

티니다졸의 제어방출을 위한 새로운 합성고분자성 정제의 조성

윤동진 · 신영희* · 김대덕 · 이치호†
부산대학교 약학대학, *경성대학교 약학대학
(1999년 10월 28일 접수)

Formulation of a Novel Polymeric Tablet for the Controlled Release of Tinidazole

Dong-Jin Yoon, Young-Hee Shin*, Dae-Duk Kim and Chi-Ho Lee†

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*College of Pharmacy, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea

(Received October 28, 1999)

ABSTRACT—A novel polymeric tablet of tinidazole (TD) was formulated to treat *Helicobacter pylori* and *Giardia lamblia* more efficiently with reduced hepatotoxicity by controlling the release of TD after oral administration. TD tablets containing various concentrations of either xanthan gum (XG, viscosity enhancer) and/or polycarbophil (PC, mucoadhesive) were prepared by the wet granulation method. *In vitro* release of TD into pH 2.0 and pH 5.0 buffer solutions was observed at 37°C by using an USP dissolution tester and an UV (313 nm) spectrophotometer. *In vivo* absorption of TD tablets was investigated in rabbits by measuring the blood concentration of TD after oral administration using a HPLC. Compared to a commercial TD tablet, *in vitro* release of TD in both pH 2.0 and pH 5.0 buffer solutions significantly decreased as the concentration of XG or PC in the tablet increased up to 30%. However, when XG and PC was added in combination, TD was completely released in a pH 5.0 buffer solution within 8 hours, whereas the release of TD in pH 2.0 buffer solution significantly decreased. TD in a commercial tablet was rapidly absorbed after oral administration in rabbits. After oral administration of the polymeric tablets that contain both XG and PC, plasma concentration of TD dramatically decreased. Since the oral absorption of TD significantly decreased by the addition of XG and PC in the tablets while TD completely released in a pH 5.0 buffer solution, it was speculated that more TD was retained in the gastrointestinal tract. Thus, it was possible to control the release of TD by changing the content of XG and/or PC in the tablet, thereby manipulating the release rate and the gastrointestinal retention of TD after oral administration in rabbits.

Keywords—Tinidazole, Gastric retention, Polymeric tablet, Gum xanthan, Polycarbophil

티니다졸(TD)은 5-니트로이미다졸의 유도체에 속하는 anti-parasitic drug로서 트리코모나스 질염 등에 널리 사용되고 있는 유용한 약물이다. 메트로니다졸과 같이 아메바성 감염, 박테리아성 질염, 트리코모나스증, 소화성 궤양 등 다양한 증상에 사용된다.¹⁾ 메트로니다졸과 달리 반감기가 긴 편이어서 (12-14시간) 하루에 한번 투여가 가능하다.¹⁾ TD는 경구 투여 후에 거의 완전히 흡수되며 2-4시간 후에 약 40 µg/ml의 최고 혈중농도에 도달한다. 최근의 보고들에 의하면, 치료가 매우 까다로운 위·십이지장 궤양의 원인균으로 밝혀진 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)에 대하여 TD와 다른 약물을 병용하여 사용하였을 때 상당히 유효하다고 알려진 바 있다.^{2,9)} 또한, *Giardia lamblia*에 기인한 지아르디아증

(Giardiasis)에 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 많은 연구가 진행되고 있다.^{10,11)} 그러나, TD를 경구투여할 경우 신속하고 완전하게 흡수되므로 위장관내에 머무르는 시간이 짧아서 *H. pylori*와 *G. lamblia*를 효과적으로 치료할 수 없고 또한 간독성이 가장 큰 단점으로 알려져 있다. 따라서, 본 연구의 목적은 경구투여 후에 위장관내에 상당 시간 머물면서 TD를 제어방출하여 간독성을 줄이고 *G. lamblia*와 *H. pylori*를 보다 효과적으로 치료할 수 있는 새로운 합성고분자성 정제의 조성을 찾는 데 있다.

Xanthan gum (XG)은 고분자의 biopolysaccharide로서 제제학적으로는 현탁화제(suspending agent)로서 액상제제의 제조에 넓게 사용된다. XG는 수용성이 높은 콜로이드로 작용하여 수용성제제를 안정화시키고 점도를 증가시키는 목적으로 사용되거나 서방성 정제의 매트릭스 형성제(matrix former)로도 사용된다.^{12,13)} XG를 함유한 정제에서의 약물의 방

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 051) 510-2810, E-mail : chiho@hyowon.pusan.ac.kr

출은 XG농도가 15%까지 증가할수록 반비례하여 감소하는 것으로 알려져 있는데,¹³⁾ 이것은 XG의 농도가 증가할수록 정제 내에서 수화한 XG층의 점도가 증가하였기 때문인 것으로 설명된다. 최근의 보고에 의하면, XG는 점착성을 가지고 있으면서 펩타이드성 항생물질의 확산을 억제하고 효소에 의한 분해를 막아주므로 이러한 펩타이드의 효능을 높일 수 있는 기제로도 알려져 있다.¹⁴⁾ 이상과 같이, XG는 경구 투여 후에 정제 주위의 점도를 증가시켜서 약물의 확산을 억제하므로 위장관에서의 약물의 흡수를 감소시키는 목적으로 정제에 첨가하였다.

Polycarbophil (PC)은 polyacrylic acid type (divinyl glycol로 느슨하게 cross-link된 acrylic acid의 copolymer)의 친수성 합성수지로서 점착성과 팽윤성이 있으므로 약물송달시스템 (drug delivery system, DDS)으로 널리 사용되고 있다.^{15,16)} 일반적으로 PC를 함유한 정제로부터의 약물의 방출은 PC의 농도에 비례하여 감소하는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ 최근에, 팽윤성이 있는 세 층의 비대칭형 정제를 이용하여 메트로니다졸과 테트라사이클린을 위장관에 장시간 체류시켜 *H. pylori*에 의한 단백질 위궤양을 치료하려는 보고가 있었다.¹⁸⁾ 따라서, 본 연구에서는 XG와 PC를 다양한 조성으로 함유한 고분자성 정제를 제조한 후, 이러한 정제로부터의 TD의 방출특성을 관찰하고 동물실험을 통하여 위장관내에서의 TD의 체류가 증가하는지를 확인하고자 하였다.

실험방법

시약 및 기기

TD (Lot No. 32H0386)와 xanthan gum (Lot 105H1013)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA)에서 구입하였다. Polycarbophil (Noveon® AA-1 USP, Lot AW0604)은 BF Goodrich Specialty Chemicals로부터 공급받았다. HPLC용 아세트 니트릴과 메탄올은 Merck Co. (Darmstadt, German)에서 구입하였으며, 그의 모든 시약과 용매는 특급시약을 사용하였다.

합성고분자성 정제의 제조

다양한 조성의 lactose (Lac), XG 및 PC를 함유한 합성고분자성 정제를 습식법으로 제조하였으며 그 조성은 Table I과 같다. XG와 PC는 먼저 70%(v/v) 에탄올 용액에 녹인 후, TD 및 Lac와 잘 섞어서 과립을 제조하였다. 수동으로 작동하는 타정기(Erweka, Frankfurt, Germany)를 사용하여 정제를 제조하였다. 각 정제의 무게는 500 mg이며 300 mg의 TD를 함유하고 경도는 Kiya Seisakusho 경도계(Tokyo, Japan)를 사용하여 측정된 결과 25-30 kg이

Table I-The composition (%) of various formulations of tinidazole polymeric tablets^a

Formulation code	Xanthan Gum (%)	Polycarbophil (%)	Lactose (%)
F1	0	0	40
F2	10	0	30
F3	20	0	20
F4	30	0	10
F5	0	10	30
F6	0	20	20
F7	0	30	10
F8	10	10	20
F9	20	10	10
F10	30	10	0
F11	10	20	10
F12	10	30	0

^aWeight of each tablet is 500 mg, which contains 300 mg of tinidazole and 200 mg of lactose and/or Xanthan Gum and/or Polycarbophil.

되도록 조절하였다.

TD의 *in vitro* 용출실험

대한약전 용출실험법 제2법에 의해 고분자성 정제로부터 용출되는 TD를 관찰하였다. 각 정제를 500 mL의 pH 2.0 염산완충액 혹은 pH 5.0 프탈레이트 완충액이 든 용기에 넣고 패들을 100 rpm의 속도로 회전하였고 온도는 37°C를 유지하였다. 용출 실험은 8시간 동안 행하였으며, 일정시간 간격으로 용출액을 취하고 채취 후에는 즉시 동량의 새로운 용출액으로 보충하여 주었다. 채취한 용출액 시료는 Teflon filters (0.45 µm, Micron Separation Inc., USA)를 통과시킨 후 완충액으로 희석한 즉시 313 nm UV(LKB, Ultrospec 4050)를 사용하여 흡광도를 측정하여 시료 중의 TD 농도를 계산하였다. 정제에서 용출된 TD의 누적량은 최초의 정제 중에 있던 TD양에 대한 백분율로 환산하여 시간에 대한 함수로 표시하였다. 각 실험은 3회 실시하여 평균값을 얻었다.

고분자성 정제의 *in vivo* 평가 실험

실험동물은 New Zealand albino rabbits (숫컷, 2.5-3.5 kg)을 대한실험동물(대전, Korea)에서 공급 받아서 표준사료와 물을 자유로이 주면서 본 대학 동물사육실에서 실험 때까지 보관하였다. 경구투여 하루 전날 밤에 물만 자유로이 주면서 절식을 시켰다. TD 정제(60 mg/kg)를 20 mL의 증류수와 함께 경구투여하고 약 300 µL의 혈액을 귀정맥으로부터 일정시간 간격으로 8시간동안 채취하였다. 각 혈액시료

는 즉시 원심분리하여 혈장을 분리한 후 고속액체크로마토그래피(HPLC)로 분석할 때까지 -20°C에 보관하였다. 네 마리의 토끼를 사용하여 completely randomized crossover experiments를 시행하였고 한번 투여 후 2주 동안의 휴식기를 가지도록 하였다.

HPLC를 이용한 TD 혈장농도 분석

혈장시료 100 µL에 정확히 300 µL의 아세트나이트릴을 가하고 약 2분간 강하게 진탕한 후 6000 rpm으로 3분간 원심 분리하였다. 상등액 15 µL를 HPLC system (Waters LC Module 1 plus)에 주입하여 TD의 농도를 측정하였다. 컬럼은 Waters (µ-Bondapak C18 column (10 µm, 3.9×300 mm I.D.))을 사용하였고 이동상은 물(pH 3.0, adjusted by phosphoric acid)과 아세트나이트릴 (80:20) 혼합액을 1.0 mL/min의 유속으로 흘려보냈다. 검출기는 UV 313 nm에 고정하였다. 이상의 조건에서 TD는 방해피크 없이 잘 분리되었으며 유지시간은 약 8분이었다.

결과 및 고찰

고분자성 정제로부터 TD의 용출

다양한 조성의 고분자성 정제의 pH 2.0과 pH 5.0 완충액에서의 용출실험결과는 Figure 1, 2, 3에 나타내었다. Figure 1에서 보여주듯이, 시판되고 있는 TD 정제 (티니다졸정, 조아제약)의 용출은 pH 2.0 및 pH 5.0 완충액 모두에서 매우 신속하였으며 한 시간 이내에 90%이상의 TD가 모두 용출하였다. XG와 PC가 없는 정제(F1)에 비하여, 정제내의 XG의 농도가 30%까지 증가할수록 (F2, F3, F4) TD의 방출은 비례하여 유의성있게 감소하였다 (Figure 1). 정제에 PC를 30%까지 증가시켰을 경우에도 (F5, F6, F7) pH 2.0 및 pH 5.0 완충액 모두에서 TD의 방출속도는 농도에 비례하여 감소하였다 (Figure 2). 그러나, TD의 방출을 억제하는 PC의 효과는 XG보다 약하였으며 특히 pH 5.0 완충액에서 XG에 비하여 PC는 TD의 방출을 억제하는 효

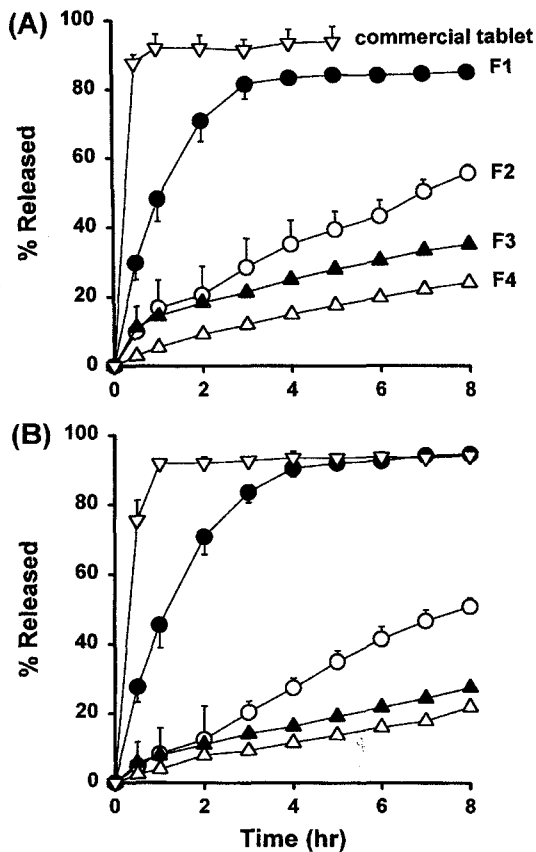


Figure 1—Release kinetics of tinidazole from the polymeric tablets containing 0% (●), 10% (○), 20% (▲) and 30% (△) xanthan gum at (A) pH 2.0 and (B) pH 5.0 buffer solution, compared with a commercial tablet (Cho-A Pharmaceutical Co.) (▽) Each value is the mean (±S.D.) of triplicate experiments.

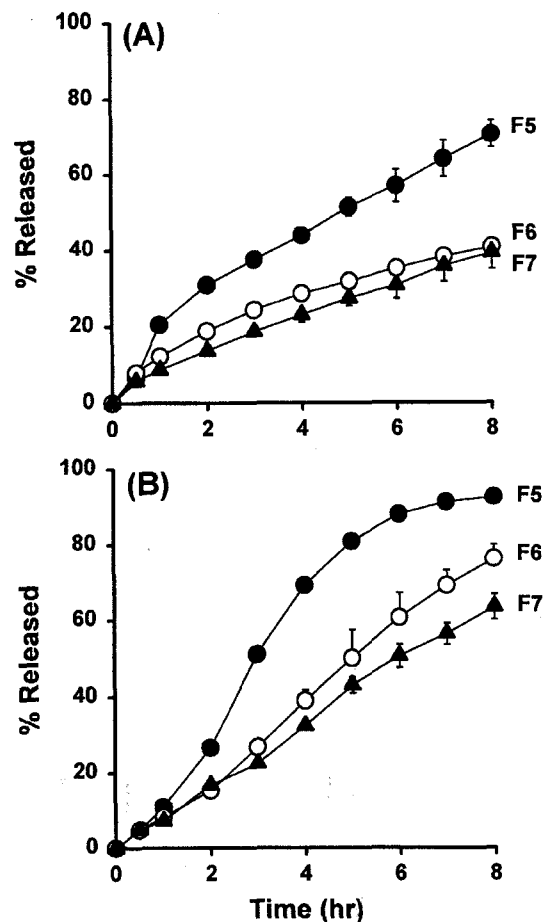


Figure 2—Release kinetics of tinidazole from the polymeric tablets containing 10% (●), 20% (○) and 30% (▲) polycarbophil at (A) pH 2.0 and (B) pH 5.0 buffer solution. Each value is the mean (±S.D.) of triplicate experiments.

과가 현저히 낮았다. 예를 들어, XG를 10% 함유한 F2 정제의 경우 pH 5.0 완충액에서 TD의 방출은 현저히 감소하였으나, PC를 10% 함유한 F5 정제의 경우에는 8시간 이내에 거의 완전히 방출하였다.

고분자성 정제에 10% PC와 함께 10, 20 혹은 30%의 XG를 첨가했을 경우 (각각 F8, F9 및 F10), pH 2.0 완충액에서의 TD의 방출은 XG의 함량이 30%까지 증가할수록 비례하여 감소하였다 (Figure 3A). 고분자성 정제에 10% XG를 다양한 농도의 PC와 함께 첨가한 경우에도 (F8, F11 and F12), pH 2.0 용출액에서의 TD의 방출은 PC의 농도가 30%까지 증가함에 따라 비례하여 감소하였다. 그러나, F9와 F10 정제에 비해서는 F11 및 F12정제로부터의 TD의 방출은 상대적으로 적게 억제되었다 (Figure 3A). 한편, 고분자성 정제에 PC와 XG를 혼합하여 첨가한 경우, pH 2.0 완충액에서와는 달리 pH 5.0 완충액에서의 TD의 방출은 어떠

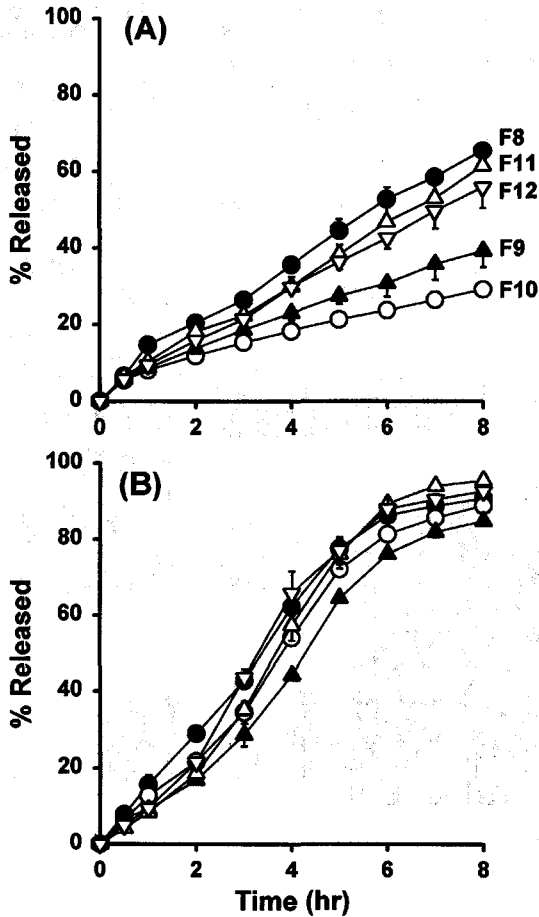


Figure 3—The effect of various concentration of xanthane gum (XG) and polycarboxophil (PC) on the release kinetics of tinidazole at (A) pH 2.0 and (B) pH 5.0 buffer solution. Each value is the mean (\pm S.D.) of triplicate experiments. Key: ●; 10% XG+10% PC, ▲; 20% XG+10% PC, ○; 30% XG+10% PC, △; 10% XG+20% PC, ▽; 10% XG+30% PC.

한 경우에도 유의성있는 차이가 없었으며 8시간 이내에 거의 완전히 방출되었다 (Figure 3B).

고분자성 정제의 in vivo 평가 실험

시판중인 TD 정제(조아제약)를 토끼에게 경구 투여한 경우, TD는 신속히 흡수되어 약 2시간 후에 최고 혈중농도를 나타내었으며 (Figure 4), 이는 이미 보고된 문헌과 일치하였다.¹⁾ 따라서, TD가 위장관내에 머무는 양은 매우 적고 시간 또한 짧아서 *H. pylori*와 *G. labria*를 효과적으로 치료하기에 충분하지 않을 것으로 예상되었다. 그러나, PC 및 XG를 함유한 고분자성 정제를 경구투여한 경우에는 TD의 혈장중 농도는 PC 및 XG를 함유하지 않은 정제(F1)에 비해 급격히 감소하였다 (Figure 4). 고분자성 정제의 in vivo 실험결과를 정량적으로 평가하기 위한 각종 parameter들은 Table II에 종합하였다. 고분자성 정제에 10%의 XG를 첨가한 경우 (F2), AUC₀₋₈ 값은 F1 정제에 비하여 유의성있게 감소하였는데 이는 pH 2.0 및 5.0 용출액에서의 %X_{8hr} 값의 감소에서 예상할 수 있듯이 TD의 방출이 억제되었기 때문인 것으로 추측된다. 한편, PC를 10% 함유한 F5 정제의 경우, pH 2.0 및 5.0 완충액에서의 %X_{8hr} 값은 F1 정제에 비하여 별다른 감소가 없었으나 AUC₀₋₈ 값은 F1에 비하여 유의성있게 감소하였다. 특히, F5, F8 및 F10 정제의 경우에는 pH 5.0 완충액에서의 TD의 방출은 XG의 농도가 30%까지 증가하여도 별로 감소하지 않았으나 TD의 AUC₀₋₈ 및 C_{8hr} 값은 현저히 감소하였다. 따라서, 고분자성 정제에

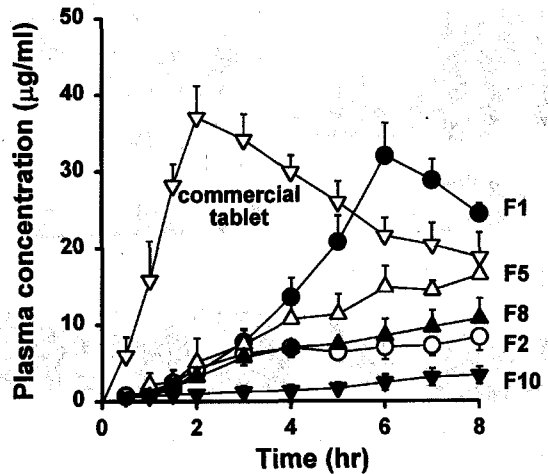


Figure 4—Plasma concentration profiles of tinidazole after oral administration (60 mg/kg) of a commercial tablet (Cho-A Pharmaceutical Co.) or various polymeric tablets in rabbits. Each value is the mean (\pm S.E.) of four rabbits after completely randomized crossover study. Key: ▽; commercial tablet, ●; 0% XG+0% PC, △; 0% XG+10% PC, ▲; 10% XG+10% PC, ○; 10% XG+0% PC, ▽; 30% XG+10% PC.

Table II-Comparison of pharmacokinetic parameters of various tinidazole tablets after oral administration (60 mg/kg) in rabbit ^a and percent of release for 8 hours in pH 5.0

Formulation	AUC ₀₋₈ (μg · hr/ml) ^a	C _{max} (μg/ml) ^a	C _{8hr} (μg/ml) ^a	%X _{8hr} ^b
Commercial tablet	112.79 (±11.37)	37.05 (±4.16)	ND ^d	94.64 (±1.69)
F1	60.96 (±6.89)	31.98 (±4.25)	ND ^d	95.08 (±0.36)
F2	23.31 (±3.78) ^c	ND ^d	8.36 (±1.72)	51.13 (±2.43)
F5	38.81 (±7.59) ^c	ND ^d	16.49 (±1.91)	92.51 (±0.55)
F8	30.14 (±4.01) ^c	ND ^d	10.78 (±2.62)	90.76 (±0.74)
F10	7.40 (±2.78) ^c	ND ^d	3.42 (±1.13)	84.78 (±0.53)

^aMean±S.E. of four rabbits after complete randomized crossover study. ^b%X_{8hr} : percent release for 8 hours in pH 5.0. Mean±S.D. of triplicate experiments. ^cSignificantly different from F1 tablet (p<0.001). ^dND: not determined.

10%의 PC를 첨가하고 XG의 농도를 30%까지 증가시킬 경우, 경구투여 후에 정제로부터 TD는 거의 완전히 방출되지만 위장관에서의 흡수가 억제되어 낮은 혈중농도를 나타내고 또한 많은 양의 TD가 위장관내에 체류하게 됨을 알 수 있었다.

결 론

이상의 결과로부터, TD를 함유하는 고분자성 정제내에 XG 및 PC의 조성을 달리함으로써 TD의 방출을 조절하고 위장관내에서의 흡수를 조절하는 것이 가능하였다. PC 10%와 XG 30%를 함유한 경우 다른 조성보다 방출은 많이 되면서 위장관내에서 흡수가 억제되어 간독성을 감소시키고 효과적으로 *G. lambria*와 *H. pylori*를 치료할 수 있을 것으로 기대되어 지속적인 연구가 필요한 것으로 보인다.

감사의 말씀

이 연구는 조야제약의 지원을 받아서 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) J. E. F. Reynolds, *Martindale-The extra pharmacopoeia*, Royal Pharmaceutical Society, London (1996).
- 2) P. F. L. Boreham, R. E. Philips and R. W. Shepard, The sensitivity of *Giardia intestinalis* to drugs *in vitro*, *J. Antimicrob. Chemoth.*, **14**, 449-461 (1984).
- 3) D. R. Hill, R. Pohl and R. D. Pearson, *Giardia lambria*: A culture method for determining parasite viability, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **35**, 1129-1133 (1986).
- 4) P. H. Katelaris, A. Naeen and M. J. G. Farthing, Activity of metronidazole, azithromycin and 3-benzimidazoles on *Giardia lambria* growth and attachment to a human intestinal-cell line, *Alimentary Pharmacol. Ther.*, **8**, 187-192 (1994).
- 5) Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Thera-*

- peutics, 9 th ed., McGraw Hill, New York, pp. 957-960 (1996).
- 6) S. Pyorala, S. Soback, V. Rainio, P. Silvennoinen and M. Nokelainen, Pharmacokinetics of single-dose administration of tinidazole in unweaned calves, *Am. J. Veterinary Res.*, **55**, 831-834 (1994).
- 7) H. Salomies and J. P. Salo, An HPLC study of tinidazole hydrolysis, *Chromatographia*, **36**, 79-82 (1993).
- 8) E. M. Sarkiala, S. E. A. Asikainen, A. Kanervo, J. Junttila and H. R. Jousimiesomer, The efficacy of tinidazole in naturally-occurring periodontitis in dog-bacteriological and clinical results, *Veterinary Microb.*, **367**, 273-288 (1993).
- 9) E. M. Sarkiala, Treatment of periodontitis in dogs with tinidazole, *J. Small Animal Practice*, **34**, 90-94 (1993).
- 10) L. Jokipii and A.M.M. Jokipii, Treatment of Giardiasis: Comparative evaluation of ornidazole and tinidazole as a single oral dose, *Gastroenterology*, **83**, 399-404 (1982).
- 11) P. Speelman, Single-dose tinidazole for the treatment of giardiasis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **27**, 227-229 (1985).
- 12) V. Dhopeswarkar and J. L. Zatz, Evaluation of xanthan gum in the preparation of sustained release matrix tablets, *Drug Devel. Ind. Pharm.*, **19**, 999-1017 (1993).
- 13) M. M. Talukdar and Plazier-Vercammen, Evaluation of xanthan gum as a hydrophilic matrix for controlled-release form preparations, *Drug Devel. Ind. Pharm.*, **19**, 1037-1046 (1993).
- 14) A.L.A. Ruissen, W.A. van der Reijden, W. van't Hof, E.C.I. Veerman and A.V. N. Amerongen, Evaluation of the use of xanthan as vehicle for cationic antifungal peptides, *J. Controlled Rel.*, **60**, 49-56 (1999).
- 15) M. A. Longer, H. S. Ch'Ng and J. R. Robinson, Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery: III. Oral delivery of chlorothiazide using a bioadhesive polymer, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 406-411 (1985).
- 16) E. A. Hosny and Al Gohary, Release kinetics and availability of mebeverine hydrochloride from polycarbophil loaded by swelling, *Drug Devel. Ind. Pharm.*, **20**, 2593-2605 (1994).
- 17) E. A. Hosny, Polycarbophil as a controlled release matrix, *Int. J. Pharm.*, **98**, 235-238 (1993).
- 18) L. Yang, J. Eshraghi and R. Fassihi, A new intragastric delivery system for the treatment of *Helicobacter pylori* associated gastric ulcer: *in vitro* evaluation, *J. Controlled Rel.*, **57**, 215-222 (1999).