

비페닐디메틸디카르복실레이트 주사제의 설계 및 평가

김혜진 · 전인구[#]

동덕여자대학교 약학대학

(Received April 25, 2000)

Design and Evaluation of Biphenyl Dimethyl Dicarboxylate Injections

Hye Jin Kim and In Koo Chun[#]

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

Abstract — In an attempt to develop an injectable form of practically insoluble biphenyl dimethyl dicarboxylate (DDB), the effect of various vehicles, cosolvents and hydrotropic agents was investigated. It was found that polyethylene glycol (PEG) 400 revealed the best solvency toward DDB (17.7 mg/ml at 37°C), and decreasing order of the solubility was as follows: PEG 400 > PEG 300 > diethylene glycol monoethyl ether (DGME) > PEG-8 glyceryl caprylate/caprate. Among the hydrotropes used, sodium salicylate, sodium benzoate and nicotinamide were effective in increasing the solubility in water. The solubility of DDB in 2 M sodium salicylate, sodium benzoate and nicotinamide solutions was increased 44.3, 23.5 and 44.0 times than that in water, respectively. The addition of sodium salicylate and sodium benzoate to PEG 300-water, PEG 400-water and DGME-water cosolvents remarkably increased the solubility of DDB, and significantly retarded precipitate formation when mixed with water. Hemolytic properties of DDB injections (2 mg/4~10 ml) in PEG 300-water or DGME-water (60:40 v/v) cosolvents containing sodium benzoate (0.14~0.35 M) were very low. It was concluded from the results that these solutions would be applied to the design of new DDB injections.

Keywords □ Biphenyl dimethyl dicarboxylate, Injections, Hydrotropic solubilization, Hydrotropes, Hemolysis.

비페닐디메틸디카르복실레이트(DDB)는 오미자 성분의 하나인 schizandrin C의 합성 유도체¹⁾로서 바이러스성 및 화학물질에 의한 간염의 치료, 특히 혈청 트랜스아미나제 수치를 현저하게 감소시키며 만성지속성 간염의 치료에 쓰이는 약물이다.^{2,5)} DDB는 동물실험에서 사염화탄소나 thioacetamide의 독성에 의한 간손상으로부터 보호 작용이 있음이 확인되었다.⁶⁾ 또 DDB는 cytochrome P450 2B1 mRNA와 benzyl-oxyresorufin-O-dealkylase 활성을 증가시키며, 사염화탄소 유도 간독성에 대한 간보호효과는 유리라디칼 제거작용에 기인할 수 있다고 제시되었다.⁷⁾

현재 DDB는 정제(25 mg 함유)와 구형과립을 함유

한 캡셀제(7.5 mg 함유)의 형태로 시판되고 있다. 그러나 이 약물은 물에 대해 매우 난용성(약 3 µg/ml)으로 용출률이 극히 저조하며 정제의 경우 생체이용률이 20~30%에 불과한 것으로 알려져 있다.⁸⁾ 이러한 DDB의 생체이용률을 증가시키기 위해 Gu 등^{8,9)}은 폴리에틸렌글리콜(PEG) 6000, 포비돈 및 요소를 사용하여 공침물을 제조하여 용출률을 개선하는 한편 PEG 6000과의 공침물을 환제의 형태로 투여하여 생체이용률을 향상시켰다고 하였다. Hyun 등¹⁰⁾은 담체로 PEG 6000, 포비돈, 폴록사머 407, 데옥시콜린산나트륨, 시클로덱스트린류 및 레시틴 등을 이용하여 2 또는 3 성분계 고체분산체를 제조하여 DDB의 용출성을 현저히 증대시켰다고 보고하였다. Lee 등¹¹⁾은 PEG 6000 고체분산체의 정제를 제조하여 용출률을 시판 정제보다 1.2~1.8배 향상시킬 수 있었다고 보고하였다.

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-940-4523 (팩스) 02-941-7652

Lee 등¹²⁾은 폴로사머의 종류와 양을 변화시켜 DDB의 용출률을 조절할 수 있었다. 최근 Moon 등¹³⁾은 코폴리비돈 고체분산체의 가루 및 정제로부터 DDB(7.5 mg)를 완전히 용출시킬 수 있었다. Sohn 등¹⁴⁾은 8종의 DDB 결정다형을 얻었으나 이들 다형간에는 용출률에 별다른 차이가 없었음을 보고하였다.

한편 DDB를 액상제제로 설계하기 위해 수용성 유도체화¹⁵⁾와 다양한 가용화 연구들이 시도되어 왔다. 김 등¹⁶⁾은 인지질과 우르소스테옥시콜린산나트륨과의 혼합미셀계에서 DDB의 용해도를 약 400 µg/ml까지 증가시키고, 경구투여시 흡수가 인정되지 않았으나 십이지장 투여시는 흡수가 관찰되었다고 하였다. Park 등¹⁷⁾은 PEG 400-글리세린 혼합액 (95:5)에서 DDB의 용해성을 확보하고 이 용액을 빈갑셀에 충전하여 용출률을 현저히 향상시켰다. Chun 등¹⁸⁾은 DDB의 PEG 300 용액에 코폴리비돈과 글리실리진산암모늄을 각각 1 및 0.5% 첨가하여 물과의 희석시 침전형성을 억제시킬 수 있는 액상 조성물을 보고하였다. Bae 등¹⁹⁾은 PEG 400을 60%, 침전 방지제로 Cremophor® RH 40을 5% 사용한 DDB 액제에서 만족할 만한 용해성과 물리적 안정성을 보였다고 하였다. 또한 Cho 등²⁰⁾은 오일과 계면활성제로 구성된 DDB의 premicroemulsion concentrate를 제조하여 용출성을 크게 증가시키고 저용량에서 높은 생체이용률을 얻었다.

이상에서와 같이 고형제제로부터 DDB의 용출 증가와 상당량의 계면활성제와 비수성 용제를 사용한 DDB의 경구 액상 조성물에 대해 검토되어 왔으나 주사제로서의 가능성을 검토한 보고는 거의 없다. 난용성 약물의 주사제 처방에 Cremophor®나 Tween류와 같은 계면활성제의 사용은 간독성 등 여러 가지 독성을 일으킬 우려가 있으며 고농도의 비수성 용제를 사용하는 경우는 정맥주사시 약물의 미세 침전이 일어나 생체이용률의 변동, 통증 또는 정맥염을 일으킬 수 있으며 근육주사시는 근육독성을 야기할 수 있다.²¹⁻²³⁾

따라서 이 연구에서는 계면활성제를 함유하지 않는 DDB 주사제의 제제설계를 목적으로 수종의 용제와 hydrotrope류에 의한 DDB의 가용화를 검토하고 수성의 액상 조성물에 대하여 용혈시험을 행하였다.

실험방법

재료 및 시약 - 재료로 DDB 원액은 태평양제약으로

부터 제공받은 것을 그대로 사용하였다. 살리실산나트륨, 안식향산나트륨, 겐티신산나트륨, *p*-히드록시안식향산나트륨, *m*-히드록시안식향산, 2,4-디히드록시안식향산, 2,6-디히드록시안식향산, 구연산나트륨, 아스코르빈산, 니코틴산아미드, 탄산수소나트륨(Sigma Chemical Co.) 및 2,4,6-트리히드록시안식향산(Fluka Chem. Co.)을 썼으며, 용제로는 디에칠렌글리콜모노에틸에텔(DGME, Transcutol®), PEG-8 glyceryl caprylate/caprate(Labrasol®) (Gattafossé), 폴리에틸렌글리콜(PEG) 300 및 400(Shinyo Pure Chem. Co.) 등을 썼으며, HPLC 급의 아세토니트릴 및 메탄올(Fisher Scientific)을 사용하였다.

기기 및 장치 - 고속액체크로마토그래프(Perkin-Elmer, series 410, USA), 분광광도계(Jasco, V-530, Japan), 항온진탕수욕장치(D-6072, Karl Kolb model 171-100, Germany), pH 측정기(Accumet® 925, pH meter, Fisher Scientific, USA) 등을 사용하였다.

DDB의 정량 - DDB를 메탄올에 녹여 10 µg/ml로 하여 표준액으로 하고 프레드니솔론을 메탄올에 녹여 10 µg/ml로 하여 내부표준액으로 하였다. 검액 및 표준액 각 200 µl에 내부표준액 200 µl씩을 넣어 섞고 그 20 µl를 다음의 조건에서 HPLC에 주입하였다. HPLC(Perkin-Elmer series 410) 및 검출기 LC 90 UV spectrophotometric detector, 데이터 처리장치 Varian 4290 integrator를 사용하고 칼럼으로는 guard 칼럼(µBondapak C18 precolum insert, Waters)이 부착된 Ultrasphere C8(4.6×150 mm)을 사용하고 이동상으로는 아세토니트릴·메탄올·물 혼합액(28:38:34 v/v)을 써서 유속을 1.0 ml/min으로 유출시켜 파장 254 nm에서 검출하였다.

수종 비수성 용제에서의 DDB의 용해도 측정 - 각 용제 1 ml에 일정 과량의 DDB를 넣어 37°C에서 용해평형에 도달할 때까지 72시간 이상 진탕하여 0.45 µm 멤브레인필터(Whatman, PVDF syringe filter)로 여과하고 여액 100 µl를 정확히 취하여 메탄올 10 ml를 넣어 희석하였다. 이 액 200 µl를 내부표준액과 섞어 이 액 20 µl를 HPLC에 주입하였다. 따로 DDB 메탄올 용액 200 µl와 내부표준액 200 µl를 혼합한 액을 표준액으로 하여 얻은 피크면적으로부터 검액중 DDB의 농도를 산출하였다.

Hydrotrope류가 물에서의 DDB 용해도에 미치는 영향 - Darwish 등²³⁾의 방법에 따라 나트륨염의

Table I - Formulations for DDB aqueous solutions

Ingredients	FN-1	FN-2	FN-3	FN-4	FN-5	FN-6
DDB (mg)	2	2	2	4	4	4
Sodium salicylate (mg)		1,601			1,601	
Sodium benzoate (mg)			1,441			1,441
PEG 400-water cosolvent (50:50 v/v) (ml)	10	10	10	10	10	10

hydrotrope류(살리실산나트륨, 안식향산나트륨, 겐티신나트륨, *p*-히드록시안식향산나트륨)는 각각 물에 녹여 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 및 2.0 M의 농도로 제조하였고 acid 형태의 hydrotrope류(2,6-디히드록시안식향산, 2,4,6-트리히드록시안식향산, *m*-히드록시안식향산)는 각각 같은 당량의 탄산수소나트륨 용액으로 반응시켜 나트륨염의 형태로 바꾼 후 각각 물에 녹여 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 M의 농도의 용액을 제조하였다. Hydrotrope류중 난용성인 2,4-디히드록시안식향산은 같은 당량의 탄산수소나트륨 용액과 반응시켜 나트륨염의 형태로 바꾼 후 물에 녹여 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 M의 농도로 제조하였다. 각 용액 1.0 ml씩을 바이알에 취하여 일정 과량의 DDB를 넣고 37°C에서 48시간 이상 진탕시켜 방치한 다음 멤브레인필터(0.45 µm)로 여과하였다. 이 여액 100 µl를 취하여 물 900 µl를 넣어 10배로 희석한 후 200 µl를 취하고 내부표준액 200 µl와 섞어 그 20 µl를 HPLC에 주입하였다. 한편 니코틴산아미드 및 아스코르빈산은 각각 물에 녹여 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 및 2.0 M 농도로 제조하였고 각 농도별로 1.0 ml씩 바이알에 넣은 후 일정 과량의 DDB를 가하여 37°C에서 48시간 이상 진탕한 후 멤브레인필터(0.45 µm)로 여과하였다. 그 200 µl를 취하여 내부표준액 200 µl와 섞어 그 20 µl를 HPLC에 주입하였으며 필요에 따라서는 각 액을 물로 10배 희석하여 검출하였다.

Hydrotrope류가 공용제에서의 DDB 용해도에 미치는 영향 - PEG 300-물 공용제 3종(20:80, 40:60 및 50:50 v/v)과 PEG 400-물(50:50) 및 DGME-물 공용제(50:50)에 살리실산나트륨 및 안식향산나트륨을 첨가하여 여러 농도의 용액을 제조하였다. 각각의 액 1.0 ml에 일정 과량의 DDB를 가한 후 37°C에서 48시간 이상 진탕시킨 후 2시간 이상 방치하고 멤브레인필터로 여과하였다. 여액 200 µl와 내부표준액 200 µl를 섞어 그 20 µl를 취하여 HPLC에 주입하였다. 이때 필요에 따라서는 메탄올로 10배 희석하여 분석하였다.

DDB 용액의 물과 혼화시의 침전 관찰 - 물과 혼화하는 비수성 용제로 PEG 300, DGME, DGME-Labrasol(90:10)을 사용하여 DDB의 포화용액을 멤브레인필터(0.45 µm)로 여과하여 제조하고 이 액 100 µl를 물 10 ml와 섞고 경시적인 침전 형성을 육안으로 관찰하였다. 따로 PEG 400-물 공용제(50:50) 중 살리실산나트륨 및 안식향산나트륨을 각각 1 M 농도로 첨가한 후 물과 혼화시 DDB의 침전 억제 효과를 관찰하기 위하여 다음 Table I과 같은 DDB 용액을 제조하고 각 용액 1.0 ml를 취하여 물 10 ml와 섞고 시간에 따른 침전형성을 육안과 현미경으로 관찰하였다.

DDB 수성용액에 의한 용혈 시험 - DDB 수성 용액에 의한 용혈 시험을 실시하기 위해 Table II와 같은 DDB 주사액 처방으로 5종의 DDB 용액을 제조하였다. Rajewski 등²⁴⁾의 방법에 따라 건강한 지원자로부터 human blood를 채혈하여(혈액응고 방지를 위해 10% 구연산나트륨 용액을 혈액 5 ml에 대해 0.2~0.3 ml 첨가) 원심분리관에 넣고 1000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 제거하고 적혈구 덩어리를 normal buffered saline(154 mM 염화나트륨 용액, 10 mM 인산염, pH 7.4)으로 현탁하였다. 이것을 생리식염수로 3회 세척한 후 이액 1 ml를 생리식염수 24 ml로 희석하여 4%의 혈구액을 만들었다. 각 원심분리관에 4%로 희석한 혈구액을 각각 2 ml씩 넣고

Table II - Formulations of DDB aqueous injections used for hemolysis study

Ingredients	Formulations				
	A	B	C	D	E
DDB (mg)	2	2	2	2	2
Sodium benzoate (mg)	200	200	200	200	200
Water for injection (ml)	1.6	2.4	5.0	2.4	
Sodium chloride injection (ml)					2.4
PEG 300 (ml)				3.6	3.6
DGME (ml)	2.4	3.6	5.0		
To make	4.0	6.0	10.0	6.0	6.0

각 DDB 용액을 0.4 ml씩 넣은 후 37°C에서 30분간 진탕하고 1500 rpm에서 5분간 원심분리하여 검액을 만들었으며 대조로 normal buffered saline을 사용하였고 각 검액은 파장 588 nm에서 흡광도를 측정하였다. 따로 4% 혈구액 2 ml에 주사용수를 0.4 ml를 넣고 sonication을 하여 완전 용혈을 일으킨 후 이의 흡광도를 100%로 하여 각 DDB 용액의 용혈률로 표시하였다. 용혈시험은 3회 반복하였으며 그 평균값을 용혈률로 하였다.

실험결과 및 고찰

비수성 및 수성 공용제중 DDB의 용해성 - DDB는 물에 거의 녹지 않는 것으로 보고되고 있다.¹⁰⁾ Table III은 물에 거의 녹지 않는 DDB를 가용화시키기 위하여 여러 비수성 용제 중에서의 용해성을 측정한 결과이다. 이에서 보는 바와 같이 PEG 400>PEG 300>DGME>Labrasol[®]의 순으로 PEG 400에서의 용해도가 가장 컸으며 37°C에서 PEG 400 중에서의 용해도는 17.7 mg/ml, PEG 300에서는 14.9 mg/ml이었고

Table III - Solubility of DDB in various non-aqueous vehicles at 37°C

Vehicles	Solubility (mg/ml)
PEG 300	14.9
PEG 400	17.7
DGME	11.4
Labrasol [®]	7.3

Labrasol : PEG-8 glyceryl caprylate/caprate. DGME: diethylene glycol monoethyl ether.

Table IV - Solubility of DDB in various cosolvents at 37°C

Cosolvents (v/v)	Solubility (μg/ml)
PEG 400:water = 0:100	1.54
PEG 400:water = 20:80	22.0
PEG 400:water = 40:60	61.2
PEG 400:water = 60:40	490.6
PEG 400:water = 80:20	4,246
PEG 400:water = 100:0	17,693
DGME:water = 20:80	19.3
DGME:water = 40:60	159.8
DGME:water = 60:40	1,339
DGME:water = 80:20	2,725
DGME:water = 100:0	11,373

DGME : diethylene glycol monoethyl ether.

이 결과는 Bae 등¹⁹⁾의 실험결과와 유사한 값이라 할 수 있다.

Table IV는 PEG 400-물, DGME-물 공용제에서의 DDB의 용해성을 나타낸 결과이다. PEG 400 중 물의 비율이 커짐에 따라 DDB의 용해도는 현저히 감소하였고, 또한 DGME-물 공용제에서도 물의 비율이 높아짐에 따라 감소하였으나 PEG 400-물 공용제에 비하여 완만하게 감소하는 경향을 보여 주었다. DGME-물(60:40) 공용제에서의 용해도는 1.34 mg/ml로 PEG 400-물(60:40) 공용제에 비해 DDB의 용해성이 약 2.7 배 컸다. 따라서 공용제를 사용할 때는 물의 비율이 높은 공용제에서는 PEG 400 보다 오히려 DGME가 유리함을 알 수 있었다. 단일 용제중에서는 PEG 400 이 DDB에 대한 용해성이 가장 좋았으나 DDB를 용해시킨 PEG 400을 냉장(4°C) 보관시 응고하는 현상을 보여 주사제나 액상제제의 용제로서는 보관상의 부적합성이 보였다. 따라서 PEG 400 보다는 용해성이 다소 떨어지나 냉장 보관시에도 응결되지 않은 PEG 300을 사용하는 것이 바람직하다고 생각된다.

수용액 중 hydrotrope류의 첨가가 DDB의 용해도에 미치는 영향 - 수용액 중 안식향산나트륨과 수중의 히드록시안식향산류 등의 존재시 DDB의 용해도 상도를 Fig. 1과 2에 나타낸다. 안식향산나트륨, 살리실산나트륨 및 니코틴산아미드에서는 이들의 농도 증가에 따라 DDB의 용해도가 급격히 증가되었다. 반면 디히드록시 및 트리히드록시안식향산류는 자체의 용해도가 낮아 용해력에 제한이 관찰되었는데 이는 Darwish 등

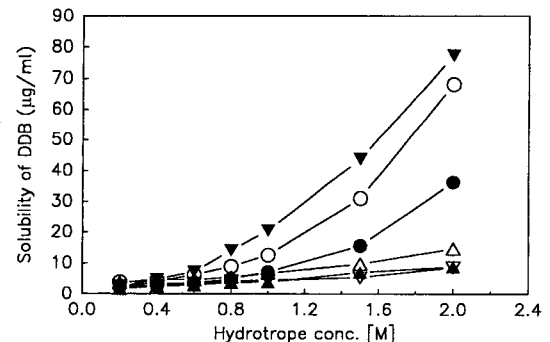


Fig. 1 - Solubilization of DDB by various hydrotropic agents in water at 37°C. Key : ○; sodium salicylate (sodium *o*-hydroxybenzoate), ●; sodium benzoate, △; sodium 2,5-dihydroxybenzoate (sodium gentisate), ▲; sodium *p*-hydroxybenzoate, ▼; nicotinamide, and ▽; ascorbic acid.

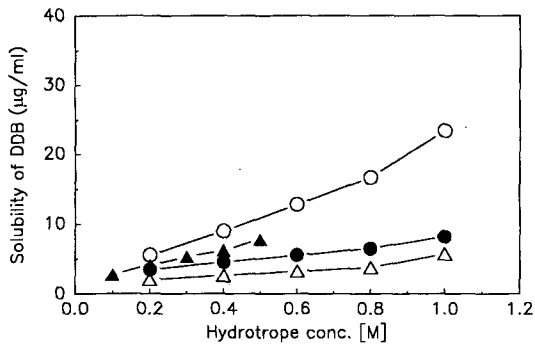


Fig. 2 - Solubilization of DDB by various hydrotropic agents in water at 37°C. Key : ○; sodium 2,6-dihydroxybenzoate, ▲; sodium 2,4-dihydroxybenzoate, △; sodium *m*-hydroxybenzoate, and ●; sodium 2,4,6-trihydroxybenzoate.

²³)의 etoposide에 대한 가용화시험 결과와 일치된다. 방향환의 히드록실기 부가 수 및 위치에 따른 DDB의 가용화 효과는 0.4 M 농도에서 *p*-히드록시안식향산나트륨 ≤ 안식향산나트륨 ≤ *m*-히드록시안식향산나트륨 < *o*-히드록시안식향산나트륨 (살리실산나트륨) < 2,5-디히드록시안식향산나트륨 < 2,4,6-트리히드록시안식향산나트륨 < 2,4-디히드록시안식향산나트륨 < 2,6-디히드록시안식향산나트륨의 순서이었다. 이러한 순서는 대체로 etoposide에 대한 결과²³)와 유사하다. 그러나 디히드록시 및 트리히드록시안식향산류는 자체의 용해도가 낮아 용해력에 제한이 있다. 결과적으로 DDB의 용해도는 2 M 살리실산나트륨, 안식향산나트륨, 젠티신산나트륨(2,5-디히드록시안식향산나트륨), *p*-히드록시안식향산나트륨 용액에서 DDB의 용해도가 물에서의 용해도 (1.54 µg/ml)에 비해 각각 44.2, 23.5, 9.5 및 5.6배 증가되었다. 또 0.4 M 2,6-디히드록시안식향산나트륨, 2,4-디히드록시안식향산나트륨, 2,4,6-트리히드록시안식향산나트륨, *m*-히드록시안식향산나트륨 용액에서는 각각 4.9, 4.1, 3.2 및 2.2배 증가되었다. 이와 같이 고농도 hydrotrope류의 존재시 DDB의 가용화는 이 약물이 중성 약물임을 고려할 때 단순한 pH 변화로 설명될 수 없다.

또한 Fig. 1에서와 같이 아스코르빈산과 니코틴산아미드의 존재시는 아스코르빈산이 0.4 M일 때 DDB의 용해도는 2.3배 증가되었는데 이는 *m*-히드록시안식향산나트륨과 비슷한 정도이다. 반면 니코틴산아미드는 살리실산나트륨과 비슷한 정도로 DDB를 가용화하여 2 M일 때 DDB의 용해도가 44.0배 증가되었다.

이와 같이 난용성 약물의 가용화에 hydrotrope류가 이용되어 왔다. Badwan 등²⁵)은 살리실산나트륨 용액 중 벤조디아제핀류 약물의 가용화를 보고하였고, Hamza 등²⁶)은 파라세타몰의 가용화에 여러 종류의 hydrotrope를 검토하여 살리실산나트륨과 니코틴산아미드가 효과적이었었다고 하였으며, Jain 등²⁷)은 안식향산나트륨, 살리실산나트륨 및 기타 hydrotrope류를 이용하여 nifedipine의 용해도를 증가시켰다고 보고하였다. Darwish 등²³)은 etoposide의 가용화에 여러 히드록시안식향산류의 효과를 비교하여 보고하고, etoposide 비수성 주사액은 혈장과 희석시 즉시 침전이 형성되었으나 2 M 살리실산나트륨 용액에 녹인 주사액은 혈장과 1:2~1:10으로 희석시 1.5시간 이상 침전형성을 억제시킬 수 있었다고 하였다.

Hydrotrophy의 개념은 원래 Neuberger²⁸)에 의해 음이온성 유기염이 고농도로 존재할 때 난용성 용질의 수용해도를 증가시키는 물질에 한정되었지만 근년 Saleh 등²⁹)은 용액중에서 증적될 수 있는 평면구조를 가진 수용성의 양이온 물질을 hydrotrope의 정의에 포함하였다. Hydrotrope에 의한 가용화 기전에는 복합체 형성, 염용효과 및 용제의 성질 변화 등이 제시되었지만²²) Poochikian 등³⁰)은 히드록시안식향산류에 의한 가용화는 정전적 및 소수성 상호작용에 의해 평면의 난용성 분자와 hydrotrope 분자간의 면대면 배향에 기인한다고 하였다. 여러 안식향산 유도체류에 따른 DDB의 가용화 효과의 차이는 배위자의 증가된 전하 운과 커풀링된 카르복실기 이온 전하의 비극화와의 차이로 부분적으로 설명할 수 있다. 그러나 이러한 donor-acceptor 기전만으로는 어떤 임계농도 이상에서의 현저한 용해도 증가를 설명하기는 곤란하다. DDB 분자의 평면구조가 어떤 농도 이상에서 형성된 증적 응집체 내에 포접되는 것이 가능하다.²⁵) 따라서 이러한 효과와 함께 고농도의 hydrotrope가 응집함에 따른 물분자의 재배열과 소수성의 증가가 DDB의 현저한 용해도 증가에 관련된다고 생각된다. 한편 니코틴산아미드가 리보플라빈을 자기회합에 의해 현저히 가용화시킨 것처럼²²) DDB를 니코틴산아미드의 회합체 내에 포접을 하여 용해도를 증가시킨 것으로 생각된다.

공용제중 hydrotrope류의 첨가가 DDB의 용해도에 미치는 영향 - 앞에서 기술한 바와 같이 살리실산나트륨, 안식향산나트륨 및 니코틴산아미드는 DDB의 가용화제로 활용될 수 있다고 생각된다. 그러나 수용액

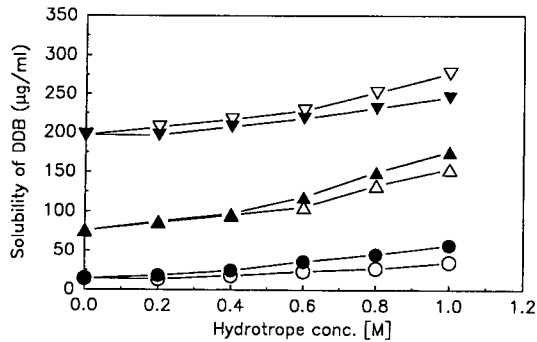


Fig. 3 - Effect of sodium salicylate (SS) and sodium benzoate (SB) on the solubility of DDB in PEG 300-water cosolvents at 37°C. Key : ○; PEG 300-water (20:80) with SB, ●; PEG 300-water (20:80) with SS, △; PEG 300-water (40:60) with SB, ▲; PEG 300-water (40:60) with SS, ▽; PEG 300-water (50:50) with SB and ▼; PEG 300-water (50:50) with SS.

에서 가용화 효과가 가장 큰 살리실산나트륨도 1 및 2 M 용액에서 DDB를 각각 약 12.6 및 68.2 µg/ml 정도밖에 가용화시키지 못하여 수용액으로 주사제를 설계하기는 곤란하다. 따라서 PEG 300-물 공용체중 살리실산나트륨 및 안식향산나트륨의 첨가가 DDB의 용해도에 미치는 영향을 검토한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 물과의 공용체중 PEG 300의 비율이 20, 40, 50%로 증가함에 따라 DDB의 용해도가 각각 14.6, 75.8 및 196.8 µg/ml로 증대되었으며 이들 공용체에 안식향산나트륨을 1 M 농도로 함유시킨 경우는 DDB의 용해도를 각각 35.2, 154.3 및 277.2 µg/ml로 현저히 증대시켰고, 살리실산나트륨의 경우는 각각 58.6, 176.5 및 245.7 µg/ml로 증대시켰다. PEG 300-물 공용체에 hydrotrope류를 첨가함으로써 얻어진 용해도 증가는 같은 몰농도의 수용액에서보다 훨씬 컸다. 한 예로 1 M 안식향산나트륨을 함유하는 PEG 300-물 공용체(40:60)에서의 DDB 용해도가 175.5 µg/ml로 hydrotrope를 함유하지 않는 공용체에서의 용해도 75.8 µg/ml에 비해 용해도 증가분이 약 100 µg/ml이었으나 물에서의 용해도 증가분은 5.7 µg/ml에 불과하였다. 즉, 물에서보다 공용체에 안식향산나트륨을 첨가함으로써 약 18배의 가용화효과가 얻어졌다.

Fig. 4에는 PEG 400-물 및 DGME-물 공용체 (50:50) 중 hydrotrope류의 첨가가 DDB의 용해도에 미치는 영향을 나타내었다. PEG 400-물 공용체에서의 용해도는 163 µg/ml이었으나 1 M 안식향산나트륨과

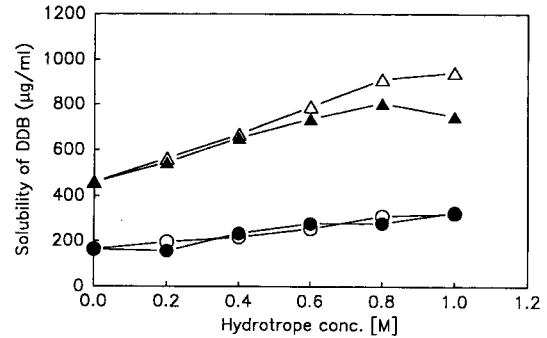


Fig. 4 - Effect of sodium salicylate (SS) and sodium benzoate (SB) on the solubility of DDB in PEG 400-water and DGME-water cosolvents at 37°C. Key : ○; PEG 400-water (50:50) with SB, ●; PEG 400-water (50:50) with SS, △; DGME-water (50:50) with SB, and ▲; DGME-water (50:50) with SS.

살리실산나트륨이 첨가된 경우는 각각 약 324 및 330 µg/ml로 증대되었다. 또 DGME-물 공용체에서의 용해도는 459 µg/ml이었으나 1 M 안식향산나트륨과 살리실산나트륨이 첨가된 경우는 각각 약 944 및 749 µg/ml로 증대되었다. PEG 400-물 공용체(50:50)에 안식향산나트륨이 첨가된 경우 1 M 농도에서 DDB의 용해도 증가분은 약 485 µg/ml로 물에서의 용해도 증가분은 5.7 µg/ml에 비하여 85배 증대되었다. 이와 같이 공용체에서 hydrotrope류의 첨가는 DDB의 용해도를 현저히 증대시킴으로써 주사제의 설계에 활용될 수 있다고 생각된다.

물에서 2-히드록시프로필-β-시클로덱스트린과 메칠테스토스테론 간의 복합체형성에 의한 가용화는 프로필렌글리콜이 첨가된 공용체에서는 그 양이 증대할수록 용해도상도의 기울기가 감소되었는데 이는 복합체의 해리에 기인한 것이며 용제의 첨가로 hydrogen bridge의 형성에 의한 물구조의 안정화와 소수성화 때문인 것으로 보고되어 있다.³¹⁾ 따라서 공용체에 첨가된 hydrotrope류는 물에서보다 밀접한 층적구조의 형성, 층적체의 소수성 및 면대면 상호작용의 증가로 인하여 DDB가 그 내부에 포접되기 용이해지기 때문인 것으로 생각된다.

DDB 용액의 침전 관찰 - 비수성 용체중 DDB 포화 용액 0.1 ml를 물 10 ml에 넣어 섞은 후 물을 대조로 하여 DDB의 침전형성을 관찰하였을 때 용체에 따라 PEG 300, DGME, DGME:Labrasol®(90:10)에서 1시간 후부터 침전이 생기기 시작하였다. 이중 DGME

Table V – Precipitate formation of hydrotrope-containing DDB solutions when mixed with water

Time (hr)	FN-1	FN-2	FN-3	FN-4	FN-5	FN-6
0	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	+	-	-
1.0	+	-	-	+	-	-
2.0	+	-	-	+	+	+
3.0	+	-	-	+	+	+
4.0	+	+	+	+	+	+

For formulation codes, FN-1~FN-6, refer to Table I.

가 침전이 가장 많이 생겼고 나머지는 비슷한 정도이었다. 2시간 후에는 Labrasol® 단독에 녹인 DDB 용액에서도 침전이 생겼다. 이는 DDB의 비수성 용액이 혈관에 주입되었을 때 침전형성이 일어날 가능성을 나타낸다. 따라서 물과의 혼화시 침전형성을 억제시키고자 PEG 400-물(50:50) 공용체에 살리실산나트륨 및 안식향산나트륨을 1 M 농도로 녹이고 이것에 DDB를 20 및 40 mg% 용액을 제조하고 이 액 1.0 ml를 물 10 ml와 섞어 경시적인 침전형성을 관찰하였다. 그 결과는 Table V에서와 같다. 혼화 초기에는 모든 용액 조성에서 변화가 없었으나 30분 경과 후 FN-1 및 FN-4의 양성 대조에서 침전이 생기기 시작하였고, 살리실산나트륨 및 안식향산나트륨을 첨가한 DDB 용액(4 mg/10 ml) FN-5 및 FN-6에서는 2시간 후부터 침전이 보이기 시작하였다. 살리실산나트륨 및 안식향산나트륨을 첨가한 DDB 용액(2 mg/10 ml) FN-2 및 FN-3에서는 4시간 후부터 침전이 형성되기 시작하였다. Etoposide의 비수성 주사액은 혈액과 혼화시 즉시 침전을 생성하였다고 하였으나²³⁾ DDB는 물에서 과포화상태의 지속시간이 상대적으로 긴 것으로 보인다. 이러한 결과로 보아 살리실산나트륨이나 안식향산나트륨의 첨가는 물과의 혼화시 PEG 400-물 공용체로부터 DDB의 침전형성을 억제시키는 효과가 있으며 DDB 용액의 농도가 낮을수록 물과의 혼화시 침전형성이 지연되었다. 따라서 이와 같은 조성의 DDB 용액이 정맥주사되는 경우 혈액과 혼화될 때 침전형성 가능성은 없을 것으로 생각된다.

DDB 주사액 처방의 설계 및 용혈성 – DDB 캡셀의 경구 용량이 7.5 mg이므로 주사제 용량을 2 mg으로 가정하였다. 이를 가용화할 수 있는 조성으로 60:40의 PEG 300-물, PEG 400-물 및 DGME-물 공용체에서 DDB의 용해도가 각각 1.16, 0.49 및 1.34 mg/ml로

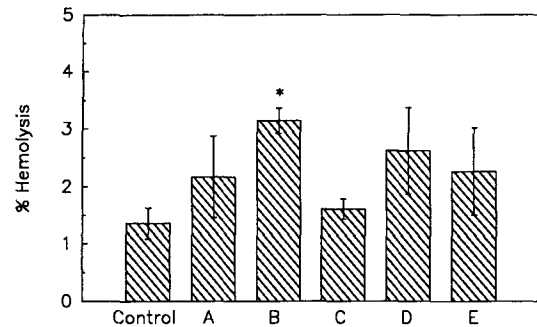


Fig. 5 – Effect of various DDB solutions on the hemolysis of human erythrocytes. Key : Control; normal buffered saline. Formulation codes of A, B, C, D and E are the same as in Table II.

나타나 있어 주사제 설계에는 주로 용해력이 큰 60:40의 DGME-물 및 PEG 300-물 공용체를 사용하였다. DDB의 농도는 이를 충분히 가용화될 수 있는 2 mg/4 ml, 2 mg/6 ml 및 2 mg/10 ml로 하였다. 또 hydrotrope로는 Fig. 3과 4에서와 같이 PEG와 DGME의 비율이 높은 공용체에서는 안식향산나트륨의 가용화 효과가 살리실산나트륨보다 크게 나타났고, 용혈성도 살리실산나트륨보다 적다는 보고²³⁾에 따라 안식향산나트륨을 선정하였다. 살리실산나트륨의 경우 0.35 M 이상에서 용혈을 일으킬 우려가 있어²³⁾ 안식향산나트륨의 첨가농도를 Table II에서와 같이 0.35(처방 A), 0.23(처방 B, D, E), 0.14 M(처방 C) 농도로 첨가하여 용혈시험을 행하였다.

Table II의 DDB 주사제 처방을 가지고 용혈시험을 행한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 이때 대조로는 normal buffered saline을 사용하였다. DDB 주사액의 사람 적혈구에 대한 용혈은 control에 비해 처방 B를 제외하고 유의성 있는 차이는 없었으나 대체적으로 B>D>E>A>C>control의 순이었다. Rajewski 등²⁴⁾이 sulfobutyl ether β -cyclodextrin의 사람 적혈구에 대한 용혈시험에서 3,6-sulfobutyl ether β -cyclodextrin과 7-sulfobutyl ether β -cyclodextrin의 용혈률이 최고 15%이었으나 이는 무시할 수 있는 정도라 하였으며 주사제로서의 안전성이 있다고 발표하였다. 따라서 이와 같은 방법으로 실시한 DDB 주사액 처방에 의한 용혈이 많이 일어난 처방 B도 그 용혈률이 3.1%에 불과하였으므로 각 DDB 주사액 처방의 용혈성은 거의 없거나 매우 낮다고 생각된다. 특히 처방 C의 경우는 normal buffered saline을 사용한 대조와 비교해

도 거의 차이가 없었다. 또한 이들 처방 조성물을 실온에서 2개월간 보존하였을 때 검체 A, B, C, D는 침전이 생기지 않았으나 생리식염액을 사용하여 조제한 검체 E에서는 침전이 생성되었다. 이상과 같은 결과를 종합하여 볼 때 공용제의 조성과 hydrotrope의 종류와 첨가량을 적절히 함으로써 보다 물리적으로 안정하고 생리적으로 안전한 주사제의 설계가 가능하다고 생각된다.

결 론

난용성인 약물인 비페닐디메틸디카르복실레이트(DDB)의 주사제를 설계하고자 수중 용제류와 hydrotrope류가 DDB의 용해성에 미치는 영향을 검토하고 액상 주사제 처방을 설계하여 침전형성 및 용혈 시험을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DDB의 가용화에는 PEG 400과 300이 양호하였으며, PEG 400의 DDB 용액은 냉장 보관시 응고하여 액상제제의 용제로 PEG 300이 적합하였다.

2. 수용액 중 살리실산나트륨과 안식향산나트륨의 농도가 높을수록 DDB의 용해도를 증대시켰으며, 이들은 수용액에서보다 PEG 400-물, 300-물 및 DGME-물 공용제에서 DDB를 현저히 가용화시켰고 물과의 혼화시 DDB의 침전석출을 억제시켰다.

3. PEG 400-물(60:40) 및 DGME-물(60:40) 공용제 4~10 ml에 DDB 2 mg 및 안식향산나트륨 200 mg을 첨가하여 설계한 DDB 주사액 처방은 모두 사람 적혈구에 대해 용혈성이 거의 없거나 매우 낮았다.

이상과 같은 연구 결과는 새로운 DDB 주사제 설계를 위한 기초적인 자료가 된다고 생각된다.

문 헌

- Xie, J. X., Zhou, J., Yang, J. H., Chen, J. X. and Jin, H. Q. : Synthesis of scizandrin C analogs. *Acta Pharm. Sinica* **16**, 306 (1981).
- Liu, K. T. : From the study of Fructus schizandrae to the discovery of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *Acta Pharm. Sinica* **18**, 714 (1983).
- Chang, Y. X., Yu, H. G., Shi, J. Z. and Yong, A. L. : Therapeutic effects of DDB and traditional chinese medicine and alpha-feroprotein elevation of chronic viral hepatitis B and cirrhosis. *Beijing Med. J.* **4**, 225 (1982).
- Wang, C. F. : Clinical effects of DDB pillues on 209 cases of viral hepatitis and cirrhosis. *Beijing Med. J.* **6**, 350 (1984).
- Kim, D. W. and Kang, B. K. : Clinical study for low dose and short-term therapy of biphenyl dimethyl dicarboxylate (DDB) in chronic hepatitis patients with elevated serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase levels. *Kor. J. Clin. Pharm.* **3**, 45 (1993).
- Liu, K. T. and Lesca, P. : Pharmacological properties of dibenzo(a,c)cyclooctene derivatives isolated from Fructus Schizandrae. chinensis III. Inhibitory effects on carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation, metabolism and covalent binding of carbon tetrachloride to lipid. *Chem. Biol. Interactions* **41**, 39 (1982).
- Kim, S. S., Oh, H. Y., Kim, H. R., Yang, J. S., Kim, D. S., Sheen, Y. Y. and Choi, K. H. : Effect of biphenyl dimethyl dicarboxylate on cytochrome P₄₅₀ 1A1 and 2B1 and CCl₄-induced hepatotoxicity in rat liver. *Yakhak Hoeji* **43**, 827 (1999).
- Gu, S. J., Wang, X. L., Gao, W. W., Qiao, P. X., Wang, A. G., Qiang, Z. Y. and Song, Z. Y. : Bioavailability studies on the preparations of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *Acta Pharm. Sinica* **25**, 215 (1990).
- Gu, S. J., Gao, W. W., Qiao, P. X., Wang A. G. and Qiang, Z. Y. : The dissolution rate and physical dispersion state of preparations of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *Acta Pharm. Sinica* **24**, 859 (1989).
- Hyun, J. and Chun, I. K. : Dissolution characteristics of biphenyl dimethyl dicarboxylate from solid dispersions and permeation through rabbit duodenal mucosa. *J. Kor. Pharm. Sci.* **24**, 57 (1994).
- Lee, S. A., Song, K., Park, E. J., Sohn, D. H., Go, G. I. and Kim, J. B. : Enhancement of dissolution properties through formulations of insoluble drug biphenyl dimethyl dicarboxylate. *J. Kor. Pharm. Sci.* **26**, 23 (1996).
- Lee, J. W., Park, E. S. and Chi, S. C. : Formulation optimization of the tablet prepared with solid dispersion of biphenyl dimethyl dicarboxylate with poloxamer. *J. Kor. Pharm. Sci.* **28**, 267 (1998).
- Moon, J. H. and Chun, I. K. : Enhanced dissolution and permeation of biphenyl dimethyl dicarboxylate

- using solid dispersions. *J. Kor. Pharm. Sci.* **29**, 227 (1999).
- 14) Sohn, Y. T., Park, M. S. and Kwon, S. K. : Polymorphism of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *J. Kor. Pharm. Sci.* **26**, 193 (1996).
 - 15) Moon, J. O., Cheung, K. O., Kim, S. H., Kim, N. D., Lee, S. K., Yang, H. S. and Lee, C. H. : Effect of a water soluble dimethyl dimethoxy biphenylate derivative on the carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *J. Kor. Pharm. Sci.* **27**, 173 (1997).
 - 16) 김성남, 심창구, 이민화, 김신근 : 혼합 미셀계를 이용한 DDB의 경구투여 제형 개발. 제 43회 대한약학회 총회 및 학술대회 요지집, PB 39 p. 124 (1994).
 - 17) Park, G. B., Chung, C. K. and Lee, K. P. : Solubilization and formulation as soft gelatin capsule of biphenyl dimethyl dicarboxylate. *J. Kor. Pharm. Sci.* **26**, 1 (1996).
 - 18) Chun, I. K., Gwak, H. S. and Moon, J. H. : Design and pharmaceutical evaluation of biphenyl dimethyl dicarboxylate soft elastic capsules. *J. Appl. Pharmacol.* **4**, 419 (1996).
 - 19) Bae, J. H., Park, E. S. and Chi, S. C. : Solubilization of biphenyl dimethyl dicarboxylate in aqueous solution. *J. Kor. Pharm. Sci.* **27**, 199 (1997).
 - 20) Cho, Y. J., Gao, Z. G. and Kim, C. K. : Enhanced bioavailability of DDB. *The 27th Annual Academic Convention of the Korean Society of Pharmaceutics* p. 27 (1997).
 - 21) Woolfson, A. D., McCafferty, D. F. and Launchbury, A. P. : Stabilization of hydrotropic temazepam parenteral formulations by lyophilisation. *Int. J. Pharm.* **34**, 17 (1986).
 - 22) Coffman, R. E. and Kildsig, D. O. : Hydrotropic solubilization-Mechanistic studies. *Pharm. Res.* **13**, 1460 (1996).
 - 23) Darwish, I. A., Florence, A. T. and Saleh, A. M. : Effects of hydrotropic agents on the solubility, precipitation and protein binding of etoposide. *J. Pharm. Sci.* **78**, 577 (1989).
 - 24) Rajewski, R. A., Traiger, G., Bresnahan, J., Jaberabansari, P., Stella, V. J. and Thompson, D. O. : Preliminary safety evaluation of parenterally administered sulfoalkyl ether β -cyclodextrin derivatives. *J. Pharm. Sci.* **84**, 927 (1995).
 - 25) Badwan, A. A., El-Khordagui, L. K., Saleh, A. M. and Khalil, S. A. : The solubility of benzodiazepines in sodium salicylate solution and a proposed mechanism of hydrotropic solubilization. *Int. J. Pharm.* **13**, 67 (1983).
 - 26) Hamza, Y. E. and Paruta, A. N. : Enhanced solubility of paracetamol by various hydrotropic agents. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **11**, 1577 (1985).
 - 27) Jain, N. K., Patel V. V. and Taneja, L. N. : Hydrotropic solubilization of nifedipine. *Pharmazie* **43**, 194 (1988).
 - 28) Neuberger, C. : Hydrotropy. *Biochem. Z.* **76**, 107 (1916).
 - 29) Saleh, A. M. and El-Khordagui, L. K. : Hydrotropic agents : a new definition. *Int. J. Pharm.* **24**, 231 (1985).
 - 30) Poochikian, G. K. and Craddock, J. C. : Enhanced chartreusin solubility by hydroxybenzoate hydrotropy. *J. Pharm. Sci.* **68**, 728 (1979).
 - 31) Müller, B. W. and Albers, E. : Effect of hydrotropic substances on the complexation of sparingly soluble drugs with cyclodextrin derivatives and the influence of cyclodextrin complexation on the pharmacokinetics of the drugs. *J. Pharm. Sci.* **80**, 599 (1991).