

시클로덱스트린류를 이용한 새로운 플루코나졸 수성 주사제의 설계

이소윤 · 전인구[#]

동덕여자대학교 약학대학

(Received May 15, 2001; Revised July 2, 2001)

Design of New Parenteral Aqueous Formulations of Fluconazole by the Use of Modified Cyclodextrins

So Yun Lee and In Koo Chun[#]

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

Abstract — The purpose of this study is to investigate the influence of cyclodextrins (CDs) and different acids on the solubility of fluconazole, and to formulate its more concentrated parenteral aqueous solution. Solubility studies of fluconazole with β -CD, 2-hydroxypropyl- β -CD (HPCD), sulfobutyl ether β -CD (SBCD) and dimethyl- β -CD (DMCD) were performed. The aqueous solubility of fluconazole was measured in different concentrations of different acids with or without addition of CDs. Solubility of fluconazole increased in the rank order of β -CD < SBCD < HPCD < DMCD. HPCD and SBCD were chosen as solubilizers owing to their high solubilizing property and their low systemic toxicity. ¹H-NMR studies confirmed the formation of an inclusion complex of fluconazole with HPCD. It was also shown by the NMR studies that the complex formed was a 1:1 complex. Among the different acids used, maleic acid and phosphoric acid increased solubility of fluconazole. The lower the pH of solution is, the more fluconazole dissolved, regardless of acids. Addition of HPCD (50 mM) to acid solutions increased the solubility about two times. New fluconazole injections at a dose of 10 mg/ml could be prepared in aqueous solutions containing 10% HPCD or 15% SBCD. These parenteral solutions did not form any precipitates at 4°C and was very stable at elevated temperatures. These results demonstrate that it is possible to develop a parenteral aqueous solution of fluconazole with a smaller injection volume using HPCD or SBCD.

Keywords □ Fluconazole, complexation, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, sulfobutyl ether β -cyclodextrin, solubilization, injections

플루코나졸은 종래의 케토코나졸이나 이트라코나졸과 같은 azole 계와는 다른 비스트리아졸 구조를 가지고 있으며, 간독성이 현저히 경감된 전신 및 표재성 감염 모두에서 유효한 경구용 항진균제이다.^{1,2)} 이 약물은 진균의 cytochrome P-450에 결합하여 라노스테롤이 에르고스테롤로 전환되는 것을 선택적으로 저해함으로써 항진균 작용을 나타낸다.³⁾ 이 약은 경구 생체이용률이 정맥주사의 90% 이상으로 매우 높으며 정맥주사제뿐 아니라 경구제제로서도 전신 및 표재성 감

염 모두에 유효하다. 더욱 수용액 중에서 안정하며 내약성도 우수할 뿐 아니라 뇌척수액, 타액, 피부, 조갑, 질조직 등 다양한 생체조직 중으로의 투과성이 높고 안전한 약물로서 주목받고 있다.^{4,7)} 플루코나졸 정맥주사제(2 mg/ml)는 100 mg/50 ml 및 200 mg/100 ml 바이알이 개발되어 있어 여러 종류의 수액제와 혼합하여 점적 주입되고 있다. 따라서 플루코나졸 정맥주사액의 용적을 줄여 앰플과 같은 유리용기를 사용할수 있다면 그 취급과 투여가 편리하고 종래의 폴리염화비닐제의 수액용 용기로부터의 가스제나 기타 유해한 물질의 용출을 감소시킬 수 있을 것으로 예상된다.

시클로덱스트린(CD)류는 난용성 약물의 포접 현상

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

에 의하여 주로 약물의 용해성, 안정성 및 생체이용률 향상, 액상 약물의 분말화, 약물간의 상호작용의 방지, 불쾌한 냄새나 맛의 은폐 및 약물송달 등에 이용되어 왔다.^{8,9)} β -CD는 여러 제제에 널리 응용되고 있지만 주사제에의 이용은 그 자체의 제한된 용해성과 용혈성 및 신장 독성¹⁰⁾으로 인하여 사용에 제한이 있다. 이러한 난점을 극복하고자 많은 CD 유도체들이 보고되어 왔는데 그 중에서도 2-히드록시프로필- β -시클로덱스트린(HPCD)¹¹⁻¹³⁾과 설포부틸에틸 β -시클로덱스트린(SBCD)¹⁴⁻¹⁶⁾이 보다 안전하고 그 자체의 용해성이 높아 많은 관심이 집중되고 있다.

HPCD는 β -시클로덱스트린의 히드록실기의 일부에 프로필렌옥시드를 첨가시켜 만든 것으로서 물에서의 자체 용해성은 높고 포접능은 β -CD에 비견할 만하며, 액상 및 고형제제에 응용되어 고농도의 가용화와 신속한 용출을 기대할 수 있다. 실제로 HPCD는 난용성 항진균제인 이트라코나졸¹⁷⁾ 및 미코나졸^{15,18)}의 가용화에 적용되었으며, 데사메타손¹⁹⁾과 카르바마제핀²⁰⁾의 주사제 처방에 응용된 바 있다.

SBCD는 설폰산나트륨염의 음이온성 β -CD 유도체로 설포부틸기의 도입으로 β -CD의 25배에 달하는 용해성의 향상과 우수한 포접능을 가지고 있으며 미국 Cydex Inc.의 Captisol[®]이라는 상품명으로 소개된 물질이다. SBCD의 음이온성은 신배설을 빠르게 하고 신장세포와의 접촉시간을 최소화시키기 때문에 안전한 비경구 약물송달물질로 쓰일 수 있다고 제시되었다.¹⁴⁾ 이의 응용으로 종래 주사제에서의 약물의 용해성 향상을 위한 공용매의 사용이나 생리적으로 부적합한 pH의 조건을 극복할 수 있고 정맥, 근육, 눈 등에 적용할 수 있는 제제의 설계가 가능할 것으로 기대된다.^{16,21,22)} SBCD로 가용화한 스테로이드 약물을 정맥 및 근육 주사하였을 때 약물속도론적 파라미터가 전통적인 공용매계를 사용한 경우와 동등한 것

으로 보고되었다.^{23,24)}

이 연구에서는 플루코나졸(Fig. 1)의 용해성을 향상시켜 높은 농도의 주사액 제조 가능성을 검토하고자 하였다. 이를 위하여 여러 종류의 CD류와의 복합체 형성, 각종 산류와의 염 형성 및 수중의 수용성 고분자를 이용하여 플루코나졸의 용해성 향상을 도모하였다. 또 이를 바탕으로 CD 함유 플루코나졸 수성 주사액 처방을 설계하여 경시 침전형성 여부를 관찰하고 안정성을 측정하였다. 또한 플루코나졸과 HPCD 간에 포접 복합체 형성을 ¹H-NMR을 이용하여 검토하였다.

실험방법

재료 및 시약 - 플루코나졸은 제약급을 사용하였다. CD류로는 β -CD, HPCD, DMCD(Nihon Shokuhin Kako Co. Ltd., Japan) 및 SBCD(CyDex, Inc., USA)를 사용하였다. 수용성 고분자류로 포비돈(Kollidon 12 및 30), 코폴리비돈(Kollidon VA 64), 폴리옥시에틸렌 경화피마자유 40(Cremophor RH 40, BASF, Germany)의 것을 사용하였다. HPLC용 용매로서 물, 메탄올 및 아세토니트릴(Fisher Scientific, USA)을 사용하였고, 파라옥시안식향산에칠(EP) 및 중수(D₂O)는 Sigma Chemical Co.(USA)의 것을 사용하였다. 기타 산류로서 구연산, 말레인산, 주석산, 인산, 젖산 및 글루콘산 등은 시판 시약급을 사용하였다.

기기 및 장치 - 고속액체크로마토그래프장치(HPLC)는 펌프(SLC-100 Intelligent pump, Samsung, Korea), 검출기로 LC 90 UV spectrophotometric detector (Perkin-Elmer, USA), 기록장치로 Varian 4290 integrator(USA)로 구성된 것을 사용하였다. 항온진탕수욕장치(Karl Kolb 171-100, Germany, 정밀도 0.2°C), 핵자기공명스펙트럼측정장치로는 FT-NMR(Gemini-200, 200 MHz, Varian, USA)을 사용하였다.

플루코나졸의 정량 - 칼럼으로는 Radial Pak insert(μ Bondapak C₁₈, Waters, USA)가 장착된 μ Bondapak C₁₈ 칼럼(3.9×300 mm, Waters, USA)을, 이동상으로는 물·메탄올·아세토니트릴 혼합액(40:40:30 v/v)을 사용하고 유속 1.0 ml/min, 파장 260 nm의 조건에서 검액 20 μ l를 주입하였다. 원은 크로마토그램으로부터 내부표준용액(EP 수용액, 10 μ g/ml)에 대한 플루코나졸의 피크면적비를 구하여 표준액

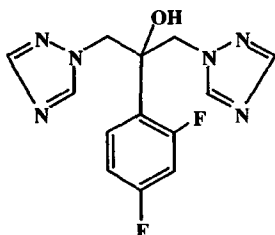


Fig. 1 - Chemical structure of fluconazole.

의 그것으로부터 플루코나졸을 정량하였다. 이의 조건에서 검량선의 직선성, intraday 및 interday 변동을 검증하였다.

CD류가 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - β-CD 원액을 단계적으로 희석하여 0, 4, 8, 12, 16, 20, 25 및 30 mM 수용액을 조제하였다. 또 HPCD, DMCD 및 SBCD 원액을 단계적으로 희석하여 0, 20, 40, 80, 120, 160 및 200 mM 수용액을 조제하였다. 각 용액에 플루코나졸을 일정 과량을 넣은 후 30°C에서 48시간 이상 진탕하고 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상정액을 취하고 적절히 희석한 다음 HPLC 법으로 정량하였다.

플루코나졸과 HPCD간의 포접복합체 형성 및 결합 비율 측정 - 플루코나졸과 HPCD류 간의 포접 복합체 형성을 알아보기 위하여 ¹H-NMR 스펙트럼을 측정하였다. 플루코나졸을 5 mg/ml의 농도가 되도록 증수에 녹이고 HPCD도 플루코나졸과 1:1 몰 비가 되도록 달아 증수에 녹였다. 또 플루코나졸과 HPCD가 1:1의 몰 비가 되도록 혼합하여 증수에 녹여, 플루코나졸, HPCD 단독 및 플루코나졸-HPCD 혼합액의 3종 검액을 만들어 ¹H-NMR 스펙트럼을 측정 후, 각각에서 얻은 프로톤의 화학적이동을 검토하였다. 각 프로톤의 화학적이동은 CS ChemDraw Ultra®(Version 5.0, Cambridge Soft)를 사용하여 귀속하였다. 수용액 중 복합체의 조성비는 연속변화법에 의해서 구하였다. 즉, 플루코나졸과 HPCD의 20 mM D₂O 용액을 조제하고 플루코나졸과 HPCD의 몰 비를 연속적으로 변화시킨 검액에 대하여 상기의 조건에서 ¹H-NMR 스펙트럼을 측정 한 값으로부터 결합 몰 비를 구하였다.

산류가 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - 구연산, 말레인산, 주석산, 인산, 젖산 및 글루콘산의 50 mM 용액을 조제하여 각 수용액의 초기 pH를 측정

한 후 3 N 수산화나트륨액으로 pH를 각각 3, 4, 5 및 6까지 조정 한 액과 물에서의 플루코나졸의 용해도를 위에서와 같이 측정하였다. 또 산류의 몰농도가 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 말레인산, 주석산, 글루콘산, 인산을 가지고 10, 50, 100, 200 및 500 mM 용액을 조제하여 각 농도에서의 플루코나졸의 용해도를 위에서와 같이 측정하였다.

CD류와 유기산류의 공존이 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - 유기산 용액(50 mM)에 CD류를 50 mM 농도로 첨가한 용액 중 플루코나졸의 용해도를 산류를 첨가하지 않은 것과 비교하여 위에서와 같이 측정하였다.

수용성 고분자류가 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - Kollidon 12 및 30, Kollidon VA 64 및 Cremophor RH 40의 농도를 1~5%로 순차로 달리 한 수용액중 플루코나졸의 용해도를 위에서와 같이 측정하였다. 이 중 Kollidon 12와 30의 5% 용액 각각에 HPCD를 50 mM 농도로 첨가한 수용액에서의 플루코나졸의 용해도를 위에서와 같이 측정하였다.

플루코나졸 수성 주사액의 처방 설계 - HPCD와 SBCD를 가용화제로 선정하고, 여기에 등장화제로 적당한 염화나트륨과 산성화제로서 희석된 인산을 첨가하여 Table I의 조성으로 6종의 처방을 구성하고 10 mg/ml의 플루코나졸 수성 주사액을 제조하였다.

플루코나졸 수성 주사액의 안정성 시험 - Table I의 6종 처방에 따라 제조된 플루코나졸 수성 주사액을 바이알에 넣어 밀전하고 4, 35, 45 및 60°C에 보존하면서 경시적으로 육안관찰을 하고, 검체 100 μl를 취하여 물 10 ml에 희석하고 그 100 μl와 내부표준액 100 μl를 섞어 위에서와 같은 조건으로 분석하여 플루코나졸의 잔존량을 측정하였다.

Table I - Compositions of fluconazole parenteral aqueous solutions

| Formulations | Ingredients | | | | | |
|---------------------------------------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | A | B | C | D | E | F |
| Fluconazole (mg) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Sodium chloride (mg) | 5 | 5 | 5 | - | - | - |
| Dilute phosphoric acid (1 → 100) (μl) | 4.3 | 4.3 | - | 4.3 | 4.3 | - |
| HPCD (mg) | 100 | - | 100 | - | - | - |
| SBCD (mg) | -* | - | - | 150 | - | 150 |
| Water for injection to make (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

*Not added

실험결과 및 고찰

플루코나졸의 분석 - 검액 중 플루코나졸을 HPLC 법으로 분석하기 위하여 40~200 µg/ml 농도 범위에서 내부표준법으로 검토하였다. 플루코나졸과 내부표준물질(EP)이 각각 3.2 분대와 5 분대에서 양호하게 분리되었으며 이 농도 범위에서 양호한 직선성($r^2=0.9998$)을 나타내었다. 또한 같은 농도의 검액을 각각 3개씩 제조하여 같은 날에 분석하여 얻어진 결과를 가지고 정확도와 정밀도를 구한 결과 각각 2.2%(0.04~5.5%) 및 3.1%(1.5~5.3%)이었다. 또 3일 동안 날짜를 달리하여 측정된 결과의 정밀도와 정확도는 각각 3.2%(0.4~5.6%) 및 4.1%(1.7~5.5%)이었다.

CD류가 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - 수용액 중 β -CD, DMCD, HPCD 및 SBCD의 농도를 달리하여 플루코나졸의 용해도를 측정하였다. β -CD는 그 자체의 용해도가 1.85%로 낮아 30 mM까지 변화시켜 플루코나졸의 용해도를 측정된 결과 16 mM 농도에서 11 ± 0.9 mg/ml의 용해도를 나타낸 이후 30 mM까지 용해도에 별다른 변화가 없는 plateau 영역을 나타내어 Higuchi 등²⁵⁾의 분류에 의한 B_s type을 보여 주었다. 또 β -CD 유도체류는 그 자체가 50% 이상 용해하므로 200 mM까지 변화시켜 플루코나졸의 용해성 변화를 관찰하여 그 결과를 Fig. 2의 용해도상도로 나타내었다. CD 유도체류에 의한 가용화 효과는 DMCD>HPCD>SBCD의 순이었다. 이에서 보면 DMCD, HPCD 및 SBCD는 직선적인 가용화 효과를 나타내는 A_L type을 보여 주었다. 200 mM의 HPCD,

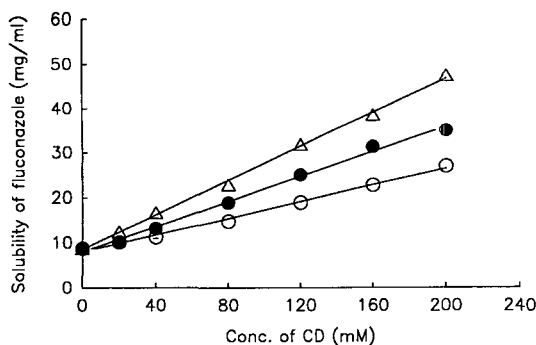


Fig. 2 - Phase-solubility diagrams of fluconazole complexation with modified CDs in water at 30°C. Data were expressed as the mean \pm S.D. of two experiments. \circ , SBCD; \bullet , HPCD; \triangle , DMCD

Table II - Apparent stability constants for the complexation of fluconazole with cyclodextrins

| CDs | Apparent stability constants (K', M ⁻¹) |
|-------------|---|
| β -CD | 10.7 \pm 2.1 |
| HPCD | 15.4 \pm 2.0 |
| DMCD | 17.2 \pm 0.5 |
| SBCD | 10.9 \pm 1.2 |

Data were expressed as the mean \pm S.D. of two experiments.

DMCD 및 SBCD 수용액 중 플루코나졸의 용해도는 각각 34.9 ± 0.5 , 47.4 ± 1.1 및 27.0 ± 0.7 mg/ml로서 물에서의 용해도(8.7 ± 0.8 mg/ml, 30°C)에 비해 각각 약 4.0, 5.4 및 3.1배 가용화시킬 수 있었다. 이러한 용해성 증대는 플루코나졸과 CD류간의 가용성 복합체 형성에 기인한 것으로 보인다. 1:1 몰비의 복합체를 형성하는 경우를 가정하여 용해도상도의 초기 직선부분으로부터 (1) 식²⁵⁾에 따라 겉보기 안정도정수(K')를 산출하여 Table II에 나타내었다. CD 류에 의한 안정도정수는 DMCD>HPCD>SBCD> β -CD의 순으로 플루코나졸의 가용화효과와 일치한다.

Apparent stability constant (K') =

$$\frac{\text{slope}}{\text{intercept}(1-\text{slope})} \quad (1)$$

플루코나졸과 HPCD 간의 포접 복합체 형성 확인 - CD의 공동 안에 어떤 분자가 포접되면 ¹H-NMR 스펙트럼상에 프로톤 피크의 화학적 이동이 관찰된다. HPCD의 공동에 플루코나졸의 포접현상을 규명하기

Table III - Chemical shift values (ppm) for the protons of fluconazole in the free and in the complex state

| Proton | δ | δ_c | $\Delta\delta(\delta_c-\delta)$ |
|--------------------------|----------|------------|---------------------------------|
| 1, 2, 4-triazole ring | | | |
| H3 | 8.3415 | 8.3940 | 0.0525 |
| H4 | 7.8605 | 7.9235 | 0.0630 |
| 2,4-difluorophenyl cycle | | | |
| H6 | 7.0835 | 7.2375 | 0.1540 |
| H5 | 7.0155 | 7.0810 | 0.0655 |
| H3 | 6.8020 | 6.8830 | 0.0810 |
| 2-propanol | | | |
| H1,1',3,3' | 4.8545 | 4.8305 | -0.0240 |

δ , chemical shift in ppm of the proton of the fluconazole without HPCD, δ_c , chemical shift in ppm of the proton of the fluconazole with HPCD, $\Delta\delta$, difference between δ and δ_c .

위해 플루코나졸 단독, HPCD 단독 및 플루코나졸과 HPCD의 혼합 용액을 조제하여 ¹H-NMR 스펙트럼을 측정하였다. Table IV에 플루코나졸 단독일 때의 화학적 이동(δ)과 플루코나졸-HPCD (1:1 몰 비) 혼합액의 화학적 이동(δ_c) 간의 차이($\Delta\delta$)를 나타낸다. 여기에서 화학적 이동의 변화가 가장 큰 프로톤은 2,4-difluorophenyl cycle의 6H이다. 그리고 2,4-difluorophenyl cycle의 3종 프로톤의 화학적 이동의 차이가 트리아졸 위치의 프로톤의 그것에 비해 대체적으로 큰 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로부터 플루코나졸 구조에서 2,4-difluorophenyl 기 부분이 주로 HPCD의 소수성 공동안으로 포접된다는 것을 알 수 있었다. 또한, 플루코나졸 단독에서는 서로 분리되어 있지 않고 겹쳐있던 2,4-difluorophenyl cycle의 6H와 5H 피크가 HPCD의 존재로 각각 quartet와 triplet의 피크로 완전히 분리되었는데 이 부분이 화학적 이동의 변화가 가장 큰 부분과 일치한다. 또한 트리아졸 ring의 3H 피크도 singlet이었던 피크가 HPCD의 존재로 doublet으로 갈라지고 화학적 이동의 차이가 비교적 크게 나타나 트리아졸 ring도 포접에 상당히 관여하고 있다고 생각된다.

복합체의 결합 몰비를 결정하기 위해 연속변화법을 시도하였다. Fig. 3은 플루코나졸의 ¹H-NMR 피크 가운데 트리아졸 ring의 5H 피크에 해당하는 프로톤에 대해 연속변화를 실시한 결과이다. 이에서 보면[플루코나졸의 농도]/([플루코나졸의 농도]+[HPCD의 농도]) 값이 0.5일 때, 화학적 이동의 변화가 최대로 되어 플루코나졸과 HPCD가 1:1 몰 비의 포접 복합체를 형

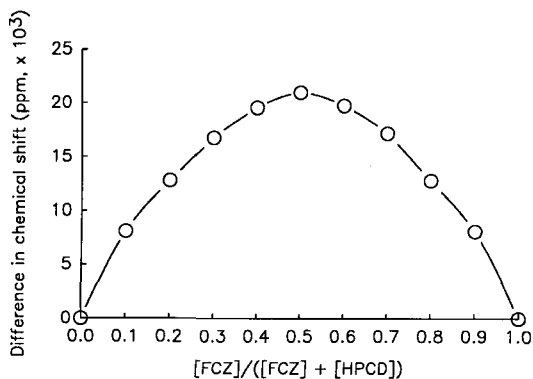


Fig. 3 - Continuous variation plots obtained for the selected proton (5H on the triazole ring) of fluconazole (FCZ).

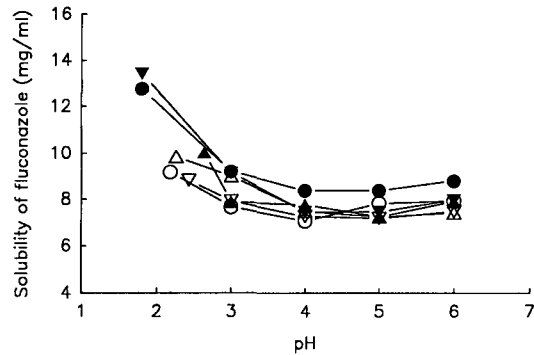


Fig. 4 - Solubility of fluconazole in different 50 mM organic acid solutions as a function of pH. Data were expressed as the mean of two experiments. ○, citric acid; ●, maleic acid; △, tartaric acid; ▲, gluconic acid; ▽, lactic acid; ▼, phosphoric acid

성한다는 것을 확인하였다.

산류가 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - 일반적으로 염기성 약물들은 산류와 가용성 염을 형성하여 용해성이 현저히 증대된다. 플루코나졸은 비스트리아졸계의 염기성 약물로 여러 종류의 산류(구연산, 말레인산, 주석산, 글루콘산, 젖산, 인산) 용액(50 mM)에서의 용해도를 측정하고 이들 산을 각각 수산화나트륨액으로 단계적으로 중화시킨 pH 3.0, 4.0, 5.0 및 6.0 완충액에서의 용해도를 측정하였다. 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 각 50 mM 구연산, 말레인산, 주석산, 글루콘산, 젖산 및 인산 용액(각각 pH 2.18, 1.80, 2.26, 2.64, 2.43 및 1.80)에서는 말레인산과 인산이 플루코나졸에 대해 상대적으로 높은 가용화효과를 나타내었다. 그러나 pH 3.0 이상의 pH-solubility profile로부터 보면, 용해도 차이는 산류의 종류에 기인한 것이라고 하기보다는 주로 pH 값에 의존하는 것으로 보인다. 말레인산의 경우는 pH를 6.0까지 증가시켜도 상대적으로 높은 가용화효과를 나타내었지만 다른 산류는 pH 4.0 이상에서는 물에서의 용해도(7.5 mg/ml, 25°C) 수준이었다.

다른 한편으로 산류의 농도 증대가 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향을 검토하였다. 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 산류의 농도를 10~500 mM로 변화시켰을 때 플루코나졸의 용해도는 글루콘산<주석산<인산<말레인산의 순으로 증대되었다. 글루콘산은 이의 농도를 증대시켜도 플루코나졸의 용해도에 영향을 미치지 않았다. 또 가용화 효과가 가장 큰 말레인산도 이의

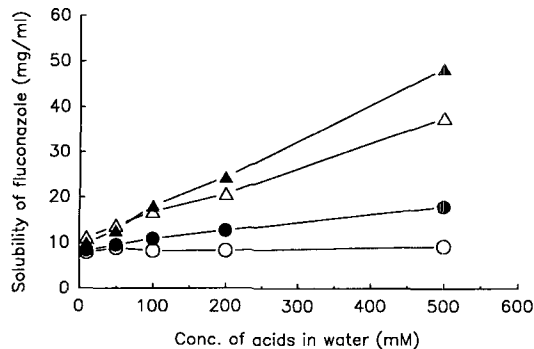


Fig. 5 - Solubility of fluconazole in water as a function of the concentration of different acids. Data were expressed as the mean \pm S.D. of two experiments. \circ , gluconic acid; \bullet , tartaric acid; \triangle , phosphoric acid; \blacktriangle , maleic acid

용액을 수산화나트륨액으로 pH 5.0으로 조절한 액에서는 플루코나졸의 용해도 증가가 거의 없었다. 이러한 결과는 겔보기로는 산 종류에 따른 차이로 보이지만, 조제된 각 농도의 유기산 수용액의 pH를 측정할 결과 말레인산과 인산은 글루콘산의 전농도 범위의 pH(약 2.6~2.2)보다 현저히 낮은 pH 값(2.2~1.4)을 나타내었기 때문에 산류에 따른 pH 차이가 주로 플루코나졸의 용해성에 영향을 준 것이라고 생각된다.

CD류와 산류의 공존이 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - 산류와 HPCD간의 병용효과는 미코나졸의 가용화에 대해 보고된 바 있다.¹⁵⁾ CD류에 의한 플루코나졸의 가용화 효과에 산류의 첨가가 상승적인 효과를 나타내는지를 검토하기 위해 글루콘산, 인산, 말레인산 및 주석산을 50 mM HPCD 및 SBCD 용액에 첨가하여 플루코나졸의 용해도를 측정하였다. 산류의 농도는 정맥주사액의 너무 낮은 pH를 피하고 가용화 효과를 기대할 수 있는 50 mM로 하였다. 그 결과를 Table IV에 나타내었다. 이에서 보면 물에서의 플루코

Table IV - Solubility (mg/ml) of fluconazole in water and in different acids (50 mM) in the absence and presence of HPCD or SBCD (50 mM)

| Organic acids | without CD | HPCD | SBCD |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| Water | 7.8 \pm 0.01 | 15.7 \pm 0.4 | 14.1 \pm 0.5 |
| Maleic acid | 14.2 \pm 0.6 | 20.0 \pm 0.1 | 18.8 \pm 0.4 |
| Tartaric acid | 9.6 \pm 0.4 | 16.1 \pm 0.6 | 16.3 \pm 0.1 |
| Gluconic acid | 9.2 \pm 0.2 | 15.2 \pm 0.2 | 14.4 \pm 0.1 |
| Phosphoric acid | 12.8 \pm 0.4 | 19.5 \pm 0.7 | 19.7 \pm 0.5 |

Data were expressed as the mean \pm S.D. of triplicate runs.

나졸의 용해도를 50 mM HPCD 및 SBCD의 첨가에 의해 각각 2.0 및 1.8배 증가시켰다. 50 mM HPCD 용액에 말레인산과 인산을 첨가한 경우 플루코나졸의 용해도를 산류가 첨가되지 않은 것에 비해 각각 1.27 및 1.24배 향상시켰다. 또 50 mM SBCD 용액에 말레인산과 인산의 첨가로 플루코나졸의 용해도를 산류가 첨가되지 않은 것에 비해 각각 1.33 및 1.39배 향상시켰다. 글루콘산이나 주석산은 CD류의 가용화효과에 대해 상승적인 작용은 나타내지 않았다. 이러한 결과는 산류 단독이 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향과 일치한다. 말레인산이나 인산이 CD류와 함께 사용할 경우 용해도 향상을 가져왔지만 액성을 강산성(pH 2.0 이하)으로 하므로 이들 산류는 주사제의 처방화에 적용할 수 없다.

수용성 고분자류 및 CD류와의 병용이 플루코나졸의 용해성에 미치는 영향 - 수용성 고분자류로서 Kollidon 12 및 30, Kollidon VA 64 및 Cremophor RH 40을 사용하여 이들의 5% 수용액 중 및 이들의 수용액에 CD류 또는 산류를 첨가한 액 중에서 플루코나졸의 용해도를 측정하였다. 그 결과를 Table V에 나타내었다. 이들 수용성 고분자류는 플루코나졸의 용해도를 Kollidon 30 < Kollidon 12 < Cremophor RH 40 < Kollidon VA 64 (10.3 mg/ml)의 순으로 다소 증가시켰으나 HPCD(15.7 mg/ml)의 효과에는 미치지 못하였다. Kollidon VA 64 수용액의 농도를 1~10%의 범위로 증대시켜 보았으나 플루코나졸의 용해도는 농도 의존

Table V - Effect of various additives on the solubility of fluconazole in aqueous solutions

| Additives | Solubility (mg/ml) |
|---------------------------------|--------------------|
| Control (water) | 7.9 \pm 0.7 |
| Kollidon 30 | 8.4 \pm 1.3 |
| Kollidon VA 64 | 10.3 \pm 0.4 |
| Cremophor RH 40 | 9.8 \pm 0.8 |
| Maleic acid | 12.7 \pm 0.04 |
| HPCD | 15.7 \pm 0.4 |
| Maleic acid+HPCD | 20.0 \pm 0.05 |
| Kollidon VA 64+Maleic acid+HPCD | 10.6 \pm 0.1 |
| Kollidon 12 | 8.6 \pm 0.9 |
| Kollidon 12+HPCD | 14.7 \pm 1.5 |
| Kollidon 30+HPCD | 15.9 \pm 0.1 |

Data were expressed as the mean \pm S.D. of two experiments. The concentrations of Kollidon 12, Kollidon 30, Kollidon VA 64 and Cremophor RH 40 in water were 5%. The concentrations of maleic acid and HPCD added in water were 50 mM.

적으로 향상되지 않았다. 히드록시프로필메칠셀룰로오스 및 포비돈과 같은 수용성 고분자가 저농도(0.25%)로 존재할 때 β -CD 그 자체의 용해도(1.86 mg/ml)와 복합체의 용해도를 향상시킴으로써 아세트아미드, 메타졸아미드 및 에코나졸과 같은 약물에 대한 β -CD의 가용화능이 증대되었다고 보고되었다.²⁶⁾ 따라서 포비돈의 존재가 플루코나졸의 용해성에 미치는 HPCD의 영향을 검토하였으나 용해도 증가 효과는 얻어지지 않았다. 이는 HPCD가 β -CD와는 달리 그 자체의 용해도(약 50%)가 충분히 높아 포비돈의 첨가로 인해 HPCD 자체의 용해도에 대한 기여가 별로 없고 5% 포비돈 용액으로 인해 매질의 점성이 증대되었기 때문으로 생각된다.

이상과 같이 산류로는 말레인산이 가용화 효과가 컸지만 강한 산성을 나타내어 주사액의 첨가제로 적절하지 않았으며, 수용성 고분자류의 효과는 그다지 현저하지 않았다. 따라서 기존 플루코나졸 주사액(2 mg/ml)의 농도를 10 mg/ml로 5배 농축된 주사액을 설계하기 위해 HPCD 또는 SBCD만을 첨가하여 주사액 처방을 구성하였다.

플루코나졸 수성 주사액 처방의 설계 및 안정성 - HPCD와 SBCD를 가용화제로 택하여 각각 10 및 15%가 되도록 물에 녹이고, 등장화를 위해 염화나트륨을 첨가하였다. 단, SBCD의 경우는 15% 농도에서 그 자체가 고장액이 되므로 염화나트륨을 첨가하지 않았다. 균의 증식 억제를 위해 산성화제로서 100배 희석 인산을 넣어 pH 4.2의 약산성으로 하였다. 플루코나졸은 HPCD 또는 SBCD 용액에 넣고 수분간 sonication함으로써 징명하게 녹일 수 있었다. 이 용액을 0.22 μ m 멤브레인필터로 여과하고 바이알에 넣어 밀전한 후 4°C에 수주간 보관하였을 때 침전 형성이 인정되지 않았다.

또 Table I과 같이 6종의 주사액을 제조하고 바이알에 밀전하여 각 35, 45 및 60°C에 수주간 보관하면서 검체 중의 잔존률을 구하였다. Table VI에서 볼 때 주사액 처방 모두 95% 이상의 높은 잔존률을 보여 주어 안정성이 매우 높았다. 플루코나졸의 안정성은 대체로 처방 F>D>A>C>B>E의 순이었다. 이로 볼 때 SBCD가 HPCD보다 플루코나졸의 안정화 효과가 다소 큰 것으로 나타났으나 첨가 농도가 달라 직접적으로 비교할 수는 없다. 그러나 SBCD가 안전성 면에서 보다 우수한 것으로 알려져 있기 때문에 SBCD가

Table VI - Residual concentration (%) of fluconazole in parenteral aqueous formulations at 35, 45 and 60°C

| Formulation | Temp. (°C) | % Fluconazole remaining | | | | |
|-------------|------------|-------------------------|------|------|------|------|
| | | 0 | 7 | 14 | 28 | 35 |
| A | 35 | 100 | 99.8 | 99.5 | 99.0 | 98.9 |
| | 45 | 100 | 99.7 | 99.5 | 98.8 | 98.7 |
| | 60 | 100 | 99.5 | 99.4 | 98.7 | 98.6 |
| B | 35 | 100 | 99.6 | 98.9 | 98.5 | 98.0 |
| | 45 | 100 | 99.5 | 98.8 | 98.2 | 97.5 |
| | 60 | 100 | 99.2 | 98.7 | 98.2 | 97.2 |
| C | 35 | 100 | 99.6 | 99.1 | 98.6 | 98.5 |
| | 45 | 100 | 99.5 | 98.9 | 98.5 | 98.3 |
| | 60 | 100 | 99.4 | 98.8 | 98.4 | 98.3 |
| D | 35 | 100 | 99.8 | 99.6 | 99.1 | 99.1 |
| | 45 | 100 | 99.8 | 99.5 | 99.2 | 99.0 |
| | 60 | 100 | 99.8 | 99.5 | 99.3 | 99.0 |
| E | 35 | 100 | 99.2 | 98.6 | 97.3 | 96.8 |
| | 45 | 100 | 99.1 | 98.3 | 97.2 | 96.7 |
| | 60 | 100 | 99.0 | 98.2 | 97.1 | 96.1 |
| F | 35 | 100 | 99.8 | 99.7 | 99.3 | 99.2 |
| | 45 | 100 | 99.8 | 99.3 | 99.2 | 99.1 |
| | 60 | 100 | 99.8 | 99.3 | 99.2 | 99.0 |

첨가된 처방 D와 F가 최적의 처방이라고 생각된다. 처방 B와 E는 CD류가 첨가되지 않았으나 5주 후의 잔존률이 95% 이상이었으므로 수용액 중 플루코나졸 자체의 안정성도 매우 높다는 것을 알 수 있다. 플루코나졸은 5% 포도당 주사액, 링겔액 등에서 안정하며, 조제된 경구 내복액 중에서도 45°C에서 15일간 안정한 것으로 보고되어 있다.^{27,28)}

결 론

이상의 실험결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 플루코나졸과 수중 CD류 사이의 용해도상도로부터 β -CD는 가용화에 포화현상이 관찰되는 Bs 형을 보여 주었으며, HPCD, DMCD 및 SBCD는 용해성이 직선적으로 증가하는 A_L 형을 나타내었다. 플루코나졸에 대한 가용화 효과는 DMCD>HPCD>SBCD > β -CD의 순이었다. ¹H-NMR 스펙트라의 해석으로부터 플루코나졸과 HPCD는 1:1 몰 비로 포접복합체를 형성함이 확인되었다.
2. 산류로 말레인산과 인산이 농도 의존적으로 플루코나졸을 가용화시켰다. 산 용액의 pH가 2.0 이하에서는 플루코나졸의 용해성이 급격히 증가하였으나 주사

제 설계에는 적합하지 못하였다. CD류와 산류의 병용은 플루코나졸의 용해성을 상대적으로 증대시켰으나 강한 산성으로 인하여 주사제 설계에는 적합하지 못하였다.

3. HPCD와 SBCD를 각각 10 및 15% 함유한 플루코나졸 수성 주사액은 4°C 이하에서 침전형성이 관찰되지 않았으며, 35, 45 및 60°C에서 5 주후까지 안정하였고 SBCD 함유 주사액 처방이 가장 안정하였다.

이상으로 볼 때 SBCD 또는 HPCD를 가용화제로 이용함으로써 기존 플루코나졸 주사액(2 mg/ml)보다 농도를 5배 높은 10 mg/ml의 주사액을 설계할 수 있다고 생각된다.

문 헌

- Richardson, K.: The discovery and profile of fluconazole. *J. Chemother.* **2**, 51 (1990).
- Pasko, M. T., Piscitelli, S. C. and Van Slooten, A. D.: Fluconazole: a new triazole antifungal agent. *DICP*, **24**, 860 (1990).
- Kowalsky, S. F. and Dixon, D. M.: Fluconazole: a new antifungal agent. *Clin. Pharm.* **10**, 179 (1991).
- Grant, S. M. and Clissold, S. P.: Fluconazole: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in superficial and systemic mycoses. *Drugs*, **39**, 877 (1990).
- Ripa, S., Ferrante, L. and Prenna, M.: Pharmacokinetics of fluconazole in normal volunteers. *Chemother* **39**, 6 (1993).
- Debruyne, D. and Ryckelynck, J. P.: Clinical pharmacokinetics of fluconazole. *Clin. Pharmacokinet.* **24**, 10 (1993).
- Laufen, H., Zimmermann, T., Teates, R. A., Schumacher, T. and Wildfeuer, A.: The uptake of fluconazole in finger and toe nails. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **37**, 352 (1999).
- Loftsson, T. and Brewster, M. E.: Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. drug solubilization and stabilization, *J. Pharm. Sci.* **85**, 1017 (1996).
- Rajewsky, R. A. and Stella, V. J.: Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery. *J. Pharm. Sci.* **85**, 1142 (1996).
- Irie, T. and Uekama, K.: Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 3. Toxicological issues and safety evaluation. *J. Pharm. Sci.* **82**, 147 (1997).
- Yoshida, A., Arima, H., Uekama, K. and Pitha, J.: Pharmaceutical evaluation of hydroxyalkyl ethers of β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* **46**, 217 (1988).
- Brewster, M. E., Estes, K. S. and Bodor, N.: Development of a non-surfactant formulation for alfaxalone through the use of chemically-modified cyclodextrins. *J. Parenteral Sci. Technol.* **43**, 262 (1989).
- Brewster, M. E., Estes, K. S. and Bodor, N.: An intravenous toxicity study of hydroxypropyl- β -cyclodextrin, a useful drug solubilizer, in rats and in monkeys. *Int. J. Pharm.* **59**, 231 (1990).
- Rajewski, R. A., Traiger, G., Bresnahan, J., Jaberaboansari, P., Stella, V. J. and Thompson, D. O.: Preliminary safety evaluation of parenterally administered sulfoalkyl ether β -CD derivatives. *J. Pharm. Sci.* **84**, 927 (1995).
- Piel, G., Evrard, B., Fillet, M., Llabres, G. and Delattre, L.: Development of a non-surfactant parenteral formulation of miconazole by the use of cyclodextrins. *Int. J. Pharm.* **169**, 15 (1998).
- Medlicott, N., Foster, K. A., Audus, K. L. Gupta, S. and Stella, V. J.: Comparison of the effects of potential parenteral vehicles for poorly water soluble anti-cancer drugs (organic cosolvents and cyclodextrin solutions) on cultured endothelial cells (HUV-EC). *J. Pharm. Sci.* **87**, 1138 (1998).
- Putteman, P., Caers, W., Mesens, J. and Peeters, J.: Recent topics with regard to the use of EncapsinTM HPB, hydroxypropyl- β -cyclodextrin in galenic preparation. In *The 8th International Cyclodextrins Symposium, Programme and Abstracts*, pp. 3 (1996).
- Pederson, M., Edelsten, M., Nielson, V. F., Scarpellini, A., Skytte, S. and Slot, C.: Formation and antimycotic effect of cyclodextrin inclusion complexes of econazole and miconazole. *Int. J. Pharm.* **90**, 247 (1993).
- Diezel, K., Estes, K. S., Brewster, M. E., Bodor, N. S. and Derendorf, N.: The use of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as a vehicle for intravenous administration of dexamethasone in dogs. *Int. J. Pharm.* **59**, 225 (1990).
- Löcher, W., Hoenack, D., Richter, A., Schulz, H., Schuerer, M., Duesing, R. and Brewster, M. E.:

- New injectable aqueous carbamazepine solution through complexing with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: tolerability and pharmacokinetics after intravenous injection in comparison to a glycofurol-based formulation. *Epilepsia (N.Y.)* **36**, 255 (1995).
- 21) Ma, D. Q., Rajewski, R. A. and Stella, V. J. : New injectable melphalan formulations utilizing (SBE) $_{7m}$ - β -CD or HP- β -CD. *Int. J. Pharm.* **189**, 227 (1999).
- 22) Stella, V. J. and Rajewsky, R. A. : Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. *Pharm. Res.* **14**, 556 (1997).
- 23) Stella, V. J., Lee, H. K. and Thompson, D. O. : The effect of SBE4- β -CD on i.v. methylprednisolone pharmacokinetics in rats: comparison to a co-solvent solution and two water-soluble prodrugs. *Int. J. Pharm.* **120**, 189 (1995).
- 24) Stella, V. J., Lee, H. K. and Thompson, D. O. : The effect of SBE4- β -CD on i.m. prednisolone pharmacokinetics and tissue damage in rabbits: comparison to a co-solvent solution and a water-soluble prodrugs. *Int. J. Pharm.* **120**, 197 (1995).
- 25) Higuchi, T. and Connors, K. A. : Phase-solubility techniques. *Adv. Anal. Chem. Instrum.* **4**, 117 (1965)
- 26) Loftsson, T. and Friðiksdóttir, H. : The effect of water-soluble polymers on the aqueous solubility and complexing ability of β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.* **163**, 115 (1998).
- 27) Hunt-Fugate, A. K., Hennesey, C. K. and Kazarian, C. M. : Stability of fluconazole in injectable solutions. *Am. J. Hosp. Pharm.* **50**, 1186 (1993).
- 28) Yamreudeewong, W., Lopez-Anaya, A. and Rappaport, H. : Stability of fluconazole in an extemporaneously prepared oral liquid. *Am. J. Hosp. Pharm.* **50**, 2366 (1993).