

신규 피리미딘 구조를 함유한 항바이러스성 화합물 CPD의 수용액중 가용화

송석길 · 권호석* · 정연복#

충북대학교 약학대학 국가지정연구실, *삼진제약주식회사
(Received May 9, 2005; Revised May 25, 2005)

Solubilization of CPD, a Novel Antivirus Compound Containing Pirimidine Structure, in Aqueous Solution

Sukgil Song, Ho-Seok Kweon* and Youn Bok Chung#

National Research Laboratory (NRL), College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea
*Samjin Pharm. Co., Ltd., Hwasung, Kyunggi 904-2, Korea

Abstract — The purpose of the present study was to formulate the aqueous solution of 1-cyclopent-3-enylmethyl-6(3,5-dimethyl-benzoyl)-5-ethyl-1H-pyrimidine-2,4-dione (CPD), a novel antivirus compound containing pirimidine structure. 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 CPD in aqueous solution were evaluated. The solubility of CPD in water was under 1 $\mu\text{g/ml}$ at 20°C. Cosolvents such as ethanol, PG, PEG 300, PEG 400 and glycerin did not enhance the solubility of CPD at the 0~40% concentration range. The solubility of CPD was significantly elevated by the addition of cosolvents over the 80% concentration range. On the other hand, tween 80, Cremophor[®] L, Cremophor[®] RH40, and HPBCD showed enhanced effects on the solubility of CPD. The enhanced effects of Poloxamer 407 or Poloxamer 188 on the CPD solubility were less pronounced compared with tween 80, Cremophor[®] L or Cremophor[®] RH40. As a results, tween 80 aqueous solution was selected as an optimum solvent system. The aqueous solutions containing 20% tween 80 were formulated as a dosing solution containing CPD for its intraperitoneal and intrahypodermic administration, respectively. The formular showed physical stability after stored for 7 days at 4°C.

Keywords □ CPD, solubility, stability, cosolvent, surfactant

항바이러스 화합물 중 에이즈를 유발하는 human immunodeficiency virus(HIV)를 억제하는 약물은 크게 세 가지로 분류된다. 즉, nucleoside계 화합물, nonnucleoside계 화합물 및 프로테아제 저해제 등이 있다. 이 세 가지 약물군들은 모두 HIV 복제를 억제하고 바이러스에 의해 전염되는 속도를 지연시킨다. 그러나, 현재의 항 바이러스 약물들은 심한 부작용을 유발할 수 있다. 예를 들어 zidovudine은 적혈구와 백혈구의 고갈을 일으키며, didanosine은 염증 혹은 신경저해를 일으키는 것으로 알려져 있고,¹⁻³⁾ 프로테아제 저해제는 상기의 부작용 이외에 위장관장애와

같은 부작용을 가지고 있다.⁴⁾¹¹⁾ 이러한 부작용과 독성을 경감시키고 더 높은 효과를 나타내기 위하여 피리미딘 계열화합물이 개발되었다. 피리미딘 계열화합물은 새로운 합성물질로서 지금까지 잘 알려져 있지 않다. 그중 CPD의 기본적인 구조는 피리미딘을 기본핵으로 우라실기 및 그 밖의 치환기들로 결합되어 있다(Fig. 1). 분자량은 352.43이고 녹는점은 213°C로 알려져 있다.

1-Cyclopent-3-enylmethyl-6(3,5-dimethyl-benzoyl)-5-ethyl-1H-pyrimidine-2,4-dione(CPD)은 항 HIV약물 중에서 nucleoside계 화합물에 속하는 약물들이 대부분 가지고 있는 피리미딘을 모핵으로 가지며 또한 우라실기를 이루고 있으므로, CPD의 항 HIV 활성의 메카니즘은 nucleoside계 화합물에서 알려진 바와 같이 DNA의 strain elongation 과정을 저해한다고 알려져 있다. 한편, 예비실험 결과, CPD은 같은 활성을 나타내는 동일유효농도

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 043-261-2824 (팩스) 043-274-0752
(E-mail) chungyb@chungbuk.ac.kr

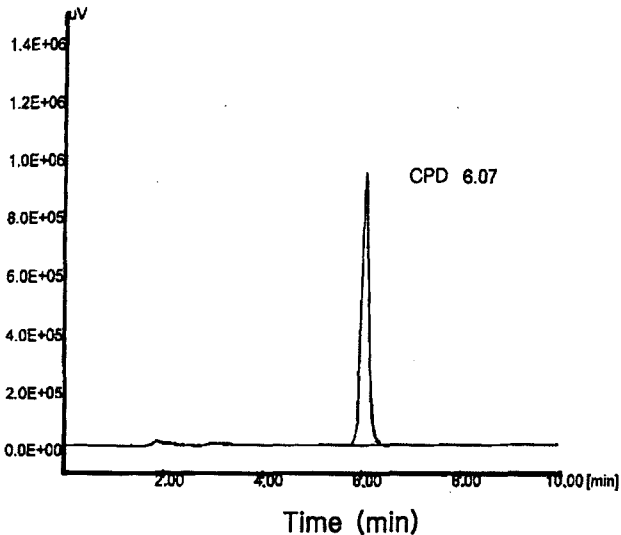


Fig. 1 – Typical HPLC chromatogram of a CPD sample. The retention time of CPD was 6.05 ± 0.14 min.

에서 독성 및 부작용이 AZT에 비해 현저히 낮다는 것이 밝혀졌다. 최근 활성이 밝혀진 CPD에 대한 약물동태 연구 및 분석법에 관한 보고는 거의 없다. 또한, CPD는 난용성이어서 위장관에서의 낮은 용해도가 예상되며, 또한 제형 설계에 커다란 장애 요인이 된다. 따라서 체내동태를 밝히기 위해 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.¹⁸⁻²¹⁾

본 연구에서는 난용성 약물인 CPD의 복강 및 피하주사제 설계를 위한 기초연구로서 CPD를 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 CPD의 용해도에 미치는 영향을 평가하고자 하였다. 이 결과를 통하여 선택된 용매계를 CPD의 주사액 설계에 응용하였다.

실험 방법

시약 및 기기

본 실험에는 다음과 같은 시약을 사용하였다. CPD(1-cyclopent-3-enylmethyl-6(3,5-dimethyl-benzoyl)-5-ethyl-1H-pyrimidine-2,4-dione)은 삼진제약주식회사(화성시, 대한민국)에서 구입하였으며, 아세토니트릴(ACN) 및 메탄올(MeOH)은 Fisher Scientific Co.(Pittsburgh, U.S.A.)에서 구입하였다. 에텔, 글리세린 및 sodium hydroxide은 Tedia Co.(Fairfield, Japan)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.(Hammond, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다. 기타 시약은 모두 HPLC급 또는 특급을 사용하였다.

기기로서 HPLC(Model PU-980 펌프, UV-975 UV/VIS 검출기, LC-Net II control borwin 기록계, AS-950-10 자동주입기)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.

CPD의 HPLC 분석조건

CPD의 HPLC 분석조건은 다음과 같다. UV 파장은 흡수극대과 장인 267 nm로 고정하였으며, $H_2O : MeOH : ACN = 30 : 20 : 50$ v/v%의 혼합용액을 이동상으로 사용하였다. 컬럼은 Capcell Pak C₁₈ 컬럼(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m, Shiseido, Tokyo, Japan)을 사용하였으며, 유속은 1.0 ml/min으로 하였다.

pH 변화에 따른 CPD의 용해도 변화

pH 변화에 따른 수용액 중 CPD의 용해도 측정을 위하여, CPD이 물에 난용성인 점을 고려하여 PEG 400을 40% 함유하는 0.5 M 인산염 완충액 중의 pH를 변화시키며 CPD의 용해도를 측정하였다. pH는 3~12 범위로 변화시키며 CPD의 용해도 변

화를 관찰하였으며, 각각 3 ml에 CPD 과량의 분말을 넣고 25±1°C로 온도를 일정하게 유지시킨 후, orbital shaker를 사용하여 45 rpm으로 진탕하였다. 24시간 후 CPD 현탁액을 멤브레인필터 (0.45 µm)를 사용하여 여과한 후, 그 여액중의 CPD의 양을 전술한 HPLC 방법으로 정량하였다. 각 실험은 3회 실시하여 평균값 및 표준편차(S.D.)를 구하였다.

CPD의 용해도에 미치는 용해보조제의 영향

난용성 약물의 물에 대한 용해도 향상을 위하여 사용되는 용해보조제로는 보조용매, 계면활성제, 포접화합물 형성제 등이 있다. 본 실험에서는 CPD의 물에 대한 용해도를 증가시키기 위하여, 보조용매로는 EtOH, PG, PEG 300, PEG 400, 글리세린을 사용하였으며, 계면활성제로서는 트윈 80, Cremophor®(EL, RH40), 폴록사머(188, 407)를 사용하였으며, 약물과 포접화합물 형성제는 HPBCD를 사용하였다. 사용한 용해보조제들의 종류와 사용량을 Table I에 나타내었다. 보조용매는 중량비로 20~100% 범위에서 그 사용량을 변화시켜 CPD의 용해도의 증가 정도를 관찰하였고, 계면활성제 중 트윈 80, Cremophor®(EL, RH40), 폴록사머(188, 407) 및 HPBCD는 1~20% 범위에서 사용하여 CPD의 용해도에 미치는 영향을 관찰하였다. 용해보조제가 함유된 용액중에서의 CPD의 용해도는 용해보조제와 물을 혼합하여 균일한 혼합용매를 제조하였고, 이 혼합용액 3 ml에 CPD 과량의 분말을 넣은 후, pH 변화에 따른 용해도 측정과 동일한 방법으로 CPD의 용해도를 측정하였다. 특히, 폴록사머를 용해보조제로 사용할 때는 폴록사머와 물을 혼합한 후, 4°C에서 1일간 방치하는 Schmolka의 "cold method"^{22,23)}을 사용하여 혼합용매를 제조하여 사용하였다. 각 실험은 3회씩 실시하여 평균치를 구하였으며, CPD의 농도가 검량선의 농도 범위(0.1~120 µg/ml)를 초과하는 경우에는 실험조건의 동일한 용액으로 각각 희석하여 분석한 후 희석배율을 보정하였다.

Table I – Additives and their contents used to solubilize CPD 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	5, 10, 15, 20
	Cremophor® EL	
	Cremophor® RH40	
	Poloxamer 188	
	Poloxamer 407	
Complexation agent	HPBCD	5, 10, 15, 20

CPD 정맥 주사액 및 경구 투여액의 처방 설정

용해도 시험의 결과를 이용하여 CPD의 충분한 용해도를 갖는 용매를 선정하였다. 이 때 용액은 CPD의 충분한 용해도와 함께 동물 실험에 복강 및 피하 투여가 가능하도록 설정하였다. 최종 용액은 CPD과 용해보조제를 첨가하여 CPD이 완전히 녹을 때까지 진탕하여 제조하였다.

결과 및 고찰

CPD의 HPLC 분석조건 확립

CPD의 분석조건은 보고되어 있지 않다. 따라서 이 연구에서는 저자 등이 확립하여 검증이 완료된 방법(unpublished data)으로 가용화 연구를 위한 분석법을 확립하였다. 실험방법함에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. CPD의 유지시간은 6분대로서 분리상태가 양호하였으며, 정량한계는 0.1 µg/ml이었다. 검량선은 피크면적=(118703×농도(µg/ml)+21)이었다. 농도 0.1~120 µg/ml 범위에서 양호한 직선성($r>0.999$, $p<0.01$)을 나타냈다. 또한, 이 농도 범위에서 CPD의 일내 및 일간 정확성과 정밀성 편차(coefficient variance(c.v.), %)는 모두 10% 이하로 나타났다. 따라서, 이 실험에서 사용한 CPD의 HPLC 분석법은 충분한 특이성, 직선성, 감도, 정확성 및 정밀성이 있음을 알 수 있었다.

pH 변화에 따른 CPD의 용해도 변화

CPD이 수용액에 난용성임을 고려하여, PEG 400을 40% 함유하는 0.5 M 인산염완충액에서 pH 변화에 따른 약물의 용해도

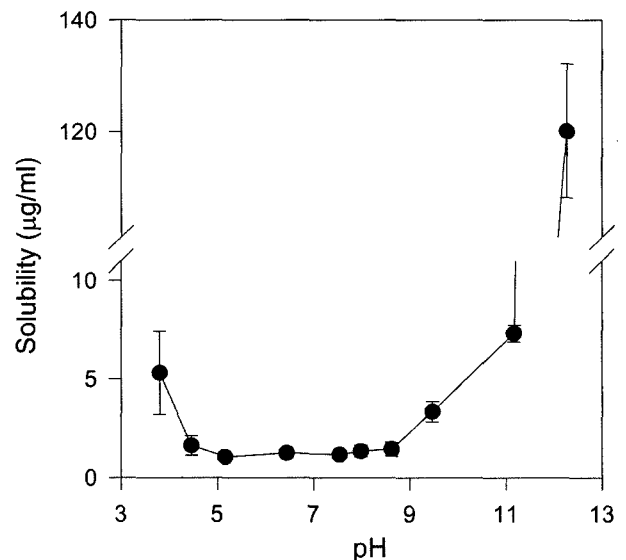


Fig. 2 – pH Dependent solubility of CPD at 25±1°C. Each solution contains 40% PEG 400. Each point represents the Mean±S.D. (n=3).

측정결과를 Fig. 2에 나타내었다. CPD의 용해도는 pH 4~8의 범위에서 거의 변화되지 않았으며, pH 4 이하 또는 9 이상에서 상승하는 경향을 보였다. 그러나, CPD 자체의 용해도가 매우 낮기 때문에 투여액의 처방설계를 충족시킬 만한 용해도의 증가는 관찰되지 않았다.

CPD의 용해도에 미치는 보조용매의 영향

수용액중의 CPD의 용해도에 대한 보조용매의 영향을 평가하기 위하여 EtOH, PG, PEG 300, PEG 400, 및 글리세린을 20~100% 함유한 수용액에서 CPD의 용해도를 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 3(A)에 나타내었다. 사용한 보조용매 중 PG, PEG 300, PEG 400은 수용액 중의 첨가량이 증가함에 따라 약물의 용해도를 지속적으로 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} 으로서²⁰⁾ 이는 본 실험에서의 CPD의 용해도 변화가 보조용매의 분배계수에 비례적으로 증가하는 경향을 보여주고 있다. 특히, 비극성약물의 용해도는 보조용매의 함량에 비례하여 증가한다는 기존의 연구결과²¹⁾와 일치하는 것을 알 수 있었다. 한편, 100% 순수한 EtOH, PG, PEG 300, PEG 400, 및 글리세린 중에서의 CPD의 용해도는 각각 586, 335, 420, 475, 1.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 EtOH에서 가장 높은 용해도 증가를 보였다. 그러나 보조용매 함량이 20% 이하에서는 모두 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하였다. 결과에서 볼 수 있듯이 EtOH은 60% 부근에서

PG, PEG 300, PEG 400은 80% 이상에서 유의성 있는 용해도 증가를 보였고, 글리세린은 큰 영향이 없었다.

CPD의 용해도에 미치는 계면활성제의 영향

수용액중의 CPD의 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 CPD의 가용화에 미치는 영향을 평가하여 그 결과를 Fig. 3(B)에 나타내었다. 수용액 중에서 사용한 계면활성제의 가용화 효과는 트윈 80 > Cremophor[®] EL > Cremophor[®] RH40 > 폴록사머 407 > 폴록사머 188의 순이었다. 트윈 80은 HLB 15 정도인 친수성 계면활성제로 물에 용해 또는 분산이 잘 된다. 트윈 20% 함유한 수용액에서 CPD의 용해도는 104.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 사용한 계면활성제 중 CPD의 용해도를 가장 많이 상승시켰다. 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 CPD의 용해도는 각각 41.8, 88.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이고, Cremophor[®] RH40을 10, 20% 함유한 수용액에서 CPD의 용해도는 각각 36.4, 75.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 함량에 비례하여 용해도를 증가시켰으며, 트윈 80 혼합용액에 비하여 큰 차이를 보이지 않았다. 폴록사머류는 Cremophor[®]류와는 반대로 BAB형 블록공중합체이다. 폴록사머 188, 407을 20% 함유한 수용액에서 CPD의 용해도는 각각 6.78, 27.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로서 상대적으로 작은 용해도 상승을 보였다. 10% 이상에서는 물과의 혼화성이 떨어지며 또한 사용량의 증가에 따라

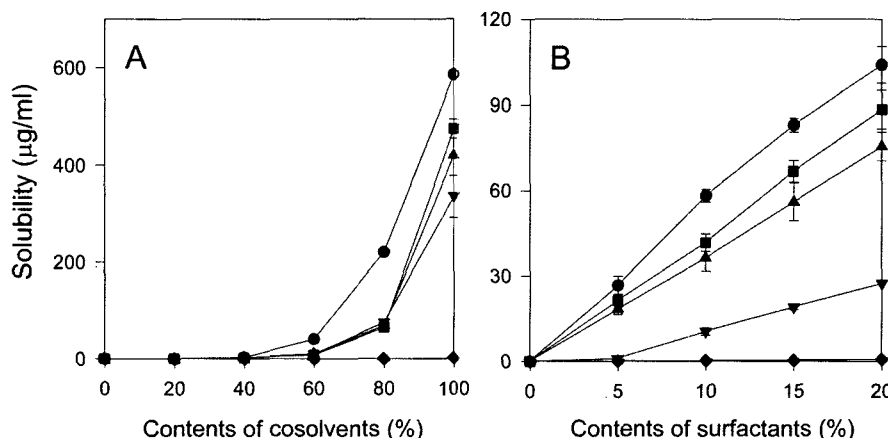


Fig. 3 - Effect of cosolvents (A) and surfactants (B) on the solubility of CPD at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Each point represents the Mean \pm S.D. (n=3). Keys: (A); (●) EtOH, (■) PEG 400, (▲) PEG 300, (▼) PG, (◆) Glycerin. (B); (●) Tween 80, (▲) Cremophor RH40, (■) Cremophor L, (▼) Poloxamer 407, (◆) Poloxamer 188.

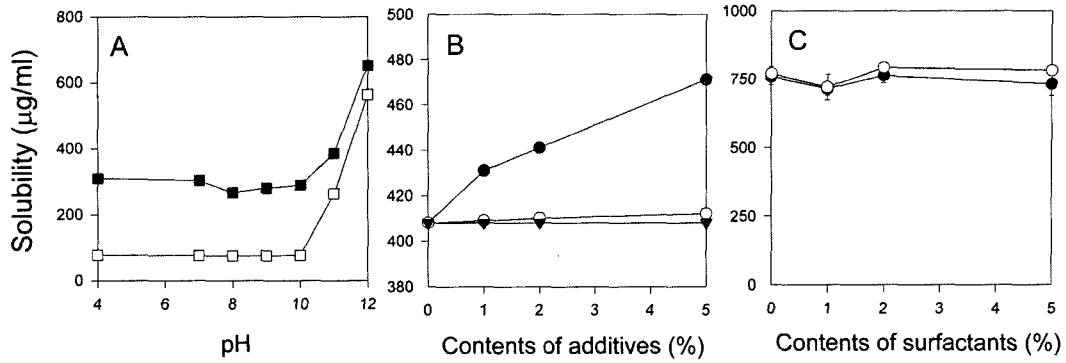


Fig. 4 - (A) pH Dependent solubility of CPD in the 15% Cremophor L (□) or 20% Tween 80 (■) solution at 25±1°C. (B) Effects of tween 80 (●), PG (○), or PEG 400 (▼) on the solubility of CPD in the pH 12.0 solutions containing 15% Cremophor L at 25±1°C. (C) Effects of PG (●), PEG 400 (○) on the solubility of CPD in the pH 12.0 solutions containing 20% Tween 80 at 25±1°C. Each point represents the Mean±S.D. (n=3).

쉽게 겔화되는 단점이 관찰되었다. 폴록사머 188, 407은 각각 HLB값이 29, 22로서 폴록사머류는 Cremophor®류와의 HLB차이에서 볼 수 있듯이, HLB가 증가할수록 친수성이 증가하므로 물에 난용성인 CPD의 용해도가 상대적으로 감소되었다고 생각된다.

트윈 80(20%) 및 Cremophor® L(10%) 용액에서 CPD 용해도의 pH 의존성을 Fig. 4(A)에 나타내었다. pH 10 이상에서 CPD의 용해도가 급격히 증가되었으며, 트윈 80 및 Cremophor® L 함유 pH 12 인산염완충액에서의 용해도는 각각 652 및 563 (µg/ml)이었다.

Cremophor® L에 대하여 그 사용가능성을 검토하기 위하여, Cremophor® L의 농도를 15%로 고정하고 다른 첨가제의 상승효과를 검토하였다(Fig. 4(B)). 즉, pH 12 인산염완충액에 대한 Cremophor® L의 첨가량을 15%로 고정하고 다른 용해보조제(트윈 80, PG, PEG 400)의 첨가량을 1~5%로 변화시켰을 때, CPD의 용해도는 트윈 80에 의해 약간 상승되었으나, PG 및 PEG 300의 보조용매는 영향을 미치지 않았다. 따라서, CPD의 처방설계시에는 PG 및 PEG 등의 보조용매를 사용하지 않았다.

또한, Cremophor® L에 비해 CPD의 가용화효과가 큰 트윈 80의 첨가량을 20%로 고정하고 다른 용해보조제(PG, PEG 400)의 첨가량을 1~5%로 변화시켰을 때, CPD의 용해도는 PG 및 PEG 300의 보조용매에 의해 영향을 받지 않았다(Fig. 4(C)). 한편, 트윈 80(20%) 용액에 에탄올을 첨가한 경우에는 CPD의 용해도는 큰차이를 나타내지 않았으나, 용액의 점도를 감소시키는 효과가 있었다.

CPD의 용해도에 미치는 포접화합물형성제의 영향

수용액 중의 CPD의 용해도에 대한 포접화합물형성제(complexation agent)의 영향을 평가하기 위하여 HPBCD를 1~20% 함유하는 수용액에서 CPD의 용해도를 측정하였으며, 그 결

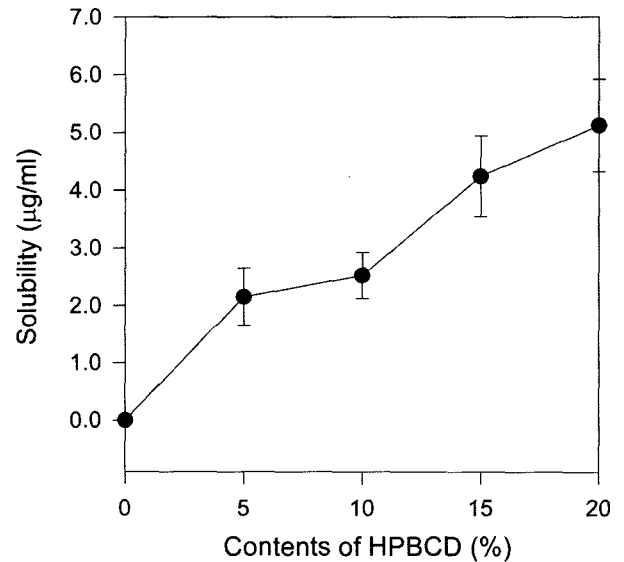


Fig. 5 - Effect of HPBCD on the solubility of CPD at 25±1°C. Each point represents the Mean±S.D. (n=3).

과를 Fig. 5에 나타내었다. CPD의 용해도는 HPBCD의 수용액 중의 함량에 따라 비례적으로 증가하였다. 그러나, HPBCD 20% 함유한 수용액에서 CPD의 용해도는 5.12 µg/ml로 트윈 80이나 Cremophor®류의 혼합용액에 비해 현저히 낮았다.

CPD의 정맥주사액 및 경구투여액의 처방 설정

본 연구에서 사용한 용해보조제 중, 계면활성제가 CPD의 용해도 증가에 우수한 효과를 나타내었다. 비교를 위하여 CPD의 용해도 향상 효과가 우수한 용해보조제를 함유한 수용액에서 CPD의 각각의 용해도를 Fig. 6에 나타내었다. 특히, 트윈 80을 함유한 수용액에서 CPD의 용해도는 현저한 향상을 보였다. 또한, HPBCD 및 폴록사머류는 CPD의 용해도를 현저히 증가시키지 못하였다.

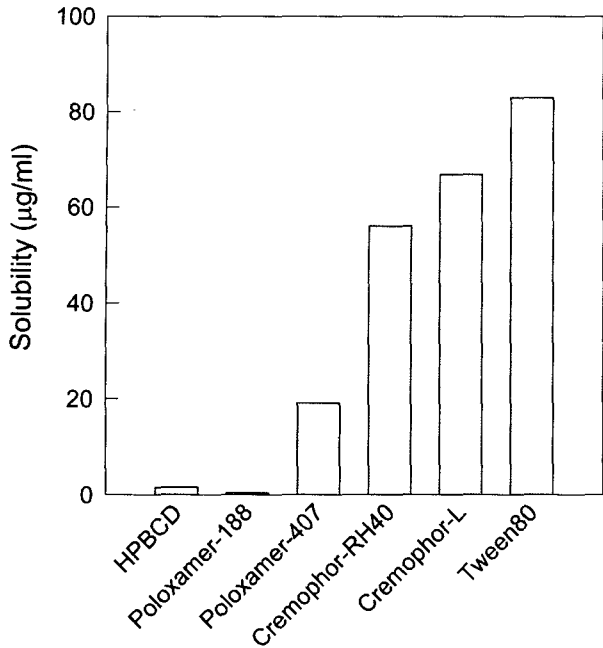


Fig. 6 - Comparison of the solubility of CPD in water containing 15% Tween 80, Cremophor L, Cremophor RH40, Poloxamer 407, Poloxamer 188 or HPBCD solution at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Each point represents the Mean \pm S.D. (n=3).

따라서, 본 연구에서는 트윈 80을 용해보조제로 선택하였다. 특히, 트윈 80 함유 인산나트륨(Na_3PO_4) 용액에서는 CPD의 용해도가 현저히 증가되었다. 즉, 트윈 80을 20% 함유한 인산나트륨용액에서의 약물 용해도는 10 mg/ml 이상을 나타내었다. 따라서 최적 주사액 처방의 결정에는 계면활성제인 트윈 80을 20% 함유하는 인산나트륨용액을 사용하였다. 동물실험을 위한 처방으로서, 복강 및 피하주사액의 처방액은 CPD를 가하여 20분간 진탕하여 제조하여 얻을 수 있다. 각 처방은 4°C 에서 일주일간 방치하였을 때 물리적으로 안정하였으며, HPLC로 분석한 결과 화학적으로도 안정한 것이 확인되었다. 단, 이 연구에서 제시한 처방은 동물실험을 위한 것으로서, 임상투여를 위해서는 안전성이 확립된 새로운 가용화 제형을 개발하여야 한다고 생각되었다.

결 론

CPD 액제 설계를 위하여 보조용매, 계면활성제, 포접화합물 형성제와 기타 용해보조제를 사용하여 각각의 용해보조제에 대한 CPD의 용해도를 측정하고 그 결과를 이용하여 수용액 1.0 ml중에 CPD 10.0 mg을 함유하는 액제설계를 위한 최적의 용매 처방을 하였다.

1. 수용액중 보조용매 함량이 40% 이하에서 CPD의 용해도는 모두 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 이었으며, 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[®] EL > Cremophor[®] RH40 > 폴록사머 407 > 폴록사머 188의 순이었다.

3. HPBCD 20% 함유한 수용액에서 CPD의 용해도는 $5.12 \mu\text{g/ml}$ 로 트윈 80이나 Cremophor[®]류의 혼합용액에 비해 현저히 낮았다.

4. 이러한 특성들을 고려하여, 본 연구에서는 CPD의 가용화 효과가 우수한 트윈 80을 주 용해보조제로 선택하여 20% 이내로 고정하고, 에탄올을 20% 첨가하여 용액의 거품생성 및 점도 상승 등의 단점을 보완하였다. 트윈 80 및 에탄올을 각각 20% 함유한 인산나트륨용액을 최적 주사액으로 처방하였으며, CPD를 가하여 80°C 의 수욕중에서 20분간 증탕하여 주사액을 제조하였다. 이 방법으로 CPD 10 mg/ml를 함유하는 주사액을 제조할 수 있었으며, 이를 복강 및 피하주사용으로 동물실험에 사용하였다.

감사의 말씀

이 논문은 2004년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Welles, S. L., Jackson, J. B. and Yen-Lieberman, B. : Prognostic value of plasma HIV-1 RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. *J. Infect. Dis.* **174**, 696 (1996).
- 2) Yarchoan, R., Mitsuya, H. and Mayers C. : Clinical pharmacology of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (zidovudine) and related dideoxynucleosides. *N. Engl. J. Med.* **321**, 726 (1989).
- 3) Dalakas, M., Illa, I. and Pezeshkpour, G. : Mitochondrial myopathy caused by long term zidovudine therapy. *N. Engl. J. Med.* **322**, 1098 (1990).
- 4) Coombs, R. W., Welles, S. L. and Hooper, C. : Association of plasma human immunodeficiency virus type-1 RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. *J. Infect. Dis.* **174**, 704 (1996).
- 5) O'Brien, W. A., Hartigan, P. M. and Martin, D. : Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS: Veterans affairs cooperative study group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**, 426 (1996).
- 6) Ho, D. D., Neumann, A. U., Perelson, A. S., Chen, W., Leonard, J. M. and Markowitz, M. : Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**, 123 (1995).

- 7) Wong, J. K., Hezareh, M. and Gunthard, H. F : Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science* **278**, 1291 (1997).
- 8) Kamali, F : Clinacal phamacology of 3'-dideoxynucleoside analogues. *Clin. Invest.* **71**, 392 (1993).
- 9) Abrams, D., Goldman, A. and Launer, C. : Acomparative trial of didanocine or zalcitabine after treatment with zidovudine in patients with human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* **330**, 657 (1994).
- 10) Simpson, D. and Tagliati, M. : Nucleoside analogue-associated peripheral neuropathy in human immunodeficiency virus infection. *J. Acquir. Immune. Ddfec. Syndr. Hum. Retrovirol.* **9**, 153 (1995).
- 11) Hammer, S., Squires, K. and Hughes, M. : A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. *N. Engl. J. Med.* **337**, 725 (1997).
- 12) Yalkowsky, S. H. and Roseman, T. J. : 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) Florence, A. T. : 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) Amidon, G. L. : 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) Chun, I. K. and Park, I. S. : Solubilization and dissolution enhancement of benzimidazole antelmintic drugs by cyclodextrin complexation. *Yakhak Hoeji* **37**, 216 (1993).
- 16) Fernandez, M., Margarit, M. V. and Cerezo, A. : Dissolution kinetics of piroxicam in solid dispersion with polyethylene glycol 4000. *Int. J. Pharm.* **98**, 29 (1993).
- 17) Suleiman, M. S., Najib, N. M. and Abdel-Hamid, M. E. : Physicochemical characterization of a new salt of Ibuprofen. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **8**, 321 (1990).
- 18) Hong, H. W., Park, E. S. and Chi, S. C. : Formulation of multivitamin solutions for infants. *Yakhak Hoeji* **40**, 243 (1996).
- 19) Khidr, S. H. : Effect of block copolymers on the dissolution of some water-insoluble drugs: Nifedipine-Pluronic F-127 solid dispersion system. *Bull. Pharm. Sci.* **17**, 81 (1994).
- 20) Hansch, C. and Loe. A. : *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*. Wiley-Interscience, New York, U.S.A., pp. 35-87 (1979).
- 21) Yalkowsky, S. H. : *Techniques of Solubilization of Drugs*. S. H. Yalkowsky (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York and Basel, U.S.A., pp. 91-134 (1981).
- 22) Schmolka, I. R. : Artificial skin I : Preparation and properties of pluronic F-127 gels for the treatment of burns. *J. Biomed. Mater. Res.* **6**, 571 (1972).
- 23) 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).