

완충 수용액 중 Aloesin의 전처방학 연구

이윤진 · 곽혜선 · 전인구[#]

동덕여자대학교 약학대학

(Received March 28, 2002; Revised May 6, 2002)

Preformulation Study of Aloesin in Buffered Aqueous Solutions

Yun Jin Lee, Hye Sun Gwak and In Koo Chun[#]

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

Abstract — The physicochemical properties of aloesin, which has been recently found to reduce renal toxicity induced by cis-platin, were studied including solubility, partition coefficient (P_c), osmolality, and stability. The solubility of aloesin was about 500 mg/ml, and the P_c value for n-octanol/water was 1.01 ± 0.03 . The degradation of aloesin followed the pseudo-first-order kinetics and was dependent on temperature, pH and ionic strength. From the pH-rate profile, the optimal pH was found to be 2.0~3.0. Some metal ions increased the degradation rate in the rank order of $Mn^{2+} > Fe^{3+} > Cu^{2+} > Fe^{2+}$. On the other hand, other metal ions such as Bi^{3+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} and Mg^{2+} did not show the unfavorable effects. After autoclaving, aloesin contents remaining were 81.8~98.8% of initial concentrations depending on pH. The most stable pH was 3.98 in the autoclaving. Osmolality increased linearly as concentration increased.

Keywords □ Aloesin, Preformulation, Solubility, Partition coefficient, Osmolality, Stability.

Aloesin($C_{19}H_{22}O_{10}$, m.w.: 410.41)은 백합과(Liliaceae) 식물에서 추출한 배당체로서 arbutin과 같이 사용하면 상승적으로 tyrosinase의 활성을 억제하는 효과가 있으며,¹⁾ 최근에는 cis-platin에 의해 유도되는 신장 독성을 경감하는 물질로 알려짐에 따라 신장보호제로서 개발되고 있다. Aloesin은 경구 투여 시 빠른 속도로 흡수되어 투여 30분 후 최고혈중농도에 도달하였으며 혈중농도시간곡선아래면적은 50 mg/kg에서 200 mg/kg까지 용량 의존적으로 증가하나 100 mg/kg 이상에서는 일부 포화현상을 보이는 것으로 연구되었다. 생체이용률은 흰쥐에서 2~4%로 매우 낮으며 높은 대사 안정성을 나타내어 흡수된 물질은 대부분 대사되지 않고 요를 통하여 배설되는 것으로 보고되었다.²⁾ 본 연구에서는 이러한 낮은 경구 흡수율의 단점을 극복하기 위한 방안 중의 하나로서 aloesin 수성 주사제 개발 가능성을 검토하기 위하여 전처방학 연구³⁻¹²⁾의 일환으로 완충 수용액 중에서의 aloesin의 용해도, 분배계수 및 삼투압농도 등의 물리화학적 성질을 측정하고 화학적 안정성에 미치는 온도, pH, 이온강도 및 금속이온 등의 영향을 검토하였다.

실험 방법

시약 및 재료

재료로 aloesin은 (주)Unigen(서울)에서 제공한 것을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 각종 완충액으로는 0.2N KCl-0.2N HCl 완충액(pH 1~2), McIlvaine 완충액(0.1M 구연산-0.2M 인산일수소나트륨, pH 3~4), 인산염완충액(0.1M 인산이수소칼륨용액-0.1M 인산일수소나트륨용액, pH 5~8), 봉산염완충액(0.2M 봉산-0.2M 염화칼륨 용액을 0.2M 수산화나트륨용액과 혼합한 후 물을 넣어 100 ml로 조제, pH 9~10)을 사용하였다. 금속 염류로는 시판 시약급의 염화마그네슘($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), 황산제일철($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), 염화제이철($FeCl_3 \cdot 6H_2O$), 염화코발트($CoCl_2 \cdot 6H_2O$), 질산망간($Mn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$), 질산니켈($Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$), 황산아연($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), 염화바륨($BaCl_2 \cdot 2H_2O$), 질산비스마스($Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$), 초산동($Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$) 등을 사용하였다. 메탄올은 HPLC 급(Fisher Scientific, USA)을, 물은 초순수제조장치(Elgastat, UHQPS, England)에 증류수를 통과시켜 $18 M\Omega$ 이상인 것을 사용하였다. 내부표준물질(IS)로 폐널알라닌(Sigma, USA)을 사용하였다. 기타 시약 및 용매는 시판 시약 1급 또는 특급품을 사용하였다.

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-940-4523 (팩스) 02-941-7652
(E-mail) ikchun@dongduk.ac.kr

기기 및 장치

고속 액체크로마토그래프(SLC-100, Intelligent pump, Samsung, Korea), 항온진탕 수욕장치(D-6072, Karl Kolb, Germany), pH 측정기(pH meter 925, Fisher Scientific, USA), 정온 부린기(model 3800, Napco, USA), 삼투압 측정장치(Osmomat 030, Gonotec, Germany) 및 autoclave(KMC 1221, Vision Scientific Co., Ltd., Korea) 등을 사용하였다.

용해도 측정

바이알에 물, McIlvaine 완충액(pH 3.98), 인산염 완충액(pH 7.35) 각각 0.5 mL씩 넣고 aloesin을 일정 과량 넣은 다음 밀전하여 25°C에서 48시간 이상 진탕하였다. 진탕 후 1시간 이상 정지하여 상정액을 공경 0.45 μm 멤브레인필터로 여과하였다. 그 여액 100 μL를 취하여 물 10 mL를 넣어 희석하고, 필요에 따라서 다시 이 액 100 μL를 취해 10 mL로 2단계 희석한 후 이 액 200 μL를 IS 함유 KCl-HCl 완충액(페닐알라닌 20 μg/mL) 200 μL에 넣어 섞고 그 20 μL를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로 토너 용해도를 산출하였다.

유스분배계수 측정

분역질때기에 수상으로 사용할 pH 7.4 등장인산염 완충액 10 mL에 유상으로 사용할 n-옥탄 및 클로로포름을 각각 1 mL씩 넣어 vortexing하여 포화시킨 후 유기용제가 포화된 수층을 취하고, 유기용제 각 10 mL에 pH 7.4 등장인산염 완충액 1 mL를 넣어 vortexing하여 포화시킨 후 유충만 분리하였다. 유충으로 포화시킨 수상으로 만든 aloesin 용액(100 μg/mL) 1.0 mL 및 수상으로 포화시킨 유상 1.0 mL를 취하여 원심분리관에 넣고 3분간 vortexing하여 분배평형에 도달시킨 후 3분간 원심분리하였다. 원심분리 후 수층에서 100 μL, 유층에서 100 μL를 취하여 각각 내부표준액으로서 페닐알라닌의 수용액 또는 메탄올 용액(50% MeOH, 20 μg/mL) 100 μL를 넣어 섞은 다음 그 20 μL를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램으로부터 분배계수를 측정하였다.

Aloesin 수용액의 삼투압농도 측정

물 200 μL에 aloesin 10, 20, 40 및 60 mg을 넣어 5, 10, 20 및 30%의 용액을 만든 후, 40 μL를 0.6 mL 삼투압 측정용 튜브에 씨하여 넣고, 삼투압계를 이용하여 삼투압 농도(중량 오스몰 농도)를 측정하였다.

수용액 중 aloesin의 안정성시험

보존온도의 영향 - pH 1.32~9.66의 완충액에 aloesin을 1.0 mg/mL가 되도록 조제한 후 공경 0.2 μm 멤브레인필터(Minisart N, Sartorius, Germany)로 여과한 다음 각 6 mL씩을 10 mL의 바

이알에 밀전하고 각각을 35, 45 및 60°C의 항온기에 보존하면서 1 mL 실린지로 경시적으로 0.3 mL씩 취하여 1.4 mL Eppendorf tube에 취하였다. 이 액 200 μL를 취하여 물 9.8 mL와 섞어 50배 희석하고 이 액 200 μL를 IS 함유 KCl-HCl 완충액(페닐알라닌 20 μg/mL) 200 μL에 넣어 섞은 다음 잔존 aloesin의 양을 HPLC법에 따라 정량하였다.

pH의 영향 - 각종 완충액의 pH를 1.32~9.66까지 변화시키고 각 완충액에 aloesin을 1.0 mg/mL가 되도록 조제한 후 공경 0.2 μm 멤브레인필터로 여과한 다음 각 6 mL씩을 10 mL의 바이알에 밀전하고 각각을 45°C에 보존하면서 1 mL 실린지로 경시적으로 0.3 mL씩 취하여 1.4 mL Eppendorf tube에 취하였다. 이 액 200 μL를 취하여 물 9.8 mL와 섞어 50배 희석하고 이 액 200 μL를 IS 함유 KCl-HCl 완충액(페닐알라닌 20 μg/mL) 200 μL에 넣어 섞은 다음 잔존 aloesin의 양을 HPLC법에 따라 정량하였다. 따로 pH 1.32~9.66까지 변화시킨 각 완충액을 사용하여 앞에서와 동일하게 조제하고 35°C와 60°C에 보존하면서 동일하게 조작하여 잔존 aloesin의 양을 정량하였다.

이온강도의 영향 - 인산염완충액(pH 7.35)에 염화나트륨을 넣어 이온강도를 0.0466~1.5까지 변화시키고 이 액에 aloesin을 1.0 mg/mL의 농도가 되도록 조제하고 각각 9 mL씩을 10 mL 바이알에 넣어 밀전하고 45°C에 보존하면서 1 mL 실린지로 경시적으로 0.3 mL씩 취하여 위에서와 같은 방법으로 조작하여 잔존 aloesin의 양을 정량하였다.

금속이온류의 영향 - 15 mL 바이알에 pH 7.35 인산염 완충액 8.95 mL씩을 넣고 aloesin 원액(10 mg/mL) 1.0 mL씩을 넣은 다음 각각에 차례로 염화마그네슘(Mg²⁺), 황산제일철(Fe²⁺), 염화제이철(Fe³⁺), 염화코발트(Co²⁺), 질산망간(Mn²⁺), 질산니켈(Ni²⁺), 황산아연(Zn²⁺), 염화바륨(Ba²⁺), 질산비스마스(Bi³⁺), 초산동(Cu²⁺) 등의 금속 염류용액 (1×10^{-2} M) 50 μL씩을 넣어 금속이온의 농도가 5×10^{-5} M이 되도록 하였다. 시료액이 함유된 바이알을 고무마개로 밀봉한 다음, 45°C에 보존하면서 1 mL 실린지로 경시적으로 0.3 mL씩 취하여 1.4 mL Eppendorf tube에 취하였다. 이 액 200 μL를 취하여 물 9.8 mL와 섞어 50배 희석하고 이 액 200 μL를 IS 함유 KCl-HCl 완충액(페닐알라닌 20 μg/mL) 200 μL에 넣어 섞고 위에서와 같은 방법으로 조작하여 잔존 aloesin의 양을 정량하였다. 따로 pH 3.98의 완충액을 사용하여 질산망간(Mn²⁺), 염화제이철(Fe³⁺) 및 초산동(Cu²⁺)을 넣고 앞에서와 동일하게 조작하여 잔존 aloesin의 양을 정량하였다.

고압증기 멸균시 pH의 영향 - 각 완충액(McIlvaine 완충액, 인산염 완충액)에 aloesin을 20 mg/mL농도로 조제한 후 초기 색을 관찰하고, pH를 측정한 후 각 5 mL씩을 10 mL 바이알에 밀전한 다음 autoclave를 사용하여 121°C에서 20분간 고압증기 멸균 후 색, pH를 관찰하였다. 함량을 측정하기 위해서 이 액 100 μL를 취하여 정제수 9.9 mL를 넣어 희석한 후 다시 이 액 100 μL를 취

해 정제수 9.9 mL로 2단계 회석한 후 이 액 200 μ L를 IS 함유 KCl-HCl 완충액(페닐알라닌 20 μ g/mL) 200 μ L에 넣어 섞고 위에서와 같은 방법으로 조작하여 전존 aloesin의 양을 정량하였다.

Aloesin의 HPLC 분석조건

검출기로 UV-VIS detector SLC 200을, 데이터 처리장치로는 Varian 4290 integrator을 사용하고 칼럼으로는 Radial Pak insert(C18, Waters)가 장착된 μ Bondapak C18 칼럼(10 μ m, 3.9 \times 300 mm, Waters)을 썼다. 이동상으로는 물 : 메탄올 혼합액(75 : 25 v/v)을 사용하고 유속으로는 1.2 mL/min, 검출파장은 214 nm, 감도는 32의 조건에서 20 μ L를 주입하여 정량하였다.

결과 및 고찰

Aloesin의 용해성

완충액(pH 3.98 및 7.35) 및 물에서의 용해도(25°C)는 각각 560.4(\pm 1.96), 478.1(\pm 2.07) 및 431.1(\pm 1.04) mg/mL로 산출되었다. 이로부터 완충액에 따라 용해도가 다소 다르게 나타난 것은 완충종에 따라 aloesin의 용해도에 차이가 있기 때문인 것으로 추정된다.

분배계수

pH 7.4 등장인산염 완충액과 *n*-옥탄을 또는 클로로포름 간의 aloesin의 분배계수를 측정한 결과 *n*-옥탄으로의 분배계수는 1.01 \pm 0.03이고 클로로포름으로의 분배계수는 0.59 \pm 0.03인 것으로 나타났다. 이로 보아 aloesin은 친수성이 다소 높은 물질인 것을 알 수 있다.

Aloesin 수용액의 삼투압 농도

5, 10, 20 및 30%의 aloesin 용액에 대해 삼투압을 측정한 결과 농도와 삼투압 농도 간에는 양호한 직선성($r^2=0.997$)을 보여

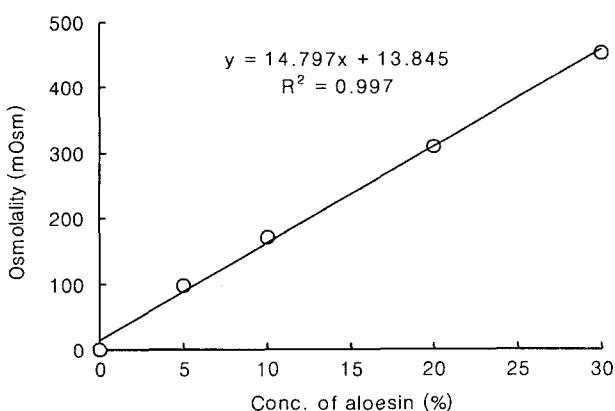


Fig. 1 – Osmolality of aloesin aqueous solutions.

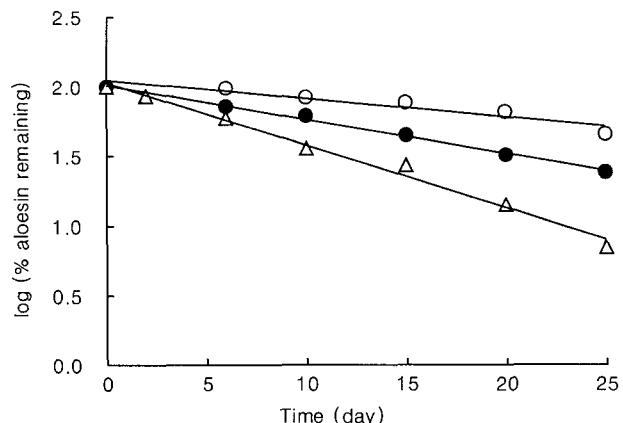


Fig. 2 – Effects of storage temperatures on the degradation of aloesin at pH 7.35
Key : ○, 35°C; ●, 45°C; △, 60°C

주었다(Fig. 1). 0.9% 염화나트륨의 삼투압 농도가 286 mOsm임을 고려할 때, aloesin 수용액의 등장화는 수용액 중 aloesin의 농도가 약 18.4%일 때 얻어지는 것으로 산출되었다.

수용액 중 aloesin의 안정성

보존온도의 영향 – Aloesin을 인산염 완충액(pH 7.35)에 녹인 용액(1,000 μ g/mL)을 35, 45 및 60°C에서 보존하면서 경시적으로 진존량을 측정하여 세미로그 플로트를 한 결과 Fig. 2에서와 같이 양호한 직선성이 얻어져 수용액 중 aloesin의 분해는 겉보기 1차식에 따름을 알았다. 35, 45 및 60°C에서의 분해속도정수는 각각 0.0302, 0.0573 및 0.103 day $^{-1}$ 로 산출되었다. 보존온도가 상승함에 따라 그 분해속도정수는 Arrhenius 식에 따라 온도의존적인 분해거동을 나타내었으며 이로부터 구한 활성화에너지 9.89 kcal/mol로 산출되었다.

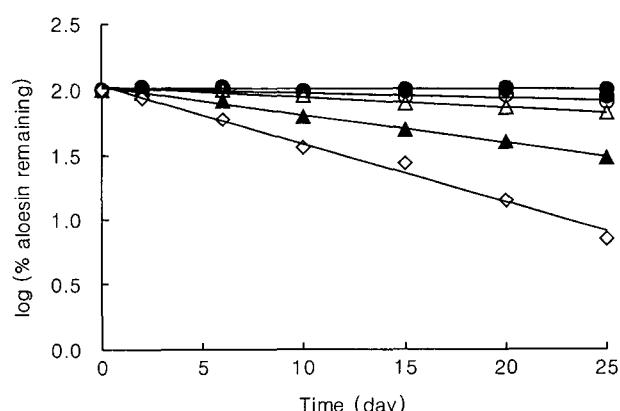


Fig. 3 – Apparent first-order degradation profiles of aloesin as a function of pH at 60°C
Key : ○, pH 1.32; ●, pH 3.98; △, pH 5.65; ▲, pH 6.49; ◇, pH 7.35

Table I – Apparent first-order rate constants (k) and half-lives ($t_{1/2}$) of aloesin (1 mg/ml) in various buffered solutions at 35, 45 and 60°C

Temperature (°C)	pH	Buffer	$k(\text{day}^{-1})$	$t_{1/2}(\text{day})$
35	1.32	KCl-HCl	0.000623	1112.36
	2.09	KCl-HCl	0.000359	1930.36
	3.03	McIlvaine	0.000461	1503.25
	3.98	McIlvaine	0.000940	737.24
	5.65	phosphate	0.00498	139.16
	6.49	phosphate	0.0104	66.57
	7.35	phosphate	0.0302	22.59
	8.14	phosphate	0.0440	15.76
	9.66	borate	0.458	1.51
45	1.32	KCl-HCl	0.00124	558.87
	2.09	KCl-HCl	0.00128	541.41
	3.03	McIlvaine	0.00101	686.14
	3.98	McIlvaine	0.00224	309.38
	5.65	phosphate	0.00890	77.87
	6.49	phosphate	0.0276	25.12
	7.35	phosphate	0.0573	12.10
	8.14	phosphate	0.151	4.60
	9.66	borate	0.911	0.76
60	1.32	KCl-HCl	0.00103	67.41
	2.09	KCl-HCl	0.006869	100.58
	3.03	McIlvaine	0.00315	220.00
	3.98	McIlvaine	0.00416	166.59
	5.65	phosphate	0.0186	37.34
	6.49	phosphate	0.0531	13.06
	7.35	phosphate	0.103	6.70
	8.14	phosphate	0.229	3.03
	9.66	borate	3.21	0.22

pH의 영향 – 수용액 중에서 용액의 pH가 aloesin(1 mg/ml)의 분해에 미치는 영향을 검토하기 위하여 용액의 pH를 1.32~9.66으로 변화시키고 35, 45 및 60°C에 보존하면서 경시적으로 잔존량을 구하여 세미로그 플로트를 한 결과 Fig. 3에서와 같이 양호한 직선성이 얻어져 여러 pH에서의 aloesin의 분해는 겉보기 1차식에 따름을 알았다. 또한 이로부터 완충수용액의 pH에 따른 aloesin의 분해속도정수(k)와 분해반감기($t_{1/2}$)를 각각 구하여 Table I에 나타내었고 pH-rate profile로 작성한 결과는 Fig. 4에 나타내었다. Aloesin은 35°C에서는 pH 2.09에서 가장 안정한 것으로 나타났고, 45 및 60°C에서는 각각 pH 3.03에서 가장 안정한 것으로 나타나 aloesin의 최적 pH는 2.0~3.0 범위에 있음을 알 수 있었다. 또한 pH 5.65에서부터 pH 9.66까지의 속도정수의 log값을 pH에 대해 linear regression한 결과 기울기는 35, 45 및 60°C에서 각각 0.540($r^2=0.9868$), 0.493($r^2=0.9986$) 및 0.480($r^2=0.9888$)로 산출되었다.

이온강도의 영향 – 인산염 완충액(pH 7.35) 중 이온강도(μ)를 0.0466, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0 및 1.5로 변화시켜 aloesin의 경시 잔

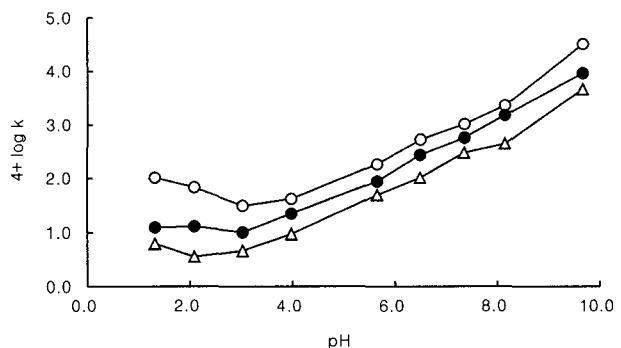


Fig. 4 – pH-rate profiles of aloesin at 35, 45 and 60°C.
Key : ○, 60°C; ●, 45°C; △, 35°C

Table II – Effects of ionic strength on the degradation rate constants (k) and half-lives ($t_{1/2}$) of aloesin at pH 7.35 and 45°C

ionic strength (°C)	k (day $^{-1}$, $\times 10^3$)	$t_{1/2}$ (day)
0.0466	7.36	94.29
0.1	15.4	45.00
0.3	19.2	36.09
0.5	24.3	28.52
1.0	35.82	19.35
1.5	69.26	10.01

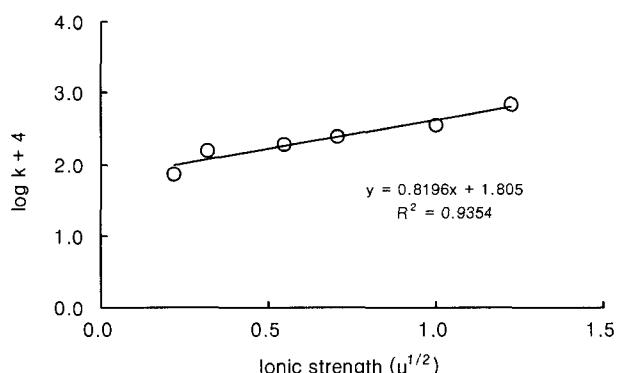
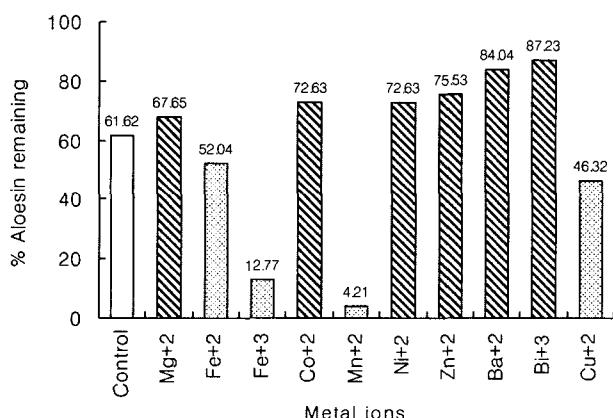


Fig. 5 – Effects of ionic strength on the degradation rate constants of aloesin at pH 7.35 and 45°C.

존률을 측정하여 1차식에 따라 구한 분해속도정수와 분해반감기를 Table II에 나타내었다. 이에서 보면 이온강도가 증가할수록 분해가 촉진되어 이온강도가 0.0466에서 1.5로 커짐에 따라 겉보기 1차 분해속도정수가 9.42배 증가하였다. 이러한 분해속도정수의 이온강도 의존성을 Debye Hückel의 식에 따라 플로트한 결과 Fig. 5에서와 같이 직선성($r^2=0.94$)을 나타내었다. 이 식에 따라서 이온강도가 0인 조건인 무한히 희석된 용액에서의 분해속도정수(k_0)는 0.00639 day^{-1} ($t_{1/2}=108.45 \text{ day}$)로 산출되었다. 이와 같이 이온강도가 증가할수록 분해속도가 증가하는 것은 반응하는 두 이온 종의 전하의 곱($Z_A Z_B$)이 정(+)의 값을 가진다는 것을 의미한다.

Table III – Effects of metal ions on the first-order degradation rate constants (k) and half-lives ($t_{1/2}$) of aloesin at pH 7.35 and 45°C

Metal ion	Metal salt used	k (day $^{-1}$, $\times 10^3$)	$t_{1/2}$ (day)
None	None	57.90	11.97
Mg $^{+2}$	MgCl ₂	53.80	12.88
Fe $^{+2}$	FeSO ₄	71.80	9.65
Co $^{+2}$	CoCl ₂	50.52	13.72
Ni $^{+2}$	Ni(NO ₃) ₂	46.81	14.80
Zn $^{+2}$	ZnSO ₄	44.09	15.72
Ba $^{+2}$	BaCl ₂	29.15	23.77
Bi $^{+3}$	Bi(NO ₃) ₃	27.91	24.83
Cu $^{+2}$	Cu(CH ₃ COO) ₂	106.06	6.53
Fe $^{+3}$	FeCl ₃	257.26	2.69
Mn $^{+2}$	Mn(NO ₃) ₂	395.96	1.75

The concentration of metal ions added was 5×10^{-5} M.**Fig. 6** – Percentage of aloesin remaining in the presence of various metal ions after 8 days at pH 7.35 and 45°C.

금속 이온류의 영향 – 금속 이온들이 산화 또는 가수분해반응에 촉매역할을 하여 분해반응을 촉진하는 경우가 많다. 이 연구에서는 완충 수용액(pH 7.35)에서 aloesin의 분해반응에 미치는 금속 이온들의 영향을 검토하기 위하여 10종의 금속 이온들을 5×10^{-5} M 농도로 첨가하여 45°C에 보존하면서 경시 잔존량을 측정하였다. 그로부터 1차 분해속도 정수와 반감기를 Table III

Table IV – Effects of metal ions on the first-order degradation rate constants (k) and half-lives ($t_{1/2}$) of aloesin at pH 3.98 and 45°C

Metal ion	Metal salt used	k (day $^{-1}$, $\times 10^3$)	$t_{1/2}$ (day)
None	None	1.88	369.21
Mn $^{+2}$	Mn(NO ₃) ₂	11.87	58.38
Fe $^{+3}$	FeCl ₃	2.96	234.36
Cu $^{+2}$	Cu(CH ₃ COO) ₂	1.59	435.03

The concentration of metal ions added was 5×10^{-5} M.

에 나타내었다. 또 45°C에서 8일간 보존 후의 잔존량을 Fig. 6에 비교하였다. 한편, 약알칼리성에서 염화제이철(Fe $^{3+}$), 질산망간(Mn $^{+2}$) 및 초산구리(Cu $^{+2}$)의 분해속도가 빠르게 나타나서 산성 영역인 pH 3.98의 완충 수용액에서 45°C로 보존하면서 경시 잔존량을 측정하여 1차 분해속도 정수와 반감기를 Table IV에 나타내었다. 이에서 보면 aloesin의 pH 7.35에서 분해촉진효과의 크기는 Mn $^{+2} > \text{Fe}^{+3} > \text{Cu}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$ 의 순이며 Bi $^{+3}$, Ba $^{+2}$, Zn $^{+2}$, Ni $^{+2}$, Co $^{+2}$ 및 Mg $^{+2}$ 는 분해촉진효과를 보이지 않았다. pH 3.98에서 분해촉진효과의 크기는 Mn $^{+2} > \text{Fe}^{+3}$ 의 순이며 Cu $^{+2}$ 는 아무것도 넣지 않은 것과 비슷하였다. 따라서 수용액의 안정화를 위해서는 이들 중금속 이온들 특히 망간, 철과 구리의 혼입을 억제함과 동시에 EDTA와 같은 중금속 고정제를 해리 상태로 존재할 수 있는 약알칼리 영역에서 소량 첨가하는 것이 안정화에 유익할 것으로 기대된다. 한편, 비스마스나 바륨이온은 오히려 높은 분해 억제효과를 나타내었는데 이의 안정화기구는 aloesin과 금속 칼레이트를 형성함에 기인하는 것으로 추정되나 이의 기전에 대한 연구는 별도로 추구되어야 할 것이다.

한편 금속 이온들의 존재로 인한 aloesin의 분해촉진 또는 억제효과는 그 용액의 변색도의 차이에서도 반영되었는데 망간이나 철 또는 구리이온의 존재 시 심한 변색을 나타낸 반면 비스마스나 바륨과 같이 분해억제효과가 있는 금속이온의 존재 시에는 색의 변화가 거의 나타나지 않았다.

고압증기 멸균시 pH의 영향 – Aloesin의 주사제로서의 적합성을 알아보기 위하여 McIlvaine 완충액과 인산염완충액에 aloesin

Table V – Changes of color, pH and content of aloesin in aqueous buffered solutions after autoclaving (121°C, 20 min)

pH	Buffer used	Appearance	pH change		Content (%) remaining
			Before	After	
6.88	water	colorless	4.15	4.30	90.84 ± 0.87
3.03	McIlvaine	colorless	3.03	3.02	93.13 ± 0.26
3.98	McIlvaine	colorless	3.98	3.95	98.75 ± 0.26
5.65	phosphate	slightly yellow	5.65	5.62	83.44 ± 0.17
6.49	phosphate	slight brown	6.49	6.46	90.06 ± 0.81
7.35	phosphate	pale brown	7.35	7.30	83.81 ± 0.07

Data were expressed as the mean ± S.D. (n=3). The concentration of aloesin solutions was 20 mg/ml.

을 20 mg/ml로 조제한 후, autoclave를 사용하여 121°C에서 20분간 고압증기 멸균하여 멸균 전후의 색, pH 및 함량의 변화를 Table V에 나타내었다. 이로부터 pH 자체는 멸균 전후 크게 변하지 않았으나 pH가 증가할수록 색의 변화정도가 커졌음을 알 수 있었다. 또 멸균 후의 함량은 초기 함량에 비해 83.8~98.8%로 나타났는데 pH 3.98에서의 잔존 함량이 가장 높았으며 이에 근거하여 고압증기 멸균시 aloesin 수용액의 pH를 4.0 근처로 조정할 이 바람직하다고 생각된다.

결 론

1. 원충 수용액 중 aloesin의 용해도(25°C)는 470 mg/ml 이상이며, n-옥탄올/원충액(pH 7.4) 및 클로로포름/원충액(pH 7.4) 간 분배계수는 각각 1.01 및 0.59이었다. Aloesin의 삼투압농도는 aloesin 농도의 증기에 따라 $y=14.8x+13.8(r^2=0.997)$ 의 직선적인 거동을 나타내었다.

2. 수용액 중 aloesin은 온도, pH 및 이온강도 의존적으로 분해되었으며 최적 pH는 2.0~3.0으로 나타났다.

3. 원충 수용액(pH 7.35) 중 금속 이온류가 aloesin의 분해에 미치는 영향을 검토한 결과, $Mn^{2+} > Fe^{3+} > Cu^{2+} > Fe^{2+}$ 의 순으로 aloesin의 분해를 촉진하였다. 반면, Bi^{3+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} 및 Mg^{2+} 등은 분해 촉진 효과를 보이지 않았다. 그러므로 수용액의 안정화를 위해서는 망간, 철과 구리 이온들의 혼입을 억제 할 필요가 있다.

4. Aloesin의 여러 원충 수용액(pH 3.03, 3.98, 5.65, 6.49 및 7.35)을 고압증기灭균(121°C, 20분)하였을 때, pH 3.98에서의 함량은 98.8%로 가장 높았다.

기상과 같은 연구결과는 새로운 신장보호 물질로 주목되는 aloesin의 수성 주사액의 설계를 위한 기초적인 자료가 된다고 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 (주)Unigen의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Jin, Y. H., Lee, S. J., Chung, M. H., Park, J. H., Park, Y. I., Cho, T. H. and Lee, S. K. : Aloesin and arbutin inhibit tyrosinase activity in a synergistic manner via a different action mechanism. *Arch. Pharm. Res.* **22**, 232 (1999).
- 김동현, Prokidin의 랫드에서 흡수, 분포, 대사 및 배설 연구, 한국과학기술원 생체대사연구센터 (2000).
- Hajdu, J., Adams, G. and Lee, H. K. : Preformulation study of pelrinone hydrochloride. *J. Pharm. Sci.* **77**, 921 (1988).
- Parasrampuria, J. and Gupta, V. D. : Preformulation studies of acetazolamide: effect of pH, two buffer species, ionic strength, and temperature on its stability. *J. Pharm. Sci.* **78**, 855 (1989).
- Pramar, Y. and Gupta, V. D. : Preformulation studies of spironolactone: effect of pH, two buffer species, ionic strength, and temperature on stability. *J. Pharm. Sci.* **80**, 551 (1991).
- Freeke Hamelijnck, M. A., Stevenson, P. J., Kadaba, P. K. and Damani, L. A. : Preformulation degradation kinetics and chemical stability of a novel triazoline anticonvulsant. *J. Pharm. Sci.* **81**, 392 (1992).
- Longhi, M. R., de Bertorello, M. M. and Granero, G. E. : Isoxazoles. 8. Preformulation studies of an isoxazolylnaphthoquinone derivative. *J. Pharm. Sci.* **83**, 336 (1994).
- Chun, I. K. and Cho, Y. M. : Influence of pH, temperature, ionic strength and metal ions on the degradation of an iridoid glucoside, aucubin, in buffered aqueous solutions. *J. Kor. Pharm. Sci.* **25**, 239 (1995).
- Kostecka, D., Duncan, M. R. and Wagenknecht, D. : Formulation of a stable parenteral product; clonidine hydrochloride injection. *J. Pharm. Sci. Technol.* **52**, 320 (1998).
- Gwak, H. S. and Chun, I. K. : Preformulation study of aspalatone, a new antithrombotic agent. *J. Appl. Pharmacol.* **8**, 332 (2000).
- Kristl, A. and Vreker, F. : Preformulation investigation of the novel proton pump inhibitor lansoprazole. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **26**, 781 (2000).
- Rivera, A. B., Hernandez, R. G., Novoa de Armas H., Elizastegi, D. M. and Losada, M. V. : Physico-chemical and solid-state characterization of secnidazole. *Farmaco.* **55**, 700 (2000).