

## 시타라빈의 카르나우바왁스 Microsphere의 성질에 미치는 폴리소르베이트 40의 영향

김 길 수 · 윤 조 희

이화여자대학교 약학대학

(Received November 4, 1988)

Effect of Polysorbate 40 on Properties of Cytarabine Carnauba Wax Microspheres

Kil Soo Kim and Cho Hee Yoon

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

**Abstract**—The effect of polysorbate 40, used as a surfactant during the process of manufacture, on the properties of cytarabine microspheres with carnauba wax was studied. It was revealed that the mean particle size increased in proportion to the concentration of polysorbate 40, and that the dissolution rate of the cytarabine from the microspheres decreased greatly more than the cytarabine powder only, but increased in proportion to the concentration of polysorbate 40 as surfactant.

Microcapsule 또는 microsphere는 의약품의 불쾌한 맛 또는 냄새의 은폐, 화학적인 안정화, 유동성 등의 물리적 특성의 개선 및 용출조절 목적으로 이용되어 의약품제제개발에 많이 활용되고 있다.<sup>1-3)</sup>

이 연구에서는 항암제로 쓰이고 있는 시타라빈의 용출조절 목적으로 카르나우바왁스를 사용하여 microsphere를 제조하였으며 제조조건에 따른 약물의 함량, microsphere의 표면형태, 입도분포 및 용출특성에 미치는 계면활성제의 영향을 검토하였다. 카르나우바왁스는 천연왁스로서 용융점이 높고 기계적인 강도가 크며 인체내에서 biodegradable하지 않지만 생체조직과 상호작용을 하지 않으며 독성이 없는 담체로 알려져 있다.<sup>4-6)</sup>

시타라빈은 급성백혈병, 만성골수성백혈병의 급성전환기에 주로 사용되며 소화기암, 폐암, 유암, 자궁암 등에 다른 항생제와 병용요법으로 사용된다. 또한 부작용으로는 항암제에서 일반적으로 나타날 수 있는 백혈구감소, 식욕부진, 오심, 구토, 하리, 구내염 등이 나타난다.<sup>7)</sup>

항암제의 치료효율을 높이기 위한 제형연구는

치료부위에 국소적으로 약물농도를 높이 위하여 아드리아마이신의 알부민 microsphere<sup>8-10)</sup>, chemoembolization을 위한 mftomycin C의 microsphere<sup>11)</sup> 등의 방법이 있다.

### 실 험 방 법

**시약 및 기기**—시타라빈(중의제약, KPV), 카르나우바왁스(Marchado, S.A., Comercio, E. Industria, Brazil), polysorbate 40(일본 純正化學), 무수초산나트륨(Wako Pure Chemical Ind., Ltd., Japan), 빙초산(Kanto Chemical Co., Inc), 제일인산칼륨(Shinyo Pure Chemicals Co., Ltd), 실리콘유(Shin Etsu Chemical Co., Ltd., KF 96~100CS)를 사용하였다.

기기로서는 spectrophotometer(Beckman DU-8)가 장착되어 있는 dissolution tester unit(Hanson Research Corporation), pH meter(Beckman model 3500), 약전체(청계상공사, KPV), scanning electron microscope(Hitachi S-510), hot plate stirrer(Jeil Scientific Ind., Co., Model CMS 351) 및 Sorvall centrifuge(Du

Pont, Model RC-5B) 등을 사용하였다.

시타라빈의 카르나우바왁스 **microsphere**의 제조—용융분산법으로 제조하였다. 먼저 점도 100 cs의 실리코유 80ml를 카르나우바왁스의 용융점인 85°C 이상으로 가열하여 일정한 속도로 교반하였다. 용융된 왁스와 50mesh(297 $\mu$ m) 이하의 시타라빈 분말과 계면활성제로 폴리소르베이트 40을 실험계획비율로 잘 분산시켰다. 실험계획비율은 초기 약물농도가 미치는 영향을 알아보기 위하여 시타라빈을 10, 20, 25, 30 및 35%로 변화시켰으며 계면활성제가 **microspheres**의 제조 및 입도분포와 용출에 미치는 영향을 알기 위하여 시타라빈을 30%로 고정시키고 폴리소르베이트 40을 1, 5 및 9%로 변화시켰으며 이때 전체무게를 5g으로 하였다. 이것을 85°C에서 10분간 교반시킨 다음 50ml의 5°C로 냉각시킨 실리코유를 가하고 氷浴에서 720rpm으로 교반하면서 5°C까지 냉각시켰다. 냉각한 다음 3000rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 **microsphere**를 시클로헥산으로 씻어 남아 있는 실리코유와 계면활성제를 제거하고 실온에서 건조하였다.

#### Microsphere 중 시타라빈의 정량—검량선 작

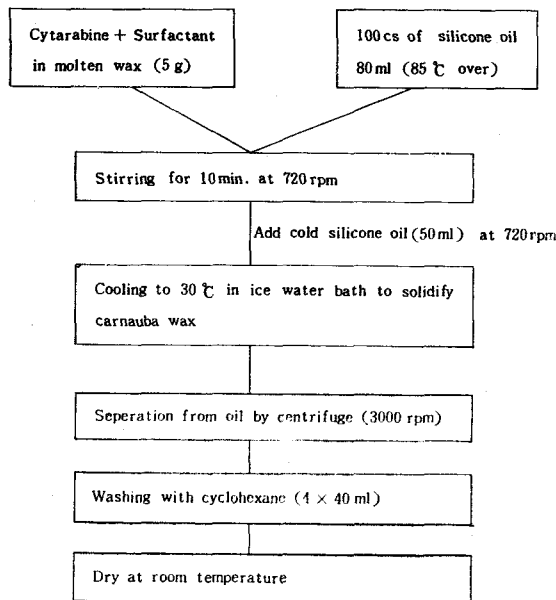


Fig. 1—Schematic diagram of preparation of carnauba wax microsphere of cytarabine by meltable dispersion process.

성: 시타라빈 약 100mg을 정밀하게 달아 pH 4.8의 초산염완충액 및 pH 7.2의 인산염완충액에 녹이고 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 및 12.0 $\mu$ g/ml의 농도로 희석한 다음 273nm에서 흡광도를 측정하여 최소자승법으로 다음의 검량선을 얻었다.<sup>12)</sup>

pH 4.8 초산염완충액 :  $Y=0.0411X+0.0097$

pH 7.2 인산염완충액 :  $Y=0.0407X+0.0011$

함량측정: 시료 약 20mg을 정밀하게 달아 pH 4.8 초산염완충액을 용매로 수욕에서 85°C로 가열하여 왁스를 용융하였다. 이것을 냉각하여 왁스를 고화시키고 일정량으로 한 다음 잘 흔들어서 섞는다. 여과한 다음 여액 일정량을 취하여 정량성을 갖도록 희석하고 273nm에서 흡광도를 측정하여 검량선에 의하여 함량을 측정하였다.

주사전자현미경관찰—제조된 **microsphere**의 모양과 표면상태를 관찰하기 위하여 또한 **microsphere**의 용출 전과 용출후의 표면상태를 관찰하기 위하여 주사전자현미경으로 관찰하였다. 시료를 금증착기에 넣고 진공도 0.15 Torr 및 6~7mA의 조건에서 7분간 입자표면을 순금으로 피복하여 가속전압 10KV에서 촬영하였다.

입도분포—약전체 10호(2000 $\mu$ m), 25호(750 $\mu$ m), 40호(420 $\mu$ m), 50호(297 $\mu$ m), 60호(250 $\mu$ m), 80호(177 $\mu$ m), 100호(149 $\mu$ m) 및 200호(74 $\mu$ m)를 사용하여 일정량의 시료를 상단체에 넣은 다음 10분간 수평으로 흔들고 가볍게 두드린다. 각 체위의 잔류량을 정확히 달아 백분율을 구하였다.

용출실험—대한약전 5개정의 회전검체통법에 따라 실험하였다. 회전속도는 150rpm으로 하고 용출용매는 900ml의 인산염완충액(pH 7.2)을 사용하였으며 용매의 온도는  $37.0\pm 0.1^\circ\text{C}$ 를 유지하였다. 시료는 시타라빈으로서 25mg에 해당하는 양을 정밀하게 달아 검체통에 넣고 용출시험을 한 다음 5분 간격으로 용출액을 취하여 정량법에 따라 정량하였다.

#### 결과 및 고찰

#### Microsphere 중 시타라빈의 함량—계면활성

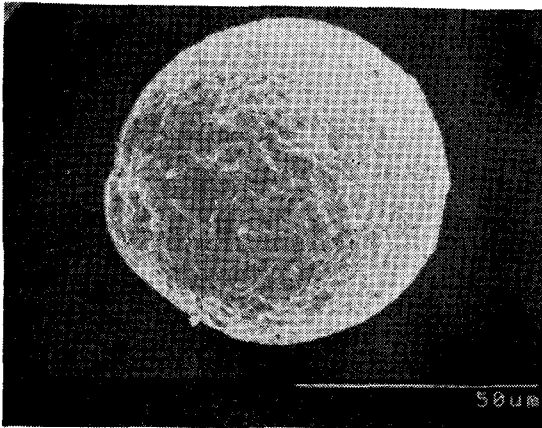
**Table I**—Cytarabine content of carnauba wax microspheres according to the concentration of polysorbate 40

Polysorbate 40 concentration (%)	Cytarabine content (%)
0	28.8
1	36.5
5	41.1
9	43.5

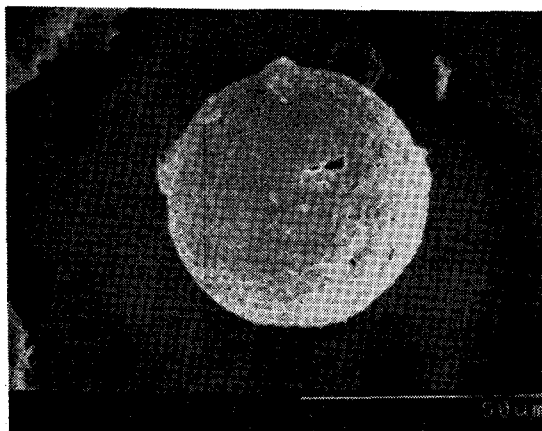
제를 쓰지 않고 만든 microsphere는 초기약물농도가 10, 20, 25 및 35%로 증가됨에 따라 microsphere중의 약물농도가 11.7, 26.9, 28.5, 28.8 및 40.5%로 증가되었으며 입도도 증가되었다.

초기약물농도를 30%로 하고 계면활성제로 폴리소르베이트 40을 1, 5 및 9%를 사용하여 만든 microsphere 중의 시타라빈의 함량은 Table I과 같다. 계면활성제를 사용하지 않았을 때는 28.8%인데 비하여 폴리소르베이트 40의 농도가 1, 5 및 9%로 증가함에 따라 36.5, 41.1 및 43.5%로 시타라빈의 함량이 증가되었다. 이것은 친수성 약물과 소수성의 matrix와의 계면장력이 크기 때문에 약물의 함량이 적지만 계면활성제는 약물과 matrix 사이의 계면장력을 저하시켜줌으로서 약물의 함량을 증가시킨다고 생각할 수 있다.

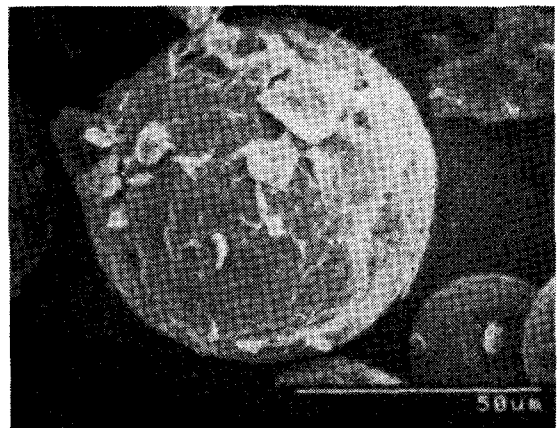
주사전자현미경 관찰—용융분산법으로 제조한 microsphere는 구형이며 표면은 비교적 거친 편이었다. Fig. 2는 폴리소르베이트 40을 1% 사



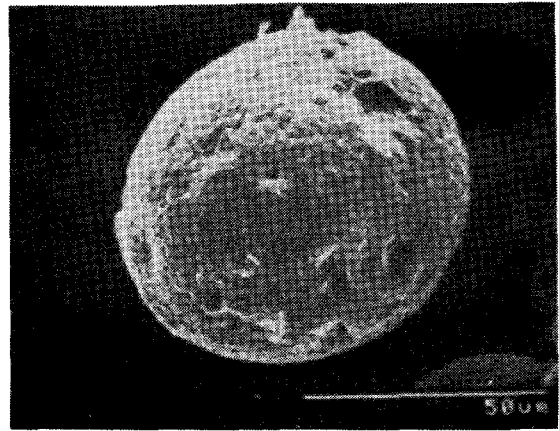
a. before dissolution (×1000)



b. after dissolution (×1000)



a. before dissolution (×1000)



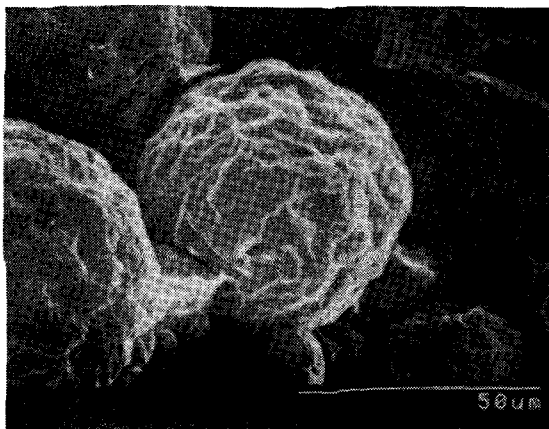
b. after dissolution (×1000)

**Fig. 2**—Scanning electron micrographs of carnauba wax microsphere using 1% of polysorbate 40.

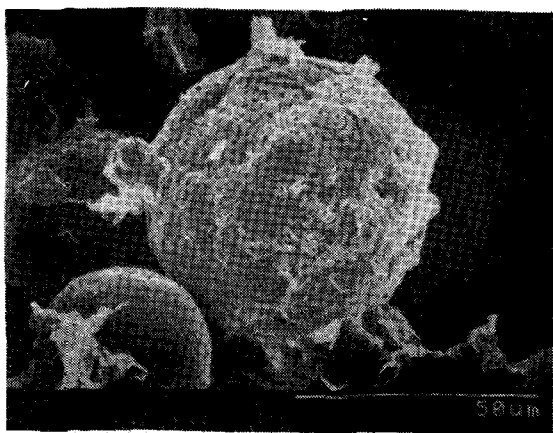
**Fig. 3**—Scanning electron micrographs of carnauba wax microsphere using 5% of polysorbate 40.

용하여 제조한 microsphere의 사진이며 a는 용출전 b는 용출후의 사진이다. Fig. 3은 폴리소르베이트 40을 5% 사용하여 만든 것이며 Fig. 4는 폴리소르베이트 40을 9% 사용하여 제조한 것이다. 폴리소르베이트의 농도가 증가할 수록 microsphere 표면의 굴곡이 커지며 보다 거칠어지는 것을 볼 수 있고 용출 전후의 차이는 거의 없으나 함유되어 있던 약물의 방출로 주름이 좀 더 깊어지는 것을 볼 수 있다.

입도분포—제조한 microsphere의 평균 입자경은 Table II에서와 같다. 폴리소르베이트 40의 사용농도를 증가시키에 따라 microsphere의 평균입자경도 점점 커짐을 알 수 있다. Fig. 5는 폴리소르베이트 40을 사용하지 않았을 때와 1, 5



a. before dissolution (×1000)



b. after dissolution (×1000)

Fig. 4—Scanning electron micrographs of carnuba wax microsphere using 9% of polysorbate 40.

Table II—Mean particle size of cytarabine carnuba wax microspheres according to concentration of polysorbate 40.

Polysorbate 40 concentration(%)	mean particle size(μm)
1	253.8
5	236.3
9	332.5

\* the mean particle size of cytarabine powder used in manufacture of microspheres was 96.3μm.

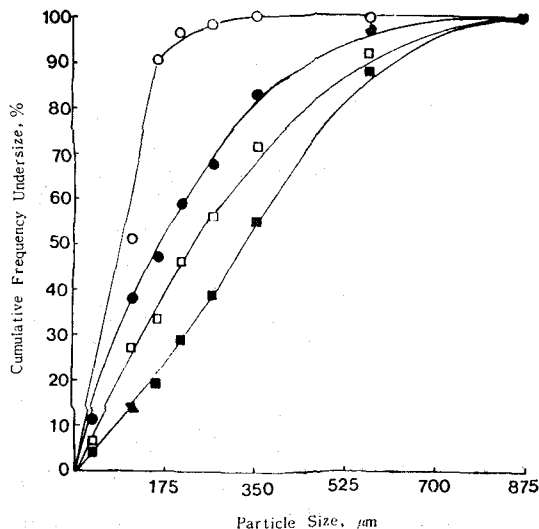
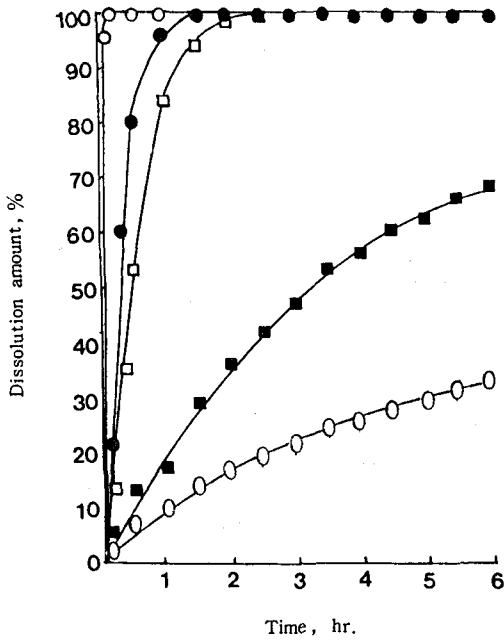


Fig. 5—The size distribution of carnuba wax microspheres using polysorbate 40 as a function of surfactant concentration.

- ; cytarabine
- ; 1% polysorbate 40
- ; 5% polysorbate 40
- ; 9% polysorbate 40

및 9%를 사용했을 때의 cumulative frequency undersize를 plot한 것으로 계면활성제의 사용농도가 증가함에 따라 평균입자경이 증가되었다.

Microsphere의 용출특성—Fig. 6은 시타라빈 분말, 계면활성제 사용하지 않고 제조한 microsphere, 폴리소르베이트 40을 1, 5, 9% 사용해서 제조한 것의 인산염완충액 (pH 7.2)에서의 시타라빈용출량을 시간에 따라 plot한 것이다. 시타라빈분말에 비하여 microsphere에서의 용출속도가 지연되었으나 microsphere를 만들때 폴리소르베이트의 사용량의 증가에 따라 용출속도



**Fig. 6**—Dissolution profiles of cytarabine from carnauba wax microspheres in pH 7.2 phosphate buffer.  
 ○; cytarabine  
 □; no surfactant  
 ■; 1% polysorbate 40  
 □; 5% polysorbate 40  
 ●; 9% polysorbate 40

가 빨라지는 것을 알 수 있다. 이 도표로부터 50%가 용출되는 시간( $T_{50\%}$ )를 구하면 Table III와 같다. 시타라빈분말은 3분이며 microsphere에서는 폴리소르베이트 40의 농도가 1, 5 및 9%에서 각각 200분, 26분 및 15분으로 농도가 증가됨에 따라 용출속도가 증가되었다. 그러나 계면활성제를 사용하지 않았을 때는 9시간이 지나도 50%가 용출되지 않을 만큼 용출속도가 지연되었다.

시타라빈의 카르나우바왁스 microsphere를 제조할 때 폴리소르베이트 40의 농도를 조절함으로써 시타라빈의 용출속도를 적절하게 조절할 수 있을 것으로 생각된다.

**Table III**—Time required to dissolve 50% of cytarabine ( $T_{50\%}$ ) from microspheres against concentration of polysorbate 40.

Polysorbate 40 concentration(%)	$T_{50\%}$ (min)
0	more than 540
1	100
5	26
9	15

\*  $T_{50\%}$  of cytarabine powder was 3 minuites.

결 론

시타라빈의 카르나우바왁스 microsphere의 제조에 폴리소르베이트 40이 미치는 영향을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

(1) 폴리소르베이트 40의 농도가 증가함에 따라 microsphere 중 시타라빈의 함량이 증가되었으며 평균입자경도 증가하였다.

(2) 시타라빈의 용출속도는 카르나우바왁스로 microsphere로 하면 크게 지연되었으나 폴리소르베이트 40의 사용농도를 조절함으로써 그 지연효과를 적당히 조절할 수 있었다.

문 헌

- 1) Nixon, J.R., Kahlil, S.A., and Carless, J.E.; *J. Pharm. Pharmacol.* 18, 409 (1966).
- 2) Nixon, J.R., Walker, S.E., *Ibid.* 23, Suppl., 1475 (1971).
- 3) 具永順, 新藥劑學, 이화여자대학교 출판부(1983).
- 4) Merck Index, 10th Edition, Merck & Co., Inc., (1983).
- 5) Madoule, P., Tramont, P., Doyon, D., Quillard, J., and Laval, F.M., *Sci. Tech. Pharm.* 11, 441 (1982).
- 6) Merland, J.J., Riche, M.C.; *Suivi Therapeutique*, A.P.H.I.F., 45 (1981).
- 7) Medical Index 4th edition, 한국메디칼인덱스사 (1985).
- 8) Benita, S., Zouai, O., and Benoit, J.P.; *J. Pharm. Sci.*, 75(9), 847 (1986).

- 9) Widder, K.J., Senyei, A.E., and Ramey, D.F.: *Adv. Pharmacol. Chemother.* **16**, 213 (1979).  
10) Widder, K.J., Senyei, A.E., and Scarpelli, D.G.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **158**, 141 (1978).  
11) Kato, T., Unno, K., and Goto, A.: *Methods in Enzymology*, Vol 112, Wider, K.J., Green, R. Eds., Academic Press (1985) p.139-508.  
12) USP XXI, United State Pharmacopeial Convention, Inc., (1985).