

# 초임계 유체를 이용한 난용성 약물의 고체분산체 제조

김석윤<sup>1</sup> · 이정민<sup>1</sup> · 정인일<sup>2</sup> · 임교빈<sup>1\*</sup> · 유종훈<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>수원대학교 화공생명공학과, <sup>2</sup>연세대학교 공과대학 화학공학과

## Preparation of Solid Dispersions of a Poorly Water-soluble Drug Using Supercritical Fluid

Seok-Yun Kim<sup>1</sup>, Jung-Min Lee<sup>1</sup>, In-Il Jung<sup>2</sup>, Gio-Bin Lim<sup>1\*</sup>, and Jong-Hoon Ryu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon, Hwaseong, Gyeonggi 445-743, Korea

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

**Abstract** In this work, 5'-nitroindirubinoxime (5'-NIO) has been prepared as solid dispersions using a supercritical aerosol solvent extraction system (ASES) process in order to enhance its water solubility and dissolution rate. Solid dispersions of 5'-NIO and poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) were prepared in various weight percent ratios. Three-component solid dispersions consisting of 5'-NIO, PVP, and poloxamer 188 (P188) were also prepared to study the influence of P188 level on their morphology, crystallinity, and dissolution behavior. All samples were prepared at 35°C and 180 bar using supercritical carbon dioxide. The particle morphology and size of the two-component solid dispersions were found to be nearly spherical and much smaller (100-200 nm) compared with the original 5'-NIO. The morphology of three-component solid dispersions became more agglomerated as the level of P188 increased. The crystallinity of the original 5'-NIO was not observed in the solid dispersions prepared by the ASES process. Faster dissolution rates were observed for the three-component solid dispersions because the arrangement of ethylene oxide and propylene oxide blocks of the poloxamer 188 enabled the formation of micelles in an aqueous phase.

**Keywords:** 5'-NIO, supercritical fluid, solid dispersion, ASES

### 서 론

인디루빈 (indirubin)은 당귀 룡휘 완 (Danggui Longhui Wan)의 활성 성분으로 만성 골수성 백혈병 (chronic myelogenous leukemia) 치료에 이용되어 온 전통 한방처방으로 11종의 약재가 있으며 일부는 그 자체가 여러 종류의 약재로 구성되어 있다 [1,2]. 30여년 전 인디루빈의 특정 종류의 암에 대한 항암작용이 발견되었으나, 인디루빈 자체가 물에 거의 용해되지 않고 체내에서의 흡수가 어려워 매우 낮은 생체이용률을 나타내기 때문에, 현재 생체이용률을 향상시키기 위해 인디루빈 유도체 개발에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.

최근 연구에서는 인디루빈과 인디루빈 유도체가 세포주기

를 저지함으로써 세포 분열을 막고 CDK (cyclin-dependent kinase) 저해제 역할을 한다는 연구 결과들이 발표되었다 [3-5]. CDK는 세포주기를 조절하는 단백질로서 세포 사멸, DNA 전사, 세포 분화 등을 조절하는 중요 인자로 암세포의 성장을 억제 하는데 있어서 CDK의 저해는 매우 중요하다. 인디루빈은 CDK에 ATP가 접근하지 못하도록 하는 역할을 하는데 에너지원으로 작용하는 ATP가 없으면 CDK는 작용하지 않아서 세포 분열이 방해받게 된다.

인디루빈 유도체 중 indirubin-3'-monoxime은 세포사멸 유발과 G1과 G2-M 단계에서 세포 주기를 저지함으로써 종양 세포 분열을 억제시키는 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 최근에는 새로운 인디루빈 유도체로서 대량 합성이 가능한 5'-nitroindirubinoxime (5'-NIO)이 폐 내에 존재하는 암세포의 세포사멸을 유발하고 CDK-2의 억제제로서 탁월한 효능을 가지고 있다는 연구 결과가 보고되었다 [6]. 또한 5'-NIO는 기존 두경부암 혹은 구강암에 사용되는 5-FU와 cisplatin에 비해 더 좋은 항암 효과를 보이는 것으로 보고되었으나,

### \*Corresponding author

Tel: +82-31-223-2912, Fax: +82-31-226-2911

e-mail: jhryu@suwon.ac.kr, gblim@suwon.ac.kr

아직까지는 항암 활성에 대한 정확한 메카니즘은 알려지지 않았다. 인디루빈 유도체의 개발과 효능에 대한 연구는 지속적으로 이루어지고 있으며 5'-fluoroindirubinoxime (5'-FIO), 5'-trimethylacetaminoindirubinoxime (5'-TAIO) 등의 유도체들도 *in vitro* 연구에서 세포 분열 억제 효능에 좋은 결과를 나타내고 있으며, 동물 실험을 통해 중앙 세포의 성장 억제에 대한 연구 또한 진행되고 있다 [7].

약물의 물에 대한 낮은 용해도로 인한 생체이용률 문제를 해결하기 위한 방법들로는 나노입자, 포접복합체 (inclusion complexation), 마이크로에멀전 (microemulsion), 전구 약물 (prodrug), 고체분산체 (solid dispersion) 등이 있다. 이와 같은 방법 중 고체 분산체 기술은 polyvinylpyrrolidone, hydroxypropyl methylcellulose, polyethylene glycol 등의 수용성 고분자를 이용하여 약물을 분자 또는 나노 수준으로 분산시켜 약물의 표면적과 적습성 (wettability)을 증가시키는 동시에 무정형 상태로 변화시켜 약물의 용해도 및 생체이용률을 향상시키는 방법이다.

고체분산체를 제조하는 대표적인 방법으로는 용융법, 용매 증발법 등을 들 수 있으며, 용융법은 혼합물을 공융점 이상의 온도에서 용융시킨 후 급속히 냉각시키는 방법으로 용융 상태에서 약물과 수용성 고분자간의 상용성 (compatibility)이 성공적인 고체분산체 제조를 위한 필수요소이다. 하지만 상용성의 제약 때문에 1970년대 이후 용매를 이용한 방법이 연구되기 시작하였다. 용매증발법은 약물과 고분자를 용매에 녹인 후 용매를 서서히 증발시켜 고체분산체를 제조하는 방법으로 약물과 고분자가 용매에 충분히 용해되어야 한다는 전제하에서 사용되며 잔류 용매의 제거가 필수적으로 요구된다 [8].

용융법, 용매증발법 등의 전통적인 고체분산체 제조법의 경우 약물과 고분자간의 상용성 제약, 높은 공정 온도 등의 문제점이 있다. 이와 같은 문제점을 해결하기 위한 방법으로 최근 초임계 유체를 이용하여 고체분산체를 제조하려는 시도가 이루어지고 있다. 초임계 공정에서 가장 널리 이용되고 있는 초임계 이산화탄소는 임계 온도 (31.1°C), 압력 (73.8 bar) 이상에서 액체에 가까운 밀도와 기체와 유사한 빠른 확산성을 보이며 점도와 표면장력이 매우 낮을 뿐만 아니라 독성이 낮고 비가연성이다.

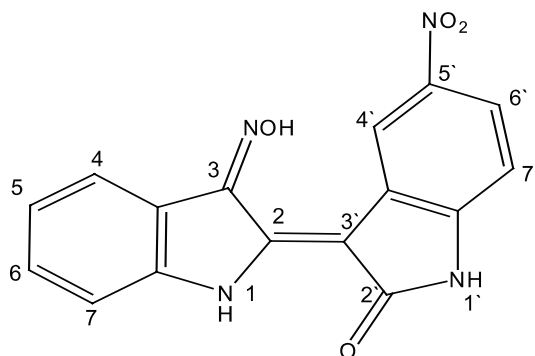


Fig. 1. Chemical structure of 5'-NIO.

본 연구에서는 뛰어난 항암작용을 가지나 물에 대한 용해도가 매우 낮은 5'-NIO (Fig. 1)의 가용화를 위해 수용성 고분자인 polyvinylpyrrolidone K-30 (PVP K-30)과 비이온 계면활성제인 poloxamer 188 (P188)을 사용하여 초임계 입자 제조 공정의 하나인 ASES (aerosol solvent extraction system) 방법으로 2성분계 및 3성분계 고체분산체를 제조하였다. 각 성분의 조성을 변화시켜 다양한 고체분산체 입자를 제조한 후 약물의 함량, 물에 대한 용해도, 방출 거동 및 입자형상을 분석하여 고체분산체 제조를 위한 초임계 유체 공정의 가능성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

본 연구에서 사용한 5'-nitroindirubinoxime (5'-NIO)은 (주)에니젠 (대한민국)에서 제공 받았으며, polyvinylpyrrolidone K-30 (PVP K-30, 44,000-55,000 Da)과 poloxamer 188 (P188, 7,680-9,510 Da)은 독일 BASF사에서 구입하여 더 이상의 정제 없이 사용하였다. 초임계 유체로는 99.95% 순도의 이산화탄소 (동민특수가스, 대한민국)를 사용하였으며, 5'-NIO를 용해시키기 위해 사용된 *N*-methylpyrrolidone (NMP)는 미국 Sigma사로부터 구입하였고 분석에 사용된 모든 용매는 HPLC급으로 더 이상의 정제 없이 사용하였다.

### 고체분산체 제조

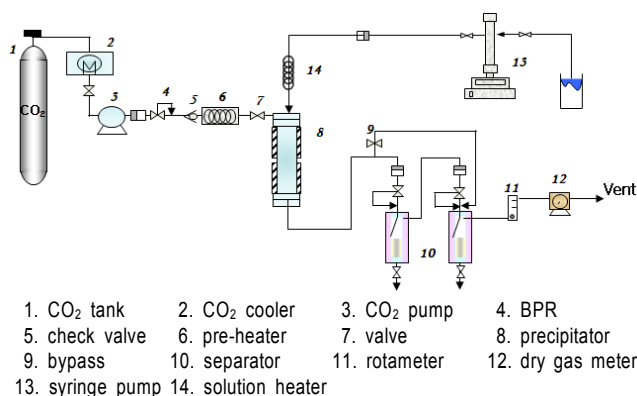
5'-NIO와 수용성 고분자인 PVP K-30 그리고 비이온 계면활성제인 P188이 첨가된 고체분산체는 초임계 이산화탄소 (SCCO<sub>2</sub>)가 역용매로 작용하는 ASES 공정을 이용하여 제

Table 1. Compositions (w/w) of two- and three-component dispersions of 5'-NIO prepared by ASES process

Formulation	Solvent	5'-NIO	PVP K-30	P188
5'-NIO/PVP K-30			3	-
			5	-
			7	-
			10	-
5'-NIO/PVP K-30 /P188	NMP	1	2	4
			3	8
			5	4
			7	8
5'-NIO/PVP K-30 /P188			2	4
			7	8
			10	4
			10	8

조하였다. 기초 실험을 통해 선정된 35°C, 180 bar의 온도, 압력 조건에서 이산화탄소의 유량은 15 L/min, 혼합용액의 유량은 0.5 mL/min, 그리고 농도는 2.5% (w/v)로 고정하여 실험을 수행하였다. 2성분계와 3성분계 고체분산체의 차이를 알아보기 위해 Table 1에 나타난 것과 같이 다양한 조성비의 고체분산체를 제조하여 용해도 특성을 분석하였다.

본 실험에서 사용한 초임계 ASES 공정의 개략도를 Fig. 2에 도시하였다. ASES 장치는 크게 액체 이산화탄소를 고압으로 공급하기 위한 고압펌프 (high pressure metering pump, ELM-1, Teikoku, Japan), 용액의 주입 및 분사를 위한 주사형 고압 정량펌프 (syringe pump, 100DX, ISCO, USA), 입자가 형성되는 고압 침전기 등으로 구성되어 있으며, 침전기 상단에는 혼합용액의 분사를 위한 모세관 노즐 (capillary nozzle, ID : 127 µm, Altech, USA)이 장착되어 있다.



**Fig. 2.** Schematic diagram of the ASES apparatus used in this study.

기체상태의 이산화탄소는 냉각기로 유입되고 액화되어 고압펌프에 의해 가압된 후 후방압력조절기 (back pressure regulator, 26-1700, Tescom, USA)에 의해 공정 압력으로 조절되어 침전기 상단에서 내부로 연속적으로 공급된다. NMP에 완전히 용해된 혼합용액을 주사형 고압 정량 펌프로 가압하여 모세관 노즐을 통해 일정유량으로 침전기 내부의 초임계 이산화탄소 상으로 분사하였다. 노즐분사를 통하여 형성된 미세액적 내의 NMP는 역용매로 사용된 초임계 이산화탄소와의 상호 물질전달에 의해 용해력을 잃게 되고, 결과적으로 액적내 과포화 상태가 이루어져서 미립자가 형성된다. 형성된 미립자들은 침전기 하단에 있는 금속 필터를 통해 수집되었다. 사용된 유기 용매는 이산화탄소와 함께 침전기에서 배출된 후 분리조에서 감압된 후 이산화탄소와 분리되었다.

### 5'-NIO의 용해도 측정

5'-NIO의 물에 대한 용해도를 측정하기 위해 6 mL의 증류수에 0, 2.5, 5 및 10%의 PVP K-30과 P188을 각각 첨가하여 용해시킨 후 5 mg의 5'-NIO를 첨가하였다. 용해

도 측정을 위한 샘플의 경우 2분 동안의 볼텍싱과 5분간 초음파 처리 후 다시 1분간 볼텍싱하여 37 ± 0.5°C 조건에서 rotator를 이용해 72시간 동안 50 rpm의 속도로 교반하였다. 이렇게 처리한 시료를 4000 rpm에서 15분 동안 원심 분리한 후 상등액 2 mL을 채취하여 0.45 µm 주사기 필터 (Minisart, Sartorius)를 이용해 여과한 다음 여과액 1 mL를 메탄올로 희석하여 HPLC로 분석 하였다.

### SEM 분석

ASES공정으로 제조된 고체분산체 입자의 크기와 형상을 분석하기 위하여 플라즈마 코팅 장비를 이용하여 진공 상태에서 금 (gold)으로 입자를 코팅한 후 전계방출 주사 전자현미경 (Field emission scanning electron microscope, FE-SEM, JSM6700F, JEOL, Japan)을 사용하였다.

### X-선 회절 분석

5'-NIO, PVP K-30, P188, 2성분계 및 3성분계 고체분산체의 결정 상태를 알아보기 위해 X-선 회절분석기 (X-ray diffractometer, XRD, D8 Advance, Bruker Axs, Germany)를 이용하였다. 이때 주사 속도는 5°/min이며 주사 각도는 5-50°의 2θ 범위 내에서 측정 하였다.

### FT-IR 분석

5'-NIO, PVP K-30 및 P188간의 상호작용을 조사하기 위해 FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy, Bruker IFS-66/S, Germany) 분석을 하였다. KBr 100 mg에 1 mg의 시료를 잘 혼합하여 디스크 형태로 제조한 후, 4000-600 cm<sup>-1</sup>의 파장범위와 4 cm<sup>-1</sup>의 분해능 조건에서 32회 주사 횟수로 분석하였다.

### 용출 시험

ASES 공정으로 제조된 고체분산체의 용출 속도를 시험하기 위해 대한약전에 규정된 제 2법 패들법을 적용하여 용출 시험을 수행하였다. 900 mL의 증류수를 37 ± 0.5°C로 충분히 예열하고 패들 속도는 100 rpm/min으로 고정하여 실험을 수행하였다. 용출 시험에 사용된 시료의 양으로는 3 mg의 5'-NIO를 포함하는 고체분산체를 사용하였으며, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120분간 매번 3 mL씩 시료를 채취하였고 이를 보충하기 위해 37 ± 0.5°C의 순수한 증류수 3 mL를 다시 넣어주었다. 채취한 시료는 0.45 µm 주사기 필터를 이용해 여과하고 1 mL를 채취한 후 메탄올로 희석하여 HPLC (600 Series, 717 Autosampler, Waters, USA)를 이용해 분석하였다. 분석 칼럼으로는 C18 ODS Hypersil (5 µm, 150 × 4.6 mm, Thermo Electron, USA) 역상 칼럼을 사용하였으며, 이동상으로는 아세트나이트릴과 증류

수를 82 : 18 (v/v)의 비로 혼합하여 사용하였다. 이때 유속은 0.5 mL/min으로 하였으며, 시료 주입량은 40  $\mu$ L, UV 파장은 310 nm로 하여 미리 작성된 표준곡선을 이용하여 5'-NIO의 함량을 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 5'-NIO의 용해도 측정

Fig. 3은 PVP K-30과 P188이 용해된 수용액에서의 5'-NIO의 용해도 실험 결과를 나타내고 있다. 순수한 증류수에 대한 5'-NIO의 용해도는 0.01  $\mu$ g/mL 이하였으며, PVP K-30과 P188를 최대 10% 농도까지 첨가한 경우 10-11  $\mu$ g/mL로 약 1100배 정도 용해도가 증가하였다. 첨가제의 농도가 비교적 낮은 2.5% 부근에서는 P188에서 더 높은 용해도 값을 나타냈으나, 5% 이상에서는 두 종류의 첨가제 모두 유사한 5'-NIO의 용해도 증가를 보였다. PVP K-30과 P188 모두 5'-NIO의 용해도를 증가시켰으며, 이러한 첨가제가 난용성 약물의 용해도를 증가시키는 이유는 크게 적습성 (wettability)의 향상과 약물과의 미셀 (micelle) 형성에 기인하는 것으로 알려져 있다. PVP K-30의 농도에 따른 5'-NIO의 용해도 증가는 적습성의 향상 때문인 것으로 생각되며 [9,10], 계면활성제인 P188의 경우 친수성과 소수성을 모두 가지고 있어 수용액 상태에서 교반에 의해 미셀을 형성하여 용해도가 증가한 것으로 사료된다.

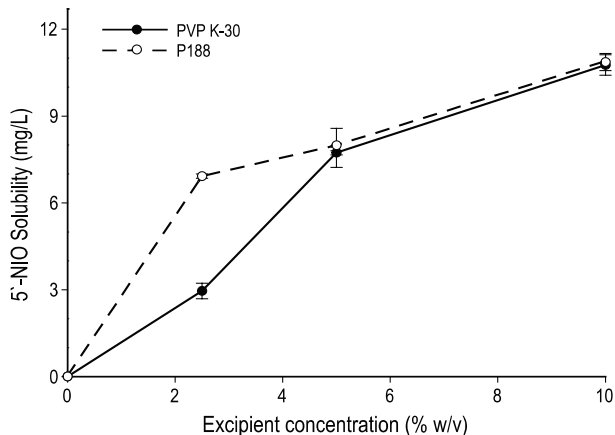


Fig. 3. Phase solubility diagram of 5'-NIO in aqueous solutions with excipients at 37°C.

### 입자 형태 분석

순수한 5'-NIO, PVP K-30, P188과 초임계 이산화탄소 ASES를 이용하여 제조된 고체분산체의 입자 형태와 크기를 FE-SEM을 이용하여 분석한 결과를 Fig. 4와 5에 나타내었다. 순수한 5'-NIO는 불규칙한 바늘 모양의 결정 형태를 보였으며 (Fig. 4(a)), PVP K-30은 50-70  $\mu$ m 크기의 구형 형태

를 (Fig. 4(b)), P188은 관형의 형태를 나타내었다 (Fig. 4(c)). 5'-NIO와 PVP K-30을 이용한 2성분계 고체분산체의 경우 5'-NIO의 바늘 모양의 결정 형태를 보이지 않았으며, 100-200 nm 크기의 작은 구형 입자가 관측되었다. PVP K-30의 양이 증가함에 따라 구형입자가 서로 연결된 아령형태의 입자들이 형성되었으며, 입자의 크기 또한 증가하였다.

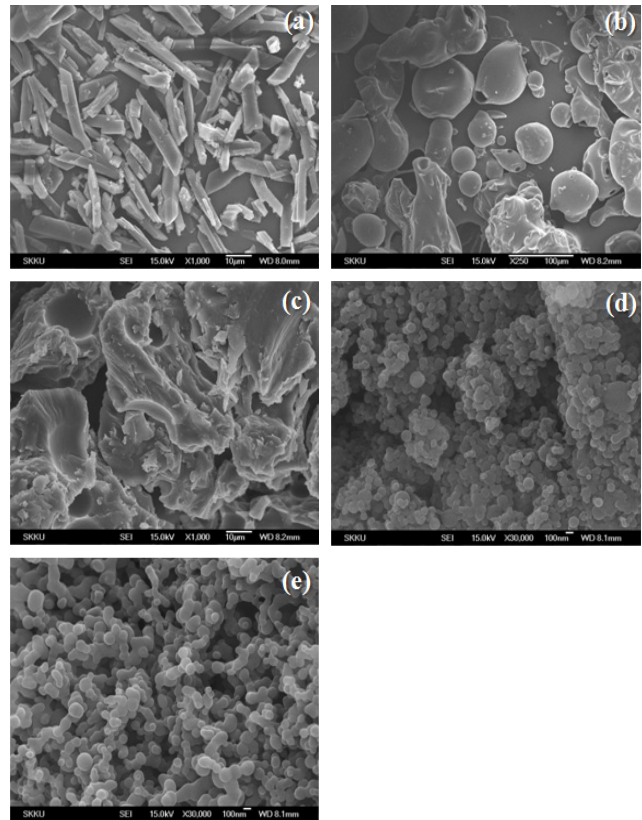


Fig. 4. FE-SEM micrographs of (a) pure 5'-NIO ( $\times 1,000$ ), (b) pure PVP K-30 ( $\times 250$ ), (c) pure P188 ( $\times 1,000$ ), (d) 1 : 3 solid dispersion ( $\times 30,000$ ), and (e) 1 : 10 solid dispersion ( $\times 30,000$ ).

P188의 첨가에 따른 고체분산체 형상의 변화를 Fig. 5에 나타내었다. PVP K-30만 첨가된 2성분계 고체분산체의 경우 구형의 입자들이 형성되었으나 (Fig. 4(d)), P188이 첨가된 경우 불규칙하고 덩어리진 입자들이 형성되었으며, PVP K-30 대비 P188의 양이 증가함에 따라 입자들의 엉김이 점차로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 P188의 경우 전체 무게의 약 80%를 차지하고 있는 poly (ethylene oxide)가 52°C 부근의 비교적 낮은 녹는점을 가지고 있기 때문에 ASES 공정을 통해 입자가 제조되는 동안 P188이 부분적으로 용융되어 서로 엉기기 때문인 것으로 판단된다. 이러한 현상이 발생하는 근본적인 이유는 고분자에 초임계 이산화탄소가 용해되어 고분자의 녹는점을 감소시키기 때문이며 [11], 이로 인해 P188의 양이 증가함에 따라 5'-NIO 입자의 엉김현상이 더 심하게 나타나게 된다.

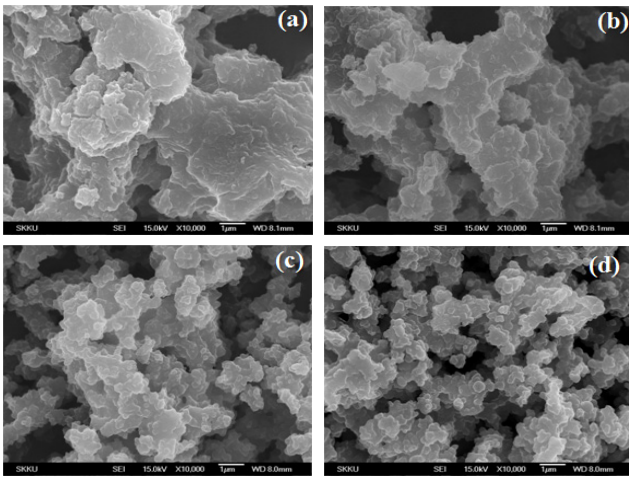


Fig. 5. FE-SEM micrographs of various solid dispersions of 5'-NIO/PVP K-30/P188 : (a) 1 : 3 : 8, (b) 1 : 5 : 8, (c) 1 : 7 : 8, and (d) 1 : 10 : 8 (× 10,000).

**결정성 분석**

순수한 5'-NIO, PVP K-30, P188과 ASES 공정으로 제조된 고체분산체의 XRD 분석 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

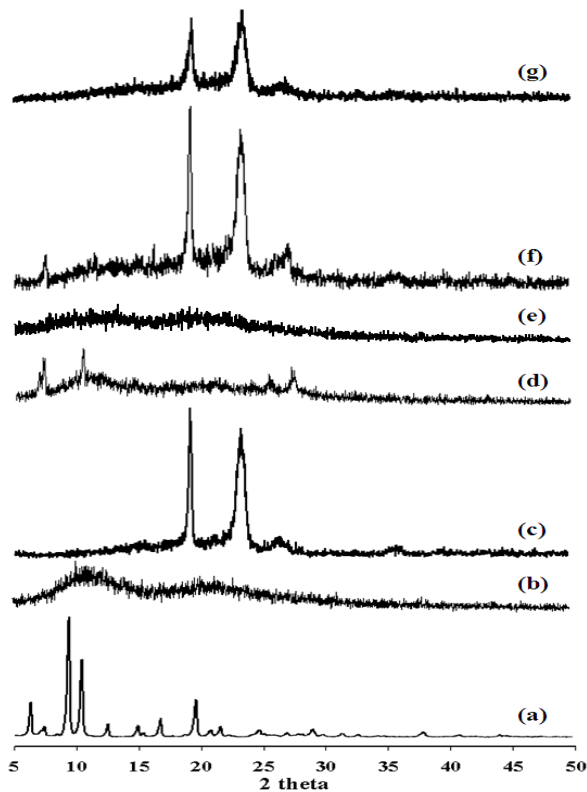


Fig. 6. XRD patterns of (a) pure 5'-NIO, (b) pure PVP K-30, (c) pure P188, (d) 5'-NIO/PVP K-30 physical mixture (1 : 3), (e) 5'-NIO/PVP K-30 solid dispersion (1 : 3), (f) 5'-NIO/PVP K-30/P188 physical mixture (1 : 3 : 8), and (g) 5'-NIO/PVP K-30/P188 solid dispersion (1 : 3 : 8).

5'-NIO의 결정 특성 피크가 6.2°, 9.3°, 10.3°, 21.6°에서 관찰되었으며 (Fig. 6(a)), 순수한 PVP K-30의 경우 무정형임을 확인하였다 (Fig. 6(b)). 또한, Fig. 6(c)에 나타낸 바와 같이 P188의 경우 19.2°, 23.4°에서 결정 특성 피크를 보이는 것으로 확인되었다. 5'-NIO와 PVP K-30 g물리적 혼합물 (Fig. 6(d), (f))의 경우 5'-NIO의 특성 피크가 매우 약하게 나타났으며, 이는 고분자의 양이 5'-NIO에 비해 훨씬 더 많기 때문에 5'-NIO의 특성 피크의 세기가 상대적으로 감소했기 때문이다. ASES 공정을 통해 제조된 고체분산체 (Fig. 6(e), (g))의 경우 5'-NIO의 결정 피크가 완전히 특성라진 것을 확인할 수 있었으며, 3성분계 고체분산체 (Fig. 6(g))의 경우 다 P188 특성 피크만이 관찰되었으며, P188 특성 피크의 세기 또한 감소하였다. 5'-NIO의 특성 피크가 사라졌다는 사실로부터 5'-NIO가 분자 또는 나노 수준에서 고분자 내에 분산되었다는 것을 확인할 수 있었으며 [12], 이는 초임계 이산화탄소 공정을 이용하여 고체분산체를 성공적으로 제조할 수 있다는 것을 의미한다.

**FT-IR 분석**

5'-NIO와 전달체간의 상호작용에 대하여 알아보기 위해 FT-IR 분석을 수행하였다. Fig. 7은 2성분계와 3성분계 고체분산체 및 물리적 혼합물의 FT-IR 분석결과를 나타낸다. 순수한 5'-NIO (Fig. 7(a))의 경우 3371, 1614, 1458, 1313 cm<sup>-1</sup>에서 각각 N-H 또는 O-H, C=O, C-C, 방향족 amine의 C-N 그룹의 특성 피크들이 나타났다. PVP K-30 (Fig. 7(b))의 경우 3433, 2944, 1656 cm<sup>-1</sup>에서 각각 N-H 또는 O-H, C-H, amide 그룹의 특성피크가 확인되었다. P188 (Fig. 7(c))의 경우 2895와 1110 cm<sup>-1</sup>에서 CH<sub>2</sub>와 C-O 그룹의 특성 피크를 나타내었다.

5'-NIO와 PVP K-30의 2성분계 고체분산체의 경우 PVP K-30의 카르보닐기와 5'-NIO의 수산기간의 수소 결합에 의한 상호작용이 관찰되었다. Fig. 7(d)와 7(f)에 나타낸 것과 같이 물리적 혼합으로 제조된 시료에서는 1618, 1623, 1654 cm<sup>-1</sup>에서 특성 피크가 존재하였으나 2성분계와 3성분계 고체분산체로 제조된 시료 (Fig. 7(e), 7(g))의 경우에는 특성 피크가 넓어지는 것을 확인할 수 있었으며, 이는 5'-NIO의 수산기와 PVP K-30의 카르보닐기간의 수소결합에 기인하는 것으로 해석할 수 있다 [13].

물리적 혼합물에서는 5'-NIO, PVP K-30 및 P188 간에 수소결합과 같이 크기가 큰 상호작용이 존재하지 않는 것으로 판단된다. 이는 FT-IR 분석결과 이들 성분간에 존재하는 상호작용에 의한 피크의 이동 또는 피크면적의 확장과 같은 특징이 나타나지 않았다는 사실로 확인할 수 있다 [14].

Fig. 7(e)와 7(g)는 PVP K-30의 카르보닐기의 특성 피크가 1656 cm<sup>-1</sup>에서 1676, 1668 cm<sup>-1</sup>로 이동한 것을 보여 준다. 이는 고체분산체의 형성 과정 중 5'-NIO와 전달체간의 상호작용에 의해 5'-NIO 분자들의 운동성 (mobility)이 감소하여 5'-NIO의 결정형성이 방해받아 전달체 매트릭스

내에 분자 또는 나노 수준으로 분산될 수 있다는 사실을 간접적으로 설명해 준다. 좀 더 구체적으로 설명하면, PVP K-30의 경우 =N-과 C=O 작용기가 5'-NIO와 수소결합을 형성할 수 있으며, 이는 5'-NIO의 결정 성장을 억제하는 작용을 하게 된다. 그러나, =N- 작용기의 경우 입체장애로 인해 약물과의 수소결합 형성에 어려움이 있기 때문에 약물과 고분자간에 형성되는 수소결합은 PVP K-30의 카르보닐기에 의한 것으로 생각할 수 있다 [15].

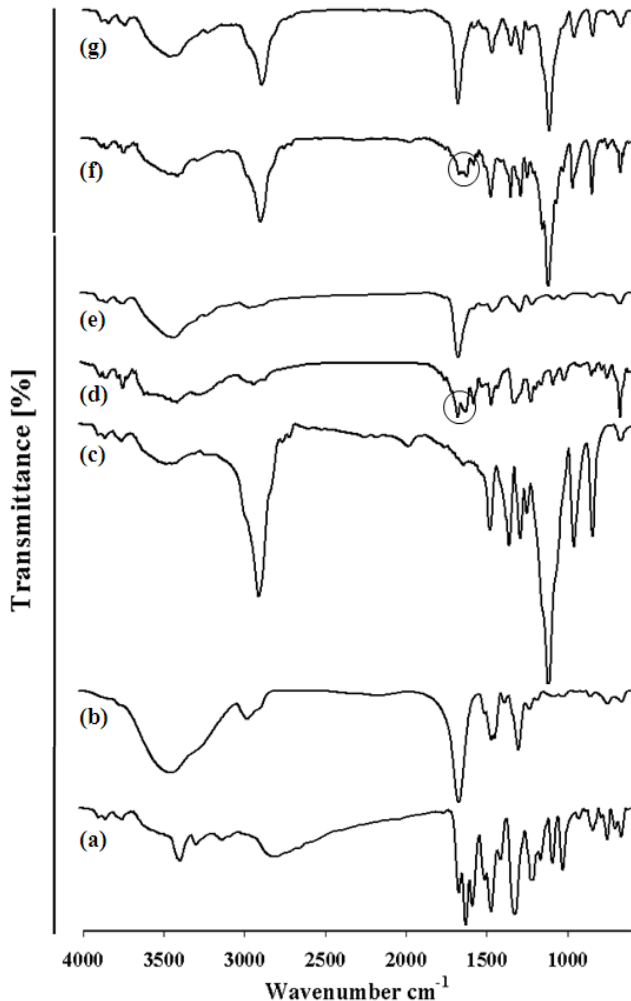


Fig. 7. FT-IR spectra of (a) pure 5'-NIO, (b) pure PVP K-30, (c) pure P188, (d) 5'-NIO/PVP K-30 physical mixture (1 : 3), (e) 5'-NIO/PVP K-30 solid dispersion (1 : 3), (f) 5'-NIO/PVP K-30/P188 physical mixture (1 : 3 : 8), and (g) 5'-NIO/PVP K-30/P188 solid dispersion (1 : 3 : 8).

Fig. 8에 제시된 FT-IR 분석 결과를 살펴보면 3성분계 고체분산체의 경우 P188 함유량이 증가함에 따라  $1110\text{ cm}^{-1}$  부근에 나타나는 C-OH 특성 피크가 점차로 증가하게 됨을 알 수 있으며, 앞에서 설명한 카르보닐기의 특성 피크의 이동이 관찰되어 약물과 전달체 간에 수소결합과 같은 상호작용이 존재한다는 것을 확인할 수 있다.

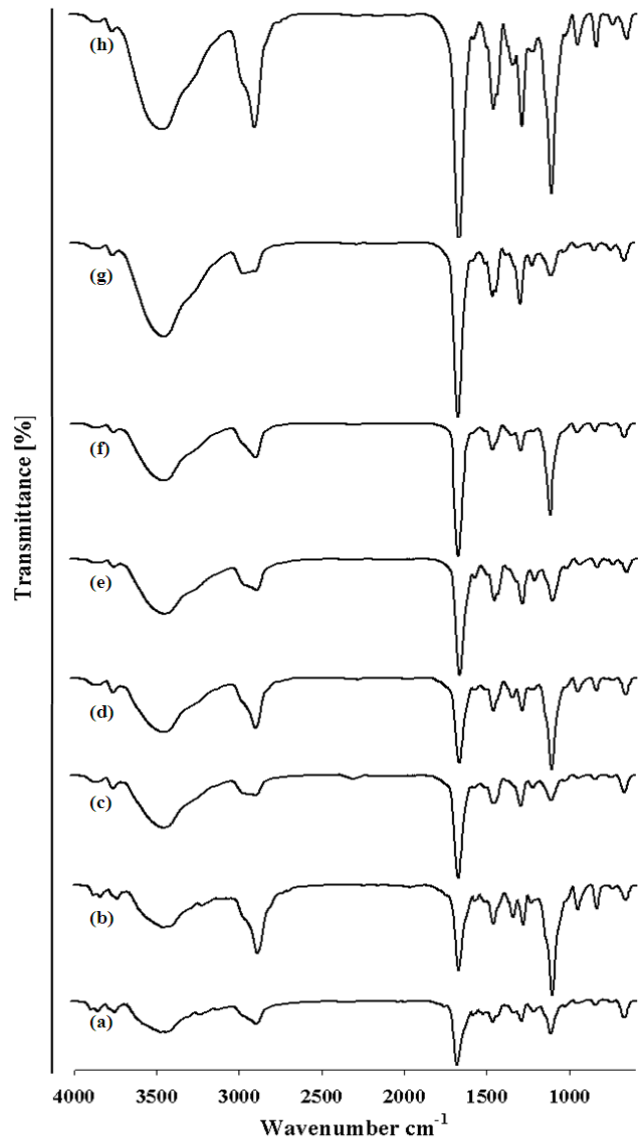


Fig. 8. FT-IR spectra of various of 5'-NIO/PVP K-30/P188 solid dispersion : (a) 1 : 3 : 2, (b) 1 : 3 : 8, (c) 1 : 5 : 2, (d) 1 : 5 : 8, (e) 1 : 7 : 2, (f) 1 : 7 : 8, (g) 1 : 10 : 2, and (h) 1 : 10 : 8.

## 용출 시험

증류수에서 순수한 5'-NIO와 초임계 ASES 공정으로 제조된 다양한 조성의 2성분계 및 3성분계 고체분산체의 용출실험 수행 결과를 Fig. 9-12에 정리하여 나타내었다. 순수한 5'-NIO (Fig. 9)의 경우 1%이하의 매우 낮은 용출을 보인 반면, ASES 공정으로 제조된 고체분산체의 경우 120분 동안 용출된 양의 90% 이상이 초기 10분 내에 용출되었으며, 그 이후에는 매우 적은 양의 5'-NIO가 용출되었다. Fig. 9-12에 나타낸 것과 같이 2성분계 고체분산체의 경우 수용성 고분자인 PVP K-30의 함량이 증가할수록 용출 속도가 증가하였으며, 특히 5'-NIO와 PVP K-30의 무게비가

1 : 10 (Fig. 12)인 경우 1 : 7 (Fig. 11)에 비해 용출속도가 약 2배 정도 향상되었다. 이와 같은 결과가 나타난 이유는 수용성 고분자 매질의 함량이 증가함에 따라 난용성 약물이 소수성 작용 (hydrophobic interaction)에 의해 크기가 큰 결정 구조를 형성할 기회가 감소하여 고분자 매질에서 분자 또는 나노 크기 수준으로 분산될 확률이 높아지기 때문이다.

5'-NIO/PVP K-30/P188의 3성분계 고체분산체의 경우 비이온성 계면활성제인 P188이 첨가되지 않은 2성분계 고체분산체에 비해 훨씬 더 큰 용출을 나타냈으며 PVP K-30과 P188의 함량이 비슷한 경우, 즉 5'-NIO/PVP K-30/P188의 비가 1 : 3 : 2, 1 : 5 : 4, 1 : 7 : 8, 1 : 10 : 8인 경우 가장 높은 용출 속도를 얻을 수 있었다. 이는 소수성 블록과 친수성 블록으로 구성된 P188의 함량이 증가함에 따라 고분자 매질 내에 존재하는 5'-NIO의 분산성이 향상되기 때문에 분자 또는 나노 크기 수준으로 분산될 확률이 증가하게 되나, P188의 함량이 과도하게 높은 경우에는 오히려 P188에 의해 분산된 5'-NIO의 크기가 증가하여 용출률이 상대적으로 감소하게 되는 것으로 생각된다.

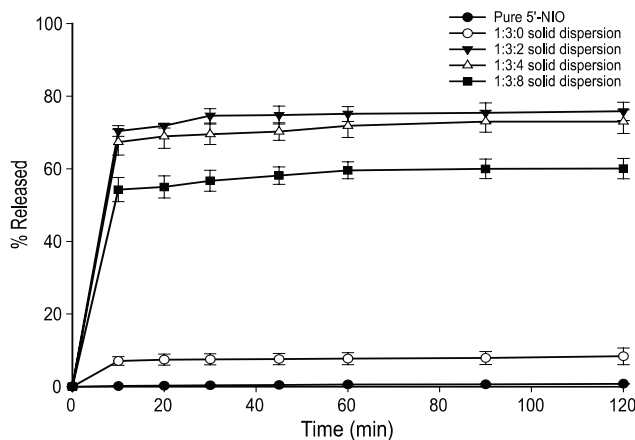


Fig. 9. Comparison of dissolution behavior of pure 5'-NIO with that of ASES-processed solid dispersions.

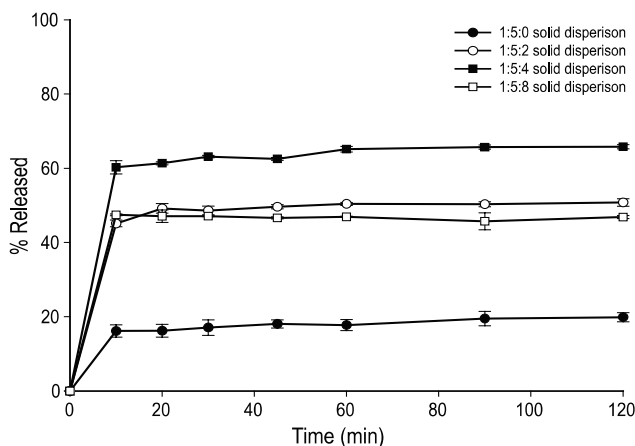


Fig. 10. Dissolution profiles of various solid dispersions of 5'-NIO/PVP K-30/P188 (1 : 5 : x).

3성분계 고체분산체는 2성분계 고체분산체에 비해 훨씬 높은 용출률을 보였으며, 5'-NIO/PVP K-30/P188의 무게 비가 1 : 10 : 8인 경우 최대 88%의 용출률을 나타내었다. 이는 앞서 설명한 고분자 매질내에서의 분산성 향상과 더불어 ethylene oxide (EO)와 propylene oxide (PO)로 구성된 양친매성 구조를 갖는 P188이 수용액 상태에서 미셀을 형성하여 소수성 부분인 PO가 소수성 약물의 저장소 (reservoir), 친수성 부분인 EO가 수용액과 약물간의 계면영역으로 작용하기 때문에 수용액 내에서의 약물의 적심성과 분산성이 급격히 증가하여 빠른 용출 속도를 나타내는 것이다 [16,17].

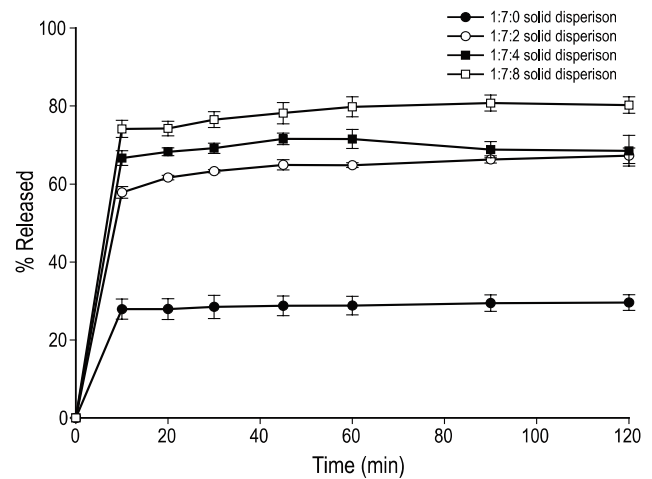


Fig. 11. Dissolution profiles of various solid dispersions of 5'-NIO/PVP K-30/P188 (1 : 7 : x).

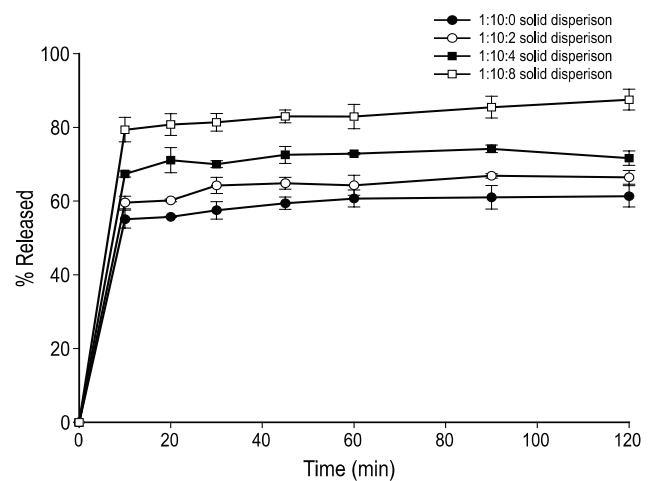


Fig. 12. Dissolution profiles of various solid dispersions of 5'-NIO/PVP K-30/P188 (1 : 10 : x).

요약

본 연구에서는 난용성 약물인 5'-NIO의 가용화를 위해 초임계 유체 ASES 공정을 이용하여 PVP K-30과의 고체

분산체를 제조하고 첨가제인 P188의 영향에 대해 고찰하였다. FE-SEM을 이용하여 초임계 유체 공정으로 제조된 고체분산체 미립자의 형상을 분석한 결과 100-200 nm 크기의 나노입자들이 응집된 형태를 나타내었으며, P188의 함량이 증가함에 따라 입자간의 응집이 증가하여 덩어리 형태로 전환되는 것을 확인할 수 있었다. XRD 분석 결과 5'-NIO 결정피크가 사라진 것을 확인하였으며, 이는 5'-NIO가 고분자 매질내에 분자 또는 나노 크기 수준으로 분산되었음을 의미한다. 또한 FT-IR 분석 결과 5'-NIO와 PVP K-30 간에 수소결합과 같은 상호작용이 존재함을 확인할 수 있었다. 5'-NIO/PVP K-30 2성분계 고체분산체에 비이온성 계면활성제를 첨가한 경우 용출률이 현저히 향상되었으나, P188의 함량이 매우 큰 경우에는 오히려 용출률이 감소한다는 것을 확인하였다. 본 연구를 통해 초임계 유체 공정이 기존의 고체분산체 제조 방법을 충분히 대체할 수 있다는 가능성을 확인할 수 있었다.

## 감 사

본 연구는 차세대 성장 동력 바이오신약장기사업단의 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

접수 : 2009년 12월 9일, 게재승인 : 2009년 12월 24일

## REFERENCES

- Zhang, Z. M., E. K. Liu, T. L. Zheng, and D. G. Li (1985) Treatment of chronic myelocytic leukemia (CML) by traditional chinese medicine and western medicine alternately. *J. Tradit. Chin. Med.* 5: 246-248.
- Xiao, Z., Y. Hao, B. Liu, and L. Qian (2002) Indirubin and meisoindigo in the treatment of chronic myelogenous leukemia in china. *Leuk Lymphoma* 43: 1763-1768.
- Marko, D., S. Schatzle, A. Friedel, A. Genzlinger, H. Zanki, L. Meijer, and G. Eisenbrand (2001) Inhibition of cyclin-dependent kinase 1 (CDK 1) by indirubin derivatives in human tumour cells. *Br. J. Cancer* 84: 283-289.
- Mapelli, M., L. Massimiliano, C. Crovace, M. A. Seeliger, L. H. Tsai, L. Meijer, and A. Musacchio (2005) Mechanism of CDK5/p25 binding by CDK inhibitors. *J. Med. Chem.* 48: 671-679.
- Hoessel, R., S. Leclerc, J. A. Endicott, M. E. Nobel, A. Lawrie, P. Tunnah, M. Leost, E. Damiens, D. Marie, D. Marko, E. Niederberger, W. Tang, G. Eisenbrand, and L. Meijer (1999) The active constituent of a chinese antileukaemia medicine, inhibits cyclin-dependent kinases. *Nat. Cell Biol.* 1: 60-67.
- Lee, J. W., M. J. Moon, H. Y. Min, H. J. Chung, E. J. Park, H. J. Park, J. Y. Hong, Y. C. Kim, and S. K. Lee (2005) Induction of apoptosis by a novel indirubin-5-nitro-3'-monoxime, a CDK inhibitor, in human lung cancer cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15: 3948-3952.
- Kim, S. A., Y. C. Kim, S. W. Kim, S. H. Lee, J. J. Min, S. G. Ahn, and J. H. Yoon (2007) Antitumor activity of novel indirubin derivatives in rat tumor model. *Clin. Cancer Res.* 13: 253-259.
- Kearney, A. S., D. L. Gabriel, S. C. Mehta, and G. W. Redebaugh (1994) Effect of polyvinyl pyrrolidone on the crystallinity and dissolution rate of solid dispersions of the antiinflammatory Ci-987. *Int. J. Pharm.* 104: 169-174.
- Leuner, C. and J. Dressman (2000) Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50: 47-60.
- Damian, F., N. Blaton, L. Naesens, J. Balzarini, R. Kinget, P. Augustijns, and G. V. D. Mooter (2000) Physicochemical characterization of solid dispersions of the antiviral agent UC-781 with polyethylene glycol 6000 and gelucire 44/14. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 10: 311-322.
- Weidner, E., V. Wiesmet, Z. Knex, and M. Skerget (1997) Phase equilibrium (solid-liquid-gas) in polyethyleneglycol-cacoon dioxide systems. *J. Supercr. Fluids* 10: 139-147.
- Janssens, S., H. N. D. Armas, C. J. Roberts, and G. V. D. Mooter (2008) Characterization of ternary solid dispersions of itraconazole, PEG 6000, HPMC 2910 E5. *J. Pharm. Sci.* 97: 2110-2120.
- Mooter, G. V. D., P. Augustijns, N. Blaton, and R. Kinget (1998) Physico-chemical characterization of solid dispersions of temazepam with polyethylene glycol 6000 and PVP K30. *Int. J. of Pharm.* 164: 67-80.
- Silverstein, R. M., G. C. Bassler, and T. C. Morrill (1991) *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, p. 91, Wiley, New York.
- Taylor, L. S. and G. Zografi (1997) Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. *Pharm. Res.* 14: 1691-1698.
- Newa, M., K. H. Bhandari, D. X. Li, T. H. Kwon, J. A. Kim, B. K. Yoo, J. S. W., W. S. Lyoo, C. S. Yong, and H. G. Choi (2007) Preparation, characterization and in vivo evaluation of ibuprofen binary solid dispersions with poloxamer 188. *Int. J. of Pharm.* 343: 228-237.
- Kabanov, K. V., E. V. Batrakova, and V. Y. Alakhov (2002) Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *J. Contr. Rel.* 82: 189-212.