약제학회지(1994), 제24권 제2호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 24, No. 2, 95-104(1994)

시클로덱스트린과의 포접에 의한 케토코나졸의 비점막 흡수증가

박기배† · 서보연 · 안홍직 · 노현구 · 온윤성 · 이광표
중앙대학교 약학대학

(1994년 3월 15일 접수)

Enhanced Nasal Absorption of Ketoconazole by Inclusion with Cyclodextrin

Gee-Bae Park†, Bo-youn Seo, Hong-Jik Ann, Hyun-Goo Rho, Yun-Sung Onn, Kwang-Pyo Lee
College of Pharmacy, Chung-Ang University

(Received March 15, 1994)

Inclusion complexes of ketoconazole(KT) with α-, β-cyclodextrin(CD) and dimethyl-β-cyclodextrin (CD) and dimethyl-β-cyclodextrin(DMβCD) as nasal absorption enhancer were prepared in 1 : 2 molar ratios by freeze-drying and solvent evaporation methods. In order to compare with the intrinsic absorptivity of KT in the jejunum(J) and the nasal cavity(N), the *in situ* simultaneous perfusion method was employed. The *in situ* recirculation study revealed that KT-CD inclusion complexes with the greater stability constant and the faster dissolution rate proportionally increased the absorption of KT in the J and N of rats. The rank order of apparent KT permeability(P_{app} : cm/sec × 10^{-5} ± S.E.), corrected by surface area of absorption, was 5.10 ± 0.3(N, KT-DMβCD) >4.13 ± 0.4(N, KT-β-CD) >3.52 ± 0.2(N, KT-α-CD) >2.76 ± 0.3(J, KT-DMβCD) >2.61 ± 0.5(J, KT-β-CD) >2.42 ± 0.4(J, KT-α-CD) at pH 4.0. The in crease in permeability of KT-DMβCD inclusion complex was 2.6 folds in the J and 4.5 folds in the N when the perfusing solution was changed from the buffer(pH 4.0) to saline. The absorption rate of KT-DMβCD inclusion complex after nasal administration was more rapid than those of ketoconazole alone and KT-DMβCD inclusion complex after oral administration to rats. In comparision with an oral administration of ketoconazole suspension in corn oil, the relative bioavailability was calculated 137.3% for the oral and 195.0% for nasal KT-DMβCD inclusion complex in rats. The present results suggest that KT-DMβCD inclusion complex may serve as a potential nasal absorption enhancer for the nasal delivery of ketoconazole.

Keywords – Ketoconazole, *In situ* simultaneous perfusion method, KT-DMβCD inclusion complex, Nasal absorption enhancer

대부분의 약물은 경구 또는 주사제로 투여시 충분한 약효가 얻어지고 있다. 그러나 경구투여시 위산에 의해서 분해되거나, 용해성이 불량하여 흡수가 안되며, 간초회통과효과에 의해서 불활성화되기 때문에 생체이용율이 낮아 충분한 약효를 기대할 수 없는 약물이나 주사제로 투여하더라도 생물학적 반감기가 짧아 빈번한 투여가 필요한 약물 또는 장기투여시 환자의 복약순응도가 감소되는 약물에 있어서는 새로운 투여경로와 제제개발이 요구되고 있다. 케토코나졸(KT)은 경구투여시 흡수율의 개체간 및 개체내 변동이 심하며[1] 간초회통과효과를 많이 받고 장기연용시 간독성을[2-4] 일으키며 오심, 구토, 설사,

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

변비 등의 위장장해가[5-6] 있는 것으로 알려져 새로운 투여경로와 제제개발의 필연성이 대두되고 있다.

국소효과를 얻기 위해서 시도된 재래의 비경구적 약물투여 경로들 가운데 경비투여 경로는 근년에 이르러 전신작용을 목적으로 해서 친유성 약물과 친수성이 큰 약물들을 효과적으로 비점막에 흡수시킬 수 있다는 것이 밝혀졌으며 최근에는 호르몬류,[7-8] 펩티드 및 단백질류,[9-11] 백신류[12-14] 같은 약물들의 생체이용율을 향상시킬 수 있는 대체 투여경로로 관심이 증대되고 있다.

경비 약물송달체계는 경구투여 후에 간에서 초회통과를 크게 받고 위장관에서의 안정성이 낮은 약물에 대해서 특히 유망한 약물송달법이다. 또한 장기요법에 있어서 환자에게 투여하기가 간편하므로 환자의 복약순응도를 개선시킬 수 있다.[15-17]

특히 최근에는 시클로덱스크린(CD)이 약물의 비점막 흡수촉진제로 이용된 예가 많이 보고된 바 있는데, 포접복합체를 비강내 투여시 약물이 전신순환혈중에 신속하고 효율성있게 이행되며 비점막의 투과성과 생체이용율이 증가되었는데, 그 예로서 프로게스테론의 생체이용율은 시클로덱스트린을 첨가하지 않은 현탁제를 경비투여시 18±13%을 나타내지만 디메틸-β-시클로덱스트린(DMβCD)과 포접복합체를 조제하여 경비투여시 58±16%로 크게 증가되었으며,[18] 17-β-에스트라디올의 단독 경비투여군의 절대생체이용율은 흰쥐와 토끼에서 각각 67.2 및 94.6%이며 DMβCD가 에스트라디올의 비점막 흡수를 3~4배 크게 증가시킨 연구 결과가 보고된 바 있다.[19] 또한 α-, β-, γ-CD, DMβCD 및 히드록시프로필-β-시클로덱스트린(HPβCD)과 인슐린을 포접복합체로 조제하여 경비투여시 5% DMβCD가 정맥주사시와 비교해서 생체이용율이 108.9±36.4%를 나타내며 α-CD는 27.7±11.5%인데 반하여 HPβCD, β-CD 및 γ-CD는 별로 비점막흡수촉진효과가 없었다.[20]

이에 본 연구에서는 KT과 α-, β-, DMβCD의 포접복합체를 조제하고 *in situ* 동시연속 환류법을 실시하여 고유흡수도를 구해서 흡수부위 특이성을 고찰하고, *in vivo* 실험을 통하여 경구투여군과 경비투여군의 상대적 생체이용율을 비교 검토하여 간초회 통과효과를 회피하고 생체이용율을 증가시킬 수 있는 KT의 경비용 흡수제제의 개발 가능성을 모색하고자 하였다.

실험 방법

시약 및 기기

본 실험에 사용한 KT는 한국 안센사로부터 제공받았다. 흡수촉진제로 사용한 α-CD, β-CD, DMβCD는 Sigma사 제품이며, HPLC에 사용한 메탄올 및 아세토니트릴은 Baker Analyzed사의 HPLC용을 썼다.

HPLC는 Gilson 305 Pump, Varian 4400 Integrator, Signal Cleaner, 70A SC77 (Japan), Gilson Model 116 Detector를 부착시켜 사용하였고 칼럼은 Microsorb-MV (4.6 mm i.d.×15 cm, C_{18} 5 μm 100Å) (Rainin Instrument, U.S.A.)를 사용하였다. *In Situ* 공장-비강 연속환류실험에는 peristaltic pump (Vision Model-1303 P2, Korea)와 stirrer/hot plate (Corning, U.S.A.)를 사용하였다. 환류액으로는 pH 4.0 (0.2 N 초산 410 m*l*에 0.2 M 초산나트륨 90 m*l*를 가해서 전량이 500 m*l* 가 되게 조제)의 완충액과 생리식염수를 사용하였다.

포접복합체의 제조

용매증발법－KT과 CD을 1 : 2 몰비로(KT 100 mg, α-CD 366 mg, β-CD 427 mg, DMβCD 500 mg) 에탄올 20 m*l*에 녹인 후 24시간 동안 상온에서 교반하여 평형에 이르게 한 후 50 ℃의 수욕상에서 질소가스로 에탄올을 증발시켜서 분말화 하였다.

동결건조법－KT과 CD을 1 : 2 몰비로 물 20 m*l*에 넣어 자석식교반기로 교반하면서 염산을 가하여 녹이고 이것을 동결건조하여 분말화하였다.

실험동물

체중 240~260 g Sprague-Dawley계 웅성 랫트를 사료와 물을 자유로이 먹도록 하면서 약물투여 24시간 전부터는 고형사료의 공급을 중단하여 절식시켰다.

In Situ 공장 및 비점막 동시 연속환류실험

본 실험은 Hirai 등[21]이 개발한 *in situ* 경비환류법과 Farraj 등[22]이 개발한 *in situ* 장관환류법을 이용해서 공장 및 비강에서의 동시 흡수실험을 고안하여 실시하였다. 즉 체중 240~260 g의 Sprague-Dawley계 웅성 랫트 3 마리를 1군으로 하여 50 mg/kg의 펜토바르비탈나트륨을 복강내 주사하여

전신마취시킨 후 목부분을 절개하여 기도를 노출시킨다. 기도의 윗부분을 약간만 절개하여 폴리에칠렌관(PE-260)을 비강의 뒷부분에서 폐쪽으로 향하여 삽입하였다. 기도의 바로 아래에 있는 식도의 윗부분도 역시 약간만 절개하여 폴리에칠렌관을 위장쪽에서 비강의 뒷부분으로 향하여 삽입한 다음 약액이 비강에서 구강으로 배출되는 것을 방지하기 위하여 비구개관을 순간강력접착제 (ALKA-SQ 102)를 떨어뜨려 막았다. 약액을 환류시키기 위해 tygon tube를 식도에 삽입한 폴리에칠렌관에 연결시켰다. 20 μg/ml의 KT을 함유하는 환류액 10 ml를 drug reservoir에 넣고, 이 drug reservoir안에 자석젓개 막대 1개를 넣어 부단히 회전시킴으로써 약액을 교반해 주며 drug reservoir를 37±0.5℃로 유지된 water-jacketed beaker 안에 넣고서 peristaltic pump를 작동시켜 2 ml/min의 환류속도로 약액을 환류시켰다. 15분마다 약액 100 μl를 Pipetman(Gilson)으로 취하여 HPLC로 잔존하는 KT의 양을 측정하였다.

한편 공장흡수실험은 랫트의 십이지장 하부에서부터 시작하여 공장의 약 15 cm 길이로 양단의 윗부분을 조금 절단하여 PE관으로 전방과 후방을 cannulation하고 봉합사로 단단히 묶은 후 *in situ*경비환류법에서 사용했던 동일한 peristaltic pump에 연결시켜서 Fig. 1에 나타낸 것과 같이 실험하였다. Cannulation한 장관에 시료를 환류시키기 전에 pH 4.0 완충액으로 공장내를 환류시켜 깨끗이 세척한 다음 공장내에 남아 있는 세척액을 완전히 제거시켰다. 실험을 시작할 때에는 약물이 들어있는 환류액을 공장 내에 완전히 채우고, 공장 내에 기포가 있는지를 확인하였다. 만일 기포가 있을 때는 이를 제거시킨 다음 2시간 동안 환류시켰다. 환류액은 peristaltic pump에 의해서 drug reservoir로부터 tygon tube를 지난 후 cannula와 장관을 통해서 계속 환류시킨다. 환류액, 환류조건 및 시료채취법은 비강과 동일하게 하였다.

HPLC분석을 위한 검체의 전처리방법은 다음과 같다. 공장 및 비강환류액 100 μl를 취해 밀리포아 멤브레인필터로 여과한 후 아세토니트릴 100 μl를 가해 3분간 진탕하고 1500 g에서 5분간 원심분리함으로써 단백질을 제거한다. 상층액을 취하여 밀리포아멤브레인필터에 통과시킴으로써 여과하고 그 여액 20 μl를 HPLC 칼럼에 주입한다.

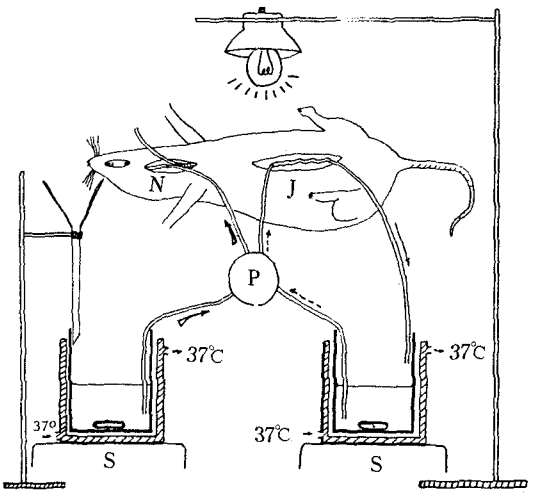

Figure 1 – Simultaneous experimental setup for the *in situ* perfusion experiments through the nasal cavity and jejunum of rat.
Key : (N); nasal cavity, (J); jejunum, (P); peristaltic pump, (S); stirrer

***In vivo* 경구흡수실험**

약물투여 전 24시간 동안 절식시킨 후 옥수수기름 5 ml에 KT 10 mg을 현탁시킨 것과 용매증발법으로 제조한 KT-DMβCD 포접복합체를 생리식염수에 녹여서 KT로서 10 mg/kg을 함유한 것을 위관주입법 (gavage)으로 경구투여하였다. 랫트를 디에칠에텔로 전신마취 시키고 약물을 투여해서 10, 20, 30, 60, 90 및 120분에 경정맥으로부터 매회 0.4 ml의 혈액을 미리 헤파린이 처리된 원심분리관에 취한 후 3,000 g에서 5분간 원심분리하여 혈장을 분리하고 HPLC로 분석할 때까지 −20 ℃에 보관하였다.

***In vivo* 경비흡수실험**

In situ 환류법에 의해서 비점막의 흡수율을 결정하는 것은 신속하고 간단하지만 이 방법은 분석의 감도가 떨어지고 생체내동태에 관한 정보가 결여되어 있다. 그 이유는 환류액의 용적 (10 ml)이 커서 약물농도의 변화가 크지 않기 때문에 약물이 비강으로 부터 흡수가 잘 안될 때는 분석의 감도가 제한적일 수밖에 없다.[23] 수술방법은 Fig.1과 같이 *in situ* 실험과 똑같으나 단지 양쪽 콧구멍을 순간접착제로 막은 후 cannulation된 식도로 KT로서 10 mg에 해당되는 KT-DMβCD 포접복합체를 생리식

염수 0.5 ml에 녹인 액을 10 mg/kg을 투여한 후 실로 묶는 것이 다르다. 혈액시료 (0.4 ml)는 비강내로 투여한 후 10, 20, 30, 60, 90 및 120분에 경정맥 (jugular vein)을 통해 채취한 후 헤파린액으로 처리 3,000 g로 5분간 원심분리하여 혈장을 분리하고 약물농도 측정시까지 −20℃ 이하에서 냉동보관 하였다.

HPLC에 의한 분석

KT의 HPLC분석조건으로서 유속은 1.2 ml/min 이며, 이동상은 메탄올 : 0.02 M 인산이수소칼륨 (pH 6.8, 0.1N−NaOH)=75 : 25 (v/v %)이며, UV 파장 240 nm에서 검출하였으며, 칼럼은 Microsolve-MV C_{18} μm(4.6 mm i.d.×15 cm)를 사용하였다.

장관 및 비점막에서의 흡수 및 흡수촉진 효과에 대한평가

In situ 환류액 속의 약물농도의 잔존율은 시간에 대해 1차속도식에 따른다. 이 직선의 기울기로부터 1차 흡수속도상수를 (1)식에 의해 구하였다. 그리고 장의 단위길이당 표면적은 실험 후 공장의 길이를 측정하고 250 g 랫트의 공장평균 직경 (0.45 cm)은 문헌[23]으로부터 구해서 장점막투과도를 다음의 (2)식으로 구하였다.[24] 또한 250 g 랫트의 비강 평균표면적은 문헌[25]으로부터 구해서 (2)식에 대입하여 약물의 고유 흡수도를 비교할 수 있는 투과도를 구하였다.

$$\ln C(1)/C(0) = -k_{obs} \times t \quad (1)$$

$$P_{app} = k_{obs} \cdot \frac{V}{S} \quad (2)$$

$C(0)$: 초농도
$C(1)$: 잔존농도
P_{app} : 겉보기투과도(cm sec^{-1})
K_{obs} : 1차흡수속도상수(sec^{-1})
V : 환류액의 용적(cm^3)
S : 비강 및 공장의 흡수표면적(cm^2)
- 비강 = 10.4(250 g 흰쥐의 흡수표면적, cm^2)
- 공장 = $2\pi rl$ (r : 반경, l : 길이)

일반적으로 *in situ* 환류법은 흡수촉진효과의 평가법으로 가장 많이 이용되고 있는데 그 이유는 비강 및 소화관 각 부위를 인위적으로 특정지어 일정량의 흡수촉진제를 일정부위에 작용시키는 것이 가능하기 때문에 흡수촉진제와 각 부위 점막과의 상호작용을 정량적으로 평가하는데 유효하다. 따라서 *in situ* 환류법을 이용하여 포접복합체인 KT-α-CD, KT-β-CD, KT-DMβCD의 공장 및 비강에서의 흡수촉진효과를 1차 속도정수와 투과도를 구하여 평가하였다.

경비투여시 상대적 생체이용율의 평가

옥수수기름 5ml에 현탁시킨 KT 10 mg을 경구투여해서 대조군으로 하여 AUC를 구하고, 생리식염수에 녹인 10 mg에 해당되는 KT을 함유하는 KT-DMβCD 포접복합체를 경구 투여해서 AUC를 구하였으며, 생리식염수에 녹인 KT-DMβCD 포접복합체를 비강으로 투여해서 AUC를 구해서 투여경로에 따른 상대적 생체이용율을 산출하였다.

약물 동력학적 파라미터의 산출

옥수수기름에 현탁시킨 KT의 경구투여군과 생리식염수에 녹인 KT-DMβCD 포접복합체의 경구 및 경비투여군들의 KT의 혈장농도 추이를 one compartment open model에 적용시켜 얻은 초기치를 Gauss-Newton method, damping Gauss-Newton method, modified Marquardt method 및 Simplex method 등의 algorithm으로 바꾸어가며 fitting하여 SS (Sum of the Squared residuals) 및 AIC (Akaike's Information Criteria) 값이 가장 낮은 algorithm의 약물속도론적 파라미터를 구했으며, 통계학적 모멘트파라미터들 (AUC, MRT, VRT)은 Yamaoka 등이 개발한 프로그램을 사용하여 다음과 같이 구하였다.[27]

$$C_{max} = \frac{K_a F X_0}{V_d(K_a - K)} (e^{-KT_{max}} - e^{-K_a T_{max}}) \quad (3)$$

C_{max} = 최고혈중농도
F = 생체이용율
V_d = 겉보기 분포용적

$$T_{max} = \frac{2.3 \log(K_a/K)}{K_a - K} \quad (4)$$

K_a = 1차 흡수속도상수
T_{max} = 최고혈중농도에 도달하는 시간

$$\text{소실반감기 } (t_{1/2}) = 0.693/K \quad (5)$$

$$AUC = \int_0^\infty C_p dt = AUC_0^t + C_{pt}/K \quad (6)$$

C_{pl} = 최종적으로 측정한 혈장농도

상대적 생체이용율(F) = $(AUC/dose)_{i.n.}$ / $(AUC/dose)_{p.o.}$ (7)

$_{i.n.}$ = 경비투여군

$_{p.o.}$ = 경구투여군

$$MRT = \frac{\int_0^\infty C_p t dt}{\int_0^\infty C_p t dt} = \frac{AUMC}{AUC} \quad (8)$$

$$VRT = \frac{\int_0^\infty t^2 C_p dt}{\int_0^\infty C_p dt} = \frac{\int_0^\infty (t\text{-}MRT)^2 C_p dt}{AUC} \quad (9)$$

MRT = 평균체류시간

VRT = 평균체류시간의 분산

통계처리[28]

Tallardia와 Murray가 개발한 grouped t-test 컴퓨터 프로그램을 이용하여 *in vivo* 실험시 KT의 경구투여군과 KT-DMβCD 포접복합체의 경구투여군 및 경비투여군의 약물동력학적 파라미터간의 유의성을 $p<0.05$의 신뢰수준으로 검정하였다.

결과 및 고찰

KT의 HPLC정량

메탄올에 녹인 KT의 검량선의 농도(1~10μg/ml)와 피크면적간에는 $y=1.328\times10^5x-1.276\times10^4$ ($r=0.9995$)의 직선회귀식이, 그리고 혈장중의 KT의 검량선의 농도 (0.5~10 μg/ml)와 피크면적간에는 $y=2.7646\times10^4x-5.213\times10^3$($r=0.9987$)의 직선회귀식을 나타내었다. Fig. 2에는 메탄올에 용해시킨 KT(A)와 혈장중의 KT(B)의 전형적인 HPLC 크로마토그람을 나타내었다.

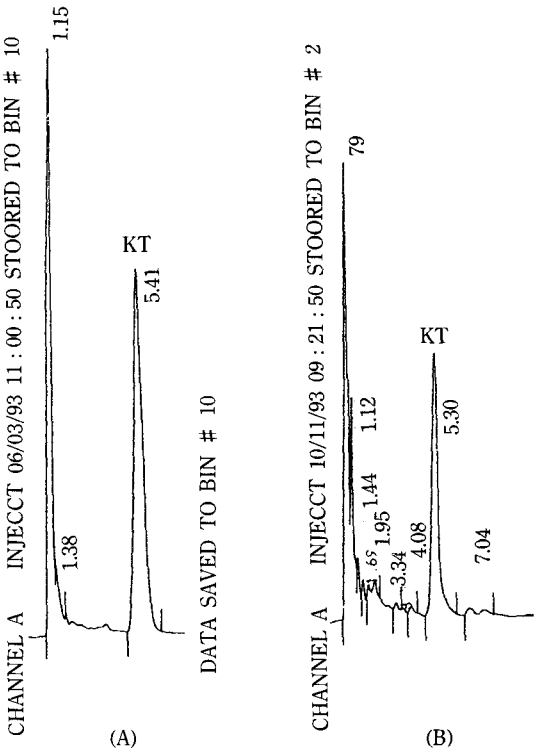

Figure 2 – Typical HPLC chromatograms of ketoconazole in methanol(A) and in plasma(B).

In situ KT-CDs 물리적 혼합물과 포접복합체의 공장 및 비강에서의 고유흡수도 비교

Fig. 3은 용매증발법으로 제조한 KT-CDs 포접복합체와 KT-CDs 물리적 혼합물을 *in situ*환류법을 이용하여 흰쥐의 공장과 비강내에서 동시 흡수실험한 결과로서 (A)는 공장에서, (B)는 비강내에서 *in situ* 환류액속의 KT농도의 잔존률을 시간에 따라 도시한 결과로서 1차 속도식에 따름을 알 수 있었다. 이 직선의 기울기로부터 식(1)에의해서 1차흡수속도상수를 구하였고 식(2)에 의해서 흡수 표면적을 보정해서 비강 및 공장에서 약물의 고유흡수도를 비교할 수 있는 투과도를 산출해서 그 결과를 Table I 에 나타내었다. 1차 흡수속도정수는 KT-DMβCD 포접복합체가 공장에서 가장 큰것으로 나타났으며 비강내에서는 거의 같은 크기로 흡수됨을 알 수 있었고, 공장내에서는 KT-β-CD 물리적 혼합물이 가장 컸으며 KT-α-CD과 KT-DMβCD의 물리적 혼합물은 공장에서는 거의 같은 크기로 흡수됨을 알 수 있었다. 겉보기 투과도는 KT-DMβCD 포접복합체가 비강내에서 가장 큰것으로 나타났으며 KT-β-CD과 KT-α-CD 포접복합체들은 공장보다는 비강내에서 더 큰 투과도를 나타냈는데 이것은 비점막이 미세융모가 많아서 흡수표면적이 장점막보다 훨씬 큰데 기인한 것이다. 따라서 KT-CDs 포접복합체, 특히 KT-DMβCD 복합복합체가 경비흡수용 제제로서 개발의 여지가 있음을 알 수 있었다.

Fig. 4는 용매증발법으로 조제한 KT-DMβCD 포

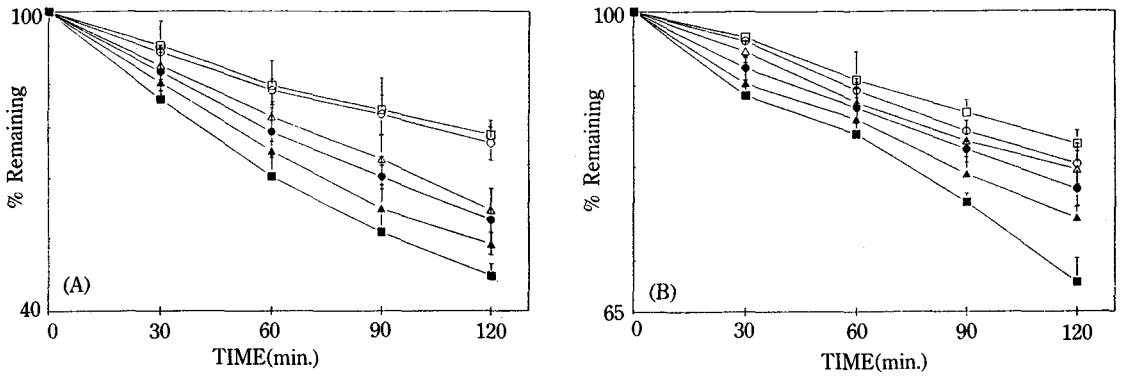

Figure 3—Semilogarithmic plots of the percentage of KT remaining versus time in the *in situ* jejunal(A) and nasal(B) perfusing solution containing 1 : 2 physical mixtures and 1 : 2 inclusion complexes of KT and CDs prepared by solvent evaperation method at pH 4.0, 37℃. Each point represents the mean± SE of the three rats.
Keys : ○; KT-α-CD PM, △; KT-β-CD PM, □; KT-DMβCD PM, ●; KT-α-CD IC, ▲; KT-β-CD IC, ■; KT-DMβCD IC

Table I—*Comparison of Percent Absorbed, Apparent First-order Absorption Rate Constants and Apparent Permeabilities of KT Through the Rat Nasal Cavity and Jejunum From the In Situ Perfusing Solutions of KT-CDs System at 37℃, Each Containing 20μg/ml of KT*

KT-CD system	parameter	route	% Absorbed	Apparent first-order rate constant($min^{-1}\times10^{-3}$)	Appaerant permeability ($cm/sec\times10^{-5}$)
KT-α-CD	IC	N	22.5(1.82)	2.19(0.11)	3.52(0.20)
	IC	J	47.2(5.30)	5.72(1.13)	2.42(0.44)
	PM	N	19.7(2.33)	1.85(0.16)	2.95(0.26)
	PM	J	33.4(3.39)	3.58(0.52)	1.51(0.29)
KT-β-CD	IC	N	25.7(1.23)	2.57(0.26)	4.13(0.43)
	IC	J	51.0(3.96)	6.51(1.13)	2.61(0.53)
	PM	N	20.4(1.96)	2.00(0.29)	3.19(0.46)
	PM	J	45.6(3.60)	5.16(0.54)	2.02(0.13)
KT-DMβCD	IC	N	32.2(2.38)	3.17(0.20)	5.10(0.32)
	IC	J	55.5(3.74)	7.32(0.44)	2.76(0.25)
	PM	N	17.4(2.68)	1.60(0.21)	2.56(0.34)
	PM	J	31.7(3.69)	3.39(0.83)	1.47(0.37)

*Numbers in parentheses denote standard errors(n=3).

접복합체를 *in situ* 동시 연속환류법을 이용해서 공장 및 비강내에서 동시 흡수실험하여 pH에 따른 *in situ* 환류액속의 KT 잔존율을 시간에 따라 도시한 결과이다.

Table II는 용매증발법으로 제조한 KT-DMβCD 포접복합체를 랫트의 공장 및 비강내에서 pH 4.0의 완충액과 pH 7.0의 생리식염수로 녹여 *in situ* 환류법으로 구한 1차 흡수속도정수 및 겉보기투과도를 비교한 것으로서 pH 7.0의 생리식염수에 녹인 KT-DMβCD 포접복합체가 pH 4.0의 완충액에 녹인 것보다 공장이나 비강에서 더 높음을 알 수 있었다.

또한 겉보기투과도는 KT-DMβCD 포접복합체가 pH 7.0에서 비강이 가장 큰 것으로 나타났으며 그에 비해 공장에서는 비교적 낮은 것으로 나타나 KT-DMβCD 포접복합체의 등장도를 조절한 pH 7.0의 생리식염수 용액에 녹인 액제가 pH 4.0의 완충액에

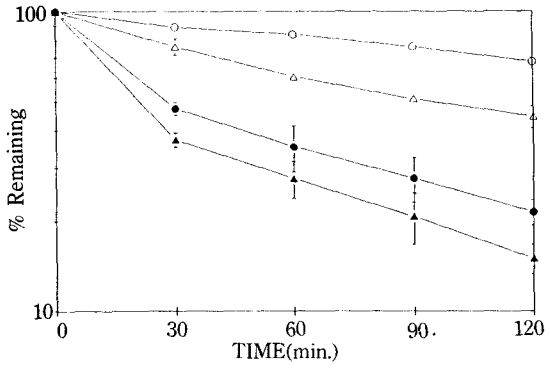

Figure 4—Semilogarithmic plots of the percentage of KT remaining versus time in the *in situ* nasal and jejunal perfusing solutions containing 1 : 2 inclusion complexes of KT and DMβCD prepared by solvent evaperation method. The pH of perfusing solutions was 4.0 and 7.0, respectively. Key : ○; nasal cavity(pH 4.0), ●; nasal cavity(pH 7.0), △; jejunum(pH 4.0), ▲; jejunum(pH 7.0)

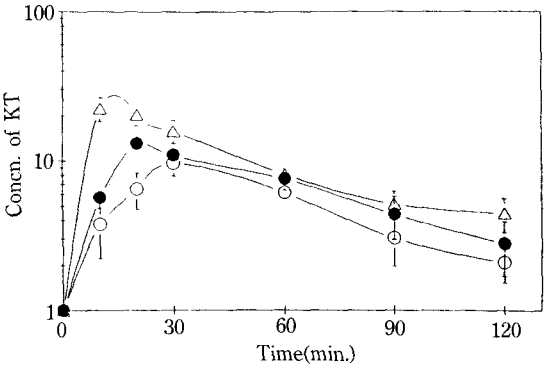

Figure 5—Mean plasma ketoconazole concentrations in rats following oral administration of KT suspensions in corn oil (○) and 1 :2 KT-DMβCD inclusion complex solution in saline (●) and intranasal administration of 1 : 2 KT-DMβCD inclusion complex solution in saline (△). The dose of ketoconazole was 10 mg/kg.

녹인 KT-DMβCD 포접복합체보다 우수한 경비용 흡수제제로서 적합한 것을 알 수 있었다.

***In vivo* 경구 및 경비투여군의 생체이용율 비교**

랫트에게 옥수수기름으로 현탁시킨 KT을 체중 kg당 10 mg을 경구투여한 것과 생리식염수로 녹인 KT-DMβCD 포접복합체 (KT로서 10 mg을 함유)를 경구 및 경비로 투여한 후 경시적인 혈장중 KT의 농도를 Fig. 5에 나타내었다.

모든 투여군은 1차 흡수과정의 1-compartment open model에 따르는 생체내동태를 나타내었다. 옥수수기름에 현탁시킨 KT을 경구투여한 것보다는 DMβCD 포접복합체의 경구 및 경비투여군의 혈장농도가 증가되었으며, 또한 KT-DMβCD 포접복합체의 경비투여군이 9.56분에서 22.50± 4.24 μg/m*l*의 최고 혈중농도를 나타냄으로써 27.7분에서 11.32± 1.22 μg/m*l*의 최고 혈중농도를 나타내는 KT-DMβCD 포접복합체의 경구투여군보다 KT의 혈장농도를 크게 증가시켰는데, 이 결과는 *in situ* 흡수실험에서와 같이 KT-DMβCD 포접복합체가 공장보다는 비강에서 고유흡수도가 큰것과 잘 일치하고 있다.

Table III에 1-compartment open model에 적용한 약물속도론적 파라미터와 통계학적 모멘트 파라미터를 나타내었다. 사다리꼴법칙에 의해서 구한 120분까지의 AUC값은 KT(oral)=591.47± 131.7 μg · min/m*l* < KT-DMβCD(oral)=812.13± 138.78 μg · min/m*l* < KT-DMβCD(nasal)=1153.59± 152.38

Table II—*Comparison of Percent Absorbed, Apparent First-order Absorption Rate Constants and Apparent Permeabilities of KT Through Rat Nasal Cavity and Jejunum From the In Situ Perfusing Solutions of 1 : 2 KT-DMβCD Inclusion Complex at Both pH of 4.0 and 7.0 at 37℃*

Parameter		% Absorbed	Apparent first-order rate constant($min^{-1}\times10^{-3}$)	Appaerant permeability ($cm/sec\times10^{-5}$)
pH 4.0	Nasal cavity	32.2(2.38)	3.17(0.20)	5.10(0.32)
	Jejunum	55.5(3.74)	7.32(0.44)	2.76(0.25)
pH 7.0	Nasal cavity	78.5(2.10)	14.50(1.52)	23.20(2.43)
	Jejunum	85.0(1.69)	17.82(0.53)	7.31(0.58)

*Numbers in parentheses denote standard errors(n=3).

Table III—*Pharmacokinetic Parameters and Statistical Moment Parameters of KT Following Oral Administrations of KT Suspension in Corn Oil and 1 : 2 KT-DMβCD Solution in Saline, and Intranasal Administration of 1 : 2 KT-DMβCD Solution in Saline at 37℃.*

KT-CD system	Route of admin	K_a ($min^{-1}\times10^{-2}$)	K_e ($min^{-1}\times10^{-2}$)	T_{max} (min)	C_{max} (μg/ml)	for finite time of 120 min			RBA (%)
						AUC	MRT	VRT	
KT suspension in corn oil	p.o.	3.297 (0.252)	2.884 (0.035)	32.40 (1.03)	7.93 (1.81)	591.47 (131.74)	47.72 (1.77)	720.25 (102.04)	100
KT-DMβCD IC in saline	p.o.	5.000 (0.824)	2.700 (0.638)	27.76 (1.18)	11.32 (1.22)	812.12 (138.78)	48.63 (2.79)	878.06 (79.76)	137
KT-DMβCD IC in saline	i.n.	31.105 (5.000)	1.911 (0.062)	9.56 (0.06)	22.50 (4.24)	1153.59 (152.37)	42.10 (0.93)	959.48 (27.83)	19

*Numbers in parentheses denote standard errors(n=3).

μg · min/ml순으로 나타났으며, 옥수수기름 현탁시킨 KT의 경구투여군의 AUC를 기준(100 %)으로 하였을 때 KT-DMβCD 경구투여군은 137 %, KT-DMβCD 경비투여군은 195 %이었다.

KT-DMβCD 포접복합체의 경비투여군이 KT의 경구투여군보다 생체이용율이 큰 것은 간초회통과 효과를 회피할 수 있기 때문이다. 또한 KT을 옥수수기름에 현탁시킨 것보다 KT-DMβCD 포접복합체의 경구투여군이 생체이용율이 큰것으로 나타났다. 이결과는 약물과 CD의 포접복합체가 소화관 점막에서 약물과 CD로 분리되어 시클로덱스트린이 지질에 손상을 주어서 약물의 경구흡수를 용이하게 하여 생체이용율을 증가시킨 Uekama 등의 결과와 일치한다.[29] 또한 이러한 CD의 장관 흡수 촉진 기전을 이용해서 비강내에 약물과 CD 포접복합체를 투여하여 친수성이 큰 펩티드약물인 인슐린과 친유성이 큰 에스트라디올과 프로게스테론들의 비점막 흡수촉진 효과를 크게 증가시켜 경비투여시 생체이용율을 향상시켰는데 그 중에서 DMβCD가 가장 우수하였다는 보고[18-20]와 본 연구결과가 잘 일치함을 알 수 있었다. 그리고 최고 혈중농도에 도달시간은 KT(oral)=32.4 min < KT-DMβCD(oral)=27.8 min < KT-DMβCD(nasal)=9.6 min이며 흡수속도정수는 KT(oral)=0.032 min^{-1} < KT-DMβCD(oral) =0.05min^{-1} < KT-DMβCD(nasal)=0.31 min^{-1}로서 KT-DMβCD 포접복합체의 비강투여군에서 작용발현시간이 가장 빠른 것으로 나타났는데, 이것은 비강이 위나 소장과 같이 흡수 장벽이 없고 비점막은 모세혈관이 발달되어 있어서 전신순환으로 신속하게 흡수되고, 또한 KT보다 KT-DMβCD 포접복합체의 용출속도가 신속하다는 점에 기인한 것임을 알 수 있었다.

결 론

1. KT과 CDs의 물리적 혼합물 및 포접복합체는 *in situ* 동시연속환류법의 흡수실험 결과에 의하면 랫트의 공장(J) 및 비강(N)내에서 흡수는 1차속도식에 따랐다.

2. KT-CDs포접복합체의 안정도정수와 용출속도가 큰 순서로 비례적으로 랫트의 공장 및 비장내에서 흡수가 증가되었다.

3. KT-CDs 포접복합체 가운데 1차 속도상수는 KT-DMβCD 포접복합체가 공장에서 가장 크지만 흡수표면적을 보정한 투과도(P_{app} cm/sec$\times10^{-5}$)를 비교할때는 비강에서 가장 큰 것으로 나타났으며 투과도 크기의 순서는 다음과 같다

5.10± 0.3 (N, KT-DMβCD) > 4.13± 0.4 (N, KT-β-CD) > 3.5± 0.2 (N, KT-α-CD) > 2.76± 0.3 (J, KT-DMβCD) > 2.61± 0.5 (J, KT-β-CD) > 2.42±

0.4 (J, KT-α-CD)

4. pH 7.0의 생리식염수로 녹인 KT-DMβCD 포접복합체가 pH 4.0의 완충액에 녹인 것보다 1차 속도정수가 공장이나 비강에서 더 큰 값을 나타냈으며, 투과도는 공장에서는 약 2.6배, 비강내에서는 4.5배나 증가되었다.

5. 옥수수기름에 현탁시킨 KT를 경구투여한 후의 최고 혈중농도는 32.4분에서 7.93 μg/ml를 나타낸 반면, KT-DMβCD 포접복합체를 생리식염수에 녹여 경구투여한 경우 27.8분에서 최고 혈중농도는 11.32 μg/ml로, 경비투여군은 9.6분에서 최고 혈중농도 22.5 μg/ml를 각각 나타내어, KT-DMβCD 포접복합체의 경비투여군에서 작용발현시간이 가장 신속하며 또한 최고 혈장농도가 가장 높음을 알 수 있었다.

6. 옥수수기름에 현탁시킨 KT의 경구투여시 AUC는 591.5 μg · min/ml였으며, 이를 기준으로 하였을 때 생리식염수에 녹인 KT-DMβCD의 경구투여시 AUC는 812.1 μg · min/ml로 상대적 생체 이용율이 137%를 나타내었으며, 또한 경비투여시의 AUC는 1153.6 μg · min/ml로 상대적 생체이용율이 195%로 크게 증가되었다.

7. 이러한 연구결과로 KT-DMβCD 포접복합체는 KT의 비점막 흡수촉진 효과를 갖고 있는 비점막 흡수촉진제로서 유의성이 있는 것으로 사료된다.

문 헌

1) J. Hawkins van Tyle, Ketoconazole mechanism of action, spectrum of activity, pharmacokinetics, drug interactions, adverse reactions and therapeutic use, *Pharmacotherapy*, **4**, 343-373 (1984).
2) D.R. McCance, Acute hypoadrenalism and hepatotoxicity after treatment with ketoconazole, *Lancet*, **1**, 573 (1987).
3) P.A.J. Janssen and J.E. Symoens, Hepatic reactions during ketoconazole treatment, *Am. J. Med.*, **74**(supl. 1B) 80-85 (1983).
4) P.A. Duarite, C.C. Chow, F. Simmons, J. Ruskin, Fatal hepatitis associated with ketoconazole therapy, *Arch. Intern, Med.*, **144**, 1069-1070 (1984).
5) Alfred Goodman Gilman, *Goodman &Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed., Pergamon Press, New York, pp. 1170-1171 (1991).
6) J.E.F. Reynols, Martindale, 30th ed., *The Pharmaceutical Press*, London, pp. 326-328 (1993).
7) R.L.Mabry, Intranasal steroid injection during pregnancy, *South. Med. J.*, **73**, 1176 (1980).
8) G.F.X. David, C.P. Puri and T.C. Kumar, Bioavailability of progesterone enhanced by intranasal spraying, *Experimenta* **37**, 533-540 (1981).
9) J. Sandow, W. Petri, Intranasal administration of peptides, Biological activity and therapeutic efficacy, in *Transnasal Systemic Medications* (Y.W.Chien), Elsevier, Amsterdam, pp.183-199 (1985).
10) A. Hussain, Faraj, Y. Aramaki and J.E. Truelove, Hydrolysis of leucine enkephalin in the nasal cavity of the rat—a possible factor in the low bioavailability of nasally administered pepetides, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **133**, 923 (1985).
11) S. Hirai, T. Yashiki and H. Mima, Effect of surfactants on the nasal absorption of insulin in rats, *Int. J. Pharm.*, **9**, 165-172 (1981).
12) P.F. Wright, T. Shinozaki, W. Fleet, S.H. Sell, J. Thompson and D.T. Karzon, Evaluation of a live attenuated respiratory syncytial virus vaccine in infants, *J. Pediatr.*, **88**, 931 (1976).
13) J.C. Perkins, D.N. Tucker, H.L.S. Knopf, R.P. Wenzel, R.B. Hornick, A.Z. Kapikian and R.M. Chanock, Evidence for protective effect of an inactivated rhinovirus vaccine administered by the nasal route, *Am. J. Epidemiol.*, **90**, 319 (1969).
14) A.B. Sabin, A.F. Arechiga, J.F. De Castro, J.L. Sever, D.L. Madden, I. Shekarchi and P. Albrecht, Successful immunization of children with and without maternal antibody by aerosolized measles vaccine. I. Different results with undiluted humans diploid cell and chickembryo fibroblast vaccines, *J.A.M.A.*, **249**, 2651 (1983).
15) Y.W. Chien, K.S.E. Su and S.F. Chang, *Nasal Systemic Drug Delivery*, Marcal Dekker, New

York, pp.89-297 (1989).
16) J.L. Colaizzi, Pharmacokinetics of intranasal drug administrations; In *Transnasal Systemic Medications* (Y.W. Chien, Ed.), Elsevier, Amsterdam, pp.107-120 (1985).
17) A. Hussain, S. Hirai and R. Bawarshi, Nasal absorption of propranolol from different dosage forms by rats and dogs, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 1413-1441 (1980).
18) N.G.M. Schipper, W.A.J.J. Hermens, S.G. Romeyn, R.J. Verhoef and F.W.H.M. Merkus, Nasal absorption of 17-beta-estradiol and progesterone from a dimethyl-cyclodextrin inclusion formulation in rats, *Int. J. Pharm.*, **64**, 61-66 (1990).
19) W.A.Z.Z. Hermens, M.J.M. Deurloo, S.G. Romeyn, J.C. Verhoef and F.W.H.M. Merkus, Nasal absorption enhancement of 17-β-estradiol by dimethyl-β-cyclodextrin in rabbits and rats, *Pharm. Res.*, **7**, 500-503 (1990).
20) F.W.H.M. Merkus, J.C. Verhoef, S.G. Romeijin and N.G.M. Shipper, Absorption enhancing effect of cyclodextrins on intranasally administerded insulin in rats, *Pharm. Res.*, **8**, 588-592 (1992).
21) S. Hirai, Y. Takatsuka, T. Matsuzawa and H. Mima, Absorption of drugs from the nasal mucosa of rat, *Int. J. Pharm.*, **7**, 317-325 (1981).
22) N.F. Farraj, S.S. Davis, G.D. Parr and H.N.E. Stevens, Absorption of progabidee from aqueous solutions in a modified recirculating rat intestinal perfusion system, *Int. J. Pharm.*, **43**, 93-100 (1988).
23) K.S.E. Su and K.M. Campanale, Nasal drug delivery systems : *Requirements, Developments and Evaluations in Transnasal Systemic Medications, Fundamentals, Developmental Concepts and Biomedical Assessments ed.* by Y.W. Chien, Elsevier, Amsterdam, pp.139-159 (1985).
24) J. Heycants, M. Michiels, W. Meuldermans, J. Monbaliu, K. Lavrijsen, A.V. Peer, J.C. Levron, R. Woestenborghs and G. Cauwenbergh, The pharmacokinetics of itraconazole in animals and man, *An Overview Recent Trends in the Discovery and Evaluation of Antifungal Agents*, pp.57-83 (1987).
25) G.B. Park and A.K. Mitra, Mechanism and site dependency of intestinal mucosal transport and metabolism of thymidine analogues, *Pharm. Res.*, **9**(3), 326-331 (1992).
26) Y.W. Chien, K.S.E. Su and S.F. Chang, *Nasal Systemic Drug Delivery*, Marcel Dekker, New York, p. 31 (1989).
27) 山岡 清, 谷川原祐介：マイコンによる藥物速度論入門, 南江黨, Tokyo, Japan, pp.137-139, (1983)
28) R.J. Tallarida, R.B. Murray, *Manual of Pharmacologic Calculations with Computer Programs*, Springer-Verlag, New York, NY., pp. 112-113 (1981).
29) K. Uekama and M. Otagiri, Cyclodextrins in drug carrier systems. *CRC Crit, Rev. Ther. Drug Carrier Systems*, **3**, 1-40 (1987).