 사용하면 bioincompatibility와 독성이 없으므로 controlled release dosage form의 개발에 안전하게 사용할 수 있다. 또한 체내에서 皮膜 polymer가 보통의 代謝物로 변화한다는 잇점이 있다.[8,22~26]

본 연구에서는 biodegradable polymer인 bovine serum albumin(이하 BSA)을 皮膜 물질로 하고 simple coacervation法에 의해 beads를 核 물질로 하여 microencapsulation(이하 beads-albumin microcapsule)하였고, 또한 ethylcellulose microcapsule로 조제된 바 있는[27,28] sulfamethoxydiazine (이하 SMD)을 核 물질로 하여 microencapsulation (이하 SMD-albumin microcapsule)하여 용출 특성 및 표면형태를 관찰하였다.

實驗 및 方法

試 藥

Bovine Serum Albumin(BSA Fractron V, A8022, Sigma Co.)

Isopropanol(特級, Yakuri: Pure Chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan)
Acrylonitrile-Styrene Polymer(M-80) Resin Beads(Diacel Chemicals)
Sulfamethoxydiazine(BP 규격품)

機 器

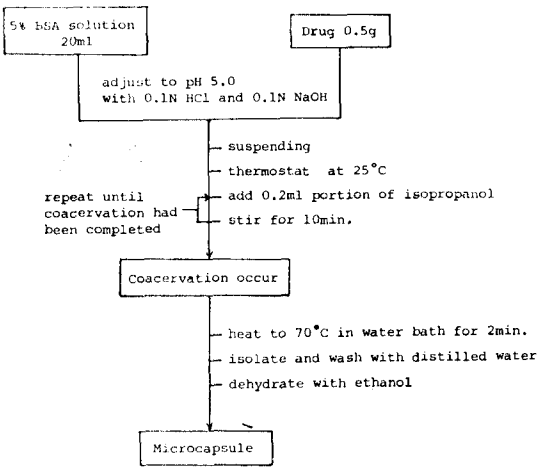
UV-Spectrophotometer(Shimadzu, UV-240)
PH-Meter(Beckman, Model 3500)
USP XX Dissolution Apparatus(Erweka, DT-D)
Mechanical Stirrer(Fractional H.P. Motors Ltd., Enfifld., England)
Microscope(Olympus Model)
Scanning Electron Microscope (JEOL JSM-3500)

Microcapsule의 調製

Jshizaka등[22]의 방법에 따라 Scheme과 같이 調製하였다.

核 물질로서 beads를 함유하는 albumin microcapsule(beads-albumin microcapsule)의 調製—BSA 수용액(BSA농도 : 5.0w/w%) 20ml를 0.1N 염산과 0.1N 수산화나트륨액으로 pH5.0으로 하였다. 核 물질인 80~100 mesh (177~149μm) 범위의 beads 0.5g을 BSA수용액에 분산시켰다. 이 분산액을 25°C로 유지하면서 isopropanol 0.2ml를 가하고, 10분간 교반(900 rpm)한 다음 isopropanol의 양이 系의 20w/w%가 될때까지 이 조작을 반복하면 비로서 coacervation이 일어난다. Coacervating agent인 isopropanol의 농도를 증가시키면 coacervate의 양이 많아진다. 분산액에 가해진 isopropanol의 양은 系의 30w/w%가 가장 적합한 조건이었다. 그리고 70°C 水浴上에서 2분간 가열하여 microcapsule 皮膜을 硬化시켰다. 액으로부터 microcapsule을 분리시킨 후 여분의 colloid가 제거될때 까지 증류수로 數回 세척한 다음 absolute ethanol로 탈수하였다.

核 물질로서 SMD를 함유하는 albumin microcapsule(SMD-albumin microcapsule)의 調製—核 물질인 100~140mesh(149~105μm) 범위의 SMD 0.5g을 BSA수용액에 분산시킨 후 전과 같은 방법으로 microcapsule을 調製하였다.



Scheme. Preparation of albumin microcapsule

시료는 sieve분류하여 25~60mesh(710~250 μm)를 사용하였다.

Microcapsule中의 SMD의 定量

檢量線의 작성—SMD 약 100mg을 정밀히 칭량하여 인산염 완충액(pH7.4)에 용해하여 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 및 10.0μg/ml의 농도로 하고 245nm에서 흡광도를 측정하여 least square method로 검량선식 Y=0.0818X+0.0068을 얻었다.

함량 측정—시료 약 100.0mg을 정밀히 칭량하고 인산염 완충액(pH7.4) 1*l*을 사용하여 24시간 동안 shaker로 추출한 후 일정량을 취하여 millipore filter(pore size, 0.45μm)로 여과하고 245nm에서 흡광도를 측정하여 (i)의 검량선식에서 含量을 계산하였다.

溶出實驗

USP XX 回轉檢體筒法에 의해 용출 용매로 900ml의 pH7.4 인산염 완충액 및 0.1N 염산을 사용하였고, 회전속도는 100 rpm으로 하였다.

SMD 15.0mg에 해당하는 시료를 검체관에 넣고 용매의 온도를 37.0±0.1°C로 유지하면서 직접 흡광도를 측정할 수 있도록 spectrophotometer가 부착된 용출시험기기를 사용하여 용출되는 SMD를 측정하였다.

Core: Wall比의 측정

Beads-albumin microcapsule의 core: wall 比의 측정—Beads-albumin microcapsule 약 20mg을 정밀히 달고 염산 20ml를 사용하여 皮膜물질을 녹인 후 증류수로 세척하여 염산을 제거한 다음, beads를 항량이 될 때까지 건조하고 무게를 달아 core: wall比를 구하였다.

SMD-albumin microcapsule의 core: wall 比의 측정—SMD-albumin microcapsule 약 20mg을 정밀히 달고 0.1N 염산 500ml를 사용하여 24시간 동안 shaker로 SMD를 추출하였다. 액으로부터 皮膜물질을 분리, 세척한 후 항량이 될때까지 건조하고 그 무게를 달아 core:wall 比를 구하였다.

Beads-albumin microcapsule의 膜 두께[9]

核 물질이 구형이고 microcapsule 皮膜이 일정하다고 가정하면 평균 膜 두께는 Eq. 1과 같다.

$$\text{膜두께} = \frac{\text{皮膜물질의 부피}}{\text{Microencapsulation된 核물질의 표면적}} \quad \text{(Eq. 1)}$$

W는 microcapsule의 무게, W_w는 microcapsule의 皮膜물질의 무게, ρ_w 및 ρ는 皮膜물질 및 核물질의 밀도, d는 核물질의 평균 입자경이라고 하면, 단위 무게당 N개 입자의 총표면적 S는 Eq. 2와 같다.

$$S=(\pi d^2)\left(\frac{6}{\pi d^3 \rho}\right) \text{ 또는 } S=\frac{6}{d\rho} \quad \text{(Eq. 2)}$$

Microencapsulation된 核물질의 무게는 $W-W_w$ 이므로

$$\text{Microencapsulation된 核 물질의 표면적} = (W-W_w)\left(\frac{6}{d\rho}\right) \quad \text{(Eq. 3)}$$

따라서 膜두께는 Eq. 4와 같다.

$$\text{膜두께} = \left(\frac{W_w}{W-W_w}\right)\left(\frac{\rho}{\rho_w}\right)\left(\frac{d}{6}\right) \quad \text{(Eq. 4)}$$

核 물질인 beads와 皮膜 물질인 BSA의 밀도는 pycnometer를 사용하여 측정하였다.

結果 및 考察

Table I에 核 물질인 beads 및 SMD와 皮膜 물질인 BSA의 重量比 및 SMD-albumin microcapsule中의 약물 함량을 나타내었다. Beads-albumin microcapsule의 경우 皮膜 물질과 核 물질의 比는 1 : 2.3이며, SMD-albumin microcapsule에서 皮膜 물질과 核 물질의 比는 1 : 2.9를 나타내었다.

Table I—The ratio of bovine serum albumin to sulfamethoxydiazine and bovine serum albumin to beads in albumin microcapsule

Microcapsule	ratio
Albumin : SMD*1	1 : 2.9
Albumin : Beads	1 : 2.3

*1, Sulfamethoxydiazine content in SMD-albumin microcapsule is 74.9%.

Fig. 1의 b, Fig. 2의 b와 같이 核물질인 beads 및 SMD에 皮膜 물질인 BSA가 입혀 있는 것을 관찰할 수 있다.

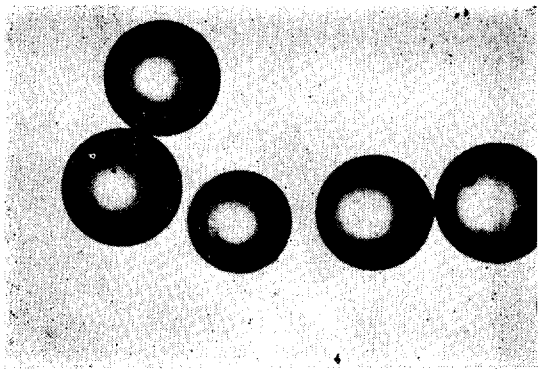
Beads는 완전한 구형이므로 microcapsule 皮膜이 일정하다고 가정한 이상적인 경우에서 계산에 의해 膜 두께를 구할 수 있고 beads-albumin-microcapsule의 평균 膜 두께는 9.5μm 이다 (Table II).

Table II—Calculated wall thickness of beads-albumin microcapsule

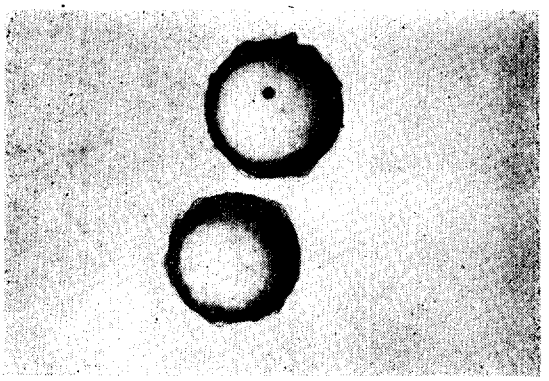
Average beads diameter, μm	ρ, g/cm^2	ρ_w, g/cm^2	Wall thickness, μm
127	1.108	1.074	9.5

Fig. 3은 SMD의 SEM 사진이고, Fig. 4는 SMD-albumin microcapsule의 SEM사진인데 SMD-albumin microcapsule의 표면은 SMD보다 거칠고 pore를 관찰할 수 있다.

Fig. 5는 인삼염완충액(pH. 7.4)에서 SMD-albumin microcapsule의 溶出 거동을 나타낸 것이다. 초기 10분에 있어서 SMD가 65%의 溶出量인데 비해 SMD-albumin microcapsule의 溶出量은 9%이며, 또한 Fig. 6의 0.1N 염산에서의 용출 pattern도 인삼염완충액의 medium에서와 마찬가지로 초기 10분에 있어서 SMD가 43%의 溶出量인데 비해 SMD-albumin microcapsule은

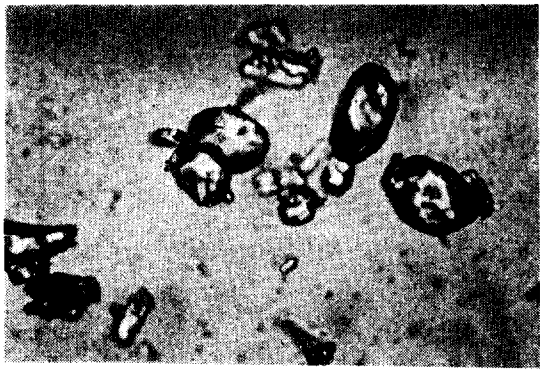


a (X100)

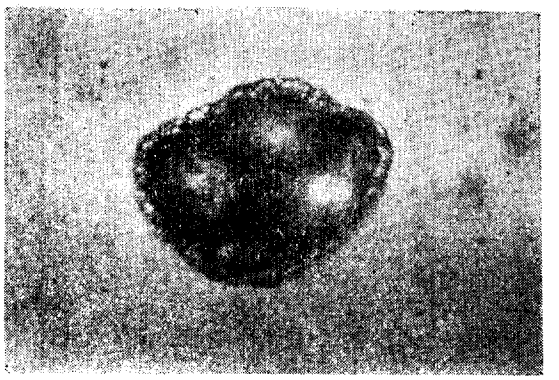


b (X100)

Fig. 1—Photographs of beads-albumin microcapsule.
a, beads
b, microencapsulated beads at wet state

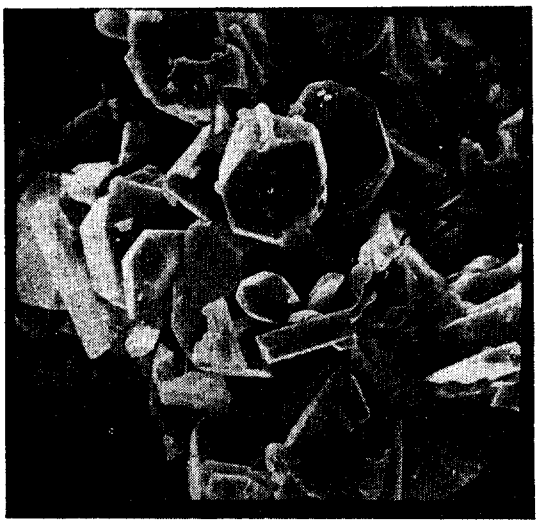


a (X400)



b (X400)

Fig. 2—Photographs of SMD-albumin microcapsule.
a, SMD
b, microencapsulated SMD at wet state



(X1000)

Fig. 3—Scanning electron micrographs of SMD.

8%로서 용출속도가 지연되었다.

Fig. 7은 용출실험 종료후 microcapsule의 SEM 사진이다. 이것을 Fig. 4의 b와 비교해 보면 그 표면상태의 변화를 인정할 수 없다.

Fig. 8, 9는 pH7.4 인산염완충액 및 0.1N 염산의 medium에서 SMD-albumin microcapsule로부터의 SMD의 溶出量을 시간의 square root에 대해 plot한 것이다. 85~90%까지는 직선관계이다.

그 이후에 직선관계에서 벗어나는 것은 Ishizaka등[24]의 보고에서와 같이 용출후기 단계에서 microcapsule로부터 약물이 거의 다 용출되었기 때문인 것으로 思料된다. SMD-albumin microcapsule中의 SMD의 용출은 Higuchi式[29]이 적용되므로 pore로부터의 diffusion controlled process로 추정된다.

이상의 용출 특성을 SMD의 50%, 75%, 95%

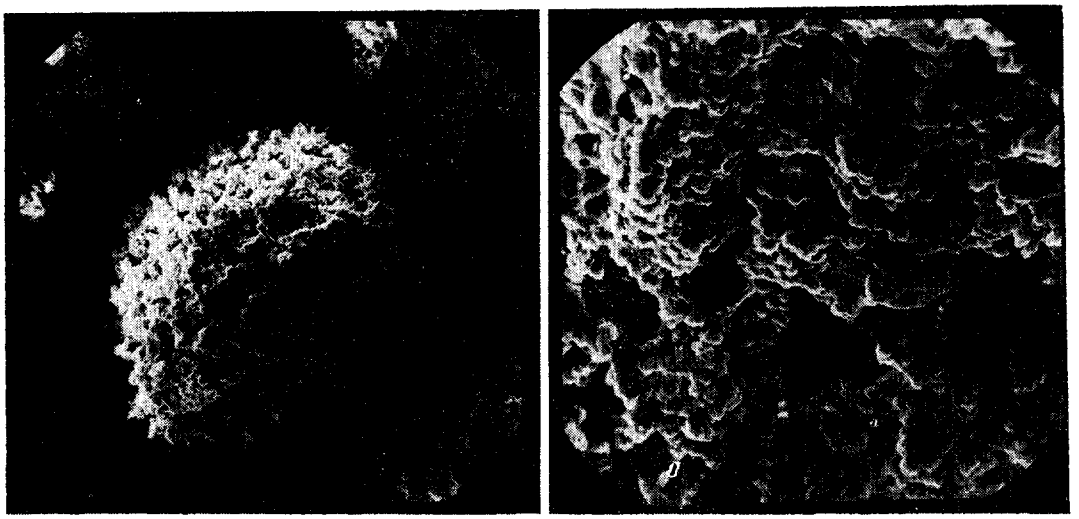


Fig. 4—Scanning electron micrographs of SMD-albumin microcapsule.

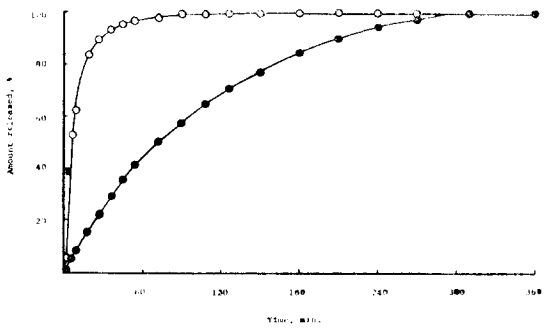


Fig. 5—Dissolution rate of SMD from SMD-albumin microcapsule in pH 7.4 phosphate buffer.
Key: ○, SMD
●, microencapsulated SMD

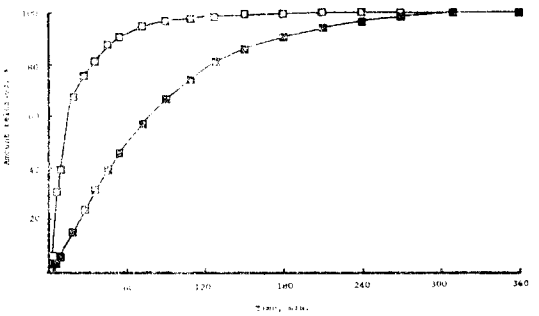


Fig. 6—Dissolution rate of SMD from SMD-albumin microcapsule in 0.1N HCl.
Key: □, SMD
■, microencapsulated SMD

Table III—Time required to dissolve 50%, 75% and 95% ($T_{50\%}$, $T_{75\%}$ and $T_{95\%}$, min.) of pure SMD and SMD in SMD-albumin microcapsule in pH 7.4 phosphate buffer and 0.1N HCl

	pH 7.4			0.1N HCl		
	$T_{50\%}$, min.	$T_{75\%}$, min.	$T_{95\%}$, min.	$T_{50\%}$, min.	$T_{75\%}$, min.	$T_{95\%}$, min.
SMD	6	13	50	12	26	74
SMD-albumin microcapsule	73	143	242	60	99	220

가 용출되는데 필요한 시간($T_{50\%}$, $T_{75\%}$, $T_{95\%}$)으로 비교하면(Table Ⅲ) pH7.4 인산염완충액에서 SMD는 6분, 13분 및 50분인데 비해 SMD-albumin microcapsule은 73분, 142분 및 242분이며, 또한 0.1N 염산에서 SMD는 12분, 26분, 74분인데 비해 SMD-albumin microcapsule은 60분, 99분 및 220분으로 albumin 皮膜의 영향이 크다.

이상에서 albumin microcapsule을 조제하여 약물의 용출 속도를 지연시킬 수 있었다. 앞으로

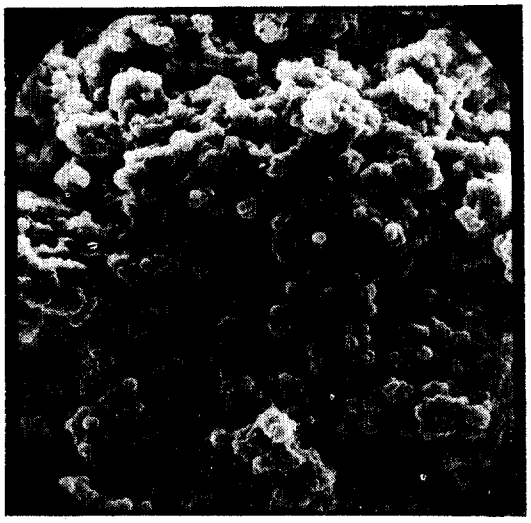


Fig. 7—Scanning electron micrographs of SMD-albumin microcapsule after dissolution test

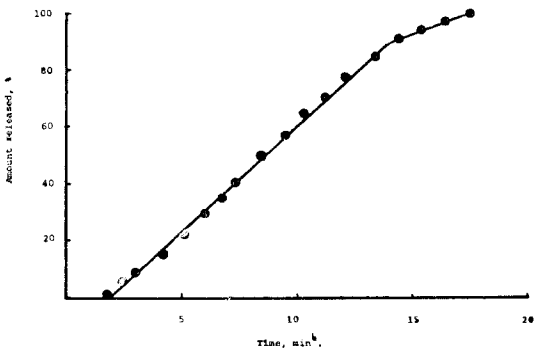


Fig. 8—Amount released(%) of SMD from SMD-albumin microcapsule as a function of the square root of time in pH 7.4 phosphate buffer

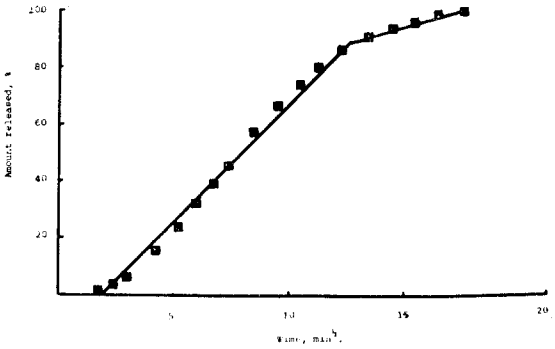


Fig. 9—Amount released(%) of SMD from SMD-albumin microcapsule as a function of the square root of time in 0.1N HCl

albumin 皮膜의 두께와 지연 시간과의 관계를 검토함으로써 albumin microcapsule의 controlled release system의 적용성을 제시할 수 있을 것으로 思料된다.

또한 용출 속도의 지연과 더불어 microencapsulation 함으로써 SMD의 특징적인 쓴맛이 隱廢되었다. 따라서 albumin은 교미 목적의 제제화에 응용될 수 있다고 思料된다.

結　論

1. Beads 및 sulfamethoxydiazine을 核 물질로 하고 bovine serum albumin을 皮膜 물질로 하여 simple coacervation에 의해 beads-albumin microcapsule 및 sulfamethoxydiazine-albumin microcapsule을 調製하였다.

2. 皮膜 물질인 bovine serum albumin과 核 물질인 beads 및 sulfamethoydiazine의 重量比는 각각 1 : 2.3, 1 : 2.9이었다.

3. pH 7.4 인산염완충액의 용출 용매에서의 $T_{50\%}$, $T_{75\%}$, $T_{95\%}$는 sulfamethoxydiazine은 6분, 13분, 53분이었고 sulfamethoxydiazine-albumin microcapsule은 73분, 142분, 242분으로 용출 속도가 지연되었다.

4. 0.1N 염산의 용출용매에서의 $T_{50\%}$, $T_{75\%}$, $T_{95\%}$가 sulfamethoxydiazine의 경우 12분, 26분, 74분이었고 sulfamethoxydiazine-albumin microcapsule은 60분, 99분, 220분으로 control에 비해 $T_{50\%}$가 5배나 지연되었다.

5. Microencapsulation에 의해 SMD의 특징적인 쓴맛이 隱廢되었다.

文　獻

1) 近藤保, マイクロカラセル化の新技術とその用途開發應用實例, 經營開發センタ出版部(昭和57年).
2) McGinity, J.W., Combs, A.B. and Martin, A.N.: *J. Pharm. Sci.* **64**, 889 (1975).
3) Bakan, J.A. and Sloan, F.D.: *Drug Cosmet. Ind.* **110**, 34 (1972).
4) Bakan, J.A. and Anderson, J.L.: in "*The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*", 2nd ed.,

Lea & Febiger, 420(1976).
5) Nixon, J.R.: "Microencapsulation", *Drug and The Pharmaceutical Science*, 3, Marcel Dekker, Inc., New York (1976).
6) 具永順, 新藥劑學, 이화여자대학교 출판부(1983).
7) Green, B.K. and Schleicher, L.: *U.S. Pat.*, **2,730**, 457(1956).
8) Deasy, P.B.: *"Microencapsulation and Related Drug Process"* Marcel Dekkr, Inc., New York (1984).
9) Madan, P.L., Luzzi, L.A. and Price, J.C.: *J. Pharm. Sci.* **63**, 281 (1974).
10) Luzzi, L.A. and Gerraughty, R.J.: *J. Pharm. Sci.* **56**, 634 (1967).
11) 具永順, 金和妍 *J. Korean Pharm. Sci.* **28**, 223 (1984).
12) Madan, P.L. and Luzzi L.A. Price, J.C.: *J. Pharm. Sci.* **61**, 1586 (1972).
13) Takenaka, H., Kawashima, Y. and Lin, S.Y.: *J. Pharm. Sci.* **69**, 513 (1980).
14) Takenaka, H., Kawashima Y. and Lin, S.Y.: *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 3054 (1979).
15) Nixon, J.R. and Hassan, M.: *J. Pharm. Pharmacol.* **32**, 856 (1980).
16) Hiroka Jizomoto: *J. Pharm. Sci.* **73**, 879 (1984).
17) McMullen, Jean N.: *J. Pharm. Sci.* **73**, 1799 (1984).
18) Nixon, J.R., Kahlil S.A. and Carless, J.E.: *J. Pharm. Pharmacol.* **18**, 409 (1966).
19) Nixon, J.R. and Walker, S.E.: *ibid.* **23**, Suppl., 147S (1971).
20) Matthews, B.R. and Nixon, J.R.: *ibid.* **26**, 383 (1974).
21) Madan, P.L., Jani, R.K. and Bartilucci, A.J.: *J. Pharm. Sci.* **67**, 409 (1973).
22) Ishizaka, T., Arrizumi, T., Nakamura, T. and Koishi, M.: *ibid.* **74**, 342 (1985).
23) Florence, A.T., Whateley, J.L. and Wood, D.A.: *J. Pharm. Pharmacol.* **31**, 422 (1979).
24) Makino, K., Arakawa, M. and Kondo, T.: *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 1955 (1985).
25) Ishizaka, T., Eudo, K. and Koish, M.: *ibid.* **70**, 358 (1981).
26) Ishizaka, T. and Koishi, M.: *ibid.* **72**, 1057 (1983).
27) Rak, J., Vitkova, M., Chalabala, M. and Heliova, M.: *Farm. Obz.* **53**, 445 (1984).
28) Rak, J., Vitkova, M., Chalabala, M., Szechenyi, S. and Heinrich, J.: *Farm. Obz.* **53**, 515 (1984).
29) Higuchi, T.: *J. Pharm. Sci.* **52**, 1145 (1963).