

미세유화약물송달시스템을 이용한 로바스타틴의 생체이용률 향상

윤복영 · 강복기 · 정상영* · 이영원** · 이시범*** · 황성주*** · 육순홍**** · 강길선 · 이해방* · 조선행*†

전북대학교 유기신물질공학과, *한국화학연구원 생체의료고분자팀,
충남대학교 수의과대학, *충남대학교 약학대학, ****한남대학교 고분자공학과
(2002년 7월 18일 접수 · 2002년 8월 29일 승인)

Improvement of Bioavailability for Lovastatin using Self-microemulsifying Drug Delivery System

Bok Young Yoon, Bok Ki Kang, Sang Young Jeung*, Young-Won Lee**, Sibeum Lee***, Sung Joo Hwang****, Soon Hong Yuk****, Gilson Khang, Hai Bang Lee* and Sun Hang Cho*†

Department of Advanced Organic Materials Engineering, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

*Biomaterials Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

**College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

***College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

****Department of Macromolecular Science, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

(Received July 18, 2002 · Accepted August 29, 2002)

ABSTRACT—A self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) was developed to increase the dissolution rate, solubility, and ultimately bioavailability of a poorly water soluble drug, lovastatin. SMEDDS was the mixtures of oils, surfactants, and cosurfactants, which emulsify under conditions of gentle agitation, similar to those which would be encountered in the gastro-intestinal (GI) tract. Various types of self-emulsifying formulations were prepared using four types of oil (Capryol 90, Lauroglycol 90, Labrafil M 1944 CS and Labrafil M 2125), two surfactants (Cremophor EL and Tween 80), and three cosurfactants (Carbitol, PEG 400 and propylene glycol). The efficiency of emulsification was studied using a laser diffraction size analyzer to determine particle size distributions of the resultant emulsions. Optimized formulations selected for bioavailability assessment were Carprylol 90 (40%), Cremophor EL (30%) and Carbitol (30%). SMEDDS containing lovastatin (20 mg and 5 mg) were compared to a conventional lovastatin tablet (Mevacor[®], 20 mg/tab) by the oral administration as prefilled hard gelatin capsules to fasted beagle dogs for in vivo study. The area under the serum concentration-time curve from time zero to the last measured time in serum, AUC_{0-24h} , was significantly greater in SMEDDS, suggesting that bioavailability increase 130% and 192% by the SMEDDS, respectively. The self-emulsifying formulations of lovastatin afforded the improvement in absolute oral bioavailability relative to previous data of lovastatin tablet formulation. These data indicate the utility of dispersed self-emulsifying formulations for the oral delivery of lovastatin and potentially other poorly absorbed drugs.

Keywords—Self-microemulsifying drug delivery system, Lovastatin, Bioavailability.

난용성 약물은 대개 결정성이 커 용해시 많은 에너지가 필요하므로 약물의 흡수율이 감소할 뿐만 아니라 흡수시 재결정을 형성하여 약물의 생체이용률이 감소하게 된다. 또한 수용액에 대한 용해도가 낮아 약물 투여 후 용해 속도가 너무 늦어 약물의 분해 및 손실이 커져 약물의 흡수율이 낮아진다.¹⁻³⁾ 약물의 용해도를 개선시킬 목적으로 가장 많이 쓰이는 방법은 계면활성제 및 약물의 전구체나 복합체를 만들어 지용성 약물의 용해도를 증가시켜줌으로써 흡

수를 촉진시킨다. 그 외로는 약물의 가용화율을 높이기 위해서 분말의 입자크기를 작게 하여 표면적을 증가시키거나, 결정형을 무정형으로 바꾸는 방법, 용매화물이나 수용성 염 또는 수용성 프로드럭화하여 계면 활성제를 첨가하는 방법과 수용성 복합체, 수용성 고체분산체, 혼합분쇄법, 미세화, 공용혼합물 등을 만드는 방법 등이 널리 연구되고 있다.⁴⁻¹²⁾

본 연구에서 적용한 난용성 약물의 가용화 방법은 SMEDDS (self-microemulsifying drug delivery system)로서 약물을 용해시켜 안정한 상으로 경구 투여한 후 위장관 운동에 의해 미세유화를 형성하게 하는 방법을 사용하였다.¹³⁻¹⁷⁾

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 042)860-7225, E-mail : shcho@kricr.re.kr

SMEDDS는 사이클로스포린 A,¹⁸⁾ 할로판트린¹⁹⁾을 비롯하여 비페닐디메틸 디카복실레이트 (DDB),²⁰⁾ 인도메타신²¹⁾ 등과 같은 난용성 약물 등의 가용화와 처방화에 적용하여 약물의 흡수 및 생체이용률을 개선하였다.²²⁾ 이렇게 형성된 유적은 광학적으로 투명하며 열역학적으로 안정하고 상분리가 쉽게 일어나지 않으며 적은 힘만으로도 짧은 시간 안에 자발적으로 유화를 형성한다는 장점이 있다. 미세유화 시스템은 분무제, 겔제, 경질캡셀제 및 연질 캡셀제 등의 다양한 제형으로 사용할 수 있는 많은 가능성을 가지고 있다.^{15-17,23-25)}

본 연구에서 사용한 약물은 고지혈증 치료제인 로바스타틴으로서 일반명은 메비놀릭산으로 메빈산의 유도체이다. 진균류인 *Aspergillus* 대사산물로부터 얻어지며 산화시 고지혈증 치료제로서의 약리작용을 나타낸다. 로바스타틴은 많은 고지혈증 치료제 가운데 콜레스테롤의 생합성의 율속단계인 HMG-CoA reductase에 경쟁적 효소로 작용하여 콜레스테롤의 합성을 저해할 뿐만 아니라 담즙산을 증가시켜 고지혈증의 핵심적 원인이라 할 수 있는 트리글리세라이드나 저밀도 지질단백과 같은 지질단백을 크게 감소시키고 인체에 필요한 고밀도 지질단백을 증가시키는 역할을 하고 있는 약물이다.²⁶⁻²⁸⁾ 그러나 로바스타틴은 물에 매우 난용성이며 결정성을 가지고 있어 경구투여시 약 30%의 낮은 흡수율을 보이고 있다.

본 연구에서는 이러한 낮은 흡수율의 개선에 대한 입자크기 감소의 효과를 평가하기 위하여 냉동분쇄기로 로바스타틴 분말을 미세화하여 주사전자현미경 및 X선 굴절계를 이용하여 결정성 등을 관찰하였다. 또한 로바스타틴은 인체내에서 간대사에 의해 로바스타틴산으로 변환되어 약효를 나타내므로 (Figure 1) 생체이용률 시험에서 이를 정량하기 위해서 대사체인 로바스타틴산과 메칠로바스타틴산을 합성하였다.²⁹⁻³¹⁾ SMEDDS처방화가 로바스타틴의 생체이용률을 향

상에 미치는 영향을 평가하기 위하여 SMEDDS를 제조하였으며 투명도, 입자크기 및 안정성 등을 바탕으로 선정한 로바스타틴이 함유된 SMEDDS제와 시판제제인 메바코정® (중외제약)을 비글건에 경구 투여한 후 약물속도론적 파라미터를 측정하였다.³²⁻³⁸⁾

실험방법

시약, 기기 및 실험동물

모델 약물은 로바스타틴(No 000839, Sinochem Co., China)과 내부표준물질로 심바스타틴(XF 1599026, Sinochem)을 사용하였다. 제형 설계를 위해 polyethylene glycol (PEG), propylene glycol (PG), Brij® 90, Brij® 52, Brij® 30 (Aldrich Chem. Co., U.S.A.), carbitol (diethylene glycol monoethylether, TCI, Japan), 코코넛오일 (Sigma Chem. Co., U.S.A.), 에탄올 (Merck, Germany), 트리아세틴 (Yakuri Pure Co., Japan), 폴리소르베이트 80 (Tween 80, Junsei Chem. Co., Japan), 콩기름 (Sigma), Macadamia nut oil (Sigma), 참기름 (ATL-Canada, Canada), Apricot kernel oil (Gowa International Inc.), dimethylether isosorbide (Aldrich), Cremophor EL (BASF, Germany), Capryol® 90, Lauroglycol® 90, Labrasol®, Labrafil® M1944, Plurol isostearique (Gattefosse, France) 및 코코넛오일 지방산 (coconut fatty acid, Chem Service)등을 사용하였다. 대한약전 제1액, 제2액 및 이동상 제조를 위해 인산일수소나트륨, 인산이수소나트륨, 인산이수소칼륨, 염화나트륨, 수산화나트륨 및 염산을 이용하였다. 그 밖의 시약은 인산암모늄 (모노베이직), 인산 등을 Junsei에서 구입하여 사용하였다. 또한 HPLC 분석을 위해 메탄올, 아세트니트릴 (Burdick & Jackson, U.S.A.)은 HPLC용 용매를 사용하였으며 증류수 (Milli-Q, Millipore, France)는 18.2 MΩ·cm의 순수한 것을 사용하였다. 실험동물로는 체중 10.20~12.20 kg (10.99±0.87 kg)의 건강한 성숙 수컷 비글견 (계통과학, 대전) 9 마리를 사용하였다.

SEM, XRD 분석

SEM과 XRD는 각각 Hitachi사 (model S-2250N, Japan)와 Rigaku사 (D/MAX-III, Japan)의 제품을 이용하였다. 로바스타틴과 냉동분쇄한 로바스타틴을 금속 디스크에 고정된 후 백금증착기 (Emscope, Model SC 500K, UK)를 이용하여 아르곤 기류 하에 백금 코팅하였다. 백금 코팅된 약물들을 일정배율로 확대하여 약물의 성상을 확인하였다. 또한 0.1~10 μm의 고운 분말로 냉동분쇄한 로바스타틴을 스캔 범위 2θ로 하여 결정성을 분석하였다.

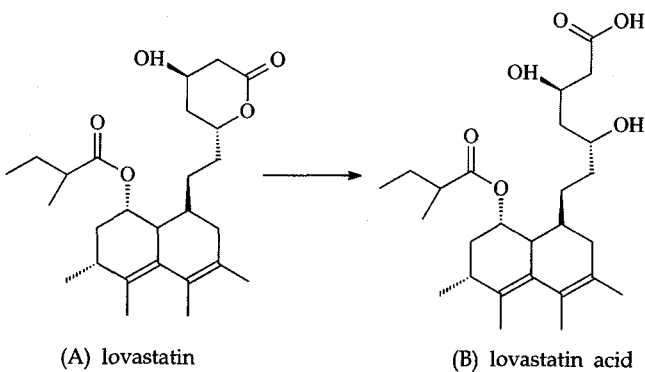


Figure 1—Chemical structures of (A) lovastatin and (B) lovastatin acid.

대사물 제조

로바스타틴은 경구투여후 간 대사되어 β-옥시산 형태로 가수분해되며 비활성락톤형과 활성 β-옥시산 형태의 두 가지 형태로 존재하게 되므로 약물의 흡수율을 측정하기 위하여 비활성락톤을 β-옥시산 형태로 제조하였다. 또한 혈중농도를 측정하기 위해 표준물질로 이용되는 메칠로바스타틴산(심바스타틴산)을 제조하여 NMR로 확인하였다. 로바스타틴(25 g)과 심바스타틴(25 g)을 메탄올(150 ml)에 각각 녹이고 락톤 고리의 가수분해를 위해 수산화나트륨 3 g을 물 20 ml에 용해하여 점적하여 침전물을 형성하였고, 인산으로 pH를 5까지 맞추어 적정하였다. 대사산물을 에칠아세테이트(150 ml)로 2번 추출한 후 황산나트륨을 이용하여 건조시키고 용매를 증발시킨 후 100 ml 아세톤에 녹여 냉동고에서 16시간 동안 결정화 과정을 거쳤다. 결정화 과정을 3회 반복수행 후 여과하여 25°C에서 진공 건조하였다.

용해도측정

오일과 계면활성제에 중량비로 2%에 해당하는 로바스타틴 분말을 가하여 vortex mixer로 진탕하고 약 5분씩 초음파 세척기로 혼합하여 육안으로 로바스타틴의 용해 정도를 측정하였다. 비교적 로바스타틴의 용해도가 좋았던 오일과 계면활성제를 선택하여 용해도 시험에 사용하였다. 검색 작업을 통하여 선정된 오일과 계면활성제에 대한 로바스타틴의 용해도를 측정하기 위하여 오일 및 계면활성제 각각 5 ml에 과량의 로바스타틴의 분말을 가한 뒤 20±1°C로 온도를 일정하게 유지한 항온왕복진탕기에서 100 rpm으로 48시간동안 진탕하였다. 로바스타틴 현탁액을 1,500 rpm에서 원심 분리한 뒤 상등액을 취하여 녹지 않은 로바스타틴을 멤브레인 필터(Nylon Acrodisc, 0.45 μm, Whatman, England)로 여과하였다. 여과액을 일정량 취한 후 이동상을 사용하여 적당한 농도로 희석한 뒤 HPLC로 분석하여 각 기체들에 대한 로바스타틴의 용해도를 측정하였다.

SMEDDS의 제조

약물의 난용성을 개선하기 위하여 여러 오일 및 계면활성제 및 약제학적으로 허용되는 용매를 검토하였으며 이에 Cremophor EL을 계면활성제로 이용하고 carbitol, PG, PEG, dimethylether isosorbide와 오일성분의 용해제인 Capryol® 90(propylene glycol monocaprylate)을 Tables I과 II와 같은 양의 오일 Capryol® 90과 보조계면활성제 carbitol에 로바스타틴을 넣고 40°C로 가온하여 용해하였고, 상온으로 냉각한 후에 계면활성제 Cremophor EL을 첨가 교반하여 제조하였다.

Table I-Formulations of lovastatin SMEDDS with varying amounts of solubilizer, surfactant and cosurfactant

Composition (w/w %)	A	B	C	D	E
Lovastatin	2.5	2.5	2.5	2.5	2.0
Capryol 90	23.3	47.1	44.3	40.0	45.8
Carbitol	46.7	35.4	33.2	30.0	22.2
Cremophor EL	27.5	15.0	20.0	27.5	30.0

Table II-Formulations of SMEDDS with varying amounts of drug and cosurfactants

Composition (w/w %)	F	G	H	I
Lovastatin	2	2	2.5	2.5
Capryol 90	22.2	40	40	40
Propylene glycol	-	-	30	-
Dimethyl ether isosorbide	-	-	-	30
PEG 400	45.8	30	-	-
Cremophor EL	30	27.5	27.5	27.5

입자경 및 입도분포 측정

유적의 크기 측정을 위해 전기영동 광산란측정기(ELS-8000, Photal, Otsuka Electronics, Japan)을 사용하였으며 미세유화의 형성여부는 투명도를 통해 육안으로 관찰하였다. 위를 거쳐 장에서 흡수가 이루어지므로 대한약전에 규정된 제1액 및 제2액에서 균일한 미세유화의 형성여부를 측정하였으며 제조된 제1액 및 제2액에 SMEDDS제형을 1/10이 되게 점적 후 흔들어 미세유화의 형성여부를 육안으로 관찰하였다. 유적의 균일성과 크기 분포는 동적광산란법을 이용하여 빛의 강도, 수, 무게에 따른 크기분포를 입도 분석기를 통해 측정하였다.

안정성 평가

SMEDDS제제의 안정성을 평가하기 위하여 시료 제조 후 가속조건하에서 보관하여 색의 변화 및 상의 분리, 침전의 생성여부 및 혼탁도의 변화 등을 육안 확인하였고 로바스타틴의 안정성을 확인하고자 제조후 1일, 3일, 1주일, 2주일, 1달, 2달 동안 일정량을 취하여 아세토니트릴로 희석하여 HPLC로 로바스타틴의 농도를 측정하였다.

시료의 전처리 및 검량선 작성

로바스타틴은 불활성형 락톤 프로드럭으로 경구 투여된 후 간 마이크로솜 분획의 p-cytochrome-3A 효소군에 의해 가수분해되어 락톤환이 개환된 β-하이드록시산 형태의 로바스타틴산으로 대사되고, 이 대사물질이 약효를 나타내는 것으로 알려져 있어 본 실험에서는 이 대사 물질을 정량하였

다. 정량법은 Song 등이 보고한 문헌²⁹⁾을 기초로 하여 다음과 같이 약간 수정한 방법을 사용하였다. 즉, 로바스타틴산 50 mg을 아세트니트릴:물 (60:40, v/v) 혼합액 50 ml에 녹여 1 mg/ml의 stock solution을 만든 후 이 용액을 농도가 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 및 1.5 µg/ml이 되도록 희석하였다. 내부표준물질인 메칠로바스타틴산 50 mg을 아세트니트릴:물 (60:40, v/v) 혼합액 50 ml에 용해하여 희석 후 10 µg/ml 농도의 메칠로바스타틴산 (심바스타틴산) 용액을 조제하였다. 공혈청 900 µl에 전술한 로바스타틴산 표준액을 각각 100 µl 가하고, 내부표준액 (메칠로바스타틴산 10 µg/ml)도 100 µl를 가하여, 로바스타틴산의 최종농도가 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.10 및 0.15 µg/ml, 내부표준물질 농도는 1 µg/ml이 되도록 하였다. C₁₈ 고상 추출 칼럼 (Supelclean LC-18, Supelco, U.S.A.)을 고상 추출기 (Visiprep-DL solid phase extraction vacuum manifolds, Supelco, U.S.A.)에 장착하고 메탄올 3 ml와 증류수 2 ml로 세척하였다. 여기에 시료를 주입하고 물 3 ml를 2회 흘려 세척한 후 메탄올 0.5 ml씩 2회 흘려 혈청 중의 로바스타틴산을 추출하였다. 추출한 시료를 35°C 질소 기류 하에서 증발 농축시키고, 건조된 증발 잔사물에 아세트니트릴과 물 (60:40, v/v) 혼합액 200 µl를 가하여 60초간 혼합하여 완전히 용해시켰다.

HPLC분석

이동상 용매의 조성은 0.06 M 인산암모늄완충액과 아세트니트릴을 55:45 (v/v)의 비율로 혼합 후 0.45 µm 멤브레인 필터로 여과한 후에 사용하였으며 칼럼온도는 50°C, 파장은 238 nm이며 유속은 1.2 ml/min이었다. 전처리된 검액 100 µl를 HPLC에 주입하여 얻어진 크로마토그램은 내부표준물질의 피크면적에 대한 검체 피크면적의 비를 계산하여 정량하였다. HPLC 시스템은 Dynamia Series (U.S.A.)의 SD-200 Pump, UV-01 검출기, AI-3 auto injector와 Fluofix® C₁₈ 칼럼 (4.6 mm×250 mm, Neos, Japan)을 사용하였다.

비글견에서의 약물동태

실험 동물은 실험 전 약 2주일 동안 기초 사육하였으며 기본적인 신체검사, 혈액 및 혈청검사, 복부 방사선검사 및 복부 초음파검사를 통해 임상적으로 건강하다는 것을 확인한 후 본 실험에 이용하였다. 약제를 투여하기 24시간 전에 절식시켰으며 실험동물을 3 마리씩 세 군으로 나누어 기존 제제와 신규 제제 20 mg 및 5 mg을 각각 투여하였다. 비글견 1 마리당 시판용 메바코정 (로바스타틴 20 mg, 중외제약) 제제를 채혈 전 1회 경구 투여하였고, 본 실험에서 제조한 D형 SMEDDS 신규 제제는 로바스타틴이 20 mg과 5 mg에

해당하는 양을 젤라틴 캡셀에 충전하여 1회 경구 투여하였다. 혈액은 약제 투여전과 투여 후 일정시간에 각각 경정맥에서 4 ml씩 채혈한 후, 캡튜브에 보관 실온에서 응고시킨 후, 3,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 그 후 실험하기 전까지 -20°C에서 냉동 보관하였다. 채혈시간은 약물 투여 전 30분에 1회, 약물투여 후 0.33, 0.66, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 18 및 24시간에 실시하였다. 최고혈중농도 (C_{max}) 및 최고혈중농도 도달시간 (T_{max})은 혈중농도 그래프로부터 직접 구하였다. 혈중농도-시간곡선하 면적 (AUC)는 사다리꼴 공식을 이용하여 최종 채혈시점까지의 값 (AUC_{0→24h})을 통상의 방법에 따라 구해 사용하였으며, 시험제제와 대조제제의 상대적 생체이용률을 다음 (1)식에 의하여 구하였다.

$$\text{Relative BA (\%)} = \frac{AUC_{\text{test}}}{AUC_{\text{reference}}} \times \frac{Dose_{\text{reference}}}{Dose_{\text{test}}} \quad (1)$$

체내 혈중 약물 농도 분석 결과로부터 얻은 데이터에서 기존제제와 각각의 신규제제의 평균에 대해 Student's *t*-test를 이용하여 유의성 (P<0.05)을 검정하였다.

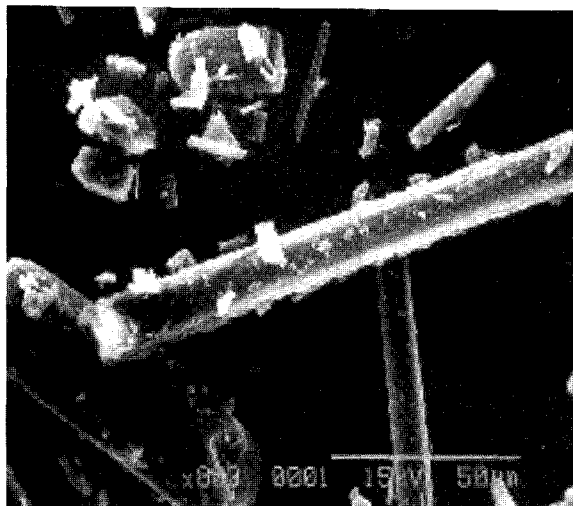
결과 및 고찰

SEM, XRD

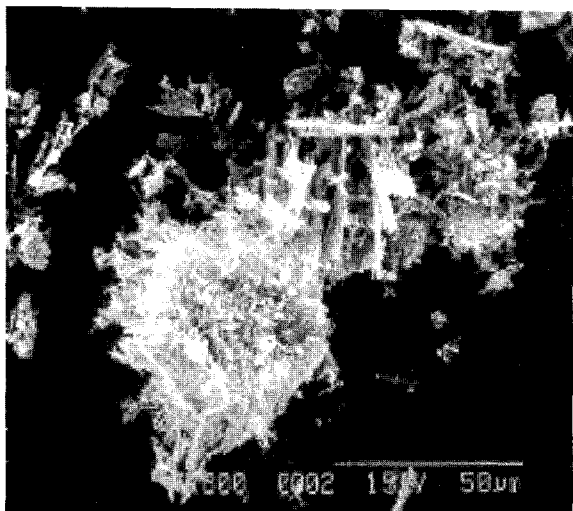
Figure 2에서 나타났듯이 로바스타틴은 침상의 결정성 약물임을 알 수 있었다. 결정성 약물은 용해되는데 필요한 결합에너지 장애를 넘기 위하여 많은 에너지가 필요하기 때문에 신체 내 흡수되어질 때 결정성이 적을수록, 용해 속도가 클수록 흡수율이 증가되어진다. 이에 약물을 냉동 분쇄하여 약물의 결정성의 변화를 확인하여 보았지만, 결정의 크기가 다소 작아지긴 했으나 소멸되지는 않았으며 시간이 지남에 따라 결정이 재생성됨을 확인하였다. Figure 3에서 로바스타틴의 XRD 그래프는 SEM으로 확인한 것과 같이 큰 결정성이 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 유사한 방법으로 냉동 분쇄한 로바스타틴의 결정성을 확인한 결과 피크의 면적비가 약 1/2 감소됨을 확인하였으나 결정이 완전히 소멸되지 않음을 확인하였다. 이로써 물리적인 힘에 의해 결정성을 감소시키려는 시도는 비효율적이었다. 또 한가지의 방법으로 약물을 가용화하여 흡수시키는 것이 흡수율 향상에 유리할 것이라 예상하였다.

오일 및 계면활성제의 결정

로바스타틴을 약제학적으로 허용되는 오일 및 계면활성제에 대한 로바스타틴의 용해도를 측정해 본 결과 Hydrophilic



(A) lovastatin (x800)



(B) Freeze milled-lovastatin (x800)



(C) Freeze milled-lovastatin (x5000)

Figure 2-SEM photographs of lovastatin powder before/after freeze milled micronization.

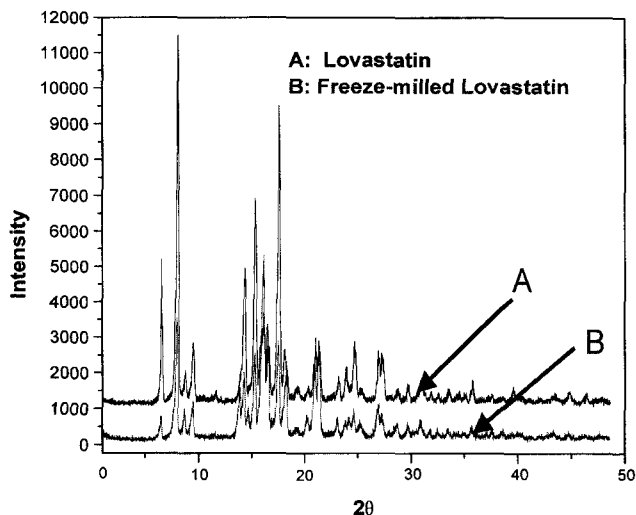


Figure 3-XRD of lovastatin and freeze-milled lovastatin.

Table III-Solubilities of lovastatin for various solvents

Solvent	Solubility (mg/ ml)	Solvent	Solubility (mg/ ml)
Carbitol	42	Triacetin	3.77
Capryol 90	38	Brij 30	14.3
Polyethylene glycol	19.4	Brij 92	11.1
Propylene glycol	15.3	Cremophor EL	6.67
Dimethyl ether isosorbide	33	Lauroglycol 90	35

Lipophilic Balance (HLB)가 낮은 소수성이 강한 오일에는 소량 녹았기에 Table III에서 나타난 바와 같이 10가지 용매를 선정하였다. 특히 물에 녹지 않아 약물이 물에서 석출되지 않고 오일상에 완전히 포집되게 하는 오일성분의 Capryol® 90은 HLB가 6으로 일반적인 오일의 HLB값보다 다소 높아 물에서 안정화되기 쉬우며 비교적 좋은 로바스타틴의 용해도 (38 mg/ml)를 나타내었기에 로바스타틴 SMEDDS를 제조하는데 있어서의 주 오일로 사용하였다. 또한 난용성 약물의 용해제로 이용되는 carbitol은 가장 좋은 용해도 (42 mg/ml)를 보여 보조계면활성제로 선택하였다. 이를 바탕으로 SMEDDS를 설계함에 있어 약물을 가용화 할 수 있는 주요 오일로 Capryol® 90을 보조계면활성제로는 carbitol을 그리고 계면활성제로는 Cremophor EL을 선택하여 사용하였다.

미세유화 형성 및 입도크기

SMEDDS 제형을 제1액, 제2액 및 물에서 형성되는 유적의 크기 및 안정성을 확인해 본 결과 약물의 결정이 석출되지 않고 30일 이상 거의 투명한 형태의 유화상태를 유지하였다. 이로부터 약물이 용해하여 미세유화 전달체를 통해 완

Table IV—The mean diameter (nm) and 95% confidence interval of the emulsion diluted 10 times in simulated gastric and intestinal juices estimated using the particle size analyzer

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
DW	131* 124-138**	28.4 27.7-29.1	40.1 39.0-41.3	38.9 37.8-40.0	75.3 72.2-78.3	173 162-183	25.8 25.2-26.4	82.5 70.8-94.2	95.3 91.2-99.4
Simulated gastric juice	138 131-146	86.5 82.8-90.3	65.9 63.4-68.4	27.2 26.6-27.9	44.3 42.9-45.7	133 126-140	27.8 27.1-28.4	62.7 60.2-65.2	86.4 79.8-93.0
Simulated intestinal juice	190 178-202	65.2 62.8-67.7	93.4 89.2-97.6	28.3 27.8-29.3	51.1 49.8-52.8	206 192-220	27.7 27.1-28.4	83.9 82.5-85.3	88.0 82.9-93.1

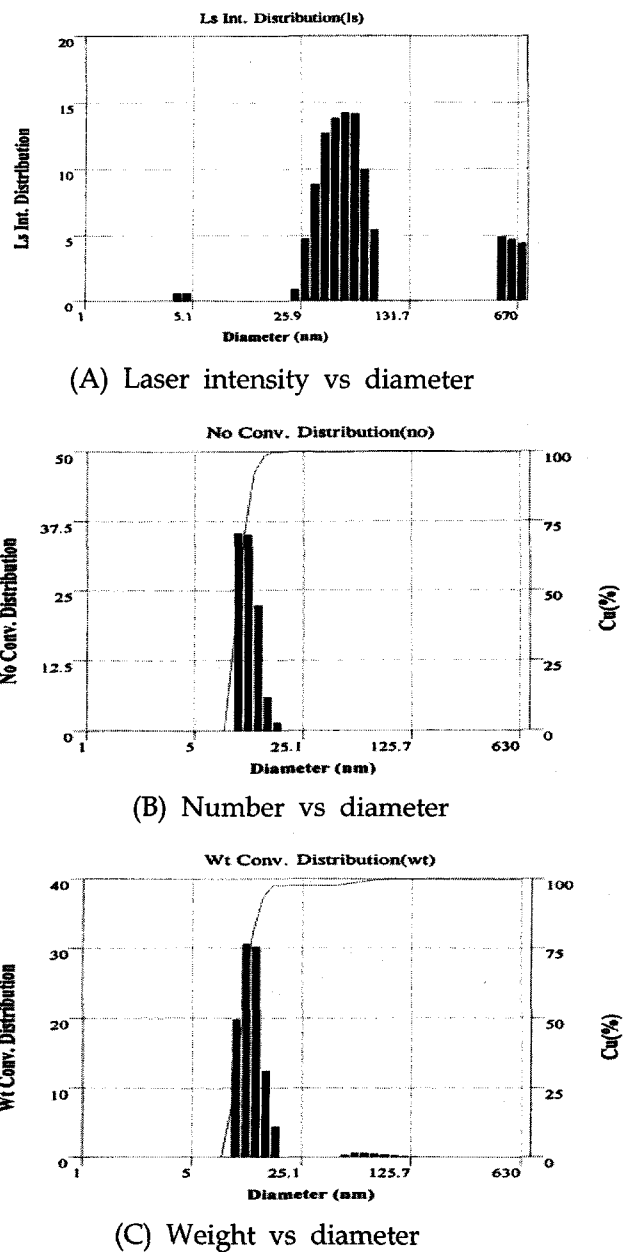
* mean diameter (nm)

** 95% confidence interval

전히 포집되었음을 알 수 있었다. 미세유화는 광학적으로 거의 투명한 형태를 보이는데 Tables I과 II의 D형과 G형의 성분 비율로 제조되어진 제형들이 가장 투명하였다. 제조된 7가지 처방제제들은 pH가 다른 용출시험액에 넣어 유적 크기를 측정해 본 결과 제조된 성분비에 따라 안정성 및 유적 크기에 차이를 보였다. Table IV에는 제1액 및 제2액 등에서 1/10로 희석하여 분석한 유적의 크기를 나타내었다. Table IV에서 보듯이 맑은 형태를 보인 D형과 G형의 유적의 크기가 가장 작음을 확인 할 수 있었다. 또한 D형과 G형은 산성인 위액 및 중성의 장액에서도 거의 30 nm 크기의 유적을 형성함을 확인하였다. 그리하여 D형과 G형은 위를 거쳐 장액에서 소화될 때 유화상태가 회합되지 않고 안정하게 분산되어 작은 크기의 유적을 형성하므로 약물의 흡수에 유리할 것으로 예상하였다. 그러나 G형은 약물의 용해도가 D형에 비해 다소 낮기 때문에 원하는 약물의 양을 효율적으로 전달하기 위해서 D형 (Capryol® 90:carbitor:Cre-mophor EL이 40:30:30, w/w/w)을 선택하였다. Figures 4 및 5는 D형을 각각 제2액 및 제1액에서 측정된 유적의 크기의 분포도로 수와 질량에 따른 분산을 나타내었다. 수와 질량에 따른 분포도를 통해 실제로 크기가 20 nm보다 작고 분산이 균일한 유적이 우세하게 형성함을 확인하였다. G형 역시 D형과 유사하게 수와 질량에 따른 분포도를 통해 매우 작고 균일한 크기의 유적이 우세하게 형성됨을 확인할 수 있었다.

약물의 안정성

SMEDDS D형은 40°C, 75% 상대습도의 가속조건에서 두 달 동안 침전의 생성, 혼탁도의 변화, 색의 변화, 상분리 등과 같은 눈으로 보이는 변화없이 투명한 옅은 노란빛을 띠는 안정한 상을 유지하였다. 그리고 약물을 아세트니트릴에 녹여 HPLC로 얻은 면적 비를 비교하여 시간에 따른 로바스타틴의 함량 변화를 확인해 본 결과 두 달 동안 약물의 함량이 약 95% 이상임을 확인하였다. 처음 제조시 보다 두

**Figure 4**—Particle size distributions of Formula D in simulated intestinal juice.

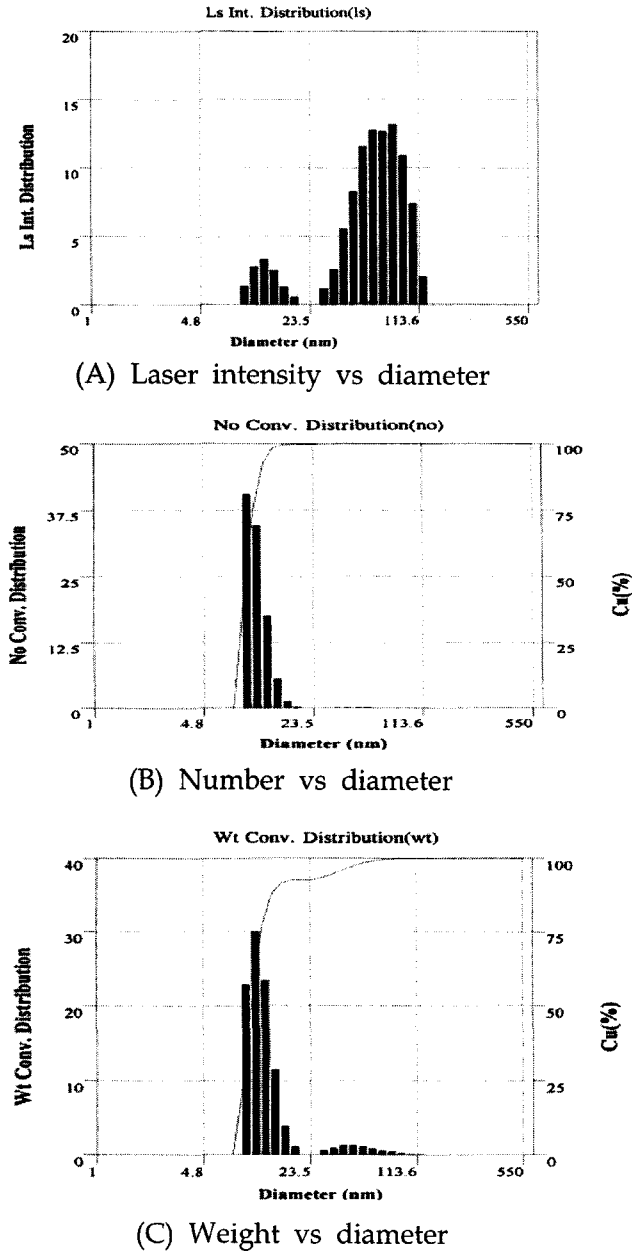


Figure 5-Particle size distributions of Formula D in simulated gastric juice.

달 후에 미소한 약물 함량의 감소가 있을 뿐 많은 양의 변화가 없었으므로 설계한 D형의 SMEDDS제형은 적어도 두 달 동안은 약물을 안정하게 유지하는 것을 확인할 수 있었으며 실제로 형성된 유화도 처음 형성된 상태에서 1년 이상 지속되는 것을 육안으로 확인하였다.

비글견에서의 약물동태

분석한 비글견의 혈중 로바스타틴산 검량선은 $Y=3.4294 \cdot X+0.0315$ 이었으며 (상관계수 $r=0.9975$), 이 때 X는 비글견

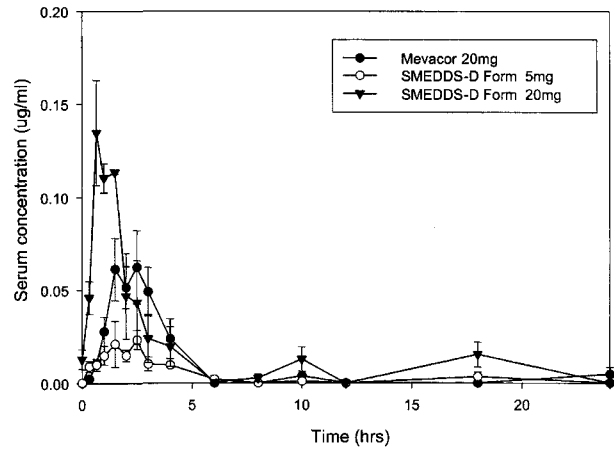


Figure 6-Serum concentration of lovastatin acid after oral administration for conventional tablet and new SMEDDS formulation in the beagle dogs (n=3, mean±standard error).

Table V-Pharmacokinetic parameters of lovastatin acid when lovastatin preparations were orally administered into the beagle dogs (n=3, mean±standard error)

Parameter	Mevacor [®] 20 mg	SMEDDS-D form 20 mg	SMEDDS-D form 5 mg
AUC _{0→24hr} (ng · hr/ml)	198.86±49.16	258.88±85.74*	91.492±6.28**
C _{max} (ng/ml)	85.07±16.29	135.71±45.20	34.81±6.97
T _{max} (hr)	1.83±0.29	1.05±0.21	1.67±0.38
Relative bioavailability (%)		130%	192%

*Not significant difference between Mevacor[®] 20 mg and SMEDDS-D form 20 mg (P=0.475) by t-test

**Not significant difference between Mevacor[®] 20 mg and SMEDDS-D form 5 mg (P=0.058) by t-test

혈청중의 약물농도이고 Y는 내부 표준물질인 메칠로바스타틴산과 로바스타틴산의 면적비이다. 로바스타틴산의 피크는 약 12.5분에 나타났으며, HPLC의 정량한계는 5 ng/ml이었으며, 5-150 ng/ml에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또한 이 농도범위에서 로바스타틴산의 CV (coefficient of variance) 와 accuracy (%)는 모두 15%이하로 나타났다. 이로부터 혈장 중 로바스타틴에 대한 HPLC 분석법은 충분한 감도와 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었다. 기존 제제와 신규 제제를 비글견에게 경구 투여한 후 혈액을 채취하여 혈청 중에 있는 약물 농도를 측정된 결과를 Figure 6에 나타내었다. 이 데이터를 근거로 하여 C_{max} 및 T_{max}는 이 곡선에서 직접 읽었으며, AUC_{0→24hr}는 사다리꼴 공식에 의하여 구하여 Table V에 나타내었다. 대조제제 (메바코정[®], 20 mg)에 대한 신규 시험제제 (미세유화 제제 D형 20 mg 및 5 mg)의 상대적 생체이용률은 (1)식으로 계산하였다.

본 실험에서는 로바스타틴산을 정량하였는데 기존의 대조 제제인 메바코정® 20 mg에 대하여 신규 미세유화 제제를 동량으로 20 mg 투여했을 때 각각의 $AUC_{0 \rightarrow 24hr}$ 값이 198.86 ± 49.16 , 258.88 ± 85.74 ng · hr/ml이었으며 C_{max} 는 85.07 ± 16.29 , 135.71 ± 45.20 ng/ml로 신규 제제에서 더 높은 혈중 농도를 나타내는 것을 알 수 있으며 기존 제제에 비하여 생체이용률이 약 130%로 높게 나타났다. 또한 신규 유화 제제를 5 mg 투여했을 때 투여용량이 소량임에 의해 혈중농도는 기존제제보다 낮게 나타났으나 투여 용량에 따른 전체적인 생체이용률은 약 192%로 투여 용량을 줄이면서도 생체이용률을 개선시킬 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한 대조 제제, 투여용량을 달리한 신규제제 20 mg 및 5 mg의 각각의 T_{max} 는 1.83 ± 0.29 , 1.05 ± 0.21 및 1.67 ± 0.38 hr로서 결정성을 제거하여 유화형태로 투여함으로써 흡수속도가 빨라졌음을 확인하였다. 이는 주성분을 자가미세유화 상태로 투여함으로써 기존의 로바스타틴이 가지고 있었던 흡수의 문제점을 극복하여 흡수를 극대화시킬 수 있는 것으로 사료되었다. Figure 6에서 볼 수 있듯이 D형의 SMEDDS는 흡수속도 및 흡수정도가 개선되어 최고혈중농도 도달시간이 빠르게 나타났으며 혈중 최고농도가 증가됨을 알 수 있다.

결 론

본 실험에서는 SMEDDS 제형을 통한 로바스타틴의 흡수율 향상을 위한 실험을 수행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 로바스타틴은 SMEDDS에 의해 수용성환경에 쉽게 용해시킬 수 있음을 확인하였다.
2. 높은 용해도를 보이는 Capryol 90, carbitol과 PEG를 주요 용해제로 선택하고 물, 제1액 및 제2액에서 안정한 유화를 형성시키기 위한 계면활성제로 Cremophor EL이 적절함을 확인하였다.
4. 최적 SMEDDS 처방의 성분비가 Capryol 90:carbitol (또는 PEG):Cremophor EL이 각각 40:30:30 (w/w/w)에서 약물을 안정하게 포접하여 물에서 약물이 석출되지 않고 분산이 잘 이루어짐을 확인하였다.
5. 최적 처방으로 제조한 SMEDDS는 산성의 제1액 및 중성의 제2액에서 약 30 nm의 광학적으로 거의 투명한 미세유화를 형성함으로써 pH에 영향을 받지 않으며 제조되어진 제형은 가속조건에서 최소 두 달 동안 약물을 안정하게 유지시킴을 확인하였다.
6. 선택되어진 SMEDDS 제형은 상용화된 정제 메바코정®

에 비해 비글건 실험을 통해 흡수율이 향상되었음을 확인하였다. 20 mg과 5 mg의 SMEDDS제제의 $AUC_{0 \rightarrow 24hr}$ 는 258.88 ± 85.74 , 91.49 ± 26.28 ng · hr/ml, C_{max} 는 135.71 ± 45.20 , 34.81 ± 6.97 ng/ml, T_{max} 는 1.05 ± 0.21 , 1.67 ± 0.38 hr이었으며 생체이용률은 메바코정 대비 130%와 192%의 향상을 나타내었다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부(HMP-98-G-2-051-B)의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) K. Yamamoto, M. Nakano, T. Arita, Y. Takayama and Y. Nakai, Dissolution behavior and bioavailability of phenytoin from a ground mixture with microcrystalline cellulose, *J. Pharm. Sci.*, **65**, 1484-1488 (1976).
- 2) D.A. Wyatt, Taking poorly water soluble compounds through discovery, *Gattefosse*, **92**, 31-39 (1999).
- 3) B.J. Aungst, Novel formulation strategies for improving oral bioavailability of drug with poor membrane permeation or presystemic metabolism, *J. Pharm. Sci.*, **82**, 970-987 (1993).
- 4) R. Arky, Physician's desk reference, *Medical Economics Company*, **53**, 875-889 (1999).
- 5) C. Leuner and J. Dressman, Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 47-60 (2000).
- 6) J.K. Jeong, G. Khang, J.M. Rhee, H.C. Shin and H.B. Lee, Comparative bioavailability of ipriflavone by pharmaceutical preparation types, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 21-26 (2000).
- 7) J.K. Jeong, G. Khang, J.M. Rhee, H.C. Shin and H.B. Lee, Effect of molecular weights and mixture ratios of polyvinylpyrrolidone on the bioavailability of ipriflavone solid dispersion, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **30**, 235-239 (2000).
- 8) G. Khang, J.K. Jeong, J.M. Rhee, J.S. Lee and H.B. Lee, Effect of hydrophilic polymers on solid dispersions of Ipriflavone to improve bioavailability, *Macromol. Chem. Symp.*, **14**, 123 (2001).
- 9) T. Gershanik and S. Benita, Self-dispersing lipid formulations for improving oral absorptions of lipophilic drugs, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **50**, 179-188 (2000).
- 10) P.P. Xu, M.L. Lu, M.L. Xu and J. Zhu, Determination of bioavailability of bifendate preparation by HPLC, *Chinese J. Pharm.*, **20**, 127-129 (1989).
- 11) J. Hyun and I.K. Chun, Dissolution characteristics of biphenyl dimethyl dicarboxylate from solid dispersions and permeation through rabbit duodenal mucosa, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **24**, 57-65 (1994).
- 12) Y. Tsuda, M. Ishida, E. Suzuki and K. Sekiguchi, Spray drying

- of griseofulvin solution forming its solvate, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2193-2196 (1998).
- 13) D. Attwood, Microemulsions : In *Colloidal Drug Delivery Systems*, Kreuter (Ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 31-71 (1994).
 - 14) D. Langevin, Microemulsions-interfacial aspects, *Adv. Colloid Interf. Sci.*, **34**, 583-595 (1991).
 - 15) C.W. Pouton, Self-emulsifying drug delivery systems : Assessment of the efficiency of emulsification, *Int. J. Pharm.*, **27**, 335-348 (1985).
 - 16) S.A. Charman, W.N. Charman, M.C. Rogge, T.D. Wilson, F.J. Dutko and C.W. Pouton, Self-emulsifying drug delivery systems : Formulation and biopharmaceutical evaluation of an investigational lipophilic compound, *Pharm. Res.*, **9**, 87-93 (1992).
 - 17) N.H. Shah, M.T. Carvajal, C.I. Patel, M.H. Infeld and A.W. Malick, Self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) with polyglycolyzed glycerides for improving *in vitro* dissolution and oral absorption of lipophilic drugs, *Int. J. Pharm.*, **106**, 15-23 (1994).
 - 18) P.C. Lerk and H. Sucker, Application of sucrose laurate in topical preparations of cyclosporin A, *Int. J. Pharm.*, **92**, 203-210 (1993).
 - 19) S.M. Khoo, A.J. Humberstone, C.J.H. Porter, G.A. Edwards and W.N. Charman, Formulation design and bioavailability assesment of lipidic self-emulsifying formulations of halofantrine, *Int. J. Pharm.*, **167**, 155-164 (1998).
 - 20) K.H. Kim, Y.S. Rhee, J.H. Bae, S.C. Chi and E.S. Park, Improvement of dissolution rate of poorly water soluble drug using self-microemulsifying drug delivery system, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **29**, 37-45 (1999).
 - 21) J.Y. Kim and Y.S. Ku, Enhanced absorption of indomethacin after oral or rectal administration of a self-emulsifying system containing indomethacin to rats, *Int. J. Pharm.*, **194**, 81-89 (2000).
 - 22) T.R. Kommuru, B. Gurley, M.A. Khan and I.K. Reddy, Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) of coenzyme Q10 : Formulation development and bioavailability assessment, *Int. J. Pharm.*, **212**, 233-246 (2001).
 - 23) M.J. Groupe and R.M.A. Mustafa, Measurement of the spontaneity of self-emulsifiable oils, *J. Pharm. Pharmacol.*, **26**, 671 (1974).
 - 24) R.T. Clay, K. Patel and R.S. Cook, Formulation of oils : an alternative of surfactant based self-emulsifying system, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 3 (1985).
 - 25) B. Matuszewska, L. Hettrick, J.V. Bondi and D.E. Storey, Comparative bioavailability of L-683-453 a 5-reductase ingibitor from a self-emulsifying drug delivery system in beagle dogs, *Int. J. Pharm.*, **136**, 147-154 (1996).
 - 26) R.J. Stubbs, M. Schwartz and W.F. Bayne, Determination of mevinolin and mevinolinic acid in plasma and bile by reversed phase HPLC, *J. Chromatography*, **383**, 438-443 (1986).
 - 27) G.A. McClelland, R.J. Stubbs, J.A. Fix, S.A. Pogany and G.M. Zentner, Enhancement HMG-CoA reductase inhibitor efficacy through administration of a controlled-porosity osmotic pump dosage form, *Pharm. Res.*, **8**, 873-876 (1991).
 - 28) H. Cheng, S.C. Sutton, J.D. Pipkin, G.M. Zentner, J.D. Rogers, J.I. Schwartz, Y.B. Mitchel, K. Grasing, M.S. Schwartz and R.D. Amin, Evaluation of sustained, controlled-release dosage forms of HMG-CoA reductase inhibitors in dogs and humans, *Pharm. Res.*, **10**, 1683-1687 (1993).
 - 29) H.J. Shin, J.L. Lim, J.H. Kim, S.W. Cho, W.H. Song, J.M. Kim and Y.W. Choi, Bioequivalence of Lovaload tablet to Mevaco tablet, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 283-288 (1998).
 - 30) S. Vickers, C.A. Duncan, I.W. Chen, A. Rosegay and D.E. Duggan, Metabolic disposition studies on simvastatin, cholesterol-lowering prodrug, *Drug Metabolism Disposition*, **18**, 138-145 (1989).
 - 31) D.E. Duggan, I.W. Chen, W.F. Bayne, R.A. Halpin, C.A. Duncan, M.S. Schwartz, R.J. Stubbs and S. Vickers, The physiological disposition of lovastatin, *Drug Metabol. Disp.*, **17**, 166-173 (1988).
 - 32) J.M. Kovarik, E.A. Mueller, J.B. Bree, W. Tetzloff and K. Kutz, Reduced inter- and intraindividual variability in cyclosporin pharmacokinetics from a microemulsion formulation, *J. Pharm. Sci.*, **83**, 444-446 (1994).
 - 33) N.H. Shah, M.T. Carvajal, C.I. Patel, M.H. Infeld and A.W. Malick, SEDDS with polyglycolyzed glycerides for improving *in vitro* dissolution and oral absorption of lipophilic drug, *Int. J. Pharm.*, **106**, 15-23 (1994).
 - 34) D.Q.M. Craig, H.S.R. Lievens and K.G. Pitt, An investigation into the physico-chemical properties of self-emulsifying systems using low frequency dielectric spectroscopy, surface tension measurements and particle size analysis, *Int. J. Pharm.*, **96**, 147-155 (1993).
 - 35) T. Gershanik and S. Benita, Positively charged self-emulsifying oil formulation for improving oral bioavailability of progesteron, *Pharm. Develop. Tech.*, **1**, 147-157 (1996).
 - 36) B.D. Anderson and M.T. Marra, Chemical and related factors controlling lipid solubility, *Gattefosse*, **92**, 11-18 (1999).
 - 37) P.P. Constantinidis, Lipid microemulsions for improving drug dis- solution and oral absorption, *Pharm. Res.*, **12**, 1561-1572 (1995).
 - 38) R.A. Myers and V.J. Stella, Systemic bioavailability of Penclomedine from oil-in-water emulsions administered intra-duodenally to rats, *Int. J. Pharm.*, **78**, 217-226 (1992).