

사이클로스포린을 함유한 고형 지질미립구의 제조와 평가

양수근[†] · 박준상 · 최영욱[#]

중앙대학교 약학대학

(Received July 19, 1995)

Preparation and Evaluation of Solid Lipid Microspheres Containing Cyclosporine A

Su Geun Yang[†], Jun Sang Park and Young Wook Choi[#]

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract—Solid lipid microspheres (SLMs) were prepared using various lipids and solidifying agents, in order to enhance the gastrointestinal absorption of Cyclosporine A (Cs A) which is a practically water-insoluble drug with low systemic bioavailability. Egg lecithin and HCO-60 (polyoxyethylated 60 mol, hydrogenated castor oil) were used as lipids. Stearic acid and stearyl alcohol were used as solidifying agents. Emulsion concentrates containing Cs A were prepared by mixing the melted lipid and solidifying agent with water, employing bile salts as a cosurfactant. SLMs were obtained by dispersing the warm emulsion concentrate in cold distilled water under mechanical stirring, followed by freeze drying. Physical characteristics of each SLM were investigated by particle size analysis, optical microscopy and scanning electron microscopy. Mean particle size of SLMs was in the range of 30 to 40 μm . The SLMs were in good appearance with spherical shape before freeze drying, but were deformed partially after freeze drying. Drug loading efficiencies of SLMs were observed as high as 80 to 90% in average. The systemic bioavailability of Cs A from different SLM formula was investigated in rats following oral administration. Cs A in whole blood was extracted and assayed by HPLC. SLMs revealed the higher bioavailabilities than the standard formula based on the marketed product. SLMs might have several advantages over standard formula for enhanced gastrointestinal absorption, controlled release properties, high loading capacity of the water-insoluble drug, and feasibility of solid dosage forms with better stability in storage.

Keywords □ Solid lipid microsphere, Cyclosporine A, Polyoxyethylated hydrogenated castor oil (HCO-60), Lecithin, Stearic acid, Stearyl alcohol, Bioavailability.

Cyclosporine A(이하 Cs A로 약함)는 11개의 아미노산으로 이루어진 고분자 펩타이드 약물(분자량 1202)로서 T-cell의 성장과 분화를 억제함으로써 면역억제제로 쓰이고 있다.¹⁾ 11개의 아미노산 중 7개의 아미노산이 N-methylated form으로 존재하는 특이한 구조를 가지고 있고 환상의 대칭형 구조로서 극성이 매우 작아 물에 거의 녹지 않는 난용성 약물이다.²⁾

Cs A의 생체이용률은 약 30%정도로 알려져 있고, 흡수량의 10~27%가 간에서 초회통과효과를 받으며 분포 반감기는 0.7~1.7 시간, 소실 반감기는 6.2~23.9 시간으로서³⁾ 이런 약물 속도론적 파라메타들은 담즙산 배설정도, 이식 수술 환자의 상태와 이식 장기의 종류등에 따라 큰 차이를 보이고 있다. 또한 Cs A는 치료계수(therapeutic index)가 매우 낮기 때문에, 미국에서는 TDM(therapeutic drug monitoring)을 실시하여야 하는 약물군에 속해 있다. 용량 의존적으로 사구체 여과율이 감소하고, 근위세뇨관 재흡수가 증가하는 등 비가역적인 신네프론의 소실을 보여 심각한 신독성을 일으

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-820-5609 (팩스) 02-826-3781

[†] 현주소 : (주)종근당 중앙연구소

키는 약물이다.¹⁾

Cs A가 가지는 많은 문제점들과 향후 시장성에 비추어 약물의 낮은 생체이용율을 개선하고 치료 계수를 높이기 위한 여러 연구들이 진행되고 있는데, 최근에는 Cs A의 수송체로 fish oil을 적용하였을 때, 약물의 면역억제 작용을 증대시킬 수 있다는 연구결과가 보고되었으며⁴⁾, 새로운 제형으로 마이크로에멀전을 젤라틴으로 캡셀화하여 약물의 생체이용율을 50%까지 증가시킨 예도 찾아볼 수 있다.⁵⁾ Takada등⁶⁻⁸⁾은 HCO-60을 이용한 마이크로에멀전이나 enteric solid dispersion을 이용하여 높은 혈중 농도와 더불어 약물의 입과 지향성 표적화가 가능하다고 보고하였다. 이와 같은 결과들은 Cs A의 새로운 제형적 접근 가능성을 시사한다고 할 수 있다.

일반적으로 지질 미립구는 O/W형의 유제로서 현재는 대두유를 유상으로하고 레시틴을 유화제로 사용한 고칼로리 수액요법제로 임상에 적용되고 있다.⁹⁾ 지질 미립구는 내부가 유상으로 이루어져 지용성 약물을 효과적으로 봉입할 수 있으며, 제제 자체가 일반 유제에 비해 비교적 안정하고 약물의 방출을 제어할 수 있는 등의 여러가지 잇점때문에 새로운 약물 전달 시스템으로 연구되고 있다. Mizushima등¹⁰⁾은 난용성 약물인 인도메타신을 지질미립구에 적용하였을 경우 동량의 인도메타신보다 5배까지 함염증효과가 증대했다고 보고하고 있다. Prostaglandin E₁^{11,12)}, corticosteroids¹³⁾, [D-Trp-6]LHRH14)등을 지질 미립구에 적용하였을 때에도 약효의 증대뿐만 아니라 약물의 안정화와 지속적인 약효 발현등이 가능하다고 보고하고 있다. 또한 미립구의 입도 조절이나 다당류등으로 표면수식¹⁵⁾을 하여 약물의 표적화에 이용한 예도 찾아 볼 수 있다. 이들 지질 미립구는 주로 정맥주사용으로 연구되고 있으나, 에멀전이 열역학적으로 불안정한 계라는 점에서 장기간 보존시 내상과 외상의 분리등의 문제점을 가지고 있다. 이를 극복하기 위해서 sub-micronized lipid microsphere를 제조한다든지, 시스템자체의 점도를 높이는 방법으로 semi-solid lipid emulsion을 설계하는 등의 시도가 보고되고 있다.^{16,17)} 본 연구에서는 먼저 Cs A의 생체이용률을 높일 수 있는 최적의 약물 수송체 모델로서 지질미립구를 적용하기로 하였고, 또한 지질미립구가 가지는 에멀전 상태의 불안정성을 극복하기 위하여 이를 고형화한 고형 지질미립구(solid lipid microsphere: 이하 SLM으로 약함)를 제조하였다. 지

질과 고형화제를 달리하여 여러 종류의 SLM을 제조하였고, 각 SLM의 물리적 성상을 비교함으로써 경구용 고형제제의 설계에 이용될 수 있는 최적의 처방을 찾아보기로 하였다. 또한 이를 흰쥐를 대상으로 경구투여하여 기존제제와 생체이용률등의 약물속도론적 파라메타를 비교함으로써 SLM을 이용한 Cs A의 경구용 고형제제화 가능성을 확인하고자 하였다.

실험방법

재료 및 기기 - 시약으로 사용한 Egg lecithin은 Fluka사에서, Sodium choleate는 Sigma사에서 각각 구입하였고, Polyoxyethylated castor oil 60 (HCO-60)은 풍림무약에서, cyclosporine A는 (주)한미약품에서 제공받아 그대로 사용하였다. HPLC용 아세트니트릴, 물, 메탄올은 J.T. Baker사의 제품을, 스테아린산과 스테아릴알코올 및 기타시약은 모두 E.P. 급을 사용하였다.

기기로 HPLC는 Jasco system(Pump : PU 980, UV detector : UV 975, Integrator : 807 IT Column oven : 860 CO)을 사용하였고, 동결건조기는 일신 엔지니어링사(model ISE)의 제품을 사용하였다. 그외 기기는 Heating mantle (HM1-F26, Hana, Korea), 가열식 자석 교반기(Model PC 351, Corning, U.S.A.), 입도분석기 (Master Sizer/E, Malvern Ins., U.K.), 전자저울 (Sartorius, Handy, Germany), 광학현미경 (Model BH-2, Olympus, Japan), 주사전자현미경 (JEOL 35CF, U.S.A.), 초원심분리기 (Centri-con T-1170, Kontron, Italy)를 사용하였다.

고형 지질미립구의 제조 - Rosa 등¹⁸⁾의 방법을 응용하여 SLM을 제조하였다. 레시틴과 HCO-60을 유화제를 겸한 지질로 사용하였고, 이를 고형화하기 위하여 스테아린산과 스테아릴 알코올을 사용하였다. 이때 지질과 고형화제의 비율은 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4로 조성비를 달리하여 제조하였다. 60~65°C에서 고형화제와 지질을 유발에 녹이고, Cs A를 메탄올에 녹여 가하고 계속 혼합하면서 용매를 증발시켰다. 여기에 최종적으로 0.05 w/v%가 되도록 bile salt를 보조유화제로 가하고 교반하여 o/w형의 지질미립구 에멀전을 제조하였다. 이 에멀전을 미리 준비한 0~3°C 증류수 100 ml에 적하하여 순간 고형화하고, 이를 동결건조하여 고형의 분말 상태인 SLM을 제조하였다.

제조 조건에서 Cs A의 안정성 시험 - SLM의 제조 시 온도인 60~65°C에서 펩타이드 약물인 Cs A가 안정한지 알아보기 위해 여러 온도에서 Cs A의 안정성을 조사하였다. Cs A를 20% 메탄올에 녹여 25 g/ml용액 50 ml를 조제하고, 각각 60°C, 50°C, 37°C에서 보관하면서 0, 30, 60, 90, 120분에 시료를 취하여 분해되지 않고 남아있는 약물의 양을 HPLC로 정량하였다. 분석 시 HPLC 이동상은 아세토니트릴과 물, 메탄올을 50 : 43 : 7 v/v%로 혼합하여 사용하였고, 칼럼은 Zorbax® SB-CN (4.6 mm×15 cm, Merck), 유속은 1 ml/min, 파장은 UV 212 nm, 주입량은 50µl로 하였다.

봉입율 측정 - 냉각된 증류수 중에서 고형화시켜 얻은 SLM 현탁액을 일정량을 취해 67900×g로 30분간 원심분리한 뒤 얻은 침전물을 취하여 증류수로 반복세척하고 이를 동결건조하였다. 동결건조하여 얻은 SLM을 일정량 정확히 취해 메탄올에 녹여 HPLC로 정량하였으며, 봉입율(loading efficiency,%)은 다음 식(1)에 의해 구하였다.

$$\text{봉입율(\%)} = \frac{\text{지질미립구내의 약물량}}{\text{제조시 가한 약물량}} \times 100 \quad (1)$$

입도 분석 - 지질미립구 에멀전을 0~3°C증류수에 적하하여 얻은 동결건조전의 SLM에 대하여 입도분석을 하였다. Malvern사의 laser particle size analyzer를 이용하여 상온에서 약 200 rpm의 속도로 교반하면서 forcal length 100 mm, beam length 2.4 mm 조건하에서 측정하였다.

광학현미경 및 주사전자현미경 관찰 - 일반 광학현미경과 주사전자현미경(SEM)을 사용하여 조제 직후 및 동결건조 후 SLM의 외부 형태와 상온 증류수 보관에 따른 SLM의 구조적 안정성과 형태 변화를 관찰하였다. 이때 전처리 과정으로 시료를 금 증착기(IB-3 ion coater)에 넣고 진공도 0.1 torr 및 고전압(800~1500 V, 8 mA)하에서 5분간 입자표면을 피복하여 SEM 본체에 장착후, 적당한 배율로 관찰하였다.

생체이용률 평가 - 흰쥐를 대상으로 기존제제와 함께 생체이용률을 비교 평가하기 위해, 시판용 제제에 근저한 조성을 표준제제로 하고 시험제제로는 제조된 SLM을 선별하여 사용하였다.

실험동물 - 체중 200~250 g 범위의 Sprague Dawley 계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 실험 동물은 실험 하루 전에 절식시켰고, 채혈을 위해서 좌경정맥에 폴리에

칠렌 카테터(i.d. 0.58 mm, o.d. 0.965 mm, Intramedic, Clay Adams)를 삽입하여 일정 시간마다 채혈하였다.

혈액 중 Cs A의 분석 - 혈액중의 Cs A의 정량은 전혈로부터 약물을 추출하여 HPLC로 정량하였다. 즉, 혈액과 에테르를 혼합진탕, 원심분리하여 취한 에테르층을 질소가스로 날려버리고 잔사에 메탄올, n-hexane, 물을 차례로 넣어 진탕하여 원심분리한 후 메탄올과 물의 혼합층을 여과하여 정량하였다. 특히 Cs A는 온도에 따라 민감하게 혈액 중 혈장과 적혈구와의 분배 배수가 변화¹⁹⁾하므로 따로 혈장이나 혈청을 취하지 않고 전혈을 사용하여 분석하였다. 이때 HPLC조건은 안정성 평가때와 동일하였다. 혈액중의 Cs A 검출한계는 0.01 µg/ml이었으며, 검량선을 작성하였을 때 직선관계가 잘 성립되었다.

경구투여 - 경구투여시 투여량은 Cs A 15 mg/kg으로 하였다. 표준 제제의 투여용적은 1 ml로 정하였고, SLM의 경우 분산성을 고려하여 1~2 ml의 증류수에 현탁시켜 투여하였다. 투여 후 정해진 시간마다 혈액 0.2 ml를 정확히 취하여 정량시까지 냉동보관하였다.

결과 및 고찰

제조 조건에서 Cs A의 안정성 - 20% methanol용액에 녹인 Cs A를 37, 50, 60°C에서 안정성 실험을 하였다. 각 온도에서 시간에 따라 분해되지 않고 남아있는 Cs A의 농도를 semi-log 플롯했을 때(Fig.1), 직선적인 감소를 보여 1차속도식에 따라 분해가 일어남을 알

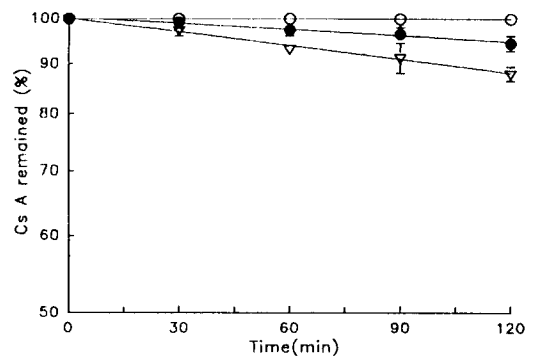


Fig. 1 Thermal decomposition of Cs A in 20% MeOH solution: ○, 37°C(K=1.632×10⁻³ min⁻¹); ●, 50°C(K=0.1095 min⁻¹); ▽, 60°C(K=0.232 min⁻¹).

Table I— Formulas of solid lipid microspheres (SLMs) and their Cs A loading efficiencies

SLMs	Lipid	Solidifying agent	Loading efficiency*(%)
HCO-Steol 002	HCO-60 0.5 g	Stearyl alcohol 1.0 g	91.3±1.2
HCO-Steol 003	HCO-60 0.5 g	Stearyl alcohol 1.5 g	89.4±3.0
HCO-Steol 004	HCO-60 0.5 g	Stearyl alcohol 2.0 g	90.3±1.1
Le-Steic 002	Egg lecithin 0.5 g	Stearic acid 1.0 g	87.7±2.7
Le-Steic 003	Egg lecithin 0.5 g	Stearic acid 1.0 g	83.7±3.9
Le-Steic 004	Egg lecithin 0.5 g	Stearic acid 1.0 g	84.5±6.8
Le-Steic 003	Egg lecithin 0.5 g	Stearyl alcohol 1.5 g	89.0±2.3

* Data are expressed as mean±S.D. (n=5).

Table II— Particle size parameters of selected solid lipid microspheres

Parameter ^{a)} (unit)	Le-Steic 002	Le-Steic 003	Le-Steic 004	Le-Steol 003	HCO-Steol 003
$d_g(\mu\text{m})$	19.54	22.27	96.10	19.37	33.74
$d_{vs}(\mu\text{m})$	10.98	10.05	17.02	11.10	6.82
$d_{wm}(\mu\text{m})$	26.76	29.38	148.39	25.34	43.95
span ^{b)}	2.70	2.62	3.89	2.36	2.99
σ_g	1.284	1.412	2.121	1.273	2.003

^{a)} All abbreviations are explained in text.

^{b)} Calculated as $(d_{90} - d_{10})/d_g$.

수 있었다. SLM의 제조 조건, 즉 60~65°C에서 Cs A의 반감기는 약 11시간 정도로 제조 시간인 10~20분내에는 전체 약물의 3% 미만이 분해되는 것으로 계산되어 SLM의 제조시 온도에 의한 약물의 분해는 크게 문제되지 않는 것으로 판단되었다.

약물 봉입율 - 일정량의 SLM을 위해 HPLC로 분석하여 계산한 약물의 봉입율을 Table I에 나타내었다. 전체적으로 80~90%의 높은 봉입율을 보이고 있으며, 이는 다른 방법에 의해 제조된 microcapsule이나 microsphere의 봉입율보다 매우 높은 값이다.²⁰⁾

²²⁾ 일반적으로 약물의 봉입율은 약물을 가하는 방법, 약물의 물리화학적 성질, 약물과 매트릭스간의 친화성, 미립구의 크기등에 영향을 받게 되는데²³⁾, 이와 같은 높은 봉입율은 SLM의 제조시 메탄올에 녹인 약물을 고형화제와 지질을 녹인 유발에 직접 가하여 혼합하였기 때문인 것으로 사료되며, 약물 자체의 높은 지용성도 영향이 있었을 것으로 생각된다. 각 SLM의 봉입율을 볼 때 사용한 지질의 종류나 조성비와 봉입율과는 무관하였다.

입도 분석 - 지질과 고형화제의 조성 및 비율을 달리하여 제조한 각 SLM의 입도 분석 결과는 Table II과 같다. 이들 파라메타중 volume-surface mean diameter(d_{vs}) 및 weight-moment diameter(d_{wm})는 Edmondson의 평균입자크기를 나타내는 일반식(2)으로부터 $p=1$, $f=2$ 또는 3을 대입하므로써 산출되며 식은

다음과 같다.

$$d_{\text{mean}} = \left[\frac{\sum nd^{p+f}}{\sum nd^f} \right]^{1/p} \quad (2)$$

$$d_{vs} = \frac{\sum nd^3}{\sum nd^2} \quad (3)$$

$$d_{wm} = \frac{\sum nd^4}{\sum nd^3} \quad (4)$$

여기서 d 는 입도분석기로 측정된 개개 입자의 입자경이며, n 은 해당 범위내에 들어오는 입자의 갯수를 나타낸다. p 는 개개 입자의 크기와 관계되는 size parameter이며, f 는 frequency index로서 $f=2$ 이면 입자의 표면적, $f=3$ 이면 입자의 부피 또는 중량을 뜻한다.

각 SLM들의 입자경에 따른 빈도분포곡선은 대수정규분포를 보였으며, 이것을 누적확률대수 plot했을 때 직선성이 성립됨을 확인하였고 이로부터 50% 확률에 해당하는 입자경을 얻으므로써 기하 평균경(d_g)를 구할 수 있었다. 또한 기하 표준편차(σ_g)는 다음의 Hatch-Choate 식(5)으로부터 구하였다.

$$\log d_{vs} = \log d_g - 1.151 \log^2 \sigma_g \quad (5)$$

지질의 종류만을 달리하여 제조한 각 미립구의 입도 분포를 관찰해보면 HCO-60보다 레시틴의 경우가 구

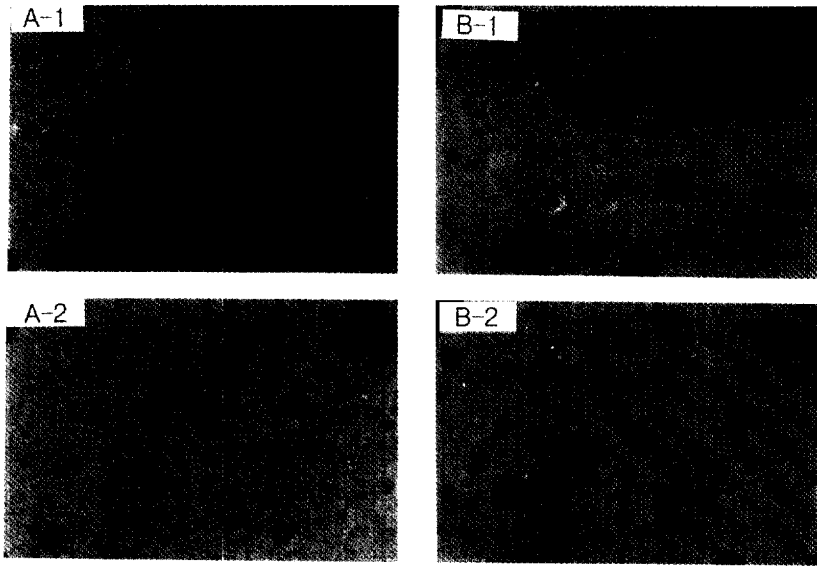


Fig. 2 — Optical photomicroscopy of HCO-Steol SLMs(A-1,2) and Le-Steic SLMs(B-1,2): A-1 & B-1: before freeze drying; A-2 & B-2: after freeze drying.

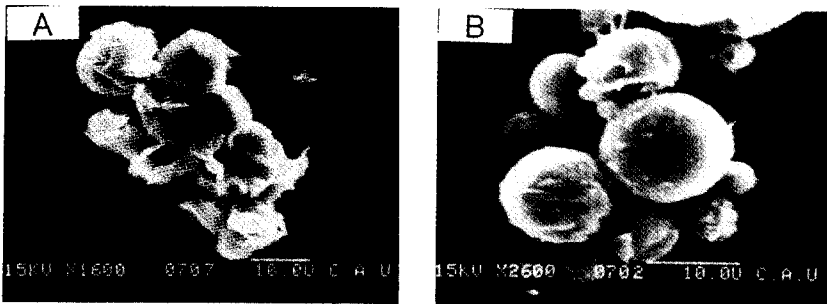


Fig. 3 — Scanning electron microscopy of SLMs: A. HCO-Steol SLMs; B. Le-Steic SLMs.

형에 가깝고 평균 입자경도 작았으며 더욱 균일한 분포 곡선을 얻을 수 있었다. 이는 고형화제를 달리하더라도 비슷한 결과를 보여 SLM의 입도 분포나 형상은 지질의 종류에 따라 그 특성이 달라짐을 알 수 있었다.

HCO-60으로 제조한 지질미립구의 특성 - 스테아릴 알코올과 HCO-60으로 제조한 지질 미립구(HCO-Steol SLM으로 약함)를 광학현미경으로 관찰했을 때 조제 직후에는 매우 둥근 구의 형태를 나타내었으나, 동결건조후에는 약간 파괴된 상태의 SLM을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 이것을 SEM으로 관찰한 결과 역시 완전한 구형을 유지하지 못하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 3). 얻어진 SLM을 증류수중에 현탁시켜 보관시의 외형상 변화를 관찰했을 때 전체적으로 안정하였으

며, 직경이 작은 SLM일수록 더욱 안정한 상태를 유지함을 알 수 있었다. 그러나, 고형화제로서 스테아린산을 사용하여 제조한 지질미립구(HCO-Steic SLM)의 경우는 매우 불안정하여 제조 3~4시간후에는 상당한 부분이 파괴되었고, 동결건조후의 상태도 HCO-Steol SLM보다 나빴으며 분산후 보관시에도 물리적 특성을 유지하지 못하였다.

레시틴으로 제조한 지질미립구의 특성 - 레시틴을 지질로 하고 고형화제로서 스테아린산이나 스테아릴 알코올을 사용하여 제조한 지질미립구(각각 Le-Steic SLM 및 Le-Steol SLM으로 약함)는 제조 직후 모두 완전한 구형의 상태를 유지하고 있었으며, 동결건조후나 증류수에 보관시에도 HCO-60을 지질로 한 SLM보

다 외관상 안정한 구형을 유지하였다(Fig. 2,3). 따라서 레시틴을 지질로 사용한 지질미립구가 보다 완전하고 견고한 sphere를 형성한다는 것을 알 수 있었으며, 입도분포의 경우도 대수정규분포에 가장 가깝게 나타났다. 레시틴을 지질로 한 경우, 고형화제가 달라도 조성비가 같은 경우에는 여러 입도분포 파라메타가 비슷한 수치를 보여 SLM의 물리적 성상에는 고형화제의 종류보다는 지질의 종류가 더 큰 영향을 미치는 것으로 해석되었다.

Le-Steic SLM의 경우, 지질과 고형화제의 비를 달리하였을 때 고형화제의 비가 증가함에 따라 평균 입자경이 크게 증가하였으며 분말의 유동성도 개선되었다. 스테아린산의 비율이 중량비로서 68~75% 범위에서는 평균 입자도가 거의 변화되지 않았으나, 75% 이상에서는 급격한 증가를 보였다(Fig. 4). 따라서 레시틴과 스테아린산을 사용하여 SLM을 제조할 때에는 지질 대 고형화제의 비율을 1 : 2나 1 : 3정도로 하는 것이 가장 적합한 것으로 판단되었다.

경구 투여후 혈중 농도 - 흰쥐를 대상으로 표준 제제와 SLM을 경구투여한 후 Cs A의 혈중농도변화를 Fig. 5에 나타내었다. 전체적인 혈중농도의 변화 양상

을 볼 때 표준제제나 SLM 모두 느린 흡수를 보이고 있다. 투여 후 초기에는 HCO-Steol SLM이 가장 높은 혈중농도를 나타내었고, 표준제제와 Le-Steic SLM은 비교적 낮은 혈중농도를 보였다. Le-Steic SLM의 경우는 30분~1시간 사이에 급격한 혈중농도증가를 보였고 그 뒤에는 HCO-Steol SLM과 비슷한 양상을 나타내었다. 대체적으로 2~3시간 사이에서 최고 혈중농도를 보이다가 감소하기 시작했는데, 표준제제는 매우 빠른 소실상을 보이고 있는 반면 HCO-Steol SLM이나 Le-Steic SLM 모두 완만한 소실 곡선을 나타내었다. 즉, 지질미립구는 내부에 Cs A를 함유한 고형입자로서 분산된 상태이므로, 표준제제에 비하여 약물을 지속적으로 방출할 수 있었기 때문인 것으로 사료되었다.

약물 속도론적 파라메타 - 혈중농도의 변화를 속도론적으로 해석할 수 있는 적합한 컴파트먼트 모델을 찾을 수 없었으며, 따라서 모두 모델 비의존적 방법에 따라 해석하였고 각 파라메타는 Table III에 정리하였다. 혈중농도곡선하면적(AUC)의 경우 최고 혈중농도까지는 linear trapezoidal rule에 의해서, 그 이후부터는 logarithmic trapezoidal rule을 적용하여 구하였고, C_{max} 와 T_{max} 는 실험적으로 관측된 결과로부터 구했다.

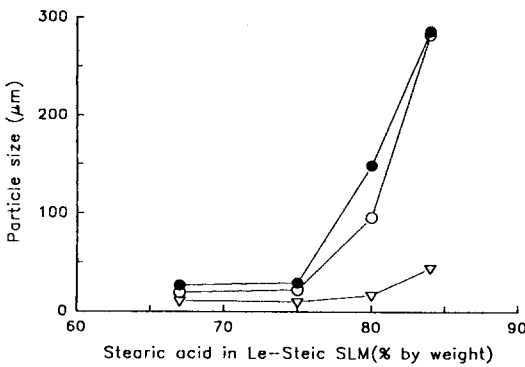


Fig. 4 - Mean particle size change of Le-Steic SLMs according to the ratio of components: ○, d_{wm} ; ●, d_g ; ▽, d_v .

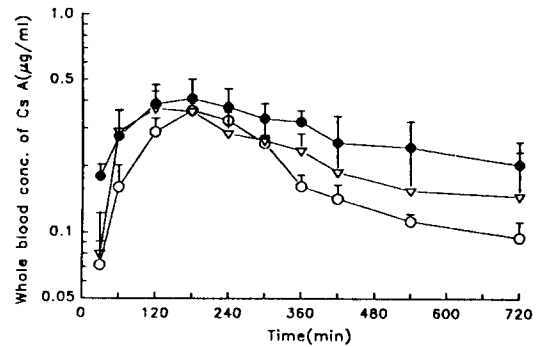


Fig. 5 - Whole blood concentration of Cs A after oral administration to rats as dose of 15 mg/kg in different formula: ○, standard formula; ●, HCO-Steol 002; ▽, Le-Steic 002.

Table III - The pharmacokinetic parameters of Cs A based on model independent method after oral administration to rats as dose of 15 mg/kg in different formula

Parameter (unit)	Standard	Le-Steic 002	HCO-Steol 002
AUC ₍₀₋₇₂₀₎ (µg.min/ml)	130.8	158.4	214.4
C _{max} (µg/ml)	0.360	0.367	0.407
T _{max} (min)	180	120	180
MRT (min)	476.8	798.0	831.8
RBA ^{a)} (%)	100	122	165

^{a)} Relative bioavailability, calculated by $AUC_{test}/AUC_{standard} \times 100(\%)$

표준제제에 대한 시험제제의 상대적 생체이용률은 실측치를 기준으로하여 720분까지의 AUC를 비교하여 구하였다.

표준제제와 AUC₍₀₋₇₂₀₎를 비교해 볼 때, Le-Steic 002는 약 1.2배, HCO-Steol 002는 약 1.6 배가 증가하였다. C_{max}의 경우 Le-Steic 002는 표준제제와 비슷한 수준을 보였으며, HCO-Steol 002는 약 1.13배 증가하였다. 이는 지질에 의해 약물의 흡수가 촉진되었기 때문이라 추론할 수 있는데, 지질이 십이지장부위에서 담즙산의 분비를 촉진함과 동시에 소화관 흡수충막을 교란하여 약물의 흡수를 촉진한 것으로 생각된다. 또한 약물의 흡수에 미치는 고행화제의 역할을 고찰하여 보면, 위장관내 효소나 pH로부터 SLM이 약물을 안정화시키는 동시에 약물의 방출을 제어하여 십이지장 이하 부위에서도 지속적인 약물의 흡수를 가능하게 했을 것으로 추측된다. 약물의 체내평균체류시간을 나타내는 지표인 MRT를 비교하여도 SLM이 표준제제에 비해 약 1.7배 이상의 증가를 보이고 있는데, 이는 약물의 지속적인 방출이 Cs A의 위장관흡수에 어느정도 영향을 미치는 것으로 해석되었다.

결 론

이상의 실험 결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 레시틴과 HCO-60을 지질로 하고 스테아린산과 스테아릴 알코올을 고행화제로 사용하여 지질미립구를 제조할 수 있었으며, 이를 동결건조하였을 때 고행화된 분말 상태의 SLM이 얻어졌다.
2. SLM은 전체적으로 80~90%의 높은 약물봉입율을 보여 사이클로스포린 뿐만 아니라 여러 난용성 약물의 효과적인 수송체로서 응용할 수 있으리라 기대된다.
3. SLM의 제조시 제조 조건이나 그 조성비를 달리 함으로서 SLM의 입자경을 조절할 수 있었으며, 실험실적 제조 조건에서는 30~40 m정도의 지름을 가진 SLM을 제조할 수 있었다.
4. 지질미립구의 물리적 성상과 안정성면에서 비교할 때, 레시틴을 지질로 한 SLM이 HCO-60을 지질로 사용한 SLM보다 완전하고 견고하였다.
5. 고행화제의 비에 따라 SLM의 입도분포나 유동성이 다르게 나타났고, 고행화제의 비가 같은 경우 HCO-60을 지질로 한 SLM의 유동성이 레시틴의 경우보다 더 좋았다.

6. Cs A를 봉입시킨 SLM과 표준 제제를 가지고 흰 쥐를 대상으로하여 생체이용률을 평가해 본 결과, Le-Steic 002와 HCO-Steol 002 모두 표준 제제에 비해 더 높은 생체이용률을 나타내었다. 이는 SLM이 Cs A를 위장관내에서 안정화하고 지질에 의한 흡수 촉진 효과와 고행화제에 의한 약물의 방출조절 효과 때문이라고 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 1994년도 중앙대학교 학술연구비 지원과 1993년도 한국과학재단 핵심전문연구비(과제번호 931-0700-037-2)의 일부지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다. 시료의 입도분석에 도움을 주신 일양약품(주) 제제연구실에도 감사드리며, 본 논문은 양 수근의 약학석사학위논문(1994년12월)의 일부로 제출되었음을 밝힌다.

문 헌

- 1) Freeman, D. J.: Pharmacology and pharmacokinetics of cyclosporine. *Clin. Biochem.* **24**, 94 (1991).
- 2) Wenger, R. M.: Structure of cyclosporine and its metabolites. *Transpl. Proceed.* **22**, 1104 (1990).
- 3) Lemaire, M., Fahr, A. and Maurer, G.: Pharmacokinetics of cyclosporine. Inter- and intra-individual variations and metabolic pathways. *Transpl. Proceed.* **22**, 1110 (1990).
- 4) Kelley, V. E., Kirkman, R. L., Bastos, M., Barrett, L. V. and Strom T. B.: Enhancement of immunosuppression by substitution of fish oil for olive oil as a vehicle or Cyclosporine A. *Transpl. Proceed.* **48**, 98 (1989).
- 5) Drewe, J., Meier, R., Vonderscher, J., Kiss, D. and Posanski, L.: Enhancement of the oral absorption of cyclosporine in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **34**, 60 (1992).
- 6) Takada, K., Furuya, Y., Yoshikawa, H., Murashini, S., Yasumura, T. and Oka T.: Increased systemic availability of cyclosporine A by formulation design, pharmacokinetic consideration on its transport. *Int. J. Pharm.* **44**, 107 (1988).

- 7) Takada, K., Furuya, Y., Yoshikawa, H. and Murashini, S.: Biological and pharmaceutical factors affecting the absorption and lymphatic delivery of cyclosporine A from gastrointestinal tract. *J. Pharmacobio-Dyn.* **11**, 80 (1988).
- 8) Takada, K., Oh-Hashi, M., Furuya, Y., Yoshikawa, H. and Murashini, S.: Enteric solid dispersion cyclosporine A having potential to deliver Cs A into lymphatics. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 471 (1989).
- 9) Boyteet, J. B. and Davis, C. W.: Injectable emulsions and suspensions, Dispersed system Vol. 2. *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, New York, USA., p 379.
- 10) Mizushima, Y., Wada, Y., Etoh, Y. and Watanabe, K.: Anti-inflammatory effect of indomethacin ester incorporated in a lipid microsphere. *J. Pharm. Pharmacol.* **35**, 398 (1983).
- 11) Mizushima, Y., Toyota, T., Okita, K. and Ohtomo, E.: Recent clinical studies on lipo-PEG₁ and lipo-PEG₂; PEG₁ and PEG₂ incorporated in lipid microspheres, for targeted delivery. *J. Control. Rel.* **28**, 243 (1994).
- 12) Mizushima, Y., Yanagawa, A. and Hoshi, K.: Prostaglandin E₁ is more effective, when incorporated in lipid microspheres, for treatment of peripheral vascular diseases in man. *J. Pharm. Pharmacol.* **35**, 666 (1983).
- 13) Mizushima, Y., Hamano, T. and Yokoyama, K.: Use of a lipid emulsion as a novel carrier for corticosteroids. *J. Pharm. Pharmacol.* **34**, 49 (1982).
- 14) Morel, S., Gasco, M. R. and Cavalli, R.: Incorporation in lipospheres of [D-Trp-6]LHRH. *Int. J. Pharm.* **105**, R1 (1994).
- 15) Yamamoto, K., Kato, T., Kawahara, M., Koyama, N., Watanabe, S., Miyake, Y. and Sunamoto, J.: Polysaccharide-coated oil droplets in oil-water emulsions as targetable carriers for lipophilic drugs. *J. Pharm. Sci.* **80**, 219 (1991).
- 16) Lundberg, B.: The solubilization of lipophilic derivatives of podophyllotoxins in sub-micron sized lipid emulsions and their cytotoxic activity against cancer cells in culture. *Int. J. Pharm.* **109**, 73 (1994).
- 17) Gašperlin, M., Kristl, J., mid-Korbar, J. and Ker, J.: The structure elucidation of semisolid w/o emulsion systems containing silicone surfactant. *Int. J. Pharm.* **107**, 51 (1994).
- 18) Cavalli, R., Caputo, O. and Gasco, M. R.: Solid lipospheres of doxorubicin and idarubicin. *Int. J. Pharm.* **89**, R9 (1993).
- 19) Takada, K., Shibata, N., Yoshimura, H., Yoshikawa H. and Muranishi, S.: High performance chromatographic determination of cyclosporine A in body fluids. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **48**, 369 (1985).
- 20) Tobata, Y. and Ikada, Y.: Synthesis of gelatin microsphere containing interferon. *Pharm. Res.* **6**, 421 (1989).
- 21) Lewis, D. A. and Alpar, H. O.: Therapeutic possibilities of drugs encapsulated in erythrocytes. *Int. J. Pharm.* **822**, 137 (1984).
- 22) Miyazaki, S., Hashiguchi, N., Hou, W., Yokochi, C. and Takada, M.: Preparation and evaluation *in vitro* and *in vivo* of fibrinogen microsphere containing adriamycin. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 3384 (1986).
- 23) Gupta P. K. and Hung C. T.: Albumin microsphere I. physical characteristics. *J. Microencapsulation.* **6**, 427 (1989).