

시클로덱스트린 포접복합체 형성에 의한 항바이러스제 아시클로버의 용출속도 및 생체이용률

박승현 · 김하형* · 이광표

중앙대학교 약학대학
(1998년 11월 2일 접수)

Dissolution Rate and Bioavailability of Acyclovir, Antiviral Agent, by Cyclodextrin Inclusion Complexation

Seung Hyun Park, HaHyung Kim* and Kwang Pyo Lee

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

(Received November 2, 1998)

To improve the solubility and dissolution rate of acyclovir (ACV), which is low oral bioavailability due to its properties of slight solubility in water and incomplete gastrointestinal absorption, the solid inclusion complexes of ACV with α CD, β CD, DM β CD in molar ratio of 1:1 were prepared by the freeze-drying method. The inclusion complexes were investigated by solubility study, UV, IR and DSC. The dissolution rate of ACV was significantly increased by ACV-CDs inclusion complex formation in artificial intestinal fluid at pH 6.8. The enhanced dissolution rate of ACV could be due to an increase of solubility and the formation of an amorphous structures through inclusion complexation with CDs. Especially, ACV-DM β CD inclusion complex enhanced the maximum plasma concentration levels and AUC following oral administration compared to those of ACV alone. The present results suggest that ACV-DM β CD inclusion complex serves as a potential carrier for improving the solubility, the dissolution rate and the bioavailability of ACV.

Keywords—Acyclovir, Cyclodextrin, Inclusion complex, Solubility, Dissolution rate, Bioavailability

현재, 초발성 및 재발성 생식기포진 및 피부의 단순포진 바이러스감염증의 치료에 이용되고 있는 acyclovir (이하 ACV로 약함)는 *Herpes simplex virus type 1* (HSV1), *Herpes simplex virus type 2*(HSV2), *Varicellazoster* (VZV) 등과 같은 바이러스의 DNA 복제를 억제하여 항바이러스작용을 나타낸다. ACV는 백색의 결정성 분말상태로 분자량은 225.2Da, 물과 유기용매(octanol)에 대한 용해도는 각각 1.3, 0.1 mg/ml로 매우 낮으며, 유수분배계수(octanol/물)는 0.0018, pKa는 2.27, 9.25로 용해도는 강산과 강염기에서 증가하는 것으로 보고되어 있다.¹⁾ 또한, 경구 투여시 흡수가 매우 느리고 위장관내에서 서서히 불완전하게 흡수되며²⁾ 흡수된 ACV는 조직과 체액에 넓게 분포된 후 거의 화학적으로 변화되지 않은 채 신장배설기전을 통해서 요로 배

설된다. 또한, 경구 투여시 생체이용률은 15-21%로 매우 낮은 것으로 보고되고 있으며,³⁾ 이는 약물자체의 용해도와 관련되어 pH 6-7 범위의 장관내 소화액에서의 낮은 용해도에 의한 것으로 알려져 있다.⁴⁾ 그러므로, 경구투여시 감수성이 비교적 낮은 편인 HSV1, HSV2를 억제할 수 있는 혈장 농도에 쉽게 도달하기 어려우며,⁵⁾ 낮은 생체이용률로 인하여 HSV 감염에 있어서는 1일 5회 200 mg씩 4시간 간격으로 자주 투약해야 하는 불편으로 치료상의 유익성이 제한되고 있다.⁶⁾ 또한, VZV의 치료와 Cytomegalo virus감염을 억제하기 위해서는 보다 고용량(1일 5회 800 mg씩 4시간 간격)을 경구 투여하거나 경우에 따라서는 정맥주사가 필요하지만, 정맥주사시에는 메스꺼움, 구토, 신기능 손상, 발진, 신경독성 등의 발현이 우려되고 이 약물을 사용하는 대부분의 환자들이 심각한 질병 상태는 아니므로 경구 투여법이 보다 실용적이라 할 수 있다. 그러므로, 적절한 용량으로

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

ACV의 치료 혈장 농도에 도달할 수 있도록 안전하고 경구적으로 흡수가 잘되는 새로운 제형의 개발이 요구되고 있다.⁷⁾ 즉, ACV와 같이 난용성인 약물은 용출속도가 느리기 때문에 흡수가 지연되고 그에 따른 약효의 발현 및 생체이용률도 낮아지게 되므로 용출이 우수한 제제를 설계하는 것이 생체이용률을 증가시킬 수 있는 방법이 될 수 있다.⁸⁾ 용출증대와 생체이용률을 증가시키는 방법으로는 수용성 고분자 물질에 의한 고체 분산법,⁹⁾ 가용성 복합체 형성,^{10,11)} 제면활성제의 미셀 상호작용을 이용한 방법,¹²⁾ 전구물질화¹³⁻¹⁵⁾하는 방법등이 보고되고 있다.

Cyclodextrin(이하 CD로 약함)은 소수성 분자에 대한 포접능을 갖는 성질로 인해 포접복합체의 제조 및 포접현상연구에 많이 사용되어 왔으며 최근에는 천연 CD보다 물성과 포접능이 뛰어나며 의약품의 유효성과 안전성이 확보되고, 적합한 방출패턴을 나타내는 CD유도체와 CD polymer의 연구 개발이 활발히 행해지고 있다.^{16,17)} 특히, CD와 포접복합체를 형성함으로써 guest분자가 본래가지고 있던 고유의 물리화학적 성질의 변화를 유도하는 실험이 행하여 지고 있으며,^{18,19)} 결합하는 약물의 범위가 가장 넓고 많이 이용되는 β CD의 수산기에 methyl-, hydroxypropyl-, maltosyl-등을 도입하여²⁰⁾ 천연 β CD의 단점인 낮은 수용성을 개선하고 난용성 약물과 포접복합체를 형성하여 천연 β CD보다 용해성과 용출속도를 현저히 증가시킨 보고가 있다.²¹⁾ 또한, 낮은 용해도의 스테로이드류를 β CD유도체와의 포접복합체형성을 이용하여 용해도를 개선한 예가 보고된 바 있으며,²²⁾ 비스테로이드성 소염 진통제들의 공통적인 문제점인 난용성으로 인한 낮은 생체이용률을 개선하고, 위장장관 내에서의 부작용을 감소시키기 위해 β CD유도체를 이용한 사례가 있다.²³⁾ 특히, CD를 이용한 경우, 약물의 용출속도 증가와 생체이용률이 향상될 뿐만 아니라 약물의 안정화,²⁴⁾ 광안정성의 향상,²⁵⁾ 맛의 개선, 휘산성의 억제, 액상물질의 분체화, 함량균일성의 확보, 주사시의 용혈 억제 및 자극성 개선, 단백질결합율의 감소, 좌제에의 응용,^{26,27)} 점막투과율 향상²⁸⁾등에 관한 광범위한 연구가 진행되고 있다. 또한 짧은 반감기를 가진 수용성 약물들의 방출속도를 조절하기 위하여 ethyl기나 acyl기를 도입한 소수성 β CD유도체를 개발하여 지속방출형담체로 적용시켜 약물방출의 조절^{29,30)} 및 약물송달시스템에로의 응용도 검토되는등 관련분야의 연구가 활발히 이루어지고 있다.³¹⁾

본 연구에서는 서로 cavity 크기가 다른 α CD, β CD

와 β CD의 수산기에 methyl기를 결합시킨 친수성 유도체 2,6-di-O-methyl- β -CD(DM β CD)를 물에 난용성인 ACV와 동결건조법에 의해 포접복합체를 조제한 후 적외부 분광광도법, 시차 주사 열계량법을 사용하여 포접복합체 형성여부를 확인하고, 약물의 pH에 따른 용해도와 용출속도를 측정된 후 통계학적 모멘트로 비교평가하였으며, ACV 단독과 포접복합체를 흰쥐에 경구투여한 후 시간에 따른 약물의 혈중농도 변화로부터 생체이용률을 구하여 유의성을 검토하였다.

실험방법

시약 및 기기

본 실험에서 사용한 ACV는 (주)한독약품으로부터 제공받았으며, α CD, β CD, DM β CD는 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다. 인공위액(pH1.2)과 인공장액(pH 6.8)은 대한약전 제6개정에 수록된 방법에 준하여 제조하였다. AUC분석에 사용한 HPLC 시스템은 JASCO intelligent PU-980 pump, detector MD-910, integrator 807-IT를 이용하였고 컬럼은 Shim-Pack CLC-ODS(15 cm×6.0 mmID, Shimadzu)를 사용하였다. 용출속도측정은 FREUND-JASCO DT-610 용출시험기에 검출기로 JASCO Model 7800 UV/VIS 흡광광도계를 부착시켜 실시하였다. IR 스펙트럼은 Nicolet Magma 750, 시차주사열분석기(DSC)는 SSC/5200 Thermal Analysis System, Seiko Instrument Inc.을 사용하였고 가열장치로 DSC 220, 본체 SSC/5200H, Plotter SSP-520를 사용하였다.

실험동물

체중 100~150 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 중앙동물사에서 구입하여 고형사료와 물을 자유로이 먹도록 하면서 7일 이상 동일한 실험실조건에서 사육한 후 체중 230~270 g 범위의 것을 실험에 사용하였다. 약물투여 24시간 전부터는 고형사료의 공급을 중단하여 절식시켰으나 물은 계속 공급하였다.

포접복합체의 제조

포접복합체의 제조는 Nagai등³²⁾의 방법으로 제조하였다. 즉, ACV와 CD를 1:1 몰 비로 증류수 100 ml에 넣고 완전히 투명하게 될 때까지 교반후 용해시키고 동결건조하여 분말화하였다.

Infrared Spectroscopy 측정

대한약전 제 6개정 KBr 정제법에 따라 ACV, ACV와 CD와의 물리적 혼합물 및 ACV와 CD와의 포접

복합체에 대해서 $10.55 \text{ cm}^{-1}/\text{sec}$ 의 scanning speed로 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ 의 범위에서 측정하였다

Differential scanning calorimetry 측정

ACV와 CDs와의 물리적혼합물 및 포접복합체에 대해서 $10.0^\circ\text{C}/\text{min}$ 의 승온속도로 $50 \sim 300^\circ\text{C}$ 의 온도범위에서 측정하였다.

UV 분광법에 의한 ACV의 정량분석

ACV를 증류수에 녹여 $1 \text{ mg}/\text{ml}$ 의 원액을 만든 후 1, 2, 5, 10, 15, $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 희석하여 검액을 제조하고 250 nm 에서 각 농도별로 UV흡광도를 측정하여 최소자승선형회귀법에 따라 검량선을 작성하고 ACV양을 산출하였다.

HPLC에 의한 ACV의 정량분석

Shim-Pack CLC-ODS 컬럼을 사용하여 250 nm 에서 $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH} = 95:5(\text{v/v})$ 를 이동상으로 하고 유속은 $1.0 \text{ ml}/\text{min}$ 으로 하였다. 검액의 조제에는 $10\% \text{ HClO}_4$ 용액에 ACV를 녹여 $2.5, 5, 10, 20, 40 \mu\text{M}$ 의 농도가 되도록 제단백용액을 만들고 따로 흰쥐 수컷의 혈액을 원심분리하여 얻은 혈장과 각각 동량씩 섞어 혼합한 후, $3,000 \text{ rpm}$ 에서 10분간 원심분리하였다. 맑은 상등액을 취하여 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter (Advantec MFS, Inc.)로 여과한 여액을 HPLC 조건으로 정량하여 검량선을 작성하였다.

용해도법에 의한 포접복합체의 안정도상수 측정

과량의 ACV를 미리 준비된 CD 용액($0 \sim 20 \text{ mM}$) 3 ml 에 가한 후 마개를 막고 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 5일간 진탕하여 용해도 평형에 도달하게 하고 $1,500 \text{ g}$ 에서 3분간 원심분리하여 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter로 여과한 후 일정하게 희석시키고 250 nm 에서 흡광도를 측정하여 ACV를 정량하였다. 안정도 상수 $K_c(\text{M}^{-1})$ 는 상평형 용해도그림의 초기 직선부분으로부터 $K = \text{기울기}/\text{절편}$ (1-기울기)의 식에 의해서 기울기와 절편으로부터 구하였다.

용해도 측정

ACV 일정 과량을 pH 1.2, 3.0, 5.0, 7.0, 9.0의 완충액 3 ml 에 가하고 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 24시간이상 50 rpm 으로 진탕하였다. $1,500 \text{ g}$ 에서 3분간 원심분리한 후 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter로 여과하고, 여액을 위의 완충액으로 일정하게 희석하여 용액 중의 ACV를 250 nm 에서 UV 분광기로 정량하고, 포접복합체의 경우에는 ACV에 해당하는 양으로 동일하게 실험하였다.

용출속도 실험

본 실험은 대한약전 6개정 용출시험 제2법(paddle

법)으로 실험하였다. 즉, 시험용기에 pH 6.8의 인공위액을 500 ml 가하고, 여기에 대조군으로 ACV를 단독으로 일정양(20 mg)을 넣고, 포접복합체로 ACV:CDs = 1:1 몰 비의 동결건조법으로 제조한 포접복합체를 ACV의 양으로 동량 넣었으며, 물리적 혼합물의 경우 ACV(20 mg)와 CDs를 1:1 몰 비로 넣었다. $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 의 항온에서 50 rpm 의 paddle의 회전속도로 120분동안 용출실험을 실시하였다.

In vitro 용출곡선의 통계학적 모멘트해석

$m(t)$ 를 시간 t 에서의 누적 용출량이라 하면 용출률 $(m(t)/m_\infty)$ 은 누적분포곡선이 되기 때문에 이를 미분하면 확률밀도분포를 구할 수 있다. 용출곡선의 1차 모멘트인 평균 *in vitro* 용출시간(mean *in vitro* dissolution time: $\text{MDT}_{\text{vitro}}$)은 다음과 같이 정의된다.

$$m_\infty = \int_0^\infty \left(\frac{dm}{dt} \right) dt$$

$$\text{MDT}_{\text{vitro}} = \frac{\int_0^\infty t \left(\frac{dm}{dt} \right) dt}{\int_0^\infty \left(\frac{dm}{dt} \right) dt} = \int_0^{m_\infty} t \cdot \frac{dm}{m_\infty}$$

$$\text{VDT} = \int_0^{m_\infty} (t - \text{MDT}_{\text{vitro}})^2 t \cdot \frac{dm}{m_\infty}$$

- m_∞ : 총 용출량(최종 용액농도)
- dm/dt : 시간 t 에서의 용출속도
- $\text{MDT}_{\text{vitro}}$: *in vitro*에서의 평균 용출시간
- VDT: 용출시간의 분산

In vivo 경구흡수실험

생후 6주의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 5마리를 1군으로 하여 sodium thiopental $50 \text{ mg}/\text{kg}$ 을 복강내 주사하여 전신마취시킨 후 목부분을 절개하여 경동맥에 heparin을 채운 silicon cannula(silastic^R medical grade tubing: $0.02 \text{ inch i.d.}, 0.037 \text{ inch o.d.}$)를 3 cm 깊이로 삽입하여 봉합사로 묶은 후 끝을 막고 cannula를 등쪽으로 빼내어 체혈하기 편리하도록 하였다. 수술후 24시간 동안 절식시키며 안정화시킨 후 ACV를 $11.26 \text{ mg}/\text{kg}$ 체중의 용량으로, ACV-DMBCD 포접복합체는 ACV에 해당하는 양으로 증류수에 녹여 경구투여하였다. 약물투여 후 10, 20, 30, 60, 90, 120, 240, 360분 마다 혈액을 0.25 ml 씩 경동맥에서 채취하고 heparin처리한 tube에 넣고 10분간 원심분리하여 혈장을 얻었다. 그 후 $10\% \text{ HClO}_4$ 용액을 동

량 가하여 단백질을 응고시키고 5분간 vortex mixer로 혼합한 뒤, 10분간 원심분리하고 0.45 μm membrane filter로 여과하여 ACV를 정량하였다.

In vivo 경구흡수평가 및 약물동력학적 파라미터의 산출

증류수에 고르게 현탁시킨 ACV 및 ACV-DMβCD 포접복합체의 경구투여군의 혈장농도추이를 모델 비의존적 분석방법(model independent analysis)에 의해 약물속도론적 파라미터를 산출하였다.

통계처리

Tallardia와 Murray가 개발한 t-test computer program³³⁾을 이용하여 ACV단독군과 ACV-DMβCD 포접화합물 투여군에 대한 약물 동력학적 파라미터간의 유의성을 P=0.05의 신뢰수준으로 검정하였다.

결과 및 고찰

UV분광법에 의한 ACV의 정량

ACV 1~20 μg/ml($0.444 \times 10^{-2} \sim 8.88 \times 10^{-2}$ mM)의 용액을 UV 분광기를 이용하여 각각의 흡광도값을 얻었으며, ACV용액의 몰농도(C)와 흡광도(A)간에 얻

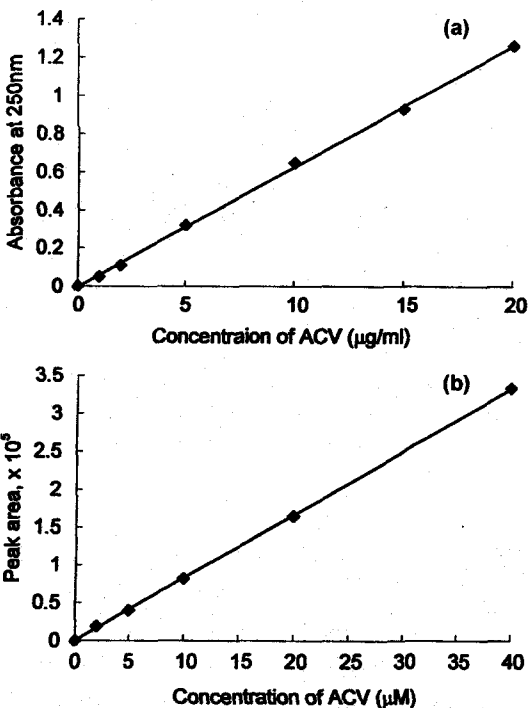


Figure 1—Calibration curve of ACV using (a) UV at 250 nm and (b) HPLC.

어진 선형회귀식은 $A=6.346 \times 10^{-2}C-5.129 \times 10^{-3}$ ($r=0.999$)의 직선관계가 성립하였다(Fig. 1(a)).

HPLC에 의한 ACV의 정량

혈장중의 ACV를 정량하기 위한 검량선으로 2.5~40 μM의 농도에서 피크 면적(Y)과 농도(X)사이에는 $Y=8353765 \cdot X-818.77$ ($r=1.000$)의 선형회귀식이 성립되었다(Fig. 1(b)).

ACV의 용해도에 미치는 CDs의 영향

ACV와 cavity 크기가 다른 αCD, βCD와 친수성 유도체 DMβCD와의 수용액중에서의 상호작용을 용해도법에 의해 검토하였다. Fig. 2(a)에는 미리 준비된 각각의 CDs 수용액 농도(0~20 mM)에서 ACV의 용해도의 변화를 나타내는 상평형용해도 그림을 나타내었다. Higuchi등³⁴⁾의 분류에 따르면 ACV와 αCD계 및 βCD계의 상평형용해도는 CD농도의 증가에 따라 용해도가 직선적으로 상승하는 AL식을 나타내었다. 그러나, αCD계는 ACV의 용해도를 크게 향상시키지 않았으며, DMβCD계는 Bs형 상평형용해도 그림을 나타내었고, 초기의 용해도가 CD농도의 증가에 따라 직선적으로 증가하므로 묽은 수용액에서는 1:1몰비의

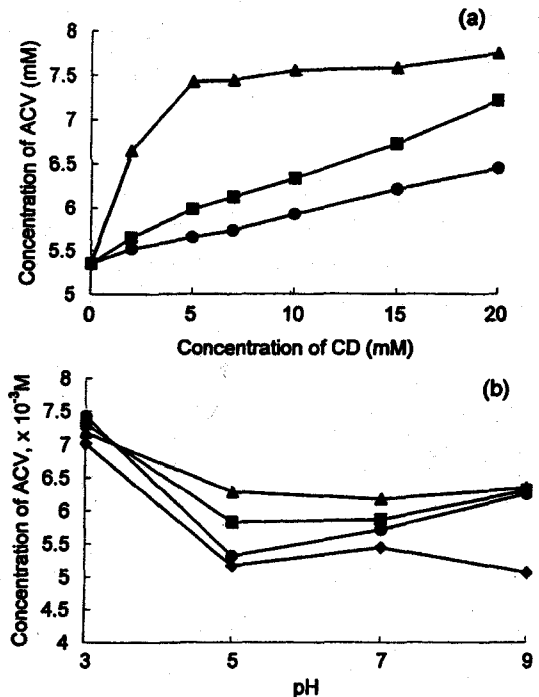


Figure 2—(a) Phase solubilities diagram in water at 25°C and (b) solubilities of ACV-CDs inclusion complexes as a function of pH of buffer solution. Key: ◆: ACV, ●: αCD, ■: βCD, ▲: DMβCD.

수용성 복합체가 형성된 것으로 생각되며 이러한 CD의 첨가에 따른 ACV의 용해도 변화는 약물과 CDs와의 포접복합체형성에 따른 것으로 사료된다.

상평형용해도 그림의 초기 직선의 기울기와 절편값으로부터 구한 안정도 상수(K_o)는 α CD($10.78M^{-1}$) < β CD($19.18M^{-1}$) < DM β CD($132.16M^{-1}$) 순으로 증가하여 DM β CD가 수용성 포접복합체로서 가용화능이 가장 큰 것으로 나타났다.

Fig. 2(b)에는 pH의 변화에 따른 ACV의 용해도와 ACV-CDs 1:1 포접복합체의 용해도변화를 나타내었다. ACV의 용해도가 낮은 pH에서 ACV의 용해도는 크게 증가되었으며 pH증가에 따라 감소하는 추세를 나타내었다. 강산인 pH 1.2에서는 pH 5~7사이에서의 용해도보다 약 10배 증가하였다(12.63 mg/ml). 따라서, 상대적으로 ACV가 낮은 용해도를 나타내며 약물의 주된 흡수기구인 장관내 pH범위인 pH 5, pH 7과 pH 3 및 pH 9에서의 ACV와 ACV-CDs 1:1 포접복합체와의 비교하였을 때, 전범위에 걸쳐 ACV-CDs 1:1 포접복합체의 용해도가 증가함을 관찰할 수 있었다. 따라서, ACV-CDs 포접복합체는 중성 및 약 알칼리성 pH영역에서 ACV보다 나은 용해도를 보임으로 액체나 주사제등의 제형으로 개발 가능성을 보였다.

ACV와 CD의 고체상태에서의 상호작용

본 실험에 사용하기 위해 동결건조법으로 조제한 ACV-CDs 1:1포접복합체의 고체상태의 상호작용은 ACV, ACV-CDs의 물리적 혼합물, 포접복합체에 대해서 DSC와 IR 스펙트럼의 측정에 의하여 확인하였다.

DSC 측정

Fig. 3은 ACV 및 α CD, β CD, DM β CD의 물리적 혼합물, 1:1 포접복합체의 DSC 측정 결과를 나타냈다.

DSC측정에 있어서 ACV는 253°C에서 흡열피이크가 강하게 나타나는 특징이 있으며, α CD와의 물리적 혼합물에서 관찰되는 ACV의 흡열피이크가 1:1 포접복합체에서는 감소되어 나타나고 240°C로 이동되어 관찰되어 포접체형성으로 인한 변화로 생각할수 있다. β CD의 경우에도 포접복합체에 있어서 물리적 혼합물과 비교할 때 ACV의 흡열피이크의 소실과 이동을 관찰할 수 있으며, DM β CD의 경우에는 약 250°C에서 완만한 피이크가 있으나 ACV와 DM β CD의 물리적 혼합물의 경우에는 완만한 ACV의 피이크와 DM β CD의 피이크가 저 융점으로 이동하였다. 그러나, 동결건조법으로 조제한 1:1 포접복합체의 경우 모든 흡열피이크가 거의 소실됨을 관찰할 수 있었다. 물리적 혼합물에 있어서 흡열피이크가 약간 이동하거나 완만한 것은 DSC의 승온과정에서 ACV와 CD의 상호작용에 기인한다고 사료된다. 이 결과를 토대로 ACV가 α CD, β CD, DM β CD의 cavity안에 포접이 완성되어 열적으로 더 안정한 물리화학적 성질의 변화가 있음을 알수 있었다.

IR 스펙트럼 측정

포접을 확인하기 위하여 KBr정제법으로 ACV와 각각의 α CD, β CD, DM β CD 및 포접복합체에 대해서 측정한 IR 스펙트럼의 결과를 Fig. 4에 나타내었다. ACV의 경우 특징적인 흡수대는 다음과 같다.

ν (KBr, cm^{-1}): 3450(N-H), 1720(C=O), 1600, 1475 (Aromatic C=C)

α CD, β CD, DM β CD와의 포접복합체형성시, 공히 ACV에서 비교적 강하게 나타나는 N-H 흡수대가 소실되며 C=C 흡수대가 감소하여 ACV가 CDs의 cavity에 포접이 되었음을 알게 되었다. 또한, α CD포접체의 경우 C=O 흡수대가 특징적으로 관찰되었으

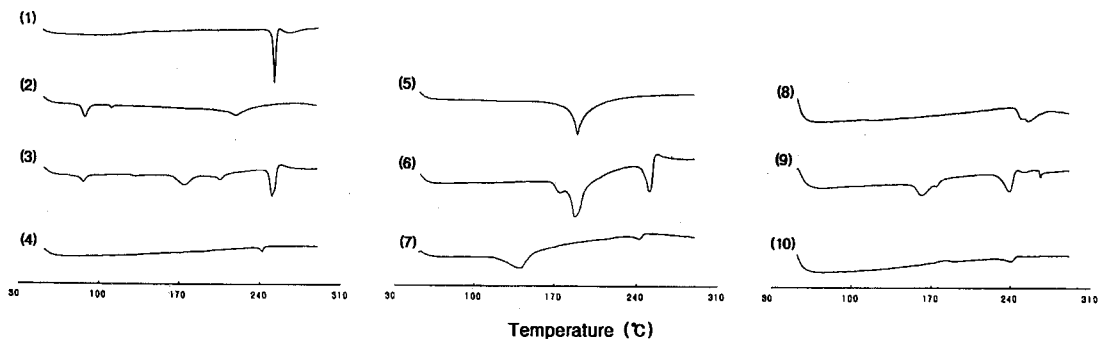


Figure 3—DSC thermograms of ACV-CD systems: (1) ACV; (2) (5) (8) α CD, β CD and DM β CD; (3) (6) (9) physical mixture of ACV and α CD, β CD and DM β CD; (4) (7) (10) inclusion complex of ACV and α CD, β CD and DM β CD.

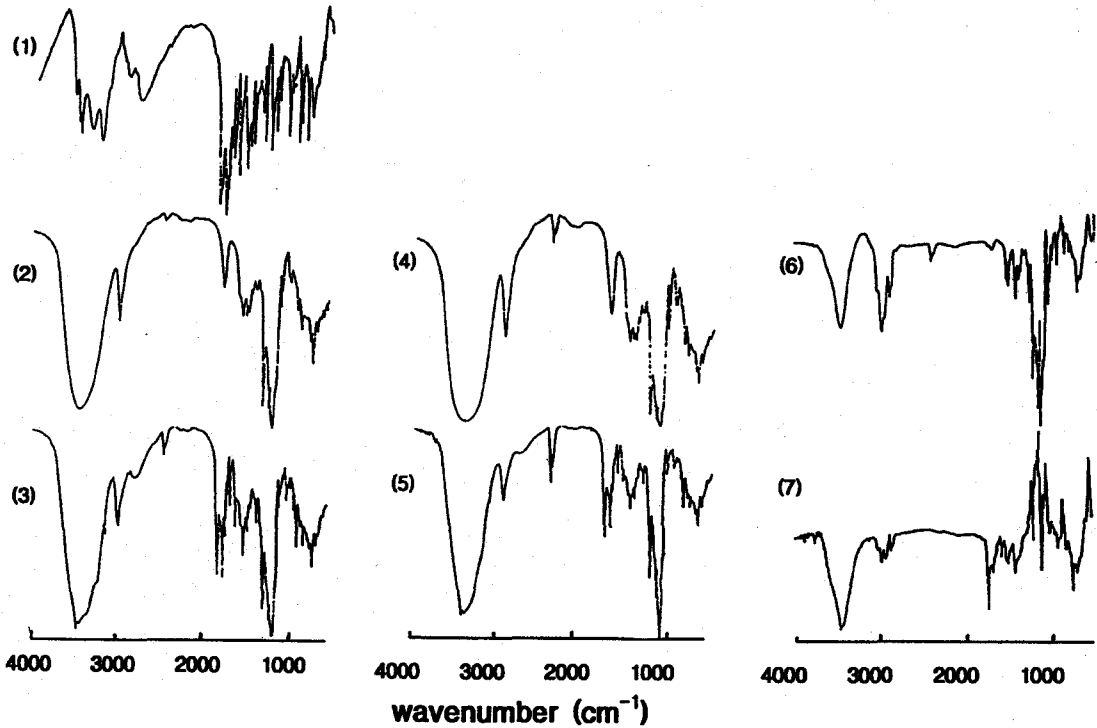


Figure 4—IR spectra of ACV-CD systems: (1) ACV; (2) (4) (6) α CD, β CD and DM β CD; (3) (5) (7) inclusion complex of ACV and α CD, β CD and DM β CD.

며, β CD의 경우에는 C=O의 stretching frequency가 저파수로 이동하였으며 DM β CD의 경우에는 특징적인 CH₃ 흡수대가 관찰되었다.

ACV 및 ACV-CD 포접복합체의 용출거동 및 통계학적 모멘트의 산출

Fig. 5(a)는 ACV의 인공 위액과 인공 장액에서의 용출속도와 pH 의존성을 나타낸 것으로, 강산성인 인공 위액에서 ACV의 용출속도와 용출량이 중성에 가까운 인공 장액보다 현저하게 증가한 것이 관찰되어 pH에 따른 용해도 변화의 결과와 일치하였다.

Fig. 5(b)에는 37±0.5°C, 인공 장액에서 ACV 단독과 각 CDs와의 1:1 물리적 혼합물 및 1:1 포접복합체에 대한 용출거동을 나타내었다. 물리적 혼합물의 경우, 초기 30분까지 약간의 용출속도의 증가가 관찰되었으나 예비 실험으로 행한 ACV와 lactose의 물리적 혼합물의 용출거동에 있어서 ACV 단독의 용출거동과 크게 상이한 바 없음을 확인하였다. 이는 CDs의 첨가로 인한 초기의 ACV와 상호작용의 결과로 용해성이 증가하여 용출속도의 변화가 이루어진 것으로 사료되어 궁극적인 용출속도의 증가나 용출율의 증대는 아닌 것으로 확인되었다. 그러나, 각 CDs와의 1:1 포접복합체에 대

한 용출거동에서는 초기 10분대에서 ACV-CDs의 용출률(%)이 ACV 단독에 비하여 ACV- α CD 포접복합체의 경우 1.51배, ACV- β CD 포접복합체 1.70배, ACV-DM β CD 포접복합체 1.75배로 현저히 증가하는 추세를 나타내고 steady state에 도달함을 알 수 있었다.

제제의 용해도나 용출속도는 생체이용률에 있어서 중요한 요소로 인식되어 지며, 용출곡선은 용출량과 평균 용출시간(MDT: Mean Dissolution Time)을 통하여 해석되어지는 데 MDT는 모델 비의존성 파라미터로서 다른 모델로 해석한 데이터를 총괄적으로 설명할 수 있다. Table I에 각각의 실험약물에 대한 통계학적 모멘트를 비교 정리하였다. 통계학적 모멘트에서 생체이용률에 연관성이 있는 것으로 보여지는 총용출량은 pH 6.8에서 ACV 단독보다 CDs와의 물리적 혼합물이 α CD와는 1.05배, β CD와도 1.05배, DM β CD와는 1.04배를 나타냈으나 이는 통계적인 유의성은 없었다. CDs와의 포접복합체의 경우 α CD 포접복합체는 1.18배 β CD 포접복합체는 1.22배, DM β CD 포접복합체는 1.27배의 총용출량의 증가를 나타내었고 평균용출시간 또한 2.88배 빠른 결과를 보였다. DM β CDs와 포접복합체가 용출속도와 용출량을 가장 크게 증가시키므로

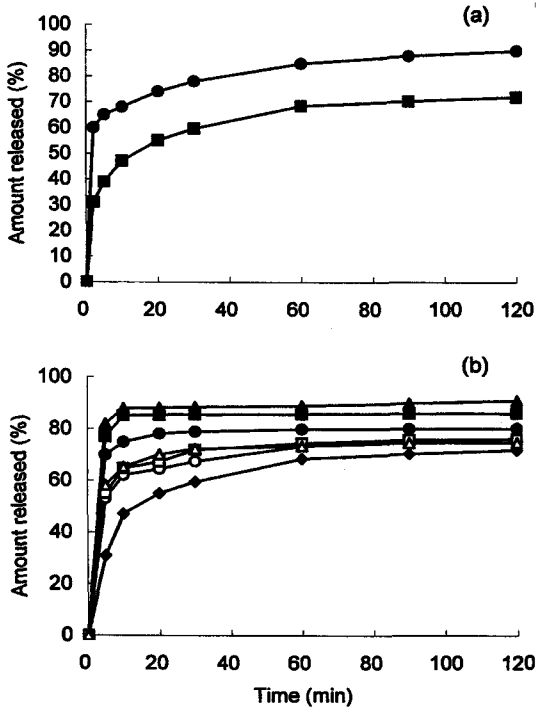


Figure 5—Released profiles of ACV (a) at pH 1.2(●) and pH 6.8(■) by paddle method and (b) ACV-CDs physical mixtures and inclusion complexes at pH 6.8, 37±0.5°C. Key: ◆: ACV, ●: αCD IC, ■: βCD IC, ▲: DMβCD IC, ○: αCD PM, □: βCD PM, △: DMβCD PM.

생체내 경구투여시 생체이용률의 향상을 기대할 수 있다. CDs와의 포접복합체가 ACV 및 CDs 물리적혼합물 보다 용출량을 증가시키는 사실은 고체상태에서의 IR 스펙트럼과 DSC curve로 ACV-CDs 포접복합체의 물리화학적 성질의 변화에서 확인한 바와 같이, CDs의 포접작용으로 인하여 ACV의 무정형화가 이루어져 pH 6.8에서 총 용출량과 용출속도가 증가된 것으로 사료된다.

ACV 및 ACV-DMβCD 포접복합체의 in vivo 경구투여군의 생체이용률 비교

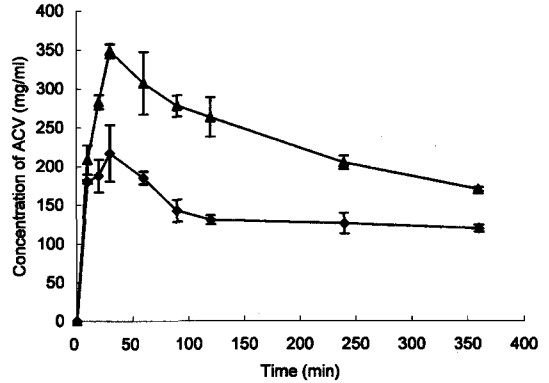


Figure 6—Plasma ACV concentration (mean±S.E.) in rat after oral administration (n=3) of 11.26 mg/kg of ACV. Key: ◆: ACV, ▲: ACV-DMβCD.

흰쥐 5마리를 1군으로 하여 대조군으로 ACV를 증류수에 녹여 체중 kg당 11.26 mg을 경구투여하고 *in vitro* 용출실험결과 가장 높은 용출률을 보인 ACV-DMβCD 1:1 포접복합체를 ACV양으로 체중 kg당 11.26 mg을 경구투여한 후 경시적으로 혈장중 ACV의 농도를 HPLC로 정량하였다. Fig. 6에 시간에 따른 평균 혈장농도를 나타내었다. 경구투여 후 전체적인 채혈 시간 범위내에서 ACV 단독 투여했을 때 보다 ACV-DMβCD 포접복합체를 투여했을 때 현저한 혈중농도차이를 나타냈으며, C_{max}를 비교할 때 ACV 단독투여에서는 217.03±36.561 ng/ml(mean±S.E.)인데 반해 ACV-DMβCD 포접복합체의 투여후에는 348.68±8.851 ng/ml로 1.61배 높게 측정되었다.

Table II에는 모든 투여군의 모델비의존적 분석방법에 적용하여 약물속도론적 파라미터를 산출한 결과를 나타내었다. 파라미터들을 비교 평가한 결과 ACV-DMβCD 포접복합체 투여시 DMβCD에 의한 ACV의 용해도 증가와 용출률 증가에 기인하여 ACV 단독 투여시에 비해 높은 혈중농도를 나타내므로 *in vitro*

Table I—Statistical Moment Analysis for the Dissolution Rate Data of ACV, ACV-CDs Physical Mixtures (PM) and ACV-CDs Inclusion Complexes (IC) at pH 6.8, 37±0.5°C

Stastical moments	For finite time of 2 hour		
	Total released (%)	MDT (hr)	VDT (hr)
ACV alone	72.0	0.2618	0.1438
ACV-αCD (PM)	76.3	0.1707	0.1204
ACV-βCD (PM)	76.2	0.1272	0.0792
ACV-DMβCD (PM)	74.9	0.0940	0.0467
ACV-αCD (IC)	85.0	0.1965	0.1705
ACV-βCD (IC)	88.5	0.1042	0.0858
ACV-DMβCD (IC)	92.1	0.0906	0.0600

Table II—The Pharmacokinetics Parameters of ACV and ACV-DMβCD Inclusion Complex (IC) Based on Model Independent Analysis

	ACV alone	ACV-DMβCD (IC)
C _{max} (ng/ml)	217.03	348.68
T _{max} (hr)	0.50	0.50
AUC ₀₋₆ (ng · hr/ml)	833.72	1400.16
AUMC ₀₋₆ (ng · hr ² /ml)	2307.21	3760.69
MRT (hr)	2.76	2.69
2R.B.A (%)	100.00	167.94

실험에서 확인한 결과와 서로 일치하였으며, T_{max}는 ACV와 ACV-DMβCD 모두 0.5 시간에서 측정되었다. 이것은 위액 및 장액에서 용출을 거치는 동안 포접복합체가 빠른 속도로 해리되어 약물이 방출됨에 기인하는 것으로 추론된다. 생체내이용률에 있어서 약물 투여후 6시간까지의 AUC가 ACV는 833.72ng · hr/ml을 나타내는 반면 ACV-DMβCD 포접복합체의 경우 1400.16 ng · hr/ml으로 현저히 증가하였으며, ACV-DMβCD의 상대적생체이용률은 167.94%로 크게 증대된 사실은 단순히 약물의 용출증가뿐만 아니라 4시간마다 복용해야 하는 ACV 투여간격을 연장시켜 투약상의 단점을 개선할 수 있으며 적은 양으로도 유효치료농도가 유지될 수 있으므로 부작용을 경감시키고 환자의 순응도를 끌어올릴 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

물에 녹기 어려우며 경구 투여시 불완전한 흡수와 낮은 생체이용률을 갖는 ACV를 CD(αCD, βCD, DMβCD)를 이용하여 1:1 몰 비로 포접복합체를 동결건조법으로 형성하여 용해성을 개선하고 용출을 증대시켜 생체이용률을 높일 수 있는 경구용제제를 개발하고자 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 상평형용해도 그림에 의해서 구한 안정도 상수(K_s)는 αCD(10.78M⁻¹) < βCD(19.18M⁻¹) < DMβCD(132.16M⁻¹)순으로 증가하여 DMβCD가 수용성 포접복합체로서 가용화능이 가장 큰 것으로 나타났다.

2. 강산과 강염기에선 높은 용해도를 가지며 중성 및 약염기의 pH에서 상대적으로 낮은 용해도를 가지고 있는 pH 의존성의 ACV를 CD 포접복합체를 조제하여 pH 3~9범위에서 용해도 실험을 한 결과, 고유의 ACV의 용해도보다 증가함을 알 수 있었고 그 중 DMβCD가 pH 5~7 범위에 있어서 가장 우수한 수용

성 담체로 나타났다.

3. 인공 장액(pH 6.8)에서의 용출실험 결과, ACV 및 ACV-CD 물리적 혼합물보다 동결건조로 조제한 ACV-CD와의 포접복합체가 초기부터 현저히 빠른 용출속도를 보이며 용출량(%)에 있어서 ACV에 비해 CD와의 포접복합체가 αCD는 1.18배, βCD는 1.22배, DMβCD는 1.27배 증가하였다.

4. 경구투여 후 혈중농도추이의 모델비의존적 분석 결과, C_{max}의 비교시 ACV 단독투여에서는 217.03±36.561 ng/ml(mean±S.E.)인데 비하여 ACV-DMβCD 포접복합체의 투여후에는 C_{max}가 348.68±8.851 ng/ml로 1.61배 가량 높게 측정된다. 생체이용률은 ACV가 833.72ng · hr/ml을 나타내는 반면 ACV-DMβCD 포접복합체의 경우 1400.16ng · hr/ml으로 ACV-DMβCD 포접복합체의 상대적생체이용률이 167.94%로 크게 증가되었음을 알 수 있었다.

이상의 결과로 부터 낮은 생체이용률을 갖는 ACV를 수용성 CD와 포접복합체를 형성함으로써 용해도 개선에 따른 액제나 주사제로의 개발을 기대할 수 있으며, 위장관내에서 약물의 용출속도 증대와 용출량의 증가를 유도하여 생체이용률 개선을 위한 새로운 경구투여제로 응용될 수 있는 가능성을 제시하게 되었다.

감사의 말씀

이 연구는 1997학년도 중앙대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) G.B. Elion, Acyclovir: Discovery, mechanism of action, and selectivity, *J. Med. Virol.*, **41**, 2-6 (1993).
- 2) C. Fletcher and B. Bean, Evaluation of Acyclovir therapy, *DICP.*, **19**, 518-24 (1985).
- 3) P. de Miranda, Good Species differences in the metabolism and disposition of antiviral nucleosides analogues, *Antiviral Chem. Chemother.*, **3**, 1-8 (1992).
- 4) L.D. Lewis, A.S.E. Fowle, S.B. Bittner, A. Bye and P.E.T. Isaacs, Human gastrointestinal absorption of acyclovir from tablet duodenal infusion and sipped solution, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **21**, 459 (1986).
- 5) M. Yamazaki, S. Itoh, M. Sawanoi, M. Kobayashi, S. Suzuki, T. Komatsu and K. Tanabe, The effect of fatty acids on the rectal ab-

- sorption of acyclovir in rats, *J. Pharm. Pharmacol.*, **42**, 441-443 (1990).
- 6) H. Vergin, C. Kikuta, H. Mascher and R. Metz, Pharmacokinetics and bioavailability of different formulations of aciclovir. *Arzneim-Forsch.*, **45**, 4, (1995).
 - 7) W. E. Haefeli, R. Schoenberger, P. Weiss and R. Ritz, Acyclovir-induced neurotoxicity: Concentration-side effect relationship in acyclovir overdose, *Am. J. Med.*, **94**, 212-5 (1993).
 - 8) I. J. Oh, J. G. Park, Y. B. Lee and S. C. Shin, Inclusion complex of analgesic and antiinflammatory agent with cyclodextrins, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **23**, 11-18 (1993).
 - 9) I. K. Chun and J. H. Park, Preparation and controlled release of microcapsules containing ketoprofen- β -cyclodextrins solid dispersion, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**, 33-40 (1992).
 - 10) H. J. Yoon, U. B. Back, S. H. Seo and S. U. Kim, Studies on dissolution of fentiazac from β -cyclodextrin inclusion complex, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **20**, 153-159 (1990).
 - 11) N. Hashimoto, T. Fujioka, K. Hayashi, K. Odaguchi, T. Toyoda, M. Nakamura and K. Hirano, Renin inhibitor: Relationship between molecular structure and oral absorption, *Pharm. Res.*, **11**, 1443-7 (1994).
 - 12) G. B. Park, Z. Shao and A. K. Mitra, Acyclovir permeation enhancement across intestinal and nasal mucosae by bile salt-carnitine mixed micelles, *Pharm. Res.*, **9**, 1262-7 (1992).
 - 13) M. A. Pue, S. K. Pratt, A. J. Fairless, S. Fowles, J. Laroche, P. Georgiou and W. Prince, Linear pharmacokinetics of penciclovir following administration of single oral doses of famciclovir 125,250,500 and 750 mg to healthy volunteers, *J. Antimicrob. Chemother.*, **33**, 119-127 (1994).
 - 14) R. A. VereHodge, D. Sutton, M. R. Boyd, M. R. Harden and R. L. Jarvest, Selection of an oral prodrug(BRL 42810:Famciclovir) for the antiherpesvirus agent BRL39123(9-(4-Hydroxy-3-Hydroxymethylbutyl)Guanine:Penciclovir), *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **33**, 1765-1773 (1989).
 - 15) E. J. Benjamin, B. A. Firestone, R. Bergstrom, M. Fass, I. Massey, I. Tsina and Y. T. Lin, Selection of a derivatives of the antiviral agent 9-[(1,3-dihydroxy-2-proxy)-methyl]guanine with improved oral absorption, *Pharm. Res.*, **4**, 120-5 (1987).
 - 16) F. Hirayama, Development and pharmaceutical evaluation of hydrophobic cyclodextrin derivatives as modified-release drug carriers. *Yakugaku Zasshi*, **113**, 425 (1993).
 - 17) F. Hirayama, Z. Wang and K. Uekama, Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on crystallization and polymorphic transition of nifedipine in solid state, *Pharm. Res.*, **11**, 1766-70 (1994).
 - 18) H. S. Choi, Structure study of inclusion complex of β -cyclodextrin and aspirin. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **21**, 223-230 (1991).
 - 19) A. R. Green, E. S. Miller and J. K. Guillory, Physical properties of complexes formed between Heptakis (2,6-di-O-methyl)- β -cyclodextrin, β -cyclodextrin, and chlorambucil. *J. Pharm. Sci.*, **80**, 186-9 (1991).
 - 20) Y. Okada, Y. Kubota, K. Koizumi, S. Hizukuri, T. Ohfuji and K. Ogata, Some properties and the inclusion behavior of branched cyclodextrins, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2176-2185 (1988).
 - 21) K. Koizumi, Y. Okada, Y. Kubota and T. Utamura, Inclusion complexes of poorly water-soluble drugs with glucosyl-cyclodextrins, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 3413-3418 (1987).
 - 22) F. Acarturk, T. Imai, H. Saito, M. Ishikawa and M. Otagiri, Comparative study on inclusion complexation of maltosyl- β -cyclodextrin and β -cyclodextrin with fucosterol in aqueous and solid state, *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 1028-1032 (1993).
 - 23) B. J. Lee and T. S. Lee, Enhancement of dissolution rate of poorly water-soluble ibuprofen using solid dispersion and inclusion complex. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **25**, 31-36 (1995).
 - 24) U. K. Jee, K. L. Park, M. K. Baek, M. S. Park and J. K. Park, Preparation and stability of iodine- β -cyclodextrin inclusion complex. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **25**, 205-211 (1995).
 - 25) H. T. Kim, K. O. Park and S. H. Seo, Dissolution and stability enhancements of trimethoprim by β -cyclodextrin polymer inclusion complexation. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**, 105-113 (1992).
 - 26) S. Y. Lin and J. C. Yang, Effect of β -cyclodextrin on the *in vitro* permeation rate and *in vivo* rectal absorption of acetaminophen hydrogel preparation, *Pharm. Acta Helv.*, **65**, 262-7 (1990).
 - 27) K. Uekama, T. Maeda, H. Arima, T. Irie and F. Hirayama, Possible utility of β -cyclodextrin complexation in the preparation of biphenyl acetic acid suppository, *Yakugaku Zasshi*, **106**, 1126-30 (1986).
 - 28) H. Adachi, T. Irie, K. Uekama, T. Manako, T. Yano and M. Saita, Inhibitory effect of prostaglandin E1 on laurate-induced peripheral

- vascular occlusive sequelae in rabbits : optimized topical formulation with β -cyclodextrin derivatives and penetration enhancer HPE-101, *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**, 1033-5 (1992).
- 29) M. Vakily, F. M. Pasutto, M. Daneshtalab and F. Jamali, Inclusion complexation of heptakis (2,6-di-O-ethyl)- β -cyclodextrin with tiaprofenic acid, *J. Pharm. Sci.*, **84**, 1014-9 (1995).
- 30) K. Uekama, K. Matsubara, K. Abe, Y. Horiuchi, F. Hirayama and N. Suzuki, Design and *in vitro* evaluation of slow-release dosage form of pectanide : Utility of β -cyclodextrin : Cellulose derivatives combination as a modified-release drug carrier, *J. Pharm. Sci.*, **79**, 1338-41 (1990).
- 31) J. Szejtli, Medicinal application of cyclodextrins, *Med. Res. Rev.*, **14**, 353-86 (1994).
- 32) M. Kurozumi, N. Nambu and T. Nagai, Inclusion compounds of non-steroidal anti-inflammatory and other slightly water soluble drugs with α - and β - cyclodextrins in powdered form, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3062-3068 (1975).
- 33) R. J. Tallaride and R. B. Murray, *Manual of Pharmacologic Calculation with Computer Programs*. Springer-verlag, New York, pp.112-113 (1981).
- 34) T. Higuchi and K. A. Connors, *Phase Solubility Techniques in Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, Wiley, New York, p. 117 (1965).