

장용성 연질 캡슐 오메가3 지방산의 흡수율 평가

박으뜸 · 박유현 · 박성선* · †서형주
고려대학교 식품영양학과, *중근당건강(주)

Absorption Evaluation of Enteric Coated Capsules Containing Omega 3 Fatty Acids

Eu Deum Park, Yooheon Park, Sung-Sun Park* and †Hyung-Joo Suh

Dept. of Food and Nutrition, Korea University, Seoul 136-703, Korea

**Chong Kun Dang Healthcare Corp., Seoul 150-901, Korea*

Abstract

We investigate the changes of fatty acids in blood for an evaluation of the effects of soft and enteric coated capsules containing omega 3 fatty acids. Fish oil, which contained 62.87 g/100 g of sum of EPA (eicosapentaenoic acid) and DHA (docosahexaenoic acid), was used as nutraceuticals for omega 3 fatty acids. Lipid releasing amount in soft capsule was 70% in stomach condition. However, there was 10% of releasing amount of lipid observed in enteric coated capsule in stomach condition. In intestinal condition, 50% of lipid releasing amount in enteric coated capsule showed until 6 hr, but soft capsule until 90 min. EPA and DHA contents in soft capsule administration showed higher level than those in enteric coated capsule until 8 hr. However, the administration of enteric coated capsule showed higher level of EPA and DHA in blood after 8 hr. After 24 hr, mono-, poly-unsaturated and saturated fatty acids contents with enteric coated capsule showed higher level than those with soft capsule. The enteric coated capsule containing omega 3 fatty acids was expected to sustain omega 3 fatty acids.

Key words: enteric coated capsule, omega 3 fatty acid, EPA, DHA

서 론

오늘날 약물의 연구는 과대한 투자비와 불확실한 결과 때문에 신약 개발보다는 기존에 존재하는 약물을 보다 편리하고 간편한 방법으로 투여하면서도 약물에 대한 효과도 기존 투여방법을 실시하였을 경우와 유사한 효과를 보이거나, 더 우수한 효과를 보이도록 약물의 제제 방법을 개선하는 쪽으로 활발한 연구가 진행되고 있다(Booth & McDonald 1988). 여러 가지 제제 제조방법 중에 장용성 제제는 약물이 위내에서 방출되지 않고 장내에서 방출되도록 설계된 것으로 약물의 흡수율을 의도적으로 늦추기 위해서도 사용되지만, 주된 목적은 위내에서의 약물의 분해방지와 위장장애의 회피에 있다(Kim 등, 1994). 장용성 제제는 보통 캡슐, 정제 또는 과립

등에 장용성 피막을 coating하여 만든다(Mose 1993). 장용성 피막 coating 액은 주로 pH에 의존하여 용해성을 나타낸다. 다시 말하면 생체내의 위내 pH는 약 1~2의 강산성인데 반하여, 장내 pH는 약 6.8 정도의 중성에 가까운 pH를 보이므로 이 pH 차이를 이용하여 중성에 가까운 pH에서만 용해되는 장용성 coating 액을 제조함으로써 장에서만 용해되는 제제를 제조할 수 있다(Kosaraju, 2005).

기존의 연질 캡슐제형의 오메가-3 제품들은 몸 안에서 오메가-3 지방산의 흡수, 배설이 빨라 섭취된 것 중 일부만 혈중으로 흡수되는 한계가 있었다. 하지만 오메가-3 지방산 함유 장용성 연질 캡슐은 이런 단점을 개선하기 위해 최신 제제기술을 적용하여 만든 제품이다. 1일 1회 섭취로 최대 12 시간까지 적절한 양을 유지하여 여러 번 복용하는 것과 동

† Corresponding author: Hyung-Joo Suh, Dept. of Food and Nutrition, Korea University, Seoul 136-703, Korea. Tel: +82-2-940-2853, Fax: +82-2-940-2850, E-mail: suh1960@korea.ac.kr

등한 효과를 얻을 수 있고, 위장장애도 최소화할 수 있다(Ko 등 2012).

오메가-3 지방산이나 DHA/EPA 함유 제품과 같은 fish oil이 충전된 캡슐의 경우 오일 역류, 속 쓰림, 구취, 부글거림, 설사와 같은 부작용을 자주 일으킨다(Fetterman & Hussain 2009). 특히 임신 여성은 위와 같은 부작용으로 복용에 불편을 겪을 수 있다. 따라서 캡슐이 장까지 도달할 때까지 내용물의 방출을 지연시키기 위하여 장용 코팅을 함으로써 이러한 부작용을 감소시키고 환자의 복용성을 향상시킨다(Ko 등 2012).

본 연구에서는 기존의 연질 캡슐과 장용성 캡슐의 체내 흡수율뿐만 아니라, 오메가-3 지방산의 지속 여부를 평가하고자 토끼를 이용하여 단회 투여 후 혈액 내에서의 오메가-3 지방산의 함량 변화를 측정하여 연질 캡슐과 장용성 캡슐의 차이를 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 시료 처치

경구 투여 시 혈액 내에서 검출되는 지방산의 경시적 변화를 관측하기 위해 단회투여시험을 실시하여 흡수율을 측정하였다. 실험동물은 8주령 수컷 New Zealand White 토끼(3.5±0.5 kg) 8마리를 대한바이오(Deahan Bio Laboratory, Eumseong, Korea)로부터 구입하여 1주간 순화사육을 거쳐 사용하였다. 시험기간 중 동물은 온도 23±2°C, 상대습도 60±5%가 유지되며, 밤낮 주기(12 hr light/12 hr dark)가 자동 조절 장치에 의해 조절되는 고려대학교 동물실에서 사육하였다. 동물의 수용은 토끼용 스테인레스 케이지(260W×420L×180H mm)에 1 마리씩 각각 수용하였으며, 사료는 토끼용 고형사료(퓨리나 사료)를, 음수는 수도물을 자유 섭취시켰다. 24시간 절식시킨 토끼에 종근당건강(주) 제품인 연질 캡슐(80 mg, EPA+DHA 54 mg/cap) 및 장용성 캡슐(80 mg, EPA+DHA 54 mg/cap) 각각 10캡슐씩을 경구 투여하였다. 경구 투여 후 0, 8, 24 그리고 48시간에 이동맥으로부터 혈액을 채취하고 혈청을 분리하였으며, 분리된 혈청은 -80°C에 보관하며 실험에 사용하였다.

2. 혈청의 총지방산 및 인지질 지방산 조성 분석

Folch 등(1957)의 방법과 Slover & Lanza(1979)의 방법에 준하여 토끼 혈청의 총 지방산 및 인지질 지방산의 조성을 측정하였다. 총 지방산 조성은 200 μ l의 혈청을 취한 후에 chloroform:methanol(v/v, 2:1) 혼합 용매로 추출하였다. Folch 등(1957)의 방법에 준하여 혈청에서부터 인지질, 중성지질 및 콜레스테롤 에스터 성분을 분리하기 위하여 thin-layer chromatography (TLC)를 이용하였다. 5 ml의 Folch 용액(CHCl₃:CH₃OH=2:1)을 이용하여 경구 투여 48시간 후의 혈청으로부터 지질을 추출

하였다. 추출된 지질에 증류수 1 ml를 첨가하고 혼합한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 상층에 포함된 지질을 chloroform과 혼합하여, TLC silica plate(20×20 cm, Silica gel 60 F254, Merck, USA)에 전개하였다. 전개용매는 hexane:diethyl ether:acetic acid(80:20:2, v/v/v)의 혼합용액을 사용하였으며, 60 분간 전개하였다. 각 인지질, 중성지질 및 콜레스테롤 에스터 성분의 spot 및 이동거리(Rf) 확인은 전개가 완료된 TLC silica plate를 요오드 증기를 이용하여 현상하고 전개된 띠를 확인 후 분획을 시험관에 수거하였다. 각 시료의 지질형태는 인지질, monoacylglycerol, 1,2-1,3-diacylglycerol, 중성지질, 유리지방산, cholesterol 및 cholesteryl esters 표준품으로 Rf를 비교함으로써 동정하였다. Fig. 1은 각 표준물질을 일정농도로 혼합하여 전개한 결과이다. Rf는 기준선에서 spot의 중심점까지의 거리를 전개용매의 전개거리로 나눈 값으로 구하였다(Kim 등 2011).

총 지질과 인지질에 포함된 지방산 조성을 분석하기 위해 Slover & Lanza(1979)의 방법에 준하여 1.5 ml의 0.5 N methanolic NaOH을 가하고 혼합용액을 잘 섞은 후, 80°C 항온수조에서 5분간 반응을 시키고 2분간 냉각한 후 2 ml의 14% BF₃를 첨가하여 다시 80°C 항온수조에서 5분간 반응을 시키고 2분간 냉각하였다. 이에 2 ml의 iso-octane과 5 ml의 포화 NaOH 용액을 넣고 혼합하는 과정을 통하여 메틸화를 유도하였다.

메틸화된 혈청지질의 총 지방산 및 인지질 지방산 분리 및 동정은 gas chromatography(GC, model GC 3900, Varian, Inc., Palo Alto, CA, USA)와 flame ionization detector(FID)를 이용해서 측정하였다. 사용된 column은 supelco-2560 column(length

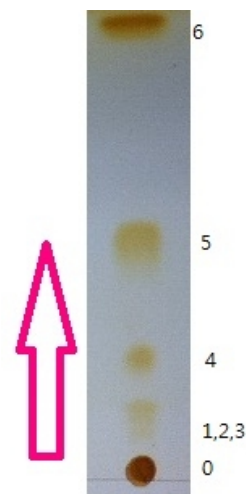


Fig. 1. TLC separation pattern of blood serum. 0: phospholipids+monoacylglycerol, 1: 1,2-diacylglycerol, 2: 1,3-diacylglycerol, 3: cholesterol, 4: free fatty acid, 5: triglyceride, 6: cholesterol esters.

100 m, ID 0.25 mm, film thickness 0.2 μm , Bellefonte, PA, USA) 이었다. GC injector의 온도는 225°C, detector의 온도는 285°C로 설정하였으며, 오븐의 초기온도는 100°C로 하여 4 분간 유지한 후 240°C까지 3°C/min의 속도로 온도를 상승시켜 240°C에서 17분간 유지하였다. Internal standard로 사용된 지방산은 11:0이였으며, 지방산 조성은 integrator에 나타난 각 peak의 면적을 상대적인 백분율로 나타내었다.

3. 봉해시험

건강기능식품공전에 기술되어 있는 봉해시험법으로 측정하였다. 장용코팅캡슐을 인공위액과 인공장액에 6정씩 넣은 다음, 인공위액은 120분, 인공장액은 60분간 상하운동을 한 다음 관찰하여 캡슐의 용해도를 관찰하였다. 이때 사용한 인공위액(제1액, pH 1.2)은 NaCl 2.0 g에 염산 7.0 ml 및 물을 넣어 녹여 1 l로 제조하였고, 인공장액(제2액, pH 6.8)은 0.2 mol/l H₂PO₄ 250 ml에 0.2 mol/l 및 물을 넣어 1 l로 하여 제조하였다(Ko 등, 2012). 캡슐의 용해 정도는 용출되는 기름의 양으로 측정하였다.

4. 통계처리

실험 결과는 SPSS program(ver. 12.0, SPSS Inc., IL, USA)을 이용하여 통계 처리하였으며, 모든 측정 항목에 대한 평균(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)를 산출하였다. 실험군 간의 유의성은 ANOVA test 후 구체적인 사후 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. Fish oil 지방산 조성

실험에 사용한 fish oil의 지방산 조성은 Table 1과 같다. Fish oil 중의 EPA는 가장 많은 45.87 g/100 g 함량을 보였으며, DHA는 17.00 g/100 g으로 EPA와 DHA의 총합의 함량이 62.87 g/100 g으로 대부분을 차지하고 있다.

콩류, 견과류, 등푸른 생선 등에 많이 함유되어 있는 데, 불포화지방산의 대표적인 오메가-3(EPA, DHA), 오메가-6은 세포막, 뇌신경세포, 망막 세포막의 중요한 구성성분으로, 생식 환경과 관련해서도 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Park, 2011). 오메가-3 지방산은 alpha linolenic acid(ALA), EPA와 DHA를 포함한다. EPA와 DHA는 생선에 함유되어 있으며, 대표적인 오메가-3 지방산이고, ALA(18:3, n-3)는 그 자

체로서 생리적인 기능이 없이 체내에서 EPA로 전환될 수 있는 식물성유인 아마인유나 들기름에 함유되어 있다. 하지만 ALA의 EPA로의 전환율이 매우 낮아 오메가-3 지방산의 경우는 EPA와 DHA가 대표적이라고 할 수 있다(Park, 2010).

2. 용출실험

비장용성(soft capsule)의 경우, 제 1시험액에서의 120분간 제제의 물리적 형태를 거의 모두 상실했고, 내부의 지방이 70% 용출된 반면, 장용성의 경우 제 1시험액에서의 120분 동안 10% 정도만이 용출되었다. 장용성은 계속된 제 2액에서도 장용성 특성을 유지하여 6시간까지 50% 정도 용출되어 90분에 50%가 용출된 일반 연질 캡슐과 대조적이었다. 장용성은 6시간 이후 그 물리적 형태를 급격히 소실하여 8시간 경과시점에 80% 정도 용출되었다(Fig. 2).

약물의 용출 속도와 양은 인체에 투여되었을 때 흡수속도와 생체이용률에 직접적인 영향을 미친다(Shargel, 1993). 장용 코팅은 장의 pH가 높은 환경에서 봉해가 된다는 점에서 pH 의존적이고, 위장관을 통과하면서 시간이 지남에 따라 수분에 의해 용해된다는 점에서 시간 의존적이며, 또한 장내 효소의 가수분해 촉진작용에 의해 변화를 받는다는 점에서 효소 의존적이다(Guo 등, 2002). 장까지 도달할 때까지 캡슐 내용물의 방출을 지연시키기 위하여 캡슐에 장용 코팅을 함으로써 오메가-3 지방산이나 DHA/EPA 함유 제품에서 나타나는

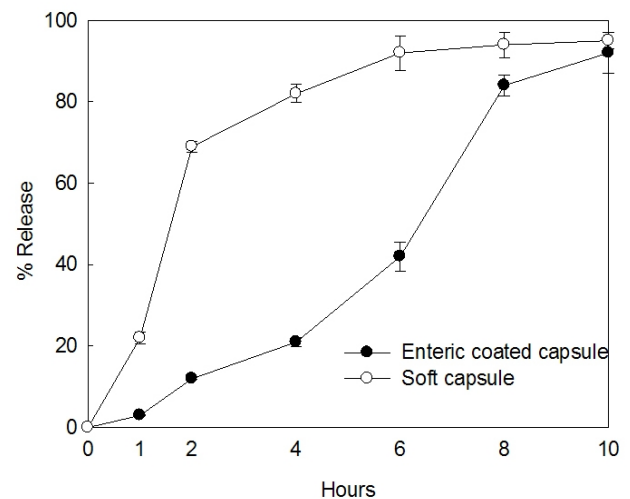


Fig. 2. Release of EPA and DHA from soft and enteric coated capsule *in vitro*.

Table 1. Free fatty acids composition of fish oil

Fatty acid	16:0	16:1	18:0	18:1n9	18:1n7	18:2	20:0	20:1	18:3n3	20:2	EPA	DHA
(g/100 g)	0.39±0.03	0.22±0.01	1.71±0.22	2.29±0.27	0.85±0.09	0.75±0.05	0.47±0.06	1.77±0.36	0.85±0.10	0.43±0.01	45.87±2.83	17.03±0.90

오일 역류, 속 쓰림, 구취와 같은 부작용을 감소시키고, 환자의 복용성을 향상시킬 수 있다. Belluzzi 등(1994, 1996)의 문헌에서 장용 코팅한 오메가-3 제품을 복용할 경우, 크론씨병의 재발률 및 부작용을 현격히 낮추고 복약 편의성을 높인다는 것이 임상시험 결과를 통해 제시되어 있다. 이러한 사실은 제형 개발의 필요성에도 불구하고 소재의 제한으로 개발이 제한적이었던 장용성 제제에 대한 개발이 가능하다는 점을 시사한다.

3. 혈액내 흡수율

지방산의 경시적 변화를 관측하기 위해 불포화 지방산 중에 fish oil에 많이 들어 있는 EPA와 DHA의 지방산의 함량을 측정하였다. 연질 및 장용성 캡슐을 매개로 경구 투여한 시료 (concentrated fish oil)가 소화 흡수되어 혈류에 반영된 지방산 중 EPA와 DHA의 조성은 Fig. 3과 같다.

기존에 사용하였던 soft capsule은 흡수 초기에 장용성 capsule

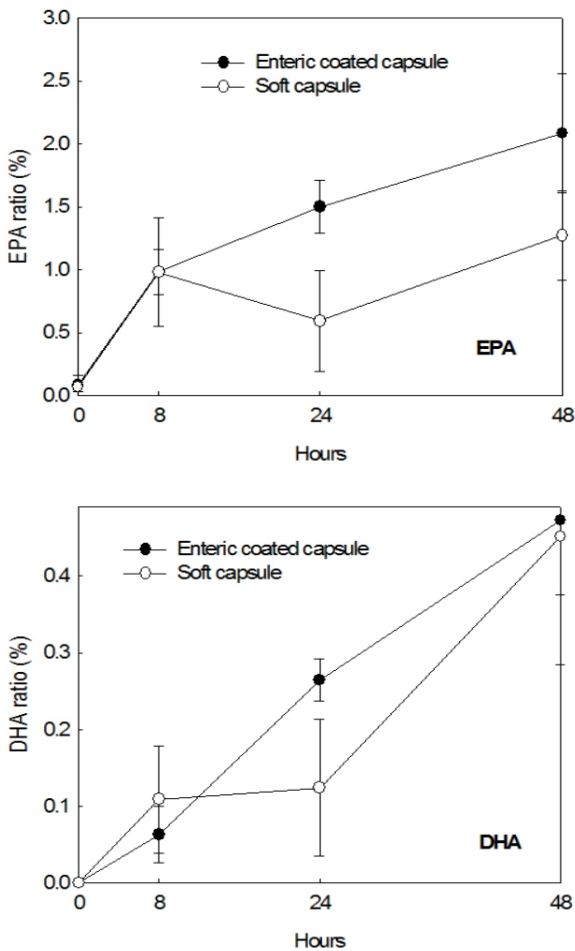


Fig. 3. EPA and DHA release profile of soft and enteric coated capsule.

에 비하여 다소 높은 EPA 및 DHA의 혈액 내 조성 비율을 보인 반면, 8시간 이후 장용성 capsule에 의한 EPA와 DHA의 혈액내 함량이 비율이 증가하는 경향을 보였으며, 24시간 경과 후 EPA와 DHA의 혈액 내의 비율은 각각 1.50%와 0.26%로 증가하였다. 또한 48시간 경과 후에도 장용성 캡슐의 경우 2.08%와 0.47%의 혈액내의 EPA와 DHA 함량이 지속적으로 증가하는 경향을 보였다. 장용성 캡슐의 경우, 일반적으로 바람

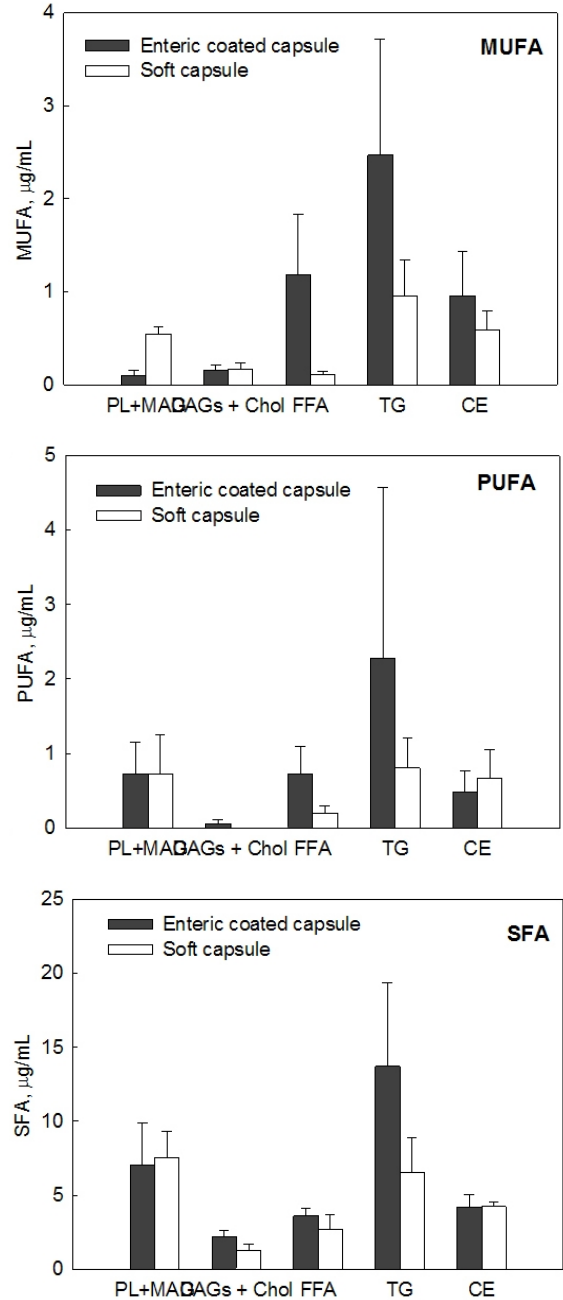


Fig. 4. Serum SFA and UFA profile of soft and enteric coated capsule in TLC fraction.

직한 장용성 특성인 6~12시간보다 긴 48시간까지 흡수가 지속되는 특성을 보였는데, 이는 토끼의 소화관 이행시간(transit time)이 사람과 다름에 기인한 것으로 보인다. Belluzzi 등 (1994, 1996)은 크론씨병을 앓고 있는 환자들에게 어유가 함유된 장용성 캡슐을 복용한 결과, 어유 섭취에 따른 부작용의 감소와 더불어 오메가-3 지방산의 흡수율의 증가를 보고하였다.

오메가-3 지방산의 안정성 향상을 위한 장용성 캡슐(Entrox)의 단기 흡수율 평가를 위해 6 g씩 3주 섭취한 결과, 혈액에서의 0~24시간 사이에서는 ALA 함량은 장용성 캡슐과 비장용성 캡슐 사이에 차이가 없었으나, 24시간 후의 혈액 내에서의 ALA 함량 증가를 보고하였다(Kwrowska 등 2003).

경구 투여 48시간 후 혈청을 박막 크로마토그래피(TLC)로 얻은 분획 중의 지방산 조성을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. Fig. 4에서처럼 장용성 capsule에서는 mono-, poly-unsaturated fatty acid 혈액 내의 함량이 다소 높은 경향을 보였으며, saturated fatty acid 함량 역시 다소 높은 경향을 보였다. EPA와 DHA의 함량은 혈액 내에서 각 지방 분획에서의 함량 차이를 정확하게 측정하기 힘들었다. 이는 48시간 후의 혈액 내 잔존량이 너무 낮기 때문인 것으로 보인다.

이상의 결과에 의하면 장용성 캡슐은 위장관을 통과하여 장에서 용출되는 특성 때문에 지속적인 효과를 기대할 수 있을 것으로 추정된다.

요 약

본 연구에서는 혈액 내에서의 오메가-3 지방산의 함량 변화를 측정하여 연질 캡슐과 장용성 캡슐의 차이를 검토하였다. Fish oil 중의 EPA와 DHA의 총합의 함량이 62.87 g/100 g으로 대부분을 차지하고 있다. 연질 캡슐의 경우, 제 1시험액(위액)에서는 내부의 지방이 70% 용출된 반면, 장용성의 경우 10% 정도만이 용출되었다. 제 2액(소장액)에서도 6시간까지 50% 정도 용출되어 90분에 50%가 용출된 일반 연질 캡슐과 대조적이었다. 기존에 사용하였던 연질 캡슐의 EPA 및 DHA는 흡수 초기에 장용성 캡슐에 비하여 다소 높은 비율을 보인 반면, 8시간 이후 장용성 캡슐 섭취한 경우 EPA와 DHA의 혈액 내 함량이 비율이 증가하는 경향을 보였다. 경구 투여 48시간 후 지방산 조성은 장용성 캡슐에서는 mono-, poly-unsaturated fatty acid 혈액 내의 함량이 다소 높은 경향을 보였으며, saturated fatty acid 함량 역시 다소 높은 경향을 보였다. EPA와 DHA의 함량은 혈액 내에서 각 지방 분획에서의 함량 차이를 정확하게 측정하기 힘들었다. 이상의 결과에 의하면 장용성 캡슐은 위장관을 통과하여 장에서 용출되는 특성 때문에 지속적인 효과를 기대할 수 있을 것으로 추정된다.

참고문헌

- Belluzzi A, Brignola C, Campieri M, Camporesi EP, Gionchetti P, Rizzello F, Belloi C, De Simone G, Boschi S, Miglioli M. 1994. Effect of new fish oil derivative on fatty acid phospholipid-membrane pattern in a group of Crohn's disease patients. *Digest Dis Sci* 39:2589-2594
- Belluzzi A, Brignola C, Campieri M, Pera A, Boschi S, Miglioli M. 1996. Effect of an enteric-coated fish-oil preparation on relapses in Crohn's disease. *New Engl J Med* 334:1557-1560
- Booth NH, McDonald LE. 1988. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 6th. ed. Iowa State Univ. Press
- Fetterman F, Hussain MM. 2009. Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. *Am J Health Syst Ph* 66:1169-1179
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-509
- Guo HX, Heinämäki J, Yliruusi J. 2002. Diffusion of a freely water-soluble drug in aqueous enteric-coated pellets. *AAPS Pharm Sci Tech* 3:97-104
- Kim DK, Shin JA, Lee KT. 2011. Monitoring of compositions of gamma-linolenic acid and omega-3 fatty acids in some functional foods consumed in market. *CNU J Agric Sci* 38:277-284
- Kim MC, Park JO, Kim NJ. 1994. Disintegration test of enteric coated capsules using radiopaque material in dogs. *Korean J Vet Clin Med* 11:377-381
- Ko WH, Hong JK, Lee SW, Cha JH, Baek HH, Park HJ. 2012. The effects of coating treatments on enteric coating of the soft capsules containing omega-3 fatty acids. *Korean J Food Sci Technol* 44:168-172
- Kosaraju SL. 2005. Colon targeted delivery systems: Review of polysaccharides for encapsulation and delivery. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45:251-258
- Kwrowska EM, Dresser GK, Deutsch L, Vachon D, Khalil W. 2003. Bioavailability of omega-3 essential fatty acids from perilla seed oil. *Prostag Leukotr Ess* 68:207-212
- Mose AJ. 1993. Gastroretentive dosage forms. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 10:143-195
- Park JS. 2011. Maternal and paternal nutrition before conception. *J Korean Med Assoc* 54:818-824
- Park Y. 2010. Omega-3 index as a risk factor for cardiovascular disease and its application to Korean population. *Korean J*

Obes 19:1-8

56:933-943

Shargel YU. 1993. Physiologic Factors related to Drug Absorption.

In: Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. Prentice Hall, pp. 119-122

Slover H, Lanza, E. 1979. Quantitative analysis of food fatty acids by capillary gas chromatography. *J Am Oil Chem Soc*

접 수 : 2012년 11월 10일

최종수정 : 2012년 12월 8일

채 택 : 2012년 12월 10일