

인삼사포닌의 소장내 최종대사산물인 IH-901의 수용액중 가용화

권오승* · 정연복†

충북대학교 약학대학 국가지정연구실, *한국과학기술연구원 생체대사연구센터
(2004년 8월 9일 접수 · 2004년 9월 17일 승인)

Solubilization of IH-901, a Novel Intestinal Metabolite of Ginseng Saponin, in Aqueous Solution

Oh-Seung Kwon* and Youn Bok Chung†

National Research Laboratory (NRL), College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea

*Bioanalysis and Biotransformation Research Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 136-790, Korea

(Received August 9, 2004 · Accepted September 17, 2004)

ABSTRACT—The purpose of the present study was to formulate the aqueous solution of 20-O-β-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol (IH-901), an intestinal bacterial metabolic derivative from Ginseng protopanaxadiol saponin. For this purpose, the effects of various solubilization agents such as cosolvents [ethanol, propylene glycol (PG), polyethylene glycol 300 (PEG 300), polyethylene glycol 400 (PEG 400), glycerin], surfactants (Tween 80, Cremophor® RH40, Cremophor® EL, Poloxamer 407, Poloxamer 188) and a complexation agent [hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPBCD)], on the solubility of IH-901 in aqueous solution were evaluated. The solubility of IH-901 in water was under 1 μg/ml at 20°C. Cosolvents such as ethanol, PG, PEG 300, PEG 400 and glycerin did not enhance the solubility of IH-901 at the 0 – 40% concentration range. The solubility of IH-901 was significantly elevated by the addition of cosolvents over the 80% concentration range. On the other hand, tween 80, Cremophor® EL, Cremophor® RH40 and HPBCD showed enhanced effects on the solubility of IH-901. The enhanced effects of Poloxamer 407 or Poloxamer 188 on the IH-901 solubility were less pronounced compared with Cremophor® EL or Cremophor® RH40. As a results, Cremophor® aqueous solution was selected as an optimum solvent system. The aqueous solutions containing 10% Cremophor® EL and 7% Cremophor® RH40 were formulated as dosing solutions containing 5.0 mg/ml of IH-901 for its intravenous and oral administration, respectively. The formular showed physical stability after stored for 7 days at 4°C.

Key words – 20-O-β-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol (IH-901), Solubility, Stability, Cosolvent, Surfactant

인삼은 생약의 형태로 한국, 중국, 일본 등의 아시아 국가에서 정신의학, 신경계의 질병 및 당뇨병 등의 여러 가지 질병에 대해 사용되어 왔다. 그리고 인삼에서 분리된 사포닌은 강장, 강정, 진정, 조혈 및 항고혈압 등에 효과를 보이는 중요한 성분으로 간주되고 있다. 인삼의 치료효과를 높이기 위한 관심의 고조로 인해, 인삼의 약효 발현을 위한 주요성분으로 생각되는 인삼사포닌, ginsenosides(GNS)의 경구투여 후 관찰되는 활성성분에 초점이 맞추어졌다. 이러한 연구의 결과, 경구로 투여된 GNS 중 활성성분은 GNS 자체가 아니라 GNS의 장내대사산물이라는 것이 제시되었다. 이것은 약물동태학적 연구에서 GNS를 경구투여한 후 혈중에서 검출되는 성분이 GNS가 아닌 장내대사산물이라는 점에 이론적 바탕을 두고 있다.¹⁾ 또한 약물학적 활성에 대한 각각의

활성을 *in vitro*에서 검토한 연구에서도 대사산물이 GNS보다 활성이 더 높다는 것이 보고되고 있다. 즉, 생체막에 대한 친화성이 GNS보다 대사산물에서 더 높고,²⁾ GNS의 대사산물이 종양세포에서 글루코스의 유입을 차단하는 등의 작용으로 종양세포의 성장을 억제시키고,³⁾ 종양³⁾과 세균⁴⁾에 대한 여러 약물내성을 반전시키는 효과를 나타낸다는 것이다. 현재까지의 연구에 의하면 경구투여한 인삼사포닌 중 GNS는 장내 미생물에 의해 대사되어 활성을 보이는 대사체로 변환되며, 특히 *Provatella oris*가 이에 관여한다고 밝혀졌다.⁵⁾

이런 GNS의 장내 미생물에 의한 대사체 중 항암효과가 가장 큰 물질이 20-O-β-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol (IH-901)이다. IH-901은 GNS 중 protopanaxadiol type의 사포닌, 즉 Ginsenoside Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc, Rd, F₂ 등의 장내 미생물에 의한 최종 대사산물로서 우수한 암세포 전이 억제효과를 나타낸다는 것이 보고 되었으며, 이러한 전이억제효과(anti-metastatic activities)는 암세포로부터 type IV

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : (043)261-2824, E-mail : chungyb@chungbuk.ac.kr

collagenase 분비의 차단, 혈소판 응집의 억제, 혈관형성억제 활성 등의 기전에 의해 이루어진다고 밝혀졌다.⁶⁾

GNS의 흡수, 분포, 대사 및 배설에 대한 연구는 많이 보고되어 왔으나,^{7,11)} 최근 활성이 밝혀진 IH-901에 대한 약물 동태 연구 및 분석법에 관한 보고는 거의 없다. 또한, IH-901은 난용성이어서 위장관에서의 낮은 용해도가 예상되며, 또한 제형 설계에 커다란 장애 요인이 된다. 따라서 체내동태를 밝히기에 앞서 이 약물의 수용액 중의 용해도 향상을 위한 가용화 연구가 선행되어야 한다.

난용성 약물의 가용화를 위해서는 용해보조제 및 계면활성제와 같은 가용화제를 이용한 방법이 널리 사용되고 있으며,^{12,13)} 또한 수용성 분자들과의 유도체화 방법,¹⁴⁾ 고분자화합물과의 포접화합물 형성방법¹⁵⁾ 및 수용성 담체와의 고체분산체 형성법^{16,17)} 등이 자주 응용되어 왔다. 보조용매로는 에탄올, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린 등이 주로 사용되고 있으며, 수용성 유도체의 형성을 위해서는 리신, 알기닌 등의 수용성 아미노산들이 널리 사용되어 왔고, 시클로덱스트린과 같은 고분자 화합물과의 포접화합물 형성을 이용한 가용화 연구도 많이 진행되고 있다. 최근 난용성 약물의 가용화 목적으로 계면활성제들의 사용이 증가하고 있는데, 특히 비이온성 계면활성제로 무색 무취이고 낮은 독성과 저자극성으로 인하여 경구 투여제 및 국소 외용제 개발에 사용이 용이한 폴록사머류 및 경화식물유 등이 많은 주목을 받아왔다.^{18,19)}

본 연구에서는 난용성 약물인 IH-901의 정맥 주사액, 경구 투여액 제조 및 제형 설계를 위한 연구로서 IH-901을 충분히 용해시킬 수 있는 수용성 용매계를 설계하고자 하였다. 이를 위하여 먼저 대상 용매를 스크리닝하고 액체 설계에 사용이 가능한 보조용매, 계면활성제 및 포접화합물 형성제들을 대상으로 이들이 IH-901의 용해도에 미치는 영향을 평가하고자 하였다. 이 결과를 통하여 선택된 용매계를 IH-901의 정맥 주사액, 경구 투여액의 설계에 응용하였다.

실험 방법

시약 및 기기

본 실험에는 다음과 같은 시약을 사용하였다. IH-901(20-O-β-D-glucopyranosyl-20(s)-protopanaxadiol) 및 Ginsenoside-Rb₃(GNS-Rb₃)는 주식회사 일화(구리시, 대한민국)에서 구입하였으며, 아세트니트릴(ACN), 메탄올(MeOH) 및 부탄올(BuOH)은 Fisher Scientific Co.(Pittsburgh, U.S.A.)에서 구입하였다. 에틸, 글리세린 및 sodium hydroxide은 Tedia Co.(Fairfield, Japan)에서, 헤파린은 Upjohn Co.(Kalamazoo,

U.S.A.)에서, sodium chloride 및 phosphoric acid는 Shinyo Pure Chemical Co.(Osaka, Japan)에서, potassium dihydrogenphosphate 및 프로필렌글리콜(PG)은 Junsei Chemical Co.(Tokyo, Japan)에서, 에탄올(EtOH)은 Hayman Co.(Essex, U.S.A.)에서, 폴리에틸렌글리콜 300(PEG 300), 폴리에틸렌글리콜 400(PEG 400), 트윈 80은 Hayashi Pure Chemical Co.(Osaka, Japan)에서, Cremophor® EL, RH40 및 폴록사머 188, 407은 BASF(Ludwig-sharfen., Germany)에서, hydroxypropyl-β-cyclodextrin(HPBCD)은 Amaizo Co.(Hammound, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다. 기타 시약은 모두 HPLC 급 또는 특급을 사용하였다.

기기로서 HPLC(Model PU-980 펌프, UV-975 UV/VIS 검출기, LC-Net II control borwin 기록계, AS-950-10 자동 주입기)는 Jasco Co.(Tokyo, Japan)의 기기를 사용하였다. pH 미터(Model 520A)는 Orion Research Inc. (Beverly, U.S.A.), 냉동원심분리기(Model CS-6KR)는 Hitachi Co.(Tokyo, Japan), 탁상용원심분리기(Model Microfuge E)는 Beckman Industries(Fullerton CA, Germany), 냉동고(Model MDF-U50V)는 Sanyo Co.(Osaka, Japan), 진탕기(Model Muti-Pulse)는 Glas-Col Co.(Terre Haute, U.S.A.), 초음파기(Model JAC Ultrasonic 2010)는 Jinwoo Co.(화성시, 대한민국), 호모게나이저(Model Ultra-Turrax T25 basic)는 Ika Werke GmbH & Co.(Staufen, Germany)의 기기를 사용하였다.

IH-901의 HPLC 분석조건

일반 사포닌에 대해서는 여러 분석법이 보고되어 있으나, IH-901의 분석조건은 거의 보고되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 IH-901이 인삼 사포닌 중 protopanaxadiol type의 대사체임을 고려하여, 문헌^{5,8-10)}의 방법을 참고로 다음과 같이 HPLC 분석조건을 검토하여 최적조건을 확립하였다.

흡수극대/파장-200 - 600 nm에서 100 μg/ml 농도로 흡광도를 검토한 결과, 205 nm에서 흡수극대(Abs: 0.5 - 0.6)가 나타났고, 따라서 UV 파장은 흡수극대파장인 205 nm로 고정하였다.

이동상 용매-인삼 사포닌 중 protopanaxadiol type의 정량에 23 - 70%의 ACN을 사용한 것을 참고로 하여 물, 아세트니트릴의 비율을 조정하면서 검토하고, 여기에 메탄올을 추가하여 비율을 조정하면서 검토하여, ACN:H₂O=70:30의 혼합용액을 이동상으로 사용하였다.

컬럼-약물의 소수성인 점을 고려하여, 역상 C-8, C-18을 사용하여 검토한 후 분석조건이 우수한 Inertsil ODS-2 C₁₈ 컬럼(4.6 mm×250 mm, 5 μm, Model UG120A, GL Sciences Inc., Tokyo, Japan)을 사용하였다.

내부표준물질(IS)-내부표준물질은 IH-901과 구조가 유사한 수종의 ginsenosides와 IH-계열화합물을 사용하여 검토한 후, 분리도가 우수한 GNS-Rb₃을 사용하였다.

pH 변화에 따른 IH-901의 용해도 변화

pH 변화에 따른 수용액 중 IH-901의 용해도 측정을 위하여, IH-901이 물에 난용성인 점을 고려하여 PEG 400을 20% 함유하는 0.5 M 인산염 완충액 중의 pH를 변화시키며 IH-901의 용해도를 측정하였다. pH는 3~11 범위로 변화시키며 IH-901의 용해도 변화를 관찰하였으며, 각각 3 ml에 IH-901 과량의 분말을 넣고 25 ± 1°C로 온도를 일정하게 유지시킨 후, orbital shaker를 사용하여 45 rpm으로 진탕하였다. 24시간 후 IH-901 현탁액을 멤브레인필터(0.45 µm)를 사용하여 여과한 후, 그 여액중의 IH-901의 양을 전술한 HPLC 방법으로 정량하였다. 각 실험은 3회 실시하여 평균값 및 표준편차(S.D.)를 구하였다.

IH-901의 용해도에 미치는 용해보조제의 영향

난용성 약물의 물에 대한 용해도 향상을 위하여 사용되는 용해보조제로는 보조용매, 계면활성제, 포접화합물 형성제 등이 있다. 본 실험에서는 IH-901의 물에 대한 용해도를 증가시키기 위하여, 보조용매로는 EtOH, PG, PEG 300, PEG 400, 글리세린을 사용하였으며, 계면활성제로서는 트윈 80, Cremophor®(EL, RH40), 폴록사머(188, 407)을 사용하였으며, 약물과 포접화합물 형성제는 HPBCD을 사용하였다. 사용한 용해보조제들의 종류와 사용량을 Table I에 나타내었다. 보조용매는 중량비로 20 - 100% 범위에서 그 사용량을 변화시켜 IH-901의 용해도의 증가 정도를 관찰하였고, 계면활성제 중 트윈 80, Cremophor®(EL, RH40)은 1 - 20% 범위에

서, 폴록사머(188, 407)와 HPBCD는 1 - 10% 범위에서 사용하여 IH-901의 용해도에 미치는 영향을 관찰하였다. 용해보조제가 함유된 용액중에서의 IH-901의 용해도는 용해보조제와 물을 혼합하여 균일한 혼합용매를 제조하였고, 이 혼합용액 3 ml에 IH-901 과량의 분말을 넣은 후, pH 변화에 따른 용해도 측정과 동일한 방법으로 IH-901의 용해도를 측정하였다. 특히, 폴록사머를 용해보조제로 사용할 때는 폴록사머와 물을 혼합한 후, 4°C에서 1일간 방치하는 Schmolka의 "cold method"^{20,23)}을 사용하여 혼합용매를 제조하여 사용하였다. 각 실험은 3회씩 실시하여 평균치를 구하였다.

IH-901 정맥 주사액 및 경구 투여액의 처방 설정

용해도 시험의 결과를 이용하여 IH-901의 충분한 용해도를 갖는 용매를 선정하였다. 이 때 용액은 IH-901의 충분한 용해도와 함께 동물 실험에 정맥 및 경구투여가 가능하도록 설정하였다. 최종 용액은 IH-901과 용해보조제를 첨가하여 IH-901이 완전히 녹을 때까지 진탕하여 제조하였다.

결과 및 고찰

IH-901의 HPLC 분석조건 확립

일반 사포닌에 대해서는 여러 분석법이 보고되어 있으나 IH-901의 분석조건은 거의 보고되어 있지 않다. 따라서 본

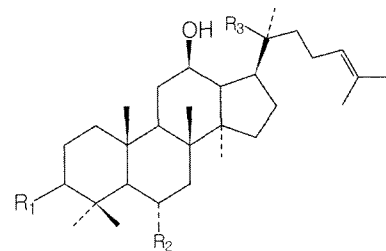


Table I-Additives and Their Contents Used to Solubilize IH-901 in Water (25 ± 1°C)

	Additives	Contents of additives (% w/w)
Cosolvents	EtOH	20, 40, 60, 80, 100
	PG	
	PEG 300	
	PEG 400	
	Glycerin	
Surfactants	Tween 80	1, 2, 5, 10, 20
	Cremophor® EL	
	Cremophor® RH40	
	Poloxamer 188	
Complexation agent	Poloxamer 407	1, 2, 5, 10
	HPBCD	1, 2, 5, 10

Compounds	R ₁	R ₂	R ₃
Protopanaxadiol-type			
Ginsenoside Rb ₁	O-Glc ⁶⁻¹ Glc	H	O-Glc ⁶⁻¹ Glc
Rb ₂	O-Glc ⁶⁻¹ Glc	H	O-Glc ⁶⁻¹ Arap
Rb ₃	O-Glc ⁶⁻¹ Glc	H	O-Glc ⁶⁻¹ Xyl
Rc	O-Glc ⁶⁻¹ Glc	H	O-Glc ⁶⁻¹ Araf
Rd	O-Glc ⁶⁻¹ Glc	H	O-Glc
F ₂	O-Glc	H	O-Glc
Metabolite I (IH-901)	OH	H	O-Glc
II	OH	H	O-Glc ⁶⁻¹ Arap
III	OH	H	O-Glc ⁶⁻¹ Arpf
IV	OH	H	OH

Figure 1-Chemical structures of ginsenosides and their metabolites
 Glc: β-D-glucopyranosyl, Arap: α-L-arabinopyranosyl, Araf: α-L-arabinofuranosyl, Xyl: α-D-xylosyl.

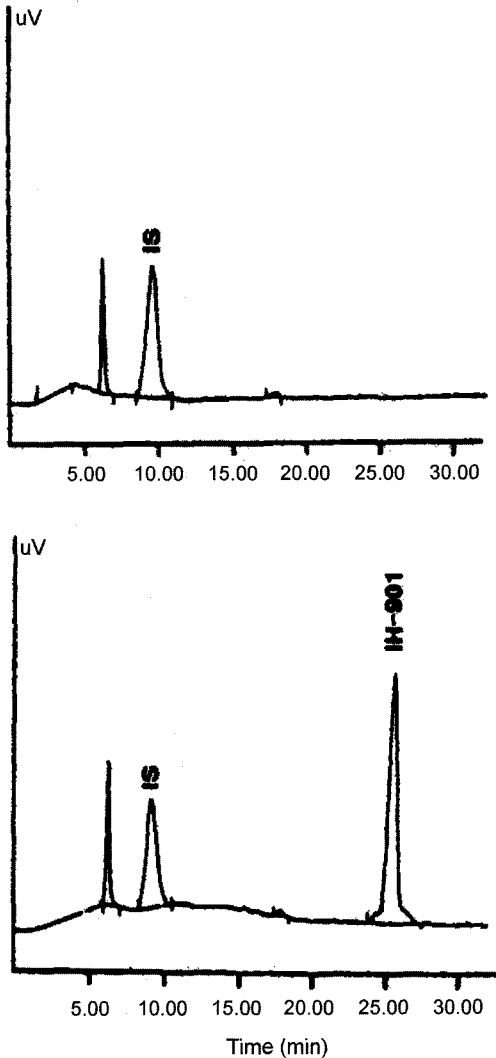


Figure 2—Typical HPLC chromatogram of IH-901 and internal standard (IS). Upper panel represents the blank with IS (final concentration: 80 µg/ml). Lower panel represents the sample (100 µg/ml) with IS (final concentration: 80 µg/ml). Each solution (80 µl) was injected into HPLC.

연구에서는 가용화 연구를 위한 분석법을 확립하였다. 실험 방법항에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. IH-901의 유지시간은 27분대, 내부 표준물질은 9분대로서 각 물질의 분리상태가 양호하였으며, 정량한계는 0.1 µg/ml이었다. 검량선은 피크면적비=(0.0241× 농도(µg/ml)+0.0021)이었다. 농도 0.1~120 µg/ml 범위에서 양호한 직선성($r > 0.999$, $p < 0.01$)을 나타냈다. 또한, 이 농도 범위에서 IH-901의 일내 및 일간 정확성과 정밀성 편차(coefficient variance(c.v.), %)는 모두 10% 이하로 나타났다. 따라서, 이 실험에서 사용한 IH-901의 HPLC 분석법은 충분한 감도와 정확성 및 정밀성이 있음을 알 수 있었다.

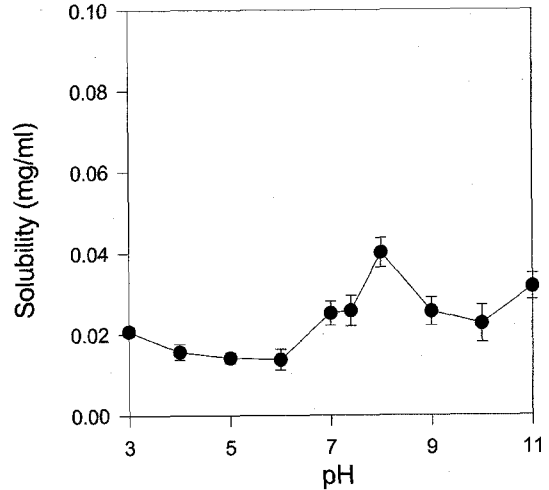


Figure 3—pH dependent solubility of IH-901 at 25±1°C. Each solution contains 20% PEG 400. Each point represents the Mean±S.D. (n=3).

pH 변화에 따른 IH-901의 용해도 변화

IH-901이 수용액에 난용성임을 고려하여, PEG 400을 20% 함유하는 0.5 M 인산염완충액에서 pH 변화에 따른 약물의 용해도 측정결과를 Figure 3에 나타내었다. IH-901의 용해도는 pH 3~11의 범위에서 거의 변화되지 않았으며, pH 8에서 가장 큰 용해도를 보였고, pH 5 이하 10 이상에서 약간의 상승 경향을 보였다. 그러나, IH-901 자체의 용해도가 매우 낮기 때문에 투여액의 처방설계를 충족시킬 만한 용해도의 증가는 관찰되지 않았다. 이는 IH-901이 중성약물이기 때문에 pH에 대한 영향을 거의 받지 않았기 때문으로 추정된다.

IH-901의 용해도에 미치는 보조용매의 영향

수용액중의 IH-901의 용해도에 대한 보조용매의 영향을 평가하기 위하여 EtOH, PG, PEG 300, PEG 400 및 글리세린을 20~100% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도를 측정하였으며, 그 결과를 Figure 4에 나타내었다. 사용한 보조용매 중 PG, PEG 300, PEG 400은 수용액 중의 첨가량이 증가함에 따라 약물의 용해도를 지수적으로 증가시켰다. 그리고 EtOH도 약물의 용해도를 상당히 증가시켰으나, glycerin은 용해도의 증가에 큰 영향이 없었다. 이러한 현상은 물과 보조용매를 사용한 혼합용액에서의 약물의 용해도 변화는 약물, 물, 보조용매간의 극성을 간접적으로 표시하는 분배계수(partition coefficient)를 이용하여 설명할 수 있는데 일반적으로 물과 보조용매를 적당히 혼합하여 약물에 대한 분배계수가 큰 혼합용매를 사용하면 약물의 용해도를 증가시킬 수 있다. PG, PEG 300, PEG 400의 분배계수는 각각 4.0×10^{-2} , 5.0×10^{-2} , 5.3×10^{-2} 으로서²¹⁾ 이는 본 실험에서의 IH-

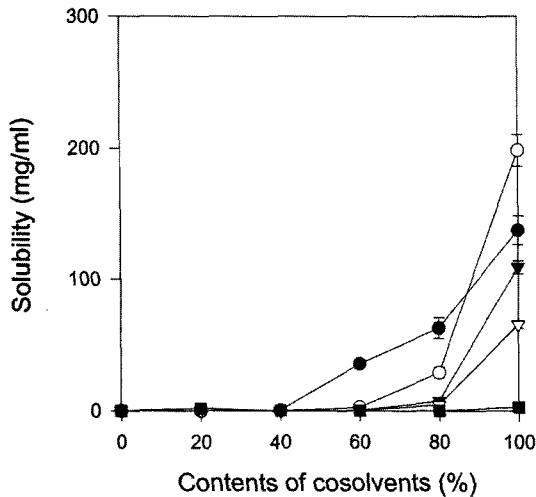


Figure 4—Effect of cosolvents on the solubility of IH-901 at 25±1°C. Each point represents the Mean±S.D. (n=3).
Keys: (●) EtOH, (○) PG, (▼) PEG 300, (▽) PEG 400, (■) Glycerin

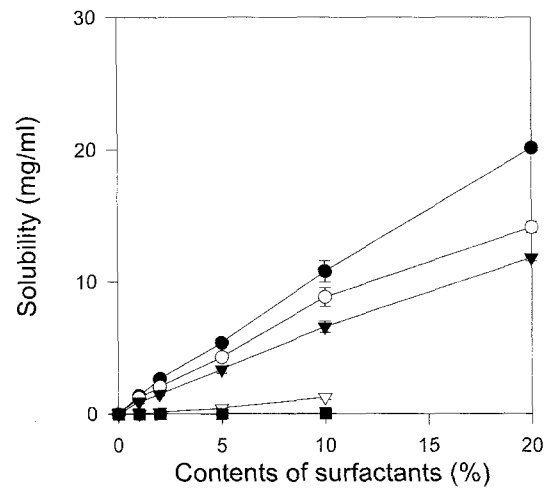


Figure 5—Effect of surfactants on the solubility of IH-901 at 25±1°C. Each point represents the Mean±S.D. (n=3).
Keys: (●) Tween 80, (○) Cremophor RH40, (▼) Cremophor EL, (▽) Poloxamer 407, (■) Poloxamer 188

901의 용해도 변화가 보조용매의 분배계수에 비례적으로 증가하는 경향을 보여주고 있다. 특히, 비극성약물의 용해도는 보조용매의 함량에 비례하여 증가한다는 기존의 연구결과²²⁾와 일치하는 것을 알 수 있었다. 한편, 100% 순수한 EtOH, PG, PEG 300, PEG 400 및 글리세린 중에서의 IH-901의 용해도는 각각 137.37, 198.46, 109.18, 65.40, 2.85 mg/ml로 PG 첨가시 가장 높은 용해도 증가를 보였고 100%를 제외한 나머지 함량에서는 EtOH에서 가장 높은 용해도 증가를 보였다. 그러나 보조용매 함량이 40% 이하에서는 모두 1.0 mg/ml 이하였다. 결과에서 볼 수 있듯이 EtOH은 60% 부근에서 PG, PEG 300, PEG 400는 80% 이상에서 유의성 있는 용해도 증가를 보였고, 글리세린은 큰 영향이 없었다.

IH-901의 용해도에 미치는 계면활성제의 영향

수용액중의 IH-901의 용해도에 대한 계면활성제의 영향을 평가하기 위하여 난용성 약물의 가용화의 목적으로 많이 응용되고 있는 비이온성 계면활성제인 트윈 80, Cremophor® (EL, RH40), 폴록사머(188, 407)을 선택하여 1~20% 함유하는 수용액에서 IH-901의 가용화에 미치는 영향을 평가하여 그 결과를 Figure 5에 나타내었다. 수용액 중에서 사용한 계면활성제의 가용화 효과는 트윈 80 > Cremophor® RH40 > Cremophor® EL > 폴록사머 188 > 폴록사머 407의 순이었다. 트윈 80은 HLB 15정도인 친수성 계면활성제로 물에 용해 또는 분산이 잘 된다. 트윈을 10, 20% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도는 각각 10.78, 20.13 mg/ml로 함량에 비례하여 용해도를 증가시켰으며, 사용한 계면활성제 중 IH-901

의 용해도를 가장 많이 상승시켰다. 그러나 트윈 80은 과량 사용할 경우 독성이 있어 사용에 제약이 있다는 단점이 있다.²³⁾ Cremophor® EL, RH40은 각각 polyoxyl 35 castor oil, polyoxyl 40 hydrogenated castor oil로서 소수성인 폴리프로필렌(A)와 친수성인 폴리옥실렌(B)의 공중합체로 ABA형 블록공중합체이다. Cremophor® EL, RH40은 HLB값이 14-16 정도인 친수성 계면활성제로 물에 잘 용해, 분산되며 친유성이 강해서 지용성 약물이 가용화제로 매우 적합하다. Cremophor® EL을 10, 20% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도는 각각 6.57, 11.81 mg/ml이고, Cremophor® RH40을 10, 20% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도는 각각 8.82, 14.11 mg/ml로 함량에 비례하여 용해도를 증가시켰으며, 트윈 80 혼용용액에 비하여 큰 차이를 보이지 않았다. 폴록사머류는 Cremophor®류와는 반대로 BAB형 블록공중합체이다. 폴록사머 188, 407을 10% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도는 각각 0.35, 1.25 mg/ml로서 상대적으로 작은 용해도 상승을 보였다. 10% 이상에서는 물과의 혼화성이 떨어지며 또한 사용량의 증가에 따라 쉽게 겔화되는 단점이 있어 10% 이상은 사용하지 않았다. 폴록사머 188, 407은 각각 HLB값이 29, 22로서 폴록사머류는 Cremophor®류와의 HLB차이에서 볼 수 있듯이, HLB가 증가할수록 친수성이 증가하므로 물에 난용성인 IH-901의 용해도가 상대적으로 감소되었다고 생각된다.

IH-901의 용해도에 미치는 포접화합물형성제의 영향

수용액 중의 IH-901의 용해도에 대한 포접화합물형성제

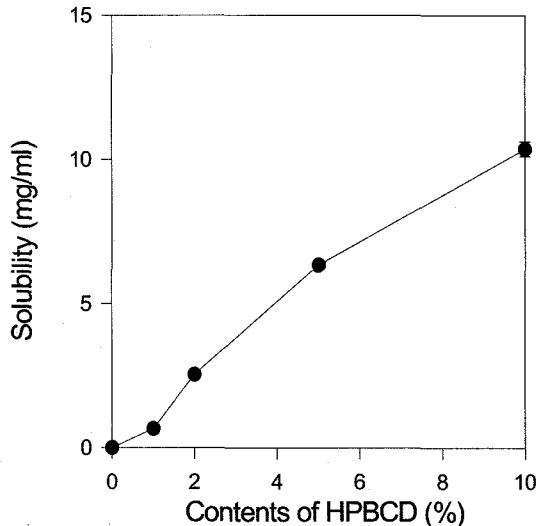


Figure 6—Effect of HPBCD on the solubility of IH-901 at $25\pm 1^\circ\text{C}$. Each point represents the Mean \pm S.D. (n=3).

(complexation agent)의 영향을 평가하기 위하여 HPBCD를 1~10% 함유하는 수용액에서 IH-901의 용해도를 측정하였으며, 그 결과를 Figure 6에 나타내었다. IH-901의 용해도는 HPBCD의 수용액 중의 함량에 따라 비례적으로 증가하였다. HPBCD 10% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도는 10.35 mg/ml로 트윈 80이나 Cremophor[®]류의 혼합용액과 큰 차이를 보이지 않았다.

IH-901의 정맥주사액 및 경구투여액의 처방 설정

본 연구에서 사용한 용해보조제 중, 계면활성제와 포접화합물형성제가 IH-901의 용해도 증가에 우수한 효과를 나타내었다. 비교를 위하여 IH-901의 용해도 향상 효과가 우수한 용해보조제를 함유한 수용액에서 IH-901의 각각의 용해도를 Figure 7에 나타내었다. 특히, 트윈 80, Cremophor[®] EL, Cremophor[®] RH40, HPBCD를 10% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도는 각각 10.78, 6.57, 8.82, 10.35 mg/ml로 용해도의 현저한 향상을 보였고, 각각 큰 차이를 보이지 않았다. 이들 모두 IH-901의 주사액, 경구 투여액 설계에 모두 효과적인 용해보조제로 생각된다. 그러나 트윈 80은 과량 사용할 경우 독성을 일으킨다는 단점이 있다고 알려져 있고,²³⁾ HPBCD는 함량이 증가함에 따라 쉽게 혼탁되는 단점이 있는 것을 실험도중 확인하였다.

따라서, 본 연구에서는 Cremophor[®] EL을 정맥 주사액의 용해보조제로 선택하고, 경구 투여액 조제는 Cremophor[®] RH40을 선택하여 10% 이내로 고정하였다. 즉, IH-901 5.0 mg/ml를 함유하는 주사액 제조를 위하여 각각 Cremophor[®] EL 10% 생리식염용액을 최적 주사액으로 처방하였으며, 경

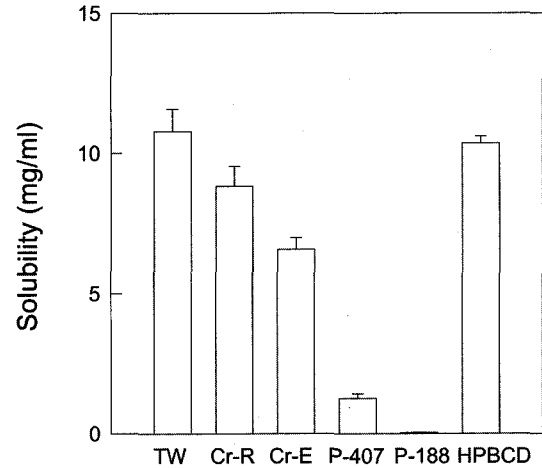


Figure 7—Comparison of the solubility of IH-901 in water containing 10% Tween 80 (TW), Cremophor RH40 (Cr-R), Cremophor EL (Cr-E), Poloxamer 407 (P-407), Poloxamer 188 (P-188) or HPBCD solution at $25\pm 1^\circ\text{C}$. Each point represents the Mean \pm S.D. (n=3).

구 투여액 제조를 위해서는 Cremophor[®] RH40 7%를 함유한 증류수를 경구 투여액으로 처방하여 IH-901을 가하여 20분간 진탕하여 제조하여 얻을 수 있다. 각 처방은 4°C 에서 일주일간 방치하였을 때 물리적으로 안정하였으며, HPLC로 분석한 결과 화학적으로도 안정한 것이 확인되었다.

결 론

IH-901 액제 설계를 위하여 보조용매, 계면활성제, 포접화합물 형성제와 기타 용해보조제를 사용하여 각각의 용해보조제에 대한 IH-901의 용해도를 측정하고 그 결과를 이용하여 수용액 1.0 ml 중에 IH-901 5.0 mg을 함유하는 액제설계를 위한 최적의 용매 처방을 하였다.

1. 수용액중 보조용매 함량이 40% 이하에서 IH-901의 용해도는 모두 1.0 mg/ml이었으며, EtOH은 60% 이상에서, PG, PEG 300, PEG 400은 80% 이상에서 유의성 있는 용해도 증가를 보였고, 글리세린은 큰 영향을 미치지 않았다.

2. 수용액 중에서 사용한 계면활성제의 가용화 효과는 트윈 80 > Cremophor[®] RH40 > Cremophor[®] EL > 폴록사머 188 > 폴록사머 407의 순이었다.

3. HPBCD 10% 함유한 수용액에서 IH-901의 용해도는 10.35 mg/ml로 트윈 80이나 Cremophor[®]류의 혼합용액과 큰 차이를 보이지 않았다.

4. IH-901 5.0 mg/ml를 함유하는 주사액 제조를 위하여 Cremophor[®] EL 10% 수용액을 최적 주사액으로 처방하였으며, 경구 투여액 제조를 위해서는 Cremophor[®] RH40 7%수용액을 경구 투여액으로 처방하였다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 특정연구개발사업의 일환으로 추진되고 있는 프로그램인 국가지정연구실사업(Natioanl Research Lab. Program)의 연구과제(#M1-0302-00-0069) 및 충북대학교 2002년도 일반과제(기금이자사업비) 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) H. Hasegawa, J.H. Sung, S. Matsumiya and M. Uchiyama. Main Ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Med.*, **62**, 453-457 (1996).
- 2) H. Hasegawa, S. Matsumiya, M. Uchiyama, T. Kurokawa, Y. Inouye, R. Kasai, S. Ishibashi and K. Yamasaki. Inhibitory effect of some triterpenoid saponins on glucose transport in tumor cells and its application to *in vitro* cytotoxic and antiviral activities. *Planta Med.*, **60**, 240-243 (1994).
- 3) H. Hasegawa, J.H. Sung, S. Matsumiya, M. Uchiyama, Y. Inouye, R. Kasai and K. Yamasaki, Reversal of daunomycin and vinblastine resistance in multidrug-resistant P388 leukemia *in vitro* through enhanced cytotoxicity by triterpenoids. *Planta Med.*, **61**, 409-413 (1995).
- 4) H. Hasegawa, S. Matsumiya, M. Uchiyama, Y. Inouye, R. Kasai and K. Yamasaki. Reversal of efflux-mediated tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates by Ginseng prosapogenins. *Phytother. Res.*, **9**, 260-263 (1995).
- 5) H. Hasegawa, J.H. Sung and Y. Benno, Role of human intestinal *Provitella oris* in hydrolyzing Ginseng saponins. *Planta Med.*, **63**, 436-440 (1997).
- 6) H. Hasegawa, J.H. Sung and J.D. Huh, Ginseng intestinal bacterial metabolite IH901 as new anti-metastatic agent. *Arch. Pharm. Res.*, **20**, 539-544 (1997).
- 7) T. Akao, M. Kanaoka and K. Kobashi, Absorption of compound K after oral administration of ginsenoside Rb₁. *The Ginseng Review.*, **22**, 1-11 (1996).
- 8) M. Karikura, T. Miyase, H. Tanizawa, T. Taniyama, Y. Takino and T. Hayashi, Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of Ginseng saponins: The comparison products of ginsenoside-Rb₂ in the large intestine of rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 2859-2861 (1990).
- 9) M. Karikura, T. Miyase, H. Tanizawa, T. Taniyama and Y. Takino. Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of Ginseng saponins: The decomposition products of ginsenoside-Rb₂ in the stomach of rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 400-404 (1991).
- 10) M. Karikura, T. Miyase, H. Tanizawa, T. Taniyama and Y. Takino, Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of Ginseng saponins: Comparison of the decomposition modes of ginsenoside-Rb₁ and -Rb₂ in the digestive tract of rats. *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2357-2361 (1991).
- 11) M. Karikura, T. Miyase, H. Tanizawa, T. Taniyama and Y. Takino, Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of Ginseng saponins: Isotope labeling of ginsenoside-Rb₂. *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 2458-2460 (1992).
- 12) S.H. Yalkowsky and T.J. Roseman, Solubilization of drugs by cosolvent: In *techniques of solubilization of drugs*. S.H. Yalkowsky (Ed.), Marcel Dekker Inc. New York and Basel, U.S.A., pp. 91-143 (1981).
- 13) A.T. Florence, Drug solubilization in surfactant systems: In *techniques of solubilization of durgs*. S.H. Yalkowsky (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York and Basel, U.S.A., pp. 15-90 (1981).
- 14) G.L. Amidon, Drug derivatization as a means of solubilization: Physicochemical and biochemical strategies: In *techniques of solubilization of drugs*. S.H. Yalkowsky (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York and Basel, U.S.A., pp. 183-221 (1981).
- 15) I.K. Chun and I.S. Park, Solubilization and dissolution enhancement of benzimidazole antelmintic drugs by cyclodextrin complexation. *Yakhak Hoeji.*, **37**, 216-227 (1993).
- 16) M. Fernandez, M.V. Margarit and A. Cerezo, Dissolution kinetics of piroxicam in solid dispersion with polyethylene glycol 4000. *Int. J. Pharm.*, **98**, 29-35 (1993).
- 17) M.S. Suleiman, N.M. Najib and M.E. Abdel-Hamid, Physicochemical characterization of a new salt of Ibuprofen. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **8**, 321-327 (1990).
- 18) H.W. Hong, E.S. Park and S.C. Chi, Formulation of multivitamin solutions for infants. *Yakhak Hoeji.*, **40**, 243-250 (1996).
- 19) S.H. Khidr, Effect of block copolymers on the dissolution of some water-insoluble drugs: Nifedipine-Pluronic F-127 solid dispersion system. *Bull. Pharm. Sci.*, **17**, 81-86 (1994).
- 20) I.R. Schmolka, Artificial skin: Preparation and properties of pluronic F-127 gels for the treatment of burns. *J. Biomed. Mater. Res.*, **6**, 571-582 (1972).
- 21) C. Hansch and A. Loe, *Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology*. Wiley-Interscience, New York, U.S.A., pp. 35-87 (1979).
- 22) S.H. Yalkowsky, *Techniques of solubilization of drugs*. S.H. Yalkowsky (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York and Basel, U.S.A., pp. 91-134 (1981).
- 23) J.H. Bae, E.S. Park and S.C. Chi, Solubilization of biphenyl dimethyl dicarboxylate in aqueous solution. *J. Kor. Pharm. Sci.*, **27**, 199-205 (1997).